



دانشگاه ولی عصر قزوین

12th Iranian Horticultural Science Congress
September 05-08 2021
۱۴ لغایت ۱۷ شهریورماه ۱۴۰۰



بررسی پتانسیل محلول پاشی فعال کننده های زیستی قارچ تریکودرما در کنترل نماتد ریشه

گرهی (*Meloidogyne javanica*) در گوجه فرنگی

زهرا فاریابی^۱، حسین علایی*

^۱ دانشجوی کارشناسی ارشد، دانشیار بیماری شناسی گیاهی، گروه گیاهپزشکی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه ولی عصر (عج)

رفسنجان

hossein.alaei@vru.ac.ir

چکیده

نماتد ریشه گرهی از خسارت‌زاترین نماتدهای انگل گیاهی بوده و به علت پراکندگی وسیع، دامنه میزبانی بالا و تاثیر متقابل با قارچ‌ها و باکتری‌های خاکزاد گیاهی در رده مهمترین بیمارگرهای گیاهی می‌باشد. تیمارهای آزمایش شامل: میکس عصاره‌های خام تریکودرما بصورت همراه و بدون عناصر غذایی، ترکیبات تجاری ISR2000 و نماتدکش ولوم استفاده بود. آزمایش گلخانه‌ای براساس طرح کاملاً تصادفی با ۳ تکرار انجام گردید و پس از گذشت ۹۰ روز شاخص‌های بیماری‌زایی نماتد ارزیابی شد. در تیمار نماتدکش ولوم ومحلول پاشی ترکیب زیستی Mix.E، کمترین میزان آلودگی گال نسبت به حجم ریشه، به ترتیب برابر با ۳۰/۷۶ و ۳۲ درصد و میزان آلودگی کیسه تخم نسبت به حجم ریشه، برابر با ۲۶/۸۸ و ۳۲ درصد می‌باشد. بیشترین کاهش تعداد لارو سن دوم در تیمار ولوم و محلول پاشی ترکیبات زیستی Mix.E و Mix.E+ همراه با عناصر غذایی بترتیب برابر با ۸۳/۸۶ و ۷۲/۵ و ۶۲/۵ درصد، در مقایسه با تیمار شاهد نماتد مشاهده شد. استفاده از ترکیب زیستی Mix.E در کنار سم ولوم نشان دهنده تاثیر بالا و قابل مقایسه ترکیبات زیستی در کنار ترکیب شیمیایی ولوم بوده است و دارای بیشترین درصد کنترل و کمترین میزان تولید مثل نماتد را داشتند.

مقدمه

گوجه فرنگی (*Lycopersicon esculentum*) یکی از منابع ارزشمند و غنی از آنتی اکسیدانت‌ها (لیکوپن، آسکوربیک اسید و فنل ها) در رژیم غذایی می‌باشد. نماتدهای ریشه گرهی، به‌ویژه *M. Javanica* و *M. Hapla* شایع‌ترین گونه‌های نماتد ریشه‌گرهی گوجه‌فرنگی هستند که بیشترین خسارت اقتصادی را در خاک های شنی ایجاد می کنند. با توجه به خطرات زیست محیطی سموم شیمیایی، استفاده از عوامل کنترل بیولوژیک می‌تواند یک روش کارآمد برای کنترل نماتدها باشد. قارچ تریکودرما یکی از موفق ترین عوامل کنترل بیولوژیکی شناخته شده است از مکانیسم‌های مهم کنترل بیولوژیک *Trichoderma* می‌توان به تأثیر مستقیم شامل رقابت برای مواد مغذی یا فضا ، تولید آنتی بیوتیک های فرار و غیر فرار و آنزیم های لیتیک، غیرفعال سازی آنزیم های پاتوژن و انگلی و اثرات غیرمستقیم شامل تغییرات مورفولوژیکی و بیوشیمیایی در گیاهان میزبان، مانند تحمل تنش ، انحلال یا جداسازی مواد مغذی غیر آلی و القا مقاومت در برابر بیماری های ناشی از بیمارگرها اشاره کرد (Silva et al., 2019) بنابراین در این پژوهش تلاش به استفاده از ترکیبات زیستی بر پایه قارچ تریکودرما بوده است که جدایه‌ها شامل گونه‌های *T. harzianum*، *T. aureoviride*، *T. guizhounse* و گونه *T. guizhounse* کد CT79-2 می‌باشند.

مواد و روش ها

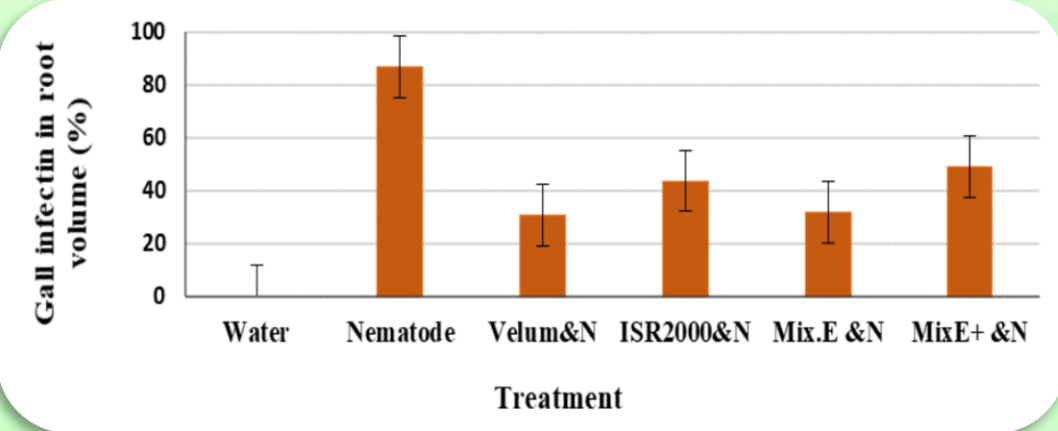
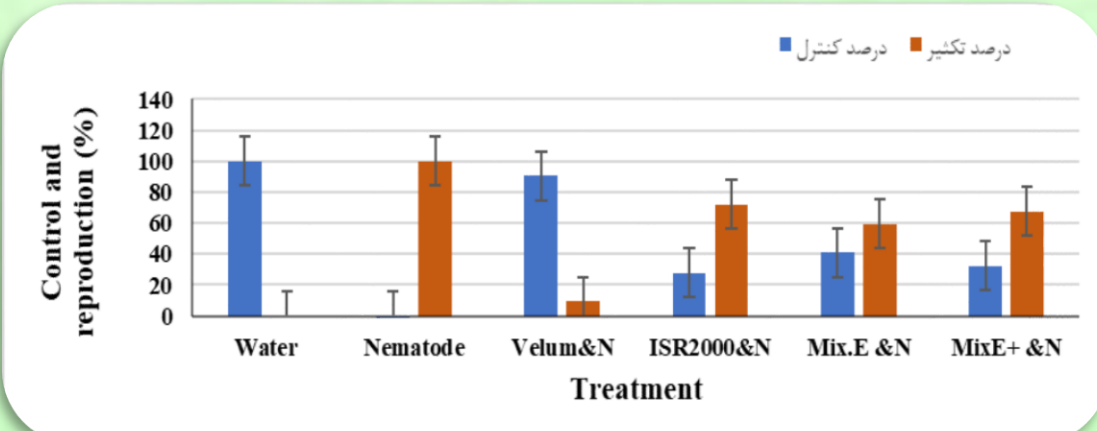
نماتد ریشه‌گرهی از ریشه‌های آلوده گیاه گوجه جداسازی شد و خالص سازی و تکثیر نماتد روی گیاهچه‌های گوجه‌فرنگی رقم سوپر پف انجام شد. بدین منظور بذرهای گوجه فرنگی بعد از ضدعفونی درون سینی نشاء کشت شدند. گیاهچه ها در مرحله ۴ تا ۵ برگی به گلدان‌های یک کیلوگرمی منتقل شدند. برای رسیدن به یک جمعیت خالص، یک کیسه تخم درکنار ریشه گیاه گوجه فرنگی قرار داده شد. پس از گذشت تقریباً دو ماه آلودگی کامل و برای تکثیر جمعیت خالص، مراحل فوق روی گیاهچه های گوجه فرنگی تکرار شد تا جمعیت مناسب و کافی بدست آمد. استخراج تخم و لارو سن دوم نماتد با استفاده از روش هوسی و بارکر (Hussey and Barker,. 1973) انجام شد. شناسایی گونه نماتدی با تهیه برش از انتهای بدن نماتد ماده انجام و گونه *Meloidogyne javanica* تشخیص داده شد (Jepson,1987). جدایه‌های قارچ تریکودرما مورد استفاده در این تحقیق از کلکسیون قارچ‌شناسی بخش بیماری‌شناسی گیاهی دانشگاه ولیعصر (عج) رفسنجان تهیه شدند. این جدایه‌ها شامل گونه‌های *T. harzianum*، گونه *T. aureoviride* و گونه *T. guizhounse* می‌باشند. برای تهیه عصاره خام تریکودرما از کشت‌های یک هفته‌ای آنتاگونیست، ۴-۵ قرص میسلیمی قارچ با اسکالپل جدا کرده و به ارلن حاوی محیط کشت PDB اضافه شد. محیط کشت‌های حاوی قارچ آنتاگونیست، به مدت یک هفته روی شیکر قرار داده شد. پس از رشد قارچ آنتاگونیست، عصاره خام قارچی از فیلتر عبور داده شد و درون ارلن تا زمان مصرف نگهداری شدند. گلدان‌ها ازخاک و ماسه استریل به نسبت ۱:۲ پرشدند. پس از اینکه نهال های گوجه فرنگی به مرحله ۴-۵ برگی رسیدند به گلدان ها منتقل شدند و مقدار ۲۰۰۰ لارو سن دوم به ازای هر کیلوگرم خاک گلدان مایه‌زنی شد. استفاده از فعال کننده های زیستی و تجاری ISR2000. طی سه مرحله بعد از مایه زنی با نماتد، با فاصله ۱۰ روز با غلظت ۱ در هزار محلول پاشی شدند و نماتد کش ولوم برای یک بار با ۰.۸۹ l برای هر گلدان بصورت خاک کاربرد استفاده شد. گلدان ها به مدت ۹۰ روز در شرایط گلخانه با دمای ۲۰ تا ۲۵ درجه سانتی گراد نگهداری و آبیاری منظم انجام شد.

نتایج آنالیز آماری و بررسی مقایسه میانگین اثر ترکیبات زیستی تریکودرما روی شاخص‌های بیماری‌زایی نماتد بعد از تیمار سه ماهه گیاهچه‌های گوجه‌فرنگی نشان داد که تیمارهای مختلف تریکودرما تفاوت معنی‌داری روی فاکتورهای جمعیتی نماتد در مقایسه با تیمار شاهد نماتدی داشتند. (جدول ۱).

جدول ۱-تاثیر تیمارهای مختلف در کاهش میزان آلودگی نماتد ریشه‌گرهی و شاخص های جمعیتی نماتد ریشه گرهی در گیاه گوجه فرنگی.

تیمار	درصد گال به حجم ریشه (%)	درصد کیسه تخم به حجم ریشه(%)	درصد کاهش لارو سن دوم (J2) به شاهد در ۳۰۰ گرم خاک(%)	جمعیت نهایی نماتد (PF)	شاخص تولید مثل (RF)	درصد تکثیر نماتد (Mr%)	درصد کنترل نماتد (NC%)
Water	0	0	0	0	0	0	100
Nematode	86.95	61.82	0	34633	17.32	100	0
Velum&N	30.76	26.88	86.83	3255	1.63	9.40	90.60
ISR2000&N	43.75	41.87	45.83	24933	12.47	71.99	28.01
MixE &N	32	32	72.5	20520	10.26	59.25	40.75
Mix.E+ &N	49.14	19.1	62.5	23400	11.70	67.57	32.43

در ارزیابی شاخص گال ریشه و همچنین شاخص کیسه تخم، نتایج نشان داد که بوته‌های آلوده تیمار شده با ترکیب شیمیایی ولوم و محلول پاشی ترکیبات زیستی Mix.E و Mix.E+ از کمترین میزان آلودگی برخوردار می‌باشند و بیشترین آلودگی، در تیمار شاهد نماتد (بوته آلوده به نماتد بدون اعمال تیمار) مشاهده شد که نشان از کنترل موفق این ترکیبات فعال کننده زیستی تریکودرما دارد (شکل ۱ و جدول ۱). همچنین در شاخص میزان تعداد لارو سن دوم، تیمار سم ولوم، ترکیب زیستی Mix.E و Mix.E+ همراه با عناصر غذایی، به ترتیب با ۸۳/۸۶، ۷۲/۵ و ۶۲/۵ درصد، بیشترین کاهش تعداد لارو سن دوم در مقایسه با تیمار شاهد نماتد را نشان دادند. یکی از راه‌های کنترل در برابر بیماریهای گیاهی، فعالسازی سامانه دفاعی گیاه است که از راه تجمع سالیسیلیک اسید (SA) و بیان ژنهای مربوط به بیماریزایی می‌باشد. محلول پاشی برگی با بتا آمینو بوتیرتیک اسید و یا استفاده از اسید سالیسیلیک به دلیل القای فعالیت دفاعی گیاه و ایجاد مقاومت سیستمیک القایی به تنهایی نیز در کنترل نماتد *M. Javanica* در گیاه گوجه فرنگی مؤثر واقع شده است(Mostafanezhad et al., 2014). همچنین بتا آمینو بوتیرتیک اسید موجب کاهش نفوذ لاروهای مهاجم نماتد به درون بافت ریشه شده و باعث به تعویق انداختن چرخه زندگی نماتد درون بافت ریشه می‌گردد (Charehgani et al., 2014). در بررسی هایی نشان داده شد که محلول پاشی فسفیت پتاسیم روی سیب زمینی توانسته است با القای پاسخ های دفاعی فراگیر، منجر به کاهش حساسیت مقابل قارچ‌های *Phytophthora infestans* و *Fusarium solani* و باکتری *Erwinia carotovora* می‌شود(Lobato et al., 2011). این عوامل بیوکنترلی می‌توانند به عنوان مکمل یا جایگزینی مناسب برای ترکیبات شیمیایی پیشنهاد شوند. جمعیت نهایی نماتد در گلدان برای تیمار نماتد نسبت به سایر تیمارها دارای اختلاف چشمگیری می‌باشد. در بین تیمارهای مورد استفاده، محلول پاشی دو ترکیب زیستی تریکودرمایی Mix.E+ و Mix.E دارای جمعیت پایینی از نماتد می‌باشند. در ارزیابی فاکتور تولید مثل، کمترین میزان تولید مثل مربوط به بوته‌های تیمار شده با ترکیبات پاششی زیستی می‌باشد. نتایج حاصل از این بررسی، بیانگر نقش مؤثر قارچ آنتاگونیست تریکودرما در کنترل نماتد ریشه‌گرهی می‌باشد. بیشترین درصد کنترل در بین تیمارهای مورد استفاده مربوط به سم ولوم و بعد از آن به ترکیبات زیستی Mix.E و Mix.E+ می‌باشد(شکل ۲).. در راستای تاثیرات مخرب ترکیبات شیمیایی در محیط زیست استفاده از ترکیبات زیستی بعنوان جایگزین سموم پیشنهاد می‌شود



شکل ۱- درصد شاخص آلودگی گال نسبت به حجم ریشه در گیاه آلوده به نماتد ریشه گرهی شکل ۲- درصد کنترل و تکثیر تیمارهای مختلف در کنترل نماتد ریشه گرهی گوجه فرنگی

منابع

- Charehgani, H., Karegar, A. and Djavaheri, M., 2014. Comparison of DI-B-amino-N-butyric acid, salicylic acid and abscisic acid in induction of resistance in tomato infected by Meloidogyne Incognita. Iranian Journal of Plant Pathology, 504, pp.161-163.
- Hussey, R.S., 1973. A comparison of methods of collecting inocula of Meloidogyne spp., including a new technique. Plant Disease Report., 57, pp.1025-1028.
- Jepson, S. B. 1987. Identification of Root Knot Nematode (Meloidogyne species). CAB International, Wallingford, Oxon, UK. 265 pp.
- Lobato, M.C., Olivieri, F.P., Altamiranda, E.G., Wolski, E.A., Daleo, G.R., Caldiz, D.O. and Andreu, A.B., 2008. Phosphite compounds reduce disease severity in potato seed tubers and foliage. European Journal of Plant Pathology, 122(3), pp.349-358.
- Mostafanezhad, H., Sahebani, N. and Nourinejad Zarghani, S., 2014. Control of root-knot nematode (Meloidogyne javanica) with combination of Arthrobotrys oligospora and salicylic acid and study of some plant defense responses. Biocontrol Science and Technology, 24(2), pp.203-215.
- Silva, R. N., Monteiro, V. N., Steindorff, A. S., Gomes, E. V., Noronha, E. F., & Ulhoa, C. J. 2019. Trichoderma/pathogen/plant interaction in pre-harvest food security. Fungal Biology, 123(8), 565-583.