Archive of SID

نشریه کنترل بیولوژیک آفات و بیماری‌های گیاهی
دورهٔ ۳، شمارهٔ ۱، بهار و تابستان ۱۳۹۳ (۷۶-۶۷)

تأثیر *Metarhizium anisopliae* و *Trichoderma harzianum* بر کنترل نماتد ریشه گرهی گوجه‌فرنگی، *Meloidogyne javanica*

۱. مهسا خسروی؛ ۲. محمد عبدالهی*؛ ۳. مهدی صدروی
۱. دانشجوی کارشناسی ارشد بیماری‌شناسی گیاهی، دانشکدهٔ کشاورزی، دانشگاه یاسوج
۲ و ۳. دانشیاران بیماری‌شناسی گیاهی، گروه گیاه‌پزشکی، دانشکدهٔ کشاورزی، دانشگاه یاسوج
(تاریخ دریافت: ۹۳/۷/۲۴ - تاریخ تصویب: ۹۳/۱۰/۱۶)

چکیده

تأثیر دو قارچ *Metarhizium anisopliae* و *Trichoderma harzianum* بر نماتد ریشه گرهی *Meloidogyne javanica*، در شرایط آزمایشگاهی و گلخانه‌ای مطالعه و بررسی شد. در بررسی‌های آزمایشگاهی، با استفاده از آزمون‌های فرار و کشت متقابل مشخص شد که این دو قارچ اثر آنتاگونیستی بر یکدیگر ندارند. به منظور تعیین اثر این دو قارچ بر نماتد ریشه گرهی در شرایط آزمایشگاهی، آزمایشی با ۸ تیمار در قالب طرح کاملاً تصادفی در ۴ تکرار انجام شد. در این آزمایش تمام تیمارها بر مرگ و میر لارو سن دوم و تفریخ تخم این نماتد اثر داشتند. بیشترین مرگ و میر در لاروهای تیمارشده با عصارهٔ کشت *T. harzianum* و بیشترین بازدارندگی از تفریخ تخم در تیمار عصارهٔ *M. anisopliae* مشاهده شد. استفادهٔ تلفیقی از عصارهٔ کشت و سوسپانسیون قارچ‌ها تفاوت معنی‌داری نسبت به استفادهٔ هریک از قارچ‌ها به‌طور جداگانه ایجاد نکرد. در بررسی‌های گلخانه‌ای، آزمایشی به‌صورت طرح کاملاً تصادفی با ۵ تیمار در ۴ تکرار انجام شد. در این آزمایش قارچ *T. harzianum* سبب افزایش رشد گیاه در مقایسه با شاهد سالم و گیاه مایه‌زنی‌شده با نماتد شد، هرچند *M. anisopliae* در مقایسه با گیاه مایه‌زنی‌شده با نماتد سبب بهبود فاکتورهای رشدی گیاه شد، در مقایسه با شاهد افزایش معنی‌داری نشان نداد. بررسی فاکتورهای تولید مثلی نماتد در گلخانه نشان داد که هر دو قارچ سبب کاهش معنی‌داری در صفات تولید مثلی نماتد از جمله تعداد گال شدند. قارچ *M. anisopliae* در مقایسه با *T. harzianum* تأثیر بیشتری بر شاخص‌های تولید مثلی نماتد گذاشت. تلفیق دو قارچ در آزمایش‌های گلخانه‌ای، تفاوت معنی‌داری در مقایسه با کاربرد جداگانهٔ هریک از قارچ‌ها نشان نداد.

واژه‌های کلیدی: گوجه‌فرنگی، مهار زیستی، نماتد ریشه گرهی، *Trichoderma harzianum* و *Metarhizium anisopliae*.

مقدمه

گوجه‌فرنگی (*Lycopersicon esculentum* Mill.) یکی از محصولات ارزشمند سبزی و صیفی به‌شمار می‌آید. نماتدهای ریشه گرهی (*Meloidogyne* spp. Goeldi) از عوامل مهم زیان‌آور در کشت گوجه‌فرنگی هستند. طبق گزارش‌های منتشرشده، میانگین خسارت این نماتد ۱۵ درصد اعلام شده است (Sasser 1989) که گاه تا ۸۰ درصد نیز می‌رسد (Siddiqui & Mahmood 1999). بیش از ۹۰ گونه در این جنس شناسایی شده است که ۴ گونهٔ *M. javanica* (Treub) Chitwood، *M. incognita* (Kofoid & White) Chitwood، *M. arenaria* Neal و *M. hapla* Chitwood اهمیت و پراکندگی بیشتری نسبت به بقیه دارند، به‌طوری که تنها گونهٔ *M. javanica* ۷۰۰ گونه گیاه میزبان دارد (Sasser 1989). برای کنترل نماتد ریشه گرهی روش‌های متفاوتی مانند تناوب زراعی، استفاده از ارقام مقاوم و کاربرد نماتدکش‌ها استفاده می‌شود؛ اما استفاده از این روش‌ها در مواردی بسیار پرهزینه و در مواردی بدون کارآیی کافی است. استفاده از سموم نماتدکش نیز به‌دلیل مضربودن برای سلامتی انسان و ایجاد آلودگی محیط زیست محدود شده است. مدت زمانی که برای توسعهٔ ارقام مقاوم لازم است و فشار اقتصادی که باعث

*تلفن: ۰۷۴۳۳۲۲۴۸۴۰
E-mail: abdollahi@yu.ac.ir

www.SID.ir

Archive of SID

محدودیت در استفاده از تناوب و روش‌های زراعی دیگر است، موجب ایجاد انگیزه برای یافتن عوامل بیوکنترل مناسب شده است (Jatala 1985).

در زمینهٔ مبارزهٔ بیولوژیک با *M. javanica* استفاده از میکروارگانیسم‌ها به‌خصوص آن‌هایی که باعث القای مقاومت در گیاه می‌شوند، اهمیت ویژه‌ای دارد که از آن جمله می‌توان به گونه‌های *Trichoderma* Pers. اشاره کرد. گونه‌های *Trichoderma* آزادزی هستند و در تعامل با میکروارگانیسم‌های مختلف دیگر به سر می‌برند. برخی گونه‌ها از جمله *T. viride* Pers. و *T. virens* (Miller, Giddens & Foster) von Arx. با داشتن نرخ تولید مثلی زیاد و توانایی بالا در استفاده از منابع غذایی مختلف، قدرت زیاد علیه عوامل بیماری‌زا، به‌کارگیری مکانیسم‌های رقابت، پارازیتیسم و آنتی‌بیوز و تولید آنزیم‌های خارج سلولی نظیر آمیلولیتیک، پکتولیتیک، پروتئولیتیک، لیپولیتیک، کتینولیتیک و سلولیتیک و همچنین، کارآیی در تحریک رشد و القای مقاومت در گیاهان، در زمرهٔ عوامل مهم بیوکنترل بسیاری از عوامل بیماری‌زا، از جمله نماتدهای انگل گیاهی، قرار دارند (Chacon *et al.* 2007). همچنین، طبق بررسی‌های متعدد، گونه‌های این قارچ سبب افزایش رشد گیاهان می‌شوند. شارون و همکاران نشان دادند که رشد گیاهان گوجه‌فرنگی تیمارشده با جدایه‌های *T. virens* که در خاک‌های آلوده به نماتد ریشه گرهی کشت شده بودند، افزایش و گال‌های ریشه در مقایسه با شاهد بدون قارچ آنتاگونیست، کاهش یافت (Sharon *et al.* 2001). عکس‌العمل‌های دفاعی گیاه ممکن است به‌صورت موضعی و سیستمیک بروز کند که در حالت سیستمیک، میزان برخی آنزیم‌های مرتبط با دفاع گیاه مثل پلی‌فنل اکسیداز و پراکسیداز در گیاه افزایش می‌یابند. بسیاری از آنزیم‌ها از جمله پلی‌فنل اکسیداز، پراکسیداز، کیتیناز، محتویات فنلی در ارتباط با مقاومت القایی سیستمیک هستند. آنزیم پراکسیداز و پلی‌فنل اکسیداز از جمله آنزیم‌هایی است که در اکسیداسیون فنل‌ها به کینون‌ها و تشکیل لیگنین در سلول‌های گیاهی در طول حمله بیمارگرها نقش مهمی دارند (Flott *et al.* 1989؛ Kerby & Somervill 1989؛ Robb *et al.* 1987).

قارچ موسکاردین سبز، *Metarhizium anisopliae* Sorokin (Metschnikoff) یک قارچ خاک‌زی با انتشار جهانی و از بیمارگرهای مهم حشرات است که به واسطهٔ برخی ویژگی‌های منحصربه‌فرد، به‌طور گسترده در سطح تجاری تولید شده است (Richards & Rogers 1990; Medonica 1992). در مورد اثر *M. anisopliae* بر نماتدها، تنها چند گزارش محدود وجود دارد. تریبهوانشوار و همکاران (Tribhuvaneshwar *et al.* 2008) اثر این قارچ بر نماتد *Rotylenchulus reniformis* Linford and Oliveira را در گوجه‌فرنگی بررسی کردند. براساس گزارش آن‌ها، این قارچ جمعیت نهایی این نماتد و همچنین، نماتدهای آزادزی را کاهش داد و رشد گیاه را بهبود بخشید. قائدی و عبدالهی (Ghayedi & Abdollahi 2013)، این قارچ را از نمونه‌های خاک شهرستان بویراحمد، از نماتدهایی که به‌طور طبیعی آلوده شده بودند، جدا و قدرت پارازیتی آن بر *Heterodera avenae* Wollenweber را ۴۷/۱ درصد برآورد کردند.

عوامل آنتاگونیست مکانیسم‌های مختلفی روی میزبان خود دارند و ترکیب چند آنتاگونیست باعث استفاده هم‌زمان از چند مکانیسم عمل متفاوت علیه پاتوژن هدف است و مشابه‌سازی شرایط طبیعی تلقی می‌شود (Janisiewicz 1996). با توجه به اینکه این عوامل ممکن است اثر متفاوت بیوکنترلی بر یکدیگر داشته باشند، ضرورت دارد که با انجام مطالعات مختلف آزمایشگاهی و گلخانه‌ای هریک از این تأثیرات تعیین شود (Siddiqui & Shaukat 2004). میره‌کی و همکاران (Mirehki *et al.* 2013) اثر تلفیقی *T. virens* و *Glomus mosseae* (Nicol. & Gerd.) Gerd. & Trappe بر نماتد *M. javanica* در گوجه‌فرنگی را بررسی کردند. نتایج آزمایش‌های آن‌ها نشان داد که کاربرد تلفیقی این دو قارچ تعداد گال ریشه را از ۷/۲۸ گال در هر گرم ریشه به ۰/۷۲و تعداد تودهٔ تخم را از ۲/۷۶ به ۰/۳۹ در هر گرم تقلیل داد. همچنین، در مطالعهٔ ایشان تعداد لارو سن دوم از ۳۵۵۳/۵ لارو در هر گلدان به ۲۴۷۱/۲۵ و در نهایت، فاکتور تولید مثل نماتد از ۲/۱۳ به ۱/۴۸ کاهش یافت. هدف از انجام این تحقیق بررسی اثر بیوکنترلی دو قارچ *M. anisopliae* و *T. Harzianum* Rifai بر نماتد ریشه گرهی *M. javanica* به‌صورت مجزا و تلفیقی است.

مواد و روش‌ها

تهیهٔ زادمایهٔ نماتد *Meloidogyne javanica*

پس از نمونه‌برداری از مزارع گوجه‌فرنگی آلوده به نماتد، خالص‌کردن با استفاده از روش تک تودهٔ تخم انجام شد. برای تکثیر نماتد، در هرگلدان حاوی یک کیلوگرم خاک

www.SID.ir

Archive of SID

الک‌شدهٔ سترون (شامل خاک برگ، خاک مزرعه و ماسه با نسبت ۱:۱:۱)، نشا گوجه‌فرنگی کشت شد و پس از شش برگی‌شدن به ازای هر گلدان ۲۰۰۰ تخم و لارو سن دوم مایه‌زنی شد. پس از چند دورهٔ متوالی تکثیر روی ریشهٔ گوجه‌فرنگی در شرایط دمایی ۲۵ الی ۲۸ درجهٔ سلسیوس، جمعیت کافی از زادمایهٔ نماتد به‌دست آمد. استخراج تخم با استفاده از روش هوسی و بارکر (Hussey & Barker 1973) و تهیهٔ لارو سن دوم با استفاده از روش ورین (Vrain 1977) انجام شد. برای شناسایی گونهٔ نماتد با استفاده از استریومیکروسکوپ از هرکدام از ریشه‌های آلوده چندین نماتد ماده جدا و از ناحیهٔ شبکهٔ کوتیکولی انتهای بدن آن‌ها اسلاید میکروسکوپی تهیه و بررسی شد. شناسایی مطابق کلید شناسایی جپسون (Jepson 1987) براساس مشخصات ریخت‌شناسی، ریخت‌سنجی، نقوش ناحیهٔ اطراف مخرج نماتد ماده و همچنین، مشخصات لارو سن دوم، انجام شد.

خالص‌سازی قارچ *Trichoderma*

طی نمونه‌برداری از شهرستان یاسوج و خالص‌سازی، قارچ *Trichoderma* به‌دست آمد. جداسازی روی محیط کشت انتخابی دوات انجام شد. با استفاده از محیط کشت WA (آب ـ آگار) و به روش تک اسپور خالص‌سازی شد. در نهایت، با استفاده از محیط PDA (سیب‌زمینی دکستروز آگار) تکثیر و در دمای ۲۵ درجهٔ سلسیوس نگه‌داری شدند. به منظور شناسایی و تشخیص گونهٔ تریکودرما، از کلیدهای شناسایی موجود استفاده شد (Rifai 1969؛ Bissett 1969). پس از تهیهٔ سوسپانسیون اسپور در آب مقطر، با استفاده از لام گلبول‌شمار (هموسیتومتر) غلظت 10^7 اسپور قارچ در میلی‌لیتر آب مقطر تهیه شد.

خالص‌سازی قارچ *Metarhizium anisopliae*: جدایهٔ DEMI-001 قارچ *M. anisopliae* که بیماری‌زایی آن بر ملخ ثابت شده بود، از مؤسسهٔ تحقیقات جنگل و مراتع کشور تهیه شد. ملخ‌های آلوده به این قارچ در تشتک‌های پتری حاوی کاغذ صافی استریل مرطوب قرار داده شدند و برای جلوگیری از خشک‌شدن، اطراف در تشتک‌های پتری‌ها با نوار پارافیلم بسته شد. حدوداً پس از یک هفته، اسپورهای سبز رنگ این قارچ بر سطح بدن حشرات نمایان شد. از این اسپورها روی محیط کشت PDA کشت شد.

بررسی تأثیر دو آنتاگونیست بر یکدیگر

به منظور بررسی تأثیر دو آنتاگونیست بر یکدیگر، آزمایش اثر متقابل (Fokkema 1978؛ Zivcovic *et al.* 2010) و آزمایش مواد فرار (Fiddaman & Rossal 1993) انجام شد.

تهیهٔ عصارهٔ کشت قارچ‌ها

هریک از قارچ‌ها در ارلن ۲۵۰ میلی‌لیتری حاوی ۱۰۰ میلی‌لیتر محیط PDB به‌مدت ۱۰ روز در دمای اتاق روی شیکر با سرعت ۱۵۰ rpm کشت داده شد. سپس، در زیر هود در کنار شعله دوبار با کاغذ صافی wathman شمارهٔ ۱ صاف و از فیلتر میکروپور ۰/۲ میکرومتر عبور داده شد (Mukhtar & Pervaz 2003).

بررسی اثر سوسپانسیون و عصارهٔ کشت قارچ‌ها بر مرگ و میر لارو و تفریخ تخم نماتد در شرایط آزمایشگاهی

۲ میلی‌لیتر از عصارهٔ کشت قارچ و سوسپانسیون 10^7 اسپور در هر میلی‌لیتر قارچ *M. anisopliae* و *Trichoderma*، به سوسپانسیون حاوی حدود ۱۰۰ عدد لارو سن دوم تازه تفریخ‌شده نماتد اضافه شد و در دمای حدود ۲۷ درجهٔ سلسیوس نگه‌داری شد. تعداد لاروهای مرده پس از ۴۸ ساعت، با استریومیکروسکوپ شمارش و میزان مرگ و میر به‌صورت درصد تعیین شد. همچنین، ۲ میلی‌لیتر از عصارهٔ کشت و سوسپانسیون 10^7 اسپور در هر میلی‌لیتر قارچ *M. anisopliae* و *Trichoderma* به سوسپانسیون تخم نماتد با جمعیت حدود ۱۰۰ تخم اضافه و به مدت یک هفته در دمای ۲۸ درجه نگه‌داری شد و تعداد تخم‌های تفریخ‌شده در هرکدام از تیمارها شمارش شد. در این آزمایش آب مقطر و محیط PDB (بدون قارچ) به‌عنوان شاهدهای بدون عامل بیوکنترل در نظر گرفته شد (Cayrol *et al.* 1989؛ Ashoub & Amara 2010؛ Naserinasab 2011).

بررسی اثر تلفیقی قارچ *M.anisopliae* و *Trichoderma* بر نماتد ریشه گرهی در گلخانه

ابتدا، بذور گوجه‌فرنگی در سینی‌های نشا حاوی خاک پیت ماس و پرلایت کاشته شدند. نشاها در مرحلهٔ شش برگی از سینی‌های نشا خارج و به گلدان‌های اصلی انتقال یافتند. یک هفته پس از انتقال نشا به گلدان‌های اصلی، به روش خیساندن خاک، گیاهچه‌ها با افزودن سوسپانسیون اسپور قارچ‌ها به خاک اطراف ریشه مایه‌زنی شدند. بدین صورت که ۲ سانتی‌متر از سطح

www.SID.ir

Archive of SID

خاک گلدان‌ها کنار زده شد و ۱۰ میلی‌لیتر از سوسپانسیون اسپور قارچ‌ها با غلظت 10^7 اسپور در میلی‌لیتر آب مقطر استریل به خاک گلدان‌ها اضافه شد و در تیمار شاهد ۱۰ میلی‌لیتر آب مقطر استریل اضافه شد. سپس، هرکدام از گلدان‌ها با ۲۰۰۰ لارو سن دوم نماتد *M. javanica* مایه‌زنی شد و ۴۵ روز در شرایط محیطی گلخانه در دامنهٔ دمایی ۲۸ـ۲۵ درجهٔ سلسیوس، رطوبت نسبی ۶۰ درصد، دورهٔ نوردهی ۱۶ ساعت در روز و دور آبیاری ۴۸ ساعت نگه‌داری شد. این آزمایش در قالب یک طرح کاملاً تصادفی با ۵ تیمار در ۴ تکرار به شرح زیر اجرا شد:

۱. کاربرد قارچ تریکودرما به تنهایی
۲. کاربرد قارچ متاریزیوم به تنهایی
۳. کاربرد توأم هر دو قارچ
۴. شاهد منفی (گیاه مایه‌زنی‌شده با نماتد، بدون افزودن عوامل بیوکنترل)
۵. شاهد مثبت (گیاه مایه‌زنی‌نشده با نماتد، بدون افزودن عوامل بیوکنترل)

شاخص‌های رشدی گیاه شامل طول شاخساره و ریشه، وزن تر شاخساره و ریشه، وزن خشک شاخساره و ریشه و همچنین، شاخص‌های تولید مثل نماتد شامل تعداد گال، تعداد تودهٔ تخم و تعداد تخم در ریشه و تعداد لارو سن دوم در خاک تعیین و در نهایت، با تقسیم جمعیت نهایی نماتد بر جمعیت اولیه، فاکتور تولید مثل محاسبه شد و داده‌های به‌دست‌آمده با نرم‌افزار SPSS 20 تجزیه و تحلیل آماری شدند و تجزیهٔ واریانس براساس آنالیز یک طرفه و مقایسهٔ میانگین براساس آزمون دانکن انجام شد.

نتایج و بحث

گونهٔ *Trichoderma* جداشده، *T. harzianum* تشخیص داده شد. کنیدیوم‌زایی این قارچ به‌صورت پراکنده و غالباً به‌صورت دوایر متحدالمرکز بود. پشت کلنی بی‌رنگ تا زرد کمرنگ است. ریسه‌ها بی‌رنگ، دارای دیوارهٔ صاف بودند. کلامیدوسپورها به‌صورت انتهایی و میانی تشکیل شدند و تقریباً کروی تا بیضی شکل بودند. کنیدیوفورها منشعب، انشعاب‌ها معمولاً به‌صورت ۲ تا ۳ تایی و پیرامونی و به‌صورت ساختار هرمی شکل دیده می‌شد. کنیدیوم‌ها با سطحی صاف و بی‌رنگ تا سبز روشن بودند. این گونه به‌سادگی به کمک کنیدیوم‌های کوچک و تقریباً کروی و با داشتن کنیدیوفورهای کم‌تراکم از سایر گونه‌های *Trichoderma* قابل تفکیک است.

گونهٔ *Metarhizium* جداشده، *M. anisopliae* تشخیص داده شد. سرعت رشد این قارچ روی محیط کشت PDA نسبتاً آهسته است. گاهی وسط کلنی این قارچ زرد کم‌رنگ است و رنگدانه‌ای به رنگ زرد در محیط کشت منتشر می‌کند. رنگ کلنی ممکن است در اندازه و وضعیت‌های مختلف، متفاوت باشد. ده روز پس از کشت قارچ، میسلیوم سفیدرنگی در حاشیهٔ کلنی تولید می‌شود که حاوی دسته‌ای از کنیدیوفورهایی است که کم و بیش به‌صورت عمودی منشعب شده‌اند و با تولید اسپور، رنگی می‌شوند. رنگ کلنی از سبز مایل به زرد، کرم رنگ تا سبز پررنگ متغیر است. این قارچ دارای فیالیدهای استوانه‌ای است که به‌صورت موازی و متراکم آرایش یافته‌اند و کنیدی‌های گرد به‌صورت زنجیری قرار گرفته‌اند. شکل کنیدی‌ها ممکن است استوانه‌ای تا تخم مرغی شکل باشند (Ghayedi & Abdollahi 2013).

نتایج بررسی تأثیر دو آنتاگونیست بر یکدیگر

نتایج حاصل از اثر متقابل و اثر مواد فرار این دو آنتاگونیست نشان دادند که در مقایسه با تیمار شاهد قطر کلنی قارچ‌ها از نظر آماری اختلاف معنی‌داری ندارند. بنابراین، می‌توان نتیجه گرفت که این دو قارچ تأثیر آنتاگونیستی بر یکدیگر ندارند.

نتایج بررسی اثر سوسپانسیون و عصارهٔ کشت قارچ‌ها بر مرگ و میر لارو و تفریخ تخم نماتد در شرایط آزمایشگاهی

براساس جدول تجزیهٔ واریانس (جدول ۱)، در آزمایش بررسی اثر این دو آنتاگونیست روی مرگ و میر لارو سن دوم نماتد و بازدارندگی از تفریخ تخم، بین تیمارها اختلاف معنی‌دار آماری وجود دارد ($P\leq0.01$). براساس جدول مقایسهٔ میانگین (جدول ۲)، در آزمایش بررسی اثر این دو قارچ آنتاگونیست بر مرگ و میر لاروهای سن دوم نماتد *M. javanica* ، تمام تیمارها نسبت به شاهد اختلاف معنی‌دار آماری نشان دادند ($P\leq0.05$). عصارهٔ کشت قارچ‌ها در مقایسه با سوسپانسیون آن‌ها باعث مرگ و میر بیشتری در لاروهای نماتد شدند که بیشترین مرگ و میر لارو در تیمار استفاده از عصارهٔ کشت *T. harzianum* دیده شد. استفادهٔ تلفیقی از عصارهٔ کشت هر دو قارچ تفاوت معنی‌داری نسبت به استفادهٔ جداگانهٔ آن‌ها ایجاد نکرد. استفادهٔ تلفیقی از سوسپانسیون هر دو قارچ باعث افزایش درصد مرگ و میر لارو نسبت به استفادهٔ سوسپانسیون *T. harzianum*

www.SID.ir

Archive of SID

به تنهایی شد، اما در مقایسه با تیمار سوسپانسیون *M. anisopliae* تفاوت معنی‌داری ایجاد نکرد.

بیشترین بازدارندگی از تفریخ تخم در تیمار عصارهٔ *M. anisopliae* و استفادهٔ تلفیقی عصارهٔ کشت هر دو قارچ مشاهده شد. در مقایسه با تیمار عصارهٔ کشت *T. harzianum*، این دو تیمار افزایش قابل ملاحظه‌ای در بازدارندگی از تفریخ تخم نشان دادند. تیمار سوسپانسیون *T. harzianum* توانایی بالای بازدارندگی از تفریخ تخم را در این آزمایش نشان داد؛ اما تیمارهای سوسپانسیون *M. anisopliae* و تلفیقی از سوسپانسیون هر دو قارچ در مقایسه با شاهد تفاوت معنی‌داری را نشان ندادند.

براساس تحقیقات شارون و همکاران (Sharon *et al.* 2001)، آنزیم کیتینازی که توسط *T. harzianum* ترشح می‌شود بر کیتین موجود در پوستهٔ تخم نماتد اثر دارد. این آنزیم باعث تجزیهٔ کیتین دیوارهٔ تخم نماتد و در نهایت، انهدام تخم می‌شود. براساس مطالعات الاد (Elad *et al.* 1980) قدرت پارازیتیسمی زیاد تریکودرما روی لاروهای سن دوم در خاک، باعث ازبین‌رفتن آن‌ها می‌شود. خان و ساکسنا (Khan & Saxena 1997) در تحقیقی اعلام کردند که به نظر می‌رسد که قارچ تریکودرما با ترشح آنزیم پروتئاز باعث تجزیه‌شدن کوتیکول لارو سن دوم نماتد می‌شود.

Metarhizium از قارچ‌های بسیار مهم بیمارگر حشرات است که برای آلوده‌کردن حشرات، کنیدی‌ها روی کوتیکول میزبان حساس قرار می‌گیرند و جوانه می‌زنند و لولهٔ تندش، آپرسوریوم، سوزن‌های آلوده‌ساز، هیف‌های نفوذی، صفحات نفوذی و بلاستوسپور تولید و از طریق حفره‌های بدن میزبان به داخل بدن نفوذ می‌کنند (Liang *et al.* 1991). احتمالاً مکانیزم آلوده‌سازی نماتدها نیز مشابه آلوده‌سازی حشرات با این قارچ باشد که مطالعات تکمیلی دربارهٔ این موضوع را ضروری می‌کند. قارچ‌ها می‌توانند نماتدها را به‌طور مستقیم پارازیته کنند یا اینکه متابولیت‌ها و آنزیم‌هایی ترشح کنند که بر آن‌ها تأثیر بگذارند. این ترکیبات فعال این قابلیت را دارند که به‌عنوان نماتدکش‌های جدید به‌کار برده شوند (Ghayedi & Abdollahi 2013).

جدول ۱. تجزیهٔ واریانس اثر قارچ‌های *Metarhizium anisopliae* و *Trichoderma harzianum* بر نماتد ریشه گرهی *Meloidogyne javanica*، در شرایط آزمایشگاهی

منابع تغییر	درجهٔ آزادی	میانگین مربعات	
		مرگ و میر لارو	بازدارندگی از تفریخ تخم
تیمار	۴	۳۱۹۹/۸۵۰**	۲۱۴۸/۴۲۶**
خطا	۱۴	۴۱/۳۲۴**	۶۰/۰۷۲**
ضریب تغییرات (درصد)	-	۲۰/۷	۱۵/۷

** معنی‌دار در سطح احتمال ۱ درصد

جدول ۲. مقایسهٔ میانگین اثر قارچ‌های *Metarhizium anisopliae* و *Trichoderma harzianum* بر نماتد ریشه گرهی *Meloidogyne javanica*، در شرایط آزمایشگاهی

تیمارها	مرگ و میر لارو (٪)	بازدارندگی از تفریخ تخم (٪)
شاهد (آب مقطر استریل)	۷/۳±۳۰/۵ (۴/۸-۱۰/۲)e	۲۹/۹±۳۰/۷ (۱۹/۵-۴۱/۴)f
شاهد (محیط PDB)	۱۰/۱±۴۰/۲ (۶/۶-۱۵/۶)e	۳۲/۸±۲۶/۰ (۲۱/۸-۳۹/۶)de
Metarhizium suspension	۳۵/۱±۲۳/۶ (۲۵/۹-۴۵/۸)c	۳۹/۱±۱۲/۰ (۳۳/۹-۴۵/۲)de
Trichoderma suspension	۲۵/۶±۲۷/۱ (۱۹/۱-۳۵/۱)d	۶۹/۶±۷/۸ (۶۳/۰-۷۵/۹)b
Metarhizium+Trichoderma suspension	۴۰/۲±۱۷/۹ (۳۱/۵-۴۸/۰)c	۴۳/۰±۱۲/۹ (۳۷/۳-۴۹/۰)d
Metarhizium culture filtrate	۶۸/۰±۵/۹ (۶۴/۱-۷۲/۳)b	۸۷/۷±۴/۷ (۸۲/۲-۹۱/۶)a
Trichoderma culture filtrate	۷۹/۳±۹/۱ (۶۹/۸-۸۶/۲)a	۵۴/۷±۲۶/۱ (۷۴/۴۳۸/۰)c
Metarhizium+Trichoderma culture filtrate	۷۳/۵±۱۱/۶ (۶۶/۶-۸۵/۸)ab	۸۵/۹±۵/۴ (۸۲/۳-۹۲/۵)a

*تعداد تکرار ۴، اعداد نمایش‌داده‌شده شامل میانگین±درصد ضریب تغییرات (دامنه درون پرانتز). میانگین‌ها با حروف مشترک در هر ستون بدون اختلاف معنی‌دار در سطح احتمال ۵ درصد هستند.

www.SID.ir

Archive of SID

نتایج بررسی اثر تلفیقی قارچ *M. anisopliae* و *T. harzianum* بر نماتد ریشه گرهی در گلخانه

براساس جدول تجزیهٔ واریانس (جدول ۳)، در این آزمایش بین تیمارها از لحاظ فاکتورهای رشدی گیاه در سطوح احتمال ۱ و ۵ درصد اختلاف معنی‌دار آماری وجود داشت. همچنین، نتایج تجزیهٔ واریانس صفات تولید مثلی نماتد (جدول ۴) نشان می‌دهد که در بین تیمارها از نظر صفات مهم تولید مثلی اختلاف معنی‌دار آماری وجود دارد ($P\leq0.01$).

جدول ۳. تجزیهٔ واریانس فاکتورهای رشدی گیاه گوجه‌فرنگی آلوده‌شده به نماتد ریشه گرهی *M. javanica*، تیمارشده با قارچ‌های *Metarhizium anisopliae* و *Trichoderma harzianum*

منابع تغییر	درجهٔ آزادی	میانگین مربعات					
		طول ساقه (سانتی‌متر)	وزن تر اندام هوایی (گرم)	وزن خشک اندام هوایی (گرم)	طول ریشه (سانتی‌متر)	وزن تر ریشه (گرم)	وزن خشک ریشه (گرم)
تیمار	۴	۲۸/۸۴۳**	۱۵/۱۸۴**	۱/۰۹۳**	۲/۴۹۲**	۰/۶۹۱*	۰/۳۳۸**
خطا	۱۴	۶/۴۱۴	۱/۴۳۹	۰/۱۳۴	۰/۴۳۳	۰/۲۱۶	۰/۰۲۷
ضریب تغییرات (درصد)	-	۸/۸	۶/۶	۱۱/۸	۴/۲	۷/۰	۱۷/۹

*و** به‌ترتیب معنی‌دار در سطح احتمال ۵ و ۱ درصد است.

جدول ۴. تجزیهٔ واریانس صفات تولید مثلی نماتد در گیاه گوجه‌فرنگی آلوده‌شده به نماتد ریشه گرهی *M. javanica*، تیمارشده با قارچ‌های *Metarhizium anisopliae* و *Trichoderma harzianum*

منابع تغییر	درجهٔ آزادی	میانگین مربعات				
		تعداد گال در ریشه	تعداد کیسهٔ تخم در ریشه	تعداد تخم در ریشه	تعداد لارو سن دوم در خاک	فاکتور تولید مثل
تیمار	۴	۲۸۸۰/۵۳۶**	۵۲۴۶/۱۶۳**	۱۴۰۵۳۴۰۵/۷۹**	۶۶۳۶۷۵۰**	۱۰/۳۱۳**
خطا	۱۴	۴۷۶/۳۴۹	۱۰۹/۱۵۳	۹۴۱۶۵/۲۰۳	۳۸۴۱۶۶/۶۶۷	۰/۱۳۸
ضریب تغییرات (درصد)	-	۱۰/۵	۱۳/۲	۷/۰	۲۰/۱	۹/۳

** معنی‌دار در سطح احتمال ۱ درصد است.

براساس جدول مقایسهٔ میانگین صفات رویشی گوجه‌فرنگی (جدول ۵)، *T. harzianum* سبب افزایش صفات رویشی ساقه در مقایسه با هر دو شاهد مثبت و منفی شد، اما تیمار *M. anisopliae* فقط در مقایسه با شاهد منفی تفاوت معنی‌دار نشان داد و نسبت به شاهد مثبت افزایش معنی‌داری نداشت ($P\leq0.05$). در مقایسه با کاربرد هریک از قارچ‌ها به تنهایی، تلفیق دو قارچ تفاوت معنی‌داری در صفات رویشی ساقه ایجاد نکرد. به جز در شاهد منفی که طول ریشه در آن نسبت به شاهد مثبت کاهش یافت، طول ریشه در هیچ‌یک از تیمارها تفاوت معنی‌داری در مقایسه با شاهد نداشت ($P\leq0.05$). در بررسی وزن تر ریشه، هیچ‌یک از تیمارها تفاوت معنی‌داری در مقایسه با شاهد نشان ندادند. تیمار *M. anisopliae* کاهش معنی‌داری در وزن تر ریشه در مقایسه با تیمار شاهد منفی نشان داد ($P\leq0.05$) که احتمالا به‌علت کاهش تعداد گال در این تیمار بود. در بررسی وزن خشک ریشه، کاهش معنی‌داری در تیمار *M. anisopliae* در مقایسه با شاهد مشاهده شد.

طبق مطالعات النا و همکاران (Elena *et al.* 2011)، *M. anisopliae* باعث افزایش طول ساقه و ریشه و وزن خشک ساقه و ریشه گوجه‌فرنگی شد. بر این اساس، می‌توان توانایی جدایه‌های مختلف این قارچ را متفاوت دانست. بررسی‌های جهانبازیان و همکاران (Jahanbazian *et al.* 2014) نیز این موضوع را تأیید می‌کند. در تحقیق ایشان، *M. anisopliae* سبب کاهش وزن تر و خشک ریشه و افزایش طول ریشه شد، اما در سایر صفات رویشی گیاه تفاوت معنی‌داری ایجاد نکرد.

گونه‌ها و جدایه‌های تریکودرما تأثیرات متفاوتی بر رشد گیاه دارند. در برخی منابع تولید بیش از حد برخی فاکتورهای محرک مثل اکسین و ترکیبات مشابه توسط برخی گونه‌ها ذکر شده است (Vinale *et al.* 2008؛ Mirehki *et al.* 2013) که رشد گیاه را مختل کرده است. از طرف دیگر برخی گونه‌های قارچ *Trichoderma* سبب افزایش رشد گیاهان می‌شوند (Chacon *et al.* 2007).

با توجه به جدول مقایسهٔ میانگین فاکتورهای تکثیری نماتد (جدول ۶)، در هر ۳ تیمار تعداد گال در ریشه اختلاف معنی‌دار آماری با تیمار شاهد منفی نشان داد، در حالی که، بین تیمارهای مختلف استفاده از قارچ‌های آنتاگونیست تفاوت معنی‌داری مشاهده نشد ($P\leq0.05$).

www.SID.ir

Archive of SID

تیمارهای استفاده از هریک از قارچ‌ها کاهش معنی‌داری در تعداد تودهٔ تخم و تعداد تخم در ریشه در مقایسه با شاهد نشان دادند. کمترین تودهٔ تخم و تخم در ریشه، در تیمار استفاده از *M. anisopliae* دیده شد، ولی تلفیق دو قارچ تفاوت معنی‌داری نسبت به استفادهٔ جداگانهٔ قارچ‌ها نشان نداد ($P\leq0.05$). کمترین تعداد لارو سن دوم در خاک، در تیمار *M. anisopliae* مشاهده شد. در حالی که، تیمارهای دیگر تفاوت معنی‌داری نداشتند ($P\leq0.05$). در بررسی فاکتور تولید مثل نماتد، تمام تیمارها کاهش معنی‌داری در مقایسه با شاهد نشان دادند. کمترین فاکتور تولید مثل در تیمار *M. anisopliae* مشاهده شد. تلفیق دو قارچ با هم تفاوتی در این فاکتور در مقایسه با کاربرد جداگانهٔ قارچ‌ها ایجاد نکرد ($P\leq0.05$).

در این تحقیق، قارچ *M. anisopliae* تأثیر زیادی بر صفات تولیدمثلی نماتد نشان داد و در آزمایش‌های گلخانه‌ای، در مقایسه با تریکودرما اثر نماتدکشی بیشتری داشت. احتمالاً این قارچ با کاهش تفریخ تخم و همچنین، ایجاد مرگ و میر در نماتد باعث کاهش جمعیت نماتد می‌شود. تریبهونشوار و همکاران (Tribhuvaneshwar *et al.* 2008) نیز در مطالعه‌ای که بر اثر قارچ *M. anisopliae* بر نماتد *R. reniformis* روی گوجه‌فرنگی متمرکز بود، مشاهده کردند که تیمار ریشهٔ گوجه‌فرنگی با این قارچ طول ریشه و ساقه را افزایش داد. ایشان همچنین، مشاهده کردند که قارچ باعث کاهش جمعیت نهایی نماتد در خاک و تعداد تخم در تودهٔ تخم شد. با توجه به اینکه هر کدام از عوامل آنتاگونیست به تنهایی خسارت و تولید مثل نماتد را کاهش دادند، انتظار می‌رفت که اثر تلفیقی آن‌ها جمعیت نماتد را شدیداً کاهش دهد، اما این‌گونه نشد. در منابع ذکر شده است که قارچ *M. anisopliae* توانایی کلونیزه‌کردن ریشه را دارد (St. Leger 2008). حتی بعضی از جدایه‌های آن می‌توانند به‌صورت اندوفیت در گیاه باشند. ولی از نظر توانایی کلنیزه‌کردن ریشه، بین جدایه‌های مختلف قارچ *M. anisopliae* تفاوت وجود دارد (Elena *et al.* 2011). با توجه به اینکه در تیمار استفاده از سوسپانسیون اسپور قارچ *M. anisopliae* به تنهایی کاهش گال، تودهٔ تخم و تخم نماتد مشاهده شد، احتمالاً جدایهٔ مورد بررسی توانایی کلنیزه‌کردن ریشه را داشته است و به این طریق مانع نفوذ نماتد به بافت ریشه شده است. *T. harzianum* باعث افزایش تولید آنزیم‌های دفاعی در گیاه می‌شود، برخی از این آنزیم‌های دفاعی در فرایند لیگنینه‌شدن دیوارهٔ سلولی، تولید سوبرین و تانن نقش دارند که باعث عدم نفوذ نماتد به بافت ریشه می‌شوند. به نظر می‌رسد ممانعت از نفوذ نماتد به بافت ریشه باعث کاهش تعداد گال می‌شود.

جدول ۵. مقایسهٔ میانگین فاکتورهای رشدی گیاه گوجه‌فرنگی آلوده‌شده به نماتد ریشه گرهی *M. javanica*، تیمارشده با قارچ‌های *Metarhizium anisopliae* و *Trichoderma harzianum*

تیمارها	فاکتورهای رشدی گیاه					
	وزن خشک ریشه (گرم)	وزن تر ریشه (گرم)	طول ریشه (سانتی‌متر)	وزن خشک اندام هوایی (گرم)	وزن تر اندام هوایی (گرم)	طول ساقه (سانتی‌متر)
شاهد	۲۴/۱±۵/۲ (۲۲/۳-۲۵/۱)bc	۱۷/۰±۴/۳ (۱۶/۰-۱۷/۷)b	۳/۲±۱۶/۱ (۲/۶-۳/۸)ab	۱۴/۷±۶/۰ (۱۳/۵-۱۵/۶)a	۶/۴±۶/۵ (۶/۰-۷/۰)abc	۱/۲±۱۸/۰ (۱/۰-۱/۵)a
M. javanica	۲۳/۵±۷/۴ (۲۱/۰-۲۴/۸)d	۱۴/۶±۷/۹ (۱۵/۱۳۷/۰)c	۲/۳±۲۱/۶ (۱/۹-۳/۰c	۱۳/۵±۶/۹ (۱۲/۲-۱۴/۳)b	۶/۷±۳/۵ (۶/۵-۷/۰)ab	۰/۹±۱۴/۴ (۰/۷-۱/۰)b
M. javanica + *M. anisopliae*	۲۷/۶±۱۴/۳ (۲۲/۲-۳۱/۰)ab	۱۶/۷±۱۰/۲ (۱۴/۶-۱۸/۳)b	۲/۸±۶/۰ (۲/۶-۳/۰)bc	۱۵/۶±۲/۴ (۱۵/۱-۱۶/۰)a	۵/۹±۱۰/۸ (۵/۰-۶/۴)c	۰/۷±۲۶/۶ (۰/۵-۰/۹b
M. javanica +*Trichoderma*	۲۹/۴±۸/۵ (۲۶/۱-۳۲/۱)a	۲۰/۰±۷/۳ (۱۸/۶-۲۱/۸)a	۳/۷±۸/۰ (۳/۴-۴/۰)a	۱۵/۱±۳/۳ (۱۴/۴-۱۵/۵)a	۷/۰±۴/۴ (۶/۷-۷/۴)a	۱/۴±۱۲/۸ (۱/۱-۱/۵)a
M. javanica +*Metarhizium*+ *Trichoderma*	۲۸/۶±۸/۳ (۲۵/۲-۳۰/۴)a	۱۷/۷±۳/۳ (۱۷/۱-۱۸/۵)b	۲/۸±۷/۴ (۲/۵-۳/۰)bc	۱۵/۱±۲/۵ (۱۴/۷-۱۵/۵)a	۶/۲±۹/۵ (۵/۶-۷/۰)bc	۰/۸±۱۷/۷ (۰/۷-۱/۰)b

*تعداد تکرار ۴، اعداد نمایش‌داده‌شده شامل میانگین±درصد ضریب تغییرات (دامنه درون پرانتز). میانگین‌ها با حروف مشترک در هر ستون بدون اختلاف معنی‌دار در سطح احتمال ۵ درصد هستند.

www.SID.ir

Archive of SID

جدول ۶. مقایسهٔ میانگین صفات تولید مثلی نماتد در گیاه گوجه‌فرنگی آلوده‌شده به نماتد ریشه گرهی *M. javanica*، تیمارشده با قارچ‌های *Metarhizium anisoplia* و *Trichoderma harzianum*

تیمارها	صفات تولید مثلی نماتد				
	تعداد گال در ریشه	تعداد کیسهٔ تخم در ریشه	تعداد تخم در ریشه	تعداد لارو سن دوم در خاک	فاکتور تولید مثل
شاهد	۰±۰	۰±۰	۰±۰	۰±۰	۰±۰
	(۰-۰)c	(۰-۰)d	(۰-۰)d	(۰-۰)c	(۰-۰)d
M. javanica	۲۲۲/۹±۸/۹	۹۵/۹±۱۱/۰	۵۰۰۵/۵±۴/۳	۳۴۰۰/۰±۱۲/۷	۴/۳±۴/۸
	(۱۹۵/۰-۲۴۱/۸)a	(۸۱/۹-۱۰۵/۷)a	(۴۷۹۵/۰-۵۲۸۱/۳)a	(۴۰۰۰/۳۰۰۰/۰)a	(۴/۰-۴/۵)a
anisopliae. M +M. javanica	۱۷۰/۷±۱۳/۱	۵۸/۰±۲۲/۳	۳۰۸۳/۵±۹/۲	۲۱۲۵/۰±۲۸/۱	۲/۶±۱۳/۰
	(۱۴۵/۵-۱۹۸/۲)b	(۳۹/۰-۶۷/۹)c	(۲۸۱۴/۲-۳۳۹۳/۳)c	(۱۷۰۰/۰-۳۰۰۰/۰)b	(۲/۳-۳/۱)c
+Trichoderma M. javanica	۱۶۱/۱±۱۰/۴	۷۸/۱±۱۴/۶	۳۹۶۹/۴±۵/۶	۲۶۲۵/۰±۱۹/۳	۳/۴±۵/۷
	(۱۴۰/۰-۱۷۹/۲)b	(۶۸/۱-۹۴/۵)b	(۳۸۴۲/۰-۴۳۰۱/۵b	(۲۰۰۰/۰-۳۲۰۰/۰)ab	(۳/۲-۳/۶)b
M. javanica +Metarhizium+Trichoderma	۱۷۳/۳±۲۰/۱	۶۵/۳±۱۸/۰	۳۳۹۴/۹±۱۶/۰	۲۶۲۵/۰±۴۰/۴	۳/۱±۲۳/۱
	(۱۳۹/۲-۲۱۰/۸)b	(۴۹/۸-۷۶/۳)bc	(۲۸۴۰/۸-۳۸۸۶/۴)c	(۱۵۰۰/۰-۴۰۰۰/۰)ab	(۲/۳-۴/۰)bc

*تعداد تکرار ۴، اعداد نمایش داده‌شده شامل میانگین±درصد ضریب تغییرات (دامنه درون پرانتز). میانگین‌ها با حروف مشترک در هر ستون بدون اختلاف معنی‌دار در سطح احتمال ۵ درصد هستند.

نتیجه‌گیری

در این تحقیق اثر نماتدکشی دو قارچ *T. harzianum* و *M. anisopliae* در شرایط آزمایشگاهی اثبات شد. هر دو قارچ سبب مرگ و میر لارو و بازدارندگی از تفریخ تخم *M. javanica* شدند. به نظر می‌رسد *T. harzianum* با آنزیم‌های کیتیناز و پروتئاز باعث کاهش تفریخ تخم و مرگ و میر لاروها می‌شود. در بررسی گلخانه‌ای قارچ *T. harzianum* سبب افزایش رشد گیاه شد که این با نتایج چاکون و همکاران (Chacon *et al*. 2007) مطابقت دارد. اما قارچ *M. anisopliae* نه تنها باعث افزایش رشد گیاه نشد، بلکه برخی از صفات رویشی گیاه را کاهش داد که با نتایج جهانبازیان و همکاران (Jahanbazian *et al.* 2014) مطابقت و با نتایج النا و همکاران (Elena *et al.* 2011) مغایرت دارد که میزان افزایش رشد گیاه را با جدایه و میزان مورد استفاده قارچ نسبت دادند.

نتایج این تحقیق نشان داد که هر دو قارچ بر صفات تولید مثلی نماتد تأثیر منفی گذاشتند. *M. anisopliae* تأثیر زیادی بر صفات تولید مثلی نماتد نشان داد و در مقایسه با تریکودرما اثر نماتدکشی بیشتری در آزمایش‌های گلخانه‌ای داشت. احتمالاً این قارچ با کاهش تفریخ تخم و همچنین، ایجاد مرگ و میر در نماتد باعث کاهش جمعیت نماتد می‌شود. احتمالاً جدایه‌های مختلف قارچ *Metarhizium* تأثیرات متفاوتی بر نماتد ریشه گرهی دارند. بنابراین، بررسی جدایه‌های مختلف قارچ و انتخاب جدایه‌های مناسب ضروری است که هم بتوانند نماتد را کنترل کنند و هم توانایی افزایش شاخص‌های رشدی گیاه را داشته باشند. با توجه به اینکه *Metarhizium* یک عامل بیوکنترل قوی برای حشرات است و توانایی آن در کنترل نماتدها در این تحقیق و تحقیقات پیشین اثبات شده است، لازم است بررسی‌های بیشتر در کاربرد آن در مدیریت نماتدهای انگل گیاهی انجام شود.

سپاسگزاری

این تحقیق به‌عنوان بخشی از پایان‌نامهٔ کارشناسی ارشد، نگارندهٔ اول تحت راهنمایی نگارندهٔ دوم و مشاورهٔ نگارندهٔ سوم در دانشگاه یاسوج، انجام شده است. همچنین، قسمتی از این تحقیق در دانشگاه هرمزگان اجرا شد که نگارندگان از مسئولان محترم هر دو دانشگاه کمال تشکر و قدردانی را دارند.

References

Ashoub AH, Amara MT (2010). Biocontrol activity of some bacterial genera against root-knot nematode, *Meloidogyne incognita*. J. Am. Sci. 6(10): 321-328.

Bissett J (1991) A revision of the genus *Trichoderma*. II. Infrageneric classification. Canadian Journal of Botany 69: 2357-2372.

Cayrol JC, Djian A, Pijarowski L (1989). Study of the nematicidal properties of the culture filtrate of the nematophagous fungus *Paecilomyces lilacinus*. Rev. Nematol. 12 (4): 331-336.

Chacon MR, Rodríguez-Galán O, Benítez T, Sousa S, Rey M, Llobell A, Delgado-Jarana1 J (2007) Microscopic & transcriptome analyses of early colonization of tomato roots by *Trichoderma harzianum*. International Microbiology 10:19-27.

Elad I, Chet I, PandKatan J (1980) *Trichoderma harzianum*: A biological agent effective against *Sclerotinia*

www.SID.ir

Archive of SID

rolfsii & *Rhizoctinia solani*. Phytopathology 70: 119-121.
Elena GJ, Beatriz PJ, Alejandro P, Lecuona RE (2011). *Metarhizium anisopliae* (Metschnikoff) Sorokin promotes growth and has endophytic activity in tomato plants. Adv. Biol. Res. 5 (1): 22-27.
Fiddaman P, Rossal S (1994). Effect of substrate on the production of antifungal volatiles from *Bacillus subtilis*. J. Appl. Bacteriol. 76: 395-405.
Flott BE, Moerschbacher BM, Resener H (1989) Peroxidase isoenzyme patterns of resistant and susceptible wheat leaves following stem rust infection. New Phytologist. 111: 413-421.
Fokkema NJ (1978). Fungal antagonism in the phylosphere. Ann. Appl. Biol. 89: 115-117.
Ghayedi S, Abdollahi M (2013). Biocontrol potential of *Metarhizium anisopliae* (Hypocreales: Clavicipitaceae), isolated from suppressive soils of the Boyer-Ahmad region, Iran, against J2s of *Heterodera avenae*. J. Pl. Prot. Res. 53(2): 165-171.
Hussey RS, Barker KR (1973) A comparison of methods of collecting inocula of *Meloidogyne* spp., including a new technique. Plant Disease Reporter 57: 1025-1028.
Jahanbazian L, Abdollahi M Hussienvand M (2014) Inhibitory effect of *Metarhizium anisopliae* against *Meloidogyne incognita*, the causal agent of root knot of tomato, under laboratory condition. National Conference of Modern Topic in Agriculture. March 6, 2014, Tehran, Iran.
Janisievicz WJ (1996). Ecological diversity, niche overlap, and coexistence of antagonists used in developing mixtures for biocontrol of postharvest diseases of apple. Phytopathol. 86: 473-479.
Jatala P (1985). Biological Control of Nematodes. In: Sasser JN, Carter CC. An advanced treatise on *Meloidogyne*, Vollume I: Biology and control. Chapter 26, 303-308.
Jepson SB (1987) Identification of root-knot nematodes (*Meloidogyne* species). CAB International, Wallingford, UK.
Kerby K, Somervill S (1989) Enhancment of specific intercellular peroxidase following inoculation of barley with *Erysiphe graminis* f.sp. *hordei.* Physiological and Molecular Plant Pathology. 35: 323-337.
Khan AU, Wilson T (1995). Reactive oxygen species as cellular messengers. Chemistry Biology. 2: 437-445.
Liang XW, Dron M, Cramer CL, Dixon RA, Lamb CJ (1989). Differential regulation of phenylalanine ammonia-lyase genes during plant development and by environmental case. Journal Biological Chemistry. 264: 14486-14492.
Medonica AF (1992). Mass production, application and formulation of *Metarhizium anisopliae* for control of sugarcane froghopper, *Mahanarva posticata* in Brazil. Pp. 239-244. *In:* Lomer CJ, Prior C (eds.). Biological Control of Locusts and Grasshoppers. CAB International, Wallingwood, United Kingdom.
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 and Plant Diseases. 2(1): 9-16.
Mukhtar T, Pervaz I (2003). In vitro evaluation of ovicidal and larvicidal effects of culture filtrate of *Verticillium chlamydosporium* against *Meloidogyne javanica.* Int. J. Agric. Biol. 5(4): 576-579.
Naserinasab F, Sahebani N, Etebarian HR (2011). Biological control of *Meloidogyne javanica* by *Trichoderma harzianum* BI and salicylic acid on Tomato. Afr. J. Food Sci. 5(3): 276-280.
Richards MG, Rodgers PB (1990). Commercial development of insect biocontrol agents. The exploitation of micro-organisms in applied biology. Aspect. Appl. Biol. 24: 245- 253.
Rifai MA (1969) A revision of the genus *Trichoderma*. Mycological Papers 116: 1-56.
Robb J, Powell DA, Street PFS (1987) Time course of wall- coating secretion in *Verticillium*- infected tomatoes. Physiology and Plant Pathology. 31: 217-226.
Sanders IR, Fitter AH (1992) Evidence for differential response between host–fungus combination of vesicular arbuscular mycorrhiza from a grassland. Mycological Research 96: 415-419.
Sasser JN (1989). Plant parasitic nematodes: the farmer's hidden enemy. A Cooperative Publication of the Department of Plant Pathology and Consortium for International Crop Protection. 115 pp.
Sharon E, Bar–Eyal M, Chet I, Herrera–Estrella A, Kleifeld O, Spiegel Y (2001) Biological control of the root-knot nematode *Meloidogyne javanica* by *Trichoderma harzianum*. Phytopathology 91: 687-693.
Siddiqui IA, Mahmood I (1999). Role of bacteria in the management of plant parasitic nematode: A review: Biores. Technol. 167- 179.
St Leger R (2008). Studies on adaptations of *Metarhizium anisopliae* to life in the soil. J. Invertebr. Pathol. 98: 271-276.
Tribhuvaneshwar, Sharma MK, Bhargava S (2008). Efficacy of green muscardine fungi, *Metarhizium anisopliae* against reniform nematode, *Rotylenchulus reniformis* on tomato. Ind. J. Nematol. 38: 242-244.
Vinale F, Sivasithamparam K, Ghisalberti EL, Marra R, Barbetti MJ, Li H, Woo SL, Lorito M (2008a). A noel role for *Trichoderma* secondary metabolites in the interactions with plants. Physiological and Molecular Plant Pathology 72: 80-86.
Vinale F, Sivasithamparam K, Ghisalberti EL, Marra R, Barbetti MJ, Li H, Woo SL, Lorito M (2008b).

www.SID.ir

Archive of SID

Trichoderma-plant-pathogen interactions. Soil Biology and Biochemistry 40: 1-10.

Vrain TC (1977). A Technique for the collection of larvae of *Meloidogyne* spp. and a comparison of eggs and larvae as inocula. J. Nematol. 9(3): 249-251.

Zivkovic S, Stojanovic S, Ivanovic Z, Gavrilovic V, Popovic T, Balaz J (2010). Screening of antagonistic activity of microorganisms against *Colletotrichum acutatum* and *Colletotrichum gloeosporioides*. Arch. Biol. Sci., Belgrade. 62(3): 611-623.

www.SID.ir