

کنترل بیماری سیاهک پنهان معمولی گندم با استفاده از آرد خردل، جدایه‌های *Trichoderma* و مواد بیولوژیک

مهدی مهربانی کوشکی^۱، دوستمراد ظفیری^{۱*} و بهرام شریف‌نبی^۲

(تاریخ دریافت: ۱۳۸۶/۴/۱۰؛ تاریخ پذیرش: ۱۳۸۷/۷/۲۳)

چکیده

تأثیر کنترل‌کنندگی گونه‌های *Trichoderma* و عصاره تعدادی از گونه‌های گیاهان خانواده شب‌بو روی بسیاری از عوامل بیماری‌زای قارچی به اثبات رسیده است. در این تحقیق، در قالب یک طرح بلوک‌های کاملاً تصادفی تأثیر آرد خردل، *T. virens* T59، *Trichoderma koningi* T18، *T. harzianum* T56 و *T. brevicompactum* 30 مخلوط چهارجدایه تریکودرما، مخلوط چهارجدایه تریکودرما+آرد خردل و دو ماده بیولوژیک تریکودرمین بی و ساب‌تیلین روی کنترل سیاهک پنهان معمولی گندم ناشی از *Tilletia laevis* در مزرعه ارزیابی شد. بر مبنای شاخص آلودگی، تمام تیمارها نسبت به شاهد که درصد خوشه‌های آلوده در آن ۴۳/۵ درصد بود، اختلاف معنی‌دار نشان دادند و باعث کاهش درصد آلودگی شدند ($P < 0/01$). بیشترین تأثیر در کاهش بیماری مربوط به تیمارهای آرد خردل و مخلوط چهارجدایه تریکودرما+آرد خردل به ترتیب به میزان ۸۹/۹ و ۸۷/۴ درصد در مقادیر قابل کاربرد مزرعه‌ای بدون اثر جانبی بود. نتایج نشان می‌دهد که در مدیریت بیماری سیاهک پنهان معمولی گندم می‌توان با استفاده از بذرهای عاری از اسپور و استفاده از آرد خردل، آلودگی‌های محدود ناشی از مایه تلقیح خاکزاد را بدون استفاده از قارچ‌کش‌های شیمیایی کنترل نمود.

واژه‌های کلیدی: سیاهک پنهان معمولی گندم، آرد خردل، *Trichoderma*، تریکودرمین بی، ساب‌تیلین

مقدمه

بیماری مهم به عنوان یک چالش مطرح است (۹ و ۲۷). عمده تحقیقات در کنترل غیرشیمیایی سیاهک پنهان، روی ضدعفونی بذر با ترکیبات آلی، آب گرم، هوای گرم، قارچ‌ها و باکتری‌های آنتاگونیست متمرکز بوده است (۶، ۹ و ۲۶). سینگ و همکاران (۳۰) سیاهک پنهان را با فروبردن بذرهای گندم در عصاره گیاهان *Thuja sinensis*، *Eucalyptus globulus*، *Canabis sativa* و *Datura stramonium* کنترل نمودند. گوپتا و سینگ (۱۸) مشاهده کردند که فرو بردن اسپورهای *Tilletia indica* به

سیاهک پنهان معمولی گندم که در اثر بیمارگر *Tilletia laevis* ایجاد می‌شود، از مهم‌ترین بیماری‌های خسارت‌زای گندم است. این بیماری از زمان اهلی شدن گندم یک مشکل جدی در تولید گندم بوده است و از مهم‌ترین بیماری‌های تاریخ گیاه‌پزشکی است که برای کنترل آن عمدتاً روش ضدعفونی بذرها به وسیله قارچ‌کش‌ها به کار رفته است (۲۷). در کشاورزی ارگانیک، ضدعفونی بذرها با قارچ‌کش‌ها کاربردی نداشته و کنترل این

۱. به ترتیب دانشجوی سابق کارشناسی ارشد و استادیار بیماری‌شناسی گیاهی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه بوعلی‌سینا، همدان

۲. دانشیار بیماری‌شناسی گیاهی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه صنعتی اصفهان

*: مسئول مکاتبات، پست الکترونیکی: zafari_d@basu.ac.ir

مدت پنج روز در عصاره گیاهان فوق، باعث توقف جوانه‌زنی تلپوسپورها در شرایط آزمایشگاهی شد در حالی که عصاره اوکالیپتوس جوانه‌زنی را تحریک کرد. شارما و باسان‌درای (۲۹) نشان دادند که جوشیده برگ‌های گیاهان *Canabis sativa* و *Eucalyptus tereticornis* باعث کاهش جوانه‌زنی تلپوسپور *T. indica* در شرایط *in vitro* می‌شود. بورگن (۷) مشاهده کرد مصرف مقدار زیاد شیر خشک، مقدار کم اسید استیک و ترکیب شیر خشک با ماده بیولوژیک EM (محصولی تجاری در دانمارک که محتوی ۸۰ میکروارگانیزم است و قسمت اعظم آن مخمر و باکتری‌های تولیدکننده اسید لاکتیک هستند) باعث کاهش معنی‌دار آلودگی به سیاهک پنهان شده است، بدون این‌که اثر منفی روی قدرت جوانه‌زنی بذره‌ای داشته باشد. بورگن و کریستنسن (۱۰) در یک آزمون مزرعه‌ای تأثیر شیرخشک، آرد گندم (*Triticum aestivum*)، ذرت (*Zea mays*)، خردل (*Sinapis alba*)، آگروستما (*Agrostemma githago*)، چاودار (*Secale cereale*) و سلمه تره (*Chenopodium quinoa*) را روی کنترل سیاهک پنهان به ترتیب ۷۴، ۴۵، ۰، ۹۹، ۶۷، ۵۶ و ۷۹ درصد کاهش آلودگی گزارش کردند، بدون این‌که مقدار مصرفی مواد فوق (۳۰ g/kg) تفاوت معنی‌داری در سرعت و قدرت جوانه‌زنی بذره‌ای گندم داشته باشد. هم‌چنین در این آزمایش، شیر خشک و آرد خردل باعث کاهش ۹۱ درصدی سیاهک ساقه چاودار ناشی از *Urocystis occulata* شد (۱۰). تأثیر کاربرد *Gliocladium roseum* به همراه شیر خشک به صورت تیمار بذری باعث ۸۶/۶ درصد کاهش در آلودگی به سیاهک پنهان شد (۸). افزایش مقادیر بعضی مواد آلی به‌کاررفته مانند شیر خشک باعث افزایش درصد کنترل سیاهک پنهان و کاهش قدرت جوانه‌زنی بذور گندم شد (۸). النعیمی و همکاران (۱۷) در آزمایش مزرعه‌ای تأثیر شیر خشک، نوعی شیر خشک محلی (Hucket) و آرد گندم (هر سه با مصرف ۱۶۰ g/kg) را بر سیاهک پنهان به ترتیب ۹۶، ۹۳ و ۶۲ درصد گزارش کردند. بیشترگونه‌های *Trichoderma* همزیست‌های گیاهی

غیربیماری‌زا و مفیدی هستند که به خوبی از طریق مکانیسم‌های رقابت و تسخیر ریزوسفر، میکوپارازیتسم، تولید آنتی‌بیوتیک و آنزیم، القاء تحریکات دفاعی در گیاه و تحریک رشد گیاهی روی اکثر عوامل بیماری‌زای گیاهی به ویژه در فراریشه، اثر بیوکترلی دارند (۱۳، ۱۹ و ۲۰). لذا اکثراً، آنتاگونیست قارچ‌های بیماری‌زای گیاهی بوده و به دلیل موفقیت آنها در این زمینه به طور وسیع به عنوان مهم‌ترین عامل قارچی در کنترل بیولوژیک مورد استفاده قرار می‌گیرند (۳۲).

آرد خردل از آسیاب دانه‌های گیاه خردل سفید (*Sinapis alba*) از خانواده شب‌بو به دست می‌آید. بقایای آلی گونه‌های جنس *Brassica* روی دامنه وسیعی از آفات و عوامل بیماری‌زا از جمله قارچ‌ها (۱۲) اثر بازدارندگی نشان داده است. محصولات (مخصوصاً غلات) که در تناوب با کلزا (*B. napus*) و خردل هندی (*B. juncea*) قرار می‌گیرند، نسبت به عوامل بیماری‌زای خاکزاد آلودگی کمتری نشان می‌دهند و این مربوط به ایزوتوسیانات‌هایی است که در طول کشت قبلی توسط ریشه‌ها و در مرحله پوسیدن بقایا توسط بقایای ریشه‌ها در خاک آزاد می‌شود (۴ و ۲۳).

با توجه به این‌که از ترکیبات مختلف آزمایش شده در کنترل سیاهک پنهان معمولی، آرد خردل در مقادیر کم (۳۰ g/kg)، بالاترین تأثیر (بدون تأثیر منفی روی جوانه‌زنی بذرها) را نشان داده است، در این تحقیق تأثیر آرد خردل و چند جدایه از گونه‌های مختلف *Trichoderma* و دو محصول تجاری بیولوژیک از قارچ تریکودرما و باکتری باسیلوس بر سیاهک پنهان معمولی گندم بررسی شده است.

مواد و روش‌ها

جداسازی و تهیه مایه عامل بیماری

خوشه‌های آلوده از مزارع شدیداً آلوده در استان مرکزی در کیسه‌های پلی‌پروپیلن جمع‌آوری و به آزمایشگاه منتقل شد. در آزمایشگاه با شکستن یک گال از هر خوشه و تهیه اسلاید میکروسکوپی از اسپورها، عامل بیماری شناسایی شد. گال‌های

برای چهار جدایه $3 \times 10^7 - 9 \times 10^6$ پروپاگول در هر گرم زادمایه محاسبه شد.

آلوده‌سازی و تیمار بذرها

بذهار گندم زمستانه (رقم نوید) مورد نیاز در یک ظرف بزرگ ریخته شد و به ازای هر کیلوگرم بذر ۵ گرم زادمایه *T. laevis* به آن اضافه شد و با هم زدن بذور، توده یک‌نواختی از بذرها آغشته به اسپور سیاهک تهیه گردید. میزان آغشتگی اسپورها به بذور با قراردادن تصادفی ۵ بذر در ۱۰ میلی‌لیتر آب مقطر و شمارش با لام هموسیتمتر، بطور میانگین، 5×10^4 اسپور روی سطح هر بذر محاسبه شد (۲۲). بذور آلوده شده در ظروف جداگانه تقسیم و با اضافه کردن آب مقطر به آن (۳۳ میلی‌لیتر آب مقطر در هر کیلوگرم بذر)، زادمایه تریکودرما به نسبت ۱۵ گرم در یک کیلوگرم بذر اضافه و به روش دستی بهم زده شد و در همان روز در مزرعه کشت گردید. آرد خردل نیز به میزان ۳۵ گرم بر کیلوگرم بذر همانند روش قبل مصرف شد.

مواد بیولوژیک تجاری

تریکودرمین بی محصول شرکت تلفیق دانه که حاوی 10^7 زادمایه از *T. harzianum* در هر گرم ماده بیولوژیک بود به نسبت ۱۰ گرم به ازای یک کیلوگرم بذر همانند زادمایه تریکودرما استفاده شد. ساب‌تیلین محصول شرکت تلفیق دانه که حاوی 10^{10} پروپاگول از باکتری *Bacillus subtilis* در هر گرم ماده بیولوژیک بود به همان نسبت و روش تریکودرمین بی مصرف شد.

اجرای آزمون در مزرعه

تأثیر آرد خردل، چهار جدایه تریکودرما، مخلوط چهارجدایه، مخلوط چهارجدایه+ آرد خردل، تریکودرمین بی و ساب‌تیلین در قالب یک طرح بلوک‌های کاملاً تصادفی با چهار تکرار (برای هر تیمار ۲۴ مترمربع در چهار کرت در نظر گرفته شد) در مزرعه تحقیقاتی عباس‌آباد دانشگاه بوعلی‌سینا همدان به مرحله اجرا در آمد. خاک مزرعه مورد استفاده به روش لمسی،

محتوی تلیوسپور از خوشه‌های آلوده *T. laevis* انتخاب شده، جداسازی و در هاون چینی به آرامی کوبیده شدند. با استفاده از الک‌های ریز و برس، زادمایه یک‌نواختی از تلیوسپورهای قارچ بیمارگر تهیه گردید و در شرایط خشک و خنک تا زمان مصرف نگه‌داری شد.

جدایه‌های تریکودرما و تهیه مایه تلقیح

جدایه‌های *T. virens* T59، *T. koningi* T18 و *T. brevicompactum* 30 از خاک فراریشه گندم در استان مرکزی جداسازی شدند. جداسازی روی محیط کشت نیمه‌انتخابی و اصلاح شده الاد و شت (۱۵) که حاوی ۱ گرم نیترات آمونیوم (NH_4NO_3)، ۰/۲ گرم سولفات منیزیم ($\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$)، ۰/۹ گرم فسفات پتاسیم (K_2HPO_4)، ۰/۱۵ گرم کلرید پتاسیم (KCl)، ۳ گرم گلوکز، ۲۰ گرم آگار، ۰/۳ گرم دکسان، ۰/۱۵ گرم رزبنگال، ۰/۲ گرم PCNB، ۰/۲۵ گرم کلرامفنیکل و ۰/۰۲ گرم کاپتان در یک لیتر آب انجام گرفت. جدایه‌ها در کوتاه مدت روی محیط کشت PDA نگه‌داری شدند. برای تهیه زادمایه جدایه‌های تریکودرما ۸۰ گرم دانه گندم، ۸۰ گرم ماسه و ۸۰ میلی‌لیتر آب مقطر در داخل هر ارلن نیم لیتری ریخته و دوبار به فاصله دو روز در شرایط 121°C به مدت ۲۰ دقیقه اتوکلاو شدند. سپس از حاشیه در حال رشد پرگنه جدایه‌های تریکودرما، چهار قرص با قطر یک سانتی‌متر به ارلن‌های حاوی گندم به صورت جداگانه تلقیح گردید. ارلن‌های تلقیح شده تریکودرما به مدت ۳ روز در انکوباتور در دمای $25-28^\circ\text{C}$ در شرایط تاریکی (کلونیزاسیون کامل) و ۷ روز در دمای $20-28^\circ\text{C}$ محیط آزمایشگاه زیر نور طبیعی نگه‌داری شدند. مایه تلقیح در زیر هود هوادهی شد و پس از آسیاب در یخچال تا زمان مصرف نگه‌داری شد (۱۴). زادمایه شماری مایه تریکودرما به روش تهیه سوسپانسیون مایه، انجام ترقیق مکرر، کشت چمنی سوسپانسیون‌های رقیق شده روی محیط کشت نیمه‌انتخابی الاد و شت (۱۵) و شمارش پرگنه‌های تریکودرما روی محیط کشت تعیین شد. این میزان

رسی سیلنتی تخمین زده شد. بذور تیمارشده به نسبت 200 kg/ha در کرت‌های مربوطه پخش و در عمق ۳-۴ سانتی‌متر قرار گرفت. در عملیات خاک‌ورزی 110 kg/ha کود فسفات آمونیوم 300 kg/ha کود سولفات پتاسیم به خاک اضافه شد. کود سرک اوره در دو مرحله پنجه‌زنی و بند اول ساقه مجموعاً به میزان 250 kg/ha داده شد. دو مرحله آبیاری پاییزه به فاصله ۱۰ روز و آبیاری بهاره بر اساس نیاز در دوره‌های متفاوت انجام شد.

شاخص‌های ارزیابی و تجزیه و تحلیل داده‌ها

در اواخر تیرماه دو مترمربع از بوته‌های هر کرت برداشت و با جداسازی خوشه‌های سیاهک‌زده و سالم بر مبنای کاهش ارتفاع ساقه، باز شدن گلچه‌ها، طول و ضخامت خوشه و نهایتاً شکستن گال، درصد آلودگی تعیین شد. بطور متوسط برای تعیین درصد آلودگی هر تیمار ۲۹۵۰ خوشه شمارش شد. تجزیه و تحلیل داده‌ها با استفاده از نرم‌افزار SAS Ver. 6.12 صورت گرفت.

نتایج

در رقم گندم نوید، اکثر ساقه‌های حامل خوشه آلوده نسبت به ساقه‌های معمولی دارای ارتفاع کمتر و خوشه‌های آن نیز از نظر اندازه کوتاه‌تر، باریک و گاهی حاوی گلچه‌های عقیم بودند. خوشه‌های آلوده‌ای که روی ساقه‌های با ارتفاع معمول قرار داشتند از نظر اندازه طبیعی، ولی باز شدن گلچه‌ها در آن مشهود بود.

درصد خوشه‌های آلوده در شاهد $43/5$ درصد و بر اساس آزمون دانکن (با احتمال 1% خطا)، تمام تیمارها نسبت به شاهد اختلاف معنی‌دار نشان دادند و باعث کاهش آلودگی شدند. بیشترین تأثیر در کاهش آلودگی مربوط به دو تیمار آرد خردل و آرد خردل + مخلوط چهارجدایه به ترتیب به میزان $89/9$ و $87/4$ درصد بود. کمترین تأثیر در کاهش آلودگی نیز مربوط به ماده بیولوژیک تجاری ساب‌تیلین به میزان $19/6$ درصد بود.

تیمارهای چهار جدایه، مخلوط چهارجدایه و تریکودرمن بی از نظر میزان تأثیر در کاهش آلودگی در یک گروه آماری قرار گرفتند (جدول ۱).

بحث

آرد خردل در دو تیمار آرد خردل و آرد خردل + مخلوط چهارجدایه نزدیک به 90% درصد باعث کاهش آلودگی شدند. بورگن و کریستنسن (۱۰) نیز در یک آزمون مزرعه‌ای اثر آرد خردل در کاهش سیاهک پنهان و سیاهک ساقه چاودار را به ترتیب 99% و 91% گزارش کردند. گونه‌های جنس *Brassica*، *Sinapis* و سایر اعضای تیره شب‌بو محتوی میزان مشخصی گلوکوزینولات در بافت‌هایشان هستند. گلوکوزینولات‌ها بوسیله آنزیم میروزیناز (که در بافت‌های گیاهی این خانواده وجود دارد) هیدرولیز می‌شوند و دامنه وسیعی از تولیدات هیدرولازی همچون اکسازولیدین تیون‌ها، نیتریل‌ها، تیوسیانات‌ها و فرم‌های مختلفی از ایزوتیوسیانات‌های فرار آزاد می‌کنند. این ترکیبات هیدرولازی مخصوصاً ایزوتیوسیانات‌ها دارای فعالیت ضدحیاتی هستند و می‌توانند بر رشد و جوانه‌زنی اسپور عوامل بیماری‌زا تأثیر بگذارند (۱۱). هم‌چنین ریشه‌های اغلب گونه‌های *Brassica* محتوی میزان زیادی ۲-فینیل اتیل گلوکوزینولات (۲۵) است که سمیت فوق‌العاده‌ای روی تعدادی از عوامل بیماری‌زای غلات در آزمون‌های آزمایشگاهی نشان داده است (۵، ۲۴ و ۲۸).

جدایه‌های تریکودرما، مخلوط چهار جدایه و تریکودرمن بی به میزان $36/3 - 27/1$ آلودگی به سیاهک پنهان را کاهش دادند. پیغامی و ببادوست (۱) نیز در مطالعات خود، به تأثیر آنتاگونیستی بعضی جدایه‌های تریکودرما روی قارچ بیمارگر و کاهش بیماری سیاهک پنهان گندم اشاره کرده‌اند. آملرو و همکاران (۳) نیز در بررسی تأثیر خواص ضدقارچی چند گونه تریکودرما و گلیوکلادیوم روی *T. indica*، به تأثیر متابولیت‌های بعضی جدایه‌های این دو قارچ در بازدارندگی جوانه‌زنی اسپور و رشد میسیلیومی پی بردند. بورگن و دوانلو (۸) در مطالعات

جدول ۱. تأثیر تیمارهای مورد استفاده در کاهش بیماری سیاهک پنهان معمولی گندم

نام تیمارها	خوشه‌های آلوده (درصد) ^۱	کاهش آلودگی (درصد)	گروه بندی تیماری ^۲
شاهد آلوده	۴۳/۵	۰	A
آرد خردل	۴/۸۷	۸۹/۹	D
<i>Trichoderma koningi</i> T18	۳۰/۷۵	۲۹/۴	BC
<i>Trichoderma brevicompactum</i> T30	۳۰/۵	۲۹/۹	BC
<i>Trichoderma virens</i> T59	۲۷/۷۵	۳۶/۳	C
<i>Trichoderma harzianum</i> T56	۲۹/۲۵	۳۲/۸	BC
مخلوط چهارجدایه	۳۰/۵	۲۹/۹	BC
آرد خردل + مخلوط چهارجدایه	۵/۵	۸۷/۴	D
تریکودرمین بی	۳۱/۷۵	۲۷/۱	BC
ساب تیلین	۳۵	۱۹/۶	B

۱. درصد خوشه‌های آلوده، میانگین چهار تکرار برای هر تیمار است.

۲. بر اساس آزمون دانکن با احتمال ۱٪ خطا، تیمارهایی که دارای حرف مشترک هستند با هم اختلاف معنی‌داری ندارند.

باشد. لذا نتایج این تحقیق که تأثیر کنترلی ۹۰ درصدی بیماری به وسیله آرد خردل را نشان می‌دهد و وجود گزارش‌های قبلی که کنترل ۱۰۰ درصدی بیماری به وسیله آرد خردل را تأیید می‌کند (۱۰)، می‌تواند این ماده آلی را به عنوان یک ماده غیرشیمیایی موثر در کنترل سیاهک پنهان مطرح کند. از طرفی بر اساس تحقیقات مزرعه‌ای روی بقاء تلوسپور در خاک، منشاء مایه آلودگی‌های شدید در مزرعه مایه بذرزاد شناخته شده است (۹) و تلوسپورها در خاک فقط در شرایط خشک می‌توانند عمر طولانی داشته باشند (۳۳ و ۳۴) یا در حالت‌هایی که بین دو گونه *T. tritici* و *T. controversa* تلاقی (intercross) اتفاق افتاده باشد (۲۱ و ۳۵). بنابراین به نظر می‌رسد برای کنترل سیاهک پنهان معمولی گندم می‌توان از بذهایر عاری از اسپور و آرد خردل، برای آلودگی‌های محدود ناشی از مایه تلقیح خاکزاد و بدون استفاده از قارچ‌کش‌های شیمیایی بهره جست.

خود به تأثیر مخلوط *Gliocladium roseum* و شیر خشک بر کاهش بیماری سیاهک پنهان اذعان کرده‌اند. گونه‌های جنس تریکودرما بیش از ۱۰۰ نوع متابولیت تولید می‌کنند که خواص آنتی‌بیوتیکی آنها شناخته شده است (۳۱). بخشی از متابولیت‌های تولیدی استرین‌های تریکودرما را آنزیم‌های تخریب‌کننده دیواره سلولی همچون کیتینازها، گلوکانازها و پروتئازها شامل می‌شود. بتا-۳ و ۱ گلوکانازها جوانه‌زنی اسپور یا رشد عامل قارچی را در ترکیب سینرژیستی با کیتینازها (۱۶) و آنتی‌بیوتیک‌ها (۱۹ و ۲۰) باز می‌دارند.

در این بررسی ماده بیولوژیک ساب تیلین نیز تأثیر ناچیزی در کاهش آلودگی نشان داد. خدایگان و همکاران (۲) نیز گزارش کرده‌اند که متابولیت‌های فرار و غیرفرار بعضی استرین‌های باکتری جدا شده از فراریشه گندم باعث ممانعت از جوانه‌زنی تلوسپور سیاهک پنهان می‌شود.

با توجه به خسارت کیفی بیماری سیاهک پنهان روی محصول تولیدی مزارع آلوده، انتخاب روش صحیح مدیریت و ماده ضدعفونی‌کننده، باید تأثیر تقریباً کاملی را به همراه داشته

منابع مورد استفاده

۱. پیغامی، ا. و م. بابدوست. ۱۳۷۴. بررسی نحوه آلودگی گیاهچه‌های گندم به عامل سیاهک پنهان (*T. laevis*) و سیاهک پاکوتاه (*T. controversa*) گندم و تضاد گونه‌هایی از تریکودرما با عوامل بیماری. دانش کشاورزی ۸: ۳۵-۵۸.
۲. خدایگان، پ. ح. ر. اعتباریان، غ. خداکرمیان و م. ترابی. ۱۳۸۳. کنترل بیولوژیک بیماری سیاهک پنهان معمولی گندم توسط برخی استرین‌های آنتاگونیست باکتریایی. خلاصه مقالات شانزدهمین کنگره گیاه‌پزشکی ایران، ۱۱-۷ شهریور، تبریز.
3. Amero, G. A. M., D. V. Singh, R. Aggarwal and P. Dureja. 2000. Microbial antagonism to *Neovossia indica* causing Karnal bunt of wheat. International Conference on Integrated Plant Disease Management for Sustainable Agriculture, New Delhi, India, 1281 p. Available at: www.iisc.ernet.in/currsci/dec25/articles28
4. Angus, J. F., A. F. van Herwaarden and G. N. Howe. 1991. Productivity and break-crop effect of winter growing oil seeds. *Aus. J. Exp. Agric.* 31:669-677.
5. Angus, J. F., P. A. Gardner, J. A. Kirkegaard and J. M. Desmarchelier. 1994. Biofumigation: isothiocyanates released from Brassica roots inhibit the growth of the take-all fungus. *Plant and Soil* 162:107-112.
6. Borgen, A., L. Kristensen and P. Kolster. 1995. Control of common bunt without use of pesticides. Proceedings from the 12th Danish Plant Protection Conference, SP-Report, 4:149-158.
7. Borgen, A. 1997. Effect of seed treatments with EM (effective microorganisms) in control of common bunt (*Tilletia tritici*). Proceedings of The 5th International Conference on Kyusei Nature Farming and EM Technology, 23-26 Octobr, Bangkok, Thailand.
8. Borgen, A. and M. Davanlou. 2000. Biological control of common bunt in organic agriculture. *J. Crop Product.* 3:159-174.
9. Borgen, A. 2000. Common bunt in wheat a challenge to the principles of ecological plant protection. Ph.D. Thesis, Royal Veterinary and Agriculture University of Denmark.
10. Borgen, A. and L. Kristensen. 2001. Use of mustard flour and milk powder to control common bunt (*Tilletia tritici*) in wheat and stem smut (*Urocystis occulta*) in rye in organic agriculture. Proceedings from BCPC Symposium No. 76: Seed Treatment, Challenges and Opportunities, 13-15 November, BCPC, Farnham, UK. PP. 141-150
11. Brown, P. D., M. J. Morra, J. P. McCaffrey, D. I. Auld and L. Williams. 1991. Allelochemicals produced during glucosinolate degradation in soil. *J. Chem. Ecol.* 17: 2021-2034.
12. Chan, M. K. Y. and R. C. Close. 1987. Aphanomyces root rot of peas 3. Control by the use of cruciferous amendments. *N. Zealand J. Agric. Res.* 30:225-233.
13. Chet, I., J. Inbar and I. Hadar. 1997. Fungal antagonists and mycoparasites. PP. 165-184. In: D. T. Wicklow and B. Soderstrom (Eds.). *The Mycota (IV): Environmental and Microbial Relationships*. Springer-Verlag, Berlin.
14. Duffy, B. K., B. H. Owsley and D. M. Weller. 1997. Soil chemical and physical properties associated with suppression of take-all of wheat by *Trichoderma koningii*. *Phytopathology* 87:1118-1124.
15. Elad, Y. and I. Chet. 1983. Improved selective medium for isolation of *Trichoderma* spp. from soil. *Phytoparasitica* 11: 55-58.
16. El-Katatny, M. H., M. Gudelj, K. H. Robra, M. A. Elnaghy and G. M. Gubitz. 2001. Characterization of a chitinase and an endo- α -1,3-glucanase from *Trichoderma harzianum* Rifai T24 involved in control of the phytopathogen *Sclerotium rolfsii*. *Appl. Microbiol. Biotechnol.* 56:137-143.
17. El-Naimi, M., h. Toubia-Rahme and O. F. Mamluk. 2000. Organic seed-treatment as a substitute for chemical seed-treatment to control common bunt of wheat. *Eur. J. Plant Pathol.* 106:433-437.
18. Gupta, R. P. and A. Singh. 1983. Effect of certain plant extracts and chemicals on teliospore germination of *Neovossia indica*. *Indian J. Mycol. Plant Pathol.* 13:116-117.
19. Harman, G. E., C. R. Howell, A. Viterbo, I. Chet and M. Lorito. 2004. *Trichoderma* species-opportunistic, avirulent plant symbionts. *Nature Rev.* 2:43-56.
20. Howell, C. R. 2003. Mechanisms employed by *Trichoderma* species in the biological control of plant diseases: the history and evolution of current concepts. *Plant Dis.* 87:4-10.
21. Kendrick, E. L., R. J. Metzger and C. R. Rohde. 1964. Overwintering of race T-18 of *Tilletia caries*. *Plant Dis.* 48:379-380.
22. Kietreiber, M. 1984. ISTA Handbook of Seed Health Testing. Working Sheet no. 53, Wien, Austria.
23. Kirkegaard, J. A., P. A. Gardner, J. F. Angus and E. Koetz. 1994. Effect of Brassica crops on the growth and yield of wheat. *Aust. J. Agric. Res.* 45: 529-545.
24. Kirkegaard, J. A., P. T. V. Wong and J. M. Desmarchelier. 1996. In-vitro suppression of fungal root pathogens of cereals by Brassica tissues. *Plant Pathol.* 45: 593-603.
25. Kirkegaard, J. A. and M. Sarwar. 1999. Glucosinolate profiles of Australian canola (*Brassica napus* L.) and Indian

- mustard (*Brassica juncea* L.) cultivars: implications for biofumigation. *Aust. J. Agric. Res.* 50:315-24.
26. Knudsen, I. M. B., J. Hockenhull and D. F. Jensen. 1995. Biocontrol of seed borne diseases of barley and wheat caused by *Fusarium culmorum* and *Bipolaris sorokiniana*: Effects of selected fungal antagonists on growth and yield components. *Plant Pathol.* 44:467-77.
27. Nielsen, B. J., A. Borgen, G. C. Nielsen and C. Scheel. 1998. Strategies for controlling seed-borne diseases in cereals and possibilities for reducing fungicide seed treatments. The Brighton conference - Pest and Diseases, November 18, Brighton, UK.
28. Sarwar, M., J. A. Kirkegaard, P. T. W. Wong and J. M. Desmarchelier 1998. Biofumigation potential of brassicas. III In-vitro toxicity of isothiocyanates to soil borne fungal pathogens. *Plant Soil* 201:103 - 112.
29. Sharma, B. K. and A.K. Basandrai. 1998. Efficacy of some plant extracts for the management of Karnal bunt *Neovossia (Tilletia) indica* of wheat (*Triticum aestivum*). *Indian J. Agric. Sci.* 69:837-839.
30. Singh, S., L. B. Goel, S. K. Sharma and S. K. Nayar. 1979. Fungitoxicants and plant extracts in the control of hill bunt of wheat. *Indian Phytopathol.* 32:297-299.
31. Sivasithamparam, K. and E. L. Ghisalberti. 1998. Secondary metabolism in *Trichoderma* and *Gliocladium*. PP. 139-191. In: C. P. Kubicek and G. E. Harman (Eds.), *Trichoderma and Gliocladium* Vol. 1. Taylor & Francis, New York.
32. Tjamos, E. C., G. C. Papavizas and R. J. Cook. 1992. Biological Control of Plant Diseases. Progress and Challenges for the Future. Plenum Press, New York.
33. Williams, E. Jr. 1987. Persistence in soil and control of common bunt *Tilletia caries* of wheat. *Phytopathology*, 77:1772-1789.
34. Yarham, D. J. and B. M. Mckeown. 1989. Airborne spores of *Tilletia caries* as a source of wheat bunt through soil contamination. *Plant Pathol.* 38:612-14.
35. Yarham, D. J. 1993. Soil borne spores as a source of inoculum for wheat bunt (*Tilletia caries*). *Plant Pathol.* 42:654-6.