Archive of SID

کنترل بیولوژیکی پوسیدگی ریزوکتونیایی ریشه چغندرقند در ایران

Biological control of Rhizoctonia root rot of sugar beet in Iran

امیر ارجمندیان[1*]، سهیلا میرزایی[2] و دوستمراد ظفری[3]

تاریخ دریافت: ۹۶/۱۱/۰۹ ؛ تاریخ پذیرش: ۹۷/۱۰/۲۷

ا. ارجمندیان، س. میرزایی و د.م. ظفری. ۱۳۹۸. کنترل بیولوژیکی پوسیدگی ریزوکتونیایی ریشه چغندرقند در ایران. چغندرقند، ۳۵(۱): ۶۳- ۷۹. DOI: 10.22092/jsb.2019.101706.1173

چکیده

در این تحقیق، اثر آنتاگونیستی ۱۱ جدایه متعلق به ۱۰ گونه قارچ تریکودرما شامل *Trichoderma harzianum*، *T.atroviride* (دو جدایه)، *T. viride*، *T. orientalis*، *T. citrinoviride*، *T.asperellum*، *T. spirale*، *T. crassum*، *T. pseudokoningi* و *T. ceramicum* روی جدایه قارچ *Rhizoctonia solani* AG2-2 عامل پوسیدگی ریشه چغندرقند، در قالب طرح آماری کاملاً تصادفی با ۱۱ تیمار و چهار تکرار مورد ارزیابی قرار گرفت. نتایج این بررسی‌ها نشان داد تمامی جدایه‌های قارچ تریکودرما موجب کاهش یا توقف بیمارگر شدند و برترین اثرات آنتاگونیستی در آزمون کشت متقابل در جدایه *T. harzianum* Z1 مشاهده شد، به‌طوری‌که این جدایه موجب ۷۶/۵۷ درصد بازدارندگی رشد میسیلیومی قارچ بیمارگر گردید. در آزمایش‌های گلخانه‌ای اثر چهار جدایه منتخب قارچ تریکودرما بر پوسیدگی ریشه چغندرقند (رقم شیرین) مورد بررسی قرار گرفت. نتایج این بررسی‌ها نشان داد جدایه‌های *T. harzianum* Z1 ، *T. atroviride* Z2 و *T. orientalis* Z4 به عنوان جدایه‌های برتر به ترتیب موجب ۷۱/۱، ٦٦/٦ و ۵۸/۳ درصد کاهش شدت پوسیدگی ریشه گردیدند. در آزمایش‌های مزرعه‌ای (۱۳۹۲ تا ۱۳۹۳) در مرکز تحقیقات کشاورزی و منابع طبیعی همدان، اثر جدایه‌های برتر منتخب تریکودرما در مقایسه با تیمار قارچ‌کش(کاربوکسین-تیرام) و تیمار شاهد بر درصد بروز و شدت بیماری پوسیدگی ریشه چغندرقند با انجام آلوده سازی مصنوعی بررسی شد. نتایج این بررسی‌ها نشان داد، جدایه‌های منتخب قارچ تریکودرما از نظر کنترل بیماری با یکدیگر اختلاف معنی‌دار داشته و جدایه *T. harzianum* Z1 در مقایسه با تیمار شاهد موجب ٦٦/٤ درصد کاهش درصد بروز آلودگی و ٥٦ درصد کاهش شدت بیماری پوسیدگی ریشه شده است. لذا این جدایه به عنوان مؤثرترین آنتاگونیست درکاهش بیماری پوسیدگی ریزوکتونیایی ریشه چغندرقند شناسایی شد.

واژه‌های کلیدی: بیوکنترل، پوسیدگی ریشه، تریکودرما، چغندرقند، قارچ

۱- مربی پژوهشی بخش تحقیقات گیاه‌پزشکی، مرکز تحقیقات و آموزش کشاورزی و منابع طبیعی استان همدان، سازمان تحقیقات، آموزش و ترویج کشاورزی، همدان، ایران.

*- نویسنده مسئول arjmand_am@yahoo.com

۲ - استادیار گروه گیاه‌پزشکی، دانشکده کشاورزی. دانشگاه بوعلی سینا، همدان، ایران.

۳ - استاد گروه گیاه‌پزشکی، دانشکده کشاورزی دانشگاه بوعلی سینا، همدان، ایران.

www.SID.ir

Archive of SID

مقدمه

چغندرقند (*Beta vulgaris* L.) یکی از گیاهان صنعتی مهم تولید شکر در دنیا است و قسمت اعظم قند و شکر تولیدی کشور را تأمین می‌نماید. این محصول در حال حاضر در ۵۰ کشور دنیا کشت می‌شود و حدود یک چهارم از ۱۷۰ میلیون تن شکر تولیدی جهان از آن به دست می‌آید. سطح زیر کشت این محصول در دنیا و به خصوص در ایران طی دو دهه اخیر پر نوسان بوده و بر اساس اطلاعات سازمان خواروبار جهانی، در سال ۲۰۱۶، به ترتیب در حدود ۴۵۶۴۸۶۸ و ۱۰۱۲۱۱ هکتار بوده است. در این سال میانگین عملکرد ریشه چغندرقند در دنیا ۶۰/۷ تن درهکتار بوده است وکشور اسپانیا با ۹۷/۶ تن درهکتار دارای بالاترین راندمان عملکرد ریشه و ایران به میزان ۵۴/۷ تن درهکتار رتبه ۲۶ کشورهای دنیا را داشته‌اند (Anonymous 2016).

پوسیدگی ریزوکتونیایی ریشه چغندرقند ناشی از قارچ *R. solani* یکی از مهم‌ترین و شایع‌ترین بیماری‌های چغندرقند در تمام دنیا محسوب می‌شود، ولی در مناطق با اقلیم گرم و در خاک‌های با رطوبت بالا و زه‌کش ضعیف، شدت آن بیشتر است. خسارت این بیماری در ایالات متحده امریکا ۲۴درصد و در اروپا ۱۰-۵درصد برآورد شده است (Harveson et al. 2009 ; Bolton et al. 2010).

یکی از مهم‌ترین عوامل مؤثر در کاهش عملکرد این محصول در استان همدان و همچنین اغلب استان‌های کشور، مسئله پوسیدگی‌های قارچی ریشه و طوقه می‌باشد که طی سال‌های اخیر توسعه یافته و موجب محدودیت کشت در برخی مناطق شده است. بر اساس تحقیقات به عمل آمده ۴۲/۶درصد مزارع چغندرقند استان همدان به پوسیدگی‌های قارچی ریشه و طوقه شامل *Fusarium solani*، *F. oxysporum*، *R. solani*، *Macrophomina phaseolina*، *Pythium* spp.، *Phytophthora drecsleri* آلوده بوده‌اند (Arjmandian and Ershad 2004). این در حالی است که میزان آلودگی به قارچ *R. solani* در برخی مزارع چغندرقند کشور تا ۴۵ درصد برآورد شده است (Pedram *et al.* 2008).

گروه آناستموزی AG2-2 قارچ *R. solani* (با فرم جنسی *Thanatephorus cucumeris*) می‌تواند موجب مرگ گیاهچه، پوسیدگی طوقه و ریشه و سوختگی انتهای دمبرگ‌های چغندرقند گردد، ولی مهم‌ترین علایم آن پوسیدگی خشک جانبی ریشه این گیاه، به شکل لکه‌های قهوه‌ای تیره است که به سمت انتهای ریشه توسعه می‌یابد و در نهایت منجر به پوسیدگی کامل ریشه و تنک شدن مزرعه می‌شود. این قارچ دامنه میزبانی وسیعی دارد و به دلیل تولید اندام‌هایی به نام سختینه (Sclerot) و نیز با داشتن قدرت ساپروفیتی بالا، برای مدت‌های طولانی در خاک دوام داشته و به عنوان یک قارچ مهم خاکزی شناخته می‌شود.

با وجود قارچ‌کش‌های متعدد معرفی شده برای کنترل این بیماری، مصرف اینگونه سموم (با غلظت‌های معمول) در خاک به دلیل فعالیت موجودات زنده و بخصوص میکروارگانیسم‌های مختلف در آن، غالباً نتایج ضعیفی داشته و کشاورزان ناچارند در چند نوبت از این سموم استفاده نمایند. یکی دیگر از دلایل ضعیف بودن اثر سموم قارچ‌کش در خاک، نامناسب بودن زمان مصرف آنها (پس از مشاهده علایم در اندام‌های هوایی و توسعه بیماری در ریشه) می‌باشد. در هر صورت کاربرد مکرر سموم قارچ‌کش در خاک، علاوه بر تحمیل هزینه‌های سمپاشی، موجب از بین رفتن موجودات زنده خاک، افزایش آلودگی‌های زیست محیطی و نیز ظهور نژادهای مقاوم بیمارگر به قارچ‌کش های مصرف شده می‌گردد. در این راستا، کنترل بیولوژیک قارچ عامل بیماری با استفاده از عوامل آنتاگونیست می‌تواند جایگزین خوبی برای کنترل

www.SID.ir

Archive of SID

شـیمیایی بیمارگرهـای خـاکزی باشـد (Gray and Garik 1998). توانـایی تولیـد آنتـی‌بیوتیـک عامـل بازدارنـده رشـد بیمارگرهای گیاهی توسط گونه‌های مختلف قارچ تریکودرمـا و امکان استفاده از آنها به عنوان عوامـل بیـوکنترل بیمارگرهـای گیاهی از ۷۰ سال پیش شناخته شده است. گونه‌هـای مختلـف قارچ تریکودرما از جمله میکروارگانیسم‌هـای متـداول خـاک و محدود کننده رشد و فعالیت بیمارگرهای قارچی مهمی هستند که موجب مرگ گیاهچه، پوسیدگی ریشه و طوقه و پژمردگـی منجر به سرخشکیدگی گیاهان می‌گردند. در میـان گونـه‌هـای تریکودرما، استفاده از گونـه‌هـای *Trichoderma hamatum*، *T. harzianum*، *T. viride*، *T. koningii*، *T. pseudokoningii* و *T. virens* علیـه بیمارگرهـای مهـم خـاکزی ماننـد *Rhizoctonia solani*، *Sclerotinia sclerotiorum*، *Fusarium solani*، *F. oxsyporum*، *Pythium* spp. و *Phytophthora* spp. با موفقیـت زیـادی همـراه بـوده اسـت (Parmar *et al*. 2015 و John *et al*. 2010). بررسـی انجـام شـده، نشـان داده اسـت کـه فعالیـت آنتاگونیستی گونه‌های تریکودرما بر پایه ساز و کارهای مختلفی نظیر آنتی‌بیوز(ترشح آنتی بیوتیک‌ها و نیـز آنـزیم‌هـای تجزیـه کننده دیواره سلولی ریسه قارچ‌هـای بیمـارگر ماننـد بتـا ۱و ۳ گلوکاناز، کیتینـاز، پروتئـاز و لیپـاز)، مایکوپارازیتیسـم (پارازیـت مستقیم قارچ‌های بیمارگر) و رقابت (بر سر مواد غذایی و اشغال فضا) می‌باشد (Papavizas 1985; Chet and Baker 1980; Manczinger *et al*. 2002; Benitez *et al*. 2004; Harman 2004; Harman *et al*. 2006).

گونه‌های مختلف این قارچ نه تنها اثرات مسـتقیمی در کنترل بیمـاری‌هـای گیـاهی دارنـد، بلکـه اسـتقرار در منطقـه ریزوسفر و تغییر شرایط آن، به جذب مواد غذایی توسـط ریشـه گیاهان کمک نموده و موجب افزایش رشد و نمو و نیز افـزایش قابل توجه تحمل آن‌ها به تنش‌های محیطی زنده و غیر زنـده مـی‌گردنـد (Ciliento *et al*. 2003، Harman *et al*. 2006، Schuster and Schmoll 2010، Pandya *et al*. 2011، Tripathi *et al*. 2013، Dagurere *et al*. 2014 و Keswani *et al*. 2014).

در بررسی‌های گلخانه‌ای، اثرات مثبت کنترل کنندگی جدایه‌ای از قارچ *T. harzianum* در کنترل بیماری‌های مرگ گیاهچه با عامل *Pythium* spp. و پوسیدگی ریشه چغندرقند با عامل *R. solani* حاصل گردیده است (Ruppel *et al*. 1983). مایه‌زنی خاک با هشت جدایه از قارچ‌های *Trichoderma*. spp. و *Gliocladium virens* تا ۵۰ درصد پوسیدگی ریشه بوته‌های چغندرقند ناشی از قارچ*R. solani* را کاهش داده است (Lewis and Papavizas 1985).

پارازیت شدن قارچ بیماری‌زای *R. solani* توسط جدایه‌هایی از گونه *T. viride*. توسط ولز (Welles 1988) مورد بررسی و تایید قرار گرفته است.

روحانی و همکاران (Rouhani *et al*. 1991) در بررسی اثر جدایه‌های تریکودرما در مبارزه بیولوژیک علیه *R.solani* سیب زمینی نتایج رضایت‌بخشی را به‌دست آوردند.

در تحقیق روی کنترل بیولوژیک قارچ‌های بیماری‌زای خاکزاد مشخص شده است که چنانچه بعد از یک دورهٔ آفتاب‌دهی خاک (Soil solarization)، قارچ‌کش (Penta Chloro Nitro Benzene, PCNB) و نیز قارچ آنتاگونیست *T. harzianum* به خاک اضافه شود این قارچ به راحتی در خاک مستقر و موجب کنترل قارچ‌های بیماری‌زای خاکزی می‌شود (Popkova and Fedrochenko 1992; Doshwood *et al*. 1993).

در شرایط گلخانه‌ای، افزودن قارچ *T. harzianum* به خاک آلوده، موجب کاهش بیماری پوسیدگی ریزوکتونیایی

www.SID.ir

Archive of SID

ریشه چغندرقند به میزان ۵۷/۱ درصد شده است (Abada 1995).

بازگیر و اخوت (Bazgir and Okhovat 1996) نیز با بررسی اثر چند جدایه از *T. harzianum* بر روی *R. solani* عامل پوسیدگی بذر و مرگ گیاهچه لوبیا، اثرات مثبتی را در مقایسه با کاربرد برخی قارچ کش‌ها از جمله بنومیل به دست آوردند.

بررسی اثر جدایه‌هایی از قارچ‌های آنتاگونیست و مقایسه اثر آنها با چند قارچ‌کش در شرایط آزمایشگاه و گلخانه بر علیه عامل *R.solani* عامل بیماری سوختگی غلاف برنج نشان داد، قارچ های آنتاگونیست و قارچ‌کش بنومیل به ترتیب ۲۷/۵ و ۳۲/۵ درصد بیماری را کنترل نموده‌اند (Niknejade Kazempour *et al*. 2003).

استفاده از قارچ‌های آنتاگونیست مانند *T. hamatum*، *T.harzianum*، *T. pseudokoningii*، *Bacillus subtilis* و *Pseudomonus flouresence* در کنترل بیولوژیکی پوسیدگی ریشه چغندرقند با عامل *R. solani* در شرایط آزمایشگاهی و مزرعه‌ای، توسط نتایج موفقیت‌آمیزی به‌دست آمده است (Kanzaz *et al*. 2002).

در کنترل بیولوژیک بیماری مرگ گیاهچه چغندرقند با عامل *R. solani* به وسیله پنج جدایه از قارچ *T. harzianum* مشخص گردید که کلیه جدایه‌های مورد بررسی ضمن متوقف کردن رشد میسلیومی *R. solani* می‌توانند کلنی آن را به طور کامل کلونیزه و بر روی آن اسپورزایی کنند (Shahiri Tabarestani *et al*. 2005). ناشوا و همکاران (Nashwa *et al*. 2008) توانایی آنتاگونیستی ۱۵ جدایه تریکودرما را در شرایط آزمایشگاه برروی عوامل پژمردگی و پوسیدگی لوبیا مورد بررسی قرار دادند که از بین این جدایه‌ها *T.harzianum* و *T. viride* بیشترین درصد بازدارندگی از رشد را در مقابل *R. solani* و *F. oxysporum* f.sp. *phaeoli* نشان دادند.

اسمولینسکا و همکاران (Smolinska *et al*. 2007) با کاربرد جدایه‌هایی از تریکودرما علیه *R. solani* موفق به بیوکنترل بیماری مرگ گیاهچه و پوسیدگی ریشه در خیار و کاهو شدند. محمدی و همکاران (Mohammadi *et al*. 2009) در شرایط آزمایشگاهی، مکانیسم‌های آنتاگونیستی سه جدایه *T. harzianum*، یک جدایه *T. viride* و یک جدایه *T. virens*را علیه *R.solani* عامل بیماری پوسیدگی مرطوب ریشه نخود ایرانی مورد مطالعه قرار دادند و اثر بیوکنترلی بالایی از *T. harzianum*. علیه جدایه‌های بیمارگر نشان دادند، به‌طوری‌که این جدایه‌ها موجب بیش از ۹۰ درصد بازدارندگی از رشد *R.solani* در محیط کشت گردیدند.

در بررسی‌های آزمایشگاهی توسط سوباش و همکاران (Subash *et al*. 2013) مشخص شد که تمامی جدایه‌های *T. harzianum* بیش از ۵۰ درصد از رشد قارچ *R. solani* عامل پوسیدگی ریشه فلفل قرمز را کاهش داد و جدایه Th1 به میزان ۸۷ درصد دارای بیشترین توانایی در کاهش رشد قارچ بیمارگر بوده است.

بررسی کارایی چند جدایه بومی تریکودرما در کنترل پوسیدگی ریشه چغندرقند با عامل *Pythium. aphanidermatum* نشان داد که آغشته کردن بذر چغندرقند به جدایه‌ی *T. harzianum* 2736 و یا اضافه کردن آن به خاک به میزان ۷۰ درصد در کنترل بیماری مؤثر بوده است (Abdolahi *et al*. 2013).

نراقی و همکاران (Naraghi *et al*. 2014) نشان دادند که با آغشته‌سازی بذر چغندرقند با دو جدایه از قارچ *T. harzianum* و دو جدایه از قارچ *Talaromyces flavus* بیماری مرگ گیاهچه چغندرقند ناشی از قارچ‌های *R. solani*

www.SID.ir

Archive of SID

AG4 و *F. proliferatum* در شرایط گلخانه و مزرعه کنترل شده است.

بررسی اثر آنتاگونیستی ۱۱ جدایه تریکودرما جداشده از ریزوسفر ریشه لوبیا بر روی قارچ *R. solani* عامل پوسیدگی ریشه و بوته میری لوبیا در شرایط آزمایشگاه و گلخانه نشان داد، جدایه‌های T_{25} و T_{12-N} گونه *T.harzianum* و جدایه‌های T_{93} و T_{12-0} گونه *T.virens* مؤثرتر از بقیه بودند (Khodae and Hemmati 2016).

در این تحقیق اثر آنتاگونیستی یازده جدایه قارچ تریکودرما (متعلق به ۱۰ گونه) از نظر کنترل قارچ عامل بیماری پوسیدگی ریشه چغندرقند (*R. solani* AG2-2) در شرایط آزمایشگاه، گلخانه و مزرعه به منظور معرفی مؤثرترین جدایه، با یکدیگر مقایسه شدند.

مواد و روش‌ها

الف) تهیه جدایه‌های قارچ آنتاگونیست تریکودرما و قارچ عامل پوسیدگی ریزوکتونیایی ریشه جغندرقند

۱- برای انجام این تحقیق ۱۱ جدایه متعلق به ۱۰ گونه قارچ تریکودرما شامل *T. harzianum* Z1، *T.atroviride* Z2، *T. viride* Z3، *T. orientalis* Z4، *T. citrinoviride* Z5، *T. asperellum* Z6، *T. spirale* Z7، *T. crassum* Z8، *T. psudokoningi* Z9، *T.atroviridae* Z10 و *T.ceramicum* Z11. دریافتی از آزمایشگاه بیماری‌شناسی گیاهی دانشکده کشاورزی دانشگاه بوعلی‌سینا که توسط نظمی رودسری(Nazmi Roodari *et al.* 2007) از استان‌های گلستان، مازندران و گیلان از خاک و چوب پوسیده جداسازی و تشخیص داده شده بود، مورد استفاده قرار گرفت.

۲- برای جداسازی و خالص‌سازی قارچ عامل پوسیدگی ریشه و طوقه چغندرقند، در طی ماه‌های تیر، مرداد و شهریور از مناطق عمده کشت این محصول در استان همدان بازدید و نمونه‌برداری‌های لازم از بوته‌های دارای علایم زردی، پژمردگی، کم‌رشدی و بوته میری صورت پذیرفت. سپس در آزمایشگاه پس از شستشوی سطحی ریشه‌های چغندرقند، اقدام به کشت قطعاتی از حد فاصل بافت‌های سالم و پوسیده شد، همچنین جداسازی و خالص سازی کلنی قارچ‌های رویش یافته با استفاده از محیط‌های کشت عمومی WA (Water Agar) و PDA (Potato Dextrose Agar) صورت گرفت. شناسایی جدایه‌های قارچ ریزوکتونیا و نیز تعیین گروه آناستموزی جدایه های *R. solani* بر اساس کلید شناسایی اسنه و همکاران (Sneh *et al.* 1991) از روش جفت کردن هیف‌ها درون تشتک پتری حاوی WDA (Water Dextrose Agar) و تلاقی هیف‌های جدایه‌ها با گروه‌های آناستوموزی شاخص (Tester) روی لام شیشه‌ای با استفاده از میکروسکوپ نوری اینورت (Invert) انجام گرفت و در نهایت جدایه‌های خالص شده *R. solani* AG2-2 پس از انجام اثبات بیماری‌زایی (با روش مایه‌زنی خاک) برای انجام مراحل بعدی تحقیق به لوله‌های آزمایش حاوی محیط کشت PDA انتقال یافته و در یخچال نگهداری شدند.

ب- بررسی اثر بازدارندگی از رشد و قدرت رقابت ساپروفیتی جدایه‌های تریکودرما در شرایط آزمایشگاه

با انجام سه آزمایش مجزا شامل آزمایش کشت متقابل، آزمایش متابولیت‌های خارج سلولی فرار و آزمایش مایعات خارج سلولی غیرفرار، ۱۱ جدایه قارچ تریکودرما از نظر قدرت آنتاگونیستی و میزان بازدارندگی از رشد بیمارگر *R. solani* AG2-2 در مقایسه با تیمار شاهد (بدون قارچ تریکودرما) مقایسه شدند. برای این منظور از طرح آماری کاملاً تصادفی با چهار تکرار (هر تکرار شامل یک تشتک پتری) استفاده شد و داده‌های آزمایش با نرم‌افزار آماری SAS تجزیه واریانس

www.SID.ir

Archive of SID

گردیدند. پس از آن مقایسه میانگین تیمارهای آزمایش با آزمون دانکن انجام گردید و در نهایت جدایه‌های برتر تریکودرما برای انجام مراحل بعدی آزمایش انتخاب شدند. لازم به ذکر است که درصدهای بازدارندگی از رشد (Growth Inhibition) قارچ بیمارگر به روش زیر محاسبه شد:

= درصد بازدارندگی از رشد

۱۰۰× (قطر کلنی تیمار شاهد/قطر کلنی هر تیمار–قطر کلنی تیمار شاهد)

۱- آزمایش کشت متقابل(Dual culture)

برای این منظور قارچ‌های بیمارگر و آنتاگونیست بر اساس روش اسکیدمور و دیکینسون (Skidmore and Dickinson 1976) به طور همزمان در دو طرف تشتک‌های پتری حاوی PDA به فاصله سه سانتی‌متر از یکدیگر کشت شدند و در شرایط مناسب دمایی ۲۵ درجه سانتی‌گراد قرار گرفتند. در تیمار شاهد به جای جدایه‌های آنتاگونیست، قطعه‌ای از محیط کشت قرار داده شد. برای بررسی قدرت آنتاگونیستی و میزان بازدارندگی از رشد بیمارگر توسط جدایه‌های قارچ تریکودرما، رشد قطری قارچ بیمارگر و نیز آنتاگونیست در هر یک از تشتک‌های پتری‌ها (پس از اینکه تمام سطح تشتک پتری شاهد توسط قارچ بیمارگر پوشیده شد) توسط کولیس بر اساس میلی‌متر ثبت و سپس درصد بازدارندگی از رشد در تیمارهای مختلف این آزمایش محاسبه شدند.

۲- آزمایش متابولیت‌های خارج سلولی فرار (Volatile antibiotics)

تأثیر مواد فرارخارج سلولی ۱۱ جدایه قارچ تریکودرما بر روی رشد قارچ عامل بیماری بر اساس روش دنیس و وبستر (Dennis and Webester 1971b) در قالب یک طرح کاملاً تصادفی با چهار تکرار ارزیابی شد. در این آزمایش از تشتک‌های پتری کاملاً یکنواخت از نظر اندازه (با قطر ۹ سانتی‌متر) استفاده شد. ابتدا حلقه‌های میسلیومی با قطر پنج میلی‌متر از حاشیه در حال رشد (سه روزه) پرگنه بیمارگر در مرکز تشتک‌های حاوی محیط کشت PDA قرار داده شد و سپس تشتک‌ها در شرایط آزمایشگاه (دمای ۲۵ درجه سانتی‌گراد) قرار گرفتند. ۱۱ جدایه قارچ تریکودرمای مورد آزمایش نیز در تشتک‌های دیگری روی محیط کشت PDA کشت و در انکوباتور با دمای ۲۷ درجه سانتی‌گراد نگه‌داری شدند. پس از ۲۴ساعت از عمر بیمارگر، حاشیه پرگنه آن‌ها علامت‌گذاری شد. پس از آن در شرایط سترون، تشتک‌های حاوی تریکودرما و بیمارگر را روی هم گذاشته و جهت جلوگیری از آلودگی آن‌ها، بلافاصله محل انطباق دو تشتک پتری با سلوفان مسدود گردیدند و سپس در دمای ۲±۲۳ درجه سانتی‌گراد نگه‌داری شدند. تشتک‌ها طوری روی میز گذاشته شدند که تشتک حاوی تریکودرما در بخش پایینی قرار گرفت. برای تشتک شاهد، به جای جدایه‌های تریکودرما از یک حلقه PDA استفاده شد. قبل از مقابل هم قرار دادن تشتک‌های حاوی جدایه تریکودرما و قارچ بیمارگر، منتهی‌الیه پرگنه قارچ بیمارگر در زیر تشتک علامت‌گذاری شد. در نهایت رشد قطری قارچ بیمارگر در کلیه تیمارها بعد از ۴۸ ساعت ثبت و درصد بازدارندگی از رشد جدایه‌های تریکودرما محاسبه شد.

۳- آزمایش مایعات خارج سلولی غیرفرار(Culture filterate)

این آزمایش بر اساس روش دنیس و وبستر (Dennis and Webester 1971a) انجام گردید برای این منظور، چهار حلقه میسلیومی با قطر یک سانتی‌متر از حاشیه در حال رشد هر یک از جدایه‌های تریکودرما از روی محیط کشت PDA به داخل ارلن‌های ۵۰۰ میلی‌لیتری حاوی ۱۵۰ میلی‌لیتر از محیط کشت داوه (Davets Liquid Medium) مایه‌زنی شده و در داخل شیکر چرخان در دمای ۲۴–۲۰ درجه سانتی‌گراد قرار گرفتند و شیکر روی ۱۲۰ دور در دقیقه تنظیم گردید. پس از ۱۵ روز محتویات ارلن‌ها با میلی‌پور و پمپ خلاء و با استفاده از

www.SID.ir

Archive of SID

میکرو فیلترهای ۰/۲۲ میکرومتری عصاره‌گیری شدند. قابل ذکر است فیلتراسیون و جمع‌آوری عصاره جدایه‌های تریکودرما کاملاً در شرایط سترون و با میلی‌پور و ارلن‌های سترون شده انجام شدند. سپس ۱۱ ارلن۲۵۰ میلی‌لیتری هر یک حاوی ۵۰ میلی‌لیتر محیط کشت PDA با ۲۵ درصد آگار اضافی در اتوکلاو سترون شدند و هنگام رسیدن دمای آنها به حدود ۵۰ درجه سانتی‌گراد، ۱۵ میلی‌لیتر از عصاره فیلتر شده ۱۱جدایه تریکودرما به هر یک از آن‌ها اضافه و به هم زده شد. در ۱۱ ارلن بعدی به‌جای ۱۵ میلی‌لیتر، ۷/۵ میلی‌لیتر عصاره فیلتر شده تریکودرما به آنها اضافه شد و محیط‌های حاوی ۳۰ درصد و ۱۵ درصد از عصاره عوامل بیوکنترل تهیه گردید. آنگاه محتویات هر ارلن در چهار تشتک پتری (۴ تکرار آزمایش) تقسیم و نام جدایه و غلظت عصاره عامل بیوکنترل بر روی آن ثبت شد و محیط کشت فاقد عصاره نیز به عنوان شاهد در نظر گرفته شد. در شرایط سترون (داخل هود سترون) از حاشیه در حال رشد پرگنه سه روزه بیمارگر *R. solani*، حلقه‌های میسلیومی با قطر پنج میلی‌متر به وسیله چوب پنبه سوراخ کن تهیه شد و یک حلقه میسلیومی در مرکز هر پتری از پتری‌های فوق‌الذکر تلقیح و در شرایط آزمایشگاه (دمای۲± ۲۴درجه سانتی‌گراد و نورطبیعی و فلورسنت) نگه‌داری شدند. در نهایت رشد قطری پرگنه بیمارگر پس از گذشت ۴۸ و۷۲ ساعت در تمام تیمارها اندازه‌گیری و ثبت شد.

ج) بررسی‌های گلخانه‌ای

اثر کنترل‌کنندگی چهار جدایه منتخب قارچ تریکودرما شامل Z1، Z2 ، Z4 و Z10 (با افزودن آنها به خاک) برای ارزیابی کنترل بیماری پوسیدگی ریزوکتونیایی ریشه در شرایط گلخانه مورد بررسی قرار گرفت. برای این منظور از طرح آماری کاملاً تصادفی با پنج تیمار و ۱۰ تکرار استفاده گردید که تیمارهای آن را چهار جدایه برتر تریکودرما همراه با تیمار شاهد (آلوده به بیمارگر، بدون استفاده از هر گونه آنتاگونیست و قارچ‌کش) تشکیل می‌دادند.

به منظور مایه‌زنی خاک گلدان‌ها به قارچ بیماری‌زا و نیز عوامل آنتاگونیست، ابتدا جدایه خالص شده بیمارگر و نیز چهار جدایه منتخب تریکودرما (Z1، Z2 ، Z4 وZ10) هریک روی ۱۰ تشتک پتری حاوی محیط کشت PDA تکثیر گردیدند. در مرحله بعد اقدام به تکثیر جدایه‌های قارچ آنتاگونیست و بیمارگر بر روی بذور گندم در شیشه‌های نیم لیتری شد. برای این منظور ابتدا بذور گندم موردنیاز پاک و شستشو شده و سپس تا ۲/۳ حجم شیشه‌ها ریخته شد. پس از آن درب شیشه‌ها با پنبه و فویل آلومینیم بسته شدند و دو بار به فاصله ۴۸ ساعت و هر بار به مدت ۱۵ دقیقه اتوکلاو و استریل گردیدند. بعد از سرد شدن شیشه‌ها، پنج دیسک ۱۰ میلی‌متری از کشت هفت روزه قارچ‌های آنتاگونیست و بیماری‌زا از روی محیط کشت PDA روی محیط گندم مایه‌زنی و در انکوباتور با دمای مناسب قرار گرفتند. بعد از استقرار قارچ‌ها، هر روز یک بار بطری‌ها تکان داده شدند تا ضمن آلودگی کامل بذور به عوامل قارچی بیماری‌زا و آنتاگونیست، از چسبیدن آنها و ایجاد اشکال در هنگام تخلیه از شیشه جلوگیری شود. بعد از گذشت سه هفته و هنگامی که قارچ‌ها به‌طور کامل روی محیط گندم رشد کردند، اقدام به افزودن مایه‌های تلقیح فوق به خاک گلدان‌های آزمایش گردید.

برای انجام آزمایش‌های گلخانه‌ای، ازگلدان‌های پلاستیکی به قطر ۲۵ سانتی‌مترکه قبلاً با محلول هیپوکلرید سدیم یک درصد ضدعفونی شده بودند، استفاده شد. خاک گلدان‌ها (با ترکیب ۱/۳ خاک باغچه، ۱/۳ کودحیوانی و ۱/۳ ماسه) نیز قبل از ریختن در گلدان‌ها، با دستگاه بخار آب دو بار (هر بار به مدت یک ساعت در دمای ۶۰ درجه سانتی‌گراد) ضدعفونی گردیدند. در این تحقیق از بذر چغندرقند رقم

www.SID.ir

Archive of SID

شیرین(حساس به بیمارگر) استفاده شد. برای این منظور تعداد ۱۰ عدد بذر چغندرقند پس از ضدعفونی (با محلول هیپوکلریت سدیم یک درصد به مدت سه دقیقه و دو بار شستشو با آب مقطر استریل) در هر گلدان کاشته شدند و بلافاصله آبیاری آنها انجام گرفت. در مدت آزمایش دمای گلخانه در ساعات روز به میزان ۲۶ درجه سانتی‌گراد و در ساعات شب به میزان ۱۸ درجه سانتی‌گراد تنظیم شد.

قبل از ریختن خاک ضدعفونی شده به داخل گلدان‌ها و کاشت بذور چغندرقند، زادمایه جدایه‌های قارچ آنتاگونیست و بیمارگر به ازای هر کیلوگرم از خاک ضدعفونی شده گلدان‌ها به میزان ۱۰ گرم اضافه شد و سپس به‌طور یکنواخت با خاک مخلوط گردید. پنج هفته پس از سبز شدن گیاهچه‌ها یکی از آن‌ها که از رشد مناسب‌تری برخوردار بود، نگه‌داری و بقیه حذف گردیدند. مراقبت از این بوته‌ها با انجام آبیاری و تغذیه مناسب و یکسان از آنها در شرایط گلخانه ادامه یافت. سپس با گذشت ۱۵ هفته از زمان کاشت اقدام به خارج کردن کامل بوته‌ها از خاک و ارزیابی شدت آلودگی (Disease Severity, DS) ریشه ها گردید.

برای تعیین شدت آلودگی بوته‌ها از روش باتنر و همکاران (Buttner *et al*. 2004) با مقیاس ۱ تا ۹ استفاده شد. در این مقیاس: نمره ۱= ریشه‌های سالم. نمره ۲= حدود یک درصد سطح ریشه دارای زخم سطحی ناشی از ریزوکتونیا. نمره ۳= ۵-۱ درصد سطح ریشه دارای زخم سطحی. نمره ۴= ۱۰-۵ درصد سطح ریشه دارای زخم یا شانکر خشک. نمره ۵ = ۲۵-۱۰ سطح ریشه دارای زخم یا شانکر خشک. نمره ۶= ۵۰-۲۵ درصد سطح ریشه دارای زخم و یا شانکر خشک. نمره ۷= ۷۵-۵۰ درصد سطح ریشه دارای زخم و یا شانکر خشک. نمره ۸= بیش از ۷۵ درصد سطح ریشه دارای زخم و یا شانکر خشک. نمره ۹= اندام‌های هوایی خشک و ریشه کاملاً پوسیده. برای تعیین شدت آلودگی هر تیمار میانگین شدت آلودگی ۱۰ گلدان محاسبه گردید.

د-بررسی‌های مزرعه‌ای

برای تکمیل بررسی‌های آزمایشگاهی و گلخانه‌ای، این قسمت از تحقیق طی دو سال متوالی (۱۳۹۳-۱۳۹۲) در شرایط مزرعه صورت پذیرفت. برای این منظور در ایستگاه تحقیقاتی اکباتان واقع در مرکز تحقیقات و آموزش کشاورزی و منابع طبیعی همدان، یک قطعه زمین با سابقه آلودگی در نظر گرفته شد و قبل از کاشت، اقدام به نمونه‌برداری خاک (جهت آنالیزهای آزمایشگاهی و تعیین نیازهای کودی مربوطه) و سپس انجام عملیات خاک‌ورزی اولیه گردید و در نهایت عملیات خاک‌ورزی ثانویه همراه با مصرف کودهای فسفره و پتاسه و یک چهارم کود نیتروژنه بر اساس توصیه خاک‌شناسی انجام شد.

طرح آماری مورد استفاده در این تحقیق طرح بلوک‌های کامل تصادفی با پنج تیمار و چهار تکرار بود. تیمارهای آزمایش شامل جدایه‌های سه گونه قارچ تریکودرما منتخب از آزمایشات گلخانه‌ای شامل *T. harzianum* Z1, *T. orientalis* Z4, *T.atroviride* Z2، تیمار شاهد قارچ‌کش (کاربوکسین- تیرام به میزان ۱/۵ کیلوگرم در هکتار) و تیمار شاهد (بدون استفاده از قارچ‌کش و قارچ‌های آنتاگونیست) بودند. هر کرت آزمایشی دارای شش خط کاشت به طول شش متر با فاصله۵۰ سانتی‌متر بود. دو ماه قبل از کاشت بذور چغندرقند در خاک، قارچ بیمارگر و نیز جدایه‌های سه گونه قارچ تریکودرما، در آزمایشگاه بر روی بذور گندم تکثیر شدند و پس از خشک شدن و خرد کردن آنها، به میزان ۳/۵ گرم در هر متر از خطوط کاشت با خاک مخلوط شدند.

بلافاصله پس از کاشت بذور چغندرقند (رقم شیرین به عنوان رقم حساس به میزان دو گرم در هر متر از خطوط کاشت) در اردیبهشت ماه هر سال اقدام به آبیاری کرت‌های آزمایشی شد. پنج هفته پس از کاشت، تنک کردن بوته‌ها به فاصله ۲۵ سانتی‌متر انجام و آبیاری، کوددهی و کنترل

www.SID.ir

Archive of SID

علف‌های هرز و آفات در تیمارها تا پایان شهریور ماه با روش‌های معمول صورت گرفت ولی هیچگونه سموم قارچ‌کشی در آنها مصرف نگردید.

ارزیابی تیمارهای آزمایش در مرحله رشد کامل ریشه‌ها در پایان شهریورماه انجام گرفت. برای این منظور با کادر اندازی (کادر به ابعاد ۱×۱ متر) روی دو خط وسطی خطوط کشت هر تیمار، ۲۰ بوته با ریشه از خاک خارج و پس از حذف اندام هوایی و شستشوی ریشه، درصد بروز بیماری (Disease Incidence, DI) و شدت آلودگی آن‌ها تعیین گردید.

۱۰۰ × (تعدادکل بوته‌های هر کرت/تعداد بوته‌های آلوده) = درصد بروز بیماری

تعیین شدت آلودگی ریشه‌های بالغ(DS) با مقیاس ۱ تا ۹ به روش باتنر و همکاران (2004) انجام شد. در نهایت با استفاده از نرم‌افزار آماری، SAS اقدام به تجزیه واریانس و سپس مقایسه میانگین درصد و شدت آلودگی تیمارها با روش دانکن گردید، تا با انجام مقایسات آماری، مؤثرترین آنتاگونیست برای کنترل عامل پوسیدگی ریشه چغندرقند در شرایط مزرعه مشخص شود.

نتایج

الف) نتایج بررسی‌های آزمایشگاهی

۱- نتایج بررسی قدرت آنتاگونیستی جدایه‌های تریکودرما در برابر *R. solani*

قدرت آنتاگونیستی ۱۱ جدایه قارچ تریکودرما از نظر فاکتورهای مختلف شامل: مشاهده پیچش هیفی، ایجاد مرز حایل، استقرار روی قارچ بیمارگر و اسپورزایی روی آن نشان داد که همه جدایه‌ها پس از رشد و برخورد با هیف‌های قارچ ریزوکتونیا، باعث توقف رشد آن شدند، اما فقط جدایه‌های ، Z1، Z2، Z4، Z5، Z9, Z10 و Z11 توانستند پس از متوقف کردن جدایه‌های ریزوکتونیا شروع به کلونیزه کردن و نیز اسپورزایی بر روی میسلیوم آن نمایند(جدول۱).

جدول۱ قدرت پارازیتیسمی جدایه‌های تریکودرما بر روی قارچ *R. solani* AG2-2

جدایه‌ها	مشاهده پیچش هیفی	ایجاد مرز حایل	استقرار روی عامل بیماری‌زا	اسپورزایی روی عامل بیماری‌زا
Z1	+	+	+	+
Z2	+	+	+	+
Z3	+	+	+	−
Z4	+	+	+	+
Z5	+	−	+	+
Z6	+	+	+	−
Z7	+	+	−	−
Z8	+	+	−	−
Z9	+	+	+	+
Z10	+	+	+	+
Z11	+	+	+	+
شاهد	−	−	−	−

۲- نتایج مقایسه جدایه‌های تریکودرما از نظر درصد بازدارندگی عامل بیماری‌زا در آزمون‌های کشت متقابل و اثر متابولیت‌های فرّار

چنانچه در جدول۲ مشخص است، بیشترین بازدارندگی رشد عوامل بیماریزا مربوط به *T.harzianum* Z1 (با ۷۶/۵۷٪) و سپس *T. atroviridae* Z10 (با ۷۳/۳ درصد) درکنترل *R. solani* AG2-2 بوده است. از طرف دیگر مقایسه میانگین تیمارهای آزمایش از نظر بازدارندگی رشد عوامل بیماری‌زا در آزمون اثر متابولیت‌های فرّار مشخص نمود، بیشترین بازدارندگی رشد عوامل بیماری‌زا مربوط به جدایه Z10 *T.atroviride* با ۵۸/۹۲ درصد و سپس جدایه Z2 *T. atroviride* با ۵۴/۲۷ درصد در کنترل قارچ *R. solani* AG2-2 بوده است.

۳- نتایج تجزیه واریانس و مقایسه میانگین تیمارهای آزمایشی از نظر درصد بازدارندگی عوامل بیماریزا در آزمون اثر ترشحات مایع خارج سلولی

در بررسی تعیین رشد قارچ ریزوکتونیا در تشتک پتری شاهد و نیز تشتک‌های حاوی غلظت های مختلف ترشحات

www.SID.ir

Archive of SID

مایع خارج سلولی جدایه‌های تریکودرما، مشخص گردید تفاوت معنی‌داری بین قطر کلنی جدایه‌های مورد بررسی قارچ تریکودرما نسبت به تیمار شاهد وجود دارد. مقایسه اثر بازدارندگی رشد ترشحات مایع خارج سلولی تیمارهای آزمایش نیز نشان داد که بیشترین بازدارندگی رشد قارچ *R. solani* AG2-2 در تیمار *T. orientalis* Z4 در دو غلظت ۱۵ درصد و۳۰ درصد به ترتیب به میزان ۶۵/۸ درصد و ۷۵/۷۷ درصد بوده است (جدول۳).

با توجه به برتری جدایه‌های Z1، Z2، Z4 و Z10 درآزمون‌های چهارگانه آزمایشگاهی، این جدایه‌ها برای انجام آزمایش‌های گلخانه‌ای انتخاب شدند.

جدول۲- نتایج آزمون کشت متقابل و نیز آزمون اثر متابولیت های فرّار جدایه های تریکودرما بر قارچ *R. solani* AG2-2

	آزمون کشت متقابل		آزمون اثر متابولیت‌های فرّار	
تیمارها	میانگین رشد شعاعی (میلی‌متر)	میانگین درصد بازدارندگی رشد	میانگین رشد شعاعی (میلی‌متر)	میانگین درصد بازدارندگی رشد
Z1	۱۴±۱/۶۳	۷۶/۵۷ ^{a}±۳/۶۴	۱۴/۷۵±۳/۱۰	۵۱/۳۵^{a}±۱۱/۲۵
Z2	۱۹/۵±۳/۴۲	۶۷/۵۵ ^{cd}±۵/۲۹	۱۳/۷۵±۱/۷۱	۵۴/۲۷ ^{a}±۹/۳۶
Z3	۲۷±۲/۵۸	۵۴/۸۵ ^{f}±۵/۵۴	۲۱±۱/۸۳	۳۰/۵۰^{bc}±۱۰/۶۹
Z4	۱۸±۴/۲۴	۶۹/۹۲ ^{bc}±۷/۵۴	۱۵/۵±۲/۳۸	۴۹/۰۵^{b}±۷/۴۹
Z5	۲۴±۱/۶۳	۵۹/۹۵ ^{f}±۳/۳۶	۲۳/۵±۲/۳۸	۲۲/۴۵^{c}±۹/۹۸
Z6	۴۰±۱/۶۳	۳۳/ ۲۰^{g}±۴/۷۲	۲۲/۷۵±۲/۹۹	۲۴/۳۵^{c}±۱۵/۰۶
Z7	۴۰±۳/۶۵	۳۳/۳۷ ^{g}±۴/۷۶	۲۰/۵±۳/۷۰	۳۲/۵۵^{bc}±۱۲/۵۷
Z8	۴۱±۲/۵۸	۳۱/۵۷ ^{g}±۵/۲۸	۲۵/۷۵±۲/۲۲	۱۴/۶۰^{c}±۱۳/۵۲
Z9	۲۲±۱/۶۳	۶۳/۲۰^{ed}±۴/۲۱	۲۲/۵±۳/۸۷	۲۵/۸۷^{c}±۱۳/۳۹
Z10	۱۶±۱/۶۳	۷۳/۳۰^{ab}±۳/۰۷	۱۲/۵±۲/۶۵	۵۸/۹۳^{a}±۸/۲۸
Z11	۲۳/۵±۳/۴۲	۶۰/۹۷ ^{ef}±۳/۸۸	۲۴/۲۵±۴/۲۷	۱۹/۲۰^{c}±۱۹/۱۷
شاهد	۶۰±۲/۸۳	۰ ^{h}	۳۰/۵±۳/۱۱	۰ ^{d}

در هر ستون میانگین‌های با حروف مشابه فاقد تفاوت معنی‌دار در سطح احتمال پنج درصد می‌باشند.

جدول۳ تأثیر مواد خارج سلولی جدایه‌های تریکودرما در بازدارندگی رشد *R. solani* AG2-2

	غلظت ۱۵٪		غلظت ۳۰٪	
تیمار	میزان رشد شعاعی (میلی‌متر)	درصد بازدارندگی رشد	میزان رشد شعاعی (میلی‌متر)	درصد بازدارندگی رشد
Z1	۱۲/۷۵±۰/۹۶	۵۸/۷۵^{ab}±۴/۰۳	۱۰/۲۵±۱/۲۶	۶۸/۰۲^{ab}±۱/۷۰
Z2	۱۲/۲۵±۱/۷۱	۶۰/۵۲^{ab}±۴/۳۸	۱۰/۵±۱/۲۹	۶۶/۸۵^{ab}±۵/۹۷
Z3	۲۲/۲۵±۱/۲۶	۲۷/۹۲^{c}±۶/۸۷	۲۰/۷۵±۳/۱۰	۳۴/۸۲^{c}±۱۰/۱۴
Z4	۱۰/۵±۱/۲۹	۶۵/۸۰^{a}±۶/۵۵	۷/۷۵±۰/۹۶	۷۵/۷۷^{a}±۲/۰۴
Z5	۲۱±۲/۱۶	۳۲/۱۵^{c}±۶/۷۸	۱۸/۷۵±۳/۱۰	۴۱/۳۰^{c}±۸/۶۹
Z6	۲۸±۲/۱۶	۹/۶۲^{d}±۴/۳۴	۲۵/۷۵±۱/۷۱	۱۸/۶۲^{d}±۱۳/۲۷
Z7	۱۵±۱/۸۳	۵۱/۴۰^{b}±۷/۲۳	۱۳/۵±۲/۵۲	۵۷/۲۲^{b}±۱۱/۱۲
Z8	۲۷/۵±۲/۰۸	۱۱/۰۷^{d}±۷/۷۲	۲۴/۷۵±۱/۷۱	۲۲/۳۵^{d}±۶/۵۴
Z9	۱۰/۷۵±۱/۲۶	۶۴/۹۷^{a}±۶/۳۸	۹/۵±۱/۲۹	۶۹/۹۵^{ab}±۶/۴۵
Z10	۱۱/۷۵±۱/۸۹	۶۱/۹۲^{a}±۶/۷۹	۹±۲/۱۶	۷۱/۹۵^{a}±۵/۳۵
Z11	۱۳/۷۵±۲/۰۶	۵۵/۲۲^{b}±۹/۰۹	۲۰±۱/۸۳	۳۶/۸۲^{c}±۱۰/۶۵
شاهد	۳۱±۲/۱۶	۰^{e}	۳۲±۲/۹۴	۰^{e}

در هر ستون میانگین‌های با حروف مشابه فاقد تفاوت معنی‌دار در سطح احتمال پنج درصد می‌باشند.

www.SID.ir

Archive of SID

ب) نتایج بررسی های گلخانه‌ای

تجزیه واریانس و مقایسه میانگین تیمارهـای آزمـایش نشان داد، تیمارهای مربوط به چهار جدایه تریکورمـا (در هـردو بار آزمایش گلخانه‌ای) نسبت به تیمـار شـاهد از نظـر شـاخص شدت بیماری (DS) پوسیدگی ریزوکتونیایی با یکدیگر اختلاف معنی دار داشتند ولی از نظر گروه بنـدی، جدایـه‌هـای مختلـف تریکودرما در یک گـروه و تیمـار شـاهد در گـروه دیگـر قـرار گرفتند. در این گروه‌بندی، تیمار شـاهد دارای بیشـترین شـدت پوسیدگی با میانگین ۶ و تیمارهـای*T.harzianum* Z1 و Z2 *T. atroviridae* بـه ترتیـب بـا میـانگین ۱/۶۳ و ۲ دارای کمترین شدت پوسیدگی بودند، به عبارت دیگر جدایه‌هـای یـاد شده، شدت بیماری پوسیدگی ریشه را به ترتیب به میزان ۷۱/۱ درصد و ۶۶/۶ درصد نسبت به تیمار شاهد کاهش دادند (جدول ۴).

تجزیه واریانس و مقایسه میانگین تیمارهـای آزمـایش (در هردو بار آزمایش) نشان داد تیمارهای مربوط به جدایه‌های تریکودرما و تیمار شاهد گلخانه‌ای از نظر شاخص وزن ریشه با یکدیگر اختلاف معنی‌داری نداشـتند. بـا اینحـال تیمـار شـاهد دارای کمترین وزن ریشه (در دو آزمایش بطور میـانگین دارای ۲۵۷/۵ گرم) و تیمار *T.harzianum* Z1 دارای بیشـترین وزن ریشه(در دو آزمایش بطور میانگین دارای ۳۰۱/۲۵ گـرم) بودنـد که نشان می‌دهد تیمار اخیر موجـب افـزایش وزن ریشـه‌هـای چغندرقند گردیده به میزان ۴۳/۷۵ گـرم (در حـدود ۱۷ درصـد) شده است.

جدول٤ مقایسه میانگین اثر جدایه‌های تریکودرما در کنترل بیماری پوسیدگی ریشه ناشی از قارچ *R. solani* AG2-2

تیمارها	شدت پوسیدگی ریشه		میانگین وزن ۱۰ ریشه (گرم)	
	آزمایش اول	آزمایش دوم	آزمایش اول	آزمایش دوم
Z1	۱/۷۵ ^{b}±۰/۵۰	۱/۵ ^{b}±۰/۵۸	۳۰۷/۵ ^{a}±۵۵	۲۹۵ ^{a}±۲۷/۱
Z2	۲ ^{b}±۰/۸۲	۲ ^{b}±۰/۴۰	۲۹۷/۵ ^{a}±۴۱/۴	۲۸۵ ^{a}±۳۴/۲
Z4	۲/۵ ^{b}±۰/۵۸	۲/۵ ^{b}±۰/۷۸	۲۹۲/۵^{a}±۳۷/۷	۲۷۰ ^{a}±۱۸/۳
Z10	۳ ^{b}±۰/۴۱	۲/۵^{b}±۰/۸۸	۲۸۷/۵ ^{a}±۳۵	۲۶۷/۵ ^{a}±۳۸/۶
شاهد	۶/۲۵ ^{a}±۰/۹۶	۵/۷۵^{a}±۰/۹۱	۲۷۰ ^{a}±۴۶/۹	۲۴۵ ^{a}±۳۱/۱

در هر ستون میانگین‌های با حروف مشابه فاقد تفاوت معنی‌دار در سطح پنج درصد می‌باشند.

ج) نتایج بررسی‌های مزرعه‌ای

نتایج تجزیه واریانس مرکب دو ساله تیمارهای آزمایش که در بررسی‌های مزرعه‌ای این تحقیق در جدول ۵ آمده است، نشان داد که اثر سال بر تیمارهای آزمایش معنی‌دار نبوده است و تیمارهای آزمایش از نظر شاخص‌هـای درصـد بـروز بیمـاری (DI) و نیز شدت آلودگی (DS) بـه بیمـاری پوسـیدگی ریشـه ناشی از قارچ ریزوکتونیا با یکدیگر اختلاف معنی‌داری (در سطح ۱٪) داشتند.

مقایسه میانگین تیمارهای آزمایش با روش آزمون چند دامنه دانکن (جدول ۶) نشان می‌دهد که تیمارهای آزمـایش از نظر درصد آلودگی و شـدت بیمـاری پوسـیدگی ریزوکتونیـایی ریشـه در گـروه‌های مختلفی قرار گرفتند، به طوری کـه تیمـار *T. harzianum* Z_1 با ۲۶/۱۳ درصد آلودگی و شـدت آلـودگی به میزان ۲/۸۱ به عنوان برترین تیمار و تیمار شاهد بـا ۷۷/۸۸ درصد آلودگی و شدت آلودگی به میزان ۶/۳۷ آلوده‌ترین تیمـار ارزیابی گردیدنـد. بـه بیـان دیگـر در ایـن تحقیـق جدایـه Z_1 تریکودرمـا درصـد آلـودگی و شـدت بیمـاری پوسـیدگی ریزوکتونیایی ریشه چغندرقند را نسبت به تیمار شاهد به ترتیب به میزان ۶۶/۴ و ۵۶ درصد کاهش داد.

www.SID.ir

Archive of SID

جدول۵ تجزیه واریانس دو ساله تیمارهای آزمایش از نظر شاخص‌های مورد بررسی

منابع تغییرات	درجه آزادی	درصد آلودگی شانکر ریزوکتونیایی	شدت آلودگی شانکر ریزوکتونیایی
سال	۱	۱۱۲/۴۲۲۵۰ ^{ns}	۰/۲۷۲۲ ^{ns}
خطای سال	۶	۳۵/۰۲۵۰	۰/۳۵۱۵
تیمار	۴	۴۸۸۶/۰۶۲۵ **	۲۰/۴۲۳۵ **
سال× تیمار	۴	۴/۴۱۲۵ ^{ns}	۰/۰۸۲۲۶ ^{ns}
خطا	۲۴	۵۲/۱۷۰۸	۰/۵۲۸۸
ضریب تغییرات	--	۱۵	۱۶/۱

** و ns به ترتیب معنی‌داری در سطح یک درصد و عدم معنی داری را نشان می‌دهند.

جدول۶- مقایسه میانگین دو ساله تیمارهای آزمایش از نظر شاخص‌های مورد بررسی

تیمارهای آزمایش	درصد پوسیدگی ریزوکتونیایی ریشه	شدت پوسیدگی ریزوکتونیایی ریشه
T. harzianum Z_1	۲۶/۱۳ ^{c}۴±/۶۱	۲/۸۱^{c}±۰/۳۰
T. atroviridae Z_2	۳۵/۸۸^{b} ۷±/۹۵	۴/۱^{b}۰±/۶۴
T. orientalis Z_4	۲۹ ^{bc}± ۸/۵۲	۳/۳ ^{c}۰±/۶۰
قارچ‌کش کاربوکسین- تیرام	۷۱/۷۵ ^{a}± ۵/۲۰	۶ ^{a}±۱/۰۲
شاهد	۷۷/۸۸ ^{a}± ۶/۵۸	۶/۳۷ ^{a}± ۰/۵۴

در هر ستون میانگین‌های با حروف مشابه فاقد تفاوت معنی‌دار در سطح احتمال پنج درصد می‌باشند.

بحث

بیماری پوسیدگی ریشه چغندرقند ناشی از قارچ *R. solani* از مهمترین بیماری‌های این محصول در استان همدان و سایر مناطق چغندرکاری کشور محسوب می‌شود. کنترل این بیماری به دلایل مختلف مانند خاکزی بودن، قدرت ساپروفیتی بالای عامل بیماری و همچنین داشتن میزبان‌های متعدد زراعی و غیرزراعی آن ، با روش‌های معمول به سختی امکان‌پذیر بوده و استفاده از سموم شیمیایی نیز چندان مؤثر نبوده است. تاکنون در خصوص کنترل بیولوژیکی این بیماری و استفاده از عوامل مفید آنتاگونیست موجود در طبیعت، تحقیقات زیادی انجام شده و برخی از آنها با موفقیت زیادی همراه بوده است. اینگونه روش‌ها با توجه به اینکه منطبق بر اصول محیط زیست و در راستای کشاورزی پایدار می‌باشند در نزد متخصصین، مسئولین و آحاد جامعه از اهمیت زیادی برخوردار هستند.

این تحقیق به منظور غربال کردن ۱۱ جدایه قارچ تریکودرما (متعلق به ۱۰ گونه) از نظر کنترل عامل پوسیدگی ریشه چغندرقند *R. solani* AG2-2 در شرایط آزمایشگاه، گلخانه و مزرعه انجام گردید.

نتایج بررسی‌های آزمایشگاهی این تحقیق نشان داد، تمامی جدایه‌های قارچ تریکودرما پس از رشد و برخورد با هیف‌های قارچ‌های بیمارگر با مکانیسم‌های مختلف، توانستند موجب توقف رشد بیمارگر شده و تعدادی از آنها نیز پس از متوقف کردن رشد بیمارگر شروع به استقرار و اسپرزایی بر روی میسلیوم آنها نمودند. این موضوع بیانگر تأثیر گونه‌های مختلف قارچ آنتاگونیست تریکودرما در جلوگیری از رشد ساپروفیتی بیمارگر مورد بررسی نسبت به تیمار شاهد می‌باشد. بررسی‌های میکروسکوپی مکانیسم تاثیر جدایه‌های تریکودرما بر روی بیمارگر مورد بررسی نشان داد، این جدایه‌ها با پیچش هیفی، نفوذ و متلاشی کردن هیف، رشد میسلیومی بیمارگر را متوقف کرده و در نهایت موجب از بین رفتن آن می‌شوند.

www.SID.ir

Archive of SID

در این تحقیق در شرایط آزمایشگاهی، برترین خواص آنتاگونیستی در بین ۱۱ جدایه مورد بررسی، در جدایه‌های Z1 *T. harzianum*، *T. atroviride* Z2، *T. orientalis* Z4 و *T. atroviride* Z10 مشاهده گردید، به‌طوری‌که در آزمون کشت متقابل جدایه *T. harzianum* Z1 موجب ۷۶/۵۷ درصد بازدارندگی رشد قارچ بیمارگرگردید. درآزمون متابولیت‌های فرار نیز بیشترین بازدارندگی رشد بیمارگر در تیمار*T.atroviride* Z10 با ۵۸/۹۲ درصد مشاهده گردید. همچنین غلظت‌های ۱۵ و۳۰ درصد مواد خارج سلولی جدایه *T. orientalis* Z4 به ترتیب موجب ۴۷/۵ درصد و ۷۷/۷ درصد در بازدارندگی رشد قارچ بیمارگرگردیدند. در تحقیقات مشابهی نیز خت و بیکر (Chet and Baker 1980) و نیز لویس و پاپاویزاس (Lewis and Papavizas 1991) مشاهده کردند زمانی که هیف قارچ‌های *T. viride* از دیوارهٔ سلولی *R. solani* به عنوان تنها منبع کربن موجود در محیط استفاده می‌کند ، میزان ترشح آنزیم بتا ۱ و۳ گلوکاناز و کیتیناز افزایش یافته و در نتیجه لیز شدن مسیلیوم و دیواره‌های سلولی این قارچ شدت می‌یابد.

مقایسه اثر جدایه‌های تریکودرما در کنترل بیماری پوسیدگی ریزوکتونیایی چغندرقند در شرایط گلخانه‌ای نشان داد جدایه *T.harzianum* Z1 نسبت به سایر جدایه‌ها برتر بوده و شدت پوسیدگی ریشه را به میزان ۷۲ درصد نسبت به تیمار شاهد کاهش داده است. موفقیت آمیز بودن تأثیر جدایه‌های دیگری از این گونه تریکودرما بر عوامل مختلف بیماری‌زای چغندرقند در شرایط گلخانه قبلاً توسط بسیاری از محققین گزارش گردیده است. چنانچه شهیری طبرستانی و همکاران (Shahiri Tabarestani *et al*. 2005) در بررسی کنترل بیولوژیکی ریزوکتونیایی ریشه چغندرقند با استفاده ازجدایه‌های مختلف قارچها و باکتری‌های آنتاگونیست نشان دادند جدایه *T. harzianum* Th .Bi در شرایط آزمایشگاهی و گلخانه‌ای (به روش آلوده‌سازی خاک) به ترتیب موجب ۸۹/۸ درصد بازدارندگی رشد (در شرایط آزمایشگاهی) و ۶۶/۷ درصد کاهش بروز بیماری گردیده است.

نتایج بررسی‌های گلخانه‌ای در خصوص جدایه‌های تریکودرما در رشد بوته‌های چغندرقند نشان داد، وزن ریشه بوته‌های چغندرقند در تیمارهای مربوط به جدایه‌های تریکودرما در مقایسه با تیمار شاهد اختلاف معنی‌داری ندارند. با این وجود تمامی جدایه‌های مورد بررسی موجب افزایش وزن ریشه‌های چغندرقند گردیدند و جدایه *T. harzianum* دارای بیشترین افزایش به میزان ۱۶/۶ درصد نسبت به شاهد بود. نتایج تحقیقات هارمن (Harman 2006) نیز نشان داده است که قارچ تریکودرما با کلونیزه کردن ریشه گیاهان و ترشح مولکول‌های فعال زیستی به داخل سلول‌های ریشه و همچنین قابل حل نمودن فسفات‌ها و عناصر میکرو موجب تقویت گیاه و افزایش رشد آن می‌گردد.

نتایج بررسی‌های مزرعه‌ای نشان داد، جدایه *T. harzianum* Z_1 موجب کاهش ۶۶/۴ درصد وقوع آلودگی و همچنین کاهش ۵۵/۹ درصد شدت پوسیدگی ریشه نسبت به تیمار شاهد شده است. این نتایج با نتایج تحقیقات آبادا (Abada 1995) در مورد کاهش درصد آلودگی بوته‌ها به بیماری پوسیدگی ریشه چغندرقند و همچنین افزایش عملکرد محصول در شرایط گلخانه‌ای و مزرعه‌ای با کاربرد جدایه‌ای از قارچ *T. harzianum* مطابقت دارد. محققین دیگری مانند راپل و همکاران (Ruppel *et al*. 1983) نیز اثرات کنترل کنندگی قارچ *T. harzianum* را در کنترل بیماری پوسیدگی ریزوکتونیایی ریشه چغندرقند گزارش کرده‌اند. پاپکووا و فدروچنکو (Popkova and Fedorchenko 1992) و نیز داشوود و همکاران (Dashwood and Fox 1993) نیز نشان

www.SID.ir

Archive of SID

داده‌اند که چنانچه بعد از یک دوره آفتاب‌دهی قارچ انتاگونیست *T. harzianum* به خاک اضافه شود به راحتی در خاک مستقر و موجب کنترل قارچ‌های بیماری‌زای خاکزی می‌شود.

با توجه بـه نتـایج مزرعـه‌ای ایـن تحقیـق، همچنـین مشخص گردید تیمار قارچ‌کش با ۷۱/۷۵ درصد آلودگی و شدت آلودگی ۶، آلوده‌ترین تیمار پس از تیمار شاهد بوده و قارچ‌کـش کاربوکسین تیرام اثـر بسـیار کمـی در کنتـرل پوسـیدگی‌هـای ریزوکتونیایی ریشه داشته اسـت. علـت ایـن موضـوع احتمـالاً فاصله زمانی طولانی بین زمان مصـرف قـارچ‌کـش (بصـورت ضدعفونی بذر) تا زمان آلودگی ریشه‌های بالغ که چند هفته بعد رخ داده است می‌باشد.

به‌طورکلی نتایج این تحقیق بسیار امیدبخش بوده و امکان کنترل بیولوژیکی پوسیدگی ریزوکتونیایی ریشه چغندرقند با جدایه *T. harzianum* Z_1 را نشان می‌دهد. این موضوع بخصوص از دیدگاه زیست محیطی بسیار با اهمیت است، برای این منظور و استفاده کاربردی از نتایج این تحقیق در مزارع آلوده، بایستی جدایه مذکور به صورت فرمولاسیون‌های مناسب تجاری، برای آغشته‌سازی بذور چغندرقند و یا اینکه فرمولاسیون مناسبی جهت استفاده در دستگاه کمبینات کاشت بذور چغندرقند تهیه گردد. در این‌صورت با جایگزین کردن این جدایه به جای سموم قارچ‌کش، می‌توان در کاهش آلودگی‌های شیمیایی آب و خاک ناشی از مصرف سموم قارچ‌کش در خاک بهره جست.

سپاسگزاری

نگارندگان از کمک‌های بی‌دریغ رییس محترم مؤسسه تحقیقات چغندرقند و تمامی همکاران بخش تحقیقات گیاه‌پزشکی مرکز تحقیقات و آموزش کشاورزی و منابع طبیعی استان همدان به دلیل همکاری در اجرای این تحقیق و در اختیار قراردادن تجربیات بسیار مفید خود، کمال سپاسگزاری را دارند.

منابع مورد استفاده

References:

Abada KA. Fungi causing damping–off and root rot on sugar beet and their biological control with *Trichoderma harzianum*. Agriculture Ecosystem and Environment. 1995. 51(3):333–337.

Abdollahi m, Ommati f, Zaker m. Efficacy of some native trichoderma isolates in biological control of *pythium aphanidermatum*, the causal agent of sugar beet root rot under green house condition. Bio Control In Plant Protection. 2013.1(1):41-52.

Anonymous. Cultivation area and yield statistics of sugar beet in the world. Food and Agriculture Organization. 2016. (FAO). URL: http://faostat.fao.org.

Arjmandian A, Ershad J. Identification and distribution area of sugar beet fungal root rot disease in Hamadan provinc. 16th Iranin Plant Protection Congress.Tabriz. 28 Agust-1 September 2004. P.138. (in Persian)

Bazgir A, Okhovat M. Biological control of *Rhizoctonia solani*, the casual agent of damping-off and seed rot of bean by certain isolates of antagonistic fungi. Iranian Journal of Agricultural Science. 1996. 27: 89-98. (in Persian, abstract in English)

www.SID.ir

Archive of SID

Benitez T, Rincon AM, Limon MC, Codon AC. Biocontrol mechanisms of Trichoderma strains. International Microbiology. 2004;7:249–260.

Bolton MD, Panella L, Campbell L, Khan MFR. Temperature, moisture, and fungicide effects in managing Rhizoctonia root and crown rot of sugar beet. Phytopathology. 2010.10:689-697.

Buttner G, Pfahler B, Marlander B. Greenhouse and field techniques for testing sugar beet for resistance to Rhizoctonia root and crown rot. Plant Breeding. 2004.123:158-166.

Chet I, Baker R. Inducalion of suppressiveness to *Rhizoctonia solani* in soil. Phytopathology 1980. 70(10):994-998.

Ciliento R, Woo S, Ambrosino P, Scala V, Ruocco M, Marra R, Lorito M. Targeted disruption of a new endochitinase-encoding gene in *Trichoderma atroviride*. Journal of Plant Pathology. 2003. 85(4):275-280.

Daguerre Y, Siegel K, Edel-Hermann V, Steinberg C. Fungal proteins and genes associated with biocontrol mechanisms of soil-borne pathogens: a review. Fungal Biological Reviews. 2014. 28:97-125.

Dashwood E, Fox JM. Effect of substrate and plant maturity of the Incidence of infection of potato root by pathogenic and non-pathogenic fungi. Mycologieal Research. 1993 .94(6):745.775.

Dennis C, Webster J. Antagonistic properties of species- groups of Trichoderma (I. Production of non-volatile antibiotics). Transactions of the British Mycological Society. 1971a. 57:25-39.

Dennis C, Webster J. Antagonistic properties of species groups of Trichoderma (II .Production of volatile antibiotics. Transactions of the British Mycological Society. 1971b. 57(1):41-48.

Gray FA, Gerik JS. Biology and management of Sugar beet disease in the bighorn River Basins of Wyoming. University of Wyoming. Cooprative Extension Service Bulletin. B-1063. 1998. 23pp.

Harman GE, Howell CR, Viterbo A, Chet I, Lorito M. Trichoderma species. opportunistic, avirulent plant symbionts. Nature Reviews Microbiology, 2004. 2:43-56.

Harman GE. Overview of mechanisms and uses of *Trichoderma* spp. Phytopathology 2006. 96:190-194.

Harveson RM, Hanson LE, Hein GL. Compendium of beet diseases and pests (2nd edn). St. Paul, MN: The American phytopathological society 2009.

John RP, Tyagi RD, prevost D, Brar SK, Pouler S, Surampalli RY. Mycoparasitic Trichoderma viride as a biocontrol agent against *Fusarium oxysporum* f. sp. *Adzuki* and *Pythium arrhenomanes* and as a growth promoter of soybean. Crop Protection. 2010. 29:1452–1459.

Kanzaz ML, Badr MM, EL-Zahaby HM, Gouda MI and Taborsky V. Biological control of Seedling Damping-off and root rot of sugar beet plants. Diseases resistance in plant pathology. Proceedings of the 6th conference of Europpean Foundation for plant pathology. Plant Protection Science. 2002. 2:645-647.

Keswani C, Mishra S, Sarma B, Singh S, Singh H. Unraveling the efficient applications of secondary metabolites of various *Trichoderma* spp. Applied Microbiology and Biotechnology. 2014. 98:533-544.

Khodae, M, Hemmati, R. Evaluation of Trichoderma Isolates for Biological Control of Rhizoctonia Root Rot of Bean in Zanjan. Journal of Plant Protection. 2016. 29(4):471-480.

www.SID.ir

Archive of SID

Lewis JA, Papavizas GC. Effect of mycelial Preparations of Trichoderma and Gliocladium on population of *Rhizoctionia solani* and the incidence of damping–off. Phytopathology. 1985. 75(7):812-817.

Lewis JA, Papavizas GC. Biocontrol of plant diseases: the approach for tomorrow. Crop Protection. 1991. 10:95-105.

Manczinger L, Antal Z, Kredics L. Ecophysiology and breeding of mycoparasitic Trichoderma strains. Acta Microbiologica et Immunologica Hungarica. 2002. 49(1): 1-14.

Mohammadi S, Mansoori B, Zamanizadeh HR, Heydari A. Antagonistic mechanisms of *Trichoderma* spp. against *Rhizoctonia solani*, the causal agent of chickpea wet root rot disease. Plant Protection Journal. 2009. 1:71- 85. (in Persian, abstract in English)

Monte E. Understanding Trichoderma: between biotechnology and microbial ecology. International Microbiology. 2001. 4:1-4.

Naraghi L, Heydari A, Hesan A, Sharifi K. Evaluation of *Talaromyces flavus* and *Trichoderma harzianum* in biological control of sugar beet damping-off disease in the greenhouse and field conditions. International Journal of Agricultural Science and Research. 2014. 4(1):65-74.

Nashwa MA, Sallam KA, Abo-Elyousr M, Hassan MAE. Evaluation of *Trichoderma* species as biocontrol agents for damping-off and wilt diseases of *Phaseolus vulgaris* L. and efficacy of suggested formula. Phytopathology. 2008. 36: 81-93.

Nazmi Roodsari, F, Zafari D, Khodaparast SA, Rouhani H. New species of Trichoderma for Iran. Rostaniha. 2007. 8:67-83. (in Persian)

Niknejade Kazempour M, Pedramfar H, Elahinia SA. Study on the effect of several fungicides and antagonistic fungi against the causal agent of rice sheath blight, *Rhizoctonia solani.* Journal of Science and Technology of Agriculture 2003. 6(4):151-158.

Pandya JR, Sabalpara AN, Chawda SK. Trichoderma: A particular weapon for biological control of phytopathogens. Journal of Agricultural Technology. 2011. 7:1187-1191.

Papavizas GS. Trichoderma and Gliocladium. Biology, ecology and potential for biocontrol. Annual Review of Phytopathology. 1985. 23:23-54.

Parmar, HJ, Bodar, NP, Lakhani, HN, Patel, SV, Umrania, VV, Hassan, MM. Production of lytic enzymes by *Trichoderma* strains during in vitro antagonism with *Sclerotium rolfsii*, the causal agent of stem rot of groundnut. African Journal of Microbiology Research. 2015. 9(6):365-372.

Pedram A, Mahmoodi SB, Khorshid A, Fotoohi K. Evaluation of Resistance to Rhizoctonia Root and Crown Root Diseases in Iranian and Exotic Cultivars. 10th Iranian National Crop Science Congress. Karaj.18-20 Agust 2008. P.426. (in Persian)

Popkova KV, Fedorchenko GL. Sourees of Infection In potato tubers during vegetative growth. Izvestiya timiryazerski sel skohozyaaistvennoi Arademii 1992. 1:62-70.

www.SID.ir

Archive of SID

Rouhani H, Karimi A. Noparast F. Effect of several *Trichoderma* isolates in biological control of *Rhizoctonia solani.* Applied Entomology and Phytopathology.1991. 58: 17–25. (in Persian, abstract in English)

Ruppel EG, Baker R, Harmen GE, Hubbard JP. *Trichoderma harzianum* Rifai aggr. as a biocontrol agent of seedling disases in several crops and *Rhizoctonia solani* root rot of sugar beet. Crop Protection. 1983. 2:399–408.

Schuster A, Schmoll M. Biology and biotechnology of Trichoderma. Applid. Microbiology and. Biotechnology. 2010. 87:787-799.

Shahiri Tabarestani M, Falahati Rastegar M, Jafarpour B, Rohani H. Investigating the possibility of biological control of sugar beet daming-off by isolates of *Trichoderma harzianum*. Journal of Sugar Beet. 2005. 21(1):57-75. (in Persian, abstract in English)

Skidmore AM, Dickinson CH. Colony interactions and hyphal interference between *Septoria nodorum* and phylloplane fungi. Transactions of the British Mycological Society, 1976. 66:57– 64.

Smolińska U, Kowalska B, Oskiera M. The effectivity of *Trichoderma* strains in the protection of cucumber and lettuce against *Rhizoctonia solani.* Vegetable Crops Research Bulletin. 2007. 67: 81-93.

Sneh B, Burpee L, Ogoshi A. Identification of Rhizoctonia Species. APS Press, Minnesota, USA. 1991. 133PP.

Subash N, Meenakshisundaram M, Sasikumar C. In vitro evaluation of different strains of *Trichoderma harzianum* as biocontrol agents of chilli. International Journal of Biology, Pharmacy and Allied Sciences. 2013. 2(2):495-500.

Tripathi P, Singh PC, Mishra A, Puneet S, Chauhan, Dwivedi S, Thakur R, Deo B, Tripathi R. *Trichoderma*: a potential bioremediator for environmental cleanup. Clean Technologies Environtal Policy. 2013. 15:541-550.

Welles HD. Trichoderma as a biocontrol agent,"In Biocontrol of Plant Disease. 1988.1:71-82.

www.SID.ir