

بررسی امکان مبارزه بیولوژیکی با بیماری خال سیاه سیب زمینی بوسیله قارچ

Trichoderma Pers. ex Fr.

محمود اخوت، دوستمراد ظفری، علیرضا کریمی روزبهانی و حمید روحانی

بترتیب استادیار گروه گیاه پزشکی دانشکده کشاورزی دانشگاه تهران، مربی دانشکاه بوعلی همدان، مربی موسسه

تحقیقات آفات و بیماریهای گیاهی اوین و دانشیار دانشکاه بوعلی سینای همدان.

تاریخ وصول بیست و دوم فروردین ماه ۱۳۷۲

چکیده

در این بررسی اثر دوقارچ آنتاگونیست Trichoderma viride Pers. ex Gray جدا شده از خاک مزرعه بوبیا در شهریار کرج و T. harzianum Rifai جدا شده از خاک مزرعه بوبیا در اهواز روی کنترل بیماری پوسیدگی قهوه‌ای ریشه و ساقه سیب زمینی یا خال سیاه^۱ که در اثر قارچ Colletotrichum coccodes (Wallr) Hughes ایجاد می‌شود مورد مطالعه قرار گرفت.

آزمایش به صورت فاکتوریل در قالب طرح کاملاً تصادفی با ۸ تیمار و ۴ تکرار در شرایط طبیعی و در جعبه‌های ۵۰ کیلوئی حاوی خاک استریل مخلوط با قارچ پاتوژن و گونه‌های تریکودرما انجام شد. در هر جعبه ۲ عدد غده بذری سیب زمینی از رقم‌های دراگا و یا آئولا کاشته شد و ۴ ماه بعد وزن تازه بوته‌ها، تعداد کل لکه، وجود یا عدم وجود اسکلت روی قسمت‌های زیرزمینی و همچنین تعداد غده‌های بوجود آمده ارزیابی گردید.

از بین فاکتورهای فوق، وزن تازه بوته‌ها با یکدیگر از نظر آماری مقایسه شد. نتایج نشان دادند که وزن بوته‌های شاهد مربوط به هر دورقم با اختلاف معنی داری بیشتر از وزن تازه بوته‌های آلوده به C. coccodes (تنها یا مخلوط با تریکودرما) می‌باشد و می‌توان پذیرفت که قارچ پاتوژن باعث کاهش وزن بوته‌ها می‌گردد. از طرف دیگر، وزن تازه بوته‌های رقم دراگا که در خاک آغشته به مخلوط قارچ پاتوژن و T. viride کاشته شده بودند، با اختلاف معنی داری بیشتر از وزن بوته‌ها در خاک آغشته به قارچ پاتوژن و همچنین در خاک مخلوط با عامل بیماری‌زایی T. harzianum بود و می‌توان نتیجه گرفت که T. viride توانسته بطور موثرتر و معنی دار در مقایسه با گونه دیگر تریکودرما خسارت ناشی از C. coccodes را کاهش دهد.

مقدمه

بیماری خال سیاه از جمله بیماری‌هایی است که می‌تواند

پوسیدگی قهوه‌ای ریشه و ساقه سیب زمینی یا محصول سیب زمینی را به میزان قابل توجهی کاهش

دهد. بیماریزایی قارچ *Colletotrichum coccodes* روی سیب زمینی توسط بهروزین (۴) در آذربایجان شرقی مطالعه و به اثبات رسیده است. وجود این قارچ از مناطق دیگر کشور نیز گزارش شده است (۲). اهمیت بیماری بخصوص در شرایط خشکی بیشتر از شرایط مرطوب می باشد (۱۱)، در ایران آمار دقیقی از میزان خسارت آن در دست نیست، ولی به نظر می رسد که اهمیت آن در مناطقی که با خشکی آخر فصل روبرو هستند قابل توجه باشد. آثار بیماری عموماً " پس از غده‌دهی با ظهور علائمی مانند پوسیدگی ریشه، ساقه و همچنین نکروز پوست غده آشکار می گردد. روی قسمت‌های آلوده ایجاد اسکروت‌های ریز و سیاه رنگ شده که در قسمت فوقانی آنها تعدادی مو^۱ دیده می شود، به همین جهت این بیماری به نام بلك دات یا خال سیاه شناخته شده است. بوته‌های آلوده در نهایت حالت پژمردگی و ضعف پیدا کرده و می خشکند. انتقال بیماری از سالی به سال دیگر بوسیله اسکروت‌هایی است که روی غده‌ها یا بقایای بوته‌های آلوده باقی می ماند (۱). قارچ عامل بیماری دارای کنیدیهای دو حجره‌ای، کشیده به اندازه $2/9-4/1 \times 15-21$ میکرو-متر با دو سرگرد است. این قارچ میزبانهای متعددی دیگری دارد (۸) و می تواند به محصولاتی مانند گوجه فرنگی و فلفل حمله کرده باعث خسارت شود. جنکین و همکارانش (۱۰) زیان این قارچ را در کشتهای آبی گوجه فرنگی تا ۳۶ درصد گزارش کرده اند. خاکری بودن قارچ مذکور و دوام طولانی اسکروت‌های آن در خاک مبارزه شیمیائی با آن را مشکل و حتی غیرممکن ساخته، که لازم است از روشهای دیگر مثل روش

بیولوژیکی اقدام به مبارزه با آن کرد. مطالعات انجام شده در آزمایشگاه^۲ بوسیله ظفری (۷) نشان می دهد که قارچ تریکودرما قادر است بوسیله خاصیت میکروپارازیتسم^۳ و همچنین اثر آنتی بیوز^۴ ولیزکنندگی که در ترشحات فرار و ترکیبات غیر فرار آن وجود دارد، قارچ *C. coccodes* را تحت کنترل در آورد. بر این اساس بررسی موجود در زمینه مبارزه بیولوژیکی با پوسیدگی ریشه و ساقه سیب زمینی صورت گرفت تا کارآئی آن در شرایط طبیعی^۵ مورد ارزیابی قرار گیرد.

مواد و روشها

در این تحقیق یک جدا شده *C. coccodes* که بیماریزایی آن توسط بهروزین (۴) به اثبات رسیده بود و دو گونه *T. viride* (جدا شده از خاک مزارع لوبیا در شهریار کرج) و *T. harzianum* (جدا شده از خاک مزارع لوبیا در اهواز)، در حجم زیاد تکثیر شدند. به این ترتیب که برای قارچ اول تعدادی ارلن مایس-محتوی ۳۵۰ گرم گندم اتوکلاو شده (حرارت ۱۲۰ درجه سانتیگراد به مدت یک ساعت) را تهیه کرده به هر کدام سه حلقه ۹ میلیمتری از کشت ۷ روزه *C. coccodes* روی PDA اضافه شد. این ارلن مایرها به مدت ۲۱ روز در حرارت ۲۵ درجه سانتیگراد نگهداری و پس از رشد کافی به میزان ۳۵۰ گرم به خاک ۲۴ جعبه ۵۰ کیلوئی اضافه و کاملاً مخلوط شد (۷ گرم اینوکولوم برای هر کیلوگرم خاک). دو گونه تریکودرما نیز روی سبوس گندم استریل تکثیر، سپس به نسبت مشابه با خاک ۱۶ جعبه (۸ جعبه برای هر گونه) از ۲۴ جعبه مذکور مخلوط گردید. برای ۸ جعبه

جدول تجزیه واریانس مربوط به علائم ایجاد شده بوسیله *C. coccodes* (تعداد لکه) روی دو رقم سیب زمینی و کنترل آنها توسط دو گونه تریکودرما

F	MS	SS	df	S.O.V
-	-	۴۶۶۷۰۴/۹۷	۳۱	کل
۳۰/۱۸**	۵۹۸۷۱/۳۳	۴۸۹۰۹۹/۳	۷	تیمار
۱۷/۲**	۲۴۱۲۵/۷۸	۲۴۱۲۵/۷۸	۱	واریته (V)
۵۷/۱۷**	۱۱۳۴۰۷/۸۶	۳۴۰۲۲۳/۹۵	۳	پاتوزن (P)
۷/۵۲**	۱۴۹۱۶/۶۱	۴۴۷۴۹/۸۴	۳	اثر متقابل (P.V.)
-	۱۹۸۳/۵۷	۴۷۶۰/۷۵	۲۴	اشتباه

** : بین تیمارها، ارقام و قارچها در سطح يك درصد اختلاف معنی دار وجود دارد.

ایزوله‌ها بویژه گونه *T. harzianum* از اهواز بیشترین اثر بازدارندگی نسبت به گونه دیگر روی کولتوتریکوم نشان داد.

در ارتباط با کنترل بیماری (جلوگیری از کاهش وزن بوته‌ها در اثر بیماری) در شرایط طبیعی روی سیب زمینی دو رقم دراگا و آئولا ملاحظه شد که قدرت کنترل‌کنندگی تریکودرما نه تنها مربوط به گونه و جدا شده است، بلکه تا حدودی مربوط به رقم سیب زمینی نیز می‌باشد. جدا شده شهرییار *T. viride* نسبتاً از شدت بیماری روی هر دو رقم کاسته، به طوریکه تیمار V_1C از نظر جلوگیری از کاهش وزن بوته‌ها در گروه آماری جداگانه قرار گرفته و در سایر تیمارها نیز قارچ تریکودرما توانسته از شدت علائم مثل تعداد لکه بکاهد. ولی گونه دیگر که از خاک مزرعه اهواز جدا شده و در آزمایشهای ظفری (۷) در آزمایشگاه در بعضی موارد اثر بسیار خوبی نشان داد. در شرایط خاک چندان موثر نبوده که احتمالاً "مربوط

شده، ولی با توجه به کارهای روحانی و همکاران (۶) و بازگیر (۳) و آزمایشهای ظفری (۷) روی خاک ۸ منطقه به نظر می‌رسد که گونه‌های *T. viride* و *T. harzianum* در خاکهای مزارع ایران حالت غالب داشته باشد که این گونه‌ها بترتیب در مناطق سرد و گرم از خاک جدا شده است و با کارهای پاپاویزا (۱۲) در مورد اکولوژی گونه‌های تریکودرما تطبیق می‌نماید. از این دو گونه در آزمایشهای مبارزه بیولوژیکی با بیماری خال سیاه سیب زمینی در اثر *C. coccodes* استفاده شد. مکانیسمهای تاثیر ایزوله‌های تریکودرما مورد استفاده در این بررسی و قدرت کنترل‌کنندگی آنها روی قارچ عامل بیماری توسط ظفری (۷) در آزمایشگاه مورد بررسی قرار گرفته و معلوم شد که ایزوله‌های مورد آزمایش پس از چند روز کلنی‌های قارچ پاتوزن را کلنیزه کرده و ضمن اشغال محل رشد، اسکلوتهای آن را از بین برده و به وسیله ترشحات مایع خارج سلولی خود رشد قارچ پاتوزن را مختل میکنند. ترکیبات فـرر

به شرایط آب و هوایی گرم و مرطوب محل جدا شدن آن است. با این حال باید پذیرفت در شرایط طبیعی مجموعه پیچیده‌ای از عوامل وجود دارند که روی رابطه عامل بیماریزا، میزبان و آنتاگونیست اثر می‌گذارند و معیارهای آزمایشگاهی نمی‌تواند به تنهایی برای ارزیابی قدرت کنترل کنندگی آن کافی باشد. تغییرات رطوبت، شرایط اقلیمی گونه یا رقم گیاه و نوع بیماری که مبارزه با آن مد نظر است، از عوامل محیطی مهم بشمار رفته که در موفقیت و عدم توفیق در مبارزه

سپاسگزاری

هزینه‌های مربوط به این طرح ضمن اب از قدردانی. از محل اعتبارات پژوهشی دانشکاه تهران و دانشکده کشاورزی تامین شده و به شماره ۸۲۵ به ثبت رسیده و جهت اجرا ابلاغ گردیده است. ضمناً " از همکاری آقای دکتر قربانعلی حجارود نیز تشکر می‌نماید.

مراجع مورد استفاده:

REFERENCES:

- ۱- اخوت، م. ۰ ۱۳۶۹. بیماریهای سیب زمینی. پلی‌کپی درس بیماریهای مهم گیاهان زراعی. دانشکده کشاورزی دانشکاه تهران. کرج.
- ۲- ارشاد، ج. ۰ ۱۳۵۶. قارچهای ایران. موسسه تحقیقات آفات و بیماریهای گیاهی. تهران، اوین، ص ۱۹۲.
- ۳- بازگیر، ع. ۰ ۱۳۷۰. بررسی تاثیر قارچ *Trichoderma* علیه قارچ *Rhizoctonia solani* kuehn عامل مرگ گیاهچه و پوسیدگی بذر لوبیا. پایان نامه فوق لیسانس، گروه گیاهپزشکی، دانشکده کشاورزی دانشگاه تهران. کرج. ۱۸۰ صفحه.
- ۴- بهروزین، م. ۰ ۱۳۶۴. گزارش نهایی طرح بررسی بیماریهای مهم سیب زمینی در آذربایجان شرقی، ۱۳۵۹ تا ۱۳۶۴. موسسه تحقیقات آفات و بیماریهای گیاهی، تبریز.
- ۵- روحانی، ح. و ع. ۰ کریمی. ۰ ۱۳۶۵. نمونه‌های میکوفلور غده سیب زمینی ایران. خلاصه مجموعه مقالات هشتمین کنگره گیاهپزشکی ایران، دانشکده کشاورزی دانشگاه صنعتی اصفهان، ص ۶۷.
- ۶- روحانی، ح.، ع. ۰ کریمی و ف. ۰ نوع پرست. ۰ ۱۳۶۹. نقش ایزوله‌های تریکودرما در مبارزه بیولوژیک علیه قارچ *Rhizoctonia solani* مجله آفات و بیماریهای گیاهی ایران، موسسه بررسی آفات و بیماریهای گیاهی. تهران. ایران ۵۸ (۱ و ۲): ۲۸ - ۱۷.
- ۷- ظفری، د. ۰ ۱۳۷۰. بررسی اثر آنتاگونیستیکی قارچ *Trichoderma* روی قارچهای *Phytophthora erythroseptica*, *Colletotrichum coccodes* جدا شده از سیب زمینی، پایان نامه فوق لیسانس، گروه گیاهپزشکی دانشکده کشاورزی دانشگاه تهران، ۱۶۷ ص.

۸ - کریمی روزبهانی، ع . ۰ ۱۳۴۹ . پوسیدگی خشک عده و بوته میری سیب زمینی در ایران، مجله بیماریهای گیاهی.

انتشارات انستیتوی بررسی آفات و بیماریهای گیاهی ، ۶(۲): ۵۳ - ۳۵ .

- 9 - Doi, Y. ABE, Y. & J. Sugiyama. 1987. Trichoderma Sect. Saturnisporum, Sect. nov. and Trichoderma ghanense, sp. nov. Bull. Nath. Sci. Mus. Tokyo, Ser. B, 13(1), PP. 1-9.
- 10- Jenkines, S.F. & C.W. Averre. 1983. Root diseases of vegetable in hydroponic culture systems in North Carolina green houses. Plant diseases. Vol: 67, No.: 9, 968-970 P.
- 11- Otazu, V., N.C. Gumestad, & P.t. Zink. 1978. The role of Colletotrichum atramentarium in the potato with complex in North Dakota. Plant diseases. Vol. 62, No. 10: 847-851 p.
- 12- Papavizas, G.C. 1985. Trichoderma and Gliocladium biology, ecology and potential for biocontrol. Ann. Rev. Phytopathol. 23: 54-63.
- 13- Rifai, M.A. 1969. A revision of the genus Trichoderma. Mycological papers. No. 116. 59 PP. C.W.M.I. Kew. Surrey England.

Study on Biological Control of Black Dot Disease of Potato. .
by Trichoderma Pers. ex Fr.

M. OKHOVAT, D.M. ZAFARI, A.R. KARIMI - ROOZBAHANI and H. ROHANI
Assistant Professor, Plant Pathology Department, College of Agriculture,
University of Tehran Karaj, Instructor of Agricultural College University of
Booali Hamedan, Research Plant Pathologist of Plant Pests and Diseases
Institute, Evin and Associate Professor College of Agriculture University of
Booali Hamedan, Iran.

Received for Publication April 11, 1993.

SUMMARY

The effects of 2 species of Trichoderma as T. viride and T. harzianum on reducing the potato black dot disease caused by Colletotrichum coccodes on two cultivars (Aula and Draga) in factorial experiment completely randomized design was tested in open air condition. The data on Fresh weight of plants from different treatments showed that the noninfested control treatment was significantly different from the others ($\alpha = 5\%$). Adding T. viride isolate of Shahrriar in soil infested with C. coccodes with cultivar Draga had shown that this treatment was significantly different. This isolate of Trichoderma was able to reduce the disease and had more ability antagonistic effect than T. harzianum of Ahvaz on the disease caused by C. coccodes in this test.