

کنترل بیماری سیاهک پنهان معمولی گندم با استفاده از آرد خردل،

جدایه‌های *Trichoderma* و مواد بیولوژیک

مهدی مهرابی کوشکی^۱، دوستمراد ظفری^{*} و بهرام شریفانی^۲

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

چکیده

تأثیر کنترل کنندگی گونه‌های *Trichoderma* و عصاره تعدادی از گونه‌های گیاهان خانواده شب بو روی بسیاری از عوامل بیماری‌زای قارچی به اثبات رسیده است. در این تحقیق، در قالب یک طرح بلوك‌های کاملاً تصادفی تأثیر آرد خردل، *T. virens* T59، *Trichoderma koningi* T18 و *T. harzianum* T56 و *T. brevicompactum* 30 مخلوط چهار جدایه تریکودرما، مخلوط چهار جدایه تریکودرما+آرد خردل و دو ماده بیولوژیک تریکودرمین بی و سابتیلین روی کنترل بیماری گندم ناشی از *Tilletia laevis* در مزرعه ارزیابی شد. بر مبنای شاخص آلدگی، تمام تیمارها نسبت به شاهد که درصد خوش‌های آلوهه در آن $\frac{43}{5}$ درصد بود، اختلاف معنی‌دار نشان دادند و باعث کاهش درصد آلدگی شدند ($P < 0.05$). بیشترین تأثیر در کاهش بیماری مربوط به تیمارهای آرد خردل و مخلوط چهار جدایه تریکودرما+آرد خردل به ترتیب به میزان $\frac{89}{9}$ و $\frac{87}{4}$ 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، آلدگی‌های 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). عملده تحقیقات در کنترل غیرشیمیایی سیاهک پنهان، روی ضدغوفونی بذر با ترکیبات آلی، آب گرم، هوای گرم، قارچ‌ها و باکتری‌های آنتاگونیست متمرکز بوده است (۶ 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 فروبردن 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 اهلی‌شدن گندم یک مشکل جدی در تولید گندم بوده است و از مهم‌ترین بیماری‌های تاریخ گیاه‌پزشکی است که برای کنترل آن عملتاً روش ضدغوفونی بذرها به وسیله قارچ‌کش‌ها به کار رفته است (۲۷). در کشاورزی ارگانیک، ضدغوفونی بذرها با قارچ‌کش‌ها کاربردی نداشتند و کنترل این

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

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

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

غیربیماریزا و مفیدی هستند که به خوبی از طریق مکانیسم‌های رقابت و تسخیر ریزوسفر، میکوپارازیتیسم، 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 اکثر، آنتاگونیست قارچ‌های بیماری‌زای گیاهی بوده و به دلیل موقوفیت آنها در این زمینه به طور وسیع به عنوان مهم‌ترین عامل قارچی در کترل 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 بیماری‌زای از جمله قارچ‌ها (۱۲) اثر بازدارنده نشان داده است. محصولاتی (مخصوصاً غلات) که در تناسب با کلزا (*B. juncea*) و خردل هندی (*B. napus*) قرار می‌گیرند، نسبت به عوامل بیماری‌زای خاکرود آلوگی کمتری نشان می‌دهند و این مربوط به ایزوتیوسیانات‌هایی است که در طول کشت قبلی توسط ریشه‌ها و در مرحله پوسیدن بقایای توسط بقایای ریشه‌ها در خاک آزاد می‌شود (۴ و ۲۳).

با توجه به این که از ترکیبات مختلف آزمایش شده در کترل 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 آلوهه از مزارع شدیداً آلوهه 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

مدت پنج روز در عصاره گیاهان فوق، باعث توقف جوانه‌زنی تلیوپورها در شرایط آزمایشگاهی شد در حالی که عصاره اوکالیپتوس جوانه‌زنی را تحریک کرد. شارما و باساندرای (۲۹) نشان دادند که جوشیده برگ‌های گیاهان *Eucalyptus tereticornis* و *Canabis sativa* جوانه‌زنی تلیوپور *T. indica* in vitro در شرایط *T. indica* 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 معنی دار آلوگی به سیاهک پنهان شده است، بدون این که اثر منفی روی قدرت جوانه‌زنی بذرها داشته باشد. بورگن و کریستنسن (۱۰) در یک آزمون مزرعه‌ای تأثیر شیر خشک، آرد گندم (*Triticum aestivum*، ذرت *T. aestivum*، آگر و سیاهک (*Zea mays*، خردل (*Secale cereale*)، چاودار (*Agrostemma githago*) تره (*Chenopodium quinoa*) را روی کترل سیاهک پنهان به ترتیب ۷۴، ۴۵، ۴۰، ۶۷، ۹۹، ۵۶ و ۷۹ درصد کاهش آلوگی گزارش کردند، بدون این که مقدار مصرفی مواد فوق (۳۰ g/kg) تفاوت معنی داری در سرعت و قدرت جوانه‌زنی بذرها گندم داشته باشد. همچنین در این آزمایش، شیر خشک و آرد خردل باعث کاهش ۹۱ درصدی سیاهک ساقه چاودار ناشی از *Gliocladium roseum* شد (۱۰). تأثیر کاربرد *Urocystis occulata* به همراه شیر خشک به صورت تیمار بذری باعث ۸۶/۶ درصد کاهش در آلوگی به سیاهک پنهان شد (۸). افزایش مقادیر بعضی مواد آلی به کاررفته مانند شیر خشک باعث افزایش درصد کترل سیاهک پنهان و کاهش قدرت جوانه زنی 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 ۹۳، ۹۶ و ۶۲ درصد گزارش کردند. بیشتر گونه‌های *Trichoderma* همزیست‌های گیاهی

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

آلوده‌سازی و تیمار بذرها

بذهار گندم زمستانه (رقم نوید) مورد نیاز در یک ظرف بزرگ *T. laevis* ریخته شد و به ازای هر کیلوگرم بذر ۵ گرم زادمایه به آن اضافه شد و با هم زدن بذور، توده یکنواختی از بذرها آغشته به اسپور سیاهک تهیه گردید. میزان آغشتنگی اسپورها به بذور با قراردادن تصادفی ۵ بذر در ۱۰ میلی لیتر آب مقطر و شمارش با لام هموسیتومنتر، بطور میانگین، 5×10^6 اسپور روی سطح هر بذر محاسبه شد (۲۲). بذور آلوده شده در ظروف جداگانه تقسیم و با اضافه کردن آب مقطر به آن (۳۳) میلی لیتر آب مقطر در هر 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

تريکودرمين بی محسول 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 تريکودرما استفاده شد. ساپتیلین محسول شرکت تلفیق دانه که حاوی 10^6 پروپاگول از باکتری *Bacillus subtilis* در هر گرم ماده بیولوژیک بود به همان نسبت و روش تريکودرمين بی مصرف شد.

اجرای آزمون در مزرعه

تأثیر آرد خردل، چهار جدایه تريکودرما، مخلوط چهار جدایه، مخلوط چهار جدایه+آرد خردل، تريکودرمين بی و ساپتیلین 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 بوعالی سینا همدان به مرحله اجرا در آمد. خاک مزرعه مورد استفاده به روش لمسي،

محتوی تلیوسپور از خوش‌های 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 تريکودرما و تهیه مایه تلقيق

جدایه‌های *T. virens* T59, *T. koningi* T18, *T. brevicompactum* 30 فراریشه گندم در استان مرکزی جداسازی شدند. جداسازی روی محیط کشت نیمه انتخابی و اصلاح شده الا و شت (۱۵) که حاوی ۱ گرم نیترات آمونیوم (NH_4NO_3), 0.2% گرم سولفات منزیم ($\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$), 0.9% گرم فسفات پتاسیم (K_2HPO_4), 0.15% گرم کلرید پتاسیم (KCl)، 0.3% گرم گلوكر، 0.2% گرم آگار، 0.03% گرم دکسان، 0.15% گرم رزبنگال، 0.02% گرم PCNB آب انجام گرفت. جدایه‌ها در کوتاه مدت روی محیط کشت PDA نگهداری شدند. برای تهیه زادمایه جدایه‌های تريکودرما ۸۰ گرم دانه گندم، 80% گرم ماسه و 80% میلی لیتر 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 تريکودرما، چهار قرص با قطر یک سانتی متر به ارلن‌های حاوی گندم به صورت جداگانه تلقيق گردید. ارلن‌های تلقيق شده تريکودرما 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 تلقيق در زیر هود هوادهی شد و پس از آسیاب در یخچال تا زمان مصرف نگهداری شد (۱۴). زادمایه شماری مایه تريکودرما به روش تهیه سوسپانسیون مایه، انجام ترقیق مکرر، کشت چمنی سوسپانسیون‌های رقیق شده روی محیط کشت نیمه انتخابی الا و شت (۱۵) و شمارش پرگنه‌های تريکودرما روی محیط کشت تعیین شد. این میزان

تیمارهای چهار جدایه، مخلوط چهار جدایه و تریکودرمین 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 چهار جدایه نزدیک به ۹۰ 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 ۹۹٪ و ۹۱٪ گزارش کردند. گونه‌های جنس *Brassica*، *Sinapis* و سایر اعضای تیره شب بو محتوى میزان مشخصی گلوكوزینولات در بافت‌هایشان هستند. گلوكوزینولات‌ها بوسیله آنزیم میروزیناز (که در بافت‌های گیاهی این خانواده وجود دارد) هیدرولیز می‌شوند و دامنه وسیعی از تولیدات هیدرولازی همچون اکسازولیدین‌تیون‌ها، 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* محتوى میزان زیادی ۲-فیل اتیل گلوكوزینولات (۲۵) است که سمیت فوق العاده‌ای روی تعدادی از عوامل بیماری‌زا غلات در آزمون‌های آزمایشگاهی نشان داده است (۵ و ۲۴ و ۲۸).

جدایه‌های تریکودرما، مخلوط چهار جدایه و تریکودرمین بی به میزان ۳۶/۱-۲۷ آلودگی به سیاهک پنهان را کاهش دادند. پیغامی و بادوسست (۱) نیز در مطالعات خود، به تأثیر آنتاگونیستی بعضی جدایه‌های تریکودرما روی قارچ بیمارگر و کاهش بیماری سیاهک پنهان گندم اشاره کرده‌اند. آمرو 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 میسلیلیومی پی بردن. بورگن و دوانلو (۸) در مطالعات

رسی سیلتی تخمین زده شد. بذور تیمارشده به نسبت ۲۰۰ kg/ha در کرت‌های مربوطه پخش و در عمق ۳-۴ سانتی‌متر قرار گرفت. در عملیات خاک‌ورزی ۱۱۰ kg/ha کود فسفات آمونیوم ۳۰ kg/ha کود سولفات پتاسیم به خاک اضافه شد. کود سرک اوره در دو مرحله پنجه‌زنی و بند اول ساقه مجموعاً به میزان ۲۵۰ 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 بازشدن گلچه‌ها در آن مشهود بود.

درصد خوشه‌های آلوده در شاهد ۴۳/۵ درصد و بر اساس آزمون دانکن (با احتمال ۱٪ خط)، 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 چهار جدایه به ترتیب به میزان ۸۹/۹ و ۸۷/۴ درصد بود. کمترین تأثیر در کاهش آلودگی نیز مربوط به ماده بیولوژیک تجاری ساب‌تیلین به میزان ۱۹/۶ درصد بود.

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

نام تیمارها	خواشنهای آلدود (درصد) ^۱	کاهش آلدودگی (درصد)	گروه‌بندی تیماری ^۲
شاهد آلدود	۴۳/۵	۰	A
آرد خردل	۴/۸۷	۸۹/۹	D
Trichoderma koningi T18	۳۰/۷۵	۲۹/۴	BC
Trichoderma brevicompactum T30	۳۰/۵	۲۹/۹	BC
Trichoderma virens T59	۲۷/۷۵	۳۶/۳	C
Trichoderma harzianum T56	۲۹/۲۵	۳۲/۸	BC
مخلوط چهار جدایه	۳۰/۵	۲۹/۹	BC
آرد خردل + مخلوط چهار جدایه	۵/۵	۸۷/۴	D
تریکوکردمین بی	۳۱/۷۵	۲۷/۱	BC
ساب تیلین	۳۵	۱۹/۶	B

۱. درصد خواشنهای آلدود، میانگین چهار تکرار برای هر تیمار است.

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

باشد. لذا نتایج این تحقیق که تأثیر کترلی ۹۰ درصدی بیماری به وسیله آرد خردل را نشان می‌دهد و وجود گزارش‌های قبلی که کترل ۱۰۰ درصدی بیماری به وسیله آرد خردل را تأیید می‌کند (۱۰)، می‌تواند این ماده آلتی را به عنوان یک ماده غیرشیمیایی موثر در کترل سیاهک پنهان مطرح کند. از طرفی بر اساس تحقیقات مزرعه‌ای روی بقاء تلیوسپور در خاک، منشاء مایه آلدودگی‌های شدید در مزرعه مایه بذر زاد شناخته شده است (۹) و تلیوسپورها در خاک فقط در شرایط خشک می‌توانند عمر طولانی داشته باشند (۳۳ و ۳۴) یا در حالت‌های که بین دو گونه *T. tritici* و *T. controversa* تلاقی (intercross) اتفاق افتاده باشد (۲۱ و ۳۵). بنابراین به نظر می‌رسد برای کترول سیاهک پنهان معمولی گندم می‌توان از بذهای عاری از اسپور و آرد خردل، برای آلدودگی‌های محدود ناشی از مایه تلقیح خاکزد 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 تریکوکردمای بیش از ۱۰۰ نوع متابولیت تولید می‌کنند که خواص آنتی‌بیوتیکی آنها شناخته شده است (۳۱). بخشی از متابولیت‌های تولیدی استرین‌های تریکوکردمای را آنزیم‌های تخریب‌کننده دیواره سلولی همچون کیتینازها، گلوکانازها و پروتئازها شامل می‌شود. بتا-۱ و ۳ 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 آلدودگی نشان داد. خدایگان و همکاران (۲) نیز گزارش کرده‌اند که متابولیت‌های فرار و غیرفرار بعضی استرین‌های باکتری جدایه از فراریشه گندم باعث ممانعت از جوانه‌زنی تلیوسپور سیاهک پنهان می‌شود.

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

منابع مورد استفاده

۱. پیغماری، ا. و م. بابادوست. ۱۳۷۴. بررسی نحوه آسودگی 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: ۵۸-۳۵.
۲. خدایگان، پ.، ح. ر. اعتباریان، غ. خداکرمیان و م. ترابی. ۱۳۸۳. کترل بیولوژیک بیماری سیاهک پنهان معمولی گندم توسط برخی استرین‌های آنتاگونیست باکتریائی. 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 Herwaaden 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- β -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. Touibia-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.