

نقش ایزوله‌های تریکودرمای ایران در مبارزه

بیولوژیکی علیه *Rhizoctonia solani*

The role of Iranian *Trichoderma* isolates in biological control
of *Rhizoctonia solani*

حمیدروحانی، علیرضا کریمی و فاطمه نوعپرست
گروه گیاهپزشکی دانشکده کشاورزی دانشگاه بوعلی سینا
و موسسه تحقیقات آفات و بیماریهای گیاهی

چکیده

از بین تعدادی ایزواسه *Trichoderma* کسه از غده سیب زمینی و خاك اطراف آن جدا شده بود. ۱ ایزوله متعلق به دو گونه *T. harzianum* و *T. viride* انتخاب گردید. هر ایزوله در شرایط *in Vitro* از نظر فعالیت هیپرپارازیتی و قدرت بازدارندگی ترشحات خارج سلولی روی *Rhizoctonia solani* آزمایش شد. نتایج حاصله نشان داد که خواص مزبور بطور مستقل از ایزوله‌ای به ایزوله دیگر تغییر میکند بطوریکه میتوان آنها را از نظر هریک از صفات ذکر شده در سه گروه قوی، متوسط و ضعیف قرار دارد. از بین ایزوله‌ها تنها ایزوله شماره ۳ متعلق به گونه *T. harzianum* از نظر مجموع صفات فوق در گروه قوی قرار گرفت. تأثیر این ایزوله در شرایط آزمایشگاه روی کنترل پوسیدگی جوانه‌های سیب زمینی ناشی از *R. Solani* باثبات رسید. سپس ایزوله مزبور در حجم زیاد و شرایط غیر استریل تکثیر و اثر آن در شرایط مزرعه با اثر سه قارچ کش بنومیل (بنلیت)، تیابندازول (تکتو) و PCNB (براسیکل) روی کنترل اسکارتوت *R. solani* و همچنین روی راندمان محصول سیب زمینی مقایسه و بررسی شد. نتایج بدست آمده نشان داد که آغشتن غده‌های بذری به مایه (Inoculum) ایزوله شماره ۳ و یا اضافه کردن آن به بستر کاشت به ترتیب ۷۶ و ۵۸ درصد نسبت به شاهد از آلودگی

غده‌ها به اسکروت *R. solani* میکاهد. این کاهش در مورد غده‌هایی که بوسیله هر یک از سموم سه‌گانه ضد عفونی شدند بین ۳۰ و ۳۶ درصد متغیر بود. آغشتن غده‌های بذری به ایزوله شماره ۲ و ضد عفونی آنها با سموم ذکر شده بطور معنی‌داری میزان محصول را افزایش داد.

مقدمه

قارچ *Rhizoctonia solani* Kuehn یکی از پارازیت‌های مهم سیب زمینی بشمار میرود که بیشتر به استولن‌ها و جوانه‌ها حمله کرده و باعث قطع یا پوسیدگی آنها میشود. خسارت آن در بعضی سال‌ها افزایش یافته و زیان‌های قابل توجهی ببار می‌آورد. این قارچ بصورت پایدار در خاک مزارع سیب زمینی و هم چنین بصورت اسکروت و میسلیم روی غده سیب زمینی منجمله غده‌های بذری وجود دارد.

بررسی منابع علمی نشان میدهد که میکروارگانیسم‌های متعددی مخصوصاً از جنس *Trichoderma pers ex FR* قادرند تا حدود زیادی بیماری ناشی از این قارچ را تحت کنترل در آورند. سابقه تحقیقات در مورد خاصیت کنترل‌کنندگی تریکودرما در ایران قدیمی نیست و مربوط میشود به کارهای اخیری که زکیی (Zakii, 1977) روی این قارچ انجام داده، ولی در کشورهای دیگر از سال‌های قبل از ۱۹۳۰ میلادی شروع شده است. از آنجمله میتوان به کارهای ویندلینگ (Weindling, 1934) در زمینه فعالیت پارازیتی تریکودرما روی ریزوکتونیا اشاره کرد. ویندلینگ و امرسون (Weindling & Emerson, 1936) تحقیقاتی نیز روی اثر بازدارندگی ترشحات خارج سلولی تریکودرما انجام دادند و ضمن آن ثابت کردند که این ترشحات قادرند از رشد بعضی عوامل بیماریزا جلوگیری کنند. بعدها محققین دیگری از جمله الاد و همکاران (Elad et al, 1982) بررسی‌های زیادی روی ترشحات تریکودرما انجام دادند و نتیجه گرفتند که اکثر گونه‌های تریکودرما میتوانند با ترشح آنزیم‌هایی مثل سلولاز، کیتیناز، B-1,3 glucanase و همچنین آنتی بیوتیک‌های سانسسی تحت نام کاسمی Trichorzianines باعث اختلال در رشد تعدادی از قارچهای بیماریزا گردند. بررسی‌های دنیس و وبستر (Dennis & webster, 1971 a,b) مشخص کرد که علاوه بر ترشحات ذکر شده ترکیبات دیگری نیز بوسیله گونه‌های تریکو در ما ایجاد میشود که فرار (گازی شکل) بوده و روی رشد قارچ‌های بیماریزا اثر بازدارندگی دارند.

پدیده آنتاگونیسم در بسیاری از گونه‌های تریکودرما باثبات رسیده ولی بعلت بالا بودن این خاصیت در بعضی گونه‌ها منجمله *T. harzianum* و وسیع بودن طیف عمل آن روی قارچ‌های مختلف، مطالعات بیشتری روی این گونه صورت گرفته از جمله این مطالعات که مربوط میشوند به اثر کنترل‌کنندگی *T. harzianum* روی ریزوکتونیا میتوان به کارهای گروس و همکاران (Gross et al, 1981) و همچنین هادار و همکاران (Hadar et al, 1979) اشاره کرد.

در مورد کاربرد عملی این قارچ نیز پیشرفت‌های زیادی حاصل شده به نحوی که امروزه موتان‌هایی از گونه *T. harzianum* تهیه شده که به بعضی قارچ‌کشها مثل بنومیل مقاومت نشان میدهند. این موتان‌ها بصورت صنعتی تکثیر و تحت فرم‌های مختلف بعنوان قارچ‌کشهای میکربی در مبارزه بیولوژیکی و مبارزه تلفیقی علیه تعدادی از عوامل بیماریزا بکار میروند.

روش بررسی

۱- جدا کردن ایزوله‌های تریکودرما

ایزوله‌های تریکودرما که در آزمایش‌های مبارزه بیولوژیکی علیه *R. Solani* مورد استفاده قرار گرفتند، تماماً از غده سیب زمینی و همچنین خاک اطراف آن جدا گردیدند. برای جدا کردن این ایزوله‌ها از غده سیب زمینی، ۵ غده که قسمتی از هریک دارای علائم پوسیدگی بود از ۵ مزرعه واقع در همدان، دماوند، گرگان، تویسرکان، و تهران (اوین) انتخاب و پس از عاری کردن آنها از خاک اطراف غده‌ها، از قسمت‌های سطحی پوسیدگی هر غده ۱۰ قطعه روی محیط کشت انتخابی تریکودرما که توسط داوه (Davet, 1979) توصیه شده بود کشت داده شد. در این محیط کشت بجای ۳۰ میلی گرم سولفات استرپتومایسین، ۵۰ میلی لیتر الکل - اتیلیک و ۵۰ میلی گرم ونکلوژولین در هر لیتر محیط کشت از ۲۰۰ میلی لیتر الکل متیلیک ۹۰ درجه و ۴۰ میلی گرم متوپریم (تری متوپریم) استفاده شد. ۳ روز بعد از کشت و قرار دادن پتری‌ها در حرارت ۲۵ درجه سانتیگراد، کنی‌های تریکودرما که در مراحل اولیه رشد خود بودند جدا و به لوله‌های حاوی محیط غذائی PDA منتقل گردیدند. برای جدا کردن تریکودرما از خاک اطراف غده از روش ریکسی و همکاران (Ricci et al., 1976) و همچنین محیط کشت انتخابی تریکودرما استفاده شد.

پس از خالص کردن ایزوله‌های بدست آمده، ۴ ایزوله جدا شده از غده‌های مربوط به همدان، دماوند، تویسرکان و گرگان و همچنین ۲ ایزوله جدا شده از خاک اطراف غده‌های مربوط به تهران (۲ ایزوله)، همدان، دماوند، گرگان و تویسرکان انتخاب و با استفاده از کلید طبقه‌بندی ریفائی (Rifai, 1969) مورد شناسائی قرار گرفتند.

۲- بررسی فعالیت پارازیتی تریکودرما روی ریزوکتونیا

هر ایزوله تریکودرما در حاشیه ۵ پتری حاوی PDA که قبلاً قسمتی از محیط کشت آن بطول ۹ و عرض ۲ سانتیمتر حذف شده بود کشت داده شد. در طرف دیگر پتری، مقابل محل کشت تریکودرما، قطعه‌ای از محیط کشت حامل ریزوکتونیا قرار داده شد. این قارچ قبلاً از استوان سیب زمینی کاشته شده در دماوند جدا و بیماریزائی آن باثبات رسیده بود. بعد از ۵ روز

در حرارت ۲۵ درجه سانتیگراد هیف‌های هردو قارچ وارد کانال فاقد محیط کشت شده و با یکدیگر تلاقی نمودند. در این موقع باقرار دادن پتری در زیر میکروسکپ نحوه تلاقی هیف‌های هردو قارچ با بزرگتلف ۴۰× مورد بررسی قرار گرفت. سپس براساس تعداد هیف‌های ریزوکتونیا که بوسیله هیف‌های تریکودرما در کانال فاقد محیط کشت پارازیته شده بودند، ایزوله‌های تریکو درما از نظر فعالیت هیپرپارازیتی روی ریزوکتونیا با یکدیگر مقایسه و مورد ارزیابی قرار گرفتند

۳- مطالعه قدرت بازدارندگی ترشحات تریکودرما روی ریزوکتونیا

هر ایزوله تریکودرما در دوفیول ۵۰۰ میلی‌لیتری محتوی ۱۰۰ میلی‌لیتر محیط غذائی انتخابی تریکودرما بدون آگار که قبلاً استریل شده بود کشت داده شد. بعد از ۱۰ روز که فیول هادر حرارت ۲۵ درجه سانتیگراد قرار داده شدند، محتویات هر فیول ابتدا توسط کاغذ صافی و سپس توسط فیلتر میکروبیولوژیکی صاف و به میزان ۵۰ درصد در سرما و خلاء تغلیظ گردیدند. محلول بدست آمده از هر ایزوله بدو قسمت تقسیم گردید قسمت اول جهت آزمایش مقاومت به حرارت بمدت ۳ دقیقه در حمام ماری تحت تأثیر حرارت ۹۰ درجه سانتیگراد قرار داده شد و قسمت دوم بدون حرارت دادن مورد استفاده قرار گرفت. هریک از دو قسمت به نسبت‌های ۱، ۲، ۳ و ۴ درصد با محیط کشت استریل شده سه‌سری ۵ تائی پتری حاوی ۲۰ میلی‌لیتر PDA که بعد از اتوکلاو کردن هنوز حالت مایع داشت (حرارت حدود ۵۰ درجه سانتیگراد) مخلوط گردید. پس از بهم زدن پتری‌ها و سرد شدن آنها در مریز هر پتری یک پلاک از کشت ۳ روزه ریزو-کتونیا بقطر ۳ میلی‌متر کشت داده شد. پتری‌ها بمدت ۳ روز در حرارت ۲۵ درجه سانتیگراد نگهداری شدند و سپس بر اساس متوسط قطر کلنی ریزوکتونیا در پتری‌های حاوی عصاره و پتری‌های شاهد که فاقد عصاره بودند، اثر حرارت روی فعالیت ترشحات تریکودرما و همچنین اثر غلظت این ترشحات روی جلوگیری از رشد ریزوکتونیا مورد ارزیابی قرار گرفت.

۴- تکثیر تریکودرما در حجم زیاد

تکثیر تریکودرما جهت استفاده در مزرعه به روش غیر استریل صورت گرفت. برای این منظور ایزوله جدا شده از غده‌های دماوند در ۴ لوله حاوی محیط غذائی PDA که قبلاً استریل شده بودند کشت داده شد. ۵ روز بعد محتوی داخل لوله‌ها بوسیله ۲۰ میلی‌لیتر از محیط غذائی انتخابی تریکودرما که فاقد آگار و ساکارز بود شسته و در شرایط غیر استریل به دو لیتر از همین محیط غذائی اضافه گردید. بعد از بهم زدن این مخلوط محتویات فیول بدخل یک کیسه پلاستیکی به ابعاد ۸۰ × ۵۰ سانتیمتر که حاوی ۵۰ گرم کاه‌خرد شده گندم بود اضافه گردید. قسمت بالای کیسه مزبور برگردانده شد تا از تبخیر محتویات داخل کیسه کاسته شود. کیسه‌ها

بمدت ۳ هفته در حرارتی حدود ۲۸ درجه سانتیگراد نگهداری شد، بعد از این مدت محتوی کیسه ها که کاملاً بوسیله کلنی های تریکودرما پوشیده شده بود تخلیه و مورد استفاده قرار گرفت. ۵- استفاده از تریکودرما در کنترل ریزوکتونیا

در این مورد دو آزمایش بشرح زیر انجام شد:

الف- کنترل پوسیدگی جوانه های سیب زمینی ناشی از ریزوکتونیا

۶. غده سیب زمینی که دارای جوانه های سالم سفید تا مایل به سبز بطول حدود ۵ سانتیمتر بود انتخاب و پس از ضد عفونی سطحی با الکل در قسمت میانی هر جوانه زخم کوچکی بطول تقریبی یک سانتیمتر توسط سوزن سرنیزه ای استریل ایجاد گردید، سپس غده ها به سه دسته ۲. تائی تقسیم و جوانه های هر دسته به ترتیب با قرار دادن یک قطعه از محیط کشت سه روزه ریزوکتونیا، ایزوله ۲ تریکودرما و مخلوط این دو در محل زخم های تولید شده مورد تلقیح قرار گرفتند. سپس غده ها بمدت یکماه در شرایط آزمایشگاه در سه سری جعبه پلاستیکی که کف آنها کمی سنگ ریزه ریخته شده بود نگهداری شدند. درب جعبه ها بوسیله درپوش هایی که در آنها سوراخ هایی ایجاد شده بود بسته شد. پس از این مدت براساس تعداد جوانه های سالم و پوسیده اثر تریکودرما در کنترل پوسیدگی ناشی از ریزوکتونیا روی جوانه ها مورد ارزیابی قرار گرفت. ب- تأثیر تریکودرما در کنترل اسکروت روی غده و مقایسه اثر آن با اثر سه قارچ کش بنومیل تیابندازول و PCNB: ۳۶.۰۰ غده در اندازه بذری (۳۵ تا ۴۰ میلیمتر قطر) از رقم کوزیما که به حالت طبیعی دارای اسکروت ریزوکتونیا بودند انتخاب و به ۶ قسمت مساوی تقسیم شدند. سه قسمت اول به ترتیب قبل از کاشت توسط سموم PCNB بصورت غوطه ور کردن غده ها بمدت ۳ دقیقه در محلول ۵ در هزار تیابندازول ۶. و بنومیل ۵ درصد بصورت مه پاشی غده ها با ۱۰ گرم ماده تجارتي برای هر تن غده، ضد عفونی شدند. قسمت چهارم بمدت دو هفته (قبل از کاشت) تحت تأثیر تریکودرما بصورت یک کیلو مایه تهیه شده روی کاه در شرایط غیر استریل مخلوط با ۶۰۰ غده (حدود ۳ کیلو) قرار داده شد. در این مدت غده ها در پاکت های پلاستیکی و در شرایط آزمایشگاه نگهداری گردیدند. در مورد قسمت پنجم یک کیلو گرم مایه تریکودرما تهیه شده روی کاه در ۱۸۰ متر بستر غده ها قبل از کاشت مخلوط گردید (تقریباً ۰.۵ گرم در متر مربع). روی غده های مربوط به قسمت ششم بعنوان شاهد هیچ عملی صورت نگرفت. غده هایی که به این ترتیب آماده شدند در قالب یک طرح آماری بلوک های کامل تصادفی با ۶ تیمار و تکرار در دساوند کاشته شدند و عملیات داشت بطور معمول انجام گرفت پس از برداشت محصول، میزان آلودگی غده های مربوط به هر تیمار نسبت به اسکروت ریزوکتونیا براساس روش شماره گذاری تعیین گردید. به این ترتیب که عدد ۹ برای غده هایی

که نصف سطح تئوریک آنها بوسیله اسکروت پوشیده شده بود و صفر برای غده‌های فاقد اسکروت در نظر گرفته شد. سپس وزن غده‌های برداشت شده از هر تیمار مشخص و بطور آماری با یکدیگر مقایسه شدند.

نتیجه

۱- فعالیت پارازیتی تریکودرما روی ریزوکتونیا

مطالعه مستقیم تلاقی هیف‌های تریکودرما و ریزوکتونیا در حالت طبیعی مشخص کرد که کلیه ۱۰ ایزوله تریکودرما قادرند کم و بیش هیف‌های ریزوکتونیا را پارازیت نمایند. شمارش هیف‌های پارازیت شده ریزوکتونیا در کانال فاقد محیط کشت نشان داد که اختلافاتی از نظر فعالیت پارازیتی بین ایزوله‌های آزمایشی وجود دارد بطوریکه میتوان آنها را همانطور که در جدول شماره یک نشان داده شده در سه گروه: قوی، متوسط و ضعیف قرار داد. در بین آنها دو ایزوله جدا شده از غده‌های دماوند و خالک‌گرگان با پارازیت کردن ۲۸ و ۲۶ هیف در گروه قوی و بقیه در گروه‌های متوسط یا ضعیف قرار گرفتند.

۲- قدرت بازدارندگی ترشحات خارج سلولی تریکودرما روی رشد ریزوکتونیا

از این نظر نیز ایزوله‌های تریکودرما اختلافاتی با یکدیگر نشان دادند. براساس این اختلافات، همانطور که در جدول شماره ۲ نشان داده شده تنها ایزوله دماوند با ایجاد کاهشی معادل ۷۵ درصد شاهد در قطر کلنی ریزوکتونیا در گروه قوی و بقیه با کمتر از ۵۷ درصد کاهش در گروه متوسط یا ضعیف قرار گرفتند. ایزوله دماوند از نظر فعالیت پارازیتی نیز جزء ایزوله‌های قوی قرار گرفته بود، در حالیکه از نظر مقاومت ترشحات ایزوله‌ها نسبت به حرارت اختلاف قابل ملاحظه‌ای بین آنها مشاهده نشد و همگی توانستند حرارت ۹ درجه سانتیگراد را بمدت ۳ دقیقه بدون آنکه تغییر مهمی در قدرت بازدارندگی آنها بوجود آید تحمل کنند. (اعداد داخل پرانتز در جدول شماره ۲). از نظر اثر غلظت ترشحات ایزوله‌ها روی رشد ریزوکتونیا میتوان پذیرفت که تأثیر آنها روی محدود کردن رشد ریزوکتونیا رابطه مستقیم و محکمی با غلظت آنها در محیط کشت دارد (عکس شماره ۱) بطوریکه هر ۱۰ درصد افزایش غلظت، ۲۵ درصد قدرت بازدارندگی ترشحات را افزایش میدهد.

۳- اثر تریکودرما در کنترل پوسیدگی جوانه‌های سیم‌زمینی

نتایج بدست آمده نشان دادند که از ۲۰ جوانه تلقیح شده بوسیله *R. solani* ۱۸، عدد آنها بعد از ۱۵ روز علائم پوسیدگی نشان دادند، این علائم بخصوص در مورد جوانه‌های

نازک و بی‌رنگ از شدت بیشتری نسبت به جوانه‌های ضخیم و نسبتاً سبزرنگ برخوردار بودند. این تعداد در مورد جوانه‌هایی که بوسیله دو قارچ ریزوکتونیا و تریکودرما تماماً تلقیح شده بودند به ۱ عدد کاهش یافت، به این معنی که وجود قارچ تریکودرما، روی جوانه‌های تلقیح شده بوسیله ریزوکتونیا میزان پوسیدگی آنها را ۴۴٪ نسبت به جوانه‌هایی که تنها بوسیله ریزوکتونیا تلقیح شده بودند کاهش داده است. در این مورد قابل ذکر است که سه عدد از جوانه‌هایی که تنها بوسیله تریکودرما تلقیح شده بودند علائم خفیف پوسیدگی را نشان دادند که در محاسبات منظور نگردید.

۴- اثر تریکودرما و ضد عفونی غده‌ها در کنترل اسکله‌روت *R. solani* روی غده‌های سیب‌زمینی

همانطور که در جدول شماره ۳ نشان داده شده محصول غده‌هایی که دو هفته قبل از کاشت تحت تأثیر تریکودرما قرار داده شدند و همچنین آنهاییکه در بستر حاوی تریکودرما کاشته شدند از آلودگی کمتری نسبت به غده‌های شاهد برخوردار بودند (به ترتیب ۲ و ۴ درصد شاهد). میزان آلودگی در غده‌هایی که بوسیله سموم سه‌گانه بنومیل، تیابندازول و PCNB ضد عفونی شده بودند بین ۴ و ۷ درصد شاهد متغیر بود.

۵- اثر تریکودرما روی راندمان محصول سیب‌زمینی

محاسبات آماری نشان دادند که بین میزان محصول تیمارهای مربوط به ضد عفونی غده‌ها بوسیله سموم سه‌گانه، آغشتن غده‌ها به تریکودرما، اضافه کردن تریکودرما به بستر کاشت غده‌ها اختلاف معنی‌داری در سطح یک درصد برقرار است (جدول تجزیه واریانس). محاسبه LSD در سطح ۵ درصد معلوم کرد که این اختلاف مربوط است به اختلاف بین محصول تیمار شاهد (۲۷۵ کیلوگرم) و محصول تیماری که غده‌های آن دو هفته قبل از کاشت تحت تأثیر تریکودرما قرار گرفته بود (۳۶۵ کیلوگرم) این اختلاف بین شاهد و محصول تیماری که غده‌های آن بوسیله سموم بنومیل، تیابندازول و PCNB ضد عفونی شده بودند نیز برقرار است. میزان محصول این تیمارها به ترتیب ۳۲۵، ۳۷۰ و ۳۸۰ کیلوگرم تعیین گردید. در حالیکه بین میزان محصول تیمار شاهد و تیماری که غده‌های آن در بستر حاوی تریکودرما کاشته شده بودند (۲۴۰ کیلوگرم) اختلاف معنی‌داری مشاهده نگردید. به بیانی دیگر محصول تیمار شاهد و محصول غده‌هایی که در بستر حاوی تریکودرما کاشته شده بودند در یک گروه (محصول کمتر) و بقیه تیمارها در گروه دیگر قرار گرفتند (محصول بیشتر). به این ترتیب میتوان نتیجه گرفت که آغشتن غده‌ها به مایه تریکودرما در شرایط آزمایش و همچنین ضد عفونی غده‌ها با سموم ذکر شده اثر معنی‌داری در افزایش محصول سیب‌زمینی دارند.

جدا شدن تریکودرما از نمونه‌های غده و خاک مناطق مختلف نشان می‌دهد که این قارچ یکی از اجزا تشکیل دهنده میکروفلور قارچی مزارع سیب زمینی در ایران می‌باشد. روحانی و کریمی (Rouhani & Karimi 1988) سهم تریکودرما را در میکروفلور قارچی غده‌های سیب زمینی حدود ۳ درصد ذکر کرده‌اند که جمعیت پائینی بشمار میرود، ولی همانطور که نتیجه آزمایش‌ها نشان دادند جمعیت تریکودرما در خاک به تنهایی معیاری کافی برای ارزیابی اثرات کنترل کنندگی آن روی ریزوکتونیا نمی‌باشد بلکه عوامل دیگری مانند میزان فعالیت آنتاگونیستی و قدرت بازدارندگی ترشحات خارج سلولی ایزوله‌های مختلف تریکودرما نقش تعیین کننده‌ای در این مورد ایفا میکنند.

تکثیر این قارچ در شرایط استریل مانند تکثیر بسیاری دیگر از قارچ‌های خاکریزی - نسبتاً سهل و آسان است. ولی تولید انبوه آن در شرایط غیر استریل درخور توجه است زیرا در شرایطی که امکانات لازم جهت تولید صنعتی این قارچ وجود نداشته باشد استفاده از محیط‌های غیر استریل میتواند زمینه‌ای باشد برای تهیه مایه مورد نیاز بصورت نیمه صنعتی و بکار بردن آن در سطح مسزرعه. از این روش هم اکنون بسیاری از کشاورزان فرانسه در تهیه تریکودرمای مورد نیاز خود استفاده میکنند (مشاهدات شخصی). برای بالا بردن محصول غده‌هایی که بمدت دو هفته در شرایط آزمایشگاه تحت تأثیر تریکودرما قرار گرفته بودند میتوان دلایل زیر را ارائه داد.

الف- قارچ تریکودرما در شرایط حرارتی و رطوبتی مناسب برای مدتی نسبتاً طولانی با اسکروت‌های موجود روی غده‌های سیب زمینی در تماس بوده و توانسته بخوبی روی آنها تثبیت شود و آنها را از بین ببرد، زیرا بالا بودن محصول همراه با کاهش چشم گیر تعداد اسکروت‌های موجود روی غده‌های برداشتی بوده است.

ب- قارچ تریکودرما در مدت دو هفته‌ای که باغده‌ها در تماس بوده توانسته بخوبی روی غده‌ها و اسکروت‌های موجود روی آنها تثبیت شود و همراه آنها وارد خاک گردد. در خاک ضمن تأثیر بر میکروفلور ریزوسفر و ریزوپلان بوته‌ها و همچنین تأثیر بر ترکیب غذایی خاک اطراف ریشه‌ها بوسیله ترشحات خود، شرایط مناسبی را جهت تحریک جوانه‌ها و تغذیه بهتر بوته‌ها فراهم کرده. این موضوع در کارهای بیکر و همکاران (Baker et al., 1989) و همچنین پیغامی و نیشابوری (Payghami & Neishaboury, 1990) در محصولات مختلف مورد تأیید قرار گرفته. در حالتی که تریکودرما به بستر کاشت غده‌ها اضافه گردید، بنظر میرسد که جمعیت تریکودرما در محوطه ریزوسفر و ریزوپلان بوته‌ها باندازه‌ای نرسیده که بتواند رشد بوته‌ها و در نتیجه

میزان محصول را تحت تأثیر قرار دهد (۰.۵ گرم مایه تهیه شده روی کاه در هر مترمربع). در کارهایی که توسط داوه (Davet, 1983) روی *T. harzianum* صورت گرفته از این قارچ به میزان ۰.۵ گرم تا ۲ کیلوگرم مایه تهیه شده روی کاه برای هر متر مربع استفاده شده. این مقدار تقریباً ۱. تا ۴ برابر بیشتر از میزانی است که در آزمایش فوق بکار رفته. از این گذشته بنظر میرسد که زمان کافی نیز برای تثبیت تریکودرما در خاک و در نتیجه تأثیر بر رشد گیاه وجود نداشته زیرا مایه تریکودرما درست قبل از کاشت غده ها وارد خاک گردید بنابراین نمی توانسته جمعیت آن در شرایط مزرعه تا زمان غده ریزی بوته ها باندازه ای بالا رود که میکروفلور و هم چنین رشد گیاه را تحت تأثیر قرار دهد. این حالت نمیتواند بطور کامل در مورد تشکیل اسکلروت ها روی غده صادق باشد، زیرا اسکلروت ریزوکتونیا عموماً در اواخر دوره رشد غده ها تشکیل میشود و در نتیجه فرصت کسافی برای تثبیت تریکودرما و افزایش جمعیت آن در خاک وجود داشته بخصوص اینکه در اواخر رشد بوته ها شرایط حرارتی و رطوبتی خاک برای فعالیت و رشد جمعیت تریکودرما مناسب تر میشود.

جدول ۱- مقایسه فعالیت پارازیتی ۱۰ ایزوله *Trichoderma* روی *R. solani* در شرایط *in vitro*

Table 1- The comparison of the parasitic activity of 10 isolates of *Trichoderma* on *R. solani* *in vitro*

isolate No.	source of isolate	origin of isolate	No. of hyphae parasited (1)	parasitic activity(2)
1- <i>T. viride</i>	tuber	Hamedan	8	weak
2- <i>T. harzianum</i>	«	Damavand	28	strong
3- <i>T. harzianum</i>	«	Toyserkan	9	weak
4- <i>T. harzianum</i>	«	Gorgan	6	weak
5- <i>T. harzianum</i>	soil	Tehran	12	moderate
6- <i>T. viride</i>	soil	Tehran	9	weak
7- <i>T. viriele</i>	«	Hamedan	16	moderate
8- <i>T. harzianum</i>	«	Damavand	17	moderate
9- <i>T. harzianum</i>	«	Gorgan	26	strong
10- <i>T. harzianum</i>	«	Toyserkan	4	weak

- (1)- The average No. of *Rhizoctonia* hyphae parasited in the canal (length 9 cm. width 2 cm.) devoid of culture medium in 5 petri dishes.
- (2)- Weak, moderate, and strong effects respectively demonstrate less than 10, between 10 and 20, and more than 20 average *Rhizoctonia* hyphae Parasited in the canal devoid of culture medium in 5 petri dishes.

(۱) - متوسط تعداد هیف‌های پارازیت شده ریزوکتونیا در کانال تخلیه شده از محیط کشت به طول ۹ و عرض ۲ سانتیمتر

(۲) - ضعیف، متوسط و قوی به ترتیب نشان دهنده تعداد هیف‌های پارازیت شده کمتر از ۱۰، بین ۱۰ و ۲۰ و بیشتر از ۲۰ عدد در کانال تخلیه شده از محیط کشت پتری دیش است

جدول ۲- مقایسه اثر بازدارندگی ترشحات خارج سلولی ۱۰ ایزوله *Trichoderma* روی *R. solani* در شرایط *in vitro*

Table 2- The comparison of the inhibitory effect of the exudates of 10 isolates of *Trichoderma* on *R. solani* *in vitro*.

isolate No.	source of isolate	origin of isolate	%reduction in <i>R. solani</i> growth (1)	inhibitory effect (2)
1- <i>T. viride</i>	tuber	Hamedan	48 (46)*	moderate
2- <i>T. harzianum</i>	«	Damavand	75 (75)	strong
3- <i>T. harzianum</i>	«	Toyserkan	51 (53)	moderate
4- <i>T. harzianum</i>	«	Gorgan	53 (52)	moderate
5- <i>T. harzianum</i>	soil	Tehran	30 (31)	weak
6- <i>T. viride</i>	«	Tehran	32 (32)	weak
7- <i>T. viride</i>	«	Hamedan	49 (46)	moderate
8- <i>T. harzianum</i>	«	Damavand	50 (45)	moderate
9- <i>T. harzianum</i>	«	Gorgan	57 (51)	moderate
10- <i>T. harzianum</i>	«	Toyserkan	48 (41)	moderate

(1)- Average percentage of reduction in colony diameter of *R. solani* three days after culture in 5 petri dishes containing 30 % of the exudate as compared with the control.

(2)- Weak, moderate, and strong effects respectively demonstrate less than 40 % between 40% and 60 % and more than 60% reduction in colony diameter in the petri dishes containing the exudate as compared with the control

* -The figures in parantheses demonstrate the percentage of reduction of colony growth as compared with the control when the exudates are heated in 90°C. for 30 minutes.

(۱)- متوسط درصد کاهش قطر کلنی *R. solani* نسبت به شاهد ۳ روز بعد از کشت در ۵ پتری دیش حاوی ۳۰ درصد ترشحات تربکودریما.

(۲)- متوسط، ضعیف و قوی بترتیب نشان دهنده درصد کاهش قطر کلنی ریزوکتونیا کمتر از ۴۰ درصد، بین ۴۰ و ۶۰ درصد نسبت به شاهد است.

* وقتی ترشحات بمدت ۳ دقیقه در حرارت ۹۰ درجه سانتیگراد قرار داده شوند.

جدول ۳- اثر قارچ *Trichoderma harzianum* و سه قارچ کش بنومیل ، تیابندازول و PCNB روی میزان آلودگی غده‌های سیب زمینی برداشت شده نسبت به اسکروت *R. solani* و روی میزان محصول هر تیمار.

Table 3 - The effect of *Trichoderma* and three fungicides Benomyl , Thiabendazol and PCNB on the rate of contamination of the harvested tubers to sclerotia of *R. solani*, and the treatment yields.

Treatment	Benomyl	Thiabendazol	PCNB	<i>Trichoderma</i> in soil	<i>Trichoderma</i> on tuber	control
Contamination, yield						
Scale of tuber contamination (1)	3.5	3.2	3.5	2.1	1.2	5
% contamination	70	64	70	42	24	100
Treatment yield (kg.)	325	370	380	240	365	275

(1)-The scale of 9 for tubers with half of their theoretical total surface covered with sclerotia of *R. solani* and the scale of 0 for tubers with no contamination

(۱)- ۹ برای غده‌هایی در نظر گرفته شده که نصف سطح تثوریک غده بوسیله اسکروت *R. solani* پوشانده شده و صفر برای غده‌هایی که فاقد آلودگی به اسکروت میباشند.

جدول تجزیه واریانس

Analysis of variance table

Source	df	SS	MS	F
Blocks	3	36	12	
Treatments	5	4093	819	6.82**
Error	15	1795	120	
Total	23	5924		

نشانی نگارندگان:

دکتر حمید روحانی- گروه گیاهپزشکی دانشکده کشاورزی دانشگاه بوعلی سینا
مهندس علیرضا کریمی و فاطمه نوعپرست- بخش تحقیقات بیماریهای گیاهان، مؤسسه
تحقیقات آفات و بیماریهای گیاهی، صندوق پستی ۱۴۵۴، تهران ۱۹۳۹۵.