Archive of SID

مجله علوم کشاورزی و منابع طبیعی
جلد سیزدهم، شماره پنجم، آذر – دی ۱۳۸۵
www.magiran.com/jasnr

بررسی میزان جوانه‌زنی اسپور، رشد و جذب قارچ *Fusarium oxysporum* f.sp. *lycopersici* در تعامل با ریشه‌های گوجه فرنگی آلوده به نماتد *Meloidogyne javanica* در شرایط آزمایشگاه

*نوازاله صاحبانی[۱]، جواد زاد[۲]، عباس شریفی تهرانی[۲] و احمد خیری[۲]
[۱] گروه گیاهپزشکی مجتمع آموزش عالی ابوریحان، دانشگاه تهران، [۲] گروه گیاهپزشکی دانشکده کشاورزی کرج، دانشگاه تهران

تاریخ دریافت: ۸۳/۷/۷ ؛ تاریخ پذیرش: ۸٤/۱۱/۱۵

چکیده

تعامل بین قارچ فوزاریوم عامل پژمردگی آوندی گوجه فرنگی (*Fusarium oxysporum* f.sp. *lycopersici*) و نماتد مولد گره ریشه *Meloidogyne javanica* در منطقه ریزوسفرگیاه در شرایط آزمایشگاه و گلخانه مورد بررسی قرار گرفت. در این تحقیق نشان داده شد که سرعت جوانه‌زنی اسپور و رشد قارچ مذکور در اطراف منطقه گال نماتدی در مقایسه با منطقه غایرگال ریشه همان گیاه و ریشه گیاه سالم اختلاف معنی‌دار دارد (سطح ۵ درصد). میزان رشد قارچ روی محیط کشت حاوی عصاره گال نماتدی نیز از روز سوم (کلاس d) به بعد دارای اختلاف معنی‌داری نسبت به محیط کشت دارای عصاره ناحیه غیرگال ریشه همان گیاه (کلاس c) و ریشه گیاه سالم (کلاس c) بود، که احتمالا نشان‌دهنده تجمع مواد غذایی مطلوب قارچ در گال می‌باشد. در این تحقیق همچنین نشان داده شد که سرعت رشد قارچ مذکور به سمت گال نماتدی و چاهک حاوی عصاره گال نسبت به چاهک‌های حاوی عصاره ناحیه غیرگال و عصاره ریشه گیاه سالم نیز دارای اختلاف معنی‌دار می‌باشد. براساس نتایج به‌دست آمده از این تحقیق پیشنهاد می‌شود که افزایش سرعت جوانه‌زنی اسپور و رشد قارچ در اطراف ناحیه گال و محیط حاوی عصاره گال و تمایل قارچ به فراگرفتن ریشه گیاه آلوده به نماتد از جمله علل تشدید بیماری پژمردگی آوندی گوجه فرنگی در تعامل با نماتد مولد گره ریشه می‌باشد.

واژه‌های کلیدی: تعامل، ریزوسفر، نماتد مولد گره ریشه، جوانه‌زنی اسپور، *Meloidogyne javanica*، *Fusarium oxysporum* f.sp. *lycopersici*

مقدمه

تعامل بین قارچ فوزاریوم عامل پژمردگی آوندی (*Fusarium oxysporum* Schlecht.) و گونه‌های مختلف نماتد مولد گره ریشه (*Meloidogyne* spp.) بیش از سایر روابط متقابل بین ارگانیزم‌ها مورد توجه و مطالعه قرار گرفته است (ابوی و بارکر، ۱۹۸٤؛ ابول، ۱۹۸۵؛ دیویس و جنکینز، ۱۹٦۳؛ دیوای و همکاران، ۱۹۹۷؛ گریفین، ۱۹۸٦ و نات و همکاران، ۱۹۸٤). اولین بار در سال ۱۸۹۲ اتکینسون مشاهده نمود که پژمردگی فوزاریومی پنبه در حضور نماتد مولد گره ریشه شدیدتر ظاهر شد (نقل از مای و ابوی، ۱۹۸۷). تاکنون اینگونه روابط متقابل روی بسیاری از محصولات از جمله

*- مسئول مکاتبه: sahebani@ut.ac.ir

www.SID.ir

Archive of SID

یونجه (گریفین، ۱۹۸٦)، پنبه (دیوای و همکاران، ۱۹۹۷؛ کوکوئیل و شفرد، ۱۹۷۰)، توتون (پورتر و پاول، ۱۹٦۷)، نخود (دیویس و جنکینز، ۱۹٦۳)، گوجه فرنگی (ابوی و بارکر، ۱۹۸٤؛ مای و ابوی، ۱۹۸۷؛ فتاح و وبستر، ۱۹۸۳ و نات و همکاران، ۱۹۸٤) و سیب زمینی (مای و ابوی، ۱۹۸۷) مطالعه شده است. در کلیه این روابط متقابل، نقش نماتد به‌عنوان تشدید کننده بیماری‌زایی پاتوژن ثانویه ذکر شده است. ابتدا تصور بر این بود که نقش نماتد تنها ایجاد زخم و تسهیل کننده نفوذ پاتوژن ثانویه می‌باشد تا اینکه پاول در سال ۱۹۷۱ و ۱۹۷۹ (نقل از مای و ابوی، ۱۹۸۷) ثابت کرد که آلودگی قارچ در حضور نماتد به مراتب بیشتر از آلودگی قارچ به تنهایی است و شدت بیماری بیشتر از میزان بیماری هر کدام به تنهایی است. او پیشنهاد نمود که در این تعامل نقش نماتد صرفاً ایجاد زخم و آماده سازی زمینه نفوذ نبوده و احتمالاً نماتد موجب اختلال در فیزیولوژی گیاه شده به‌طوری‌که استعداد آلودگی آن توسط قارچ عامل پژمردگی افزایش می‌یابد. ایجاد زخم مکانیکی روی ریشه‌های پنبه و دیگر گیاهان، در مقایسه با زخم‌های ناشی از حمله نماتد مولد گره حساسیت کمتری در میزبان نسبت به آلودگی قارچ عامل پژمردگی فوزاریومی ایجاد می‌کند (نات و همکاران، ۱۹۸٤). در اثر آلودگی نماتد مولد گره تغییرات مرفولوژیکی، آناتومیکی و بیوشیمیایی درمنطقه تغذیه نماتد رخ می‌دهد. از طرف دیگر قارچ فوزاریوم مولد پژمردگی نیز در همین ناحیه فعالیت و بیماری‌زایی داشته و سرانجام خود را به آوندهای چوبی می‌رساند. بنابراین به نظر می‌رسد که در این محل تعامل مستقیم، اعم از نفوذ قارچ به داخل گال و تجمع در آن بین این دو پاتوژن برقرار می‌شود. از طرف دیگر رشد و تکثیر بیش از حد طبیعی این سلول‌ها در اثر حمله نماتد مولد گره به نحوی روند طبیعی سلول‌ها، اعم از استحکام دیواره‌ها از نظر جانشینی مواد لیگنینی و سلولزی و ضخامت طبیعی دیواره سلولی را به تأخیر می‌اندازد. از این‌رو، آلودگی قارچی در این ناحیه به سهولت انجام می‌گیرد (کبوتا و آبایک، ۲۰۰۱). وفور ترکیبات مختلف اعم از اسیدهای آمینه، پروتئین، اسیدهای چرب، لیپید، RNA و DNA در سلول‌های غول‌آسا در مقایسه با سلول‌های سالم همانند یک بستر غذایی تمایل قارچ را به آلودگی، حتی درون سلول‌های غول‌آسا افزایش می‌دهد (مای و ابوی، ۱۹۸۷؛ اوگالو و مک کلور، ۱۹۹٦). تضعیف مکانیسم دفاعی گیاه توسط نماتد مولد گره ریشه از جمله مهمترین عوامل تشدید بیماری پاتوژن‌های ثانویه از جمله فوزاریوم‌های عامل پژمردگی آوندی می‌باشد (اوگالو و مک کلور، ۱۹۹٦؛ صاحبانی، ۱۳۸۲؛ ویلیامسون و هوسی، ۱۹۹٦ و ایدنس و همکاران، ۱۹۹۵). فتاح و وبستر (۱۹۸۳) نشان دادند که در تعامل نماتد *Meloidogyne javanica* و *Fusarium oxysporum* f.sp. *lycopersici* طی سه هفته بررسی میزان نفوذ قارچ در آوندهای چوبی و سلول‌های غول آسا در ارقام حساس به قارچ به حدی بود که منجر به انسداد آوندها و تجزیه سلول‌های غول آسا گردیده است. در حالی که در ارقام مقاوم تا هفته دوم هیچ گونه علائمی از بیماری و نشانه‌ای از وجود قارچ در آوندهای چوبی مشهود نبوده و در هفته سوم نیز تعداد معدودی میکروکنیدی فقط در آوندهای چوبی قابل مشاهده بوده است. منتهی با وجود کثرت مطالعات انجام شده، تاکنون اطلاعات محدودی در زمینه تعامل این دو پاتوژن در منطقه ریزوسفر گیاه وجود دارد. فعالیت میکروبی در منطقه ریزوسفر و ریزوپلان هر گیاه به میزان زیادی تحت تأثیر کمیت و کیفیت مواد مترشحه از میزبان می‌باشد. مواد مترشحه میزبان به‌عنوان منبع غذایی (کربن، ازت و عناصر معدنی) و ترکیبات محرک رشد میکروب‌ها در منطقه ریزوسفر می‌باشد. آلودگی گیاه توسط نماتدها به‌ویژه نماتد مولد گره ریشه موجب تغییر در ترشحات ریشه و در نتیجه میکروفلور منطقه ریزوسفر می‌شود. مایول و برجستون (۱۹۷۰) گزارش کردند که جمعیت قارچ *F.oxysporum* f.sp.*lycopersici* در ریزوسفر ریشه‌های گوجه فرنگی آلوده به *M. javanica* افزایش قابل توجهی نسبت به گیاهان سالم نشان می‌دهد.

www.SID.ir

Archive of SID

در این گزارش همچنین به کم شدن معنی‌دار جمعیت اکتینومیست‌ها در ریزوسفر ریشه گوجه فرنگی‌های آلوده به نماتد به علت کاهش میزان pH ریزوسفر منطقه گال، نسبت به ریشه سالم اشاره شده است. آنها پیشنهاد کرده‌اند که احتمالاً کاهش جمعیت آنتاگونیست‌های قارچ *F.oxysporum* f.sp.*lycopersici* از گروه اکتینومیست‌ها از عوامل ازدیاد جمعیت این قارچ می‌باشد. ترشحات ریشه‌های آلوده به *M. incognita* جذب کننده هیف قارچ *Rhizoctonia solani* بوده و تشکیل اسکلروت را در این قارچ افزایش می‌دهد (نقل از مای و ابوی، ۱۹۸۷). فعالیت شدید متابولیکی در سلول‌های غول آسا و انتقال مواد غذایی از قسمت‌های دیگر گیاه به این ناحیه، گال را تبدیل به انباری از مواد غذائی نموده است که می‌تواند محرک پاتوژن‌های مختلف قارچی و باکتریایی در خاک جهت فراگرفتن ریشه گیاه باشد (نیکول، ۱۹۹۱؛ فتاح و وبستر، ۱۹۸۳).

مایول و برجستون (۱۹۷۰) همچنین گزارش کردند که نماتد مولد گره ریشه موجب افزایش میکروفلور طبیعی ریزوسفر شده که پاتوژن بودن برخی از آنها موجب آلودگی، خسارت و کاهش محصول به میزان ۳۸ درصد بیشتر از ریشه گیاهان فاقد نماتد می‌گردد.

کرون و الگرسما (۱۹۹۳) نشان دادند علاوه‌بر اینکه گیاهان کامل گوجه فرنگی مبتلا به نماتد مولد گره ریشه، استعداد زیادی برای آلودگی به قارچ فوزاریوم عامل پژمردگی آوندی دارند، کالوس این گیاهان نیزدرصورتی که مورد حمله نماتدی واقع شود، به همان میزان مستعد آلودگی قارچی می‌باشد.

دیوای و همکاران (۱۹۹۷) نشان دادند که در ارتباط متقابل بین نماتد مولد گره ریشه *M. javanica* و عامل پژمردگی آوندی پنبه *Fusarium oxysporum* f.sp. *vasinfectum*، میزان بیماری وابسته به جمعیت هر دو عامل بیماری بوده، با این وجود نماتد در جمعیت کم نیز القاء کننده حساسیت گیاه در مقابل قارچ می‌باشد و منجر به بیماری شدید قارچی می‌شود.

در این تحقیق سعی شده است تأثیر آلودگی نماتد مولد گره ریشه *M. javanica* بر میزان جوانه‌زنی اسپور و جذب قارچ *Fusarium oxysporum* f.sp. *lycopersici* به ریشه گیاه در منطقه ریزوسفر و میزان رشد قارچ روی محیط حاوی عصاره گال نماتدی در مقایسه با عصاره منطقه غایرگال ریشه همان گیاه و ریشه سالم مورد بررسی قرار گیرد.

مواد و روش‌ها

تهیه مایه آلوده‌کننده نماتد: نمونه آلوده به نماتد از مزارع گوجه فرنگی اطراف شیراز تهیه شد و پس از تهیه توده تخم منفرد، روی گوجه فرنگی رقم روت گرز تکثیر گردید. پس از چند دوره متوالی انتقال روی گوجه فرنگی، میزان مناسبی از اینوکلوم نماتد به‌دست آمد. استخراج تخم و لارو سن دو با استفاده از روش هوسی و بارکر (۱۹۷۳) انجام گرفت. در ضمن با استفاده از خصوصیات مرفولوژیکی و مرفومتریک، گونه نماتد *M. javanica* تشخیص داده شد (نیکول، ۱۹۹۱).

تهیه مایه آلوده‌کننده قارچ: قارچ فوزاریوم عامل پژمردگی آوندی گوجه فرنگی از بخش گیاهپزشکی دانشکده کشاورزی دانشگاه شیراز تهیه شد و پس از تک اسپور نمودن و اثبات بیماریزایی، با استفاده از ارقام افتراقی استاندارد بانی بست (حساس به نژاد یک و دو)، مانوپال (مقاوم به نژاد یک) و والتر (مقاوم به نژاد یک و دو)، نژاد یک تشخیص داده شد (فصیحیانی، ۱۳۷۱). این قارچ روی محیط عصاره سیب‌زمینی، سوکروز، آگار به فراوانی تولید اسپور می‌کند. از این رو، به منظور تهیه اسپور سوسپانسیون، بعد از رشد کامل قارچ با اضافه کردن حدود ده میلی‌لیتر آب مقطر سترون به هر تشتک پتری و به هم زدن آن با میله شیشه‌ای، سوسپانسیونی از اسپورها و میسلیوم قارچ تهیه گردید که پس از عبور این سوسپانسیون از چندین لایه پارچه ململ، میسلیوم‌های آن حذف گردید. غلظت سوسپانسیون با استفاده از لام گلبول

www.SID.ir

Archive of SID

شمار انجام گرفت. در انجام آزمایش‌ها از سوسپانسیون حاوی 10^6 اسپور در میلی‌لیتر استفاده شد.

مقایسه میزان تحریک جوانه‌زنی اسپور و رشد قارچ به وسیله ترشحات منطقه گال ریشه آلوده به نماتد M.javanica و ریشه سالم: ابتدا بذور گوجه فرنگی واریته Roma VF، حساس به نماتد و مقاوم به نژاد یک قارچ (صاحبانی، ۱۳۸۲) (تهیه شده از موسسه اصلاح بذر- کرج) به مدت پنج دقیقه در وایتکس ۲۰ درصد (سدیم هیپوکلریت ۵ درصد) ضد عفونی و چندین مرتبه با آب مقطر سترون شستشو داده شدند. سپس در گلدان‌های بزرگ (٤٥ سانتی‌متر قطر) حاوی خاک سترون کاشته شدند. در مرحله دو برگی اصلی، انتقال نشاء به ظروف یکبار مصرف یک کیلویی حاوی خاک سترون انجام شد (یک نشاء در هر ظرف) و هر روز با میزان لازم آب مقطر سترون آبیاری شدند. به منظور جلوگیری از آلودگی گیاه و خاک، تمام گیاه و ظرف به وسیله کیسه روشن پلاستیکی کاملاً پوشانده شدند. در مرحله شش برگی اصلی گیاهچه‌ها با جمعیت ۲۰۰۰ لارو به ازاء هر گیاه مایه کوبی شدند. این لاروها نیز جهت برطرف شدن آلودگی‌های احتمالی سطحی بدن، قبلاً چندین مرتبه با آب سترون شستشو داده شده بودند.

پس از تشکیل گال روی ریشه‌ها (۲۰ روز بعد از مایه کوبی نماتد به گیاه)، ابتدا ریشه‌ها را از خاک خارج و پس از گندزدایی (به مدت ۲ دقیقه با وایتکس ۱۰ درصد) و چندین بار شستشو با آب مقطر سترون، دوباره خاک سترون کاشته شدند، تعدادی از ریشه‌های این گیاهان که دارای گال بودند در همین مرحله داخل ظروف کشت حاوی محیط آب آگار[1] پنج درصد قرار داده شدند (یک ریشه به ازاء هر گیاه) و به وسیله فویل آلومنیومی پوشانده شدند (شکل‌های ۱ و ۲). پس از پنج روز ریشه‌ها از سطح محیط برداشته و بعد از علامت‌گذاری محل‌های گال و غایرگال و ریشه سالم، سطح ظروف کشت با اسپورهای جوان قارچ (کشت ۷۲ ساعت) اسپورپاشی شد (اسپری کامل سطح محیط کشت با سوسپانسیون 10^6 اسپور در میلی‌لیتر قارچ *F.oxysporum* f.sp.*lycopersici*).

مدت زمان لازم برای جوانه‌زنی اسپور و ظهور کلنی‌های اولیه قارچ در مناطق علامت‌گذاری شده (منطقه گال، منطقه غیرگال همان گیاه و ریشه‌های گیاه سالم) با یکدیگر مقایسه شدند. در شاهد ظروف کشت حاوی آب آگار بدون ریشه گیاه اسپورپاشی شد. این آزمایش در ۵ تکرار در قالب طرح کامل تصادفی انجام شد.

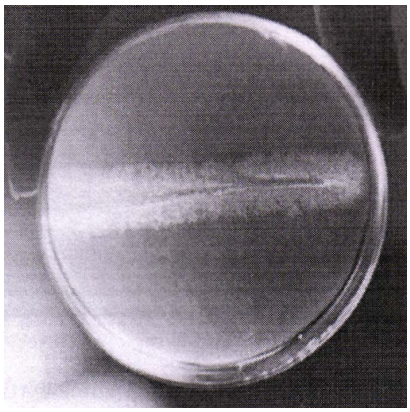
مقایسه میزان جذب قارچ به ریشه گیاه مورد حمله نماتد و ریشه سالم: این آزمایش به منظور جوابگویی به این سؤال که، آیا گال‌های نماتدی در مقایسه با ریشه سالم تأثیری برمیزان جذب قارچ به ریشه دارند، انجام گرفت. در این آزمایش نیز همانند آزمایش (ج) عمل شد. با این تفاوت که ریشه‌های مورد آزمایش پس از گندزدایی و چند بار شستشو با آب مقطر سترون و رطوبت‌گیری سطحی با دستمال کاغذی، در داخل ظروف کشت حاوی محیط PDA (عصاره ۵۰ گرم سیب زمینی، سه گرم دکستروز وهفت گرم آگار در یک لیتر آب مقطر) طوری قرار داده شد که قسمتی از گال در محیط غذائی فرو رود. سه روز پس از استقرار ریشه در داخل محیط غذائی، بلوکی از پرگنه جوان قارچ (کشت ٤٨ ساعت) در فاصله سه سانتی‌متری ریشه قرار داده شد و هر روز میزان رشد قارچ و جهت‌گیری رشد قارچ نسبت به منطقه گال و دیگر قسمت‌های ریشه مقایسه شد. شاهد در این آزمایش شامل ریشه گیاهانی بود که ریشه آنها به وسیله نماتد مایه‌زنی نشده بودند (گیاه سالم).

فاصله محل ریشه تا منتهی الیه ناحیه رشد قارچ روزانه و به مدت ۷ روز (به میلی‌متر) اندازه‌گیری گردید. این آزمایش در ۱۰ تکرار و در یک طرح کامل تصادفی انجام شد.

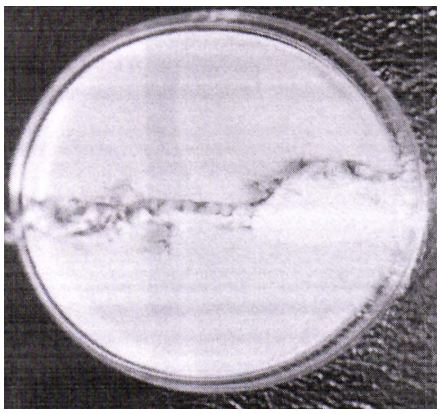
1- Water Agar

www.SID.ir

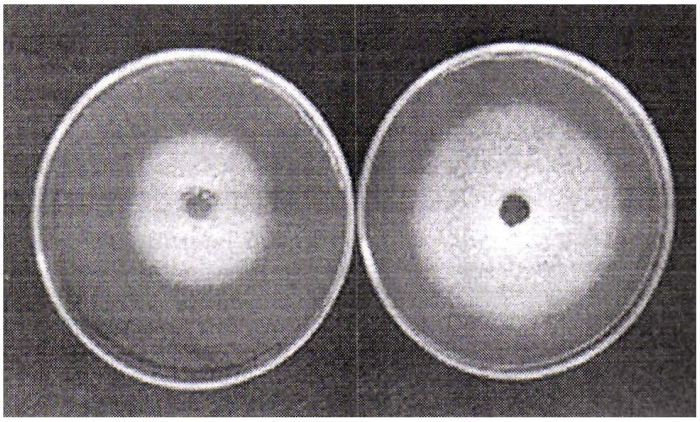
Archive of SID



شکل ۱- چگونگی قرار دادن ریشه دارای گال نماتد *Meloidogyne javanica* در محیط کشت (چپ).



شکل ۲- میزان جوانه‌زنی و رشد قارچ *Fusarium oxysporum* f.sp. *lycopersici* روی ترشحات منطقه گال نمادتود *Meloidogyne javanica* در روز دوم (راست).



شکل ۳- مقایسه میزان رشد قارچ *Fusarium oxysporum* f.sp. *lycopersici* روی محیط کشت حاوی عصاره ریشه آلوده به نماتد *Meloidogyne javanica* منطقه گال (راست) و عصاره ریشه سالم (چپ).

مقایسه میزان رشد قارچ روی عصاره گال نماتدی و ریشه سالم: در این آزمایش ابتدا تعدادی گال نماتدی از ریشه جدا و تا حد امکان از بقیه قسمت‌های سالم جدا گردید. پس از گندزدایی سطحی با وایتکس ۲۰ درصد به مدت پنج دقیقه و چندین بار شستشو با آب مقطر سترون، به وسیله هاون سترون عصاره‌گیری شد. عصاره به‌دست آمده ابتدا از چندین لایه کاغذ صافی سترون و سپس از فیلتر µ ۰/۲۲ عبور داده شد و سپس به دو صورت مورد استفاده قرار گرفت:

۱- عصاره به‌دست آمده به نسبت یک درصد با محیط کشت سترون PDA (عصاره ۵۰ گرم سیب زمینی، ۳ گرم دکستروز و ۱۲ گرم آگار در یک لیتر آب مقطر) در زمان ریختن در ظروف کشت مخلوط و سپس در داخل ظروف کشت ریخته شد. در قسمت وسط ظروف کشت بلوک‌های کشت جوان قارچ با قطر یکسان (کشت ۴۸ ساعت) قرار داده شد.

میزان رشد پرگنه قارچ (قطر پرگنه) با فواصل یک روز و به مدت چهار روز اندازه‌گیری شد. در این آزمایش دو نوع تیمار دیگر نیز در نظر گرفته شد.

- تیمار اول شامل محیط‌های کشت که به همان نسبت از عصاره قسمت فاقد گال ریشه همان گیاه مخلوط شده بود.
- تیمار دوم شامل محیط‌های کشت که به همان نسبت از عصاره ریشه گیاه سالم استفاده شده بود.

شاهد در این آزمایش شامل کشت قارچ روی محیط کشت PDA فاقد عصاره ریشه بود.

www.SID.ir

Archive of SID

این آزمایش با ۱۰ تکرار، در یک طرح کامل تصادفی انجام شد.

۲- در داخل تشتک پتری حاوی محیط کشت PDA (مقدار مواد همانند شیوه یک) به فاصله دو سانتی‌متر از حاشیه ظروف کشت، چاهکی به قطر یک سانتی‌متر ایجاد و پس از ریختن دو تا سه قطره سترون داخل آن (۱۰ درصد) برای پوشاندن کف چاهک و جلوگیری از نفوذ و جاری شدن عصاره ریشه به زیر محیط کشت، یک میلی‌لیتر عصاره گال در آن ریخته شد. سپس به فاصله دو سانتی‌متر از حاشیه چاهک بلوک کشت قارچ به قطر یک سانتی‌متر قرار داده شد. فاصله حاشیه پرگنه قارچ تا حاشیه چاهک هر روز و به مدت پنج روز اندازه‌گیری شد. در این آزمایش نیز دو نوع تیمار دیگر در نظر گرفته شد.

- تیمار اول، در داخل چاهک عصاره قسمت‌های غیرآلوده ریشه همان گیاه ریخته شده بود.

- تیمار دوم، در داخل چاهک عصاره ریشه گیاه سالم ریخته شده بود.

به منظور جلوگیری از تبخیر رطوبت و عصاره داخل ظروف کشت، ظروف در داخل کیسه فریزر گذاشته و پنبه‌ای مرطوب نیز در داخل کیسه قرار داده شد.

شاهد در این آزمایش نیز شامل چاهک‌های حاوی آب مقطر سترون بود.

این آزمایش نیز با ۱۰ تکرار، در یک طرح کامل تصادفی انجام شد.

نتایج و بحث

نتایج آزمایش ج

مقایسه میزان تحریک جوانه زنی اسپور و رشد قارچ به وسیله ترشحات منطقه گال و ریشه سالم: جوانه‌زنی اسپور و ظهور کلنی‌های جوان قارچ در منطقه گال از روز دوم به وضوح قابل مشاهده بود. در حالی که در منطقه غایرگال ریشه همان گیاه و ریشه گیاه سالم بدون تفاوت محسوس در روز چهارم قابل مشاهده بود. ظهور کلنی قارچ با فاصله تقریبی ۱۰-۸ میلی‌متر اطراف منطقه گال مشاهده شد که نشان‌دهنده قابل نشت بودن یا ساری بودن ترشحات روی محیط آب آگار می‌باشد. براساس نتایج به‌دست آمده از این آزمایش و مقایسه تیمارهای آن چنین پیشنهاد می‌شود که ترشحات منطقه گال، احتمالاً از نظر کمیت و کیفیت، محرک جوانه‌زنی و رشد قارچ در منطقه اطراف آن (منطقه ریزوسفر) می‌باشد. نتایج این آزمایش با نتایج به‌دست آمده از آزمایش مایول و برجستون (۱۹۷۰) هماهنگی دارد، منتهی در این آزمایش تأثیر ترشحات منطقه گال بر قارچ مورد آزمایش بررسی شده است، در حالی که در آنها با مشاهده کاهش جمعیت اکتینومایست‌ها در منطقه ریزوسفر ریشه‌های آلوده به نماتد، به‌طور احتمال، افزایش جمعیت قارچ *F. oxysporum* f.sp. *lycopersici* را به کم شدن فعالیت آنتاگونیست‌های این قارچ از گروه اکتینومایست‌ها نسبت داده‌اند. براساس نتایج به‌دست آمده از این آزمایش و آزمایش مایول و برجستون (۱۹۷۰) چنین استنباط می‌شود که ترشحات منطقه گال از نظر محتوای مواد محرک رشد یا بازدارنده (تغییر pH محیط و غیره) بر ارگانیزم‌های مختلف از نظر رشد تأثیر متفاوت دارد به‌طوری که محیط ریزوسفر منطقه گال موجب کاهش فعالیت اکتینومایست‌ها (به دلیل کاهش pH) و موجب افزایش جوانه‌زنی و رشد قارچ فوزاریوم عامل پژمردگی آوندی می‌شود.

نتایج آزمایش د

مقایسه میزان جذب قارچ به ریشه گیاه مورد حمله نماتد و ریشه سالم: نتایج این آزمایش (جدول ۱) و مقایسه تیمارهای آن نشان داد که بین تیمارهای مختلف و شاهد تا روز پنجم اختلاف معنی‌دار وجود نداشت (سطح ۵ درصد). در روز ششم بین تیمار منطقه گال و تیمار ناحیه غایرگال و ریشه سالم اختلاف معنی‌دار بود، در حالی که بین تیمار ناحیه غایرگال و ریشه سالم اختلاف معنی‌دار نبود. مشاهده روند رشد قارچ طی روزهای متوالی در تیمارهای ناحیه غایرگال و گیاه سالم نشان از روند نزولی در روزهای پنجم و بعد از آن دارد که احتمالاً

www.SID.ir

Archive of SID

جدول ۱- فاصله حاشیه پرگنه قارچ × تا ریشه (میلی‌متر).

زمان بعد از کشت قارچ (روز)	۱	۲	۳	٤	٥	٦	۷
گال	۲۸a	۲٤a	۱۸b	۱۲c	٦d	۰e	۰e
ناحیه غایرگال	۲۸a	۲٤a	۱۸b	۱۳c	۹cd	۸cd	٦cd
ریشه سالم	۲۸a	۲٤a	۱۸b	۱۳c	۹cd	vcd	٥cd

* *Fusarium oxysporum f*.sp. *lycopersici*

- اعدادی که با حروف یکسان نشان داده شده‌اند در سطح ٥ درصد و براساس آزمون دانکن اختلاف معنی‌دار ندارند.

- هر عدد میانگین ۱۰ تکرار است

می‌تواند ناشی از نامناسب شدن محیط کشت بعد از پنج روز و بیشتر باشد و یا وجود عامل محدود کننده‌ای در ترشحات ریشه باشد، در حالی که در تیمار ناحیه گال، روند رشد قارچ از روز پنجم به بعد بدون کاهش بود، به‌طوری که در روز ششم قارچ به گال رسید و در روز هفتم نیز ناحیه گال را در بر گرفت.

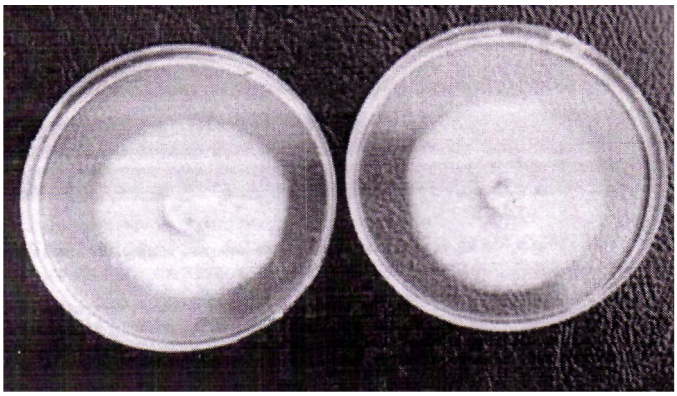
در حالی که در تیمار ناحیه غایرگال ریشه و ریشه سالم تا روز هفتم با فواصل ٦ و ٥ میلی‌متر از ریشه قرار داشتند. نتایج این آزمایش موید این است که تسریع رشد قارچ روی ترشحات گال حتی از فواصل حدود ۱۰ میلی‌متر نسبت به منطقه غایرگال و ریشه سالم موجب جهت گیری و رشد قارچ به سمت منطقه گال می‌شود بنابراین آلودگی نماتد مولد گره ریشه در گیاه، تمایل قارچ به نزدیک شدن و فراگرفتن و نفوذ به گال و ریشه را افزایش می‌دهد. فتاح و وبستر (۱۹۸۳) نشان دادند که در تعامل نماتد *Meloidogyne javanica* و *Fusarium oxysporum* f.sp. *lycopersici* طی سه هفته بررسی میزان نفوذ قارچ در آوندهای چوبی و سلول‌های غول آسا در ارقام حساس به قارچ به حدی بود که منجر به انسداد آوندها و تجزیه سلول‌های غول آسا گردیده است. در حالی که در ارقام مقاوم تا هفته دوم هیچ گونه علائمی از بیماری و نشانه‌ای از وجود قارچ در سلول‌های غول آسا و آوندهای چوبی مشهود نبوده و در هفته سوم نیز تعداد معدودی میکروکنیدی فقط در آوندهای چوبی قابل مشاهده بوده است. نتایج این آزمایش نشان‌دهنده متفاوت بودن ترشحات منطقه گال از نظر کمی و کیفی نسبت به دیگر قسمت‌های ریشه گیاه می‌باشد که سبب جذب قارچ مورد آزمایش به منطقه گال و تسریع رشد آن و در نهایت کلنیزه نمودن گال ونفوذ به آوندهای چوبی و آلودگی گیاه می‌شود.

نتایج آزمایش ه

مقایسه میزان رشد قارچ روی عصاره گال نماتدی و ریشه سالم: همانطور که از شکل‌های ۳ و ٤ و جدول ۲ قابل مشاهده است، میانگین رشد قارچ در کلیه تیمارها تا روز دوم بدون اختلاف معنی‌دار با شاهد بودند (سطح ٥ درصد). در روز سوم، میانگین رشد قارچ در تیمار عصاره گال با اختلاف معنی‌دار (کلاس d) نسبت به شاهد و حتی نسبت به دیگر تیمارها (کلاس c) بود. اختلاف قابل توجه و معنی‌دار رشد قارچ در روز چهارم در تیمار عصاره گال (کلاس e) در مقایسه با شاهد و دیگر تیمارها حاکی از متفاوت بودن محتوای عصاره گال نسبت به عصاره دیگر تیمارها از نظر کمیت یا کیفیت غذایی برای قارچ، یا اثر تحریکی آن بر قارچ می‌باشد. اگرچه بین تیمار عصاره ناحیه غایرگال ریشه و عصاره ریشه سالم از لحاظ آماری اختلاف معنی‌دار نبود ولی از نظر میانگین عددی رشد قارچ دارای اختلاف نسبی بود به‌طوری که در روز چهارم بین این دو تیمار اختلاف عددی ٤ میلی‌متر وجود داشت که نشان‌دهنده کاهش کمی یا کیفی محتوای عصاره ناحیه غایرگال در مقایسه با عصاره ریشه سالم می‌باشد. این موضوع نشان دهنده تأثیر محسوس نماتد و بروز عدم تعادل در انتشار مواد غذایی در ریشه گیاه و کاهش محتوای غذایی دیگر قسمت‌های ریشه نسبت به منطقه گال می‌باشد.

www.SID.ir

Archive of SID



شکل ٤- مقایسه میزان رشد قارچ *Fusarium oxysporum* f.sp. *lycopersici* روی محیط کشت حاوی عصاره منطقه غیرگال ریشه آلوده به نماتد *Meloidogyne javanica* (راست) و عصاره ریشه سالم (چپ).

جدول ۲ - مقایسه میزان رشد قارچ * روی محیط کشت ** حاوی عصاره‌های گال و قسمت‌های دیگر ریشه متوسط شعاع رشد قارچ (میلی‌متر).

زمان اندازه‌گیری (روز)	۱	۲	۳	٤
عصاره گال	۲a	۷b	۲۰d	۳٤e
عصاره ناحیه غایرگال	۲a	٥b	۱۱c	۱۹d
عصاره ریشه سالم	۲a	٦b	۱۲c	۲۲d
شاهد[1]	۲a	٤ab	٦b	۱۲c

*نژاد یک *F. oxysporum* f.sp. *lycopersici*

** محیط کشت PDA (عصاره ٥٠ گرم سیب زمینی، سه گرم قند دکستروز و هفت گرم آگار، در یک لیتر آب مقطر)

۱. شاهد: محیط کشت فاقد عصاره گیاه

- اعدادی که با حروف یکسان نشان داده شده اند در سطح ٥٪ و بر اساس آزمون دانکن اختلاف معنی‌دار ندارند.

- هر عدد میانگین ۱۰ تکرار است.

نتایج جدول ۳ و شکل‌های ٥ و ٦ (صورت دوم آزمایش) نیز نشان‌دهنده اختلاف معنی‌دار رشد قارچ و تمایل آن به سمت چاهک حاوی عصاره گال (کلاس d) از روز چهارم در مقایسه با دیگر تیمارها و شاهد می‌باشد. اختلاف میانگین عددی (نه آماری) بین این تیمار و شاهد در روز سوم نیز مؤید انتشار عصاره گال در محیط آگار می‌باشد، که از مقایسه نمودن آن با دیگر تیمارها می‌توان مسافت حدود ۱۰ میلی‌متر را تا روز سوم در نظر گرفت. نتایج این آزمایش نیز با نتایج به‌دست آمده در آزمایش فتاح و وبستر (۱۹۸۳) هماهنگی دارد و نشان‌دهنده این است که محیط گال از نظر محتوای کمی یا کیفی غذایی نسبت به قسمت‌های غیرآلوده ریشه همان گیاه و ریشه سالم موجب جهت‌گیری قارچ به سمت گال و تسریع رشد آن در گال (محل تجمع مواد غذایی) می‌شود.

براساس نتایج به‌دست آمده از این آزمایش‌ها چنین پیشنهاد می‌شود که یکی از علل تشدید آلودگی[1] قارچ‌های عامل پژمردگی آوندی *F.oxysporum* در گیاهان میزبان در حضور نماتد مولد گره ریشه، ترشح مواد محرک جوانه‌زنی اسپور قارچ از منطقه گال، بالاتر بودن محتوا و ارزش غذاییd این ترشحات است به‌طوری که رشد قارچ به سمت منطقه گال بیشتر از دیگر قسمت‌های ریشه گیاه می‌باشد. بنابراین تعامل بین نماتدهای مولد گره ریشه و پاتوژن های ثانویه از جمله قارچ‌های فوزاریوم عامل پژمردگی از منطقه ریزوسفر آغاز شده و به‌صورت افزایش میزان مایه آلوده‌کننده قارچ و افزایش سرعت جوانه‌زنی اسپور در منطقه ریزوسفر و افزایش جذب و فراگرفتن ریشه ظاهر می‌شود.

1- Synergism

www.SID.ir

Archive of SID

جدول ۳- مقایسه میزان رشد قارچ * نسبت به چاهک حاوی عصاره گال و عصاره قسمت‌های دیگر ریشه متوسط رشد قارچ[1] (میلی‌متر).

زمان اندازه‌گیری (روز)	۱	۲	۳	٤	٥
عصاره گال	۱۷a	۱۳ab	۹b	۲d	۰d
عصاره ناحیه غایرگال	۱۷a	۱۳ab	۱۰b	vbc	٤cd
عصاره ریشه سالم	۱۷a	۱۳ab	۱۰b	۸b	٦c
شاهد[2]	۱۷a	۱۳ab	۱۱b	۹b	vbc

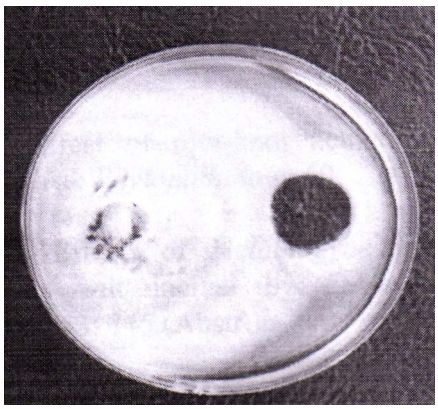
* نژاد یک *F. oxysporum* f.sp. *Lycopersici*

۱. فاصله حاشیه پرگنه قارچ تا چاهک (میلی‌متر)

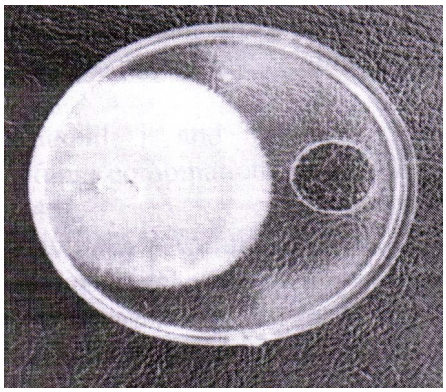
۲. شاهد: چاهک حاوی آب مقطر سترون

- اعدادی که با حروف یکسان نشان داده شده‌اند در سطح ۵٪ و براساس آزمون دانکن اختلاف معنی‌دار ندارند.

- هر عدد میانگین ۱۰ تکرار است.



شکل ٥- تمایل رشد قارچ *Fusarium oxysporum* f.sp. *lycopersici* به سمت چاهک حاوی عصاره گال نماتد *Meloidogyne javanica* (راست).



شکل ٦- تمایل رشد قارچ *Fusarium oxysporum* f.sp. *lycopersici* به سمت چاهک‌های حاوی عصاره ریشه گیاه سالم (چپ).

منابع

۱.صاحبانی، ن.۱۳۸۲. بررسی شدت بیماری پژمردگی فوزاریومی گوجه فرنگی *Fusarium oxysporum* f.sp. *lycopersici* در ارتباط با نماتد مولد گره ریشه *Meloidogyne javanica* و بررسی برخی مکانیسم‌های دفاع بیوشیمیائی گیاه. رساله دوره دکتری بیماری شناسی گیاهی، دانشگاه تهران، دانشکده کشاورزی، ۲٤۷ صفحه.

۲.فصیحیانی، ع. ۱۳۷۱. نژاد فیزیولوژیک فوزاریوم عامل پژمردگی گوجه فرنگی در استان هرمزگان. بیماری‌های گیاهی، جلد بیست و ششم، ۲٦-۱۹.

3.Abawi, G.S., and Barker, K.R. 1984. Effects of cultivar, soil temperature, and population levels of *Meloidogyne incognita* on root necrosis and Fusarium wilt of tomotoes. *Phytopathology* 74: 433-438.

4.Abul, H. 1985. Breaking resistance in chili to root-knot nematode by fungal pathogens. Nematologica 31:210-217.

5.Cauquil, J., and Shepherd, R.L. 1970. Effect of root-knot nematode-fungi combinations on cotton seedling disease. *Phytopathology* 60: 448-451.

6.Davis, R.A., and Jenkins, W.R. 1963. Effects of *Meloidogyne spp*. And *Tylenchorhynchus claytoni* on pea wilt incited by *Fusarium oxysporum* f.sp. *pisi* race 1. *Phytopathology* 53: 745 (Abstr).

7.DeVay, J.E., Gutierrez, A.P., Pullman, G.S., Wakeman, R.J., Garber, R.H., Jeffers, D.P., Smith, S.N., Goodell, P.B., and Roberts, P.A. 1997. Inoculum densities of *Fusarium oxysporum* f.sp.

www.SID.ir

Archive of SID

vasinfectum and *Meloidogyne incognita* in relation to the development of fusarium wilt and the phenology of cotton plants(*Gossypium hirsutum*). *Phytopathology* 87:341-346.

8.Edens, R.M., Anand, S.C., and Bolla, R.I. 1995. Enzymes of the phenylpropanoid pathway in soybean infected with *Meloidogyne incognita* or *Heterodera glycines. J.of Nematol*. 27:292-307.

9.Fattah, F., and Webster, J.M. 1983. Ultrastructeral changes caused by *Fusarium oxysporum* f.sp. *lycopersici* in *Meloidogyne javanica* induced giant cells in Fusarium resistant and susceptible tomato cultivars. *J. of Nematol*. 15:128-135.

10.Griffin, G.D. 1986. The importance of nematode resistance on the interaction of *Meloidogyne hapla* and *Fusarium oxysporum* on alfalfa. *Phytopathology* 76: 843 (Abstr).

11.Hussay, R.S., and Barker, K.R. 1973. A comparison of methodes of collecting inocula of *Meloidogyne* spp*.,* including a new technique. *Plant Dis.Rep*. 75:1025- 1028.

12.Kroon, B.A.M., and Elgersma, D.M. 1993. Interactions between race2 of *Fusarium oxysporum* f.sp. *lycopersici* and near-isogenic resistant and susceptible lines of intact plants or callus of tomato. *J. of Phytopathol*.137:1-9.

13.Kubota, M., and Abiko, K. 2001. Induced resistance in cucumbers against *Fusarium oxysporum* f.sp. *cucumberium* and *Rhizoctonia solani* AG2-2 by infection of the cotyledons. *J. of Phytopathol*. 149:297-300.

14.Mai, W.F., and Abawi, G.S. 1987. Interactions among root-knot nematodes and Fusarium wilt fungi on host plants. *Ann. Rev. Phytopathol*. 25:317-338.

15.Mayol, P.S., and Bergeston, G.B. 1970. The role of secondary invaders in *Meloidogyne incognita* infection. *J. of Nematol*. 2:80-83.

16.Nath, R., Khan, M.N., Kamalwanshi, R.S., and Dwivedi, R.P. 1984. Influence of root- knot nematode, *Meloidogyne javanica* on pre- and post-emergence damping-off of tomato. *Indian J. of Nematol.* 14:135-140.

17.Nickle, W.R. 1991. Manual of Agricultural Nematology, Marcel- Dekker inc., NewYork. USA (1035 pp).

18.Ogallo, J.L., and McClure, M.A. 1996. Systemic acquired resistance and susceptibility to root-knot nematodes in tomato. *Phytopathology* 86: 498-501.

19.Porter, D.M., and Powell, N.T. 1967. Influence of certain Meloidogyne species on Fusarium wilt development influecured tobacco. *Phytopathology* 57: 282-285.

20.Powell, N.T. 1971. Interactions between nematode and fungi in disease complexes. *Ann. Rev. Phytopathol*. 9: 253-274.

21.Williamson, V.M., and Hussey, R.S. 1996. Nematode pathogenesis and resistance in plants. *The Plant Cell* 8: 1735- 1745.

www.SID.ir

Archive of SID

J. Agric. Sci. Natur. Resour., Vol. 13(5), Nov-Dec 2006
www.magiran.com/jasnr

Study of spore germination, growth rate and orientation of *Fusarium oxysporum* f.sp. *Lycopersici* toward roots infected by *Meloidogyne javanica* in vitro

N. Sahebani[1], J. Zad[2], A. Sharifi-Tehrani[2] and A. Kheiri[2]
[1]Faculty member of Plant pathology Dept., Abureihan campus, Tehran Univ., [2]Faculty members Plant pathology Dept., Agriculture Faculty, Tehran Univ., Iran

Abstract

This research was conducted to study interaction between root-knot nematode *Meloidogyne javanica* and causal agent of tomato wilt (*Fusarium oxysporum* f.sp. *Lycopersici*) for showing the effect of nematode infected root exudates of tomato on spore germination and growth rate of fungi in lab. and greenhouse condition. In this research, we have been demonstrated that spore germination and growth rate of fungi on PDA+nem. Gall extract) 1% v/v) in petri plate condition were significantly increased) class d) in comparison to other parts of root) class c) and roots of healthy plant) class c) after 3 days and during latter days ($p< 0.05$). Accumulation of plant nutrition in the nematode gall, which is favorite for fungi, increased fungal growth and nematode gall colonization by fungi. So root knot nematode infection in relationship to fungi increased inoculum level of fungi and plant root colonization.

***Keywords*:** Interaction; Root knot nematode; Tomato Fusarium wilt; Disease synergism; Spore germination*; Meloidogyne javanica; Fusarium oxysporum* f. sp. *lycopersici*

www.SID.ir