

مقاله کوتاه

تأثیر ترشحات مایع خارج سلولی جدایه‌های تریکودرما و *Talaromyces flavus* علیه قارچ *Gaeumannomyces graminis* var. *tritici* عامل بیماری پاخوره گندم

لیلا قنبری^{۱*}، صدیقه محمدی^۱، لاله نراقی^۲

۱. گروه گیاه پزشکی، واحد شیراز، دانشگاه آزاد اسلامی، شیراز، ایران
۲. بخش تحقیقات بیماری‌های گیاهی، موسسه تحقیقات گیاه پزشکی کشور، تهران، ایران

چکیده

بیماری پاخوره گندم ناشی از *Gaeumannomyces graminis* var. *tritici* در سال‌های اخیر در نقاط مختلف ایران مشاهده شده است. در این تحقیق، به منظور بررسی امکان کنترل بیولوژیک بیمارگر هفت جدایه تریکودرما *T. harzianum* M، *T. harzianum* A، *T. harzianum*، *T. koningii*، *T. longibrachiatum* و *T. virens* و چهار جدایه تالارومیسس، *Talaromyces* 134، *Talaromyces flavus* 136، *Talaromyces flavus* 75 و *Talaromyces flavus* 60 علیه قارچ عامل بیماری در شرایط آزمایشگاه با شیوه ترشحات مایع خارج سلولی مورد ارزیابی قرار گرفتند. آزمایش در یک طرح کاملاً تصادفی با سه تکرار انجام شد. در بررسی تأثیر ترشحات مایع خارج سلولی جدایه‌های آنتاگونیست از رشد میسلیم Ggt مشخص شد که ترشحات مایع جدایه‌های *T. harzianum* S و *T. harzianum*، *Talaromyces flavus* 136 به میزان ۵ میلی‌لیتر به ترتیب پس از گذشت ۷۲ ساعت به میزان ۴۱/۵۱، ۸۸/۴۰ و ۷۳/۳۷ درصد و جدایه *T. longibrachiatum* به میزان ۱۰ میلی‌لیتر در دو نوبت یادداشت‌برداری به میزان ۵۲/۸۳ و ۳۸/۵۲ درصد بیشترین تأثیر را در بازدارندگی از رشد میسلیم بیمارگر داشته است. این تحقیق نخستین تحقیق در ارتباط با تأثیر بیوکنترلی جدایه‌های *Talaromyces flavus* روی بیماری پاخوره گندم بوده است.

واژه‌های کلیدی: تریکودرما، *Talaromyces flavus*، ترشحات مایع خارج سلولی، پاخوره گندم

* مسئول مکاتبات، پست الکترونیکی: gleila64@yahoo.com

تاریخ دریافت: ۱۳۹۲/۰۹/۰۲، تاریخ پذیرش: ۱۳۹۳/۰۸/۰۶

مقدمه

گندم از مهم‌ترین غلات در جهان به شمار می‌آید. گندم گذشته از جنبه تجارتي مهم آن در دنیا، سلاحی کارآمد در مناسبات سیاسی و جهانی است که روز به روز بر اهمیت آن افزوده می‌شود و مهم‌ترین گیاه زراعی روی زمین است (Martin *et al.*, 1976). پاخوره گندم به‌وسیله قارچ *Gaeumannomyces graminis var. tritici* ایجاد می‌شود (Maccy-Buis, Huber & Weller & Cook, 1983). این بیماری ریشه در اکثر نقاط گندم‌کاری جهان گزارش شده است (Hornby *et al.*, 1983). (1983). قارچ عامل بیماری پاخوره را در فهرست یکی از هشت عامل بیماری‌زای قارچی مهم گندم در جهان و از مهم‌ترین عوامل بیماری‌زای گندم در قاره اقیانوسیه عنوان کرده‌اند. خسارت این بیماری در بعضی مزارع گندم آبی استان مرکزی تا ۸۰ درصد توسط (Ghalandar 2002) برآورد شده است و در مزارع آبی کشور رو به گسترش می‌باشد. کنترل بیماری پاخوره گندم در مناطق آلوده با استفاده از روش‌های زراعی و مدیریتی متعددی از قبیل استفاده از علف‌کش‌ها، قارچ‌کش‌ها، اصلاح خاک، آتش زدن کاه و کلش، مدیریت تغذیه و تناوب زراعی برای کاهش بیماری پاخوره استفاده شده است ولی مؤثرترین روش، تناوب زراعی با محصولات غیر غلات بوده است که در بعضی از کشورها از نظر اقتصادی و مدیریتی کشاورزی مقرون به صرفه نیست (Stromberg *et al.*, 1999; Yarham, 1981).

یکی از راه‌های کنترل بیماری‌های قارچی استفاده از قارچ‌کش‌ها در سطح وسیع می‌باشد. استفاده زیاد از قارچ‌کش‌ها نه تنها هزینه‌های سنگینی را به همراه دارد بلکه باعث آلودگی محیط زیست، آلودگی منابع آب‌های زیرزمینی و محصولات کشاورزی می‌شود و کنترل بیولوژیکی یکی از روش‌های مناسب کنترل با این بیماری می‌باشد (Maghsoodlo *et al.*, 2008).

آغشته کردن بذور با *T. koningii* که یکی از مهم‌ترین آنتاگونیست‌های مشاهده شده در خاک‌های بازدارنده است با محدودسازی بقاء پوده زیستی و انگلی عامل پاخوره باعث کاهش بیماری گردید (Simon & Sivasithamparam, 1989). (Frootan *et al.*, 2002). نیز تأثیر چند جدایه *Trichoderma viridae* و *Trichoderma harzianum* را بر بیماری پاخوره در شرایط گلخانه نشان داده‌اند.

بازدارندگی رشد قارچ بیمارگر تا ۷۰ درصد توسط جدایه‌هایی از باکتری *Pseudomonads fluorescent* را در شرایط آزمایشگاهی نشان داده شده است (Reyhanytabar *et al.*, 2003). مطالعه توان بازدارندگی جدایه‌های باکتری سودوموناس فلورسنت از رشد قارچ پاخوره گندم در آذرشهر تبریز نشان داد که از ۴۲ سوبه جداسازی شده در روش کشت متقابل ۱۴ جدایه در مقابل پاخوره گندم اثر بازدارنده داشت و در بررسی اثر متابولیت‌های قابل نفوذ، درصد بازدارندگی بین ۴۰٪ تا ۸۸٪ متغیر بود (Shirzad *et al.*, 2008).

قارچ *Talaromyces flavus* به عنوان پارازیت سختینه های *Rhizoctonia solani*، سختینه و ریشه های *Verticillium spp.* و *Sclerotinia sclerotiorum* گزارش گردیده است (Madi, 1996; Fravel, 1997). جدایه های *T. virens* و *T. harzianum* از رشد میسلیموم اکثر قارچ های عامل پوسیدگی ریشه جلوگیری می کند و استفاده از هر کدام از عوامل بیوکنترل در خاک های آلوده موجب کاهش درصد آلودگی گیاهان و کاهش شدت بیماری در خاک های آلوده می شود (Faheem et al., 2010). لذا اکثر گونه های تریکودرما آنتاگونیست قارچ های بیماری زای گیاهی بوده و به دلیل موفقیت آن ها در این زمینه امروزه به طور وسیع و به عنوان مهم ترین عامل قارچی در کنترل بیولوژیک مورد استفاده قرار گرفته اند (Tjamos et al., 1992). امروزه انواع محصولات بیولوژیک تجاری از سویه های تریکودرما فرموله شده است.

این تحقیق به منظور بررسی کنترل بیولوژیک قارچ *Gaeumannomyces graminis var. tritici* عامل بیماری پاخوره گندم توسط گونه های آنتاگونیست *Talaromyces flavus* در شرایط آزمایشگاه انجام شد.

مواد و روش ها

تهیه جدایه های آنتاگونیست و قارچ بیمارگر

جدایه (T139) *Gaeumannomyces graminis var. tritici* از آقای دکتر فصیحیانی (مرکز تحقیقات کشاورزی و منابع طبیعی فارس) و جدایه های تریکودرما توسط نگارنده دوم و جدایه های *Talaromyces flavus* از موسسه تحقیقات گیاه پزشکی کشور تهیه گردید.

بررسی تأثیر ترشحات مایع جدایه های تریکودرما و *Talaromyces flavus* در جلوگیری از رشد میسلیمومی قارچ عامل پاخوره گندم

این آزمون به منظور بررسی تأثیر ترشحات مایع خارج سلولی تریکودرما و *Talaromyces flavus* در جلوگیری از رشد میسلیموم قارچ عامل پاخوره انجام شد. از حاشیه در حال رشد پرگنه جدایه های تریکودرما، چهار دیسک به قطر یک سانتیمتر به ارلن مایرهای ۲۵۰ میلی لیتری محتوی محیط کشت سیب زمینی - دکستروز - سوپ (PDB) و جدایه های *Talaromyces flavus* چهار دیسک به قطر یک سانتیمتر به ارلن مایرهای ۲۵۰ میلی لیتری محتوی محیط کشت مایع Czapeck Dox Broth اضافه گردید. ارلن ها در داخل شیکر آن چرخان در دمای ۲۵-۲۶ درجه سلسیوس و ۱۲۰ تکان در دقیقه برای جدایه های تریکودرما و ۵۰ تکان در دقیقه برای *Talaromyces flavus* قرار داده شد. پس از ۱۰ روز ارلن ها خارج و محتویات آن در شرایط کاملاً سترون با میلی پور و پمپ خلأ و با استفاده از میکروفیلترهای ۰/۲۲ میکرومتر، عصاره گیری شد. از محلول به دست آمده برای بررسی تأثیر ترشحات مایع

حاصل از جدایه‌های تریکودرما و *Talaromyces flavus* روی رشد میسلیومی قارچ عامل پاخوره گندم استفاده شد. در این آزمایش برای هر جدایه تریکودرما و *Talaromyces flavus* دو تیمار ۵ و ۱۰ میلی‌لیتر از عصاره در نظر گرفته و به ۲۰ میلی‌لیتر محیط کشت PDA با درجه حرارت محیط اضافه و به خوبی مخلوط گردید و در داخل پتری ریخته شد. بعد از انعقاد محیط کشت مخلوط با ترشحات مایع هر کدام از جدایه‌های تریکودرما و *Talaromyces flavus* در وسط هر تشتک پتری، یک حلقه به قطر ۵ میلی‌متر از حاشیه کشت چهار روزه بیمارگر پاخوره قرار داده شد و تشتک‌های پتری در انکوباتور با حرارت ۲۵ درجه سلسیوس نگهداری شدند (Mohammadi et al., 2009).

اندازه‌گیری رشد شعاعی پرگنه قارچ بیمارگر به فواصل زمانی ۲۴، ۷۲ و ۱۲۰ ساعت پس از کشت عامل بیماری انجام گرفت. در این آزمایش درصد بازدارندگی از رشد میسلیوم قارچ عامل بیماری با استفاده از رابطه زیر محاسبه گردید.

$$\text{درصد بازدارندگی از رشد پرگنه قارچ} = \frac{\text{قطر رشد پرگنه قارچ در مقابل تیمارها قطر رشد پرگنه شاهد}}{\text{قطر رشد پرگنه شاهد}} \times 100$$

این آزمایش در قالب دو طرح کاملاً تصادفی (برای غلظت‌های ۵ml و ۱۰ml) هر کدام با ۱۲ تیمار (*T. harzianum* M، *T. harzianum* A، *T. harzianum* S، *Talaromyces flavus* 134، *T. virens*، *T. longibrachiatum* koningii، *Talaromyces flavus* 60، *Talaromyces flavus* 75، *Talaromyces flavus* 136) و در سه تکرار انجام شد. داده‌های به دست آمده از این آزمایش مورد تجزیه و تحلیل آماری قرار گرفتند. تیمارها با استفاده از آزمون چند دامنه‌ای دانکن در سطح $P \leq 0.1$ با یکدیگر مقایسه شدند.

نتایج و بحث

بررسی تأثیر ترشحات مایع جدایه‌های تریکودرما و *Talaromyces flavus* در جلوگیری از رشد میسلیومی قارچ عامل پاخوره گندم

نتایج حاصل از تجزیه واریانس داده‌ها نشان می‌دهد که تفاوت معنی‌داری در بین جدایه‌های تریکودرما و *Talaromyces flavus* از نظر ترشحات مایع خارج سلولی (۵ و ۱۰ میلی‌لیتر) در جلوگیری از رشد میسلیومی Ggt وجود دارد.

با مقایسه میانگین درصد‌های بازدارندگی ترشحات مایع خارج سلولی جدایه‌های تریکودرما و *Talaromyces flavus* به میزان ۵ میلی‌لیتر از رشد میسلیوم Ggt مشاهده می‌گردد که پس از گذشت ۷۲ ساعت بیشترین درصد بازدارندگی مربوط به جدایه‌های *Talaromyces flavus* 136، *T. harzianum* S و *T. harzianum* به ترتیب به میزان ۴۱/۵۱، ۸۸/۴۰ و ۷۳/۳۷

درصد بوده است و در این رابطه اختلاف معنی داری بین جدایه های *Talaromyces flavus* 136، *T. harzianum* S و *T. harzianum* مشاهده نشد (جدول ۱). همچنین با مقایسه درصد های بازدارندگی ترشحات مایع خارج سلولی جدایه های تریکودرما و *Talaromyces flavus* به میزان ۱۰ میلی لیتر از رشد میسلیم Ggt ملاحظه می شود که جدایه *T. longibrachiatum* در دو نوبت یادداشت برداری ۷۲ و ۱۲۰ ساعت به ترتیب به میزان ۵۲/۸۳ و ۵۲/۳۸ درصد، بیشترین بازدارندگی از رشد میسلیمی قارچ عامل بیماری را داشته است (جدول ۲).

در آزمون بررسی اثر ترشحات مایع خارج سلولی جدایه های تریکودرما و *Talaromyces flavus* مشخص شد که بیشترین درصد بازدارندگی از رشد قارچ عامل بیماری توسط این ترشحات به میزان ۵ میلی لیتر مربوط به جدایه های *Talaromyces flavus* 136، *T. harzianum* S و *T. harzianum* بوده است و همچنین بیشترین درصد بازدارندگی از رشد قارچ عامل بیماری به میزان ۱۰ میلی لیتر مربوط به جدایه *T. longibrachiatum* بود. این نتایج با نتایج تحقیقات (Mohammadi et al., 2009) مطابقت داشت. (Hashemi (2012) از آزمایش تأثیر ترشحات غیر فرار برای جلوگیری از رشد قارچ *F. o. f. sp. sesame* نتایج مشابهی را به دست آورد. اغلب سویه های تریکودرما ترکیبات ضد قارچی سلولی فرار و غیر فرار سمی تولید می کنند که رشد عوامل بیماری زای قارچی را متوقف می کند. همراه این مواد خارجی سلولی تولید اسیدهای هارزیانیک، آلامیتیسین ها، تریکولین، پنتابول ها، آنتی بیوتیک ۴، ۶، فنیل-آلفا-پیرون، ماسسویل اکتن، ویریدین، گلیوویریدین، گلیزوپرنینز، هپتیلیدیک اسید و... توضیح داده شده است (Vey et al., 2001).

در تحقیقات (Kucuk & Kivanc (2004) به نقش گونه های تریکودرما در تولید آنتی بیوتیک هایی همچون تریکودرمین، تریکودرمول، هارزیانوم آ و هارزیانولید اشاره شده است. گلیوتوکسین و گلیوویرین از مهم ترین ترکیبات آنتی بیوتیکی گونه *T. virens* محسوب می شوند. این ترکیبات به طور عمده بر روی غشاء قارچ بیمارگر اثر گذاشته و باعث اختلال در دیواره میسلیم و در نهایت اختلال در رشد و بد شکلی آن می شوند (Cruz, 1993; Elad et al., 1979).

Kim & Fravel (1990) نشان داد که چهل درصد از ترکیب ترشحات غیر فرار *Talaromyces flavus* به آنزیم گلوکز اکسیداز اختصاص دارد. خاصیت ضد قارچی این ترکیب به دلیل تولید پراکسید هیدروژن از گلوکز توسط آنزیم مذکور است که دارای خاصیت سمی شدید برای *Verticillium dahliae* می باشد.

نتایج تحقیقات نشان می دهد که جدایه های مختلف تریکودرما و *Talaromyces flavus* از نظر تولید مواد غیر فرار و ممانعت کننده از رشد قارچ میزبان متفاوت اند، به همین دلیل بعضی

از جدایه‌های آنتاگونیست تأثیر بیشتری در ممانعت از رشد دارند. جدایه‌های مورد بررسی تریکودرما و *Talaromyces flavus* از نظر تأثیر در غلظت‌های مختلف دارای تفاوت معنی‌داری در سطح ۱٪ هستند به طوری که تمام جدایه‌ها در غلظت بالا (۱۰ml) بیشترین تأثیر بازدارندگی رو داشتند.

جدول ۱- تأثیر ترشحات مایع خارج سلولی با غلظت ۵ میلی‌لیتر جدایه‌های تریکودرما و *Talaromyces flavus* در جلوگیری از رشد میسلیم Ggt در فواصل زمانی مختلف

Table 1. Effect of extracellular fluid in Concentration of 5 ml of *Trichoderma* and *Talaromyces flavus* isolates on inhibition of mycelial growth of Ggt at different intervals

Treatment	24h	72h	120h
<i>Trichoderma harzianum</i> A	20 bc	28/93c	20/95a
<i>Trichoderma longibrachiatum</i>	23/33abc	30/19bc	23/97a
<i>Talaromyces flavus</i> 75	31/11abc	28/93c	10/47de
<i>Talaromyces flavus</i> 136	38/88a	41/51a	10/95de
<i>Trichoderma harzianum</i> S	22/22abc	37/73ab	11/90cd
<i>Trichoderma virens</i>	15/55c	34/59bc	14/76bc
<i>Trichoderma koningi</i>	16/67c	31/44bc	20/47a
<i>Trichoderma harzianum</i>	24/44abc	40/88 a	8/09e
<i>Trichoderma harzianum</i> M	18/89bc	32/07bc	15/71b
<i>Talaromyces flavus</i> 134	34/44ab	27/67c	7/61e
<i>Talaromyces flavus</i> 60	25/55abc	32/70bc	8/09e

- اعداد متن جدول میانگین ۳ تکرار هستند.

- تیمارهایی که در هر ستون با حروف مختلف نشان داده شده‌اند با آزمون دانکن $P < 0/01$ دارای اختلاف معنی‌داری می‌باشند.

- Data are mean of 3 replicates

- Significant differences are denoted by different letters within each column at $P < 0.01$ according to Duncan,s Multiple Range Test

جدول ۲- تأثیر ترشحات مایع خارج سلولی با غلظت ۱۰ میلی‌لیتر جدایه‌های تریکودرما و *Talaromyces flavus* در جلوگیری از رشد میسلیم Ggt در فواصل زمانی مختلف

Table 1. Effect of extracellular fluid in Concentration of 10 ml of *Trichoderma* and *Talaromyces flavus* isolates on inhibition of mycelial growth of Ggt at different intervals

Treatment	24h	72h	120h
<i>Trichoderma harzianum</i> A	43/33 a	50/94a	32/38cd
<i>Trichoderma longibrachiatum</i>	41/11ab	52/83a	52/38a
<i>Talaromyces flavus</i> 75	36/66 abc	42/77b	15/23fg
<i>Talaromyces flavus</i> 136	34/44abcd	33/33de	29/04 d
<i>Trichoderma harzianum</i> S	28/89 bcde	35/22cde	23/81e
<i>Trichoderma virens</i>	23/33cdef	41/51bc	30d
<i>Trichoderma koningi</i>	22/22def	34/59cde	35/23c
<i>Trichoderma harzianum</i>	22/22def	40/88bc	18/09f
<i>Trichoderma harzianum</i> M	17/78efg	39/62bcde	42/38b
<i>Talaromyces flavus</i> 134	12/22fg	30/81e	14/28fg
<i>Talaromyces flavus</i> 60	5/55g	39/62bcd	12/38g

- اعداد متن جدول میانگین ۳ تکرار هستند.

- تیمارهایی که در هر ستون با حروف مختلف نشان داده شده‌اند با آزمون دانکن $P < 0/01$ دارای اختلاف معنی‌داری می‌باشند.

- Data are mean of 3 replicates

- Significant differences are denoted by different letters within each column at $P < 0.01$ according to Duncan,s Multiple Range Test

منابع

- Cruz, J., Hidalgo, A., Lora, J. M., Benitez, T., Pintor-Toro, J., Lobll, A. 1993. Isolation and characterization of three chitinases from *Trichoderma harzianum*. *European Journal of Biochemistry*. 206: 859-869.
- Dennis, C., Webster, J. 1971. Antagonist properties of species group of *Trichoderma*, production of nonvolatile antibiotics. *Transaction British Mycological Society*, 57: 25-39.
- Elad, Y., Chet, I., Henis, Y. 1979. Degradation of plant pathogenic fungi by *Trichoderma harzianum*. *Canadian Journal of Microbiology*. 28: 719-725.
- Faheem, A., Razdan V.K., Mohiddin, F.A., Bhat, K.A., Banday, S. 2010. Potential of *Trichoderma* species as biocontrol agents of soil borne fungal propagules. *Journal of Phytology*, 2(10): 38- 41.
- Frootan Nadafi, A., Rahimian, H., Raieiatpanah, S., Barari, H., Sedaghatfar, A., Ramazani, H., Kianoush, H. 2002. The effectiveness of *T. harzianum* and *T. viridea* fungi for control of wheat take-all disease. *Proceedings of the 15th Iranian Plant Protection Congress, Kermanshah Iran*, pp. 7-11
- Fravel, D.R. 1996. Interaction of biological fungi with sublethal rates of metham sodium for control of *Verticillium dahliae*. *Crop Protection*, 15: 115-119.
- Ghalandar, M. 2001. Investigation on wheat take-all disease and its distribution in Markazi Province. The Center of Agricultural and Natural Researches, Markazi Province, Iran, (In Persian).
- Hashemi, L. 2012. Antagonistic mechanisms of *Trichoderma* spp. & comparison of their efficiency in control of *fusarium oxysporum* f. sp. *Sesame* causal wilt & yellowing in *sesamium indicum* in comparison with common chemical toxin. *M.Sc. thesis of plant pathology, Islamic Azad University, Shiraz Branch*.
- Hornby, D., Bateman, G. L., Gutteridge, R. J., Lucas, P., Osbourn, A. E., Ward, E., Yarham, D. J. 1998. *Take-all Disease of Cereals: A Regional Perspective*. CAB International. London. 384 pp.
- Huber, D. M. & McCay-Buis, T. S. 1993. A multiple component analysis of the take-all disease of Cereals. *Plant Disease*, 77(5): 437-447.
- Kucuk, C., Kivanc, M. 2004. In vitro antifungal activity of strains of *Trichoderma harzianum*. *Turkish Journal of Biology*, 28: 111-115.
- Kim, K. K. & Fravel, D.R. 1990. Glucose oxidase as the antifungal principle of talaron from *Talaromyces flavus*. *Canadian Journal of Microbiology*, 36(11): 760-764.
- Maghsoodlo, R., Ghorbaninasrabadi, R. S., Razavi, A. & Ebrahimi, T. 2008. Investigation antagonistic of azotobacter isolates causal agent of take-all in vitro condition. *Proceedings of 18th Iranian plant protection congress*, Pp.389.
- Mohammadi, S., Mansoori, B. & Zamanizadeh, H. R. 2009. Antagonistic mechanisms of *Trichoderma* spp. against *Rhizoctonia solani*, the causal agent of chickpea wet root rot disease. *J. Plant protection Journal*, Vol 1(1): 71-85.
- Madi, L., Katan, T., Katan, J. & Henis, Y. 1997. Biological Control of *Sclerotium rolfsii* and *Verticillium dahliae* by *Talaromyces flavus* is mediated by different mechanisms. *Phytopathology*, 87: 1054-1560.

- Martin, J., Leonard, H., Stamp, D.L., 1976. *Principles of field crop production*. 3rd edition. Collier Macmillan.
- Reyhanytabar, A., Salehrastin, N.M., Mohammadi, M., Alikhani, H.A. 2003. The occurrence and distribution of fluorescent *Pseudomonas* in wheatfield in Tehran province along with a study on their repressive effect against *Gaeumannomyces graminis* var. *tritici* causal agent of take-all. Iranian, Iranian Journal of Agricultural Science, 34(3): 571-78.
- Shirzad, A., Sharifitehrani, A., Behboodi, K., & Ahmadzadeh, M. 2008. The occurrence of fluorescent *Pseudomonas* in wheat field around Azarshahr Tabriz and study on their repressive effect against *Gaeumannomyces graminis* var. *tritici* causal agent of take-all. *Proceedings 18th Iranian plant protection congress, College of Agriculture, Bu-Ali Sina University Hamedan*, P. 248.
- Stromberg, E.L., Lacy, G.H. & Roberts, D.R. 1999. Evaluation of selected fungicide and bacterial (biological control) seed treatments to reduce incidence and severity of Take all in wheat under high yield management. Virginia Small Grains Board, Project Proposal Summary. Virginia.
- Simon, A. & Sivasithamparam, K. 1989. Pathogen suppression: a case study in biological suppression of *Gaeumannomyces graminis* var. *tritici* in soil. *Soil Biology and Biochemistry*, 21: 331-337.
- Tjamos, E.C., Papavizas, G. C. & Cook, R.J. 1992. *Biological Control of Plant Diseases. Progress and challenges for the future*. Plenum Press, New York.
- Vey, A., Hoag, I.R.E., Butt, T.M. 2001. Toxic metabolites of fungal biocontrol agents. pp. 311-346. In: Butt Jackson, C., & Magan, N (eds) *Fungi as biocontrol agents: Progress, problems and potential*. CAB International, Bristol.
- Weller, D.M., Cook, R.J. 1983. Suppression of take-all of wheat by seed treatments with fluorescent *pseudomonads*. *Phytopathology*, 73: 463-469.
- Yarham, D.J. 1981. Practical Aspects of Epidemiology and Control. pp 353-384. In: (Asher, M.J.C., and Shipton, P.J. Eds). *Biology and Control of Take-all*. Academic Press, London.