

## معرفی سه گونه جدید تریکودرما برای میکوفلورای ایران

Three new species of *Trichoderma* for the mycoflora of Iran

دوستمیراد ظفری\*، رسول زارع، جعفر ارشاد و عزیزاله علیزاده

گروه گیاهپزشکی، دانشکده کشاورزی دانشگاه بوعلی سینا، موسسه تحقیقات  
آفات و بیماری‌های گیاهی و گروه بیماری شناسی گیاهی، دانشکده کشاورزی  
دانشگاه تربیت مدرس

پذیرش 1383/10/2

دریافت 1383/4/13

### چکیده

در این بررسی سه گونه شامل *Trichoderma ghanense*، *T. spirale* و *T. atroviride* که به ترتیب متعلق به بخش‌های *Pachybasium Longibrachiatum* و *Trichoderma* می‌باشند، به عنوان گونه‌هایی جدید برای میکوفلورای ایران شناسایی و گزارش می‌گردند. در این میان *T. atroviride* در کنترل بیولوژیکی عوامل بیماری‌زای گیاهی حایز اهمیت است.

واژه‌های کلیدی: تریکودرما، ایران، میکوفلور

### مقدمه

جنس *Trichoderma* Pers. در سال 1794 توسط پرسون (Persoon 1794) معرفی گردید. ریفای (Rifai 1969) آن را مورد بررسی و مطالعه قرار داد و بر اساس ریخت‌شناسی پرگنه، کنیدیوفور، کنیدیوم و اونتوزنی شرحی برای آن ارائه نمود که هنوز معتبر است. وی این

---

\* مسئول مکاتبه

جنس را در نه گروه گونه‌ای (species aggregates) طبقه‌بندی و کلیدی برای آنها ارائه کرد. هامیل (1970) و سیمونز (1977) به ترتیب گونه‌های *T. saturnisporum* Hammil و *T. reesei* E.G. Simmons را معرفی نمودند. دومش و همکاران (1980) گونه‌های شناخته شده تا آن زمان را مورد مطالعه قرار داده و کلیدی برای تشخیص 11 گونه ارائه کردند. ویرکمپ و گمس (1983) *T. inhamatum* و دوی و همکاران (1987) گونه *T. ghanense* را معرفی کردند. بی‌ست (1984, 1991a) طبقه‌بندی جنس تریکودرما را مجدداً به طور دقیق مورد بررسی قرار داد و در مجموع بیش از 30 گونه را در این جنس معرفی نمود. گمس و بی‌ست (1998) بخش *Saturnisporum* را در بخش *Longibrachiatum* و بدین ترتیب تعداد بخش‌ها را کاهش دادند و گونه‌های *T. reesei* و *T. inhamatum* را به عنوان گونه‌های مستقل پذیرفتند. ساموئلز و همکاران (1998) بخش *Longibrachiatum* را مورد تجدید نظر قرار داده و 10 گونه برای آن معرفی نمودند. مطالعات مولکولی متعددی که در دو دهه اخیر روی تاکسونومی گونه‌های تریکودرما صورت گرفته است غالباً طبقه‌بندی بی‌ست (1984, 1991, 1992) را تا حدود زیادی تایید کرده‌اند و علاوه بر این گونه‌های *T. stromaticum* و *T. aggressivum*, *T. asperellum* (Samuels et al. 1999,) *T. helicum*, *T. effusum*, *T. erinaceum*, *T. rossicum*, *T. cerinum* و گونه‌های *T. taiwanense* و *T. velutinum* (Bissett et al. 2002) را نیز معرفی و به گونه‌های قبلی اضافه نموده‌اند. در ایران ظفری و همکاران (2002) 10 گونه شامل *T. asperellum*, *T. citrinoviride*, *T. hamatum*, *T. harzianum*, *T. inhamatum*, *T. koningii*, *T. virens* و *T. longibrachiatum*, *T. saturnisporum*, *T. tomentosum* را معرفی نمودند.

### روش بررسی

نمونه‌برداری خاک از مناطق مختلف کشور به طور تصادفی از عمق صفر تا 30 سانتی‌متری صورت گرفت. نمونه‌های یک کیلوگرمی خاک در کیسه‌های پلاستیکی نو به آزمایشگاه منتقل گردیدند. برای جداسازی از خاک، از محیط‌های کشت عمومی و انتخابی مناسب برای جداسازی گونه‌های تریکودرما استفاده شد (ظفری و همکاران 2002). برای شناسایی جدایه‌ها در سطح گونه، میزان رشد، مشخصات ماکروسکوپی پرگنه‌ها و مشخصات میکروسکوپی آنها شامل شکل، اندازه و سایر ویژگی‌های کنیدیوفورها، فیالیدها، کنیدیوم‌ها، کلامیدوسپورها و ریشه‌ها مورد مطالعه قرار گرفت. برای مطالعه میزان رشد جدایه‌ها، حلقه‌هایی به قطر 7 میلی‌متر از حاشیه پرگنه هر جدایه روی تشتک پتری حاوی محیط کشت مالت-آگار (حاوی 2٪ حاوی 20 گرم مالت-آگار در یک لیتر آب مقطر)، سیب زمینی-دکستروز-

آگار و CMD (CMA به اضافه دکستروز) قرار داده شد و در دمای 20°C، و شرایط تاریکی و روشنایی مساوی (12:12 ساعت) نگهداری شدند. میزان رشد در روزهای سوم و چهارم اندازه گیری شد. شعاع رشد پرگنه جدایه‌های مربوط به بخش *Longibrachiatum* با قرار دادن حلقه‌های 7 میلی‌متری از کشت هر جدایه در یک سانتی‌متری کنار تشتک‌ها و نگهداری در دماهای 20، 30 و 40 درجه سانتی‌گراد به مدت 65 ساعت در تاریکی مورد مطالعه قرار گرفت. مشخصات پرگنه‌ها شامل رنگ، خوابیده یا کرکی بودن، نحوه کنیدیوم‌زایی و رنگ پشت پرگنه با کشت جدایه‌ها روی محیط‌های مالت-آگار 2٪ و سیب زمینی-دکستروز-آگار مطالعه گردید. بررسی و اندازه‌گیری مشخصات میکروسکوپی با قرار دادن نمونه‌ها در داخل یک قطره رنگ

cotton blue روی لام و مشاهده آنها به وسیله میکروسکوپ نوری صورت گرفت. جهت تهیه تصاویر میکروسکوپ الکترونی از روش Low-temperature scanning electron microscopy استفاده شد (Beckett & Read 1986).

### نتیجه و بحث

در مجموع بیش از 300 جدایه تریکودرما از نمونه‌های خاک مناطق مختلف ایران به دست آمد. ده گونه قبلاً از ایران گزارش شده بود (ظفری و همکاران 2002) و سه گونه در این مقاله گزارش می‌شوند که به بخش‌های *Longibrachiatum*، *Pachybasium* و *Trichoderma* تعلق دارند. این گونه‌ها برای میکوفلور ایران جدید می‌باشند.

### بخش *Longibrachiatum*

گونه‌های بخش *Longibrachiatum* دارای کنیدیوفورهایی با محور اصلی بلند و انشعابات نامنظم و کم تراکم هستند. انشعابات اولیه غالباً کوتاه و به ندرت دارای انشعابات ثانویه هستند. فیالیدها به صورت منفرد و نامنظم روی کنیدیوفور تولید شده و به ندرت ایجاد دسته‌های چندتایی و پیرامونی می‌نمایند. ویژگی اخیر بویژه در نوک کنیدیوفورها مشهودتر است. کنیدیوم‌ها غالباً مستطیلی (*oblong*) تا بیضوی (*ellipsoid*) و دارای سطح صاف هستند، ولی در بعضی از گونه‌ها در سطح کنیدیوم‌ها زواید بال مانندی وجود دارد. گونه‌های این بخش غالباً رنگ‌های زرد متمایل به سبز مشخصی در سطح زیرین پرگنه تولید می‌کنند.

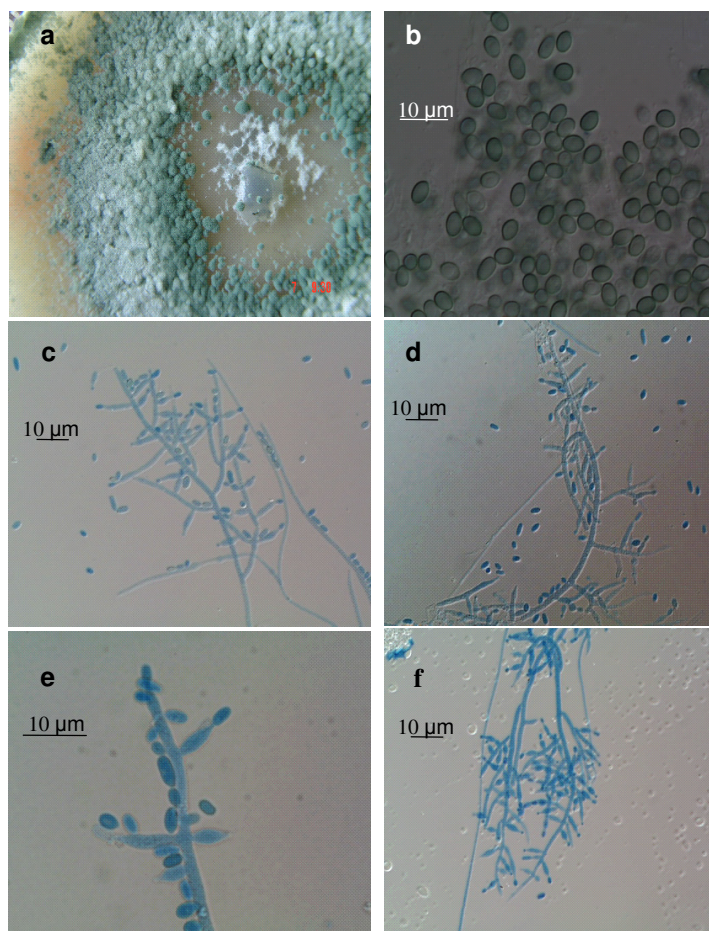
*Trichoderma ghanense* Doi, Y. Abe & J. Sugiy., Bull. Natl. Sci. Mus. Ser. B (Bot.) 13: 1984 (شکل 1)

شعاع پرگنه‌ها روی محیط PDA بعد از 65 ساعت در شرایط تاریکی در دماهای 20، 30 و 40 درجه سانتی‌گراد به ترتیب به 39، 70 و 50 میلی‌متر می‌رسد. کنیدیوم‌زایی روی PDA به صورت یکنواخت و پراکنده در تمام سطح پرگنه ظاهر می‌شود و به رنگ سبز تیره است در دمای کمتر از 30 درجه هاگ‌زایی به کندی صورت می‌گیرد. سطح زیرین پرگنه در تمام دماهای اشاره شده بی‌رنگ است. روی محیط کشت MA پرگنه‌ها کاملاً در سطح محیط کشت خوابیده و به صورت پراکنده در حاشیه تشتک‌ها تولید دسته‌های کنیدیومی به قطر 5-7 میلی‌متر به رنگ سبز متمایل به آبی می‌نمایند. کنیدیوفورهای تولید شده داخل این دسته‌ها در محل انشعابات و محل تولید فیالیدها گاهی متورم می‌شوند. این گونه روی محیط CMD تولید ریشه‌های تار عنکبوتی نموده و کنیدیوم‌زایی در حاشیه تشتک‌ها به صورت نوارهای سبز رنگ می‌باشد. کنیدیوفورها از نوع کنیدیوفورهای بخش *Longibrachiatum* هستند. نوک محور اصلی کنیدیوفورها در حدود 60 میکرومتر بدون انشعاب است و فقط فیالیدهای منفرد روی آن تشکیل می‌شوند. فیالیدها روی شاخه‌های فرعی غالباً به صورت منفرد و به ندرت به صورت دسته‌های سه تایی به وجود می‌آیند. فیالیدها غالباً استوانه‌ای شکل‌اند ولی در بعضی قسمت‌های میانی تا حدودی عریض‌تر است، تعدادی از آنها در انتها پیچیده و قلاب مانند می‌باشند. اندازه فیالیدها  $2/1-4/1 \times 5-13$  میکرومتر می‌باشد. کنیدیوم‌ها بیضوی، دارای سطح صاف، سبز تیره و اندازه آنها  $3-5 \times 4/5-7/5$  میکرومتر می‌باشد. مهمترین اختلاف جدایه بررسی شده با نمونه تیپ (GJS 95-137) اندازه کنیدیوم‌های آن بود که در این نمونه در حدود دو برابر عریض‌تر از نمونه تیپ بود. کلامیدوسپورها کمابیش به صورت انتهایی و میانی به شکل کروی و نیم کروی تشکیل می‌شوند و قطر آنها 5-11 میکرومتر است.

*Trichoderma ghanense* توسط دوی و همکاران (Doi et al. 1987) بر اساس جدایه‌هایی با کنیدیوم‌های دارای زواید بال مانند و مستطیلی شکل (oblong) معرفی گردید. بی‌ست (1991c) نام جدید *T. parceramosum* را برای *T. atroviride* Bissett به علت همنام بودن آن با *T. atroviride* P. Karst. معرفی نمود که فرق مهم آن با *T. ghanense* عدم زواید بال مانند در سطح اسپورهای آن بود. در نهایت ساموئلز و همکاران (1998) با تلفیق مطالعات مولکولی و مورفولوژیکی تفاوت قابل توجه‌ای بین *T. ghanense* و *T. parceramosum* ملاحظه نکردند. بنابراین، با توجه به تقدم زمانی، *T. ghanense* به عنوان نام اصلی و سایر نام‌ها به عنوان مترادف معرفی شدند. با توجه به اینکه تمام ویژگی‌های مورفولوژیکی و مولکولی جدایه مورد بررسی با جدایه تیپ به استثنای اندازه هاگ شبیه است، بنابراین در شرح گونه *T. ghanense* باید تجدید نظر شود و ابعاد وسیعتری از اندازه کنیدیوم‌ها لحاظ گردد. *T. ghanense* برای فلور قارچی ایران جدید می‌باشد.

نمونه بررسی شده: IRAN 464 C از خاک مزرعه صیفی کاری، شهریار کرج، جمع آوری

ظفری.



شکل 1- *Trichoderma ghanense*. a. پرگنه، b. کنیدیومها، c, d, e, f. فیالیدها و کنیدیوفورها. تصاویر با میکروسکوپ نوری مجهز به نومارسکی.

Fig. 1. *Trichoderma ghanense*. a. Colony, b. conidia, c, d, e, f. conidiophores and phialides.

### بخش *Pachybasium*

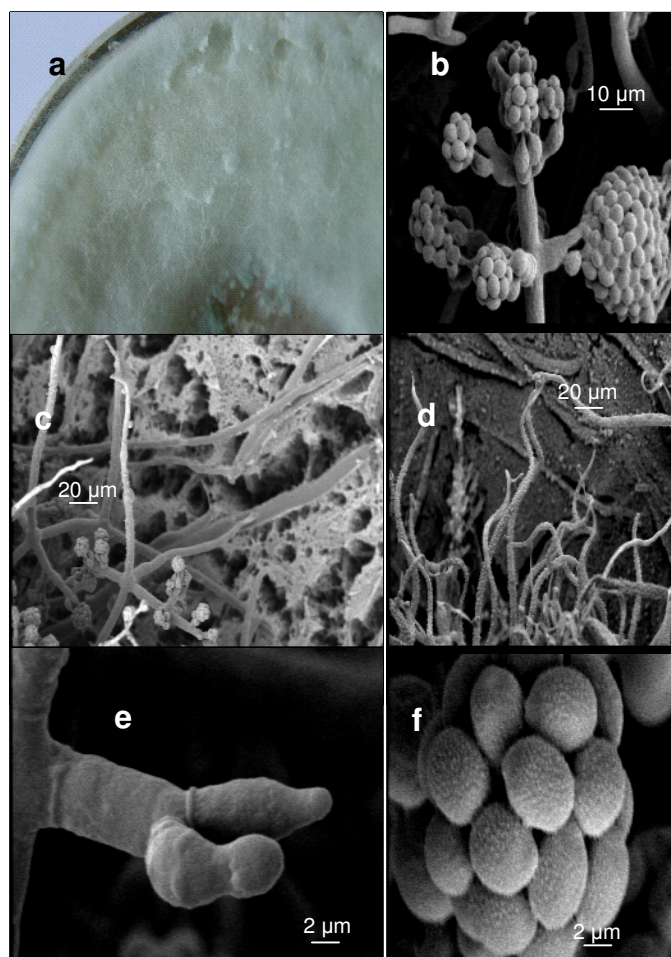
گونه‌های بخش *Pachybasium* دارای کنیدیوفورهایی بسیار قطور و غیر قابل انعطاف با انشعابات پیرامونی فراوان هستند. کنیدیوفورها در این بخش غالباً در سطح پرگنه‌ها در کنار هم تولید شده و دسته‌ها یا جوش‌های کنیدیومی را به وجود می‌آورند. نوک محور اصلی کنیدیوفورها در تعدادی از گونه‌های این بخش نازا می‌باشد و گاهی با یکدیگر آناستوموز تشکیل

می‌دهند. فیالیدها در این بخش آمپولی شکل و غالباً در دسته‌های 7-2 تایی و به صورت پیرامونی روی کنیدیوفورها تولید می‌گردند. کنیدیوم‌ها نیم کروی تا بیضوی تا مستطیلی شکل و به رنگ سبز یا قهوه‌ای یا بی‌رنگ هستند.

(شکل 2) *Trichodema spirale* Bissett, Can. J. Bot. 69: 2410. 1991

پرگنه‌ها سریع‌الرشد، بعد از سه روز در دمای 20 درجه سانتی‌گراد قطر پرگنه‌ها به 4-7 سانتی‌متر می‌رسد. ریشه‌های هوایی روی PDA کرکی یا پشمی و سفید یا متمایل به خاکستری هستند. کنیدیوم‌زایی اغلب به صورت جوش‌های بالشک مانند است که قطر آنها به 2/5 میلی‌متر می‌رسد. جوش‌ها در سطح پرگنه پراکنده یا به هم پیوسته و تولید توده‌های نامنظم می‌نمایند. گاهی نیز ایجاد دواپر متحدالمرکز می‌کنند. جوش‌ها ابتدا سفید ولی به سرعت سبز متمایل به آبی می‌شوند. سطح زیرین پرگنه روی محیط کشت در بعضی جدایه‌ها بی‌رنگ ولی اغلب جدایه‌ها روی MA تولید رنگ زرد و روی PDA بویژه در کشت‌های کهنه تولید رنگ قهوه‌ای متمایل به قرمز می‌نمایند. ترشحات قطره مانند کوچک بی‌رنگ روی ریشه‌های و جوش‌ها هوایی تشکیل می‌شوند. پرگنه فاقد بوی مشخص یا دارای بوی کپک است. ریشه‌ها بی‌رنگ دارای دیواره صاف و قطر آنها 1-6 میکرومتر است. قطر ریشه‌های درون محیط کشت (submerged) به 12 میکرومتر نیز می‌رسد. کنیدیوفورها بی‌رنگ، با دیواره صاف یا به طور نامنظم در بعضی قسمت‌ها ضخیم شده‌اند. کنیدیوفورها در قسمت پایه 4/5-8 میکرومتر قطر دارند ولی به طرف بالا باریک می‌شوند، به طوری که در بیشتر طول خود 3/5-6 میکرومتر قطر دارند. انشعابات محور اصلی زیاد نیست و شاخه‌ها تقریباً در سرتاسر کنیدیوفور کوتاه می‌شوند، اغلب به صورت منفرد و متناوب ولی تعدادی نیز دوتایی هستند. شاخه‌های فرعی مجدداً انشعابات زیادی تولید نمی‌کنند. انشعابات انتهایی یک یا دو سلولی‌اند و سلول‌های انتهایی استوانه‌ای تا بشکه‌ای شکل هستند. نوک کنیدیوفورها عقیم و درست در محل بالای قسمت زایا 4-5/5 میکرومتر قطر دارند. نوک آنها باریک می‌شود و سلول‌های انتهایی باریک شده و گاهی اوقات در مرحله پیری زایا هستند. نوک کنیدیوفورها در 30-100 میکرومتری انتها پیچیده است و به فراوانی با هم آناستوموز تشکیل می‌دهند. نوک کنیدیوفورها در قسمت عقیم قبل از اضافه نمودن مایع روی آن زیر میکروسکوپ نوری و در میکروسکوپ الکترونی ناصاف به نظر می‌رسد، ولی بعد از اضافه نمودن مایع روی آنها برجستگی‌های سطح قسمت عقیم ناپدید می‌شوند. فیالیدها آمپولی شکل تا کروی بوده و  $4-2/8 \times 3/3-5/2$  میکرومتر اندازه دارند، در پایه قدری فشرده و در نوک در محل پیدایش کنیدیوم به شدت باریک می‌شوند و در دسته‌های 6-2 تایی به صورت پیرامونی به وجود می‌آیند. کنیدیوم‌ها بیضوی تا مستطیلی بوده و  $1/8-2/8 \times 2/9-4/5$  میکرومتر اندازه دارند. دو طرف آنها گرد شده یا قدری در پایه

باریکترند. سطح کنیدیوم‌ها زیر میکروسکوپ نوری صاف به نظر می‌رسد، ولی در بزرگنمایی بالا (با استفاده از SEM) به طور خیلی ظریفی زبرند. کنیدیوم‌ها سبز رنگ و غالباً به هم چسبیده و تولید یک توده هاگی بادوام می‌کنند. کلامیدوسپورها به تعداد زیاد درون محیط کشت به صورت منفرد و به حالت میانی یا انتهایی تشکیل می‌شوند. کلامیدوسپورها بی‌رنگ، تقریباً کروی با دیواره صاف و به قطر 5-13 میکرومتر به طوری که دیواره آنها حدود یک میکرومتر ضخامت دارد.



شکل 2- *Trichoderma spirale*. a. پرگنه، b. کنیدیوفورها، c, d. انتهای عقیم کنیدیوفورها، e. فیالیدها، f. کنیدیوم‌ها. تصاویر میکروسکوپ الکترونی.

Fig. 2. *Trichoderma spirale*. a. Colony, b, c. conidiophores, d. sterile elongations of conidiophore tips, e. phialides, f. conidia. b, c, d, e, f. SEM.

این گونه با داشتن کنیدیوفور قطور، جوش‌های سبز متمایل به آبی فشرده و انتهای کنیدیوفور عقیم پیچ خورده از سایر گونه‌ها قابل شناسایی است. اغلب جدایه‌ها تولید رنگ زرد تا قهوه‌ای متمایل به قرمز قابل رویت در سطح زیرین پرگنه می‌نمایند. *T. fertile* نیز دارای کنیدیوفورهای فراخ و منشعب شبیه این گونه است، اما نوک کنیدیوفور در آن راست و معمولاً واجد چندین شاخه کوتاه و زایا می‌باشد. نوک کنیدیوفور در *T. spirale* در حالت دست نخورده دارای قسمت زبر قابل رویتی است که در مایعات رنگی و غیر رنگی جهت تهیه نمونه میکروسکوپی ناپدید می‌شوند.

نمونه‌های بررسی شده: IRAN 384 C از خاک باغ چای، سه راهی شفت، رشت، جمع‌آوری ظفری - IRAN 392 C از خاک مزرعه کاهو، 15 کیلومتری بهشهر به طرف ساری، جمع‌آوری ظفری - IRAN 291 C از خاک باغ چای، لیلاکوه لنگرود، جمع‌آوری ظفری IRAN 288 C از خاک باغ چای، لاهیجان، جمع‌آوری مرآت - IRAN 389 C از خاک، 15 کیلومتری ساری به طرف گرگان، جمع‌آوری ظفری - IRAN 184 C از خاک باغ مرکبات، عباس آباد تنکابن، جمع‌آوری آهنگران.

### بخش *Trichoderma*

گونه‌های بخش *Trichoderma* دارای کنیدیوفورهای ظریف و قابل انعطاف با انشعابات کم تراکم هستند. انشعابات غالباً به صورت دوتایی و به ندرت پیرامونی، با بیش از 3 شاخه می‌باشند. فیالیدها نیز کم تراکم و معمولاً در دسته‌های 2 یا 3 تایی و حداکثر 5 تایی و پیرامونی تولید می‌شوند. فیالیدها تنگی شکل (lageniform) تا نوک دار (subulate) و کنیدیوم‌ها معمولاً سبز رنگ و سطح آنها صاف یا ناصاف است. بر اساس مطالعات متعدد مولکولی (Dodd et al. 2000, Kindermann et al. 1998) تعدادی از گونه‌هایی که با توجه به ویژگی‌های مورفولوژیکی آنها قبلاً در بخش *Pachybasium* طبقه‌بندی شده‌اند در بخش *Trichoderma* قرار می‌گیرد. این گونه‌ها عبارتند از *T. strigosum*, *T. hamatum* و *T. pubescens*.

(شکل 3) *Trichoderma atroviride* P. Karst., Finl. Mögelsvamp. P. 21. 1892  
= *Trichoderma atroviride* Bissett, Can. J. Bot. 62: 930. 1984 [nom. illeg.]  
= *Trichoderma parceramosum* Bissett, Can. J. Bot. 69: 2418. 1991

پرگنه‌ها سریع‌الرشد به طوری که قطر رشد آنها روی مالت - آگار دو درصد بعد از سه روز در دمای 20 درجه سانتی‌گراد به 80-55 میلی‌متر می‌رسد. دمای بهینه رشد روی PDA 25-30 درجه سانتی‌گراد می‌باشد. بعد از 96 ساعت در دمای 30 درجه و شرایط

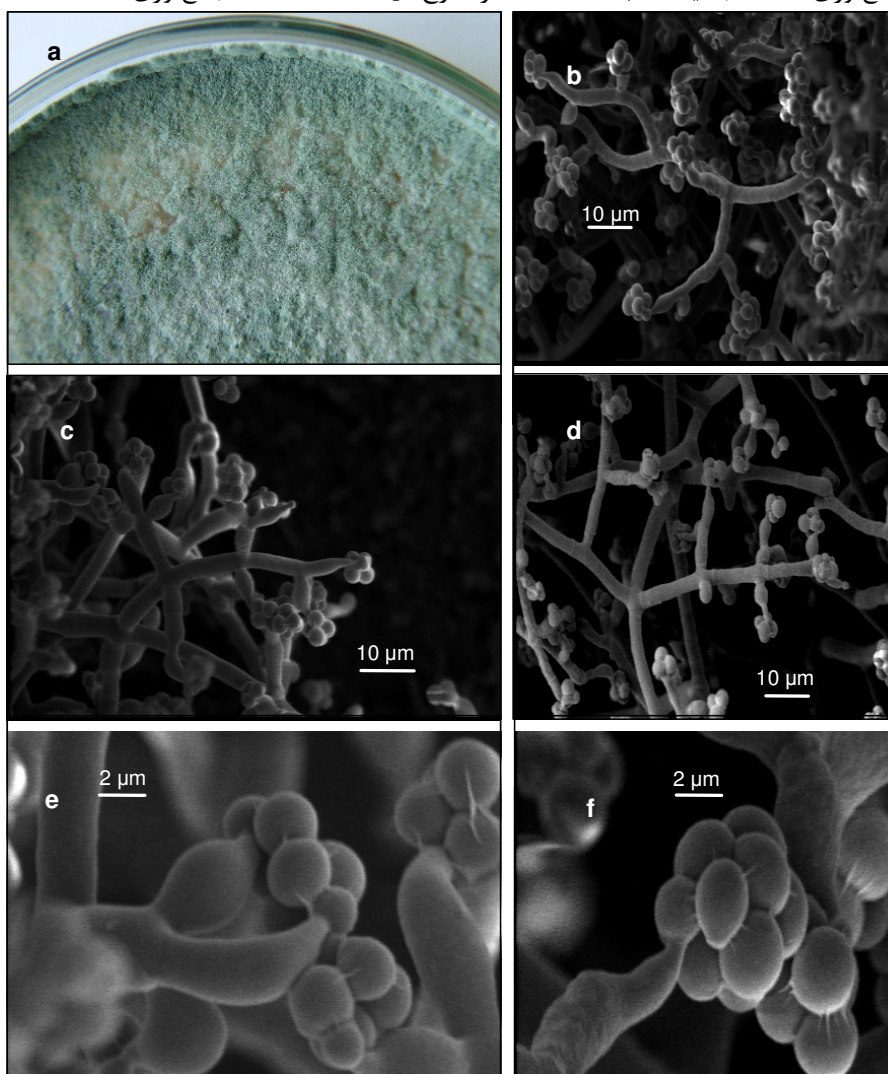


تاریکی کامل روی CMD کنیدیومزایی در وسط پرگنه آغاز می‌شود. کنیدیومزایی معمولاً به صورت یکنواخت و پیوسته در سطح محیط پراکنده می‌شود. بعضی از جدایه‌ها تولید جوش‌هایی

به صورت شعاعی می‌نمایند. جدایه‌های این گونه روی محیط‌های PDA, OA و CMD به شدت بویی شبیه بوی نارگیل دارند. ریشه‌ها بی‌رنگ، دارای دیواره صاف و  $1/5$  تا  $12$  میکرومتر قطر دارند. کنیدیوفورها درختچه‌ای و قابل انعطاف، قطر آنها در قسمت پایه به  $5$  میکرومتر می‌رسد ولی به تدریج به طرف نوک باریکتر می‌شوند. شاخه‌های فرعی غالباً به صورت منفرد روی کنیدیوفور قرار می‌گیرند، ولی تعدادی از آنها نیز ممکن است به صورت دوتایی و حتی دسته‌های سه تایی پیرامونی منشعب گردند. زاویه انشعاب شاخه فرعی نسبت به محور اصلی حدود  $90$  درجه و در قسمت انتهایی کنیدیوفور کمتر از  $90$  درجه می‌باشد. فیالیدها راست یا خمیده‌اند و غالباً در قسمت نوک قلاب مانند می‌شوند. فیالید غالباً به صورت منفرد یا در دسته‌های  $2-4$  تایی روی کنیدیوفور به وجود می‌آیند. فیالیدهای منفرد و انتهایی معمولاً استوانه‌ای ولی سایر فیالیدها تا حدودی در قسمت میانی نسبت به دو طرف متورم‌تر هستند. اندازه فیالیدها  $2/4-3$  تا  $6-12$  میکرومتر می‌باشد. فیالیدهای میانی (intercalary) در این گونه مشاهده نمی‌شود. کنیدیومها نیم کروی تا تخم‌مرغی، دارای دیواره صاف و فاقد اثر محل افتادن هستند. اندازه کنیدیومها  $2/2-3/4$  تا  $2/6-4/2$  میکرومتر می‌باشد. این گونه روی محیط CMD بعد از  $7$  روز به شدت روی ریشه‌های درون محیط تولید کلامیدوسپورهای انتهایی و میانی می‌نماید. کلامیدوسپورها کروی تا نیم‌کروی و اندازه کلامیدوسپورها بسیار متفاوت ( $5-12$  میکرومتر) است. کنیدیوفور در جدایه‌های این گونه نسبت به سایر گونه‌های بخش *Trichoderma* متفاوت و خیلی شبیه کنیدیوفور *T. viride* است. کنیدیوفورها کم تراکم و قابل انعطاف هستند. این گونه به وسیله شکل و اندازه فیالیدها و کنیدیوفورها و نیز میزان شعاع رشد پرگنه (که در  $35$  درجه سانتی‌گراد بعد از  $72$  ساعت روی PDA از  $15$  میلی‌متر تجاوز نمی‌کند) از سایر گونه‌های بخش *Trichoderma* قابل تفکیک است. سطح صاف هاگ (حتی در مشاهده با میکروسکوپ الکترونی) آن را از گونه‌های *T. viride* و *T. asperellum* متمایز می‌نماید. بزرگتر بودن اندازه کنیدیومها و فیالیدها و رنگ سبز تیره کنیدیومها و میزان رشد در دمای  $35$  درجه سانتی‌گراد این گونه را از *T. harzianum*, *T. aggressivum* f. *aggressivum* و *T. a. f. europaeum* متمایز می‌نماید. *T. atroviride* برای میکوفلور ایران جدید است و از گونه‌هایی است که از نظر کنترل بیولوژیکی اهمیت زیادی دارد.

نمونه‌های بررسی شده: جدایه IRAN 503 C از خاک مزرعه گندم، شوراب، خرم‌آباد لرستان، جمع‌آوری ظفری- جدایه 53 (602A) از نمونه‌های بخش بیماری‌های گیاهی موسسه

تحقیقات آفات و بیماری‌های گیاهی - جدایه 55 به دست آمده از ریزومورف قارچ آرمیلاریا، جمع‌آوری آصف- جدایه 72 به دست آمده از قارچ *Ganoderma* sp.، جمع‌آوری آصف.



شکل 3- *Trichoderma atroviride*. a. پرگنه، b, c, d. کنیدیوفورها، e. فیالیدها، f. کنیدیومها. f, e, d, c, b. تصاویر میکروسکوپ الکترونی.

Fig. 3. *Trichoderma atroviride*. a. Colony, b, c, d. conidiophores, e, phialides, f. conidia. b, c, d, e, f. SEM.

### منابع

جهت ملاحظه منابع به صفحات 64-65 متن انگلیسی مراجعه شود.

---

**نشانی نگارندگان:** دکتر دوستمرد ظفری، گروه گیاهپزشکی دانشگاه بوعلی سینا، همدان؛ دکتر رسول زارع\* و دکتر جعفر ارشاد، بخش تحقیقات رستنی‌ها، موسسه تحقیقات آفات و بیماری‌های گیاهی، صندوق پستی 1454، تهران 19395 و دکتر عزیزاله علیزاده، گروه بیماری‌شناسی گیاهی دانشگاه تربیت مدرس، تهران.

\* **E-mail:** simplicillium@yahoo.com

## THREE NEW SPECIES OF *TRICHODERMA* FOR THE MYCOFLORA OF IRAN

D. ZAFARI<sup>\*</sup>, R. ZARE, D. ERSHAD and A. ALIZADEH  
Bu-Ali Sina Univ., Plant Pests & Diseases Res. Inst. and  
Tarbiat Modarres Univ.

Received 03.07.2004

Accepted 22.12.2004

Some 350 *Trichoderma* isolates were obtained from soil samples collected from different parts of Iran. Cultures were purified on 2% water agar by hyphal tip method prior to identification. Obtained isolates were identified using morphological features including colony characters (pigmentation and growth rate on PDA) and microscopic characters such as shape of conidiophores, shape and size of conidia and phialides. Microscopic features of conidiophores and shape and size of conidia were studied and recorded 3–5 days after inoculation on cultures grown on 2% MEA at 20°C under ambient laboratory conditions by using light microscopy and scanning electron microscopy (SEM). Ten species including *T. citrinoviride*, *T. longibrachiatum*, *T. saturnisporum*, *T. hamatum*, *T. harzianum*, *T. inhamalum*, *T. tomentosum*, *T. virens*, *T. asperellum* and *T. koningii* were already identified and reported from Iran (ZAFARI *et al.* 2002) and three new species, *T. ghanense* (Fig. 1), *T. spirale* (Fig. 2) and *T. atroviride* (Fig. 3) from sections *Longibrachiatum*, *Pachybasium* and *Trichoderma*, respectively, are reported here. *Trichoderma atroviride* is known as one of the most important biocontrol agents against plant diseases caused by some pathogenic fungi.

---

\* Corresponding author

**Key words:** *Trichoderma*, Iran, mycoflora

To look at the figures, please refer to the Persian text (pages: 159–169 ).

## References

- BECKETT, A. and READ, N.D. 1986. Low-temperature scanning electron microscopy. Pp 45–86. *In*: Aldrich, H.C. and Todd, W.J. (eds): Ultrastructure techniques for micro-organisms. Plenum Press, New York.
- BISSETT, J. 1984. A revision of the genus *Trichoderma*. I. Section *Longibrachiatum* sect. nov. *Can. J. Bot.* 62: 924–931.
- BISSETT, J. 1991a. A revision of the genus *Trichoderma*. II. Infrageneric classification. *Can. J. Bot.* 69: 2357–2372.
- BISSETT, J. 1991b. A revision of the genus *Trichoderma*. III. Section *Pachybasium*. *Can. J. Bot.* 69: 2373–2417.
- BISSETT, J. 1991c. A revision of the genus *Trichoderma*. IV. Additional notes on section *Longibrachiatum*. *Can. J. Bot.* 69: 2418–2420.
- BISSETT, J. 1992. *Trichoderma atroviride*. *Can. J. Bot.* 70: 639–641.
- BISSETT, J., SZAKACS, G., NOLAN, C.A., KULLNIG, C.M., DRUZHININA, I. and KUBICEK, C.P. 2002. Nine new species of *Trichoderma*. *Proc. 7<sup>th</sup> Intern. Mycol. Cong., Oslo 11–17 Aug., Norway.*
- DODD, S., CROWHURST, R.N., RODRIGO, A.G., SAMUELS, G.J., HILL, R.A. and STEWART, A. 2000. Examination of *Trichoderma* phylogenies derived from ribosomal DNA sequence data. *Mycol. Res.* 104: 23–34.
- DOI, Y., ABE, Y. and SUGIYAMA, J. 1987. *Trichoderma* sect. *Saturnisporum* sect. nov. and *Trichoderma ghanense* sp. nov. *Bul. Nat. Sci. Mus. (Tokyo)* 4: 19–26.
- DOMSCH, K.H., GAMS, W. and ANDERSON, T.H. 1980. *Compendium of Soil Fungi*. Academic Press, London, UK.
- GAMS, W. and BISSETT, J. 1998. Morphology and identification of *Trichoderma*. Pp. 3–34. *In*: KUBICEK, C.P. and HARMAN, G.E. (eds). *Trichoderma and Gliocladium*. Vol. 1. Taylor & Francis, London, UK.
- HAMMILL, T.M. 1970. *Paecilomyces clavisporis* sp. nov., *Trichoderma saturnisporum* sp. nov. and other noteworthy soil fungi from Georgia. *Mycologia* 62: 107–122.
- KINDERMANN, J., EL-AYOUTI, Y., SAMUELS, G.J. and KUBICEK, C.P. 1998. Phylogeny of the genus *Trichoderma* based on sequence analysis of the

internal transcribed spacer region 1 of the rDNA cluster. Fung. Gen. Biol. 24: 298–309.

PERSOON, C.H. 1794. Neuer Versuch einer systematischen Eintheilung der Schwämme (Dispositio methodica fungorum). Rmer's Neues Magazin für die Botanik in ihrem ganzen Umfange 1: 63–128.

RIFAI, M. A. 1969. A revision of the genus *Trichoderma*. Mycol. Pap. 116: 1–56.

SAMUELS, G.J., LIECKFELDT, E. and NIRENBERG, H.I. 1999. *Trichoderma asperellum* a new species with warted conidia and redescription of *T. viride*. Sydowia 51: 71–88.

SAMUELS, G.J., PARDO-SCHULTHEISS, R., HEBBAR, K.P., LUMSDEN, R.D., BASTOS, C.N., COSTA, J.C. and BEZERRA, J.L. 2000. *Trichoderma stromaticum* sp. nov. a parasite of the cacao witches broom pathogen. Mycol. Res. 104: 760–764.

SAMUELS, G.J., PETRINI, O., KUHLS, K., LIECKFELDT, E. and KUBICEK, C.P. 1998. The *Hypocrea schweinitzii* complex and *Trichoderma* sect. *Longibrachiatum*. Stud. Mycol. 41: 1–54.

SIMMONS, E.G. 1977. Classification of some cellulase-producing *Trichoderma* species. Abstr. 2<sup>nd</sup> Intern. Mycol. Cong., University of South Florida, Tampa, Florida, p. 613.

VEERKAMP, J. and GAMS, W. 1983. Los hongos de Colombia-VIII. Some new species of soil fungi from Colombia. Caldasia 13: 709–717.

ZAFARI, D., ERSHAD, D., ZARE, R. and ALIZADEH, A. 2002. A contribution to the identification of *Trichoderma* species in Iran. Iran. J. Pl. Path. 38: 9–13.

---

**Addresses of the authors:** Dr. D. ZAFARI, Dept. of Plant Protection, College of Agriculture, Bu-Ali Sina Univ., Hamedan, Iran; Drs. R. ZARE\* and D. ERSHAD, Plant Pests & Diseases Res. Inst., P.O. Box 1454, Tehran 19395, Iran and Dr. A. ALIZADEH, Dept. of Plant Pathology, College of Agriculture, Tarbiat Modarres Univ., Tehran, Iran.

\* **E-mail:** simplicillium@yahoo.com