

مطالعه‌ی برخی از مکانیسم‌های آنتاگونیستی جدایه‌های قارچ *Talaromyces flavus* علیه *Verticillium dahliae* و *Verticillium albo-atrum* عوامل بیماری پژمردگی در چند محصول زراعی مهم

لاله نراقی^۱، اصغر حیدری^۲، سعید رضائی^۱ و محمد رضوی^۲

۱- گروه بیماری‌شناسی گیاهی دانشکده‌ی کشاورزی و منابع طبیعی واحد علوم و تحقیقات دانشگاه آزاد اسلامی، تهران، ایران

۲- بخش تحقیقات بیماری‌های گیاهان، مؤسسه تحقیقات گیاه‌پزشکی کشور، تهران، ایران

مسئول مکاتبات: لاله نراقی، lale_naraghi@yahoo.com

تاریخ پذیرش: ۹۱/۱۰/۲۶

۲۸-۱۳ (۱) ۱

تاریخ دریافت: ۹۱/۱/۲۲

چکیده

پژمردگی ورتیسلیومی از مهم‌ترین بیماری‌های گیاهان زراعی از قبیل پنبه، گوجه‌فرنگی، سیب‌زمینی و خیار گلخانه‌ای محسوب شده و باعث وارد شدن خسارات فراوان به این محصولات مهم می‌شود. کنترل بیولوژیک می‌تواند یکی از مناسب‌ترین روش‌ها جهت مدیریت این بیماری باشد. در این پژوهش، برای بررسی مکانیسم‌های آنتاگونیستی *Talaromyces flavus*، ابتدا عوامل بیماری‌زا و قارچ آنتاگونیست *T. flavus* از مناطق کشت گیاهان فوق به ترتیب توسط محیط کشت‌های TF و Komada و جداسازی شد. سپس، مکانیسم‌های آنتاگونیستی آن‌ها از جمله میکوپارازیتسم، تولید ترکیبات فرار و غیرفرار روی رشد عوامل بیماری‌زای فوق مطالعه گردید. در این پژوهش، ۶۰ جدایه‌ی *T. flavus* استفاده شد که به ترتیب ۲۳، ۱۵، ۱۴ و ۸ جدایه به مناطق کشت پنبه، گوجه‌فرنگی، سیب‌زمینی و خیار گلخانه‌ای تعلق داشت. برای پنبه و سیب‌زمینی با عوامل پژمردگی *Verticillium dahliae* و *Verticillium albo-atrum*، بیش‌ترین میانگین درصد بازدارندگی (۸۱/۵۱ و ۶۴/۹۳) به ترتیب توسط جدایه‌های TF-Co-G-1 و TF-Po-V-48 به دست آمد و در هر دو جدایه، ترکیبات غیرفرار بیش‌ترین تأثیر را روی بازدارندگی رشد عامل بیماری‌زا نشان دادند. در حالی که، برای گوجه‌فرنگی و خیار گلخانه‌ای با عامل بیماری‌زای *V. albo-atrum*، بیش‌ترین میانگین درصد بازدارندگی (۷۳/۶۷ و ۵۴/۷۸) به ترتیب توسط جدایه‌های TF-To-V-31 و TF-Cu-V-60 موجب شد. براساس بررسی‌های انجام‌شده، مؤثرترین مکانیسم بازدارندگی این دو جدایه، تولید ترکیبات فرار بود.

واژه‌های کلیدی: *Talaromyces flavus*، مکانیسم‌های آنتاگونیستی، *Verticillium dahliae*، *Verticillium albo-atrum*

پنبه، سیب‌زمینی، گوجه‌فرنگی، خیار گلخانه‌ای

مقدمه

حمله فرار می‌دهند. اکثر میزبان‌های این قارچ‌ها از گیاهان دو لپه‌ای هستند، ولی در بافت‌های سطحی ریشه‌ی بعضی از گیاهان تک‌لپه‌ای نظیر گندم و سایر غلات نیز زنده می‌مانند (Malik & Milton, 1980).

در ایران، نژادهای بیماری‌زای *V. dahliae* در مزارع پنبه‌ی نواحی شمالی شناسایی شده (Hamdollahzadeh, 1993) و در سال ۱۳۸۴، در ایستگاه تحقیقاتی استهبان استان فارس، میزان درصد بیماری پژمردگی ورتیسلیومی پنبه برای رقم ورامین ۸۵/۶۳٪ گزارش گردیده است

بیماری پژمردگی ورتیسلیومی یکی از مهم‌ترین بیماری‌های گیاهان زراعی و باغی می‌باشد که تاکنون از ۵۱ کشور جهان روی گیاهان مختلف گزارش شده است. هر چند این بیماری در تمام نقاط دنیا وجود دارد، ولی در مناطق معتدل از اهمیت بیش‌تری برخوردار است (Pegg & Brady, 2002). گونه‌های *Verticillium dahliae* Reinke & Berthold. و *Verticillium albo-atrum* Kleb. از عوامل این بیماری محسوب می‌شوند که دارای طیف میزبانی وسیع هستند و بیش از ۳۴۰ گونه‌ی گیاهی را مورد

عمل نموده است. به‌عنوان مثال، مؤثرترین مکانیسم این قارچ برای جنس *Verticillium*، تولید ترکیبات غیرفرار شامل آنزیم‌های تخریب‌کننده دیواره‌ی سلولی (کتیناز، گلوکاناز و سلولاز) و گلوکز اکسیداز بوده، درحالی‌که در مورد جنس *Rhizoctonia* هم مکانیسم فوق و هم میکوپارازیتسم، تأثیر به‌سزایی روی بازدارندگی عامل بیماری مذکور داشته‌اند (Inglis & Kawchuk, 2002).

در ایران، برای اولین بار قارچ *T. flavus* از یک مزرعه‌ی پنبه واقع در ایستگاه تحقیقاتی کارکنده استان گلستان گزارش شده است. نتایج تحقیقات نشان داد که در شرایط آزمایشگاه ترکیبات فرار و غیرفرار این قارچ موجب کاهش رشد پرگنه‌ی *V. dahliae* گردیده است (Naraghi et al., 2003). هدف از این پژوهش تعیین مکانیسم‌های آنتاگونیستی جدایه‌های *T. flavus* که از مناطق کشت مختلف گیاهان زراعی به‌دست آمده بود، می‌باشد تا بتوان برحسب جدایه‌های مورد استفاده، پایدارکننده‌های ترکیبات خاص را به بستر تکثیر آن‌ها انتقال داد.

مواد و روش‌های پژوهش

۱- جداسازی و شناسایی جدایه‌های مختلف *T. flavus* از خاک مزارع در برخی مناطق ایران

در این مرحله، ابتدا نمونه‌برداری خاک مزارع از مناطق مهم کشت چند محصول زراعی شامل پنبه، سیب‌زمینی، گوجه‌فرنگی و خیار گلخانه‌ای با توجه به سابقه‌ی آلودگی آن‌ها به بیماری پژمردگی ورتیسلیومی مطابق روش (Butterfield & De 1977) انجام گرفت. برای جداسازی جدایه‌های قارچ *T. flavus* از سوسپانسیون‌های خاک، مطابق روش (Marois et al., 1984) از محیط کشت انتخابی TF (TF medium) استفاده شد.

در مرحله‌ی شناسایی، جدایه‌هایی که از لحاظ ماکروسکوپی پرگنه‌ی آن‌ها روی دو محیط کشت اختصاصی و عمومی (TF و PDA) بعد از ده روز

(Kheiri & Fatahi, 2010). تاکنون، درصد آلودگی به این بیماری برای خیار گلخانه‌ای در مناطق عمده‌ی کشت آن‌ها تعیین نشده است، ولی شیوع گسترده‌ی بیماری پژمردگی ورتیسلیومی در گلخانه‌ای خیار در ورامین مشاهده شده است. هم‌چنین، مقالاتی نیز در زمینه‌ی جداسازی ورتیسلیوم از خیار گلخانه‌ای در یزد (Esmaeelzadeh Hosseini, 2006) و سیب‌زمینی در کرمان (Aminae et al., 2006) وجود دارد.

یکی از روش‌های مناسب کنترل پژمردگی ورتیسلیومی، استفاده از میکروارگانیسم‌های آنتاگونیست است که ضرورت استفاده‌ی مداوم از اراضی کشاورزی از یک سو و جلوگیری از مسایل زیست‌محیطی ناشی از کاربرد کودها و سموم شیمیایی، محققین بخش کشاورزی را بر آن داشته تا با استفاده از این گونه میکروارگانیسم‌ها جهت افزایش کمیت و کیفیت تولیدات کشاورزی گام مؤثری بردارند (Klosterman et al., 2009; Naraghi et al., 2010). امروزه در بسیاری از کشورهای صنعتی به‌جای استفاده از کودها و سموم شیمیایی، تمام یا بخشی از عناصر غذایی مورد نیاز گیاه را به کمک میکروارگانیسم‌های خاک در اختیار گیاه قرار می‌دهند به‌طوری‌که تولید و مصرف کودهای بیولوژیک در سال‌های اخیر رشد فزاینده‌ای داشته است (Huang et al., 2011). برای استفاده از این روش، ابتدا بایستی عوامل بیولوژیک مؤثر برای کنترل بیماری‌های گیاهی از طریق مطالعه‌ی مکانیسم‌های آنتاگونیستی آن‌ها انتخاب شوند (Knudsen et al., 1997).

به‌طور کلی، مکانیسم‌های مشاهده شده در قارچ‌های آنتاگونیست شامل پارازیتسم، آنتی‌بیوز، رقابت و القای مقاومت سیستمیک می‌باشد (Van Elsas et al., 2007). *T. flavus* توسط این مکانیسم‌ها موجب بازدارندگی رشد عوامل مختلف بیماری‌زا نظیر *Rhizoctonia*، *Valbo-atrum*، *V. dahliae*، *Sclerotium rolfsii* و *Sclerotinia sclerotiorum solani* گردیده است (Inglis & Kawchuk, 2002). تحقیقات بسیاری نشان داده که *T. flavus* جهت تأثیر هرچه بیش‌تر روی عوامل بیماری‌زای مختلف با مکانیسم‌های متفاوت

که در آن: I ، درصد بازدارندگی رشد پرگنه‌ی قارچ بیماری‌زا، D_t قطر رشد پرگنه‌ی قارچ بیماری‌زا در تیمار متأثر از جدایه‌ها و D_c قطر رشد پرگنه‌ی قارچ بیماری‌زا در تیمار شاهد می‌باشد.

مقایسه‌ی میانگین‌های درصد بازدارندگی رشد پرگنه‌ی قارچ بیماری‌زا توسط ترکیبات غیرفرار هریک از جدایه‌های *T. flavus* با استفاده از آزمون چند دامنه‌ای دانکن در سطح ۱٪ در قالب طرح آماری کاملاً تصادفی انجام گرفت.

نتایج

۱- جداسازی و شناسایی جدایه‌های مختلف *T. flavus* از خاک مزارع در برخی مناطق ایران

در این تحقیق، ۶۰ جدایه‌ی مختلف قارچ *T. flavus* از خاک برخی مناطق کشت پنبه استان‌های گلستان (گرگان)، خراسان رضوی (نیشابور) و اردبیل (مغان)، گوجه‌فرنگی استان‌های آذربایجان غربی (ارومیه) و تهران (ورامین)، سیب‌زمینی استان تهران (کرج و ورامین) و خیار گلخانه‌ای تهران (ورامین) به دست آمد. از این تعداد، ۲۳ جدایه به مزارع پنبه در گرگان: از TF-Co-G-1 تا TF-Co-G-11، نیشابور: از TF-Co-N-12 تا TF-Co-N-21 و مغان: از TF-Co-M-22 تا TF-Co-M-23، ۱۵ جدایه به مزارع گوجه‌فرنگی در ورامین: از TF-To-V-24 تا TF-To-V-33 و ارومیه: از TF-To-U-34 تا TF-To-U-38، ۱۴ جدایه به مزارع سیب‌زمینی در کرج: از TF-Po-K-39 تا TF-Po-K-47 و ورامین: از TF-Po-V-48 تا TF-Po-V-52 و ۸ جدایه به گلخانه‌های خیار (از TF-Cu-V-53 تا TF-Cu-V-60) تعلق داشت (جدول ۱).

در مرحله‌ی شناسایی، پرگنه‌ی جدایه‌های *T. flavus* روی محیط کشت اختصاصی و عمومی (PDA و TF)، دارای هاله‌ی زرد روشن در اطراف و نواحی سبز رنگ در

نگهداری در دمای ۳۰ درجه‌ی سلسیوس دارای هاله‌ی زرد روشن در اطراف و نواحی سبز رنگ در مرکز و هم‌چنین از لحاظ میکروسکوپی، دارای ریشه‌ها و شکل غیرجنسی (کنیدیوم و کنیدیوفور) مشابه با جنس *Penicillium* بودند، انتخاب شدند. هم‌چنین، به‌منظور به‌دست آوردن شکل جنسی، این جدایه‌ها روی محیط کشت به‌مدت سه هفته در انکوباتور با دمای ۳۰ درجه‌ی سلسیوس نگهداری شده و اندام تولید مثل جنسی‌شان شامل آسکوگونوم، آنترییدیوم، آسکوکارپ، آسک و آسکوسپور نیز مطالعه گردید.

۲- جداسازی و شناسایی عوامل بیماری‌زای بیماری پژمردگی ورتیسلیومی

در این مرحله، نمونه‌های خاک و گیاه آلوده از مناطق کشت هر یک از محصولات پنبه، گوجه‌فرنگی، سیب‌زمینی و خیار گلخانه‌ای جمع‌آوری شده و جهت جداسازی عوامل بیماری‌زا از آن‌ها به‌ترتیب مطابق روش‌های Christen (1981) و Kim et al. (2001) عمل شد. پس از خالص‌سازی هر یک از پرگنه‌های به‌دست آمده روی محیط کشت PDA اقدام به شناسایی آن‌ها شد. شناسایی جدایه‌ها مطابق منابع موجود (Hawksworth & Talboys, 1970; Kim et al., 2001) بر اساس اندازه‌ی کنیدی، طول کنیدیوفور، شکل ساختارهای استراحتی (میکرواسکلروت و میسلوم تیره) و رنگ پرگنه‌ی روی محیط کشت صورت گرفت.

۳- مطالعه‌ی مکانیسم فعالیت آنتاگونیستی جدایه‌های *T. flavus*

پس از شناسایی جدایه‌های مختلف *T. flavus* از میان جدایه‌های به‌دست آمده، مکانیسم فعالیت آنتاگونیستی آن‌ها شامل میکوپارازیتسم، تولید ترکیبات فرار و غیرفرار علیه عوامل بیماری‌زا مطابق روش Wright et al., (1990) مطالعه گردید. درصد بازدارندگی رشد پرگنه‌ی قارچ بیماری‌زا توسط هر یک از مکانیسم‌های جدایه‌های *T. flavus* از فرمول زیر به‌دست آمد.

$$I = \frac{D_c - D_t}{D_c} \times 100$$

جدول ۱- جدایه‌های *Talaromyces flavus* به دست آمده از مناطق مختلف ایران.Table 1- Isolates of *Talaromyces flavus* obtained from different regions in Iran.

Crop Cultivated in Sampling Region	Regions of Soil Sampling	<i>T. flavus</i> Isolates	Crop Cultivated in Sampling Region	Regions of Soil Sampling	<i>T. flavus</i> Isolates	Crop Cultivated in Sampling Region	Regions of Soil Sampling	<i>T. flavus</i> Isolates
Potato	Karaj	TF-Po-K-41	Cotton	Neishaboor	TF-Co-N-21	Cotton	Gorgan	TF-Co-G-1
Potato	Karaj	TF-Po-K-42	Cotton	Moghan	TF-Co-M-22	Cotton	Gorgan	TF-Co-G-2
Potato	Karaj	TF-Po-K-43	Cotton	Moghan	TF-Co-M-23	Cotton	Gorgan	TF-Co-G-3
Potato	Karaj	TF-Po-K-44	Tomato	Varamin	TF-To-V-24	Cotton	Gorgan	TF-Co-G-4
Potato	Karaj	TF-Po-K-45	Tomato	Varamin	TF-To-V-25	Cotton	Gorgan	TF-Co-G-5
Potato	Karaj	TF-Po-K-46	Tomato	Varamin	TF-To-V-26	Cotton	Gorgan	TF-Co-G-6
Potato	Karaj	TF-Po-K-47	Tomato	Varamin	TF-To-V-27	Cotton	Gorgan	TF-Co-G-7
Potato	Varamin	TF-Po-V-48	Tomato	Varamin	TF-To-V-28	Cotton	Gorgan	TF-Co-G-8
Potato	Varamin	TF-Po-V-49	Tomato	Varamin	TF-To-V-29	Cotton	Gorgan	TF-Co-G-9
Potato	Varamin	TF-Po-V-50	Tomato	Varamin	TF-To-V-30	Cotton	Gorgan	TF-Co-G-10
Potato	Varamin	TF-Po-V-51	Tomato	Varamin	TF-To-V-31	Cotton	Gorgan	TF-Co-G-11
Potato	Varamin	TF-Po-V-52	Tomato	Varamin	TF-To-V-32	Cotton	Neishaboor	TF-Co-N-12
Greenhouse cucumber	Varamin	TF-Cu-V-53	Tomato	Varamin	TF-To-V-33	Cotton	Neishaboor	TF-Co-N-13
Greenhouse cucumber	Varamin	TF-Cu-V-54	Tomato	Urumia	TF-To-U-34	Cotton	Neishaboor	TF-Co-N-14
Greenhouse cucumber	Varamin	TF-Cu-V-55	Tomato	Urumia	TF-To-U-35	Cotton	Neishaboor	TF-Co-N-15
Greenhouse cucumber	Varamin	TF-Cu-V-56	Tomato	Urumia	TF-To-U-36	Cotton	Neishaboor	TF-Co-N-16
Greenhouse cucumber	Varamin	TF-Cu-V-57	Tomato	Urumia	TF-To-U-37	Cotton	Neishaboor	TF-Co-N-17
Greenhouse cucumber	Varamin	TF-Cu-V-58	Tomato	Urumia	TF-To-U-38	Cotton	Neishaboor	TF-Co-N-18
Greenhouse cucumber	Varamin	TF-Cu-V-59	Potato	Karaj	TF-Po-K-39	Cotton	Neishaboor	TF-Co-N-19
Greenhouse cucumber	Varamin	TF-Cu-V-60	Potato	Karaj	TF-Po-K-40	Cotton	Neishaboor	TF-Co-N-20

تأثیر مکانیسم‌های آنتاگونیستی جدایه‌های *T. flavus* روی عامل بیماری پژمردگی ورتیسلیومی پنبه

در بررسی تأثیر میکوپارازیتسم جدایه‌های *T. flavus* روی *V. dahliae*، محدوده‌ی درصد بازدارندگی رشد پرگنه‌ی *V. dahliae* برابر با $۸۸/۷۸ - ۵۷/۹۴$ درصد بود که بیش‌ترین و کم‌ترین آن به ترتیب توسط جدایه‌های TF-Co-M-23 و TF-Co-N-17 موجب گردید (جدول ۲). در این بررسی، حالت نفوذ میان ریشه‌های قارچ بیماری‌زا و جدایه‌های *T. flavus*، قطعه‌قطعه (Fragmentation) و لیز شدن (Lysis) ریشه‌های عامل بیماری‌زا، جلوگیری از تشکیل و خورد شدن میکرواسکلروت‌ها نیز مشاهده شد (شکل‌های ۲ و ۳).

در آزمایش تأثیر ترکیبات فرار و غیرفرار جدایه‌های *T. flavus* روی *V. dahliae*، علاوه بر کاهش رشد پرگنه‌ی *V. dahliae*، بدون ملانین شدن میکرواسکلروت‌ها نیز مشاهده شد. در آزمایش تأثیر ترکیبات فرار محدوده‌ی درصد بازدارندگی رشد پرگنه‌ی *V. dahliae* برابر با $۷۷/۱۴ - ۱۴/۲۸$ درصد بود که بیش‌ترین و کم‌ترین آن به ترتیب توسط جدایه‌های TF-Co-N-20 و TF-Co-G-8 مشاهده شد. هم‌چنین، نتایج بررسی تأثیر ترکیبات غیرفرار نشان داد که محدوده‌ی درصد بازدارندگی رشد پرگنه‌ی *V. dahliae* برابر با $۹۲/۵ - ۳۹/۴۴$ درصد بوده که بیش‌ترین و کم‌ترین آن به ترتیب توسط جدایه‌های TF-Co-G-1 و TF-Co-G-8 به دست آمده بود. بنابراین، نتایج مشخص نمود که بیش‌ترین و کم‌ترین درصد بازدارندگی رشد پرگنه‌ی *V. dahliae*، به ترتیب توسط مکانیسم ترکیبات غیرفرار جدایه‌ی TF-Co-G-1 و مکانیسم ترکیبات فرار جدایه‌ی TF-Co-G-8 صورت گرفته است (جدول ۲).

در بررسی مکانیسم میکوپارازیتسم، از میان حالت‌های مختلف برخورد جدایه‌های *T. flavus* با *V. dahliae*، $۴۴/۵\%$ برخورد و قطعه‌قطعه شدن، $۴۳/۵\%$ برخورد، قطعه‌قطعه شدن و لیز شدن، ۴% برخورد و لیز شدن، ۱۳% عدم برخورد و قطعه‌قطعه شدن و ۹% عدم برخورد محاسبه

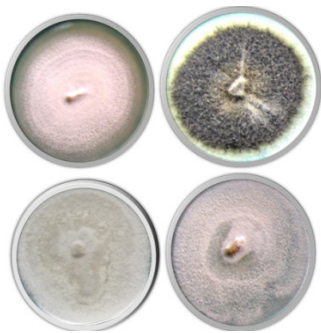
مرکز بود. از لحاظ میکروسکوپی، این جدایه‌ها دارای ریشه‌ها و شکل غیرجنسی (کنیدیوم و کنیدیوفور) مشابه با جنس *Penicillium* بودند. در شکل جنسی جدایه‌های مذکور، اندام آسکوگونیم، آنترییدیوم، آسک و آسکوسپور مشاهده شد.

۲- جداسازی و شناسایی عوامل بیماری پژمردگی ورتیسلیومی

در این مرحله، یک جدایه‌ی *V. dahliae* از ساقه‌ی پنبه، یک جدایه‌ی *V. albo-atrum* از ریشه‌ی گوجه‌فرنگی، یک جدایه‌ی *V. albo-atrum* از نمونه‌ی خاک مزرعه‌ی سیب‌زمینی و یک جدایه‌ی *V. albo-atrum* از ریشه‌ی خیار گلخانه‌ای به دست آمد. نتایج بررسی اختلاف‌های تاکسونومیکی میان جدایه‌های *V. dahliae* و *V. albo-atrum* از لحاظ اندازه‌ی کنیدی، طول کنیدیوفور، شکل ساختارهای استراحتی (میکرواسکلروت و میسلیم تیره) و رنگ پرگنه روی محیط کشت نشان داد که *V. dahliae* و *V. albo-atrum* به ترتیب دارای کنیدی‌هایی به اندازه‌ی $۲/۵ - ۳/۵ \times ۲/۳ - ۱۰/۲$ و $۲/۵ - ۳/۰ \times ۲/۰ - ۸/۶$ میکرومتر بوده و طول کنیدیوفور در *V. albo-atrum* بیش‌تر از *V. dahliae* بوده است. هم‌چنین، در *V. dahliae* میکرواسکلروت و در *V. albo-atrum* تنها میسلیم تیره مشاهده شد. رنگ پرگنه‌های *V. dahliae* و *V. albo-atrum* به ترتیب روی محیط کشت PDA به صورت شفاف (هیالین) تا سیاه و شفاف تا سفید مایل به خاکستری ظاهر گردید (شکل ۱).

۳- مکانیسم‌های آنتاگونیستی جدایه‌های *T. flavus*

در این تحقیق با توجه به این که عامل بیماری‌زا و جدایه‌های آنتاگونیست برای هر یک از محصولات پنبه، سیب‌زمینی، گوجه‌فرنگی و خیار گلخانه‌ای به صورت جداگانه از خاک مزارع همان محصول جداسازی شده، نتایج مربوط به تأثیر مکانیسم‌های مختلف شامل میکوپارازیتسم، ترکیبات فرار و غیرفرار برای محصولات فوق به صورت مجزا به شرح ذیل ارائه گردیده است:



شکل ۱- پرگنه‌های جدایه‌های *Verticillium dahliae* و *Verticillium albo-atrum*: ردیف بالا از راست به چپ: *V. dahliae* (جدایه‌ی پنبه)؛ *V. albo-atrum* (جدایه‌ی گوجه‌فرنگی)؛ ردیف پایین از راست به چپ: *V. albo-atrum* (جدایه‌های سیب‌زمینی و خیار گلخانه‌ای)

Fig. 1- Colonies of *Verticillium dahliae* & *Verticillium albo-atrum* isolates: (Up) From Right to Left: *V. dahliae* (cotton isolate); *V. albo-atrum* (tomato isolate); (Down) From Right to Left: *V. albo-atrum* (potato and greenhouse cucumber isolates).

شکل ۲- تأثیر مکانیسم میکوپارازیتیسم *Talaromyces flavus* روی ریشه‌های *Verticillium dahliae* (از راست به چپ) لیز و قطعه‌قطعه شدن ریشه‌های *V. dahliae* توسط جدایه‌های TF-Co-G-15 و TF-Co-G-21 (ریشه‌های لیز و قطعه‌قطعه شده: جهت‌نمای نقطه‌چین، ریشه‌ی سالم: جهت‌نمای پیوسته).

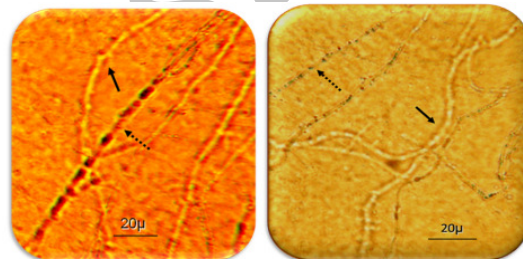
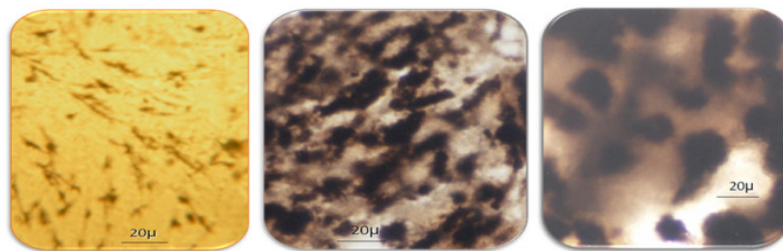


Fig. 2- The effect of mycoparasitism mechanism of *T. flavus* on mycelia of *V. dahliae*: From Right to Left) Lysis & fragmentation in *V. dahliae* mycelia by TF-Co-G-21 & TF-Co-G-15 (Mycelia in Lysis & fragmentation manner: discontinuous arrow, Healthy mycelia: continuous arrow).



شکل ۳- تأثیر میکوپارازیتیسم *Talaromyces flavus* روی میکرواسکلروت‌های *Verticillium dahliae*: راست به چپ) میکرواسکلروت‌های سالم *V. dahliae*، خرد شدن و بازدارندگی تشکیل میکرواسکلروت‌ها توسط جدایه‌های TF-Co-G-20 و TF-Co-G-15.

Fig. 3- The effect of mycoparasitism mechanism of *T. flavus* on microsclerotia of *V. dahliae*: From Right to Left) Healthy microsclerotia of *V. dahliae*, disintegration & formation inhibitory of microsclerotia by TF-Co-G-15 & TF-Co-G-20.

جدول ۲- حالت‌های مختلف برخورد جدایه‌های *T. flavus* با *V. dahliae* عامل پژمردگی ورتیسلیومی پنبه در مکانیسم میکوپارازیتسم و گروه‌بندی میانگین‌های درصد بازدارندگی رشد پرگنه‌ی *V. dahliae* توسط مکانیسم‌های میکوپارازیتسم، تولید ترکیبات فرار و غیرفرار جدایه‌های *T. flavus* با آزمون دانکن ($\alpha=0/01$).

Table 2- Different manners of *T. flavus* isolates in relation with *V. dahliae*, cotton Verticillium wilt agent, in mycoparasitism mechanism and grouping means of inhibitory percent for *V. dahliae* colony growth in mechanisms of mycoparasitism, volatile and non- volatile metabolites production by Duncan test ($\alpha = 0.01$).

Inhibitory Percent for <i>V. dahliae</i> Colony Growth						Different Manners of <i>T. flavus</i>	<i>T. flavus</i>
Non- volatile Metabolites	Volatile Metabolites	Mycoparasitism		Isolates in Relation With <i>V. dahliae</i> in Mycoparasitism		Isolates	
92.50	a	72.61	c	79.43	e	Fragmentation & Lysis	TF-Co-G-1
83.57	b	39.28	h	81.30	d	Fragmentation	TF-Co-G-2
50.55	h	36.90	i	77.60	g	No Relationship & Fragmentation	TF-Co-G-3
72.50	c	21.71	l	77.57	g	Fragmentation	TF-Co-G-4
48.55	ij	69.04	d	82.24	c	Fragmentation	TF-Co-G-5
42.44	m	20.00	m	85.04	b	Lysis	TF-Co-G-6
47.11	k	45.33	g	78.50	f	Fragmentation	TF-Co-G-7
39.44	n	14.28	o	79.43	e	Fragmentation	TF-Co-G-8
44.22	l	36.19	j	70.09	j	Fragmentation	TF-Co-G-9
43.66	l	17.14	n	69.15	k	Fragmentation	TF-Co-G-10
41.85	m	19.04	p	78.50	f	Fragmentation	TF-Co-G-11
46.55	k	58.33	f	81.30	d	Fragmentation & Lysis	TF-Co-N-12
46.77	k	60.71	e	76.63	h	Fragmentation & Lysis	TF-Co-N-13
51.44	g	16.66	n	82.24	c	No Relationship & Fragmentation	TF-Co-N-14
51.44	g	72.61	c	85.04	b	No Relationship & Fragmentation	TF-Co-N-15
50.55	h	28.57	h	71.02	i	Fragmentation	TF-Co-N-16
45.44	f	16.66	n	57.94	m	No Relationship	TF-Co-N-17
50.00	h	22.61	k	78.50	f	Fragmentation & Lysis	TF-Co-N-18
74.88	j	58.33	f	61.68	l	Fragmentation & Lysis	TF-Co-N-19
49.88	h	77.14	a	81.30	d	Fragmentation	TF-Co-N-20
55.55	e	75.42	b	79.43	e	Fragmentation & Lysis	TF-Co-N-21
52.00	g	77.14	a	78.50	f	Fragmentation & Lysis	TF-Co-M-22
48.77	i	76.00	b	88.78	a	No Relationship	TF-Co-M-23
0	o	0	o	0	n		Control

در بررسی مکانیسم میکوپارازیتسم، از میان حالت‌های مختلف برخورد جدایه‌های *T. flavus* با *V. albo-atrum*، ۴۰٪ برخورد، قطعه قطعه و لیز شدن، ۳۳٪ برخورد و قطعه قطعه شدن، ۲۰٪ برخورد و لیز شدن و ۷٪ برخورد، تداخل، قطعه قطعه و لیز شدن محاسبه گردید. هم‌چنین، در مکانیسم‌های میکوپارازیتسم، ترکیبات فرار و غیرفرار به ترتیب ۴۷،۲۰ و ۱۰۰ درصد کل جدایه‌ها موجب بیش از ۵۰ درصد بازدارندگی رشد پرگنه‌ی *V. albo-atrum* شدند.

تأثیر مکانیسم‌های مختلف جدایه‌های *T. flavus* روی عامل بیماری پژمردگی ورتیسلیومی سیب‌زمینی

در بررسی تأثیر میکوپارازیتسم جدایه‌های *T. flavus* روی *V. albo-atrum*، محدوده‌ی درصد بازدارندگی رشد پرگنه‌ی *V. albo-atrum* برابر با ۵۸/۳۳ - ۸/۳۳ درصد بود که بیش‌ترین و کم‌ترین آن به ترتیب توسط جدایه‌های TF-Po-K-42 و TF-Po-K-46 موجب گردید (جدول ۴). در این بررسی، حالت نفوذ و تداخل میان ریشه‌های قارچ بیماری‌زا و جدایه‌های *T. flavus*، قطعه‌قطعه و لیز شدن ریشه‌های عامل بیماری‌زا و عدم تشکیل میسلیم تیره (dark mycelium) شبیه مطالعه‌ی قبلی نیز مشاهده شد. در این آزمایش نیز، تأثیر ترکیبات فرار و غیرفرار جدایه‌های *T. flavus* روی *V. albo-atrum*، موجب کاهش رشد پرگنه‌ی *V. albo-atrum* و تولید میسلیم هوایی (aerial mycelium) گردید.

در آزمایش تأثیر ترکیبات فرار محدوده‌ی درصد بازدارندگی رشد پرگنه‌ی *V. albo-atrum* برابر با ۸۴/۴۴ درصد بود که بیش‌ترین و کم‌ترین آن به ترتیب توسط جدایه‌های TF-Po-V-50 و TF-Po-K-45 موجب شد. هم‌چنین، در این بررسی مشخص گردید که سه جدایه‌ی TF-Po-K-39، TF-Po-K-40 و TF-Po-K-42 نه تنها رشد پرگنه‌ی *V. albo-atrum* را کاهش نداده بلکه به میزان ۲/۸۵، ۲۰ و ۳۶/۱۹ درصد افزایش رشد آن را تحریک کرده است (جدول ۴). نتایج بررسی تأثیر ترکیبات غیرفرار نشان داد که محدوده‌ی درصد بازدارندگی رشد

گردید. هم‌چنین، در مکانیسم‌های میکوپارازیتسم، ترکیبات فرار و غیرفرار به ترتیب ۱۰۰، ۴۴ و ۴۸ درصد کل جدایه‌ها موجب بیش از ۵۰ درصد بازدارندگی رشد پرگنه *V. dahliae* شدند.

تأثیر مکانیسم‌های مختلف جدایه‌های *T. flavus* روی عامل بیماری پژمردگی ورتیسلیومی گوجه‌فرنگی

در بررسی تأثیر میکوپارازیتسم جدایه‌های *T. flavus* روی *V. albo-atrum*، محدوده‌ی درصد بازدارندگی رشد پرگنه‌ی *V. albo-atrum* برابر با ۶۸/۴۲ - ۷/۸۹ درصد بود که بیش‌ترین و کم‌ترین آن به ترتیب توسط جدایه‌های TF-To-V-28 و TF-To-V-30 موجب گردید (جدول ۳). در این بررسی، حالت نفوذ و تداخل میان ریشه‌های قارچ بیماری‌زا و جدایه‌های *T. flavus*، قطعه‌قطعه و لیز شدن ریشه‌های عامل بیماری‌زا و عدم تشکیل میسلیم تیره (dark mycelium) نیز مشاهده شد.

در آزمایش تأثیر ترکیبات فرار و غیرفرار جدایه‌های *T. flavus* روی *V. albo-atrum*، علاوه بر کاهش رشد پرگنه‌ی *V. albo-atrum*، تولید میسلیم هوایی aerial mycelium نیز مشاهده شد. در آزمایش تأثیر ترکیبات فرار محدوده‌ی درصد بازدارندگی رشد پرگنه‌ی *V. albo-atrum* برابر با ۸۵/۰۰ - ۱۸/۳۳ درصد بود که بیش‌ترین و کم‌ترین آن به ترتیب توسط جدایه‌های TF-To-V-31 و TF-To-U-35 موجب شد. هم‌چنین، نتایج بررسی تأثیر ترکیبات غیرفرار نشان داد که محدوده‌ی درصد بازدارندگی رشد پرگنه‌ی *V. albo-atrum* برابر با ۹۵/۲۲ - ۷۲/۷۷ درصد بود که بیش‌ترین آن توسط جدایه‌ی TF-To-U-36 و کم‌ترین آن با استفاده از جدایه‌های TF-To-V-26 و TF-To-V-28 اتفاق افتاده است (جدول ۳). بنابراین، نتایج مشخص نمود که بیش‌ترین و کم‌ترین درصد بازدارندگی رشد پرگنه‌ی *V. albo-atrum*، به ترتیب توسط مکانیسم ترکیبات غیرفرار جدایه‌ی TF-To-U-36 و مکانیسم میکوپارازیتسم جدایه‌ی TF-To-V-28 موجب شده است (جدول ۳).

جدول ۳- حالت های مختلف برخورد جدایه های *T. flavus* با *V. albo-atrum* عامل پژمردگی ورتیسلیومی گوجه فرنگی در مکانیسم میکوپارازیتسم و گروه بندی میانگین های درصد بازدارندگی رشد پرگنه ای *V. albo-atrum* توسط مکانیسم های میکوپارازیتسم، تولید ترکیبات فرار و غیر فرار جدایه های مختلف *T. flavus* با آزمون دانکن ($\alpha=0/01$).

Table 3- Different manners of *T. flavus* isolates in relation with *V. albo-atrum*, tomato Verticillium wilt agent, in mycoparasitism mechanism and grouping means of inhibitory percent for *V. albo-atrum* colony growth in mechanisms of mycoparasitism, volatile and non-volatile metabolites production by Duncan test ($\alpha=0.01$).

Inhibitory Percent for <i>V. albo-atrum</i> Colony Growth				Different Manners of <i>T. flavus</i> Isolates		<i>T. flavus</i> Isolates	
Non-volatile Metabolites	Volatile Metabolites	Mycoparasitism		in Relation With <i>V. albo-atrum</i> in Mycoparasitism			
73.00	i	54.72	b	60.52	b	Fragmentation & Lysis	TF-To-V-24
74.22	h	45.94	e	21.05	h	Fragmentation & Lysis	TF-To-V-25
72.77	i	46.62	e	47.36	e	Fragmentation	TF-To-V-26
73.33	hi	45.94	e	10.25	j	Fragmentation	TF-To-V-27
72.77	i	45.94	e	7.89	k	Fragmentation & Lysis	TF-To-V-28
77.66	f	33.33	g	42.10	f	Fragmentation & Lysis	TF-To-V-29
80.88	d	50.00	c	68.42	a	Fragmentation & Lysis	TF-To-V-30
80.77	d	85.00	a	55.26	c	Lysis	TF-To-V-31
78.77	e	35.00	f	31.57	g	Fragmentation	TF-To-V-32
83.66	c	31.81	h	60.52	b	Penetration, Fragmentation & Lysis	TF-To-V-33
73.11	i	31.66	h	15.78	i	Fragmentation	TF-To-U-34
94.66	a	18.33	i	47.36	e	Fragmentation	TF-To-U-35
95.22	a	33.33	g	52.63	d	Lysis	TF-To-U-36
75.22	g	18.18	i	52.63	d	Fragmentation & Lysis	TF-To-U-37
92.55	b	48.33	d	52.63	d	Lysis	TF-To-U-38
0	j	0	j	0	l		Control

برابر با ۸۵/۰۰ - ۱۱/۹۴ درصد بود که بیش‌ترین و کم‌ترین آن به ترتیب توسط جدایه‌های TF-cu-V-59 و TF-Cu-V-54 موجب شد. هم‌چنین، نتایج بررسی تأثیر ترکیبات غیرفرار نشان داد که محدوده‌ی درصد بازدارندگی رشد پرگنه‌ی *V. albo-atrum* برابر با ۴۵/۶۳ - ۹/۰۹ درصد بوده که بیش‌ترین آن توسط جدایه‌ی TF-Cu-V-54 و کم‌ترین آن با استفاده از جدایه‌ی TF-Cu-V-56 اتفاق افتاده است (جدول ۵). بنابراین، نتایج مشخص نمود که بیش‌ترین و کم‌ترین درصد بازدارندگی رشد پرگنه‌ی جدایه‌ی TF-Cu-V-59 و مکانیسم ترکیبات فرار جدایه‌ی TF-Cu-V-56 موجب شده است (جدول ۵).

در بررسی مکانیسم میکوپارازیتسم، از میان حالت‌های مختلف برخورد جدایه‌های *T. flavus* با *V. albo-atrum*، ۳۷/۵٪ برخورد و قطعه‌قطعه شدن، ۲۵٪ برخورد و لیز شدن، ۲۵٪ برخورد، قطعه‌قطعه و لیز شدن و ۱۲/۵٪ عدم برخورد محاسبه گردید. هم‌چنین، در مکانیسم‌های میکوپارازیتسم و ترکیبات فرار به ترتیب ۸۷/۵ و ۷۵ درصد کل جدایه‌ها موجب بیش از ۵۰ درصد بازدارندگی رشد پرگنه‌ی *V. albo-atrum* شدند، در حالی که در مکانیسم ترکیبات غیرفرار، هیچ یک از جدایه‌ها موجب بیش از ۵۰ درصد بازدارندگی رشد پرگنه‌ی *V. albo-atrum* نگردیدند و بیش‌ترین میزان درصد بازدارندگی ۴۵/۶۳ بود.

بحث

نتایج کلی این تحقیق نشان داد که بازدارندگی رشد عوامل بیماری‌زای پژمردگی ورتیسلیومی شامل *V. dahliae* و *V. albo-atrum* در برخی محصولات زراعی نظیر پنبه، گوجه‌فرنگی، سیب‌زمینی و خیار گلخانه‌ای توسط جدایه‌های مختلف *T. flavus* وجود داشته است. این جدایه‌ها از مناطق مختلف کشت محصولات مذکور جداسازی شدند و از طریق مکانیسم‌های آنتاگونیستی میکوپارازیتسم، تولید ترکیبات فرار و غیرفرار موجب کاهش معنی‌دار رشد عوامل بیماری‌زای فوق گردیدند. توانایی قارچ *T. flavus* برای اشغال کردن ریزوسفر محصولات فوق

پرگنه‌ی *V. albo-atrum* برابر با ۸۹/۲۶ - ۱۴/۷۳ درصد بوده که بیش‌ترین آن توسط جدایه‌ی TF-Po-V-48 و کم‌ترین آن با استفاده از جدایه‌های TF-Po-K-39 اتفاق افتاده است. بنابراین، نتایج مشخص نمود که بیش‌ترین و کم‌ترین درصد بازدارندگی رشد پرگنه‌ی *V. albo-atrum* به ترتیب توسط مکانیسم ترکیبات غیرفرار جدایه‌ی TF-To-U-36 و مکانیسم میکوپارازیتسم جدایه‌ی TF-To-V-28 موجب شده است (جدول ۴).

در بررسی مکانیسم میکوپارازیتسم، از میان حالت‌های مختلف برخورد جدایه‌های *T. flavus* با *V. albo-atrum*، ۲۸/۵۷٪ برخورد و قطعه‌قطعه شدن، ۲۸/۵۷٪ برخورد و لیز شدن، ۱۴/۲۸٪ برخورد، قطعه‌قطعه و لیز شدن محاسبه گردید. هم‌چنین، در مکانیسم‌های میکوپارازیتسم، ترکیبات فرار و غیرفرار به ترتیب ۷، ۴۳ و ۴۳ درصد کل جدایه‌ها موجب بیش از ۵۰ درصد بازدارندگی رشد پرگنه‌ی *V. albo-atrum* شدند.

تأثیر مکانیسم‌های مختلف جدایه‌های *T. flavus* روی عامل بیماری پژمردگی ورتیسلیومی خیار گلخانه‌ای

در بررسی تأثیر میکوپارازیتسم جدایه‌های *T. flavus* روی *V. albo-atrum*، محدوده‌ی درصد بازدارندگی رشد پرگنه‌ی *V. albo-atrum* برابر با ۶۷/۴۴ - ۴۴/۱۸ درصد بود که بیش‌ترین و کم‌ترین آن به ترتیب توسط جدایه‌های TF-Cu-V-54 و TF-Cu-V-56 موجب گردید (جدول ۵). در این بررسی، حالت‌های مختلف نفوذ میان ریشه‌های قارچ بیماری‌زا و جدایه‌های *T. flavus*، قطعه‌قطعه و لیز شدن ریشه‌های عامل بیماری‌زا، عدم برخورد ریشه‌ها با یکدیگر و عدم تشکیل میسلیم تیره (dark mycelium) شبیه مطالعات قبلی مشاهده شد.

در این آزمایش نیز، تأثیر ترکیبات فرار و غیرفرار جدایه‌های *T. flavus* روی *V. albo-atrum*، موجب کاهش رشد پرگنه‌ی *V. albo-atrum* و تولید میسلیم هوایی (aerial mycelium) گردید. در آزمایش تأثیر ترکیبات فرار محدوده‌ی درصد بازدارندگی رشد پرگنه‌ی *V. albo-atrum*

غیرفرار و یا فرار برخی از جدایه‌های *T. flavus* روی عوامل بیماری‌زای پژمردگی ورتیسلیومی نشان داده شد (Huggag & Mohamed, 2007).

عدم تشکیل رنگدانه‌های ملانین در میکرواسکلروت‌ها و سفیدرنگ ماندن آن‌ها یک هفته پس از کشت قارچ بیماری‌زای *V. dahliae* نیز در محیط کشت‌های متأثر از ترکیبات فرار و غیرفرار *T. flavus*، در این تحقیق مشاهده گردید. (Madi et al., 1997) نشان دادند که عدم تشکیل ملانین در میکرواسکلروت‌های *V. dahliae* بر اثر متابولیت‌های *T. flavus* وجود داشته و وقوع بیماری پژمردگی ورتیسلیومی در تیمارهای متأثر از میکرواسکلروت‌های بدون ملانین در مقایسه با تیمار متأثر از میکرواسکلروت‌های ملانین‌دار کاهش یافته است. بنابراین، با توجه به تحقیقات (Henson et al., 1999) در زمینه نقش مؤثر ملانین در ورود ریشه‌ی نفوذکننده (Appressorium hyphae) به اپیدرم اندام‌های گیاهی و افزایش بقای میکرواسکلروت‌های عوامل بیماری‌زا، چنین استنباط می‌گردد که جدایه‌های مختلف *T. flavus* می‌تواند در کاهش بیماری‌زایی *V. dahliae* مؤثر باشد. چنانچه، کاهش بیماری‌زایی قارچ عامل بیماری بلاست برنج (*Magnaporthe grisea*) توسط بازدارنده‌های تشکیل ملانین این قارچ نشان داده شده است (Kurahashi, 2001). در این تحقیق، مکانیسم‌های آنتاگونیستی مشترک جدایه‌های مختلف *T. flavus* مربوط به چهار محصول پنبه، گوجه‌فرنگی، سیب‌زمینی و خیار گلخانه‌ای برای عوامل پژمردگی ورتیسلیومی، میکوپارازیتسم و تولید ترکیبات فرار بود. در این زمینه نتایج تحقیقات پیشین نیز نشان داده که مکانیسم میکوپارازیتسم عوامل قارچی آنتاگونیست در قطعه‌قطعه و لیز کردن ریشه‌های عوامل بیماری‌زای خاک‌زاد نظیر *V. albo-atrum*، *V. dahliae* و *F. oxysporum* مداخله داشته است (Deacon, 1991). هم‌چنین، ترکیبات فرار *T. flavus* نظیر الکیل پیرون‌ها و سوربیک اسید دارای تأثیرات آنتاگونیستی روی گونه‌های بیماری‌زای ورتیسلیوم بوده است (Proksa, 2010).

و کاهش دادن پروپاگول‌های عوامل بیماری پژمردگی ورتیسلیومی نشان داده شده است (Tjamos et al., 2004).

تشخیص ترکیبات شیمیایی موجود در تراوشات ریشه‌ای پنبه، گوجه‌فرنگی، سیب‌زمینی و خیار گلخانه‌ای با استفاده از کروماتوگرافی High Performance anion-exchange نشان داده که ترکیبات قندی نظیر گلوکز بخش عمده‌ای از تراوشات ریشه‌ی محصولات مذکور را تشکیل داده است (Lix et al., 2009). این قارچ با واسطه‌ی مکانیسم تولید ترکیبات غیرفرار نظیر آنزیم گلوکز اکسیداز، در حضور گلوکز پراکسید هیدروژن تولید می‌نماید (Kim et al., 1990). این ترکیب برای بسیاری از عوامل بیماری‌زای قارچی محصولات زراعی سمی می‌باشد (Murray et al., 1999). بنابراین، با توجه به تحقیقات ذکر شده، جداسازی این قارچ از نمونه‌های خاک مربوط به مناطق کشت محصولات مورد استفاده در تحقیق حاضر دور از انتظار نیست.

مطالعه‌ی مکانیسم میکوپارازیتسم جدایه‌های *T. flavus* نشان داد که نفوذ، تداخل، قطعه‌قطعه و لیز شدن ریشه‌های قارچ بیماری‌زای *V. dahliae* و *V. albo-atrum* توسط جدایه‌های *T. flavus* وجود داشته است. این نتایج، از تحقیقی مشابه در زمینه‌ی تأثیرات آنتاگونیستی *Streptomyces griseus* روی ریشه‌های *Aspergillus flavus* گزارش شده است (Anitha & Rabeeth, 2010). در بخش مطالعه‌ی مکانیسم تولید ترکیبات فرار و غیرفرار، عدم تشکیل میسلوم تیره‌ی *V. albo-atrum* و تولید میسلوم هوایی توسط ترکیبات فرار و غیرفرار نشان داده شد. محققان اثبات کردند که متابولیت‌های فرار و غیرفراری نظیر ترکیبات فنلی و فلاونوئیدی موجب مهار رشد ریشه‌ها و رویش اسپوره‌های قارچ (*Botrytis cinerea*) (عامل بیماری کپک خاکستری) شده و توانایی بیماری‌زایی آن را کاهش داده است (Hur et al., 2003). نتایج برخی تحقیقات نشان داده که در برخی موارد، ضمن مطالعه‌ی مکانیسم تولید ترکیبات فرار و یا غیرفرار جدایه‌های آنتاگونیست، این جدایه‌ها سبب تحریک افزایش رشد جدایه‌های بیماری‌زا نیز شده‌اند چنانچه در تحقیق حاضر، تأثیر مثبت ترکیبات

جدول ۴- حالت‌های مختلف برخورد جدایه‌های *T. flavus* با *V. albo-atrum* عامل پژمردگی ورتیسلیومی سیب‌زمینی در مکانیسم میکوپارازیتسم و گروه‌بندی میانگین‌های درصد بازدارندگی رشد پرگنه‌ی *V. albo-atrum* توسط مکانیسم‌های میکوپارازیتسم، تولید ترکیبات فرار و غیرفرار جدایه‌های مختلف *T. flavus* با آزمون دانکن ($\alpha=0.01$).

Table 4- Different manners of *T. flavus* isolates in relation with *V. albo-atrum*, potato Verticillium wilt agent, in mycoparasitism mechanism and grouping means of inhibitory percent for *V. albo-atrum* colony growth in mechanisms of mycoparasitism, volatile and non-volatile metabolites production by Duncan test ($\alpha=0.01$).

Inhibitory Percent for <i>V. albo-atrum</i> Colony Growth					Different Manners of <i>T. flavus</i> Isolates in Relation With <i>V. albo-atrum</i> in Mycoparasitism	<i>T. flavus</i> Isolates	
Non-volatile Metabolites	Volatile Metabolites	Mycoparasitism					
14.73	j	2.85	j	16.66	h	Fragmentation & Lysis	TF-Po-K-39
25.41	i	-20.00	k	38.88	e	Fragmentation	TF-Po-K-40
25.46	i	37.14	f	44.44	c	Lysis	TF-Po-K-41
77.00	b	-36.19	l	8.33	i	No Fragmentation & No Lysis	TF-Po-K-42
51.57	d	47.61	e	16.66	h	Fragmentation & Lysis	TF-Po-K-43
29.58	h	31.90	g	41.66	d	Fragmentation	TF-Po-K-44
76.66	b	0	i	36.11	f	Lysis	TF-Po-K-45
72.64	c	4.16	h	58.33	a	Penetration	TF-Po-K-46
46.25	e	61.11	d	33.33	g	Fragmentation	TF-Po-K-47
89.26	a	61.11	d	44.44	c	No Fragmentation & No Lysis	TF-Po-V-48
43.98	f	81.11	c	36.11	f	Lysis	TF-Po-V-49
50.74	d	84.44	a	36.11	f	Fragmentation	TF-Po-V-50
31.38	g	82.77	b	36.11	f	Penetration	TF-Po-V-51
25.55	i	82.77	b	47.22	b	Lysis	TF-Po-V-52
0	k	0	i	0	j	-	Control

جدول ۵- حالت‌های مختلف برخورد جدایه‌های *T. flavus* با *V. albo-atrum* عامل پژمردگی ورتیسلیومی خیار گلخانه‌ای در مکانیسم میکوپارازیتسم و گروه‌بندی میانگین‌های درصد بازدارندگی رشد پرگنه‌ی *V. albo-atrum* توسط مکانیسم‌های میکوپارازیتسم، تولید ترکیبات فرار و غیرفرار جدایه‌های مختلف *T. flavus* با آزمون دانکن ($\alpha=0.01$).

Table 5- Different manners of *T. flavus* isolates in relation with *V. albo-atrum*, greenhouse cucumber Verticillium wilt agent, in mycoparasitism mechanism and grouping means of inhibitory percent for *V. albo-atrum* colony growth in mechanisms of mycoparasitism, volatile and non-volatile metabolites production by Duncan test ($\alpha=0.01$).

Inhibitory Percent for <i>V. albo-atrum</i> Colony Growth					Different Manners of <i>T. flavus</i> Isolates in Relation With <i>V. albo-atrum</i> in Mycoparasitism	<i>T. flavus</i> Isolates	
Non-volatile Metabolites	Volatile Metabolites	Mycoparasitism					
35.00	b	22.22	f	53.48	c	Lysis	TF- Cu-V- 53
45.63	a	11.94	g	44.18	d	Fragmentation	TF- Cu-V- 54
27.77	c	65.67	d	53.48	c	Fragmentation & Lysis	TF- Cu-V- 55
9.09	f	51.11	e	67.44	a	Fragmentation	TF- Cu-V- 56
13.63	e	82.22	c	58.13	b	Fragmentation & Lysis	TF- Cu-V- 57
13.42	e	82.77	bc	53.48	c	Fragmentation	TF- Cu-V- 58
22.22	d	85.00	a	53.48	c	No Relationship	TF- Cu-V- 59
27.55	c	83.33	b	53.48	c	Lysis	TF- Cu-V- 60
0	g	0	h	0	e	-	Control

ارتباط میان این مکانیسم‌ها مفهومی ندارد. نتایج تحقیقات پیشین نشان داده که فعالیت آنتاگونیستی هریک از مکانیسم‌های میکوپارازیتسم، تولید ترکیبات فرار و غیرفرار از طریق متابولیت‌های خاص خود صورت می‌پذیرد. این ترکیبات برای مکانیسم ترکیبات فرار، اتیلنی، هیدروژنی، سیانیدی و آلدیدی می‌باشد، در حالی که برای ترکیبات غیرفرار، آنزیم‌هایی نظیر گلوکز اکسیداز، بتاگالاکتوزیداز و بتاگلوکزیلوزیداز معرفی شده است. هم‌چنین، ترکیبات خاص مکانیسم میکوپارازیتسم بیش‌تر به آنزیم‌های گروه کیتیناز تعلق داشته و این گروه از آنزیم‌ها در بروز مکانیسم میکوپارازیتسم سهم بیش‌تری را به خود اختصاص داده است (Proksa, 2010).

سپاسگزاری

بدین وسیله، نگارندگان از همکاری‌های بی‌شائبه‌ی جناب آقای دکتر حسن عسکری، رئیس سابق مؤسسه تحقیقات گیاه‌پزشکی کشور، جهت اجرای این پژوهش قدردانی می‌نمایند.

همچنین، با توجه به نتایج به‌دست آمده از تحقیق حاضر می‌توان اظهار داشت که علاوه بر مکانیسم‌های آنتاگونیستی مشترک میان جدایه‌های مختلف *T. flavus* مربوط به هر سه محصول مورد مطالعه، جهت فعالیت آنتاگونیستی این جدایه‌ها روی هر یک از عوامل بیماری‌زا یک یا دو مکانیسم دیگر نیز حسب محصول وجود داشته است. در این زمینه تحقیقاتی در زمینه‌ی اختلاف فعالیت و مکانیسم‌های آنتاگونیستی میان جدایه‌های *T. flavus* و *T. harzianum* نشان داده که این اختلاف‌ها به دلیل تنوع ژنتیکی میان جدایه‌های به‌دست آمده از مناطق کشت محصولات زراعی مختلف بوده است (Whipps, 2001). از طرف دیگر، با توجه به جمعیت فراوان جدایه‌های مختلف *T. flavus* در ریزوسفر گیاهان زراعی مختلف نظیر پنبه، گوجه‌فرنگی، سیب‌زمینی و بادنجان (Marois *et al.*, 1984)، علاوه بر استفاده‌ی این جدایه‌ها از ترکیبات قندی موجود در تراوشات ریشه‌ای، این ترکیبات که بر حسب محصول متنوع بوده، موجب القای مکانیسم‌های متفاوتی در جدایه‌های *T. flavus* نیز شده است (Roberts & Lohrke, 2003). متابولیت‌های حاصله از مکانیسم‌ها که به واسطه‌ی همین ترکیبات، فعالیت آنتاگونیستی آن‌ها رخ می‌دهد، متفاوت بوده و از این‌رو، اصلاً، برقراری

References

- Aminae, M. M., Mansouri, B. & Ershad, D. 2006. A study on Verticillium wilt of potato in Kerman province. Proceedings of the 17th Iranian Plant Protection Congress, 2-5 September, Karaj, Iran, 163.
- Anitha, A. & Rabeeth, M. 2010. Degradation of fungal cell walls of phytopathogenic fungi by lytic enzyme of *Streptomyces griseus*. African Journal of Plant Science. 4: 61-66.
- Butterfield, E. J. & De Vay, J. E. 1977. Assessment of soil assays for *Verticillium dahliae*. Phytopathology. 67: 1073-1078.
- Christen, A. A. 1981. A selective medium for isolating *Verticillium albo-atrum* from soil. Phytopathology. 72: 47-49.
- Deacon, J. W. 1991. Significance of ecology in the development of biocontrol agents against soil-borne plant pathogens. Biocontrol Sciences Technology. 1: 5-20.
- Esmailzadeh-Hosseini, S. A., Sarpeleh, A., Fatahi, M. & Ghaiumi-Mohammady, M. 2006. Identification of soilborn phytopathogenic fungi of greenhouse cucumber in Yazd province. Proceedings of the 17th Iranian Plant Protection Congress, 2-5 September, Karaj, Iran, 175.

- Hamdollah-Zadeh, A. 1993.** Properties of defoliant and non-defoliant strains of *Verticillium dahliae* the causal agent of cotton wilt in northern Iran. Iranian Journal of Plant Pathology. 29: 125-131. (In Persian with English Summary).
- Hawksworth, D. L. & Talboys, P. W. 1970.** C. M. I. descriptions of pathogenic fungi and bacteria. No. 255. *Verticillium albo-atrum*, No. 256. *Verticillium dahliae*. CAB, Kew, England.
- Henson, J. M., Butler, M. J. & Day, A. W. 1999.** The dark side of the mycelium melanins of phytopathogenic fungi. Annual Review of Phytopathology. 37: 447-471.
- Huang, X., Chen, L., Ran, W., Shen, Q. & Yang, X. 2011.** *Trichoderma harzianum* strain SQR-T37 and its bio-organic fertilizer could control *Rhizoctonia solani* damping-off disease in cucumber seedling mainly by the mycoparasitism. Applied Microbiology and Biotechnology. 91: 741-755.
- Huggag, W. M. & Mohamed, H. A. 2007.** Biotechnological aspects of microorganisms used in plant biological control. American-Eurasian Journal of Sustainable Agriculture. 1: 7-12.
- Hur, J. S., Oh, S. O., Jung, J. S., Koh, Y. J., Park, J. G. & Park, J. C. 2003.** Antifungal properties of *Eucayptus darlympleana* against post harvest pathogens of kiwifruits. ISHS Acta Horticulturae 610: V International Symposium on Kiwifruit, 25 June, Wuhan, China, 66.
- Inglis, G. D. & Kawchuk, L. M. 2002.** Comparative degradation of Oomycete, ascomycete, and basidiomycete cell walls by mycoparasitic and biocontrol fungi. Canadian Journal of Microbiology. 48: 60-70.
- Kurahashi, Y. 2001.** Melanin biosynthesis inhibitors (MBI_s) for control of rice blast. Pesticide Outlook. 12: 32-35.
- Kheiri, A. & Fatahi, M. 2010.** Evaluation of *Verticillium* wilt tolerance in different cotton cultivars. Journal of Research in Agricultural Science. 6: 57-61.
- Kim, J. T., Park, I. H., Lee, H. B., Hahm, Y. I. & Yu, S. H. 2001.** Identification of *Verticillium dahliae* and *Verticillium albo-atrum* causing wilt of tomato in Korea. The Plant Pathology Journal. 17: 222-226.
- Kim, K. K. A. & Fravel, D. R. 1990.** Glucose oxidase as the antifungal principle of talaron from *Talaromyces flavus*. Canadian Journal of Microbiology. 36: 760-764.
- Klosterman, S. J., Atallah, Z. K., Vallad, G. E. & Subbarao, K. V. 2009.** Diversity, Pathogenicity and Management of *Verticillium* species. Annual Review of Phytopathology. 47: 39-62.
- Knudsen, I. M. B., Hockenhull, J., Jensen, D. F., Gerhardson, B., Hokeberg, M., Tahuonen, R., Teperi, E., Sundheim, L. & Henriksen, B. 1997.** Selection of biological control agents for controlling soil and seed-borne diseases in the field. European Journal of Plant Pathology. 103: 775-784.
- Lix, G., Liu, B., Liu, D. D., Han, Z. M., Zhou, K. X. & Zheng, Y. P. 2009.** Effects of transgenic insect resistant cotton root exudates on the growth of *Verticillium dahliae* Kleb. Ying Yong Sheng Tal Xue Bao. 20: 157-162.
- Madi, L., Katan, T., Katan, J. & Henis, Y. 1997.** Biological control of *Sclerotium rolfsii* and *Verticillium dahliae* by *Talaromyces flavus* is mediated by different mechanisms. Phytopathology. 87: 1054-1060.
- Malik, N. K. & Milton, J. M. 1980.** Survival of *Verticillium* in monocotyledonous plants. Transactions of the British Mycological Society. 75: 496-498.

- Marois, J. J., Fravel, D. R. & Papavizas, G. C. 1984.** Ability of *Talaromyces flavus* to occupy the rhizosphere. *Soil Biology and Biochemistry*. 16: 387-390.
- Murray, F. R., Llewellyn, D., McFadden, H., Last, D., Dennis, E. S. & Peacock, W. J. 1999.** Expression of the *Talaromyces flavus* glucose oxidase gene in cotton and tobacco reduces fungal infection, but is also phytotoxic. *Molecular Breeding*. 5: 219-232.
- Naraghi, L., Heydari, A., Karimi Roozbahani, A. & Ershad, D. 2003.** Isolation of *Talaromyces flavus* from cotton fields in Gorgan and its antagonistic effects on *Verticillium dahliae*, the causal agent of cotton wilt. *Iranian Journal of Plant Pathology*. 39: 31-34. (In Persian with English Summary).
- Naraghi, L., Heydari, A., Rezaee, S., Razavi, M. & Jahanifar, H. 2010.** Study on antagonistic effects of *Talaromyces flavus* on *Verticillium albo-atrum*, the causal agent of potato wilt disease. *Crop Protection*. 29: 658-662
- Pegg, G. F. & Brady, B. L. 2002.** *Verticillium* wilts. CABI Publishing, Wallingford, UK.
- Proksa, B. 2010.** *Talaromyces flavus* and its metabolites. *Chemical Papers*. 64: 696-714.
- Roberts, D. P. & Lohrke, S. M. 2003.** Programs in biological control of plant diseases. *Pest Management Science*. 59: 654-664.
- Tjamos, E. C., Tsitsigiannis, D. I., Tjamos, S. E., Antoniou, P. P. & Katinakis, P. 2004.** Selection and Screening of endorhizosphere bacteria from solarized soils as biocontrol agents against *Verticillium dahliae* of Solanaceous hosts. *European Journal of Plant Pathology*. 110: 35-44.
- Van Elsas, J. D., Jansson, J. K. & Trevors, J. T. 2007.** *Modern soil microbiology II*. CRC Press- Taylor and Francis, Boca Raton, Florida, USA.
- Whipps, J. M. 2001.** Microbial interactions and biocontrol in the rhizosphere. *Journal of Experimental Botany*. 52: 487-511.
- Wright, E. R., Zapata, R., Delfino, O. S., Lopez, M. V. & Serrile, M. 1990.** Efficacy *in vitro* of antagonists *Sclerotinia sclerotiorum* and *S. minor*. *Review of Plant Pathology*. 69: 2758.

Study on some antagonistic mechanisms of *Talaromyces flavus* against *Verticillium dahliae* and *Verticillium albo-atrum*, the causal agents of wilt disease in several important crops

Laleh Naraghi¹, Asghar Heydari², Saeed Rezaee¹ and Mohammad Razavi²

1- Department of Plant Pathology, College of Agriculture and Natural Resources, Science and Research Branch, Islamic Azad University, Tehran, Iran

2- Plant Disease Research Department, Iranian Research Institute of Plant Protection, Tehran, Iran

Corresponding Author: Laleh Naraghi, lale_naraghi@yahoo.com

Received: Apr. 10, 2012

1 (1) 13-28

Accepted: Jan. 15, 2013

Abstract

Verticillium wilt is one of the most important diseases of cotton, tomato, potato and greenhouse cucumber that causes serious losses in these crops. Biological control could be an effective strategy for controlling this disease. In this study, for the investigation of antagonistic mechanisms of *Talaromyces flavus*, first, pathogenic agents and antagonistic fungus were isolated from cultivated regions of above-mentioned crops using Komada and TF culture media respectively. In next step, antagonistic mechanisms of *T. flavus* including mycoparasitism, volatile metabolites production and non-volatile metabolites production were studied separately. In this study, sixty *T. flavus* isolates were used from which 23, 15, 14 and 8 isolates belonged to cotton, tomato, potato and greenhouse cucumber respectively. For cotton and potato wilt disease caused by *V. dahliae* and *V. albo-atrum* respectively, maximum inhibitory percents (81.51 and 64.93%) were mediated by TF-Co-G-1 and TF-Po-V-48 respectively. Non-volatile metabolites played the most important role in their antagonistic activity. However, for tomato and greenhouse cucumber wilt disease caused by *V. albo-atrum*, maximum inhibitory percents (73.67 and 54.78%) were mediated by TF-To-V-31 and TF-Cu-V-60 respectively. According to the results, the most effective antagonistic mechanisms of these isolates was volatile metabolites production.

Key Words: *Talaromyces flavus*, Antagonistic mechanisms, *Verticillium dahliae*, *Verticillium albo-atrum*, Cotton, Potato, Tomato, Greenhouse Cucumber