

مقاله تحقیقی

مه‌ار زیستی بیمارگرهای مهم برنج با استفاده از قارچ‌های اندوفیت جداشده از برنج هوازی

زینب زارع^۱، سید اسماعیل رضوی^۲، کامران رهنما^۳، عبدالحسین طاهری^۴، جاوید قرخلو^۵

۱- دانشجوی دکتری، بیماری‌شناسی گیاهی، گروه گیاه‌پزشکی، دانشکده تولید گیاهی، دانشگاه علوم کشاورزی منابع طبیعی گرگان، ایران.

۲، ۳- استادیار، دانشیار، دانشیار، گروه گیاه‌پزشکی، دانشکده تولید گیاهی، دانشگاه علوم کشاورزی منابع طبیعی گرگان، ایران.

۵- دانشیار، گروه زراعت، دانشکده تولید گیاهی، دانشگاه علوم کشاورزی منابع طبیعی گرگان، ایران.

مسئول مکاتبات: سید اسماعیل رضوی، ایمیل: razavi@gau.ac.ir

تاریخ پذیرش: ۱۴۰۲/۰۴/۱۳

۱۲۵-۱۰۷(۱)۱۰

تاریخ دریافت: ۱۴۰۲/۰۱/۱۳

چکیده

برنج از مهم‌ترین غلات مورد مصرف غذایی مردم جهان به‌ویژه خاورمیانه می‌باشد. بیماری بلاست و پوسیدگی طوقه و ریشه، دو بیماری قارچی مهم برنج در مناطق مختلف محسوب می‌شوند. قارچ‌های اندوفیت یکی از عوامل کنترل بیولوژیک محسوب شده که علاوه بر کنترل بیماری‌های گیاهی موجب بهبود رشد در گیاه میزبان می‌شوند. بدین منظور جدایه‌های قارچی اندوفیت و همچنین جدایه‌های بیمارگر از برگ، غلاف، ساقه و ریشه بوته‌های برنج هوازی از شالیزارهای استان گلستان جداسازی و شناسایی مورفولوژیکی و مولکولی شدند. سپس فعالیت آنتاگونیستی آن‌ها علیه جدایه بیمارگر *Magnaporthe oryzae* عامل بیماری بلاست و جدایه بیمارگر *Fusarium fujikuroi* عامل بیماری پوسیدگی طوقه و ریشه به سه روش، کشت متقابل، متابولیت‌های فرار و متابولیت‌های غیر فرار در آزمایشگاه بررسی شد. نتایج تحقیق نشان داد، در روش کشت متقابل جدایه *F. incarnatum* بیشترین میزان بازدارندگی از رشد قارچ بیمارگر *M. oryzae* و قارچ بیمارگر *F. fujikuroi* را به ترتیب با میانگین ۵۸/۶۴ و ۶۰/۰۳ درصد داشت. در روش متابولیت‌های فرار بیشترین درصد مهار قارچ بیمارگر *F. fujikuroi* را جدایه *E. nigrum* با ۵۷/۱۳ درصد بازدارندگی و جدایه *F. incarnatum* با ۵۲/۲۴ درصد بازدارندگی از خود نشان دادند. در روش متابولیت‌های غیر فرار (عصاره)، جدایه‌های *F. incarnatum* و *F. proliferatum* به ترتیب با میانگین ۶۲/۲۷ و ۵۷/۹۶ درصد، بیشترین درصد ممانعت از رشد قارچ عامل بیماری بلاست را از خود نشان دادند. جدایه *F. incarnatum* حاصل از این پژوهش فعالیت آنتاگونیستی را در سه آزمون کشت متقابل، متابولیت‌های فرار و متابولیت‌های غیر فرار علیه قارچ‌های *M. oryzae* و *F. fujikuroi* نشان داد. همچنین در این آزمایش جدایه‌های *F. proliferatum* و *F. incarnatum* در شرایط گلخانه موجب مهار بیماری بلاست و پوسیدگی طوقه و افزایش ارتفاع و وزن تر اندام هوایی و ریشه گیاه برنج شدند.

واژه‌های کلیدی: *Magnaporthe oryzae*، متابولیت‌های فرار، درصد بازدارندگی، *F. incarnatum*، اندوفیت برنج

مقدمه

محافظت از گیاهان در برابر پاتوژن‌های گیاهی مختلف مفید باشد (Mandal et al., 2021). گروهی از میکروارگانیسم‌های گزارش شده که اثرات مفیدی بر گیاهان دارند، قارچ‌های اندوفیت هستند (Rigobelo & Baron, 2021). قارچ‌های اندوفیت در حال حاضر به قارچ‌هایی گفته می‌شود که بدون ایجاد علائم در بافت‌های

میکروارگانیسم‌های در ارتباط با گیاهان، نقش مهمی در کشاورزی و امنیت غذایی دارند. برخی از میکروارگانیسم‌های مفید قادرند رشد ریشه و جذب مواد غذایی گیاه را افزایش، نیروژن را تثبیت و استرس و تنش‌های زنده و غیر زنده را کاهش دهند. برخی از آن‌ها همچنین می‌توانند برای

باعث مهار رشد قارچ‌های بیمارگر *Magnaporthe grisea* Barr (Hebert)، *Fusarium moniliforme* و *Rhizoctonia solani* شدند (Tian et al., 2004). طی تحقیقی قارچ‌های اندوفیت *Phialemonium curvatum* و *Phaeosphaeria oryzae* Gams & Cooke باعث مهار بیماری بلاست ناشی از قارچ *P. oryzae* شدند (Suada et al., 2012). همچنین نقش همزیستی قارچ اندوفیت ساکن در ریشه برنج، *Harpophora oryzae* Yuan, Zhang and Lin در مهار 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). نتایج مطالعه ای دیگر توسط Putri et al. (2021) نشان داد که سه قارچ اندوفیت *Curvularia asperellum*، *Trichoderma* از مجموعه‌های آزمایشگاهی جدا شده از بافت گیاه برنج در کاهش شدت بیماری بلاست و افزایش گیاه برنج تأثیر داشتند. به طوری که در این آزمایش مشاهده می‌شود که سه جدایه قارچی می‌توانند به قارچ‌های محرک رشد گیاه تبدیل شوند و به‌عنوان عامل مهار زیستی برای بیماری بلاست در گیاه برنج مورد استفاده قرار گیرند. مطالعه (Atugala & Deshappriya 2015) نشان داد قارچ‌های اندوفیت جدا شده از گیاهان می‌توانند شدت بیماری بلاست را در برنج سرکوب کنند. در ایران، نقش قارچ اندوفیت ریشه برنج، *Piriformospora indica* در مهار بیماری بلاست برنج (Mousavi et al., 2014) و سوختگی غلاف برنج گزارش شده است (Nassimi & Taheri, 2017). پژوهش انجام شده توسط Putri et al. (2021) نشان داد، از بین ۳۰ جدایه قارچ اندوفیت جداسازی شده از قسمت‌های مختلف گیاه برنج، تنها ۳ قارچ اندوفیت *F. oxysporum*، *T. asperellum* و *F. nirenbergiae* بیشترین مهار را در برابر قارچ بیمارگر *Helminthosporium* sp. داشتند. 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

داخلی گیاه زندگی می‌کنند (Aly et al., 2011). قارچ‌های اندوفیت غالباً با گیاهان زراعی از جمله گندم (*Triticum aestivum*)، جو وحشی (*Hordeum brevisubulatum*) و ذرت (*Zea mays*) و برنج (*Oryza 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., 2013; Sun et al., 2012; Wani et al., 2015). گزارش شده است که قارچ‌های اندوفیت مقاومت گیاه را به‌وسیله تولید متابولیت‌های ثانویه، افزایش می‌دهند (Putri et al., 2021). متابولیت‌های حاصل ترکیباتی سنتز شده برای حفظ موجودیت قارچ اندوفیت در تعامل با محیط هستند. این متابولیت‌های ثانویه تولید شده توسط قارچ‌های اندوفیت قادر به سرکوب رشد قارچ‌های بیماری‌زا و افزایش رشد گیاه مانند ارتفاع گیاه و جوانه‌زنی بذر می‌باشند (Youssef et al., 2016). گونه‌های زیادی از جمله *Alternaria alternata* و *A. brassicae* به‌عنوان قارچ اندوفیت از تعدادی گونه گیاهی به‌همراه تولید هفتاد متابولیت ثانویه فعال و موثر علیه باکتری‌های گرم منفی و مثبت گزارش شده است (Qadri et al., 2013). گونه‌های *Fusarium* spp. از جمله فراوان‌ترین قارچ‌های اندوفیت هستند (Liang et al., 2012). تاکنون اثر مهار زیستی بعضی جدایه‌های غیر بیماری‌زا مانند *F. oxysporum* (Nel et al., 2006) و *F. equiseti* (Macía-Vicente et al., 2008) به‌ترتیب روی جدایه‌های بیماری‌زای *F. oxysporum* و *Gaeumannomyces graminis* گزارش شده است. چندین قارچ اندوفیت که به‌عنوان عوامل مهار بیولوژیکی موثر شناخته شده‌اند عبارتند از؛ *Fusarium solani*، *Phomopsis verticillium* sp.، *Acremonium zeae*، *Muscodora albus*، *cassiae* و *Periconia* sp. (Gao et al., 2010). در مطالعه‌ای فعالیت آنتاگونیستی قارچ‌های اندوفیت جدا شده از گیاه برنج در شرایط آزمایشگاهی مورد بررسی قرار گرفت و نتایج نشان داد که ۴۲ درصد از کل جدایه‌های قارچی با درجات مختلف در کشت دو گانه

روش (Ganjali *et al.*, 2004) با اندکی تغییرات استفاده شد. بدین منظور، تمام قسمت‌های موردنظر گیاه (سطح برگ، غلاف برگ و ریشه) ابتدا توسط مایع ظرفشویی شستشو داده شدند و پس از چند بار شستشو با آب جاری، به مدت ۳۰ ثانیه با غوطه‌وری در الکل ۷۰ درصد ضدعفونی شدند. در مرحله بعد نمونه‌ها در هیپوکلریت سدیم یک درصد به مدت ۴-۵ دقیقه روی یک همزن الکتریکی قرار گرفتند. سپس نمونه‌ها با آب مقطر سترون سه مرتبه شستشو و به قطعات کوچک ۰/۵ سانتی‌متری تقسیم شدند. به‌منظور تسریع رشد قارچ‌ها، به کمک اسکالپل استریل روی سطح نمونه‌ها خراش ایجاد شد. نمونه‌های ضدعفونی‌شده روی محیط کشت سبب‌زمینی- دکستروز- آگار (PDA) همراه با آنتی‌بیوتیک تتراسایکلین با میزان ۱۰۰ میلی‌گرم بر لیتر قرار داده شدند. برای جداسازی عامل بیمارگر قسمت‌های آلوده برگ، ریشه و خوشه با آب معمولی به‌خوبی شسته شده مشابه قبلی آماده و بر روی محیط کشت‌های غذایی PDA، عصاره مالت-آگار (MA)، آب-آگار و عصاره سبوس برنج-آگار قرار داده شدند و برای جلوگیری از آلودگی باکتریایی به ازای هر ۵۰۰ میلی‌لیتر از محیط، ۳ میلی‌لیتر از اسید لاکتیک ۲۵ درصد استفاده شد (Razavi *et al.*, 2022). تست‌های پتری در دمای 1 ± 26 درجه سلسیوس تا زمانی که رشد میسلیوم از بافت‌ها مشاهده شود، در اطفاک رشد قرار گرفتند. خالص‌سازی قارچ‌های رشد یافته، با استفاده از روش نوک ریشه روی محیط کشت آب-آگار دو درصد صورت گرفت. پس از جداسازی و خالص‌سازی قارچ‌ها شناسایی قارچ‌ها بر اساس ویژگی‌های ریخت‌شناسی با تهیه اسلایدهای میکروسکوپی و با استفاده از کلیدهای معتبر انجام شد (De Hoog *et al.*, 2000; Ellis, 1971; Barnett & Hunter, 1998; Sivanesan, 1987; Prasetyawan *et al.*, 2012; Nelson *et al.*, 1983). شناسایی مولکولی انجام گرفت.

رقابت تغذیه‌ای از طریق کشت متقابل

در این بررسی از روش (Sivakumar *et al.*, 2000) استفاده شد. بدین منظور یک دیسک میسیلیومی به قطر ۵

بیمارگر، *F. fujikuroi* Nirenberg غربال شد و سپس جدایه‌های موثر 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-L243 و NR-L645 به ترتیب از قارچ‌های *Penicillium sp* و *Fusarium sp* با شش درصد (۹۲/۳ درصد ممانعت از وقوع بیماری) را نشان داد (Ramesh *et al.*, 2020). با توجه به اینکه برنج از مهم‌ترین غلات مورد مصرف غذایی مردم جهان به‌ویژه خاورمیانه می‌باشد و آفات و بیماری‌ها نقش به‌سزایی در کاهش این محصول دارند. لذا توصیف قارچ‌های اندوفیت امکان استفاده از آن‌ها را به‌عنوان محرک‌های زیستی و کودهای زیستی و عوامل مهار زیستی افزایش می‌دهد (Rigobelo & Baron, 2021). بنابراین هدف این پژوهش بررسی چند قارچ اندوفیت بر روی بیمارگرهای برنج در شرایط آزمایشگاهی می‌باشد.

مواد و روش

جمع‌آوری نمونه، جداسازی و شناسایی جدایه‌های قارچی بیمارگر و اندوفیت

جهت نمونه‌برداری، بازدیدهایی از مزارع مختلف برنج هوازی استان گلستان شامل شهرستان‌های گرگان، کردکو، بندرگز، علی‌آباد و کلاله طی ماه‌های اردیبهشت تا شهریور در طی دو سال متوالی (۱۳۹۸ و ۱۳۹۹) به‌عمل آمد. نمونه‌برداری برای عامل بیمارگر از گیاهان آلوده دارای علائم و برای عامل اندوفیت از قسمت‌های مختلف گیاهان برنج فاقد هرگونه علائم آفات و بیماری به‌صورت تصادفی و در مرحله پنجه‌زنی، ساقه‌دهی و خوشه‌دهی انجام گرفت. در مجموع برای هر عامل ۱۰ بوته از هر مکان جمع‌آوری شد. اندام‌های گیاهی به تفکیک، درون پاکت‌های کاغذی با ثبت مشخصات به آزمایشگاه گروه گیاهپزشکی دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی گرگان منتقل شدند. پس از انتقال نمونه‌ها به آزمایشگاه اقدامات لازم برای جداسازی قارچ‌ها انجام گرفت. برای جداسازی قارچ‌های اندوفیت از

عامل بیماری‌زا روی تشتک پتری قارچ اندوفیت قرار گرفت و در نهایت با پارافیلیم دور آن‌ها پوشانده شد. در نمونه شاهد نیز روبه‌روی تشتک پتری حاوی قارچ‌های بیمارگر، یک تشتک پتری حاوی محیط کشت PDA بدون قارچ قرار داده شد. پس از هفت روز نگهداری در اتاقک رشد با دمای ۳۰ درجه سلسیوس، میزان رشد قطری قارچ‌ها در تشتک‌های پتری اندازه‌گیری و ثبت گردید (Khodaei et al., 2012). درصد بازدارندگی از رشد قارچ عامل بیماری‌زا توسط جدایه‌های قارچی مختلف مورد مطالعه به کمک معادله شماره (۱) محاسبه گردید.

آزمون اثر ترکیبات غیر فرار در بازدارندگی از رشد

برای انجام این آزمایش از روش Dennis & Webster (1971) استفاده شد. برای این منظور ابتدا جدایه قارچ‌های اندوفیت به صورت چهار قرص پنج میلی‌متری، در داخل ارلن‌های ۲۵۰ میلی‌لیتری حاوی ۱۵۰ میلی‌لیتر محیط کشت Potato Dextrose Broth (PDB) فاقد آنتی‌بیوتیک، کشت داده شده و به مدت ۱۰ روز روی دستگاه تکان‌دهنده با سرعت ۷۰ دور در دقیقه در دمای ۲۶ درجه سلسیوس قرار داده شدند. سپس با عبور از کاغذ صافی و فیلترهای سر سرنگی میکروبیولوژی با قطر ۰/۴۵ میکرومتر، عصاره‌گیری انجام شد (Araghi & Rahnema, 2008). سپس عصاره فیلتر شده با نسبت‌های ۵٪ و ۱۰٪ به محیط کشت پ. د. آ. اضافه گردید و پس از آن یک دیسک میسیلیومی از کشت سه روزه عوامل بیماری‌زا در مرکز تشتک‌های پتری تیمار و شاهد قرار گرفت. پس از ۱۰ روز رشد قطری عامل بیماری‌زا در شاهد و تیمار اندازه‌گیری شد و درصد بازدارندگی از رشد محاسبه گردید (Sivakumar et al., 2000).

بررسی‌های گلخانه‌ای

در این آزمایش از شش جدایه اندوفیت که توانایی کنترل آن‌ها در شرایط آزمایشگاه اثبات شده بود، برای مطالعات گلخانه‌ای استفاده گردید. این آزمایش در قالب طرح کاملاً تصادفی با ۱۶ تیمار در شرایط گلخانه انجام شد.

میلی‌متر که از قسمت‌های حاشیه‌ای کشت ۵-۷ روزه عوامل بیماری‌زا شامل *Magnaporthe oryzae* و *F. fujikuroi* گرفته شده و درون یک پتری هشت سانتی‌متری حاوی محیط کشت غذایی PDA به فاصله نیم سانتی‌متری از دیواره تشتک پتری قرار داده شد. این تشتک پتری به مدت ۴۸ ساعت در اتاقک رشد با دمای ۲۶ درجه سلسیوس نگهداری شد تا قارچ موردنظر رشدش را آغاز نماید، سپس یک دیسک میسیلیومی به قطر ۵ میلی‌متر که از حاشیه کشت ۵-۷ روزه گونه‌های مختلف اندوفیت گرفته شده بود، در فاصله ۳ سانتی‌متری از قارچ‌های بیماری‌زا قرار گرفت. در تشتک‌های شاهد، روبروی بیمارگر، قرصی از محیط کشت PDA قرار داده شد. تشتک‌های پتری در دمای ۲۶ درجه سلسیوس قرار داده شدند و اندازه‌گیری رشد میسیلیومی قارچ بعد از هفت تا ۱۰ روز مورد ارزیابی قرار گرفت. در پایان دوره رشدی، رشد قطری بیمارگرها در شاهد و تیمار اندازه‌گیری گردید. کاهش رشد قطری در مقایسه با شاهد بر اساس معادله شماره (۱) محاسبه شد (Sivakumar et al., 2000).

$$\text{درصد مهار رشد میسیلیومی} = \frac{C-T}{C} \times 100 = \text{شماره (۱) معادله}$$

که C میزان رشد قطری عوامل بیماری‌زا در تشتک‌های شاهد و T رشد قطری عوامل بیماری‌زا در حضور گونه‌های اندوفیت است.

اثر متابولیت‌های فرار جدایه‌های اندوفیت در جلوگیری از رشد پرگنه قارچ بیمارگر

در این آزمون یک دیسک میسیلیومی به قطر پنج میلی‌متری از بیمارگرها و هر کدام از جدایه‌های اندوفیت مورد مطالعه در این آزمایش روی محیط کشت PDA در مرکز تشتک پتری نه سانتی‌متری به‌طور جداگانه کشت داده شدند. سپس درپوش‌های این تشتک‌های پتری زیر هود در شرایط سترون برداشته شد و قسمت ته تشتک پتری که حاوی محیط کشت و پرگنه قارچ‌های بیمارگر و اندوفیت بود، روبه‌روی هم قرار داده شد به‌طوری که تشتک حاوی

بیمارگر به‌تنهایی به‌عنوان شاهد آلوده و بوته‌های بدون مایه‌زنی (شاهد سالم) بود. پس از ۳۰ روز شدت بیماری (Disease Severity) بلاست بر اساس مقیاس معتبر موجود (IRRI, 2002) و شدت بیماری پوسیدگی طوقه بر اساس مقیاس Horsfall & Barratt (1945) برای هر تیمار با استفاده از رابطه $DS = \sum Xi ni / NX_{max}$ محاسبه شد، که در آن $xi =$ درجه سطح آلودگی، $ni =$ تعداد برگ‌های بیمار با هر درجه سطح آلودگی و $N =$ تعداد کل برگ‌های مورد بررسی می‌باشد (Cardoso et al., 2004). پس از محاسبه شدت بیماری، میزان مه‌ار بیماری با استفاده از فرمول $[(D1-D2)/D1] \times 100$ که در آن $D1$ شدت بیماری در شاهد آلوده و $D2$ شدت بیماری در تیمار است، محاسبه گردید. در این آزمایش، برخی از شاخص‌های رشدی گیاه از جمله ارتفاع بوته و وزن تر اندام هوایی و ریشه نیز بررسی شد. ارتفاع بوته‌های برنج با استفاده از خط کش و وزن تر بوته‌ها پس از خارج نمودن آن‌ها از گلدان و شستشو با آب، با استفاده از ترازوی آزمایشگاهی اندازه‌گیری شد.

تجزیه و تحلیل داده‌ها

این پژوهش در قالب طرح کاملاً تصادفی با ۴ تکرار برای شرایط آزمایشگاهی و سه تکرار برای شرایط گلخانه‌ای، توسط نرم‌افزار SAS مورد تجزیه و تحلیل قرار گرفت و مقایسه میانگین داده‌ها به‌روش حداقل اختلاف معنی‌دار (LSD) صورت گرفت.

نتایج

جدایه‌های اندوفیت قارچی بر اساس صفات

ریخت‌شناسی و مولکولی

مجموعه قارچ‌های اندوفیت جدا شده از بافت گیاه برنج از نظر مولکولی به‌عنوان جدایه‌های *Fusarium* *F. incarnatum*, *F. proliferatum*, *chlamydosporum*, *F. verticillioides*, *F. fujikuroi*, *F. solani*, *Nigrospora*, *Sarocladium bactrocephalum*, *Epicoccum nigrum* و *N. oryzae sphaerica*

بذور رقم فجر به مدت یک شبانه روز در آب مقطر سترون خیسانده، و سپس توسط هیپوکلریت سدیم یک درصد به مدت سه تا پنج دقیقه ضدعفونی سطحی و سه مرتبه با آب مقطر سترون شستشو داده شدند. خاک مورد نیاز، با استفاده از اتوکلاو به مدت یک ساعت در دمای ۱۲۱ درجه سلسیوس طی دو روز متوالی سترون گردید. برای مایه‌زنی جدایه‌های اندوفیت از تیمار بذر توسط سوسپانسیون اسپور استفاده شد. بدین ترتیب که ابتدا از کشت ۱۰ روزه جدایه‌های اندوفیت روی محیط کشت PDA، سوسپانسیونی شامل 4×10^7 اسپور در میلی‌لیتر آب مقطر سترون با استفاده از لام گلبول‌شمار تهیه گردید. بذرها را جوانه‌دار شده در ۱۰ میلی‌لیتر از سوسپانسیون مذکور به همراه ۵۰ میکرولیتر محلول کربوکسی متیل سلولز پنج درصد به‌عنوان ماده چسبنده به مدت ۴۸ ساعت قرار گرفتند (Atugala & Deshapria, 2015). سپس این بذور در ۴۸ عدد گلدان دارای خاک استریل کشت شدند. برای هر تیمار ۳ تکرار (هر تکرار ۲ گیاه) جمعاً ۶ گیاه در نظر گرفته شد. در مرحله ۳ تا ۴ برگی مایه‌زنی عوامل بیماری‌زای بلاست و پوسیدگی طوقه برنج روی بوته‌ها انجام شد. بدین ترتیب که برای عامل بلاست *M. oryzae*، ابتدا روی همه بوته‌ها به وسیله افشانه‌های دستی، آب مقطر سترون پاشیده شد، سپس سوسپانسیونی شامل 10^6 اسپور در میلی‌لیتر آب مقطر سترون به‌عنوان مایه تلقیح روی بوته‌ها اسپری شد. برای شاهد نیز از آب مقطر سترون استفاده گردید. همچنین در این آزمایش از بذور گندم آغشته به میسلیم *F. fujikuroi* به‌عنوان مایه تلقیح بیمارگر پوسیدگی طوقه برنج استفاده شد. جهت تهیه مایه تلقیح *F. fujikuroi*، ابتدا بذور گندم به مدت ۲۴ ساعت در آب خیسانده و دو مرتبه درون اتوکلاو سترون شدند. سپس این بذور با ۳ تا ۵ قرص پنج‌میلی‌متری از کشت هفت روزه قارچ بیمارگر تلقیح و به مدت سه هفته درون انکبوتور با دمای ۲۵ درجه سلسیوس قرار داده شدند. مایه تلقیح تهیه شده، به نسبت وزنی ۱ به ۱۰ به خاک گلدان‌ها در زمان ۳ تا ۴ برگی بوته برنج اضافه گردید (Akrami & Yousefi, 2015). تیمارهای آزمایش شامل بوته‌های مایه‌زنی شده با بیمارگر همراه با جدایه اندوفیت، بوته‌های مایه‌زنی شده با

نتایج حاصل از تجزیه واریانس بین تیمارهای مورد مطالعه، از نظر مقادیر رشد میسلیمی و درصد بازدارندگی رشد بیمارگرهای *M. oryzae* و *F. fujikuroi* به ترتیب در جدول و شکل‌های ۱ و ۲ آورده شده است.

نتایج تجزیه واریانس مربوط به رشد و بازدارندگی از رشد قارچ بیمارگر *M. oryzae* نشان داد که اثر تیمار بر روی صفات رشد میسلیمی و درصد ممانعت به ترتیب در سطح یک و پنج درصد معنی‌دار می‌باشد (جدول ۱ و شکل ۱). بیشترین میزان بازدارندگی (۵۸/۶۴ درصد) از رشد قارچ عامل بیماری بلاست به جدایه *F. incarnatum* تعلق داشت. جدایه *S. bactrocephalum* کمترین درصد بازدارندگی (۴۸/۵۳ درصد) را به خود اختصاص داد (شکل ۱).

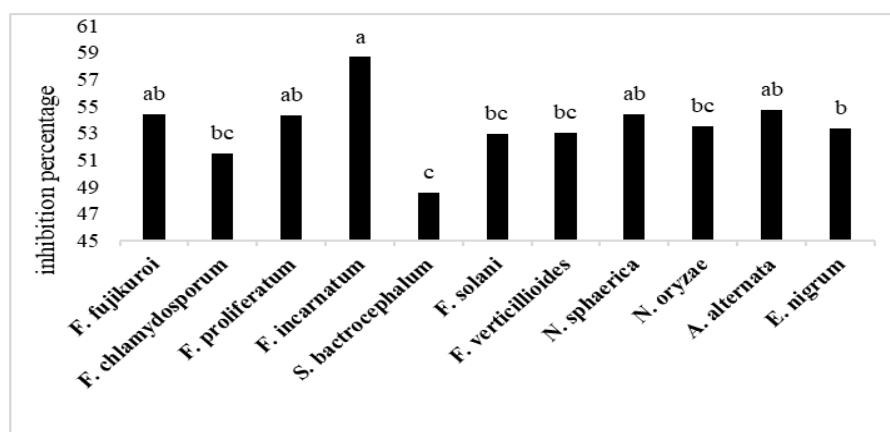
Cladosporium cladosporioides بر اساس ناحیه رونویسی شده داخلی (ITS) و ناحیه ژن *TUB* شناسایی شدند و برای مهار زیستی مورد مطالعه انتخاب شدند. همچنین قارچ‌های بیمارگر از علائم بیماری بلاست و پوسیدگی طوقه در گیاه برنج جدا شد و از نظر مورفولوژیکی و مولکولی به ترتیب به عنوان جدایه‌های *M. oryzae* و *F. fujikuroi* مورد مطالعه قرار گرفتند.

بازدارندگی از رشد پرگنه عامل بیماری‌زا در آزمون کشت متقابل

جدول ۱- مقایسه میانگین رشد میسلیمی قارچ عامل بلاست برنج *Magnaporthe oryzae* به وسیله قارچ‌های اندوفیت مورد مطالعه در روش کشت متقابل

Table 1. The mean comparison of mycelium growth of *Magnaporthe oryzae* by the studied endophytic fungi in the dual culture method

Treatment	Growth rate (mm)	Gen Bank Accession number	Treatment	Growth rate (mm)	Gen Bank Accession number
control	78.000 a		<i>F. solani</i>	36.70 bc	ON113891
<i>Fusarium fujikuroi</i>	35.60 cd	ON113889	<i>F. verticillioides</i>	36.64 c	ON246171
<i>F. chlamyosporum</i>	37.85 bc	ON032307	<i>Nigrospora sphaerica</i>	35.55 cd	ON246204
<i>F. proliferatum</i>	35.66 c	ON113888	<i>N. oryzae</i>	37.04 bc	ON246205
<i>F. incarnatum</i>	32.26 d	ON113890	<i>Alternaria alternata</i>	35.31 cd	-
<i>Sarocladium bactrocephalum</i>	40.14 b	ON113886	<i>Epicoccum nigrum</i>	36.39 c	ON113887

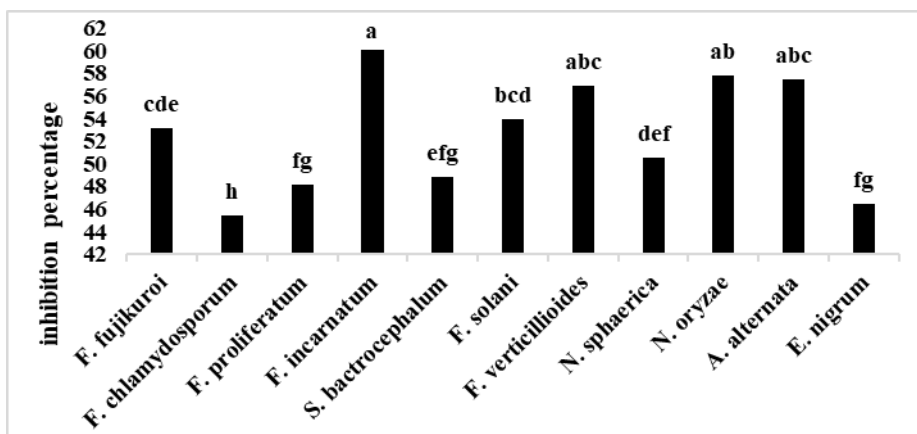


شکل ۱- درصد بازدارندگی از رشد قارچ عامل بلاست برنج *Magnaporthe oryzae* توسط قارچ‌های اندوفیت در آزمون کشت متقابل

Fig. 1. Inhibition percentage of *Magnaporthe oryzae* growth by endophytic fungi in dual culture experiment.

داد که جدایه *F. incarnatum* بیشترین درصد مهار (۶۰/۰۳ درصد) و جدایه *F. chlamyosporum* کمترین درصد مهار (۴۵/۳۷ درصد) قارچ بیمارگر *F. fujikuroi* را از خود نشان دادند و با بقیه جدایه‌ها اختلاف معنی‌داری داشتند (شکل ۲ و ۳).

نتایج تجزیه واریانس صفات مقادیر رشد میسلومی و درصد بازدارندگی از رشد بیمارگر *F. fujikuroi*، در جدول و شکل (۲) ارائه شده است. این نتایج نشان داد که اثر تیمار در این آزمون در سطح احتمال یک درصد برای هر دو صفت معنی‌دار بود. مقایسه میانگین تیمارهای آزمایش نشان



شکل ۲- درصد بازدارندگی از رشد قارچ عامل پوسیدگی طوقه برنج *Fusarium fujikuroi* توسط قارچ‌های اندوفیت در آزمون کشت متقابل.

Fig. 2. Inhibition percentage of *Fusarium fujikuroi* growth by endophytic fungi in dual culture experiment.



شکل ۳- بازدارندگی از رشد قارچ عامل پوسیدگی طوقه برنج *Fusarium fujikuroi* توسط جدایه *Fusarium incarnatum* در آزمون کشت متقابل.

Fig. 3. Inhibition of *Fusarium fujikuroi* growth by *Fusarium incarnatum* in dual culture experiment.

جدول ۲- مقایسه میانگین رشد میسلومی قارچ عامل پوسیدگی طوقه برنج *Fusarium fujikuroi* به وسیله قارچ‌های اندوفیت مورد مطالعه در روش کشت متقابل

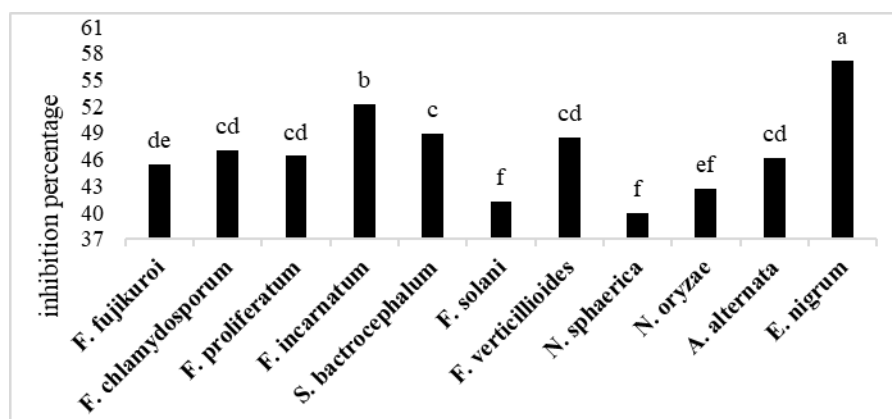
Table 2. The mean comparison of mycelium growth of *Fusarium fujikuroi* by the studied endophytic fungi in the dual culture method

Treatment	Growth rate (mm)	Treatment	Growth rate (mm)
control	79.000 a	<i>F. solani</i>	36.333 cdef
<i>Fusarium fujikuroi</i>	37.000 cdef	<i>F. verticillioides</i>	34.111 def
<i>F. chlamyosporum</i>	43.109 bc	<i>Nigrospora sphaerica</i>	39.000bcde
<i>F. proliferatum</i>	41.000 bcd	<i>N. oryzae</i>	33.333 ef
<i>F. incarnatum</i>	31.556 f	<i>Alternaria alternata</i>	33.556 ef
<i>Sarocladium bactrocephalum</i>	40.33 bcde	<i>Epicoccum nigrum</i>	42.333 bc

جدایه *E. nigrum* با ۵۷/۱۳ درصد بازدارندگی و در رتبه بعدی جدایه *F. incarnatum* با ۵۲/۲۴ درصد بازدارندگی از خود نشان دادند. در این مقایسه کمترین درصد بازدارندگی با میانگین ۳۹/۹۳ و ۴۱/۲۷ درصد به ترتیب به جدایه‌های *N. sphaerica* و *F. solani* تعلق گرفت (شکل ۴ و ۵).

اثر متابولیت‌های فرار قارچ‌های اندوفیت در جلوگیری از رشد پرگنه عوامل بیماری‌زا

نتایج تجزیه واریانس آزمون متابولت‌های فرار جدایه‌های اندوفیت در رابطه با صفات مقادیر رشد میسلیمی و درصد بازدارندگی از رشد بیمارگر *F. fujikuroi* در جدول و شکل ۳ ارائه شده است. این نتایج نشان داد که اثر تیمارهای مورد آزمون در سطح احتمال یک درصد برای هر دو صفت معنی‌دار بود. مقایسه میانگین تیمارهای آزمایش نشان داد که بیشترین درصد مهار را



شکل ۴- درصد بازدارندگی از رشد قارچ عامل پوسیدگی طوقه برنج *Fusarium fujikuroi* توسط قارچ‌های اندوفیت در آزمون متابولیت‌های فرار

Fig. 4. Inhibition percentage of *Fusarium fujikuroi* growth by endophytic fungi in volatile metabolites method.



شکل ۵- بازدارندگی از رشد قارچ عامل پوسیدگی طوقه برنج *Fusarium fujikuroi* توسط *Epicoccum nigrum* در آزمون متابولیت‌های فرار

Fig. 5. Inhibition of *Fusarium fujikuroi* growth by *Epicoccum nigrum* in volatile metabolites method.

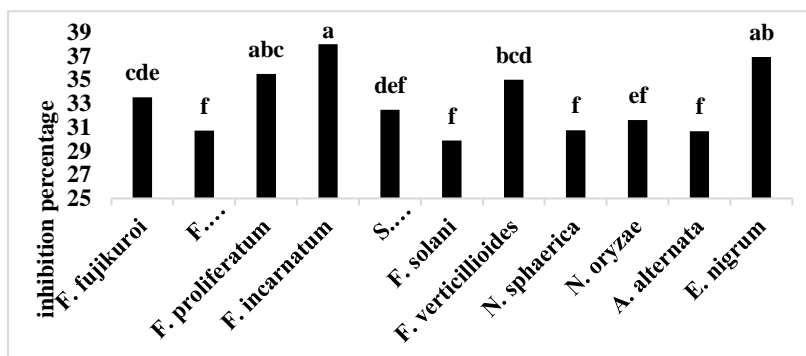
جدول ۳- مقایسه میانگین رشد میسلیمی قارچ عامل پوسیدگی طوقه برنج *Fusarium fujikuroi* به وسیله قارچ‌های اندوفیت مورد مطالعه در آزمون متابولیت‌های فرار.

Table 3. The mean comparison of mycelium growth of *Fusarium fujikuroi* by the studied endophytic fungi in volatile metabolites method.

Treatment	Growth rate (mm)	Treatment	Growth rate (mm)
control	74.333 a	<i>F. solani</i>	43.65 bc
<i>Fusarium fujikuroi</i>	40.55 cde	<i>F. verticillioides</i>	38.28 ef
<i>F. chlamydosporum</i>	39.37 de	<i>Nigrospora sphaerica</i>	44.65 b
<i>F. proliferatum</i>	39.86 de	<i>N. oryzae</i>	42.64 bcd
<i>F. incarnatum</i>	35.500 fg	<i>Alternaria alternata</i>	40.02 cde
<i>Sarocladium bactrocephalum</i>	38.002 ef	<i>Epicoccum nigrum</i>	31.865 g

ممانعت (۳۷/۹۷ درصد) از رشد قارچ عامل بیماری بلاست به جدایه *F. incarnatum* تعلق داشت. جدایه‌های *F. chlamydosporum*، *F. solani* و *N. sphaerica* کمترین درصد بازدارندگی را از خود نشان دادند (شکل ۶).

نتایج تجزیه واریانس مربوط به رشد و بازدارندگی از رشد قارچ بیمارگر *M. oryzae* در آزمون متابولیت‌های فرار نشان داد که اثر تیمار بر روی صفات رشد میسلیمی و درصد ممانعت در سطح احتمال یک درصد دارای اختلاف معنی‌دار می‌باشد (جدول و شکل ۴). بیشترین درصد



شکل ۶- درصد بازدارندگی از رشد قارچ عامل بلاست برنج *Magnaporthe oryzae* توسط قارچ‌های اندوفیت در آزمون متابولیت‌های فرار

Fig. 6. Inhibition percentage of *Magnaporthe oryzae* growth by endophytic fungi in volatile metabolites method.

جدول ۴- مقایسه میانگین رشد میسلیمی قارچ عامل بلاست برنج *Magnaporthe oryzae* به وسیله قارچ‌های اندوفیت مورد مطالعه در آزمون متابولیت‌های فرار

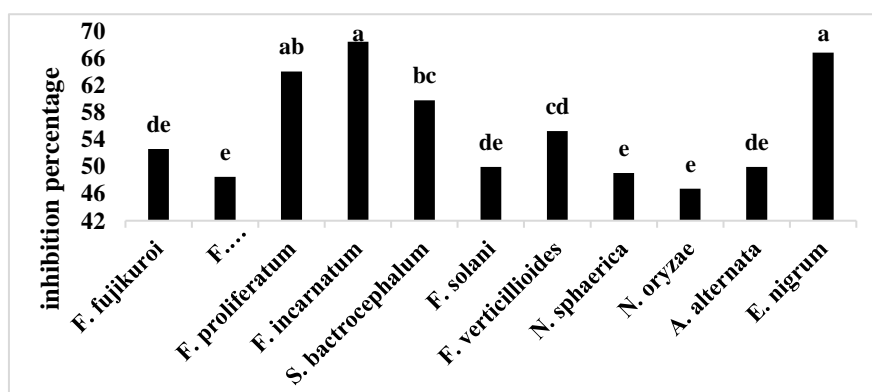
Table 4. The mean comparison of mycelium growth of *Magnaporthe oryzae* by the studied endophytic fungi in volatile metabolites method.

Treatment	Growth rate (mm)	Treatment	Growth rate (mm)
control	78 a	<i>F. solani</i>	54.667 b
<i>Fusarium fujikuroi</i>	51.889 cd	<i>F. verticillioides</i>	50.667 de
<i>F. chlamydosporum</i>	54 bc	<i>Nigrospora sphaerica</i>	54 bc54.333 b
<i>F. proliferatum</i>	50.333 de	<i>N. oryzae</i>	53.333 bc
<i>F. incarnatum</i>	48.333 e	<i>Alternaria alternata</i>	54 bc
<i>Sarocladium bactrocephalum</i>	52.667 bcd	<i>Epicoccum nigrum</i>	49.222 e

ممانعت از رشد قارچ عامل بیماری پوسیدگی طوقه و ریشه برنج را به خود اختصاص دادند (شکل ۷).
 نتایج تجزیه واریانس مربوط به رشد و درصد ممانعت از رشد قارچ بیمارگر *M. oryzae* در آزمون متابولیت‌های غیر فرار (عصاره) نشان داد که اثر تیمارهای مورد آزمایش بر روی صفات رشد میسلیمی و درصد بازدارندگی از رشد در سطح احتمال یک درصد دارای اختلاف معنی‌دار می‌باشد (جدول و شکل ۶). بر اساس نتایج مقایسه میانگین حاصل از این آزمایش، جدایه‌های *F. incarnatum* و *F. proliferatum* به ترتیب با میانگین ۶۲/۲۷ و ۵۷/۹۶ درصد، بیشترین درصد ممانعت از رشد قارچ عامل بیماری بلاست را از خود نشان دادند. کمترین درصد بازدارندگی (۴۰ درصد) متعلق به جدایه *A. alternata* بود (شکل ۸).

اثر ترکیبات غیر فرار (عصاره) قارچ‌های اندوفیت در جلوگیری از رشد پرگنه عوامل بیماری‌زا

بر اساس نتایج حاصل از تجزیه واریانس آزمون غیرفرار، از نظر رشد میسلیمی و درصد مهار قارچ عامل بیماری پوسیدگی طوقه و ریشه برنج *F. fujikuroi* بین تیمارهای مورد مطالعه اختلاف معنی‌داری در سطح احتمال یک درصد وجود داشت (جدول ۵ و شکل ۵). نتایج مقایسه میانگین درصد بازدارندگی از رشد قارچ بیمارگر *F. fujikuroi* نشان داد، بیشترین درصد بازدارندگی ۶۸/۴۲ و ۶۶/۸۱ درصد به ترتیب متعلق به جدایه‌های *F. incarnatum* و *E. nigrum* بود و جدایه‌های *N. oryzae*، *F. solani* و *N. sphaerica* کمترین درصد



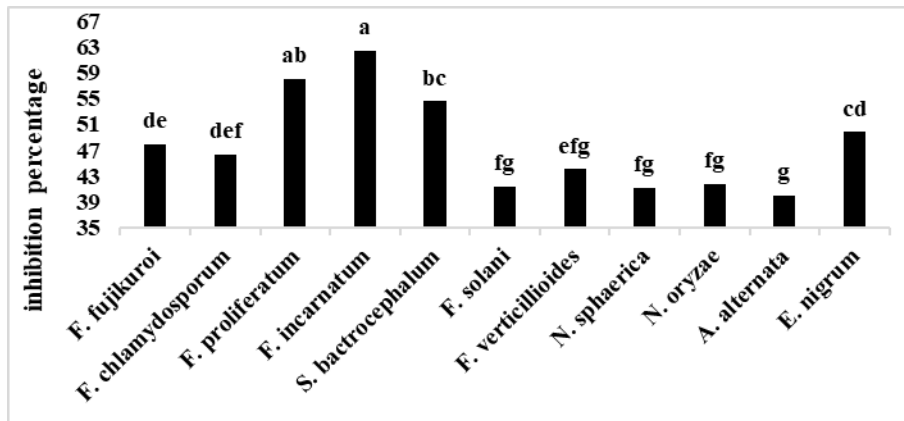
شکل ۷- درصد بازدارندگی از رشد قارچ عامل پوسیدگی طوقه برنج *Fusarium fujikuroi* توسط قارچ‌های اندوفیت در آزمون متابولیت‌های غیر فرار

Fig. 7. Inhibition percentage of *Fusarium fujikuroi* growth by endophytic fungi in non-volatile metabolites method.

جدول ۵- مقایسه میانگین رشد میسلیمی قارچ عامل پوسیدگی طوقه برنج *Fusarium fujikuroi* به وسیله قارچ‌های اندوفیت مورد مطالعه در آزمون متابولیت‌های غیر فرار

Table 5. The mean comparison of mycelium growth of *Fusarium fujikuroi* by the studied endophytic fungi in non-volatile metabolites method.

Treatment	Growth rate (mm)	Treatment	Growth rate (mm)
control	75.667 a	<i>F. solani</i>	37.889 bcd
<i>Fusarium fujikuroi</i>	35.889 cd	<i>F. verticillioides</i>	33.889 de
<i>F. chlamydosporum</i>	39.000 bc	<i>Nigrospora sphaerica</i>	38.556 bc
<i>F. proliferatum</i>	27.222 fg	<i>N. oryzae</i>	40.333 b
<i>F. incarnatum</i>	23.889 g	<i>Alternaria alternata</i>	37.889 bcd
<i>Sarocladium bactrocephalum</i>	30.444 ef	<i>Epicoccum nigrum</i>	25.111 g



شکل ۸- درصد بازدارندگی از رشد قارچ عامل بلاست برنج *Magnaporthe oryzae* توسط قارچ‌های اندوفیت در آزمون متابولیت‌های غیر فرار

Fig. 8. Inhibition percentage of *Magnaporthe oryzae* growth by endophytic fungi in non-volatile metabolites method.

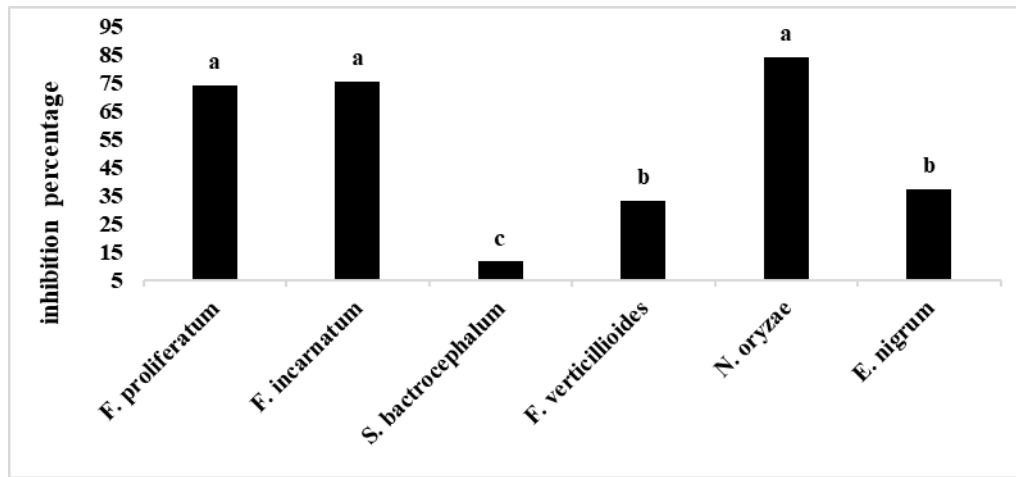
جدول ۶- مقایسه میانگین رشد میسلومی قارچ عامل بلاست برنج *Magnaporthe oryzae* به وسیله قارچ‌های اندوفیت مورد مطالعه در آزمون متابولیت‌های غیر فرار

Table 6. The mean comparison of mycelium growth of *Magnaporthe oryzae* by the studied endophytic fungi in non-volatile metabolites method.

Treatment	Growth rate (mm)	Treatment	Growth rate (mm)
control	77.63 a	<i>F. solani</i>	45.56 bc
<i>Fusarium fujikuroi</i>	40.43 de	<i>F. verticillioides</i>	43.45 bcd
<i>F. chlamydosporum</i>	41.66 cde	<i>Nigrospora sphaerica</i>	45.68 bc
<i>F. proliferatum</i>	32.63 gh	<i>N. oryzae</i>	45.23 bc
<i>F. incarnatum</i>	29.28 h	<i>Alternaria alternata</i>	46.57 b
<i>Sarocladium bactrocephalum</i>	35.30 fg	<i>Epicoccum nigrum</i>	38.98 ef

این صفات در سطح احتمال یک درصد معنی‌دار بود (جدول ۷ و شکل ۹). بیشترین درصد مهار بیماری بلاست در شرایط گلخانه (۸۴/۱۲ درصد) به جدایه *N. oryzae* تعلق داشت، که بدون اختلاف معنی‌دار با جدایه‌های *F. proliferatum* و *F. incarnatum* بود. جدایه *S. bactrocephalum* کمترین درصد مهار بیماری را از خود نشان داد (شکل ۹ و ۱۰).

توانایی کنترل عوامل بیماری‌زای مورد مطالعه توسط قارچ‌های اندوفیت در شرایط گلخانه
شش قارچ اندوفیت *F. proliferatum*، *F. incarnatum*، *S. bactrocephalum*، *F. verticillioides*، *N. oryzae* و *E. nigrum* که توانایی کنترل آن‌ها در شرایط آزمایشگاه اثبات شده بود، برای مطالعات گلخانه‌ای استفاده شدند. نتایج تجزیه واریانس مربوط به شدت بیماری و درصد مهار بیماری بلاست در شرایط گلخانه نشان داد، اثر تیمار روی



شکل ۹- درصد مهار قارچ عامل بلاست برنج *Magnaporthe oryzae* توسط قارچ‌های اندوفیت در شرایط گلخانه

Fig. 9. Inhibition percentage of *Magnaporthe oryzae* by endophytic fungi under greenhouse conditions

جدول ۷- تاثیر قارچ‌های اندوفیت روی شدت بیماری بلاست برنج در شرایط گلخانه

Table 7. Effect of fungal endophytes on rice blast severity under greenhouse conditions

Treatment	Disease Severity (%)	Treatment	Disease Severity (%)
control	14.650 a		
<i>F. proliferatum</i>	3.782 c	<i>F. verticillioides</i>	9.815 b
<i>F. incarnatum</i>	3.572 c	<i>N. oryzae</i>	2.325 c
<i>Sarocladium</i>	12.975 a	<i>Epicoccum nigrum</i>	9.222 b
<i>bactrocephalum</i>			



شکل ۱۰- مهار بیماری بلاست برنج *Magnaporthe oryzae* توسط قارچ‌های اندوفیت در شرایط گلخانه: (A) شاهد آلوده، (B)

گیاه تلقیح شده با *Sarocladium bactrocephalum*، (C) گیاه تلقیح شده با *Nigrospora oryzae*، (D) شاهد سالم.

Fig. 10. Inhibition of *Magnaporthe oryzae* by endophytic fungi under greenhouse conditions: A) Inoculated control, B) Inoculated with *Sarocladium bactrocephalum*, C) Inoculated with *Nigrospora oryzae*, D) Non-inoculated control.

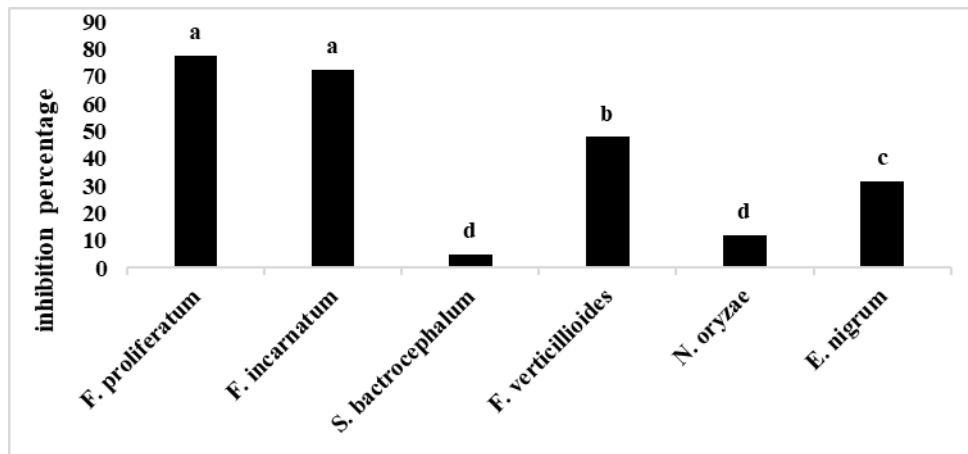
بیشترین درصد مهار بیماری ۷۷/۴۳ و ۷۲/۵۸ درصد به ترتیب متعلق به جدایه‌های *F. proliferatum* و *F. incarnatum* بود و جدایه‌های *N. oryzae* و *S. bactrocephalum* کمترین درصد مهار بیماری پوسیدگی طوقه و ریشه برنج را در شرایط گلخانه به خود اختصاص دادند (شکل ۱۱).

بر اساس نتایج حاصل از تجزیه واریانس شدت بیماری و درصد مهار بیماری پوسیدگی طوقه و ریشه برنج *F. fujikuroi* در شرایط گلخانه، بین تیمارهای مورد مطالعه اختلاف معنی‌داری در سطح احتمال یک درصد وجود داشت (جدول ۸ و شکل ۱۱). نتایج مقایسه میانگین درصد مهار بیمارگر *F. fujikuroi* در شرایط گلخانه نشان داد،

جدول ۸- تاثیر قارچ های اندوفیت روی شدت بیماری پوسیدگی طوقه در شرایط گلخانه

Table 8. Effect of fungal endophytes on *Fusarium fujikuroi* severity under greenhouse conditions

Treatment	Disease Severity (%)	Treatment	Disease Severity (%)
control	6.53 a		
<i>F. proliferatum</i>	1.47 e	<i>F. verticillioides</i>	3.41 d
<i>F. incarnatum</i>	1.79 e	<i>N. oryzae</i>	5.75 b
<i>Sarocladium</i>	6.21 ab	<i>Epicoccum nigrum</i>	4.45 c
<i>bactrocephalum</i>			



شکل ۱۱- درصد مهار قارچ عامل پوسیدگی طوقه برنج *Fusarium fujikuroi* توسط قارچ های اندوفیت در شرایط گلخانه

Fig. 11. Inhibition percentage of *Fusarium fujikuroi* by endophytic fungi under greenhouse conditions

(شکل ۱۲). قارچ *F. incarnatum* از نظر افزایش این صفات در رتبه بعدی قرار گرفت (جدول ۹). طبق نتایج حاصل از این پژوهش قارچ *S. bactrocephalum* تاثیری بر شاخص های رشدی بوته برنج در شرایط گلخانه نداشت و از نظر صفات مورد مطالعه با شاهد در یک گروه آماری قرار گرفتند (جدول ۹).

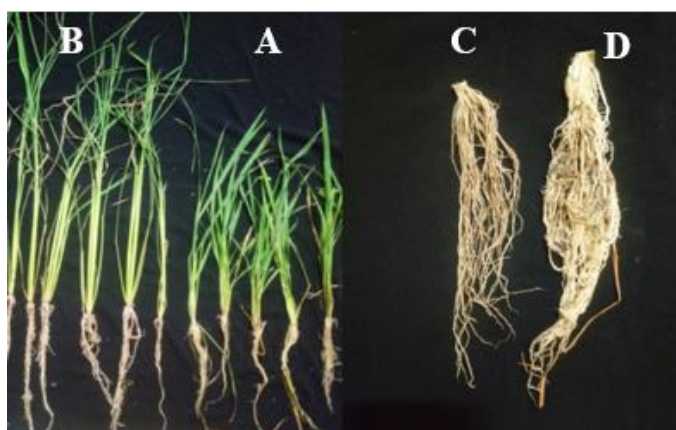
اثر قارچ های اندوفیت بر شاخص های رشدی گیاه در شرایط گلخانه

نتایج تجزیه واریانس شاخص های رشدی مورد مطالعه در گلخانه نشان داد، قارچ های اندوفیت صفات ارتفاع بوته و وزن تر اندام هوایی را در سطح احتمال یک درصد و وزن ریشه را در سطح احتمال پنج درصد تحت تاثیر قرار دادند (جدول ۹). قارچ *F. proliferatum* به طور معنی داری موجب افزایش ارتفاع، وزن تر اندام هوایی و ریشه گردید

جدول ۹- تاثیر قارچ های اندوفیت روی ارتفاع بوته، وزن تر اندام هوایی و وزن تر ریشه برنج تحت شرایط گلخانه

Table 9- Effect of endophytic fungi on seedling height, Fresh weight without root and root wet weight under greenhouse conditions

Treatment	Seedling height (cm)	Fresh weight without root (g)	Root wet weight (g)
control	34.46 e	11.99 e	1.91 c
<i>Fusarium proliferatum</i>	49.63 a	17.11 a	2.61 a
<i>F. incarnatum</i>	43.88 b	15.60 b	2.40 ab
<i>Sarocladium</i>	35.67 e	12.16 e	2.09 bc
<i>bactrocephalum</i>			
<i>F. verticillioides</i>	41.74 cd	13.69 d	2.26 b
<i>N. oryzae</i>	42.72 bc	15.87 b	2.33 ab
<i>Epicoccum nigrum</i>	40.74 d	14.44 c	2.22 bc



شکل ۱۲- مقایسه ارتفاع و حجم ریشه: (A&C) گیاهان شاهد، (B&D) گیاه تلقیح شده با *Fusarium proliferatum*

Fig.12. Comparison of plant height and root volume: A&C) Control, B&D) Inoculated with *Fusarium proliferatum*.

بحث

خاص معمولاً به عنوان اندوفیت نیز از همان میزبان جدا شده‌اند (Moricca et al., 2012). به طور کلی، اندوفیت‌ها در شرایط رشد طبیعی می‌توانند اثرات خنثی یا مضر برای گیاه میزبان داشته باشند، در حالی که در شرایط تنش یا در طول مراحل مختلف چرخه زندگی گیاه مفید باشند (Hardoim et al., 2015). به عنوان مثال *Fusarium verticillioides* هم به عنوان پاتوژن و هم به عنوان اندوفیت مفید در ذرت گزارش شده است (Bacon et al., 2008). تعادل بین این دو حالت به ژنوتیپ میزبان و عوامل تنش غیر زیستی بستگی دارد که موجب بروز علائم بیماری در گیاه و تولید مایکوتوکسین‌ها توسط قارچ می‌شود (Bacon et al., 2008). با این حال، قارچ اندوفیت *F. verticillioides* رشد یک قارچ بیماری‌زای دیگر به نام *Ustilago maydis* را سرکوب می‌کند و از میزبان خود در برابر بیماری محافظت می‌کند (Estrada et al., 2012). قارچ اندوفیت *Verticillium dahliae* یک پاتوژن است که موجب کاهش عملکرد زیادی در طیف وسیعی از محصولات زراعی مانند توت‌فرنگی، سیب‌زمینی و زیتون می‌شود (Jimenez-Gasco et al., 2014). از سوی دیگر، این قارچ در بسیاری از گیاهان سالم همچون گیاهان دارویی، سیب‌زمینی و انگور به عنوان اندوفیت گزارش شده است (Koberl et al., 2013). سویه‌های مفید *V. dahliae* برای کنترل بیولوژیکی

در سال‌های اخیر پژوهش‌های زیادی روی قارچ‌های اندوفیت به منظور مهار بیماری‌های گیاهی و به عنوان کود زیستی برای بهبود رشد گیاهان صورت گرفته است. محققان به دلیل مزایای بیشتر استفاده از اندوفیت‌ها نسبت به آفت-کش‌های مصنوعی، بررسی‌های بیشتری جهت شناسایی پتانسیل‌های قارچ‌های اندوفیت در حفاظت از گیاهان و سرکوب بیماری‌های گیاهی انجام داده‌اند. اندوفیت‌های قارچی از طریق سازگاری با گیاه میزبان، ایجاد رابطه‌ی همزیستی و تجمع متابولیت‌های ثانویه باعث مقاومت گیاه میزبان به بیماری‌ها و تنش‌های مختلف شده و در نتیجه از این طریق موجب افزایش رشد گیاهان میزبان می‌شوند. برخی از موفقیت‌های به دست آمده از قارچ‌های اندوفیت و متابولیت‌های آن‌ها در دسترس هستند (Gautam & Avasthi, 2019). اندوفیت‌ها ممکن است بیمارگرهای فرصت طلب و یا نهفته باشند که می‌توانند در بافت‌های گیاهی به حالت خاموش درآمده و در صورت ضعیف شدن میزبان و یا تغییر در شرایط محیطی موجب ایجاد بیماری در میزبان شوند (Coombs & Franco, 2003). همچنین ممکن است به خاطر اینکه این قارچ‌ها در گیاهان غیرمیزبان قادر به ایجاد بیماری نیستند وارد فاز اندوفیتی شوند (Ganley et al., 2004). برخی اوقات بیمارگرهای قارچی یک میزبان

پوسیدگی طوقه برنج را در شرایط گلخانه از خود نشان دادند. در این آزمایش جدایه‌های *F. proliferatum* و *F. incarnatum* در شرایط گلخانه موجب افزایش ارتفاع و وزن تر اندام هوایی و ریشه گیاه برنج شدند. Tian et al. (2004) نیز دریافتند که قارچ‌های اندوفیت جدا شده از گیاه برنج از رشد قارچ‌های *R. solani* و *M. grisea* (عامل بیماری 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 برنج بومی در سریلانکا موجب افزایش رشد گیاه و مهار رشد *M. grisea* و کنترل بیماری بلاست را در شرایط آزمایشگاهی و گلخانه شدند. این نتایج نشان داد که برخی از قارچ‌های اندوفیت، توانایی مهار رشد قارچ‌های بیمارگر را دارند. از مکانیسم‌های دخیل در کنترل بیماری‌های گیاهی توسط اندوفیت‌ها، می‌توان به القای مقاومت در گیاه میزبان با تولید ترکیبات زیستی مختلف، مایکوپارازیتسم، تولید آنتی بیوتیک‌ها و رقابت اشاره نمود. (Blumenstein et al., 2015; Martínez-Arias et al., 2018). بسیاری از گونه‌های *Fusarium* به‌عنوان اندوفیت از گیاهان مختلف از جمله برنج جداسازی شده‌اند و به‌عنوان جنس غالب اندوفیت از گیاه برنج گزارش شده است. (Pili et al., 2016; Tian et al., 2004; Zakaria et al., 2010). جدایه *F. incarnatum* حاصل از این پژوهش فعالیت آنتاگونیستی را در سه آزمون کشت متقابل، متابولیت‌های فرار و متابولیت‌های غیر فرار علیه قارچ‌های *M. oryzae* و *F. fujikuroi* نشان داد. نتایج این تحقیق نشان داد که قارچ‌های اندوفیت برنج می‌توانند به‌عنوان عوامل کنترل زیستی بیمارگرهای قارچی با هدف کاربردی نمودن آن‌ها در تحقیقات آتی مورد توجه قرار گیرند. مطالعات آزمایشگاهی و نتایج آن‌ها به‌ویژه برای شناسایی نامزدهای احتمالی مهار زیستی و همچنین کسب اطلاعاتی در مورد مکانیسم‌هایی که توسط آن‌ها می‌تواند آسیب بیمارگر را کاهش دهد مفید است. (Mejía et al., 2008).

Ophiostoma novo-ulmi قارچی که موجب بیماری مرگ نارون هلندی می‌شود، استفاده شد (Solla & Gil, 2012). گزارش شده است برخی از گونه‌های فوزاریوم موجب رشد شاخساره اسفناج هندی می‌شوند (Islam et al., 2014). در مطالعه حاتم زاده و همکاران برخی از قارچ‌های اندوفیت جدا شده مانند *Alternaria consortiale* پارامترهای رشد قابل توجهی را در گیاهان نسبت به شاهد (سه برابر بیشتر) نشان دادند (Hatamzadeh et al., 2022). گونه‌های جنس آلترناریا معمولاً قارچ‌های بیماری‌زا هستند و اغلب باعث پژمردگی یا پوسیدگی گیاه میزبان می‌شوند. این یافته‌ها ممکن است تا حدی از این فرض حمایت کند که رابطه انگلی بین میزبان و میکروارگانیزم‌های بیماری‌زای آن‌ها ممکن است به یک رابطه مفید تبدیل شود (Hardoim et al., 2015). در پژوهش حاضر، توانایی قارچ‌های اندوفیت جداسازی و شناسایی شده از گیاه برنج هوازی در شالیزارهای استان گلستان، در مهار دو بیمارگر مهم برنج، *M. oryzae* و *F. fujikuroi* در شرایط آزمایشگاه نشان داد، تمامی جدایه‌های مورد بررسی، توانایی مهار رشد بیمارگرها را با درجات مختلف دارا بودند. در آزمون کشت متقابل جدایه *F. incarnatum* در مقابل هر دو بیمارگر بیشترین درصد بازدارندگی را از خود نشان داد. در آزمون متابولیت‌های فرار جدایه *F. incarnatum* در برابر قارچ عامل بیماری بلاست برنج و جدایه‌های *F. proliferatum* و *E. nigrum* در برابر قارچ *F. fujikuroi* بیشترین بازدارندگی از رشد را دارا بودند. در آزمون متابولیت‌های غیر فرار (عصاره) جدایه‌های *F. incarnatum*، *F. proliferatum* و *E. nigrum* دارای بیشترین درصد بازدارندگی از رشد دو عامل بیماری‌زا بودند. میزان بازدارندگی از رشد میسلیم قارچ‌ها در سه روش به کار رفته در این پژوهش یکسان نبود و درصد بازدارندگی این جدایه‌ها از ۱۰ تا ۷۰ درصد متغیر بود. همچنین در این پژوهش جدایه‌های *F. proliferatum*، *F. incarnatum* و *N. oryzae* بیشترین درصد مهار بیماری بلاست برنج و

References

- Akrami, M. & Yousefi, Z. 2015. Biological control of *Fusarium* wilts of tomato (*Solanum lycopersicum*) by *Trichoderma* spp. as antagonist fungi. *Biological Forum*, 7(1): 887–892.
- Aly, A.H., Debbab, A. & Proksch, P. 2011. Fungal endophytes: unique plant inhabitants with great promises. *Applied Microbiology Biotechnology*, 90: 1829–1845.
- Araghi, M.M. & Rahnama, K. 2008. Evaluation of biological control of *Fusarium graminearum* by two antagonist fungi *Trichoderma virens* and *Trichoderma harzianum* in vitro. *Pajouhesh-Va-Sazandegi*, 81: 197–199. (In Persian with English summary)
- 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.
- Bacon, C.W., Glenn, A.E. & Yates, I.E. 2008. *Fusarium verticillioides*: managing the endophytic association with maize for reduced fumonisins accumulation. *Toxin Rev*, 27: 411–446.
- Barnett, H.L. & Hunter, B.B. 1998. *Illustrated genera of imperfect fungi*. vol Ed. 4. American Phytopathological Society (APS Press) Dingle, J. & Mcgee, D.A. 2003. Some endophytic fungi reduce the density of pustules of *Puccinia recondita* f. sp. *tritici* in wheat. *Mycological Research*, 107: 310–316.
- 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.
- Cardoso, J.E., Santos, A.A., Rossetti, A.G. & Vidal, J.C. 2004. Relationship between incidence and severity of cashew gummosis in semiarid north-eastern Brazil. *Plant Pathology*, 53 :367–363.
- Coombs, J.T. & Franco, C.M.M. 2003. Isolation and identification of actinobacteria from surface-sterilized wheat roots. *Appl Environ Microbiol*, 69: 5603–5608.
- De Hoog, G.S., Guarro, J., Gene, J. & Figueras, M.J. 2000. *Atlas of clinical fungi*. 2nd edition. Centraalbureau voor Schimmelcultures, Utrecht, 1126 pp.
- Dennis, C. & Webster, J. 1971. Antagonistic properties of species-groups of *Trichoderma*. I. Production of nonvolatile antibiotics. *Transactions of the British Mycological Society*, 57(1): 25–39.
- Dingle, J. & Mc Gee, D.A. 2003. Some endophytic fungi reduce the density of pustules of *Puccinia recondita* f.sp. *tritici* in wheat. *Mycological Research*, 107: 310–316.
- Ellis, M.B. 1971. *Dematiaceous Hyphomycetes*. CMI, Kew, England, 608 pp
- Estrada, A.E.R., Jonkers, W., Kistler, H.C. & May, G. 2012. Interactions between *Fusarium verticillioides*, *Ustilago maydis*, and *Zea mays*: an endophyte, a pathogen, and their shared plant host. *Fungal Genet Bio*, 149: 578–587.
- Ganjali, R., Sharif Nabi, B. & Mirlouhi, A.F. 2004. Classical methods and specific primers in detection of endophytic fungi in some gramineous plants. *Rostaniha*, 5(1): 37–51. (In Persian with English summary)
- Ganley, R.J., Brunsfeld, S.J. & Newcombe, G. 2004. A community of unknown endophytic fungi in western white pine. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 101: 10107–10112.
- Gautam, A.K. & Avasthi, S. 2019. Fungal endophytes: potential biocontrol agents in agriculture, In: Kumar A, et al. (Eds.), *Role of plant growth promoting microorganisms in sustainable agriculture and nanotechnology*. Elsevier Inc, 240–298.
- Gao, F., Dai, C. & Liu, X. 2010. Mechanisms of fungal endophytes in plant protection against pathogens. *African Journal of Microbiology Research*, 4(13): 1346–1351.
- Hatamzadeh, S., Rahnama, K., White, J.F., Akbari Oghaz, N., Nasrollahnejad, S. & Hemati, KH. 2022. Investigation of some endophytic fungi from five medicinal plants with growth promoting ability on maize (*Zea mays* L.). *Journal of Applied Microbiology*, 134(1): 1–15.
- Hardoim, P.R., Van Overbeek, L.S., Berg, G., Pirttila, A.M, Compant, S., Campisano, A., Doring, M. & Sessitsch, A. 2015. The hidden world within plants: ecological and evolutionary considerations for defining functioning of microbial endophytes. *Microbiol Mol Biol Rev*, 79: 293–320.
- Horsfall, J.G. & Barratt, R.W. 1945. An improved grading system for measuring plant diseases. *Phytopathology*, 35: 655.
- IRRI. 2002. *Standard evaluation system for rice (SES)*. 56p.
- Islam, S., Akanda, A.M., Prova, A., Sultana, F. & Hossain, M.D.M. 2014. Growth promotion effect of *Fusarium* spp. PPF1 from bermudagrass (*Cynodon dactylon*) rhizosphere on Indian spinach (*Basella alba*) seedlings are linked to root colonisation. *Arch Phytopathol Plant Prot*, 47:2319–31. <https://doi.org/10.1080/03235408.2013.876745>
- Jiménez-Gasco, M.M., Malcolm, G.M., Berbegal, M., Armengol, J. & Jiménez Díaz, R.M. 2014. Complex molecular relationship between vegetative compatibility groups (VCGs) in *Verticillium dahliae*: VCGs do not always align with clonal lineages. *Phytopathology*, 104: 650–659.

- Khodaei, A., Arzanlou, M. & Babai Ahari, A. 2012. Inhibitory effects of three *Trichoderma* species against three species of *Fusarium* in laboratory conditions. *Journal of Agricultural Science and Sustainable production*, 22(4.1): 105–115. (In Persian with English summary).
- Köberl, M., Schmidt, R., Ramadan, E.M, Bauer, R. & Berg, G. 2013. The microbiome of medicinal plants: diversity and importance for plant growth, quality and health. *Front Microbiol*, 4: 400.
- Larran, S., Perelló, A., Simón, M.R. & Moreno, V. 2002. Isolation and analysis of endophytic microorganisms in wheat (*Triticum aestivum* L.) leaves. *World Journal of Microbiology and Biotechnology*, 18: 683–686.
- Liang, H., Xing, Y., Chen, J., Zhang, D., Guo, S. & Wang, C. 2012. Antimicrobial activities of endophytic fungi isolated from *Ophiopogon japonicus* (Liliaceae). *BMC Complement and Alternative Medicine*, 12: 238–243.
- Macia–Vicente, J.G., Jansson, H.B., Mendgen, K. & Lopez–Llorca, L.V. 2008. Colonization of barley roots by endophytic fungi and their reduction of take–all caused by *Gaeumannomyces graminis* var. *tritici* *Canadian Journal of Microbiology*, 54: 600–609.
- Mandal, S.D., Sonali Singh, S., Hussain, K. & Hussain, H. 2021. Plant–microbe association for mutual benefits for plant growth and soil health. *Current Trends in Microbial Biotechnology for Sustainable Agriculture*. Springer, 95–121.
- 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
- Mejía, L.C., Rojas, E.I., Maynard, Z., Van Bael, S., Arnold, A.E, Hebbar, P., Samuels, G.J., Robbins, N. & Herre, E.A. 2008. Endophytic fungi as biocontrol agents of *Theobroma cacao* pathogens. *Biolcontrol*, 46 (1): 4–14. DOI: 10.1016/j.biocontrol.2008.01.012.
- Moricca, S., Ginetti, B. & Ragazzi, A. 2012. Species– and organ–specificity in endophytes colonizing healthy and declining Mediterranean oaks. *Phytopathologia Mediterranea*, 51: 587–598.
- Mousavi, S.H., Babaei 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).
- 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.
- Nel, B., Steinberg, C., Labuschagne, N. & Viljoen, A. 2006. The potential of nonpathogenic *Fusarium oxysporum* and other biological control organisms for suppressing *Fusarium* wilt of banana. *Plant Pathology*, 55: 217–223.
- Nelson, P.E., Toussoun, T.A. & Marasas, W.F.O. 1983. *Fusarium* species: an illustrated manual for identification. The Pennsylvania State University Press, University Park.
- 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.
- Prasetyawan, Y., wati, S.R., wati, I.R., suwarso, W.P. & sumaryono, W. 2012. Isolation and Identification of Endophytic Fungi from Srikaya Plants (*Annona squamosa*) having potential secondary metabolites as anti–breast aancer activity. *Microbiology Indonesia*, 6(1): 23.
- Putri, R.E.S., Djauhari, S. & Martosudiro, M. 2021. Endophytic Fungi as Potential Agents of *Helminthosporium* sp. in Rice Plant (*Oryza sativa* L.), 2(2): 50–60. <https://doi.org/10.21776 ub.jtpp.2021.002.2.3>.
- Putri, N.D., Muhibuddin, A. & Luqman, L.Q.A. 2021. The Potential of Endophytic Fungi in Promoting Rice Plant Growth and Suppressing Blast Disease, 2(2): 41–49. <https://doi.org/10.21776 ub.jtpp.2021.002.2.2>.
- Qadri, M., Johri, S., Shah, B.A., Khajuria, A., Sidiq, T., Lattoo, S.K., Abdin, M.Z. & Riyaz –Ul–Hassan, S. 2013. Identification and bioactive potential of endophytic fungi isolated from selected plants of the Western Himalayas. *SpringerPlus*, 2: 8–22.
- 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(2): 281–296. (In Persian with English summary).
- Razavi, S. E., Sanei, S. J. Sharbatkhari, M. & Ghorbani Nasr Abadi, R. 2022. Detection and isolation of soil fungi and pseudo–fungi. *Peyk reyhan*, 384 pp.
- Rigobelo, E.C. & Baron, N.C. 2021. Endophytic fungi a tool for plant growth promotion and sustainable agriculture. *Mycology*, 1–17.
- 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.
- Sivakumar, D., Wilson Wijeratnam, R.S., Wijesundera, R.L.C., Marikar, F.M.T. & Abeyesekere, M. 2000. Antagonistic effect of *Trichoderma harzianum* on postharvest pathogens of Rambutan (*Nephelium lappaceum*). *Phytoparasitica*, 28(3): 240–247.

- Sivanesan, A. 1987. Gramainicolous species of *Bipolaris*, *Curvularia*, *Drechslera*, *Exserohilum* and their teleomorphs. CAB International Mycological Institute, 261 pp.
- Solla, A. & Gil, L. 2012. Evaluating *Verticillium dahliae* for biological control of *Ophiostoma novo-ulmi* in *Ulmus minor*. *Plant Pathol*, 52: 579–585. <http://dx.doi.org/10.1046/j.1365-3059.2003.00921.x>
- 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.
- 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.
- 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.
- Youssef, S.A., Tartoura, K.A. & Abdelraouf, G.A. 2016. Evaluation of *Trichoderma harzianum* and *Serratia proteamaculans* effect on disease suppression, stimulation of ROS scavenging enzymes and improving tomato growth infected by *Rhizoctonia solani*. *Biological Control*, 100: 79–86.
- 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.
- Zakaria, L., Yaakop, A.S., Salleh, B. & Zakaria, M. 2010. Endophytic fungi from paddy. *Tropical Life Science Research*, 21(1): 101–107.

Biological control of important rice pathogens using endophytic fungi isolated from aerobic rice

Zeinab Zare¹, Seyed Esmaeil Razavi², Kamran Rahnama³, Abol Hossin Taheri⁴, Javid Gherekhloo⁵

1. Ph.D. student of plant pathology, Department of Plant Protection, Faculty of plant production, Gorgan University of Agricultural sciences and Natural Resources, Gorgan, Iran.

2., 3.,4. Assistant Professor, Associate professor, Associate professor, Department of Plant Protection, Faculty of plant production, Gorgan University of Agricultural sciences and Natural Resources, Gorgan, Iran.

5. Associate professor, Department of Agriculture, Faculty of plant production, Gorgan University of Agricultural sciences and Natural Resources, Gorgan, Iran.

Corresponding author: Seyed Esmaeil Razavi, razavi@gau.ac.ir

Received: Apr., 02, 2023

10(1) 107–125

Accepted: Jul., 04, 2023

Abstract

Rice is most important grains consumed by the people of the world. Blast disease and crown and root rot are two important fungal diseases of rice. Endophytic fungi are biological control agents plant diseases and improve growth in the host plant. For this purpose, endophytic fungal isolates and pathogenic isolates from leaves, pods, stems and roots of aerobic rice plants of Golestan province were isolated and identified morphologically and molecularly. Then, their antagonistic activity against *Magnaporthe oryzae* and *Fusarium fujikuroi* disease were investigated by three methods, dual culture, volatile metabolites and non-volatile metabolites. The results showed that, in dual culture method, the *F. incarnatum* had the highest inhibition rate against the growth of *M. oryzae* and *F. fujikuroi*, with 58.64 and 60.03% inhibition, respectively. In volatile metabolites method, *E. nigrum* with 57.13% and *F. incarnatum* with 52.24% inhibition showed the highest percentage of inhibition of *F. fujikuroi*. In the method of non-volatile metabolites, *F. incarnatum* and *F. proliferatum* showed the highest percentage of inhibiting the growth of *M. oryzae* with 62.27 and 57.96%, respectively. *F. incarnatum* showed antagonistic activity in three dual culture, volatile metabolites and non-volatile metabolites against *M. oryzae* and *F. fujikuroi* fungi. Also, in this experiment, isolates of *F. proliferatum* and *F. incarnatum* inhibited the blast disease and crown rot and increased the height and fresh weight of the shoots and roots of rice plants under greenhouse conditions.

Keywords: *Magnaporthe oryzae*, volatile metabolites, inhibition percentage, *F. incarnatum*, rice endophyte