دانش گیاهپزشکی ایران
دورهٔ ۴۶، شمارهٔ ۱، بهار و تابستان ۱۳۹۴ (ص ۱۹۰-۱۷۹)

تأثیر انفرادی و ترکیبی پنج قارچ بیماری‌زای نماتد (nematophagous fungi) روی *Meloidogyne javanica* در گیاه بادنجان

سید محمدرضا موسوی[1*]، شیدا شاکری[2] و صدیقه محمدی[3]

۱. استادیار، گروه بیماری‌شناسی گیاهی، واحد مرودشت، دانشگاه آزاد اسلامی، مرودشت

۲. دانش‌آموختهٔ کارشناسی ارشد، گروه بیماری‌شناسی گیاهی، واحد شیراز، دانشگاه آزاد اسلامی، شیراز

۳. استادیار، گروه بیماری‌شناسی گیاهی، واحد شیراز، دانشگاه آزاد اسلامی، شیراز

(تاریخ دریافت: ۱۳۹۴/۱/۱۵ - تاریخ تصویب: ۱۳۹۴/۵/۲۴)

چکیده

توانایی قارچ‌های *Pochonia bulbillosa* (Pb)، *Pochonia chlamydosporia* var. *catenulata* (Pccat)، *Pochonia chlamydosporia* var. *chlamydosporia* (Pcc)، *Lecanicillium aphanocladii* (La) و *Trichoderma harzianum* (Th) **در آلوده کردن تودهٔ تخم نماتد** *Meloidogyne javanica* **در شرایط آزمایشگاهی بررسی شد. در گلخانه نیز تأثیر انفرادی، دوتایی و سه‌تایی این قارچ‌ها در کنترل زیستی نماتد** *M. javanica* **روی گیاه بادنجان مطالعه گردید. توانایی قارچ‌ها در آلوده کردن تخم و کاهش درصد تفریخ لاروهای سن دوم نماتد در آزمایشگاه به یکدیگر شبیه بود. پس از ۸ هفته تفاوت شایان توجهی میان کاربرد انفرادی یا تلفیقی قارچ‌ها روی وزن تر اندام هوایی و ریشهٔ گیاه بادنجان دیده نشد. تعداد تخم‌های تشکیل‌شده (مجموع تخم‌های سالم و آلوده) روی سیستم ریشه‌ای نیز نسبت به شاهد کاهش قابل ملاحظه‌ای نیافت، اما تلفیق قارچ‌ها باعث افزایش درصد آلودگی تخم‌های نماتد شد. هیچ‌کدام از تیمارها نتوانستند نماتد را در حد نماتدکش کادوزافوس کنترل کنند (۹۶٪) اما ترکیب قارچ‌های Pccat و La با Pcc (۸۵٪) یا Th (۸۳٪) توانست نماتد را در حد مطلوبی کنترل کند. بنابراین ترکیب قارچ‌های Pccat، La و Pcc یا Pccat، La و Th را می‌توان به عنوان تیمارهای قابل توصیه معرفی کرد.**

واژه‌های کلیدی: تلفیق، قارچ‌های نماتدخوار، کنترل زیستی.

مقدمه

نماتدهای مولد گره ریشه (*Meloidogyne* spp.) یکی از مهم‌ترین و خسارت‌زاترین انگل‌های گیاهی‌اند که در همهٔ نقاط جهان خصوصاً در مناطق گرم با زمستان‌های کوتاه و در اکثر گلخانه‌ها دیده می‌شوند. این نماتدها از لحاظ اقتصادی اهمیت بسیار زیادی دارند و محدودکنندهٔ کیفیت و مقدار تولیدات کشاورزی‌اند (Nicol *et al*., 2011). تعداد میزبان‌های این نماتد در سراسر دنیا بیش از ۲۰۰۰ گونهٔ گیاهی و خسارت سالیانهٔ آن حدود ۵٪ از کل محصولات کشاورزی برآورد شده است (Moens *et al*., 2009). گونهٔ *M. javanica* از بیشتر مناطق ایران و روی تعداد زیادی گیاه گزارش شده است (Ghaderi *et al*., 2012) که بیانگر پراکنش گسترده و اهمیت زیاد آن است.

در حال حاضر، عمده روش مبارزه با این نماتد بر پایهٔ مبارزهٔ شیمیایی استوار است که علاوه بر افزایش هزینهٔ تولید، باعث آلودگی‌های فراوان زیست‌محیطی می‌گردد (Moosavi & Zare, 2015). آلودگی‌های ناشی

* تلفن: ۰۹۱۷۳۰۶۶۰۸۵
E-mail: rmmoosavi@yahoo.com

Archive of SID
www.SID.ir

از کاربرد بی‌رویهٔ سموم در غذا و محیط زیست، نگرانی ایجاد کرده و انسان را به فکر استفاده از راه‌های جایگزین انداخته است (Moosavi & Askary, 2015). در دهه‌های اخیر استفاده از روش‌های کنترل زیستی در مهار نماتدها مطرح شده است که روشی سازگار با محیط زیست است (Davies & Spiegel, 2011).

موجودات مختلفی قابلیت کنترل زیستی نماتدهای پارازیت گیاهی را دارند، هر چند توان و کارایی آنها با هم متفاوت است (Cumagun & Moosavi, 2015). قارچها یکی از بهترین و امیدبخش‌ترین کنترل‌کننده‌های زیستی به شمار می‌روند و از بین آنها، گونه‌های جنس *پوشونیا* یکی از موفق‌ترین‌ها محسوب می‌شوند (Moosavi & Zare, 2012). البته گونه‌های مختلف جنس *Lecanicillium* (Goettel *et al*., 2008) و *Trichoderma* (Sharon *et al*., 2011) نیز به عنوان کنترل‌کنندهٔ زیستی نماتدها مطرح‌اند. بررسی پژوهش‌ها نشان می‌دهد که ترکیب دو یا چند کنترل‌کنندهٔ زیستی می‌تواند به افزایش کارایی آنها منجر شود (van der Putten *et al*., 2006).

در راستای برنامه‌های کشاورزی پایدار و به منظور بررسی اینکه آیا می‌توان کارایی کنترل‌کننده‌ها را با ترکیب آنها افزایش داد، در این پژوهش سعی شد تأثیر کاربرد انفرادی، دوتایی و سه‌تایی گونه‌های مختلف جنس *پوشونیا* (سه جدایه) با قارچهای *Lecanicillium aphanocladii* و *Trichoderma harzianum* در کنترل نماتد *M. javanica* روی گیاه بادنجان بررسی و مقایسه شود. شایان ذکر است که توانایی گونه‌های انتخاب‌شده از جنس *پوشونیا* در کنترل نماتد مولد گره ریشه روی گوجه‌فرنگی قبلاً ثابت شده است (Moosavi *et al*., 2010) و قارچهای *Lecanicillium aphanocladii* و *Trichoderma harzianum* نیز از نماتد مولد گره ریشه جداسازی شده‌اند.

مواد و روش‌ها

جدایه‌های قارچی

قارچهایی که در این پژوهش از آنها استفاده گردید از کلکسیون قارچهای زندهٔ موجود در گروه بیماری‌شناسی گیاهی، واحد مرودشت، دانشگاه آزاد اسلامی تهیه شد. نمونه‌ای از چهار گونه/ جدایه از این قارچها در کلکسیون قارچهای زنده مؤسسهٔ تحقیقات گیاه‌پزشکی ایران موجود است. گونهٔ *T. harzianum* نیز از مؤسسهٔ تحقیقات پستهٔ کشور (رفسنجان) تهیه گردید (جدول ۱).

جدول ۱. لیست قارچهای مورد استفاده در این پژوهش

کد دسترسی	نام قارچ	رشد مایه (سوبسترا)	محل جداسازی
IRAN 521 C	*Pochonia bulbillosa* (Pb)	بقایای گیاهی	نیوزلند
IRAN 1129 C	*P. chlamydosporia* var. *catenulata* (Pcca)	تخم نماتد سیست غلات	سوئد
IRAN 1121 C	*P. c.* var. *chlamydosporia* (Pcc)	نماتد سیست چغندرقند	ایران- مشهد
IRAN 804 C	*Lecanicillium aphanocladii* (La)	نماتد سیست چغندرقند	ایران- ارومیه
T85	*Trichoderma harzianum* (Th)	نماتد مولد گره ریشه	ایران- رفسنجان

تهیهٔ زادمایهٔ نماتدی

زادمایهٔ نماتد *Meloidogyne javanica* از طریق آلوده‌سازی پیاپی رقم حساس گوجه‌فرنگی (سوپر شف) با یک توده تخم نماتد که قبلاً در منطقهٔ استهبان فارس از گیاه گوجه‌فرنگی جمع‌آوری و گونهٔ آن تشخیص داده شده بود (Moosavi, 2012) انجام گرفت. پس از تهیهٔ زادمایهٔ کافی، ریشه‌های آلوده به آزمایشگاه منتقل و شسته شدند. توده‌های تخم هم‌اندازه زیر میکروسکوپ تشریح با دست جدا (Noe, 2004) و ضدعفونی شدند (Verdejo-Lucas, 1995). توده‌های تخم پس از شست‌وشو با آب مقطر استریل به محیط PDA منتقل شدند و پس از ۴۸ ساعت توده‌های تخم فاقد آلودگی برای آزمون بیماری‌زایی در آزمایشگاه استفاده شدند (Moosavi *et al*., 2011). تخم‌های تشکیل‌شده از روی سیستم ریشه‌ای جدا شد (Hussey & Barker, 1973) و تعداد آنها از میانگین سه بار شمارش تخمین زده شد. از این زادمایه برای آلوده کردن گیاهان در شرایط گلخانه‌ای استفاده شد.

Archive of SID

www.SID.ir

آزمون بیماری‌زایی در شرایط آزمایشگاهی

در مرکز ظروف پتری ۶ سانتی‌متری حاوی آب- آگار ۰/۸٪ و ۱۵۰ ppm از هر کدام از پادزیست‌های سولفات استرپتومایسین و پنی‌سیلین، یک دیسک ۵ میلی‌متری از زادمایهٔ قارچی اضافه و پس از رشد قارچ‌ها، سه تودهٔ تخم با فاصلهٔ ۲ میلی‌متر از دیسک مرکزی روی قارچ درحال‌رشد در سه تکرار قرار داده شد (Moosavi *et al*., 2010). از آنجا که رشد قارچ *Trichoderma* spp. بسیار سریع‌تر از قارچ‌های *Pochonia* spp. و *Lecanicillium* spp. است، کشت آن دو روز دیرتر از دو گونهٔ اخیر انجام گرفت تا در ابتدای آزمایش، رشد همهٔ قارچ‌ها تقریباً یکسان باشد. پس از پنج روز نگهداری در دمای ۲۳±۲°C، هر تودهٔ تخم در یک قطره هیپوکلریت سدیم ۱٪ که روی لام آزمایشگاهی گذاشته شده بود قرار گرفت و با فشار لامل، خرد شد تا تخم‌ها آزاد شوند. تخم‌های آلوده بر اساس نفوذ ریسه‌های قارچ به درونشان تشخیص داده شدند. تعداد تخم‌های آلوده و سالم به کمک میکروسکوپ و با بزرگ‌نمایی ۴۰× و ۱۰۰× ثبت و درصد آلودگی بر اساس تقسیم تعداد تخم‌های آلوده به تعداد کل تخم‌های هر توده تخم محاسبه شد (Fatemy *et al*., 2005). تعداد لاروهای تفریخ‌شده روی محیط کشت نیز به کمک میکروسکوپ تشریح شمارش و درصد تفریخ تعیین شد (Sun *et al*., 2006). به منظور اجرای اصول کخ در بیماری‌زایی و اطمینان از اینکه آلودگی تخم‌ها توسط قارچ مورد نظر صورت گرفته است، تخم‌های آلوده سه بار با آب مقطر استریل شسته شد و روی محیط کشت اختصاصی (Davet & Rouxel, 2000 برای *تریکودرما*)، نیمه‌اختصاصی (Kerry *et al*., 1993 برای گونه‌های *پوشونیا*) و آب- آگار ۱/۵ درصد (حاوی رزبنگال و ۲۰۰ppm از هر کدام از پادزیست‌های سولفات استرپتومایسین و پنی‌سیلین جهت قارچ *L. aphanocladii*) ریخته شد. تخم‌ها هر روز بررسی شد و قارچ‌های رشدکرده از آنها در شرایط سترون به محیط کشت CMA حاوی ۲۰۰ppm سولفات استرپتومایسین منتقل شد و شناسایی آنها تأیید گردید (Kerry & Crump, 1977).

آزمون بیماری‌زایی در شرایط گلخانه

تهیهٔ زادمایهٔ قارچ‌ها

زادمایهٔ قارچی به مدت ۶ هفته در دمای ۲۳±۲°C روی ماسه و سبوس جو تکثیر شد. به منظور جلوگیری از متراکم شدن ماسه و سبوس و رشد یکنواخت قارچ، همهٔ ظرف‌ها روزانه با دست تکان داده شدند (Moosavi *et al*., 2010).

آزمایش گلخانه‌ای

زادمایهٔ قارچی به نسبت ۱٪ وزنی (De Leij & Kerry, 1991) با خاک بکر غیراستریل لومی شنی (ماسه ۶۷/۳٪، رس ۱۲/۱٪، سیلت ۲۰/۶٪، مادهٔ آلی ۳/۵٪ با اسیدیته ۷/۵) به‌خوبی مخلوط شد و در گلدان‌های پلاستیکی یک کیلوگرمی با قطر دهانهٔ ۱۲/۵ سانتی‌متر ریخته شد. قبل از استفاده از خاک بکر، از نبود نماتد مولد گره ریشه در آن اطمینان حاصل شد. در ۲۵ تیمار مختلف، قارچ‌ها به‌صورت جداگانه، دوتایی و سه‌تایی با خاک گلدان‌ها مخلوط شدند. با توجه به اینکه این آزمایش در سه تکرار صورت گرفت، برای تیمارهای تک‌قارچی ۳۰ گرم زادمایه هر جدایه با ۳ کیلوگرم خاک، برای تیمارهای شامل ۲ قارچ ۱۵ گرم زادمایه هر جدایه با ۳ کیلوگرم خاک و برای تیمارهای شامل ۳ قارچ ۱۰ گرم از زادمایه هر جدایه با ۳ کیلوگرم خاک مخلوط شدند.

به منظور ارزیابی همهٔ متغیرها، پنج تیمار شاهد متفاوت برای این آزمایش در نظر گرفته شد. از آنجا که از سبوس جو به عنوان بستر کشت قارچ‌ها استفاده شده بود، در تعدادی از تیمارهای شاهد از سبوس جو (بدون قارچ) استفاده گردید تا تأثیر این ماده به‌صورت جداگانه در رشد گیاه یا کاهش جمعیت نماتد بررسی گردد. تیمارهای شاهد عبارت بودند از: ۱. گیاه بادنجان بدون سبوس و نماتد (0)؛ ۲. گیاه بادنجان به همراه سبوس (S)؛ ۳. گیاه بادنجان به همراه نماتد (N)؛ ۴. گیاه بادنجان به همراه سبوس و نماتد (N+S) ۵) گیاه بادنجان به همراه نماتد و سم نماتدکش کادوزوفوس (شاهد مثبت) که به میزان ۳۰ میلی‌گرم به ازای هر کیلوگرم خاک، ۵ روز پیش از تلقیح با نماتد همراه آب آبیاری به هر گلدان افزوده شد (Safdar *et al*., 2012).

Archive of SID

www.SID.ir

در هر گلدان ۵ بذر بادنجان (رقم Black Beauty) کاشته شد. پس از یک ماه، در هر گلدان یکی از بوته‌های بادنجان نگه داشته شد و بقیه حذف گردید. پای هر بوته ۵۰۰۰ تخم و لارو نماتد *M. javanica* تزریق شد و گلدان‌ها در گلخانه در دمای ۳۵-۲۸ °C نگهداری شدند. پس از دو ماه فاکتورهای رویشی گیاه شامل وزن تر ریشه و اندام هوایی محاسبه گردید. از هر سیستم ریشه‌ای ۱۰ توده تخم (در مجموع برای هر تیمار ۳۰ توده تخم) به‌صورت تصادفی انتخاب شد و درصد تخم‌های انگلی‌شدهٔ نماتد تعیین گردید. فاکتورهای رشدی نماتد (تعداد تخم و لارو سن دوم نماتد روی سیستم ریشه و لارو سن دوم در خاک) محاسبه و ثبت شد. فاکتور تولید مثل نماتد از تقسیم جمعیت نهایی تخم و لارو سالم بر جمعیت اولیه تعیین شد. درصد کنترل نماتد در هر تیمار از فرمول ذیل به‌دست آمد (Fatemy, 1998):

$$\text{درصد کنترل} = \frac{\text{تعداد تخم و لارو سالم در تیمار} - \text{تعداد تخم و لارو در شاهد}}{\text{تعداد تخم و لارو در شاهد}} \times ۱۰۰$$

طرح آزمایشی و تجزیه و تحلیل داده‌ها

آزمایش در قالب طرح کاملاً تصادفی با سه تکرار انجام گرفت. داده‌های به‌دست‌آمده با نرم‌افزار SPSS ver. 15 تجزیه و تحلیل شد. تجزیهٔ واریانس با آزمون ANOVA و مقایسهٔ میانگین‌ها با آزمون چنددامنه‌ای دانکن ($P<۰/۵٪$) انجام گرفت و سپس جداول و نمودارهای مربوط به هر یک رسم شد.

نتایج و بحث

آزمون بیماری‌زایی در شرایط آزمایشگاهی

ریسهٔ همهٔ جدایه‌های آزمایش‌شده توانایی آلوده کردن تخم نماتد *M. javanica* را داشتند. همهٔ قارچ‌ها با شاهد از نظر توانایی در آلوده کردن تخم اختلاف معنادار داشتند ($P<۰/۰۰۰۱$، $df=۵$، $F=۱۴۶$)، اما اختلاف آنها با یکدیگر معنادار نبود و توسط آزمون دانکن در یک گروه آماری قرار گرفتند (جدول ۲). همهٔ جدایه‌ها قادر به کاهش معنادار درصد تفریخ تخم نماتد نسبت به تیمار شاهد بودند ($P<۰/۰۰۰۱$، $df=۵$، $F=۲۶/۳$)، هر چند بین خودشان اختلافی مشاهده نشد (جدول ۲).

دیوارهٔ تخم در نماتد از خارج به داخل به‌ترتیب از سه لایهٔ پروتئینی (ویتلین)، کیتینی و چربی تشکیل شده است که لایهٔ کیتینی ضخیم‌ترین و مهم‌ترین مانع در راه نفوذ است (Bird & Bird, 1991). نفوذ قارچ به درون تخم به‌صورت مکانیکی و آنزیمی است. آنزیم‌های خارج‌سلولی (عمدتاً پروتئاز، کیتیناز و کولاژناز) از جمله عوامل بیماری‌زایی قارچ محسوب می‌شوند (Huang *et al*., 2004). این آنزیم‌ها برای هضم دیوارهٔ تخم ضروری اند و قارچ‌هایی که آنزیم بیشتری تولید می‌کنند، از بیماری‌زایی بیشتری نیز برخوردارند (Moosavi & Zare, 2015). آلوده شدن تخم‌های نماتد باعث کاهش درصد تفریخ می‌گردد، هر چند ترشح مواد بازدارنده از تفریخ (Perry, 2002) نیز می‌تواند مؤثر باشد. تفاوت معناداری میان گونه‌ها و جدایه‌های مختلف قارچی از نظر درصد آلوده کردن و کاهش درصد تفریخ تخم‌ها دیده نشد. با توجه به اینکه این قارچ‌ها همگی انگل تخم نماتد محسوب می‌شوند و علاوه بر تولید اپرسوریوم (appressorium)، قادر به ترشح انواع مختلفی از آنزیم‌های خارج‌سلولی‌اند، نبود تفاوت بین آنها از نظر نفوذ به تخم منطقی است. گونه‌هایی که در جنس *Pochonia* قرار می‌گیرند، عمدتاً پارازیت نماتدهای ساکن مثل نماتد مولد گره ریشه (*Meloidogyne* spp.) و نماتدهای سیستی (*Heterodera* spp.) اند (Moosavi & Zare, 2012). این موضوع دربارهٔ قارچ‌های *Lecanicillium* spp. (Goettel *et al*., 2008) هم صادق است، اگرچه از *Trichoderma* spp. بیشتر برای کنترل نماتدهای مولد گره ریشه استفاده شده است (Sharon *et al*., 2011).

آزمون بیماری‌زایی در شرایط گلخانه

تأثیر تیمارهای مختلف روی وزن تر اندام هوایی ($P<۰/۰۰۰۱$، $df=۲۹$، $F=۶/۴$) و ریشه ($P<۰/۰۰۰۱$، $df=۲۹$، $F=۴/۲$) با توجه به نوع و ترکیب جدایه‌ها با یکدیگر متفاوت بود. کمترین وزن اندام هوایی در تیمارهایی دیده شد که کنترلی روی نماتد مولد گره ریشه اعمال نشده بود. کاربرد سبوس جو در گلدان‌هایی که با نماتد مایه‌زنی نشده بودند، باعث افزایش اندک و ناچیز وزن اندام هوایی نسبت به تیمار متناظر شد. روال

Archive of SID

www.SID.ir

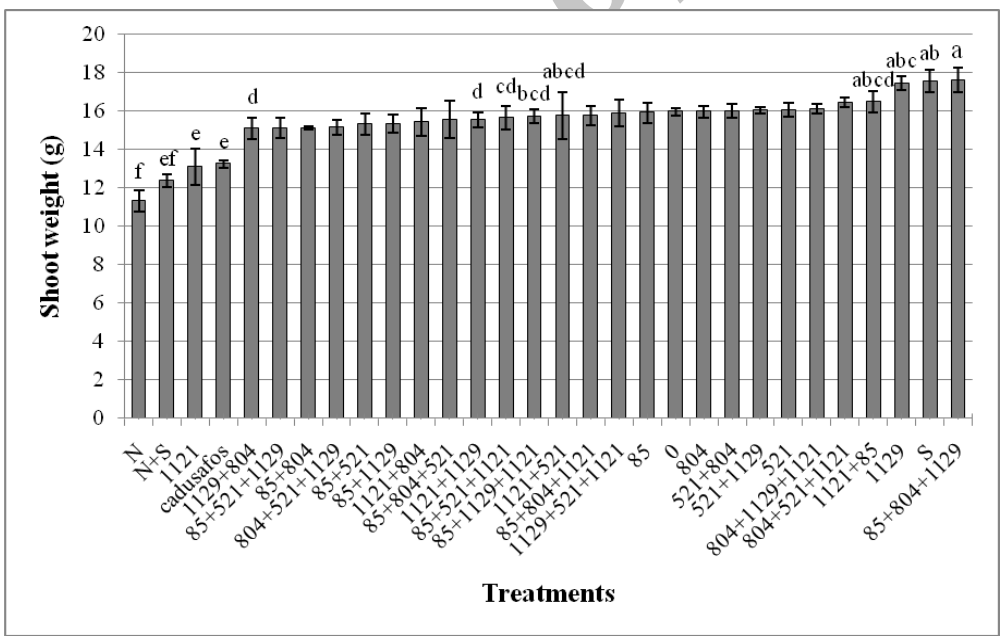
منطقی یا قابل ردیابی از ترکیب جدایه‌ها یا گونه‌های مختلف روی وزن اندام هوایی مشاهده نگردید، هر چند که بیشترین وزن اندام هوایی (از نظر عددی و بدون تفاوت معنادار با تعدادی از تیمارها) در تیماری دیده شد که با سه گونهٔ متفاوت قارچی مایه‌زنی شده بود (شکل ۱).

در تیماری که از نماتدکش شیمیایی (کادوزافوس) استفاده شده بود، کمترین وزن تر ریشه (از نظر عددی و نه آماری) مشاهده گردید، و بیشترین وزن تر ریشه در تیمارهایی دیده شد که با نماتد مایه‌زنی ولی با قارچ مایه‌زنی نشده بودند (N و N+S). همانند وزن اندام هوایی، دربارهٔ تأثیر ترکیبی جدایه یا گونه‌های مختلف قارچی روی وزن ریشه نیز قاعدهٔ مشخصی مشاهده نشد (شکل ۲).

جدول ۲. درصد آلودگی و درصد تفریخ تخم‌های نماتد مولد گره ریشهٔ *M. javanica* پنج روز پس از قرار گرفتن در مجاورت جدایه‌های قارچی مختلف در ظروف پتری

تیمار	قارچ	درصد تخم‌های آلوده*	درصد تفریخ تخم*
IRAN 521 C	*P. bulbillosa* (Pb)	۷۵/۵ (± ۲/۱) a	۷/۴ (± ۱) b
IRAN 1129 C	*P. c.* var. *catenulata* (Pcca)	۸۰ (± ۲/۷) a	۴/۴ (± ۰/۴) b
IRAN 1121 C	*P. c.* var. *chlamydosporia* (Pcc)	۷۴ (± ۴/۶) a	۳/۱ (± ۰/۳) b
IRAN 804 C	*L. aphanocladii* (La)	۷۸/۲ (± ۲/۷) a	۶/۴ (± ۰/۶) b
T85	*T. harzianum* (Th)	۷۷/۹ (± ۱) a	۳ (± ۰/۴) b
شاهد	–	۰ (± ۰) b	۲۵/۹ (± ۳/۹) a

* اعداد هر ستون نشان‌دهندهٔ میانگین هر تیمار ± خطای استاندارد است. تیمارهایی که حرف مشترک دارند بر اساس آزمون دانکن با یکدیگر اختلاف معناداری ندارند ($P<۰/۰۵$).

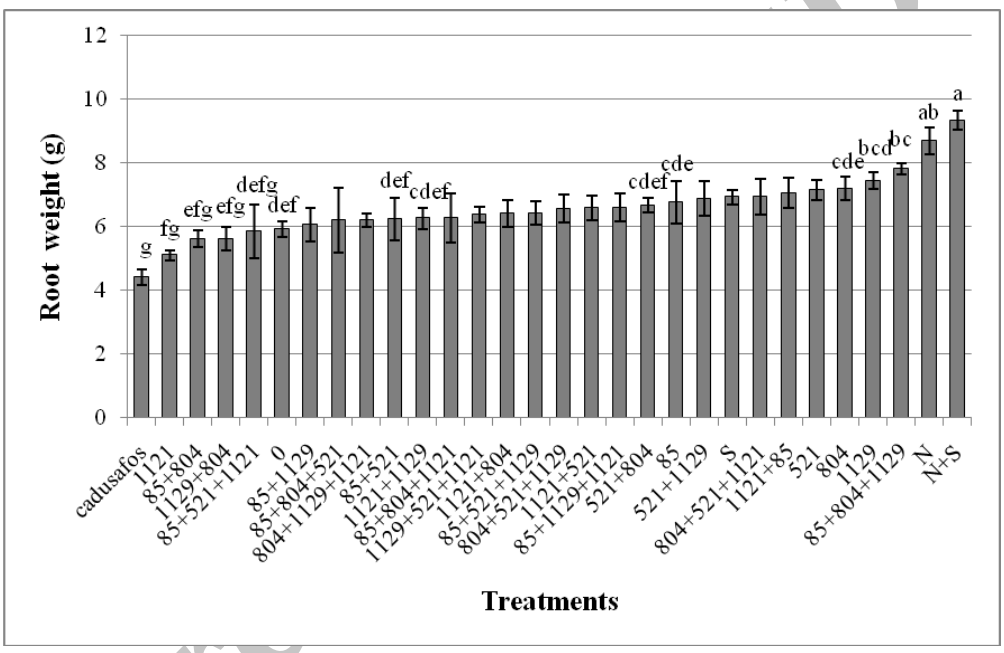


شکل ۱. مقایسهٔ میانگین وزن تر اندام هوایی (گرم) گیاه بادنجان در تیمارهای مختلف، هشت هفته پس از نگهداری در گلخانه. میله‌های روی هر ستون نشان‌دهندهٔ خطای استاندارد است. ستون‌هایی که حداقل یک حرف مشترک دارند، بر اساس آزمون دانکن با یکدیگر تفاوت معناداری ندارند ($P<۰/۰۵$).

521	*Pochonia bulbillosa*	0	گیاه بادنجان بدون سبوس و نماتد
1121	*P. chlamydosporia* var. *chlamydosporia*	S	گیاه بادنجان به همراه سبوس
1129	*P. chlamydosporia* var. *catenulata*	N	گیاه بادنجان به همراه نماتد
804	*Lecancillium aphanocladii*	N+S	گیاه بادنجان به همراه سبوس و نماتد
85	*Tricoderma harzianum*	cadusafos	گیاه آلوده به نماتد و کاربرد کادوزوفوس

www.SID.ir

به جز قارچ Pcc (جدایهٔ IRAN 1121 C)، در تیمارهای دیگر وجود نماتد باعث کاهش وزن تر اندام هوایی گیاه نسبت به شاهد (0 یا S) نشد. حضور نماتد روی ریشه باعث خسارت به گیاه می‌شود و اثر خود را به‌صورت کاهش رشد (طول و وزن) نشان می‌دهد. هر چه صدمهٔ وارده به گیاه بیشتر باشد، میزان کاهش رشد نیز بیشتر است (Abad *et al*., 2009). وزن تر ریشه در بیشتر تیمارها از نظر آماری با تیمارهای شاهد 0 یا S تفاوت معناداری نداشت، اما با تیمارهای شاهد N و N+S متفاوت بود. تأثیر نماتد روی وزن ریشه، یک تأثیر دوگانه است. بدین معنا که آلودگی با نماتد در ابتدا با واکنش گیاه روبه‌رو شده و گیاه برای جبران خسارت وارده، ریشه‌های جدیدی را ایجاد می‌کند که باعث افزایش وزن ریشه می‌گردد. از طرف دیگر، آلودگی به نماتد باعث تشکیل گال روی ریشه می‌گردد که خود باعث افزایش وزن ریشه می‌شود. اگر جمعیت نماتدها از حدی فراتر رود، گیاه قادر به تحمل خسارت وارده نیست و تأثیر آن در رشد اندام‌های هوایی دیده می‌شود. پس از کاهش رشد اندام هوایی، مواد غذایی کمتری به ریشه می‌رسد و رشد ریشه کاهش پیدا می‌کند (Moosavi, 2014).



شکل ۲. مقایسهٔ میانگین وزن تر ریشهٔ (گرم) گیاه بادنجان در تیمارهای مختلف، هشت هفته پس از نگهداری در گلخانه. میله‌های روی هر ستون نشان‌دهندهٔ خطای استاندارد است. ستون‌هایی که حداقل یک حرف مشترک دارند، بر اساس آزمون دانکن با یکدیگر تفاوت معناداری ندارند ($P<۰/۰۵$).

گیاه بادنجان بدون سبوس و نماتد	0	*Pochonia bulbillosa*	521
گیاه بادنجان به همراه سبوس	S	*P. chlamydosporia* var. *chlamydosporia*	1121
گیاه بادنجان به همراه نماتد	N	*P. chlamydosporia* var. *catenulata*	1129
گیاه بادنجان به همراه سبوس و نماتد	N+S	*Lecancillium aphanocladii*	804
گیاه آلوده به نماتد و کاربرد کادوزوفوس	cadusafos	*Tricoderma harzianum*	85

کاربرد نماتدکش شیمیایی در خاک باعث بیشترین کاهش در تعداد کل تخم موجود روی سیستم ریشه‌ای در انتهای آزمایش شد. بیشترین تعداد کل تخم در سیستم ریشه‌ای گیاه شاهد (N) دیده شد، هر چند استفاده از سبوس در خاک آلوده به نماتد (N+S) باعث کاهش معنادار تعداد تخم‌های تشکیل‌شده گردید. تیمارهایی که در آنها از قارچ به صورت انفرادی یا ترکیبی استفاده شده بود، نتوانسته بودند باعث کاهش بسیار چشمگیر تعداد تخم‌ها (مجموع تخم‌های سالم و آلوده) روی سیستم ریشه‌ای گردند. تفاوت چندانی نیز میان کاربرد انفرادی،

www.SID.ir

دوتایی و سه‌تایی قارچ‌ها از این منظر دیده نشد (جدول ۳). وضعیت مشابهی دربارهٔ تعداد لارو سن دوم نماتد در خاک مشاهده شد. البته تعداد لارو سن دوم در تیمارهایی که در آنها از قارچ استفاده نشده بود (N و N+S)، از بیشتر تیمارها از نظر عددی (و نه آماری) کمتر بود. به نظر می‌رسد که نحوهٔ استفاده از قارچ‌ها (انفرادی، دوتایی یا سه‌تایی) تأثیر معناداری روی تعداد لارو سن دوم در خاک ندارد (جدول ۳).

جدول ۳. تأثیر انفرادی و ترکیبی (دوتایی و سه‌تایی) قارچ‌های مختلف روی فاکتورهای تولید مثلی و کنترل نماتد در مقایسه با نماتدکش شیمیایی کادوزافوس هشت هفته پس از تلقیح گیاه بادنجان با نماتد *M. javanica*

تیمارها[1]	جمعیت (مجموع تخم سالم و آلوده) در هر گرم خاک[2و3]	لارو سن دوم در خاک[2]	درصد تخم‌های آلوده[2]	کل جمعیت سالم (تخم و لارو سن دوم) در گرم خاک[2و3]	فاکتور تولیدمثل[2]	درصد کنترل[2]
1121	۸۷/۸۴ (± ۰/۲) g-k	۱/۷۳ (± ۰/۳) cd	۶۲/۵۵ (± ۲) ij	۳۳/۵۵ (± ۱/۸) ef	۶/۷۱ (± ۰/۴) ef	۷۰/۲۹ (± ۱/۶) hij
521	۹۳/۰۱ (± ۱/۳) e-h	۳/۵۳ (± ۱/۴) abc	۵۴/۲۹ (± ۴/۱) l	۴۴/۰۳ (± ۳/۳) c	۸/۸۱ (± ۰/۷) c	۶۱ (± ۳) l
804	۸۹/۸ (± ۲/۲) f-j	۴/۷۶ (± ۰/۲) ab	۶۳/۷۳ (± ۱/۲) hij	۳۴/۳۲ (± ۱/۷) ef	۶/۸۶ (± ۰/۳) ef	۶۹/۶ (± ۱/۵) ij
1129	۸۷/۹۲ (± ۱/۵) g-k	۲/۹ (± ۰/۴) bcd	۷۰/۳۵ (± ۱/۸) efg	۲۶/۹۷ (± ۲) gh	۵/۳۹ (± ۰/۴) gh	۷۶/۱۱ (± ۱/۸) efg
85	۸۵/۶۲ (± ۱/۹) h-k	۱/۲ (± ۰/۱) cd	۴۸/۱ (± ۱/۹) m	۴۵/۱ (± ۲/۴) c	۹/۰۲ (± ۰/۵) c	۶۰/۰۶ (± ۲/۱) l
1121+85	۸۱/۹۰ (± ۲/۸) k	۱/۲۷ (± ۰/۳) cd	۶۵/۷۳ (± ۰/۵) ghi	۲۸/۵۲ (± ۱/۳) fg	۵/۷ (± ۰/۳) fg	۷۴/۷۴ (± ۱/۱) fgh
1121+521	۹۴/۲۲ (± ۱/۱) d-g	۱/۲۹ (± ۰/۲) cd	۵۶/۳۶ (± ۱) kl	۴۱/۷ (± ۱/۳) cd	۸/۳۴ (± ۰/۳) cd	۶۳/۰۷ (± ۱/۱) kl
1121+1129	۸۵/۷۸ (± ۲/۳) h-k	۳/۳۳ (± ۱/۹) abc	۷۰/۷۶ (± ۲) efg	۲۶/۰۵ (± ۱/۹) ghi	۵/۲۱ (± ۰/۴) ghi	۷۶/۹۳ (± ۱/۷) c-g
1121+804	۹۳/۶۷ (± ۱/۳) d-g	۲/۴۳ (± ۰/۴) bcd	۷۲/۷۹ (± ۲) c-f	۲۶/۱۹ (± ۲/۲) ghi	۵/۲۴ (± ۰/۴) ghi	۷۶/۸۱ (± ۱/۹) d-g
85+521	۸۴/۳۹ (± ۲/۱) jk	۵/۵۳ (± ۱) a	۶۰/۹ (± ۱/۷) ijk	۳۵/۱۶ (± ۱/۶) e	۷/۰۳ (± ۰/۳) e	۶۸/۸۶ (± ۱/۴) j
85+1129	۸۵/۲۶ (± ۱/۴) ijk	۲/۴۷ (± ۰/۴) bcd	۷۶/۵۹ (± ۱/۱) bcd	۲۰/۵۷ (± ۱/۴) ijk	۴/۱۱ (± ۰/۳) ijk	۸۱/۷۸ (± ۱/۲) bcd
85+804	۸۷/۱۷ (± ۲) g-k	۱/۷۳ (± ۰/۱) cd	۶۱/۰۹ (± ۱/۱) ijk	۳۴/۶۳ (± ۱/۶) ef	۶/۹۲ (± ۰/۳) ef	۶۹/۳۳ (± ۱/۵) j
521+1129	۹۵/۹۱ (± ۲/۵) def	۳ (± ۱/۳) bcd	۷۰/۷۹ (± ۱/۵) efg	۲۸/۸ (± ۰/۷) fg	۵/۷۶ (± ۰/۱) fg	۷۴/۴۹ (± ۰/۶) ghi
521+804	۹۸/۸۸ (± ۱/۴) cde	۲/۲ (± ۰/۳) cd	۵۵/۷۲ (± ۱/۳) kl	۴۴/۷۸ (± ۱/۸) c	۸/۹۶ (± ۰/۴) c	۶۰/۳۴ (± ۱/۶) l
1129+804	۹۲/۳۵ (± ۲/۱) e-i	۳/۰۱ (± ۰/۷) bcd	۷۶/۴ (± ۰/۵) bcd	۲۲/۵ (± ۰/۷) g-k	۴/۵ (± ۰/۱) g-k	۸۰/۰۷ (± ۰/۶) b-f
85+804+521	۹۲/۲۹ (± ۲/۲) e-i	۱/۴ (± ۰/۱) cd	۵۹/۳۵ (± ۲/۶) jkl	۳۸/۱۱ (± ۲/۷) de	۷/۶۲ (± ۰/۵) de	۶۶/۲۵ (± ۲/۴) jk
85+804+1129	۸۷/۴۷ (± ۲/۲) g-k	۱/۲ (± ۰/۳) cd	۷۸/۷۶ (± ۲/۱) ab	۱۸/۷۸ (± ۱/۷) jk	۳/۷۶ (± ۰/۳) jk	۸۳/۳۷ (± ۱/۵) b
85+804+1121	۹۲/۳۶ (± ۲/۶) e-i	۱/۲۶ (± ۰/۲) cd	۷۲/۰۸ (± ۱/۳) def	۲۶/۲ (± ۱/۹) ghi	۵/۲۴ (± ۰/۴) ghi	۷۶/۸ (± ۱/۷) d-g
85+521+1121	۸۸/۵۱ (± ۱/۵) g-k	۲/۶ (± ۰/۹) bcd	۶۸/۴۳ (± ۲) fgh	۲۸/۷۷ (± ۱/۹) fg	۵/۷۵ (± ۰/۴) fg	۷۴/۵۱ (± ۱/۷) ghi
85+521+1129	۸۲/۵۱ (± ۲/۶) jk	۵/۳ (± ۱/۲) a	۷۱/۵۸ (± ۱/۸) def	۲۵/۰۳ (± ۲/۲) g-j	۵/۰۱ (± ۰/۴) g-j	۷۷/۸۳ (± ۱/۹) c-g
85+1129+1121	۹۷/۱۱ (± ۲/۶) de	۱/۲۶ (± ۰/۵) cd	۷۴/۸۲ (± ۱/۱) b-e	۲۴/۸۱ (± ۱/۵) g-j	۴/۹۶ (± ۰/۳) g-j	۷۸/۰۳ (± ۱/۴) c-g
804+1129+1121	۱۰۰/۴۲ (± ۳/۳) bcd	۳/۴ (± ۰/۴) abc	۸۳/۶۶ (± ۱) a	۱۷/۰۲ (± ۱/۵) k	۳/۴ (± ۰/۳) k	۸۴/۹۳ (± ۱/۴) b
804+521+1129	۹۸/۸۶ (± ۲/۹) cde	۲/۶ (± ۰/۷) bcd	۸۰/۲۶ (± ۱/۲) ab	۲۰/۰۷ (± ۱/۷) ijk	۴/۰۱ (± ۰/۳) ijk	۸۲/۲۳ (± ۱/۵) bc
804+521+1121	۹۷/۲۴ (± ۲) de	۲/۵۳ (± ۰/۴) bcd	۷۸/۰۸ (± ۱/۶) bc	۲۱/۹۴ (± ۲/۱) h-j	۴/۳۹ (± ۰/۴) h-k	۸۰/۵۷ (± ۱/۸) b-e
1129+521+1121	۱۰۵/۸۴ (± ۳/۳) ab	۲/۸ (± ۰/۷) bcd	۷۶/۹۱ (± ۰/۹) bcd	۲۵/۰۴ (± ۰/۶) g-j	۵/۰۱ (± ۰/۱) g-j	۷۷/۸۳ (± ۰/۵) c-g
Cadusafos	۴/۲۹ (± ۰/۴) l	۰/۶۵ (± ۰/۱) d	–	۴/۹۴ (± ۰/۳) l	۰/۹۹ (± ۰/۱) l	۹۵/۶۲ (± ۰/۳) a
N+S	۱۰۴/۲۶ (± ۱/۹) bc	۱/۴۵ (± ۰/۲) cd	–	۱۰۵/۷۱ (± ۲/۱) b	۲۱/۱۴ (± ۰/۴) b	۶/۳۸ (± ۱/۹) m
N	۱۱۱/۲ (± ۳/۶) a	۱/۷۱ (± ۰/۱) cd	–	۱۱۲/۹۱ (± ۳/۵) a	۲۲/۵۸ (± ۰/۷) a	–

۱. تیمارها عبارتند از: 521: *Pochonia bulbillosa*؛ 1121: *P. chlamydosporia* var. *chlamydosporia*؛ 1129: *P. chlamydosporia* var. *catenulata*؛ 804: *Lecancillium aphanocladii*؛ 85: *Tricoderma harzianum*؛ N: گیاه بادنجان به همراه نماتد؛ N+S: گیاه بادنجان به همراه سبوس و نماتد و cadusafos: گیاه آلوده به نماتد و کاربرد سم شیمیایی کادوزوفوس.

۲. در هر ستون میانگین هر تیمار (± خطای استاندارد) نشان داده شده است. میانگین‌هایی که حداقل یک حرف مشترک دارند، بر اساس آزمون دانکن با یکدیگر تفاوت معناداری ندارند ($P<0/05$).

۳. تعداد کل تخم و لارو سن دوم، از مجموع تخم‌های تشکیل‌شده روی سیستم ریشه و لاروهای سن دوم جمع‌آوری‌شده از خاک به‌دست آمد و در نهایت به‌صورت تعداد تخم و لارو در هر گرم خاک بیان شده است.

Archive of SID

www.SID.ir

همهٔ جدایه‌ها (در کاربرد انفرادی) باعث کاهش معنادار تعداد کل تخم تشکیل‌شده (مجموع تخم‌های سالم و آلوده) روی سیستم ریشه‌ای گیاه بادنجان نسبت به شاهد شدند، هر چند که خودشان با هم تفاوت معنادار نداشتند. در تیمارهایی که در آنها از دو قارچ استفاده شده بود، حضور قارچ *تریکودرما* عمدتاً باعث کاهش تعداد تخم‌های تشکیل‌شده (سالم و آلوده) روی سیستم ریشهٔ گیاه میزبان گردید. کاهش تعداد تخم تشکیل‌شده معمولاً از طریق فعال شدن سیستم ایمنی گیاه و افزایش مقاومت گیاه نسبت به نماتد اتفاق می‌افتد (Bakker *et al*., 2006). یکی از مکانیسم‌هایی که قارچ تریکودرما از طریق آن با عوامل بیماری‌زای گیاهی مبارزه می‌کند، القای مقاومت در گیاه میزبان است (Mukherjee *et al*., 2012). البته تعداد تخم‌های نماتد (مجموع تخم‌های سالم و آلوده به علاوه لارو سن دوم) در تیمارهایی که قارچ Pccat به‌تنهایی یا در ترکیب با Pcc یا La به‌کار رفته بود نیز با تیمارهایی که در ترکیب خود حاوی Th بودند، اختلاف معناداری نداشتند. با توجه به اینکه قارچ *Pochonia* spp. (Bordallo *et al*., 2002; Macia-Vicente *et al*., 2009) و بعضی از جدایه‌های *Lecanicillium* spp. (Gurulingappa *et al*., 2011) توانایی نفوذ به درون بافت ریشه را دارند، احتمالاً این قارچ‌ها نیز می‌توانند باعث تحریک و القای مقاومت در گیاه بادنجان و به دنبال آن کاهش تعداد تخم‌های تولیدی گردند.

بررسی درصد تخم‌های آلوده‌شدهٔ نماتد توسط قارچ(ها) در تیمارهای مختلف نشانگر تأثیر بیشتر آنها در زمانی بود که به‌صورت ترکیبی استفاده می‌شدند. البته کمترین درصد آلودگی تخم‌ها (در تیمار T85 و قارچ Th) ۴۸٪ برآورد شد که خود قابل توجه است. جدایهٔ IRAN 1129 C (Pccat) در بین تیمارهایی که در آنها فقط از یک قارچ استفاده شده بود بیشترین کارایی را داشت. بالاترین درصد آلودگی در تیمارهایی دیده شد که در آنها از سه جدایهٔ قارچی استفاده شده بود و دو گونهٔ Pccat و La در آنها مشترک بود. البته استعمال دوتایی این دو گونه نیز از کارایی بالایی برخوردار بود. استفادهٔ دوتایی جدایهٔ IRAN 1129 C (Pccat) با گونه‌های غیر از *پوشونیا*، باعث آلودگی بیشتر تخم‌های نماتد نسبت به زمانی گردید که این قارچ در ترکیب با جدایه‌های از جنس *پوشونیا* استفاده شده بود. در تیمارهای متناظری که فقط در جدایهٔ T85 با هم تفاوت داشتند، حضور Th عموماً باعث کاهش درصد آلودگی تخم‌های نماتد شد (جدول ۳).

کمترین جمعیت نهایی فعال نماتد و فاکتور تولید مثل زمانی دیده شد که از نماتدکش شیمیایی استفاده شد. با توجه به اینکه جمعیت نهایی و سالم نماتد پس از کسر تخم‌های آلوده به‌دست آمد، وضعیت تیمارها و کارایی قارچ‌ها در کاهش جمعیت نهایی فعال نماتد و فاکتور تولید مثل شبیه درصد آلودگی تخم‌های نماتد بود و ترکیب گونه‌های Pccat و La (در تیمارهای دوتایی و سه‌تایی) بیشترین تأثیر را داشت (جدول ۳).

نماتدکش شیمیایی کادوزافوس نماتد *M. javanica* را نسبت به تیمار شاهد حدود ۹۶٪ کنترل کرد. پس از نماتدکش، دومین ردهٔ کنترل‌کنندگی عموماً به تیمارهایی تعلق داشت که در آنها جدایهٔ IRAN 1129 C در ترکیب با یک یا دو گونهٔ دیگر (به جز گونه‌های قارچ *پوشونیا*) استفاده شده بود. البته ترکیب دو جدایه از جنس پوشونیا (Pccat و Pcc) و La را می‌توان یک استثنا حساب کرد چرا که بالاترین (از نظر عددی و نه آماری) درصد کنترل‌کنندگی (۸۵٪) را به خود اختصاص داده بود. هیچکدام از تیمارهایی که در آنها از قارچ استفاده شده بود نتوانستند نماتد را در حد نماتدکش شیمیایی کنترل کنند، اما درصد کنترل قابل قبولی توسط بعضی از تیمارها ایجاد شد. استفادهٔ ترکیبی (دوتایی و سه‌تایی) از قارچ‌ها نسبت به زمانی که از آنها به‌صورت تکی استفاده شد، نتیجهٔ بهتری را از نظر درصد کنترل‌کنندگی به همراه داشت (جدول ۳).

از بین تیمارهایی که در آنها فقط از یک قارچ استفاده شده بود، قارچ Pccat (جدایهٔ IRAN 1129 C) با تفاوت معناداری نسبت به دیگر جدایه‌ها درصد کنترل بیشتری را ایجاد کرده بود. توانایی قارچ Pccat در آلوده کردن تخم‌های نماتد بیشتر از جدایه‌های دیگر بود و در انتهای آزمایش، جمعیت فعال کمتری از نماتد ایجاد گردید.

از نظر عددی بالاترین میزان آلودگی تخم و بالاترین درصد کنترل موقعی به‌دست آمد که قارچ Pccat همراه با

Archive of SID

www.SID.ir

Th یا La استفاده شده بود. هنگامی که از سه قارچ برای کنترل نماتد استفاده شد، بهترین نتایج معمولاً زمانی به‌دست آمد که دو قارچ Pccat و La در تیمارها مشترک بودند. بالاترین درصد کنترل در تیماری دیده شد که دو قارچ مذکور با Th یا Pcc به‌کار رفته بودند.

از آنجا که کاربرد انفرادی کنترل‌کننده‌های زیستی در مزرعه معمولاً باعث مهار قابل قبول نماتدها نمی‌گردد، علاقهٔ فراوانی به استفادهٔ ترکیبی از میکروارگانیسم‌ها در مطالعات کنترل بیولوژیک وجود دارد. در این راستا گاهی از کنترل‌کننده‌هایی که روش‌های عمل متفاوتی دارند استفاده می‌شود و گاهی از استرین‌های مختلف یک میکروارگانیسم بهره‌برداری شده است (Stirling, 2014). در برخی از پژوهش‌های اجراشده در گذشته، ترکیب کنترل‌کننده‌های زیستی باعث افزایش کارایی آنها نسبت به زمانی شد که به‌صورت تنهایی به‌کار رفتند. کاربرد *P. chlamydosporia*، *T. harzianum* و *Glomus mosseae* باعث کنترل موفق نماتد *Heterodera cajani* گردید (Siddiqui & Mahmood, 1996). استفادهٔ ترکیبی از قارچ‌های *Purpureocillium lilacinus* و *Trichoderma viride* نسبت به کاربرد جداگانهٔ آنها، باعث کاهش آلودگی گیاه خیار به نماتدهای مولد گره ریشه (*Meloidogyne* spp.) در گلخانه و افزایش میزان محصول گردید (Yankova *et al*., 2014). کاربرد هم‌زمان *Trichoderma atroviride* و *Fusarium oxysporum* نسبت به کاربرد انفرادی این دو قارچ، سبب افزایش معنادار کنترل نماتد *Radopholus similis* روی ریشهٔ موز گردید (Felde *et al*., 2006).

به نظر می‌رسد ترکیب مبارزه‌گرها باعث پایداری بیشتر مبارزه زیستی می‌شود. بهترین ترکیب زمانی حاصل می‌شود که روش عمل کنترل‌کننده‌ها با هم متفاوت باشد (Timper, 2011). مثال‌هایی از کاربرد ترکیبی کنترل‌کننده‌های زیستی علیه نماتدها که تا قبل از سال ۲۰۰۲ انجام گرفته است در یک مقالهٔ مروری بررسی شده است. در آن پژوهش‌ها، کاربرد دو یا چند کنترل‌کننده عموماً باعث کاهش بیشتر جمعیت نماتد و/ یا کاهش نفوذ نماتد به درون گیاه شده بود، هر چند از نظر فاکتورهای رشدی گیاه بین کاربرد تلفیقی کنترل‌کننده‌ها با حداقل یکی از آنها تفاوت قابل توجهی دیده نشده است (Meyer & Roberts, 2002). این موضوع در تعدادی از پژوهش‌های بعدی نیز نشان داده شده است. مخلوط دو قارچ *Glomus mosseae* و *Trichoderma virens* باعث کاهش معنادار تمامی فاکتورهای مرتبط با نماتد *M. javanica* در گیاه گوجه‌فرنگی شد، هر چند بین شاخص‌های رشدی گیاه در تیمارهای آلوده و شاهد اختلافی مشاهده نشد (Mirehki *et al*., 2013).

البته همیشه ترکیب کنترل‌کننده‌ها با افزایش کارایی آنها همراه نیست. مثلاً کاربرد تلفیقی *Bradyrhizobium japonicum*، *Trichoderma pseudokoningii* و *Glomus mossae* علیه *M. incognita* روی سویا، باعث افزایش اثر کنترل‌کنندگی نسبت به کاربرد انفرادی آنها نشد (Oyekanmi *et al*., 2007). همچنین تلفیق دو قارچ *Metarhizium anisopliae* و *Trichoderma harzianum* تفاوت معناداری را در مقایسه با کاربرد جداگانهٔ هر یک از قارچ‌ها در کنترل نماتد *M. javanica* روی ریشهٔ گوجه‌فرنگی نشان نداد (Khosravi *et al*., 2014).

نوع ترکیب کنترل‌کننده‌ها در افزایش میزان کارایی آنها مؤثر است. از ترکیب‌های دوتایی ممکن از چهار قارچ آزمایش‌شده، فقط ترکیب *Acremonium strictum* و *T. harzianum* توانست نماتد *M. incognita* را روی گوجه‌فرنگی با اثر افزایشی کنترل کند (Goswami *et al*., 2008). علاوه بر ترکیب کنترل‌کننده‌های استفاده شده، نوع نماتد و نوع میزبان نیز در ایجاد اثر افزایشی کنترل‌کننده‌ها مؤثر است. به عنوان مثال، کاربرد تلفیقی *Purpureocillium lilacinus* و *Monacrosporium lysipagum* باعث افزایش میزان کنترل نماتد *M. javanica* روی گوجه‌فرنگی و *H. avenae* روی جو نشد، اما در کنترل نماتد *R. reniformis* روی موز اثر افزایشی داشت (Khan *et al*., 2006). بنابراین بهترین روش برای تخمین اینکه آیا ترکیب کردن دو یا چند قارچ بیماری‌زای نماتد با اثر افزایشی همراه است یا خیر، ترتیب دادن آزمایش روی میزبان مرتبط است.

نتیجه‌گیری کلی

در پژوهش حاضر، اثر انفرادی، دوتایی یا سه‌تایی قارچ‌ها

Archive of SID

www.SID.ir

روی فاکتورهای رویشی گیاه از نظم خاصی پیروی نکرده و بر اساس آن نمی‌توان نوع تیمار مناسب را انتخاب کرد. «درصد کنترل» فاکتور مهمی است که بر اساس آن می‌توان تیمار برتر را انتخاب کرد. بالاترین درصد کنترل در تیمارهایی دیده شد که در آنها از سه قارچ استفاده شده بود. ترکیب قارچ‌های *Pochonia chlamydosporia* var. *catenulate* و *Lecanicillium aphanocladii* با *Pochonia chlamydosporia* var. *chlamydosporia* یا *Trichoderma harzianum* بهترین نتیجه را در پی داشت. بنابراین استفادهٔ ترکیبی از قارچ‌های *P. chlamydosporia* var. *catenulata*، *L. aphanocladii* و *P. chlamydosporia* var. *chlamydosporia* یا *P. chlamydosporia* var. *catenulata*، *L. aphanocladii* و *T. harzianum* را می‌توان به عنوان تیمارهای قابل توصیه معرفی کرد. البته آزمایش‌های تکمیلی در مزرعه می‌تواند در تأیید این نتیجه راه‌گشا باشد.

REFERENCES

1. Abad, P., Castagnone-Sereno, P., Rosso, M-N., de Almeida Engler, J. & Favery, B. (2009). Invasion, feeding and development. In R. N. Perry, M. Moens & J. I. Starr (Eds.), *Root-knot nematodes*. (pp. 163–181). CABI Publishing.
2. Bakker, E., Dees, R., Bakker, J. & Goverse, A. (2006). Mechanisms involved in plant resistance to nematodes. (pp. 314–334). In S. Tuzun, & E. Bent (Eds.), *Multigenic and induced systemic resistance in plants*. Springer Science+Business Media.
3. Bird, A.F. & Bird, J. (1991). The eggs. In A. F. Bird & J. Bird (Eds.), *The structure of nematodes* (2nd ed.). (pp. 7–43). Academic Press.
4. Bordallo, J.J., Lopez-Llorca, L.V., Jansson, H.B., Salinas, J., Persmark, L. & Asensio, L. (2002). Colonization of plant roots by egg-parasitic and nematode-trapping fungi. *New Phytologist*, 154, 491-499.
5. Cumagun, C.J.R. & Moosavi, M.R. (2015). Significance of biocontrol agents of phytonematodes. In T.H. Askary & P.R.P. Martinelli (Eds.), *Biocontrol agents of phytonematodes*. (pp. 50–78) CABI Publishing.
6. Davet, P. & Rouxel, F. (2000). *Detection and isolation of soil fungi*. Science Publishers, U.S.A.
7. Davies, K. G. & Spiegel, Y. (eds) (2011). *Biological control of plant-parasitic nematodes: Building coherence between microbial ecology and molecular mechanisms*, Progress in Biological Control 11. Springer Science+Business Media, Dordrecht.
8. De Leij, F.A.A.M. & Kerry, B.R. (1991). The nematophagous fungus *Verticillium chlamydosporium* as a potential biological control agent for *Meloidogyne arenaria*. *Revue de Nematologie*, 14, 157-164.
9. Fatemy, S. (1998). Antagonistic activity of *Paecillomyces fumosoroseus* against *Meloidogyne javanica* and *Heterodera schachtii*. *Iranian Journal of Plant Pathology*, 34, 67-75. (in Farsi)
10. Fatemy, S., Saeidi-naeini, F. & Alizadeh, A. (2005). In vitro screening of fungi for parasitism against sugar beet cyst nematode *Hetrodera schachtii*. *Nematologia Mediterranea*, 33, 185-190.
11. Felde, Z.A., Pocasangre, L.E., Carnizares Monteros, C.A., Sikora, R.A., Rosales, F.E. & Riveros, A.S. (2006). Effect of combined inoculations of endophytic fungi on the biocontrol of *Radopholus similis*. *InfoMusa*, 15, 12-18.
12. Ghaderi, R., Kashi, L. & Karegar, A. (2012). *The nematodes of Iran, based on the published reports until 2011*. Agricultural Training and promotion Publishing, Tehran.
13. Goettel, M.S., Koike, M., Kim, J. J., Aiuchi, D., Shinya, R. & Brodeur, J. (2008). Potential of *Lecanicillium* spp. for management of insects, nematodes and plant diseases. *Journal of Invertebrate Pathology*, 98, 256-261.
14. Goswami, J., Pandey, R.K., Tewari, J.P. & Goswami, B.K. (2008) Management of root knot nematode on tomato through application of fungal antagonists, *Acremonium strictum* and *Trichoderma harzianum*. *Journal of Environmental Science and Health, Part B*, 43, 237-240.
15. Gurulingappa, P., McGee, P. A. & Sword, G. (2011). Endophytic *Lecanicillium lecanii* and *Beauveria bassiana* reduce the survival and fecundity of *Aphis gossypii* following contact with conidia and secondary metabolites. *Crop Protection*, 30, 349-353.
16. Huang, X., Zhao, N. & Zhang, K. (2004). Extracellular enzymes serving as virulence factors in nematophagous fungi involved in infection of the host. *Research in Microbiology*, 155, 811-816.
17. Hussey, R.S. & Barker, K.R. (1973). A comparison of methods of collecting inocula of *Meloidogyne* spp., including a new technique. *Plant Disease Reporter*, 57, 1025-1028.
18. Kerry, B.R. & Crump, D.H. (1977). Observation of fungal parasites of females and eggs of the cereal cyst-nematodes, *Heterodera avenae*, and other cyst nematodes. *Nematologica*, 23, 193-201.

Archive of SID

www.SID.ir

19. Kerry, B.R., Kirkwood, I.A., De Leij, F.A.A.M., Barba, J., Leijdens, M.B. & Brookes, P.C. (1993). Growth and survival of *Verticillium chlamydosporium* Goddard, a parasite of nematodes, in soil. *Biocontrol Science and Technology*, 3, 355-365.
20. Khan, A., Williams, K.L. & Nevalainen, H.K.M. (2006). Control of plant-parasitic nematodes by *Paecilomyces lilacinus* and *Monacrosporium lysipagum* in pot trials. *Biocontrol*, 51, 643-658.
21. Khosravi, M., Abdollahi, M. & Sadravi, M. (2014). Effect of *Metarhizium anisopliae* and *Trichoderma harzianum* on root knot nematode, *Meloidogyne javanica*. *Biological Control of Pests & Plant Diseases*, 3, 67-76.
22. Macia-Vicente, J.G., Jansson, H.B., Talbot, N.J. & Lopez-Llorca, L.V. (2009). Real-time PCR quantification and live-cell imaging of endophytic colonization of barley (*Hordeum vulgare*) roots by *Fusarium equiseti* and *Pochonia chlamydosporia*. *New Phytologist*, 182, 213-228.
23. Meyer, S.L.F. & Roberts, D.P. (2002). Combinations of biocontrol agents for management of plant-parasitic nematodes and soilborne plant-pathogenic fungi. *Journal of Nematology*, 34, 1-8.
24. Mirehki, K., Abdollahi, M. & Talaie, F. (2013). Effect of *Trichoderma virens* and *Glomus mosseae* in control of *Meloidogyne javanica* in tomato. *Biological Control of Pests & Plant Diseases*, 2, 9-16.
25. Moens, M., Perry, R.N. & Starr, J.L. (2009). *Meloidogyne* Species – a Diverse Group of Novel and Important Plant Parasites. In: R. N. Perry, M. Moens & J.L. Starr (Eds.), *Root-knot nematodes*. (pp. 1–17). CABI Publishing.
26. Moosavi, M. R. & Askary, T. H. (2015). Nematophagous fungi- Commercialization. In T.H. Askary & P.R.P. Martinelli (Eds.), *Biocontrol agents of phytonematodes*. (pp. 423–445) CABI Publishing.
27. Moosavi, M. R. & Zare, R. (2012). Fungi as biological control agents of plant-parasitic nematodes. In: J. M. Merillon & K. G. Ramawat (Eds.), *Plant defence: Biological control*, Progress in Biological Control 12. (pp: 67–107). Springer Science + Business Media.
28. Moosavi, M. R. & Zare, R. (2015). Factors affecting commercial success of biocontrol agents of phytonematodes. In T.H. Askary & P.R.P. Martinelli (Eds.), *Biocontrol agents of phytonematodes*. (pp. 187–202) CABI Publishing.
29. Moosavi, M. R. (2012). Nematicidal effect of some herbal powders and their aqueous extracts against *Meloidogyne javanica*. *Nematropica*, 42, 48-56.
30. Moosavi, M. R. (2014). Dynamics of damage to eggplant by *Meloidogyne javanica*. *CIBTech Journal of Zoology*, 3, 43-49.
31. Moosavi, M. R., Zare, R., Zamanizadeh, H. R. & Fatemy, S. (2010). Pathogenicity of *Pochonia* species on eggs of *Meloidogyne javanica*. *Journal of Invertebrate Pathology*, 104, 125-133.
32. Moosavi, M. R., Zare, R., Zamanizadeh, H. R. & Fatemy, S. (2011). Pathogenicity of *Verticillium epiphytum* isolates against *Meloidogyne javanica*. *International Journal of Pest Management*, 57, 291-297.
33. Mukherjee, M., Mukherjee, P.K., Horwitz, B.A., Zachow, C., Berg, G. & Zeilinger, S. (2012). *Trichoderma*–plant–pathogen interactions: Advances in genetics of biological control. *Indian Journal of Microbiology*, 52, 522-529.
34. Nicol, J.M., Turner, S.J., Coyne, D.L., den Nijs, L., Hockland, S. & Tahna Maafi, Z. (2011). Current nematode threats to world agriculture. In J. Jones, G. Gheysen & C. Fenoll (Eds.), *Genomics and molecular genetics of plant-nematode interactions*. (pp. 21–43). Springer Science + Business Media.
35. Noe, J. (2004). Pathogenicity and isolation of plant parasitic nematodes. In R. N. Trigiano, M. T. Windham & A. S. Windham (Eds.), *Plant Pathology Concepts and Laboratory Exercises*. (pp. 61–74) CRC Press.
36. Oyekanmi, E.O., Coyne, D.L., Fagade, O.E. & Osonubia, O. (2007). Improving root-knot nematode management on two soybean genotypes through the application of *Bradyrhizobium japonicum*, *Trichoderma pseudokoningii* and *Glomus mosseae* in full factorial combinations. *Crop Protection*, 26, 1006-1012.
37. Perry, R.N. (2002). Hatching. In: L. D. Lee (Ed.), *The biology of nematodes*. (pp. 147–169). Taylor & Francis.
38. Safdar, H., Javed, N., Khan, S.L., ul Haq, I., Safdar, A. & Khan, N.A. (2012). Control of *Meloidogyne incognita* (Kofoid and White) Chitwood by Cadusafos (Rugby®) on Tomato. *Pakistan Journal of Zoology*, 44, 1703-1710.
39. Sharon, E., Chet, I. & Spiegel, Y. (2011). *Trichoderma* as a biological control agent. In K. G. Davies & Y. Spiegel (Eds.), *Biological control of plant-parasitic nematodes: Building coherence between microbial ecology and molecular mechanisms*, Progress in Biological Control 11. (pp. 183–201). Springer Science + Business Media.

Archive of SID

www.SID.ir

40. Siddiqui, Z.A. & Mahmood, I. (1996). Biological control of *Heterodera cajani* and *Fusarium udum* on pigeonpea by *Glomus mosseae*, *Trichoderma harzianum* and *Verticillium chlamydosporium*. *Israel Journal of Plant Sciences*, 44, 49-56.
41. Stirling, G.R. (2014). Biological products for nematode management. In G.R. Stirling (Ed.), *Biological control of plant parasitic nematodes* (2nd ed.). (pp. 342–390). CABI Publishing.
42. Sun, M.H., Gao, L., Shi, Y.X., Li, B.J. & Liu, X.Z. (2006). Fungi and actinomycetes associated with *Meloidogyne* spp. eggs and females in China and their biocontrol potential. *Journal of Invertebrate Pathology*, 93, 22-28.
43. Timper, P. (2011). Utilization of biological control for managing plant-parasitic nematodes. In K. G. Davies & Y. Spiegel (Eds.), *Biological control of plant-parasitic nematodes: Building coherence between microbial ecology and molecular mechanisms*, Progress in Biological Control 11. (pp. 259–289). Springer Science + Business Media.
44. van der Putten, W. H., Cook, R., Costa, S., Davies, K. G., Fargette, M., Freitas, H., Hol, W. H. G., Kerry, B. R., Maher, N., Mateille, T., Moens, M., de la Pena, E., Piśkiewicz, A. M., Raeymaekers, A. D. W., Rodríguez-Echeverría S. & van der Wurff, A. W. G. (2006). Nematode interactions in nature: Models for sustainable control of nematode pests of crop plants? In D. L. Sparks (Ed.), *Advances in agronomy*, Vol. 89. (pp. 228–260). Elsevier.
45. Verdejo-Lucas, S. (1995). Dual culture: nematodes. In R. P. Sing & U. S. Sing (Eds.), *Molecular methods in plant pathology*. (pp. 301–312). CRC Press.
46. Yankova, V., Markova, D., Naidenov, M. & Arnaoudov, B. (2014). Management of root-knot nematodes (*Meloidogyne* spp.) in greenhouse cucumbers using microbial products. *Turkish Journal of Agricultural and Natural Sciences*, 2, 1569-1573.

Archive of SID

www.SID.ir