اثر کمپوست بر وقوع مرگ گیاهچه‌ی گوجه‌فرنگی ناشی از *Pythium aphanidermatum* در گلخانه

آزاده حبیبی[۱*]، بنفشه صفایی فراهانی[۲] و رضا مستوفی‌زاده قلمفرسا[۳]

(تاریخ دریافت: ۱۳۹۶/۷/۱۷؛ تاریخ پذیرش: ۱۳۹۷/۱۰/۱۹)

چکیده

در این پژوهش تأثیر استفاده از نسبت‌های حجمی مختلف کمپوست-خاک بر وقوع مرگ گیاهچه گوجه‌فرنگی ناشی از *Pythium aphanidermatum* با استفاده از آزمایش‌های گلخانه‌ای بررسی شد. برای تعیین مناسب‌ترین مقدار مایه بیمارگر، بذرهای گوجه فرنگی به‌طور جداگانه در مخلوطی از مایه بیمارگر و خاک (در نسبت‌های حجمی ۵، ۱۰ و ۲۰ درصد) کاشته شدند. نتایج نشان داد که مناسب‌ترین غلظت بیمارگر برای مایه‌زنی، غلظت ۵٪ است. برای بررسی تأثیر استفاده از کمپوست بر وقوع مرگ گیاهچه‌های گوجه‌فرنگی، کمپوست در سه نسبت حجمی (۱۰، ۳۰ و ۵۰ درصد) با خاک سترون مخلوط شد و برای کاشت بذرهای گوجه‌فرنگی به‌کار رفت. سپس، بذرها با استفاده از غلظت ۵٪ بیمارگر مایه‌زنی شدند. وقوع بیماری با شمارش تعداد گیاهچه‌های مرده در بازه‌های زمانی دو روزه محاسبه شد. بررسی نتایج نشان داد که وقوع بیماری هنگام استفاده از کمپوست در نسبت‌های حجمی ۳۰ و ۵۰ درصد به‌طور معنی‌داری کاهش یافت؛ در حالی که کمپوست با نسبت حجمی ۱۰٪ اثر معنی‌داری بر کاهش بیماری نداشت. بررسی اثر کمپوست بر وقوع بیماری پس از اتوکلاو کردن آن مشخص کرد که بازدارندگی کمپوست اساس زیستی داشته و ناشی از ریزجانداران آنتاگونیستی است که پتانسیل استفاده به‌عنوان آفت‌کش زیستی را دارند.

کلمات کلیدی: راهبرد زیستی، کمپوست، مدیریت بیمارگرهای خاک‌زاد

مقدمه

گوجه‌فرنگی (*Lycopersicum esculentum* Mill.) گیاهی بومی آمریکای جنوبی و مرکزی است. این گیاه در حال حاضر در سراسر جهان کشت می‌شود. عوامل متعددی مانند آفت‌ها، بیماری‌ها، رقابت با علف‌های هرز و شرایط آب و هوایی و خاکی نامساعد سبب کاهش بازدهی تولید گوجه‌فرنگی می‌شود. پوسیدگی بذر و مرگ گیاهچه ناشی از گونه‌های مختلف پیتیوم از جمله بیماری‌های مهم گوجه‌فرنگی است (۲۴). گونه‌های

۱. گروه تنوع زیستی، پژوهشگاه علوم و تکنولوژی پیشرفته و علوم محیطی، دانشگاه تحصیلات تکمیلی صنعتی و فناوری پیشرفته، کرمان
۲. بخش تحقیقات گیاه‌پزشکی، مرکز تحقیقات و آموزش کشاورزی و منابع طبیعی استان فارس، سازمان تحقیقات، آموزش و ترویج کشاورزی، شیراز
۳. بخش گیاه‌پزشکی، دانشگاه شیراز
*مسئول مکاتبات، پست الکترونیکی: a.habibi@kgut.ac.ir

پیتیوم عامل پوسیدگی ریشه بسیاری از گیاهان مانند کدوییان، فلفل، پنبه و گوجه‌فرنگی‌اند (۲ و ۱۸) که به‌دلیل فعالیت بهتر در دما و رطوبت زیاد، خسارت شدیدی را در گلخانه ایجاد می‌کنند (۲۶). خسارت ناشی از گونه‌های پیتیوم در مراحل اولیه رشد گیاهچه شدیدتر بوده و اغلب سبب مرگ گیاهچه می‌شود (۳۶). تاکنون گونه‌های *Pythium amasculinum* Y.N. Yu، *Pythium aphanidermatum* (Edson) Fitzp. و *Pythium ultimum* Trow از گوجه‌فرنگی در ایران گزارش شده است (۱، ۳، ۱۴، ۳۵ و ۳۹). در میان گونه‌های پیتیوم، گونه *P. aphanidermatum* بیشتر از سایر گونه‌ها گزارش شده است (۳۶ و ۳۷). این گونه، دامنه میزبانی گسترده‌ای دارد و اغلب با آلوده کردن ریشه گیاهچه‌ها سبب مرگ آنها می‌شود (۱۸).

گوجه‌فرنگی یکی از میزبان‌های *P. aphanidermatum* است. گیاهان گوجه‌فرنگی در زمان جوانه‌زنی بذر و رشد گیاهچه‌های جوان، به‌این بیمارگر حساس‌اند. تندش سریع اسپورانژیوم‌های پیتیوم طی دو تا سه ساعت پس از مواجهه با مواد مترشحه از بذر و ریشه و ایجاد سریع آلودگی، مدیریت این بیمارگر را بسیار دشوار ساخته است (۲۷ و ۳۱).

اگرچه استفاده از قارچ‌کش‌ها نتایج خوبی در مهار بیماری مرگ گیاهچه داشته است، اما سمیّت برای گیاه و بقایای حاصل از قارچ‌کش مشکلات عمده‌ای هستند که موجب آلودگی‌های زیست‌محیطی و خطر برای سلامت انسان می‌شوند. همچنین، ایجاد مقاومت نسبت به قارچ‌کش‌ها استفاده از آنها را برای مهار بیماری محدود می‌کند. رعایت بهداشت از طریق استفاده از منابع آب سالم و عاری از بیمارگر، به‌کار بردن کمپوست آلی و تنظیم میزان آبیاری و دما طی رشد گیاهچه تا حدی به مدیریت این بیماری کمک می‌کند. کنترل با مواد زیستی مانند کمپوست، رهیافتی است که می‌تواند جایگزین استفاده از قارچ‌کش‌های شیمیایی شود و روشی سالم، مؤثر و مناسب برای محیط زیست در مدیریت بیماری‌های گیاهی است (۴۶).

کاربرد کمپوست برای سرکوب بیمارگری‌های گیاهی اولین بار در سال ۱۹۵۹ به اثبات رسید (۳۴). پس از آن، افراد دیگری نیز سرکوب کنندگی کمپوست‌ها علیه بیمارگرها را مورد بررسی قرار داده‌اند (۲۰، ۴۵ و ۴۶). بسیاری از بیماری‌های خاک‌زاد ایجاد شده توسط گونه‌های *Fusarium*، *Phytophthora*، *Phythium* و *Rhizoctonia solani* توسط فرمولاسیون‌های مختلفی از محیط‌های کشت حاوی کمپوست به‌طور موفقیت‌آمیزی سرکوب شده‌اند (۲۱). استفاده از کمپوست در خاک‌های کشاورزی روشی مناسب، به‌ویژه در خاک‌هایی است که در اثر کشت مداوم دچار کاهش مواد آلی شده‌اند. کمپوست در مقایسه با کودهای شیمیایی منبع ضعیفی از نیتروژن، فسفر و پتاسیم محسوب می‌شود. با این حال، مواد آلی موجود در آن زیاد است. افزودن کمپوست به خاک با افزایش کیفیت و کمیّت ماده آلی موجب بهبود حاصل‌خیزی خاک می‌شود (۵ و ۲۹). گونه‌های پیتیوم از اولین عوامل مستقر شونده هستند. بنابراین، استفاده از مواد آلی به‌عنوان منبع غذایی، می‌تواند فعالیت پیتیوم را محدود کند (۴۱). مواد آلی همچنین می‌توانند برای میکروارگانیزم‌های آنتاگونیست، منبع غذایی فراهم کنند. در نتیجه، افزودن مواد آلی فعالیت بیماری‌زایی گونه‌های پیتیوم را کاهش داده یا سرکوب می‌کند. به‌عنوان مثال، شدت بیماری پوسیدگی ریشه‌ی گندم ناشی از پیتیوم با افزودن بقایای نخود به خاک کاهش یافته است (۴۰). در مطالعه‌ای که توسط اِرهارت و همکاران (۱۳) انجام شد، از بین ۱۷ نوع کمپوست تهیه شده از زباله شهری، ۹ مورد نسبت به *Pythium ultimum* بازدارنده بودند. پژوهش‌های مک‌کلر و نلسون (۳۳) نیز نشان داد که جامعه ریزجانداران موجود در کمپوست، نقش اصلی را در بازدارندگی از تندش اسپورانژیوم‌های *P. ultimum* و در نهایت بازدارندگی از مرگ گیاهچه کتان دارند. همچنین، پژوهش‌هایی که در فنلاند روی ۲۱ کمپوست تجاری انجام شد، نشان داد که یک‌سوم آنها در برابر بیماری‌های خاک‌زاد ناشی از گونه‌های *Pythium* و *Phytophthora* بازدارنده بودند (۴۴).

اگرچه کشاورزی صنعتی، با مصرف سموم و کودهای شیمیایی، دستاوردهای قابل توجهی در تولید غذا داشته است، اما پیامدهای منفی اقتصادی، اجتماعی و زیست‌محیطی این نظام

تولیدی نیز غیر قابل انکار است. امروزه، کشاورزی ارگانیک به‌عنوان یکی از مناسب‌ترین جایگزین‌های کشاورزی صنعتی مطرح و به‌طور فزاینده‌ای در حال گسترش است (۳۰). با توجه به خسارت ناشی از مرگ گیاهچه در گلخانه‌های گوجه‌فرنگی و نیاز به یافتن شیوه‌های مدیریت بیماری بدون استفاده از سموم شیمیایی در تولید محصولات ارگانیک گلخانه‌ای، این پژوهش به‌منظور بررسی تأثیر استفاده از کمپوست بر وقوع بیماری مرگ گیاهچه گوجه‌فرنگی ناشی از *P. aphanidermatum* انجام شد.

مواد و روش‌ها

تهیه مایه بیمارگر

به‌منظور تهیه مایه بیمارگر، در فلاسک‌های ۵۰۰ میلی‌لیتری به‌ازای هر ۱۰۰ میلی‌لیتر ورمیکولیت، ۶۰ میلی‌لیتر عصاره شاهدانه (عصاره ۶۰ گرم شاهدانه خردشده در یک لیتر آب) افزوده شده و در ۱۲۱ درجه سلسیوس و فشار یک اتمسفر به‌مدت ۲۰ دقیقه سترون شد. پانزده قطعه به قطر پنج میلی‌متر از حاشیه پرگنه *P. aphanidermatum* (جدایه ۱-۸۶، بخش گیاه پزشکی دانشگاه شیراز) جدا شده و به هر فلاسک افزوده شد. فلاسک‌ها به‌مدت چهار هفته در ۲۵ درجه سلسیوس و در تاریکی نگهداری شدند (۴).

بررسی تأثیر مقدار مایه بیمارگر بر آلودگی گیاهچه‌های گوجه‌فرنگی

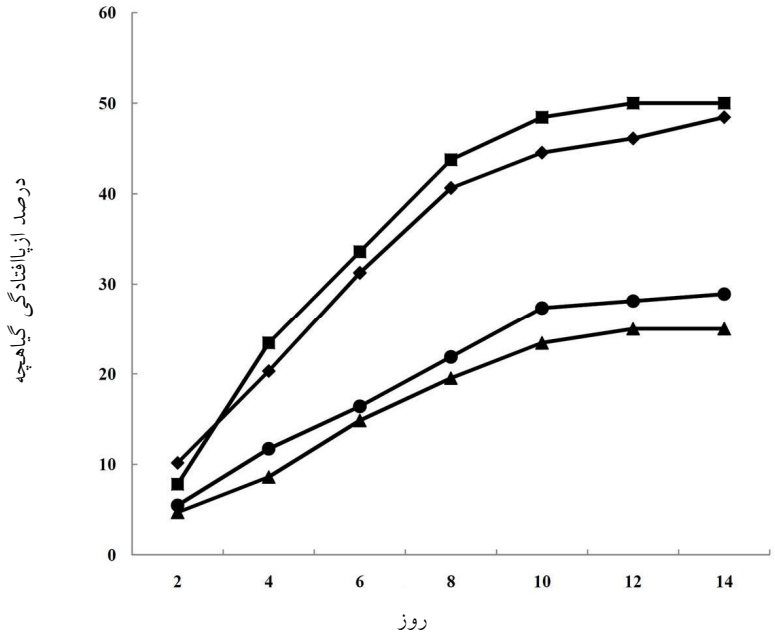
به‌منظور مایه‌زنی گیاهچه‌های گوجه‌فرنگی، ابتدا مخلوطی از مایه بیمارگر و خاک در نسبت‌های حجمی ۵، ۱۰ و ۲۰ درصد تهیه شد. گلدان‌ها با یک کیلوگرم از این مخلوط پر شده، در هر گلدان ۲۰ عدد بذر گوجه‌فرنگی (رقم Early orbano)، تهیه شده از بخش زراعت دانشگاه شیراز، قرار گرفت و روی بذرها با مخلوط بیمارگر و خاک (با نسبت حجمی مورد آزمایش) پوشانده شد. گیاهان شاهد با مخلوط ورمیکولیت و عصاره شاهدانه (بدون بیمارگر) مایه‌زنی شدند. برای هر تیمار، چهار تکرار در نظر گرفته شد. آبیاری گلدان‌ها هر دو روز یک‌بار به‌مقدار ظرفیت مزرعه‌ای انجام شد.

بررسی تأثیر کمپوست بر آلودگی گیاهچه‌های گوجه‌فرنگی

ابتدا کمپوست (تهیه شده از زباله شهری حاصل از بقایای میوه های مصرفی خانگی، بخش زراعت دانشگاه شیراز) در سه نسبت حجمی ۱۰، ۳۰ و ۵۰ درصد با خاک سترون مخلوط شد. با توجه به نتایج تأثیر مقدار مایه بیمارگر بر مرگ گیاهچه‌های گوجه‌فرنگی، غلظت ۵٪ بیمارگر برای مایه‌زنی انتخاب شد. برای مایه‌زنی گیاهان، ابتدا مایه بیمارگر به‌نسبت حجمی ۵٪ با مخلوط خاک و کمپوست (با نسبت‌های حجمی ذکر شده) مخلوط شده، سپس هر گلدان با یک کیلوگرم از این مخلوط پر شد. در هر گلدان ۲۰ عدد بذر گوجه‌فرنگی کاشته شده و روی بذرها با مخلوط خاک، کمپوست و مایه بیمارگر (با نسبت‌های حجمی مورد آزمایش) پوشیده شد. برای هر نسبت حجمی مورد آزمایش، یک شاهد دارای کمپوست بدون بیمارگر و یک شاهد بدون کمپوست با بیمارگر در نظر گرفته شد و برای هر تیمار، چهار تکرار انجام شد. برای بررسی اثر ریزجانداران موجود در کمپوست، آزمایش فوق با استفاده از کمپوست اتوکلاو شده نیز تکرار شد.

بررسی تراکم *P. aphanidermatum*

تراکم بیمارگر در خاک مخلوط شده با کمپوست در انتهای آزمایش در روز ۱۴ مورد بررسی قرار گرفت. از خاک گلدان های هر تیمار، مقدار ۱۰ گرم خاک در ۱۰۰ میلی‌لیتر آب مقطر سترون رقیق شد و یک میلی‌لیتر از آن روی سطح تشتک پتری حاوی محیط کشت نیمه‌انتخابی CMA-PARP (عصاره ۴۰ گرم ذرت خرد شده، ۱۵ گرم آگار و آب‌مقطر تا حجم یک لیتر حاوی ۰/۰۲ گرم در لیتر دلواسید، ۰/۵ گرم در لیتر آمپی‌سیلین، ۰/۰۱ گرم در لیتر ریفامپیسین و ۰/۱ گرم در لیتر PCNB) پخش شد. پس از ۴۸ ساعت نگهداری در تاریکی و ۲۵ درجه سلسیوس، پرگنه‌های تشکیل شده روی محیط کشت شمارش شد.



شکل ۱. منحنی‌های پیشرفت بیماری مرگ گیاهچه گوجه‌فرنگی ناشی از *Pythium aphanidermatum*. با استفاده از نسبت‌های حجمی ۱۰ (C1)، ۳۰ (C2) و ۵۰ (C3) درصد مخلوط کمپوست–خاک در مقایسه با شاهد بدون کمپوست (C0)

واکاوی آماری

آزمایش‌های فوق در قالب یک طرح کاملاً تصادفی با چهار تکرار انجام شد. واکاوی داده‌های به‌دست آمده با استفاده از نرم‌افزار SAS انجام شد. برای مقایسه میانگین داده‌های درصدی، تبدیل داده‌ها با استفاده از روش تبدیل زاویه‌ای (آرک سینوس) انجام شد. مقایسه میانگین با استفاده از آزمون دانکن در سطح احتمال ۵٪ صورت گرفت. منحنی پیشرفت بیماری (Disease Progress Curve, DPC) با شمارش تعداد گیاهچه‌های مرده در بازه‌های زمانی دو روزه برای هر تیمار رسم شد.

نتایج و بحث

بررسی وقوع بیماری

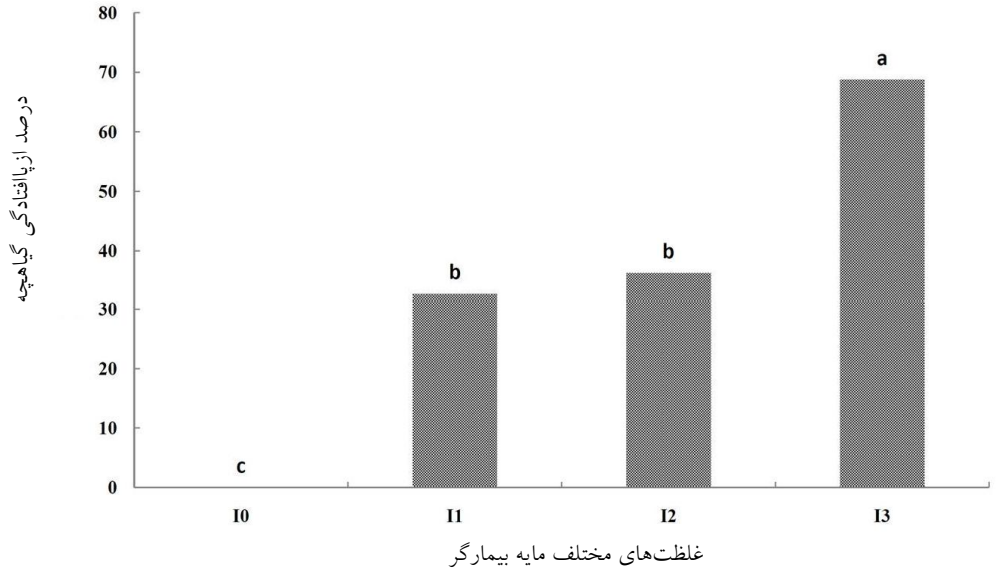
وقوع بیماری با شمارش گیاهچه‌های مرده محاسبه شد. درصد مرگ گیاهچه در غلظت‌های مختلف مایه بیمارگر (۵، ۱۰ و ۲۰ درصد) و کمپوست به نسبت‌های حجمی مختلف (۱۰، ۳۰ و ۵۰ درصد) محاسبه شد. منحنی‌های پیشرفت بیماری در گیاهچه‌های گوجه‌فرنگی طی ۱۴ روز در شکل (۱) نشان داده شده است.

اثر مقدار مایه بیمارگر بر مرگ گیاهچه‌های گوجه‌فرنگی

در بررسی اثر مقدار مایه بیمارگر *P. aphanidermatum* بر وقوع بیماری در گیاهچه‌های گوجه‌فرنگی مشاهده شد که هر سه تیمار ۵، ۱۰ و ۲۰ درصد حجمی مایه بیمارگر قادر به ایجاد مرگ گیاهچه بودند و به‌ترتیب وقوع بیماری ۳۲/۸، ۴۴/۵ و ۶۸/۷ درصدی را موجب شدند. بین تیمارهای ۵ و ۱۰ درصد حجمی مایه بیمارگر از لحاظ وقوع بیماری تفاوت معنی‌داری وجود نداشت. اما تفاوت بین وقوع بیماری در تیمار ۲۰٪ حجمی مایه بیمارگر و دو تیمار دیگر، معنی‌دار بود (شکل ۲).

اثر کمپوست بر مرگ گیاهچه‌های گوجه‌فرنگی

کمپوست در نسبت‌های حجمی ۳۰ و ۵۰ درصد روی *P. aphanidermatum* اثر بازدارنده داشت و به‌طور معنی‌داری مرگ گیاهچه‌های گوجه‌فرنگی را کاهش داد. اما کمپوست در



شکل ۲. مقایسه درصد مرگ گیاهچه گوجه‌فرنگی ناشی از *Pythium aphanidermatum* با استفاده از مخلوط مایه–خاک بیمارگر در نسبت‌های ۵ (I1)، ۱۰ (I2) و ۲۰ (I3) درصد حجمی و شاهد بدون مایه بیمارگر (I0). حروف نامتشابه نشان‌دهنده اختلاف معنی‌دار بر اساس آزمون دانکن در سطح احتمال ۵٪ است.

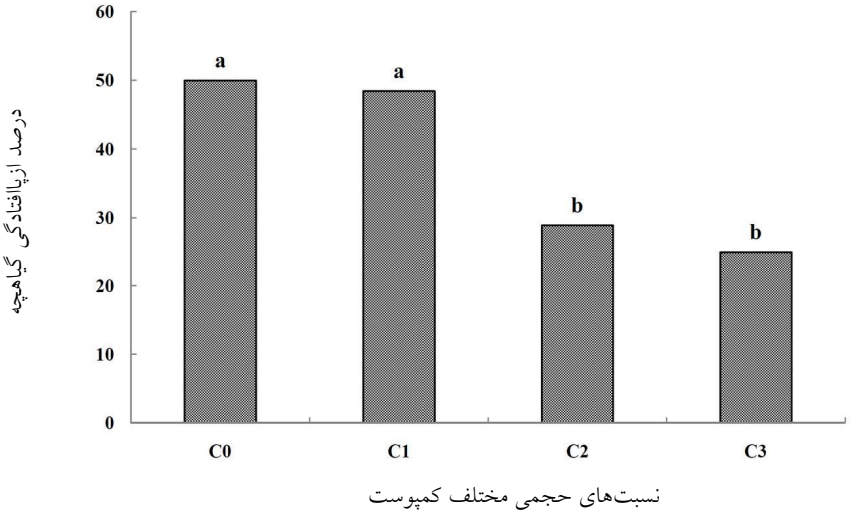
نسبت حجمی ۱۰٪ نسبت به شاهد بدون کمپوست تفاوت معنی‌داری در کاهش بیماری نشان نداد (شکل ۳). بر اساس وقوع مرگ گیاهچه، میانگین مهار بیماری در دو تیمار نسبت‌های حجمی ۳۰ و ۵۰ درصد نسبت به شاهد به‌ترتیب ۴۲ و ۵۰ درصد بود. تیمارهای کمپوست در نسبت‌های حجمی ۳۰ و ۵۰ درصد در کاهش وقوع بیماری نسبت به یکدیگر تفاوت معنی‌داری نشان ندادند و کاهش بیماری در هر دو نسبت حجمی به یک میزان بود.

با بررسی میزان اثر ریزجانداران فعال در کمپوست روی بازدارندگی بیماری، مشاهده شد که کمپوست پس از اتوکلاو شدن اثر معنی‌داری بر کاهش بیماری در گیاهچه‌های گوجه‌فرنگی نسبت به شاهد بدون کمپوست نداشت.

تراکم *Pythium aphanidermatum* در خاک مخلوط شده با کمپوست پس از مایه‌زنی

کمپوست در نسبت‌های حجمی ۳۰ و ۵۰ درصد میزان تراکم بیمارگر در محیط خاک گلدان را به‌طور معنی‌داری نسبت به شاهد بدون کمپوست کاهش داد. بین نسبت‌های حجمی ۳۰ و ۵۰ درصد تفاوتی از لحاظ تراکم بیمارگر مشاهده نشد. میانگین تراکم بیمارگر در تیمارهای دارای کمپوست ۳۰ و ۵۰ درصد، هشت پرگنه در هر گرم خاک (CFU/g) و در شاهد بدون کمپوست، ۳۰ پرگنه در هر گرم خاک (CFU/g) بود. تیمار ۱۰٪ حجمی کمپوست کاهشی در میزان تراکم بیمارگر نسبت به شاهد نشان نداد.

نتایج این آزمایش نشان داد که افزودن ۵ و ۱۰ درصد حجمی مایه بیمارگر می‌تواند به‌میزان مشابهی موجب مرگ گیاهچه‌های گوجه‌فرنگی شود. در حالی که افزودن میزان بیشتر مایه بیمارگر به‌مقدار ۲۰٪ حجمی سبب افزایش معنی‌دار میزان مرگ گیاهچه افزایش شد. عوامل تأثیرگذار بر ایجاد آلودگی و گسترش آن بسیار پیچیده هستند. بنابراین، پیش از بررسی کمّی کلیه برهمکنش‌های میزبان، بیمارگر و محیط باید تراکم مایه بیمارگر را مشخص کرد. انتخاب دامنه مایه بیمارگر باید به‌گونه‌ای باشد که ارتباط بین آن و آلودگی ریشه را به بهترین شکل توصیف کند. در مورد بسیاری از گونه‌های پیتیوم و



شکل ۳. تأثیر استفاده از مخلوط کمپوست- خاک در نسبت‌های ۱۰ (C1)، ۳۰ (C2) و ۵۰ (C3) درصد حجمی روی وقوع مرگ گیاهچه گوجه‌فرنگی ناشی از *Pythium aphanidermatum* نسبت به شاهد بدون کمپوست (C0). حروف نامتشابه نشان‌دهنده اختلاف معنی‌دار بر اساس آزمون دانکن در سطح احتمال ۵٪ است.

فیتوفتورا، آلودگی از تعداد کمی زئوسپور ایجاد می‌شود (۹ و ۳۸). بنابراین، استفاده از غلظت زیاد مایه بیمارگر ممکن است تمام سدهای دفاعی میزبان را بشکند. در حالی که استفاده از مقدار کمتر مایه بیمارگر باعث می‌شود که گیاه سالم بماند. بنابراین، انتخاب مقدار مایه بیمارگر از اهمیت زیادی برخوردار است (۹ و ۳۸). با توجه به مطالب فوق، میزان مایه بیمارگر برای افزودن به خاک و بررسی‌های بعدی ۵٪ حجمی در نظر گرفته شد.

کمپوست نقش ارزشمندی در راهبردهای مدیریتی بر مبنای استفاده از مواد غذایی آلی در گیاهان گلخانه‌ای دارد. در این پژوهش، استفاده از کمپوست به نسبت‌های حجمی ۳۰ و ۵۰ درصد به‌طور معنی‌داری مرگ گیاهچه ناشی از *P. aphanidermatum* را در گوجه‌فرنگی کاهش داد. در حالی که نسبت حجمی ۱۰٪ کمپوست تأثیر معنی‌داری بر کاهش مرگ گیاهچه گوجه‌فرنگی ناشی از این بیمارگر نداشت. بازدارندگی کمپوست در این پژوهش با کاهش تراکم بیمارگر در محیط خاک گلدان‌های حاوی کمپوست در نسبت‌های حجمی ۳۰ و ۵۰ درصد به‌میزان هشت پرگنه در مقایسه با شاهد دارای ۳۰ پرگنه در هر گرم خاک، هماهنگی داشت. همچنین، همان‌گونه که انتظار می‌رفت، در تیمار ۱۰٪ حجمی کمپوست، تراکم بیمارگر نسبت به شاهد کاهش معنی‌داری نشان نداد.

ایده استفاده از کمپوست، اولین بار برای استفاده از کمپوست پوست درختان برای مهار پوسیدگی ریشه ناشی از *Phytophthora cinnamomi* در گیاهان زینتی پیشنهاد شد (۱۹). سرکوب بیماری‌های گیاهی به‌کمک استفاده از کمپوست در مورد بسیاری از بیمارگرهای خاک از جمله *P. aphanidermatum* (۱۶)، *P. ultimum* (۷ و ۲۲)، *Phytophthora* spp. (۱۷)، *Rhizoctonia solani* (۱۵)، *Fusarium oxysporum* (۲۸) و *Verticillium dahliae* (۴۲) نشان داده شده است؛ هرچند، گاه گزارش‌های متناقضی نیز در این زمینه وجود دارد. به‌عنوان مثال، افزودن بقایای کاهو به خاک، تراکم مایه بیمارگر *P. ultimum* را در خاک افزایش می‌دهد و به‌دنبال آن پوسیدگی ریشه افزایش می‌یابد (۱۲). در حالی که پژوهش دیگری نشان داده است که در محصولات گلخانه‌ای، مرگ گیاهچه پس از جوانه‌زنی با افزودن کود گیاهی به خاک کاهش می‌یابد (۷).

نتایج این پژوهش نشان داد که سرکوب *P. aphanidermatum*

در مرگ گیاهچه‌های گوجه‌فرنگی بسیار سریع و در ساعات اولیه تماس بیمارگر با میزبان صورت گرفته است. از آنجا که واکنش زادمایه‌های پیتیوم و گیاه و سپس توسعه بیماری بسیار سریع رخ می‌دهد (۳۲)، مشاهده سرکوب شدن مرگ گیاهچه نشان داده که بیان سرکوب‌گری در خاک دارای کمپوست خیلی سریع رخ می‌دهد و این مسئله در مورد بیماری‌های ناشی از پیتیوم اهمیت زیادی دارد. بذر کاشته شده در خاک طی دو تا چهار ساعت اول به‌وسیله گونه‌های پیتیوم کلونیزه می‌شود و حداکثر کلونیزه شدن بین ۱۲ تا ۲۴ ساعت پس از کاشت بذر صورت می‌گیرد (۴۱). بنابراین، اگر در این مرحله حساس بیمارگری، بتوان تندش اسپورانژیوم و کلونیزه شدن بذر توسط پیتیوم را محدود کرد، می توان جلوی آلوده شدن بذر و پیش‌روی بیماری را گرفت. بر اساس نتایج این پژوهش، می‌توان نتیجه گرفت که افزودن کمپوست، *P. aphanidermatum* را در چند ساعت اولیه کاشت بذر گوجه‌فرنگی مهار می‌کند.

پژوهش‌های روی آنتاگونیست‌های میکروبی گونه‌های پیتیوم نشان داده که اکثر آنها هنگامی که در سطح بذر حضور دارند و فعال هستند، در سرکوب مرگ گیاهچه مؤثرند. این ریزجانداران در صورتی مؤثرند که در مراحل بسیار اولیه جوانه‌زنی بذر وجود داشته و قادر به استقرار و تکثیر سریع در محیط اطراف بذر باشند. بر مبنای این مشاهدات، این فرضیه که ریزجانداران موجود در کمپوست قادر به سرکوب مرگ گیاهچه ناشی از *P. aphanidermatum* هستند، در این پژوهش مورد آزمایش قرار گرفت. نتایج نشان داد که مهار زیستی مرگ گیاهچه در اثر پیتیوم، حاصل برهمکنش بین عوامل زنده موجود در کمپوست است. زیرا استفاده از کمپوست اتوکلاو شده اثر معنی‌داری بر کاهش بیماری در گیاهچه‌های گوجه‌فرنگی نسبت به شاهد بدون کمپوست نداشت. این نتیجه با نتایج پژوهش‌های پیشین (۶ و ۱۱) که سازوکار سرکوب بیماری در خاک تیمار شده با کمپوست را به فعالیت میکروبی داخل آن نسبت داده‌اند، همخوانی داشت. پژوهش دیگری (۲۳) نشان داد که جمعیت میکروبی اطراف بذر در خاک تیمار شده با کمپوست، کشش بین زئوسپورهای *P. aphanidermatum* و ترشحات بذر خیار را کاهش می‌دهد. کاهش کشش بین زئوسپورهای *P. aphanidermatum* و ترشحات بذر خیار ممکن است ناشی از این باشد که ریزجانداران موجود در کمپوست در ساختار شیمیایی مولکول‌های سیگنالی که زئوسپورها برای یافتن میزبان از آن استفاده می‌کنند، تغییراتی دهند و یا اینکه این ریزجانداران سموم شیمیایی از خود ترشح می‌کنند که زئوسپورها را غیرفعال می‌کند. اثبات فرضیه تأثیر ریزجانداران کمپوست در ایجاد اختلال روی یافتن میزبان توسط زئوسپورهای پیتیوم نیاز به پژوهش‌های بیشتری دارد.

محیط اطراف بذر، منبع غنی از مواد غذایی را فراهم کرده و امکان رشد و فعالیت جمعیت‌های میکروبی را در اطراف بذر به‌وجود می‌آورد (۱۰). پس از جذب آب به‌وسیله بذر و رهاسازی مواد مترشحه از بذر، برهمکنش‌های رقابتی بین ریزجانداران در محیط اطراف بذر افزایش می‌یابد. با این حال، برای اینکه برهمکنش‌های رقابتی بتوانند در سرکوب بیماری نقش ایفا کنند، لازم است که منبعی محدود بین بیمارگر و آنتاگونیست‌های میکروبی تقسیم شود. چنین رقابتی بین *P. ultimum* و عامل مهار زیستی *Enterobacter cloacae* در محیط اطراف بذر به اثبات رسیده است. ترکیبات اسید چرب زنجیره بلندی که در ترشحات بذر کتان وجود دارد و برای تحریک تندش اسپورانژیوم *P. ultimum* لازم است، توسط *E. cloacae* مصرف شده، میزان آلودگی بذر و وقوع بیماری را کاهش می‌دهد (۴۳). پژوهش دیگری نشان داده که جمعیت باکتری‌های مصرف کننده اسیدهای چرب و اکتینوباکتری‌ها در خاک‌های بازدارنده پیتیوم زیاد است. بر اساس نتایج این پژوهش، کاهش تندش اسپورانژیوم پیتیوم در خاک دارای کمپوست، ناشی از مصرف محرک‌های تندش اسپورانژیوم، که از جنس اسید چرب هستند، و یا تولید بازدارنده‌های تندش، مانند آنتی‌بیوتیک‌ها است (۳۳).

نتیجه‌گیری

استفاده از کمپوست در گلخانه‌های پرورش گوجه‌فرنگی ارگانیک که امکان استفاده از قارچ‌کش برای ضدعفونی بذر

وجود ندارد، می‌تواند نقش مهمی در مهار بیمارگرها ایفا کند. با این حال، باید به این نکته دقت کرد که در پژوهش حاضر تنها اثر کمپوست بر مرگ گیاهچه ناشی از *P. aphanidermatum* مورد مطالعه قرار گرفته است. با توجه به این که ممکن است کمپوست نسبت به سایر بیمارگرهای خاک‌زاد آثار متفاوتی داشته باشد (۸)، بررسی اثر کمپوست بر سایر بیمارگرهای خاک‌زاد گوجه‌فرنگی گامی مهم در راستای بهبود روش‌های مهار زیستی در گلخانه‌های کشت گوجه‌فرنگی ارگانیک خواهد بود.

یافتن سازوکار کمپوست در سرکوب مرگ گیاهچه ناشی از پیتیوم در گلخانه‌های تجاری می‌تواند اطلاعات ارزشمندی در راستای مدیریت بیماری‌های خاک‌زاد در اختیار پژوهش‌گران و تولیدکنندگان محصولات گلخانه‌ای قرار دهد. بررسی‌های بعدی برای یافتن مهم‌ترین ریزجانداران مؤثر در بازدارنگی پیتیوم به‌عنوان یکی از بیمارگرهای خاک‌زاد مهم گیاهان گلخانه‌ای می‌تواند امکان افزودن این ریزجانداران مفید به خاک را فراهم کند. همچنین، بررسی تأثیر استفاده از کمپوست بر سایر پاتوسیستم‌ها به‌ویژه بیمارگرهای ریشه گیاهان گلخانه‌ای به افزایش استفاده از راهبردهای زیستی برای مدیریت این بیمارگرها، به‌جای استفاده از مواد شیمیایی، کمک می‌کند.

منابع مورد استفاده

1. Abad, P., D. Zafari and M. Mirabolfathi. 2013. Identification of four new species of *Pythium* in Hamedan province. Quarterly J. Res. Plant Pathol. 1: 77-89.
2. Askari Farsangi, S., H. Rouhani, M. Falahati Rastegar, E., Mahdikhani-Moghadam and A. Mokaram Hesar. 2011. Identification of *Pythium* spp. and their pathogenicity on cucurbits in Khorasan-Razavi province. J. Plant Protec. 25(1): 21-29.
3. Azimian, B., H. Rouhani and E. Mahdikhani-Moghadam. 2011. Identification and sensitivity of *Pythium ultimum* isolated from Razavi and North Khorasan provinces to metalaxyl. J. Plant Protect. 24: 419-427.
4. Banihashemi, Z. and J. Fatehi. 1989. Reaction of cucurbit cultivars to *Phytophthora drechsleri* and *P. capsici* in greenhouse. Proceedings of the 9th Iranian Plant Protection Congress, 9-14 Sept. 1989, Ferdowsi University, Mashhad, Iran (In Farsi).
5. Barzegar, A.R., A. Yousefi and A. Daryashenas. 2002. The effect of addition of different amounts and types of organic materials on soil physical properties and yield of wheat. Soil Till. Res. 247: 295-301.
6. Boehm, M., L. Madden and H. Hoitink. 1993. Effect of organic matter decomposition level on bacterial species diversity and composition in relationship to *Pythium* damping-off severity. Appl. Environ. Microbiol. 59: 4171-4179.
7. Boehm, M.J. and H.A.J. Hoitink. 1992. Sustenance of microbial activity in potting mixes and its impact on severity of *Pythium* root rot of poinsettia. Phytopathol. 82: 259-264.
8. Bonanomi, G., V. Antignani, M. Capodilupo and F. Scala. 2010. Identifying the characteristics of organic soil amendments that suppress soil borne plant diseases. Soil Biol. Biochem. 42: 136-144.
9. Bowers, J.H. and D.J. Mitchell. 1991. Relationship between inoculum level of *Phytophthora capsici* and mortality of pepper. Phytopathol. 81: 178-184.
10. Buyer, J.S. D.P. Roberts and E. Russek-Cohen. 1999. Microbial community structure and function in the spermosphere as affected by soil and seed type. Can. J. Microbiol. 45: 138-144.
11. Chen, W., H.A.J. Hoitink and A.F. Schmitthenner. 1987. Factors affecting suppression of *Pythium* damping-off in container media amended with composts. Phytopathol. 77: 755-760.
12. Craft, C.M. and E.B. Nelson. 1996. Microbial properties of composts that suppress damping-off and root rot of creeping bentgrass caused by *Pythium graminicola*. Appl. Environ. Microbiol. 62: 1550-1557.
13. Erhart, E., K. Burian, W. Hartl and K. Stich. 1999. Suppression of *Pythium ultimum* by biowaste composts in relation to compost microbial biomass, activity and content of phenolic compounds. J. Phytopathol. 147: 299-305.
14. Ershad, D. 1977. Contribution to the knowledge of *Pythium* species of Iran. Iran. J. Plant Pathol. 13: 55-74.
15. Gorodecki, B. and Y. Hadar. 1990. Suppression of *Rhizoctonia solani* and *Sclerotium rolfsii* diseases in container media containing composted separated cattle manure and composted grape marc. Crop Protect. 9: 271-274.
16. Hadar, Y. and R. Mandelbaum. 1992. Suppressive compost for biocontrol of soilborne plant pathogens. Phytoparasitica 20: S113-S116.
17. Hardy, G.S.J. and K. Sivasithamparam. 1991. Effects of sterile and non-sterile leachates extracted from composted eucalyptus bark and pine-bark container media on *Phytophthora* spp. Soil Biol. Biochem. 23: 25-30.

18. Hendrix, F.F. and W.A. Campbell. 1973. *Pythiums* as plant pathogens. Ann. Rev. Phytopathol. 11: 77-98.
19. Hoitink, H., J.R.D. Vandoren and A. Schmitthenner. 1977. Suppression of *Phytophthora cinnamomi* in a composted hardwood bark potting medium. Phytopathol. 67: 561-565.
20. Hoitink, H.A.J. and G.A. Kuter. 1986. Effects of composts in growth media on soilborne pathogens. PP. 289-306. *In:* Chen, Y. and Y. Avnimelech (Eds.), Role of Organic Matter in Modern Agriculture, Nijhoff Publishers, Boston.
21. Hoitink, H.A.J., Y. Inbar and M.J. Boehm. 1991. Status of compost-amended potting mixes naturally suppressive to soilborne diseases of floricultural crops. Plant Dis. 75: 869-873.
22. Inbar, Y., M.J. Boehm and H.A. Hoitink 1991. Hydrolysis of fluorescein diacetate in sphagnum peat container media for predicting suppressiveness to damping-off caused by *Pythium ultimum*. Soil Biol. Biochem. 23: 479-483.
23. Jack, A.L.H. and E.B. Nelson. 2010. Suppression of *Pythium* damping off with compost and vermicompost. Final Report to the Organic Farming Research Foundation. Available from URL: http://www.ofrf.org/research/grants/suppression-pythium-damping-compost-andvermicompost. [Accessed 9 December 2014]
24. Jones, J.B., J.P. Jones, R.E. Stall and T.A. Zitter. 1991. Compendium of Tomato Diseases. The American Phytopathological Society Press, St. Paul, Min., USA.
25. Kageyama, K. 1997. Detection of *Pythium ultimum* using polymerase chain reaction with species-specific primers. Plant Dis. 81: 1155-1160.
26. Kageyama, K., M. Suzuki, A. Priyatmojo, Y. Oto, K. Ishiguro, H. Suga, T. Aoyagi and H. Fukui 2003. Characterization and identification of asexual strains of *Pythium* associated with root rot of rose in Japan. J. Phytopathol. 151: 485-491.
27. Kannan, R. and J. Jayaraj. 1998. Effect of various levels of inoculation of *Bacillus subtilis* on the incidence of damping-off of tomato and on plant growth parameters. Annamalai Univ. Agric. Res. Ann. 16: 25-30.
28. Kavroulakis, N., S. Ntougias and M.I. Besi 2010. Antagonistic bacteria of composted agro-industrial residues exhibit antibiosis against soil-borne fungal plant pathogens and protection of tomato plants from *Fusarium oxysporum* f. sp. *radicis-lycopersici*. Plant Soil 333: 233-247.
29. Kazemeini, S.A., H. Hamzehzarghani and M. Edalat. 2010. The impact of nitrogen and organic matter on winter canola seed yield and yield components. Aust. J. Crop Sci. 4: 335-342.
30. Lampkin, N. 1990. Organic Farming. Farming Press, New York, USA.
31. Littrell, R. and S. McCarter. 1970. Effect of soil temperature on virulence of *Pythium aphanidermatum* and *Pythium myriotylum* to rye and tomato. Phytopathol. 60: 704-707.
32. Martin, F.N. and J.E. Loper. 1999. Soilborne plant diseases caused by Pythium spp.: Ecology, epidemiology, and prospects for biological control. Critical Rev. Plant Sci. 18: 111-181.
33. Mckellar, M.E. and E.B. Nelson. 2003. Compost-induced suppression of *Pythium* damping-off is mediated by fatty-acid-metabolizing seed-colonizing microbial communities. Appl. Environ. Microbiol. 69: 452-460.
34. Menzies, J.D. 1959. Occurrence and transfer of a biological factor in soil that suppresses potato scab. Phytopathol. 49: 648-652.
35. Ommati, F. and D. Ershad. 2004. Identification of fungal agents of tomato wilting from nurseries and fields of Semnan province. Proceedings of the 16th Iranian Plant Protection Congress, 2004, 28 Aug -1 Sept. Tabriz, Iran, p. 249 (In Farsi).
36. Postma, J., B.P.J. Geraats, R. Pastoor and J.D. Van Elsas. 2005. Characterization of the microbial community involved in the suppression of *Pythium aphanidermatum* in cucumber grown on rockwool. Phytopathol. 95: 808-818.
37. Pouzeshi Miab, B., S.R. Fani and F. Jahanshahi Afshar. 2012. Study of tomato soil borne pathogens in Marand County. Proceedings of the 20th Iranian Plant Protection Congress, 26-29 Aug. Shiraz, Iran, p. 460 (In Farsi).
38. Raftoyannis, Y. and M.W. Dick. 2002. Effects of inoculum density, plant age and temperature on disease severity caused by Pythiaceous fungi on several plants. Phytoparasitica 30: 67-76.
39. Sharzei, A., S. Heidary and F. Raufi. 2013. Identification of tomato root and crown pathogenic fungi in Marvdasht region, Iran. Iran. J. Plant Dis. Res. 1: 57-65 (In Farsi).
40. Smiley, R.W., H.P. Collins and P.E. Rasmussen. 1996. Diseases of wheat in long-term agronomic experiments at Pendleton, Oregon. Plant Dis. 80: 813-820.
41. Stanghellini, M.E. and J.G. Hancock. 1971. Radial extent of the bean spermosphere and its relation to the behavior of *Pythium ultimum*. Phytopathol. 61: 165-168.
42. Termorshuizen, A. and M. Jeger. 2008. Strategies of soilborne plant pathogenic fungi in relation to disease suppression. Fungal Ecol. 1: 108-114.
43. van Dijk, K. and E.B. Nelson. 2000. Fatty acid competition as a mechanism by which *Enterobacter cloacae* suppresses *Pythium ultimum* sporangium germination and damping-off. Appl. Environ. Microbiol. 66: 5340-5347.
44. Vestberg, M., S. Kukkonen, S. Rantala, P. Prochazka, S. Tuohimetsä, H. Setälä, M. Romantschuk, J. Kurola, D. Yu and P. Parikka. 2011. Suppressiveness of Finnish commercial compost against soil borne disease. Acta Hort. 891: 59-65.
45. Weltzien, H.C. 1989. Some effects of composted organic materials on plant health. Agric. Ecosys. Environ. 27: 439-446.
46. Whipps, J.M. and D.R. Lumsden. 1991. Biological control of *Pythium* species. Biocontrol Sci. Technol. 1: 75-90.

Effect of Compost on Tomato Damping off Disease Caused by *Pythium Aphanidermatum* in Greenhouse

A. Habibi[1*], B. Safaiefarahani[2] and R. Mostowfizadeh-Ghalamfarsa[3]

(Received: 9 October 2017 ; Accepted : 9 January 2019)

Abstract

The effect of different compost-soil ratios on the incidence of *Pythium aphanidermatum* causing tomato damping off was tested in a greenhouse experiment. The inoculum density of 5% was determined to be suitable for inoculation in compost experiments based on investigations of disease incidence with 5, 10 and 20% inoculum densities. To evaluate the effect of compost on incidence of tomato damping off, tomato seeds were sown in compost/soil mixtures at 10, 30 and 50% V:V containing 5% of *P. aphanidermatum* inoculum. The number of dead tomato seedlings was recorded in two-day intervals and disease incidence was calculated. Results showed that compost/soil mixtures at 30 and 50% ratios significantly suppressed *Pythium* damping off in tomato seedlings, while 10% compost/soil mixture had no significant effect on disease suppression. This suppression was biologically based since heat-sterilized compost offered little protection from the pathogen. There are antagonistic microorganisms in the composts which are potential biocontrol agents and can be used in bio-pesticides.

Keywords: Biocontrol strategy, Compost, Soil-borne pathogens management.

1. Dept. of Biodivers., Inst. of Sci. and High Technol. and Environ. Sci., Grad. Univ. of Adv. Technol., Kerman, Iran.
2. Dept. of Plant Protect. Res., Fars Agric. and Nat. Resour. Res. and Edu. Center, AREEO, Shiraz, Iran.
3. Dept. of Plant Protect., School of Agric., Shiraz Univ., Shiraz, Iran.
* Corresponding Author, Email: a.habibi@kgut.ac.ir