مقاله پژوهشی DOI:10.22034/ijon.2022.24928

تأثیر کودهای زیستی حاوی باکتری‌های تثبیت کننده نیتروژن و *Trichoderma harzianum* در کاهش سطوح مختلف جمعیت اولیه *Meloidogyne javanica* در گوجه‌فرنگی در شرایط گلخانه

حدیث کاوسی، حبیب‌اله چاره‌گانی✉ و فریبا قادری
گروه گیاهپزشکی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه یاسوج، یاسوج
✉پست الکترونیکی مسئول مکاتبات: h.charehgani@yu.ac.ir

دریافت: ۱۳۹۹/۱۱/۰۲ بازنگری: ۱۴۰۰/۱۰/۱۹ پذیرش: ۱۴۰۰/۱۰/۲۸

چکیده

نماتدهای ریشه‌گرهی (*Meloidogyne* spp.) یک تهدید عمده برای تولید محصولات مختلف کشاورزی در سراسر جهان می‌باشند. به دلیل سمیت بالای نماتدکش‌های شیمیایی، توسعه راهبردهای دوست‌دار محیط زیست مانند مهار زیستی برای کنترل این نماتدها ضروری است. در این مطالعه، گیاهچه‌های گوجه‌فرنگی در مرحله چهار برگی با ۲۰۰۰، ۴۰۰۰ و ۸۰۰۰ تخم و لارو سن دوم *M. javanica* مایه‌زنی شدند. پس از گذشت ۲۴ ساعت از مایه‌زنی نماتد، ۵۰ میلی‌لیتر از بایوفارم و تریکوران-پی (کودهای زیستی) و نماتدکش ترویگو (شاهد مثبت) به ترتیب در غلظت‌های۳، ۰/۵ و ۰/۴ درصد حجمی-حجمی به صورت خیساندن خاک برای تیمار به گلدان‌ها اضافه شد. آزمایش به صورت فاکتوریل در قالب طرح کاملاً تصادفی با پنج تکرار انجام گردید. شصت روز پس از مایه‌زنی نماتد، بررسی نتایج نشان داد که طول، وزن تر و خشک شاخساره در گیاهان آلوده به ۸۰۰۰ تخم و لارو سن دوم نماتد/گلدان، در گیاهان تیمار شده با ترویگو به ترتیب ۲۰، ۱۲ و ۱۳ درصد، در گیاهان تیمار شده با بیوفارم به ترتیب ۱۳، ۱۶ و ۱۸ درصد و در گیاهان تیمار شده با تریکوران-پی به ترتیب ۱۷، ۸ و ۲۱ درصد نسبت به شاهد افزایش نشان داد. فاکتور تولیدمثل در گیاهان آلوده به ۲۰۰۰، ۴۰۰۰ و ۸۰۰۰ تخم و لارو سن دوم نماتد/گلدان، در گیاهان تیمار شده با ترویگو به ترتیب ۸۳، ۸۴ و ۸۵ درصد، در گیاهان تیمار شده با بیوفارم به ترتیب ۴۴، ۳۶ و ۵۱ درصد و در گیاهان تیمار شده با تریکوران-پی به ترتیب ۴۴، ۳۷ و ۴۶ درصد نسبت به شاهد کاهش نشان داد.

واژه‌های کلیدی: بیوفارم، ترویگو، تریکوران-پی، نماتد ریشه‌گرهی

Effect of biofertilizers containing N fixer bacteria and *Trichoderma harzianum* in the reduction of different initial population densities of *Meloidogyne javanica* in tomato under greenhouse conditions

Hadis Kavosi, Habiballah Charehgani ✉and Fariba Ghaderi

Department of Plant Protection, College of Agriculture, Yasouj University, Yasouj, Iran
✉ Corresponding author E-mail: h.charehgani@yu.ac.ir

Received: 2021/01/21 Revised: 2022/01/09 Accepted: 2022/01/18

Abstract

Root-knot nematodes (*Meloidogyne* spp.) represent a major threat to the agricultural production of different crops worldwide. Due to the high toxicity of chemical nematicides, it is necessary to develop eco-friendly management strategies such as biological control against root-knot nematodes. In the present study, four-leaf stage seedlings of tomato were inoculated with 2000, 4000 and 8000 eggs and second stage juveniles (J2s) of *M. javanica*. Twenty-four hours after nematode inoculation, 50 ml of Biofarm and Trichorun-P (biofertilizers) and Tervigo® (positive control) were added at the rates of 3, 0.5 and 0.4 % (v/v), as soil drench. The experiments were subjected to a factorial analysis of variance in a completely randomized design with five replications. Sixty days after nematode inoculation, results showed that the shoot length, shoot fresh weight and shoot dry weight of the plants inoculated with 8000 eggs and J2s/pot increased by 20, 12 and 13 % after the application of Tervigo®, 13, 16 and 18 % after the application of Biofarm and 17, 8 and 21 % after the application of Trichorun-P, respectively, as compared to the control treatment. The nematode reproduction factor on the plants inoculated with 2000, 4000 and 8000 eggs and J2s/pot was decreased by 83, 84 and 85 % after the application of Tervigo®, 44, 36 and 51 % after the application of Biofarm and 44, 37 and 46 % after the application of Trichorun-P, respectively, in comparison with the control treatment.

Key words: Biofarm, root-knot nematode, tervigo, trichorun-P

How to cite: Kavosi, H., Charehgani, H. & Ghaderi, F. 2022**.** Effect of biofertilizers containing N fixer bacteria and *Trichoderma harzianum* in the reduction of different initial population densities of *Meloidogyne javanica* in tomato under greenhouse conditions. Iranian Journal of Nematology 1(1), 1-12.

مقدمه

نماتدهای ریشه‌گرهی متعلق به جنس *Meloidogyne* Goeldi 1887 به دلیل دامنه میزبانی بالا، انتشار وسیع جغرافیایی و ایجاد خسارت شدید روی گیاهان به عنوان خطرناک‌ترین نماتدهای انگل گیاهی شناخته می‌شوند (Natarajan *et al*. 2006). به طور کلی مهار نماتدهای ریشه‌گرهی به دلیل چرخه زندگی کوتاه، تولیدمثل زیاد و نیز انگل داخلی بودن دشوار می‌باشد (Manzanilla-Lopez *et al*. 2004). از جمله روش‌های کنترل این نماتدها استفاده از تناوب زراعی، کشت ارقام مقاوم، آفتاب‌دهی خاک و بهره‌گیری از سموم شیمیایی است (Chitwood 2002). امروزه استفاده از نماتدکش‌های شیمیایی به دلیل خطرات زیست‌محیطی محدود شده اما این روش همچنان به عنوان موثرترین روش برای کاهش خسارت نماتدهای ریشه‌گرهی مورد توجه کشاورزان می‌باشد (Khalil & Darwesh 2018). استفاده از سطوح مناسب عناصر مورد نیاز به عنوان کود شیمیایی باعث افزایش محصول و احتمالاً کاهش میزان خسارت نماتدهای ریشه‌گرهی به صورت مستقیم با کاهش فاکتور تولیدمثل نماتد و یا به طور غیرمستقیم از طریق افزایش سطح تحمل گیاه و ایجاد مقاومت نسبت به نماتد در خاک‌های آلوده خواهد گردید (Ramazani *et al*. 2013). کشاورزان همواره با مصرف بیش از حد کودهای شیمیایی به دنبال افزایش میزان محصول هستند (Sturz & Christie 2003) که اغلب این کودها گران قیمت بوده و در مواردی حتی به بافت و ساختمان و نیز میکروارگانیسم‌های مفید خاک آسیب وارد می‌کنند (Jana *et al*. 2001). از این‌رو محققان به دنبال تولید کودهایی هستند که مواد غذایی مورد نیاز گیاه را به طور مستمر و بدون تلفات در اختیار گیاه قرار دهند (Jagadeeswaran *et al*. 2005). استفاده از کودهای زیستی یکی از راهکارهای مؤثر برای حل مشکلات کودهای شیمیایی سنتی می‌باشد (Sturz & Christie 2003). این کودها ۱۰-۴۰ درصد میزان محصول را افزایش داده و سبب تثبیت زیستی نیتروژن به میزان ۴۰ -۵۰ درصد در خاک‌ها هم می‌شوند (Youssef & Eissa 2014). جایگزینی نماتدکش‌های شیمیایی با کودهای زیستی می‌تواند به عنوان یک مدیریت موفق نماتد *M. javanica* در گیاه گوجه‌فرنگی مد نظر باشد (Hemmati & Saeedizadeh 2019). موفقیت در کنترل بیماری‌های گیاهی همراه با سلامت محیط زیست توانسته مهار زیستی را یکی از مقبول‌ترین روش‌های مدیریت بیماری‌ها در مبارزه‌ی تلفیقی بیماری‌های گیاهی معرفی نماید (Janisiewicz *et al*. 2001). آنتاگونیست‌های قارچی مانند *Trichoderma harzianum* Rifai (1969) (Pourkhajeh *et al*. 2019; Sahebani & Hadavi 2008) و باکتری‌های افزایش دهنده رشد گیاه (Plant Growth Promoting Rhizobacteria) (Mosahaneh *et al*. 2020; Moazezikho *et al*. 2020; Dehghanian *et al*. 2020) به صورت چشم‌گیری برای کنترل دامنه وسیعی از ریزموجودات بیمارگر از جمله نماتدهای انگل گیاهی به کار برده می‌شوند. کودهای زیستی شامل باکتری‌ها و یا قارچ‌های مفید و آزادزی هستند (Wu *et al*. 2005) که با استفاده از مکانیسم‌های مختلف از جمله تثبیت زیستی نیتروژن، تبدیل یون‌های آهن، پتاسیم و فسفات از فرم غیرقابل مصرف به فرم قابل مصرف برای گیاه (Rajendran & Devaraj 2004) و کاهش بیماری‌های گیاه و بهبود ساختمان خاک موجب بهبود شرایط کیفی و کمی محصول می‌گردند (Han *et al*. 2006).

در راستای اجرای کشاورزی پایدار و کاهش آلودگی محیط زیست، این پژوهش با هدف بررسی تأثیر کودهای زیستی بایوفارم و تریکوران-پی بر گوجه‌فرنگی آلوده به *M. javanica* و مقایسه اثر آن‌ها با نماتدکش ترویگو در شرایط گلخانه‌ای انجام شد.

مواد و روش‌ها

تهیه نماتد

گیاهان گوجه‌فرنگی آلوده به نماتد دارای علائم زردی، پژمردگی و گال بر روی ریشه از گلخانه‌ها و مزارع آلوده در استان کهگیلویه و بویراحمد جمع‌آوری و به آزمایشگاه تحقیقاتی گروه گیاهپزشکی دانشگاه یاسوج، منتقل گردید. ریشه گیاهان آلوده با آب کاملاً شسته شدند. قسمتی از ریشه دارای تک گال و توده تخم منفرد (single egg mass) با اسکالپل جداسازی و ضدعفونی سطحی گردید. هر گال به صورت جدا درون لوله فالکون حاوی محلول هیپوکلریت سدیم ۰/۵ درصد به مدت ۴-۳ دقیقه تکان داده شد تا به طور کامل ضدعفونی و ماده ژلاتینی اطراف تخم‌ها حل شده و تخم‌ها آزاد شوند. سپس بلافاصله سوسپانسیون تخم را بر روی الک ۵۰۰ مش با آب شست و شو داده شد تا هیپوکلریت سدیم اضافی کاملاً حذف گردد. محتویات روی الک جمع‌آوری و به اطراف ریشه گیاه گوجه‌فرنگی رقم ارلی-اوربانا (Early-Urbana) در مرحله سه برگی مایه‌زنی گردید. این گیاهان در گلدان‌های یک کیلوگرمی حاوی نسبت مساوی از خاک مزرعه، ماسه و کود

حیوانی سترون شده با بخار آب، کشت شده و در گلخانه (۴ ± ۲۷ درجه سانتی‌گراد و تناوب نوری ۱۶ ساعت روشنایی و ۸ ساعت تاریکی) نگهداری شدند. مایه‌زنی به این صورت انجام شد که سه حفره به عمق تقریباً دو سانتی‌متر در خاک گلدان اطراف ریشه گیاه ایجاد و سوسپانسیون تخم در آن‌ها ریخته و با خاک پوشانده شدند. آبیاری گیاهان به طور منظم انجام و به مدت ۶۰ روز پس از مایه‌زنی نماتد در گلخانه نگهداری شدند. به این صورت نماتد خالص‌سازی شد و برای به دست آوردن جمعیت بیشتر روی گیاه گوجه‌فرنگی رقم ارلی-اوربانا به‌طور متوالی تکثیر گردید (Hussey & Barker 1973). گونه‌ی نماتد با استفاده از نقوش کوتیکولی ناحیه‌ی پیرامون مخرج نماتد ماده (Perineal pattern) و بر اساس کلیدهای رایج شناسایی گردید (Jepson 1987).

مطالعات گلخانه‌ای

گیاهچه‌ها در مرحله چهار برگی با سه سطح جمعیت اولیه *M. javanica* شامل ۲۰۰۰، ۴۰۰۰ و ۸۰۰۰ تخم و لارو سن دوم/گلدان مایه‌زنی شدند. یک روز پس از مایه‌زنی نماتد، ۵۰ میلی‌لیتر کودهای زیستی بایوفارم و تریکوران-پی ساخت شرکت بیوران به ترتیب در غلظت‌های۳ و ۰/۵ درصد حجمی-حجمی (بر اساس توصیه سازنده) به صورت خیساندن خاک به گلدان‌ها تیمار شد. از نماتدکش شیمیایی آبامکتین با نام تجاری Tervigo® (2% SC) در غلظت ۰/۴ درصد حجمی-حجمی به عنوان کنترل مثبت استفاده شد. آزمایش به صورت فاکتوریل با دو فاکتور کودهای زیستی و سطوح مختلف جمعیت اولیه نماتد در قالب طرح کاملاً تصادفی با پنج تکرار برای هر تیمار انجام گردید. گیاهان داخل گلدان‌ها ۶۰ روز پس از مایه‌زنی با نماتد برداشت و شاخص‌های رویشی (طول، وزن تر و خشک شاخساره و وزن تر ریشه) و شاخص‌های جمعیتی نماتد (تعداد تخم، گال و توده تخم در ریشه و تعداد لارو سن دوم در خاک) بررسی شدند. برای این منظور، قسمت هوایی گیاه از ریشه جدا گردید و با متر اندازه‌گیری و درون پاکت کاغذی قرار داده شد. وزن تر شاخساره توسط ترازوی دیجیتال (AND EK-300i) با دقت ۰/۰۰۱ گرم اندازه گیری شد، سپس به مدت ۴۸ ساعت درون آون (Universal UF110) با دمای ۷۰ درجه سانتی‌گراد نگهداری و بعد از آن، وزن خشک شاخساره اندازه‌گیری شد. ریشه‌ها به آرامی از خاک خارج و شستشو گردید. رطوبت سطحی ریشه‌ها با دستمال کاغذی گرفته و توزین شد.

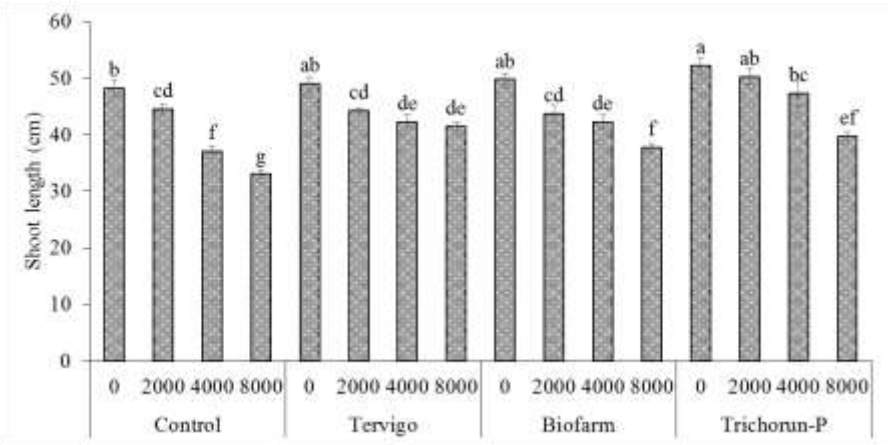
ریشه‌های آلوده به نماتد به قطعات یک سانتی‌متری تقسیم و به خوبی مخلوط شدند تا یکنواخت گردند. به منظور شمارش تعداد تخم در سیستم ریشه، یک گرم از ریشه‌ها به طور تصادفی داخل مخلوط‌کن برقی حاوی محلول هیپوکلریت سدیم ۰/۵ درصد به مدت ۳۰ ثانیه مخلوط شد. محتویات مخلوط‌کن روی الک ۲۰۰ مش که بر روی الک ۵۰۰ مش قرار داشت، ریخته و با آب شسته شد. به این ترتیب، بقایای گیاهی موجود روی الک ۲۰۰ مش باقی‌مانده و تخم‌ها روی الک ۵۰۰ مش جمع‌آوری شدند. در نهایت تخم‌های روی الک ۵۰۰ مش با آبفشان شسته شده و درون بشری با حجم مشخص منتقل گردید. سپس تعداد تخم نماتد در یک میلی‌لیتر سوسپانسیون، در زیر استرئومیکروسکوپ (40X) شمارش شد. در نهایت با ضرب کردن میانگین تعداد تخم در یک میلی‌لیتر، در حجم محلول پایه، تعداد تخم در محلول پایه تعیین گردید (Hussey & Barker 1973). به منظور شمارش تعداد گال و توده تخم در ریشه، یک گرم ریشه با استفاده از محلول اسید فوشین ۰/۱ درصد رنگ‌آمیزی و با استفاده از استرئومیکروسکوپ (40X) شمارش شد. در نهایت با ضرب کردن میانگین تعداد گال و توده تخم در یک گرم ریشه در وزن ریشه، تعداد گال و توده تخم در سیستم ریشه تعیین گردید (Hussey & Janssen 2002). به منظور شمارش تعداد لارو سن دوم در کل خاک، پس از مخلوط کردن کامل خاک هر گلدان، تعداد لارو سن دوم نماتد در ۱۰۰ گرم خاک با استفاده از روش سینی (Whitehead & Hemming 1965) استخراج و به کمک استرئومیکروسکوپ (40X) شمارش شدند. در نهایت با ۱۰ برابر کردن تعداد لارو سن دوم در ۱۰۰ گرم خاک، تعداد لارو سن دوم در گلدان مشخص گردید. با جمع نمودن تعداد نماتد در ریشه و خاک، جمعیت نهایی نماتد مشخص شد و با تقسیم عدد حاصل بر جمعیت اولیه نماتد، فاکتور تولیدمثل محاسبه گردید (Taylor & Sasser 1978).

محاسبات آماری

آزمایش به صورت فاکتوریل در قالب طرح کاملاً تصادفی با پنج تکرار برای هر تیمار انجام شد. داده‌ها به روش آنالیز واریانس دو طرفه (Two-Way ANOVA) با استفاده از نرم‌افزار آماری SAS 9.1 و مقایسه میانگین‌ها با استفاده از روش دانکن در سطح یک درصد انجام شد.

نتایج

نتایج نشان داد که میانگین طول شاخساره گیاهان آلوده به ۲۰۰۰ تخم و لارو سن دوم نماتد/گلدان تیمار شده با ترویگو و بیوفارم اختلاف معنی‌داری با گیاهان شاهد آلوده به ۲۰۰۰ تخم و لارو سن دوم نماتد/گلدان نداشت، اما در گیاهان تیمار شده با تریکوران-پی به طور معنی‌داری از گیاهان شاهد آلوده به ۲۰۰۰ تخم و لارو سن دوم نماتد/گلدان بیشتر بود. میانگین طول شاخساره گیاهان آلوده به ۴۰۰۰ تخم و لارو سن دوم نماتد/گلدان در تمام تیمارها به طور معنی‌داری از گیاهان شاهد آلوده به ۴۰۰۰ تخم نماتد/گلدان بیشتر بود. نتایج مشابهی در گیاهان آلوده به ۸۰۰۰ تخم و لارو سن دوم نماتد/گلدان مشاهده شد (شکل ۱).



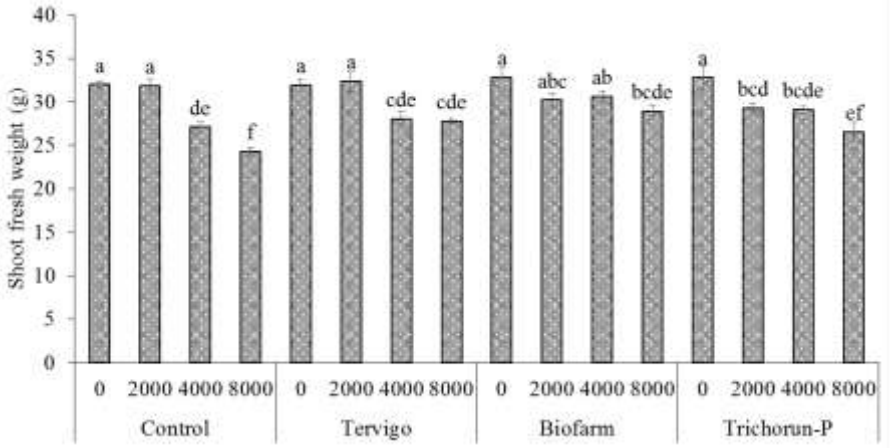
شکل ۱. میانگین طول شاخساره گیاهان گوجه‌فرنگی آلوده به سطوح ۲۰۰۰، ۴۰۰۰ و ۸۰۰۰ تخم و لارو سن دوم *Meloidogyne javanica* و تیمار شده با ترویگو، بیوفارم و تریکوران-پی، ۶۰ روز بعد از مایه‌زنی با نماتد در شرایط گلخانه. هر تیمار دارای پنج تکرار می‌باشد. میانگین‌هایی که دارای حرف مشترک بر اساس مقایسه میانگین به روش چند دامنه‌ای دانکن هستند، تفاوت معنی‌داری در سطح ۱٪ ندارند. داده‌ها نشان دهنده میانگین ± خطای استاندارد می‌باشد.

Fig. 1. Mean shoot length of tomato plants inoculated with 2000, 4000 and 8000 eggs and second stage juveniles of *Meloidogyne javanica* and treated with Tervigo, Biofarm and Trichoran-P, 60 days after nematode inoculation under greenhouse conditions. Each treatment had five replications. Means with the same letter are not significantly different at 1% level based on Duncan Multiple Range Test. Data are presented as the mean ± standard error.

میانگین وزن تر شاخساره گیاهان آلوده به ۲۰۰۰ تخم و لارو سن دوم نماتد/گلدان تیمار شده با بیوفارم و ترویگو اختلاف معنی‌داری با گیاهان شاهد سالم نداشتند. میانگین وزن تر شاخساره گیاهان آلوده به ۴۰۰۰ تخم و لارو سن دوم نماتد/گلدان تیمار شده با بیوفارم به طور معنی‌داری از گیاهان تیمار شده با ترویگو و شاهد آلوده به ۴۰۰۰ تخم و لارو سن دوم نماتد/گلدان بیشتر بود. تفاوت معنی‌داری بین میانگین وزن تر شاخساره در گیاهان تیمار شده با ترویگو، تریکوران-پی و شاهد آلوده به ۴۰۰۰ تخم نماتد/گلدان مشاهده نشد. میانگین وزن تر شاخساره گیاهان آلوده به ۸۰۰۰ تخم و لارو سن دوم نماتد/گلدان تیمار شده با ترویگو و بیوفارم به طور معنی‌داری از گیاهان شاهد آلوده به ۸۰۰۰ تخم و لارو سن دوم نماتد/گلدان بیشتر بود، اما تفاوت معنی‌داری بین میانگین وزن تر شاخساره در گیاهان تیمار شده با تریکوران-پی و شاهد آلوده به ۸۰۰۰ تخم و لارو سن دوم نماتد/گلدان مشاهده نشد (شکل ۲). میانگین وزن خشک شاخساره در گیاهان آلوده به ۲۰۰۰ تخم و لارو سن دوم نماتد/گلدان تیمار شده با بیوفارم، ترویگو و تریکوران-پی به طور معنی‌داری از میانگین وزن خشک شاخساره در گیاهان شاهد آلوده به ۲۰۰۰ تخم و لارو سن دوم نماتد/گلدان بیشتر بود. میانگین وزن خشک شاخساره در گیاهان آلوده به ۴۰۰۰ تخم و لارو سن دوم نماتد/گلدان تیمار شده با بیوفارم و تریکوران-پی به طور معنی‌داری از میانگین وزن خشک شاخساره در گیاهان شاهد آلوده به ۴۰۰۰ تخم و لارو سن دوم نماتد/گلدان بیشتر بود. میانگین وزن خشک شاخساره در گیاهان آلوده به ۸۰۰۰ تخم و لارو سن دوم نماتد/گلدان تیمار شده با بیوفارم، ترویگو و تریکوران-پی به طور معنی‌داری از میانگین وزن خشک شاخساره در گیاهان شاهد آلوده به ۸۰۰۰ تخم و لارو سن دوم نماتد/گلدان بیشتر

بود (شکل ۳). میانگین وزن تر ریشه در گیاهان آلوده به نماتد تیمار شده با تریکوران-پی و بیوفارم با گیاهان سالم در همان تیمارها اختلاف معنی‌داری نداشتند. میانگین وزن تر ریشه در گیاهان آلوده به ۲۰۰۰ و ۴۰۰۰ تخم و لارو سن دوم نماتد/گلدان تیمار شده با ترویگو با گیاهان سالم در همان تیمار اختلاف معنی‌داری نداشتند اما در گیاهان آلوده به ۸۰۰۰ تخم و لارو سن دوم نماتد/گلدان به طور معنی‌داری از گیاهان سالم بیشتر بود (شکل ۴).

میانگین تعداد تخم (شکل ۵)، تعداد گال (شکل ۶)، تعداد توده تخم در ریشه (شکل ۷)، تعداد لارو سن دوم در خاک (شکل ۸) و فاکتور تولیدمثل (شکل ۹) در گیاهان تیمار شده با ۲۰۰۰، ۴۰۰۰ و ۸۰۰۰ تخم و لارو سن دوم نماتد/گلدان تیمار شده با ترویگو، بیوفارم و تریکوران-پی به طور معنی‌داری از گیاهان شاهد آلوده به تمام سطوح جمعیتی نماتد کمتر بود.

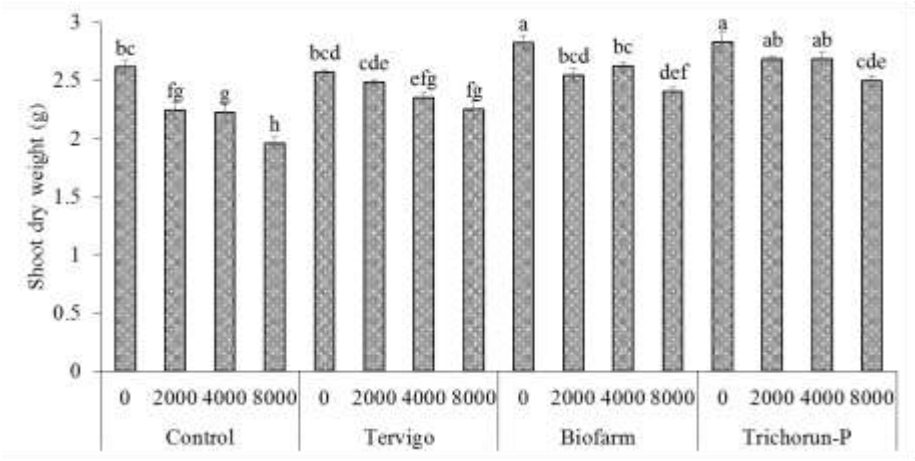


شکل ۲. میانگین وزن تر شاخساره گیاهان گوجه‌فرنگی آلوده به سطوح ۲۰۰۰، ۴۰۰۰ و ۸۰۰۰ تخم و لارو سن دوم *Meloidogyne javanica* و تیمار شده با ترویگو، بیوفارم و تریکوران-پی، ۶۰ روز بعد از مایه‌زنی با نماتد در شرایط گلخانه. هر تیمار دارای پنج تکرار می‌باشد. میانگین‌هایی که دارای حرف مشترک بر اساس مقایسه میانگین به روش چند دامنه‌ای دانکن هستند، تفاوت معنی‌داری در سطح ۱٪ ندارند. داده‌ها نشان دهنده میانگین ± خطای استاندارد می‌باشد.

Fig. 2. Mean shoot fresh weight of tomato plants inoculated with 2000, 4000 and 8000 eggs and second stage juveniles of *Meloidogyne javanica* and treated with Tervigo, Biofarm and Trichoran-P, 60 days after nematode inoculation under greenhouse conditions. Each treatment had five replications. Means with the same letter are not significantly different at 1% level based on Duncan Multiple Range Test. Data are presented as the mean ± standard error.

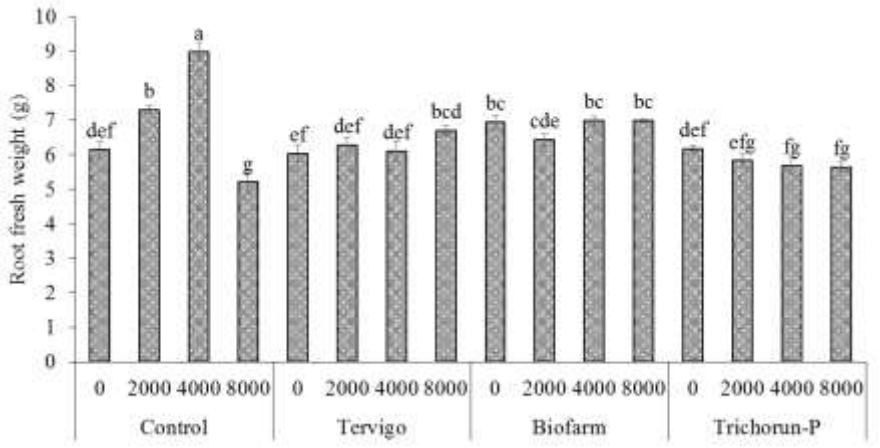
بحث

در مطالعه حاضر کاربرد دو کود زیستی بیوفارم و تریکوران-پی در گیاهان گوجه‌فرنگی آلوده به *M. javanica* نشان داد که این ترکیبات باعث بهبود شرایط رشدی گوجه‌فرنگی آلوده به سطوح مختلف جمعیتی نماتد در مقایسه با گیاهان شاهد شد. همچنین این دو کود موجب کاهش شاخص‌های جمعیتی نماتد در تمام سطوح جمعیتی مورد استفاده گردیدند. همچنین مشخص شد که طول، وزن تر و خشک شاخساره در گیاهان آلوده به ۸۰۰۰ تخم و لارو سن دوم نماتد/گلدان در گیاهان تیمار شده با بیوفارم به ترتیب ۱۳، ۱۶ و ۱۸ درصد نسبت به شاهد افزایش و فاکتور تولیدمثل در گیاهان آلوده به ۲۰۰۰، ۴۰۰۰ و ۸۰۰۰ تخم و لارو سن دوم نماتد/گلدان در گیاهان تیمار شده با بیوفارم به ترتیب ۴۴، ۳۶ و ۵۱ درصد نسبت به شاهد کاهش نشان داد. کود زیستی بایوفارم، شامل چندین گونه از باکتری‌های افزایش دهنده رشد گیاه مثل *Azospirillum* spp.، *Azotobacter* spp. و *Pseudomonas* spp. است. در یک بررسی مشخص شد که استفاده از کود زیستی حاوی *Azospirillum* spp.، *Azotobacter* spp.، *Phosphobacter* spp. و *Rhizobacter* spp. با افزایش میزان نیتروژن در دسترس، باعث افزایش میزان محصول آفتابگردان می‌شود (Dhanasekar & Dhandapani 2012). در مطالعه دیگری کود زیستی حاوی *Azospirillum* spp.، و *Rhizobium* spp. موجب افزایش میزان محصول برنج گردید (Choudhury & Kennedy 2004). نقش موثر این باکتری‌ها در افزایش میزان محصولات گیاهی در گلخانه و مزرعه به اثبات رسیده است (Saikia *et al*. 2013).



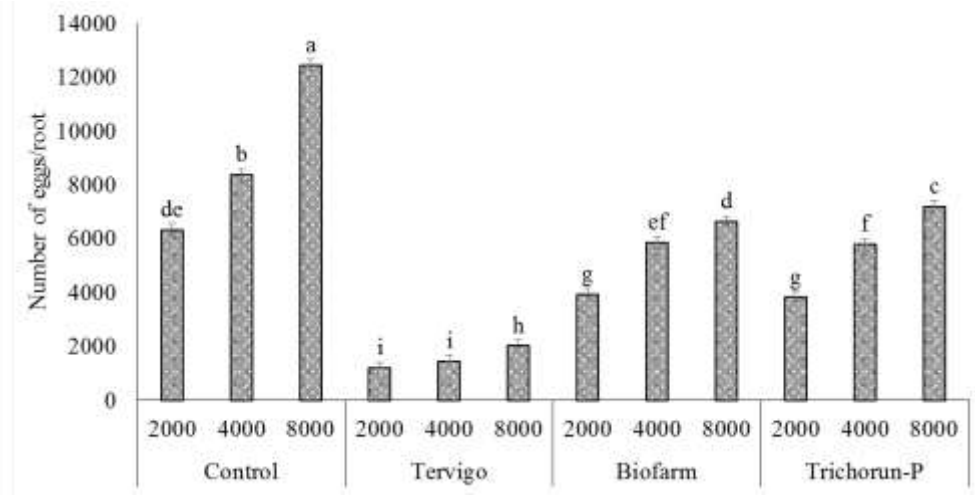
شکل ۳. میانگین وزن خشک شاخساره گیاهان گوجه‌فرنگی آلوده به سطوح ۲۰۰۰، ۴۰۰۰ و ۸۰۰۰ تخم و لارو سن دوم *Meloidogyne javanica* و تیمار شده با ترویگو، بیوفارم و تریکوران-پی، ۶۰ روز بعد از مایه‌زنی با نماتد در شرایط گلخانه. هر تیمار دارای پنج تکرار می‌باشد. میانگین‌هایی که دارای حرف مشترک بر اساس مقایسه میانگین به روش چند دامنه‌ای دانکن هستند، تفاوت معنی‌داری در سطح ۱٪ ندارند. داده‌ها نشان دهنده میانگین ± خطای استاندارد می‌باشد.

Fig. 3. Mean shoot dry weight of tomato plants inoculated with 2000, 4000 and 8000 eggs and second stage juveniles of *Meloidogyne javanica* and treated with Tervigo, Biofarm and Trichoran-P, 60 days after nematode inoculation under greenhouse conditions. Each treatment had five replications. Means with the same letter are not significantly different at 1% level based on Duncan Multiple Range Test. Data are presented as the mean ± standard error.



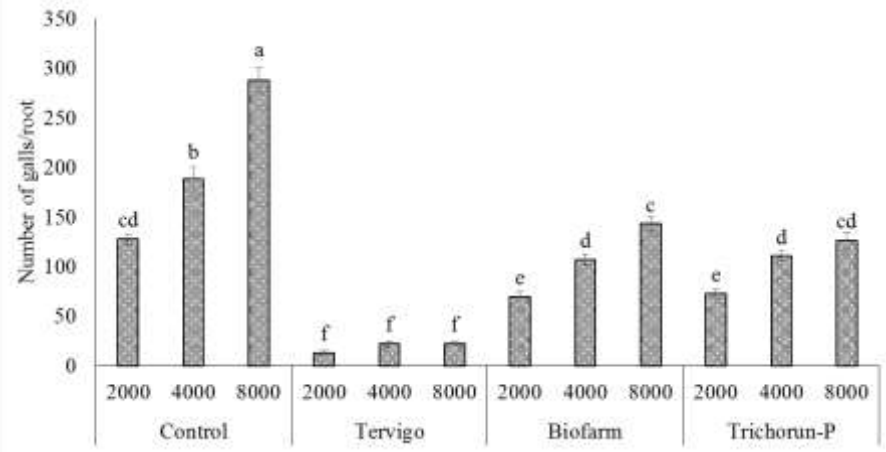
شکل ۴. میانگین وزن تر ریشه گیاهان گوجه‌فرنگی آلوده به سطوح ۲۰۰۰، ۴۰۰۰ و ۸۰۰۰ تخم و لارو سن دوم *Meloidogyne javanica* و تیمار شده با ترویگو، بیوفارم و تریکوران-پی، ۶۰ روز بعد از مایه‌زنی با نماتد در شرایط گلخانه. هر تیمار دارای پنج تکرار می‌باشد. میانگین‌هایی که دارای حرف مشترک بر اساس مقایسه میانگین به روش چند دامنه‌ای دانکن هستند، تفاوت معنی‌داری در سطح ۱٪ ندارند. داده‌ها نشان دهنده میانگین ± خطای استاندارد می‌باشد.

Fig. 4. Mean root fresh weight of tomato plants inoculated with 2000, 4000 and 8000 eggs and second stage juveniles of Meloidogyne javanica and treated with Tervigo, Biofarm and Trichoran-P, 60 days after nematode inoculation under greenhouse conditions. Each treatment had five replications. Means with the same letter are not significantly different at 1% level based on Duncan Multiple Range Test. Data are presented as the mean ± standard error.



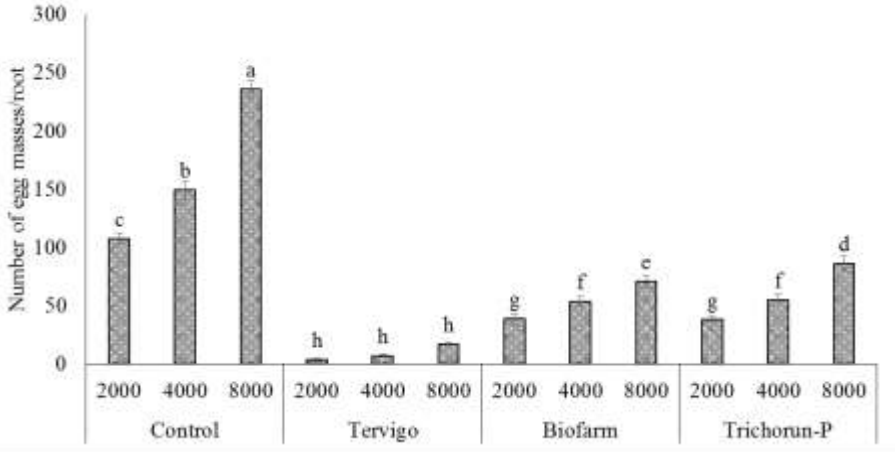
شکل ۵. میانگین تعداد تخم نماتد در ریشه گوجه‌فرنگی تیمار شده با ترویگو، بیوفارم و تریکوران-پی، ۶۰ روز بعد از مایه‌زنی با ۲۰۰۰، ۴۰۰۰ و ۸۰۰۰ تخم و لارو سن دوم *Meloidogyne javanica* در شرایط گلخانه. هر تیمار دارای پنج تکرار می‌باشد. میانگین‌هایی که دارای حرف مشترک بر اساس مقایسه میانگین به روش چند دامنه‌ای دانکن هستند، تفاوت معنی‌داری در سطح ۱٪ ندارند. داده‌ها نشان دهنده میانگین ± خطای استاندارد می‌باشد.

Fig. 5. Mean number of *Meloidogyne javanica* eggs on tomato roots treated with Tervigo, Biofarm and Trichoran-P, 60 days after inoculation with 2000, 4000 and 8000 eggs and second stage juveniles of nematode under greenhouse conditions. Each treatment had five replications. Means with the same letter are not significantly different at 1% level based on Duncan Multiple Range Test. Data are presented as the mean ± standard error.



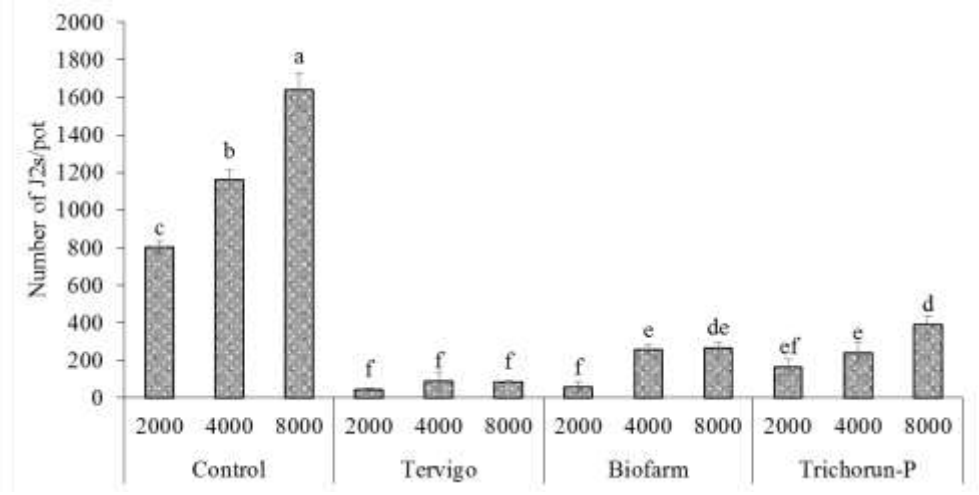
شکل ۶. میانگین تعداد گال در ریشه گوجه‌فرنگی تیمار شده با ترویگو، بیوفارم و تریکوران-پی، ۶۰ روز بعد از مایه‌زنی با ۲۰۰۰، ۴۰۰۰ و ۸۰۰۰ تخم و لارو سن دوم *Meloidogyne javanica* در شرایط گلخانه. هر تیمار دارای پنج تکرار می‌باشد. میانگین‌هایی که دارای حرف مشترک بر اساس مقایسه میانگین به روش چند دامنه‌ای دانکن هستند، تفاوت معنی‌داری در سطح ۱٪ ندارند. داده‌ها نشان دهنده میانگین ± خطای استاندارد می‌باشد.

Fig. 6. Mean number of *Meloidogyne javanica* galls on tomato roots treated with Tervigo, Biofarm and Trichoran-P, 60 days after inoculation with 2000, 4000 and 8000 eggs and second stage juveniles of nematode under greenhouse conditions. Each treatment had five replications. Means with the same letter are not significantly different at 1% level based on Duncan Multiple Range Test. Data are presented as the mean ± standard error.



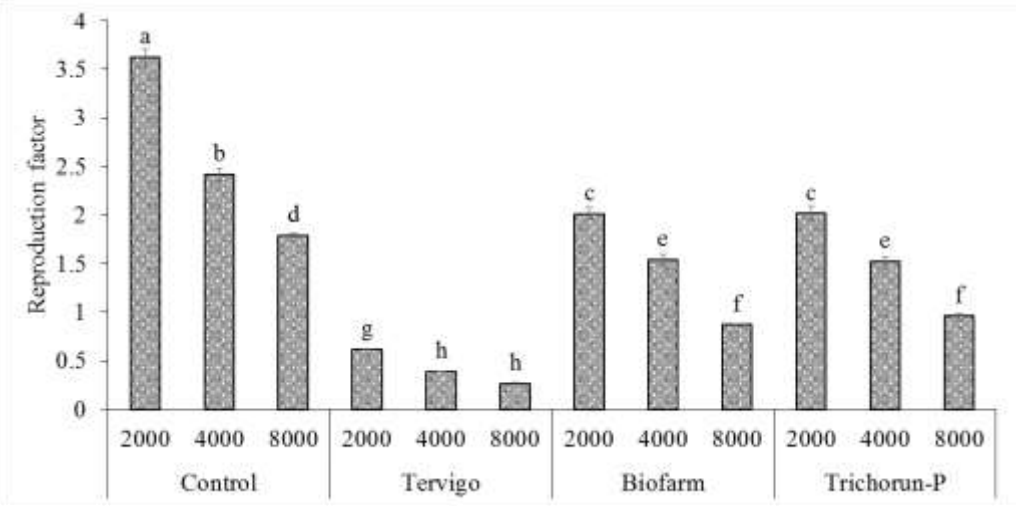
شکل ۷. میانگین تعداد توده تخم در ریشه گوجه‌فرنگی تیمار شده با ترویگو، بیوفارم و تریکوران-پی، ۶۰ روز بعد از مایه‌زنی با ۲۰۰۰، ۴۰۰۰ و ۸۰۰۰ تخم و لارو سن دوم *Meloidogyne javanica* در شرایط گلخانه. هر تیمار دارای پنج تکرار می‌باشد. میانگین‌هایی که دارای حرف مشترک بر اساس مقایسه میانگین به روش چند دامنه‌ای دانکن هستند، تفاوت معنی‌داری در سطح ۱٪ ندارند. داده‌ها نشان دهنده میانگین ± خطای استاندارد می‌باشد.

Fig. 7. Mean number of *Meloidogyne javanica* egg masses on tomato roots treated with Tervigo, Biofarm and Trichoran-P, 60 days after inoculation with 2000, 4000 and 8000 eggs and second stage juveniles of nematode under greenhouse conditions. Each treatment had five replications. Means with the same letter are not significantly different at 1% level based on Duncan Multiple Range Test. Data are presented as the mean ± standard error.



شکل ۸. میانگین تعداد لارو سن دوم در خاک گلدان‌های گوجه‌فرنگی تیمار شده با ترویگو، بیوفارم و تریکوران-پی، ۶۰ روز بعد از مایه‌زنی با ۲۰۰۰، ۴۰۰۰ و ۸۰۰۰ تخم و لارو سن دوم *Meloidogyne javanica* در شرایط گلخانه. هر تیمار دارای پنج تکرار می‌باشد. میانگین‌هایی که دارای حرف مشترک بر اساس مقایسه میانگین به روش چند دامنه‌ای دانکن هستند، تفاوت معنی‌داری در سطح ۱٪ ندارند. داده‌ها نشان دهنده میانگین ± خطای استاندارد می‌باشد.

Fig. 8. Mean number of *Meloidogyne javanica* second stage juveniles (J_2s) in tomato pots treated with Tervigo, Biofarm and Trichoran-P, 60 days after inoculation with 2000, 4000 and 8000 eggs and J_2s of nematode under greenhouse conditions. Each treatment had five replications. Means with the same letter are not significantly different at 1% level based on Duncan Multiple Range Test. Data are presented as the mean ± standard error.



شکل ۹. میانگین فاکتور تولیدمثل در گیاهان گوجه‌فرنگی تیمار شده با ترویگو، بیوفارم و تریکوران-پی، ۶۰ روز بعد از مایه‌زنی با ۲۰۰۰، ۴۰۰۰ و ۸۰۰۰ تخم و لارو سن دوم *Meloidogyne javanica* در شرایط گلخانه. هر تیمار دارای پنج تکرار می‌باشد. میانگین‌هایی که دارای حرف مشترک بر اساس مقایسه میانگین به روش چند دامنه‌ای دانکن هستند، تفاوت معنی‌داری در سطح ۱٪ ندارند. داده‌ها نشان دهنده میانگین ± خطای استاندارد می‌باشد.

Fig. 9. Mean of *Meloidogyne javanica* reproduction factor on tomato plants treated with Tervigo, Biofarm and Trichoran-P, 60 days after inoculation with 2000, 4000 and 8000 eggs and second stage juveniles of nematode under greenhouse conditions. Each treatment had five replications. Means with the same letter are not significantly different at 1% level based on Duncan Multiple Range Test. Data are presented as the mean ± standard error.

کود زیستی تریکوران-پی (Trichorun-P) حاوی قارچ *T. harzianum* است که به صورت پودر قابل حل در آب تولید می‌شود. در بررسی حاضر مشخص شد که تعداد تخم، گال و توده تخم در سیستم ریشه و فاکتور تولیدمثل نماتد در گیاهان تیمار شده با تریکوران-پی آلوده به ۲۰۰۰ تخم و لارو سن دوم نماتد در مقایسه با گیاهان شاهد آلوده به ۲۰۰۰ تخم و لارو سن دوم نماتد به ترتیب ۶۵، ۷۶، ۱۸۳ و ۸۰ درصد کاهش یافت. تعداد تخم، گال، توده تخم و فاکتور تولیدمثل در خیار آلوده به ۲۰۰۰ تخم و لارو سن دوم نماتد *M. javanica* تیمار شده با *T. harzianum* به ترتیب ۶۹، ۸۲، ۸۹ و ۷۰ درصد نسبت به شاهد آلوده کاهش یافت (Pourkhajeh *et al.* 2019).

در مطالعه حاضر مشخص شد که تأثیر ترویگو در کاهش شاخص‌های جمعیتی نماتد بیشتر از ترکوران-پی و بیوفارم است که مشابه با نتایج دیگر تحقیقات می‌باشد. برای مثال در مطالعه‌ای اثر نماتدکش‌های fluensulfone و fluopyram با عوامل مهار زیستی *Purpureocillium lilacinum* و *T. harzianum* در کاهش خسارت نماتد *M. paranaensis* روی گیاهان قهوه بررسی شد. نتایج این تحقیق نشان داد که اثر نماتدکش‌ها در کاهش فاکتور تولیدمثل و تعداد تخم نماتد در سیستم ریشه گیاه به طور معنی‌داری از عوامل مهار زیستی بیشتر می‌باشد (Arita *et al.* 2017). همچنین اثر نماتدکش‌های Avicta و Temik در مقایسه با گونه‌های مختلف باکتری *Bacillus* spp. در کاهش تعداد تخم نماتد *M. incognita* در ریشه گیاه پنبه به طور معنی‌داری بیشتر می‌باشد (Xiang *et al.* 2017).

نقش موثر ترویگو به عنوان یکی از فرم‌های تجاری آبامکتین در کاهش خسارت *M. incognita* در گوجه‌فرنگی به میزان ۷۵ درصد (Saad *et al.* 2017)، ۸۶ درصد (Radwan *et al.* 2019) و ۸۰ درصد (Khalil & Alqadasi 2019) به اثبات رسیده است. آورمکتین‌ها یکی از جایگزین‌های جدید نماتدکش‌های تدخینی می‌باشند که خاصیت نماتدکشی آن‌ها توسط محققین مختلف به اثبات رسیده است (El-Tanany *et al.* 2018; Khalil & Alqadasi 2019). میزان سمیت آبامکتین روی موجودات مفید کم گزارش شده است. این ویژگی آبامکتین همراه با ایمن بودن برای انسان و محیط زیست باعث شده که به عنوان یک ترکیب مناسب در مدیریت تلفیقی آفات و بیمارگرهای گیاهی مطرح گردد (Khalil 2013).

مطالعات پیشین رابطه مستقیم بین افزایش تعداد نماتد *M. javanica* مایه‌زنی شده به گیاه و کاهش طول، وزن تر و خشک شاخساره گیاه و همچنین افزایش تعداد تخم، گال و توده تخم نماتد در ریشه گیاهان میزبان را نشان داده‌اند (Charegani *et al*. 2012). در بررسی حاضر نیز این رابطه به اثبات رسید. البته در گیاهان شاهد افزایش جمعیت اولیه نماتد به طور معنی‌داری باعث افزایش تعداد گال و توده تخم نماتد در سیستم ریشه و تعداد لارو سن دوم در گلدان شد، اما در گیاهان تیمار شده با نماتدکش ترویگو شاخص‌های مذکور در گیاهان مایه‌زنی شده با ۲۰۰۰، ۴۰۰۰ و ۸۰۰۰ تخم و لارو سن دوم نماتد و همچنین تعداد گال در ریشه گیاهان تیمار شده با ترکوران-پی که با ۴۰۰۰ و ۸۰۰۰ تخم و لارو سن دوم نماتد مایه‌زنی شده بودند، اختلاف معنی‌داری با یکدیگر نداشتند که نشان دهنده نقش موثر این ترکیبات در کاهش جمعیت نماتد می‌باشد.

جمع‌بندی

در این مطالعه مشخص شد که کودهای زیستی تریکوران-پی و بیوفارم باعث افزایش طول، وزن تر و خشک شاخساره گوجه‌فرنگی آلوده به ۲۰۰۰، ۴۰۰۰ و ۸۰۰۰ تخم و لارو سن دوم *M. javanica* نسبت به شاهد می‌شوند. این تأثیر مثبت در جمعیت‌های ۴۰۰۰ و ۸۰۰۰ تخم و لارو سن دوم نماتد مشهودتر است. تأثیر کودهای زیستی بر شاخص‌های رویشی گیاهان آلوده به نماتد با گیاهان تیمار شده با ترویگو با یکدیگر اختلاف معنی‌داری نداشتند. کودهای زیستی مورد مطالعه باعث کاهش معنی‌دار شاخص‌های جمعیتی نماتد در مقایسه با شاهد شدند اما این کاهش در حد گیاهان تیمار شده با ترویگو نبود. در نهایت نماتدکش ترویگو به میزان ۰/۴ درصد حجمی-حجمی، با کاهش فاکتور تولیدمثل در گیاهان آلوده به ۲۰۰۰، ۴۰۰۰ و ۸۰۰۰ تخم و لارو سن دوم نماتد/گلدان، به ترتیب به میزان ۸۳، ۸۴ و ۸۵ درصد نسبت به شاهد، به عنوان تیمار با اثر متفاوت در شرایط این مطالعه مشخص گردید.

تضاد منافع

نویسندگان با یکدیگر، با تحقیق انجام شده و محل انجام پژوهش تضاد منافعی ندارند.

سپاس‌گزاری

نگارندگان از حمایت‌های مادی و معنوی دانشگاه یاسوج در انجام این تحقیق سپاس‌گزاری می‌نمایند.

References

Arita L.Y., Silva S.A. & Machado A.C.Z. 2020. Efficacy of chemical and biological nematicides in the management of *Meloidogyne paranaensis* in *Coffea arabica*. *Crop Protection* 131, 105099.

Charegani H., Majzoob S., Hamzehzarghani H. & Karegar-Bide A. 2012. Effect of various initial population densities of two species of *Meloidogyne* on growth of tomato and cucumber in greenhouse. *Nematologia Mediterranea* 40, 129-134.

Chitwood D.J. 2002. Phytochemical based strategies for nematode control. *Annual Review of Phytopathology* 40, 221-249.

Choudhury M.A. & Kennedy I.R. 2004. Prospects and potentials for system of biological nitrogen fixation in sustainable rice production. *Biology and Fertility of Soils* 39(4), 219-227.

Dehghanian S.Z., Abdollahi M., Charehgani H. & Niazi A. 2020. Combined application of salicylic acid and *Pseudomonas fluorescens* CHA0 on the expression of *PR1* gene and control of *Meloidogyne javanica* in tomato. *Biological Control* 141, 104134. https://doi.org/10.1016/j.biocontrol.2019.104134.

Dhanasekar R. & Dhandapani R. 2012. Effect of biofertilizers on the growth of *Helianthus annuus*. *International Journal of Plant, Animal and Environmental Sciences* 2, 143-147.

El-Tanany M.M., El-Shahaat M.S. & Khalil M.S. 2018. Efficacy of three bio-pesticides and oxamyl against citrus nematode (*Tylenchulus semipenetrans*) and on productivity of Washington navel orange trees. *Egyptian Journal of Horticulture* 45(2), 275-287.

Han H.S., Supanjani & Lee K.D. 2006. Effect of co-inoculation with phosphate and potassium solubilizing bacteria on mineral uptake and growth of pepper and cucumber. *Plant Soil and Environment* 52, 130-136.

Hemmati S. & Saeedizadeh A. 2019. Root-knot nematode, *Meloidogyne javanica*, in response to soil fertilization. *Brazilian Journal of Biology* 80(3), 621-630.

Hussey R.S. & Barker K.R. 1973. A comparison of methods of collecting inocula of *Meloidogyne* spp. including a new technique. *Plant Disease Reporter* 57(12), 1025-1028.

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

Jagadeeswaran R., Murugappan V. & Govindaswamy M. 2005. Effect of slow release NPK fertilizer sources on the nutrient use efficiency in turmeric (*Curcuma longa* L.). *World Journal of Agricultural Sciences* 1(1), 65-69.

Jana B., Chatterjee J., Ganguly S. & Jana T. 2001. Responses of phosphate solubilizing bacteria to qualitatively different fertilization in simulated and natural fish ponds. *Aquaculture International* 9, 17-34.

Janisiewicz W.J., Tworkoski T.J. & Kurtzman C.P. 2001. Biocontrol potential of *Metschnikowia pulcherrima* strains against blue mold of apple. *Phytopathology* 91(11), 1098-1108.

Jepson S.B. 1987. *Identification of root knot nematodes*. Wallingford, UK, CAB International.

Khalil M.S. & Alqadasi A.A.A. 2019. Potential of non-fumigant nematicides at different formulations against southern root-knot nematode (*Meloidogyne incognita*) on tomato plants. *International Journal of Phytopathology* 8(1), 23-28.

Khalil M.S. & Darwesh D.M. 2018. Some integrated practices to manage root knot nematodes on tomatoes: A mini review. *Innovative Techniques in Agriculture* 3, 618-625.

Khalil M.S. 2013. Abamectin and azadirachtin as eco-friendly promising biorational tools in integrated nematodes management programs. *Journal of Plant Pathology and Microbiology* 4, 174. https://doi:10.4172/2157-7471.1000174

Manzanilla-Lopez R.H., Evans K. & Bridge J. 2004. Plant diseases caused by nematodes. In Chen Z.X., Chen S.Y. & Dickson D.W. (Eds.), *Nematology: Advances and Perspectives Vol II. Nematode Management and Utilization* (pp. 637-703). Wallingford, UK, CAB International.

Moazezikho A., Charehgani H., Abdollahi M. & Rezaei R. 2020. The evidence for inhibitory effect of *Pseudomonas fluorescens* CHA0 and aqueous extracts of *Datura stramonium* and *Myrtus communis* on tomato plants infected with *Meloidogyne javanica* (Tylenchida: Heteroderidae). *Egyptian Journal of Biological Pest Control* 30, 15. https://doi.org/10.1186/s41938-020-00217-0

Mosahaneh L., Charehgani H., Abdollahi M. & Rezaei R. 2020. Biological control agents in the management of different initial population densities of *Meloidogyne javanica* in tomato. *Acta Phytopathologica et Entomologica Hungarica* 55 (2), 161–170.

Natarajan N., Cork A., Boomathi N., Pandi R., Velavan S. & Dhakshinamoorthy G. 2006. Cold aqueous extracts of African marigold, *Tagetes erecta* for control tomato root-knot nematode, *Meloidogyne incognita. Crop Protection* 25, 1210-1213.

Pourkhajeh F., Charehgani H., Abdollahi M. & Sadravi M. 2019. Biocontrol effect of *Trichoderma harzianum* isolates on root-knot nematode *Meloidogyne javanica* on greenhouse cucumber. *Iranian Journal of Plant Pathology* 55, 77-82. (In Persian with English Summary)

Radwan M.A., Saad A.S.A., Mesbah H.A., Ibrahim H.S. & Khalil M.S. 2019. Investigating the *In vitro* and *In vivo* nematicidal performance of structurally related macrolides against the root-knot nematode, *Meloidogyne incognita*. *Hellenic Plant Protection Journal* 12, 24-37.

Rajendran K. & Devaraj P. 2004. Biomass and nutrient distribution and their return of *Casuarina equisetifolia* inoculated with biofertilizers in farm land. *Biomass and Bioenergy* 26, 235-249.

Ramazani B., Mahdikhani Moghadam E. & Rouhani, H. 2013. Evaluation of resistance of some tomato cultivars to root-knot nematode (*Meloidogyne javanica*) in greenhouse condition. *Journal of Plant Protection* 27(3), 276-285. (In Persian with English Summary)

Saad A.S.A., Radwan M.A., Mesbah H.A., Ibrahim H.S. & Khalil M.S. 2017. Evaluation of some non-fumigant nematicides and the biocide avermectin for managing *Meloidogyne incognita* in tomatoes. *Pakistan Journal of Nematology* 35(1), 85-92.

Sahebani N. & Hadavi N. 2008. Biological control of the root-knot nematode *Meloidogyne javanica* by *Trichoderma harzianum*. *Soil Biology and Biochemistry* 40, 2016-2020.

Saikia S.P., Bora D., Goswami A., Mudoi K.D. & Gogoi A. 2013. A review on the role of *Azospirillum* in the yield improvement of non-leguminous crops. *African Journal of Microbiology Research* 6(6), 1085-1102.

Sturz A.V. & Christie B.R. 2003. Beneficial microbial allelopathies in the root zone: The management of soil quality and plant disease with rhizobacteria. *Soil and Tillage Research* 72(2), 107-123.

Taylor A.L. & Sasser J.N. 1978. *Biology, identification, and control of root-knot nematodes (Meloidogyne species)*. Raleigh, NC, North Carolina State University Graphics.

Whitehead A.G. & Hemming J.R. 1965. A comparison of some quantitative methods of extracting small vermiform nematodes from soil. *Annals of Applied Biology* 55(1), 25-38.

Wu S.C., Caob Z.H., Lib Z.G., Cheunga K.C. & Wong M.H. 2005. Effects of biofertilizer containing N-fixer, P and K solubilizers and AM fungi on maize growth: A greenhouse trial. *Geoderma* 125, 155-166.

Xiang N., Lawrence K.S., Kloepper J.W., Donald P.A., McInroy J.A. & Lawrence G.W. 2017. Biological Control of *Meloidogyne incognita* by spore-forming plant growth-promoting rhizobacteria on cotton. *Plant Disease* 101(5), 774-784.

Youssef M.M.A & Eissa M.F.M. 2014. Biofertilizers and their role in management of plant parasitic nematodes. A review. *Journal of Biotechnology and Pharmaceutical Research* 5(1), 1-6.