کنترل بیولوژیک آفات و بیماری‌های گیاهی
دورهٔ ۶، شمارهٔ ۱، بهار و تابستان ۱۳۹۶ (۵۱-۴۱)
DOI: 10.22059/jbioc.2017.62736

کاربرد قارچ *Glomus mosseae* و بقایای سبز کلم قمری در کنترل نماتد *Meloidogyne javanica* روی گوجه‌فرنگی

۱. ذبیح اله اعظمی ساردویی*؛ ۲. راضیه نصیرپور؛ ۳. فرناز فکرت؛ ۱. حمیدرضا علیزاده
۱، ۲ و ۳. استادیار، دانشجوی سابق کارشناسی ارشد و مربی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه جیرفت
(تاریخ دریافت: ۱۳۹۵/۳/۲۳ - تاریخ پذیرش: ۱۳۹۵/۸/۱۹)

چکیده

نماتدهای ریشه گرهی از نظر اقتصادی از بیمارگرهای مهم گیاهی در جهان محسوب می‌شوند. استفاده از عوامل کنترل زیستی معمولاً با ثبات‌تر و امن برای محیط زیست هستند. در این پژوهش اثر قارچ *Glomus mosseae* (Gm) و بقایای کلم قمری (*Brassica oleracea*) و ترکیب آنها روی کنترل نماتد مولد ریشه گرهی گوجه‌فرنگی *Meloidogyne javanica* در شرایط گلخانه‌ای مورد مطالعه قرار گرفت. به منظور ترکیب تیمارها، نشاهای گوجه‌فرنگی کلنیزه شده توسط قارچ ریشه به گلدان‌های حاوی بقایای کلم قمری در مقادیر نیم و یک درصد منتقل گردید و تلقیح و آلوده‌سازی تمامی تیمارها با نماتد بعد از یک هفته انجام شد. نتایج نشان داد که کاربرد ترکیب قارچ ریشه Gm + ۱٪ کلم، به‌طور معنی‌داری (P<۰/۰۵) باعث افزایش شاخص‌های رشدی گیاه و کاهش زادولد نماتد (با مقدار لگاریتم ٤/٩٥) شد. مقایسه کاربرد هر یک از این عوامل به تنهایی در کنترل نماتد ریشه گرهی نشان داد که عملکرد بقایای کلم بهتر از قارچ Gm بوده و شاخص‌های رشدی را افزایش داده است. در مجموع می‌توان تولید نشاهایی همراه با ریشه کلنیزه شده با *G. mosseae* و نیز اصلاح خاک با بقایای کلم، جهت کنترل این نماتد به منظور کاهش کود و سموم شیمیایی در کشاورزی پایدار را پیشنهاد کرد.

کلیدواژگان: قارچ میکوریز، کلم، مدیریت، نماتد مولد گره ریشه.

Use of *Brassica oleracea* tissue and *Glomus mosseae* for controlling of *Meloidogyne javanica* on tomato plant

Zabihollah Azami-Sardooie[1*], Raziyeh Nasirpour[2], Farnaz Fekrat[3] and Hamidreza Alizadeh[1]
1, 2, 3. Assistant Professor, Former M. Sc. Student and Instructor, Department of Crop Protection, Faculty of Agriculture, University of Jiroft, Iran
(Received: Jun. 12, 2016 - Accepted: Nov. 9, 2016)

ABSTRACT

Root-knot nematodes are economically important plant pathogens in the world. The use of biocontrol agents usually is more stable and safe for environment. In this study the effect of *Glomus mosseae* (Gm) and chopped cabbage (C) tissue as well as mixes of treatments to control of tomato root knot nematode, *Meloidogyne javanica* were studied in greenhouse experiments. In mixed treatments, colonized tomato seedlings by Gm were transferred to the pots in which amended with chopped cabbage tissue (0.5 &1%). All treatments were inoculated by nematode after one week. The results showed, applying of Gm+ 1% C could significantly (P<0.05) enhanced plant growth indexes and reduced nematode offspring (with the logarithm 4.95). Comparison of treatments individually in control of nematode revealed, the use of 1% C was significantly better than Gm treatment. In conclusion, these results suggested that producing tomato seedling which their roots were colonized by Gm and improvement of soil with cabbage tissue might be able to substitute for reducing fertilizer and biocide inputs in sustainable ariculture.

Keywords: Cabbage, management, mycorrhizae, root-knot nematode.

* Corresponding author E-mail: zabih_azami@yahoo.com

تازه‌های تحقیق

۱- در این پژوهش مشخص شد که کاربرد ترکیبی بقایای کلم و قارچ میکوریز در مهار و کاهش خسارت نماتدریشه گرهی به خوبی مؤثر است و همچنین بقایای کلم باعث افزایش کارایی و فعالیت قارچ میکویز و بهبودی کلنیزاسیون آن در ریشه گوجه‌فرنگی شد.

۲- کاربرد بقایای کلم نیز به‌تنهایی، باعث کاهش قابل‌توجه شاخص‌های تولیدمثل نماتد نسبت به تیمار شاهد و قارچ *G. mosseae* شد اما تأثیر کاربرد قارچ گلموس به‌تنهایی در کاهش جمعیت نماتد و پارامترهای رشدی گیاه محسوس و قابل‌توجه نبود.

۳- بر اساس نتایج به‌دست‌آمده در این پژوهش می‌توان با استفاده از فرمول ترکیبی بقایای کلم و قارچ میکوریز با تولید نشاهای کلنیزه‌شده با قارچ گلموس به همراه کودهای سبز اصلاح‌کننده خاک همچون بقایای کلم در مدیریت کنترل نماتدهای مولد گره ریشه و تولید محصولات ارگانیک و بدون سموم در مسیر کشاورزی پایدار گام برداشت.

مقدمه

گوجه‌فرنگی (*Solanum lycopersicum*) یکی از محصولات بسیار مهم اقتصادی و راهبردی در کشاورزی مدرن محسوب می‌شود (Bhnamyan and Messiah 2002). یکی از مهم‌ترین محدودیت‌هایی که کشت این گیاه را با مشکل روبه‌رو کرده است، خسارت‌های ناشی از نماتدهای بیماریزای گیاهی است که حتی در کشورهای توسعه یافته سالانه خسارت زیادی به محصولات کشاورزی وارد می‌کنند (Siddiqi 2000). نماتد ریشه گرهی با نام علمی (*Meloidogyne* spp.) از خطرناکترین نماتدهای بیماریزای گیاهی است که پارازیت اجباری و انگل داخلی ریشه بسیاری از گیاهان زراعی و باغی می‌باشد. این نماتد یکی از مهم‌ترین عوامل بیمارگر و در گوجه‌فرنگی است که باعث کاهش عملکرد محصول تا ۵۰٪ شده است (Darekar and Mhase 1988). در این بیماری گیاهان آلوده دچار کوتولگی شده و ریشه‌های آنها گره‌دار می‌شوند. همچنین برخی گیاهان آلوده بیمار علایم کمبود موادغذایی به ویژه نیتروژن را نشان می‌دهند (Siddiqui *et al*. 2007). با توجه به خاکزاد بودن این بیمارگر، نرخ بالای تکثیر و دامنهٔ میزبانی گستردهٔ این نماتدها، مبارزه کامل با آن‌ها بسیار مشکل است. لذا به دلیل وجود چنین محدودیت‌هایی، اعمال مدیریت مناسب سازگار با محیط زیست همچون استفاده از عوامل کنترل بیولوژیک، روش‌های زراعی و فیزیکی و استفاده از گیاهان بازدارنده مهم می‌باشند (Jepson *et al*. 1987). در سال‌های اخیر استفاده از میکروارگانیسم‌های ریزوسفر به‌طور مستقیم و یا غیر مستقیم علیه نماتدهای انگل گیاهی مطالعه شده است (Diedhiou *et al*. 2003, Gera Hol and Coork 2005). از جمله میکروارگانیسم‌های موفق در این زمینه، استفاده از گونه‌های مختلف قارچ‌های میکوریز داخلی از جمله گونه‌های قارچ *Glomus* می‌باشد که اثر حفاظتی این قارچ‌ها در برابر نماتدهای انگل گیاهی به خوبی به اثبات رسیده است (Mirekei *et al*. 2013, Hussey *et al*. 1982, Saleh *et al*. 1984). این قارچ‌ها به واسطه افزایش جذب آب و مواد معدنی گیاهان که باعث مقاومت گیاهان در برابر تنش‌ها می‌شوند مشهور هستند (Gaur and Adholeya 2004). ارتباط دو طرفه قارچ‌های میکوریز آربوسکولار و گیاهان می‌تواند باعث افزایش سلامت گیاهان و غلبه بر تنش‌های زنده و غیرزنده شود، که به نظر می‌رسد مواد آلی گیاهی اضافه شده به خاک فاکتور مهمی برای توسعه قارچ‌های میکوریز باشد (Joner and Jakobsen 1992) و سبب گسترش بیشتر در ریشه گیاه شود (Hayman1982) و در نتیجه در کاهش وقوع بیماری مؤثر باشد (Baby and Manibhushanrao 1996). ثابت شده است که اضافه کردن کودهای آلی حاوی نیتروژن بالا به خاک غالباً جمعیت نماتدها را در خاک کاهش می‌دهد. تجزیه مواد آلی نیتروژن‌دار به‌وسیله میکروارگانیسم‌ها، باعث افزایش فعالیت‌های آنزیمی خاک و تجمع موادی چون آمونیوم که خاصیت نماتدکشی دارد در خاک می‌شود (Rodriguez-Kabana 1986). تاکنون اضافه کردن بقایای سبز برخی گیاهان به خاک همچون گیاهان خانواده چلیپاییان در کنترل نماتدهای انگل گیاهی به اثبات رسیده است (Mekete *et al*. 2009, Kwerepe and Labuschagne 2007). گیاهان این خانواده به‌عنوان یک منبع تامین‌کننده نیتروژن و همچنین بهبوددهنده

ویژگی‌های فیزیکی خاک مورد استفاده قرار می‌گیرند. در نتیجه تجزیه مواد آلی در خاک، تغییر شرایط فیزیکی، زیستی و شیمیایی خاک، محیط نامساعدی را برای فعالیت بیمارگرها فراهم می‌کند (Oka, 2010). علاوه بر این، بهبود ساختار خاک باعث بهبود توسعه ریشه گیاه میزبان می‌شود و مواد شیمیایی آزاد شده در هنگام تجزیه، مانند فنل و ایزوتیوسیانات‌ها ممکن است باعث القای مقاومت در ریشه‌های گیاه میزبان علیه بیمارگرها شوند (Akhtar and Alam 1993). از سوی دیگر به دلیل اینکه ممکن است کاربرد یک عامل بیوکنترل به تنهایی در خاک‌های مختلف موفق عمل نکند، لذا استفاده از چندین عامل بیولوژیک و یا تلفیقی از آنها جهت کاهش جمعیت و خسارت نماتدها در خاک مورد توجه قرار گرفته است.

لذا به منظور ارزیابی پتانسیل قارچ میکوریز *Glomus mosseae*، در حضور بقایای کلم قمری و مقایسه کاربرد هر کدام به تنهایی و یا تلفیقی از هر دو، در کنترل نماتد Meloidogyne *javanica* بر روی گیاه گوجه‌فرنگی، آزمایشی در شرایط گلخانه‌ای انجام گرفت.

مواد و روش‌ها

تکثیر و تهیه مایه تلقیح نماتد

نماتد *Meloidogyne javanica* از بخش گیاهپزشکی دانشکده کشاورزی دانشگاه شهید باهنر کرمان به صورت خالص تهیه شد و بر روی ریشه گیاهچه‌های گوجه‌فرنگی رقم ارلی اوربانا Early Urbana (تولید شرکت سمنیس و عرضه توسط شرکت سهامی فلات ایران) تکثیر گردید. برای این منظور گیاهچه‌ها به مدت ۶۰ روز در دمای ۲۷ درجه سلسیوس در شرایط گلخانه‌ای نگهداری شدند. پس از چندین دوره تکثیر متوالی نماتد روی گوجه‌فرنگی، جمعیت مورد نیاز فراهم شد. برای فراهم آوردن مایه تلقیح آزمایش، لارو سن دوم نماتد از ریشه‌ها به روش سینی استخراج شد (Shokoohi *et al.* 2007). مقدار ۵ و به‌طور متوسط سه بار از سوسپانسیون حاوی لارو سن دوم نماتد، برداشته و با استفاده از پتری مدرج و بینوکولار، تعداد لاروها شمارش شدند. سپس این تعداد نماتد به کل سوسپانسیون تعمیم داده شد.

تکثیر و تهیه زادمایه قارچ میکوریز

برای تهیه مایه تلقیح قارچ میکوریز، زادمایه اولیه قارچ *Glomus mosseae*، از کلکسیون دانشکده کشاورزی دانشگاه ولی عصر رفسنجان تهیه شد و با استفاده از میزبان سورگوم به روش گلدانی تکثیر گردید (Tavasoli *et al.* 2009). بدین منظور ابتدا بذور سورگوم با محلول هیپوکلریت سدیم ضدعفونی شد و پس از شست‌وشو کافی با آب مقطر، در گلدان‌های دو کیلوگرمی حاوی خاک استریل شنی و لومی تلقیح‌شده با زادمایه میکوریز کشت شدند. همچنین جهت تغذیه گیاهان در طول دوره رشدی چهار ماهه، از محلول غذایی هوگلند با نصف غلظت فسفر استفاده گردید. در پایان دوره، عملیات آبیاری قطع و دو هفته بعد اندام هوایی به‌طور کامل جدا شد. سپس ریشه‌ها خرد و با خاک مخلوط شد و میزان جمعیت نهایی اسپور قارچ *G. mosseae* در خاک برآورد شد. بدین منظور از روش شست‌وشو توسط الک و شناورسازی در محلول ساکروز ۵۰ درصد استفاده شد (Dalpé, 1993) که در هر گرم خاک ۳۲ اسپور تعیین گردید.

بررسی اثر متقابل *G. mosseae* و بقایای کلم در کنترل نماتد مولد گره ریشه

به منظور ارزیابی اثر کاربرد تنها و ترکیبی قارچ میکوریز و بقایای سبز کلم قمری بر نماتد *M. javanica* این آزمایش به صورت فاکتوریل و در قالب طرح بلوک کامل تصادفی اجرا شد. تیمارها شامل تیمار۱: شاهد مثبت آلوده به نماتد (بدون بقایا و گلوموس)، تیمار ۲: با گلوموس (G)، تیمار ۳: اضافه کردن ۰/۵ درصد کلم خرد شده به خاک گلدان، تیمار ۴: اضافه کردن ۱ درصد کلم (C) خرد شده به خاک، تیمار ۵: ترکیب ۰/۵ درصد کلم + گلوموس، تیمار ۶: ترکیب ۱ درصد کلم + گلوموس.

ابتدا بذور گوجه‌فرنگی رقم ارلی اوربانا را به مدت یک دقیقه با محلول هیپوکلریت سدیم دو درصد ضدعفونی سطحی و سپس با آب مقطر شست و شو شدند. این بذور درون سینی‌های نشا در بستر کشت ماسه و پیت ماس به نسبت حجمی ۱:۱ در دو سطح آلوده و غیر آلوده به زادمایه قارچ *G. mosseae* به نسبت

یک به ده کاشته شد (Tavasoli *et al*. 2009). پنج هفته پس از زمان کاشت بذور، برای اطمینان از کلنیزه شدن قارچ میکوریز در سلول‌های ریشه گوجه‌فرنگی، به‌طور تصادفی چند ریشه و درصد کلنیزه شدن اندازه‌گیری شد.

بررسی تخمین درصد کلنیزاسیون ریشه

برای رنگ‌آمیزی ریشه‌ها از روش اصلاح شده فیلیپس و هایمن استفاده شد (Philips and Hayman 1970). بدین منظور ریشه شسته‌شده با آب به قطعات یک سانتی‌متری خرد شد. سپس به مدت یک ساعت در لوله‌های آزمایش حاوی ۱۰ درصد KOH در ۹۰ درجه سلسیوس به روش بن ماری نگهداری شدند تا رنگ‌بری انجام شود. پس از گذشت این مدت، ریشه‌ها آبشویی شد و بعد از اسیدی کردن با اسید کلریدیک یک درصد به مدت سه دقیقه، ریشه‌ها در داخل محلول ۰/۰۱ درصد لاکتوگلیسرول اسید فوشین به مدت یک ساعت قرار گرفت. سپس تعداد ۱۰ عدد ریشه یک سانتی‌متری را درون پتری مدرج قرار داده و با استفاده از میکروسکوپ، اندام قارچی بررسی، تشخیص و شمارش گردید. برای محاسبه درصد کلنیزاسیون از روش کورمانیک و ماک گرو استفاده شد (Kormanik and Mac Graw 1982).

اضافه کردن بقایای کلم به خاک

در موقع انتقال نشا گوجه‌فرنگی به گلدان اصلی کلم‌های قمری تازه و سالم تهیه شده از بازار، به مدت ۱۰ دقیقه در محلول هیپوکلرید سدیم یک درصد ضدعفونی سطحی شد و پس از شست‌وشو کافی با آب، با استفاده از رنده دستی رنده گردید و در دو سطح ۰/۵ و ۱ درصد به گلدان‌های یک کیلوگرمی حاوی خاک استریل (شامل رس و ماسه به نسبت حجمی ۱:۲) اضافه شد. به منظور حفظ حداکثر مواد متصاعد شده از بقایای کلم، سطح خاک گلدان‌ها توسط کیسه پلاستیکی پوشانده شد. هفت روز بعد، نشاهای گوجه‌فرنگی در دو سطح گلوموس‌دار و بدون گلوموس در مرحله دو برگ حقیقی به گلدان‌های مذکور انتقال داده شد.

تلقیح نماتد به خاک اطراف ریشه میزبان

تعداد هزار لارو سن دوم نماتد تازه استخراج شده با ایجاد سه چاهک دراطراف ریشه گوجه‌فرنگی تلقیح شدند. شرایط محیطی گلخانه در طول دوره نگهداری گلدان‌ها شامل دامنهٔ دمایی ۲۵-۲۷ درجهٔ سلسیوس و دوره آبیاری هر ۴۸ ساعت صورت گرفت عملیات کوددهی با محلول غذایی هوگلند با نصف غلظت فسفر به فواصل هر دو هفته یکبار انجام شد.

اندازه‌گیری تغییرات جمعیت نماتد

در پایان آزمایش، یعنی ۶۰ روز پس از تلقیح نماتد به بوته‌ها، شاخص‌های تولیدمثل نماتد از قبیل تعداد تخم، تعداد نماتد ماده و همچنین فاکتور تولید مثل نماتد به شرح زیر ارزیابی و محاسبه شدند.

شمارش تعداد نماتدهای ماده بالغ در ریشه‌ها

بدین منظور ریشه‌های آلوده به نماتد، با استفاده از قیچی به قطعات ۱ تا ۲ سانتی‌متری خرد گردید و سپس به صورت تصادفی، سه نمونه یک گرمی از ریشه‌ها درون پارچه‌های توری بسته‌بندی و با اسیدفوشین رنگ‌آمیزی شد. در پایان نماتدهای ماده با استفاده از بینوکولار شمارش گردید (Bybd *et al*. 1983). برای هر تیمار، میانگین سه بار شمارش تعداد نماتدهای ماده در هر گرم ریشه محاسبه و به‌عنوان تعداد ماده در هر گرم ریشه یاداشت شد. این عدد به وزن کل ریشه تعمیم داده شد.

شمارش تخم و لارو نماتد

به منظور استخراج تخم از توده ژلاتینی نماتد، یک گرم ریشه گوجه‌فرنگی خرد شده و در ظرف در بسته به مدت دو دقیقه درون محلول هیپوکلریت سدیم ۵٪ تکان داده شد. محتوی این ظرف روی الک‌های ۶۰ مش و ۵۰۰ مش که روی هم قرار داده شده بود، ریخته و بعد از آبشویی تخم‌های به جا مانده روی الک ۵۰۰ مش درون یک بشر جمع آوری شدند. با استفاده از یک پتری مدرج تخم ها در زیر بینوکولار شمارش گردید (Hussey and Barker 1973). به منظور استخراج لارو از خاک، صد گرم از خاک گلدان برداشته شد و لاروهای داخل خاک به روش سینی استخراج شد (Shokoohi et al. 2007). سپس به کمک بینوکولار شمارش گردید. جهت محاسبه فاکتور تولید مثلی

از فرمول RF=Pf/Pi استفاده شد (Oostenbrink 1966). در فرمول مذکور جمعیت نهایی نماتد (Pf) شامل تعداد تخم در کل سیستم ریشه به علاوه جمعیت لارو سن دوم نماتد در خاک گلدان می‌باشد و Pi جمعیت اولیه نماتد است که در هنگام آلوده‌سازی به گلدان‌ها اضافه شد.

اندازه‌گیری شاخص‌های رشدی گوجه‌فرنگی

شاخص‌های رشدی گیاه میزبان مانند وزن خشک ساقه، ریشه و طول اندام‌های هوایی و ریشه اندازه‌گیری شد. ابتدا طول اندام‌های هوایی با استفاده از خط‌کش اندازه‌گیری و جهت تعین وزن خشک اندام‌های هوایی و ریشه میزبان بخش‌های مختلف گیاهان جداگانه به مدت ۴۸ ساعت در آون با دمای ۷۰ درجه سلسیوس قرار گرفت و سپس شاخص‌های مورد نظر توزین شد.

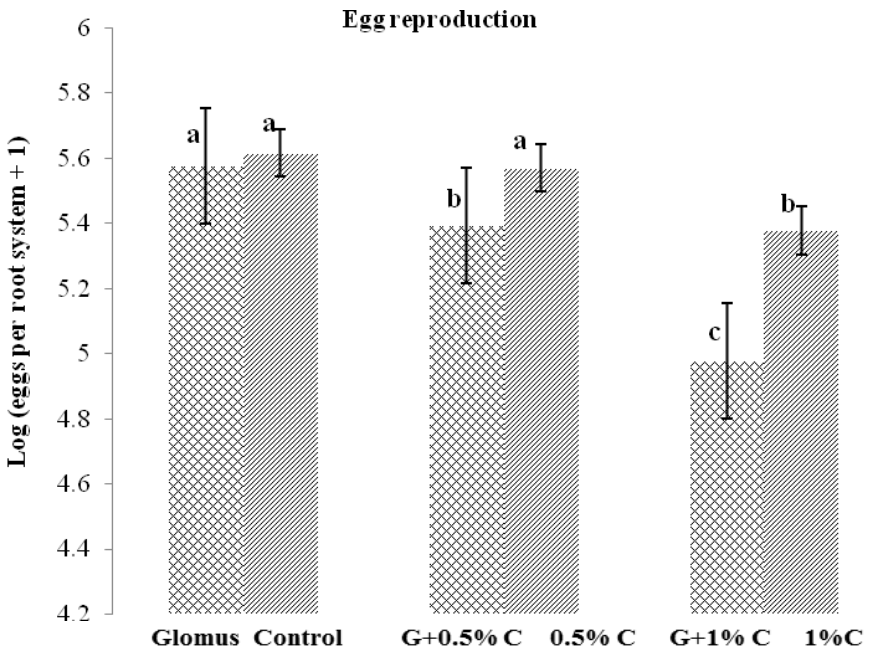
تجزیهٔ آماری داده‌ها

داده‌های آزمایش، میانگین دو آزمایش و پنج تکرار در هر تیمار است. رسم نمودارها با نرم‌افزار اکسل (Excel) و تجزیهٔ آماری داده‌ها با استفاده از نرم‌افزار SAS و مقایسهٔ میانگین داده‌ها با آزمون LSD در سطح احتمال پنج درصد انجام شد. داده‌های مربوط به تولید تخم نماتد ابتدا قبل از آنالیز به log (x+1) منتقل شدند (Gomez and Gomez 1984). حروف مشترک در بالای هر ستون و یا در جدول‌ها نشان‌دهنده عدم معنی‌دار بودن تیمارها در سطح احتمال ۵ درصد می‌باشد.

نتایج

اثر بقایای کلم و *G. mosseae* روی شاخص‌های تولیدمثلی و تعداد تخم نماتد در کل ریشه

در مرحه ارزیابی شاخص‌های بیماری، بعد از گذشت ۶۰ روز از زمان تلقیح نماتد به گیاهان، اندازه‌گیری شاخص‌های مربوط به توسعه نماتد در گیاه انجام گرفت. نتایج ارزیابی میانگین تعداد تخم در کل سیستم ریشه نشان داد در تیمار ۱٪ کلم خرد شده + *G. mosseae* بیشترین کاهش تعداد تخم با مقدار لگاریتم ۴/۹۵ نسبت به تیمار شاهد (گیاه آلوده به نماتد) با مقدار ۵/۶۲ مشاهده شد. در تیمار کاربرد ۱٪ بقایای سبز کلم به تنهایی نیز میانگین تعداد تخم نماتد به‌طور قابل توجهی نسبت به تیمار شاهد از نظر آماری کاهش معنی‌داری را نشان داد. در حالی که میزان کاهش میانگین تعداد تخم در تیمار گیاه با قارچ *G. mosseae* به تنهایی نسبت به شاهد اختلاف معنی‌داری نداشت (شکل ۱).



شکل ۱. اثر بقایای کلم Cو *G. mosseae* (G) بر تولید تخم‌های نماتد در کل سیستم ریشه.

Figure1. Effect of *Glomus mosseae* (G) and cabbage (C) tissue on egg reproduction on total root system

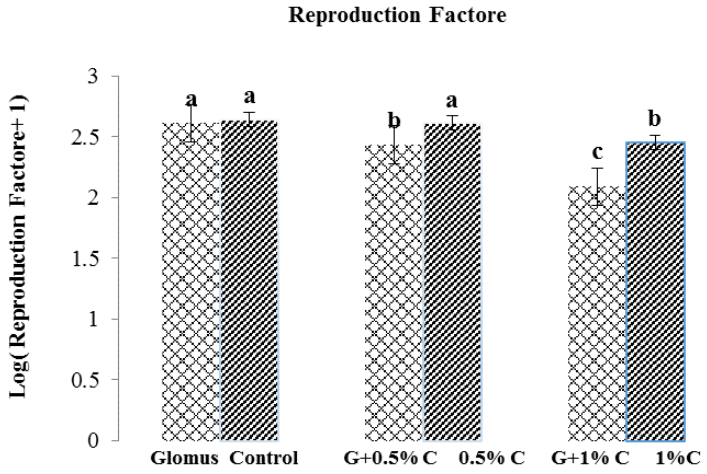
در کاربرد تلفیقی بقایای سبز کلم و *G. mosseae*، میانگین شاخص تولید مثل نسبت به شاهد و همچنین نسبت به کاربرد هر یک به تنهایی به‌طور قابل توجهی کاهش و اختلاف معنی‌داری نشان داد. به‌طوری‌که کمترین میانگین تولید مثل نماتد در تیمار گیاهان میکوریزی همراه با ۱٪ کلم با مقدار لگاریتم ۲/۰۵ نسبت به شاهد با مقدار ۲/۶۴ اتفاق افتاده بود و بعد از آن تیمار گیاهان با گلوموس + ۰/۵ درصد کلم با مقدار لگاریتم ۲/۴۲ کمترین شاخص تولید مثلی را در کل ریشه داشت. افزودن بقایای سبز کلم به تنهایی تا میزان ۱٪ باعث شد که میانگین شاخص تولید مثل نماتد نسبت به تیمار ۰/۵ درصد بقایا و همچنین تیمار شاهد کاهش معنی‌داری نشان دهد. به‌طور کلی تیمار کاربرد بقایای سبز کلم به تنهایی نسبت به تیمار قارچ میکوریز باعث کنترل بهتر این گونه نماتد شد. کاربرد *G. mosseae* به تنهایی، اگرچه باعث کاهش شاخص تولید مثل نماتد شد، اما این کاهش نسبت به شاهد دارای اختلاف معنی‌داری نبود (شکل۲).

ارزیابی تعداد نماتدهای ماده در کل ریشه

در تیمار کاربرد ترکیبی قارچ میکوریز و بقایای سبز کلم، میانگین تعداد نماتد ماده به‌طور قابل توجهی نسبت به شاهد و همچنین نسبت به کاربرد هر یک از عوامل به تنهایی، کاهش نشان داد. به‌طوری که در تیمار یک درصد بقایای کلم به همراه *G. mosseae*، کمترین میزان نماتد ماده با تعداد ۵۳۲/۴ عدد در کل سیستم ریشه دیده شد که نسبت به شاهد با تعداد ۱۱۷۶ نماتد ماده در ریشه از نظر آماری دارای تفاوت معنی‌داری بود. از طرف دیگر تیمار کاربرد قارچ *G. mosseae* به تنهایی نتوانست میانگین تعداد نماتد ماده در کل سیستم ریشه را کاهش دهد اما تیمار کاربرد بقایا به تنهایی در سطح ۱٪ باعث کاهش معنی‌دار تعداد نماتد ماده در ریشه شد (شکل ۳).

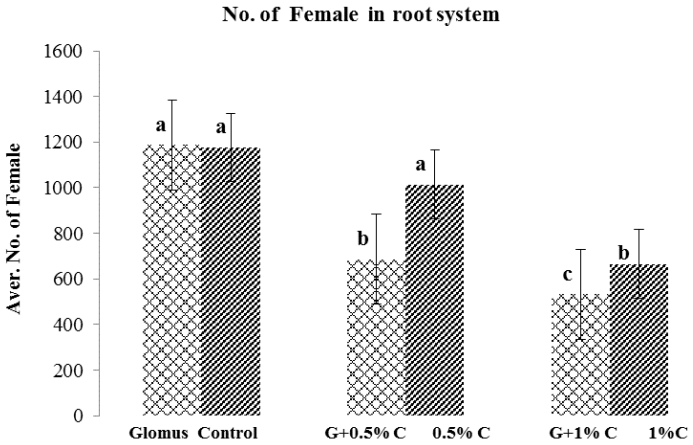
بررسی تأثیر بقایای کلم و *G .mosseae* بر روی صفات رویشی گوجه‌فرنگی آلوده به نماتد

برداشت گیاهان بعد از گذشت ۶۰ روز از زمان تلقیح نماتد انجام شد و شاخص‌های رشدی گیاهان مورد ارزیابی قرار گرفت. مقایسه میانگین داده‌ها نشان داد کاربرد *G. mosseae* به همراه ۱٪ بقایای کلم در شاخص بهبود رشد و اندازه طول ساقه بیشترین را نسبت به بقیه تیمارها داشت. به‌طوری که افزایش ارتفاع در تیمار مذکور (۳۶) در مقابل تیمار شاهد (۱۹/۸) کاملاً چشمگیر بود. لازم به ذکر است گلدهی گیاهان آن تیمار نسبت به شاهد به‌دلیل مثبت ترکیب مذکور در بهبود رشدی بوته‌ها بود. همچنین نتایج نشان داد در شرایط آلودگی خاک با نماتد، ترکیب کاربرد میکوریز + ۱٪ بقایای کلم و نیز کاربرد یک درصد بقایای کلم به تنهایی باعث بهبود رشد گیاه شد و میانگین طول ریشه و وزن خشک گیاه (ریشه و ساقه) را افزایش داد (جدول ۱) و ریشه‌ها نیز به‌طور قابل ملاحظه‌ای از لحاظ رشدی حجیم شدند (شکل ۴).



شکل ۲. اثر بقایای کلم C و (G) *G. mosseae* روی شاخص تولید مثل نماتد.

Figure 2. Effect of *Glomus mosseae* (G) and cabbage (C) tissue on reproduction factor (Rf)



شکل ۳. اثر بقایای کلم C و (G) *G. mosseae* بر تعداد نماتد ماده در کل ریشه.

Figure3. Effect of *Glomus mosseae* (G) and cabbage (C) tissue on number of female nematodes on total root system

جدول ۱. تأثیر بقایای کلم و *G. mosseae* بر صفات رشدی گیاه گوجه‌فرنگی

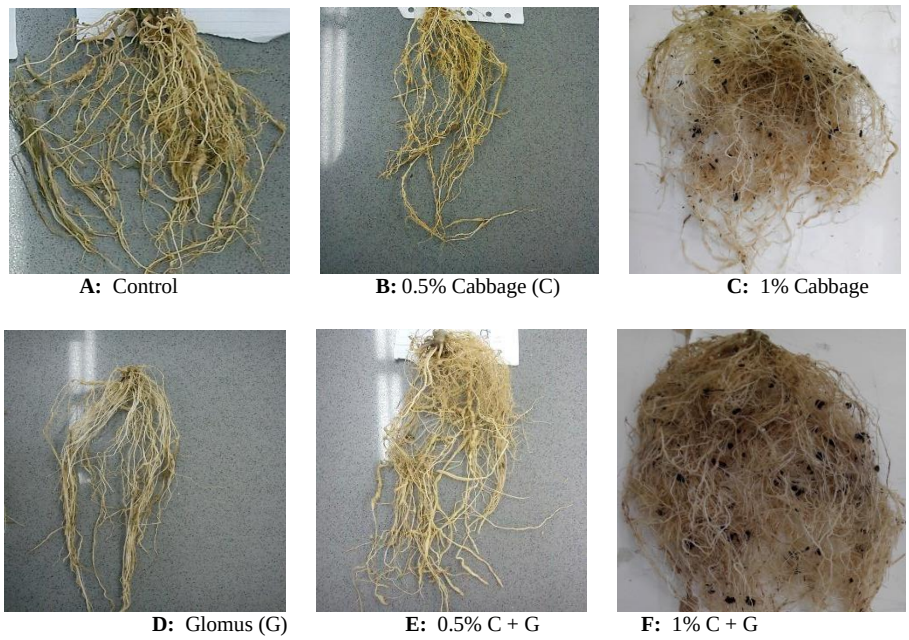
Table 1. Effect of cabbage tissue and *G. mosseae* on plant growth parameter

Treatment	Shoot L (cm)	Root L. (cm)	Shoot D.W. (gr)	Root D.W. (gr)
Control (+)	19.8 d	25.6 c	1.2 d	1.2 d
0.5% Cabbage	21.8 cd	28 b	3 b	2.4 c
1% Cabbage	31.4 b	38.2 a	3.8 a	3.4 a
Glomus	22 cd	27.2 b	2.1 c	1.4 d
Glomus + 0.5% Cabbage	24.2 c	28.7 b	3.5 ab	2.4 bc
Glomus + 1% Cabbage	36 a	38 a	3.9 a	3.2 ab

حروف مشترک نشان‌دهنده عدم معنی‌دار بودن تیمارها در سطح احتمال ۵ درصد آزمون LSD است.

Common letter do not differ significantly ($P < 0{\cdot}05$) according to Fisher's protected LSD test.

به‌طور کلی مقایسه بین کاربرد بقایای کلم و میکوریز به تنهایی بیانگر این است که بقایای سبز کلم به میزان بیشتری بر روی رشد گیاه گوجه‌فرنگی تأثیرگذار بود. به‌طوری که با افزایش بقایای کلم تا میزان ۱۰ گرم در هر کیلوگرم خاک نه تنها رشد گیاه بیشتر شد بلکه گیاهان نیز به مرحله گلدهی نیز رسیدند (جدول ۱).

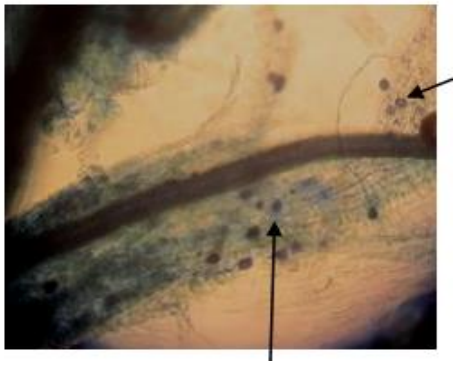


شکل ۴. اثر بقایای کلم و *G. mosseae* روی میزان گسترش حجم ریشه گوجه‌فرنگی ۶۰ روز از زمان آلودگی با نماتد

Figure 4. Effect of cabbage and *G. mosseae* on tomato root development. 60 days after infection by nematode

بررسی میزان کلنیزاسیون قارچ *G. mosseae* در ریشه

میزان کلنیزه شدن قارچ *G. mosseae* در ریشه گیاه گوجه‌فرنگی در دو نوبت ارزیابی شد (شکل ۵). قبل از انتقال نشا به گلدان اصلی میزان کلنیزاسیون ۳۶٪ و در پایان آزمایش تیمار *G. mosseae* به همراه ۵٪ کلم ۴۲٪ و در تیمار *G. mosseae* به همراه ۱٪ کلم ۶۰٪ ارزیابی شد.



شکل ۵. ریشه گوجه‌فرنگی کلنیزه‌شده توسط *Glomus mosseae*
Figure 5. Tomato root is colonized by *Glomus mosseae*

بحث

بر اساس یافته‌های این پژوهش کاربرد ترکیبی بقایای کلم و قارچ میکوریز به روشنی باعث کنترل بهتر نماتد گردید به‌طوری که با افزایش بقایا، کارایی قارچ میکوریز بهبود یافت و باعث کاهش معنی‌دار تخم نماتد در کل سیستم ریشه و افزایش شاخص‌های رشدی گیاه شد. تحقیقات بیانگر آن است که که مواد آلی گیاهی اضافه شده به خاک فاکتور مهمی برای توسعه قارچ‌های میکوریز می‌باشد (Joner and Jakobsen 1992). صدیقی و اختر نشان دادند که با کاربرد ترکیبی قارچ *Glomus intraradices*، کمپوست برگ چریش و خاک اره، نماتد *M. incognita* به‌طور مؤثرتری کنترل شد که ممکن است قارچ میکوریز در حضور مواد آلی اضافه شده به خاک، منابع کربن بیشتری در اختیار داشته و ریشه را بهتر کلنیزه کرده باشد (Siddiqui and Akhtar 2008). یافته‌های محققین دیگر حاکی از آن است که قارچ میکوریز ممکن است تحت تأثیر عوامل میکروبی منطقهٔ ریزوسفر ریشه، فعالیت و عملکرد یکدیگر را افزایش یا کاهش دهند (Janisiewicz and Bors 1995, Raaijmakers *et al*. 1995). از طرف دیگر تجزیه بقایای سبز کلم در خاک باعث تغییر بافت، ساختارخاک و افزایش فعالیت میکروبی می‌شود (Shukla and Tyagi 2002). لذا در این آزمایش احتمال دارد تغییرات مذکور تأثیر مثبتی بر توسعه قارچ *G. mosseae* در ریشه گیاه گوجه‌فرنگی گذاشته و ریشه‌ها به همین دلایل بهتر کلنیزه شدند و یا ممکن است فعالیت میکروبی محیط خاک در حضور گلوموس نیز بالا رفته و رشد گیاه و کنترل بیماری تشدید شده باشد. تاکنون پژوهش‌های زیادی در خصوص نحوه عملکرد قارچ‌های میکوریز در محیط خاک و ریشه صورت گرفته است. از جمله اینکه، ریشه‌های کلنیزه شده توسط قارچ میکوریز می‌توانند به افزایش جذب مواد معدنی، سنتز هورمون‌های بهبوددهنده رشد گیاه (Allen 1980)، افزایش سطح سیتوکنین (Allen 1982) و تعداد دستجات آوندی (Daft 1973) که همگی باعث بهبود رشد گیاه می‌شوند، می‌توان اشاره کرد. همچنین مکانیسم کنترل نماتد در کاربرد ترکیبی بقایای کلم و *G. mosseae* ممکن است تحت عوامل متعددی باشد. یافته‌ها نشان داده است که کلنیزاسیون ریشه توسط قارچ‌های میکوریز به عنوان یک سیستم آماده‌باش عمل کرده و گیاه را در مقابل بیمارگر محافظت می‌کند (Elsen *et al*. 2003). از طرف دیگر ممکن است حضور قارچ گلوموس در ریشه بر روی توسعه و شکل‌گیری سلول‌های غول‌آسا تأثیر منفی داشته باشد که از این طریق بر ادامه فعالیت و رشد نماتد در ریشه اختلال ایجاد نماید (Kellam and Schenck 1980). مکانیسم دیگر قارچ‌های میکوریز در کنترل نماتد می‌تواند مربوط به رقابت برای فضا و غذا و جلوگیری از نفوذ لاروهای جوان نماتد و همچنین القای مقاومت (Induced resistance) در گیاه از طریق تغییر در ترشحات ریشه‌های کلنیزه شده با قارچ میکوریز باشد (Diedhiou *et al*. 2003). تحقیقات لیندرمن بیانگر این است که قارچ میکوریز مقاومت یا تحمل گوجه‌فرنگی را از طریق بهبود رشد گیاه افزایش می‌دهد (Linderman 1994).

در این مطالعه کاربرد قارچ *Glomus mosseae* به تنهایی در کاهش جمعیت نماتد و پارامترهای رشدی گیاه محسوس نبود. در این راستا، هاریر و واتسون اظهار داشتند میزان توسعه میکوریز در ریشه نتیجه عکس

العمل متقابل و پیچیده بین گیاه میزبان و میکوریز داخلی است (Harrier and Watson 2004). هرچند کارآیی قارچ میکوریز وابسته به فاکتورهای دیگری همچون عوامل زنده و غیر زنده، قدرت تهاجم آن و میکروفلور خاک می‌باشد (Singh *et al*. 2000). اما کاربرد بقایای کلم نیز به تنهایی، باعث کاهش قابل توجه شاخص‌های تولید مثل نماتد نسبت به تیمار شاهد و *G. mosseae* به تنهایی شد (شکل ۲). در این راستا یافته‌ها حاکی از آن است که کشت گیاهان خانواده Brassicaceae به عنوان یک پوشش زراعی و غیر میزبان در مزارع آلوده به نماتد مولد گره ریشه، می‌تواند جمعیت نماتدهای *Meloidogyne* spp. را به میزان زیادی کاهش دهد (Mekete 2009). نتایج این آزمایش رابطه مستقیم بین افزایش بقایای کلم و کنترل بهتر نماتد را نشان داد که با دستاوردهای حاصل از پژوهشی که در آن میزان بالاتر بقایای گیاهان خانواده چلیپاییان (۶کیلوگرم در متر مربع) نسبت به مقدار کمتر آن (۲کیلوگرم در مترمربع) در کاهش گال‌های *M. incognita* بیشتری داشت مطابقت دارد (Kwerepe and Labuschagne 2003). همچنین در کاربرد کلم میزان کنترل نماتد ممکن است به افزایش محتوای منبع نیتروژن (Mian and Rodriguez-Kabana 1982) و یا تولید ترکیبات گلوکوزینولات و محصولات مشتق شده از کلم، از جمله ایزوتیوسیانات‌ها، ارتباط داشته باشد (Vierheilig 2008). این نوع بقایا ضمن تجزیه، با رهاسازی مواد غذایی، می‌توانند سبب بهبود رشد گیاه شوند و با ایجاد تغییرات فیزیکی، شیمیایی و بیولوژیکی موجب حاصلخیزی خاک، ممانعت از آبشویی نیتروژن، اصلاح بافت و ساختار خاک و افزایش فعالیت میکروبی خاک گردند (Rahman and Somers 2005).

در پایان، اگرچه رسیدن به نتیجه‌گیری کلی به علت تغییرات و تنوع عوامل میکروبی ایجاد شده در حین کمپوست شدن بقایا در خاک و بر هم کنش آنها با قارچ میکوریز بسیار پیچیده است اما نتایج این پژوهش نشان داد تأثیر کارایی و فعالیت قارچ میکویز در ریشه با حضور بقایای کلم بالا رفته است. لذا بر اساس نتایج به‌دست آمده در این پژوهش می‌توان با استفاده از فرمول ترکیبی فوق با تولید نشاهای کلنیزه شده با قارچ گلموس به همراه اصلاح خاک مزرعه با کودهای سبز همچون کلم در مدیریت کنترل نماتدهای مولد گره ریشه و تولید محصولات ارگانیک و بدون سموم در مسیر کشاورزی پایدار امیدوار بود.

REFERENCES

Akhtar M, Alam MM (1993) Utilization of waste materials in nematode control: a review. Bioresource Technology 45(1): 1-7.

Allen MF, Moore Jr TS, Christensen M (1980) Phytohormone changes in *Bouteloua gracilis* infected by vesicular-arbuscular mycorrhizae: I. Cytokinin increases in the host plant. Canadian Journal of Botany 58: 371-374.

Allen MF, Moore Jr TS, Christensen M (1982) Phytohormone changes in *Bouteloua gracilis* infected by vesicular-arbuscular mycorrhizae. II. Altered levels of gibberellin-like substances and abscisic acid in the host plant. Canadian Journal of Botany 60: 468-471.

Baby UI, Manibhushanrao K (1996) Fungal antagonists and VA mycorrhizal fungi for biocontrol of Rhizoctonia solani, the rice sheath blight pathogen, pp 1-9. In Recent Developments in Biocontrol of Plant Pathogens. Eds. Manibhushanrao K Mahadevan A. Today and Tomorrow's Printers and Publishers, New Delhi, pp. 160.

Behnamiyan M, Hassanpour M, Dajestan S (2015) Tomato. Ayege Publication, Tabriz, Iran. PP. 232. (in Persian)

Björkman M, Klingen I, Birch AN, Bones AM, Bruce TJ, Johansen TJ, Meadow R, Mølmann J, Seljasen R, Smart LE (2011). Phytochemicals of Brassicaceae in plant protection and human health–Influences of climate, environment and agronomic practice. Phytochemistry 72: 538-556.

Bybd Jr D, Kirkpatrick T, Barker K (1983) An improved technique for clearing and staining plant tissues for detection of nematodes. Journal of Nematology 15(1): 14-143.

D**aft MJ, Okusanya BO** (1973) Effect of endogen mycorrhizal on plant growth. VI. Influence of infection on the anatomy and reproductive development in four hosts. New Phytologyst 72: 1333-1339

Dalpé Y(1993) Vesicular-arbuscular mycorrhiz, In: Soil sampling and methods of analysis. M. R. Carter, Ed., pp. 287–301, CRC Press, Boca Raton, Fla, USA, 3rd edition.

Darekar K, Mhase N (1988) Assessment of yield losses due to root-knot nematode *Meloidogyne incognita* race 3 in tomato, brinjal and bittergourd. Internationa Nematology Network Newsletter 5(4): 7-9.

Diedhiou P J, Hallmann E-.C, Oerke, H. W. Dehne HW (2003) Effects of arbuscular mycorrhizal fungi and a non-pathogenic *Fusarium oxysporum* on *Meloidogyne incognita* infestation of tomato. Mycorrhiza 13(4): 199-204.

Elsen A, Baimey H, Swennen, Waele Dde R (2003) Relative mycorrhizal dependency and mycorrhiza-nematode interaction in banana cultivars (*Musa* spp.) differing in nematode susceptibility. Plant and Soil 256(2): 303-313.

Gaur A, Adholeya A (2004) Prospects of arbuscular mycorrhizal fungi in phytoremediation of heavy metal contaminated soils. Current Science 86: 528-534.

Giovannetti M, Mosse B (1980) An evaluation of techniques for measuring vesicular arbuscular mycorrhizal infection in roots. New Phytologyst 84: 489-500.

Gomez KA, Gomez AA (1984) Statistical procedures for agricultural research, 2nd edn. An international rice research institute book. Wiley, New York, pp. 704.

Harrier LA, Watson CA (2004) The potential role of arbuscular mycorrhizal (AM) fungi in the bioprotection of plants against soil-borne pathogens in organic and/or other sustainable farming systems. Pest Management Science 60: 149-57.

Hayman DS (1982) The physiology of vesicular arbuscular endo-mycorrhizal symbiosis. Canadian Journal of Botany 61: 944-963.

Hol, WHG, Cook R (2005) An overview of arbuscular mycorrhizal fungi-nematode interactions. Basic and Applied Ecology, 6(6): 489-503.

Hussey R, Barker K (1973) Comparison of methods of collecting inocula of *Meloidogyne* spp. including a new technique. Plant Disease Reporte 57: 1025-1028.

Hussey R, Roncadorl R (1982) Vesicular-arbuscular mycorrhizae may limit nematode activity and improve plant growth. Plant Disease 66: 9-14.

Janisiewicz WJ, Bors B (1995) Development of a microbial community of bacterial and yeast antagonists to control wound invading postharvest pathogens of fruits. Applied and Environmental Microbiology 61:3261–3267.

Jepson SB (1987) Identification of root-knot nematodes (*Meloidogyne* species). Common wealth Agricultural Bureau, Farnham Royal, UK, pp. 265.

Joner EJ, Jakobsen I (1992) Enhanced growth of external VA mycorrhizal hyphae in soil amended with Straw. In: Mycorrhizas in ecosystems. Eds. Read Lewis DJ, Fitter DH, Alexander AHIJ, CAB International, UK., pp. 387.

Kellam M, Schenck N (1980) Interaction between a vesicular-arbuscular mycorrhizal fungus and root-knot nematode on soybean. Phytopathology 70: 293-296.

Kormanik PP, Mac-Graw AC (1982) Quantification of vesicular arbuscular mycorrhizae in plant roots. In Methods and principles of mycorrhizal research. Ed. Schenk NC. pp. 37-45.The American Phytopathology Society, St. Paul, Minn.

Kwerepe BC, Labuschagne N (2003) Biofumigation and soil solarization as integrated pest management (IPM) components for the control of root-knot nematode, *Meloidogyne incognita* (Kofoid & White). Chitwoodi) on bambara ground nut (*Vigna subterranea* (L.) Verdc.) UNISWA Journal of Agriculture 11: 56-63.

Linderman RG (1994) Role of VAM fungi in biocontrol. In: Pfleger FL, Linderman RG (eds) Mycorrhizae and plant health. APS, St Paul, pp 1-26

López-Pérez J-A, Roubtsova T, Ploeg A (2005) Effect of three plant residues and chicken manure used as biofumigants at three temperatures on *Meloidogyne incognita* infestation of tomato in greenhouse experiments. Journal of Nematology 37(4): 489-494.

Mekete T, Johannes H, Sebastian K, Richard S (2009) Endophytic bacteria from Ethiopian coffee plants and their potential to antagonise *Meloidogyne incognita*. Nematology 11(1): 117-127.

Mian I, Rodriguez-Kabana R (1982) Survey of the nematicidal properties of some organic materials available in Alabama as amendments to soil for control of *Meloidogyne arenaria*. Nematropica 12(2): 235-246.

Mirekei K, Abdollahi M, Talaei F (2013) The effect of combination of *Trichoderma virens* and *Glomus mosseae* to control of *Meloidogyne javanica* on tomato. Biological Control of Pests and Plant Diseases 2(1): 9-16. (in Persian)

Oka Y (2010) Mechanisms of nematode suppression by organic soil amendments a review. Applied Soil Ecology 44(2): 101-115.

Oostenbrink M (1966) Major characteristics of the relation between nematods and plant. Madedelingen Landbouwhogeschool Wageningen 66(4): 1-46.

Phillips JM, Hayman D S (1970) Improved procedures for clearing roots and staining parasitic and vesicular-arbuscular mycorrhizal fungi for rapid assessment of infection. Transactions of the British Mycological Society 55(1): 158-161.

Raaijmakers JM, Van der Sluis I, Koster M, Bakker PAHM, Weisbeek PJ, Schippers B (1995) Utilization of heterologous siderophores and rhizosphere competence of fluorescent *Pseudomonas* spp. Canadian Journal of Microbiology 41:126-135.

Rahman L, Somers T (2005) Suppression of root knot nematode (*Meloidogyne javanica*) after incorporation of Indian mustard cv. Nemfix as green manure and seed meal in vineyards. Australasian Plant Pathology 34(1): 77-83.

Rodriguez-Kabana R (1986) Organic and inorganic nitrogen amendments to soil as nematode suppressants. Journal of Nematology 18: 129-135.

Saleh H, Sikora R (1984) Relationship between *Glomus fascicula* tum root colonization of cotton and its effect on *Meloidogyne incognita*. Nematologica 30(2): 230-237.

Shokoohi E, Abolafia J, Zad J (2007) Nematodes of the order Rhabditida from Tehran province, Iran. The genus Acrobeles von Linstow, 1877 with description of *A. iranicus* sp. n. Nematology 9 (4): 459-481.

Shukla PK, Haseeb A (2002) Survey of farmer's fields for the association of plant parasitic nematodes and wilt fungi with pigeonpea and quantification of losses. Indian Journal of Nematology 32(2):162–164.

Siddiqi MR (2000). Tylenchida: parasites of plants and insects. 2nd Edition, CABI Bioscience, Egham, UK. pp. 848.

Siddiqui Z, Mahmood I, Khan M (1999) VAM fungi as prospective biocontrol agents for plant parasitic nematodes. Modern Approaches and innovations in soil management. Meerut, India*:* Rastogi 23: 47-58.

Siddiqui ZA, Akhtar MS (2007) Effects of AM fungi and organic fertilizers on the reproduction of the nematode *Meloidogyne incognita* and on the growth and water loss of tomato. Biology and Fertility of Soils 43: 603-609.

Siddiqui ZA, Akhtar MS (2008) Effects of organic wastes, *Glomus intraradices* and *Pseudomonas putida* on the growth of tomato and on the reproduction of the Root-knot nematode *Meloidogyne incognita* Phytoparasitica 36: 460-471.

Singh R, Adholeya A, Mukerji KG (2000) Mycorrhiza in control of soil-borne pathogens. In: Mukerji KG,Chamola BP, Singh J (Eds.). Mycorrhizal Biology. Kluwer Academic Publishers, New York. pp: 173-196.

Tavasoli A, Aliasgharzade N, Baybordi A (2009) Effects of arbuscular mycorrhizal fungi on growth, P and Zn uptake of field grown onion. 10 Th Iranian Soil Science Congress14 , Karaj.

Vierheilig H, Steinkellner S, Khaosaad, Garcia-Garrido JM (2008) The biocontrol effect of mycorrhization on soilborne fungal pathogens and the autoregulation of the AM symbiosis: one mechanism, two effects? In: Mycorrhiza, Berlin Heidelberg Springer 307-320.