Archive of SID

نشریه کنترل بیولوژیک آفات و بیماری‌های گیاهی
دوره۲، شماره ۱، بهار۱۳۹۲ (۱۶-۹)

اثر تلفیقی *Trichoderma virens* و *Glomus mosseae* در کنترل نماتد *Meloidogyne javanica* در گوجه‌فرنگی

کیومرث میره‌کی[۱]، محمد عبدالهی[۲*] و فرزانه طلایی[۱]
۱، دانشجویان کارشناسی ارشد بیماری‌شناسی گیاهی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه یاسوج
۲، دانشیار نماتدشناسی گروه گیاهپزشکی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه یاسوج
(تاریخ دریافت: ۹۱/۱۲/۳ تاریخ تصویب: ۹۲/۵/۲۶)

چکیده

به منظور بررسی تأثیر دو قارچ *Glomus mosseae* و *Trichoderma virens* بر نماتد *Meloidogyne javanica*، عامل ریشه‌گرهی گوجه‌فرنگی، آزمایشی به‌صورت کاملاً تصادفی با هفت تیمار در چهار تکرار در شرایط گلخانه‌ای انجام شد. *T. virens* از مزارع گندم استان فارس جداسازی و روی محیط کشت PDA تکثیر شد و زادمایه اولیه *G. mosseae* از گروه باغبانی دانشگاه ولی‌عصر (عج) رفسنجان تهیه شد و برای تکثیر و به‌دست‌آوردن جمعیت مورد نظر از هاگ‌های خالص، از کشت گلدانی استفاده شد. اثر هر دو قارچ در تیمارهای مختلفی به‌صورت مجزا و مخلوط با یکدیگر بررسی شد. نتایج این آزمایش‌ها نشان داد که مخلوط این دو قارچ باعث کاهش تمامی فاکتورهای مرتبط با نماتد شد، به‌طوری که تعداد گال ریشه از ۷/۲۸ گال در هر گرم ریشه به ۰/۷۲، تعداد توده تخم از ۲/۷۶ توده در هر گرم ریشه به ۰/۳۹، تعداد لارو سن دوم از ۳۵۵۳/۵ لارو در هر گلدان به ۲۴۷۱/۲۵ و در نهایت، فاکتور تولیدمثل نماتد از ۲/۱۳ به ۱/۴۸ کاهش یافت. در مورد شاخص‌های رشدی گیاه نیز تیمار مخلوط دو قارچ نسبت به تیمار شاهد بدون مایه‌زنی به نماتد اختلاف معنی‌دار آماری ندارد. از بین تیمارهای دیگر، کاربرد *G. mosseae* باعث کنترل نماتد و افزایش میزان رشد رویشی گوجه‌فرنگی، حتی در مقایسه با تیمار شاهد شد.

واژه های کلیدی: آنتاگونیست، کشاورزی پایدار، کاهش مصرف سموم، کشاورزی ارگانیک، مبارزهٔ بیولوژیک

مقدمه

گوجه‌فرنگی (*Lycopersicon esculentum* Mill.) یکی از محصولات بسیار مهم اقتصادی و راهبردی در کشاورزی مدرن محسوب می‌شود (Behnamyan and Massiha 2002). این گیاه به‌تازگی به‌عنوان گیاه مدل در مطالعهٔ برهم‌کنش‌های گیاه میزبان و عوامل بیماریزا شناخته شده است (Arie *et al.* 2007). مهم‌ترین محدودیتی که کشت گوجه‌فرنگی را با مشکل روبه‌رو کرده است، خسارت‌های ناشی از نماتدهای بیماریزای گیاهی است که حتی در کشورهای توسعه‌یافته با وجود اطلاعات گسترده دربارهٔ علم بیماری‌شناسی گیاهی، سالانه خسارت زیادی به محصولات کشاورزی می‌زنند (Siddiqi 2000). با توجه به شدت خسارت و دامنهٔ میزبانی گستردهٔ این نماتدها، مبارزه با آنها اجتناب‌ناپذیر است. به دلیل وجود محدودیت در مدیریت این نماتدها، محققان با استفاده از آنتاگونیست‌ها یا کنترل بیولوژیک به دنبال راه‌کارهای مناسب مدیریتی هستند که آلودگی

* نویسنده مسئول: محمد عبدالهی تلفن: ۰۷۴۱-۲۲۲۴۸۴۰ E-mail: mdabdollahi@gmail.com

www.SID.ir

Archive of SID

زیست‌محیطی نیز نداشته باشند (Jepson 1987). مسئلهٔ مقاومت به قارچ‌کش‌ها و آنتی‌بیوتیک‌ها که از سال ۱۹۷۴ شروع شده بود، به مشکل جدی تبدیل شده است. در این راستا، مبارزهٔ بیولوژیک با کاربرد قارچ‌های آنتاگونیست به‌عنوان یک پدیده و روشی جدید، دورنمایی جذاب و جالب از خود به جهانیان نشان داده و موجب جلب افکار عمومی شده است.

قارچ‌های خاکزی *Trichoderma* spp. و *Glomus* spp. از اجزای اصلی میکروفلور خاک هستند و نقش مهمی در تعامل عوامل بیماریزا با گیاه میزبان دارند. گونه‌های *Trichoderma* آزادزی هستند که در محیط ریشه، خاک و اندام‌های هوایی گیاه در تعامل با میکروارگانیسم‌های مختلف دیگر به سر می‌برند. گونه‌های این قارچ، به‌خصوص *T. viride* Pers. و *T. virens* (Miller, Giddens and Foster) von Arx. به دلیل نرخ تولیدمثلی زیاد، توانایی زیاد در استفاده از منابع غذایی مختلف، قدرت بالای تهاجم علیه عوامل بیماریزا، بهره‌گیری از مکانیسم‌های آنتاگونیستی مختلف چون رقابت، پارازیتیسم و آنتی‌بیوز، توانایی در ایجاد تغییر در ریزوسفر، تولید آنزیم‌های خارج‌سلولی نظیر آمیلولیتیک، پکتولیتیک، پروتئولیتیک، لیپولیتیک، کتینولیتیک و سلولیتیک و همچنین، کارآیی در تحریک رشد و القای مقاومت در گیاهان از عوامل بسیار مهم بیوکنترل تعداد زیادی از عوامل بیماریزا، به‌خصوص نماتدهای انگل گیاهی محسوب می‌شوند. بررسی محققان حاکی از آن است که گونه‌های این قارچ سبب افزایش رشد گیاهان نیز می‌شوند (Chacon *et al.* 2007). شارون و همکاران نشان دادند که رشد گیاهان گوجه‌فرنگی تیمارشده 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 (Sharon *et al.* 2001).

به دلیل اهمیت زیاد همزیستی گونه‌های *Glomus* spp. با گیاهان عالی، به نقش آن‌ها در کنترل عوامل بیماریزای خاکزاد و افزایش محصولات کشاورزی توجه زیادی شده است (Powell and Daniel 1988). همزیستی گونه‌های قارچ *Glomus* spp. با ریشهٔ گیاه، می‌تواند بر فیزیولوژی گیاه و تعاملات بیولوژیکی آن در خاک، وقوع و شدت بیماری‌های ریشه‌ای تأثیر بگذارد. بیشتر مطالعات نشان داده‌اند که این قارچ‌ها باعث کاهش بیماری‌ها و علائم ناشی از بیمارگرهای خاکزی می‌شوند (Gianinazzi-Pearson and Gianinazzi 1983). بعضی محققان نقش این قارچ‌ها را در کنترل بیولوژیک نماتدهای انگل گیاهی بررسی کرده‌اند (Dodd 2000؛ Sanders and Fitter 1992). نشان داده شده است که رقابت، مکانیسم اصلی کنترل نماتدها به کمک گونه‌های قارچ *Glomus* است. نماتدها برای رشد و توسعهٔ خود به مواد غذایی تولیدشدهٔ گیاه از طریق فتوسنتز نیاز دارند و از این طریق به‌طور مستقیم با گونه‌های *Glomus* رقابت می‌کنند (Smith and Smith 1981).

Ingham در سال ۱۹۸۸، کاهش خسارت بیماری‌های ناشی از عوامل بیماریزای خاکزی را در هفده خاک از سی و دو خاک میکوریزی‌شده گزارش کرد. خسارت وارده به گیاهان میکوریزی در بیماری‌های ریشه‌ای ناشی از نماتدها نسبت به گیاهان غیر میکوریزی کمتر است. علائم ناشی از نماتدها و در بیشتر موارد جمعیت نماتد (تعداد گال، لارو و تخم)، از طریق کلنیزه‌شدن گیاه با قارچ‌های میکوریز کاهش می‌یابد. در شرایط طبیعی به دلیل پایین‌بودن واحدهای تکثیری قارچ‌های عامل بیوکنترل در خاک، به نحو مطلوب در کنترل بیماری‌های ریشه‌ای مؤثر نیستند. بنابراین، باید با اضافه‌کردن این دو آنتاگونیست به خاک جمعیت آن‌ها را افزایش داد (Sharon *et al.* 2001).

طبق گزارش لی‌یو، گونه‌های قارچ *Glomus* باعث افزایش رشد گیاهچه‌ها، تسریع در گلدهی و افزایش تعداد گل و در نتیجه محصول شده است (Liu 1995). همچنین، باعث کاهش تعداد گال‌های نماتد مولد گال ریشه در گوجه‌فرنگی به میزان شصت و شش درصد شده است و مایه‌زنی پایه‌های سیب با این قارچ باعث افزایش وزن ریشه و قسمت‌های هوایی گیاه و میزان نیتروژن، فسفر، پتاسیم، سدیم و آهن آن‌ها و نیز کاهش تعداد نماتدهای مولد زخم در هر گرم از ریشه شده است (Pinochet *et al.* 1993).

با توجه به گستردگی انتشار گونه‌های مختلف نماتد مولد غدهٔ ریشه (*Meloidogyne* spp.) در ایران و جهان

www.SID.ir

Archive of SID

و خسارت مستقیم و غیر مستقیم این نماتد به محصول گوجه‌فرنگی، اهمیت اقتصادی این نماتد در بسیاری از منابع و مجلات علمی کشاورزی مورد تأکید پژوهشگران قرار گرفته است (Lamberti 2000). با این ملاحظات، اجرای یک تحقیق در راستای کشاورزی پایدار و ارگانیک ضروری است. بدین منظور اثر برهم‌کنشی دو قارچ *T. virens* و *G. mosseae* برای کنترل بیولوژیک نماتد ریشه‌گرهی در شرایط گلخانه‌ای بررسی شد.

مواد و روش‌ها

تهیهٔ زادمایهٔ نماتد *Meloidogyne javanica*

پس از نمونه‌برداری از ریشه‌های گوجه‌فرنگی آلوده به نماتد ریشه‌گرهی و تهیهٔ تودهٔ تخم منفرد از هر کدام از نمونه‌ها، نماتد روی ریشهٔ گوجه‌فرنگی رقم کارینا تکثیر شد. پس از چند دورهٔ‌متوالی‌تکثیر،روی‌ریشهٔ گوجه‌فرنگی در شرایط دمایی بیست و پنج الی بیست و هشت درجهٔ سانتی‌گراد، جمعیت کافی از زادمایهٔ نماتد به دست آمد. استخراج تخم و تهیهٔ لارو سن دوم با روش هوسی و بارکر انجام شد (Hussey and Barker 1973). پس از تهیه سوسپانسیون نماتد، برای تعیین غلظت و شمارش تعداد تخم و لارو، با یکنواخت‌کردن سوسپانسیون نماتد، مقدار یک میلی‌لیتر از سوسپانسیون در پتری شمارش ریخته شد و سپس، با استفاده از بینوکولر تعداد لارو و تخم نماتد شمارش شد. پس از تهیهٔ اسلاید، با استفاده از میکروسکوپ اولیمپوس مجهز به لولهٔ ترسیم شناسایی گونهٔ نماتد براساس مشخصات ریخت‌شناسی، ریخت‌سنجی، طرح ناحیهٔ پیرامون مخرج نماتد ماده و همچنین، مشخصات لارو سن دوم، انجام شد (Jepson 1987).

خالص‌سازی قارچ *Trichoderma* spp.

برای تهیهٔ زادمایهٔ تریکودرما از خاک مزارع گندم استان فارس نمونه‌برداری شد و تعدادی نمونهٔ خاک به وزن هفتصد گرم تا عمق بیست و پنج سانتی‌متری از محل ریزوسفر گندم تهیه و به آزمایشگاه منتقل شد. جداسازی جدایه‌ها روی محیط کشت انتخابی دوات انجام شد و با استفاده از محیط کشت WA (آب ـ آگار) و به روش تک اسپور جدایه‌های خالص‌سازی شد و در نهایت، با استفاده از محیط PDA (سیب‌زمینی دکستروز آگار) تکثیر و در دمای بیست و چهار درجهٔ سانتی‌گراد نگه‌داری شدند. به منظور شناسایی و تشخیص جدایهٔ تریکودرما، از کلیدهای شناسایی موجود استفاده شد (Bissett 1969, Rifai 1969). پس از تهیهٔ سوسپانسیون اسپور در آب مقطر، با استفاده از لام گلبول‌شمار (هموسیتومتر) غلظت 10^6 اسپور قارچ در میلی‌لیتر آب مقطر تهیه شد. زادمایهٔ اولیهٔ قارچ *Glomus* spp. از گروه باغبانی دانشگاه ولی‌عصر (عج) رفسنجان تهیه شد. زادمایه شامل قطعات ریز ریشهٔ ذرت حاوی وزیکول‌ها، ریسه‌ها، آربوسکول‌ها و اسپورهای قارچ مخلوط با شن بود. به منظور تکثیر انبوه این قارچ و به‌دست‌آوردن جمعیت مورد نظر از هاگ‌های خالص و عاری از بیمارگر، براساس توصیه گاور و آدولیا، از روش کشت گلدانی در گلخانه استفاده شد (Gaur and Addholeya 2000). بدین منظور، قارچ‌ها در داخل گلدان‌های پنج کیلوگرمی با بستری مخلوط از شن و رس با نسبت پنج به یک در مجاورت ریشه ذرت رقم سینگل‌گراس ۷۰۴ به مدت چهار ماه نگه‌داری و تکثیر شدند. گلخانه دارای شرایط کنترل‌شده با دمای روز و شب به ترتیب بیست و هفت و نوزده درجهٔ سانتی‌گراد و رطوبت نسبی شصت درصد بود. پس از تکثیر، برای حصول اطمینان از جنس و گونهٔ مورد نظر، شناسایی براساس‌طرح‌رنگ کلکسیون بین‌المللی قارچ‌های میکوریز وزیکولار آربوسکولار مستقر در دانشگاه ویرجینیای غربی آمریکا انجام شد (Morton 1995). در نهایت، مشخصات گونه با توصیف‌های قارچ‌های میکوریز آربوسکولار مقایسه و شناسایی شد (Blaszkowski and Tadych 1997).

بررسی اثر متقابل *T. virens* و *G. mosseae* بر نماتد *M. javanica* در شرایط گلخانه

در مجموع شش ترکیب تیماری در قالب طرح کاملاً تصادفی در چهار تکرار در گلدان‌های پلاستیکی یک کیلویی بررسی شدند. تیمارها شامل ۱. گوجه‌فرنگی تلقیح‌شده با قارچ *G. mosseae* ۲. گوجه‌فرنگی تلقیح‌شده با قارچ *T. virens* ۳. گوجه‌فرنگی تلقیح‌شده با نماتد *M. javanica* ۴. گوجه‌فرنگی تلقیح‌شده با قارچ *G. mosseae* و نماتد *M. javanica* ۵. گوجه‌فرنگی تلقیح‌شده با قارچ *T. virens* و نماتد *M. javanica* ۶.

www.SID.ir

Archive of SID

گوجه‌فرنگی تلقیح‌شده با قارچ‌های *G. mosseae* و *T. virens* و نماتد *M. javanica* ۷. شاهد بود. بذور گوجه‌فرنگی رقم حساس کارینا به مدت یک دقیقه با محلول هیپوکلریت سدیم پنج درصد ضدعفونی سطحی شدند و پس از شست‌وشو با آب مقطر، در بستر کشت مناسب با مخلوط ماسه، خاک برگ، خاک مزرعه استریل (۱:۱:۱ حجمی) در لیوان‌های نشا کشت داده شدند. در مرحلهٔ شش برگی، گیاهچه‌ها با سوسپانسیون اسپور قارچ *T. virens* با غلظت 10^6 اسپور در میلی‌لیتر آب مقطر قارچ به مدت پنج دقیقه مایه‌زنی شدند (Sharon et al. 2001). سه روز پس از مایه‌زنی ریشه‌ها با اسپور قارچ *T. virens* و انتقال نشاها به گلدان‌ها، با ایجاد سه سوراخ در اطراف طوقهٔ هر گیاهچه تعداد دو هزار لارو سن دوم نماتد *M. javanica* در مجاورت ریشه مایه‌زنی شدند (Hussey and Barker 1973). به منظور مایه‌زنی تیمارهای *G. mosseae*، هنگام کشت بذور گوجه‌فرنگی برای تهیهٔ نشا، مقدار پنجاه گرم از زادمایه اسپور قارچ در اطراف بذور در داخل لیوان نشا ریخته شد. شرایط محیطی گلخانه در طول دورهٔ نگه‌داری گلدان‌ها شامل دامنهٔ دمایی ۲±۲۶ درجهٔ سانتی‌گراد، رطوبت نسبی شصت درصد، دورهٔ نوردهی شانزده ساعت در روز و دور آبیاری چهل و هشت ساعت بود. هشت هفته پس از تلقیح نماتد به بوته‌ها، تیمارها بررسی شدند و شاخص‌هایی از قبیل تعداد گره روی ریشه، تعداد کیسهٔ تخم و تعداد لارو سن دوم در خاک و همچنین، شاخص تولیدمثل محاسبه شد. ویژگی‌های رویشی گیاه شامل طول اندام هوایی، طول ریشه، وزن تر و خشک اندام هوایی و ریشه نیز ارزیابی شدند.

تجزیهٔ آماری داده‌ها

تجزیهٔ داده‌ها با استفاده از نرم‌افزار آماری SPSS 20، تجزیه واریانس داده‌ها و مقایسهٔ میانگین‌ها با آزمون چنددامنه‌ای LSD در سطوح یک و پنج درصد انجام شد.

نتایج و بحث

گونهٔ جداشده *Trichoderma virens*، *T. virens* تشخیص داده شد. رشد پرگنه این قارچ در محیط کشت PDA در دمای بیست و شش درجهٔ سانتی‌گراد بیست میلی‌متر، اسپورزایی به‌صورت پراکنده و تمامی محیط را فرا گرفت. رنگ پرگنه در قسمت تحتانی بی‌رنگ تا زرد کم‌رنگ و رنگ روی پرگنه زرد مایل به سبزآبی بود. روی ریسه‌های خوابیده کلامیدوسپورهای زرد کم‌رنگ تا بی‌رنگ به‌صورت انتهایی یا میانی و به شکل بیضوی و منفرد به اندازهٔ ۹-۵×۱۲-۶ میکرومتر ایجاد شد. کنیدیوفورها منشعب، دارای سطحی صاف و بی‌رنگ بود و فیالیدهای آمپولی شکل به‌صورت سه‌تایی تا شش‌تایی در انتها ایجاد می‌شد.

صفات رویشی گوجه‌فرنگی آلوده به نماتد ریشه‌گرهی

نتایج تجزیهٔ واریانس صفات رویشی ساقه و ریشه مربوط به گوجه‌فرنگی آلوده‌شده به نماتد ریشه‌گرهی *M. javanica* که با قارچ‌های *T. virens* و *G. mosseae* تیمار شدند، نشان می‌دهد که اثر تلقیح تیمارها برای تمامی صفات مورد بررسی در سطح یک درصد معنی‌دار است (جدول ۱).

همان‌گونه که در جدول مقایسهٔ میانگین صفات رویشی (جدول ۲) مشاهده می‌شود، بیشترین اثر در تیمارهای *G. mosseae* + *T. virens* + *M. javanica* و *G. mosseae* +*M. javanica* و کمترین تأثیر در تیمار *T. virens* + *M. javanica* مشاهده می‌شود. در تیمارهای تلقیح‌نشده با نماتد ریشه‌گرهی، نه تنها تیمار *G. mosseae* در مقایسه با تیمار *T. virens* تأثیر بیشتری روی صفات رویشی گوجه‌فرنگی داشته است، بلکه تیمار *T. virens* باعث کاهش شاخص‌های رشدی گیاه در مقایسه با شاهد نیز شده است. البته گونه‌ها و جدایه‌های تریکودرما اثرات متفاوتی بر رشد گیاه دارند. در برخی منابع تولید بیش از حد برخی فاکتورهای محرک مثل اکسین و ترکیبات مشابه توسط برخی گونه‌ها به‌عنوان مختل‌کنندهٔ رشد گیاه (Vinale *et al.* 2008a, 2008b) ذکر شده و همچنین، نقش بیماریزایی نژادی از *T. viride* در گیاهچه‌های خیار، فلفل و گوجه‌فرنگی به اثبات رسیده است (Menzies 1993). در تیمارهای تلقیح‌شده با نماتد نیز وضعیت مشابهی مشاهده شد، به‌طوری که کاربرد *T. viride*

www.SID.ir

Archive of SID

موجب افت شاخص‌های رشدی گیاه در مقایسه با تیمار تلقیح‌شده با نماتد شد که این موضوع با نتایج مِیر و همکاران هم‌خوانی دارد (Meyer *et al.* 2001). در آزمایش‌های ایشان نیز تمامی شاخص‌های رویشی گیاه با تلقیح عامل بیوکنترل کاهش یافت. برخی گونه‌های تریکودرما بر شاخص‌های رشدی گیاه آلوده به نماتد اثر مثبت داشته‌اند.

جدول ۱. تجزیهٔ واریانس صفات رویشی گوجه‌فرنگی آلوده‌شده به نماتد ریشه‌گرهی *M. javanica*، تیمارشده با قارچ‌های *T.virens* و *G. mosseae*

منابع تغییر	درجه آزادی	میانگین مربعات				
		طول ساقه	وزن تر ساقه	وزن خشک ساقه	طول ریشه	وزن تر ریشه	وزن خشک ریشه
تیمار	۶	۴۵/۶۳**	۴/۵۸**	۰/۶۲۴**	۲۳/۵۷**	۰/۸۴۶**	۰/۰۵۱**
خطا	۲۸	۱/۳۲	۰/۱۴۶	۰/۰۱۹	۰/۲۷۲	۰/۰۲۸	۰/۰۰۱
درصد ضریب تغییرات	-	۲۵/۳	۲۸	۲۷/۴	۲۸/۲	۳۲/۳	۳۴/۳

** معنی‌دار در سطح احتمال یک درصد

براساس نتایج تحقیقات شارون و همکاران، *T. harzianum* موجب افزایش وزن تر و خشک ریشه گوجه‌فرنگی آلوده به نماتد مولد غده شده است که افزایش وزن ریشه ناشی از افزایش طول و قطر ریشه است (Sharon *et al.* 2001). ویندهام و همکاران نیز نتایج مشابهی در ذرت آلوده به arenaria به‌دست آورده‌اند (Windham *et al.* 1989). با توجه به نتایج مقایسهٔ میانگین شاخص‌های رشدی گوجه‌فرنگی، تیمارهای تلقیح‌شده با قارچ *G. mosseae*، حتی نسبت به تیمار شاهد تلقیح‌نشده با نماتد دارای رشد بالاتری بودند که با توجه به بهبود شرایط تغذیه‌ای گیاه و افزایش جذب مواد معدنی به‌ویژه فسفر با *G. mosseae*، افزایش شرایط رشدی گیاه و تحمل گیاه نسبت به نماتد توجیه‌شدنی است (Jeffries and Barea 2012).

جدول ۲. مقایسهٔ میانگین فاکتورهای رشدی گوجه‌فرنگی آلوده‌شده به نماتد ریشه‌گرهی *M. javanica*، تیمارشده با قارچ‌های *T. virens* و *G. mosseae*

تیمارها	ساقه			ریشه		
	طول (س.م.)	وزن تر (گرم)	وزن خشک (گرم)	طول (س.م.)	وزن تر (گرم)	وزن خشک (گرم)
شاهد	۴۵/۲۰ a	۱۲/۵۸ bc	۳/۴۷ bc	۱۲/۵۸ b	۲/۳۹ b	۰/۴۳ cd
T. virens	۳۷/۲۵ b	۱۰/۴۵ e	۳/۰۸ d	۱۰/۴۵ b	۲/۰۸ b	۰/۳۲ e
G. mosseae	۴۵ a	۱۳/۶۰a	۳/۹۸ a	۱۳/۶۰ a	۳/۰۸ a	۰/۵۳ b
M. javanica	۳۸/۸ b	۱۱/۴۵ d	۳/۳۵ bcd	۱۱/۴۵ b	۲/۱۸ b	۰/۳۷ de
M. javanica+T. virens	۳۹/۵۰ b	۱۱/۹۳ cd	۳/۲۰ cd	۱۱/۹۳ b	۲/۱۳ a	۰/۴۳ cd
M. javanica+G. mosseae	۴۲/۷۵ a	۱۲/۴۸ bc	۳/۵۸ b	۱۲/۴۸ b	۲/۸۵ a	۰/۴۹ bc
M. javanica+T. virens+G. mosseae	۴۵/۲۵ a	۱۳/۲۰ ab	۴/۱۵ a	۱۳/۲۰ a	۳/۱۳ a	۰/۶۶ a
LSD 5%	۳/۱	۱/۸	۰/۵۱	۲/۱	۰/۴۲	۰/۱۸
LSD 1%	۳/۶۷	۲	۰/۶۱	۲/۵۸	۰/۵۰	۰/۲۱

*تعداد تکرار چهار، حروف مشابه لاتین نشان‌دهندهٔ نداشتن تفاوت معنی‌دار بین تیمارها در سطح ۵٪ است.

صفات تولیدمثل نماتد

نتایج تجزیهٔ واریانس صفات تولیدمثلی نماتد ریشه‌گرهی *M. javanica* (جدول ۳) نشان می‌دهد که در بین تیمارها از نظر چهار صفت مهم تولیدمثلی نماتد، یعنی تعداد گره در ریشه، تعداد کیسهٔ تخم در ریشه، تعداد لارو سن دوم در خاک و فاکتور تولیدمثل نماتد، در سطح یک درصد اختلاف معنی‌دار آماری وجود دارد. با توجه به جدول مقایسهٔ میانگین صفات مربوط به

www.SID.ir

Archive of SID

تولیدمثل نمـاتـد (جـدول ۴)، کم‌ترین تولیـد گـال و کیسه تخم و همچنین، لارو سن دوم و فاکتور تولیدمثل بـه ترتیب در تیمارهای *G. +T. virens+M. javanica mosseae* و *G. mosseae+M. javanica* مشاهده شد که با تیمار *M. javanica* دارای اختلاف معنی‌داری در سطح یک درصد بودند.

همچنین، تیمار *T. virens+M. javanica* هرچند در سطح یک درصد اختلاف معنی‌داری با تیمار *M. javanica* دارد، نسبت به دو تیمار دیگر ضعیف‌تر ارزیابی شد که بیانگر اثر بازدارندگی مطلوب *G. mosseae* است.

جدول ۳. تجزیهٔ واریانس صفات مربوط به تولیدمثل نماتد ریشه‌گرهی *M. javanica* در گوجه‌فرنگی تیمارشده با قارچ‌های *T.virens* و *G. mosseae*

منابع تغییر	درجهٔ آزادی	میانگین مربعات			
		تعداد گال	تعداد کیسه تخم	تعداد لارو سن دوم	فاکتور تولیدمثل
تیمار	۶	۴۲/۱۰**	۴/۰۹**	۹۵۷۴۸۷۹**	۳/۴۴**
خطا	۲۸	۰/۰۷۶	۰/۰۵۹	۱۳۲۶	۰/۰۴۵
درصد ضریب تغییرات	-	۳۳/۳	۳۵/۲	۲۸/۲۵	۱۸/۱

** معنی‌دار در سطح احتمال یک درصد است.

جدول ۴. مقایسهٔ میانگین صفات تولیدمثلی نماتد در گوجه‌فرنگی آلوده‌شده به نماتد ریشه‌گرهی *M. javanica*، تیمارشده با قارچ‌های *T. virens* و *G. mosseae*

تیمارها	تعداد گال	تعداد کیسهٔ تخم	تعداد لارو سن دوم	فاکتور تولیدمثل
شاهد	۰d	۰c	۰d	۰d
M. javanica	۷/۲۸ a	۲/۷۶ a	۳۵۵۳/۵۰a	۲/۱۳ a
M. javanica+T. virens	۶/۲۱ b	۱/۲۹ ab	۲۶۰۳/۵۰b	۱/۵۶ b
M. javanica+G. mosseae	۴/۴۸ c	۰/۷۱ b	۲۶۴۹-۲۵b	۱/۵۹ b
M. javanica+T. virens+G. mosseae	۰/۷۲ d	۰/۳۹c	۲۴۷۱/۲۵c	۱/۴۸ c
LSD 5%	۱/۴	۱/۲	۷/۱	۰/۶۷
LSD 1%	۴/۳۵	۲/۵	۷/۷	۰/۷۰

*تعداد تکرارچهار، حروف مشابه لاتین نشان‌دهندهٔ نداشتن تفاوت معنی‌دار بین تیمارها در سطح ۵٪ است.

نتیجه‌گیری کلی

بـررسـی نتـایج آزمـایش میـزان تـأثیـر قـارچ‌های *T. virens* و *G. mosseae* بـر نمـاتـد ریشـه‌گرهـی *M. javanica* نشـان داد که هر دو قـارچ می‌توانند به میزان چشمگیـری بر شـاخص‌هـای تکثیـری نمـاتـد *M. javanica* مؤثر باشند. با توجه به ارتباط متقابل قارچ و نمـاتـد با گیـاه، به نظر می‌رسد کـه قـارچ *T. virens* فعالیت نماتد در داخل گیـاه را دچار محدودیت می‌کند، به‌طوری که نه تنها میزان تشکیل گره روی ریشه، بلکه تعداد کیسهٔ تخم نیز کاهش می‌یابد. بنابراین، این احتمال وجود دارد که قارچ سیستم دفاعی گیاه را تحریک می‌کنـد. میـزان کاهش فعـالیـت نمـاتد ارتباط مستقیمی با قـارچ دارد؛ به این صـورت که قـارچ با کلونیزاسیـون محیط ریزوسفر مانـع گسـترش نماتـد در بافت‌های داخلی ریشه می‌شود (Sharon *et al.* 2001).

در تحقیـق حاضـر از بیـن دو قـارچ مورد آزمـایش، *G.mosseae* اثـر بـازدارندگـی بیشتـری داشتـه است. البتـه تیمـار *T. virens+M. javanica* نیز موجب کاهش شاخص‌های تولیدمثلی نماتد شد، لیکن با توجه به اثر منفی بر شاخص‌های رشدی گوجه‌فرنگی، توصیه نمی‌شود. نتایج تأثیر قارچ *T. virens* بر تعداد کیسهٔ تخم نشان داد که با کاهش تعداد گره‌ها، تعداد کیسهٔ تخم ایجاد شده نیز کاهش می‌یابد. به نظر می‌رسد که لاروها وارد ریشه می‌شوند، ولی نمی‌توانند کیسهٔ تخم زیادی تولیـد کننـد. احتمـالاً قـارچ *T. virens* باعث تحریک و القای سنتـز ترکیبات دفاعـی در گیـاه می‌شود. براساس تحقیقـات شـارون و همکـاران، آنزیـم کیتینـازی را که *T. harzianum* ترشح می‌کند بر کیتین موجود در پوستهٔ تخم نماتد اثـر دارد (Sharon *et al.* 2001). همچنیـن، *T. harzianum* می‌تواند به سیست نفوذ کند و تخم‌ها و

www.SID.ir

Archive of SID

لاروهای نماتد سیست طلایی سیب‌زمینی *Globodera rostochiensis* را پارازیته‌کند (Siffullah and Thomas 1996). در بررسی همین شاخص، با ورود *G. mosseae* به آزمایش‌ها، کاهش چشمگیر تعداد گال، کیسهٔ تخم و لارو سن دوم و در نهایت، فاکتور تولیدمثل نماتد مشاهده شد. طبق گزارش دهنه و همکاران، در ریشه‌های کلنیزه‌شده با قارچ *G. mosseae*، آنزیم کیتیناز افزایش می‌یابد (Dehne *et al.* 1987). این آنزیم باعث تجزیهٔ کیتین دیوارهٔ تخم نماتد و در نهایت، انهدام تخم می‌شود. همچنین، با افزایش آرژنین در گیاه، از تولید مثل نماتد جلوگیری می‌کند و از سوی دیگر با افزایش میزان فنل در ریشه، باعث کاهش تکثیر نماتد و تولید کیسه تخم و تعداد تخم می‌شود. طبق گزارش اسمیت این قارچ قدرت رقابتی زیادی دارد و دارای قدرت کلونیزاسیون بالایی بر روی سیستم ریشه است (Smith 1988). بنابراین، می‌توان توجیه کرد که *G. mosseae* با همین سیستم رقابتی توانسته است از گسترش و تکامل نماتد در ریشه به مقدار چشمگیری بکاهد و در نتیجه، در تیمارهای تلقیح‌شده با *G. mosseae* فاکتور تولیدمثل نماتد به‌طور معنی‌داری کاهش یافته است. در میان صفات تولیدمثلی نماتد، *T. virens* بیشترین اثر را بر تعداد لاروهای سن دوم در خاک و فاکتور تولیدمثل داشته است که از این جهت به لحاظ آماری در سطح یک درصد اختلاف معنی‌داری با تیمار *G. mosseae* ندارد. احتمالاً این مسئله به دلیل ارتباط متقابل بین تریکودرما و نماتد و قدرت زیاد پارازیتیسم آن بر لاروهای سن دوم در خاک است که باعث ازبین‌رفتن آن‌ها در داخل خاک می‌شود (Elad *et al.* 1980). هرچند تیمار *T. +M. javanica virens* نتوانست شاخص‌های رویشی گیاه را بهبود ببخشد، ورود *G. mosseae* به این مجموعه تغییر چشمگیری در تأثیر این عوامل بیوکنترل ایجاد کرد. این اثر را این‌طور می‌توان توجیه کرد که قارچ *G. mosseae* موجب بهبود رشد گیاه و شاخص‌های رویشی می‌شود و *T. virens* بر نماتد اثر می‌گذارد.

برآیند این دو اثر، برجسته‌شدن تیمار *G. mosseae+T. virens+M. javanica* است. بنابراین، با در نظرگرفتن همهٔ جوانب، این تیمار که از یک طرف شاخص‌های رشدی گیاه را حتی در مقایسه با تیمار شاهد تلقیح‌نشده با نماتد بهبود بخشید و از طرف دیگر در همهٔ شاخص‌های تولیدمثلی نماتد نسبت به سایر تیمارها برتری نشان داد، به‌عنوان برترین تیمار این آزمایش انتخاب می‌شود.

REFERENCES

Arie T, Takahshi H, Kodama M, Teraoka T (2007) Tomato as a model plant for plant-pathogen interactions. Plant Biotechnology 24:135-147.

Bhnamyan M, Messiah S (2002) Tomato. Setoodeh Publication, Tabriz, Iran (In Persian)

Bissett J (1991) A revision of the genus *Trichoderma*. II. Infrageneric classification. Canadian Journal of Botany 69: 2357-2372.

Blaszkowski J, Tadych M (1997) *Glomus multiforum* and *G. verruculosum*, two new species from Poland. Mycologia 89: 804-811.

Chacon MR, Rodríguez-Galán O, Benítez T, Sousa S, Rey M, Llobell A, Delgado-Jarana1 J (2007) Microscopic and transcriptome analyses of early colonization of tomato roots by *Trichoderma harzianum*. International Microbiology 10:19-27.

Dehne HW, Backhaus GF, Baltruschat H (1987) Inoculation of plants with VA mycorrhizal fungi at inorganic carrier materials, *In*: Sylvia DM, Hung LL, Graham JH (eds.), Mycorrhizae in the next decade, practical applications and research priorities. Proceedings of the 7th North American conference on mycorrhiza. Institute of Food and Agricultural Sciences, University of Florida, Gainesville, Florida, USA, pp. 272-273.

Dodd JC (2000) The role of arbuscular mycorrhizal fungi in agro and natural ecosystems. Outlook on Agriculture 29:55-62.

Elad I, Chet I, PandKatan J (1980) *Trichoderma harzianum*: A biological agent effective against *Sclerotinia rolfsii* and *Rhizoctinia solani*. Phytopathology 70: 119-121.

Gaur A, Adholeya A (2002) Arbuscular mycorrhizal inoculation of five tropical fodder crops and inoculum production in marginal soil amended with organic matter. Biology and Fertility of Soils, 35: 214-218.

Gianinazzi-Pearson V, Gianinazzi S (1983) The physiology of vesicular arbuscular mycorrhizal roots. Plant and Soil 71:197-209.

Hussey RS, Barker KR (1973) A comparison of methods of collecting inocula of *Meloidogyne* spp.,

www.SID.ir

Archive of SID

including a new technique. Plant Disease Reporter 57: 1025-1028.

Ingham RE (1988) Interaction between nematodes and VA Mycorrhiza. Agriculture, Ecosystem and Environment 24: 169-182.

Jeffries P, Barea JM (2012) Arbuscular Mycorrhiza: A Key Component of Sustainable Plant–Soil Ecosystems. The Mycota 9: 51-75.

Jepson SB (1987) Identification of root-knot nematodes (*Meloidogyne* species). CAB International, Wallingford, UK.

Lamberti F, Ekanayake HM, Zacheo F (2005) Reaction of six tomato cultivars to two Sri Lanka populations of *Meloidogyne* spp. Pakistan Journal of Nematology 1: 43-48.

Liu RJ (1995) Effect of vesicular arbuscular mycorrhizal fungi on Verticillium wilt of cotton. Mycorrhiza 5: 293-297.

Menzies JG (1993) A strain of *Trichoderma viride* pathogenic to germinating seedlings of cucumber, paper and tomato. Plant Pathology 42: 784-791.

Meyer SLF, Roberts DP, Chitwood, DJ, Carta LK, Lumsden RD, Mao W (2001) Application of *Burkholderia cepacia* and *Trichoderma virens*, alone and in combinations, against *Meloidogyne incognita* on bell pepper. Nematropica 31: 75-86.

Morton JB (1995) Taxonomic and phylogenetic divergence among five Scutellospora species based on comparative developmental sequences. Mycologia 87: 127-137.

Pinochet J, Camprumi A, Calvet C (1993) Effect of the root–lesion nematode *Pratylenchus vulnus* and the mycorrhizal fungus *Glomus mosseae* on the growth of EMLA-26 apple rootstock. Mycorrhiza 4: 79-83

Powell CL, Daniel J (1978) Growth of white clover in undisturbed soils after inoculation with efficient mycorrhizal fungi. New Zealand Journal of Agricultural Research 21: 675-690.

Rifai MA (1969) A revision of the genus *Trichoderma*. Mycological Papers 116: 1-56.

Sanders IR, Fitter AH (1992) Evidence for differential response between host–fungus combination of vesicular arbuscular mycorrhiza from a grassland. Mycological Research 96: 415-419.

Sharon E, Bar–Eyal M, Chet I, Herrera–Estrella A, Kleifeld O, Spiegel Y (2001) Biological control of the root-knot nematode *Meloidogyne javanica* by *Trichoderma harzianum*. Phytopathology 91: 687-693.

Siddiqi MR (2000) Tylenchida, Parasites of Plants and Insects. CABI Publishing. CAB International, Wallingford, UK.

Siffullah S, Thomas BJ (1996) Studies on the parasitism of *Globodera rostochiensis* by *Trichoderma harzianum* using low temperature scanning electron microscopy. Asian Journal of Nematology 6: 117-122.

Smith FA (1988) Mycorrhizal infection and growth of tomato: use of sterilized soil as a control treatment. New Phytologist 87: 109-124.

Smith FA, Smith SE (1981) Mycorrhizal infection and growth of *Trifolium subterraneum*: use of sterilized soil as a control treatment. New Phytologist 88: 299-309.

Vinale F, Sivasithamparam K, Ghisalberti EL, Marra R, Barbetti MJ, Li H, Woo SL, Lorito M (2008a). A noel role for *Trichoderma* secondary metabolites in the interactions with plants. Physiological and Molecular Plant Pathology 72: 80-86.

Vinale F, Sivasithamparam K, Ghisalberti EL, Marra R, Barbetti MJ, Li H, Woo SL, Lorito M (2008b). *Trichoderma*-plant-pathogen interactions. Soil Biology and Biochemistry 40: 1-10.

Windham GI, Windham MT, Williams WP (1989) Effects of *Trichoderma* spp. on maize growth and *Meloidogyne arenaria* reproduction. Plant Disease 73: 493-495.

www.SID.ir