دانش گیاهپزشکی ایران
دورهٔ ۴۶، شمارهٔ ۲، پاییز و زمستان ۱۳۹۴ (ص ۲۴۰-۲۲۷)

نقش بافت و مقدار مادهٔ آلی خاک (خاک‌برگ) بر توانایی *Trichoderma longibrachiatum* در تحریک رشد گیاه لوبیا قرمز و کنترل نماتد *Meloidogyne javanica*

زهرا سجادی[۱]، سید محمدرضا موسوی[۲*] و غلامرضا معاف پوریان[۳]
۱. دانش‌آموختهٔ کارشناسی‌ارشد، گروه بیماری‌شناسی گیاهی، واحد مرودشت، دانشگاه آزاد اسلامی، مرودشت، ایران
۲. استادیار، گروه بیماری‌شناسی گیاهی، واحد مرودشت، دانشگاه آزاد اسلامی، مرودشت، ایران
۳. استادیار پژوهش، بخش تحقیقات خاک و آب، مرکز تحقیقات کشاورزی و منابع طبیعی استان فارس، ایران
(تاریخ دریافت: ۱۳۹۴/۸/۳۰ - تاریخ تصویب: ۱۳۹۴/۱۲/۱۱)

چکیده

این پژوهش در قالب دو آزمایش فاکتوریل بر پایهٔ طرح کاملاً تصادفی با چهار تکرار طراحی شد. آزمایش اول به‌منظور بررسی توانایی قارچ *Trichoderma longibrachiatum* در تحریک رشد گیاه میزبان و تأثیر آن بر خصوصیات رویشی گیاه لوبیا قرمز (رقم گلی) و در غیاب نماتد مولد گره ریشه شامل سه فاکتور بافت خاک (در سه سطح لوم-شنی، لوم و لوم-رسی)، مادهٔ آلی (خاک‌برگ در دو سطح ۰/۵ و ۲ درصد) و قارچ *T. longibrachiatum* (در دو سطح ۰ و $۱۰^{۶}$ اسپور در هر میلی‌لیتر) بود. در آزمایش دوم نیز اثر سه فاکتور بافت خاک، مادهٔ آلی (خاک‌برگ) و روش کنترل (بدون کنترل، ۱۰ میلی‌لیتر سوسپانسیون اسپور قارچ *T. longibrachiatum* حاوی $۱۰^{۶}$ اسپور در هر میلی‌لیتر و ۲ میلی‌گرم مادهٔ مؤثر بر نماتدکش کادوزافوس از فرم تجارتی گرانول ۱۰٪ در کیلوگرم خاک) بر خصوصیات رویشی گیاه لوبیا قرمز (رقم گلی)، توانایی قارچ در کنترل نماتد و صفات تکثیری نماتد *M. javanica* در گیاهان آلوده بررسی شد. قارچ *T. longibrachiatum* تأثیر معناداری در تحریک رشد گیاه میزبان نداشت. این قارچ بیشترین کارآیی را در خاک لومی یا لوم- شنی حاوی ۲٪ خاک‌برگ نشان داد و توانست فاکتور تولیدمثل نماتد را در انواع بافت‌های آزمایش‌شدهٔ خاک در حد نماتدکش شیمیایی (کادوزافوس) کاهش دهد. گیاه لوبیا در خاک لوم- رسی آلوده به نماتد و بدون خاک‌برگ رشد نکرد و در صورت افزایش خاک‌برگ به خاک رشد آن معنادار نبود.

واژه‌های کلیدی: اصلاح خاک، بافت خاک، تحریک‌کنندهٔ رشد، قارچ نماتدخوار، کنترل بیولوژیک، نماتد مولد گره ریشه، نوع خاک.

مقدمه

بیماری‌های نماتدی از عوامل مهم کاهش عملکرد و بروز خسارت در تولیدات گیاهی محسوب می‌شود و هر ساله حجم قابل‌توجهی از تولیدات گیاهی در سطح جهان به دلیل بیماری‌های نماتدی دچار خسارت و کاهش محصول می‌شود (Nicol *et al.*, 2011). در بین نماتدهای انگل گیاهی، نماتدهای مولد گره ریشه (*Meloidogyne* spp.) بیشترین خسارت را به محصولات کشاورزی وارد می‌آورد (Moens *et al.*, 2009). از بین گونه‌های شناسایی‌شدهٔ این نماتد گونه‌های *M. incognita*، *M. javanica*، *M. arenaria* و *M. hapla* به دلیل پراکندگی وسیع در جهان و تنوع میزبان اهمیت خاصی دارد. پراکندگی جهانی، وسعت دامنهٔ میزبانی و تعامل با سایر بیمارگرهای گیاهی، نماتدهای مولد گره ریشه را یکی از پنج عامل درجهٔ اول بیماری‌زا و در ردهٔ مهم‌ترین بیمارگرهای گیاهی تهدیدکنندهٔ رشد گیاهان قرار داده

* تلفن: ۰۹۱۷۳۰۶۶۰۸۵
E-mail: rmmoosavi@yahoo.com

است (Karssen *et al*., 2013). میزان خسارت ناشی از حملهٔ نماتدهای مولد گره ریشه به عوامل متعددی بستگی دارد، از قبیل رقم، شرایط آب‌وهوایی، نوع و بافت خاک و جمعیت نماتد در خاک (Moens *et al*., 2009).

لوبیا (*Phaseolus vulgaris*) سومین لگوم غذایی مهم است که به‌صورت جهانی کشت می‌شود. این گیاه ارزش غذایی بسیار بالایی دارد و توانسته محصول مهمی در سبد غذایی مردم جوامع مختلف قرارگیرد و بیشترین سطح زیر کشت را در بین حبوبات جهان به خود اختصاص دهد (Pratab & Kumar, 2011). از نظر اقتصادی، بیماری ریشهٔ گرهی ناشی از نماتد مولد گره ریشه یکی از بیماری‌های مهم لوبیا در بیشتر مناطق دنیاست که سبب ضعف عمومی، زردی، کوتولگی، پژمردگی و کاهش محصول می‌شود (Schwartz & Hall, 2005).

دشواری مبارزه با نماتد مولد گره ریشه به همراه خطرهای زیست‌محیطی ناشی از سموم شیمیایی، سبب شده است که محققان به دنبال راه‌های جایگزین و بی‌خطر به‌منظور کنترل این بیماری باشند. در سال‌های اخیر تأکید زیادی بر مبارزهٔ بیولوژیکی با نماتدها شده است (Davies & Spiegel, 2011). گونه‌های مختلف قارچ تریکودرما گروه مهمی از عوامل کنترل بیولوژیکی را تشکیل می‌دهد که قادر به مبارزه با طیف وسیعی از عوامل بیماری‌زا از جمله نماتدهای پارازیت گیاهی است. این قارچ علاوه‌بر روش‌های مستقیم مثل پارازیتیسم، با تولید آنزیم‌های لیزکننده و آنتی‌بیوتیک و رقابت، به روش‌های غیرمستقیمی از قبیل تحریک رشد و تحریک سیستم دفاعی گیاه با عوامل بیماری‌زا مقابله می‌کند (Benitez *et al*., 2004; Sharon *et al*., 2011). در بین گونه‌های مختلف قارچ تریکودرما، *T. longibrachiatum* در اکثر خاک‌های دنیا دیده می‌شود (Samuels *et al*., 2012) و گزارش شده است که توانایی مناسبی در کنترل نماتدهای گیاهی از قبیل *M. javanica* (AL-Shammari *et al*., 2013) و *Heterodera avenae* (Zhang *et al*., 2014) دارد.

هرچند گزارش‌های متعددی مبنی بر توانایی بالای کنترل بیولوژیکی نماتدها توسط قارچ‌های آنتاگونیست نظیر گونه‌های تریکودرما وجود دارد (Sharon *et al*., 2011; Moosavi *et al*., 2015)، آنچه مسلم است توانایی کنترل‌کنندگی این قارچ‌ها متغیر است و به عوامل متعددی از جمله تأثیر شرایط محیطی خاک در تعامل میان قارچ- نماتد- گیاه بستگی دارد (Moosavi & Zare, 2012). یکی از فاکتورهای مهم دخیل در میزان تأثیر قارچ‌های آنتاگونیست شرایط بافت خاک است (Moosavi & Zare, 2015). به‌علاوه، بافت خاک بر میزان تولیدمثل و گسترش نماتدها نیز اثر معناداری دارد، به طوری‌که گزارش شده است تولیدمثل نماتد *M. incognita* در خاک‌های با بافت شنی به مراتب بیشتر است. در مقابل، در خاک‌هایی با میزان رس بالاتر، آسیب ناشی از نماتد کمتر است (Koenning *et al*., 1996).

یکی دیگر از فاکتورهای مؤثر بر میزان فعالیت نماتدهای انگل گیاهی، میزان مادهٔ آلی خاک است. هر چند مادهٔ آلی موجود در خاک ممکن است با بهبود ساختمان فیزیکی خاک سبب افزایش فعالیت نماتد شود، از طرف دیگر، این مواد با تحریک میکروارگانیسم‌های آنتاگونیست، افزایش مواد غذایی و بهبود خواص فیزیکی- شیمیایی خاک سبب کنترل نماتدها می‌شود (Renčo, 2013). به‌علاوه، ممکن است برخی ترکیبات شیمیایی موجود در مواد آلی به منزلهٔ نماتدکش عمل کند و از این طریق اثر مثبتی بر کنترل نماتدها و در نتیجه افزایش عملکرد محصولات کشاورزی داشته باشد (Chindo *et al*., 2012). به‌عبارت دیگر، می‌توان گفت مواد آلی ترکیبات دوستدار محیط‌زیست و جایگزین مناسبی برای نماتدکش‌هاست (Oka, 2010).

این پژوهش با هدف بررسی اثر خاک‌برگ (به منزلهٔ مادهٔ آلی)، بافت خاک و عکس‌العمل متقابل این دو فاکتور در توانایی قارچ *T. longibrachiatum* در کنترل نماتد مولد گره ریشه در لوبیا قرمز طراحی شد. در همین آزمایش در غیاب نماتد نیز توانایی قارچ *T. longibrachiatum* در تحریک رشد گیاه میزبان و تأثیر احتمالی فاکتورهای ذکرشده در این توانایی بررسی شد.

مواد و روش‌ها

تهیهٔ زادمایهٔ نماتد

تهیهٔ جمعیت کافی نماتد *M. javanica*، با استفاده از

روش تک‌تودهٔ تخم و تکثیر پیاپی روی گوجه فرنگی (رقم ارلی اوربانا) از نماتدی انجام پذیرفت که پیش‌تر جداسازی و شناسایی آن صورت گرفته بود (Moosavi *et al.*, 2010). استخراج تخم و لارو سن دوم نماتد از ریشه‌های آلوده به کمک محلول ۱٪ هیپوکلریت سدیم انجام گرفت (Hussey & Barker, 1973). جمعیت نماتد در سوسپانسیون استخراج‌شده توسط میانگین سه‌بار شمارش محاسبه و روی ۱۰۰ عدد تخم و لارو سن دوم در هر میلی‌لیتر تنظیم شد.

تهیهٔ زادمایهٔ قارچ تریکودرما

نمونهٔ قارچ *T. longibrachiatum* (MIAU 143 C) از کلکسیون قارچ‌های زندهٔ دانشگاه آزاد اسلامی واحد مرودشت تهیه و روی محیط کشت PDA و در دمای ۲۵ درجهٔ سانتی‌گراد در انکوباتور تا زمان انجام آزمایش نگهداری شد. به منظور تهیهٔ سوسپانسیون اسپور، قارچ تریکودرما در ظروف پتری‌دیش متعددی کشت و پس از ۶ روز اسپورها به کمک آب مقطر استریل از روی محیط کشت PDA جمع‌آوری شد. غلظت اسپور در سوسپانسیون با استفاده از لام گلبول‌شمار (هموسیتومتر) تعیین شد. سپس، در غلظت 10^6 اسپور در میلی‌لیتر تنظیم و برای آزمایش‌های گلخانه در دمای ۴ درجهٔ سانتی‌گراد نگه‌داری شد (Sahebani & Hadavi, 2008).

بافت خاک و مادهٔ آلی (خاک‌برگ)

در این آزمایش، سه نوع بافت خاک شامل بافت لوم- شنی (جمع‌آوری‌شده از رودخانهٔ سیوند، شهرستان مرودشت)، بافت لوم (از شهرستان کامفیروز) و بافت لوم- رسی (از منطقهٔ صدرا، شهرستان شیراز) جمع‌آوری و بررسی شد (جدول ۱). مقدار مادهٔ آلی خاک در این خاک‌ها اندازه‌گیری شد و با استفاده از خاک‌برگ پوسیده و بر اساس تیمارهای طراحی شده، اندازهٔ آن در گلدان‌هایی که به عنوان خاک معمول منطقه در نظر گرفته شده بود به نسبت ۰/۵٪ و در گلدان‌هایی که قرار بود مادهٔ آلی اضافه شود، به نسبت ۲٪ وزن خاک هر گلدان رسانده شد. خاک‌برگ قبل از پرکردن گلدان‌ها، به خاک گلدان‌های مورد مطالعه اضافه شد. خاک‌ها قبل از شروع آزمایش امتحان شد و عدم حضور نماتد مولد گره ریشه در آن تأیید گردید.

جدول ۱. تجزیهٔ خاک‌های مورد مطالعه در این پژوهش

	سبک (لومی- شنی)	متوسط (لومی)	سنگین (رسی- لومی)
آهک (٪)	۴۲/۵	۵۱	۲۱/۵
رس (٪)	۱۰	۲۲	۴۰
سیلت (٪)	۲۲	۴۲	۴۲
شن (٪)	۶۸	۳۶	۱۸
ازت (٪)	۰/۰۱	۰/۱۵	۰/۰۶
کربن (٪)	۰/۱	۰/۲۷	۰/۱۸
پتاسیم (پی‌پی‌ام)	۱۰۰	۱/۷۸	۳۴۸
فسفر (پی‌پی‌ام)	۴	۵	۵
رطوبت (٪)	۳۶	۴۵	۳۶
EC (ms)	۲/۳۷	۲/۱	۰/۷۵
pH	۷/۵۴	۷/۵۹	۷/۸۶

مواد گیاهی و تیمارها

این پژوهش در قالب دو آزمایش فاکتوریل بر پایهٔ طرح کاملاً تصادفی با چهار تکرار پیاده شد. آزمایش اول شامل بررسی اثر سه فاکتور بافت خاک (در سه سطح لوم- شنی، لوم و لوم- رسی)، مادهٔ آلی (خاک‌برگ در دو سطح ۰/۵ و ۲ درصد) و قارچ *T. longibrachiatum* (در دو سطح ۰ و ۱۰ میلی‌لیتر سوسپانسیون اسپور قارچ *T. longibrachiatum* حاوی 10^6 اسپور در هر میلی‌لیتر) بر خصوصیات رویشی گیاه لوبیا قرمز (رقم گلی) در غیاب نماتد مولد گره ریشه بود. در آزمایش دوم نیز اثر سه فاکتور بافت خاک (لوم- شنی، لوم و لوم- رسی)، خاک‌برگ (۰/۵ و ۲ درصد) و روش کنترل (بدون کنترل، ۱۰ میلی‌لیتر سوسپانسیون اسپور قارچ *T. longibrachiatum* حاوی 10^6 اسپور در هر میلی‌لیتر و ۲ میلی‌گرم مادهٔ مؤثر بر نماتدکش کادوزافوس در هر کیلوگرم خاک) بر خصوصیات رویشی گیاه لوبیا قرمز (رقم گلی)، توانایی قارچ در کنترل نماتد و صفات تکثیری نماتد *M. javanica* بررسی شد.

بذور گیاه لوبیا قرمز (رقم گلی) به وسیلهٔ هیپوکلریت سدیم ۱۰ درصد به مدت یک دقیقه ضدعفونی سطحی شد و پس از شستشو با آب مقطر در داخل گلدان‌های یک کیلوگرمی (۱۸ سانتی‌متر

قطر و ۲۰ سانتی‌متر ارتفاع) کشت شد. گلدان‌ها در گلخانه با شرایط کنترل‌شده و دمای ۲±۲۷ درجهٔ سلسیوس قرارگرفت. در مرحلهٔ دو تا چهار برگی، گیاه لوبیا در تیمارهای که باید با نماتد *M. javanica* آلوده می‌شد، با دو عدد تخم و لارو به ازای هر گرم خاک مایه‌زنی شد. در تیمارهای قارچ تریکودرما، سه روز قبل از تلقیح نماتد، به هر گلدان ۱۰ میلی‌لیتر سوسپانسیون اسپور قارچ (غلظت 10^6 اسپور در هر میلی‌لیتر) به خاک نزدیک محل طوقه اضافه شد. در تیمارهای فاقد نماتد نیز قارچ مذکور در مرحلهٔ دو تا چهار برگی گیاه میزبان به روش ذکرشده به گلدان‌ها اضافه شد. در تیمارهای نماتدکش، ۲ میلی‌گرم مادهٔ مؤثر (معادل ۵۰ کیلوگرم سم تجاری در هکتار) از نماتدکش کادوزافوس (Rugby 10 G, FMC, USA) به ازای هر کیلوگرم خاک گلدان با خاک کاملاً مخلوط و هنگام پرکردن به درون گلدان‌ها ریخته شد (Sholevarfard & Moosavi, 2015).

صفات مورد مطالعه

در آزمایش اول گیاهان ۴۵ روز پس از مایه‌زنی با قارچ از خاک خارج و فاکتورهای رشدی آن‌ها اندازه‌گیری شد. در آزمایش دوم، گیاهان ۴۵ روز پس از آلوده‌شدن با نماتد به آرامی از خاک خارج و ارزیابی شد. صفات مورد مطالعه در این پژوهش شامل میانگین وزن تر و طول ریشه و اندام هوایی گیاه لوبیا، تعداد گال، تعداد کل تخم‌های تشکیل‌شده روی ریشه، تعداد لارو سن دوم در خاک، درصد آلودگی تخم‌های نماتد توسط قارچ، جمعیت سالم و فعال نماتد و شاخص تولیدمثل نماتد بود. در همین زمینه، تعداد گال‌های روی سیستم ریشه زیر میکروسکوپ تشریح شمارش و ثبت شد. همچنین، خاک هر گلدان به خوبی مخلوط شد و نمونه‌ای ۱۰۰ گرمی از آن انتخاب و تعداد لاروهای سن دوم نماتد در آن به کمک قیف برمن شمارش شد. به‌منظور محاسبهٔ تعداد تخم موجود روی ریشه، ریشه‌های آلودهٔ گیاه لوبیا به وسیلهٔ قیچی به قطعات کوچک تقسیم شد. سپس، در خردکن و درون محلول یک درصد وایتکس تجاری (حاوی ۰/۵درصد هیپوکلریت سدیم) ریخته و با دور کم به مدت ۲۰ ثانیه خرد شد. محتویات خردکن به ترتیب از الک‌های ۸۰، ۲۰۰ و ۵۰۰ مش عبور داده شد و تخم‌ها و لاروها جمع‌شدهٔ روی الک ۵۰۰ مش از میانگین سه بار شمارش محاسبه شد. از هر گلدان که هم با قارچ و هم با نماتد مایه‌زنی شده بود، هشت تودهٔ تخم به صورت تصادفی انتخاب و درصد تخم‌های پارازیته‌شده در زیر میکروسکوپ مشخص شد. هر تودهٔ تخم روی لام استریل در یک قطره محلول یک درصد وایتکس تجاری قرارگرفت و مادهٔ ژلاتینی آن پس از دو دقیقه، با قراردادن لامل روی آن متلاشی شد. تخم‌ها زیر میکروسکوپ و با بزرگ‌نمایی ۴۰۰ برابر بررسی و درصد تخم‌های آلوده تعیین شد. به‌منظور اجرای اصول کخ در بیماری‌زایی و اطمینان از اینکه آلودگی تخم‌ها توسط قارچ مورد نظر صورت گرفته است، تخم‌های آلوده سه بار با آب مقطر استریل شسته شد و روی آب- آگار ۱/۵ درصد حاوی ۲۰۰ قسمت در میلیون از هر کدام از پادزیست‌های سولفات استرپتومایسین و پنی‌سیلین ریخته و در دمای ۲۵°C نگهداری شد. تخم‌ها هر روز بررسی می‌شد و قارچ‌های رشدکرده از آن‌ها در شرایط سترون به محیط CMA حاوی ۲۰۰ میلی‌گرم سولفات استرپتومایسین در هر لیتر منتقل و شناسایی آن‌ها تأیید شد.

شاخص تولیدمثل از تقسیم جمعیت نهایی و سالم نماتد به جمعیت اولیهٔ نماتد و با استفاده از فرمول $R= P_f/P_i$ تعیین شد. طبق این فرمول R شاخص تولیدمثل، P_f جمعیت نهایی و سالم نماتد و P_i جمعیت اولیهٔ نماتد است. جمعیت نهایی نماتد نیز شامل جمعیت لارو سن دوم استخراج‌شده از خاک + جمعیت تخم سالم و لارو استخراج‌شده از ریشه است.

تجزیه و تحلیل داده‌ها

پس از اندازه‌گیری صفات مورد مطالعه در آزمایش اول و دوم، داده‌ها تجزیه و تحلیل آماری شد و مقایسهٔ میانگین‌ها در سطح احتمال ۵ درصد با آزمون توکی و با نرم‌افزار Minitab انجام شد (Minitab 16). تأثیر قارچ *T. longibrachiatum* در افزایش رشد گیاه لوبیا به صورت جداگانه در آزمایش اول و دوم در تیمارهای متناظری که فقط از نظر دارابودن قارچ با هم تفاوت

داشت بر اساس آزمون *t* (*t*-test) مقایسه و سطح معناداری آن تعیین شد (SigmaPlot 11).

نتایج

اثر انفرادی و متقابل بافت خاک، قارچ *Trichoderma longibrachiatum* و مادۀ آلی (خاک‌برگ) بر خصوصیات رویشی گیاه لوبیا قرمز

نتایج به‌دست‌آمده از تجزیۀ واریانس نشان داد که اثر بافت خاک، قارچ تریکودرما (*T. longibrachiatum*) و مقدار مادۀ آلی (خاک‌برگ) فاکتورهای اصلی بر صفات طول و وزن اندام هوایی و ریشۀ گیاه لوبیا قرمز در سطح احتمال یک درصد معنادار بود، اما آثار متقابل دوتایی (به جز در صفت طول ساقه که در آن تأثیر متقابل بافت خاک و کاربرد قارچ معنادار بود؛ P<۰/۰۰۱، df=۲ و F=۸/۶۸) و اثر متقابل سه‌تایی آن‌ها معنادار نبود. اگر بافت خاک را فاکتور اصلی در نظر بگیریم، بیشترین طول اندام هوایی (۶۲/۷ سانتی‌متر) و ریشه (۳۴/۷ سانتی‌متر) در خاک لوم- شنی و کمترین طول اندام هوایی (۱۲/۱ سانتی‌متر) و ریشه (۵/۳ سانتی‌متر) در خاک لوم- رسی مشاهده شد. روند مشابهی در بررسی اثر بافت خاک بر وزن ریشه و اندام هوایی دیده شد. حضور قارچ فاکتوری اصلی بود و باعث افزایش رشد گیاه شد. طول و وزن اندام هوایی (۴۵/۲ سانتی‌متر و ۱۱/۱ گرم) و ریشه (۲۳/۴ سانتی‌متر و ۵/۸ گرم) در خاک دارای قارچ نسبت به طول و وزن اندام هوایی (۳۸ سانتی‌متر و ۸/۹ گرم) و ریشه (۱۹/۷ سانتی‌متر و ۴/۷ گرم) در خاک فاقد قارچ افزایش معناداری نشان داد. مقدار ۲٪ مادۀ آلی (خاک‌برگ) نیز فاکتور اصلی بود و باعث افزایش رشد (طول و وزن) گیاه نسبت به ۰/۵٪ مادۀ آلی (خاک‌برگ) شد (شکل ۱).

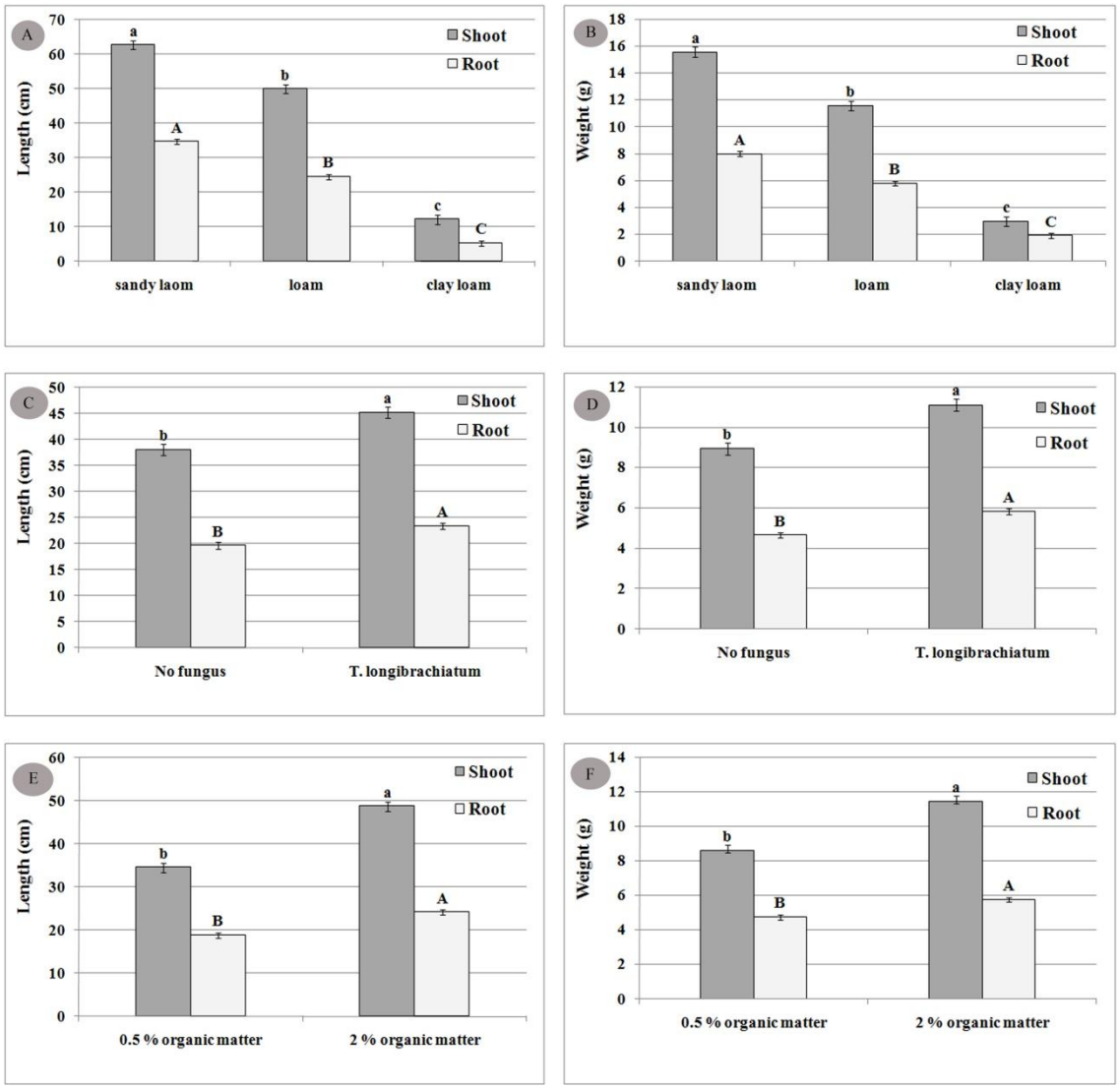
کاربرد قارچ *T. longibrachiatum* در تمام انواع بافت خاک باعث افزایش طول اندام هوایی نسبت به تیمار مشابهی شد که در آن از قارچ استفاده نشده بود. بیشترین رشد طولی گیاه لوبیا قرمز در خاک لوم- شنی دیده شد. طول اندام هوایی در خاک لومی و خاک لوم- رسی در مرتبه‌های بعدی قرارداشت. کاربرد قارچ در تمام انواع بافت خاک باعث افزایش معنادار طول اندام هوایی شد، اما طول گیاه در خاک لوم- شنی که ۰/۵٪ مادۀ آلی (خاک‌برگ) داشت، بیش از طول گیاه در دو نوع دیگر بافت خاک شد (شکل ۲).

گروه‌بندی انفرادی تیمارها بر اساس آزمون توکی در جدول ۲ نشان داده شده است. بهترین رشد گیاه اغلب در تیمارهایی دیده شد که خاک آن‌ها از نوع لوم- شنی بود و در آن‌ها از قارچ *T. longibrachiatum* و مادۀ آلی (خاک‌برگ) استفاده شده بود.

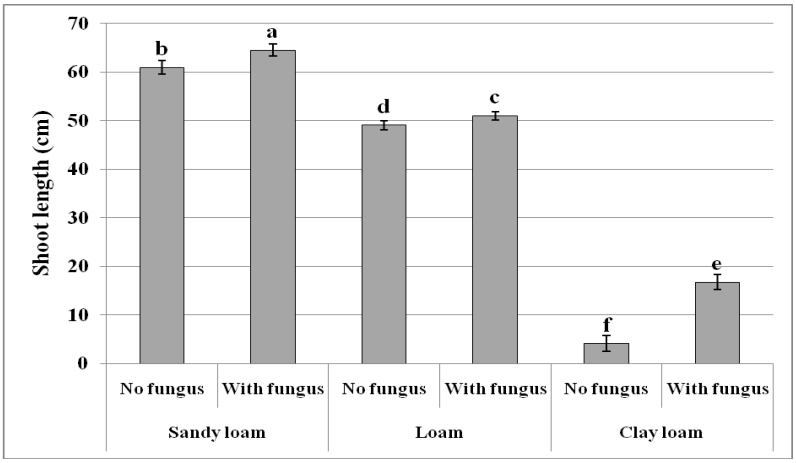
جدول ۲. تأثیر بافت خاک، قارچ *T. longibrachiatum* (اضافه‌کردن ۱۰ میلی‌لیتر سوسپانسیون اسپور حاوی $۱۰^{۶}$ اسپور در هر میلی‌لیتر) و مادۀ آلی (خاک‌برگ) روی رشد گیاه لوبیا پس از ۴۵ روز نگهداری در گلخانه

بافت خاک	قارچ تریکودرما	مادۀ آلی (خاک‌برگ)	طول (سانتی‌متر) [۱]		وزن (گرم) [۱]	
			اندام هوایی	ریشه	اندام هوایی	ریشه
لوم- شنی	شاهد	٪۰/۵	۵۴/۲ bc	۳۰/۱ bc	۱۳/۶ bcd	۶/۵ bc
		٪۲	۶۷/۶ a	۳۴/۵ ab	۱۶/۳ ab	۷/۷ b
	$۱۰^{۶}$ اسپور	٪۰/۵	۵۹/۲ ab	۳۵/۰ ab	۱۴/۹ abc	۷/۹ b
		٪۲	۶۹/۷ a	۳۹/۲ a	۱۷/۵ a	۹/۹ a
لوم	شاهد	٪۰/۵	۳۹/۸ de	۱۹/۱ d	۹/۲ ef	۵ c
		٪۲	۵۸/۳ ab	۲۹/۱ bc	۱۲/۱ cde	۵/۸ c
	$۱۰^{۶}$ اسپور	٪۰/۵	۴۲/۵ cd	۲۳/۳ cd	۱۱ de	۶/۱ c
		٪۲	۵۹/۵ ab	۲۶/۶ c	۱۳/۹ abcd	۶/۴ bc
لوم- رسی	شاهد	٪۰/۵ [۲]	۰ f	۰ f	۰ h	۰ e
		٪۲	۸/۲ f	۵ ef	۲/۶ h	۱/۹ d
	$۱۰^{۶}$ اسپور	٪۰/۵	۱۱/۲ f	۵/۶ ef	۳ gh	۱/۹ d
		٪۲	۲۹ e	۱۰/۴ e	۶/۳ fg	۲ d

۱. تیمارهایی که در یک حرف مشترک است، از نظر آماری و بر اساس آزمون توکی با یکدیگر در سطح احتمال ۵٪ اختلاف معناداری ندارد.
۲. گیاهان این تیمار در طول آزمایش خشک شد و طول و وزن آن‌ها قابل اندازه‌گیری نبود.



شکل ۱. تأثیر بافت خاک (A و B)، قارچ *T. longibrachiatum* (C و D) و اضافه‌کردن خاک‌برگ (E و F) در خاک به عنوان فاکتورهای اصلی در طول و وزن تر اندام هوایی و ریشهٔ گیاه لوبیا قرمز پس از ۴۵ روز نگهداری در گلخانه



شکل ۲. تأثیر متقابل بافت خاک و کاربرد قارچ *T. longibrachiatum* در طول ساقهٔ گیاه لوبیا قرمز پس از ۴۵ روز نگهداری در گلخانه

اثر انفرادی و متقابل بافت خاک، قارچ *T. longibrachiatum* و مادهٔ آلی (خاک‌برگ) بر کنترل نماتد مولد گره ریشه و خصوصیات رویشی گیاه لوبیا قرمز

تأثیر فاکتورهای اصلی و اثر متقابل سه‌تایی آن‌ها بر تمامی صفات رویشی گیاه لوبیا معنادار بود. اثر متقابل دوتایی فاکتورها نیز به جز طول اندام هوایی که تحت تأثیر متقابل روش کنترل و کاربرد خاک‌برگ (P≤۰/۸۳۱، df=۲ و F=۰/۱۹) نبود، در سایر موارد معنادار بود (اطلاعات نشان داده نشده است). مقایسهٔ میانگین رشد گیاه در حضور نماتد در بافت‌های مختلف خاک (به عنوان فاکتور اصلی) نشان داد که بیشترین وزن و طول اندام هوایی و ریشه در خاک با بافت لوم- شنی دیده شده است (اطلاعات نشان داده نشده است). مادهٔ آلی (خاک‌برگ) نیز فاکتور اصلی بود و باعث افزایش وزن اندام هوایی و ریشهٔ گیاه لوبیا شد. هنگامی که روش مبارزه فاکتور اصلی بررسی شد، بیشترین میانگین‌ها در طول و وزن قسمت هوایی، بیشترین طول ریشه و کمترین وزن ریشه در تیمارهایی دیده شد که در آن‌ها از نماتدکش شیمیایی استفاده شده بود (اطلاعات نشان داده نشده است).

حضور نماتد در بافت لوم- رسی خاک باعث خسارت زیادی به گیاه لوبیا شد. در حالتی که از مواد آلی (خاک‌برگ) استفاده نشده بود، گیاهچه خشک شد و از بین رفت. در حالتی که به خاک با بافت لوم- رسی، مادهٔ آلی (خاک‌برگ) اضافه شد، اما از قارچ استفاده نشد نیز گیاه خشک شد. گیاه لوبیا تنها در حالتی قادر به رشد اندک در بافت لوم- رسی خاک و در حضور نماتد بود که خاک دارای ۲٪ مادهٔ آلی (خاک‌برگ) بود و در آن از نماتدکش شیمیایی یا قارچ استفاده شده بود (جدول ۳). کاربرد کادوزافوس در خاک‌های لوم- شنی و لوم بدون توجه به مقدار مادهٔ آلی (خاک‌برگ) باعث ایجاد بیشترین رشد (طول و وزن) در قسمت هوایی و بیشترین طول در ریشه شد (جدول ۳).

جدول ۳. اثر بافت خاک، روش کنترل (بدون کنترل، کاربرد ۱۰ میلی‌لیتر سوسپانسیون اسپور قارچ *T. longibrachiatum* حاوی $۱۰^{۶}$ اسپور در هر میلی‌لیتر و کاربرد ۲ میلی‌گرم مادهٔ مؤثر کادوزافوس در هر کیلوگرم خاک) و مادهٔ آلی (خاک‌برگ) بر طول و وزن اندام هوایی و ریشهٔ گیاه لوبیا قرمز در حضور نماتد *M. javanica* پس از ۴۵ روز نگهداری در گلخانه

بافت خاک	روش کنترل	مادهٔ آلی (خاکبرگ)	طول (سانتی‌متر) [۱]		وزن (گرم) [۱]	
			اندام هوایی	ریشه	اندام هوایی	ریشه
لوم-شنی	بدون کنترل	٪۰/۵	۴۳/۵ f	۲۶/۵ efg	۱۰/۹ d	۹ a
		٪۲	۵۶/۵ cd	۲۸/۷ cde	۱۳/۴ c	۸/۲ c
	قارچ	٪۰/۵	۵۸/۲ bcd	۲۷/۴ def	۱۴/۲ bc	۷/۱ d
		٪۲	۶۴ ab	۳۱/۷ abc	۱۵/۶ ab	۸/۹ ab
	نماتدکش	٪۰/۵	۶۲/۳ abc	۳۳/۶ a	۱۵/۶ ab	۶/۵ de
		٪۲	۶۵ a	۳۳/۴ a	۱۶/۵ a	۶/۹ d
لوم	بدون کنترل	٪۰/۵	۳۸ f	۱۸ h	۹/۱ e	۸/۵ abc
		٪۲	۵۴/۵ de	۲۴/۲ g	۹/۹ de	۸/۳ bc
	قارچ	٪۰/۵	۴۱/۱ f	۲۴/۴ fg	۱۰/۹ d	۶/۲ e
		٪۲	۵۰ e	۲۹/۵ bcde	۱۵/۱ abc	۶/۲ e
	نماتدکش	٪۰/۵	۶۰/۴ abcd	۳۰/۴ abcd	۱۵/۶ ab	۴/۸ f
		٪۲	۶۱/۷ abc	۳۲/۵ ab	۱۶/۴ a	۵/۲ f
لوم- رسی	بدون کنترل	٪۰/۵ [۲]	۰ i	۰ k	۰ h	۰ i
		٪۲ [۲]	۰ i	۰ k	۰ h	۰ i
	قارچ	٪۰/۵ [۲]	۰ i	۰ k	۰ h	۰ i
		٪۲	۱۳/۱ h	۷/۲ j	۲/۷ g	۱/۲ h
	نماتدکش	٪۰/۵ [۲]	۰ i	۰ k	۰ h	۰ i
		٪۲	۲۶ g	۱۳/۵ i	۵/۵ f	۳/۴ g

۱. تیمارهایی که در یک حرف مشترک است، از نظر آماری و بر اساس آزمون توکی اختلاف معناداری با یکدیگر در سطح احتمال ۵٪ ندارد.

۲. گیاهان این تیمار در طول آزمایش خشک شد و طول و وزن آن‌ها قابل‌اندازه‌گیری نبود.

تجزیهٔ واریانس اثر انفرادی و متقابل بافت خاک، روش کنترل و مادهٔ آلی (خاک‌برگ) بر کنترل نماتد *M. javanica* در گیاه لوبیا قرمز در جدول ۴ نشان داده شده است. بافت خاک و مادهٔ آلی (خاک‌برگ) فاکتورهای اصلی و روی تمام ویژگی‌های رشدی نماتد مؤثر بود. روش کنترل نیز فاکتوری اصلی بود که فقط روی تعداد لارو سن دوم نماتد مؤثر نبود. در سایر موارد آثار متقابل از نظر آماری معنادار بود. با توجه به اینکه درصد تخم‌های پارازیته‌شده در قالب طرح فاکتوریل قابل بررسی نبود، مقایسهٔ میانگین‌ها در قالب طرح کاملاً تصادفی مقایسه شد ($P\leq$۰/۰۰۰۱، df=۴ و F=۲۰/۳۵).

جدول ۴. تجزیهٔ واریانس فاکتورهای تولیدمثلی نماتد *M. javanica* روی گیاهان لوبیا قرمز و توانایی قارچ *T. longibrachiatum* در آلوده‌کردن تخم‌های نماتد در بافت‌های مختلف خاک، روش‌های متفاوت کنترل و مقدار مادهٔ آلی (خاک‌برگ) پس از ۴۵ روز رشد در گلخانه

منابع تغییر	میانگین مربعات				
	تعداد گال	کل تخم در گرم ریشه	J2 در گرم خاک	تخم سالم و J2 در گرم ریشه	شاخص تولیدمثل
بافت خاک (ST)	۷۵۸۵۳/۸**	۵۵۰۴۵۲۵**	۲/۹**	۵۱۸۷۷۰۰۲۴۱۷**	۱۲۷/۶**
روش کنترل (MM)	۱۳۲۴۵/۸**	۲۴۸۰۶۷۵**	۰/۰۰۲ns	۲۲۴۰۰۱۰۷۴۹۱**	۱۵/۳**
خاک‌برگ (OM)	۱۳۵۲**	۵۸۲۰۷۳**	۰/۰۲۶**	۳۵۶۸۲۶۰۴۴۱**	۱/۲**
ST × MM	۱۳۲۸۷/۶**	۴۴۱۳۳۴۰**	۰/۰۷۶**	۴۶۰۹۹۹۳۱۰۲۱**	۲۷/۹**
ST × OM	۵۸۸**	۱۳۶۷۵۸۴**	۰/۰۳۲**	۱۰۵۴۱۲۵۲۴۵۱**	۰/۶۴**
MM × OM	۱۲۹/۳*	۳۶۰۲۳۰*	۰/۰۰۹**	۱۷۹۲۲۹۱۵۷۳**	۰/۵**
ST × MM × OM	۱۳۹۰/۷**	۱۱۴۳۳۷۶**	۰/۰۲**	۷۸۸۰۶۴۱۰۱۹**	۱/۳**
ضریب تغییرات (%CV)	۱۴/۳	۱۸/۲	۹/۸	۲۰/۷	۱۱/۴

ns، * و ** به ترتیب به معنی عدم معناداری، سطح معناداری ۵٪ و سطح معناداری ۱٪.
هر تیمار چهار تکرار داشت.

توانایی تولید بیماری (تعداد گال تشکیل‌شده روی ریشه) و تکثیر نماتد (تعداد کل تخم‌های تشکیل‌شده و تعداد لاروهای سن دوم) در خاک لوم- شنی (بافت خاک به عنوان فاکتور اصلی) بیش از سایر بافت‌های خاک آزمایش شده بود. میانگین تعداد گال و تعداد تخم تشکیل‌شده هنگامی که هیچ نوع کنترلی انجام نشده بود نیز بیش از سایر تیمارها بود اما تعداد لاروهای سن دوم با توجه به نوع کنترل تغییر نکرد (اطلاعات نشان داده نشده است). بیشترین میزان تعداد گال در خاک با بافت لوم- شنی و عدم کاربرد قارچ تریکودرما یا سم شیمیایی بدون توجه به مقدار مادهٔ آلی (خاک‌برگ) بود. بالاترین تعداد تخم‌های (سالم و آلوده) شمرده‌شده در خاک با بافت لوم- شنی و دارای ۲٪ مادهٔ آلی (خاک‌برگ) و عدم کاربرد قارچ تریکودرما یا کادوزافوس دیده شد. در تمام تیمارهای بافت لوم- شنی خاک و تیمارهای بافت لوم که در آن‌ها از قارچ یا سم استفاده نشده بود، تعداد لارو سن دوم بیشتری شمرده شد. به عبارت دیگر، بیشترین میزان فعالیت نماتد *M. javanica* در خاک‌هایی با بافت لوم- شنی مشاهده شد و با افزایش میزان رس خاک از میزان فعالیت نماتد کاسته شد. کمترین تعداد گال و لارو سن دوم در خاک با بافت لوم- رسی مشاهده شد (جدول ۵). میانگین تعداد تخم (سالم و آلوده) تشکیل‌شده در هر گرم ریشه در اکثر تیمارهای مختلف آزمایش با یکدیگر تفاوت معناداری نداشت. قارچ *T. longibrachiatum* در کاهش تعداد کل تخم‌های تشکیل‌شده (تخم‌های سالم و پارازیته‌شده) در بافت لوم- شنی خاک مؤثر بود و در زوج تیمارهای مشابه که فقط از نظر وجود یا نبود قارچ با هم تفاوت داشتند، باعث کاهش معنادار تعداد کل تخم‌ها شد.

البته، این حالت در خاک با بافت لومی دیده نشد و در خاک با بافت لوم- رسی نیز به دلیل خشک‌شدن تعدادی از تیمارها، این مقایسه انجام‌پذیر نبود (جدول۵).

درصد تخم‌های پارازیت‌شدهٔ نماتد در خاک‌های با بافت لوم- شنی و لومی بیش از خاک لوم- رسی بود اما مجموع تعداد تخم‌های سالم و لاروهای سن دوم و فاکتور تولیدمثل نماتد در خاک لوم- شنی بیش از دو نوع دیگر بافت خاک بود. مجموع تخم‌های سالم و لارو سن دوم نماتد و فاکتور تولیدمثل هنگامی که در خاک از نماتدکش شیمیایی یا قارچ (با هم تفاوت معنادار نداشت) استفاده شده بود در کمترین مقدار خود بود. در صد پارازیته‌شدن تخم و فاکتور تولیدمثل در خاک حاوی ۲٪ مادهٔ آلی (خاک‌برگ) بیش از خاک دارای ۰/۵٪ مادهٔ آلی (خاک‌برگ) بود (اطلاعات نشان داده نشده است).

قارچ *T. longibrachiatum* در خاک با بافت لومی و لوم- شنی که حاوی ۲٪ مادهٔ آلی (خاک‌برگ) بود بهترین عملکرد خود را داشت (جدول ۶). میانگین تعداد تخم سالم و لارو سن دوم در تیمارهایی که در آن‌ها از قارچ یا نماتدکش استفاده شده بود (به جز تیمارهایی که در آن‌ها گیاه خشک‌شده بود) با یکدیگر اختلاف معناداری نداشت (جدول ۶). کمترین شاخص تولیدمثل (به‌جز تیمارهایی که در آن‌ها گیاه خشک‌شده بود) در خاک‌های لوم- رسی حاوی ۲٪ مادهٔ آلی (خاک‌برگ) دیده شد که در آن‌ها از قارچ یا نماتدکش استفاده شده بود (جدول ۶)، هرچند گیاهان در این خاک از رشد مناسبی برخوردار نبودند (جدول ۴).

جدول ۵. اثر بافت خاک، روش کنترل (بدون کنترل، کاربرد ۱۰ میلی‌لیتر سوسپانسیون اسپور قارچ *T. longibrachiatum* حاوی $۱۰^{۶}$ اسپور در هر میلی‌لیتر و کاربرد ۲ میلی‌گرم مادهٔ مؤثر کادوزافوس در هر کیلوگرم خاک) و مادهٔ آلی (خاکبرگ) روی برخی صفات مرتبط با نماتد *M. javanica* در گیاه لوبیا قرمز پس از ۴۵ روز نگهداری در گلخانه

بافت خاک	روش کنترل	مادهٔ آلی (خاک‌برگ)	تعداد گال	تعداد کل تخم در گرم ریشه	تعداد J2 در گرم خاک
لوم-شنی	بدون کنترل	٪۰/۵	۱۱۴ b	۱۴۶۸ ab	۰/۵ ab
		٪۲	۱۲۶ a	۱۵۳۹ a	۰/۵ a
	قارچ	٪۰/۵	۸۲ cd	۸۹۰ cde	۰/۵ b
		٪۲	۹۰ c	۷۳۹/۵ cde	۰/۵ ab
	نماتدکش	٪۰/۵	۴۹ fg	۴۹۹/۱ def	۰/۵ ab
		٪۲	۵۵ f	۴۹۳ def	۰/۵ ab
لوم	بدون کنترل	٪۰/۵	۷۴ de	۱۰۳۴ abcd	۰/۵ ab
		٪۲	۸۵ c	۹۶۷/۸ bcde	۰/۵ b
	قارچ	٪۰/۵	۶۹ e	۸۳۳/۹ cde	۰/۵ b
		٪۲	۵۵ f	۸۳۳ cde	۰/۵ b
	نماتدکش	٪۰/۵	۳۳ hi	۴۳۰/۸ ef	۰/۴ c
		٪۲	۴۱ gh	۴۹۴/۱ def	۰/۴ c
لوم-رسی	بدون کنترل	٪۰/۵	۰ j	۰ f	۰ e
		٪۲	۰ j	۰ f	۰ e
	قارچ	٪۰/۵	۰ j	۰ f	۰ e
		٪۲	۲۴ i	۱۱۹۴/۵ abc	۰/۲ d
	نماتدکش	٪۰/۵	۰ j	۰ f	۰ e
		٪۲	۲۳ i	۵۱۳/۴ def	۰/۲ d

- تیمارهایی که در یک حرف مشترک است، از نظر آماری اختلاف معناداری با یکدیگر در سطح احتمال ۵٪ ندارد.

- در تعدادی از تیمارها گیاه لوبیا رشد نکرد و شاخص‌ها صفر در نظر گرفته شد.

جدول ۶. اثر بافت خاک، روش مبارزه (بدون مبارزه، کاربرد ۱۰ میلی‌لیتر سوسپانسیون اسپور قارچ *T. longibrachiatum* حاوی 10^6 اسپور در هر میلی‌لیتر و کاربرد ۲ میلی‌گرم مادهٔ مؤثر کادوزافوس در هر کیلوگرم خاک) و مادهٔ آلی (خاک‌برگ) روی برخی صفات مرتبط با نماتد *M. javanica* در گیاه لوبیا قرمز پس از ۴۵ روز نگهداری در گلخانه

بافت خاک	روش کنترل	مادهٔ آلی (خاک‌برگ)	٪ تخم پارازیته‌شده	تخم سالم و J2 در گرم ریشه	شاخص تولیدمثل
لوم- شنی	بدون کنترل	٪۰/۵	–	۱۴۶۸۰۲/۵ ab	۵/۰ b
		٪۲	–	۱۵۳۹۰۲/۱ a	۵/۶ a
	قارچ	٪۰/۵	۱۸/۳ b	۷۲۷۵۷/۴ cdef	۲/۸ c
		٪۲	۲۶/۶ a	۵۴۲۵۰/۵ def	۲/۷ cd
	نماتدکش	٪۰/۵	–	۴۹۹۱۰/۹ ef	۲/۳ ef
		٪۲	–	۴۹۲۹۷/۳ ef	۲/۵ cde
لوم	بدون کنترل	٪۰/۵	–	۱۰۳۳۹۸/۷ bc	۲/۷ c
		٪۲	–	۹۶۷۸۵ cd	۲/۸ c
	قارچ	٪۰/۵	۱۹/۶ b	۶۷۰۶۹/۸ cdef	۲/۳ ef
		٪۲	۲۶/۵ a	۶۱۲۴۲/۸ cdef	۲/۱ f
	نماتدکش	٪۰/۵	–	۴۳۰۸۰/۸ f	۲ f
		٪۲	–	۴۹۴۰۶/۲ ef	۲/۳ def
لوم- رسی	بدون کنترل	٪۰/۵	–	۰ g	۰ h
		٪۲	–	۰ g	۰ h
	قارچ	٪۰/۵	–	۰ g	۰ h
		٪۲	۲۱/۵ b	۹۳۵۱۰/۲ cde	۰/۸ g
	نماتدکش	٪۰/۵	–	۰ g	۰ h
		٪۲	–	۵۱۳۴۲/۷ ef	۰/۶ g

- تیمارهایی که در یک حرف مشترک است، از نظر آماری اختلاف معناداری با یکدیگر در سطح احتمال ۵٪ ندارد.
- در تعدادی از تیمارها گیاه لوبیا رشد نکرد و شاخص‌ها صفر در نظر گرفته شد.

بحث

در آزمایش حاضر و هنگامی که گیاهان بدون آلودگی به نماتد در معرض قارچ قرارداشت، در تیمارهای متناظری که فقط از نظر وجود قارچ *T. longibrachiatum* با هم متفاوت بود افزایش شاخص‌های رشدی گیاه میزبان دلیلی بر توانایی این قارچ در تحریک رشد گیاه میزبان است. در گیاهانی که به نماتد آلوده‌اند، افزایش شاخص‌های رشدی گیاه میزبان را نمی‌توان تنها به تحریک رشد گیاه میزبان نسبت داد و ممکن است ناشی از کنترل نماتد توسط قارچ باشد. در آزمایش اول که در آن از نماتد استفاده نشده بود، قارچ *T. longibrachiatum* تأثیر معناداری در افزایش رشد قسمت هوایی (طول و وزن) نشان نداد هر چند که تأثیر آن روی ریشه در تیمارهای مختلف بیشتر بود (جدول ۷). در مجموع، تأثیر قارچ در تحریک رشد گیاه میزبان در خاک‌های با بافت سبک‌تر و خاک‌های با مادهٔ آلی (خاک‌برگ) کمتر، بیشتر بود. در تیمارهای با بافت لوم- رسی خاک و با توجه به خشک‌شدن تعدادی از گیاهان، تأثیر قارچ در اکثر موارد از نظر آماری معنادار نبود. با توجه به نتایج به‌دست‌آمده، به نظر می‌رسد که جدایهٔ MIAU 143 C گونهٔ *T. longibrachiatum* توانایی لازم را برای تحریک رشد گیاه میزبان دارا نیست. تفاوت در ویژگی‌های یک عامل کنترل‌کنندهٔ بیولوژیکی، حتی جدایه‌هایی که از خاک‌های یک منطقه جداسازی شده، به دفعات گزارش شده است (Kerry, 2000; Moosavi & Zare, 2015).

تأثیر قارچ *T. longibrachiatum* در افزایش مقاومت درونی گیاه بر اساس افزایش فعالیت آنزیم‌های دفاعی (فنیل‌آلانین آمونیالیاز، پلی‌فنل اکسیداز و پراکسیداز) در ریشهٔ گیاه گندم نشان داده شده است (Zhang *et al*., 2014). مؤثر بودن این گونه در تحریک مقاومت سیستمی گیاه گوجه‌فرنگی علیه

M. javanica نیز پیشنهاد شده است (AL-Shammari *et al*., 2013). فعال‌شدن مقاومت گیاه را از روی تعداد کل تخم تشکیل‌شده (سالم و پارازیته‌شده) نیز می‌توان برآورد کرد. اگر در تیمارهای مشابه که فقط از نظر وجود قارچ با یکدیگر تفاوت دارد، حضور قارچ باعث کاهش معنادار تعداد کل تخم تشکیل شده باشد، می‌توان این را به معنی تحریک سیستم ایمنی گیاه تعبیر کرد. به عبارت دیگر، فعال‌شدن سیستم دفاعی گیاه و نامناسب‌شدن گیاه میزبان، باعث کاهش تعداد کل تخم‌های تشکیل‌شده می‌شود. در آزمایش حاضر چنین وضعیتی در خاک با بافت لوم- شنی مشاهده شد، اما خاک با بافت لومی فاقد چنین ویژگی‌ای بود. گیاهانی که در خاک با بافت لوم- رسی و ۰/۵٪ مادهٔ آلی (خاک‌برگ) کاشته شده بود، خشک شد، اما هنگامی که مادهٔ آلی (خاک‌برگ) در خاک ۲٪ بود، تعداد کل تخم تشکیل‌شده در تیمار دارای قارچ و فاقد قارچ اختلاف معناداری داشت. پس امکان دارد که جدایهٔ آزمایش‌شده در خاک با بافت لوم- شنی قادر به فعال‌کردن سیستم دفاعی گیاه لوبیا قرمز باشد. شرایط محیطی مثل بافت خاک بر توانایی قارچ‌های آنتاگونیست، همچنین بر تعامل میان قارچ- نماتد- گیاه مؤثر است (Moosavi & Zare, 2012). در هیچ‌یک از پژوهش‌های گذشته تأثیر بافت خاک روی عوامل فعال‌ساز سیستم دفاعی گیاه بررسی نشده است، بنابراین نمی‌توان این یافته را با نتایج سایر پژوهشگران مقایسه کرد.

جدول ۷. سطح معناداری (*P*) تأثیر قارچ *T. longibrachiatum* در افزایش رشد گیاه لوبیا در بافت‌های مختلف خاک، مقادیر متفاوت مادهٔ آلی (خاک‌برگ) و حضور یا عدم حضور نماتد بر اساس مقایسهٔ تیمارهای متناظری که فقط از نظر حضور قارچ با هم متفاوت بود به کمک آزمون *t* (*t*-test)

نوع خاک	مقدار خاک‌برگ	طول شاخسار		وزن شاخسار		طول ریشه		وزن ریشه	
		بی‌نماتد	بانماتد	بی‌نماتد	بانماتد	بی‌نماتد	بانماتد	بی‌نماتد	بانماتد
لوم- شنی	٪۰/۵	۰/۰۱۶	≤۰/۰۰۱	۰/۰۲۳	۰/۰۰۱	۰/۰۱۲	۰/۲۲۳	۰/۰۰۹	۰/۰۲۹
لوم- شنی	٪۲	۰/۵۶۰	۰/۰۰۴	۰/۰۵۸	۰/۰۱۲	۰/۰۱۲	۰/۰۳۳	۰/۰۰۷	۰/۰۱۴
لوم	٪۰/۵	۰/۲۵۰	۰/۰۰۹	۰/۰۲۹	۰/۰۲۰	۰/۰۵۰	≤۰/۰۰۱	۰/۱۲۱	۰/۰۲۹
لوم	٪۲	۰/۶۱۱	۰/۱۲۰	۰/۱۱۷	≤۰/۰۰۱	۰/۰۷۸	≤۰/۰۰۱	۰/۰۳۹	≤۰/۰۰۱
لوم- رسی	٪۰/۵	۰/۱۱۴	۱	۰/۱۱۴	۱	۰/۱۱۴	۱	۰/۱۱۴	۱
لوم- رسی	٪۲	۰/۰۲۹	۰/۰۳۵	۰/۰۵۷	۰/۱۱۴	۰/۲۰۰	۰/۱۱۴	۰/۲۰۰	۰/۰۲۹

پیش‌تر گزارش‌هایی مبنی بر مؤثربودن گونهٔ *T. longibrachiatum* در آلوده‌کردن و کنترل موفق *M. javanica* (AL-Shammari *et al*., 2013)، *Heterodera avenae* (Zhang *et al*., 2014)، لارو سن دوم *Heterodera* sp. و *Meloidogyne* sp. و لاروها و نماتدهای بالغ *Xiphinema* sp. و *Pratylenchus* sp. (Djian *et al*., 1991) منتشر شده است. در پژوهش حاضر جدایهٔ آزمایش‌شده قادر به انگلی‌کردن درصد بالایی از تخم‌های نماتد نبود و حداکثر توانست ۲۶/۶٪ از تخم‌ها را کلنیزه کند. تفاوت در توانایی جدایه‌های مختلف قارچ، حتی جدایه‌های یک گونه که از یک خاک جدا شده، امری معمول است (Moosavi *et al*., 2010 & 2011).

بیشترین شاخص تولیدمثل در بافت لوم- شنی خاک و دارای ۲٪ خاک‌برگ دیده شد که در آن با نماتد مبارزه نشده بود و شاخص تولیدمثل در همین خاک که دارای ۰/۵٪ خاک‌برگ بود در رتبهٔ دوم قرارداشت. کاربرد مادهٔ آلی در خاک باعث افزایش یا کاهش جمعیت گونه‌های مختلف نماتد مولد گره ریشه در خاک شد (Thoden *et al*., 2011). مادهٔ آلی تأثیر فراوانی بر بسیاری از ویژگی‌های فیزیکی و شیمیایی خاک گذاشت (مثل تراکم خاک، میزان آب در دسترس خاک و چرخهٔ مواد غذایی در خاک) و باعث افزایش فعالیت و تنوع بیولوژیکی خاک شد. این موضوع باعث تجزیهٔ سریع‌تر مواد درون خاک می‌شود و نقش کلیدی در ایجاد خاک‌های سالم و افزایش رشد

گیاه میزبان دارد (Stirling, 2011). در حقیقت، اگر اضافه‌کردن مادهٔ آلی با افزایش کیفیت خاک و رشد گیاه همراه باشد، به دنبال ایجاد غذای بیشتر برای نماتد، جمعیت نماتد افزایش می‌یابد. اگر اضافه‌کردن مادهٔ آلی به خاک با تشدید فعالیت آنتاگونیست‌ها نیز همراه باشد، جمعیت نماتد در خاک کاهش می‌یابد (Renčo, 2013). در آزمایش اول (بدون حضور نماتد)، افزایش مقدار مادهٔ آلی (خاک‌برگ) باعث افزایش شاخص‌های رشدی گیاه لوبیا قرمز شد. در آزمایش دوم نیز (در حضور نماتد) افزایش مقدار مادهٔ آلی (خاک‌برگ) با افزایش شاخص‌های رشدی گیاه میزبان، افزایش درصد تخم‌های پارازیته‌شده توسط قارچ و افزایش تولیدمثل نماتد همراه بود.

نوع خاک به مقدار نسبی شن، سیلت و رس در خاک اشاره دارد که روی تعدادی از خصوصیات خاک مثل جذب و انتقال آب، ذخیرهٔ آب، تهویهٔ خاک، حاصل‌خیزی خاک و توانایی در اختیار قراردادن مواد غذایی اثرمی‌گذارد (Brady & Weil, 2010). اکثر عوامل کنترل‌کنندهٔ بیولوژیکی، نوع و بافت خاصی از خاک را ترجیح می‌دهد (Timper, 2011)، اما تأثیر نوع و بافت خاک روی بقا، میزان مؤثربودن و وقوع طبیعی عوامل کنترل‌کنندهٔ بیولوژیکی یکسان نیست (Stewart *et al*., 2010). این موضوع باعث می‌شود که در مورد گونه‌ها و جدایه‌های مختلف آزمایش‌های جداگانه‌ای انجام پذیرد تا کارایی آن‌ها در خاک‌های مختلف مشخص شود. به نظر می‌رسد که جدایهٔ MIAU 143 C از قارچ *T. longibrachiatum* بهترین کارایی را در خاک لومی یا لوم- شنی حاوی ۲٪ مادهٔ آلی (خاک‌برگ) از خود بروز می‌دهد. توانایی کنترل‌کنندگی قارچ‌های آنتاگونیست متغیر است که یکی از دلایل آن تأثیر شرایط محیطی مثل نوع و بافت خاک در تعامل میان قارچ- نماتد- گیاه است (Moosavi & Zare, 2012). به‌علاوه، بافت خاک بر میزان فعالیت نماتدهای مولد گره ریشه اثر می‌گذارد و بر گسترش آن در خاک و کنترل این پاتوژن اثر دارد (Koenning *et al*., 1996). البته، میزان EC و pH سه نوع خاک استفاده شده در این آزمایش با یکدیگر متفاوت بود که تا حدودی نتایج را تحت تأثیر قرارمی‌دهد و باید نقش آن‌ها در رشد گیاه، میزان خسارت نماتد و توانایی قارچ در کنترل نماتد در آزمایشی جداگانه بررسی شد.

نتایج آزمایش حاضر نشان داد که خاک لوم- رسی برای کشت لوبیا قرمز مناسب نیست و گیاه (حتی در خاکی که به نماتد آلوده نیست) رشد مناسبی ندارد. اما، خاک لوم- شنی در درجهٔ اول مناسب‌بودن و خاک لومی در درجهٔ دوم قراردارد. وجود خاک‌برگ در خاک باعث افزایش رشد گیاه، افزایش کارایی قارچ و افزایش تولیدمثل نماتد می‌شود. قارچ *T. longibrachiatum* تأثیر چشمگیری در تحریک رشد گیاه میزبان نداشت اما به نظر می‌رسد در بافت لوم- شنی قادر به تحریک سیستم دفاعی گیاه است. از سوی دیگر، مشخص شد که جدایهٔ MIAU 143 C از قارچ *T. longibrachiatum* به تنهایی قادر به کنترل موفق نماتد *M. javanica* روی گیاه لوبیا قرمز نیست. این قارچ بیشترین کارایی را در خاک لومی یا لوم- شنی حاوی ۲٪ مادهٔ آلی (خاک‌برگ) نشان داد و توانست فاکتور تولیدمثل نماتد را در انواع بافت‌های آزمایش‌شدهٔ خاک در حد نماتدکش شیمیایی (کادوزافوس) کنترل کند.

نتیجه‌گیری کلی

بر اساس نتایج این آزمایش، در منطقه‌ای که فاقد نماتد *M. javanica* است و بافت خاک آن دارای بافت لوم-شنی است، لوبیا رشد مناسبی دارد، اما بافت لومی به اصلاح با مادهٔ آلی (خاک‌برگ) نیاز دارد. خاک لوم- رسی برای کشت لوبیا مناسب نیست حتی اگر مادهٔ آلی (خاک‌برگ) به آن اضافه شده باشد. اگر در منطقه‌ای نماتد *M. javanica* حضور دارد و بافت خاک از نوع لوم-شنی است، نماتدکش شیمیایی کادوزافوس و جدایهٔ MIAU 143 C از قارچ *T. longibrachiatum* کارایی یکسانی در کاهش تکثیر نماتد دارد. همین وضعیت در خاک لومی نیز دیده شد، هر چند که میزان تکثیر نماتد در این بافت خاک کمتر از بافت لوم- شنی بود. لوبیا در خاک لوم- رسی آلوده به نماتد *M. javanica* که با مادهٔ آلی (خاک‌برگ) اصلاح نشده باشد، رشد نمی‌کند و اگر به خاک مادهٔ آلی (خاک‌برگ) اضافه شود، رشد آن ناچیز خواهد بود.

اضافه‌کردن قارچ *T. longibrachiatum* به خاک لوم-رسی دارای نماتد، رشد گیاه را افزایش می‌دهد. البته، تحقیق روی سایر عوامل کنترل‌کنندهٔ بیولوژیکی، همچنین تکرار آزمایش در شرایط مزرعه در تأیید نتایج این پژوهش مفید خواهد بود.

سپاسگزاری

از دانشگاه آزاد اسلامی واحد مرودشت بابت تهیهٔ امکانات و تقبل هزینهٔ پژوهش حاضر و همچنین، از مرکز تحقیقات کشاورزی و منابع طبیعی استان فارس بابت همکاری در اجرای این پروژه تشکر و قدردانی می‌گردد.

REFERENCES

1. AL-Shammari, T.A., Bahkali, A.H., Elgorban, A.M., El-Kahky, M.T. & Al-Sum, B.A. (2013). The use of *Trichoderma longibrachiatum* and *Mortierella alpina* against root-knot nematode, *Meloidogyne javanica* on tomato. *Journal of Pure and Applied Microbiology*, 7, 199-207.
2. Benitez, T., Rinco, A.M., Limon, M.C. & Codon, A.C. (2004). Biocontrol mechanisms of *Trichoderma* strains. *International Microbiology*, 7, 249-260.
3. Brady, N.C. & Weil, R.R. (2010). *Elements of the Nature and Properties of Soils* (3rd ed.). Pearson Education (Prentice Hall), Upper Saddle River, New Jersey.
4. Chindo, P.S., Bello, L.Y. & Kumar, N. (2012). Utilization of organic wastes for the management of phyto-parasitic nematodes in developing economies. In S. Kumar (Ed.), *Management of organic waste*. (pp. 133–148.). InTech Publishing.
5. Davies, K. G. & Spiegel, Y. (eds) (2011). *Biological control of plant-parasitic nematodes: Building coherence between microbial ecology and molecular mechanisms*, Progress in Biological Control 11. Springer Science+Business Media, Dordrecht.
6. Djian, C., Pijarowski, L., Ponchet, M., Arpin, N. & Favrebonvin, J. (1991). Acetic-acid: a selective nematocidal metabolite from culture filtrates of *Paecilomyces lilacinus* (Thom) Samson and *Trichoderma longibrachiatum* Rifai. *Nematologica*, 37, 101-112.
7. Hussey, R.S. & Barker, K.R. (1978). Comparison of methods for collecting inocula of Meloidogyne spp., including a new technique. *Plant Disease Reporter*, 57, 1025-1028.
8. Karssen, G., Wesemael, W. & Moens, M. (2013). Root-knot Nematodes. In R.N. Perry & M. Moens (Eds.), *Plant Nematology*, 2nd edition. (pp. 73–109). CABI.
9. Kerry, B. R. (2000). Rhizosphere interactions and the exploitation of microbial agents for the biological control of plant-parasitic nematodes. *Annual Review of Phytopathology*, 38, 423–441.
10. Koenning, S.R., Walters, S.A. & Barker, K.R. (1996). Impact of soil texture on the reproductive and damage potentials of *Rotylenchulus reniformis* and *Meloidogyne incognita* on cotton. *Journal of Nematology*, 28, 527-536.
11. Moens, M., Perry, R.N. & Starr, J.L. (2009). *Meloidogyne* species – a diverse group of novel and important plant parasites. In R.N. Perry, M. Moens & J.L. Starr (Eds.), *Root-Knot Nematodes*. (pp. 1–17). CABI.
12. Moosavi, M.R. & Zare, R. (2012). Fungi as biological control agents of plant-parasitic nematodes. In: J. M. Merillon & K. G. Ramawat (Eds.), *Plant defence: Biological control*, Progress in Biological Control 12. (pp: 67–107). Springer Science + Business Media.
13. Moosavi, M.R. & Zare, R. (2015). Factors affecting commercial success of biocontrol agents of phytonematodes. In T.H. Askary & P.R.P. Martinelli (Eds.), *Biocontrol agents of phytonematodes*. (pp. 187–202) CABI Publishing.
14. Moosavi, M.R., Shakeri, Sh. & Mohammadi, S. (2015). The ability of separate and combined application of five nematopathogenic fungi against *Meloidogyne javanica*. *Iranian Journal of Plant Protection science*, 46 (1), 179-190. (In Farsi).
15. Moosavi, M. R., Zare, R., Zamanizadeh, H. R. & Fatemy, S. (2010). Pathogenicity of *Pochonia* species on eggs of *Meloidogyne javanica*. *Journal of Invertebrate Pathology*, 104, 125-133.
16. Moosavi, M. R., Zare, R., Zamanizadeh, H. R. & Fatemy, S. (2011). Pathogenicity of *Verticillium epiphytum* isolates against *Meloidogyne javanica*. *International Journal of Pest Management*, 57, 291-297.
17. Nicol, J.M., Turner, S.J., Coyne, D.L., den Nijs, L., Hockland, S. & Tahna Maafi, Z. (2011). Current nematode threats to world agriculture. In J. Jones, G. Gheysen & C. Fenoll (Eds.), *Genomics and molecular genetics of plant-nematode interactions*. (pp. 21–43). Springer Science + Business Media.
18. Oka, Y. (2010). Mechanisms of nematode suppression by organic soil amendments-A review. *Applied Soil Ecology*, 44, 101-115.
19. Pratab, A. & Kumar, J. (2011) *Biology and breeding of food legumes*. CABI, Wallingford.

20. Renčo, M. (2013). Organic amendments of soil as useful tools of plant parasitic nematodes control. *Helminthologia*, 50, 3-14.
21. Sahebani, N. & Hadavi, N. (2008). Biological control of the root-knot nematode *Meloidogyne javanica* by *Trichoderma harzianum*. *Soil Biology and Biochemistry*, 40, 2016-2020.
22. Samuels, G.J., Ismaiel, A., Mulaw, T.B., Szakacs, G., Druzhinina, I.S., Kubicek, C.P. & Jaklitsch, W.M. (2012). The Longibrachiatum Clade of Trichoderma: a revision with new species. *Fungal Diversity;* 55 (1), 77-108.
23. Schwartz, H.F. & Hall, R. (2005). *Compendium of bean diseases*. APS Press, St. Paul, MN.
24. Sharon, E., Chet, I. & Spiegel, Y. (2011). *Trichoderma* as a biological control agent. In: K.G. Davies, & Y. Spiegel (Eds.), *Biological Control of Plant-Parasitic Nematodes: Building Coherence between Microbial Ecology and Molecular Mechanisms*, Progress in Biological Control 11. (pp. 183–201). Springer Science + Business Media.
25. Sholevarfard, A.R. & Moosavi, M.R. (2015). The potential of separate and combined application of some plant extracts and defense inducer molecules for controlling *Meloidogyne javanica*. *Nematropica*, 45(1), 82-91.
26. Stewart, A., Brownbridge, M., Hill, R.A. & Jackson, T.A. (2010). Utilizing soil microbes for biocontrol. In: G.R. Dixon & E.L. Tilston (Eds.), *Soil Microbiology and Sustainable Crop Production*. (pp. 315–372). Springer Science + Business Media.
27. Stirling, G.R. (2011). Biological control of plant-parasitic nematodes: an ecological perspective, a review of progress and opportunities for further research. In: K. Davies & Y. Spiegel (Eds.), *Biological control of plant-parasitic nematodes: building coherence between microbial ecology and molecular mechanisms*. (pp. 1–38). Springer Science + Business Media.
28. Thoden, T.C., Korthals, G.W. & Termorshuizen, A.J. (2011). Organic amendments and their influences on plant-parasitic and free-living nematodes: a promising method for nematode management? *Nematology*, 13(2), 133-153.
29. Timper, P. (2011). Utilization of biological control for managing plant-parasitic nematodes. In: K. Davies & Y. Spiegel (Eds.), *Biological control of plant-parasitic nematodes: building coherence between microbial ecology and molecular mechanisms.* (pp. 34–45). Springer Sience + Business Media.
30. Zhang, Sh., Gan, Y. & Xu, B. (2014). Efficacy of *Trichoderma longibrachiatum* in the control of *Heterodera avenae*. *BioControl*, 59 (3), 319-331.

Iranian Journal of Plant Protection, Vol. 46, No. 2, Autumn & Winter 2015-2016

Effect of soil texture and organic matter (leaf litter) content on the ability of *Trichoderma longibrachiatum* in promoting the growth of kidney bean and controlling *Meloidogyne javanica*

Zahra Sajadi[1], Mohammad Reza Moosavi[2*] and Gholamreza Moafpourian[3]

1. Former M.Sc. Student, Department of Plant Pathology, Marvdasht branch, Islamic Azad University, Marvdasht, Iran
2. Assistant Professor, Department of Plant Pathology, Marvdasht branch, Islamic Azad University, Marvdasht, Iran
3. Research Assistant Professor, Soil and Water Research Department, Fars Agricultural and Natural Resources Research Center, Fars, Iran

(Received: Nov. 21, 2015 - Accepted: Mar. 1, 2016)

ABSTRACT

This research was conducted in two separate factorial experiments based on completely randomized designs with four replications. The ability of *Trichoderma longibrachiatum* in stimulating kidney bean (*cv*. Goli) growth was assessed in the first experiment with three factors including soil texture (sandy loam, loam, clay loam), organic matter (0.5 and 2% of leaf litter) and fungal application (0 and 10^6 spore ml^{-1} suspension) when the plants was not inoculated with *Meloidogyne javanica*. In the second experiment, the effect of soil texture, organic matter and managing method (no control, 10 ml of *T. longibrachiatum* containing 10^6 spore ml^{-1}, and 2 mg active ingredient cadusafos 10G kg^{-1} soil) was tested on kidney bean growth, fungal controlling ability and *M. javanica* reproduction. The growth promoting effect of the fungus was not prominent. In the sandy loam or loam soil amended with 2% organic matter (leaf litter), the fungus showed its maximum efficacy and could decrease the nematode reproduction rate same as the chemical nematicide. Clay loam soil was not a suitable bed for kidney bean plants since no growth was seen if the soil that was not amended with organic matter and soil amended with 2% organic matter (leaf litter) resulted in poor growth.

Keywords: Biological control, growth promoter, nematophagous fungi, root-knot nematode, soil amendment, soil texture, soil type.

* Corresponding author E-mail: rmmoosavi@yahoo.com Tel: +98 917 3066085