اثر غلظت‌های مختلف اسپور و طول دوره شبنم بر بیماری‌زایی قارچ‌های *Fusarium oxysporum* Schlecht. و *Alternaria alternata* (Fr.)keissl در کنترل بیولوژیک علف هرز تلخه

نیلوفر معاون[۱]، رضا قربانی[۲]، رویا رضائیان دلویی[۳]*

تاریخ دریافت:۱۳۹۲/۰۸/۰۷
تاریخ پذیرش:۱۳۹۲/۰۸/۱۱

چکیده

تلخه (*Acroptilon repensl*.) گیاهی چند ساله و مهاجم مهاجم با قابلیت رقابتی بسیار بالا است و یکی از مهم‌ترین علف‌های هرز مشکل‌ساز در دنیا می‌باشد. این مطالعه به‌منظور کنترل بیولوژیک تلخه با استفاده از قارچ‌های *Fusarium oxysporum* Schlecht. و *Alternaria alternata* (Fr.)keissl و تعیین غلظت مناسب در شرایط رطوبتی مطلوب جهت بررسی توسعه بیماری انجام شد. آزمایش در قالب طرح کاملا تصادفی با ٤ تکرار در سال ۱۳۹۰ صورت گرفت. در آزمایش اول به منظور تعیین بهترین غلظت سوسپانسیون حاوی اسپور تیمارها، غلظت‌های مختلف مایه تلقیح هر دو قارچ (10^{7}، 10^{6}،10^{5} و 10^{4} اسپور در یک میلی‌لیتر آب مقطر) در نظر گرفته شد. در آزمایش دوم تاثیر طول دوره شبنم (۳، ٦، ۱۲، ۲٤ و ٤۸ ساعت) بر بیماری‌زایی قارچ‌ها مورد بررسی قرار گرفت. نتایج نشان داد که افزایش غلظت سوسپانسیون حاوی اسپور و نیز طول دوره شبنم باعث بیماری‌زایی بیشتر شد. به‌علاوه غلظت‌های 10^{6} و 10^{7} و مدت زمان ٤۸ ساعت نقطه شبنم موثرترین تیمارها بودند. سوسپانسیون اسپور قارچ‌های *F.oxysporum* و *A.alternata* با غلظت 10^{7} در دوره شبنم ٤۸ ساعت، وزن خشک علف هرز تلخه را نسبت به شاهد به ترتیب ۷۲ و ٦۸ درصد کاهش دادند. هم‌چنین در تیمارهای مذکور سطح زیر منحنی پیشرفت بیماری نسبت به شاهد ۷۳ درصد و ٦۸ درصد افزایش داشت.

کلید واژه: سطح زیر منحنی پیشرفت بیماری، سوسپانسیون اسپور، گیاه مهاجم

۱- دانش‌آموخته کارشناسی ارشد اگرواکولوژی، دانشگاه آزاد اسلامی واحد مشهد
۲- استاد دانشکده کشاورزی دانشگاه فردوسی مشهد
۳- استادیار گروه زراعت و اصلاح نباتات دانشگاه آزاد اسلامی واحد مشهد
* نویسنده مسئول: royarezaiean@mshdiau.ac.ir

مقدمه

علف‌های هرز از دیربـاز به‌عنوان جزئی نامطلوب در بوم نظام‌های کشـاورزی شناخته شـده و باعث کاهش میزان محصول می‌شوند(۱۳). شاید بتوان کنترل شیمیایی انتخابی علف‌های هرز را مهم‌ترین پیشـرفت کشـاورزی در قرن بیستم به شمار آورد (۳). اما امروزه افزایش هزینه نهاده‌ها، کاهش دسترسـی بـه علف‌کش‌هـای جدیـد و مقاومت علف‌های هرز به این سموم، هم‌چنین افزایش فشار افکار عمومی بـرای محصولات کشـاورزی پایـدار و افزایش نگرانی‌ها از عوارض جانبی ناشـی از ترکیبات شـیمیایی بر سلامت انسـان‌ها و محیط‌زیست و تنوع زیستی تمایل شـدیدی برای توسـعه روش‌های جایگزین جهت کنترل علف‌های هرز به وجود آورده است. از جمله این روش‌ها می‌توان به کنترل بیولوژیکی اشاره کرد (۱۱ و ۲۲). کنترل بیولوژیک علف هرز استفاده آگاهانه از موجودات زنده به منظور کاهش بنیه، ظرفیت تولید مثلی و یا تراکم علف‌های هرز می‌باشد (۱۲).

علف هرز تلخه با نام علمی *Acroptilon repens* L. و نام انگلیسـی Russian knapweed یکی از گیاهان هرز چند ساله و مشکل‌سـاز از تیره کاسـنی *Asteraceae* می‌باشد (۲۷). این علف هرز بومی ایران، آسـیای صغیر، ارمنستان، ترکیه، ترکمنسـتان و مغولسـتان می‌باشـد و هم‌اکنون در بسـیاری از نقاط دنیا به چشـم می‌خـورد (۱۷). تلخه با تغییر شیمی خاک، افزایش فرسایش خاک، کاهش کیفیت علوفه، کاهش تنوع زیسـتی و جمعیـت حیات وحش به مراتـع و چمن‌زارهای مورد هجوم زیان می‌رسـاند (۱۹). حیوانـات چرنده عموما به خاطـر طعم تلخ از آن اجتناب می‌کنند(۲۷). تغذیه‌ی طولانـی مدت از این گیاه در تک سمی‌ها موجب شـکل‌گیری بیماری برگشت‌ناپذیر مغزی به نام انسفالومالاسی نیگروپالیدال[2] است که موجب از بین رفتن توانایی جویدن در دام می‌شود(۱).

کنتـرل شـیمیایی گیاه هـرز تلخه علاوه بر پـی آمدهای اکولوژیکی اغلب در مراتع مقرون به‌صرفه نیست.

روش‌های مکانیکی نیز تاثیر محدودی بر سیسـتم ریشه‌ای گسـترده تلخه دارد و می‌توانـد تاثیرات مخربی بر گیاهان غیرهدف داشته باشد(۱۸). سایر روش‌ها نیز گران و موقتی خوانده شـده‌اند (۲۷). لذا یافتـن عوامل کنترل بیولوژیک موثر و کارآمد ضروری به نظر می‌رسد. تلخه در سال ۱۹۹۲ به‌عنوان علف هرز هدف برای کنترل بیولوژیک کلاسـیک معرفی شـد(۲۰). هم‌چنین به‌عنـوان یکی از ده علف هرز سـمی برتر در کانادا و امریکا، یکی از اولویت‌های کنترل زیستی نیز معرفی شده است (۲٤).

تاکنون دشمنان طبیعی گوناگونی که این گیاه را مورد حمله قرار می‌دهند شناسـایی شـده‌اند با این‌حال بسیاری از آنها برای رهاسـازی مورد نظر قرار نگرفته‌اند(۲۷). حشرات و عوامل بیماری‌زایی که در ارتباط تنگاتنگ با تلخه مشـاهده شـده‌اند عبارتند از: کنه گالزای *Aceria acroptiloni* ، کنه *Aceria sobhiani*، مگس‌هـای گالـزای *Dasineura sp.*، *Urophora kasachstanica*، *Urophora xanthippe*، سوسـک برگ‌خـوار *Galeruca interrupta armenica*، زنبـور گالـزای *Aulucidea acroptilonica*، پشـه گالزای *Jaapiella ivannikovi*، سوسـک ساقه‌خوار *Agapanthia leucaspis*، بید سـاقه‌خوار *Depressaria squamosa*، سر خرطومـی *Pseudorchestes distans*، پشـه *Loewiola acroptilonica* و قارچ عامل زنگ ساقه و برگ *Puccinia picridis*، نماتد گالزا با نام *Subanguina picridis* (۱٦) و قـارچ *Phoma exigua var exigua* (۹،۱۸). هم‌چنین یک گونه آلوده‌کننده ریشه به نام *Cochylimorpha nomadana* گزارش شـده که توانایی کنترل بیولوژیک عوامل بیماری‌زا را دارد (۲۷).

افزایش غلظت عامل بیماری‌زا و افزایش آب آزاد در سطح اندام‌های گیاهان و رطوبت داخل بافت‌های گیاهان میزبان سـبب افزایش شـدت بیماری‌زایی و افزایش حساسـیت آنهـا به برخی از بیمارگرها می‌شـود (۸). برای گسـترش بیمـاری در علف هرز هـدف، میزان کافـی از اندام‌های تولید مثلی (اسپورها وقطعات میسیلیویی) عامل بیوکنترل در سـطح گیاه ضروری اسـت. از طرف دیگر اسپورها یا میسـیلیوم‌های بیشتر عوامل بیماری‌زا برای تندش، نفوذ و آلودگـی در میزبان، بـه یک دوره‌ای کـه در آن یک لایه نـازک آب یا رطوبـت آزاد، که معمولا به‌طـور طبیعی از طریق شـبنم تامین می‌شـود(۱۵)، روی گیاه وجود داشته باشـد، نیـاز دارند. بنابرایـن، هدف از انجـام این تحقیق ارزیابـی غلظت‌های مختلف و طول دوره وقوع شـبنم بر میزان بیماری‌زایی قارچ‌هـای *Fusarium oxysporum* و *Alternaria alternata* جداسـازی شـده از روی تلخـه به‌عنوان عامل کنترل بیولوژیک می‌باشد.

مواد و روش‌ها

تهیه و پرورش بوته‌های تلخه

برای این مطالعه ریشـه‌های تلخه از روستای کلاته شیخ‌ها واقـع در چناران در سـال ۱۳۹۰-۱۳۹۱ جمع‌آوری شـد. ریشـه‌های تلخـه از داخل خاک جمـع‌آوری و به گلخانه جهـت انجام آزمایش منتقل گردیدند. قطعاتی از ریشـه به

[2] Nigropallidal encephalomalacia

طول ۲۰ سانتی‌متر و قطر یکسان که دارای ۲ تا ۳ جوانه بودند انتخاب گردیده و در گلدان‌هایی به قطر ۲۰ و ارتفاع ۲۰ سانتی‌متر که حاوی مخلوطی از خاک زراعی و ماسه بودند به حالت افقی و در عمق ٤ سانتی‌متری خاک کشت شدند. در هر گلدان ۲ قطعه از ریشه‌ها قرار داده شد. پس از جوانه زدن و روئیدن بوته‌ها در سطح خاک، تنها یک بوته در هر گلدان نگه داشته شد و بقیه بوته‌ها حذف شدند.

جداسازی قارچ *F. oxysporum* و *A. alternata*

به منظور یافتن عامل کنترل بیولوژیکی موثر، گیاهان تلخه‌ای که دارای علایم زردی، نکروزه و لکه برگی بودند، طی ۲۰ بار نمونه‌برداری از رویشگاه‌های طبیعی تلخه و کشتزارهای آلوده به آن در چناران و مشهد جمع‌آوری شدند. نمونه‌ها بلافاصله به آزمایشگاه منتقل و با استفاده از محلول هیپوکلریت سدیم[3] ۱ درصد ضدعفونی شدند و داخل پتری‌های حاوی محیط کشت PDA کشت داده شدند (۷). از هر یک از پرگنه‌های رشد یافته کشت فرعی[4] تهیه گردید (٦و۷)، سپس با استفاده از روش تک اسپور در محیط آب-آگار، مرحله نهایی خالص‌سازی انجام شد (۵). در نهایت کشت‌های خالصی از عوامل بیماری‌زا تهیه گردید که شامل یک جدایه قارچ فوزاریوم و یک جدایه قارچ آلترناریا بود. شناسایی جدایه‌ها تا سطح گونه در گروه گیاه‌پزشکی دانشکده کشاورزی دانشگاه فردوسی مشهد انجام شد.

بررسی اثر غلظت‌های مختلف قارچ *F. oxysporum* و *A. alternate* بر بیماری‌زایی روی تلخه

برای تهیه مایه قارچ فوزاریوم از کشت پنج روزه *F. oxysporum* در محیط کشت PDA بلوکی به ابعاد ۵ میلی‌متر به ویال‌های حاوی محیط کشت مایع PDB منتقل شد و به مدت سه روز بر روی دستگاه شیکر با سرعت ۹۰ دور در دقیقه در آزمایشگاه با دمای ۲± ۲٤ درجه سانتی‌گراد به هم زده شد. به منظور تهیه سوسپانسیون اسپور و حذف میسلیوم‌ها و مواد زاید، محتویات هر کدام از ویال‌ها از پارچه ململ سترون عبور داده شد. ضمنا ۰/۵ درصد توئین[5] ۲۰ به عنوان ماده امولسیون به هر جدایه اضافه شد(٦). برای تهیه مایه تلقیح جدایه‌های آلترناریا، از هر جدایه چند پتری کشت خالص در محیط PDA تهیه شد. سپس ۵-۱۰ میلی‌لیتر محلول رقیق شده Tween 20 در هر پتری حاوی قارچ ریخته و با لوپ استریل سطح قارچ‌ها به آرامی خراش‌دهی شد و اسپورها جداسازی شدند. سپس مخلوط حاصل از پارچه ململ استریل عبور داده شد (۷).

برای تعیین بهترین غلظت سوسپانسیون حاوی اسپورهای قارچ به‌منظور بیماری‌زایی بر تلخه، آزمایشی در قالب طرح کاملاً تصادفی با ٤ تکرار انجام گرفت. در این آزمایش اثر چهار غلظت (10^7، 10^6،10^5 و 10^4 اسپور در یک میلی‌لیتر آب مقطر) جدایه‌های منتخب بر روی گیاهان تلخه در دمای ۲۵ درجه سانتی‌گراد و نقطه شبنم ٤۸ ساعت مورد بررسی قرار گرفت. شمارش اسپورها با استفاده از لام هماسیتومتر صورت گرفت تا غلظت مورد نظر سوسپانسیون به‌دست آید.

به مدت یک ماه گیاهان تیمار شده مورد بررسی قرار گرفتند و ارزیابی میزان بیماری‌زایی جدایه‌های قارچی روی گیاهان تیمار شده براساس روش شماره‌دهی به‌ترتیب از صفر تا ۵ برای در صد بیماری کم تا شدید انجام شد. سیستم شماره‌دهی بدین صورت بود که ۰= عدم بیماری، ۱= ۲۵-۱درصد آلودگی، ۲= ۵۰-۲٦ درصد آلودگی، ۳= ۷۵-۵۱ درصد آلودگی، ٤= ۹۷-۷۵ درصد و ۵= ۹۹ درصد آلودگی یا مرگ گیاه (٦). هم‌چنین اقدام به اندازه‌گیری و مقایسه وزن خشک گیاهان تیمارهای مختلف شد. به‌علاوه با محاسبه سطح زیر منحنی پیشرفت بیماری (AUDPC[6])، روند توسعه آلودگی در طول زمان برای هر تیمار براساس فرمول زیر تعیین شد (۲ و ۲۱).

$$AUDPC = \Sigma_{i=1}^{n-1} [(X_i + X_{i+1})(t_{i+1} - t_i)/2]$$

که در آن Xi درصد آلودگی به بیماری در مشاهده اول، Xi+1 در صد آلودگی به بیماری در مشاهده دوم، ti زمان یادداشت‌برداری در مشاهده اول، ti+1 زمان یادداشت برداری در مشاهده دوم، n تعداد کل مشاهدات بود.

stAUDPC[7] نیز از طریق تقسیم مقدار AUDPC بر تعداد روزهای بین شروع اپیدمی و پایان آن محاسبه شد.

$$stAUDPC = AUDPC/ \text{ duration of epidemic}$$

تاثیر طول دوره شبنم بر بیماری‌زایی قارچ *F.oxysporum* و *A.alternate*

جهت بررسی اثر نقطه شبنم بر روند بیماری‌زایی قارچ (آلترناریا و فوزاریوم)، آزمایشی در قالب طرح کاملا تصادفی با ٤ تکرار انجام شد. تیمارها شامل دوره‌های زمانی مختلف نقطه شبنم (۳، ٦، ۱۲، ۱۸، ۲٤ و ٤۸ ساعت) بودند. بهترین غلظت تعیین شده برای هر یک از جدایه‌های قارچ‌ها روی تلخه اعمال شد. بلافاصله بعد از تلقیح قارچ، روی گلدان‌ها با پوشش پلاستیکی پوشانده شد و پیش از محصور کردن گلدان‌ها توسط این پوشش با اسپری آب درون فضای

[3] NaClO
[4] Subculture
[5] Polysorbate 20 (commercially known as Tween 20)
[6] Area under disease progress curve
[7] standardized area under the disease progress curve

میان گیاه و روکش پلاستیکی، رطوبت گلدان افزایش یافت و رطوبت آن به بالای ۸۰ درصد رسید. پس از سپری شدن مدت زمان‌های لازم برای نقطه شبنم، گلدان‌ها به گلخانه با دمای ۲۵ درجه سانتی‌گراد و رطوبت ٦۰ درصد منتقل شدند. سپس بیماری‌زایی با استفاده از اندازه‌گیری وزن خشک و محاسبه سطح زیر منحنی پیشرفت بیماری مورد بررسی قرار گرفت. پس از پایان آزمایش‌های مقدماتی، جدایه‌های برتر، مجدداً جداسازی و خالص‌سازی شده و با نمونه‌های اولیه مورد مقایسه قرار گرفتند.

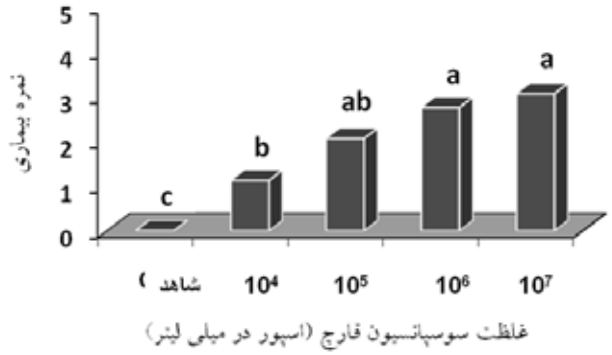
محاسبات آماری و تجزیه و تحلیل

جهت انجام محاسبات آماری، از نرم‌افزار SAS ver.9.1 استفاده شد. میانگین‌ها با استفاده از آزمون چند دامنه‌ای دانکن درسطح احتمال ۱ درصد مورد مقایسه آماری قرار گرفتند. نمره بیماری کسب شده در رابطه با هر یک از تیمارها با استفاده از آزمون غیرپارامتری کروسکال–والیس[8] و نرم‌افزار MINITAB ver.13.1 مورد مقایسه قرار گرفت. رسم نمودارها با استفاده از نرم افزار Excel 2007 انجام شد.

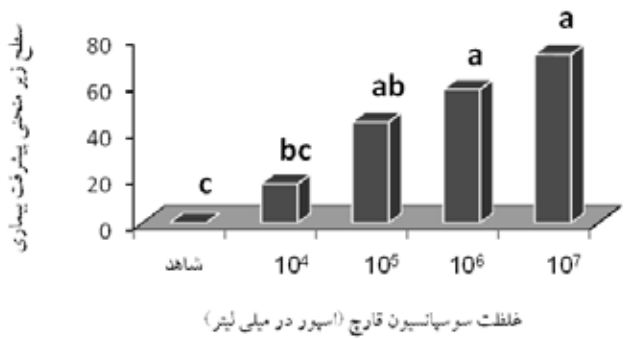
نتایج و بحث

بررسی اثر غلظت‌های مختلف قارچ *F. oxysporum* بر بیماری‌زایی روی تلخه

در این آزمایش، نمره بیماری کلیه تیمارها با شاهد در سطح ۱ درصد اختلاف معنی‌دار داشتند($P<0/01$ و $H=/64$۱۵). بیشترین بیماری‌زایی، مربوط به غلظت 10^7 با نمره ۳/۰٦ (گستره ۵۱–۷۵ درصد آلودگی) بود. همان‌طور که در شکل ۱ مشاهده می‌شود تفاوت معنی‌داری بین بیماری‌زایی غلظت‌های 10^6 و 10^7 براساس مقیاس نمره‌دهی وجود نداشت. به‌علاوه افزایش غلظت بر روند توسعه آلودگی در طول زمان موثر است. بیشترین سطح زیر منحنی پیشرفت بیماری مربوط به تیمار 10^7 می‌باشد، در حالی که تیمار 10^4 و تیمار شاهد اختلاف معنی‌داری در این خصوص نشان نمی‌دهند(شکل ۲). دراین آزمایش اثر غلظت‌های 10^7، 10^6 و 10^5 سوسپانسیون اسپورهای فوزاریوم بر وزن خشک تلخه در مقایسه با تیمار شاهد تفاوت معنی‌داری را نشان می‌دهد ($p<0/01$). با توجه به شکل ٦، بین دو تیمار 10^7 و 10^6 تفاوت معنی‌داری وجود ندارد. غلظت 10^7 وزن خشک را نسبت به شاهد ۷۲ درصد و غلظت 10^6، ٦٦ درصد کاهش داد (شکل ۳).

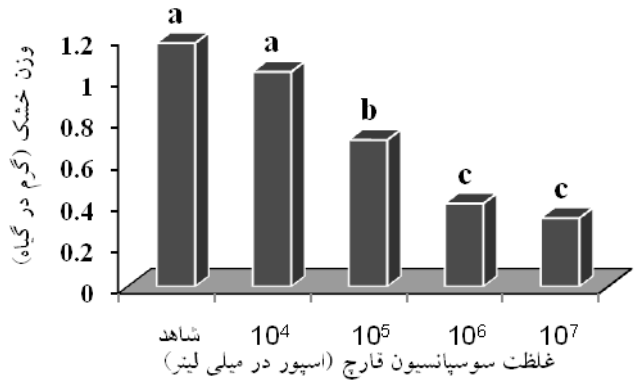


شکل ۱. مقایسه نمره بیماری غلظت‌های مختلف F. oxysporum. هر میانگین حاصل ٤ تکرار بوده و حروف متفاوت بیانگر تفاوت معنی‌دار میانگین‌ها براساس آزمون دانکن در سطح ۱٪ می‌باشند. در سیستم نمره‌دهی ۰= عدم بیماری، ۱= ۲۵–۱ درصد آلودگی ، ۲= ۵۰–۲٦ درصد آلودگی، ۳= ۷۵–۵۱ درصد آلودگی، ٤= ۹۷–۷۵ درصد و ۵= ۹۹ درصد آلودگی (مرگ گیاه)



شکل ۲. اثر غلظت‌های مختلف F. oxysporum بر سطح زیر منحنی پیشرفت بیماری. هر میانگین حاصل ٤ تکرار بوده و حروف متفاوت بیانگر تفاوت معنی‌دار میانگین‌ها بر اساس آزمون دانکن در سطح ۱٪ می‌باشند.

[8] *Kruskal-Wallis test*



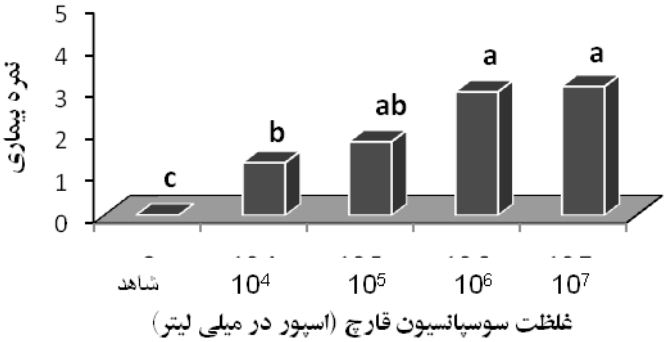
شکل ۳. اثر غلظت‌های مختلف *F. oxysporum* بر وزن خشک هر گیاه هرز تلخه. هر میانگین حاصل ٤ تکرار بوده و حروف متفاوت بیانگر تفاوت معنی‌دار میانگین‌ها بر اساس آزمون دانکن در سطح ۱٪ می باشند.

بررسی اثر غلظت‌های مختلف قارچ *Alternaria alternata* بر بیماری‌زایی روی تلخه

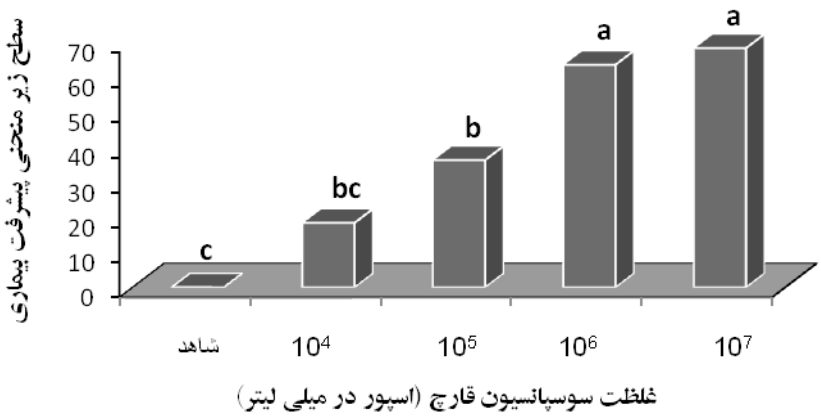
در رابطه با آلترناریا، نتایج آزمایش نشان داد که کلیه تیمارها با شاهد از نظر بیماری‌زایی در سطح ۱٪ اختلاف معنی‌دار دارند (P<۰/۰۱ و H= ۱٦/۳۲). هم‌چنین اگر چه غلظت 10^4 بر سطح زیر منحنی پیشرفت بیماری نسبت به شاهد تفاوت معنی‌داری را ایجاد نمی‌کند، غلظت 10^7 سبب افزایش stAUDPC تا ٦٨ درصد می‌شود (شکل ٥).

توجه به شکل ٦ نشان می‌دهد که وزن خشک کلیه تیمارها به‌غیر از تیمار 10^4 با شاهد اختلاف معنی‌دار داشتند و با افزایش غلظت سوسپانسیون تلقیح، وزن خشک گیاه کاهش بیشتری یافت. در تیمار 10^7، کاهش وزن خشک تلخه در مقایسه با شاهد ٦٨ درصد ارزیابی شد. غلظت‌های 10^6 و 10^7 آلترناریا در هر سه پارامتر نمره بیماری (شکل٤)، سطح زیر منحنی پیشرفت بیماری (شکل ٥) و وزن خشک گیاه تلخه (شکل ١٦) با یکدیگر تفاوت معنی‌داری را نشان نمی‌دهند لذا می‌توان این گونه نتیجه گرفت که برای بیماری‌زایی مطلوب بر تلخه با استفاده از این قارچ حداقل به غلظت 10^6 اسپور نیاز است.

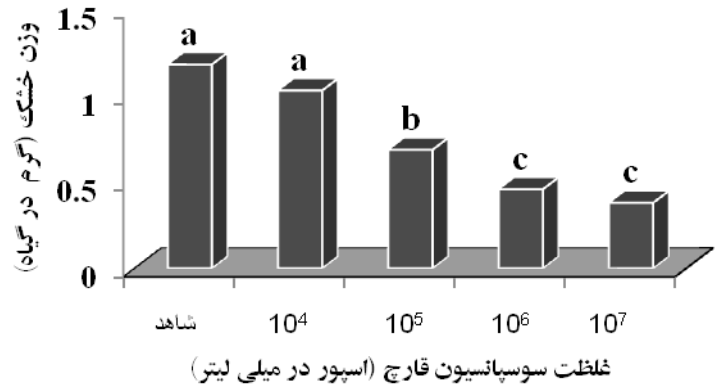
به‌طور کلی یک رابطه معکوس بین غلظت سوسپانسیون قارچ و وزن خشک تلخه وجود دارد و با افزایش غلظت اسپور قارچ در میلی‌لیتر، وزن خشک تلخه به شدت کاهش می‌یابد که دلیل آن می‌تواند افزایش توان آلوده‌سازی قارچ و اختلال در فتوسنتز و سیستم سوخت وساز تلخه باشد که منجر به کاهش ماده خشک تولیدی می‌شود.



شکل٤. مقایسه نمره بیماری غلظت‌های مختلف *A.alternata*.هر میانگین حاصل ٤ تکرار بوده و حروف متفاوت بیانگر تفاوت معنی‌دار میانگین‌ها براساس آزمون دانکن در سطح ۱٪ می‌باشند. در سیستم نمره‌دهی ۰= عدم بیماری، ۱= ۲۵-۱ درصد آلودگی ، ۲= ۵۰-۲٦ درصد آلودگی، ۳= ۷۵-۵۱ درصد آلودگی، ٤= ۹۷-۷۵ درصد و ٥= ۹۹ درصد آلودگی (مرگ گیاه)



شکل۵. اثر غلظت‌های مختلف *A.alternata* برسطح زیر منحنی پیشرفت بیماری. هر میانگین حاصل ٤ تکرار بوده و حروف متفاوت بیانگر تفاوت معنی دار میانگین‌ها براساس آزمون دانکن در سطح ۱٪ می‌باشند.

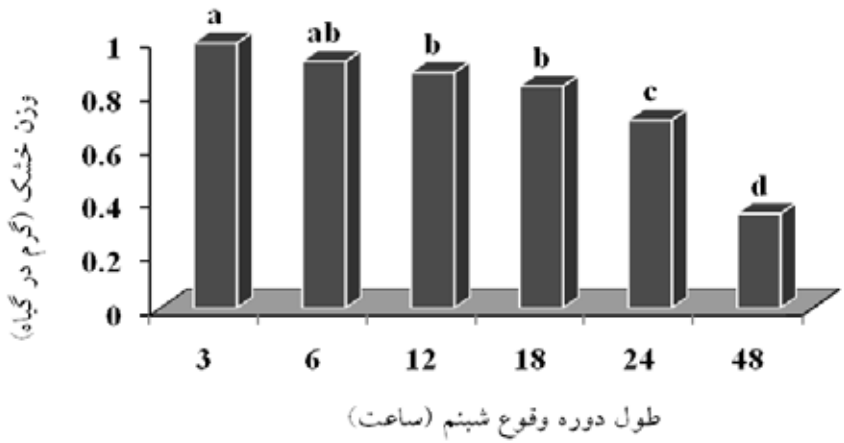


شکل ٦. اثر غلظت‌های مختلف *A.alternata* بر وزن خشک گیاه هرز تلخه. هر میانگین حاصل ٤ تکرار بوده و حروف متفاوت بیانگر تفاوت معنی‌دارمیانگین‌ها براساس آزمون دانکن در سطح ۱٪ می‌باشند.

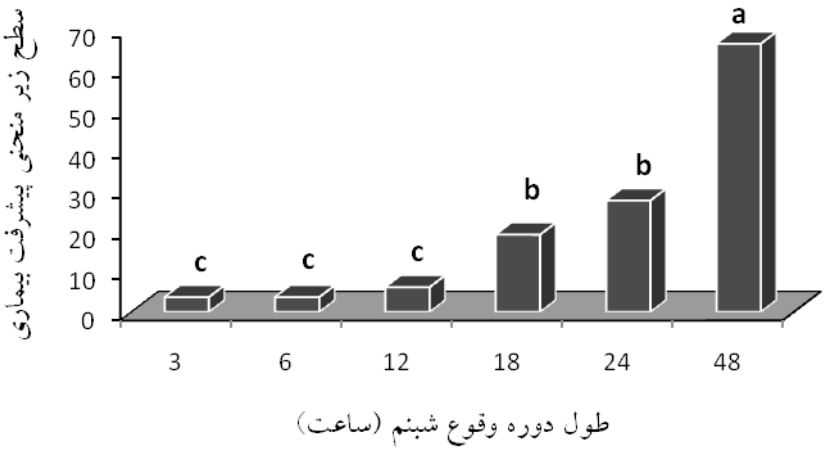
زید علی (٤) گزارش کرد که میزان تولید ماده خشک علف هرز پیچک صحرایی نسبت به افزایش غلظت اسپور قارچ در دامنه 10^4 تا 10^6 واکنش شدیدی نشان داد، به‌طوری‌که افزایش غلظت اسپور در این دامنه سبب کاهش چشمگیر ماده خشک علف هرز پیچک شد. تان و همکاران (۲۵) نیز در تحقیقات خود پیرامون کنترل *Alternanthera philoxeroides* با سویه ای از قارچ *Fusarium oxysporum* بیان کردند که شدت بیماری با افزایش غلظت سوسپانسیون قارچ افزایش یافت.

تاثیر طول دوره شبنم بر بیماری‌زایی *F.oxysporum* روی تلخه

نتایج حاصل از این آزمایش نشان می‌دهد که با افزایش طول دوره شبنم وزن خشک گیاه تلخه بیشتر کاهش می یابد. بین تیمارهای ٦ ساعت، ۱۲ ساعت و ۱۸ ساعت تفاوت معنی‌داری وجود ندارد اما ٤۸ ساعت دوره زمانی نقطه شبنم، وزن خشک تلخه را به‌شدت کاهش می‌دهد (شکل ۷). هم‌چنین شکل ۸ نشان می‌دهد که روند بیماری نسبت به زمان (AUDPC) با افزایش ساعات نقطه شبنم بهبود پیدا می‌کند، به طوری‌که تیمار ٤۸ ساعت (stAUDPC= ٦٦/۳٦) تفاوت معنی‌داری با کلیه تیمارها نشان می‌دهد.



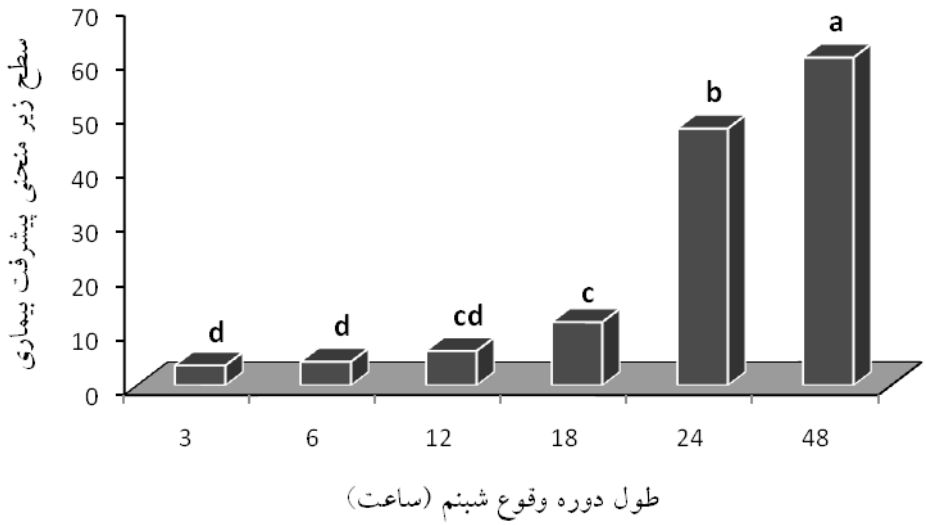
شکل ۷. تاثیر طول دوره نقطه شبنم بر وزن خشک علف هرز تلخه تیمارشده به‌وسیله *F.oxysporum*.هر میانگین حاصل ٤ تکرار بوده و حروف متفاوت بیانگر تفاوت معنی‌دارمیانگین‌ها براساس آزمون دانکن در سطح ۱٪ می‌باشند.



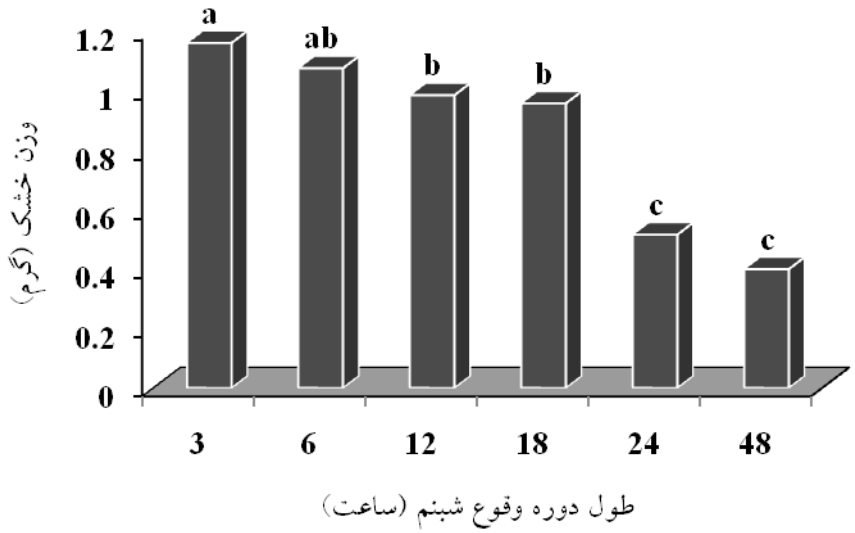
شکل۸ . تاثیر طول دوره نقطه شبنم بر سطح زیر منحنی پیشرفت بیماری ناشی از *F.oxysporum* روی گیاه تلخه. هر میانگین حاصل ٤ تکرار بوده و حروف متفاوت بیانگر تفاوت معنی‌دارمیانگین‌ها براساس آزمون دانکن در سطح ۱٪ می‌باشند.

تاثیر طول دوره شبنم بر بیماری‌زایی *Alternaria alternata* روی گیاه هرز تلخه

نتایج به‌دســت آمده از این بررسی(شکل‌های ۹ و ۱۰) موید این مطلب اســت که با افزایش مدت زمان نقطه شبنم اعمال شده میزان بیماری‌زایی آلترناریا روی گیاه هرز تلخه افزایش یافته اســت. روند توسعه آلودگی نســبت به زمان با افزایش مدت نقطه شبنم گسترش یافته به‌طوری‌که تیمار ٤٨ ساعت با بیشترین سطح زیر منحنی پیشرفت بیماری تفاوت معنی‌داری را نسبت به سایر تیمارها نشان می‌دهد. با افزایش مدت زمان ماندگاری در نقطه شــبنم وزن خشک گیاه هرز تلخه کاهش می‌یابد. به‌طوری‌که وزن خشــک در تیمار ٤٨ ســاعت، ٣٤ درصد کاهش نسبت به تیمار ۳ ساعت نشان می‌دهد.



شکل ۹. تاثیر طول دوره نقطه شبنم بر سطح زیر منحنی پیشرفت بیماری ناشی *Alternaraia alternate* روی گیاه تلخه. هر میانگین حاصل ٤ تکرار بوده و حروف متفاوت بیانگر تفاوت معنی‌دارمیانگین‌ها براساس آزمون دانکن در سطح ۱٪ می‌باشند.



شکل ۱۰. تاثیر طول دوره نقطه شبنم بر وزن خشک گیاه هرز تلخه تیمار شده به وسیله *Alternaraia alternata* هر میانگین حاصل ٤ تکرار بوده و حروف متفاوت بیانگر تفاوت معنی‌دار میانگین‌ها براساس آزمون دانکن در سطح ۱٪ می‌باشند.

سـیدیکوی و همکاران (۲۳) نشـان دادند که غلظت 10^{7} قارچ *Alternaria alternata* در دوره شـبنم ۲٤ سـاعت سـبب مرگ ۱۰۰ درصد گیاهچه‌هـای علف هرز *Rumex dentatus* شد. هم‌چنین بهترین دوره شبنم مورد نیاز برای بیماری‌زایی قارچ *F.oxysporum*، مدت زمان ۱۸ سـاعت نقطه شـبنم می‌باشـد که منجر به کاهش بیوماس سس به میزان ۳۲/۹ درصد شـد. به‌علاوه قـارچ *Alternaria sp.* برای بیماری‌زایی نیاز به نقطه شـبنم بیش از ۱۸ سـاعت دارد تا کاهـش بیوماس حداکثر ۳۱/۷۵ درصد در سـس ایجاد کند(۷).

بـا توجه به گسـتردگی انواع علف‌های هـرز و زیان‌های عمده‌ای که در تولید محصولات کشاورزی وارد می‌کنند، برنامه‌ریـزی جهت اسـتفاده از قارچ‌ها در تولید بیماری و کنترل آن‌ها رو به افزایش اسـت. بدیهی است باید افزایش این قارچ‌ها در طبیعت برای محیط‌زیست سلامت به‌همراه داشته، اقتصادی بوده و پایداری و دوام آن زیاد باشد (۵). بسیاری از انواع قارچ فوزاریوم و آلتر ناریا دارای فرم‌های اختصاصی هستند که روی میزبان‌های خاص بیماری‌زایی

دارند و تخصص میزبانی آن‌ها متفاوت است. به‌عنوان مثال می‌توان به استفاده از گونه *F.oxysporum* برای کنترل گل جالیز یا به کاربردن Alternaria cassia برای کنترل *Senna obtusifolia* در مزارع سویا در برزیل اشاره کرد(۱۰). به‌کارگیری جدایه ای از *F.oxysporum* به‌صورت فرمولاسیون گرانول علیه علف هرز انگل جادوگر (*Striga spp.*) منجر به معرفی این قارچ به‌عنوان یک عامل کنترل بیولوژیک شد (۱٤).

با توجه به آزمایشات انجام شده جدایه‌های *F. oxysporum* و *A.alternata* جدا شده از گیاه تلخه به‌طور قابل‌توجهی قادر به ایجاد آلودگی روی این گیاه هرز هستند. با افزایش غلظت اسپور و افزایش طول وقوع دوره شبنم بر بیماری‌زایی و سطح زیرمنحنی پیشرفت بیماری افزوده می‌شود و وزن خشک به‌شدت کاهش می‌یابد. در نتیجه این دوگونه توانایی بالقوه جهت کنترل بیولوژیک تلخه را دارند، اما برای استفاده موثرتر از آن‌ها بایستی تحقیقات بیشتر به منظور بررسی تاثیر سایر شرایط محیطی از جمله دما بر بیماری‌زایی و هم‌چنین تعیین دامنه میزبانی صورت گیرد.

سپاسگزاری

از جناب آقای دکتر حمید روحانی استاد محترم گروه گیاه پزشکی دانشکده کشاورزی دانشگاه فردوسی مشهد برای شناسایی نمونه‌های قارچی تشکر و قدردانی می‌گردد.

منابع

۱. اصلانی، م. ر. ۱۳۸۳. گیاهان سمی ایران و مسمومیت آنها در دام‌ها. انتشارات دانشگاه فردوسی مشهد.

۲. حاجیان‌فر، ر. و ع. زربخش. ۱۳۸۹. ارزیابی واکنش برخی ارقام و ژنوتیپ‌های گوجه‌فرنگی نسبت به *Alternaria tenuissima* عامل بیماری لکه موجی. مجله علمی- پژوهشی علوم کشاورزی دانشگاه آزاد اسلامی واحد تبریز، ۱۳ :٦۲ تا ۷٤.

۳. راشد محصل، م. ح. و ک. موسوی، ۱۳۸۵. اصول مدیریت علف‌های هرز (ترجمه). انتشارات دانشگاه فردوسی.

٤. زید علی، ا. ۱۳۸٦. کنتری زیستی پیچک صحرایی(*Convolvulus arvensis*) توسط پاتوژن‌های آنتاگونیست گیاهی. پایان‌نامه کارشناسی ارشد. دانشکده کشاورزی دانشگاه فردوسی مشهد.

۵. صارمی، ح. و ا. زند. ۱۳۸۲. قارچ‌ها و کنترل بیولوژیک. انتشارات دانشگاه زنجان.

٦. فلاح‌پور، ف. ۱۳۸۹. بررسی امکان کنترل زیستی انگل سس (*Cuscuta compestris*) به‌وسیله عوامل بیماری‌زای قارچی. پایان‌نامه کارشناسی ارشد. دانشکده کشاورزی دانشگاه فردوسی مشهد.

۷. گنجی، ع. ۱۳۹۰. امکان کنترل بیولوژیک گیاه انگل سس توسط عوامل بیماری‌زای گیاهی، پایان‌نامه کارشناسی ارشد. دانشکده کشاورزی دانشگاه آزاد اسلامی واحد مشهد.

۸. مهرآوران، ح. ۱۳۷٦. آسیب‌شناسی گیاهی(جلد ۱)، کلیات بیماری‌شناسی و آسیب‌های زیست‌محیطی. انتشارات دانشگاه ارومیه.

9. Berner, D., T. Souissi, E. Smallwood, C. Cavin, F. Eskandari, B. Tunai, O. Buyuk, O. Yildrim, A. Mukhina, Z. Kolomiets, T. Matveeva, D. Bogomas, D. Kassannelli, D. Mejri, K. Latiri, J. Kashefi and A. Logopodi. 2011. Mutual benefits through formalized international collaboration on biological control of weeds with plant pathogens. Tunis Plant Prot. 6: 49-74.

10. Charudattan, R. 2001. Biological control of weeds by means of plant pathogens: Significance for integrated weed management in modern agro-ecology. Bio control. 46: 229-260

11. Conley, S.P., L.K. Binning, R. Timothy and T.R. Connell. 2001. Effect of cultivar, row spacing, and weed management on weed biomass, potato yield, and net crop value. Am. J. Potato Res. 78: 31-37.

12. Cuda, J.P., R. Charudattan, M.I. Grodowitz, R.M. Newman, J.F. Shearer, M.L. Tamago and B. Villegas. 2008. Recent Advances in biological control of submersed Aquatic weeds. J. Aquat. Plants Manage. 46: 15-30

13. Delafuente, E.B., S.A. Suarel and C.M. Ghersa. 2006. Soybean weed community composition and richness between 1995 and 2003 in the Pampas (Argentina). Agr. Ecosys. Envir on. 115: 229-236.
14. Ellzein, A., J. Kroscher and D. Muller-Stover. 2004. Effects on inoculum type and propagule concentration on shelf life of pesta formulation containing Fusarium *oxysporum*, a potential mycoherbicide agent for *striga* spp. Biol Control. 30: 203-277.
15. Ghorbani, R., C. Leifert and W. Seel. 2005. Biological control of weeds with antagonistic plant pathogens. Adv. Agron. 86:191-225.
16. mHarris, P. and J.D. shorthouse, 1996. Effectiveness of gall inducers in weed biological control. Can. Entomol. 128:1021-1055.
17. Jacobs, J. and K. Denny. 2006. Ecology and management of Russian knapweed [Acroptilon repens (L.) DC]. Natural Resources Conservation Service. Invasive Species Technical note No. MT-7.
18. Johnson, R.S. 2008. Field Release of Aulacidea acroptilonica, an Insect for Biological Control of Russian Knapweed (*Acroptilon repense*), in the Continetal United States. USDA.
19. Mealor, B.A. and A.L. Hild. 2006. Potential selection in native grass populations by exotic invasion. Mol. Ecol. 15: 2291-2300.
20. Quimby, P.C. 1995. An overview of federal research on biological control of weeds in Northern Plain area of the United States of America. Proceeding of the 8th International Symposium on Biological Control of Weeds. 2-7 February 1992. lincoln University, Canterbury, New Zealand, Delfosse, E.S. and R.R. Scoh (Eds). DSIR/CSIRO, Melborn. p475
21. Schepers, H.T.A.M., R. Bain, H. Hausladen, B.J. Nielsen, H.G. Spits, W. Van den Bery and A. Evenhuis. 2009. Fungicide evaluation to rate efficacy to control leaf late blight for euroblight table result 2006-2009. Leystad: PSG/PPO-AGV.P31.
22. Schroeder, D. 1992. Biological control of weeds: a review of principles and trends. Pesquisa Agropecu. Bras. 27: 191-212.
23. Siddiqui, I., R. Bajwa and A. Javaid. 2009. Some factors affecting the pathogenicity of Alternaria *alternata against* the weed *Rumex dentatus*. Philipp. Agric. Sci. 92: 282-289
24. Skinner, K., L. Smith and P. Rice. 2000. Using noxious weed lists to prioritize targets for developing weed management strategies. Weed Sci. 48: 640-644.
25. Tan, T.Z., Q.I. Li and L. Qing. 2002. Biological control of alligator weed (*Alternanthera philoxeroides*) with a Fusarium sp. Bio Control. 47: 463-479.
26. USDA (United States Department of Agriculture). 2008. Control of Russian Knapweed, Federal Register. 73:165.
27. Wager-Page, S.2009 . Field Release of *Jaapiella ivannikavi* (Diptera: Cecidomyiidae), an Insect for Biological Control of Russian knapweed (*Acroptilon repens*), in the Continental United States. Plant Protection and Quarantine Animal and Plant health Inspection Service U.S. Department of Agriculture.
28. Watson, A. K. 1980. The biology of Canadian weeds. 43. *Acroptilon (Centaurea) repens*. Can. J. Plant Sci. 60: 993-1004.