کارآیی تثبیت کننده‌های قارچ *Talaromyces flavus* در کنترل بیولوژیک بیماری مرگ گیاهچه چغندرقند

Efficacy of the stabilizers of *Talaromyces flavus* in biological control of sugar beet seedling damping-off disease

شیده مهربان‌بوشهری[۱]، لاله نراقی[۲] و محمد ترابی[۳]

دریافت: ۱۳۹۳/۳/۱۱ پذیرش: ۱۳۹۳/۶/۲۵

چکیده

در این تحقیق، ابتدا فرمولاسیون‌های برتر برای *T. flavus* باتوجه به میزان اسپورهای فعال قارچ مذکور در شرایط آزمایشگاه تعیین و سپس کارآیی آن‌ها در کنترل بیماری مرگ گیاهچه چغندرقند ناشی از قارچ‌های *Rhizoctonia solani* و *Fusarium proliferatum* در شرایط گلخانه بررسی شد. این آزمایش به صورت اسپلیت پلات در قالب طرح آماری بلوک‌های کامل تصادفی با تیمار اصلی روش‌های مصرف فرمولاسیون‌ها در سه سطح (افزودن به خاک، آغشته‌سازی بذر و ترکیب دو فرم با هم) و تیمار فرعی فرمولاسیون‌های مختلف در هشت سطح (هر شش فرمولاسیون برتر منتج از نتایج آزمایشگاهی شامل TF-Su-K-1- دی‌سیکلوسرین، TF-Su-K-2- دی‌سیکلوسرین، TF-Su-K-3- دی‌سیکلوسرین، TF-Su-K-3- سولفات منیزیم، TF-Su-K-2- کربوکسی‌متیل‌سلولز و TF-Su-K-3- نیترات‌سدیم، شاهد سالم و شاهد آلوده) در چهار تکرار انجام شد. نتایج آزمایش گلخانه‌ای نشان داد که در آزمایش‌های تأثیر تیمار اصلی و فرعی به صورت جداگانه، فرمولاسیون تثبیت‌کننده دی‌سیکلوسرین و جدایه TF-Su-K-3 بیش‌ترین کارآیی را در کنترل بیولوژیک بیماری مرگ گیاهچه داشتند. نتایج آزمایش اثر متقابل روش مصرف و زادمایه نشان داد که فرمولاسیون تثبیت‌کننده دی‌سیکلوسرین و جدایه TF-Su-K-2 با نحوه مصرف به صورت افزودن به خاک و یا افزودن به خاک توأم با آغشته‌سازی بذر کم‌ترین میزان وقوع بیماری را موجب گردید.

واژگان کلیدی: کنترل بیولوژیک، دی سیکلوسرین، کربوکسی متیل سلولز، سولفات منیزیم، مرگ گیاهچه چغندرقند.

۱ و ۳- به ترتیب دانشجوی سابق کارشناسی ارشد و استاد، دانشگاه آزاد اسلامی، واحد ورامین - پیشوا، دانشکده کشاورزی، گروه بیماری‌شناسی گیاهی، ورامین

۲- استادیار، موئسسه تحقیقات گیاهپزشکی کشور، بخش تحقیقات بیماری‌های گیاهان، تهران

نویسنده مسئول مکاتبات: lale_naraghi@yahoo.com

مقدمه

در ایران، عملکرد چغندرقند در مقایسه با کشورهای دیگر پایین می‌باشد (خلقانی و همکاران، ۱۳۸۹). از مهم‌ترین عوامل پایین بودن عملکرد این گیاه وجود بیماری‌های مختلف به ویژه بیماری مرگ گیاهچه ناشی از عوامل بیماری‌زای قارچی نظیر *Rhizoctonia solani* و *Fusarium proliferatum* بوده که محدودیت کشت آن را موجب شده است (شیخ‌الاسلامی و همکاران، ۱۳۸۱). ضمن این که عوامل این بیماری به بذر، گیاهچه‌ها و گیاهان مسن تقریباً تمامی انواع سبزیجات، گل‌ها، غلات و بسیاری از درختان میوه و جنگلی آسیب می‌زند. در تمام این موارد قسمت اعظم خسارت متوجه بذر و گیاهچه‌ها هنگام جوانه زدن و قبل از خروج از خاک یا بعد از آن می‌باشد. خسارات وارده بسته به گونه گیاه و گونه قارچ عامل بیماری به ویژه دما، رطوبت خاک وغیره بسیار متغیر است. در هر حال غالب اوقات گیاهچه‌ها در بستر بذر یا فوراً بعد از انتقال به زمین اصلی به کلی نابود می‌شوند. در بسیاری از موارد بد سبز شدن بذر یا عدم خروج گیاهچه‌ها از خاک در نتیجه مرگ گیاهچه‌ها قبل از ظهور است. گیاهان مسن‌تر قبل از این‌که آلوده شوند، کم‌تر از بین می‌روند، لیکن در آن‌ها نیز زخم ساقه یا پوسیدگی ریشه به وجود آمده، رشد شان کند می‌شود و میزان محصول کم‌تری تولید خواهند کرد. علاوه بر *R. solani*، بعضی گونه‌های مربوط به جنس *Pythium* به اندام‌های گوشتی گیاهان هم حمله می‌کنند که در آن صورت منتج به پوسیدگی و خسارت به هنگام انبار کردن این اندام‌ها می‌شود (مهرآوران و مظفر، ۱۳۸۰). در ایران *F. proliferatum* همراه *R. solani* به عنوان عامل بیماری مرگ گیاهچه چغندرقند در مزارع کرج گزارش شده است (Naraghi *et al*., 2014 c).

استفاده از عوامل زنده بیولوژیک شامل باکتری‌ها و قارچ‌های آنتاگونیست یکی از راه‌های کنترل عوامل بیماری‌زای خاک است (Kakvan *et al*., 2013؛ Naraghi *et al*., 2014b؛ Georqakopoulos *et al*., 2002). در خارج از کشور تحقیقی با موضوع کنترل بیولوژیک بیماری پژمردگی ورتیسلیومی سیب‌زمینی ناشی از *Verticillium dahliae* به وسیله *T. flavus* در شرایط مزرعه انجام شد و نتایج آن نشان داد که با کاربرد قارچ آنتاگونیست مذکور به صورت افزودن به خاک، به میزان ۹۰ درصد جمعیت اسکلروت‌های عامل بیماری کاهش یافت (Spink and Rowe, 1989). در تحقیق دیگری مکانیزم‌های بازدارنده مختلف *T. flavus* در کنترل بیولوژیک *Sclerotinia rolfsii* و *V. dahliae* مورد بررسی قرار گرفت که نتایج آن نشان داد به ترتیب آنزیم کیتیناز در مکانیزم میکوپارازیتیسم و آنزیم گلوکزاکسیداز در مکانیزم تولید ترکیبات غیرفرار در بازدارندگی رشد پرگنه *S. rolfsii* و *V. dahliae* مؤثر بوده‌اند (Madi *et al*., 1997).

بررسی دیگری در آمریکا با عنوان توزیع و استقرار قارچ *T. flavus* در خاک و در ریشه‌های محصولات زراعی از خانواده سولاناسه نظیر بادنجان، گوجه‌فرنگی و سیب‌زمینی، جهت بیوکنترل پژمردگی ورتیسلیومی انجام شد. در این تحقیق، سوسپانسیون آسکوسپورهای قارچ آنتاگونیست در قرص‌های آلژینات به صورت گرانولی فرموله و در اطراف ریشه‌های محصولات فوق قرار داده شد. نتایج این تحقیق نیز نشان داد که در مصرف فرمولاسیون مذکور موجب کاهش معنی‌دار جمعیت قارچ عامل بیماری در پایان دوره رویشی گیاه شد (Tjamos and Fravel., 1995).

در ایران، قارچ آنتاگونیست *T. flavus* برای اولین بار از خاک اطراف ریشه گیاه پنبه واقع در مزرعه‌ای در ایستگاه تحقیقاتی کارکنده استان گلستان جداسازی و شناسایی شد (نراقی و همکاران، ۱۳۷۹). نتایج تحقیقات آزمایشگاهی در زمینه بررسی تأثیر مکانیسم‌های بازدارندگی جدایه‌های مختلف *T. flavus* روی رشد برخی عوامل بیماری‌زای خاکزاد در چند محصول زراعی نشان داد که از میان مکانیسم‌های مورد مطالعه شامل میکوپارازیتیسم، تولید ترکیبات فرار و غیرفرار، مکانیسم تولید ترکیبات غیرفرار موجب بیش‌ترین درصد بازدارندگی رشد عامل پژمردگی ورتیسلیومی پنبه (*V. dahliae*) شد (نراقی و همکاران، ۱۳۷۹). در تحقیق مشابهی نیز مشخص شد که مکانیسم‌های آنتاگونیستی مشترک میان جدایه‌های *T. flavus* مربوط به سه محصول زراعی سیب‌زمینی، گوجه‌فرنگی و خیار گلخانه‌ای، میکوپارازیتیسم و

تولید ترکیبات فرار برای *V. albo-atrum*، میکوپارازیتیسم برای *F. oxysporum* و تولید ترکیبات غیرفرار برای *R. solani* بود (نراقی، ۱۳۸۹؛ نراقی و همکاران، ۱۳۹۱b).

در تحقیقات دیگر، جهت کاربرد قارچ مذکور در گلخانه و مزرعه، اقدام به تکثیر با استفاده از بسترهای جامد شامل کود پرورش یافته با کرم خاکی، کلش گندم، سبوس گندم، چوب بلال ذرت، سبوس برنج، کلش گندم توأم با سبوس گندم، پرلیت مخلوط با مکمل قندی و خاک پیت مخلوط با مکمل قندی گردید و در این میان، برترین بسترها از نظر کارآیی در افزایش اسپورزایی و پایداری برای جدایه‌های *T. flavus* پنبه و سیب‌زمینی، سبوس برنج و برای جدایه‌های *T. flavus* مربوط به گوجه‌فرنگی و خیار گلخانه‌ای، خاک پیت مخلوط با مکمل قندی معرفی شد (نراقی و همکاران، ۱۳۸۵؛ نراقی، ۱۳۸۹).

بررسی‌های گلخانه‌ای و مزرعه‌ای در زمینه امکان کنترل بیولوژیک بیماری پژمردگی ورتیسلیومی و مرگ گیاهچه پنبه؛ مرگ گیاهچه چغندرقند و پژمردگی ورتیسلیومی سیب‌زمینی با استفاده از *T. flavus* انجام شد و نتایج آن نشان داد که این قارچ علاوه بر کاهش معنی‌دار شاخص بیماری، افزایش معنی‌دار زودرسی و عملکرد را نیز موجب شد (نراقی و همکاران، ۱۳۸۲، ۱۳۸۵، ۱۳۸۷، ۱۳۹۰a، ۱۳۹۰b، ۱۳۹۱a، ۱۳۹۱b؛ Naraghi *et al*., 2014 a and b). همچنین، نتایج آزمایش‌های گلخانه‌ای در زمینه کنترل بیولوژیک با بیماری پژمردگی ورتیسلیومی سیب‌زمینی، گوجه‌فرنگی و خیار گلخانه‌ای ناشی از *V. albo-atrum* توسط جدایه‌های مختلف *T. flavus* مشخص نمود که این جدایه‌ها در کاهش شاخص بیماری و افزایش صفات رویشی از قبیل طول ریشه، طول طوقه، ارتفاع، وزن تر و وزن خشک گیاهان فوق به صورت معنی‌داری مؤثر بودند (Naraghi *et al*., 2010 a, b and c).

با نتایج به دست آمده از بررسی‌های آزمایشگاهی و گلخانه‌ای در زمینه کنترل عوامل پژمردگی فوزاریومی خیار گلخانه‌ای و گوجه‌فرنگی توسط جدایه‌های مختلف *T. flavus*، علاوه بر تعیین مؤثرترین جدایه‌های مذکور، روش کاربرد هر یک از آن‌ها نیز در مزارع گوجه‌فرنگی وگلخانه‌های خیار مشخص گردید (عطفان نژاد دزفولی، ۱۳۹۱؛ عطفان نژاد دزفولی و همکاران، ۱۳۹۱؛ قلی نیاکان، ۱۳۹۲؛ قلی نیاکان و همکاران، ۱۳۹۱).

با وجود آن که اخیراً، به قابلیت‌های فتراوان محیط‌های کشت طبیعی جامد برای تکثیر قارچ‌های آنتاگونیست پی برده شده، کاربردهای تجارتی این گونه محیط‌ها بسیارکم بوده است (Celar, 2003). تحقیقات وینیل و همکاران (Vinale *et al*., 2008) نشان داد که استاده ازمحیط‌های جامد طی فرآیند تخمیر میکروارگانیسم‌ها (Solid State Fermentation) ظرفیت تولید منابع آنزیمی نظیر سلولوتیک، پکتینولیتیک، لگنینولیتیک و لیپولیتیک را بالا می‌برد. در تحقیق دیگری در زمینه پایداری کنیدیوم‌های قارچ آنتاگونیست *Clonostachys rosea* روی بذر جو و قابلیت آنتاگونیستی آن بر علیه عامل بیماری‌زای قارچی بذرزاد *Bipolaris sorokiniana*، برتری محیط کشت جامد به محیط کشت مایع به منظور تهیه زادمایه محتوی کنیدیوم‌های قارچ آنتاگونیست به اثبات رسید (Jensen *et al*., 2002). در تحقیقی مشابه نیز تکثیر *C. rosea* روی برنج جهت مبارزه بیولوژیک با بیماری کپک خاکستری توت فرنگی ناشی از قارچ *Botrytis cinerea* انجام شد (Viccini *et al*., 2007). در این تحقیق، با مایه‌زنی $۱۰^{۶}$ × ۱ اسپور و $۱۰^{۳}$ × ۹ اسپور به بیست گرم سبوس برنج و نگهداری آن در انکوباتور با رطوبت اولیه ۴۶ ٪ پس از پانزده روز، به ترتیب $۱۰^{۹}$× ۳/۴ و $۱۰^{۸}$× ۱/۱ اسپور تولید گردید. این نتایج نشان داد که انکوباتوری با مساحت ۲۴ متر مربع جهت تولید میزان اسپور لازم از قارچ آنتاگونیست *C. rosea* برای مبارزه بیولوژیک با بیماری مذکور در یک هکتار از مزارع توت‌فرنگی کافی خواهد بود. در شرایط گلخانه، استفاده از سبوس گندم در تهیه زادمایه متأثر از *Trichoderma lignorum* به صورت افزودن به خاک جهت مبارزه با بیماری مرگ گیاهچه لوبیا ناشی از قارچ *R. solani*، سبب افزایش معنی‌دار درصد بذرسالم گردید (Aziz *et al*.,1997). محیط کشت جامدی با نام اختصاری SSC-06 متشکل از کمپوست قارچ جنگلی (Spent Forest Mushroom Compost)، پوسته شلتوک کربونیزه شده، پوست میگو، پوست خرچنگ، سلول خونی و

آهک ضمن دارا بودن خواص بازدارندگی از فعالیت قارچ *R. solani* به عنوان ترکیبی مناسب برای رشد گیاهچه‌های کلم معرفی شده است (Huang and Huang, 2000). این محققان نشان دادند که کاهش خواص بازدارندگی محیط مذکور بعد از قرار گرفتن در دمای مرطوب و افزودن کنیدیوم‌های *T. harzianum* به آن جبران می‌گردد.

بررسی‌های دیگری نشان داد که بسترهای جامد جهت تولید آنزیم‌های مختلف *T. flavus* کارآیی داشته‌اند (Crotti *et al.*, 1999; Martin *et al.*, 2004; Simerska *et al.*, 2006). بر اساس نتایج این تحقیقات، با تکثیر قارچ مذکور روی پس مانده‌های میوه‌هایی نظیر لیمو و پرتقال، آنزیم‌های اندو پلی گالاکتوروناز و پکتیناز تولید گردیده در حالی که تکثیر *T. flavus* روی مواد پلیمریک نظیر صمغ لوبیا موجب تولید آنزیم آلفا- دی-گالاکتوزیداز شد. منپریت و همکاران (Manpreet *et al.*, 2005) نشان دادندکه با تغییر فاکتورهایی از قبیل دما، رطوبت، pH، تغییر غلظت بستر جامد و یا افزودن یک ماده شیمیایی خاص به آن می‌توان کارآیی این گونه بسترها را برای تولید متابولیت‌های قارچ‌های آنتاگونیست افزایش داد. در ایران، طی بررسی‌های مقدماتی، تهیه زادمایه از جدایه‌های مختلف *T. flavus* روی مواد طبیعی نظیر کلش گندم انجام شد و هر جدایه در مقادیر مختلف به گلدان‌هایی محتوی خاک مزرعه پنبه اضافه گردید. نتایج نشان داد کاهش شاخص آلودگی توسط تیمار متاثر از زادمایه *T. flavus* در مقایسه با شاهد آلوده معنی‌دار بود (نراقی و همکاران، ۱۳۸۳).

در دهه اخیر، گزارش‌های بسیاری در زمینه تهیه قارچ‌کش‌های بیولوژیکی با استفاده از بسترهای جامد و بهینه‌سازی آن‌ها در مراحل مختلف ساخت وجود داشته است (Pascual *et al*., 1999; Budge and Whipps, 2001; Schuster and Schmoll, 2010; Caramez *et al*., 2012; Sargin *et al*., 2013).

به عنوان مثال، پاسکوال و همکاران (Pascual *et al*., 1999) موفق به تهیه قارچ‌کش بیولوژیکی جامد متأثر از قارچ *Epicoccum nigrum* روی گندم گردیدند 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.

سارگین و همکاران (Sargin *et al*., 2013)، جهت افزایش کارآیی قارچ‌کش بیولوژیکی متأثر از *Trichoderma harzianum* EGE-K38 نسبت به مقایسه روش‌های مختلف خشک سازی این قارچ‌کش اقدام ورزیدند. 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 شد (Vasane and Kothari, 2008; Lee and Lee, 2009). تا کنون، در خارج از کشور قارچ کش‌های بیولوژیکی نظیر Ketomium حاوی *Chaetomium globosum* و *Ch. Cupreum*؛ Promote حاوی *T. harzianum* و *T. viride*؛ Soil Gard حاوی *Gliocladium virens*؛ Trichodex حاوی *T. harzianum*، *Pisolithus tinctonus* و *Glomus intraradices*؛ Trichodermin حاوی *T. harzianum* و WG Protus حاوی *Talaromyces flavus* به ثبت تجاری رسیده‌اند (Merwel *et al*., 1974; Koch, 1999; Kaewchai *et al*., 2009). در تحقیقات ایران نیز، کاربرد قارچ‌کش بیولوژیک تجاری ایرانی به نام تریکو میکس اچ. وی گزارش شده است (میرزایی قمی و همکاران، ۱۳۸۹؛ نراقی، ۱۳۸۹).

مواد و روش‌ها

تهیه جدایه‌های *Talaromyces flavus*

برای تهیه جدایه‌های *T. flavus*، براساس تحقیقات پیشین نراقی و همکاران (Naraghi *et al*., 2014c)، از سه جدایه برتر TF-Su-K-1، TF-Su-K-2و TF-Su-K-3 موجود در آزمایشگاه تحقیقات میکروارگانیسم‌های مفید مؤسسه تحقیقات گیاه‌پزشکی کشور در کنترل بیماری مرگ گیاهچه‌ی چغندرقند استفاده شد.

مطالعات میکروسکوپی و ماکروسکوپی جدایه‌های *T. flavus*

برای مطالعه پرگنه‌های *T. flavus* مطابق نوشته مارویس و همکاران (Marois *et al.*, 1984)، از نظر ماکروسکوپی، رنگ پرگنه این جدایه‌ها بعد از ده روز نگهداری در دمای ۳۰ درجه سانتی‌گراد مورد بررسی قرار گرفت. همچنین، از نظر میکروسکوپی، ریسه‌ها و شکل تولید مثل غیرجنسی قارچ (*Penicillium dangeardii* Pitt) شامل کنیدیوم و کنیدیوفور مطالعه گردید.

به منظور به دست آوردن شکل تولید مثل جنسی قارچ [*Talaromyces flavus* Klocker (Stolk and Samson)]، این جدایه‌ها روی محیط کشت PDA به مدت سه هفته در انکوباتور با دمای۳۰ درجه سانتی‌گراد نگهداری شدند و اندام تولید مثل جنسی‌شان شامل آسکوگونیوم، آنتریدیوم، آسکوکارپ، آسک و آسکوسپور مطالعه گردید.

تهیه عوامل بیماری‌زای قارچی *R. solani* و *F. proliferatum*

برای تهیه عوامل بیماری‌زا، بر اساس تحقیقات پیشین نراقی و همکاران (Naraghi *et al.*, 2014c)، از دو جدایه *R. solani* شامل RS-Su-K-4 و RS-Su-K-5 و یک جدایه *F. proliferatum* شامل FP-Su-K-1 موجود در آزمایشگاه تحقیقات میکروارگانیسم‌های مفید مؤسسه تحقیقات گیاه‌پزشکی کشور که به عنوان عوامل بیماری مرگ گیاهچه در مزارع چغندرقند کرج معرفی شده بودند، استفاده شد. برای استفاده جدایه‌ها در تحقیق حاضر نسبت به تجدید کشت و خالص‌سازی آن‌ها اقدام گردید.

مطالعات میکروسکوپی و ماکروسکوپی *R. solani* و *F. proliferatum*

پس از ۱۲ تا ۴۸ ساعت نگهداری و مشاهده پرگنه‌های قارچی، برای شناسایی *R. solani*، از مشخصات ماکروسکوپی و میکروسکوپی شرح داده شده توسط گونزالس گارسیا و همکاران (Gonzales Garcia *et al.*, 2006) و برای شناسایی *F. proliferatum* از خصوصیات ماکروسکوپی و میکروسکوپی شرح داده توسط نلسون و همکاران (Nelson *et al.*, 1983) و ساتن و همکاران (Sutton *et al.*, 1998) استفاده شد.

تعیین ترکیبات تثبیت کننده برای استفاده در بستر تولید انبوه جدایه‌های *T. flavus* جهت افزایش پایداری

در این تحقیق، جهت افزایش کارآیی بستر سبوس برنج برای تولید انبوه جدایه‌های *T. flavus* از تثبیت کننده‌های آمینوفنل، دی سیکلو سرین، سولفات منیزیم، کربوکسی متیل سلولز و نیترات سدیم استفاده شد.

تعیین کارآیی زادمایه‌های *T. flavus*

کارآیی زادمایه‌ها با محاسبه درصد پایداری اسپورهای فعال *T. flavus*، تعیین شد. برای این منظور آزمایش فاکتوریل در قالب طرح آماری کاملا تصادفی با سه تکرار انجام شد. فاکتورها عبارت بودند ازپنج تثبیت کننده مذکور در بند قبل و جدایه قارچ آنتاگونیست *T. flavus* در سه سطح شامل TF-Su-K-1، TF-Su-K-2 و TF-Su-K-3.

میزان پایداری جدایه‌های *T. flavus* با محاسبه درصد آسکوسپورهای فعال *T. flavus* مطابق روش نراقی و همکاران (۱۳۸۵) تعیین شد. بدین‌ترتیب که ابتدا، جدایه‌های مختلف *T. flavus* روی بستر سبوس برنج کشت گردید. در مرحله بعد، از آن جا که برای افزودن تثبیت کننده‌ها به محیط‌های کشت غذایی تاکنون گزارشی وجود نداشته، افزودن این گونه ترکیبات به هر بستر بر حسب تیمار، بر اساس میزان افزودن مکمل‌های محیط‌های کشت غذایی نظیر ترکیبات کربوهیدراتی و نیتروژنی (ده میلی‌لیتر از محلول مکمل حاوی۲۰ گرم در لیتر ماده تثبیت کننده برای ۲۵۰ گرم از هر

بستر) انجام شد (Engelelkes *et al*., 1997).سپس، بسترها در دمای آزمایشگاه (حدود ۲۵ درجه سانتی‌گراد) نگهداری شدند و بعد از سه هفته برای هر بستر به صورت جداگانه تعداد آسکوسپور فعال شمارش و درصد آن‌ها محاسبه شد. این کار با فواصل دو هفته به مدت چهار ماه ادامه یافت.

برای اجرای این مرحله از تحقیق، یک گرم از هر یک از زادمایه‌ها (بسترهای کشت حاوی جدایه‌های *T. flavus*) به حجم ده میلی‌لیتر رسانده شد و آسکوسپورهای موجود در یک میلی لیتر از سوسپانسیون به دست آمده، توسط لام هماسایتومتر شمارش گردید.

سپس، سوسپانسیونی با غلظت ۱۰۰ آسکوسپور در هر میلی‌لیتر تهیه و مطابق روش مارویس و همکاران (Marois *et al*., 1984) یک میلی‌لیتر از سوسپانسیون تهیه شده روی سطح هر یک از سه تشتک پتری محتوی محیط کشت انتخابی *T. flavus* مارویس و همکاران (Marois *et al*., 1984)که برای هر یک از تیمارها منظور شده، پخش شد. با مشاهده پرگنه‌های زرد رنگ به وجود آمده روی سطح تشتک‌های پتری، تعداد آسکوسپور فعال *T. flavus* در هر تیمار از طریق محاسبه میانگین درصد اسپورهای رویش یافته در سه تشتک پتری مربوط به هر تکرار و میانگین سه تکرار برای هر نوع مایه، تعیین گردید. داده‌های به دست آمده با استفاده از آزمون چند دامنه‌ای دانکن در سطح احتمال ۱٪، مورد تجزیه و تحلیل قرار گرفت و گروه‌بندی تیمارهای آزمایش از نظر میانگین میزان تعداد آسکوسپور فعال با استفاده از این آزمون در سه بخش جداگانه شامل تأثیر فاکتور جدایه *T. flavus*، تأثیر فاکتور تثبیت‌کننده و اثر متقابل دو فاکتور انجام شد. بر اساس این نتایج، شش تیمار برتر از نظر کارآیی در افزایش میزان تعداد آسکوسپور فعال *T. flavus* انتخاب شد و جهت بررسی‌های گلخانه‌ای مورد استفاده قرار گرفت.

مایه‌زنی جدایه‌های *R. solani*

مایه‌زنی جدایه‌های *R. solani* با کمی تغییر مطابق روش میکائیل و همکاران (Mikhail *et al*., 2009) انجام شد. بدین ترتیب که ابتدا برای هر جدایه یک کیسه سلوفان ۵۰۰ میلی‌لیتری محتوی ۵۰ گرم بذر ذرت و ۴۰ میلی‌لیتر آب شیر به مدت ۳۰ دقیقه در داخل اتوکلاو قرار گرفت. پس از انتقال دو تا سه قطعه پنج میلی‌متری کشت یک هفته‌ای از هر جدایه به کیسه سلوفان و مخلوط‌سازی کامل محتویات داخل آن، کیسه سلوفان به منظور رشد کامل و تولید اسکلروت جدایه‌ها به مدت سه هفته در انکوباتور با دمای ۳۰ درجه سانتی‌گراد قرار گرفتند. با مشاهده پوشش کامل سطوح بذرهای ذرت با میسلیوم‌های قارچ، محتویات هر کیسه سلوفان جهت خشک شدن در دمای آزمایشگاه گسترانده شد و به عنوان زادمایه *R. solani* به صورت آغشته‌سازی یک کیلوگرم خاک با یک گرم از آن استفاده گردید.

مایه زنی جدایه‌ی *F. proliferatum*

مایه‌زنی جدایه‌ی *F. proliferatum* با کمی تغییر مطابق روش خلیل و همکاران (Khalil *et al*., 2003) انجام شد. بدین ترتیب که ابتدا یک کیسه سلوفان ۵۰۰ میلی‌لیتری محتوی ۱۰۰ گرم بذر ذرت و ۸۰ میلی‌لیتر آب شیر به مدت ۳۰ دقیقه در داخل اتوکلاو قرار گرفت. پس از انتقال دو تا سه قطعه پنج میلی‌متری کشت یک هفته‌ای از قارچ به کیسه سلوفان و مخلوط‌سازی کامل محتویات داخل آن، کیسه سلوفان به مدت سه هفته در انکوباتور با دمای ۳۰ درجه سانتی‌گراد واقع شد. با مشاهده پوشش کامل سطوح بذرهای ذرت با میسلیوم‌های قارچ، محتویات کیسه سلوفان جهت خشک شدن در دمای آزمایشگاه گسترانده شدو به عنوان زادمایه *F. proliferatum* به صورت آغشته‌سازی یک کیلوگرم خاک با ۵۰ گرم از آن استفاده شد.

مقایسه کارآیی تثبیت‌کننده‌های *T. flavus* در کنترل بیولوژیک مرگ گیاهچه چغندرقند

در این مرحله به استثنای گلدان‌های مربوط به شاهد سالم، برای کلیه گلدان‌های آزمایش از خاک سترون شده مزارع چغندرکاری کرج که به صورت مصنوعی با عوامل بیماری‌زای مرگ گیاهچه (*R. solani* و *F. proliferatum*) مایه‌زنی شده بودند، استفاده شد .برای گلدان‌های شاهد سالم از خاک سترون مزارع فوق بدون مایه‌زنی استفاده شد. آزمایش در قالب طرح آماری بلوک‌های کامل تصادفی با۲۰ تیمار در چهار تکرار انجام شد. هر تکرار از گلدان محتوی ده عدد بذر رقم تجاری رسول چغندرقند و سه کیلوگرم خاک سترون بود (جدول ۱).

جدول ۱- تیمارهای تثبیت‌کننده‌های *T. flavus*

Table 1. Treatments of stabliers of *T. flavus*

شماره تیمار Treatment No.	تیمار Treatment	شماره تیمار Treatment No.	تیمار Treatment
1	Healthy control شاهد سالم	11	TF-Su-K-3- (Soil and Seed)- Dicycloserin
2	Infected control شاهد آلوده	12	TF-Su-K-2- (Soil)- Carboxymethilcellolose
3	TF-su-k-1- (Soil)-Dicycloserin	13	TF-Su-K-2-(Seed)- Carboxymethilcellolose
4	TF-su-k-1-(Seed)- Dicycloserin	14	TF-Su-K-2- (Soil and Seed)- Carboxymethilcellolose
5	TF-Su-K-1-(Soil and Seed)- Dicycloserin	15	TF-Su-K-3- (Soil)- Sulfate magnesium
6	TF-Su-K-2- (Soil)- Dicycloserin	16	TF-Su-K-3- (Seed)- Sulfate magnesium
7	TF-Su-K-2- (Seed)- Dicycloserin	17	TF-Su-K-3- (Soil and Seed)- Sulfate magnesium
8	TF-Su-K-2- (Soil and Seed)- Dicycloserin	18	TF-Su-K-3-(Soil)- Nitrate sodium
9	TF-Su-K-3-(Soil)- Dicycloserin	19	TF-Su-K-3- (Seed)- Nitrate sodium
10	TF-Su-K-3- (Seed)- Dicycloserin	20	TF-Su-K-3- (Soil and Seed)- Nitrate sodium

برای افزودن مایه تلقیح به خاک (زادمایه‌های متاثر از هر یک از جدایه‌های *T. flavus*)، بر مبنای تعداد ۲×۱۰^{۷} اسپور در هر کیلوگرم خاک، میزان افزودنی هر مایه به خاک بر حسب تیمار از طریق محاسبه تعداد اسپور در یک گرم مایه توسط لام هماسایتومتر تعیین شد (Aziz *et al.*, 1997). میزان استفاده از زادمایه جهت تهیه تیمارهای بذری تا اندازه‌ای بود که تمام سطح بذرها به آن آغشته گردید (نراقی و همکاران، ۱۳۸۷) .

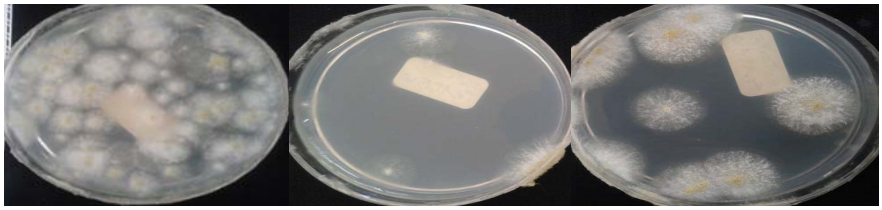
روش ارزیابی

برای ارزیابی بیماری در تیمارهای مختلف گلخانه‌ای، از طریق مشاهده علائم بیماری در زمان‌های ۱۵، ۳۰، ۴۵ و۶۰ روز پس از کاشت، متغیرهایی شامل درصد جوانه‌زنی، درصد گیاهان آلوده به بیماری مرگ گیاهچه بعد از ظهور و درصد گیاهچه‌های سالم تعیین شد. سپس کلیه داده‌ها تحت تجزیه و تحلیل آماری قرار گرفت و مقایسه میانگین‌ها با استفاده از آزمون چند دامنه‌ای دانکن انجام شد. برای انجام این مرحله از برنامه نرم افزاری MS TAT C استفاده گردید.

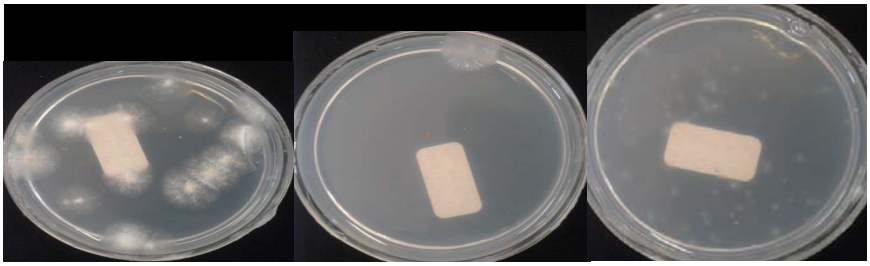
نتایج

تعیین درصد پایداری اسپورهای فعال در تیمارهای حاوی جدایه‌های *T. flavus* و تثبیت‌کننده‌های مختلف

مشاهدات ماکروسکوپی روی تشتک‌های پتری محتوی پرگنه‌های *T. flavus* مشخص نمود که تعداد پرگنه‌های رویش یافته روی سطح تشتک‌های تیمارهای مختلف متأثر از سه جدایه *T. flavus* و پنج تثبیت کننده بسیار متفاوت بوده و بیش‌ترین تعداد پرگنه به تیمارهای نشان داده شده در شکل ۱ تعلق داشت.



TF-Su-K-1- Dicycloserin TF-Su-K-2- Dicycloserin TF-Su-K-2- Carboxymethilcellolose



TF-Su-K-3- Nitrate sodium TF-Su-K-3- Sulfate magnesium TF-Su-K-3- Dicycloserin

شکل ۱- پرگنه‌های *Talaromyces flavus* در تیمارهای دارای بیش‌ترین میزان درصد پایداری اسپورهای فعال

Fig. 1. Developed colonies of *Talaromyces flavus* in treatments with maximum active spores stability percent

نتایج این مرحله در سه بخش جداگانه شامل تأثیر فاکتور جدایه *T. flavus*، تأثیر فاکتور تثبیت‌کننده و اثر متقابل دو فاکتور *T. flavus* و تثبیت‌کننده به دست آمد که به دلیل معنی‌دار بودن آزمایش اثر متقابل، تنها به ارائه نتایج این آزمایش اکتفا گردید.

تعیین کارآیی زادمایه‌های آنتاگونیست در افزایش پایداری اسپورهای فعال *T. flavus*

اثر این مرحله در سه بخش جداگانه شامل تاثیر فاکتور جدایه *T.flavus* تاثیر فاکتور تثبیت کننده و اثر متقابل دو فاکتور *T. flavus* و تثبیت کننده به شرح ذیل ارائه می‌گردد.

تأثیر فاکتور تثبیت‌کننده

اثر فاکتور تثبیت‌کننده روی تعداد اسپورهای فعال قارچ مذکور در کلیه زمان‌های یادداشت‌برداری از دو هفته تا شانزده هفته در سطح احتمال ۱٪ معنی‌دار بود (جدول‌های تجزیه واریانس در مقاله ارائه نشده است).

نتایج مقایسه میانگین درصد اسپورهای فعال در اکثر زمان‌های یادداشت برداری از جمله هشت هفته پس از کشت نشان داد که بیش‌ترین میزان مـذکور متعلق به تیمارهای متأثر از تثبیت‌کننده‌های دی‌سیکلوسرین و نیترات سدیم و کم‌ترین آن به آمینوفنل تعلق داشته است (جدول ۲).

جدول ۲- مقایسه میانگین درصد اسپورهای فعال قارچ *T. flavus* در تثبیت‌کننده‌های مختلف در زمان‌های مختلف پس از کشت روی سبوس برنج

Table 2. Mean Comparison of active spores percentage of *T.flavus* on different stablizers at different times after inoculation on rice bran

تثبیت کننده Stablizer	درصد اسپورهای فعال Active spores percentage							
	دو هفته 2weeks	چهار هفته 4weeks	شش هفته 6Weeks	هشت هفته 8weeks	ده هفته 10weeks	دوازده هفته 12Weeks	چهارده هفته 14weeks	شانزده هفته 16Weeks
Aminophenol	20.00c	52.22a	46.66c	81.11b	81.11b	52.22c	93.33a	80.00b
Dicycloserin	77.77a	56.66a	100.00a	100.00a	100.00a	100.00a	65.55b	96.66a
Sulfate magnesium	43.33b	30.00b	74.44b	96.66a	93.33a	86.66b	73.33b	86.66b
Carboxymethilcellolose	33.33b	33.33b	55.22c	96.66a	96.66a	34.33d	51.11c	90.00ab
Nitrate sodium	20.00c	50.00a	100.00a	96.66a	96.66a	63.33b	66.66b	96.66a

میانگین‌ها با حروف مشابه در هر ستون فاقد اختلاف معنی‌دار در سطح احتمال ۱٪ هستند.

Means with similar letters in each column are not significantly different at 1% level of probabilily.

تأثیر فاکتور جدایه *T. flavus*

اثر فاکتور جدایه *T. flavus* روی درصد اسپورهای فعال قارچ مذکور در کلیه زمان‌های یادداشت‌برداری از دو تا شانزده هفته پس از تهیه زادمایه در سطح احتمال ۱٪ معنی‌دار بود.

نتایج مقایسه میانگین درصد اسپورهای فعال در اکثر زمان‌های یادداشت‌برداری از جمله هشت هفته پس از کشت نشان داد که بیش‌ترین میزان مذکور متعلق به تیمار متأثر از جدایه‌ی TF-Su-K-3 بود (جدول ۳).

اثر متقابل دو فاکتور جدایه *T. flavus* و تثبیت‌کننده

اثر متقابل دو فاکتـور *T. flavus* و تثبیت‌کننده روی تعـداد اسپـورهای فعـال قارچ مذکور در کلیه زمان‌های یادداشت‌برداری از دو تا شانزده هفته پس از تهیه زادمایه در سطح احتمال ۱٪ معنی‌دار بود.

نتایج مقایسه میانگین درصد اسپورهای فعال در اکثر زمان‌های یادداشت‌برداری از جمله هشت هفته پس از کشت نشان داد که در هر یک از زمان‌های مربوطـه، بیش‌ترین درصـد اسپورهای فعال به تیمارهای دی‌سیکلوسرین-TF-Su-K-1، دی سیکلو سرین- TF-Su-K-2، دی سیکلو سرین- TF-Su-K-3، کربوکسی‌متیـل‌سلولـز- TF-Su-K-2، سولفات منیزیم- TF-Su-K-3 و نیترات سدیم- TF-Su-K-3 تعلق داشته، در حالی که، کم‌ترین میزان مذکور در تیمارهای متأثر از آمینوفنل با هر یک از جدایه‌های *T. flavus* مشاهده شد (جدول ۴).

جدول ۳- مقایسه میانگین درصد اسپورهای فعال جدایه‌های مختلف قارچ *T. flavus* در زمان‌های مختلف پس از کشت روی سبوس برنج

Table 3. Mean comparison of active spores percentage of different isolates of *T. flavus* at different times after inoculation on rice bran

جدایه *T. flavus*	درصد اسپورهای فعال Active spores percentage							
	دو هفته 2weeks	چهار هفته 4weeks	شش هفته 6Weeks	هشت هفته 8weeks	ده هفته 10weeks	دوازده هفته 12Weeks	چهارده هفته 14weeks	شانزده هفته 16Weeks
TF-Su-K-1	20.60ab	53.33a	81.33a	96.00ab	94.00a	62.66b	66.66a	50.00b
TF-Su-K-2	18.66b	32.00b	62.66b	86.66b	86.66a	61.33b	79.33a	90.00a
TF-Su-K-3	35.33a	48.00a	82.00a	100.00a	98.00a	78.00a	64.00b	100.00a

ا با حروف مشابه در هر ستون فاقد اختلاف معنی‌دار در سطح احتمال ۱٪ هستند.

Means with similar letters in each column are not significantly different at 1% level of probabilily.

جدول ۴- مقایسه میانگین درصد اسپورهای فعال قارچ *T. flavus* تحت تأثیر اثر متقابل تثبیت کننده و جدایه قارچ در زمان‌های مختلف پس از کشت روی سبوس برنج

Table 4. Mean comparison of active spores percentage of *T. flavus* as affected by interaction effects of stabilizer and fungal isolate at different times after inoculation on rice bran

اثر متقابل تثبیت‌کننده و جدایه قارچ Fungal isolate × stablizer	درصد اسپورهای فعال Active spores percentage							
	دو هفته 2week	چهار هفته 4week	شش هفته 6Week	هشت هفته 8week	ده هفته 10week	دوازده هفته 12Week	چهارده هفته 14week	شانزده هفته 16Week
TF-Su-K-1 ×Aminophenol	10.00d	56.66b	40.00d	100.00a	100.00a	16.66e	90.00b	50.00 e
TF-Su-K-2 ×Aminophenol	00.00e	40.00c	60.00c	43.33c	43.33c	90.00b	100.00a	90.00b
TF-Su-K-3 × Aminophenol	50.00a	60.00b	40.00d	100.00a	100.00a	50.00d	90.00b	100.00a
TF-Su-K-1× Dicycloserin	00.00e	100.00a	100.00a	100.00a	100.00a	100.00a	90.00b	90.00b
TF-Su-K-2 × Dicycloserin	00.00e	40.00c	100.00a	100.00a	100.00a	100.00a	66.66e	100.00a
TF-Su-K-3 × Dicycloserin	23.33c	30.00d	100.00a	100.00a	100.00a	100.00a	100.00a	100.00a
TF-Su-K-1× Sulfate magnesium	50.00a	40.00c	100.00a	90.00b	90.00b	100.00a	30.00c	70.00d
TF-Su-K-2 × Sulfate magnesium	33.33b	40.00c	23.33f	100.00a	100.00a	100.00a	100.00a	90.00b
TF-Su-K-3 × Sulfate magnesium	46.66a	10.00f	100.00a	100.00a	90.00b	60.00c	90.00b	100.00a
TF-Su-K- 1× Carboxymethilcellolose	10.00d	40.00c	6.66e	90.00b	90.00b	6.66f	33.33c	80.00c
TF-Su-K-2 × Carboxymethilcellolose	43.33a	20.00e	30.00e	100.00a	100.00a	6.66f	100.00a	100.00a
TF-Su-K-3 × Carboxymethilcellolose	46.66a	40.00c	70.00b	100.00a	100.00a	90.00b	20.00d	90.00b
TF-Su-K-1× Nitrate sodium	33.33b	30.00d	100.00a	100.00a	90.00b	90.00b	90.00b	100.00a
TF-Su-K-2 × Nitrate sodium	16.66d	20.00e	100.00a	90.00b	100.00a	10.00e	90.00b	90.00b
TF-Su-K-3 × Nitrate sodium	10.00d	100.00a	100.00a	100.00a	100.00a	90.00b	20.00d	100.00a

میانگین‌ها با حروف مشابه در هر ستون فاقد اختلاف معنی‌دار در سطح احتمال ۱٪ هستند.

Means with similar letters in each column are not significantly different at 1% level of probabilily.

در نهایت شش تیمار برتر که برای آزمایش گلخانه‌ای انتخاب شدند، عبارت بودند از دی‌سیکلوسرین- TF-Su-K-1، دی سیکلو سرین- TF-Su-K-2، دی سیکلو سرین- TF-Su-K-3، کربوکسی‌متیل‌سلولز- TF-Su-K-2، سولفات منیزیم- TF-Su-K-3 و نیترات سدیم- TF-Su-K-3.

بررسی‌های گلخانه‌ای

علائم بیماری مرگ گیاهچه ۴۵ روز پس از کاشت ظاهر شد. اختلاف ظاهری از نظر وضعیت رویشی گیاهچه‌ها میان شاهد سالم و شاهد آلوده کاملاً مشهود بود.همچنین، حالت فوق در مقایسه میان روش‌های مختلف کاربرد برای یک نوع زادمایه، زادمایه‌های مختلف با کاربرد یک روش و تیمارهای متأثر از زادمایه‌ها و روش‌های کاربرد متفاوت مشاهده گردید. از طرف دیگر، در مقایسه هر یک از تیمارها با شاهد سالم و شاهد آلوده، اختلاف وضعیت رویشی گیاهچه‌ها قابل ملاحظه بود.

مقایسه زادمایه‌های *T. flavus* حاوی تثبیت‌کننده‌های مختلف از نظر کارآیی در کنترل بیولوژیک بیماری مرگ گیاهچه چغندرقند

تأثیر روش‌های مختلف مصرف زادمایه *T. flavus* روی صفات اندازه‌گیری شده

الف) درصد جوانه‌زنی بذر در مرحله قبل از ظهور گیاهچه

اثر روش روی درصد جوانه‌زنی بذر در کلیه زمان‌ها از پانزده روز تا شصت روز بعد از کاشت در گلخانه در سطح احتمال ۵٪ معنی‌دار بود (جدول ۵).

جدول ۵- مقایسه میانگین درصد جوانه‌زنی بذر چغندرقند در مرحله قبل از ظهور گیاهچه در تیمارهای مختلف مصرف زادمایه در زمان‌های مختلف بعد از کاشت در گلخانه

Table 5. Mean comparison of sugar beet seed germination percentage at per-emergencing stage in different inoculum application methods at different times after planting in greenhouse

		میانگین درصد جوانه‌زنی بذر Mean seed germination percentage			
روش مصرف زادمایه		پانزده روز	سی روز	چهل و پنج روز	شصت روز
Inoculum application method		15 days	30 days	45 days	60 days
Soil treatment	تیمار خاک	61.87a	62.81a	63.43a	63.43a
Seed treatment	تیمار بذر	48.43a	48.43a	48.43a	48.43a
Seed+Soil treatment	تیمار بذر+ خاک	45.62a	46.56a	47.18a	47.18a

میانگین‌ها با حروف مشابه در هر ستون فاقد اختلاف معنی‌دار هستند.

Means with similar letters in each column are not significantly different

ب) درصد گیاهچه‌های آلوده در مرحله پس از ظهور

آزمایش تأثیر فاکتور روش مصرف روی درصد گیاهچه‌های آلوده در سایر زمان‌های یادداشت‌برداری معنی‌دار نبود.

در زمان ۱۵ روز پس از کاشت هیچ‌گونه علائم بیماری مشاهده نگردید و درصد گیاهچه‌های بیمار برای کلیه تیمارها صفر محاسبه شد. در زمان‌های دیگر یادداشت‌برداری نیز اختلاف معنی‌داری از نظر این صفت در تیمارهای مختلف مصرف زادمایه مشاهده نشد (جدول ۶).

جدول ۶- مقایسه میانگین‌های درصد گیاهچه‌های آلوده چغندرقند در تیمارهای مختلف مصرف زادمایه در زمان‌های مختلف بعد از کاشت درگلخانه

Table 6. Mean comparison of infected seedling percentage of sugar beet seed in different inoculum application methods at different times after planting in greenhouse

روش مصرف زادمایه Inoculum application method		میانگین درصد گیاهچه‌های آلوده Mean infected seedling percentage			
		پانزده روز 15 days	سی روز 30 days	چهل و پنج روز 45 days	شصت روز 60 days
Soil treatment	تیمار خاک	00.00	8.37a	9.10a	12.85a
Seed treatment	تیمار بذر	00.00	9.07a	10.32a	18.24a
Seed+Soil treatment	تیمار بذر+ خاک	00.00	11.45a	12.49a	13.74a

میانگین‌ها با حروف مشابه در هر ستون فاقد اختلاف معنی‌دار هستند.

Means with similar letters in each column are not significantly different .

تأثیر زادمایه‌های مختلف روی صفات اندازه‌گیری شده

الف) درصد جوانه‌زنی بذر قبل از ظهور گیاهچه

اثر زادمایه روی درصد جوانه‌زنی بذر در کلیه زمان‌های یادداشت‌برداری از پانزده تا شصت روز بعد از کاشت در شرایط گلخانه در سطح احتمال ۱٪ معنی‌دار بود.

مقایسه میانگین درصد جوانه‌زنی بذر در زمان‌های ۴۵ و ۶۰ روز پس از کاشت نشان دادکه، بیش‌ترین درصد جوانه‌زنی بذر به ترتیب به شاهد سالم و دی‌سیکلوسرین- TF-Su-K-3 تعلق داشت در حالی‌که، کم‌ترین در زمان مذکور در دی سیکلوسرین-TF-Su-K-1 مشاهده شد (جدول ۷).

ب) درصد گیاهچه‌های آلوده بعد از ظهور

اثر زادمایه روی درصدگیاهچه‌های بیمار در کلیه زمان‌های یادداشت‌برداری از ۳۰ تا ۴۵ روز بعد از کاشت در شرایط گلخانه در سطح احتمال ۵٪ معنی‌دار بود و در زمان ۶۰ روز پس از کاشت در شرایط مذکور در سطح احتمال ۱٪ معنی‌دار بود.

بیش‌ترین درصد گیاهچه‌های بیمار به ترتیب به تیمار کربوکسی متیل سلولز-TF-Su-K-2 و دی سیکلو سرین-TF-Su-K-2 و TF-Su-K-3 تعلق داشت در حالی‌که، کم‌ترین در شاهد سالم و بعد از آن در سولفات منیزیم-TF-Su-K-3 محاسبه شد (جدول ۸).

جدول ۷- مقایسه میانگین‌های درصد جوانه‌زنی بذر چغندرقند در مرحله قبل از ظهور گیاهچه در تیمارهای مختلف زادمایه در زمان‌های مختلف بعد از کاشت در گلخانه

Table 7. Mean comparison of sugar beet seed germination percentage at pere-emergencing stage in different inoculum treatment at different days after planting in greenhouse

	میانگین درصد جوانه‌زنی بذر Mean seed germination percentage			
زادمایه Inoculum	پانزده روز 15 days	سی روز 30 days	چهل و پنج روز 45 days	شصت روز 60 days
TF-Su-K-1×Dicycloserin	23.33e	24.16e	24.16e	24.16e
TF-Su-K-2×Dicycloserin	57.50bc	57.50bc	59.16bc	59.16bc
TF-Su-K-3×Dicycloserin	68.33b	68.33b	68.33b	68.33b
TF-Su-K-3× Sulfate magnesium	56.66bc	56.66bc	56.66bc	56.66bc
TF-Su-K-2×Carboxymethilcellolose	40.00cde	42.50cd	42.50cd	42.50cd
TF-Su-K-3×Nitrate sodium	32.50de	34.16de	35.83de	35.83de
Healthy control شاهد سالم	90.00a	90.00a	90.00a	90.00a
Infected control شاهد آلوده	47.50cd	47.50cd	47.50cd	47.50cd

میانگین‌ها با حروف مشابه در هر ستون فاقد اختلاف معنی‌دار هستند.

Means with similar letters in each column are not significantly different

جدول ۸- مقایسه میانگین‌های درصد گیاهچه‌های آلوده چغندرقند در تیمارهای مختلف زادمایه در زمان‌های مختلف بعد از کاشت در گلخانه

Table 8. Mean comparison of infected seedling percentage of sugar beet in different inoculum treatments at different times after planting in greenhouse

	میانگین درصد گیاهچه‌های آلوده Mean infected seedling percentage			
زادمایه Inoculum	پانزده روز 15 days	سی روز 30 days	چهل و پنج روز 45 days	شصت روز 60 days
Dicycloserin×TF-Su-K-1	00.00	4.85c*	6.52bc*	8.19b*
Dicycloserin×TF-Su-K-2	00.00	12.21b	10.82b	25.55a
Dicycloserin×TF-Su-K-3	00.00	16.85a	20.18a	22.95a
Sulfate magnesium×TF-Su-K-3	00.00	4.85c	4.85c	4.85c
Carboxymethilcellolose×TF-Su-K-2	00.00	17.50a	18.88a	34.15a
Nitrate sodium×TF-Su-K-3	00.00	00.00d	3.05c	3.05c
Healthy control شاهد سالم	00.00	00.00d	00.00d	00.00d
Infected control شاهد آلوده	00.00	20.80a	20.80a	20.80a

میانگین‌ها با حروف مشابه در هر ستون فاقد اختلاف معنی دار هستند.

Means with similar letters in each column are not significantly different. :*

اثر متقابل زادمایه و روش مصرف روی صفات اندازه‌گیری شده

الف) درصد جوانه‌زنی بذر

اثر متقابل دو فاکتور اثر روش مصرف و زادمایه روی درصد جوانـه‌زنی بذر نشـان داد که در کلیه زمـان‌های یادداشت‌برداری از ۱۵روز تا ۶۰ روز کاشت در شرایط گلخانه در سطح احتمال ۱٪ معنی‌دار بود.

نتایج مقایسه میانگین درصد جوانه‌زنی بذر در اکثر زمان‌های یادداشت‌برداری پس از کاشت نشان داد که بیش‌ترین درصد جوانه‌زنی بذر به ترتیب به تیمارهای سولفات منیزیم- TF-Su-K-3 با روش آغشته‌سازی بذر و دی‌سیکلوسرین- TF-Su-K-2 با روش افزایش به خاک توأم با آغشته‌سازی بذر تعلق داشت؛ در حالی‌که، کم‌ترین میزان مذکور به ترتیب در دی‌سیکلوسرین- TF-Su-K-3 با روش افزایش به خاک توأم با آغشته‌سازی بذر و شاهد آلوده مشاهده شد (جدول ۹).

جدول ۹- مقایسه میانگین درصد جوانه‌زنی بذر چغندرقند تحت تأثیر اثر متقابل زادمایه و روش مصـرف زادمایـه در زمان‌های مختلف بعد از کاشت در گلخانه

Table 9. Mean comparison of sugar beet seed germination percentage as affected by interaction effects of inoculum and inoculum application method at different times after planting in greenhouse

اثر متقابل دو فاکتور زادمایه و روش مصرف زادمایه Inoculum application method ×Inoculum	میانگین درصدجوانه زنی بذر Mean seed germination percentage پانزده روز 15 days	سی روز 30 days	چهل و پنج روز 45 days	شصت روز 60 days
Soil × TF-Su-K-1-Dicycloserin	42.50fg	45.00abc	45.00fg	45.00fg
Seed×TF-Su-K-1- Dicycloserin	65.00d	65.00d	70.00cd	70.00cd
Soil and Seed×TF-Su-K-1– Dicycloserin	75.00c	75.00c	75.00c	75.00c
Soil × TF-Su-K-2-Dicycloserin	80.00bc	80.00bc	80.00bc	80.00bc
Seed×TF-Su-K-2- Dicycloserin	47.50ef	47.50ef	47.50f	47.50f
Soil and Seed×TF-Su-K-2– Dicycloserin	90.00ab	90.00ab	90.00ab	90.00ab
Soil × TF-Su-K-3-Dicycloserin	55.00de	55.00de	55.00de	55.00de
Seed ×TF-Su-K-3- Dicycloserin	40.00fg	45.00fg	45.00fg	45.00fg
Soil and Seed ×TF-Su-K-3– Dicycloserin	20.00h	20.00h	20.00h	20.00h
Soil × TF-Su-K-3- Sulfate magnesium	45.00efg	45.00efg	45.00fg	45.00fg
Seed×TF-Su-K-3- Sulfate magnesium	95.00a	95.00a	95.00a	95.00a
Soil and Seed×TF-Su-K-3– Sulfate magnesium	55.00de	55.00de	55.00ef	55.00ef
Soil× TF-Su-K-2- Carboxymethilcellolose	35.00g	35.00g	35.00g	35.00g
Seed×TF-Su-K-2-Carboxymethilcellolose	35.00g	35.00g	35.00g	35.00g
Soil and Seed×TF-Su-K-2–Carboxymethilcellolose	47.50ef	47.50ef	47.50f	47.50f
Soil×TF-Su-K-3- Nitrate sodium	90.00ab	90.00ab	90.00ab	90.00ab
Seed×TF-Su-K-3-Nitrate sodium	42.50fg	50.00f	50.00f	50.00f
Soil and Seed×TF-Su-K-3–Nitrate sodium	45.00efg	45.00efg	50.00f	50.00f
Healthy control شاهد سالم	62.50de	62.50de	62.50d	62.50d
Infected control شاهد آلوده	22.50h	22.50h	22.50h	22.50h

میانگین‌ها با حروف مشابه در هر ستون فاقد اختلاف معنی‌دار در سطح احتمال ۱٪ هستند.

Means with similar letters in each column are not significantly different at 1% level of probabilily

ب) درصد گیاهچه‌های بیمار در مرحله پس از ظهور

تا زمان ۱۵ روز پس از کاشت هیچ‌گونه علائم بیماری مشاهده نگردید و درصد گیاهچه‌های بیمار برای کلیه‌ی تیمارها صفر محاسبه شد.

مقایسه میانگین درصد گیاهچه‌های بیمار (شاخص بیماری در مرحله پس از ظهور گیاهچه) در زمان شصت روز پس از کاشت نشان داد که بیش‌ترین تعداد جوانه‌زنی بذر به ترتیب به تیمارهای کربوکسی متیل سلولز TF-Su-K-2 با روش افزایش به خاک و دی‌سیکلوسرین- TF-Su-K-1 با روش آغشته‌سازی بذر تعلق داشت؛ در حالی‌که، کم‌ترین میزان مذکور برابر با صفر درصد به ترتیب در دی‌سیکلوسرین- TF-Su-K-2 با روش افزایش به خاک و دی‌سیکلوسرین- TF-Su-K-2با روش افزایش به خاک توأم با آغشته‌سازی بذر و نیترات سدیم-TF-Su-K-3 با روش افزایش به خاک و شاهد آلوده مشاهده شد (جدول ۱۰).

جدول ۱۰– مقایسه میانگین درصد گیاهچه آلوده چغندرقند تحت تأثیر اثر متقابل زادمایه و روش مصرف زادمایه در زمان‌های مختلف بعد از کاشت در گلخانه

Table 10. Mean comparison of infected seedling percentage of sugar beet as affected interaction effects of inoculum and inoculum application method at different times after planting in greenhouse

	اثر متقابل دو فاکتور زادمایه و روش مصرف زادمایه Inoculum application method ×Inoculum			
میانگین درصد گیاهچه‌های آلوده	پانزده روز	سی روز	چهل و پنج روز	شصت روز
Mean infected seedling percentage	15 days	30 days	45 days	60 days
Soil × TF-Su-K-1-Dicycloserin	00.00	14.57abc	14.57abc	19.57bcd
Seed×TF-Su-K-1- Dicycloserin	00.00	16.65abc	12.47abc	29.15ab
Soil and Seed×TF-Su-K-1– Dicycloserin	00.00	00.00d	5.00bcd	13.32def
Soil × TF-Su-K-2-Dicycloserin	00.00	00.00d	00.00d	0.00g
Seed×TF-Su-K-2- Dicycloserin	00.00	20.80abc	20.80abc	20.80def
Soil and Seed×TF-Su-K-2– Dicycloserin	00.00	00.00d	00.00d	00.00g
Soil × TF-Su-K-3-Dicycloserin	00.00	15.00abc	15.00abc	15.00def
Seed ×TF-Su-K-3- Dicycloserin	00.00	0.00d	5.00bcd	5.00fg
Soil and Seed ×TF-Su-K-3– Dicycloserin	00.00	0.00d	5.00bcd	5.00fg
Soil × TF-Su-K-3- Sulfate magnesium	00.00	10.00bcd	10.00bcd	27.50abc
Seed×TF-Su-K-3- Sulfate magnesium	00.00	10.55bcd	10.55bcd	10.55abcd
Soil and Seed×TF-Su-K-3– Sulfate magnesium	00.00	6.25cd	6.25bcd	6.25fg
Soil× TF-Su-K-2- Carboxymethilcellolose	00.00	40.00ab	40.00ab	40.00ab
Seed×TF-Su-K-2-Carboxymethilcellolose	00.00	8.32bcd	8.32bcd	8.32fg
Soil and Seed×TF-Su-K-2–Carboxymethilcellolose	00.00	20.80abc	20.80abc	20.80def
Soil×TF-Su-K-3- Nitrate sodium	00.00	00.00d	00.00d	00.00g
Seed×TF-Su-K-3-Nitrate sodium	00.00	12.50cd	16.65abc	16.65def
Soil and Seed×TF-Su-K-3–Nitrate sodium	00.00	00.00d	4.15cd	4.15fg
Healthy control شاهد سالم	00.00	10.00bcd	10.00bcd	20.00def
Infected control شاهد آلوده	00.00	00.00d	00.00d	00.00g

میانگین‌ها با حروف مشابه در هر ستون فاقد اختلاف معنی‌دار هستند.

Means with similar letters in each column are not significantly different.

بحث

در تحقیق حاضر، آزمایش اثر متقابل روش مصرف زادمایه معنی‌دار شد، لذا بر اساس نتایج این آزمایش، انتخاب زادمایه‌های حاوی جدایه *T. flavus* و تثبیت کننده برای بررسی در گلخانه با سه روش کاربرد صورت گرفت. آزمون اثر متقابل روش مصرف زادمایه نیز معنی‌دار بود، بنابراین تیمار برتر یعنی زادمایه مربوط به جدایهTF-Su-K-2 و تثبیت کننده دی سیکلوسرین با کاربرد روش افزودن به خاک به عنوان تیمار برتر شناسایی شد.

در مجموع هدف از اجرای تحقیق حاضر بهینه‌سازی فرمولاسیون بیولوژیک *T. flavus* با مؤثرترین روش کاربرد آن جهت کنترل بیماری مرگ گیاهچه چغندرقند بود که بر اساس نتایج به دست آمده از آن فرمولاسیون متأثر از جدایه TF-Su-K-2 و تثبیت کننده دی سیکلوسرین با روش افزایش به خاک معرفی گردید. در داخل و خارج از کشور، فعالیت‌های مقدماتی قابل ملاحظه‌ای برای بهینه‌سازی و تجاری‌سازی فرمولاسیون‌های عوامل زنده بیولوژیک انجام گرفته که جهت کاربرد این گونه فرمولاسیون‌ها در مزارع کشاورزان، اجرای تحقیقات تکمیلی در شرایط مزرعه ضروری است.

در زمینه کاربرد مواد افزودنی به ترکیبات بیولوژیک جهت افزایش ماندگاری آن‌ها اطلاعات دقیقی گزارش نشده ولی مطابق تحقیقات به عمل آمده، افزایش کارآیی و پایداری ترکیبات بیولوژیک، از عوامل مهم تأثیرگذار در قابلیت بازاریابی و تجاری‌سازی آن‌ها محسوب می‌گردد (Kaewchai *et al*., 2009; Ghaderi-Daneshmand *et al*., 2012).

در تحقیق حاضر، کاربرد برخی از تثبیت کننده‌های شیمیایی نظیر دی سیکلوسرین و سولفات منیزیم توانستند تا چهار ماه پس از تهیه زادمایه آنتاگونیست نیز در پایداری اسپورهای فعال *T. flavus* تا ۱۰۰٪ موثر باشند.

استفاده از زادمایه‌های حاوی این گونه تثبیت کننده‌ها نیز موجب کاهش معنی‌دار بیماری مرگ گیاهچه چغندرقند شد. دی سیکلوسرین از مشتقات آمینواسیدی بوده، بنابراین، این نتیجه با نتایج تحقیقات پیشین مبنی بر تحزیک جوانه‌زنی اسپور-های قارچ‌ها از جمله قارچ‌های آنتاگونیست نظیر *T. flavus* و *B. bassiana* توسط منابع نیتروژنی مانند آلفا آمینو نیتروژن مطابقت داشت (Gao, 2011).

در این تحقیق، اثر متقابل زادمایه *T. flavus* و روش کاربرد آن روی میزان درصد جوانه‌زنی بذر، درصد گیاهچه‌های بیمار و درصد گیاهچه‌های سالم معنی‌دار بود و برترین تیمار زادمایه دی سیکلوسرین-TF-Su-K-2 با روش افزایش به خاک و یا افزایش به خاک توأم با آغشته‌سازی بذر شناسایی شد. در زمینه کنترل بیولوژیک ناقل بیماری ریزومانیای چغندرقند (*Polymyxa betae*) نیز مشخص شد که کارآیی تیمارهای متأثر از جدایه-های آنتاگونیست *T. flavus* و *T. harzianum* از نظر کاهش جمعیت ساختار استراحتی قارچ ناقل بیماری در صورت افزودن به خاک نسبت به سایر روش‌ها بیش‌تر بوده است (Naraghi *et al*., 2014a).

نتایج بررسی‌های گلخانه‌ای نشان داد که جدایه TF-Su-K-2 نسبت به جدایه TF-Su-K-3 در تیمار دی سیکلوسرین با روش آغشته‌سازی بذر توأم با افزودن به خاک از نظر کارآیی در افزایش تعداد گیاهچه‌های سالم برتری داشت.

تحقیقات اخیر نشان داده که جدایه‌های مختلف مربوط به گونه‌هایی از جنس پنیسلیوم، تولید کننده ترکیبات مختلفی در گروه‌های پروتئینی آمینواسیدی، آروماتیکی نظیر بنزوئیک اسید الکلی نظیر پروپنیل، متیل استری و کربونیلی می‌باشند (Nicoletti *et al*., 2009; Rao *et al*., 2010). سرعت اسپورزایی وفعالیت آنزیمی این جدایه‌ها در حضور ترکیبات شیمیایی مشابه با گروه‌هایی که خود تولید کننده آن هستند به دلیل سازگاری بیش‌تر گزارش شده است، بنابراین احتمال می‌رود در ترکیبات تولید شده توسط TF-Su-K-2 مشتقات پروتئینی با آمینواسید سرین موجود باشد (Hudacek and Kraus, 2002).

در مجموع، نتایج بررسی اثر متقابل زادمایه‌های مختلف *T. flavus* و با روش‌های مختلف مصرف آن روی درصد جوانه‌زنی بذر و درصد گیاهچه‌های بیمار نشان داد که زادمایه متأثر از تثبیت‌کننده دی سیکلوسرین و جدایه‌ی -TF

Su-K-2 با کاربرد روش‌های افزودن به خاک و یا افزودن به خاک توأم با آغشته‌سازی بذر بیش‌ترین کارآیی را در افزایش درصد جوانه‌زنی بذر، کاهش درصد گیاهچه‌های بیمار و افزایش درصد تعداد گیاهچه‌های سالم داشته است.

منابع **References**

خلقانی، ج.، خانجانی، م. و سلیمانی‌پری، م. ج. ۱۳۸۹. بیماری‌های چغندرقند. انتشارات مؤسسه تحقیقات و آفات بیماری‌های گیاهی، تهران. ۷۵ صفحه.

شیخ‌الاسلامی، م.، یونسی ، ح. و ارشاد، ج. ۱۳۸۱. شناسایی قارچ‌های عامل پوسیدگی ریشه‌ی چغندرقند و تعیین پراکندگی آن‌ها در استان کرمانشاه. خلاصه مقالات پانزدهمین کنگره گیاهپزشکی ایران، دانشگاه رازی، کرمانشاه، صفحه ۱۳۳.

عطفان‌نژاد دزفولی، ر. ۱۳۹۱. بررسی امکان کنترل بیولوژیک بیماری پژمردگی فوزاریومی گوجه‌فرنگی در شرایط گلخانه با استفاده از قارچ‌های آنتاگونیست *Talaromyces flavus* و *Trichoderma harzianum*. پایان نامه کارشناسی ارشد رشته بیماری شناسی گیاهی، دانشگاه آزاد اسلامی، واحد جهرم. ۱۲۰ صفحه.

عطفان‌نژاد دزفولی، ر.، نراقی، ل.، نیازمند، ع. و حیدری، ا. ۱۳۹۱. بررسی مقایسه‌ای مکانیسم‌های مختلف آنتاگونیستی *Talaromyces flavus* و *Trichoderma harzianum* از لحاظ میزان بازدارندگی رشد قارچ *Fusarium oxysporum* f. sp. *lycopersici* عامل پژمردگی فوزاریومی گوجه‌فرنگی. خلاصه مقالات بیستمین کنگره گیاه پزشکی ایران، دانشگاه شیراز، جلد دوم (بیماری‌های گیاهی و علف‌های هرز). صفحه ۲۸۵.

قلی‌نیاکان، م. ۱۳۹۲. بررسی کنترل بیولوژیک بیماری پژمردگی فوزاریومی خیار *Fusarium oxysporum* f. sp. *cucumerinum* با استفاده از جدایه های *Talaromyces flavus* و *Trichoderma harzianum*. پایان نامه کارشناسی ارشد رشته بیماری شناسی گیاهی، پردیس ابوریحان دانشگاه تهران. ۷۸ صفحه.

قلی‌نیاکان، م.، روستایی، ع. ، نراقی، ل. و حیدری، ا. ۱۳۹۱. بررسی مقایسه‌ای مکانیسم‌های آنتاگونیستی مختلف *Talaromyces flavus* و *Trichoderma harzianum* از لحاظ میزان بازدارندگی رشد *Fusarium oxysporum* f. sp. *cucumerinum* عامل پژمردگی فوزاریومی خیارگلخانه‌ای. خلاصه مقالات بیستمین کنگره گیاه پزشکی ایران، دانشگاه شیراز، جلد دوم (بیماری‌های گیاهی و علف‌های هرز). صفحه ۲۸۴.

مهرآوران، ح. و مظفر، ا. ۱۳۸۰. بیماری‌های گیاهی. انتشارات دانشگاه ارومیه، ارومیه. ۱۵۵ صفحه.

میرزایی‌قمی، ب.، زمانی‌زاده، ح. ر.، صابری ریسه، ر. و لک، م. ر. ۱۳۸۹. بررسی اثر فرمولاسیون‌های پودری جدایه *Bacillus subtilis* M36 در کنترل *Fusarium solani* f. sp. *phaseoli* عامل پوسیدگی ریشه لوبیا. دانش گیاه پزشکی ایران ۴۱(۱): ۱۵۱-۱۶۶.

نراقی، ل. ۱۳۸۹. مطالعه فعالیت و مکانیسم‌های آنتاگونیستی جدایه‌های مختلف *Talaromyces flavus* در کنترل بیماری پژمردگی ورتیسلیومی چند محصول زراعی مهم و تعیین تنوع ژنتیکی آن‌ها. پایان نامه مقطع دکتری رشته بیماری شناسی گیاهی، واحد علوم و تحقیقات، دانشگاه آزاد اسلامی تهران. ۱۷۱ صفحه.

نراقی، ل.، احمدی، ع.، سرکاری، ص.، حیدری، ا. و مالکی، ن. ۱۳۸۷. بررسی تأثیر استفاده از قارچ‌های آنتاگونیست و مبارزه با علف‌های هرز بر وقوع بیماری‌های پژمردگی ورتیسلیومی و مرگ گیاهچه پنبه. خلاصه مقالات هجدهمین کنگره گیاهپزشکی ایران، دانشگاه بوعلی، همدان. صفحه ۲۶۷.

نراقی، ل.، احمدی، ع.، سرکاری، ص.، حیدری، ا. و مالکی، ن. ۱۳۹۰a. بررسی تأثیر قارچ‌های آنتاگونیست بر وقوع بیماری‌های پژمردگی ورتیسلیومی و مرگ گیاهچه پنبه. آفات و بیماری‌های گیاهی ۷۹(۲): ۲۷۲-۲۵۱.

نراقی، ل.، احمدی، ع.، سرکاری، ص.، حیدری، ا. و مالکی، ن. ۱۳۹۱a.کاربرد توأم قارچ آنتاگونیست و علف‌کش برای کنترل تلفیقی بیماری‌های پژمردگی ورتیسلیومی و مرگ گیاهچه در مزارع پنبه مغان و نیشابور. مجله علمی- ترویجی یافته‌های تحقیقاتی در گیاهان زراعی و باغی ۱(۱):۷۳-۶۱ .

نراقی، ل.، آزاد دیسفانی، ف و حیدری، ا. ۱۳۸۲. امکان استفاده از *Talaromyces flavus* برای مبارزه بیولوژیک با بیماری پژمردگی ورتیسلیومی پنبه. خلاصه مقالات سومین همایش ملی توسعه کاربرد مواد بیولوژیک و استفاده بهینه از کود و سم در کشاورزی، موسسه تحقیقات اصلاح و تهیه نهال و بذر، کرج. صفحه ۴۱۱.

نراقی، ل.، حسان، ع.، حیدری، ا.، شریفی، ک. و جهانی‌فر، ه. ۱۳۹۰b. مبارزه بیولوژیک با بیماری مرگ گیاهچه چغندرقند توسط قارچ‌های آنتاگونیست در شرایط مزرعه.خلاصه مقالات جشنواره و همایش ملی توسعه کنترل بیولوژیک در ایران، موسسه تحقیقات گیاه‌پزشکی کشور تهران. صفحه ۴۵۳.

نراقی، ل.، حیدری، ا. و ارشاد، ج. ۱۳۸۵. هاگ‌زایی و پایداری *Talaromyces flavus* روی بقایای گیاهی مختلف به منظور مبارزه بیولوژیک علیه بیماری پژمردگی پنبه ناشی از*Verticillium dahliae*. بیماری‌های گیاهی ۴۲(۳و۴): ۳۸۹-۳۸۱.

نراقی، ل.، حیدری، ا.، افشاری آزاد، ه. و شریفی، ک. ۱۳۹۱b. تأثیرات آنتاگونیستی *Talaromyces flavus* روی برخی عوامل بیماری‌زای خاکزاد سیب زمینی، گوجه‌فرنگی و خیار گلخانه‌ای. خلاصه مقالات بیستمین کنگره گیاهپزشکی ایران، دانشگاه شیراز. صفحه ۲۷۸.

نراقی، ل.، حیدری، ا.، کریمی روزبهانی، ع. و ارشاد، ج. ۱۳۷۹. جداسازی قارچ *Talaromyces flavus* از مزارع پنبه گرگان و بررسی تاثیرات آنتاگونیستی آن روی *Vericillium dahliae* عامل بیماری پژمردگی پنبه. خلاصه مقالات چهاردهمین کنگره گیاهپزشکی ایران. دانشگاه صنعتی اصفهان. صفحه ۲۷۵.

نراقی، ل.، حیدری، ا.، عرب سلمانی، م و ارشاد، ج. ۱۳۸۳. بررسی تکمیلی تأثیرات آنتاگونیستی جدایه-های قارچی مزارع پنبه روی *Vericillium dahliae*. خلاصه مقالات شانزدهمین کنگره گیاهپزشکی ایران، دانشگاه تبریز. صفحه ۳۱۲.

Aziz, N. H., EL-Fouly, M. Z., EL- Essawy, A. A. and 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 of Academic Science 38: 33-39.

Budge, S. P. and 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.

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

Celar, F. 2003. Competition for ammonium and nitrate forms of nitrogen between some phytopathogenic and antagonistic soil fungi. Biological Control 28(1): 19-24.

Crotti, L. B., Aparecida, V., Jabor, P., Angellicapos, M., Cheliegalti, S. C., Fonseca, M. J. and Said, S. 1999. Studies of pectic enzymes produced by *Talaromyces flavus* in submerged and solid substrate cultures. Journal of Basic Microbiology 39(4): 227-235.

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

Gao L., Liu, X.Z., Sun, M. H., Li, S. D. and Wang J. L. 2011. A novel method to optimize culture conditions for biomass and sporulation of the entomopathogenic fungus *Beauveria bassiana* IBC1201. Brazilian Journal of Microbiology 42(4): 1574–1584.

Georqakopoulos, D. G., Fiddaman, P., Leifert, C. and Malathrakis, N. E. 2002. Biological control of cucumber and suger beet damping-off caused by *Pythium ultimum* with bacterial and fungal antagonists. Journal of Applied Microbiology 92(6): 1078-1086.

Ghaderi–Daneshmand, N., Bakhshandeh, A. and Rostami, M. R. 2012. Biofertilizer affects yield and yield components of wheat. International Journal of Agriculture Research and Review 2(6): 704–699.

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

Huang, J. W. and Huang, H. C. 2000. A formulated container medium suppressive to Rhizoctonia damping-off of cabbage. Botany Bulletin of Academic Scince 41: 49-56.

Hudacek, F. and Kraus, G. F. 2002. Plant root carbohydrates affect growth behavior of endophytic microfungi. FEMS Microbiology Ecology 41(2): 161-170.

Jensen, B., Knudsen, I.M.B. and Jensen, D.F. 2002. Survival of conidia of clonostachys rosea on stored barley seeds and their biocontrol efficacy against seed-borne *Bipolaris sorokiniana*. Biocontrol Science and Technology 12(4): 427-441.

Kaewchai, S., Soytong, K. and Hyde, K. D. 2009. Mycofungicides and fungal biofertilizers. Fungal Diversity38: 25-50.

Kakvan, N., Heydari, A., Zamanizadeha, HR., Rezaee, S. and Naraghi, l. 2013. Development of new bioformulations using Trichoderma and Talaromyces fungal antagonists for biological control of sugar beet damping off disease. Crop Protection 19: 80-84.

Khalil, M. S., Abdel-Sattar, M. A., Aly, I. N., Abed-Elsalam, K. A. and Verreet, J. A. 2003. Genetic affinities of *Fusarium* spp. and their correlation with origin and pathogenicity. African Journal of Biotechnology 2(5): 109-113.

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

Lee, S. and Lee, J. 2009. Color stabilization of low toxic antimicrobial polypropylene/poly (hexamethylene guanidine) phosphate blends by Taguchi technique. Macromolecular Research 17(6): 411-416.

Madi, L., Katan, T., Katan, J. and Henis, Y. 1997. Biological control of *Sclerotium rolfsii* and *Verticillium dahliae* by *Talaromyces flavus* is mediated by different mechanisms. Phytopathology 87: 1054-1060.

Manpreet, S. and Sawraj, S., Sachin, D., Pankaj, S., and Banerjee, U. C. 2005. Influence of process parameters on the production of metabolites in solid state fermentation. Malaysian Journal of Microbiology 2(1): 1-9.

Marois, J.J., Fravel, D.R. and Papavizas, G.C. 1984. Ability of *Talaromyces flavus* to occupy the rhizosphere. Soil Biology and Biochemistry 16(4): 387-390.

Martin, N., Souza, S. R., Silva, R. and Gomes, E. 2004. Pectinase production by fungal strains in solid-state fermentation using agro-industrial bioproduct. Brazilian Archives of Biology and Technology 47(5): 813-819.

Merwel, C., Hansen, B. S., Maurice, H. and 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(3): 713-717.

Mikhail, M. S., Sabet, K. K., Omar, M. R., Hussein, E. M. and Kasem, K. K. 2009. Pathogenicity and protein electrophoresis of different cotton *Rhizoctonia solani* isolates. Egyptian Journal of Phytopathology 37(1): 21-33.

Naraghi, L., Arjmandian, A., Heydari, A., Sharifi, K. and Afshari Azad H. 2014a. A comparison between carbendazim fungicide and *Talaromyces flavus* in controlling Verticillium wilt of potato under field conditions. International Journal of Agricultural Science and Research 4 (1): 89-100.

Naraghi, L., Heydari, A., Askari, H., Pourrahim, R. and Marzban, R. 2014b. Biological control of *Polymyxa betae*, fungal vector of Rhizomania disease of sugar beets in greenhouse conditions. Journal of Plant Protection Research 54(2): 109-114.

Naraghi, L., Heydari, A., Hesan, A. and Sharifi, K. 2014c. Evaluation of *Talaromyces flavus* and *Trichoderma harzianum* in biological control of sugar beet damping-off disease in the greenhouse and field conditions. International Journal of Agricultural Science and Research 4(1): 65-74.

Naraghi, L., Heydari, A., Rezaee, S., Razavi, M. and Afshari-Azad, H. 2010a. Biological control of greenhouse cucumber Verticillium wilt disease by *Talaromyces flavus*. Phytopathologia Mediterranea 49(3): 321-329.

Naraghi, L., Heydari, A., Rezaee, S., Razavi, M. and Jahanifar, H. 2010b. Study on antagonistic effects of *Talaromyces flavus* on *Verticillium albo-atrum*, the causal agent of potato wilt disease. Crop Protection 29(7): 658-662

Naraghi, L., Heydari, A., Rezaee, S., Razavi, M., Jahanifar, H. and Mahmoodi Khaledi, E. 2010c. Biological control of tomato Verticillium wilt disease by *Talaromyces flavus*. Journal of Plant Protection Research 50(3): 360-365.

Nelson, P. E., Toussoun, T. A. and Marasas, W. F. O. 1983. Fusarium species. An Illustrated Manual for Identification. Pennsylvania State University Press, University Park, PA.,USA. 193pp.

Nicoletti, R., Manzo, E. and Ciavatta, M. L. 2009. Occurrence and bioactivities of fungicone related compounds. International Journal of Molecular Science 10(4): 1430-1444.

Pascual, S., Melgarejo, P. and 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: 83-89.

Rao, M. B., Varma, A. J. and Deshmukh, S. S. 2010. Production of single cell protein, essential aminoacids and xylanase by *penicillium janthinellum*. BioResources 5 (4): 2470-2477.

Sargin, S., Gezgin, Y., Eltem, R. and 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: 1-8.

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

Simerska, P., Kuzma, M., Monti, D., Riva, S., Mackova, M. and Kren, V. 2006. Unique transglycosylation potential of extracellular a-D-galactosidase from *Talaromyces flavus*. Journal of Molecular Catalysis B: Enzymatic 39(1): 128–134.

Spink, D. S. and Rowe, R. C. 1989.Evalution of *Talaromyces flavus* as a biological control agent against *Verticillium dahlia* in potato. Plant Disease 73: 230-236.

Sutton, D. A., Fothergill, A. W. and Rinaldi, M. G. 1998. Guide to Clinically Significant Fungi. Williams and Wilkins Publ., Baltimore USA.471pp.

Tjamos, E. C. and Fravel, D. R. 1995. Detrimental effects of sub lethal heating and *Talaromyces flavus* on microsclerotia of *Verticillium dahliae*. Phytopathology 85: 388-392.

Vasane, S. R. and 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.

Viccini, G., Mannich, M., Capalbo, D. M. F., Valdebenito- Sanhueza, R. and Mitchell, D. A. 2007. Spore production in solid-state fermentation of rice by *Clonostachys rosea*, a biopesticide for gray mold of strawberries. Process Biochemistry 42(2): 275-278.

Vinale, F., Sivasithamparam, K., Ghisalberti, E. L., Marra, R., Woo, S. L. and Lorito, M. 2008. Trichoderma-plant pathogen interactions. Soil Biology and Biochemistry 40(1): 1-10.