مطالعات علوم زیستی و زیست فناوری
دوره ۸، شماره ۱، بهار ۱۴۰۱
صفحات ۳۰۹- ۲۸۷

Online ISSN: ٤٤٩٣-٢٤٧٦
Print ISSN: ٢٠٢٠-٢٥٣٨
www.irijournals.com

مطالعه پوسیدگی‌های قارچ ریشه لوبیا در استان کرمانشاه و کنترل بیولوژیکی آن به‌وسیله تریکودرما

دوستمراد ظفری[۱]، لیلا کا شی[۱]، آرزو پاکدل[۱]، شبنم لقمانی[۲]

[۱] هیئت علمی دانشگاه بوعلی سینا

[۲] کارشناسی ارشد بیماری شناسی گیاهی دانشگاه بوعلی سینا

چکیده

حبوبات پس از غلات دومین گروه از محصولات زراعی به شمار می‌آیند. لوبیا نیز گیاهی از این گروه است. لوبیا در بین حبوبات بیش‌ترین سطح زیر کشت را در دنیا دارا می‌باشد. از جمله عواملی که باعث خسارت جدی و کاهش عملکرد محصولات کشاورزی می‌شوند، قارچ‌های بیمارگر گیاهی می‌باشند. قارچ‌های *Raizoctonia solani* و *Fusarium solani* در استان کرمانشاه و در مناطق دیگر کشور همه ساله خسارات قابل توجهی را به کشاورزان وارد می‌کنند، به طوری که در مناطق آلوده تا ۸۵ درصد محصول را از بین می‌برند که با توجه به خاک‌زاد بودن عوامل بیماری، کنترل آن‌ها بسیار دشوار است. با توجه به اینکه برای کنترل بیماری روش‌های شیمیایی خیلی موثری وجود ندارند و اکثر ارقام مقاوم نیز دارای صفات منفی مانند دوره رشد طولانی می‌باشند، یکی از روش‌های جایگزین استفاده از روش کنترل بیولوژیک با استفاده از قارچ‌های پروبیوتیک است. در این تحقیق، ده جدایه مربوط به ده گونه جنس تریکودرما از کلکسیون قارچ‌شناسی دانشکده کشاورزی دانشگاه بوعلی سینا تهیه و تاثیر آن‌ها در دو آزمایش کشت متقابل و ترکیبات فراردر جلوگیری از رشد قارچ بیمارگر بررسی شد و سپس اثرشان در گلخانه و در قالب طرح کاملا تصادفی بر بیماری پژمردگی ریشه و طوقه گیاهان لوبیا ناشی از دو قارچ پاتوژن *F. solani* و *R. solani* به صورت جداگانه و به صورت تلفیق دو پاتوژن مورد بررسی قرار گرفت. در کنترل بیماری پژمردگی ریشه و طوقه گیاهان لوبیا ناشی از *R. soalni*، گونه *T. brevicompactum*، در کنترل بیماری پژمردگی ریشه و طوقه گیاهان لوبیا ناشی از *F. solani*، گونه *T. harzianum* و در حالت تیمار همزمان دو بیمارگر نیز گونه *T. viridescense* موثرترین تیمارها بودند و نقش مؤثری بر افزایش صفات رشدی نیز داشتند . با توجه به نتایج به دست آمده توصیه می‌شود که از فرمولاسیون این جدایه‌ها در کنترل بیماری پژمردگی ناشی از این دو پاتوژن استفاده گردد.

واژه‌های کلیدی: حبوبات، قارچ بیمارگر، کنترل بیولوژیک، تریکودرما.

۱- مقدمه

حبوبات پس از غلات دومین گروه مهم محصولات زراعی به شمار می‌روند (پارسا و باقری، ۱۳۸۷). این تیره دارای ۷۵۰ جنس و بیش از ۲۰۰۰۰ گونه می‌باشد که لوبیا با قدمت هفت تا هشت هزارساله، در اکثر نقاط دنیا کشت می‌شود و در بین حبوبات بیش‌ترین سطح زیر کشت را در دنیا دارا می‌باشد (فائو[1]، ۲۰۱۴). حبوبات به ویژه لوبیا غنی از پروتئین (تا چهار برابر غلات و ۱۰ تا ۲۰ برابر بیش‌تر از پروتئین موجود در گیاهان غده‌ای)، ویتامین E و کربوهیدرات است (میکلاز[2] و همکاران، ۲۰۰۶)، لوبیا همچنین با دارا بودن ۲۵-۲۰ درصد پروتئین و ۶۰-۵۰ درصد کربوهیدرات با ارزش‌ترین حبوبات از نظر ارزش غذایی در سرتاسر جهان می‌باشد (مجنون حسینی[3]، ۲۰۰۸) و در بسیاری از کشورهای در حال توسعه به عنوان یکی از منابع مهم پروتئین گیاهی مورد استفاده قرار می‌گیرد (کوچکی و بنانیان، ۱۳۸۸).

در حال حاضر حدود ۹۰ درصد از کالری و ۷۵ درصد از پروتئین مورد نیاز انسان از منابع گیاهی تامین می‌شود که در این میان حبوبات نقش مهمی را دارا می‌باشند. به عنوان مثال لوبیا به عنوان یک منبع غذایی دارای ۳۵ درصد پروتئین و ۳۴۰ کالری در هر گرم است. از جمله عواملی که باعث خسارت جدی و کاهش عملکرد محصولات کشاورزی در طول سال می‌شوند، قارچ‌های بیمارگر گیاهی می‌باشند (اکوندایو[4] و همکاران، ۲۰۱۱). که مهم‌ترین عوامل قارچی بیماری‌زای پوسیدگی طوقه و ریشه لوبیا عبارتند از: *Rhizoctonia solani*، *Fusarium solani* f. sp. *phaseoli*، *Fusarium oxysporum* f. sp. *phaseoli*، *Pythium aphindermatum* و *Macrophomina phseolina* می‌باشند که با توجه به خاک‌زاد بودن عوامل بیماری، کنترل آن‌ها بسیار مشکل است (صارمی[5] و همکاران، ۲۰۰۷).

قارچ‌های *R. solani* و *F. solani* در استان کرمانشاه و در مناطق دیگر کشور همه ساله خسارت‌های قابل ملاحضه‌ای را به کشاورزان وارد می‌نماید، به طوری که در مناطق آلوده تا ۸۵ درصد محصول را از بین می‌برد. هنگامی که قارچ بیمارگر در زمین مستقر شود، ریشه‌کنی عملی آن تقریبا غیر ممکن خواهد بود. روش‌های مبارزه زراعی شامل تناوب بلندمدت، تنظیم تاریخ کشت، کوددهی و زهکشی مناسب زمین، تنها می‌توانند میزان خسارت را تا حدودی کاهش دهند. برای کنترل بیماری روش‌های شیمیایی خیلی موثری وجود ندارند و اکثر ارقام مقاوم نیز دارای صفات منفی مانند دوره رشد طولانی و بذرهای ریز می‌باشند. لذا کنترل بیولوژیک بیماری‌های گیاهی با استفاده از میکروارگانیسم‌های غیربیماری‌زا توجه بسیاری از محققین را به خود جلب نموده است. مفهوم کنترل بیولوژیک بیمارگرهای گیاهی بدین معناست که جمعیت عامل بیمارگر با استفاده از میکروارگانیسم‌های مفید در زیرآستانه اقتصادی قرار گیرد؛ در کنترل بیولوژیک هدف هرگز از بین بردن و حذف کامل یک میکروارگانیسم نخواهد بود. عوامل کنترل بیولوژیک همچنین می‌توانند علاوه بر کنترل بیماگر با مکانیزم‌های مختلف سبب تحریک رشد گیاه و افزایش عملکرد محصول نیز شوند. تحقیقات نشان داده که معرفی آنتاگونیست‌های مختلف از جمله آنتاگونیست‌های قارچی از جنس تریکودرما به محیط خاک و ریزوسفر می‌تواند از خسارت بیماری تا زیر آستانه زیان اقتصادی بکاهد. این موفقیت همراه با سلامت محیط زیست توانسته این روش را به یکی از مقبول‌ترین روش‌های کنترل بیماری در مبارزه تلفیقی با بیمارگرهای گیاهی مبدل سازد. پدیده کنترل بیولوژیک از راهکارهای مختلف اعمال می‌شود که این راهکارها

[1] . FAO
[2] . Miklas
[3] . Majnoun Hosseini
[4] . Ekundayo
[5] . Saremi

به عنوان مکانیسم‌های بیوکنترل به طور مفصل مورد بررسی قرار گرفته‌اند (هارمن[۶]، ۲۰۰۴).

گونه‌های تریکودرما قارچ‌های جهانی و بسیار فراوانی در دامنه پهناوری از اکوسیستم‌ها و مناطق آب و هوایی هستند. این قارچ-ها با رشد سریع، توانایی استفاده از سوبستراهای مختلف و مقاومت به مواد شیمیایی مضر، شناخته می‌شوند. گونه‌های تریکودرما از مکانیسم‌های مختلفی برای مقابله با بیماری‌های گیاهی استفاده می‌کنند مانند کاهش مقاومت و واکنش‌های گیاهی، مقابله مستقیم از طریق مایکوپارازیتیسم، آنتی‌بیوز، رقابت و تحریک رشد گیاه (کلِین و اولِنیگ[۷]، ۱۹۹۸) همچنین گزارش‌های زیادی از جدایه‌هایی که سبب ارتقای فاکتورهای رشدی گیاه می‌شوند وجود دارد، این فاکتورهای رشد شامل اکسین‌ها سیتوکینین‌ها و اتیلن‌ها است که در تحریک رشد گیاه نقش دارند (چت[۸] و همکاران، ۱۹۹۷). هدف این مقاله بررسی اثر بیوکنترلی گونه‌های تریکودرما روی پوسیدگی طوقه و ریشه لوبیا در استان کرمانشاه با فرض توانایی بیوکنترلی گونه‌های تریکودرما در کنترل این بیماری است.

مشخصات گیاه‌شناسی و تاریخچه پیدایش لوبیا

جنس لوبیا (*Phaseolus*) بیش از ۱۰۰ گونه دارد که اکثر ارقام زراعی آن مربوط به چهار گروه لوبیا فرنگی (*P. lunatus*)، لوبیای رونده یا لوبیای قرمز (*P. cocineus*)، لوبیای تپاری (*P. acutifolius*) و لوبیای معمولی (*P. vulgaris*) می‌باشد. لوبیای معمولی گونه‌ای از لوبیا است که از هیبریداسیون دو یا سه گونه به وجود آمده است. تعداد کروموزوم‌های لوبیا 2n= 22 می‌باشد. لوبیا گیاهی است یک‌ساله، دارای ساقه باریک، بندبند و زاویه‌دار که به فرم‌های بوته‌ای یا خزنده (رونده) دیده می‌شود. ریشه اصلی گیاه لوبیا تا عمق یک متری گسترش داشته و چند ریشه جانبی در خاک رویی تا عمق ۲۰-۱۵ سانتی‌متری توسعه می‌یابند. برگ‌های لوبیا مرکب بوده و هر برگ دارای سه برگچه می‌باشد که توسط دمبرگ بلندی به صورت متناوب در روی ساقه قرار گرفته‌اند و کنار هر برگچه یک عدد گوشوارک وجود دارد. برگچه‌ها کرک‌دار پهن و در انتها به یک راس باریک ختم می‌شوند. برگ‌ها دارای رگبرگ‌های منشعب بوده و به اشکال مختلف در بوته‌های گوناگون دیده می‌شود. برگ لوبیا زبر، دارای کرک‌های خشن و سختی می‌باشدکه در اثر لمس احساس می‌شوند (مجنون حسینی، ۱۳۸۷).

بیش از یک دوره زمانی هفت تا هشت هزار ساله، لوبیا از شکل وحشی و پیچان که در مناطق مرکزی آمریکای مرکزی و آند پراکنده بود به‌صورت یک گیاه مهم زراعی و خوراکی درآمد که هم‌اکنون در سطح جهانی در وسعت گسترده‌ای از محیط‌ها و سیستم‌های زراعی می‌رویند (باقری و همکاران، ۱۳۸۵). حبوبات به دلیل داشتن ۵۰-۱۸ درصد پروتئین، گیاهان پروتئینی نامیده می‌شوند و از این نظر حائز اهمیت‌اند و مقدار پروتئین آن‌ها دو برابر غلات است (محمودی و همکاران، ۱۳۸۷).

سطح زیر کشت و تولید در ایران و جهان

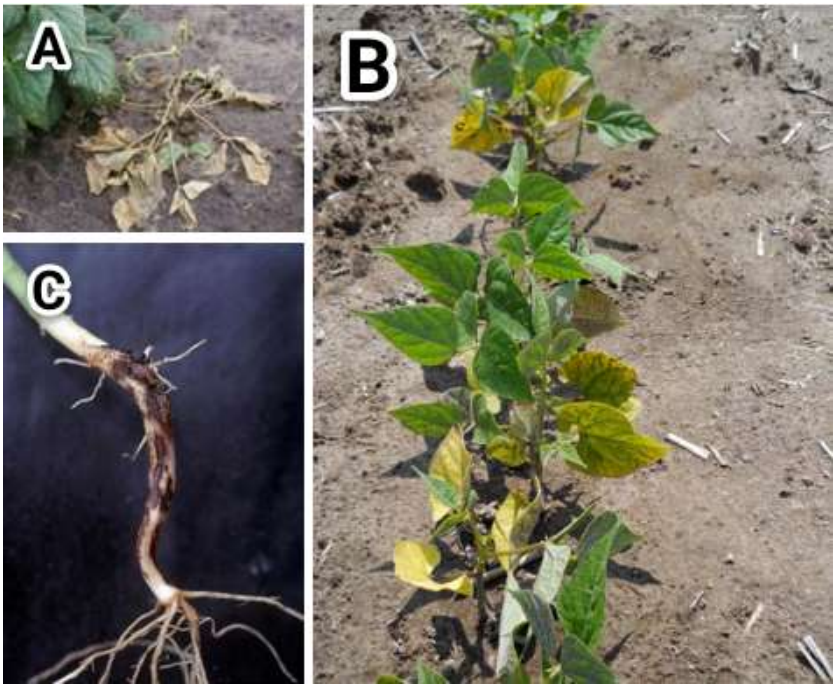
سطح زیر کشت حبوبات در دنیا ۳۷ میلیون هکتار بوده که که حدود نصف این سطح به لوبیا اختصاص دارد. ۷۵ درصد سطح زیر کشت لوبیا در جهان در دو قاره آسیا و آمریکا بوده و ۸۰ درصد تولید نیز به این دو قاره اختصاص دارد. سطح زیر کشت آفریقا ۲/۵ و در اروپا حدود سه میلیون هکتار می‌باشد. در ایران لوبیا با ۱۰۷. ۵۱۵ هکتار سطح زیر کشت معادل ۰/۹۱ درصد کل محصولات زراعی و ۲۲۹. ۹۴۱ تن معادل ۰/۲۸ درصد تولید کل محصولات زراعی را به خود اختصاص داده است. استان

[6] . Harman
[7] . Klein and Eveleigh
[8] . Chet

کرمانشاه نیز با تولید سالانه ۸۰. ۷۲۹ تن رتبه دوم و سطح زیر کشت ۱۴۷. ۲۹۵ هکتار رتبه اول سطح زیر کشت این محصول مهم را دارد (فائو، ۲۰۱۴).

علائم بیماری پوسیدگی فوزاریومی لوبیا در اثر *F. solani* f. sp. *phseoli*

بیماری پوسیدگی ریشه ناشی از قارچ *F. solani* f. sp. *phseoli* به طور مستقیم روی ریشه گیاهان اثر می‌گذارد ولی بخش‌های هوایی نیز کوتوله، زرد و پژمرده می‌شوند. در بوته‌های لوبیا در آلودگی‌های شدید زردی، ریزش برگ‌ها وعلائم کوتولگی دیده می‌شود، برگ‌های اولیه زردرنگ شده و از ناحیه دمبرگ آویزان می‌شوند. گیاهان ممکن است با کاهش سیستم ریشه کوتوله و زردرنگ شوند. در سطح مزرعه علائم بیماری ممکن است به شکل دایره‌ای یا کروی‌شکل نامنظم ظاهر شود، یا گیاهان آلوده در سرتاسر مزرعه پراکنده و علائم در بخش‌های هوایی متفاوت هستند (شکل ۱). معمولا موقع جوانه‌زنی بذر، به محض خروج گیاهچه از زمین ممکن است تحت تاثیر قرار بگیرد، هرچند این بیماری معمولا بیش‌تر روی گیاهان بالغ رایج است ولی در صورت حمله ریشه بی‌رنگ گیاهچه کم‌تر از یک هفته بعد از خروج گیاه متمایل به قرمز شده و به تدریج عامل بیماری در سطح ریشه گسترش یافته و مناطق بیماری با گذشت زمان توسعه می‌یابد و به تدریج قهوه‌ای می‌شوند. رنگ قرمز ممکن است به رنگ قهوه‌ای تیره تغییر رنگ داده شود. با پیشرفت بیماری لکه‌ها بزرگ‌تر شده و به هم می‌پیوندند، لکه‌ها از پایین ریشه اصلی گسترش می‌یابند تا اینکه همه سیستم ریشه و بخش پایین هیپوکوتیل نکروز قهوه‌ای مایل به قرمز شده و ممکن است خشک، پوسیده و سرانجام بمیرد (لک، ۱۳۸۲؛ سعیدی‌زاده، ۱۳۸۵؛ آور، ۲۰۰۰؛ لوگین‌بول، ۲۰۱۰؛ شوارتز[9] و همکاران، ۲۰۱۴).



شکل ۱ -علائم ناشی از آلودگی لوبیا به *Fusarium solani f. sp. phaseoli*

A و B: زردی و مرگ قسمت‌های هوایی C: پوسیدگی قسمت‌های زیرزمینی گیاه (شوارتز[10] و همکاران، ۲۰۱۴)

[9] . Schwartz
[10] . Schwartz

کنترل بیماری پوسیدگی ریشه و طوقه ناشی از رایزوکتونیا

کنترل بیماری رایزوکتونیایی اصولا مشکل است. از کشت در اراضی مرطوب یا کم زهکشی شده باید پرهیز کرد. بذر عاری از بیماری باید در پشته و در شرایطی که گیاهچه سریع رشد کند، کشت شود. فاصله بین بوته‌ها باید زیاد باشد تا سطح خاک و گیاهان به خوبی تهویه شوند. از سال‌های اواسط دهه ۱۹۸۰ تا کنون کوشش‌های زیادی شده است تا راه‌های جایگزین برای کنترل موثرتر بیماری‌های رایزوکتونیایی پیدا شود. این راه‌ها عبارت‌اند از مالچ‌پاشی، پوشش دادن خاک مزرعه با مواد گیاهی مخصوص یا پلاستیک‌های کاهنده نور، اجتناب از مصرف علف‌کش‌هایی که به نظر می‌رسد بیماری‌های رایزوکتونیایی را در بعضی از گیاهان افزایش می‌دهند و به ویژه بهره‌گیری از کنترل بیولوژیک. قارچ رایزوکتونیا مورد حمله چند آنتاگونیست مانند قارچ‌ها، باکتری‌ها و نماتدهای قارچ‌خوار قرار می‌گیرد و پارازیته می‌شود. رایزوکتونیا ضمنا در بیش‌تر موارد از پدیده‌ای که زوال رایزوکتونیایی نامیده می‌شود و عاملش دو یا سه RNA دو رشته‌ای بیماری‌زاست، صدمه می‌بیند. افزودن این میکروارگانیسم‌ها به خاک بذر در خاک‌هایی که آلوده به رایزوکتونیا هستند، وقوع و شدت بیماری را در بیش‌تر محصولات به طور محسوس کاهش می‌دهد (اگریوس، ۲۰۰۵).

کنترل بیماری‌های گیاهی

آلودگی‌های زیست‌محیطی ایجاد شده به وسیله استفاده بیش از حد سموم شیمیایی و همچنین نحوه کاربرد بد آن‌ها منجربه تغییرات قابل توجهی در گرایش مردم نسبت به استفاده از آفت‌کش‌ها در کشاورزی شده است. اکثر کشاورزان به استفاده از کودهای شیمیایی و آفت‌کش‌ها جهت کنترل بیماری‌های گیاهی تاکید دارند، در صورت استفاده صحیح و اصولی از نهاده‌های کشاورزی، به‌طور باارزش می‌تواند عملکرد و کیفیت محصولات زراعی را افزایش دهد. کیفیت و کمیت موادغذایی تولید شده، رابطه مستقیمی با کنترل بیماری‌های گیاهی دارد و پراکنش بیماری‌های گیاهی در اکوسیستم طبیعی ممکن است مانع استفاده از مواد شیمیایی شود. محققان جهت کنترل بیماری‌ها و آفات گیاهی، تلاش‌های خود را برای گسترش نهاده‌های جایگزین موادشیمیایی مصنوعی از جمله کنترل بیولوژیک متمرکز کرده‌اند (پال و اسپادن[11]، ۲۰۰۶).

مروری بر تحقیقات انجام گرفته

روحانی و همکاران (۱۳۶۹) به بررسی نقش جدایه‌های تریکودرما در مبارزه بیولوژیک علیه *R. solani* روی سیب‌زمینی پرداخته‌اند. در سال ۱۳۷۷ سلطانی و همکاران به بررسی اثر آنتاگونیستی قارچ تریکودرما علیه قارچ‌های بیماری‌زای سیب-زمینی پرداختند. در سال ۱۳۷۵ کرم‌پور عامل بیماری پوسیدگی سیاه فوزاریومی ریشه نخود ایرانی را به وسیله قارچ تریکودرما کنترل نمود (کرم‌پور و اخوت، ۱۳۷۵). نیک‌نژاد و همکاران (۱۳۷۹) بیماری پژمردگی فوزاریومی گوجه‌فرنگی در اثر *F. oxysporum* f. sp. *lycopersici* را در شرایط گلخانه کنترل کرد. تاثیر جدایه‌هایی از قارچ‌های آنتاگونیست و اثر چند قارچ‌کش بر عامل بیماری سوختگی غلاف برنج (*R. solani*) در شرایط آزمایشگاهی و گلخانه‌ای توسط نیک‌نژاد و همکاران (۱۳۸۱) بررسی گردید. نصراله‌نژاد و همکاران (۱۳۸۸) توانایی دو گونه مایکوپارازیت *T. virens* و سه جدایه *T. harzianum* را روی قارچ *Sclerotinia sclerotiorum* عامل بیماری پوسیدگی سفید کلزا در شرایط آزمایشگاهی بررسی کردند. محمدی و همکاران (۱۳۸۸) مکانیسم‌های آنتاگونیستی سه جدایه تریکودرما را علیه *R. solani* عامل بیماری

[11] . Pal and McSpadden

پوسیدگی مرطوب ریشه نخود ایرانی مورد مطالعه قرار دادند.

ناشوا و همکاران (۲۰۰۸) توانایی آنتاگونیستی ۱۵ جدایه تریکودرما را در شرایط آزمایشگاهی روی عامل پژمردگی و پوسیدگی لوبیا مورد بررسی قرار دادند و از بین این جدایه‌ها، *T. harzianum* و *T. viride* بیش‌ترین درصد بازدارندگی از رشد را در مقابل *R. solani* و *F. oxysporum* f. sp. *phaseoli* نشان دادند. در سال ۲۰۰۹ اکرمی و همکاران توانایی بیوکنترلی دو گونه *T. harzianum* و *T. asperellum* جدا شده از خاک و ریشه مزرعه لوبیا را به تنهایی و ترکیب با هم برای کنترل *F. solani* مورد بررسی قرار دادند. تا به حال تحقیقات بسیار اندکی بر کنترل دو قارچ *R. solani* و *F. solani* به طور همزمان انجام گرفته است.

آزمون بیماری‌زایی

برای اثبات بیماری‌زایی قارچ‌های بیمارگر روی لوبیا، از روش "لایه مایه قارچ" با استفاده از روش شرح داده شده توسط نلسون و همکاران (۱۹۹۶) جهت مایه‌زنی جدایه‌ها روی گیاهچه‌های لوبیا استفاده شد. در این روش مخلوطی از خاک مزرعه، پیت و پرلیت به نسبت حجمی ۱:۲:۱ تهیه و پس از استریل شدن در دو روز متوالی، مورد استفاده قرار گرفت. مقدار ۲۵ سانتی‌متر مکعب خاک به گلدان‌هایی به قطر پنج سانتی‌متری منتقل و لایه‌ای از کشت هفت روزه جدایه قارچ بیمارگر مورد نظر در WA روی خاک قرار گرفت. سپس ۲۵ سانتی‌متر مکعب خاک روی WA ریخته شد و روی آن سه عدد بذر لوبیا پس از ضدعفونی با هیپوکلریت سدیم ۱۰ درصد کشت گردیدند و روی بذرها توسط لایه‌ای از خاک پوشانده شد. به گلدان‌های شاهد یک لایه آگار سترون اضافه شد و ۱۲ ساعت از روز زیر نور مهتابی قرار داده شد. این آزمایش با سه تکرار و در قالب طرح کاملا تصادفی اجرا شد. شدت بیماری‌زایی جدایه‌ها ۲۸ روز پس از کاشت مورد بررسی قرار گرفت به این صورت که ۲۸ روز بعد از کاشت بذور در خاک، گیاهچه‌ها از خاک خارج و شست‌وشو شدند و شدت بیماری‌زایی جدایه‌ها با استفاده از مقیاس نمره‌دهی پنجگانه (یک تا پنج) برای هر بیماری با توجه به علائم تیپیک مخصوص به آن تعیین شد:

نمره ۱ = فاقد علائم

نمره ۲ = علائم در ۲۵ درصد طوقه و ریشه

نمره ۳ = علائم در ۵۰-۲۵ درصد طوقه و ریشه

نمره ۴ = علائم در بیش از ۵۰ درصد طوقه و ریشه

نمره ۵ = مرگ گیاهچه یا علائم در ۷۵ درصد طوقه و ریشه

این مقیاس نمره‌دهی پنجگانه براساس مقیاس نلسون و همکاران (۱۹۹۶) انجام گرفت.

همچنین به منظور حصول اطمینان از اینکه بیماری پوسیدگی طوقه و ریشه لوبیا ناشی از *R. solani* و *F. solani* مد نظر است، اصول کخ انجام شد، بدین منظور پس از ضدعفونی سطحی، بافت‌های آلوده کشت شده و پس از جداسازی و خالص‌سازی قارچ بیمارگر، شناسایی موروفوژیکی انجام شد و مجددا بیماری‌زایی انجام شد و علائم بیماری با علائم بیماری پوسیدگی طوقه و ریشه مطابقت داده شد و اطمینان لازم از صحت کار بدست آمد.

تهیه مایه تلقیح قارچ‌های بیمارگر و قارچ‌های آنتاگونیست

برای تهیه مایه تلقیح قارچ بیمارگر ۱۰۰ گرم بذر گندم در داخل کیسه‌های قابل اتوکلاو ریخته و به مقدار لازم به کیسه‌ها آب مقطر اضافه شد. کیسه‌ها به مدت ۲۰ دقیقه در دمای ۱۲۰ درجه سانتی‌گراد در دو روز متوالی استریل شدند. پس از هم دما شدن با محیط آزمایشگاه، در شرایط استریل و با رعایت احتیاط به هر کدام از کیسه‌ها ۱۰ پلاگ شش میلی‌متری از کشت جوان (سه روزه) قارچ‌ها از محیط کشت PDA به بذور گندم اضافه گردید و کیسه‌ها به مدت سه هفته در دمای ۲۵ درجه سانتی‌گراد نگهداری و روزانه تکان داده شدند تا ریسه‌ها رشد یکنواختی داشته باشند. این آزمایش با استفاده از روش جونیور[12] و همکاران (۲۰۰۷) با مختصری تغییرات انجام گرفت.

شکل ۲- تهیه مایه تلقیح قارچ‌ها روی گندم در کیسه‌های قابل اتوکلاو

تعیین شدت بیماری و شاخص‌های رشد

پس از گذشت ۳۰ روز از کشت بذرها، ریشه‌ها از خاک خارج شدند و پس از شست‌وشوی ریشه‌ها، شدت بیماری‌زایی *R. solani* و *F. solani* با استفاده از مقیاس نمره‌دهی پنجگانه با اندازه‌گیری زخم‌های روی طوقه و ریشه به این صورت تعیین شد:

نمره ۱: فاقد علایم (۰ درصد پژمردگی و پوسیدگی) – نمره ۲: زخم‌های کوچکتر از سه میلی‌متر و یا ۲۵ درصد پوسیدگی

[12] . Junior

طوقه و ریشه – نمره ۳: زخم‌هایی بین ۳ تا ۶ میلی‌متر و یا ۲۵ الی ۵۰ درصد پوسیدگی طوقه و ریشه – نمره ۴: زخم‌هایی بزرگ‌تر از شش میلی‌متر و یا بیش از ۵۰ درصد پوسیدگی طوقه و ریشه – نمره ۵: مرگ گیاه و یا ۷۵ درصد پوسیدگی و مرگ گیاهچه.

از دیگر شاخص‌های بیماری‌زایی محاسبه شده وقوع بیماری (Disease Incidence) به صورت تعداد گیاهان بیمار به تعداد کل در هر تیمار و شاخص شدت بیماری (Disease Severity Index) بود که به صورت رابطه زیر محاسبه گردید:

$$\text{Disease Severity Index} = \frac{\{Disease\ class \times Number\ of\ plants\ in\ the\ class\}}{Total\ number\ of\ plants \times 5}$$

بررسی و اندازه‌گیری صفات رشدی مورد نظر

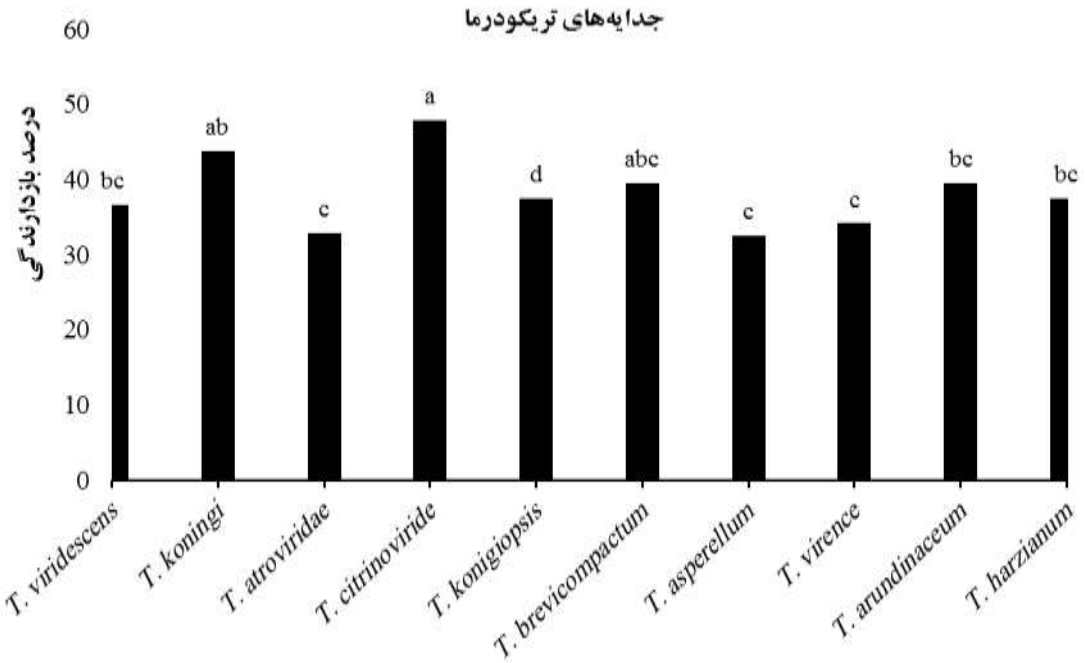
شاخص‌های رشدی از جمله طول ریشه، ارتفاع بوته، وزن تر و وزن خشک ریشه و وزن تر و خشک بوته هر تکرار از هر تیمار اندازه‌گیری و ثبت شد. بدین منظور بوته‌ها به طور کامل از خاک خارج شدند و ریشه‌ها توسط جریان ملایم آب شستشو و مدتی در هوای آزاد نگهداری شدند تا رطوبت سطحی آن‌ها خشک شود. متوسط طول بوته (از قاعده تا نوک شاخسار) در تیمار و تکرارهای مختلف به وسیله خط‌کش دقیق اندازه‌گیری شد. جهت اندازه‌گیری وزن تر و خشک ریشه و ساقه، اندام‌های هوایی و ریشه از هم جدا شده و وزن شدند. سپس اندام‌های مذکور داخل آون (دمای ۷۰ درجه به مدت ۷۲ ساعت) قرار داده شدند و در نهایت وزن خشک آن‌ها به طور جداگانه محاسبه شدند.

تجزیه و تحلیل آماری

این آزمایش در قالب طرح کاملا تصادفی با سه تکرار برای هر تیمار انجام و مورد ارزیابی قرار گرفت. برای ارزیابی اثر تیمارها روی صفات اندازه‌گیری شده، همه داده‌ها با استفاده از نرم‌افزار SAS 9. 4 در سطح آماری ۵٪ و ۱٪ مورد تجزیه و تحلیل قرار گرفتند.

نتایج آزمون کشت متقابل مربوط به قارچ *F. solani*

در این آزمایش گونه *T. citrinoviride* با درصد بازدارندگی ۴۷/۹۱ درصد، بالاترین درصد بازدارندگی از رشد قارچ بیمارگر را به خود اختصاص داد و کم‌ترین میزان بازدارندگی نیز با ۳۲/۹۱ درصد مربوط به گونه‌های *T. atroviride* و *T. asperellum* بود. نکته جالب توجه این بود که برخلاف آزمون کشت متقابل جدایه *R. solani* با گونه‌های تریکودرما که همه گونه‌ها درصد بازدارندگی مساوی یا بزرگ‌تر از ۵۰ درصد را به دست آورند، در این آزمایش هیچ کدام از گونه‌ها نتوانستند حتی درصد بازدارندگی ۵۰ درصد را به دست بیاورند که نشان قدرت تهاجمی و سرعت رشد این جدایه از *F. solani* دارد. که دلیل این امر می‌تواند به‌دلیل سرعت رشد بالای قارچ فوزاریوم باشد، چرا که این قارچ به سرعت رشد کرده و قبل از اینکه عامل بیوکنترل بتواند در محیط کشت مستقر شده و با مکانیزم‌های بیوکنترلی(تولید ترکیبات ممانعت کننده از رشد قارچ بیمارگر) از رشد قارچ بیمارگر جلوگیری کند قارچ فوزاریوم به دلیل سرعت رشد بالای خود قسمت بیشتری از محیط را اشغال کرده است که این امر می‌تواند یکی از دلایل کاهش درصد کنترل قارچ F. solani در مقایسه با قارچ *R. solani* باشد.



شکل ۳- میزان بازدارندگی از رشد میسلیومی قارچ *F. solani* در کشت متقابل با ۱۰ جدایه مختلف تریکودرما

مقایسه میانگین با روش دانکن انجام‌شده است. حروف غیرمشابه بیانگر اختلاف آماری در سطح ۱٪ می‌باشند.

جدول ۱- تجزیه واریانس آزمون کشت متقابل ۱۰ جدایه تریکودرما با *F. solani*

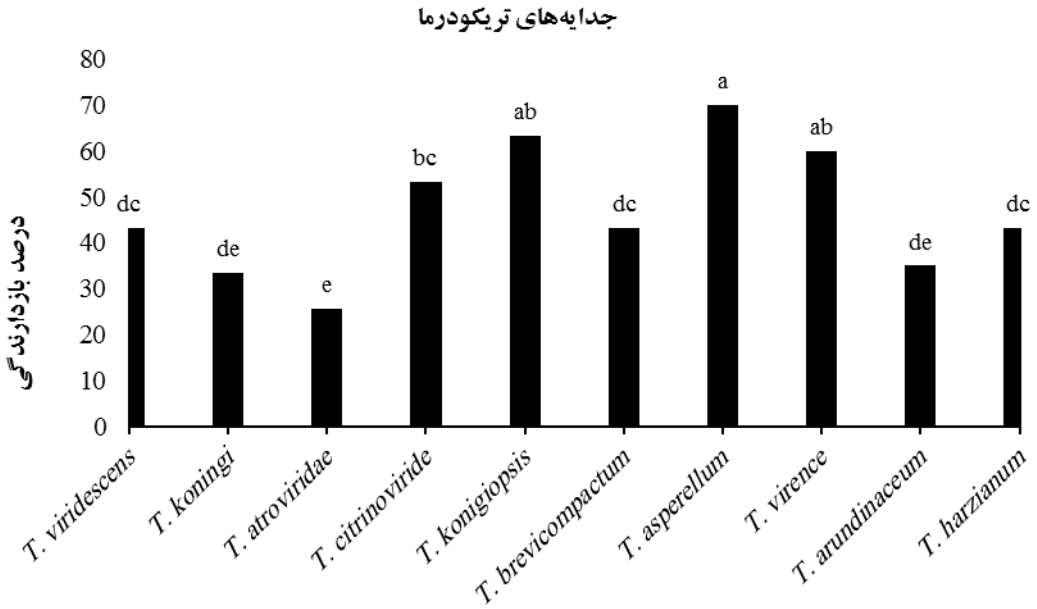
منبع تغییرات	درجه آزادی	مجموع مربعات	میانگین مربعات	ضریب تغییرات
تیمار	۹	۶۰۷/۵۵۲۰۸۳	۶۷/۵۰۵۷۸۷**	۱۲/۶۷۰۰۶
خطای آزمایش	۲۰	۴۶۶/۶۶۶۶۶۶۷	۲۳/۳۳۳۳۳۳ ns	
کل	۲۹	۱۰۷۴/۲۱۸۷۵۰		

****، * و ns: به ترتیب بیانگر معنی‌داری در سطح ۱درصد، ۵درصد و عدم معنی‌داری می‌باشد.**

آزمون اثر ترکیبات فرار

نتایج آزمون اثر ترکیبات فرار تریکودرما در جلوگیری از رشد قارچ *R. solani*

در این آزمایش گونه *T. asperellum* برخلاف نتایج آن در آزمایش کشت متقابل، درصد بازدارندگی قابل توجه ۷۰ درصد را داشت که نشان دهنده غالبیت این مکانیسم کنترلی این گونه بر مکانیسم عمل مایکوپارازیتیسم علیه *R. solani* دارد. پایین-ترین درصد نیز به گونه *T. atroviride* با ۲۶/۶۶ درصد بود. در آزمون کشت متقابل، هر دو گونه *T. asperellum* و *T. atroviride* درصد بازدارندگی تقریبا یکسانی داشتند. که دلیل این امر(بالا بودن درصد کنترلی گونه*T. asperellum*)، می‌تواند به‌دلیل توانایی بالای این گونه در تولید ترکیبات فرار باشد، محققین متعددی عنوان کرده‌اند که ترکیب فرار بوتاندیول تولید شده توسط گونه‌های مختلف تریکودرما نقش بسزایی در کنترل قارچ‌های بیمارگر دارد، لذا می‌توان چنین استدلال کرد که این گونه ممکن است توانایی بالایی در تولید این ترکیب داشته باشد.



شکل ۴- میزان بازدارندگی از رشد میسلیومی قارچ *R. solani* در آزمون اثر ترکیبات فرار با ۱۰ جدایه مختلف تریکودرما

مقایسه میانگین با روش دانکن انجام‌شده است. حروف غیرمشابه بیانگر اختلاف آماری در سطح ۱٪ می‌باشند.

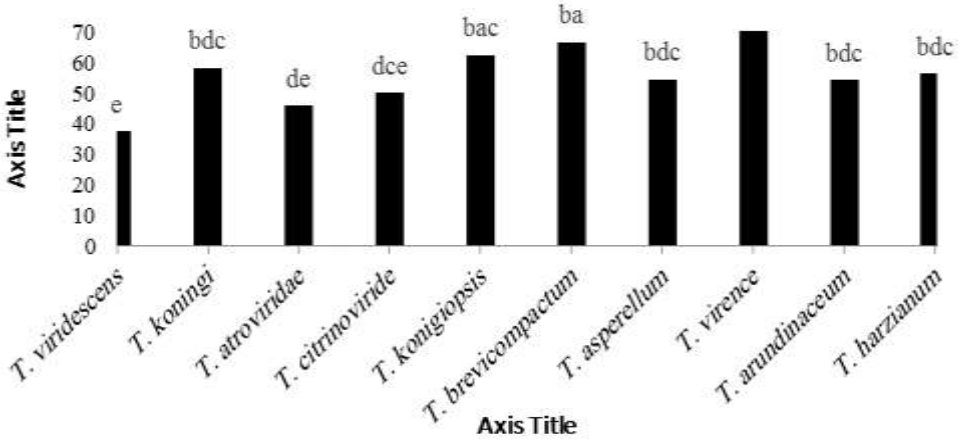
جدول ۲- تجزیه واریانس آزمون اثر بازدارندگی ترکیبات فرار ۱۰ جدایه تریکودرما در جلوگیری از رشد قارچ *R. solani*

منبع تغییرات	درجه آزادی	مجموع مربعات	میانگین مربعات	ضریب تغییرات
تیمار	۹	۵۳۶۷/۵۰۰۰۰۰	۵۹۶/۳۸۸۸۸۹ **	۱۶/۵۲۶۲۰
خطای آزمایش	۲۰	۱۲۱۶/۶۶۶۶۶۶۷	۶۰/۸۳۳۳۳۳ ns	
کل	۲۹	۶۵۸۴/۱۶۶۶۶۷		

****، * و ns: به ترتیب بیانگر معنی‌داری در سطح ۱درصد، ۵ درصد و عدم معنی‌داری می‌باشد.**

نتایج آزمون اثر ترکیبات فرار تریکودرما در جلوگیری از رشد قارچ *F. solani*

در این آزمایش گونه *T. virense* با ۷۵ درصد و گونه *T. viridescens* نیز با ۳۷/۵ درصد بالاترین و پایین‌ترین درصد بازدارندگی اثر ترکیبات فرار را در جلوگیری از رشد قارچ را در بین ۱۰ گونه تریکودرما داشتند.



شکل ۵- میزان بازدارندگی از رشد میسلیومی قارچ *F. solani* در کشت متقابل با ۱۰ جدایه مختلف تریکودرما

مقایسه میانگین با روش دانکن انجام‌شده است. حروف غیرمشابه بیانگر اختلاف آماری در سطح ۱٪ می‌باشند.

جدول ۳- تجزیه واریانس آزمون اثر بازدارندگی ترکیبات فرار ۱۰ جدایه تریکودرما در جلوگیری از رشد قارچ *F. solani*

منبع تغییرات	درجه آزادی	مجموع مربعات	میانگین مربعات	ضریب تغییرات
تیمار	۹	۳۰۳۲/۵۵۲۰۸۳	۳۳۶/۹۵۰۲۹۱**	۱۳/۹۵۹۱۰
خطای آزمایش	۲۰	۱۲۲۳/۹۵۸۳۳۳	۶۱/۱۹۷۹۱۷ ns	
کل	۲۹	۴۲۵۶/۵۱۰۴۱۷		

****، * و ns: به ترتیب بیانگر معنی‌داری در سطح ۱درصد، ۵ درصد و عدم معنی‌داری می‌باشد.**

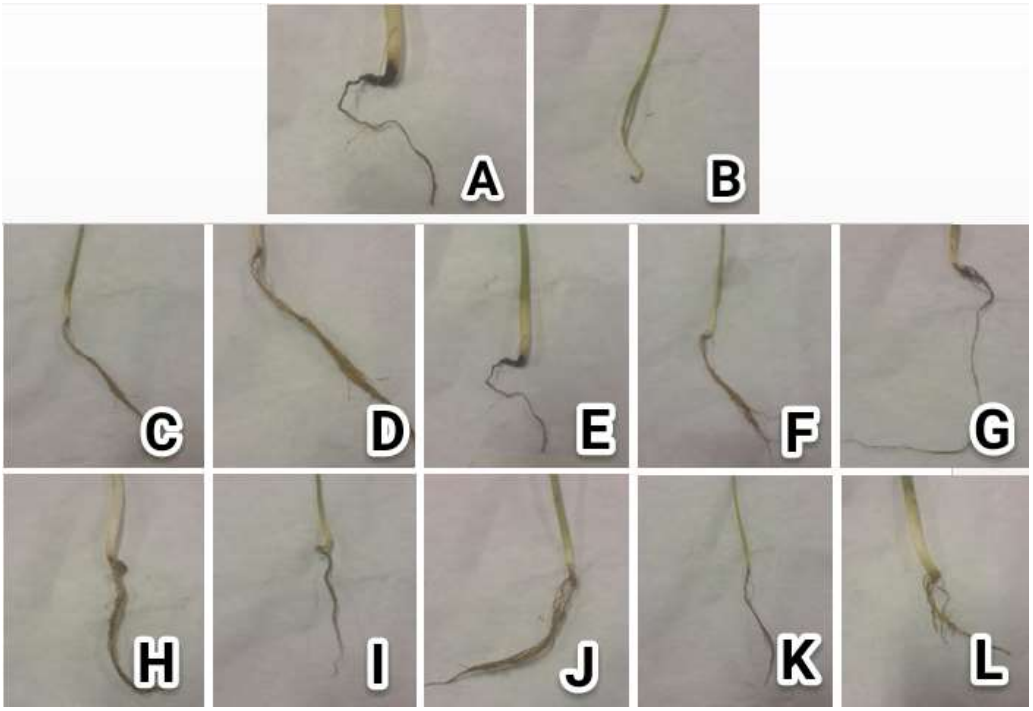
محاسبه شاخص‌های بیماری‌زایی در گلخانه

پس از گذشت ۳۰ روز از کاشت بذور لوبیا و نگهداری گلدان‌ها در شرایط گلخانه‌ای اقدام به شست‌شوی ریشه گیاهان تیمار شده با قارچ‌های بیمارگر عامل پوسیدگی طوقه و ریشه لوبیا، گردید و شاخص‌های بیماری‌زایی مورد ارزیابی قرار گرفتند.

شکل ۶- نمایی از گیاهان لوبیای تلقیح شده با قارچ‌های بیمارگر عامل پوسیدگی طوقه و ریشه لوبیا در شرایط گلخانه

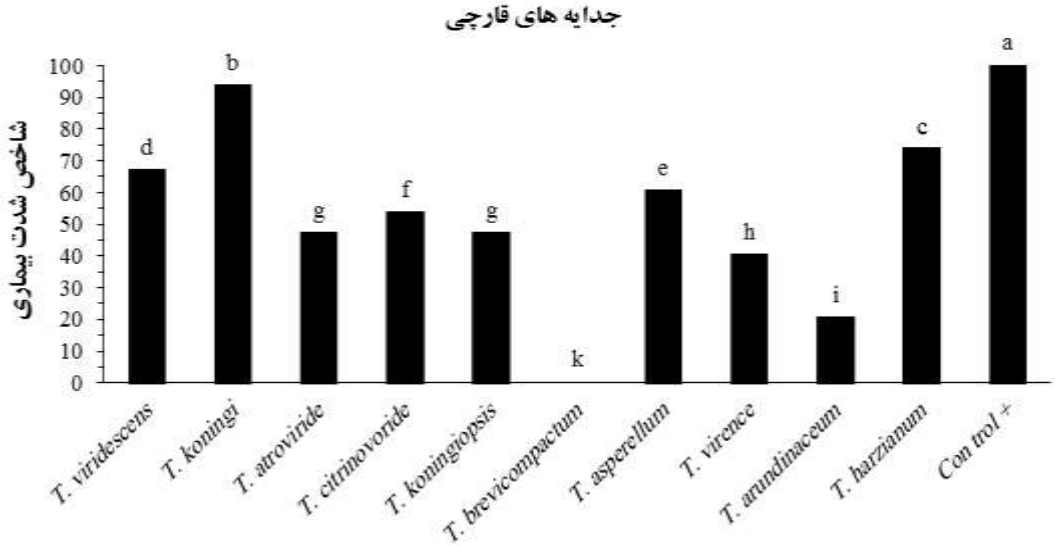
بررسی اثر ۱۰ جدایه تریکودرما در کنترل بیماری، شاخص و وقوع بیماری پوسیدگی طوقه و ریشه لوبیا ناشی از قارچ *R. soalni*

در بررسی تاثیر بازدارندگی ۱۰ جدایه تریکودرما روی پوسیدگی ریشه و طوقه گیاهان لوبیا ناشی از قارچ *R. solani* در گلخانه ثابت شد که جدایه *T. brevicompactum* با مهار صددرصدی وقوع و شدت بیماری، قوی‌ترین آنتاگونیست علیه این بیمارگر بود. در مورد تاثیر روی وقوع بیماری نیز ضعیف‌ترین آنتاگونیست با درصد وقوع بیماری ۷۷/۷۸ و شاخص شدت بیماری ۹۳/۳ مربوط به جدایه *T. koningi* بود، دلیل این تفاوت در درصد کنترل بیماری می‌تواند ناشی از توانایی بالای گونه *T. brevicompactum* در تولید آنزیم‌های موثر در بیوکنترل نظیر آنزیم کیتیناز و غیره باشد، چرا که این جدایه در آزمایشات مربوط به کشت متقابل و ترکیبات فرار نیز جزو جدایه‌های برتر بیوکنترلی علیه قارچ بیمارگر *solani* . محسوب می‌شد؛ اثر آنزیم‌های تجزیه کننده خصوصا کیتیناز در تحقیقات متعدد به اثبات رسیده است، نکته مهم دیگر در ارتباط به این جدایه این است که این جدایه کاملا از وقوع بیماری جلوگیری کرده است که این امر در مبحث کنترل بیولوژیک بیماری‌های گیاهی بسیار حائز اهمیت است، به‌نظر می‌رسد یکی از دلایل این امر می‌تواند قدرت رقابتی و آنتگونیستی بسیار بالای گونه *T. brevicompactum* باشد که به قارچ بیوکنترل این امکان را داده که به‌خوبی ریشه گیاه لوبیا را کلنیزه کرده و از ایجاد و وقوع بیماری به طور کامل جلوگیری کرده است (شکل ۷).



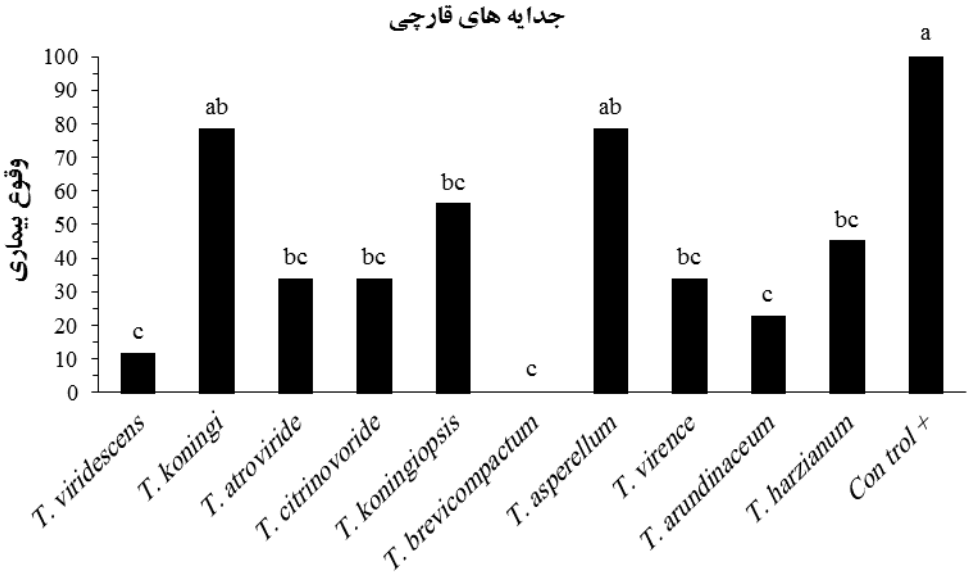
شکل ۷- مجموع ۱۱ تیمار برای بررسی اثر بازدارندگی ۱۰ جدایه تریکودرما روی بیماری پوسیدگی ریشه و طوقه لوبیا ناشی از قارچ بیمارگر *R. solani*

A . شاهد مثبت، B. شاهد سالم، C. *T. arundinaceum* ، D. *T. viridescens* E. *T. koningi* ،F. *T. atroviride* ،G. *T. citrinoviride* ،H. *T. harzianum* ،I. *T. koningiopsis* ،J. *T. brevicompactum* ،K. *T. asperellum* ،L. *T. virence*



شکل ۸- اثر ۱۰ جدایه تریکودرما روی شاخص شدت بیماری پوسیدگی طوقه و ریشه لوبیا ناشی از قارچ *R. soalni*

مقایسه میانگین با روش دانکن انجام‌شده است. حروف غیرمشابه بیانگر اختلاف آماری در سطح ۱٪ می‌باشند.

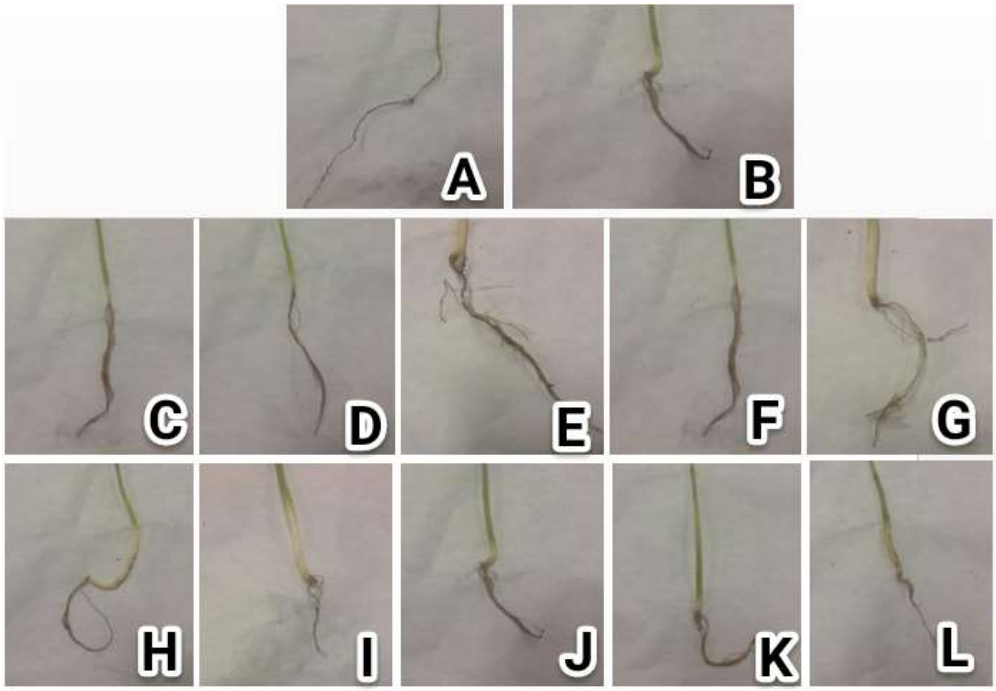


شکل ۹- اثر ۱۰ جدایه تریکودرما روی وقوع بیماری پوسیدگی طوقه و ریشه لوبیا ناشی از قارچ *R. soalni*

مقایسه میانگین با روش دانکن انجام‌شده است. حروف غیرمشابه بیانگر اختلاف آماری در سطح ۱٪ می‌باشند.

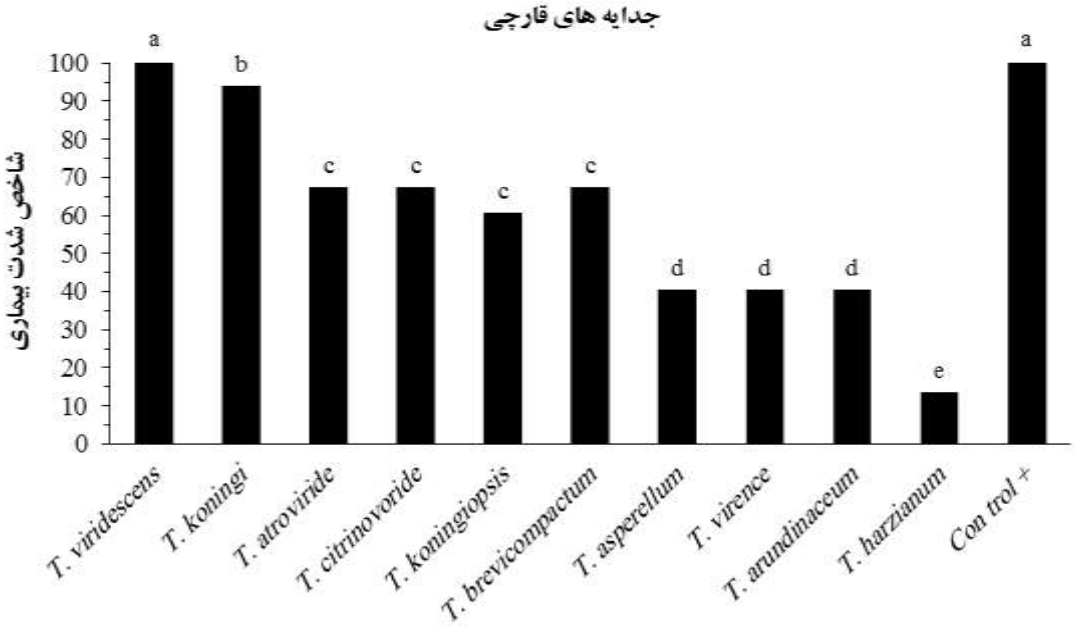
بررسی اثر ۱۰ جدایه تریکودرما در کنترل بیماری، شاخص و وقوع بیماری پوسیدگی طوقه و ریشه لوبیا ناشی از قارچ *F. solani*

در بررسی اثر ۱۰ جدایه تریکودرما علیه بیماری پوسیدگی ریشه و طوقه گیاهان لوبیا در شرایط گلخانه‌ای، جدایه *T. koningiopsis* با کاهش وقوع بیماری به میزان ۱۱/۱۱، پایین‌ترین وقوع بیماری و بلاترین میزان محافظت از گیاه لوبیا را در برابر قارچ بیمارگر *F. solani* نشان داد، اما همین جدایه با شاخص شدت بیماری ۶۶ درصد نتوانست باعث کاهش معنی‌دار این شاخص نسبت به چند جدایه برتر باشد. در این بین بهترین جدایه آنتاگونیست در کاهش شدت بیماری، گونه *T. harzianum* با شاخص شدت بیماری ۱۳ درصد بود. به نظر می‌رسد به علت ماهیت عامل بیمارگر و قدرت تهاجمی و رقابتی بالای این قارچ و همچنین توانایی قارچ فوزاریوم در تولید اندام مقاوم (کلامیدوسپور)؛ به منظور گذر از شرایط سخت، کنترل کامل وقوع بیماری پوسیدگی طوقه و ریشه لوبیا ناشی از قارچ بیمارگر *F. solani* توسط قارچ آنتاگونیست تریکودرما دشوار به‌نظر می‌رسد، همچنین با توجه به نتایج بدست آمده در ارتباط با کنترل این بیماری که گونه *T. harzianum* بیشترین تاثیر را در کنترل قارچ بیمارگر داشت، به نظر می‌رسد مکانیسم‌های کنترلی برای کنترل قارچ *F. solani* با قارچ *R. solani* متفاوت است (شکل ۱۰، شکل ۱۱ و شکل ۱۲).



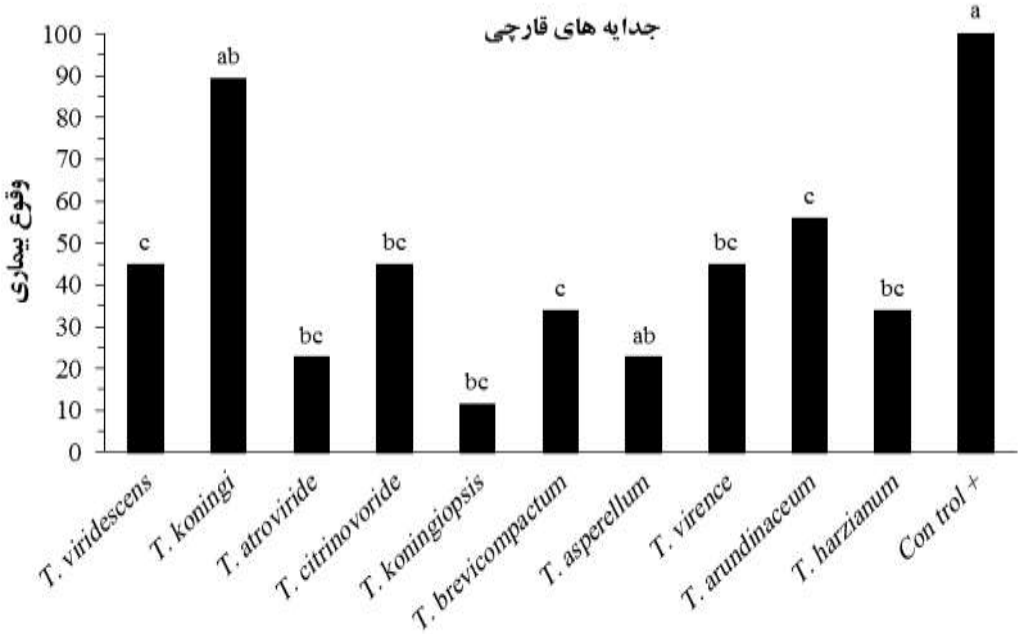
شکل ۱۰- مجموع ۱۱ تیمار برای بررسی اثر بازدارندگی ۱۰ جدایه تریکودرما روی بیماری پوسیدگی ریشه و طوقه لوبیا ناشی از قارچ بیمارگر *F. solani*

A: شاهد مثبت، B. شاهد سالم، C. *T. arundinaceum* ، D. *T. viridescens*، E. *T. koningi*، F. *T. atroviride*، G. *T. citrinoviride*، H. *T. harzianum*، I. *T. koningiopsis*، J. *T. brevicompactum*، K. *T. asperellum*، L. *T. virence*



شکل ۱۱- اثر۱۰ جدایه تریکودرما روی شاخص شدت بیماری پوسیدگی طوقه و ریشه لوبیا ناشی از قارچ *F. soalni*

مقایسه میانگین با روش دانکن انجام‌شده است. حروف غیرمشابه بیانگر اختلاف آماری در سطح ۱٪ می‌باشند.



شکل ۱۲- اثر۱۰ جدایه تریکودرما روی وقوع بیماری پوسیدگی طوقه و ریشه لوبیا ناشی از قارچ *F. soalni*

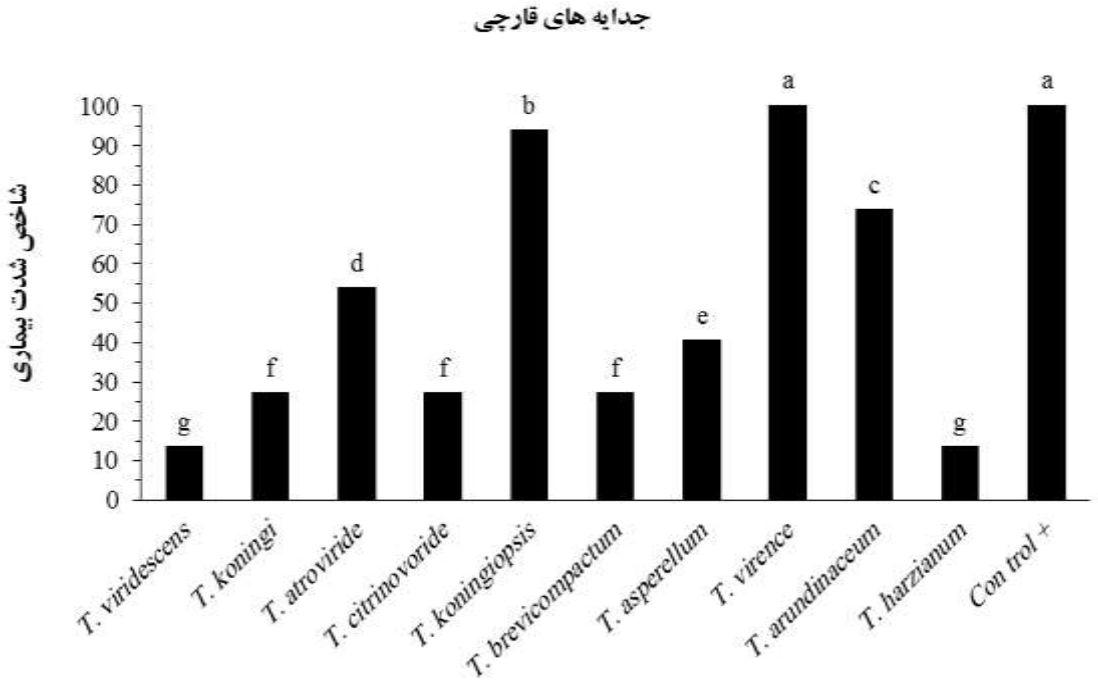
مقایسه میانگین با روش دانکن انجام‌شده است. حروف غیرمشابه بیانگر اختلاف آماری در سطح ۱٪ می‌باشند.

بررسی اثر ۱۰ جدایه تریکودرما در کنترل بیماری، شاخص و وقوع بیماری پوسیدگی طوقه و ریشه لوبیا ناشی در هنگام ترکیب دو پاتوژن *R. solani* و *F. solani* به صورت هم‌زمان

پس از محاسبه شاخص‌های وقوع بیماری و شاخص شدت بیماری، ثابت شد که سه جدایه *T. viridescence*، *T. koningi* و *T. harzianum* با کم‌ترین میزان وقوع بیماری و شاخص شدت بیماری، آنتاگونیست‌های برتر در حالت تیمار هم‌زمان دو پاتوژن بودند، لذا می‌توان چنین استدلال کرد که این جدایه‌ها در شرایط طبیعی مزرعه نیز که عموما چندین عامل بیمارگر به‌صورت همزمان وجود دارند نیز می‌توانند کنترل مناسبی از بیماری را داشته باشند، همچنین با توجه به نتایج بدست‌آمده از کاربرد انفراد قارچ‌های بیمارگر می‌توان چنین نتیجه‌گیری کرد که تلفیق این دو بیمارگر اثر چندانی روی میزان شدت بیماری پوسیدگی طوقه و ریشه لوبیا در شرایط گلخانه‌ای نداشته است (شکل ۱۳، ۱۴ و ۱۵).

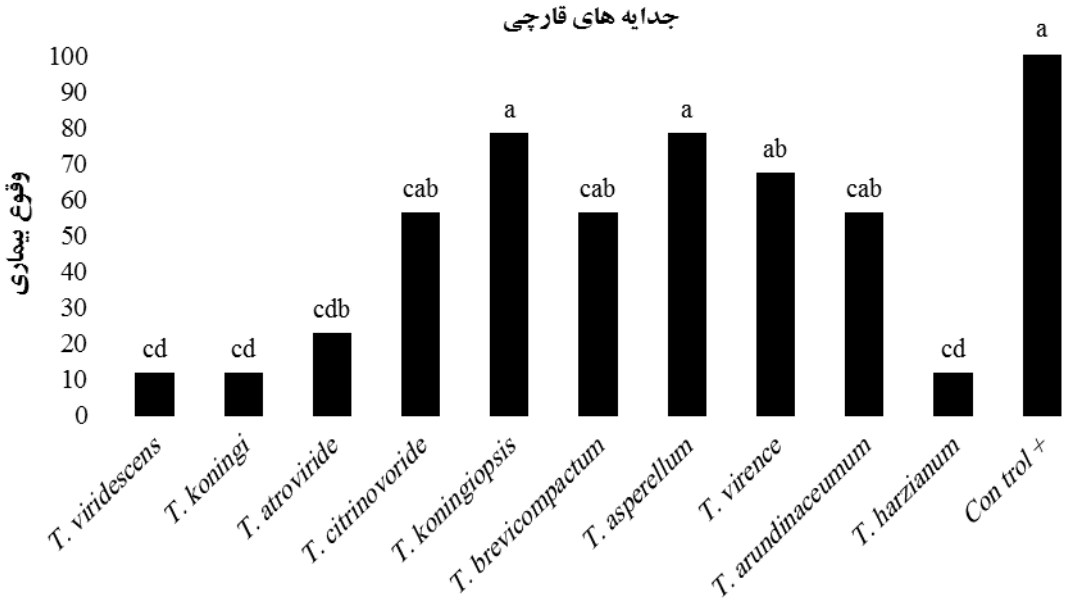
شکل ۱۳- مجموع ۱۱ تیمار برای بررسی اثر بازدارندگی ۱۰ جدایه تریکودرما روی بیماری پوسیدگی ریشه و طوقه ناشی از تیمار جدایه‌های تریکودرما با تیمار هم‌زمان دو بیمارگر *R. solani* و *F. solani*

A شاهد مثبت، B. شاهد سالم، C. *T. arundinaceum* ، D. *T. viridescens*، E. *T. koningi*، F. *T. atroviride*، G. *T. citrinoviride*، H. *T. harzianum*، I. *T. koningiopsis*، J. *T. brevicompactum*، K. *T. asperellum*، L. *T. virence*



شکل ۱۴- اثر۱۰ جدایه تریکودرما روی شاخص شدت بیماری پوسیدگی طوقه و ریشه لوبیا در شرایط ترکیب بیمارگرهای *R. solani* و *F. solani* به طور هم‌زمان

مقایسه میانگین با روش دانکن انجام‌شده است. حروف غیرمشابه بیانگر اختلاف آماری در سطح ۱٪ می‌باشند.



شکل ۱۵- اثر۱۰ جدایه تریکودرما روی وقوع بیماری پوسیدگی طوقه و ریشه لوبیا در شرایط ترکیب بیمارگرهای *R. solani* و *F. solani* به طور هم‌زمان

مقایسه میانگین با روش دانکن انجام‌شده است. حروف غیرمشابه بیانگر اختلاف آماری در سطح ۱٪ می‌باشند.

در مجموع این سه آزمایش این نتیجه حاصل شد که قوی‌ترین آنتاگونیست با درصد بازدارندگی از وقوع بیماری ۷۰/۳۷ درصد و درصد بازدارندگی از شدت (شاخص) بیماری ۶۶/۹ درصدی، جدایه *T. harzianum* بود که در مورد هر دو شاخص محاسبه شده شدت و وقوع بیماری ارتباط مستقیمی بین بازدارندگی از *F. solani* و بازدارندگی از ترکیب این دو پاتوژن وجود داشت که نشان از غالبیت و قدرت تهاجمی آن نسبت به گونه *R. solani* در این تحقیق دارد. جدایه *T. brevicompactum* با اینکه درصد بازدارندگی ۷۷/۷۸ درصدی از وقوع بیماری را داشت اما نتوانست به طور چشمگیری از شدت بیماری جلوگیری کند، که این امر نشان‌دهنده این است که احتمالا این جدایه آنتاگونیست از قدرت رقابتی بالایی در محیط ریزوسفر گیاه برخوردار نیست و احتمالا نتوانسته ریشه گیاه لوبیا را به خوبی کلنیزه کند با توجه به این که این تحقیق اولین گزارش تلقیح هم‌زمان عامل (عوامل) بیماری و آنتاگونیست در این زمینه تحقیقی می‌باشد، درصدهای بازدارندگی به دست آمده نشان از قدرت و توانایی بالای برخی از این آنتاگونیست‌ها در بازدارندگی از این بیماری‌ها دارد. لذا می‌توان چنین استدلال کرد که این عوامل(خصوصا جدایه *T. harzianum*)، می‌تواند جایگزین یا مکمل خوبی برای سموم شیمیایی رایج به منظورکنترل بیماری پوسیدگی طوقه و ریشه لوبیا باشد؛ چرا که این جدایه علاوه بر کنترل هر کدام از قارچ‌های بیمارگر به تنهایی در شرایط تلفیقی کاربرد این عوامل بیمارگر درصد قابل توجهی از بازدارندگی از شدت بیماری را نشان داد.

با توجه به نتایج بررسی حاضر؛ همبستگی چندان قابل تامل و قابل توجهی بین نتایج آزمایش کشت متقابل و تاثیر ترکیبات فرار جدایه‌های آنتاگونیست درجلوگیری از رشد قارچ بیمارگر در شرایط آزمایشگاه و نتایج آزمایش‌های گلخانه‌ای حاصل نشد که نشان از کارا نبودن و عدم آگاهی از ارتباط طبیعی بین بیمارگر، آنتاگونیست و گیاه میزبان و درنتیجه عدم به کارگیری بررسی‌های آزمایشگاهی مناسب برای غربال آنتاگونیست‌ها دارد. چرا که در بررسی‌های آزمایشگاهی (کشت متقابل و آزمون اثر ترکیبات فرار) به اثر گیاه میزبان توجهی نشده است و این در صورتی است که باید ارتباط بسیار موثر و محکمی بین گیاه و عامل بیوکنترل برقرار باشد؛ لذا به‌نظر می‌رسد، توانایی کلنیزه کردن ریشه گیاه توسط قارچ آنتاگونیست نقش بسزایی در توانایی این عامل بیوکنترل در کنترل بیماری پوسیدگی ریشه و طوقه لوبیا داشته باشد. چرا که در این شرایط عامل بیوکنترل می‌تواند با کلنیزه کردن قسمت‌های نوک ریشه از استقرار عامل بیمارگر جلوگیری کرده و به شکل موثری از وقوع و شدت بیماری بکاهد.

نتیجه‌گیری

در این تحقیق که نمونه‌برداری آن طی تابستان سال‌های ۹۵ و ۹۶ از مزارع لوبیا، در شهرستان‌های کرمانشاه، صحنه، اسلام‌آباد غرب و کنگاور واقع در استان کرمانشاه انجام شد. ۹۳ قطعه ریشه و طوقه گیاهان لوبیا مشکوک به آلودگی پژمردگی طوقه و ریشه نمونه‌برداری شد که از ۶۳ جدایه قارچی به‌دست آمده، گونه *Rhizoctonia solani* با ۲۶ جدایه بیش‌ترین جدایه قارچی جداسازی شده را به خود اختصاص داد و بعد از آن نیز گونه *Fusarium solani* با ۲۰ جدایه و گونه *Fusarium oxysporum* نیز با جدایه پس از آن‌ها قرار گرفتند. با توجه به تعداد جدایه‌های به‌دست آمده می‌توان نتیجه گرفت که عامل غالب پوسیدگی‌های طوقه و ریشه گیاهان لوبیا در استان کرمانشاه گونه *R. solani* بوده و این گونه در زمین‌هایی با آبیاری غرقابی و با زهکشی ضعیف نیز به عنوان غالب‌ترین گونه عامل پوسیدگی جداسازی شد. پس از این گونه نیز گونه *F. solani* دارای بیش‌ترین فراوانی با ۳۸ درصد کل جدایه‌ها بود و از این روز این دو گونه برای انجام همه آزمایش‌ها از جمله آزمایش‌های

غربالگری در سطح آزمایشگاه و گلخانه و آزمون‌های تست بیماری‌زایی انتخاب شدند.

پس از شناسایی جدایه‌ها، اقدام به اجرای آزمون بیماری‌زایی کردید و با توجه به این نکته مهم که در همه آزمون‌های بیماری-زایی، جدایه‌های *R. solani* علائم مشهودتر و شدیدتری نسبت به جدایه‌های *F. solani* داشتند و با در نظر گرفتن این نکته که چنین نتایجی در طی نمونه‌برداری نیز به وضوح قابل مشاهده بود، می‌توان چنین استنباط کرد که عامل اصلی پوسیدگی ریشه و طوقه لوبیا در مناطق کشت لوبیا در استان کرمانشاه گونه *R. solani* است و بر گونه *F. solani* غالب است.

پس از اجرای بررسی‌های آزمایشگاهی که در قالب آزمایش کشت متقابل ۱۰ جدایه مربوط به تریکودرما در تعامل با بیمارگر *R. solani* انجام گرفت، ثابت شد که در بررسی اثر ۱۰ جدایه تریکودرما در بازدارندگی از رشد میسیلیومی *R. solani* در آزمون کشت متقابل، همه جدایه‌ها درصد بازدارندگی بالاتر و یا مساوی ۵۰ درصد را داشتند که جدایه *T. koningi* با میزان بازدارندگی ۶۵ درصد، قوی‌ترین آنتاگونیست علیه *R. solani* در آزمون کشت متقابل بود. گونه‌های *T. virense* و *T. koningiopsis* نیز هر کدام با ۵۰ درصد پایین‌ترین میزان بازدارندگی را علیه *R. solani* در این آزمون غربالگری داشتند.

در آزمون کشت متقابل ۱۰ جدایه تریکودرما با بیمارگر *F. solani* نیز گونه *T. citrinoviride* با درصد بازدارندگی ۴۷/۹۱ درصد بالاترین درصد بازدارندگی از رشد را به خود اختصاص داد و کم‌ترین میزان بازدارندگی نیز با درصد بازدارندگی ۳۲/۹۱ درصد مربوط به گونه‌های *T. atroviride* و *T. asperellum* بود. نکته جالب توجه این بود که برخلاف آزمون کشت متقابل جدایه *R. solani* با گونه‌های تریکودرما که همه گونه‌ها درصد بازدارندگی مساوی یا بزرگ‌تر از ۵۰ درصد را به دست آورند، در این آزمایش هیچ کدام از گونه‌ها نتوانستند حتی درصد بازدارندگی ۵۰ درصد را به دست بیاورند که نشان قدرت تهاجمی و سرعت رشد این جدایه از *F. solani* دارد.

و در بررسی تاثیر ترکیبات فرار جدایه‌های تریکودرما بر بازدارندگی از رشد میسیلیومی *R. solani* نیز گونه *T. asperellum* برخلاف نتایج آن در آزمایش کشت متقابل، درصد بازدارندگی قابل توجه ۷۰ درصد را داشت که نشان دهنده غالبیت این مکانیسم کنترلی این گونه بر مکانیسم عمل مایکوپارازیتیسم علیه *R. solani* دارد. پایین‌ترین درصد نیز به گونه *T. atroviride* با ۲۶/۶۶ درصد بود. در آزمون کشت متقابل، هر دو گونه *T. asperellum* و *T. atroviride* درصد بازدارندگی تقریبا یکسانی داشتند. و در مورد جدایه *F. solani* نیز گونه *T. virense* با ۷۵ درصد و گونه *T. viridescense* نیز با ۳۷/۵ درصد بالاترین و پایین‌ترین درصد بازدارندگی را در بین ۱۰ گونه تریکودرما داشتند.

در آزمایش‌های گلخانه‌ای نیز که انجام گرفت در مورد تاثیر آنتاگونیست‌ها در بازدارندگی از پژمردگی فوزاریومی ریشه و طوقه لوبیا، جدایه *T. koningiopsis* با کاهش وقوع بیماری به ۱۱/۱۱، پایین‌ترین وقوع بیماری و حفاظت را از گیاهان لوبیا در برابر *F. solani* شد اما همین جدایه با شاخص شدت بیماری ۶۶ درصد نتوانست باعث کاهش معنی‌دار این شاخص نسبت به چند جدایه برتر باشد و جدایه *T. brevicompactum* با مهار صددرصدی وقوع و شدت بیماری ناشی از *R. solani*، قوی-ترین آنتاگونیست علیه این بیمارگر بود. و در مورد تاثیر آنتاگونیست‌ها در تیمار همزمان دو بیمارگر نیز پس از محاسبه شاخص‌های وقوع بیماری و شاخص شدت بیماری، ثابت شد که سه جدایه *T. viridescence*، *T. koningi* و *T. harzianum* با کم‌ترین میزان وقوع بیماری و شاخص شدت بیماری، آنتاگونیست‌های برتر در حالت تیمار هم‌زمان دو بیمارگر بودند که در مورد این جدایه‌های آنتاگونیست، تاثیر آن‌ها بر افزایش نسبی شاخص‌های رشدی نیز اثبات گردید.

با توجه به نتایج امید بخش حاضر و عدم کارآمدی سموم شیمیایی و سایر روش‌های کنترلی زراعی در صورت آلودگی خاک مزارع لوبیا به این بیماری، استفاده از این عوامل بیوکنترل می‌تواند راهگشا باشد، همچنین با توجه به نتایج بدست آمده در

ارتباط با افزایش صفات رشدی لوبیا در ترکیب با جدایه *T. viridescence* معرفی فرمولاسیون مناسبی از این جدایه می‌تواند به عنوان کود بیولوژیک در مزارع لوبیا در تلفیق با سایر روش‌های زراعی مورد استفاده قرار گیرد.

پیشنهادها

۱. ارزیابی اثر جدایه *T. viridescens* در کنترل بیماری و افزایش عملکرد لوبیا در سطح مزرعه
۲. ارزیابی اثر تلفیقی چند جدایه تریکودرما در کنترل بیماری
۳. ارزیابی اثر تلفیقی جدایه‌های برتر و باکتری‌های پروبیوتیک شناخته شده در کنترل بیماری
۴. تولید، بهینه‌سازی فرمنتاسیون و فرمولاسیون جدایه *T. viridescens* جهت تجاری‌سازی و تولید انبوه

منابع

۱. احمدزاده، م. ۱۳۹۲. مکانیسم¬ها و سیستم¬های تنظیم‌کننده ژنتیکی. انتشارات دانشگاه تهران، ۳۵۶ صفحه.
۲. باقری، ع. ، نظامی، ا. و پارسا، م. ۱۳۸۵. تحلیلی بر راهبردهای تحقیقات حبوبات در ایران. رهیافت‌هایی از اولین همایش ملی حبوبات، مجله پژوهش‌های زراعی ایران، ۴ : ۱-۱۳.
۳. باقری، ع، . محمودی، ع. و قزلی، ف. د. ۱۳۸۰. بیماریهای گیاهی. انتشارات جهاد دانشگاهی مشهد، ۵۶۶ ص.
۴. بهداد، ا. ۱۳۷۷. عوامل بیماری‌زا و بیماری‌های مهم گیاهی ایران. اصفهان، انتشارات فلاحت ایران، ۴۵۶ ص.
۵. شریف‌نبی، ب. ۱۳۸۹. بیماری‌های گیاهان زراعی ایران، دانشگاه صنعتی اصفهان، ۴۴۰ ص.
۶. جدیدی، ح. ر. ۱۳۸۸. بررسی اثر سرب و سالیسیلیک اسید بر مراحل تکوین تخمک و دانه های گرده لوبیا (Phaseolus vulgaris) رقم اختر. پایان نامه‌ی کارشناسی ارشد، دانشکده‌ی تحصیلات تکمیلی، دانشگاه آزاد اسلامی بروجرد.
۷. سلطانی، ه. ، روحانی، ح. ، ظفری، د. ، کریمی، ع. و صفری، م. ۱۳۷۷. بررسی اثر تریکودرمین B روی تعدادی از قارچ‌های بیماری‌زا در سیب‌زمینی. خلاصه مقالات سیزدهمین کنگره گیاهپزشکی ایران، دانشکده کشاورزی کرج.
۸. کرم‌پور، ف. و اخوت، م. ۱۳۷۵. تأثیر چند جدا شده از قارچ‌های آنتاگونیست علیه پوسیدگی سیاه ریشه نخود Fusarium solani در شرایط گلخانه. مجله علوم کشاورزی ایران، ۲۷(۲): ۳۷-۴۳.
۹. کوچکی، ع. بنایان، م. ۱۳۸۸. زراعت حبوبات. انتشارات جهاد دانشگاهی مشهد.
۱۰.لک، م. ۱۳۸۲. گزارش نهایی "بیماری‌های پوسیدگی ریشه لوبیا". بخش تحقیقات آفات و بیماری‌های گیاهی، مرکز تحقیقات کشاورزی استان مرکزی، ۲۷ ص.
۱۱.مجنون حسینی، ن. ۱۳۸۷. زراعت و تولید حبوبات. انتشارات جهاد دانشگاهی تهران، ۲۹۴ ص.
۱۲.نیک‌نژاد، م. ، پدرام‌فر، ح. و الهی‌نیا، س. ع. ۱۳۸۱. بررسی اثر چند قارچ‌کش و قارچ آنتاگونیست علیه *Rhizoctonia solani* Kuhn عامل بیماری سوختگی غلاف برنج. مجله علوم آب و خاک، ۶(۴): ۱۵۱-۱۵۸.

13. Abawi, G. S. and Pastor- Corrales, M. A. 1990. Root rots of beans in Latin America and Africa: diagnosis, research methodologies and management strategies. CIAT, Cail, Colombia.
14. Averre, C. H. 2000. Root Rots of Green Beans and Lima Beans Vegetable Disease. Information Note 7 (VDIN-007).
15. Bandoni, R. J. 1979. Safranin 0 as a rapid nuclear stain for fungi. *Mycologia*, 71: 873-874.
16. Booth, C. 1971. The Genus *Fusarium*.
17. Carling, D. E. and Sumner, D. R. 1992. Rhizoctonia. Methods for research on soilborne
18. phytopathogenic fungi, 157-165.
19. Carling, D. E. , and Sumner, D. R. , In Singleton, L. L. , Mihail, J. D. and Rush, C. M. 2002. *Rhizoctonia*. methods for research on soilborn phytopathogenic fungi". USA: *American phytopathological society*, 157-165.
20. Chet, I. and Inbar, J. 1994. Biological control of fungal pathogens. *Applied*

biochemistry and biotechnology, 48: 37-43.
21. Cooke, D. A. and Scott, R. K. 1993. The Sugarbeet Crop: Science Into Practice. Chapman and Hall, London, 675.
22. Davanlou, M. , Madsen, A. , Madsen, C. and Hockenhull, J. 1999. Parasitism of macroconidia, chlamydospores and hyphae of *Fusarium culmorum* by mycoparasitic *Pythium* species. *Plant pathology*, 48: 352-359.
23. Dennis, C. and Webster, J. 1971. Antagonistic properties of species-groups of *Trichoderma*: II. Production of volatile antibiotics. *Transactions of the British Mycological Society*, 57: 41-44.
24. Desjardins, A. E. 2006. *Fusarium* mycotoxins: chemistry, genetics and biology. *The* American Phytopathological Society State Paul, Minnesota. APS Press, 184-185.
25. Eisendle, M. , Oberegger, H. , Buttinger, R. , Illmer, P. and Haas, H. 2004. Biosynthesis and uptake of siderophores is controlled by the PacC-mediated ambient-pH regulatory system in *Aspergillus nidulans*. *Eukaryotic cell*, 3: 561-563.
26. Ershad, D. 2009. Fungi of Iran. Tehran: Ministry of Agriculture, Agricultural Research Education and Extension Organization Publication, 874.
27. Etebarian, H. R. 2002. Evaluation of *Streptomyces* isolates for biological control of charcoal rot of melon. Abstract of 26th International Horticultural Congress (supplement), Toronto, Canada. 11.
28. Etebarian, H. R. 2006. Evaluation of *Trichoderma* Isolates for Biological Control of Charcoal Stem Rot in Melon Caused by *Macrophomina phaseolina*. *Journal of agricultural science and technology*, 8: 243-250.
29. Gerlach, W. and Nirenberg, H. 1982. The genus *Fusarium*, a pictorial atlas. Mitteilungen aus der Biologischen Bundesanstalt fur Land-und Forstwirtschaft Berlin-Dahlem, 209.
30. Gnanamanickam, S. S. ed. , 2002. Biological control of crop diseases. CRC Press.
31. Gräfenhan, T. , Schroers, H. J. , Nirenberg, H. I. and Seifert, K. A. 2011. An overview of the taxonomy, phylogeny, and typification of nectriaceous fungi in *Cosmospora*, *Acremonium*, *Fusarium*, *Stilbella*, and *Volutella*. *Studies in Mycology*, 68: 79-113.
32. Harman, G. E. , Howell, C. R. , Viterbo, A. , Chet, I. and Lorito, M. 2004. "*Trichoderma* species opportunistic, avirulent plant symbionts. *Nature Reviews Microbiology*, 2: 43–56.
33. Hartley, C. P. 1921. Damping-off in forest nurseries (No. 934). US Department of Agriculture.
34. Hartman, G. E. and Kubicek, C. P. eds. 2002. *Trichoderma* and *Gliocladium* Basic Biology, Taxonomy and Genetics. Taylor Francis Ltd. , London, 57-74.
35. Hyde, K. D. , Nilsson, R. H. , Alias, S. A. , Ariyawansa, H. A. , Blair, J. E. , Cai, L. , de Cock, A. W. , Dissanayake, A. J. , Glockling, S. L. , Goonasekara, I. D. and Gorczak, M. 2014. One stop shop: backbones trees for important phytopathogenic genera: I (2014). *Fungal Diversity*, 67: 21-125.
36. Jacobsen, B. J. 2006. Root rot diseases of sugar beet. Zbornik Matice srpske za prirodne nauke, 110: 9-19.
37. Koike, S. , Pan, J. , Suzuki, T. , Takano, T. , Oshima, C. , Kobayashi, Y. and Tanaka, K. 2004. Ruminal distribution of the cellulolytic bacterium Fibrobacter succinogenes in relation to its phylogenetic grouping. *Animal Science Journal*, 75: 417-422.
38. Kuć, J. 2001. Concepts and direction of induced systemic resistance in plants and its application. *European Journal of Plant Pathology*, 107: 7-12.
39. Leslie, J. and Summerell, B. 2006. The *Fusarium* laboratory manual. , (Blackwell Publishing Ltd: Oxford).
40. McIntyre, M. , Nielsen, J. , Arnau, J. , Van der Brink, H. , Hansen K. and Madrid, S. 2004. Proceedings of the 7th European Conference on Fungal Genetics. Copenhagen, Denmark.
41. Metcalf, D. and Wilson, C. 2001. The process of antagonism of *Sclerotium cepivorum* in white rot affected onion roots by *Trichoderma koningii*. *Plant Pathology*, 50: 249-257.
42. Miller, S. A. , Riedel, R. M. and Rowe, R. C. 1995. Damping-off and root rot of beans.

The Ohio State University Extension Fact Sheet HYG-3110-95.
43. Nashwa M. A. , Sallam, K. A. Abo-Elyousr, M. and Hassan, M. A. E. 2008. Evaluation
44. of *Trichoderma* Species as biocontrol Agents for damping-off and wilt diseases of
45. Phaseolus vulgaris L. and Efficacy of suggested formula. *Egypt. J. Phytopathol*. ,
46. 36: 81-93.
47. Ogoshi, A. 1996. Introduction, the genus *rhizoctonia*. Faculty of Agriculture, Hokkaido University, Kita-ku Sapporo 06, Japan.
48. Sneh, B. , Burpee, L. and Ogoshi, A. 1991. Identification of Rhizoctonia species. APS press.
49. Sneh, B. and Adams, G. C. 1996. Culture Preservation Methods for Maintaning the Genetic Integrity of *Rhizoctonia* SPP. Isolates. In *Rhizoctonia* species: Taxonomy, molecular biology, ecology, pathology and disease control (139-145). Springer, Dordrecht.
50. Spadaro, D. and Gullino, M. L. 2005. Improving the efficacy of biocontrol agents against soilborne pathogens. Crop protection, 24: 601-613.
51. Thrane, C. , Tronsmo, A. and Jensen, D. F. 1997. Endo-1, 3-β-glucanase and cellulase from *Trichoderma harzianum*: purification and partial characterization, induction of and biological activity against plant pathogenic *Pythium* spp. *European Journal of Plant Pathology*, 103: 331-344.
52. Tjamos, E. C. , Tsitsigiannis, D. I. , Tjamos, S. E. , Antoniou, P. P. and Katinakis, P. 2004. Selection and screening of endorhizosphere bacteria from solarized soils as biocontrol agents against *Verticillium dahliae* of solanaceous hosts. *European Journal of Plant Pathology*, 110: 35-44.
53. Vyas, S. , Vyas, S. and Lyr, H. 1995. Integrated control of dry root of soybean. Modern fungicides and antifungal compounds. Intercept, Andover: 565-572.
54. Yedidia, I. , Srivastva, A. K. , Kapulnik, Y. and Chet, I. 2001. Effect of *Trichoderma harzianum* on microelement concentrations and increased growth of cucumber plants. *Plant and soil*, 235: 235-242 .