کارایی قارچ‌کش بیولوژیک حاصل از جدایه‌های تریکودرما در کنترل بیماری پوسیدگی ذغالی سویا

آیدین حسن‌زاده
کارشناس گیاهپزشکی و بانک بذر
مرکز تحقیقات

The efficiency of biological fungicide prepared from mutan charcoal rot disease Trichoderma isolates on control of soybean charcoal rot disease

سویا با نام علمی *Glycine max* از مهم‌ترین دانه‌های روغنی است. براساس آخرین آمار فائو در سال ۲۰۲۰، کشور برزیل با بیش از ۱۲۱ میلیون تن، در رتبه نخست کشورهای تولید کننده این محصول در جهان بوده و کشورهای امریکا، آرژانتین، چین و هند در رده‌های بعدی قرار داشتند. همچنین، در این رتبه‌بندی، ایران با تولید ۱٤۰ هزار تن سویا در همین سال، در رتبه ۳٤ قرار داشت. بیشترین سطح زیرکشت این محصول مربوط به برزیل با اختصاص بیش از ۳۷ میلیون هکتار از اراضی این کشور به کشت سویا بوده است (FAO, 2020). سطح زیرکشت این محصول در ایران در سال ۲۰۲۰ برابر با ٦۰ هزار هکتار بوده است و عمده این اراضی در استان‌های گلستان، اردبیل، مازندران، خوزستان و لرستان است. عملکرد سویا به‌طور میانگین، در کشت آبی حدود ۲/۳۹۵ تن در هکتار و در کشت دیم حدود ۱/٤٦۸ تن در هکتار بوده است (Ahmadi *et al.*, 2017). دانه سویا به‌طور متوسط حاوی ۱۸ درصد روغن و ٤٤ درصد پروتئین است که می‌تواند نقش مهمی در صنایع روغن‌کشی و تولید فرآورده‌های پروتئینی و خوراک دام ایفا نماید. یکی از عوامل محدودکننده این محصول در کشور، بیماری پوسیدگی ذغالی ناشی از قارچ گونه Goid (Tassi) *Macrophomina phaseolina* است. دامنه میزبانی این گونه وسیع بوده و در بیش از ۵۰۰ گونه گیاهی از ۷۵ خانواده مختلف، بیماری‌زا می‌باشد (Wrather *et al.*, 1998). در شرایط تنش آب و سال‌های خشک و کم باران، توسعه و خسارت بیماری بیشتر بوده و سبب کاهش کمیت و کیفیت محصول می‌شود (Vasebi *et al.*, 2011). این گونه بصورت خاکزاد و بذرزاد می‌تواند منتقل شود و قدرت زنده‌مانی آن به دلیل تولید ریزسختینه‌های مقاوم، بالاست؛ در نتیجه، کنترل این عامل بیماری مشکل می‌باشد. برخی کشاورزان ممکن است از قارچ‌کش‌های شیمیایی برای کنترل بیماری پوسیدگی ذغالی استفاده می‌کنند ولی کارایی آن با توجه به خاکزاد بودن عامل بیماری، کم بوده و کاربرد آن نیز ممکن است اثرات نامطلوبی بر محیط‌زیست و جانداران داشته باشد. در مقابل، استفاده از میکروارگانیسم‌های مفید مانند گونه‌های قارچ تریکودرما، در صورت قدرت کنترل بیماری می تواند به کاهش استفاده از سموم شیمیایی و پیشگیری موثر از وقوع بیماری، کمک می‌نماید (Monte, 2001). گونه‌های تریکودرما به واسطه نقش در حفاظت از گیاهان، افزایش رشد رویشی گیاه، حفظ جمعیت بیمارگر زیر آستانه خسارت اقتصادی، تجزیه مواد غذایی و کمک به اصلاح بافت خاک، از عوامل مهم میکروبی در کنترل بیولوژیک بیمارگرهای گیاهی 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 فرمولاسیون‌های زیستی مختلف بدست آمده از گونه‌های این قارچ برای کنترل انواع بیماری‌های گیاهی، در گزارشات و مقالات علمی متعددی در سرتاسر جهان منتشر شده است. در این مقاله، مطالعه انجام شده با هدف افزایش کارایی فرمولاسیون زیستی تهیه شده از جدایه‌های جهش‌یافته تریکودرما برای مدیریت بیماری پوسیدگی ذغالی سویا در ایران، مورد بررسی قرار گرفت (گوهرزاد و همکاران، ۱۳۹۸). گونه‌های قارچی مورد استفاده در این پژوهش، از کلکسیون گروه گیاه‌پزشکی پژوهشکده کشاورزی هسته‌ای برای ارزیابی قدرت آنتاگونیستی علیه عامل بیماری، انتخاب شدند (جدول ۱).

جدول ۱: نام و شماره دسترسی گونه های قارچی مورد استفاده

ردیف	شماره دسترسی جدایه	نام گونه
۱	NAS-A1	*T. atroviride*
۲	NAS-H1	*T. harzianum*
۳	NAS-K1	*T. koningii*
٤	NAS-Vi-1	*T. virens*
٥	NAS-V1	*T. viridae*

جدایه قارچ بیمارگر *M. phaseolina* با کد MP-2 از کلکسیون دانشگاه تربیت مدرس تهران تهیه شد و آزمون بیماری‌زایی براساس اصول کخ روی میزبان سویا رقم ویلیامز (تهیه شده از موسسه تحقیقات ثبت و گواهی نهال و بذر)، انجام شد. همچنین، برای ترکیب تجاری ماده بیولوژیک، از تریکودرمین-ب (شرکت تلفیق دانه)، استفاده شد. برای ارزیابی قدرت آنتاگونیستی و انتخاب جدایه برتر با بالاترین قدرت بازدارندگی، از روش کشت متقابل با عامل بیماری استفاده گردید (Mishra, 2010). میزان بازدارندگی هر جدایه با اندازه‌گیری میزان رشد شعاعی بیمارگر در مقایسه با شاهد در دو زمان ٢٤ و ٧٢ ساعت پس از کشت و براساس فرمول IG = [(C-T)/T] × 100 [1] محاسبه شده است. آزمایش در قالب طرح کاملا تصادفی با سه تکرارانجام و برای تهیه جمعیت جدایه‌های جهش‌یافته از گونه منتخب، سوسپانسیون هاگ از کشت تازه آن گونه با استفاده از دستگاه گاماسل[2] تحت پرتوتابی با پرتو گاما و دز ٢٥٠ درجه قرار گرفت (Shahbazi *et al.*, 2018). برای جداسازی اسپورهای جهش‌یافته، از روش سریال رقت استفاده شد و سوسپانسیون هاگ تهیه شده روی محیط PDA کشت شد. پس از ٢٤ ساعت، هاگهای جوانه‌زده به محیط کشت تازه منتقل و برای اطمینان از ثبات ویژگی‌های شکل‌شناسی، هر جدایه تا هفت مرتبه واکشت شد (Shahbazi *et al.*, 2018). شکل و رنگ پرگنه، سرعت رشد، ابعاد هاگ (٣٠ هاگ برای هر جدایه) و تعداد آن در گونه آنتاگونیست برتر و جدایه‌های جهش‌یافته، اندازه‌گیری و ثبت شد. با استفاده از آزمون کشت متقابل، قدرت آنتاگونیستی جدایه‌های جهش‌یافته تریکودرما علیه عامل بیماری بررسی شد تا جدایه‌های برتر با بالاترین میزان بازدارندگی از رشد بیمارگر مشخص شدند (Mirsha, 2010). در آزمایش گلخانه‌ای، برای انتخاب جدایه‌های مورد استفاده در تهیه فرمولاسیون، میزان کاهش بیماری توسط جدایه‌های جهش‌یافته برتر در ارزیابی درون‌شیشه‌ای، با گونه والد (پرتو ندیده)، مقایسه شدند. برای تهیه زادمایه قارچ آنتاگونیست، از دانه‌های گندم استریل به عنوان بستر کشت استفاده گردید. سپس، زادمایه در آون با دمای ٤٠ درجه سلسیوس خشک و با آسیاب، بطور کامل پودر شد.به ازای هر کیلوگرم خاک گلدان، پنج گرم از این زادمایه خشک با خاک مخلوط شد. برای تهیه زادمایه قارچ بیمارگر از روش مشابه و از شلتوک برنج به عنوان بستر کشت استفاده شد. در این تحقیق، سه بیوفرمولاسیون گرانول، پودر و پوشش‌دهی بذر مورد استفاده قرار گرفت.نتایج حاصل از ارزیابی درون شیشه‌ای نشان داد

[1] IG: درصد بازدارندگی از رشد میسلیومی قارچ بیمارگر/ C: قطر پرگنه قارچ بیمارگر در شاهد/ T: قطر پرگنه قارچ بیمارگر در تیمار

[2] Gamma cell Issledovatle PX30, Germany

گونه *T. koningii* با ٦٤/٥٦ درصد، بالاترین قدرت آنتاگونیستی را در مقابل قارچ عامل بیماری دارا می‌باشد. مقایسه میانگین داده‌ها با آزمون دانکن و در سطح احتمال یک درصد، بیانگر وجود تفاوت معنی‌دار بین جدایه‌ها بود. در نتیجه، از این گونه برای تهیه جدایه‌های جهش‌یافته استفاده شد. در بررسی جدایه‌های جهش‌یافته، دو جدایه با بالاترین قدرت بازدارندگی برای تهیه بیوفرمولاسیون و ارزیابی گلخانه‌ای انتخاب شدند. در ارزیابی گلخانه‌ای، شاخص‌های متعددی شامل ارتفاع بوته، طول ریشه، وزن تر و خشک ریشه و ساقه، درصد وقوع بیماری در گیاهان سویا تحت تیمار با سوسپانسیون هاگ تریکودرما، بررسی شدند. نتایج نشان داد تمامی فاکتورهای مورد ارزیابی در تیماریهای مختلف، در سطح پنج درصد دارای اختلاف معنی‌دار بودند و داده‌ها بیانگر تاثیر تیمار گیاه با تریکودرما بود. نتایج ارزیابی کارایی بیوفرمولاسیون‌ها در مقایسه با تیمار قارچ‌کش شیمیایی در حضور و عدم حضور عامل بیماری و در شرایط گلخانه نشان داد اختلاف معنی‌دار بین تمامی تیمارهای مورد ارزیابی در سطح احتمال پنج درصد وجود داشت. تیمارهای پوشش‌دهی بذر دارای اختلاف معنی‌دار با نمونه شاهد بودند و مشابه با سم شیمیایی، توانستند عامل بیمارگر را کنترل کنند. همچنین، بیوفرمولاسیون‌های مورد استفاده سبب افزایش شاخص‌های رشد بوته سویا نسبت به نمونه شاهد و تیمار سم شیمیایی شدند. نتایج بررسی ماندگاری بیوفرمولاسیون نشان داد نگهداری دو بیوفرمولاسیون پودر و گرانول جدایه‌های والد و جهش‌یافته در دمای چهار درجه سلسیوس به مدت ۱۵ ماه، از پایداری قابل توجهی برخوردار است.

منابع

۱ گوهرزاد، ف.، تاجیک قنبری، م. و شهبازی، س. ۱۳۹۸. کارایی قارچ‌کش بیولوژیک حاصل از جدایه‌های جهش‌یافته تریکودرما در کنترل بیماری پوسیدگی ذغالی سویا. آفات و بیماری‌های گیاهی، ۸۷ (۲)، ۲۲٦-۲۰۹.

2 Abdel-lateif, K.S. 2017. *Trichoderma* as biological control weapon against soil borne plant pathogens. African Journal of Biotechnology, 16(50), pp.2299-2306.

3 Ahmadi, K., Gholizadeh, H., Ebadzadeh, H.R., Hatami, F., Hosseinpour, R., Abdeshah, H., Rezaee, M.M., Fazli-Estabragh, M. 2017. Agricultural statistics of Iran. Information and Communication Technology Center, Planing and Economic Affair, Ministry of Agriculture-Jahad, 3, p.239.

4 FAO, 2020. https://www.fao.org/faostatMishra, V.K., 2010. In vitro antagonism of *Trichoderma* species against *Pythium aphanidermatum*. Journal of Phytology, 2(9), pp.28-35.

5 Monte, E. 2001. Understanding *Trichoderma*: between biotechnology and microbial ecology. International Microbiology, 4(1), pp.1-4.

6 Shahbazi, S., Askari, H., Pirali Beiranvand, N., Ahari Mostafavi, H. 2018. Completion report of biological material production and technical knowledge project to reduce damage of Soil disease in greenhouse products based on *Trichoderma*. Nuclear Science and Technology Research Institute (NSTRI), Atomic Energy Organization of Iran (AEOI), 314p. (In Persian with English summary).

7 Vasebi, Y., Alizadeh, A., Safaie, N. 2012. Biological Control of Soybean Charcoal Rot Caused by Macrophomina Phaseolina Using *Trichoderma harzianum*. Journal of agricultural science and sustainable production. 22(1), pp.41-55.

8 Wrather, J.A., Kendig, S.R., Tyler, D.D. 1998. Tillage effects on *Macrophomina phaseolina* population density and soybean yield. Plant Disease, 82(2), pp.247-250.