



کنترل نماتد ریشه‌گرهی در گوجه‌فرنگی با استفاده از قارچ‌های بیمارگرکش

المیرا ابوترابی*^۱ و لاله نراقی^۲

۱- مربی پژوهش بخش تحقیقات نماتدشناسی، موسسه تحقیقات گیاهپزشکی کشور. سازمان تحقیقات، آموزش و ترویج کشاورزی، تهران، ایران

۲- استادیار پژوهش بخش تحقیقات بیماری‌های گیاهی، موسسه تحقیقات گیاهپزشکی کشور. سازمان تحقیقات، آموزش و ترویج کشاورزی، تهران، ایران

*پست الکترونیکی نویسنده مسئول: elabootorabi@gmail.com

تاریخ پذیرش: ۱۴۰۰/۳/۲۲

تاریخ دریافت: ۱۳۹۹/۱۲/۱۰

چکیده

نماتدهای ریشه‌گرهی^۱ دامنه‌ی وسیعی از محصولات شامل سبزی‌ها، گیاهان زراعی و باغی را آلوده می‌کنند. در دهه‌های اخیر، کنترل نماتدها به وسیله‌ی عوامل بیمارگرکش مطرح است. با توجه به کاربردی بودن این روش در کشاورزی و مزایای قابل توجه آن نسبت به برخی روش‌های دیگر مدیریت بیماری‌های گیاهی، مطالعات وسیعی در این زمینه صورت گرفته است. کاربرد دو قارچ تریکودرما هارزیانوم^۲ و تالارومایسز فلاووس^۳ به صورت ترکیبی، باعث کاهش جمعیت نماتد و همچنین افزایش رشد رویشی گیاه گوجه‌فرنگی آلوده به نماتد شده است. کاربرد این روش، توانست به میزان ۸۰ درصد باعث کاهش آلودگی گیاه به نماتد گردد. کاربرد قارچ‌های مذکور به تنهایی توانسته است به ترتیب ۷۸ و ۶۷ درصد جمعیت نماتد را کاهش دهد. بنابراین استفاده از دو قارچ بیمارگرکش به صورت همراه، نقش قابل ملاحظه‌ای در کنترل میزان آلودگی گیاه به نماتد ریشه‌گرهی داشته و گزینه قابل توصیه به ویژه در برنامه‌های تولید ارگانیک می‌باشد.

واژه‌گان کلیدی: جمعیت، قارچ آنتاگونیست، کنترل، گوجه‌فرنگی، نماتد ریشه‌گرهی.

¹ *Meloidogyne* spp.

² *Trichoderma harzianum*

³ *Talaromyces flavus*

متن مقاله

بیان مسأله:

گسترش آلودگی مزارع و گلخانه‌های گوجه‌فرنگی به نماتدهای ریشه‌گرهی در ایران قابل توجه بوده و مشکلات زیادی برای زارعین پیش آورده است. به دلیل اهمیت اقتصادی، روش‌های مختلفی جهت کنترل این نماتدها از جمله استفاده از سموم شیمیایی، ارقام مقاوم، تناوب زراعی، کنترل بیولوژیک و در برخی موارد، تلفیقی از روش‌های مذکور مورد استفاده قرار گرفته است. بنا به گزارش هوسی و جانسن (۲۰۰۲)^۱ نماتدهای ریشه‌گرهی با کاهش ۵٪ محصولات کشاورزی به‌عنوان مهم‌ترین نماتدهای انگل‌گیاهی در سطح جهان شناخته شده‌اند. لمبرتی و تایلور (۱۹۷۹)^۲ خسارت این نماتدها روی گوجه‌فرنگی را تا ۸۵٪ گزارش کرده‌اند. نراقی و همکاران (۲۰۱۰)^۳ گزارش نموده‌اند که قارچ‌های بیمارگرکش^۴ تقریباً در تمام خاک‌ها وجود دارند به‌طوری‌که این قارچ‌ها به‌صورت فعال در اطراف ریشه اغلب گیاهان حضور دارند. براساس نتایج پژوهش‌های انجام شده توسط آمیزا و همکاران (۲۰۱۰)^۵، هنگامی که این قارچ‌ها در تماس با ریشه قرار گیرند سطح ریشه را اشغال می‌نمایند و با ایجاد یک حفاظ فیزیکی و رقابت با قارچ‌های بیماری‌زا، مانع از آلوده شدن ریشه به قارچ‌های بیماری‌زا می‌شوند. علاوه بر اشغال سطح ریشه، به قارچ‌های بیماری‌زای دیگر نیز حمله کرده و انرژی مورد نیاز خود را از این قارچ‌ها تأمین می‌کنند.

قارچ‌های بیمارگرکش، با ایجاد پوسته‌ی سخت در اطراف تخم نماتد در خاک تاثیر مستقیم در ممانعت از خروج لارو نماتد از تخم و تکامل چرخه‌ی زیستی آن دارند. به گزارش شارون و همکاران (۲۰۰۱)^۶ در گیاه گوجه‌فرنگی که با این قارچ‌ها همراه و در خاک‌های آلوده به نماتد ریشه‌گرهی کشت شده بود، افزایش رشد گیاه و کاهش تعداد گره روی سطح ریشه مشاهده شد. ملکی زیاراتی و همکاران (۱۳۸۸)^۷ با بهره‌گیری از قارچ تریکودرما هارزیانوم، کاهش توده تخم نماتد در ریشه و همچنین کاهش تعداد تخم درون توده را گزارش نمودند.

معرفی یافته

با توجه به اهمیت گسترش آلودگی در بسیاری از مناطق تحت کشت محصولات سبزی و صیفی به نماتد ریشه‌گرهی و بروز خسارات هنگفت به زارعین، مدیریت این عامل بیماری‌زا با هدف کاهش مصرف سموم شیمیایی و در نتیجه تولید محصول سالم، ارائه راهکار مناسبی را که ضمناً مقرون به صرفه باشد می‌طلبد. به دلیل اینکه مصرف سموم نماتدکش اثرات زیست محیطی مخربی داشته و باعث مسمومیت آب و خاک و به خطر افتادن سلامت موجودات می‌گردد، استفاده از عوامل بیولوژیک در کنترل نماتدهای گیاهی، اهمیت ویژه‌ای پیدا کرده است. از جمله قارچ‌هایی که در کنترل زیستی آفات و بیمارگرهای گیاهی به عنوان عامل کنترل بیولوژیک استفاده می‌شود گونه‌ای از قارچ تریکودرما از جمله تریکودرما هارزیانوم و تالارومایسز فلاووس است. این قارچ‌ها

¹ Hussey and Janssen² Lamberti and Taylor³ Naraghi et al.⁴ Antagonist⁵ Amaeza et al.⁶ Sharon et al.⁷ Maleki ziyarati et al.

۱. نمونه برداری از خاک، پیش از آغاز کشت محصول، به منظور بررسی وجود آلودگی خاک به نماتد، نمونه برداری خاک از عمق صفر تا ۳۰ سانتی متری از سطح خاک از قسمت‌های مختلف گلخانه صورت گیرد. برای یک دست کردن نمونه‌ها، خاک‌های جمع‌آوری شده را با هم مخلوط نموده و یک زیرنمونه از آن جدا کرده و به آزمایشگاه تخصصی یا کلینیک گیاه پزشکی ارسال گردد. طبق گزارش ارائه شده توسط *ابوترابی و سعیدی نائینی (۱۳۸۹)*، خاکی که هر گرم آن آلوده به پنج عدد تخم و لارو نماتد ریشه گرهی باشد (شکل ۲)، خاک آلوده محسوب شده و می‌تواند خسارت‌زا باشد.



شکل ۲- تخم، لارو، ماده بالغ و کیسه تخم نماتد ریشه گرهی (اصلی)

۲. تهیهی زادمایه‌ی قارچ‌های بیمارگرکش، به منظور دستیابی به جدایه‌های قارچ *تریکودرما هارزیانوم* و *تالارومایسز فلاووس* (شکل‌های ۳ و ۴)، با مراجعه به آزمایشگاه بخش تحقیقات بیماری‌های گیاهی مؤسسه تحقیقات گیاه پزشکی کشور، قارچ‌های مذکور را که از خاک اطراف ریشه‌ی گوجه‌فرنگی در مزارع واقع در شهرستان ورامین جدا سازی گردیده و با کدهای ویژه نشانه‌گذاری شده‌اند، می‌توان تهیه کرد (شکل ۵).

تقریباً در تمام خاک‌ها و به صورت فعال در ریزوسفر اغلب گیاهان حضور دارند و نقش مهمی در کنترل بیماری‌های خاکزاد ایفا می‌کنند. بر اساس آزمایش‌های انجام شده، هر دو قارچ *تریکودرما هارزیانوم* و *تالارومایسز فلاووس* علاوه بر اینکه، نقش مؤثری در کنترل گرهی شدن ریشه و کاهش جمعیت نماتد ریشه‌گرهی دارند، در افزایش رشد رویشی گیاه نیز اثر مطلوبی دارند. بر اساس گزارش *اشرف و خان (۲۰۰۷)*^۱ زمانی که تلفیق دو قارچ مورد استفاده قرار گیرد، ضمن اعمال اثرات کنترل‌کنندگی قارچ‌ها روی عامل بیمارگر، مقاومت گیاه در برابر نماتد افزایش یافته و مؤثرتر از زمانی است که قارچ‌ها به تنهایی روی گیاه اثر داده می‌شوند. بر اساس گزارش *نراقی و همکاران (۲۰۱۰)* در گیاهی که آلوده به پژمردگی ورتیسیلیومی است، کاربرد قارچ‌های بیمارگرکش می‌تواند تأثیر قابل ملاحظه‌ای داشته باشد.

دستورالعمل

به منظور پیشگیری از آلودگی گوجه‌فرنگی گلخانه‌ای به نماتد ریشه‌گرهی (شکل ۱) توصیه می‌شود برابر روش زیر نمونه برداری انجام و وضعیت آلودگی خاک گلخانه قبل از کاشت بررسی گردد.



شکل ۱- ریشه گوجه فرنگی آلوده به

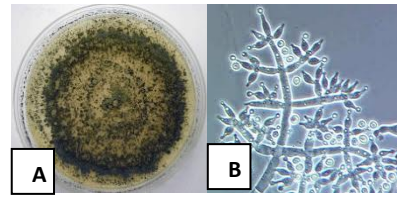
^۱ Ashraf and Khan

علت انتخاب سبوس برنج، به دلیل سرشار بودن آن از ترکیبات قندی و ضرورت آن برای فعالیت قارچ‌های بیمارگرکش است. از طرف دیگر چون زادمایه برای یک محصول گلخانه‌ای با خاک سبک به کار گرفته می‌شود لذا برای تطبیق بستر زادمایه با بافت خاک مورد استفاده، باید به نسبت ۱ به ۴ از بستر خاک پیت استفاده شود. برای تهیه‌ی زادمایه هر یک از جدایه‌ها، باید محلولی محتوی ۲۰ میلی‌لیتر آب مقطر سترون و چهار دیسک میسلومی به قطر یک سانتی‌متری از محیط کشت ۱۰ روزه جدایه مربوطه در کیسه‌های حرارتی ریخته شود. برای رشد جدایه‌ها، کیسه‌ها در دستگاه حرارتی^۳ با دمای ۳۰°C به مدت یک ماه و نیم تا دو ماه قرار گرفته و پس از آن محتویات داخل هر یک از کیسه‌ها برای خشک شدن بر روی کاغذهای صافی پخش شود تا به عنوان زادمایه مصرفی مورد استفاده قرار گیرند.

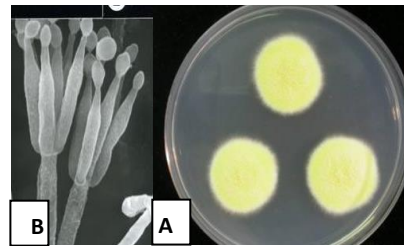
۳. آغشته کردن خاک آلوده به نماتد با قارچ‌های بیمارگرکش، بر اساس پژوهش‌های عزیز و همکاران (۱۹۷۷)^۴، افزودن زادمایه قارچ به خاک، بر مبنای تعداد $10^7 \times 2$ اسپور در گرم خاک تعیین گردید و به ازاء هر سه کیلو خاک به میزان ۲۵۰ گرم زادمایه اضافه می‌شود. بنابراین، در صورت آلوده بودن بستر کاشت به نماتد، پس از افزودن میزان ۲۵۰ گرم قارچ به ازای هر سه کیلو خاک، باید خاک کاملاً زیر و رو شود و سپس اقدام به کاشت گردد.

توصیه‌های ترویجی

۱. با توجه به نقش مؤثر ترکیب هر دو قارچ بیمارگرکش تریکودرما



شکل ۳- کلونی قارچ تریکودرما هارزیانوم (A) روی محیط کشت PDA و کنیدیوفور قارچ (B). (اصلی)



شکل ۴- کلونی قارچ تالارومایسز فلاووس (A) روی محیط کشت PDA و کنیدیوفور قارچ (B). (اصلی)



شکل ۵- ترکیب نیمه آماده حاوی جدایه دو قارچ آنتاگونیست

برای آماده سازی زادمایه‌های مورد استفاده از جدایه‌های مربوطه، مقداری سبوس برنج به مدت ۲۴ ساعت در ظروفی حاوی آب با دمای (۳۰-۳۵°C) خیسانده، سپس بر روی کاغذهای صافی بزرگ پخش و خشک شود. در مرحله‌ی بعد ۲۰۰ گرم از سبوس برنج و ۵۰ گرم خاک پیت شسته شده در کیسه‌های حرارتی در دستگاه ضدعفونی کننده^۱ (فشار ۱ اتمسفر، دمای ۱۲۰ درجه‌ی سلسیوس به مدت ۱۵ دقیقه) سترون^۲ گردد.

³ Incubator

⁴ Aziz et al.

¹ Autoclave

² Sterile



خاک، افزودن تعداد $10^7 \times 2$ اسپور از هر یک از قارچ‌ها که معادل ۲۵۰ گرم از هر زادمایه به ازای هر سه کیلو خاک است، توصیه می‌گردد، که ضمن کنترل آلودگی خاک به نماتد، سایر عوامل بیمارگر قارچی را نیز می‌توانند مهار کنند. قابل ذکر است، قارچ‌های مذکور را می‌توان به صورت بسته‌های آماده، از بخش تحقیقات بیماری‌های گیاهی مؤسسه تحقیقات گیاهپزشکی کشور تهیه نمود.

هارزیانوم و تالارومایسز فلاووس در افزایش رشد رویشی گیاه کاربرد این دو قارچ در مورد بوته‌هایی که آلوده به پژمردگی ورتیسیلیومی هستند، توصیه می‌شود.

۲. در خاک‌های آلوده به نماتد ریشه‌گرهی است (وجود تعداد ۵ عدد تخم و لارو در گرم خاک) که زارع ناگزیر از کاشت است، بهره‌گیری از این دو عامل کنترل بیولوژیک پیش از کاشت، به ازای هر یک گرم

منابع مورد استفاده

ابوترابی، المیرا و سعیدی نائینی، فرهاد. ۱۳۸۹. بررسی تاثیر سطوح مختلف جمعیت نماتد مولد گره ریشه *Meloidogyne javanica* روی رشد و میزان باردهی گوجه فرنگی. نوزدهمین کنگره گیاهپزشکی ایران (۱۲-۱۹ مرداد). ص ۵۴۱.

Amazea, N.J., Ugwuanyi, J. and Nobeta, J.A. 2010. Studies of heat resistant fungi in the soil: *Talaromyces flavus* isolated in Nigerian soils. New York Science Journal, 3(12): 8-14.

Ashraf, M S and Khan, T. A. 2007. Efficacy of *Glicocladium virens* and *Talaromyces flavus* with and without organic amendments against *Meloidogyne javanica* infecting eggplant. Asian journal of plant pathology 1 (1): 18-21.

Aziz, N.H., EL-Fouly, M.Z., EL- Essawy, A.A., and Khalaf, M.A. 1997. Influence of bean seedling root exudates on the rhizosphere colonization by *Trichoderma lignorum* for the control of *Rhizoctonia solani*. Botany Bulletin Academic Science, 38: 33-39.

Hussey R.S. and Barker K.R. 1973. A comparison of methods of collecting inocula of *Meloidogyne* spp., including a new technique. Plant Disease Reporter, 57: 1025-1028.

Lamberti, F and Taylor, C.E. 1979. Root knot nematodes systematics, biology and control. Academic Press. London. 477 p.

Maleki ziyarati, H., Roostaie, A., Sahebani, N., Etebariyan, H. and Aminian, H. 2009. Study of Biological Control of Root Knot Nematode *Meloidogyne javanica* (Trube) Chitwood, in Tomato by *Trichoderma harzianum* Rifai in greenhouse and quantitative changes of Phenolic compounds in plant. Seed and Plant Production Journal, Vol 25 (2): 259-272.



Naraghi, L., Heydari, A., Rezaee, S., Razavi, M., and Afshari-Azad, H. 2010. Biological control of greenhouse cucumber Verticillium wilt disease by *Talaromyces flavus*. *Phytopathologia Mediterranea*, Vol 49 (3): 321-329.

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