جهت تهیه فایل WORD این مقاله به سایت DaneshResan.com مراجعه نمایید و عنوان مقاله را جستجو کنید
بیش از ۲ میلیون مقاله فارسی در این سایت موجود میباشد

مجله علوم کشاورزی و منابع طبیعی
جلد چهاردهم، شماره ششم، بهمن ـ اسفند ۱۳۸۶
www.jasnr.info
www.sid.ir
www.magiran.com/jasnr

بررسی سازگاری گونه‌های تریکودرما با قارچ‌کش‌های توصیه شده برای کنترل سیاهک پنهان گندم و جو

*مهدی مهرابی کوشکی[1]، دوستمراد ظفری[2] و حمید روحانی[3]
[1]کارشناس ارشد بیماری‌شناسی گیاهی، سازمان جهاد کشاورزی استان مرکزی، [2]استادیار گروه گیاهپزشکی، دانشگاه بوعلی‌سینا همدان،
[3]دانشیار گروه گیاهپزشکی، دانشگاه فردوسی مشهد
تاریخ دریافت: ۸۵/۱۰/۲۲ ؛ تاریخ پذیرش: ۸۶/۶/۳

چکیده

اثرات قارچ‌کش‌های کربوکسین‌تیرام، تریادیمنول، کاربندازیم و کاربندازیم + ایپرودیون روی رشد میسلیومی و اسپورزایی گونه‌های *T. virens* ، *T. harzianum*، *T. brevicompactum*، *T. koningi* و *Trichoderma* sp در محیط غذایی PDA ضعیف‌شده (¼- strength PDA) بررسی گردید. غلظت‌های مختلف ۰/۰۱، ۰/۱، ۰/۵، ۱، ۱۰ و ۱۰۰ میلی‌گرم ماده مؤثره بر لیتر مورد استفاده قرار گرفت. دامنه EC_{50} قارچکش‌های کربوکسین‌تیرام، تریادیمنول، کاربندازیم و کاربندازیم+ ایپرودیون روی گونه‌های تریکودرما در حد ۹۵ درصد اطمینان به‌ترتیب ۲۱/۸۷-۱۷/۱، ۱۷/۰۹-۲/۷۱، ۰/۴۰-۰/۱۳ و ۰/۴۸-۰/۱۹ میلی‌گرم ماده مؤثره بر لیتر محاسبه شد. براساس EC_{50}های به‌دست‌آمده، دو قارچ‌کش کربوکسین‌تیرام و تریادیمنول برای تحقیقات بیشتر استفاده شدند تا اثرات بازدارندگی آن‌ها روی جوانه‌زنی اسپور پنج گونه تریکودرما در آزمایشگاه تعیین شود. در این آزمون، کربوکسین‌تیرام و تریادیمنول در محیط غذایی PDB با غلظت ۱۰۰۰ میلی‌گرم بر لیتر ماده مؤثره، جوانه‌زنی اسپور تریکودرما را به‌ترتیب ۱۰۰ و ۵۲/۳ -۴۱ درصد کاهش دادند. براساس EC_{50}های به‌دست‌آمده بر مبنای تأثیر قارچ‌کش بر رشد پرگنه، درصد اسپورهای جوانه‌نزده، شاخص حداقل غلظت بازدارندگی (MIC) و نسبت‌های مصرف مزرعه‌ای علیه سیاهک پنهان، تریادیمنول سازگاری بیشتری با گونه‌های تریکودرما نسبت به سایر قارچکش‌های مورد مصرف نشان داد.

واژه‌های کلیدی: گونه‌های تریکودرما، سیاهک پنهان، قارچ‌کش، سازگاری، کنترل بیولوژیکی.

مقدمه

گونه‌های جنس تریکودرما از قارچ‌هایی هستند که در خاک و ریزوسفر گیاهان وجود دارند. تحقیقات سال‌های اخیر نشان می‌دهد که آن‌ها همزیست‌های گیاهی غیربیماری‌زا و مفیدی هستند که به خوبی از طریق مکانیسم‌های رقابت و تسخیر ریزوسفر، میکوپارازیتیسم، تولید آنتی‌بیوتیک و آنزیم، القاء تحریکات دفاعی در گیاه و تحریک رشد گیاهی برروی اکثر عوامل بیماری‌زای گیاهان به ویژه در ریزوسفر، تأثیرات بیوکنترلی دارند (هارمن و همکاران، ۲۰۰٤؛ هاول، ۲۰۰۳؛ هاندلزمن و استب، ۱۹۹٦؛ بەنیتز و همکاران، ۲۰۰٤؛ آلتومر و همکاران، ۱۹۹۹؛ چت و اینبار، ۱۹۹٤ و چت و بیکر،

* - مسئول مکاتبه: mhdmhrb@yahoo.com

جهت تهیه فایل WORD این مقاله به سایت DaneshResan.com مراجعه نمایید و عنوان مقاله را جستجو کنید
بیش از ۲ میلیون مقاله فارسی در این سایت موجود میباشد

۱۹۸۱). همچنین تحقیقات متعددی ثابت می‌کنند که تعدادی از جدایه‌های تریکودرما تأثیرات معنی‌داری در توقف عوامل بیماری‌زایی از قبیل *Rhizoctonia solani*، *Pythium aphanidermatum*، *Drechslera sorokiniana*، *Fusarium culmorum* و *Gaeumannomyces graminis* var. *tritici* در گندم و جو داشته‌اند (کوزوک و کیوانس، ۲۰۰۳،۲۰۰٤؛ دوفی و همکاران، ۱۹۹۷؛ سیوان و چت، ۱۹۹۳). امروزه جمعیت این قارچ را با تولید مواد بیولوژیک تجاری از طریق روش‌های پوشش بذر، ریشه، اندام‌های تکثیری و استفاده در خاک افزایش می‌دهند (تی‌جاموس و همکاران، ۱۹۹۲). در ایران، این مورد در کشت گندم با هدف کنترل بیماری‌های ریشه و طوقه، عملی شده است. از طرف دیگراستفاده از قارچ‌کش‌ها در کنار این ماده بیولوژیک با هدف کنترل سیاهک پنهان و لکه‌نواری جو عملکرد آن را به چالش کشیده است. همچنین قارچ‌کش‌ها ممکن است بر روابط متقابل بین عوامل بیماری‌زا و میکروفلورای مفید خاک تأثیر منفی گذاشته و مخصوصاً قدرت رقابتی برای به‌دست آوردن غذا در قارچ‌های عمومی خاک مثل تریکودرما را کاهش دهند (دوارد و همکاران، ۱۹۹۳).

تحقیقاتی نیز وجود دارد که نشان می‌دهند از ترکیب قارچ‌کش و تریکودرما بدون تأثیر منفی روی کارایی نسبی تریکودرما، استفاده شده است. ضدعفونی بذر پنبه با ترکیب متالاکسیل و یک جدایه *T. virens*، سبب تأثیر کنترلی بیشتر روی بیماری مرگ گیاهچه پنبه ناشی از *R. solani* و *Pythium ultimum* شد و نتیجه حاصله با کاربرد تنهائی متالاکسیل، اختلاف معنی‌دار داشت (هاول و همکاران، ۱۹۹۷). تأثیر دوازده قارچکش روی جدایه *T. harzianum* T39 بر مبنای بازدارندگی از رشد میسیلیومی (در محیط آزمایشگاه) در غلظت‌های مصرف مزرعه‌ای بررسی و سمیت آن‌ها براساس گروه‌های پیشنهادی به‌وسیله IOBC[1] تعیین شد و بر این اساس، قارچکش‌های ایمازالیل، پیریمتانیل، تیرام و بی‌ترتانول در گروه خطرناک؛ کاپتان و پروسیمیدون در گروه با خطر متوسط؛ ازوکسی‌استروبین، کروزوکسین ـ متیل، مپانی‌پایریم و تولیل‌فلوانید در گروه کم‌خطر؛ تری‌فلوکسی‌استروبین و سولفور در گروه بی‌خطر قرار گرفتند (استرک و همکاران، ۲۰۰۲). سازگاری جدایه *T. harzianum* C52 با هشت قارچکش که در مدیریت بیماری‌های پیاز استفاده می‌شوند، مورد بررسی قرار گرفته و در آزمون بازدارندگی از جوانزنی اسپور در غلظت‌های کاربرد مزرعه‌ای، تیرام، تبوکونازول و مانکوزب ۱۰۰ درصد؛ بنومیل، تریادیمنول، دیکلوفلوانید، کاپتان و پروسیمیدون به‌ترتیب ۵۸/۳، ٤۱/۲، ۱۷/۱، ۳/۵ و ۰ درصد از جوانه‌زنی اسپورهای تریکودرما جلوگیری کردند (مک‌لئان و همکاران، ۲۰۰۱). در تحقیق فوق در آزمایش گلخانه‌ای نیز، تأثیر قارچکش‌های فوق بر کاهش کلنیزاسیون (براساس شاخص CFU[2]) تریکودرما روی ریزوسفر پیاز بررسی شده و مشخص شده است که بعد از سه روز از تاریخ مصرف قارچکش فقط مانکوزب در میزان CFU با شاهد اختلاف معنی‌دار داشت و در ۳۰ روز پس از کاربرد بین هیچ‌کدام از تیمارها با شاهد اختلاف معنی‌داری نبوده است (مک‌لئان و همکاران، ۲۰۰۱). حساسیت چند جدایه تریکودرما از گونه‌های *T. atroviridae*، *T. harzianum*، *T. longibrachiatum* و *T. viride* و یک جدایه از *Clonostachys rosea* به پنج قارچکش (کربوکسین، گوازاتین، پروکلراز، تیرام و تریتیکونازول) در محیط *invitro* بررسی شد و در این بررسی براساس بازدارندگی رشد میسیلیومی، تمام جدایه‌ها به کربوکسین و تیرام حساسیت کم و به پروکلراز، تریتیکونازول و گوازاتین حساسیت زیادی نشان دادند. همچنین براساس بازدارندگی جوانه‌زنی اسپور، جدایه‌های تریکودرما نسبت

1- International organization for biological control of noxious animals and plants (IOBC)
2- Colony forming unit

جهت تهیه فایل WORD این مقاله به سایت DaneshResan.com مراجعه نمایید و عنوان مقاله را جستجو کنید
بیش از ۲ میلیون مقاله فارسی در این سایت موجود میباشد

به جدایه *C. rosea* به قارچ‌کش‌های فوق حساسیت بیشتری نشان دادند (رابرتی و همکاران، ۲۰۰۶). حساسیت چند جدایه تریکودرما به قارچ‌کش‌های DMI[1] بررسی و نشان داده شد سمیت سه قارچ‌کش فلوتریافول، فناریمول و میکلوبوتانیل روی جدایه‌های تریکودرما نسبت به دیگر قارچ‌کش‌های این گروه کمتر است (فیگوراس ـ روسا و همکاران، ۱۹۹٦). در مراحل تولید اقتصادی قارچ‌های خوراکی، کاربرد قارچ‌کش‌های گروه بنزیمیدازول (مانند بنومیل، کاربندازیم و تیوفانت‌متیل) در بسترهای غذایی (مخلوط سوبستریت مصرفی) باعث پیش‌گیری و کنترل موثر روی بیماری کپک سبز ناشی از *T. aggressivum* f. *aggressivum* و *T. aggressivum* f. *europaeum* شده است (چن و همکاران، ۲۰۰۳؛ گروگان و همکاران، ۱۹۹۷؛ رینکر و آلم، ۱۹۹۸).

با توجه به اینکه روی سازگاری جدایه‌های ایرانی تریکودرما با قارچ‌کش‌های مورد استفاده در ایران به ویژه قارچ‌کش‌های مؤثر بر بیماری‌های غلات کار چندانی صورت نگرفته است، در این بررسی حساسیت پنج جدایه از پنج گونه مختلف تریکودرما به چهار قارچ‌کش که به‌طور معمول در شرایط ایران برای ضدعفونی بذر گندم و جو بر علیه سیاهک پنهان و لکه‌نواری استفاده می‌شود، مورد بررسی قرار گرفت تا میزان سازگاری جدایه‌های تریکودرما با قارچ‌کش‌های مورد استفاده در برنامه‌های مدیریت تلفیقی مبارزه با بیماری‌ها مشخص شود.

مواد و روش‌ها

جدایه‌های قارچی: جدایه‌های T77 *T. koningi*، T65 *T. virens*، T144 *T. brevicompactum* و T128 *T. harzianum* از خاک بالک و ریزوسفر گندم و جو در استان مرکزی جداسازی شدند. جداسازی روی محیط‌کشت نیمه انتخابی و اصلاح شده الاد و چت (۱۹۸۳) حاوی ۱ گرم نیترات‌آمونیوم (NH_4NO_3)، ۰/۲ گرم سولفات‌منیزیم ($MgSO_4$, $7H_2O$)، ۰/۹ گرم فسفات‌پتاسیم (K_2HPO_4)، ۰/۱۵ گرم کلریدکلسیم (KCl)، ۳ گرم گلوکز، ۲۰ گرم آگار، ۰/۳ گرم دکسان، ۰/۱۵ گرم رزبنگال، ۰/۲ گرم PCNB، ۰/۲۵ گرم کلرامفنیکل و ۰/۰۲ گرم کاپتان در یک لیتر آب مقطر، انجام شد (رازک، ۱۹۹۹). جدایه *Trichoderma* sp T150 از بخش گیاهپزشکی دانشگاه بوعلی‌سینا تهیه گردید. جدایه‌های تی۷۷ و تی٦۵ قبلاً به‌عنوان جدایه‌های با فعالیت مؤثر ضد قارچی روی عامل پاخوره در تحقیقات مبارزه بیولوژیکی در شرایط گلخانه استفاده شده بودند (مهرابی‌کوشکی و همکاران، ۲۰۰٦). جدایه‌ها در کوتاه مدت تا زمان استفاده از آن‌ها روی محیط‌کشت PDA نگهداری شدند.

قارچ‌کش‌ها: قارچ‌کش‌های مورد استفاده در این تحقیق شامل کربوکسین‌تیرام، تریادیمنول، کاربندازیم و کاربندازیم + ایپرودیون (جدول ۱) تقریباً ۸۰ درصد قارچ‌کش‌های مورد استفاده برای ضدعفونی بذور گندم و جو در ایران را شامل می‌شوند. قارچ‌کش‌ها در آب مقطر سترون در غلظت‌های ۰/۰۱، ۰/۱، ۰/۵، ۱، ۱۰ و ۱۰۰ میلی‌گرم ماده مؤثره بر لیتر رقیق شدند و در آزمایش ارزیابی رشد میسلیومی و اسپورزایی استفاده گردیدند. در آزمون بازدارندگی قارچ‌کش‌ها روی جوانه‌زنی اسپور، از غلظت‌های ۵۰۰ و ۱۰۰۰ میلی‌گرم بر لیتر استفاده گردید.

ارزیابی تأثیر قارچ‌کش‌ها روی رشد میسلیومی و اسپورزایی: در شرایط کاملاً سترون، یک گرم از ماده مؤثره قارچ‌کش‌های کربوکسین‌تیرام (۱/۳۳ گرم از فرمولاسیون تجاری ویتاواکس‌تیرام)، کاربندازیم + ایپرودیون (۱/۹ گرم از ماده تجاری روورال‌تی‌اس)، کاربندازیم (۱/٦٦ گرم از ماده تجاری باویستین) و تریادیمنول (۱۳/۳ گرم از ماده تجاری بایتان)، در بشرهای سترون با اضافه‌کردن چند میلی‌لیتر آب مقطر سترون خمیر شدند و کم‌کم حجم آن به ۲۰۰ میلی‌لیتر رسانده شد.

1- Demethylation Inhibitor

جدول ۱- قارچ‌کش‌های مورد استفاده در بررسی تأثیر آن‌ها روی رشد میسیلیومی و اسپورزائی تریکودرما.

نام تجاری قارچ‌کش	ماده مؤثر	نام شرکت فرمولاتور	فرمولاسیون
ویتاواکس‌تیرام ۷۵ درصد	کربوکسین (۳۷/۵ درصد)+ تیرام (۳۷/۵ درصد)	سبزاوران پردیس	WP (پودر وتابل)
بایتان ۷/۵ درصد	تریادیمنول (۷/۵ درصد)	گیاه	DS (پودر)
باویستین ۵۰ درصد	کاربندازیم (۵۰ درصد)	گل‌سم گرگان	WP (پودر وتابل)
روورال تی‌اس ۵۲/۵ درصد	کاربندازیم (۳۵ درصد)+ ایپرودیون (۱۷/۵ درصد)	گیاه	WP (پودر وتابل)

از سوسپانسیون‌های به‌دست‌آمده که حاوی ۵۰۰۰ میلی‌گرم بر لیتر از ماده مؤثره بودند، با عملیات رقیق‌سازی سریالی، غلظت‌های ۵۰۰، ۵۰، ۲۵، ۵ و ۰/۵ میلی‌گرم بر لیتر از ماده مؤثره تهیه گردید. سپس به ارلن‌های حاوی ۴۹ میلی‌لیتر محیط کشت ¼-strength PDA (۹/۷۵ گرم PDA تجاری + ۱۲ گرم آگار + ۱ لیتر آب مقطر) سترون‌شده و سرد شده تا دمای ۴۵ درجه سانتی‌گراد، ۱ میلی‌لیتر از هر کدام از غلظت‌های تهیه‌شده اضافه شد. بدین ترتیب محیط کشت‌هایی حاوی ۱۰۰، ۱۰، ۱، ۰/۵، ۰/۱ و ۰/۰۱ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر از ماده مؤثره هر قارچ‌کش تهیه گردید. هر کدام از ارلن‌ها در ۳ تشتک پتری سترون به‌عنوان ۳ تکرار هر تیمار ریخته شد و غلظت‌های مربوطه روی آن ثبت شد.

جدایه‌های تریکودرما روی محیط PDA تجدید کشت شده و از حاشیه در حال رشد هر کدام ۳ دیسک با قطر ۰/۵ سانتی‌متر در حاشیه ۱ سانتی‌متری لبه سه تشتک پتری مربوط به هر تیمار، مایه‌زنی شد و در انکوباتور با دمای ۱±۲۷ درجه‌سانتی‌گراد قرار داده شدند. میزان رشد شعاعی هر جدایه در ۲۴ و ۴۸ ساعت بعد از تلقیح، ثبت شد. درصدهای بازدارندگی رشد میسیلیومی با فرمول آبوت[1] [IP=100(Rc-Rt)/Rc که در آن IP=درصد بازدارندگی، Rc= رشد شعاعی در شاهد و Rt=رشد شعاعی در تیمار می‌باشد] محاسبه و بوسیله نرم‌افزار Probit Analysis Version 5.1، EC50 و ۹۵ درصد حدود اطمینان EC50 برای هر قارچ‌کش روی جدایه‌ها محاسبه شد (استرک و همکاران، ۲۰۰۳؛ روکو و پرز، ۲۰۰۱). همچنین براساس درصدهای بازدارندگی رشد میسیلیومی هر قارچ‌کش روی جدایه‌ها، حداقل غلظتی از قارچ‌کش (MIC)[2] که ۱۰۰ درصد از رشد قارچ جلوگیری می‌کند (دوارد و همکاران، ۱۹۹۳) و سمیت هر قارچ‌کش روی جدایه‌ها برمبنای گروه‌بندی IOBC تعیین شد که شامل کلاس ۱ سم بی‌خطر (کمتر از ۲۵ درصد کاهش ظرفیت حیاتی موجود)، کلاس ۲ سم کمی خطرناک (۵۰- ۲۵ درصد کاهش ظرفیت حیاتی موجود)، کلاس ۳ سم با خطر متوسط (۷۵-۵۱ درصد کاهش ظرفیت حیاتی موجود) و کلاس ٤ خطرناک (بیشتر از ۷۵ درصد کاهش ظرفیت حیاتی موجود) می‌باشد (استرک و همکاران، ۲۰۰۳؛ بولر و همکاران، ۲۰۰۵). ارزیابی تأثیر قارچ‌کش‌ها بر اسپورزایی جدایه‌های تریکودرما، ٦ روز بعد از تاریخ تلقیح براساس تغییر رنگ و ظاهر پرگنه انجام شد به نحوی که نسبت مشاهده‌ای سطح سبز (توده و هاله‌های اسپوری) به کل سطح پرگنه در شرایط نوری یکسان و دوره زمانی ثابت مبنای ارزیابی قرار گرفت.

ارزیابی تأثیر قارچ‌کش‌ها روی جوانه‌زنی اسپور: ابتدا از جدایه‌های تریکودرما، سوسپانسیون اسپور با غلظت 5×10^{6} اسپور در میلی‌لیتر تهیه گردید و ۱ میلی‌لیتر از آن در ۴۹ میلی‌لیتر محیط کشت PDB (حاوی عصاره ۲۰۰ گرم سیب‌زمینی پوست‌کنده که ۲۰ دقیقه در دمای جوش آب پخت شده بود، ۲۰ گرم دکستروز و سپس حجم آن با آب مقطر به ۱ لیتر رسانده شد) ریخته شد و محیط PDB حاوی 1×10^{5} اسپور در میلی‌لیتر آماده گردید. سپس ۰/۵ و ۱ میلی‌لیتر از سوسپانسیون ۵۰۰۰ میلی‌گرم بر لیتر ماده مؤثره‌ی قارچ‌کش‌های تریادیمنول و کربوکسین‌تیرام در لوله‌های ۲۰ میلی‌لیتری حاوی ٤/۵

1- Abbott

2- Minimal Inhibitory Concentration

میلی‌لیتر محیط کشت PDB + اسپور جدایه‌ها ریخته شد تا محیط‌های غذایی حاوی ۵۰۰ و ۱۰۰۰ میلی گرم بر لیتر ماده مؤثره فراهم شود. برای شاهد از آب مقطر استفاده گردید. لوله‌های فوق در داخل یک بشر گذاشته شده و بشر نیز در یک شیکر چرخان قرار داده شد. شیکر در ۱۲۰ تکان در دقیقه و دمای ۲۵ درجه سانتی‌گراد در تاریکی تنظیم شد. پس از ۲۴ ساعت، از محتوای لوله‌ها، لام تهیه گردید. اسپورهایی که طول لوله تندش آن‌ها بیش از قطر یا طول کنیدی بود، در این شمارش جوانه‌زده به حساب آمدند (مک‌لئان و همکاران، ۲۰۰۱). با شمارش اسپورهای جوانه‌زده و نزده، درصد اسپورهای جوانه‌نزده تعیین و با فرمول آبوت:

[CUG= (UGt-UGc)/(100-UGc) که در آن CUG=درصد اسپورهای جوانه نزده تصحیح‌شده، UGt=درصد اسپورهای جوانه‌نزده در تیمار و UGc= درصد اسپورهای جوانه‌نزده در شاهد می‌باشد] اصلاح شد.

نتایج

ارزیابی تأثیر قارچ‌کش‌ها روی رشد میسیلیومی و اسپورزایی: در اندازه‌گیری رشد شعاعی پرگنه‌های مورد تیمار با قارچ‌کش‌ها، مشاهده شد بعضی از قارچ‌کش‌ها در غلظت‌های بسیار پایین باعث تحریک رشد بعضی از جدایه‌های تریکودرما می‌شوند برای مثال جدایه‌های T150 و T128 در غلظت ۰/۰۱ میلی‌گرم بر لیتر ماده مؤثره کاربندازیم، ۵ و ۷ درصد افزایش رشد نسبت به شاهد داشتند (جدول ۲). همچنین بعضی جدایه‌ها در واکنش به قرارگیری در غلظت‌های بازدارندگی رشد، تولید متابولیت زیادی (رنگدانه زرد) نسبت به شاهد کردند. درصدهای بازدارندگی رشد میسیلیومی، با وارد کردن اعداد مربوط به کاهش رشد شعاعی پرگنه‌ها در اثر ورود غلظت‌های مختلف قارچ‌کش‌ها به فرمول‌های آبوت، محاسبه گردید (جدول ۲).

براساس نتایج به‌دست آمده، کاربندازیم و کاربندازیم + ایپرودیون رشد میسیلیومی تریکودرما را در غلظت‌های ۰/۴۸-۰/۱۳ میلی‌گرم بر لیتر ماده مؤثره ۵۰ درصد کاهش دادند. همین میزان کاهش رشد بوسیله تریادیمنول و کربوکسین‌تیرام، در غلظت‌های ۲۱/۸۷-۲/۷۱ میلی‌گرم بر لیتر انجام شد.

جدول ۲- اثرات غلظت‌های مختلف قارچ‌کش‌ها روی درصد کاهش رشد (درصد بازدارندگی رشد) میسیلیومی جدایه‌های تریکودرما در محیط آزمایشگاه.

قارچ‌کش‌ها و غلظت‌های مورد استفاده (میلی‌گرم بر لیتر)		درصدهای بازدارندگی رشد میسیلیومی جدایه‌های *Trichoderma*				
		T65	T128	T144	T77	T150
کاربندازیم	۰/۰۱	۰	۰	۰	۲/۳	۰
	۰/۱	۱۴/۲	۷/۵	۱۴/۳	۹/۶	۷/۵
	۰/۵	۷۳/۴	۵۴/۴	۶۸/۵	۸۸/۴	۴۹/۵
	۱	۱۰۰	۹۸/۸	۱۰۰	۱۰۰	۱۰۰
کاربندازیم + ایپرودیون	۰/۰۱	۰	۱/۴	۴/۳	۲/۳	۰
	۰/۱	۳/۷	۶/۱	۴/۳	۷/۹	۴/۵
	۱	۱۰۰	۷۰/۸	۹۶	۱۰۰	۸۰/۳
	۱۰	۱۰۰	۱۰۰	۱۰۰	۱۰۰	۱۰۰
تریادیمنول	۰/۱	۷/۲	۱۳/۸	۸/۷	۱۵/۸	۵/۱
	۱	۲۹/۳	۲۶/۳	۱۷/۹	۳۵/۶	۱۰/۲
	۱۰	۶۳	۵۴/۲	۳۷/۷	۵۸/۹	۳۲/۱
	۱۰۰	۱۰۰	۹۳/۹	۹۷/۸	۱۰۰	۸۳
کربوکسین‌تیرام	۱	۲/۴	۱/۳	۰/۸	۲/۵	۵/۱
	۱۰	۱۶/۸	۲۵	۱۹/۴	۲۰/۸	۱۹/۷
	۱۰۰	۱۰۰	۱۰۰	۱۰۰	۹۰	۱۰۰

بر اساس مشاهدات در طول آزمون فوق و نگهداری یک هفته‌ای تشتک‌های پتری درگیر در این آزمون در شرایط نوری، نسبت مشاهده‌ای سطح سبز پرگنه (توده‌ها و هاله‌های اسپوری) به کل سطح پرگنه در مورد هر چهار قارچ‌کش با شاهد یکسان بود و هیچ‌کدام از قارچ‌کش‌ها به‌طور مستقیم روی اسپورزایی جدایه‌ها تأثیری نگذاشتند و اسپورزایی این جدایه‌ها، تنها با میزان رشد میسیلیومی آن‌ها در ارتباط بود (اثرات غیرمستقیم).

درصدهای بازدارندگی رشد میسیلیومی در نرم‌افزار آنالیز پروبیت وارد و پس از تجزیه و تحلیل داده‌ها، EC5o و ۹۵ درصد حدود اطمینان برای EC50 به‌دست آمد (جدول ۳). همچنین حدود حداقل غلظت بازدارندگی (MIC) و سمیت هر قارچ‌کش روی جدایه‌ها براساس گروه‌بندی IOBC تعیین شد (جدول ٤). براساس نتایج به‌دست‌آمده، کاربندازیم و کاربندازیم + ایپرودیون برای جدایه‌های تریکودرما فوق‌العاده سمی بودند و می‌توان از آن‌ها در آینده به‌عنوان شاهد مثبت برای این نوع آزمایش‌ها استفاده کرد. کربوکسین‌تیرام و تریادیمنول نسبت به کاربندازیم و کاربندازیم + ایپرودیون سمیت کمتری برای این جدایه‌ها داشتند و به همین خاطر با فرض سازگاری نسبی، برای آزمایش‌های جوانه‌زنی اسپور انتخاب شدند.

جدول ۳- غلظت مؤثر EC50 (Effective concentration) و ۹۵ درصد حدود اطمینان برای EC50 (95% Confidence for EC50 limitation) قارچ‌کش‌های مورد استفاده روی جدایه‌های تریکودرما براساس بازدارندگی رشد میسیلیومی.

قارچ‌کش‌ها	کربوکسین‌تیرام		تریادیمنول		کاربندازیم+ ایپرودیون		کاربندازیم	
جدایه‌های *Trichoderma*	EC50**	*C.L.	EC50	C.L.	EC50	C.L.	EC50	C.L.
T65	۱۹/۷۵^{a}	۱۵/۲۰-۲۶/۵۲	۳/۳۷^{c}	۲/۳۸-٤/۹۰	۰	۰	***۰/۲٦^{c}	۰/۲۲-۰/۳۱
T128	۱۷/۱^{a}	۱۳/٤۹-۲۲/۳۱	٤/۲۷^{bc}	۲/۸۱-٦/۷۱	۰/٤۸a	۰/۳۷-۰/٦٤	۰/۳۷^{ab}	۰/۳۲-۰/٤٤
T144	۱۹/۷۸^{a}	۱۵/۵۵-۲۵/۷٤	۸/۷٦^{ab}	۵/۰۷-۱٤/۵۰	۰/۱۹b	۰/۱۳-۰/۲۸	۰/۲۸^{bc}	۰/۲۳-۰/۳۳
T77	۲۱/۸۷^{a}	۱٦/٦۹-۲۹/۷٤	۲/۷۱^{c}	۱/۷۸-٤/۲٤	۰/۲۲b	۰/۱٦-۰/۳۱	۰/۱۳^{d}	۰/۱-۰/۱۷
T150	۱۷/۲۱^{a}	۱۲/٦۹-۲٤/٦۳	۱۷/۰۹^{a}	۱۱/۱۹-۲۷/۹	۰/٤٦a	۰/۳۷-۰/۵۷	۰/٤۰^{a}	۰/۳٤-۰/٤۷

* ۹۵ درصد حدود اطمینان برای EC50

** غلظت موثر برای مرگ ۵۰ درصد جمعیت موجود هدف

*** EC50هایی که دارای حرف مشابه می‌باشند در سطح ۵ درصد اختلاف معنی‌داری ندارند.

جدول ٤- سمیت و حداقل غلظت بازدارندگی (MIC) قارچ‌کش‌های مورد استفاده روی رشد میسیلیومی جدایه‌های تریکودرما.

قارچ‌کش	تی٦۵		تی۱۲۸		تی۱٤٤		تی۷۷		تی۱۵۰		مصرف‌مزرعه‌ای***
	T*	MIC**	T	MIC	T	MIC	T	MIC	T	MIC	(mgAI/kg seed)
کاربندازیم	٤	۱>	٤	۱<	٤	۱>	٤	۱>	٤	۱>	۱۰۰۰
کاربندازیم+ایپرودیون	٤	۱>	٤	۱<	٤	۱<	٤	۱>	٤	۱<	۵۳۰(۳۵۰+۱۸۰)
تریادیمنول	۳	۱۰۰>	۳	۱۰۰<	۳	۱۰۰<	۳	۱۰۰>	۳	۱۰۰<	۷۵
کربوکسین‌تیرام	٤	۱۰۰>	٤	۱۰۰>	٤	۱۰۰>	٤	۱۰۰<	٤	۱۰۰>	۱۵۰۰(۷۵۰+۷۵۰)

* سمیت بر اساس گروه‌های پیشنهادی بوسیله گروه کاری IOBC: کلاس ۱- بی‌خطر (کمتر از ۲۵ درصد کاهش توان حیاتی موجود، کلاس ۲-کمی خطرناک (۵۰- ۲۵ درصد کاهش در توان حیاتی موجود)، کلاس ۳- با خطر متوسط (۷۵-۵۱ درصد کاهش)، کلاس ٤- خطرناک (بیشتر از ۷۵ درصد کاهش)

** غلظت‌های حداقل بازدارندگی

*** نسبت مصرف مزرعه‌ای (میلی‌گرم ماده موثر به ازای یک کیلوگرم بذر) توصیه شده بوسیله سازمان حفظ نباتات ایران

ارزیابی تأثیر قارچ‌کش‌ها روی جوانه‌زنی اسپور: در این آزمون، پس از ۲٤ ساعت درصد اسپورهای جوانه‌زده در شاهد (عدم وجود قارچ‌کش) برای جدایه‌های مختلف در یک دامنه ۱۰ ± ٦۰ درصد قرار گرفت. درصد اسپورهای جوانه‌زده در تیمارها نیز محاسبه و با در نظر گرفتن میزان جوانه‌زده در شاهد مربوطه و وارد کردن آن به فرمول‌های آبوت، درصدهای تصحیح شده اسپورهای جوانه‌نزده به‌دست آمد (جدول ۵). براساس این نتایج، کربوکسین‌تیرام در غلظت ۱۰۰۰ میلی‌گرم ماده مؤثره بر لیتر (غلظت کمتر از مصرف مزرعه‌ای) ۱۰۰ درصد از جوانه‌زنی اسپور پنج جدایه تریکودرما جلوگیری کرد در صورتیکه تریادیمنول در همین غلظت (۱۳ بار بیشتر از مصرف مزرعه‌ای) تقریباً ۵۰ درصد از جوانه‌زنی اسپور جدایه‌های تریکودرما جلوگیری کرد.

بحث

اگرچه اختلاف در حساسیت جدایه‌های تریکودرما به هر قارچ‌کش در بعضی موارد معنی‌دار بود (جدول ۳) لیکن با توجه به اختلافات شاخص‌تر حساسیت جدایه‌های تریکودرما به قارچ‌کش‌های استفاده شده و هدف تحقیق که انتخاب قارچکش سازگار است، امکان ارزیابی گروهی جدایه‌ها و بررسی رفتار آنها نسبت به هر قارچکش را فراهم می‌کند.

نتایج نشان داد که کاربندازیم و روورال تی‌اس در غلظت‌های بسیار پایین رشد میسیلیومی جدایه‌های استفاده شده تریکودرما را کاهش داد (غلظت ۰/٤۸- ۰/۱۳ میلی‌گرم بر لیتر تا ۵۰ درصد کاهش رشد) و سمیت آنها بر مبنای گروه‌بندی پیشنهاد شده به‌وسیله IOBC روی جدایه‌های مورد آزمایش در گروه خطرناک قرار گرفت (جدول ٤) و مصرف توام آن با محصولات بیولوژیک تریکودرما رد می‌شود. نزدیکی EC50های به‌دست آمده این دو قارچ‌کش نشان می‌دهد که توقف رشد تریکودرما در اثر ورود دزهای پایین قارچ‌کش کاربندازیم + ایپرودیون مربوط به بخش کاربندازیم این فرمولاسیون است تا ایپرودیون. این نتیجه‌گیری با نتایج آزمایش‌های شرکت ABM برروی جدایه، *T. harzianum* T22 انطباق دارد که ایپرودیون را براساس رشد میسلیومی سازگار با جدایه T22 معرفی کرده است. همچنین استفاده از کاربندازیم به‌عنوان یک قارچ‌کش مؤثر برای ضدعفونی بسترهای پرورش قارچ خوراکی بر علیه بیماری کپک سبز ناشی از تریکودرما، نتایج فوق را تأیید می‌کند (چن و همکاران، ۲۰۰۳؛ گروگان و همکاران، ۱۹۹۷؛ رینکر و آلم، ۱۹۹۸).

کربوکسین‌تیرام در غلظت‌های متوسط، رشد میسیلیومی جدایه‌های تریکودرما را کاهش داد (غلظت ۲۱/۸۷- ۱۷/۱ میلی‌گرم بر لیتر تا ۵۰ درصد کاهش رشد) و سمیت آن بر مبنای گروه‌بندی پیشنهاد شده به‌وسیله IOBC روی جدایه‌های تریکودرمای استفاده شده در گروه با خطر متوسط قرار گرفت (جدول ٤). این قارچکش در غلظت ۱۰۰۰ میلی‌گرم بر لیتر (کمتر از نسبت مزرعه‌ای) باعث ۱۰۰ درصد بازدارندگی جوانه‌زنی اسپور شد.

جدول ۵- درصدهای تصحیح شده اسپورهای جوانه‌نزده (درصد بازدارندگی جوانه‌زنی اسپور) ۵ جدایه تریکودرما که تحت تاثیر غلظت‌های مختلف تریادیمنول و کربوکسین‌تیرام قرار گرفته‌اند.

قارچ‌کش‌ها	غلظت‌های مورد استفاده (میلی‌گرم بر لیتر)	درصدهای تصحیح‌شده اسپورهای جوانه‌نزده				
		T65	T128	T144	T77	T150
تریادیمنول	۵۰۰	۱۵	۸	۱۸	۱۱/۲	۱۵
	۱۰۰۰	٤۱	٤۳/۲	۵۲/۳	٤۸	٤٦/۱
کربوکسین تیرام	۵۰۰	۸۵	۸۵	۷۳	۱۰۰	۹۰
	۱۰۰۰	۱۰۰	۱۰۰	۱۰۰	۱۰۰	۱۰۰

این نتایج با تحقیقات رابرت و همکاران (۲۰۰۶) که حساسیت چند جدایه تریکودرما به کربوکسین و تیرام را بر مبنای بازدارندگی رشد میسیلیومی کم اعلام کرده است انطباق دارد. همچنین با تحقیقات مک‌لئان و همکاران (۲۰۰۱) که تأثیر تیرام را روی جدایه *T. harzianum* C52 در محیط آزمایشگاه و مزرعه بررسی کرده‌اند و نشان دادند که تیرام باعث کاهش ۱۵ درصدی CFU در ریزوسفر پیاز و بازدارندگی ۱۰۰ درصدی بر جوانه‌زنی اسپور می‌شود انطباق دارد.

تریادیمنول نیز در غلظت‌های متوسط باعث کاهش رشد جدایه‌های تریکودرما شد (غلظت ۱۷/۰۹ – ۲/۷۱ میلی‌گرم بر لیتر تا ۵۰ درصد کاهش رشد) و سمیت آن براساس گروه‌بندی پیشنهاد شده به‌وسیله IOBC روی جدایه‌های مورد استفاده در گروه با خطر متوسط قرار گرفت (جدول ٤). این قارچکش در دز ۱۰۰۰ میلی‌گرم بر لیتر باعث کاهش درصد جوانه‌زنی اسپور به میزان ۵۰ درصد شد. در تحقیقات مک‌لئان و همکاران (۲۰۰۱) نیز تریادیمنول باعث کاهش ۲۰ درصدی CFU در ریزوسفر پیاز و ٤۱ درصدی در جوانه‌زنی اسپور شد.

بنابراین، براساس شاخص حداقل غلظت بازدارندگی (MIC)، درصد بازدارندگی جوانه‌زنی اسپور و نسبت مصرف مزرعه‌ای (جدول ٤) تریادیمنول نسبت به سایر قارچکش‌های مورد استفاده با جدایه‌های فوق سازگارتر است. اگرچه خود این قارچ‌کش نیز در غلظت‌های مصرف مزرعه‌ای در محیط آزمایشگاه تأثیرات بازدارندگی روی جوانه‌زنی اسپور و رشد میسیلیومی دارد اما با در نظر گرفتن تفاوت تماس قارچ و قارچ‌کش در دو محیط *in vitro* و *in vivo* و قدرت بالای تامپونی (بیولوژیکی و شیمیایی) خاک در شرایط طبیعی مزرعه، این تأثیرات بازدارندگی کاهش پیدا می‌کند.

بررسی استفاده از قارچ‌کش‌ها بر علیه سیاهک به روش پاشش برگی به شکل پس‌رویشی (با انجام تحقیقات) جهت کاهش تأثیرات قارچ‌کشی در ریزوسفر و تهیه موتانت‌هایی از تریکودرما که با حفظ قابلیت بیوکنترلی، به قارچ‌کش‌های مؤثر بر سیاهک نیز مقاوم باشد، از استراتژی‌های برتر در مدیریت تلفیقی مبارزه با سیاهک پنهان و عوامل بیماری‌زای ریشه گندم در آینده است.

منابع

1.Altomare, C., Norvell, W. A., Bjorkman, T., and Harman, G.E. 1999. Solubilization of phosphates and micronutrients by the plant promoting and biocontrol fungus *Trichoderma harzianum*. Applied Environment Microbiology. 65:2926-2933.

2.Benitez, T., Ricon, A.M., Limon, M.C., and Codon, A.C. 2004. Biocontrol mechanisms of *Trichoderma* strains. International microbiology. 7:249-260.

3.Boller, E.F., Vogt, H., Ternes, P., and Malavolta, C. 2005. Working document on selectivity of pesticides (Explanations to the IOBC database). Available in www.iobc.agropolis.fr.

4.Chet, I., and Baker, R. 1981. Isolation and biocontrol potential of *Trichoderma hamatum* from soil naturally suppressive to *R. solani*. Phytopathology. 71:286-290.

5.Chet, I., and Inbar, J. 1994. Biological Control of Fungal Pathogens. Applied Biochemistry and Biotechnology. 48:37-43.

6.Chen, X., Ospina-Giraldo, M.D., Wilkinson, V., Royse, D.J., and Romaine, C.P. 2003. Resistance of pre- and post-epidemic strains of *Agaricus bisporus* to *Trichoderma aggressivum* fsp. *aggressivum.* Plant Disease. 87:1457-1461.

7.De waard M.A., Georgopoulos, S.G., Hollomon, D.W., Ishii, H., Leroux, P., Ragsdale, N.N., and Schwinn, F.J. 1993. Chemical control of plant disease: problems and prospects. Annual Review Phytopathology. 31:403-21.

8.Duffy, B.K., Ownley, B.H., and Weller, D.M. 1997. Soil chemical and physical properties associated with suppression of take-all of wheat by *Trichoderma koningii.* Phytopathology. 87:1118-1124.

9.Elad Y., and Chet, I. 1983. Improved selective medium for isolation of *Trichoderma* spp. From soil. Phytoparasitica. 11: 55-58.

10.Figueras-Roca, M., Cristani, C., and Vannacci, G. 1996. Sensitivity of *Trichoderma* isolates and selected resistant mutants to DMI fungicides. Crop Protection. 15:615-621.
11.Grogan, H.M., Noble, R., Gaze, R.H., and Fletcher, J.T. 1997. Compost inoculation and control of *Trichoderma harzianum*, a weed mould of mushroom cultivation. Mushroom News. 45:29-36.
12.Handelsman, J., and Stabb, E.V. 1996. Biocontrol of Soilborne Plant Pathogens. The Plant Cell. 8:1855-1869.
13.Harman, G.E, Howell, C.R., Viterbos, A., Chet, I., and Lorito, M. 2004. *Trichoderma* Species-opportunistic, avirulent plant symbionts. Nature Reviews/ Microbiology. 2:43-56.
14.Howell, C.R., Devay, J.E., Garber, R.H., and Batson, W.E. 1997. Field control of cotton seedling diseases with *Trichoderma virens* in combination with fungicide seed treatments. The Journal of Cotton Science. 1: 15-20.
15.Howell, C.R. 2003. Mechanisms employed by *Trichoderma* species in the biological control of plant diseases: The history and evolution of current concepts. Plant Disease. 87:4-10.
16.Kucuk, C., and Kivanc, M. 2003. Isolation of *Trichoderma spp.* and determination of their antifungal, biochemical and physiological features. Turkey Journal of Biology. 27:247-253.
17.Kucuk, C., and Kivanc, M. 2004. *In vitro* antifungal activity of strains of *Trichoderma harzianum.* Turkey Journal of Biology. 28:111-115.
18.McLean, K.L., Hunt, J., and Stewart, A. 2001. Compatibility of the biological agent *Trichoderma harzianum* C52 with selected fungicides. New Zealand Plant Protection. 54:84-88.
19.Mehrabi koushki, M., Zafari, D., Rouhani, H., and Ghalandar, M. 2006. Study of biocontrol possibility of wheat take-all disease by using *Trichoderma* effective isolates. P22, In: Abbasi, M. and Aliabadi, F. (eds.), Proceeding of 17th Iranian Plant Protection Congress, Tehran University, Iran.
20.Razak, A.A. 1999. Activities of microflora in soils of upper and lower Egypt. The African Journal of Mycology an Biotechnology. 7:1-19.
21.Rinker , D.L., and Alm, G. 1998. Effectiveness of benomyl-coated spawn against green mold disease. Mushroom World. 9:15-20.
22.Roberti, R., Badiali, F., Pisi, A., Veronesi, A., Pancaldi, D., and Cesari, A. 2006. Sensitivity of *Clonostachys rosea* and *Trichoderma spp.* as potential biocontrol agents to pesticides. Journal of Phytopathology. 154:100-109.
23.Roco, A., and Perez, L.M. 2001. *In vitro* biocontrol activity of *Trichoderma harzianum* on *Alternaria alternata* in the presence of growth regulators. Plant biotechnology. 4:1-6.
24.Sivan, A., and Chet, I. 1993. Integrated control of media on growth and interactions between a range of soilborne glasshouse pathogens and antagonistic fungi. Phytopathology. 10:127-142.
25.Sterk, G., Heuts, F., Merck, N., and Bock, J. 2003. Sensitivity of non-target arthropods and benefical fungal species to chemical and biological plant protection products: results of laboratory and semi-field trials. P303-313, In: Honolula, H.I (eds.), Proceeding of 1st International Symposium on Biological Control of Arthropods, USDA Forest Service, Ref Type, Hawaii, USA.
26.Tjamos, E.C., Papavizas, G.C., and Cook, R.J. 1992. Biological control of plant diseases. Progress and challenges for the future. Plenum Press, New York. 463P.

J. Agric. Sci. Natur. Resour., Vol. 14(6), Feb-March 2008
www.jasnr.info
www.sid.ir
www.magiran.com/jasnr

Compatibility of *Trichoderma species* with fungicides using to Control common bunt of wheat and barley

***M. Mehrabi Koushki[1], D. Zafari[2] and H. Rouhani[3]**
[1]Expert of Plant Pathology, Agriculture Jahad Organization of Markazi Province Iran, [2]Assistant Prof., Dept. of Plant Protection, Bu Ali Sina University of Hamadan Iran, [3]Associate Prof. Dept. of Plant Protection, Ferdowsi University of Mashhad, Iran

Abstract

The effects of carboxinthiram, triadimenol, carbendazime and carbendazime + iprodion fungicides were studied on mycelial growth and sporulation rate of *Trichoderma* sp, *T. harzianum, T. koningii, T. brevicompactum* and *T. virens* Species on ¼ - strength PDA medium. The different concentrations of 0.01, 0.1, 0.5, 1, 10 and 100 Mg/L active ingredient were used. The range of EC_{50} of carboxinthiram, triadimenol, carbendazym and carbendazime + iprodion on mycelial growth of five *Trichoderma* species with 95% confidence limitation were calculated 17.1 – 21.87, 2.71 – 17.09, 0.13– 0.40 and 0.19 – 0.48 Mg/L respectively. On the basis of EC_{50}, two fungicides carboxinthiram and triadimenol were selected for more investigation in order to inhibitory effects of them were evaluated on spore germination of five *Trichderma* species in *in vitro*. In this trial, carboxinthiram and triadimenol reduced the spore germination of *Trichderma* at the rate of 100% and 41 – 52.3% respectively on PDB medium containing 1000 Mg/L active ingredient. On the basis of obtained EC_{50} from the effects of fungicide on the rate of colony growth, percentage of ungerminated spores, minimal inhibitory concentration and typical application rates against common bunt, triadimenol distinguished more compatible than other experimented fungicides with *Trichoderma* species.

Keywords: *Trichoderma* Species; Common bunt; Fungicide; Compatibility; Biocontrol.

*- Corresponains Authcr; Email: mhdmhrb@yahoo.com