

اثرات متقابل نماتد مولد غده ریشه (*Meloidogyne incognita* (Race 1) و قارچ عامل پژمردگی *Fusarium oxysporum* f. sp. *ciceri* در ارقام نخود

Interaction of root-knot nematode, *Meloidogyne incognita* (race 1), and wilt fungus, *Fusarium oxysporum* f. sp. *ciceri*, on chick-pea cultivars.

سید عباس حسینی نژاد و محمد واجد خان

موسسه تحقیقات آفات و بیماریهای گیاهی-تهران، دانشگاه اسلامی علیگر-هندوستان

چکیده

اثرات متقابل نماتد مولد غده ریشه (*Meloidogyne incognita* (race 1) و قارچ عامل پژمردگی *Fusarium oxysporum* f. sp. *ciceri* تحت شرایط گلخانه‌ای در دو رقم Pusa-212 (مقاوم به قارچ) و Pusa-244 (نسبتاً حساس به قارچ) در گلدان‌هایی حاوی خاک استریل و با مقدار ماده تلقیح ۲۰۰۰ لارو سن دو نماتد و ۲ گرم قارچ (میسیلیوم خرد شده) در هر گلدان تحت تیمارهای شاهد، قارچ تنها، نماتد تنها، قارچ و نماتد بطور همزمان و نماتد سه هفته قبل از قارچ (تناوبی) در قالب طرح کاملاً تصادفی با پنج تکرار مورد بررسی و مطالعه قرار گرفت. اثرات متقابل این دو پاتوژن در کاهش رشد گیاه (طول ساقه و ریشه، وزن تازه و خشک ساقه و ریشه و تعداد گره‌های رایزوبیومی) هر دو نوع تلقیح (همزمان و تناوبی) به صورت افزایشی (Synergistic) بوده و خسارات وارده بر گیاه بیشتر از مجموع خساراتی که هر یک از این عوامل بیماریزا بطور جداگانه بر گیاه وارد می‌سازند بوده است. حضور نماتد باعث سریع‌تر ظاهر شدن و تشدید علائم پژمردگی در گیاه گردید و علائم پژمردگی در تلقیح تناوبی بیشتر مشهود بود. نماتد باعث شکسته شدن مقاومت رقم Pusa-212 به قارچ عامل پژمردگی گردید.

واژه‌های کلیدی: اثرات متقابل، نماتد مولد غده ریشه، قارچ عامل پژمردگی، نخود ایرانی

نظر به اینکه نخود (*Cicer arietinum* L.) گیاهی است مقاوم به شوری خاک و نیاز کمی به آب دارد و از طرفی دارای قدرت تثبیت ازت هوا در خاک است که این امر سبب حاصلخیزی خاک می‌گردد، کشت این گیاه در شرایط غیر مساعد زراعی برای سایر محصولات کشاورزی شایان توجه می‌باشد. در بین عوامل بیماری‌زای خاک‌زی، قارچ عامل پژمردگی *Fusarium oxysporum* f. sp. *ciceri* (Westerlund et al 1974; Mani & Sethi 1985; Kotasthane et al. 1980, Mani 1985) & Sethi, نماتد مولد غده ریشه *Meloidogne incognita* از مهمترین پاتوژن‌های بازدارنده رشد نخود میباشند (Nath et al, 1979; Mani & Sethi, 1984; Khan & Hosseini Nejad, 1991). محققان متعددی اثرات متقابل این دو میکروارگانیسم را به صورت افزایش ضریب خسارت و تشدید کاهش رشد نخود اعلام کرده‌اند (Kumar et al. 1988; Patel et al. 1987). یکی از اثرات قابل توجه اثرات متقابل قارچ و نماتد در محصولات کشاورزی، شکسته شدن مقاومت گیاه به یک قارچ خاص توسط نماتد مولد غده ریشه می‌باشد (Prot, 1993 ; Mai & Abawi, 1987) در این تحقیق اثرات متقابل *M. incognita* (race 1) و *F. oxysporum* f. sp. *ciceri* در دو رقم نخود با واکنش‌های مختلف نسبت به قارچ عامل پژمردگی مورد بررسی قرار گرفت تا تعیین گردد آیا حضور نماتد می‌تواند مقاومت کمی و کیفی این ارقام را تحت الشعاع خود قرار دهد.

روش بررسی

پس از استریلیزه کردن بذور نخود توسط کلرور جیوه (۱/۰ درصد) به مدت دو دقیقه، کشت آنها در گلدان‌هایی به ارتفاع ۳۰ سانتیمتر حاوی خاک، شن و کود حیوانی پوسیده استریل به ترتیب به میزان ۲:۱:۱ انجام پذیرفت. پانزده روز پس از جوانه زدن، گیاهان اضافی تنک گردید تا در هر گلدان یک گیاه باقی بماند. سه هفته پس از جوانه زنی اقدام به تلقیح گیاهان توسط قارچ و یا نماتد، بر حسب تیمار، گردید.

طی بازدیدهای مکرر از مزارع تحت کشت نخود از گیاهان مشکوک به آلودگی نماتد نمونه برداری و برای استخراج نماتد ماده و تهیه برش از انتهای بدن آن جهت شناسایی گونه (Eisenback et al., 1981) به آزمایشگاه منتقل و تعیین نژاد آن توسط تلقیح میزبانان افتراقی (Taylor & Sasser, 1978) انجام پذیرفت. پس از شناسایی، تکثیر نماتد توسط تلقیح میزبان با تک توده تخم نماتد انجام شد تا در آزمایشات مورد استفاده قرار گیرند. در طی آزمایش، تلقیح گیاهان

توسط لارو سن دو نماتد (J₂) تازه تفریخ شده انجام گرفت. جهت تهیه مقدار ماده تلقیح لازم، کشت قارچ در محیط کشت مایع زیپاکس (Czapek's liquid medium) انجام گرفت و در درجه حرارت ۲۳-۲۵ سانتیگراد نگهداری شد.

پس از گذشت یک هفته از زمان تلقیح، محیط کشت توسط فیلتر شماره یک واتمن (Whatman filter paper No. 1) صاف گردیده و سپس ریشه قارچ (جهت جداسازی آثار محیط کشت) توسط آب مقطر استریل شستشو و بین دو لایه کاغذ خشک کن استریل فشرده شد تا آب اضافی ریشه خارج گردد. جهت تهیه سوسپانسیون یکنواخت قارچ، ۱۰ گرم از آن در ۹۰ میلی لیتر آب مقطر استریل به مدت ۳۰ ثانیه در مخلوط کن قرار داده شد.

سه هفته پس از جوانه زنی، تلقیح گیاهان توسط ۲۰۰۰ لارو سن دو نماتد و یا ۲ گرم قارچ در هر گلدان (برحسب تیمار) انجام پذیرفت. جهت تلقیح، خاک اطراف ریشه به دقت کنار زده شد. تیمارها شامل: شاهد، قارچ تنها، نماتد تنها، قارچ و نماتد بطور همزمان و نماتد سه هفته قبل بود. گیاهان مرتباً آبیاری و جهت رویت علائم پژمردگی (زردی) مورد بازدید قرار گرفتند و علائم پژمردگی ۱۵، ۳۰، ۴۵ و ۶۰ روز پس از تلقیح قارچ یادداشت و طبق جدول Sidhu & Webster (1978) که در آن صفر = عدم ظهور علائم، ۱ = ظهور کم علائم، ۲ = ظهور متوسط علائم ۳ = ظهور شدید علائم و ۴ = ظهور بسیار شدید پژمردگی (مرگ گیاه) درجه بندی گردیدند. پس از گذشت ۶۰ روز از تلقیح، گیاهان از خاک خارج گردیده و پس از شستشو تعداد گره‌ها و توده‌های تخم نماتد شمارش و طبق جدول Taylor & Sasser (1978) درجه بندی گردیدند. طول ساقه و ریشه، وزن تازه و خشک ساقه و ریشه اندازه گیری و تعداد گره‌های رایزوبیومی (فعال، غیرفعال) شمارش گردید.

نتیجه و بحث

اثرات متقابل این دو عامل بیماریزا در کاهش طول ساقه گیاه به صورت افزایشی بوده و کاهش معنی دار قابل توجه طول گیاه در تلقیح تناوبی عوامل مشاهده گردید. قارچ به تنهایی قابلیت کاهش معنی دار در طول ساقه را نداشته در صورتیکه این قابلیت در نماتد مشاهده گردید. در تلقیح تناوبی عوامل، کاهش طول ساقه در رقم Pusa-212 (۳۷/۶ درصد) و در رقم به صورت افزایشی و بیشترین کاهش در تلقیح تناوبی مشاهده گردید. نماتد به تنهایی باعث کاهش معنی دار طول ریشه گردید و در مقایسه با تلقیح همزمان، این کاهش معنی دار نبود. قارچ به تنهایی باعث کاهش معنی دار طول

ریشه نگریدید. تلقیح تناوبی عوامل باعث ۴۹٪ کاهش رشد ریشه در رقم Pusa-212 و ۲۴/۵٪ در رقم Pusa-244 گردید (جدول شماره ۱).

اثرات متقابل این دو میکروارگانیزم در کاهش وزن تازه و خشک ساقه نیز بطور افزایشی بوده و بیشترین کاهش در تلقیح تناوبی عوامل مشاهده گردید. نماتد به تنهایی باعث کاهش وزن تازه و خشک ساقه گردید ولی این کاهش کمتر از کاهش وزن در اثر تلقیح تناوبی یا همزمان عوامل بوده است. قارچ عامل پژمردگی باعث کاهش این پارامترها در رقم Pusa-244 گردید و کاهش معنی دار در وزن تازه و خشک ریشه در اثر تلقیح گیاهان به قارچ صرفاً در رقم Pusa-244 مشاهده گردید و رقم Pusa-212 در مقابل این عامل بیماریزا از خود مقاومت نشان داد.

در حضور عوامل بیماریزا، کاهش وزن تازه و خشک ریشه در مقایسه با شاهد معنی دار و قابل ملاحظه بود و بیشترین کاهش در تلقیح تناوبی عوامل بیماریزا و در رقم Pusa-212 مشاهده گردید (جدول شماره ۱).

هریک از عوامل بیماریزا به تنهایی مانع از تشکیل گره‌های رایزوبیومی در ریشه هر دو رقم گردیدند. کاهش در تلقیح هر دو عامل بیماریزا بیشتر و این کاهش نسبتاً در تلقیح تناوبی بیشتر از تلقیح همزمان عوامل بود. حداکثر کاهش تعداد گره‌های رایزوبیومی فعال نیز در تلقیح تناوبی پاتوژن‌ها مشاهده گردید (جدول شماره ۲).

هر دو رقم مورد آزمایش نسبت به نماتد مولد غده ریشه حساس بوده و در رقم Pusa-212 تعداد غده‌های تشکیل شده بیشتر از رقم Pusa-244 ثبت گردیدند. در تلقیح تناوبی، تعداد گره‌ها و توده تخم نماتد متشکله بیشتر از تلقیح همزمان عوامل بیماریزا بود، هرچند تفاوت آنها معنی دار نبود (جدول شماره ۳). در مقایسه با تلقیح قارچ تنها، علائم پژمردگی بیشتر در گیاهانی که بطور تناوبی و یا همزمان مورد تلقیح عوامل بیماریزا قرار گرفته بودند مشاهده گردید. پس از گذشت ۱۵ روز از زمان تلقیح، علائم پژمردگی صرفاً در رقم Pusa-244 و در تلقیح تناوبی عوامل مشاهده گردید در صورتیکه در تلقیح قارچ تنها حتی پس از گذشت ۳۰ روز از تلقیح، علائم پژمردگی ظاهر نگردید. رقم Pusa-212 در تلقیح قارچ علائم پژمردگی از خود نشان نداده و از ریشه گیاه نیز جداسازی نگردید. این رقم در مقابل قارچ مقاومت کامل داشت (جدول شماره ۴).

نماتد مولد غده ریشه نماتدی است داخلی و غیر مهاجر که باعث تغییرات ساختمانی، فیزیولوژیک، بیوشیمیایی، بروز اختلالات در گیاه میزبان و نتیجتاً کاهش رشد آن میشود. لارو سن

جدول ۱- تأثیر اثرات متقابل *Fusarium oxysporum* f. sp. *ciceri* و *Meloidogyne incognita* در پارامترهای رشد ارقام نخود.
 Table 1- Interactive effect of *Meloidogyne incognita* and *Fusarium oxysporum* f. sp. *ciceri* on growth parameters of chick-pea cultivars.

Treatments	shoot length		Root length (cm)		Shoot fresh weight		M.M
	Pusa212	Pusa244	Pusa212	Pua244	Pusa212	Pusa244	
T1	27.6	27.8	20.8	20.4	8.7	8.5	8.60
T2	27.4	26.6	20.7	20.0	8.6	8.0	8.30
T3	(0.72)	(4.32)	(0.48)	(1.96)	(1.15)	(5.88)	7.25
	24.2	25.0	18.0	18.9	7.3	7.2	6.70
	(12.32)	(10.07)	(13.46)	(7.35)	(16.09)	(15.29)	4.75
T4	220	21.8	17.6	18.1	6.8	6.6	
	(20.29)	(21.58)	(15.34)	(11.27)	(21.84)	(22.35)	
T5	17.2	19.6	10.6	15.4	4.7	4.8	
	(37.68)	(29.50)	(49.00)	(24.50)	(45.98)	(43.53)	
M.M	23.68	24.16	17.54	18.56	7.22	7.02	
CvsCD		N.S		0.69		0.08	
Treats CD		1.19		1.09		0.12	
CVsCDX Treats CD		1.68		1.54		0.17	