کنترل بیماری پوسیدگی رایزوکتونیایی ریشه فلفل دلمه‌ای در گلخانه با استفاده از قارچکش‌های شیمیایی و زیستی

Control of Rhizoctonia root rot of bell pepper in greenhouse using chemicals and biological fungicides

مریم شیرمحمدی[۱]، عزت اله صداقت‌فر[۲*]، رضا حجازی[۲] و هادی رهاننده[۳]

دریافت: ۱۴۰۱/۰۳/۱۸ پذیرش: ۱۴۰۱/۰۶/۰۱

چکیده

فلفل دلمه‌ای با نام علمی *Capsicum annuum* L. از خانواده Solanaceae است. در بین بیماری‌های فلفل، پوسیدگی ریشه ناشی از قارچ *Rhizoctonia solani* اهمیت اقتصادی زیادی دارد. روش رایج کنترل این بیماری، استفاده از قارچکش‌های شیمیایی است. در این مطالعه، به منظور کنترل بیماری پوسیدگی رایزوکتونیایی ریشه فلفل دلمه‌ای، تعدادی از عوامل زیستی تجاری بر پایه قارچ *Trichoderma harzianum*، قارچ مایکوریز *Glomus* sp.، باکتری‌های *Bacillus* و *Pseudomonas* و سه قارچکش شیمیایی تبوکونازول، اکسی‌کلرورمس و مانکوزب در شرایط گلخانه‌ای بررسی گردید. مقایسه تیمارها بر مبنای میزان کنترل بیماری شامل صفات طول بافت نکروزه، بزرگترین زخم و شاخص بیماری و بر مبنای تحریک رشد گیاه شامل صفات وزن تر بوته، ارتفاع بوته، وزن خشک ریشه و وزن خشک اندام هوایی ارزیابی شدند. نتایج تجزیه واریانس نشان داد تیمارها در تمامی صفات مورد بررسی در سطح ۱٪ اختلاف معنی‌داری داشتند. تیمارهای شاهد منفی (فاقد بیمارگر) و قارچکش تبوکونازول از نظر صفات مورد بررسی بیشترین و تیمارهای پتابارور و مایکوروت و شاهد مثبت (دارای بیمارگر) کمترین تأثیر را داشتند. در میان تیمارهای زیستی بر اساس کمترین شاخص بیماری و کمترین طول زخم، به ترتیب ترکیب عوامل زیستی، پارس‌باسیل، پروبیو ۹۶، آلکاگرین، تریکوران‌پی و تریکو قرار گرفتند. در بررسی صفات زراعی تیمارهای زیستی، ترکیب عوامل زیستی، پارس‌باسیل و پروبیو ۹۶ بالاترین نتایج را داشتند. در مدیریت این بیماری به غیر از روش کنترل شیمیایی (تبوکونازول)، با سطح آماری نسبتاً مشابه، ترکیب پارس‌باسیل (SC) حاوی باکتری *Bacillus velezensis* strain M11-RTS و پروبیو ۹۶ حاوی باکتری *Bacillus subtilis* قرار گرفتند ($P\leq 0.01$).

واژگان کلیدی: فلفل، پوسیدگی ریشه، *Rhizoctonia solani*، *Bacillus*، کنترل زیستی، کنترل شیمیایی

مقدمه

فلفل دلمه‌ای (bell pepper) با نام علمی *Capsicum annuum* L. از خانواده Solanacea است (دانشور، ۱۳۸۷). منشأ گیاه فلفل سبز مناطق استوائی در مرکز و جنوب قاره امریکا (مکزیک و پرو) است (Boswell, 1949). میوه فلفل دلمه‌ای حاوی مقادیر بالایی از آنتی‌اکسیدانت‌ها و مواد ضروری از قبیل ویتامین‌ث، کارتنوئیدها و ترکیبات فنولیک می‌باشد. فلفل دلمه‌ای از نظر سطح زیر کشت جهانی، جایگاه سوم را در بین خانواده Solanacea دارد و یکی از محبوب‌ترین و پربازده‌ترین سبزیجاتی است که به‌منظور میوه‌های تازه در سراسر جهان کشت می‌گردد و در طول سال به طرق مختلف برای مصارف خانگی و صنعتی مورد استفاده قرار می‌گیرد (Obidiebube *et al.*, 2012). طبق آمارنامه کشاورزی سال ۱۳۹۸ سطح زیر کشت فلفل دلمه‌ای در ایران معادل ۶/۹۸۵ هکتار با تولید ۱۳۲۹۶۹ تن و عملکردی معادل ۱۳۴/۹ تن در هکتار بوده است (عبادزاده و همکاران، ۱۳۹۹).

۱ و ۲- به ترتیب دانشجوی سابق کارشناسی ارشد و استادیار، گروه بیماری‌شناسی گیاهی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه آزاد اسلامی، واحد اراک، اراک، ایران

۳- استادیار، گروه گیاه‌پزشکی دانشکده کشاورزی، دانشگاه آزاد اسلامی، واحد رشت، رشت، ایران

نویسنده مسئول مکاتبات: esedaghatfar@gmail.com

فلفل دلمه‌ای در مراحل مختلف رشد، تحت تأثیر بیماری‌های مختلف قارچی، باکتریایی و ویروسی قرار می‌گیرد (Gupta and Thind, 2006؛ Bose *et al*., 2002). پوسیدگی ریشه رایزکتونیایی توسط قارچ *Rhizoctonia solani* Kühn (Teleomorph: *Thanatephorus cucumeris* (Frank) (Donk)) متعلق به بازیدومیست‌ها (Basidiomycetes)، موجب بیماری مرگ گیاهچه در جوانه‌ها و پوسیدگی ریشه و ساقه در نشاءهای جوان و گیاهان بالغ می‌گردد. این قارچ مهم‌ترین عامل بیماری‌زای خاکزاد در گیاه فلفل است (Malhotra *et al*., 2011). وجود لکه‌های فرو رفته قهوه‌ای مایل به قرمز روی ساقه و ریشه اصلی، زردی و پژمردگی، رشد ناقص و مرگ گیاهچه قبل و بعد از ظهور از خاک و خشکیدگی کامل گیاه در مزرعه یا گلخانه از مهم‌ترین علایم این بیماری است (Varma *et al*., 2019؛ Mannai *et al*., 2018). قارچ *R. solani* دارای گستره میزبانی وسیعی است و موجب بیماری‌های مختلف در گیاهان زراعی مهم از خانواده‌های Asteraceae، Brassicaceae، Fabaceae، Poaceae و Solanaceae می‌شود (Mikhail *et al*., 2010). قارچ *R. solani* فاقد اسپور، دارای سختینه (اسکلروت) و هیف‌های با انشعابات ۹۰ درجه است، که در محل انشعاب هیف باریک شده و در نزدیکی آن دارای دیواره عرضی (Septum) می‌باشد. هنگامی که قارچ *R. solani* در خاک گسترش پیدا کند، ریشه‌کنی آن عملاً غیرممکن است. روش متداول برای کنترل این بیماری، استفاده از قارچ‌کش‌های شیمیایی است که برای سلامتی انسان و سایر جانداران و محیط زیست زیان‌آور است و موجب ایجاد مقاومت در عوامل بیماری‌زا و آلودگی خاک در اثر باقیمانده قارچ‌کش‌های کشاورزی می‌شود. از روش‌های دیگر مدیریت بیماری پوسیدگی رایزوکتونیایی ریشه گیاهان استفاده از ارقام مقاوم می‌باشد (Hejazi *et al*., 2022؛ Muhyi and Bosland, 1995). استفاده از عوامل کنترل زیستی (Biological Control Agents) موجب کاهش آلودگی محیط زیست، عدم بروز مقاومت در عوامل بیماری‌زا و توسعه کشاورزی پایدار می‌گردد. عوامل کنترل زیستی منجر به کمترین تأثیر مضر بر موجودات زنده و محیط زیست می‌گردند. بیش از صد سال است که امکان کنترل زیستی بیمارگرهای خاکزی توسط میکروارگانیزم‌ها مورد بررسی قرار دارد (Baker, 1987). اینگونه مطالعات از سال ۱۹۶۵ به بعد رو به افزایش گذاشت. مهمترین عوامل زیستی (BCA) برای تولید محصولات تجاری به منظور کنترل بیماری‌های گیاهی متعلق به سویه‌هایی از باکتری‌های *Agrobacterium* sp.، *Pseudomonas* sp.، *Streptomyces* sp. و *Bacillus* sp. و قارچ‌های *Gliocladium* sp.، *Trichoderma* sp.، *Candida* sp.، *Ampelomyces* sp. و *Coniothyrium* sp. می‌باشند.

در آزمایشی، Madbouly and Abdelbacki (2017) اثر چندین جدایه از باکتری‌های *B. subtilis* و *Pseudomonas fluorescens* و قارچ‌های *Trichoderma harzianum* و *T. viride* را در بازدارندگی از قارچ‌های *R. solani*، *Fusarium solani* و *Macrophomina phaseolina* در فلفل دلمه‌ای بررسی کردند و نشان دادند که این عوامل زیستی در شرایط گلخانه‌ای در مقایسه با تیمارهای شاهد توانستند موجب کاهش معنی‌دار بیماری شوند. هنیس با استفاده از ۲۷ استرین از گونه *B. subtilis* امکان جلوگیری از رشد میسلیوم و ایجاد اسکلروت قارچ *R. solani* را مطالعه نمود و نشان داد که هشت جدایه دارای توانایی بازدارندگی بودند. جدایه‌های *B. subtilis* در شرایط درون شیشه‌ای توانستند مانع از رشد قارچ *R. solani* عامل پوسیدگی ریشه فلفل دلمه‌ای شوند (Henis (1986) به نقل از Rajkumar *et al*., 2018). رشد قارچ *R. solani* عامل مرگ گیاهچه فلفل دلمه‌ای در اثر تیمار با قارچ‌های *Trichoderma harzianum*، *T. viride*، *Gliocladium virens* و باکتری‌های *Bacillus pumilus* و *B. putida* کاهش یافت (Mannai *et al*., 2018). در مطالعه دیگری، خواص آنتاگونیستی گونه‌های *Trichoderma* sp. در برابر *R. solani* و سایر بیماری‌های گیاهی به اثبات رسید (Howell, 2003).

درمطالعات گلخانه‌ای مشخص گردید که پنج جدایه از گونه‌های مختلف تریکودرما و اثر ترکیبی آنها در کنترل بیماری پوسیدگی رایزوکتونیایی ریشه فلفل دلمه‌ای مؤثر بودند. بیشترین تأثیر در کاهش بیماری با استفاده از ترکیب جدایه‌ها به‌دست آمد (Ali, 2021). به منظور کنترل بیولوژیک بیماری‌های خاکزاد فلفل ناشی از قارچ‌های *R. solani*، *Fusarium solani* و *Macrophomina phaseolina* هشت جدایه از باکتری‌های *Bacillus subtilis* و *Pseudomonas fluorescens* و چندین جدایه از *Trichoderma harzianum* و *T. viride* که از ریزوسفر فلفل دلمه‌ای

جدا شده بودند، مورد ارزیابی قرار گرفتند. در شرایط آزمایشگاهی میزان بازدارندگی از رشد قارچ‌های عامل بیماری توسط باکتری‌ها (۷۹-۷۱٪) و توسط قارچ‌های بیوکنترل (۸۷-۸۰٪) بود (Madbouly *et al*., 2017). طی یکصد سال گذشته تاکنون شواهد بسیار زیادی از اثر آنتاگونیستی جدایه‌ها و گونه‌های مختلف قارچ تریکودرما در بازدارندگی از رشد قارچ *R. solani* و کنترل بیماری پوسیدگی رایزوکتونیایی ریشه در گیاهان مختلف گزارش شده است (Oktarina *et al*., 2022؛ Habib *et al*., 2007). در بررسی قارچ‌های محرک رشد گیاهان، Plants Growth-Promoting Fungi (PGPF)، در فلفل دلمه‌ای مشاهده شد که قارچ *Trichoderma longibrachiatum* به‌طور معنی‌داری موجب کاهش وقوع و شدت بیماری پوسیدگی ریشه ناشی از *R. solani* و *F. oxysporum* f. sp. *capsici* می‌گردد (El-Kazzaz *et al*., 2022). همچنین تیمار غوطه‌وری ریشه‌ها در محلول باکتری *P. fluorescens* به همراه ۱۰ کیلوگرم در هکتار قارچ *T. harzianum* به‌صورت خاک کاربرد در سطح بعدی کنترل بیماری مذکور قرار گرفت (Varma *et al*., 2020).

قارچ‌های مایکوریز با اثراتی مانند افزایش جذب آب و تأثیر بر هدایت هیدرولیکی ریشه، ایجاد پایداری در دانه‌های خاک، تولید هورمون‌های محرک رشد گیاهی، فعالیت در تثبیت زیستی نیتروژن، ایجاد مقاومت به خشکی در گیاهان همزیست، تغذیه کاتیونی و آنیونی، افزایش جذب فسفر، افزایش عملکرد به دلیل افزایش سطح جذب ریشه‌ها و در نهایت ایجاد مقاومت در برابر عوامل بیماری‌زا در گیاهان همزیست موجب رشد بهتر گیاهان می‌شوند (Varma *et al*., 2017). هدف این مطالعه، ارزیابی پتانسیل ضدقارچی جدایه‌های *Trichoderma*، مایکوریزای *Glomus* و جدایه‌های باکتری‌های متعلق به گونه‌های *Pseudomonas spp*. و *Bacillus spp*. در بازدارندگی از رشد میسلیومی قارچ *R. solani* و مقایسه تأثیر آنها با قارچ‌کش‌های شیمیایی در توانایی بازدارندگی از بیماری پوسیدگی ریشه و طوقه رایزکتونیایی و افزایش رشد گیاهان فلفل دلمه‌ای آلوده بود.

مواد و روش‌ها

این پژوهش با استفاده از امکانات موجود در آزمایشگاه بیماری‌شناسی گیاهی دانشگاه آزاد اسلامی واحد اراک و در گلخانه‌ای در شهرک گلخانه‌ای امان‌آباد در نزدیکی شهر اراک انجام شد.

جداسازی و نگهداری عامل بیماری: با استفاده از محیط کشت آب آگار (Water Agar) قارچ عامل بیماری از ریشه و طوقه فلفل دلمه‌ای جدا و از طریق کشت نوک هیف خالص‌سازی شد. سپس جهت نگهداری کوتاه مدت درون ظروف پتری و نگهداری بلندمدت درون لوله آزمایش از محیط کشت سیب‌زمینی دکستروز آگار (Potato Dextrose Agar) استفاده شد. تمامی مراحل در شرایط سترون زیر هود لامینار انجام گرفت.

تهیه نشاءهای فلفل دلمه‌ای: نشاءهای شش هفته‌ای فلفل دلمه‌ای قرمز رقم ماسیلیا (Massilia) از مجتمع گلخانه‌ای امان‌آباد اطراف شهر اراک تهیه شد.

تهیه زادمایه (ایناکولوم) بیمارگر و مایه‌زنی: به منظور تهیه زادمایه بیمارگر، از خاک ناحیه شدیداً آلوده گلخانه استفاده شد. تمامی بوته‌های این ناحیه دچار پژمردگی شدید و تعداد زیادی کاملاً از بین رفته بودند و قارچ *R. solani* از ریشه و خاک این ناحیه از گلخانه جداسازی و شناسایی شده بود. برای این کار ابتدا خاک زیر بوته‌های پژمرده به عمق حداکثر تا ۲۰ سانتی‌متر برداشته شد. این خاک پس از مخلوط کردن به‌صورت همگن به گلدان‌هایی به قطر ۳۰ سانتی‌متر منتقل و سپس گیاهچه‌های سه هفته‌ای فلفل دلمه‌ای از داخل سینی‌های نشاء پس از انجام تیمار مربوطه در گلدان‌ها کاشته شدند. در تیمار شاهد، گیاهچه‌ها به همین روش درون گلدان‌های حاوی خاک غیر آلوده کاشته شدند و آبیاری گلدان‌ها به‌صورت معمول هر چهار روز یکبار انجام شد. وضعیت بیماری و رشد بوته‌ها به‌طور هفتگی مورد ارزیابی قرار گرفت.

جدول ۱- قارچ‌کش‌های زیستی و شیمیایی مورد استفاده در کنترل بیماری پوسیدگی ریشه ریزوکتونیایی فلفل دلمه‌ای

Table 1. Biological and chemical fungicides agents used in the control of Rhizoctonia root rot disease of sweet pepper

عامل کشنده فعال Active ingredient	نام تجاری Trade name	ماهیت Nature	شرکت سازنده Mnufacturer
مخلوط قارچ‌های مایکوریزا گونه‌های *Glomus* sp. Mixture of myccorhiza fungi, *Glomus* sp.	مایکوروت Mycoroot		زیست فناوران پیشتاز واریان ZPV Co.
Trichoderma harzianum	تریکوران‌پی Trichoran P	قارچ Fungi	فن‌آوری زیستی طبیعت‌گرا Biorum
Trichoderma harzianum	تریکو Tricho		زیست فناور سبز قم GreenBioTech Co.
Trichoderma harzianum	آلکاگرین Alkagreen		آلکان تهران Alkan Co.
Bacillus subtilis	پروبیو ۹۶ Probio 96		فن آوری زیستی طبیعت‌گرا Biorun
Bacillus velezensis strain M11-RTS	پارس‌باسیل SC Pars Bacill SC	باکتری Bacteria	رویان تیسان سبز کرج Royan Tisan Co.
Pseudomonas vancouverensis ،*P. koreensis*	پتابارور-۲ Potabarvar-2		زیست فناور سبز قم GreenBioTech Co.
Tebuconazole (DS 2%) تبوکونازول (DS 2%)			
Mancozeb (WP 80%) مانکوزب (WP 80%)		شیمیایی Chamical	آریا شیمی AriaShimi Co.
$3Cu(OH)_2$, $CuCl_2$ (WP 35%) اکسی‌کلرورمس (WP 35%)			

کاربرد قارچ‌کش‌های شیمیایی و عوامل زیستی

در این تحقیق به منظور کنترل بیماری پوسیدگی ریشه رایزکتونیایی فلفل دلمه‌ای در اثر قارچ *R. solani*، تعدادی از عوامل کنترل زیستی و شیمیایی تجاری استفاده شد (جدول ۱). به منظور به‌کارگیری عوامل مذکور، مقدار ۱۰ لیتر آب درون سطل‌های جداگانه ریخته شد و با دُز توصیه شده شرکت سازنده، محلول‌های باکتریایی ($۱۰^۹$ CFU/ml ×۱)، قارچی ($۱۰^۹$ CFU/ml ×۱) و قارچ‌کش‌های شیمیایی (۲ در هزار) به‌صورت جداگانه تهیه شد و ریشه نشاءهای فلفل دلمه‌ای پس از ظهور، از چاهک‌های سینی نشاء به‌مدت ۱۰ دقیقه در محلول‌های مذکور غوطه‌ور شدند تا باکتری‌ها و قارچ‌ها در سطح ریشه‌ها مستقر شوند و در تیمارهای شیمیایی، به‌صورت پیشگیری ریشه‌ها محافظت شوند. پس از کاشت نشاءها، خاک سطح گلدان‌ها با مابقی محلول باقیمانده سطل‌های هر تیمار به نسبت مساوی بین تکرارها آبیاری شد تا خاک اطراف ریشه‌ها و قارچ *R. solani* موجود در آن در معرض مستقیم عوامل زیستی و قارچ‌کش شیمیایی قرار گیرد. از آنجا که مقدار ناچیزی از محلول عوامل زیستی و شیمیایی در مرحله غوطه‌وری ریشه‌ها کاسته می‌شد، مقدار باقیمانده محلول تیمارها تقریباً یکسان بود که خاک آلوده در معرض آن قرار می‌گرفت. یک تیمار هم به نسبت مساوی از مخلوط پارس‌باسیل، پروبیو ۹۶، تریکوران‌پی، تریکو، آلکاگرین و مایکوروت به‌عنوان تیمار ترکیبی تهیه شد. برای شاهد مثبت سه گلدان حاوی خاک آلوده و فاقد قارچ‌کش شیمیایی و زیستی و برای شاهد منفی سه گلدان حاوی خاک غیرآلوده (به‌دست آمده از نسبت یک به یک ماسه و گیاخاک استریل) و فاقد قارچ‌کش شیمیایی و زیستی به‌کار برده شد. در هر گلدان یک نشاء فلفل دلمه‌ای کاشته و برای هر تیمار سه تکرار در نظر گرفته شد.

ارزیابی شدت بیماری (Disease Severity) و طول بافت نکروزه

چهار هفته بعد از کاشت نشاءهای فلفل دلمه‌ای شدت بیماری همزمان با مشاهده مرگ بوته‌های شاهد مثبت با اندکی اصلاح بر اساس روش Aoyagi *et al*. (1998) با استفاده از مقیاس عددی ۵-۰ به‌صورت زیر تعیین شد:

۰= ریشه و طوقه سالم

۱= لکه‌های کوچک قهوه‌ای روی ۱٪ تا ۲۰٪ ریشه‌ها

۲= زخم‌ها و لکه‌های قهوه‌ای روی ۲۱٪ تا ۴۰٪ از ریشه‌ها

۳= زخم‌ها و لکه‌های قهوه‌ای روی ۴۱٪ تا ۶۰٪ ریشه‌ها

۴= زخم‌ها و لکه‌های قهوه‌ای روی ۶۱٪ تا ۸۰٪ ریشه‌ها

۵= پژمردگی عمومی و مرگ کامل بوته‌ها

همچنین طول بافت نکروزه در ناحیه طوقه در اثر قارچ *R. solani* بر اساس طول بزرگترین زخم مشاهده شده در ناحیه ریشه‌ها تا طوقه در نمونه‌های شاهد و تیمار بر حسب سانتی‌متر (cm) اندازه‌گیری شد.

ارزیابی صفات زراعی

صفات زراعی گیاه از جمله وزن تر و خشک بوته، ارتفاع بوته (از نوک ریشه تا انتهای ساقه)، در نمونه‌های شاهد و تیمارها اندازه‌گیری شد. به منظور محاسبه وزن از ترازوی حساس با دقت ۰/۰۱ گرم استفاده شد. برای اندازه‌گیری وزن خشک، نمونه‌ها به مدت ۴۸ ساعت در آون در دمای $^{\circ}C$ ۷۰ گذاشته شدند. ارزیابی طول و وزن به ترتیب بر حسب سانتی‌متر (cm) و گرم (gr) محاسبه شد.

آزمایشات گلخانه‌ای در قالب طرح کاملاً تصادفی در سه تکرار، هر کدام در جداول جداگانه در Excel ثبت گردید. تجزیه واریانس داده‌ها با استفاده از نرم‌افزار SAS v. 9.2 انجام شد و برای مقایسات میانگین از آزمون چند دامنه‌ای دانکن (DMRT) استفاده شد.

نتایج

با توجه به علایم روی ریشه‌های میزبان و اندازه‌ها و ویژگی‌های ریسه‌ها و انشعابات آنها، دیواره عرضی و فقدان اسپور در کشت کهنه، قارچ عامل بیماری *R. solani* شناسایی شد. به منظور مقایسه تیمارهای مختلف، پس از انجام آنالیز واریانس و معنی‌دار بودن اختلاف تیمارها در سطح احتمال یک درصد (جدول ۲)، مقایسات میانگین تیمارها برای صفات مورد بررسی انجام گردید (شکل ۱). با توجه به جدول تجزیه واریانس، اثر تیمار قارچ‌کش‌های شیمیایی و عوامل زیستی بر تمامی صفات مورد بررسی شامل طول بافت نکروزه شده در ناحیه طوقه، شاخص بیماری (۵-۰)، وزن تر، ارتفاع بوته (از نوک ریشه تا انتهای ساقه)، وزن خشک ریشه، و وزن خشک اندام هوایی در سطح احتمال یک درصد معنی‌دار بود (جدول ۲).

جدول ۲- تجزیه واریانس (میانگین مربعات) صفات اندازه‌گیری شده

Table 2. Variance analysis (mean square) of the traits

منابع تغییرات SOV		درجه آزادی df	طول بافت نکروزه Necrotic tissue length	شاخص شدت بیماری Disease Severity Index	وزن تر بوته Wet wight of plant	ارتفاع Height	وزن خشک ریشه Dry weight of root	وزن خشک اندام هوایی Dry weight of aerial parts
تیمار	Treatment	12	21.35**	8.51**	9.36**	101.15**	0.021**	0.886**
خطا	Error	26	0.257	0.282	0.254	1.29	0.0001	0.006
ضریب تغییرات	COV	-	11.66	20.5	10.42	4.74	6.17	5.79

** اختلاف تیمارها در سطح احتمال یک درصد معنی‌دار است.

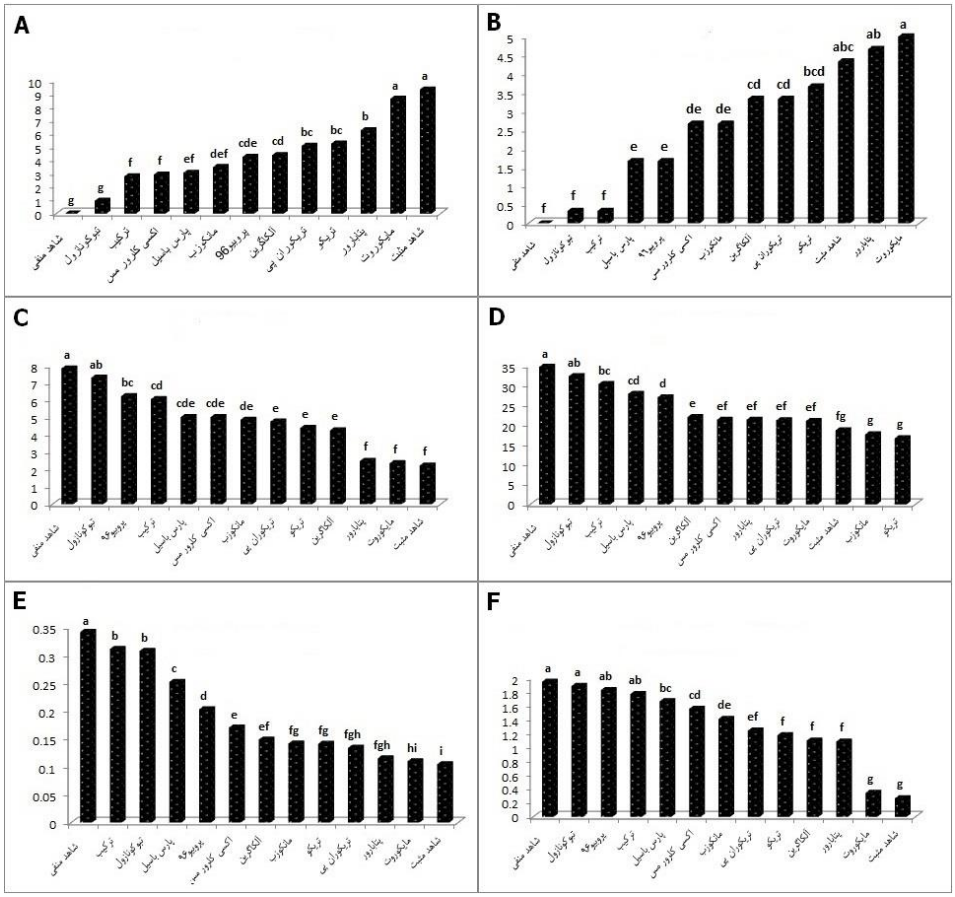
The difference between the treatments is significant at the probability level of one percent.

نتایج مقایسه میانگین صفات مورد ارزیابی

طول بافت نکروز- در بررسی طول بافت نکروز در اثر قارچ *R. solani* از نظر مقداری، مقایسه میانگین کمترین علایم زخم (صفر: فاقد زخم) تا بزرگترین زخم (۱۰cm) نشان داد؛ در صورت عدم استفاده از روش شیمیایی تبوکونازول سطح آماری (gr) با متوسط طول زخم ۰/۹۷ سانتی‌متر، می‌توان از ترکیب عوامل زیستی (f) با متوسط طول

زخـم ۲/۸ سانتی‌متر، پارس‌باسیل (ef) با متوسط ۳/۰۷ سانتی‌متر و پروبیو ۹۶ (cde) با متوسط ۴/۲۷ سانتی‌متر با سطح آماری نسبتاً مشابه استفاده نمود. بیشترین طول زخم مشاهده شده به ترتیب به شاهد مثبت (۹/۳۳cm) و تیمار مایکوروت (۸/۶۳cm) بود (شکل ۱).

ارزیابی شاخص بیماری- نتایج بررسی شدت بیماری بین صفر (عدم بیماری در شاهد منفی) تا ۵ (مرگ گیاه) بر اساس مقایسات میانگین تیمارها نشان داد که در صورت عدم استفاده از قارچ‌کش شیمیایی تبوکونازول (f) با شاخص ۰/۳۳، می‌توان از ترکیب عوامل زیستی (f) با شاخص ۰/۳۳، پارس باسیل(e) با شاخص ۱/۶۷ و پروبیو (e) با شاخص ۱/۶۷ در سطح آماری نسبتاً مشابه استفاده کرد. بیشترین شاخص بیماری مربوط به تیمارهای مایکوروت (۵) و پتابارور (۴/۶۷) بود (شکل ۱).



شکل ۱- مقایسه میانگین تأثیر تیمارهای شیمیایی و زیستی بر صفات مورد ارزیابی در پوسیدگی ریشه فلفل دلمه‌ای توسط *R. solani*. **A**) طول بافت نکروزه (cm)، **B**) شاخص بیماری (۵-۱)، **C**) وزن تر (gr)، **D**) ارتفاع بوته (cm)، **E**) وزن خشک ریشه (gr) و **F**) وزن خشک اندام هوایی (gr). میانگین‌هایی که دارای حروف مشترک در هر ستون می‌باشند، تفاوت آماری معنی‌داری ندارند (آزمون دانکن ۱٪).

Fig. 1. Comparisons of the mean effect of chemical and biological treatments on the traits evaluated in bell pepper root rot by *R. solani*. **A**) length of necrotic tissue (cm), **B**) disease index, **C**) plant Fresh weight (gr), **D**) plant height (cm), **E**) root dry weight (gr), **F**) shoot dry weight (gr). Different letters are statistically different ($P \leq 0.01$) according to Duncan's multiple range test (DMRT).

ارتفاع بوته- نتایج مقایسه میانگین تیمارها از بیشترین تا کمترین ارتفاع بوته نشان داد که در صورت عدم استفاده از روش شیمیایی تبوکونازول (ab) با ارتفاع ۳۲/۳ سانتی‌متر برای کنترل این بیماری می‌توان از گزینه‌های ترکیب عوامل زیستی(bc) با ارتفاع ۳۰/۳ سانتی‌متر، پارس‌باسیل (cd) با ارتفاع ۲۷/۸ سانتی‌متر و پروبیو ۹۶ (d) با ارتفاع ۲۷ سانتی‌متر در سطح آماری نسبتاً مشابه استفاده نمود (شکل ۱).

وزن تر بوته- نتایج بررسی وزن تر بوته نشان داد که بعد از تبوکونازول (ab) با وزن تر ۷/۳ گرم، بهترین گزینه با سطح آماری نسبتاً مشابه تیمارهای پروبیو ۹۶ (bc) با وزن تر ۶/۲۳ گرم، ترکیب عوامل زیستی (cd) با وزن تر ۶/۰۷ گرم و پارس‌باسیل (cde) با وزن تر ۵/۰۳ گرم بود (شکل ۱).

وزن خشک ریشه- نتایج بررسی مقایسه میانگین وزن خشک ریشه بوته‌های فلفل در اثر قارچ *R.solani* نشان داد که بهترین گزینه‌ها با سطح آماری مشابه تیمار شیمیایی تبوکونازول (d) با وزن خشک ۰/۳۱ گرم، ترکیب عوامل زیستی (d) با وزن ۰/۳۱ گرم، پارس‌باسیل (c) با وزن ۰/۲۵۲گرم و پروبیو ۹۶ (d) با وزن ۰/۲۰۳ گرم بودند (شکل ۱).

وزن خشک اندام هوایی- نتایج مقایسه میانگین وزن خشک اندام هوایی در اثر بیماری پوسیدگی ریشه فلفل با قارچ *R. solani* نشان داد که بعد از تیمار تبوکونازول (a) با وزن خشک ۱/۸۸ گرم، بهترین گزینه‌های مدیریت این بیماری با سطح آماری نسبتاً مشابه، پروبیو ۹۶ (ab) با وزن ۱/۸۳ گرم، ترکیب عوامل زیستی (ab) با وزن ۱/۷۷ گرم و پارس باسیل (bc) با وزن ۱/۶۷ گرم بودند (شکل ۱).

بحث

روش رایج مدیریت بیماری‌های گیاهی بر اساس روش شیمیایی با استفاده از قارچ‌کش‌های مختلف می‌باشد. نظر به خطرات و مضرات قارچ‌کش‌ها و در راستای توسعه کشاورزی پایدار، امروزه مطالعات گسترده‌ای روی روش‌های غیرشیمیایی کنترل بیماری‌های گیاهی صورت گرفته است. به منظور کنترل زیستی بیماری پوسیدگی رایزوکتونیایی ریشه فلفل دلمه‌ای ناشی از قارچ *R. solani* مطالعاتی با استفاده از باکتری‌های *Bacillus spp.*، *Pseudomonas spp.* و قارچ‌های *Trichoderma spp.* انجام شده است (Varma *et al.*, 2020؛ Solanki *et al.*, 2019؛ Madbouly and Abdelbacki, 2017). برای مطالعه اثر عوامل زیستی بر کاهش بیماری پوسیدگی رایزوکتونیایی، شاخص شدت بیماری و طول بافت نکروزه مورد بررسی قرار گرفتند. همچنین از صفات زراعی برای مطالعه اثر تیمارهای عوامل زیستی بر تحریک رشد بوته‌های فلفل، استفاده شد. بر اساس نتایج مقایسات میانگین، کمترین شاخص بیماری و کمترین طول زخم به ترتیب مربوط به تیمارهای شاهد منفی (فاقد بیمارگر)، قارچ‌کش تبوکونازول، ترکیب عوامل زیستی، پارس‌باسیل، پروبیو ۹۶، قارچ‌کش اکسی‌کلرورمس، قارچ‌کش مانکوزب، آلکاگرین، تریکوران‌پی، تریکو، کود پتابارور و مایکوروت، شاهد مثبت (داری بیمارگر) بود. در بین قارچ‌کش‌های مورد استفاده، قارچ‌کش تبوکونازول بیشترین تأثیر را بر کنترل بیماری پوسیدگی رایزوکتونیایی ریشه نشان داد. نتایج تحقیق حاضر با مطالعات Varma و همکاران (۲۰۲۰) مطابقت داشت. بر اساس تحقیقات ایشان قارچ‌کش تبوکونازول توانست ۵۵/۴۶ درصد موجب کاهش بیماری پوسیدگی رایزوکتونیایی فلفل دلمه‌ای گردد و بیشترین تأثیر در کاهش بیماری (۸۲/۳۶٪) با بالاترین عملکرد، پس از غوطه‌ور نمودن ریشه گیاهچه‌ها در قارچ‌کش تبوکونازول (۱/۵ gr/l) همراه با افزودن ۱۰ کیلوگرم در هکتار قارچ *T. harzianum* به خاک به‌دست آمد (Varma *et al.*, 2020). تیمار ترکیب عوامل زیستی از نظر شاخص شدت بیماری تفاوت معنی‌داری با تیمار قارچ‌کش تبوکونازول نداشت ($P\leq 0.01$). ترکیب عوامل زیستی شامل ترکیبی از نسبت‌های مساوی از پنج قارچ‌کش زیستی شامل پارس‌باسیل، پروبیو ۹۶، تریکوران‌پی، تریکو، آلکاگرین و مایکوروت بود. بر اساس نتایج به‌دست آمده، تیمارهای قارچ‌های زیستی مورد استفاده شامل تریکوران‌پی، تریکو، آلکاگرین و مایکوروت، نسبت به باکتری‌های مورد استفاده بر شاخص شدت بیماری پوسیدگی ریشه فلفل تأثیر چشم‌گیری نداشتند. به‌عبارت دیگر، نزدیکی نتایج تیمارهای باکتریایی پارس‌باسیل و پروبیو ۹۶ به نتیجه ترکیب عوامل زیستی نشان می‌دهد که باکتری‌های *B. velezensis* در محصول پارس‌باسیل و *B. subtilis* در محصول پروبیو ۹۶ بیشترین تأثیر را نسبت به قارچ‌های *T. harzianum* در کنترل و کاهش این بیماری داشته‌اند و یا احتمالاً این عوامل اثر هم‌افزایی بر کنترل بیماری و افزایش رشد گیاه داشته‌اند. تحقیقات متعددی در خصوص تأثیر قابل توجه جدایه‌های تریکودرما بر کاهش بیماری پوسیدگی ریشه فلفل وجود دارد (Madbouly and Abdelbacki, 2017؛ Mannai *et al.*, 2018؛ El-Kazzaz *et al.*, 2022؛ Varma *et al.*, 2020؛ Howell, 2003). استفاده همزمان از چند عامل زیستی و اثر افزایشی آنها در کنترل بیماری پوسیدگی رایزوکتونیایی به سبب

تحریک میزبان و افزایش میزان آنزیم‌های مرتبط با مقاومت در گیاه گوجه‌فرنگی مورد تأیید قرار گرفته است (Solanki *et al*., 2019). در شرایط گلخانه‌ای Solanki و همکاران (۲۰۱۹) نشان دادند استفاده هم‌زمان از ترکیب باکتری *Streptomyces atrovirens* با قارچ *Trichoderma lixii* موجب بیشترین مقاومت گوجه‌فرنگی به قارچ *R. solani* می‌گردد. بنابراین می‌توان انتظار داشت تیمار ترکیبی مورد استفاده در این تحقیق علاوه بر اثر مستقیم بازدارندگی از رشد قارچ عامل بیماری، موجب تحریک سیستم دفاعی میزبان و افزایش تولید آنزیم‌های مرتبط با مقاومت شده باشد. نتیجه به‌دست آمده از ترکیب عوامل زیستی مختلف در کنترل بیماری پوسیدگی رایزوکتونیایی فلفل با نتیجه Solanki و همکاران (۲۰۱۹) در کنترل بیماری ناشی از همین قارچ در گیاه گوجه‌فرنگی مطابقت دارد. در آزمایش مشابهی در شرایط گلخانه‌ای نشان داده شد که عوامل زیستی *B. subtilis* و *T. harzianum* علاوه بر کاهش معنی‌دار بیماری، موجب افزایش معنی‌دار در رشد بوته‌ها شدند (Madbouly and Abdelbacki, 2017). در بین تیمارها، تیمارهای پتابارور و مایکوروت کمترین تأثیر را در کاهش بیماری داشتند. بنابراین، در مدیریت بیماری پوسیدگی رایزوکتونیایی ریشه فلفل دلمه‌ای به‌غیر از روش کنترل شیمیایی (تبوکونازول)، بهترین گزینه با سطح آماری نسبتاً مشابه، ترکیب پارس‌باسیل و پروبیو ۹۶ می‌باشد ($P\leq 0.01$).

منابع References

دانشور، م. ۱۳۸۷. پرورش سبزی، انتشارات دانشگاه شهید چمران، چاپ پنجم، اهواز.

عبادزاده، ح. ر.، احمدی، ک.، محمدنیا افروزی، ش.، طاقانی، ر.ع.، عباسی، م. و یاری، ش.۱۳۹۹. آمارنامه کشاورزی سال ۱۳۹۸ جلد دوم: آب و خاک، ماشین‌ها و ادوات کشاورزی. انتشارات جهاد کشاورزی، ۴۲۹ صفحه.

Ali, A. M. 2021. The Competitive potential of different *Trichoderma* spp. to control Rhizoctonia root rot disease of pepper (*Capsicum annuum* L.). Egyptian Journal of Phytopathology 49(1): 136-150.

Aoyagi, T., Kageyama, K. and Hyakumachi, M., 1998. Characterization and survival of *Rhizoctonia solani* AG2-2 LP associated with large patch disease of zoysia grass. Plant Disease 82(8): 857-863.

Baker, K. F. 1987. Evolving concepts of biological control of plant pathogens. Annual Review of Phytopathology 25: 67-85.

Bose, T. K., Kabir, J., Maity, T. K., Parthasarthy, V. A. and Som, M. G. 2002. Vegetable Crops. Naya Prakash Publishers, Calcutta 2002, 168-204.

Boswell, V. R. 1949. Garden pepper, both a vegetable and a condiment. In*:* Our Vegetable Travelers. The National Geographer 96: 166-167.

Gupta, S. K. and Thind, T. S. 2006. Disease problems in vegetable production. Scientific Publishers, Jodhpur, India, p. 335-380.

Habib, A., Sahi, S. T., Ghazanfer, M. U. and Ali, S. 2007. Evaluation of some fungicides against seed born mycoflora of eggplant and their comparative efficacy regarding seed germination. International Journal of Agriculture and Biology 9(3): 519-520.

Hejazi, R., Esfahani, M. N., Maleki, M. and Sedaghatfar, E. 2022. Susceptibility assessment and genetic population structure associated with *Rhizoctonia solani* AG3-PT-Potato stem canker disease. Physiological and Molecular Plant Pathology 119: 101835.

Henis, Y. and Bashan, Y. 1986. Epiphytic survival of bacterial leaf pathogens. Pp. 252-268. In: Fokkema, N. J. and van Den Heuvel, J. (eds.). Microbiology of the Phyllosphere. Cambridge University Press, New York.

Howell, C. R. 2003. Mechanisms employed by *Trichoderma* species in the biological control of plant diseases: The history and evolution of current concepts. Plant Disease 87(1): 4-10.

El-Kazzaz, M. K., Ghoneim, K. E., Agha, M. K. M., Helmy, A., Behiry, S. I., Abdelkhalek, A. and Elsharkawy, M. M. 2022. Suppression of Pepper Root Rot and Wilt Diseases Caused by *Rhizoctonia solani* and *Fusarium oxysporum*. Life 12(4): 587.

Madbouly, A. K. and Abdelbacki, A. M. 2017. Biocontrol of certain soilborne diseases and promotion of growth of *Capsicum annuum* using biofungicides. Pakistan Journal of Botany 49: 371–378.

Malhotra, A., Agarwal, T. and Trivedi, P. C. 2011. *In vitro* efficacy of various fungal and bacterial antagonists against *Rhizoctonia solani*, causal agent of damping off disease in *Capasicum annum* L. International Journal of Pharma and BioSciences 3(2): 288-292.

Mannai, S., Jabnoun-Khiareddine, H., Nasraoui, B. and DaamiRemadi, M. 2018. Rhizoctonia root rot of pepper (*Capsicum annuum*): Comparative pathogenicity of causal agent and biocontrol attempt using fungal and bacterial Agents. Journal of Plant Pathology and Microbiology 9: 431.

Mikhail, M. S., Sabet, K. K., Omar, M. R., Asran, A. A. and Kasem, K. K. 2010. Current *Rhizoctonia solani* anastomosis groups in Egypt and their pathogenic relation to cotton seedlings. African Journal of Microbiology Research 4: 386-395.

Muhyi, R. and Bosland, P. W. 1995. Evaluation of Capsicum germplasm for sources of resistance to *Rhizoctonia solani*. HortScience 30(2): 341-342.

Obidiebube, E. A., Eruotor, P. G., Akparobi, S. O., Emosaariue, S. O., Achebe, U. A. and Kator, P. E. 2012. Response of four cultivars of pepper (*Capsicum frutescens* L.) to different levels of NPK fertilizer in rainforest agroecological zone. International Journal of Agriculture Sciences 2:1143-1150.

Oktarina, H., Mukhriza, T., Šiller, L. and Singleton, I. 2022. Differential tolerance of *Trichoderma harzianum* and *Rhizoctonia solani* towards silver nanoparticles: potential for agricultural applications? Jurnal Natural 22(2): 73-77.

Rajkumar, K., Naik, M. K., Amaresh, Y. S., Chennappa, G. and Ravikiran. 2018. *In vitro* screening of *Bacillus subtilis* isolates against *Rhizoctonia solani*, the causal agent of root rot of chilli. International Journal of Chemical Studies 6: 3446-3449.

Solanki, M. K., Yandigeri, M. S., Kumar, S., Singh, R. K. and Srivastava, A. K. 2019. Co-inoculation of different antagonists can enhance the biocontrol activity against *Rhizoctonia solani* in tomato. Antonie Van Leeuwenhoek 112: 1633-1644.

Varma, A., Prasad, R. and Tuteja, N. 2017. Mycorrhiza–Nutrient Uptake, Biocontrol, Ecorestoration, Springer International Publishing, 539 pp.

Varma, S., Kumhar, D. K., Priyanka and Sheshma, M. K. 2019. Efficacy of bioagents and fungicide against root rot of chilli caused by *Rhizoctonia solani* Kuhn. International Journal of Chemical Studies 7(1): 1933-1936.

Varma, S., Kumhar, D. R. and Meena, A. K. 2020. Integrated disease management of Rhizoctonia root rot of chilli (*Capsicum annum* L.) incited by *Rhizoctonia solani* Kuhn in vivo. International Journal of Current Microbiology and Applied Sciences 9(4): 1635-1642.

Control of Rhizoctonia root rot of bell pepper in greenhouse using chemicals and biological fungicides

M. Shirmohammadi[1], E. Sedaghatfar[2*], R. Hejazi[2] and H. Rahanandeh[3]

Received: 8 Jun., 2022 Accepted: 23 Aug., 2022

ABSTRACT

Bell pepper with the scientific name *Capsicum annuum* L. belongs to the Solanaceae family. Among the major pepper diseases, root rot caused by the fungus *Rhizoctonia solani* has the economic importance. The common method to control this disease is to use the chemical fungicides. In order to control Rhizoctonia root rot disease of bell pepper, a number of commercial biological agents based on *Trichoderma harzianum*, *Glomus* sp. mycorrhizal fungus, *Bacillus* sp. and *Pseudomonas* sp. bacteria and three chemical fungicides Tebuconazole, Copper oxychloride and Mancozeb were investigated in greenhouse conditions. The analysis of variance showed that the treatments had significant difference ($P\leq 0.01$) in all the examined traits. The mean comparisons of the treatments were evaluated based on disease inhibition traits including the length of the necrotic tissue with the largest wound and the disease index and plant growth promotion traits, including plant fresh weight, plant height, root dry weight and shoot dry weight. The treatments of negative control (no pathogen) and fungicide tebuconazole had the greatest effect on most of the traits, and the treatments of Potabarvar and Mycoroot and positive control (with pathogen) had the least effect. Among the biological control treatments, based on the lowest disease index and the lowest wound length, the combination of biological agents, Parsbacil, Probio96, Alkagreen, Trichoran-P and Tricho were ranked respectively. In the study of agricultural traits, biological treatments, combination of biological agents, Parsbacil and Probio-96 showed the highest values. In the management of this disease, apart from the chemical control method (Tebuconazole), the best option with a relatively similar statistical level was Parsbacill combination (SC) containing *Bacillus velezensis* strain M11-RTS, and Probio-96 containing *Bacillus subtilis* bacteria ($P\leq 0.01$).

Key words: Pepper, root rot, *Rhizoctonia solani*, *Bacillus*, biological control, chemical control

1 and 2. Former Ms. student, and Assistant professor, respectively, Department of Plant Pathology, Faculty of Agriculture, Arak Branch, Islamic Azad University, Arak, Iran

3. Assistant professor, Department of Plant Protection, Faculty of Agriculture, Rasht Branch, Islamic Azad University, Rasht, Iran

Corresponding author: esedaghatfar@gmail.com