نشریه حفاظت گیاهان (علوم و صنایع کشاورزی)
جلد ۲۶، شماره ۱، بهار ۱۳۹۱، ص. ۸۱-۷۵

Journal of Plant Protection
Vol. 26, No. 1, Spring 2012, P. 75-81

اثر جدایه‌هایی از قارچ‌های *Trichoderma harzianum* و *T. virens* و باکتری *Bacillus subtilis* در کنترل بیولوژیک نماتد سیستی چغندرقند در شرایط مزرعه

عصمت مهدیخانی مقدم [۱*] و حمید روحانی [۲]

تاریخ دریافت: ۱۳۹۰/۲/۷
تاریخ پذیرش: ۱۳۹۰/۱۱/۱۲

چکیده

در این تحقیق اثر دو محلول بیولوژیک تریکودرمین و سوبتیلین به ترتیب با ماده موثره قارچ *Trichoderma harzianum* Bi و باکتری *Bacillus subtilis* S و همچنین قارچ *T. virens* VM1 جداشده از مزارع چغندر قند مشهد، به دو صورت آغشته سازی بذر و اضافه کردن پودر آن‌ها به بستر کاشت روی کنترل بیولوژیک نماتد سیستی چغندرقند *Heterodera schachtii* در شرایط مزرعه مورد بررسی قرار گرفت .برای یکسان سازی جدایه *T. virens* VM1 با دو محلول ذکر شده ، این جدایه روی محیط کشت PDA کشت داده شد و پس از ۱۰ روز اسپورهای تولید شده در هر پتری دیش با ۱۰ میلی لیتر آب مقطر استریل شسته شد و با میزان لازم پودرتالک به نحوی مخلوط شد که پودری با غلظت 10^7 پروپاگل در هر گرم تهیه شود و از این نظر شبیه دو محصول تجاری ذکر شده گردید. برای انجام آزمایش، مزرعه‌ای آلوده به نماتد سیستی چغندرقند از مزارع جلگه رخ در تربت حیدریه در استان خراسان رضوی در نظر گرفته شد و جمعیت اولیه نماتد درآن تعیین گردید. آزمایش در این مزرعه در سال ۱۳۸۹ در قالب طرح بلوک های کامل تصادفی با نه تیمار و چهار تکرار انجام شد. تجزیه واریانس داده ها و مقایسه میانگین ها با آزمون چند دامنه‌ای دانکن نشان داد که بین تیمارهایی که عوامل بیوکنترل به کاررفته از نظر جمعیت نماتد در زمان برداشت محصول، میزان آلودگی و وزن تر غده اختلاف معنی داری($P \leq 0.05$) با تیمار شاهد وجود دارد. در این آزمایش قارچ *T. virens* VM1 جداشده از مشهد در هر دو شکل پوشش دادن بذر و اضافه کردن به بسترکشت به ترتیب با ۵۲ و ۵۱ در صد کاهش آلودگی اثر بهتری نسبت به دیگر تیمارها نشان داد و در مقایسه با رقم مقاوم پاولینا با ۶۸ درصد کاهش آلودگی اثر مناسبی را در کنترل نماتد سیستی چغندرقند از خود نشان داد.

واژه های کلیدی: نماتد سیستی چغندرقند، *Trichoderma harzianum* ، *T. virens* ، *Bacillus subtilis* ، کنترل بیولوژیک، *Heterodera schachtii*

مقدمه

نماتد سیستی چغندرقند *Heterodera schachtii* یکی از مهمترین عوامل بیماریزای چغندرقند در ایران به شمار می‌رود. در بعضی مناطق چغندرکاری کشور از جمله استان خراسان به علت بالا بودن جمعیت این نماتد، کشت چغندرقند حالت اقتصادی خود را از دست داده است. روش‌های متعددی جهت کنترل این نماتد وجود دارد. به کارگیری عوامل آنتاگونیست می‌تواند در کنترل این نماتد موثر باشد. عوامل آنتاگونیست با مکانیسم های مختلفی موجب کنترل و کاهش بیماری می‌شوند به عنوان مثال قارچ *Trichoderma harzianum* با ایجاد رقابت، خواص مایکوپارازیتیسمی و تولید آنزیم و ترکیبات سمی با عوامل بیماریزا مقابله می‌کند. این قارچ به طور اختصاصی در مقابل عوامل نماتدی دارای مکانیسم های ایجاد ترکیبات ضد نماتدی و اثر مستقیم روی لاروهای سن دوم و تخم نماتد و همچنین با کاهش میزان جلب نماتد ها توسط ریشه، نفوذ آن‌ها را محدود می‌کند. علاوه بر این، با القاء مکانیسم‌های دفاعی گیاه در مقابل حمله نماتد موجب مقاومت گیاه درمقابل آن ها می‌شود (۱۲).

تلاش‌های متعددی در کاربرد گونه های *Trichoderma* برای کنترل نماتدهای پارازیت گیاهی صورت گرفته است. ویندهام و همکاران در سال ۱۹۸۹ گزارش کردند که گونه *T. harzianum* ، جدایه T-12 و گونه *T. koningii* ، جدایه T-8 در کاهش تولید تخم نماتد مولد گره ریشه *Meloidogyne arenaria* در خاک

۱و ۲- دانشیار و استاد گروه گیاهپزشکی، دانشکده کشاورزی دانشگاه فردوسی مشهد
(* - نویسنده مسئول : Email: mahdikhani_e@yahoo.com)

تأثیر دارند (۱۵). رایو و همکاران (۹) گونه های *T. harzianum* و *T. lingnorum* را در کاهش جمعیت *M. incognita* مؤثر می‌دانند. اثر متقابل بین گونه *T. harzianum* و نماتد طلایی سیب زمینی *Globodera rostochiensis* در شرایط آزمایشگاه به وسیله سیف اله و توماس (۱۱) گزارش شده است. قارچ در سیست و تخم داخل آن نفوذ کرده و باعث مرگ لاروها می‌شود. ردی و همکاران (۱۰) معتقدند ترکیبی از گونه *T. harzianum* جدایه T-12 و بقایای زیتون، جمعیت نماتد مرکبات را کاهش می‌دهد. شارون و همکاران (۱۲) در بررسی کنترل بیولوژیک نماتد مولد گره ریشه *M. javanica* به وسیله قارچ *T. harzianum* ، چندین جدایه از قارچ مذکور را مورد آزمایش قرار دادند. همه جدایه های قارچ تریکودرما، تخم ها و لاروهای سن دوم نماتد مولد گره ریشه را در شرایط آزمایشگاهی کلونیزه کردند. مایر و همکاران در سال ۲۰۰۰ باکتری *Burkholderia cepacia* جدایه Bc-2 و قارچ*T.virens* جدایه G1-3 را در رابطه با فعالیت آنتاگونیستی آن‌ها علیه نماتد مولد گره ریشه *M. incognita* مورد بررسی قرار دادند. تعداد تخم و لارو در گرم ریشه ۴۲ درصد کاهش یافت (۷). مایر و همکاران (۲۰۰۱) باکتری*B. cepacia* جدایه های Bc-2 و Bc-F و قارچ *T.virens* جدایه G1-3 را به تنهایی و به صورت ترکیب علیه نماتد مولد گره ریشه *M. incognita* روی فلفل مورد بررسی قرار دادند. تعداد تخم و لارو سن دوم در گرم ریشه در تیمارهای Bc-2 ، Bc-F و G1-3 نسبت به تیمار شاهد کمتر بود و بیشترین تأثیر را تیمارG1-3 داشت. تعداد تخم و لارو سن دوم در تیمارهای ترکیب این آنتاگونیست ها با تیمار شاهد اختلاف معنی داری نشان نداد. تصور می‌شود که ترکیب استرین ها با هم اثر بیوکنترلی آنها را کاهش می‌دهد(۸). همچنین سایکورا (۱۳) دو جدایه T-35 و T-203 از قارچ *T. harzianum* را برای کنترل نماتدها معرفی نموده است.

باکتری *Bacillus subtilis* باعث کاهش تولید گال *M. incognita* بر روی فلفل و خربزه شده است (۶). قرار دادن تخم های نماتد *M. graminicola* در مقابل متابولیت های ثانویه باکتری *B. megatenium* موجب کاهش بیش از ۶۰درصد تفریخ تخم نماتد نسبت به شاهد شده است (۶).

در ایران نیز از قارچ تریکودرما و باکتری باسیلوس در آزمایش های کنترل بیولوژیک نماتدهای پارازیت گیاهی استفاده شده است. مختاری و همکاران (۲) اثر تلفیقی دو عامل*T. harzianum* Bi و *P. fluorescens* را علیه نماتد *M. javanica* در آزمایشگاه مورد بررسی قرار دادند و نشان داده شد که تلفیق دو عامل آنتاگونیست باعث افزایش معنی داری در مرگ و میر لاروها نسبت به کاربرد هرکدام به تنهایی می‌گردد. مهدیخانی مقدم و همکاران (۳) به منظور کنترل بیولوژیک نماتدسیستی چغندرقند اثر ۱۰ جدایه از قارچ تریکودرما متعلق به گونه های *T. harzianum* و *T.virens* را روی تخم و سیست نماتد در آزمایشگاه و گلخانه(خاک استریل و خاک مزرعه) مورد بررسی قرار دادند. در بین آن‌ها دو جدایه *T. harzianum* Bi و *T.virens* VM1 به ترتیب با ۷۶/۱۸ و ۷۲/۵۵ درصد پارازیتیسم بهتر از جدایه های دیگر عمل کردند. درگلخانه نیز دو جدایه مذکور به ترتیب با۷۶/۶۸ و ۷۲/۷۸ درصدکاهش آلودگی در خاک اثر بهتری نسبت به دیگرجدایه ها نشان دادند. سیاه پوش و همکاران (۱) در آزمایشی با استفاده از باکتری *B. cereus* به همراه اسید سالیسیلیک به صورت خیساندن خاک قبل از آلوده شدن گیاه خیار به نماتد *M. javanica* موجب کاهش معنی دار تعدادگال و تعداد توده تخم تولید شده به ازای هرگیاه و کاهش تعداد تخم هر توده تخم گردید.

با توجه به اینکه قارچ *T. harzianum Bi* و باکتری *B. subtilis* S به صورت تجاری در ایران تولید می‌شوند وگزارش هایی مبنی بر اثر بیوکنترلی آنها روی عوامل بیماریزا وجود دارد. همچنین یکی از جدایه های قارچ تریکودرما جدا شده از خاکهای مشهد *T. virens* VM1 که در شرایط آزمایشگاهی و گلخانه در کاهش جمعیت نماتد سیستی چغندرقند موثر بوده است (۳). لذا هدف از این تحقیق، مقایسه دو محلول تجاری ذکر شده و جدایه *T. virens* VM1 جدا شده از مشهد روی جمعیت نماتدسیستی چغندرقند و راندمان محصول در شرایط مزرعه بوده است.

مواد و روش ها

قسمتی از مزرعه‌ای آلوده به نماتد سیستی چغندرقند به مساحت ۱۸۰ مترمربع از مزارع جلگه رخ در شهرستان تربت حیدریه از استان خراسان رضوی در نظر گرفته شد. قبل از کاشت بذر چغندرقند، جمعیت اولیه نماتد در مزرعه انتخابی تعیین گردید و میزان آلودگی مزرعه مشخص شد به این ترتیب که از هر قسمت زمین یک نمونه مرکب خاک از عمق صفر تا ۳۰ سانتی متری تهیه شد. سیست های موجود در نمونه های خاک به روش فنویک (۵) استخراج و تعداد تخم و لارو موجود در یک صد گرم خاک شمارش شد (۵).

دو محصول تجاری تریکودرمین با ماده موثره *T. harzianum* Bi و سوبتیلین با ماده موثره *B. subtilis* S که هر دو دارای $۱۰^{۷}$ پروپاگل در هر گرم پودر بوده از شرکت تلفیق دانه (تولید کننده این ماده) تهیه شد و تاموقع مصرف در یخچال نگهداری شد. جدایه‌ای از قارچ تریکودرما *T. virens* VM1 که قبلا از ریزوسفر چغندرقند از یکی از مزارع چغندرقند مشهد جدا شده بود از کلکسیون بخش بیماریهای گیاهی دانشکده کشاورزی دانشگاه فردوسی مشهد تهیه شد. این جدایه در چند پتری دیش کشت داده شد و اسپورهای آن به وسیله شستشو با ۱۰ میلی لیتر آب مقطر استریل شسته شد و پس از عبور از دو لایه پارچه ململ سوسپانسیونی با غلظت ۲×۱۰^{۸} اسپور

تهیه شد. مقداری از این سوسپانسیون به پودر تالک حاوی یک درصد کربوکسی متیل سلولز (CMC) اضافه و به خوبی با آن مخلوط شد بطوریکه پودر بدست آمده نیز مانند دو محصول تجاری حاوی 10^7 پروپاگل *T. virens* VM1 در هر گرم پودر گردید (۴). در روش آغشته سازی بذر، از این سه پودر به میزان ۱۰ درصد با بذر چغندرقند که قبلا مرطوب شده بودند مخلوط شده و به خوبی در پاکت‌های سلوفانی تکان داده شد تا پودر به خوبی به بذر بچسبد. برای تیمار شاهد از پودر تالک بدون عامل بیوکنترل استفاده شد. پس از حذف رطوبت اضافی بذور در هوای آزاد و بین دو پارچه ململ به مدت دو ساعت، بلافاصله بذرها کاشته شده و روی آنها با خاک پوشانده شد. در روش اضافه کردن عوامل بیوکنترل به بستر کشت همراه با کوکوپیت، ابتدا مخلوطی از هریک از سه پودر تهیه شده به نسبت ۱۰ درصد با کوکوپیت به خوبی مخلوط و سپس بطور یکنواخت به میزان ۸۰۰ گرم در طول هر ردیف هشت متری پخش شد و بذر چغندرقند بر روی ردیف ها کاشته شد و روی آن‌ها به وسیله خاک پوشانده شد.

آزمایش در قالب طرح بلوک های کامل تصادفی در مزرعه‌ای آلوده به نماتد سیستی چغندرقند واقع در جلگه رخ در تربت حیدریه و همزمان با کاشت مرسوم در آن منطقه با نه تیمار و چهار تکرار انجام شد (شکل۱). هر بلوک شامل نه ردیف به طول هشت متر و فاصله ردیف ها ۵۰ سانتی متر بود. جمعیت اولیه نماتد قبل از کاشت و جمعیت نهایی نماتد در زمان برداشت مشخص شد و شاخص تولید مثل بر اساس فرمول Rf= Pf/Pi محاسبه شد. تیمارها شامل: ۱- شاهد (بدون کوکوپیت و عوامل بیوکنترل)، ۲- کوکوپیت در بستر کشت، ۳- سوبتیلین با ماده موثره *B. subtillis S* + کوکوپیت در بستر کشت، ۴- تریکودرمین تجاری با ماده موثره *T. harzianum* Bi + کوکوپیت در بستر کشت ، ۵- تریکودرمای جدا شده از مشهد *T. virens* VM1 + کوکوپیت در بستر کشت، ۶- پوشش بذر با سوبتیلین، ۷- پوشش بذر با تریکودرمای مشهد، ۸- پوشش بذر با تریکودرمین تجاری، ۹- رقم مقاوم (بذر پاولینا) بودند.

بذر چغندر قند استفاده شده در تیمارها بذر Orbis (حساس به نماتد) بود.

آبیاری مزرعه مطابق مزارع غیر آزمایشی و هر دوهفته یکبار انجام گرفت. عملیات کاشت ، داشت و برداشت با نظارت دقیق انجام شد و آماربرداری از مزرعه ۱۶۰روز پس از کاشت صورت گرفت.

معیارهای آماربرداری عبارت بودند از جمعیت نهایی نماتد، وزن تر غده چغندرقند و وزن تر قسمت های هوایی گیاه.

نتایج بدست آمده در قالب طرح بلوک های کامل تصادفی تجزیه واریانس گردید و میانگین ها با استفاده از آزمون دانکن در سطح α=٪۵ با استفاده از نرم افزار آماری SAS و MSTATC مقایسه شدند.

نتایج و بحث

تجزیه واریانس داده های بدست آمده از بررسی قابلیت بیوکنترلی عوامل مورد آزمایش روی نماتد سیستی چغندرقند و عملکرد تیمارهای آزمایشی در خاک مزرعه از جمله جمعیت نهایی نماتد، شاخص تولید مثل نشان می‌دهند که تفاوت معنی داری بین تیمارهای آزمایشی و تیمار شاهد وجود دارد اما از نظر وزن تر غده و وزن تر شاخ و برگ اختلاف معنی داری بین تیمارهای آزمایشی و تیمار شاهد مشاهده نشد (جدول ۱). میانگین تیمار های مختلف آزمایشی با استفاده از آزمون چند دامنه‌ای دانکن و مقایسه میانگین ها در جداول ۲و ۳ نشان داده شده است. همانطور که در جدول ۲ مشاهده می‌شود جمعیت نهایی نماتد در تیمارهای مورد آزمایش در خاک مزرعه نسبت به تیمار شاهد کاهش یافته و اختلاف معنی داری در سطح α=٪۵ بین آن‌ها مشاهده می‌شود.

جدول۱- تجزیه واریانس صفات مورد بررسی و عملکرد چغندرقند در مزرعه

منبع تغییرات	درجه آزادی	میانگین مربعات MS					
		جمعیت نهایی نماتد Pf	شاخص تولید مثل Rf	تکثیر	کنترل	وزن غده	وزن ساقه و برگ
تیمار	۸	۶۳۶۳۰۸۵۴/۸۱*	۲۲۶/۷۵*	۱۶۱۳/۹۹*	۱۶۱۳/۹۹*	۰/۰۲ns	۰/۰۱ ns
بلوک	۳	۵۴۶۳۵۱۰/۲۹	۱۹/۵۲	۵۷۵/۲۴	۵۷۸/۵۸	۰/۰۲	۰/۰۴
خطا	۲۴	۲۳۱۹۶۴/۹۴	۸/۲۶	۴۹/۹۰	۵۱/۰۱	۰/۰۱	۰/۰۲
ضریب تغییرات % CV		۱۲/۱۴	۱۲/۱۵	۱۱/۰۰	۱۹/۹۶	۶/۶۸	۸/۱۳

* در سطح پنج در صد معنی دار است. ns معنی دار نیست.

در بین تیمارهای مورد آزمایش ، تیمار ۹ (رقم مقاوم پاولینا) بیشترین تاثیر را در کاهش جمعیت نهایی نماتد نشان می‌دهد. تیمارهای ۵ (تریکودرمای جداشده از مشهد + کوکوپیت در بستر کشت) و ۷ (پوشش بذر با تریکودرمای مشهد) از نظر کاهش جمعیت نماتد در یک گروه آماری قرار دارند و بیشتر از تیمارهای دیگر مورد آزمایش در کاهش جمعیت نهایی نماتد موثر بوده اند و پس از تیمار ۹ (رقم مقاوم پاولینا) قرار می‌گیرند. تیمارهای۳ (سوبتیلین + کوکوپیت در بستر کشت)، ۴ (تریکودرمین تجاری+ کوکوپیت در بستر کشت) و ۸ (پوشش بذر با تریکودرمین تجاری) نیز از نظر کاهش جمعیت نماتد در یک گروه آماری قرار دارند.

مقایسه میانگین ها با استفاده از آزمون دانکن نشان می‌دهد که در بین تیمارهای مورد آزمایش، از نظر وزن تر غده اختلاف وجود دارد و تیمارها در سه گروه آماری قرار می‌گیرند. تیمار های ۹ (رقم مقاوم پاولینا) و ۱ (شاهد) به ترتیب بیشترین و کمترین مقدار را به خود اختصاص داده اند و هر کدام در یک گروه آماری قرار دارند. تیمار رقم مقاوم بیشترین تاثیر را در افزایش وزن تر غده در مزرعه داشته است. تیمارهای دارای عوامل بیوکنترل از نظر وزن تر غده در یک گروه آماری قرار دارند (جدول۳ و شکل۲) و بیشترین وزن تر غده مربوط به تیمارهایی است که بیشترین تاثیر را بر جمعیت نهایی نماتد یعنی تاثیر بر تفریخ تخم و مرگ ومیر لاروها داشته اند (جدول ۳). از نظر وزن تر ساقه و برگ ، بین تیمارهای مورد آزمایش اختلاف معنی داری مشاهده نمی‌شود و همه تیمارها در یک گروه آماری قرار دارند.

همانطور که در جدول ۲ مشاهده می‌شود آلودگی خاک مزرعه به نماتد در تیمارهای ۹ (رقم مقاوم پاولینا) ، ۵ (تریکودرمای جداشده از مشهد + کوکوپیت در بستر کشت) و ۷ (پوشش بذر با تریکودرمای مشهد) به میزان چشمگیری کاهش یافته است . میانگین وزن تر غده نیز در تیمارهای مذکور نسبت به سایر تیمارها بالاتر بوده و نسبت به تیمار شاهد اختلاف نشان می‌دهد. مایر و همکاران (۷) قارچ *T.virens* جدایه G1-3 و باکتری *Burkholderia cepacia* جدایه Bc-2 را در رابطه با فعالیت آنتاگونیستی آن‌ها علیه نماتد مولد گره ریشه *M.incognita* مورد بررسی قرار دادند. محیط کشت فیلتر شده حاوی ترکیبات خارج سلولی قارچ و باکتری از تفریخ تخم و حرکت لاروهای سن دوم جلوگیری کرد و تعداد تخم و لارو در گرم ریشه ۴۲ درصد کاهش یافت. با توجه به اینکه محیط کشت فیلتر شده قارچ و باکتری استفاده شده، تصور می‌شود که کاهش جمعیت نماتد در اثر فعالیت آنزیم‌های کیتیناز و پروتئاز نبوده است. در این تحقیق نیز قارچ *T.virens* جدایه VM1 توانسته جمعیت نماتد سیستی چغندرقند را در مزرعه کاهش دهد. مایر و همکاران (۸) باکتری *B. cepacia* جدایه های Bc-2 و Bc-F و قارچ *T.virens* جدایه G1-3 را به تنهایی و به صورت ترکیب علیه نماتد مولد گره ریشه *M. incognita* بر روی فلفل مورد بررسی قرار دادند.

جدول۲ – اثر جدایه های *Trichoderma harzianum* Bi، *T. virens* VM1 و *Bacillus subtilis* S روی جمعیت نماتد سیستی چغندرقنددر شرایط مزرعه

شماره	تیمار	جمعیت نهایی نماتد Pf	شاخص تولید مثل Rf	درصد تکثیر %Mr	درصد کنترل
۱	شاهد	^{a}۱۹۸۷۲	^{a}۳۷/۴۹	^{a}۱۰۰/۰۰	^{f}۰/۰۰
۲	کوکوپیت در بستر	^{b}۱۷۱۲۶	^{b}۳۲/۳۰	^{b} ۸۸/۵۷	^{e}۱۱/۴۲
۳	سوبتیلین+کوکوپیت در بستر	^{c}۱۲۲۸۷	^{c}۲۳/۱۸	^{c}۶۲/۱۰	^{d}۳۶/۹۰
۴	تریکودرمین تجاری+کوکوپیت در بستر	^{c}۱۲۶۱۲	^{c}۲۳/۷۸	^{c} ۶۵/۱۲	^{d}۳۴/۸۷
۵	تریکودرمای مشهد+کوکوپیت در بستر	^{d}۹۸۸۱	^{d}۱۸/۶۳	^{d}۵۰/۸۰	^{c}۴۹/۲۰
۶	پوشش بذر با سوبتیلین	^{cd}۱۱۸۵۶	^{cd}۲۲/۳۷	^{c}۶۱/۳۰	$^{c\,d}$۳۹/۲۰
۷	پوشش بذر با تریکودرمای مشهد	^{d}۹۷۱۲	^{d}۱۸/۳۰	^{d}۴۹/۶۵	^{b}۵۰/۳۵
۸	پوشش بذر با تریکودرمین تجاری	^{c}۱۳۰۳۷	^{c}۲۴/۵۷	^{c}۶۷/۰۷	^{d}۳۲/۹۲
۹	رقم مقاوم (بذر پائولینا)	^{e}۶۴۸۸	^{e}۱۲/۲۲	^{e}۳۲/۹۷	^{a}۶۷/۰۲

Rf نسبت جمعیت نهایی نماتد به جمعیت اولیه است. جمعیت اولیه نماتد ۵۳۰ عدد تخم و لارو در ۱۰۰ گرم خاک بوده است

Mr %= نسبت جمعیت نهایی نماتد در هر تیمار به جمعیت نهایی نماتد در تیمار شاهد× ۱۰۰

در صد کنترل = ۱۰۰ – در صد تکثیر

میانگین های دارای حروف مشابه در ستون بر اساس آزمون دانکن در سطح ۵ ٪ در یک گروه آماری قرار دارند

جدول ۳ – اثر جدایه های *Trichoderma harzianum* Bi، *T. virens* VM1 و *Bacillus subtilis* S روی عملکرد چغندرقند در شرایط مزرعه

شماره	تیمار	وزن تر غده (کیلوگرم)	وزن تر ساقه و برگ (کیلوگرم)
۱	شاهد	۴/ ۵۷b	۲ / ۵۷a
۲	کوکوپیت در بستر	۴/ ۹۲ab	۳/۰۰ a
۳	کوکوپیت در بستر سوبتیلین+	۶/۰۰ a b	۳/۲۰a
۴	کوکوپیت در بستر تریکودرمین تجاری+	۵/ ۵۰a b	۳/ ۳۰a
۵	کوکوپیت در بستر تریکودرمای مشهد+	۶ /۱۰a b	۳/ ۵۰a
۶	پوشش بذر با سوبتیلین	۵/ ۸۰a b	۳/ ۶۷a
۷	پوشش بذر با تریکودرمای مشهد	۶/ ۶۰a b	۳/ ۷۵a
۸	پوشش بذر با تریکودرمین تجاری	۵/۲۰a b	۳/ ۴۵a
۹	رقم مقاوم (بذر پائولینا)	۷/۰۵a	۳/۰۵a

میانگین های دارای حروف مشابه در ستون بر اساس آزمون دانکن در سطح ۵٪ در یک گروه آماری قرار دارند

تعداد تخم و لارو سن دوم در گرم ریشه در تیمارهای Bc-2 ، Bc-F و G1-3 نسبت به تیمار شاهد کمتر بود و بیشترین تأثیر را *T.virens* جدایه تیمارG1-3 داشت. تعداد تخم و لارو سن دوم در تیمارهای ترکیب این آنتاگونیست ها با تیمار شاهد اختلاف معنی داری نشان نداد. تصور می‌شود که ترکیب استرین ها با هم اثر بیوکنترلی آن‌ها را کاهش می‌دهد. در این تحقیق نیز قارچ*T.virens* جدایه VM1 ، تریکودرمین تجاری و سوبتیلین در کاهش جمعیت نماتدسیستی چغندر قند موثر بوده اند و بیشترین تاثیر را *T.virens* جدایه VM1 داشته که تا ۵۰ در صد کاهش آلودگی موثر بوده و باعث افزایش عملکرد نیز شده است. وینده‌هام و همکاران (۱۵) گزارش کردند که گونه *T. harzianum* ، جدایه T-12 و گونه *T. koningii* ، جدایه T-8 در کاهش تولید تخم نماتد مولد گره ریشه *M. arenaria* در خاک تأثیر دارند. رایو و همکاران (۹) گونه های *T. harzianum* و *T. lingnorum* را در کاهش جمعیت *M. incognita* مؤثر می‌دانند.

نتایج بدست آمده از این تحقیق نشان می‌دهد که قارچ *T. virens* جدایه VM1 در شرایط مزرعه نسبت به تریکودرمای تجاری (*T. harzianum* Bi)و سوبتیلین (*B. subtillis S*) در کاهش جمعیت نماتد و افزایش وزن غده تاثیر بیشتری داشته است.

سپاسگزاری

از حوزه معاونت محترم پژوهشی دانشکده کشاورزی دانشگاه فردوسی مشهد به خاطر تامین بودجه و فراهم آوردن امکانات اجرایی این طرح به شماره تصویب نامه ۴۸۴ پ مورخ ۸۸/۱۲/۲ تشکر و قدردانی می‌شود. از مدیریت محترم کارخانه قند شیرین جهت همکاری در انجام این تحقیق، از بخش کشاورزی آن کارخانه بویژه آقای مهندس علی اصغر مخیری به خاطر همکاری در اجرای طرح در مزرعه و از خانم مهندس لعیا غفورنیا جهت همکاری در کارهای آزمایشگاهی تشکر و قدردانی می‌شود. همکاری خانم دکتر ساره بقایی در انجام محاسبات آماری قابل تقدیر و تشکر است.

شکل ۱ - مزرعه آزمایشی در جلگه رخ در شهرستان تربت حیدریه استان خراسان رضوی

شکل ۲ – C_4 – شاهد ، C_2– کوکوپیت در بسترکشت، R – رقم مقاوم (بذر پاولینا)، Sub – سوبتیلین + کوکوپیت،
Co_1– پوشش بذر با سوبتیلین، TR– تریکودرمین + کوکوپیت، Co_3- پوشش بذر با تریکودرمین،
C_3– تریکودرمای مشهد + کوکوپیت ، C_1 - پوشش بذر با تریکودرمای مشهد

منابع

۱- سیاه پوش س.، صاحبانی ن. و امینیان ح. ۱۳۸۹. کاربرد تلفیق باکتری *Bacillus cereus* و سالیسیلیک اسید علیه نماتد گره ریشه *Meloidogyne javanica*روی خیار. خلاصه مقالات نوزدهمین کنگره گیاهپزشکی ایران. صفحه ۶۳۸ .

۲- مختاری س. ، منتظری ر.، صاحبانی ن. و اعتباریان ح. ۱۳۸۷. بررسی کنترل بیولوژیکی و القاء مقاومت سیستمیک فعالیت آنزیم های پلی فنل اکسیداز و کاتالاز در گیاه گوجه فرنگی آلوده به نماتد مولد گره ریشه توسط باکتری آنتاگونیست*Pseudomonas flourescens* . خلاصه مقالات هیجدهمین کنگره گیاهپزشکی ایران. صفحه۲۶۲.

۳- مهدیخانی مقدم ع.، روحانی ح. و فلاحتی رستگار م. ۱۳۸۸. کنترل بیولوژیک نماتد سیستی چغندرقند*Heterodera schachtii* به وسیله قارچ تریکودرما در آزمایشگاه و گلخانه. مجله علوم و فنون کشاورزی و منابع طبیعی، سال سیزدهم، شماره ۴۸ : ۳۰۱ تا ۳۱۳.

4- Dhingra O.D. and Sinclair J. B. 1995. Basic plant pathogenic methods. CRS Press. Inc. 2nd ed. 434p.

5- Fenwick D.W. 1940. Methods for recovery and counting of *H. schachtii* from soil. J. Helminthol., 18:155-177

6- Kokalis-Burelle N. and Samac D.A. 2003. Use of gram – positive bacteria as biologicalcontrol agents for plant parasitic nematodes. J. of Nematol., 35: 347-348 (Abst.).

7- Meyer S.L.F., Massoud S.I., Chitwood D.J. and Roberts D.P. 2000. Evaluation of *Trichoderma virens* and *Burkholderia cepacia* for antagonistic activity against root knot nematode, *Meloidogyne incognita*. Nematology, 2(8): 871-879.

8- Meyer S.L.F., Roberts D.P., Chitwood D.J., Carta L.K., Lumsden R.D. and Mao W. 2001. Application of *Burkholderia cepacia* and *Trichoderma virens* alone and combinations, against *Meloidogyne*

incognita on Bell pepper. Nematropica, 31(1): 75- 86.
9- Rao M.S., Reddey P.P. and Nagesh M. 1998. Evaluation of plant based formulations of *Trichoderma harzianum* for the management of *Meloidogyne incognita* on egg plant. Nematol. Mediterr., 26: 56- 62.
10- Reddey P.P., Rao M.S. and Nagesh M., 1996. Management of citrus nematode, *Tylenchulus semipenetrans*, by integration of *Trichoderma harzianum* with oil cakes. Nematol. Mediterr., 24: 265-267.
11- Saifulah and Thomas B.J. 1996. Studies on the parasitism of *Globodera rostochiensis* by *Trichoderma harzianum* using low temperature scaning electron microscopy . Afro-Asian J. Nematol., 6: 117-122.
12- Sharon E., Bar-Eyal M., Chet I., Herrera-Estrella A., Keleifed O. and Spiegel Y. 2001. Biological control of the root knot nematode *Meloidogyne javanica* by *Trichoderma harzianum*. Phytopathology, 97:687-693.
13- Sikora R.A. 2005. Use of *Trichoderma harzianum* and *T. virens* for the biological control of *Meloidogyne incognita* on tomato. Phytopathology and Nematology in Soil Ecosystem. 7p.
14- Westphal A. and Becker J. O. 2001. Components of soil suppressiveness against *H. schachtii*. Soil Biology and Biochemistry, 33(1): 9-16.
15- Windham G.L., Windham M.T. and Williams W.P. 1989. Effects of *Trichoderma* spp. on maize growth and *Meloidogyne arenaria* reproduction. Plant Disease, 73: 493-494.