کارایی تثبیت‌کننده‌های شیمیایی قارچ آنتاگونیست *Talaromyces flavus* در کنترل بیولوژیک بیماری مرگ گیاهچه رایزوکتونیایی گوجه‌فرنگی و خیار گلخانه‌ای

دنیا بهرامیان[۱]، لاله نراقی[۲] و اصغر حیدری[۲]

۱- گروه بیماری شناسی گیاهی دانشکده کشاورزی و منابع طبیعی واحد علوم و تحقیقات دانشگاه آزاد اسلامی، تهران، ایران

۲- بخش تحقیقات بیماری‌های گیاهان، مؤسسه تحقیقات گیاه‌پزشکی کشور، سازمان تحقیقات، آموزش و ترویج کشاورزی، تهران، ایران

مسئول مکاتبات: لاله نراقی، پست الکترونیک: lale_naraghi@yahoo.com

تاریخ دریافت: ۹۴/۱۲/۹ ۴ (۱) ۴۱-۵۲ تاریخ پذیرش:۹۵/۶/۲۳

چکیده

قارچ آنتاگونیست *Talaromyces flavus* از مهم‌ترین عوامل کنترل بیولوژیک بیماری‌های گیاهی خاکزاد مانند مرگ گیاهچه محسوب می‌شود. در این پژوهش، برای افزایش کارایی زادمایه جدایه‌های *T. flavus* به‌دست آمده از گلخانه‌های خیار و مزارع گوجه‌فرنگی، پنج تثبیت‌کننده شیمیایی این قارچ بررسی شدند. براساس نتایج تحقیقات پیشین، مؤثرترین بسترها از لحاظ رشد، اسپورزایی و پایداری برای جدایه‌های *T. flavus* مربوط به خیار گلخانه‌ای و گوجه‌فرنگی، ترکیب سبوس برنج و خاک پیت بود. برای هر گیاه، آزمایشی در قالب طرح آماری بلوک‌های کامل تصادفی با هفت تیمار و سه تکرار انجام شد. تیمارهای آزمایشی شامل پنج تثبیت کننده مختلف (آمینوفنل، دی‌سیکلوسرین، سولفات منیزیم، کربوکسی‌متیل‌سلولز و نیترات سدیم)، شاهد آلوده و شاهد سالم بودند. ارزیابی تیمارهای مختلف، براساس تعداد گیاهچه‌های سالم انجام گرفت. نتایج کلی این پژوهش نشان داد که زادمایه‌های *T. flavus* در برگیرنده تثبیت‌کننده‌های نیترات سدیم، دی‌سیکلوسرین و کربوکسی‌متیل‌سلولز در مقایسه با آمینوفنل و سولفات منیزیم کارایی بیش‌تری در کنترل بیماری مرگ گیاهچه داشتند.

واژه‌های کلیدی: *Rhizoctonia solani*، *Talaromyces flavus*، تثبیت‌کننده شیمیایی، مرگ گیاهچه، گوجه‌فرنگی، خیار گلخانه‌ای

مقدمه

در دهه‌ی اخیر، گزارش‌های بسیاری در زمینه‌ی تهیه قارچ‌کش‌های بیولوژیک با استفاده از بسترهای جامد و بهینه‌سازی آن‌ها در مراحل مختلف ساخت وجود داشته است (Pascual *et al*., 1999; Budge & Whipps, 2001; Schuster & Schmoll, 2010; Caramez *et al*., 2012; Sargin *et al*., 2013). به‌عنوان مثال، پاسکوال و همکاران (Pascual *et al*., 1999) موفق به تهیه‌ی قارچ‌کش بیولوژیک جامد حاوی قارچ *Epicoccum nigrum* روی گندم شدند و پس از بررسی محلول‌های الکلی شامل گلیسرول، مانیتول و آرابیتول بر روی اسپورزایی این قارچ، بیش‌ترین افزایش معنی‌دار اسپورزایی را توسط گلیسرول گزارش نمودند. همچنین، سارگین و همکاران (Sargin *et al*., 2013)، برای افزایش کارایی قارچ‌کش بیولوژیک مبتنی بر *Trichoderma harzianum* EGE-K38 نسبت به مقایسه‌ی روش‌های مختلف خشک‌سازی این قارچ‌کش اقدام کردند. نتایج تحقیقاتی نیز نشان داده که کاربرد ترکیباتی حاوی عناصر معدنی شامل منگنز، آهن، روی و فسفر در ساخت کودهای بیولوژیکی موجب افزایش پایداری آن‌ها شده است (Vasane & Kothari, 2008; Lee & Lee, 2009).

تاکنون، در خارج از کشور قارچ‌های بیولوژیک نظیر Ketomium مبتنی بر های *Chaetomium globosum* و *Chaetomium cupreum*؛ Promote حاوی دو گونه قارچ *T. harzianum* و *T. viride*؛ Soil Gard حاوی *Gliocladium virens* GL21؛ Trichodex حاوی *T. harzianum* T-39؛ Trichodermin حاوی *T. harzianum* و Protus WG حاوی *Talaromyces flavus* به‌ثبت تجاری رسیده است (Merwel *et al*., 1974; Koch, 1999; Kaewchai *et al*., 2009). در تحقیقات انجام شده در ایران نیز قارچ‌کش تجاری ایرانی به نام تریکومیکس اچ. وی

Archive of SID

www.SID.ir

استفاده شده است (Zamanizadeh *et al*., 2011; Naraghi *et al*., 2013). باتوجه به اهمیّت بیماری‌های خاکزاد نظیر پژمردگی ورتیسلیومی، پژمردگی فوزاریومی، پوسیدگی پیتیومی ریشه و مرگ گیاهچه در بیش‌تر محصولات زراعی و گلخانه‌ای شامل گوجه‌فرنگی و خیارگلخانه ای در ایران (Sharzehi *et al*., 2011؛Ghaderi, 2011) و ذکر قارچ *Talaromyces flavus* به‌عنوان عامل آنتاگونیست مؤثر بر علیه عوامل قارچی خاکزاد شامل *Fusarium oxysporum*، *Verticillium albo-atrum*، *Verticillium dahliae* و *Rhizoctonia solani* در منابع علمی خارج از کشور (Madi *et al*., 1992; Madi *et al*., 1997; Duo-Chuan *et al*., 2005; Haggag *et al*., 2006; Shikhul Ashraf & Ahmad Khan, 2007)، در ایران نیز اقدام به جداسازی جدایه‌های مختلف قارچ آنتاگونیست مذکور از مناطق عمده کشت برخی محصولات زراعی گردید (Naraghi *et al*., 2013).

پس از بررسی‌های متعدد آزمایشگاهی و گلخانه‌ای در زمینه‌ی تعیین تأثیرات آنتاگونیستی این جدایه‌ها بر علیه عوامل بیماری‌زای فوق و معرفی مؤثرترین جدایه‌ها از لحاظ کنترل عوامل بیماری هر محصول، قارچ کش‌های بیولوژیک مبتنی بر جدایه‌های مختلف قارچ *T. flavus* برای کنترل عوامل بیماری‌زای مذکور هر محصول به‌صورت جداگانه تهیه شد. جهت کاربرد این گونه قارچ‌کش‌ها در سطح وسیع نیاز به تولید انبوه آن‌ها و واگذاری دانش فنی ساخت قارچ‌کش به‌شرکت‌های تولید کننده می‌باشد. در این راستا، از مسائل مهم مورد توجه این شرکت‌ها می‌توان به موضوع قابلیت بازاریابی و تجاری سازی قارچ‌کش اشاره داشت (Alimi *et al*., 2006; Husen *et al*., 2007; Kaewchai *et al*., 2009; Pereira *et al*., 2009). مطابق تحقیقات به‌عمل آمده، افزایش کارآیی و پایداری این‌گونه قارچ‌کش‌ها، از عوامل مهم تأثیر گذار در قابلیت بازاریابی و تجاری سازی آن‌ها محسوب می‌گردد (Kaewchai *et al*., 2009; Mukhopadhyay & Maiti, 2009; Ghaderi-Daneshmand *et al*., 2012).

براساس تحقیقات انجام گرفته در خارج از کشور، ترکیبات آلی و معدنی تثبیت‌کننده برای متابولیت‌های مختلف *T. flavus* مشخص شده‌است (Yu & chang, 1987; Cimarelli *et al*., 2001; Matos *et al*., 2012)؛ بنابراین، هدف از انجام این تحقیق، بهینه‌سازی زادمایه *T. flavus* با کاربرد این‌گونه تثبیت‌کننده‌ها و انتخاب مؤثرترین آن‌ها از لحاظ قابلیت کنترل بیولوژیک زادمایه مذکور برای بیماری مرگ گیاهچه در گوجه فرنگی و خیار گلخانه‌ای بود.

مواد و روش‌ها

تعیین ترکیبات تثبیت‌کننده برای کاربرد در زادمایه‌های *T. flavus*

براساس تحقیقات پیشین Naraghi *et al*. (2013)، مکانیزم‌های بازدارندگی جدایه‌های *T. flavus* مورد استفاده در این تحقیق به‌صورت مکانیزم‌های میکوپارازیتیسم، تولید ترکیبات فرار و غیرفرار مشخص شد؛ بنابراین، با توجه به متابولیت‌های مهم هر یک از مکانیزم‌های مذکور شامل آنزیم کیتیناز برای میکوپارازیتیسم (Inbar & Chet, 1995)، گلوکوزیتولات برای تولید ترکیبات فرار (Keszler *et al*., 2000) و آنزیم گلوکز اکسیداز برای تولید ترکیبات غیر فرار (Ward, 2011)، تثبیت‌کننده‌های متابولیت‌های مذکور بر اساس منابع علمی موجود (Yu & Chang, 1987; Cimarelli *et al*., 2001; Matos *et al*., 2012) انتخاب گردید. این تثبیت‌کننده‌ها عبارت بودند از: نیترات سدیم و سولفات منیزیم (Yu & chang, 1987) برای آنزیم کیتیناز؛ دی‌سیکلوسرین و کربوکسی‌متیل‌سلولز برای آنزیم گلوکز اکسیداز (Matos *et al*., 2012) و آمینوفنل برای گلوکوزینولات (Cimarelli *et al*., 2001).

تهیه‌ی جدایه‌های آنتاگونیست *T. flavus*

در این مرحله، مطابق نتایج تحقیقات پیشین (Naraghi *et al*., 2013)، برای کنترل بیولوژیک بیماری مرگ گیاهچه هر یک از محصولات زراعی گوجه‌فرنگی و خیار گلخانه‌ای از مؤثرترین جدایه‌های *T. flavus* مربوط به آن‌ها به‌ترتیب TF-To-V-24 (به‌دست آمده از خاک مزارع

Archive of SID

www.SID.ir

گوجه‌فرنگی ورامین) و TF-Cu-V-60 (به‌دست آمده از خاک گلخانه‌های خیار ورامین) استفاده گردید.

تهیه و مایه‌زنی زادمایه‌های آنتاگونیست *T. flavus*

برای تهیه‌ی زادمایه‌های مورد استفاده از جدایه‌های مربوطه (TF-To-V-24 و TF-Cu-V-60)، از روش تغییر یافته‌ی Naraghi *et al.* (2010) استفاده شد. بدین ترتیب که مقداری سبوس برنج به‌مدت ۲۴ ساعت در آبی با دمای (۳۰-۳۵°C) خیسانده شده، سپس بر روی کاغذهای صافی بزرگ گسترانیده و خشک شد. در مرحله‌ی بعد به‌میزان ۲۰۰ گرم از سبوس برنج و ۵۰ گرم خاک پیت شسته شده در کیسه های سلوفان در اتوکلاو (فشار یک اتمسفر، دمای ۱۲۰ درجه‌ی سلسیوس به‌مدت ۱۵ دقیقه) سترون گردید. در مرحله‌ی بعد، برای تهیه‌ی زادمایه هر یک از جدایه‌ها، سوسپانسیونی محتوی ۲۰ میلی لیتر آب مقطر سترون و چهار قطعه یک سانتی‌متری از محیط کشت ۱۰ روزه جدایه مربوطه در کیسه‌های سلوفان ریخته شد. سپس، تثبیت کننده‌ها شامل دو ترکیب معدنی (نیترات سدیم و سولفات منیزیم) و سه ترکیب آلی (آمینوفنل، دی سیکلوسرین وکربوکسی متیل سلولز) برحسب تیمار، براساس میزان افزودن مکمل‌ها به بستر کشت (ده میلی لیتر از محلول مکمل به میزان ۲۰ گرم در لیتر برای ۲۵۰ گرم از هر بستر) (Engelelkes *et al.*, 1997) داخل کیسه‌های سلوفان منتقل شد. برای رشد جدایه‌ها، کیسه های سلوفان درانکوباتور ۳۰°C به‌مدت یک ماه و نیم تا دو ماه قرار گرفت و در طی این مدت در صورت مشاهده خشک شدن محتویات، مجدداً ۲۰ میلی لیتر آب مقطر سترون جهت ایجاد رطوبت افزوده گردید. پس از این مدت، محتویات داخل هر یک از کیسه‌های سلوفان برای خشک شدن بر روی کاغذهای صافی گسترده شدند و به‌عنوان زادمایه مصرفی در گلخانه به‌صورت افزودن به خاک مورد استفاده قرار گرفتند. برای افزودن زادمایه‌ی آنتاگونیست به خاک، بر مبنای تعداد 10^7 ×۲ اسپور در هر گرم خاک (Aziz *et al.*, 1997)، میزان افزودنی هر مایه به خاک توسط لام هموسایتومتر تعیین شد.

تهیه‌ی جدایه بیمارگر *R. solani*

در این مرحله برای کاربرد عامل بیماری مرگ گیاهچه *Rhizoctonia solani* براساس تحقیق پیشین (Naraghi *et al.*, 2012)، از جدایه RS-Cu-S-V-1 (جدایه‌ی *R. solani* به‌دست آمده از خاک گلخانه‌ی خیار در ورامین) که بیماری‌زایی آن بر روی گوجه فرنگی و خیار گلخانه‌ای اثبات شده بود، استفاده شد.

تهیه و مایه‌زنی زادمایه بیمارگر *R. solani*

مایه زنی جدایه‌های *R. solani* با کمی تغییر مطابق روش میکائیل و همکاران (Mikhail *et al.*, 2009) صورت گرفت. بدین‌ترتیب که ابتدا برای هر جدایه یک فلاسک ۵۰۰ میلی‌لیتری محتوی ۵۰ گرم بذر جو و ۴۰ میلی لیتر آب شیر به‌مدت ۳۰ دقیقه در داخل اتوکلاو قرار گرفت. پس از انتقال دو تا سه قطعه پنج میلی‌متری کشت یک هفته‌ای از هر جدایه به فلاسک و مخلوط سازی کامل محتویات داخل آن، فلاسک‌ها به‌منظور رشد کامل و تولید سختینه به‌مدت سه هفته در انکوباتور با دمای ۳۰°C قرار گرفتند. با مشاهده پوشش کامل سطوح بذور جو با میسلیوم‌های قارچ، محتویات هر فلاسک جهت خشک شدن در دمای آزمایشگاه گسترانده شده و به‌عنوان زادمایه *R. solani* به‌صورت آغشته سازی یک کیلوگرم خاک با یک گرم از آن استفاده شد.

ارزیابی قابلیت آنتاگونیستی تیمارهای *T. flavus* علیه مرگ گیاهچه‌ی گوجه‌فرنگی و خیار گلخانه‌ای

در این مرحله، دو آزمایش به‌صورت جداگانه برای هر یک از دو محصول گوجه‌فرنگی و خیار گلخانه‌ای در شرایط گلخانه منظور شد. هر آزمایش به‌صورت طرح آماری بلوک‌های کامل تصادفی در هفت تیمار و سه تکرار انجام گرفت. تیمارهای هر آزمایش از زادمایه‌های *T. flavus* دربردارنده هر یک از پنج تثبیت‌کننده مختلف (آمینوفنل، دی‌سیکلوسرین، کربوکسی متیل سلولز، سولفات منیزیم و نیترات سدیم)، شاهد سالم و شاهد آلوده تشکیل گردید. برای هر تکرار گلدانی با سه کیلوگرم خاک و

Archive of SID

www.SID.ir

سه گیاه در نظر گرفته شد. زادمایه‌های آنتاگونیست و بیمارگر به‌صورت هم‌زمان و قبل از کاشت به‌خاک گلدان افزوده شد و تا دو سوم حجم فوقانی گلدان با خاک کاملاً مخلوط گردید. سپس، بر حسب آزمایش، نشاهای سه هفته‌ای از گیاهان گوجه‌فرنگی و خیار گلخانه‌ای در خاک گلدان قرار گرفت. ارزیابی نهایی تیمارهای هر آزمایش، براساس شاخص بیماری مربوطه انجام گرفت. همچنین، تجزیه و تحلیل آماری داده‌ها با استفاده از آزمون چند دامنه‌ای دانکن و گروه‌بندی میانگین‌ها توسط برنامه نرم افزاری MSTAT- C صورت گرفت. ارزیابی بیماری به‌صورت تعیین تعداد گیاهچه‌های سالم در ۱۵، ۳۰، ۴۵ و ۶۰ روز پس از کاشت انجام گرفت (Sneh *et al*., 2004; Ardakani *et al*., 2010).

جداسازی عوامل قارچی بیماری‌زا از اندام‌های گیاهی آلوده

ابتدا، شست و شوی طوقه و ریشه‌های گیاهچه آلوده در زیر جریان آب شیر به‌مدت چند دقیقه انجام گرفت. در مرحله‌ی بعد ضدعفونی آن‌ها با محلول ده درصد مایع سفید کننده موجود در بازار (حاوی ۵ درصد هیپوکلریت سدیم) به‌مدت ۱۰ تا ۶۰ ثانیه و سپس سه بار شست و شو در سه ظرف جداگانه با آب مقطر سترون و خشک کردن روی کاغذ صافی سترون و یا به‌وسیله‌ی کشیدن پنبه سترون آغشته به اتانل ۹۵ درصد روی منطقه‌ی آلوده صورت پذیرفت. پس از آن با استفاده از اسکالپل بافت دارای لکه قطعه قطعه شده و قطعات بریده شده از مرز بافت آلوده و سالم انتخاب گردید و بر روی تشتک‌های پتری حاوی محیط کشت آب- آگار (WA) انتقال داده شد. تشتک‌های پتری در انکوباتور در دمای ۲۲ تا ۲۵ درجه‌ی سانتی‌گراد نگهداری شدند و پس از ۱۲ تا ۴۸ ساعت نگهداری و مشاهده پرگنه‌های قارچی، هر یک از آن‌ها برای شناسایی و مطالعات بعدی به‌محیط کشت PDA منتقل شدند. شناسایی عامل بیماری *R. solani* براساس مشخصات ماکروسکوپی و میکروسکوپی انجام گرفت (Sneh *et al*., 1991).

نتایج

میزان لازم زادمایه آنتاگونیست *T. flavus* برای استفاده در خاک گلدان

میزان لازم زادمایه آنتاگونیست *T. flavus* (جدایه TF-To-V-24 برای گوجه‌فرنگی و جدایه TF-Cu-V-60 برای خیارگلخانه‌ای) در هرگلدان حاوی سه کیلوگرم خاک، براساس ۲×۱۰^{۷} واحد پرگنه‌ساز (CFU) در هر گرم خاک (ذکر شده در مواد و روش‌ها) و محاسبه تعداد ۶×۱۰^{۹} واحد پرگنه‌ساز در هر گرم از زادمایه‌های تهیه شده از جدایه‌های *T. flavus* (TF-To-V-24 و TF-Cu-V-60) تعیین شد. بدین‌ترتیب برای هر یک از گلدان‌های مربوط به محصولات گوجه‌فرنگی و خیارگلخانه‌ای بر حسب تیمار میزان ده گرم از زادمایه جدایه‌های TF-To-V-24 و یا TF-Cu-V-60 منظور گردید.

میزان لازم زادمایه بیماری‌زای *R. solani* برای استفاده در خاک گلدان

میزان لازم زادمایه بیماری‌زای *R. solani* (جدایه RS-To-S-V-1 برای گوجه‌فرنگی و جدایه RS-Cu-S-V-1 برای خیارگلخانه‌ای) در هر گلدان حاوی سه کیلوگرم خاک، براساس یک گرم از زادمایه *R. solani* برای هر کیلوگرم خاک (ذکر شده در مواد و روش‌ها) تعیین شد. بدین‌ترتیب برای هر یک از گلدان‌های مربوط به محصولات گوجه‌فرنگی و خیارگلخانه‌ای بر حسب تیمار میزان سه گرم از زادمایه جدایه‌های RS-To-S-V-1 و یا RS-Cu-S-V-1 منظور گردید.

ارزیابی قابلیت آنتاگونیستی تیمارهای *T. flavus* بر علیه مرگ گیاهچه‌ی گوجه‌فرنگی

آزمایش تأثیر زادمایه‌های *T. flavus* دربردارنده تثبیت‌کننده‌های مختلف روی بیماری مرگ گیاهچه گوجه‌فرنگی در زمان‌های ۱۵، ۳۰، ۴۵ و ۶۰ روز پس از کاشت به‌ترتیب در سطوح احتمال ۱٪، ۵٪، ۱٪ و ۵٪ معنی‌دار بود (جدول ۱). نتایج مقایسه میانگین‌ها در تیمارهای مختلف از لحاظ تعداد گیاهچه‌های سالم نشان داد که کلیه‌ی میانگین‌ها در زمان‌های ۱۵، ۳۰، ۴۵ و ۶۰ روز پس از

Archive of SID

www.SID.ir

کاشت به‌ترتیب در دو، چهار، سه و سه گروه آماری واقع شدند و در زمان‌های مذکور برای کلیه‌ی تیمارها افزایش معنی‌دار تعداد گیاهچه‌های سالم نسبت به شاهد آلوده وجود داشت (جدول ۲).

همچنین، نتایج نشان داد که در ۱۵ و ۶۰ روز پس از کاشت، میان تیمارهای دربردارنده تثبیت‌کننده‌های مختلف اختلاف آماری معنی‌داری وجود نداشته است؛ در حالی‌که، در ۳۰ روز پس از کاشت، بیش‌ترین تعداد گیاهچه سالم به‌تیمار نیترات سدیم و کم‌ترین تعداد گیاهچه سالم به‌تیمار آمینوفنل تعلق داشت. از طرف دیگر، در ۴۵ روز پس از کاشت، کم‌ترین تعداد گیاهچه سالم به تیمار آمینوفنل تعلق داشت ولی میان تیمارهای مربوط به سایر تثبیت‌کننده‌ها اختلاف آماری معنی‌داری از لحاظ تعداد گیاهچه‌های سالم مشاهده نشد (جدول ۲).

ارزیابی قابلیت آنتاگونیستی تیمارهای *T. flavus* بر علیه مرگ گیاهچه‌ی خیار گلخانه‌ای

آزمایش تأثیر زادمایه‌های *T. flavus* دربردارنده تثبیت‌کننده‌های مختلف روی بیماری مرگ گیاهچه‌ی خیارگلخانه‌ای در زمان‌های ۱۵، ۳۰، ۴۵ و ۶۰ روز پس از کاشت به ترتیب در سطوح احتمال ۱٪، ۱٪، ۱٪ و ۵٪ معنی‌دار بود (جدول ۳). نتایج مقایسه میانگین‌ها در تیمارهای مختلف از لحاظ تعداد گیاهچه‌های سالم نشان داد که کلیه‌ی میانگین‌ها در زمان‌های ۱۵، ۳۰، ۴۵ و ۶۰ روز پس از کاشت به‌ترتیب در دو، دو، سه و پنج گروه آماری واقع شده‌اند و در زمان‌های مذکور برای کلیه‌ی تیمارها افزایش معنی‌دار تعداد گیاهچه‌های سالم نسبت به‌شاهد آلوده وجود داشته است (جدول ۴).

جدول ۱- تجزیه‌ی واریانس تعداد گیاهچه‌های سالم گوجه‌فرنگی در ۱۵، ۳۰، ۴۵ و ۶۰ روز پس از کاشت.

Table 1. Analysis of variance of the number of healthy seedlings in tomato at 15, 30, 45 and 60 days after planting.

Sources of Variations (SOV)	Degree of Freedom (df)	Mean Squares (MS)			
		15 Days	30 Days	45 Days	60 Days
Replication	3	0.036^{ns}	0.429^{ns}	0.476^{ns}	0.619^{ns}
Treatments	16	0.321**	0.571*	0.726**	0.833*
Error	18	0.036	0.206	0.171	0.230
Coefficient of Variation (C.V.)		6.53%	17.19%	16.06%	19.19%

ns: Non significant — ns: غیر معنی‌دار

*: Significant at the 5% probability level (P≤0.05) — *: معنی‌دار در سطح احتمال ۵٪

**: Significant at the 1% probability level (P≤0.01) — **: معنی‌دار در سطح احتمال ۱٪

جدول ۲- مقایسه‌ی میانگین‌های تعداد گیاهچه‌های سالم گوجه‌فرنگی در تیمارهای *Talaromyces flavus* دربردارنده تثبیت‌کننده‌های مختلف در زمان‌های مختلف پس از کاشت در شرایط گلخانه.

Table 2. The means comparison of the number of healthy tomato seedlings in *Talaromyces flavus* treatments containing different stabilizers at different intervals after planting under greenhouse conditions.

Treatment	Number of healthy seedlings			
	15 Days	30 Days	45 Days	60 Days
T. flavus+ Aminophenol	3.00a**	2.25bc*	2.25ab**	2.00ab*
T. flavus+ D- cycloserine	3.00a	2.75ab	2.75a	2.75ab
T. flavus+ Magnesium sulfate	3.00a	2.75ab	2.75a	2.50ab
T. flavus+ Carboxymethyl cellulose	3.00a	2.75ab	2.75a	2.75ab
T. flavus+ Sodium nitrate	3.00a	3.00a	2.75a	2.75ab
Unhealthy Control	2.25b	2.00c	1.75c	1.75b
Healthy Control	3.00a	3.00a	3.00a	3.00a

**: میان تیمارهای با حروف آماری متشابه، اختلاف آماری معنی‌داری در سطح احتمال ۱٪ وجود ندارد.

*: میان تیمارهای با حروف آماری متشابه، اختلاف آماری معنی‌داری در سطح احتمال ۵٪ وجود ندارد.

**: Values of each column followed by the same letter (s) are not significantly different at 1% probability level (P≤0.01).

*: Values of each column followed by the same letter (s) are not significantly different at 5% probability level (P≤0.05).

Archive of SID

www.SID.ir

همچنین، نتایج نشان داد که در ۱۵ و ۳۰ روز پس از کاشت، میان تیمارهای دربردارنده تثبیت‌کننده‌های مختلف اختلاف آماری معنی‌داری وجود نداشته است؛ در حالی‌که، در ۴۵ روز پس از کاشت، بیش‌ترین میانگین تعداد گیاهچه سالم به‌تیمارهای نیترات سدیم، دی‌سیکلوسرین و کربوکسی‌متیل‌سلولز و کم‌ترین میانگین تعداد گیاهچه سالم به تیمارهای آمینوفنل و سولفات منیزیم تعلق داشت. از طرف دیگر، در ۴۵ روز پس از کاشت، کم‌ترین تعداد گیاهچه سالم به تیمارهای آمینوفنل، سولفات منیزیم و کربوکسی‌متیل‌سلولز اختصاص داشت؛ در حالیکه، تیمارهای نیترات‌سدیم و دی‌سیکلوسرین دارای بیش‌ترین تعداد گیاهچه‌سالم بودند (جدول ۴).

جدول ۳- تجزیه‌ی واریانس تعداد گیاهچه‌های سالم خیار گلخانه‌ای در زمان‌های مختلف پس از کاشت.

Table 3. Analysis of variance of the number of healthy greenhouse cucumber seedlings at different intervals after planting.

Sources of Variations (SOV)	Degree of Freedom (df)	Mean Squares (MS)			
		15 Days	30 Days	45 Days	60 Days
Replication	3	0.036^{ns}	0.095^{ns}	0.238^{ns}	0.023^{ns}
Treatments	16	0.321**	0.321**	0.821**	0.198*
Error	18	0.036	0.067	0.155	0.064
Coefficient of Variation (C.V.)		6.53%	9.09%	14.19%	18.37%

ns: Non significant — ns: غیر معنی‌دار

*: Significant at the 5% probability level (P≤0.05) — *: معنی‌دار در سطح احتمال ۵٪

**: Significant at the1% probability level (P≤0.01) — **: معنی‌دار در سطح احتمال ۱٪

جدول ۴- مقایسه‌ی میانگین‌های تعداد گیاهچه‌های سالم خیار گلخانه‌ای در تیمارهای *Talaromyces flavus* دربردارنده ثبیت‌کننده‌های مختلف در زمان‌های مختلف پس از کاشت در شرایط گلخانه.

Table 4. The means comparison of the number of healthy greenhouse cucumber seedlings in *Talaromyces flavus* treatments containing different stabilizers at different intervals after planting under greenhouse conditions.

Treatment	Number of healthy seedlings			
	15Days	30Days	45Days	60Days
T. flavus+Aminophenol	3.00a**	2.75a**	2.50ab**	1.50bc*
T. flavus+D- cycloserine	3.00a	3.00a	3.00a	2.25abc
T. flavus+Magnesium sulfate	3.00a	3.00a	2.50ab	1.75bc
T. flavus+Carboxymethyl cellulose	3.00a	3.00a	2.75a	1.75bc
T. flavus+Sodium nitrate	3.00a	3.00a	3.00a	2.50ab
Unhealthy Control	2.25b	2.25b	1.75b	1.25c
Healthy Control	3.00a	3.00a	3.00a	3.00a

**: میان تیمارهای با حروف آماری متشابه، اختلاف آماری معنی‌داری در سطح احتمال ۱٪ وجود ندارد.

*: میان تیمارهای با حروف آماری متشابه، اختلاف آماری معنی‌داری در سطح احتمال ۵٪ وجود ندارد.

**: Values of each column followed by the same letter (s) are not significantly different at 1% probability level (P≤0.01).

*: Values of each column followed by the same letter (s) are not significantly different at 5% probability level (P≤0.05).

جداسازی و شناسایی عوامل قارچی بیماری‌زا از گیاهان آلوده گوجه‌فرنگی و خیارگلخانه‌ای

در این مرحله، مجدداً از گیاهان آلوده، *R. solani* جداسازی و شناسایی شد.

بحث

نتایج کلی این تحقیق نشان داد که کاربرد زادمایه‌های قارچ آنتاگونیست *T. flavus* حاوی برخی از تثبیت‌کننده‌های شیمیایی نظیر نیترات‌سدیم،

Archive of SID

www.SID.ir

کربوکسی‌متیل‌سلولز، دی سیکلوسرین و سولفات منیزیم موجب کاهش معنی‌دار مرگ گیاهچه در گوجه‌فرنگی و خیار گلخانه‌ای شده است. در زمینه کاربرد مواد افزودنی به ترکیبات بیولوژیک جهت افزایش ماندگاری آن‌ها اطلاعات دقیقی گزارش نشده اما مطابق تحقیقات به‌عمل آمده، افزایش کارآیی و پایداری ترکیبات بیولوژیک، از عوامل مهم تأثیرگذار در قابلیت بازاریابی و تجاری‌سازی آن‌ها محسوب می‌گردد (Kaewchai *et al.*, 2009; Mukhopadhyay & Maiti, 2009; Ghaderi-Daneshmand *et al.*, 2012).

با وجود آن‌که، مجموع مواد شیمیایی شامل نمک‌ها (نیترات‌سدیم، فسفات‌پتاسیم و سولفات‌منیزیم)، اسیدهای آمینه نظیر ال-آسپاراژین و قندها نظیر ال-سوربوز در قالب محیط‌کشت اختصاصی به‌عنوان محرک رشد برای عوامل مهم بیماری‌زای قارچی خاکزاد نظیر ورتیسلیوم و فوزاریوم معرفی شده (Katan & Ovadia, 1975; Christen, A. 1982; Hadar & Katan, 1989)؛ اما نتایج تحقیقاتی نیز نشان داده که هر یک از مواد شیمیایی فوق به‌تنهایی و در غلظت‌هایی با محدوده معین موجب بازدارندگی رشد این عوامل شده است (Veverka *et al.*, 2007). در تحقیق حاضر، نتایج نشان داد که زادمایه *T. flavus* دربردارنده نیترات سدیم در کنترل بیماری قارچی خاکزاد مورد آزمایش (مرگ گیاهچه رایزوکتونیایی) در گوجه‌فرنگی و خیارگلخانه‌ای مؤثر بوده؛ بنابراین، با توجه به‌توضیحات فوق چنین نتیجه‌ای دور از انتظار نبوده است.

از طرف دیگر، پایداردهنده اسمزی نظیر نیترات سدیم به‌عنوان ترکیب تثبیت‌کننده برای آنزیم کیتیناز گزارش شده (Gavanji *et al.*, 2013; Patil & Jadhav, 2015)؛ بنابراین، چنین ترکیبی توانسته در حفظ متابولیت مربوط به مکانیسم میکوپارازیتیسم *T. flavus* که همان آنزیم کیتیناز بوده (Inbar & Chet, 1995)، نقش عمده‌ای داشته باشد و بدین‌ترتیب *T. flavus* موجود در زادمایه نیز به‌واسطه متابولیت مذکور کارایی مطلوبی را در کنترل بیماری مورد مطالعه نشان داده است.

در این تحقیق، از لحاظ تأثیر دو زادمایه مختلف *T. flavus* با تثبیت‌کننده‌های کربوکسی‌متیل‌سلولز و دی‌سیکلوسرین روی کنترل بیماری‌های مورد آزمایش، نتایج متفاوتی میان گوجه‌فرنگی و خیارگلخانه‌ای مشاهده شد. نتایج تحقیق حاضر نشان داد که برای محصول گوجه‌فرنگی، زادمایه *T. flavus* دربردارنده کربوکسی متیل‌سلولز نسبت به زادمایه *T. flavus* حاوی دی‌سیکلوسرین در کنترل بیماری‌مذکور موفق‌تر بود؛ درحالی‌که، برای خیارگلخانه‌ای عکس حالت فوق اتفاق افتاد. جهت تفسیر این موضوع، ذکر نکاتی راجع به ارتباط متابولیت‌های مؤثر جدایه‌های مختلف *T. flavus* از لحاظ کنترل عوامل بیماری‌زا با گیاه میزبان به شرح ذیل ضروری است:

میان متابولیت‌های غیرفرار *T. flavus* شامل آنزیم گلوکزاکسیداز، گزیلوزیداز و بتا گالاکتوزیداز، آنزیم گلوکزاکسیداز نقش عمده‌ای در کنترل اغلب عوامل بیماری‌زای گیاهی داشته (Jat & Agalave, 2013)؛ فعالیت این آنزیم در حضور گلوکز موجود در تراوشات ریشه‌ای گیاه میزبان اتفاق افتاده و با تولید ترکیب سمی پراکسیدهیدروژن موجب نابودی جمعیت‌های مختلف بیماری‌زای قارچی و باکتریایی می‌شود (Kim *et al.*, 1989). پس، انتظار می‌رود که آنزیم مربوطه برای جدایه‌هایی از *T. flavus* که در اطراف ریشه گیاهانی با تراوشات ریشه‌ای سرشار از ترکیبات قندی مستقرند، فعال‌تر عمل نماید و متقابلاً در جدایه‌های *T. flavus* به‌دست آمده از ریزوسفر چنین گیاهانی نیز میزان و فعالیت متابولیت آنزیم گلوکز اکسیداز نسبت به جدایه‌های *T. flavus* مربوط به گیاهانی با تراوشات ریشه‌ای فقیر از ترکیبات قندی به‌صورت قابل ملاحظه‌ای بیش‌تر خواهد بود.

در تحقیق حاضر، برای گوجه‌فرنگی و خیارگلخانه‌ای از جدایه‌های *T. flavus* مربوط به ریزوسفر همان محصول استفاده شد؛ بنابراین، بر اساس اطلاعات ذکر شده، می‌توان نتیجه‌گیری نمود که به علت وجود ترکیبات قندی بیش‌تر در تراوشات ریشه‌ای گوجه‌فرنگی نسبت به خیارگلخانه‌ای، آنزیم گلوکزاکسیداز در جدایه مربوط به گوجه‌فرنگی

Archive of SID

www.SID.ir

فعال‌تر نموده و از ترکیبات قندی قابل دسترس خود مانند کربوکسی‌متیل‌سلولز بهره‌مند شده است. از طرف دیگر، ترکیبات دی‌سیکلوسرین و کربوکسی‌متیل سلولز هر دو از تثبیت‌کننده‌های متابولیت‌های غیرفرار محسوب شده (Matos *et al.*, 2012)؛ بنابراین، برای جدایه *T. flavus* مربوط به خیارگلخانه‌ای (گیاهی با تراوشات ریشه‌ای فقیر از ترکیبات قندی)، دی‌سیکلوسرین با افزایش پایداری سایر متابولیت‌های غیرفرار شامل بتاگالاکتوزیداز و گزیلوزیداز در کنترل عوامل بیماری‌زای مورد تحقیق مؤثر واقع گردیده است.

همچنین، نتایج این تحقیق نشان داد که زادمایه‌های *T. flavus* دربردارنده آمینوفنل و سولفات منیزیم نسبت به این زادمایه‌ها با سایر تثبیت‌کننده‌ها از لحاظ کارایی در کنترل بیماری‌های مورد مطالعه ضعیف‌تر عمل نموده‌اند. بنابراین، با وجود گزارشاتی مبنی بر معرفی آمینوفنل به‌عنوان تثبیت‌کننده متابولیت‌های فرار *T. flavus* شامل ترکیبات اتیلنی، هیدروژنی، سیانیدی، الکلی و آلدهیدی (Cimarelli *et al.*, 2001) و تشخیص سولفات منیزیم به عنوان تثبیت‌کننده آنزیم کیتیناز (متابولیت عمده مکانیسم میکوپارازیتیسم) (Yu & Chang, 1987)، نتایج به‌دست آمده از تحقیق حاضر را می‌توان به‌شرح ذیل تفسیر نمود:

تحقیقات پیشین نشان داده که ترکیبات الکلی نظیر اتانول موجب پیشرفت رشد میسلیوم‌های برخی قارچ‌های خاکزاد نظیر فوزاریوم، پیتیوم و رایزوکتونیا می‌گردد (Vincelli & Beaupre, 1989; Menz & Vriesekoop, 2011). بنابراین، باتوجه به قرارگیری ترکیب آمینوفنل در گروه الکل‌ها، عدم کارایی زادمایه‌های *T. flavus* دربردارنده تثبیت‌کننده آمینوفنل توجیه می‌شود. از طرف دیگر، کارایی پایین زادمایه *T. flavus* دربردارنده سولفات منیزیم در مورد برخی عوامل بیماری‌زا، می‌توانسته به‌دلیل عدم سازگاری جدایه آنتاگونیست *T. flavus* با ترکیب مذکور باشد. تحقیقات هیس کاکس (Hiscox *et al.*, 2015) و شانموگام و همکاران (Shanmugam *et al.*, 2010) در این زمینه نشان داده که در شرایطی برخی ترکیبات شیمیایی، به‌عنوان تنش یا استرس برای رویش قارچ محسوب می‌گردد. بنابراین، احتمال می‌رود، قبل از ورود زادمایه *T. flavus* به‌خاک، این اتفاق افتاده و ترکیب سولفات منیزیم در برخی موارد موجب تضعیف رویش و رشد *T. flavus* شده است.

در مجموع می‌توان چنین نتیجه‌گیری نمود که زادمایه‌های دربردارنده جدایه‌های *T. flavus* مربوط به گوجه‌فرنگی و خیارگلخانه‌ای توأم با تثبیت‌کننده نیترات سدیم کارایی مطلوبی در کنترل بیماری مرگ گیاهچه در محصولات فوق داشته است.

References

Alimi, T., Ajewole, O.C., Olubode-Awosola, O.O. & Idowu, E.O. 2006. Economic rationale of commercial organic fertilizer technology in vegetable production in Osun State of Nigeria. Journal of Applied Horticulture, 8(2): 159-164.

Ardakani, S.S., Heydari, A., Khorasani, N. & Arjmandi, R. 2010. Development of new bioformulations of *Pseudomonas fluorescens* and evaluation of the products against damping-off of cotton seedlings. Journal of Plant Pathology, 2(1): 83-88.

Aziz, N.H., EL-Fouly, M.Z., EL- Essawy, A.A. & Khalaf, M.A. 1997. Influence of bean seedling root exudates on the rhizosphere colonization by *Trichoderma lignorum* for the control of *Rhizoctonia solani*. Botany Bulletin Academic Science, 38(1): 33-39.

Budge, S.P. & Whipps, J.M. 2001. Potential for integrated control of *Sclerotinia sclerotiorum* in glasshouse lettuce using *Coniothyrium minituns* and reduced fungicide application. Phytopathology, 91(2): 221-227.

Archive of SID

www.SID.ir

Caramez, M., Damaso, T., Costaterzi, S., Farias, A.X., Pereira de Oliveira, A.C., Fraga, M.E. & Couri, S. 2012. Selection of cellulolytic fungi isolated from diverse substrates. Brazilian Archives of Biology and Technology, 55(4): 513-520.

Christen, A.A. 1982. A selective medium for isolating *Verticillium albo-atrum* from soil. Phytopathology, 72(1): 47-49.

Cimarelli, C., Pulmieri, G. & Volpini, E. 2001. Ready N-alkylation of enantiopure aminophenols: synthesis of tertiary aminophenols. Tetrahedron, 57(28): 6089-6096.

Duo-Chuan, L.I., Chen, S. & Jing, L. 2005. Purification and partial characterization of two chitinases from the mycoparasitic fungus *Talaromyces flavus*. Mycopathologia, 159(2): 223-229.

Engelelkes, C.A., Nuclo, R. L. & Fravel, D.R. 1997. Effect of Carbon, Nitrogen, and C:N ratio on growth, sporulation and biocontrol efficacy of *Talaromyces flavus*. Phytopathology, 87(1): 500-505.

Ghaderi-Daneshmand, N., Bakhshandeh, A. & Rostami, M.R. 2012. Biofertilizer affects yield and yield components of wheat. International Journal of Agriculture Research and Review, 2: 699-704.

Gonzales Garcia, V., Purtal Onco, M.A. & Rubio Susan, V. 2006. Review, biology and systematics of the form genus Rhizoctonia. Spanish Journal of Agriculture Research, 4(1): 55-79.

Hadar, E. & Katan, J. 1989. The use of nitrate non utilizing mutants and a selective medium for studies of pathogenic strains of *Fusarium oxysporum*. Plant Disease, 73: 800-803.

Haggag, W.M., Kansoh, A.L. & Aly, A.M. 2006. Proteases from *Talaromyces flavus* and *Trichoderma harzianum*: Purification characterization and antifungal activity against brown spot disease on faba bean. Plant Pathology Bulletin, 15: 231-239.

Hiscox, J., Savoury, M., Vaughan, L.P., Muller, C.T. & Boddy, L. 2015. Antagonistic fungi interactions influence carbon dioxide evolution from decomposing wood. Fungal Ecology, 14: 24-32.

Husen, E., Simanungkalit, R.D.M., Suraswati, R. & Irawan, I. 2007. Characterization and quality assessment of Indonesian commercial biofertilizer. Indonesian Journal of Agricultural Science, 8: 31-38.

Inbar, J. & Chet, I. 1995. The role of recognition in the induction of specific chitinases during mycoparasitism by *Trichoderma harzianum*. Microbiology, 141: 2823-2829.

Jat, G. & Agalave, H.R. 2013. Antagonistic properties of trichoderma species against oilseed- borne fungi. Science Research Reporter, 3: 171-174.

Kaewchai, S., Soytong, K. & Hyde, K.D. 2009. Mycofungicides and fungal biofertilizers. Fungal Diversity, 38(1): 25-50.

Katan, A.J. & Ovadia, S. 1975. An improved selective medium for the isolation of *Verticillium dahliae*. Phytoparasitica, 3(2): 133-137.

Keszler, A., Forgacs, E. & Kotai, L. 2000. Deparation and identification of volatile components in the fermentation broth of *Trichoderma atroviride* by solid-phase extraction and gas chromatography-mass spectrometry. Journal of Chromatographic Science, 38(1): 421-424.

Kim, K.K., Fravel, D.R. & Papavizas, G.C. 1989. Identification of a metabolite produced by *Talaromyces flavus* as glucose oxidase and its role in the biocontrol of *Verticillium dahliae*. Phytopathology, 78(4): 488-492.

Koch, E. 1999. Evaluation of commercial products for microbial control of soil-borne plant disease. Crop Protection, 18(2): 119-125.

Archive of SID

www.SID.ir

Lee, S. & Lee, J. 2009. Color stabilization of low toxic antimicrobial polypropylene/poly (hexamethylene guanidine) phosphate blends by Taguchi technique. Macromolecular Research, 17(1): 411-416.

Madi, L., Katan, J. & Henis, Y. 1992. Inheritance of antagonistic properties and lytic enzyme activities in sexual crosses of *Talaromyces flavus*. Annual Applied Biology, 121(3): 565-576.

Madi, L., Katan, T. & Katan, J. 1997. Biological control of *Sclerotium rolfsii* and *Verticillium dahliae* by *Talaromyces flavus* is mediated by different mechanisms. Phytopathology, 87(10): 1051-1060.

Matos, M., Simpson, B.K., Ramierz, H.L., Cao, R., Torres-Labandeira, J.J. & Hernandez, K. 2012. Stabilization of glucose oxidase with cyclodextrin- branched carboxymethylcellulose. Biotechnologia Aplicada, 29(1): 1-6.

Menz, G., Aldred, P. & Vriesekoop, F. 2011. Growth and survival of food borne pathogens in beer. Journal of Food Protection, 74: 1670-1675.

Merwel, C., Hansen, B.S., Maurice, H. & Vaughan, J.R. 1974. Mechanism of action of the mycotoxin Trichodermin, a 12,13-Epoxytrichothecene. Proceedings of the National Academy of Sciences of the united states of America, 71: 713-717.

Mikhail, M.S., Sabet, K.K., Omar, M.R., Hussein, E.M. & Kasem, K.K. 2009. Pathogenicity and protein electrophoresis of different cotton *Rhizoctonia solani* isolates. Egyptian Journal of Phytopathology, 37: 21-33.

Mukhopadhyay, S. & Maiti, S. K. 2009. Biofertilizer: VAM fungi- A future prospect for biological reclamation of mine degraded lands. Indian Journal Environmental Protection, 29: 801-808.

Naraghi, L., Heydari, A., Rezaee, S., Razavi, M., Jahanifar, H. & Mahmoodi Khaledi, E. 2010. Biological control of tomato Verticillium wilt disease by *Talaromyces flavus*. Journal of Plant Protection Research, 50: 360-365.

Naraghi, L., Heydari, A., Rezaee, S. & Razavi, M. 2012. Biocontrol agent *Talaromyces flavus* stimulates the growth of cotton and potato. Journal of Plant Growth Regulation, 31: 471-477.

Naraghi, L., Heydari, A., Rezaee, S. & Razavi, M. 2013. The study of mechanisms of antagonism against *Verticillium dahliae* and *Talaromyces flavus* fungus Verticillium albo-atrum causes wilt disease in several important crops. Biocontrol in Plant Protection, 1(1): 13-28. (In Persian with English Summary).Pascual, S., Melgarejo, P. & Magan, N. 1999. Production of the fungal biocontrol agent *Epicoccum nigrum* by solid substrate fermentation: effect of water activity on accumulation of compatible solutes. Mycopathologia, 146(2): 83-89.

Patil, N.S. & Jadhav, J.P. 2015. *Penicillium ochrochloron* MTCC 517 chitinase: An effective tool in commercial enzyme cocktail for production and regeneration of protoplasts from various fungi. Saudi Journal of Biological Sciences, 22(2): 232-236.

Pereira, I., Ortegu, R., Barrientus, L., Moya, M., Reyes, G. & Kramm, V. 2009. Development of a biofertilizer based on filamentous nitrogen- fixing cyanobacteria for rice crops in Chile. Journal of Applied Phycology, 21(1): 135-414.

Sargin, S., Gezgin, Y., Eltem, R. & Vardar, F. 2013. Micropropagule production from *Trichoderma harzianum* EGE-K38 using solid-state fermentation and a comparative study for drying methods. Turkish Journal of Biology, 37(1): 139-146.

Archive of SID

www.SID.ir

Schuster, A. & Schmoll, M. 2010. Biology and biotechnology of Trichoderma. Applied Microbiology and Biotechnology, 87(3): 787-799.

Shakhul Ashraf, M. & Ahmad Khan, T. 2007. Efficacy of *Gliocladium virens* and *Talaromyces flavus* with and without organic amendments against *Meloidogyne javanica* infecting eggplant. Asian Journal of Plant Pathology, 1(1): 18-21.

Shanmugam, V., Ronen, M., Shalaby, S., Larkov, O., Rachamim, Y., Hader, R., Rose, M., Carmeli, S., Horwitz, B.A. & Leu, S. 2010. The fungal pathogen *Cochliobolus heterostrophus* responds to maize phenolics: novel small molecula signals in a plant-fungal interaction. Celluar Microbiology, 12: 1421-1431.

Sharzehei, A., Heidary, S. & Raufi, F. 2011. Identification of tomato root and crown pathogenic fungi in Marvdasht region, Iran. Quarterly Journal of Research in Plant Pathology, 1: 57-65.

Sneh, B., Burpee, L. & Ogoshi, A. 1991. Identification of Rhizoctonia species. APS press.

Sneh, B., Yamoah, G. & Stewart, A. 2004. Hypovirulent Rhizoctonia spp. isolates from New Zealand soils protect radish seedlings against damping-off caused by *Rhizoctonia solani*. New Zealand Plant Protection, 57(1): 54-58.

Vasane, S.R. & Kothari, R.M. 2008. An integrated approach to primary and secondary hardening of banana Var. Grand Naine. Indian Journal of Biotechnology, 7(2): 240-245.

Veverka, K., Stolcova, J. & Ruzek, P. 2007. Sensitivity of fungi to urea, ammonium nitrate and their equimolar solution UAN. Plant Protection Science, 43:4: 157-164.

Vincelli, P.C. & Beaupre, C.M.S. 1989. Comparison of media for isolating *Rhizoctonia solani* from soil. Plant Disease, 73(12): 1014-1017.

Ward, O.P. 2011. Production of recombinant proteins by filamentous. Biotechnology Advances, 30(5): 1112-1139.

Yu, M.Y. & Chang, S.T. 1987. Effects of osmotic stabilizers on the activities of mycolytic enzymes used in fungal protoplast liberation. World Journal of Microbiology and Biotechnology, 3(2): 161-167.

Zamanizadeh, H.R., Hatami, N., Aminaee, M.M. & Rakhshandehroo, F. 2011. Application of biofungicides in control of damping disease off in greenhouse crops as a possible substitute to synthetic fungicides. International Journal of Environmental Science and Technology, 8(1): 129-136.

Archive of SID

www.SID.ir

Effectiveness of the chemical stabilizers of fungal antagonist, *Talaromyces flavus* in biological control of tomato and greenhouse cucumber Rhizoctonia-induced seedling damping-off disease

Donya Bahramiyan[1], Laleh Naraghi[2], Asghar Heidari[2]

1. Department of Plant Pathology, Faculty of Agriculture and Natural Resorces, Science and Research Branch, Islamic Azad University, Tehran, Iran
2. Iranian Research Institute of Plant Protection, Agricultural Research, Education and Extension Organization (AREEO), Tehran, Iran

Corresponding author: Laleh Naraghi, email: lale_naraghi@yahoo.com

Received: Feb., 27, 2016 4 (1) 41-52 Accepted: Sept., 16, 2016

Abstract

Fungal antagonist, *Talaromyces flavus*, is one of the most important biocontrol agents of soil borne plant diseases including seedling damping-off. In this research, to increase the effectiveness of *T. flavus* isolates obtained from cucumber greenhouses and tomato fields, five chemical stabilizers were tested. Based on the results of the previous studies, the most effective substrate for the growth, sporulation and stability of *T. flavus* isolates related to the above-mentioned plants was a mixture of rice bran and peat-moss. For each plant, the greenhouse experiment was performed as randomized complete blocks with seven treatments and three replications. Experimental treatments included five different stabilizers (aminophenol, D- cycloserine, magnesium sulfate, carboxymethyl cellulose, and sodium nitrate), infected control and healthy control. The final evaluation of different treatments was based on the number of healthy plants. The overall results of this study, indicted that *T. flavus* inocula containing sodium nitrate, D- cycloserine, and carboxymethyl cellulose were more effective than aminophenol and magnesium sulfate in controlling seedling damping-off disease.

Keywords: *Rhizoctonia solani*, *Talaromyces flavus*, chemical stabilizer, seedling damping-off, tomato, greenhouse cucumber

Archive of SID

www.SID.ir