فصلنامه علمی – پژوهشی گیاه و زیست بوم
سال ۷، شماره ۲-۲۷، تابستان ۱۳۹۰، ویژه‌نامه

بررسی اثر محرک رشدی جدایه‌های قارچ *Trichoderma harzianum* روی کاهو (*Lactuca sativa*) و فلفل (*Capsicum annuum*)

میرمعصوم عراقی[۱]*، فرهاد باغبانی‌مهماندار[۲]، روزبه محمدی[۳]

چکیده

در سال‌های اخیر، گسترش علم زیست‌شناسی، اهمیت حفظ محیط زیست و تقاضای بالای مواد غذایی باعث گردیده تا محققین استفاده از ابزارهای زیستی را مد نظر قرار دهند. در این میان افزایش تولید در واحد سطح کاهو و فلفل از نظر کشاورزی دارای اهمیت زیادی است. در این تحقیق تأثیر پنج جدایه از گونه‌ی قارچی *Trichoderma harzianum* شامل T_1، T_2، T_3، T_4 و T_5 در افزایش رشد دو گیاه فلفل و کاهو در شرایط گلخانه‌ای و در قالب طرح کاملاً تصادفی در چهار تکرار بررسی شد. برای انجام این تحقیق از سه غلظت ۰/۵، ۱ و ۱/۵ درصد مایه تلقیح به ازاء هر گلدان استفاده شد. در هر گلدان تعداد پنج عدد بذر از هر کدام کاشته شد. به ترتیب پس از ۴۰ و ۳۰ روز از کاشت کاهو و فلفل، گیاهان قطع شده و طول، وزن تر و خشک ریشه و اندام هوایی، قطر ساقه و تعداد برگ آن‌ها محاسبه شد. نتایج آزمون نشان داد که جدایه‌ها در غلظت‌های مختلف اثرات متفاوتی در طول و مقدار وزن تر و خشک ریشه و اندام‌های هوایی هر دو گیاه داشتند و تفاوت معنی‌دار آماری را در سطح احتمال یک و پنج درصد با آزمون چند دامنه‌ای دانکن نشان دادند به طور کلی در بین جدایه‌ها، T_1 بیش‌ترین و T_2 کم‌ترین اثر رشدی را از خود نشان دادند. دو گیاه فلفل و کاهو نیز از نظر میزان تأثیرپذیری از جدایه‌ها در مواردی تفاوت معنی‌دار آماری در سطح احتمال یک درصد داشتند. در یک نتیجه‌گیری کلی اثر رشدی جدایه‌ها روی کاهو نسبتاً بیش‌تر از فلفل بود.

کلمه‌های کلیدی: تریکودرما، فلفل، کاهو، محرک رشد گیاهی

۱- دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی گرگان، گروه گیاه‌شناسی، گرگان، ایران. * مسئول مکاتبه. (Iraqi602@yahoo.com)
۲- گروه کشاورزی، دانشگاه پیام نور، تهران، ایران
۳- گروه علوم خاک، دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی گرگان، ایران
تاریخ دریافت : بهار ۱۳۸۹ تاریخ پذیرش: تابستان ۱۳۸۹

Archive of SID
www.SID.ir

مقدمه

در دهه‌های اخیر، گسترش علم زیست‌شناسی و اهمیت رعایت محیط زیست از یک سو و تقاضای روز افزون مواد غذایی با افزایش جمعیت دنیا از سوی دیگر باعث گردیده تا محققین استفاده از ابزارهای زیستی جهت افزایش میزان محصول در واحد سطح را بیش از گذشته مد نظر قرار دهند. کاهو و فلفل دو محصول مهم در رژیم غذایی انسان امروز را تشکیل می‌دهند و در زمره محصولاتی هستند که افزایش تولید در واحد سطح از نظر کشاورزی دارای اهمیت زیادی است. کاهو از نظر ویتامین‌های مختلف مانند C، K و A بسیار غنی است. همچنین حاوی مقادیر نسبتا کافی از عناصر کلسیم، فسفر، آهن و پتاسیم می‌باشد. کاهو از نظر دارا بودن سلولز در فعال کردن اعمال دودی روده‌ای و معده و در نتیجه دفع مواد آن‌ها نقش بسیار مهم و اساسی دارد. همچنین کاهو برای افراد مسن، چاق و کسانی که مبتلا به فشار خون هستند می‌تواند بسیار مفید باشد (احمدبیگ، ۱۳۸۷). فلفل گیاهی است که از سالیان دور همواره به عنوان یکی از ادویه‌های مهم نقش بسیار مهمی در رژیم غذایی انسان ایفا کرده است. فلفل نیز همچون کاهو سرشار از ویتامین‌های مختلف مانند C و A می‌باشد. فلفل دارای املاح فراوانی است و عناصری همچون کلسیم، آهن، پتاسیم، سدیم و فسفر در آن به حد وفور وجود دارد. از فلفل در درمان سوء هاضمه، ناراحتی‌های اعصاب و روماتیسم نیز استفاده می‌شود (احمدبیگ، ۱۳۸۷).

برخی گونه‌های باکتریایی نظیر باسیلوس‌ها و رایزوبیوم‌ها (Krishnan *et al*., 2007) و برخی گونه‌های قارچی همچون تریکودرما به عنوان محرک رشد گیاهی[1] (PGP) شناخته شده‌اند (Vinale *et al*., 2008). این میکرو ارگانیسم‌ها با کلنیزاسیون و اسپورزایی فراوان در محیط خاک و به ویژه اطراف ریشه (ریزوسفر) اغلب گیاهان زراعی و غیر زراعی نه تنها باعث کاهش عوامل بیماری‌زا در خاک می‌شوند بلکه در مواردی با مکانیسم‌های بیوشیمیایی باعث تحریک رشد اندام‌های زیرزمینی یا هوایی برخی از این گیاهان می‌گردند (Vinale *et al*., 2008 ; Harman *et al*., 2004).

قارچ *Trichoderma harzianum* یکی از معمول‌ترین گونه‌های قارچ تریکودرما در اغلب خاک‌های دنیا می‌باشد که جدایه‌های مختلف آن عمدتاً دارای خاصیت آنتاگونیستی علیه قارچ‌های بیماری‌زای گیاهی مهم خاکزی می‌باشند (Samuels, 1996). توان ترشح ترکیبات بیوشیمیایی و آنزیم‌های مختلف خارج سلولی در خاک، توان بالای قدرت همزیستی در ریشه، توان اسپورزایی بالا، تحمل بالا نسبت به عناصر سنگین خاک، شوری و سایر ترکیبات موجود در محیط خاک و ریشه، رقابت تغذیه‌ای بالا نسبت به عوامل بیماری‌زا در محیط و از همه مهم‌تر توان ایجاد و القاء مقاومت با تحریک گیاه به تولید ترکیبات فیتوتوکسینی از مهم‌ترین ویژگی‌های گونه‌های مختلف جنس تریکودرما محسوب می‌شود (Delgado-Jarana *et al*., 2002; Harman *et al*., 2004; Howell, 2003; Limon *et al*., 2004; Szekers, *et al*., 2004).

با این حال در چند دهه‌ی اخیر و با کشف خاصیت محرک رشد گیاهی در برخی از جدایه‌های قارچ مزبور، این قارچ توجه محققین زیست شناسی را

1- Plant Growth Promoting

Archive of SID

www.SID.ir

بیش از گذشته به خود جلب نموده است (Baker, 1988 ; Chang *et al*., 1986). اگرچه گونه‌های مختلف قارچ تریکودرما عمدتاً به عنوان آنتاگونیست علیه بسیاری از عوامل بیماری‌زای گیاهی مورد استفاده قرار می‌گیرند (Ahmed *et al*., 2003; Benitez *et al*., 2004). اثرات مطلوب آن‌ها در رشد و پرورش بسیاری از گیاهان زینتی همچون میخک، گل داوودی، قدومه، گل جعفری، گل تلگرافی، نوعی اطلسی دو رگه و گل میمون نیز به اثبات رسیده است (Baker *et al*., 1984; Chang *et al*., 1986). از مهم‌ترین محصولات باغی و زراعی که تاکنون تأثیر گونه‌های مختلف قارچ تریکودرما در افزایش رشد اندام‌های مختلف آن‌ها نظیر ریشه و اندام‌های هوایی به اثبات رسیده است می‌توان به نخود فرنگی، بادمجان، خیار، فلفل (*Piper nigrum*)، ترب، توتون، گوجه فرنگی و کاهو اشاره کرد (Naseby *et al*., 2000; Ousley *et al*., 1994). بدیهی است که عکس‌العمل گیاهان مختلف نسبت به اثرات رشدی جدایه‌های قارچ تریکودرما متفاوت خواهد بود. به عنوان مثال در یک آزمایش گلخانه‌ای وقتی سوسپانسیونی از کنیدی‌های *Trichoderma* spp. به صورت به خاک اضافه شد باعث افزایش معنی‌داری در وزن خشک گیاهان گوجه فرنگی، فلفل (*Piper nigrum*) و خیار شده ولی روی رشد گیاهان لوبیا و ترب تأثیر نداشت (Chang *et al*., 1986).

از طرفی نوع گونه قارچ تریکودرما، جدایه‌های مختلف یک گونه از آن، میزان غلظت و نوع مایه تلقیح استفاده شده نیز باعث تفاوت در میزان اثرات رشدی قارچ تریکودرما روی گیاهان مختلف می شوند (Lynch *et al*., 1991). در تحقیقی ثابت شد که بکارگیری مایه تلقیح *Trichoderma* spp. به صورت Peat-bran باعث افزایش بیش‌تری در وزن خشک ساقه‌های ترب نسبت به بکارگیری آن به صورت سوسپانسیون اسپور می‌شود (Baker *et al*., 1984).

Ousley *et al* (1994) نشان دادند که برخی از جدایه‌های *T. harzianum* تنها در غلظت یک درصد در خاک باعث افزایش رشد اندام‌های هوایی و ریشه گیاه کاهو شدند. با در نظر گرفتن این مطلب که اثرات آنتاگونیستی قارچ تریکودرما و به ویژه گونه‌ی *T. harzianum* (در مقایسه با گونه‌های باکتریایی با خاصیت مشابه و حتی بسیاری از قارچ‌های آنتاگونیست) علیه بسیاری از عوامل بیماری زای خاکزی نظیر *Rhizoctonia solani* و *Fusarium oxysporum* و برخی گونه‌های جنس‌های *Phytium*، *Sclerotinia* و *Phytophtora* در بسیاری از گیاهان زراعی و زینتی ذکر شده به اثبات رسیده است (Samuels, 1996; Lumsden *et al*., 1990) و با توجه به این‌که این گونه قارچ تریکودرما در خاک‌های ایران به وفور یافت می‌شود و به عبارت بهتر به نوعی فراوان‌ترین گونه‌ی تریکودرما به حساب می‌آید (Samuels, 1996). بنابراین در این تحقیق سعی شده است تا اثرات رشدی چند جدایه از قارچ *T. harzianum* بر روی دو گیاه فلفل و کاهو که از نظر خواص دارویی و غذایی دارای اهمیت بسیاری هستند مورد بررسی قرار گیرد.

مواد و روش‌ها

برای انجام این تحقیق از دو گیاه به نام‌های کاهوی خوراکی (*Lactuca sativa*) و فلفل (*Capsicum annuum*) استفاده شد. برای

Archive of SID

www.SID.ir

جداسازی جدایه‌های تریکودرما از خاک از محیط کشت انتخابی Davet شامل ۱ گرم $Ca(No_3)_2$، ۱ گرم $CaCl_2.2H_2O$، ۲۵۰ میلی‌گرم KNO_3، ۲۵۰ میلی‌گرم KH_2PO_4، ۵۰ میلی‌گرم اسید سیتریک، ۲ گرم سوکروز، ۲۵ گرم آگار، ۳۰ میلی‌گرم سولفات استرپتومایسین و ۲/۵ میلی‌گرم وینکلوزولین به ازاء هر لیتر آب مقطر و محیط کشت حاوی ۰/۲ گرم $MgSo_4.7H_2O$ ، ۰/۹ گرم K_2HPO_4 ، ۱/۵ گرم KCl، ۱ گرم NH_4NO_3، ۳ گرم گلوکز، ۲۰ گرم آگار به ازاء هر لیتر آب مقطر استفاده شد (Papavizas & Lumsden, 1982). برای شناسایی جدایه‌های قارچ از کلیدهای معتبر موجود در منابع استفاده شد (Samuels, 1996; Gams & Meyer, 1998). برای شناسایی جدایه‌های تریکودرما از ویژگی‌های مورفولوژیکی نظیر شکل و رنگ پرگنه، نوع کنیدیوفور، فیالیدها، شکل و ابعاد کنیدی‌ها و سرعت رشد پرگنه جدایه‌ها روی محیط کشت مالت آگار (MA) و سیب‌زمینی- دکستروز- آگار (PDA) پس از خالص‌سازی، جدایه‌ها در داخل لوله‌های حاوی محیط کشت سیب‌زمینی دکستروز آگار (PDA) در دمای چهار درجه سانتی‌گراد در یخچال نگهداری شدند. یک هفته قبل از شروع آزمون قطعاتی از هر جدایه داخل لوله‌ها برداشته و روی ظروف حاوی محیط مالت آگار (MA) انتقال داده شده و به منظور رشد در داخل انکوباتور با دمای ۱±۲۴ درجه سانتی‌گراد قرار داده شدند. برای تهیه مایه تلقیح قارچ (برای انجام آزمون) نیز از روش Lumsden *et al* (1990) و از محیط کشت تی ام ای پاپاویزاس حاوی ۱/۲۵ گرم گلوکز به ازاء هر لیتر آب مقطر و محیط کشت ضمیمه V8 استفاده گردید. بدین ترتیب که ابتدا ارلن‌های حاوی ۲۵۰ میلی‌لیتر از این محیط کشت تهیه و پس از استریل کردن با دستگاه اتوکلاو، به هر ارلن مقدار تقریباً یک ششم از پرگنه کاملاً رشد کرده هر جدایه (در ظروف حاوی محیط کشت مالت آگار) انتقال داده شد. سپس ارلن‌های مزبور بر روی دستگاه شیکر با ۷۰ دور در دقیقه در دمای آزمایشگاه (تقریباً ۲۴-۲۲ درجه سانتی‌گراد) به منظور تولید توده زنده[1] نگهداری شدند. پس از گذشت ۱۰ روز با استفاده از کاغذ فیلتر واتمن شماره ۴ توده زنده تولید شده هر جدایه از محیط مایع جداسازی شده و پس از خشک کردن و نگهداری به مدت دو روز در دسیکاتور، نهایتاً تا شروع آزمون گلخانه‌ای در دمای چهار درجه سانتی‌گراد در یخچال نگهداری شدند. در انجام آزمون نیز از غلظت‌های ۰/۵، ۱ و ۱/۵ درصد به ازاء وزن خشک خاک هر گلدان از توده زنده تهیه شده از هر جدایه استفاده شد. برای انجام این آزمون از یک ترکیب خاکی با نسبت مساوی (۱:۱) از پیت و ماسه استفاده شد (Ousley *et al*., 1994). برای هر گلدان مخصوص کاشت فلفل و کاهو به ترتیب مقدار ۲۰۰ و ۴۰۰ گرم از خاک مزبور استفاده گردید. پس از اضافه کردن غلظت‌های مختلف مایه تلقیح جدایه‌های قارچ به خاک گلدان‌ها و مخلوط کامل آن‌ها، گلدان‌ها به منظور انجام آزمون در گلخانه نگهداری شدند. قبل از شروع به کاشت بذور کاهو و فلفل، گلدان‌ها به رطوبت ظرفیت زراعی رسانده شدند و سپس در هر گلدان تعداد پنج عدد بذر از هر گیاه کاشته شد. گلدان‌ها پس از کاشته شدن در شرایط گلخانه نگهداری شدند. به ترتیب پس از گذشت ۴۰ و ۳۰ روز از کاشت کاهو و فلفل،

1- Biomass

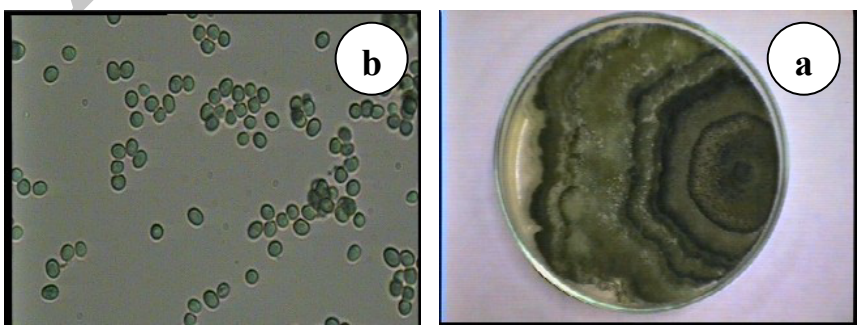
Archive of SID

www.SID.ir

طول ریشه و اندام هوایی، وزن خشک و تر ریشه و اندام‌های هوایی برای این دو گیاه در گلدان‌های تیمار شده با جدایه‌های مختلف قارچ تریکودرما و گلدان‌های شاهد بدست آمد. نهایتاً اثرات محرک رشدی جدایه‌های قارچ به صورت درصد افزایش رشد رویشی بین تیمارهای مختلف محاسبه و جدایه‌ها از این نظر مورد مقایسه‌ی آماری قرار گرفتند. آزمون مربوطه به صورت فاکتوریل با طرح پایهٔ کاملاً تصادفی با چهار تکرار انجام گردید. برای تجزیه و تحلیل نتایج آزمون از نرم افزار آماری SAS (Institute Inc, 2001) استفاده شد. برای مقایسه‌ی میانگین داده‌ها از آزمون چند دامنه‌ای دانکن استفاده شد.

نتایج

تجزیه و تحلیل داده‌های بدست آمده از این آزمون نیز نشان داد که جدایه‌های این قارچ دارای اثرات رشدی متفاوتی روی دو گیاه کاهو و فلفل هستند. بر اساس نتایج تجزیه واریانس جدول ۱ اثرات جدایه، غلظت مورد استفاده و نوع گیاه بر طول ریشه و اندام هوایی و وزن تر و خشک ریشه و اندام‌های هوایی در سطح احتمال یک درصد معنی‌دار بود. اثر متقابل جدایه × گیاه روی وزن تر ریشه و اندام هوایی در سطح احتمال یک درصد و روی وزن خشک ریشه و طول ریشه و اندام هوایی در سطح احتمال پنج درصد معنی‌دار شد. اثرات متقابل جدایه × غلظت و غلظت × گیاه نیز روی طول و وزن تر و خشک ریشه و اندام هوایی در سطح احتمال یک درصد معنی‌دار بود. این در حالی بود که اثر جدایه، غلظت و گیاه و اثرات متقابل آن‌ها بر تعداد برگ و قطر ساقه معنی‌دار نبود (جدول ۱). نتایج مقایسه‌ی میانگین نشان داد که در بین جدایه‌های مورد استفاده، جدایه T_1 (شکل ۱) بیش‌ترین اثر رشدی و جدایه T_2 کم‌ترین تأثیر را در افزایش رشد و طول ریشه و اندام هوایی دو گیاه فلفل و کاهو از خود نشان دادند و در سطح احتمال یک درصد اختلاف معنی‌دار داشتند (جدول ۲). نتایج مقایسه‌ی میانگین فاکتورهای رشدی اندازه‌گیری شده در این آزمون برای دو گیاه نیز نشان داد که اثر رشدی جدایه‌ها روی کاهو نسبتاً بیش‌تر از فلفل بوده و دو گیاه دارای اختلاف معنی‌دار آماری در سطح احتمال یک درصد هستند (جدول ۳). همچنین نتایج آزمون نشان داد که تقریباً هیچکدام از جدایه‌ها در غلظت ۰/۵ درصد باعث ایجاد تغییرات رشدی در گیاهان نشدند (جدول ۴). بیش‌ترین اثر رشدی برای تمام جدایه‌ها به ترتیب در غلظت‌های ۱/۵ و ۱ درصد بدست آمد (جدول ۴).



شکل ۱- شکل پرگنه جدایه T_1 (a) و کنیدی‌های آن (b) روی محیط کشت PDA

Archive of SID
www.SID.ir

جدول ۱- نتایج تجزیه واریانس اثر پنج جدایه قارچ *T. harzianum*
در سطوح ۰/۵، ۱ و ۱/۵ درصد در افزایش وزن تر و خشک ریشه و اندام هوایی، طول ریشه و اندام هوایی، تعداد برگ و قطر ساقه کاهو و فلفل

منبع تغییرات	درجه آزادی	میانگین مربعات وزن تر ریشه	میانگین مربعات وزن خشک ریشه	میانگین مربعات وزن تر اندام هوایی	میانگین مربعات وزن خشک اندام هوایی	میانگین مربعات طول ریشه	میانگین مربعات طول اندام هوایی	میانگین مربعات قطر ساقه	میانگین مربعات تعداد برگ
جدایه	۴	۰/۱۲۸۹۹۴ **	۰/۰۹۱۰۸۰ **	۰/۱۹۱۸۰ **	۰/۱۳۸۲۸۱ **	۰/۲۴۰۲۱ **	۰/۲۶۸۴۱ **	۰/۰۰۹۱۵ ns	۰/۰۰۷۱۸ ns
غلظت	۲	۰/۰۳۵۵۶۵ **	۰/۰۱۸۱۶۶ **	۰/۰۴۴۷۷ **	۰/۰۴۷۴۱۸ **	۰/۰۵۸۹۸ **	۰/۰۶۲۸۷ **	۰/۰۰۹۲۱ ns	۰/۰۰۸۱۸ ns
گیاه	۱	۰/۰۴۶۵۳۵ **	۰/۰۲۳۱۷۱ **	۰/۰۵۸۴۲ **	۰/۰۵۳۸۶۱ **	۰/۰۶۹۴۷ **	۰/۰۷۱۱۲ **	۰/۰۲۱۲۰ ns	۰/۰۲۴۱۰ ns
جدایه × غلظت	۸	۰/۰۴۲۱۳۰ **	۰/۰۳۶۷۶۴ **	۰/۰۴۹۴۳ **	۰/۰۴۹۷۴۳ **	۰/۰۶۸۸۴ **	۰/۰۷۵۸۷ **	۰/۰۱۵۱۴ ns	۰/۰۱۰۱۸ ns
جدایه × گیاه	۴	۰/۰۰۲۵۳۹ **	۰/۰۰۱۳۷۳ *	۰/۰۰۵۲۴ **	۰/۰۰۳۵۹۷ ns	۰/۰۰۶۲۱ *	۰/۰۰۷۴۰ *	۰/۰۰۵۴۲ ns	۰/۰۰۶۰۱ ns
غلظت × گیاه	۲	۰/۰۱۴۶۱۴ **	۰/۰۱۳۵۸۵ **	۰/۰۱۲۰۲ **	۰/۰۱۴۰۱ **	۰/۰۱۶۸۹ **	۰/۰۲۰۱۱ **	۰/۰۱۰۸۲ ns	۰/۰۱۰۰۱ ns
غلظت × جدایه × گیاه	۸	۰/۰۰۱۹۱۷ **	۰/۰۰۰۹۹۵ *	۰/۰۰۴۳۴ **	۰/۰۰۴۶۱۷ ns	۰/۰۰۶۸۵ *	۰/۰۰۶۹۴ *	۰/۰۰۱۵۴ ns	۰/۰۰۰۹۴ ns
خطا	۹۰	۰/۰۰۰۳۱۶	۰/۰۰۰۴۳۶	۰/۰۰۰۷۷۴	۰/۰۰۲۸۸۷	۰/۰۰۱۹۹۱	۰/۰۰۲۰۰	۰/۰۰۱۰۱	۰/۰۰۰۹۸
ضریب تغییرات		Cv=۴/۸۶۴	Cv=۷/۵۹۲	Cv=۵/۶۱۲	Cv=۱۱/۸۳	Cv=۸/۰۱۲	Cv=۱۰/۸۴	Cv=۱۱/۰۴	Cv=۴/۴۲

* معنی‌دار در سطح احتمال ۵٪، ** معنی‌دار در سطح احتمال ۱٪ و ns غیر معنی‌دار

SID.ir

جدول ۲- نتایج مقایسه میانگین اثر پنج جدایه قارچ *T. harzianum* در طول و وزن ریشه و اندام هوایی کاهو و فلفل

صفت اندازه‌گیری شده	جدایه قارچ				
	T_1	T_2	T_3	T_4	T_5
وزن تر ریشه	۱۴/۱۸۷۸ ± ۱/۵ [a]	-۵/۹۲۵۰ ± ۰/۷ [d]	۶/۱۵۶۷ ± ۰/۶۵ [b]	۲/۰۵۷۵ ± ۰/۲۴ [c]	۱/۷۹۲۱ ± ۰/۲۱ [c]
وزن خشک ریشه	۱۱/۷۸۲۵ ± ۱/۲ [a]	-۵/۲۷۹۲ ± ۰/۸ [d]	۴/۳۱۳۳ ± ۰/۵۱ [b]	۱/۵۱۵۰ ± ۰/۱۴ [c]	۱/۴۱۷۱ ± ۰/۱۹ [c]
وزن تر اندام هوایی	۱۸/۱۰۰۰ ± ۲/۱ [a]	-۶/۴۲۵۴ ± ۰/۷ [d]	۷/۶۶۷۵ ± ۰/۸۱ [b]	۲/۶۱۴۶ ± ۰/۳۲ [c]	۲/۸۲۷۵ ± ۰/۳۷ [c]
وزن خشک اندام هوایی	۱۵/۲۰۴۰ ± ۱/۶ [a]	-۶/۰۴۸۰ ± ۰/۶ [c]	۶/۱۴۲۰ ± ۰/۸۹ [b]	۳/۱۱۹۰ ± ۰/۳۴ [b]	۴/۲۹۱۰ ± ۰/۵۴ [b]
طول ریشه	۲۰/۱۵۱ ± ۱/۸ [a]	-۷/۵۶۰ ± ۰/۷ [d]	۷/۶۱۱ ± ۰/۸ [b]	۲/۸۵۱ ± ۰/۳۱ [c]	۲/۷۵۴ ± ۰/۴۱ [c]
طول اندام هوایی	۲۲/۱۶۱ ± ۱/۹ [a]	-۸/۴۲۱ ± ۰/۶ [d]	۹/۶۵۱ ± ۰/۸ [b]	۳/۹۱۴ ± ۰/۳ [c]	۵/۲۱۰ ± ۰/۵۸ [c]

* اعداد (بر حسب درصد) دارای حروف غیر مشابه در هر ردیف دارای اختلاف معنی‌دار در سطح احتمال یک درصد با آزمون چند دامنه‌ای دانکن هستند (درصد افزایش رشد برای تیمارهای شاهد ۰/۰ درصد می‌باشد).

جدول ۳- نتایج مقایسه میانگین طول و وزن تر و خشک ریشه و اندام هوایی دو گیاه کاهو و فلفل

صفت اندازه گیری شده	کاهو	فلفل
وزن تر ریشه	۵/۶۲۳۰ ± ۰/۵۱ [a]	۱/۶۸۴۵ ± ۰/۳۱ [b]
وزن خشک ریشه	۴/۱۳۹۳ ± ۰/۵۲ [a]	۱/۳۶۰۲ ± ۰/۲۸ [b]
وزن تر اندام هوایی	۷/۱۶۳۲ ± ۰/۷۲ [a]	۲/۷۵۰۵ ± ۰/۳۸ [b]
وزن خشک اندام هوایی	۶/۶۶۰۳ ± ۰/۶۴ [a]	۲/۴۲۳۲ ± ۰/۳۴ [b]
طول ریشه	۷/۳۵۲ ± ۰/۸۲ [a]	۲/۸۵۱۰ ± ۰/۴۱ [b]
طول اندام هوایی	۸/۲۱۲ ± ۰/۴۶ [a]	۲/۹۴۴۰ ± ۰/۳۶ [b]

* اعداد (بر حسب درصد) دارای حروف غیر مشابه در هر ردیف دارای اختلاف معنی‌دار در سطح احتمال یک درصد با آزمون چند دامنه‌ای دانکن هستند (درصد افزایش رشد برای تیمارهای شاهد ۰/۰ درصد می‌باشد)

جدول ٤- نتایج مقایسه میانگین تأثیر سطوح مختلف جدایه‌های قارچ *T. harzianum* در طول و وزن تر و خشک ریشه و اندام هوایی کاهو و فلفل

صفت اندازه‌گیری شده	سطوح غلظت		
	۱/۵ درصد	۱ درصد	۰/۵ درصد
وزن تر ریشه	۶/۴۸۵۰ ± ۰/۶۷ [a]	۳/۹۳۵۰ ± ۰/۳۹ [b]	۰/۵۴۱۳ ± ۰/۱۲ [c]
وزن خشک ریشه	۴/۵۷۲۵ ± ۰/۵۱ [a]	۳/۲۷۰۰ ± ۰/۴۱ [b]	۰/۴۰۶۸ ± ۰/۱۳ [c]
وزن تر اندام هوایی	۸/۰۰۲۵ ± ۰/۸۷ [a]	۵/۴۹۲۰ ± ۰/۴۵ [b]	۱/۳۷۶۰ ± ۰/۲۱ [c]
وزن خشک اندام هوایی	۷/۹۷۸۰ ± ۰/۷۸ [a]	۴/۵۵۶۰ ± ۰/۴۵ [b]	۱/۰۹۲۰ ± ۰/۲۲ [c]
طول ریشه	۸/۵۱۲ ± ۰/۹ [a]	۵/۵۵۱ ± ۰/۵۱ [b]	۱/۸۱۲ ± ۰/۳۸ [c]
طول اندام گیاهی	۹/۸۱۲ ± ۰/۹ [a]	۶/۴۲۱ ± ۰/۵۴ [b]	۱/۹۲۴ ± ۰/۳۹ [c]

* اعداد (بر حسب درصد) دارای حروف غیر مشابه در هر ردیف دارای اختلاف معنی‌دار در سطح احتمال یک درصد با آزمون چند دامنه‌ای دانکن هستند.

Archive of SID

www.SID.ir

بحث

نتایج بدست آمده در این تحقیق در مورد فلفل خوراکی و کاهو برای اولین بار در ایران ارایه می‌شود. به طور کلی نتایج این آزمون نشان داد که جدایه‌های ایرانی *T. harzianum* مورد استفاده در این تحقیق باعث افزایش رشد طولی و وزن تر و خشک ریشه و اندام هوایی هر دو گیاه شدند ولی تأثیر معنی‌داری در تعداد برگ و قطر ساقه نداشتند.

در تحقیقی تأثیر ۳ غلظت ۰/۵، ۰/۷۵ و ۱ درصد جدایه‌های مختلف تریکودرما شامل T35, 20, TH1, 47, 92, 75, 38 و WT روی رشد گیاه کاهو نشان داد که جدایه‌ها اثرات متفاوتی را در وزن تر و خشک اندام هوایی و ریشه کاهو دارند. جدایه TH1 با ۷۰- درصد (۰/۷-) کم‌ترین و TW با ۲۶ درصد بیش‌ترین افزایش رشدی را داشتند (Ousley *et al*., 1994). در تحقیقی استفاده از ۲ جدایه *T. harzianum* T22 و *T. atroviride* P1 باعث افزایش معنی‌داری در وزن تر و خشک ریشه و اندام هوایی، طول گیاه، تعداد برگ و میوه گوجه فرنگی، کاهو و فلفل شدند (Vinale *et al*., 2004).

تفاوت در اثرات رشدی جدایه‌های مختلف تریکودرما در تحقیق حاضر نیز دیده می‌شود، بطوری‌که جدایه T_1 باعث افزایش معنی‌دار و جدایه T_2 باعث کاهش معنی‌دار در فاکتورهای رشدی اعم از طول ریشه و اندام هوایی، وزن تر و خشک ریشه و اندام هوایی کاهو شدند. البته تأثیر جدایه‌ها و حتی گونه‌های مختلف قارچ تریکودرما روی صفات و فاکتورهای رشدی می‌تواند متفاوت باشد. به عنوان مثال در تحقیقی اثر جدایه‌های *T. harzianum* در غلظت‌های ۵، ۱۰ و ۱۵ گرم بر متر مربع بستر خاک بر شاخص‌های رشدی دو رقم کاهوی Yedikule و Coolguard مورد بررسی قرار گرفت و ثابت شد که جدایه‌های *T. harzianum* تأثیر معنی‌داری در وزن تر گیاهچه‌های کاهو دارند در حالی که تفاوت معنی‌داری در طول ریشه، تعداد برگ، طول اندام هوایی و وزن ریشه دیده نشد.

نتایج نشان داد که بیش‌ترین عملکرد محصول برای رقم Yedikule در کاربرد غلظت ۱۵ گرم مایه تلقیح بر متر مربع خاک بستر ۵۰۳ گرم به ازاء هر گیاه (در برابر ۴۲۵ گرم به ازاء هر گیاه در تیمار شاهد بدون کابرد قارچ) و برای رقم Coolguard ۵۷۰ گرم به ازاء هر گیاه (در برابر ۵۵۱ گرم به ازاء هر گیاه در تیمار شاهد) محاسبه گردید (Bal & Altinas, 2007). این در حالی است که در تحقیق دیگری کاربرد جدایه‌ی T6-RC گونه‌ی *T. viridae* با غلظت 10^6 پروپاگول در در هر گرم خاک بستر تأثیر متفاوتی روی شاخص‌های رشدی کاهو داشته است. کاربرد این جدایه تأثیر معنی‌داری در وزن تر و خشک و شاخص سطح برگ نداشتند ولی باعث افزایش معنی‌داری در درصد جوانه‌زنی و تعداد برگ گیاهچه‌های کاهو شدند. افزایش ۴۳ درصدی طول ریشه‌ها و کاهش قطر ریشه‌ها در هنگام استفاده از جدایه مزبور از دیگر نتایج این تحقیق بود (Poldma *et al*., 2008).

برخی از محققین معتقدند که جدایه‌هایی از گونه‌های مختلف قارچ تریکودرما که توان تولید مواد آنتی بیوز بالایی دارند، دارای اثرات افزایش رشدی کمتری در گیاه هستند و تفاوت در تولید این مواد باعث تفاوت جدایه‌ها از نظر میزان تحریک به رشد گیاهان می‌شود (Ghisalberti *et al*., 1990). تفاوت در عملکرد جدایه‌های مختلف قارچ *T. harzianum* در این آزمون را نیز می‌توان احتمالاً به تفاوت در ترشح مواد بیوشیمیایی فرار و غیرفرار اعم از ترکیبات ضد میکروبی دانست (Ghisalberti *et al*., 1990). به عنوان مثال در تحقیقی مشخص شد که مقادیر مشخصی از ترکیب

Archive of SID

www.SID.ir

ضد میکروبی ویریدیول تولید شده به وسیله‌ی گونه‌ی *T. virens* برای گیاه برنج بسیار سمی بوده و باعث کاهش معنی‌دار در رشد گیاهچه‌ها و نشاءهای گیاه می‌شود (Howell & Stipanovic, 1984). در این میان از ترکیبات بیوشیمیایی تولید شده به وسیله‌ی جدایه‌های *T. harzianum* می‌توان به ترکیبات ایزونیتریلی (Fujimori & Okuda, 1994)، پپرونی و مشتقات مختلف آن (Faull & Scarselletti, 1994)، آلامتیسین، درمادین، تریکودرمین و تریکوتوکسین اشاره نمود (Samuels, 1996 ; Reino *et al*., 2008).

از سوی دیگر در تفسیر مکانیسم عمل عوامل تحریک کننده‌ی رشد گیاهی بسیاری از محققین بر این باورند که عمدتاً جدایه‌های مختلف قارچ *Trichoderma* spp. با تولید مواد بیوشیمیایی یا باعث محرک رشد گیاهان می‌شوند و یا باعث کاهش اثرات ممانعت از رشدی برخی ترکیبات، توکسین‌های زیستی و شیمیایی موجود در خاک و حتی تغییر در میزان عناصر محلول در خاک می‌شوند (Windham *et al*., 1986; Vinale *et al*., 2008; Ousley *et al*., 1994). ترشح اسیدهای آلی همچون گلوکونیک اسید، اسید سیتریک و فوماریک اسید توسط گونه‌های تریکودرما باعث کاهش pH خاک و نهایتاً افزایش حلالیت و جذب ریزمغذی‌های مهم مورد نیاز برای رشد گیاه همچون آهن، منگنز، منیزیم، کاتیون‌های معدنی و فسفات‌ها می‌شود (Vinale *et al*., 2008; Benitez *et al*., 2004).

Altomare *et al* (1999) برای اولین بار گزارش کردند که برخی از جدایه‌های *Trichoderma* spp. باعث افزایش حلالیت و جذب عناصر کم مغذی همچون روی، منگنز و آهن و پر مغذی مثل فسفر می‌شوند، مکانیسم عملی که عمدتاً به قارچ‌های همزیست ریشه (مایکوریز وزیکولار آربوسکلار) نسبت داده می‌شود. در تحقیقی مشخص شد که جدایه‌های قارچ *T. harzianum* به ترتیب در دو گیاه فلفل و خیار باعث افزایش ۲۳/۸ و ۱۷/۲ درصدی در طول گیاهچه‌ها، ۹۶ و ۵۰ درصدی در سطح برگ و ۲۴/۷ و ۲۸/۶ درصدی در میزان وزن خشک کل هر دو گیاه شدند (Inbar *et al*., 1994).

Yedidia *et al* (2001) نشان دادند که استفاده از برخی جدایه‌های قارچ *T. harzianum* باعث افزایش ۹۰ درصدی فسفر و ۳۰ درصدی آهن قابل جذب توسط گیاه در خاک شده و نهایتاً باعث افزایش به ترتیب ۸۰، ۴۵ و ۸۰ درصدی سطح برگ، طول ساقه و وزن خشک اندام‌های هوایی گیاه خیار شدند. از طرفی اثرات سینرژیستی جدایه‌های مختلف قارچ تریکودرما و قارچ‌های همزیست ریشه‌ای در جهت افزایش رشد گیاهان مختلف به اثبات رسیده است (Green *et al*., 1999).

نتیجه‌گیری

با توجه به توضیحات بالا، نوع گیاه و ترشحات ریشه‌ای آن، تنوع و میزان جمعیت میکرو ارگانیسم‌های محرک رشد گیاه و توانایی آن‌ها در کلنیزاسیون اطراف ریشه و شرایط فیزیکی و شیمیایی خاک و بالاخص نوع فون میکروبی خاک، نهایتاً تعامل پیچیده‌ای را در خاک به وجود می‌آورند، بطوری‌که هر گونه تغییر در این تعامل می‌تواند شرایط رشد گیاه را تغییر دهد (Baker, 1988; Windham *et al*., 1986).

بنابراین با در نظر گرفتن موارد فوق و نتایج بدست آمده می‌توان امیدوار بود که همان طور که از خاصیت بیوکنترلی این گونه قارچ امروزه در سطح وسیعی در دنیا و کشور ما استفاده می‌شود، در آینده

Archive of SID

www.SID.ir

با انجام تحقیقات بیش‌تر اقدام به دستیابی و گزینش جدایه‌های با توان محرک رشـدی مناسـب گیـاهی و استفاده تجاری (بـه تنهـایی یـا در ترکیـب بـا سـایر ترکیبات بیولوژیک) در سطح وسیعی از کشور نمود.

منابع

احمد بیگ،ع. ۱۳۸۷. ارزش غذایی و اهمیت سبزیجات. پایگاه اینترنتی احمد بیگ.

Ahmed,A.S., M.Ezziyyani, C.P.Sanchez, and M.E.Candela. 2003. Effect of chitin on biological control activity of *Bacillus* spp. and *Trichoderma harzianum* against root rot disease in pepper (*Capsicum annuum*) plants. European Journal of Plant Pathology. 109(6): 633-637.

Altomare,C., W.A.Norvell, T.Bjőrkman, and G.E.Harman. 1999. Solubilization of phosphates and micronutrients by the plant-growth-promoting and biocontrol fungus *Trichoderma harzianum* Rifai. Applied and Environmental Microbiology. 65(7): 2926-2933.

Baker,R., Y.Elad, and I.Chet. 1984. The controlled experiment in the scientific method with special emphasis in biological control. Phytopathology. 74: 1019-1021.

Baker,R. 1988. *Trichoderma* spp. as plant growth stimulants. CRC Cric. Review Biotechnology. 7: 97-106.

Bal,U., and S.Altintas. 2007. Effects of *Trichoderma harzianum* on lettuce in protected cultivation. J. of Central European Agriculture. 9(1): 63-70.

Benitez,T., A.M.Rincon, M.C.Limon, and A.C.Codon. 2004. Biocontrol mechanisms of *Trichoderma* strains. International Microbiology. 7(4): 249-260.

Chang,C., Y.Chang, R.Baker, O.Kleifield, and I.Chet. 1986. Increased growth of plants in the presence of the biological control agent *Trichoderma harzianum*. Plant Disease. 70: 145-148.

Delgado-Jarana,J., A.M.Rincón, and T.Benítez. 2002. Aspartyl protease from *Trichoderma harzianum* CECT 2413: cloning and characterization. Microbiology. 148: 1305-1315.

Faull,J.L., and R.Scarselletti. 1994. In vitro activity of 6-pentyl-I-pyrone, a metabolite of *Trichoderma harzianum*, in the inhibition of *Rhizoctonia solani* and *Fusarium oxysporum* f. sp. *lycopersici*. Mycological Research. 98:1207-1209.

Fujimori,F., and T.Okuda. 1994. Application of the random amplified polymorphic DNA using the polymerase chain reaction for efficient elimination of duplicate strains in microbial screening. I. Fungi. Journal Antibiotics. Tokyo. 47: 173-182.

Gams,W., and W.Meyer. 1998. What exactly is *Trichoderma harzianum*? Mycologia. 90(5): 904-915.

Ghisalberti,E.L., M.J.Narbey, M.M.Dewan, and K.Sivasithamparam. 1990. Variability among *Trichoderma harzianum* in theire ability to reduce take-all and to produce pyrones. Plant and Soil. 121: 287-291.

Archive of SID

www.SID.ir

Green,H., J.Larsen, P.A.Olsson, D.F.Jensen, and I.Jakobsen. 1999. Suppression of biocontrol agent *Trichoderma harzianum* by mycelium of the arbuscular mycorrhizal fungus *Glomus intraradices* in root-free soil. Applied and Environmental Microbiology. 65(4): 1428-1434.

Harman,G.E., C.R.Howell, A.Viterbo, I.Chet0, and M.Lorito. 2004. *Trichoderma* species-opportunistic, avirulent plant symbionts. Nature Reviews. 2: 43-56.

Howell,C.R. 2003. Mechanisms employed by *Trichoderma* species in the biological control of plant diseases: the history and evolution of current concepts. Plant Disease. 87: 4-10.

Howell,C.R., and R.D.Stipanovic. 1984. Phytotoxicity to crop plants and herbicidal effects on weeds of viridiol produced by *Gliocladium virens*. Phytopathology. 74: 1346-1349.

Inbar,J., M.Abramsky, D.Cohen, and I.Chet. 1994. Plant growth enhancement and disease control by *Trichoderma harzianum* in vegetable seedlings grown under commercial conditions. European Journal of Plant Pathology, Springer Netherlands. 100(50): 337-346.

Krishnan,H.B., B.R.Kang, A.H.Krishnan, K.L.Kim, and Y.C.Kim. 2007. *Rhizobium etli* USDA9032 engineered to produce a phenazine antibiotic inhibits the growth of fungal pathogens but is impaired in symbiotic performance. Applied and Environmental Microbiology. 73(1): 327-330.

Limón,M.C., Chacón,M.R, R.Mejías, J.Delgado-Jarana, A.M.Rincón, A.C.Codón, and T.Benítez. 2004. Increased antifungal and chitinase specific activities of *Trichoderma harzianum* CECT 2413 by addition of a cellulose binding-domain. Applied Microbiology Biotechnology. 64: 675-685.

Lumsden,R.D., J.P.Carter, J.M.Whipps, and J.M.Lynch. 1990. Comparison of biomass and viable propagule measurements in the antagonism of *Trichoderma harzianum* against *Pythium ultimum*. Soil Biology Biochemistry. 20: 123-125.

Lynch,J.M., K.L.Wilson, M.A.Ousley, and J.M.Whipps. 1991. Response of lettuce to *Trichoderma* treatment. Letters Applied Microbiology. 12: 59-61.

Naseby,D.C., J.A.Pascual, and J.M.Lynch. 2000. Effect of biocontrol strains of *Trichoderma* on plant growth, *Pythium ultimum* populations, soil microbial communities and soil enzyme activities. Journal of Applied Microbiology 88: 161–169.

Ousley,M.A., J.M.Lynch, and J.M.Whipps. 1994. Potential of *Trichoderma* spp. as consistent plant growth stimulators. Biology Fertility Soils. 17: 85-90.

Papavizas,G.C., and R.D.Lumsden. 1982. Improved medium for isolation of *Trichoderma* spp. from soil. Plant Disease. 66: 1019-1020.

Poldma,P., S.Vabrit, A.Merivee, and K.Suigusaar. 2008. Influence of *Trichoderma viridae* inoculated growing substrate on the growth and yield of Lettuce (*Lactuca sativa*). ISHS Acta Horticulturae 779: International Symposium on Growing Media. (Abstract).

Reino,J.L., R.F.Guerrero, R.Hermandez-Galan, and I.G.Collado. 2008. Secondary metabolites from species of the biocontrol agent *Trichoderma*. Phytochemistry Reviews, Springer Netherlands. 7(1): 89- 123.

Archive of SID

www.SID.ir

Samuels,G.J. 1996. *Trichoderma*: a review of biology and systematics of the genus (Centenary Review). Mycological Research. 100(8): 923-935.

Szekeres,A., L.Kredics, Z.Antal, F.Kevei, and L.Manczinger. 2004. Isolation and characterization of protease overproducing mutants of *Trichoderma harzianum*. FEMS Microbiology Letters. 233: 215-222.

Vinale,F., G.D`Ambrosio, K.Abadi, F.Scala, R.Marra, D.Turra, S.L.Woo, M.Lorito. 2004. Application of *Trichoderma harzianum* (T22) and *Trichoderma atroviride* (P1) as plant growth promoters and their compatibility with copper oxychloride. J. of Zhejiang University Science. 30: 2-8.

Vinale,F., K.Sivasithamparam, E.L.Ghisalberti, R.Marra, S.L.Wooa, and M.Lorito. 2008. Trichoderma-plant-pathogen interactions. Soil Biology & Biochemistry. 40: 1-10.

Windham,M.T., Y.Elad, and R.Baker. 1986. A mechanism for increased plant growth induced by *Trichoderma* spp. Phytopathology. 76: 518-552.

Yedidia,I., A.K.Srivastva, Y.Kapulnik, and I.Chet. 2001. Effect of *Trichoderma harzianum* on microelemet concentrations and increased growth of cucumber plants. Plant and Soil, Springer Netherlands. 235(2): 235-242.

Archive of SID

www.SID.ir