

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

کیومرث میره کی^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 *Trichoderma virens* و *Glomus mosseae* بر نماتد *Meloidogyne javanica* عامل ریشه‌گرهی گوجه‌فرنگی، آزمایشی به صورت 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 به صورت 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، به طوری 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 ۳۵۳/۵ 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.

واژه‌های کلیدی: آنتاگونیست، کشاورزی پایدار، کاهش مصرف سموم، کشاورزی ارگانیک، مبارزه بیولوژیک

مقدمه

نماتدهای بیماری‌زای گیاهی است که حتی در کشورهای توسعه‌یافته با وجود اطلاعات گسترده درباره علم بیماری‌شناسی گیاهی، سالانه خسارت زیادی به محصولات کشاورزی می‌زنند (Siddiqi 2000). با توجه به شدت خسارت و دامنه میزبانی گسترده 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

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 مطالعه 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

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 توسعه خود به مواد غذایی تولیدشده 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 پایین بودن واحدهای تکثیر قارچ‌های عامل بیوکنترل در خاک، به نحو مطلوب در کنترل بیماری‌های ریشه‌ای مؤثر نیستند. بنابراین، باید با اضافه کردن 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 غده ریشه (*Meloidogyne spp.*) در ایران و جهان

زیست‌محیطی نیز نداشته باشند (Jepson 1987). مسئله مقاومت به قارچ‌کش‌ها و آنتی‌بیوتیک‌ها که از سال ۱۹۷۴ شروع شده بود، به مشکل جدی تبدیل شده است. در این راستا، مبارزه 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* آزادی 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 سلولولیتیک و همچنین، کارایی 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 ریشه گیاه، می‌تواند بر فیزیولوژی گیاه و تعاملات بیولوژیکی آن در

آگار) تکثیر و در دمای بیست و چهار درجه سانتی‌گراد نگهداری شدند. به منظور شناسایی و تشخیص جداییه‌های تریکودرما، از کلیدهای شناسایی موجود استفاده شد (Bissett 1969, Rifai 1969). پس از تهیه سوسپانسیون اسپور در آب مقطر، با استفاده از لام گلبول‌شمار (هموسیتومتر) غلظت 10^6 اسپور قارچ در میلی‌لیتر آب مقطر تهیه شد. زادمایه اولیه قارچ *Glomus spp.* از گروه باغبانی دانشگاه ولی‌عصر (عج) رفسنجان تهیه شد. زادمایه شامل قطعات ریز ریشه ذرت حاوی وزیکول‌ها، ریشه‌ها، آربوسکول‌ها و اسپوره‌های 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 درجه سانتی‌گراد و رطوبت نسبی شصت درصد بود. پس از تکثیر، برای حصول اطمینان از جنس و گونه مورد نظر، شناسایی براساس طرح‌رنگ 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 Blaszkowski and (Tadych 1997).

بررسی اثر متقابل *G. mosseae* و *T. virens* 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.

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 *G. mosseae* و *T. virens* برای کنترل بیولوژیک نماتد ریشه‌گرهی در شرایط گلخانه‌ای بررسی شد.

مواد و روش‌ها

تهیه زادمایه نماتد *Meloidogyne javanica*

پس از نمونه‌برداری از ریشه‌های گوجه‌فرنگی آلوده به نماتد ریشه‌گرهی و تهیه توده تخم منفرد از هر کدام از نمونه‌ها، نماتد روی ریشه گوجه‌فرنگی رقم کارینا تکثیر شد. پس از چند دوره متوالی تکثیر، روی ریشه گوجه‌فرنگی در شرایط دمایی بیست و پنج الی بیست و هشت درجه سانتی‌گراد، جمعیت کافی از زادمایه نماتد به دست آمد. استخراج تخم و تهیه 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 تهیه اسلاید، با استفاده از میکروسکوپ اولیمپوس مجهز به لوله ترسیم شناسایی گونه نماتد براساس مشخصات ریخت‌شناسی، ریخت‌سنجی، طرح ناحیه پیرامون مخرج نماتد ماده و همچنین، مشخصات لارو سن دوم، انجام شد (Jepson 1987).

خالص‌سازی قارچ *Trichoderma spp.*

برای تهیه زادمایه تریکودرما از خاک مزارع گندم استان فارس نمونه‌برداری شد و تعدادی نمونه 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 - آگار) و به روش تک اسپور جدایه‌های خالص‌سازی شد و در نهایت، با استفاده از محیط PDA (سیب‌زمینی دکستروز

دمای بیست و شش درجه سانتی‌گراد بیست میلی‌متر، اسپورزایی به صورت 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 ریشه‌های خوابیده کلامیدوسپورهای زرد کم‌رنگ تا بی‌رنگ به صورت انتهایی یا میانی و به شکل بیضوی و منفرد به اندازه ۹-۱۲×۵-۶ میکرومتر ایجاد شد. کنیدیوفورها منشعب، دارای سطحی صاف و بی‌رنگ بود و فیالیدهای آمپولی شکل به صورت سه‌تایی تا شش‌تایی در انتها ایجاد می‌شد.

صفات رویشی گوجه‌فرنگی آلوده به نماتد

ریشه‌گرهی

نتایج تجزیه 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 مقایسه 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 مختل‌کننده 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، به طوری که کاربرد *T. viride*

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 مرحله 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 طوقه 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 تهیه نشا، مقدار پنجاه گرم از زادمایه اسپور قارچ در اطراف بذور در داخل لیوان نشا ریخته شد. شرایط محیطی گلخانه در طول دوره نگه‌داری گلدان‌ها شامل دما 26 ± 2 درجه سانتی‌گراد، رطوبت نسبی شصت درصد، دوره 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 کیسه 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.

تجزیه آماری داده‌ها

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

نتایج و بحث

گونه جدادشده *Trichoderma virens* تشخیص داده شد. رشد پرگنه این قارچ در محیط کشت PDA در

با تلقیح عامل بیوکنترل کاهش یافت. برخی گونه‌های تریکودرما بر شاخص‌های رشدی گیاه آلوده به نماتد اثر مثبت داشته‌اند.

موجب افت شاخص‌های رشدی گیاه در مقایسه با تیمار تلقیح‌شده با نماتد شد که این موضوع با نتایج میر و همکاران همخوانی دارد (Meyer et al. 2001). در آزمایش‌های ایشان نیز تمامی شاخص‌های رویشی گیاه

جدول ۱. تجزیه واریانس صفات رویشی گوجه‌فرنگی آلوده‌شده به نماتد ریشه‌گرهی *M. javanica* تیمار شده با قارچ‌های *G. mosseae* و *T. virens*

میانگین مربعات						درجه آزادی	منابع تغییر
وزن خشک ریشه	وزن تر ریشه	طول ریشه	وزن خشک ساقه	وزن تر ساقه	طول ساقه		
۰/۰۵۱**	۰/۸۴۶**	۲۳/۵۷**	۰/۱۶۲۴**	۴/۵۸**	۴۵/۶۳**	۶	تیمار
۰/۰۰۱	۰/۰۲۸	۰/۲۷۲	۰/۰۱۹	۰/۱۴۶	۱/۳۲	۲۸	خطا
۳۴/۳	۳۲/۳	۲۸/۲	۲۷/۴	۲۸	۲۵/۳	-	درصد ضریب تغییرات

** معنی‌دار در سطح احتمال یک درصد

مقایسه 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).

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). وبندهام و همکاران نیز نتایج مشابهی در ذرت آلوده به *arenaria* به‌دست آورده‌اند (Windham et al. 1989). با توجه به نتایج

جدول ۲. مقایسه میانگین فاکتورهای رشدی گوجه‌فرنگی آلوده‌شده به نماتد ریشه‌گرهی *M. javanica* تیمار شده با قارچ‌های *T. virens* و *G. mosseae*

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

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

تعداد گره در ریشه، تعداد کیسه 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 مقایسه میانگین صفات مربوط به

صفات تولیدمثل نماتد

نتایج تجزیه واریانس صفات تولیدمثلی نماتد ریشه‌گرهی *M. javanica* (جدول ۳) نشان می‌دهد که در بین تیمارها از نظر چهار صفت مهم تولیدمثلی نماتد، یعنی

همچنین، تیمار *T. virens*+*M. javanica* هر چند 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.

تولیدمثل نماتد (جدول ۴)، کم‌ترین تولید گال و کیسه تخم و همچنین، لارو سن دوم و فاکتور تولیدمثل به ترتیب در تیمارهای *G. +T. virens*+*M. javanica* و *mosseae* و *M. javanica* مشاهده شد که با تیمار *M. javanica* دارای اختلاف معنی‌داری در سطح یک درصد بودند.

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

میانگین مربعات					
منابع تغییر	درجه آزادی	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. مقایسه میانگین صفات تولیدمثلی نماتد در گوجه‌فرنگی آلوده شده به نماتد ریشه‌گرهی *M. javanica* تیمار شده با قارچ‌های *G. mosseae* و *T. virens*

تیمارها	تعداد گال	تعداد کیسه تخم	تعداد لارو سن دوم	فاکتور تولیدمثل
شاهد	۰d	۰c	۰d	۰d
<i>M. javanica</i>	۷/۲۸ a	۲/۷۶ a	۳۵۵۳/۵۰a	۲/۱۳ a
<i>M. javanica</i> + <i>T. virens</i>	۶/۲۱ b	۱/۲۹ ab	۲۶۰۳/۵۰b	۱/۵۶ b
<i>M. javanica</i> + <i>G. mosseae</i>	۴/۴۸ c	۰/۷۱ b	۲۶۴۹-۲۵b	۱/۵۹ b
<i>M. javanica</i> + <i>T. virens</i> + <i>G. mosseae</i>	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 تکرار چهار، حروف مشابه لاتین نشان‌دهنده نداشتن تفاوت معنی‌دار بین تیمارها در سطح ۵٪ است.

نتیجه‌گیری کلی

در تحقیق حاضر از بین دو قارچ مورد آزمایش، اثر بازدارندگی بیشتری داشته است. البته تیمار *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 کیسه تخم نشان داد که با کاهش تعداد گره‌ها، تعداد کیسه تخم ایجاد شده نیز کاهش می‌یابد. به نظر می‌رسد که لاروها وارد ریشه می‌شوند، ولی نمی‌توانند کیسه تخم زیادی تولید کنند. احتمالاً قارچ *T. virens* باعث تحریک و القای سنتز ترکیبات دفاعی در گیاه می‌شود. براساس تحقیقات شارون و همکاران، آنزیم کیتینازی را که *T. harzianum* ترشح می‌کند بر کیتین موجود در پوسته تخم نماتد اثر دارد (Sharon et al. 2001). همچنین، *T. harzianum* می‌تواند به سیست نفوذ کند و تخم‌ها و

بررسی نتایج آزمایش میزان تأثیر قارچ‌های *T. virens* و *G. mosseae* بر نماتد ریشه‌گرهی *M. javanica* نشان داد که هر دو قارچ می‌توانند به میزان چشمگیری بر شاخص‌های تکثیری نماتد *M. javanica* مؤثر باشند. با توجه به ارتباط متقابل قارچ و نماتد با گیاه، به نظر می‌رسد که قارچ *T. virens* فعالیت نماتد در داخل گیاه را دچار محدودیت می‌کند، به طوری که نه تنها میزان تشکیل گره روی ریشه، بلکه تعداد کیسه تخم نیز کاهش می‌یابد. بنابراین، این احتمال وجود دارد که قارچ سیستم دفاعی گیاه را تحریک می‌کند. میزان کاهش فعالیت نماتد ارتباط مستقیمی با قارچ دارد؛ به این صورت که قارچ با کلونیزاسیون محیط ریزوسفر مانع گسترش نماتد در بافت‌های داخلی ریشه می‌شود (Sharon et al. 2001).

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 پارازیتسم آن بر لاروهای سن دوم در خاک است که باعث از بین رفتن آن‌ها در داخل خاک می‌شود (Elad et al. 1980). هرچند تیمار *T. +M. javanica* نتوانست شاخص‌های رویشی گیاه را بهبود بخشد، ورود *G. mosseae* به این مجموعه تغییر چشمگیری در تأثیر این عوامل بیوکنترول 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 *M. javanica+T. virens+G. mosseae* است. بنابراین، با در نظر گرفتن همه جوانب، این تیمار که از یک طرف شاخص‌های رشدی گیاه را حتی در مقایسه با تیمار شاهد تلفیح‌نشده با نماتد بهبود بخشید و از طرف دیگر در همه شاخص‌های تولیدمثلی نماتد نسبت به سایر تیمارها برتری نشان داد، به‌عنوان برترین تیمار این آزمایش انتخاب می‌شود.

لاروهای نماتد سیست طلائی سیب‌زمینی *Globodera rostochiensis* را پارازیت‌کننده (Siffullah and Thomas 1996). در بررسی همین شاخص، با ورود *G. mosseae* به آزمایش‌ها، کاهش چشمگیر تعداد گال، کیسه 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 تجزیه کیتین دیواره 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 تلفیح‌شده 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

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-Jarana 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 rolfii* 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.,

- 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 novel 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.