بررسی کاربرد جداگانه و تلفیقی قارچ *Trichoderma harzianum* i2375 و ورمی‌کمپوست در مهارزیستی نماتد ریشه‌ی گرهی (*Meloidogyne javanica*) گوجه‌فرنگی

فریبا حیدری[1] و مجید اولیاء[1]

۱- به ترتیب دانشجوی سابق کارشناسی ارشد و دانشیار بیماری شناسی گیاهی، دانشکده کشاورزی دانشگاه شهرکرد.
* مسئول مکاتبه olia100@yahoo.com

تاریخ دریافت: ۹۴/۱۲/۲۲ تاریخ پذیرش: ۹۵/۱۲/۲۲

چکیده

در این تحقیق اثر تلفیقی و جداگانه قارچ *Trichoderma harzianum* i2375 و کود آلی ورمی‌کمپوست روی مهار بیماریزایی نماتد ریشه‌گرهی *Meloidogyne javanica* در شرایط گلخانه‌ای ارزیابی گردید. با استفاده از ویژگی‌های ریخت‌شناسی، نماتد ریشه‌گرهی و جدایه‌ی قارچ، مورد شناسایی قرار گرفتند. در شرایط گلخانه‌ای اثر کاربرد تلفیقی و جداگانه‌ی ورمی‌کمپوست و قارچ *T. harzianum* روی عوامل رشدی گیاه گوجه‌فرنگی و عوامل جمعیتی نماتد، دو بار مستقل از هم در دو زمان برداشت ۹۰ و ۱۲۰ روز در فصل بهار مورد بررسی قرار گرفتند. نتایج آزمایشات نشان داد که استفاده‌ی همزمان ورمی‌کمپوست و قارچ تریکودرما، علاوه بر مهار نماتد ریشه‌ی گرهی، عملکرد رشدی گیاه گوجه-فرنگی از جمله طول و وزن تر اندام هوایی را افزایش داده که این نشان از توانایی مهار نماتد ریشه‌ی گرهی با کاربرد تلفیقی دو عامل زیستی بوده است. تعداد گال در کاربرد تیمار تلفیقی دارای کمترین تعداد بوده و جمعیت نماتد در شرایط گلخانه تا ۷۸/۶ درصد توسط کاربرد همزمان قارچ و ورمی‌کمپوست مهار گردید، که تفاوت آنان با شاهد در سطح ۵ درصد معنی‌دار بود. نوع تیمار اعمال شده با توجه به میزان کنترل نماتد نشان از نقش بسزای استفاده همزمان ورمی-کمپوست و قارچ تریکودرما در کاهش شاخص‌های آلودگی و جمعیتی نماتد داشته است.

واژه‌های کلیدی: مهار زیستی، گوجه‌فرنگی، گلخانه، نماتد ریشه‌گرهی، *Trichoderma harzianum*.

مقدمه

با افزایش جمعیت دنیا و تلاش انسان برای بهبود کیفیت غذا، مصرف سبزی‌ها از جمله گوجه‌فرنگی به عنوان بخش مهمی از غذای وی در حال افزایش است. این گیاه مورد هجوم انواعی از بیماری‌ها و آفات، به‌ویژه نماتدها است. نماتدهای ریشه‌گرهی شامل گونه‌های جنس *Meloidogyne* با توجه به وسعت انتشار و دامنه-ی وسیع میزبانی، مهم‌ترین نماتدهای خسارت‌زای کشاورزی در جهان هستند (اوکا و همکاران ۲۰۰۰). برای مهار این نماتد روش‌های متفاوتی مانند تناوب زراعی، استفاده از ارقام مقاوم و کاربرد نماتدکش‌ها استفاده می‌شود، ولی استفاده از این روش‌ها در مواردی بسیار پرهزینه و در مواردی بدون کارآیی کافی بوده و موجب توجه و ترغیب محققان به بخش کشاورزی پایدار گردیده است (اویز و همکاران ۲۰۰۸).

یکی از عوامل کنترل زیستی بیمارگرها، قارچ‌های تریکودرما است که بررسی محققین حاکی از آن است که گونه‌های این قارچ تحت مکانیسم‌های خاصی سبب افزایش رشد گیاهان می‌شوند. از جمله مکانیسم‌های بیان شده می‌توان به کنترل زیستی بیماری‌های خاکزی با ترشح آنزیم، تولید آنتی‌بیوتیک و نفوذ در بدنه‌ی قارچ-های بیماری‌زا ،دفع مسمومیت وافزایش انتقال قند و اسید آمینه در ریشه‌ی گیاهان، ایجاد مقاومت القائی در برابر تنش‌های غیرزیستی، افزایش جذب عناصر غذایی با افزایش حلالیت عناصر، ترشح هورمون‌های رشد و شبه هورمون که می‌توانند به طور مستقیم تولید اتیلن را در

Archive of SID

www.SID.ir

گیاه در واکنش به حضور عامل بیماریزا تحریک نمایند، اشاره نمود (هارمن ۲۰۰۶).

نگرش جهانی بر بازیافت ضایعات آلی برای دستیابی به کشاورزی پایدار و محیط زیست عاری از آلودگی می‌باشد و برای توسعه‌ی کشاورزی پایدار، غنی‌سازی ضروری می‌باشد. استفاده از کرم‌های خاکی برای تجزیه‌ی ضایعات و تولید ورمی‌کمپوست برای دستیابی به این مقصود، مورد توجه می‌باشد. کودهای آلی و سایر مواد زاید آلی کشاورزی منبع مهمی برای بازگرداندن مواد آلی خاک تلقی شده و می‌تواند موجب حفظ حاصلخیزی خاک شود. تولید ورمی‌کمپوست، ضایعات آلی را کاهش داده و نیاز گیاهان را به مواد مغذی به شکل قابل دسترس آن‌ها تامین می‌کند و استفاده از این نوع کمپوست، نه‌تنها حاصلخیزی خاک را افزایش می‌دهد، بلکه قابلیت نگهداری آب را در خاک افزایش می‌دهد و به‌دلیل دارا بودن هورمون‌های رشد، آنزیم‌های خاک و همچنین ساختار فیزیکی مناسب و جمعیت میکروبی غنی، موجب افزایش عملکرد محصولات زراعی و مهار بیمارگرها می‌گردد (گارگ و همکاران ۲۰۰۶).

در مطالعه‌ای بنت و ویپس (۲۰۰۸) بیان نمودند که موفقیت در کنترل بیماری‌های گیاهی همراه با سلامت محیط زیست، توانسته مهارزیستی را یکی از مقبول‌ترین روش‌های کنترل بیماری‌ها در مبارزه‌ی تلفیقی بیماری-های گیاهی معرفی نماید. در این راستا استفاده از مواد آلی همانند کمپوست ضایعات کشاورزی، شهری، صنعتی و ورمی‌کمپوست به منظور کاهش مصرف کودهای شیمیایی و کاربرد میکروارگانیسم‌های مفید خاکزی مانند گونه‌های مختلف تریکودرمادر زمره‌ی اهداف کشاورزی پایدار به شمار می‌روند. دو گونه *Trichoderma harzianum* و *T. virens*، از معمولترین گونه‌های قارچ تریکودرما در بیشتر خاک‌های دنیا می-باشند که جدایه‌های مختلف آن‌ها به‌طور عمده دارای خاصیت آنتاگونیستی علیه عوامل بیماریزای گیاهی مهم خاکزی می‌باشند (ساموئل ۱۹۹۶).

استفاده از گونه‌های مختلف جنس *Trichoderma* به-عنوان عوامل مهارزیستی نخستین بار در سال ۱۹۳۲ به-وسیله‌ی ویندلینگ مطرح و مورد بررسی قرارگرفت (ویندلینگ ۱۹۳۲). گونه‌های *Trichoderma* آزادزی هستند و در تعامل با میکروارگانیسم‌های دیگر به سر می‌برند. چاکون و همکاران (۲۰۰۷) بیان نمودند که گونه-های قارچ *Trichoderma* به علت داشتن نرخ تولید مثلی زیاد علیه عوامل بیماری‌زا، به‌کارگیری مکانیسم‌های رقابت، پارازیتیسم و آنتی‌بیوز و تولید آنزیم‌های خارج سلولی نظیر آنزیم‌های آمیلولیتیک، پکتولیتیک، پروتئولیتیک، لیپولیتیک، کتینولیتیک و سلولیتیک و همچنین، کارآیی در تحریک رشد و القای مقاومت درگیاهان، در زمره‌ی عوامل مهم مهارزیستی بسیاری ازعوامل بیماریزا، از جمله نماتدهای انگل گیاهی، قرار دارند. همچنین، طبق بررسی‌های متعدد، گونه‌های این قارچ سبب افزایش رشد گیاهان می‌شوند. (شارون و همکاران ۲۰۰۱) در مطالعه‌ای دریافتند که رشد گیاهان گوجه‌فرنگی تیمار شده با جدایه‌های *T. virens* که در خاک‌های آلوده به نماتد ریشه‌گرهی کشت شده بودند، افزایش و گال‌های ریشه در مقایسه با شاهد بدون قارچ آنتاگونیست، کاهش یافت.

در بررسی اثر غلظت‌های مختلف سوسپانسیون اسپور جدایه آنتاگونیست *Trichoderma harzianum* غلظت 10^6اسپور بر میلی‌لیتر این جدایه را به‌عنوان موثرترین غلظت در کاهش قطر گال و توده‌ی تخم معرفی کردند، غلظت مذکور سبب افزایش میزان فنل کل در ریشه‌ی گوجه‌فرنگی شد (ملکی زیارتی و همکاران ۱۳۸۸). همچنین اثر تلفیقی قارچ مذکور و سالسیلیک اسید بر مقاومت گیاه گوجه‌فرنگی علیه نماتد ریشه‌گرهی بررسی شد که حاکی از نقش مثبت این عامل زیستی در مهار نماتد می‌باشد (ناصری نسب و همکاران ۱۳۹۰). در مطالعه‌ی دیگری اثر تلفیق دو عامل بیوکنترل *Trichoderma harzianum* و *Pseudomonas fluorescens* علیه نماتد *M. javanica*، تیمار قارچ به روش خیساندن خاک + باکتری به صورت اسپری روی برگ‌ها به عنوان بهترین تیمار معرفی شد. این تیمار علاوه بر کاهش بیماری در گلخانه، سبب افزایش وزن تر ریشه و قسمت های هوایی شد. در استفاده دو عامل به-صورت خاک کاربرد، کاهش بیماری به‌طور موثر

Archive of SID

www.SID.ir

مشاهده شد، ولی این تیمار در افزایش وزن تر ریشه و اندام‌های هوایی نسبت به شاهد موثر نبود (مختاری ۱۳۸۶).

معرفی آنتاگونیست‌های مختلف از جمله تریکودرما به محیط خاک می‌تواند از خسارت و زیان بیماری‌ها تا زیر آستانه‌ی زیان اقتصادی بکاهد (صالح‌پور و همکاران ۲۰۰۵). تیمار خاک با جدایه *T. harzianum* T-12 و *T. konningii* تولید توده‌ی تخم در نماتد *M. arenaria* را کاهش داده است (ویندهام و همکاران ۱۹۸۹). کاربرد دو گونه قارچ *Trichoderma harzianum* و *T. viride* سبب کاهش و توقف تولیدمثل و گالزایی نماتد *M. javanica* می‌شود و از طرفی در مقایسه با شاهد، گیاهان گوجه-فرنگی از رشد بیشتری برخوردار شدند (الهازمی و تاریکاود ۲۰۱۵). کاربرد ورمی‌کمپوست در شرایط گلخانه‌ای بر روی محصول گوجه‌فرنگی نیز نشان دهنده‌ی کاهش جمعیت نماتد ریشه‌گرهی *M. incognita* در گیاه و خاک تیمار شده با این کود آلی و طبیعی بوده، در این بررسی شاخص‌های آلودگی به نماتد اعم از تعداد تخم و لارو سن دوم (J_2) در خاک و سایر عوامل بیماریزای گیاهی از جمله قارچ‌ها و باکتری‌ها نیز کاهش نشان دادند (کاسترو و همکاران ۲۰۱۱). محققین دریافتند که کاربرد تلفیقی ورمی‌کمپوست و میکروارگانیسم‌هایی همچون قارچ *Trichoderma harzianum*، PGPR و قارچ‌های آربسکولار نه تنها سبب افزایش رشد گیاه گوجه‌فرنگی می‌شود، بلکه پارامترهای کیفی گیاه گوجه-فرنگی را نیز تقویت می‌کند (بتاچری و همکاران ۲۰۱۵).

در این تحقیق، اثرات کاربرد جداگانه و تلفیقی کود آلی ورمی‌کمپوست و جدایه‌ی قارچ *Trichoderma harzianum* با شماره ثبت i2375 (جدایه شهرستان شهرکرد) برای مهار نماتد ریشه‌گرهی *Meloidogyne javanica* در گیاه گوجه‌فرنگی در دو آزمایش جداگانه در شرایط گلخانه بررسی شده است.

مواد و روش‌ها

شناسایی و تهیه‌ی زاد مایه نماتد ریشه‌گرهی *Meloidogyne javanica*

جهت تهیه جمعیت خالص نماتد، تعدادی نمونه خاک و ریشه از مزارع آلوده گوجه‌فرنگی جمع‌آوری شد. در آزمایشگاه با استفاده از میکروسکوپ تشریح، تک توده تخم‌هایی از گال‌های ریشه انتخاب و جهت تکثیر و تهیه‌ی جمعیت خالص نماتد در نزدیکی ریشه نشاهای گوجه-فرنگی دو تا چهار برگی رقم فلات قرار داده شدند. نشاهای تلقیح شده به مدت ۹۰ روز در شرایط مساعد گلخانه نگهداری شدند. برای شناسایی گونه‌ی جمعیت خالص تهیه شده از ویژگی‌های ریخت‌شناسی و ریخت-سنجی ماده‌ی بالغ (الگوی شبکه کوتیکولی انتهای بدن ماده و ...) استفاده گردید (تیلور و نتچر ۱۹۷۴).

جداسازی و شناسایی قارچ *Trichoderma harzianum*

جهت جداسازی جدایه‌ی تریکودرمای مورد استفاده (*Trichoderma harzianum*)، نمونه برداری از خاک فرا-ریشه مزارع سیب زمینی شهرستان شهرکرد انجام شد. سپس خاک خشک و پودر شده روی محیط کشت عصاره‌ی سیب زمینی – دکستروز – آگار (PDA) منتقل گردید. قارچ رشد یافته با روش نوک ریسه (Hyphal tip) خالص سازی شد. برای شناسایی مورفولوژیک قارچ *Trichoderma harzianum* رنگ پرگنه، اندازه‌ی فیالید و مشخصات کنیدی و کنیدیوفور تعیین و از کلید شناسایی گمس و بیست (۱۹۹۸) استفاده گردید.

تهیه‌ی زادمایه قارچ و نماتد و افزودن به خاک گلدان‌ها

برای تهیه‌ی زادمایه‌ی قارچ از محیط کشت دانه‌ی گندم با نسبت وزنی نیم درصد در خاک استفاده شد. ابتدا ۵۰ گرم گندم در یک ارلن نیم لیتری ریخته و ۱۰۰ میلی لیتر آب مقطر به آن اضافه شد. سپس به مدت ۱۵ دقیقه در دمای ۱۲۰ درجه‌ی سانتی گراد و فشار یک اتمسفر در اتوکلاو سترون شدند. دیسک‌های سه الی پنج میلی‌متری از حاشیه‌ی پرگنه‌ی جدایه‌ی قارچ به این محیط تلقیح شد (جونز و همکاران ۲۰۰۳). ارلن‌ها جهت تکثیر اسپور قارچ به میزان مطلوب، به مدت یک ماه در دمای ۲۸ درجه‌ی سانتی‌گراد در محیط انکوباتور

Archive of SID

www.SID.ir

نگهداری شدند و هر پنج روز یکبار برای رشد یکنواخت قارچ، ارلن‌ها تکان داده شدند. سپس ده گرم زادمایه‌ی قارچ تولیدی (یک گرم از زادمایه در یک میلی لیتر آب مقطر سترون دارای 10^6 اسپور می‌باشد) با دو کیلوگرم خاک سترون شده به طور کامل مخلوط و به هر گلدان یک گیاهچه چهار برگی رقم فلات منتقل شد. در تیمار-های دارای ورمی‌کمپوست، گلدان‌ها با خاک به همراه ۲۰۰ گرم از فرآورده مخلوط شد. بعد از ۱۰ روز نگهداری گلدان‌ها در گلخانه با دمای ۲۰ الی ۲۵ درجه‌ی سانتی گراد، هر گلدان دو کیلویی با ۵۰۰۰ تخم و لارو سن دوم نماتد *M. javanica* استخراج شده به روش هوسی و بیکر (۱۹۷۳) تلقیح شد. در تیمار شاهد، به گلدان‌ها فقط آب مقطر سترون اضافه گردید.

شرایط نگهداری، تیمارها و شاخص‌های اندازه گیری شده

گلدان‌ها در یک آزمایش به مدت ۹۰ و در آزمایش دوم به مدت ۱۲۰ روز در شرایط گلخانه با دمای ۲۰ تا ۲۵ درجه‌ی سانتی گراد و رطوبت نسبی ۸۰-۶۰ درصد نگهداری و آبیاری منظم انجام شدند. هر واحد آزمایشی، یک گلدان حاوی دو کیلوگرم خاک سترون با بافت شنی لومی بود. جهت ارزیابی مهار زیستی نماتد ریشه‌گرهی در شرایط گلخانه‌ای با کاربرد جداگانه و تلفیقی قارچ و ورمی‌کمپوست، شاخص‌های رشدی گیاه (از جمله طول، وزن تر و خشک اندام هوایی و اندام زیرزمینی)، شاخص‌های آلودگی به نماتد (از جمله تعداد گال، کیسه تخم، تعداد تخم و جمعیت لارو سن دوم نماتد) و شاخص‌های جمعیتی نماتد (از جمله جمعیت نهایی (PF) که از مجموع لاروهای داخل خاک به همراه تمامی تخم-های نماتد موجود در ریشه است، شاخص تولیدمثل (RF) یا نسبت جمعیت نهایی به جمعیت اولیه، Mr% و NC%) اندازه‌گیری گردید (اووستن برینک ۱۹۶۶).

لازم به ذکر است که ترکیب جداگانه و تلفیقی قارچ، ورمی‌کمپوست و گیاه شاهد (به‌عنوان عامل اول) در حضور و عدم حضور نماتد (به‌عنوان عامل دوم) در دو زمان برداشت (۹۰ و ۱۲۰ روز) به‌عنوان عامل سوم در یک آزمایش فاکتوریل در قالب طرح کاملاً تصادفی در چهار تکرار مورد ارزیابی قرار گرفتند. کلیه‌ی داده‌ها توسط نرم افزار آماری SAS 9.1 آنالیز شدند. جدول تجزیه واریانس ترسیم و مقایسه میانگین حداقل مربعات با استفاده از آزمون توکی مورد مقایسه قرار گرفت.

نتایج و بحث

شناسایی گونه‌ی نماتد ریشه‌گرهی

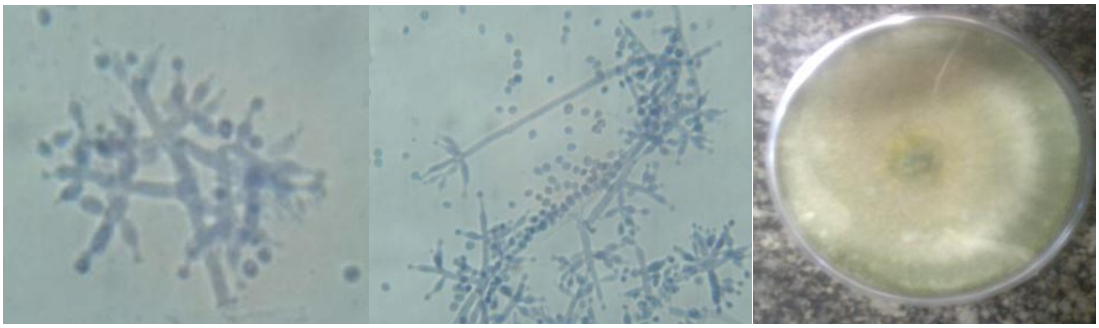
با بررسی خصوصیات ریخت‌شناسی و ریخت‌سنجی نماتد ماده و استفاده از کلید شناسایی معتبر (ایزنبک و تیریانتافیلو ۱۹۹۱) گونه‌ی نماتد *M. javanica* شناسایی گردید.

شناسایی گونه‌ی قارچ *Trichoderma harzianum*

قارچ *T. harzianum*: پرگنه ی قارچ روی محیط PDA در دمای ۲۵ درجه‌ی سانتی‌گراد بعد از یک هفته به صورت کرکی شکل تشکیل شد. روی سطح آن به طور یکنواخت کنیدیوم‌های سبز رنگ بعد از سه الی پنج روز ایجاد شد. بر اساس کلید گمس و بیست (۱۹۹۸)، جدایه-ی ارسالی از همدان و جدایه‌ی شهرکرد با اندازه‌ی کنیدیوم ۲/۸-۳/۰ (۱/۸) میکرومتر و ابعاد فیالید ۲/۵-۳/۵ × ۸/۵ -۴/۸ میکرومتر، با مشخصات *T. harzianum* مطابقت داشتند. کنیدی‌زایی این قارچ به‌صورت پراکنده و اغلب به‌صورت دوایر متحدالمرکز بود. پشت کلنی بی-رنگ تا زرد کمرنگ بودند. کنیدیوفورها منشعب، انشعاب‌ها معمولاً به‌صورت دو تا سه تایی و پیرامونی و به‌صورت ساختار هرمی شکل دیده شدند. کنیدیوم‌ها با طرحی صاف و بی‌رنگ تا سبز روشن بودند. قارچ *Trichoderma harzianum* جدا شده از شهرستان شهرکرد، تحت شماره‌ی IRAN2375C در کلکسیون ملی قارچ‌های زنده ایران در بخش رستنی‌های موسسه تحقیقات گیاهپزشکی کشور ثبت شد (شکل ۱).

Archive of SID

www.SID.ir



شکل ۱- پرگنه قارچ، ریسه و فیالید قارچ *T. harzianum* i2375 به ترتیب از راست به چپ.

نتایج آزمایش گلخانه‌ای

الف- اثر عوامل مورد بررسی بر روی شاخص‌های رشدی گیاه گوجه‌فرنگی

در بررسی جدول تجزیه واریانس این دوره از کاشت گیاهان با اعمال همان تیمارها و زمان‌های برداشت ۹۰ و ۱۲۰ روزه، نشان داد که عامل تیمار در اکثر صفات، تاثیر معنی‌داری بر صفات رشدی گیاه گوجه‌فرنگی داشته و از طرفی مانند نوبت اول آزمایش گلخانه‌ای نیز حضور و عدم حضور نماتد و نوع تیمار در کنار هم تاثیر معنی‌داری را بر صفات طول اندام هوایی و ریشه، وزن تر و خشک ریشه داشته است. در مورد صفت وزن تر ریشه فاکتور حضور و عدم حضور نماتد تاثیر معنی-داری را داشته است. اثر متقابل سه عامل مورد بررسی نیز در سطح ۵ درصد اثر معنی‌داری بر وزن خشک ریشه داشته است (جدول۱و شکل ۲). نتایج مقایسات میانگین، حاصل از میانگین هر دو زمان بوده است.

جدول ۱- مقایسه میانگین تاثیر متقابل عوامل مورد بررسی بر صفات رشدی گیاه گوجه‌فرنگی.

تیمار	طول اندام هوایی (cm)	وزن تر اندام هوایی (g)	وزن خشک اندام هوایی (g)	طول ریشه (cm)
شاهد (گیاه تنها)	۱۲۶/۷۵±۹/۵^{a}	۳۹/۳۱±۵ /۸^{a}	۲۶/۲۳±۵ /۴^{b}	۴۲/۷±۵ /۳^{a}
T. harzianum	۱۰۸/۱۹ ±۳/۷^{b}	۳۶/۵±۲ /۳^{a}	۲۶/۲۶±۶ /۸^{b}	۳۸/۶±۵ /۷^{a}
ورمی‌کمپوست	۱۱۱/۷۵±۹/۷ ^{a}	۴۲/۸±۴ /۴^{a}	۲۶/۶۷±۵ /۸^{b}	۳۲/۶±۹/۸^{b}
ورمی‌کمپوست+ *T. harzianum*	۹۹/۵±۴/۳^{b}	۴۴/۴۷±۴ /۲^{a}	۳۰/۹±۲ /۸^{ab}	۳۱/۲±۶/۵^{b}
نماتد تنها	۹۱/۶±۵/۲^{c}	۲۴/۳۷±۵ /۴^{b}	۲۱/۵۲±۳ /۸^{b}	۲۶/۸±۱۱/۲ ^{c}
T. harzianum+ نماتد	۱۰۳/۱۳±۷/۵^{b}	۳۹/۱۷±۳/۴^{a}	۲۳/۳۹±۷ /۴^{b}	۳۴/۵±۸ /۰۱^{b}
ورمی‌کمپوست + نماتد	۱۰۸/۳۷±۶ /۲^{b}	۴۴/۶۲±۶ /۴^{a}	۲۷/۱±۷ /۷^{b}	۳۵/۱±۴ /۹^{b}
ورمی‌کمپوست + *T. harzianum*+ نماتد	۱۰۵/۵±۶ /۸^{b}	۴۵/۱۲±۵ /۲^{a}	۳۴/۹±۱ /۹^{a}	۳۶/۵±۴/۵ ^{ab}

در هر ستون میانگین‌های دارای حروف متفاوت در سطح ۵ درصد بر اساس آزمون توکی دارای اختلاف معنی‌دار هستند.

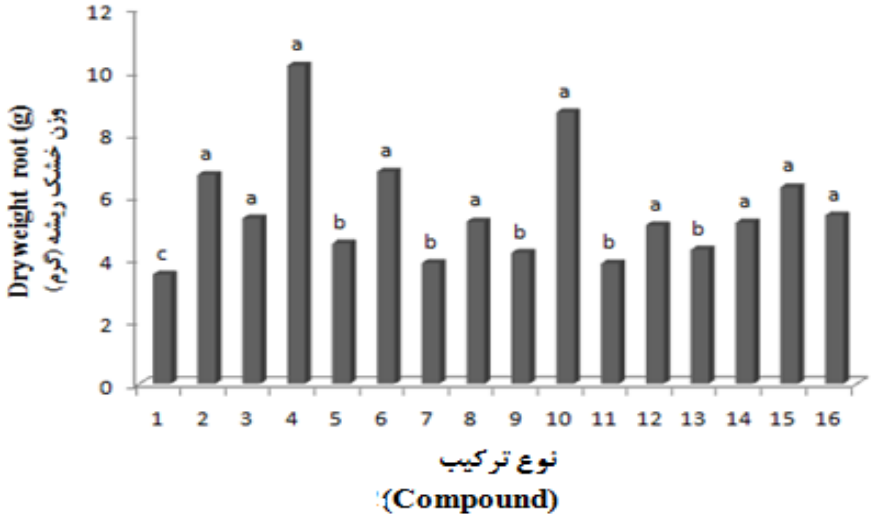
در بررسی اثر متقابل نماتد و تیمار بر صفات طول اندام هوایی و ریشه و وزن تر و خشک اندام هوایی می-توان دریافت که بیشترین طول اندام هوایی را تیمار شاهد (گیاه تنها) داشته که با تیمار ورمی‌کمپوست تفاوت

Archive of SID

www.SID.ir

معنی‌داری ندارد اما با سایر تیمارها چه در حضور و چه عدم حضور نماتد اختلاف معنی‌داری داشت. کمترین طول اندام هوایی و ریشه مربوط به تیمار فقط نماتد می‌باشد که با سایر موارد اختلاف معنی‌داری را دارد. بیشترین طول ریشه نیز به تیمار شاهد اختصاص دارد ولی تفاوت معنی‌داری با کاربرد جداگانه ورمی‌کمپوست تنها و همزمان ورمی‌کمپوست و قارچ در حضور نماتد ندارد. از لحاظ عددی تیمار تلفیقی در حضور نماتد بیشترین وزن تر اندام هوایی را به خود اختصاص داده اما به لحاظ آماری تفاوت معنی‌داری با استفاده از ورمی‌کمپوست تنها و در حضور نماتد ندارد و کمترین عدد این صفت مربوط به نماتد تنها و قارچ در کنار نماتد می‌باشد که با یکدیگر تفاوت معنی‌داری ندارند. تیمار نماتد تنها، شاهد و قارچ + نماتد، نیز کمترین اثر را بر صفت وزن خشک اندام هوایی دارند و با سایر موارد تفاوت معنی داری دارند (جدول۱).

در بررسی تاثیر متقابل عوامل مورد بررسی می‌توان نتیجه گرفت که کمترین وزن خشک ریشه در اثر متقابل زمان برداشت ۹۰ روز، عدم وجود نماتد و تیمار شاهد (گیاه تنها) (ترکیب شماره ۱ در شکل ۲) داشته و بر اساس دیدگاه عددی بیشترین اثر را زمان برداشت ۹۰ روز، عدم وجود نماتد و تیمار ورمی‌کمپوست + قارچ *T. harzianum* (ترکیب شماره ۴ در شکل ۲) داشته است.



شکل ۲- مقایسه میانگین تاثیر متقابل عوامل مورد بررسی بر وزن خشک ریشه در گیاه گوجه‌فرنگی.

اعداد دارای حروف متفاوت بر اساس آزمون توکی در سطح ۵ درصد دارای اختلاف معنی‌دار هستند.

۱. زمان برداشت ۹۰ روز، عدم وجود نماتد و تیمار شاهد ۲ . زمان برداشت ۹۰ روز، عدم وجود نماتد و تیمارقارچ ۳. زمان برداشت ۹۰ روز، عدم وجود نماتد و تیمار ورمی‌کمپوست ۴. زمان برداشت ۹۰ روز، عدم وجود نماتد و ترکیب ورمی‌کمپوست + قارچ ۵. زمان برداشت ۹۰ روز، وجود نماتد و تیمار نماتد تنها ۶. زمان برداشت ۹۰ روز، وجود نماتد و تیمارقارچ ۷. زمان برداشت ۹۰ روز، وجود نماتد و تیمار ورمی‌کمپوست ۸. زمان برداشت ۹۰ روز، وجود نماتد و تیمار ورمی‌کمپوست + قارچ

۹. زمان برداشت ۱۲۰ روز، عدم وجود نماتد و تیمار شاهد ۱۰. زمان برداشت ۱۲۰ روز، عدم وجود نماتد و تیمارقارچ ۱۱. زمان برداشت ۱۲۰ روز، عدم وجود نماتد و تیمار ورمی‌کمپوست ۱۲. زمان برداشت ۱۲۰ روز، عدم وجود نماتد و تیمار ورمی‌کمپوست + قارچ

۱۳. زمان برداشت ۱۲۰ روز، وجود نماتد و تیمار نماتد تنها ۱۴. زمان برداشت ۱۲۰ روز، وجود نماتد و تیمارقارچ ۱۵. زمان برداشت ۱۲۰ روز، وجود نماتد و تیمار ورمی‌کمپوست ۱۶. زمان برداشت ۱۲۰ روز، وجود نماتد و تیمار ورمی‌کمپوست + قارچ

www.SID.ir

جدول ۲- مقایسه میانگین تاثیر تیمار در کاهش آلودگی نماتد ریشه‌گرهی ***Meloidogyne javanica*** و شاخص‌های جمعیتی نماتد در گیاه گوجه‌فرنگی.

تیمار	تعداد گال در یک گرم ریشه	تعداد کیسه تخم در یک گرم ریشه	تعداد تخم داخل هر کیسه تخم	تعداد لارو سن دوم (J_2) در ۲۰۰ گرم خاک	جمعیت نهایی نماتد (PF)	شاخص تولید مثل نماتد (RF)	درصد تکثیر نماتد (Mr%)	درصد کنترل نماتد (NC%)
Nematode	۱۴۰/۵ ± ۲ /۶^{a}	۴۷± ۱۱ /۰۱^{a}	۱۴۹/۳± ۴ /۵^{a}	۱۲۷/۵± ۵ /۵^{a}	۳۵۲۲۱۸± ۵۳^{a}	۷۰/۴± ۴/۵^{a}	۱۰۰± ۴۵^{a}	۰^{b}
T. harzianum+ Nem.	۱۲۴/۵± ۵ /۲^{c}	۲۱/۶± ۳ /۵^{b}	۱۳۱/۶± ۵/۵^{b}	۳۸/۸± ۳ /۵^{b}	۱۴۱۴۶۸± ۶۵^{b}	۲۸/۲± ۵/۶^{b}	۴۰/۱±۲۰^{ab}	۶۴/۹ ±۱۲/۰۱^{a}
Vermicompost+ Nem.	۱۳۸/۵± ۳ /۵^{b}	۲۱/۱± ۷ /۲^{b}	۱۳۱/۰± ۳ /۵^{b}	۲۸/۲۵± ۲ /۷^{c}	۱۱۳۷۲۳± ۳۵^{b}	۲۲/۷± ۲/۷^{b}	۳۲/۲±۱۰/۲^{bc}	۷۱/۶±۴/۶^{a}
T. harzianum+ vermicompost+ Nem.	۲۲± ۲ /۷^{d}	۲۰/۶± ۷ /۵^{b}	۱۰۰± ۶ /۵^{c}	۲۲/۲۵± ۲ /۴^{c}	۸۶۲۶۷± ۱۶۵^{c}	۱۷/۲± ۴/۶^{c}	۲۴/۴±۸/۶^{c}	۷۸/۶±۲/۱^{a}

میانگین‌های دارای حروف متفاوت در ستون‌ها، بر اساس آزمون توکی در سطح ۵ درصد دارای اختلاف معنی‌دار هستند.

ب- تاثیر عوامل زمان برداشت و تیمار بر شاخص‌های بیماری‌زایی وجمعیتی نماتد ریشه‌گرهی *M. javanica*

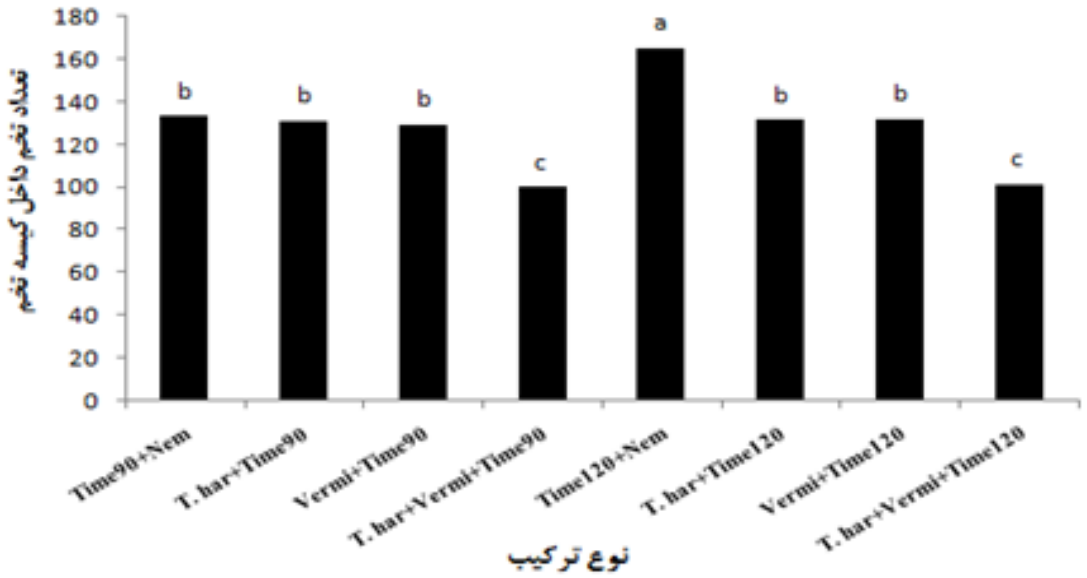
نتایج حاصل از آنالیز واریانس نشان داد که تنها نوع تیمارهای اعمال شده، در سطح یک درصد تاثیر معنی‌دار در کاهش میزان شاخص‌های آلودگی داشته‌اند.

نتایج مقایسه میانگین نشان می‌دهد که تعداد گال در کاربرد تیمار تلفیقی کمترین بوده که با سایر تیمارها تفاوت معنی‌داری را دارد و در بررسی تعداد کیسه تخم در یک گرم ریشه دیده می‌شود که تیمار نماتدی بیشترین تعداد کیسه تخم را داشته و با تیمارهای قارچ، ورمی‌کمپوست و همزمان قارچ و ورمی‌کمپوست تفاوت دارد ولی به لحاظ آماری این تفاوت معنی‌داری نیست. در مورد تعداد تخم در کیسه تخم نیز قارچ همراه ورمی-کمپوست کمترین تعداد را دارد. سایر تیمارها با تیمار فقط نماتد از نظر تعداد و جمعیت لارو سن دو در ۲۰۰ گرم خاک تفاوت معنی‌داری دارند ولی با یکدیگر تفاوت معنی‌داری ندارند (جدول ۲). نتایج مقایسات میانگین، حاصل از میانگین هر دو زمان بوده است.

در بررسی اثر متقابل زمان برداشت و تیمار بر روی صفت تعداد تخم در هر کیسه تخم می‌توان دریافت که بیشترین تعداد تخم، در زمان برداشت ۱۲۰ روز و نماتد تنها بوده و با سایر موارد تفاوت معنی‌داری را دارد. کمترین تعداد تخم را نیز تیمار تلفیقی و زمان برداشت ۹۰ روز داشته و با همین تیمار و زمان برداشت ۱۲۰ روز تفاوت معنی‌داری ندارد که نشان از نقش مثبت تیمار تلفیقی در کاهش این شاخص مهم دارد (شکل ۳).

Archive of SID

www.SID.ir



شکل۳- مقایسه میانگین تاثیر متقابل زمان برداشت و تیمار بر صفت تعداد تخم موجود در هر کیسه تخم در گیاه آلوده به نماتد ریشه‌گرهی *M. javanica* . اعداد دارای حروف متفاوت بر اساس آزمون توکی در سطح ۵ درصد دارای اختلاف معنی‌دار هستند.

نتایج حاصل از آنالیز واریانس نشان می‌دهد تیمارها، در سطح یک درصد تاثیر معنی‌داری بر شاخص‌های جمعیتی نماتد داشته‌اند. گیاهان با انواع تیمارها در مقایسه با تیمار فقط نماتد کمترین جمعیت نهایی نماتد، شاخص تولید مثل و درصد تکثیر را نشان می‌دهند. تمامی تیمارها در سطح ۵ درصد با شاهد اختلاف معنی-دار داشته، ولی با یکدیگر تفاوت معنی‌داری ندارند. جمعیت نماتد در شرایط گلخانه تا ۷۸/۶ درصد توسط کاربرد هم‌زمان قارچ و ورمی‌کمپوست مهار گردید، که تفاوت آنان با شاهد در سطح ۵ درصد معنی‌دار بود. در واقع تاثیر تیمار را بر کنترل نماتد با بررسی فاکتور درصد کنترل نماتد که تمامی تیمارها را از نظر جمعیت نهایی با شاهد مقایسه می‌کند، مشخص می‌کند (جدول ۲).

اختلال در تغذیه‌ی مواد معدنی یکی از اثرات عمومی عوامل بیماری‌زا از جمله نماتدها است. نماتدها جذب آب و مواد معدنی از ریشه و یا توانایی دسترسی این مواد به دیگر بافت‌ها را کاهش می‌دهند (جیمز و الیس ۱۹۷۸). بازتاب این اختلال سبب کمبود مواد معدنی در بخش-هایی از گیاه یا تجمع نادرست در اطراف محل آلودگی می‌گردد. کالرا و همکاران (۲۰۱۰) دریافتند که ورمی-کمپوست علاوه بر تامین منابع غذایی گیاه و کنترل بیماری‌های خاکزی، سبب رشد قارچ مفید *T. harzianum* هم می‌شود که در کاهش شاخص آلودگی نیز اثر دارد و با نتایج این تحقیق مطابقت دارد.

این کود ارگانیک به همراه *T. harzianum* در مهار نماتد *M. incognita* بسیار مفید ارزیابی شده است (پندی و همکاران ۲۰۱۱). ورمی‌کمپوست رشد قارچ مفید *Trichoderma viride* را افزایش می‌دهد و از سویی کاربرد ورمی‌کمپوست در رشد تریکودرما به کشاورزان در کنترل بیماری‌های بذرزاد و خاکزی کمک می‌کند (شفاخان و همکاران ۲۰۱۱). کاربرد قارچ *T. harzianum* همراه بذور و یا استفاده در خاک به‌طور چشمگیری سبب افزایش رشد گیاه لوبیا چشم بلبلی (*Vigna unguiculata* L.) و کاهش تولید مثل نماتد *M. incognita* و مهار آن می‌شود (نامآ و همکاران ۲۰۱۵). استفاده از اصلاح کننده‌های خاک مانند بقایای برگ‌های درخت بلوط سبب کاهش تعداد گال نماتد *M. javanica* در ریشه گیاه گوجه‌فرنگی شده و وزن خشک ریشه گیاهان در کاربرد قارچ *T. virens* و این بقایا افزایش معنی‌داری را داشته است و نسبت به شاهد تفاوت معنی‌داری از خود نشان داده است (مرادی و همکاران ۲۰۱۵).

Archive of SID

www.SID.ir

نتایج حاصل از آزمایش گلخانه‌ای موید تاثیر مشهود استفاده جداگانه و تلفیقی ورمی‌کمپوست و قارچ *T. harzianum* در افزایش رشد و سلامتی گیاهان و همچنین کاهش بیماریزایی و خسارت نماتد ریشه‌گرهی بوده است. نتایج حاصل نشان می‌دهد میزان مهار زیستی نماتد ریشه‌گرهی با کاربرد همزمان ورمی-کمپوست و قارچ *T. harzianum* مثبت بوده و زمان برداشت به عنوان فاکتوری در آزمایش گلخانه‌ای، تاثیر چشمگیری بر نتایج شاخص‌های جمعیتی و آلودگی نماتد نداشته اما بر صفات رشدی گیاه گوجه‌فرنگی مورد مطالعه در این تحقیق اثر گذار بوده است.

ترشح اسیدهای آلی همچون گلوکورونیک، سیتریک و فوماریک توسط گونه‌های *Trichoderma* باعث کاهش اسیدیته خاک و نهایتاً افزایش حلالیت و جذب ریزمغذی-های مهم مورد نیاز و موجود در خاک، برای رشد گیاه همچون آهن، منگنز، کاتیون‌های معدنی و فسفات‌ها می-شود (وینال و همکاران ۲۰۰۸). پژوهشگران معتقدند علت کاهش جمعیت نماتدها در حضور فرآورده‌های کرم‌های خاکی، ناشی از آن است که با فراهم شدن شرایط در اثر فعالیت این موجود و فرآورده‌های حاصل از آن، قارچ-هایی که به عنوان عامل مهار زیستی نماتد محسوب می-شوند زمینه لازم را جهت رشد و تکثیر پیدا می‌کنند و در نتیجه جمعیت نماتدها رو به کاهش می‌روند (ادوارد و بوهلن ۱۹۹۶). از طرفی تصور می‌شود یکی دیگر از علل کاهش جمعیت برخی نماتدهای انگل گیاهی در اثر فعالیت کرم‌خاکی و تولید کود آلی، ساختمان خاک، آب و عناصر در خاک تحت تاثیر قرار می‌گیرند و در نتیجه نماتد در چنین محیطی قادر به فعالیت نبوده و بنابراین جمعیت نماتدهای انگل گیاهی کاهش می‌یابد و از طرفی فعالیت نماتدهای قارچ‌خوار و باکتری‌خوار افزایش می-یابد (داش و همکاران ۱۹۸۰). در واقع توقف بیماری‌های گیاهی به وسیله ورمی‌کمپوست به فعالیت‌های رقابتی و آنتاگونیستی میکروارگانیسم‌ها و بعلاوه حضور ترکیبات آنتی بیوتیکی در ورمی‌کمپوست نسبت داده شده است.

امروزه نیز با توجه به آسیب‌های جبران ناپذیر سموم شیمیایی و خسارات بالای نماتدهای ریشه‌گرهی، استفاده از روش‌های ارگانیک و زیستی جهت مبارزه با بیماری‌ها و نماتدهای بیماریزای گیاهی امری ضروری و جدا نشدنی در کشاورزی پایدار می‌باشد. کاربرد تلفیقی کود آلی ورمی‌کمپوست و قارچ تریکودرما می‌توانند مهار نماتد ریشه‌گرهی را آسان‌تر و از سویی رشد گیاهان و تحمل آن‌ها به حمله سایر بیماری‌ها را افزایش دهند.

منابع مورد استفاده

مختاری س، ۱۳۸۶. بررسی کنترل بیولوژیک نماتد مولد غده *Meloidogynejavanica* توسط دو عامل بیوکنترل *Trichoderma harzianum*و*Pseudomonas fluorescens*. پایان‌نامه دوره‌ی کارشناسی ارشد، دانشکده کشاورزی دانشگاه تهران.

ملکی زیارتی ح، روستایی ع، صاحبانی ن، اعتباریان ح و امینیان ح، ۱۳۸۸. بررسی امکان کنترل بیولوژیک نماتد مولد گره ریشه گوجه‌فرنگی *Meloidogyne javanica* (Trube) Chitwood به وسیلهٔ قارچ *Trichoderma harzianum* Rifai در گلخانه و تغییرات کمی ترکیبات فنلی در گیاه. مجله علوم به زراعی نهال و بذر، جلد ۳، شماره۲. صفحه-های ۱۶۱ تا ۱۶۸.

ناصری نسب ف، صاحبانی ن و اعتباریان ح، ۱۳۹۰. بررسی اثر تلفیقی سالیسیلیک اسید و قارچ *Trichoderma harzianum* BI بر مقاومت گیاه گوجه‌فرنگی علیه نماتد گره‌زای ریشه *Meloidogyne javanica*. نشریه حفاظت گیاهان، جلد ۲۵، شماره۴. صفحه‌های ۴۱۷ تا ۴۲۵.

Archive of SID
www.SID.ir

Al-hazmi A andTariqjaveed M, 2015. Effects of different inoculums densities of *Trichoderma harzianum* and *Trichoderma viride* against *Meloidogyne javanica* on tomato. Saudi Journal of Biological Sciences 3: 1-5.

Avis TJ, Gravel V, Antoun H and Tweddell J, 2008. Multifaceted beneficial effects of rhizosphere microorganisms on plant health and productivity. Journal of Soil Biology and Biochemistry 40: 1733-1740

Bennett AJ and Whipps JM, 2008. Beneficial microorganism survival on seed, roots and in rhizosphere soil following application to seed during drum priming. Journal of Biological Control 44: 349-361.

Bhattacharyy AP, Chakraborty B and Chakraborty U, 2015. Field evaluation of vermicompost and selective bioinoculants for the improvement of health status of tomato plants. Journal of Biology and Earth Sciences 5: 25-33.

Castro L, Flores L and Uribe L, 2011. Effect of vermicompost and chitin on the control of *Meloidogyneincognita* in greenhouse tomato. Agronomía Costarricense 35: 21-32.

Chacon MR, Podriguez-galan O, Benitez T, Sousa S, Rey M, Liobell A and Delgado-jorana J, 2007. Microscopic & transcriptome analyses of early colonization of tomato roots by *Trichoderma harzianum*. Journal of International Microbiology 10:19-27.

Dash MC, Mishra PC and Behera N, 1980. Nematode feeding by tropical earthworms. Oikos 34: 322-325.

Edwarda CA and Bohlen DJ, 1996. Biology and Ecology of Earthworm. 3rd edition Chapman and Hall. London. 424p.

Eisenback JD and Triantaphyllou HH, 1991. Root-knot nematode: *Meloidogyne* spp. and races. Pp. 191-274. In: Nickle WR (ed.). Manual of Agricultural Nematology. New York, NY, USA.

Gams W and Bisset J, 1998. Morphology and identification of *Trichoderma*. Pp 3-34. In: Harman GE and Kubicek CP (eds.). *Trichoderma* &*Gliocladium* . Taylor and Francis. London.

Garg P, Gupta A and Satya S, 2006. Vermicomposting of different type of waste using *Eisenia fetida*. Biores Technology 97: 391-395.

Harman G, 2006. Overview of mechanisms and uses of *Trichoderma* spp. Phytopathology 96: 190–194.

Hussey RS and Barker KR, 1973. A comparison of methods of collecting inocula of *Meloidogyne* spp. including a new technique. Plant Disease Reporter 57: 1025-1028.

James GH and Ellis BC, 1978. Plant Disease an Advanced Treatise. How Plants Differ from Disease. Academic Press. INC. 3: 166-170.

Jones EE, Mead A and WhippsJM, 2003. Evaluation of different *Coniothyrium minitans* inoculums sources and application rates on apothecial production and infection of *Sclerotinia sclerotiorum sclerotia*. Soil Biological and Biochemistry 35: 409-419.

Kalra A, Chandra M, AwasthiA, Singh AK and Khanuia S PS, 2010. Natural compounds enhancing growth and survival of rhizobial inoculants in vermicompost-based formulation. Journal of Biology and Fertility of Soils 46: 521–524.

Archive of SID

www.SID.ir

Moradi R, Moradi F, Mirehki K and Abdillahi M, 2015. Plant debris of oak forest as soil amendment, to improve the biocontrol activity of *Pseudomonas fluorescens* and *Trichoderma vierns* against *Meloidogyne javanica* in tomato. Journal of Crop Protection 4: 373-384.

Nama CP, Sharma HK and Siddiqui AU, 2015. Efficacy of bioagents against root-knot nematode *Meloidogyne incognita* infecting cowpea *Vigna unguiculata* L. Journal of Biological Pest 8:19-22

Oka Y, Kaltai H, BareylM, More M, Sharon E, Chet I and SpiegelY, 2000. New strategies for the control of plant parasitic nematodes. Journal of Pest Manage Science 56: 983-988

Oostenbrink M, 1966. Major characteristics of the relation between nematodes and plants. Meded. Landbouwhogech. Wageningen. 66: 1-46.

Pandey R, Mishra AK, Tiwari S and Kalra A, 2011. Nematode inhibiting organic materials and a strain of *Trichoderma harzianum* effectively manages *Meloidogyne incognita* in *Withaniasomnifera* fields. Journal of Biocontrol Science and Technology 21: 1495_1499.

Salehpour M, Etebarian HR, Poustaei A, Khodakaramian G and Aminian H, 2005. Biological control of common root rot of wheat *(Bipolaris sorokiniana*), by *Trichoderma* isolates.Journal of Plant Pathology 4: 85-90.

Samuels GJ, 1996. *Trichoderma*: a review of biology and systematics of the genus (Centenary Review). Mycological Research 100: 923-935.

Shafa-khan NB, Bagwan MAI & Tamboli RR, 2011. Mass Multiplication and Shelf life of Liquid Fermented final Product of *Trichoderma viride* in Different Formulations. Society of Education India. Advances in Bioresearch 2: 178 – 182.

Sharon E, Bar-eyal M, ChetI, Herrera-esterellaA, Keleifeld O and Spiegel Y, 2001. Biological control of the root_knot nematode *Meloidogyne javanica* by *Trichoderma harzianum*.Journal of Phytopathology 91: 687-693.

Taylor DP and Netscher C, 1974. An improved technique for preparing perineal patterns of *Meloidogyne* spp. Nematologica 20: 268-269.

Vinal F, Sivasithamparam K, Ghisalberti EI, Marra R, Wooa SL and Lorito M, 2008. *Trichoderma* – plant- pathogen interactions.Journal of Soil Biological and Biochemistry 40: 1-10.

Weindling R, 1932. *Trichoderma lingorum* as a parasite of other fungi. Phytopathology 22: 837-845.

Windham GI, Wingham MT and Williams WP, 1989. Effects of *Trichoderma* spp on maize grows and *Meloidogyne arenaria* reproduction. Plant Disease 73: 493-494.

Archive of SID

www.SID.ir

Studying the Separate and Integrated Application of Fungus, *Trichoderma harzianum* i2375 and Vermicompost in Control of Root-knot Nematode, *Meloidogyne javanica*, on Tomato

F Heidari[1] and M Oila[1*]

Former MSc Student and Associated Professor, Department of Plant Pathology Faculty of Agriculture, Shahrekord University.
*Corresponding author: olia100@yahoo.com

Received: 2016.03.12 Accepted: 2017.03.12

Abstract

In the present study, Integrated and separate application of *Trichoderma harzianum* i2375 and vermicompost on the control of root-knot nematode *Meloidogyne javanica* was examined under greenhouse conditions on tomato. Root-knot nematode and fungal isolate identified using morphological characters. In the green house experiment, effects of integrated and separate application of vermicompost and *T. harzianum* i2375 on tomato plants growth factors and nematode population, in two independent of 90 and 120 days in spring season were tested. Results indicated that integrated application of both the agents not only controlled the target nematode but also enhanced growth parameters of the host plant including fresh weight and length of tomato upper portion which shows the ability of integrated application of these two bio-agents. The number of galls in the application of the integrated treatment was the least and the nematode population in the green-house conditions was up to 78.6% with the use of integrated *Trichoderma* and vermicompost, which was significant in comparison with the control at 5% level. Kind of the treatment with reference to the nematode percentage control indicates key role of using of the fungal isolate along with the vermicompost in reducing nematode infection and population indices.

Keywords: Biological control, Tomato, Greenhouse, Root-knot Nematode, *Trichoderma harzianum.*

Archive of SID

www.SID.ir