همایش ملی محیط زیست و تولیدات گیاهی

۱۵ و ۱۶ مهر ۱۳۹۱

واحد دامغان

بررسی عوامل پوسیدگی قارچی کورم زعفران و کنترل آنها

فهیمه نیاستی* و آیت اله سعیدی زاده

دانشگاه شاهد، گروه گیاهپزشکی، تهران، ایران

Email: fniasti95@gmail.com

چکیده

جهت شناسایی عوامل پوسیدگی کورم و کنترل آنها، از مزارع و محل های نگهداری کورم زعفران، واقع در بشرویه از توابع استان خراسان جنوبی، نمونه برداری از کورم ها انجام گرفت. پس از کشت بافت های آلوده جدا شده از نمونه ها، قارچ های *Penicillium digitatum*، *Aspergillus niger* و *Rhizopus stolonifer* جداسازی شدند. برای آزمون کنترل این بیمارگرها از چهار غلظت (غلظت های ۱×۱۰^{۷}، ۱×۱۰^{۸}، ۱×۱۰^{۹} و ۱×۱۰^{۱۰} سلول باکتری در میلی لیتر آب مقطر ($CFU\ ml^{-1}$)) از سوسپانسیون باکتری *Pseudomonas fluorescens* CHA0 و قارچ *Trichoderma harzianum* Bi (غلظت های مختلف ۱×۱۰^{۵}، ۱×۱۰^{۶}، ۱×۱۰^{۷} و ۱×۱۰^{۸} اسپور در میلی لیتر آب مقطر) و نیز چهار غلظت از قارچ کش های اکسی کلرور مس و بنومیل (۱×۱۰^{-۳}، ۲×۱۰^{-۳}، ۳×۱۰^{-۳} و ۴×۱۰^{-۳} گرم بر لیتر) در چهار تکرار استفاده شد. بر اساس میزان قطر کلنی رشد یافته از بیمارگر و مقایسه با شاهد میزان اثر کنترلی عوامل بیولوژیک و ترکیبات شیمیایی در غلظت های مختلف در محیط PDA اندازه گیری شد. نتایج بدست آمده نشان داد که بیشترین میزان کنترل در مورد قارچ آنتاگونیست مربوط به غلظتهای ۱×۱۰^{۷} و ۱×۱۰^{۸} و در مورد باکتری آنتاگونیست به ترتیب مربوط به غلظت های ۱×۱۰^{۹} و ۱×۱۰^{۱۰} بوده است. در مورد ترکیبات شیمیایی بکار رفته بیشترین میزان اثر کنترلی در مورد بنومیل و اکسی کلرور مس به ترتیب در غلظت های ۳×۱۰^{-۳} و ۴×۱۰^{-۳} بدست آمد.

کلمات کلیدی: **زعفران، پوسیدگی، کورم، کنترل.**

مقدمه

زعفران (*Crocus sativus* L.) گیاهی است که کشت آن از گذشته های دور در ایران مرسوم بوده است. این گیاه یکی از محصولات ارزشمند کشاورزی است که در منطقه خراسان به طلای سرخ شهرت دارد (۱). انواع مختلفی از قارچ ها، باکتری ها و نماتدها به عنوان عوامل بیماری های پس از برداشت روی انواع میوه ها، سبزیجات، غلات و اندام های تکثیری گیاهان مطرح می باشند (۳). با توجه به اهمیت و ارزش محصول زعفران و از آنجایی که کشت کورم های سالم و عاری از بیماری در رشد سریعتر و محصول دهی این گیاه تاثیر بسزایی دارد،

در این تحقیق جهت کنترل عوامل قارچی پوسیدگی کورم، از روش های بیولوژیک (استفاده از قارچ *Trichoderma harzianum* Bi و باکتری *Pseudomonas fluorescens* CHA0 به عنوان دو مورد از مهمترین عوامل بیوکنترل بیمارگرهای گیاهان) و شیمیایی (استفاده از اکسی کلرور مس و بنومیل به عنوان دو مورد از مهمترین سموم تماسی و سیستمیک) استفاده شده است.

مواد و روش کار

عوامل پوسیدگی قارچی کورم

نمونه برداری جهت جداسازی عوامل پوسیدگی کورم زعفران از مزارع شهرستان بشرویه واقع در استان خراسان جنوبی انجام گرفت. پس از استریل کردن سطح کورم های مشکوک به آلودگی با الکل اتانول ۹۶ درجه، قطعاتی به ابعاد یک سانتیمتر از مرز بافت های سالم و آلوده از سطح کورم جدا شده و در محیط PDA کشت گردید. از کلنی های بدست آمده اسلاید میکروسکوپی تهیه شد. شناسایی قارچ ها از صفات مرفومتریک اندام های قارچی به همراه آزمون بیماریزایی انجام گرفت.

تیمار بیوکنترلی عوامل بیمارگر

جهت تهیه سوسپانسیون مایه تلقیح باکتری *P. fluorescens* CHA0 از روش ولر و کوک (۱۹۸۳) استفاده شد (۸). برای این روش پس از کشت باکتری روی محیط کینگ بی (King B) نهایتا سوسپانسیون باکتری به مدت ۱۰ دقیقه در g ۶۰۰۰ سانتریفیوژ شده و غلظت های 1×10^{7}، 1×10^{8}، 1×10^{9} و 1×10^{10} باکتری در میلی لیتر (CFU ml^{-1}) از آن با استفاده از منحنی استاندارد با روش اسپکتروفتومتری در محلول یک درصد کربوکسی متیل سلولز تهیه شد (۸).

برای تهیه سوسپانسیون اسپور قارچ *T. harzianum* Bi به هر پتری حاوی پرگنه قارچ در محیط PDA در حدود ۱۵ میلی لیتر آب مقطر استریل اضافه شد. توسط یک میله شیشه‌ای سر کج استریل و حرکت آرام آن روی سطح کلنی، اسپورها از پرگنه جدا شده و در آب مقطر به صورت سوسپانسیون در آمدند. سوسپانسیون حاصل از پارچه ململ دو لایه استریل عبور داده شد. با کمک اسلاید گلبول شمار (هماسیتومتر) تعداد اسپورهای موجود در هر میلی لیتر از سوسپانسیون تعیین گردید. نهایتا غلظت های مختلف (1×10^{5}، 1×10^{6}، 1×10^{7} و 1×10^{8}) از اسپور (کنیدی) در هر میلی لیتر آب مقطر تهیه شد (۶). جهت مقایسه تأثیر غلظت های مختلف قارچ و باکتری آنتاگونیست بر آلودگی قارچ های مولد پوسیدگی تمامی آزمایشات به ازای هر تیمار (غلظت های مختلف باکتری و قارچ آنتاگونیست) در قالب طرح کاملا تصادفی با چهار تکرار انجام شد. ابتدا یک کلنی به قطر یک سانتیمتر از قارچ بیمارگر در وسط پتری حاوی محیط PDA قرار داده شد. سپس یک میلی لیتر از غلظت های سوسپانسیون باکتری یا قارچ آنتاگونیست به صورت یک حلقه به قطر هشت سانتیمتر در حاشیه محیط موجود در پتری ۹ سانتیمتری قرار گرفت. شاهد نمونه هایی بودند که با آب مقطر استریل مایه زنی شدند. پس از انکوباسیون نمونه ها

میزان قطر پرگنه های تشکیل شده در هر پتری اندازه گیری گردید. برای تیمار شیمیایی بیمارگرها چهار غلظت (۱×۱۰^{-۳}، ۲×۱۰^{-۳}، ۳×۱۰^{-۳} و ۴×۱۰^{-۳} گرم بر لیتر) از قارچ کش بنومیل و اکسی کلرور مس با چهار تکرار تهیه شد. ارزیابی اثر باکتری و قارچ آنتاگونیست و نیز قارچ کش های بکار رفته بر اساس مقایسه میانگین قطر کلنی قارچ بیمارگر با نمونه های شاهد با استفاده از نرم افزار آماری SAS انجام گرفت (۲).

نتایج

عوامل پوسیدگی قارچی کورم

قارچ های بدست آمده از بافت های آلوده و غیر طبیعی کورم ها شامل گونه های *Penicillium digitatum* ، *Aspergillus niger* و *Rhizopus stolonifer* بوده است. شکل، اندازه و آرایش فیالیدها و کنیدی ها در گونه های *P. digitatum* و *A. niger* و شکل و اندازه اسپورانژ، ریزوئید و استولون در مورد *R. stolonifer* در تشخیص حائز اهمیت می باشد (۴، ۵).

تیمار بیوکنترلی و شیمیایی عوامل بیمارگر

نتایج بدست آمده نشان داد که بیشترین میزان کنترل در مورد قارچ آنتاگونیست مربوط به غلظت های ۱×۱۰^{۷} و ۱×۱۰^{۸} و در مورد باکتری آنتاگونیست به ترتیب مربوط به غلظت های ۱×۱۰^{۹} و ۱×۱۰^{۱۰} بوده است. در مورد ترکیبات شیمیایی بکار رفته بیشترین میزان اثر کنترلی در مورد بنومیل و اکسی کلرور مس به ترتیب در غلظت های ۳×۱۰^{-۳} و ۴×۱۰^{-۳} بدست آمد ($P\leq0.01$) (جداول ۱تا ۴).

جدول ۱) میزان اثر غلظت های مختلف سوسپانسیون قارچ آنتاگونیست *T. harzianum* Bi بر رشد پرگنه قارچ های بیمارگر

اندازه قطر (سانتیمتر) پرگنه قارچ های بیمارگر در پتری حاوی محیط کشت			
تیمار	*Penicillium digitatum*	*Aspergillus niger*	*Rhizopus stolonifer*
شاهد	۸/۳۷a	۸/۴۰a	۸/۹۷a
غلظت ۱×۱۰^{۵}	۴/۳۲b	۵/۵۷b	۸/۷۷b
غلظت ۱×۱۰^{۶}	۳/۸۰c	۴/۷۵c	۸/۴۵c
غلظت ۱×۱۰^{۷}	۳/۴۲d	۴/۳۵d	۶/۷۷d
غلظت ۱×۱۰^{۸}	۳/۲۲e	۳/۵۰e	۶/۵۷e

جدول ۲) میزان اثر غلظت های مختلف سوسپانسیون باکتری آنتاگونیست *P. fluorescens* CHA0 بر رشد پرگنه قارچ های بیمارگر

اندازه قطر (سانتیمتر) کلنی قارچ های بیمارگر در پتری حاوی محیط کشت			
تیمار	*Penicillium digitatum*	*Aspergillus niger*	*Rhizopus stolonifer*
شاهد	۸/۸۲a	۸/۸۵a	۹a

غلظت $10^{-7}\times1$	۶/۴۵b	۶/۰۷b	۸/۸۲b
غلظت $10^{-8}\times1$	۶/۲۷c	۵/۸۲c	۸/۴c
غلظت $10^{-9}\times1$	۴/۱۷d	۴d	۷/۳d
غلظت $10^{-10}\times1$	۳/۷۲e	۳/۵۲e	۶/۳e

جدول ۳) میزان اثر غلظت های مختلف قارچ کش بنومیل (گرم بر لیتر آب مقطر) بر رشد پرگنه قارچ های بیمارگر

	اندازه قطر (سانتیمتر) کلنی قارچ های بیمارگر در پتری حاوی محیط کشت		
تیمار	*Penicillium digitatum*	*Aspergillus niger*	*Rhizopus stolonifer*
شاهد	۸/۶a	۸/۶a	۸/۹a
غلظت $10^{-3}\times1$	۶/۴۵b	۶/۶b	۷/۸b
غلظت $10^{-3}\times2$	۵/۱۵c	۴/۸c	۶/۹c
غلظت $10^{-3}\times3$	۴/۷۲d	۴/۱d	۶/۲d
غلظت $10^{-3}\times4$	۴/۶۵e	۴/۰۵d	۶/۱d

جدول ۴) میزان اثر غلظت های مختلف قارچ کش اکسی کلرور مس (گرم بر لیتر آب مقطر) بر رشد پرگنه قارچ های بیمارگر

	اندازه قطر (سانتیمتر) کلنی قارچ های بیمارگر در پتری حاوی محیط کشت		
تیمار	*Penicillium digitatum*	*Aspergillus niger*	*Rhizopus stolonifer*
شاهد	۸/۳۵a	۸/۶۷a	۸/۹۲a
غلظت $10^{-3}\times1$	۷/۸۵b	۷/۸b	۸/۸۰b
غلظت $10^{-3}\times2$	۶/۴۲c	۷/۴۵c	۸/۲۰c
غلظت $10^{-3}\times3$	۶/۱۷d	۶/۲۵d	۷/۹۵d
غلظت $10^{-3}\times4$	۵/۸۷e	۶/۰۲e	۷/۷۵e

میانگین های دارای حروف مشابه در هر ستون در آزمون دانکن در سطح ۱٪ اختلاف معنی دار نشان نمی دهند.

بحث و نتیجه گیری

کنترل بیولوژیک عوامل پوسیدگی میوه ها یا بیماری های پس از برداشت در مورد محصولات مهم و اقتصادی انجام گرفته است. تاکور و همکاران در سال ۱۹۹۲ با مطالعه مزارع زعفران موجود در منطقه بروار-کیشوار (Bervar-Kishwar) قارچ *Macrophomina phaseolina* را بعنوان عامل پوسیدگی کورم و پژمردگی بوته های زعفران معرفی کرده اند (۷).

در تحقیق حاضر کاربرد غلظت های مختلف از قارچ *T. harzianum* Bi، باکتری *Pseudomonas fluorescens* CHA0 و قارچ کش های بنومیل و اکسی کلرور مس در کاهش کلنی زایی قارچ های بیمارگر بدست آمده مؤثر بود. در خصوص کورم های زعفران که مصرف خوراکی ندارند می توان با استفاده از سموم پیشنهاد شده

و نیز عوامل بیولوژیک از طریق غوطه ور کردن کورم در سوسپانسیون تا حد قابل ملاحظه ای از پوسیدگی کورم جلوگیری کرد.

منابع

۱- معظمی گودرزی، م. طلای سرخ ایران از تولید تا فرآوری. دام، کشت و صنعت. شماره ۱۰۳. ۱۳۸۷. ص ,۵۶

۲- ملکی زیارتی ، ح. ، روستایی ، ع.، صاحبانی، ن.، اعتباریان، ح.ر.ف و ح. امینیان . بررسی امکان کنترل بیولوژیک نماتد مولد گره ریشه گوجه فرنگی در *Meloidogyne javanica* (Trube) Chitwood به وسیله قارچ *Trichoderma harzianum* Rifai گلخانه و تغییرات کمی ترکیبات فنلی در گیاه. مجله به زراعی نهال و بذر. ۱۳۸۸. جلد ۲۵(۳): ۲۶۱- ۲۷۴.

3- Dennis, C. *Post-Harvest Pathology of Fruits and Vegetables.* Academic Press, New York. **1983**.

4- Frisvad, J., ; R.A. Samson. *Stud. Mycology*. **2004**. 49: 92.

5- Schipper, M. A. A. *CBS Studies in Mycology*, **1984**. 25:1-19.

6-Sharon,E., Bar-Eyal, M., Chet, I., Herrera-Estrella, A. Kleifeld, O. ; Y. Spiegel. *Phytopathology*, **2001**. 91(7):687- 693.

7-Thakur, R. N., Singh, C., ; B. L.Kaul. *Indian Phytopathol*. **1992**. 45(2): 278.

8- Weller, D. M., ; R.J. Cook. *Phytopathol.***1983**. 78: 463-469.

همایش ملی محیط زیست و تولیدات گیاهی

۱۵ و ۱۶ مهر ۱۳۹۱

A study on agents of fungal rot on saffron corm and their control

Fahimeh Niasti and Ayatollah Saeedizadeh*

Department of Plant Protection, Shahed University, Tehran, Iran
Email: fniasti95@gmail.com

Abstract

The study for isolation and identification of causal agents of corm rot and their control, was sampled of corms in farms in Bushroueye of southern of Khorasan province. After culturing of sections of infected corms, the fungi, *Penicillium digitatum*, *Aspergillus niger*, and *Rhizopus stolonifer* were isolated and identified. For their control test, four concentrations of bacterium, *Pseudomonas fluorescens* CHA0 (1×10^{7} , 1×10^{8} , 1×10^{9} and 1×10^{10} CFU ml $^{-1}$), fungus, *Trichoderma harzianum* Bi (1×10^{5} , 1×10^{6} , 1×10^{7} and 1×10^{8} spore ml $^{-1}$), and five concentrations of fungicides, cupper oxichlorore and benomil, (1×10^{-3} , 2×10^{-3} , 3×10^{-3} and 4×10^{-3} g/l) were used with four replications. The control effect of antagonists and fungicides was determined by measurement of diameter of pathogens colony on PDA. The results showed the maximum of control of antagonistic fungus was concerned concentrations, 1×10^{7} and 1×10^{8} , and the antagonistic bacterium was concerned concentrations, 1×10^{9} and 1×10^{10} . The fungicides had maximum control in concentrations, 3×10^{-3} and 4×10^{-3} .

Key words: saffron, rot, corm, control.