DOI: http://dx.doi.org/10.22092/jaep.2012.107224

آفات و بیماری‌های گیاهی
جلد ۷۹، شماره ۲، اسفند ۱۳۹۰

بررسی تأثیر قارچ‌های آنتاگونیست بر وقوع بیماری‌های پژمردگی ورتیسلیومی و مرگ گیاهچه پنبه

Investigation of the effect of antagonistic fungi on the incidence of cotton Verticillium wilt and seedling damping-off diseases

لاله نراقی[۱]*، عبدالرضا احمدی[۲]، صمد سرکاری[۳]، اصغر حیدری[۱] و نصراله مالکی[۳]

۱- بخش تحقیقات بیماری‌های گیاهان، مؤسسه تحقیقات گیاه‌پزشکی کشور، تهران

۲- مرکز تحقیقات کشاورزی و منابع طبیعی استان خراسان رضوی

۳- مرکز تحقیقات کشاورزی و منابع طبیعی استان اردبیل (مغان)

(تاریخ دریافت: اردیبهشت ۱۳۹۰، تاریخ پذیرش: آذر ۱۳۹۰)

چکیده

با توجه به زیان‌های فراوان سموم شیمیایی مورد استفاده در کشاورزی از جمله زراعت پنبه، انجام تحقیقات در زمینه روش های مبارزه بیولوژیک با بیماری های مهم پژمردگی ورتیسلیومی و مرگ گیاهچه رایزوکتونیایی پنبه امری ضروری است. در این تحقیق، بررسی تأثیر قارچ های آنتاگونیست (*Trichoderma harzianum* و *Talaromyces flavus*) بر روی بیماری‌های مذکور و برخی صفات رویشی پنبه در مزارع مغان و نیشابور صورت پذیرفت. هر آزمایش در قالب طرح آماری بلوک های کامل تصادفی با ده تیمار و چهار تکرار انجام گردید. نتایج به دست آمده از منطقه نیشابور نشان داد که اگرچه تأثیر قارچ‌های آنتاگونیست روی صفات رویشی معنی دار نبود ولی آغشته‌سازی خاک با هر یک از قارچ‌های آنتاگونیست (*T. flavus* یا *T. harzianum*) موجب بیشترین کاهش معنی دار بیماری گردید. از طرف دیگر، در منطقه مغان، با آغشته سازی خاک و بذر با هر دو قارچ آنتاگونیست بیشترین افزایش و کاهش

* **Corresponding author:** lale_naraghi@yahoo.com

معنی دار به ترتیب برای صفات رویشی و بیماری مشاهده شد.

واژه‌های کلیدی: پنبه، بیماری پژمردگی ورتیسلیومی، بیماری مرگ گیاهچه، مبارزه بیولوژیکی، *Talaromyces flavus*، *Trichoderma harzianum*

Abstract

Chemical pesticides used in the agriculture including cotton cultivation may have different harmful impacts on the agricultural environment. Since, one of the most suitable strategies for controlling cotton diseases is biological control, we therefore studied the possibility of biological control of cotton Verticillium wilt and seedling damping-off diseases in the field condition. The effectiveness of antagonistic fungi (*Trichoderma harzianum* and *Talaromyces flavus*) on above-mentioned diseases and several growth characteristics was investigated in Neishaboor and Moqan cotton fields. Each experiment was conducted as a randomized complete block with ten treatments and four replications. Overall results obtained from Neishaboor experiment showed that antagonistic fungi did not affect growth characteristics, but soil treatment with *T. flavus* or *T. harzianum* mediated maximum decrease in disease incidence. On the other hand, in Moqan experiment, application of both antagonistic fungi as soil and seed treatment, significantly increased growth characteristic and caused a significant decrease in the incidence of both diseases.

Key words: Cotton, Verticillium wilt disease, Seedling damping-off disease, Biological control, *Talaromyces flavus*, *Trichoderma harzianum*

مقدمه

در زمینه کاربرد قارچ‌های آنتاگونیست، نتایج تحقیقی در مزرعه نشان داد که *T. harzianum*، بیماری‌های گیاهچه پنبه را که از *R. solani* و *Sclerotium rolfsii* ناشی شده بودند، کاهش داده است (Koehl and Lewis, 1984).

تحقیقات Marois *et al.* (1982) در انگلستان نشان داد که *T. flavus* پژمردگی ورتیسلیومی را مهار نموده و محصول بادنجان را افزایش داده است. این قارچ که صورت جنسی *Penicillium dangeardii* می‌باشد، توسط Mc Laren *et al.* (1982) به عنوان انگل سختینه‌های *R. solani* و سختینه‌ها و ریسه‌های *Sclerotinia sclerotiorum* گزارش شده است. همچنین تحقیقات Dutta (1981) نشان داد که *T. flavus* پژمردگی ورتیسلیومی در گوجه فرنگی را

مـی‌کاهـد. مطـابق گـزارش Tjamos (1991)، *T. flavus* و *Aspergillus terreus* از عوامـل کنتـرل بیولوژیکی بیماری پژمردگی ورتیسلیومی درختان زیتون در یونان محسوب می‌شوند.

نتایج بررسی Kim and Fravel (1990) نشان داد که چهل درصد از ترکیـب ترشـحات غیـر فرار *T. flavus* به آنزیم گلوکز اکسیداز اختصاص دارد. خاصیت ضد باکتریـایی و ضـد قـارچی این ترکیب به دلیل تولید پر اکسید هیدروژن از گلوکز توسـط آنـزیم مـذکور اسـت کـه دارای خاصیت سمی‌شدید برای *V. dahliae* می‌باشد.

نتایج آزمایش تأثیر *T. flavus* بر پژمردگـی ورتیـسلیومی بادنجـان نـشان داد کـه شـاخص بیماری که به صورت بالاترین در صد (حداکثر میزان بروز آن) بیان شـده، در خـصوص بـذور گیاهانی که با *T. flavus* آغشته شده بودند کمتر از گیاهان تیمار نشده بود. دوازده هفتـه پـس از انتقال نشاها ظهور بیماری در گیاهانی که با آنتاگونیست مزبور تیمار شده بودند ۱۲/۵در صد بر آورد گردید که در مقایسه با میزان ٥٦ درصدی بروز بیماری درگیاهان تیمار نشده کاهش قابـل ملاحظه به میزان ۷۷ درصد مشهود گشت (Fahima and Henis, 1997).

با وجود آن که از گذشته، به قابلیت‌های فراوان محیط‌های کشت طبیعی جامد برای تکثیـر قارچ‌های آنتاگونیست پی برده شده بود، کاربردهای تجارتی این گونه محیط‌هـا بـسیارکم بـوده است (Mitchell *et al.*, 2000). تحقیقات Pandy *et al.*, (1994) نشان داد که استفاده از محیط‌های جامد طی فرآیند تخمیـر میکروارگانیـسم‌هـا (Solid State Fermentation) ظرفیـت تولیـد منـابع آنزیمی نظیر سلولوتیک، پکتینولیتیک، لگنینولیتیـک و لیپولیتیـک را بـالا مـی‌بـرد. همچنـین در تحقیق دیگری در زمینه پایداری کنیدیوم‌های قارچ آنتاگونیست *Clonostachys rosea* روی بذور جو و قابلیت آنتاگونیستی آن بر علیه عامل بیمـاریزای قـارچی بـذرزاد *Bipolaris sorokiniana*، برتری محیط کشت جامد به محیط کشت مایع به منظور تهیـه زادمایـه محتـوی کنیـدیوم‌هـای قارچ آنتاگونیست به اثبات رسید (Jensen *et al.*, 2002).

استفاده از سبوس گندم در شرایط گلخانه در تهیه تیمارهای آزمایشی متاثر از کنیدیوم‌های *Trichoderma lignorum* به صورت افزودن به خاک (۱×۱۰^{٦} کنیدیوم در هر گرم سبوس گندم و ۲۰ گرم سبوس گندم در هر کیلوگرم خاک) جهت مبارزه با بیماری مرگ گیاهچه لوبیا ناشـی از *R. solani*، سبب افزایش درصد تعداد بذورسالم به میزان ۹۲٪ گردید (Aziz *et al.*, 1997).

همچنین، محیط کشت جدیدی با نام اختصاری SSC-06 متشکل از کومپوست قارچ جنگلی (Spent Forest Mushroom Compost)، پوسته شلتوک کربونیزه شده، پوست میگو، پوست خرچنگ، سلول خونی و آهک ضمن دارا بودن خواص بازدارندگی ازفعالیت قارچ *R. solani* به عنوان بستری 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 ۱۰۰°C به مدت ۱۵ تا ۳۰ دقیقه توسط افزودن کنیدیوم‌های قارچ *T. harzianum* به میزان 10^5 کنیدیوم در هرگرم محیط خشک جبران می‌گردد. در ایران، اخیرا بررسی‌های بسیاری در زمینه مبارزه بیولوژیک با بیماری‌های محصولات زراعی مختلف توسط باکتری‌ها و قارچ‌های آنتاگونیست صورت گرفته است (Heydari *et al.*, 2004; Heydari and Pessarakli, 2010; Naraghi *et al*., 2010a; Naraghi *et al.*, 2010b; Naraghi *et al.*, 2010c). نتایج تحقیقی در مزرعه پنبه نیز نشان داد که گیاهان در تیمارهای متاثر از خاک آغشته به زادمایه *T. flavus* در مقایسه با تیمارهای عاری از این نوع زادمایه، از لحاظ زودرسی برتری داشته اند (Naraghi *et al.*, 2006).

با توجه به این که کشورهای دیگر جهان با اعمال روش‌های بیولوژیک موفق به کنترل مؤثر بیماری‌ها و آفات پنبه شده اند و میزان استفاده از سموم شیمیایی را کاهش داده و نهایتا عملکرد و تولید این محصول را به طور قابل توجهی افزایش داده اند، در کشور ما نیز اجرای تحقیقاتی در زمینه مبارزه بیولوژیک با بیماری‌های پنبه ضروری به نظر رسید.

روش بررسی

بررسی‌های آزمایشگاهی:

تعیین جمعیت سختینه‌های *V. dahliae* در خاک دو مزرعه واقع در نیشابور و مغان: برای تعیین جمعیت سختینه‌های *V. dahliae* در خاک هر مزرعه، ده نمونه خاک از نقاط مختلف مزرعه تهیه گردید. روش نمونه برداری به این ترتیب بود که با کنارزدن پنج تا هشت سانتی‌متر ازسطح خاک تا عمق ۲۵ سانتی‌متر با لوله‌هایی به قطر ۲/۵ سانتی‌متر نمونه برداری انجام گرفت (Butterfield and De Vay, 1977). سپس کلیه نمونه‌های خاک جمع آوری شده با یکدیگر

مخلوط شد و به مدت چهار تا شش هفته در دمای آزمایشگاه (۲۴°C-۲۰) برای از بین بردن پروپاگول‌های (واحدهای پرگنه ساز) حساس (قطعات میسلیومی‌و کنیدیوم‌ها) خشک گردید. در مرحله بعد، سه نمونه یک گرمی‌از خاک به دست آمده انتخاب شد و پس از گذراندن از الک دو میلی‌متری باهاون چینی حتی الامکان یکنواخت گردید. برای جداسازی سختینه از روش Huisman and Ashworth (1974) به شرح ذیل استفاده شد.

هر نمونه خاک یک گرمی‌در ۲۰۰ میلی‌لیترآب مقطر سترون که حاوی یک درصد کالگن و یک صدم درصد ترژیتول NPX بود، به حالت تعلیق در آمد و سپس به مدت ۳۰ ثانیه در خرد کن یکنواخت گردید ونهایتاً از الک ۱۲۵ و ۳۷ میکرونی گذرانده شد. رسوبات الک ۳۷ میکرونی به مدت ۵ دقیقه در ۱۶۰۰ دور در دقیقه سانتریفوژ گردید و رسوبات باقیمانده با افزودن ۱۰۰ میلی لیتر آب مقطر سترون توسط دستگاه تکان دهنده (Shaker) مخلوط شد. بعد از تهیه سوسپانسیون یکنواخت، یک میلی‌لیتر از آن به ۵۰۰ میلی‌لیتر محیط آگار در حال سرد شدن (۴۵°C-۴۰) افزوده شد و پس از مخلوط کردن به تشتک‌های پتری انتقال یافت. محیط کشت آگاردار مورد استفاده در این مرحله، Ethanol Potassium Amoxicillin Agar (EPPA) بود که طبق روش Mansoori (2011) تهیه گردید.

پس از قرارگیری تشتک‌های پتری به مدت سه تا پنج روز در انکوباتور ۲۵°C، پرگنه‌های رویش یافته از سختینه‌های جدا شده از خاک، بر روی محیط کشت EPPA ظاهر شدند. بنابراین، با پیدایش یک پرگنه از یک سختینه، برای محاسبه تعداد سختینه‌ها در هر گرم از خاک مزرعه، اقدام به شمارش پرگنه‌های ظاهر شده بر روی محیط کشت EPPA گردید و با میانگین سه عدد بدست آمده مربوط به هر نمونه یک گرمی‌خاک، تعداد سختینه‌ها برای هر گرم خاک مزرعه تعیین گردید. با مشاهده تعداد کافی سختینه برای ایجاد درصد کل آلودگی بالاتر از ۱۰ درصد، مزارع آلوده مذکور برای اجرای این تحقیق انتخاب شدند. لازم به ذکر است که بر اساس تحقیق Hamdollahzadeh (1993) تعداد تقریبی ۱۶۰ سختینه در هر گرم خاک موجب آلودگی به میزان ۴۶/۶۶ درصد گردیده است.

در این مرحله، ضمن تعیین جمعیت سختینه‌های *V. dahliae* در خاک هر یک از مناطق نیشابور و مغان، جهت حصول اطمینان از رویش پرگنه‌های *V. dahliae* از سختینه‌های‌های جدا

سازی شده، از تشتک‌های پتری هر منطقه، پرگنه یک جدایه بر روی PDA تجدید کشت شد. پس از قرار گیری تشتک‌های پتری به مدت هفت تا ده روز در انکوباتور ۲۵°C، اقدام به شناسایی آن‌ها از طریق مطالعات ماکروسکوپی و میکروسکوپی گردید.

مطالعات میکروسکوپی و ماکروسکوپی جدایه‌های *V. dahliae*: تأیید صحت گونه *V. dahliae* برای این جدایه‌ها مطابق منابع موجود (Hawksworth and Talboys, 1970; Kim *et al.*, 2001) بر اساس اندازه کنیدی، طول کنیدیوفور، شکل ساختارهای استراحتی (سختینه و میسلیوم تیره) و رنگ پرگنه روی محیط کشت PDA صورت گرفت.

تعیین جمعیت *T. flavus* و *T. harzianum* در خاک هر یک از دو مزرعه: برای تعیین جمعیت *T. flavus* مطابق روش Marois *et al.* (1984)، ازمحیط کشت اختصاصی T.F. (یک لیتر آب مقطر، ۳۹ گرم PDA تجارتی، دو میلی لیتر از محلول ۵۰ درصد لاکتیک اسید، ۱۰۰ میلی گرم سولفات استرپتومایسین، ۵۰ میلی‌گرم کلرو تتراسیکلین، ۵۰ میلی گرم کلرامفنیکل، چهار میلی‌گرم پیماریسین به صورت سوسپانسیون ۲/۵ درصد و ۰/۰۵ گرم رزبنگال) و برای تعیین جمعیت *T. harzianum* مطابق روش Koehl (1989) از محیط کشت اختصاصی TSM2 (یک لیتر آب مقطر، یک گرم K2HPO4، نیم گرم MgSO4. 7H2O، ۱۵ گرم پپتون، ۰/۲۵ گرم کلرامفنیکل، ۱۰ گرم پنتا کلرو نیترو بنزن، ۲۰ گرم آگار و یک میلی لیتر لاکتیک اسید ۵۰٪) استفاده شد. این محاسبه جهت آگاهی از وجود شرایط مساعد در هریک از مزارع برای رشد قارچ‌های مذکور ضروری بود. در این مرحله، ضمن تعیین جمعیت هر یک از جدایه‌های *T. flavus* و *T. harzianum* در خاک هر یک از مناطق نیشابور و مغان، پرگنه جدایه‌های *T. flavus* و *T. harzianum* هر یک از مناطق بر روی محیط کشت‌های اختصاصی شان مشاهده شد. سپس، جهت حصول اطمینان از صحت گونه‌ها، بعد از تجدید کشت هر یک از جدایه‌های مذکور بر روی محیط کشت PDA، اقدام به شناسایی آن‌ها از طریق مطالعات ماکروسکوپی و میکروسکوپی گردید.

مطالعات میکروسکوپی و ماکروسکوپی جدایه‌های *T. harzianum* و *T. flavus*: شناسایی پرگنه‌های *T. harzianum* بر اساس مشخصات ماکروسکوپی (رنگ پرگنه) و میکروسکوپی (انشعابات کنیدیوفور، شکل فیالیدها و کنیدیوم‌ها) انجام گرفت

(Siddiquee *et al.*, 2009). برای شناسایی پرگنه‌های *T. flavus* نیز ویژگی‌های ماکروسکوپی و میکروسکوپی جدایه‌ها بررسی شد. بدین ترتیب که مطابق نوشته مارویس و همکاران (Marois *et al.*, 1984) جدایه‌هایی که از لحاظ ماکروسکوپی پرگنه آن‌ها بعد از ۱۰ روز نگهداری در دمای ۳۰°C هاله زرد روشن در اطراف و نواحی سبز رنگ در مرکز داشتند و همچنین از لحاظ میکروسکوپی، دارای ریسه‌ها و شکل تولید مثل غیر جنسی (کنیدیوم و کنیدیوفور) مشابه با جنس *Penicillium* بودند، انتخاب گردیدند. همچنین، به منظور به دست آوردن شکل تولید مثل جنسی، این جدایه‌ها روی محیط کشت PDAبه مدت سه هفته در انکوباتور با دمای ۳۰ °c نگهداری شدند و اندام تولید مثل جنسی شان شامل آسکوگونیوم، آنتریدیوم، آسکوکارپ، آسک و آسکوسپور نیز مطالعه گردید.

تهیه زادمایه قارچ‌های آنتاگونیست مورد استفاده در مزارع: برای تهیه زادمایه‌های مورداستفاده هر منطقه از جدایه‌های مربوطه (دو جدایه *T. harzianum* و دو جدایه *T. flavus*)، از روش تغییر یافته Naraghi *et al.* (2006) استفاده شد. بدین ترتیب که مقداری سبوس برنج به مدت ٢٤ ساعت در آبی با دمای (٣٥°C-٣٠) خیسانده، سپس بر روی کاغذهای صافی بزرگ گسترانیده و خشک شد. در مرحلهٔ بعد به میزان ۲۰۰ گرم از سبوس برنج شسته شده در کیسه‌های سلوفان در اتوکلاو (فشار ۱ اتمسفر، حرارت ۱۲۰ درجه سانتی‌گرادبه مدت ۱۵ دقیقه) سترون گردید. سپس، برای تهیه 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. همچنین، برای هر منطقه، زادمایه ای نیز از مخلوط دو جدایه *T. harzianum* و *T. flavus* مربوطه تهیه گردید. بدین ترتیب، همانند روش قبل عمل شد، به استثنای این که از هر یک از جدایه‌های مذکور، چهار قطعه یک سانتی‌متری از محیط کشت ۱۰ روزه منظور گردید. برای رشد جدایه‌ها، کیسه‌های سلوفان درانکوباتور ۳۰ °C به مدت یک ماه و نیم تا دو ماه قرار گرفتند. وقتی قارچ به صورت کامل سطوح سبوس‌ها را پوشانید، مواد مذکور برای خشک شدن بر روی کاغذهای صافی گسترده شدند. در مرحله بعد، سبوس‌های آغشته به اسپور جدایه‌ها، بعنوان زادمایه مصرفی در مزرعه به دو صورت افزودن به خاک و آغشته سازی بذور با آن مورد استفاده قرار گرفت. سپس، زادمایه‌های موجود در کلیه کیسه‌های

سلوفان مربوط به هر نوع زادمایه با یکدیگر مخلوط شده و میزان اسپورها در هر گرم از زادمایه به دست آمده توسط لام هموسایتومتر شمارش گردید. مقدار زادمایه مصرفی در تیمار به صورت افزایش زادمایه به خاک، براساس ۲۵ گرم زادمایه ($۱۰^{۷}$ اسپور در هر گرم زادمایه) در هر خط کاشت ده متری، مشخص شد. جهت تهیه تیمارهای بذری به میزانی از زادمایه استفاده شد که کلیه سطوح بذور به زادمایه آغشته گردید (Naraghi *et al*., 2006).

بررسی‌های مزرعه‌ای: در این مرحله از تحقیق، آزمایش بطور جداگانه برای هریک از مزارع واقع در نیشابور و مغان با استفاده از رقم پنبه رایج هرمنطقه در قالب طرح آماری بلوک‌های کامل تصادفی با ده تیمار و چهار تکرار یا بلوک انجام گرفت. تیمارها عبارت بودند از: ۱- خاک و بذر بدون زادمایه، ۲- خاک با زادمایه *T. flavus* و بذر بدون زادمایه، ۳- خاک بدون زادمایه و بذر آغشته به زادمایه *T. flavus*، ٤- خاک و بذر آغشته به زادمایه *T. flavus*، ٥- خاک با زادمایه *T. harzianum* و بذر بدون زادمایه، ٦- خاک بدون زادمایه و بذر آغشته به زادمایه *T. harzianum*، ۷- خاک و بذر آغشته به زادمایه *T. harzianum*، ۸- خاک با زادمایه مخلوط دو قارچ و بذر بدون زادمایه، ۹- خاک بدون زادمایه و بذر آغشته به زادمایه مخلوط دو قارچ و ۱۰- خاک و بذر آغشته به زادمایه مخلوط دو قارچ.

هر تکرار شامل پنج خط کاشت به طول ۱۱ متر با احتساب اثر حاشیه ای بود. فاصله بوته‌ها از یکدیگر در روی ردیف کاشت با ابعاد ۸۰ ×۲۰ سانتی‌متر در نظر گرفته شد. پنجاه بوته میانی در هر خط کاشت، مبنای محاسبات آماری قرارگرفت.

ارزیابی میزان تأثیرتیمارهای آزمایشی در کنترل قارچ عامل بیماری با تعیین درصد مرگ گیاهچه، شاخص و درصد بیماری پژمردگی ورتیسلیومی، عملکرد و زودرسی انجام گرفت. بدین منظور، یادداشت برداری‌های مرگ گیاهچه در ۲۰،۳۰، ٤۰ روز بعد از کاشت صورت گرفت و در نهایت درصد مرگ گیاهچه محاسبه گردید. یادداشت برداری‌های بیماری پژمردگی ورتیسلیومی در ٦ مرحله انجام شده و برای تعیین شاخص بیماری حدود چهارماه بعد از کاشت، بوته‌ها مورد ارزیابی قرار گرفتند. ابتدا تعداد بوته‌های سالم در دو خط وسط اندازه گیری و سپس شدت بیماری (DS= disease severity) با استفاده ازروش Booth (1970) مطابق فرمول زیر محاسبه شد.

$$DS = \frac{(A\times0) + (B\times1) + (C\times2) + (D\times3) + (E\times4)}{M}$$

A: تعداد بوته با درجه صفر، B: تعداد بوته با درجه یک، C: تعداد بوته با درجه دو، D: تعداد بوته با درجه سه E:تعداد بوته با درجه چهار، M: تعداد کل بوته‌ها

بوته کاملاً سالم =بوته درجه صفر=۰

صفر تا ۳۳٪ برگ‌ها علائم بیماری را نشان می‌دهند = بوته درجه یک =۱

۳٤ تا ٦٦٪ برگ‌ها علائم بیماری را نشان می‌دهند = بوته درجه دو =۲

٦۷ تا ۱۰۰٪ برگ‌ها علائم بیماری را نشان می‌دهند = بوته درجه سه =۳

بوته کاملاً بدون برگ و قوزه = بوته درچه چهار =٤

سپس شاخص بیماری (DI= disease index) با استفاده از فرمول زیر محاسبه گردید.

شدت بیماری × درصد بیماری = شاخص بیماری

برای محاسبه عملکرد چین اول چهارماه بعد از کاشت و برای تعیین عملکرد چین دوم پایان دوره رویشی اقدام گردید. همچنین، برای محاسبه عملکرد کل، مجموع عملکردهای چین اول و دوم برآورد گردید. زودرسی نیز مطابق فرمول زیر محاسبه شد.

$$\text{زودرسی} = \frac{\text{عملکردچین اول}}{\text{عملکرد کل}} \times ۱۰۰$$

در نهایت، محاسبه و مقایسه میانگین صفات مختلف پنبه (درصد مرگ گیاهچه، درصد بیماری پژمردگی ورتیسلیومی، شاخص بیماری پژمردگی ورتیسلیومی، عملکرد چین اول، عملکرد چین دوم، عملکرد کل و درصد زودرسی) با استفاده از آزمون چند دامنه ای دانکن و تحت برنامه آماری Ms TAT C انجام گرفت.

جداسازی و شناسایی عوامل قارچی بیماری‌زا از اندام‌های گیاهی آلوده مزارع نیشابور و مغان: برای جداسازی عامل بیماری مرگ گیاهچه رایزوکتونیایی (*R. solani*) از طوقه و ریشه‌های گیاهچه آلوده هر یک از مزارع نیشابور و مغان، مطابق روش Heydari *et al*. (2004) از محیط کشت آب- آگار (WA) استفاده شد. برای حصول اطمینان از صحت گونه *R. solani* برای جدایه‌های قارچی به دست آمده، مشاهدات ماکروسکوپی، به صورت چگونگی رشد و

رنگ پرگنه روی محیط کشت PDA، روزانه بـه مـدت دو هفتـه صـورت پـذیرفت. همچنـین، مشاهدات میکروسکوپی، به صورت چگونگی انشعابات ریسه‌ها، فقدان اسـپور، وجـود دیـواره عرضی و سختینه‌ها انجام گرفت (Heydari *et al*., 2004).

برای جداسازی عامل بیماری پژمردگی ورتیسلیومی (*V. dahliae*) از ریشه و ساقه گیاهـان آلوده هـر یـک از مـزارع نیـشابور و مغـان، مطـابق روش Kim *et al*. (2001) از محـیط کـشت Acidified Potato Dextrose Agar (APDA) شامل اسید لاکتیک ۲۵٪ به میـزان دو میلـی لیتـر در لیتر استفاده گردید. (Kim *et al*., 2001). شناسایی جدایه‌های به دست آمـده، بـر اسـاس انـدازه کنیدیوم، طول کنیدیوفور، شکل ساختارهای استراحتی (سختینه و میسلیوم تیره) و رنگ پرگنـه روی محیط کشت PDA صورت گرفت (Hawksworth and Talboys, 1970; Kim *et al*., 2001).

آزمون اثبات بیماری زایی: برای اثبات بیمـاری زایـی جدایـه‌هـای *R. solani*، کـشت ۷۲ ساعته این جدایه بر روی محیط کشت PDA به خاک سترون گلدان‌هایی حاوی بذر پنبه اضـافه شد. در این مرحله، گلدان‌هایی نیز عاری از *R. solani* به عنوان شاهد منظور گردیدند. ارزیـابی پس از گذشت یک هفته تا حداکثر یک ماه بر اساس تعداد گیاهچه‌های سالم صورت پـذیرفت (Heydari *et al*., 2004). آزمون اثبات بیماری زایی بـرای جدایـه‌هـای *V. dahliae* بـا قرارگیـری ریشه گیاهچه‌های پنبه در سوسپانسیونی از کنیدیوم‌های *V. dahliae* (10^7 کنیدیوم در میلی لیتر) به مدت یک ساعت و انتقال آن‌هـا بـه گلـدان‌هـایی محتـوی مقـادیر یکـسان از خـاک پیـت، ورمی‌کولیت و پرلیت انجام گرفت. برای گلدان‌های شـاهد، بـه جـای سوسپانـسیون کنیـدیایی عامل بیماریزا، آب مقطر سترون استفاده گردید. چهار هفته بعد از مایه زنی، ارزیابی به صورت شاخص بیماری (۰= گیاه سالم، ۱= گیاه با علائم تغییر رنگ آوندی و بدون پژمردگی، ۲= گیاه با علائم پژمردگی و ۳= گیاه با علائم پژمردگی شدید و از بین رفتن کامل آن) صورت پذیرفت (Kim *et al*., 2001).

نتیجه و بحث

بررسی‌های آزمایشگاهی: تعیین جمعیت سختینه‌هـای *V. dahliae* در خـاک دو مزرعـه واقع در نیشابور و مغان: از طریق میانگین سه عدد بدست آمـده مربـوط بـه هـر نمونـه یـک

گرمی‌خاک، تعداد سختینه‌ها برای هر گرم خاک مزرعه نیشابور و مغان، به ترتیب ۱۴۰ و ۱۳۶ عدد تعیین شد که این مقادیر به ترتیب با ایجاد ۴۰/۸۱ و ۳۹/۶۶ درصد آلودگی برای انجام آزمایش‌های مزرعه ای قابل قبول بودند. در این مرحله، یک جدایه *V. dahliae* (VD-Co-N-1) از خاک مزرعه نیشابور و یک جدایه *V. dahliae* (VD-Co-M-2) از مزرعه پنبه مغان جهت مطالعات ماکروسکوپی و میکروسکوپی روی محیط کشت PDA تجدید کشت شد.

مطالعات میکروسکوپی و ماکروسکوپی جدایه‌های *V. dahliae*: از لحاظ ماکروسکوپی، پرگنه‌های *V. dahliae* به علت وجود سختینه‌ها سیاه رنگ ظاهر شدند. از لحاظ میکروسکوپی، هر یک از جدایه‌های *V. dahliae* دارای ریسه‌هایی به حالت عمودی (Verticillate) با انشعابات فراهم دو گانه در امتداد محور اصلی کنیدیوفور بودند. همچنین، کنیدیوم‌ها اندازه ای برابر با ۳/۵– ۲/۳ × ۱۰/۲– ۲/۵ داشتند.

تعیین جمعیت *T. flavus* و *T. harzianum* در خاک مزارع نیشابور و مغان: در هر یک از مزارع نیشابور و مغان به ترتیب 10^6 و 10^5 اسپور *T. flavus* در هر گرم خاک محاسبه شد. همچنین، تعداد اسپور *T. harzianum* در هر گرم خاک از مزارع مذکور 10^5 برآوردگردید. این نتایج نشان داد که در هر یک از مزارع ، شرایط مساعد برای رشد قارچ‌های مذکور وجود داشته است. در این مرحله، یک جدایه *T. harzianum* (TH-Co-N-1) و یک جدایه *T. flavus* (TF-Co-N-1) از مزرعه پنبه نیشابور و یک جدایه *T. harzianum* (TH-Co-M-2) و یک جدایه *T. flavus* (TF-Co-M-2) از مزرعه پنبه مغان جهت مطالعات ماکروسکوپی و میکروسکوپی روی محیط کشت PDA تجدید کشت شد.

مطالعات میکروسکوپی و ماکروسکوپی جدایه‌های *T. harzianum* و *T. flavus*: بررسی‌های ماکروسکوپی جدایه‌های *T. harzianum* نشان داد که پرگنه‌ها روی محیط کشت PDA، از بخش فوقانی ابتدا سفید رنگ بودند و بعد از دو روز با پیدایش کنیدیوم‌های سبز رنگ از مرکز متمایل به سبز روشن شدند. هفت تا هشت روز پس از کشت، پرگنه از بخش فوقانی تا ۶۰٪ به صورت سبز تیره در حالیکه از بخش زیرین با رنگ سبز روشن نمایان گردید. در مطالعات میکروسکوپی این جدایه‌ها، کنیدیوفورها در امتداد محور اصلی دارای انشعابات دو گانه بودند. فیالیدها نیز به صورت فلاسکی شکل با بخش میانی متورم در انتهای

انشعابات کنیدیوفور حالت خوشه ای فراهم را دارا بودند. از طرف دیگر کلامیدوسپورها، بدون رنگ و با دیواره صاف مشاهده شدند. همچنین، بررسی‌های ماکروسکوپی جدایه‌های *T. flavus* مشخص نمود که رنگ پرگنه این جدایه‌ها روی محیط کشت PDA دارای‌هاله زرد روشن در اطراف و نواحی سبز رنگ در مرکز بوده است. از لحاظ میکروسکوپی، جدایه‌های مذکور دارای ریسه‌ها و شکل غیر جنسی (کنیدیوم و کنیدیوفور) مشابه با جنس *Penicillium* بودند. در شکل جنسی این جدایه‌ها، علاوه بر آسکوکارپ، آسک و آسکوسپور، آنتریدیوم نیز مشاهده شد که به صورت مارپیچی اطراف آسکوگونیوم قرار گرفته بود.

بررسی‌های مزرعه‌ای

الف) مزرعه نیشابور: در بررسی‌های مزرعه ای نیشابور بذور مربوط به تیمار متأثر از خاک و بذر آغشته به مخلوط دو قارچ آنتاگونیست سبز نشدند. بنابراین محاسبات آماری این آزمایش با حذف یک تیمار (خاک و بذر آغشته به مخلوط دو قارچ آنتاگونیست) صورت پذیرفت. آزمایش تأثیر تیمارهای متأثر از قارچ‌های آنتاگونیست روی عملکرد چین اول، عملکرد چین دوم، عملکرد کل و زودرسی معنی دار نبود در حالیکه تأثیر این گونه تیمارها روی درصد و شاخص بیماری پژمردگی ورتیسلیومی و درصد مرگ گیاهچه معنی دار بود. در این آزمایش بیش ترین کاهش معنی دار شاخص بیماری پژمردگی ورتیسلیومی و درصد هر یک از دو بیماری در تیمار متأثر از خاک آغشته به *T. flavus* در مقایسه با سایر تیمارها مشاهده گردید (جدول ۱).

ب) مزرعه مغان: تأثیر تیمارهای متأثر از قارچ‌های آنتاگونیست روی کلیه صفات اندازه گیری شده شامل شاخص بیماری پژمردگی ورتیسلیومی، درصد دو بیماری پژمردگی ورتیسلیومی و مرگ گیاهچه، زودرسی، عملکرد چین اول، عملکرد چین دوم و عملکرد کل معنی دار بوده است. در این آزمایش، بیش ترین درصد زودرسی و کم ترین درصد بیماری پژمردگی ورتیسلیومی به تیمار بذر آغشته به دو قارچ آنتاگونیست اختصاص داشته است (جداول ۲ و ۳). همچنین، تیمار خاک و بذر آغشته به دو قارچ آنتاگونیست، کم ترین درصد مرگ گیاهچه و خاک آغشته به قارچ تریکودرما کم ترین شاخص پژمردگی ورتیسلیومی و بیشترین عملکرد را به خود اختصاص داد (جداول ۲ و ۳).

جدول ۱- مقایسه میانگین‌های درصد مرگ گیاهچه رایزوکتونیایی، شاخص و درصد پژمردگی ورتیسلیومی میان تیمارهای متأثر از قارچ‌های آنتاگونیست در مزرعه نیشابور (α=۰/۰۱)

Table 1. Means comparison of Rhizoctonia seedling damping-off percent, Verticillium wilt index and Verticillium wilt percent among treatments affected by antagonistic fungi in Neishaboor field (α=0.01)

تیمارهای متأثر از قارچ‌های آنتاگونیست Treatments affected by antagonistic fungi	درصد مرگ گیاهچه Seedling damping-off percent		شاخص پژمردگی ورتیسلیومی Verticillium wilt index		درصد پژمردگی ورتیسلیومی Verticillium wilt percent	
خاک و بذر بدون زادمایه (شاهد) Soil and seed without inoculum (control)	14.08	ab	0.025	a	11.44	a
خاک آغشته به *T. flavus* Soil mixed with *T. flavus*	12.25	b	0.017	bc	7.95	b
بذر آغشته به *T. flavus* Seed mixed with *T. flavus*	13.42	ab	0.021	b	9.56	ab
خاک و بذر آغشته به *T. flavus* Soil and seed mixed with *T. flavus*	14.75	ab	0.019	bc	8.84	b
خاک آغشته به *T. harzianum* Soil mixed with *T. harzianum*	12.00	b	0.018	bc	8.67	b
بذر آغشته به *T. harzianum* Seed mixed with *T. harzianum*	14.58	ab	0.016	c	7.95	b
خاک و بذر آغشته به *T. harzianum* Soil and seed mixed with *T. harzianum*	13.92	ab	0.019	bc	8.93	b
خاک آغشته به *T. flavus* و *T. harzianum* Soil mixed with *T. flavus* and *T. harzianum*	13.75	ab	0.018	bc	8.81	b
بذر آغشته به *T. flavus* و *T. harzianum* Seed mixed with *T. flavus* and *T. harzianum*	17.42	a	0.017	bc	7.95	b

جدول ۲- مقایسه میانگین‌های درصد مرگ گیاهچه رایزوکتونیایی، شاخص و درصد پژمردگی ورتیسلیومی میان تیمارهای متأثر از قارچ‌های آنتاگونیست در مزرعه مغان (α=۰/۰۱)

Table 2. Means comparison of Rhizoctonia seedling damping-off percent, Verticillium wilt index and Verticillium wilt percent among treatments affected by antagonistic fungi in Moghan field (α=0.01)

درصد پژمردگی ورتیسلیومی Verticillium wilt percent		شاخص پژمردگی ورتیسلیومی Verticillium wilt index		درصد مرگ گیاهچه Seedling damping-off percent		تیمارهای متأثر از قارچ‌های آنتاگونیست Treatments affected by antagonistic fungi
55.47	a	1.07	a	13.37	a	خاک و بذر بدون زادمایه (شاهد) Soil and seed without inoculum (control)
16.81	ab	0.92	abc	13.24	a	خاک آغشته به *T. flavus* Soil mixed with *T. flavus*
33.48	ab	0.99	abc	13.02	a	بذر آغشته به *T. flavus* Seed mixed with *T. flavus*
3.96	b	0.76	bc	10.84	ab	خاک و بذر آغشته به *T. flavus* Soil and seed mixed with *T. flavus*
3.10	b	0.73	c	12.17	ab	خاک آغشته به *T. harzianum* Soil mixed with *T. harzianum*
13.77	ab	0.87	abc	12.32	a	بذر آغشته به *T. harzianum* Seed mixed with *T. harzianum*
33.66	ab	1.01	ab	10.09	ab	خاک و بذر آغشته به *T. harzianum* Soil and seed mixed with *T. harzianum*
33.48	ab	1.00	abc	12.38	a	خاک آغشته به *T. flavus* و *T. harzianum* Soil mixed with *T. flavus* and *T. harzianum*
2.91	b	0.74	bc	13.22	a	بذر آغشته به *T. flavus* و *T. harzianum* Seed mixed with *T. flavus* and *T. harzianum*
4.21	b	0.81	abc	8.84	b	خاک و بذر آغشته به *T. flavus* و *T. harzianum* Soil and seed mixed with *T. flavus* and *T. harzianum*

جدول ۳- مقایسه میانگین‌های عملکرد چین اول، عملکرد چین دوم، عملکرد کل و زود رسی میان تیمارهای متأثر از قارچ‌های آنتاگونیست در مزرعه مغان (α=۰/۰۱)

Table 3. Means comparison of first harvest yield, second harvest yield, total yield and pre-maturing percent among treatments affected by antagonistic fungi in Moghan field (α=0.01)

تیمارهای متأثر از قارچ‌های آنتاگونیست Treatments affected by antagonistic fungi	عملکرد چین اول (کیلوگرم در هکتار) First harvest yield (kg/ha)		عملکرد چین دوم (کیلوگرم در هکتار) Second harvest yield (kg/ha)		عملکرد کل (کیلوگرم در هکتار) Total yield (kg/ha)		درصد زودرسی Pre-maturing percent	
خاک و بذر بدون زادمایه (شاهد) Soil and seed without inoculum (control)	3737.00	c	266.64	abc	4003.64	b	93.08	b
خاک آغشته به *T. flavus* Soil mixed with *T. flavus*	4763.16	ab	233.10	bc	4996.26	a	94.57	ab
بذر آغشته به *T. flavus* Seed mixed with *T. flavus*	4646.00	ab	166.44	c	4812.44	a	96.82	ab
خاک و بذر آغشته به *T. flavus* Soil and seed mixed with *T. flavus*	4815.68	ab	294.92	abc	5110.60	a	95.13	ab
خاک آغشته به *T. harzianum* Soil mixed with *T. harzianum*	4900.52	a	395.92	a	5296.44	a	92.53	b
بذر آغشته به *T. harzianum* Seed mixed with *T. harzianum*	4714.68	ab	199.17	c	4913.85	a	96.34	ab
خاک و بذر آغشته به *T. harzianum* Soil and seed mixed with *T. harzianum*	4848.00	ab	363.60	ab	5211.60	a	93.41	ab
خاک آغشته به *T. flavus* و *T. harzianum* Soil mixed with *T. flavus* and *T. harzianum*	4880.32	a	231.89	bc	5112.21	a	96.65	ab
بذر آغشته به *T. flavus* و *T. harzianum* Seed mixed with *T. flavus* and *T. harzianum*	4698.52	ab	258.56	abc	4957.08	a	97.19	a
خاک و بذر آغشته به *T. flavus* و *T. harzianum* Soil and seed mixed with *T. flavus* and *T. harzianum*	4173.32	bc	262.60	abc	4435.92	a	95.07	ab

جداسازی و شناسایی عوامل قارچی بیماری‌زا از اندام‌های گیاهی آلوده مزارع نیشابور و مغـان: در ایـن مرحلـه، یـک جدایـه *R. solani* (RH-Co-N-1) و یـک جدایـه *V. dahliae* (VD-Co-N-3) از گیاهان پنبه آلوده مزرعه پنبه نیشابور و یک جدایه *R. solani* (RH-Co-M-2) و یک جدایه *V. dahliae* (TF-Co-M-4) از گیاهان پنبه آلوده مزرعه مغان جداسازی شد.

مشاهده ماکروسکوپی جدایه‌های *R. solani* نشان داد که این جدایه‌ها بر روی محیط کشت PDA تولید سختینه نموده و پرگنه‌های آن‌ها دارای رنگ کرم روشن تا قهوه‌ای تیره بوده اسـت. همچنین، از لحاظ میکروسکوپی، هیچ گونه اسپوری مشاهده نگردیـد و ایـن جدایـه‌هـا دارای سختینه و ریسه‌هایی با دیواره عرضی و انشعاباتی با زوایای ۴۵ تا ۹۰ درجه بودند. در بررسـی ماکروسکوپی جدایه‌های *V. dahliae*، پرگنه‌های آن‌ها به علت وجود سختینه‌ها سیاه رنگ ظـاهر شدند. نتایج بررسی میکروسکوپی این جدایه‌ها نشان داد که هر یک از جدایـه‌هـای *V. dahliae* دارای ریسه‌هایی به حالت عمودی (Verticillate) با انشعابات فراهم دو گانـه در امتـداد محـور اصلی کنیدیوفور بودند. همچنین، اندازه کنیدیوم‌ها برابر با ۳/۵– ۲/۳ × ۱۰/۲– ۲/۵ بود.

آزمون اثبات بیماری زایی: نتایج این مرحله نشان داد کـه در مقایـسه بـا میـانگین تعـداد گیاهچه‌های سالم در گلدان‌های شاهد (۱۰)، این میانگین به ترتیب در گلدان‌هـایی محتـوی دو جدایه RH-Co-N-1 (۶/۷۵) و RH-Co-M-1 (۶/۲۵)، به میزان ۳۲/۵ و ۳۷/۵ درصد کـاهش یافتـه اسـت. همچنـین، بـه گیاهـان متـأثر از دو جدایـه VD-Co-N-3 و VD-Co-M-4، بـه ترتیـب شاخص‌های بیماری ۱ و ۲ اختصاص یافت. نتایج کلی این تحقیق بیانگر این است کـه کـاربرد قارچ‌های آنتاگونیست می‌تواند به طـور مـؤثری باعـث کنتـرل بیمـاری‌هـای مـرگ گیاهچـه و پژمردگی ورتیسیلیومی‌پنبه گردد، البته میزان تأثیر این عوامل بستگی زیادی به شـرایط محیطـی مزرعه دارد. بر اسـاس تحقیقـات Cooney and Emerson (1964) در زمینـه بیولـوژی و شـرایط مساعد برای رشد قارچ‌هـای گرمادوسـت، محاسـبه جمعیـت هـر یـک از گونـه‌هـای قـارچی آنتاگونیست *T. harzianum* و *T. flavus* به میـزان 10^5 تـا 10^6 اسـپور در هرگـرم خـاک منـاطق نیشابور و مغان قابل انتظار بود. بنا به اظهارات محققان مزبور، بـرای تولیـد میـزان اسـپور ذکـر شده، بسته به دیگر شرایط محیطی، دامنه دمایی مورد نیاز از ۲۵ تا ^0C ۳۵ می‌باشد که در زمـان نمونه برداری خاک (نیمه اول اردیبهشت ماه: آغاز دوره فصل رویشی)، دمای حاکم در هر یک

از مناطق، در دامنه فوق قرار گرفته بود. از طرف دیگر، در تحقیق حاضر، علیرغم میزان بالای اسپور قارچ‌های آنتاگونیست، تعداد بالایی از سختینه‌ها نیز به میزان ۱۴۰ و ۱۳۶ در هر یک از مناطق نیشابور و مغان برآورد گردید که این موضوع نشان دهنده آن است که توان آنتاگونیستی جدایه‌های قارچی آنتاگونیست مذکور در خاک پایین بوده و با انتخاب جدایه‌هایی با کارآیی آنتاگونیستی بالا و افزودنشان به خاک، می‌توان این مشکل را برطرف نمود.

از چند دهه اخیر تا کنون، کاهش بیماری‌های گیاهی ناشی از عوامل بیماریزای خاکزاد نظیر *R. solani* و *V. dahliae*توسط عوامل قارچی آنتاگونیست به اثبات رسیده است (Srinon *et al.*, 2006). در این تحقیق نیز، در آزمایش تأثیر تیمارهای متأثر از قارچ‌های آنتاگونیست روی بیماری‌های پنبه، کاهش معنی‌دار هر یک از بیماری‌های پژمردگی ورتیسلیومی و مرگ گیاهچه در تیمارهای متاثر از قارچ‌های آنتاگونیست در مقایسه با شاهد مشاهده گردید. همچنین، آزمایش تأثیر این گونه تیمارها روی صفات مختلف پنبه در منطقه مغان نشان داد که برخی از تیمارهای متأثر از عوامل آنتاگونیست از لحاظ افزایش معنی دار عملکرد چین اول، عملکرد چین دوم، عملکرد کل و زودرسی نسبت به سایر تیمارها برتری داشته اند. در تحقیقی مشابه، Rini and Sulochana (2006) نشان دادند که کاهش بیماری مرگ گیاهچه فلفل (*Capsicum annum* L.) توسط چندین گونه از قارچ تریکودرما و باکتری سودوموناس فلورسنت با افزایش این محصول همراه بوده است. در تحقیقی دیگر، Fahima and Henis (1995) نشان دادند که *T. flavus* موجب به کاهش شاخص بیماری پژمردگی ورتیسلیومی و افزایش عملکرد چین اول بادنجان گردیده است. نتایج تحقیقات Bal and Altintas (2006) نیز نشان داد که استفاده از تیمارهای متاثر از *T. harzianum* موجب افزایش عملکرد چین اول و زودرسی گیاهان گوجه فرنگی گردیده است. در تحقیقی مشابه، کاهش بیماری پژمردگی فوزاریومی‌به همراه افزایش محصول گوجه فرنگی توسط گونه‌های قارچی آنتاگونیست پنیسلیوم به اثبات رسید (Rahman Khan and Majid Khan, 2001).

بر اساس تحقیق Wright (1999)، میزان کمتری از تجمع پتاسیم و فسفر در برگ‌های گیاهان پنبه زودرس با وزن قوزه بالا نسبت به پنبه‌های دیررس و با وزن قوزه پایین مشاهده شد. مطابق تحقیق اخیر، غلظت پتاسیم و فسفر در گیاهان پنبه زودرس به ترتیب تقریبا به

میزان نیم و یک چهارم غلظت این عناصر در برگ‌های گیاهان پنبه دیررس بود. بدین ترتیب که گیاه با جذب کمتر فسفر و پتاسیم زودتر مرحله رویشی را سپری کرده و دوره گلدهی را آغاز نموده است. بنابراین، در این تحقیق، می‌توان استنباط کرد که چون قارچ‌های آنتاگونیستی نظیر *T. flavus* و *T. harzianum* برای متابولیسم آنزیم‌هایی از قبیل کیتوبیوزیداز، اندوکیتیناز، اندو بتا ۱و۳ گلوکوناز و ان استیل گلوکوزامینیداز، فسفر و پتاسیم موجود در خاک را به صورت محلول در آورده و استفاده می‌نمایند (Marois *et al*., 1984; Dal-Soglio *et al.*,1998; Williams *et al.*, 2003)، امکان زودرسی برای گیاهان پنبه به دلیل دسترسی کم تر به این عناصر فراهم شده است. در تیمارهای متأثر از خاک و بذر آغشته به مخلوط دو قارچ آنتاگونیست، هیچ یک از بذور پنبه در مزرعه نیشابور سبز نشدند در حالیکه در مزرعه مغان، کلیه بذور در همان تیمارها رویش یافتند. در این زمینه، Cooney and Emerson (1964) اظهار داشته‌اند که دو عامل دما و رطوبت برای رشد بهینه قارچ‌های گرمادوست نظیر *Talaromyces* و *Trichoderma* نقش مهمی‌ایفا می‌نماید. همچنین، در بررسی دیگری، به پوسیدگی بذور در اثر فعالیت ساپروفیتی میکروارگانیسم‌ها روی بسترشان اشاره شده است (Zad, 1987). با توجه به اظهارات فوق و استفاده از غلظت یکسان اسپور در تیمار متأثر از خاک و بذر آغشته به مخلوط دو قارچ آنتاگونیست در دو منطقه، چنین استنباط می‌گردد که شرایط آب و هوایی نیشابور به گونه ای بوده است که افزایش بیش از حد تکثیر جدایه‌ها رخ داده و موجبات پوسیدگی بذور فراهم شده است. بنابراین، در منطقه نیشابور در صورت استفاده از این تیمار، بایستی غلظت‌های کم تری از اسپور جهت آغشته سازی بذور و افزایش به خاک منظور گردد. در پایان امید است نتایج این تحقیق بتواند جهت کاهش بروز بیماری‌های پنبه در مزارع کشور مورد استفاده قرار گرفته و در رسیدن به اهداف کشاورزی پایدار که همانا افزایش تولید محصولات کشاورزی، کاهش استفاده از سموم شیمیایی و حفاظت از محیط زیست و ذخایر بیولوژیکی می‌باشد نقش کوچکی ایفا نماید*.

---

* **نشانی نگارندگان:** دکتر لاله نراقی و دکتر اصغر حیدری، بخش تحقیقات بیماری‌های گیاهی، مؤسسه تحقیقات گیاه‌پزشکی کشور، صندوق پستی ۱۴۵۴، تهران، ایران؛ مهندس عبدالرضا احمدی، مرکز تحقیقات کشاورزی و منابع طبیعی استان خراسان رضوی، ایران؛ مهندس صمد سرکاری و آقای نصراله مالکی، مرکز تحقیقات کشاورزی و منابع طبیعی استان اردبیل (مغان)، ایران.

منابع

AZIZ, N. H., M. Z. EL-FOULY, A. A. EL-ESSAVY and M. A. KHALAF, 1997. Influence of bean seedling root exudates on the rhizosphere colonization by *Trichoderma lignorum* for the control of *Rhizoctonia solani*. Bot. Bull. Acad. Sin. 38: 33-39.

BAL, V. and S. ALTINTAS, 2006. Effects of *Trichoderma harzianum* on the yield and fruit quality of tomato plants (*Lycopersicon esculentum*) grown in an unheated greenhouse. Aust. Exp. Agric. 46: 131-136.

BOOTH, J. A. 1970. In Crop Loss. Assessment Methods. FAO manual on the evaluation and prevention of losses by pests, diseases and weeds. 50 p.

BUTTERFIELD, E. J. and J. E. DE VAY, 1977. Assessment of soil assays for *Verticillium dahliae*. Phytopathology 67:1073-1078.

COONEY, D. G. and R. EMERSON, 1964. Thermophilic fungi, an account of their biology, activities, and classification, San Francisco, W.H. Freeman Publ., pp: 3-13.

DAL-SOGLIO, F. K., B. L. BERTAGNOLLI, J. B. SINCLAIR, G. Y. YU and D. M. EASTBURN, 1998. Production of chitinolytic enzymes and endoglucanase in the soybean rhizosphere in the presence of *Trichoderma harzianum* and *Rhizoctonia solani*. Biol. Control 12: 111-117.

DUTTA, B. K. 1981. Studies on some fungi isolated from the rhizosphere of tomato plants and the consequent prospect for the control of *Verticillium* wilt. Plant and Soil 63:209-216.

FAHIMA, T. and Y. HENIS, 1995. Quantitative assessment of the intraction between the antagonistic fungus *Talaromyces flavus* and the wilt pathogen *Verticillium dahliae* on eggplant roots. Plant and Soil 176: 129-137.

FAHIMA, T. and Y. HENIS, 1997. Increasing of *Trichoderma hamatum* and *Talaromyces flavus* on the root of healthy and useful hosts. p. 296–322. In: "Biological Control of Soil-Borne Plant Pathogens Hornby" (A. Alavi, A. Ahoonmanesh, eds.). Tehran, Iran.

HAMDOLLAHZADEH, A. 1993. Characteristics of defoliant and nondefoliant races of *Verticillium dahliae* causal agent of cotton wilt in the north of Iran. Iran. J. Plant Path. 29: 3-4 (in Persian with English summary).

HAWKSWORTH, D. L. and P. W. TALBOYS, 1970. C. M. I. descriptions of pathogenic fungi and bacteria. No. 255. *Verticillium albo-atrum*, No. 256. *Verticillium dahliae*.

CAB, Kew, England.

HEYDARI, A. and M. PESSARAKLI, 2010. A review on biological control of fungal plant pathogens using microbial antagonists. J. Biol. Sci. 10: 273-290.

HEYDARI, A., H. FATAHI, H. ZAMANIZADEH, N. HASANZADEH and L. NARAGHI, 2004. Investigation on the possibility of using bacterial antagonists for biological control of cotton seedling damping-off in greenhouse. Appl. Ent Phyt. 72: 51-68 (in Persian with English summary).

HUANG, J. W. and H. C. HUANG, 2000. A formulated container medium suppressive to Rhizoctonia damping-off of cabbage. Bot. Bull. Acad. Sin. 41: 49-56.

HUISMAN, O. C. and L. J. ASHWORTH, J. R. 1974. Quantitative assessment of *Verticillium albo-atrum* in field soils: procedural and substrate improvements. Phytopathology 64: 1043- 1044.

JENSEN, B., I. M. B. KNUDSEN, and D. F. JENSEN, 2002. Survival of conidia of *clonostachys rosea* on stored barley seeds and their biocontrol efficacy against seed-borne *Biopolaris sorokiniana*. Biocontrol Sci. Tech. 12: 427-441.

KIM, J. T., I. H. PARK, H. B. LEE, Y. I. HAHM and S. H. YU, 2001. Identification of *Verticillium dahliae* and *Verticillium albo-atrum* causing wilt of tomato in Korea. Plant Pathol. J. 17: 222-226.

KIM, K. K. A. and D. R. FRAVEL, 1990. Glucose oxidase as the antifungal principle of talaron from *Talaromyces flavus*. Can. J. Microbiol. 36: 760-764.

KOEHL, J. 1989. Eingung von staeminen aus der gattung Trichoderma fur die biologische Bekampfung phytopathologene pilze. Wissenschaftlicher Fachverlag, Gissen, Germany, 150 pp.

KOEHL, R. J. and C. F. LEWIS, 1984. Cotton. Madison, Wiscosin: American Society of Agronomy, 605 pp.

MANSOORI, B. 2011. An improved ethanol medium for efficient recovery and estimation of *verticillium dahliae* populations in soil. Can. J. Plant Pathol. 33: 88-93.

MAROIS, J. J., D. R. FRAVEL and G. C. PAPAVIZAS, 1984. Ability of *Talaromyces flavus* to occupy the rhizosphere. Soil Biol. Biochem. 16: 387-390.

MAROIS, J. J., S. A. JOHNSTON, M. T. DUNN and G. C.PAPAVIZAS, 1982. Biological control of Verticillium wilt of eggplant in the field. Plant Disease 66:1166- 1168.

MC LAREN, D. L., H. C. HUANG and S. R. RIMMER, 1982. Hyphal intraction occurring

between *Sclerotinia sclerotiorum* and *Penicillium vermiculatum*. Can. J. Plant Pathol. 4: 308 (Abstract).

MITCHELL, D. A., M. BEROVIC and N. KRIEGER, 2000. New products and new areas of bioprocess engineering. Adv. Biochem. Eng. Biotechnol. 68: 61-138.

NARAGHI, L., A. HEYDARI and D. ERSHAD, 2006. Sporulation and survival of *Talaromyces flavus* on different plant material residues for biological control of cotton wilt caused by *Verticillium dahliae*. Iran. J. Plant. Path. 42: 381-397 (in Persian with English summary).

NARAGHI, L., A. HEYDARI, S. REZAEE, M. RAZAVI and H. AFSHARI-AZAD, 2010a. Biological control of Verticillium wilt of greenhouse cucumber by *Talaromyces flavus*. Phytopathol. Mediterr. 49: 321-329.

NARAGHI, L., A. HEYDARI, S. REZAEE, M. RAZAVI and H. JAHANIFAR, 2010b. Study on antagonistic effects of *Talaromyces flavus* on *Verticillium albo-atrum*, the causal agent of potato wilt disease. Crop Prot. 29: 658-662.

NARAGHI, L., A. HEYDARI, S. REZAEE, M. RAZAVI, H. JAHANIFAR and E. MAHMOODI KHALEDI, 2010c. Biological control of tomato Verticillium wilt disease by *Talaromyces flavus*. J. Plant Protection Res. 50: 360-365.

PANDY, A., P. SELVAKUMAR, C. R. SOCCOL and P. NIGAM, 1994. Solid state fermentation for the production of industrial enzymes. Wiley Eastern Publisher, New Delhi, PP: 3- 10.

RAHMAN KHAN, M. and S. MAJID KHAN, 2001. Biomanagement of Fusarium wilt of tomato by the soil application of certain phosphates solublizing microorganisms. Int. J. Pest Manag. 47: 227-231.

RINI, C. R. and K. K. SULOCHANA, 2006. Management of seedling rot of chilli (*Capsicum annum* L.) using *Trichoderma spp.* and fluorescent pseudomonads (*pseudomonas fluorescens*). J. Trop. Agric. 44: 79-82.

SIDDIQUEE, S., U. K. YUSUF, K. HOSSAIN and S. JAHAN, 2009. In vitro studies on the potential *Trichoderma harzianum* for antagonistic properties against *Ganoderma boninense*. J. Food Agr. Environ. 7: 970-976.

SRINON, W., K. CHUNCHEEN, K. GIRATTIWARUTKUL, K. SOYTONG, and S. KANOKMEDHAKUL, 2006. Efficacies of antagonistic fungi antagonist Fusarium wilt disease of cucumber and tomato and the assey of its enzyme activity. J. Agric. Technol.

2: 191-201.

TJAMOS, E. C. 1991. Recovery of olive tree with *Verticillium dahliae* after individual application of soil solarization in established olive orchards. Plant Disease 75: 557-562.

WILLIAMS, J., J. M. CLARKSON, P. R. MILLS and R. M. COOPER, 2003. A selective medium for quantitative reisolation of *Trichoderma harzianum* from *Agaricus bisporus* compost. Appl. Environ. Microbiol. 69: 4190-4191.

WRIGHT, P. R. 1999. Premature senescence of cotton (*Gossypium hirsutum* L.)– predominantly a potassium disorder caused by an imbalance of source and sink. Plant and Soil 211: 231-239.

ZAD, S. J. 1987. Mycoflora of cotton seed in Iran. Rev. Plant Pathol. 66: 4311.

Address of the authors: Dr. L. NARAGHI and Dr. A. HEYDARI, Department of Plant Diseases Research, Iranian Research Institute of Plant Protection, P. O. Box 1454, Tehran, Iran; Eng. A. AHMADI, Khorasan Razavi Agricultural and Natural Resources Research Center; Eng. S. SARKARI and N. MALEKI, Ardebil Agricultural and Natural Resources Research Center.