

بررسی اثر آنتاگونیستی تعدادی از قارچ‌های کلاهک‌دار راسته Agaricales جنگل‌های استان مازندران بر قارچ‌های بیماری‌زای گیاهی و گونه‌های تریکودرما

علی برهانی^{۱*}، سوزان بدلیان^۲ و سعید علی موسی‌زاده^۳

*- نویسنده مسئول مکاتبات، مربی پژوهش، مرکز تحقیقات کشاورزی و منابع طبیعی استان مازندران، بهشهر

پست الکترونیک: borhani.ali@gmail.com

^۲- استاد آزمایشگاه قارچ‌شناسی و بیوتکنولوژی قارچ‌ها در دانشکده بیولوژی دانشگاه ملی ایروان-ارمنستان

^۳- کارشناس ارشد، مرکز تحقیقات کشاورزی و منابع طبیعی استان مازندران

تاریخ پذیرش: ۹۲/۱۰/۲

تاریخ دریافت: ۹۲/۰۶/۳۱

چکیده

قارچ‌های راسته Agaricales یکی از فراوانترین قارچ‌های ماکروسکوپی در بیشتر مناطق هستند؛ به طوری که وجود مواد متابولیکی با اثرات ضد میکروبی و ضد قارچی در تعداد زیادی از گونه‌های آنها به اثبات رسیده است. در این تحقیق میسلوم ۱۰ گونه قارچ از راسته Agaricales شامل *Hypholoma*، *Flammulina velutipes*، *Armillaria mellea*، *Agrocybe cylindracea*، *Pleurotus ostreatus*، *Panellus stipticus*، *Omphalotus olearius*، *Mycena inclinata*، *H. sublateritium fascicular*، *Schizophyllum commune*، که بازیدیوکارب آنها از جنگل‌های استان مازندران جمع‌آوری شده بود، تهیه شد. اثر آنتاگونیستی آنها روی ۵ گونه قارچ بیماری‌زای گیاهی شامل *F. Fusarium culmorum*، *Ophiostoma nova ulmi*، *Bipolaris sorokiniana*، *Pestalotiopsis funerea*، *oxysporum* f. sp. *Perniciosum*، *T. Trichoderma viride* شامل ۴ گونه قارچ آنتاگونیست شامل *T. atroviride* و *T. harzianum asperellum* در محیط کشت MEA به روش کشت دوگانه مورد ارزیابی قرار گرفتند. نتایج نشان داد که تمامی قارچ‌های مورد آزمایش روی یک یا چند گونه قارچ بیماری‌زای گیاهی اثر آنتاگونیستی داشته‌اند. بیشترین اثر آنتاگونیستی مربوط به قارچ‌های *Schizophyllum commune*، *Omphalotus olearius*، *Flammulina velutipes* بوده است. قارچ‌های *M. inclinata*، *O. olearius*، *P. stipticus* بیشترین اثر آنتاگونیستی را روی گونه‌های تریکودرما نشان دادند.

واژه‌های کلیدی: قارچ‌های ماکروسکوپی، Agaricales، *Trichoderma*، استان مازندران

مقدمه

هر موجود زنده به منظور حفاظت از خود در مقابل عوامل مخرب محیطی و یا عوامل بیماری‌زا، متابولیت‌های مختلف تولید می‌نماید. گروهی از این مواد دارای اثرات ضد قارچی بوده که در تعدادی از قارچ‌ها، هم مشاهده می‌شود (Grimier et al., 2000, Lam & Ng, 2001). امروزه گونه‌های مختلف قارچ تریکودرما در سطح گسترده‌ای برای کنترل عوامل بیماری‌زای قارچی در خاک و روی شاخ و برگ گیاهان استفاده می‌شود؛ اما مشخص

مشکلات و عوارض ناشی از مبارزه شیمیایی با آفات و عوامل بیماری‌زای گیاهی نظیر آلودگی زیست‌محیطی، از بین رفتن دشمنان طبیعی، مقاومت به سموم و ...، استفاده از روش‌های سالم‌تر و کم‌خطرتر را اجتناب‌ناپذیر نموده است. استفاده از پتانسیل‌های طبیعی موجودات زنده روشی است که امروزه به‌عنوان جایگزین مناسب مورد استفاده قرار می‌گیرد.

وجود دارد که ناشی از تولید آنزیم‌های لیزکننده توسط گونه‌های تریکودرما است (Mohamadi Goltapeh and Rezaei Danesh 2006).

براساس منابع در دسترس، اطلاعاتی در مورد اثرات ضد قارچی قارچ‌های ماکروسکوپی موجود در جنگل‌های ایران بر روی قارچ‌های بیمارگر گیاهی وجود ندارد. در این تحقیق اثر آنتاگونیستی ۱۰ گونه قارچ ماکروسکوپی از راسته Agaricales بر ۵ گونه قارچ بیمارگر گیاهی و چهار گونه قارچ تریکودرما بررسی شده است.

مواد و روش‌ها

تهیه میسلیموم قارچ‌های مورد نیاز

برای تهیه میسلیموم‌های قارچ‌های آگاریک مورد نیاز برای این تحقیق از روش کشت بافت کلاهک استفاده شد. برای این منظور، کارپوفره‌های قارچ‌ها از مناطق مختلف استان جمع‌آوری شدند (جدول ۱). نمونه‌برداری‌ها بصورت جنگل‌گردشی و تصادفی انجام شد و برای همه نمونه‌ها در عرصه عکس‌برداری انجام شد. مشخصات هر نمونه شامل محل و تاریخ جمع‌آوری، خصوصیات بستر رشد نظیر میزبان، تیپ جنگل، ارتفاع از سطح دریا، جهت و میزان شیب ثبت گردید. نمونه‌ها در کسبه‌های پلاستیکی مجزا که به‌منظور جلوگیری از صدمه در آنها هوا دمیده شده بود، به آزمایشگاه منتقل شدند. در آزمایشگاه از نمونه‌های راسته آگاریکال نقش اسپور تهیه شد تا رنگ توده اسپور مشخص گردد. شکل و اندازه اسپورها و سایر خصوصیات میکرو مرفولوژیکی قارچ‌ها با تهیه اسلاید دائمی در آبی پنبه و لاکتوفنل شامل ۱۰۰ میلی‌گرم لاکتوفنل و ۲ میلی‌لیتر محلول ۱٪ آبی پنبه و با استفاده از میکروسکوپ نوری و استریو میکروسکوپ مورد بررسی قرار گرفت. پس از استریل سطحی با اتانول ۹۶ درصد قطعاتی از بافت با پنس استریل در پتری‌های حاوی محیط MEA قرار داده شدند و برای رشد در انکوباتور و در دمای ۲۵ درجه سلسیوس بدون نور نگهداری شدند.

پنج گونه قارچ بیماری‌زای گیاهی شامل سه گونه قارچ بیمارگر درختان جنگلی *Fusarium oxysporum* f. sp. *Albizia* (Hept) Toole از درختان *Albizia julibrissin* (Durazz) Baker (شب‌خسب) در چالوس، *Pestalotiopsis funerea* Desm از درختان

شده‌است که این قارچ‌ها عوامل اصلی تولید توکسین‌های قارچی (Mycotoxins) از گروه Trichothecene و Peptaibiotics هستند (Degenkolba et al., 2008).

قارچ‌های راسته Agaricales با بیش از ۱۳۰۰۰ گونه از فراوانترین و معروف‌ترین قارچ‌های ماکروسکوپی بشمار می‌آیند (Kirk et al., 2008). این قارچ‌ها گسترش فراوانی داشته و تقریباً در بیشتر نقاط دنیا، در جنگل‌ها، مراتع، باغ‌ها، مزارع، و حتی در نقاط مسکونی و شهری نیز می‌توان گونه‌هایی از آنها را یافت. از نظر بستر رشد از یک جنس تا جنس دیگر و حتی از گونه‌ای به گونه‌ای دیگر تفاوت چشمگیری در میان آنها وجود دارد، به‌طوری‌که بعضی از گونه‌ها روی خاک و یا کودهای حیوانی و هوموس رشد کرده و تعداد زیادی روی بافت‌های گیاهی از جمله برگ‌های خزان‌شده، چوب‌های افتاده و درختان زنده بصورت ساپروفیت و یا انگل فعالیت می‌کنند. مطالعات مختلفی نشان داده است که این قارچ‌ها نیز برای بقاء در طبیعت و تولیدمثل از مکانیزم‌های مختلفی از جمله حمله فیزیکی به سایر قارچ‌ها و تولید متابولیت فعال بیولوژیکی نظیر ترکیبات آنتی‌بیوتیک استفاده می‌نمایند (Steglich, 1981; Anke, 1983; Hautzel et al., 1990; Toyota & Hostettmann, 1990; Becker et al., 1994; Steinmetz et al., 1995; Badalyan et al., 1998; Badalyan, 1998). بدین جهت این قارچ‌ها از پتانسیل مناسبی برای استفاده به‌عنوان عامل کنترل‌کننده بیولوژیک علیه عوامل بیمارگر گیاهی برخوردار هستند. تحقیقات مختلف فعالیت آنتاگونیستی تعدادی از قارچ‌های ماکروسکوپی بر قارچ‌های بیماری‌زای گیاهی را به اثبات رسانده است. از جمله عصاره آبی ۶۷ گونه قارچ بازیدومیست متعلق به جنس‌های *Boletus*، *Lactarius*، *Hebeloma*، *Cortinarius*، *Collybia* شرایط آزمایشگاهی بر قارچ‌های *Cytospora* sp.، *Rhizoctonia solani*، *Fusarium oxysporum* و *Graphium ulmi* دارای اثر آنتاگونیستی می‌باشند (Chaumont et al., 1982).

در بررسی اثر قارچ خوراکی *Agaricus bisporus* روی چهار گونه قارچ تریکودرما در آزمایشگاه نشان داده شد که اثر متقابل شدیدی بین میسلیموم‌های قارچ‌های *A. bisporus* و *T. longibrachiatum* و *T. harzianum*

گردید. چهار گونه قارچ آنتاگونیست تریکودرما (*Trichoderma* spp.) شامل *T. asperellum* Fyt 22202 و *T. viride* Th 288.95 از آزمایشگاه بیولوژی و بیوتکنولوژی قارچ‌ها در دانشکده بیولوژی دانشگاه ملی ایروان و *T. harzianum* 115 origination Sari area و *T. atroviride* 1116 origination Juybar area از هرباریوم بخش گیاه‌پزشکی مرکز تحقیقات کشاورزی و منابع طبیعی استان مازندران تهیه شد.

sempervirens (D. Don) Endl. (سکویا) در بهشهر و *Ophiostoma novo-ulmi* Brasier از درختان *Ulmus glabra* Huds. (ملج) در سوادکوه به روش کشت بافت چوب درختان آلوده جداسازی شدند. همچنین دو گونه قارچ بیماری‌زای غلات شامل *Fusarium culmorum* (W.G.Sm.) Sacc. و *Bipolaris sorokiniana* (Sacc.) Shoemaker از آزمایشگاه بیولوژی و بیوتکنولوژی قارچ‌ها در دانشکده بیولوژی دانشگاه ملی ایروان تهیه

جدول ۱- فهرست قارچ‌های آگاریک مورد استفاده در بررسی اثر آنتاگونیستی میسلیم‌ها و مبدأ آنها

ردیف	قارچ ماکروسکوپی	شماره جدايه	مبدأ	بستر رشد (میزبان)	تاریخ جمع‌آوری
۱	<i>Agrocybe cylindracea</i>	۹۱۲	عباس‌آباد بهشهر	<i>Acer velutinum</i> (تنه درخت زنده)	۲۰۰۷/۷/۱۲
۲	<i>Armillaria mellea</i>	۸۳۸	عباس‌آباد بهشهر	<i>Alnus glutinosa</i> (ریشه و یقه درخت زنده)	۲۰۰۷/۷/۲۶
۳	<i>Flammulina velutipes</i>	۱۰۳۸	عباس‌آباد بهشهر	<i>Diospyros lotus</i> (تنه درخت زنده)	۲۰۰۸/۱۲/۵
۴	<i>Hypholoma fasciculare</i>	۱۰۵۷	عباس‌آباد بهشهر	<i>Diospyros lotus</i> (تنه در حال پوسیدن)	۲۰۰۹/۳/۲۷
۵	<i>Hypholoma sublateritium</i>	۸۰۱	سنگده سوادکوه	<i>Fagus orientalis</i> (کنده مرده)	۲۰۰۹/۱۰/۲۹
۶	<i>Mycena inclinata</i>	۵۹	فک استل بهشهر	<i>Carpinus betulus</i> (شاخه‌های افتاده در حال پوسیدن)	۲۰۰۷/۴/۵
۷	<i>Omphalotus olearius</i>	۱۰۳۲	کلت نکا	<i>Parrotia persica</i> (کنده مرده)	۲۰۰۸/۱۰/۸
۸	<i>Panellus stipticus</i>	۹۶۱	عباس‌آباد بهشهر	<i>Fagus orientalis</i> (سرشاخه‌های افتاده)	۲۰۰۷/۱۰/۱۹
۹	<i>Pleurotus ostreatus</i>	۱۰۵۶	عباس‌آباد بهشهر	<i>Fagus orientalis</i> (تنه افتاده)	۲۰۰۸/۳/۷
۱۰	<i>Schizophyllum commune</i>	۳۲۳	خشکه‌داران تنکابن	<i>Carpinus betulus</i> (شاخه افتاده)	۲۰۰۷/۵/۲

بررسی اثر آنتاگونیستی

ساعتی متر از یکدیگر (بر حسب تجربه براساس سرعت رشد قارچ‌ها) قرار داده شدند. کشت‌ها در انکوباتور در شرایط تاریکی به مدت یک ماه نگهداری شدند. اثرات متقابل بین قارچ‌های آگاریک، قارچ‌های بیمارگر گیاهی و قارچ‌های آنتاگونیست تریکودرما بطور روزانه با استفاده از استریومیکروسکوب مورد ارزیابی قرار گرفتند. واکنش‌های مورد مشاهده به سه گروه A, B, C و چهار زیر گروه C_{A1} , C_{A2} , C_{B1} , C_{B2} تقسیم شدند (Bayalyan et al. 2002) و A و B حالتی است که توقف رشد میسلیم‌های

بررسی اثر آنتاگونیستی بین قارچ آگاریک و قارچ بیمارگر گیاهی و نیز قارچ‌های تریکودرما به روش کشت دوگانه (Bayalyan et al., 2002) در محیط کشت MEA انجام شد. تمامی حالت‌های ممکن از کشت دوگانه (۹۰ حالت) در سه تکرار انجام شد. برای این منظور قطعه‌ای دایره‌ای به قطر پنج میلی‌متر از محیط کشت سه‌روزه دو قارچ بوسیله چوب پنبه سوراخ‌کن (Cork borer) تهیه و روی محیط کشت در پتری نه میلی‌متری به فاصله ۵-۲

در مراحل بعدی همپوشانی ناقص اتفاق می‌افتد. C_{B2} حالتی است که بعد از توقف رشد اولیه بدون تماس، مراحل بعدی همپوشانی کامل اتفاق می‌افتد. برای هر گروه و زیر گروه نمرات آنتاگونیستی زیر منظور می‌گردد $A=1, B=2, C=3, C_{A1}=3/5, C_{A2}=4, C_{B1}=4/5$ و $C_{B2}=5$ ؛ شاخص آنتاگونیستی (AI) هر قارچ از فرمول زیر محاسبه می‌شود.

در این فرمول n = فراوانی هر گروه و یا زیر گروه از واکنش بین دو قارچ و i = نمره آنتاگونیستی مربوطه می‌باشد (Bayalyan et al., 2002).

هر دو قارچ اتفاق می‌افتد و هیچکدام از قارچ‌ها قادر نیستند روی دیگری را بپوشانند. A حالتی که توقف رشد در نقطه تماس میسلیم‌های دو قارچ اتفاق می‌افتد و B حالتی است که توقف رشد با فاصله، بدون تماس میسلیم‌های دو قارچ با یکدیگر اتفاق می‌افتد. C حالتی است که یک قارچ روی دیگری همپوشانی ایجاد می‌نماید. C_{A1} حالتی است که بعد از توقف رشد اولیه در نقاط تماس، در مراحل بعدی همپوشانی ناقص اتفاق می‌افتد. C_{A2} حالتی است که بعد از توقف رشد اولیه در نقاط تماس، در مراحل بعدی همپوشانی کامل اتفاق می‌افتد. C_{B1} حالتی است که بعد از توقف رشد اولیه بدون تماس،

جدول ۲- شاخص آنتاگونیستی و انواع مختلف واکنش‌های بین میسلیم‌های قارچ‌های Agaricales و

قارچ‌های بیماری‌زای گیاهی در محیط کشت MEA

قارچ بیمارگر	نوع واکنش					شاخص آنتاگونیستی کل هر قارچ ماکروسکوپی
	Fo	Ou	Pf	Fc	Bs	
<i>Agrocybe cylindracea</i>	C_{A1}^*	A	A	C_{A2}^*	C_{B1}	۶
<i>Armillaria mellea</i>	C_{B1}^*	B	B	C*	C_{B1}	۸/۵
<i>Flammulina velutipes</i>	C_{A1}	C_{A2}	C_{A1}	C_{A1}	B	۱۵
<i>Hypholoma sublateritium</i>	C_{B1}	B	C_{B1}	C_{A1}^*	B	۱۲
<i>H. fasciculare</i>	B	C_{B1}	C_{B1}	C_{A1}^*	B	۱۲
<i>Mycena inclinata</i>	C_{A1}^*	C_{A2}	A	C_{A2}^*	C_{B2}	۱۰/۵
<i>Omphalotus olearius</i>	B	C_{B2}	C_{B1}	C	B	۱۶
<i>Panellus stipticus</i>	B	B	B	C	C_{B1}	۱۳
<i>Pleurotus ostreatus</i>	C_{A1}^*	C_{A2}	A	C_{A2}^*	C_{B1}	۹/۵
<i>Schizophyllum commune</i>	C_{B1}	C_{A1}	C_{A1}	C_{A1}^*	C_{B1}	۱۵
شاخص آنتاگونیستی کل روی هر قارچ بیمارگر	۱۸/۵	۳۳/۵	۲۸/۵	۷/۵	۴۰/۵	

* قارچ آگاریک توسط قارچ بیمارگر پوشیده شده بود. در سایر واکنش‌ها، قارچ بیمارگر توسط قارچ آگاریک پوشیده شده بود.

نتایج

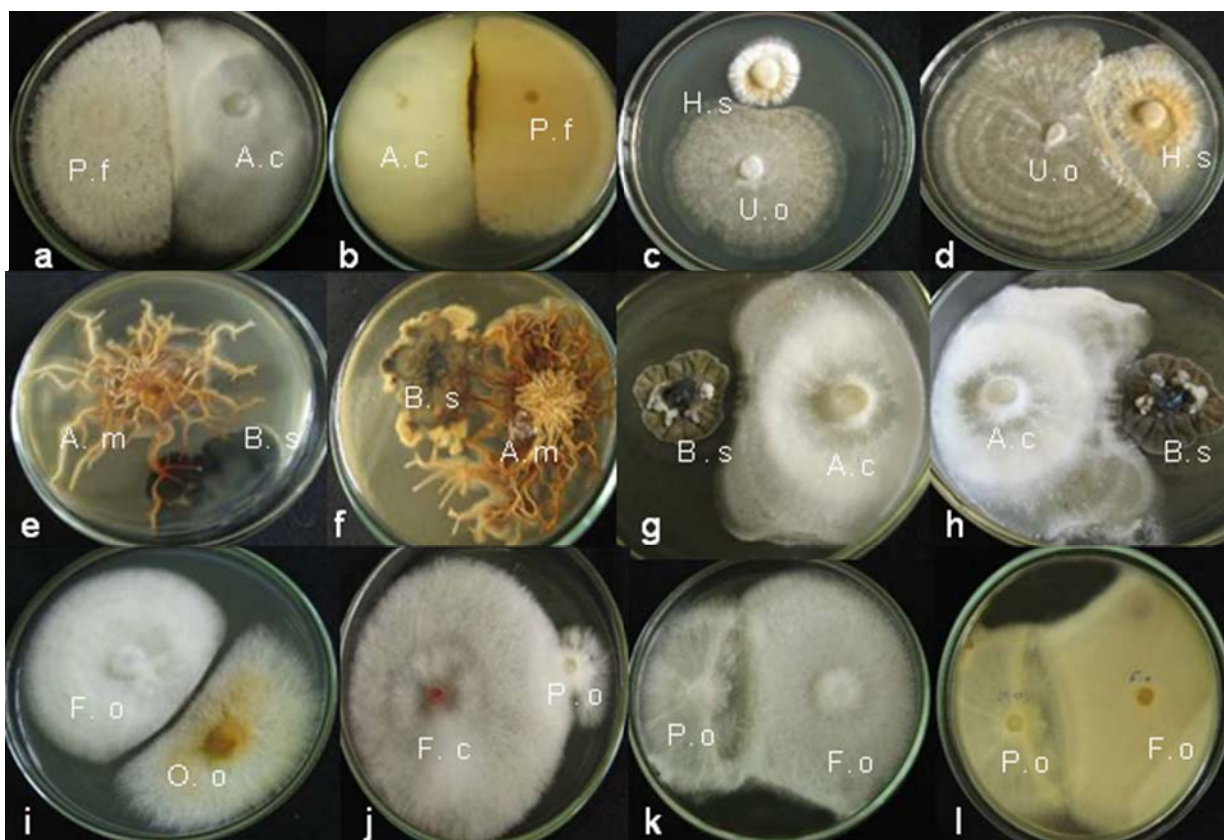
۱- قارچ‌های Agaricales با قدرت آنتاگونیستی قوی ($AI \geq 15$) روی قارچ بیماری‌زای گیاهی، شامل سه گونه *Flammulina velutipes* (Curtis) Singer، *Omphalotus*، *Schizophyllum commune* L:Fr، *olearius* (DC.) Singer می‌باشد.

نتایج اثر آنتاگونیستی قارچ‌های راسته Agaricales روی قارچ‌های بیماری‌زا نشان می‌دهد که تمامی قارچ‌های مورد آزمایش روی یک یا چند قارچ بیماری‌زای گیاهی اثر کنترل‌کنندگی داشته‌اند (جدول ۲ و شکل ۱). این قارچ-ها براساس شاخص آنتاگونیستی (AI) به ۳ گروه تقسیم شدند.

۳- قارچ‌های Agaricales با قدرت آنتاگونیستی ضعیف ($AI \leq 10$) بر روی قارچ بیماری‌زای گیاهی، شامل سه گونه *Pleurotus*، *Agrocybe cylindracea* (DC.) Gillet، *Armillaria mellea*، *ostreatus* (Jacq) P. Kumm می‌باشد. (Vahl) P. Kumm

۲- قارچ‌های Agaricales با قدرت آنتاگونیستی متوسط ($10 < AI < 15$) بر روی قارچ بیماری‌زای گیاهی، شامل چهار گونه *Hypholoma sublateritium* (Fr.)، *Hypholoma fasciculare* (Huds) Kuhner، *Panellus*، *Mycena inclinata* (Fr.) Quel، P.kumm، *stipticus* (Bull.) P.Karst می‌باشد.

Fo=*Fusarium oxysporum*, *Ou*=*Ophiostoma novo ulmi*, *Fc*=*F. culmorum*, *Bs*=*Bipolaris sorokiniana*, *Pf*=*Pestalotiopsis funerea*



شکل ۱- اثر متقابل بین قارچ‌های Agaricales و قارچ‌های بیماری‌زای گیاهی در کشت دوگانه بر روی MEA. (a, b) توقف رشد در نقطه تماس میسلیم‌های دو قارچ *Agrocybe cylindracea* & *Pestalotiopsis funerea* (Type A) بعد از توقف رشد اولیه بدون تماس میسلیم‌های دو قارچ *Hypholoma sublateritium* & *Ophiostoma ulmi* در مراحل بعدی همپوشانی ناقص اتفاق می‌افتد (Type C_{B1}), (e, f) بعد از توقف رشد اولیه بدون تماس میسلیم‌های دو قارچ *Armillaria mellea* & *Bipolaris sorokiniana* در مراحل بعدی همپوشانی ناقص اتفاق می‌افتد. (g, h), *Hypholoma sublateritium* و *Ophiostoma ulmi* در مراحل بعدی همپوشانی ناقص اتفاق می‌افتد (Type C_{B1}), (i) توقف رشد با فاصله، بدون تماس میسلیم‌های دو قارچ *Omphalotus olearius* & *Fusarium oxysporum* با یکدیگر (Type C_{B1}), (j) بعد از توقف رشد اولیه در نقاط تماس میسلیم‌های دو قارچ *Pleurotus ostreatus* & *Fusarium culmorum* در مراحل بعدی همپوشانی کامل اتفاق می‌افتد (Type C_{A2}*), (k, l) بعد از توقف رشد اولیه در نقاط تماس میسلیم‌های دو قارچ *Pleurotus ostreatus* & *Fusarium oxysporum* در مراحل بعدی همپوشانی ناقص اتفاق می‌افتد (Type C_{A1}*).

۲- قارچ‌های Agaricales با قدرت آنتاگونیستی ضعیف روی قارچ‌های تریکودرما ($AI < 5$)، شامل دو گونه *Agrocybe cylindracea* و *Hypholoma sublateralitium* می‌باشند.

۳- قارچ‌های Agaricales با قدرت آنتاگونیستی قوی روی قارچ‌های تریکودرما ($AI > 5$)، شامل پنج گونه *Hypholoma fasciculare*، *Flammulina velutipes*، *Panellus*، *Omphalotus olearius*، *Mycena inclinata* و *stipticus* می‌باشند.

اثر آنتاگونیستی قارچ‌های راسته Agaricales روی قارچ‌های آنتاگونیست تریکودرما در جدول (۳) نشان داده شده است. نتایج نشان می‌دهد که ۷ گونه از ۱۰ گونه قارچ‌های آگاریک مورد آزمایش روی یک یا چند گونه از قارچ‌های آنتاگونیست تریکودرما اثر کنترل‌کنندگی داشته‌اند. این قارچ‌ها براساس شاخص آنتاگونیستی (AI) به ۳ گروه تقسیم شدند.

۱- قارچ‌های Agaricales بدون اثر آنتاگونیستی روی گونه‌های تریکودرما ($AI = 0$)، شامل سه گونه *Armillaria mellea*، *Pleurotus ostreatus*، *Schizophyllum commune* می‌باشند.

جدول ۳- شاخص آنتاگونیستی و انواع مختلف واکنش‌های بین میسلیم‌های قارچ‌های Agaricales و قارچ‌های آنتاگونیست تریکودرما در محیط کشت MEA

قارچ آنتاگونیست	نوع واکنش				شاخص آنتاگونیستی کل هر قارچ ماکروسکوپی
	TAs	Tv	Tat	Th	
<i>Agrocybe cylindracea</i>	C _{A1} *	C _{A2} *	C _{A1} *	A	۱
<i>Armillaria mellea</i>	C _{B2} *	C _{B1} *	C _{A1} *	C*	۰
<i>Flammulina velutipes</i>	C*	A	C _{B1}	C*	۵/۵
<i>Hypholoma sublateralitium</i>	C _{A1} *	A	C _{B1} *	C _{A2} *	۱
<i>Hypholoma fasciculare</i>	C _{B1}	A	A	C*	۶
<i>Mycena inclinata</i>	C _{A2}	C _{A1}	C _{A1} *	C _{A1} *	۷/۵
<i>Omphalotus olearius</i>	C*	C _{A1}	C	C _{A1}	۱۰
<i>Panellus stipticus</i>	C*	B	C _{B1}	C*	۶
<i>Pleurotus ostreatus</i>	C*	C _{A1} *	C _{A2} *	C*	۰
<i>Schizophyllum commune</i>	C _{A1} *	C _{A1} *	C _{B1} *	C _{A1} *	۰
شاخص آنتاگونیستی کل روی هر قارچ آنتاگونیست	8.5	12	13	4	

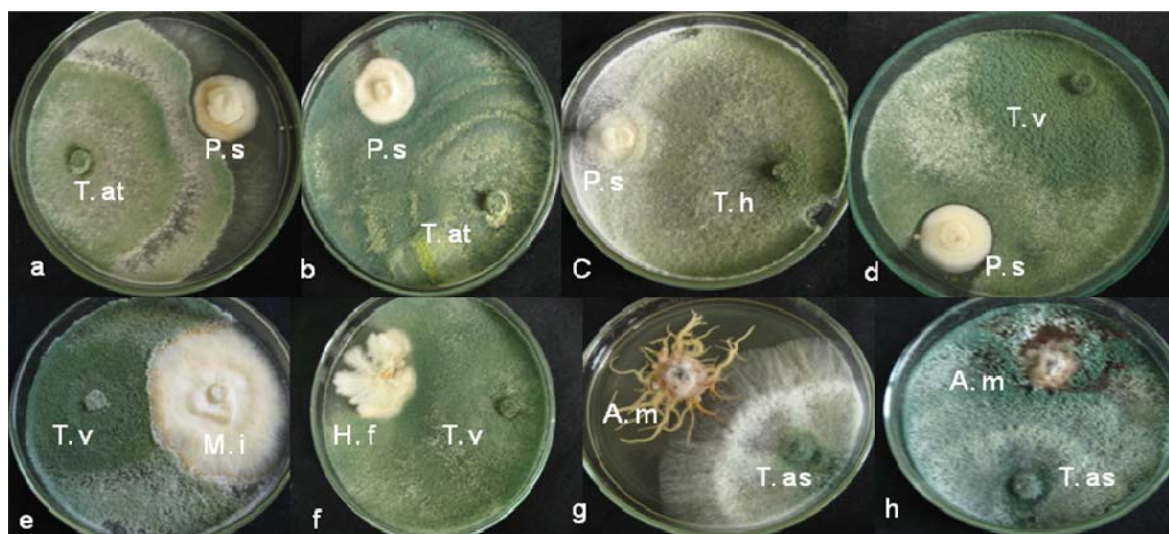
قارچ آگاریک توسط قارچ تریکودرما پوشیده شده بود. در سایر واکنش‌ها، قارچ تریکودرما توسط قارچ آگاریک پوشیده شده بود.

Tas = *T. asperellum*, Tv = *T. viridea*, Th = *T. harzianum*, Tat = *T. atroviride*

Bipolaris sorokiniana عامل پوسیدگی ریشه و طوقه غلات با نمره آنتاگونیستی ۳۸ و *Ophiostoma ulmi* عامل مرگ گونه‌های مختلف درختان خانواده نارون با نمره آنتاگونیستی ۳۳/۵ و کمترین اثر آنتاگونیستی روی قارچ *Fusarium culmorum* عامل پوسیدگی ریشه ساقه (پاخوره) گندم با نمره آنتاگونیستی ۷/۵ مشاهده شده است (جدول ۲).

بحث

مقادیر شاخص آنتاگونیستی برای هر گونه قارچی نشان‌دهنده خصوصیات بیولوژیکی آن گونه است. بنابراین تعیین شاخص آنتاگونیستی اولین قدم برای بررسی و تفکیک فعالیت فیزیولوژیکی و بیولوژیکی قارچ‌های ماکروسکوپی می‌باشد (Badalyan et al., 2002). بیشترین اثر آنتاگونیستی قارچ‌های آگاریک روی قارچ



شکل ۲- اثر متقابل بین قارچ‌های Agaricales و قارچ‌های تریکودرما در کشت دوگانه روی MEA

(a, b) بعد از توقف رشد اولیه بدون تماس میسلیم‌های دو قارچ *Panellus stipticus* & *Trichoderma atroviride* در مراحل بعدی همپوشانی ناقص اتفاق می‌افتد (Type C_{B1}), پوشش قارچ *T. harzianum* روی *P. stipticus* بدون توقف رشد (Type C*), (d) توقف رشد با فاصله بین میسلیم‌های دو قارچ *P. stipticus* & *Trichoderma viride* بدون تماس میسلیم‌های دو قارچ با یکدیگر (Type B), (e) بعد از توقف رشد اولیه در نقاط تماس میسلیم‌های دو قارچ *Mycena inclinata* & *T. viridea* در مراحل بعدی همپوشانی ناقص اتفاق می‌افتد (Type C_{A1}), (f) توقف رشد در نقطه تماس میسلیم‌های دو قارچ *Hypholoma fasciculare* & *T. viridea* بدون همپوشانی (Type A), (g, h) بعد از توقف رشد اولیه بدون تماس میسلیم‌های دو قارچ *Armillaria mellea* & *T. aspersum* در مراحل بعدی همپوشانی کامل اتفاق می‌افتد (Type C_{B2}).

Hypholoma fasciculare و *Hypholoma sublateritium* آگاریک با شاخص آنتاگونیستی بیشتر، اغلب متعلق به گروه اول و تعدادی از اعضای گروه دوم به‌وسیله *F. culmorum* پوشیده نشده‌اند. این نتیجه مشابه با نتایج بدلیان و همکاران (Badalyan et al., 2002) بوده است.

در ارتباط با فراوانی انواع واکنش بین قارچ‌های آگاریک و قارچ‌های بیمارگر بیشترین واکنش (۲۴ مورد و ۴۸٪) از نوع B بوده است. در این حالت توقف رشد (Dead lock) با فاصله بدون تماس میسلیم‌ها با یکدیگر اتفاق افتاده است که در ۱۰ مورد (۲۰٪) پوشش نسبی قارچ بیمارگر توسط قارچ آگاریک بعد از توقف رشد اولیه اتفاق افتاده است. در دو مورد قارچ آگاریک قادر بوده است بعد از توقف اولیه رشد بطور کامل قارچ بیمارگر را بپوشاند. در مقایسه کمترین واکنش (۱۲ مورد، ۲۴٪) از نوع A بوده است که در این حالت توقف در محل تماس میسلیم‌های دو قارچ بود؛ که در ۵ مورد (۱۰٪) پوشش نسبی قارچ بیمارگر توسط قارچ بیماری‌زا بعد از توقف اولیه رشد مشاهده شد و در ۳ مورد

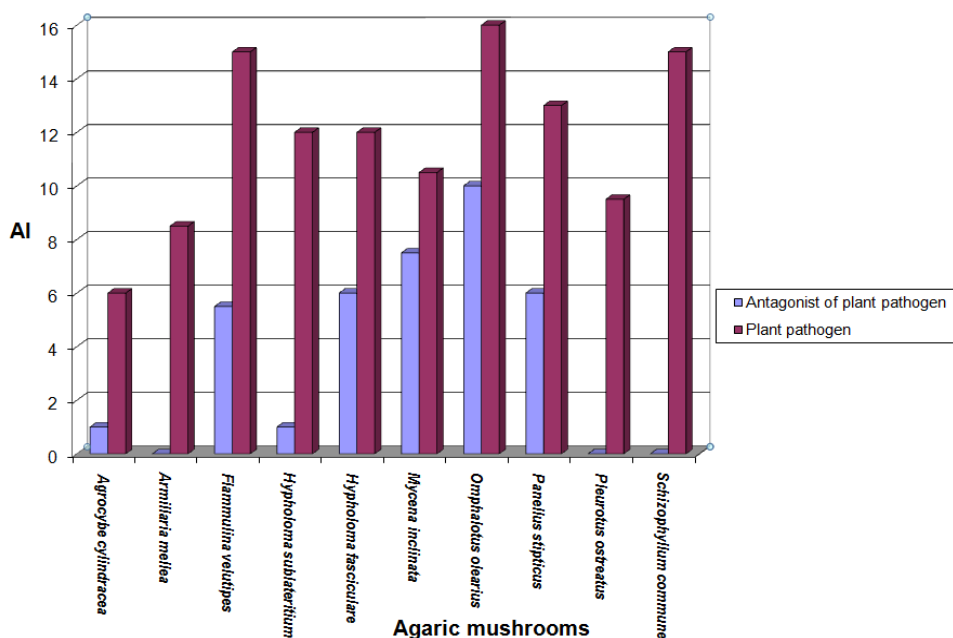
قارچ آگاریک در ۳۹ مورد (۷۸٪) از کشت‌های دوگانه، روی قارچ‌های بیمارگر گیاهی اثر کنترل‌کنندگی داشت. در مقایسه ۱۱ مورد (۲۲٪) از کشت‌های دوگانه که در جدول با علامت « » مشخص شده است، نه تنها قارچ آگاریک اثری روی قارچ بیمارگر نداشته است، بلکه قارچ‌های بیماری‌زا توانسته‌اند روی قارچ آگاریک اثر کنترل‌کنندگی داشته باشند. این نشان‌دهنده آن است که اغلب قارچ‌های آگاریک دارای اثر رقابتی با قارچ‌های بیمارگر گیاهی هستند. قارچ خوراکی و دارویی *Flammulina velutipes* و قارچ سمی *Omphalotus olearius* روی همه گونه‌های قارچ بیماری‌زا اثر کنترل‌کنندگی داشته‌اند، در مقایسه دو گونه *Agrocybe cylindracea* و *Armillaria mellea* که معمولاً روی درختان زنده مشاهده می‌شوند، دارای کمترین قدرت رقابت با قارچ‌های بیمارگر گیاهی بوده‌اند.

از بین قارچ‌های بیمارگر گیاهی مورد مطالعه، قارچ بیمارگر غلات *F. culmorum* بیشترین توانایی رقابت را با قارچ‌های آگاریک گروه‌های دوم و سوم از جمله *A. mellea*، *Pleurotus ostreatus*، *A. cylindracea*

در ۱۴ مورد (۳۵٪) از کشت‌های دوگانه قارچ آگاریک روی قارچ‌های تریکودرما اثر کنترل‌کنندگی داشت. در مقایسه ۲۶ مورد (۶۵٪) از کشت‌های دوگانه که در جدول ۳ با علامت « » مشخص شده است قارچ آگاریک اثری روی قارچ‌های تریکودرما نداشته و قارچ‌های تریکودرما توانسته‌اند روی قارچ آگاریک اثر کنترل‌کنندگی داشته باشند. این نشان‌دهنده آن است که بعضی از گونه‌های قارچ‌های آگاریک نظیر *Omphalotus olearius* که دارای اثر کنترل‌کنندگی قوی بر روی قارچ‌های بیمارگر گیاهی بوده‌اند، توانسته‌اند رشد بیشتر گونه‌های قارچ تریکودرما را نیز مهار نمایند (شکل ۳).

(۶٪) پوشش کامل قارچ بیمارگر گیاهی توسط قارچ آگاریک بعد از توقف اولیه رشد بود. در مجموع در ۲۲ مورد (۲۴٪) همپوشانی قارچ آگاریک روی قارچ بیمارگر گیاهی وجود داشت که فقط دو مورد همپوشانی ساده بدون توقف رشد بوده است و در ۲۰ مورد همپوشانی با توقف رشد میسلیم همراه بوده است.

بررسی اثر قارچ‌های آگاریک روی قارچ‌های میکوپارازیت تریکودرما نشان داد که بیشترین اثر کنترل‌کنندگی این قارچ‌ها روی *T. atroviride* و *T. viride* به ترتیب با شاخص آنتاگونیستی ۱۳ و ۱۲ بود و در مقایسه روی *T. asperellum*, *T. harzianum* به ترتیب با شاخص آنتاگونیستی ۸/۵ و ۴ کمترین اثر کنترل‌کنندگی مشاهده شد (جدول ۳).



شکل ۳- مقایسه مقادیر شاخص آنتاگونیستی (AI) گونه‌های قارچ آگاریک علیه قارچ‌های بیماری‌زای گیاهی و گونه‌های قارچی تریکودرما

تراکم میسلیم‌ها در ناحیه تماس میسلیم‌ها در هر دو قارچ آگاریک و قارچ بیمارگر گیاهی در مواقعی که توقف رشد اتفاق می‌افتد، اغلب مشاهده می‌شود (شکل ۱a). اما در موارد همپوشانی‌ها این حالت تنها در مورد قارچی که در زیر قارچ دیگر قرار می‌گیرد، اتفاق می‌افتد. میکوتوکسین‌ها هر ساله ۲۵ درصد از کل محصولات غذایی دنیا را آلوده می‌کنند (Charmley et al., 1995). بنابراین مشکل میکوتوکسین‌ها یک مشکل جهانی است و

اگرچه همپوشانی در بیشتر واکنش‌های بین قارچ‌های بازیدیومیست و سایر قارچ‌ها اتفاق می‌افتد، ولی مکانیزم آن هنوز کاملاً مشخص نشده است. در اغلب موارد حل شدن دیواره سلولی (Lysis) و رابطه پارازیتسم ممکن است دخالت داشته باشد و در بعضی از موارد پوشش ساده میسلیم قارچ بازیدیومیست روی میسلیم قارچ بیمارگر و خفه‌شدن (Simply smother) ممکن است رخ بدهد (Rayner and Webber, 1984).

- Chaumont, J. P., Symeray, J. and Marechal, G. 1982. Les propriétés antifongiques des 225 Basidiomycètes et Ascomycètes vis-à-vis de 7 champignons pathogènes cultivés in vitro. *Cryptogamie Mycologie*, 3: 249-259.
- Degenkolb, T., von Döhren, H., Nielsen, K. F., Samuels, G. J. and Brückner, H. 2008. Recent advances and future prospects in peptaibiotics, hydrophobin, and mycotoxin Research, and their importance for chemotaxonomy of *Trichoderma* and *Hypocrea*. *Chemestery & Biodiversity*, 5: 671-680.
- Gardiner, D. M., Waring, P., and Howlett, B. J. 2005. The epipolythiodioxopiperazine (ETP) class of fungal toxins: distribution, mode of action, functions and biosynthesis. *Microbiologie*, 151: 1021-1032.
- Grimier, J., Potvin, C., Trudel, J., Asseline, A. 2000. Some fungi express β -1, 3-glucanases similar to thaumatin-like proteine. *Mycologia*, 92: 841-848
- Hautzel R., Anke, H. and Sheldrick, W. S. 1990. Mycenon, a new metabolite from a *Mycena* species TA 87202 (Basidiomycetes) as an inhibitor of isocitrate lyase. *Journal of Antibiotics*, 43, 1240-1244.
- Kirk, P. M., Cannon, P. F., David, W. M. and Stalpers, J. A. 2008. *Dictionary of the Fungi*. 10th ed. Wallingford, UK: CABI, 771p.
- Lam, S. k., Ng, T. B. 2001. First simultaneous isolation of a ribosome inactivating protein and an antifungal protein from a mushroom (*Lyophyllum shimeij*) together with evidence for synergism of their antifungal effect. *Archives of Biochemistry and Biophysics*, 393: 271-280.
- Marasas, W. F., van Rensburg, S. J. and Mirocha, C. J. 1979. Incidence of *Fusarium* species and the mycotoxins, deoxynivalenol and zearalenone, in corn produced in esophageal cancer areas in Transkei, Southern Africa. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 27: 1108-1112.
- Mohamadi Goltapeh, E. and Razaii Danesh, Y. 2006. Pathogenic interactions between *Trichoderma* species and *Agaricus bisporus*. *Journal of Agricultural Technology*, 2(1) 29 - 37.
- Nielsen, K. F., Gräfenhan, T., Zafari, D. and Thrane, U. 2005. Trichothecene production by *Trichoderma brevicompactum*. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 53(21): 8190-8196.
- Rayner, A.D., Webber, J.F. 1984. Interspecific Mycelial Interactions: An Overview: 383-418. In: *The Ecology and Physiology of the Fungal Mycelium* (Jennings, D. H. and Rayner, A. D. M (Eds.). Cambridge University Press, Cambridge, UK.
- Steglich, W. 1981. Biologically active compounds from higher fungi. *Pure Applied Chemistry*, 53:1233-1240.
- Steinmetz, M. D., Rascol, J. P., Regli, P., Gargadenec, A., Andary, C., 1995. In vitro antifungal activity of Polyporaceae against yeasts and dermatophytes. *Mycoses*, 38: 305-309.
- Toyota M. and Hostettmann, K., 1990. Antifungal diterpenic esters from the mushroom *Boletinus cavipes*. *Phytochemistry* 29, 1486-1489.
- نیاز به راه‌حل جهانی دارد. با توجه به عوارض ناشی از مایکوتوکسین‌های تولید شده توسط گونه‌های مختلف قارچ تریکودرما، گونه‌هایی از این قارچ که تولید مایکوتوکسین در آنها ثابت شده است (Marasas *et al.*, 1979; Gardiner *et al.*, 2005; Nielsen, 2005) نباید در کنترل بیولوژیک بیماری‌های گیاهی در مزارع و گلخانه‌ها مورد استفاده قرار گیرند. بنابراین با توجه به نتایج این تحقیق می‌توان گفت که همه قارچ‌های آگاریکال مورد آزمایش دارای اثر مهارکنندگی روی قارچ‌های بیمارگر گیاهی بوده‌اند؛ آنها مواد متابولیکی با اثر ضد قارچی تولید می‌کنند که حتی قادر به مهار گونه‌هایی از قارچ مایکوپارازیت تریکودرما هستند. بنابراین اغلب گونه‌های مورد آزمایش می‌توانند به‌عنوان جایگزینی مناسب برای قارچ‌های تریکودرما در کنترل عوامل بیماری‌زای گیاهی مورد ارزیابی قرار گیرند. از بین قارچ‌های آگاریک مورد مطالعه سه گونه *Flammulina velutipes*، *Schizophyllum commune* و *Omphalotus olearius* با قدرت آنتاگونیستی بسیار قوی، گزینه مناسبی برای انجام مطالعات تکمیلی هستند. البته بررسی امکان استفاده از آنها در شرایط نیمه مزرعه‌ای و گلخانه‌ای به‌خصوص روی غلات و نهال‌های جنگلی باید از اهداف مطالعات بعدی باشد.

منابع مورد استفاده

- Anke, T., Besl, H., Mocek, U., Steglich, W., 1983. Antibiotics from Basidiomycetes. XVIII. Strobilurin C and Oudemansin B, two new antifungal metabolites from *Xerula* species (Agaricales). *Journal of Antibiotics* 36(6):661-666
- Badalyan, S. M. 1998. Biological properties of certain macroscopic Basidiomycetes (Morphology, Ecology and Physiological Activity). PhD thesis in Biological Sciences, Yerevan University, Armenia.
- Badalyan, S. M., Rapior, S., Dary, C. and Serrqno, J. J. 1998. Biological active compounds of higher fungi. In: *Proceedings of the 4th International Colloquium on Natural Products from Plants*, Ottawa, Canada, 93-98.
- Badalyan, S. M., Innocenti, G., Garibyan, N. G., 2002. Antagonistic activities of Xylotrophic mushrooms against pathogenic fungi of cereal in dual culture. *Phytopathologia Mediterranea*, 41(3): 220 - 225
- Becker, U., Anke, T., Sterner, O., 1994. A novel bioactive illudalane sesquiterpene from the fungus *Pholiota destruens*. *Natural Products Letters*, 5: 171-174.
- Charmley, L. L., Trenholm, H. L., Prlusky, D. B. and Rosenberg, A. 1995. Economic losses and decontamination. *Natural Toxins*, 3: 99-203.