Iranian Journal of Plant Protection Science
Vol 53, No 1, Spring and Summer 2022 (109-117)
DOI: 10.22059/IJPPS.2022.336213.1006991

دانش گیاهپزشکی ایران
دورۀ ۵۳، شمارۀ ۱، بهار و تابستان ۱۴۰۱ (ص۱۱۷-۱۰۹)مقاله پژوهشی

بررسی برخی راه‌کارهای غیرشیمیایی مهار نماتد ریشه‌گرهی *Meloidogyne incognita* در فلفل سبز در شرایط گلخانه

معصومه صحتی [۱]، سالار جمالی [۲*] و سید محسن نساج حسینی [۳]
۱، ۲. دانش آموخته کارشناسی ارشد و دانشیار گروه گیاهپزشکی، دانشکده علوم کشاورزی، دانشگاه گیلان، رشت، ایران
۳. عضو هیئت علمی سازمان جهاد دانشگاهی گیلان، رشت، ایران

(تاریخ دریافت: ۱۴۰۰/۱۰/۰۶- تاریخ پذیرش:۱۴۰۱/۰۴/۱۴)

چکیده

در این پژوهش اثر کود مرغی، ورمی‌کمپوست، پودر غنی‌شده مایکوریز، مایع ورمی‌واش، مایع دارای میکروارگانیسم‌های مؤثر و نماتدکش راگبی گرانول ۱۰٪ بر کاهش خسارت نماتد ریشه‌گرهی ***Meloidogyne incognita*** و بهبود رشد گیاه فلفل قلمی بررسی شده است. نماتد از ریشه‌های آلوده فلفل در مزارع آستانه اشرفیه جمع‌آوری شد. پس از جداسازی، خالص‌سازی و تکثیر نماتد روی گوجه‌فرنگی رقم ارلی‌اوربانا، گونه آن تعیین گردید. آزمون به صورت طرح کاملاً تصادفی با چهار تکرار روی فلفل قلمی رقم حساس دیماز در طی دو مرحله در شرایط گلخانه با دمای ۳°C ± ۲۵ درجه سلسیوس انجام شد. گیاهان در مرحله شش برگی با جمعیت ۴۰۰۰ تخم و لارو سن دوم مایه‌زنی شدند. بعد از گذشت دو ماه، شاخص‌های نماتد شامل تعداد گال، کیسه‌ی تخم و تخم‌ها در ریشه، تعداد لارو سن دوم درون خاک و فاکتور تولیدمثل، هم‌چنین شاخص‌های رشدی گیاه شامل وزن تر و خشک ریشه، طول و حجم ریشه، وزن تر و خشک اندام هوایی، طول اندام هوایی، تعداد گل و تعداد میوه بررسی گردید. نتایج نشان داد که تمامی تیمارها نسبت به شاهد دارای اختلاف معنی‌دار بوده و سبب کاهش تعداد گال و جمعیت نماتد شدند. بهترین تیمار جهت مهار نماتد کود مرغی و مؤثرترین تیمار برای افزایش شاخص‌های رشدی گیاه، مایه‌زنی با مایکوریز بود. اثرات مثبت راه‌کارهای دوستدار طبیعت در مهار نماتد ریشه‌گرهی می‌تواند نویدبخش جایگزینی با سموم مخرب شیمیایی و اتخاذ روش‌های پایدار در مدیریت نماتدهای انگل گیاهی باشد.

واژه‌های کلیدی: مایکوریز، مدیریت، نماتد ریشه‌گرهی، ورمی‌کمپوست.

Investigation of some non-chemical approaches to control the root-knot nematode *Meloidogyne incognita* on pepper under greenhouse conditions

Masoumeh Sehati[1], Salar Jamali[2*] and Sayed Mohsen Nassaj Hosseini[3]
1, 2. Former M.Sc. Student and Associate Professor, Department of Plant Protection, Facculty of Agricultural Sciences, University of Guilan, Rasht, Iran
3. Academic staff, Academic Center of Education, Culture and Research, Rasht. Iran
(Received: Dec, 27, 2021- Accepted: Jul, 5, 2022)

ABSTRACT

In this study, the effects of poultry manure, vermicompost, enriched mycorrhizal powder, vermicompost liquid, effective microorganism's liquid and Rugby nematicide 10% G on reducing the damage of the root-knot nematode *Meloidogyne incognita* and on improving plant growth of cayenne pepper has been investigated. The nematode was collected from infected pepper roots in Astana Ashrafieh fields. After isolation, the nematode was reared on tomato (cv. Early Urbana) and identified. The experiment was conducted as a completely randomized design with four replicates on the susceptible cayenne pepper cultivar (Dimaz) in two turns at 25 ± 3°C under greenhouse conditions. Plants were inoculated at the six-leaf stage with a population of 4000 eggs and second-stage juveniles (J2s). After two months, nematode indices including number of galls, egg sacs, eggs per root, J2s in soil and reproduction factor, and plant growth indices (fresh and dry weight of roots, root length and volume, fresh and dry weight of shoots, shoot length, number of flowers and number of fruits) were recorded. The results showed that all treatments significantly reduced the number of galls and nematode population compared to the control. The best treatment for nematode control was poultry manure and the most effective treatment for increasing plant growth indices was mycorrhiza. The positive effect of nature-friendly strategies in controlling the root-knot nematode could be a promising substitute for destructive chemical nematicides and a sustainable strategy for managing plant-parasitic nematodes.

Keywords: mycorrhiza, management, root-knot nematode, vermicompost.

* Corresponding author E-mail: jamali_s2002@yahoo.com

مقدمه

فلفل با نام علمی *Capsicum annuum* L.، یکی از محصولات کشاورزی قابل‌کشت در فضای آزاد و گلخانه است که دارای رقم‌های مختلف می‌باشد (Rice *et al*., 1990). بیمارگرهای قارچی، ویروسی و باکتریایی، هم‌چنین نماتدی انگل گیاهی از مهم‌ترین عواملی هستند که بر تولید فلفل در سراسر جهان تأثیر می‌گذارند. نماتدهای ریشه‌گرهی (*Meloidogyne* spp.) ازجمله نماتدهای بیمارگر گیاهی فلفل هستند (Pegard *et al*., 2005). گونه‌های مختلف این نماتد به لحاظ اقتصادی حائز اهمیت بوده و خسارت قابل‌توجهی به محصولات کشاورزی وارد می‌کنند. در این میان، گونه *M. incognita* از مخرب‌ترین و رایج‌ترین گونه‌ها محسوب می‌شود (Azeem *et al*., 2021). به دلیل دامنه میزبانی وسیع و حضور نماتد در داخل بافت و محیط اطراف ریشه، مهار آن همواره با محدودیت‌هایی همراه است (Kim *et al*., 2017). تاکنون روش‌های مختلفی برای مهار این نماتد پیشنهاد شده است. در این خصوص، حرارت دادن خاک با بخار آب، ضدعفونی کردن با نماتدکش‌های تدخینی، کاشت نشاء سالم در خاک عاری از نماتد، عملیات زراعی مانند آیش زمین، رعایت تناوب زراعی، آفتاب‌دهی خاک، افزودن مواد آلی به خاک، کاشت ارقام مقاوم، کاربرد عصاره‌های گیاهی و مهار زیستی ازجمله روش‌های توصیه‌شده برای مدیریت این نماتد هستند (Santana-Gomes *et al*., 2013; Agrios, 2005).

با وجود مؤثر بودن نماتدکش‌های شیمیایی، مضرات فراوان کاربرد آن‌ها باعث شده است که جایگزینی آن‌ها با روش‌های زیستی اهمیت بیشتری یابد. مهار زیستی از طریق به‌کارگیری انواع مختلف باکتری‌ها، قارچ‌ها و نماتدهای شکارگر امکان‌پذیر می‌باشد (Peiris *et al*., 2020). استفاده از اصلاح‌کننده‌های آلی از قبیل کود سبز، کود حیوانی و کمپوست مؤثر شناخته شده است. نشان داده شده است که استفاده از کود مرغی باعث کاهش جمعیت نماتد ریشه‌گرهی *M. incognita* در چهار رقم فلفل دلمه‌ای شده است (Nwanguma *et al*., 2011). بررسی اثر قارچ‌های مایکوریز روی رشد گوجه‌فرنگی و کاهش خسارت نماتد ریشه‌گرهی نشان داد که قارچ‌های مایکوریز باعث افزایش رشد و هم‌چنین به حداقل رساندن خسارت نماتد ریشه‌گرهی *M. incognita* شدند (Liu *et al*., 2012). در مطالعه‌ای دیگر استفاده از *Bacillus subtilis*، *Glomus mosseae* و *Trichoderma harzianum*، علاوه بر مهار نماتد باعث افزایش شاخص‌های رشدی گیاه شده است (Sohrabi *et al*., 2020). استفاده از فرآورده‌های کرم خاکی (*Aisenia fetida*) باعث مهار مطلوب نماتد ریشه‌گرهی *M. javanica* در خیار، کاهش تفریخ تخم و افزایش مرگ‌ومیر لاروهای سن دو نماتد در شرایط آزمایشگاهی شده است (Rostami and Olia, 2016). هدف از انجام تحقیق حاضر، بررسی اثر برخی ترکیبات و مواد اصلاحی روی مهار نماتد ریشه‌گرهی فلفل سبز در شرایط گلخانه بوده است.

مواد و روش‌ها

از خاک و ریشه آلوده به نماتد ریشه‌گرهی، در مزارع فلفل شهرستان آستانه اشرفیه استان گیلان نمونه‌برداری شد. پس از شستشوی ریشه‌های آلوده، استخراج نماتد انجام گرفت. برای رنگ‌آمیزی نماتد ماده درون بافت ریشه‌های تازه خردشده، از لاکتوفنل شامل ۲۰ گرم فنل، ۲۰ گرم اسیدلاکتیک، ۴۰ گرم گلیسیرین، ۲۰ میلی‌لیتر آب مقطر به همراه ۵ میلی‌لیتر محلول اسیدفوشین ۱٪ و حرارت دادن روی چراغ الکلی استفاده گردید (Southey, 1970). به منظور تعیین جمعیت نماتد درون خاک، با استفاده از روش سینی (Whitehead and Hemming, 1965) لاروهای سن دوم نماتد استخراج و به تشتک پتری شمارش منتقل گردید و شمارش جمعیت با استفاده از استرئومیکروسکپ انجام گرفت. پس از شستن ریشه‌ها، نماتد با روش تک کیسه تخم روی گوجه‌فرنگی رقم حساس ارلی‌اوربانا درون گلدان‌های سترون‌شده با محلول ۰/۵٪ هیپوکلریت سدیم (۱۰ میلی‌لیتر ماده سفیدکننده تجارتی با ۵٪ ماده مؤثر همراه با ۹۰ میلی‌لیتر آب)، حاوی دو کیلوگرم خاک سترون تکثیر گردید. خاک در دمای ۱۲۱°C و فشار ۱/۵ اتمسفر به مدت ۳۰ دقیقه سترون شد. نشاءهای گوجه‌فرنگی در مرحله شش برگی مایه‌زنی شده و به مدت ۶۰ روز در شرایط گلخانه در دمای ۴°C ± ۲۵ نگهداری گردید (Hussey and Barker, 1973). پس از تشکیل گال و استخراج نماتد ماده، بررسی شبکه کوتیکولی انتهای بدن و شناسایی لاروهای سن دوم طبق روش‌های تایلور و نتشر (Taylor and Netscher, 1974) و جپسون (Jepson, 1987) صورت گرفت. جمعیت نماتد

مورد نیاز با روش هوسی و بارکر تهیه (Hussy and Barker, 1973) و محاسبه لارو و تخم در سوسپانسیون انجام گردید (Mc Clure *et al*., 1973).

به منظور انجام آزمایشات گلخانه‌ای، ابتدا بذر فلفل قلمی رقم دیماز در سینی نشاء کشت داده شد. سپس گیاهچه‌ها در مرحله دو تا چهار برگی به گلدان‌های حاوی دو کیلوگرم خاک شنی لومی (۶۲٪ شن، ۱۷٪ سیلت، ۲۱٪ رس) سترون منتقل شدند. خاک مورد نیاز، به وسیله اتوکلاو در دمای ۱۲۱°C و فشار ۱/۵ اتمسفر به مدت ۳۰ دقیقه سترون شد. گیاهچه‌ها در مرحله چهار تا شش برگی با ۴۰۰۰ تخم و لارو سن دوم نماتد به ازای هر گلدان دو کیلوگرمی مایه‌زنی شدند. تیمار شاهد توسط آب مقطر مایه‌زنی گردید. تمامی تیمارها در تمام طول مدت آزمایش در شرایط کنترل‌شده گلخانه شامل ۱۶ ساعت روشنایی، هشت ساعت تاریکی و دمای ۴°C ± ۲۵ و رطوبت مورد نیاز از طریق آبیاری دو روز یک‌بار تأمین گردید. تیمارهای آزمایش به شرح زیر بود:

۱- کود مرغی سالنی پوسیده به میزان ۵٪ حجمی همراه با مایه‌زنی نماتد و بدون آن، هم‌زمان با انتقال خاک به گلدان (Nwanguma *et al*., 2011)

۲- ورمی‌کمپوست به میزان ۱۰٪ حجمی همراه با مایه‌زنی نماتد و بدون آن، هم‌زمان با انتقال خاک به گلدان (Rostami and Olia, 2016)

۳- ورمی‌واش، همراه با آب آبیاری (۱۰٪ حجمی آب) همراه با مایه‌زنی نماتد و بدون آن، یک‌بار در هفته

۴- مایع Effective Microorganism، شامل باکتری‌های اسیدلاکتیک، مخمرها و باکتری‌های فتوسنتزکننده همراه با آب آبیاری (۴٪ حجمی آب) با مایه‌زنی نماتد و بدون آن، بعد از نشاء کردن هر ده روز یک‌بار (Shokouhian *et al*., 2019)

۵- پودر غنی‌شده حاوی مایکوریز، شامل گونه‌های *Funneliformis mosseae*، *F. caledonius*، *Rhizophagus iranicus*، *R. irregularis* و *R. intraradices*، به نسبت ۲٪ وزنی با مایه‌زنی نماتد و بدون آن، قبل از انتقال نشاء

۶- نماتدکش راگبی یا کادوزافوس با فرمولاسیون گرانول ۱۰٪ (Rugbi 10 G) به میزان پنج گرم برای هر بوته، چهار هفته پس از مایه‌زنی نماتد

۷- شاهد مثبت: گیاه مایه‌زنی‌شده با نماتد

۸- شاهد منفی: گیاه بدون نماتد

این تحقیق در قالب طرح کاملاً تصادفی با ۱۳ تیمار و چهار تکرار در طی دو مرحله، روی فلفل قلمی رقم حساس دیماز در شرایط گلخانه انجام گرفت. گیاهان مورد آزمون پس از دو ماه نگهداری در شرایط گلخانه با دمای ۴°C ± ۲۵، جهت بررسی شاخص‌ها شامل تعداد گال، تعداد کیسه تخم، تعداد تخم و لارو سن دوم در ریشه، تعداد لارو سن دوم درون خاک و محاسبه فاکتور تولیدمثل به آزمایشگاه منتقل شدند. بعد از خارج کردن ریشه‌ها از خاک و مشاهده گال و کیسه تخم، ریشه‌ها رنگ‌آمیزی (Southey, 1970) و تعداد گال و کیسه تخم در یک گرم ریشه با استفاده از استرئومیکروسکپ شمارش شدند. شمارش تخم و لارو سن دوم ریشه به روش مک‌کلور و همکاران (Mc Clure *et al*., 1970) با استفاده از تشتک پتری شمارش انجام شد و به کل ریشه تعمیم یافت. نماتدهای موجود در ۲۵۰ گرم خاک با استفاده از روش سینی و با گذشت زمان ۴۸ ساعت استخراج و به کمک تشتک پتری مدرج شمارش شدند (Goodey, 1957). فاکتور تولیدمثل از تقسیم جمعیت نهایی (شامل جمعیت تخم و لارو درون ریشه و لارو سن دوم درون خاک) بر جمعیت اولیه محاسبه گردید (Oostenbrink, 1966). هم‌چنین بررسی ویژگی‌های رشدی گیاه شامل وزن تر و خشک ریشه، وزن تر و خشک اندام‌های هوایی، طول و حجم ریشه، طول ساقه، تعداد گل و تعداد میوه در تیمارهای مختلف اندازه‌گیری شد.

تجزیه‌وتحلیل آماری داده‌های به‌دست‌آمده در قالب طرح کاملاً تصادفی به کمک نرم‌افزار SAS و به رویه مدل خطی عمومی (GLM) انجام گرفت. لازم به ذکر است که جهت تجزیه‌وتحلیل تعداد لارو و تخم درون ریشه، هم‌چنین تعداد لارو سن دوم درون خاک و جمعیت نهایی نماتد، تبدیل داده‌ها به صورت لگاریتم انجام شد. برای مقایسه‌ی میانگین تیمارها در صفات موردنظر از آزمون توکی در سطح ۵٪ و جهت رسم نمودارها از نرم‌افزار Excel 2013 استفاده گردید.

یافته‌ها

بر اساس مشخصات ریخت‌شناسی و ریخت‌سنجی لاروهای سن دوم و شبکه کوتیکولی انتهای بدن ماده‌ها، گونه نماتد مورد مطالعه، *M. incognita* تشخیص داده شد (Jepson, 1987).

با انجام تجزیه مرکب، اثر دو مرحله آزمون روی تیمارها معنی‌دار نبود، بنابراین نتایج به صورت جداگانه برای هر مرحله مورد بررسی قرار گرفت. تجزیه واریانس شاخص‌های آلودگی به نماتد شامل تعداد گال و کیسه تخم در گرم ریشه، تعداد تخم و لارو سن دوم در ریشه، تعداد لارو سن دوم خاک، جمعیت نهایی و فاکتور تولیدمثل طی دو مرحله آزمایش، نشان داد که اختلاف معنی‌داری بین تیمارهای مختلف در سطح احتمال ۱٪ وجود دارد. در هر دو مرحله، بیش‌ترین تعداد گال در هر گرم ریشه در شاهد مثبت مشاهده شد. مایه‌زنی مایکوریز نسبت به بقیه تیمارها تأثیر اندکی در کاهش تعداد گال در هر گرم ریشه داشت ولی در مقایسه با شاهد مثبت، دارای اختلاف و در مرحله دوم حتی این اختلاف معنی‌دار بود. از سوی دیگر، استفاده از نماتدکش راگبی بیش‌ترین اثر را در کاهش تعداد کیسه تخم نسبت به سایر تیمارها از خود به‌جای گذاشت. سایر تیمارها شامل کود مرغی، مایع EM، ورمی‌کمپوست و ورمی‌واش به ترتیب بیش‌ترین تأثیر را در خصوص داشتند. به‌طورکلی، نتایج حاصل از بررسی تعداد کیسه تخم در هر گرم ریشه، تعداد تخم و لارو سن دوم در هر گرم ریشه، تعداد لارو سن دوم در ۲۵۰ گرم خاک، جمعیت نهایی و فاکتور تولیدمثل، از روند نتایج تعداد گال تبعیت نمود. ازآنجایی‌که فاکتورهای ذکرشده در تیمارها نسبت به شاهد مثبت کمتر بود، تمامی تیمارها توانایی کاهش تکثیر نماتد را دارا بودند، اما بیش‌ترین تأثیر در تیمار کود مرغی و کم‌ترین آن در تیمار مایکوریز مشاهده شد (جداول ۱ و ۲).

جدول ۱. مقایسه میانگین شاخص‌های تولیدمثلی نماتد ریشه‌گرهی *Meloidogyne incognita* در گیاهان فلفل آلوده در تیمارهای مختلف (آزمایش اول)

Table 1. Mean comparison of reproductive indices of the root-knot nematode *Meloidogyne incognita* in the infected pepper plants in different treatments (first trial)

Treatments	Reproduction Factor	Final population	Total J2s/pot soil	Eggs and J2s/root	Egg masses/root	Galls/root
Control	4^{a}	16000^{a}	6880^{a}	9120^{a}	45.75^{a}	65.25^{a}
Poultry manure	1.65^{d}	6600^{c}	3052^{c}	3548^{c}	13.5^{cd}	25^{b}
Vermicompost	2.07^{bcd}	8280^{bc}	3710^{bc}	4570^{bc}	15.75^{cd}	29.5^{b}
Vermiwash	2.26^{bc}	9040^{b}	4143^{b}	4897^{b}	22.5^{c}	39.75^{ab}
Rugby 10%	0.76^{e}	3040^{d}	1362^{d}	1778^{d}	8.5^{d}	22.25^{b}
Mycorrhiza	2.46^{b}	9840^{b}	4345^{b}	5495^{b}	33^{b}	48.25^{ab}
Effective microorganism fluid	1.89^{cd}	7560^{bc}	3392^{bc}	4168^{bc}	15.25^{d}	27.25^{b}

حروف متفاوت در هر ستون، نشان‌دهنده‌ی وجود اختلاف معنی‌دار می‌باشند (P<۰/۰۵).

Different letters in each column indicate a significant difference (P<0.05)

جدول ۲. مقایسه میانگین شاخص‌های تولیدمثلی نماتد ریشه گرهی *Meloidogyne incognita* در گیاهان فلفل آلوده در تیمارهای مختلف (آزمایش دوم)

Table 2. Mean comparison of reproductive indices of the root-knot nematode *Meloidogyne incognita* in the infected pepper plants in different treatments (second trial)

Treatment	Reproduction Factor	Final population	Total J2s/pot soil	Eggs and J2s/root	No. egg masses/root	No. galls/root
Positive control	4.09^{a}	16360^{a}	7448^{a}	8912^{a}	44.25^{a}	58.25^{a}
Poultry manure	1.7^{c}	6800^{d}	3085^{d}	3715^{c}	12.75^{d}	23.25^{b}
Vermicompost	2.01^{c}	8040^{cd}	3675^{cd}	4365^{c}	14.75^{cd}	26.5^{b}
Vermiwash	2.22^{c}	8880^{c}	4310^{bc}	4570^{c}	20.5^{c}	34.75^{ab}
Rugby 10%	0.75^{d}	3000^{e}	1181^{e}	1819^{d}	8.25^{d}	21^{b}
Mycorrhiza	2.9^{b}	11600^{b}	5144^{b}	6456^{b}	32.5^{b}	41.75^{ab}
Effective microorganism fluid	1.8^{c}	7200^{d}	3219^{d}	3981^{c}	13.75^{d}	25.5^{a}

حروف متفاوت در هر ستون، نشان‌دهنده‌ی وجود اختلاف معنی‌دار می‌باشند (P<۰/۰۵).

Different letters in each column indicate a significant difference (P<0.05)

تجزیه واریانس داده‌ها نشان داد که از نظر وزن تر و خشک ریشه، وزن تر و خشک ساقه، طول و حجم ریشه، طول ساقه، تعداد گل و میوه، اختلاف معنی‌داری بین تیمارها در هر دو مرحله وجود دارد. بر اساس مقایسه میانگین‌ها، بیش‌ترین وزن تر و خشک ریشه به ترتیب متعلق به تیمار مایکوریز و مایکوریز به همراه نماتد بود (جداول ۳ و ۴). به استثنای این دو تیمار، سایر تیمارها از وزن تر ریشه کمتری نسبت به شاهد مثبت (با نماتد) برخوردار بودند. در سطوح پایین‌تر، به ترتیب تیمار شاهد مثبت و تیمار ورمی‌واش به همراه نماتد، بیش‌ترین وزن تر ریشه را داشتند. ورمی‌واش، مایع EM و ورمی‌کمپوست با نماتد بعد از تیمارهای ورمی‌کمپوست، کود مرغی، دارای بیش‌ترین وزن تر ریشه بودند و از این نظر اختلاف معنی‌داری با یکدیگر نداشتند (P>۰/۰۵). سه تیمار راگبی با نماتد، کود مرغی با نماتد و مایع EM با نماتد، به ترتیب کم‌ترین وزن تر ریشه بعد از تیمار شاهد منفی (بدون نماتد) را به خود اختصاص دادند. تیمار راگبی در هر دو مرحله کم‌ترین مقدار وزن تر ریشه را به خود اختصاص داد و تیمار کود مرغی به همراه نماتد و مایع EM به همراه نماتد نیز عملکرد مشابهی با راگبی داشتند. بیش‌ترین وزن تر و خشک ساقه متعلق به تیمارهای مایکوریز، ورمی‌کمپوست و کود مرغی بود (جداول ۳ و ۴). این مقادیر از شاهد منفی بیش‌تر بوده و نشان‌دهنده آن است که تیمارهای مذکور از توانایی بهبود رشد اندام هوایی گیاه برخوردارند. دراین‌بین، شاهد مثبت از کم‌ترین مقدار وزن تر ساقه برخوردار بود. بیش‌ترین طول ریشه به ترتیب متعلق به تیمارهای مایکوریز، ورمی‌کمپوست و کود مرغی و بیش‌تر از شاهد منفی بود. شاهد مثبت کم‌ترین طول ریشه را طی هر دو مرحله نشان داد. بیش‌ترین حجم ریشه به ترتیب در تیمارهای مایکوریز، مایکوریز به همراه نماتد و شاهد مثبت (افزایش حجم ریشه به دلیل آلودگی به نماتد) مشاهده شد. کم‌ترین حجم ریشه طی هر دو مرحله، مربوط به تیمار راگبی بود که مقادیر نزدیک به شاهد منفی داشت. تیمارهای بدون نماتد نیز حجم ریشه بیشتری نسبت به شاهد منفی نشان دادند.

جدول ۳. مقایسه میانگین شاخص‌های رشدی گیاهان فلفل سالم و آلوده به نماتد ریشه‌گرهی *Meloidogyne incognita* در تیمارهای مختلف (آزمایش اول)

Table 3. Mean comparison of growth indices of uninfected pepper plants and plants infected with the root-knot nematode *Meloidogyne incognita* in different treatments (first trial)

Treatment	Fresh root weight (g)	Dry root weight (g)	Fresh shoot weight (g)	Dry shoot weight (g)	Root length (cm)	Stem length (cm)	Root volume (cm^3)	Number of flowers	Number of fruit
Control-Nematode	10.6^{g}	2.35^{f}	71^{cd}	14.3^{cd}	29^{def}	93^{cde}	10.62^{g}	9^{d}	6.75^{cde}
Positive control	17.12^{bc}	3.75^{bc}	52.47^{g}	10.57^{g}	20.75^{h}	86.75^{f}	17.12^{bc}	5.75^{e}	4^{e}
Poultry manure with nematode	12.44fg	2.72^{f}	68.57^{de}	13.8^{de}	27.75^{efg}	90.25^{ef}	12.37^{fg}	9.75^{cd}	7.25^{bcd}
Poulty manure without nematode	15.17^{cd}	3.42^{cd}	80.27^{a}	16.17^{a}	33^{bc}	100.75^{a}	15.25^{cd}	11.5^{bc}	9^{abc}
Vermicompost with nematode	14.62^{de}	3.2^{de}	69.77^{cde}	$14..05^{cde}$	27.5^{efg}	98^{a}	14.75^{de}	9.25^{cd}	5.75^{de}
Vermicompost without nematode	15.5^{cd}	3.37^{cd}	80.52^{a}	16.22^{a}	34.5^{ab}	107.5^{b}	15.62^{cd}	13^{ab}	10.25^{ab}
Vermiwash with nematode	16.17^{bcd}	3.57^{bcd}	61.8^{f}	12.45^{f}	25.25^{g}	9.25^{ef}	16.25^{bcd}	9^{d}	6.25^{cde}
Vermiwash without nematode	14.9^{d}	3.25^{de}	77.47^{ab}	15.57^{ab}	32^{bcd}	100^{b}	14.87^{d}	10.25^{cd}	7.25^{bcd}
Rugby 10%	11.6^{fg}	2.52^{f}	66.97^{def}	13.47^{def}	26.5^{fg}	90^{ef}	11.62^{fg}	8.75^{d}	6^{cde}
Mycorrhiza with nematode	18^{ab}	3.95^{ab}	70.45^{cd}	14.17^{cd}	30^{cde}	92^{de}	8.12^{ab}	9.25^{cd}	5.5^{de}
Mycorrhiza without nematode	19.52^{a}	4.32^{a}	82.72^{a}	16.67^{a}	36.75^{a}	110.5^{a}	19.62^{a}	14.25^{a}	11^{a}
Effective microorganism fluid with nematode	12.72^{fe}	2.8^{ef}	64.5^{f}	13^{ef}	26.5^{fg}	89.5^{ef}	12.78^{ef}	8.25^{d}	5^{de}
Effective microorganism fluid without nematode	14.82^{d}	3.25^{de}	74.5^{bc}	15^{bc}	29.5^{def}	97^{bcd}	14.87^{d}	10^{cd}	7^{cde}

حروف متفاوت در هر ستون، نشان‌دهنده‌ی وجود اختلاف معنی‌دار می‌باشند (P<۰/۰۵).

Different letters in each column indicate a significant difference (P<0.05)

بیشترین طول ساقه متعلق به تیمار مایکوریز و ورمی‌کمپوست بوده و بیانگر اثرات آن‌ها در افزایش رشد طولی ساقه‌ی گیاه می‌باشد. ضمن اینکه شاهد مثبت کم-ترین طول ساقه را طی هر دو مرحله نشان داد. در این شاخص نیز، تیمار راگبی اثرات ضعیف‌تری نسبت به برخی تیمارها نشان داد. در بین تیمارها، بیش‌ترین تعداد گل و میوه به تیمار مایکوریز و ورمی‌کمپوست اختصاص داشت. این مقادیر در حالت بدون مایه‌زنی با نماتد، با اختلاف معنی‌دار از شاهد منفی نیز بیشتر بودند. علاوه بر این، کم‌ترین تعداد گل و میوه مربوط به شاهد مثبت بود. وجود نماتد در تیمارهای مختلف در مقایسه با تیمار بدون نماتد سبب کاهش تولید گل و میوه در گیاه شد (جداول ۳ و ۴). به طور کلی نتایج دو مرحله آزمایش، بسیار نزدیک به هم بوده و از یک روند ثابت برخوردار بودند.

جدول ۴. مقایسه میانگین شاخص‌های رشدی گیاهان فلفل سالم و آلوده به نماتد ریشه‌گرهی *Meloidogyne incognita* در تیمارهای مختلف آزمایش دوم)

Table 4. Mean comparison of growth indices of uninfected pepper plants and plants infected with the root-knot nematode *Meloidogyne incognita* in different treatments (second trial)

Treatment	Fresh root weight (g)	Dry root weight(g)	Fresh shoot Weight(g)	Dry shoot weight(g)	Root length (cm)	Stem lenght (cm)	Root volume (cm^3)	Number of flowers	Number of fruit
Control-Nematode	11.27^{e}	2.47^{f}	71.12^{cde}	13.62^{cdef}	28.25^{cde}	92.75^{cde}	11.12^{f}	9.25^{c}	7^{cd}
Positive control	17.27^{ab}	3.77^{abc}	51.5^{g}	9.87^{h}	20.25^{f}	85.5^{f}	17^{abc}	4.75^{d}	3.75^{e}
Poultry manure with nematode	11.92^{e}	2.6^{f}	66.8^{def}	12.77^{efg}	27.25^{de}	91^{ef}	11.87^{f}	9.5^{bc}	7.5^{bcd}
Poulty manure without nematode	15.3^{bcd}	13.35^{bcde}	79^{abc}	15.12^{abc}	31.75^{abc}	100^{b}	15^{bcde}	10.75^{bc}	9^{abc}
Vermicompost with nematode	13.47^{cde}	2.95^{def}	70.5^{de}	13.5^{def}	27^{de}	99.5^{bcd}	13.5^{def}	9^{c}	5.75^{de}
Vermicompost without nematode	15.65^{bc}	3.45^{bcd}	81.27^{ab}	15.57^{ab}	34.25^{ab}	107.75^{a}	15.75^{bcd}	12.5^{ab}	10^{b}
Vermiwash with nematode	16.37^{abc}	3.6^{abcd}	60.75^{f}	11.65^{g}	25.75^{e}	90^{ef}	16.25^{abcd}	8.75^{c}	6.5^{cde}
Vermiwash without nematode	13.9^{cde}	3.05^{def}	75.25^{abcd}	14.42^{bcd}	30.5^{bcd}	99.75^{bc}	14.12^{cdef}	10^{bc}	7.75^{abcd}
Rugby 10%	11.57^{e}	3.02^{def}	66.65^{ef}	12.75^{fg}	27^{de}	89.75^{ef}	11.5^{f}	9.25^{c}	6.75^{cd}
Mycorrhiza with nematode	17.52^{ab}	3.85^{ab}	70.65^{cde}	13.55^{cdef}	28.25^{cde}	92.5^{def}	17.75^{ab}	9.25^{c}	5.75^{de}
Mycorrhiza without nematode	19.1^{a}	4.22^{a}	83.6^{a}	16.05^{a}	35^{a}	109.5^{a}	19.25^{a}	14.75^{a}	10.5^{a}
Effective microorganism fluid with nematode	12.42^{de}	2.7^{ef}	61.92^{f}	11.85^{g}	27^{de}	90.5^{ef}	12.5^{ef}	8.25^{c}	5.25^{de}
Effective microorganism fluid without nematode	13.72^{cde}	3.1^{cdef}	75^{bcde}	14.37^{bcde}	30^{cd}	96.5^{bcde}	13.75^{def}	9.75^{bc}	7.25^{bcd}

حروف متفاوت در هر ستون، نشان‌دهنده‌ی وجود اختلاف معنی‌دار می‌باشند (P<۰/۰۵).

Different letters in each column indicate a significant difference (P<0.05)

بحث

مهار زیستی و استفاده از اصلاح‌کننده‌های خاک، یکی از روش‌های مدیریت نماتدهای بیماری‌زا به‌ویژه نماتد ریشه‌گرهی است. پژوهش حاضر نشان داد که تیمارهای مایکوریز، ورمی‌کمپوست و ورمی واش سبب بهبود بیشتر صفات رشدی گیاه شدند. هم‌چنین تمامی تیمارها از توانایی لازم در کاهش شاخص‌های آلودگی نماتد برخوردار بودند. در این میان، از بین ترکیبات آلی کود مرغی بهترین اثر را به لحاظ کاهش شاخص‌های آلودگی نماتد در پی داشت. نتایج به‌دست‌آمده با نتایج دیگر محققین مطابقت داشت (Sunitadevi and Debanand, 2016). باکتری‌های آنتاگونیست موجود در داخل کود مرغی و آمونیاک‌سازی ناشی از تخمیر آن، باعث مهار نماتد می‌شود (Kaplan and Noe, 1993). در مطالعه دیگر، کاربرد کود مرغی سبب سرکوب جمعیت نماتد و کاهش آسیب ناشی از آن و افزایش عملکرد میزبان شده است (Amulu and Adeknle, 2015). همان‌طور که در نتایج مشاهده شد، به همان نسبت که آلودگی به نماتد باعث کاهش تولید گل و میوه در گیاهان مورد آزمون شد، تیمار با مایکوریز و ورمی‌کمپوست، افزایش این دو شاخص رشد زایشی و مرتبط با تولید

محصول را در پی داشت و این بیان‌کننده تأثیر مثبت این ترکیبات در عملکرد می‌باشد. شاهد با نماتد کم‌ترین مقدار وزن تر ساقه را نشان داد و مبین این واقعیت بود که آلودگی به نماتد سبب کاهش رشد اندام‌های هوایی گردیده است. تیمار راگبی باوجوداین که عملکرد مناسبی در مهار نماتد و شاخص‌های تولیدمثل داشت، در برخی موارد عملکرد ضعیف‌تری در شاخص رشدی نسبت به سایر تیمارها نشان داد که نشان از تأثیر منفی آن روی صفات مرتبط با رشد گیاه دارد. با توجه به پژوهش حاضر می‌توان اظهار نمود که قارچ مایکوریز تأثیر قابل‌ملاحظه‌ای بر افزایش شاخص‌های رشدی گیاه داشته و با نتایج کاربرد قارچ‌های مایکوریز، که باعث افزایش قابل‌توجه رشد گیاهان گردید، تطابق داشت (Demir, 2004). در مطالعات مشابه، استفاده از قارچ‌های مایکوریز به‌طور قابل‌توجهی رشد گیاهان را ارتقاء بخشیده و سبب کاهش تولیدمثل نماتد شد (Jaizme-vega *et al.*, 1997). در مطالعه حاضر، تیمار مذکور اگرچه در مقایسه با سایر تیمارها از جایگاه پایین‌تری در مهار نماتد برخوردار بود اما به لحاظ تأثیرگذاری بر شاخص‌های رشدی رویشی و زایشی، مؤثرتر عمل نمود. یکی از دلایل این امر می‌تواند افزایش فتوسنتز گیاهان و نقش عمده آن‌ها در فرآیند همزیستی، جذب و انتقال عناصر غذایی که در خاک تحرک کمتری دارند (به‌ویژه فسفر) به گیاه میزبان باشد (Tavasolee and Aliasgharzad, 2009). هم‌چنین قارچ‌های مایکوریز می‌توانند در کاهش تولیدمثل نماتد نیز دخیل باشند (Jaizme-vega *et al.*, 1997). نتایج به‌دست‌آمده در این پژوهش و تأثیر منفی آن در فاکتور تولیدمثل نیز گواهی این مدعا می‌باشد. طی مطالعه انجام‌شده جهت تعیین اثرات EM و کود آلی بر رشد، فتوسنتز و عملکرد ذرت شیرین، EM به‌کاررفته با کود آلی، باعث رشد و فعالیت ریشه و افزایش کارایی و ظرفیت فتوسنتز و درنهایت منجر به افزایش عملکرد دانه شده است (Xu, 2001). در این تحقیق نیز تیمار EM سبب افزایش صفات مرتبط با رشد گیاه گردید. از علل این تأثیر می‌توان به وجود ریزموجودات مفید موجود در این کود زیستی، افزایش فتوسنتز و تولید ترکیبات فعال مثل هورمون‌ها و آنزیم‌ها، مهار بیماری‌های خاک‌زاد و تسریع تجزیه مواد آلی در خاک اشاره کرد (Shokouhian *et al.*, 2019). هم‌چنین این باکتری‌ها باعث کاهش جمعیت نماتد *M.incognita* نیز شده‌اند (Youssef and Eissa, 2014). اثرات استفاده از ورمی‌واش در مهار نماتد ریشه‌گرهی در گوجه‌فرنگی نشان داده است این ترکیب باعث کاهش تعداد نماتدهای فراریشه شده و روی رشد آن تأثیر به‌سزایی دارد (Edwards *et al.*, 2007). نتایج به‌دست‌آمده در پژوهش حاضر تأییدکننده این مطلب بود. به‌گونه‌ای که تیمار ورمی‌واش سبب کاهش جمعیت نماتد و افزایش شاخص‌های رشدی گیاه شد. هم‌چنین استفاده از تیمار ورمی‌کمپوست سبب افزایش صفات رشدی گیاه و کاهش شاخص‌های آلودگی نماتد گردید. این نتایج با تحقیق صورت گرفته با افزودن ورمی‌کمپوست به خاک و کاهش تعداد گال و توده تخم نماتد، مطابقت نشان می‌دهد (Ambo *et al.*, 2010). اثرات سرکوب‌کنندگی نماتد می‌تواند مرتبط با ترکیبات نماتدکش آزادشده از کمپوست باشد (Rodriguez-Kabana, 1986). فرآورده‌های مشتق شده از کرم خاکی دارای عناصر ضروری برای رشد گیاه بوده و با کاهش pH محیط، موجب افزایش فعالیت میکروارگانیسم‌ها و جمعیت میکروبی شده که در مقابله با هجوم نماتدها به‌گونه‌ای مؤثر عمل می‌کنند (Rostami and Olia, 2016).

با توجه به اطلاعات به‌دست‌آمده از این تحقیق می‌توان نتیجه گرفت که تیمارهای موردمطالعه، سبب کاهش شاخص‌های نماتد (تعداد گال، تعداد کیسه تخم، تعداد تخم و لارو سن دوم در هر گرم ریشه، تعداد لارو سن دوم در ۲۵۰ گرم خاک و میزان فاکتور تولیدمثل) و افزایش صفات رشدی گیاه (وزن تر و خشک ریشه، وزن تر و خشک اندام هوایی، طول ریشه، حجم ریشه، طول ساقه، تعداد گل و تعداد میوه) شده و نسبت به شاهد مثبت اثرات معنی‌داری داشته‌اند. مقایسه بین تیمارها نشان داد که در طی دو

مرحله متوالی، بعد از نماتدکش راگبی تیمار کود مرغی نسبت به سایر تیمارها از بهترین اثربخشی روی شاخص‌های آلودگی نماتد در گیاه داشت. پس‌ازآن به ترتیب تیمار مایع EM، ورمی‌کمپوست، ورمی‌واش و مایکوریز قرار گرفتند. نکته قابل‌توجه این‌که، در بهبود روند رشدی گیاه، تیمار مایکوریز بهترین تأثیر را داشت. تیمارهای ورمی‌کمپوست، کود مرغی، ورمی‌واش و مایع EM به ترتیب در رتبه‌های بعدی قرار گرفتند. به‌عبارت‌دیگر، تمامی اصلاح‌کننده‌های به‌کاررفته توانایی مهار نماتد ریشه‌گرهی و ارتقای رشد گیاه را دارا بودند اما میزان اثربخشی آن‌ها متفاوت بود. تکرار تحقیقات مشابه در شرایط گلخانه‌ای و مزرعه‌ای و تلفیق مناسب ازاین‌دست فرآورده‌ها، می‌تواند نویدبخش تأمین عناصر غذایی لازم، حفاظت گیاه در برابر بیمارگرها از جمله نماتدهای ریشه گرهی و هم‌چنین دستیابی به تولید محصولات سالم و ارگانیک باشد.

تشکر و قدردانی

از دانشگاه گیلان به جهت فراهم ساختن شرایط اجرای تحقیق، تشکر و قدردانی می‌شود. این مقاله بخشی از پایان‌نامه کارشناسی ارشد نویسنده اول، ارائه‌شده به دانشگاه گیلان می‌باشد.

REFERENCES

1. Agrios, G. N. (2005). *Plant Pathology* (5th ed.). Burlington, Elsevier Academic Press.
2. Azeem, W., Mukhtar, T. and Hamid, T. (2021). Evaluation of *Trichoderma harzianum* and *Azadirachta indica* in the management of *Meloidogyne incognita* in Tomato. *Pakistan Journal of Zoology*, *53* (1), 119-125.
3. Amulu, L. U. and Adekunle, O. K. (2015). Comparative effects of poultry manure, cow dung, and carbofuran on yield of *Meloidogyne incognita*-infesteed okra. *Journal of Agricultural Science and Technology*, *17*, 495-504.
4. Ambo, P. B. N., Ethiopia, E. A., Serfoji, P., Rajeshkumar, S. and Selvaraj, T. (2010). Management of root-knot nematode, *Meloidogyne incognita* on tomato cv Pusa Ruby. by using vermicompost, AM fungus, *Glomus aggregatum* and mycorrhiza helper bacterium, *Bacillus coagulans*. *Journal of Agricultural and Science Technology*, *6*(1), 37-45.
5. Demir, S. (2004). Influence of arbuscular mycorrhiza on some physiological growth parameters of pepper. *Turkish Journal of Biology*, *28*, 85-90.
6. Edwards, C. A., Arancon, N. Q., Kai, T. and Ellery, D. (2007). The conversion of organic wastes into vermicomposts and vermicompost 'teas' which promote plant growth and suppress pests and diseases. *Hong Kong Agriculture and Fisheries Promotion Association Annual*, 33-40.
7. Goodey, J. B. (1957). *Laboratory methods for work with plant and soil nematodes.* Tech. Bull. No. 2. Min. Agric. Fish Ed London.
8. 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.
9. Jepson, S. B. (1987). *Identification of Root-Knot nematodes.* Cambrian news Ltd.
10. Jaizme-Vega, M. C., Tenoury, P., Pinochet, J. and Jaumot, M. (1997). Interactions between the root-knot nematode *Meloidogyne incognita* and *Glomus mosseae* in banana. *Plant and Soil*, *196*(1), 27-35.
11. Kaplan, M. and Noe, J. P. (1993). Effects of chicken-excrement amendments on *Meloidogyne arenaria*. *The Journal of Nematology*, *25*(1), 71-77.
12. Kim, E., Seo, Y., Kim, Y. S., Park, Y. and Kim, Y.H. (2017). Effects of soil textures on infectivity of root-knot nematodes on carrot. *The Plant Pathology Journal*, *33*(1), 66-74.
13. Liu, R., Dai, M., Wu, X., Li, M. and Liu, X., (2012). Suppression of the root-knot nematode [*Meloidogyne incognita* (Kofoid and White) Chitwood] on tomato by dual inoculation with arbuscular mycorrhizal fungi and plant growth-promoting rhizobacteria. *Mycorrhiza*, *22*(4), pp.289-296.
14. Mc Clure, M. A., Kruk, T. H. and Misaghi, I. (1973). A method for obtaining quantities of clean *Meloidogyne* eggs. *Journal of Nematology*, *5*(3), 230.
15. Nwanguma, E. I., Olabiyi, T. L., Idowu-Agida, O. O. and Olufolafi, A. O. (2011). Efficacy of organic soil amendments in the control of *Meloidogyne incognita* and on some growth and yield parameters of pepper (*Capsicum frutescens*) in Southwestern Nigeria. *European Journal of Applied Sciences*, *3*(4), 140-145.
16. Oostenbrink, M. (1966). Major characteristics of the relationships between nematode and plants. *Mededelingen Landbouwhogeschool Wageningen*, 66, 1-46.

17. Pegard, A., Brizzard, G., Fazari, A., Soucaze, O., Abad, P. and Djian-Caporalino, C. (2005). Histological characterization of resistance to different root-knot nematode species related to phenolics accumulation in *Capsicum annuum*. *Phytopathology*, *95*(2), 158-165.
18. Peiris, P. U. S., Li, Y., Brown, P. and Xu, C. (2020). Fungal biocontrol against *Meloidogyne* spp. in agricultural crops: A systematic review and meta-analysis. *Biological Control*, *144*, 104235.
19. Rice. R. P. L. W. and Tindall, H. D. (1990). *Fruit and Vegetable Production in Warm Climates.* London: The Macmillan Prees Ltd.
20. Rostami, M., and Olia, M. (2016) Control of pathogenicity root-knot nematode (*Meloidogyne Javanica*) by *Eisenia Feoetida* based products in greenhouse. *Journal of Plant Protection*, *30*(1), 42-53.
21. Rodriguez-Kabana, R. (1986). Organic and inorganic nitrogen amendments to soil as nematode suppressants. *The Journal of Nematology*, *18*(2), 129-134.
22. Santana-Gomes, S. D. M., Dias-Arieira, C. R., Roldi, M., Dadazio, T. S., Marini, P. M. and Barizão, D. D. O. (2013). Mineral nutrition in the control of nematodes. *African Journal of Agricultural Research*, *8*(21), 2413-2420.
23. Sohrabi, F., Sheikholeslami, M., Heydari, R., Rezaee, S., and Sharifi, R. (2020). Investigating the effect of *Glomus mosseae*, *Bacillus subtilis* and *Trichoderma harzianum* on plant growth and controlling *Meloidogyne javanica* in tomato. *Indian Phytopathology*, 73(2), 293-300.
24. Shokouhian, A, Nazari, H., and Ghavidel, A. (2019). The effect of EM bio-fertilizer and Urea on yield and nutritional elements of Strawberry (*Fragaria ananassa* cv. *Paros*) leaves. *Journal of Water and Soil Conservation*, *26*(2), 263-268.
25. Southey, J. F. (1970). *Laboratory methods for work with plant and soil nematodes.* Technical Bulletin, 2, Ministry of Agriculture, London.
26. Sunita devi, T. H. and Debanand, D. (2016). Effect of organic amendments on root-knot nematode (*Meloidogyne incognita*) in cucumber. *Pest Management in Horticultural Ecosystems*, *22* (2), 176-181.
27. Tavasolee, A. R, and Aliasgharzad, N. (2009). Effect of arbuscular mycorrhizal fungi on nutrient uptake and onion yield in a saline soil at field conditions. *Water and Soil Science*, *19*(1), 145-158.
28. Taylor, D. P. and Netscher, C. (1974). An improved technique for preparing perineal patterns of *Meloidogyne* spp. *Nematologica*, *20*(2), 268-269.
29. Whitehead, A. G. and Hemming, J. R. (1965). A comparison of some quantitative methods of extracting small vermiform nematodes from soil. *Annals of Applied Biology*, *55*(1), 25-38.
30. Xu, H. L. (2001). Effects of a microbial inoculant and organic fertilizers on the growth, photosynthesis and yield of sweet corn. *Journal of Crop Production*, *3*(1), 183-214.
31. Youssef, M. M. A. and Eissa, M. F. M. (2014). Biofertilizers and their role in management of plant parasitic nematodes. A review. *Journal of Biotechnology and Pharmaceutical Research*, *5*(1), 1-6.