مهار زیستی نماتود ریشه‌گرهی *Meloidogyne javanica* با استفاده از ورمی‌کمپوست و قارچ *Trichoderma harzianum* در گوجه‌فرنگی*

فریبا حیدری[1] و مجید اولیاء[1]**

(تاریخ دریافت: ۱۳۹۴/۷/۱۸؛ تاریخ پذیرش: ۱۳۹۴/۱۲/۲۶)

چکیده

در این تحقیق اثر تلفیقی و جداگانه قارچ *Trichoderma harzianum* و کود آلی ورمی‌کمپوست بر فعالیت نماتود ریشه‌گرهی *Meloidogyne javanica* در شرایط آزمایشگاهی و گلخانه‌ای ارزیابی شد. با استفاده از ویژگی‌های ریخت‌شناسی، نماتود ریشه‌گرهی و جدایه‌ی قارچ بر اساس آغازگرهای اختصاصی نیز مورد شناسایی قرار گرفتند. در شرایط آزمایشگاهی اثر عصاره کشت دو جدایه قارچی روی مرگ‌ومیر لاروهای سن دو و نیز ممانعت از تفریخ تخم‌ها مورد آزمون قرار گرفت. مطالعات آزمایشگاهی نشان داد، بیشترین میزان مرگ‌ومیر لاروها در غلظت پایه (۱۰۰٪) عصاره کشت بوده و میزان بازدارندگی تفریخ تخم در کاربرد جدایه قارچ اولی بیش از دیگری است. در گلخانه اثر کاربرد تلفیقی و جداگانه ورمی‌کمپوست و قارچ *T. harzianum* روی فاکتورهای رشدی گوجه‌فرنگی و شاخص‌های تولیدمثل نماتود در دو نوبت و در دو زمان برداشت ۹۰ و ۱۲۰ روز به صورت مستقل مورد بررسی قرار گرفت. استفاده هم‌زمان ورمی‌کمپوست و قارچ تریکودرما، علاوه بر مهار نماتود، عملکرد رشدی گیاه را نیز افزایش داده و این نشان از توانایی مهار نماتود ریشه‌گرهی با کاربرد تلفیقی دو عامل زیستی است.

کلیدواژه: کنترل، عصاره کشت قارچ، *Meloidogyne javanica*، *Trichoderma harzianum*

---

* بخشی از پایان‌نامه کارشناسی ارشد نگارنده اول، ارائه شده به دانشکده کشاورزی دانشگاه شهرکرد

** مسئول مکاتبات، پست الکترونیکی: olia100@yahoo.com

۱. به ترتیب دانشجوی کارشناسی ارشد و دانشیار بیماری‌شناسی گیاهی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه شهرکرد.

Biological control of root-knot nematode, *Meloidogyne javanica*, using vermicompost and fungus *Trichoderma harzianum* on tomato*

F. Heidari[1] and M. Olia[1]**

(Received: 9.10.2015; Accepted: 16.3.2016)

Abstract

Integrated and separate application of *Trichoderma harzianum* and vermicompost on activity of the root-knot nematode, *Meloidogyne javanica* was examined under *in vitro* and green house conditions. The root-knot nematode identified using morphological characters and fungal isolate with the help of species-specific primers as well. Ability of two fungal isolates on egg hatching and mortality of *M. javanica* juveniles were tested under laboratory conditions. The results of the laboratory test indicated that the mortality of *M. javanica* juveniles was highest in the base concentration (100%), and inhibition of egg hatching of the first isolate was more than the other one. In the green house experiment, effects of integrated and separate application of vermicompost and *T. harzianum* on tomato plants growth factors and nematode reproduction indices, in two independent of 90 and 120 days harvesting time, were tested. Results showed that integrated using of vermicompost and the fungus, in addition of controlling nematode, increased plant growth and indicated a promising potential of nematode control by using combination of these two biological agents.

Keywords: Control, fungi culture filtrate, *Meloidogyne javanica*, *Trichoderma harzianum*

---

* A part of M.Sc. thesis submitted by the first author in Faculty of Agriculture, Shahrekord University, Shahrekord, Iran.

** Corresponding author's E-mail: olia100@yahoo.com

1. Graduate student of Plant Pathology and Associate Professor of Plant Pathology, College of Agriculture, Shahrekord University, respectively.

مقدمه

با افزایش جمعیت دنیا و تلاش انسان برای بهبود کیفیت غذا، مصرف سبزی‌ها از جمله گوجه‌فرنگی به عنوان بخش مهمی از غذای انسان در حال افزایش است. این گیاه مورد هجوم انواعی از بیمارگرها و آفات، به‌خصوص نماتودها است. نماتودهای ریشه‌گرهی (*Meloidogyne* spp.)، با توجه به وسعت انتشار و دامنه وسیع میزبانی، مهم‌ترین نماتودهای خسارت‌زای کشاورزی در جهان هستند (Oka *et al.* 2000). برای مهار این نماتود از روش‌های مختلفی مانند رعایت تناوب زراعی، ارقام مقاوم و کاربرد نماتودکش‌ها استفاده می‌شود، اما استفاده از این روش‌ها در مواردی بسیار پرهزینه و در مواردی بدون کارآرایی کافی است. مهار نماتودهای ریشه گرهی به دلیل چرخه زندگی کوتاه، تولیدمثل زیاد و نیز انگل داخلی بودن، دشوار می‌باشد (Manzanilla-lopez *et al.* 2004). از طرفی روند رو به افزایش تخریب منابع آب، خاک و محیط زیست در اثر کاربرد بی‌رویه مواد شیمیایی در کشاورزی و روش‌های رایج تولید مواد غذایی در جهان موجب توجه و ترغیب محققان به بخش کشاورزی پایدار گردیده (Avis *et al.* 2008) و به دلیل مشکل بودن مبارزه شیمیایی نماتودها، محققان به دنبال دستیابی به راه‌های مناسب مهار این عوامل بیمارگر هستند. *شارون و همکاران* (Sharon *et al.* 2001) اظهار داشته‌اند که در سال‌های اخیر روش مهار زیستی مورد توجه قرار گرفته است. عوامل مهار زیستی مختلفی از جمله تعدادی از آنتاگونیست‌های قارچی (Meyer *et al.* 2001)، در جهت مهار نماتودهای انگل گیاهی به کار گرفته می‌شوند. بنت و ویپ (Bennett & Whipps 2008) بیان نمودند که موفقیت در کنترل بیماری‌های گیاهی همراه با سلامت محیط زیست، توانسته است مهار زیستی را یکی از مقبول‌ترین روش‌های کنترل بیماری‌ها در مبارزه‌ی تلفیقی بیماری‌های گیاهی معرفی نماید. در این راستا استفاده از مواد آلی همانند کمپوست ضایعات کشاورزی، شهری، صنعتی و ورمی‌کمپوست به منظور کاهش مصرف کودهای شیمیایی و کاربرد میکروارگانیسم‌های مفید خاکزی مانند گونه‌های مختلف تریکودرما (*Trichoderma* spp.) در زمره اهداف کشاورزی پایدار به شمار می‌روند. دو گونه *Trichoderma harzianum* و *T. virens*، از معمول‌ترین گونه‌های قارچ تریکودرما در بیشتر خاک‌های دنیا می‌باشند که جدایه‌های مختلف آنها به‌طور عمده دارای خاصیت آنتاگونیستی علیه عوامل بیماری‌زای گیاهی مهم خاکزی می‌باشند (Samuels 1996). استفاده از گونه‌های مختلف جنس *Trichoderma* به عنوان عوامل مهار زیستی نخستین بار در سال ۱۹۳۲ مطرح و مورد بررسی قرار گرفت (Weindling 1932). گونه‌های *Trichoderma* آزادزی هستند و در تعامل با میکروارگانیسم‌های مختلف دیگر به سر می‌برند. *چاکون و همکاران* (Chacon *et al.* 2007) بیان نمودند که گونه‌های قارچ *Trichoderma* به علت داشتن نرخ تولیدمثلی بالا 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 زمره عوامل مهم مهار زیستی بسیاری از عوامل بیماری‌زا، از جمله نماتودهای انگل گیاهی، قرار دارند. همچنین طبق بررسی‌های متعدد، گونه‌های این قارچ سبب افزایش رشد گیاهان می‌شوند. *شارون و همکاران* (Sharon *et al.* 2001) نشان دادند که رشد گیاهان گوجه‌فرنگی تیمار شده با جدایه‌های *T. virens* که در خاک‌های آلوده

به نماتود ریشه‌گرهی کشت شده بودند، افزایش و گال‌های ریشه در مقایسه با شاهد بدون قارچ آنتاگونیست، کاهش یافته است. مطالعات *صالح‌پور و همکاران* (Salehpour *et al.* 2005) نشان داد که استفاده از آنتاگونیست‌های مختلف از جمله تریکودرما در محیط خاک می‌تواند از خسارت و زیان بیماری‌ها تا زیر آستانه‌ی زیان اقتصادی بکاهد. *ویندهام و همکاران* (Windham 1989) گزارش کردند که تیمار خاک با جدایه *T. harzianum* T-12 و *T. konningii* تولید توده تخم در نماتود *M. arenaria* را کاهش می‌دهد. *الهزمی و طارق‌جاوید* (Al-hazmi & TariqJaveed 2016) نشان دادند کاربرد دو گونه قارچ *T. harzainum* و *T. viride* سبب کاهش و توقف تولیدمثل و گال‌زایی نماتود *M. javanica* می‌شود و از طرفی در مقایسه با شاهد گیاهان گوجه‌فرنگی از رشد بیشتری برخوردار شدند. کاربرد ورمی‌کمپوست در شرایط گلخانه‌ای بر روی محصول گوجه‌فرنگی نیز نشان‌دهنده‌ی کاهش جمعیت نماتود ریشه‌گرهی *M. incognita* در خاک تیمار شده با این کود آلی بوده است. در این بررسی شاخص‌های آلودگی به نماتود اعم از تعداد تخم و لارو سن دوم در خاک و سایر عوامل بیماری‌زای گیاهی از جمله قارچ‌ها و باکتری‌ها نیز کاهش نشان دادند (Castro *et al.* 2011). کاربرد تلفیقی ورمی‌کمپوست و میکروارگانیسم‌هایی چون قارچ *T. harzianum*، PGPR و قارچ‌های ویزیکولار آربسکولار نه تنها سبب افزایش رشد گیاه گوجه‌فرنگی می‌شود، بلکه سبب افزایش پارامترهای کیفی گیاه گوجه‌فرنگی نیز می‌شود (Bhattacharjee *et al.* 2015).

در این تحقیق، اثرات آنتاگونیستی دو جدایه قارچ *T. harzianum* در میزان مرگ‌ومیر لارو سن دوم و ممانعت از تفریخ تخم نماتود ریشه‌گرهی در شرایط آزمایشگاهی و همچنین بررسی کاربرد جداگانه و تلفیقی کود آلی ورمی‌کمپوست و جدایه‌ی قارچ *T. harzianum* برای مهار نماتود ریشه‌گرهی *M. javanica* در گیاه گوجه‌فرنگی در دو آزمایش جداگانه در شرایط گلخانه بررسی شده است.

مواد و روش‌های بررسی

شناسایی و تهیه جمعیت نماتود ریشه‌گرهی *Meloidogyne javanica*

جهت تهیه جمعیت خالص نماتود، از گوجه‌فرنگی‌های آلوده به نماتود ریشه‌گرهی جمع‌آوری شده از استان اصفهان، یک کیسه تخم (egg mass) جدا و در مجاورت ریشه یک گیاهچه چهار برگی گوجه‌فرنگی رقم حساس فلات در گلدان حاوی ۱۰۰۰ گرم خاک سترون در شرایط گلخانه قرار داده شد. بعد از گذشت سه ماه، استخراج نماتود از ریشه‌های آلوده با استفاده از هیپوکلریدسدیم ۱/۵٪ به روش *هوسی و باکر* (Hussey & Barker 1973) انجام گردید. جهت شناسایی نماتود از روش ریخت‌شناسی استفاده شد. به همین منظور، از انتهای بدن نماتود ماده به روش *هارتمن و ساسر* (Hartman & Sasser 1985) برش تهیه و مشخصات آن بررسی گردید.

جداسازی و شناسایی قارچ *Trichoderma harzianum*

در این تحقیق جهت جداسازی جدایه تریکودرمای مورد استفاده (*T. harzianum*)، نمونه‌برداری از خاک فراریشه مزارع سیب‌زمینی شهرستان شهرکرد انجام شد. سپس خاک خشک و پودر شده روی محیط کشت عصاره سیب‌زمینی-دکستروز-آگار (PDA) منتقل گردید. قارچ رشد یافته با روش نوک ریسه (Hyphal tip) خالص‌سازی شد. برای شناسایی مورفولوژیک قارچ *T. harzianum* رنگ پرگنه، اندازه فیالید و مشخصات کنیدی و کنیدیوفور

جدول ۱. مشخصات و توالی‌های آغازگر اختصاصی قارچ ***Trichoderma harzianum***.

Table 1. Name and sequences of specific primers for *Trichoderma harzianum*.

Primers	Primers sequences	
Th-F	5'-CGG TGA CAT CTG AAA AGT CGT G-3'	(Forward)
Th-R	5'-TGT CAC CCG TTC GGA TCA TCC G-3'	(Reverse)
THITS-F2	5'-CGG GTT TTT TAT AAT CTG AGC C-3'	(Forward)
THITS-R3	5'-CAT TCA GTT GGGT G-3'	(Reverse)

تعیین و از کلید شناسایی *گامس* و بیست (Games & Bissett 1998) استفاده گردید. جهت شناسایی مولکولی قارچ *T. harzianum*، DNA آن از توده میسلیوم رشد یافته در محیط کشت مایع عصاره مالت – مخمر – سویا پپتون (MYP) به روش CTAB استخراج گردید (Murray & Thompson 1980). واکنش زنجیره‌ای پلی‌مراز با دو جفت آغازگر اختصاصی (Th-F، Th-R و THITS R3، THITS F2) قارچ *T. harzianum* طراحی شده بر اساس ناحیه rDNA-ITS انجام (Chen *et al.* 1999, Miyazaki*et al.* 2009) و محصول واکنش روی ژل آگاروز ۱٪ الکتروفورز گردید (جدول ۱).

ارزیابی آزمایشگاهی اثر دو جدایه قارچ *T. harzianum* روی *M. javanica*

در این پژوهش جدایه قارچ *T. harzianum* جدا شده از نمونه خاک اطراف ریشه سیب‌زمینی جمع‌آوری‌شده از شهرستان شهرکرد، همچنین یک جدایه ارسالی از دانشگاه همدان مورد بررسی قرار گرفتند.

بررسی اثر عصاره کشت دو جدایه قارچ *T. harzianum* روی تعداد مرگ‌ومیر لارو سن دوم *M. javanica*

برای این منظور، دوایری با قطر یک الی دو سانتیمتر از حاشیه رشد فعال جدایه‌های قارچی به داخل ظرف حاوی محیط کشت مایع، عصاره سیب‌زمینی-دکستروز (PDB) تلقیح و به مدت ۱۴ روز در دمای ۲۵°C در انکوباتور نگهداری شدند. محیط کشت مایع PDB حاوی توده‌های رشد کرده قارچ، از کاغذ صافی Whatman شماره یک سترون عبور داده شد، تا عصاره قارچ (عصاره پایه ۱۰۰٪) به دست آید. سپس با اضافه نمودن آب مقطر سترون، غلظت‌های ۰/۱ (10^{-1}) و ۰/۰۱ (10^{-2}) از غلظت پایه تهیه شد، از آب مقطر سترون هم به عنوان شاهد استفاده گردید. پس از تهیه غلظت‌های مختلف، غلظت‌های عصاره‌ی کشت قارچ‌ها و آب مقطر سترون را داخل تشتک‌های سترون منتقل و به هر یک حدود ۱۰۰ عدد لارو سن دوم نماتود اضافه گردید و تشتک‌ها در شرایط آزمایشگاه با دمای ۲۵°C نگهداری شدند. بعد از ۲۴، ۴۸ و ۷۲ ساعت تعداد مرگ‌ومیر لاروهای نماتود ثبت شد. آزمایش به صورت فاکتوریل در قالب طرح پایه کاملاً تصادفی و در چهار تکرار اجرا گردید.

بررسی اثر عصاره کشت دو جدایه قارچ *T. harzianum* روی تفریخ تخم *M. javanica*

سه غلظت مختلف عصاره کشت قارچ‌ها شامل غلظت‌های پایه، 10^{-1} و 10^{-2} طبق روش ذکر شده تهیه و آب مقطر سترون نیز به عنوان شاهد انتخاب گردید، سپس

۱۰۰ عدد تخم نماتود ریشه‌گرهی به تشتک‌های پتری حاوی عصاره کشت قارچ‌ها اضافه و در شرایط آزمایشگاهی نگهداری شدند. وضعیت تعداد تخم‌های تفریخ نشده در سه زمان ۲۴، ۴۸ و ۷۲ ساعت مورد بررسی و ثبت شد. آزمایش به صورت فاکتوریل (زمان – غلظت و نوع جدایه) در قالب طرح پایه کاملاً تصادفی و در چهار تکرار اجرا شد.

آزمایش گلخانه‌ای

الف) تهیه زادمایه قارچ و جمعیت نماتود و افزودن به خاک گلدان‌ها

برای تهیه زادمایه قارچ از محیط کشت دانه گندم با نسبت وزنی نیم درصد در خاک استفاده شد. ابتدا ۵۰ گرم گندم در یک ارلن نیم لیتری ریخته و ۱۰۰ میلی لیتر آب مقطر به آن اضافه شد. سپس به مدت ۱۵ دقیقه در دمای ۱۲۰°C و فشار یک اتمسفر در اتوکلاو سترون شدند. دیسک‌های سه الی پنج میلی‌متری از حاشیه پرگنه جدایه‌های ارسالی از همدان و جداشده از شهرکرد قارچ به این محیط تلقیح شد (Jones *et al.* 2003). ارلن‌ها جهت تکثیر اسپور قارچ به میزان مطلوب، به مدت یک ماه در دمای ۲۸°C در محیط انکوباتور نگهداری و هر پنج روز یکبار برای رشد یکنواخت قارچ، ارلن‌ها تکان داده شدند. سپس ده گرم زادمایه قارچ تولیدی (10^6 اسپور در یک گرم زادمایه) با دو کیلوگرم خاک سترون شده به طور کامل مخلوط و به هر گلدان یک گیاهچه چهار برگی گوجه‌فرنگی رقم فلات منتقل شد. در تیمارهای دارای ورمی‌کمپوست، خاک گلدان‌ها به همراه ۲۰۰ گرم از فرآورده مخلوط شد. بعد از ۱۰ روز نگهداری گلدان‌ها در گلخانه با دمای ۲۰ الی ۲۵ درجه سانتی‌گراد، هر گلدان دو کیلویی با ۵۰۰۰ تخم و لارو سن دوم نماتود *M. javanica* استخراج شده به روش *هوسی و باکر* (Hussey & Barker 1973) مایه‌زنی شد. تیمارها شامل کاربرد تلفیقی قارچ و ورمی‌کمپوست، قارچ تنها و ورمی‌کمپوست تنها می‌باشد. در تیمار شاهد، به گلدان‌ها فقط آب مقطر سترون اضافه گردید.

ب) شرایط نگهداری و شاخص‌های اندازه‌گیری شده

گلدان‌ها در آزمایش اول به مدت ۹۰ و در آزمایش دوم به مدت ۱۲۰ روز در شرایط گلخانه با دمای ۲۰ تا ۲۵ درجه سانتی‌گراد و رطوبت نسبی ۶۰-۸۰ درصد نگهداری و آبیاری منظم یک روز در میان انجام شد. هر واحد آزمایشی، یک گلدان حاوی دو کیلوگرم خاک سترون با بافت شنی لومی می‌باشد. آزمایشات در قالب طرح کاملاً تصادفی در چهار تکرار اجرا گردید. لازم به ذکر است که زمان برداشت (۹۰ و ۱۲۰ روز) نیز به عنوان فاکتوری علاوه بر تیمار و نماتود در شاخص‌های اندازه‌گیری شده در گلخانه نیز اثر داده شد.

شاخص‌های اندازه‌گیری شده شامل طول، وزن تر و خشک اندام هوایی و اندام زمینی، تعداد گال، توده تخم، تعداد تخم و جمعیت لارو سن دوم نماتود می‌باشند. همچنین فاکتور تولیدمثل نماتود (نسبت جمعیت نهایی/جمعیت اولیه تخم و لارو داخل خاک و درون ریشه به جمعیت اولیه مایه‌زنی شده)، Mr% و NC% تعیین گردید (Oostenbrink 1966).

کلیه داده‌ها توسط نرم افزار آماری SAS 9.1 آنالیز شدند. جدول تجزیه واریانس ترسیم و مقایسه میانگین‌ها با استفاده از آزمون t مورد مقایسه قرار گرفتند و از روش توکی-کرامر برای مقایسات چندگانه استفاده شد.

نتایج و بحث

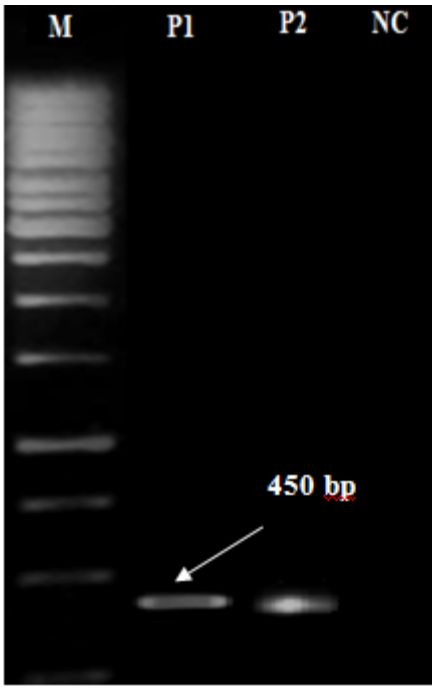
شناسایی گونه نماتود ریشه‌گرهی

با بررسی خصوصیات ریخت‌شناسی و ریخت‌سنجی نماتود ماده و استفاده از کلید شناسایی *ایسنباک و تریانتافیلو* (Eisenback & Triantaphyllou 1991) گونه نماتود *Meloidogyne javanica* تعیین گردید.

شناسایی گونه قارچ Trichoderma harzianum

قارچ *T. harzianum*: پرگنه قارچ روی محیط PDA در دمای ۲۵ درجه بعد از یک هفته به صورت کرکی شکل تشکیل شد. روی سطح آن به طور یکنواخت کنیدیوم‌های سبز رنگ بعد از سه الی پنج روز ایجاد شد. بر اساس کلید *گامس و بیست* (Gams & Bisset 1998) جدایه‌ی ارسالی از همدان و جدایه شهرکرد با اندازه کنیدیوم ۲/۰-۳/۰ (۱/۸) میکرومتر و ابعاد فیالید ۲/۵-۳/۵ × ۸/۵ -۴/۸ میکرومتر، با مشخصات *T. harzianum* مطابقت دارند. کنیدی‌زایی این قارچ به صورت پراکنده و غالباً به صورت دوایر متحدالمرکز بود. پشت کلنی بی‌رنگ تا زرد کمرنگ بودند. کنیدیوفورها منشعب، انشعاب‌ها معمولاً به صورت ۲ تا ۳ تایی و پیرامونی و به صورت ساختار هرمی شکل دیده شد. کنیدیوم‌ها با طرحی صاف و بی‌رنگ تا سبز روشن بودند. با استفاده از دو جفت آغازگر اختصاصی قطعه ۴۵۰ جفت بازی در این جدایه تکثیر شد، که نشان از *T. harzianum* می‌باشد (شکل ۱).

بدین وسیله قارچ *T. harzianum* جدا شده از شهرستان شهرکرد، تحت شماره‌ی IRAN2375C در کلکسیون ملی قارچ‌های زنده ایران در بخش رستنی‌های موسسه تحقیقات گیاهپزشکی کشور ثبت شد.



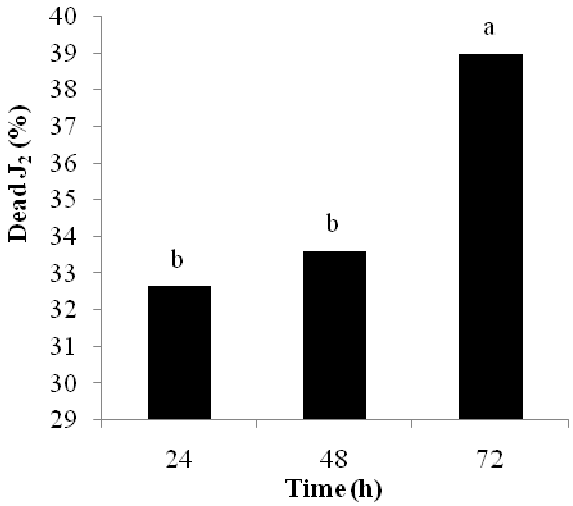
شکل ۱. تکثیر قطعه ٤٥٠ جفت بازی P1 و P2 با استفاده از جفت آغازگر اختصاصی THITS R3، THITS F2 و Th-F، Th-R.

Fig 1. Amplification of the 450 bp of PCR product, P1 and P2, using primers THITS R3, THITS F2 and Th-F, Th-R

نتایج آزمون‌های آزمایشگاهی

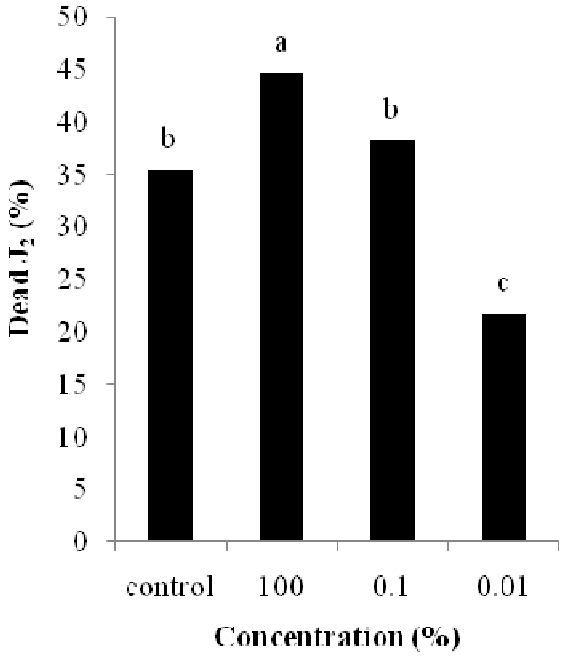
اثر عصاره کشت دو جدایه قارچ *T. harzianum* روی مرگ‌ومیر لارو سن دوم *M. javanica*

در آنالیزهای آماری مشخص شد که بین خاصیت نماتودکشی و نوع جدایه قارچ مورد استفاده تفاوت معنی‌داری وجود ندارد. از طرفی زمان‌های شمارش و نوع غلظت به صورت جداگانه بر تعداد مرگ‌ومیر لاروها اختلاف معنی‌داری در سطح ۱٪ دارند. همچنین بین اثرات دوگانه نیز این عدم اختلاف معنی‌دار مشهود است. در بررسی مقایسه میانگین تاثیر جداگانه غلظت و زمان بر میزان مرگ‌ومیر نماتود، بیشترین زمان مرگ‌ومیر لاروها در ۷۲ ساعت بوده که به لحاظ آماری با دو زمان ۲۴ و ۴۸ ساعت تفاوت معنی‌دار داشته و کمترین میزان مرگ‌ومیر در



شکل ۲. مقایسه میانگین تاثیر زمان بر میزان مرگ‌ومیر لارو سن دوم نماتود *Meloidogyne javanica* در شرایط آزمایشگاهی (داده‌ها میانگین چهار تکرار هر تیمار می‌باشند؛ ستون‌های دارای حروف مشابه در سطح ۵٪ بر اساس آزمون t دارای اختلاف معنی‌دار نیستند).

Fig 2. Effect of times on mortality of the J_2 of the root-knot nematode, *Meloidogyne javanica in vitro* (Data are means of four replicates; Bars with the same letters are not significantly different at 5% level according to t- test).

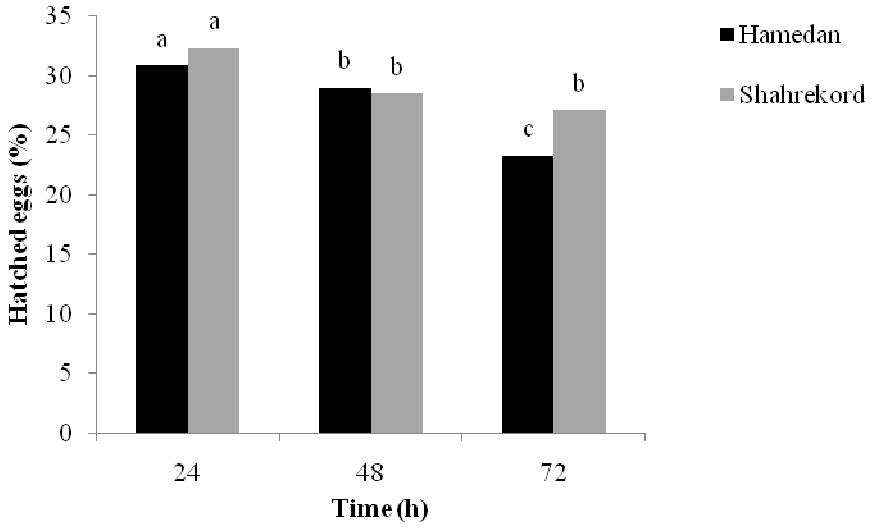


شکل ۳. مقایسه میانگین تاثیر غلظت بر مرگ‌ومیر لارو سن دوم نماتود *Meloidogyne javanica* در شرایط آزمایشگاهی (اعداد میانگین چهار تکرار هر تیمار می‌باشند؛ ستون‌های دارای حروف مشابه در سطح ۵٪ بر اساس آزمون t دارای اختلاف معنی‌دار نیستند).

Fig 3. Effect of the concentration on mortality of the J_2 of the root-knot nematode, *Meloidogyne javanica in vitro* (Data are mean of four replicates; Bars with the same letters are not significantly different at 5% level according to t- test).

زمان‌های ۲۴ و ۴۸ ساعت بوده است. از طرفی غلظت پایه (۱۰۰٪) بیشترین تاثیر در لاروکشی را داشته که به لحاظ آماری با سایر غلظت‌ها و شاهد تفاوت معنی‌دار دارد. نمونه شاهد کمترین تاثیر را بر خاصیت مرگ‌ومیر داشته و با سایر غلظت‌ها تفاوت معنی‌داری دارد و از طرفی کاربرد غلظت‌های 10^{-2} و 10^{-1} به لحاظ آماری با یکدیگر اختلاف معنی‌داری ندارند (شکل‌های ۲ و ۳).

قارچ‌ها توکسین‌ها، متابولیت‌ها و آنزیم‌هایی به داخل محیط کشت در زمان رشدشان ترشح می‌کنند (Saksirirat & Hoppe 1991). از طرفی دیگر کوتیکول لارو سن دوم نماتود اساساً از پروتئین‌هایی تشکیل شده است (Blaxter & Robertson 1998). بنابراین افزایش فعالیت پروتولیتیکی هم‌ستیز باعث افزایش توانایی مهار زیستی می‌شود. در واقع آنزیم‌های پروتئاز و کیتیناز دارای رابطه مستقیم با مرگ‌ومیر لاروهای سن دوم می‌باشند (Gortari *et al.* 2008). *صدیقی و همکاران* (Siddiqui *et al.* 2001) اثر عصاره کشت تعدادی از گونه‌های مختلف قارچ تریکودرما را علیه نماتود ریشه‌گرهی به کار بردند و ارتباط معنی‌داری بین عدم تفریخ تخم و اثر مرگ‌ومیر نماتود با گونه‌های مورد استفاده به دست آوردند. *الامیری* (Al-Ameiri 2009) نیز اثر عصاره کشت سه جدایه قارچ *T. harzianum* را علیه لارو سن دوم نماتود *M. javanica* به



شکل ٤. اثر متقابل عصاره محیط کشت سیب‌زمینی-دکستروز دو جدایه از قارچ *Trichoderma harzianum* و زمان، روی تفریخ تخم‌های نماتود ریشه‌گرهی *Meloidogyne javanica* در شرایط آزمایشگاهی (اعداد میانگین چهار تکرار هر تیمار می‌باشند؛ ستون‌های دارای حروف مشابه در سطح ۵٪ بر اساس آزمون t دارای اختلاف معنی‌دار نیستند).

Fig 4. Effect of the PDB (Potato Dextrose Broth) culture filtrate of two isolates of *Trichoderma harzianum* and times (h) on hatching of the eggs of *Meloidogyne javanica in vitro* (Data are means of four replicates; Bars with the same letters are not significantly different at 5% level according to t- test).

کار برد و تفاوت معنی‌داری در مرگ‌ومیر لارو سن دوم در همه‌ی جدایه‌ها نسبت به شاهد مشاهده کرد.

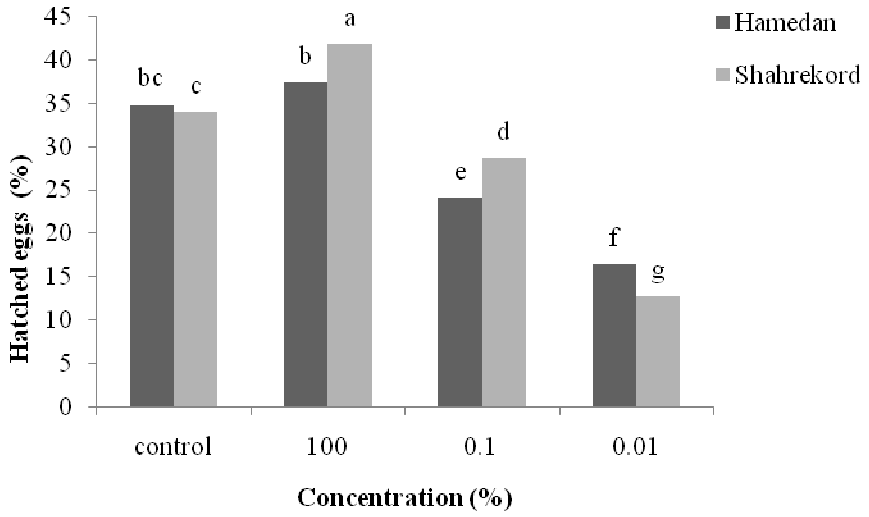
پژوهش دیگری توسط *الفتاح و همکاران* (Al-fattah *et al.* 2007) انجام گرفت و نشان داده شد که متابولیت خارج سلولی حاصل از عصاره محیط کشت *T. harzianum*، توانسته است تا ۳۰٪ باعث مرگ‌ومیر لارو سن دوم نماتود شود. آن‌ها بیان کردند که متابولیت‌های ثانویه مترشحه از قارچ‌ها حاوی مواد سمی برای نماتودهای انگل گیاهی است.

در این تحقیق هر دو جدایه در میزان مرگ‌ومیر نماتود با یکدیگر تفاوت معنی‌داری نداشته و زمان ۷۲ ساعت و غلظت پایه عصاره کشت بیشترین اثر را دارا بودند.

اثر عصاره کشت دو جدایه‌های قارچ *T. harzianum* روی تفریخ تخم نماتود ریشه‌گرهی *M. javanica*

نتایج ارزیابی عدم تفریخ تخم در تشتک‌های پتری حاوی عصاره‌ی کشت قارچ نشان می‌دهد که جدایه قارچ شهرکرد در زمان ۲۴ ساعت بیشترین اثر بر ممانعت تفریخ تخم داشته و در حالی که اختلاف معنی‌داری با جدایه همدان در ۲۴ ساعت اول در عدم تفریخ تخم ندارد. کمترین اثر بر این فاکتور را جدایه همدان در زمان ۷۲ ساعت دارد. به لحاظ آماری تاثیر جدایه شهرکرد در زمان ۷۲ ساعت و ۴۸ ساعت نسبت به جدایه همدان در زمان ۴۸ ساعت با یکدیگر اختلاف معنی‌داری ندارند (شکل ۴).

شکل ۵ نشان می‌دهد که جدایه شهرکرد در غلظت پایه (۱۰۰٪) بیشترین تاثیر را بر ممانعت از تفریخ تخم داشته و در حالی که غلظت ۰/۱ جدایه شهرکرد نیز کمترین تاثیر را



شکل ۵. اثر متقابل عصاره محیط کشت سیب‌زمینی-دکستروز دو جدایه از قارچ *Trichoderma harzianum* و غلظت، روی تفریخ تخم‌های نماتود ریشه‌گرهی *Meloidogyne javanica* در شرایط آزمایشگاهی (اعداد میانگین چهار تکرار هر تیمار می‌باشند؛ ستون‌های دارای حروف مشابه در سطح ۵٪ بر اساس آزمون t اختلاف معنی‌داری ندارند).

Fig 5. Effect of the PDB (Potato Dextrose Broth) culture filtrate of two isolates of *Trichoderma harzianum* and concentrations on eggs hatching of the root-knot nematode, *Meloidogyne javanica in vitro* (Data are means of four replicates; Bars with the same letters are not significantly different at 5% level according to t- test).

به خود اختصاص داده است. بین دو جدایه در غلظت شاهد، در میزان ممانعت از تفریخ تخم تفاوت معنی‌داری مشاهده نشده است. از طرفی جدایه قارچ *T. harzianum* همدان در غلظت پایه (یک) با غلظت شاهد (صفر) به لحاظ آماری با یکدیگر اختلاف معنی‌داری ندارند و هر دو در یک گروه آماری قرار گرفته‌اند.

بررسی آزمایشگاهی استفاده از قارچ مفید *T. harzianum* بر علیه لارو نماتود ریشه‌گرهی مبین این مطلب است که، این قارچ دارای ترکیباتی با فعالیت ضد نماتودی است. نتایج به دست آمده در پژوهش حاضر در توافق با نتایج *صدیقی و همکاران* بوده که بیان نمودند گونه‌های *Trichoderma* spp. باعث کاهش معنی‌داری در تفریخ تخم نماتود *M. javanica* می‌شوند که به علت مرگ لاروها می‌باشد. همچنین *خاتک و استفن* (Khattak & Stephen 2008) در بررسی اثر عصاره کشت قارچ ۱۵ جدایه از *T. harzianum* در غلظت‌های ۱:۱۰۰، ۱:۱۰ و ۱:۱، بیشترین درصد ممانعت از تفریخ تخم نماتود *M. javanica* را در غلظت ۱:۱ یا پایه توسط جدایه T9 و کمترین اثر را در غلظت ۱:۱۰۰ از عصاره کشت جدایه قارچی T15 مشاهده کردند که با نتایج حاصل از این آزمایش مطابقت دارد. *برانت و همکاران* (Brant *et al.* 2000) با توجه به وجود کیتین در لایه میانی پوسته‌ی تخم نماتود با ضخامت ۰/۴ میکرومتر، بیان کردند که به نظر می‌رسد *T. harzianum* با تولید آنزیم کیتیناز اثر خود را بر بازدارندگی از تفریخ تخم‌های نماتود اعمال می‌کند.

نتایج آزمایش گلخانه‌ای

الف- اثر فاکتورهای تیمار، زمان برداشت و نماتود بر روی شاخص‌های رشدی گیاه گوجه‌فرنگی

با مشاهده جدول ۲ می‌توان دریافت که فاکتورهای

جدول ۲. تجزیه واریانس فاکتورهای زمان، تیمار و نماتد بر صفات رشدی گیاه گوجه‌فرنگی.

Table 2. The results of analysis of variance of time, treatment and nematode factors on tomato growth characteristics.

Source of variation	Df	Mean Squares					
		Root dried weight (g)	Root fresh weight (g)	Root length (cm)	Shoot dried weight (g)	Shoot fresh weight (g)	Shoot length (cm)
Time	1	173.0^{*}	3074.5^{**}	22.9^{ns}	15.8^{*}	110.2^{ns}	234.6^{**}
Nematode (Nem.)	1	804.9^{**}	1389.8^{**}	95.7^{ns}	16.0^{*}	120.7^{ns}	202.5^{**}
Treatment	3	74.5^{*}	929.2^{**}	571.4^{**}	237.5^{**}	6306.1^{**}	180.4^{**}
Nem*Time	1	5.8^{*}	658.6^{*}	354.0^{**}	8.5^{*}	205.7^{*}	117.1^{*}
Treatment*Time	3	4.0^{ns}	237.3^{ns}	65.2^{ns}	3.3^{ns}	299.8^{ns}	126.4^{*}
Treatment*Nem.	3	11.6^{*}	375.7^{*}	280.2^{**}	48.7^{*}	269.3^{**}	1520.9^{**}
Treatment*Nem.*Time	3	48.8^{*}	95.5^{ns}	28.5^{ns}	7.8^{ns}	333.0^{ns}	74.2^{ns}
Error	48	22.2	120.7	32.9	22.2	574.0	35.7
CV%		18.7	16.1	14.5	17.4	15.8	8.4

**: اختلاف معنی‌دار در سطح ۱٪ *: اختلاف معنی‌دار در سطح ۵٪ ns: عدم معنی‌دار بودن

ns: represents no significant difference*,**: significant difference at 5% and 1%, respectively.

جدول ۳. مقایسه میانگین صفات رشدی گیاه گوجه‌فرنگی در تیمارهای مختلف.

Table 3. Means comparison of growth traits under different treatments in tomato.

Treatment	Root dried weight (g)	Root fresh weight (g)	Root length (cm)	Shoot dried weight (g)	Shoot fresh weight (g)	Shoot length (cm)
Control	10.89^{b}	53.17^{b}	31.84^{c}	23.88^{b}	129.75^{c}	73.07^{a}
T. harzianum	16.08^{a}	58.36^{b}	37.83^{b}	24.82^{b}	143.08^{bc}	72.78^{a}
Vermicompost	14.14^{a}	59.90^{b}	43.71^{ab}	26.89^{b}	157.31^{ab}	66.20^{b}
Vermi + *T. harzianum*	14.24^{a}	71.26^{a}	44.80^{a}	32.48^{a}	175.93^{a}	71.62^{ab}

اعداد، میانگین چهار تکرار هر تیمار می‌باشند.

اعداد دارای حروف مشابه در سطح ۵ درصد بر اساس آزمون t دارای اختلاف معنی‌دار نیستند.

Data are means of four replicates.
Data with the same letters are not significantly different at 5% level according to t- test.

زمان برداشت، تیمار، حضور و عدم حضور نماتود تاثیر معنی‌داری بر روی صفت طول ساقه گیاهان گوجه‌فرنگی داشته و از سویی اثرات متقابل تیمار- نماتود، زمان- تیمار و زمان- نماتود اختلاف معنی‌داری روی صفت ذکر شده دارند و فاکتور تیمار نیز بر روی صفات وزن تر و خشک اندام هوایی (ساقه) نیز تاثیر معنی‌داری را داشته است. نظر به صفات اندام زمینی می‌توان دریافت که تمامی فاکتورهای زمان برداشت، نماتود و تیمار تاثیر معنی‌داری در سطح یک درصد بر صفات وزن تر و خشک ریشه داشته اند. در این بین نوع تیمار نیز بر طول ریشه تاثیر معنی‌دار داشته است.

مقایسه میانگین صفت‌های طول ساقه، وزن تر و خشک ساقه تحت تاثیر فاکتور تیمار در جدول ۳ نشان می‌دهد که طول ساقه گوجه‌فرنگی در تیمارهای شاهد، قارچ *T. harzianum*، ورمی‌کمپوست و کاربرد توامان قارچ و ورمی‌کمپوست به لحاظ آماری، اختلاف معنی‌داری با یکدیگر ندارند. کمترین میانگین وزن تر ساقه مربوط به تیمار شاهد بوده که با سایر تیمارها بجز قارچ تفاوت

جدول ٤. مقایسه میانگین تاثیر متقابل تیمارهای مختلف بر صفات رشدی گیاه گوجه‌فرنگی.

Table 4. Mean comparison of effects of various treatments on tomato growth traits.

Treatment	Root dried weight (g)	Root fresh weight (g)	Root length (cm)	Shoot dried weight (g)	Shoot fresh weight (g)	Shoot length (cm)
Control	8.18[b]	41.67[b]	39.31[a]	26.33[b]	145.96[a]	91.47[a]
T. harzianum	13.15[a]	57.43[b]	36.5[a]	26.23[b]	128.93[b]	80.02[ab]
Vermicompost	10.02[b]	58.36[b]	42.7[a]	26.67[ab]	156.1[a]	64.21[ed]
Vermi + *T. harzianum*	9.8[b]	66.59[a]	44.47[a]	30.9[a]	169.42[a]	69.1[ed]
Nematode (Nem.)	13.6[a]	64.67[a]	24.37[b]	21.52[b]	113.19[b]	55.92[e]
T. harzianum + Nem.	19.01[a]	59.29[a]	39.17[a]	23.39[b]	157.2[a]	63.55d[e]
Vermi + Nem.	18.26[a]	61.44[a]	44.62[a]	27.1[a]	158.3[a]	68.1[cd]
Vermi + *T. har* + Nem.	18.67[a]	75.92[a]	45.12[a]	34.9[a]	174.4[a]	74.15[bc]

اعداد، میانگین چهار تکرار هر تیمار می‌باشند.

اعداد دارای حروف مشابه در سطح ۵ درصد بر اساس آزمون t دارای اختلاف معنی‌دار نیستند.

Data are means of four replicates.
Data with the same letters are not significantly different at 5% level according to t- test.

معنی‌دار دارد و بیشترین این میانگین مربوط به تیمار کاربرد هم‌زمان قارچ و ورمی‌کمپوست بوده که به لحاظ آماری تفاوت معنی‌داری با تیمار ورمی‌کمپوست ندارد. از طرفی طول ریشه با کاریرد جداگانه و تلفیقی ورمی‌کمپوست و قارچ تریکودرما با شاهد (کنترل) اختلاف معنی‌داری را دارند. بیشترین وزن تر ریشه در کاربرد تلفیقی ورمی‌کمپوست و قارچ تریکودرما بوده که با سایر تیمارها اختلاف معنی‌داری را دارد. کمترین وزن خشک ریشه مربوط به شاهد بوده که با سایر تیمارها اختلاف معنی‌داری را داشته است. لذا نتایج از اثر بخش بودن کاربرد تلفیقی قارچ و ورمی‌کمپوست داشته که نه تنها این دو عامل با یکدیگر هم‌ستیزی ندارند بلکه اثر مفید در رشد طولی گیاه را هم دارند.

اثر متقابل فاکتورهای نماتود و تیمار در جدول ۴ نشان می‌دهد که بیشترین طول ساقه مربوط به تیمار شاهد و بدون آلودگی به نماتود بوده که با تیمار قارچ بدون نماتود اختلاف معنی‌داری ندارد و با اینکه کمترین طول ساقه را با تیمار نماتود تنها دارد که با تیمارهای ورمی‌کمپوست بدون نماتود و قارچ همراه با نماتود تفاوت معنی‌داری ندارد و همچنین تیمار (تلفیقی) قارچ – ورمی‌کمپوست در حضور نماتود، بیشترین وزن تر و خشک ساقه را به خود اختصاص داده که می‌تواند ناشی از مهار نماتود توسط کاربرد هم‌زمان تلفیقی قارچ و ورمی‌کمپوست داشته باشد و به نظر می‌رسد گیاه از رشد و عملکرد بهتری برخوردار بوده ولی با تیمارهای قارچ، ورمی‌کمپوست در حضور و عدم نماتود و شاهد (گیاه تنها) اختلاف محسوسی ندارند. کمترین طول ریشه مربوط به تیمار نماتود تنها بوده که با سایر تیمارها اختلاف معنی‌داری دارد. بیشترین وزن تر ریشه مربوط به کاربرد توامان ورمی‌کمپوست و قارچ در حضور نماتود است اما به لحاظ آماری با تیمارهای آلوده به نماتود اختلاف معنی‌داری ندارد.

با توجه به جدول ۲ می‌توان استنباط کرد که زمان برداشت (۹۰ و ۱۲۰ روز) تاثیر معنی‌داری بر صفات طول و وزن خشک اندام هوایی گیاهان گوجه‌فرنگی دارد. همچنین از طرفی فاکتور زمان برداشت و حضور و عدم حضور نماتود نیز بر تمامی صفات رشدی گیاه گوجه‌فرنگی تاثیر معنی‌داری دارد. بیشترین طول ساقه در زمان اول برداشت (۹۰ روز) و بدون وجود نماتود بوده که

جدول ۵. مقایسه میانگین تاثیر متقابل زمان و نماتود بر صفات رشدی گیاه گوجه‌فرنگی

Table 5. Mean comparison of effect of time and nematode in tomato growth traits.

Time * Nematode	Root dried weight (g)	Root fresh weight (g)	Root length (cm)	Shoot dried weight (g)	Shoot fresh weight (g)	Shoot length (cm)
Time 90 + No nematode	8.95[b]	52.29[b]	39.01[a]	28.39[a]	149.62[a]	80.28[a]
Time 120 + No nematode	11.36[b]	59.74[b]	42.52[a]	26.66[a]	150.58[a]	73.21[b]
Time 90 + Nematode	15.43[a]	55.19[b]	41.27[a]	26.25[a]	155.95[a]	65.70[cd]
Time 120 + Nematode	19.33[a]	75.47[a]	35.37[b]	26.36[a]	149.74[a]	65.2[0d]

اعداد، میانگین چهار تکرار هر تیمار می‌باشند.

اعداد دارای حروف مشابه در سطح ۵ درصد بر اساس آزمون t دارای اختلاف معنی‌دار نیستند.

Data are means of four replicates.
Data with the same letters are not significantly different at 5% level according to t- test.

تفاوت چشمگیری با دیگر زمان برداشت (۱۲۰ روزه) و حضور و عدم حضور نماتود دارد. با اینکه زمان برداشت ۹۰ روزه در حضور نماتود بیشترین وزن تر و خشک ساقه را دارد ولی با سایر حالات تفاوت معنی‌داری ندارد (جدول ۵). در بررسی صفات ریشه می‌توان دریافت که کمترین و بیشترین طول ریشه و وزن تر ریشه مربوط به زمان برداشت ۱۲۰ روزه و در حضور نماتود است.

ب- اثر فاکتورهای تیمار و زمان برداشت بر روی شاخص‌های جمعیتی و کاهش آلودگی گیاه گوجه‌فرنگی آلوده به نماتود ریشه‌گرهی *M. javanica*

در آنالیزهای آماری مشخص شد که فاکتور تیمار بر روی تمامی صفات شاخص‌های جمعیتی و آلودگی نماتود اثر معنی‌داری داشته و زمان برداشت چندان تاثیری را بر صفت‌های نماتود نداشته است و علت عدم تاثیر زمان برداشت ۹۰ و ۱۲۰ روزه (اختلاف یک ماه) می‌تواند ناشی از اثر گذاشتن نماتود در همان ۹۰ روز اول باشد یعنی نماتود تاثیر منفی خود را در همان ابتدا گذاشته و به مرور زمان این اثرات منفی بیشتر و یا شاید بر اثر رقابت بین افراد نماتود ثابت بماند ولی کاهش پیدا نمی‌کند چرا که نماتود ضربه اول را وارد کرده و از همان ابتدا خسارت را ایجاد کرده است از سویی حجم کم خاک در گلدان‌ها نیز می‌تواند ناشی از این کاهش باشد.

تاثیر تیمار بر شاخص آلودگی نشان می‌دهد که کمترین تعداد گال، کیسه تخم در یک گرم ریشه و تعدا تخم، در کاربرد هم‌زمان ورمی‌کمپوست و قارچ بوده و به لحاظ آماری با سایر تیمارها اختلاف معنی‌داری دارد. با اینکه تیمار تلفیقی سبب اثر مطلوب در کاهش لارو سن دوم نماتود داشته اما با تیمارهای قارچ و ورمی‌کمپوست به‌طور جداگانه اختلاف معنی‌داری ندارد ولی با تیمار نماتود تنها اختلاف معنی‌داری داشته و تیمار نماتود تنها و قارچ نیز در این صفت اختلاف معنی‌داری با یکدیگر ندارند. در شاخص‌های جمعیتی، تمامی تیمارها با شاهد اختلاف معنی‌دار داشته، اما با یکدیگر تفاوت معنی‌دار ندارند. گیاهان تیمار شده با قارچ، ورمی‌کمپوست به طور جداگانه و تلفیقی در مقایسه با تیمار فقط نماتود کمترین جمعیت نهایی نماتود، شاخص تولیدمثل و درصد تکثیر را دارند. جمعیت نماتود در شرایط گلخانه از ۶۶ تا ۷۴ درصد توسط این تیمارها به خصوص استفاده تلفیقی از قارچ و ورمی‌کمپوست مهار گردید، که تفاوت آنان با شاهد معنی‌دار بود (جدول ۶). تاثیر زیاد این تیمارها بر کنترل و مدیریت نماتود با بررسی فاکتور درصد کنترل نماتود که

جدول ٦. مقایسه میانگین تاثیر تیمارها بر شاخص‌های نماتود ریشه‌گرهی *Meloidogyne javanica* در گیاه گوجه‌فرنگی.

Table 6. Mean comparison of effect of treatments on the indices of the root-knot nematode *Meloidogyne javanica* in tomato

Treatment	No. of galls /gram of root	No. of egg masses /gram of root	No. of eggs/egg mass	J_2/200 g soil	Final population (P_f)	Reproductive factor (RF)[1]	Multiplication rate (Mr%)[2]	Nematode control %
Nematode (Nem.)	26.81[a]	26[a]	80.93[a]	59[a]	219290[a]	43.85 [a]	100[a]	0[b]
T. harzianum + Nem.	15.37[a]	11.68[a]	76.62[a]	24.87[ab]	71921[b]	14.38 [b]	32.8[b]	67.3[a]
Vermicompost + Nem.	14.37[a]	11.43[a]	75.50[a]	20.5[b]	73112[b]	14.62 [b]	33.3[b]	66.7[a]
T. harzianum + vermicompost + Nem.	9.3[b]	7.3[b]	60.87[b]	13.25[b]	56884[b]	11.36 [b]	25.9 [b]	74.1[a]

اعداد، میانگین چهار تکرار هر تیمار می‌باشند. اعداد دارای حروف مشابه در سطح ۵ درصد بر اساس آزمون t دارای اختلاف معنی‌دار نیستند.

۱. نسبت جمعیت نهایی به جمعیت اولیه نماتود.

۲. نسبت P_f هر تیمار به P_f تیمار نماتود به تنهایی (٪).

Data are means of four replicates. Data with the same letters are not significantly different at 5% level according to t-test.

1. Nematode final population/initial population.
2. Nematode final population of each treatment/nematode final population of nematode treatment (%).

تمامی تیمارها را از نظر جمعیت نهایی با شاهد مقایسه می‌کند، مشخص می‌گردد.

نماتودها جذب آب و مواد معدنی از ریشه و یا توانایی دسترسی این مواد به دیگر بافت‌های گیاهان را کاهش می‌دهند. بازتاب این اختلال سبب کمبود مواد معدنی در بخش‌هایی از گیاه یا تجمع نادرست در اطراف محل آلودگی می‌گردد.

کالرا و همکارن (Kalra *et al.* 2010) بیان کردند که ورمی‌کمپوست علاوه بر تامین منابع غذایی گیاه و کنترل بیماری‌های خاکزی، سبب رشد قارچ مفید *T. harzianum* هم می‌شود که در کاهش شاخص آلودگی نیز اثر دارد و با نتایج این تحقیق مطابقت دارد. *پندی و همکارانش* (Pandey *et al.* 2011) طی تحقیقی بیان نمودند که این کود ارگانیک به همراه *T. harzianum* در مهار نماتود *M. incognita* بسیار مفید ارزیابی شده است. *خان و همکاران* (Khan *et al.* 2011) در مطالعات خود دریافتندکه ورمی‌کمپوست رشد قارچ مفید *Trichoderma viride* را افزایش می‌دهد و از سویی کاربرد ورمی‌کمپوست در رشد تریکودرما به کشاورزان در کنترل بیماری‌های بذرزاد و خاکزی کمک می‌کند.

کاربرد قارچ *T. harzianum* همراه بذور و یا استفاده در خاک به‌طور چشمگیری سبب افزایش رشد گیاه لوبیا چشم بلبلی (*Vigna unguiculata* L.) و کاهش تولیدمثل نماتود *M. incognita* و مهار آن شده است (Nama *et al.* 2015). استفاده از اصلاح‌کننده‌های خاک مانند بقایای برگ‌های درخت بلوط سبب کاهش تعداد گال نماتود *M. javanica* در ریشه گیاه گوجه‌فرنگی شده و وزن خشک ریشه گیاهان در کاربرد قارچ *T. virens* و این بقایا افزایش معنی‌داری را داشته است و نسبت به شاهد تفاوت معنی‌داری از خود نشان داده است (Moradi *et al.*

2015.

نتایج حاصل از آزمایش گلخانه‌ای موید تاثیر مشهود استفاده جداگانه و تلفیقی ورمی‌کمپوست و قارچ *T. harzianum* در افزایش رشد و سلامتی گیاهان و همچنین کاهش بیماری‌زایی و خسارت نماتود ریشه‌گرهی بوده است. نتایج حاصل نشان می‌دهد زمان برداشت به عنوان فاکتوری در آزمایش گلخانه‌ای، تاثیر چشمگیری بر نتایج شاخص‌های جمعیتی و آلودگی نماتود نداشته اما بر صفات رشدی گیاه گوجه‌فرنگی مورد مطالعه در این تحقیق مؤثر بوده است.

منابع

Al-ameiri N. S. 2009. Efficiency of Jordanian *Trichoderma harzianum* (Rifai) Isolates against *Meloidogyne javanica* (Treub) on tomato (*Lycopersicone sculentum* Mill.). Jordan Journal of Agricultural Sciences 5: 446-457.

Al-fattah A., Dababat A. and Sikora R. A. 2007. Use of *Trichoderma harzianum* and *Trichoderma viride* for the biological control of *Meloidogyne incognita* on tomato. Jordan Journal of Agricultural Sciences 19: 297-309.

Al-hazmi A. S. and TariqJaveed M. 2016. Effects of different inoculum densities of *Trichoderma harzianum* and *Trichoderma viride* against *Meloidogyne javanica* on tomato. Saudi Journal of Biological Sciences 23: 288-292.

Avis T. J., Gravel V., Antoun H. and Tweddell R. J. 2008. Multifaceted beneficial effects of rhizosphere microorganisms on plant health and productivity. Soil Biology and Biochemistry 40(7): 1733-1740.

Bennett A. J. and Whipps J. M. 2008. Beneficial microorganism survival on seed, roots and in rhizosphere soil following application to seed during drum priming. Biological Control 44(3): 349-361.

Bhattacharjee P., Chakraborty B. and Chakraborty U. 2015. Field evaluation of vermicompost and selective bioinoculants for the improvement of health status of tomato plants. Journal of Biology and Earth Sciences 5 (1): 25-33.

Blaxter M. L. and Robertson W. M. 1998. The culticle, pp. 24-48. In: R. N. Perry and D. J. Wright (Eds). The physiology and biochemistry of free-living and plant-parasitic nematodes. CAB International, Wallingford, UK.

Brants A., Brrown C. R. and Earrir E. D. 2000. *Trichoderma harzianum* endochitinase does not provide resistance to *Meloidogyne hapla* in tobacco. Journal of Nematology 32: 289-296.

Castro L., Flores L. and Uribe, L. 2011. [Effect of vermicompost and chitin on the control of *Meloidogyne incognita* in greenhouse tomato]. Agronomía Costarricense 35(2): 21-32. (In Spanish with English abstract).

Chacon M. R., Rodriguez-Galan O., Benitez T., Sousa S., Rey M., Liobell A. and Delgado-Jorana, J. 2007. Microscopic and transcriptome analyses of early colonization of tomato roots by *Trichoderma harzianum*. International Microbiology 10:19-27.

Chen X., Romaine C. P., Tan Q., Schlagnhaufer B., Ospina-Giraldo M. D., Royse D. J. and Huffs D. R. 1999. PCR-based genotyping of epidemic and preepidemic *Trichoderma* isolates associated with green mold of *Agaricus bispours*. Applied and Environmental Microbiology 65(6): 2674–2678.

Eisenback J. D. and Triantaphyllou H. H. 1991. Root-knot nematode: *Meloidogyne* spp. and races, pp. 191-274. In: W. R. Nickle (Ed.). Manual of Agricultural Nematology. Marcel Dekker, New York, USA.

Gams W. and Bissett J. 1998. Morphology and identification of *Trichoderma*, pp. 3-34. In: C. P. Kubicek and G. E. Harman (Eds). *Trichoderma & Gliocladium*, volume 1: Basic biology, taxonomy and genetics. Taylor and Francis, London.

Gortari M. C., Galarza B. C., Cazau M. C. and Hours R. A. 2008. Comparison of the biological properties of two strains of *Paecilomyces lilacinus* (Thom) Samson associated to their antagonistic effect on to *Toxocara canis* eggs. Malaysian Journal of Microbiology 4: 35-41.

Hartman K. M. and Sasser J. N. 1985. Identification of *Meloidogyne* species on the basis of differential host test and perineal-pattern morphology methodology, pp. 69-77. In: K. R. Barker, C. C. Carter and J. N. Sasser (Eds). An advanced treatise on *Meloidogyne*, volume 1. Biology and control. Raleigh: North Carolina State

University Graphics.
Hussey R. S. and Barker K. R. 1973. Comparison of methods of collecting inocula of *Meloidogyne* spp. including a new technique. Plant Disease Reporter 57: 1025-1028.
Jones E. E., Mead A. and Whipps J. M. 2003. Evaluation of different *Coniothyrium minitans* inoculum sources and application rates on apothecial production and infection of *Sclerotinia sclerotiorm* sclerotia. Soil Biology and Biochemistry 35: 409-419.
Kalra A., Chandra M., Awasthi A., Singh A. K. and Khanuja S. P. S. 2010. Natural compounds enhancing growth and survival of rhizobial inoculants in vermicompost-based formulation. Biology and Fertility of Soils 46: 521-524.
Khan S., Bagwan N. B., Iqba M. A. and Tamboli, R. R. 2011. Mass multiplication and shelf life of liquid fermented final product of *Trichoderma viride* in different formulations. Advances in Bioresearch 2: 178-182.
Khattak B. and Stephen S. M. 2008. Effect of some indigenous isolates of *Trichoderma harzianum* on root knot nematode, *Meloidogyne javanica* (Treub) Chitwood. Sarhad Journal of Agriculture 24: 285-288.
Manzanilla-lopez R. H., Evan K. and Bridge J. 2004. Plant diseases caused by nematodes, pp. 637-716. In: Z. X. Chen, S. Y. Chen and D. W. Dickson (Eds). Nematology, advances and perspectives. Volume II: Nematode management and utilization. CABI Publishing, UK.
Meyer S. L. F., Roberts D. P., Chitwood D. J., Carta L. K., Lumsden R. D. and Mao W. 2001. Application of *Burkholderia cepacia* and *Trichoderma virens*, alone and in combinations, against *Meloidogyne incognita* on bell pepper. Nematropica 31: 75-86.
Miyazaki K., Tsuchiya Y. and Okuda T. 2009. Specific PCR assays for the detection of *Trichoderma harzianum* causing green mold disease during mushroom cultivation. Mycoscience 50: 94-99.
Moradi R., Moradi F., Mirehki K. and Abdollahi M. 2015. Plant debris of oak forest as soil amendment, to improve the biocontrol activity of *Pseudomonas fluorescens* and *Trichoderma vierns* against *Meloidogyne javanica*, in tomato. Journal of Crop Protection 4: 373-384.
Murray M. G. and Thompson W. F. 1980. Rapid isolation of high molecular weight DNA. Nucleic Acids Research 8: 4321-4325.
Nama C.P., Sharma H.K. and Siddiqui A.U. 2015. Efficacy of bioagents against root-knot nematode *Meloidogyne incognita* infecting cowpea, *Vigna unguiculata* L. Journal of Biopesticides 8: 19-22.
Oka Y., Koltai H., Bar-Eyal M., Mor M., Sharon E., Chet I. and Spiegel Y. 2000. New strategies for the control of plant parasitic nematodes. Pest Management Science 56: 983-988.
Oostenbrink M. 1966. Major characteristics of the relation between nematodes and plants. Mededelingen Landbouwhogeschool Wageningen 66: 1-46.
Pandey R., Mishra A. K., Tiwari S. and Kalra A. 2011. Nematode inhibiting organic materials and a strain of *Trichoderma harzianum* effectively manages *Meloidogyne incognita* in *Withaniasomnifera* fields. Biocontrol Science and Technology 21(12): 1495-1499.
Saksirirat W. and Hoppe H. H. 1991. Degradation of uredospores of the soybean rust fungus (*Phakopsora pachyrhizi* Syd.) by cell-free culture filtrates of the mycoparasite *Verticillium psalliotae* Treschow. Journal of Phytopathology 132: 33-45.
Salehpour M., Etebarian H. R., Roustaei A., Khodakamian G. and Aminian H. 2005. Biological control of common root rot of wheat *(Bipolaris sorokiniana*) by *Trichoderma* isolates. Plant Pathology Journal 4: 85-90.
Samuels G. J. 1996. *Trichoderma*: A review of biology and systematics of the genus. Mycological Research 100(8): 923-935.
Sharon E., Bar-eyal M., Chet I., Herrera-esterella A. Keleifeld O. and Spiegel Y. 2001. Biological control of the root_knot nematode *Meloidogyne javanica* by *Trichoderma harzianum*. Phytopathology 91: 687-693.
Siddidui I. A., Amer-zareen M., Zaki M. J. and Shaukat S. S. 2001. Use of *Trichoderma* species in the control of *Meloidogyne javanica* root knot nematode in okra and mungbean. Pakistan Journal of Biological Sciences. 4:846-848.
Weindling R. 1932. *Trichoderma lingorum* as a parasite of other fungi. Phytopathology 22: 837-845.
Windham G. I., Wingham M. T. and Williams W. P. 1989. Effects of *Trichoderma* spp. on maize growth and *Meloidogyne arenaria* reproduction. Plant Disease 73: 493-495.