

تعیین رقابت تغذیه‌ای و پارازیتیسیم گونه‌های قارچ آنتاگونیست
Trichoderma spp. علیه قارچ *Fusarium solani*. عامل پوسیدگی

خشک فوزاریومی سیب‌زمینی

زهرا تقی زاده*

دانشجوی کارشناسی ارشد، دانشگاه آزاد اسلامی واحد شیراز، گروه بیماری شناسی گیاهی

صدیقه محمدی

استادیار دانشگاه آزاد اسلامی، واحد شیراز، گروه گیاه پزشکی، بیماری شناسی گیاهی

حسین علایی

استادیار دانشگاه ولیعصر(عج) رفسنجان و دانشگاه آزاد اسلامی واحد انار، گروه گیاه پزشکی، بیماری شناسی گیاهی

چکیده

رقابت تغذیه‌ای و قدرت پارازیتیسیم چهار جدایه *Trichoderma harzianum* (1, 2, 3& 4) و جدایه‌های *Trichoderma longibrachiatum*، *Trichoderma virens* و *Trichoderma koningii* علیه *Fusarium solani* عامل بیماری پوسیدگی خشک فوزاریومی سیب‌زمینی مورد مطالعه قرار گرفت. در بررسی ماکروسکوپی تقابل مستقیم جدایه‌های *Trichoderma* و *F. solani* مشخص شد که جدایه *T. longibrachiatum* در هر سه نوبت یادداشت برداری به ترتیب به میزان ۴۱/۱۸، ۶۲/۵ و ۸۲/۳۵ درصد بیشترین تأثیر را در بازدارندگی از رشد میسلیم *F. solani* داشته است. همچنین جدایه‌های *T. harzianum* 3، *T. longibrachiatum*، *T. virens* و *T. koningii* قادر به پیشروی روی میسلیم *F. solani* بودند. در بررسی میکروسکوپی ناحیه تقابل تمام جدایه‌های *Trichoderma* و *F. solani* تماس و پیچش ریشه‌ای جدایه‌های *Trichoderma* و لیز شدن ریشه‌های قارچ بیمارگر مشاهده شد و جدایه‌های *T. harzianum* (1, 2& 4) و *T. koningii* با گذشت زمان به درون ریشه‌های بیمارگر نفوذ کردند و قطعه قطعه شدن ریشه‌های *F. solani* نیز توسط این جدایه‌ها مشاهده گردید.

واژه‌های کلیدی: جدایه‌های *Trichoderma*، *Fusarium* و پارازیتیسیم

* مسئول مکاتبات، پست الکترونیکی taghizadeh_1642@yahoo.com

تاریخ دریافت ۱۳۹۲/۹/۳ تاریخ پذیرش ۱۳۹۲/۱۱/۱۸

مقدمه

سیب‌زمینی گیاهی است با ارزش غذایی بالا که از نظر تولید و مصرف در جهان پس از گندم، ذرت، برنج و جو مقام پنجم را دارد (Anonymous, 2009). یکی از بیماری‌های مهم سیب‌زمینی در مزرعه و انبار پوسیدگی خشک غده است که معمولاً در زمستان و بهار مشهود می‌باشد. بیش از ۲۰ درصد محصول سیب‌زمینی که در بازار به فروش می‌رسد، به این بیماری مبتلا می‌باشد (Cullen *et al.*, 2005). شایع‌ترین نوع پوسیدگی‌های غده و قطعات بذری، پوسیدگی خشک فوزاریومی است، کشت غده‌های بذری آلوده موجب پوسیدگی غده‌ها و قطعات بذری شده و کاهش تعداد بوته در واحد سطح و در نتیجه کاهش عملکرد را در برخواهد داشت (Theron and Holz, 2010). این بیماری علاوه بر خسارت مالی به علت توکسین‌زا بودن اغلب گونه‌های فوزاریوم، خطر جدی برای سلامت انسان و دام به شمار می‌رود (Row, 1993).

گونه‌های مختلف فوزاریوم از مهمترین عوامل کاهش سلامت و عملکرد گیاهان زراعی به‌شمار می‌روند. در این بین گونه *F. solani* مهمترین عامل پوسیدگی خشک فوزاریومی می‌باشد (Nasr- Esfahani, 1998). با توجه به جایگاه ویژه این بیماری در مزارع و بخصوص انبارهای مناطق عمده سیب‌زمینی‌کاری کشور، یکی از شیوه‌های مناسب در کنترل این بیماری استفاده از قارچ‌کش‌ها می‌باشد که به دلیل خاکزی بودن این قارچ، باید به مقدار زیاد از قارچ‌کش‌ها استفاده شود. استفاده از این مواد شیمیایی علاوه بر هزینه‌های سنگین، کاهش درآمد تولید و افزایش قیمت تمام شده محصول، مشکلات زیست محیطی متعددی را به همراه دارد. جهت نیل به اهداف کشاورزی پایدار و کاهش مصرف سموم شیمیایی، کنترل بیولوژیک روشی مناسب در کنترل بیمارگر به‌شمار می‌آید. که در این راستا از قارچ‌های آنتاگونیست از جمله قارچ *Trichoderma spp.* استفاده می‌گردد (Vinal *et al.*, 2008).

مکانیسم‌های آنتاگونیستی گونه‌های تریکودرما شامل فرایندهایی نظیر شیمی‌گرایی، اتصال ریشه‌ای، پیچش و نفوذ ریشه‌ای است. این مراحل با ترشح آنزیم‌های خارج سلولی نظیر کیتیناز و بتاگلوکوناز و پروتئاز به‌عنوان متابولیت‌های ثانویه همراه است (Lorito *et al.*, 1994).

از جمله مکانیسم‌های دیگر آنتاگونیستی قارچ *Trichoderma*، مایکوپارازیتیسم، آنتی‌بیوز، رقابت با پاتوژن‌ها، کلنیزاسیون ریشه و القاء مقاومت می‌باشد (Savazzini *et al.*, 2009).

تحقیقات نشان می‌دهد که قارچ تریکودرما می‌تواند به سمت هیف قارچ‌های بیمارگر رشد کند و با آن‌ها بر سر غذا، فضا و سایر منابع، رقابت کند و با پیچش و تشکیل اندامهای

قلابی شکل به دور هیف‌های میزبان موجب تجزیه دیواره سلولی و قطعه قطعه کردن هیف‌ها می‌شوند (Benitez et al., 2004).

طی تحقیقی مشخص شد که جدایه‌ی *T. virens* و *T. harzianum* از رشد میسلیم اکثر قارچ‌های عامل پوسیدگی ریشه، جلوگیری می‌کند و استفاده از هر کدام از عوامل بیوکنترل در خاکهای آلوده موجب کاهش درصد آلودگی گیاهان و کاهش شدت بیماری در خاکهای آلوده می‌شود (Faheem et al., 2010).

با توجه به اهمیت گونه‌های قارچ تریکودرما (Mohammadi et al., 2009 ; Katatny et al., 2001) در کنترل بیمارگرهای خاکزاد، در این تحقیق تأثیر قارچ‌های آنتاگونیست مذکور در کنترل قارچ *F. solani* عامل پوسیدگی خشک سیب‌زمینی، در شرایط آزمایشگاه مورد بررسی قرار گرفت.

مواد و روش‌ها

تهیه عوامل بیوکنترل

جدایه‌های *T. koningii*، *T. virens*، *Trichoderma harzianum* (1,2,3,4) و *longibrachiatum* از خاک باغات پسته کرمان توسط خانم دکتر صدیقه محمدی، استادیار دانشگاه آزاد واحد شیراز جداسازی شد و در اختیار قرار گرفت.

تهیه قارچ عامل بیماری

پرگنه قارچ *F. solani* توسط آقای دکتر حسین علایی، استادیار دانشگاه ولیعصر رفسنجان از غده‌های سیب‌زمینی مزارع سیب‌زمینی شهرستان جیرفت جداسازی شد و در اختیار قرار گرفت و به منظور خالص‌سازی قارچ از روش تک‌اسپور^۱ استفاده شد.

آزمون اثبات بیماری‌زایی

جهت انجام آزمون اثبات بیماری‌زایی از اصول کخ استفاده گردید. بر این اساس جدایه‌های خالص شده به محیط CLA^۲ منتقل شدند و پس از تشکیل کنیدیوم روی برگ میخک (حدود ۱۴ روز) یک لوپ، از اسپورهای روی برگ میخک به ۱۰ میلی‌لیتر آب مقطر استریل منتقل و سپس با استفاده از لام گلیبول‌شمار (هموسایتومتر) تعداد اسپور در هر میلی‌لیتر به ۱۰^۴ اسپور تنظیم شد (Fisher et al., 1983). برای مایه‌زنی سوسپانسیون اسپور مزبور از غده‌های با

¹Single spore

²Carnation leaf agar

ظاهری سالم که به مدت ۳ ماه در سردخانه در دمای ۵ درجه سلسیوس نگهداری شده بودند استفاده گردید. غده‌های مزبور دو روز قبل از مایه‌زنی در دمای ۲۵ درجه سلسیوس قرار داده شدند (Boyd, 1972). غده‌ها در محلول هیپوکلریدسدیم ۳ درصد به مدت ۱۵ دقیقه قرار داده شده و پس از شستشو با آب مقطر استریل، خشک شدند. در دو انتهای غده‌ها با استفاده از یک میله استریل نوک تیز، حفره‌هایی به عمق تقریبی ۰/۳ سانتی‌متر ایجاد و ۰/۲ از سوسپانسیون اسپور که رقت آن قبلاً تنظیم شده بود در حفره‌های موجود در بافت غده تزریق و دهانه منفذ با پارافین جامد ذوب شده مسدود گردید. غده‌ها داخل پاکت کاغذی به مدت سه هفته در دمای 25 ± 1 درجه سلسیوس در اتاقک حرارت ثابت و در تاریکی نگهداری شدند. پس از گذشت این مدت زمان، علائم بیماری مشاهده شد سپس اقدام به جداسازی، خالص‌سازی و شناسایی مجدد قارچ گردید و مشخص شد که جدایه‌های به‌دست آمده با جدایه‌های تلقیح شده، از نظر خصوصیات میکروسکوپی و ماکروسکوپی مطابقت داشتند.

بررسی ماکروسکوپی تقابل مستقیم (کشت متقابل) جدایه‌های مختلف آنتاگونیست *Tricho-derma* و قارچ بیمارگر *Fusarium solani*

این آزمایش با هدف مقایسه توانایی جدایه‌های مختلف *Trichoderma* در رقابت تغذیه‌ای، بازدارندگی از رشد میسیلیوم قارچ *F. solani*، استقرار و پیشروی آنتاگونیست‌ها روی قارچ عامل بیماری در محیط کشت انجام شد.

در این آزمایش درون تشتک‌های پتری نه سانتی‌متری، محیط کشت PDA ساخته شد. پس از انعقاد محیط کشت، یک قرص پنج میلی‌متری از حاشیه کشت چهار روزه میسیلیوم قارچ *F. solani* به فاصله یک سانتی‌متری از لبه تشتک پتری در یک طرف محیط و در طرف مقابل یک قرص پنج میلی‌متری از حاشیه کشت چهار روزه هر کدام از جدایه‌های تریکودرما (*T. longibrachiatum*، TH4، TH3، TH2، TH1، *T. koningii* و *T. virens*) قرار داده شد. در تیمار شاهد یک قرص پنج میلی‌متری از حاشیه کشت قارچ عامل بیماری در وسط تشتک پتری قرار داده شد (Mohammadi *et al.*, 2009).

تشتک‌های پتری پس از کشت به درون انکوباتور با دمای ۲۵ درجه سلسیوس منتقل شدند. اندازه‌گیری رشد شعاعی قارچ عامل بیماری به‌طور روزانه انجام شد و نتایج در فاصله‌های زمانی ۲۴، ۴۸ و ۷۲ ساعت پس از کشت مورد بررسی قرار گرفتند. پس از آن که قارچ بیمارگر در تیمار شاهد کل پتری را پوشاند آزمایش به اتمام رسید.

درصد بازدارندگی از رشد میسیلیوم قارچ عامل بیماری با استفاده از رابطه زیر محاسبه گردید:

×100 (قطر پرگنه قارچ عامل بیماری در تقابل هر کدام از جدایه‌های آنتاگونیست) - (قطر کلنی قارچ عامل بیماری در تشک پتری شاهد) = (قطر پرگنه قارچ عامل بیماری در تشک پتری شاهد) بیماری در تشک پتری شاهد)

در این آزمایش علاوه بر تعیین درصد بازدارندگی رشد میسلیومی قارچ عامل بیماری در مقابل جدایه‌های مختلف تریکودرما، پیشروی روی میسلیوم قارچ عامل بیماری پس از متوقف نمودن رشد آن نیز بررسی شد.

این آزمون در قالب طرح کاملاً تصادفی شامل یازده تیمار در سه تکرار انجام شد. داده‌های به دست آمده از این آزمایش مورد تجزیه و تحلیل آماری قرار گرفتند. تیمارها با استفاده از آزمون دانکن درس سطح $p \leq 1\%$ و $p \leq 5\%$ با یکدیگر مقایسه شدند (Little and Hilz, 1978).

بررسی میکروسکوپی تقابل مستقیم جدایه‌های مختلف آنتاگونیست *Trichoderma* و قارچ بیمارگر *F. solani*

هدف از انجام این آزمایش بررسی چگونگی ارتباط بین ریشه‌های جدایه‌های مختلف آنتاگونیست با ریشه‌های قارچ *F. solani* و نحوه پارازیت شدن و تماس ریشه‌ای بین آن‌ها بود. این آزمایش به دو روش استفاده از لام و ایجاد شیار انجام گرفت.

بررسی میکروسکوپی تقابل مستقیم جدایه‌های آنتاگونیست و قارچ *F. solani* به روش لام

در این روش ابتدا در داخل هر تشک پتری نه سانتی‌متری، ۲۰ میلی‌لیتر محیط کشت PDA ریخته و پس از منعقد شدن محیط، لام‌های استریل در وسط تشک‌های پتری قرار داده شد (Mohammadi et al., 2009).

در ادامه یک قرص پنج میلی‌متری از حاشیه کشت چهار روزه قارچ عامل بیماری و یک قرص پنج میلی‌متری از حاشیه کشت چهار روزه هفت جدایه آنتاگونیست در دو طرف لام قرار داده شد. به منظور اینکه ریشه‌های هر دو قارچ در محل لام با هم برخورد نمایند، با توجه به رشد سریع قارچ تریکودرما، قارچ بیمارگر در نزدیکی لام قرار داده شد. برای هر جدایه تریکودرما سه تکرار در نظر گرفته شد.

تشک‌های پتری پس از کشت به انکوباتور با دمای ۲۵ درجه سلسیوس منتقل شدند. پس از گذشت ۴۸ تا ۷۲ ساعت از رشد قارچ‌ها، ریشه‌های آن‌ها روی لام میکروسکوپی با هم برخورد نمودند. سپس لام‌ها را برداشته و پس از تمیز نمودن سطح زیرین آن‌ها، چگونگی تأثیر جدایه‌های مختلف تریکودرما روی قارچ عامل بیماری بوسیله میکروسکوپ با بزرگنمایی ۴۰۰ مورد مشاهده و بررسی قرار گرفت.

بررسی میکروسکوپی تقابل مستقیم جدایه‌های آنتاگونیست و قارچ *F. solani* به روش ایجاد شیار در این روش پس از آماده شدن تشتک‌های پتری نه سانتی‌متری حاوی محیط کشت PDA و منعقد شدن محیط، نواری به عرض یک سانتی‌متر در طول قطر پتری در وسط محیط کشت بوسیله اسکالپل استریل برداشته شد. سپس در یک طرف تشتک‌های پتری قرص پنج میلی متری از حاشیه کشت چهار روزه قارچ بیمارگر و در طرف مقابل قرص پنج میلی‌متری از حاشیه کشت چهار روزه جدایه آنتاگونیست قرار داده شد. به منظور اینکه ریشه‌های هر دو قارچ در محل شیار با هم برخورد نمایند، با توجه به رشد سریع قارچ تریکودرما، قارچ بیمارگر در نزدیکی شیار قرار داده شد (Mohammadi *et al.*, 2009) تشتک‌های پتری پس از کشت در انکوباتور با دمای ۲۵ درجه سلسیوس قرار داده شدند. پس از گذشت ۴۸ ساعت هر دو قارچ رشد نموده و در قسمت فاقد محیط کشت به هم برخورد نمودند.

نحوه تأثیر جدایه‌های مختلف آنتاگونیست و *F. solani* در قسمت شیار بوسیله میکروسکوپ با بزرگمایی ۴۰۰ مورد مشاهده و بررسی قرار گرفت.

نتایج و بحث

بررسی ماکروسکوپی تقابل مستقیم جدایه‌های مختلف آنتاگونیست و قارچ *F. solani*

الف- نوبت اول اندازه‌گیری (۲۴ ساعت پس از کشت)

نتایج مقایسه میانگین به روش آزمون چند دامنه دانکن در سطح احتمال ۱ و ۵ درصد، مشخص می‌کند بین جدایه‌های آنتاگونیست از نظر قدرت رقابت و تغذیه‌ای در جلوگیری از رشد میسلیوم *F. solani* در ۲۴ ساعت پس از تلقیح، اختلاف معنی داری وجود نداشت.

نتایج حاصل از تجزیه واریانس درصد بازدارندگی از رشد در جدول ۱ مشاهده می‌شود.

با مقایسه درصد‌های بازدارندگی از رشد جدایه‌های مختلف آنتاگونیست علیه *F. solani* ملاحظه شد تمام جدایه‌های آنتاگونیست به میزان ۴۱/۱۸ درصد، از رشد میسلیوم قارچ *F. solani* جلوگیری کردند و همگی در یک گروه آماری قرار دارند.

ب- نوبت دوم اندازه‌گیری (۴۸ ساعت پس از کشت)

به احتمال ۹۹ درصد بین جدایه‌های آنتاگونیست از نظر بازدارندگی از رشد میسلیوم *F. solani* در ۴۸ ساعت پس از کشت اختلاف معنی‌دار وجود دارد.

نتایج حاصل از تجزیه واریانس ساده درصد بازدارندگی از رشد در جدول ۱ مشاهده می‌شود.

با مقایسه درصد‌های بازدارندگی از رشد جدایه‌های مختلف آنتاگونیست علیه *F. solani* ملاحظه می‌شود که جدایه‌های *T. longibrachiatum*, Th1, Th2, Th3, Th4 به میزان ۶۲/۵ درصد بیشترین بازدارندگی از رشد بیمارگر را داشته است که در یک گروه آماری قرار گرفته‌اند و با هم اختلاف معنی‌داری ندارند

ج- نوبت سوم اندازه‌گیری (۷۲ ساعت پس از کشت)

به احتمال ۹۹ درصد بین جدایه‌های آنتاگونیست از نظر بازدارندگی از رشد میسلیم *F. solani* در ۷۲ ساعت پس از کشت اختلاف معنی‌دار وجود دارد. نتایج حاصل از تجزیه واریانس ساده درصد بازدارندگی از رشد (۷۲ ساعت) در جدول ۱ مشاهده می‌شود.

با مقایسه درصد‌های بازدارندگی از رشد جدایه‌های مختلف آنتاگونیست علیه *F. solani* (نمودار ۱) ملاحظه شد که جدایه‌های *T. longibrachiatum* و *T. harzianum* ۱ به ترتیب به میزان ۸۲/۳۵ و ۷۹/۲۱ درصد، بیشترین بازدارندگی از رشد را داشته است، که در یک گروه آماری قرار دارند و بینشان اختلاف معنی‌داری وجود ندارد و جدایه *T. virens* به میزان ۷۰/۵۸ درصد، کمترین بازدارندگی از رشد را داشته است که در گروه آماری d قرار دارد (شکل ۱). در نتیجه‌گیری کلی مشخص شد که جدایه *T. longibrachiatum* در هر سه نوبت یادداشت برداری به ترتیب به میزان ۴۱/۱۸، ۶۲/۵ و ۸۲/۳۵ درصد بیشترین تأثیر را در بازدارندگی از رشد میسلیم *F. solani* داشته است.

همچنین نتایج نشان داد که جدایه‌های Th3، *T. koningii*، Th4 و *T. virens* قدرت پیشروی روی میسلیم *F. solani* را داشتند (شکل ۲).

بررسی میکروسکوپی تقابل مستقیم جدایه‌های مختلف آنتاگونیست و قارچ *F. solani*

این آزمایش به دو روش لام و شیار انجام گرفت. در روش لام، مشاهده شد که ریشه‌های تمام جدایه‌های *Trichoderma* spp. در هنگام برخورد با ریشه‌های بیمارگر رشد کرده و تماس ریشه‌ای یافتند. جدایه‌های *Trichoderma harzianum* (1,2, 4)، *T. koningii* با گذشت زمان به‌درون ریشه‌های بیمارگر نفوذ کردند و قطعه قطعه شدن ریشه‌های *F. solani* نیز در این جدایه‌ها مشاهده گردید، در روش ایجاد شیار علاوه بر این موارد، مشاهده شد که هیف‌های تمام جدایه‌های *Trichoderma* spp. به تدریج شروع به پیچش به دور هیف‌های *F. solani* نمودند و با گذشت زمان تراکم و شدت پیچش به‌حدی افزایش یافتند که رشد آن‌ها را کاملاً

متوقف کردند و از طریق مکانیسم مایکوپارازیتیسم باعث انقباض، تغییر شکل و لیز و متلاشی شدن ریشه‌های *F. solani* شدند.

در روش کشت متقابل جدایه‌های *Trichoderma* به دلیل مکانیسم‌های مختلف بازدارندگی باعث محدود شدن رشد *F. solani* بر روی محیط کشت شدند. بیشترین درصد بازدارندگی از رشد قارچ عامل بیماری مربوط به جدایه *T. longibrachiatum* به میزان ۸۲/۳۵ درصد بوده است. این نتایج با نتایج تحقیقات (Burmeister (2008) and Kucuk & Kivanc (2004) انطباق دارد. در آزمون کشت متقابل، تمام جدایه‌های تریکودرما قادر به رشد و پیشروی روی میسلیم قارچ عامل بیماری نبودند و فقط جدایه‌های *T. harzianum*3، *T. harzianum*4، *T. koningii* و *T. virens* پس از گذشت ۵-۶ روز، پرگنه *F. solani* را پوشاندند. *Hermosa et al.* (2000) نیز با قرار دادن پرگنه *Fusarium oxysporum* f.sp. *dianthi* در مقابل چند جدایه تریکودرما روی محیط کشت پی دی ای^۱ به این نتیجه رسیدند که اسپورزایی و قدرت تهاجمی (رشد تریکودرما روی پرگنه قارچ بیمارگر) جدایه‌های تریکودرما در آزمون‌های کشت متقابل به نوع قارچ عامل بیماری و ترکیب محیط کشت بستگی دارد. برخی از جدایه‌هایی که موفق به رشد روی پرگنه قارچ عامل بیماری شدند، ایجاد پیچیدگی هیفی (مایکوپارازیتیسم) در اطراف میسلیم‌های قارچ عامل بیماری کردند. مایکوپارازیتیسم قارچ‌های عامل بیماری توسط بعضی جدایه‌های تریکودرما و تولید آنزیم‌های هیدرولیتیک از قبیل کیتیناز و گلوکاناز در طی مراحل میکوپارازیتیسم به اثبات رسیده است این حالت در اکثر تحقیقات کنترل بیولوژیک مورد توجه واقع شده است (McIntyre et al., 2004).

مطالعات میکروسکوپی نشان داد که ریشه‌های تمام جدایه‌های *Trichoderma* spp. در هنگام برخورد با ریشه‌های بیمارگر رشد کرده و تماس ریشه‌ای یافتند جدایه‌های *T. harzianum*(1,2,4) و *T. koningii* با گذشت زمان به درون ریشه‌های بیمارگر نفوذ کردند و قطعه‌قطعه شدن ریشه‌های *F. solani* نیز در این جدایه‌ها مشاهده گردید، در روش ایجاد شیار علاوه بر این موارد، مشاهده شد که هیف‌های تمام جدایه‌های *Trichoderma* spp. به تدریج شروع به پیچش به دور هیف‌های *F. solani* کردند و با گذشت زمان تراکم و شدت به حدی افزایش یافت که رشد آن‌ها را کاملاً متوقف کردند و از طریق مکانیسم مایکوپارازیتیسم باعث انقباض، تغییر شکل و لیز و متلاشی شدن ریشه‌های *F. solani* شدند. این بررسی‌ها نشان داد که جدایه‌های مختلف آنتاگونیست با تماس و ایجاد آپرسوریوم و پیچش فرمانند دور ریشه‌های قارچ فوزاریوم باعث توقف رشد و پارازیت‌شدن آن‌ها می‌شوند. همچنین جدایه‌های

آنتاگونیست با تولید مواد ضدقارچی و خاصیت آنتی‌بیوز باعث ایجاد تغییراتی در ریشه‌های بیمارگر از جمله بدشکلی، لیزشدن و قطعه‌قطعه شدن گردیدند (Baghani *et al.*, 2012).

منابع

- Anonymous, (2009). Agricultural Statistics, Cropping Seasons. Ministry of Jihad-e-Agriculture, Tehran, Iran (in Persian), 1: 2007-08.
- Baghani, F., Rahnama, K., Aghajani, M. A., and Dehghan., M. A., (2012). Parasitization of *Fusarium graminearum* by *Trichoderma* isolates after spraying wheat spikes in the field conditions. Proceedings of the 20th Iranian plant protection congress, 25-28 August, Shiraz university, 268 pp.
- Benitez, T., (2004). Biocontrol mechanisms of *Trichoderma* strains. International microbiology, 7: 249-260.
- Boyd, A. W., (1972). Potato storage diseases. Rev, Plant Pathology, 51: 297-321.
- Burmeister, L., (2008). The antagonistic mechanisms employed by *Trichoderma harzianum* and their impact on the control of the bean rust fungus *Uromyces appendiculatus*. Ph.D. Thesis. University of Hannover, Germany.
- El-Katatny, M. H., Gudelj, M., Robra, K. H., Elnaghy, M. A., & Gubitez, G. M., (2001). Characterization of Chitinase and endo β -1,3 glucanase from *Trichoderma harzianum* Rifai T21 involved in control of the phytopathogen *Sclerotium rolfsii*. Applied Microbiology and Biotechnology, 562: 137-143.
- Faheem, A., Razdan, V. K., Mohiddin, F. A., Bhat, K. A., and Banday, S. (2010). Potential of *Trichoderma* species as biocontrol agents of soil borne fungal propagules. *J. Phytology*, 2(10): 38-41.
- Fisher, N. L., Burgess, L. W., Toussoun, T. A., and Nelson, P. E., (1983). Carnation leaves as substrate for preserving cultures of *Fusarium* species. Phytopathology journal, 150 -153.
- Hermosa, M. R., Grondona, I., Iturriaga, E. A., Diaz-Minguez, J. M., Castro, C., Monte, E., Garcia-Acha, I., (2001). Molecular characterization and identification of biocontrol isolates of *Trichoderma* spp. Appl Environ Microbiol, 66: 1890-1898.
- Kucuk, C., and Kivanc, M., (2004). In vitro antifungal activity of strains of *Trichoderma harzianum*. Turk J Biol, 28: 111-115.

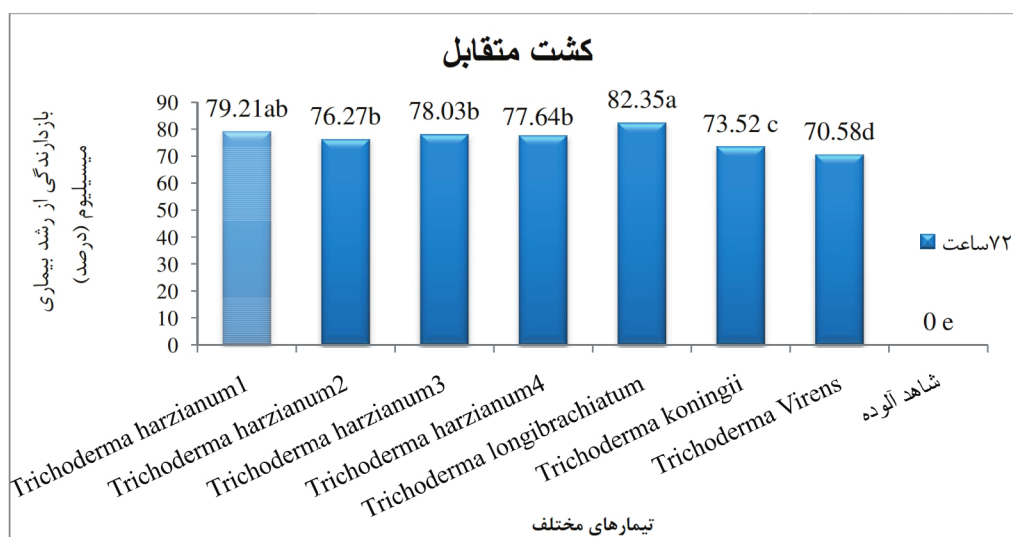
- Little, T. M., and Hills, F. J., (1978). Agricultural experimentation design and analysis. John Willey and Sons, Inc. New York, USA, p. 349.
- Lorito, M. C. K., Hayes, A., Di Pietro, S. L., and Harman, G. E., (1994). Purification, characterization and synergistic activity of a glucan 1,3- β -glucosidase and an N-acetyl- β -glucosaminidase from *Trichoderma harzianum*. *Phytopathology*, 84: 398-405.
- McIntyre, M., Nielsen, J., Arnau, J., Van der Brink, H., Hensen, K., and Madrid, S., (2004). Biocontrol mechanisms of trichoderma strains. Pp. 249-260. Proceedings of the 7th European Conference on Fungal Genetics. Copenhagen, Denmark.
- Mohammadi, S., Mansoori, B., Zamani zadeh, H. R., and Heydari, A., (2009). Antagonistic Mechanisms of *Trichoderma* spp. against *Rhizoctonia solani*, the causal agent of chickpea wet root rot disease. *Plant pathology journal plant pathology*, 1: 71-85.
- Nasr-Esfahani, M., (1998). *Fusarium* species associated with dry rot of potato tubers in Esfahan. *Iran. Plant pathology journal*, 34: 225-232.
- Rowe, R. C., (1993). Potato Health Management. APS Press, 178pp. Sadfi, N.,
- Chérif, M., Fliss, I., & Boudabbous, A., (2001). Evaluation of bacterial isolates from salty soils and *Bacillus thuringiensis* strains for the biocontrol of *Fusarium* dry rot of potato tubers. *Plant Pathology journal*, 83: 101-118.
- Savazzini, F., Longa, C. M. O., and Pertot, I., (2009). Impact of the biocontrol agent *Trichoderma atroviride* SC1 on soil microbial communities of a vineyard in northern Italy. *Soil Biol. Biochem.* 41: 1457-1465.
- Theron, D. J., and Holz, G., (2010). Prediction of potato dry rot based on the presence of *Fusarium* in soil adhering to tuber at harvest. *Plant Dis*, 75: 126-130.
- Vinale, F., Sivasithamparam, k., Ghisalberti, E. L., Marra, S. L., and Lorito, M., (2008). *Trichoderma* – plant pathogens interactions. *Soil Biology & Biochemistry*, 40: 1-10.

جدول ۱- تجزیه واریانس ساده درصد بازدارندگی از رشد میسلیموم *F. solani* توسط جدایه‌های آنتاگونیست در کشت متقابل در فواصل زمانی مختلف

Table 1. Simple variance analysis of inhibition percent of mycelium of *F. solani* by dual culture of antagonists isolates in different periods of time

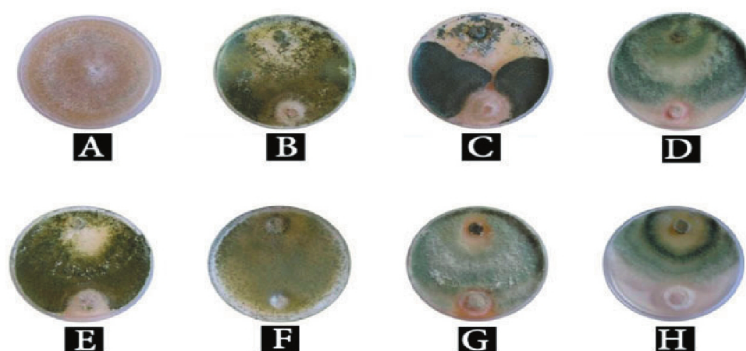
		Mean of squar		
SOV	freedom of Degree	24hr	48hr	72hr
Different treatments	7	0.7 ^{ns}	2678.91 ^{**}	3356.07 ^{**}
ERROR	16	0.7	5.18	0.57
C.V	—	1.1	3.06	13.91

^{ns}: غیر معنی دار، * و ** به ترتیب معنی دار در سطح ۵ و ۱٪



نمودار ۱- مقایسه میانگین‌های تاثیر جدایه‌های مختلف آنتاگونیست در مانعت از رشد (درصد بازدارندگی) میسلیموم *F. solani* در روش کشت متقابل در زمان ۷۲ ساعت پس از تلقیح

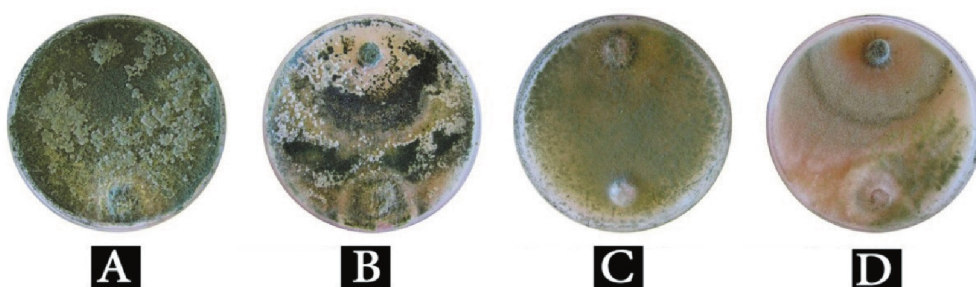
Figur 1. Average compare of effect of antagonist isolates in prohibition on growth of *F. solani* in dual culture in 72 h after inoculation



شکل ۱- بررسی میکروسکوپی تقابل مستقیم جدایه‌های مختلف آنتاگونیست و قارچ *F. solani*

Figure 1. Macroscopic investigation of dual culture of different isolate of antagonist and *F. solani*

A: پتری شاهد (*F. solani*)، B: پتری حاوی *T. harzianum1* + *F. solani*، C: پتری حاوی *T. harzianum2* + *F. solani*، D: پتری حاوی *T. harzianum3* + *F. solani*، E: پتری حاوی *T. harzianum4* + *F. solani*، F: پتری حاوی *T. longibrachiatum* + *F. solani*، G: پتری حاوی *T. koningii* + *F. solani*، H: پتری حاوی *T. virens* + *F. solani*



شکل ۲- پیشروی جدایه‌های آنتاگونیست روی جدایه عامل بیماری

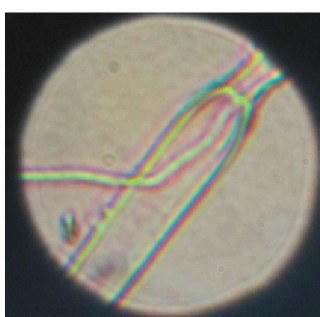
Figure 2. Clonization of antagonistic isolate on pathogen

A: پیشروی قارچ *T. harzianum3* روی جدایه عامل بیماری، B: پیشروی قارچ *T. koningii* روی جدایه عامل بیماری، C: پیشروی قارچ *T. longibrachiatum* روی جدایه عامل بیماری، D: پیشروی قارچ *T. virens* روی جدایه عامل بیماری



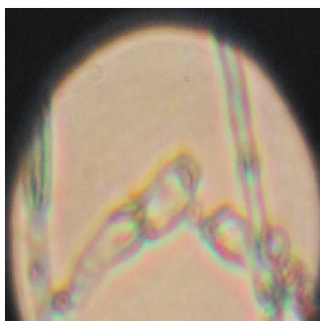
شکل ۳- تماس هیف های *T. virens* با هیف های بیمارگر

Figure 3. Hyphal contact of and hyphal pathogen



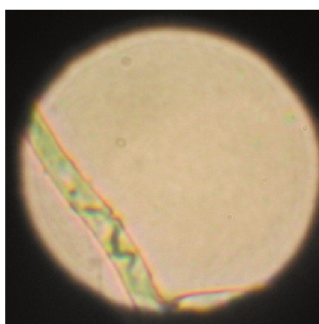
شکل ۴- نفوذ *T. harzianum1* به درون هیف‌های بیمارگر

Figure 4. Penetration of *T. harzianum1* in hyphal of pathogen



شکل ۵- قطعه قطعه شدن هیف های بیمارگر توسط *T. koningii*

Figure 5. Fragmentation of hyphal of pathogen by *T. koningii*



شکل ۶- پیچش هیف‌های *T. longibrachiatum* به دور هیف‌های بیمارگر

Figure 6. Hyphal colling of *T. longibrachiatum* around hyphal of pathogen