

بررسی تعامل قارچ *Macrophomina phaseolina* و نماتد *Meloidogyne javanica* روی گیاه

لوبیا سبز (*Phaseolus vulgaris*)

سعید ایمانی^{1*}، سید محمدرضا موسوی²، طاهره بصیرنیا²

تاریخ دریافت: 92/10/2 تاریخ پذیرش: 92/12/19

چکیده

نماتد مولد گره ریشه (*Meloidogyne javanica*) و قارچ عامل بیماری بلایت ذغالی (*Macrophomina phaseolina*) دو عامل مهم خسارت در مزارع لوبیا هستند که هر کدام به تنهایی باعث کاهش معنی‌دار محصول می‌گردند. از آنجا که احتمال حضور همزمان این دو بیماری در مزارع لوبیا بسیار زیاد است باید برآورد خسارتی از تعامل این بیمارگرها با توجه به جدایی‌های بومی و شرایط منطقه در دست داشت. تعامل نماتد مولد گره ریشه *M. javanica* و قارچ بیمارگر *M. phaseolina* تحت شرایط گلخانه بر روی گیاه لوبیا سبز رقم "جماران 418" در قالب طرح کاملاً تصادفی با شش تیمار در پنج تکرار مورد مطالعه قرار گرفت. تیمارهای به کار رفته شامل شاهد (بدون مایه تلقیح)، قارچ به تنهایی، نماتد به تنهایی، قارچ و نماتد همزمان، ابتدا نماتد دو هفته بعد قارچ و ابتدا قارچ دو هفته بعد نماتد بود. مایه تلقیح نماتد از یک توده تخم منفرد روی گوجه فرنگی و مایه تلقیح قارچ روی محیط ماسه و آرد ذرت تکثیر شد. در مرحله دوبرگی به هر گلدان که باید با نماتد تیمار می‌شد، به ازای هر گرم خاک 3 عدد تخم و لارو سن دوم اضافه شد. در تیمارهایی که باید با قارچ آلوده می‌شدند، مقدار دو گرم از مایه تلقیح قارچ پای ساقه هر بوته ریخته شد. پس از هفت هفته شاخص‌های رشدی گیاه میزبان و محصول آن، شاخص‌های تکثیر نماتد و میزان خسارت قارچ در هر تیمار مورد ارزیابی قرار گرفتند. نتایج نشان داد که بیش‌ترین علائم پژمردگی و خسارت و کاهش رشد گیاه در مایه زنی همزمان بود. از نظر تعداد گال روی ریشه، کمترین تعداد گال متعلق به تیمار ابتدا قارچ دو هفته بعد نماتد و بیش‌ترین تعداد، متعلق به تیمار ابتدا نماتد دو هفته بعد قارچ بود. کمترین و بیش‌ترین میزان ضریب تکثیر نماتد نیز به ترتیب مربوط به تیمار ابتدا قارچ دو هفته بعد نماتد و تیمار ابتدا نماتد دو هفته بعد قارچ بود. هم‌چنین تمام تیمارهای دارای نماتد وزن ریشه‌ی بیش‌تری داشتند. کمترین تاثیر در کاهش میزان رشد گیاه در تیمارهایی دیده شد که فقط با یک عامل بیماری‌زا آلوده شده بودند. نتایج این آزمایش حساسیت بالای گیاه لوبیا سبز به آلودگی همزمان توسط این دو عامل بیماری‌زا را نشان داد.

واژه‌های کلیدی: تعامل، *Macrophomina phaseolina*، *Meloidogyne javanica*، لوبیا سبز

¹ - دانشجوی کارشناسی ارشد بیماری‌شناسی گیاهی، دانشگاه آزاد اسلامی، واحد مرودشت، مرودشت، ایران.

² - استادیار، دانشگاه آزاد اسلامی، واحد مرودشت، گروه بیماری‌شناسی گیاهی، مرودشت، ایران.

* - نویسنده مسئول مقاله: saeed_j5@yahoo.com

مقدمه

نماتدهای مولد گره ریشه انگل داخلی اجباری و غیر مهاجر هستند که با میزبان خود ارتباط پیچیده‌ای دارند. در حالی که بیش از 100 گونه نماتد مولد گره شناسایی شده‌اند، اما 99 درصد از نماتدهای جمع آوری شده از گونه‌های محصولات زراعی از جمله لوبیا به چهارگونه شامل *M. javanica* (Treub) Chitwood، *M. incognita* (Kofoid & White) Chitwood، *M. arenaria* (Neal) Chitwood و *M. hapla* Chitwood تعلق دارند. نماتدهای مولد گره ریشه دارای پراکنشی جهانی بوده و دامنه‌ی میزبانی بسیار گسترده‌ای دارند که شامل محصولات کشاورزی و علف‌های هرز از بسیاری از خانواده‌های گیاهی می‌باشند. میزان خسارت سالیانه این نماتد را حدود 5% از کل محصولات کشاورزی بیان می‌کنند (Perry and Moens, 2006). جمعیت بالای این نماتد می‌تواند به میزان قابل توجهی باعث کاهش عملکرد لوبیا شود و ممکن است خسارت به 90 درصد برسد (Khanizad and Mohammadi, 2011).

بلایت ذغالی ساقه توسط قارچ *Macrophomina phaseolina* (Tassi) Goidunich ایجاد می‌شود و از نظر اقتصادی یکی از بیماری‌های مهم لوبیا در بیش تر مناطق دنیا، خصوصاً در مناطق گرم تولید کننده لوبیا می‌باشد. این بیماری می‌تواند 23 تا 100 درصد محصول را از بین ببرد (Crous et al., 2006). هرچند که بیماری از سال 1950 به بعد شناخته شده است، اما به دلیل این که روش‌های مدیریتی همیشه به صورت کامل مؤثر نبوده بیماری پیوسته مشکل ساز بوده است (Khan, 2007; Khanizad and Mohammadi, 2011). هنگامی که به مزارع و باغات به صورت یک مجموعه نگاه شود، مشاهده می‌گردد که هر گیاه همزمان توسط عوامل متعدد بیماری‌زا مورد حمله قرار می‌گیرد. این عوامل علاوه بر این که خود خسارت‌زا هستند، گاهی باعث افزایش یا کاهش تاثیر سایر عوامل بیماری‌زا می‌گردند (Powell, 1971; Sitaramaiah and Pathak, 1993; Hasan, 1993; Brinkman et al., 2008; Wondafraash et al., 2013). این برهمکنش‌ها در بیماری‌های خاکزاد بیش تر گزارش شده است و نماتدهای انگل داخلی ثابت، مانند نماتد گره ریشه، بیش ترین سهم را در تعامل بین پاتوژن‌ها دارند (Khan, 1993). تعامل بین این عوامل بیماری‌زا برای تعیین میزان خسارت و این که آیا در صورت حضور این عوامل، کاشت یک گیاه مقرون به صرفه است یا خیر از جمله مواردی است که باید مشخص گردد. نتایج تحقیقاتی که در کشورهای مختلف صورت گرفته نشان می‌دهد که این نتایج با هم یکسان نبوده و باید برای هر منطقه و توسط جدایه‌های همان منطقه آزمایش شود. این موضوع در اولویت‌های تحقیقاتی وزارت جهاد کشاورزی ایران نیز قرار دارد. هر کدام از این دو بیماری در خاک‌های استان فارس وجود دارد و توانایی ایجاد خسارت اقتصادی را در گیاه لوبیا دارند ولی در ایران تعامل بین این دو عامل بیماری و احتمال اثر افزایشی این دو بررسی نشده است. در این تحقیق سعی می‌شود تا تعامل بین این دو بیماری مورد توجه و بررسی قرار گیرد.

مواد و روش‌ها

تولید زادمایه قارچ

قارچ *M. phaseolina* از کلکسیون قارچ‌های تایید شده دانشگاه آزاد اسلامی واحد مرودشت تهیه گردید. این قارچ ابتدا روی گیاه لوبیا مایه‌زنی شد و بیماری‌زایی آن اثبات گردید. جهت تهیه‌ی مایه تلقیح قارچ، 5 دیسک به قطر 5 میلی متر از حاشیه‌ی قارچ در حال رشد روی محیط PDA در شرایط استریل به یک ارلن 500 میلی لیتری حاوی 250 میلی لیتر محیط استریل متشکل از ماسه، آرد ذرت و آب مقطر به نسبت حجمی 1/1، 0/4، 0/4 اضافه شده و به مدت 5 تا 6 روز در دمای

32 ± 2 درجه سانتی‌گراد نگهداری و هر روز به شدت با دست تکان داده شد تا از متراکم شدن محیط جلوگیری گردد (Mihail, 1992).

تولید زادمایه نماتد *M. javanica*

مایه تلقیح مورد نیاز از ریشه‌های آلوده به نماتد ریشه گرهی از گلخانه آموزشی گوجه فرنگی (رقم Early-Urbana) واقع در دانشگاه آزاد اسلامی واحد مرودشت تهیه گردید. گونه این نماتد قبلاً مشخص شده و جمعیت مورد نیاز از طریق تکثیر یک توده تخم روی گیاه گوجه فرنگی به دست آمده بود. ریشه‌های آلوده از خاک خارج شده و زیر آب جاری شسته شدند تا گل و لای چسبیده به آن جدا شود. سپس ریشه‌ها حاوی کیسه تخم به قطعات کوچک تقسیم شده و همراه با محلول هیپوکلریت سدیم 1% به درون مخلوط کن اضافه و به مدت 40 ثانیه با سرعت متوسط خرد گردید (Nico et al., 2004). سپس محتویات مخلوط کن از الک 200 مش که در زیر آن الک 500 مش قرار دارد عبور داده شده و با آب شسته شد. محتوای سطح الک 500 مش با آب شسته شد و در بشر جمع آوری گردید (Hussy and Baker, 1973). تعداد تخم‌ها به کمک لام شمارش سه بار شمارش و میانگین آن محاسبه گردید.

آزمون بیماری‌زایی

برای این آزمایش از گلدان‌های یک کیلوگرمی استفاده شد. گیاهان لوبیا سبز رقم "جماران 418" هشت روز قبل از مایه‌زنی در گلدان‌های حاوی خاک پاستوریزه شده (خاک متشکل از خاک بکر، ماسه و کود برگ به نسبت مساوی) کاشته شدند. گیاهان در مرحله دوبرگی بسته به نوع تیمار، با نماتد، قارچ یا هردو تیمار شدند. به هر گلدان که باید با نماتد تیمار می‌شد، به ازای هر گرم خاک گلدان 3 عدد تخم و لارو سن دوم اضافه شد (Agarwal and Goswami, 1972) و به گلدان‌هایی که باید با قارچ تیمار می‌شدند، مقدار 2 گرم از مایه تلقیح قارچی پای ساقه هر بوته ریخته و روی آن خاک ریخته شد (Jimenez et al., 1983).

این آزمایش در 6 تیمار و 5 تکرار و در قالب طرح کاملاً تصادفی به شرح تیمارهای زیر انجام گردید: 1- شاهد بدون قارچ و نماتد (C)، 2- مایه‌زنی فقط با نماتد (N)، 3- مایه‌زنی فقط با قارچ (F)، 4- مایه‌زنی اولیه با قارچ و دو هفته بعد با نماتد (Fn)، 5- مایه‌زنی اولیه با نماتد و دو هفته بعد با قارچ (Nf)، 6- مایه‌زنی همزمان با قارچ و نماتد (NF). تمام گلدان‌ها در شرایط گلخانه بدون افزودن هیچ نوع کودی نگهداری شده و به میزان لازم آبیاری شدند. محصول تولیدی این گیاهان در طول دوران رشد جمع آوری و پس از توزین، ثبت گردید. پس از هفت هفته، گیاهان برداشت شد و میزان محصول کل، وزن تر قسمت‌های هوایی و ریشه، اندازه گیری گردید (Moosavi et al., 2010). در مورد آلودگی نماتد، تعداد گال‌ها و تعداد تخم‌های موجود در سیستم ریشه مشخص گردید. خاک هر گلدان به صورت کامل مخلوط شد و 100 گرم از آن انتخاب و نماتدهای آن به روش (Jenkins, 1964) استخراج شد و جمعیت لاروهای سن دو برآورد شد. هم‌چنین جمعیت نهایی نماتد که حاصل جمع تعداد تخم‌های سیستم ریشه و تعداد لارو سن دوم موجود در کل خاک محاسبه گردید. فاکتور تولید مثل (P_i/P_0) از محاسبه نسبت جمعیت نهایی تخم و لارو سالم در هر گرم خاک به جمعیت اولیه تلقیح شده به خاک (3 عدد تخم و لارو در هر گرم خاک) به دست آمد. با محاسبه فاکتور تولید مثل مشخص می‌شود که به ازاء هر مایه تلقیح اضافه شده در ابتدای آزمایش چه مقدار مایه تلقیح در انتهای آزمایش تولید شده است. ارزیابی بیماری بلایت ذغالی نیز بر اساس اندازه شانکر و نیز میزان پیشروی قارچ روی ساقه بود (Agarwal and Goswami, 1972).

تجزیه و تحلیل داده‌ها

داده‌ها توسط آزمون یک طرفه‌ی ANOVA (SPSS ver. 15) برای ویندوز) مورد تجزیه و تحلیل قرار گرفتند و میانگین داده‌ها توسط آزمون دانکن در سطح 5% از یکدیگر جدا گردید.

نتایج

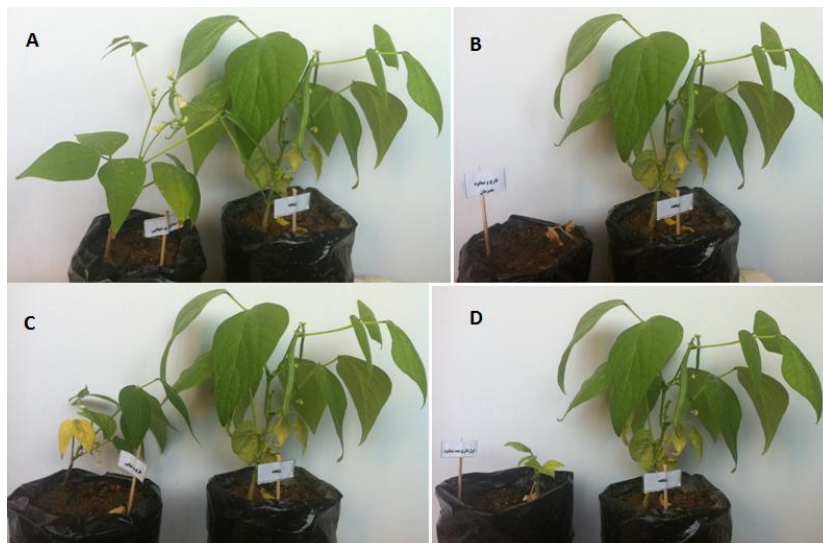
مقایسه‌ی میانگین فاکتورهای رویشی گیاه نشان داد که بیش‌ترین وزن ریشه مربوط به تیمار N بود، در حالی که تیمار NF (که در مرحله دو برگگی خشک شده بود) و تیمار F به ترتیب کمترین وزن ریشه را داشتند ($P < 0.001$). بر اساس آزمون دانکن، تیمار NF و تیمار Fn از نظر وزن ریشه با یکدیگر تفاوت معنی داری نداشتند (جدول 1). تیمار شاهد بیش‌ترین و تیمار (که در مرحله دو برگگی خشک شده بود) کمترین وزن اندام هوایی را داشت (شکل 1). آزمون دانکن، نمونه‌ها را از نظر وزن اندام هوایی در چهار گروه مجزا قرار داد که هر گروه با گروه دیگر تفاوت آماری معنی دار داشت. تیمارهای F و Fn به طور مشترک در یک گروه قرار گرفتند و با هم اختلاف معنی داری نداشتند. هم‌چنین تیمارهای NF و N نیز در یک گروه آماری قرار گرفتند و با هم تفاوت معنی داری نداشتند (جدول 1). شاهد بیش‌ترین وزن محصول را داشت در حالی که تیمار NF و Fn کمترین وزن (فاقد محصول) را داشتند. بر اساس وزن محصول، نمونه‌ها در دو گروه آماری مجزا قرار داده شدند که با هم از نظر وزن محصول تفاوت آماری داشتند. تمامی تیمارها به جز تیمار شاهد در یک گروه آماری مشترک قرار گرفتند و از نظر وزن با محصول با هم تفاوت معنی داری نداشتند (جدول 1).

جدول 1- میانگین وزن تر ریشه، اندام هوایی و محصول تیمارهای مختلف هفت هفته پس از نگهداری گیاه لوبیا در شرایط گلخانه. اعداد درون پرانتز نشان دهنده‌ی خطای استاندارد است.

تیمارها ¹	فاکتورهای رویشی گیاه		
	وزن ریشه (گرم)	وزن اندام هوایی (گرم)	وزن محصول (گرم)
C	3/6 (\pm 0/2) c ²	6/9 (\pm 0/4) a	10/9 (\pm 0/5) a
N	9/4 (\pm 0/8) a	4/7 (\pm 0/3) b	0/5 (\pm 0/2) b
NF	0/0 (\pm 0/0) e	0/01 (\pm 0/0) d	0/0 (\pm 0/0) b
Nf	6/9 (\pm 0/4) b	4/9 (\pm 0/0) b	0/1 (\pm 0/7) b
Fn	6/0 (\pm 0/3) b	2/9 (\pm 0/2) c	0/0 (\pm 0/0) b
F	1/6 (\pm 0/1) d	3/4 (\pm 0/2) c	0/1 (\pm 0/6) b

¹ C: شاهد بدون قارچ و نماتد، N: مایه‌زنی فقط با نماتد، F: مایه‌زنی فقط با قارچ، Fn: مایه‌زنی اولیه با قارچ و دو هفته بعد با نماتد، Nf: مایه‌زنی اولیه با نماتد و دو هفته بعد با قارچ، NF: مایه‌زنی همزمان با قارچ و نماتد.

² تیمارهایی که در هر ستون دارای حروف متفاوت هستند در آزمون دانکن در سطح 5% با یکدیگر تفاوت معنی دار دارند.



شکل 1- تصویر اندام هوایی تیمارهای مختلف در مقایسه با شاهد.

A: اندام هوایی نماتد تنها در مقایسه با شاهد B: اندام هوایی تیمار قارچ و نماتد همزمان در مقایسه با شاهد
C: اندام هوایی قارچ تنها در مقایسه با شاهد D: اندام هوایی تیمار اول قارچ دو هفته بعد نماتد در مقایسه با شاهد

نتایج حاصله در خصوص پارامترهای تولیدمثلی نماتد نشان داد که نسبت به تیمار N، تیمار Nf بیش‌ترین و تیمار Fn کمترین تعداد گال، تعداد تخم روی ریشه، تعداد لارو سن دوم (J_2) موجود در کل خاک و جمعیت نهایی نماتد را داشتند (شکل 2). هم‌چنین بیش‌ترین طول شانکر ایجاد شده در تیمارهای Fn و F و کمترین طول شانکر در تیمار Nf دیده شد (جدول 2).

جدول 2. مقایسه‌ی میانگین تعداد گال، تعداد تخم موجود بر روی ریشه، تعداد لارو سن دوم درون خاک و جمعیت نهایی نماتد و اندازه‌ی شانکر ایجاد شده در اثر بیماری بلایت ذغالی در تیمارهای مختلف. اعداد درون پرانتز نشان دهنده‌ی خطای استاندارد است.

اندازه شانکر بر حسب cm	پارامترهای تولیدمثلی نماتد					تیمارها ¹
	فاکتور تولید مثل	جمعیت نهایی نماتد	تعداد J_2 در گرم خاک	تعداد تخم در گرم ریشه	تعداد گال	
-	53/2 (\pm 1/7) b	159580 (\pm 5298) b	85/6 (\pm 2/5) b	8008 (\pm 803) b	107 (\pm 5/5) b	N
0/6 (\pm 0/6)b	74/5 (\pm 3/2) a	223620 (\pm 9511) a	138/6 (\pm 7/2) a	12372 (\pm 1495) a	143 (\pm 7/2) a	Nf
1/7 (\pm 0/2)a	15/6 (\pm 1/4) c	46976 (\pm 4283) c	33/2 (\pm 1/4) c	2744 (\pm 149) c	21 (\pm 2/7) c	Fn
1/6 (\pm 0/2)a	-	-	-	-	-	F

¹ N: مایه‌زنی فقط با نماتد، F: مایه‌زنی فقط با قارچ، Fn: مایه‌زنی اولیه با قارچ و دو هفته بعد با نماتد، Nf: مایه‌زنی اولیه با نماتد و دو هفته بعد با قارچ.

تیمارهایی که در هر ستون دارای حروف متفاوت هستند در آزمون دانکن در سطح 5% با یکدیگر تفاوت معنی دار دارند.

بحث

لوبیا در طول دوره رویشی خود تحت تاثیر عوامل بیماری‌زای زنده و غیر زنده‌ی زیادی قرار می‌گیرد که رشد گیاه و میزان محصول را تحت تاثیر قرار می‌دهند. این عوامل بیماری‌زا علاوه بر این که خود خسارت‌زا هستند، می‌توانند باعث افزایش خسارت سایر عوامل بیماری‌زا نیز گردند. حضور همزمان دو یا چند عامل بیمارگر در گیاه می‌تواند خسارات بیش‌تری را در پی داشته باشد، بنابراین داشتن اطلاعاتی در مورد نحوه اثر و روابط بیمارگرها به منظور مدیریت بهتر بیماری و همچنین کاهش خسارات وارده، ضروری می‌باشد. در این پژوهش تعامل قارچ *M. phaseolina* و نماتد *M. javanica* در کاهش رشد گیاه (شامل کاهش وزن تر ساقه، ریشه و محصول)، افزایش تکثیر نماتد و افزایش شانکر ایجاد شده توسط قارچ بستگی به زمان مایه‌زنی با این عوامل داشت.

تاثیر متقابل این دو عامل بیماری‌زا در مایه‌زنی همزمان به صورت افزایشی بوده و شدت خسارت نیز به بالاترین حد خود رسیده است. در تیمارهایی که قارچ و نماتد همزمان مایه‌زنی شدند، میزان خسارت به حدی بود که در همان مرحله دو برگی پس از مایه‌زنی تمامی تکرارها خشک شدند. حضور همزمان نماتد و قارچ، بالاترین میزان خسارت را نسبت به بقیه گروه‌ها دارد که با نتایج دیگر پژوهشگران نیز مطابقت دارد. در آن پژوهش‌ها هم زمانی که قارچ ماکروفومینا و نماتد مولد گره ریشه همزمان در گیاهان توتون (Powell and Nusbaum, 1960)، کنف (Tu and Cheng, 1970)، نخود (Siddiqui and Husain, 1991)، کنف هندی (Haque and Mukhopadhyaya, 1979) و برگ نوی ژاپنی (Alfieri et al., 1969) به کار برده شده بودند، میزان خسارت بیش‌تر بود، اما در هیچکدام از پژوهش‌ها گیاهان تیمار شده از بین نرفتند. این موضوع حساسیت بالای گیاه لوبیا را نسبت به مایه‌زنی همزمان با قارچ و نماتد نشان می‌دهد.

گیاهانی که ابتدا با نماتد و دو هفته بعد با قارچ (Nf) مایه زنی شده بودند، بر روی ریشه خود تعداد گره‌های بیش‌تری با اندازه‌ی بزرگتری نسبت به بقیه گروه‌ها داشتند و همچنین دارای جمعیت نهایی بالاتری از نماتد بودند. در این تیمار علائم حاصل از فعالیت نماتد (اندازه گال، تعداد گال و جمعیت نماتد) بیش‌تر مشهود بود که مشابه نتایج (Agarwal and Goswami, 1972) است. این محققین نیز در آزمایش خود که در گیاه سویا مشاهده کردند که در این حالت مایه‌زنی، تعداد گره‌های ریشه و جمعیت نهایی نماتد نسبت به شاهد (نماتد به تنهایی)، افزایش یافته است.

وقتی ابتدا نماتد و سپس قارچ (Nf) حمله می‌کند، میزان شانکر ایجاد شده توسط قارچ کاهش معنی‌داری پیدا می‌کند که با نتایج سایر پژوهشگران (Agarwal and Goswami, 1972; Saeedizadeh et al., 2009) همخوانی ندارد که دلیل این موضوع را می‌توان به طول دوره رویشی کوتاه گیاه لوبیا مربوط دانست. از آنجا که در انجام آزمایش، آلودگی با عامل دوم دو هفته بعد از آلودگی با عامل اول انجام شد، عامل دوم زمان کمتری را برای رشد و ایجاد خسارت در اختیار داشته است و همین موضوع باعث شده که وقتی نماتد یا قارچ به عنوان عامل دوم آلودگی به کار برده شده‌اند، میزان علائم ایجاد شده و خسارت آنها نسبت به شاهد خودشان (به ترتیب نماتد به تنهایی و قارچ به تنهایی) کمتر شده است.

تیمارهایی که ابتدا با قارچ و دو هفته بعد با نماتد (Fn) مایه‌زنی شده بودند، بر روی ریشه‌ی خود تعداد کمتری گره داشتند که اندازه‌ی آنها نسبت به بقیه گروه‌ها کوچکتر بود. البته در این تیمار علائم حاصل از فعالیت قارچ (طول شانکر) بیش‌تر و علائم حاصل از فعالیت نماتد (اندازه گال، تعداد گال و جمعیت نماتد) کمتر از سایر تیمارها می‌باشد که مشابه نتایج (Saeedizadeh et al., 2009) است. این محققین نیز در آزمایش خود در گیاه زیتون مشاهده کردند که هنگامی که مایه‌زنی ابتدا با قارچ *M. phaseolina* و سپس با نماتد *M. incognita* انجام شود، تعداد گره‌های ریشه و جمعیت نهایی نماتد نسبت

به شاهد خود، کاهش یافته و اندازه‌ی شانکر نیز نسبت به شاهد خود، افزایش یافته است. به نظر می‌رسد که کاهش زمانی که برای رشد در اختیار نماتد بوده است عامل اصلی در این کاهش باشد.

بررسی وزن و حجم ریشه‌های تولید شده نشان داد که تیمارهای N_f ، N_f و F_n فرایند ریشه زایی بیش‌تری نسبت به کنترل داشتند. به عبارت دیگر حضور نماتد باعث افزایش فرایند تولید ریشه شده است. معمولاً گیاهان در واکنش به حضور نماتد و برای کاهش خسارت و جبران آن، تولید ریشه‌های جدید می‌نمایند، از طرف دیگر در اثر آلودگی با نماتد *M. javanica* روی ریشه‌ی گیاه میزبان گال‌هایی تشکیل می‌شود که باعث افزایش وزن ریشه می‌گردد (Perry et al., 2009). در تیمارهایی که فقط با قارچ (F) مایه زنی شده بودند، ریشه‌ها نسبت به شاهد بسیار کوچکتر بودند. دلیل این امر به علت از بین رفتن ریشه‌ها توسط قارچ می‌باشد (Khan, 2007). چنین نتایجی در پژوهش‌های قبلی نیز به دست آمده است، به عنوان مثال در گیاه کنف، آلودگی با قارچ ماکروفومینا باعث کاهش سیستم ریشه‌ای شده است (Tu and Cheng, 1970).

با توجه با این که در مزارع لوبیا عموماً زمان مشخصی برای حمله‌ی نماتد یا قارچ در نظر گرفته نمی‌شود، آلوده شدن همزمان گیاه به این دو بیماری می‌تواند تاثیر بسیار بالایی در افزایش میزان خسارت داشته باشد. این موضوع در خصوص کاشت گیاه لوبیا در زمین‌هایی که به هر دو عامل بیماری آلوده هستند نیز صدق می‌کند. آلودگی با نماتد می‌تواند باعث تضعیف گیاه و به دنبال آن حساس‌تر شدن آن نسبت به قارچ گردد. به دنبال آن آلودگی با قارچ باعث تضعیف بیش از پیش گیاه شده و میزان خسارت نماتد را افزایش دهد. آلوده شدن گیاه به نماتد معمولاً در تمام شرایط اتفاق می‌افتد و بین گیاهان از این نظر تفاوت معنی‌داری وجود ندارد (Bird et al., 2009) اما قارچ عموماً در شرایط آب و هوای گرم و به گیاه در حال استرس و ضعیف حمله می‌کند (Khan, 2007). با توجه به نتایج به دست آمده در صورتی که مزرعه‌ای به هر دو عامل بیماری‌زا آلوده است، بهتر است که در آن کاشت لوبیا صورت نگرفته و گیاه مقاوم‌تری به این عوامل بیماری‌زا کاشته شود.

References

1. Agarwal DK and Goswami BK. 1972. Inter-relationships between a fungus *Macrophomina phaseoli* (Maubl) Ashby and root-knot nematode *Meloidogyne incognita* (Kofoid and White) Chitwood in soybean [*Glycine max* (L.)] Merrill. Proceedings of the Indian National Science Academy 39: 701–704.
2. Alfieri SA, Jr and Stokes DE. 1969. Interaction of *Macrophomina phaseolina* and *Meloidogyne javanica* on *Ligustrum japonicum*. Phytopathology 61: 1297–1298.
3. Brinkman EP, Duyts, H and van der Putten WH. 2008. Interactions between root-feeding nematodes depend on plant species identity. Soil Biology and Biochemistry 40: 2186–2193.
4. Bird DM, Opperman CH and Williamson VM. 2009. Plant Infection by Root-Knot Nematode. pp. 1–13, In RH Berg and CG Taylor (eds), DG Robinson (Series ed.). Cell Biology of Plant Nematode Parasitism, Plant Cell Monographs, Volume 15. Berlin: Springer-Verlag.
5. Crous PW, Slipper B, Wingfield MJ, Rheeder J, Marasas WFO, Philips AJL, Alves A, Burgess T, Barber P and Groenewald JZ. 2006. Phylogenetic Lineage in the Botryosphaeriaceae. Studies in Mycology 55: 235–253.
6. Haque MDS and Mukhopadhyaya MC. 1979. Pathogenicity of *Macrophomina phaseolina* on Jute in the presence of *Meloidogyne incognita* and *Hoplolaimus indicus*. Journal of Nematology 11: 318–321.
7. Hasan A. 1993. The role of fungi in fungus-nematode interactions. pp. 273–287, In M W Khan (ed). Nematode Interaction. India: Chapman and Hall.
8. Hussy RS and Barker K. 1973. A comparison of methods collecting inocula of *Meloidogyne* spp., including a new technique. Plant Disease Report 57: 1025–1028.
9. Jimenez DRM, Blance LMA and Sackston WE. 1983. Incidence and distribution of charcoal rot of sunflower caused by *Macrophomina phaseolina* in Spain. Plant Disease 67: 1033–1036.
10. Khan MW. 1993. Nematode Interactions. India: Chapman and Hall. 377 p.
11. Khan NS. 2007. *Macrophomina phaseolina* as causal agent for charcoal rot of sunflower. Mycopathology 5: 111–118
12. Khanizad A and Mohammadi R. 2011. Diseases Compendium of bean. Tehran: Published by Iranian Research Institute of Plant Protection. 254 p.
13. Mihail JD. 1992. *Macrophomina* Spp. pp. 134–136, In L Singleton, J Mihail and C Rush (eds.). Methods for Research on Soil-borne Phytopathogenic Fungi. MN, St. Paul, USA: American Phytopathology Society Press.
14. Moosavi MR, Zare R, Zamanizadeh HR and Fatemy S. 2010. Pathogenicity of *Pochonia* species on eggs of *Meloidogyne javanica*. Journal of Invertebrate Pathology 104: 125–133.
15. Nico AI, Jimenz RM and Castillo P. 2004. Control of root knot nematodes by composted agroindustrial wastes in potting mixtures. Crop Protection 23:581–587.
16. Perry RN and Moens M. 2006. Plant nematology. Wallingford, UK: CABI Publishing. 448 p.
17. Powell NT. 1971. Interactions Between Nematodes and Fungi in Disease Complexes. Annual Review of Phytopathology 9: 253–274.
18. Powell NT and Nusbaum CJ. 1960. The black shank-root-knot complex in flue-cured tobacco. Phytopathology 50: 899–906.
19. Saeedizadeh A, Kheiri A, Zad J, Etebarian HR, Bandani AR and Nasiri MB. 2009. A study of interaction between *Verticillium* wilt *Verticillium dahliae* and root-knot

- nematode *Meloidogyne javanica* in olive cultivars. Communications in Agricultural and Applied Biological Sciences 74:567–572.
20. Siddiqui ZA and Husain SI. 1991. Interaction of *Meloidogyne incognita* race-3 and *Macrophomina phaseolina* in root-rot disease complex of chick pea. Nematologia Mediterranea 19: 237–239.
 21. Sitaramaiah K and Pathak KN. 1993. Nematode bacterial disease interactions. pp. 232–250, In M W Khan (ed). Nematode Interaction. India: Chapman and Hall.
 22. Tu CC and Cheng YH. 1970. Interaction of *Meloidogyne javanica* and *Macrophomina phaseolina* in Kenaf root-rot. Journal of Nematology 3: 39–42.
 23. Wondafrash M, Van Dam NM and Tytgat TOG. 2013. Plant systemic induced responses mediate interactions between root parasitic nematodes and above ground herbivorous insects. Frontiers in Plant Science 4: Article 87 (15 p.).

Interaction of *Macrophomina phaseolina* and *Meloidogyne javanica* on green bean

S. Imani¹, M.R. Moosavi², T. Basirnia²

Abstract

Both the root-knot nematode (*Meloidogyne javanica*) and charcoal rot (*Macrophomina phaseolina*) are serious diseases of green bean farms, each of them can cause significant economic loss annually. Since the probability of simultaneous presence of these two disease agents is high, there is a need for assessing the damage of their interaction according to indigenous isolates as well as local environmental conditions. In this research the interaction of *M. javanica* and *M. phaseolina* in green beans cv. 418 Jamaran was studied under green house condition. The test was carried out in a completely randomized design with 6 treatments in 5 replicates. The treatments were control, fungus alone, nematode alone, fungus and nematode simultaneous application, first nematode two weeks later the fungus, and first fungus two weeks later nematode. The nematode inoculum was reared on tomato from a single egg mass. The fungus inoculums were grown on a sterile medium comprised of sand and cornmeal. Seedlings were inoculated at two-leaf stage with 3 eggs and second stage juveniles (J₂) of *M. javanica* per gram soil and/or with 2 g of fungal inoculum per pot. After seven weeks, plant growth parameter as well as its yield; nematode reproduction factor, number of galls, final nematode population; and fungal damage was evaluated in each treatment. The highest damage to green beans as well as the highest growth reduction was observed in simultaneous inoculation treatments. The least gall number and reproduction factor (Rf) was seen in the treatment that was inoculated with *M. phaseolina* prior to nematode while the highest gall number and Rf was seen in the treatment that was first inoculated with *M. javanica*. All treatments inoculated with nematodes had greater root weight than other treatments in the absence of nematodes. The least growth reduction was observed in treatments that were inoculated with one of the pathogens only. The results confirmed high susceptibility of green bean to simultaneous infection by these two pathogens.

Key words: Green bean, Interaction, *Macrophomina phaseolina*, *Meloidogyne javanica*

¹- Former MSc 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.

*Corresponding author: saeed_i5@yahoo.com