جهت تهیه فایل WORD این مقاله به سایت DaneshResan.com مراجعه نمایید و عنوان مقاله را جستجو کنید
بیش از ۲ میلیون مقاله فارسی در این سایت موجود میباشد

مجله علمی-پژوهشی
علوم کشاورزی
سال دوازدهم، شماره (۱) ۱۳۸۵

بررسی امکان کنترل بیولوژیکی عامل بیماری پوسیدگی طوقه و ریشه آفتابگردان (*Sclerotinia sclerotiorum*) توسط گونه‌های تریکودرما در شرایط آزمایشگاهی

جعفر عبداله‌زاده
مربی - عضو هیئت علمی دانشگاه آزاد اسلامی واحد مهاباد (مؤلف مسئول)
ابراهیم محمدی گل‌تپه
دانشیار - عضو هیئت علمی گروه بیماری‌شناسی گیاهی - دانشکده کشاورزی - دانشگاه تربیت مدرس تهران
حمید روحانی
دانشیار - عضو هیئت علمی گروه گیاهپزشکی - دانشکده کشاورزی - دانشگاه بوعلی - همدان

چکیده

به منظور کنترل بیولوژیک قارچ *Sclerotinia sclerotiorum*، عامل بیماری پوسیدگی طوقه و ریشه آفتابگردان در شهرستان ارومیه نه جدایه قارچ تریکودرما شامل دو جدایه J1 و J2 قارچ *Trichoderma harzianum* جدا شده از خاک مزارع آفتابگردان ارومیه، سه جدایه J3، J4 و J5 قارچ *T. harzianum* جدا شده از خاک مزارع آفتابگردان خوی و جدایه‌های *T. virens*، *T. harzianum* (J6)، *T. viride* (E1) و *T. viride* (E2) جدا شده از بستر قارچ خوراکی انتخاب شدند. جدایه‌های مذکور از نظر قدرت پارازیتیسم، قدرت رقابت ساپروفیتی، قدرت کلنیزاسیون، تأثیر متابولیتهای فرار و غیر فرار روی *S. sclerotiorum* مورد بررسی قرار گرفتند. مطالعات میکروسکوپی نشان داد که تمامی جدایه‌ها با مکانیسم آنتی‌بیوزز (Antibiosis) باعث لیز و متلاشی شدن هیفهای *S. sclerotiorum* می‌شوند. جدایه‌های J1 و J6 قارچ *T. harzianum* و E1 و E2 قارچ *T. viride* همچنین از طریق پارازیتیسم هیفی و پیچش به دور هیفهای *S. sclerotiorum* باعث انقباض، تغییر شکل، تغییر رنگ و تخریب هیفهای *S. sclerotiorum* شدند. بعلاوه *T. harzianum*(J1) با ایجاد انشعاب هیفی به طور مستقیم هیفهای *S. sclerotiorum* را سوراخ کرده و باعث متلاشی شدن هیفها شد. از نظر قدرت رقابتی ساپروفیتی جدایه‌های *T. virens* و *T. harzianum*(J6) بهتر از سایر جدایه‌ها عمل کرده و به ترتیب پس از ۵ و ۶ روز تماس سطح پرگنه *S. sclerotiorum* را پوشانده و از تشکیل اسکلروت جلوگیری کردند. جدایه‌های J1 و J6 قارچ *T. harzianum* از نظر قدرت کلنیزاسیون قدرت بیشتری نسبت به سایر جدایه‌ها داشته و به ترتیب پس از ۶ و ۸ روز پرگنه *S. sclerotiorum* را پوشانده و از تشکیل اسکلروتها جلوگیری کردند. تاثیر ترکیبات فرار *T. harzianum*(J1) با

تاریخ دریافت مقاله ۸۳/۱/۱۵ تاریخ دریافت نسخه نهایی ۸۴/۱/۲۹

جهت تهیه فایل WORD این مقاله به سایت DaneshResan.com مراجعه نمایید و عنوان مقاله را جستجو کنید
بیش از ۲ میلیون مقاله فارسی در این سایت موجود میباشد

۷۷/۷۷٪ جلوگیری از رشد میسلیومی بیشتر از سایر جدایه‌ها بود. تاثیر ترشحات مایع خارج سلولی *T. harzianum*(J6) در جلوگیری از رشد میسلیومی با ۷۸/۸۸٪ بازداری از رشد و ایجاد بیشترین تاخیر در جوانه‌زنی میسلیوژنیک اسکلروتهای *S. sclerotiorum* از سایر جدایه‌ها بیشتر بود.

واژه‌های کلیدی: *Trichoderma*، *Sclerotinia sclerotiorum*، آفتابگردان، کنترل بیولوژیک، پوسیدگی طوقه و ریشه

مقدمه

قارچ *Sclerotinia sclerotiorum* (Lib) de Bary عامل بیماری پوسیدگی طوقه و ریشه آفتابگردان یکی از پلی‌فاژترین قارچهای بیماریزای گیاهی است که قدرت بیماریزایی شدید داشته و به بیش از ۴۰۰ گونه گیاهی از ۷۵ خانواده مختلف حمله می‌کند (Boland and Hall, 1994). توانایی بسیار زیاد اسکلروتهای (فرم بقاء) آن برای مقاومت در برابر شرایط نامساعد باعث پیچیدگی و مشکل شدن بیشتر کنترل این بیماری شده است. بیماری پوسیدگی اسکلروتینیایی آفتابگردان در ایران با عامل *S. sclerotiorum* اولین بار توسط آل آقا در سال ۱۳۵۰ از استان‌های آذربایجان، تهران، کردستان و مازندران گزارش شده است (آل آقا، ۱۳۵۰). کنترل این بیماری بوسیله روش‌های زراعی و شیمیایی مشکل به نظر می‌رسد و استفاده از ارقام مقاوم نیز کافی نبوده است (Lumsden, 1979).

تعدادی از مایکوپارازیت‌ها (Mycoparasites) پتانسیل کافی جهت کنترل *S. sclerotiorum* و دیگر گونه‌های جنس *Sclerotinia* نشان داده‌اند. این مایکوپارازیت‌ها که اسکلروتهای *S. sclerotiorum* موجود در خاک را مورد حمله قرار می‌دهند شامل *Coniothyrium minitans* Campbell (Haung, 1980; Trutmann *et al.,* 1980, 1982), *Sporidesmium sclerotivorum* Uecker, Adams & Ayers (Adams & Ayers, 1982), *Talaromyces flavus* (Klocker) A. C. Stolk & R. A. Samson (McLaren *et al.,* 1994) و *Trichoderma koningii* (Oud.) Rifai (Dos Santos & Dhingra, 1982) هستند. جنس *Trichoderma* Rifai,1969 شامل گونه‌های مایکوپارازیتی است که به عنوان عوامل کنترل بیولوژیکی مورد بررسی قرار گرفته‌اند (Wells *et al.,* 1972; Grusclaude *et al.,* 1973; Gindrate *et al.,* 1977; Haung, 1980 and Dos Santos and Dhingra, 1982) . بعضی گونه‌های این جنس همچنین به عنوان یکی از اجزای فعال خاک‌های بازدارنده (Suppressive soils) گزارش شده‌اند (Henis *et al.,* 1979; Chet and Baker, 1981; Liu and Baker, 1980). چندین گونه جنس *Trichoderma* با پتانسیل عالی در کنترل قارچهای بیماریزای خاکزاد شناسایی شده‌اند (Chet, 1987). گونه‌های *T. hamatum*، *T. harzianum*، *T. koningii*، *T. Pseudokoningii* و *T. viride* از اسکلروتهای *S. sclerotiorum* جدا شده‌اند (Hoes and Haung, 1975; Dos Santos & Dhingra, 1982). قارچ *T. harzianum* یکی از مؤثرترین عوامل آنتاگونیست در کنترل قارچهای بیماریزای گیاهی تشکیل دهنده اسکلروت بوده است (Hadar *et al.,* 1979; Dos Santos & Dhingra, 1982; Elad *et al.,* 1983). مایکوپارازیتیسم (Mycoparasitism) به عنوان یکی از مکانیسمهای کنترل *S. sclerotiorum* توسط *T. harzianum* گزارش شده است (Inbar *et al.,* 1996). به علاوه پارازیتیسم *T. koningii* روی *S. sclerotiorum* به اثبات رسیده است (Trutmann and Keane, 1990).

تقابل یا واکنش‌های مایکوپارازیتی بین *T. harzianum* و قارچهای بیماریزای خاکزاد با استفاده از میکروسکوپ نوری و الکترونی تشریح شده است (Elad *et al.,* 1982). قارچهای *C. minitans*، *T. virens*، *T. harzianum* و *Gliocladium roseum* در شرایط آزمایشگاهی (*in vitro*) باعث آلودگی و متلاشی شدن اسکلروتهای قارچ *S. sclerotiorum* شدند (Phillips, 1990a). طی یک بررسی آزمایشگاهی توسط نگارنده مشخص شد که قارچهای *T. virens*، *T. harzianum* و *T. viride* از طریق

جهت تهیه فایل WORD این مقاله به سایت DaneshResan.com مراجعه نمایید و عنوان مقاله را جستجو کنید
بیش از ۲ میلیون مقاله فارسی در این سایت موجود میباشد

مکانیسمهای آنتی بیوزیس (Antibiosis)، اثر ترکیبات فرار روی رشد میسلیومی و اثر ترکیبات غیر فرار روی رشد میسلیومی و جوانه‌زنی میسلیوژنیک اسکلروتهای قارچ *S. minor* را کنترل می‌کنند و هیچ اثری از پارازیتیسم در واکنش‌های بین آنتاگونیستهای مذکور و قارچ *S. minor* مشاهده نشد (عبداله‌زاده و همکاران ۱۳۸۲). نظر به اینکه کنترل بیولوژیک از نقطه نظر مسائل زیست محیطی روشی سالم و طبیعی می‌باشد، موضوع تحقیق مذکور جهت شناسایی جدایه‌های مؤثر قارچ تریکودرما از بین ۹ جدایه مورد آزمایش انتخاب شد. امید است نتایج این تحقیق بتواند در کنترل بیولوژیکی قارچ *S. sclerotiorum*، عامل بیماری پوسیدگی طوقه و ریشه آفتابگردان، در قالب یک مدیریت تلفیقی موفق و مفید واقع شود.

مواد و روشها

قارچهای پاتوژن و آنتاگونیست

تعدادی جدایه قارچ *S. sclerotiorum*، عامل پوسیدگی طوقه و ریشه آفتابگردان در شهرستان ارومیه، را از بافت‌های آلوده آفتابگردان جدا کرده که یکی از آنها جهت مطالعات بعدی روی PDA (Potato Dextros Agar) در انکوباتور با حرارت ۱ ± ۲۵ درجه سانتیگراد نگهداری شد. به منظور تشخیص عامل پوسیدگی طوقه و ریشه آفتابگردان از کلید کوهن (Kohn, 1979) استفاده شد.

جهت تهیه جدایه‌های تریکودرما اقدام به نمونه برداری از خاک مزارع آفتابگردان آلوده در شهرستانهای ارومیه و خوی شد و تعدادی نمونه خاک به وزن تقریبی ۵۰۰ گرم تا عمق ۲۰ سانتیمتری از اطراف بوته‌های سالم و آلوده تهیه و به آزمایشگاه منتقل شدند. جدایه های تریکودرما روی محیط کشت انتخابی داوت (Davet,1971) جداسازی و با استفاده از محیط کشت آب - آگار (WA) و روش تک اسپور تعداد زیادی از جدایه های تریکودرما خالص سازی شدند. دو جدایه *T. harzianum*(J1) و *T. harzianum*(J2) از خاک مزارع ارومیه و سه جدایه *T. harzianum*(J3), *T. harzianum*(J4) و *T. harzianum*(J5) از خاک مزارع خوی جهت مطالعات بعدی انتخاب شدند. علاوه بر جدایه‌های مذکور چهار جدایه *T. harzianum*(J6) , *T. virens* , *T. viride*(E1) و *T. viride*(E2) که از بستر قارچ خوراکی جدا شده بودند تهیه شد و در بررسیهای آزمایشگاهی مورد ارزیابی قرار گرفتند. به منظور تشخیص جدایه‌های تریکودرما از کلید (Rifai,1969) و (Bisset, 1991a) استفاده شد.

بررسی میکروسکوپی مکانیسم تأثیر جدایه‌های مختلف تریکودرما روی هیفهای *S. sclerotiorum*

ابتدا در داخل هر پتری ۹ سانتیمتری استریل یک لام استریل در وسط پتری قرار داده می شود. سپس ۱۵ میلی لیتر محیط کشت PDA به آن اضافه شده به طوری که لایه ای نازک از PDA روی لام را بپوشاند. بعد از بستن محیط کشت در یک طرف پتری یک دیسک ۵ میلیمتری از حاشیه فعال پرگنه *S. sclerotiorum* و در طرف دیگر پتری یک دیسک ۵ میلیمتری از حاشیه فعال پرگنه جدایه تریکودرما کشت داده شد(Dual Culture). برای هر جدایه تریکودرما ۴ پتری (تکرار) در نظر گرفته شد. پتریها را به انکوباتور با درجه حرارت ۱± ۲۵ درجه سانتیگراد منتقل کرده و بعد از ۴۸ الی ۷۲ ساعت که هیفهای قارچها رشد کرد و روی لام بهم رسیدند اقدام به بررسی نحوه تأثیر جدایه‌های تریکودرما زیر میکروسکوپ شد.

بررسی قدرت رقابتی ساپروفیتی جدایه‌های مختلف تریکودرما روی *S. sclerotiorum*

جهت مقایسه قدرت رقابتی ساپروفیتی (جلوگیری از رشد میسلیومی قارچ بیماریزا، کلنیزاسیون و اسپورزایی روی میسلیوم آنها و ممانعت از تشکیل اسکلروت قارچ بیماریزا) جدایه‌های مختلف تریکودرما از روش کشت متقابل (Dual Culture) استفاده شد. بدین ترتیب که در یک طرف پتری ۹ سانتیمتری حاوی PDA یک دیسک ۵ میلیمتری از پاتوژن و در طرف دیگر یک دیسک ۵ میلیمتری از آنتاگونیست را کشت داده و پتریها در انکوباتور با حرارت ۱ ± ۲۵ درجه سانتیگراد نگهداری شدند. برای هر جدایه

تریکودرما ۴ پتری(تکرار) درنظر گرفته شد. بعد با بررسیهای روزانه قدرت رقابتی ساپروفیتی جدایه‌های تریکودرما مورد ارزیابی قرار گرفت.

بررسی قدرت کلنیزاسیون جدایه‌های مختلف تریکودرما روی پرگنه قارچ *S . sclerotiorum*

در این آزمایش قدرت کلنیزاسیون جدایه‌های تریکودرما روی کشت ۳ روزه قارچ بیماریزا و همچنین قدرت جلوگیری از تشکیل اسکلروت آنها مورد بررسی قرار گرفت. بدین منظور یک دیسک ۵ میلیمتری از هر جدایه تریکودرما به وسط کشت ۳ روزه قارچ *S. sclerotiorum* منتقل شد و پتریها به انکوباتور با حرارت ۱ ± ۲۵ درجه سانتیگراد منتقل شدند. برای هر جدایه ۴ پتری (تکرار) در نظر گرفته شد و با انجام بازدیدهای روزانه قدرت کلنیزاسیون و جلوگیری از تشکیل اسکلروت قارچ بیماریزا توسط جدایه‌های تریکودرما بررسی شد.

بررسی اثر متابولیتهای فرار (گازی) جدایه‌های مختلف تریکودرما بر روی رشد میسلیومی قارچ *S. sclerotiorum*

این آزمایش در سه حالت به شرح زیر انجام شد:

۱ـ کشت همزمان *S. sclerotiorum* با تریکودرما

۲ـ کشت تریکودرما ۲۴ ساعت قبل از *S. sclerotiorum*

۳ـ کشت تریکودرما ۴۸ ساعت قبل از *S. sclerotiorum*

روش انجام آزمایش در هر ۳ حالت یکسان بود. بدین ترتیب که کشتهای تازه *S. sclerotiorum* در معرض کشت تازه (حالت اول)، کشت ۲۴ ساعته (حالت دوم) و کشت ۴۸ ساعته (حالت سوم) تریکودرما به روش پتریهای روی هم (Superposal Petri dishes) قرار گرفتند. دور پتریهای رویهم قرار گرفته را (پتری حاوی پاتوژن در بالا و پتری حاوی آنتاگونیست در پایین) با پارافیلم بخوبی مسدود نموده تا ارتباط داخل دو پتری با محیط خارج به طور کامل قطع شود و از خروج متابولیتهای فرار جلوگیری شود. برای هر جدایه تریکودرما ۴ پتری (تکرار) در نظر گرفته شد. پتریها را در انکوباتور با حرارت ۱ ± ۲۵ درجه سانتیگراد نگهداری کرده و با فواصل زمانی ۲۴، ۴۸ و ۷۲ ساعت اقدام به اندازه‌گیری قطر رشد میسلیوم قارچ *S. sclerotiorum* در تیمارهای مختلف و مقایسه آن با شاهد شد. درصد بازداری از رشد جدایه‌های تریکودرما با استفاده از رابطه زیر محاسبه شد:

$$X = \frac{A - B}{A} \times ۱۰۰$$

X: درصد بازداری A : قطر رشد میسلیوم در پتری شاهد

B: قطر رشد میسلیوم در هر یک از تیمارها

این آزمایش در قالب یک طرح کاملاً تصادفی با ۱۰ تیمار در ۴ تکرار انجام شد و داده‌های بدست آمده از آزمایش با استفاده از نرم افزار MSTATC مورد تجزیه و تحلیل آماری قرار گرفت. گروه بندی تیمارها با استفاده از آزمون چند دامنه دانکن در سطح احتمال $\alpha = 5\%$ و $\alpha = 1\%$ انجام شد.

بررسی اثر ترشحات مایع خارج سلولی (Culture filtrate) در جلوگیری از رشد میسلیومی قارچ *S. sclerotiorum*

در هر ارلن ۲۵۰ میلی لیتری حاوی مقدار ۱۰۰ میلی لیتر محیط کشت پایه داوت استریل (بدون آگار و دارای استرپتومایسین سولفات، آلیل الکل و وینکلوزولین) ۴ دیسک ۵ میلیمتری از حاشیه فعال پرگنه هر جدایه ریخته شد. سپس به مدت ۱۰ روز ارلنها را روی دستگاه بهم زن (Shaker) با ۷۰ تکان در هر دقیقه قرار داده و پس از این مدت که جدایه‌های تریکودرما در محیط کشت

مایع درون ارلنها به صورت پالتهایی رشد کردند با استفاده از پمپ خلأ و صافی میکروبیولوژیک با قطر روزنه ۰/۲۲ میکرون محتویات هر ارلن فیلتر و عصاره جدایه‌های مختلف تریکودرما تهیه شد.

به منظور بررسی اثر عصاره‌ها در جلوگیری از رشد میسلیومی *S. sclerotiorum* محیط کشتهای PDA حاوی ۱۰٪ ، ۲۰٪ و ۳۰٪ از عصاره هر یک از جدایه‌های تریکودرما تهیه شد. برای هر جدایه تریکودرما در هر غلظت ۴ پتری (تکرار) در نظر گرفته شد. در پتریهای شاهد بجای عصاره تریکودرما ۲ ، ۴ و ۶ میلی لیتر (۱۰٪ ، ۲۰٪ و ۳۰٪) از محیط کشت مایع اتوکلاو شده با ۱۸ ، ۱۶ و ۱۴ میلی لیتر محیط کشت PDA مخلوط شد. سپس اقدام به کشت دیسکهای ۵ میلیمتری از قارچ *S. sclerotiorum* روی محیطهای آماده شد و بعد پتریها را به انکوباتور با حرارت ۱ ± ۲۵ درجه سانتیگراد منتقل کرده و با گذشت ۲۴ و ۴۸ و ۷۲ ساعت اقدام به اندازه‌گیری قطر رشد میسلیوم قارچ بیماریزا شد. درصد بازداری از رشد با استفاده از رابطه زیر محاسبه شد:

$$X = \frac{A - B}{A} \times ۱۰۰$$

X: درصد بازداری

A: قطر رشد میسلیوم در پتری شاهد

B: قطر رشد میسلیوم در هر یک از تیمارها

این بررسی در قالب یک آزمایش فاکتوریل دو فاکتوره (جدایه و غلظت ترشحات مایع خارج سلولی) با طرح بلوک کامل تصادفی اجرا شد. داده های بدست آمده از آزمایش (قطر رشد میسلیوم *S. sclerotiorum*) با استفاده از نرم افزار MSTATC مورد تجزیه و تحلیل آماری قرار گرفتند. گروه‌بندی هر دو عامل جدایه و غلظت با استفاده از آزمون چند دامنه دانکن در سطح احتمال $\alpha = 5\%$ و $\alpha = 1\%$ انجام شد.

بررسی اثر ترشحات مایع خارج سلولی جدایه‌های مختلف تریکودرما در جلوگیری از جوانه‌زنی میسلیوژنیک اسکلروتهای قارچ *S. sclerotiorum*

در این آزمایش ابتدا مطابق آزمایش قبل عصاره‌های جدایه‌های مختلف تریکودرما تهیه شدند. سپس در کنار شعله در شرایط استریل تعداد ۱۶ عدد اسکلروت قارچ *S . sclerotiorum* را در داخل هر ارلن قرار داده و ارلنها را به مدت یکساعت روی دستگاه بهمزن (Shaker) با ۸۰ تکان در دقیقه قرار داده و بعد به مدت ۲ هفته ارلنها در حرارت ۱ ± ۲۵ درجه سانتیگراد نگهداری شدند. در ارلن شاهد بجای عصاره تریکودرما از محیط کشت مایع مورد استفاده در عصاره‌گیری استفاده شد. سپس اسکلروتهای موجود در داخل هر ارلن را با پنس استریل خارج کرده و روی یک کاغذ صافی استریل جهت جذب عصاره اضافی قرار داده و در نهایت اسکلروتها را روی محیط PDA (در هر پتری ۴ اسکلروت) منتقل کرده و پتریها در انکوباتور با حرارت ۱ ± ۲۵ درجه سانتیگراد نگهداری شدند. یادداشت برداری از تعداد اسکلروتهای جوانه زده در هر پتری هر ۲۴ ساعت یکبار بعد از کشت تا جوانه زدن کلیه اسکلروتهای شاهد ادامه یافت و قدرت هر جدایه در جلوگیری از جوانه زدن اسکلروتها مورد ارزیابی و مقایسه قرارگرفت.

نتایج

بررسی میکروسکوپی مکانیسم تأثیر جدایه‌های مختلف تریکودرما روی هیفهای *S. sclerotiorum*

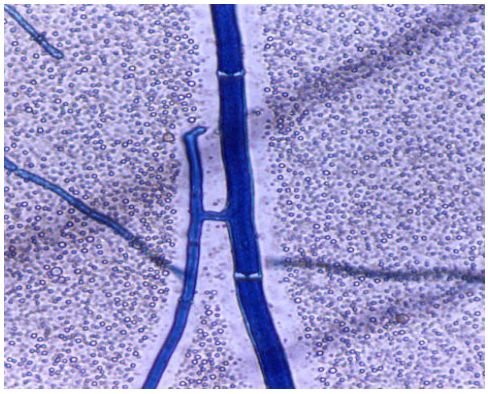
بررسی‌های میکروسکوپی نشان داد که جدایه‌های مختلف تریکودرما از طریق مکانیزمهای مختلف باعث لیز و متلاشی شدن هیفهای قارچ *S . sclerotiorum* می‌شوند.بطوریکه همه جدایه‌های مورد آزمایش از طریق مکانیسم آنتی‌بیوزیس باعث لیز شدن نوک هیف‌های *S sclerotiorum* و تخلیه محتویات داخل هیفی شدند(شکل، ۱). جدایه *T. harzianum*(J1) همچنین با ایجاد انشعابات هیفی بطور مستقیم هیف‌های *S . sclerotiorum* را سوراخ کرده و باعث متلاشی شدن آنها شد (شکل، ۲). همچنین

هیف‌های جدایه‌های *T. harzianum*(J1)، *T. harzianum*(J6)، *T. viride*(E1) و *T. viride* (E2) در مراحل اولیه برخورد با هیف‌های *S . sclerotiorum* در قسمتی از طول آنها با تماس هیفی به موازات هیف‌ها رشد کرده و بتدریج هیف‌های تریکودرما شروع به پیچش به دور هیف‌های *S . sclerotiorum* نموده و با گذشت زمان تراکم و شدت پیچش به حدی افزایش یافته که رشد آنها را کاملا" متوقف کرده و از طریق مکانیسم مایکوپارازیتیسم باعث انقباض، تغییر شکل و رنگ و لیز و متلاشی شدن هیف‌های *S sclerotiorum* . شدند(شکل، a, b, c, d, e -۳).

بررسی قدرت رقابتی ساپروفیتی جدایه‌های مختلف تریکودرما روی *S . sclerotiorum*

در این آزمایش مشاهده شد که تمام جدایه‌های تریکودرما مورد بررسی بعد از رشد و برخورد با میسلیومهای قارچ *S. sclerotiorum* مانع توسعه آنها شده و سپس شروع به پیشروی، کلنیزاسیون و اسپورزایی روی هیف‌های *S. sclerotiorum* نمودند. قدرت رقابتی ساپروفیتی یا به عبارتی سرعت رشد، کلنیزاسیون و اسپورزایی جدایه‌های تریکودرما روی میسلیومهای *S. sclerotiorum* عامل بسیار مهمی در جلوگیری از تشکیل اسکلروتها روی پرگنه قارچ می‌باشد. از بین ۹ جدایه مورد بررسی سرعت پیشروی، کلنیزاسیون و اسپورزایی جدایه‌های *T. harzianum*(J6) و *T.virens* زیاد و بیش از سایر جدایه‌ها بوده بطوریکه *T. virens* ۵ روز پس از کشت و *T. harzianum* (J6) ۶ روز پس از کشت به طور کامل سطح پرگنه *S. sclerotiorum* را پوشانده و از تشکیل اسکلروت بکلی جلوگیری کردند (شکل، ۴). جدایه‌های J4, J3, J2 و J5 قارچ *T. harzianum* نسبت به سایر جدایه‌ها بسیار ضعیف عمل کرده به طوری که پس از گذشت ۱۰ روز سطح پرگنه *S. sclerotiorum* را نپوشانده و از تشکیل و کامل شدن اسکلروتها نیز جلوگیری نکردند. بقیه جدایه‌ها نیز از نظر عملکرد در حد واسط این دو گروه قرار گرفتند.

شکل ۱: تاثیر ترشحات قارچ تریکودرما روی هیف‌های *S. sclerotiorum* از طریق مکانیسم آنتی‌بیوز و لیز شدن نوک هیف‌ها و خروج محتویات داخل هیفی (۴۰ × ۱۰).



شکل ۲: نمایش سوراخ کردن و نفوذ هیف تریکودرما (چپ) به داخل هیف *S. sclerotiorum* (راست) و خروج محتویات داخل هیفی (۲۰ × ۱۰).

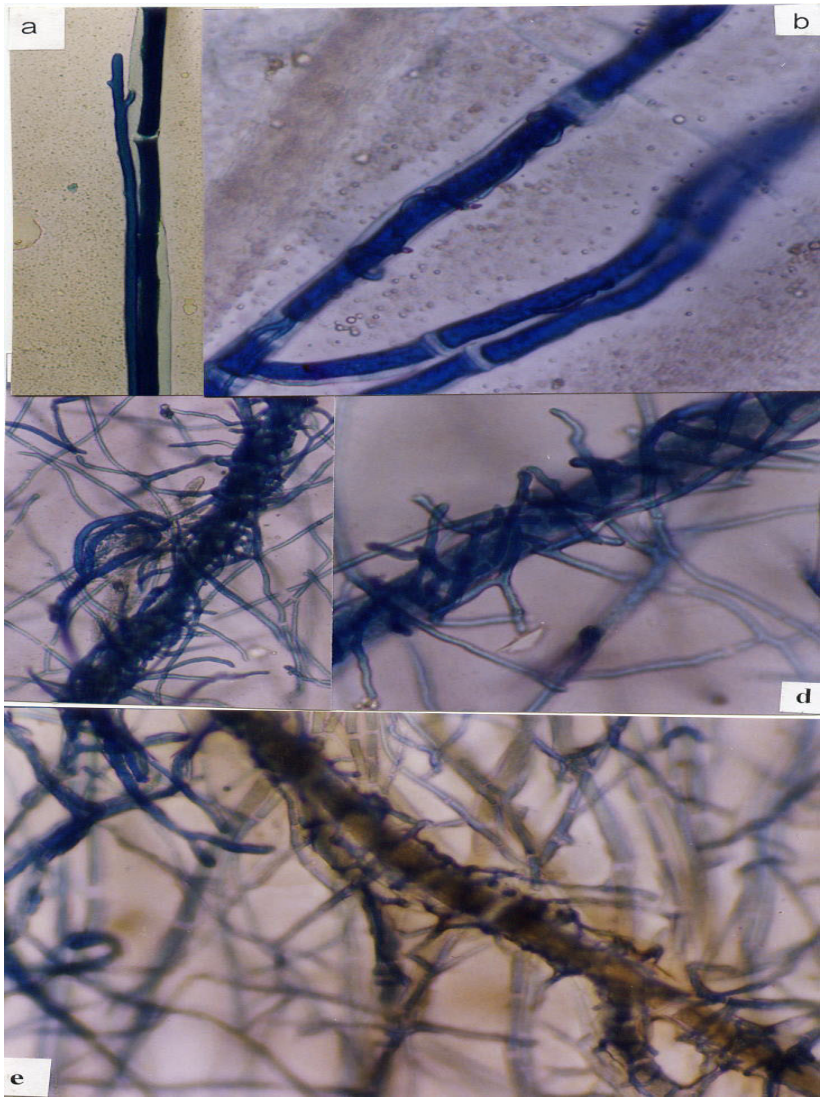
بررسی قدرت کلنیزاسیون جدایه‌های مختلف تریکودرما روی پرگنه قارچ *S. sclerotiorum*

در این آزمایش مشخص شد که تمامی جدایه‌ها توانایی رشد و اسپورزایی روی پرگنه *S. sclerotiorum* را دارند. از بین ۹ جدایه مورد بررسی جدایه *T. harzianum* (J1) و *T. harzianum* (J6) نسبت به سایر جدایه‌ها از قدرت بیشتری برخوردار بوده و به ترتیب بعد از ۶ و ۸ روز پرگنه *S. sclerotiorum* را پوشانده و اسپورزایی کردند. هر دو جدایه از تشکیل اسکلروت توسط *S. sclerotiorum* جلوگیری کردند(شکل، ۵). جدایه‌های J4, J3, J2 و J5 قارچ *T. harzianum* نسبت به سایر جدایه‌ها بسیار

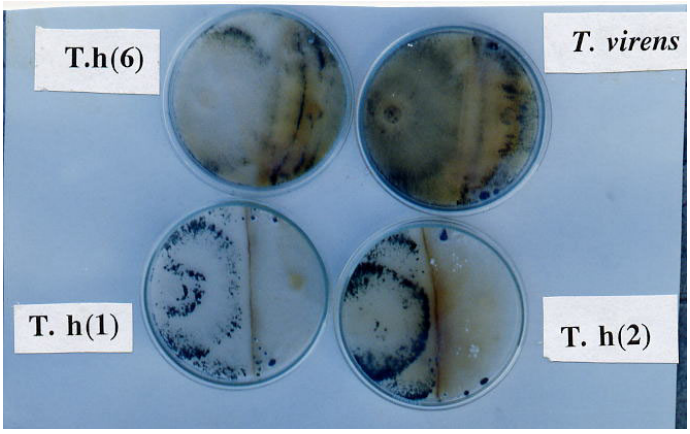
ضعیف عمل کرده بطوریکه حتی پس از ۱۰ روز نیز سطح پرگنه *S. sclerotiorum* را نپوشانده و تعداد زیادی اسکلروت در حاشیه پتری تشکیل شدند. بقیه جدایه‌ها نیز از نظر عملکرد در حد واسط این دو گروه قرار گرفتند.

بررسی تأثیر متابولیتهای فرار (گازی) جدایه‌های مختلف تریکودرما در جلوگیری از رشد میسلیومی *S. sclerotiorum*

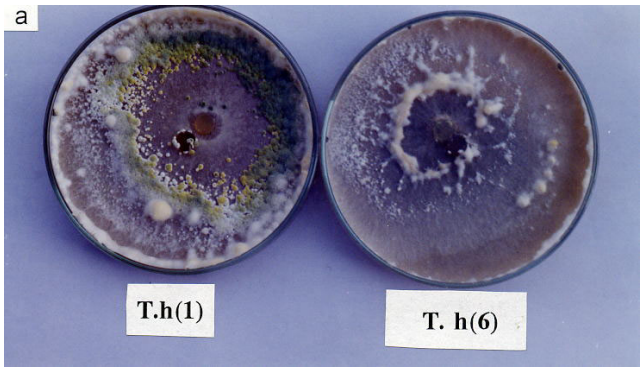
در این آزمایش مشخص شد که تمامی جدایه‌ها در حالتی که تریکودرما ۴۸ ساعت زودتر از بیمارگر کشت شد(حالت سوم) بهتر عمل کرده و بین جدایه‌های مختلف تریکودرما در سطح احتمال $\alpha = 1\%$ اختلاف معنی‌دار وجود دارد(جدول،۱). بهترین جدایه از این نظر جدایه *T. harzianum*(J1) بود که به میزان ۷۷/۷۷٪ از رشد میسلیومی *S. sclerotiorum* جلوگیری کرد.



شکل ۳: نمایش شروع تماس هیفی قارچ تریکودرما (راست) با هیف‌های قارچ *S. sclerotiorum* (۲۰ × ۱۰) (a)، شروع پیچش هیف تریکودرما دور هیف‌های *S. sclerotiorum* (۴۰ × ۱۰) (b)، پیچش شدید هیف‌های تریکودرما در طول هیف‌های *S. sclerotiorum* (۴۰ × ۱۰)(c و d)، قهوه‌ای و لیز شدن هیف‌های *S. sclerotiorum* بوسیله هیف‌های تریکودرما (۴۰ × ۱۰) (e)



شکل ۴ : نمایش قدرت رقابتی ساپروفیتی جدایه‌های *T. virens*، *T. harzianum*(J6)، *T. harzianum*(J1) و *T. harzianum*(J2) در برابر *S. sclerotiorum* شش روز پس از کشت روی PDA



شکل ۵: نمایش قدرت کلنیزاسیون جدایه‌های *T. harzianum* (J1) و *T. harzianum* (J6) ۸ روز پس از انتقال دیسکهای تریکودرما روی پرگنه ۳ روزه *S. sclerotiorum*

جدول ۱: تأثیر متابولیت‌های فرار (گازی) تریکودرما در جلوگیری از رشد پرگنه قارچ *S. sclerotiorum* (در این آزمون قارچ بیماریزا در معرض کشت ۴۸ ساعته تریکودرما قرار گرفته است).

تیمار	در صد بازداری[x]
Control	0 [y] a
T. harzianum (J3)	48.33 b
T. harzianum (J4)	50 b
T. harzianum (J2)	50.5 b
T. harzianum (J5)	52.22 b
T.viride (E2)	70 c
T. virens	71.38 c
T. harzianum (J6)	72.5 c
T.viride (E1)	76.11 d
T. harzianum (J1)	77.77 d

X: داده‌های مربوطه میانگین چهار تکرار هستند.

Y: تیمارهایی که دارای حرف مشترک نیستند در سطح احتمال یک درصد(P< %1) دارای اختلاف معنی‌دار هستند.

بررسی تأثیر ترشحات مایع خارج سلولی جدایه‌های مختلف تریکودرما در جلوگیری از رشد پرگنه *S. sclerotiorum*

در این آزمایش مشخص شد که جدایه‌های مورد بررسی از نظر تأثیر ترشحات مایع خارج سلولی در جلوگیری از رشد پرگنه *S. sclerotiorum* در سطح احتمال یک در صد (α = %1) دارای اختلاف معنی‌دار هستند. همچنین بین غلظت‌های مورد آزمایش نیز در سطح احتمال یک در صد اختلاف معنی‌دار وجود داشته و با افزایش غلظت عصاره هر یک از جدایه‌ها تأثیر عصاره در جلوگیری از رشد پرگنه *S. sclerotiorum* بیشتر می‌شود. در این آزمایش مشاهده شد که اثر متقابل دو عامل جدایه و غلظت نیز در سطح احتمال یک در صد دارای اختلاف معنی‌دار می‌باشد (جدول،۲). از بین جدایه‌های مورد بررسی *T. harzianum*(J6) در غلظت ۳۰ درصد بیشترین تأثیر را در جلوگیری از رشد پرگنه *S. sclerotiorum* داشته و به میزان ۷۸/۸۸ درصد باعث جلوگیری از رشد پرگنه شد (جدول،۳).

جدول ۲ : جدول تجزیه واریانس بررسی اثر ترشحات خارج سلولی (Culture filtrate)
جدایه‌های قارچ تریکودرمادر جلوگیری از رشد میسلیومی قارچ *S. sclerotiorum*

S.O.V	df	SS	MS	F
Replication	2	6.602	3.301	6.1818**
A	2	81.649	40.824	76.4517**
B	9	287.451	31.939	59.8122**
AB	18	74.796	4.155	7.7817**
Error	58	30.971	0.534	
Total	89	481.469		

C.V. = 10.90

جدول ۳: تأثیر ترشحات مایع خارج سلولی (Culture filtrate) جدایه‌های مختلف تریکودرما در جلوگیری از رشد پرگنه قارچ *S. sclerotiorum*

تیمار	در صد بازداری x
Control	0 y a
T.viride(E2)	12:00 AM
T. virens	7.03 a
T. harzianum(J1)	22.22 a
T. harzianum(J3)	40.74 b
T. harzianum(J5)	47.03 b
T.viride(E1)	54.81 b
T. harzianum(J2)	57.41 bc
T. harzianum(J4)	58.52 bc
T. harzianum(J6)	78.88 c

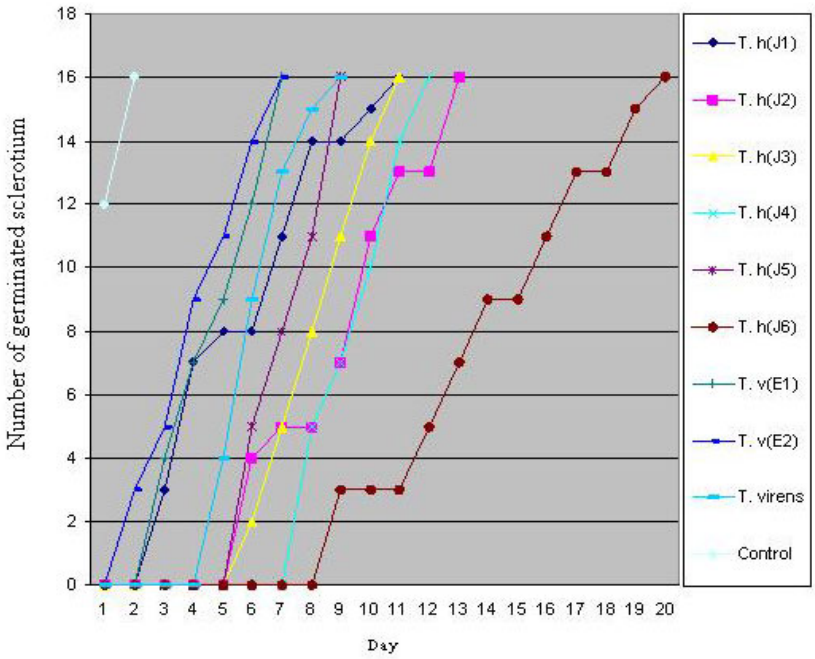
X: داده‌ها مربوط به غلظت ۳۰٪ عصاره جدایه‌های تریکودرما بوده و میانگین سه تکرار هستند.

Y: تیمارهایی که دارای حرف مشترک نیستند در سطح احتمال یک درصد(P< %1) دارای اختلاف معنی‌دار هستند

بررسی تأثیر ترشحات مایع خارج سلولی جدایه‌های مختلف تریکودرما در جلوگیری از جوانه‌زنی میسلیوژنیک اسکلروتهای *S. sclerotiorum*

در این آزمایش مشخص شد که ترشحات مایع خارج سلولی جدایه‌های تریکودرما اثر کشندگی (Fungicide) و لیز کنندگی (Lysis) ویا از بین بردن قدرت جوانه‌زنی میسلیوژنیک اسکلروت‌های *S. sclerotiorum* را نداشته بلکه ترشحات بدلیل خاصیت ضد قارچی (Fungistasis) جوانه‌زنی اسکلروتها را به تاخیر انداخته و تمام اسکلروتها در هر تیمار با وجود اختلاف زمانی از نظر

جوانه‌زنی نهایتاً جوانه زدند. از بین جدایه‌های مورد بررسی جدایه *T. harzianum*(J6) دارای تأثیر بیشتری نسبت به سایر جدایه‌ها بوده به طوری که جوانه‌زنی کلیه اسکلروت‌ها ۲۰ روز به طول انجامید (شکل، ۶).



شکل۶: اثر ترشحات مایع خارج سلولی (Culture filtrate) جدایه‌های مختلف تریکودرما در جلوگیری از جوانه‌زنی میسلیوژنیک اسکلروتهای *S. sclerotiorum*

بحث

قارچ‌ها اغلب به عنوان پارازیت‌های اسکلروت *S. sclerotiorum* شناسایی شده‌اند (۸). طبق تحیقات ویپس (۱۲) جدایه‌های مختلف *T. harzianum* باعث گرانوله و لیز شدن هیفهای *S. sclerotiorum* می‌شوند. ویپس تنها در یک جدایه گاهی پیچش تریکودرما به دور هیفهای *S. sclerotiorum* را روی PDA مشاهده کرد. طبق تحقیقات Tu (۱۴) پارازیتیسم هیفی یکی از مکانیسم‌های مهم آنتاگونیستی *T. virens* در بیوکنترل *S. sclerotiorum* می‌باشد در حالیکه هیچ اثری از پارازیتیسم هیفی در کنترل *S. minor* توسط *T. virens* مشاهده نکرد. پارازیتیسم اسکلروت‌های رشد کرده روی PDA مشاهده و مشخص شد که میزان بازیابی و جوانه‌زنی اسکلروت‌های پارازیته شده کاهش میابد(۵). نتایج تحقیقات ما نشان میدهد که تمامی جدایه‌های مورد بررسی از طریق مکانیسم آنتی‌بیوزز (Antibiosis) باعث لیز شدن و تخریب نوک هیفهای *S. sclerotiorum* می‌شوند و با نتایج اکثر محققین مطابقت دارد (۲, ۳۱ و ۳۲). به علاوه نتایج فعلی نشان می‌دهد که تنها بعضی جدایه‌ها، جدایه‌های J1 و J6 قارچ *T. harzianum* و E1 و E2 قارچ *T. viride*، با هیفهای *S. sclerotiorum* تماس برقرار کرده و به موازات آنها رشد کرده و به تدریج شروع به پیچش به دور هیفهای *S. sclerotiorum* نموده و با گذشت زمان تراکم و شدت پیچش به حدی افزایش یافته که رشد آنها را متوقف کرده و از طریق پارازیتیسم هیفی باعث انقباض، تغییر شکل و رنگ و نهایتاً متلاشی شدن هیفهای *S. sclerotiorum* شدند. مطالعات میکروسکوپی نشان داد که *T. harzianum*(J1) همچنین از طریق سوراخ کردن هیفها به طور مستقیم و رشد درون آنها *S. sclerotiorum* را پارازیته می‌کند.

بنابراین همچنان که داوه و دیگر محققین از جمله روحانی و همکاران (۳) اشاره کرده‌اند در تمامی آزمایشات بین گونه‌ها و حتی جدایه‌های مختلف یک گونه تریکودرما از نظر مکانیسم‌های کنترلی و شدت و ضعف این مکانیسم‌ها اختلاف مشاهده شد که لزوم ارزیابی توانایی گونه‌ها و حتی جدایه‌های مختلف یک گونه از یک آنتاگونیست را تاکید می‌کند. طبق تحقیقات Tu (۱۱) گونه‌ها و جدایه‌های مختلف یک گونه تریکودرما دارای قدرت رقابتی ساپروفیتی مناسبی در برابر جنس *Sclerotinia* بوده و از این طریق از رشد پرگنه آن جلوگیری کرده و هیف‌های آن را کلنه کرده و شروع به اسپورزایی روی هیفها کرده و مانع از تشکیل اسکلروتهای این قارچ می‌شوند.

نتایج این تحقیق نیز حاکی از توانایی قارچ تریکودرما در قدرت رقابتی ساپروفیتی در برابر *S. sclerotiorum* می‌باشد. نتایج بدست آمده در مورد قدرت کلنیزاسیون جدایه‌های مورد بررسی روی پرگنه ۳ روزه حاکی از این است که احتمالاً جدایه‌های تریکودرما حتی اگر قارچ *S. sclerotiorum* منطقه ریزوسفر و ریزوپلان گیاه میزبان را اشغال کند، می‌توانند این مناطق را اشغال کرده و قارچ *S. sclerotiorum* را تحت تأثیر قرار داده و از بین ببرند. البته باید به این نکته توجه کرد که به دلیل اینکه در شرایط طبیعی مجموعه پیچیده‌ای از عوامل مختلف روی روابط عامل بیماری، میزبان و آنتاگونیست اثر می‌گذارند، ارتباط دادن ویژگیها یا تواناییهای آزمایشگاهی جدایه‌ها با قدرت کنترل کنندگی آنها در شرایط طبیعی و پیچیده خاک بسیار سخت و مشکل است. نتایج حاصله از آزمایش تأثیر ترشحات مایع خارج سلولی جدایه‌های تریکودرما در جلوگیری از رشد پرگنه *S. sclerotiorum*، با نتایج محققین قبلی از جمله دنیس و وبستر (۷) و امیر صادقی (۲) مطابقت داشته و تأثیر مثبت بعضی جدایه‌ها در جلوگیری از رشد پرگنه و عدم تأثیر بعضی جدایه‌ها در جلوگیری از رشد پرگنه *S. sclerotiorum* مشاهده شد. تحقیقاتی که توسط پاپاویزاس (۱۰) و دنیس و وبستر (۷) انجام گرفته نشان داده که متابولیت‌های غیر فرار تریکودرما حاوی آنزیمهای سلولاز، کیتیناز، لامینارینناز، بتا ـ ۱ و ۳ گلوکاناز و آنتی‌بیوتیک‌هایی نظیر Dermadin، Trichodermin، Alamethicin، Paracelsin، Trichotoxin و Gliotoxin می‌باشند.

طبق نظر بیکر و کوک (۵) قسمت اعظم ترشحات مایع خارج سلولی در شرایط طبیعی خاک جذب کلوئیدهای خاک شده و از تأثیر و کارآیی آنها کاسته می‌شود. علت عدم مشاهده لیز شدن اسکلروتها توسط ترشحات مایع خارج سلولی به احتمال زیاد عدم حضور تماس و فعالیت مستقیم تریکودرما روی اسکلروتهای *S. sclerotiorum* و کمبود مقدار و نوع آنزیمهای لازم برای تخریب اسکلروتها می‌باشد. طبق تحقیقات دنیس و وبستر (۷) وجود دی اکسید کربن و آمونیاک در متابولیتهای فرار تریکودرما غیر محتمل بوده و ایشان استالدئید را به عنوان عمده‌ترین ترکیب کربنیل‌دار متابولیتهای فرار *T. viride* مشخص و همچنین مشتقات هیدرازون را از ترشحات فرار *T. viride* جدا نموده‌اند.

بنابراین نتایج این بررسی حاکی از آن است که گونه‌ها و حتی جدایه‌های مختلف یک گونه از نقطه نظر نوع مکانیسم مورد استفاده در بیوکنترل و همچنین شدت و ضعف مکانیسم اتخاذ شده متفاوت عمل می‌کنند. بنابراین بایستی روی گونه و جدایه‌های مختلف تریکودرما مطالعات جداگانه انجام گیرد تا قویترین جدایه‌ها در شرایط آزمایشگاهی انتخاب و توانایی آنتاگونیستی آنها در مرحله گلخانه و نهایتاً مزرعه آزمایش شود تا بتوان جایگزین مناسبی را برای قارچکشهای شیمیایی پیدا کرده و از این طریق با یک استراتژی و روش مطمئن‌تر با بیماری‌های گیاهی خصوصاً بیماری‌های خاکزاد مقابله کرد.

منابع و مآخذ:

۱. آل آقا، ن(۱۳۵۰). پوسیدگی طوقهٔ آفتابگردان. گزارش سالیانهٔ طرح بررسی بیماریهای مهم نباتات، دانشکدهٔ کشاورزی، دانشگاه تهران، صفحات ۸۹ – ۸۳.

۲. امیرصادقی، س (۱۳۷۱). بررسی اثر چند قارچکش و قارچ تریکودرما روی *S. sclerotiorum* عامل بیماری پوسیدگی اسکلروتینیایی بادمجان. پایان‌نامه کارشناسی ارشد، گروه بیماری‌شناسی گیاهی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه تهران، ۲۰۰ ص.

۳. روحانی، ح، کریمی، ع و نوعپرست، ف (۱۳۶۹). نقش جدایه‌های تریکودرمای ایران در مبارزهٔ بیولوژیکی علیه *Rhizoctonia solani* . مجلهٔ آفات و بیماری‌های گیاهی، جلد ۵۸، شماره‌های ۱ و ۲، صفحات ۲۸ - ۱۷.

۴. عبداله‌زاده، ج، محمدی گل تپه، ا. و روحانی، ح. (۱۳۸۲). ارزیابی اثر آنتاگونیستی گونه‌های تریکودرما در کنترل بیولوژیک عامل پوسیدگی طوقه و ریشه آفتابگردان. مجله دانش کشاورزی، جلد ۱۳، شماره ۲، صفحات ۲۳-۱۳.

5. Adams, P. B. and Ayers, W. A. 1982. Biological control of *Sclerotinia* lettuce drop in the field of *Sporidesmium sclerotivurum.* Phytopathology, 72: 485-488.
6. Baker, R. and Cook, R. J. 1974. Biological control of plant pathogens. W. H. Freeman, Sanfrancisco, 433pp.
7. Bisset, J. 1991a. A revision of the genus *Trichoderma*. II. Infrageneric classification. Canadian Journal of Botany, 69: 2357-2372.
8. Boland, G. J. and Hall, R. 1994. Index of plant hosts of *Sclerotinia sclerotiorum*. Canadian Journal of Plant Pathology, 16: 93-108.
9. Burgess, D. R. and Hepworth, G. 1996. Biocontrol of Sclerotinia stem rot *(Sclerotinia minor)* in sunflower by seed treatment with *Gliocladium virens*. Plant Pathology, 45: 583-592.
10. Chet, I. 1987. *Trichoderma* –application, mode of action, and potential as biocontrol agent of soilborne plant pathogenic fungi. In Innovative Approches to Plant Disease Control, (I. Chet, Ed.), pp. 137-160. John Wiley, New York.
11. Chet, I. And Baker, R. 1981. Isolation and biocotrol potential of *Trichoderma hamatum* from soil naturally suppressive to *Rhizoctonia solani.* Phytopathology,71: 286-290.
12. Dennis, C. and Webster, J. 1971c. Antagonistic properties of species – groups of *Trichoderma* III. Hyphal interactions. Transactions of the British Mycological Society, 57: 363 – 369.
13. Dos Santos, A. F. and Dhingra, O. D. 1982. Pathogeninicity of *Trichoderma* spp. on the sclerotia of *Sclerotinia sclerotiorum.*Canadian Journal of Botany, 60: 472-475.
14. Elad Y., Chet, I. And Henis, Y. 1982. Degradation of plant pathogenic fungi by *Trichoderma harzianum.* Canadian Journal of Microbiology, 28: 719-725.
15. Elad, Y., Chet, I., Boyle, P. and Henis, Y. 1983. Parasitism of *Trichoderma* spp. on *Rhizoctonia solani* and *Sclerotium rolfsii* –scaning electron microscopy and fluorescence microscopy. Phytopathology, 73: 85-88.
16. Gindrat, D., Van Der Hoeven, E. and Moody, A. R. 1977. Control of *Phomopsis sclerotioides* with *Glicladium roseum* or *Trichoderma.* Netherlands Journal of Plant Pathology 83: 429-438.
17. Grosclaude, C., Ricard, J. and Dubos, B. 1973. Inoculation of *Trichoderma viride* spores via pruning shears for biological control of *Stereum purpureum* on plum tree wounds. Plant Disease Reporter 57: 25-28.
18. Hadar, Y., Chet, I. and Henis, Y. 1979. Biological control of *Rhizoctonia solani* damping off with wheat bran culture of *Trichoderma harzianum.* Phytopathology, 69: 64-68.
19. Haung, H. C. 1980. Control of sclerotinia wilt of sunflower by hyperparasites. Canadian Journal of Plant Pathology, 2: 26-32.
20. Henis, Y., Ghaffer, A. and Baker, R. 1979. Factors affecting suppressiveness to *Rhizoctonia solani* in soil. Phytopathology, 69: 1164-1169.
21. Hoes, J. A. and Haung H. C. 1975. *Sclerotinia sclerotiorum*: viability and separation of sclerotia from soil. Phytopathology, 65: 1431-1432.
22. Inbar, J., Menendez, A. and Chet, I. 1996. Hyphal interaction between *Trichoderma harzianum* and *Sclerotinia sclerotiorum* and it's role in biological control. Soil Biology and Biochemistry, 28(6): 757-763.
23. Kohn, L. M. 1979. A monographic revision of the genus *sclerotinia.* Mycotaxon, 365-444.
24. Lui, S. and Baker, R. 1980. Mechanism of biological control in soil suppressive to *Rhizoctonia solani*. Phytopathology, 70: 404-412.

25. McLaren, D. L., Haung, H. C., Kozub, G. C. and Rimmer, S. R. 1994. Biological control of sclerotinia wilt of sunflower with *Talaromyces flavus* and *Coniothyrium minitans.* Plant Disease, 78: 231-235.
26. Papavizas, G. C. 1985. *Trichoderma* and *Gliocladium:* Biology, ecology and potential for biocontrol. Ann. Rev. Phytopathology, 23: 23- 57.
27. Phillips, A. J. L. 1990a. Fungi associated with sclerotia of *Sclerotinia sclerotiorum* in south Africa and their effects on the pathogen. Reviwe of Plant Pathology, 69(4): 1770.
28. Rifai, M. A. 1969. A revision of the genus *Trichoderma*. Mycol. Pap. 116: 1-56.
29. Trutmann, P., Keane, P. J. and Merriman P. R. 1980. Reduction of sclerotial inoculum of *Sclerotinia sclerotiorum* with *Coniothyrium minitans*. Soil Biology and Biochemistry, 12: 461-465.
30. Trutmann, P., Keane, P. J. and Merriman P. R. 1982. Biological control of *Sclerotinia sclerotiorum* on aerial parts of plants by hyperparasite *Coniothyrium minitans*. Transactions of the British Mycological Society, 78: 521-529.
31. Trutmann, P. and Keane, P. J. 1990. *Trichoderma koningii* as a biocontrol agent for *Sclerotinia sclerotiorum* in southern Australia. Soil Biology and Biochemistry, 22: 43-50.
32. Tu, J. C. 1980. *Gliocladium virens*, a destructive mycoparasites of *Sclerotinia sclerotiorum.* Phtopathology, 70: 670-674.
33. Wells, H. D., Bell, D. K. and Jaworski, C. A. 1972. Efficacy of *Trichoderma harzianum* as a biocontrol for *Sclerotium rolfsii.* Phytopathology, 62: 442-447.
34. Whipps, J. M. 1987. Effect of media on growth and interactions between a range of soil-born glasshouse pathogens and antagonistic fungi. New Phytologist, 107: 127-142.

JOURNAL OF
AGRICULTURAL
SCIENCES
Islamic Azad University

Investigation on biocontrol of crown and root rot of sunflower (*Sclerotinia sclerotiorum*) by *Trichoderma* species in laboratory condition

J. Abdollahzadeh
Instructure, Department of Crop and Plant Breeding, College of Agriculture, Mahabad Islamic Azad University, Mahabad, Western Azarbaijan, Iran
E. Mohammadi Goltapeh.
Associate professor, Department of Plant Pathology, School of Agriculture, Tarbiat Modarres University, Tehran, Iran
H. Rouhani
Associate professor, Department of Plant Pathology, School of Agriculture, Bu- Ali University, Hamadan, Iran

Keywords: Sclerotinia sclerotiorum, Trichoderma, biological control, Crown and root rot.

Abstract

In order to control of *S. sclerotiorum*, the causal agent of crown and root rot of sunflower biologically, nine highly effective *Trichoderma* isolates were selected. Two (J1 & J2) and three isolates (J3, J4 & J5) of *T. harzianum* were isolated from sunflower field soil of Ormiah and Khoy respectively. *T. virens*, *T. harzianum*(J6), *T. viride*(E1) and *T. viride*(E2) on the other hand were isolated from edible fungi substrate. The above mentioned isolates, were evaluated for parasitism, competitive saprophytic ability, inhibition effects of volatile metabolites and culture filtrates and colonization compact on *S. sclerotiorum*. Microscopic studies showed that all of the isolates disintegrated hypha of *S. sclerotiorum* through antibiosis mechanism. In addition, *T. harzianum*(J1 & J2) and *T. viride*(E1 & E2) hypha grew towards and coiled around the *S. sclerotiorum* hypha. Dense coils of hypha and degradation of the *Sclerotinia* hyphae were observed in other stages of the parasitism. Furthermore, *T. harzianum*(J1) forming short branches and appressorium-like structures which aided in holding and penetrating the host cell wall. In competitive saprophytic ability test, *T. virens* and *T. harzianum*(J6) performed more effective than the others, so that, after 5 and 6 days both covered the whole colony surface,respectively, and prevented from forming sclerotium. In colonization ability test, *T. harzianum*(J1) and *T. harzianum*(J6) performed more effective than the other isolates, therefore, after 6 and 8 days both were covered the whole colony surface, respectively and prevented from forming sclerotium. In volatile antibiotics test by means of superposal petri-dishes method, *T. harzianum*(J1) was the most effective isolates which inhibited the mycelial growth of *S. sclerotiorum* by 77/77%. In non-volatile antibiotics i.e. Culture filtrates effect test on inhibition of mycelial growth, *T. harzianum*(J6) was more effective to inhibit the mycelial growth by 78/88%. It delayed the myceliogenic germination of sclerotia of *S. sclerotiorum* more effectively than the other isolates.