DOI: 10.22034/ijon.2022.707359 مقاله پژوهشی

اثر کود مرغی بر حرکت لارو سن دو نماتد ریشه‌گرهی *Meloidogyne incognita* درون ستون‌های خاک در شرایط آزمایشگاهی

فاطمه محمدی[۱]، لیلا کاشی[۲]، زهرا کلاه چی[۱]✉ و آزاده صفادوست[۱]

۱. گروه علوم خاک، دانشکده کشاورزی، دانشگاه بوعلی سینا، همدان، ایران

۲. گروه گیاه‌پزشکی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه بوعلی سینا، همدان، ایران

✉ پست الکترونیکی مسئول مکاتبات: zkolahchi@basu.ac.ir

دریافت: ۱۴۰۲/۰۲/۱۴ پذیرش علمی: ۱۴۰۲/۰۵/۳۰ انتشار در سامانه: ۱۴۰۲/۰۶/۱۲

چکیده

افزودن کودهای آلی علاوه بر تغییر خصوصیات فیزیکی و شیمیایی خاک، بر جمعیت ریزموجودات آن از جمله نماتدها تأثیرگذار است. در این پژوهش حرکت لارو سن دو نماتد ریشه‌گرهی *Meloidogyne incognita* در ستون‌های خاک تیمار شده با کود مرغی به مدت ۱۸ هفته، تحت جریان اشباع ماندگار پس از ۲۴ و ۷۲ ساعت بررسی گردید. نتایج نشان داد که ۲۴ ساعت پس از تزریق نماتد به ستون خاک شاهد، نماتدها در فواصل کوتاهی از نقطه تزریق، در جهت و خلاف جهت جریان آب حرکت کرده بودند. هم‌چنین ۷۲ ساعت پس از تزریق، جمعیت نماتدها در نقطه تزریق کاهش یافت و پراکنش آن‌ها در جهت و خلاف جهت جریان آب مشاهده گردید. در ستون خاک تیمار شده با کود مرغی، ۲۴ ساعت پس از تزریق، جمعیت نماتدها در خلاف جهت جریان بیشتر مشاهده شد و توزیع نماتدها در ستون خاک در جهت و خلاف جهت جریان آب پس از ۷۲ ساعت از زمان تزریق متقارن‌تر بود. افزودن کود مرغی به خاک، با تغییر خصوصیات فیزیکی آن به‌ویژه افزایش هدایت هیدرولیکی و تخلخل خاک، باعث تغییر در حرکت نماتد مورد مطالعه گردید.

واژه‌های کلیدی: حرکت نماتد، کود آلی، نماتد انگل گیاهی

Effect of chicken manure application on movement of second-stage juveniles of the root-knot nematode *Meloidogyne incognita* in soil columns under laboratory conditions

Fatemeh Mohammadi[1], Leila Kashi[2], Zahra Kolahchi[1]✉ and Azadeh Safadoost[1]
1. Department of Soil Science, Faculty of Agriculture, Bu-Ali Sina University, Hamedan, Iran
2. Department of Plant Protection, Faculty of Agriculture, Bu-Ali Sina University, Hamedan, Iran
✉Corresponding author E-mail: zkolahchi@basu.ac.ir

Received: 2023/05/04 Revised: 2023/08/21 Accepted: 2023/09/03

Abstract

The addition of organic fertilizers to soil not only changes its physical and chemical properties, but also affects the population of microorganisms, including nematodes. In this study, the migration of second-stage juveniles of the root-knot nematode *Meloidogyne incognita* was investigated in soil columns treated with chicken manure for 18 weeks, under continuous saturation flow at 24 and 72 hours. The results showed that 24 hours after injection of the nematodes into the control column, the nematodes were moved in and against the direction of the water flow at short intervals from the injection site. In addition, 72 hours after injection, the nematode population at the injection site was decreased and the nematodes were dispersed throughout the column in and against the direction of water flow. In the soil column treated with chicken manure, the nematode population was found higher 24 hours after injection against the flow direction, and the distribution of nematodes in the soil column in and against the flow direction of water was more symmetrical 72 hours after injection. The addition of chicken manure to the soil caused a change in nematode movement by altering the physical properties, especially increasing the hydraulic conductivity and porosity of the soil.

Keywords: Nematode movement, organic fertilizer, plant-parasitic nematode

How to cite: Mohammadi, F., Kashi, L., Kolahchi, Z. & Safadoost, A. Effect of chicken manure application on movement of second-stage juveniles of the root-knot nematode *Meloidogyne incognita* in soil columns under laboratory conditions. Iranian Journal of Nematology 1(1). 139-148.

مقدمه

در سال‌های اخیر، کاربرد بقایای آلی در خاک‌های مناطق خشک و نیمه‌خشک به عنوان یک راه‌کار محیط‌زیستی برای حفظ ماده آلی خاک و فراهم نمودن عناصر غذایی مورد نیاز گیاه (Tejada *et al*. 2006)، افزایش حاصل‌خیزی و کیفیت خاک (Pagliari & Laboski 2012)، افزایش قدرت نگه‌داری آب، کاهش تنش‌ها از جمله تنش خشکی، افزایش تنوع میکروبی (Oehl *et al*. 2004)، بهبود ساختمان فیزیکی (Pulleman *et al*. 2006)، جلوگیری از فرسایش خاک و بهبود رشد، کیفیت و سلامت گیاه (Nelson, *et al*. 2004)، پیش‌گیری و کنترل بیماری‌ها و آفات گیاهی (Abbasi *et al*. 2002) معرفی شده است. کاربرد بقایای آلی از قبیل کودهای حیوانی، بقایای گیاهی و رسوب فاضلاب به عنوان یکی از روش‌های رایج مدیریتی در افزایش قابلیت دسترسی عناصر غذایی درخاک‌های آهکی پیشنهاد شده است (Uygur & Karabatak 2009).

کود مرغی در بین منابع آلی به عنوان یک منبع غنی از عناصر غذایی پرمصرف و کم‌مصرف مناسب برای کشت سبزیجات شناخته شده است. کود مرغی علاوه بر بهبود خواص فیزیکی خاک، حاوی مواد غذایی مهم برای تغذیه گیاه است و دارای حدود سه درصد نیتروژن (N)، ۲/۶۳ درصد فسفر (P_2O_5) و ۱/۴ درصد پتاسیم (K_2O) است (Reddy & Reddi 1995).

تاثیر بقایای آلی در پیش‌گیری، کنترل و کاهش بیماری‌های گیاهی مختلف و اثرات آن‌ها بر بیمارگرهای خاک در کشاورزی زیستی به خوبی مشخص شده است (Halalat *et al*. 2017). از جمله بیمارگرهای خاک، نماتدها هستند که پس از حشرات بزرگ‌ترین و متنوع‌ترین جانوران کره زمین محسوب می‌شوند. در میان آن‌ها نماتدهای ریشه‌گرهی حدود ۱۰۰ گونه شناخته شده دارد که چهار گونه آن رایج بوده و در تمام دنیا پراکندگی دارند (Karssen *et al*. 2013). بیش از پنج درصد کل خسارت نماتدها به گیاهان ناشی از نماتدهای ریشه‌گرهی (*Meloidogyne* spp.) است (Sasser & Freckman 1987). اگرچه نماتدکش‌ها در مهار نماتدها مؤثر هستند ولی اثرات باقیمانده سموم بر محصولات غذایی و محیط زیست موجب افزایش نگرانی‌ها شده است و تقاضای روزافزونی برای استفاده از سازوکارهای محیط‌زیستی در مبارزه با نماتدها و کشاورزی پایدار در سراسر جهان به‌وجود آمده است (Collange *et al*. 2011).

تحرک نماتدهای خاک تحت تأثیر رطوبت و محتوای آب خاک (Wallace 1968; Towson & Apt 1983) دمای خاک (Griffin & Jensen 1997)، میزان اکسیژن (Gundy & Stolzy 1963)، دی اکسیدکربن (Robinson 1995)، اسیدیته خاک (pH) (Melakeberhan *et al*. 2004)، جاذبه زمین، ساختمان خاک (Eo *et al*. 2008)، جاذب‌ها (Castro *et al*. 1989; Hewlett *et al*. 1997) و دفع‌کننده‌ها (Dies & Dusenbery 1989; Castro *et al*. 1991) قرار می‌گیرد.

مرحله مهاجم نماتد ریشه‌گرهی *M. incognita*، لارو سن دو کرمی‌شکل است. طول بدن لارو سن دو ۳۴۶ تا ۴۶۳ میکرومتر و قطر آن ۱۰/۶ تا ۱۳/۶ میکرومتر می‌باشد (Chitwood 1949). این لاروها به آرامی در خاک حرکت کرده (Sano & Nakasono 1997a, 1997b) و توانایی جابه‌جایی آن‌ها به توزیع و اندازه‌ی منافذ خاک بستگی دارد (Otobe *et al*. 2004). هم‌چنین جریان آب آبیاری و بارندگی از عوامل موثر دیگر در تحرک این نماتدها در خاک است. با این حال، اطلاعات کمی در مورد حرکت نماتدها و جریان آب خاک وجود دارد. لذا این مطالعه با هدف بررسی اثر کود مرغی و زمان بر حرکت لارو سن دو ریشه‌گرهی *M. incognita* در ستون‌های خاک در شرایط آزمایشگاه انجام گرفت.

مواد و روش‌ها

خصوصیات شیمیایی و فیزیکی

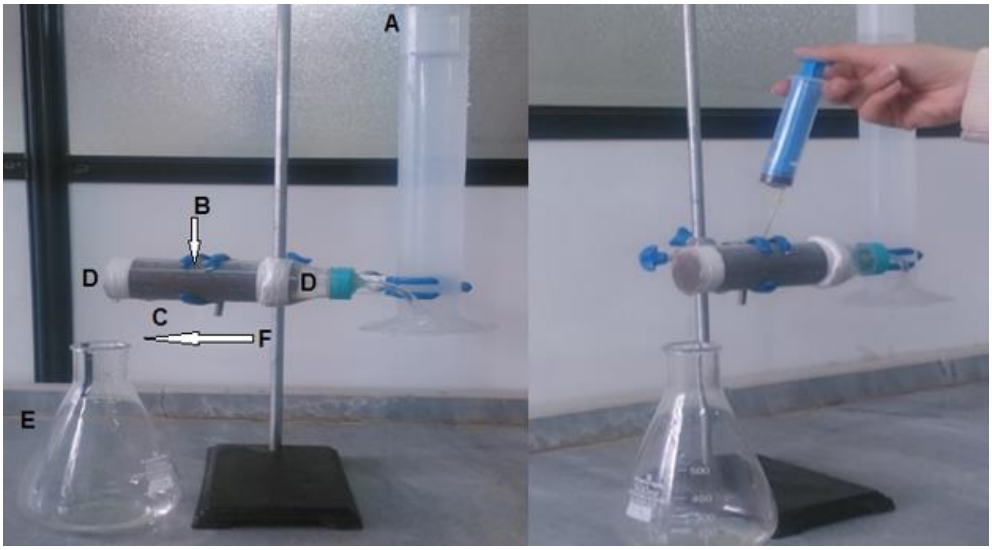
نمونه خاک از عمق صفر تا۳۰ سانتیمتری از مزرعه آموزشی دانشگاه بوعلی‌سینا جمع‌آوری، هوا خشک و از الک دو میلی‌متری عبور داده شد. هم‌چنین نمونه کود مرغی پس از خشک شدن از الک ۰/۵ میلی‌متری عبور داده شد. بر اساس روش‌های استاندارد آزمایشگاهی خصوصیات پایه شیمیایی و فیزیکی خاک و کود مرغی (Pansu & Gautheyrou 2006)، دانه‌بندی ذرات خاک (Gee & Or 2002)، هدایت هیدرولیکی خاک در شرایط اشباع ماندگار (Klute & Dirksen 1986) و تخلخل خاک (Danielson & Sutherland 1986) در سه تکرار اندازه‌گیری شدند.

اضافه کردن کود مرغی به خاک

کود مرغی به نسبت سه درصد وزنی با نمونه‌های خاک مخلوط و در کنار نمونه خاک شاهد در ظروف پلاستیکی شفاف ۱/۵ لیتری که در قسمت بالای آن‌ها حدود شش سانتی‌متر خالی بود و روی درب ظروف برای بهبود شرایط هوادهی، سوراخ‌هایی ایجاد شده بود، در دمای ۲۵ درجه سلسیوس و رطوبت ظرفیت زراعی به مدت ۱۸ هفته در انکوباتور نگه‌داری شدند.

طراحی سیستم بررسی حرکت لارو سن دو نماتد ریشه‌گرهی *M. incognita* در ستون‌های خاک

حرکت نماتدها در ستون‌های افقی خاک مورد بررسی قرارگرفت (Fujimoto *et al.* 2009). برای ساخت این ستون‌ها از لوله‌های پلی‌اتیلنی با قطر داخلی ۳/۵ سانتی‌متر و طول ۱۱ سانتی‌متر استفاده شد (شکل ۱). با توجه به جرم مخصوص ظاهری خاک شاهد (۱/۳ گرم بر سانتی‌متر مکعب) و خاک تیمار شده با کود مرغی (۱/۲ گرم بر سانتی‌متر مکعب)، وزن خاک مورد نیاز برای ستون‌ها به ترتیب ۱۴۳ و ۱۳۲ گرم محاسبه شد. سپس نمونه‌های خاک شاهد و تیمارشده (۱۸ هفته با کود مرغی) در سه تکرار، داخل ستون‌ها با ضربات آرامی پر شدند. در ابتدا و انتهای ستون‌های پلی‌اتیلنی به ترتیب از داخل به بیرون از یک لایه کاغذ صافی واتمن شماره ۴۲، یک لایه پارچه با منافذ ریز و یک قطعه توری فلزی استفاده گردید. در وسط ستون‌ها یک سوراخ کوچک برای تزریق نماتدها ایجاد شد. برای برقراری جریان آب از ستون‌های عمودی پلی‌اتیلنی به عنوان مخزن آب در سیستم استفاده گردید. ستون‌های عمودی تا ارتفاع ۲۵ سانتی‌متری از آب پر شدند و فاصله سطح آب تا نقطه ورود آب به ستون‌های خاک ۱۹ سانتی‌متر در نظر گرفته شد. ابتدا خاک درون ستون‌ها با روش موبینگی اشباع شده، سپس تحت شرایط اشباع ماندگار قرار گرفتند، به‌طوری‌که جریان آب از یک طرف ستون وارد و از سمت دیگر خارج شده و در ارلن زهاب، جمع‌آوری گردید.



شکل ۱. سیستم بررسی حرکت لاروهای سن دو نماتد ریشه‌گرهی *Meloidogyne incognita* در ستون‌های خاک (چپ)، A: مخزن آب، B: نقطه تزریق نماتد، C: ستون خاک، D: فیلترها، E: فلاسک زهاب، F: جهت جریان آب. تزریق لارو به ستون خاک (راست) (اقتباس از Fujimoto *et al.* 2009).

Fig. 1. Experimental apparatus for assessing the movement of the second-stage juveniles of the root-knot nematode *Meloidogyne incognita* in soil columns (left). A: water reservoir, B: injection point of nematode, C: the soil column, D: filter, E: drainage flask, F: water flow direction. Injection of juveniles into the soil column (right) (adapted from Fujimoto *et al.* 2009).

تهیه لارو سن دو نماتد *M. incognita*

جهت تهیه لارو سن دو *M. incognita* از ریشه‌های آلوده گوجه‌فرنگی که قبلاً در گلخانه خالص‌سازی شده بود، استفاده گردید. پس از شستشو و قطعه‌قطعه کردن، ریشه‌ها با محلول ۰/۵ درصد هیپوکلریت سدیم به مدت ۴۰ ثانیه توسط مخلوط‌کن، خرد و ضدعفونی شدند. محتویات مخلوط‌کن به ترتیب روی الک ۲۰۰ مش که بر روی الک ۵۰۰ مش قرار داشت تخلیه و بلافاصله با آب مقطر شسته شدند. بقایای ریشه‌ها روی الک ۲۰۰ مش باقی ماند. تخم‌های آزاد شده از کیسه تخم باقی‌مانده بر روی الک ۵۰۰ مش، با استفاده از آبفشان درون یک بشر شیشه‌ای جمع‌آوری شد. سپس سوسپانسیون تخم روی یک قطعه کاغذ صافی کوچک که روی سینی قرار داشت، ریخته شده و سینی با آب پر گردید. ۴۸ ساعت پس از نگه‌داری سینی‌ها در دمای ۲۷ درجه سلسیوس، لاروهای سن دو خارج شده از تخم‌ها که از طریق کاغذ صافی عبور کرده بودند از سینی زیرین جمع شدند (Whitehead & Hemming 1965).

محاسبه تعداد لارو سن دو نماتد *M. incognita* در سوسپانسیون

جهت محاسبه تعداد لارو سن دو، از سوسپانسیون به‌دست‌آمده از مرحله قبل استفاده شد. به سوسپانسیون درون ارلن ۵۰۰ میلی‌لیتری برای چند دقیقه توسط پیپت دمیده و همگن شد. بلافاصله پنج میلی‌لیتر از سوسپانسیون لارو برداشته شده و درون تشتک پتری شمارش ریخته شد. شمارش لاروها با استفاده از استرئومیکروسکوپ در سه تکرار انجام گرفت. میانگین سه تکرار در محلول پایه (۵ میلی لیتر از سوسپانسیون) محاسبه و تعداد کل نماتدها در محلول اولیه به‌دست آمد.

تزریق لارو سن دو نماتد *M. incognita* به داخل ستون‌های خاک

پس از همگن‌سازی سوسپانسیون لاروهای سن دو جمع‌آوری شده در ارلن ۵۰۰ میلی‌لیتری توسط پیپت، با استفاده از یک سرنگ از نقطه تزریق، ۵۴ ± ۱۰۰۰ لارو سن دو به ستون خاک اضافه شد (شکل ۱). بررسی حرکت لارو سن دو نماتد در خاک شاهد و تیمارشده با کود مرغی، در سه ستون خاک ۲۴ ساعت پس از تزریق و سه ستون خاک ۷۲ ساعت پس از تزریق و در سه تکرار انجام گرفت.

استخراج لارو سن دو نماتد *M. incognita* از ستون‌های خاک

پس از پایان زمان آزمایش و جدا کردن ستون‌های خاک از سیستم، فیلترهای سه لایه از یک سمت برداشته شد. ستون‌ها به ۱۱ قسمت یک سانتی‌متری علامت‌گذاری شدند به‌نحوی‌که برای نقطه‌ی تزریق عدد صفر، برای قسمت‌های در جهت جریان آب اعداد مثبت (۱+ تا ۵+) و برای قسمت‌های خلاف جهت جریان آب اعداد منفی (۱- تا ۵-) در نظر گرفته شد.

پس از استخراج نماتدهای هر قسمت از ستون خاک به روش سینی (Whitehead & Hemming 1965) و نماتدهای جمع‌آوری شده در زهاب خروجی هر ستون، شمارش نماتدها با استفاده از استرئومیکروسکوپ انجام گرفت. میانگین سه بار شمارش به‌عنوان تعداد نهایی نماتد محاسبه گردید. شرایط دما و رطوبت نسبی در طول دوره آزمایش به‌ترتیب ۲ ± ۲۵ درجه سلسیوس و ۴ ± ۲۲ درصد ثبت شد.

محاسبات آماری

آزمون در قالب طرح کاملاً تصادفی به صورت فاکتوریل انجام شد. برای آزمون دو تیمار (خاک تیمارشده با کود مرغی و شاهد) و برای هر تیمار دو سطح زمانی (۲۴ و ۷۲ ساعت پس از تزریق نماتد) و سه تکرار در نظر گرفته شد. تجزیه و تحلیل نتایج با استفاده از آزمون دانکن در برنامه SAS 9.0 صورت پذیرفت.

نتایج

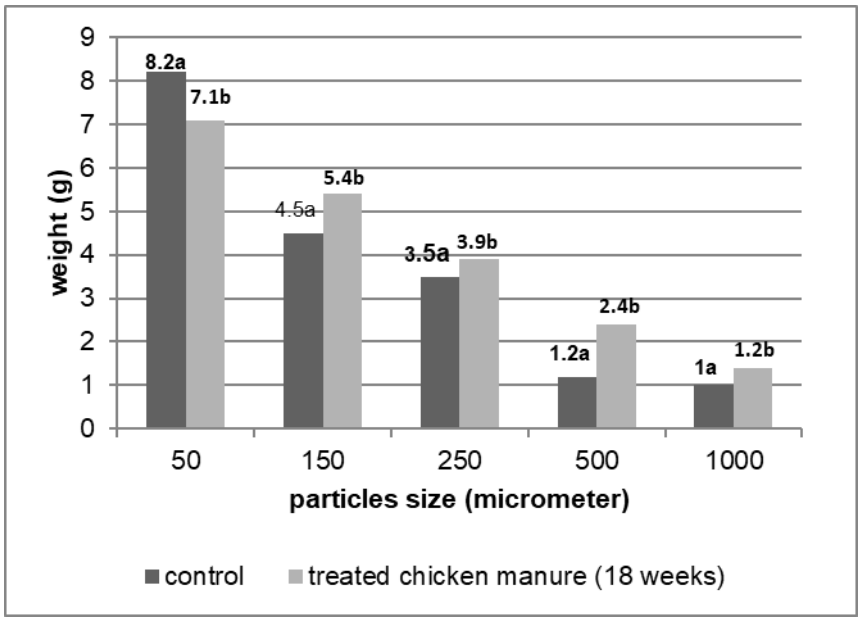
خصوصیات شیمیایی و فیزیکی خاک و کود مرغی مورد آزمایش

نمونه اولیه خاک دارای بافت متوسط لومی، واکنش نزدیک به خنثی و با pH برابر ۷/۶، غیر شور با هدایت الکتریکی ۰/۱ دسی‌زیمنس بر متر ارزیابی گردید. واکنش کود مرغی نزدیک خنثی و مقدار pH آن حدود ۷/۴، دارای شوری کم و با هدایت الکتریکی ۴/۷ دسی‌زیمنس بر متر و نسبت کربن به نیتروژن، ۱۱/۹ تعیین گردید. پس از ۱۸ هفته دوره انکوباسیون در pH خاک شاهد تغییری مشاهده نشد. اما با گذشت زمان و تجزیه بیشتر کود مرغی pH خاک تیمار شده به کمتر از pH خاک شاهد رسید ولی کاهش معنی‌دار نبود. تغییرات قابلیت هدایت الکتریکی در خاک شاهد بسیار جزئی بود. اما در خاک تیمار شده هدایت الکتریکی افزایش نشان داده و به ۰/۹ دسی‌زیمنس بر متر رسید. تغییرات زیادی در خصوصیات پایدار خاک در کوتاه مدت (۱۸ هفته) اتفاق نمی‌افتد که با توجه به ظرفیت بافری خاک، امری کاملاً پیش‌بینی شده است.

دانه‌بندی ذرات خاک

نتایج اندازه‌گیری دانه‌بندی خاک به عنوان یکی از خصوصیات موثر در حرکت لاروهای سن دو کرمی‌شکل *M. incognita* نشان داد که مقدار ذرات با قطر بیش از ۲۵۰ میکرومتر (۵۰۰ و ۱۰۰۰ میکرومتر) که مطلوب حرکت نماتدها در خاک است (Sano & Nakasono 1997a, 1997b)، در خاک تیمار شده با کود مرغی، به‌طور معنی‌داری نسبت به خاک شاهد افزایش یافت. بیشترین تغییر در ذرات با قطر ۵۰ تا۱۵۰ میکرومتر صورت گرفت (شکل ۲). هم‌چنین کاربرد کود مرغی در خاک باعث کاهش معنی‌دار جرم مخصوص ظاهری (۱/۳ گرم بر سانتی‌متر مکعب در خاک شاهد و ۱/۲ گرم بر سانتی‌متر مکعب در خاک تیمار شده با کود مرغی) گردید و درصد تخلخل (٪۴۱ در خاک شاهد و ۵۲٪ در خاک تیمار شده با کود مرغی) به طور معنی‌داری افزایش یافت. در نتیجه با افزایش میزان تخلخل خاک، حرکت نماتدها در خاک تیمارشده با کود مرغی بیشتر شد. هم‌چنین با افزایش هدایت هیدرولیکی (۰/۰۰۰۵ سانتی‌متر بر ثانیه در خاک شاهد و ۰/۰۰۲ سانتی‌متر بر ثانیه در

خاک تیمار شده با کود مرغی)، جریان آب در خاک بیشتر شده و نماتدها بیشتر وارد زهاب شده و از نقطه تزریق خارج شدند.



شکل ۲. مقایسه میانگین دانه‌بندی ذرات خاک شاهد و تیمارشده با کود مرغی به مدت ۱۸ هفته.

Fig. 2. Comparison of mean particle size of control and chicken manure treated soil for 18 weeks.

حرکت لارو سن دو کرمی‌شکل *M. incognita* تحت جریان اشباع ماندگار آب در ستون‌های خاک شاهد و تیمار شده با کود مرغی

مقایسه میانگین حرکت لاروها در خاک شاهد ۲۴ و ۷۲ ساعت پس از تزریق نماتد: پس از گذشت ۲۴ ساعت از زمان تزریق، نماتدها بیشتر در نقطه تزریق مشاهده شدند و تعداد کمتری از نماتدها در دو جهت ستون خاک حرکت کرده بودند. با افزایش فاصله از نقطه‌ی تزریق تعداد نماتدها کاهش یافت و این کاهش در خلاف جهت جریان بیشتر از جهت جریان بود. اما با گذشت ۷۲ ساعت، پراکندگی نماتدها در طول ستون بیشتر شده و توانستند در جهت و در خلاف جهت آب در خاک حرکت کنند اما بازهم حرکت در جهت جریان بیشتر از خلاف جهت جریان بود. حرکت نماتدها ۲۴ و ۷۲ ساعت پس از تزریق در خاک شاهد مقایسه شده و تفاوت معنی‌داری در اکثر نقاط با گذشت زمان مشاهده گردید. بیشترین تفاوت مربوط به نقطه‌ی تزریق بود. مقایسه حرکت نماتدها ۲۴ و ۷۲ ساعت پس از تزریق نشان داد تفاوت معنی‌داری در تمام نقاط به‌جز نقاط (۲-) و (۴+) مشاهده گردید. هم‌چنین تعداد نماتدها در زهاب خروجی از ستون‌ها بین ۲۴ ساعت و ۷۲ ساعت اختلاف معنی‌دار نشان داد (جدول ۱).

مقایسه میانگین حرکت لاروها در خاک تیمار شده با کود مرغی ۲۴ و ۷۲ ساعت پس از تزریق نماتد: پس از گذشت ۲۴ ساعت از زمان تزریق، نماتدها به طرفین ستون حرکت کرده و به شکل یکنواخت در ستون پراکنده شدند. پس از ۷۲ ساعت حرکت به طرفین بیشتر بوده به‌طوریکه فراوانی نماتدها در نقطه‌ی تزریق به شدت کمتر از ۲۴ ساعت شد و حتی حرکت در خلاف جهت جریان کمی بیشتر از جهت جریان آب بود. مقایسه میانگین درصد نماتدهای حرکت کرده حاکی از اختلاف معنی‌دار با گذشت زمان بود به‌طوریکه اختلاف معنی دار در تمام نقاط به‌جز نقاط (۳+) و (۴+) چشم‌گیر بود. در زهاب نیز درصد نماتدهای خروجی بین ۲۴ ساعت و ۷۲ ساعت اختلاف معنی‌داری مشاهده گردید (جدول ۱).

جدول (۱) مقایسه میانگین درصد حرکت لاروهای سن دوم نماتد ریشه‌گرهی *Meloidogyne incognita* ۲۴ و ۷۲ ساعت پس از تزریق در ستون‌های خاک شاهد و تیمار شده با کود مرغی به مدت ۱۸ هفته در شرایط اشباع ماندگار (آزمون دانکن، ۵٪)

Table (1) Comparison of the mean percentage of moved second-stage juveniles of the root-knot nematode *Meloidogyne incognita* 24 and 72 hours after injection of the nematode into columns of control and incubated soil with chicken manure for 18 weeks, under permanent saturation conditions (Duncan test, 5%)

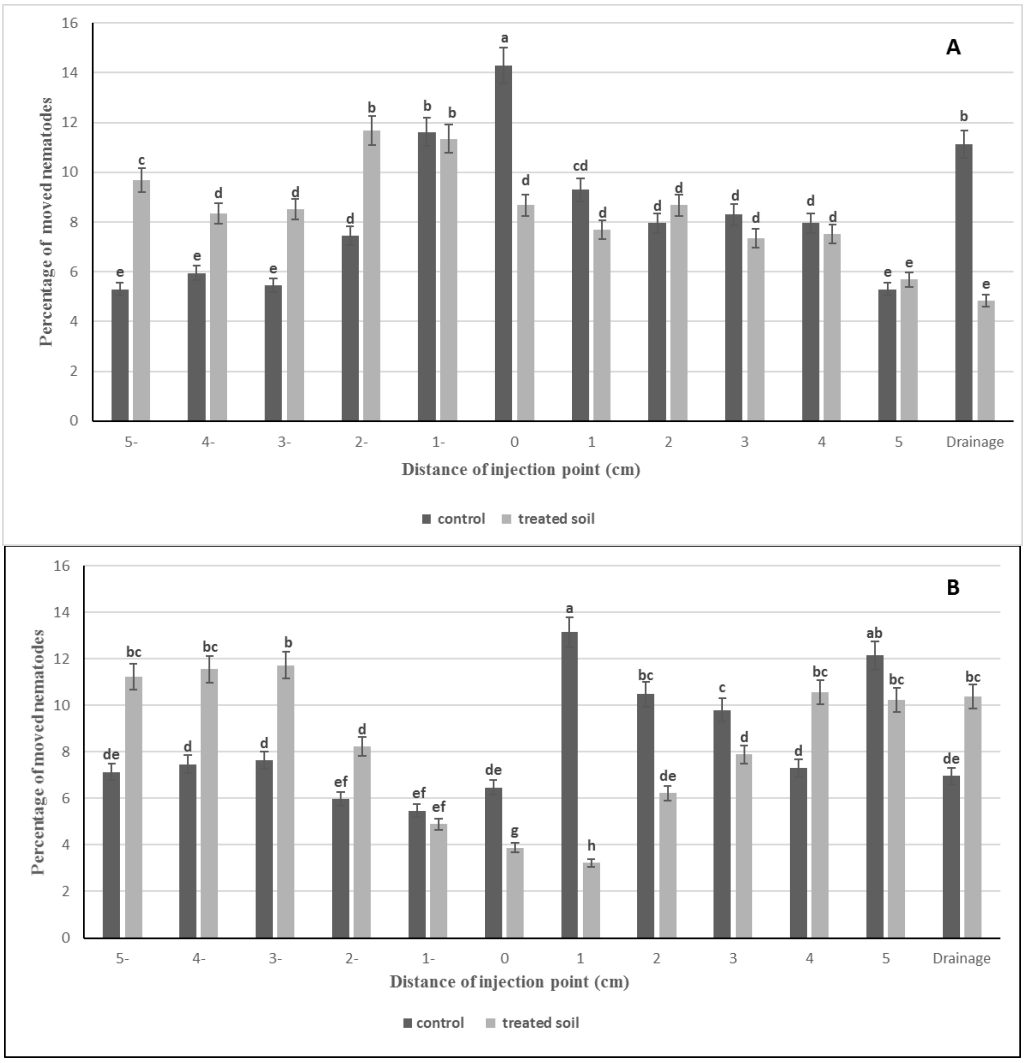
	Distance of injection point (cm)											
	-5	-4	-3	-2	-1	0	+1	+2	+3	+4	+5	drainage
	control											
24 h after nematode injection	5.30B	5.96B	5.46B	7.46AB	11.63A	14.30A	9.30A	7.96AB	8.30AB	7.96AB	5.30B	11.13A
72 h after nematode injection	7.14AB	7.47AB	7.64AB	5.97B	5.47B	6.47B	13.14A	10.47A	9.80AB	7.30AB	12.14A	6.97B
	Treated soil with chicken manure											
24 h after nematode injection	9.68A	8.34B	8.51B	11.68A	11.34A	8.68AB	7.68B	8.68AB	7.34B	7.51B	5.68BC	4.84C
72 h after nematode injection	11.23A	11.56A	11.73A	8.23B	4.89C	3.89CD	3.23D	6.23B	7.89B	10.56A	10.23A	10.39A

مقایسه میانگین حرکت لاروها در خاک شاهد و تیمار شده با کود مرغی ۲۴ ساعت پس از تزریق نماتد: پراکندگی نماتدها تقریبا در تمام نقاط منفی (به‌جز نقطه ۱-) و نقطه صفر تفاوت معنی‌داری با خاک شاهد داشت. در نقاط مثبت بین خاک شاهد و خاک تیمار شده تفاوت وجود داشت اما معنی‌دار نبود. در زهاب خروجی تفاوت معنی‌داری بین خاک شاهد و تیمار شده با کود مرغی مشاهده گردید (شکل ۳-A).

مقایسه میانگین حرکت لاروها در خاک شاهد و تیمار شده با کود مرغی ۷۲ ساعت پس از تزریق نماتد: بین پراکندگی نماتدها در بیشتر نقاط (به‌جز نقاط ۱- و ۵+) تفاوت معنی‌داری در خاک شاهد و خاک تیمار شده مشاهده گردید (شکل ۳-B).

بحث

نماتدها به دنبال منافذ مناسبی می‌گردند که بتوانند به مدت طولانی‌تری در خاک زندگی کنند (Gundy & Stolzy 1963). با توجه به اندازه بدن، لاروهای سن دو نماتد ریشه‌گرهی *M. incognita* نمی‌توانند در منافذی با قطر کمتر از ۲۰ میکرومتر حرکت کنند. بنابراین ممکن است در خاک شاهد درون حفرات ریز به دام افتاده باشند. به‌ویژه نماتدها در خلل‌وفرج خاک‌دانه‌ها، جایی که برای زندگی طولانی مدت برای آن‌ها مناسب است نسبت به منافذی که می‌توانند به آسانی از آن‌ها خارج شوند، بیشتر مشاهده می‌شوند (Sano & Nakasono 1997a). هم‌چنین مشاهده شده است لاروهای سن دو تمایل بیشتری به حرکت در خاک‌هایی با دانه‌بندی با قطر بیشتر از ۲۵۰ میکرومتر دارند. اظهار شده است که خاک‌هایی با دانه‌بندی بزرگتر دارای منابع غذایی بیشتری برای نماتدها هستند (Sano & Nakasono 1997a, 1977b). افزودن مواد آلی به خاک علاوه بر تاثیر بر خصوصیات فیزیکی خاک و دانه بندی آن، باعث افزایش عناصر غذایی خاک می‌شود (Meena & Biswas 2014,). گزارش شده است که تاثیر جریان آب خاک بر منافذ بین خاک‌دانه‌ها بیشتر از منافذ داخل خاکدانه‌ها است Simunek *et al.* 2003; Gerke (& Köhne 2002). بدن لارو سن دو *M. incognita* قبل از ورود به بافت ریشه کرمی‌شکل است و نماتد به کمک لایه نازک آب موجود در سطح بدن و با تغییر وضعیت ماهیچه‌های خود حرکت می‌کند. این توانایی به لارو اجازه می‌دهد در منافذ خاک در مقابل جریان آب از خود مقاومت نشان دهد (Fujimoto *et al.* 2009). هم‌چنین مشاهده شد که نماتدها به زهاب منتقل نشده و می‌توانند در برابر جریان‌های طبیعی آب در خاک مقاومت کنند.



شکل ۳. مقایسه میانگین درصد حرکت لاروهای سن دو نماتد ریشه‌گرهی *Meloidogyne incognita* در ۲۴ ساعت (A) و ۷۲ ساعت (B) پس از تزریق در ستون‌های خاک شاهد و تیمار شده با کود مرغی به مدت ۱۸ هفته در شرایط اشباع ماندگار

Fig 3. Comparison of the mean percentage of moved second-stage juveniles of the root-knot nematode *Meloidogyne incognita* 24 hours (A) and 72 hours (B) after injection of the nematode into columns of control and incubated soil with chicken manure for 18 weeks, under permanent saturation conditions

اگرچه رفتار گونه‌های نماتد ممکن است متفاوت باشد اما نتیجه‌ی آزمایش حاضر مطابق با نتایج تحقیقات یاد شده می‌باشد. با افزودن کود مرغی به خاک، اندازه منافذ تغییرکرده و تخلخل آن افزایش می‌یابد. اگرچه لارو سن دو در منافذ با قطر ۲۰ تا ۱۳۰ میکرومتر تحت تاثیر جریان آب هستند اما حرکت و فعالیت این مرحله از نماتد در منافذ بزرگتر از ۱۳۰ میکرومتر بیشتر است (Fujimoto *et al.* 2009; Wallace 1958).

حرکت در خلاف جهت جریان نشان‌دهنده‌ی مقاومت نماتد در برابر جریان آب در طول زمان است. در صورت عدم مقاومت، نماتدها فقط در جهت جریان آب حرکت کرده و به سمت نقاط منفی حرکت نداشتند. با افزایش زمان از ۲۴ به ۷۲ ساعت پس از تزریق، نماتدها در برابر جریان آب مقابله کرده و در نقاط خلاف جهت جریان آب (منفی) فراوانی بیشتری داشتند. لاروهای سن دو پس از گذشت ۲۴ و ۷۲ ساعت از زمان تزریق به دو طرف ستون حرکت کردند اما این حرکت در دو جهت به صورت مساوی نبوده است. در مطالعه مشابه نشان داده شده است که پس از گذشت ۲۴ و ۷۲ ساعت پس از تزریق، نماتدها از نقطه تزریق به دو سمت ستون حرکت کرده و پراکنده شدند (Fujimoto *et al.* 2010).

بررسی حرکت لارو سن دو نماتد ریشه‌گرهی *Meloidogyne incognita* تحت جریان آب در خاک اندی‌سول، ذرات شیشه و شن نشان داد که لاروها در جهت جریان آب حرکت کرده و با افزایش تعداد حجم منفذی در همه تیمارها، تعداد نماتدها در زهاب افزایش یافت و حرکت نماتدها

در اندی‌سول بسیار آهسته‌تر از سایر مواد بود. هم‌چنین مشخص گردید در شن بیشتر نماتدها با گذشت زمان در جهت جریان آب حرکت کرده، تعداد کمی از آن‌ها از خود مقاومت نشان دادند و برخی از آن‌ها در نقاط دیگر باقی ماندند که ممکن است درون منافذ به دام افتاده باشند. با اضافه کردن مواد آلی به خاک، ساختمان و منافذ خاک تحت تاثیر قرار گرفته، تخلخل افزایش یافته و جرم مخصوص ظاهری کاهش می‌یابد و به دنبال آن، حرکت موجودات زنده داخل خاک اعم از نماتدها تحت تاثیر قرار می‌گیرد (Fujimoto *et al.* 2009). به‌طور کلی تیمار خاک با کود مرغی حرکت نماتدها را تحت تاثیر قرار داده و با بهبود ساختمان خاک منجر به پراکنش بیشتر نماتدها از نقطه تزریق به دو سمت ستون گردید.

نتیجه‌گیری

در سال‌های اخیر کاربرد بقایای آلی شامل کودهای حیوانی مانند کود مرغی در خاک‌های مناطق خشک و نیمه‌خشک یک راه‌کار محیط‌زیستی برای حفظ ماده آلی خاک و فراهم نمودن عناصر غذایی مورد نیاز گیاه می‌باشد. نتایج آزمایش حاضر نشان داد افزودن کود مرغی به خاک می‌تواند منجر به سهولت حرکت لارو سن دو کرمی‌شکل نماتد ریشه‌گرهی *M. incognita* در خاک گردد. این ویژگی می‌تواند سبب افزایش آلودگی خاک و ابتلای بیشتر گیاهان میزبان به این نماتد شود، هرچند سایر جوانب استفاده از کود مرغی در خاک‌های کشاورزی بایستی در نظر گرفته شود. این نتایج می‌تواند در تعیین و کاربرد روش‌های مدیریت مبارزه با نماتد کمک نماید. بنابراین در استفاده از کود مرغی در خاک‌های آلوده به نماتد *M. incognita* لازم است دقت کافی به عمل آید.

تضاد منافع

نویسندگان با یکدیگر، در تحقیق حاضر و محل انجام آن تضاد منافعی ندارند.

References

Abbasi P.A., Al-Dahmani J., Sahin F., Hoitink H.A.J. & Miller S.A. 2002. Effect of compost amendments on disease severity and yield of tomato in conventional and organic production systems. *Plant Disease* 86, 156-161.

Castro C.E., Belser N.O., Mckinney H.E. & Thomason I.J. 1989. Quantitative bioassay for chemotaxis with plant parasitic nematodes. Attractant and repellent fractions for *Meloidogyne incognita* from cucumber roots. *Journal of Chemical Ecology* 15, 1297–1309.

Castro C.E., Belser N.O., Mckinney H.E. & Thomason I.J. 1991. Strong repellency of root knot nematode, *Meloidogyne incognita* by specific inorganic ions. *Journal of Chemical Ecology* 16, 1199–1205.

Chitwood B.G. 1949. Root-knot nematodes, part I. A revision of the genus *Meloidogyne* Goeldi, 1887. *Proceedings of the Helminthological Society of Washington* 16(2), 90-104.

Collange B., Navarrete M., Peyre G., Mateille T. & Tchamitchian M. 2011. Root-knot nematode (*Meloidogyne*) management in vegetable crop production: the challenge of an agronomic system analysis. *Crop Protection* 30, 1251-1262.

Danielson R.E. & Sutherland P.L. 1986. Porosity. In Klute A. (Ed.), *Methods of soil analysis, Part1-Physical and mineralogical methods, 2nd Edition* (pp. 377-381). Madison. American Society of Agronomy and Soil Science Society of America.

Dies J.A. & Dusenbery D.B. 1989. Repellent of root-knot nematodes from exudate of host roots. *Journal of Chemical Ecology* 15, 2445–2455.

Eo J., Otobe K. & Mizukubo T. 2008. Absence of geotaxis in soil-dwelling nematodes. *Nematology* 10, 147–149.

Fujimoto T., Hasegawa S., Otobe K. & Mizukubo T. 2009. Effect of water flow on the mobility of the root-knot nematode *Meloidogyne incognita* in columns filled with glass beads, sand or andisol. *Applied Soil Ecology* 43, 200–205.

Fujimoto T., Hasegawa S., Otobe K. & Mizukubo T. 2010. The effect of soil water flow and soil properties on the motility of second-stage juveniles of the root-knot nematode (*Meloidogyne incognita*). *Soil Biology and Biochemistry* 42(7), 1065–1072.

Gee G.W. & Or D. 2002. Particle size analysis. In Dane, J.H. & Topp, G.C. (Eds.), *Methods of soil analysis, part 4, physical methods*. Book Series No. 5 (pp. 255-293). Madison. American Society of Agronomy and Soil Science Society of America.

Gerke H.H. & Köhne J.M. 2002. Estimating hydraulic properties of soil aggregate skins from sorptivity and water retention. *Soil Science Society of American Journal* 66, 26-36.

Griffin G.D. & Jensen K.B. 1997. Importance of temperature in the pathology of *Meloidogyne hapla* and *M. chitwoodi* on legumes. *Journal of Nematology* 29(1), 112–116.

Gundy V.S.D. & Stolzy L.H. 1963. Oxygen diffusion rates and nematode movement in cellulose sponges. *Nature* 200(4912), 1187–1189.

Halalat N., Nasr Esfahani M. & Olia M. 2017. The effect of organic fertilizers on population dynamics of sugar beet cyst nematode, *Heterodera schachtii*

Schmidt 1871. *Journal of Plant Protection* 31(3), 475-487.

Hewlett T.E., Hewlett E.M. & Dickson D.W. 1997. Response of *Meloidogyne* spp., *Heterodera glycines*, and *Radopholus similis* to tannic acid. *Journal of Nematology* 29, 737–741.

Karssen G., Wesemael W. & Moens M. 2013. Root-knot nematodes. In Perry R.N & Moens M. (Eds.), *Plant nematology, 2nd edition* (pp. 73-105). Wallingford. CABI Publishing.

Klute A. & Dirksen C. 1986. Hydraulic conductivity and diffusivity: Laboratory methods. In Klute A. (Ed.), *Methods of soil analysis, Part 1- Physical and mineralogical methods, 2nd edition* (pp. 687-734). Madison. American Society of Agronomy and Soil Science Society of America.

Meena M.D. & Biswas D.R. 2014. Phosphorus and potassium transformations in soil amended with enriched compost and chemical fertilizers in a wheat–soybean cropping system. *Communications in Soil Science and Plant Analysis* 45, 624–652.

Melakeberhan H., Dey J., Baligar V.C. & Carter Jr.T.E. 2004. Effect of soil pH on the pathogenesis of *Heterodera glycines* and *Meloidogyne incognita* on *Glycine max* genotypes. *Nematology* 6(4), 585–592.

Nelson L., Giles J., Macilwain C. & Gewin V. 2004. Organic FAQs. *Nature* 428, 796-797.

Oehl F., Sieverding E., Mäder P., Dubois D., Ineichen K., Boller T. & Wiemken A. 2004. Impact of long-term conventional and organic farming on the diversity of arbuscular mycorrhizal fungi. *Oecologia* 138(4), 574-583.

Otobe K., Itou K. & Mizukubo T. 2004. Micro-moulded substrates for the analysis of structure-dependent behaviour of nematodes. *Nematology* 6(1), 73-77.

Pagliari P.H. & Laboski C.A.M. 2012. Investigation of the inorganic and organic phosphorus forms in animal manure. *Journal of Environment Quality* 41, 901-910.

Pansu M. & Gautheyrou J. 2006. *Handbook of soil analysis. Mineralogical, organic and inorganic methods*. Berlin, Springer-Verlag.

Pulleman M., Jongmans A., Marinissen J. & Bouma J. 2006. Effects of organic versus conventional arable farming on soil structure and organic matter dynamics in a marine loam in the Netherlands. *Soil Use and Management* 19(2), 157-165.

Reddy T.Y. & Reddi G.H. 1995. *Principles of agronomy. 2nd edition*. New Delhi, Kalyani.

Robinson A.F. 1995. Optimal release rates for attracting *Meloidogyne incognita*, *Rotylenchulus reniformis*, and other nematodes to carbon dioxide in sand. *Journal of Nematology* 27(1), 42–50.

Sano Z. & Nakasono, K. 1997a. Differences in survival of *Meloidogyne incognita* juveniles inside and outside of soil aggregates in an andisol. *Soil Microorganisms* 49, 1-7.

Sano Z. & Nakasono K. 1997b. Influence of size of soil aggregates on the survival of *Meloidogyne incognita* juveniles. *Soil Microorganisms* 49, 9–16.

Sasser J.N. & Freckman D.W. 1987. A world perspective on nematology: The role of the society. In Veech J.A. & Dickson D.W. (Ed.), *Vistas on nematology* (pp. 7-14). Maryland. Society of Nematologists.

Simunek J., Jarvis N.J., van Genuchten, M. Th. & Gardenas, A. 2003. Review and comparison of models for describing non-equilibrium and preferential flow and transport in the vadose zone. *Journal of Hydrology* 272, 14-35.

Tejada M., Hernandez M.T. & Garcia C. 2006. Application of two organic amendments on soil restoration: Effects on the soil biological properties. *Journal of Environment Quality* 35, 1010–1017.

Towson A.J. & Apt W.J. 1983. Effect of soil water potential on survival of *Meloidogyne javanica* in fallow soil. *Journal of Nematology* 15(1), 110-115.

Uygur V. & Karabatak I. 2009. The effect of organic amendments on mineral phosphate fractions in calcareous soils. *Journal of Plant Nutrition and Soil Science* 172(3), 336-345.

Wallace H.R. 1958. Movement of eelworms-2. A comparative study of the movement in soil of *Heterodera schachtii* Schmidt and of *Ditylenchus dipsaci* (Kuhn) Filipjev. *Annals of Applied Biology* 46, 86–94.

Wallace H.R. 1968. The dynamics of nematode movement. *Annual Review of Phytopathology* 6(1), 91–114.

Whitehead A.G. & 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.