

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

کامران رهنما^۱، علیرضا محمدزاده^۱ و سیداسماعیل رضوی^۱

^۱گروه گیاهپزشکی، دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی گرگان، دانش‌آموخته کارشناسی ارشد رشته علوم گیاهی

تاریخ دریافت: ۸۱/۱۲/۱۷؛ تاریخ پذیرش: ۸۳/۶/۱۸

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=۴/۵ داشت که در سطح احتمال ۵ درصد اختلاف معنی‌دار وجود دارد. همچنین در دماهای ۲۰، ۲۵ و ۳۰ درجه سانتی‌گراد در pH=۴/۵ رشد بیشتری نسبت به دو pH دیگر (۵/۵ و ۵/۶) 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 ۴۸ ساعت ماکروکنیدی فراوانی روی محیط کشت PDA تولید نمود. در حالی‌که در این مدت گونه *F. Graminearum* ماکروکنیدی بر روی 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 مایکوپارازیتسم و کلنی‌زاسیون روی ریشه‌های فوزاریوم در شرایط مختلف آزمایشی همراه با پیچش با میکروسکوپ قابل مشاهده بود. قارچ تریکودرما پس از ۴۸ 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 میسلیوم‌های قارچ در محل اتصال سنبله به

محور سنبله متراکم شده و با قطع ارتباط سنبله از سنبله، بسته به مراحل تکامل دانه، موجب عقیم شدن، چروکیدگی و کاهش وزن دانه می‌گردد (اعتباریان و ترابی، ۱۳۷۵؛ گلزار، ۱۳۶۸). قارچ فوزاریوم سنبله گندم علاوه بر کاهش محصول در برخی از سال‌ها، باعث کاهش در کیفیت دانه نیز می‌گردد (گلزار، ۱۳۶۸؛ پیت و هوکینگ، ۱۹۹۵؛ ریچینگل و ریجینگل، ۱۹۹۷). مهمترین گونه‌های عامل بیماری جداشده از گرگان و استان فارس



افزایش بی رویه مصرف آفتکش‌ها در کشاورزی و مشکلات تیمار شیمیایی در هنگام برداشت محصول جهت جلوگیری از آلودگی و حفظ محیط زیست انسان و عدم وجود بودن یک رقم مناسب و مقاوم به بیماری سبب گردیده تا محققین اهمیت کنترل بیولوژیکی را بیشتر مدنظر قرار 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 تجارتي 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 ریچیکل، ۱۹۹۷؛ کویسک 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 (محمدمزاده، 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؛ کویسک و هارمن، ۱۹۹۸). هدف از این مطالعه بررسی تاثیر عوامل محیطی pH و دما بر روی رشد فوزاریوز سنبله گندم یعنی *F. graminearum* و رفتارهای آنتاگونیستی تریکودرما بر علیه این دو گونه عامل بیماریزا می‌باشد.

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، ۱۳۷۶).

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^۱ می‌باشند (پاری و همکاران، ۱۹۹۵). سم نیوالنول^۲ توسط بعضی از گونه‌های فوزاریوم از جمله *F. culmorum* و *F. graminearum* تولید می‌شود (پیت و هوکینگ، ۱۹۹۵؛ رابرتس و همکاران، ۱۹۹۶). سم زیرالنون^۳ و داکسی نیوالنول^۴ از دیگر سمومی هستند که توسط این دو گونه تولید می‌شوند. تا کنون از دو گونه *F. graminearum* و *F. culmorum* بترتیب ۴۰ و تقریباً ۵۰ ترکیب سمی در دنیا شناخته شده است (موس، ۲۰۰۲)، که با ایجاد مسمومیت در جانوران و انسان خسارت زیادی را باعث می‌شود.

دو قارچ *F. graminearum* و *F. culmorum* در ایران ابتدا توسط گزلاخ و ارشاد از جو و گندم گزارش گردید (ارشاد، ۱۳۷۵). بعضی از محققین قارچ *F. culmorum* را به‌عنوان یکی از عوامل فوزاریوز سنبله گندم بر روی ارقام حساس فلات و گلستان در شرق مازندران نام برده‌اند (گلزار، ۱۳۶۸). همچنین این بیماری از 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 در تولید گندم جهانی دارند از جمله چین، آمریکا، استرالیا، کانادا، هلند و انگلیس نیز گزارش شده است (اسنابدر، ۱۹۹۰؛ پاری و همکاران، ۱۹۹۵؛ کویسک و هارمن، ۱۹۹۸).

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



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 آق‌فلا 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؛ کویسک و هارمن، ۱۹۹۸). سپس توسط دکتر ارشاد استاد بخش قارچ‌شناسی موسسه تحقیقات آفات و بیماری‌های گیاهی اوین تأیید گردید.

ب) اثر دما و pH بر روی رشد سه گونه قارچ: کلیه آزمایش‌ها در شرایط آزمایشگاه و بر روی محیط کشت سیب‌زمینی دکستروز آگار (PDA) به میزان ۳۹ گرم درلیتر انجام شد. در این آزمایش‌ها *T. Koningii* (KR7) و *F. graminearum* به‌عنوان عامل میکوپارازیت و از *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 به قطر ۵ میلی‌متر (به‌عنوان کشت نوک ریشه) تهیه گردید و در مرکز هر تشتک پتری به قطر ۹ سانتی‌متر بر روی 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 ۵ میلی‌متر 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 درجه سانتی‌گراد) قرار داده شدند و میزان رشد هر یک از گونه‌ها بطور روزانه اندازه‌گیری شد.

نحوه پارازیت‌شدن 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 نحوه 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 داده شد و دیسک‌هایی از دو گونه قارچ (یک گونه تریکودرما و گونه مقابل آن یکی از دو گونه 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، ۲۵ و ۳۰ درجه سانتی‌گراد نگهداری شد. پس از آنکه ریشه‌های هر یک از دو قارچ بر روی لام به هم رسیدند، لام را از روی محیط کشت برداشته و پس از رنگ‌آمیزی (همانند روش اول)، در زیر میکروسکوپ برهم‌کنش‌ها 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 آماری توسط نرم‌افزار SAS انجام شد. میانگین‌ها با آزمون LSD مورد مقایسه قرار گرفتند.



نتیجه و بحث

با اندازه‌گیری میزان رشد سه گونه قارچ (بطور روزانه) مشخص شد که *T. Koningii* در دمای ۲۵ درجه سانتی‌گراد (در pHهای ۴/۵ و ۵/۵) و در دمای ۳۰ درجه سانتی‌گراد (در pH=۴/۵) بعد از ۴۸ ساعت تمام سطح پتری (به قطر ۹ سانتی‌متر) را اشغال نمود. برای تعیین دما و pH بهینه اندازه‌گیری میزان رشد پس از ۲۴ ساعت مورد بررسی قرار گرفت (شکل ۱). زیرا همانگونه که ذکر شد پس از ۴۸ ساعت در بعضی از شرایط این قارچ تمام سطح پتری را اشغال نمود. با توجه به اینکه میزان رشد در دمای ۲۵ درجه سانتی‌گراد و pH=۴/۵ 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=۴/۵ رشد بیشتری نسبت به دو pH دیگر دارد بنابراین می‌توان نتیجه گرفت که تریکودرما در محیط اسیدی رشد بهتری دارد که نتایج این آزمایش با کارهای سایر محققین هماهنگ است (هدرو همکاران، ۱۹۸۴؛ لیجون و همکاران، ۱۹۹۵). کاهش pH همچنین سبب افزایش اسپورزایی توسط تریکودرما شد. نمونه‌گیری‌های انجام شده از محیط کشت ۴۸ 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، ۱۹۹۶).

با اندازه‌گیری میزان رشد *F. Graminearum* پس از ۴۸ ساعت در دما و pHهای متفاوت دمای بهینه برای

رشد این گونه ۲۵ درجه سانتی‌گراد و pH بهینه ۵/۵-۵/۶ تعیین گردید (شکل ۲). 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 ۴۸ ساعت هیچ ماکروکنیدی در محیط کشت تشکیل نشد (محمدزاده، ۱۳۷۹). لازم به ذکر است یکی از خصوصیات ماکروکنیدی تبدیل آن به کلامیدوسپور 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 عامل بیماری بصورت اینوکولوم اولیه در مزرعه نیز کاهش پیدا خواهد نمود که نکته مهمی برای مطالعات بیشتر در این زمینه است (گلزار، ۱۳۶۸؛ هدر و همکاران، ۱۹۸۴). 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 ۴۸ ساعت) نشان داد که دمای بهینه برای این گونه مانند *F. Graminearum*، ۲۵ درجه سانتی‌گراد است (شکل ۳). این گونه نیز برخلاف تریکودرما با افزایش pH رشد بیشتری نشان داد 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 ۶/۵ بدست آمد. نمونه‌های میکروسکوپی از محیط کشت مشخص ساخت که این گونه پس از ۴۸ 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 ۲ و ۱). رشد بیشتر



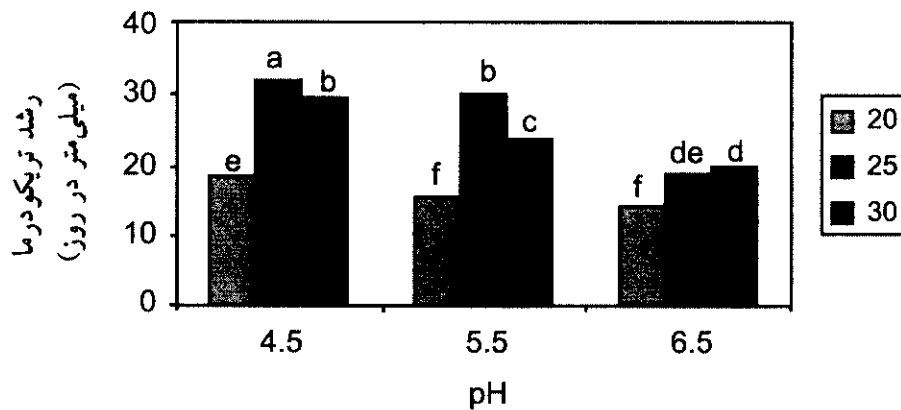
جدول ۱- آزمون t جفت شده برای مقایسه تفاوت بین میانگین رشد دو قارچ (*T.koningii* و *F.culmorum*) در کشت مشترک پس از ۴۸ ساعت.

Prob> T	T	خطای معیار	میانگین رشد (میلی متر)	pH	دما (°C)
۰/۰۰۰۱	۲۹/۶۹	۰/۷	۲۱	۴/۵	۲۰
۰/۰۰۰۲	۲۲/۵۱	۰/۸۶	۱۹/۵	۵/۵	۲۰
۰/۰۰۳۲	۸/۷۱	۰/۹۴	۸/۲۵	۶/۵	۲۰
۰/۰۰۰۱	۳۷/۰۷	۰/۹۵	۳۵/۵	۴/۵	۲۵
۰/۰۰۰۱	۱۱۱	۰/۲۵	۲۷/۷۵	۵/۵	۲۵
۰/۰۰۰۱	۲۶/۰۵	۰/۸۵	۲۲/۲۵	۶/۵	۲۵
۰/۰۰۰۱	۳۷/۸۷	۱/۱۸	۴۴/۷۵	۴/۵	۳۰
۰/۰۰۰۱	۶۰	۰/۶۲	۳۷/۷۵	۵/۵	۳۰
۰/۰۰۰۱	۳۲/۵۲	۰/۷	۲۳	۶/۵	۳۰

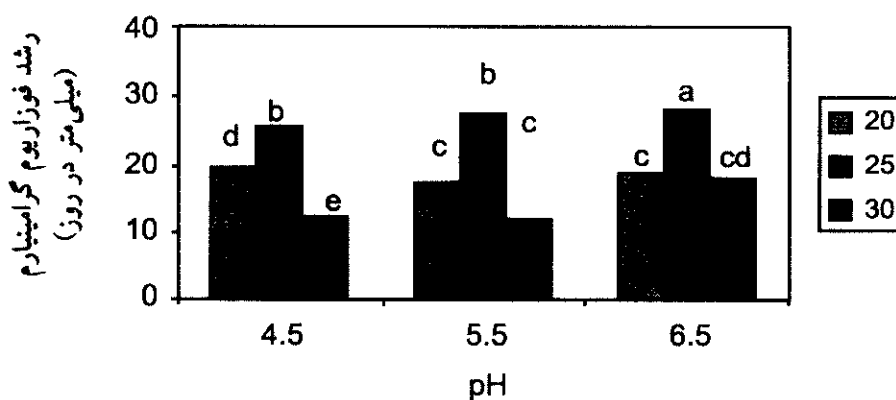
جدول ۲- آزمون t جفت شده برای مقایسه تفاوت بین میانگین رشد دو قارچ (*T.koningii* و *F. Graminearum*) در کشت مشترک پس از ۴۸ ساعت.

Prob> T	T	خطای معیار	میانگین رشد (میلی متر)	pH	دما (°C)
۰/۰۰۰۷	۱۴/۶۵	۱/۱	۱۶/۲۵	۴/۵	۲۰
۰/۰۰۰۱	۲۶/۶۳	۰/۴۷	۱۲/۷۵	۵/۵	۲۰
۰/۰۰۱۲	۱۲/۰۱	۰/۴۷	۵/۷۵	۶/۵	۲۰
۰/۰۰۰۱	۴۷/۲۸	۰/۶۲	۲۹/۷۵	۴/۵	۲۵
۰/۰۰۰۱	۱۰۱	۰/۲۵	۲۵/۲۵	۵/۵	۲۵
۰/۰۰۰۲	۲۱/۳۶	۰/۸۶	۱۸/۵	۶/۵	۲۵
۰/۰۰۰۱	۵۰/۳۳	۰/۷۵	۳۷/۷۵	۴/۵	۳۰
۰/۰۰۰۱	۶۵	۰/۵	۳۲/۵	۵/۵	۳۰
۰/۰۰۰۱	۴۶/۵۴	۰/۴	۱۹	۶/۵	۳۰

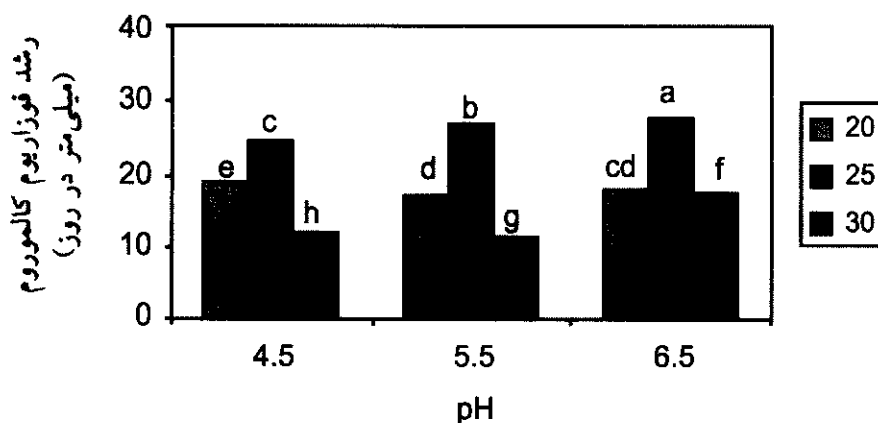




شکل ۱- میزان رشد شعاعی ریشه *T.koningii* در محیط کشت PDA بعد از ۲۴ ساعت نگهداری در انکو باتور. مقادیر با حروف مشابه بر طبق آزمون LSD در سطح احتمال ۵ درصد معنی دار نیستند.



شکل ۲- میزان رشد شعاعی ریشه *F.graminearum* در محیط کشت PDA بعد از ۴۸ ساعت نگهداری در انکو باتور. مقادیر با حروف مشابه بر طبق آزمون LSD در سطح احتمال ۵ درصد معنی دار نیستند.



شکل ۳- میزان رشد شعاعی ریشه *F.culmorum* در محیط کشت PDA بعد از ۴۸ ساعت نگهداری در انکو باتور. مقادیر با حروف مشابه بر طبق آزمون LSD در سطح احتمال ۵ درصد معنی دار نیستند.



تریکودرما در محیط کشت نشان دهنده رقابت تغذیه‌ای شدید *T. Koningii* با دو گونه فوزاریوم 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 بررسی در 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 شکل پایداری این قارچ در طبیعت معمولاً به صورت کلأمیدوسپور می‌باشد. نظر به اینکه اکثر عوامل بیماریزای گیاهی نکروتروفیک یک مرحله ساپروفیت موقت بر روی 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 بر سطح گیاه تأمین می‌نمایند. حال در چنین شرایطی اگر قارچ‌های ساپروفیت نظیر تریکودرما بتوانند بطور فعال مواد غذایی موجود در سطح گیاه را بدون آسیب رسانی مصرف نمایند قادرند آلودگی عوامل بیماریزای نکروتروفیک را محدود کنند (بلاکیمن، ۱۹۹۳؛ دوفی و همکاران، ۱۹۹۶).

تریکودرما در محیط کشت نشان دهنده رقابت تغذیه‌ای شدید *T. Koningii* با دو گونه فوزاریوم 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 بررسی در 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 شکل پایداری این قارچ در طبیعت معمولاً به صورت کلأمیدوسپور می‌باشد. نظر به اینکه اکثر عوامل بیماریزای گیاهی نکروتروفیک یک مرحله ساپروفیت موقت بر روی 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 بر سطح گیاه تأمین می‌نمایند. حال در چنین شرایطی اگر قارچ‌های ساپروفیت نظیر تریکودرما بتوانند بطور فعال مواد غذایی موجود در سطح گیاه را بدون آسیب 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 فراهم شدن مواد غذایی برای عامل بیماریزا (به سبب مصرف آن توسط یک قارچ ساپروفیت) می‌تواند در کاهش بیماری مؤثر باشد. بنابراین چنانچه تریکودرما بر روی کاه و کلش باقیمانده از غلات پرورش داده شود و بوسیله اسپور، آن محلول‌پاشی گردد، در کاهش پایداری عوامل

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 نیز می‌تواند فوزاریوم‌ها را پارازیته نماید. اگرچه تشکیل پدیده پارازیتسم قبل از نزدیک شدن ریشه‌ها 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 ریشه قارچ بیماریزا مؤثر باشند. بر طبق بررسی‌های به عمل آمده، مشخص شده است که *T.*



و گلیودلیکوسیسنز. 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 بر روی غشاهای سلولی تاثیرگذار بوده که بررسی‌های بیشتر در این خصوص در آینده لازم به پیگیری است.

Koningii دارای متابولیت‌های ثانویه متفاوتی است که می‌تواند در شرایط مختلف آنرا تولید نماید (دانلوب و همکاران، ۱۹۸۹؛ پارکر و همکاران، ۱۹۹۵). این متابولیت‌ها که نقش آنتی بیوتیک و بازدارندگی را به عهده دارند عبارتند از: تریکوسپورین، تریکوکونین

منابع

۱. ارشاد، ج. ۱۳۷۵. فارچ‌های ایران. سازمان تحقیقات کشاورزی، تهران، ایران. ۸۸۴ صفحه.
۲. اعتباریان، ح. ر. و م. ترابی. ۱۳۷۵. بررسی مقاومت ارقام مختلف گندم نسبت به فوزاریوم سنبله گندم. مجله بیماری‌های گیاهی، جلد ۳۲ شماره ۱ و ۲، ص ۹-۱۵.
۳. روانلو، ع. و ض. بنی هاشمی. ۱۳۷۸. تاکسونومی و بیماری‌زایی فوزاریوم‌ها همراه ریشه در فارس. مجله بیماری‌های گیاهی. جلد ۳۵ ص ۳۷-۴۵.
۴. رهنما، ک. ۱۳۷۵. بیوتکنولوژی و اهمیت آن در کنترل بیولوژیک آفات و بیماری‌های گیاهی در کشاورزی مدرن. مجله علوم کشاورزی و منابع طبیعی، جلد ۳ شماره ۳، ص ۲۸-۲۰.
۵. زارع، ر. و ج. ارشاد. ۱۳۷۶. گونه‌های فوزاریوم جدا شده از غلات در منطقه گرگان. مجله بیماری‌های گیاهی، جلد ۳۳، ص ۷-۱.
۶. گلزار، ح. ۱۳۶۸. بیماری بلایت سنبله گندم، بررسی در مورد عامل بیماری، نحوه آلودگی و انتقال بوسیله بذر. مجله بیماری‌های گیاهی، جلد ۲۵، ص ۲۲-۱۷.
۷. محمدزاده، ع. ر. ۱۳۷۹. اکوفیزیولوژی فارچ میکروپارازیت تریکودرما و تأثیر آنتاگونیستی آن بر فوزاریوز خوشه گندم. پایان‌نامه کارشناسی ارشد، دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی گرگان. ۱۲۳ ص.
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. Nemecek, and K. Pernezny. 1995. Biological control of *Fusarium*. Crown and root-rot of tomato in Florida using *Trichoderma harzianum* and *Glomus intraradices*. Biological Control. 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 G.V. 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.



21. Papavizas, G.C. 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. Tompkin. 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 *Fusarium 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.



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. Rahnema¹, A.R. Mohammadzadeh² and S. I. Razavi¹

¹Dept. of Plant Protection, Gorgan Univ. of Agricultural Sciences and Natural Resources, ²Former 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 chlamyospore after 48h, in dual and single culture.

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

