

اثرات سه نوع کمپوست بر بیماری پژمردگی ورتیسیلیومی پنبه *Verticillium dahliae* در شرایط گلخانه

فاطمه شبانی^۱ و عبدالحسین جمالی^{۲*}

۱- دانشجوی سابق کارشناسی ارشد رشته بیماری‌شناسی گیاهی، گروه گیاهپزشکی دانشکده کشاورزی دانشگاه شهرکرد

۲- استادیار بیماری‌شناسی گیاهی، گروه گیاهپزشکی دانشکده کشاورزی دانشگاه شهرکرد

*مسئول مکاتبه ahjmaliz@yahoo.com

تاریخ پذیرش: ۹۵/۱۲/۱۵

تاریخ دریافت: ۹۴/۱۲/۱۷

چکیده

پنبه (*Gossypium hirsutum*) از گیاهان مهم صنعتی و استراتژیک به‌شمار می‌رود که پژمردگی ورتیسیلیومی از مخرب‌ترین بیماری‌های آن است. این تحقیق به منظور بررسی تأثیر سه نوع کمپوست (حاصل از ضایعات شهری، بقایای گیاهی و فراورده‌ی سیلوی دامپروری) بر پیشرفت بیماری پژمردگی ورتیسیلیومی پنبه رقم ورامین در گلخانه تحقیقاتی دانشگاه شهرکرد انجام گرفت. آزمایش به صورت فاکتوریل در قالب طرح کاملاً تصادفی با چهار تکرار انجام شد. در تیمارهای مختلف، میکرواسکروت‌های *Verticillium dahliae* (پاتوتیپ غیربرگریز) به نسبت‌های صفر، پنج و ده عدد در هر گرم خاک، و کمپوست مورد نظر به نسبت ۳۵ درصد وزنی، قبل از کشت با خاک مخلوط شد. نتایج نشان داد که کمپوست‌های به‌کار رفته شاخص پژمردگی بوته‌ها را کاهش و وزن تر اندام هوایی را افزایش داده‌اند. مقایسه میانگین‌ها نشان داد که تیمار بقایای گیاهی و فراورده‌ی سیلوی پژمردگی بوته‌ها را نسبت به شاهد کاهش معنی‌دار داده و در یک گروه آماری قرار گرفتند، در حالی که تیمار کاربرد کمپوست ضایعات شهری از این نظر در گروه شاهد قرار گرفت. همچنین وزن تر اندام هوایی در کاربرد هر سه کمپوست افزایش معنی‌داری نسبت به شاهد نشان داد. برآورد جمعیت قارچ در خاک بیانگر کاهش بقای قارچ با کاربرد کمپوست‌ها بود. بررسی‌های آزمایشگاهی نشان‌دهنده‌ی کاهش رشد ریشه‌های قارچ در محیط کشت حاوی عصاره کمپوست بقایای گیاهی بود. در مقایسه‌ی سه کمپوست، اثر دو کمپوست بقایای گیاهی و فراورده‌ی سیلوی بر شاخص پژمردگی، وزن تر اندام هوایی و جمعیت نهایی قارچ در خاک اختلاف آماری نشان نداد. بر اساس این نتایج کاربرد دو کمپوست بقایای گیاهی و فراورده‌ی سیلوی برای کاهش خسارت پژمردگی ورتیسیلیومی پنبه در قالب مدیریت تلفیقی بیماری مفید و مستلزم تحقیقات بیشتر است.

واژه‌های کلیدی: پنبه، سیلوی دامپروری، کمپوست بقایای گیاهی، *Verticillium dahlia*.

مقدمه

(۲۰۰۵)، از جمله بیماری‌های پنبه در اغلب مناطق تولید آن در جهان است (الدون و هیلوکس ۱۹۹۶). گیاه آلوده معمولاً علائمی چون زردی حاشیه‌ای و یا سوختگی در برگ‌ها، تغییر رنگ دستجات آوندی ساقه، کاهش میزان فتوسنتز و افزایش میزان تنفس نشان می‌دهد که منجر به افت قابل توجه بیوماس گیاه و خسارت شدید به محصول می‌گردد (پاپولوماتاس و همکاران ۱۹۹۲). میکرواسکروت‌ها ساختارهای استراحتی قارچ هستند و می‌توانند تا بیش از

پنبه (*Gossypium hirsutum* L.) از گیاهان مهم صنعتی و استراتژیک به‌شمار می‌رود که در بیش از هفتاد کشور جهان کشت و کار می‌شود. پژمردگی ورتیسیلیومی که توسط قارچ خاکزی *Verticillium dahliae* Klebahn ایجاد می‌گردد و روی طیف وسیعی از درختان و گیاهان علفی ایجاد خسارت می‌کند (لوپز-اسکوادرو و بلانکو-لوپز

برآورد میزان میکرواسکلروت‌های زنده در خاک برای پیش‌آگاهی از بیماری و همچنین ارزیابی اثر روش‌های کنترل اهمیت دارد. (گود و ترمورشویزن ۲۰۰۳). اصلاح خاک با بقایای آلی حیوانی یا گیاهی در کاهش بیماری‌های گیاهی مختلف کاربرد دارد و اثرات آن‌ها در کاهش خسارت بسیاری از بیمارگرهای گیاهی خاک‌زی به‌خوبی مشخص شده است. در بیماری‌های آوندی مانند پژمردگی ورتیسیلیومی می‌توان با افزودن ماده آلی به خاک جمعیت بیمارگر و میزان وقوع بیماری را کاهش داد (لازاروویتس و همکاران ۲۰۰۰). ترکیبات شیمیایی که از تجزیه‌ی مواد آلی ایجاد می‌شوند، می‌توانند با تحریک آنتاگونیست‌ها اثر مستقیم یا غیرمستقیم بر میکرواسکلروت‌های بیمارگر یا توسعه بیماری گیاهی داشته باشند (کوک و بیکر ۱۹۸۳).

اثر انواع کمپوست‌ها در جلوگیری از بیماری‌ها متفاوت است و پیش‌گویی اثرات آنها مشکل می‌باشد (وان‌در‌گاگ و همکاران ۲۰۰۷). گارسیا-مینا و همکاران (۱۹۹۶) در بیان نتایج تحقیق خود بیان کردند که کاربرد کودهای آلی می‌تواند سبب تحریک دفاع طبیعی گیاه فلفل شود و رشد نهال‌ها را در خاک‌های فقیر بهبود بخشد و روشی کارآ و اکولوژیک را برای کنترل پژمردگی ورتیسیلیومی فلفل بوجود آورد. از طرف دیگر به گزارش سیرا ویتلینگ و همکاران (۱۹۹۶) پژمردگی ورتیسیلیومی کتان ناشی از *Fusarium oxysporum* با استفاده از کمپوست ضایعات جامد شهری کنترل گردید. محققین بیان کردند که اثر کمپوست در کنترل بیماری بیشتر بصورت بیولوژیک و عمدتاً از طریق افزایش جمعیت و فعالیت آنتاگونیست‌های خاک مثل باسیلوس، تریکودرما و سودوموناس صورت می‌گیرد.

هدف از این مطالعه، ارزیابی و مقایسه‌ی اثرات سه نوع کمپوست بر شدت پژمردگی ورتیسیلیومی پنبه و تأثیر آن بر وزن تر اندام هوایی تحت شرایط کنترل‌شده‌ی گلخانه‌ای، هم‌چنین اثرات کمپوست‌ها بر بقای میکرواسکلروت‌های *V. dahliae* در خاک آلوده بوده است.

ده سال در خاک باقی بمانند (شناتورست ۱۹۸۱، آنتونوپولس و همکاران ۲۰۰۸). میزان مایه تلقیح بیمارگر در خاک عامل مهمی در گسترش بیماری است (پولمام و دی‌وای ۱۹۸۲، بچارانو-الکازر و همکاران ۱۹۹۵).

بیماری پژمردگی ورتیسیلیومی معمولاً با استفاده از فعالیت‌های زراعی و ارقام متحمل مدیریت می‌شود. هیچ کدام از منابع ژنتیکی مقاومت، گیاه را از آلودگی سیستم آوندی حفاظت نمی‌کند و هیچ‌یک از ارقام متداول پنبه که تحت آبیاری کشت می‌شوند، در برابر *V. dahliae* مصون نیستند، گرچه بعضی از ارقام نسبت به بقیه متحمل‌تر هستند (کلسن‌هنکز و دورال ۲۰۰۰). عناصر غذایی در کنار عوامل دیگر از قبیل تناوب زراعی، ضدعفونی بذر و تنظیم آبیاری در کنترل عامل بیماری حائز اهمیت می‌باشد (لامبرت و همکاران ۲۰۰۵). تناوب زراعی می‌تواند در مدیریت پژمردگی ورتیسیلیومی پنبه مؤثر باشد (زیائو و سوبارو ۱۹۹۸)، اما بدلیل بقای طولانی مدت قارچ در خاک و طیف وسیع میزبانی آن، در عمل قابل اجرا نیست. همچنین برخی ترکیبات قارچکش نیز برای کنترل بیماری مؤثر هستند، ولی مشکلاتی چون اثرات نامطلوب روی محیط زیست، احتمال مقاوم شدن بیمارگر (گلدمن و همکاران ۱۹۹۴) و اثر منفی بر میکروارگانیسم‌های مفید خاک دارند. کنترل *V. dahliae* به‌ویژه به علت توانایی قارچ برای بقا در خاک مزرعه به مدت چندین سال به صورت انواع مختلف میسلیوم و میکرواسکلروت مشکل است (شناتورست ۱۹۸۱). بنابراین به کارگیری روش‌های جایگزین جهت مدیریت تلفیقی این بیماری ضروری به نظر می‌رسد.

در بیماری پژمردگی ورتیسیلیومی میزان مایه تلقیح بیمارگر در خاک و قدرت رشد و مقاومت گیاه عوامل تعیین‌کننده‌ی شدت آلودگی هستند و با کاهش میزان مایه تلقیح و تقویت رشد گیاهان می‌توان میزان بیماری و خسارت آن را کاهش داد. به گزارش زیائوپینگ و همکاران (۲۰۱۳) میزان میکرواسکلروت‌های زنده شدت بیماری پژمردگی را در گیاهان، از جمله پنبه و توت فرنگی، تعیین می‌کند و یکی از راهکارهای کلیدی در کنترل بیماری کاهش اندازه‌ی جمعیت میکرواسکلروت‌های زنده‌ی خاک‌زی است.

مواد و روش‌ها

تهیه‌ی کمپوست‌های مورد استفاده

در این بررسی از سه نوع کمپوست آماده استفاده شد:

الف- کمپوست تولیدشده از ضایعات شهری: این نوع کمپوست از کارخانه کود آلی شهرداری اصفهان تهیه شد.

ب- کمپوست تولیدی از بقایای گیاهی: این نوع کمپوست باغبانی از یک گلخانه در شهرستان شهرکرد خریداری شد. این کمپوست مخلوطی از سبوس برنج، ماسه، خاک برگ و عناصر فسفر، ازت، پتاسیم، آهن و منیزیوم بود.

ج- فرآورده حاصل از سیلوی دامپروی: این نوع کمپوست از یک گاوداری در شهرستان شهرکرد تهیه شد و شامل برگ‌ها و دانه‌های ذرت علوفه‌ای بود که به مدت ۶ ماه سیلو شده بود.

تولید میکرواسکروت بیمارگر و تعیین تعداد زادمایه

در این بررسی از پاتوتیپ غیربرگریز *Verticillium dahliae* که از کشت ساقه‌ی آلوده پنبه و رامین بدست آمده بود، استفاده شد. به منظور تهیه میکرواسکروت بیمارگر، از روش کشت در محیط مایع گلوکز و نمک‌های معدنی (هال و لی ۱۹۷۲) استفاده گردید. این محیط کشت پس از استریل شدن در تشتک‌های پتری به قطر ۹ سانتی‌متر به میزان ۱۰ تا ۱۵ میلی‌لیتر ریخته شد و پس از خنک شدن، یک قرص پنج میلی‌متری از حاشیه کشت تازه قارچ ورتیسیلیوم در وسط هر تشتک پتری قرار گرفت. تشتک‌ها به مدت چهار هفته در دمای ۲۵-۲۴ درجه‌ی سانتی‌گراد در انکوباتور قرار گرفتند. پس از این مدت در اتاق کشت استریل درب تشتک حاوی محیط مایع به مدت یک شبانه‌روز برداشته شد تا محیط کشت خشک شود.

برای تعیین تعداد زادمایه در مایه‌ی آلوده‌کننده، از روش هال و لی (۱۹۷۲) استفاده شد. برای این منظور محیط خشک شده حاوی میکرواسکروت با مقداری ماسه بادی سترون مخلوط و با دستگاه همزن یکنواخت گردید. سپس نمونه‌های یک گرمی از این مخلوط در ۱۰۰ میلی‌لیتر آب مقطر سترون به حالت سوسپانسیون در آمد (در پنج

تکرار) و مقدار نیم میلی‌لیتر از این سوسپانسیون‌ها در سطح محیط آب- آگار پخش شد (در سه تکرار). پس از مدت چهار روز نگهداری در انکوباتور با دمای ۲۵ درجه‌ی سانتی‌گراد، تعداد زادمایه‌های جوانه‌زده در زیر میکروسکوپ و یا بینوکولر شمارش و تعداد آن‌ها در هر گرم از مخلوط میکرواسکروت و ماسه بادی مشخص گردید.

آماده سازی بذور پنبه

جهت تهیه‌ی گیاهچه‌های پنبه، بذر پنبه رقم ورامین (حساس به بیماری پژمردگی ورتیسیلیومی) تهیه شد. ابتدا بذور به مدت ۲۰ تا ۳۰ ثانیه در اسید سولفوریک ۹۸٪ (برای حذف کرک‌های موجود در سطح آن) قرار گرفت و پس از شستشو با آب به مدت پنج دقیقه در محلول هیپوکلریت سدیم ۵٪ ضدعفونی سطحی گردید و در نهایت دو مرتبه با آب مقطر استریل شسته شد. پس از آن بذور بر روی کاغذ صافی مرطوب و به مدت ۴۸ ساعت در شرایط آزمایشگاه نگهداری شدند تا جوانه زده و آماده کاشت گردند.

بررسی اثر کمپوست‌ها بر شدت بیماری و وزن تر گیاه

آزمایش در گلخانه دانشکده کشاورزی دانشگاه شهرکرد و به صورت فاکتوریل در قالب طرح کاملاً تصادفی با ۱۲ تیمار و چهار تکرار انجام شد. مخلوط خاک گلدان (ترکیبی از ۲۵٪ کود حیوانی پوسیده، ۲۵٪ ماسه بادی و ۵۰٪ خاک زراعی) به عنوان بستر آماده گردید. هر کمپوست به نسبت ۳۵ درصد وزنی به طور کامل قبل از کشت با خاک مخلوط شد. برای تلقیح بیمارگر، میکرواسکروت‌های قارچ به سه نسبت صفر (کنترل)، پنج و ده عدد به ازای هر گرم خاک مخلوط گردید. در هر گلدان هشت بذر جوانه‌زده کشت شد که پس از تنک کردن چهار بوته در گلدان نگه داشته شد. گلدان‌ها در گلخانه در شرایط دمایی ۲۲ تا ۲۸ درجه‌ی سانتی‌گراد و دوره‌ی روشنایی ۱۴ ساعت به مدت ۱۲۰ روز نگهداری شدند. ارزیابی نهایی با محاسبه شاخص

میلی گرم در لیتر) استفاده شد. تشتک‌ها در انکوباتور با دمای ۲۵ درجه‌ی سانتی‌گراد نگهداری و پس از چهار تا پنج روز با استفاده از استریومیکروسکوپ کلنی‌های دارای میکرواسکلروت و فیالیدهای فراهم شمارش گردید (زیائو و سوبارو ۱۹۹۸).

آزمایش تأثیر عصاره‌ی کمپوست‌ها بر رشد قارچ در شرایط آزمایشگاه

برای تهیه‌ی عصاره‌ی کمپوست، ۱۰ گرم از هر کمپوست را در سایه خشک و سپس آسیاب کرده، سوسپانسیونی به حجم ۳۰۰ میلی‌لیتر از پودر خشک شده کمپوست و آب مقطر استریل تهیه شد. سپس سوسپانسیون به مدت ۱۰ دقیقه جوشانده شده و برای ۲۴ ساعت در یخچال با دمای چهار درجه‌ی سانتی‌گراد بر روی شیکر با ۸۰ دور در دقیقه قرار گرفت. به منظور صاف کردن عصاره‌ها از کاغذ صافی واتمن شماره یک و برای استریل کردن آن‌ها از صافی میکروبیولوژیک با روزه‌های دو میکرونی استفاده شد. عصاره‌های به‌دست آمده درون ظروف تیره در یخچال نگهداری گردید (هوانگ و همکاران ۲۰۰۶).

برای بررسی اثر عصاره‌ی استریل‌شده هر کمپوست بر رشد ریشه‌های قارچ ورتیسیلیوم در آزمایشگاه، آزمایشی به‌صورت طرح کاملاً تصادفی با هشت تیمار و چهار تکرار انجام شد. عصاره‌ی هر کمپوست در دو نسبت ۱/۵ و ۳ درصد آماده گردید. سپس یک میلی‌لیتر از هر عصاره مورد نظر با چهار میلی‌لیتر محیط زاپک-داکس-آگار مخلوط و در تشتک پتری ریخته شد. در تیمار شاهد به جای عصاره، آب مقطر استریل بکار رفت. پس از انعقاد محیط کشت در وسط هر تشتک یک حلقه از حاشیه‌ی پرگنه‌ی جوان قارچ قرار گرفت و تشتک‌ها به درون انکوباتور با دمای ۲۶ درجه‌ی سانتی‌گراد منتقل شدند. رشد شعاعی پرگنه قارچ ورتیسیلیوم بعد از پرشدن تشتک‌های شاهد اندازه‌گیری شد. در انتها با مقایسه رشد شعاعی پرگنه ورتیسیلیوم در

پژمردگی بوته‌ها و اندازه‌گیری وزن تر اندام هوایی صورت گرفت.

ارزیابی شاخص پژمردگی

برای ارزیابی شاخص پژمردگی بوته‌ها در پایان آزمایش (۱۲۰ روز پس از کشت)، با بررسی علائم ظاهری در شاخ‌وبرگ، به هر بوته بسته به شدت آلودگی درجات مختلف زیر داده شد. درجه صفر: بدون علائم، درجه یک: سوختگی و رنگ‌پریدگی بین رگبرگ‌ها (تا حداکثر ۲۵٪ برگ‌ها) بدون ریزش برگ، درجه دو: سوختگی و رنگ‌پریدگی بین رگبرگ‌ها (بین ۲۵ تا ۵۰٪ برگ‌ها) همراه با ریزش برخی برگ‌ها، درجه سه: سوختگی و رنگ‌پریدگی بین رگبرگ‌ها (بالای ۵۰٪ برگ‌ها) همراه با ریزش شدیدتر برگ‌ها، درجه چهار: ریزش کامل برگ‌ها و مرگ کامل گیاه (بوٹ ۱۹۷۰).

برآورد جمعیت قارچ در خاک

برآورد جمعیت قارچ در خاک گلدان‌ها بلافاصله در انتهای آزمایش کاربرد کمپوست‌ها در خاک انجام شد تا تغییر احتمالی جمعیت قارچ در خاک تحت اثر تیمارهای مذکور بررسی شود. بدین منظور تعداد میکرواسکلروت *V. dahliae* در هر گرم خاک به روش الکل-آگار بررسی شد. بدین صورت که پس از خارج کردن بوته‌ها، خاک گلدان‌های تیمارهای مختلف با نگهداری به مدت دو تا چهار هفته در شرایط اتاق (دمای ۲۴ درجه‌ی سانتی‌گراد) خشک شد، آن‌گاه خاک مورد نظر کوبیده و یکنواخت شده و برای جداسازی بقایای آلی و قسمت‌های درشت، از الکل ۱۲۰۰ میکرون عبور داده شد. یک گرم از هر نمونه خاک با ۱۰ میلی‌لیتر آب مقطر استریل به‌صورت سوسپانسیون درآمد. یک میلی‌لیتر از محلول خاک همراه با ۰/۱ میلی‌لیتر اتانول خالص در ۲۰ میلی‌لیتر محیط آب-آگار استریل (قبل از سردشدن) مخلوط شده و در سه تشتک (سه تکرار) توزیع گردید. جهت کاهش آلودگی باکتریایی، از آنتی‌بیوتیک‌های ریفامپین (۶۰ میلی‌گرم در لیتر) و آمپی‌سیلین (۳۲۰

افزایش میزان مایه تلقیح، کمپوست ضایعات شهری اثر بهتری در کاهش پژمردگی نشان داد به طوری که با کاربرد این کمپوست در خاک آلوده به ۱۰ میکرواسکلروت قارچ در هر گرم خاک، کاهش معنی داری در شاخص پژمردگی نسبت به شاهد مشاهده شد.

تأثیر کمپوست بر وزن تر بوته‌های پنبه:

در آزمایش گلخانه‌ای، کاربرد کمپوست در تیمارهای مختلف، وزن تر اندام هوایی بوته را افزایش داد. تجزیه واریانس داده‌های مربوط به ارزیابی اثر سه نوع کمپوست بر وزن تر اندام هوایی بوته، نشان‌دهنده اثر معنی دار نوع کمپوست (در سطح احتمال یک درصد) در نتایج بدست آمده بود در حالی که جمعیت قارچ بیمارگر و اثر متقابل قارچ×کمپوست اختلاف معنی داری در نتایج ایجاد نکردند. مقایسه آماری میانگین وزن تر اندام هوایی بوته تحت تیمارهای مختلف، افزایش قابل توجه وزن تر اندام هوایی در تیمار کاربرد کمپوست بقایای گیاهی را نشان داد و در تیمار کاربرد دو کمپوست فراورده‌ی سیلو و ضایعات شهری نیز افزایش وزن تر اندام هوایی مشاهده گردید بطوری که در یک گروه آماری جدا از شاهد (بدون کمپوست) قرار گرفتند (جدول ۱).

اثرات کمپوست‌ها بر بقای میکرواسکلروت‌ها در خاک گلدان

اثر کمپوست‌های مختلف بر بقای میکرواسکلروت‌ها متفاوت بوده و بستگی به نوع کمپوست داشت. تجزیه واریانس داده‌های مربوط به ارزیابی اثر سه نوع کمپوست بر بقای میکرواسکلروت‌ها نشان‌دهنده اثر معنی دار نوع کمپوست (در سطح احتمال یک درصد)، جمعیت قارچ بیمارگر (در سطح احتمال یک درصد) و اثر متقابل قارچ×کمپوست (در سطح احتمال یک درصد) در نتایج بدست آمده بود. مقایسه آماری میانگین جمعیت میکرواسکلروت‌ها در خاک در انتهای آزمایش تحت تیمارهای مختلف نیز نشان داد که کاربرد هر سه کمپوست کاهش معنی دار در جمعیت میکرواسکلروت‌ها نسبت به شاهد (بدون کمپوست) ایجاد

تیمارهای مختلف، اثرات عصاره‌ی کمپوست‌ها بر رشد قارچ مورد بررسی قرار گرفت.

محاسبات آماری

برای تجزیه و تحلیل داده‌ها از نرم‌افزار SAS و برنامه ANOVA: GLM و نیز نرم‌افزار MSTATC استفاده شد. میانگین تیمارها به طریق استفاده از آزمون LSD در سطح ۵٪ مقایسه شد.

نتایج

تأثیر کاربرد کمپوست بر شاخص پژمردگی بوته‌های پنبه

در آزمایش گلخانه‌ای، کاربرد کمپوست در تیمارهای مختلف، شاخص پژمردگی و رتیسیلیومی بوته‌ها را کاهش داد. تجزیه واریانس داده‌های مربوط به ارزیابی اثر سه نوع کمپوست بر شاخص پژمردگی، نشان‌دهنده اثر معنی دار نوع کمپوست (در سطح احتمال یک درصد)، جمعیت قارچ بیمارگر (در سطح احتمال یک درصد) و اثر متقابل قارچ×کمپوست (در سطح احتمال یک درصد) در نتایج بدست آمده بود. مقایسه‌ی آماری میانگین شاخص پژمردگی گیاه تحت تیمارهای مختلف نیز بیانگر تأثیر معنی دار دو نوع کمپوست فراورده‌ی سیلو و بقایای گیاهی در کاهش پژمردگی نسبت به شاهد (بدون کمپوست) بود در حالی که کمپوست ضایعات شهری اثر قابل توجهی نداشته و با شاهد در یک گروه آماری قرار گرفت (جدول ۱).

مقایسه‌ی آماری میانگین اثر متقابل جمعیت قارچ×نوع کمپوست نشان داد که اثر بازدارندگی کمپوست بر شاخص پژمردگی تحت تأثیر جمعیت قارچ قرار نگرفته است و گرچه با افزایش میزان مایه تلقیح (تعداد میکرواسکلروت در هر گرم خاک) شدت پژمردگی افزایش یافته، اما همچنان در جمعیت‌های مختلف قارچ بیمارگر، کمپوست فراورده‌ی سیلو و بقایای گیاهی اثر بهتر و کمپوست ضایعات شهری اثر کمتری در شدت بیماری داشته‌اند (جدول ۲). البته با

افزایش یافت گرچه کاهش معنی داری نسبت به شاهد نشان داد.

اثر عصاره‌ی کمپوست‌ها بر رشد میسیلیومی قارچ در آزمایشگاه

تجزیه واریانس داده‌های مربوط به ارزیابی اثر عصاره سه نوع کمپوست بر رشد رویشی قارچ ورتیسیلیوم در محیط کشت، نشان‌دهنده‌ی اثر معنی دار نوع عصاره (در سطح احتمال یک درصد) در نتایج بدست آمده بود در حالی که غلظت عصاره و اثر متقابل نوع عصاره×غلظت اختلاف معنی داری در نتایج ایجاد نکردند. مقایسه آماری میانگین رشد کلنی قارچ تحت تیمارهای مختلف نیز نشان داد که تنها کمپوست بقایای گیاهی کاهش معنی دار در رشد قارچ نسبت به شاهد (بدون عصاره) ایجاد کرده است و دو نوع کمپوست فراورده‌ی سیلو و ضایعات شهری اثر قابل توجهی نداشته و با شاهد در یک گروه قرار گرفته‌اند (جدول ۵).

کرده است و اثر دو نوع کمپوست فراورده‌ی سیلو و بقایای گیاهی در کاهش جمعیت بیشتر بوده است (جدول ۳). اختلاف معنی داری در جمعیت نهایی قارچ در خاک بین دو کمپوست بقایای گیاهی و فراورده‌ی سیلو مشاهده نشد و کمپوست ضایعات شهری اثر کمتری در کاهش جمعیت نهایی قارچ نشان داد.

مقایسه آماری میانگین اثر متقابل جمعیت قارچ×نوع کمپوست نشان داد که اثر بازدارندگی کمپوست بر جمعیت بیمارگر تحت تأثیر جمعیت قارچ قرار نگرفته و هر سه کمپوست در هر دو سطح مایه تلقیح اولیه کاهش مشخصی در تعداد میکرواسکلروت‌های برآورد شده در انتهای آزمایش نشان دادند (جدول ۴). تیمارهای کمپوست فراورده‌ی سیلو و بقایای گیاهی منتهی به کاهش تعداد میکرواسکلروت قارچ در هر گرم خاک، حتی به کمتر از جمعیت ابتدای آزمایش شدند و در تیمار کمپوست ضایعات شهری تعداد میکرواسکلروت قارچ در گرم خاک

جدول ۱- میانگین اثر کاربرد سه نوع کمپوست بر شاخص پژمردگی ورتیسیلیومی و وزن تر اندام هوایی بوته‌های پنبه در شرایط گلخانه

نوع کمپوست	شاخص پژمردگی بوته	وزن تر اندام هوایی (گرم)
شاهد (فاقد کمپوست)	۱/۷۵ a	۵/۷۲ c
بقایای گیاهی	۰/۲۸ b	۲۱/۵۹ a
فراورده‌ی سیلوی دامپروری	۰/۲۶ b	۱۳/۲۹ ab
ضایعات شهری	۱/۱۳ a	۱۱/۰۲ b

میانگین‌های دارای حروف مشابه در هر ستون اختلاف آماری معنی داری ندارند.

جدول ۲- میانگین شاخص پژمردگی ورتیسیلیومی بوته پنبه تحت اثر متقابل قارچ×نوع کمپوست در آزمایش کاربرد سه نوع کمپوست و

جمعیت‌های مختلف قارچ بیمارگر در گلخانه

تعداد میکرواسکلروت در هر گرم خاک	نوع کمپوست		
	شاهد (فاقد کمپوست)	بقایای گیاهی	فراورده‌ی سیلو
۵	۱/۴۱ bc	۰/۰ d	۰/۰۸ d
۱۰	۳/۸۵ a	۰/۸۴ cd	۰/۷ cd

میانگین‌های دارای حروف مشابه اختلاف آماری معنی دار ندارند.

جدول ۳- میانگین جمعیت نهایی قارچ ورتیسلیوم در خاک پس از کاربرد سه نوع کمپوست در

خاک گلدان‌های پنبه

نوع کمپوست	تعداد میکرواسکلروت نهایی در هر گرم خاک
شاهد (فاقد کمپوست)	۱۰/۸۸ a
بقایای گیاهی	۳/۲۲ c
فراورده‌ی سیلوی دامپروری	۲/۶۶ c
ضایعات شهری	۷/۱۶ b

میانگین‌های دارای حروف مشابه اختلاف آماری معنی‌داری ندارند.

جدول ۴- میانگین جمعیت نهایی قارچ ورتیسلیوم در خاک تحت اثر متقابل جمعیت قارچ × نوع کمپوست در آزمایش کاربرد سه نوع

کمپوست و جمعیت‌های اولیه مختلف از قارچ بیمارگر در گلخانه

تعداد اولیه میکرواسکلروت در هر گرم خاک	نوع کمپوست		
	شاهد (فاقد کمپوست)	بقایای گیاهی	فراورده‌ی سیلوی
۵	۱۳/۶۶ b	۴/۱۶ e	۲/۱۶ ef
۱۰	۱۹/۰ a	۵/۵ de	۵/۸۳ de

میانگین‌های دارای حروف مشابه اختلاف آماری معنی‌داری ندارند.

جدول ۵- میانگین رشد قارچ *V. dahliae* تحت اثر عصاره کمپوست‌های مختلف در آزمایشگاه

نوع عصاره کمپوست	قطر پرگنه قارچ (سانتی‌متر)
شاهد (آب مقطر)	۴/۵۲ a
بقایای گیاهی	۳/۵۵ b
فراورده‌ی سیلوی دامپروری	۴/۳۷ a
ضایعات شهری	۴/۴۴ a

میانگین‌های دارای حروف مشابه اختلاف آماری معنی‌داری ندارند.

بحث

تأثیر مثبت هر سه کمپوست در کاهش بقای میکرواسکلروت‌های قارچ در خاک و افزایش وزن تر اندام هوایی بود.

بر اساس گزارشات موجود، افزودن کمپوست به خاک در کنترل بیماری‌های خاک‌زاد مؤثر واقع شده است (مارشونوا و مورومتسو، ۱۹۷۵، سرا ویتلینگ و همکاران، ۱۹۹۶). همچنین قبلاً مشخص شده که پژمردگی

در بررسی حاضر کاربرد دو کمپوست فراورده‌ی سیلوی و بقایای گیاهی کاهش معنی‌داری در شدت بیماری پژمردگی ورتیسلیومی پنبه ایجاد کردند گرچه شاخص پژمردگی با کاربرد کمپوست ضایعات شهری کاهش معنی‌داری نسبت به شاهد نشان نداد. نتایج همچنین مؤید

از طرف دیگر اختلاط عصاره‌ی کمپوست بقایای گیاهی در محیط کشت سبب کاهش قابل توجه رشد قارچ شده است که با یافته‌های هوانگ و همکاران (۲۰۰۶) در مورد تأثیر عصاره‌ی ساقه لوبیا و یونجه بر رشد رویشی قارچ ورتیسیلیوم مطابقت دارد. این یافته نیز می‌تواند اثر ترکیبات حاصل از تجزیه‌ی کمپوست در خاک در کاهش مایه تلقیح بیمارگر را تأیید کند.

گزارش مطالعات مزرعه‌ای دیویس و همکاران (۱۹۹۶) و (۲۰۱۰) در مورد اثرات کاربرد ذرت شیرین به عنوان کود سبز بر پژمردگی ورتیسیلیومی سیب‌زمینی مؤید کاهش شدت آلودگی و تعداد زادمایه‌های قارچ ورتیسیلیوم در خاک است. هماهنگ با این گزارش، در بررسی حاضر فرآورده حاصل از سیلوی دامپروری که شامل ذرت علوفه‌ای بود، شدت بیماری پژمردگی ورتیسیلیومی پنبه و همچنین جمعیت نهایی قارچ در خاک را به‌طرز معنی‌داری کاهش داد.

بر اساس نظر سایر محققین احتمال دارد که کاهش بیماری‌های ناشی از بیمارگرهای خاک‌زاد با کاربرد کودهای آلی به علت تحریک اندازه جمعیت میکروبی در فراریشه و افزایش فعالیت میکروبی (کن و همکاران ۱۹۸۸)، جوامع میکروبی کمپوست و کنترل زیستی (هوانگ و همکاران ۲۰۰۶)، تغییر در فرایند متابولیسم گیاهان، تغییر در ویژگی‌های فیزیکوشیمیایی و شیمیایی خاک پس از افزودن کمپوست‌ها و ایجاد محیطی نامناسب برای بیمارگر باشد (والینی و همکاران ۱۹۹۳).

در مجموع می‌توان گفت که کمپوست‌های فرآورده سیلو و بقایای گیاهی پتانسیل کاهش خسارت بیماری پژمردگی ورتیسیلیومی در پنبه را دارند و بررسی‌های تکمیلی برای کاربرد آنها به همراه دیگر روش‌های کنترل در مدیریت تلفیقی این بیماری مفید خواهد بود.

ورتیسیلیومی به‌طور مؤثری توسط بقایای گیاهی مثل *Sudan past (Sorghum vulgare Pers.)*، ذرت (*Zea mays*)، بروکلی (*Brassica oleracea L.*)، یونجه و یا کاه گندم بر روی میزبان‌های مختلف بیمارگر کنترل می‌شود (بلوک و همکاران، ۲۰۰۰). این گزارشات تاییدکننده‌ی نتایج تحقیق حاضر است.

بر طبق نتایج بررسی حاضر هیچ گیاه پنبه آلوده‌ای در خاک آلوده به پنج میکرواسکلروت قارچ و تیمار شده با کمپوست بقایای گیاهی مشاهده نشد که با نتایج گزارش لوپز-اسکودرو و همکاران (۲۰۰۷) هماهنگی دارد. بر طبق نظر آنان بقایای گیاهی ممکن است توانایی پروپاگول‌های قارچ را در جوانه‌زنی و آلوده‌کردن گیاه کاهش دهند، و یا با فراهم‌کردن مواد غذایی برای گیاهان حساسیت میزبان را کاهش دهند.

نظر به اینکه در تیمار شاهد آلوده (بدون کاربرد کمپوست) تعداد اولیه میکرواسکلروت‌های خاک در پایان آزمایش افزایش قابل توجهی یافته (یعنی میکرواسکلروت‌های جدیدی تشکیل شده‌اند)، کاهش تعداد میکرواسکلروت‌های خاک در تیمارهای کمپوست نشان می‌دهد که کمپوست‌های مورد بررسی توانسته‌اند از افزایش مایه تلقیح قارچ در خاک جلوگیری کنند. احتمالاً ترکیبات حاصل از تجزیه کمپوست‌های به‌کار رفته می‌توانند در تخریب پروپاگول‌های بیمارگر مؤثر باشند. این نتایج مشابه یافته‌های بیلی و لازارویت (۲۰۰۳) در مورد تأثیر انواع مختلف کودهای آلی در جلوگیری از بقای میکرواسکلروت‌های ورتیسیلیوم در خاک می‌باشد. با توجه به اینکه کمپوست حاصل از سیلوی دامپروری و ضایعات شهری می‌توانند باعث کاهش اسیدیته خاک شوند، احتمالاً تأثیر این کمپوست‌ها بر جمعیت قارچ در خاک با pH اسیدی خاک ارتباط دارد. این موضوع در بررسی‌های کُن و لازارویت (۲۰۰۰) در مورد تأثیر کود خوک بر قارچ ورتیسیلیوم در خاک‌های اسیدی نیز تأیید شده است.

منابع

- Antonopoulos DF, Tjamos SE, Antoniou PP, Rafeletos P and Tjamos EC, 2008. Effect of *Paenibacillus alvei*, strain K165, on the germination of *Verticillium dahlia* microsclerotia in plants. *Biological Control* 46: 166–170. (Cited in Xiaoping *et al.* 2013)
- Bailey KL and Lazarovits G, 2003. Suppressing soil-borne diseases with residue management and organic amendments. *Soil and Tillage Research* 72: 169–180.
- Bejarano-Alcazar J, Melero-Vara JM, Blanco-Lopez MA and Jimenez-Diaz RM, 1995. Influence of inoculum density of defoliating and non- defoliating pathotypes of *Verticillium dahlia* on epidemics of *Verticillium* wilt of cotton in southern Spain. *Phytopathology* 85: 1474-1481.
- Blok WJ, Lamers JG, Termorshuizen AJ and Bollen GJ, 2000. Control of soil-borne plant pathogens by incorporating fresh organic amendments followed by tarping. *Phytopathology* 90: 253–259.
- Booth JA, 1970. *Verticillium albo-atrum*. Pp. 50-51 In: Chiarappa L (ed), *Crop Losses Assessment-Methods*. FAO manual on the evaluation, and prevention of losses by pests, disease and weeds. Common Wealth Agriculture Bureaux, Farnham Royal, UK.
- Chen W, Hoitink HAJ, Schmitthenner AF and Tuovinen OH, 1988. The role of microbial activity in suppression of damping-off caused by *Pythium ultimum*. *Phytopathology* 78: 314-322.
- Colson-Hanks ES and Deverall BJ, 2000. Effect of 2,6-dichloroisonicotinic acid, its formulation materials and benzothiazazole on systemic resistance to *Alternaria* leaf spot in cotton. *Journal of Plant Pathology* 49: 171–178.
- Cook RJ and Baker KF, 1983. *The nature and practice of biological control of plant pathogens*. American Phytopathological Society Press, St Paul, MN. 539 pp.
- Conn KL and Lazarovits G, 2000. Soil factors influencing the efficacy of liquid swine manure added to soil to kill *Verticillium dahliae*. *Canadian Journal of Plant Pathology* 22: 400-406.
- Davis JR, Huisman OC, Westerman DT and Schneider AT, 1996. Effects of green manures on *Verticillium* wilt of potato. *Phytopathology* 89: 444-453.
- Davis JR, Huisman OC, Everson DO, Nolte P, Sorenson LH and Schneider AT, 2010. The suppression of *Verticillium* wilt of potato using corn as a green manure crop. *American Journal of Potato Research* 87: 195-208.
- Eldon S and Hillocks RJ, 1996. The effect of reduced phytoalexin production on the resistance of upland cotton (*Gossypium hirsutum*) to *Verticillium* and *Fusarium* wilts. *Annals of Applied Biology* 129: 217–225.
- Garcia-Mina JM, Jordana R, Aguirreolea J and Hernandez MA, 1996. The effect of a special organic amendment on the development of pepper seedlings cultivated in a soil infested with *Verticillium dahliae*. Pp. 301–303 In: Rodri'guez-Barrueco C (ed), *Fertilizers and Environment*. Kluwer Academic Publishers, Dordrecht.
- Goldman GH, Hayes C and Harman GE, 1994. Molecular and cellular biology of biocontrol *Trichoderma* spp. *Trends in Biotechnology* 12: 478–482.
- Goud JC and Termorshuizen AJ, 2003. Quality of methods to quantify microsclerotia of *Verticillium dahliae* in soil. *European Journal of Plant Pathology* 109: 523–534
- Hall R and Ly H, 1972. Development and quantitative measurement of microsclerotia of *Verticillium dahliae*. *Canadian Journal of Botany* 50: 2097-2102.

- Huang J, Li H and Yuan H, 2006. Effect of organic amendments on *Verticillium* wilt of cotton. *Crop Protection* 25: 1167–1173.
- Lambert DH, Powelson ML and Stevenson WR, 2005. Nutritional interactions influencing diseases of potato. *American Journal of Potato Research* 86: 124-129.
- Lazarovits G, Conn K and Tenuta M, 2000. Control of *Verticillium dahliae* with soil amendments: efficacy and mode of action. Pp. 274-290 In: Tjamos EC, Rowe RC, Heale JB and Fravel DR (eds), *Advances in Verticillium Research and Disease Management*. American Phytopathological Society Press, St. Paul, MN.
- Lopez-Scudero FJ and Blanco-Lopez MA, 2005. Isolation and morphologic characterization of Microsclerotia of *Verticillium dahliae* isolate from soils. *Biotechnology* 4: 296-304
- Lopez-Scudero FJ, Mwanza C and Blanco-Lopez MA, 2007. Reduction of *Verticillium dahliae* microsclerotia viability in soil by dried plant residues. *Crop Protection* 26: 127–133.
- Marshunova GN and Muromtsev GS, 1975. On the effects of intermediate crops on the behavior of *Verticillium dahliae* kleb in the soil. *Mikologiyai Fitopatologiya* 9: 34–37.
- Paplomatas EJ, Bassett DM, Broome JC and Devay JE, 1992. Incidence of *Verticillium* wilt and yield losses of cotton cultivars (*Gossypium hirsutum*) based on soil inoculum density of *Verticillium dahliae*. *Phytopathology* 82: 1417–1420.
- Pullman GS and De Vay JE, 1982. Epidemiology of *Verticillium* wilt of cotton: A relationship between inoculum density and disease progression. *Phytopathology* 72: 549-554.
- Schnathorst WC, 1981. Life cycle and epidemiology of *Verticillium*. Pp. 81–111 In: Mace ME, Bell AA and Beckman CH (eds), *Fungal Wilt Disease of Plants*. Academic Press, New York.
- Serra-Wittling C, Houot S and Alabouvette C, 1996. Increased soil suppressiveness to *Fusarium* wilt of flax after addition of municipal solid waste compost. *Soil Biology and Biochemistry* 28: 1207-1214.
- Vallini G, Pera A, Avio L, Valdrighi M and Giovannetti M, 1993. Influence of humic acids on laurel growth, associated rhizospheric microorganisms, and mycorrhizal fungi. *Biology and Fertility of Soils* 16: 1–4.
- Van der Gaag DJ, Vannoort FR, Stapel-Cuijpers LHM, Dekreij C, Termorshuizen AJ, Vanrijin E, Zmora-Nahim S and Chen Y, 2007. The use of green waste compost in peat-based potting mixtures: Fertilization and suppressiveness against soil-borne diseases. *Scientia Horticulturae* 114: 289–297.
- Xiao CL and Subbarao KV, 1998. Relationships between *Verticillium dahliae* inoculum density and wilt incidence, severity, and growth of Cauliflower. *Phytopathology* 88: 1108-1115.
- Xiaoping H, Yinwen B, Ting C, Dongfang H, Jiarong Y, and Xiangming X, 2013. An optimized method for in vitro production of *Verticillium dahliae* microsclerotia. *European Journal of Plant Pathology* 136: 225–229

Effects of Three Different Compost Types on *Verticillium* Wilt (*Gossypium hirsutum* L.) of Cotton under Greenhouse Conditions

F Shabani¹ and AH Jamali^{2*}

¹Former MSc. Student in Plant Pathology, Department of Plant Protection, Faculty of Agriculture, ShahreKord University, ShahreKord - Iran,

²Assistant Professor of Plant Pathology, Department of Plant Protection, Faculty of Agriculture, ShahreKord University, ShahreKord - Iran,

*Corresponding author: E. mail: ahjamaliz@yahoo.com

Received: 7 March 2016

Accepted: 5 March 2017

Abstract

Verticillium wilt is one of the most devastating diseases on cotton. This study aimed to evaluate the effect of three types of composts (derived from municipal waste [MW], crop residues [CR], or animal husbandry silage [AS]) on development of cotton *Verticillium* wilt under controlled conditions. Experiments were carried out as factorial randomized complete block design with 4 replications. To inoculate *Verticillium dahlia*, its microsclerotia were mixed in the proportions of 5 and 10 per gram of soil. Each compost type was also mixed, in the proportion of 35% (w/w) with the soil before planting. The data of plant wilting index showed that the composts reduced the disease severity and increased fresh weight of plant foliage. The results indicated that the CR and AS composts caused a significant reduction of wilting. MW compost, however, didn't cause significant wilting reduction compared to the control. The fresh weight of plant foliage significantly increased following application of all composts. Number of fungus microsclerotia showed a significant reduction in the soils treated with composts. *In vitro* studies indicated slowdown of fungi growth in culture media containing extract of the CR compost. Analysis revealed no significant differences between CR and AS composts in reducing index of wilting, and the final number of microsclerotia in the soil and also in increasing of foliage fresh weight of host plant. Based on these findings, two composts of CR and AS are useful to reduce the damage of *Verticillium* wilt of cotton, as a part of integrated disease management, and necessitate more investigations.

Keywords: Animal husbandry silage, Composted crop residue, Cotton, *Gossypium hirsutum*, *Verticillium dahlia*.