مجله پژوهش علف‌های هرز
جلد ۲، شماره ۲، تابستان ۱۳۸۹
صفحات ۵۹-۴۳

کنترل بیولوژیکی گیاه عروسک پشت پرده (*Physalis divericata* L.) به وسیله عوامل بیماریزای گیاهی در استان لرستان

Biological control of *Physalis divericata* by plant pathogens in Lorestan province

مصطفی درویش‌نیا[1*]، احسان‌اله زیدعلی[2]، نادر آزادبخت[3]، فاطمه درویش‌نیا[4]، فرید گل‌زردی[5]

چکیده:

به منظور یافتن عامل کنترل بیولوژیکی مناسب جهت کنترل گیاه هرز عروسک پشت پرده، درسال ۸۸-۱۳۸۷ بوته‌های دارای علائم آلودگی به عوامل قارچی گردآوری و به آزمایشگاه منتقل گردیدند. نمونه‌ها بلافاصله پس از انتقال به آزمایشگاه روی محیط PDA کشت داده شدند. عوامل بیماری‌زا با استفاده از محیط‌های PCA و V-8 و بر اساس کلیدهای معتبر دو گونه *Alternaria alternata* و *Fusarium* sp. شناسایی گردیدند. قارچ‌های شناسایی شده بر روی مراحل مختلف رشدی گیاه هرز عروسک پشت پرده (برگ لپه‌ای، ٤، ٦ و ۱۱-۹ برگی) و گیاهان زراعی لوبیا، ذرت، چغندر قند و سویا جهت آزمون ایمنی در شرایط گلخانه و همچنین غلظت‌های ۱۰۵، ۱۰٦، ۱۰۷ و ۱۰۸ اسپور در میلی لیتر آب مقطر در قالب طرح کاملا تصادفی با ٤ تکرار مایه زنی شدند. نتایج نشان داد که جدایه A6 قارچ *Alternaria alternata* نسبت به قارچ *Fusarium* sp. قدرت بیماری زایی بیشتری دارد. بین مراحل مختلف رشدی، مرحله ٦ برگی گیاه هرز عروسک پشت پرده و غلظت ۱۰۸ اسپور در میلی لیتر آب مقطر بیشترین آلودگی را نشان داد. علاوه بر آن اثری مبنی بر بیماری زایی بر روی گیاهان زراعی غیر هدف موجود در آزمایش وجود نداشت.

واژه‌های کلیدی: کنترل بیولوژیک، عروسک پشت پرده، خالص سازی، مراحل رشدی، آزمون ایمنی

مقدمه

حدود سی هزار گونه گیاهی به عنوان علف هرز شناخته شده‌اند که ۳۰۰ گونه از آن بیشترین اختلال را در محصولات کشاورزی ایجاد می‌نمایند و گسترش جهانی دارند (Montazeri, 2005). به نحوی که ۱۵-۱۰ درصد از کل خسارات سالانه ناشی از منابع مختلف به محصولات کشاورزی در کشورهای توسعه یافته، مربوط به خسارت علف‌های هرز است که این میزان در کشورهای در حال توسعه و مناطق استوایی بیشتر است (Rashed *et al.*, 2000). در این بین ۱۸ گونه از این گیاهان هرز به عنوان خطرناک ترین آن‌ها محسوب می‌شوند و گیاه هرز عروسک پشت پرده

تاریخ دریافت: ۱۳۸۹/۱۰/۱۸ تاریخ پذیرش: ۱۳۹۰/۰۲/۲۷

۱- عضو هیات علمی گروه گیاه پزشکی دانشکده کشاورزی، دانشگاه لرستان
۲ - دانشجوی دکتری علف هرز دانشکده کشاورزی، دانشگاه فردوسی مشهد
۳- کارشناس ارشد بخش آفات و بیماریها، مرکز تحقیقات کشاورزی و منابع طبیعی لرستان
۴- دانشجوی کارشناسی ارشد گروه زراعت و اصلاح نباتات دانشکده کشاورزی، دانشگاه زابل
۵- دانشگاه آزاد اسلامی، واحد کرج، گروه زراعت، عضو باشگاه پژوهشگران جوان دانشگاه آزاد اسلامی واحد کرج، کرج، ایران.
*- نویسنده مسئول Email: mdarvishnia44@yahoo.com

(*Physalis divaricata* L.) نیز یکی از آن‌ها می‌باشد (Hoagland, 1990). تراکم بالای آن عملکرد محصول را ۶۰-۵۰ درصد کاهش می‌دهد. علاوه بر آن با پیچیدن به دور غلات دانه ریز سبب ایجاد مشکل در امر برداشت آن‌ها می‌شود (Rashed *et al.*, 2000). این گیاه هرز، علف هرزی یکساله از خانواده سیب‌زمینی است که عمدتاً در طی تابستان در گیاهان زراعی خانواده بقولات و جالیزی‌ها در لرستان باعث ایجاد مشکلاتی می‌شود. کنترل بیولوژیکی علف‌های هرز روشی است که ضمن رعایت اصول اکولوژیکی قادر است با بکارگیری دشمنان طبیعی و عوامل بیماری‌زای علف هرز، تراکم آنها را در زیر سطح خسارت اقتصادی نگه دارد (Zand *et al.*, 2003). عوامل کنترل بیولوژیکی ممکن است بندپایان، حشرات، قارچ‌ها، ویروس‌ها، باکتری‌ها، نماتدها، بی‌مهرگان و مهره‌داران باشند که به کمک آن‌ها میزان زادآوری و رشد گیاهان هرز را کاهش می‌دهند و در نهایت قدرت گیاه هرز کاهش یافته و جمعیت آن را در زیر سطح آستانه خسارت اقتصادی نگه می‌دارند (Ghorbani *et al.*, 2002). نخستین گزارش در مهار میکروبی از استرالیا بود که نشان داد قارچ *Colletotrichum xanthii* می‌تواند گیاه هرز توق[1] را در بعضی شرایط کنترل کند ولی در آن زمان از این قارچ برای کنترل بیولوژیکی استفاده نشد و کاربرد جدی عوامل بیماریزایی قارچی و سایر عوامل میکروبی در مهار زیستی گیاهان هرز از دهه ۱۹۷۰ شروع شد. لذا از آن زمان تا به امروز تلاش های زیادی برای مهار میکروبی گیاهان هرز انجام شده که دستاوردهای ارزشمندی را به همراه داشته است (Najafi, 2006). مهار بیولوژیکی گیاه هرز قندرون با بکارگیری قارچ *Puccinia chondrillina* اولین موفقیت مهار میکروبی گیاهان هرز در استرالیا بوده است (Kremer and lee, 2003). بدین ترتیب از ۱۹۷۱ با رهاسازی این زنگ در استرالیا، گیاه هرز یاد شده تا ۷۹ درصد کنترل شد که بازده آن ۲۰ میلیون دلار در سال برآورد گردید (Mohan Babu *et al.*, 2005).

همچنین گیاه هرز *Ageratina riparia* (Regel) R. M. King & H. Rob. که به عنوان یک گیاه زینتی وارد هاوایی شده بود، پس از مدتی بصورت یک گیاه هرز مهم در این جزیره در آمد. قارچ *Entyloma ageratinae* از موطن اصلی این گیاه هرز یعنی جامائیکا آورده شد و پس از تعیین دامنه میزبانی که روشن شد این پاتوژن در سایر گیاهان ایجاد بیماری نمی‌کند، رهاسازی آن انجام گرفت. این قارچ در مناطقی که شرایط برای رشدش بهینه بود گیاه هرز یاد شده را ظرف ۴-۳ سال تا میزان ۹۵ درصد مهار نمود. ولی در قسمت‌هایی از این جزیره که میزان بارندگی کمتر بود، کارآیی آن در طی ۸ سال حدود ۸۰ درصد برآورد گردید (Trigiuno *et al.*, 2004). بیماری زایی *Alternaria alternata* در آمارانتوس[2] با افزایش غلظت اسپور، در یک

[1] *Xanthium spinosum* L.

[2] *Amaranthus albus* L.

مول امولسیون روغن شلغم و دادن یک دوره ۲۴ ساعته شبنم باعث از بین رفتن صد در صدی آمارانتوس‌های وحشی گردیده است (Gallandt *et al.*, 1999). جدایه *A. alternata* Lc*508 که برای مهار بیولوژیکی گیاه هرز *Lantana camara* L. بکار رفته در شرایط کنترل شده به خوبی توانسته این گیاه هرز را مهار کند (Saxena and Pandy, 2002). از دیگر برنامه‌های بیوکنترل سنبل آبی استفاده از جدایه *A. eiehhorniae*# 5 در مصر می‌باشد که در شرایط آزاد محیطی با استفاده از امولسیون روغنی توانسته است ۱۰۰ درصد مهار این گیاه هرز را موجب شود (Shabana, 2005).

با توجه به مشکلات یاد شده در رابطه با گیاه هرز عروسک پشت پرده و نیز مزایای کنترل بیولوژیکی؛ از این رو در این تحقیق اقدام به یافتن عامل کنترل بیولوژیک مناسب جهت مدیریت این گیاه هرز گردید.

مواد و روش‌ها

جمع آوری و جداسازی قارچ‌ها

به منظور یافتن عامل کنترل بیولوژیکی مؤثر، طی سال‌های ۸۸-۱۳۷۸ گیاهان عروسک پشت پرده دارای علائم آلودگی (لکه برگی) به عوامل قارچی گردآوری شدند. در طی ۲۰ بار نمونه برداری، سعی شد از کشتزارهای چغندرقند، سیب زمینی، ذرت، لوبیا و سویا نمونه‌های آلوده عروسک پشت پرده گردآوری شود. نمونه‌ها بلافاصله به آزمایشگاه منتقل و با استفاده از محلول هیپوکلریت سدیم[1] ۱ درصد به مدت یک تا سه دقیقه ضد عفونی سطحی گردیده و پس از سه بار پاساژ با آب مقطر استریل بر روی محیط کشت PDA (حاوی ۳۹ گرم محیط کشت در یک لیتر آب) کشت داده شد و در دمای ۲۵ درجه سانتی‌گراد در انکوباتور نگهداری گردید.

خالص سازی و شناسایی جدایه‌ها

به منظور خالص سازی جدایه‌ها با استفاده از محیط کشت آب- آگار (حاوی ۲۰ گرم آگار در یک لیتر آب)، تک اسپور کردن جدایه‌ها انجام گردید. با استفاده از سوزن استریل یک قطعه‌ی ۴-۳ میلیمتری را از ناحیه آلوده برگ پیچک جدا و به لوله آزمایش حاوی ۱۰-۵ سی سی آب مقطر استریل منتقل شدند. جهت تشکیل سوسپانسیون، نمونه‌ی برگ آلوده همراه با آب مقطر را بهم زده و سپس با استفاده از پیپت استریل سه قطره از سوسپانسیون آماده شده روی لام بدون لامل قرار داده شد و در زیر میکروسکوپ نوری با بزرگنمایی ۱۰ مورد بررسی قرار گرفت (Saremi, 1998). اگر در میدان دید بیش از دو اسپور بزرگ مشاهده شد، سوسپانسیون تا حدی رقیق می‌شود تا در میدان دید میکروسکوپ نوری با بزرگنمایی ۱۰ برای اسپورهای بزرگ یک عدد و اسپورهای کوچک‌تر دو عدد اسپور وجود داشته باشد. به این علت که هرچه تعداد بیشتر باشد امکان جداسازی و خالص سازی کمتر شده و در واتر آگار نیز ریسه‌های قارچ در هم مخلوط می شوند. سپس توسط قطره چکان ۴-۳ قطره از سوسپانسیون بدست آمده را در محیط کشت آگار کم قطر به ضخامت (۲-۱ میلیمتر) و با آنس (لوپ) آن‌ها را در سطح محیط به طور یکنواخت پخش می‌کنیم. محیط کشت یاد شده را در گیاهپزشکی اصطلاحاً واترآگار[2] گویند. برای

[1] NaOCl

[2] Water agar

هر کلنی از سه تشتک پتری حاوی محیط کشت آگار استفاده شد. دلیل و مزیت کاربرد محیط کشت آگار این است که آگار ماده غذایی چندانی ندارد و قارچ‌های رقیب نمی‌توانند در آن رشد نمی‌کنند و محیط در کنترل ما می‌باشد (Rezaei and Jaymand, 1997). پس از گذشت حداقل ۴۸ ساعت ظروف پتری حاوی واتر آگار و اسپور بصورت وارونه در زیر میکروسکوپ نوری با بزرگنمایی ۱۰ مورد بررسی قرار گرفتند. سپس ریسه‌های با فاصله مناسب (به گونه‌ای که با ریسه‌های مجاور آمیخته نشده باشند) انتخاب و به محیط کشت P.D.A منتقل شدند. بعد از طی ۷۲-۴۸ ساعت ریسه‌ها در محیط کشت جوان کلنی تشکیل دادند. از هر سویه خالص شده قارچ، جهت تولید اسپور تعدادی پتری دیش تهیه شد و به منظور شناسایی جدایه‌های قارچ *Alternaria* جدایه‌های مورد نظر را روی محیط کشت PCA[1] (حاوی ۲۰ گرم هویج، ۲۰ گرم سیب زمینی پوست کنده و ۲۰ گرم آگار در یک لیتر آب) و V-8 (ساخت کمپانی بی بی استرلینگ انگلستان حاوی عصاره سبزیجات، اسفناج، هویج، کاهو، جعفری، کرفس، شاهی و گوجه فرنگی و ۲۰ گرم آگار در یک لیتر آب) و قارچ *Fusarium* روی CLA (برگ میخک آگار) کشت داده و در دمای ۲۵ درجه سانتی گراد به مدت یک هفته قرار داده شدند سپس بر اساس شکل و اندازه اسپور، طول زنجیره کنیدیوم، شکل و اندازه کنیدیوم‌بر و با استفاده از مقالات و کلیدهای معتبر توسط قارچ شناس شناسایی گردیدند (Simmons, 2007; Darvishnia *et al.*, 2008 ; Ghoosta *et al.*, 2005)

تهیه سوسپانسیون قارچ‌ها، مایه تلقیح و آزمایش‌های آزمایشگاهی

با استفاده از سوزن استریل مقداری از اسپورهای تولید شده از هر جدایه در سطح محیط کشت به داخل لوله آزمایش حاوی ۱۰-۵ سی سی آب مقطر استریل منتقل گردید. پس از بهم زدن و تهیه سوسپانسیون، با استفاده از پیپت استریل یک قطره از سوسپانسیون آماده شده روی لام همامیتومتر قرار داده شد و در زیر میکروسکوپ نوری با بزرگنمایی ۱۰ مورد بررسی قرار گرفت و سوسپانسیونی با غلظت 10^7 اسپور در میلی‌لیتر آب مقطر تعیین گردید. در نهایت ۲۲ جدایه خالص شده، از هر جدایه سوسپانسیونی در لوله آزمایش استریل توسط ۱۰-۵ سی سی آب مقطر استریل تهیه شد. سپس یک قطره از سوسپانسیون با غلظت 10^7 اسپور در یک میلی لیتر آب مقطر توسط سمپلر[2] شماره ۱۰۰ روی برگ‌های بریده شده عروسک پشت پرده قرار داده شد (Zeidali *et al.*, 2008).

این برگ‌های گیاه عروسک پشت پرده در آزمایشگاه در دمای ۲۵ درجه سانتی‌گراد روز و ۱۸ درجه سانتی‌گراد شب و رطوبت نسبی بالای ۹۰ درصد، درون ظروف پلاستیکی که از آن‌ها نور عبور می‌کند، قرار داده شدند. این آزمایش در قالب طرح کاملاً تصادفی با ۴ تکرار اجرا گردید. ارزیابی بیماری‌زایی تا ۱۲ روز پس از تلقیح برگ‌ها انجام شد. ارزیابی میزان بیماری‌زایی گیاهان تیمار شده بر اساس روش شماره‌دهی به ترتیب از صفر تا ۵ برای درصد بیماریزایی کم تا شدید انجام گردید. سیستم

[1] Potato Carrot Agar

[2] Sampler No. 100

شماره دهی بدین صورت است که ۰= عدم بیماری، ۱= ۱-۲۵ درصد آلودگی سطح برگ، ۲= ۲۶-۵۰ درصد آلودگی سطح برگ، ۳= ۵۱-۷۵ درصد آلودگی سطح برگ، ۴= ۷۶-۹۹ درصد آلودگی سطح برگ و ۵= ۱۰۰ درصد آلودگی (مرگ گیاه). در انتهای آزمایش، قوی‌ترین جدایه انتخاب شده و در آزمایشات بعدی در گلخانه به کار گرفته شد (Ghorbani *et al.*, 2000).

اثر مراحل مختلف رشد گیاه هرز بر میزان بیماریزایی

پس از کاشت بذور گیاهان عروسک پشت پرده در گلدان، آزمایشات بیماری‌زایی بر روی گیاه هرز عروسک پشت پرده در مراحل مختلف رشدی بصورت فاکتوریل در قالب طرح کاملاً تصادفی با ۴ تکرار انجام گرفت. سوسپانسیون حاوی اسپور با غلظت 10^8 اسپور در یک میلی لیتر آب مقطر بر روی آنها اسپری شد. بر روی گلدان‌ها، پاکت‌های پلاستیکی شفاف به ابعاد ۶۵×۴۰ سانتی‌متر به منظور جلوگیری از پخش اسپورها و نیز ایجاد یک خرد اقلیم مرطوب اطراف بوته‌های عروسک پشت پرده قرار داده شد. این پوشش‌های پلاستیکی ۴۸ ساعت پس از تلقیح بوسیله قارچ برداشته شده و رطوبت نسبی گلخانه که در ابتدا حدود ۹۰٪ بود تا پایان آزمایش در حد ۶۰ درصد باقی ماند. تیمارها در این آزمایش شامل جدایه‌های قارچی در دو سطح و چهار مرحله رشدی (برگ لپه‌ای، ۴، ۶ و ۹-۱۱ برگی) می‌باشد.

در آزمایشات انجام شده در گلخانه، غلظت سوسپانسیون قارچ‌ها، حاوی 10^7 اسپور در یک میلی لیتر آب مقطر بود که توسط اسپری بر روی گیاهان مورد آزمایش منتقل گردید و برای شاهد از آب مقطر استریل استفاده شد. تأثیر مراحل مختلف رشد بر میزان بیماری‌زایی قارچ با استفاده از مقیاس نمره دهی اندازه گیری شد. اندازه گیری و مقایسه وزن خشک گیاه هرز عروسک پشت پرده که توسط جدایه‌های *Fusarium* sp. *A .altrernata* تلقیح شده و به مدت ۴۸ ساعت در ۷۸ درجه سانتی‌گراد آون نگهداری شده بود در مرحله رشدی چهار برگی صورت گرفت.

بررسی اثر بیماری‌زایی غلظت‌های مختلف اسپور قارچ *Alternaria alternata*

به دنبال بررسی اثر مراحل مختلف رشدی گیاه هرز عروسک پشت پرده بر میزان بیماری زایی با استفاده از سوسپانسیون حاوی اسپور قارچ که منجر به شناسایی حساس‌ترین مرحله رشدی گیاه هرز عروسک پشت پرده یعنی مرحله چهار برگی گردید بررسی اثر غلظت‌های مختلف اسپور قوی‌ترین جدایه قارچ با استفاده از مقیاس شماره دهی برای بیماری‌زایی و نیز اندازه‌گیری وزن خشک مد نظر قرار گرفت. غلظت‌های مورد استفاده شامل غلظت 10^5، 10^6، 10^7 و 10^8 اسپور در میلی لیتر آب مقطر بودند.

بررسی اثر عامل بیولوژیکی (قارچ *Alternaria alternata*) بر گیاهان غیر هدف (تست‌های ایمنی)

آزمایشات ایمنی[1] بر روی گیاهان زراعی چغندرقند، سیب زمینی، ذرت، لوبیا و سویا در مرحله ۴-۲ برگی در گلخانه انجام گرفت. این آزمایشات در گلخانه تحقیقاتی مرکز تحقیقات کشاورزی و منابع طبیعی لرستان در دمای ۲۵ درجه

[1] Safety Test

سانتی‌گراد (شب و روز) و رطوبت نسبی ۹۰ درصد با چهار تکرار در قالب طرح کاملاً تصادفی با غلظت 10^7 اسپوردر میلی‌لیتر اسپور پاشی انجام شد. برای تندش بهتر قارچ با اسپری آب در اطراف گیاه و سپس پوشاندن گلدان و گیاه توسط کیسه پلاستیکی شفاف به مدت ۴۸ ساعت رطوبت مطلوب فراهم گردید. پس از این مدت (حذف پوشش پلاستیکی) رطوبت گلخانه تا پایان طرح با استفاده از دستگاه‌های رطوبت ساز معمولی در حد ۶۰ درصد نگه داشته شد (شکل ۱).

تجزیه وتحلیل آماری

جهت محاسبات آماری در این بررسی از نرم افزارهای Mstatc و Excel 5.0 استفاده شد. مقایسه میانگین‌ها به روش آزمون دانکن انجام گرفت و سطح احتمال بکار رفته در کلیه تجزیه و تحلیل‌های آماری سطح احتمال ۰/۰۵ بود. در موارد لازم نرمال بودن داده‌ها تست و تبدیلات مورد نیاز انجام شد.

نتایج و بحث

نتایج حاصل از این بررسی و آزمون آزمایشگاهی اثر جدایه‌ها بر گیاه عروسک پشت پرده نشان داد که قدرت بیماریزایی جدایه‌های مورد بررسی متفاوت بوده و بر اساس میزان و قدرت بیماریزایی جدایه‌ها قوی‌ترین جدایه A6 مربوط به قارچ *A. alternata* و F5 مربوط به *Fusarium* sp انتخاب گردیدند.

انتخاب قوی‌ترین جدایه بیماری‌زا در آزمایشگاه

آزمایش‌های زیست سنجی[1] برای تعداد ۲۲ جدایه قارچی جدا شده از عروسک پشت پرده آلوده شده در طی چهار آزمایش مورد بررسی قرار گرفتند و قدرت و توانایی عوامل مذکور برای آلوده کردن علف هرز از طریق غلبه بر مقاومت آن در برابر بیماری، که یک عامل مهم جهت تخمین کارایی عامل بیولوژیکی است مورد بررسی قرار گرفت. در بین جدایه‌های جدا شده از نمونه‌های گردآوری شده عروسک پشت پرده آلوده، جدایه A6 که از روی نمونه‌های گرد آوری شده از مزارع آلوده شهرستان الشتر استخراج شده بود، بیشترین قدرت بیماری زایی را نسبت به دیگر جدایه‌ها دارا بود (شکل ۲). شکل نشان می‌دهد که این جدایه از نظر بیماری‌زایی با سه جدایه دیگر تفاوت معنی‌داری نداشته است. نتایج تجزیه واریانس نشان داد از نظر آماری بین جدایه‌های مورد آزمایش اختلاف معنی‌داری وجود دارد ($P\leq0/05$).

بیشترین بیماری‌زایی مربوط به جدایه A6 بر اساس مقیاس نمره‌دهی به میزان ۳/۶ بود (گستره ۷۵-۵۱ درصد نکروزه شدن سطح برگ) جدایه‌های A4 و A11 و A14 نیز با جدایه A6 از نظرآماری ($P\leq0/05$) اختلاف معنی‌داری نداشتند ولی به دلیل اینکه هدف انتخاب مؤثرترین جدایه از نظر بیماری‌زایی بود، جدایه A6 قارچ *A. alternata* برای بررسی بیشتر انتخاب گردید (شکل ۳).

شابانا (Shabana, 2005) با مطالعه بر روی گیاه سنبل آبی *Eichhornia crassipes* (Mart.) Solms توسط جدایه *A. eichhorniae* ؛ قربانی و همکاران (Ghorbani *et al.*, 2000) و منتظری (Montazeri, 2005) روی علف هرز آمارانتوس ریشه قرمز (*Amaranthus retroflexus* L.) توسط قارچ (*A. alternate*)، ساکسانا و پاندی

[1] Bioassay

(Saxena and Pandi, 2002) روی گیاه هرز *Lantana camara* L. توسط جدایه دیگری از *A. alternata*؛ زیدالی و همکاران (Zeidali *et al.*, 2010) با به کارگیری سویه A_2 *A. alternata* در علف هرز پیچک صحرایی، بوآری و ورو (Boari and Vuro, 2004) با به کارگیری گونه‌های مختلف *Fusarium*، روی گل جالیز (*Orobanche ramose* L.)؛ و الزین و همکاران (Elzin *et al.*, 2004) با کاربرد *F. oxysporum* Foxy2. علیه علف هرز انگل *Striga* sp. توانستند این قارچ‌ها را به عنوان عوامل کنترل بیولوژیکی جهت علف‌های هرز مذکور معرفی کنند. هیچ گونه مطالعه قبلی مبنی بر تأثیر قارچ *A. altrernata* بر روی عروسک پشت پرده تا به حال گزارش نشده است، نتایج این بررسی نشان داد که جدایه A6 قارچ *A. altrernata* دارای بیشترین میزان بیماری‌زایی بوده که می‌تواند به عنوان عامل کنترل بیولوژیک در گیاه هرز عروسک پشت پرده مطرح باشد.

اثر مراحل مختلف رشدی علف هرز عروسک پشت پرده بر میزان بیماری زایی قارچ‌های *Fusarium* sp. و *A. altrernata*

هرچند که قوی‌ترین جدایه بیماری‌زا در آزمایشگاه جدایه A6 قارچ *A. altrernata* انتخاب شد، اما به دلیل احتمال تفاوت اثر قارچ‌ها در مراحل مختلف رشد، قوی‌ترین جدایه قارچ فوزاریوم جدایه F5 از *Fusarium* sp. انتخاب و در گلخانه به همراه جدایه A6 قارچ *A. altrernata* جهت بررسی اثر مراحل مختلف رشدی گیاه هرز عروسک پشت پرده بر میزان بیماری‌زایی قارچ‌های مذکور، به کار برده شد (شکل ۴).

نتایج تجزیه واریانس نشان داد که بین قارچ‌ها و مراحل مختلف رشدی و همچنین اثر متقابل قارچ و مرحله رشدی گیاه هرز عروسک پشت پرده، اختلاف معنی داری ($P\leq0/05$) وجود دارد.

نتایج نشان داد که در شرایط گلخانه‌ای نیز جدایه A6 قارچ *A. altrernata* نسبت به جدایه *Fusarium* sp.F5 از نظر شدت بیماری‌زایی قوی‌تر بود.

بین مراحل مختلف رشدی، مرحله ۶ برگی گیاه هرز عروسک پشت پرده بیشترین آلودگی را نشان داد ولی با مرحله کوتیلدونی از نظر آماری اختلاف معنی داری ($P\leq0/05$) نداشت و مرحله رشدی ۶ برگی گیاه هرز عروسک پشت پرده بیشترین حساسیت را به جدایه A6 قارچ *A. altrernata* داشت. قربانی و همکاران (Ghorbani *et al.*, 2000) با ارزیابی قارچ *A. altrernata* برای کنترل بیولوژیکی آمارانتوس ریشه قرمز گزارش کردند که در مرحله برگ لپه‌ای، شدت بیماری‌زایی پایین بود. مینتز و همکاران (Mintez *et al.*, 1992) نیز نتایج مشابهی برای گیاه هرز آمارانتوس سفید (*Amaranthus albus*) در مرحله گیاهچه‌ای توسط قارچ *Aposphaeria amaranthi* بدست آوردند. علاوه بر آن بررسی‌های زیدالی و همکاران (Zeidali *et al.*, 2009) در رابطه با کنترل بیولوژیک گیاه پیچک توسط قارچ آلترناریا با این یافته‌ها مطابقت داشت. ولی در مرحله ۱۱-۹ برگی دارای کمترین میزان بیماری بود.

با توجه به شکل شماره ۴ که قارچ *A. altrernata* نسبت به *Fusarium* sp. بیشترین آلودگی را بر طبق مقیاس نمره‌دهی داشت، در مرحله ۶ برگی (که حساسترین مرحله رشدی نسبت به بیماری‌زایی قارچ بود) وزن خشک گیاه هرز عروسک پشت پرده برای تیمارهای جدایه A_6 قارچ *A. altrernata* جدایه F_5 قارچ *Fusarium* sp. و نیز آب مقطر برای گیاه شاهد اندازه گیری شد که در این بررسی نیز تیمار با جدایه A_6 *A. altrernata* باعث کاهش بیشتری از وزن خشک عروسک پشت پرده در مرحله ۶ برگی نسبت به دیگر تیمارها شد (شکل ۴).

روند پیشرفت بیماری ایجاد شده توسط جدایه A_6 قارچ *A. altrernata* و جدایه F_5 *Fusarium* sp طی مراحل مختلف رشدی گیاه هرز عروسک پشت پرده

با توجه به پیشرفت بیماری ایجاد شده توسط جدایه A6 قارچ *A. alternata* در مرحله برگ لپه‌ای عروسک پشت پرده و با توجه به مشاهده آثار ماکروسکوپی گسترش بیماری از روز اول تلقیح تا ۱۲ روز پس از آن (هر دو روز یکبار) به استثنای حد فاصل روز دوم پس از تلقیح تا روز چهارم که سرعت کندی داشت طی دیگر روزها از سرعت بالایی برخوردار بود و در روز دوازدهم تقریباً ۶۰ درصد سطح برگ (با توجه به مقیاس نمره‌دهی) نکروزه شد. طی مرحله ۴ برگی حد فاصل روزهای دوم تا چهارم و هشتم تا دهم روند گسترش بیماری از سرعت کمتری برخوردار بود ولی در دیگر روزهای پس از تلقیح، بیماری به طرز سریعی گسترش یافت تا در نهایت و در روز دوازدهم ۹۹-۷۵ درصد از سطح برگ (با توجه به مقیاس نمره‌دهی) نکروزه شد. با توجه به یافته‌های بدست آمده بیشترین بیماری‌زایی در مرحله شش برگی مشاهده گردید (شکل ۵).

سیر پیشرفت بیماری در مرحله ۶ برگی تقریباً منظم بود و به استثنای وقفه‌های کوچکی که در روند بیماری‌زایی طی روزهای دوم تا چهارم و نیز ششم تا هشتم ایجاد شد در مابقی روزهای پس از تلقیح، میزان بیماری به طور صعودی تا حد ۷۵-۵۱ درصد در روز دوازدهم ادامه یافت. بررسی‌های انجام شده بر روی گیاه هرز پیچک توسط پاتوژن‌ها نیز نتایج مشابهی را در بر داشته است (Zeidali *et al.*, 2010).

درمرحله ۱۱-۹ برگی طی دو روز اول بعد از تلقیح قارچ هیچگونه بیماری حاصل نشد و پس از آن روند گسترش بیماری به آهستگی ادامه یافت و در روز دوازدهم پس از تلقیح قارچ، ۵۰-۲۵ درصد از سطح برگ آلوده شده بود که مبین حساسیت کمتر مرحله۱۱- ۹برگی به جدایه A6 قارچ *A. alternata* است. دلیل این موضوع ممکن است ضخامت کوتیکول و مقاومت فیزیکی سطح برگ در این مرحله نسبت به دیگر مراحل رشدی عروسک پشت پرده صحرایی باشد. چون گاهی اوقات مقاومت فیزیکی ترکیبات سطح برگ به عنوان سدی در مقابل نفوذ عوامل بیماری‌زا عمل می‌کنند (Trigiuno *et al.*, 2004).

در مورد تأثیر مراحل رشدی بر بیماری‌زایی قارچ *Fusarium* sp. با توجه به تجزیه واریانس داده‌ها چنین استنتاج می‌شود که حساسترین مرحله رشدی علف هرز عروسک پشت پرده در مقابل قارچ یاد شده، مرحله ۶ برگی یا به عبارتی ۱۴-۱۲ روز پس از سبز شدن عروسک پشت پرده می‌باشد

و کمترین حساسیت، مربوط به مرحله برگ لپه‌ای (۸-۶ روز پس از سبز شدن) می‌باشد (شکل ۶).

قربانی و همکاران نیز با ارزیابی قارچ *Ascochyta caulina* برای کنترل بیولوژیکی سلمه تره نیز به نتایج مشابهی دست یافتند. با توجه به نتایج این آزمایش و نیز بررسی‌های مشابه، این گونه استنباط می‌شود که عوامل بیماری‌زای گیاهی از جمله خساراتی که می‌توانند به گیاهان مورد حمله خود (گیاه میزبان بیماری) وارد آورند، اختلال در سوخت و ساز و در نهایت کاهش ماده خشک تولیدی است که این موضوع خود می‌تواند به عنوان معیاری از شدت بیماری‌زایی این عوامل بیماری‌زا محسوب شود.

تأثیر بیماری‌زایی غلظت‌های مختلف اسپور بر حساس‌ترین مرحله رشدی عروسک پشت پرده

کاربرد عامل بیماریزا با دوز بالا در مرحله‌ای که گیاه هرز به آن حساس است، موجب استقرار بهتر عامل بیماریزا و ایجاد بیماری می‌شود (Hallett, 2005). برای گسترش بیماری در علف هرز هدف، باید به اندازه کافی اسپور، کنیدیوم و یا میسیلیوم فعال قارچ وجود داشته باشد علاوه بر آن نیز سطح برگ هم شرایط و اندازه مطلوب جهت استقرار عامل بیماری‌زا را داشته باشد. به گونه‌ای که بیماری‌زایی قارچ *A. alternata* بر روی تاج خروس وحشی با غلظت 10^7 اسپور در یک میلی لیتر آب مقطر در امولسیون روغنی و دوره شبنم ۲۴ ساعته سبب مرگ ۱۰۰ درصدی گیاه هرز یاد شده گردید (Ghorbani *et al.*, 2000). زیدالی و همکاران (Zeidali *et al.*, 2008) نیز بیشترین میزان بیماری‌زایی و کاهش وزن خشک گیاه هرز پیچک صحرایی را در غلظت 10^7 اسپور در یک میلی لیتر آب مشاهده نمودند.

غلظت 10^8 اسپور در میلی لیتر آب مقطر در دمای ۲۵ درجه سانتی‌گراد در نقطه شبنم به مدت ۲۴ ساعت بر مرحله ۴ برگی گیاه عروسک پشت پرده نسبت به دیگر غلظت‌های آزمایش شده بیشترین کاهش وزن خشک را از خود نشان داد (شکل ۷).

نتایج بدست آمده از این بررسی مؤید این مطلب است که با افزایش غلظت اسپور عامل بیماری زا، بر میزان بیماری زایی آن نیز افزوده می‌شود و علاوه بر آن از وزن خشک گیاه هدف نیز کاسته می‌شود.

افزایش غلظت اسپوردر یک میلی‌لیتر آب مقطر (10^8 اسپور) باعث افزایش توان آلوده سازی جدایه A6 قارچ *A. alternata* بر روی عروسک پشت پرده صحرایی شده که در نهایت با اخلال در فتوسنتز و مکانیسم‌های سوخت و ساز عروسک پشت پرده، از میزان وزن خشک تولیدی آن کاسته می‌شود. میزان تولید ماده خشک علف هرز عروسک پشت پرده صحرایی نسبت به افزایش غلظت اسپور قارچ در دامنه 10^7 تا 10^8 واکنش شدیدی نشان داد، به طوری که افزایش غلظت اسپور در این دامنه سبب کاهش چشمگیر ماده خشک علف هرز عروسک پشت پرده صحرایی شد.

کمترین میزان تولید ماده خشک علف هرز عروسک پشت پرده مربوط به تیمار با غلظت 10^8 اسپور در یک میلی لیتر آب مقطر بود. نتایج این بررسی با نتایج سایر محققین در خصوص ارزیابی قارچ *A. alternata* برای مهار زیستی

آمارانتوس ریشه قرمز، بررسی اثر نیتروژن و غلظت اسپور برای مهار زیستی سلمه تره توسط *Ascochyta caulina* و مطالعه توانایی قارچ *A. alternata* به عنوان یک علف کش زیستی برای مهار سنبل آبی و دیگر گیاهان هرز آبزی، مطابقت دارد (Mohan Babu *et al.*, 2005; Ghorbani *et al.*, 2002 and Ghorbani *et al.*, 2000).

با استناد به این آزمایش و آزمایشات دیگر محققین یاد شده غلظت بالای اسپور، کنیدیوم و یا میسیلیوم عامل بیماریزا باعث ایجاد بیماری شدید و در نهایت مرگ گیاه مورد آزمایش می‌شود. این نیاز به تراکم و غلظت بالای عامل بیماری زا، به منظور استفاده در یک برنامه مهار زیستی اغلب اقتصادی نمی‌باشد و سعی می‌شود با استفاده از فرمولاسیون مناسب نیاز به غلظت بالای عامل بیمارگر را تا حد ممکن کاهش داد (Ghorbani *et al.*, 2006).

آزمایشات ایمنی[1]

بسیاری از گونه‌های بیماری زای قارچ *Alternaria* spp. پاتوژن‌های اختصاصی میزبان خود می‌باشند و متابولیت‌های سمی تولید می‌کنند که در بیماری‌زایی گیاهی نقش بسزایی دارند. نتایج حاصل از آزمون ایمنی در گلخانه بر روی گیاهان زراعی چغندرقند رقم "آتیلا" ، سیب زمینی، ذرت، لوبیا رقم اصلاح شده "تلاش" و سویا نشان داد که جدایه A6 قارچ *A. alternata* توانایی ایجاد هیچ گونه آلودگی و بیماری زایی بر روی گیاهان زراعی یاد شده را ندارد. با عنایت به آزمایشات انجام شده، جدایه A6 قارچ *A. alternata* قادر به بیماری‌زایی گیاه هرز عروسک پشت پرده می‌باشد و از طرف دیگر گیاهان زراعی آزمایش شده دارای ایمنی نسبی خوبی نسبت به این قارچ می‌باشند، لذا چنین استنباط می‌شود که می‌توان برای مبارزه با گیاه هرز عروسک پشت پرده در این گیاهان زراعی، بدون هیچ محدودیتی از نظر آلوده کردن این گیاهان، از جدایه A6 قارچ *A. alternata* به صورت پس رویشی استفاده کرد. حتی در مواردی که اختصاصی بودن میزبان[2] نیاز است، آسیب رسانی بالا و عمل سریع عامل بیماری زا باید به خوبی بررسی شود (Headrick and Goeden, 2001).

با توجه به مصرف بی رویه سموم علف کش جهت مهار گیاهان هرز از جمله عروسک پشت پرده در کشتزارها و همچنین تاثیرات منفی سموم شیمیایی بر محیط زیست و در نتیجه به مخاطره افتادن سلامت انسان، گسترش روز افزون پدیده مقاومت گیاهان هرز به علف کش‌ها، روند کند معرفی علف کش‌های جدید و کنار گذاشتن علف‌کش‌های قدیمی و مهمتر این که سازگاری روش‌های مهار بیولوژیکی گیاهان هرز با محیط زیست که به عنوان ابزاری سودمند در حفظ و نگه‌داری اکوسیستم و سازگاری با آن مطرح می‌باشد و داشتن هزینه کمتر در مقایسه با سموم، مصرف انرژی کمتر و نیز استفاده در مطوح وسیع، در صورتی که بتوان از عوامل بیولوژیکی جهت مهار زیستی گیاه هرز عروسک پشت پرده استفاده نمود و علاوه بر مزایای بیان شده، می‌توان گام

[1] Safety Test

[2] Host Specifity

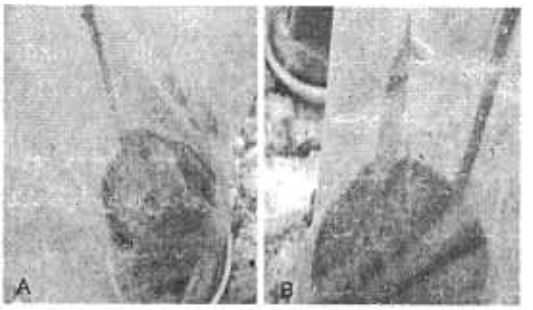
مهمی در جهت کاهش مصرف سموم و در نتیجه آلودگی‌های زیست محیطی برداشت (Headrick and Goeden, 2001; Boari and Vurro, 2004).

طبق بررسی‌های انجام شده در این تحقیق، با توجه به اینکه جدایه استخراج شده A6 قارچ *A. alternata* به نحو قابل قبولی در شرایط آزمایشگاه و گلخانه توانست گیاه هرز عروسک پشت پرده را بیمار نماید و در نهایت از رشد آن بکاهد و مهمتر اینکه اثری مبنی بر بیماری‌زایی بر روی گیاهان زراعی غیر هدف موجود در آزمایش (چغندرقند، سیب زمینی، ذرت، لوبیا و سویا) نداشت؛ لذا توصیه می‌شود با ادامه آزمایشات در شرایط مزرعه و بررسی نتایج آزمایشات گلخانه‌ای؛ در صورت بدست آوردن نتایج مشابه، جدایه A6 قارچ *A. alternata* را به عنوان عامل مهار زیستی گیاه هرز عروسک پشت پرده معرفی و تحقیقات دقیق‌تری صورت گیرد. یکی ازاصلی‌ترین محدودیت‌های استفاده از جدایه A6 قارچ *A. alternata* به عنوان یک علف‌کش قارچی (Mycoherbicide) نیاز به یک دوره رطوبی بالا برای ایجاد مؤثر بیماری بر روی گیاه هرز عروسک پشت پرده می‌باشد. رطوبت دارای نقشی کلیدی در انتشار و گسترش بسیاری از عوامل بیولوژیک، افزایش شادابی گیاهان میزبان و نیز آمادگی گیاهان میزبان برای بعضی پاتوژن‌ها می‌باشد (Ghorbani *et al.*, 2006). همچنین فرمولاسیون اسپورها در امولسیون‌های روغنی ممکن است نیاز شبنم مطلق را توسط افزایش رطوبت برگ، کاهش دهد (Montazeri, 2005).

از آنجایی که ساز و کارهای (مکانیسم) مهار زیستی عروسک پشت پرده توسط قارچ *A. alternata* به درستی بررسی نشده است، لذا مطالعه بیشتر در این زمینه پیشنهاد می‌شود و انجام آزمون‌های بیشتری پیرامون این که چه موادی، چگونه و در چه مرحله‌ای از رشد گیاهان زراعی مختلف و گیاه هرز عروسک پشت پرده و همچنین تاثیر شرایط دمایی مختلف و عناصر غذایی بر میزان بازدارندگی از رشد این علف هرز پیشنهاد می‌گردد.

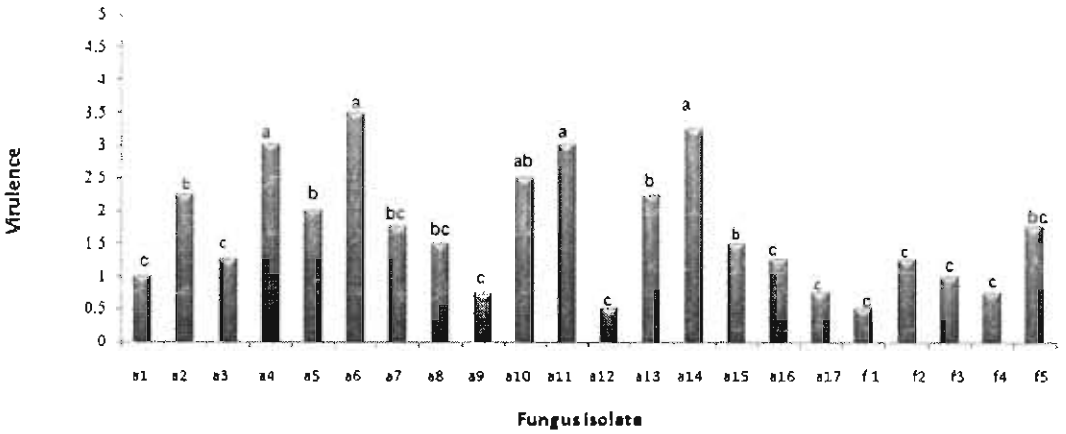
سپاسگزاری

بدین‌وسیله از معاونت پژوهشی و نیز حوزه مدیریت پژوهشی دانشگاه لرستان برای تأمین هزینه اجرای این پژوهش تشکر و قدردانی می‌شود. همچنین از کارشناس آزمایشگاه قارچ شناسی و بیماریهای گیاهی دانشکده کشاورزی مرکار خانم مهندس نقوی و آقای مهندس نظری دانشجوی ارشد واحد علوم و تحقیقات دانشگاه آزاد که ما را در اجرای این تحقیق یاری نمودند سپاسگزاری می‌نمایم.



شکل ۱ – آزمایشات ایمنی توسط قارچ *Alternaria alternata* A – گیاه لوبیا، B – گیاه ذرت

Figure 1- Safty tests with *Alternaria alternata* , A- Bean, B- Maize

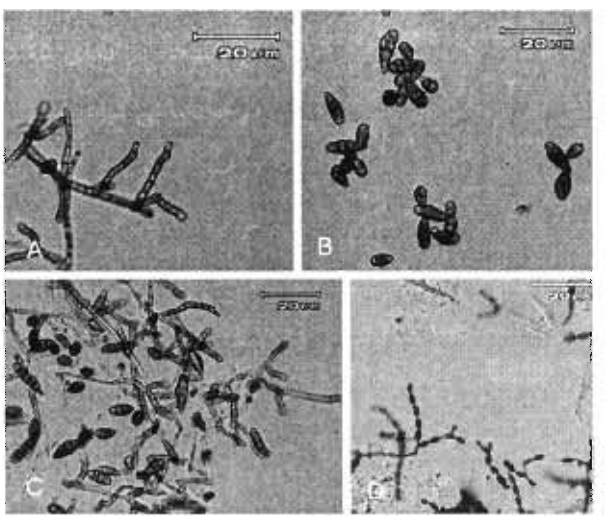


شکل ۲- مقایسه قدرت بیماری‌زایی جدایه‌های استخراج شده بر روی برگ گیاه هرز عروسک پشت پرده در شرایط آزمایشگاه.

Figure 2 - Comparison of virulence isolates derived on the Physalis leaves in vivo.

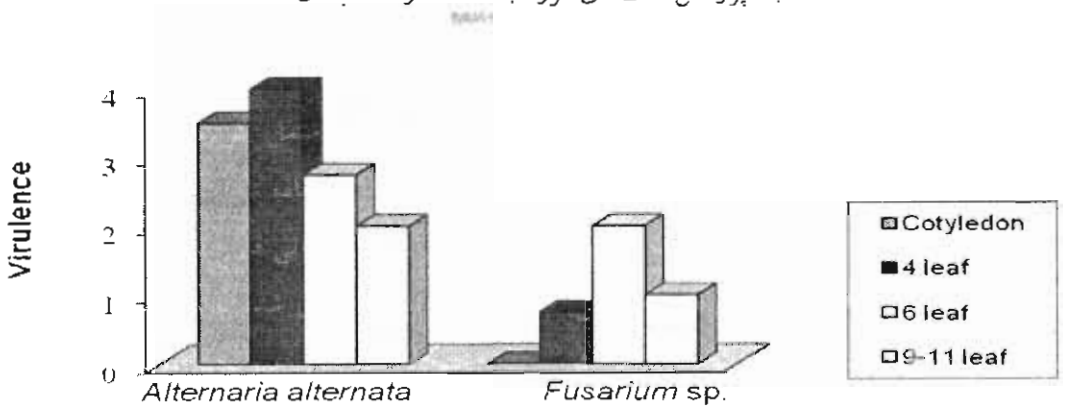
ستون‌هایی که دارای حداقل یک حرف لاتین مشترک هستند، اختلاف معنی‌داری با یکدیگر ندارند. ($P\leq 0/05$)

Similar letters above columns indicate no significant difference at P=0.05



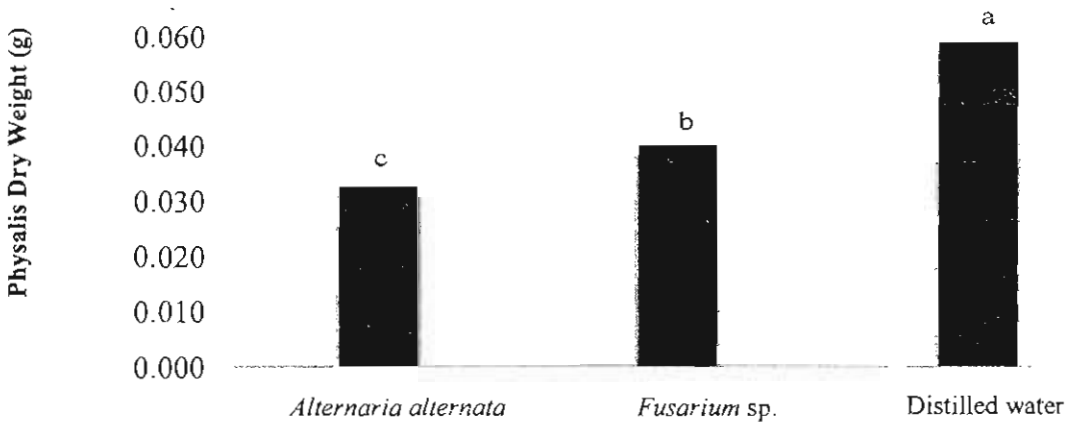
شکل ۳- A -Alternaria alternata- کنیدیوم‌بر B- کنیدیوم C- کنیدیوم‌بر و کنیدیوم D- زنجیره کنیدیوم بر روی محیط PCA

Figure 3 - *Alternaria alternata*-A- Conidiophore, B- Conidium, C- Conidiophore and Conidium, D- Conidium chain on PCA culture



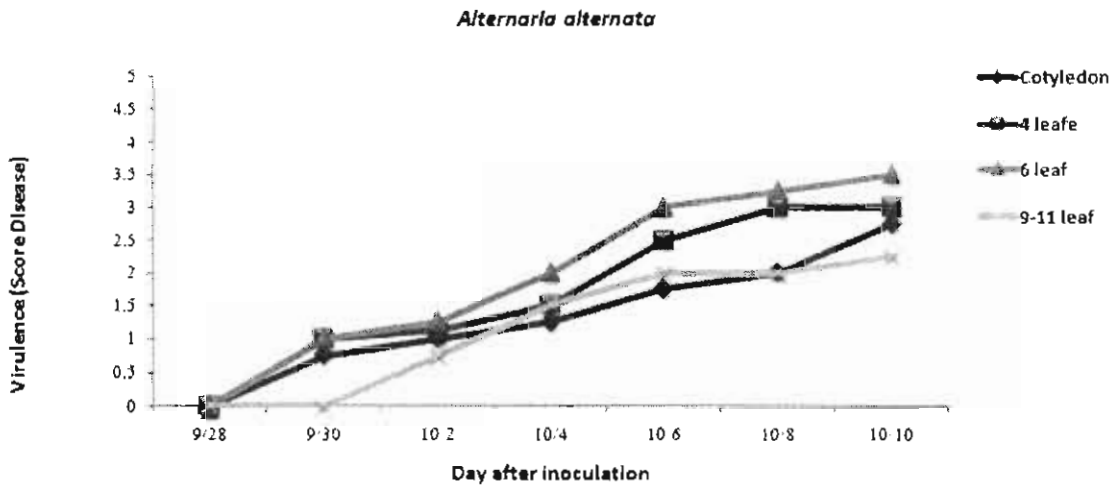
شکل ۴- تأثیر بیماری‌زایی قارچ‌های مورد آزمایش بر مراحل مختلف رشدی عروسک پشت پرده

Figure 4- Effect of pathogenic fungi on different growth stages of *Physali divaricatas*



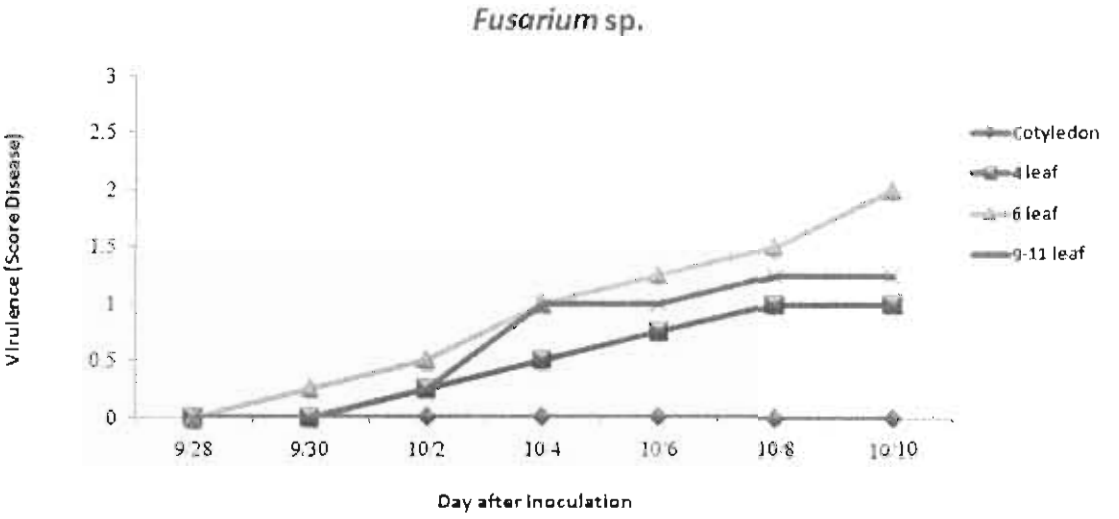
شکل ۵- اثر قارچ *Alternaria alternata* ،*Fusarium* sp. و آب مقطر بر وزن خشک گیاه هرز عروسک پشت پرده در مرحله شش برگی با غلظت 10^8 اسپور در یک میلی لیتر آب مقطر.

Figure 5- Effect of *Alternaria alternata* ،*Fusarium* sp. and distilled water on *Physalis* dry weight at 6-leaf growth stage with 10^8 spore per mL. of distilled water.



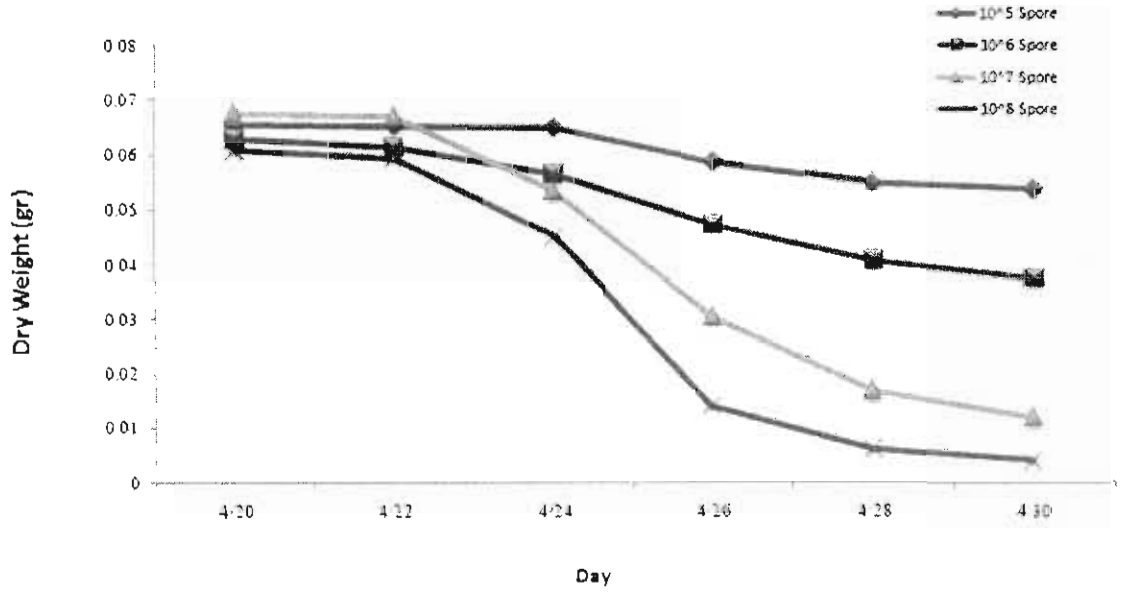
شکل ۶- روند پیشرفت بیماری توسط قارچ *A. alternata* طی مراحل مختلف رشد گیاه عروسک پشت پرده

Figure 6- Disease development trend in *Physalis* caused by *Alternaria alternata* at different growth stage



شکل ۷- روند بیماری زایی قارچ *Fusarium* sp. طی مراحل مختلف رشد

Figure 7- Disease development trend in *Physalis* caused by *Fusarium* sp. at different growth stage



شکل ۸- اثر غلظت‌های مختلف اسپور (تعداد در میلی لیتر) قارچ *A. alternata* بر کاهش وزن خشک عروسک پشت پرده

Figure 8- Effect of different spore concentration (number mL) of *A. alternata* on of *Physalis* dry weight reduction

Reference

فهرست منابع

Boari, A. and Vurro, M. 2004. Evaluation of *Fusarium* spp. And other Fungi as biological control agents of broomrape (*Orobanche ramose*). Biological Control, 30: 212-219.

Cardina, J. R., Litrell, H. and Hanlin, R. 1988. Anthracnose of Florida beggar weed (*Desmodium tortuosum*) caused by *Colletotrichum truncatum*. Weed Science, 36: 329-334.

Darvishnia, M., A. Alizadeh., R. Zare and A. Mohammadi goltapeh. 2008. Three new isolate of Fusarium from Grasses in Iran. Rostaniha, 7 (2):193-205. (in Persian).

Elzein, A., Kroscher, J. and Muller-Stover, D. 2004. Effects on inoculum type and propagule concenteration on shelf life of pesta formulations containing *Fusarium oxysporum* Foxy 2, a potential mycoherbicide agent for Striga spp. Biological Control, 30: 203-211.

Gallandt, E. R., Liebman, M. and Huggins, D. R. 1999. Improving soil quality: implications for weed management. Journal of Crop Production, 2, 95-121.

Ghoosta, Y., J. Ershad., R. Zare and A. Mohammadi goltapeh. 2005. Taxonomic study of Alternaria species in Iran. Plant disease, 40(1,2): 31-57. (in Persian).

Ghorbani, R., W., Seel, W., Litterick, A. and Leifert, C. 2000. Evalution of *Alternaria alternata* for biocontrol of *Amaranthus retroflexus*. Weed Science, 48: 474-480.

Ghorbani, R., Scheepens, P. C., Zweerde, W. V. D., Leifert, C., McDonald, A. J. S. and Seel, W. 2002. Effects of nitrogen availability and spore concentration on the biocontrol activity of *Ascochyta caulina* in Common Lambsquarters (*Chenopodium album*). Weed Science, 50: 628-633.

Ghorbani, R., Seel, W., Rashed, M. H. and Leifert, C. 2006. Effect of plant age temperature and humidity on Virulence of *Ascochyta caulina* on common lambsquarters (*Chenopodium album*) Weed science, 54; 526-531.

Hallett, S. G. 2005. Where are the bioherbicide?. Weed Sci, 53: 404-415.

Headrick, D. H. and Goeden, R. D. 2001. Biological control as a tool for ecosystem management. Biological Control, 21: 249-257.

Hoagland, R. E., 1990. Microbes and microbial products as herbicides. ACS. Symposium Series, USA. 407 pp.

Jensen, J. E., J. C. Streibeig and Ch. Andreasen. 1999. Weed scienc compendium. Royal Veterinary and Agricaltural University. Copenhagen, Denmark. Pp. 534.

Kremer, R. J. and Li, J. 2003. Developing weed-suppressive soils through improved soil quality management. Soil & Tillage Research, 72, 193-202.

Leslie J. F. and B. A. Summerell, 2006. The *Fusarium* Laboratory Manual. Blackwell. 388pp.

Mintz, A. S., Heiny, D. K. and Weidemann, G. J. 1992. Factors influencing the biocontrol of tumble pigweed (*Amaranthus albus*) with aposphaeria amaranthi. Plant Disease, 76: 267-269.

Mohan Babu, R., sajeena, A. and Seetharaman, K. 2005. Bioassay of the potentiality of *Alternaria alternata* (Fr.) Keissler as a bioherbicide to control Waterhyacinth and other aquatic Weeds. Crop Protection, 22: 1005-1013.

Montazeri, M .2005. The Role of Melanin and periods of dryness on Germination of conidia and virulence of *Alternaria alternata* on *Amarnthus teroflexus*. Iranian Journal of Weed Science, vol.1,no.2: 141-154.

Montazeri, M. 2004. Advantages and problems of biocontrol of weeds. 16th plant protection congress of Iran, pp:122-140.(Persian with English summary).

Montazeri, M. 2005. Achievements in weed science (with special attention to biological control).Agricultural Reaearch and Education Organization Press.pp. 207. (in Persian).

Najafi, H. 2006. Unchemical methods of weed management. Kankashe Danesh Press. pp. 198. (in Persian).

Rashed, M. H., H. Najafi and M. Akbarzade. 2000. Biology and control of weeds.Ferdowsi University of Mashhad.pp. 404. (in Persian).

Rezaei, M. B. and K. Jaymand. 1998. Agar-Agar. Research Institute of Forests and Range Publications. pp. 110. (in Persian).

Saremi, H. 1997. Taxonomi and Ecology of Fusarium species. Jahade- University of Mshhad.pp. 158. (in Persian).

Saxena, S. and A. K. Pandy. 2002. Evaluation of an indigenous isolate of *Alternaria alternata* (lc# 508) for use as a mycoherbicide for *Lantana camera*. Crop Protection, 21: 71-73.

Shabana,Y. M. 2005. The use of oil emulsions for improving the efficacy of *Alteranaria eichhorniae* as a mycoherbicide for water hyacinth (*Eichhornia crassipes*). Biological Control, 32: 78-89.

Simmons, E. G. 2007. *Alternaria* an identification manual. CBS Fungal Biodiversity center Utrecht, the Netherland. 775 pp.

Trigiuno, R.N., Windham, M.T. and Windham, A. S. 2004. Plant pathology: Concept and Laboratory Exercises. CRC Press. 413 pp.

Walker, H. L. and Boyette, C. D. 1985. Biocontrol of Sicklepod (*Cassia obtusifolia*) in Soybean (*Glycine max*) with *Alternaria cassiae*. Weed Science, 33: 212-215.

Zand, E., H.Rahimian., A. koochaki., J. Khalaghani., K. Mousavi and K. Ramezani. 2003. Weed ecology (management applications). Jahade- University of Mshhad.pp. 558. (in Persian).

Zeidali, E., R. Ghorbani., A. Koocheki., N. Azadbakht and V. Jahanbakhsh. 2008. Exteract Pathogen Fungi from Field bindweed (*Convolvulus arvensis*) and Introduce virulent isolate as biocontrol agent of this Weed. Proceeding of 2th congress of Iranian Weed Science, Mashhad. 129-133. (in Persian).

Zeidali, E., A. Koocheki., N. Azadbakht and R. Ghorbani.2009. Evaluation of *Alternaria alternata* as a potential bicontrol agent for field bindweed (*Convolvulus arvensis*).IXthInternational Bioherbicide Group Workshop. February 8, Orlando, Florida, 23-26.

Zeidali, E., R. Ghorbani., A. Koocheki., N. Azadbakht , V. Jahanbakhsh and H. Aghel. 2010. Biological Control of Field Bindweed (*Convolvulus Arvensis*) by Using Plant Antagonistic Fungi. Plant protection (Agriculture Science and Technology), 24(1): 8-16. (in Persian).