

# مبارزه بیولوژیک با جداشده هایی از قارچهای آنتاگونیست علیه *Rhizoctonia solani* عامل پوسیدگی بذر و مرگ گیاهچه لوبیا

عیدی بازگیر و محمود اخوت

بترتیب مربی دانشکده کشاورزی خرم آباد لرستان و دانشیار گروه گیاهپزشکی

دانشکده کشاورزی دانشگاه تهران

تاریخ پذیرش مقاله ۷۴/۷/۵

## خلاصه

در آزمایش اضافه کردن اسپر جداشده هائی از گونه های قارچهای آنتاگونیست *Gliocladium* به خاک آلوده به *T.harzianum*, *Trichoderma viride*, *virens* به میزان  $10^7$  عدد اسپر به هر گرم خاک گلدانی آلوده به *Rhizoctonia solani* و کاشت بذر لوبیا در گلدان در گلخانه به طور همزمان در مقایسه با تیمارهای ضدعفونی بذر با قارچکشی بنومیل، تیابندازول و کاربوکسین در کنترل بیماری موثر تر از تیمارهای دیگر بود. اضافه کردن تریکودرما به خاک آلوده به ریزوکتونیا یک ماه قبل از کاشت بذر لوبیا باعث کاهش بیماری مرگ گیاهچه و پوسیدگی بذر به میزان ۳۹ و ۴۲ درصد نسبت به شاهد آلوده در مورد دو گونه قارچ مذکور گردید. تعداد گیاهچه در تیمار شاهد آلوده به قارچ بیماریزا ۸۴ درصد تقلیل یافت. کشت قارچهای آنتاگونیست روی سبوس گندم مرطوب استریل و کاربرد آنها به مقدار ۱۰۰ گرم در هر متر طولی خطوط کاشت در خاک آلوده به ریزوکتونیا در مزرعه تاثیر بهتری از تیمارهای ضدعفونی بذر با بنومیل و PCNB<sup>۱</sup> (به نسبت ۲ گرم برای هر کیلوگرم بذر) داشت. جدا شده های *T.harzianum*، *T.viride* و *G.virens* به ترتیب ۵۳، ۵۰ و ۲۵ درصد مرگ گیاهچه را در مقایسه با تیمار شاهد آلوده به ریزوکتونیا در مزرعه کاهش دادند.

## مقدمه

و کنترل این بیماری با وجود رعایت روشهای شیمیایی، فیزیکی، آیش و تناوب، تهیه ارقام مقاوم و گزارشهای موفق تاثیر گونه های تریکو درما در کاهش خسارت بیماری در جهان، لذا تحقیقاتی در این جهت با جداشده هایی از *Trichoderma Pers.exFr.* و گونه *Gliocladium virens* Miller, Giddens & Forster در گلخانه و مزرعه لازم به نظر رسید.

قارچ *R.solani* پاتوژنی است خاکزی که دارای دامنه میزبانی وسیع بوده و علاوه بر خسارتی که به اندامهای زیر زمینی گیاهان می رساند روی اندامهای هوایی نیز بیماریهایی ایجاد می نماید. گونه های تریکودرما با داشتن خاصیت آنتاگونیستیک<sup>۱</sup> شدید با بسیاری از

لوبیا (*Phaseolus vulgaris* L.) گیاهی است از خانواده بقولات (Fabaceae) که به علت داشتن غده های ریزوبیوم روی ریشه در افزایش ازت خاک از طریق تثبیت ازت هوا موثر می باشد. دانه های آن حاوی ۲۲-۲۰ درصد پروتئین بوده که در جیره غذایی اهمیت زیاد دارد و بوته ها در تعلیف دامها مورد استفاده قرار می گیرد. این گیاه مورد حمله آفات و عوامل بیماریزای متعددی قرار می گیرد که خسارت بیماری مرگ گیاهچه و پوسیدگی بذر ارقام مختلف آن در اثر حمله قارچ *Rhizoctonia solani* Kühn از ۵ تا ۴۰ درصد از بیماریهای مهم لوبیا می باشد (۱). با توجه به اشکالات زیاد در مبارزه

قارچهای بیماریزای گیاهی از جمله موفق ترین عوامل کنترل بیولوژیکی محسوب می شود.

این قارچها با ترشح آنتی بیوتیکها<sup>۱</sup>، آنزیمها<sup>۲</sup> و همچنین پارازیتسم<sup>۳</sup>، باعث متلاشی شدن ریشه ها و ایجاد اختلالات فیزیولوژیکی در قارچهای بیماریزای گیاهی می گردند و از جمله کلنیزاتورهای خوب خاک بوده و از قدرت رقابت و بقاء ساپروفیتی بسیار خوبی برخوردارند (۱۶). وجود این قارچها در خاکهای ایران گزارش شده و روی مواد آلی به خوبی رشد کرده و تکثیر می یابند بطوریکه می توان آنها را استخراج نموده و بر علیه عوامل بیماریزا مورد استفاده قرار داد (۲). تحقیقات دنیس و وبستر نشان داد که علاوه بر ترشحات خارج سلولی گونه های تریکودرما تولید ترکیبات فرار می نمایند که اثر بازدارندگی در رشد قارچهای بیماریزای گیاهی دارند (۸). بازگیر، روحانی و همکاران تاثیر جدا شده هایی از تریکودرما را روی ریزوکتونیا بررسی نموده و به نتایجی دست یافته اند (۲ و ۳). کایزروهانان دریافتند که بیماری پوسیدگی بذر و مرگ گیاهچه نخود در اثر *Pythium* بوسیله آغشته کردن بذر باکنیدیهای *Penicillium oxalicum* Gurrrie & Thom تقلیل می یابد (۱۱). کولت کاربرد گونه هایی از تریکودرما را در خاک بر علیه بیماریهای حاصل از حمله *Sclerotium rolfsii* Sacc روی بادام زمینی موثر دید (۱۲). مصرف *Trichoderma harzianum* در خاک و بصورت پوشش دادن میوه های گوجه فرنگی بیماری پوسیدگی میوه در اثر *R.solani* به ترتیب ۴۳٪ و ۸۵٪ کاهش یافته است (استراشنوو همکاران) (۱۸). لومسدن و لوک در بین ۵۰ جدا شده از عوامل آنتاگونیست قارچ گلیوکلیدیوم ویرنس را در کنترل مرگ گیاهچه آهار، پنبه و کلم که در اثر قارچهای *R.solani*, *Pythium ultimum* Trow ایجاد شده موثر دیدند. آنها تاثیرات متفاوتی از جدا شده های این قارچ را روی دو گونه بیماریزا مشاهده نمودند و تاکید بر کاربرد آن قبل از بذر کاری حتی به مدت ۲ ماه کرده اند (۱۴).

### مواد و روشها

گونه های قارچهای *T.harzianum*, *G.virens*, *T.viride* Pers.ex Gray به منظور بررسی اثر آنتاگونیستی آنها علیه بیماری پوسیدگی بذر و مرگ گیاهچه لوبیا مورد استفاده قرار گرفت. این

گونه ها از خاک مناطق مختلفی جدا گردید و با استفاده از کلیدهای ریفائی و دمس و همکاران شناسائی شد که در جدول ۱ آمده است و تاثیر شان در گلخانه و مزرعه به روشهای زیر روی قارچ *R.solani* جدا شده از لوبیای کرج بررسی گردید (۱۷ و ۹).

۱ - تاثیر قارچهای آنتاگونیست روی بیماری مرگ گیاهچه و پوسیدگی بذر لوبیا در مقایسه با اثر چند قارچکش در شرایط گلخانه، این بررسی در دو مرحله بشرح زیر بعمل آمد.

الف - کاربرد آنتاگونیستها در خاک و با بذر در کاشت همزمان لوبیا و مقایسه اثر چند قارچکش. این آزمایش به منظور تعیین اثر چند آنتاگونیست در کاهش بیماری مرگ گیاهچه و پوسیدگی بذر لوبیا و مقایسه آن با تاثیر ضد عفونی بذر با قارچکشها انجام شد. در این بررسی از لوبیای سفید رقم صدف استفاده شد و آزمایشی در یک طرح کاملاً تصادفی شامل ۴ تکرار در ۱۳ تیمار در گلخانه اجرا گردید. خاک گلدانها بجز تیمار شاهد غیر آلوده به نسبت ۱۰ درصد حجمی به اینوکولم *R.solani* [قارچ تکثیر شده روی محیط آرد ذرت و ماسه استریل (به نسبت ۵ و ۹۵ درصد) به مدت یک ماه] جدا شده از لوبیای کرج مخلوط کرده و در تیمار شاهد غیر آلوده فقط آرد ذرت و ماسه به همان مقدار اضافه گردید. (جدول ۱،  $\frac{2}{3}$  حجم گلدانها را خاک ضد عفونی شده ریخته و بقیه حجم گلدان را با توجه به تیمار مربوطه از خاک استریل (اتوکلاوشده به مدت یک ساعت در ۱۲۰ درجه سانتیگراد) مخلوط با اینوکولم قارچ پر شد. برای اضافه نمودن قارچهای آنتاگونیست به خاک، سوسپانسیون<sup>۴</sup> آنها راتپیه نموده و بعد از شمارش اسپر توسط لام گلبول شمار<sup>۵</sup> به تعداد ۱۰<sup>۷</sup> عدد اسپر برای هر گرم خاک آبیاری شده اضافه گردید. جهت آغشته نمودن بذور به این قارچها، سوسپانسیون غلیظی از اسپر آنها را تهیه نموده و سپس بذور لوبیا را در آن غوطه ور کرده و بهم زده تا اسپرها به سطح بذور قرار گیرد. بعداً به طور اتفاقی تعدادی بذور را جدا کرده و اسپرهای سطح آن را شسته و بوسیله لام گلبول شمار تعداد اسپر برای هر گرم بذر شمارش و مشخص گردید. در هر گلدان یا تکرار ۲۵ بذر لوبیا کاشته و گلدانها در گلخانه با نور روزانه و حرارت ۲۷-۲۰ درجه سانتیگراد نگهداری و هر دو روز یکبار آبیاری انجام گرفت. برای ضد عفونی بذر با قارچکشها ابتدا بذور لوبیا را مختصری با آب مرطوب کرده و سم را به آنها افزوده و خوب بهم



۸/۴۰٪ شن) بود. هر تکرار شامل دو خط ۲ متری و در هر خط ۴۰ بذر لوبیا کاشته شد. فاصله بذور روی خطوط کاشت ۵ سانتیمتر و فاصله خطوط از همدیگر ۳۰ سانتیمتر بود. روی هر دو خط کاشت ۱۵۰ گرم مایه ریزوکتونیا ۴۰۰ گرم مایه قارچهای آنتاگونیست پخش شد و با خاک مخلوط گردید. در خطوط شاهد ۵۵۰ گرم سبوس بدون مایه اضافه شد. سپس شیاری روی خطوط کاشت ایجاد نموده و بذور لوبیا را در داخل شیاریها کاشته و روی آنها با خاک پوشانده شد. بلافاصله بعد از کاشت بذر آبیاری صورت گرفت و آبیاری های بعدی بنفواصل ۷ روز انجام شد. آماربرداری بطور هفتگی از گیاهچه های سبز شده و بدون علائم پرمردگی و مرگ گیاهچه صورت پذیرفت. از گیاهچه ها و بذرهایی که علائم بیماری را نشان دادند بطور تصادفی نمونه برداری و روی محیط PDA کشت داده شدند و مشخصات قارچ جدا شده از آنها با *R.solani* مطابقت نمود. تیمارهای این آزمایش به شرح جدول ۲ می باشد. داده های بدست آمده (تعداد گیاهچه) موجود ۲۰ روز بعد از کاشت مورد تجزیه و تحلیل آماری قرار گرفتند و گروه بندی میانگین تیمارها با استفاده از آزمون چند دامنه مقایسه میانگین های دانکن انجام گردیدند. درصد مرگ گیاهچه و پوسیدگی بذر و درصد کاهش مرگ گیاهچه در تیمارهای مختلف مطابق با فرمولهای آزمایش الف تعیین شدند.

### نتایج

۱ - در آزمایشات گلخانه ای ضد عفونی بذر با قارچکشهای بنومیل، کاربوکسین و تیابندازول (به نسبت ۲ گرم در کیلوگرم بذر) به ترتیب مرگ گیاهچه و پوسیدگی بذر لوبیا را به میزان ۵۱، ۴۰ و ۳۶ درصد کاهش دادند و بهترین اثر را در کنترل این بیماری نسبت به قارچکشهای دیگر نشان دادند. در کاشت همزمان بذر با اضافه نمودن اسپر تریکودرما (*Th1*, *Tv1*) و گلیوکلادیوم (*GV1*) به خاک گلدان ( $10^7$  اسپر برای هر گرم خاک) آلوده به ریزوکتونیا به ترتیب ۱۴، ۱۵ و ۱۷ درصد مرگ گیاهچه را کاهش داده و از آغشته کردن بذر به اسپر این قارچها بهتر بود (جدول ۳). در آزمایش دیگر که ریزوکتونیا در خاک گلدان یک ماه قبل از کاشت بذر بکار رفته و اسپر دو گونه تریکودرما (*Th1*, *Tv1*) بمیزان  $10^7$  اسپر به هر گرم خاک افزوده شده مرگ گیاهچه بیشتر بود و درصد کاهش بیماری در مورد این دو تیمار قارچهای آنتاگونیست به ترتیب ۳۹ و ۴۲ نسبت به

بندی تیمارها با استفاده از آزمون چند دامنه مقایسه میانگین های دانکن اجرا گردید و درصد گیاهچه های بیمار و درصد کاهش بیماری مرگ گیاهچه مطابق با دستور العمل آزمایش الف تعیین شد.

۲ - بررسی اثر قارچهای آنتاگونیست روی بیماری مرگ گیاهچه و پوسیدگی بذر لوبیا در مزرعه.

این آزمایش بمنظور تعیین کارایی قارچهای آنتاگونیست در کنترل بیماری مرگ گیاهچه و پوسیدگی بذر لوبیا در اثر قارچ *R.solani* در شرایط مزرعه و مقایسه آن با ضد عفونی بذر با قارچکشهای بنومیل و PCNB صورت گرفت. این آزمایش در مزرعه دانشکده کشاورزی در کرج انجام شد و مراحل آزمایش به شرح زیر است.

تهیه مایه قارچ ریزوکتونیا:

سبوس گندم مرطوب (به میزان ۲ برابر حجم سبوس آب اضافه گردید) به مدت یک ساعت در ۱۲۱ درجه سانتیگراد در اتوکلاو استریل شد. سپس به مدت یک هفته در حرارت ۳۰ درجه سانتیگراد و رطوبت نسبی ۸۰٪ نگهداری شد تا در اثر تخمیر نرم گردد. آنگاه سبوسها در دو روز متوالی هر روز به مدت یک ساعت در حرارت ۱۲۱ درجه سانتیگراد اتوکلاو گردید. به هر ارلن ۲ لیتری که مقدار ۱۲۰۰ گرم سبوسهای استریل وجود داشت یک پتری کشت ۴ روز قارچ جدا شده *R.solani* لوبیای دانشکده کشاورزی کرج روی محیط کشت PDA اضافه گردید. سپس ارلنها در حرارت ۲۵ درجه سانتیگراد به مدت ۲ هفته نگهداری شدند.

تهیه مایه آنتاگونیستها:

از سبوس مرطوب تهیه شده مانند روش فوق استفاده گردید و سوسپانسیون اسپر قارچهای تریکودرما و گلیوکلادیوم به میزان  $10^6$  اسپر در گرم سبوس اضافه شد. سبوسهای حاوی اسپر را در کیسه های پلاستیکی  $40 \times 20$  cm ریخته (هر کیسه ۱۲۰۰ گرم سبوس) و در اطاق رشد با حرارت ۲۵ درجه سانتیگراد و رطوبت نسبی ۸۰٪ به مدت ۲ هفته نگهداری شدند. در این روش از جدا شده های شهریار کرج (*T.viride* (*Tv1*) اهواز (*T.harzianum* (*Th2*) و کمال آباد کرج (*G.virens* (*Gv1*) استفاده گردیدند.

طرح آزمایش به صورت بلوکهای کامل تصادفی در ۳ تکرار با ۷ تیمار در مزرعه دانشکده کشاورزی کرج در مرداد ماه ۱۳۷۰ با استفاده از لوبیای سفید رقم صدف اجرا گردید مشخصات خاک مزرعه  $pH = 7/4$ ، بافت لومی (۲/۱۲٪ رس، ۳۸٪ سیلت و

جدول ۲ - تیمارهای آزمایش بررسی اثر قارچهای آنتاگونیست روی بیماری مرگ گیاهچه و پوسیدگی بذر لوبیا و متایسه آنها با دو نوع قارچکش در مزرعه

ردیف	تیمار	شرح <sup>۱</sup>
۱	شاهد غیر آلوده	۵۵۰ گرم سبوس در هر دو خط ۲ متری (هر تکرار)
۲	شاهد آلوده به مایه <i>R.solani</i>	۱۵۰ گرم مایه ریزوکتونیا و ۴۰۰ گرم سبوس در دو خط ۲ متری
۳	ضد عفونی بذر با بنومیل ۵۰٪	خاک آلوده به ریزوکتونیا و سبوس <sup>۱</sup> (۲ گرم قارچکش برای هر کیلوگرم بذر)
۴	(T.V1) جدا شده <i>T.viride</i> از شهریار کرج	خاک آلوده به ریزوکتونیا و سبوس مایه تریکودرما
۵	(Th2) جدا شده <i>T.harzainum</i> اهواز	خاک آلوده به ریزوکتونیا و سبوس مایه تریکودرما
۶	(GV1) جدا شده <i>G.virens</i> از کمال آباد کرج	خاک آلوده به ریزوکتونیا و سبوس مایه گلیسوکلدیوم
۷	ضد عفونی بذر با PCNB ۲۰٪	خاک آلوده به ریزوکتونیا و سبوس (۲ گرم برای هر کیلوگرم)

۱ - در کلیه تیمارها ۵۵۰ گرم سبوس برای هر ۲ خط ۲ متری بکار رفت (شامل ۱۵۰ گرم مایه *R.solani* و ۴۰۰ گرم سبوس مایه آنتاگونیست در تیمارهای ضد عفونی بذر نیز علاوه بر مایه ریزوکتونیا ۴۰۰ گرم سبوس مصرف شد).

جدول ۳ - مقایسه تاثیر جدا شده های چند گونه قارچ آنتاگونیست و چند قارچکش در کاهش بیماری مرگ گیاهچه و پوسیدگی بذر لوبیا در اثر قارچ *R.solani* در کاشت همزمان گلخانه ای، ۲۷ روز بعد از کاشت آمار برداری انجام شد

ردیف	تیمار	تعداد گیاهچه موجود	درصد گیاهچه بیمار	درصد کاهش بیماری	گروه بندی میانگین اعداد	
					تبدیل شده <sup>۱</sup>	
۱	شاهد غیر آلوده	۸۷	۰	۷۲	۴/۶۶	۱
۲	شاهد غیر آلوده به <i>R.solani</i>	۲۴	۷۲	۰	۲/۴۳	۶
۳	آغشتگی بذر به جدا شده کمال آباد <i>G.virens</i>	۳۳	۶۲	۱۰	۲/۸۳	۵
۴	آغشتگی بذر به جدا شده شهریار <i>T.viride</i>	۱۹	۷۸	-۶	۲/۱۴	۷
۵	آغشتگی بذر به جدا شده اهواز <i>T.harzianum</i>	۲۶	۷۰	۲	۲/۵۳	۶
۶	اضافه کردن اسپر <i>T.viride</i> شهریار به خاک	۳۸	۵۶	۱۴	۳/۰۳	۴
۷	اضافه کردن " <i>T.harzianum</i> اهواز به خاک	۳۷	۵۷	۱۵	۳/۰۲	۴
۸	اضافه کردن " <i>G.virens</i> کمال آباد	۳۹	۵۵	۱۷	۳/۰۷	۴
۹	ضد عفونی بذر با تیاندازول	۵۵	۳۶	۳۶	۳/۷۰	۳
۱۰	ضد عفونی بذر با بنومیل	۶۸	۲۱	۵۱	۴/۱۰	۲
۱۱	ضد عفونی بذر با کاربوکسین	۶۰	۳۲	۴۰	۳/۸۰	۳
۱۲	ضد عفونی بذر با تیرام	۳۴	۶۰	۱۲	۲/۸۷	۳
۱۳	ضد عفونی بذر با مانکوزب	۲۸	۶۷	۵	۲/۶۲	۵ و ۶

(۱) جهت توزیع نرمال در محاسبات آماری از  $\sqrt{X} + \frac{1}{2}$  استفاده شده و گروه بندیها بطریقه آزمون دانکن ( $\alpha = 1\%$ ) بعمل آمد.

شاهد آلوده گردید (جدول ۴).

قارچهای آنتاگونیست در خاک تاثیر بهتری نسبت به ضد عفونی بذر با قارچکشاها داشتند و مخلوط کردن خاک آلوده به ریزوکتونیا با مایه Tv1, Th1 و Gv1 به ترتیب سبب ۵۳، ۵۰ و ۲۵ درصد کاهش مرگ گیاهچه گردید.

بعد از ۲۷ روز از کاشت بذر، تعداد بوته موجود در گلدانها شمارش و به دلیل تغییرات زیاد با تبدیل به  $\sqrt{X} + \frac{1}{2}$  محاسبات آماری صورت گرفت و اختلاف معنی دار در سطح ۱٪ نشان داد لذا گروه بندیها انجام شد که نتایج در جدولهای ۳ و ۴ ثبت است.

۲ - در آزمایش بررسی اثر قارچهای آنتاگونیست روی بیماری در شرایط مزرعه و مقایسه با قارچکشاها مشخص گردید که آلوده نمودن خاک به ریزوکتونیا باعث ۶۵ درصد بیماری مرگ گیاهچه و پوسیدگی بذر لویا ۲۰ روز بعد از کاشت بذر شده است. ضد عفونی بذر با بنومیل (۲ هزار) ۸ درصد مرگ گیاهچه را تقلیل داد ولی ضد عفونی بذر با PCNB، بیماری را تشدید کرد و ۷۷ درصد گیاهچه ها از پای در آمد. محاسبات آماری روی تعداد گیاهچه انجام و اختلاف معنی دار در سطح ۱٪ ملاحظه شد و با استفاده از آزمون چند دامنه مقایسه میانگین های دانکن گروه بندی گردید که نتایج در جدول ۵ آمده است. گروه اول شامل تیمارهای شاهد غیر آلوده، کاربرد دو گونه تریکو درما (Th1, Tv1) به ترتیب یا میانگینهای ۶۷/۳، ۵۹/۳ و ۵۷/۳ بود و گروه دوم تیمارهای Th1, Gv1 با میانگینهای ۵۷/۳ و ۴۰/۳ قرار گرفتند و در این آزمایش کاربرد

### بحث

بنابه نظر آگوشی گروه آناستوموزی AG4 از قارچ *R.solani* مهمترین و بیماریزاترین گروهها می باشد (۱۵). وجود این گروه روی لویا در ایران توسط زمانی گزارش شده است (۴). مقاومت ارقام لویا نسبت به این قارچ با تیرگی پوسته بذر احتمالاً رابطه مستقیم وجود دارد که این پدیده در کارهای صرافی و اخوت نیز مشاهده گردید (۵). لذا در آزمایشهای انجام شده از لویای سفید رقم صدف و جدا شده قارچ بیماریزا از لویا که قبلاً قدرت آن باثبات رسیده بود با نام P5 انتخاب گردید. بر آورد میزان خسارت ناشی از تاثیر جدا شده های مختلف *R.solani* در دو زمان ۷ و ۴۶ روز بعد از کاشت در خاک آلوده روی لویا ثابت می کند که مقاومت ارقام در مرحله قبل از خروج گیاهچه ها از خاک کمتر از مرحله بعد از خروج آنها می باشد (بازگیر ۱۳۷۰). این حالت نشان می دهد که عوامل

جدول ۴ - تاثیر قارچهای آنتاگونیست *Trichoderma* روی بیماری مرگ گیاهچه و پوسیدگی بذر لویا در اثر قارچ *R.solani* (کاربرد یک ماه قبل از کاشت بذر) در مقایسه با دونوع قارچکش در آزمایش گلخانه ای

ردیف	تیمار	درصد گیاهچه موجود	درصد گیاهچه	درصد کاهش	گروه (۲) میانگین اعداد (۱)
۱	شاهد غیر آلوده	۶۲	۰	۸۴	۳/۹۸
۲	شاهد آلوده به <i>R.solani</i>	۱۰	۸۴	۰	۱/۵۶
۳	۱۰ <sup>۷</sup> اسپر در هر گرم خاک از جدا شده <i>T.viride</i> شهریار (۴)	۳۴	۴۵	۳۹	۲/۹۸
۴	۱۰ <sup>۷</sup> اسپر در هر گرم خاک از جدا شده <i>T.harzianum</i> اهواز (۵)	۳۶	۴۲	۴۲	۳/۰۵

(۱) - تعداد تکرار ۴ عدد گلدان، در هر گلدان ۲۵ بذر کاشته شد. خاک گلدانها بجز تیمار شاهد با اینوکولم ۱۰٪ ماسه و آرد ذرت آلوده به *R.solani* مخلوط گردید.

(۲) - میانگین اعداد تبدیل شده به  $\sqrt{X} + \frac{1}{2}$  جهت توزیع نرمال در محاسبات آماری

(۳) - گروه بندیها بر اساس آزمون چند دامنه دانکن انجام شده است.

(۴) - جدا شده از مزرعه لویا، شهریار کرج

(۵) - جدا شده از مزرعه لویا، گلستان اهواز

غذایی (سبوس) و تشکیل تعداد بیشتری کلامیدوسپور که در دوام آن در خاک موثر است دانست. پایاویزا معتقد است که اسپرهای تریکو درما در مقابل خاصیت جلوگیری کننده رشد<sup>۲</sup> خاک از حساسیت بیشتری برخوردار هستند، در حالیکه کلامیدوسپورها کمتر و میسلوم خیلی کمتر تحت این ویژگی خاک قرار می گیرند (۱۶). به همین دلیل استفاده از اینوکولم<sup>۳</sup> میسلومی این قارچها روی سبوس در کنترل ریزوکتونیا نسبت به موقعی که به صورت اضافه کردن اسپر به خاک و یا آغشته کردن بذور به اسپر مورد استفاده قرار می گرفت، نتیجه بهتری نشان داد. در مجموع می توان پذیرفت که اثر کنترل کننده تریکو درما در کنترل مرگ گیاهچه موقعی به خوبی ظاهر می شود که قبل از حمله ریزوکتونیا به لویا و یا حداقل قبل از ورود و استقرار آن در بافت گیاه قارچ آنتاگونیست به حالت فعال (میسلوم) و در جمعیت نسبتاً بالایی در خاک وجود داشته باشد. در چنین حاکی این قارچها می توانند ریزوکتونیا را در حالت ساپروفیتی نیز تحت تاثیر قرار داده و باعث کاهش جمعیت آن گردد. بنابراین در مواردی که بطور مصنوعی جمعیت آنتاگونیستها در خاک افزایش داده می شود باید به زمان کاربرد فرم اینوکولم (ماه) و همچنین همراه بودن ماده غذایی آلی با آن، وضعیت مواد غذایی معدنی و آلی و خواص فیزیکیوشیمیایی خاک توجه نمود.

در کاربرد اینوکولم آنتاگونیست ها علیه ریزوکتونیا روی لویا به این نکته نیز باید توجه داشت که گیاهچه های لویا فقط در مراحل اولیه رشد به شدت در مقابل عامل بیماریزا حساس اند و اگر در این مرحله مورد محافظت قرار گیرند در مراحل بعدی به دلیل مقاوم شدن بافتهای گیاه به میزان زیادی از حساسیت آنها کاسته می شود و همین مسئله نیز موید توجه به زمان مناسب کاربرد آنتاگونیست در شکل فعال آن در خاک می باشد.

مکانیزمهای تاثیر جدا شده های مختلف آنتاگونیست ها علیه قارچ *R. solani* در تحقیقات متعددی مورد بررسی قرار گرفته و در شرایط آزمایشگاهی<sup>۴</sup> تریکو درما با استفاده از پدیده پارازیتسم، آنتی بیوز، لیز کردن و رقابت، قارچ بیماریزا را تحت تاثیر قرار می دهد، کلیه این پدیده ها از آزمایشهای انجام شده مورد تایید قرار گرفتند که توجه علاقمندان را به منابع دیگر از جمله کارهای بازگیر (۲) جلب می نماید. ترشحات فرار کلیه جدا شده های بکار رفته نیز

مقاومت بتدریج اثرات خود را در طول رشد در اثر تغییراتی که در تجمع ترکیبات پکتیکی در نسوج گیاه بوجود می آید ظاهر می سازد. البته فاکتورهای دیگری مانند تخصص بعضی از گروههای آناستوموزی را در حمله به قسمتهای طوقه که مسلماً قبل از خروج گیاهچه از خاک هنوز تشکیل نشده نباید از نظر دور داشت که آگوشی (۱۵) به آن اشاره دارد.

قارچکشهای بنومیل، کاربوکسین و تیابندازول در شرایط گلخانه ای و در ضد عفونی بذر و کاشت در خاک آلوده به قارچ ریزوکتونیا از مرگ گیاهچه و پوسیدگی بذر لویا جلوگیری می کند به این نکته نیز اخوت در ۱۳۶۵ نائل آمده است.

بررسی اثر کنترل کننده *Gliocladium*, *Trichoderma* به صورت آغشته کردن بذر و اضافه کردن آنها به خاک آلوده به ریزوکتونیا در زمانهای مختلف کاربرد نتایج متفاوتی را نشان داد. مخلوط کردن اسپر آنتاگونیستها با خاک نتیجه بهتری بر علیه بیماری نسبت به آغشته کردن بذر با اسپر آنها داشت زیرا تعداد بیشتری اسپر وارد خاک شده و انتشار آنها بهتر است. اضافه کردن تریکو درما به خاک یک ماه قبل از کاشت بذر در خاک آلوده باعث فعال شدن آن علیه *R. solani* شده و فرصت بیشتری برای تاثیر خواهد داشت. الا دو همکاران تاثیر *T. harzianum* را علیه قارچهای *R. solani* و *Sclerotium rolfsii* باثبات رساندند (۱۰).

بطور کلی در آزمایشهای محققین مختلف از جمله داوه (۷) ولویس و پایاویزا (۱۳) تاثیر ویژگیهای نوع اینوکولم، وضعیت رشدی و سن آن، قدرت تولید کلامیدوسپور و بقاء عامل کنترل کننده بیولوژیک، خصوصیات فیزیکیوشیمیایی خاک از قبیل اسیدیته<sup>۱</sup>، مواد آلی، میزان عناصر معدنی به ویژه آهن، تهویه خاک و غیره، همچنین فصل کاربرد آنتاگونیستها، گیاه میزبان و عوامل بیماریزای گیاهی، در موفقیت مبارزه بیولوژیک با ریزوکتونیا موثر است. تهیه اینوکولم تریکو درما و گلیوکلیدیوم روی سبوس گندم و افزودن آنها به خاک آلوده به ریزوکتونیا در شرایط مزرعه نسبت به ضد عفونی بذر لویا با بنومیل و PCNB نتیجه موثرتری در کاهش بیماری مرگ گیاهچه و پوسیدگی بذر نشان داد. توجه این پدیده در ارتباط با کارهای لوویس و پایاویزا (۱۳) را شاید بتوان به علت فعال بودن اینوکولم میسلومی تریکو درما در موقع اضافه کردن به خاک و ارتباط نزدیک آن با ماده

جدول ۵ - بررسی اثر قارچهای آنتاگونیست روی بیماری مرگ گیاهچه و پوسیدگی بذر لوبیا در مزرعه در مقایسه با چند قارچکش

ردیف	تیمار	جمع بوته	میانگین e	درصد کاهش درصد بیماری گیاهچه بیمار	درصد کاهش بیماری
۱	a شاهد غیر آلوده	۲۰۲	۶۷/۳a	۰	۶۵
۲	c شاهد آلوده به <i>R.solani</i>	۷۰	۲۳/۳cd	۶۵	۰
۳	b ضد عفونی بذر با بنومیل	۸۶	۲۸/۷d	۵۷	۸
۴	d جدا شده <i>T.viride</i>	۱۷۸	۵۹/۳a	۱۲	۵۳
۵	d جدا شده <i>T.harzianum</i>	۱۷۲	۵۷/۳ab	۱۵	۵۰
۶	d جدا شده <i>G.virens</i>	۱۲۱	۴۰/۳bc	۴۰	۲۵
۷	b ضد عفونی بذر با PCNB	۴۶	۱۵/۳d	۷۷(۱)	-۱۲

- a - مقدار ۵۵۰ گرم سبوس در هر ۲ خط کاشت ۲ متری و ۴۰ بذر در هر خط جمع خطوط کاشت ۶ خط در ۳ تکرار (۲۴۰ بذر در هر تیمار کاشته شد، لوبیا سفید رقم صدف).
- b - بنومیل ۵۰٪ پودر و تابل و پی سی ان بی ۲۰٪ پودر و تابل (۲ گرم برای هر کیلوگرم بذر)
- c - ۱۵۰ گرم مایه ریزوکتونیا و ۴۰۰ گرم سبوس
- d - ۱۵۰ گرم مایه ریزوکتونیا و ۴۰۰ گرم مایه آنتاگونیست
- e - میانگینهایی که با یک حرف مشابه نشان داده شده در سطح ۱٪ با هم اختلاف معنی دار ندارند (آزمون دانکن) که ۲۰ روز بعد از کاشت بذر شمارش بوته ها انجام شد.
- ۱ - در مورد PCNB برخلاف انتظار تاثیر خوبی نشان نداده که احتمال دارد فاقد میزان ماده موثر کافی بوده است یا تاثیر سوء داشت.

زراعی، اجرای تناوب و آیش توسل جست.

### سپاسگزاری

هزینه انجام این تحقیق از محل اعتبارات پژوهشی دانشگاه تهران تامین شده است که نگارندگان بدینوسیله مراتب قدر دانی خود را از معاونتهای پژوهشی دانشکده کشاورزی و دانشگاه متوع ابراز می دارند. همکاریهای صادقانه آقایان دکتر حمید روحانی، دکتر عباس شریفی تهرانی و مهندس علیرضا کریمی نیز در خور سپاس و تشکر فراوان است.

در کاهش رشد ریزوکتونیا موثر بوده و طبق نظر کوک و بیکر (۶) این ترکیبات تا شعاع نسبتاً زیاد و در سطح وسیعی پراکنده شده و در خلل و فرج خاک به آسانی نفوذ کرده و حیطه تاثیر آنتاگونیست را افزایش می دهد. با این حال بعلت پیچیدگی محیط خاک بخصوص شرایط تغذیه ای و وجود مشکلات فنی در مطالعه روابط میکرو ارگانیسمها در شرایط طبیعی، اطلاعات کافی در مورد مکانیزم کنترل کنندگی آنتاگونیستها در خاک موجود نمی باشد و مطالعات همچنان باید با دقت و پشتکار بیشتری ادامه یابد و به روشهای مبارزه تلفیقی با عوامل بیماریزا از جمله بصورت استفاده از ارقام مقاوم، عملیات به

### REFERENCE

- مراجع مورد استفاده
- ۱ - اخوت، م. ۱۳۵۶. بررسی اثر چند قارچکش روی *Rhizoctonia solani* Kuehn عامل پوسیدگی بذر و مرگ گیاهچه لوبیا. بیماریهای گیاهی جلد ۸-۱: ۱۳
- ۲ - بازگیر، ع. ۱۳۷۰. بررسی اثر قارچ *Trichoderma* علیه قارچ *Rhizoctonia solani* عامل مرگ گیاهچه و پوسیدگی بذر لوبیا. پایان نامه کارشناسی ارشد رشته بیماری شناسی گیاهی دانشکده کشاورزی دانشگاه تهران. کرج. ۱۸۰ صفحه.
- ۳ - روحانی، ح. ع. کریمی و ف. نوع پرست. ۱۳۷۰. نقش ایزوله های تریکودرما در مبارزه بیولوژیک علیه *Rhizoctonia solani*. مجله



آفات و بیماریهای گیاهی ۵۸:۲۸-۱۷.

- ۴ - زمانی، م. ر. ۱۳۶۸. تعیین گروههای آناستوموزی *R. solani*. اصفهان. پایان نامه فوق لیسانس دانشکده علوم دانشگاه اصفهان. ۹۹ صفحه.
- ۵ - صرافی، الف. م. اخوت. ۱۳۵۱. بررسی مقاومت ۵ رقم لوبیا نسبت به ۳ جدا شده قارچ *Rhizoctonia solani* Kuehn در گلخانه. مجله علوم کشاورزی ایران. دانشکده کشاورزی. کرج. جلد ۴: ۵۶-۴۹.
- 6 - Cook, R.J. & K.F. Baker. 1983. *The Nature and Practice of Biological Control of plant pathogen*, APS press. 539 pp.
- 7 - Davet, P. 1979. *Technique pour l'analyse des population de Trichoderma et de Gliocladium virens dar .Le Sol Ann. Phytopathol.* 11:529-533.
- 8 - Dennis, C. & J. Webster. 1961. *Antagonistic properties of species groups of Trichoderma*<sup>11</sup>. production of Volatile antibiotics. *Trans. By Mycol. Soc.* 57:41-48.
- 9 - Domsch, K.H., W. Gams & T.H. Anderson. 1980. *Compendium of soil fungi*. Academic press. London, England Vol. 1:794-809.
- 10- Elad, Y. I. Chet, & J. Katan. 1983. *Trichoderma harzianum*: a biocontrol agent effective against *Sclerotium rolfsii* and *Rhizoctonia solani*, *phytopathol.* 70:119-121.
- 11- Kaiser, W.J. & R.M. Hannan. 1984. *Biological control of seed rot and preemergence damping-off of chickpea with penicillium oxalicum plant Disease* 68:809-811.
- 12- Kolte, S.J. 1985. *Diseases of Annual edible oilseed crops, peanut diseases* CRC press. inc. Boca Raton, Florida.
- 13- Lewis, J.A. & G.C. Papavizas. 1985. *Effect of mycelial preparation of Trichoderma and Gliocladium on population of Rhizoctonia solani and incidence of damping-off.* *Phytopathology* 75:812-817.
- 14- Lumsden, R.D. & J.C. Locke. 1989. *Biological Control of damping-off Caused by pythium ultimum and Rhizoctonia solina with Gliocladium virens in soilless mix.* *phytopathology* 79:361-366.
- 15- Ogoshii, A.K. 1987. *Ecology and pathogenicity of anastomosis and interaspecific groups of Rhizoctonia solani Kuehn.* *Ann. Rev. phytopathology* 225:125-143.
- 16- Papavizas, G.C. 1985. *Trichoderma and Gliocladium Biology, ecology and potential for biocontrol.* *Ann. Rev. phytopathology* 23:23-45.
- 17- Rifai, M.A. 1969. *A revision of the genus Trichoderma, mycological papers no. 116-56.* pp. CMV. Kew. England.
- 18- Strashnov, Y., Y. Elad, A. Sivan, Y. Rudich & I. Chet. 1985. *Control of Rhizoctonia solina fruit rot of tomatoes by Trichoderma harzianum* Rifai. *Crop protection* 4(3), 359-364. *Dep of plant path. & Microbiology and Dep. of field crops. Fac of Agr. The Hebrew Uni. of Jerusalem. poBox 12, Rehovot 76100 Israel.*

**Biological control of *Rhizoctonia solani*, The Causal Agent of Damping-off and Seed Rot of Bean By a Certain Isolates of Antagonist Fungi**

**E.BAZGIR AND M.OKHOVAT**

**Instructor of Plant Protection Department ,College of Agriculture , Khorramabad Lorestan and Associate Professor, Department of Plant Protection , College of Agriculture, University of Tehran , Karaj,Iran.**

**Accepted 27 Sep.1995.**

**SUMMARY**

The effect of certain isolates of antagonist fungi was evaluated on damping-off and seed rot incidence of bean incited by *Rhizoctonia solani* . in greenhouse , addition of  $10^7$  spores of *Gliocladium virens* (GV), *Trichoderma harzianum* (Th) and *T.viride* (Tv.) to each gram of the soil infested by *R.solani* were compared in completely randomized design on disease incidence in bean with the fungicides seed dressing (0.2% a.i) with benomyl, thiabendazole and carboxin were more effective than the other treatments.

Addition of spores of antagonist fungi to the infested soil with *R.solani* one month before the sowing seeds , resulted in disease reduction at 39 and 42% for Tv.and Th. respectively , Seedling mortality in artificially infested soil (Control) was 84%. Adding of the inoculum of antagonists (100 g.of wheat bran to 1 meter of field row) to the infested soil with *R.solani* (37.5 g/m)reduced disease to 53,50 and 25% respectively by Tv. Th. and Gv.