

مقاله تحقیقی

ارزیابی قارچ‌های اندوفیت جدا شده از برنج برای مه‌ار زیستی بیماری بلاست

نرجس خاتون رامش^۱، سعید رضائی^۱، شهرام نعیمی^۲، خلیل بردی فتوحی^۳

۱- گروه گیاه پزشکی، دانشکده علوم کشاورزی و صنایع غذایی، واحد علوم و تحقیقات، دانشگاه آزاد اسلامی، تهران، ایران

۲- مؤسسه تحقیقات گیاه پزشکی کشور، سازمان تحقیقات، آموزش و ترویج کشاورزی، تهران، ایران

۳- گروه گیاه پزشکی، دانشکده علوم و مهندسی کشاورزی، پردیس کشاورزی و منابع طبیعی، دانشگاه تهران، کرج، ایران

مسئول مکاتبات: سعید رضائی، ایمیل: srezaee@srbiau.ac.ir

تاریخ پذیرش: ۹۹/۱۲/۱۸

۸(۲) ۱-۱۷

تاریخ دریافت: ۹۹/۱۰/۲۷

چکیده

بیماری بلاست با عامل *Pyricularia oryzae* مهم‌ترین بیماری برنج در جهان می‌باشد. استفاده از سموم شیمیایی، اگرچه باعث کنترل بیماری می‌شوند، اما آسیب‌های جدی به انسان و محیط زیست وارد می‌کنند. این پژوهش با هدف استفاده از قارچ‌های اندوفیت برنج به عنوان جایگزین مؤثر و بی‌خطر قارچ‌کش‌های شیمیایی برای کنترل این بیماری انجام شد. جدایه‌های قارچی اندوفیت از برگ، ساقه، غلاف و ریشه بوته‌های برنج در شالیزارهای استان‌های مازندران و گیلان جداسازی شدند و فعالیت آنتاگونیستی آن‌ها علیه جدایه پُرآزار قارچ بیمارگر به روش کشت متقابل مورد بررسی قرار گرفت. سپس، بذور برنج با جدایه‌های منتخب اندوفیت، تیمار و بیماری در نشاها و نیز شاخص‌های رشد برنج در شرایط گلخانه تعیین شدند. کمترین میزان شدت بلاست در نشاهای برنج تحت تیمار قارچ‌های اندوفیت *Fusarium* sp. NR-L645 و *Microdochium bolleyi* NR-SH321 با ۹۱/۶۷ درصد کنترل بیماری مشاهده شد. همچنین، این دو جدایه باعث افزایش معنی‌دار شاخص‌های رشد گیاه برنج نسبت به گیاهان شاهد شدند. نتایج این تحقیق نشان داد که قارچ‌های اندوفیت برنج می‌توانند به عنوان عوامل کنترل زیستی بیماری بلاست و افزاینده رشد برنج با هدف کاربردی نمودن آن‌ها در تحقیقات آتی مورد توجه قرار گیرند.

واژه‌های کلیدی: قارچ اندوفیت، بلاست، شاخص‌های رشدی، خزانه برنج، کنترل بیولوژیک

مقدمه

از مهم‌ترین دلایل کاهش کمی و کیفی محصول به حساب می‌آیند. بلاست برنج، یک بیماری قارچی ناشی از *Pyricularia oryzae* Cavara (Tel. *Magnaporthe oryzae* B.C. Couch) است که باعث ایجاد خسارت چشمگیر در تولید برنج در سراسر جهان می‌شود. بین ۱۰ تا ۳۰ درصد برنج هر سال توسط این بیماری از بین می‌رود و امنیت غذایی را به خطر می‌اندازد (Talbot, 2003; Wilson & Talbot, 2009; Sakulkoo et al., 2018). در ایران هم بلاست برنج مهم‌ترین بیماری این محصول محسوب می‌شود و تحت شرایط مساعد برای بیمارگر، خسارت

برنج (*Oryza sativa* L.) یکی از مهم‌ترین محصولات غذایی و غذای اصلی نیمی از جمعیت جهان است (Agbowuro et al., 2020). این گیاه که از غلات مهم در جهان است، تحت تأثیر چندین عامل زنده و غیرزنده می‌باشد که تولید محصول را به خطر می‌اندازند. استان‌های مازندران و گیلان با دارا بودن بیشترین سطح زیر کشت برنج در ایران در مقام اول و دوم قرار دارند (آمارنامه کشاورزی، ۱۳۹۹). عوامل مختلف زنده و غیر زنده موجب کاهش تولید محصول برنج می‌شوند که در این میان، بیماری‌های گیاهی

ریزوسفر و فیلوسفر در دنیا و ایران انجام شده است (Javadi, et al., 2015; Chou et al., 2020).

قارچ‌های اندوفیت، اغلب میزبان خود را بدون ایجاد هیچ‌گونه علائم بیماری، اشغال می‌کنند (Carroll, 1998; Schulz & Boyle, 2005). گیاهان به‌صورت همزیست با طیف گسترده‌ای از میکروارگانیسم‌های پروکاریوتی و یوکاریوتی همراه هستند. بهبود برخی از صفات گیاهی، از جمله رشد، متابولیسم و سازگاری با تنش‌های محیطی به واسطه این میکروارگانیسم‌های مفید و استفاده از قارچ‌های اندوفیت برای افزایش مقاومت گیاه به بیمارگرها، گامی به‌سوی کاهش استفاده از قارچ‌کش‌ها و سایر مواد شیمیایی در کشت برنج خواهد بود و نوید بزرگی در توسعه تجاری عوامل میکروبی برای کشاورزی پایدار، می‌باشد (Van Wees et al., 2008; Suada et al., 2012). قارچ‌های اندوفیت غالباً با گیاهان زراعی از جمله گندم (*Triticum aestivum*)، جو وحشی (*Hordeum brevisubulatum*) و *Hordeum bogdani*، سویا (*Glycine max*)، ذرت (*Zea mays*) و برنج (*O. sativa*) همراه هستند (Larran et al., 2002; Dingle & Mc Gee, 2003; Yuan et al., 2011). برخی از قارچ‌های اندوفیت مرتبط با این گیاهان، موجب مقاومت آن‌ها در برابر حشرات و بیماری‌های قارچی می‌شوند (Sieber et al., 1988; Sun et al., 2012; Wani et al., 2015). این مطالعات نشان‌دهنده این واقعیت است که میکروارگانیسم‌های اندوفیت توانسته‌اند تعداد زیاد و متنوعی از بیماری‌های گیاهی به ویژه در غلات کنترل نمایند. قارچ‌های اندوفیت برنج توسط محققین مختلف در دنیا مطالعه شده‌اند، اما تاکنون تحقیق جامعی در این زمینه در کشور انجام نشده است.

در آزمایشی فعالیت آنتاگونیستی قارچ‌های اندوفیت جدا شده از گیاه برنج در شرایط آزمایشگاهی مورد مطالعه قرار گرفت و نتایج نشان داد که ۴۲ درصد از کل جدا شده‌های قارچی با درجات مختلف در کشت دوگانه باعث مهار رشد

جبران‌ناپذیری را در ارقام بومی برنج (تا ۹۰ درصد) ایجاد می‌نماید (Padasht Dehkaei & Izadyar, 2007). گیاه برنج در همه مراحل رشد در معرض این بیمارگر قرار دارد که باعث کاهش کمیت و کیفیت محصول برنج می‌شود. بنابراین، اگر بتوان در خزانه این بیماری را کنترل کرد، نشاهای سالم و عاری از بیماری وارد مزرعه شده و موجب کاهش خسارت می‌شود.

این بیماری را می‌توان با استفاده از ارقام مقاوم، روش‌های زراعی، قارچ‌کش‌ها و تلفیقی از آن‌ها کنترل کرد (Ribot et al., 2008). یکی از روش‌های رایج و مؤثر مقابله با بلاست برنج، استفاده از سموم شیمیایی می‌باشد (Skamnioti & Gurr, 2009). اما، ظهور مقاومت در جمعیت‌های *P. oryzae* در برابر قارچ‌کش‌های شیمیایی، باعث کاهش اثربخشی سموم شیمیایی می‌شود. از طرف دیگر، استفاده گسترده از سموم دفع آفات شیمیایی علاوه بر صرف هزینه‌های بالای اقتصادی، به‌طور قابل توجهی تعادل اکولوژیکی و سلامت انسان را تهدید می‌کند. کاهش خسارت مبتنی بر ژن‌های مقاومت نیز، اگرچه با موفقیت روبه‌رو شد، اما به‌دلیل ظهور پاتوتیپ‌های (pathotypes) جدید در قارچ عامل بیماری بلاست، در معرض تهدید مداوم است. بنابراین، مدیریت بیماری باید با روش‌های جدید و نوآورانه تحول یابد (Ashajyothi et al., 2019). انواع جدیدی از قارچ‌کش‌ها از جمله میکروارگانیسم‌ها و محصولات آن‌ها که به‌عنوان عوامل مهار زیستی شناخته می‌شوند و سازگار با محیط زیست هستند نیاز فوری به توسعه دارند (Rong et al., 2020). اندوفیت‌ها که می‌توانند در بافت‌های سالم گیاهان، بدون ایجاد علائم ظاهری بیماری زنده بمانند، منبع مهمی برای آفت‌کش‌های زیستی در حال ظهور هستند (Gond et al., 2015; da Silva et al., 2018). تحقیقات گسترده‌ای در ارتباط با کنترل بیماری بلاست برنج با استفاده از میکروارگانیسم‌های آنتاگونیست

de Haan) Shoemaker را در شرایط آزمایشگاهی و گلخانه کنترل کرده‌اند (Priyadarshani *et al.*, 2018). در ایران، نقش قارچ اندوفیت ریشه برنج، *Piriformospora indica* در کنترل بیماری بلاست برنج (Mousavi, 2014) و سوختگی غلاف برنج گزارش شده است (Nassimi & Taheri, 2017). در پژوهشی دیگر، مه‌ار زیستی بیماری پوسیدگی طوقه برنج با استفاده از برخی قارچ‌های اندوفیت جدا شده از برنج، ابتدا در آزمون کشت متقابل علیه قارچ بیمارگر، *Fusarium fujikuroi* Nirenberg غربال شد و سپس جدایه‌های مؤثر برای آزمون گلخانه انتخاب شدند. نتایج، کمترین میزان وقوع مرگ گیاهیچه در نشاهای برنج تحت تیمار دو جدایه NR-R688 و NR-SH321 قارچ *Chaetomium globosum* با دو درصد (۹۷/۴ درصد کنترل وقوع بیماری) و جدایه‌های NR-L645 و NR-L243 به‌ترتیب از قارچ‌های *Penicillium sp.* و *Fusarium sp.* با شش درصد (۹۲/۳ درصد کنترل وقوع بیماری) را نشان داد (Ramesh *et al.*, 2020).

در سال‌های اخیر تقاضا برای استفاده از آفت‌کش‌های بیولوژیک (biopesticides) رو به افزایش نهاده و به موازات آن، بازار فرآورده‌های بیولوژیک نیز رونق چشمگیری داشته است (Glare & Moran-Diez, 2016). بنابراین، جستجو برای یافتن قارچ‌های اندوفیت با خاصیت بیوکنترل بیماری‌های مهم گیاهی، ضروری و منطقی به‌نظر می‌رسد. با در نظر داشتن این که قارچ‌های اندوفیت توانسته‌اند به‌عنوان عوامل کنترل بیولوژیک بیمارگرهای متعدد گیاهی و افزایش دهنده رشد و عملکرد تعداد زیادی از گیاهان میزبان به‌کار روند و با توجه به گزارش‌های متعدد مبنی بر توانایی قارچ‌های اندوفیت در کنترل بیماری‌های غلات و به‌خصوص برنج، این پژوهش با هدف جداسازی و شناسایی قارچ‌های اندوفیت مؤثر در کنترل بیماری بلاست برنج انجام شده است.

قارچ‌های بیمارگر *Magnaporthe grisea* (Hebert) Barr و *Rhizoctonia solani* و *Fusarium moniliforme* Sheld Kuhn, Krankh, Kulturgewachse, Ursachen & Verbreitung شدند (Tian *et al.*, 2004). طی تحقیقی قارچ‌های اندوفیت *Phialemonium curvatum* Gams & Cooke و *Phaeosphaeria oryzae* Miyake باعث مه‌ار بیماری بلاست ناشی از قارچ *P. oryzae* شده‌اند (Suada *et al.*, 2012). همچنین نقش همزیستی قارچ اندوفیت ساکن در ریشه برنج، *Harpophora oryzae* Yuan, Zhang & Lin، در کنترل زیستی بیماری بلاست برنج، مورد بررسی قرار گرفت و مشخص گردید که *H. oryzae* با بالا بردن ظرفیت آنتی‌اکسیدانی برنج و القای مقاومت سیستمیک، گیاه را در برابر قارچ *P. oryzae* محافظت می‌کند (Su *et al.*, 2013). طبق بررسی‌های انجام شده در گیاه برنج و جداسازی قارچ‌های اندوفیت آن، تأثیر قارچ‌های اندوفیت *Absidia Tieg.* و *Cylindrocladium Morgan* بر رشد گیاه برنج و جلوگیری از رشد قارچ *M. grisea* مورد بررسی قرار گرفته است و نتایج نشان داده‌اند که این قارچ‌ها موجب افزایش معنی‌دار رشد برنج و ممانعت از رشد میسلومی *M. grisea* شده‌اند (Atugala & Deshappriya, 2015).

جدایه E337، از قارچ *Antennariella placitae* Cheew & Crous، اندوفیت جدا شده از برنج دارای خاصیت آنتاگونیستی علیه *Ustilagonoidae virens* Takah (Cooke) بوده و توانایی ممانعت از رشد این قارچ را داشته و در آزمایش گلخانه‌ای نیز با بهبود عملکرد گیاه برنج موجب کاهش شدت بیماری سیاهک دروغی ناشی از *U. virens* شده است (Andargie *et al.*, 2017). در مطالعه‌ای دیگر، تأثیر قارچ‌های اندوفیت جداسازی شده از برنج در بروز بیماری لکه قهوه‌ای برنج مورد آزمایش قرار گرفته است و قارچ‌های *Chaetomium sp.* و *Trichoderma sp.* به‌طور قابل توجهی قارچ بیمارگر *Bipolaris oryzae* (Breda

مواد و روش‌ها

جمع‌آوری نمونه‌های گیاهی

ظروف پتری به انکوباتور با دمای ۲۵ درجه سلسیوس و شرایط تاریکی منتقل شدند. به منظور اطمینان از ضدعفونی سطحی و حذف قارچ‌های اپی‌فیت، مقداری از آب مقطر سترون در مرحله آخر شستشو روی محیط کشت سیب‌زمینی دکستروز آگار (potato dextrose agar = PDA, Merck, Germany) کشت داده شد (Yuan *et al.*, 2010; 2011). ریشه‌های قارچی که از قطعات گیاهی رشد کرده بودند به صورت جداگانه به محیط کشت PDA منتقل شدند. سپس جدایه‌های اندوفیت به روش کشت نوک هیف خالص‌سازی شدند. به منظور نگهداری قارچ‌های اندوفیت، قرص‌های میسلیمی از حاشیه پرگنه در حال رشد انتخاب و به درون تیوب‌های سترون حاوی ۲۰ درصد گلیسرول منتقل و سپس در دمای ۸۰- درجه سلسیوس نگهداری شدند.

به منظور دستیابی به قارچ‌های اندوفیت، در طی بهار و تابستان سال ۱۳۹۶، نمونه‌برداری به صورت تصادفی از شالیزارهای مناطق مختلف استان‌های مازندران و گیلان انجام شد. نمونه‌برداری از گیاهان برنج سالم و بدون علائم آفات و بیماری‌ها صورت گرفت. اندام‌های گیاهی شامل برگ، ساقه، غلاف و ریشه به تفکیک درون کیسه‌های پلاستیکی سترون و در جعبه حاوی یخ (cool box) و با ثبت مشخصات نمونه‌ها شامل مکان جمع‌آوری، طول و عرض جغرافیایی، رقم برنج و تاریخ نمونه‌برداری به آزمایشگاه منتقل شدند و در دمای چهار درجه سلسیوس نگهداری شدند.

بررسی خواص آنتاگونیستی قارچ‌های اندوفیت

اثر جدایه‌های قارچی اندوفیت به دست آمده از گیاه برنج علیه قارچ عامل بلاست برنج (*P. oryzae*) در شرایط آزمایشگاه و گلخانه مورد بررسی قرار گرفت. جدایه پُرآزار P274 قارچ بیمارگر که به عنوان نژاد غالب در مناطق مرکزی استان مازندران محسوب می‌شود، از مؤسسه تحقیقات برنج کشور دریافت شد و در تمام مطالعات آزمایشگاهی و گلخانه‌ای این پژوهش استفاده شد.

جداسازی قارچ‌های اندوفیت

جداسازی قارچ‌های اندوفیت طی حداکثر ۷۲ ساعت پس از انتقال نمونه‌های گیاهی به آزمایشگاه انجام شد. برای این منظور، نمونه‌های گیاهی (ساقه، برگ، غلاف و ریشه) ابتدا به مدت ۱۰ دقیقه زیر جریان آب شیر شسته شدند و سپس به قطعات ۰/۵×۰/۵ سانتی‌متری بریده شدند. برای حذف عوامل سطحی، قطعات گیاهی بریده شده ابتدا به مدت ۴۰ ثانیه در اتانول ۷۰ درصد و سپس به مدت چهار دقیقه در محلول هیپوکلریت سدیم یک درصد قرار داده شدند. قطعات گیاهی به منظور شستشوی کامل از عوامل ضدعفونی کننده سه بار با آب مقطر سترون شستشو داده شدند. پس از رطوبت‌گیری با کاغذ صافی سترون، قطعات گیاهی درون ظروف پتری ۹۰ سانتی‌متری حاوی محیط کشت آب-آگار دو درصد (agar, Liofilchem, Italy) و یا عصاره مالت آگار دو درصد (malt extract agar = MEA, Merck, Germany) حاوی هر یک از آنتی‌بیوتیک‌های سولفات استرپتومایسین و پنی‌سیلین به اندازه ۱۵۰ میلی‌گرم در لیتر کشت داده شدند و سپس

روش کشت متقابل (Dual culture)

در این آزمایش در یک طرف ظرف پتری ۹۰ سانتی‌متری حاوی محیط کشت سیب‌زمینی دکستروز آگار، قرص میسلیمی بیمارگر و در طرف دیگر قرص میسلیمی از هر یک از قارچ‌های اندوفیت به صورت جداگانه قرار داده شد. قرص‌های میسلیمی به قطر پنج میلی‌متر و از حاشیه پرگنه در حال رشد قارچ‌ها تهیه شد. در ظرف پتری شاهد روبروی بیمارگر، قرصی از محیط کشت PDA قرار داده شد. ظروف پتری در دمای ۲۵ درجه سلسیوس و در شرایط تاریکی درون انکوباتور نگهداری شدند. قطر پرگنه‌ها در روز چهاردهم برای محاسبات آماری منظور گردید و درصد

(Deshapria, 2015). ب) خیساندن خاک (soil drench)؛ هفت روز بعد از کاشت بذرهای تیمار شده با قارچ‌های اندوفیت، سوسپانسیون اسپورهای قارچ‌ها با جمعیت 1×10^8 اسپور در میلی‌لیتر و به مقدار ۵۰ میلی‌لیتر، پای بوته‌ها به ازای هر سینی (تیمار به همراه تکرارهایش) اضافه شد (Priyadarshani *et al.*, 2018).

تیمارهای آزمایش شامل بذور مایه‌زنی شده با بیمارگر همراه هر یک از قارچ‌های اندوفیت منتخب، بذور مایه‌زنی نشده + هر یک از قارچ‌های اندوفیت منتخب، بذور مایه‌زنی شده با بیمارگر ضد عفونی شده با قارچکش تبوکونازول ۵۰ + تری‌فلوکسی‌استروبین ۲۵ (Nativo®, Bayer, Germany) بذور مایه‌زنی شده با بیمارگر به‌تنهایی (شاهد آلوده) و بذور مایه‌زنی نشده به‌تنهایی (شاهد سالم) بود. پس از ۲۵ روز شدت بیماری (disease severity) با شمارش تعداد لکه‌های بیماری در هر نشاء تعیین و میزان کنترل بیماری برای هر تیمار محاسبه شد. میزان کنترل بیماری با استفاده از فرمول $[(D_1 - D_2) / D_1] \times 100$ که در آن D_1 شدت بیماری در شاهد آلوده و D_2 شدت بیماری در تیمار است، محاسبه شد.

تأثیر قارچ‌های اندوفیت بر رشد نشاهای برنج

برای بررسی اثر جدایه‌های اندوفیت بر شاخص‌های رشد گیاه، بذور مایه‌زنی شده با هر یک از قارچ‌های اندوفیت (مطابق روش اشاره شده در بالا)، در سینی‌های نشاء کاشته شدند. پس از ۲۵ روز، طول ریشه، ارتفاع نشاء، وزن تر و خشک ریشه نشاءها اندازه‌گیری شدند. برای اندازه‌گیری وزن خشک، نمونه‌ها به مدت سه روز در آون با دمای ۷۰ درجه سلسیوس نگهداری و سپس توزین شدند.

ردیابی حضور اندوفیت‌ها در بافت‌های گیاهی

از هر کدام از تیمارهای مایه‌زنی شده با قارچ‌های اندوفیت و شاهد مایه‌زنی نشده، پنج نشاء به صورت تصادفی برای اثبات پدیده اندوفیت شدن انتخاب شدند. برای این منظور، قطعات گیاهی مختلف پس از انجام همان مراحل

بازدارندگی از رشد میسلیمی قارچ بیمارگر با استفاده از فرمول $[(R_1 - R_2) / R_1] \times 100$ که در آن R_1 برابر با قطر پرگنه در شاهد و R_2 برابر با قطر پرگنه در تیمار است، محاسبه شد (Lahlali & Higri, 2010).

بررسی اثر جدایه‌های منتخب در کنترل بیماری

جدایه‌های قارچ اندوفیت که در آزمون کشت متقابل در آزمایشگاه، بیشترین بازدارندگی از رشد قارچ *P. oryzae* را نشان دادند و نیز هاله بازدارندگی ایجاد کردند، با تأکید بر تأثیر مثبت در آزمایش قبلی مبنی بر کنترل بیماری پوسیدگی طوقه در گلخانه (Ramesh *et al.*, 2020) برای آزمون گلخانه‌ای انتخاب شدند. بذور برنج رقم طارم (حساس به بیماری بلاست) به مدت ۲۴ ساعت در آب مقطر سترون خیسانده شدند و سپس توسط هیپوکلریت سدیم دو درصد به مدت پنج دقیقه ضد عفونی و سه بار با آب مقطر سترون شستشو داده شدند. سپس بذور به مدت ۴۸ ساعت به منظور جوانه‌زنی در انکوباتور ۲۵ درجه سلسیوس نگهداری شدند و به ازای هر تیمار، ۵۰ بذر جوانه‌دار شده در هر سینی نشاء به ابعاد $7 \times 30 \times 40$ سانتی‌متر حاوی خاک شالیزار کاشته شدند. به خاک درون سینی‌ها کودهای اوره و فسفات به ترتیب به میزان ۲۵۰ و ۱۵۰ کیلوگرم در هکتار اضافه شد و در گلخانه با دمای ۲۵ تا ۳۰ درجه سلسیوس و رطوبت نسبی ۷۵ درصد نگهداری شدند. در این آزمایش از دو روش مایه‌زنی قارچ‌های اندوفیت استفاده شد. الف) تیمار بذر (seed treatment)؛ ابتدا از کشت ۱۰ روزه قارچ‌ها روی محیط PDA، سوسپانسیون با جمعیت 1×10^8 اسپور در هر میلی‌لیتر با استفاده از لام گلبول‌شمار (hemocytometer) تهیه شد. بذرهای جوانه‌دار شده برنج در ۱۰ میلی‌لیتر از این سوسپانسیون به اضافه ۵۰ میکرولیتر محلول ۰/۵ درصد کربوکسی‌متیل سلولز (Carboxymethyl cellulose, BPH, England) به عنوان ماده چسباننده (sticker) به مدت ۴۸ ساعت قرار گرفتند (Atugala &

آلمانی MBI Fermentas استفاده شد. ژل آگارز ۰/۸ درصد، تهیه و سپس تانک الکتروفورز به دستگاه تأمین کننده نیروی الکتریکی (Labnet midi, Labnet power supply, USA) با ولتاژ ۹۰ ولت به مدت ۶۰ دقیقه متصل شد. عکس‌برداری با استفاده از دستگاه Gel (E-Box CX5, Vilber Lourmar, Documentation France) انجام شد. محصولات تکثیر شده، برای خالص‌سازی و تعیین‌توالی نوکلئوتیدی به شرکت میکروسینت (Microsynth, Switzerland) از طریق شرکت توپاز ژن فرستاده شد. بعد از دریافت فایل ab1 قطعات تعیین‌توالی شده، کروماتوگرام مربوط به توالی‌ها با استفاده از نرم‌افزار Finch TV 1.4 مشاهده و ارزیابی شد. ارزیابی تشابه توالی‌های به‌دست آمده با توالی‌های موجود در بانک ژن (NCBI GenBank) با استفاده از ابزار جستجوی BLAST انجام شد. توالی‌ها با نرم‌افزار BankIt در بانک ژن ذخیره شدند و به ازای هر توالی، یک شماره دستیابی (accession number) دریافت شد.

تجزیه و تحلیل آماری

آزمایش‌ها در قالب طرح کاملاً تصادفی با سه (آزمون کشت متقابل) و پنج تکرار (آزمون گلخانه، هر تکرار شامل ۱۰ گیاهچه) انجام شد. تجزیه و تحلیل داده‌ها با نرم‌افزار SAS 9.1 انجام شد. برای نرمال کردن داده‌ها، از رابطه $(Y+0.5)^{1/2}$ استفاده شد ولی اعداد اصلی در جداول نمایش داده شد. گروه‌بندی تیمارها با استفاده از آزمون چند دامنه‌ای دانکن انجام شد.

نتایج

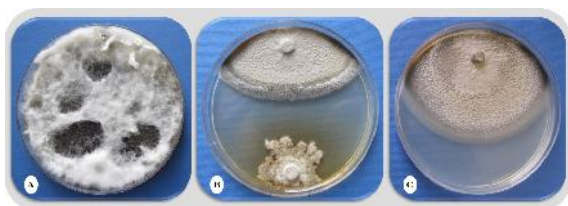
جداسازی قارچ‌های اندوفیت

جدایه‌های قارچی اندوفیت به‌دست آمده از مزارع برنج مازندران و گیلان بر اساس صفات ریخت‌شناختی (شامل رنگ سطح و پشت پرگنه، شکل و سرعت رشد پرگنه،

اشاره شده در قسمت جداسازی قارچ‌های اندوفیت، روی محیط کشت PDA قرار داده شدند. پس از جداسازی و شناسایی قارچ‌های رشد یافته در اطراف قطعات و مقایسه آن‌ها با قارچ‌های جداسازی شده از قطعات مربوط به شاهد مایه‌زنی نشده، اندوفیت بودن قارچ‌های مورد مطالعه تعیین شد.

شناسایی قارچ‌های اندوفیت مؤثر

مؤثرترین قارچ‌های اندوفیت در آزمایش گلخانه، مورد شناسایی ریخت‌شناختی و مولکولی قرار گرفتند. ابتدا میزان رشد روزانه جدایه‌ها روی محیط کشت PDA در دمای ۲۵ درجه سلسیوس اندازه‌گیری شد. سپس خصوصیات ریخت‌شناختی قارچ‌ها شامل خصوصیات پرگنه و میکروسکوپی مورد بررسی قرار گرفتند. پس از انجام بررسی‌های ریخت‌شناختی و شناسایی اولیه قارچ‌ها بر اساس کلیدهای شناسایی و توصیف‌های قارچی معتبر، شناسایی مولکولی برای تأیید شناسایی ریخت‌شناختی انجام شد. استخراج DNA ژنومی بر اساس روش Zhong & Steffenson (2001) صورت گرفت. واکنش زنجیره‌ای پلی‌مرز (PCR)، با استفاده از یک جفت آغازگر برای تکثیر ناحیه ITS-rDNA (White *et al.*, 1990) و ژن *tefl* (Geiser *et al.*, 2004; elongation factor 1- (*tefl*)) (O'Donnell *et al.*, 1998) توسط دستگاه ترموسایکلر (Peqstar 2x, Peqlab, Germany) انجام شد. در این مطالعه از مخلوط آماده PCR (Ampliqon, Denmark) شامل dNTPs، آنزیم *Taq*-DNA Polymerase، $MgCl_2$ و بافر PCR، استفاده شد. برنامه حرارتی PCR جهت تکثیر ناحیه ژنومی ITS-rDNA، بر اساس روش White *et al.* (1990)، و برنامه حرارتی PCR جهت تکثیر ژن *tefl* بر اساس روش O'Donnell *et al.* (1998) و Geiser *et al.* (2004) انجام شد. برای تخمین اندازه محصولات تکثیر شده از نشانگر اندازه DNA یک کیلوبازی (Gene Ruler TM DNA Ladder) به شماره SM0313، ساخت شرکت



شکل ۱- آزمون کشت متقابل قارچ‌های اندوفیت و بیمارگر در محیط کشت PDA. A- رشد جدایه NR-R302 روی پرگنه قارچ بیمارگر، B- ایجاد هاله بازدارندگی توسط جدایه NR-SH321 و C- شاهد (*P. oryzae* به تنهایی).

Fig. 1. Dual culture test between fungal endophytes and *Pyricularia oryzae* in Petri dishes containing PDA. A. Overgrowth of NR-R302 strain on pathogen colony, B. Inhibition zone produced by NR-SH321 strain and C. Control (*P. oryzae* alone)

اثر جدایه های منتخب در کنترل بیماری در گلخانه

نتایج تجزیه واریانس صفت شدت بیماری بلاست در گلخانه نشان دادند که اثر تیمار روی این صفت در سطح یک درصد معنی دار بود. نتایج مقایسه میانگین‌ها نشان داد که تیمارها از نظر تأثیر روی شدت بیماری در سطح یک درصد با یکدیگر تفاوت معنی دار نداشتند، اما با شاهد آلوده تفاوت معنی داری داشتند (جدول ۲). هشت جدایه اندوفیت مورد آزمایش، بیماری بلاست را از ۶۶/۶۷ تا ۹۱/۶۷ درصد کنترل کردند. در این میان، دو جدایه (NR-L182 و NR-NR- (L645) ۹۱/۶۷ درصد، سه جدایه (NR-SH321، NR-NR- (R193 و NR-R302) ۸۸/۸۹ درصد، سه جدایه (NR-NR- (L243، NR-R688 و NR-SH502) بین ۶۶/۶۷ تا ۷۷/۷۸ درصد موجب کنترل بیماری بلاست شدند (جدول ۲).

مشخصات میکروسکوپیکی) به گروه‌های مورفوتیپ (morphotypes) تقسیم شدند. در نهایت، ۴۶ جدایه (۱۰ جدایه از برگ، ۱۳ جدایه از ریشه، ۱۰ جدایه از ساقه و ۱۳ جدایه از غلاف) برای مطالعات آزمایشگاهی این تحقیق انتخاب شدند.

اثر آنتاگونیستی قارچ‌های اندوفیت در آزمایشگاه

نتایج تجزیه واریانس صفات مقادیر رشد میسلومی و درصد ممانعت از رشد بیمارگر، نشان داد که اثر تیمار در این آزمون در سطح احتمال یک درصد برای هر دو صفت معنی دار بود. مقایسه میانگین تیمارهای آزمایش نشان داد که رشد میسلومی و درصد ممانعت از رشد قارچ بیمارگر با یکدیگر در سطح یک درصد اختلاف معنی داری دارند. از ۴۶ جدایه، ۴۵ جدایه قارچ اندوفیت پس از ۱۴ روز، رشد قارچ *P. oryzae* را کمابیش (۱/۳۳ تا ۸۰ درصد) مهار کردند. ۴۳ جدایه اندوفیت هاله بازدارندگی (inhibition zone) ایجاد کردند و دو جدایه روی پرگنه *P. oryzae* رشد نمودند و مانع از رشد قارچ بیمارگر شدند (شکل ۱). جدایه‌های NR-S118، NR-SH501، NR-R531 و NR-S520 بیش از ۷۰ درصد باعث کاهش رشد میسلومی *P. oryzae* شدند چهار جدایه قارچ اندوفیت بیشتر از ۶۰ درصد و نه جدایه بین ۵۰ تا ۶۰ درصد از رشد قارچ بیمارگر ممانعت کردند (جدول ۱).

جدول ۱- تأثیر قارچ‌های اندوفیت جداسازی شده از گیاه برنج روی رشد میسلیمی و درصد بازدازندگی از رشد *Pyricularia oryzae* عامل بلاست برنج در آزمون کشت متقابل

Table 1. Effect of fungal endophytes on mycelial growth and growth inhibition of *Pyricularia oryzae* in dual culture test

Treatment	Growth rate (mm)	Inhibition (%)	Treatment	Growth rate (mm)	Inhibition (%)
Control*	50 a	—	NR-S28	24.000 pqrst	52 cde
NR-L86	44.667 cd	10.66 m	NR-S50	29.667 hijklm	40.66 efgh
NR-L143	28.667 hijklmn	42.66 defgh	NR-S118	11.333 u	77.33 a
NR-L182	30.000 ghijkl	40 efgh	NR-S161	29.000 hijklm	42 defgh
NR-L184	27.333 jklmnop	45.53 cdefg	NR-S207	24.000 pqrst	52 cde
NR-L243	32.000 ghi	36 fghijk	NR-S361	46.333 abc	7.33 m
NR-L285	24.333 opqrs	51.33 cde	NR-S451	26.667 klmnop	46.66 cdefg
NR-L581	28.333 ijklmno	43.33 defgh	NR-S507	20.333 t	59.33 bc
NR-L631	45.667 bc	8.66 m	NR-S520	13.333 u	73.33 ab
NR-L645	27.000 klmnop	46 cdefg	NR-S661	31.667 ghi	36.66 fghijk
NR-L712	26.000 mnopqr	48 cdef	NR-SH155	30.667 ghijk	38.66 efgh
NR-R193	22.333 qrst	55.33 cd	NR-SH180	22.000 rst	56 cd
NR-R302	20.667 st	58.66 bc	NR-SH252	26.000 mnopqr	48 cdef
NR-R322	34.000 efg	32 hijk	NR-SH265	36.000 ef	28 ijk
NR-R410	36.333 ef	27.33 jk	NR-SH312	36.333 ef	27.33 jk
NR-R412	37.000 e	26 k	NR-SH321	30.333 ghijkl	39.33 efgh
NR-R458	49.333 ab	1.33 n	NR-SH457	41.667 d	16.66 l
NR-R459	24.667 nopqrs	50.66 cde	NR-SH501	10.000 u	80 a
NR-R508	50.000 a	0 n	NR-SH502	32.667 fgh	34.66 ghijk
NR-R531	13.333 u	73.33 ab	NR-SH503	46.000 bc	8 m
NR-R622	26.667 klmnop	46.66 cdefg	NR-SH629	31.667 ghi	36.66 fghijk
NR-R650	32.333 fghi	35.33 fghijk	NR-SH665	29.667 hijklm	40.66 efgh
NR-R688	26.333 lmnopq	47.33 cdefg	NR-SH778	31.333 ghij	37.33 fghij
NR-R816	20.667 st	58.66 bc			

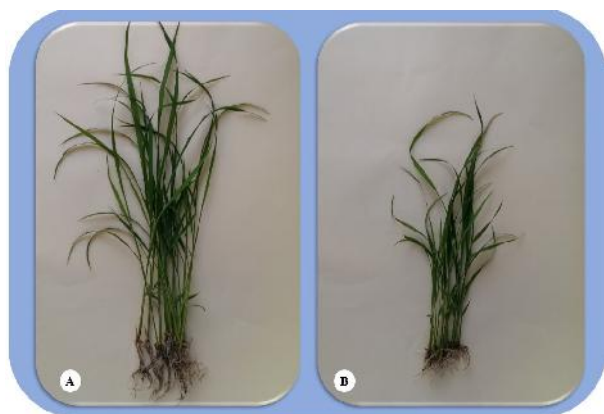
در هر ستون میانگین‌هایی که یک حرف مشترک دارند، بر اساس آزمون دانکن در سطح یک درصد اختلاف معنی‌دار ندارند.
*قارچ بیمارگر (*Pyricularia oryzae* P274)

Values followed by the same letter are not statistically different ($P < 0.01$) according to Duncan's multiple range test. * Fungal pathogen (*Pyricularia oryzae* P274)

اثر قارچ‌های اندوفیت بر رشد گیاه

روی همگی این صفات در سطح یک درصد معنی‌دار است. نتایج مقایسه میانگین‌ها نشان داد که تیمارها از نظر تأثیر روی همه شش شاخص رشدی مذکور در سطح یک درصد با یکدیگر تفاوت معنی‌دار دارند (جدول ۲). جدایه NR-

نتایج تجزیه واریانس شاخص‌های رشد شامل ارتفاع نشاء، طول ریشه، وزن تر ساقه، وزن خشک ساقه، وزن تر ریشه و وزن خشک ریشه در گلخانه نشان داد که اثر تیمار



شکل ۲- تفاوت ارتفاع گیاهچه و اندازه ریشه. A: گیاه تلقیح شده با جدایه NR-L182. B: شاهد.

Fig. 2. The difference in height of seedling and root size. A. Inoculated with strain NR-L182. B. Control.

L182 در پنج پارامتر، جدایه های NR-L243، NR-R193، NR-R688 و NR-SH502 در چهار پارامتر، جدایه NR-SH321 در دو پارامتر و جدایه NR-R302 در یک پارامتر رشدی، افزایش معنی دار نشان دادند (جدول ۲). تصویر گیاهچه تلقیح شده با جدایه NR-L182، تفاوت قابل مشاهده در شاخص های رشدی را نشان می دهد (شکل ۲). جداسازی مجدد قارچ های اندوفیت در محیط WA و MEA، انجام شد و حضور مجدد همان جدایه های تلقیح شده بصورت اندوفیت در گیاه برنج اثبات شد.

جدول ۲- تأثیر قارچ های اندوفیت روی شدت بلاست، ارتفاع نشاء، طول ریشه، وزن تر ساقه، وزن خشک ساقه، وزن تر ریشه و وزن خشک ریشه برنج رقم طارم در شرایط گلخانه

Table 2. Effect of fungal endophytes on rice blast severity, seedling height, root length, shoot wet weight, shoot dry weight, root wet weight and root dry weight under greenhouse conditions

Treatment	Disease severity (*)	Seedling height (cm)	Root length (cm)	Shoot wet weight (g)	Shoot dry weight (g)	Root wet weight (g)	Root dry weight (g)
NR-L182	0.06 bc	44.930 a	8.632 ab	2.260 a	0.500 a	1.034 ab	0.168 ab
NR-L243	0.16 bc	40.866 abc	7.166 ab	1.442 e	0.340 cd	0.656 d	0.122 c
NR-L645	0.06 bc	39.164 bcd	7.498 ab	1.160 fg	0.236 e	0.508 e	0.080 d
NR-R193	0.08 bc	40.798 abc	9.032 a	1.840 c	0.460 ab	0.934 bc	0.180 a
NR-R302	0.08 bc	38.732 bcd	7.196 ab	1.180 f	0.238 e	0.512 e	0.088 d
NR-R688	0.24 b	40.164 bc	8.43 ab	1.720 d	0.368 bcd	0.870 c	0.168 ab
NR-SH321	0.08 bc	41.198 ab	7.564 ab	1.700 d	0.270 ed	0.670 d	0.076 de
NR-SH502	0.18 bc	41.130 abc	8.396 ab	1.984 b	0.438 abc	1.140 a	0.154 b
Inoculated control	0.72 a	36.398 cd	6.830 b	1.050 gh	0.200 e	0.414 e	0.072 de
Non-inoculated control	0 c	36.662 bcd	7.030 ab	1.044 gh	0.220 e	0.502 e	0.074 de
Nativo	0 c	35.464 d	6.766 b	1.020 h	0.192 e	0.500 e	0.058 e

در هر ستون میانگین هایی که یک حرف مشترک دارند، بر اساس آزمون دانکن در سطح یک درصد اختلاف معنی دار ندارند.

* اعداد مربوط به شدت بیماری، میانگین تعداد لکه ها در هر تیمار می باشد (پنج تکرار و هر تکرار شامل ده گیاهچه).

Values followed by the same letter are not statistically significant different ($P < 0.01$) according to Duncan's multiple range test.

*The numbers related to disease severity, are the average of disease spots in each treatment (5 replications, each including 10 seedlings).

جدول ۳- مشخصات قارچ‌های اندوفیت مؤثر در کنترل بیماری بلاست برنج در شرایط گلخانه

Table 3. Characteristics of effective fungal endophytes in controlling rice blast disease under greenhouse conditions

Strain	Species	Tissue	Cultivar	Efficacy (%)	Location	GPS coordinates	Accession No.
NR-L182	<i>Microdochium bolleyi</i>	Leaf	Local	91.67	Rudsar	N: 37° 8' 9" E: 50° 16' 26"	MN338379
NR-L243	<i>Penicillium</i> sp.	Leaf	Improved	77.78	Bahnamir	N: 36° 40' 27" E: 52° 47' 19"	MN453402
NR-L645	<i>Fusarium</i> sp.	Leaf	Local	91.67	Sorkhrud	N: 36° 39' 9" E: 52° 22' 44"	MN453403
NR-R193	<i>Chaetomium globosum</i>	Root	Local	88.89	Rudsar	N: 37° 8' 9" E: 50° 16' 26"	MN338363
NR-R302	<i>Nigrospora oryzae</i>	Root	Local	88.89	Babol	N: 36° 22' 57" E: 52° 43' 17"	MN338358
NR-R688	<i>Chaetomium globosum</i>	Root	Local	66.67	Rasht	N: 37° 16' 93" E: 49° 45' 14"	MN338361
NR-SH321	<i>Chaetomium globosum</i>	Sheath	Improved	88.89	Bahnamir	N: 36° 38' 19" E: 52° 46' 45"	MN338362
NR-SH502	<i>Chaetomium globosum</i>	Sheath	Local	75.00	Babol	N: 36° 33' 2" E: 52° 42' 37"	MN338365

شناسایی قارچ‌های اندوفیت مؤثر

(2018). متاسفانه قارچ‌کش‌های شیمیایی می‌توانند منجر به سمیت غیر هدف، آلودگی محیط زیست و بسیاری از خسارات دیگر شوند که به راحتی قابل جبران نیست (Hirooka & Ishii, 2013). با توجه به مزایای کنترل بیولوژیک آفات و بیماری‌های گیاهی و تمایل دولت‌ها و مردم برای استفاده از محصولات کشاورزی ارگانیک، امروزه تلاش بر این است تا از سموم شیمیایی کمتری در کشاورزی استفاده شود. در حال حاضر نقش عوامل کنترل بیولوژیک بسیار حائز اهمیت است و در چندین مورد مکمل یا حتی جایگزین آفت‌کش‌های شیمیایی شده‌اند. اندوفیت‌ها به فراوانی در طبیعت وجود دارند و برخی از آن‌ها باعث افزایش مقاومت گیاهان میزبان‌شان به آفات و بیماری‌ها، افزایش تحمل به تنش‌های محیطی و نیز افزایش رشد می‌شوند (Wani *et al.*, 2015). به همین دلایل، علاقه زیادی برای کاربرد اندوفیت‌ها در کشاورزی به وجود آمده است (Backman & Sikora, 2008). بر اساس مطالعات انجام شده در دنیا، برنج به مانند گیاهان دیگر، میزبان میکروارگانیسم‌های اندوفیت فراوانی است که به صورت

هشت جدایه برتر که در آزمون گلخانه بیشترین کنترل شدت بیماری بلاست را نشان دادند، بر اساس خصوصیات ریخت‌شناختی و مولکولی، مورد شناسایی قرار گرفتند. گونه‌های شناسایی شده به همراه سایر مشخصات هر جدایه شامل درصد کنترل بیماری، اندام گیاهی، رقم برنج و مکان جداسازی و نیز شماره دستیابی بانک ژن (NCBI GenBank) مربوط به ناحیه rDNA-ITS در جدول ۳ نمایش داده شده است.

بحث

اگرچه استفاده از ارقام مقاوم برنج به عنوان عملی‌ترین و اقتصادی‌ترین رویکرد برای مدیریت بلاست در نظر گرفته می‌شود، اما کشاورزان به علت کیفیت، ارزش اقتصادی و بازارپسندی ارقام بومی، تمایل به کاشت این ارقام حساس به بیماری بلاست را دارند و معمولاً بیماری را از طریق پیشگیری و استفاده از قارچ‌کش‌های شیمیایی کنترل می‌کنند. همچنین کارآیی مطلوب قارچ‌کش شیمیایی، محبوبیت این گزینه از مدیریت را بیشتر می‌کند (Flor *et al.*,

oryzae را دارند. نکته قابل توجه این که، جدایه‌های *M. bolleyi* NR-L182 و *Fusarium* sp. NR-L645 این تحقیق به ترتیب ۴۶ و ۴۵/۵۳ درصد از رشد میسلومی قارچ *P. oryzae* در کشت متقابل ممانعت کردند، اما در شرایط گلخانه، اثر بهتری را در کنترل بیماری بلاست از خود نشان دادند. همچنین این دو جدایه در آزمایش قبلی در کنترل بیماری پوسیدگی طوقه و ریشه برنج، نتایج قابل توجهی نشان دادند. بدین صورت که جدایه *Fusarium* sp. NR-L645، ۹۲/۳۰ درصد و جدایه *M. bolleyi* NR-SH321، ۸۹/۷۴ درصد باعث کنترل بیماری شدند (Ramesh *et al.*, 2020). این نکته نشان دهنده این است که قارچ‌های اندوفیت در تعامل با گیاه نسبت به شرایط آزمایشگاهی بهتر عمل کرده و واضح است که نتایج آزمایشگاهی لزوماً آن چه را که در گیاهان رخ می‌دهد، منعکس نمی‌کند. با این وجود، مطالعات آزمایشگاهی و نتایج آن‌ها به‌ویژه برای شناسایی نامزدهای احتمالی کنترل زیستی و همچنین کسب اطلاعاتی در مورد مکانیسم‌هایی که توسط آن‌ها می‌تواند آسیب بیمارگر را کاهش دهد مفید است (Mejia *et al.*, 2008). به طور کلی این نتایج تأکیدی بر این نکته دارد که مجموعه متنوعی از گونه‌های اندوفیت مرتبط با برنج، نقش اساسی در مقاومت گیاه میزبان در برابر آسیب بیمارگر، ایفا می‌کنند و این که اندوفیت‌ها به طور بالقوه می‌توانند به‌عنوان عوامل کنترل زیستی موثر، استفاده شوند. بنابراین فعالیت آنتاگونیستی متابولیت‌های استخراج شده و خالص شده از این قارچ‌ها نیز ممکن است با درصد اطمینان بالاتری برای کنترل بیماری بلاست استفاده شود.

از تعداد هشت جدایه اندوفیت، همه هشت جدایه بیماری بلاست برنج را به‌میزان ۶۶/۶۷ تا ۹۱/۶۷ درصد در گلخانه کنترل کردند که به جز یک جدایه، با اثر قارچ‌کش شیمیایی اختلاف معنی‌دار نداشتند. بالاترین مقادیر کنترل بیماری مربوط به گونه *Fusarium* sp. و *Microdochium bolleyi* و پس از آن *C. globosum* با دو جدایه و

همزیست، مزایایی را برای گیاه مانند مقاومت در برابر عوامل بیماری‌زا و افزایش رشد و عملکرد به همراه دارد. نتایج تحقیق حاضر هم نشان داد که قارچ‌های اندوفیت از همه اندام‌های گیاهی برنج جداسازی شده و توانایی بالایی در کنترل بلاست، به‌عنوان یکی از بیماری‌های مهم برنج داشته و نیز باعث افزایش پارامترهای رشدی نشاهای برنج شدند. اندوفیت‌ها می‌توانند از طریق تعدادی از مکانیسم‌ها به‌عنوان عوامل بالقوه کنترل بیولوژیکی عمل کنند و توانایی آن‌ها در کاهش بروز بیماری گزارش شده است (Pandya & Saraf, 2010). در مطالعات محققین دیگر، اندوفیت‌های قارچی جدا شده از بافت‌های سالم گیاه برنج موجب افزایش رشد گیاه و مهار رشد *P. oryzae* و کنترل بیماری بلاست در شرایط آزمایشگاه و گلخانه شدند (Atugala & Deshappriya, 2015).

در مطالعه حاضر، توانایی اندوفیت‌های قارچی ساکن در برگ، ساقه، غلاف و ریشه برنج که از ارقام بومی و پرمحصول در شالیزارهای شمال کشور بدست آمدند، در کنترل رشد شایع‌ترین و مهم‌ترین بیمارگر برنج، *P. oryzae*، در شرایط آزمایشگاه و گلخانه مورد آزمایش قرار گرفت. در کشت متقابل، تأثیر اندوفیت‌ها را بر رشد میسلومی و درصد ممانعت از رشد قارچ بیمارگر ارزیابی شد. مطابق نتایج بدست آمده از ۴۶ جدایه قارچ اندوفیت، ۴۵ جدایه قارچی مورد بررسی، توانایی مهار رشد بیمارگر را با درجات مختلف دارا بودند. (Tian *et al.*, 2004) نیز دریافتند که قارچ‌های اندوفیت جدا شده از گیاه برنج از رشد قارچ‌های *R. solani* و *M. grisea* (عامل بلاست برنج) در شرایط آزمایشگاهی، ممانعت به عمل آوردند. همچنین (Atugala & Deshappriya, 2015) نشان دادند که ۲۴ جدایه قارچ اندوفیت جدا شده از دو رقم بومی در سریلانکا توانایی مهار رشد میسلومی *M. grisea* را در شرایط آزمایشگاهی در کشت متقابل داشتند. این نتایج نشان داد که برخی از قارچ‌های اندوفیت، پتانسیل مهار رشد *P.*

(Tomilova et al., 2006). در مطالعات بسیاری ژنوم *C. globosum* مورد بررسی قرار گرفته و نتایج بیانگر این است که این گونه حاوی بسیاری از ژن‌های مفید می‌باشد که موجب سازگاری این قارچ با بسیاری از محیط‌های مختلف (خاک، آب، بافت‌های مرده، داخل گیاه و غیره) می‌باشد (Ashwini et al., 2019). مطالعات نشان داده است که *M. bolleyi* یک قارچ اندوفیت موفق در گیاهان به ویژه خانواده گندمیان مانند گندم، جو، دو سر و انواع چمن‌ها است (Sieber & Gruning, 2013). دو جدایه از قارچ اندوفیت *M. bolleyi* جدا شده از ریشه جو، باعث کنترل مؤثر بیماری پاخوره و افزایش معنی‌دار شاخص‌های رشد جو شدند (Shadmani et al., 2018). همچنین، *M. bolleyi* به‌عنوان یکی از قارچ‌های اندوفیت مؤثر در کنترل مرگ گیاهچه ناشی از *Fusarium graminearum* در گندم (Gdanetz & Trail, 2017) و سایر بیمارگرهای مختلف گیاهان از جمله *Fusarium culmorum* گزارش شده است (Duczek, 1997; Knudsen et al., 1995). قارچ *N. oryzae* به‌عنوان قارچ اندوفیت از ریشه، ساقه و بذر برنج جداسازی شده است (Fisher & Petrini, 1992; Naik et al., 2009; Suada et al., 2012) و همچنین باعث مهار رشد قارچ *P. oryzae* عامل بلاست برنج در شرایط آزمایشگاهی در اندونزی شده است (Suada et al., 2012). بسیاری از گونه‌های *Fusarium* به‌عنوان اندوفیت از گیاهان مختلف از جمله برنج جداسازی شده‌اند (Petrovic et al., 2013; Pili et al., 2016) و جنس *Fusarium* به‌عنوان جنس غالب اندوفیت از گیاه برنج گزارش شده است (Tian et al., 2004; Zakaria et al., 2010). جدایه *Fusarium* به دست آمده از گیاه برنج فعالیت آنتاگونیستی را در شرایط آزمایشگاهی علیه قارچ‌های *M. grisea*، *R. solani* و *F. moniliforme* نشان داده است (Tian et al., 2004). گزارشات متعددی وجود دارند که نشان می‌دهند که جنس *Penicillium*، یکی از

Nigrospora oryzae هر کدام با یک جدایه در میان پنج جدایه برتر در کنترل شدت بیماری بلاست قرار داشتند.

از مکانیسم‌های دخیل در کنترل بیماری‌های گیاهی توسط اندوفیت‌ها، می‌توان به القای مقاومت در گیاه میزبان با تولید ترکیبات زیستی مختلف، مایکوپارازیتسم، تولید آنتی‌بیوتیک‌ها و رقابت اشاره کرد (Blumenstein et al., 2015; Martínez-Arias et al., 2018). *Chaetomium* این توانایی را دارند که به‌عنوان عامل کنترل بیولوژیک از طریق رقابت (برای بستر و مواد غذایی)، مایکوپارازیتسم، آنتی‌بیوز یا مجموعه‌ای از این مکانیسم‌ها، باعث جلوگیری از رشد قارچ‌های بیمارگر شوند (Marwah et al., 2007; Zhang & Yung, 2007). بسیاری از گونه‌های این جنس قارچی با تولید متابولیت‌های ثانویه می‌توانند باعث کاهش اثرات بیماری‌های قارچی در میزبان شوند (Paulinamaya et al., 2016). گونه *C. globosum* یکی از گونه‌های غالب اندوفیت گیاه برنج معرفی شده است که فعالیت زیاد آنتاگونیستی علیه چندین قارچ بیمارگر گیاهی در آزمایشگاه نشان داده است (Naik et al., 2009). همچنین چندین جدایه *C. globosum* به‌عنوان عامل کنترل‌کننده بیماری پوسیدگی ریشه گندم ناشی از *Bipolaris sorokiniana* در شرایط آزمایشگاه و گلخانه، گزارش شده است (Yue et al., 2018). اثر مثبت جدایه‌های *C. globosum* اندوفیت در کنترل بیماری‌های لکه برگی جو (Moya et al., 2016)، لکه قیری گندم (Larran et al., 2016) گزارش شده است. در مطالعه‌ای تأثیر *C. globosum* در کاهش خسارت ناشی از مرگ گیاهچه و پوسیدگی بذرهای مختلف ناشی از *Fusarium* sp. گزارش شده است (Aggarwal et al., 2004). پوشش بذر ذرت، جو دو سر و جو با جدایه‌های *C. globosum* از اثر پژمردگی گیاهچه ناشی از *Fusarium* spp. جلوگیری کرده است (Kommedahl & Mew, 1975). همچنین، طی تحقیقی، اثر مثبت قارچ *Chaetomium* بر قارچ خاک‌زاد

ریشه نشان دادند. از این رو، این اندوفیت‌ها می‌توانند با تحریک به جذب مواد غذایی در گیاه و تولید مواد شیمیایی، مکانیسم‌هایی برای تقویت رشد گیاهان داشته باشند. Tarafdar & Gharu (2006) نشان دادند که گیاهچه‌های گندم در خاک سترون شده مخلوط با ۱۵ میلی‌لیتر از سوسپانسیون اسپور قارچ *C. globosum*، افزایش قابل توجهی در زیست‌توده گیاه، طول ریشه، غلظت فسفر گیاه، عملکرد دانه و کاه و محتوای فسفر دانه داشته و نتیجه گرفتند که *C. globosum* فسفاتازها (Phosphatases) و فیتازها (phytases) را تولید می‌کند که فسفر را فعال کرده و رشد گیاه را تقویت می‌کند.

بر اساس نتایج این تحقیق، بیشتر جدایه‌های اندوفیت مورد مطالعه در بررسی گلخانه‌ای دارای پتانسیل بالایی برای کنترل بیماری بلاست برنج بودند و نتایج این تحقیق می‌تواند برای مدیریت بیماری مهم بلاست برنج مورد استفاده واقع شده و از خسارت آن در خزانه و مزارع شالیزاری بکاهد. مطالعات تکمیلی در زمینه بررسی کنترل بیماری در شرایط طبیعی خزانه و مزرعه، مکانیسم‌های کنترل و برهمکنش اندوفیت‌های مؤثر با گیاه میزبان، بررسی توان اندوفیت‌های برتر در کنترل سایر بیماری‌های مهم برنج و نیز مطالعات کاربردی در زمینه تکثیر و فرمولاسیون جدایه‌های امیدبخش این پژوهش پیشنهاد می‌شود.

سپاسگزاری

از همکاری بخش تحقیقات کنترل بیولوژیک مؤسسه تحقیقات گیاه‌پزشکی کشور و مجتمع آزمایشگاهی زکریای رازی واحد علوم و تحقیقات دانشگاه آزاد اسلامی در انجام این تحقیق، تقدیر و تشکر می‌شود.

جنس غالب اندوفیت گیاه برنج است (Tian *et al.*, 2004; Naik *et al.*, 2009; Vallino *et al.*, 2009; Zakaria *et al.*, 2010) و سه جدایه آن بین ۵۲ تا ۶۰ درصد باعث مه‌ار رشد میسلومی قارچ *P. oryzae* در شرایط آزمایشگاهی شده است (Suada *et al.*, 2012). لازم به ذکر است همه هشت جدایه آزمایش شده در این آزمایش، در تحقیق قبلی انجام شده، باعث مه‌ار رشد میسلومی و کنترل بیماری پوسیدگی طوقه و ریشه برنج ناشی از قارچ *F. fujikuroi* در شرایط آزمایشگاه و گلخانه شدند (Ramesh *et al.*, 2020). از اندوفیت‌های قارچی می‌توان برای تقویت رشد گیاه برنج استفاده کرد (Macia_Vicente *et al.*, 2009; Wijesooriya & Deshappriya, 2016). با توجه به توانایی افزایش رشد گیاهان، در مطالعه حاضر نیز تأثیر جدایه‌های قارچی اندوفیت بر رشد گیاه برنج رقم طارم در شرایط گلخانه مورد آزمایش قرار گرفت. گیاهان تلقیح شده در مقایسه با گیاهان بدون تلقیح بعد از چهار هفته، افزایش معنی‌داری در فاکتورهای رشدی نشان دادند. این نتایج تأکیدی بر مطالعات انجام شده در سریلانکا (Ponnawila & Deshappriya, 2014; Wijesooriya & Deshappriya, 2016; Priyadarshani *et al.*, 2018) نیز می‌باشد و نشان می‌دهد که با تلقیح قارچ‌های اندوفیت می‌توان رشد گیاه برنج را به میزان قابل توجهی افزایش داد. اثر مستقیم یا غیر مستقیم اندوفیت‌ها بر رشد گیاه برنج، ممکن است با این افزایش معنی‌دار ارتفاع گیاهچه و وزن تر و خشک آن ارتباط داشته باشد. جدایه NR-L182 (*M. bolleyi*) نسبت به سایر تیمارها، افزایش معنی‌داری در ارتفاع گیاهچه و جدایه‌های NR-R193، (*Penicillium* sp.) NR-L243، NR-R688 و NR-SH502 (*C. globosum*) نسبت به شاهد بدون تلقیح افزایش معنی‌داری در وزن تر و خشک ساقه و

References

- Agbowuro, G.O., Afolabi, M.S., Olamiriki, E.F. & Awoyemi, S.O. 2020. Rice blast disease (*Magnaporthe oryzae*): a menace to rice production and humanity. International Journal of Pathogen Research, 4(3): 32-39.
- Aggarwal, R., Tiwari, A.K., Srivastava, K.D. & Singh, D.V. 2004. Role of antibiosis in the biological control of spot blotch (*Cochliobolus sativus*) of wheat by *Chaetomium globosum*. Mycopathologia, 157(14): 369-377.

- Andargie, M., Congyi, Z., Yun, Y. & Li, J. 2017. Identification and evaluation of potential biocontrol fungal endophytes against *Ustilagonoidae virens* on rice plant. World Journal of Microbiology and Biotechnology, 33: Article number 120.
- Ashajyothi, M., Kumar, A., Sheoran, N., Ganeshan, P., Gogi, R., Subbaiyan, G. & Bhattacharya, R. 2019. Black Pepper (*Piper nigrum* L.) associated endophytic *Pseudomonas putida* BP25 alters root phenotype and induces incited by *Magnaporthe oryzae*. Biological Control, 143: 104181.
- Ashwini, C. 2019. A review on *Chaetomium globosum* is versatile weapons for various plant pathogens. Journal of Pharmacognosy and Phytochemistry, 8(2): 946–949.
- Atugala, D.M. & Deshappriya, N. 2015. Effect of endophytic fungi on plant growth and blast disease incidence of two traditional rice varieties. Journal of the National Science Foundation of Sri Lanka, 43(2): 173–187.
- Bakman, P.A. & Sikora, R.A. 2008. Endophytes: An emerging tool for biological control. Biological Control, 46(1): 1–3.
- Blumenstein, K., Alberetsen, B.R., Martin, J.A., Hultberg, M., Sieber, T.N., Helander, M. & Witzell, J. 2015. Nutritional niche overlap potentiates the use of endophytes in biocontrol of a tree disease. BioControl, 60(5): 655–667.
- Carroll, G. 1998. Fungal endophytes in stems and leaves: from latent pathogen to mutualistic symbiont. Ecology, 69: 2–9.
- Chou, CH., Casilla, N., Hadi, B., Tanaka, T., Chiba, S. & Sato, I. 2020. Rice blast management in Cambodian rice fields using *Trichoderma harzianum* and resistant variety. Crop Protection, 135: 104864.
- da Silva, C.F., Vitorino, L.C., Soares, M.A. & Souchie, E.L. 2018. Multifunctional potential of endophytic and rhizospheric microbial isolates associated with *Butia purpurascens* roots for promoting plant growth. Antonie Van Leeuwenhoek, 111: 2157–2174.
- Dingle, J. & Mcgee, DA. 2003. Some endophytic fungi reduce the density of pustules of *Puccinia recondita* f. sp. tritici in wheat. Mycological Research, 107: 310–316.
- Duczek, L.J. 1997. Biological control of common root rot in barley by *Idriella bolleyi*. Canadian Journal of Plant Pathology, 19(4): 402–405.
- Fisher, P.J. & Petrini, O. 1992. Fungal saprobes and pathogens as endophytes of rice (*Oryza sativa* L.). New Phytologist, 120(1): 137–143.
- Flor, R.J., Chhay, K., Sorn, V., Maat, H. & Hadi, B.A.R. 2018. The Technological Trajectory of Integrated Pest Management for Rice in Cambodia. Sustainability, 10: 1732.
- Gdanetz, K. & Trail, F. 2017. The wheat microbiome under four management strategies, and potential for endophytes in disease protection. Phytobiomes, 1(3): 158–168.
- Geiser, D.M., Jimenez-Gasco, M., Kang, S., Makalowska, I., Veeraraghavan, N., Ward, T.J., Zhang, N., Kuldau, G.A. & O'Donnell, K. 2004. FUSARIUM-ID v. 1.0: a DNA sequence database for identifying Fusarium. European Journal of Plant Pathology, 110: 473–9.
- Glare, T.R. & Moran-Dies, M.E. 2016. Microbial-Based Biopesticides-Methods and Protocols. Springer Protocols, Humana Press, New York, NY. 224 pp.
- Gond, S.K., Bergena, M.S., Torres, M.S. & White, J.F. 2015. Endophytic *Bacillus* spp. produce antifungal lipopeptides and induce host defense gene expression in maize. Microbiological Research, 17: 79–87.
- Hirooka, T. & Ishii, H. 2013. Chemical control of plant disease. Journal of General plant pathology, 79: 390–401.
- Javadi, L., Naeimi, SH., Rezaee, S. & Khosravi, V. 2014. Biological control of rice blast disease with native *Trichoderma* isolates in Mazandaran province. Biocontrol in Plant protection, 2(1): 1–15. (In Persian with English summary)
- Knudsen, I.M.B., Hockenull, J. & Jensen, D.F. 1995. Biocontrol of seedling disease of barley and wheat caused by *Fusarium culmorum* and *Bipolaris sorokiniana*: effects of selected fungal antagonists on growth and yield components. Plant Pathology, 44: 467–77.
- Kommedehl, T. & Mew, I.C. 1975. Biocontrol of corn root infection in the field by seed treatment with antagonists. Phytopathology, 65(3): 296–300.
- Lahlali, R. & Hijri, M. 2010. Screening, identification and evaluation of potential biocontrol fungal endophytes against *Rhizoctonia solani* AG3 on potato plants. FEMS Microbiology Letters, 311(2): 152–159.
- Larran, S., Simon, M.R., Moreno, M.V., Santamarina Siurana, M.P. & Perello, A. 2016. Endophytes from wheat as biocontrol agents against tan spot disease. Biological Control, 92: 17–23.
- Larran, S., Perelló, A., Simón, MR. & Moreno, V. 2002. Isolation and analysis of endophytic microorganisms in wheat (*Triticum aestivum* L.) leaves. World Journal of Microbiology and Biotechnology, 18: 683–686.
- Macía-Vicente, J.G., Rosso, L.C., Ciancio, A., Jansson, H.-B. & Lopez-Liorca, L.V. 2009. Colonisation of barley roots by endophytic *Fusarium equiseti* and *Pochonia chlamydsporia*: Effects on plant growth and disease. Annals of Applied Biology, 155: 391–401.

- Martinez–Arias, C., Macaya–Sanz, D. & Witzell, J. 2018. Enhancement of *Populus alba* tolerance to *Venturia tremulae* upon inoculation with endophytes showing *in vitro* biocontrol potential. *European Journal of Plant Pathology*, 153(4): 1031–1042.
- Marwah, R.G., Fatope, M.O., Deadman, M.L., Al–Magbali, Y.M. & Husband, J. 2007. Musanahol: a new aureonitol –related metabolite from a *Chaetomium* sp., *Tetrahedron*, 63(34): 8174–8180.
- Mousavi, S.H., Babae Zad, V., Sharifnabi, B., Tajik Ghanbari, M.A., Massah, A. & Alavi, S.M. 2014. Induction of blast disease resistance in rice plants by endophyte fungus *Priformospora indica*. *Iranian Journal of Plant Pathology*, 153(3): 127–129. (In Persian with English summary)
- Moya, P., Pedemonte, D., Amengual, S., Franco, M. E.E. & Sisterna, M.N. 2016. Antagonism and modes of action of *Chaetomium globosum* species group, potential biocontrol agent to barley foliar diseases. *The Bulletin of the Botanical Society of Argentina*, 51(4): 569–578.
- Naik, B.S., Shashikala, J. & Krishnamurthy, Y.L. 2009. Study on the diversity of endophytic communities from rice (*Oryza sativa* L.) and their antagonistic activities *in vitro*. *Microbiological Research*, 164(3): 290–296.
- Nassimi, Z. & Taheri, P. 2017. Endophytic fungus *Piriformospora indica* induced systemic resistance against rice sheath blight via affecting hydrogen peroxide and antioxidants. *Biocontrol Science and Technology*, 27(2): 252–267.
- O'Donnell, K., Kistler, H.C., Cigelnik, E. & Ploetz, R.C. 1998. Multiple evolutionary origins of the fungus causing Panama disease of banana: Concordant evidence from nuclear and mitochondrial gene genealogies. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 95: 2044–2049.
- Padasht Dehkaei, F. & Izadyar, M. 2007. Study on the biological control of rice blast disease in the field conditions. *Journal of Agriculture Sciences and Natural Resources*, 13: 84–92. (In Persian with English summary)
- Pandya, U. & Saraf, M. 2010. Application of Fungi as a Biocontrol Agent and their Biofertilizer Potential in Agriculture. *Journal of Advanced Research*, 1(1): 90–99.
- Paulina, M., Debroa, P., Susana, A., Mario Franco, E.E. & Marina Sisterna, N. 2016. Antagonism and modes of action of *Chaetomium globosum* species group, potential biocontrol agent of barley foliar diseases. *Boletin de la Sociedad Argentina de Botanica*, 51(4): 569–578.
- Petrovic, T., Burgess, L., Cowie, I., Warren, R. & Harvey, P. 2013. Diversity and fertility of *Fusarium sacchari* from wild rice (*Oryza australiensis*) in Northern Australia, and pathogenicity tests with wild rice, rice, sorghum and maize. *European Journal of Plant Pathology*, 136(4): 773–788.
- Pili, N.N., Franka, S.C., Kynd, T., Makumba, B.A., Skilton, R., Mibey, M., Mibey, R.K. & Gheysen, G. 2016. Analysis of fungal endophytes associated with rice roots from irrigated and upland ecosystem in Kenya. *Plant and Soil*, 405(1–2): 371–380.
- Ponnawila, P.V.A.R. & Deshappriya, N. 2014. Investigation of fungal endophytes present in rice varieties Bg 352, Suwandel and Herath Banda. *Proceedings 34th annual sessions of Institute of Biology Sri Lanka*, 34 (2): 45.
- Priyadarshani, C.D.N., Deshappriya, N. & Sandamali, T.G.I. 2018. Effect of fungal endophytes of rice variety LD368 on growth and brown spot disease incidence of rice. *Tropical Plant Research*, 5(3): 292–302.
- Ramesh, N.K., Naeimi, S., Rezaee, S. & Fotouhifar, K.B. 2020. Biological control of rice Bakanae disease caused by *Fusarium fujikuroi* using some endophytic fungi. *Entomology and Phytopathology*, 87: 281–296.
- Ribot, C., Hirsch, J., Balzergue, S., Tharreau, D., Nottéghem, J.L., Lebrun, M.H. & Morel, J.B. 2008. Susceptibility of rice to the blast fungus, *Magnaporthe grisea*. *Journal of Plant Physiology*, 165: 114–124.
- Rong, S., Xu, H., Li, L., Chen, R., Gao, X. & Xu, ZH. 2020. Antifungal activity of endophytic *Bacillus safensis* B21 and its potential application as a biopesticide to control rice blast. *Pesticide Biochemistry and Physiology*, 162: 69–77.
- Sakulkoo, W., Osés–Ruiz, M., Oliveira, E., Soanes, D.M., Littlejohn, G.R., Hacker, C., Correia, A., Valent, B. & Talbot, N. 2018. A single fungal MAP kinase controls plant cell–to–cell invasion by the rice blast fungus. *Plant Science*, 359: 1399–1403.
- Schulz, B. & Boyle, CH. 2005. The endophytic continuum. *Mycological Research*, 109(6): 661–686.
- Shadmani, L., Jamali, S. & Fatemi, A. 2018. Biocontrol activity of endophytic fungus of barley, *Microdochium bolleyi*, against *Gaeumannomyces graminis* var. *tritici*. *Mycologia Iranica*, 5(1):7–14.
- Sieber, T.N. & Grunig, C.R. 2013. Fungal root endophytes. In: Eshel A., Beeckman T. (eds): *Plant Roots –The Hidden Half*, CRC Press, Taylor & Francis Group, Boca Raton, FL, USA, 38(1): 38–49.
- Skamnioti, P. & Gurr, S.J. 2009. Against the grain: safeguarding rice from rice blast disease. *Trends Biotechnology*, 27: 141–150.
- Su, Z–Z., Mao, L–J., Li, N., Fenf, X–X., Yuan, Z–L., Wang, L–W., Lin, F–C. & Zhang, C–L. 2013. Evidence for Biotrophic Lifestyle and Biocontrol Potential of Dark Septate Endophyte *Harpophora oryzae* to Rice Blast Disease. *Plos one*, 8(4):61332.

- Suada, I.K., Suhartini, D.M.W.Y., Sunariasih, N.P.L., Wirawan, I.P.W., Chun, K.W., Cha, J.Y. & Ohga, S. 2012. Ability of endophytic fungi isolated from rice to inhibit *Pyricularia oryzae* – induced rice blast in Indonesia, *Journal of the Faculty of Agriculture, Kyushu University*, 57(1): 51–53.
- Sun, X., Ding, Q., Hyde, K.D. & Guo, L.D. 2012. Community structure and preference of endophytic fungi of three woody plants in a mixed forest. *Fungal Ecology*, 5(5): 624–632.
- Talbot, N.J. 2003. On the trail of a cereal killer: Exploring the biology of *Magnaporthe grisea*. *Annual Review of Microbiology*, 57: 177–202.
- Tarafdar, J.C. & Gharu, A. 2006. Mobilization of organic and poorly soluble phosphates by *Chaetomium globosum*. *Applied Soil Ecology*, 33(3): 273–283.
- Tian, X.L., Cao, L.X., Tan, H.M., Zeng, Q.G., Jia, Y.Y., Han, W.Q. & Zhou, S.N. 2004. Study on the communities of endophytic fungi and endophytic *Actinomycetes* from rice and their antipathogenic activities *in vitro*, *World Journal of Microbiology & Biotechnology*, 20(3): 303–309.
- Tomilovo, O.G. & Shternashi, M.V. 2006. The effect of a preparation from *Chaetomium* fungi on the growth of phytopathogenic fungi. *Applied Biochemistry and Microbiology*, 42(1): 76–80.
- Valino, M., Greppi, D., Novero, M., Bonfante, P. & Lupotto, E. 2009. Rice root colonisation by mycorrhizal and endophytic fungi in aerobic soil. *Annals of Applied Biology*, 154(2): 195–204.
- Van Wees, S. C., Van der Ent, S. & Pieterse, C. M. J. 2008. Plant immune responses triggered by beneficial microbes. *Current Opinion in Plant Biology*, 11: 443–438.
- Wani, Z.A., Ashraf, N., Mohiuddin, T. & Riyaz-ul-Hassan, S. 2015. Plant–endophyte symbiosis, an ecological perspective. *Applied Microbiology and Biotechnology*, 99(7): 2955–2965.
- White, T.J., Bruns, T., Lee, S. & Taylor, J.V. 1990. Amplification and direct sequencing of fungal ribosomal RNA genes for phylogenetics. In: Innis, M.A., Gelfand, D.H., Sninsky, J.J., White, T.J. (eds.), and PCR Protocols: A Guide to Methods and Applications. Academic Press, New York, 315–322.
- Wijesooriya, W. & Deshappriya, N. 2016. An inoculum of endophytic fungi for improved growth of a traditional rice variety in Sri Lanka. *Tropical Plant Research*, 3(3): 470–480.
- Wilson, R.A. & Talbot, N.J. 2009. Under pressure: Investigating the biology of plant infection by *Magnaporthe oryzae*. *Nature Reviews Microbiology*, 7(3):185–95.
- Yuan, Z.L., Zhang, C.L., LIN, F.U.C. & Kubicek, C.P. 2010. Identity, Diversity, and Molecular Phylogeny of the Endophytic Mycobiota in the Roots of Rare Wild Rice (*Oryzae granulata*) from a Nature Reserve in Yunnan, China. *Applied and Environmental Microbiology*, 76(5): 1642–1652.
- Yuan, Z.L., SU, Z.Z., Mao, L.J., Peng, Y.Q., Yang, G.M., Lin, F.C. & Zhang, C.L. 2011. Distinctive endophytic fungal assemblage in stems of wild rice (*Oryza granulata*) in China with special reference to two species of *Muscodora* (*Xylariaceae*). *The Journal of Microbiology*, 49(1): 15–23.
- Yue, H-M., Wang, M., Gong, W-F. & Zhang, L.Q. 2018. The screening and identification of the biological control fungi *Chaetomium* spp. Against Wheat common root rot. *FEMS Microbiology Letters*, 365(22): 1–6.
- Zakaria, L., Yaakop, A.S., Salleh, B. & Zakaria, M. 2010. Endophytic fungi from paddy. *Tropical Life Science Research*, 21(1): 101–107.
- Zhang, H. & Yang, Q. 2007. Expressed sequence tags based identification of genes in the biocontrol agent *Chaetomium cupreum*. *Applied Microbiology and Biotechnology*, 74(3): 650–658.
- Zhong, S. & Steffenson, B.J. 2001. Virulence and molecular diversity in *Cochliobolus sativus*. *Phytopathology*, 91(5): 469–476.

Evaluation of rice fungal endophytes for biological control of blast disease

Narjes Khatoon Ramesh¹, Saeed Rezaee¹, Shahram Naeimi², Khalil-Berdi Fotouhifar³

1. Department of Plant Protection, College of Agricultural Sciences and Food Industries, Science and Research Branch, Islamic Azad University, Tehran, Iran

2. Iranian Research Institute of Plant Protection, Agricultural Research, Education and Extension Organization (AREEO), Tehran, Iran

3. Department of Plant Protection, Faculty of Agricultural Science and Engineering, College of Agriculture and Natural Resources, University of Tehran, Karaj, Iran

Corresponding author: Saeed Rezaee, email: srezaee@srbiau.ac.ir

Received: Jan., 16, 2021

8(2) 1-17

Accepted: Mar., 08, 2021

Abstract

Rice blast caused by *Pyricularia oryzae* is the most important disease of rice worldwide. Although application of chemical pesticides can control the disease, but they cause harmful effects on environment and human health. The objective of the current study was to isolate and identify the fungal endophytes of rice as the effective and safe alternatives to chemical fungicides for controlling rice blast disease. Fungal endophytes obtained from leaf, stem, sheath and root samples of rice plants in paddy fields of Mazandaran and Guilan provinces. The antagonistic activities of the fungal endophytes was evaluated in dual culture test *in vitro* and the most effective strains were selected accordingly for greenhouse experiments. Rice seedlings were treated with the fungal endophytes and *P. oryzae* P274 isolate. Disease severity and growth parameters were measured. The lowest blast severity were recorded for *Fusarium* sp. NR-L645 strain and *Microdochium bolleyi* NR-L182 strain as 91.67% disease control. In addition, these two fungal endophytes significantly promoted the growth parameters of rice seedlings compared to the control. According to the results of this study, fungal endophytes of rice could be applied as the potential biocontrol agents of rice blast disease and plant growth promoters, but more research is needed for developing them in the future.

Keywords: endophytic fungi, rice blast, growth parameters, nursery, biocontrol