

The application of Trichoderma as a biological control agent and growth promoter in soybean

مقدمه:

در کشاورزی پایدار، مدیریت منابع خاک از اهمیت بالایی برخوردار است. در این راستا، بررسی روابط همزیستی بین ارگانسیم‌های مفید خاکزی و محصولات زراعی، یکی از مباحث مهم در این حوزه می‌باشد. در بین محصولات زراعی که هر ساله در بسیاری از نقاط جهان کشت می‌شوند، سویا (*Glycine max*)، از مهم‌ترین دانه‌های روغنی است. بر اساس آمار فائو، سطح زیرکشت این محصول در دنیا در سال ۲۰۲۰، حدود ۱۲۷ میلیون هکتار بوده است و برزیل با اختصاص بیش از ۳۷ میلیون هکتار از اراضی این کشور به کشت سویا، بیشترین سطح زیرکشت این محصول را دارا بوده است. این در حالی است که در ایران، سطح زیرکشت سویا برابر با ۶۰ هزار هکتار بوده است (FAO, 2020). عمده این اراضی در استان‌های گلستان، اردبیل، مازندران، خوزستان و لرستان می‌باشند.

حفظ و تقویت حاصلخیزی خاک در دراز مدت، کنترل زیستی آفات و بیماری‌ها و کاهش مصرف سموم و کودهای شیمیایی، از اهداف کشاورزی پایدار است (بزدانی و همکاران، ۱۳۸۷). استفاده از میکروارگانسیم‌های مفید خاک، به کاهش مصرف سموم و کودهای شیمیایی کمک می‌نماید (Monte, 2001). محصولات بیولوژیک در گیاهان زراعی از جمله دانه‌های روغنی در قالب تیمار بذر (شکل ۱)، کاربرد در خاک و کاربردهای پس از کشت در طول مراحل رشدی گیاه، به تولیدکنندگان بذر و کشاورزان ارائه می‌شوند.



شکل ۱. تیمار بذر سویا با قارچ‌کش بیولوژیک

سموم و کودهای بیولوژیک، محصولاتی هستند که از منابع طبیعی و یا معادل‌های مصنوعی تهیه می‌شوند و بر اساس نوع مصرف به پنج گروه تقسیم می‌شوند. گروه نخست، محرک‌های زیستی هستند که برای افزایش رشد و نمو گیاه استفاده می‌شوند. این مواد، به صورت تیمار بذر در ترکیب با قارچ‌کش‌ها و حشره‌کش‌ها، برای بهبود استقرار گیاه و افزایش تحمل آن در برابر عوامل استرس‌زای زنده و غیرزنده، مورد استفاده قرار می‌گیرند. محرک‌های زیستی، بزرگ‌ترین بخش از تولیدات بیولوژیک مورد استفاده تولیدکنندگان بذر هستند که محصولات متنوعی از آنها در دسترس کشاورزان قرار دارد. گروه دوم شامل آفت‌کش‌های زیستی

می‌باشند. این گروه، از آفت‌کش‌های کم خطر هستند و اثرات منفی ناچیزی بر انسان و محیط زیست دارند؛ به همین دلیل، معمولاً قبل از برداشت محصول، مورد استفاده قرار می‌گیرند. تولیدکنندگان محصولات ارگانیک می‌توانند از این سموم زیستی به عنوان یک ابزار موثر در کنترل آفات استفاده کنند. از این قبیل مواد می‌توان به فرمونها‌های حشرات و اسیدهای چرب اشاره نمود. برای مثال، ووتیو^۱ یک سم بیولوژیک است که به طور مستقیم نماتد سیست سویا را نمی‌کشد ولی کاربرد آن سبب افزایش رشد باکتری‌های سطح ریشه سویا شده و در نتیجه، توانایی نفوذ نماتد سیست به ریشه سویا کاهش می‌یابد. گروه سوم، قارچ‌کش‌های زیستی هستند که فرمولاسیونی از میکروارگانیسم‌های مفید از جمله گونه‌های قارچ تریکودرما می‌باشند (جدول ۱).

جدول ۱. فهرستی از قارچ‌کش‌های بیولوژیک تجاری مورد استفاده در گلخانه^۲

نام تجاری	میکروارگانیسم	بیمارگرهای گیاهی قابل کنترل
Actinovate	<i>Streptomyces lydicus</i>	Powdery mildew, Downy mildew, <i>Botrytis</i> , <i>Rhizoctonia</i> , <i>Pythium</i> , <i>Phytophthora</i>
BotryStop	<i>Ulocladium oudemansii</i> U3	<i>Botrytis</i> , <i>Sclerotinia</i>
Cease, Rhapsody	<i>Bacillus subtilis</i> QST 713	<i>Rhizoctonia</i> , <i>Pythium</i> , <i>Phytophthora</i> , others
Companion Liquid	<i>Bacillus subtilis</i> GB03	Leaf spots, Powdery mildew, <i>Botrytis</i> , bacterial diseases, <i>Rhizocotonia</i> , <i>Pythium</i> , <i>Phytophthora</i>
Contans WG	<i>Coniothyrium minitans</i>	<i>Sclerotinia sclerotiorum</i> , <i>S. minor</i>
Double Nickel, Triathlon	<i>Bacillus amyloliquefaciens</i>	Powdery mildew, Downy mildew, <i>Botrytis</i> , <i>Rhizoctonia</i> , <i>Pythium</i> , others
Galltrol	<i>Agrobacterium radiobacter</i> K84	<i>Agrobacterium tumefaciens</i>
Mycostop	<i>Streptomyces griseoviridis</i>	<i>Botrytis</i> , <i>Rhizoctonia</i> , <i>Pythium</i> , <i>Phytophthora</i> , <i>Alternaria</i>
Plant Shield	<i>Trichoderma harzianum</i>	<i>Rhizoctonia</i> , <i>Pythium</i> , <i>Fusarium</i> , <i>Cylindrocladium</i> , <i>Thielaviopsis</i>
Prestop WP	<i>Gliocladium catenulatum</i> JII446	<i>Botrytis</i> , <i>Rhizoctonia</i> , <i>Pythium</i> , <i>Phytophthora</i> , <i>Fusarium</i> , <i>Verticillium</i>
SoilGard	<i>Gliocladium virens</i> GL-21	<i>Rhizoctonia</i> , <i>Pythium</i>

این میکروارگانیسم‌ها، در بهبود رشد گیاهان میزبان، افزایش جذب مواد غذایی از خاک و جلوگیری از فعالیت بیمارگرهای گیاهی، نقش موثری دارند و در ریشه، خاک و محیط‌های برگی فعال هستند. این ارگانیسم‌ها، با عوامل بیماری‌زای گیاهی رقابت می‌کنند و طیف وسیعی از مواد آنتی‌بیوتیکی را تولید می‌کنند (آنتی‌بیوز^۳). همچنین، برخی از این عوامل مفید، انگل قارچ‌ها و نماتدهای بیمارگر گیاهی بوده و برخی دیگر می‌توانند در گیاه میزبان، مقاومت موضعی و یا سیستمیک در برابر عوامل بیماری‌زا ایجاد نمایند. گروه چهارم، کودهای زیستی هستند. این کودها هم به بذر و هم به گیاه در مراحل رویشی و زایشی کمک می‌کنند. بکارگیری میکروارگانیسم‌هایی همچون باکتری‌ها، قارچ‌ها و سیانوباکتری‌ها، موجب افزایش جذب مواد مغذی توسط دانه و گیاه می‌شوند. برای مثال، افزودن باکتری ریزوبیوم به بذر سویا می‌تواند به افزایش گره‌زایی در ریشه سویا کمک نماید. همچنین، کودهای زیستی می‌توانند با تحریک فعالیت میکروبی در خاک به بهبود بافت خاک و افزایش مواد غذایی در خاک کمک نمایند. گروه پنجم شامل

¹ VOTiVO

² University of Massachusetts Amherst

³ Antibiosis

هورمون‌های رشد گیاهی (PGRs)^۴ است. هورمون‌های رشد گیاهی می‌توانند در دسته مواد بیولوژیک گروه‌بندی شوند، زیرا بطور طبیعی در گیاه تولید می‌شوند. رایج‌ترین این هورمون‌ها شامل جیبرلین‌ها (که سبب افزایش طول ساقه و گل‌دهی می‌شوند)، سیتوکینین‌ها (که بر تشکیل جوانه و تقسیم سلولی اثر دارند) و اکسین‌ها (که تقسیم سلولی را افزایش می‌دهند)، می‌باشند. عصاره بذر علف‌های هرز، یک منبع رایج برای تولید هورمون‌های بیولوژیک با خواص PGR هستند (Schmidgall, 2019). در بین میکروارگانیزم‌های مفید قارچی، گونه‌های تریکودرما به واسطه نقش در حفاظت از گیاهان، افزایش رشد رویشی گیاه، حفظ جمعیت بیماری‌گر زیر آستانه خسارت اقتصادی، تجزیه مواد غذایی و کمک به اصلاح بافت خاک، از عوامل مهم میکروبی در کشاورزی محسوب می‌شوند. این ویژگی‌ها سبب شده است در تولید قارچ‌کش‌ها و کودهای زیستی از جدایه‌های تریکودرما بطور گسترده استفاده شود (Abdel-lateif, 2017). بر این اساس، کاربرد موفقیت‌آمیز بیوفرمولاسیون‌های مختلف بدست آمده از گونه‌های این قارچ برای کنترل انواع بیماری‌های گیاهی، در گزارشات و مقالات علمی متعددی در سرتاسر جهان منتشر شده است. استفاده از قارچ‌های افزایش‌دهنده رشد گیاه^۵ مانند گونه‌های میکوریز و تریکودرما، علاوه بر بهبود رشد گیاه، به کاهش مصرف کودها و قارچ‌کش‌های شیمیایی کمک می‌نماید (Nzanza et al., 2011). مطالعات انجام شده در ایران نیز به موثر بودن کاربرد گونه‌های مختلف تریکودرما در بهبود رشد و نمو گیاهان زراعی مختلف از جمله سویا اشاره شده است. در این مطلب، نتایج مطالعه انجام شده با هدف ارزیابی رشد سویا در واکنش به قارچ‌های افزایش‌دهنده رشد گیاه، مورد بررسی قرار گرفت (یزدانی و همکاران، ۱۳۹۴). این پژوهش در مزرعه آموزشی-پژوهشی دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی ساری در دو سال ۱۳۹۰ و ۱۳۹۱، در قالب طرح فاکتوریل بر پایه طرح بلوک‌های کامل تصادفی با دو عامل، تلقیح با قارچ‌های افزایش‌دهنده رشد (جدول ۲) و مقادیر مختلف کود فسفره، در سه تکرار اجرا شد. تیمارهای مورد استفاده شامل شاهد (بدون تلقیح)، تلقیح با تریکودرما، تلقیح با هر یک از دو گونه میکوریز، تلقیح دوگانه تریکودرما و با هر یک از دو گونه میکوریز و تیمار کودی در سه سطح (صفر، ۷۰ و ۱۴۰ کیلوگرم در هکتار)، بود. برای میزبان سویا از رقم ساری (JK)، استفاده شد.

جدول ۲. گونه‌های قارچی مورد استفاده

ردیف	نام گونه
۱	<i>Trichoderma harzianum</i>
۲	<i>Glomus intraradices</i>
۳	<i>G. mosseae</i>

جدایه تریکودرما پس از تکثیر در محیط کشت PDA و تولید هاگ، به محیط کشت سبوس گندم منتقل شد. سپس، هر کیلوگرم بذر سویا با مقدار ۱۰ گرم از محیط کشت سبوس گندم (حاوی 10^8 واحد هاگ در هر گرم)، تلقیح گردید. کرت‌های آزمایشی شامل پنج ردیف چهار متری با فاصله ۷۰ سانتی‌متر، تهیه و بذور با فاصله هشت سانتی‌متر از هم، روی ردیف‌ها کشت شدند. در مرحله گل‌دهی، صفات ارتفاع بوته، سطح برگ، محتوای کلروفیل، وزن خشک برگ و ماده خشک کل، اندازه‌گیری شد. در مرحله رسیدگی فیزیولوژیک، برای اندازه‌گیری عملکرد دانه، پس از حذف اثرات حاشیه‌ای از هر کرت، بوته‌ها در سطح ۴/۵

⁴ Plant growth regulators

⁵ Plant growth-promoting fungi

مترمربع برداشت و عملکرد نهایی بر اساس رطوبت ۱۳ درصد، محاسبه گردید. تجزیه واریانس مرکب صفات مورد مطالعه برای دو سال آزمایش بر اساس مدل آماری طرح و با استفاده از نرم افزار SAS (نسخه ۹/۱)، انجام و مقایسه میانگین داده‌ها با آزمون حداقل اختلاف معنی‌دار (LSD^۶)، در سطح احتمال پنج درصد مورد مقایسه قرار گرفتند. نتایج نشان داد تیمارهای مختلف قارچ‌های افزاینده رشد گیاه تحت مقادیر مختلف فسفر، اثرات معنی‌داری بر میزان کلروفیل داشتند. بیشترین محتوای کلروفیل در تیمار تریکودرما و میکوریز گونه *G. mosseae* با کاربرد میزان متداول فسفر مشاهده شد. هم‌افزایی قارچ‌های مورد بررسی، سبب بهبود تشکیل گره و تثبیت نیتروژن در گیاه شده و محتوای کلروفیل را افزایش داده است. در کرت‌هایی که فسفر مصرف نشد، میزان ارتفاع بوته به جز تیمار تریکودرما، در مابقی تیمارها به شدت کاهش یافت. بیشترین افزایش این صفت در تیمار تلقیح با قارچ تریکودرما در فقدان فسفر، بدست آمد. همچنین، تلقیح قارچ تریکودرما در تیمار مصرف کامل کود فسفر، وزن خشک اندام‌های هوایی سویا را نسبت به شاهد حدود ۲۰ درصد افزایش داد. در صفت شاخص سطح برگ که میزان دارایی برگ در گیاه را عنوان می‌کند و تعیین‌کننده ظرفیت فتوسنتزی گیاه است، بررسی تیمارها بیانگر اثربخشی بالاتر تلقیح دوگانه تریکودرما و میکوریز گونه *G. mosseae* بود. مقایسه میانگین داده‌های دوساله صفت عملکرد دانه نشان داد که حذف فسفر در تمام تیمارها حتی با تلقیح قارچ‌های مختلف، سبب کاهش عملکرد دانه شد. در مقابل، در تیمار تریکودرما با مصرف کم کود فسفره، عملکرد دانه افزایش یافت. این بدان علت است که فعالیت قارچ تریکودرما سبب افزایش حلالیت فسفر و سایر عناصر در ریزوسفر شده و در نتیجه سبب افزایش جذب این عناصر توسط گیاه می‌شود که نتیجه آن افزایش رشد و بنیه گیاه است. در مجموع، نتایج این پژوهش نشان داد تلقیح گونه‌های تریکودرما و میکوریز می‌تواند در مدیریت تلفیقی عناصر غذایی (INM)^۷، جایگزین مناسبی برای کودهای شیمیایی باشد.

منابع

۱. یزدانی، م.، پردشتی، ه.، تاجیک قنبری، م.، بهمنیار، م. ۱۳۸۷. تاثیر تریکودرما و انواع مختلف کودهای آلی بر رشد و نمو سویا. تولید گیاهان زراعی، ۱ (۳)، ۷۵-۸۲.
۲. یزدانی، م.، یارنیا، م.، پردشتی، ه.، رشیدی، و. بهمنیار، م. ۱۳۹۴. ارزیابی رشد سویا در واکنش به قارچ‌های افزاینده رشد گیاه در شرایط اقلیمی مازندران. بوم‌شناسی کشاورزی، ۷ (۱)، ۷۴-۸۳.
3. Abdel-lateif, K.S., 2017. *Trichoderma* as biological control weapon against soil borne plant pathogens. African J. of Biotechnology, 16(50), pp.2299-2306.
4. Bess-Dicklow, M., and Madeiras, A. 2018. Biofungicides. University of Massachusetts Amherst, online article: <https://ag.umass.edu/>
5. FAO, 2020. <https://www.fao.org/faostat>
6. Monte, E., 2001. Understanding *Trichoderma*: between biotechnology and microbial ecology. International Microbiology, 4(1), pp.1-4.
7. Nzanza, B., Diana, M., and Puffy, S. 2011. Tomato (*Solanum lycopersicum* L.) seedling growth and development as influenced by *Trichoderma harzianum* and arbuscular mycorrhizal fungi. African journal of microbiology research 5:425-43.
8. Schmidgall, S. 2019. Biological Use in Soybean Production. Online article: <https://www.ilsoyadvisor.com/>

⁶ Least significant difference

⁷ Integrated nutrient management