دانش بیماری‌شناسی گیاهی (شاپای ا:۶۲۹۰-۲۵۸۸، شاپای چ: ۹۲۷۰-۲۲۵۱)
سال نهم، جلد ۲، بهار و تابستان ۱۳۹۹
Plant Pathology Science (eISSN:2588-6290, pISSN:2251-9270)
Vol. 9(2), 2020

Research Article

Biological control of Fusarium root rot of bean with two *Trichoderma* species and *Pseudomonas fluorescens*

ALI ROSTAMI, MEHDI SADRAVI✉, RASOOL REZAEI, MOHAMMAD ABDOLLAHI
Department of Plant Protection, Faculty of Agriculture, Yasouj University, Yasouj, Iran

Received: 07.02.2020 Accepted: 09.15.2020

Rostami A, Sadravi M, Rezaei R, Abdollahi M (2020) Biological control of Fusarium root rot of bean with two *Trichoderma* species and *Pseudomonas fluorescens*. Plant Pathology Science 9(2): 14-27. Doi: 10.2982/PPS.9.2.14

Abstract

Introduction: Fusarium root rot with damage reported up to 85% of the crop yield, caused by *Fusarium solani* f. sp. *phaseoli*, is one of the most important bean diseases in the world. Biological control is a healthy and environmentally friendly way to manage this soil-borne disease. **Materials and Methods:** Bean farms in Kohgiluyeh and Boyer-Ahmad Province were visited and the rotten roots of diseased plants were sampled. Two isolates of the pathogen were isolated, purified and identified. The pathogenicity of these two isolates was tested on two bean varieties Drakhshan and Pak under greenhouse conditions. The colony growth inhibition rate of the hypervirulant isolate of the pathogen was assessed by 14 native isolates of *Trichoderma harzianum*, four isolates of *Trichoderma virens*, two isolates of *Trichoderma atroviridae*, and five native isolates of *Pseudomonas florescens* and *P. florescens* CHAO with hyperparasitic ability and production of antibiotics in vitro. Finally, the effect of four superior *T. harzianum* isolates, one *T. atroviridae* isolate and two *P. florescens* isolates on disease severity were examined in a completely randomized design in the greenhouse. **Results:** All isolates of three species of *Trichoderma* had the ability to hyperparasite and destroy pathogenic hyphae. Four *T. harzianum* isolates showed a more significant ability to produce non-volatile and volatile antibiotic materials. All treatments significantly reduced the disease severity, but a *T. harzianum* isolate was more effective in vivo. **Conclusion:** Fusarium root rot is also found in bean fields in southwestern Iran. Native isolates of *T. harzianum*, *T. virens* and *T. atroviridae* have the hyperparasitic ability on the pathogen. These fungi and isolates of *P. florescens* have the ability to inhibit the growth of the pathogen colony by producing antibiotic substances. Isolates of *Trichoderma harzianum*, *T. atroviridae* and *P. florescens* CHAO have the ability to reduce the severity of the disease in vivo.

Keywords: Bean, Disease, *Fusarium*, Hyperparasite, Antibiosis

✉ Corresponding author: msadravi@yu.ac.ir, 0000-0002-4324-131X

مقاله پژوهشی

مهار زیستی پوسیدگی فوزاریومی ریشه لوبیا با دو گونه *Trichoderma* و *Pseudomonas fluorescens*

علی رستمی، مهدی صدروی✉، رسول رضائی، محمد عبداللهی
گروه گیاه‌پزشکی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه یاسوج، یاسوج

دریافت: ۱۳۹۹/۰۴/۱۲ پذیرش: ۱۳۹۹/۰۶/۲۵

رستمی ع، صدروی م، رضائی ر، عبداللهی م (۱۳۹۹) مهار زیستی پوسیدگی فوزاریومی ریشه لوبیا با دو گونه *Trichoderma* و *Pseudomonas fluorescens*. دانش بیماری‌شناسی گیاهی ۹(۲):۲۷-۱۴.
Doi: 10.2982/PPS.9.2.14

چکیده

مقدمه: پوسیدگی فوزاریومی ریشه، ناشی از *Fusarium solani* f. sp. *phaseoli* ، یکی از بیماری‌های مهم لوبیا در جهان است، که خسارت آن تا ۸۵ درصد محصول گزارش شده است. مهار زیستی روشی سالم و سازگار با محیط زیست برای مدیریت این بیماری خاک‌برد است. **مواد و روش‌ها:** مزرعه‌های لوبیا در استان کهگیلویه و بویراحمد بازدید شدند و از ریشه‌های پوسیده بوته‌های بیمار نمونه‌برداری شد. دو جدایه بیمارگر از آنها جداسازی، خالص‌سازی و شناسایی شدند. قدرت بیماری‌زایی این دو جدایه روی دو رقم درخشان و پاک لوبیا در گلخانه آزمایش شد. قدرت بازدارندگی از رشد پرگنه جدایه پرآزارتر بیمارگر توسط ۱۴ جدایه *Trichoderma harzianum* ، چهار جدایه *Trichoderma virens* ، دو جدایه *Trichoderma atroviridae* و پنج جدایه بومی *Pseudomonas florescens* و *P. florescens* CHAO در شرایط آزمایشگاهی با توانایی فرا انگلی و تولید مواد پادزیست بررسی شدند. سرانجام تاثیر چهار جدایه برتر *T. harzianum* یک جدایه *T. atroviridae* و دو جدایه *P. florescens* برشدت بیماری در قالب طرح آماری کاملا تصادفی در گلخانه مورد بررسی قرار گرفت. **یافته‌ها:** تمام جدایه‌های سه گونه *Trichoderma* توانایی فرا انگلی و از بین بردن ریسه‌های بیمارگر را داشتند. در آزمایش تولید مواد پادزیستی فرار و نافرار چهار جدایه *T. harzianum* توانایی بیشتر معنی‌داری نشان دادند. در آزمایش گلخانه نیز تمام تیمارها باعث کاهش معنی‌دار شدت بیماری شدند ولی یک جدایه *T. harzianum* تاثیر بیشتری داشت. **نتیجه‌گیری:** بیماری پوسیدگی فوزاریومی ریشه در مزرعه‌های لوبیا در جنوب‌غربی ایران هم وجود دارد. جدایه‌های بومی *T. harzianum* ، *T. virens* و *T. atroviridae* توانایی فرا انگلی بیمارگر را دارند. این قارچها و جدایه‌های باکتری *Pseudomonas florescens* توانایی

✉ مسئول مکاتبه: msadravi@yu.ac.ir

بازدارندگی از رشد پرگنه بیمارگر با تولید مواد پادزیستی دارند. جدایه‌های *Trichoderma harzianum* و *T. atroviridae* و*P. florescens* CHAO توانایی کاهش شدت بیماری را در شرایط گلخانه دارند.

واژگان کلیدی: لوبیا، بیماری، *Fusarium*، فرا انگلی، پادزیستی

مقدمه **Introduction**

حبوب پس از غلات مهم‌ترین منبع غذایی بشر و لوبیا (*Phaseolus vulgaris* L.) از مهمترین آنها در جهان محسوب می‌شود (Parsa and Bagheri 2008). بیماری پوسیدگی فوزاریومی ریشه، ناشی از *Fusarium solani* f. sp. *phaseoli* W.C. Snyder & H.N. Hansen، همه ساله خسارت قابل ملاحظه‌ای را به کشاورزان تحمیل می‌نماید، به طوری که در مناطق کاملا آلوده، تا ۸۵ درصد محصول را از بین می‌برد(Hall 1991). بیمارگر به صورت کلامیدوسپور که دارای دیواره‌های ضخیم می‌باشند شرایط نامساعد محیط را تحمل می‌کند. کلامیدوسپورها تحت تأثیر ترشحات مغذی بذرهای در حال جوانه‌زنی یا مریستم نوک ریشه‌ها از حالت استراحت خارج شده و شروع به تندش می‌کنند. رخنه مستقیمِ نفوذ به روزنه و زخم‌ها از راه‌های ورود بیمارگر به درون بافت ریشه لوبیا می‌باشند. ریسه به راحتی در فضاهای بین سلولی ناحیه پوست ریشه رشد می‌کند ولی در مرز سلول‌های پوست داخلی متوقف می‌شود. در شرایطی که رطوبت نسبی محیط بالا باشد، کنیدیوم‌ها بر سطح بالشتک‌هایی که از روزنه‌های زیرین برگ‌های نزدیک زمین خارج شده‌اند، تولید می‌گردند. سرانجام با پوسیدگی کامل بافت‌های آلوده، کنیدیوم‌ها و ریسه‌های قارچ جای خود را به کلامیدوسپورهای مقاوم می‌دهند و به این ترتیب چرخه زندگی بیمارگر کامل می‌گردد(Hall 1991). بیماری در ایران از استان‌های خراسان شمالی و رضوی، مرکزی و کهگیلویه و بویراحمد گزارش شده است (Ershad 2009, Gharacheh and Sadravi 2015).

روش‌های مبارزه زراعی شامل خاکورزی و زهکشی مناسب خاک، آبیاری و کوددهی بهینه می‌توانند درصد خسارت را تا حدودی کاهش دهند. بررسی تاثیر چهار تاریخ کاشت بذر (۱۰ و ۲۵ می، نه و ۲۴ ژون) بر شدت بیماری نشان داده که کاشت بذر در تاریخ نه ژون باعث کاهش معنی‌دار بیماری می‌شود (Lak et al. 2009).

مدیریت بیماری به روش شیمیایی، با توجه به خاکزاد بودن بیمارگر هزینه زیادی به همراه دارد، از سوی دیگر هم اکثر رقم‌های مقاوم نیز دارای صفتهای منفی مانند دوره رشد طولانی و دانه‌ی ریز می‌باشند، بنابراین توجه روزافزونی به مبارزه زیستی با بیماری شده است. بعضی جدایه‌های باکتریهای دو گونه *Bacillus*، تاثیر معنی‌داری در کاهش شدت بیماری داشته‌اند (Akbari et al. 2006) . پودر آماده

Bacillus subtilis (Ehrenberg 1835) Cohn 1872 باعث کاهش معنی‌دار شدت بیماری شده است (MirzaeiGhomi et al. 2010). یک جدایه از پنج جدایه باکتری *Rhizobium leguminosarum* Frank 1889 (Frank 1879) شدت بیماری را کاهش داده است (Hatamabadi et al. 2010). یک جدایه قارچ *Trichoderma harzianum* Rifai نیز شدت بیماری را به میزان معنی‌داری کاهش داده است (Abeysinghe 2007).

نظر به اهمیت بیماری در جهان و کارآیی بهتر مبارزه زیستی در مدیریت بیماری این پژوهش برای بررسی تاثیر جدایه های بومی سه گونه *Trichoderma* و باکتری *Pseudomonas fluorescens* Migula 1895 (Flügge 1886) بر بیمارگر و شدت بیماری در شرایط آزمایشگاه و گلخانه انجام شد.

مواد و روش‌ها Materials and Methods

نمونه‌برداری، جداسازی، خالص‌سازی و شناسایی بیمارگر

مزرعه‌های لوبیای استان کهگیلویه و بویراحمد بازدید و بوته‌های بیمار با نشانه‌های پوسیدگی ریشه و طوقه نمونه‌برداری شدند و با درج محل نمونه‌برداری روی کیسه‌های فریزر به آزمایشگاه منتقل و در یخچال در دمای چهاردرجه سلسیوس نگهداری شدند. ریشه و طوقه پوسیده بوته‌های بیمار سه دقیقه در زیر جریان ملایم آب شسته شدند. سپس قطعاتی به طول یک سانتی‌متر از قسمت بین بافت بیمار و سالم جدا و به مدت ۹۰ ثانیه در هیپوکلریت سدیم نیم درصد ضدعفونی شده، سپس با آب مقطر سترون سه بار شسته و پس از خشک کردن با کاغذ صافی روی محیط کشت سیب زمینی/ دکستروز/آگار (PDA) به همراه ۲۰ میلی‌گرم در لیتر سولفات استرپتومایسین، پس از یک هفته نگهداری در دمای ۲۵ درجه سلسیوس بیمارگر جداسازی و به روش تک هاگ خالص‌سازی شد. خصوصیات پرگنه و هاگها مطالعه شدند و با توصیف‌های گونه‌های *Fusarium* مقایسه و بیمارگر شناسایی شد (Leslie and Summerell 2006).

اثبات بیماریزایی

زادمایه دو جدایه قارچ بیمارگر، به دست آمده از مزرعه‌های لوبیای این استان، روی دانه‌های گندم سترون تکثیر شدند. بذرهای رقمهای درخشان (لوبیا قرمز) و پاک (لوبیا سفید) در محلول هیپوکلریت سدیم نیم درصد به مدت سه دقیقه ضدعفونی شدند و پس از شستشو با آب مقطر سترون در خاک سترون شده، متشکل از خاک مزرعه و شن، به نسبت ۱:۱ کاشته شدند. پس از رشد گیاهچه‌ها به ازای هر

گیاهچه، ۳ دانه گندم کلنیزه شده با جدایه‌های قارچ و در تیمار شاهد گندم سترون شده همراه با محیط کشت بدون قارچ کنار ریشه آنها گذاشته شد. پس از ظهور نشانه‌های بیماری لکه‌های پوسیده طوقه و ریشه با دقت اندازه‌گیری شد (Lak et al. 2009). داده‌های حاصل به کمک نرم‌افزار SPSS20 مورد تجزیه واریانس قرار گرفته و میانگینها با آزمایش چند دامنه‌ای دانکن مقایسه شدند. از بافتهای بیمار، پس از ضدعفونی سطحی آنها و کشت روی محیط PDA، قارچ جداسازی شد و خصوصیات ریخت‌شناسی آن مطالعه و با قارچ تلقیح شده مقایسه شد.

آزمایش اثر بازدارندگی جدایه‌های سه گونه *Trichoderma* و *Psudomonas floresens* روی بیمارگر در آزمایشگاه

چهارده جدایه بومی *T. harzianum*، چهار جدایه *T. virens* و دو جدایه *T. atroviridae* ، پنج جدایه بومی *P. florescens* و جدایه *P. florescens* CHAO انتخاب شدند.

آزمایش فرا انگلی با قرار دادن قرصی به قطر ۵ میلیمتر از پرگنه جدایه پرآزارتر بیمارگر در کنار قرصی به قطر ۵ میلیمتر از پرگنه هر جدایه *Trichoderma* spp. روی لام و در در دمای ۱±۲۵ درجه سلسیوس انجام شد (Valed Saravi et al. 2011). بعد از سه روز، چگونگی تأثیر و ارتباط قارچها در روی لامها در زیر میکروسکوپ بررسی گردید.

آزمایش‌های اثر بازدارندگی جدایه‌های گونه‌های *Trichoderma* از رشد پرگنه جدایه پرآزارتر بیمارگر با تولید مواد پادزیستی نافرار در کشت متقابل و مواد پادزیستی فرار بر اساس روش (Desai et al. 2002) در قالب طرح کاملا تصادفی با چهار تکرار برای هر تیمار انجام شدند.

آزمایشهای اثر بازدارندگی جدایه‌های*P. florescens* از رشد پرگنه جدایه پرآزارتر بیمارگر با تولید مواد پادزیستی نافرار و فرار به روش (Akbari et al. 2006) در قالب طرح کاملا تصادفی با چهار تکرار برای هر تیمار انجام شدند.

درصد بازدارندگی از رشد پرگنه بیمارگر در آزمایشهای فوق با استفاده از این فرمول محاسبه شد: درصد بازدارندگی از رشد پرگنه= (قطر پرگنه در شاهد- قطر پرگنه در تیمار/ قطر پرگنه در شاهد) × ۱۰۰ (Khalili et al. 2012).

اثر جدایه‌های برتر گونه‌های *Trichoderma* و *P. floresens* بر شدت بیماری در گلخانه

جدایه‌های برتر گونه‌های *Trichoderma* و *P. florescens* که در آزمایش‌های پادزیستی اثر خوبی بر

بیمارگر داشتند و جدایه پرآزارتر بیمارگر برای آزمایش گلخانه‌ای انتخاب شدند. بذرهای سترون شده لوبیای رقم درخشان به‌مدت ۱۲ ساعت در آب سترون خیسانده شدند، سپس در گلدان‌های حاوی مخلوط خاک مزرعه و شن در عمق یک سانتی‌متری کاشته شدند. گیاهچه‌های ۱۰ روزه با ریختن ۵ میلی‌لیتر سوسپانسیون $۱۰^{۶}$ کنیدیوم در هر میلی‌لیتر بیمارگر در پای طوقه هر گیاهچه تلقیح شدند. بیست و چهارساعت بعد، ۵ میلی‌لیتر سوسپانسیون‌های هاگ جدایه‌های هر گونه *Trichoderma* با غلظت $۱۰^{۸}$ هاگ در میلی‌لیتر و سوسپانسیون باکتری *P. florescence* به غلظت $۱۰^{۹}$ ×۱ سلول به پای گیاهچه‌ها ریخته شدند(MirzaeiGhomi et al. 2010). بسته به نیاز آبی گلدان‌ها، هر روز یک بار به گلدان‌ها آب داده شد. آزمایش در ۵ تکرار برای هر تیمار و هر تکرار شامل ۴ گیاهچه‌ی لوبیا، در قالب طرح کاملا تصادفی اجرا شد. پس از ظهور نشانه‌های بیماری و زردی کامل بوته‌های تیمار شاهد، لکه‌های پوسیده طوقه و ریشه، طول ریشه وساقه و وزن‌های تر و خشک بوته‌ها اندازه‌گیری شد. داده‌های حاصل به کمک نرم‌افزار SPSS20 مورد تجزیه واریانس قرار گرفته و میانگین‌ها با آزمایش چند دامنه‌ای دانکن مقایسه شدند.

یافته‌ها Results

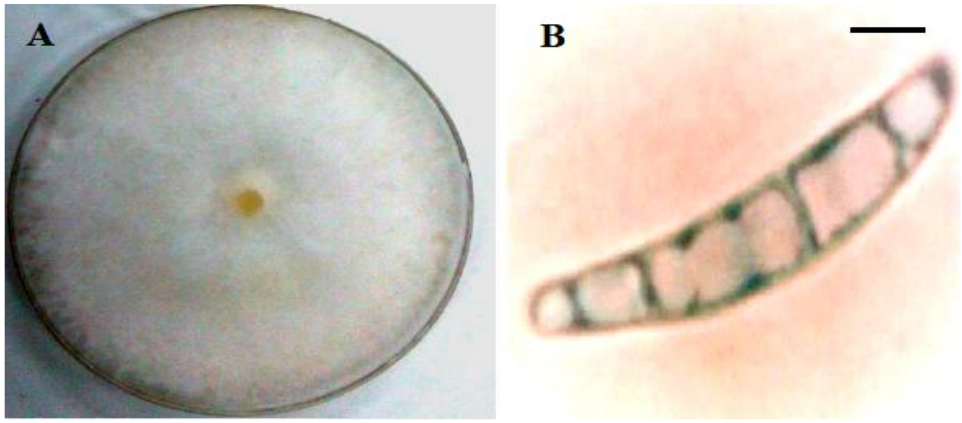
نشانه‌های بیماری و ریخت‌شناسی بیمارگر

نشانه‌های بیماری در مزرعه‌های لوبیای استان کهگیلویه وبویراحمد به شکل زردی بوته‌ها با ریشه‌های قهوه‌ای تیره و پوسیده بود (شکل ۱).

ریخت‌شناسی دو جدایه *Fusarium solani* f.sp. *phaseoli* از این بوته‌های بیمار به این شرح بود: پرگنه سفید تا کرم رنگ، کنیدیوم‌بر روشن، ساده، گاهی اوقات به بلندی طول ماکروکنیدیوم بودند. کنیدیوم‌ها از فیالیدها زاده شده بودند، روشن و به دو شکل دیده شدند: ماکروکنیدیوم‌ها بیضی‌شکل سه تا پنج سلولی، به ابعاد(۶/۸-) ۶/۲ (-۴/۳) × (۵۸/۳-) ۳۱/۵ (-۲۶/۲) میکرومتر، بودند (شکل ۲). میکروکنیدیوم‌ها یک تا دو سلولی، به ابعاد (۶/۳-) ۳/۹ (-۲/۴) × (۱۷/۵-) ۱۴/۵ (-۸/۱) میکرومتر بودند. کلامیدوسپورها قهوه‌ای، کروی تا تخم‌مرغی شکل با دیواره صاف و ضخیم، در ریسه به صورت بین سلولی یا انتهایی، معمولاً تکی یا دوتایی و گاهی اوقات به صورت زنجیری وجود داشتند.

شکل ۱. نشانه‌های بیماری پوسیدگی فوزاریومی ریشه لوبیا در مزرعه‌های استان کهگیلویه وبویراحمد ایران، A- زردی بوته‌های لوبیا در مزرعه، B- پوسیدگی ریشه‌های بوته بیمار.

Figure 1. Symptoms of Fusarium root rot of bean in fields in Kohgiluyeh and BoyerAhmad Province of Iran, A- Yellowing of bean plants in the field, B- Root rot of diseased plant.



شکل ۲. *Fusarium solani* f. sp. *phaseoli* : A- پرگنه قارچ ، B- ماکروکنیدیوم (خط مقیاس= ۱۰ میکرومتر).

Figure 2. *Fusarium solani* f. sp. *phaseoli*: A- Colony, B-Macrocondium (Bar= 10µm).

بیماری‌زایی جدایه‌های بیمارگر و واکنش رقم‌های لوبیا به آنها

تجزیه واریانس داده‌های این آزمایش نشان داد که قدرت بیماریزایی جدایه‌های بیمارگر در سطح یک درصد دارای اختلاف معنی‌داری با یکدیگر هستند و جدایه یک از منطقه تل‌خسرو قدرت بیماریزایی بیشتری نسبت به جدایه تنگ مهریان دارد، ولی واکنش رقمهای پاک و درخشان نسبت به آنها اختلاف

جدول ۱. بیماریزایی دو جدایه *Fusarium solani* f. sp. *phaseoli* از استان کهگیلویه وبویراحمد ایران بر دو رقم لوبیا.

Table 1. Pathogenicity of two isolates *Fusarium solani* f. sp. *phaseoli* from Kohgiluyeh and Boyer Ahmad Province of Iran on two bean cultivars*.

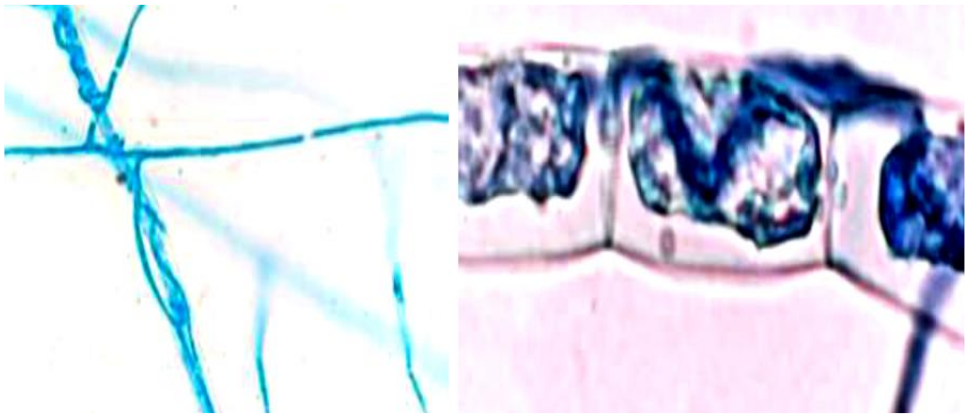
Treatment	Root rot lesion length (mm)
Fusarium solani f. sp.*phaseoli* 1 × Pak cultivar	40.05 a
Fusarium solani f. sp.*phaseoli* 1 × Derakhshan cultivar	38 a
Fusarium solani f. sp.*phaseoli* 2 × Derakhshan cultivar	28.70 b
Fusarium solani f. sp.*phaseoli* 2× Pak cultivar	27.75 b

*Numbers with similar letters do not differ significantly at the 1% level (DMRT).

معنی‌داری نداشته و هر دو حساس هستند. نتیجه مقایسه میانگین داده‌های این آزمایش در جدول یک نشان داده شده است. مطالعه خصوصیات ریخت‌شناسی قارچ جداسازی شده نشان داد که همان قارچ تلقیح شده است.

اثر جدایه‌های گونه‌های *Trichoderma* و *Pseudomonas floresence* بر بیمارگر در شرایط آزمایشگاه

بررسی اسلایدهای میکروسکپی تهیه شده از آزمایش فرا انگلی، با یک میکروسکپ کالیبره شده و متصل به رایانه جهت عکس‌برداری، این نتیجه حاصل شد که هر سه گونه *Trichoderma* دارای توانایی فرا انگلی با پیچش به دور ریسه *Fusarium solani* f.sp. *phaseoli* هستند (شکل ۳)



شکل ۳. پیچیدن ریسه *Trichoderma harzianum* به دور ریسه *Fusarium solani* f. sp. *phaseoli* .

Figure 3. Twisting of *Trichoderma harzianum* hyphae around *Fusarium solani* f. sp. *phaseoli* hyphae.

جدول ۲. میزان بازدارندگی از رشد پرگنه *Fusarium solani* f. sp. *phaseoli* عامل پوسیدگی ریشه لوبیا توسط جدایه‌های سه گونه *Trichoderma* و *Pseudomonas fluorescens*.

Table 2. Colony growth inhibition of *Fusarium solani* f. sp. *phaseoli* the causal of root rot of bean by isolates of three *Trichoderma* species and *Pseudomonas fluorescens**.

Treatment	Colony growth Inhibition (%)	
	Dual culture test	Volatiles antibiotics production test
T. harzianum 42	65.35 a	64.35 hi
T. harzianum 38	64.56 a	20.08 jk
T. harzianum 14	63.77 a	51.41bc
T. harzianum 39	62.20 ab	47.63 c-e
T. harzianum 40	62.20 ab	44.47 d-f
T. harzianum 17	50.90 bc	33.75 i
T. harzianum 36	45.33 cd	54.88 ab
T. harzianum 10	54.33 cd	44.79 d-f
T. harzianum 43	51.96 c-e	44.16 d-f
T. harzianum 45	50.39 c-f	58.35 a
T. atroviridae 23	48.81 c-g	47.91 cd
T. virense 4	47.24 d-h	21.76 jk
T. virense 18	46.45 e-h	42.58 d-g
T. harzianum 9	45.66 e-h	24.19 kl
T. harzianum 25	44.09 f-h	40.06 f-h
T. harzianum 27	44.09 f-h	19.31 d-f
T. harzianum 33	43.30 f-h	54.57 ab
T. harzianum 12	41.73 ghi	32.17 i
Pseudomonas florescence (CHAO)	40.88 hi	30.34 d-f
P. florescence 16	35.22 i	16.45 l
T. harzianum 3	21.77 j	47.00 c-e
P. florescence 2	21.06 j	37.34 g-i
P. florescence (PF1)	20.75 j	14.24 l
T. atroviridae 5	21.25 jk	26.81 j
P. florescence 57	16.66 kl	42.08 d-f
P. florescence (PF2)	11.94 l	22.40 jk

*Numbers with similar letters do not differ significantly at the 1% level (DMRT).

تجزیه واریانس داده‌های آزمایشهای اثر پادزیستی جدایه‌های سه گونه *Trichoderma* و باکتری *Psudomonas floresens* روی بیمارگر در آزمایشگاه نشان داد که همه‌ی جدایه‌های سه گونه

Trichoderma و جدایه‌های باکتری *Pseudomonas florescence* در کشت متقابل و تولید مواد نافرار پادزیستی توانایی بازدارندگی از رشد پرگنه قارچ بیمارگر را داشته و در سطح یک درصد با یکدیگر تفاوت معنی‌داری دارند. مقایسه میانگین داده‌های این آزمایش‌ها نشان دهنده توانایی بازدارندگی بیشتر تعدادی از جدایه‌های *T. harzianum* داشت (جدول ۲).

تاثیر جدایه‌های برتر دو گونه *Trichoderma* و *Pseudomonas florecens* بر شدت بیماری در گلخانه

تجزیه واریانس دادهای این آزمایش که با چهارجدایه‌ی برتر *T. harzianum* 42,45,38,14، یک جدایه‌ی *T. atroviridae* 23، *P. florescence* CHAO و جدایه بومی *P. florecsens* 57 انجام شد، نشان داد که بین تیمارها اختلاف معنی‌داری در سطح یک درصد وجود دارد. مقایسه میانگین‌ها نشان داد که تمام تیمارهای جدایه‌های گونه‌های *Trichoderma* و *P. florescence* باعث کاهش معنی‌دار شدت بیماری و جلوگیری از کاهش طول ریشه و ساقه و وزن‌های تر و خشک بوته‌ها می‌گردند (جدول ۳). تیمارهای *T. harzianum* 38,42 نه تنها شدت بیماری را به طور معنی‌داری کاهش دادند، بلکه طول ریشه و ساقه بوته‌های این تیمارها با بوته‌های شاهد سالم اختلاف معنی‌داری نداشت.

Discussion **بحث**

توانایی فرا انگلی گونه‌های *Trichoderma* ، مخصوصا *T. harzianum* بر سایر قارچها مانند *Rhizoctonia solani* Kohn عامل سوختگی غلاف برگ برنج نیز به اثبات رسیده است (Valed Saravi et al. 2011). گونه‌های *Trichoderma* توانایی بازدارندگی از رشد پرگنه سایر قارچها مانند *R. solani* عامل سوختگی غلاف برگ برنج و *Bipolaris oryzae* Breda de Hann. عامل بیماری لکه قهوه ای برنج، با تولید مواد پادزیستی نافرار و فرار نیز نشان داده‌اند (Khalili et al. 2012, Valed Saravi et al. 2011) . متابولیت‌های پادزیستی گونه‌های *Trichoderma* شامل آنزیم‌های کیتیناز، لامیناریناز، بتا ۱و۳ گلوکوناز و آنتی‌بیوتیک‌هایی نظیر تریکودرمین، تریکوتوکسین، پاراسلسین، درمادین و آلامتسین هستند، که تعداد و میزان ترشح این مواد در گونه‌های مختلف *Trichoderma* و حتی جدایه‌های مربوط به یک گونه ممکن است متفاوت باشد. همچنین استالدئید به عنوان مهمترین متابولیت فرار بعضی گونه‌های *Trichoderma*

جدول ۳. اثر جدایه‌های دو گونه *Trichoderma* و *Pseudomonas fluorescens* بر بیماری پوسیدگی فوزاریومی ریشه لوبیا ناشی از *Fusarium solani* f. sp. *phaseoli* در گلخانه.

Table 3. The effect of isolates of two *Trichoderma* species and *Pseudomonas fluorescens* on Fusarium root rot disease of bean caused by *Fusarium solani* f. sp. *phaseoli* in vivo*.

Treatment	Root rot lesion length (mm)	Root length (cm)	Stem length (cm)	Wet weight (gr)	Dry weight (gr)
Check (Diseased)	30.95 a	13.49 d	40.55 c	13.16 f	1.97 d
T. harzianum 38	25.45 b	20.93 ab	58 a	19.58 bc	2.77 ab
T. harzianum 14	20.25 c	17.66 c	50.15 b	16.94 de	2.79 ab
T. harzianum 45	24.50 b	17.42 c	49.40 b	16.76 e	2.57 bc
T. harzianum 42	24.70 b	21.89 a	59.70 a	20.07 b	2.64 bc
P. florecsens CHAO	24.70 b	19.76 b	51.20 b	18.36 cd	2.58 bc
T. atroviridae 23	24.70 b	17.34 c	49.75 b	16.57 e	2.60 bc
P. florecsens 57	25.95 b	16.91 c	49.55 b	16.04 e	2.36 c
Check (Healthy)	0 d	20.20 a	59.70 a	22.61 a	3.02 a

*Numbers with similar letters do not differ significantly at the 1% level (DMRT).

تشخیص داده شده است (Harson et al. 1996, Howell 2003). بعضی گونه‌های *Trichoderma* میتوانند باعث افزایش تولید هورمون‌های گیاهی شامل اکسین‌ها، سیتوکنین‌ها و اتیلن شوند، که موجب افزایش رشد و ترمیم بافت‌های آسیب‌دیده گیاهان و کاهش شدت بیماریها میگردند. آنها همچنین محیط اطراف خود را با ترشح اسیدهای آلی همچون اسید گلوکونیک، اسید سیتریک و اسید فوماریک، اسیدی می‌کنند و شرایط را برای قابل جذب شدن فسفر، آهن، منگنز و منیزیوم فراهم می‌کنند که خود منجر به رشد بیشتر و سریعتر گیاهان می‌شوند (Harmen et al. 2004).

جدایه‌های باکتری *P. fluorescens* به طور موثری توانستند از رشد بیمارگر در شرایط آزمایشگاهی جلوگیری کنند و از شدت بیماری در شرایط گلخانه بکاهند. یک جدایه این باکتری شدت پژمردگی فوزاریومی گوجه‌فرنگی را با تحریک تولید پروتیینهای وابسته به مقاومت کاهش داده است

(Ramamoorthy et al. 2002). همچنین دو جدایه از این باکتری باعث بازدارندگی از رشد پرگنه *R. solani* عامل سوختگی غلاف برگ برنج و القای مقاومت سیستمیک در یک رقم برنج به بیماری با تولید آنزیم کیتیناز و افزایش فعالیت آنزیم پراکسیداز شده‌اند(Nandakumar et al. 2001).

CHAO *P. fluorescens* از رشد پرگنه و جوانه‌زنی هاگ‌های (Berk & Broome) Ferraris *Thielaviopsis basicola* عامل پوسیدگی ریشه گیاهان با تولید سیدروفور و اسید سیانیک جلوگیری کرده است (Ahl et al. 1986).

نتیجه‌گیری Conclusion

Fusarium solani f. sp. *phaseoli* عامل بیماری پوسیدگی ریشه لوبیا در استان کهگیلویه و بویراحمد است. جدایه‌های بومی *Trichoderma harzianum* ، *T. virens* ، *T. atroviridae* و جدایه‌های *Pseudomonas florescens* با توانایی فرا انگلی و تولید مواد پادزیستی نافرار و فرار قادر به بازدارندگی از رشد این بیمارگر هستند. چهارجدایه برتر 42,45,38,14 *T. harzianum*، یک جدایه 23 *T. atroviridae* ، CHAO *P. florescence* و جدایه بومی 57 *P. florecsens* باعث کاهش معنی‌دار شدت بیماری در گلخانه شدند، بنابراین از آنها می‌توان برای مهارزیستی بیماری پوسیدگی فوزاریومی ریشه لوبیا استفاده کرد.

منابع References

1. Abeysinghe S (2007) Biological control of *Fusarium solani* f. sp. *phaseoli* the causal agent of root rot of bean using *Bacillus subtilis* CA32 and *Tichoderma harzianum* RU01. Ruhuna Journal of Science 2:82-88.
2. Ahl P, Voisard C, Défago G (1986) Iron bound- siderophores, cyanic acid, and antibiotics involved in suppression of *Thielaviopsis basicola* by a *Pseudomonas fluorescens* strain. Journal of Phytopathology https://doi.org/10.1111/j.1439-0434.1986.tb00903.x
3. Akbari A, Zafari DM, Rouhani H, Khodakaramian G (2006) Study of antagonistic activity of Bacillus species from bean rhizosphere against root rot caused by *Fusarium solani* f. sp. *phaseoli*. Agricultural Research 5(3):54-70.
4. Desai S, Reddy M S, Kloepper M S(2002). Comprehensive testing of biological agents. Pp: 387–420, In: S. S. Gnanamanickam (Ed.). Biological Control of Crop Diseases. Marcel Dekker Inc., New York, USA.

5. Ershad D (2009) Fungi of Iran. Iranian Research Institute of Plant Protection. Tehran, Iran, 558p.

6. Gharacheh N, Sadravi M (2015) Five important fungal diseases of pulse crops in Iran. Plant Pathology Science 4(2):17-25.

7. Hall R (1991) Compendium of Bean Disease. APS Press, USA.

8. Harman, G. E., Howell, C. R., Viterbo, A., Chet, I. and Lorito, M. 2004. *Trichoderma* species opportunistic, avirulent plant symbionts. Nat Rev Micro. 2: 43-56.

9. Harson, S., Schichler, H., Oppenhim, A., and Chet, I. (1996). Defferential expression of *Trichoderma harzianum* chitinases during mycoparasitism. Phytopathology. 86: 980-985.

10. Hatamabadi Farahani M, Rezaei S, Lak MR (2010) The effect of *Rhizobium leguminosarum* strains on Fusarium root rot disease of bean. Agroecology Journal 5:1-8 (In Persian with English abstract).

11. Howell, C.R. (2003). Mechanism employed by *Trichoderma* species in biological control of plant diseases: The history and evolution of current concepts. Plant Disease: 87: 4-10.

12. Khalili E, Sadravi M, Naeimi S , Khosravi V (2012) Biological control of rice brown spot with native isolates of three *Trichoderma* species. Brazilian Journal of Microbiology 43(1):297-305.

13. Lak MR, Ghanbari A A, Dori HR, Ghadiri A (2009) Effect of planting date on seed yield and Fusarium root rot disease severity in chitti bean in Khomein. Seed and Plant Production Journal 25(3):271-282.

14. Leslie, J. F. and B. A. Summerell. (2006). The Fusarium Laboratory Manul. Blackwell Publishing. 387 pp

15. MirzaeiGhomi P, Zamanizadeh HR, SaberiRiseh RA, Lak MR (2010) Powder formulation survey of strain Bacillus subtilis M36 for control of bean root rot, caused by *Fusarium solani* f.sp. *phaseoli*. Iranian Journal of Plant Protection Science 41(1):151-163.

16. Parsa M, Bagheri A (2008) Legumes. JDM Press, Mashhad, Iran. (In Persian)

17. Ramamoorthy V, Raguchander T, Samiyappan R (2002) Induction of defense-related proteins in tomato roots treated with *Pseudomonas fluorescens* Pf1 and *Fusarium oxysporum* f. sp. *lycopersici*. Plant and Soil 239:55-68.

18. Valed Saravi Z, Sadravi M, Bahrami M (2011) Efect of three biological products on rice sheath blight disease in the field. Journal of Plant Protection 25(1):44-49 (In Persian with English abstract).