بررسی تغییرات جمعیت *Trichoderma* spp. در خاک مزارع برنج*

مهرانه بهرستاقی[۱**]، سید علی الهی نیا[۱]، شهرام نعیمی[۲] و علیرضا نبی پور[۳]

(تاریخ دریافت: ۱۳۹۳/۳/۲۷؛ تاریخ پذیرش: ۱۳۹۴/۴/۲۴)

چکیده

قارچ‌های متعلق به جنس *Trichoderma* از مشهورترین و مؤثرترین عوامل کنترل بیولوژیک بیماری‌های گیاهی هستند. به دلیل اهمیت سویه‌های *تریکودرما* در کشاورزی و کمبود اطلاعات در زمینه اکولوژی و دینامیک جمعیت آن‌ها در زیستگاه‌های طبیعی کشور، در این تحقیق، تغییرات جمعیت جدایه‌های *تریکودرما* در شالیزار و ارتباط آن با عوامل زنده (رقابت میکروبی) و غیرزنده (رطوبت، pH، EC، میزان ماده آلی خاک و نیز میزان بارش و درجه حرارت) مورد مطالعه قرار گرفت. نمونه‌برداری به صورت ماهانه به مدت یک سال، از عمق ۱۵ سانتی‌متری خاک سه مزرعه برنج در مناطق مختلف شهرستان آمل انجام شد. جهت جداسازی میکروارگانیسم‌ها از روش کشت سری رقت روی محیط کشت‌های انتخابی و عمومی استفاده شد. جمعیت *تریکودرما*، قارچ و باکتری کل به ترتیب $۱۰^{۳}$ × ۱/۱- $۱۰^{۱}$ × ۱/۱، $۱۰^{۴}$ × ۳/۱-$۱۰^{۳}$ × ۱/۷ و $۱۰^{۵}$ × ۶/۵ -$۱۰^{۴}$ × ۲/۲ واحد تشکیل‌دهنده پرگنه در هر گرم خاک شالیزار (cfu/g) محاسبه شد. نقطه اوج اول جمعیت *تریکودرما* در اواخر فصل بهار و نقطه اوج دوم در فصل پاییز بود و در زمستان این جمعیت کاهش یافت. آنالیز رگرسیونی چند متغیره نشان داد که جمعیت *تریکودرما* در سطح احتمال ۱٪ با رطوبت و هدایت الکتریکی خاک رابطه معنی‌دار مثبت و با جمعیت کل قارچ‌ها رابطه معنی‌دار منفی دارد. با سایر فاکتورها رابطه معنی‌داری مشاهده نشد.

کلیدواژه: اکولوژی، *تریکودرما*، دینامیک جمعیت، شالیزار

---

* بخشی از پایان نامه کارشناسی ارشد نگارنده اول ارائه شده به دانشکده کشاورزی، دانشگاه گیلان به راهنمایی سید علی الهی نیا و شهرام نعیمی

** مسئول مکاتبات، پست الکترونیکی: Mehraneb@yahoo.com

۱. به ترتیب دانشجو و استاد گروه گیاهپزشکی، دانشکده علوم کشاورزی، دانشگاه گیلان.

۲. استادیار پژوهش مؤسسه تحقیقات گیاه‌پزشکی کشور، بخش تحقیقات کنترل بیولوژیک.

۳. استادیار پژوهش مؤسسه تحقیقات برنج کشور،معاونت مازندران، آمل.

Population dynamics of *Trichoderma* spp. in paddy fields soil*

M. Behrestaghi[1], S.A. Elahi Nia[1], S. Naeimi[2] and A. Nabipour[3]**

(Received: 17.6.2014; Accepted: 15.7.2015)

Abstract

Fungi belonging to the genus *Trichoderma* are one of the most effective biocontrol agents of plant diseases. Because of importance of *Trichoderma* strains in agriculture and lack of information about their ecology and population dynamics in natural habitats in Iran, we studied seasonal changes of *Trichoderma* spp. populations and its relation to microbial competition and environmental factors (soil moisture, pH, EC, organic matter as well as precipitation and temperature). Three rice fields in North of Iran (Amol, Mazandaran province) were selected and sampling was performed monthly for one year at 15 cm soil depth. All microorganisms were isolated with dilution plate method, using general and selective media. *Trichoderma*, total fungi and bacterial populations in paddy soils ranged 1.1×10^{1}-11×10^{3}, 1.7×10^{3}-3.1×10^{4} and 2.2×10^{4}-6.5×10^{5} cfu/g soil, respectively. Highest *Trichoderma* population was recorded in late spring and during autumn for all fields, while, population was decreased in winter. According to the multiple linear regression analysis results, there was positive correlation between *Trichoderma* populations and soil moisture and electrical conductivity, and negative correlation with total fungal count (P=0.01). There was no significant correlation between *Trichoderma* populations and other factors.

Keywords: Ecology, *Trichoderma*, seasonal changes, rice field

---

* Part of M.Sc. Thesis of The First Author Submitted to Faculty of Agriculture, University of Guilan, Rasht, Iran.

** Corresponding author's E-mail: Mehraneb@yahoo.com

1. Department of Plant Protection, Collage of Agriculture, University of Guilan, Rasht, Iran.
2. Department of Biological Control Research, Iranian Research Institute of Plant Protection.
3. Rice Research Institute of Iran, Mazandaran Branch, Amol.

مقدمه

گیاه برنج در طول دوره رشدی خود اغلب در معرض انواع تنش‌های زنده و غیرزنده قرار می‌گیرد. بیش از ۸۰ بیماری برای برنج معرفی شده است که برخی از آن‌ها باعث کاهش قابل توجه کمیت و کیفیت محصول می‌شوند (Ou 1985). برای کنترل این بیماری‌ها، قارچ‌کش‌های شیمیایی زیادی استفاده می‌شود که در اکثر موارد مؤثر هستند، اما به دلیل اثرات سوء روی زیست محیط و سلامتی بشر، از بین بردن میکروارگانیسم‌های مفید و بروز مقاومت در بیمارگرها کاربردشان مورد انتقاد قرار گرفته است. بنابراین پژوهش‌گران به دنبال کاربرد روش‌های کنترل ایمن و سازگار با محیط زیست می‌باشند.

استفاده از قارچ‌های آنتاگونیست به منظور کنترل بیولوژیک بیمارگرهای گیاهی، می‌تواند یک جایگزین مطلوب و مؤثر برای روش کنترل شیمیایی باشد. در میان قارچ‌های مفید در کشاورزی، می‌توان به سویه‌های مختلف جنس *Trichoderma* اشاره کرد که با مکانیسم‌های متنوع نظیر مایکوپارازیتیسم، آنتی‌بیوز و رقابت، باعث کنترل بیماری‌های گیاهی می‌گردند (Kredics *et al.* 2003).

به‌رغم قابلیت‌های فراوان این قارچ‌ها، در شرایط طبیعی به دلیل پایین بودن تعداد پروپاگول‌های *تریکودرما* در خاک، آن‌ها نمی‌توانند در کنترل بیماری‌های قارچی مؤثر باشند. حفظ جمعیت و بقای هر چه بیش‌تر این قارچ‌ها در خاک از عوامل مهم موفقیت در این زمینه به شمار می‌رود. این خصوصیت تحت تأثیر شرایط خاک و فاکتورهای دیگر تغییر می‌کند. بنابراین برای استفاده موفقیت‌آمیز فرآورده‌های تجاری حاوی عامل فعال *تریکودرما* و افزایش جمعیت *تریکودرمای* بومی، درک اکولوژی و دینامیک جمعیت این قارچ‌ها در خاک امری ضروری است (Widden *et al.* 1989).

بسیاری از محققین تمایل به بررسی توانایی کنترل جدایه‌های *تریکودرما* علیه بیمارگرهای گیاهی دارند و مطالعات اندکی در زمینه بقاء، گسترش و دینامیک جمعیت جدایه‌های *تریکودرمای* بومی و رابطه‌ی آن با متغیرهای محیطی انجام شده است (Bourguignon 2008). درک دینامیک جمعیت *تریکودرما* و تأثیر عوامل محیطی بر آن، از این نظر مهم و ضروری است که دانش کافی در این زمینه می‌تواند منجر به تهیه فرمولاسیون‌های مناسب‌تر آنتاگونیست مورد نظر و تدارک استراتژی‌های بهتر کاربرد آن‌ها در محیط‌های طبیعی شود (Naeimi *et al.* 2010).

ساختار جمعیت و فعالیت بیولوژیکی جمعیت‌های میکروبی در خاک به فاکتورهای فیزیکی و شیمیایی خاک و شرایط اقلیمی منطقه بستگی دارد (Danielson & Davey 1973). دما، رطوبت و اسیدیته خاک مهم‌ترین فاکتورهای زیست محیطی تعیین‌کننده تراکم جمعیت جدایه‌های *تریکودرما* به شمار می‌روند. فاکتورهای دیگر نظیر ماده آلی، ساختار و بافت خاک و جمعیت باکتری‌ها و قارچ‌ها نیز نقش مهمی در این زمینه بازی می‌کنند (Kredics *et al.* 2003). با توجه به اهمیت اقتصادی و اجتماعی محصول برنج در ایران و اهمیت *Trichoderma* در کشاورزی و به خصوص کنترل بیولوژیک از یک طرف، و محدود بودن اطلاعات در زمینه اکولوژی جدایه‌های *تریکودرما* در کشور از طرف دیگر، در این تحقیق نسبت به جداسازی و تعیین جمعیت ماهانه *تریکودرمای* موجود در خاک سه مزرعه برنج در طول یک سال و بررسی تغییرات جمعیت اقدام گردید. همچنین تأثیر عوامل مختلف محیطی (اعم از عوامل زنده و غیرزنده) بر روی جمعیت *تریکودرمای* شالیزار مورد مطالعه قرار گرفت.

جدول ۱. مکان، طول و عرض جغرافیایی و ارتفاع از سطح دریا مناطق نمونه‌برداری

Table 1. Location, longitude, latitude and altitude of sampling sites

Location	Latitude	Longitude	Altitude (m)
Amol, Razake	36° 20′ 257″N	52° 21′ 788″E	291
Amol, Motahhar	36° 30′ 049″N	52° 30′ 293″E	24
Amol, Marzangou	36° 35′ 602″N	52° 29′ 137″E	-4

مواد و روش‌های بررسی

نمونه‌برداری

نمونه‌برداری به صورت ماهانه از شهریور سال ۱۳۹۱ تا شهریور سال ۱۳۹۲، به صورت تصادفی از خاک سه شالیزار (واقع در روستاهای رزکه، مطهر و مرزنگو) در شهرستان آمل انجام شد (جدول ۱). این سه روستا با فاصله‌ی بیش از ۲۰ کیلومتر از یکدیگر، به ترتیب نماینده مناطق شالیزاری بالادست، میان‌دست و پایین‌دست می‌باشند. موقعیت جغرافیایی این مزارع با دستگاه جی‌پی‌اس گارمین (GARMIN® GPS Navigation Device, eTrex Vista C, Taiwan) اندازه‌گیری شد. نمونه‌های خاک با درج مشخصاتی از قبیل طول و عرض جغرافیایی، ارتفاع از سطح دریا، محل و تاریخ جمع‌آوری، به آزمایشگاه منتقل شدند. از هر نمونه یک بخش به وزن ۲۰۰–۳۰۰ گرم برای آزمایش‌های بیولوژیک و بخش دیگر به وزن ۲–۳ کیلوگرم برای تجزیه‌های فیزیکی و شیمیایی خاک اختصاص داده شدند. نمونه بیولوژیک در یخچال با دمای ۴°C نگهداری شدند و نمونه دوم در دمای آزمایشگاه، هوا خشک شده، سپس کوبیده و از الک دو میلی‌متری عبور داده شدند و برای تجزیه فیزیکی و شیمیایی آماده گردید (Okoth *et al.* 2009).

جداسازی و تعیین جمعیت تریکودرما، کل قارچ‌ها و باکتری‌های موجود در خاک

جدایه‌های *تریکودرما* به روش سری رقت و با استفاده از محیط کشت انتخابی مک فادن و ساتن (RB-S-F 1975 McFadden & Sutton's) جداسازی شدند. برای تهیه این محیط، یک گرم KH_2PO_4، ۰/۵ گرم $MgSO_4$، ۵ گرم پپتون، ۱۰ گرم گلوکز، ۱۷ میلی‌گرم رز بنگال و ۲۰ گرم آگار در یک لیتر آب مقطر حل شده و پس از سترون کردن در اتوکلاو، ۰/۲ میلی‌لیتر فرمالدهید و ۳۰ میلی‌گرم سولفات استرپتومایسین به آن اضافه شد. ده گرم خاک مربوط به هر نمونه (معادل خشک شده در آون) به ۹۰ میلی‌لیتر آب سترون در ظرف ارلن مایر افزوده و سوسپانسیون به مدت ۲۰ دقیقه روی شیکر قرار داده شد و تا 10^{-5} رقیق شدند. از هر رقت ۵۰۰ میکرولیتر روی محیط کشت انتخابی برای جداسازی *Trichoderma* spp. و برای جداسازی قارچ‌ها و باکتری‌ها به ترتیب روی محیط‌های سیب زمینی دکستروز آگار (PDA) و نوترینت آگار (NA) ریخته و با استفاده از میله شیشه‌ای L شکل روی سطح محیط پخش شد و ظروف پتری در دمای ۲۵°C نگهداری شدند. برای هر نمونه، سه تکرار در نظر گرفته شد. طی یک هفته، جمعیت میکروارگانیسم‌ها برحسب تعداد واحدهای پرگنه‌ساز در هر گرم (cfu/g) خاک محاسبه شدند (Naeimi *et al.* 2010).

جدول۲. میانگین دما و میزان بارش در ماه‌های مختلف در شهرستان آمل (۱۳۹۲-۱۳۹۱)

Table 2. Average temperature and precipitation in different months in Amol (2013-2014)

Month	Average temperature (˚C)	Total precipitation (mm)	Month	Average temperature (˚C)	Total precipitation (mm)
Shahrivar*/September	25	66.6	Esfand/March	11.5	78.8
Mehr/October	21.6	42.8	Farvardin/April	15.3	7.7
Aban/November	17.6	67.4	Ordibehesht/May	19.4	29.1
Azar/December	12	151.4	Khordad/June	24.2	3.2
Dey/January	7.6	153	Tir/July	26	3
Bahman/February	10.5	22.3	Mordad/August	25.4	54.3

داده‌ها از اداره هواشناسی آمل اخذ شده است.

All data were derived from Amol Meteorological Office.
*The name of months in Persian calendar

اندازه‌گیری صفات فیزیکی و شیمیایی خاک

pH به وسیله الکترودهای شیشه‌ای دستگاه pH متر در گِل اشباع، هدایت الکتریکی (EC) به وسیله دستگاه هدایت‌سنج در عصاره اشباع، میزان رطوبت خاک با قرار دادن نمونه خاک در آون در دمای ۱۰۵°C به مدت ۴۸ ساعت، بافت خاک از روش هیدرومتر بایکاس و کربن آلی به روش اکسیداسیونِ تر در مجاورت اسید سولفوریک غلیظ اندازه‌گیری شدند (Kucey 1983).

داده‌های هواشناسی

اطلاعات هواشناسی شامل درجه حرارت و میزان بارندگی به صورت ماهانه از ایستگاه هواشناسی آمل دریافت گردید (جدول ۲).

تجزیه و تحلیل‌های آماری

برای تجزیه و تحلیل آماری از نرم افزار SAS استفاده شد و مقایسه میانگین‌ها در سطح آماری ۵٪ به وسیله آزمون دانکن انجام شد. برای تعیین فاکتورهای اثرگذار بر جمعیت *تریکودرما* از همبستگی پیرسون و رگرسیون چند متغیره خطی به روش گام به گام (Stepwise) با استفاده از نرم افزار SPSS استفاده شد.

نتایج

در خاک شالیزار رزکه محدوده جمعیت *تریکودرما*، قارچ و باکتری کل به ترتیب $۸/۶ \times ۱۰^{۲}$–$۱/۱ \times ۱۰^{۱}$، $۳/۱ \times ۱۰^{۴}$–$۱/۷ \times ۱۰^{۳}$ و $۲/۷ \times ۱۰^{۵}$–$۲/۲ \times ۱۰^{۴}$ واحد پرگنه‌ساز در هر گرم خاک (cfu/g) محاسبه شد. در مزرعه مرزنگو این جمعیت‌ها به ترتیب $۱/۱ \times ۱۰^{۳}$–$۲/۷ \times ۱۰^{۱}$، $۲/۲ \times ۱۰^{۴}$–$۲/۵ \times ۱۰^{۳}$ و $۳/۴ \times ۱۰^{۵}$–۴×۱۰^{۴} cfu/g بود. همچنین جمعیت *تریکودرما*، قارچ و باکتری کل در خاک شالیزاری روستای مطهر نیز به ترتیب ۴×۱۰^{۲}–$۱/۱ \times ۱۰^{۲}$، $۲/۲ \times ۱۰^{۴}$–$۲/۳ \times ۱۰^{۳}$ و $۶/۵ \times ۱۰^{۵}$–$۴/۳ \times ۱۰^{۴}$ cfu/g اندازه‌گیری شد (جدول ۳). در خاک شالیزاری رزکه بیش‌ترین جمعیت *تریکودرما* در ماه‌های خرداد ($۸/۶ \times ۱۰^{۲}$) و تیر ($۸/۳ \times ۱۰^{۲}$) و کم‌ترین جمعیت در ماه دی ($۱/۳ \times ۱۰^{۱}$) بود. در خاک شالیزاری مرزنگو بیش‌ترین جمعیت *تریکودرما*، در خرداد ($۱/۱ \times ۱۰^{۳}$) و کم‌ترین جمعیت در بهمن‌ماه ($۲/۷ \times ۱۰^{۱}$ cfu/g) رقم خورد. در خاک شالیزاری مطهر جمعیت *تریکودرما* و باکتری در ماه‌های مختلف نوسان چندانی نداشت.

به طور کلی جمعیت *تریکودرما* در سه شالیزار مورد بررسی در فصل پاییز افزایش و در طی ماه‌های زمستان

جدول۳. جمعیت تریکودرما، قارچ و باکتری کل در خاک مزارع برنج رزکه، مطهر و مرزنگو در ماه‌های مختلف

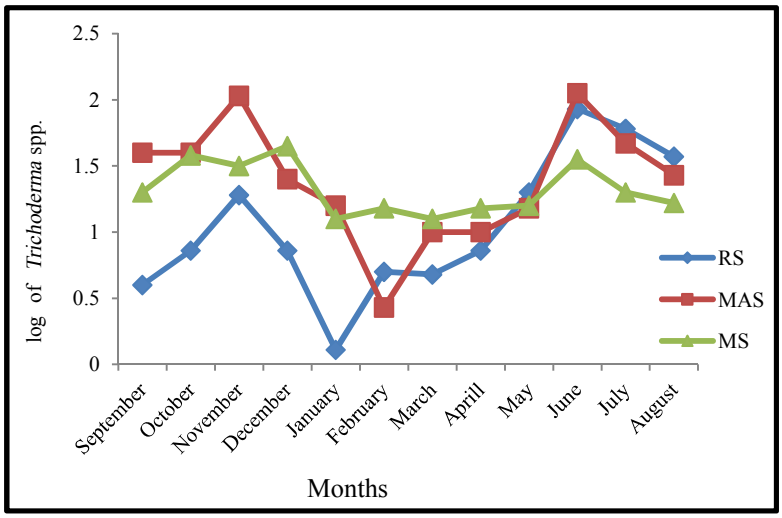
Table 3. Populations of *Trichoderma* spp., total fungi and bacteria in Razake, Marzangou and Motahhar paddy fields at different months

Month	Field**	*Trichoderma* (×10)	Fungi (×10^2)	Bacteria (×10^3)
Shahrivar*/September	RS	4	7.5	6.3
	MAS	40	10.0	11.3
	MS	20	15.3	16.2
Mehr/October	RS	4.6	2.8	5.0
	MAS	40	13.0	16.8
	MS	33	15.3	28.3
Aban/November	RS	19	1.7	27.5
	MAS	107	2.3	34.0
	MS	30	3.0	65.1
Azar/December	RS	7.3	7.3	6.5
	MAS	26.6	3.5	29.0
	MS	40	3.5	8.7
Dey/January	RS	1.1	21.0	9.8
	MAS	23	15.0	6.5
	MS	12.7	2.3	4.3
Bahman/February	RS	7	15.2	16.7
	MAS	2.7	20.0	31.6
	MS	17	15.5	9.1
Esfand/March	RS	5.3	28.7	11.7
	MAS	10	20.7	6.0
	MS	15.3	16.5	8.0
Farvardin/April	RS	7.3	31.0	8.9
	MAS	11	21.8	8.2
	MS	13	8.0	15.2
Ordibehesht/May	RS	20	13.0	9.7
	MAS	15	5.8	15.1
	MS	11	22.3	15.2
Khordad/June	RS	86	4.2	16.7
	MAS	113	14.0	7.7
	MS	27	7.0	36.0
Tir/July	RS	83	6.2	15.1
	MAS	47	12.3	18.2
	MS	20	11.7	11.7
Mordad/August	RS	37	6.7	9.6
	MAS	26.7	13.7	15.2
	MS	17	12.3	12.2

*The name of months in Persian calendar
**RS=Razake, MAS=Marzangou, MS=Motahhar

و اوایل بهار کاهش یافت ولی در اواخر فصل بهار یعنی خرداد به بیش‌ترین میزان خود رسیده و در فصل تابستان سیر نزولی داشت (شکل ۱). نتایج تجزیه واریانس اثر مکان‌های مختلف روی مقدار جمعیت تریکودرمای موجود در خاک در ماه‌های مختلف نشان داد که زمان، منطقه و اثر متقابل زمان–منطقه در سطح احتمال ۱٪ معنی‌دار شده است.

نتایج تعیین نوع بافت خاک مزارع نشان داد که بافت



شکل ۱. جمعیت *تریکودرما* در مزارع مورد مطالعه و درماه‌های مختلف

Fig 1. *Trichoderma* populations in studied fields in different months
RS = Razake, MAS = Marzangou, MS = Motahhar

خاک شالیزاری رزکه رسی سیلتی و بافت خاک شالیزاری مرزنگو و مطهر لومی رسی بود. محدوده مقدار pH، ۷/۳۴ تا ۸/۸، EC ۰/۲۳ تا ۲/۱۳ دسی‌زیمنس بر متر، ماده آلی ۰/۵۸۷تا ۳/۳۲ درصد، و رطوبت خاک ۲۶/۵ تا ۱۰۰٪ بود (داده‌های ماهانه هر مزرعه به تفکیک نمایش داده نشده‌اند). اسیدیته خاک در حدود ۷۸٪ نمونه‌های جمع‌آوری شده، بین ۸-۷ و بقیه بالای ۸ بودند که نشان‌دهنده اسیدیته بازی است. هدایت الکتریکی در ۶۱٪ نمونه‌ها زیر یک بوده، و در ۳۴٪ نمونه‌ها بین ۲-۱ و فقط در ۵٪ نمونه‌ها بالای دو بود. بنابراین هدایت الکتریکی در خاک‌های شالیزاری مورد مطالعه پایین بود. ماده آلی در ۳۴٪ نمونه‌ها بالای ۲ و در ۱۳٪ نمونه‌ها زیر ۱ و در ۵۳٪ بین ۲-۱ درصد بود. میزان ماده آلی نیز در این مزارع به نسبت پایین بود. در بین مزارع مورد بررسی، ماده آلی در خاک شالیزاری مرزنگو بیش‌تر از بقیه و در محدوده ۱/۱ تا ۳/۳۲ درصد بود. رطوبت خاک در ۶۴٪ نمونه‌ها بیش از ۵۰٪ و در ۳۶٪ زیر ۵۰٪ بود. درصد رطوبت در خاک شالیزاری مرزنگو در ۱۰ ماه بالای ۵۰٪ درصد بود. منطقه رزکه کم‌ترین درصد رطوبت را در ماه‌های مختلف دارا بود. اسیدیته بیش‌تر قلیایی بوده که در مناطق مختلف نمونه‌برداری تفاوت چندانی نداشت، ولی محدوده مقدار EC، ماده آلی و رطوبت متفاوت بود.

بر اساس جدول ۲ کم‌ترین میزان درجه حرارت در دی (۷/۶°C) و بیش‌ترین درجه حرارت در مرداد (۲۶°C) و کم‌ترین میزان بارش در تیر (۳ میلی‌متر) و بیش‌ترین میزان بارش در آبان (۱۶۷/۴ میلی‌متر) بود. با در نظر گرفتن سطح آماری ۵٪ و استفاده از نرم افزار SPSS میزان همبستگی بین فاکتورهای فیزیکی و شیمیایی خاک و فاکتورهای اقلیمی (درجه حرارت و میزان بارش) و جمعیت کل باکتری و قارچ با جمعیت *تریکودرما* مشخص شد. بر اساس جدول ۴ جمعیت *تریکودرما* با رطوبت و هدایت الکتریکی همبستگی مثبت، با جمعیت کل قارچی همبستگی منفی در سطح احتمال ۱٪ داشت و با بقیه فاکتورها همبستگی نداشت. جمعیت کل باکتری‌ها نیز مانند جمعیت *تریکودرما* با میزان رطوبت و هدایت الکتریکی همبستگی مثبت و با جمعیت کل قارچ‌ها

جدول ۴. ضرایب همبستگی بین متغیرهای موجود در خاک

Table 4. Correlation coefficients between factors in soil

Variable	*Trichoderma*	Total fungi	Total bacteria	Organic matter	Soil moisture	EC	pH
Trichoderma	1						
Total fungi	-0.262**	1					
Total bacteria	0.17	-0.217*	1				
Organic matter	0.105	-0.206*	0.214*	1			
Soil moisture	0.501**	0.072	0.026*	-0.111	1		
EC	0.365**	0.043	0.223*	0.418**	0.300**	1	
pH	0.029	-0.030	0.152	0.374**	0.130	0.538**	1

** نشان دهنده وجود همبستگی معنی‌دار در سطح احتمال ۱٪ می‌باشد.

*نشان دهنده وجود همبستگی معنی‌دار در سطح احتمال ۵٪ می‌باشد.

** Indicates significant correlation at $P = 0.01$
* Indicates significant correlation at $P = 0.05$

همبستگی منفی داشت که البته سطح احتمال آن ۵٪ است. بنابراین با افزایش جمعیت قارچی، جمعیت باکتری‌ها و *تریکودرما* کاهش می‌یابد و بالعکس. بر اساس نتایج آنالیز رگرسیون چند متغیره، رطوبت نسبت به بقیه فاکتورها بیش‌ترین همبستگی را در جمعیت *تریکودرما* داشت.

بحث

مقدار pH در مزارع مورد بررسی از ۷/۳۴ تا ۸/۸ متغیر بود که این محدوده، نشان‌دهنده‌ی pH بازی است. *دانیلسون و داوی* (Danilson & Davey 1973) گزارش کردند که گونه‌های *تریکودرما* در خاک‌های اسیدی فراوان‌تر هستند. بر اساس یافته‌های محققان بسترهای اسیدی اثر مثبتی روی این قارچ‌ها دارد به طوری‌که pH بهینه اغلب گونه‌های *تریکودرما* برای رشد و جوانه‌زنی کنیدی ۵/۶– ۳/۵ است. جدایه‌های *تریکودرما* در محدوده‌ی وسیعی از pH فعال هستند، اما در pH اسیدی تنوع و گسترش بیش‌تری دارند. به‌رغم این، نتایج پژوهش حاضر نشان داد که جدایه‌های *تریکودرما* در خاک قلیایی هر سه مزرعه برنج با فراوانی نسبتاً بالا وجود داشتند. در این تحقیق دینامیک جمعیت کل جدایه‌های *تریکودرما* (*Trichoderma* spp.) بررسی شد ولی گونه‌های این جنس مورد شناسایی و تفکیک قرار نگرفتند. احتمالاً گونه‌های موجود در این خاک‌های قلیایی نسبت به pH بالا متحمل‌تر هستند و با سازگاری در این شرایط، بقاء یافته و جمعیت خود را حفظ می‌کنند. مقدار pH بین مناطق مختلف نمونه‌برداری تفاوت معنی‌داری نداشت، ولی مقدار EC و ماده آلی، دارای تفاوت معنی‌دار بودند. با توجه به نتایج آنالیز رگرسیون، جمعیت *تریکودرما* با رطوبت و هدایت الکتریکی همبستگی مثبت و با جمعیت کل قارچ‌ها همبستگی منفی دارد. در این تحقیق میزان هدایت الکتریکی به نسبت پایین بود و شوری نمونه‌های خاک در حدود ۰/۲۳ تا ۲/۱۳ دسی‌زیمنس بر متر بود و با توجه به همبستگی مثبت این قارچ‌ها با هدایت الکتریکی، جمعیت *تریکودرما* زمانی که شوری خاک ۲ یا بالاتر بود، بیش‌تر بود.

مطابق با نتایج این تحقیق، در اکثر نمونه‌های خاک، به مقدار فراوان جدایه‌های قارچی متعلق به جنس‌های *Aspergillus* و *Penicillium* وجود داشتند. حضور تعداد زیادی از این قارچ‌ها می‌تواند دلیلی برای جلوگیری از رشد و تکثیر جدایه‌های *تریکودرما* در این خاک‌ها باشد. این نتایج با نتایج تحقیق *ایستبرن و بولتر* (Eastburn & Bulter 1988) مطابقت دارد که نشان دادند همبستگی مثبتی بین

رطوبت خاک و جمعیت کل باکتری‌ها و مقدار *T. harzianum* وجود دارد و عامل اصلی تغییر در جمعیت *تریکودرما* را مقدار رطوبت خاک دانستند. به طوری که جمعیت کل *تریکودرما* در خاک با بالا رفتن رطوبت خاک افزایش یافت، اما با عمق نمونه‌برداری و تراکم جمعیت قارچ‌های دیگر مانند *Chaetomium* sp.، *Penicillium miczynskii*، *Ulocladium atrum* و *Verticillium nubile* همبستگی منفی وجود داشت که این ارتباط منفی را به دلیل رقابت و یا سازگاری بهتر آن‌ها در زیستگاه‌شان دانستند. نتایج تحقیق *دانیلسون و داوی* (Danielson & Davey 1973) در خاک‌های جنگلی ایالت واشنگتن نشان داد که شرایط آب و هوایی سرد و مرطوب در جمعیت پروپاگول‌های *تریکودرما* نقش به سزایی دارد و در مکان‌هایی با بارندگی کم *تریکودرما* به ندرت یافت می‌شود. روحانی (Rouhani 2005) نیز در تحقیقات خود رطوبت خاک را عامل تعیین‌کننده و مهمی در تغییرات جمعیت *تریکودرما* و میزان بقای پروپاگول‌های آن معرفی کرد و همچنین نشان داد که همبستگی منفی نسبتاً بالایی بین فعالیت بیولوژیکی خاک با میانگین جمعیت *تریکودرما* وجود دارد.

تأثیر رطوبت می‌تواند روی گونه‌ها و جدایه‌های مختلف متفاوت باشد، بعضی سویه‌های تریکودرما قادرند بقای خود را برای مدتی در رطوبت ۴۵٪ حفظ کنند. در حالی که بعضی دیگر نیاز به رطوبت حدود ۷۰ ٪ دارند و در رطوبت‌های کمتر از ۲۰ ٪ بقای خود را به سرعت از دست می‌دهند. در بین آن‌ها گونه‌های *T. pseudokoningii* و *T. hamatum*احتیاج به خاک‌های با رطوبت بسیار بالا دارند و در رطوبت‌های پائین قادر به حفظ بقای خود نیستند. به نظر می‌رسد شرایط نامناسب رطوبتی از طرفی باعث محدود شدن رشد ساپروفیتی قارچ و از طرف دیگر موجب کاهش جوانه زنی اسپورها و لیز شدن بیشتر لوله‌های تندشی آن‌ها می‌گردد.

بر اساس جدول ۳ جمعیت جدایه‌های *تریکودرما* در شالیزارهای مورد بررسی در حدود $۱/۱ \times ۱۰^{۱}$ تا $۱/۱ \times ۱۰^{۳}$ واحد پرگنه‌ساز در هر گرم خاک خشک متغیر بود. *لوئیس و پاپاویزاس* (Lewis & Papavizas 1984) تراکم جمعیت جدایه‌های *T. viride* و *T. harzianum* را به ترتیب در حدود $۱۰^{۴}$ و $۱۰^{۳}$ واحد پرگنه‌ساز در هر گرم خاک خشک در خاک طبیعی اسرائیل تخمین زدند. نتایج تحقیقات *هارمن و همکاران* (Harman *et al.* 2004) در سال ۲۰۰۴ در نیویورک نشان داد که جمعیت *تریکودرما* در نواحی معتدله تقریبا $۱۰^{۱}$-$۱۰^{۳}$ پروپاگول در هر گرم خاک خشک است. *کردیر و آلبووت* (Cordier & Alabouvette 2009) جمعیت *تریکودرما* را در مکان‌های غیرزراعی و پوشیده شده از گیاهان طبیعی در بورگوین فرانسه، ۵×۱۰^{۲} cfu/g تا ۸×۱۰^{۳} محاسبه کردند. *نعیمی و همکاران* (۲۰۱۰) نیز جمعیت جدایه‌های *تریکودرما* را در خاک‌های شالیزاری استان مازندران ۱×۱۰^{۳} cfu/g – ۵×۱۰^{۲} گزارش کردند.

نتایج این تحقیق نشان داد که اوج جمعیت *تریکودرما* در خاک شالیزاری در فصل پاییز و اواخر فصل بهار بوده و در زمستان و تابستان جمعیت به نسبت پایین می‌آید. بنابراین می‌توان گفت که فصل در جمعیت *تریکودرما* نقش داشت که با نتایج محققین دیگر نیز مطابقت دارد، اما اوج جمعیتی *تریکودرما* در شالیزار متفاوت است. *ویدن و ابیتول* (Widden & Abitol 1980) تأثیر تغییرات فصلی را روی گونه‌های *تریکودرما* در خاک جنگلی صنوبر در کِبک کانادا بررسی کردند و گزارش کردند که در اوایل زمستان جمعیت نسبتاً بالا بود و در اواخر زمستان و اوایل بهار جمعیت این قارچ کم شد. *ایستبرن و بولتر* (Eastburn &

Bulter 1988) بیان کردند که جمعیت *تریکودرما* در برابر تغییرات فصلی واکنش نشان می‌دهد و بیش‌ترین جمعیت *T. harzianum* در مزارع یونجه کالیفرنیا در ماه‌های مرطوب زمستان و اوج دوم جمعیتی آن در اوایل تابستان بود. *میشل-آسیوس* (Michel-Aceves *et al.* 2001) فصل را از مهم‌ترین فاکتورهای مؤثر در جمعیت *تریکودرما* در باغ‌های انبه در مکزیک گزارش کردند که جمعیت‌شان در بهار و تابستان نسبت به پاییز و زمستان بالاتر است. در مجموع، مطابق نتایج حاصل از تحقیق حاضر می‌توان گفت که تراکم جمعیت جدایه‌های *تریکودرما* در تاریخ‌های مختلف نمونه‌برداری در مزارع مختلف به طور قابل توجهی متفاوت است. اما جدایه‌های این جنس قارچی در طول سال وجود داشته و به طور مداوم از خاک شالیزار جداسازی شدند که نشان دهنده‌ی این است که این قارچ‌ها با شرایط اکولوژیکی خاک شالیزار سازگار می‌باشند.

با توجه به نتایج این تحقیق می‌توان چنین استنباط کرد که در زمان اوج جمعیتی *تریکودرما*، شرایط فیزیکی و شیمیایی خاک و شرایط اقلیمی احتمالاً برای رشد و تکثیر این جنس قارچی مساعد بوده است و اعضای این جنس توانستند در حضور میکروارگانیسم‌های دیگر موجود در خاک، جمعیت خود را در حد بالا حفظ کنند. بالا بودن جمعیت بومی *تریکودرما* در فصل پاییز می‌تواند موجب کاهش زادمایه اولیه بیمارگرهای خاکزی مانند *Rhizoctonia solani* (عامل بیماری سوختگی غلاف برنج) شده و از وقوع بیماری در فصل زراعی بعدی جلوگیری کند. همچنین بالا بودن این جمعیت در فصل زراعی موجب عدم یا کاهش بروز علائم بیماری‌های قارچی شود.

آنتاگونیست‌های مؤثر باید در زیست‌بوم‌های زراعی استقرار یافته، جمعیت خود را در حد بالا حفظ کنند و علیه بیمارگرهای هدف در طی زمان مناسب فعال باشند تا بتوانند آن‌ها را سرکوب کنند. یکی از مهم‌ترین محدودیت‌ها در استفاده از *تریکودرما* به عنوان قارچ‌کش زیستی، توانایی کم آن در تحمل رطوبت‌های پایین است. رطوبت به شدت فعالیت‌های *تریکودرما* به ویژه جوانه‌زنی کنیدی و رشد میسلیوم و برهمکنش با قارچ‌های دیگر و تولید آنزیم‌ها را تحت تأثیر قرار می‌دهد (Leandro *et al.* Widden *et al.* 1988, 2007). با توجه به این‌که در این تحقیق، همبستگی مثبتی بین رطوبت با جمعیت *تریکودرما* در خاک مشاهده شده، می‌توان رطوبت را به عنوان مهم‌ترین فاکتور تأثیرگذار در جمعیت *تریکودرما* در شرایط شالیزاری حاکم در شهرستان آمل، محسوب کرد. بنابراین در زمان اوج جمعیت *تریکودرما*، با توجه به بهینه بودن شرایط موجود برای حفظ و بقای جمعیت این قارچ، بهترین زمان برای اضافه کردن فرمولاسیون‌های تجاری به خاک است. طبق بررسی‌های *نعیمی و همکاران* (۲۰۱۰)، *T. harzianum* و *T. virens* فراوان‌ترین گونه‌های این جنس در مزارع برنج مازندران هستند. بنابراین با توجه به سازگاری بهتر این دو گونه با شرایط شالیزار، می‌توان از فرمولاسیون‌هایی بر پایه این گونه‌ها استفاده نمود. اطلاعات کافی در مورد جدایه‌های *تریکودرما* در ریزوسفر و فاکتورهای مؤثر در فراوانی، سازگاری و تنوع آن‌ها در بهینه سازی برنامه‌های کاربردی کنترل بیولوژیک بسیار حائز اهمیت است. بنابراین درک اکولوژی و دینامیک جمعیت این قارچ‌ها در خاک امری ضروری است. با توجه به پتانسیل بالای جدایه‌های *تریکودرما* در کنترل طیف وسیعی از بیمارگرهای گیاهی، از این پس باید به دنبال روشی برای به کارگیری عملی این قارچ‌های مفید بود تا بتوان از آن‌ها به طور گسترده در محیط‌های طبیعی استفاده کرد.

منابع

Bourguignon E. 2008. Ecology and diversity of indigenous *Trichoderma* species in vegetable cropping systems. Ph.D dissertation of Lincoln University. National Centre for Advanced Bio-Protection Technologies. 235 pp.

Cordier C. and Alabouvette C. 2009. Effects of the introduction of a biocontrol strain of *Trichoderma atroviride* on non-target soil microorganisms. European Journal of Soil Biology 3: 1-8.

Danielson R. M. and Davey C. B. 1973. Effect of nutrients and acidity on Phialospore germination of *Trichderma in vitro*. Soil Biology and Biochemistry 5: 517-524.

Eastburn, D. M. and Bulter E. E. 1988. Microhabitat characterization of *Trichoderma harzianum* in natural soil: Evaluation of factors affecting population density. Soil Biology and Biochemistry 20: 541-545.

Harman G. E., Howell C. R., Viterbo A., Chet I. and Lorito M. 2004. *Trichoderma* species-opportunistic, avirulent plant symbionts. Microbiology 2: 43-56.

Knudsen R. and Bae Y. S. 2005. Soil microbial biomass influence on growth and biocontrol efficacy of *Trichoderma harzianum*. Biological Control 32: 236–242.

Kredics L., Antall Z., Manczinger L., Szekeres A., Kevei F. and Nagy E. 2003. Influence of environmental parameters on *Trichoderma* strains with biocontrol potential. Food Technology and Biotechnology 41: 37–42.

Kucey R. M. N. 1983. Phosphate solubilizing bacteria and fungi in various cultivated and virgin Alberta soils. Canadian Journal of Soil Science 63: 671-678.

Leandro L. F. S., Guzman T., Ferguson L. M., Fernandez G. E. and Louws F. J. 2007. Population dynamics of *Trichoderma* in fumigated and compost-amended soil and on strawberry roots. Applied Soil Ecology 35: 237–246.

Lewis J. A. and Papavizas G. C. 1984. A new approach to stimulate population preoliferation of *Trichoderma* species and other potential biocontrol fungi introduced into natural soils. Phytopathology 80: 1240-1244.

Michel-Aceves C., Rebolledo-Dominguez O., Lezama-Gutierrez R., Ochoa-Moreno M. E. and Mesina-Escamilla J. C. 2001. Species of *Trichoderma* in soil cultured with mango affected by "witches broom" and inhibitory potential of *Fusarium oxysporum* and *F. subglutinans*. Phytopathology 19: 154-160.

Naeimi S., Okhovvat S. M., Javan-Nikkhah M., Kredics L. and Khosravi V. 2010. Frequency and distribution of *Trichoderma* spp. in the paddy rice fields of Mazandaran province, Iran. Iranian Journal of Plant Pathology 40: 79-91 (in Persian with English Summary).

Okoth S. A., Okoth P. and Muya E. 2009. Infeluence of soil chemical and physical properties on occurrence of *Trichoderma* spp. in Embu, Kenya. Tropical and Subtropical Agroecosystem 11: 303-312.

Ou S. H. 1985. Rice Diseases. 2nd edition. Commonwealth Mycological Institute, Kew, England.

Rouhani H. 2005. Effect of soil conditions on population dynamics and survival of antagonist fungus *Trichoderma harzianum*. Iranian Journal of Agriculture Science 36: 1305-1316 (in Persian with English Summary).

Widden P. and Abitbol J. J. 1980. Seasonality of *Trichoderma* species in a spruce-forest soil. Mycological Society of America 72:775-784.

Widden P., Unningham O. and Relli B. 1989. Decomposition of cotton by *Trichodema* species: influence of temperature, soil type and nitrogen levels. Canadian Journal of Microbiology 35: 469-473.