



دانشگاه فردوسی مشهد

مجله پژوهش‌های تولید گیاهی
جلد نوزدهم، شماره دوم، ۱۳۹۱
<http://jopp.gau.ac.ir>

کنترل بیولوژیکی بیماری فوزاریوم سنبله گندم ناشی از *Fusarium graminearum* با استفاده از سه گونه بومی تریکودرما در زمان‌های مختلف اسپورپاشی در شرایط مزرعه

*فاطمه باغانی^۱، کامران رهنما^۱، محمدعلی آقاجانی^۲ و محمدعلی دهقان^۲

^۱گروه گیاهپزشکی، دانشکده علوم زراعی، دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی گرگان،
^۲مرکز تحقیقات کشاورزی و منابع طبیعی گلستان

چکیده

فوزاریوم سنبله یکی از بیماری‌های مهم گندم در مناطق مرطوب و نیمه گرمسیری کشور محسوب می‌شود. استفاده از عوامل بیولوژیکی یکی از روش‌های مؤثر در کنترل این بیماری می‌باشد. در این پژوهش سه گونه بومی *Trichoderma harzianum*، *T. aroviridae* و *T. virens* به‌عنوان عوامل بیولوژیک در کنترل این بیماری در سه زمان مختلف اسپورپاشی مورد استفاده قرار گرفتند. همچنین به‌منظور مقایسه بین میزان تأثیر کنترل عوامل آنتاگونیست با قارچکش‌های رایج منطقه از قارچکش پروپیکونازول (تیلت) استفاده شد. آزمایش بر روی دو رقم فلات و مغان به صورت آزمایش اسپیلت پلات-فاکتوریل در قالب طرح بلوک‌های کامل تصادفی با ۳ تکرار در شرایط مزرعه انجام شد. هنگامی که سنبله‌ها در مرحله گرده افشانی بودند اسپورپاشی‌ها در ۳ زمان مختلف که شامل T1 (اسپورپاشی ابتدا با تریکودرما با غلظت 3×10^7 بعد از دو روز اسپورپاشی با فوزاریوم با غلظت 3×10^6)، T2 (اسپورپاشی همزمان تریکودرما و فوزاریوم) و T3 (اسپورپاشی ابتدا با فوزاریوم بعد از ۲ روز با تریکودرما) انجام گرفتند. سه روز بعد از آخرین اسپورپاشی فاکتورهای بیماری زایی که شامل درصد آلودگی و شدت آلودگی بودند اندازه‌گیری شدند. عملکرد دانه و وزن هزار دانه نیز بعد از برداشت محصول اندازه‌گیری شدند. مقایسه میانگین‌ها نشان داد که در رابطه با درصد و شدت آلودگی و وزن هزاردانه، تمامی تیمارها با تیمار شاهد با آلودگی مصنوعی اختلاف معنی داری داشتند و درصد و

*. مسئول مکاتبه: fatemebaghani@yahoo.com

شدت آلودگی در آنها کمتر و وزن هزاردانه در آنها بیشتر از تیمار شاهد آلوده بود. همچنین نتایج نشان داد که، تیمار قارچکش با درصد آلودگی ۴۰/۳۳ درصد، شدت آلودگی ۷/۳۸ درصد، وزن هزاردانه ۳۲/۳ گرم و عملکرد دانه ۲۲۵/۳۳ گرم در مقایسه با تیمارهای آنتاگونیستی تریکودرما توانست نتایج قابل قبولتری را نشان دهد. در رابطه با زمان‌های مختلف اسپورپاشی در ارتباط درصد و شدت آلودگی و عملکرد دانه، نتایج نشان داد که تیمارهایی که در زمان T1 استفاده شده بودند نتایج بهتری را در مقایسه با زمان‌های T2 و T3 نشان داد. در نتیجه زمان T1 به‌عنوان کارآمدترین زمان مصرف سوسپانسیون تریکودرما شناخته گردید. در رابطه با ارقام گندم نتایج حاکی از این بود که، بین دو رقم فلات و مغان در رابطه با درصد و شدت آلودگی و عملکرد دانه اختلاف معنی داری مشاهده شد و رقم مغان توانست نتایج بهتری را در مقایسه با رقم فلات نشان دهد.

واژه‌های کلیدی: فوزاریوم سنبله گندم، تریکودرما، پروپیکونازول، کنترل بیولوژیک.

مقدمه

فوزاریوم سنبله یکی از عوامل محدود کننده تولید گندم در مناطق معتدل و نیمه گرمسیری بوده و در مناطقی که مرحله گلدهی و پرشدن دانه مواجه با هوای گرم و مرطوب باشد خسارت زیادی به دانه وارد می‌کند (گلزار و همکاران، ۱۹۹۸). این بیماری از سال‌ها پیش بطور پراکنده در ایران وجود داشته و یکی از بیماری‌های مهم گندم در مازندران (فروتن و همکاران، ۱۹۹۳)، گرگان و گنبد (گلزار، ۱۹۹۳) و مغان (بابادوست، ۱۹۹۵) به شمار می‌رود.

از روش‌های مبارزه با این بیماری می‌توان به روش‌های زراعی و شیمیایی و بیولوژیکی اشاره کرد. روش‌های زراعی و شیمیایی مبارزه با این بیماری کارایی چندانی نداشته‌اند (میلوس و همکاران، ۲۰۰۱؛ پاری و همکاران، ۲۰۰۰).

استفاده از قارچکش‌ها علی‌رغم تأثیر و صرف‌نظر از هزینه‌های اقتصادی و مشکلات زیست‌محیطی، به‌دلیل بارندگی‌های طولانی در زمان شیوع بیماری بازدهی مناسبی ندارد. از طرفی قارچکش‌ها ممکن است در کاهش میزان آلودگی مؤثر بوده ولی در کاهش غلظت زهرابه‌ها بی‌تأثیر و یا کم اثر باشند (خان و همکاران، ۲۰۰۴). کنترل بیولوژیکی می‌تواند به‌عنوان یکی از روش‌های مبارزه در مدیریت تلفیقی برای مبارزه با این بیماری مورد استفاده قرار گیرد (فروتن و همکاران، ۱۹۹۳). اگرچه کنترل

بیولوژیکی فوزاریوم سنبله گندم به صورت تجاری مرسوم نگشته اما امکان پذیر بودن این عمل ثابت شده است (استوکول و همکاران، ۲۰۰۱) و چندین گزارش از کنترل بیماری مذکور توسط میکروارگانیزم‌های آنتاگونیست در مزرعه نیز وجود دارد. به دلیل اینکه در دوره زمانی کمی سنبله‌های غلات نسبت به عامل بلایت فوزاریومی حساس هستند استفاده از عوامل کنترل بیولوژیک می‌تواند مؤثر واقع شود.

عراقی و رهنما (۲۰۰۸) به منظور مقایسه رقابت تغذیه‌ای جدایه‌های مختلف قارچ تریکودرما با قارچ *Fusarium graminearum* از روش کشت دو طرفه استفاده کردند. در این بررسی از ۳ جدایه *T. harzianum* و ۲ جدایه *T. virens* استفاده شد. آزمون بررسی اثر ترکیبات فرار جدایه‌های تریکودرما در جلوگیری از رشد پرگنه قارچ بیمارگر در ۳ حالت کشت همزمان، ۲۴ ساعت قبل و ۴۸ ساعت قبل از کشت *F. graminearum* انجام گردید. بررسی‌های میکروسکوپی نشان داد که جدایه‌های مختلف تریکودرما با تماس و پیچش فنر مانند دور هیف عامل بیمارگر باعث پارازیت شدن آنها شدند. همچنین جدایه‌های قارچ تریکودرما با تولید مواد ضد قارچی و خاصیت آنتی بیوز باعث ایجاد تغییراتی در هیف‌های عامل بیمارگر اعم از بدشکلی، لیز شدن و قطعه قطعه شدن گردیدند. در آزمایش بررسی رقابت تغذیه ای جدایه Th2 بیشترین سرعت پیشروی و رشد را از خود نشان داد. در آزمایش اثر ترکیبات فرار مشخص شد که جدایه تریکودرما تنها در حالی که ۴۸ ساعت زودتر از عامل بیمارگر کشت شدند باعث کاهش رشد عامل بیمارگر گردیدند.

اینچ و گیلبرت (۲۰۰۴) از ایزوله‌های T30، T51، T83 و T183 قارچ *Trichoderma harzianum* جهت کنترل *F. graminearum* استفاده کردند. در کشت متقابل عوامل بیولوژیک و قارچ عامل بیماری، تمامی ایزوله‌های تریکودرما از رشد میسلیم‌های *F. graminearum* جلوگیری کردند. همچنین در شرایط مزرعه برای تعیین تأثیر تریکودرما روی تولید پریتمس و آسکوسپوره‌های *G. zea* روی بقایای گندم سوسپانسیون‌های اسپوره‌های تریکودرما را طی ۳ زمان مختلف روی بذر تلقیح شده ریختند: ۱- ۲۴ ساعت قبل از تلقیح بذر با فوزاریوم ۲- همزمان با تلقیح بذر با فوزاریوم ۳- ۲۴ ساعت بعد از تلقیح بذر با فوزاریوم *F. graminearum*. نتایج این بررسی نشان داد که در شرایطی که سوسپانسیون تریکودرما را ۲۴ ساعت قبل از تلقیح بذر، روی بذور ریختند تولید پریتمس و آسکوسپور به طور معنی داری کاهش یافت، در تلقیح همزمان تولید پریتمس و آسکوسپور به طور متوسط کاهش یافت ولی در تلقیح ۲۴ ساعت بعد از تلقیح با فوزاریوم تولید آسکوسپور و پریتمس با

تیمار شاهد آلوده اختلاف معنی داری نداشت. کولومبت و همکاران (۲۰۰۴) جهت کنترل بیولوژیکی فوزاریوز سنبله گندم در شرایط گلخانه بذور گندم را با پودر تجاری Mycol که حاوی استرین Gjs *Trichoderma asperellum* 03-35 بذرمال کردند، زمانی که گندم‌ها وارد مرحله گلدهی شدند سوسپانسیون (OH182-9) *Cryptococcus nodaensis* را روی خوشه‌ها اسپری کردند. نتایج آزمایش نشان داد که کلیه تیمارها توانستند از شدت آلودگی و تجمع مایکوتوکسین‌ها در دانه به طور معنی داری کاهش دهند و عملکرد دانه را افزایش دهند. بوجلد و پولیتز (۲۰۰۱) از ۴ آنتاگونیست *Bacillus sp.*، *T. harzianum*، *T. viridae* جهت کنترل *F. graminearum* استفاده کرد. بررسی‌های انجام شده نشان داد که بذر گندم تیمار شده با *Bacillus sp.* و *T. viridae* در مقایسه با گندم‌های تیمار شده با *T. harzianum* و *Bipolaris polimixa* حداقل میزان علائم را در سنبله از خود نشان دادند. فرناندز (۱۹۹۹) از ترکیب دو استرین *T12* و *T95* قارچ *T. harzianum* بر روی *F. graminearum* در گیاه گندم استفاده کردند. زمانی که گندم‌ها وارد مرحله گلدهی شدند بعد از اسپورپاشی با سوسپانسیون تریکودرما، سوسپانسیون فوزاریوم اسپورپاشی شدند. نتایج آزمایش نشان داد که هر دو استرین تریکودرما سبب کاهش میزان شدت فوزاریوم سنبله شدند.

هدف از این تحقیق کارایی و بررسی پتانسیل گونه‌های تریکودرمای بومی بر علیه فوزاریوز سنبله گندم در شرایط مزرعه و ارزیابی میزان کنترل بیماری با توجه به زمان‌های مختلف اسپورپاشی در مقایسه با قارچکش موجود در منطقه می باشد.

مواد و روش‌ها

تهیه جدایه‌های عوامل بیوکنترل و عامل بیماری: در این آزمایش از جدایه‌های ۸۸ و ۱۶۵ *F. graminearum* به‌عنوان عامل فوزاریوم سنبله گندم و همچنین از جدایه *Trichoderma* *T. virens* و *T. atroviridae harzianum* به‌عنوان عوامل کنترل بیولوژیک استفاده شد. لازم به ذکر است که صفات آنتاگونیستی تمامی گونه‌های تریکودرما استفاده شده در آزمایش ابتدا در شرایط آزمایشگاه در مقابل گونه بیمارگر *F. graminearum* مشخص شده بود، به این ترتیب که تمامی گونه‌های تریکودرما در کشت متقابل با گونه فوزاریوم بر روی پتری دیش، قادر به پارازیته کردن ریشه و اسپورهای *F. graminearum* بودند (باغانی، ۲۰۱۱).

روش تهیه مایه گونه‌های آنتاگونیست قارچی: جهت تهیه سوسپانسیون، ابتدا محیط کشت *PGB* (Potato Glucose Brooth) تهیه گردید و در ارلن‌های ۲۵۰ میلی لیتری، هر ارلن حاوی ۲۰۰ میلی لیتر محیط کشت، ریخته شد. پس از اتوکلاو کردن، به هر ارلن ۲ دیسک به قطر ۵ میلی متر از کشت تریکودرما ۵ روزه اضافه شد. سپس ارلن‌ها به مدت ۱۰ روز در انکوباتور شیکردار نگهداری شدند. سوسپانسیون موجود در ارلن‌ها توسط کاغذ صافی استریل صاف شدند و سوسپانسیون سبز رنگی از تریکودرماها تهیه شد و با استفاده از لام هموسیتومتر (اسپورشمار)، تراکمی از این سوسپانسیون‌ها معادل 3×10^7 اسپور در هر میلی لیتر تهیه گردید (باغانی و همکاران، ۲۰۱۱).

روش تهیه مایه *F. graminearum*: جهت تهیه سوسپانسیون عامل بیماریزا، درون ارلن‌های ۲۵۰ میلی لیتری ۸ گرم کاه و کلش گندم آسیاب شده ریخته شد. سپس به ارلن‌ها، ۱۲۵ سی سی آب مقطر افزوده و در دمای ۱۲۱ درجه سانتی گراد و فشار ۱/۵ اتمسفر به مدت ۲۰ دقیقه ۲ بار اتوکلاو گردیدند. پس از اتوکلاو در هر ارلن ۱ دیسک از محیط کشت ۳-۵ روزه ایزوله ۸۸ و ۲ دیسک از محیط کشت ۳-۵ روزه ایزوله ۱۶۵ هر کدام به قطر ۵ میلی متر قرار داده شد. سپس ارلن‌ها به مدت ۷-۱۰ روز در انکوباتور شیکردار قرار گرفتند. بعد از گذشت این مدت مخلوط بوسیله کاغذ صافی صاف شد و عصاره تهیه گردید و با استفاده از لام هموسیتومتر (اسپورشمار)، تراکمی از این سوسپانسیون معادل 3×10^9 اسپور در هر میلی لیتر عصاره‌های تهیه شد.

قارچ کش مورد استفاده: در این تحقیق از سم پروپیکونازول یا تیلت با دوز یک لیتر در هکتار به عنوان یکی از سموم مورد مصرف در منطقه جهت کنترل شیمیایی بلایت فوزاریومی سنبله گندم استفاده شد.

عملیات کاشت در مزرعه: دو رقم فلات و مغان به صورت آزمایش اسپیلت پلات-فاکتوریل در قالب طرح بلوک های کامل تصادفی، به گونه‌ای که زمان‌های مختلف اسپورپاشی به‌عنوان پلات اصلی و پلات فرعی شامل فاکتور رقم با دو سطح (فلات و مغان) و فاکتور تیمارها با ۶ سطح (*T. virens*, *T. atroviridae*, *T. harzianum*)، قارچکش پروپیکونازول، شاهد آلوده و شاهد سالم) که در هم ادغام شده و به‌صورت تصادفی در پلات اصلی جای گرفته بودند، با ۳ تکرار در ایستگاه تحقیقات کشاورزی گرگان کشت شدند. هر تیمار در داخل کرت‌هایی به اندازه $2 \times 1/2$ متر با استفاده از دست کاشته شد (هر کرت دارای ۴ ردیف ۲ متری بود).

مایه زنی قارچ‌های آنتاگونیست و قارچ عامل بیماری بر روی گندم: در شرایط مزرعه زمانی که ۲۰-۱۵ درصد گندم‌ها وارد مرحله گلدهی شدند اسپورپاشی‌ها آغاز شدند. قبل از مایه زنی سطح خوشه‌ها با استفاده از سیستم مه پاش (Mist Irrigation) به مدت ۱۵ دقیقه کاملاً خیس شده و سپس اسپورپاشی‌ها بوسیله سمپاش‌های پشتی - موتوری صورت گرفتند. توالی اسپورپاشی‌ها، ۴ بار با فاصله زمانی ۲ روز انجام شدند.

نحوه استفاده از قارچ‌کش: زمانی که ۲۰ درصد گندم‌ها وارد مرحله گلدهی شدند، ابتدا با سوسپانسیون *F. graminearum* اسپورپاشی شدند و ۲ روز بعد از آن با سم پروپیکونازول با دوز ۰/۵ درصد سمپاشی گردیدند.

ارزیابی فاکتورهای آلودگی: سه روز بعد از آخرین اسپورپاشی شدت بیماری و وقوع بیماری مطابق با فرمول زیر برای هر کرت محاسبه گردید. به‌منظور تعیین فاکتورهای شدت بیماری و وقوع بیماری از هر کرت ۱۰۰ خوشه به‌طور تصادفی انتخاب شد و فاکتورهای آلودگی برای آنها تعیین گردید.

$$S \text{ شدت آلودگی} = \frac{\text{تعداد سنبلچه های آلوده در یک سنبله}}{\text{تعداد کل سنبلچه ها در یک سنبله}} \times 100$$

$$I \text{ درصد آلودگی} = \frac{\text{تعداد سنبله های آلوده}}{\text{تعداد کل سنبله ها}} \times 100$$

در اواخر خرداد ماه برداشت گندم به‌صورت دستی انجام شد. از هر کرت به‌طور تصادفی ۲۰۰ سنبله انتخاب گردید و بوسیله خرمن کوب کوبیده شد و جهت تعیین وزن هزار دانه و عملکرد دانه به آزمایشگاه منتقل شدند. برای تعیین عملکرد دانه مربوط به هر تیمار کل بذره‌های بدست آمده از ۲۰۰ سنبله مربوط به هر کرت پس از خرمن کوب بوسیله دست پاک شدند و وزن کل آنها با استفاده از ترازوی دیجیتالی با خطای ۰/۰۱ درصد اندازه‌گیری شد. جهت تعیین وزن هزاردانه از هر تیمار ۵۰۰ دانه بوسیله دستگاه Seed Counter شمارش شد و به وسیله ترازوی دیجیتالی با خطای ۰/۰۱ درصد وزن شدند و سپس عدد به دست آمده دوبرابر شد و وزن هزار دانه بدست آمد.

تجزیه و تحلیل آماری: داده‌های حاصل از بررسی مزرعه ای، توسط نرم افزار آماری StatGrafics مورد تجزیه و تحلیل آماری قرار گرفت. گروه‌بندی تیمارها با استفاده از آزمون دانکن در سطح احتمال ۹۵ درصد انجام گرفت.

نتایج و بحث

طبق نتایج به دست آمده از بررسی تأثیر عوامل کنترلی آنتاگونیست و قارچکش بر روی درصد آلودگی، شدت آلودگی فوزاریوم سنبله گندم و عملکرد دانه و وزن هزاردانه بر روی دو رقم فلات و مغان، تمامی تیمارها با احتمال ۹۹ درصد با یکدیگر اختلاف معنی داری داشتند. همچنین بین دو رقم استفاده شده در آزمایش در رابطه با درصد آلودگی، شدت آلودگی و وزن هزاردانه با احتمال ۹۹ درصد اختلاف معنی داری مشاهده گردید و نیز اثر متقابل بین فاکتور ارقام و عوامل کنترلی در رابطه با درصد آلودگی با احتمال ۹۹ درصد با یکدیگر اختلاف معنی داری داشتند. بنابراین نتایج نشان می‌دهد که دو فاکتور ارقام و عوامل کنترلی مستقلاً بر روی درصد آلودگی تأثیر نمی‌گذارند بلکه دارای اثرات متقابل هستند و باید به روند اثرات ساده آنها توجه نمود (جدول ۱).

بنابراین با توجه به معنی دار شدن آنها مقایسه میانگین بین داده‌های به دست آمده جهت تعیین و معرفی بهترین تیمار کنترلی و رقم گندم صورت گرفت.

نتایج آزمایشات نشان داد که بین سه زمان مختلف اسپورپاشی عوامل بیوکنترلی تریکودرما، در رابطه با درصد آلودگی، شدت آلودگی و وزن هزاردانه در سطح احتمال ۹۵ درصد اختلاف معنی داری مشاهده شد که بنابراین با توجه به معنی دار شدن آنها به منظور تعیین مناسب‌ترین زمان استفاده از عوامل آنتاگونیستی، مقایسه میانگین بین داده‌های بدست آمده صورت گرفت (جدول ۲).

فاطمه باغانی و همکاران

جدول ۱- نتایج آزمون تجزیه واریانس مقایسه میانگین تأثیر عوامل کنترلی، آنتاگونیست و قارچکش و ارقام گندم بر روی درصد آلودگی، شدت آلودگی، عملکرد دانه و وزن هزاردانه.

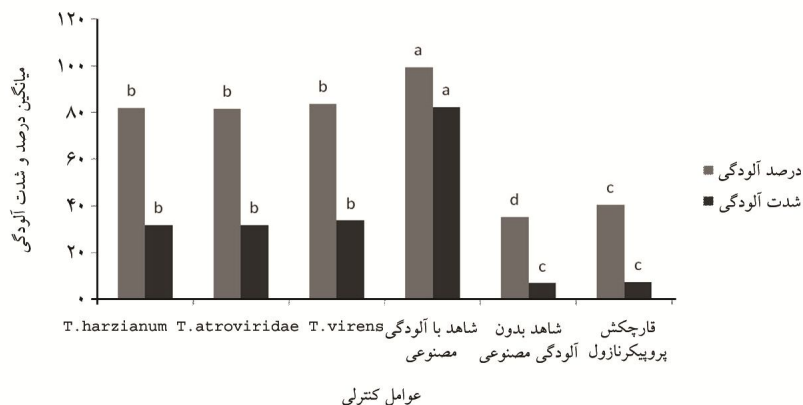
منابع تغییرات	درجه آزادی	میانگین مربعات (MS)		
		درصد آلودگی	شدت آلودگی	عملکرد دانه
تیمارهای کنترلی	۵	۴۱۱۲/۷۴ ^{**۱}	۴۵۲۴/۴۵ ^{**}	۱۷۱۰/۱/۴ ^{**}
ارقام گندم	۱	۴۶۹/۴۴ ^{**}	۲۵۳/۶۵۹ ^{**}	۷۳۷۶/۸۱ ^{**}
ارقام × تیمارهای کنترلی	۵	۱۱۸/۳۵ ^{**}	۱۲/۶۴ ^{ns}	۳۵۴/۳۵ ^{ns}
تکرار	۲	۲۶/۲۶	۱۶/۹۶	۶۳۵/۷۲
خطای آزمایشی	۲	۴۲/۷۸	۲۸/۵۲	۳۰۰۸/۲۱
خطای نمونه گیری	۲۰	۱۰/۶	۶/۸۴	۸۰۳/۷۱
کل	۳۵			
CV		۴/۶۲	۸/۱۰۶	۲۱/۴۷
				۹/۳۴

^{**} و ^{ns} به ترتیب یعنی تیمارها در سطح احتمال ۹۹ درصد دارای اختلاف معنی داری هستند، تیمارها فاقد اختلاف معنی داری هستند.

جدول ۲- نتایج آزمون تجزیه واریانس مقایسه میانگین تأثیر زمان‌های مختلف اسپورپاشی، عوامل آنتاگونیستی تریکودرما بر روی درصد آلودگی، شدت آلودگی، عملکرد دانه و وزن هزاردانه.

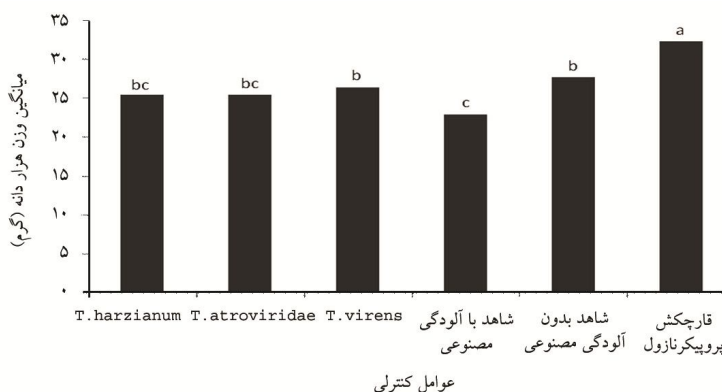
منابع تغییرات	درجه آزادی	میانگین مربعات (MS)		
		درصد آلودگی	شدت آلودگی	عملکرد دانه
زمان‌های مختلف اسپورپاشی	۲	۵۵/۷۴ ^{**۱}	۳۶/۲۳۴ [*]	۱۸۷۵/۲۵ [*]
تکرار	۲	۲۷/۷۹	۲۲/۱۹۷	۲۳۸/۵۵
خطا	۴	۴/۱۷۸	۳/۴۲۳	۲۳۸/۹۸
کل	۸			
CV		۲/۴۸	۵/۷۱	۱۴/۹۹
				۵/۹۲

^{**}، ^{*} و ^{ns} به ترتیب یعنی تیمارها در سطح احتمال ۹۹ درصد دارای اختلاف معنی داری هستند، تیمارها در سطح احتمال ۹۵ درصد دارای اختلاف معنی داری هستند، تیمارها فاقد اختلاف معنی داری هستند.



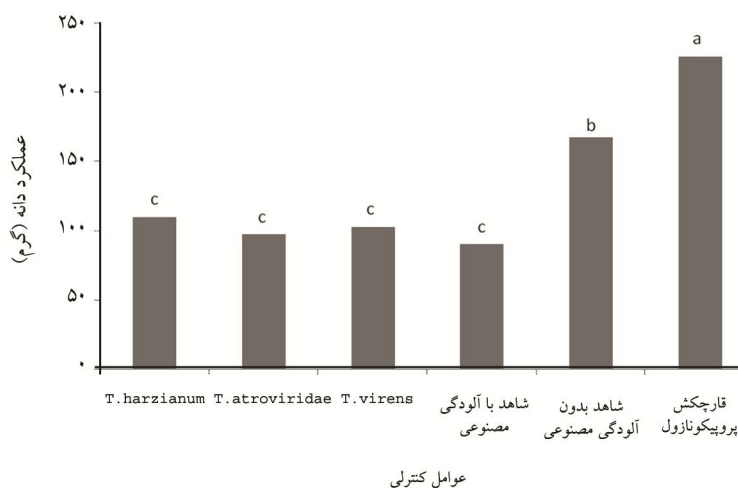
شکل ۱- مقایسه میانگین درصد و شدت آلودگی فوزاریوم سنبله در تیمارهای کنترلی.

با توجه به شکل ۱، نتایج بررسی داده‌ها نشان داد که تمامی تیمارها با سطح احتمال ۹۵ درصد با تیمار شاهد با آلودگی مصنوعی اختلاف معنی داری داشتند و درصد و شدت آلودگی در آنها کمتر از تیمار قارچکش بود. که در این بین در رابطه با درصد آلودگی تیمار قارچکش با ۴۰/۳۳ درصد آلودگی کمترین میزان درصد آلودگی را بعد از تیمار شاهد سالم نشان داد و در رابطه با شدت آلودگی کمترین میزان آلودگی در تیمارهای قارچکش (با ۷/۳۸ درصد) و تیمار شاهد سالم (با ۶/۸۳ درصد) مشاهده شد که این تیمارها در یک گروه آماری قرار داشتند. بعد از تیمار شاهد آلوده تیمارهای *T. harzianum* و *T. atroviridae* و *T. virens* به ترتیب با ۸۱/۸۲، ۸۱/۶ و ۸۳/۷۷ درصد آلودگی و شدت آلودگی ۳۱/۶۵، ۳۱/۷۶ و ۳۳/۶۹ درصد، که همگی در یک گروه آماری قرار داشتند بیشترین میزان درصد آلودگی را نشان دادند.



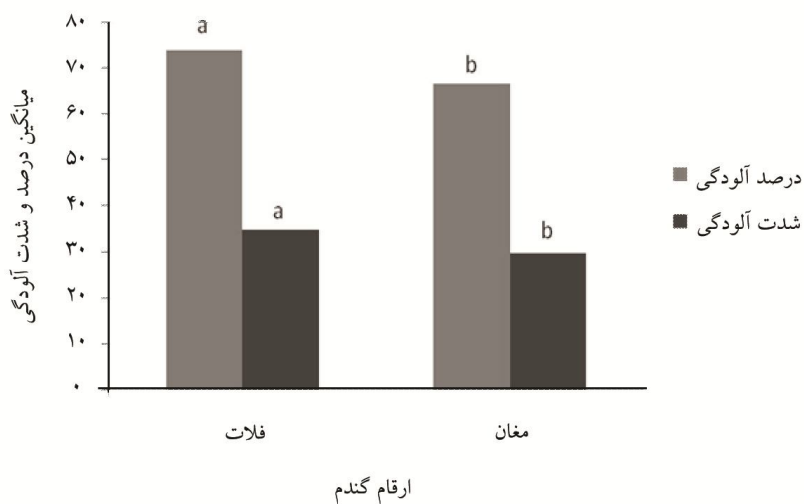
شکل ۲- مقایسه میانگین وزن هزاردانه بر حسب گرم در تیمارهای کنترلی.

با توجه به شکل ۲، نتایج بررسی‌ها نشان داد که در ارتباط با وزن هزاردانه تمامی تیمارها با تیمار شاهد با آلودگی مصنوعی، اختلاف معنی داری داشتند و وزن هزاردانه آنها در مقایسه با تیمار شاهد آلوده بیشتر بوده است در این بین تیمار قارچکش (با میانگین وزن هزاردانه ۳۲/۳ گرم) بیشترین وزن هزاردانه را نشان داد که میانگین وزن هزاردانه در این تیمار حتی از تیمار سالم نیز بیشتر بوده است. نتایج بررسی‌ها نشان داد که بیشترین میزان وزن هزاردانه در تیمار قارچکش (با ۳۲/۳ گرم وزن) مشاهده گردید که میانگین عملکرد دانه در این تیمار حتی از تیمار سالم نیز بیشتر بوده است. کمترین میزان وزن هزاردانه نیز قبل از تیمار شاهد آلوده در تیمارهای *T. harzianum* و *T. atroviridae* به ترتیب با ۲۵/۴۳ و ۲۵/۳۹ گرم وزن مشاهده گردید.



شکل ۳- مقایسه میانگین عملکرد دانه بر حسب گرم در تیمارهای کنترلی.

شکل ۳، نشان داد که بیشترین میزان عملکرد دانه در تیمار قارچکش (با عملکرد دانه ۲۲۵/۳۳ گرم) مشاهده گردید. کمترین میزان عملکرد دانه نیز در تیمارهای *T. atroviridae*، *T. virens* و تیمار شاهد با آلودگی مصنوعی به ترتیب با عملکرد دانه ۱۰۹/۴۴، ۹۷/۲۷، ۱۰۲/۶۰۷ و ۹۰/۳۳ گرم مشاهده گردید که کلیه این تیمارها با یکدیگر اختلاف معنی داری نداشتند و در یک گروه آماری قرار داشتند.



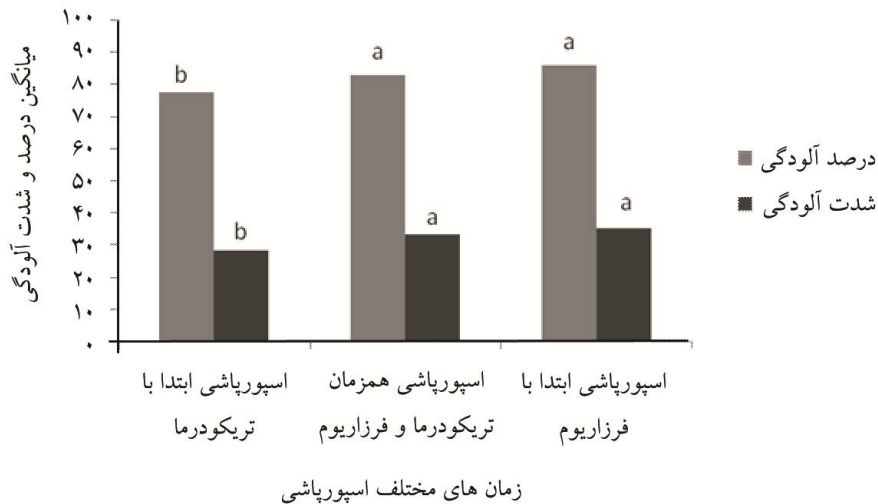
شکل ۴- مقایسه میانگین درصد و شدت آلودگی فوزاریوز سنبله بر روی ارقام مختلف گندم.

نتایج بررسی داده‌ها نشان داد در رابطه با شدت و درصد آلودگی بین ارقام گندم (فلات و مغان) اختلاف معنی‌داری در سطح ۹۵ درصد وجود داشت. رقم مغان با شدت آلودگی ۲۹/۶۱ درصد و درصد آلودگی ۶۶/۷۵ درصد در مقایسه با رقم فلات با شدت آلودگی ۳۲/۹۲ درصد و درصد آلودگی ۷۳/۹۷ درصد نتایج بهتری را نشان داد (شکل ۴).



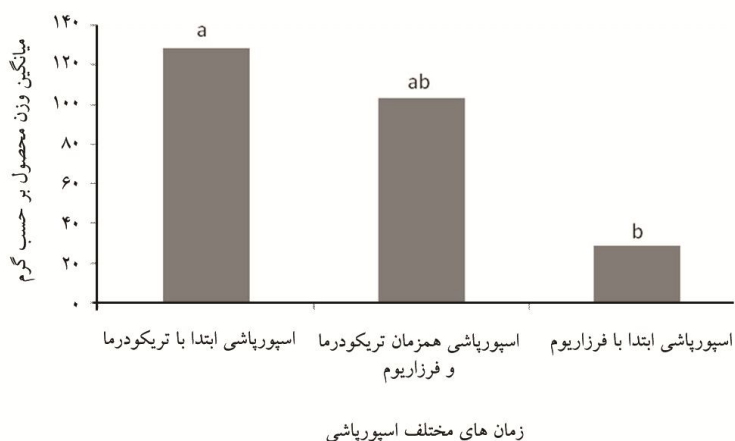
شکل ۵- مقایسه میانگین عملکرد دانه بر حسب گرم بر روی ارقام مختلف گندم.

با توجه به شکل ۵، نتایج بررسی داده‌ها نشان داد که در رابطه با عملکرد دانه بین دو رقم گندم اختلاف معنی داری در سطح احتمال ۹۵ درصد مشاهده گردید. رقم مغان با میانگین عملکرد دانه ۱۴۶/۱۷ گرم در مقایسه با رقم فلات با میانگین عملکرد دانه ۱۱۷/۶۷ گرم نتایج بهتری را نشان داد.



شکل ۶- مقایسه میانگین درصد و شدت آلودگی فوزازیوم سنبله در زمان‌های مختلف اسپورپاشی.

با توجه به شکل ۶، نتایج تجزیه داده‌ها در رابطه با میانگین درصد و شدت آلودگی نشان داد که بین سه زمان مختلف اسپورپاشی در سطح احتمال ۹۵ درصد اختلاف معنی داری وجود دارد که در این بین زمانی که، اسپورپاشی ابتدا با تریکودرما و دو روز بعد با فوزازیوم انجام شد (با شدت آلودگی ۲۸/۵۴ درصد و درصد آلودگی ۷۷/۸۲) در مقایسه با زمان‌های دوم، یعنی اسپورپاشی همزمان تریکودرما و فوزازیوم (با شدت آلودگی ۳۳/۲۴ درصد و درصد آلودگی ۸۲/۹۹ درصد) و سوم، یعنی اسپورپاشی ابتدا با فوزازیوم و دو روز بعد با فوزازیوم (با شدت آلودگی ۳۵/۳۳ درصد و درصد آلودگی ۸۶/۳۸ درصد) کمترین میزان درصد و شدت آلودگی را نشان داد. همچنین بین زمان‌های دوم و سوم اختلاف معنی داری مشاهده نشد و در یک گروه آماری قرار گرفتند. در نتیجه زمانی که، اسپورپاشی ابتدا با تریکودرما و دو روز بعد با فوزازیوم انجام شد به‌عنوان بهترین و کارآمدترین زمان استفاده از عوامل بیولوژیک در شرایط مزرعه شناخته گردید.



شکل ۷- مقایسه میانگین عملکرد دانه بر حسب گرم در زمان های مختلف اسپورپاشی.

شکل ۷، نشان داد که در رابطه با عملکرد دانه، بین ۳ زمان مختلف اسپورپاشی در سطح احتمال ۹۵ درصد اختلاف معنی داری مشاهده گردید. که در این بین زمانی که اسپورپاشی ابتدا با تریکودرما و دو روز بعد با فوزاریوم انجام شد (با میانگین وزن ۱۲۸/۲۷ درصد) در مقایسه با زمان‌های دوم، یعنی اسپورپاشی همزمان تریکودرما و فوزاریوم (با میانگین عملکرد دانه ۱۰۷/۷۷ درصد) و زمان سوم، یعنی اسپورپاشی ابتدا با فوزاریوم و دو روز بعد با فوزاریوم (با میانگین وزن ۲۸/۲۷ درصد) بیشترین میزان عملکرد دانه را نشان داد. کمترین میزان عملکرد دانه نیز در تیمار S1 مشاهده شد.

در این بررسی از سه گونه *T. atroviridae*، *T. virens*، *T. harzianum* به عنوان عوامل کنترل بیولوژیک استفاده گردید. در بررسی‌های انجام شده در ایران و سایر کشورها از این گونه‌ها علیه *F. graminearum* استفاده شده بود (باغانی، ۲۰۱۱؛ عراقی و رهنما، ۲۰۰۸؛ بوجلد و پولیتز، ۲۰۰۱؛ اینچ و گیلبرت، ۲۰۰۴). اما اعم بررسی‌ها در شرایط آزمایشگاه و کشت متقابل صورت پذیرفته بودند در حالی که در این آزمایش از عوامل کنترل بیولوژیک در شرایط مزرعه و به صورت اسپورپاشی بر روی خوشه‌های گندم استفاده شد و همین علت، دلیل تمایز این بررسی نسبت به تحقیق‌های گذشته می باشد.

نتایج حاصل از بررسی تأثیر گونه‌های آنتاگونیست تریکودرما بر روی درصد آلودگی، شدت آلودگی فوزاریوم سنبله گندم و وزن هزاردانه بر روی دو رقم فلات و مغان در شرایط مزرعه نشان داد

که، تمامی تیمارها با احتمال ۹۵ درصد با تیمار شاهد با آلودگی مصنوعی اختلاف معنی داری داشتند و درصد و شدت آلودگی در آنها کمتر و وزن هزاردانه در آنها بیشتر از تیمار شاهد آلوده بود که با نتایج عراقی و رهنما (۲۰۰۸)، اینچ و گیلبرت (۲۰۰۴)، کولومبت و همکاران (۲۰۰۴)، بوجلد و پولیتز (۲۰۰۱) و فرناندز (۱۹۹۹) مطابقت داشت. همچنین نتایج نشان داد که، تیمار قارچکش درصد و شدت آلودگی کمتر و وزن هزاردانه و عملکرد دانه بیشتری را در مقایسه با تیمارهای آنتاگونیستی تریکودرما داشت (شکل ۱ و ۲). بنابراین، این بررسی نشان داد که استفاده از قارچکش می تواند در مبارزه علیه فوزاریوز سنبله گندم مؤثرتر باشد اما با توجه به اینکه گونه‌های تریکودرما توانستند سبب کاهش بیش از ۵۰ درصدی شدت آلودگی فوزاریوم سنبله گندم شوند می توان در آینده نزدیک با بررسی‌های بیشتر در شرایط مختلف، از این گونه‌ها به عنوان یک راهکار اساسی در کنترل بیولوژیک این بیماری استفاده کرد.

در رابطه با زمان‌های مختلف اسپورپاشی در ارتباط با درصد و شدت آلودگی و عملکرد دانه، نتایج نشان داد که تیمارهایی که در زمان اول، یعنی اسپورپاشی ابتدا بوسیله تریکودرما و دو روز بعد با فوزاریوم استفاده شده بودند نتایج بهتری را در مقایسه با زمان‌های دوم، یعنی اسپورپاشی همزمان تریکودرما و فوزاریوم و زمان سوم، یعنی اسپورپاشی ابتدا با فوزاریوم و دو روز بعد با تریکودرما نشان داد. به عبارتی در شرایطی که سوسپانسیون تریکودرما ۲ روز قبل از سوسپانسیون فوزاریوم استفاده شود کاهش معنی‌داری در آلودگی خوشه‌ها به فوزاریوم مشاهده می شود که احتمالاً در این شرایط سطح خوشه به وسیله اسپورهای تریکودرما اشغال می شود، این اسپورها در این فاصله زمانی ۲ روزه جوانه زنی کرده و زمانی که سلول سوسپانسیون حاوی کنیدی فوزاریوم بر روی خوشه پاشیده می شود قادر به رقابت با اسپورهای تریکودرما نیستند و به آسانی با این اسپورها پارازیت می‌شوند. در بررسی‌های انجام شده در کشت متقابل گونه‌های تریکودرما با قارچ *F. graminearum* بر روی محیط کشت غذایی مشخص گردیده است، برخی گونه‌های تریکودرما می توانند مانع از جوانه زنی کنیدی‌های فوزاریوم شوند (باغانی، ۲۰۱۱؛ عراقی و رهنما، ۲۰۰۸؛ اینچ و گیلبرت، ۲۰۰۴). در نتیجه زمان T1 به‌عنوان کارآمدترین زمان مصرف سوسپانسیون تریکودرما شناخته شد که با بررسی‌های عراقی و رهنما (۲۰۰۸) و اینچ و گیلبرت (۲۰۰۴) مطابقت داشت (شکل ۶ و ۷).

منابع

1. Aragi, M., and Rahnama, K. 2008. The study of biological control of *Fusarium graminearum* by two species of *Trichoderma* in lab conditions. Pajouhesh. Sazandegi. 81:197-199.
2. Babadoost, M. 1995. Occurrence of *Fusarium* species in seeds of wheat in Eastern Azarbayjan province and Ardabil. Iran J. Plant Pathol. 31:88-100.
3. Baghani, F. 2011. Biological control of *Fusarium* head blight of wheat under greenhouse and field conditions. A thesis for degree of M.Sc in Plant Pathology.
4. Baghani, F., Rahnama, K., and Dehghan, M.A. 2010. The study on the impact of native *Trichoderma* species compared to fungicide application propiconazole against fusarium head blight in greenhouse conditions. Proceedings of the 19th Iranian Plant Protection Congress, Tehran.
5. Baghani, F., Dehghan, M.A., and Rahnama, K. 2010. The study of using times of biological against *Fusarium* head blight in greenhouse conditions. Proceedings of the 19th Iranian Plant Protection Congress, Tehran.
6. Bujold, I., and Paulits, T.C. 2001. Effect of *Microsphaeropsis* sp. on the Production of Perithecia and Ascospores of *Gibberella zeae*. Plant Dis. 85:977-984.
7. Fernandez, M.R. 1999 The effect of *Trichoderma harzianum* on fungal pathogens infecting wheat and black oat straw. Soil Biological. Biochem. 24:1031-1034.
8. Foroutan, A., Ershad, D., Dalili, A., Bamdadian, T., and Gerami, G.H. 1993. Occurrence of head blight of wheat in Mazandaran. Proceedings of the 11th Iranian Plant Protection Congress, Gillan University, Rasht.
9. Foroutan, A., Rahimian, H., and Alizadeh, A. 2005. Effect of antagonistic bacterial on *Fusarium* head blight of wheat. Iran J. Plant Pathol. 41:455-473.
10. Golzar, H. 1993. Distribution of *Fusarium* head blight in Gorgan and Gonbad areas and response of commercial wheat cultivars to disease. Proceedings of the 11th Iranian Plant Protection Congress, Gillan University, Rasht. p:33.
11. Golzar, H., Foroutan, A., and Ershad, D. 1998. Studies off *Fusarium* species causing head blight of wheat and sources of resistance to *F. graminearum* in Gorgan and Mazandaran. Iran J. Plant Pathol. 34:158-169.
12. Inch, S. and Gilbert, L. 2004. The Evaluation of *Trichoderma harzianum* as a Biological Control agent of *Giberella zeae*. In 2004 National Fusarium Head Blight Forum Proceedings. Page:75.
13. Khan, N., Schisler, D.A., Boehm, M.Y., Lipps, P. E. and Slininger, P.Y. 2004. Field testing of antagonists of *Fusarium* head blight incited by *Gibberella zeae*. Biol Con. 29:245-255.
14. Kolombet, L.V., Sokolov, M.S., Pavlova, T.V., Schisler, D.A. and Samuels, G.J. 2004. The use of *Trichoderma asperillum* and the yeast *Cryptococcus*

- nodaensis* in Russia to reduce *Fusarium* Head Blight. In 2004 National Fusarium Head Blight Forum Proceedings. Page: 36.
15. Milus, E.A., Hershman, D. and McMullen, M. 2001. Analysis of the 2001 Uniform Wheat Fungicide and Biocontrol Trial Across Locations. Pages 75-79 in: [proc.] 2001 National Fusarium Head Blight Forum, 8-10 December 2001, Erlanger, KY.
16. Parry, D.W., Jenkinson, P. and Mcleod, L. 2000. *Fusarium* ear blight (scab) in small grain cereals- a review. Plant Pathol. 44:207-238.
17. Stock Well, C.A. Bergeston, G.C. and Da Luz, W.C. 2001. biological control of *Fusarium* head blight with *Bacillus subtilis* TrigoCor 1448: 2001 Field Results. Pages:91-96 in: [Proc] 2001 National *Fusarium* head blight Forum, 8-10 December 2001, Erlanger, KY.



Biological control of Fusarium head blight (*Fusarium graminearum*) by application of three native *Trichoderma* species in field

F. Baghani¹, K. Rahnama¹, M.A. Aghajani² and M.A. Dehghan²

¹Dept. of Plant Protection, Gorgan University of Agricultural Sciences and Natural Resources,

²Agricultural and Natural Resources Research Center of Golestan Province, Gorgan

Abstract

Fusarium disease of wheat is one of the important diseases in wet and subtropical regions in Iran. Using the biological agents is effective in controlling this disease. In this experiment, were used 3 species of native *Trichoderma*: *T. atroviridae*, *T. harzianum* and *T. virens* as biological agents. Also to compare between the effects of fungicide and antagonist agents were used of Propiconazole. Tested on two wheat cultivars Falat & Moghan, in the form of spilet plot-factoriel with 3 replications in the field conditions. When spikes were in the pollination stage they were sprayed in three different times: T1 (first sprayed with *Trichoderma* suspensions (3×10^7 /ml) and two days after sprayed with *Fusarium* suspensions (3×10^5 /ml)), T2 (sprayed with *Fusarium* and *Trichoderma* simultaneously) and T3 (first sprayed with *Fusarium* suspensions (3×10^5 /ml) and two days after sprayed with *Trichoderma* suspensions (3×10^7 /ml)). The mean comparisons showed that all control treatments had a significant difference, with infected control treatment ($p=95\%$), and in infected control treatment was higher infection rate and severity of pollution and was less thousand grain wighte, compared with other treatments. In other treatments, fungicide treatment was less infection rate and severity of pollution and was higher thousand grain weight and yield compared with antagonistic treatments ($p=95\%$). In different times of sprayed in relation to infection rate and severity of pollution and yield, the results showed that the treatments which were used at T1 better results compared with the time T2 and T3. Consequently, the time T1 was known as the most efficient use *Trichoderma*. In relation to varieties of wheat the results showed that, between two cultivars wheat were significant difference and cultivar of moghan showed the better results compared with falat cultivar.

Keywords: *Fusarium graminearum*; *Trichoderma*; Propiconazole; Biological control.

*Corresponding Author; Email: fatemebaghani@yahoo.com

