ارزیابی اثر علف‌کش‌های انتخابی سویا بر سرعت رشد میسلیوم قارچ *Macrophomina phaseolina* (Tassi) Goid عامل پوسیدگی ذغالی در شرایط آزمایشگاهی

سهیلا دشتیاری[۱*]، سید اسماعیل رضوی[۲]، ناصر باقرانی[۳] و سید جواد صانعی[۴]

۱- دانش آموخته‌ی کارشناسی ارشد بیماری شناسی گیاهی دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی گرگان.
۲- استادیار گروه گیاه پزشکی دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی گرگان.
۳- استادیار مرکز تحقیقات و آموزش کشاورزی و منابع طبیعی استان گلستان.
۴- مربی گروه گیاه پزشکی دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی گرگان.
* مسئول مکاتبه soheila.yari@yahoo.com

تاریخ دریافت: ۹۵/۵/۵ تاریخ پذیرش: ۹۶/۳/۲۴

چکیده

علف‌کش‌ها به‌طور وسیعی در مزارع مختلف مورد استفاده قار می گیرند مکانیسم فعل و انفعلات ممکن بین علف‌کش‌ها و بیمارگرهای گیاهی به‌خوبی شناخته نشده است. یکی از مهم‌ترین بیماری‌های سویا، پوسیدگی ذغالی است که عامل آن قارچ *Macrophomina phaseolina* (Tassi) Goid، می‌باشد. علف‌کش‌های ایمازتاپیر، تریفلورالین و متری‌بیوزین به صورت کاربرد خاکی در کشت سویا استفاده می‌شوند. به‌منظور بررسی اثر غلظت‌های مختلف علف‌کش‌های مذکور بر سرعت رشد قارچ، آزمایشی به‌صورت فاکتوریل در قالب طرح کاملاً تصادفی در شش تکرار در شرایط آزمایشگاهی انجام گردید. برای هر یک از علف‌کش‌ها، غلظت‌های صفر تا ۷۰۰۰ میلی‌گرم در لیتر در محیط کشت سیب‌زمینی دکستروز آگار (س. د. آ.) در نظر گرفته شد. دیسک قارچ در مرکز پتری‌دیش‌های نه سانتی‌متری قرار داده شد و میزان رشد طولی میسلیوم به‌طور روزانه اندازه‌گیری گردید. میزان سرعت رشد با استفاده از معادله‌ی درز- پاسخ لجستیک چهار پارامتره برازش داده شد. نتایج حاصل از تأثیر استفاده از غلظت‌های علف‌کش در محیط کشت نشان داد که بین جدایه‌ها تفاوت معنی‌داری وجود دارد. علف‌کش‌های تریفلورالین با غلظت‌های ۴۳۲۰ و ۵۷۶۰ میلی‌گرم در لیتر، ایمازتاپیر در غلظت‌های ۲۳۰۰ و ۷۰۰۰ میلی‌گرم در لیتر و هم‌چنین متری‌بیوزین در غلظت‌های ۵۰۰۰ و ۷۰۰۰ میلی‌گرم در لیتر تقریباً به طور کامل موجب توقف رشد قارچ شدند. علف‌کش‌های ایمازتاپیر، متری‌بیوزین و تریفلورالین به‌ترتیب بیشترین تأثیر را روی کاهش سرعت رشد جدایه‌های *M. phaseolina* در محیط کشت س. د. آ. داشتند.

واژه‌های کلیدی: ایمازتاپیر، تریفلورالین، متری‌بیوزین، بیماری خاک‌برد.

مقدمه

سویا با نام علمی *Glycine max* (L.) Merrill مورد حمله‌ی عوامل بیماری‌زای متعددی از جمله پوسیدگی ذغالی ناشی از *Macrophomina phaseolina* (Tassi) Goid، قرار می‌گیرد (جانا و همکاران، ۲۰۰۳؛ بابو و همکاران، ۲۰۰۷). این بیماری به‌ویژه در سال‌های خشک و کم‌باران، باعث آلودگی مزارع سویا و کاهش کیفیت و کمیت محصول می‌شود (اسمیت و وایلی، ۱۹۹۹). از سویی دیگر، جهت مبارزه با علف‌های هرز سویا به روش شیمیایی، علف‌کش‌های تریفلورالین (ترفلان) ، متری‌بیوزین(سنکور) و ایمازتاپیر (پرسوییت) به صورت خاک کاربرد در مزارع سویا توصیه شده اند (شیخی گرجان و همکاران، ۱۳۹۱). با این وجود، اثرات علف‌کش می‌تواند فراتر از گونه‌های هدف گسترش یابد و موجودات غیرهدف را تحت تأثیر قرار دهد.

Archive of SID
www.SID.ir

اثرات علف‌کش بر بیماری‌های گیاهی و کاربرد علف‌کش‌ها بر مدیریت بیمارگرهای گیاهی و توسعه‌ی بیماری در سیستم‌های زراعی بررسی شده است (برادلی و همکاران، ۲۰۰۲؛ سانیال و شرستا، ۲۰۰۸). بررسی اثرات علف‌کش‌ها برای اولین‌بار در اوایل دهه‌ی ۱۹۴۰ انجام شد و سپس چند مورد از آن‌ها روی بیماری‌های خاک‌برد در دهه‌ی ۱۹۶۰ گزارش گردید (سانیال و شرستا، ۲۰۰۸). علف کش آترازین بر فعالیت قارچ‌های *Fusarium moniliforme*، *F. oxysporum* و *Aspergillus* spp. اثر محدودکنندگی دارد (کورتکامپ، ۲۰۱۱). پژوهش‌های صورت گرفته در شرایط آزمایشگاهی نشان داد در محیط کشت تیمار شده با پندیمتالین یا متری‌بیوزین رشد *Pseudomonas solanacearum* و *F. oxysporum* مهار شد (آل- شانشوری و همکاران،۱۹۹۶). دیسانایاک و همکاران (۱۹۹۸) گزارش کردند که پندیمتالین وآترازین باعث مهار رشد میسلیومی بیمارگر *P. arrhenomones* شد . علف‌کش گلیفوسیت با افزایش غلظت آن در بستر بر کاهش میزان جوانه‌زنی کنیدی، رشد میسلیوم و تولید اسپور بیمارگرهایی از قبیل *P. ultimum* و *F. solani* f. sp. *pisi*، در گیاهان نخود،کلزا و پنبه اثر مهارکنندگی داشت (بلک و همکاران، ۱۹۹۶؛ سانوگو و همکاران، ۲۰۰۰ ، پانکی و همکاران، ۲۰۰۵) برخی از محققین در بررسی تأثیر غلظت‌های مختلف تریفلورالین بر رشد قارچ *Rhizoctoinia solani* گزارش می‌کنند که رشد *R. solani* نسبت به شاهد در محیط مالت آگار حاوی ۵۰، ۱۰۰ و ۲۰۰ پی‌پی‌ام تریفلورالین به طور معنی‌داری کاهش یافته است، هم‌چنین بیان کردند که اغلب این تفاوت در غلظت‌های بیشتر علف‌کش مشاهده شده است (منتظری و حمداله‌زاده، ۲۰۰۵). پژوهش های صورت گرفته در شرایط آزمایشگاهی نشان داد در محیط کشت تیمار شده با گلوفوزینات، آمونیوم، آترازین، کارفن ترازون – اتیل، دیورون + پاراکوات دی کلراید، ایمازاپیر، اکسی فلورفن و سولفن ترازون رشد پرگنه *Trichoderma atroviride* کاهش یافت (سانتورو و همکاران، ۲۰۱۴).

با توجه به مصرف بالای علف‌کش‌ها در مزارع سویا و تأثیر علف‌کش‌ها بر عوامل بیمارگر، در این پژوهش میزان تأثیر علف‌کش‌های تریفلورالین، ایمازتاپیر و متری‌بیوزین بر سرعت رشد عامل بیماری پوسیدگی ذغالی در شرایط آزمایشگاهی مورد بررسی قرار گرفت.

مواد و روش‌ها

تهیه و کشت جدایه‌های *Macrophomina phaseolina*

جدایه‌های *M. phaseolina* که در این پژوهش به عنوان بیمارگر عامل پوسیدگی ذغالی سویا مورد استفاده قرار گرفتند شامل دو جدایه به نام‌های M2 و M4 بودند که از گروه گیاه‌پزشکی دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی گرگان تهیه شد. این جدایه‌ها بر روی محیط کشت غذایی حاوی سیب‌زمینی دکستروز آگار (س. د. آ.) تجدید کشت شدند و در اتاقک رشد با دمای ۲۵ درجه‌ی سانتی‌گراد در شرایط تاریکی برای رشد قرارداده شدند.

بررسی اثر علف‌کش‌ها بر رشد جدایه‌های *M. phaseolina* در شرایط آزمایشگاهی

اثر مقادیر صفر، ۹۶، ۴۸۰، ۹۶۰، ۴۳۲۰ و ۵۷۶۰ میلی‌گرم در لیتر برای تریفلورالین انتخاب گردید و با توجه به درصد ماده‌ی مؤثره آن، میزان ۰/۱، ۰/۵، ۱، ۴/۵ و ۶ میلی‌لیتر به عنوان دز نهایی تهیه گردید. اثرات مقادیر صفر، ۱۲۰، ۵۰۰، ۱۵۰۰، ۵۰۰۰ و ۷۰۰۰ میلی‌گرم در لیتر برای متری‌بیوزین بررسی شد و با توجه به درصد ماده‌ی مؤثره آن، میزان ۰/۰۸۵، ۰/۳۵۷، ۱/۰۷۱، ۳/۵۷۱ و ۵ میلی‌لیتر به عنوان دز نهایی تهیه گردید. اثر مقادیر صفر، ۱، ۵، ۲۰، ۱۰۰، ۵۰۰، ۲۳۰۰ و ۷۰۰۰ میلی‌گرم در لیتر برای ایمازتاپیر انتخاب و با توجه به درصد ماده‌ی مؤثره آن، میزان ۰/۰۰۵، ۰/۰۲۵، ۰/۱، ۰/۵، ۱۱/۲،۵/۵ و ۳۵ میلی‌لیتر به عنوان دز نهایی به دست آمد.

برای انجام آزمایش، محیط کشت غذایی س. د. آ. تهیه و در دمای ۱۲۰ درجه‌ی سانتی‌گراد و فشار یک اتمسفر با دستگاه اتوکلاو استریل گردید. سپس از سه علف‌کش غلظت

Archive of SID

www.SID.ir

لازم محاسبه شده و به میزان لازم در دمای ۴۵ درجه‌ی سانتی‌گراد درجه به محیط س. د. آ. در ارلن‌های جداگانه اضافه شد و بعد از به هم زدن به مقدار ۲۰ میلی‌لیتر به ظروف پتری ۹ سانتی‌متری منتقل گردید. شاهد این آزمایش محیط کشت بدون علف‌کش در نظر گرفته شد. بعد از انعقاد محیط با استفاده از چوب‌پنبه سوراخ‌کن، قطعاتی به قطر پنج میلی‌متر از کشت هفت روزه‌ی جدایه‌های قارچ *M. phaseolina*، در مرکز هر یک از محیط‌های کشت تیمار شده با علف‌کش و شاهد قرار گرفت و در دمای ۲۵ درجه‌ی سانتی‌گراد و در تاریکی نگه‌داری شدند.

تعیین روند رشد جدایه‌ها

تأثیر علف‌کش‌ها بر جدایه‌های قارچ به وسیله‌ی اندازه‌گیری قطر پرگنه‌ی قارچ در هر تیمار علف‌کش و شاهد به مدت چند روز متوالی و با استفاده از خط‌کش میلی‌متری صورت گرفت. هر روز قطر پرگنه قارچ رشد یافته، در دو جهت با خط‌کش میلی‌متری اندازه‌گیری شد. میانگین دو قطر اندازه‌گیری شده به عنوان معیار رشد قارچ در نظر گرفته شد. اندازه‌گیری قطر قارچ تا زمانی ادامه یافت که سطح پتری‌های شاهد کاملاً از پرگنه پوشیده شد. سپس بر طبق روش گاداراما- مندوز و همکاران (۲۰۱۴)، سرعت رشد قارچ (میلی‌متر در ساعت) از شیب خط معادله خطی رشد پرگنه در برابر زمان به‌دست آمد.

$$y=a+bx$$

در این معادله y، میزان رشد قارچ (میلی‌متر)؛ x، زمان (ساعت)؛ a، عرض از مبدا و b، شیب رشد قارچ (میلی‌متر در ساعت) می‌باشند.

سرعت رشد جدایه‌ها در غلظت‌های مختلف هر علف‌کش با استفاده از معادله‌ی دز- پاسخ چهار پارامتری لجستیک برازش داده شد (سیفلت و همکاران، ۱۹۹۵).

$$y = G_{min} + \frac{G_{max} - G_{min}}{1+(x/EC_{50})^b}$$

در این معادله

y= سرعت رشد قارچ در غلظت‌های علف‌کش.

G_{max}= حداکثر سرعت رشد جدایه‌ی قارچی موجود در محیط کشت.

G_{min}= حداقل سرعت رشد جدایه‌ی قارچی موجود در محیط کشت.

EC_{50}= غلظت علف‌کش (میلی‌گرم در لیتر) مورد نیاز برای ۵۰ درصد کاهش سرعت رشد قارچ.

b= شیب منحنی در نقطه EC_{50} و یا شیب کاهش سرعت رشد قارچ.

تجزیه تحلیل آماری

کلیه‌ی آزمایش‌ها به صورت فاکتوریل در قالب طرح کاملاً تصادفی و در شش تکرار انجام شد. دو جدایه از *M. phaseolina*، سه علف‌کش خاک‌مصرف سویا و شش غلظت برای تریفلورالین و متری‌بیوزین و هشت غلظت برای ایمازتاپیر به عنوان تیمارهای آزمایش در نظر گرفته شدند. تجزیه و تحلیل داده‌ها با استفاده از نرم افزارهای آماری Sigmaplot نسخه‌ی ۱۲/۵، Statgraphics نسخه‌ی ۱۶/۱ انجام شد.

نتایج و بحث

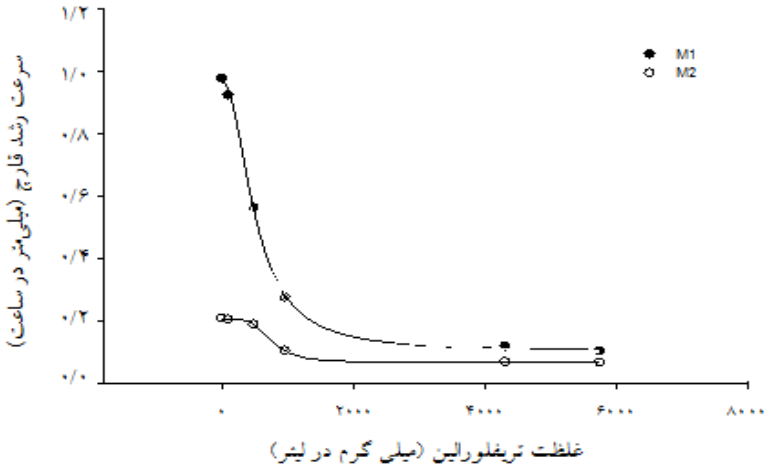
تأثیر تریفلورالین برسرعت‌رشدجدایه‌های *M. phaseolina*

تأثیر علف‌کش تریفلورالین بر سرعت رشد جدایه‌های *M. phaseolina* در محیط کشت س. د. آ. به صورت منحنی دز- پاسخ در شکل ۱ و ضرایب معادله لجستیک چهار پارامتری مربوط به آن‌ها در جدول ۱ نشان داده شده است. نتایج به‌دست آمده از تأثیر استفاده از غلظت‌های متفاوت علف‌کش تریفلورالین در محیط س. د. آ. روی سرعت رشد جدایه‌های قارچ *M. phaseolina* نشان داد که بین جدایه‌ها تفاوت معنی‌داری وجود دارد. سرعت رشد جدایه‌ی M2 در تیمار شاهد ۰/۹۶ میلی‌متر در ساعت و در بالاترین غلظت علف‌کش مورد آزمایش ۰/۱ میلی‌متر در ساعت بود. سرعت رشد جدایه‌ی M4 در تیمار شاهد ۰/۲ میلی‌متر در ساعت و در بالاترین غلظت علف‌کش به ۰/۰۷ میلی‌متر در ساعت کاهش یافت. نتایج نشان داد که جدایه‌ی

Archive of SID

www.SID.ir

M4 نسبت به جدایه‌ی M2 تحت تاثیر بیشتری تیمار با علف‌کش قرار گرفته است. شیب کاهش سرعت رشد برای جدایه‌ی M4 حدود ۴/۱۹ برآورد گردید که دو برابر جدایه‌ی M2 بود. ضرایب EC_{50} جدایه‌های M2 و M4 نشان داد که به ترتیب ۵۰۵/۴۵ و ۷۵۳/۳ میلی‌گرم در لیتر تریفلورالین لازم است تا سبب ۵۰ درصد کاهش در سرعت رشد جدایه‌ها شود. در این پژوهش علف‌کش تریفلورالین با غلظت‌های ۴۳۲۰ و ۵۷۶۰ میلی‌گرم در لیتر تقریباً به طور کامل موجب توقف رشد قارچ شد. این نتایج مطابق با گزارش منتظری و حمدالله‌زاده (۲۰۰۵) در مورد تأثیر غلظت‌های مختلف تریفلورالین بر رشد قارچ *R. solani* می‌باشد. در آزمایش آن‌ها، رشد *R. solani* نسبت به شاهد در محیط مالت آگار حاوی ۵۰، ۱۰۰ و ۲۰۰ میلی‌گرم در لیتر تریفلورالین به طور معنی‌داری کاهش یافت. این تفاوت در غلظت‌های بالای علف کش بیشتر مشاهده شده است. بررسی‌های بسیاری در مورد اثرات ضدقارچی علف‌کش‌ها در بیمارگرهای گیاهی در شرایط آزمایشگاهی جهت جلوگیری از رشد و تولیدمثل بیمارگر مشهود است (کاتان و اشل، ۱۹۷۴). این نتایج با گزارش در مورد اثرات علف-کش‌های دی‌نیتروآنیلین مطابقت دارد (تیزدیل و همکاران، ۱۹۷۹). علف‌کش‌های گروه دی‌نیتروآنیلین ساختار میکروتوبول را در جلبک (استراچان و هس، ۱۹۸۳)، پروتوزوآها (چان و همکاران، ۱۹۹۱) و قارچ‌ها (هاید و هاردهام، ۱۹۹۳) تحت تأثیر قرار می‌دهد. نحوه‌ی عمل علف‌کش‌های گروه دی‌دنیتروآنیلین‌ها دپلیمریزاسیون تقسیم میتوز است و مانع پلیمریزاسیون‌های جدید می‌شود (مورجان و همکاران، ۱۹۸۷؛ واکر و همکاران، ۱۹۸۷). در محیط کشت‌های محتوی علف‌کش‌های تریفلورالین و اتال‌فلورالین (متعلق به گروه دی‌نیتروآنیلین) رشد جدایه‌های قارچ *S. sclerotiorum* مشاهده نشد. در واقع این علف‌کش‌ها فعالیت‌های ضدقارچی بالایی نشان داده بودند و اجازه‌ی رشد به قارچ در محیط کشت زاپکس در شرایط اتاقک رشد را ندادند (پاکدامن و همکاران، ۲۰۰۶). آلاکلر و متالاکلر باعث کاهش رشد قطری پرگنه‌ی قارچ و افزایش تولید میکرواسکلروت *M. phaseolina* در پوسیدگی ذغالی سورگوم می‌شود (روسین و همکاران، ۱۹۹۵). مدیری و منتظری (۱۳۹۲) نیز نشان دادند علف کش تریفلورالین با غلظت های ۲۵۰۰۰ و ۱۲۵۰۰ پی‌پی‌ام تقریباً به طور کامل موجب توقف رشد قارچ *R. solani* شدند. در این فرآیند، غلظت علف کشی که در دسترس عامل بیماری یا گیاه قرار می‌گیرد و هم چنین شرایط محیطی مهم می‌باشد (دوک و همکاران، ۲۰۰۷).



شکل ۱- روند تغییرات سرعت رشد جدایه‌های *Macrophomina phaseolina* در غلظت‌های مختلف تریفلورالین.

www.SID.ir

جدول ۱- ضرایب معادله‌ی لجستیک چهار پارامتری برای توصیف سرعت رشد جدایه‌های ***Macrophomina phaseolina*** در غلظت‌های مختلف تریفلورالین.

جدایه	ضرایب				R^2
	G_{min}	G_{max}	b	EC_{50}	
M2	۰/۱(۰/۰۱)	۰/۹۶(۰/۰۱)	-۲/۰۷(۰/۲)	۵۰۵/۴۵(۲۰/۱۹)	۹۹
M4	۰/۰۷(۰/۰۰۱)	۰/۲۰(۰/۰۰۱)	-۱/۰۳(۰/۲۶)	۷۵۳/۳(۱۶/۱۳)	۹۹

اعداد داخل پرانتز مقادیر خطای استاندارد (**SE**) را نشان می‌دهد.

G_{max}: سرعت رشد قارچ در کم‌ترین غلظت علف‌کش، G_{min}: سرعت رشد قارچ در بیش‌ترین غلظت علف‌کش، b: شیب کاهش سرعت رشد قارچ و EC_{50}: غلظت علف‌کش مورد نیاز برای ۵۰ درصد کاهش سرعت رشد قارچ.

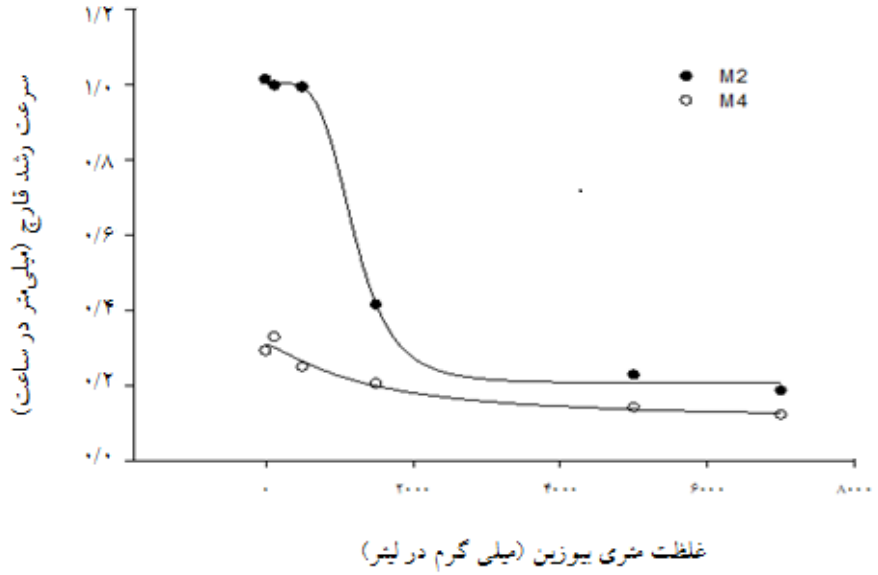
تأثیر متری‌بیوزین بر سرعت رشد جدایه‌های *M. phaseolina*

تأثیر علف کش متری‌بیوزین بر سرعت رشد جدایه های *M. phaseolina* در محیط کشت س. د. آ. به صورت منحنی دز- پاسخ در شکل ۱ و ضرایب معادله لجستیک چهار پارامتری مربوط به آن ها در جدول ۱ نشان داده شده است. مطالعات آزمایشگاهی نشان داد که اثر بازدارندگی علف‌کش بر سرعت رشد جدایه‌های قارچ معنی‌دار است. سرعت رشد جدایه‌ی M2 در کمترین غلظت علف‌کش ۱/۰۰۵ میلی‌متر در ساعت و در بالاترین غلظت علف‌کش مورد آزمایش ۰/۲۰ میلی‌متر در ساعت که به ترتیب ۳/۳۵ و ۲ برابر سرعت رشد جدایه‌ی M4 می‌باشد. غلظت متری‌بیوزین لازم برای ۵۰ درصد کاهش (EC_{50}) سرعت رشد جدایه‌ها به ترتیب ۱۱۹۷/۰۴ و ۱۳۰۷/۷۶ میلی‌گرم در لیتر برآورد گردید. علف‌کش متری‌بیوزین با غلظت‌های ۵۰۰۰ و ۷۰۰۰ پی‌پی‌ام تقریباً به طور کامل موجب توقف رشد قارچ شدند. پژوهش حاضر در استفاده از علف‌کش در محیط کشت نشان داد که متری‌بیوزین می‌تواند باعث کاهش معنی‌دار رشد *M. phaseolina* شود. تأثیر برخی از علف‌کش‌ها در محدود نمودن جوانه‌زنی اسپور یا رشد میسلیوم پیش از این نیز گزارش شده است (سانیال و شرستا، ۲۰۰۸). مدیری و منتظری (۱۳۹۲) نیز طی بررسی‌هایی اظهار نمودند که متری‌بیوزین سبب کاهش معنی‌دار رشد پرگنه *R. solani* می‌شود و با افزایش غلظت از ۲۵۰۰ به ۵۰۰۰ پی‌پی‌ام، رشد قارچ به طور معنی‌داری کاهش بیشتری نشان می‌دهد. مکانیسم عمل علف‌کش‌های تریازین مهار فتوسنتز است. تریازین‌ها PSII را مهار می‌کنند اما تأثیری بر PSI ندارند (تربست، ۲۰۰۸). کاسال و هارت (۱۹۸۶) اثر علف کش های مهارکننده فتوسنتز بر زنده بودن میسلیوم و ساختارهای زایشی *S. sclerotiorum* را بررسی کردند. دیورون با ۵۰ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر، آترازین، سیمازین و متری‌بیوزین با ۵۰۰ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر رشد قارچ را در محیط باکتو آگار مهار کرد. بررسی‌ها نشان می‌دهد آترازین و دیگر علف‌کش‌های تریازین بر رشد، تولید و یا زنده ماندن اسپور و اجسام باردهی در محیط خاک و بر روی محیط کشت‌های مصنوعی تأثیر دارند. بیم و همکاران (۱۹۷۷) نشان دادند که پرومترین فعالیت آنزیم و رشد قارچ *R. solani* و تولید سختینه *S. rolfsii* را کاهش داد. هم‌چنین زمانی که علف‌کش تریازین به خاک و یا محیط کشت وارد شد تولید سختینه در *S. sclerotiorum* نیز کاهش یافت. آترازین، سیمازین و متری‌بیوزین رشد میسلیوم یا توسعه‌ی آپوتسیوم طبیعی و اسکلروت درغلظت پایین را مهار کرد (کاسال و هارت، ۱۹۸۶). در بررسی دیگر، جوانه‌زنی اسکلروت توسط علف‌کش‌های تریازین (رادکی و گرو، ۱۹۸۶) تحریک شد. روسین و همکاران (۱۹۹۵) مشاهده کردند که آترازین قطر پرگنه قارچ *M. phaseolina* در سورگوم را کاهش داد ولی

Archive of SID

www.SID.ir

تولید و جوانه‌زنی میکرواسکلروت را کاهش نداد. آترازین هم‌چنین رشد میسلیومی قارچ *Pythium arrhenomanes* را مهار کرد، در حالی که ترباسیل (علف‌کش بازدارنده فتوسنتز) شدت پوسیدگی ریشه را افزایش داد در حالی که متری‌بیوزین هیچ تأثیری نداشته است (دیسانایک و همکاران، ۱۹۹۸). مهار رشد قارچ با توجه به اثرات تیمار علف‌کش، تنوع گونه‌های قارچی و انواع علف‌کش متفاوت می‌باشد. اسمیت و لیون (۱۹۷۶) بیان کردند این به دلیل توانایی‌های متفاوت میسلیوم قارچ به جذب علف کش برای استفاده می‌باشد. مایکل و فائول (۲۰۰۹) نشان دادند که در شرایط آزمایشگاهی، علف‌کش گالکس به میزان صفر، ۱۰۰، ۲۰۰، ۴۰۰ و ۵۰۰ میلی‌گرم در لیتر در محیط س. د. آ. در برابر قارچ *F. oxysporum* و نگه‌داری در دمای ۳۰ درجه‌ی سانتی‌گراد به مدت پنج روز، کاهش قابل توجهی از وزن قارچ *F. oxysporum* در غلظت ۵۰۰ میلی‌گرم در لیتر نشان داد.



شکل ۲- روند تغییرات سرعت رشد جدایه‌های *Macrophomina phaseolina* در غلظت‌های مختلف متری‌بیوزین.

جدول ۲- ضرایب معادله‌ی لجستیک چهار پارامتری برای توصیف سرعت رشد جدایه‌های *Macrophomina phaseolina* در غلظت‌های مختلف متری‌بیوزین.

جدایه	ضرایب				
	G_{min}	G_{max}	b	EC_{50}	R^2
M2	۰/۲۰(۰/۰۰۹)	۱/۰۰۵(۰/۰۰۸)	-۴/۶۳(۱/۱۱)	۱۱۹۷/۰۴(۶۷/۵۵)	۹۹
M4	۰/۱۰(۰/۰۴)	۰/۳۰(۰/۰۱)	-۱/۳۰(۰/۶۴)	۱۳۰۷/۷۶(۵۸۶/۲۶)	۹۴

اعداد داخل پرانتز مقادیر خطای استاندارد (SE) را نشان می‌دهد.

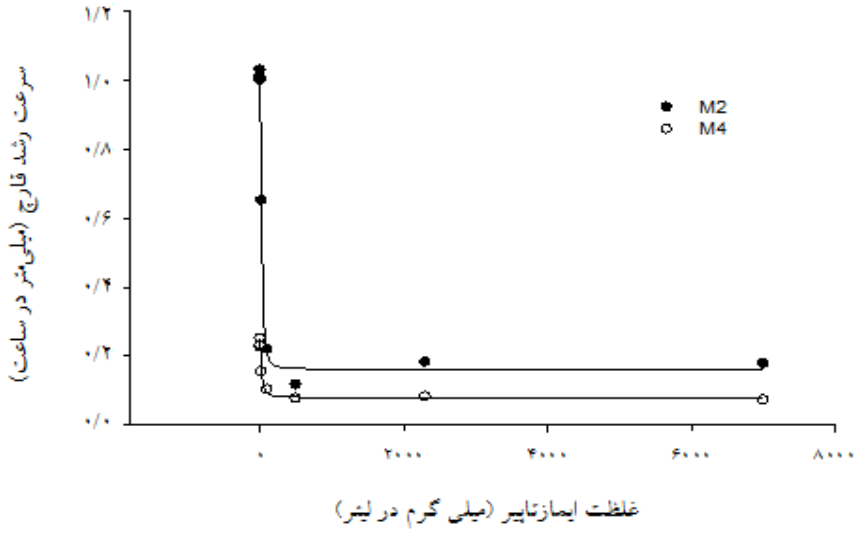
G_{max}: سرعت رشد قارچ در کم‌ترین غلظت علف‌کش، G_{min}: سرعت رشد قارچ در بیش‌ترین غلظت علف‌کش، b: شیب کاهش سرعت رشد قارچ و EC_{50}: غلظت علف کش مورد نیاز برای ۵۰ درصد کاهش سرعت رشد قارچ.

www.SID.ir

تأثیر ایمازتاپیر بر سرعت رشد جدایه‌های *M. phaseolina*

تأثیر علف‌کش ایمازتاپیر بر سرعت رشد جدایه‌های *M. phaseolina* در محیط کشت س. د. آ. به صورت منحنی دز – پاسخ در شکل ۳ و ضرایب معادله‌ی لجستیک چهار پارامتری مربوط به آن ها در جدول ۳ نشان داده شده است. نتایج نشان داد که جدایه‌ی M2 و M4 دارای اختلاف معنی‌دار می‌باشند. سرعت رشد جدایه‌ی M4 در تیمار شاهد ۰/۲۴ میلی‌متر در ساعت و در بالاترین غلظت علف‌کش مورد آزمایش ۰/۰۸ میلی‌متر در ساعت، در حالی که سرعت رشد جدایه‌ی M2 در تیمار شاهد ۱/۰۲ میلی‌متر در ساعت و در بالاترین غلظت علف‌کش مورد آزمایش ۰/۱۶ میلی‌متر در ساعت بود که به ترتیب ۴/۲۵ و ۲ برابر جدایه‌ی M4 بود. غلظت ایمازتاپیر لازم برای ۵۰ درصد کاهش (EC_{50}) سرعت رشد جدایه‌ها به ترتیب ۲۳ و ۲۰ میلی‌گرم در لیتر برآورد گردید که اختلاف معنی‌داری با هم نداشتند. به این ترتیب، حساسیت جدایه‌ها به ایمازتاپیر به طور محسوسی بیشتر از علف‌کش‌های تریفلورالین و متری‌بیوزین بود. علف‌کش ایمازتاپیر در غلظت‌های ۲۳۰۰ و ۷۰۰۰ پی‌پی‌ام موجب توقف کامل رشد قارچ شدند.

اختلاف در سرعت جدایه ها ممکن است به علت توانایی جدایه‌ها در تبدیل علف‌کش به یک متابولیت کمتر سمی باشد (ردی و همکاران، ۲۰۰۸). بر اساس اطلاعات موجود، تاکنون در زمینه واکنش *M. phaseolina* نسبت به علف‌کش ایمازتاپیر پژوهشی انجام نگرفته است. بررسی‌های انجام شده توسط هاریکریشنان و یانگ (۲۰۰۱) به منظور تعیین اثر سه علف‌کش سویا (گلیفوسیت، ایمازتاپیر و پندیمتالین) بر رشد قارچ، تولید اسکلروت و بقای جدایه‌های قارچ *R. solani* (AG-1 ، AG-2-2 و AG-4) نشان داد که علف‌کش‌ها هیچ تأثیری در تعداد یا بقای اسکروت ندارند. سانتورو و همکاران (۲۰۱۴) نشان دادند که کارفن ترازون- اتیل و سولفن ترازون در میزان توصیه شده و دو برابر میزان توصیه شده جوانه‌زنی قارچ *Trichoderma atroviride* را مهار کرد. هوشیار و درویش (۲۰۱۱) امکان اثر متقابل بین دو حشره‌کش سیستمیک تیودیکارب و ایمیداکلوپراید در مقابل بیمارگرهای *R. solani* و *F. verticillioides* در پنبه را بررسی کردند و دریافتند که ایمیداکلوپراید رشد میسلیومی *F. verticillioides* را مهار کرد.



شکل ۳- روند تغییرات سرعت رشد جدایه‌های *Macrophomina phaseolina* در غلظت‌های مختلف ایمازتاپیر.

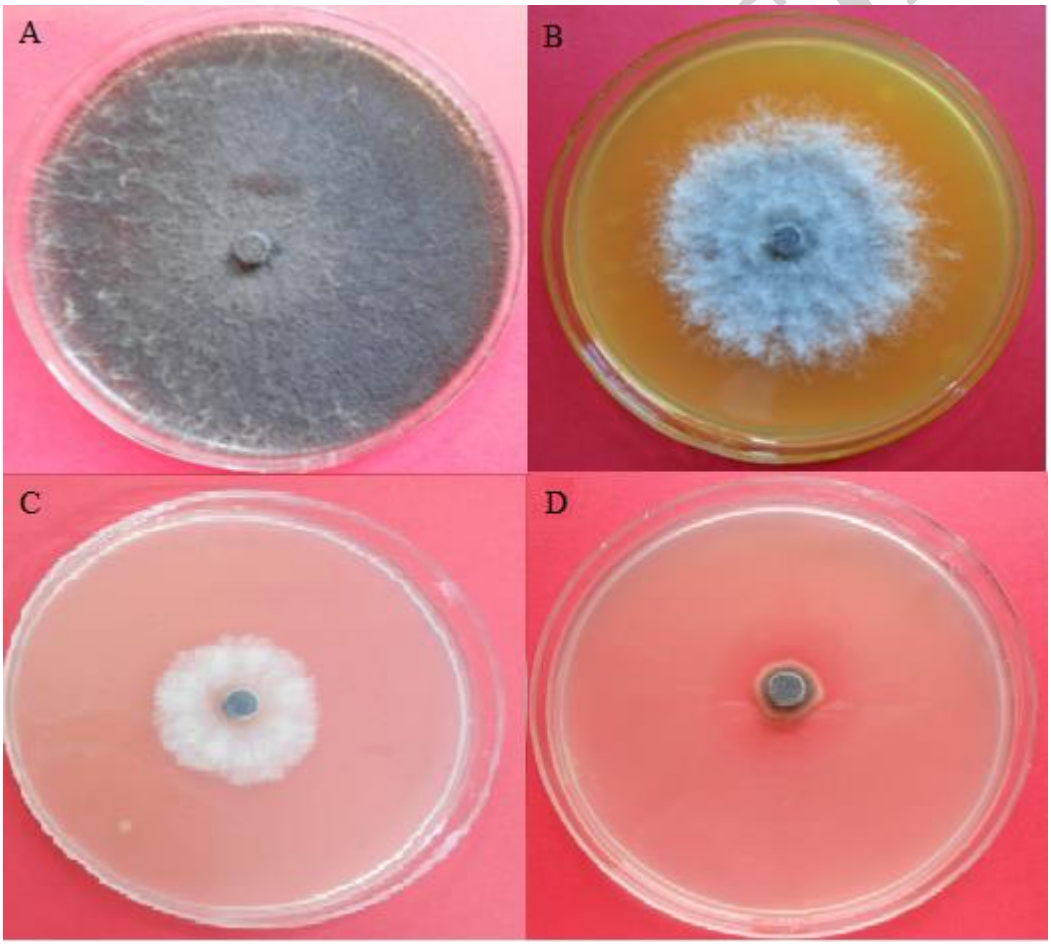
www.SID.ir

جدول ۳- ضرایب معادله‌ی لجستیک چهار پارامتری برای توصیف سرعت رشد جدایه‌های ***Macrophomina phaseolina*** در غلظت‌های مختلف ایمازتاپیر.

جدایه	ضرایب				
	G_{min}	G_{max}	b	EC_{50}	R^2
M2	۰/۱۶(۰/۰۱)	۱/۰۲(۰/۰۱)	−۱/۹۹(۰/۴۱)	۲۳(۱/۸۶)	۹۹
M4	۰/۰۸(۰/۰۰۷)	۰/۲۴(۰/۰۰۹)	−۱/۵۴(۰/۵۳)	۲۰(۴/۳۹)	۹۷

اعداد داخل پرانتز مقادیر خطای استاندارد (SE) را نشان می‌دهد.

G_{max}**:**سرعت رشد قارچ در کم‌ترین غلظت علف‌کش، G_{min}**:** سرعت رشد قارچ در بیش‌ترین غلظت علف‌کش، b: شیب کاهش سرعت رشد قارچ و EC_{50}: غلظت علف‌کش مورد نیاز برای ۵۰ درصد کاهش سرعت رشد قارچ.



شکل ۴- اثر علف‌کش بر سرعت رشد پرگنه‌ی ***Macrophomina phaseolina*** در محیط کشت س. د. آ.

A) تیمار شاهد، **B**) تریفلورالین غلظت ۹۶۰ پی‌پی‌ام، **C**) متری‌بیوزین غلظت ۱۵۰۰ پی‌پی‌ام، **D**) ایمازتاپیر غلظت ۷۰۰۰ پی‌پی‌ام

www.SID.ir

نتیجه‌گیری کلی

در مجموع نتایج این آزمایش نشان داد که اثر بازدارندگی علف‌کش‌ها بر سرعت رشد میسلیومی جدایه‌های قارچ معنی‌دار بوده و به نوع و غلظت علف‌کش و جدایه قارچ بستگی دارد. به طور مثال بین عکس العمل سرعت رشد میسلیومی جدایه‌های قارچ در یک غلظت مشابه از علف‌کش تفاوت معنی‌داری وجود دارد. نتایج نشان داد که جدایه M4 تحت تاثیر بیشتری نسبت به جدایه M2 از تیمار با علف‌کش قرار گرفته است. علف‌کش‌های ایمازتاپیر، متری‌بیوزین و تریفلورالین به ترتیب بیشترین تأثیر را روی کاهش سرعت رشد جدایه‌های *M. phaseolina* در محیط کشت س. د. آ. داشتند. این بررسی نمونه‌ای از گزارش کنترل شیمیایی علف‌های هرز و تحت تاثیر قرار گرفتن بیمارگرهای گیاهی می‌باشد. بحث و تبادل‌نظر در یافته‌های مختلف علف‌کش‌ها و بیماری‌های گیاهی موید این واقعیت است که مدیریت آفات در کشاورزی مستلزم اتخاذ رویکرد می‌باشد. همکاری بین دانشمندان علف هرز، آسیب شناسان گیاهی (پاتولوژیست) و کشاورزان ضروری است تا فعل و انفعالات بین علف‌کش‌ها، بیماری‌های گیاهی، انواع محصولات و ارقام زراعی به درستی درک شود.

منابع

شیخی‌گرجان ع، نجفی ح، عباسی س، صابرف و رشید م، ۱۳۹۱ . راهنمای آفت کش‌های ایران ۱۳۹۱. انتشارات کتاب پایتخت. ۳۷۶ ص.

مدیری ا و منتظری م، ۱۳۹۲. تأثیر علف‌کش‌های انتخابی پنبه و سویا روی رشد میسلیومی قارچ *Rhizoctonia solani* عامل بیماری مرگ گیاهچه. فصلنامه گیاهپزشکی، ۵: ۱۰۸-۹۹.

Babu BK, Saxena AK, Srivastava AK, and Arora DK, 2007. Identification and detection of *Macrophomina phaseolina* by using specificspecies oligonucleotide primers and prob. Mycologia 99: 797-803.

Beam HW, Curl EA, and Rodriguwz-Kabana R, 1977. Effects of the herbicides fluometuron and prometryn on *Rhizoctonia solani* in soil cultures. Canadian Journal of Microbiology 23: 617-623.

Black BD, Russin JS, Griffin JL, and Snow JP, 1996. Herbicide effects on *Rhizoctonia solani* in vitro and *Rhizoctonia* foliar blight of soybean (*Glycine max*). Weed Science 44: 711-716.

Bradley CA, Hartman GL, Wax LM, and Pedersen WL, 2002. Influence of herbicides on *Rhizoctonia* root and hypocotyls rot of soybean. Crop Protection 21: 679-687.

Casal WL, and Hart LP, 1986. Influence of four herbicides on carpogenic germination and apothecium development of *Sclerotinia sclerotiorum*. Phytopathology 76: 980-984.

Chan MMY, Trimer RE, and Fong B, 1991. Effect of antimicrotubule drug oryzalin on growth and differentiation of the parasitic protozoan *Leishmania mexicana*. Differentiation 46:15-21.

Dissanayake N, Hoy JW, and Griffin JL, 1998. Herbicide effects on sugarcane growth, Pythium root rot, and *Pythium arrhenomanes*. Phytopathology 88: 530-535.

Duke SO, Cerdeira AL, and Matallo MB, 2007. Herbicide effects on plant disease. Pest Management Science 18:36-40.

EL-Shanshoury AR, Abu EL-Sououd SM, Awadalla OA, and El-Bandy NB, 1996. Effects *Streptomyces corchorusii*, *Streptomyces mutabilis*, pendimethalin, and metribuzin on the control of bacterial and *Fusarium* wilt of tomato. Canadian Journal of Botany 74:1016-1022.

Archive of SID

www.SID.ir

Harikrishnan R, and Yang XB, 2001. Influence of herbicides on growth and sclerotia production in *Rhizoctonia solani*. Weed Science 49: 241-247.

Houshyiar FM, and Darvish TM, 2011. Effects of two systemic insecticides on damping off pathogens of Cotton. Journal of Agricultural Science and Technology 13: 27-33.

Guadarrama- Mendoza PC, Valencia del Toro G, Ramírez- Carrillo R, Robles- Martínez F, Yáñez- Fernández J, Garín- Aguilar M E, Hernández CG, and Bravo-Villa G. 2014. Morphology and mycelial growth rate of *Pleurotus* spp. Strains from the Mexican mixtec region. Brazilian Journal of Microbiology 45(3): 861-872.

Hyde GJ, and Hardham AR, 1993. Microtubules regulate the generation of polarity in zoospores of *Phytophthora cinnamoni*. European Journal of Cell Biology 62: 75-85.

Jana T, Sharma T, Prasad RD, and Arora DK, 2003. Molecular characterization of *Macrophomina phaseolina* and *Fusarium* species by a single primer RAPD technique. Microbiological Research 158: 249-257.

Katan I, and Eshel Y, 1974. Effect of the herbicide diphenamid on damping- off disease of pepper and tomato. Phytopathology 64: 1186-1192.

Kortekamp A, 2011. Unexpected side effect of herbicides modulation of plant pathogen interaction. Herbicides and Environment. Published by InTech. 746p.

Micheal DO, and Fawole OB, 2009. In vitro effects of some pesticides on pathogenic fungi associated with legumes. Australian Journal of Crop Science 3(3): 173-177.

Montazeri M, and Hamdollah- zadeh H, 2005. The effect of trifloralin on *Rhizoctonia solani* (isolate AG-4), causal agent of soybean damping off. Caspian Journal Science 3(2): 169-172.

Morejohn LC, Bureau TE, Mole-Bajer J, Bajer AS, and Fosket DE, 1987. Oryzalin, a dinitroanaline herbicide binds to plant tubulin and inhibits microtubule polymerization in vitro. Planta 172: 252-264.

Pakdaman BS, Komijani S, Afshari HA, and Goltapeh EM, 2006. *In vitro* studies on the integrated control of rapeseed white stem rot disease through the application of Herbicides and *Trichoderma* species. Journal of Agricultural Technology 2(2): 165-175.

Pankey JH, Griffin JL, Colyer PD, Schneider RW, and Miller DK, 2005. Preemergence herbicide and glyphosate effects on seedling diseases in glyphosate- resistant cotton. Weed Technology 19: 312-318.

Radkey VL, and Grau CR, 1986. Effects of herbicides on carpogenic germination of *Sclerotinia sclerotiorum*. Plant Disease Journal 70: 19-23.

Reddy KN, Rimando AM, Duke SO, Nandula VK, 2008. Aminomethylphosphonic acid accumulation in plant species treated with glyphosate. Journal of Agricultural and Food Chemisty, 56: 2125-2130.

Russin JS, Carter CH, and Griffin JL, 1995. Effects of grain sorghum (*Sorghum bicolor*) herbicides on charcoal rot fungus. Weed Technology 9: 343-351.

Sanogo S, Yang X.B, and Scherm H, 2000. Effects of herbicides on *Fusarium solani* f. sp. *glycines* and development of sudden death syndrome in glyphosate tolerant soybean. Phytopathology, 90: 57-66.

Santoro PH, Cavaguchi SA, Alexandre TM, Zorzetti J, and Neves MOJ, 2014. In vitro sensitivity of antagonistic *Trichoderma atroviride* to herbicides. Biology and Technology of Journal 57: 238-243.

Sanyal D, and Shrestha A, 2008. Direct effect of herbicides on plant pathogens and disease development in various cropping systems. Weed Science 56: 155-160.

Seefeldt SS, Jensen JE, and Fuerst EP, 1995. Log-Logistic analysis of herbicide dose-response relationships. Weed Technology 9: 218-227.

Smith SN, and Lyon AJE, 1976. The uptake of Paraquat by soil fungi. New Phytologist. 76: 479-484.

Archive of SID

www.SID.ir

Smith GS, and Wyllie TD, 1999. Charcoal Rot. Pp. 29-31. In GL Hartman, JB Sinclair, and JC Rupe (eds.) Compendium of Soybean Disease. 4th ed. American Phytopathological Society, St. Paul, MN.

Strachan SD, and Hess FD, 1983. The biochemical mechanism of action of the dinitroanaline herbicide oryzalin. Pesticide Biochemistry and Physiology 20:141-151.

Teasdale JR, Harvey RG, and Hagedorn DJ, 1979. Mechanism for the suppression of pea (*Pisum sativum*) root rot by dinitroanaline herbicides. Weed Science 27: 195-201.

Trebst A, 2008. The mode of action of triazine herbicides, Pp: 101-110. In: The Triazine Herbicides: 50 years Revolutionizing Agriculture, HM LeBaron, JE McFarland, and O Burnside (eds.).

Wacker, I., Quader, H., and Schnepf, E. 1987. Influence of herbicide oryzalin on cytoskeleton and growth of *Funaria hygrometrica* Pronemata. Protoplasma 142: 55-67.

Archive of SID

www.SID.ir

Effect of Soybean Selective Herbicides on Mycelium Growth Rate of *Macrophomina phaseolina* (Tassi) Goid, Soybean Charcoal Rot in Vitro

S Dashtiary[1*], S E Razavi[2], N Bagherani[3] and S J Sanei[4]

[1]Former MSc Student of Plant Pathology, Gorgan University of Agricultural Science and Natural Resources, Iran.
[2]Assistant professor, Gorgan University of Agricultural Science and Natural Resources, Iran.
[3]Assistant professor, Golestan Agricultural and Natural Resources Research and Education Center, Iran.
[4]Lecturer Plant Pathology' Gorgan University of Agricultural Science and Natural Resources, Iran.
[*]Corresponding author: soheila.yari@yahoo.com

Received: 26 July 2016 Accepted: 14 June 2017

Abstract

Herbicides are widely used in various fields, but the mechanism of all possible interactions between herbicides and plant have hot been well understood yet. Charcoal rot, caused by *Macrophomina phaseolina*, is one of the most important diseases of soybean. Imazethapyr, trifluralin and metribuzin herbicides are used as soil -applied herbicides in soybean. Experiment arranged as factorial in Completely Randomised Design (CRD) with 6 replications in a laboratory condition in order to study of zero to 7000 mg.l-1 concentrations of imazethapyr, trifluralin and metribuzin herbicides in Potato Dextrose Agar on medium culture *phaseolina* mycelium growth rate. Fungus disc was placed on the center of 9 cm petri dishes and mycelium growth was measured daily. Growth rate of mycelium was fitted using four parameters logistics dose - response equation. Results showed that different doses of herbicides have significant effect on fungal growth rate. Trifluralin at 4320 and 5760 ppm, imazethapyr at 2300 and 7000 ppm and metribuzin at 5000 and 7000 ppm concentrations completely ceased the growth of fungus. Imazethapyr showed the most inhibitory effects on *M. phaseolina* isolates in the PDA medium culture followed by metribuzin and trifluralin.

Keyword: Imazthapyr, Metribuzin, Soilborn disease, Trifluralin.

Archive of SID

www.SID.ir