بسم الله الرحمن الرحیم

دانشگاه کردستان

دانشکده کشاورزی

گروه گیاه‌پزشکی

عنوان:

مطالعه‌ی تاکسونومیکی گونه‌های تریکودرما در استان کردستان

پژوهشگر:

مژگان روغنیان

اساتید راهنما:

دکترجهانشیر امینی
دکتر دوستمراد ظفری

استاد مشاور:

دکتر جعفر عبداله زاده

پایان نامه کارشناسی‌ارشد رشته گیاه‌پزشکی گرایش بیماری شناسی گیاهی

اسفند ماه ۱۳۹۰

کلیه حقوق مادی و معنوی مرتبط بر نتایـج مطالعات،

ابتکارات و نوآوری‌های ناشی از تحقیق موضوع

این پایان‌نامه (رسـاله) متعلق به دانشـگاه کردستان است.

تعهد نامه

اینجانب مژگان روغنیان دانشجوی کارشناسی ارشد رشته مهندسی کشاورزی-گیاهپزشکی گرایش بیماری‌شناسی‌گیاهی دانشگاه کردستان، دانشکده کشاورزی گروه گیاهپزشکی تعهد می‌نماییم که محتوای این پایان نامه نتیجه تلاش و تحقیقات خود بوده و از جایی کپی‌برداری نشده و به پایان رسانیدن آن نتیجه تلاش و مطالعات مستمر اینجانب و راهنمایی و مشاوره اساتید بوده است.

با تقدیم احترام

مژگان روغنیان

۱۳۹۰/۱۲/ ۷

این مجموعه تحفه ای است بسیار ناچیز

تقدیم به

استان زیبای کردستان

واکنون بهانه ایست کوچک برای قدردانی از:

پدر و مادر عزیزم، یگانه فرشته های زمینی ام، استادانی که درس تلاش و پشتکار را

از آنها آموختم.

سپاسگزاری

برگ درختان سبز در نظر هوشیار

هر ورقش دفتریست معرفت کردگار

سپاس خداوندی را که سخنوران از ستودن او عاجزند و حسابگران از شمارش نعمت های او ناتوان و تلاشگران از ادای حق او درمانده اند. خدایی که انگار ژرف اندیش، ذات او را درک نمی کنند و دست غواصان دریای علوم به او نخواهد رسید. بی شک، هر چه دارم از اوست.

از استاد راهنمای اول ارجمندم، **جناب آقای دکتر جهانشیر امینی** به دلیل حمایت های مادی و معنوی، تشویق ها، دلسوزی های ایشان و فراهم آوردن شرایط انجام پژوهش، صمیمانه تشکر و قدردانی می نمایم.

از استاد راهنمای دوم ارجمندم، **جناب آقای دکتر دوستمراد ظفری** به خاطر ایده در طول دوران تحصیل افتخار شاگردی ایشان را داشتم، رهنمودهای ارزنده ایشان، نظارت دقیق و مستمر در تمامی مراحل انجام این پژوهش از تأیید تشخیص های مورفولوژیکی و مولکولی تا آنالیز نتایج و همچنین در طول دوران تحصیلی ام برخوردار بوده ام، صمیمانه تشکر و قدردانی می نمایم.

از استاد مشاور محترم، **جناب آقای دکتر جعفر عبداله زاده** به خاطر نظارت دقیق و کمک های شایان توجه از تدوین پروپوزال تا پایان نامه با کمال دقت، مهربانی و دلسوزی، صمیمانه ممنون و سپاسگزارم.

از اساتید محترم، **جناب آقای دکتر بهروز حریقی** و **جناب آقای دکتر مهیار شیخ الاسلامی** که زحمت داوری این پایان نامه را قبول فرمودند، تشکر و قدردانی می نمایم.

از ریاست محترم دانشکده کشاورزی **جناب آقای دکتر بهمن بهرام نژاد** صمیمانه تشکر و قدردانی می نمایم.

از **جناب آقای دکتر خبات وهابی** از دانشکده داروسازی و زیست شناسی آلمان که دلسوزانه در طول دوران تحصیلی ام از وجود علمی شان بهره بردم، بی نهایت سپاسگزارم.

از راهنمایی ها و کمک های ارزشمند **سرکار خانم دکتر ارینا درزینینا** از دانشکده مهندسی شیمی اتریش در طول دوران پژوهش، سپاسگزارم.

از کارشناسان محترم آزمایشگاه بیماری شناسی گیاهی سرکار خانم **لادن مقبل**، آزمایشگاه خاکشناسی سرکار خانم **فریبا گل محمدی** و آزمایشگاه بیوتکنولوژی سرکار خانم **پگاه شهیدی** که در تمام مراحل این پژوهش همراهم بودند و یاریم کردند، صمیمانه سپاسگزارم.

از بخش آزمایشگاه بیماری شناسی گیاهی استان کردستان جهت انجام مراحل آزمایشگاهی این پژوهش و فراهم آوردن امکانات لازم، تشکر و قدردانی می کنم.

از اعضاء خانواده ام که در تمام مراحل زندگی و تحصیلی، پشتیبان من بودند، بی نهایت سپاسگزارم.

از دوستان بسیار مهربان و بزرگوارم صمیمانه تشکر و قدردانی می نمایم.

از خدمتگزاران و نگهبانان محترم دانشکده کشاورزی که دلسوزانه مرا در این پژوهش یاری کردند، صمیمانه ممنون و سپاسگزارم.

سعادت، سلامت و موفقیت روز افزون همه این عزیزان را از درگاه خداوند متعال خواستارم.

مژگان روغنیان

اسفند ۱۳۹۰

چکیده:

گونه‌های *Trichoderma* دارای پراکنش جهانی، خاک‌زی و قادر به رشد روی بقایای گیاهی هستند و غالباً در مناطق مختلف، موجودات غالب میکروفلور خاک هستند. تا کنون ۲۹ گونه تریکودرما از ایران شناسایی شده است. در این تحقیق نمونه‌برداری از خاک، چوب‌های افتاده و سایر مواد گیاهی مناطق مختلف استان کردستان صورت گرفت و در مجموع بیش از ۵۲۰ جدایه تریکودرما جمع آوری و مورد بررسی قرار گرفت. براساس نتایج مطالعات مورفولوژیکی این جدایه‌ها متعلق به سه بخش *Longibrachiatum*، *Pachybasium* و *Trichoderma* بودند. از این میان بخش‌های *Longibrachiatum*، *Pachybasium* و *Trichoderma* به ترتیب ۷۰، ۱۵۰ و ۳۰۰ جدایه را به خود اختصاص داده است. به منظور شناسایی جدایه‌ها در سطح گونه، نرخ رشد جدایه در محیط‌های کشت و دماهای مختلف، مشخصات ماکروسکوپی و مشخصات میکروسکوپی آنها از جمله شکل و اندازه کنیدیوم، کنیدیوفور، فیالید، کلامیدوسپور، ریسه‌های هوایی و ریسه‌های داخل محیط کشت مورد بررسی و مطالعه قرار گرفت. اکثر جدایه‌ها براساس خصوصیات مورفولوژیکی تا حدود زیادی تشخیص داده شدند. پس از غربال جدایه‌ها بر اساس مطالعات مورفولوژیکی، تعداد شش جدایه که ویژگی‌های مورفولوژیکی آنها با گونه‌های گزارش شده متفاوت بود برای مطالعات مولکولی انتخاب شدند. نواحی ITS1، ITS2 و ژن 5.8S از DNA ریبوزومی، ژن *Tef* 1 و ژن (*Chit 18-5*) *Chit* 42 شش جدایه مذکور تعیین توالی گردید. در مجموع ۱۰ گونه شناسایی شدند که چهار گونه‌ی *T. citrinoviride*، *T. longibrachiatum*، *T. saturnisporum* و *Trichoderma* sp. به بخش *Longibrachiatum*، سه گونه‌ی *T. arundinaceum*، *T. brevicompactum* و *T. virens* به بخش *Pachybasium* و سه گونه‌ی *T. asperellum*، *T. atroviride* و *T. harzianum* به بخش *Trichoderma* تعلق داشتند. نتایج این تحقیق نشان می‌دهد که در استان کردستان بیشترین جدایه‌ها مربوط به گونه *T. harzianum* و سپس گونه‌های *T. virens*، *T. longibrachiatum*، *T. saturnisporum* و *T. citrinoviride* به ترتیب بیشترین فراوانی را داشتند. جدایه‌های شناسایی شده تحت عنوان *Trichoderma* sp. از بخش *Longibrachiatum* براساس مشاهدات مورفولوژیکی و مولکولی با هیچ‌کدام از گونه‌های توصیف شده تریکودرما در منابع مطابقت نداشتند و احتمالاً نماینده آرایه‌ی جدیدی برای این جنس در جهان می‌باشد.

واژه‌های کلیدی: تریکودرما، تاکسونومی، ITS، *Tef* 1، *Chit* 42.

فهرست مطالب

عنوان **صفحه**

فصل اول (مقدمه) ۱

۱-۱- طبقه بندی و معرفی جنس تریکودرما..... ۲

۱-۲- اهمیت جنس تریکودرما..... ۲

۱-۳- شرایط آب و هوایی نواحی استان کردستان و ارتباط آن با جنس تریکودرما..... ۴

۱-۴- اهداف تحقیق..... ۵

فصل دوم (تاریخچه و پیشینه تحقیق) ۶

۲-۱- توصیف جنس تریکودرما..... ۷

۲-۲- تاریخچه مطالعات ریخت شناسی..... ۱۱

۲-۳-تلئومورف..... ۱۴

۲-۴-تاریخچه مطالعات مولکولی..... ۱۵

۲-۵- تعداد گونه ها..... ۲۴

۲-۶- مطالعات انجام شده در ایران..... ۲۴

فصل سوم (مواد و روش ها) ۲۷

۳-۱- جمع‌آوری نمونه‌ها و جداسازی نمونه های تریکودرما..... ۲۸

۳-۲-محیط کشت های مورد استفاده..... ۳۳

۳-۲-۱- محیط کشت سیب زمینی- دکستروز- آگار (PDA)..... ۳۳

۳-۲-۲- محیط کشت مالت-آگار(MA)..... ۳۳

۳-۲-۳- محیط کشت آرد ذرت- آگار (CMA)..... ۳۳

۳-۲-۴- محیط کشت آرد ذرت- دکستروز- آگار (CMD)..... ۳۳

۳-۲-۵- محیط کشت SNA..... ۳۳

۳-۲-۶- محیط کشت اصلاح شده الاد وخت..... ۳۴

۳-۲-۷- محیط کشت آب- آگار (WA)..... ۳۴

۳-۳- خالص سازی جدایه های قارچی..... ۳۴

۳-۳-۱- روش نوک هیف ۳۴
۳-۴- نگهداری جدایه های قارچی ۳۵
۳-۵- بررسی های ریخت شناسی ۳۵
۳-۵-۱- بررسی ویژگی های ظاهری ۳۵
۳-۵-۲- بررسی ویژگی های میکروسکوپی ۳۵
۳-۶- بررسی های مولکولی ۳۶
۳-۷- مواد و محلول های مورد نیاز در مطالعات مولکولی ۳۶
۳-۷-۱- محلول ۰/۵ مولار Tris – HCL pH 8.0 ..... ۳۶
۳-۷-۲- محلول ۰/۵ مولار EDTA ۳۶
۳-۷-۳- محلول کلرید سدیم ۰/۵ مولار ۳۶
۳-۷-۴- محلول SDS ۱۰٪ ۳۷
۳-۷-۵- تهیه بافر TBE (۵ X) ۳۷
۳-۷-۶- تهیه بافر نمونه گذاری (برای استفاده در ژل آگاروز) ۳۷
۳-۷-۷- تهیه اتیدیوم بروماید (۱ mg/l) ۳۷
۳-۸- استخراج DNA ژنومی ۳۷
۳-۸-۱- استخراج DNA با روش اصلاح شده چن و همکاران ۳۸
۳-۸-۲- استخراج DNA با روش موتومیناکشی ۳۸
۳-۹- تعیین کمیت و کیفیت DNA ۳۹
۳-۹-۱- روش اسپکتروفتومتری ۳۹
۳-۹-۲- الکتروفورز ژل آگاروز ۴۰
۳-۱۰- تنظیم شرایط برای PCR با استفاده از آغازگرهای اختصاصی ۴۰
۳-۱۰-۱- آغازگرها ۴۳
۳-۱۱- تعیین توالی نواحی ITS1، ITS2 و ژن 5.8S ۴۳
۳-۱۱-۱- تجزیه و تحلیل توالی نواحی ITS1، ITS2، ژن 5.8S، ژن *tef* 1 و ژن *ech*42 ..... ۴۳

فصل چهارم (نتایج و بحث) ۴۵
۴-۱- بررسی های مورفولوژیکی ۴۶
۴-۱-۱- بخش *Longibrachiatum* ۴۷
Trichoderma citrinoviride ۴۸
Trichoderma longibrachiatum ۵۲
Trichoderma saturnisporum ۵۶
Trichoderma sp. ۶۰
۴-۱-۲- بخش *Trichoderma* ۶۷
Trichoderma asperellum ۶۷
Trichoderma atroviride ۷۱
Trichoderma harzianum ۷۵
۴-۱-۳- بخش *Pachybasium* ۸۱
Trichoderma arundinaceum ۸۱
Trichoderma brevicompactum ۸۵
Trichoderma virens ۸۸
۴-۲- آزمون دمایی ۹۲
۴-۲-۱- آزمون دمایی بخش *Longibrachiatum* ۹۲
۴-۳- بررسی‌های مولکولی ۹۷
۴-۳-۱- توالی یابی ۹۸
۴-۳-۱-الف- توالی نواحی ITS1، ITS2 و ژن 5.8S ۹۸
- تجزیه و تحلیل نتایج تعیین توالی ITS1، ITS2 و ژن 5.8S ۱۰۲
۴-۳-۱- ب) توالی ژن α-1 *Tef* ۱۰۵
- تجزیه و تحلیل نتایج تعیین توالی ژن α-1 *Tef* ۱۰۵
۴-۳-۱- ج) توالی ژن *ech42* ۱۰۷

- تجزیه و تحلیل نتایج تعیین توالی ژن *ech42*..... ۱۰۷
فصل پنجم (نتیجه‌گیری کلی)..... ۱۱۰
پیشنهادات..... ۱۱۱
منابع و مآخذ..... ۱۱۳
چکیده انگلیسی..... ۱۲۲

فهرست جداول

عنوان **صفحه**

جدول ۳-۱- محل جمع آوری نمونه های خاک و وضعیت زراعی آن ها هنگام نمونه برداری از مناطق مختلف استان کردستان ۲۹

جدول ۳-۲- مواد و مقدار لازم برای تهیه محلول پایه آغازگرهای ITS1، ITS4، α-1 *Tef* و *ech42*..... ۴۱

جدول ۳-۳- مواد و مقدار لازم برای تهیه محلول پایه آغازگرهای ITS1، ITS4 ..... ۴۱

جدول ۳-۴- زمان و دمای لازم جهت انجام مراحل مختلف PCR برای آغازگر α-1 *Tef*..... ۴۲

جدول ۳-۵- زمان و دمای لازم جهت انجام مراحل مختلف PCR برای آغازگر ITS1 –ITS4..... ۴۲

جدول ۳-۶- زمان و دمای لازم جهت انجام مراحل مختلف PCR برای آغازگر *ech42*..... ۴۲

جدول ۳-۷- نام و توالی آغازگرهای اختصاصی استفاده شده در آزمایش..... ۴۳

جدول ۴-۱- فهرست گونه های تریکودرما شناسایی شده در این تحقیق..... ۴۷

جدول ۴-۲- خلاصه تفاوت گونه *Trichoderma* sp. با سایر گونه های بخش *Longibrachiatum*..... ۶۲

جدول ۴-3- خلاصه خصوصیات مهم جدایه های برگزیده از بخش *Longibrachiatum*..... ۹۳

جدول ۴-۴- درصد GC و هر یک از نوکلئوتیدها در توالی ITS1، ITS2 و ژن 5.8S جدایه های مورد بررسی و توالی های گرفته شده از بانک ژن با استفاده از نرم افزار GeneDoc..... ۱۰۰

جدول ۴-۵- فهرست نام گونه های به کار رفته در این بررسی که توالی ITS آن ها از بانک ژن(NCBI) دریافت شده است..... ۱۰۱

جدول ۴-۶- فهرست نام گونه های به کار رفته در این بررسی که توالی ژن *Tef 1* آن ها از بانک ژن(NCBI) دریافت شده است..... ۱۰۴

جدول ۴-۷- فهرست نام گونه های به کار رفته در این بررسی که توالی ژن *Chit42* آن ها از بانک ژن(NCBI) دریافت شده است..... ۱۰۷

فهرست اشکال

عنوان **صفحه**

شکل ۴-۱- *T. citrinoviride* a. پرگنه روی محیط CMD b. پرگنه روی محیط PDA c، d.کنیدیوفورها و فیالیدها e،f. کنیدیوم ها..... ۵۰

شکل ۴-۲- تصاویر *T. citrinoviride* ترسیم شده با لوله ترسیم a. کنیدیوفورها و فیالیدها b. کنیدیوم‌ها..... ۵۱

شکل۴-۳- *T. longibrachiatum* a. پرگنه روی محیط CMD b. پرگنه روی محیط PDA c، d. کنیدیوفورها وفیالیدها e، f. کنیدیوم‌ها..... ۵۴

شکل۴-۴- تصاویر *T. longibrachiatum* ترسیم شده با لوله ترسیم a. کنیدیوفورها و فیالیدها b. کنیدیوم‌ها.... ۵۵

شکل ۴-۵- *T. saturnisporum* a. پرگنه روی محیط CMD b. پرگنه روی محیط PDA c، d.کنیدیوفورها و فیالیدها e،f. کنیدیوم ها..... ۵۸

شکل ۴-۶- تصاویر *T. saturnisporum* ترسیم شده با لوله ترسیم a. کنیدیوفورها و فیالیدها b. کنیدیوم‌ها..... ۵۹

شکل ۴-۷- تصاویر *Trichoderma* sp. a. پرگنه روی محیط CMD b. پرگنه جدایه بانه روی محیط PDA c. پرگنه جدایه سلین روی محیط PDA d. پرگنه جدایه بانه روی محیط MA e, f. جداسازی شده از روی *T.* sp. پوسته بلوط زیر بینوکولار..... ۶۴

شکل ۴-۸- *Trichoderma* sp. a، b، c. کنیدیوفورها و فیالیدها d، e، f. سرهای استریل g، h. کنیدیوم ها..... ۶۵

شکل ۴-۹- *Trichoderma* sp. ترسیم شده با لوله ترسیم a. کنیدیوفورها و فیالیدها b. کنیدیوم‌ها..... ۶۶

شکل ۴-۱۰- *T. asperellum* a. پرگنه جدایه پیازچه روی محیط PDA b. پرگنه جدایه بادمجان روی محیط PDA c، d. کنیدیوفورها و فیالیدها e، f. کنیدیوم‌ها..... ۶۹

شکل ۴-۱۱- تصاویر *T. asperellum* ترسیم شده با لوله ترسیم a. کنیدیوفورها و فیالیدها b. کنیدیوم‌ها..... ۷۰

شکل ۴-۱۲- *T. atroviride* a، b. پرگنه دو جدایه مختلف روی محیط کشت PDA ۷۲

شکل ۴-۱۳- *T. atroviride* a، b . کنیدیوفورها و فیالیدها c، d. کلامیدوسپور e، f . کنیدیوم‌ها..... ۷۳

شکل ۴-۱۴-تصاویر *T. atroviride* ترسیم شده با لوله ترسیم a. کنیدیوفورها و فیالیدها b. کنیدیوم‌ها c. کلامیدوسپور..... ۷۴

شکل ۴-۱۵- *T. harzianum* a، b، c، d، e، f. تصاویر پرگنه جدایه‌های مختلف روی محیط کشت CMD... ۷۷

شکل ۴-۱۶- *T. harzianum* a، b، c، d. تصاویر پرگنه جدایه‌های مختلف روی محیط کشت PDA..... ۷۸

شکل ۴-۱۷- *T. harzianum* a، b. کنیدیوفورها وفیالیدها c، d. کنیدیوم‌ها..... ۷۹

شکل ۴-۱۸- تصاویر *T. harzianum* ترسیم شده با لوله ترسیم a. کنیدیوفورها و فیالیدها b. کنیدیوم‌ها..... ۸۰

شکل ۴-۱۹- *T. arundinaceum* a. پرگنه جدایه نعناع از مرز باشماق روی محیط CMD b. پرگنه جدایه نعناع از سرو آباد روی محیط CMD c، d. کنیدیوفورها و فیالیدها e، f. کنیدیوم‌ها..... ۸۳

شکل ۴-۲۰- تصاویر *T. arundinaceum* ترسیم شده با لوله ترسیم a. کنیدیوفورها و فیالیدها b. کنیدیوم ها ۸۴

شکل ۴-۲۱- *T. brevicompactum* a. پرگنه روی محیط MA b. پرگنه روی محیط CMD c. جوش کنیدیومی d، eکنیدیوفورها و فیالیدها f. کنیدیوم ها..... ۸۶

شکل ۴-۲۲- تصاویر *T. brevicompactum* ترسیم شده با لوله ترسیم a. کنیدیوم‌ها b. کنیدیوفورها و فیالیدها ۸۷

شکل ۴-۲۳- *T. virens* a. پرگنه روی محیط CMD b. پرگنه روی محیط PDA a، b کنیدیوم ها c، d. کنیدیوفورها و فیالیدها..... ۹۰

شکل ۴-۲۴- تصاویر *T. virens* ترسیم شده با لوله ترسیم a. کنیدیوم‌ها b. کنیدیوفورها و فیالیدها ۹۱

شکل ۴-۲۵- تصویر مربوط به الکتروفورز نواحی تکثیر شده ITS1، ITS2 و ژن 5.8s نمونه های مورد استفاده در بررسی های مولکولی روی ژل ۱ درصد محصول نهایی PCR..... ۹۷

شکل ۴-۲۶- تصویر مربوط به الکنروفورز نواحی تکثیر شده *tef*1 و *ech*42 نمونه های مورد استفاده در بررسی های مولکولی روی ژل ۱ درصد محصول نهایی PCR..... ۹۸

شکل ۴-۲۷- Alignment قسمتی از توالی نواحی ITS1، ITS2 و ژن 5.8S با استفاده از نرم افزار GeneDoc ۹۹

شکل ۴-۲۸- کلادوگرام حاصل از تعیین توالی نواحی ITS1، ITS2 و ژن 5.8S با استفاده از نرم افزار TreeCon با هزار Bootstrap..... ۱۰۳

شکل ۴-۲۹- کلادوگرام حاصل از ژن *tef* 1 با استفاده از نرم افزار TreeCon با هزار Bootstrap..... ۱۰۶

شکل ۴-۳۰- کلادوگرام حاصل از ژن *chit*42 با استفاده از نرم افزار TreeCon با هزار تکرار Bootstrap..... ۱۰۸

فصل اول

مقدمه

فصل اول

مقدمه

۱-۱- طبقه‌بندی و معرفی جنس تریکودرما

در حدود ۱۵۰ آرایه[1] از تریکودرما تاکنون توصیف شده است (Samuels & Druzhinina, 2006). اگرچه براساس تعدادی از آرایه‌های توصیف شده از راسته Hypocreales با مورفولوژی آنامورف تریکودرما، تعداد واقعی گونه‌ها متجاوز از ۲۰۰ گونه تخمین زده می‌شود (Samuels, 1996). رابطه اغلب جدایه‌های تریکودرما با فرم جنسی آنها مشخص نشده است و اعتقاد بر این است که میتوتیک[2] و کلونال[3] باشند. در سال‌های اخیر تعدادی تلئومورف در جنس *Hypocrea* Fr. با آنامورف‌های تریکودرما مرتبط شده‌اند (Gams & Bissett, 1998).

جنس تریکودرما و تلئومورف آن هیپوکرآ متعلق به شاخه Ascomycota، زیر شاخه Pezizomycotina، رده Sordariomycetes، راسته Hypocreales و خانواده Hypocreaceae می‌باشد (Lumbsch & Huhndorf, 2007).

۱-۲- اهمیت جنس تریکودرما

قارچ‌ها منابع شیمیایی فوق‌العاده با ارزشی مثل آنتی‌بیوتیک‌های مختلف هستند و هم‌چنین به عنوان عوامل کنترل بیولوژیک پتانسیل خوبی برای مهار بیماری‌ها دارند.

تحقیقات سال‌های اخیر نشان می‌دهد که گونه‌های جنس تریکودرما، همزیست‌های گیاهی غیر بیماری‌زا و مفیدی هستند که به خوبی از طریق مکانیسم‌های رقابت و تسخیر فراریشه[4]، میکوپارازیتیسم، تولید آنتی‌بیوتیک و آنزیم، القاء پاسخ‌های دفاعی در گیاه و تحریک رشد گیاهی روی اکثر عوامل بیماری‌زای قارچی در گیاهان به ویژه در فراریشه، تأثیرات بیوکنترلی دارند.

---

[1] Taxon
[2] Mitotic
[3] Clonal
[4] Rhizosphere

تریکودرما کربن و نیتروژن مورد نیاز خود را از منابعی مانند مونوساکارید، پورین‌ها، پیریمیدین‌ها، آمینواسیدها، تانن‌ها، آلدئیدها، اسیدهای‌آلی، متانول و متیل‌آمین و نمک‌های اسید فرمیک تأمین می‌کند. مهم ترین منبع نیتروژن مورد استفاده توسط این جنس آمونیوم می باشد. اکثر گونه‌های تریکودرما در خاک‌هایی با رطوبت بالا یافت می‌شوند، اگرچه استثنائاتی نیز در خاک‌هایی با رطوبت پایین پیدا شده است (ایوبی، ۱۳۸۹).

گونه‌های تریکودرما به دلیل سرعت رشد زیاد و تولید اسپور، قدرت ساپروفیتی بالایی دارند و خاک را به سرعت اشغال و در خاک‌هایی با اسیدیته ۶/۵ و یا کمتر از آن به حالت بسیار فعال هستند (Cook & Baker, 1983).

اکثر گونه‌های تریکودرما آنتاگونیست[1] تعدادی از قارچ‌های بیمارگر خاک‌زاد هستند و به دلیل موفقیت آنها در این زمینه امروزه به طور وسیع و به عنوان مهم‌ترین عامل قارچی در کنترل بیولوژیک مورد توجه قرار گرفته‌اند (Papavizas, 1985., Mukerji & Gary, 1988., Hornby, 1990., Tjamos, *et al*., 1992). این قارچ‌ها هم‌چنین قادر به تولید آنزیم‌های هیدرولیتیک[2] به ویژه سلولاز، مواد بیوشیمیایی و آنتی‌بیوتیک‌های مفید هستند و بعضی از آنها آفت‌کش‌های کلره را تجزیه می‌کنند (ظفری، ۱۳۸۲). هم‌چنین از برخی گونه‌های تریکودرما نیز در صنایع غذایی و نساجی استفاده می‌شود (Domsch *et al*., 1980). گونه‌های خاصی یا جدایه‌های معینی از برخی گونه‌های تریکودرما به قارچ‌های خوراکی حمله کرده، در کلنیزه کردن کمپوست با آنها رقابت می‌کنند و موجب ایجاد بیماری کپک سبز روی قارچ خوراکی شده و از این‌رو موجب خسارت و کاهش محصول در صنعت قارچ خوراکی می‌گردند (وهابی، ۱۳۸۳).

گونه‌های تریکودرما به طور معمول به عنوان عامل بیماری در انسان شناخته نشده‌اند ولی گزارش‌هایی وجود دارد که بعضی از گونه‌ها در شرایط خاص ممکن است ایجاد بیماری کنند، به عنوان مثال *Trichoderma viride* و *T. longibrachiatum* در بیماران دیالیزی در شرایط بغرنج بیماری، موجب آلودگی می‌گردند. هم‌چنین گونه‌های *T. viride*، *T. longibrachiatum* و *T. pseudokoningii* در افرادی که سیستم ایمنی آنها مختل شده، موجب مرگ می شود. در گیاهان گونه‌های مختلف تریکودرما غالباً به عنوان محرک رشد عمل کرده و باعث بهبود رشد می‌شوند. اما گزارش‌های معدودی مبنی بر ایجاد بیماری توسط بعضی از جدایه‌های *T. viride* در گیاهچه‌های خیار، فلفل و گوجه‌فرنگی وجود دارد (ظفری، ۱۳۸۲). گزارشات متعددی نیز مبنی بر دارا بودن خاصیت القای مقاومت سیستمیک به گیاه توسط گونه‌های تریکودرما وجود دارد (Harman *et al*., 2004., Khan, 2003., Hanson, 2000).

[1] Antagonist
[2] Hydrolytic

گونه‌های جنس تریکودرما به دلیل رشد سریع و کنیدیوم‌زایی فراوان به آسانی از خاک قابل جداسازی هستند. هم‌چنین به دلیل تشکیل کلامیدوسپور و کلونیزاسیون مواد معدنی با روش‌های شستشوی خاک به آسانی قابل جداسازی بوده و روی چوب غالباً به صورت پرگنه‌هایی که از کشت خالص جدا می‌شوند با کمی دقت قابل جداسازی هستند. هم‌چنین آنامورف‌های دارای مورفولوژی تریکودرما در جنس هیپوکرآ و جنس‌های وابسته مستقیماً با کشت آسکوسپور یا بافت استروما[1] قابل جداسازی هستند. سایر روش‌های تاکسونومیکی از جمله مطالعه متابولیت‌های ثانویه نیز تنوع زیادی را در این جنس نشان می‌دهد (Okuda *et al.*, 1982). خصوصیات فیزیولوژیکی به عنوان یک روش تاکسونومیکی مؤثر در شناسایی گونه‌های این جنس می‌باشد (Samuels *et al.*, 1994). اطلاعات مولکولی به خصوص توالی نواحی ITS1، ITS2 و ژن 5.8S از rDNA و روش‌های انگشت نگاری[2]، در سال‌های اخیر مناسب‌ترین روش تاکسونومیکی محسوب می‌شوند.

با وجود پیشرفت‌های قابل ملاحظه در دانش ما از جنس تریکودرما، تاکسونومی[3] آن هنوز کامل نبوده و شناسایی گونه‌های تریکودرما با مشکل روبرو است، به همین دلیل تاکسونومی آن توجه زیادی را به خود جلب کرده است و تاکنون مطالعات زیادی در دنیا روی تاکسونومی گونه‌های این جنس صورت گرفته است. یک طبقه‌بندی و شناسایی دقیق لازم است برای این‌که بتوان راجع به اکولوژی[4]، توکسیکولوژی[5] و تکنولوژی[6] این جنس بحث کرد، چنان‌که توسط ساموئلز (Samuels, 1996) صورت گرفته است.

۱-۳- شرایط آب و هوایی نواحی استان کردستان و ارتباط آن با جنس تریکودرما

اقلیم استان کردستان متأثر از توده‌های هوای مرطوب مدیترانه ای است که این توده‌ها موجب بارندگی‌هایی در بهار و ریزش برف در زمستانها شده است. این توده‌های هوایی از اقیانوس اطلس و دریای‌مدیترانه با برخورد به ارتفاعات زاگرس بخش قابل توجهی از رطوبت را بصورت بارش‌های پراکنده برف و باران در این منطقه نشان می‌دهند. تعداد روزهای یخبندان ۱۰۹ روز و میزان بارندگی سالانه در شرایط عادی اقلیمی معادل ۵۰۰ میلی‌متر می‌باشد. بیشترین میزان بارندگی مربوط به شهرهای مریوان و بانه حدود ۸۰۰ میلی‌متر در سال و کم‌ترین میزان بارندگی در ناحیه شرق حدود ۴۰۰ میلی‌متر و در قسمت مرکزی استان یعنی سنندج نزدیک به ۵۰۰ میلی‌متر در سال است. نفوذ توده‌های مرطوب زمستانی و بهاری در مریوان و دریاچه زریوار تأثیر فراوانی در مرطوب و معتدل شدن هوای این ناحیه

[1] Stroma
[2] Fingerprinting
[3] Taxonomy
[4] Ecology
[5] Toxicology
[6] Technology

دارد. میزان رطوبت و بارش مناسب باعث ایجاد جنگل‌های انبوه بلوط و گونه‌های مختلف درختان جنگلی شده است (شعبانیان، ۱۳۸۸). قارچ‌ها بیشتر در عمق ده سانتی متری بالای خاک و بیشتر محدود به همان ۳۰ سانتی‌متر اولیه هستند. تعداد و تنوع آنها با افزایش عمق خاک کاهش می‌یابد. شرایطی که بر رشد ریسه قارچ در خاک اثر می‌گذارند شامل حرارت، رطوبت، گاز کربنیک و درجه اسیدیته خاک می‌باشند. قارچ‌های خاک عموماً نوسانات شدید حرارت را تحمل می‌کنند و در لایه هوموس خاک در ماه‌های زمستان هم فعالند ولی این فعالیت ممکن است به کمتر از نصف فعالیت آنها در تابستان برسد. مهم‌ترین اثر رطوبت خاک احتمالاً مربوط به اثر آن در تهویه خاک است. مطالعه قارچ‌های سطوح مختلف خاک نشان می‌دهد که قارچ‌های سطوح بالای خاک تحمل کمتری نسبت به گاز کربنیک دارند. به طور کلی از نظر توانایی تحمل اسیدیته، قارچ‌ها طیف وسیعی دارند (مهرآوران، ۱۳۷۲). هیفومیست‌های خاکزی از جمله گونه‌های مختلف جنس تریکودرما که قادر به استفاده از دامنه وسیعی از ترکیبات بوده و در اغلب خاک‌ها اعضای غالب میکروفلور[1] خاک می‌باشند. هم‌چنین همانند سایر موجودات ذره‌بینی موجود در خاک، این قارچ‌ها در خاک‌هایی که پوشش گیاهی خوبی دارند، به طور قابل ملاحظه ای‌افزایش می‌یابند. در نواحی غرب و شمال‌غربی استان کردستان در خاک‌های زراعی، جنگلی و حتی روی چوب‌های پوسیده و افتاده به وفور یافت می‌شوند.

۱-۴- اهداف تحقیق

۱- شناسایی گونه‌های مختلف تریکودرما در استان کردستان.

۲- تعیین فراوانی و پراکنش گونه‌های مختلف تریکودرماهای شناسایی شده در استان کردستان.

[1] Microflore