

کمک به شناسائی گونه‌های قارچ در *Trichoderma* فراریشه‌ی گیاهان فضای سبز شهری در استان مرکزی

چکیده

گونه‌های تریکودرما همزیست‌های گیاهی غیربیماری‌زا و مفیدی هستند که به خوبی از طریق مکانیسم‌های رقابت، تسخیر فراریشه، میکوپارازیتسم، تولید آنتی‌بیوتیک و آنزیم، القاء تحریکات دفاعی در گیاه و تحریک رشد گیاهی بر روی اکثر عوامل بیماری‌زای گیاهی تأثیرات بیوکنترلی دارند. در این بررسی، ۲۵ نمونه خاک بالک و فراریشه‌ی گیاهان زینتی از فضای سبز مناطق مختلف استان مرکزی جمع‌آوری و روی محیط‌های غذایی نیمه‌انتخابی کشت شدند. ۷۲ جدایه بدست آمده تریکودرما به روش نوک‌هیف خالص‌سازی و بر اساس خصوصیات فیزیولوژیکی و ریخت‌شناسی مورد مطالعه و شناسائی قرار گرفتند. این جدایه‌ها به ترتیب فراوانی از گونه‌های *T. harzianum*، *T. virens*، *T. brevicompactum* و *T. koningii* و یک جدایه از بخش *longibrachiatum* تشخیص داده شدند. در چشم‌انداز آینده جدایه‌های بومی تریکودرما در آزمون‌های ضدقارچی بر اساس خواص آنتاگونیستی غربال شده و انتخاب جدایه‌های موثرتر با قابلیت بالای بیوکنترلی جهت تولید مواد بیولوژیک و استفاده بر علیه عوامل بیماری‌زای گیاهی میسر خواهد شد.

*مهدی مهربانی کوشکی

کارشناس ارشد بیماری شناسی گیاهی، سازمان جهاد

کشاورزی استان مرکزی

دوستمیراد ظفری

استادیار گروه گیاهپزشکی، دانشگاه بوعلی سینا همدان

و فاطمه نظمی رودسری

کارشناس ارشد بیماری شناسی گیاهی

واژه‌های کلیدی: تریکودرما، فراریشه، بیوکنترل،

کنیدیوفور، کنیدیوم، فیالید و کلامیدوسپور



مقدمه

و همکاران، ۲۰۰۴). لذا اکثر گونه‌های تریکودرما آنتاگونیست قارچ‌های بیماری‌زای گیاهی هستند و به دلیل موفقیت آن‌ها در این زمینه امروزه به طور وسیع و به عنوان مهم‌ترین عامل قارچی در کنترل بیولوژیک مورد توجه قرار گرفته‌اند (جاموس و همکاران، ۱۹۹۲).

نظر به تأثیرات مخرب زیست‌محیطی ناشی از استفاده از انواع آفت‌کش‌ها و رویکرد جدیدی که از چند دهه پیش آغاز شده و استفاده از انواع مواد بیولوژیک را در کنترل آفات و بیماری‌های گیاهی در سطوح مختلف آزمایشگاه، گلخانه و مزرعه امکان‌پذیر ساخته است، ادامه این مسیر را اجتناب‌ناپذیر می‌کند. این رویکرد برای عرصه‌های فضای سبز که محیط‌های انسانی نیز به شمار می‌رود اهمیت بیشتری دارد و ارائه طرح‌هایی که به شناسایی عوامل کنترل بیولوژیک جهت جایگزینی آفت‌کش‌ها در عرصه‌های مختلف کشاورزی همچون فضاهای سبز کمک کند حائز اهمیت است. در این تحقیق، جدایه‌های بومی قارچ تریکودرما به عنوان مهم‌ترین عامل کنترل بیولوژیک بیماری‌های گیاهی از فراریشه گیاهان زینتی و غیر مثمر جداسازی، مورد مطالعه و شناسایی قرار گرفتند.

مواد و روش‌ها

نمونه برداری خاک از فراریشه گیاهان

۲۵ نمونه خاک بالک و فراریشه چمن، بنفشه آفریقائی و سایر گیاهان زینتی و غیرمثمر از فضای سبز مناطق مختلف استان مرکزی جمع‌آوری و به آزمایشگاه منتقل شد. در شرایط کاملاً سترون و به صورت جداگانه، ۱۰ گرم ریشه آغشته به خاک به ارلن‌مایرهای حاوی ۱۰۰ میلی لیتری آب مقطر سترون ریخته و به مدت یک ساعت روی شیکر مغناطیسی مخلوط و با استفاده از کاغذ صافی فیلتر شد و به عنوان سوسپانسیون خاک جهت کشت مورد استفاده قرار گرفت.

محیط کشت‌های مورد استفاده

محیط کشت نیمه انتخابی و تغییر یافته الاد و

گونه‌های قارچ تریکودرما از جمله هیفومیست‌های^۱ خاک‌زی هستند که به دلیل تنوع متابولیسمی و قدرت رقابتی در اغلب مناطق از موجودات غالب میکروفیلور خاک می‌باشند (سامولز، ۱۹۹۶). سال‌های زیادی است که ثابت شده این قارچ تولید انواع مواد با خاصیت آنتی‌بیوتیکی می‌کند برای مثال استرین‌های مختلف بیش از یکصد نوع متابولیت تولید می‌کنند که خواص آنتی‌بیوتیکی آن شناخته شده است (سیواسیتامپارام و قیسالبرتی، ۱۹۹۸) و قادر می‌باشند قارچ‌های دیگر را پارازیته کنند. تریکودرما همچنین با میکروارگانیزم‌های دیگر رقابت می‌کند برای مثال، آن‌ها برای مصرف ترشحات ریشه در ریزوپلان^۲ که تحریک‌کننده جوانه‌زنی زادمایه قارچ‌های بیماری‌زای گیاهی در خاک است رقابت می‌کنند (هاول، ۲۰۰۲). همچنین با میکروارگانیزم‌های دیگر برای تصاحب غذا و مکان رقابت دارند (الاد، ۱۹۹۶). تریکودرما از فعالیت پکتیناز^۳ و سایر آنزیم‌هایی که برای قارچ‌های بیماری‌زای گیاهی، همچون Botrytis cinerea جهت نفوذ به سطح برگ لازم است جلوگیری می‌کند و یا حتی این آنزیم‌ها را تخریب می‌کند (زیمانند و همکاران، ۱۹۹۶). در سال‌های اخیر، به نقش ژن‌های کدکننده تولید آنزیم‌های تخریب‌کننده دیواره سلولی که می‌تواند در تولید گیاهان فراریخته‌ای^۴ مقاوم به بیماری به کار رود، پی برده شد، مخصوصاً ژن‌هایی که کدکننده تولید آنزیم‌های فعال روی پکتین هستند (هارمن، ۲۰۰۴؛ هاول، ۲۰۰۳). گونه‌های مختلف تریکودرما، همچنین به عنوان محرک رشد و توسعه گیاهی عمل کرده و باعث بهبود رشد در سیستم‌های کنترل شده (یدیدا و همکاران، ۲۰۰۱) و طبیعی (هارمن، ۲۰۰۰) می‌شوند. مکانیسم عمل این قارچ در رشد و توسعه گیاهی، برای استفاده در کشاورزی و درک نقش تریکودرما در طبیعت و اکوسیستم مدیریت‌شده، بسیار مهم است. تحقیقات متعددی نیز وجود دارد که القای مقاومت موضعی و سیستمیک در گیاه توسط گونه‌های تریکودرما را تایید می‌کند. (هارمن



حاوی ۲۱ گرم آگار و یک لیتر آب بود. محیط کشت 1/4-strength PDA جهت نگهداری و کشت در مراحل شناسایی استفاده گردید و حاوی ۹/۵۷ گرم PDA تجاری، ۲۱ گرم آگار و یک لیتر آب مقطر بود. حدود ۲۰ میلی لیتر از محیط کشت‌های فوق در هر تشتک ۹ سانتی متری که در شرایط آون سترون شده بود، ریخته شد و پس از سرد شدن در مراحل جداسازی، خالص‌سازی، نگهداری و شناسایی تریکودرما مورد استفاده قرار گرفت.

مراحل جداسازی و شناسایی

چند قطره از سوسپانسیون خاک، به هر پتری حاوی محیط کشت منتقل و به روش چمنی در سطح محیط پخش گردید. علاوه بر روش سوسپانسیون، به طور مستقیم از توده‌های کوچک و متراکم خاک، کلوخه‌های طبیعی و گرد پاشی روی محیط کشت نیز در عملیات جداسازی استفاده شد. تشتک‌های پتری در انکوباتور با دمای $25 \pm 3^{\circ}\text{C}$ به مدت ۲۴ ساعت در شرایط تاریکی و سپس در شرایط نوری و دمای آزمایشگاه تا حداکثر ۱۰ روز نگهداری شدند. پس از ظهور پرگنه‌های تریکودرما، با سوزن نمادگیر، میسلیوم یا اسپوره‌های تولیدی به محیط کشت 1/4-strength PDA تلقیح شد. جدایه‌های به دست آمده روی محیط کشت آب-آگار رقیق کشت مجدد و پس از رشد کافی به روش نوک‌هیف، خالص‌سازی شدند. شناسایی بر اساس مشخصات فیزیولوژیکی و ریخت‌شناسی شامل میزان رشد، مشخصات ماکروسکوپی پرگنه‌ها، شکل و اندازه کنیدیوفورها، فیالیده‌ها، کنیدیوم‌ها، کلامیدوسپورها، ریشه‌های هوایی و ریشه‌های فرو رفته^{۱۹} در محیط کشت بود. ریخت‌شناسی با قرار دادن نمونه‌ها در داخل یک قطره اسید لاکتیک ۲۵٪ به اضافه یک قطره کاتن‌بلو روی لام و مشاهده آن‌ها با میکروسکوپ نوری ماتیک مجهز به عکس‌برداری دیجیتال و اندازه‌گیری با بزرگ‌نمایی $100\times$ انجام گرفت. برای به دست آوردن میانگین، حداقل و حداکثر اندازه‌ها از ۳۰ مشاهده و اندازه‌گیری استفاده گردید.

خت (۱۹۸۳) جهت کشت سوسپانسیون خاک استفاده گردید و حاوی ۱ گرم نیترات آمونیوم^۶ (NH_4NO_3)، ۰/۲ گرم سولفات منیزیم^۷ ($\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$)، ۰/۹ گرم فسفات پتاسیم^۸ (K_2HPO_4)، ۰/۱۵ گرم کلرید کلسیم^۹ (KCl)، ۳ گرم گلوکز، ۰/۱۵ گرم رزبنگال^{۱۰}، ۰/۲ گرم PCNB^{۱۱}، ۰/۲۵ گرم کلرامفنیکل^{۱۲} و ۰/۰۲ گرم کاپتان در یک لیتر آب مقطر می‌باشد. به جای کلرامفنیکل به تناوب از ۰/۰۳ گرم سولفات استریپتومايسين^{۱۳} یا ۰/۰۵ گرم پنی‌سیلین جی^{۱۴} نیز استفاده شد. همه اجزای محیط به استثنای سولفات استریپتومايسين، پنی‌سیلین جی، پی‌سی‌ان‌بی، کاپتان و ۲۰ قطره اسید لاکتیک^{۱۵} در ۴۰۰ میلی لیتر آب مقطر به طور کامل حل شده و با آب مقطر به حجم یک لیتر رسانده شد و در دمای ۱۲۰ درجه سانتی‌گراد به مدت ۲۰ دقیقه سترون گردید. زمانی که دمای محیط کشت به حدود $45-50^{\circ}\text{C}$ کاهش یافت سولفات استریپتومايسين یا پنی‌سیلین جی، کاپتان، پی‌سی‌ان‌بی و ۲۰ قطره اسید لاکتیک با پیپت ۵ میلی لیتر نیز اضافه شدند و کاملاً با هم مخلوط گردیدند.

محیط کشت نیمه‌انتخابی مک‌فادن و سودون که به علت شکار کمتر تریکودرما نسبت به محیط قبلی، فقط چند بار استفاده گردید و حاوی ۱ گرم فسفات منوهیدرون پتاسیم^{۱۶} (KH_2PO_4)، ۰/۵ گرم سولفات منیزیم ($\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$)، ۵ گرم پپتون^{۱۷}، ۱۰ گرم گلوکز، ۰/۰۱۷ گرم رزبنگال، ۰/۰۳ گرم سولفات استریپتومايسين، ۲۰ گرم آگار، ۱ لیتر آب مقطر و ۱ میلی لیتر فرمالین^{۱۸} (۰/۲۰ میلی لیتر فرمالین به هر تشتک حاوی ۲۰ میلی لیتر محیط کشت) می‌باشد. همه اجزای محیط به جز سولفات استریپتومايسين و فرمالین در ۴۰۰ میلی لیتر آب مقطر به طور کامل حل شده و با آب مقطر، حجم آن به یک لیتر رسانده شد. با سرد شدن محیط و رسیدن دمای محیط کشت به $45-50^{\circ}\text{C}$ ، سولفات استریپتومايسين و فرمالین نیز اضافه شد.

محیط کشت رقیق آب-آگار (WA) که بیشتر در خالص‌سازی به روش نوک هیف استفاده شد و



دو تا شش تایی به طور فراهم دیده می شوند. کنیدیومها تقریباً کروی تا واژتخم مرغی یا بیضوی کوتاه به ابعاد $۵/۲-۷/۱ \times ۱/۳-۱/۹$ میکرومتر هستند. سطح کنیدیومها صاف و به رنگ سبز روشن تا بی رنگ است (شکل ۱).

Trichoderma brevicompactum Kraus, Kubicek & Gams

میزان رشد شعاعی پرگنه در دمای $۲۷ \pm ۱^\circ C$ با حذف تنش انتقال دیسک میسیلیومی و بر اساس میانگین سه تکرار روی محیط کشت PDA $1/4$ -strength، $۲۴/۱۶$ میلی متر در ۲۴ ساعت بود. پرگنه ها به صورت دسته های کنیدیوفوری فشرده در جوش های متراکم مشاهده شدند و رنگ آن ها از سبز زیتونی تا سبز متمایل به آبی بود. کنیدیوفورها بی رنگ، دارای دیواره صاف و انشعابات فراهم هرمی شکل بوده و در بعضی جدایه های این گونه، کنیدیوفور دارای زواید نازا و کوتاه مشخص مشاهده گردید. فیالیدها در دسته های دو تا پنج تایی اغلب آمپولی شکل ظاهر شدند. فیالیدهای انتهایی به صورت منفرد و بلند با اندازه $۵ \times ۱۲-۸$ میکرومتر اندازه گیری شد. آرایش انشعابات فیالیدهای کوتاه و عریض، ظاهر فشرده و متراکمی به ساختارهای کنیدیومزا داده بود. کنیدیومها نیم کروی و یا در برخی از استرینها بیضوی کوتاه و قطر آن ها $۳/۴-۲/۶$ میکرومتر بود. دیواره کنیدیومها صاف و رنگ آن سبز متمایل به خاکستری مشاهده گردید. کلامیدوسپورها تقریباً بی رنگ، به صورت میانی یا انتهایی، منفرد، به شکل کشیده تا بیضوی یا گلابی شکل و با اندازه $۶-۱۰ \times ۴-۶$ میکرومتر اندازه گیری شد.

Trichoderma virens (J. Miller, Giddens & Foster) von Arx.

میزان رشد شعاعی پرگنه در دمای $۲۷ \pm ۱^\circ C$ با حذف تنش انتقال دیسک و بر اساس میانگین سه تکرار روی محیط کشت PDA $1/4$ -strength،

نتایج

در مراحل جداسازی مشاهده شد، محیط کشت نیمه انتخابی اصلاح شده الاد و خت نسبت به محیط کشت مک فادن و سودن از نظر تعداد پرگنه های شکار شده تریکودرما مناسب تر می باشد. در این بررسی ۷۲ جدایه ی تریکودرما، به ترتیب فراوانی از گونه های *T. virens*، *T. harzianum*، *T. brevicompactum* و *T. koningii* و یک جدایه از بخش *longibrachiatum* مورد مطالعه و شناسایی قرار گرفتند.

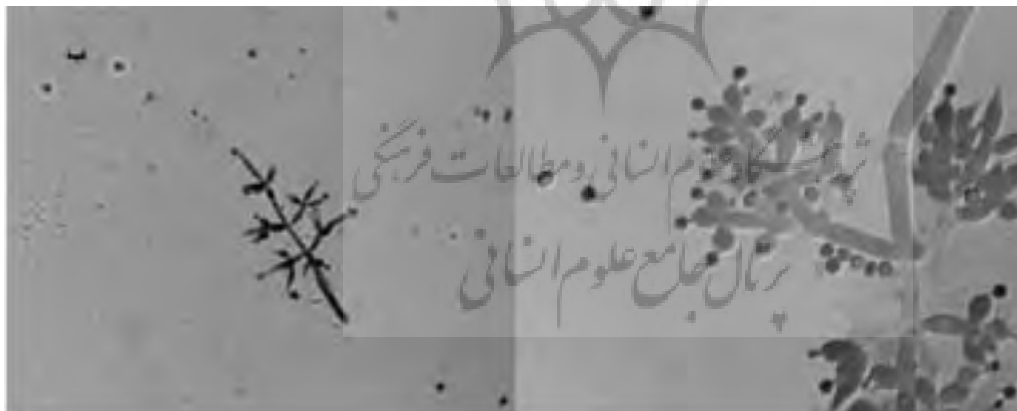
Trichoderma harzianum Rifai

میزان رشد شعاعی پرگنه بر اساس سه تکرار روی محیط کشت PDA $1/4$ -strength در دمای $۲۷ \pm ۱^\circ C$ با حذف تنش انتقال دیسک میسیلیومی، به میزان ۲۴ میلی متر در ۲۴ ساعت بود. ریشه های هوایی روشن و از سفید تا خاکستری روشن مشاهده شد. اسپورزائی غالباً به صورت پراکنده و در شرایط قرارگیری در نور ممتد و دمای مناسب تمام سطح پرگنه را پوشاند یا تولید جوش های فشرده کرد. اسپورزائی در شرایط تناوب نوری از ابتدای رشد، به صورت دواير متحدالمرکز و متراکم مشاهده گردید. ریشه ها بی رنگ، دارای دیواره صاف و اغلب $۷-۲$ میکرومتر قطر داشتند. کلامیدوسپورها به صورت انتهایی و میانی تولید شده و تقریباً کروی یا بیضوی یا گلابی شکل و اغلب به قطر $۱۲-۴$ میکرومتر بودند. کنیدیوفورها بی رنگ، دارای دیواره صاف، راست یا قابل انعطاف بوده و در بیشتر قسمت ها قطر آن ها $۴/۵-۲/۵$ میکرومتر مشاهده شد. کنیدیوفورها شدیداً منشعب و انشعابات معمولاً به صورت دو یا سه تایی فراهم بود. شاخه های اولیه به طرف پایه بلندتر شده و مجدداً منشعب شدند. تولید فیالیدها از قسمت پایه کنیدیوفور شروع شده و در مرحله بلوغ کنیدیوفور به صورت منظم منشعب و تانوک زایا بودند. فیالیدها آمپولی شکل تا تقریباً کروی یا تنگی شکل و اندازه آن ها $۸-۳/۵ \times ۲/۵-۷/۳$ میکرومتر است. طول فیالیدهای انتهایی حدود ۱۰ میکرومتر است. فیالیدها غالباً روی شاخه های انتهایی در دسته های

Trichoderma koningii Oud. in Oudemans and Koning

میزان رشد شعاعی در دمای $27 \pm 1^\circ C$ با حذف تنش انتقال دیسک میسیلیومی و بر اساس میانگین سه تکرار روی محیط کشت PDA-1/4-strength، ۱۹/۷ میلی‌متر در ۲۴ ساعت بود. کنیدیوم‌زایی از مرکز پرگنه به صورت توده‌های سبز متراکم آغاز شد و به سمت بیرون به صورت دواپر پهن و تا حدودی متحدالمرکز تشکیل گردید. کنیدیوفورها دارای یک محور اصلی مشخص با انشعابات متقارن^{۲۰} یا نامتقارن بوده و انشعابات اولیه با محور اصلی زاویه نزدیک به ۹۰ درجه سانتی‌گراد تشکیل دادند. فیالیدها به طور مستقیم از محور اصلی، انشعابات اولیه و انشعابات ثانویه در دسته‌های سه تا چهارتایی مشاهده شدند و در نوک انشعابات اغلب دسته‌های متراکم تشکیل دادند. کنیدیوم‌ها کشیده، صاف، رنگ سبز و اندازه آن‌ها ۲/۶-۱/۹ × ۴/۸-۳/۳ میکرومتر اندازه‌گیری شد. کلامیدوسپورها به تعداد کم و به شکل نیم‌کروی با قطر ۱۱/۵-۷/۵ میکرومتر به صورت انتهایی روی ریشه‌ها تشکیل گردید (شکل ۱).

۲۰/۸ میلی‌متر در ۲۴ ساعت بود. اسپورزایی به صورت پراکنده و چمنی در تمام سطح محیط کشت ایجاد شدند. رنگ پرگنه بلافاصله بعد از اسپورزایی سبز شده و به تدریج به رنگ سبز متمایل به آبی تیره در آمدند. سطح زیرین پرگنه معمولاً بی‌رنگ ولی در بعضی جدایه‌ها رنگ زرد تقریباً نامحسوسی توسعه دادند. ریشه‌های هوایی به صورت کرکی و سفید تا سفید متمایل به خاکستری بود. ریشه‌های خوابیده، بی‌رنگ با دیواره صاف و به عرض ۶-۱/۵ میکرومتر ولی ریشه‌های فرورفته در محیط کشت به عرض ۱۰ میکرومتر نیز مشاهده شد. جدایه‌های این گونه تعداد زیادی کلامیدوسپور بی‌رنگ تا سبز روشن به خصوص روی ریشه‌های خوابیده به صورت انتهایی یا میانی، منفرد و به شکل کروی تا بیضوی با اندازه ۹-۱۲×۵-۶ میکرومتر تولید کردند. کنیدیوفورها تقریباً بی‌رنگ و دارای دیواره صاف بوده، ۲۹-۳۰ میکرومتر طول و ۵-۲/۵ میکرومتر عرض داشتند. به طرف نوک کنیدیوفور، انشعابات به طور نامنظم منشعب شده و هر کدام به یک دسته سه تا شش‌تایی از فیالیدها منتهی می‌شدند.



شکل ۱- الف- کنیدیوفور، فیالید و کنیدیوم در *T. munaizrah* ب- کنیدیوفور، فیالید و کنیدیوم در *T. iigninok*

یک جدایه از گونه‌های بخش

Longibrachiatum

رشد پرگنه سریع و سطح زیرین آن معمولاً زرد مایل به سبز مشاهده گردید. محور اصلی کنیدیوفور بلند و دارای انشعابات کم تراکم و نامنظم بود. فیالیدهای آمپولی شکل بیشتر به صورت منفرد و

فیالیدها تنگی شکل تا آمپولی شکل و به ابعاد ۶/۵-۷/۷ × ۲-۱۲×۴/۴ میکرومتر اندازه‌گیری شدند. اغلب فیالیدها به صورت فراهم در دسته‌های دو تا پنج‌تایی روی انشعابات انتهایی به وجود آمدند. کنیدیوم‌ها بیضوی تا واژتخم‌مرغی و ۴/۴-۶/۲ × ۳-۴/۴ میکرومتر اندازه شد.



میسر خواهد شد. در نیل به این هدف جدایه‌های قارچ تریکودرما به عنوان مهم‌ترین عامل کنترل بیولوژیک بیماری‌های گیاهی و جایگزین قارچ‌کش‌های شیمیایی می‌تواند در سطح وسیع در اکثر محصولات کشاورزی و عرصه‌های فضای سبز بویژه در مقیاس گلخانه‌ای با استفاده از روش‌های پوشش بذر، اندام تکثیری و خاک کاربرد استفاده شود. تحقیقات روی مکانیسم‌های موثر در کنترل بیولوژیک گونه‌های تریکودرما (مخصوصاً با در اختیار گرفتن جدایه‌هایی که در تحقیقات اولیه در مناطق مختلف ایران تاثیرات بیوکنترلی آن به اثبات رسیده است)، درک و شناسایی ژن‌های کدکننده آنزیم، آنتی‌بیوتیک، قدرت کلونیزاسیون بالا و سایر خصوصیات آنتاگونیستی لازم بوده تا با بهره‌گیری از پیشرفت‌های بیوتکنولوژی در انتقال ژن، انتخاب موتانت‌های تاییدشده با قابلیت بالای بیوکنترلی میسر شود. بدین ترتیب فرمولاسیون‌های موثرتر جهت کنترل عوامل بیماری‌زای قارچی در قبل و بعد از کشت تولید خواهد شد.

منابع

- ۱- ظفیری، د (۱۳۸۲) مطالعه تاکسونومی جنس *Trichoderma* در ایران. پایان‌نامه دکتری، دانشکده کشاورزی، دانشگاه تربیت مدرس، تهران.
- ۲- کریمی، ص (۴۸۳۱) کمک به شناسایی گونه‌های *Trichoderma* و *Endomycorrhizae* به عنوان قارچ‌های مفید فرا ریشه گردو در استان همدان. پایان‌نامه کارشناسی ارشد، دانشکده کشاورزی، دانشگاه بوعلی سینا همدان.
- ۳- نظمی، ف (۱۳۸۵) کمک به شناسایی گونه‌های *Trichoderma* در ساحل جنوبی دریای خزر. پایان‌نامه کارشناسی ارشد، دانشکده کشاورزی، دانشگاه بوعلی سینا همدان.
- 4-Elad Y, Chet I. 1983. Improved selective medium for isolation of *Trichoderma* spp. from soil. *Phytoparasitica* 11:55-58.
- 5-Elad, Y. (1996) Mechanisms involved in

نامنظم و ندرتاً به صورت دسته‌های دو تا سه شاخه‌ای فراهم ظاهر گردید. کنیدیوم‌ها سبز رنگ و شکل آن‌ها بیضوی کشیده و دارای دیواره صاف بودند. فیالید میانی نیز مشاهده گردید.

بحث

شرح ریخت‌شناسی و فیزیولوژیکی گونه‌های ارائه‌شده با شرح ریخت‌شناسی این گونه‌ها در تحقیقات اکثر محققین (از جمله ظفیری و همکاران، ۱۳۸۲؛ کریمی و همکاران، ۱۳۸۴؛ نظمی و همکاران، ۱۳۸۵) انطباق دارد و تفاوت‌های ناچیز مربوط به تنوع ریخت‌شناسی بین جدایه‌های هر گونه است. گونه‌های *T. harzianum*، *T. virens*، و *T. koningii* تقریباً در تمام تحقیقات راجع به تریکودرما در حوزه‌های مختلف جغرافیایی در ایران گزارش شده است (ظفیری و همکاران، ۱۳۸۲؛ کریمی و همکاران، ۱۳۸۴؛ نظمی و همکاران، ۱۳۸۵) و این غالب بودن این گونه‌ها را در جمعیت تریکودرمای خاک و فراریشه نشان می‌دهد و شاید دلیل استفاده آن در اکثر مطالعات مبارزه‌ی بیولوژیک نیز باشد. جدایه‌هایی از گونه *T. brevicompactum* نیز در همدان از فرا ریشه درختان گردو توسط کریمی و همکاران (۱۳۸۴) گزارش شده است. بر اساس فراوانی این جدایه در این مطالعه، مطالعات ظفیری و همکاران (۱۳۸۲) و کریمی و همکاران (۱۳۸۴) به نظر می‌رسد که فراوانی این گونه در مناطق غربی ایران بیشتر است اگرچه جدایه‌های این تحقیق مربوط به نمونه‌های خاک استان مرکزی بوده است. تعدادی از گونه‌های بخش *Longibrachiatum* نیز از مناطق مختلف ایران گزارش شده و در تحقیقات ظفیری و همکاران (۱۳۸۲)، کریمی و همکاران (۱۳۸۴) و نظمی و همکاران (۱۳۸۵) به آن اشاره شده است.

در چشم‌انداز آینده جدایه‌های بومی تریکودرما در آزمون‌های ضدقارچی بر اساس خواص بیشتر آنتاگونیستی غربال شده و انتخاب جدایه‌های موثرتر با قابلیت بالای بیوکنترلی جهت تولید مواد بیولوژیک و استفاده بر علیه عوامل بیماری‌زا

concentrations and increased growth of cucumber plants. *Plant Soil* 235:235–242.

14-Zimand, G., Elad, Y. & Chet, I. (1996) Effect of *Trichoderma harzianum* on *Botrytis cinerea* pathogenicity. *Phytopathology*. 86:1255–1260

the biological control of *Botrytis cinerea* incited diseases. *European Journal of Plant Pathology*. 102:719–732

Harman, G.E.(2000) Myths and dogmas 6-of biocontrol. Changes in perceptions derived from research on *Trichoderma harzianum* T22. *Plant Disease*. 84:377–393

Harman GE, Howell CR, Viterbo A, Chet 7-I, Lorito M (2004) *Trichoderma* species-opportunistic, avirulent plant symbionts. *Nature Reviews* 2:43-56

8-Howell, C.R. (2002) Cotton seedling preemergence damping-off incited by *Rhizopus oryzae* and *Pythium* spp. and its biological control with *Trichoderma* spp. *Phytopathology*. 92:177–180

9-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.

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

11-Sivasithamparam, K. & Ghisalberti, E.L. (1998) In *Trichoderma* and *Gliocladium* Vol. 1 (eds Kubicek, C. P. & Harman, G. E.) 139–191 (Taylor and Francis, London).

12-Tjamos, E.C., Papavizas, G.C. & Cook, R.J. (eds) (1992) *Biological control of plant diseases. Progress and challenges for the future*. Plenum Press, New York.

13-Yedidia, I., Srivastva, A. K., Kapulnik, Y. & Chet, I. (2001) Effect of *Trichoderma harzianum* on microelement

پی نوشت:

- 1 Hyphomycetes
- 2 rhizoplan
- 3 pectinase
- 4 transgenic
- 5 Tjamos
- 6 Amonium Nitrate
- 7 Magnesium Sulphate
- 8 Potasium phosphate
- 9 Calcium Chloride
- 10 Rose bengal
- 11 Pentachloro-nitro-benzene
- 12 Chloramphenicol
- 13 Streptomycine Sulphate
- 14 Penecillin G
- 15 Lactic Acid
- 16 Potasium phosphate
- 17 pepton
- 18 formalin
- 19 Submerged mycelia
- 20symmetrical



To Help Identification of Trichoderma Fungus Species in Plants Rhizosphere of Urban Greenspace in Markazi Province

***M. Mehrabi Koushki**

M.Sc. of Plant Pathology, Agriculture
 Jihad Organization of Markazi Province
D. Zafari

Assistant Prof. Dept., of Plant Protection,
 Bu Ali Sina University of Hamadan
and F. Nazmi Roudsari³
 M.Sc. of Plant Pathology

Abstract

Trichoderma species are useful, avirulent plant symbionts that act as biocontrol agents against phytopathogenic fungi through mechanisms of competition, rhizosphere competence, mycoparasitism, antibiotic and enzyme production, induced resistance and plant growth promoting. In this study, 25 samples of bulk soil and ornamental plants rhizosphere were collected from greenspace in different

area of Markazi province and were then cultured on semiselective media. 72 Trichoderma isolates were purified using hyphal tip method and identified based on morphological and physiological characteristics. These isolates were plenty respectively identified T. harzianum, T. virens, T. brevicompactum, T. koningii and one isolates of Longibrachiatum Section. In future, Trichoderma native isolates would be screened based on antagonistic activities in antifungal trials and it will be possible the selection of more effective isolates with high biocontrol capacity for supplying bioproducts to combat the phytopathogens.

Keywords: Trichoderma, Rhizosphere, Biocontrol, Phytopathogen, Conidiophore, Conidium, Phialide and Chlamydo-spore.

