

مطالعه ارتباط بین مراحل مختلف بیولوژی نماتد مولد گره (*Meloidogyne javanica*) و شدت بیماری پژمردگی فوزاریومی گوجه‌فرنگی (*Fusarium oxysporum* f. sp. *lycopersici*) و امکان سیستمیک شدن حساسیت ایجاد شده به وسیله نماتد در گیاه به قارچ

نوازاله صاحبانی^۱، جواد زاد^۲، عباس شریفی تهرانی^۳، احمد خیری^۴ و مجتبی محمدی^۵
۱، ۲، ۳، ۴، ۵، دانشجوی دوره دکتری، استادان، دانشیار و استادیار دانشکده کشاورزی دانشگاه تهران
تاریخ پذیرش مقاله ۸۲/۷/۲۳

خلاصه

به منظور تعیین مؤثرترین مرحله بیولوژی نماتد *Meloidogyne javanica* در تشدید بیماری پژمردگی فوزاریومی گوجه‌فرنگی *Fusarium oxysporum* f. sp. *lycopersici* و بررسی امکان سیستمیک شدن حساسیت ناشی از نماتد در گیاه در مقابل قارچ عامل بیماری، آزمایش‌هایی در گلخانه تحقیقاتی گروه گیاهپزشکی دانشکده کشاورزی دانشگاه تهران انجام گرفت. نتایج حاصل از این آزمایشها نشان داد که ۱۵ روز بعد از نفوذ نماتد به گیاه که مصادف با خروج بالغ‌های جوان از پوسته‌های لاروی داخل گیاه است، در مقایسه با دیگر مراحل بیولوژی نماتد حساسیت بیشتری در گیاه در مقابل قارچ فوزاریوم ایجاد می‌شود. مراحل چهار روز و ۲۱ روز بعد از نفوذ نماتد علیرغم القای حساسیت در گیاه و تشدید بیماری فوزاریومی، با یکدیگر تفاوت معنی‌دار نداشتند. در این تحقیق همچنین مشخص گردید که القای حساسیت ناشی از نماتد در مقابل قارچ فوزاریوم بصورت سیستمیک به قسمتهای دیگر گیاه اعم از ریشه و ساقه سرایت نموده و بروز بیماری فوزاریومی در قسمتهای مذکور در مقایسه با شاهد (بدون تلقیح نماتد) اختلاف معنی‌دار داشت. صفات مورد مطالعه شامل اندیکس برگ (۱۰-۰)، قهوه‌ای شدن آوندها، ارتفاع گیاه، وزن تر ریشه و وزن تر قسمتهای هوایی گیاه بود.

واژه‌های کلیدی: ارتباط متقابل، نماتد مولد گره، پژمردگی فوزاریومی گوجه‌فرنگی، تشدید بیماری

مقدمه

ابتدا تصور بر این بود که نقش نماتد تنها ایجاد زخم و تسهیل کننده نفوذ پاتوژن ثانویه می‌باشد تا اینکه پاول در سالهای ۱۹۷۱ و ۱۹۷۹ ثابت کرد که آلودگی قارچ در حضور نماتد به مراتب بیشتر از آلودگی قارچ به تنهایی است و شدت بیماری بیشتر از میزان بیماری هر کدام به تنهایی است. او پیشنهاد نمود که در این ارتباط متقابل نقش نماتد صرفاً ایجاد زخم و آماده سازی زمینه نفوذ نبوده و احتمالاً نماتد موجب اختلال در فیزیولوژی گیاه شده به طوری که استعداد آلودگی آن توسط قارچ عامل پژمردگی افزایش می‌یابد (۹، ۱۲). ایجاد زخم مکانیکی روی ریشه‌های پنبه و دیگر گیاهان، در مقایسه با زخم‌های ناشی از حمله نماتد مولد گره حساسیت کمتری در

ارتباط متقابل بین گونه‌های مختلف نماتد مولد گره و بسیاری از عوامل بیماریزای گیاهی از جمله قارچها و باکتریها مورد توجه بسیاری از محققین بوده است. اولین بار در سال ۱۸۹۲ اتکینسون مشاهده نمود که پژمردگی فوزاریومی پنبه در حضور نماتد مولد گره شدیدتر ظاهر شد (۹). تاکنون اینگونه روابط متقابل روی بسیاری از محصولات از جمله یونجه (۶)، لوبیا (۹)، میخک (۱۳)، فلفل (۹)، پنبه (۲، ۴)، نخود (۳)، توتون (۱۱)، گوجه‌فرنگی (۱، ۸، ۹، ۱۰) و سیب‌زمینی (۹) مطالعه شده است. در کلیه این روابط متقابل، نقش نماتد به عنوان تشدید کننده بیماریزایی پاتوژن ثانویه ذکر شده است.

جوان و تخم‌گذاری) در القاء حساسیت در گیاه در مقابل قارچ و بررسی امکان سیستمیک شدن این حساسیت در دیگر قسمت‌های گیاه اعم از قسمت‌های دیگر ریشه و ساقه می‌باشد.

مواد و روش‌ها

تهیه اینوکولوم قارچ

قارچ فوزاریوم عامل پژمردگی گوجه‌فرنگی از بخش گیاهپزشکی دانشکده کشاورزی دانشگاه شیراز تهیه شد و پس از تک اسپور^۳ نمودن و اثبات بیماریزایی با استفاده از ارقام افتراقی استاندارد بانی‌بست^۴ (حساس به نژاد یک و دو)، مانوپال^۵ (مقاوم به نژاد یک) و والتر^۶ (مقاوم به نژاد یک و دو)، نژاد یک تشخیص داده شد. این قارچ روی محیط عصاره سیب‌زمینی، سوکروز، آگار^۷ به فراوانی تولید اسپور می‌کند (۱۴). لذا به منظور تهیه سوسپانسیون اسپور، بعد از رشد کامل قارچ روی این محیط غذایی داخل ظروف کشت با ریختن آب مقطر استریل روی کلونی قارچ و به هم زدن آن به وسیله انتهائی خمیده لوله شیشه‌ای، سوسپانسیونی از اسپورها و مسلیوم قارچ به دست آمد که پس از عبور از چندین لایه پارچه ممل، سوسپانسیون حاصل فاقد مسلیوم بود. شمارش اسپور با لام گلبول شمار انجام گرفت. در انجام آزمایش‌ها از سوسپانسیون حاوی ۱۰^۶ اسپور در میلی‌لیتر استفاده شد.

تهیه اینوکولوم نماتد

نمونه آلوده به نماتد از مزارع گوجه‌فرنگی اطراف شیراز تهیه شد و پس از تهیه توده تخم منفرد^۸ روی گوجه‌فرنگی رقم روت گرز^۹ تکثیر گردید و پس از چند دوره متوالی انتقال روی گوجه‌فرنگی، میزان مناسبی از اینوکولوم نماتد به دست آمد. استخراج تخم و تهیه لارو سن دو با استفاده از روش هوسی و بارکر (۷) انجام گرفت. ضمناً با استفاده از خصوصیات مرفولوژیکی و مرفومتريک، گونه نماتد *M. javanica* تشخیص داده شد.

میزبان نسبت به آلودگی قارچ عامل پژمردگی فوزاریومی ایجاد می‌کند (۹). در اثر آلودگی نماتد مولد گره تغییرات مرفولوژیکی، آناتومیکی و بیوشیمیایی در منطقه تغذیه نماتد رخ می‌دهد. از طرف دیگر قارچ فوزاریوم مولد پژمردگی نیز در همین ناحیه فعالیت و بیماریزایی داشته و سرانجام خود را به آوندهای چوبی می‌رساند. بنابراین به نظر می‌رسد که در این محل ارتباط متقابل مستقیم، اعم از نفوذ قارچ به داخل گال و تجمع در آن بین این دو پاتوژن برقرار شود. از طرف دیگر رشد و تکثیر بیش از حد طبیعی این سلولها در اثر حمله نماتد مولد گره به نحوی روند طبیعی سلول‌ها، اعم از استحکام دیواره‌ها از نظر جانشینی مواد لیگنینی و سلولزی و ضخامت طبیعی دیواره سلولی را به تاخیر می‌اندازد. لذا آلودگی قارچی در این ناحیه به سهولت انجام می‌گیرد (۵). وفور ترکیبات مختلف اعم از اسیدهای آمینه، پروتئین، اسیدهای چرب، لیپید، RNA و DNA در سلول‌های غول‌آسا^۱ در مقایسه با سلول‌های سالم همانند یک بستر غذایی تمایل قارچ را به آلودگی، حتی درون سلول‌های غول‌آسا افزایش می‌دهد (۹). فتاح و وبستر (۱۹۸۳) نشان دادند که در ارتباط متقابل نماتد *Meloidogyne javanica* و *Fusarium oxysporum* f. sp. *lycopersici* طی سه هفته بررسی میزان نفوذ قارچ در آوندهای چوبی و سلول‌های غول‌آسا در ارقام حساس به قارچ به حدی بود که منجر به انسداد آوندها و تجزیه سلول‌های غول‌آسا گردیده است. در حالیکه در ارقام مقاوم تا هفته دوم هیچ گونه علائمی از بیماری و نشانه‌ای از وجود قارچ در آوندهای چوبی مشهود نبوده و در هفته سوم نیز تعداد معدودی میکروکنیدی فقط در آوندهای چوبی قابل مشاهده بوده است. دی وی و همکاران (۱۹۹۷) نشان دادند که شدت پژمردگی فوزاریومی پنبه ناشی از قارچ *Fusarium oxysporum* f. sp. *vasinfectum* با میزان جمعیت نماتد رابطه مستقیم دارد. شدت بیماری در صورت وجود تعامل بین نماتد و قارچ می‌تواند منجر به مرگ گیاه شود. در حالی که همان میزان اینوکولوم^۲ قارچ بیماری را به مراتب کمتر ایجاد نموده است.

هدف از انجام این تحقیق، تعیین مؤثرترین مرحله از بیولوژی نماتد (نفوذ، تولید سلول‌های غول‌آسا، ظهور بالغ‌های

3. Single spore
4. Bonny best
5. Manopal
6. Walter
7. Potato Sucrose Agar
8. Single egg mass
9. Rutgers

1. Giant cell
2. Inoculum

برگ‌ها براساس اندیکس ۱۰-۰، ارتفاع گیاه، ارتفاع قهوه‌ای شدن آوندها، وزن تر قسمت‌های هوایی گیاه و وزن تر ریشه بود.

بررسی امکان سیستمیک شدن حساسیت ناشی از نماتد در گیاه به قارچ، به دیگر قسمت‌های ریشه

گیاهچه‌های گوجه‌فرنگی با اندازه‌های مناسب انتخاب و ریشه گیاه تا محل ریشه اصلی به دو قسمت تقسیم شد. سپس هر کدام از دو قسمت، در گلدان مجزا و مجاور یکدیگر قرار داده و با خاک استریل پوشانده شد. پس از دو روز ریشه یکی از گلدان‌ها با ۲۰۰۰ لارو تلقیح شد. ۱۵ روز بعد از نفوذ نماتد به گیاه، ریشه موجود در گلدان دوم با دقت از خاک خارج نموده و پس از شستشو با آب و برطرف کردن خاک اضافی، در سوسپانسیون اسپور قارچ با غلظت 10^6 اسپور در میلی‌لیتر به مدت پنج دقیقه قرار داده و مجدداً در گلدان حاوی خاک استریل کاشته شد.

شاهد در این آزمایش شامل گیاهانی بودند که به ریشه گلدان اول نماتد تلقیح نشده بود. این آزمایش در ۱۰ تکرار با فواصل یادداشت‌برداری یک هفته و به مدت پنج هفته انجام گرفت. ارزیابی بیماری براساس معیار اندیکس برگ (۱۰-۰) انجام گرفت.

بررسی امکان سیستمیک شدن حساسیت ناشی از نماتد در گیاه به قارچ، در ساقه

این آزمایش به دو صورت طراحی گردید:

۱ - ابتدا گیاهانی با ارتفاع مناسب برای انجام این آزمایش انتخاب شد. سپس قسمت وسط ساقه هر کدام از این گیاهان طی چند روز به تدریج خم گردید و بدون هیچ گونه زخم یا قطع نمودن برگها در گلدان مجاور آن قرار داده و با خاک استریل پوشانده شد.

به گلدان اول جمعیت ۲۰۰۰ لارو اضافه شد و پس از ۱۵ روز ساقه قرار داده شده در خاک گلدان دوم را از خاک بیرون آورده و ریشه‌های ایجاد شده روی آن را در سوسپانسیون 10^6 اسپور در میلی‌لیتر به مدت پنج دقیقه قرار داده و مجدداً در گلدان حاوی خاک استریل کاشته شد. شاهد در این آزمایش شامل گیاهانی بودند که به گلدان اول آنها نماتد تلقیح نشده بود. این آزمایش در ۱۰ تکرار با فواصل یادداشت‌برداری یک

تعیین مدت زمان لازم برای نفوذ نماتد به گیاه و مدت زمان لازم برای سپری شدن مراحل مختلف بیولوژی نماتد، طی آزمایش‌های جداگانه‌ای انجام گرفت (نتایج نشان داده نشده است).

بررسی میزان بیماری پژمردگی فوزاریومی در ارتباط با مراحل بیولوژیک نماتد در گیاه

بدین منظور آزمایشی با تیمارهای زیر طراحی گردید:

الف - تلقیح نماتد و قارچ همزمان به گیاه

ب - تلقیح قارچ چهار روز بعد از نفوذ نماتد به گیاه، این زمان مصادف با تشکیل سلول‌های غول‌آسا در ریشه گیاه است.

ج - تلقیح قارچ ۱۵ روز بعد از نفوذ نماتد به گیاه، این زمان مصادف با وجود آمدن بالغ‌های جوان است.

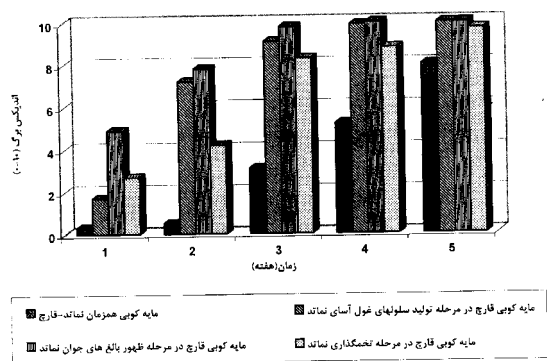
د - تلقیح قارچ ۲۱ روز بعد از نفوذ نماتد به گیاه، این زمان مصادف با آغاز تخمگذاری نماتد ماده است.

شاهد در این آزمایش شامل گیاهانی بودند که به آنها معادل همان زمان بیولوژیک نماتد، فقط قارچ تلقیح شده بود.

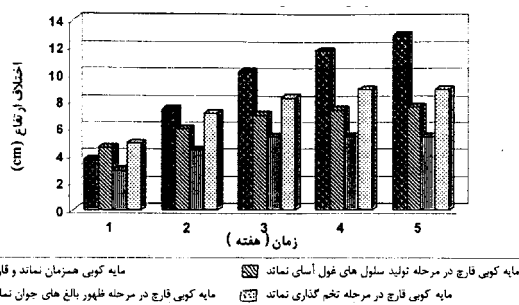
تلقیح نماتد به گیاه در مرحله شش برگی و با جمعیت ۲۰۰۰ لارو به ازاء هر گیاه انجام گرفت و با احتساب دو روز برای نفوذ تعداد مناسب نماتد به ریشه، گیاهچه را از خاک خارج نموده و پس از شستشوی کامل ریشه‌ها با آب، مجدداً در خاک استریل کاشته شد و در زمان متناسب با بیولوژی نماتد برای هر تیمار مجدداً از خاک خارج و ریشه آنها به روش فرو بردن در سوسپانسیون اسپور با غلظت 10^6 اسپور در میلی‌لیتر به مدت پنج دقیقه تلقیح شد. این آزمایش با ۱۰ تکرار برای هر تیمار با فواصل یادداشت‌برداری یک هفته و به مدت ۵ هفته انجام گرفت.

از آنجا که بهترین شرایط دمایی خاک برای فعالیت قارچ و نماتد 27 ± 1 درجه سانتیگراد است (۱۴)، جهت جلوگیری از نوسان شدید دما سیستمی بدین صورت طراحی شد که سینی‌های حاوی آب بوسیله بخاری آکواریوم تنظیم دما می‌گردید. از آنجا که ظرفیت نگهداری حرارت آب زیاد است، نوسانات محیطی چندان موجب نوسان حرارتی آب نمی‌شد گیاهان در ظروف یک بار مصرف بدون سوراخ کشت و داخل آب قرار داده شد. هر گیاه هر روز به میزان مساوی آبیاری شد. ارزیابی بیماری و معیارهای مقایسه شامل زردی و پژمردگی

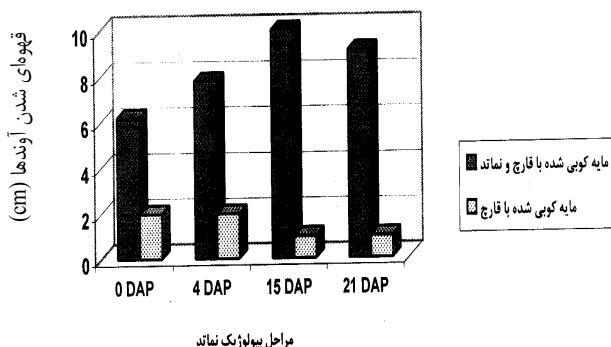
در تیمار قارچ - نماتد ۲۱ روز بعد از نفوذ نماتد علائم بیماری از همان هفته اول با شدت آغاز و طی هفته‌های بعد به طور یکنواخت گسترش یافت و در هفته پنجم مرگ گیاه حادث شد (شکل‌های ۱، ۲، ۳، ۴ و ۵) (جدول ۱، ۲ و ۳).



شکل ۱- مقایسه میزان بیماری پژمردگی فوزاریومی گوجه فرنگی در ارتباط با مراحل مختلف بیولوژی نماتد



شکل ۲- مقایسه میزان بیماری پژمردگی فوزاریومی گوجه فرنگی در ارتباط با مراحل مختلف بیولوژی نماتد



شکل ۳- مقایسه میزان بیماری پژمردگی فوزاریومی گوجه‌فرنگی در ارتباط با مراحل مختلف بیولوژیک نماتد

DAP= Day After Penetration

هفته و به مدت پنج هفته انجام گرفت. ارزیابی بیماری براساس معیار اندیکس برگ (۰-۱۰) انجام گرفت.

۲- پس از تلقیح گیاه با جمعیت ۲۰۰۰ به ازاء هر گیاه، ۱۵ روز بعد از نفوذ نماتد به گیاه، در روی ساقه به فواصل ۵، ۱۰، ۱۵، ۲۰، ۲۵ و ۳۰ سانتی‌متر، به طور جداگانه به عنوان تیمارهای آزمایشی، ابتدا قطره‌ای از سوسپانسیون ۱۰٪ اسپور در میلی‌لیتر قرار داده، به وسیله اسکالپل درست در زیر قطره، برشی در یکی ازدسته آوندها ایجاد شد. بعد از دو ساعت و اطمینان از جذب سوسپانسیون قارچ، محل برش به وسیله پارافیلیم پوشانده شد. شاهد در این آزمایش شامل گیاهانی بودند که به گلدان آنها نماتد تلقیح نشده بود. تعیین میزان گسترش قارچ در آوندها با استفاده از کشت‌های متوالی با فواصل یک سانتیمتر از محل زخم روی محیط کشت PDA انجام گرفت.

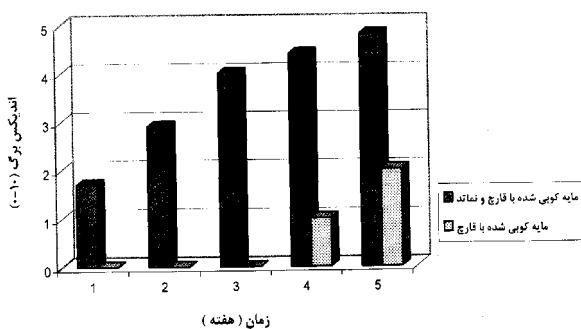
نتایج

الف: بررسی میزان بیماری پژمردگی فوزاریومی در ارتباط با مراحل بیولوژیک نماتد

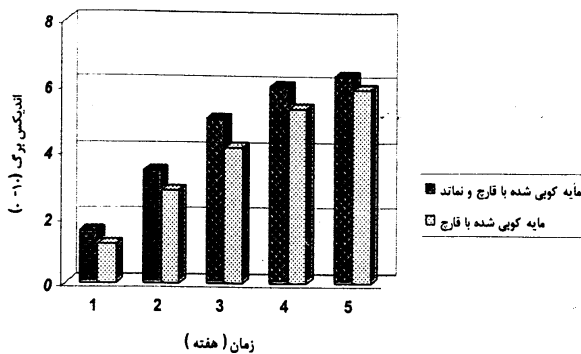
در تیمار قارچ - نماتد همزمان، علائم بیماری در گیاهان تیمار در هفته سوم به نحو قابل توجهی آغاز شد و این در حالی است که تا هفته دوم علائم بیماری در تیمار (قارچ - نماتد) با شاهد (قارچ تنها) تفاوت معنی‌داری نداشت و با توجه به اینکه در هفته سوم در گیاهان شاهد علائم بیماری ظاهر نشده بود، لذا به نظر می‌رسد که در این زمان در گیاهان تیمار، قارچ عامل بیماری مواجه با حساسیت بیشتر در گیاه در مقایسه با هفته‌های قبل شده است.

در تیمار قارچ - نماتد چهار روز بعد از نفوذ نماتد نیز، در هفته دوم علائم بیماری با شدت زیاد ظاهر شد که مقایسه آن با شاهد نشان دهنده مؤثر بودن نماتد داخل ریشه در بروز علائم قارچی است. علائم بیماری در گیاهان شاهد از هفته چهارم آغاز شد. سرعت گسترش بیماری در گیاهان تیمار قابل توجه بود. در تیمار قارچ - نماتد ۱۵ روز بعد از نفوذ نماتد نیز در همان هفته اول علائم بیماری با شدت زیاد آغاز شد و در هفته سوم که مصادف با نسل دوم و زمان حمله لاروهای جدید به ریشه نیز می‌باشد مرگ گیاه حادث شد.

گیاه موجود در گلدان دو از بین رفت. ولی در صورت عدم قطع ساقه به نظر می‌رسد به دلیل انتقال مواد غذایی از ریشه اول، گیاه تا هفته پنجم نیز دچار مرگ نگردد. نگهداری این گیاهان تا هفته هشتم در نهایت موجب مرگ گیاه گلدان دوم گردید. در گیاهان شاهد (مایه‌کوبی شده با قارچ) علائم زردی در هفته چهارم به طور محسوس ظاهر شد ولی گسترش بیماری در این گیاهان بسیار کند بود بطوریکه علیرغم نگهداری آنها تا هفته هشتم نیز علائم شدید در آنها ایجاد نشد (شکل ۷) (جدول ۵).



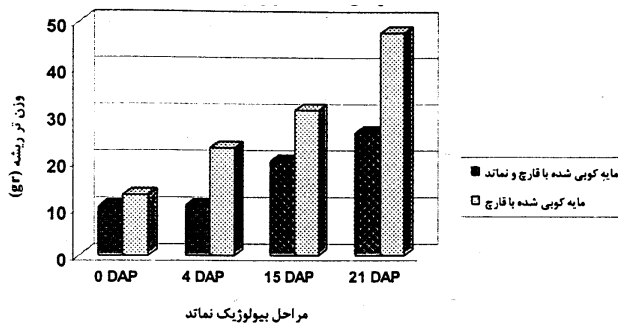
شکل ۶- بررسی امکان سیستمیک شدن حساسیت ناشی از نماتد در گیاه به قارچ به دیگر قسمت‌های ریشه



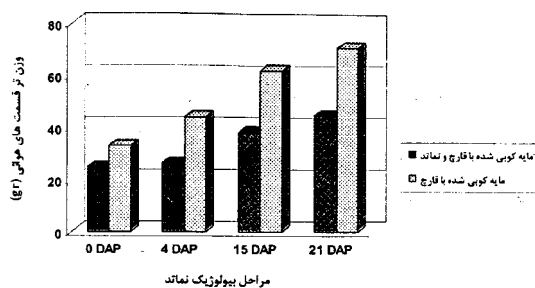
شکل ۷- بررسی امکان سیستمیک شدن حساسیت ناشی از نماتد در گیاه به قارچ در ساقه

قهوه‌ای شدن آوندها فقط در یک یا دو دسته آوند در گیاهان تیمار و شاهد آغاز و گسترش یافت ولی در گیاهان تیمار طی هفته‌های چهارم به بعد بقیه دسته‌جات آوندی نیز آلوده و قهوه‌ای شدند.

در آزمایش دو، در گیاهان تیمار (مایه‌کوبی شده با قارچ و نماتد) و شاهد (مایه‌کوبی شده با قارچ) نفوذ قارچ و گسترش آن در آوند انجام گرفت ولی سرعت و میزان انتشار قارچ در گیاهان



شکل ۴- مقایسه میزان بیماری پژمردگی فوزاریومی گوجه فرنگی در ارتباط با مراحل مختلف بیولوژی نماتد



شکل ۵- مقایسه میزان بیماری پژمردگی فوزاریومی گوجه فرنگی در ارتباط با مراحل مختلف بیولوژی نماتد

ب: بررسی امکان سیستمیک شدن حساسیت ناشی از نماتد در گیاه به قارچ، به دیگر قسمت‌های ریشه:

علائم بیماری قارچی در گیاهان تیمار (مایه‌کوبی شده با قارچ و نماتد)، با سرعت بیشتری نسبت به شاهد (مایه‌کوبی شده با قارچ) ظاهر شد. علائم بیماری در هفته اول در تیمار و شاهد ظاهر نشد. هفته دوم آغاز بروز علائم در گیاهان تیمار بود. گسترش بیماری در گیاهان تیمار طی هفته‌های سوم و چهارم به سرعت انجام گرفت. در حالیکه در گیاهان شاهد در هفته چهارم بطور محسوس زردی برگها آغاز و تا هفته پنجم اندیکس دو بود. در هفته پنجم گیاهان تیمار دچار مرگ شدند (شکل ۶) (جدول ۴).

ج: بررسی امکان سیستمیک شدن حساسیت ناشی از نماتد در گیاه به قارچ، در ساقه:

در آزمایش یک، در گیاهان تیمار (مایه‌کوبی شده با قارچ و نماتد)، طی هفته اول زردی برگها آغاز شد. سرعت گسترش بیماری طی هفته‌های دوم و سوم به حدی بود که در هفته سوم ریشه‌های موجود در گلدان دوم شدیداً آلوده و دچار نکروز شده بودند. بطوریکه با قطع ساقه حد واسط دو ریشه، ظرف چند روز

جدول ۱ - مقایسه میزان بیماری پژمردگی فوزاریومی گوجه‌فرنگی (اندیکس برگ)، در ارتباط با مراحل مختلف بیولوژی نماتد طی هفته‌های متوالی

تیما	هفته اول	هفته دوم	هفته سوم	هفته چهارم	هفته پنجم
مایه کوبی همزمان قارچ و نماتد	۰/۳ a	۰/۵ a	۳/۱ b	۵/۲ c	۸ d
مایه کوبی قارچ در مرحله تولید سلول‌های غول‌آسا	۱/۷ ab	۷/۲ d	۹/۱ dc	۹/۹ e	۱۰ e
مایه کوبی قارچ در مرحله ظهور بالغ‌های جوان	۴/۹ c	۷/۸ d	۹/۸ e	۱۰ e	۱۰ e
مایه کوبی قارچ در مرحله تخم‌گذاری نماتد	۲/۷ b	۴/۲ c	۸/۳ d	۸/۸ d	۹/۷ e

اعدادی که با حروف یکسان نشان داده شده‌اند، در سطح ۵٪ براساس آزمون دانکن اختلاف معنی‌دار ندارند. هر عدد میانگین ۱۰ تکرار است.

اندیکس برگ (۰-۱۰) شامل زردی و پژمردگی ۰-۱۰٪، زردی و پژمردگی ۱۰-۲۰٪ تا مرگ گیاه=۱۰

جدول ۲ - مقایسه میزان بیماری پژمردگی فوزاریومی گوجه‌فرنگی (اختلاف ارتفاع گیاه (cm)) در ارتباط با مراحل مختلف بیولوژی نماتد طی هفته‌های متوالی

تیما	هفته اول	هفته دوم	هفته سوم	هفته چهارم	هفته پنجم
مایه کوبی همزمان قارچ و نماتد	۳/۷ a	۷/۴ c	۱۰/۲ d	۱۱/۸ e	۱۲/۹ e
مایه کوبی قارچ در مرحله تولید سلول‌های غول‌آسا	۴/۶ ab	۶ b	۷ bc	۷/۴ c	۷/۶ c
مایه کوبی قارچ در مرحله ظهور بالغ‌های جوان	۲/۹ a	۴/۴ a	۵/۴ b	۵/۴ b	۵/۴ b
مایه کوبی قارچ در مرحله تخم‌گذاری نماتد	۴/۹ b	۷/۱ c	۸/۳ d	۸/۹ d	۸/۹ d

اعدادی که با حروف یکسان نشان داده شده‌اند، در سطح ۵٪ براساس آزمون دانکن اختلاف معنی‌دار ندارند. هر عدد میانگین ۱۰ تکرار است.

جدول ۳ - مقایسه میزان بیماری پژمردگی فوزاریومی گوجه‌فرنگی (قهوه‌ای شدن آوندها، وزن تر ریشه، وزن تر قسمت‌های هوایی) در ارتباط با مراحل مختلف بیولوژی نماتد در هفته پنجم

تیما	مایه کوبی همزمان قارچ، نماتد	مایه کوبی قارچ در مرحله تولید سلول‌های غول‌آسا	مایه کوبی قارچ در مرحله ظهور بالغ‌های جوان	مایه کوبی قارچ در مرحله تخم‌گذاری نماتد
قهوه‌ای شدن آوندها (cm)	۶/۲ a	۷/۸ ab	۱۰ c	۹/۱ c
وزن تر ریشه (gr)	۱۰/۳ a	۱۰/۴ a	۱۹/۹ b	۲۶/۲ c
وزن تر قسمت‌های هوایی (gr)	۲۴/۶ a	۲۶/۱ a	۳۸ b	۴۴/۷ c

- اعدادی که با حروف یکسان نشان داده شده‌اند، در سطح ۵٪ براساس آزمون دانکن اختلاف معنی‌دار ندارند.
- هر عدد میانگین ۱۰ تکرار است.

جدول ۴ - مقایسه میزان بیماری پژمردگی فوزاریومی گوجه‌فرنگی (اندیکس برگ) در مایه کوبی یک قسمت از ریشه با نماتد و قسمت دیگر آن با قارچ

تیما	هفته اول	هفته دوم	هفته سوم	هفته چهارم	هفته پنجم
مایه کوبی همزمان قارچ و نماتد	۱/۷ ab	۲/۹ b	۴ c	۴/۴ c	۴/۸ c
شاهد	۰ a	۰ a	۰ a	۱ a	۲ ab

اعدادی که با حروف یکسان نشان داده شده‌اند، در سطح ۵٪ براساس آزمون دانکن اختلاف معنی‌دار ندارند. هر عدد میانگین ۱۰ تکرار است.

شاهد: یک قسمت از ریشه گیاه بدون مایه کوبی، قسمت دیگر مایه کوبی با قارچ

جدول ۵ - مقایسه میزان بیماری پژمردگی فوزاریومی گوجه‌فرنگی (اندیکس برگ) در مایه‌کوبی ریشه اصلی گیاه با نماتد و مایه‌کوبی

ریشه‌های ثانویه ایجاد شده روی ساقه با قارچ					
تیما	هفته اول	هفته دوم	هفته سوم	هفته چهارم	هفته پنجم
مایه‌کوبی با قارچ و نماتد	۱/۶ ab	۳/۴b	۵ c	۶ c	۶/۳ c
شاهد	۰ a	۰ a	۰ a	۱ a	۱ a

اعدادی که با حروف یکسان نشان داده شده‌اند، در سطح ۵٪ براساس آزمون دانکن اختلاف معنی‌دار ندارند. هر عدد میانگین ۱۰ تکرار است. شاهد: ریشه اصلی بدون مایه‌کوبی، ریشه ثانویه ایجاد شده روی ساقه مایه‌کوبی با قارچ

جدول ۶ - مقایسه میزان گسترش قارچ تزریق شده به ساقه گوجه‌فرنگی پیش تیمار شده با نماتد

ارتفاع محل تزریق از طوقه گیاه (cm)						
۵	۱۰	۱۵	۲۰	۲۵	۳۰	
مایه‌کوبی با قارچ و نماتد	۱۰ c	۷ bc	۵ b	۳ a	۳ a	۲ a
شاهد	۴ b	۳ a	۳ a	۲ a	۲ a	۲ a

اعدادی که با حروف یکسان نشان داده شده‌اند، در سطح ۵٪ براساس آزمون دانکن اختلاف معنی‌دار ندارند. هر عدد میانگین ۱۰ تکرار است. شاهد: شامل گیاهانی است که فاقد آلودگی نماتدی بودند.

نماتد، با مایه‌کوبی همزمان قارچ و نماتد، اختلاف قابل توجهی دارد. علیرغم اینکه مرحله نفوذ نماتد همراه با تعداد بیشتری زخم در گیاه می‌باشد، با این وجود میزان بیماری در این مرحله به مراتب کمتر از دیگر مراحل بیولوژیک نماتد است. این موضوع مؤید این مطلب است که تشدید بیماری قارچی در حضور نماتد صرفاً به علت وجود زخم ناشی از نفوذ نماتد نمی‌باشد، بلکه تغذیه نماتد و احتمالاً القاء حساسیت ناشی از خاموش نمودن یا کاهش واکنش‌های دفاعی گیاه نقش مهمتری در این ارتباط دارد.

نتایج آزمایش‌های امکان سیستمیک شدن حساسیت ناشی از نماتد در گیاه به قارچ، در دیگر قسمت‌های گیاه نشان دهنده این است که عامل القاء حساسیت ناشی از نماتد، علاوه بر محل حضور نماتد، می‌تواند به دیگر قسمت‌های گیاه، اعم از ریشه و حتی ساقه نیز سیستمیک شود. القاء حساسیت در ریشه‌ها به مراتب بیشتر از ساقه‌ها می‌باشد. از طرف دیگر هرچه از منطقه حمله نماتد دورتر شویم، القاء حساسیت نیز کاهش می‌یابد (شکل ۶) (جدول ۴). پیشنهادی که در این زمینه وجود دارد این است که فعالیت نماتد در گیاه به ویژه تغذیه آن، احتمالاً منجر به کاهش واکنش‌های دفاعی گیاه در مقابل نماتد و دیگر پاتوژن‌های ثانویه می‌شود، که می‌تواند ناشی از تولید یا القاء تولید مواد خاموش کننده یا کاهش دهنده واکنش‌های دفاعی

تیمار در فواصل ۵، ۱۰ و ۱۵ سانتیمتر با سرعت بیشتر نسبت به فواصل بالاتر در مقایسه با گیاهان شاهد اتفاق افتاد (شکل ۸) (جدول ۶).

بحث

نتایج آزمایش‌های انجام شده علاوه بر تأیید تشدید بیماری قارچ فوزاریوم عامل پژمردگی آوندی گوجه‌فرنگی در حضور نماتد مولد گره، که با نتایج دیگران (۹،۸،۶،۴،۳،۲،۱) مشابهت دارد، روشن کننده نکات زیر در این ارتباط متقابل بین نماتد و قارچ می‌باشد. در آزمایش بررسی میزان بیماری پژمردگی فوزاریوم در ارتباط با مراحل بیولوژیک نماتد، روند بیماری و سرعت گسترش بیماری طی هفته‌های متوالی و تناسب آن با بیولوژی نماتد (اشکال ۵،۴،۳،۲،۱) نشان دهنده این است که ۱۵ روز بعد از نفوذ نماتد به ریشه که مصادف با ظهور بالغ‌های جوان می‌باشد، بیماری قارچی شدیدتر از دیگر مراحل بیولوژیک نماتد ایجاد می‌شود. این موضوع در ارزیابی‌های اندیکس برگ، اختلاف ارتفاع گیاه و میزان قهوه‌ای شدن آوندها با وضوح بیشتری قابل تفکیک است.

همان طور که در (جدول ۱، ۲ و ۳) قابل مشاهده است، میزان بیماری پژمردگی فوزاریومی در ارتباط با مراحل بیولوژیک تولید سلول‌های غول‌آسا، ظهور بالغ‌های جوان و تخم‌گذاری

گیاه باشد.

نتایج آزمایش‌های بررسی امکان سیستمیک شدن حساسیت در قسمتهای دیگر ریشه و ساقه، نشان دهنده این است که واکنش‌های دفاعی گیاه در مقابل قارچ فوزاریوم عامل پژمردگی در اثر حمله نماتد کاهش می‌یابد. عامل القاء حساسیت در گیاه در ریشه و ساقه سیستمیک می‌شود. القاء حساسیت در ناحیه

ریشه بیشتر از ساقه بوده و هر چه از منطقه حمله نماتد دورتر شویم القاء حساسیت نیز کاهش می‌یابد. براساس نتایج به دست آمده از این آزمایشها پیشنهاد می‌شود که القاء حساسیت احتمالا ناشی از خاموش شدن یا کاهش واکنش‌های دفاعی گیاه می‌باشد و احتمالا القاء حساسیت ناشی از تغذیه نماتد یا مواد محرک ناشی از نماتد می‌باشد شکل (۸،۷) (جدول ۶ و ۵).

REFERENCES

1. Abawi, G. S. & K. R. Barker. 1984. Effects of cultivar, soil temperature, and population levels of *Meloidogyne incognita* on root necrosis and Fusarium wilt of tomatoes. *Phytopathology* 74: 433-438.
2. Cauquil, J. & R. L. Shepherd. 1970. Effect of root-knot nematode fungi combinations on cotton seedling disease. *Phytopathology* 60: 448-451.
3. Davis, R. A. & W. R. Jenkins. 1963. Effects of *Meloidogyne* spp. And *Tylenchorhynchus claytoni* on pea wilt incited by *Fusarium oxysporum* f. sp. *pisi* race 1. *Phytopathology* 53: 754 (Abstr).
4. DeVay, J. E., A. P. Gutierrez, & P. A. Roberts. 1997. Inoculum densities of *Fusarium oxysporum* f. sp. *Vasinfestum* and *Meloidogyne incognita* in relation to the development of Fusarium wilt and the phenology of cotton plants (*Gossypium hirsutum*). *Phytopathology* 87: 341-346.
5. Fattah, F. & J. M. Webster. 1983. Ultrastructural changes caused by *Fusarium oxysporum* f. sp. *lycopersici* in *Meloidogyne javanica* induced giant cells in Fusarium: resistance and susceptible tomato cultivars. *J. of Nematol.* 15: 128-135.
6. Griffin, G. D. 1986. The importance of nematode resistance on the interaction of *Meloidogyne hapla* and *Fusarium oxysporum* on alfalfa. *Phytopathology* 76: 843 (Abstr.).
7. Hussey, R. S. & K. R. Barker. 1973. A comparison of methods of collecting inocula of *Meloidogyne* spp., including a new technique. *Plant Dis. Rep.* 75: 1025-1028.
8. Kroon. B. M. & D. M. Elgersma. 1993. Interactions between race2 of *Fusarium oxysporum* f. sp. *lycopersici* and near-isogenic resistant and susceptible lines of intact leaf disks. *Phytopathology* 82: 696-699.
9. Mai, W. F. & G. S. Abawi. 1987. Interactions among root-knot nematodes and Fusarium wilt fungi on host plants. *Ann. Rev. Phytopathol.* 25: 317-338.
10. Ogallo, J. L. & M. A. McClure. 1996. Systemic acquired resistance and susceptibility to root-knot nematodes in tomato. *Phytopathology* 86: 498-501.
11. Porter, D. M. & N. T. Powell. 1967. Influence of certain *Meloidogyne* species on Fusarium wilt development influenced tobacco. *Phytopathology* 57: 282-285.
12. Powell. N. T. 1971. Interactions between nematode and fungi in disease complexes. *Ann. Rev. Phytopathol.* 9: 253-274.
13. Schindler, A. F., R. N. Stewart, & P. Semeniuk, 1961. A synergistic Fusarium-nematodes interaction in carnation. *Phytopathology* 51: 143-146.
14. Walker, J. C. 1981. Fusarium wilt of tomato. *The American phytopathological society.*

A Study of the Relationship between Biology Stages of Root-Knot Nematode (*Meloidogyne javanica*) and Fusarium (*Fusarium oxysporum* f. sp. *lycopersici*) Wilt Disease Severity on Tomato and Probability of Translocation of the Factor that Predisposes the Plant to the Fungus.

**N. SAHEBANI¹, J. ZAD², A. SHARIFI-TEHRANI³, A. KHEIRI⁴
AND M. MOHAMMADI⁵**

**1, 2, 3, 4, 5, Ph. D. Student, Professors, Associate and Assistant Professor,
Faculty of Agriculture, Univeristy of Tehran, Karaj, Iran**

Accepted. Oct. 14, 2003

SUMMARY

This research was conducted to study the interaction between root-knot nematode *Meloidogyne javanica* and tomato Fusarium wilt *Fusarium oxysporum* f. sp. *lycopersici* to show the effect of nematode biology stages on severity of tomato Fusarium disease and probability of translocation of susceptibility, to fungus, caused by nematode, to the other parts of the plant. Results indicated that 15 days after penetration of nematode (young adult stage), in comparison to other stages, induced more susceptibility to Fusarium. Four, as well as 21 days after penetration also induced susceptibility to Fusarium, but no significant differences were observed between them. In this research it was also found that susceptibility caused by nematode to Fusarium can be transferred to other parts of the plant such as root and stem. Disease symptom was exhibited in these parts, in comparison to control (without nematode inoculation), with a significant difference. The traits studied were leaf index (0-10), xylem browning, root fresh weight as well as fresh weight of plant aerial parts.

Key words: Interaction, Root knot nematode, Tomato Fusarium wilt, Disease synergism.