Archive of SID

مجله علوم کشاورزی و منابع طبیعی
جلد سیزدهم، شماره ششم، بهمن- اسفند ۱۳۸۵
www.magiran.com/jasnr
www.sid.ir

مطالعه کنترل بیولوژیک بیماری بلاست برنج در شرایط مزرعه

*فریدون پاداشت دهکایی[۱] و منوچهر ایزدیار[۲]

[۱]استادیار گروه گیاهپزشکی موسسه تحقیقات برنج کشور، رشت، [۲]دانشیار موسسه تحقیقات آفات و بیماری‌های گیاهی تهران

تاریخ دریافت: ۸۳/۹/٤ ؛ تاریخ پذیرش: ۸۵/۲/۱٤

چکیده

اثرات دوازده باکتری آنتاگونیست شامل *Bacillus circulans* (٦ جدایه)، *B. subtilis* (یک جدایه)، *B. megaterium* (۲ جدایه)، *Bacillus sp.* (یک جدایه) و *Pseudomonas fluorescens* (۲ جدایه)، جهت کنترل بیماری بلاست *Pyricularia grisea* Sacc. در رقم برنج حساس (بینام) مورد بررسی قرار گرفتند. این طرح براساس طرح بلوک‌های کامل تصادفی در چهار تکرار طی دو سال در شرایط مزرعه انجام شد. بوته‌های برنج طی مراحل: همزمان با شروع بیماری بلاست در مزرعه، ۱۵ روز بعد از آن و در مرحله خوشه با سوسپانسیونی از کشت ٤۸ ساعته هر باکتری در محلول کاربوکسی متیل سلولز (یک گرم در لیتر) باکتری‌پاشی شدند. برای ارزیابی در مرحله برگ ۱۵ روز پس از هر بار باکتری‌پاشی درصد آلودگی سطح هر برگ (DLA%) در ۲۵ پنجه و در مرحله خوشه، درصد بلاست خوشه در مرحله رسیدن در شرایط آلودگی طبیعی تعیین شدند. نتایج نشان داد که در هر مرحله از ارزیابی تعدادی از باکتری‌ها در مقایسه با شاهد به‌طور معنی‌داری سبب کاهش بیماری شدند اما تأثیر آنها همیشه کمتر از تیمار قارچ‌کش بوده است. باکتری *B. circulans* B. 17B که از خود قارچ عامل بیماری جداسازی شده است پایداری بیشتری در کنترل بیماری بلاست در مراحل برگ و خوشه در طی دو سال در مقایسه با بقیه باکتری‌ها داشته است.

واژه‌های کلیدی: برنج، بیماری، کنترل بیولوژیک، *Pyricularia*، *Pseudomonas*، *Bacillus spp.*

مقدمه

بیماری بلاست (*Magnaporthe grisea*) به‌عنوان مهمترین بیماری برنج در اکثر کشورهای برنج‌خیز از جمله ایران بشمار می‌رود، به همین دلیل تحقیقات گسترده‌ای برای کنترل آن از جنبه‌های مختلف صورت گرفته است. کنترل بیولوژیک این بیماری نیز از جمله موضوعات مورد تحقیق بسیاری از محققان بوده و می‌باشد. بتیول و کیماتی (۱۹۹٤) در بررسی‌های خود گزارش کردند که آنتی‌بیوتیک‌های مترشحه از باکتری *Bacillus subtilis* از رشد رویشی و جوانه‌زنی کنیدیوم‌های قارچ *Pyricularia oryzae* عامل بیماری بلاست برنج در شرایط آزمایشگاه جلوگیری می‌کند. لازارتی و بتیول (۱۹۹۸) اثر یک فرآورده بیولوژیک حاوی *B.subtilis* و متابولیت‌های آن را در کنترل بیماری بلاست برنج همانند اثر قارچ‌کش‌ها مرسوم دانستند.

در تحقیق دیگری عصاره‌های به‌دست آمده از ٦۷ گونه قارچ در استات اتیل از نظر داشتن میکوتوکسین

* - مسئول مکاتبه: padasht@yahoo.com

www.SID.ir

Archive of SID

(Patulin) در حد بالا غربال شدند. از قبل مشخص شد که این عصاره‌ها از رشد رویشی سه بیمارگر مهم برنج *Magnaporthe grisea*، *Cochliobolus miyabeanus* و *Monographella albescens* در محیط جامد جلوگیری می‌کنند. پاتولین خالص در غلظت ۰/۲۵ میکروگرم در میلی‌لیتر از رشد رویشی *M.grisea* جلوگیری کرد. در این بررسی قارچ‌های *Eupenicillium javanicum*، *Penicillium cyaneum*، *P. glabrum*، *P. Lignorum*، *Alternaria tenuissima*، *Chaetomium atrobrunneum*، *Scopulariopsis flava* و *Stemphylium sp.* برای اولین بار به‌عنوان تولید کننده‌های پاتولین گزارش شدند (اوکّه و همکاران، ۱۹۹۳). در بررسی‌های انجام گرفته در مزارع برنج آپلند از میکروارگانیزم‌های سواسازی شده فقط *Choetomium cochlioides* در مقابل قارچ عامل بیماری بلاست آنتاگونیست بود و پوشش دادن بذور برنج با سوسپانسیون اسپور و یا عصاره فیلتر شده قارچ مذکور از آلودگی‌های اولیه نشاها در مقابل بیماری بلاست جلوگیری به‌عمل آورده و همچنین ۲۵ روز پس از بذرکاری ارتفاع نشاها بلندتر از آن در تیمار شاهد بود (سویتونگ، بی تاریخ). دو آنتی‌بیوتیک لیپوپپتیدی پلیپاستاتین A_1 و B_1 از کشت فیلترشده باکتری *Bacillus subtilis* TM-105 جداسازی و شناسایی شدند. این دو آنتی بیوتیک علاوه‌برخاصیت ضدقارچی در مقابل *P. oryzae*، در آزمایش گلدانی نیز نشاهای برنج را در مقابل بیمارگر مذکور حفاظت کردند (یامادا و همکاران، ۱۹۹۰). بتیول مکانیزم آنتاگونیسم باکتری *B. subtilis* را در مقابل *P.oryzae* مربوط به تولید آنتی‌بیوتیک‌های متحمل به گرما تشخیص داد و آزمایش دو ساله مزرعه‌ای نیز اثر آنتاگونیستی آن را تأیید کرد اما او معتقد است که برای تأیید توانایی کنترل بیولوژیکی بیماری بلاست توسط باکتری مورد اشاره نیاز به آزمایش‌های مزرعه‌ای بیشتری است (بتیول، ۱۹۸۸).

در مصر ٤٢ جدایه باکتری از برگ‌های ارقام مختلف برنج و دیگر گیاهان جداسازی شدند که بیشتر آنها متعلق به جنس‌های *Pseudomonas* و *Bacillus* بودند. ١٦ جدایه سبب بیشترین کاهش رشد میسلیومی قارچ عامل بیماری بلاست شدند و در آزمایش گلخانه‌ای نیز همه جدایه‌ها در مقایسه با شاهد موثر بودند ولی ۷ جدایه در کاهش آلودگی به بلاست به‌صورت تیمار بذر و کاربرد سه روز قبل از آلوده‌سازی مؤثرترین جدایه‌ها بودند (سالم، ۱۹۹۹).

کارپاگاوالی و همکاران (۲۰۰۱) گزارش کردند که محلول‌پاشی با کاربندازیم یا باکتری *P. fluorescens* به همراه کاربرد سیلیس به میزان شش تن از فرم Lignite fly ash و پتاس به میزان ٤٥ کیلوگرم در هکتار به‌طور معنی‌داری بروز بیماری بلاست را کاهش داده و محصول را نیز افزایش دادند. در استان سی‌چوان[1] چین از ۲۰۸ جدایه باکتری از ریزوسفر برنج، ٦٥ جدایه براساس قطر محدوده بازداری بیش از ۲۰ میلی‌متر در مقابل *M. grisea* غربال شدند. هشت جدایه برای کنترل بیماری در مزرعه انتخاب شدند که دو باکتری *B.cereus* و *B.subtilis* با ٥٥ درصد در سال ۱۹۸۸ و ٦٠ درصد در سال ۱۹۹۹ در کنترل بیماری بلاست مؤثر بودند (هواکسیان و همکاران، ۲۰۰۲).

در هند فرمولاسیونی از باکتری *P. fluorescens* براساس پودر تالک تهیه شد. از این پودر به‌صورت تیمار بذر برنج استفاده کردند. باکتری در سطح ساقه‌ها، ریشه و

1- Sichuan

www.SID.ir

Archive of SID

برگ‌ها پخش شده و گیاه را در مقابل آلودگی ناشی از *P.oryzae* محافظت نمود. مصرف آن در شرایط گلخانه و در چهار آزمایش مزرعه‌ای به‌طور مؤثر بیماری بلاست را کنترل نمود و محصول را نیز افزایش داد (ویدهیاسکران و همکاران، ۱۹۹۷). به دنبال آن در تحقیق دیگری باکتری مذکور که از ریزوسفر گیاه برنج جداسازی شده بود به‌صورت پودر فرموله گردید، این فرمولاسیون که دارای ۲۷×۱۰^{۷} سلول باکتری در هر گرم (Colony formation units/g) بود به میزان ۵ و ۱۰ گرم به ازای هر کیلو بذر مصرف شد و به‌طور مؤثری بیماری بلاست را کنترل نمود، به همین دلیل مصرف روتین آن به‌صورت تیمار بذر توصیه شده است (کامار و همکاران، ۲۰۰۰). در ایران اثر ۸۹ جدایه باکتری آنتاگونیست سواسازی شده از مزارع برنج گیلان در مقابل قارچ عامل بیماری بلاست در محیط کشت مورد ارزیابی قرار گرفت که ۳۰ جدایه از گونه‌های مختلف جنس‌های *Pseudomonas* و *Bacillus* مؤثرتر از بقیه بوده‌اند و دو گونه *P. fluorescens* 152 و *P. aeruginosa* 134 به‌ترتیب ۹۳/۲ و ۹۵/۲ درصد از رشد رویشی و ۱۰۰ درصد از جوانه‌زنی کنیدیوم‌های بیمارگر جلوگیری کردند (پاداشت و همکاران، ۱۳۸۰). مایه‌زنی مخلوط هر یک از این باکتری‌ها با کنیدیوم‌های قارچ عامل بیماری بلاست روی برگ‌های نشای برنج رقم بینام (حساس) در شرایط گلخانه نشان داد که همه باکتری‌ها به‌طور معنی‌داری در کنترل بیماری مؤثر بودند اما برخلاف نتایج آزمایشگاهی اثر باسیلوس‌ها بهتر از پسود و موناس‌ها بود (پاداشت و همکاران، ۲۰۰۲). در این تحقیق به منظور پی‌گیری نتایج به‌دست آمده وبررسی تأثیر این باکتری‌ها در کنترل بیماری بلاست در شرایط مزرعه‌ای ۱۲ جدایه از آنها انتخاب شدند و در ظرف دو سال مورد ارزیابی قرار گرفتند.

مواد و روش‌ها

باکتری‌های مورد آزمایش: به‌طورکلی ۱۲ جدایه باکتری آنتاگونیست شناسایی شده در یک پروژه ملی (پاداشت و همکاران، ۱۳۸۲) برای اجرای این طرح انتخاب شدند. انتخاب این باکتری‌ها براساس خاصیت آنتاگونیستی آنها در مقابل قارچ عامل بیماری بلاست برنج (*Pyricularia grisea*) صورت گرفت. این باکتری‌ها شامل *Bacillus circulans* شش جدایه، *B. subtilis* یک جدایه، *B. megaterium* دو جدایه، *Bacillus sp* یک جدایه و *Pseudomonas fluorescens* دو جدایه بودند که اثر آنها به همراه یک قارچ‌کش (در سال اول قارچ‌کش تری‌سیکلازول به نسبت نیم گرم در لیتر و در سال دوم قارچ‌کش ادی‌فنفوس به نسبت یک میلی‌لیتر در لیتر) در کنترل بیماری بلاست در مقایسه با شاهد در مزرعه به‌صورت طرح بلوک‌های کامل تصادفی در چهار تکرار مورد ارزیابی قرار گرفت.

اجرای آزمایش در مزرعه

رقم برنج: برای اجرای این آزمایش از رقم برنج بومی به نام بینام که حساس به این بیماری می‌باشد، استفاده گردید. در اوایل اردیبهشت مقداری از بذر رقم مذکور را پس از جوانه‌دار نمودن، در بستر خزانه پاشیده و به مدت ۱۵ تا ۲۰ روز روی آن با پوشش پلاستیکی پوشانده شد. حدود ۳۰ روز پس از بذرپاشی نشاها آماده نشاکاری گردید.

کرت‌بندی و نشاکاری: زمین محل آزمایش پس از آماده‌سازی براساس طرح بلوک‌های کامل تصادفی و با چهار تکرار کرت‌بندی شد. اندازه کرت‌ها ۲×۲ متر و فاصله هر کرت از کرت‌های مجاور یک متر در نظر گرفته

www.SID.ir

Archive of SID

شد. همه کرت‌ها همزمان در یک روز (دهم خرداد) به فواصل ۲۰×۲۰ سانتی‌متر نشاکاری شدند. در فواصل بین کرت‌ها مخلوطی از سه رقم بومی حساس (بینام، حسنی و علی‌کاظمی) در دو ردیف و به فواصل ۱۰ سانتی‌متر به‌عنوان پخش کننده[2] عامل بیماری نشاکاری شدند.

عملیات داشت: مبارزه با علف‌های هرز در مرتبه اول با علف‌کش بنتیوکارب[3] به نسبت ۵ لیتر در هکتار و در مرتبه دوم به‌صورت وجین دستی انجام شد. کود مصرف شده شامل سوپر فسفات تریپل به نسبت ۵۰ کیلوگرم در هکتار قبل از نشاکاری در مزرعه پاشیده شد و کود اوره به‌نسبت ۱۵۰ کیلوگرم در هکتار طی ۳ مرحله (هر بار به نسبت ۵۰ کیلوگرم در هکتار) قبل از نشاکاری، ۲۰ و ٤٠ روز پس از نشاکاری در سطح مزرعه به‌صورت یکنواخت پاشیده شد. برای مبارزه با کرم ساقه‌خوار برنج از دیازینون گرانول ۱۰ درصد به نسبت ۱۵ کیلوگرم در هکتار برای هر دو نسل آن استفاده شد.

کشت و تکثیر باکتری‌ها: همه گونه‌های باکتری‌های فوق در ارلن‌های حاوی ٤٠ و ۸۰ میلی‌لیتر محیط غذایی Nutrient glucose broth (عصاره گوشت ۳ گرم، پپتون ۵ گرم، گلوکز ۲/۵ گرم و آب مقطر یک لیتر) (شاد، ۱۹۸۸) کشت شده و به مدت ٤٨ ساعت روی شیکر (۱۰۰ دور در دقیقه) در دمای اتاق نگهداری شدند (۳۰±۲).

باکتری‌پاشی در مزرعه: باکتری‌پاشی روی گیاه برنج در سه مرحله به‌ترتیب دو مرتبه در مرحله برگ، همزمان با شروع آلودگی طبیعی بیماری بلاست در منطقه و ۱۵ روز پس از آن و یک مرتبه در مرحله پس از ظهور تمام خوشه‌ها به هنگام عصر انجام شد. در مرحله اول ٤٠ میلی‌لیتر از محیط کشت حاوی هر باکتری را با ۹٦۰ میلی‌لیتر محلول یک گرم در لیتر کاربوکسی متیل سلولز مخلوط کرده و ۲۵۰ میلی‌لیتر از سوسپانسیون به‌دست آمده در سطح برگ‌های گیاه در هر تکرار پاشیده شد. در مراحل دوم و سوم به علت رشد بیشتر گیاه ۵۰۰ میلی‌لیتر از سوسپانسیون هر باکتری به کمک افشانه‌های یک لیتری برای باکتری‌پاشی در هر تکرار پاشیده شد.

نمونه‌برداری: برای نمونه‌برداری در مرحله برگ، ۱۵ روز پس از هر بار باکتری‌پاشی، در هر کرت (تکرار) ۲۵ پنجه از ۲۵ بوته کف بر شده و درصد آلودگی سطح هر برگ (DLA%) در کلیه برگ‌ها و در تمام پنجه‌ها تعیین شدند (آندریوز، ۱۹۹۲). در مرحله خوشه پس از رسیدن، ۱۰ بوته کف‌بر شده و درصد خوشه‌ها و گره‌های میانی آلوده تعیین گردید (اس‌ای‌اس، ۱۹۹٦). برای اندازه‌گیری میزان عملکرد، کلیه بوته‌ها در سطح یک مترمربع از مرکز هر کرت برداشت شد و پس از خرمنکوبی، محصول آن توزین گردید. کلیه داده‌های به‌دست آمده به کمک نرم‌افزار IRRISTAT version 92-1 مورد تجزیه و تحلیل آماری قرار گرفتند.

نتایج و بحث

جدول‌های تجزیه واریانس داده‌های به‌دست آمده از اثر باکتری‌های آنتاگونیست روی بیماری بلاست در هر سه مرحله ارزیابی در هر دو سال معنی‌دار بوده است. مقایسه میانگین داده به کمک آزمون چند دامنه دانکن (DMRT 5%) نیز بیانگر تأثیر مثبت باکتری‌های آنتاگونیست در کنترل بیماری بلاست و تفاوت در تیمارهای اعمال شده می‌باشد (جدول‌های ۱ و ۲). در مرحله اول ارزیابی در سال ۱۳۸۱ همه باکتری‌های بجز دو جدایه *P. fluorescens* B120 و *B. circulans* B112 در کاهش بیماری مؤثر بوده‌اند و ۷ جدایه از آنها ضمن وجه اشتراک داشتن با قارچ‌کش تری‌سیکلازول به‌ترتیب بعد از آن قرار گرفتند. در همین مرحله از ارزیابی که در سال دوم انجام شد اکثریت باکتری‌ها با

2- Spreader
3- Bnthiocarb

www.SID.ir

Archive of SID

تیمار شاهد در یک گروه قرار داشتند و کماکان تیمار قارچ‌کش (ادی‌فنفوس) در گروه اول بوده و دو باکتری دیگر ضمن متفاوت بودن با تیمار شاهد در رتبه‌های بعدی قرار گرفتند. در مرحله دوم ارزیابی در سال ۱۳۸۱ همانند مرحله اول ارزیابی تعداد ۷ جدایه از باکتری‌های آنتاگونیست با تأثیری نزدیک به قارچ‌کش از نظر گروه‌بندی با آن وجه اشتراک داشتند (گروه ab) و هیچکدام از باکتری‌ها با شاهد هم گروه نبوده‌اند. در سال دوم براساس داده‌های به‌دست آمده (جدول ۱) آلودگی شدیدتر از سال اول بوده است (در مرحله دوم) و برخی از باکتری‌ها در گروه‌های متفاوت از شاهد قرار گرفتند ضمن این که تأثیر آنها با تیمار قارچ‌کش فاصله بیشتری پیدا کرده و تیمار قارچ‌کش به تنهایی در گروه اول قرار گرفت. در مرحله اول ارزیابی که حدود ۱۵ روز پس از شروع آلودگی طبیعی در منطقه انجام گرفته است به‌علت این که در این مرحله میزان آلودگی کم بوده و از طرف دیگر گسترش آن هنوز همه‌گیر نشده است شاید قضاوت براساس نتایج این مرحله به تنهایی از اعتبار لازم برخوردار نباشد. اما در مرحله دوم ارزیابی، کنیدیوم‌های قارچ عامل بیماری از امکان پراکنش نرمال روی کلیه بوته‌های برنج برخوردار بوده‌اند و می‌توان برای نتایج ارزیابی در این مرحله اهمیت بیشتری قائل شد و بر این اساس همان‌طور که در جدول ۱ ملاحظه می‌شود باکتری *Bacillus circulans* 17B در هر دو سال پس از تیمار قارچ‌کش در بهترین گروه قرار دارد و پس از آن، از جدایه *B. circulans* 10B در سال دوم بهترین نتیجه حاصل شده است، این دو جدایه باکتری ازخود قارچ عامل بیماری سواسازی شده‌اند که به احتمال زیاد همراه ریسه‌های بیمارگر بوده‌اند و به‌عبارت دیگر جزء فلور خود بیمارگر می‌باشند و از این نظر می‌توانند جز بهترین آنتاگونیست‌ها تلقی شوند، بنابراین پس از کاربرد دیگر مشکل زیادی از نظر استقرار روی میزبان نخواهند داشت. همه باکتری‌های مورد آزمایش در شرایط آزمایشگاه تأثیر بسیار خوبی در جلوگیری از رشد رویشی و جوانه‌زنی کنیدیوم‌های بیمارگر داشته‌اند و همه آنها در آزمایش گلخانه‌ای تأثیر بسیار معنی‌داری در کاهش بیماری بلاست برگ نسبت به شاهد داشته‌اند (LSD ٪۱) (پاداشت و همکاران، ۱۳۸۰؛ پاداشت و همکاران، ۱۳۸۲). در حالی که همان‌طور که از نتایج این آزمایش مشخص گردید تفاوت‌های آماری معنی‌داری در بین باکتری‌های انتخابی از نظر کنترل بیماری در شرایط مزرعه وجود داشت. مقایسه میانگین درصد بلاست خوشه در تیمارهای اعمال شده نشان داد که همه باکتری‌ها با تأثیری مشابه هم از نظر آماری در یک گروه قرار دارند (b) اما در گروهی جدا از تیمار شاهد. بنابراین باکتری‌های مورد آزمایش در کاهش بلاست خوشه نیز مؤثر بوده‌اند اما در مقایسه با تیمار قارچ‌کش اثر آنها کمتر بوده است (جدول ۲). در سال دوم که درصد آلودگی بلاست خوشه بیشتر بود درصد آلودگی در تعدادی از باکتری‌ها به شاهد نزدیک شده و از نظر آماری با آن وجه اشتراک پیدا کردند، در عوض باکترهای *B. circulans* 17B و *Bacillus sp.* B71 از نظر کنترل بیماری در مزرعه به قارچ‌کش نزدیک شدند ضمن این که باکتری *B. circulans* B118 نیز در مرتبه بعدی قرار گرفت. این باکتری در کنترل بیماری بلاست برگ در مرحله دوم ارزیابی نیز تأثیر خوبی داشته است و در گروه‌های ab و bc به‌ترتیب در سال‌های ۱۳۸۱ و ۱۳۸۲ قرار گرفت که از نظر آماری با شاهد متفاوت بوده است. این باکتری را نیز می‌توان همانند جدایه 17B جزء فلور برگ برنج محسوب نمود زیرا از کشت لکه‌های بلاست برگ جداسازی شده است. باکتری *B.subtilis* A13 از میسلیوم‌های لیز شده *Sclerotinia rolfsii* جداسازی شده است و از رشد تعدادی از بیمارگرهای گیاهی در محیط کشت جلوگیری کرده و رشد تعداد زیادی از گونه‌های گیاهی را در خاک افزایش داده است (بروادبنت و همکاران، ۱۹۷۱؛ بروادبنت و همکاران، ۱۹۷۷). این باکتری از سال ۱۹۸۳ با نام تجاری OUANTUM-4000 برای کنترل بیماری‌های خاکزی بادام زمینی به‌فروش می‌رسد (ولر، ۱۹۸۸). باکتری‌های *B.*

www.SID.ir

Archive of SID

B. circulans B118 و *circuluns* 17B از جهت محل جداسازی همانند باکتری مذکور از میسلیوم‌های قارچ عامل بیماری بلاست سواسازی شده‌اند که این صفت مهمی در کاربرد میکروارگانیزم‌های آنتاگونیست می‌باشد. (کوک ۱۹۸۹) نیز توصیه کرده است که عوامل بیوکنترل از گروه کنترل‌کننده‌های بومی انتخاب شوند، اما از نظر محل به‌کارگیری با هم متفاوت هستند که این موضوع شاید کارآیی کمتر دو جدایه B118, 17B را نسبت به تیمار قارچ‌کش توجیه نماید. تحقیقات در این زمینه نشان داده است که کنترل بیولوژیک در محیط اطراف ریشه تاکنون موفق‌تر از سطح روی برگ بوده است (آندریوز، ۱۹۹۲). به‌علاوه مرحله رویشی گیاه نیز در نوع و جمعیت باکتری‌های مؤثر است به‌طوری که تحقیقات انجام شده در گیاه برنج نشان داد که جمعیت باسیل‌ها در مرحله پنجه‌زنی گیاه بیشتر از مرحله نشاء بوده است در حالی که جمعیت سودوموناس‌ها بیشتر در مرحله نشا و آن هم از روی برگ‌های سالم جداسازی شدند.

در این بررسی همچنین مشخص گردید باسیل‌ها روی لکه‌های بیماری بلاست برگ برنج جمعیت بیشتری داشته‌اند و اکثر باکتری‌های آنتاگونیست در مقابل قارچ شده‌اند نه از برگ‌های سالم (آنونیموس، ۱۹۹٤). دو جدایه باکتری مورد نظر(B118, 17B) علاوه بر ساکن عامل بیماری بلاست هم از لکه‌های بلاست جداسازی بودن روی برگ‌های برنج و حتی روی میزبان (بیمارگر)، بشدت در کاهش جوانه‌زنی کنیدیوم‌های بیمارگر در بررسی‌های آزمایشگاهی مؤثر بوده‌اند (پاداشت و همکاران، ۱۳۸۰). قطر محدوده بازدارندگی در مقابل بیمارگر توسط B118,17B به‌ترتیب ۳ و ۵ میلی‌متر و تا شعاع ۵ تا ۸ میلی‌متر نیز از تراکم رشد رویشی بیمارگر در

جدول ۱- مقایسه میانگین اثر باکتری‌های آنتاگونیست در کنترل بیماری بلاست برگ (داده‌های اصلی).

تیمارها	میانگین درصد آلودگی سطح برگ ۱۵ روز پس از باکتری‌پاشی [الف]			
	مرحله اول		مرحله دوم	
	سال ۱۳۸۱	سال ۱۳۸۲	سال ۱۳۸۱	سال ۱۳۸۲
Bacillus circulans 10B	۰/۹۵ bc [ب]	۰/۸۷ bc	۱/۹۰ bc	۳/۱۳ b
B. circulans B11	۰/۸۸ abc	۰/۹۵ bc	۱/٦۰ab	۳/۹۱ bcd
B. circulans 17B	۰/۹۰ abc	۰/۸۵ bc	۱/٦۳ ab	۳/۰۵ b
B. circulans B28	۰/۸۰ abc	۰/۷۳ ab	۱/٦۳ ab	۳/۳٤ bc
Bacillus sp. B71	۰/۹۰ abc	۰/۸۷ bc	۱/۵۵ ab	۳/۹۵ cd
B. megaterium B79	۱/۰۸ bc	۰/۸۸ bc	۱/٦۵ ab	۳/۲۵ bc
B. subtilis B86	۰/۸۳ abc	۰/۸۳ bc	۱/۹۸ bc	۳/٦٤ bcd
Pseudomonas fluorescens B100	۰/۷۲ ab	۱/۰۳ c	۲/۰۸ bc	۳/۹۳ cd
B. circulans B112	۱/۱۵ c	۰/۷۲ ab	۱/۷۳ ab	۳/۲۹ bc
B. circulans B118	۰/۸۰ abc	۰/۹۱ bc	۱/۷۳ ab	۳/٤۳ bc
P. fluorescens B120	۱/۱۰ c	۰/۹۸ bc	۱/۹۰ bc	۳/۳۲ bc
B megaterium B155	۰/۹۳ bc	۰/۸۹ bc	۲/۰۰ bc	۳/٦۸ bcd
قارچ‌کش	۰/۵۵ a [ج]	۰/٦۰ a	۱/۰۵ a	۲/٤۵ a
شاهد	۱/۱۸ c	۰/۹۷ bc	۲/۷۳ c	٤/۲۱ d

الف= درصد آلودگی سطح یک برگ میانگین درصد آلودگی سطح کلیه برگ‌ها در ۱۰۰ پنجه (میانگین چهار تکرار).

ب= در هر ستون تیمارهایی که دارای حرف مشترکی هستند فرق معنی‌داری در سطح ۵٪ با هم ندارند (DMRT).

ج= در سال ۱۳۸۱ قارچ کش تری‌سیکلازول به نسبت نیم گرم در لیتر و در سال ۱۳۸۲ قارچکش ادی‌فنفوس به نسبت یک میلی‌لیتر در لیتر مورد استفاده قرار گرفت.

www.SID.ir

Archive of SID

جدول ۲- مقایسه میانگین اثر باکتری‌های آنتاگونیست در کنترل بیماری بلاست خوشه.

تیمارها	میانگین درصد بلاست خوشه	
	۱۳۸۱	۱۳۸۲
Bacillus circulans 10B	۸/٦٥ b [الف]	۳۸/۷۸bcd
B. circulans B11	۸/۸٥b	٤٦/۱۳cd
B. circulans 17B	۱۰/۷۳b	۳۱/٥۰abc
B. circulans B28	٦/۹۸b	٤٤/٤۷bcd
Bacillus sp. B71	۹/۸۲b	۲۹/۱۳ab
B. megaterium B79	۱۱/۳۰b	۳٥/۲٥bcd
B. subtilis B86	۱۰/٤۳b	۳۸/۳۸bcd
Pseudomonas fluorescens B100	۱۰/۷۰b	٤۱/۸۸bcd
B. circulans B112	۷/۷٥b	۳٥/۸۳bcd
B. circulans B118	۹/٤۲b	۳۲/۱۳a-d
P. fluorescens B120	۹/۲۰b	۳۹/۷۲bcd
B megaterium B155	۷/۸۰b	٤۲/٤۸bcd
قارچ‌کش	۲/٤۸ ab	۱۷/۸۸a
شاهد	۱۸/٥٥c	٤۷/٥۸d

الف= در هر ستون تیمارهایی که دارای حروف مشترکی هستند فرق معنی‌داری در سطح ۵٪ باهم ندارند(DMRT).

ب= در سال ۱۳۸۱ قارچکش تری‌سیکلازول به نسبت نیم گرم در لیتر و در سال ۱۳۸۲ قارچکش ادی‌فنفوس به نسبت یک میلی‌لیتر در لیتر مورد استفاده قرار گرفت.

اطراف کلنی دو باکتری مذکور کاسته شد. به‌علاوه متابولیت‌های فرار باکتری‌های مذکور علاوه‌بر کاهش رشد رویشی سبب سفید یا بی‌رنگ شدن کلنی بیمارگر در محیط کشت شدند (نگارنده، انتشار نیافته)، آیا این حالت که تقریباً مشابه اثر قارچ‌کش تری‌سیکلازول روی این بیمارگر در محیط کشت است تأثیری در کاهش بیماریزایی بیمارگر دارد سوالی است که نیازمند بررسی‌های بعدی می‌باشد.

جدول تجزیه واریانس تفاوت معنی‌دار میزان عملکرد محصول را در هر دو سال اجرای آزمایش نشان نداد.

بدینوسیله از شورای پژوهش‌های علمی کشور که هزینه‌های اجرایی این تحقیق را که بخشی از پروژه تحقیقاتی IPM برنج می‌باشد، تأمین نموده‌اند تشکر و قدردانی می‌نمایم. همچنین لازم می‌دانم مراتب سپاسگزاری خود را از همکاری‌های همه جانبه مؤسسه تحقیقات برنج کشور و مؤسسه تحقیقات آفات و بیماری‌های گیاهی اعلام نموده و از ابراهیم دودابی‌نژاد و حسن پورفرهنگ به جهت همکاری بی‌دریغ در اجرای این تحقیق و حمیدزاده برای تایپ کلیه گزارش‌ها و مقالات مربوطه تقدیر و تشکر نمایم.

سپاسگزاری

www.SID.ir

Archive of SID

منابع

۱.پاداشت، ف.، منصوری، ش.، پوپوشوی، ا.، ایزدیار، م.، و قره‌یاضی، ب. ۱۳۸۰. انتخاب باکتریهای آنتاگونیست قارچ *Pyricularia grisea* از مزارع برنج. دومین همایش ملی بیوتکنولوژی ایران، کرج، صفحات ۵۰۰-۴۹۱.

۲.پاداشت، ف.، منصوری، ش.، پوپوشوی، ا.، ایزدیار، م.، و خداکرمیان، غ. ۱۳۸۲. مطالعه روی کنترل بیولوژیکی بیماری بلاست برنج. گزارش نهایی پروژه، شورای پژوهشهای علمی کشور، ۳۹ صفحه.

3.Andrews, J.H. 1992. Biological control in the phyllosphere. Ann. Rev. phythopathol. 30: 603-635.

4.Anonymous. 1993. Evaluation of Partial Resistance to Blast in Irrigated Rice (IRBN-S). IRRI, The Philippines.

5.Anonymous. 1994. Association of biological control agent with blast and sheath blight lesions. Program Report for 1994. IRRI, The Philippines, 172-173.

6.Bettiol, W. 1988. Selection of antagonistic microorganisms to *pyriculatia oryzae* Cav. for controlling rice (Oryza sativa L.) blast. Thesis, Universidade be Sao Paulo, Brazil. 140 pp.

7.Bettiol, W., and Kimati, H. 1994. Effects of *Bacillus subtilis* on *pyricularia oryaze*, causal agent of rice blast. Rev. of plant pathol. 73:689(Abst.)

8.Broadbent, P., Baker, K.F., and Water worth, Y. 1971. Bacteria and actinomycetes antagonistic to fungal root pathogens in Australian soils. Aust. J. Biol. Sci., 24:925-944.

9.Broadbent, P., Baker, K.F., Franks, N., and Holland, J. 1977. Effect of *Bacillus spp*. on increased growth of seedlings in steamed and in nontreated soil. Phytopathology, 67:1027-1034.

10.Cook, R.J. 1989. Biological control and holistic plant–health care in agriculture. Am. J. for alternative Agric. 3:51-62.

11.Hua Xian, P., Bo Wel, L., Xiao Juan, C., and Hal Yan, L. 2002. Biological control of rice blast with *Bacillus spp*. Ch. J. of Biological control. 18: 25-27. China.

12.Karpagavalli, S., Marimuthu, T., Jayaraj, J., and Ramabadran, R. 2001. An integrated approach to control rice blast through nutrients and bicontrol agent. Res. on crops. 2: 197-202. India.

13.Kumar, L.P., Niranyana, S.R., Prakash H.S., and Shetty, H.S. 2000. Effect of *Pseudomonas fluorescens* formulation against *pyricularia grisea* in rice. Crop Improv. 27: 159-166. Karnataka, India.

14.Lazzaretti, E., and Bettiol, W. 1998. Treatment of rice, bean, wheat and soyabean seed with a product consisting of cells and metabolites of *Bacillus subtilis*. Rev. of Plant Pathol. 77:855(Abst).

15.Okeke, B., Seigle-Murandi, F., Steiman, R., Benoit-Guyod, J.L., and Kaouadji, M. 1993. Identification of mycotoxin-producing fungal strains: a step in the isolation of compounds active against rice fungal diseases. J. of Agric. And food chem. 41:1731-1735.

16.Padasht Dehkaei, F., Popushoi, I., Izadyar. M., Khodakarmian, G., and Gharyazei, B. 2002. Effects of selected antagonistic bacteria in controlling of rice blast disease. *3rd* International Rice Blast conference. Tsukuba, Ibaraki, JAPAN.73.

17.Salem, E.A. 1999. Biological control of rice blast disease with antagonistic bacteria under Egyptian conditions. Egyptian J. of Agric. Res. 77: 995-1005.

18.Schaad, N.W. 1988. Laboratory Guide for Identification Plant Pathogenic Bacteria. 2 nd ed., Aps press.

19.SES. 1996. Standard Evaluation System for Rice 4th ed. IRRI, The Philippines. 52p.

20.Soytong, K. undated. Biological control of rice blast pathogen by coating seeds with Cheatomium cochlioides and C. cuniculorum. Khon kaen Agric. J. 18:89-96

21.Vidhyasekeran, P., Rabindran, R., Muthamilan, M., Nayar, K., Rajappan, K., Subramanian, N., and Vasumathi, K. 1997. Development of powder formulation of pseudomonas fluorescens for control of rice blast. Plant pathol., 46:291-297.

22.Weller, D.M. 1988. Biological control of soilborne plant pathogens in the rhizosphere with bacteria. Ann. Rev. phytopathol., 26: 379-407.

23.Yamada, S., Takayama, Y., Yomanaka, M., Ko. K., and Yamaguchi, I. 1990. Biological activity of antifungal substances produced by *Bacillus subtilis*. J. of Pestic. Sci. 15: 95-96.

www.SID.ir

Archive of SID

J. Agric. Sci. Natur. Resour., Vol. 13(6), Feb-Mar 2007
www.magiran.com/jasnr
www.sid.ir

Study on the biological control of rice blast disease in the field condition

F. Padasht Dehkaei[1] and M. Izadyar[2]
[1]Assistant Prof., Rice reasearch institute of Iran, Rasht, [2]Associate Prof., Plant pests and diseases research institute, Tehran

Abstract

The effects of 12 antagonistic bacteria which included *Bacillus circulans* (6 isolates), *B. subtilis* (1 isolate), *B. megaterium* (2 isolates), *Bacillus sp*. (1 isolate) and *Pseudomonas fluorescens* (2 isolates) were tested in controlling rice blast disease (*Pyricularia grisea* Sacc.) on a susceptible cultivar (Binam). It was carried out in a randomized complete block design with 4 replications in the field for two years. Plants were sprayed with 48-h old culture of each of the bacteria in carboxymethyl cellulose solution (1g/l) at the first occurrence of rice blast in the field, 15 days after that and heading stage. Under natural infection the precntage diseased leaf area (DLA%) on each of the leaves of 25 tillers and panicle blast (%) were scored at 15 days after each bacterial application and maturity stage, respectively.It found that at the each time of evaluation, some isolates significantly decreased blast disease in comparison with control, but their effects were lower than fungicide treatments. More durable control of leaf and panicle blast was achieved with *B. circulans* B. 17B than other bacterial strains in two years. It was isolated from rice blast fungus in the medium.

Keywords: Rice; Disease; Biological control; *Pyricularia*; *Pseudomonas*; *Bacillus* spp

www.SID.ir