کاربرد تلفیقی باکتری *Pseudomonas fluorescens* CHA0 و کود سبز برخی از گیاهان بازدارنده بر فعالیّت نماتود ریشه‌گرهی، *Meloidogyne incognita* و صفات رویشی گیاه گوجه‌فرنگی آلوده*

فاطمه امانی بنی[1]، اکبر کارگر بیده[1]** و سیدمحسن تقوی[1]

(تاریخ دریافت: ۱۳۹۴/۱/۱۲؛ تاریخ پذیرش: ۱۳۹۵/۳/۴)

چکیده

تأثیر عصاره‌های آبی ۱۰٪ گیاهان بازدارنده بارهنگ، کرچک، منداب و گل جعفری بر فعالیّت نماتود *Meloidogyne incognita* و باکتری *Pseudomonas fluorescens* CHA0 در آزمایشگاه بررسی شد. نتایج نشان داد که عصاره‌ها باعث مرگ‌ومیر لارو سن دو به میزان ۳۱-۴۲٪ و کاهش ۳۷/۵-۶۰٪ تفریخ تخم نماتود شدند. عصاره‌ها مانع رشد باکتری نگردیدند. در آزمون گلخانه‌ای تأثیر کود سبز چهار گیاه (۱۲گرم/کیلوگرم خاک) در تلفیق با باکتری ($cfu10^8$) بر فعالیّت نماتود ریشه‌گرهی و رشد گوجه‌فرنگی (Early Urbana) در گلدان‌های ۳/۵ کیلوگرمی حاوی خاک مخلوط سترون و خاک مزرعه غیرسترون بررسی گردید. نتایج نشان داد که در حضور نماتود و در خاک سترون تیمار گل جعفری-باکتری با ۶۶/۲ و ۶۰/۹٪ افزایش و در خاک مزرعه کرچک با ۲۹/۱ و ۱۸/۳٪ افزایش نسبت به شاهد، به ترتیب در وزن تر و خشک شاخساره بیشترین تأثیر را در فاکتورهای رشدی گیاه داشتند. تیمارهای بارهنگ و بارهنگ-باکتری باعث کاهش اکثر شاخص‌های رشدی گیاه گردیدند. تیمار بارهنگ-باکتری باعث کاهش ۹۵/۹ و ۸۶/۰٪ تعداد تخم/گرم ریشه و کاهش ۹۲/۹ و ۹۵/۲٪ فاکتور تولیدمثل نماتود در خاک سترون و خاک مزرعه گردیدند، در حالی‌که بارهنگ به تنهایی، به ترتیب باعث کاهش ۹۳/۹ و ۸۴/۵٪ تخم/گرم ریشه و ۹۰/۷ و ۹۵/۹٪ فاکتور تولیدمثل گردید. نتایج آزمون کاربرد کود سبز منداب-باکتری در گلدان‌های ۱۲ کیلوگرمی حاوی خاک مخلوط سترون نشان داد که در حضور نماتود، تیمار منداب با ۱۵/۰، ۲/۲ و ۴۸/۳٪ افزایش در وزن تر و خشک شاخساره و وزن محصول، همچنین منداب-باکتری با ۵۵/۲ و ۵۲/۴٪ کاهش تعداد تخم و گال/گرم ریشه و ۶۵/۵٪ فاکتور تولیدمثل بیشترین تأثیر را داشتند.

کلیدواژه: بارهنگ، کرچک، کنترل نماتود، گل جعفری، منداب

---

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

** مسئول مکاتبات، پست الکترونیکی: karegar@shirazu.ac.ir

۱. به ترتیب دانش‌آموخته و استادان بیماری‌شناسی گیاهی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه شیراز

Effect of *Pseudomonas fluorescens* CHA0 and green manures of some inhibitory plants on activity of the root-knot nematode, *Meloidogyne incognita* and infected tomato growth parameters*

F. Amani Beni[1], A. Karegar[1], and S. M. Taghavi[1]**

(Received: 1.4.2015; Accepted: 24.5.2016)

Abstract

Effect of 10% aqueous extracts of inhibitory plants *viz. Plantago major*, *Ricinus communis*, *Eruca sativa* and *Tagetes* sp. on *Meloidogyne incognita* activity and *Pseudomonas fluorescens* CHA0 was studied. The results showed that the extracts increased 31-42% mortality of the second stage juveniles and decreased 37.5-60.0% egg hatching of the nematode, but did not inhibit the bacterium growth. The combined effects of green manures of plants (12 g/kg of soil) and bacterium (cfu10^8) on activity of the nematode and growth parameters of tomato (Early Urbana) were studied in 3.5 kg pots, containing sterilized mixed or non-sterilized farm soils. The results showed that in presence of the nematode and in sterilized soil, marigold-bacterium with 66.2 and 60.9% increases, and in non-sterilized soil castor with 29.1 and 18.3% increases in shoot fresh and dry weights, respectively, had the highest impacts. Plantain-bacterium decreased 95.9 & 86.0% of eggs/g of root and 92.9 & 95.2% of nematode reproduction factor in sterilized or non-sterilized soils, respectively. In addition, plantain decreased 93.9 & 84.5% of eggs/g of root and 90.7 & 95.9% of nematode reproduction factor, respectively. The results of the greenhouse test on usage of eruca green manure and bacterium in 12 kg pots, containing sterilized mixed soil, showed that in the presence of nematode, eruca with 15.0, 2.2 and 48.3% increases in shoot fresh, shoot dry and fruit weights, respectively had the greatest impact. Moreover, eruca-bacterium decreased 55.2 and 52.4% of egg or gall/g root, respectively and 65.5% of reproduction factor.

Keywords: Castor, eruca, marigold, nematode control, plantain

---

* A Part of M.Sc. Thesis of The First Author Submitted to School of Agric., Shiraz Univ., Shiraz, Iran.

** Corresponding author's E-mail: karegar@shirazu.ac.ir

1. Former M.Sc. Student and Professors of Plant Pathol., respectively, School of Agric., Shiraz Univ., Shiraz, Iran.

مقدمه

نماتود ریشه گرهی *Meloidogyne incognita* (Kofoid &White, 1919) Chitwood, 1949 یکی از گونه‌های رایج در تمام مناطق دنیاست که در دامنه جغرافیایی وسیعی گسترش داشته، دارای میزبان‌های بسیار زیادی است و عمدتاً به همراه گونه *M. javanica* یافت می‌شود (Eisenback & Triantaphyllou 1991). در ایران به عنوان دومین گونه بعد از *M. javanica*، دارای میزبان‌های زیادی از جمله گوجه‌فرنگی است (Akhiani *et al.* 1984).

استفاده از مواد آلی گیاهی، یکی از سالم‌ترین و مقبول‌ترین روش‌های کنترل نماتودها است (Ferraz & Freitas 2004). افزودن اصلاح‌کنندگان آلی به خاک باعث افزایش جمعیّت و فعالیّت دشمنان طبیعی نماتودها (Akhtar & Malik 2000, Ferraz & Freitas 2004)، آزاد شدن مواد غذایی مورد نیاز گیاه و بهبود زهکش خاک می‌شود (Viaene & Abawi 1998). طبق گزارش‌های ارائه شده اثر بازدارندگی بخش‌های مختلف تعداد زیادی از گیاهان از جمله اثر عصاره بذر کتان، کرچک (Akhtar & Mahmood 1994, Youssef & Amin 1997)، عصاره برگ گل جعفری (Susan & Noweer 2005)، کنجاله کنجد و خردل (Fatema & Ahmad 2005)، روغن چریش (Sharma & Trivedi 2002) و شاخساره سلمه‌تره (Joymati *et al.* 1998) روی نماتودهای ریشه‌گرهی به اثبات رسیده است.

کنجاله بذر کرچک حاوی پروتئین‌های سمی زیادی است (Lis & Sharon 1973). رایسین (ricin) یکی از ترکیبات شیمیایی سمی موجود در بذر کرچک است که روی نماتودهای انگل گیاهی مؤثراست (Rich *et al.* 1989).

بارهنگ گیاهی چند ساله و علفی است که دارای ترکیباتی از جمله، آکوبین (رینانتین)، پلی‌ساکاریدها، تانن‌ها، کومارین‌ها و فلاونوئیدها می‌باشد. در تحقیقی اثر سمیت عصاره‌های *Plantago rugelii* (بارهنگ آمریکایی) و *P. lanceolata* (بارهنگ انگلیسی) در کاهش تفریخ تخم و فعالیّت لاروهای نماتود *M. incognita* نشان داده شده است (Meyer *et al.* 2006).

در تحقیقی تأثیر عصاره گیاهی و پودر خشک شده ۱۳ گونه گیاهی بر روی فعالیت لاروهای سن دوم نماتودهای *M. javanica* و *M. incognita* در شرایط آزمایشگاهی و گلخانه بر روی گیاه گوجه‌فرنگی آلوده به نماتود بررسی و نشان داده شد که عصاره ترخون، منداب و کرچک اثر بهتری علیه این دو گونه نماتود داشته است (Zandieh Shirazi 2008). به دنبال آن اثر عصاره‌های آبی، اتانولی و هگزانی چندین گیاه روی شاخص‌های نماتود در شرایط آزمایشگاهی و گلخانه‌ای مورد بررسی قرار گرفت و نشان داده شد که عصاره‌های آبی گیاهان کلزا، فرفیون، منداب و *Gypsophila pilosa*، بیشترین تأثیر را بر کاهش تفریخ تخم و فعالیّت گونه‌ی *M. incognita* داشته است (Hoseinpoor 2010).

گل جعفری (*Tagetes* spp.) دارای ترکیبات نماتودکش است (Kimpinski *et al.*2000, Ploeg 1999, Sipes & Arakaki 1997). گل جعفری می‌تواند برای کنترل آفات مختلف مناسب باشد. اما بیشترین توانایی را در کنترل نماتودهای انگل گیاهی داشته است. این گیاه توانسته است نماتودهای انگل گیاهی از ۱۴ جنس مختلف را کنترل کند که در این میان بیشترین تأثیر را روی نماتودهای مولد زخم ریشه (*Pratylenchus* spp.) و نماتودهای ریشه‌گرهی (*Meloidogyne* spp.) داشته است (Krueger *et al.* 2010). ریشه‌های گل جعفری ماده شیمیایی آلفاترتی‌نیل (α-terthienyl) را تولید می‌کنند که یکی از مهمترین ترکیبات طبیعی سمی نماتودکشی است که تاکنون یافت شده است (Bakker *et al.* 1979).

جمعیّت‌های میکروبی فراریشه گیاه شامل قارچ‌ها و باکتری‌های افزایش‌دهنده رشد گیاه اثرات مفیدی بر سلامت گیاهان دارند. سودوموناس‌های فلورسنت که از رایزوباکتری‌های افزایش‌دهنده رشد محسوب می‌شوند، گروه مهمی از باکتری‌ها هستند که نقش مهمی در تحریک رشد گیاه، القاء مقاومت سیستمیک و کاهش خسارت ناشی از بیمارگرهای مختلف دارند. گونه *Pseudomonas fluorescens* باکتری غیربیماریی است که در خاک، آب و سطح گیاه وجود دارد. نژادهایی از این گونه باعث افزایش رشد گیاه و کاهش شدت بیماری‌های مختلف می‌گردد (Ganeshan & Kumar 2005). کاربرد *P. fluorescens* باعث افزایش رشد گیاه و کاهش آلودگی *M. incognita*، کاهش تعداد گال و کیسه تخم نماتود، کاهش تفریخ تخم و افزایش میزان مرگ‌ومیر لاروها در خاک و نماتودهای بالغ ماده شده است (Hanna *et al.* 1999, Khan & Akram 2000). باکتری *P. fluorescens* با تجمع آنزیم‌های دفاعی مثل پلی‌فنل‌اکسیداز (PPO)، پرکسیداز (PO) و فنیل‌آلانین‌آمونیالیاز (PAL) قادر به القاء مقاومت سیستمیک در گوجه‌فرنگی علیه نماتود *M. incognita* بوده است (Meena *et al.* 2011).

در مطالعه‌ای اثر جدایه CHA0 از باکتری *P. fluorescens* و چند جدایه دیگر علیه نماتود ریشه‌گرهی *M. javanica* بررسی گردید و نشان داده شد که متابولیت‌های ضد میکروبی ۲،۴-دی‌استیل‌فلوروگلوسینول (2,4-diacetylphloroglucinol) و پیولوتئورین با توانایی جدایه *P. fluorescens* CHA0 در کنترل بیماری‌های گیاهی مرتبط است (Siddiqui & Shaukat 2003). در بررسی دیگر نشان داده شد که هیدروژن سیانید (HCN) تولید شده توسط جدایه CHA0 دارای خاصیت نماتودکشی نسبت به *M. incognita* می‌باشد (Siddiqui *et al.* 2007).

به منظور افزایش تأثیر روش‌های کنترل غیرشیمیایی تحقیقاتی در مورد تلفیق آن‌ها صورت گرفته است. در تحقیقی که جهت ارزیابی کاربرد عوامل کنترل بیولوژکی شامل قارچ *Verticillium chlamydosporium* و باکتری هم‌زیست *Photorhabdus luminescens* همراه با کود حیوانی در کنترل نماتود ریشه‌گرهی *M. incognita* در خیار آلوده صورت گرفت نشان داده شد که کاربرد قارچ و باکتری همراه با کود حیوانی و یا بدون آن باعث کاهش شاخص‌های نماتود گردیده است (Zakaria *et al.* 2013).

در تحقیقی دیگر که به منظور تعیین اثر بقایای گیاهی جنگل بلوط بر فعالیت آنتاگونیستی *Trichoderma vierns* و *P. fluorescens* علیه نماتود ریشه‌گرهی *M. javanica* در گوجه‌فرنگی انجام گرفت نشان داده شد که افزودن بقایای گیاهی همراه با یک و یا دو عامل آنتاگونیست باعث بهبود شاخص‌های رشدی گیاه و کاهش شاخص‌های نماتود گردیده است (Moradi *et al.* 2015).

در این تحقیق اثر استفاده تلفیقی جدایه *Pseudomonas fluorescens* CHA0 و کود سبز گیاهان بازدارنده بارهنگ (*Plantago major* L.)، منداب (*Eruca sativa* Mill.)، کرچک (*Ricinus communis* L.) و گل جعفری (*Tagetes* sp.) روی فعالیّت نماتود ریشه‌گرهی *M. incognita* و گیاه گوجه‌فرنگی رقم ارلی‌اربانا (Early Urbana) آلوده به آن، در شرایط گلخانه مورد بررسی قرارگرفته است.

مواد و روش‌های بررسی

الف) آماده‌سازی جمعیت نماتود ریشه‌گرهی، عصاره و کود سبز گیاهان بازدارنده و باکتری

۱- نماتود *Meloidogyne incognita*: نماتود ریشه‌گرهی موجود در گلخانه دانشکده کشاورزی با روش توده تخم منفرد مجدداً خالص‌سازی و روی گوجه‌فرنگی

رقم ارلی‌اربانا تکثیر شد. ریشه‌های آلوده شستشو شده به قطعات ریز تقسیم شدند. سپس به مدت ۴۰ ثانیه در محلول هیپوکلریت‌سدیم ۰/۵٪ با مخلوط شدند. محتویات ظرف روی دو الک به ترتیب ۲۰۰ و ۵۰۰ مش ریخته و با آب کاملاً شستشو داده شده تا هیپوکلریت‌سدیم کاملاً حذف گردد. تخم‌های باقیمانده در سطح الک ۵۰۰ مش درون بشر جمع‌آوری و شمارش شدند.

جهت تهیه لارو سن دو، سوسپانسیون تخم نماتود داخل تشتک پتری حاوی حداکثر ارتفاع نیم سانتی‌متر آب مقطر در داخل ژرمیناتور ۲۸°C-۲۶ قرار داده شد. پس از گذشت ۴۸ ساعت محتویات داخل تشتک پتری از الک ۴۰۰ مش عبور داده تا لاروها بر روی الک مانده و تخم‌های تفریخ نشده خارج شوند.

۲- گیاهان بازدارنده: به منظور تهیه عصاره‌های آبی، همه بخش‌های گیاهان بارهنگ (*Plantago major*)، کرچک (*Ricinus communis*)، منداب (*Eruca sativa*) و گل جعفری (*Tagetes* sp.) شامل، برگ، ساقه و ریشه شستشوی سطحی داده شده در شرایط سایه خشک شدند. یک گرم از پودر خشک هر گیاه در ۱۰ میلی‌لیتر آب مقطر سترون حل شده و درون یخچال نگهداری شد. بعد از گذشت ۴۸ ساعت عصاره‌ها ابتدا از پارچه ململ سترون سپس از کاغذ واتمن شماره ۴۰ و در آخر از فیلترهای۰/۲۲ میکرونی عبور داده شدند. عصاره‌های حاصل در فریزر نگهداری شده و در مراحل بعدی مورد استفاده قرار گرفت.

با توجه به آزمون‌های گلخانه‌ای تهیه کود سبز گیاهان بازدارنده در دو نوع خاک مخلوط سترون (۲ قسمت ماسه + ۱ قسمت خاک مزرعه) و خاک مزرعه غیرسترون انجام گرفت. بدین منظور ابتدا بذور کرچک، منداب، گل جعفری و بارهنگ در گلدان‌های ۳/۵ کیلویی کشت و در شرایط گلخانه نگهداری شدند. دو ماه پس از کشت، کل اندام‌های گیاهی از گلدان خارج شد. به منظور تجزیه سریعتر کاملاً خرد و با هم مخلوط شد. سپس به هر گلدان ۴۲ گرم (۱۲ گرم ماده تر گیاهی/کیلوگرم خاک) از گیاه تر کشت شده در همان گلدان اضافه شده با خاک مخلوط شدند و به مدت ۴۵ روز نگهداری شده تا امکان تجزیه آن‌ها در خاک فراهم شود. برای تیمارهای حاوی باکتری، قبل از بازگرداندن این گیاهان به خاک سوسپانسیون باکتری با غلظت $cfu10^{8}$ تهیه شده، ۵ میلی‌لیتر از آن را به روی گیاه هر گلدان محلول‌پاشی کرده و سپس به خاک برگردانده شد. پس از مدت ۴۵ روز تقریباً تمام بافت‌های گیاه تجزیه شد. برای بهتر تجزیه شدن سطح گلدان‌ها با پلاستیک پوشانده شد.

۳- آماده سازی جمعیت باکتری خالص: در این تحقیق از باکتری خالص موجود در کلکسیون بخش گیاه‌پزشکی دانشکده کشاورزی دانشگاه شیراز استفاده شد. در همه آزمون‌ها از کشت ۲۴ ساعته این باکتری استفاده شد.

ب) آزمون‌های آزمایشگاهی

۱- تأثیر عصاره‌های گیاهی بر تفریخ تخم و مرگ‌ومیر لارو سن دو نماتود *Meloidogyne incognita*: مقدار یک میلی‌لیتر از عصاره‌های آبی پایه (یک گرم پودر خشک در ۱۰ میلی‌لیتر آب مقطر سترون) هر کدام از گیاهان کرچک، منداب، گل جعفری و بارهنگ به طور جداگانه درون تشتک‌های پتری ریخته و به هر کدام از تشتک‌ها یک میلی‌لیتر سوسپانسیون حاوی ۱۰۰ تخم یا ۱۰۰ لارو سن دو نماتود اضافه شد. در مورد تیمار شاهد به جای عصاره از آب مقطر سترون استفاده گردید. تشتک‌های پتری درون ژرمیناتور با دمای ۲۷°C نگهداری

و پس از گذشت ۴۸ ساعت تعداد لاروهای غیرفعال و پس از گذشت ۷۲ ساعت تعداد تخم‌های تفریخ نشده شمارش گردید. آزمون با سه تکرار انجام گرفت و داده‌های به دست آمده به کمک نرم افزار SAS 9.1 به صورت آزمون تجزیه واریانس یک‌طرفه مورد تجزیه و تحلیل قرار گرفت.

۲- تأثیرعصاره‌های گیاهی روی رشد باکتری جدایه *Pseudomonas fluorescens* CHA0: از عصاره‌های آبی پایه (یک گرم پودر خشک در ۱۰ میلی‌لیتر آب مقطر سترون) هر کدام از گیاهان کرچک، منداب، گل جعفری و بارهنگ رقت‌های مختلف شامل غلظت‌های ۱۰٪ عصاره آبی پایه، ۵، ۲/۵، ۱/۲۵، ۰/۶۲، ۰/۳۲، ۰/۱۶، ۰/۰۸، ۰/۰۴، ۰/۰۲، صفر درصد (شاهد آب مقطر سترون) و صفر درصد (شاهد بدون آب مقطر سترون و عصاره گیاهی) تهیه گردید. به این صورت که در هر مورد هر رقت مقدار عصاره نصف شده و حجم آن با آب مقطر سترون به یک میلی‌لیتر رسانده شد. یک میلی‌لیتر از این رقت‌ها با پنج میلی‌لیتر محیط کشت NA مخلوط و یک پرگنه از کشت ۲۴ ساعته باکتری مورد نظر برروی آن‌ها کشت داده شد تا در صورتی که عصاره‌های گیاهی اثر سویی بر رشد باکتری دارند این گیاهان در مراحل بعدی که آزمون‌های گلخانه‌ای است حذف شوند (Eloff 1998).

ج) آزمون‌های گلخانه‌ای

۱- کاربرد تلفیقی باکتری و گیاهان بازدارنده بر فعالیّت نماتود ریشه‌گرهی و گوجه‌فرنگی آلوده به آن درخاک مخلوط سترون و خاک مزرعه غیرسترون: پس از گذشت ۴۵ روز و تجزیه شدن گیاهان بازدارنده، خاک هر گلدان به خوبی مخلوط و به گلدان‌های مربوطه برگردانده شد. سپس نشاهای یک ماهه‌ی گوجه‌فرنگی کاشته شده در خاک سترون، با دقت به گلدان‌های پلاستیکی ۳/۵ کیلوگرمی حاوی خاک مخلوط سترون انتقال داده شد. علاوه بر محلول‌پاشی کود سبز با ۵ میلی‌لیتر سوسپانسیون باکتری با غلظت $cfu10^{8}$ در زمان برگرداندن کود سبز به خاک، ۴۸ ساعت پس از استقرار کامل نشاها، ۱۵ میلی‌لیتر سوسپانسیون باکتری با همان غلظت در فاصله دو سانتی‌متری طوقه گیاهان مایه‌زنی شد. ۴۸ ساعت پس از مایه‌زنی باکتری در هر گلدان سوسپانسیون حاوی ۷۰۰۰ تخم نماتود (دو تخم/گرم خاک) در فاصله دو سانتی‌متری طوقه گوجه‌فرنگی و در عمق ۲-۳ سانتی‌متری مایه‌زنی شد. بوته‌های گوجه‌فرنگی پس از مایه‌زنی در شرایط گلخانه با دمای ۲۰-۳۵ درجه سانتی‌گراد نگهداری شدند. گلدان‌ها بر اساس نیاز هر دو تا سه روز یک‌بار آبیاری شدند. پس از گذشت دو ماه گیاهان از خاک خارج شدند. شاخص‌های گیاهی شامل، طول شاخساره، وزن تر و خشک اندام‌های هوایی، وزن تر ریشه و شاخص‌های نماتود شامل، تعداد گال و کیسه تخم و تعداد تخم در یک گرم و نیز در کل سیستم ریشه، تعداد لارو در خاک گلدان، فاکتور تولیدمثل و نیز شاخص گال مورد ارزیابی قرار گرفت.

شاخص گال به روش *تیلور و ساسر* و بر اساس مقیاس صفر تا پنج شامل صفر: فاقد گال یا کیسه تخم، ۱-۲ گال یا کیسه تخم: شاخص ۱، ۳-۱۰: شاخص ۲، ۱۱-۳۰: شاخص ۳، ۳۱-۱۰۰: شاخص ۴ و بیش از ۱۰۰ عدد گال یا کیسه تخم: شاخص ۵ تعیین گردید Taylor & Sasser (1978).

این آزمایش‌ها در قالب طرح بلوک‌های کامل تصادفی و با پنج تکرار به صورت مجزا در خاک مخلوط سترون (۲ قسمت ماسه + ۱ قسمت خاک مزرعه) و خاک مزرعه غیرسترون انجام گرفت. تیمارها شامل شاهد (گوجه‌فرنگی بدون نماتود)، شاهد (گوجه‌فرنگی-نماتود)، گوجه‌فرنگی-

کود سبز هر یک از گیاهان بازدارنده، گوجه‌فرنگی-باکتری، گوجه‌فرنگی-باکتری-کود سبز هر یک از گیاهان بازدارنده، گوجه‌فرنگی-نماتود-کود سبز هر یک از گیاهان بازدارنده، گوجه‌فرنگی-نماتود-باکتری، گوجه‌فرنگی-نماتود-باکتری-کود سبز هر یک از گیاهان بازدارنده بود. شصت روز پس از مایه‌زنی نماتود، برداشت صورت گرفت و داده‌های مورد نیاز اندازه‌گیری و یاداشت گردید. داده‌های به دست آمده به کمک نرم افزار SAS 9.1 به صورت آزمون فاکتوریل مورد تجزیه و تحلیل قرار گرفت. فاکتورهای اصلی طرح شامل نماتود، باکتری، کود سبز حاصل از چهار گیاه بازدارنده و یک رقم گوجه‌فرنگی بود که همه فاکتورها تنها در یک سطح مورد بررسی قرار گرفت.

۲- کاربرد تلفیقی باکتری و کود سبز منداب بر فعالیّت نماتود ریشه‌گرهی و گوجه‌فرنگی در خاک سترون: این آزمون همانند آزمون قبلی در قالب طرح بلوک‌های کامل تصادفی و با پنج تکرار و با همان تیمارهای انجام گرفت، منتها این آزمون فقط در خاک مخلوط سترون (۲ قسمت ماسه + ۱ قسمت خاک مزرعه) و در گلدان‌های پلاستیکی ۱۲ کیلویی انجام شد. میزان تخم و باکتری مورد استفاده نیز به نسبت افزایش وزن خاک افزایش یافت. به این صورت که تعداد تخم مایه‌زنی شده در هر گلدان ۲۴۰۰۰ عدد و میزان باکتری (با غلظت 10^{8}cfu) محلول پاشی شده به میزان ۱۷/۱ میلی‌لیتر و میزان باکتری مایه‌زنی شده به خاک ۵۱/۴ میلی‌لیتر بود. برداشت داده‌های این آزمون سه ماه (Youssef *et al.* 2015) پس از مایه‌زنی نماتود صورت گرفت. داده‌های به کمک نرم افزار SAS 9.1 به صورت آزمون فاکتوریل مورد تجزیه و تحلیل قرار گرفت.

نتایج

الف) آزمون‌های آزمایشگاهی

۱- تأثیر عصاره‌های گیاهی بر تفریخ تخم و مرگ‌ومیر لارو سن دو نماتود ریشه‌گرهی: مقایسه میانگین عصاره‌های مورد استفاده بر تفریخ تخم و مرگ‌ومیر لاروهای سن دو نماتود ریشه‌گرهی *Meloidogyne incognita* نشان داد که همه تیمارها نسبت به شاهد در سطح آماری ۱٪ دارای تفاوت معنی‌داری هستند و باعث کاهش تفریخ تخم و افزایش مرگ‌ومیر لارو شده‌اند. تیمارهای منداب، گل جعفری، بارهنگ و کرچک نسبت به شاهد به ترتیب باعث ۲۵، ۲۵، ۲۱/۷ و ۱۴٪ کاهش در تفریخ تخم نماتود شدند. تیمار منداب میزان مرگ‌ومیر لارو را نسبت به شاهد تا ۳/۵ برابر افزایش داد که از نظر آماری در سطح ۵٪ با بقیه تیمارها تفاوت معنی‌دار دارد. تیمارهای کرچک، بارهنگ و گل جعفری نیز میزان مرگ‌ومیر لارو سن دو را نسبت به شاهد به بیش از دو برابر افزایش دادند (جدول۱).

۲- تأثیر عصاره‌های گیاهی بر رشد جدایه CHA0 *P. fluorescens* در شرایط آزمایشگاه: نتایج آزمایش نشان داد که هیچ‌کدام از عصاره‌های گیاهی تأثیر سویی بر رشد باکتری نداشتند.

ب) آزمون‌های گلخانه‌ای

۱- کاربرد تلفیقی باکتری و گیاهان بازدارنده بر فعالیّت نماتود ریشه‌گرهی و گوجه‌فرنگی آلوده به آن در خاک مخلوط سترون و خاک مزرعه غیرسترون

شاخص‌های رویشی گیاه گوجه‌فرنگی: در خاک مخلوط سترون از نظر طول و وزن تر شاخساره بین شاهد

جدول ۱. تأثیر رقت ۱۰٪ عصاره‌های آبی گیاهی بر تفریخ تخم و مرگ‌ومیر لارو سن دو نماتود ریشه‌گرهی *Meloidogyne incognita* در شرایط آزمایشگاهی و دمای ۲۷°C.

Table 1. Effect of plant extracts (10%) on egg hatching and mortality of second stage juveniles of the root-knot nematode, *Meloidogyne incognita*, under laboratory conditions and 27°C.

	Dead juveniles (%), after 48 hours		Unhatched eggs (%), after 72 hours	
Treatments	5% (P = 0.05)	1% (P = 0.01)	5% (P = 0.05)	1% (P = 0.01)
Control	17.5c	17.5c	17.0c	17.0b
Eruca (*Eruca sativa*)[1]	60.0a	60.0a	42.0a	42.0a
Plantin (*Plantago major*)[2]	43.8b	43.8a	38.7 ab	38.7a
Marigold (*Tagetes* sp.)[3]	39.0b	39.0b	42.0a	42.0a
Castor (*Ricinus communis*)[4]	37.5b	37.5bc	31.0b	31.0a

اعداد دارای حروف مشابه در هر ستون بر حسب آزمون دانکن، اختلاف معنی‌داری با یکدیگر ندارند. ۱- منداب، ۲- بارهنگ، ۳- گل جعفری، ۴- کرچک.

Values followed by the same letters in each column are not significantly different, according to Duncan's multiple-range test.

و تیمارها اختلاف معنی‌داری وجود ندارد. تیمارهای منداب، گل جعفری-باکتری، کرچک و کرچک-باکتری نسبت به شاهد دارای وزن خشک شاخسار بیشتری هستند. از نظر وزن تر ریشه، تیمار گل جعفری-نماتود-باکتری نسبت به شاهد دارای وزن تر بیشتری است. سایر تیمارها با شاهد در یک سطح آماری قرار گرفته‌اند.

در خاک مزرعه غیرسترون تیمارهای بارهنگ-باکتری، بارهنگ-نماتود و تیمار کرچک-نماتود-باکتری نسبت به شاهد طول و وزن تر شاخساره کم‌تری دارند. سایر تیمارها با شاهد در یک سطح آماری قرار گرفته و تاثیر معنی‌داری بر طول و وزن تر شاخساره نداشتند. تیمارهای دارای بارهنگ و نیز تیمار کرچک-نماتود-باکتری نسبت به شاهد وزن خشک شاخساره کم‌تری دارند. سایر تیمارهای با شاهد در یک سطح آماری قرار دارند و تاثیر معنی‌داری بر طول و وزن خشک شاخساره نداشتند. کم‌ترین وزن تر ریشه مربوط به تیمارها بارهنگ با نماتود و یا باکتری است. سایر تیمارها با شاهد در سطح ۱٪ اختلاف معنی‌داری ندارند (جدول ۲).

شاخص‌های نماتود ریشه‌گرهی *M. incognita*: در خاک مخلوط سترون، تیمارهای منداب-باکتری و گل جعفری-باکتری کمترین تعداد گال/گرم ریشه را نشان دادند و به ترتیب باعث کاهش ۶۰/۱ و ۵۶/۸٪ تعداد گال/گرم ریشه نسبت به شاهد شدند. سایر تیمارها نیز باعث کاهش تعداد گال/گرم ریشه نسبت به شاهد شدند اما کاهش آن‌ها از نظر آماری معنی‌دار نبود. در خاک مزرعه غیرسترون نیز همه تیمارها باعث کاهش گال/گرم ریشه شدند که این کاهش در همه تیمارها به جز دو تیمار بارهنگ و بارهنگ-باکتری معنی‌دار بود. در هر دو خاک مخلوط سترون و خاک مزرعه غیرسترون همه تیمارها به جز یک تیمار(تیمار باکتری در آزمون خاک مخلوط سترون) باعث کاهش معنی‌دار تعداد کیسه تخم/گرم ریشه شدند. شاخص گال (بر اساس تعداد گال/کل ریشه) در شاهد و سایر تیمارها اختلاف معنی‌داری با هم ندارند. همه تیمارها باعث کاهش معنی‌دار تعداد تخم/گرم ریشه و تعداد تخم/کل سیستم ریشه شدند. فاکتور تولیدمثل نیز در همه تیمارها نسبت به شاهد کاهش معنی‌داری داشته است. تیمار بارهنگ-باکتری

جدول ۲. تأثیر کاربرد تلفیقی باکتری *Pseudomonas fluorescens* CHA0 (*Pf* CHA0)[1] و کود سبز گیاهان بازدارنده (۱۲ گرم/کیلوگرم خاک) بر صفات رشدی گوجه‌فرنگی (ارلی‌اربانـا) آلوده به نماتد *Meloidogyne incognita* (دو تخم/گرم خاک؛ ۷۰۰۰ تخم/گلدان ۳/۵ کیلوگرمی) در خاک مخلوط سترون، خاک مزرعه غیرسترون و شرایط گلخانه‌ای.

Table 2. Effects of *Pseudomonas fluorescens* CHA0 (*Pf* CHA0)[1] and green manure of inhibitory plants (12 g/kg of soil) on growth parameters of tomato plants (Early Urbana), infected with *Meloidogyne incognita* (2 eggs/g of soil; 7000 eggs/3.5 kg pot) in sterilized mixed and non-sterilized farm soils, under greenhouse conditions.

Treatment/soil	Shoot length (cm)		Shoot fresh weight (g)		Shoot dry weight (g)		Root fresh weight (g)	
	Sterilized	Non-sterilized	Sterilized	Non-sterilized	Sterilized	Non-sterilized	Sterilized	Non-sterilized
Control (without nematode)	89.0a	94.2a	41.2a-e	46.4a-d	7.8c-f	10.2a-c	7.3bc	15.3a-c
Castor[2]	93.1a	82.6ab	64.2a	57.5a	13.3ab	11.8a	11.0bc	12.5b-d
Castor-*Pf*CHA0	81.4a	87.2a	54.5a-d	56.9a	14.0a	11.9a	9.5bc	15.5a-c
Eruca[3]	87.4a	86.0a	53.9a-d	46.8a-d	13.6ab	8.9a-d	13.1bc	9.9b-d
Eruca-*Pf*CHA0	90.6a	101.6a	60.2ab	48.1a-d	12.8a-c	9.6a-d	13.0bc	9.2cd
Marigold[4]	72.0a	89.8a	53.1a-d	49.4a-c	10.7a-e	9.5a-d	14.4bc	11.7b-d
Marigold-*Pf*CHA0	92.2a	87.6a	53.7a-d	35.6c-f	14.1a	7.2c-e	14.1bc	7.8cd
*Pf*CHA0	90.2a	86.8a	41.8a-e	43.6a-e	8.6b-f	9.0a-d	9.7bc	12.2b-d
Plantin[5]	93.7a	83.0ab	45.3a-e	33.4c-f	10.5a-e	6.6d-f	8.5bc	7.0cd
Plantin-*Pf*CHA0	78.0a	55.8c	35.0c-e	21.9fg	6.1d-f	3.9fg	5.2c	4.7d
Nematode (control)	77.4a	90.3a	36.1b-e	42.6a-e	6.9d-f	9.3a-d	9.7bc	22.4a
Nematode-castor	83.6a	85.6a	55.0a-d	55.0ab	9.6a-e	11.0ab	17.0ab	18.3ab
Nematode-castor-*Pf*CHA0	71.4a	51.0c	54.1a-d	27.2e-g	9.8a-e	5.0e-g	13.7bc	8.9cd
Nematode-eruca	89.4a	92.1a	50.1a-d	42.1a-e	10.0a-e	8.2b-e	9.4bc	10.6b-d
Nematode-eruca-*Pf*CHA0	85.6a	86.8a	53.9a-d	42.0a-e	9.7a-e	7.4c-e	17.2ab	8.4cd
Nematode-marigold	78.6a	86.2a	47.7a-d	41.1a-e	8.7b-f	8.8a-d	16.7ab	14.1a-c
Nematode-marigold-*Pf*CHA0	81.6a	87.0a	60.0a-c	32.3d-f	11.1a-d	7.4c-e	24.2a	12.3b-d
Nematode-*Pf*CHA0	74.5a	85.6a	22.7e	39.1b-e	4.0f	7.6b-e	6.3c	14.6a-c
Nematode-plantin	81.1a	58.9bc	33.9ed	19.8fg	5.8ef	3.3g	8.7bc	4.5d
Nematode-plantin-*Pf*CHA0	82.0a	52.2c	35.7b-e	15.2g	6.5d-f	2.6g	11.0bc	4.1d

اعداد میانگین پنج تکرار است. اعداد دارای حروف مشابه در هر ستون بر حسب آزمون دانکن در سطح ۱٪ اختلاف معنی‌داری ندارند. ۱- سوسپانسیون باکتری با غلظت 10^8cfu به میـزان ۵ میلـی‌لیتـر در زمان برگرداندن کود سبز به خاک و ۱۵ میلی‌لیتر ۴۸ ساعت قبل از مایه‌زنی نماتد؛ ۲- کرچک؛ ۳- منداب؛ ۴- گل جعفری؛ ۵- بارهنگ.

Data are means of five replications. Values followed by the same letters in each columns are not significantly different (P = 0.01). 1- Bacterial suspension with 10^8cfu concentration, 5 ml at the time of adding green manure to soil and 15 ml 48 hours before nematode inoculation.

با کاهش ۹۲/۹ و ۹۵/۲٪ و تیمار بارهنگ با کاهش ۹۰/۷ و ۹۵/۹٪ فاکتور تولیدمثل، به ترتیب در خاک سترون و غیرسترون، مؤثرترین تیمارها بودند (جدول ۳).

در خاک مزرعه به استثناء تیمارهای دارای بارهنگ، سایر تیمارهای باعث کاهش معنی‌دار تعداد گال در گرم ریشه و همه تیمارها باعث کاهش تعداد کیسه تخم/گرم ریشه نسبت به شاهد شده‌اند. شاهد و همه تیمارها دارای شاخص گال ۵ (بر اساس تعداد گال/گرم ریشه) هستند. تیمارهای بارهنگ، باکتری و تیمارهای منداب، کرچک-باکتری و بارهنگ-باکتری، تعداد تخم/گرم ریشه کم‌تری نسبت به شاهد داشتند. همچنین تعداد تخم در سیستم ریشه و فاکتور تولیدمثل همه تیمارها نسبت به شاهد کم‌تر بود (جدول ۳).

۲- تأثیر کاربرد تلفیقی جدایه *P. fluorescens* CHA0 و کود سبز منداب بر فعالیّت نماتود ریشه‌گرهی و گوجه‌فرنگی آلوده به آن در خاک سترون و شرایط گلخانه‌ای

شاخص‌های رویشی گوجه‌فرنگی: تجزیه واریانس نشان داد که برخی صفات اثر کود سبز (نسبت وزن تر شاخساره/وزن ریشه)، اثر نماتود (وزن خشک شاخساره، وزن میوه و نسبت وزن شاخساره/ وزن ریشه) و اثر کودسبز-باکتری (وزن تر شاخساره) از نظر آماری در سطح ۵٪ معنی‌دار است. همه تیمارها از نظر طول و وزن خشک شاخساره یکسان بوده و از نظر آماری با شاهد در یک سطح قرار گرفته‌اند. بالاترین وزن تر ریشه مربوط به تیمار منداب و پایین‌ترین آن مربوط به منداب-باکتری است. سایر تیمارها از نظر آماری تفاوت معنی‌داری با شاهد ندارند. بالاترین نسبت وزن تر شاخساره به وزن تر ریشه مربوط به تیمار منداب است. بین تیمارهای دارای نماتود از نظر شاخص‌های مختلف اختلاف معنی‌داری دیده نمی‌شود (جدول ۴).

شاخص‌های نماتود ریشه‌گرهی *M. incognita*: تجزیه واریانس نشان می‌دهد که اثر کود سبز بر روی اکثر صفات (همه صفات به استثناء شاخص تعداد تخم در یک گرم و نیز در کل سیستم ریشه) و اثر کود سبز-باکتری بر روی تعداد کیسه تخم/گرم ریشه در سطح ۵٪ معنی‌داراست. تعداد گال، تخم و کیسه تخم/گرم ریشه در تیمارهای منداب، باکتری و منداب-باکتری نسبت به شاهد بسیار کم‌تر است. بین شاهد و سایر تیمارها از نظر شاخص گال و تعداد تخم در سیستم ریشه اختلافی وجود ندارد. پایین‌ترین فاکتور تولیدمثل مربوط به تیمار منداب-باکتری است که با شاهد اختلاف معنی‌داری دارد ولی با تیمارهای باکتری و منداب در یک سطح قرار گرفته است (جدول ۵).

بحث

مطابق مطالعات قبلی عصاره بارهنگ، منداب، کرچک و گل جعفری باعث کاهش معنی‌دار تفریخ تخم و افزایش معنی‌دار مرگ‌ومیر لارو سن دو نماتود *M. incognita* در شرایط آزمایشگاه گردیدند (Zandieh Shirazi 2008، Hoseinpoor 2010، Meyer *et al.* 2006، Sharma & Trivedi 2002، Susan & Noweer 2005، Riga *et al.* 2005). عصاره‌ی گیاه منداب بیشترین میزان مرگ‌ومیر لارو و کمترین میزان تفریخ تخم را نشان داد (جدول۱).

با توجه به این که جدایه CHA0 در همه تشتک‌های پتری حاوی محیط کشت NA و عصاره‌های گیاهی، رشد یافته و تشکیل پرگنه داد، بنابراین می‌توان نتیجه گرفت که هیچ یک از گیاهان بازدارنده مورد استفاده اثر سوئی بر رشد باکتری نداشتند.

جدول ۳. تأثیر کاربرد تلفیقی باکتری (*Pf* CHA0) ***Pseudomonas fluorescens* CHA0**[1] و کود سبز گیاهان بازدارنده (۱۲ گرم/کیلوگرم خاک) بر شاخص‌های نماتد ***Meloidogyne incognita*** (دو تخم/گرم خاک؛ ۷۰۰۰ تخم/گلدان ۳/۵ کیلوگرمی) در گوجه‌فرنگی (ارلی‌اربانا) در خاک مخلوط سترون، خاک مزرعه غیرسترون و شرایط گلخانه‌ای.

Table 3. Effects of *Pseudomonas fluorescens* CHA0 (*Pf* CHA0)[1] and green manure of inhibitory plants (12 g/kg of soil) on the nematode indices of *Meloidogyne incognita* (2 eggs/g of soil; 7000 eggs/3.5 kg pot) in tomato plants (Early Urbana) and in sterilized mixed and non-sterilized farm soils, under greenhouse conditions.

Treatment/soil	Egg masses /g of roots		Galls /g of roots		Galls /root system		Gall index[2]		Eggs/g of roots		Eggs /root system		Juveniles /pot soil		Reproduction factor	
	Sterilized	Non-sterilized	Sterilized	Non-sterilized	Sterilized	Non-sterilized	Sterilized	Non-sterilized	Sterilized (x 10^2)	Non-sterilized (x 10^2)	Sterilized (x 10^2)	Non-sterilized (x 10^2)	Sterilized (x 10^2)	Non-sterilized (x 10^2)	Sterilized	Non-sterilized
Control[3]	189a	128a	384a	504a	3609a	11559a	5.0a	5.0a	136.8a	18.5a	1203.0a	354.4a	33.46a	549.6a	22.5a	14.6a
Castor[4]	38b	57.2b	211ab	181bc	3511a	3657b	5.0a	5.0a	12.6b	8.4ab	212.5b	149.6b	25.8b	102.7ab	3.9b	4.1b
Castor-*Pf*CHA0	54b	23.2b	251ab	245bc	2851a	2057b	5.0a	5.0a	27.7b	3.7b	517.1b	40.2b	28.8b	20.5ab	8.2b	1.2b
Eruca[5]	76b	49b	196ab	135c	2098a	1465b	5.0a	5.0a	9.9b	6.7ab	100.4b	76.3b	47.7b	41.0ab	2.4b	1.9b
Eruca-*Pf*CHA0	30b	43.6b	153b	174bc	2939a	1441b	5.0a	5.0a	18.6b	4.5b	334.6b	34.8b	55.4b	90.5ab	6.0b	2.0b
Marigold[6]	36b	50.2b	212ab	240bc	3840a	3448b	5.0a	5.0a	20.8b	10.6ab	427.4b	158.3b	62.3b	68.5ab	7.5b	3.7b
Marigold-*Pf*CHA0	40b	50.8b	166b	242bc	4113a	3033b	5.0a	5.0a	11.6b	6.9ab	264.6b	93.4b	39.1b	63.1ab	4.9b	2.7b
*Pf*CHA0	98ab	14.2b	276ab	189bc	1834a	2839b	5.0a	5.0a	22.8b	4.9b	144.8b	91.5b	43.4b	117.9ab	3.0b	3.4b
Plantin[7]	79b	42.8b	238ab	330a-c	1783a	1918b	5.0a	5.0a	8.3b	2.9b	82.5b	20.8b	43.3b	3.9b	2.1b	0.6b
Plantin-*Pf*CHA0	48b	55.6b	247ab	363ab	2778a	1379b	5.0a	5.0a	5.7b	2.6b	61.2b	8.8b	24.4b	28.6ab	1.6b	0.7b

اعداد میانگین پنج تکرار است. اعداد دارای حروف مشابه در هر ستون بر حسب آزمون دانکن در سطح ۱٪ اختلاف معنی‌داری ندارند. ۱- سوسپانسیون باکتری با غلظت 10^8cfu به میزان ۵ میلی‌لیتر در زمان برگرداندن کود سبز به خاک و ۱۵ میلی‌لیتر ۴۸ ساعت قبل از مایه‌زنی نماتد؛ ۲- روش تیلور و ساسر (۱۹۷۸)؛ ۳- گوجه‌فرنگی آلوده به نماتد و تیمار نشده؛ ۴- کرچک؛ ۵- منداب؛ ۶- گل جعفری؛ ۷- بارهنگ.

Data are means of five replications. Values followed by the same letters in each columns are not significantly different (P = 0.01). 1- Bacterial suspension with 10^8cfu concentration, 5 ml at the time of adding the green manure to soil and 15 ml 48 hours before nematode inoculation; 2- Taylor & Sasser (1978) method; 3- Tomato plants infected by nematode, but not treated.

جدول ٤. تأثیر کاربرد تلفیقی باکتری *Pseudomonas fluorescens* CHA0 (*Pf* CHA0)[1] و کود سبز منداب (۱۲ گرم/کیلوگرم خاک) بر شاخص‌های رویشی گیاه گوجه‌فرنگی (ارلی‌اربانا) آلوده به نماتد *Meloidogyne incognita* (دو تخم/گرم خاک؛ ۲٤۰۰۰ تخم/گلدان ۱۲ کیلوگرمی) در خاک مخلوط سترون و شرایط گلخانه‌ای.

Table 4. Effects of *Pseudomonas fluorescens* CHA0 (*Pf* CHA0)[1] and green manure of eruca (12 g/kg of soil) on growth parameters of tomato plants (Early Urbana), infected with *Meloidogyne incognita* (2 eggs/g of soil; 24000 eggs/12 kg pot) in sterilized mixed soils, under greenhouse conditions.

Treatment	Shoot length (cm)	Shoot fresh weight (g)	Shoot dry weight (g)	Shoot fresh weight/root fresh weight	Root fresh weight (g)	Friut weight (g)
Control (Without nematode)	105a	123.6b	27.1a	3.47ab	36.3a-c	225.3a-c
Eruca[2]	97.2a	146.2a	27.1a	4.95a	32.6bc	269.7a
Eruca-*Pf*CHA0	89.2a	98.9c	22.4a	3.80ab	27.3c	194.6a-c
*Pf*CHA0	100.4a	125.9b	24.5a	3.37ab	38.0a-c	265.3ab
Nematode	96.6a	110.8bc	23.3a	2.44b	46.4ab	137.8c
Nematode-eruca	88.2a	127.4b	23.8a	3.47ab	41.2a-c	204.4a-c
Nematode-eruca-*Pf*CHA0	99.8a	125.2b	22.3a	3.23ab	40.4a-c	191.0a-c
Nematode-*Pf*CHA0	93.0a	117.4bc	22.8a	2.43b	48.5a	169.2bc

اعداد میانگین پنج تکرار است. اعداد دارای حروف مشابه در هر ستون بر حسب آزمون دانکن در سطح ۵٪ اختلاف معنی‌داری ندارند. ۱- سوسپانسیون باکتری با غلظت 10^8cfu به میزان ۱۷/۱میلی‌لیتر در زمان برگرداندن کود سبز به خاک و ۵۱/۴ میلی‌لیتر ۴۸ ساعت قبل از مایه‌زنی نماتد؛ ۲- منداب.

Data are means of five replications. Values followed by the same letters in each columns are not significantly different (P = 0.05). 1- Bacterial suspension with 10^8cfu concentration, 17.1 ml at the time of adding the green manure to soil and 51.4 ml 48 hours before nematode inoculation.

جدول ۵. تأثیر کاربرد تلفیقی باکتری *Pseudomonas fluorescens* CHA0 (*Pf* CHA0)[1] و کود سبز منداب (۱۲ گرم/کیلوگرم خاک) بر شاخص‌های نماتد *Meloidogyne incognita* (دو تخم/گرم خاک؛ ۲٤۰۰۰ تخم/گلدان ۱۲ کیلوگرمی) در گیاه گوجه‌فرنگی (ارلی‌اربانا) در خاک مخلوط سترون و شرایط گلخانه‌ای.

Table 5. Effects of *Pseudomonas fluorescens* CHA0 (*Pf* CHA0)[1]and green manure of eruca (12 g/kg of soil) on the nematode indices of *Meloidogyne incognita* (2 eggs/g of soil; 24000 eggs/12 kg pot) in tomato plants (Early Urbana) and sterilized mixed soils, under greenhouse conditions.

Treatment	Egg masses /g of root	Galls /g of root	Galls/ root system	Gall index[2]	Eggs (x 10^2) /g of root	Eggs (x 10^3) /root system	Juveniles (x 10^3) /pot soil	Reproduction factor
Control[3]	337.4a	406.0a	18883a	5.0a	228.5a	1066.6a	190.5a	53.0a
*Pf*CHA0	184.8b	246.4b	12005ab	5.0a	131.5b	658.4a	44.8ab	29.8ab
Eruca[4]	146.4b	206.0b	8961b	5.0a	137.0b	558.3a	39.1ab	25.3b
Eruca-*Pf*CHA0	156.2b	193.2b	7747b	5.0a	102.3b	401.1a	31.6b	18.4b

اعداد میانگین پنج تکرار است.اعداد دارای حروف مشابه در هر ستون بر حسب آزمون دانکن در سطح ۱٪ اختلاف معنی‌داری ندارند. ۱- سوسپانسیون باکتری با غلظت 10^8cfu به میزان ۱۷/۱ میلی‌لیتر در زمان اضافه کردن کود سبز به خاک و ۵۱/۴ میلی‌لیتر ۴۸ ساعت قبل از مایه‌زنی نماتد ۲- روش تیلور و ساسر (۱۹۷۸)؛ ۳- گوجه‌فرنگی آلوده به نماتد و تیمار نشده؛ ۴- منداب.

Data are means of five replications. Values followed by the same letters in each columns are not significantly different (P = 0.01). 1- Bacterial suspension with 10^8cfu concentration, 17.1 ml at the time of adding the green manure to soil and 51.4 ml 48 hours before nematode inoculation; 2- Taylor & Sasser (1978) method; 3- Tomato plants infected by nematode, but not treated.

کاربرد تلفیقی باکتری و گیاهان بازدارنده بر فعالیّت نماتود ریشه‌گرهی و گوجه‌فرنگی آلوده به آن در خاک مخلوط سترون و خاک مزرعه غیرسترون

شاخص‌های رویشی گوجه‌فرنگی رقم ارلی‌اربانا: بین نتایج آزمایش در خاک مخلوط سترون و خاک مزرعه اختلاف وجود دارد. این اختلافات از قاعده معینی پیروی نمی‌کند. در غیاب نماتود، تیمارهای دارای کرچک یا منداب باعث افزایش اکثر شاخص‌های رویشی گیاه گوجه‌فرنگی شده‌اند. در حالی‌که تیمار بارهنگ-باکتری باعث کاهش همه شاخص‌ها و تیمار بارهنگ باعث کاهش اکثر شاخص‌های اندازه‌گیری شده گردیده است. میزان کاهش در خاک مزرعه به مراتب بیشتر از خاک مخلوط سترون است، به نحوی که تیمار بارهنگ-باکتری در خاک مزرعه باعث کاهش ۴۰/۸-۶۹/۳٪ و در خاک مخلوط سترون باعث کاهش ۱۲/۴٪-۲۸/۸٪ شاخص‌های مختلف شده است. این اختلاف می‌تواند مربوط به وجود میکروارگانیسم‌های مختلف در خاک مزرعه باشد چون خصوصیات خاک بر جامعه میکروبی خاک تاثیر دارد (Nilsson *et al.* 2007, Lauber *et al.* 2009, Fallah Nosratabad 2012) (جدول۲).

نتایج هر دو آزمون خاک سترون و خاک مزرعه نشان داد که کود سبز گل جعفری، کرچک و منداب باعث بهبود صفات رویشی گیاه گوجه‌فرنگی شده اما کود سبز بارهنگ نه تنها شاخص‌های گیاهی را افزایش نداده است بلکه باعث کاهش آنها نیز شده است. تأثیر مثبت منداب، کرچک و گل جعفری در بهبود شاخص‌های رشدی گیاه گوجه‌فرنگی در مطالعات دیگر نیز نشان داده شده است (Susan & Noweer 2005, Ritzinger & McSorley 1998). تأثیر منفی بارهنگ احتمالاً به دلیل اختلاف رقم گوجه‌فرنگی به کار برده شده و یا سن متفاوت بارهنگ (*Plantago major*) در زمان استفاده باشد. در تحقیقی نشان داده شده است کاردی (*P. lanceolata*) از یک طرف باعث کاهش جمعیت *Mesocriconema xenoplax* و از طرف دیگر باعث کاهش رشد نهال‌های هلو شده است (Whittington & Zehr 1992). احتمال دارد گیاهان جنس *Plantago* دارای ترکیبی باشند که به عنوان ممانعت‌کننده رشد برخی از گیاهان عمل می‌کند. در حضور نماتود، بارهنگ-باکتری نیز باعث کاهش اکثر شاخص‌های گیاهی اندازه‌گیری شده نسبت به شاهد گردیده است و تلفیق این دو نتوانسته است باعث بهبود تاثیر آنها بر شاخص‌های گیاهی شود (جدول۲).

تأثیر کم باکتری بر شاخص‌های رشدی گیاه در هر سه آزمون گلخانه‌ای با نتایج حاصل از تحقیق *اراقی اردبیلی و همکاران* (Oraghi Ardebili *et al.* 2011) متفاوت است. احتمال دارد شرایط محیطی و ترکیبات معدنی خاک مورد استفاده در آزمایش حاضر برای تولید متابولیت‌های باکتریایی که باعث بهبود صفات رویشی گیاه می‌شوند، مناسب نبوده است. زیرا باکتری‌های خاک به شدت تحت تاثیر واکنش خاک می باشند (Fierer & Jackson 2006, Hartman *et al.* 2008, Lauber *et al.* 2009). عامل دیگری که باعث این مغایرت شده است می‌تواند مربوط به کاربرد رقم متفاوت گوجه‌فرنگی در دو تحقیق باشد. اما نتایج آزمایش حاضر با مطالعه *کیل و همکاران* (Keel *et al.* 1992) تطابق دارد. آن‌ها در مطالعه نشان داده‌اند که جدایه باکتریایی CHA0 متابولیت ضد میکروبی ۲،۴-دی‌استیل‌فلوروگلوسینول تولید می‌کند که علاوه بر داشتن خاصیت ضد قارچی و ضد باکتریایی، فعالیت گیاه‌سوزی در گیاهان مختلف از جمله خیار و گوجه‌فرنگی دارد (Keel *et al.* 1992) (جدول۲).

شاخص‌های نماتود ریشه‌گرهی M. incognita: کود سبز گیاهان کرچک، منداب، بارهنگ و گل جعفری به

تنهایی و یا همراه با باکتری (جدایه CHA0) توانسته‌اند شاخص‌های نماتود را در هر دو خاک مخلوط سترون و غیرسترون مزرعه کاهش دهند. این کاهش با نتایج مطالعات قبلی تطابق دارد (Riga *et al.* 2005, Ferraz & Freitas 2004, Ferris & Zheng 1999). این کاهش در مورد تعداد گال و کیسه تخم/گرم ریشه، تعداد تخم در کل سیستم ریشه و فاکتور تولیدمثل در همه تیمارها نسبت به شاهد در سطح ۱٪ معنی‌دار شده است (جدول۳).

مایه‌زنی گیاهان آلوده به نماتود با جدایه *P. fluorescens* CHA0 باعث کاهش شاخص‌های نماتود *M. incognita* در اکثر تیمارها به خصوص در تیمارهای دارای کرچک شده است. این نتیجه با مطالعات قبلی تطابق دارد (Khan & Akram 2000، Siddiqui *et al.* 2007، Meena *et al.* 2011). این توانایی جدایه CHA0 در کنترل نماتود ریشه‌گرهی را می‌توان به نقش این باکتری در کاهش ترشحات ریشه برای جلب نماتود (Sikora & Hoffmann-Hergarten 1993)، تولید متابولیت‌های ضدمیکروبی ۲و۴-دی استیل فلوروگلوسینول و پیولوتئورین و سیانید که توسط این جدایه تولید می‌شود (Siddiqui & Shoukat 2003)، همچنین نقش این باکتری در القاء مقاومت سیستمیک در گوجه‌فرنگی علیه این نماتود با تجمع آنزیم‌های دفاعی مثل پلی‌فنل‌اکسیداز (PPO)، پرکسیداز (PO) و فنیل‌آلانین‌آمونیالیاز (PAL) نسبت داد (Meena *et al.* 2011) (جدول۳).

تأثیر کود سبز منداب و جدایه P. fluorescens CHA0 بر نماتود ریشه‌گرهی M. Incognita و گیاه گوجه‌فرنگی آلوده به آن در خاک سترون و شرایط گلخانه‌ای

استفاده از گلدان‌های ۱۲ کیلوگرمی در آزمایش امکان رشد بیشتر ریشه‌ها را فراهم کرده و نتایج حاصل از آزمایش به نتایج طبیعی نزدیک‌تر است. گیاه منداب یک تقویت‌کننده مناسب خاک است و در برخی از مناطق ایران از جمله استان یزد به عنوان کود سبز استفاده می‌شود (جدول۴).

استفاده از کود سبز منداب باعث کاهش معنی‌دار شاخص‌های نماتود نسبت به شاهد شده است. نتایج آزمون انجام شده در گلدان‌های ۱۲ کیلوگرمی با نتایج دو آزمون انجام شده در گلدان‌های ۳/۵ کیلوگرمی حاوی خاک مخلوط سترون و غیرسترون مزرعه، همچنین مطالعات قبلی تطابق دارد (Crow *et al.* 1996؛ Mojtahedi *et al.* 1991؛ Khan *et al.* 2001؛ Khalil *et al.* 2012؛ Siddiqui *et al.* 2007؛ Khan & Akram, 2000). با توجه به اینکه در این آزمون، تیمار تلفیقی منداب-باکتری نسبت به هر کدام از تیمارهای منداب و باکتری به تنهایی، تاثیر بیشتری در کاهش تعداد تخم/گرم و کل سیستم ریشه، تعداد گال و فاکتور تولیدمثل نماتود داشته است، بنابراین می‌توان چنین استنباط کرد که تلفیق این دو عامل توانسته است باعث افزایش اثر هر کدام به تنهایی شود. (جدول۴).

مقایسه شاخص گال و فاکتور تولیدمثل نماتود در آزمون‌های انجام شده

شاخص گال، به عنوان یکی از عوامل مهم ارزیابی فعالیت نماتودهای ریشه‌گرهی (Hussey & Janssen 2002, Taylor & Sasser 1978)، در همه آزمون‌های انجام شده در بالاترین سطح خود، یعنی شاخص پنج قرار داشته و اختلاف بین شاهد و تیمارها را نشان نمی‌دهد. تعیین شاخص گال در دمای مناسب ۲۴-۳۰ درجه سانتی‌گراد، معمولاً ۴۵ تا ۵۰ روز پس از مایه‌زنی نماتود صورت می‌گیرد، در حالی که در آزمون‌های انجام شده در گلدان‌های ۳/۵ و ۱۲ کیلوگرمی، به ترتیب ۶۰ و ۹۰ روز پس از مایه‌زنی صورت گرفته است.

بر خلاف شاخص گال، فاکتور تولیدمثل نماتود اختلاف بین تیمارهای مختلف و شاهد نشان داده است. مقادیر فاکتور تولیدمثل نماتود در تیمارهای مختلف به مراتب کمتر از شاهد است. این کاهش در مورد تیمارهای بارهنگ و بارهنگ-نماتود در گلدان‌های ۳/۵ کیلوگرمی حاوی خاک ضدعفونی شده بیش از ۹۰٪ و در خاک مزرعه بیش از ۹۵٪ است. اختلاف سایر تیمارها با شاهد در خاک ضدعفونی شده حداقل ۶۳٪ و در خاک مزرعه ۷۱٪ است. فاکتور تولیدمثل در شاهد با خاک مزرعه کمتر از خاک ضدعفونی شده است (۱۴/۶ در مقابل ۲۲/۵). با توجه به این‌که خاک استفاده شده از نظر مواد آلی ضعیف بوده است، لذا این اختلاف احتمالاً به دلیل میکروارگانیسم‌های موجود در خاک است که می‌توانند به صورت مستقیم و یا غیر مستقیم بر فعالیت نماتود تأثیر می‌گذارند. این میکروارگانیسم‌ها در زمان ضدعفونی خاک از بین رفته و یا جمعیت آن‌ها کاهش می‌یابد. فاکتور تولیدمثل نماتود در گلدان‌های ۱۲ کیلوگرمی و خاک ضدعفونی شده نیز تحت تأثیر تیمارها قرار گرفته است. تیمارهای منداب و باکتری به تنهایی و یا در تلفیق با یکدیگر توانسته‌اند میزان این شاخص را بین ۴۴ تا ۶۴/۵٪ کاهش دهند. بیشترین کاهش مربوط به تیمار منداب-باکتری است.

اختلاف دیگری که می‌توان جهت مقایسه تیمارها استفاده کرد، تعداد تخم موجود در هر کیسه تخم است. میانگین تعداد تخم در تیمارهای آزمایشی در خاک ضدعفونی شده ۳۶/۴ و در خاک مزرعه ۱۵/۰ است. در اینجا هم می‌توان اختلاف موجود در دو نوع خاک را به میکروارگانیسم‌های موجود در خاک مزرعه نسبت داد. این میکروارگانیسم‌ها در زمان ضدعفونی خاک از بین رفته و یا جمعیت آن‌ها کاهش می‌یابد. کمترین تعداد تخم/کیسه تخم در خاک ضدعفونی شده مربوط به تیمارهای بارهنگ، بارهنگ-باکتری و منداب است که مقادیر آنها بین ۸۲ تا ۸۵/۵٪ نسبت به شاهد کمتر است.

در خاک مزرعه هم وضعیت مشابهی وجود دارد منتها درصد کاهش آن نسبت به شاهد کم‌تر است. در گلدان‌های ۱۲ کیلوگرمی و خاک ضدعفونی شده میانگین تعداد تخم/کیسه تخم شاهد و تیمارهای مختلف ۷۱/۳ است که از میانگین گلدان‌های ۳/۵ کیلوگرمی بیشتر است. این اختلاف ممکن است به دو دلیل باشد:

۱- کامل شدن نسل‌های بیشتری پس از گذشت سه ماه. در گلدان‌های ۱۲ کیلوگرمی ۸۳/۱٪ گال‌های شاهد و به طور میانگین ۸۰/۸٪ گال‌های تیمارها دارای کیسه تخم بودند. در حالی‌که در گلدان‌های ۳/۵ کیلوگرمی تعداد قابل توجهی از گال‌ها فاقد کیسه تخم بودند و در خاک ضدعفونی شده فقط ۴۹/۲٪ گال‌های شاهد و به طور میانگین ۲۵/۲٪ گال‌های تیمارها دارای کیسه تخم بودند. همچنین در خاک مزرعه ۲۵/۴٪ گال‌های شاهد و به طور میانگین ۲۰/۰٪ گال‌های تیمارها دارای کیسه تخم بودند.

۲- کاهش تأثیر تیمارها با گذشت زمان و ضرورت اضافه کردن مجدد گیاه بازدارنده به خاک.

با توجه به موارد فوق لازم است در ارزیابی تیمارهایی که به منظور کاهش خسارت نماتودهای ریشه‌گرهی در آزمایشات مختلف مورد مطالعه قرار می‌گیرند، علاوه بر شاخص گال، فاکتور تولیدمثل و تعداد تخم در هر کیسه تخم نیز مورد نظر قرار گیرد.

منابع

Akhiani A., Mojtahedi H. and Naderi A. 1984. Species and physiological races of root-knot nematodes in Iran. Iranian Journal of Plant Pathology 20: 15-17 [57-70] (in Persian with English summary).

Akhtar M. and Mahmood I. 1994. Prophylactic and therapeutic use of oil cakes and leaves of neem and castor extracts for control of root-knot nematode on chilli. Nematologia Mediterranea 22: 127-129.

Akhtar M. and Malik A. 2000. Roles of organic soil amendments and soil organisms in the biological control of plant-parasitic nematodes: a review. Bioresource Technology 74: 35-47.

Bakker J., Gommers F. J., Niewenhuis I. and Wynberg H. 1979. Photoactivation of the nematicidal compound alpha-terthienyl from roots of marigolds (*Tagetes* species): A possible singlet oxygen role. Journal of Biology and Chemistry 254: 1841-1844.

Crow W. T., Guertal E. A. and Rodríguez-Kábana R. 1996. Responses of *Meloidogyne arenaria* and *M. incognita* to green manures and supplemental urea in glasshouse culture. Supplement to Journal of Nematology 28: 648-654.

Eisenback J. D. and Triantaphyllou H. H. 1991. Root-knot nematodes: *Meloidogyne* species and races, pp: 191-274. In: W. R. Nickle (ed.). Manual of agricultural nematology. Marcel Dekker, Inc., USA.

Eloff J. N. 1998. A sensitive and quick microplate method to determine the minimal inhibitory concentration of plant extracts for bacteria. Planta Medica 64: 711-713.

Fallah Nosratabad A. R. 2013. Evaluation of relationships between soil properties and total bacteria and fungi in soils of Guilan. Soil Management and Sustainable Production 2(2): 49-68.

Fatema S. and Ahmad M. U. 2005.Comparative efficacy of some organic amendments and a nematicide (Furadan-3G) against root-knot on two local varieties of groundnut. Plant Pathology Journal 4: 54-57.

Ferraz S. and Freitas L.G. 2004. Use of antagonistic plants and natural products, pp: 931-977. In: Z. X. Chen, S. Y. Chen, and D. W. Dickson (Eds). Nematology advancesand perspectives.Volume 2: Nematode management and utilization. CABIPublishing, Wallingford, UK.

Ferris H. and Zheng L. 1999. Plant sources of Chinese herbal remedies: Effects on *Pratylenchus vulnus* and *Meloidogyne javanica*. Journal of Nematology 31: 241–263.

Fierer N. and Jackson R. B. 2006. The diversity and biogeography of soil bacterial communities. Proceedings of the National Academy of Sciences of USA, PNAS 103: 626-631.

Ganeshan G. and Kumar M. 2005. *Pseudomonas fluorescens*, a potential bacterial antagonist to control plant diseases. Journal of Plant Interactions 1: 123-134.

Haas D. and Defago G. 2005. Biological control of soil-borne pathogens by fluorescent pseudomonads. National Review of Microbiology 3: 307–319.

Hartman W. H., Richardson C. J., Vilgalys R. and Bruland G. L. 2008. Environmental and anthropogenic control of bacterial communities in wetland soils. Proceedings of the National. Academy of Sciences of USA, PNAS 105: 17842-17847.

Hoseinpoor R. 2010. Investigation of plant extracts against root-knot nematodes *Meloidogyne incognita* in greenhouse condition. M.Sc. Thesis, Shiraz University, 149 p.

Hussey R. S. and Janssen G. J. W. 2002. Root knot nematode: *Meloidogyne* species, pp: 43-70. In: J. L. Starr, R. Cook and J. Bridge (eds). Plant resistance to parasitic nematodes. CAB International. UK.

Joymati L., Dhanachand Ch. and Devi L. S. 1998. Effect of plants extracts on *Meloidogyne incognita*. Indian Journal of Nematology 28: 225-230.

Keel C., Schnider U., Maurhofer M., Voisard C., Laville J., Burger U., Wirthner P., Haas D. and Défago G. 1992. Suppression of root diseases by *Pseudomonas fluorescens* CHA0: Importance of the bacterial secondary metabolite 2 ,4-diacetylphloroglucinol. Molecular Plant-Microbe Interaction 5: 4-13.

Khalil M. S. E.-D. H., Allam A. F. G. and Barakat A. S. T. 2012. Nematicidal activity of some biopesticide againts and microorganisms against root-knot nematode on tomato plants undergreenhouse conditions. Journal of Plant Protection Research 52: 47-52.

Khan M. R. and Akram M. 2000. Effect of certain antagonistic fungi and rhizobacteria on wilt disease complex of tomato caused by *Meloidogyne incognita* and *Fusarium oxysporum* f. sp. *lycopersici*. Nematologia

Mediterranea 28: 139-141.
Kimpinski J., Arsenault W. J., Gallant C. E. and Sanderson J. B. 2000. The effect of marigolds (*Tagetes* spp.) and other cover crops on *Pratylenchus penetrans* and on following potato crops. Journal of Nematology 32: 531-536.
Krueger R., Dover K. E., McSorley K. and Wang H. 2013. Marigolds (*Tagetes* spp.) for nematode management. Entomology & Nematology Department, Florida Cooperative Extension Service, Institute of Food and Agricultural Sciences, University of Florida, ENY-056, 8 p.
Lauber C. L., Hamady M., Knight R. and Fierer N. 2009. Pyrosequencing-based assessment of soil pH as a predictor of soil bacterial community structure at the continental scale. Applied and Environmental Microbiology 75: 5111-5120.
Lin T. T. S. and Li S. S. L. 1980. Purification and physiochemical properties of ricins and agglutinins from *Ricinus communis*. European Journal of Biochemistry 105: 453-459.
Lis H. and Sharon N. 1973. The biochemistry of plant lectins (phytohemagglutinins). Annual Review of Biochemistry 42: 541-574.
Meena K. S., Jonathan E. I. and Kavitha P. G. 2011. Systemic resistance in tomato against *Meloidogyne incognita* induced by plant growth promoting *Rhizobacterium*, *Pseudomonas fluorescens*. Madras Agricultural Journal 98: 255-257.
Meyer S. L. F., Zasada I. A., Roberts D. P., Vinyard B. T., Lakshman D. K., Lee J. -K., Chitwood D. J. and Carta L. K. 2006. *Plantago lanceolata* and *Plantago rugelii* extracts are toxic to *Meloidogyne incognita* but not to certain microbes. Journal of Nematology 38: 333–338.
Mojtahedi H., Santo G. S., Hang A. N. and Wilson J. H. 1991. Suppression of root-knot nematode populations with selected rapeseed cultivars as green manure. Journal of Nematology 23: 170-174.
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.
Nilsson L. O., Bååth E., Falkengren-Grerup U. and Wallander H. 2007. Growth of ectomycorrhizal mycelia and composition of soil microbial communities in oak forest soils along a nitrogen deposition gradient. Oecologia 153: 375-384.
Oraghi Ardebili Z., Oraghi Ardebili N. and Hamdi, S. M. M. 2011. Physiological effects of *Pseudomonas fluorescens* CHA0 on tomato (*Lycopersicon esculentum* Mill.) plants and its possible impact on *Fusarium oxysporum* f. sp. *lycopersici*. Australian Journal of Crop Science 5: 1631-1638.
Pakeerathan K., Mikunthan G. and Tharshani N. 2009. Eco-friendly management of root-knot nematode *Meloidogyne incognita* (Kofid & White) Chitwood using different green leaf manures on tomato under field conditions. American-Eurasian Journal of Agriculture Environment Science 6: 494-497.
Ploeg A. T. 1999. Greenhouse studies on the effect of marigolds (*Tagetes* spp.) on four *Meloidogyne* species. Journal of Nematology 31: 62-69.
Rich J. R., Rahi G. S., Opperman C. H. and Davis E. L. 1989. Influence of the castor bean (*Ricinus communis*) lectin (Risin) on motility of *Meloidogyne incognita*. Nematropica 19: 99-103.
Riga E., Hooper C. and Potter J. 2005. *In vitro* effect of marigold seed exudates on plant parasitic nematodes. Phytoprotection 86: 31-35.
Sharma N. and Trivedi P. C. 2002. Screening of leaf extracts of some plants for their nematicidal and fungicidal properties against *Meloidogyne incognita* and *Fusarium oxysporum*. Asian Journal of Experimental Sciences 16: 21-28.
Siddiqui I. A. and Shaukat S. S. 2002. Rhizobacteria-mediated induction of systemic resistance (ISR) in tomato against *Meloidogyne javanica*. Journal of Phatology 150: 469-473.
Siddiqui I. A. and Shaukat S. S. 2003. Suppression of root-knot disease by *Pseudomonas fluorescens* CHA0 in tomato: importance of bacterial secondary metabolite 2,4-diacetylpholoroglucinol. Soil Biology and Biochemistry 35: 1615-1623.
Siddiqui Z. A., Baghel G. and Akhtar M. 2007. Biocontrol of *Meloidogyne javanica* by *Rhizobium* and plant growth-promoting rhizobactera on lentil. World Journal of Microbiology and Biotechnology 23: 435-441.
Sikora R. A. and Frenández E. 2005. Nematode parasites of vegetables, pp: 319-392. In: M. Luc, R. A. Sikora and

J. Bridge (eds). Plant parasitic nematodes in subtropical and tropical agriculture.CABI Publishing.

Sikora R. A. and Hoffmann-Hergarten S. 1993. Biological control of plant-parasitic nematodes with plant–health promoting rhizobacteria, pp. 166-172. In: R. D. Lumsden and J. L. Vaughn (eds). Pest management: Biologically based technologies. American Chemical Society, Washington, DC.

Sipes B. S. and Arakaki A. S. 1997. Root-knot nematode management in dryland taro with tropical cover crops. Journal of Nematology 29: 721-724.

Susan A. H. and Noweer E. M. A. 2005. Management of root-knot nematode *Meloidogyne incognita* on eggplant with some plant extracts. Egyptian Journal of Phytopathology 33: 65-72.

Taylor A. L. and Sasser J. N. 1978. Biology, identification and control of root-knot Nematodes (*Meloidogyne* species). North Carolina State University Graphics, Norrth Carlina, USA.111 p.

Viaene N. M. and Abawi G. S. 1998. Management of *Meloidogyne hapla* on lettuce in organic soil with sudangrass as a cover crop. Plant Disease 82: 945-952.

Whittington D. P. and Zehr E. I. 1992. Populations of *Criconemella xenoplax* on peach interplanted with certain herbaceous plants. Supplement to the Journal of Nematology 24: 688-692.

Williamson V. M. 1998. Root-knot nematodes resistance genes in tomato and their potential for future use. Annual Review of Phytopathology 36: 277-293.

Youssef M. M. A. and Amin W. A. 1997. Effect of soil amendment in the control of *Meloidogyne javanica* and *Rotylenchulus reniformis* infection on cowpea. Pakistan Journal of Nematology 15: 55-63.

Youssef M. M. A., Ahlam M. G. and El-Nagdi M. A. N. 2015. Evaluation of some commercial bacterial biofertilizers and isolates against root knot nematode, *Meloidogyne incognita* infesting green bean, *Phaseolus vulgaris*. Scientia Agriculturae 10: 49-54.

Zakaria H. M., Kassab A. S., Shamseldean M. M., Oraby M. M. and El-Mourshedy M. M. F. 2013. Controlling the root-knot nematode, *Meloidogyne incognita* in cucumber plants using some soil bioagents and some amendments under simulated field condition. Annals of Agricultural Science 58: 77-82.

Zandieh Shirazi L. 2008. Investigation of plant extracts against two important species of root-knot nematodes *Meloidogyne javanica* & *M. incognita* in greenhouse condition. M.Sc. Thesis, Shiraz University, Iran, 131 p.