



بررسی امکان کنترل بیولوژیکی قارچ *Fusarium oxysporum* f.sp. *sesami*

(عامل بیماری زردی و پژمردگی کنجد) توسط گونه های مختلف قارچ *Trichoderma*

در شرایط آزمایشگاهی

سیده لیلا هاشمی^{۱*}، صدیقه محمدی^۱، طاهره بصیرنیا^۲

۱- دانشگاه آزاد اسلامی واحد شیراز، گروه بیماری شناسی گیاهی، شیراز، ایران.

۲- دانشگاه آزاد اسلامی واحد مرودشت، گروه گیاه پزشکی، شیراز، ایران

(sl.hashemi@yahoo.com)

چکیده

به منظور کنترل بیولوژیک قارچ *Fusarium oxysporum* f.sp. *sesami* عامل بیماری زردی و پژمردگی کنجد چهار جدایه مختلف از قارچ *Trichoderma harzianum* و جدایه هایی از گونه های *T. longibrachiatum*، *T. koningii* و *T. virens* انتخاب شدند و در شرایط آزمایشگاهی مورد بررسی قرار گرفتند. در این آزمایش قدرت کلونیزاسیون و قدرت رقابت تغذیه ای جدایه های مزبور علیه قارچ *F. oxysporum* f.sp. *sesami* مورد مطالعه قرار گرفتند. در بررسی ماکروسکوپی تقابل مستقیم جدایه های *Trichoderma* و *F. oxysporum* f.sp. *sesami* مشخص شد که جدایه های *T. longibrachiatum* و *T. harianum* 4 از نظر قدرت ساپروفیتی و کلونیزاسیون بهتر از سایر جدایه ها عمل نموده و پس از ۱۲۰ ساعت به طور کامل روی پرگنه قارچ بیمارگر را پوشانده و به ترتیب به میزان ۶۲/۷ و ۴۱ درصد بیشترین تاثیر را در بازدارندگی از رشد میسلیوم قارچ عامل بیماری داشته است. نتایج حاصل حاکی از آن است که جدایه های آنتاگونیست مزبور توانایی بالایی در کنترل قارچ عامل بیماری دارند.

واژه های کلیدی: کنترل بیولوژیک، بیماری زردی و پژمردگی کنجد، گونه های *Trichoderma* و

F. oxysporum f.sp. *sesami*

مقدمه

کنجد یکی از دانه های روغنی و خوراکی مهم در کشاورزی سنتی نواحی گرم و نیمه گرم است (احمدی، ۱۳۸۸). بیماری ها و آفات مهمی باعث خسارت اقتصادی در کنجد می گردند. بیماری زردی و پژمردگی کنجد که عامل آن قارچ *Fusarium oxysporum* f.sp. *sesami* است، یکی از عوامل اصلی کاهش محصول در گیاه کنجد می باشد (بصیرنیا و بنی هاشمی، ۱۳۸۵). این قارچ خاکزاد بوده و از نظر دامنه میزبانی بسیار اختصاصی عمل نموده و گونه دیگری بجز کنجد را مورد حمله قرار نمی دهد (Castellani, 1950). جهت کنترل این بیماری روش های مختلفی ذکر گردیده است که از جمله آنها می توان به: استفاده از بذر سالم و عاری از آلودگی، تناوب چند ساله باغلات، سمپاشی با سموم جذبی مانند کاربندازیم و یا بنومیل در مراحل اولیه آلودگی (صدری، ۱۳۸۲)، استفاده از ارقام نسبتاً مقاوم و متحمل (El-Bramawy et al., 2001)، تیمار خاک توسط عناصری چون روی و مس (Adb-El-Moneem, 1996)، آسکوربیک اسید و سالیسیک اسید (Abdou et al., 2001) و روش های بیولوژیکی (Kang and Kim, 1989; Chung and Choi, 1990; Chung and Hong, 1991) اشاره کرد. تنوع درمکانیسم های موجود در گونه های *Trichoderma* برای توقف بیمارگرها، این قارچ را به عنوان عامل بیوکنترلی مطلوب مطرح می سازد (Papavizas, 1985). در ایران تا کنون مطالعاتی بر روی کنترل بیولوژیک بیماری زردی و پژمردگی کنجد توسط گونه های تریکودرما صورت پذیرفته است. با توجه به این که کنترل بیولوژیک از نقطه نظر مسائل زیست محیطی روشی سالم و طبیعی و مورد توجه می باشد، در این تحقیق بر آن شدیم که بهترین جدایه های موثر در کنترل بیولوژیک این بیماری در میان ۷ جدایه از گونه های مختلف قارچ تریکودرما را مورد بررسی قرار دهیم.

مواد و روش ها

برای انجام این طرح از یک جدایه قارچ *F. oxysporum* f.sp. *sesami* که از برش انتهایی ساقه کنجد جدا سازی شد و ۷ جدایه مربوط به ۴ گونه *Trichoderma harzianum* (۴ جدایه)، *T. longibrachiatum* و *T. virens*، *T. koningii* (هر کدام یک جدایه)، که توسط آقای دکتر امیر حسین محمدی و خانم دکتر محمدی تهیه شده بودند استفاده گردید.

به منظور بررسی توانایی جدایه های *Trichoderma* در جلوگیری از رشد میسیلیومی، استقرار و پیشروی روی میسیلیوم *F. oxysporum f.sp. sesami*، عامل زردی و پژمردگی کنجد در محیط کشت بررسی های زیر صورت گرفت:

بررسی ماکروسکوپی تقابل مستقیم جدایه های مختلف تریکودرما روی *F. oxysporum f.sp. sesami*: جهت انجام این آزمایش در یک طرف تشتک های پتری حاوی محیط کشت PDA یک بلوک ۵ میلی متری از حاشیه کشت چهار روزه *F. oxysporum f.sp. sesami* به فاصله یک سانتی متری از لبه تشتک پتری و در طرف مقابل یک بلوک ۵ میلی متری از جدایه های *Trichoderma* کشت گردید. در تشتک پتری شاهد نیز یک بلوک ۵ میلی متری از قارچ بیمارگر به تنهایی کشت داده شد. پتری ها در انکوباتور با حرارت ۲۵ درجه سانتی گراد نگهداری شدند. برای هر جدایه تریکودرما ۳ تکرار در نظر گرفته شد. رشد شعاعی قارچ عامل بیماری در سه نوبت به فاصله های زمانی ۲۴، ۷۲ و ۱۲۰ ساعت پس از کشت اندازه گیری شد. درصد بازدارندگی از رشد میسیلیوم قارچ بیمارگر بوسیله جدایه های مختلف قارچ تریکودرما در بازه های زمانی ذکر شده با استفاده از رابطه زیر محاسبه گردید (جدول ۱):

(قطر کلنی قارچ بیمارگر در تقابل با هر کدام از جدایه های تریکودرما) - (قطر کلنی قارچ بیمارگر در تشتک پتری شاهد)

۱۰۰ × (قطر کلنی قارچ بیمارگر در تشتک پتری شاهد)

در این آزمایش علاوه بر تعیین درصد بازدارندگی رشد میسیلیومی قارچ عامل بیماری در مقابل جدایه های مختلف *Trichoderma*، پیشروی روی میسیلیوم قارچ بیمارگر پس از متوقف نمودن رشد آن نیز بررسی شد.

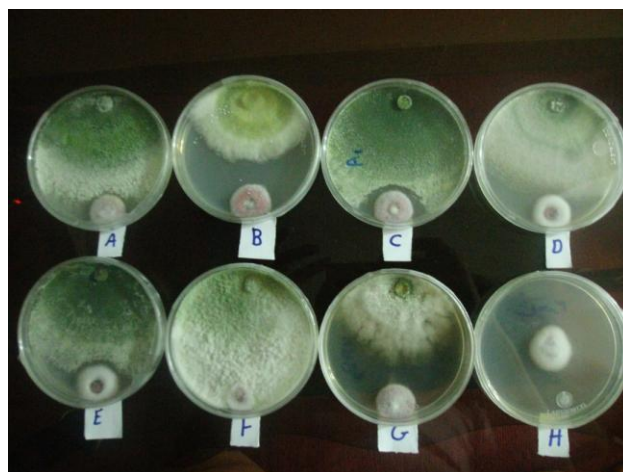
این آزمون در قالب طرح کاملاً تصادفی شامل ۸ تیمار در ۳ تکرار انجام شد. داده های بدست آمده از آزمایش با استفاده از نرم افزار SPSS مورد تجزیه و تحلیل آماری قرار گرفت و تیمارها با استفاده از آزمون تحلیل واریانس و آزمون دانکن با یکدیگر مقایسه شدند.

نتایج و بحث

در بررسی رقابت تغذیه ای جدایه های مختلف تریکودرما در تقابل مستقیم با قارچ *F. oxysporum f.sp. sesami* مشخص شد که تمام جدایه های بکار رفته بعد از رشد و برخورد با پرگنه های قارچ عامل بیماری مانع رشد و توسعه آن شدند و سپس تمام جدایه ها بجز جدایه های

*Trichoderma harzianum*1 و *Trichoderma harzianum*3 شروع به پیشروی ، کلونیزاسیون و اسپور زایی روی میسلیوم قارچ بیماری زا نمودند(شکل ۱). مقایسه درصد بازدارندگی جدایه های مختلف تریکودرما علیه قارچ بیمارگر نشان می دهد که جدایه *T. longibrachiatum* در هر ۳ نوبت یادداشت برداری ۲۴، ۷۲ و ۱۲۰ ساعت به ترتیب به میزان ۳۳/۳، ۴۳/۳ و ۶۲/۷ درصد و همچنین جدایه *T. harianum* 4 به میزان ۵۸/۳، ۲۷ و ۴۱ درصد بیشترین میزان بازدارندگی از رشد میسلیومی عامل بیماری را در میان جدایه های مورد آزمایش داشته اند و این ۲ جدایه تفاوت معنی داری با یکدیگر نشان نمی دهند(جدول ۱ ، نمودار ۱). از میان ۷ جدایه بکار رفته جدایه *T. longibrachiatum* بیشترین سرعت پیشروی و رشد را از خود نشان داد به طوری که پس از ۶ روز به طور کامل سطح پرگنه قارچ بیمارگر را پوشاند(شکل ۲). تجزیه و تحلیل آماری نشان می دهد که بهترین بازدارندگی مربوط به بازه زمانی ۱۲۰ ساعت و کمترین آن در بازه زمانی ۷۲ ساعت بوده است هر چند اختلاف معنی داری بین بازه های زمانی در سطح ۱ درصد آزمون دانکن وجود ندارد(جدول ۲ ، نمودار ۲).

نتایج این آزمایش از این دیدگاه که جدایه های مختلف از یک گونه تریکودرما می توانند توانایی کنترل بیولوژیک متفاوت از خود نشان دهند نتایج مشابه بدست آمده توسط سایر محققین (Elewa et al., 2011) را تایید می کند ولی از حیث تعداد گونه های تریکودرما ی مورد استفاده که بعضا جدید می باشند بر آن تحقیقات برتری دارد.



شکل ۱. بررسی میکروسکوپی تقابل مستقیم جدایه های *Trichoderma* و جدایه های عامل بیماری و پیشروی جدایه های *Trichoderma* روی عامل بیماری پس از ۱۲۰ ساعت (A) جدایه *T. harzianum* 4، (B) جدایه *T. virans*،

T. جدایه (F)، T. hazrianum 3 (E)، T. koningii (D)، T. hazrianum 2 (C)
جدایه (G)، T. hazrianum 1 (H) شاهد

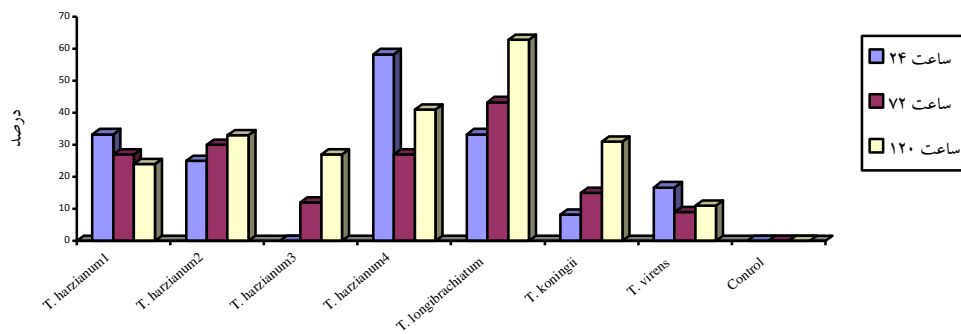


شکل ۲. کشت متقابل جدایه *T. longibrachiatum* و قارچ بیمارگر پس از ۶ روز

زمان			گونه تریکودرما
۱۲۰ ساعت	۷۲ ساعت	۲۴ ساعت	
۲۴/۰ ^{cdef}	۲۷/۰ ^{cdef}	۳۳/۳ ^{bcde}	<i>T. harianum 1</i>
۳۳/۰ ^{bcde}	۳۰/۰ ^{cde}	۲۵/۰ ^{cdef}	<i>T. harianum 2</i>
۲۷/۰ ^{cdef}	۱۲/۰ ^{ef}	۰/۰ ^f	<i>T. harianum 3</i>
۴۱/۰ ^{abcd}	۲۷/۰ ^{cdef}	۵۸/۳ ^{ab}	<i>T. harianum 4</i>
۶۲/۷ ^a	۴۳/۳ ^{abc}	۳۳/۳ ^{bcde}	<i>T. longibrachiatum</i>
۳۱/۰ ^{cde}	۱۵/۰ ^{def}	۸/۳ ^{ef}	<i>T. koningii</i>
۱۱/۰ ^{ef}	۹/۰ ^{ef}	۱۶/۷ ^{cdef}	<i>T. virens</i>
۰/۰ ^f	۰/۰ ^f	۰/۰ ^f	control

میانگین هایی که حداقل دارای یک حرف مشترک هستند، در سطح ۱٪ آزمون دانکن اختلاف معنی داری با هم ندارند.

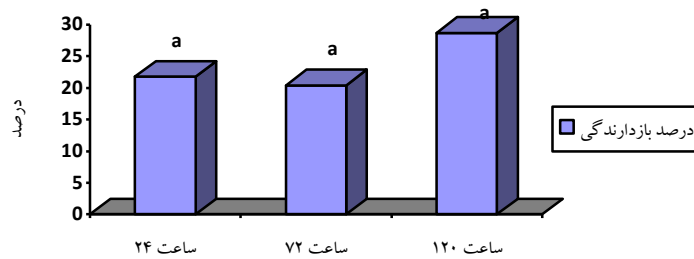
جدول ۱. مقایسه اثر متقابل زمان و گونه قارچ تریکودرما بر درصد بازدارندگی از رشد قارچ فوزاریوم



نمودار ۱. مقایسه میانگین های تاثیر جدایه های *Trichoderma* در ممانعت از رشد *Fusarium oxysporum* f.sp. *sesami* در روش کشت متقابل در سه فاصله زمانی ۲۴، ۷۲ و ۱۲۰ ساعت پس از کشت

بازه زمانی	۲۴ ساعت	۷۲ ساعت	۱۲۰ ساعت
درصد بازدارندگی	۲۱/۸ ^a	۲۰/۴ ^a	۲۸/۷ ^a

جدول ۲. مقایسه اثر بازه زمانی بر درصد بازدارندگی از رشد قارچ فوزاریوم



نمودار ۲. مقایسه زمان ها از نظر درصد بازدارندگی

نتیجه گیری کلی

براساس نتایج بدست آمده گونه *T. longibrachiatum* بیشترین درصد بازدارندگی از رشد قارچ بیمارگر را در بین گونه های مختلف مورد آزمایش را داشته است ضمن اینکه گونه های متفاوت درصد



بازدارندگی های متفاوتی از خود نشان می دهند. بنابراین پیشنهاد می شود مطالعات تکمیلی در شرایط گلخانه و مزرعه انجام شود و در نهایت بهترین جدایه جایگزین مبارزه شیمیایی گردد.

منابع

- ۱ - احمدی م. ۱۳۸۸. زراعت گیاهان دانه روغنی. قم: انتشارات موعود اسلام، ۲۵۴ صفحه.
- ۲ - بصیرنیا ط. بنی هاشمی ض. ۱۳۸۵. بررسی انتقال *F. oxysporum* f.sp. *sesami* با بذور کنگد در مزارع استان فارس. مجله بیماری های گیاهی، جلد ۴۲، صفحه ۱۱۷ تا ۱۲۳.

Castellani, E. 1950. L vvizzimento del sesame. Review of applied Mycology, 30: 78-95.

Chung, H. S., Choi, W. B., 1990. Biological control of sesame damping off in the field by coating seed with antagonistic *Trichoderma viride*. Seed Science and Technology, 18: 451-459.

Elewa I.S., Mostafa M.H., Sahab A.F. and Ziedan E.H. 2011. Direct effect of biocontrol agents on wilt and root-rot diseases of sesame. Archives of Phytopathology and Plant Protection ,Vol. 44, No. 5, 493-504.

Papavizas, G.C. 1985. *Trichoderma* and *Gliocladium*: Biology, ecology and potential for biocontrol. Ann. Rev. Phytopathology. 23: 23-57.

Investigating biological control of *Fusarium oxysporum* f.sp. *sesami* causing wilt and yellowing in *Sesamum indicum* by various species of *Trichoderma* in vitro

Hashemi Sayedeh Leila¹, Mohammadi Sedigheh¹, Basirnia Tahere²

1Department of Plant Protection, College of Agriculture, Shiraz branch, Islamic Azad University, Shiraz, Iran

2 Department of Plant Protection, College of Agriculture, Marvdasht branch, Islamic Azad University, Marvdasht, Iran

(sl.Hashemi@gmail.com)



In order to biological control of causal agent of yellowing and wilt of sesame, four isolates of *Trichoderma harzianum* fungi and isolates of *T. longibrachiatum*, *T. koningii* and *T. virens* were selected and investigated in vitro. In this research ,colonization ability and nutrition competition of these isolates against *F. oxysporum* f.sp. *sesami* were studied. Macroscopic investigation of dual culture of *Trichoderma* isolates and *F. oxysporum* f.sp. *sesami* indicate that *T. longibrachiatum* and *Trichoderma harzianum*4 had better effects in saprophytic ability and colonization and after 5 days they completely colonized pathogen's coloni .They had the highest effect on percent of mycillium growth prohibition, 62/7 and 41 respectively.This study show that antagonistic isolates have high ability to control *F. oxysporum* f.sp. *sesami* .

Key words: Trichoderma isolates, Biological control, Antagonistic mechanisms, *Fusarium oxysporum* f.sp. *sesami*