مجموعه مقالات
چهارمین همایش ملی کاربرد فناوری هسته‌ای در علوم کشاورزی و منابع طبیعی
(۲۹-۳۰ اردیبهشت، ۱۳۹٤، پژوهشکده کشاورزی هسته ای)
The 4th National Congress on Nuclear Technology Application in Agricultural & Natural Resource Sciences (19-20 May, 2015, Nuclear Agriculture Research School)

استفاده از تکنیک پرتودهی اشعه گاما به منظور افزایش پتانسیل کنترل بیولوژیک بیماری پوسیدگی ریشه

تبسم ناصری پور[۱]، سمیرا شهبازی[۲*]، سعیدنصراله نژاد[۱]،کامران رهنما[۱]،مهدی بهگر[۳]، معصومه حاتم زاده[۱]
۱--گروه گیاهپزشکی، دانشکده تولیدات گیاهی، دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی گرگان
۲-گروه گیاهپزشکی و نگهداری مواد غذیی، پژوهشکده کشاورزی هسته ای، پژوهشگاه علوم و فنون هسته ای، سازمان انرژی اتمی
۳- گروه علوم دام و دامپزشکی، پژوهشکده کشاورزی هسته ای، پژوهشگاه علوم و فنون هسته ای، سازمان انرژی اتمی
نویسنده مسوول: sshagbazi@nrcam.org

چکیده: پوسیدگی ریشه و مرگ گیاهچه ناشی از پیتیوم از بیماری های فراگیر در مزارع و گلخانه ها می باشد. امروزه استفاده از استراتژی های جایگزین از جمله کنترل زیستی از جایگاه ویژه ای در مدیریت بیماریها برخوردار میباشد. به همین منظور در شرایط آزمایشگاهی کشت متقابل بین پنج گونه *Trichoderma. harzianum,T.viridae, T. koningii, T.atroviridae, T. virens* و جهش یافته های آنها در برابر قارچ بیمارگر *Pythium aphanidermatum*، در دمای 28 درجه سانتی گراد در محیط کشت (سیب زمینی-دکستروز-آگار) در سه تکرار انجام شد. بازدارندگی آنتاگونیستی گونه های تریکودرما در تمام آزمایشات کشت متقابل دارای تفاوت معنی داری از نظر آماری بودند. در بین موتانت های گونه های مختلف تریکودرما بیشترین اثر بازدارندگی مربوط به موتانت های *T. vi17، T.k16، T.v10 ، T.a14، T.h11* و *T.h13* بود. این بررسی نشان میدهد که برهمکنش گونه های مختلف تریکودرما و موتانت های آن با قارچ پیتیوم متفاوت میباشد، بنابراین بررسی های اولیه قبل از استفاده تجاری گونه های تریکودرما در برنامه های مدیریت تلفیقی بیماریهای گیاهی ضروری میباشد.

واژگان کلیدی: کنترل بیولوژیک، مایکوپارازیتیسم، *Pythium aphanidermatum*، *Trichodermaspp.*

The use of gamma irradiation techniques to enhance the biological control potential of Trichoderma against root rot disease

Tabasom Naseripour[1], Samira Shahbazi[2*], Saeed Nasrollah Nejad[1], Kamran Rahnama[1], Mehdi Behgar[3]

1. Plant Protection Department, Gorgan University of Agricultural Sciences and Natural Resources, Golestan, Iran.
2. Plant Protection Department, Nuclear Agriculture Research School, Nuclear Science and Technology Research Institute (NSTRI), Atomic Energy Organization of Iran (AEOI), Alborz, Iran.
3. Animal Science Department, Nuclear Agriculture Research School, Nuclear Science and Technology Research Institute (NSTRI), Atomic Energy Organization of Iran (AEOI), Alborz, Iran.
4. sshagbazi@nrcam.org

Abstract: Pythium root rot and damping-off caused by the disease is widespread in the fields and green houses. The use of alternative strategies including biological control of special relevance in disease management. Therefore, in vitro conditions five species of *Trichoderma harzianum, T. viridae, T. koningii, T. atroviridae, T. virens* and their mutatnts against fungal pathogen Pythium aphanidermatum,is done, at 28 ° C in PDA culture medium (potato-dextrose-agar) in triplicate. Inhibition of antagonistic *Trichoderma* species in dual culture differences were statistically significant. Among the various mutant strains of *Trichoderma*, maximum inhibitory effect is refered to T. vi17,, T.k16, T.v10, T.a14, T.h11 and T.h13 mutant isolates.

Keywords: gamma Radiation, mycoparasitism, biological control, *Trichodermaspp.* ، *Pythium aphanidermatum*.

مقدمه

پوسیدگی ریشه و مرگ گیاهچه ناشی از قارچ پی تی اوم مشکل شایع در مزارع و گلخانه ها می باشد. در بین گونه های این جنس، گونه *Pythium aphanidermatum* محدوده میزبانی گسترده ای دارد، که بیماری های ریشه ای به وجود می آورند که کنترل آنها بسیار دشوار است (جارویس و همکاران،۱۹۹۲).این بیمارگر معمولا همراه با دیگر عوامل بیماری زا مانند قارچ *Phytophthora* و *Rhizoctonia* می باشد. جوانه زنی سریع اسپرانژیوم قارچ پی تیوم طی ۱,۵-۲ ساعت پس از قرار گرفتن در معرض ترشحات و یا مواد فرار از دانه یا ریشه اتفاق می افتد (آیداهو و همکاران، ۱۹۸۹). تریکودرما به خاطر توانایی کنترل بیماریهای گیاهی خاکزاد یکی از عوامل مهم کنترل بیولوژیک به شمار می آید (پاپاویزاس ۱۹۸۵).این قارچ خاکزاد است و فعالیت های قابل توجهی را در برابر طیف گسترده ای از پاتوژن های گیاهی نشان می دهد(الاد و همکاران، ۱۹۸۲). این پژوهش به منظور بررسی میزان توانایی آنتاگونیستی گونه های تریکودرما و موتانت های این قارچ با تاکید خاص بر کنترل بیولوژیکی

P. aphanidermatum انجام شده است.

مواد و روشها

تهیه مایه تلقیح آنتاگونیست و بیمارگر

در این پژوهش از پنج گونه آنتاگونیست تریکودرما *Trichoderma viride, T. harzianum* (پژوهشکده کشاورزی هسته ای، سازمان انرژی اتمی)، *T.virens* (60-11) ، *T. atroviridae* (60-22) (گروه گیاهپزشکی، دانشکده تولیدات گیاهی، دانشگاه گرگان) و *T.koningii* (گروه گیاهپزشکی، دانشگاه ساری) همراه با ۱۰۱ جدایه موتانت شده، استفاده گردید. جدایه بیمارگر *Pythium aphanidermatum*(KC2) از دانشکده کشاورزی شیراز بخش گیاهپزشکی تهیه شده است.

بررسی تاثیر جدایه های آنتاگونیستی و موتانت های آنها روی پاتوژن *Pythium aphanidermatum*

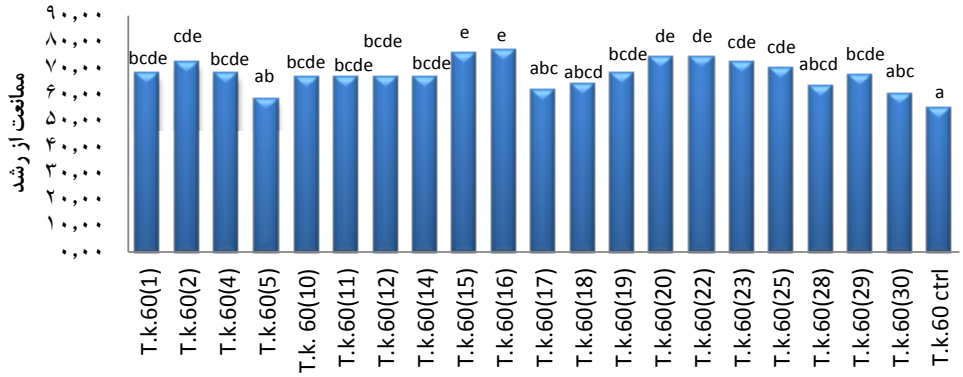
آزمون اندازه گیری فعالیت آنتاگونیستی جدایه های قارچ تریکودرما (وحشی و موتانت) بر علیه قارچ پاتوژن *P. aphanidermatum* با استفاده از آزمون کشت متقابل انجام گردید. پلاک های میسلیوم (به عرض و طول mm ۵) از کشت های تازه هر یک از جدایه های آنتاگونیست قارچ تریکودرما (شامل *T. viride*، *T. harzainum*، *T. atroviridae*، *T. koningii* و *T. virens*) و قارچ پاتوژن به فاصله mm ۱۰ از لبه ظرف پتری حاوی محیط کشت PDA در مقابل یکدیگر قرار داده شد و در دمای ۲۸ °C پس از ۷۲ ساعت بررسی گردید. درصد ممانعت از رشد قارچ پاتوژن بر اساس فرمول $IG\ \%= (1-C_n/C_0)\times 100$ محاسبه گردید.

که در این فرمول C_n میانگین قطر کلنی های پاتوژن در حضور آنتاگونیست و C_o میانگین قطر کلنی های قارچ کنترل پاتوژن می باشد. آنالیز داده ها با استفاده از نرم افزار(SPSS(Version 17.0صورت پذیرفت رسم نمودارها با استفاده از نرم افزار Exel و برای مقایسه میانگین ها از آزمون Duncan با سطح آماری ۵٪ استفاده گردید.

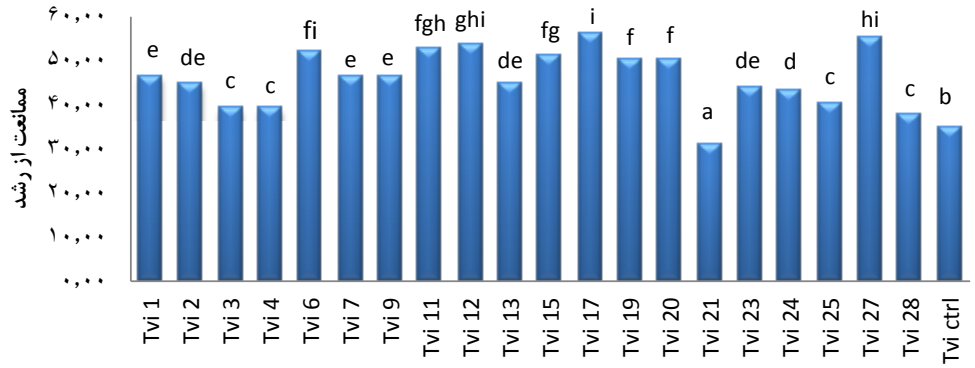
نتایج

در مقایسه بین گونه های وحشی تریکودرما، بیشترین قدرت بازدارندگی مربوط به گونه *T.atroviridae* و کمترین مربوط به گونه *T.viride* بود.اما با کاربرد اشعه گاما بیشترین افزایش قدرت آنتاگونیستی در گونه *T.viride* و کمترین تاثیر ناشی از پرتودهی مربوط به گونه *T.atroviridae* میباشد. نتایج نشان داد که میزان بازدارندگی تمامی موتانت های گونه *T. koningii* دارای اختلاف معنی داری در سطح ۵٪ با تیمار کنترل (تیپ وحشی) هستند. در این میان بیشترین اثر بازدارندگی مربوط به موتانت *T.k16* و کمترین اثر بازدارندگی مربوط به *T.k 5* بود(نمودار ۱). در میان موتانت های *T. virens* بیشترین اثر بازدارندگی مربوط به *T.vi17* و کمترین اثر بازدارندگی مربوط به *T.vi21* بود که این میزان به مراتب کمتر از تیمار کنترل بود(نمودار۲). قدرت بازدارندگی تمامی موتانت های گونه *T. viride* دارای قدرت بازدارندگی بیشتری نسبت به تیمار شاهد بودندو اختلاف معنی داری از نظر آماری در سطح احتمال ۵٪ با آن داشتند. *T.v 10* دارای بیشترین اثر بازدارندگی نسبت به سایر موتانت ها بود(نمودار۳). در مورد موتانت های گونه *T. atroviridae* بیشترین اثر بازدارندگی مربوط به موتانت *T.at14* بود و بیشتر موتانت ها در این گونه دارای اختلاف کمی از نظر آماری با تیمار شاهد بودند و در یک گروه با شاهد قرار گرفتند(نمودار۴). در بین جدایه های آنتاگونیست گونه *T. harzianum* بیشترین اثر بازدارندگی، مربوط به جدایه های *T.h11* و *T.h13* بود و کمترین اثر بازدارندگی مربوط به جدایه *T. h3* بود که کمتر از تیمار شاهد بود(نمودار۵).

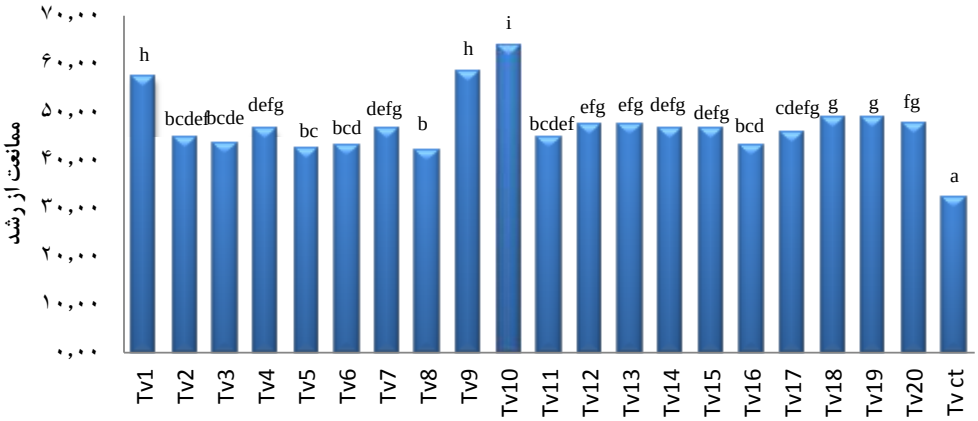
نمودار ۱- میزان قدرت بازدارندگی جدایه های وحشی و موتانت *T. Koningii* در برابر پی تیوم



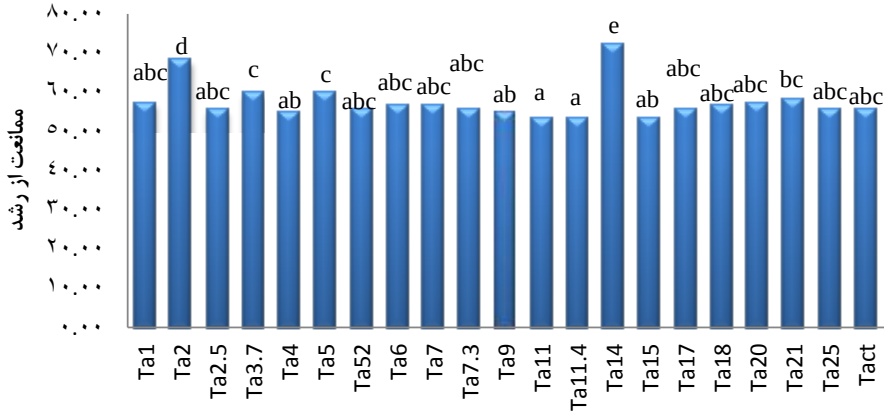
نمودار ۲ - میزان قدرت بازدارندگی گونه *T. virens* و موتانت های آن در برابر بیمارگر



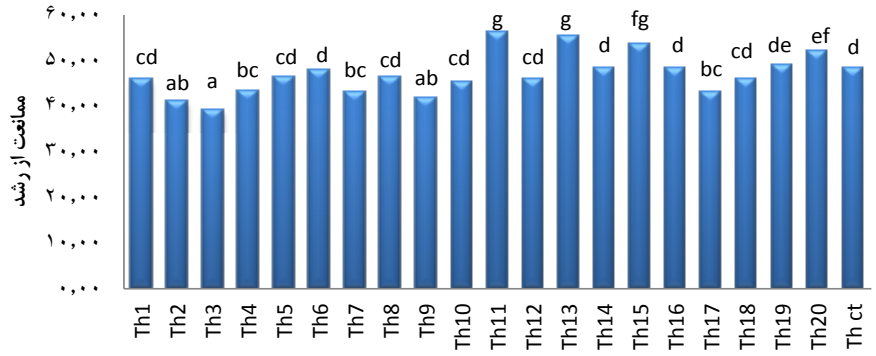
نمودار۳- میزان قدرت بازدارندگی جدایه های وحشی و موتانت *T. viride* درمقابل بیمارگر



نمودار۴-میزان قدرت بازدارندگی جدایه های وحشی و موتانت*T.atroviridae*در برابر بیمارگر



نمودار ۵- میزان قدرت بازدارندگی جدایه های وحشی و موتانت ***T. harzianum*** در برابر بیمارگر



بحث

قارچ *P. aphanidermatum* یکی از عوامل اصلی گیاهچه میری و پوسیدگی ریشه به شمار می آید و با توجه به ماهیت خاکزاد بودن این بیماری و چالش های استفاده از مواد شیمیایی و درصد تاثیر کم این روش بر پاتوژن های خاکزاد، کاربرد سموم وسیع الطیف علیه این بیماری توصیه نمی شود. بنابراین یکی از راههای کنترل اقتصادی این بیماری استفاده از ارقام مقاوم و کنترل بیولوژیکی می باشد. با توجه به محدودیت های دسترسی به ارقام مقاوم در برابر این دسته از بیماری ها، کنترل بیولوژیکی برای عوامل پوسیدگی ریشه خاکزاد بهترین جایگزین می باشد.آرورا و همکاران در سال (۲۰۰۱) گزارش دادند که کلونیزاسیون ریشه توسط قارچ تریکودرما غالبا باعث افزایش رشد و توسعه ریشه می شود.گونه وحشی *harzianum*

T. و جهش یافته های این گونه، هر دو باعث افزایش توسعه ریشه در ذرت و چندگیاهان زراعی دیگر هم تحت شرایط گلخانه ای و هم در شرایط مزرعه ای گردیده اند (هارمن، ۲۰۰۵). مطالعه حاضر نشان داد که جهش گاما با تغییر در ژنوم توانسته است، فعالیت آنتاگونیستی در برابر *P. aphanidermatum* در شرایط آزمایشگاهی را افزایش دهد. القای جهش های اشعه گاما باعث افزایش قابلیت گونه های تریکودرما در تولید آنزیم مانند آنزیم کیتیناز و آنتی بیوتیک ها و قدرت کلونیزاسیون ریشه گردید و عامل بیوکنترلی برتر برای پژمردگی فوزاریومی گوجه فرنگی بود (محمد و همکاران، ۲۰۰۶). نتایج یافته حاضر نیز نتایج آزمایشات قبلی را تائید می کند. بطوریکه در هر پنج کونه تریکودرمای مورد مطاله، القای جهش با پرتو گاما به افزایش قدرت آنتاگونیستی تریکودرما در برابر *P. aphanidermatum* منجر شد.می توان نتیجه گرفت کاربرد پرتو گاما به عنوان یک استراتژی موثر برای افزایش توانایی عامل بیوکنترل(تریکودرما) در برابر پاتوژن های خاکزاد گیاهی (پوسیدگی ریشه و مرگ گیاهچه) قابل توصیه است.

سپاسگزاری

این مقاله از اعتبارات پروژه "تولید مواد بیولوژیک به منظور کنترل عوامل بیماری زای گیاهی خاکزاد- A88A099" انجام شده و نویسندگان از همکاران گروه گیاهپزشکی و نگهداری مواد غذایی- پژوهشکده کشاورزی هسته ای و آقای مهندس عسکری که که در انجام این مطالعه ما را یاری داده اند، تشکر و قدردانی می نمایند.

منابع:

1. Ahari Mostafavi H., Safaie, N., Fathollahi, H.,Babaie, M. H. R. Dorri, and Lak, M. R.(2010).

Pathological and molecular identification of *Fusarium Solani F.Sp. Phaseoli* isolates and *Fusarium Solani F.Sp. Phaseoli* isolates and determination of suitable gamma ray dose rate for mutation induction. *J of Nuclear Sci. and Tech*, 51: 48-51.

2. Arora, N., S. Kang, and Maheshwari, D. K. (2001). Isolation of siderophore-producing strains of *Rhizobium meliloti* and their biocontrol potential against *Macrophomina phaseolina* that causes charcoal of groundnut. *Current Science*, 81: 673-677. challenge with Fusarium oxysporum f. sp. radicis-lycopersici. Phytopathology 87:108–122.

3. Elad, Y., Chet, I. and Henis, Y. (1982). Degradation of plant pathogenic fungi by Trichoderma harzianum. Canadian J. Microbiol, 28: 719-725.312.

4. Harman, G.E.(2005). Myths and dogmas of biocontrol changes in perceptions derived from research on Trichoderma harzianum T-22. Plant Dis. 84 : 377-393.

5. Jarvis, W. R. (1992). Managing diseases in green house crops. Saint Paul, Minnesota: APS Press. 122-7.

6. Mohamed, H. A. L. A and Haggag W. M. (2006). Biocontrol potential of salinity tolerant mutants of *Trichoderma harzianum* against *Fusarium oxysporum*. *Braz. J. of Microbiol*, 37 (2): 46-57.

7. Papavizas, G.C. (1985). Trichoderma and Gliocladium: Biology, ecology, and potential for biocontrol. Ann. Rev. Phytppath. 23 : 23-54.