Archive of SID

مجله علوم کشاورزی و منابع طبیعی
سال دوازدهم ـ شماره اول ـ فروردین- اردیبهشت ۱۳۸٤
www.magiran.com/jasnr

بررسی تأثیر pH و دما روی رشد *Trichoderma koningi* و مقایسه با عوامل‌فوزاریوز *سنبله* گندم و فعالیت آنتاگونیستی آن بر علیه این بیمارگرها

کامران رهنما[1]، علیرضا محمدزاده[2] و سیداسماعیل رضوی[1]
[1]گروه گیاه‌پزشکی، دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی گرگان، [2]دانش‌آموخته کارشناسی ارشد رشته علوم گیاهی

تاریخ دریافت: ۸۱/۱۲/۱۷ ؛ تاریخ پذیرش: ۸۳/٦/۱۸

چکیده

در این بررسی تأثیر pH و دما روی فعالیت آنتاگونیستی قارچ *Trichoderma koningii* با دو گونه *Fusarium* عامل بیماری فوزاریوز *سنبله* گندم مقایسه گردید. این گونه تریکودرما که از منطقه گرگان جدا شده بود، بیشترین رشد را در دمای ۲۵ درجه سانتی‌گراد و pH=٤/٥ داشت که در سطح احتمال ٥ درصد اختلاف معنی‌دار وجود دارد. همچنین در دماهای۲۰، ۲۵ و ۳۰ درجه سانتی‌گراد در pH=٤/٥ رشد بیشتری نسبت به دو pH دیگر (٥/٥ و ٥/٦) داشته است. کاهش pH همچنین سبب افزایش اسپورزایی این قارچ گردید. اما دمای ۳۰ درجه سانتی‌گراد باعث کاهش شدید میزان رشد عوامل فوزاریوز سنبله گندم گردید. دمای بهینه رشد برای هر دو گونه ۲۵ درجه سانتی‌گراد تعیین گردید. گونه*F.Culmorum* پس از ٤۸ ساعت ماکروکنیدی فراوانی روی محیط کشت PDA تولید نمود. در حالی‌که در این مدت گونه *F. Graminearum* ماکروکنیدی برروی این محیط کشت تولید نکرد. میزان رشد تریکودرما کوننجی در مقایسه با دو گونه فوزاریوم در کشت مشترک بطور معنی‌داری بیشتر از آنها بود. پدیده مایکوپارازیتیسم و کلنی‌زاسیون روی ریسه‌های فوزاریوم در شرایط مختلف آزمایشی همراه با پیچش با میکروسکوپ قابل مشاهده بود. قارچ تریکودرما پس از ٤۸ ساعت در کشت تنها و مشترک‌کنیدی‌های سبزرنگ و کلامیدوسپور تولید نمود.

واژه‌های کلیدی: آنتاگونیست، pH، دما، *Trichoderma koningii*، فوزاریوز *سنبله* گندم

مقدمه

بیماری فوزاریوز *سنبله* گندم یکی از بیماری‌های مهم گندم در مناطق معتدل و نیمه گرمسیری بوده و در مناطقی که مرحله گلدهی و پرشدن دانه مواجه با هوای گرم و مرطوب باشد خسارت زیادی به دانه وارد می‌کند (زارع و ارشاد، ۱۳۸۲؛ برج، ۱۹۸۸). با بررسی‌های انجام گرفته مشخص شد زمانیکه آلودگی از محور *سنبله* شروع می‌گردد میسیلیوم‌های قارچ در محل اتصال سنبلچه به محور *سنبله* متراکم شده و با قطع ارتباط سنبلچه از *سنبله*، بسته به مراحل تکامل دانه، موجب عقیم شدن، چروکیدگی و کاهش وزن دانه می‌گردد (اعتباریان و ترابی، ۱۳۷٥؛ گلزار، ۱۳٦۸). قارچ فوزاریوم *سنبله* گندم علاوه بر کاهش محصول دربرخی از سال‌ها، باعث کاهش در کیفیت دانه نیز می‌گردد (گلزار، ۱۳٦۸؛ پیت و هوکینگ، ۱۹۹٥؛ ریچیگل و ریجیگل، ۱۹۹۷). مهمترین گونه‌های عامل بیماری جداشده از گرگان و استان‌فارس

www.SID.ir

Archive of SID

عبارتند از گونه‌های *Fusarium graminearum* و *F.culmorum* که نسبت به سایر گونه‌ها نقش مهمی برعهده دارند (روانلو و بنی هاشمی، ۱۳۷۸؛ زارع و ارشاد، ۱۳۷٦).

تحقیقات انجام شده از ۱۹۷۰ تاکنون نشان می‌دهد که گونه‌های فوزاریوم متابولیت‌های سمی بی‌شماری تولید می‌کنند که از لحاظ آلودگی دانه و آرد مصرفی و کیفیت پخت حائز اهمیت زیادی است و بیشترین آنها از نوع تریکوتسن‌ها[1] می‌باشند (پاری و همکاران، ۱۹۹۵). سم نیوالنول[2] توسط بعضی از گونه‌های فوزاریوم از جمله *F.graminearum* و *F. culmorum* تولید می‌شود (پیت و هوکینگ، ۱۹۹۵؛ رابرتس و همکاران، ۱۹۹٦). سم زیرالنون[3] و داکسی نیوالنول[4] ازدیگر سمومی‌هستند که توسط این دو گونه تولید می‌شوند. تا کنون از دو گونه *F. graminearum* و *F. culmorum* بترتیب ٤۰ و تقریباً ۵۰ ترکیب سمی در دنیا شناخته شده است (موس، ۲۰۰۲)، که با ایجاد مسمومیت در جانوران و انسان خسارت زیادی را باعث می شود.

دو قارچ *F. graminearum* و *F. culmorum* در ایران ابتدا توسط گرلاخ و ارشاد از جو و گندم گزارش گردید (ارشاد، ۱۳۷۵). بعضی از محققین قارچ *F. culmorum* را به‌عنوان یکی از عوامل فوزاریوز *سنبله* گندم برروی ارقام حساس فلات و گلستان در شرق مازندران نام برده‌اند (گلزار، ۱۳٦۸). همچنین این بیماری ا ز طریق کاهش قدرت جوانه‌زنی بذور و ایجاد بلایت گیاهچه و ساقه‌های ضعیف سبب خسارت نیز می‌شود. در سال‌های اخیر شیوع این بیماری از کشورهای زیادی که سهم بسیاری درتولید گندم جهانی دارند از جمله چین، آمریکا، استرالیا، کانادا، هلند و انگلیس نیزگزارش شده است (اسنابدر، ۱۹۹۰؛ پاری و همکاران، ۱۹۹۵؛ کوبیسک و هارمن، ۱۹۹۸).

افزایش بی رویه مصرف آفتکش‌ها در کشاورزی و مشکلات تیمار شیمیایی در هنگام برداشت محصول‌جهت جلوگیری از آلودگی و حفظ محیط زیست انسان و عدم موجود بودن یک رقم مناسب و مقاوم به بیماری سبب گردیده تا محققین اهمیت کنترل بیولوژیکی را بیشتر مدنظرقرار دهند (اعتباریان و ترابی، ۱۳۷۵؛ رهنما، ۱۳۷۵؛ برج، ۱۹۸۸). از طرفی تاثیر برخی از قارچکش‌ها در هنگام برداشت محصول گندم نه تنها کمک به کاهش آلودگی محصول نمی‌نماید بلکه تاثیر منفی آن نیز در افزایش برخی از توکسین‌های حاصل از فوزاریوز سنبله گندم نیز گزارش شده است. بطور کلی گونه‌های تریکودرما جزء قارچ‌هایی هستند که از آنها به‌عنوان عامل بیو کنترل و تجارتی استفاده می‌شود. تنوع در مکانیسم‌های موجود در گونه‌های تریکودرما برای توقف بیمارگرها، این قارچها را به‌عنوان عامل کنترل زیستی مطلوب مطرح می‌سازد (پاپاویزایس، ۱۹۸۵؛ ریچیکل و ریجیکل، ۱۹۹۷؛ کوبیسک و هارمن، ۱۹۹۸).

گونه *F. Culmorum* عامل بیماریزا از روی سنبله گندم به همراه یک گونه آنتاگونیست بنام برنامه *Trichoderma koningii* (KR7) از منطقه آق‌قلا گرگان توسط رهنما و همکاران برای اولین بار جدا گردید (محمدزاده، ۱۳۷۹). از آنجائیکه درجه حرارت و اسیدیته محیط از عوامل مهم محیطی در انتخاب عامل کنترل بیولوژیک محسوب می‌شوند و گونه‌های مختلف تریکودرما واکنش‌های متفاوتی با این عوامل دارند در بررسی‌ها مقایسه این دو قارچ با یکدیگر اطلاعات کافی در اختیار نمی‌باشد (ارشاد، ۱۳۷۵؛ پاپاویزاس، ۱۹۸۵؛ کوبیسک و هارمن، ۱۹۹۸). هدف از این مطالعه بررسی تأثیر عوامل محیطی pH و دما بر روی رشد *T.koningii* و مقایسه آن باگونه‌های فوزاریوم عامل فوزاریوز *سنبله* گندم یعنی *F. graminearum* و *F.culmorum* و رفتارهای آنتاگونیستی‌تریکودرما بر علیه این دو گونه عامل بیماریزا می‌باشد.

1- Trichothecenes
2- Nivalenol
3- Zeralenone
4- Deoxynivalenol

www.SID.ir

Archive of SID

مواد و روش‌ها

الف) جداسازی قارچ‌ها: در این مطالعه قارچ *T. koningii* (KR7) و عامل فوزاریوز سنبله گندم (*F. graminearum*) از ناحیه طوقه گندم در اواسط دوره رشدی گیاه در بهار ۱۳۷۸ از منطقه آق‌قلا گرگان (استان گلستان) جمع آوری شد و پس از جداسازی روی محیط کشت PDA همزمان دو گونه با منابع کلیدی شناسایی گردید (نلسون و همکاران، ۱۹۸۳؛ کوبیسک و هارمن، ۱۹۹۸). سپس توسط دکتر ارشاد استاد بخش قارچ‌شناسی موسسه تحقیقات آفات و بیماری‌های گیاهی اوین تأیید گردید.

ب) اثر دما و pH برروی رشد سه گونه قارچ: کلیه آزمایش‌ها در شرایط آزمایشگاه و برروی محیط کشت سیب‌زمینی دکستروزآگار (PDA) به میزان ۳۹ گرم درلیتر انجام شد. در این آزمایش‌ها *T. Koningii* (KR7) به‌عنوان عامل مایکوپارازیت و از *F. graminearum* و *F. culmorum* به‌عنوان عامل بیماریزای سنبله گندم استفاده گردید. برای تعیین pH مورد نظر قبل از سترون کردن محیط کشت، با اضافه کردن HCL و NaOH ۰/۱ نرمال تنظیم شد. پس از اینکه محیط کشت‌ها توسط اتوکلاو سترون شدند به‌درون تشتک‌های پتری سترون ریخته شد. سپس برای اندازه‌گیری میزان رشد شعاعی این قارچ‌ها در شرایط سترون از کشت ۴۸ ساعته هر یک از سه گونه قارچ دیسک‌هایی به‌قطر ۵ میلی‌متر (به‌عنوان کشت نوک ریسه) تهیه گردید و در مرکز هر تشتک پتری به قطر ۹ سانتی متر برروی محیط کشت یک دیسک بطور وارونه قرار داده شد. پس از آن تشتک‌ها در شرایط تاریکی و در دماهای مورد نظر (۲۰، ۲۵ و ۳۰ درجه سانتی‌گراد) نگهداری شدند میزان رشد شعاعی این قارچ‌ها بطور روزانه اندازه‌گیری شد (ماک آلیستر و همکاران، ۱۹۹۶).

ج) کشت مشترک: برای بررسی رقابت تغذیه‌ای و تأثیر آنتاگونیستی که تریکودرما نسبت به دو گونه فوزاریوم دارد، کشت‌های مشترکی بصورت زیر انجام شد. در یک سمت تشتک پتری حاوی محیط کشت یک دیسک از تریکودرما به قطر ۵میلی‌متر و در طرف مقابل آن نیز یک دیسک به همان اندازه از هر دو گونه فوزاریوم بطور مجزا کشت داده شد در تشتک‌های شاهد در یک سمت پتری فقط تریکودرما و یا یکی از دو گونه فوزاریوم کشت شد. لازم به ذکر است که دیسک‌ها از کشت ۴۸ ساعته هر یک از قارچها به این تشتک‌های پتری انتقال یافتند محیط کشت‌ها در شرایط تاریک و تحت دماهای مختلف (۲۰، ۲۵ و ۳۰ درجه‌سانتی‌گراد) قرار داده شدند و میزان رشد هر یک از گونه‌ها بطور روزانه اندازه‌گیری شد.

نحوه پارازیته شدن دو گونه فوزاریوم توسط تریکودرما به دو روش بررسی گردید. در روش اول از قسمت برهم‌کنش نمونه‌گیری شد و سپس با رنگ آمیزی توسط محلول لاکتوفنول و کاتن بلو، در زیر میکروسکوپ نحوهٔ برهم‌کنش مطالعه گردید. در روش دوم یک لام آزمایشگاهی را پس از غوطه‌ور کردن در الکل اتیلیک ۷۰ درصد توسط پنس سترون بر روی شعله گرفته شد تا کاملاً سترون گردد. پس از حدود ۱۰ ثانیه بر روی محیط کشت در وسط تشتک قرار داده‌شد و دیسک‌هایی از دو گونه قارچ (یک گونه تریکودرما و گونه مقابل آن یکی از دوگونه فوزاریوم) در دو سمت مقابل هم کشت گردید. این محیط کشت‌ها مانند مراحل قبل دارای pHهای ۴/۵، ۵/۵ و ۶/۵ بودند. سپس در دماهای ۲۰،۲۵و۳۰ درجه سانتی‌گراد نگهداری شد. پس از آنکه ریسه‌های هر یک از دو قارچ برروی لام به هم رسیدند، لام را از روی محیط کشت برداشته و پس از رنگ‌آمیزی (همانند روش اول)، در زیرمیکروسکوپ بر هم‌کنش‌ها را مشاهده نمودیم.

کلیه آزمایش‌ها با استفاده از طرح فاکتوریل در قالب طرح کاملاً تصادفی و با چهار تکرار انجام گرفت و تجزیه و تحلیل آماری‌توسط نرم‌افزار SAS انجام شد. میانگین‌ها با آزمون LSD مورد مقایسه قرار گرفتند.

www.SID.ir

Archive of SID

نتیجه و بحث

با اندازه‌گیری میزان رشد سه گونه قارچ (بطور روزانه) مشخص شد که *T. Koningii* در دمای ۲۵ درجه سانتی‌گراد (درpHهای ٤/٥ و٥/٥) و در دمای ۳۰ درجه سانتی‌گراد (در pH=٤/٥) بعد از ٤٨ ساعت تمام سطح پتری (به قطر ۹ سانتی متر) را اشغال نمود. برای‌تعیین دما و pH بهینه اندازه‌گیری میزان رشد پس از ٢٤ ساعت مورد بررسی قرار گرفت (شکل ۱). زیرا همانگونه که ذکر شد پس از ٤٨ ساعت در بعضی از شرایط این قارچ تمام سطح پتری را اشغال نمود. با توجه به اینکه میزان رشد در دمای ۲۵ درجه‌سانتی‌گراد و pH=٤/٥ با دیگر مقادیر اختلاف معنی‌داری دارد بنابراین تریکودرما بیشترین رشد را در این دما و pH داشته است.

از آنجائیکه در کلیه دماها این گونه در pH=٤/٥ رشد بیشتری نسبت به دو pH دیگر دارد بنابراین می‌توان نتیجه گرفت‌که تریکودرما در محیط اسیدی رشد بهتری دارد که نتایج این آزمایش با کارهای سایر محققین هماهنگ است (هدرو همکاران، ١٩٨٤؛ لیجون و همکاران، ۱۹۹۵). کاهش pH همچنین سبب افزایش اسپورزایی توسط تریکودرما شد. نمونه‌گیری‌های انجام شده از محیط کشت ٤٨ ساعته تریکودرما مشخص ساخت که این گونه قادر است پس از این مدت در کلیه دماها و pHهای اندازه‌گیری شده در کشت تنها یا مشترک کنیدی‌های سبز رنگ و کلامیدوسپور تولید کند. که این مسئله از نظر چگونگی شکل پایداری قارچ در شرایط طبیعی خاک می‌تواند مورد توجه قرار گیرد. رشد سریع و اسپورزایی فراوان از ویژگی‌هایی هستند که قارچ تریکودرما را قادر می‌سازد تا بهره‌برداری مطلوبی از زیستگاهش به عمل آورد و حتی در شرایط نامطلوب بقاء آن را حفظ نماید یک چنین خصوصیتی سبب می‌شود تا از این گونه بتوان به‌عنوان عامل کنترل بیولوژیک استفاده کرد (برج، ۱۹۸۸؛ باتناگار، ۱۹۹٦).

با اندازه‌گیری میزان رشد *F. Graminearum* پس از ٤٨ ساعت در دما و pHهای متفاوت دمای بهینه برای رشد این‌گونه ۲۵ درجه سانتی‌گراد و pH بهینه ۵/۵-۵/٦ تعیین گردید (شکل۲). همانطوری که مشاهده می‌شود افت شدید رشد در دمای ۳۰ درجه سانتی‌گراد اتفاق افتاده است. بررسی‌های میکروسکوپی مشخص ساخت که در کلیه دماها و pHهای اندازه‌گیری شده پس از ٤٨ ساعت هیچ ماکروکنیدی در محیط کشت تشکیل نشد (محمدزاده، ۱۳۷۹). لازم به ذکر است یکی از خصوصیات ماکروکنیدی تبدیل آن به کلامیدسپور است که قبلاً توسط محققین ثابت شده است (سیتون و کوک، ۱۹۸۱). بنابراین در صورت عدم تشکیل ماکروکنیدی در این دما و در کشت مشترک این مسئله حائز اهمیت است که بقاء قارچ عامل‌بیماری بصورت اینوکولوم اولیه در مزرعه نیز کاهش پیدا خواهد نمود که نکته مهمی برای مطالعات بیشتر در این زمینه است (گلزار، ۱۳٦۸؛ هدر و همکاران، ١٩٨٤). اگرچه تیمار درجه حرارت می‌تواند یکی از عوامل مورد بررسی جهت ضدعفونی بذور گندمی باشد که ناقل آلودگی (میسلیوم قارچ و کنیدی) هستند که در بررسی‌های آینده بایستی مد نظر قرار گیرد.

اندازه‌گیری میزان رشد *F. Culmorum* (پس از ٤٨ ساعت) نشان داد که دمای بهینه برای این گونه مانند *F. Graminearum*، ۲۵ درجه سانتی‌گراد است (شکل۳). این گونه نیز برخلاف تریکودرما با افزایش pH رشد بیشتری نشان‌داد و مانند گونه*F. Graminearum* در دمای ۳۰ درجه سانتی‌گراد کمترین رشد را داشت. با توجه به تجزیه و تحلیلهای آماری دما و pH بهینه بترتیب ۲۵ درجه سانتی‌گراد و ٦/٥ بدست آمد. نمونه‌های میکروسکوپی از محیط کشت مشخص ساخت که این‌گونه پس از ٤٨ ساعت به فراوانی ماکروکنیدی تولید می‌نماید. با اندازه‌گیری میزان رشد این قارچها در کشت مشترک رقابت تغذیه‌ای *T. Koningii* با گونه‌های فوزاریوم مورد بررسی قرار گرفت. با استفاده از آزمون t جفت شده اختلاف میزان رشد دو قارچ تریکودرما و فوزاریوم در کشت مشترک در کلیه دماها و pHها بسیار معنی‌دار بدست آمد (جدول‌های ۱و۲). رشد بیشتر

www.SID.ir

Archive of SID

جدول۱- آزمون جفت شده برای مقایسه تفاوت بین میانگین رشد دو قارچ (***F.culmorum*** و ***T.koningii***) در کشت مشترک پس از ٤٨ ساعت.

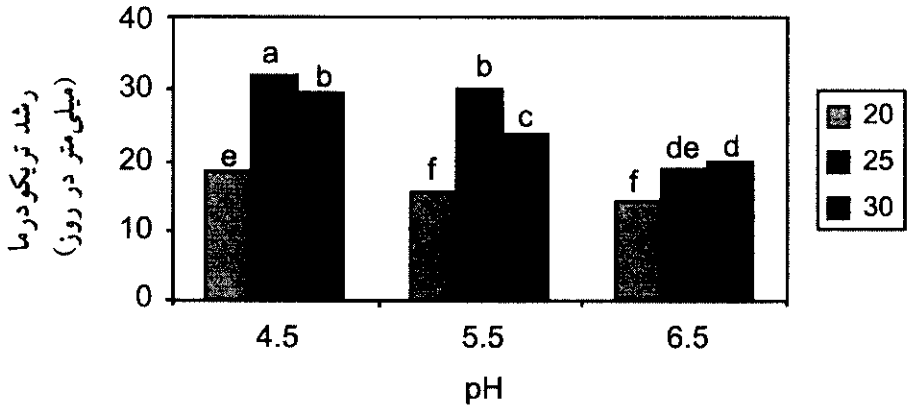
دما (°C)	pH	میانگین رشد (میلی‌متر)	خطای معیار	T	Prob> | T|
۲۰	٤/٥	۲۱	۰/۷	۲۹/٦۹	۰/۰۰۰۱
۲۰	٥/٥	۱۹/٥	۰/۸٦	۲۲/٥۱	۰/۰۰۰۲
۲۰	٦/٥	۸/۲٥	۰/۹٤	۸/۷۱	۰/۰۰۳۲
۲٥	٤/٥	۳٥/٥	۰/۹٥	۳۷/۰۷	۰/۰۰۰۱
۲٥	٥/٥	۲۷/۷٥	۰/۲٥	۱۱۱	۰/۰۰۰۱
۲٥	٦/٥	۲۲/۲٥	۰/۸٥	۲٦/۰٥	۰/۰۰۰۱
۳۰	٤/٥	٤٤/۷٥	۱/۱۸	۳۷/۸۷	۰/۰۰۰۱
۳۰	٥/٥	۳۷/۷٥	۰/٦۲	٦۰	۰/۰۰۰۱
۳۰	٦/٥	۲۳	۰/۷	۳۲/٥۲	۰/۰۰۰۱

جدول۲- آزمون t جفت شده برای مقایسه تفاوت بین میانگین رشد دو قارچ (***F. Graminearum*** و ***T.koningii***) در کشت مشترک پس از ٤٨ ساعت.

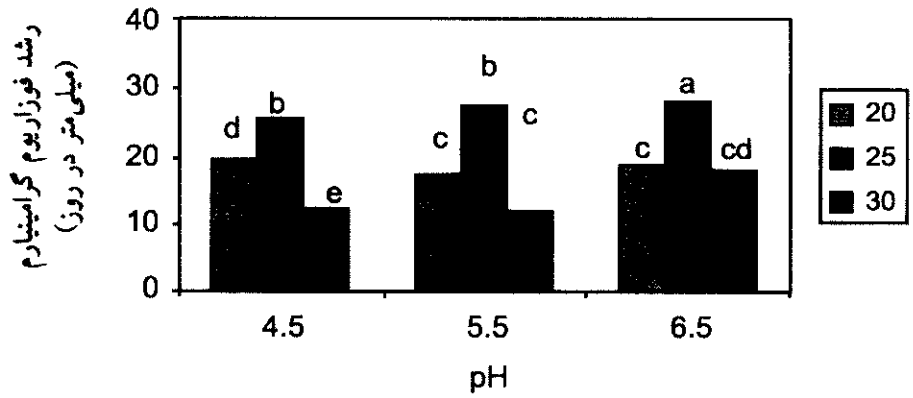
دما (°C)	pH	میانگین رشد (میلی‌متر)	خطای معیار	T	Prob> | T|
۲۰	٤/٥	۱٦/۲٥	۱/۱	۱٤/٦٥	۰/۰۰۰۷
۲۰	٥/٥	۱۲/۷٥	۰/٤۷	۲٦/٦۳	۰/۰۰۰۱
۲۰	٦/٥	٥/۷٥	۰/٤۷	۱۲/۰۱	۰/۰۰۱۲
۲٥	٤/٥	۲۹/۷٥	۰/٦۲	٤۷/۲۸	۰/۰۰۰۱
۲٥	٥/٥	۲٥/۲٥	۰/۲٥	۱۰۱	۰/۰۰۰۱
۲٥	٦/٥	۱۸/٥	۰/۸٦	۲۱/۳٦	۰/۰۰۰۲
۳۰	٤/٥	۳۷/۷٥	۰/۷٥	٥۰/۳۳	۰/۰۰۰۱
۳۰	٥/٥	۳۲/٥	۰/٥	٦٥	۰/۰۰۰۱
۳۰	٦/٥	۱۹	۰/٤	٤٦/٥٤	۰/۰۰۰۱

www.SID.ir

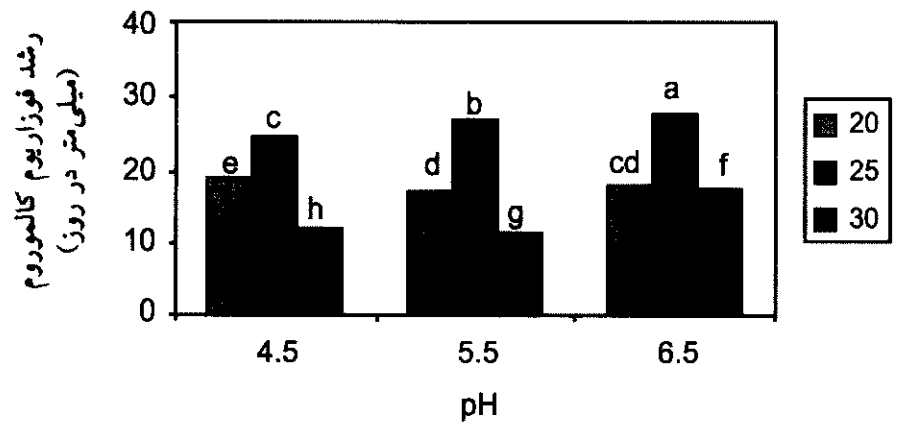
Archive of SID



شکل۱- میزان رشد شعاعی ریسه ***T.koningii*** *در محیط کشت* **PDA** بعد از ۲٤ ساعت نگهداری در انکو باتور. مقادیر با حروف مشابه بر طبق آزمون **LSD** در سطح احتمال ۵ درصد معنی‌دار نیستند.



شکل۲- میزان رشد شعاعی ریسه ***F.graminearum*** *در محیط کشت* **PDA** بعد از٤٨ ساعت نگهداری در انکو باتور.مقادیر با حروف مشابه بر طبق آزمون **LSD** در سطح احتمال ۵ درصد معنی‌دار نیستند.



شکل۳- میزان رشد شعاعی ریسه ***F.culmorum*** *در محیط کشت* **PDA** بعد از ٤٨ ساعت نگهداری در انکو باتور.مقادیر با حروف مشابه بر طبق آزمون **LSD** در سطح احتمال ۵ درصد معنی‌دار نیستند.

www.SID.ir

Archive of SID

تریکودرما در محیط کشت نشان دهنده رقابت تغذیه‌ای شدید *T. Koningii* با دو گونه فورازیوم می‌باشد. آزمایش‌ها و بررسی‌های مختلف ثابت کرده است که تریکودرما بهتر می‌تواند در شرایط و دامنه مختلف حرارتی و تغذیه، محیط نامناسب را با سازگاری تحمل نماید(ترونسمو و دینیس، ۱۹۷۸؛ باتناگار، ۱۹۹۶). گرچه این مسئله حتی در میان جدایه‌های قارچ در داخل یک گونه نیز متفاوت است. بنابراین با مقایسه دامنه فعالیت رشد دو قارچ در این بررسی‌در دماهای متفاوت، پایداری *T.koningii*در مقابل قارچ عامل بیماری از نظر حیات و سازگاری برتری نشان می‌دهد که می‌تواند یک ویژگی مناسب برای کاربرد آن بعنوان عامل کنترل بیولوژیک محسوب شود.

اهمیت رقابت تغذیه‌ای نکته‌ای قابل تأمل است که نحوه پایداری جمعیت قارچ در طبیعت را توجیه نموده و لیکن شکل‌پایداری این قارچ در طبیعت معمولاً به صورت کلامیدوسپور می‌باشد. نظر به اینکه اکثر عوامل بیماریزای گیاهی نکروتروفیک یک مرحله ساپروفیت موقت برروی سطح گیاه پیش از نفوذ به داخل آن دارند. بویژه این مسئله می‌تواند آلودگی در مرحله گلدهی را نیز در چنین شرایطی به همراه داشته باشد. در طول این دوره عوامل بیماریزا مواد غذایی مورد نیازشان را از مواد غذایی موجود برسطح گیاه تأمین می‌نمایند. حال درچنین شرایطی اگر قارچ‌های ساپروفیت نظیر تریکودرما بتوانند بطور فعال مواد غذایی موجود در سطح گیاه را بدون‌آسیب رسانی مصرف نمایند قادرند آلودگی عوامل بیماریزای نکروتروفیک را محدود کنند (بلاکیمن، ۱۹۹۳؛ دوفی و همکاران، ۱۹۹۶).

در خاک و در محیط اطراف ریشه نیز محدودیت در فراهم‌شدن مواد غذایی برای عامل بیماریزا (به سبب مصرف آن توسط یک قارچ‌ساپروفیت) می‌تواند در کاهش بیماری مؤثر باشد. بنابراین چنانچه تریکودرما برروی کاه و کلش باقیمانده از غلات‌پرورش داده شود و بوسیله اسپور، آن محلول‌پاشی گردد، در کاهش پایداری عوامل بیماریزا در مزرعه می‌تواند مؤثرواقع گردد (دانلوپ و همکاران، ۱۹۸۹؛ دات نوف و همکاران، ۱۹۹۵). چنانکه در تلفیق *T. Koningii* با باکتری‌های سود و موناس (*Pseudomonas*) برعلیه بیماری پاخوره گندم نتایج کنترل بیماری موثر بوده است (دوفی و همکاران، ۱۹۹۶). همچنین تلفیق گونه *T. Koningii* با برخی از گونه‌های قارچ میکوریزا برعلیه عوامل بیماری‌زا نیز نتایج قابل قبولی از نظر کنترل بیماری برعلیه قارچ فوزاریوم همراه دارد (ماک آلیستر و همکاران، ۱۹۹۶). همچنین بررسی ماکروسکوپی محیط کشت مشخص نمود که قارچ *T. Koningii* پس از تعامل با دو گونه فوزاریوم قادر است برروی ریسه‌های آنها کلنی‌زایی کند. بررسی میکروسکوپی که با استفاده از روش لام سترون و نمونه‌گیری ازقسمت برهم کنش انجام شد نشان داد که قارچ*T. Koningii* پس از تماس قادر به پارازیته‌کردن ریسه دو گونه فوزاریوم نیزمی‌باشد، بدین صورت که قارچ تریکودرما با ایجاد پیچش فنری شکل در اطراف ریسه‌های دو گونه فوزاریوم باعث از بین رفتن‌ریسه‌های آنها می‌گردد. این پدیده در کلیه pH ها و دماها مشاهده شد(شکل ٤).

طبق بررسی‌های مشابه این قبیل مطالعات، نشان داده است که گونه *T.harzianum* می‌تواند با فعالیت آنزیمی مانع از فعالیت رشد فوزاریوم در هنگام کشت گیاه گوجه فرنگی گردد(دات نوف و همکاران، ۱۹۹۵؛ باتناگار، ۱۹۹۶). بنابراین قارچ آنتاگونیست تریکودرما با سازگاری در شرایط متفاوت نیزمی‌تواند فوزاریوم‌ها را پارازیته نماید. اگرچه تشکیل پدیده پارازیتسم قبل از نزدیک شدن ریسه‌ها به یکدیگر در داخل محیط کشت‌ها در این بررسی مورد مطالعه نبوده است ولیکن کاهش رشد در هر دو کلنی فوزاریوم در کشت مشترک دلالت بر این موضوع دارد که ترکیباتی از سوی قارچ آنتاگونیست تریکودرما در داخل محیط کشت تراوش می‌شوند که می‌توانند در به تأخیر انداختن رشد ریسه قارچ بیماریزا مؤثر باشند. بر طبق بررسی‌های به‌عمل آمده، مشخص شده است که *T.*

www.SID.ir

Archive of SID

Koningii دارای متابولیت‌های ثانویه متفاوتی است که می‌تواند در شرایط مختلف آنرا تولید نماید (دانلوپ و همکاران، ۱۹۸۹؛ پارکر و همکاران، ۱۹۹۵). این متابولیت‌ها که نقش آنتی بیوتیک و بازدارندگی را به‌عهده دارند عبارتند از: تریکوسپورین، تریکوکونین وگلیودلیکوسیسنز. برخی از این مواد از گروه پپتیدها بوده و فقط در شرایط کنترل شده کشت می‌توان آنها را یافت (دوفی و همکاران، ۱۹۹۶). این ترکیبات برروی غشاهای سلولی تاثیرگذاربوده که بررسی‌های بیشتر در این خصوص در آینده لازم به پیگیری است.

منابع

۱.ارشاد، ج. ۱۳۷۵. قارچ‌های ایران. سازمان تحقیقات کشاورزی، تهران، ایران. ۸۸٤ صفحه.

۲.اعتباریان، ح.ر. و م. ترابی. ۱۳۷۵. بررسی مقاومت ارقام مختلف گندم نسبت به فوزاریوم سنبله گندم. مجله بیماری‌های گیاهی، جلد۳۲ شماره ۱و۲، ص۹-۱۵.

۳.روانلو، ع. و ض. بنی هاشمی. ۱۳۷۸. تاکسونومی و بیماری‌زایی فوزاریوم‌ها همراه ریشه در فارس. مجله بیماری‌های گیاهی. جلد ۳۵، ص ٤۵-۳۷.

٤.رهنما، ک. ۱۳۷۵. بیوتکنولوژی و اهمیت آن در کنترل بیولوژیک آفات و بیماری‌های گیاهی در کشاورزی مدرن. مجله علوم کشاورزی و منابع طبیعی، جلد۳ شماره ۳، ص۲۸-۲۰.

۵.زارع، ر. و ج. ارشاد. ۱۳۷٦. گونه‌های فوزاریوم جداشده از غلات در منطقه گرگان. مجله بیماری‌های گیاهی، جلد ۳۳، ص ۷-۱.

٦.گلزار، ح. ۱۳٦۸. بیماری بلایت سنبله گندم، بررسی در مورد عامل بیماری، نحوه آلودگی و انتقال بوسیله بذر. مجله بیماری‌های گیاهی، جلد۲۵، ص۲۲-۱۷.

۷.محمدزاده، ع.ر. ۱۳۷۹. اکوفیزیولوژی قارچ مایکوپارازیت تریکودرما و تأثیر آنتاگونیستی آن بر فوزاریوز خوشه گندم. پایان‌نامه کارشناسی ارشد، دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی گرگان. ۱۲۳ص.

9.Bhatnagar, H. 1996. Influence of environmental condition on antagonistic activity *Trichoderma* spp. against *Fusarium udum*. Indian. J. Mycol. PL. Pathol. 26:58-65.

8.Blakeman, J. P. 1993. Pathogens in the foliar environment. Plant Pathol. 42:479-493.

10.Burge, M.N. 1988. Fungi in biological control systems. Manchester University Press. 286pp.

11.Datnoff, L.E., S. Nemec, and K. Pernezny. 1995. Biological control of *Fusarium*. Crown and root-rot of tomato in Florida using *Trichoderma harzianum* and *Glomus intraradices*. BiologicalControl. 5(3): 27-431.

12. Duffy, B.K., A. Simon, and D.M. Weller 1996. Combination of *Trichoderma koningii* with fluorescent Pseudomonads for control of take-all on wheat. Phytopathology, 86(2): 188-194.

13. Dunlop, R.W., A., Simon, K. Sivasithamparam, and E. L. Ghisalberti. 1989. An antibiotic from *Trichoderma koningii* active against soil-borne plant pathogens. J. Nat. Prod. 52:67-74.

14.Hadar, Y., G.E. Harman, and A.G. Taylor. 1984. Evaluation of *Trichoderma koningii* and *T.harzianum* from New York soils for biological control of seed rot caused by *Pythium* spp. Phytopathology, 74(1): 106-110.

15.Jennings, P., J.A. Turner, and P. Nicholson. 2000. Overview of *fusarium* ear blight in the UK-effect of fungicide treatment on disease control and mycotoxin production. In: The BCPC Conference-Pests and Diseases. 707-712. British Crop Protection Council, Farnham, UK.

16.Kubicek, C.P., and G.E. Harman. 1998. *Trichoderma & Gliocladium*, basic biology, taxonomy and genetics. Taylor & Francis. 278 pp.

17.Lejeune, R., j. Nielsen, and GV. Baron. 1995. Influence of pH on the morphology of *Trichoderma reesi* in batch fermentation. Microbial. Biotechol, 43:249-258.

18.McAllister, C.B., I., Garcia-romera, A. Godeas, and J.A. Ocampo. 1996. In vitro interaction between *Trichoderma koningii*, *Fusarium solani* and *Glomus mosseae*. Soil Biol. Biochem.26:1369-1374.

19.Moss, M. 2002. Mycotoxin review. 2. *Fusarium*. Mycologist. 16: 158-161.

20.Nelson, P.E., T.A. Toussoun, and W.F.O. Marasas. 1983. *Fusarium* species: An Illustrated Manual for Identification. Pennsylvania State University, Univ. Park. 187pp.

www.SID.ir

Archive of SID

21.Papavizas, GC. 1985. *Trichoderma* and *Gliocladium*: biology, ecology, and potential for biocontrol. Ann. Rev. Phytopathol. 23:23-54.
22.Parry, D.W., P. Jenkinson, and L. Mcleod. 1995. *Fusarium* ear-blight (scab) in small grain cereals-a review. Plant Pathology. 44: 207-238.
23.Parker, S.R., H.G. Cutler, and P.R. Schriener. 1995. Koninginin C: isolation of a biologically active natural product from *Trichoderma koningii*. Biosci. Biotech Biochem. 59: 1126-1127.
24.Pitt, J.I. and A.D. Hocking, 1995. Fungi and food spoilage. Blackie Academic & professional. 593 PP.
25.Rechigl, N.A. and J.E. Rechigl. 1997. Environmentally safe approaches to crop disease control. Lewis Publishers. 495 pp.
26.Roberts, T.A., A.C. Baird-Parker, and R.B. Tompkim. 1996. Microorganisms in foods. Blackie Academic & professional. 513 pp.
27.Sitton, J.W., and R.J. Cook. 1981. Comparative morphology and survival of chlamydospores of *Fusariam, roseum, culmorum* and *graminearum*. Phytopathology. 71: 85-90.
28.Snijders, C.h. 1990. *Fusarium* head-blight and mycotoxin contamination of wheat, a review. Netherlands Journal of Plant Pathology. 69: 187-198.
29.Tronsmo, A., and C. Dennis. 1978. Effect of temperature on antagonistic properties of *Trichoderma* species. Trans. Br. Mycol. Soc. 71:469-474.

www.SID.ir

Archive of SID

J. Agric. Sci. Natur. Resour., Vol. 12(1), April-May 2005
www.magiran.com/jasnr

Effects of pH and temperature on growth rate of *Trichoderma koningii* and comparison with *Fusarium* spp. causal agent of wheat head-blight and its antagonistic activity against the pathogens

K. Rahnama[1], A.R. Mohammadzadeh [2] and S. I. Razavi [1]
[1]Dept. of Plant Protection, Gorgan Univ. of Agricultural Sciences and Natural Resources, [2]Former M.Sc Student, Gorgan, Iran.

Abstract

In this study the effects of pH and temperature on antagonistic activity of the fungus *Trichoderma koningii* (KR7) from Gorgan area (Agh-ghaleh) were compared with two species of *Fusarium* causal agents of wheat head-blight disease. This *T.koningii* had significantly the most growth rate at 25°C and pH4.5. The growth rate was more in all tested temperatures (20, 25 and 30°C) with pH 4.5, than two others pH 5.5 and 6.5. Reduction of pH resulted in an increase in the sporulation of *T.koningii*, but, *Fusarium graminearum* and F. *culmorum* were associated with growth reduction more at 30°C. Optimum growth for two species of *Fusarium* was 25°C. After 48h *F.culmorum* produced high level of macroconidia on PDA whereas, none with *F.graminearum*. Growth rate of *T.koningii* was significantly more than two *Fusarium* species in dual cultures. Phenomena of mycoparasitism and colonisation of *T.koningii* on *Fusarium* hyphae was associated with coiling around hyphae in various experimental conditions, observed by light microscope. *T.koningii* fungus produced green conidia and chlamydospore after 48h, in dual and single culture.

Keywords: Antagonist; *Fusarium* spp.; pH; Temperature; *Trichoderma koningii*

سال دوازدهم - شماره اول - فروردین - اردیبهشت ۱۳۸۴

www.SID.ir