

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

سید محمدرضا موسوی<sup>۱\*</sup>، شیدا شاکری<sup>۲</sup> و صدیقه محمدی<sup>۳</sup>

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

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

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

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

### چکیده

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

**واژه‌های کلیدی:** تلفیق، قارچ‌های نماتدخوار، کنترل زیستی.

### مقدمه

سالیانه آن حدود ۵٪ از کل محصولات کشاورزی برآورد شده است (Moens et al., 2009). گونه *M. javanica* از بیشتر مناطق ایران و روی تعداد زیادی گیاه گزارش شده است (Ghaderi et al., 2012) که بیانگر پراکنش گسترده و اهمیت زیاد آن است.

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

نماتدهای مولد گره ریشه (*Meloidogyne* spp.) یکی از مهم‌ترین و خسارت‌زاترین انگل‌های گیاهی‌اند که در همه نقاط جهان خصوصاً در مناطق گرم با زمستان‌های کوتاه و در اکثر گلخانه‌ها دیده می‌شوند. این نماتدها از لحاظ اقتصادی اهمیت بسیار زیادی دارند و محدودکننده کیفیت و مقدار تولیدات کشاورزی‌اند (Nicol et al., 2011). تعداد میزبان‌های این نماتد در سراسر دنیا بیش از ۲۰۰۰ گونه گیاهی و خسارت

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

## مواد و روش‌ها

### جدایه‌های قارچی

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

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

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

در راستای برنامه‌های کشاورزی پایدار و به منظور بررسی اینکه آیا می‌توان کارایی کنترل‌کننده‌ها را با

جدول ۱. لیست قارچ‌های مورد استفاده در این پژوهش

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

### تهیه زادمایه نماتی

ضدعفونی شدند (Verdejo-Lucas, 1995). توده‌های تخم پس از شست‌وشو با آب مقطر استریل به محیط PDA منتقل شدند و پس از ۴۸ ساعت توده‌های تخم فاقد آلودگی برای آزمون بیماری‌زایی در آزمایشگاه استفاده شدند (Moosavi et al., 2011). تخم‌های تشکیل‌شده از روی سیستم ریشه‌ای جدا شد (Hussey & Barker, 1973) و تعداد آنها از میانگین سه بار شمارش تخمین زده شد. از این زادمایه برای آلوده کردن گیاهان در شرایط گلخانه‌ای استفاده شد.

زادمایه نماتد *Meloidogyne javanica* از طریق آلوده‌سازی پیایی رقم حساس گوجه‌فرنگی (سوپر شف) با یک توده تخم نماتد که قبلاً در منطقه استهبان فارس از گیاه گوجه‌فرنگی جمع‌آوری و گونه آن تشخیص داده شده بود (Moosavi, 2012) انجام گرفت. پس از تهیه زادمایه کافی، ریشه‌های آلوده به آزمایشگاه منتقل و شسته شدند. توده‌های تخم هم‌اندازه زیر میکروسکوپ تشریح با دست جدا (Noe, 2004) و

## آزمون بیماری‌زایی در شرایط آزمایشگاهی

در مرکز ظروف پتری ۶ سانتی‌متری حاوی آب- آگار ۰/۸٪ و ۱۵۰ ppm از هر کدام از پادزیست‌های سولفات استرپتومایسین و پنی‌سیلین، یک دیسک ۵ میلی‌متری از زادمایه قارچی اضافه و پس از رشد قارچ‌ها، سه توده تخم با فاصله ۲ میلی‌متر از دیسک مرکزی روی قارچ در حال رشد در سه تکرار قرار داده شد (Moosavi et al., 2010). از آنجا که رشد قارچ *Trichoderma spp.* بسیار سریع‌تر از قارچ‌های *Pochonia spp.* و *Lecanicillium spp.* است، کشت آن دو روز دیرتر از دو گونه اخیر انجام گرفت تا در ابتدای آزمایش، رشد همه قارچ‌ها تقریباً یکسان باشد. پس از پنج روز نگهداری در دمای  $23 \pm 2^\circ\text{C}$ ، هر توده تخم در یک قطره هیپوکلریت سدیم ۰/۱٪ که روی لام آزمایشگاهی گذاشته شده بود قرار گرفت و با فشار لامل، خرد شد تا تخم‌ها آزاد شوند. تخم‌های آلوده بر اساس نفوذ ریشه‌های قارچ به درونشان تشخیص داده شدند. تعداد تخم‌های آلوده و سالم به کمک میکروسکوپ و با بزرگ‌نمایی  $40 \times$  و  $100 \times$  ثبت و درصد آلودگی بر اساس تقسیم تعداد تخم‌های آلوده به تعداد کل تخم‌های هر توده تخم محاسبه شد (Fatemy et al., 2005). تعداد لاروهای تفریخ‌شده روی محیط کشت نیز به کمک میکروسکوپ تشریح شمارش و درصد تفریخ تعیین شد (Sun et al., 2006). به منظور اجرای اصول کخ در بیماری‌زایی و اطمینان از اینکه آلودگی تخم‌ها توسط قارچ مورد نظر صورت گرفته است، تخم‌های آلوده سه بار با آب مقطر استریل شسته شد و روی محیط کشت اختصاصی (Davet & Rouxel, 2000) برای تریکودرما، نیمه‌اختصاصی (Kerry et al., 1993) برای گونه‌های پوشونیا و آب- آگار ۱/۵ درصد (حاوی رزبنگال و ۲۰۰ ppm) از هر کدام از پادزیست‌های سولفات استرپتومایسین و پنی‌سیلین جهت قارچ *L. aphanocladii* ریخته شد. تخم‌ها هر روز بررسی شد و قارچ‌های رشد کرده از آنها در شرایط سترون به محیط کشت CMA حاوی ۲۰۰ ppm سولفات استرپتومایسین منتقل شد و شناسایی آنها تأیید گردید (Kerry & Crump, 1977).

## آزمون بیماری‌زایی در شرایط گلخانه

## تهیه زادمایه قارچ‌ها

زادمایه قارچی به مدت ۶ هفته در دمای  $23 \pm 2^\circ\text{C}$  روی ماسه و سبوس جو تکثیر شد. به منظور جلوگیری از متراکم شدن ماسه و سبوس و رشد یکنواخت قارچ، همه ظرف‌ها روزانه با دست تکان داده شدند (Moosavi et al., 2010).

## آزمایش گلخانه‌ای

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

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

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

#### آزمون بیماری‌زایی در شرایط گلخانه

تأثیر تیمارهای مختلف روی وزن تر اندام هوایی ( $F=6/4$ ,  $df=29$ ,  $P<0/0001$ ) و ریشه ( $F=4/2$ ,  $df=29$ ,  $P<0/0001$ ) با توجه به نوع و ترکیب جدایه‌ها با یکدیگر متفاوت بود. کمترین وزن اندام هوایی در تیمارهایی دیده شد که کنترلی روی نماتد مولد گره ریشه اعمال نشده بود. کاربرد سبوس جو در گلدان‌هایی که با نماتد مایه‌زنی نشده بودند، باعث افزایش اندک و ناچیز وزن اندام هوایی نسبت به تیمار متناظر شد. روال

در هر گلدان ۵ بذر بادنجان (رقم Black Beauty) کاشته شد. پس از یک ماه، در هر گلدان یکی از بوته‌های بادنجان نگه داشته شد و بقیه حذف گردید. پای هر بوته ۵۰۰ تخم و لارو نماتد *M. javanica* تزریق شد و گلدان‌ها در گلخانه در دمای  $28-35^{\circ}\text{C}$  نگهداری شدند. پس از دو ماه فاکتورهای رویشی گیاه شامل وزن تر ریشه و اندام هوایی محاسبه گردید. از هر سیستم ریشه‌ای ۱۰ توده تخم (در مجموع برای هر تیمار ۳۰ توده تخم) به صورت تصادفی انتخاب شد و درصد تخم‌های انگلی‌شده نماتد تعیین گردید. فاکتورهای رشدی نماتد (تعداد تخم و لارو سن دوم نماتد روی سیستم ریشه و لارو سن دوم در خاک) محاسبه و ثبت شد. فاکتور تولید مثل نماتد از تقسیم جمعیت نهایی تخم و لارو سالم بر جمعیت اولیه تعیین شد. درصد کنترل نماتد در هر تیمار از فرمول ذیل به دست آمد (Fatemy, 1998):

$$= \text{درصد کنترل} = \frac{\text{تعداد تخم و لارو سالم در تیمار} - \text{تعداد تخم و لارو در شاهد}}{\text{تعداد تخم و لارو در شاهد}} \times 100$$

#### طرح آزمایشی و تجزیه و تحلیل داده‌ها

آزمایش در قالب طرح کاملاً تصادفی با سه تکرار انجام گرفت. داده‌های به دست آمده با نرم‌افزار SPSS ver. 15 تجزیه و تحلیل شد. تجزیه واریانس با آزمون ANOVA و مقایسه میانگین‌ها با آزمون چنددامنه‌ای دانکن ( $P<0/05$ ) انجام گرفت و سپس جداول و نمودارهای مربوط به هر یک رسم شد.

#### نتایج و بحث

##### آزمون بیماری‌زایی در شرایط آزمایشگاهی

ریسه همه جدایه‌های آزمایش شده توانایی آلوده کردن تخم نماتد *M. javanica* را داشتند. همه قارچ‌ها با شاهد از نظر توانایی در آلوده کردن تخم اختلاف معنادار داشتند ( $F=146$ ,  $df=5$ ,  $P<0/0001$ )، اما اختلاف آنها با یکدیگر معنادار نبود و توسط آزمون دانکن در یک گروه آماری قرار گرفتند (جدول ۲). همه جدایه‌ها قادر به کاهش معنادار درصد تفریح تخم نماتد نسبت به تیمار شاهد بودند ( $F=26/3$ ,  $df=5$ ,  $P<0/0001$ )، هر چند بین خودشان اختلافی مشاهده نشد (جدول ۲).

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

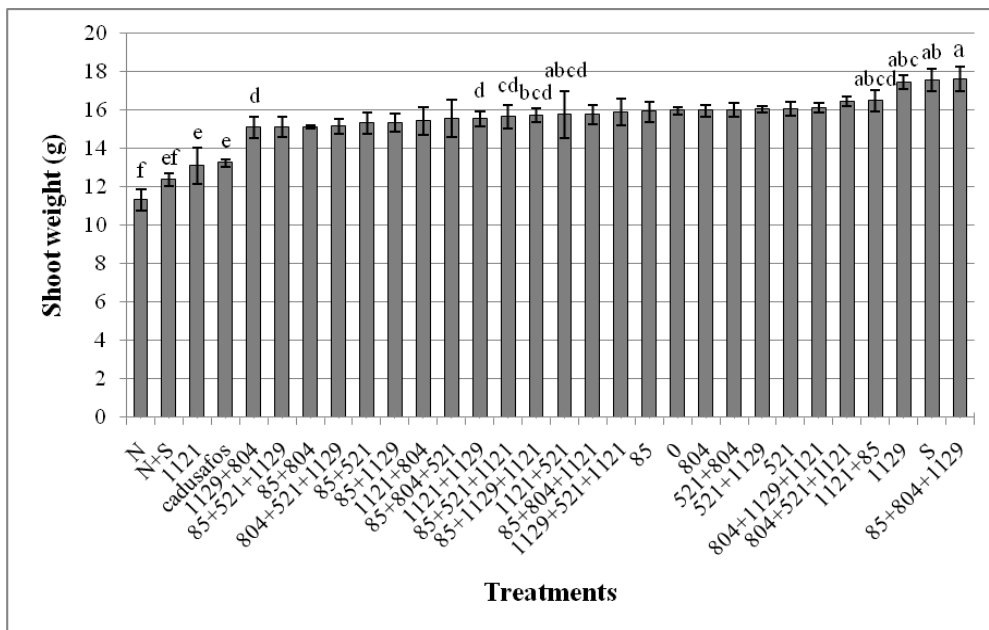
منطقی یا قابل ردیابی از ترکیب جدایه‌ها یا گونه‌های مختلف روی وزن اندام هوایی مشاهده نگردید، هر چند که بیشترین وزن اندام هوایی (از نظر عددی و بدون تفاوت معنادار با تعدادی از تیمارها) در تیماری دیده شد که با سه گونهٔ متفاوت قارچی مایه‌زنی شده بود (شکل ۱).  
در تیماری که از نماتدکش شیمیایی (کادوزافوس)

جدول ۲. درصد آلودگی و درصد تفریح تخم‌های نماتد مولد گره ریشهٔ *M. javanica* پنج روز پس از قرار گرفتن در مجاورت

جدایه‌های قارچی مختلف در ظروف پتری

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

\* اعداد هر ستون نشان‌دهندهٔ میانگین هر تیمار ± خطای استاندارد است. تیمارهایی که حرف مشترک دارند بر اساس آزمون دانکن با یکدیگر اختلاف معناداری ندارند ( $P < 0.05$ ).

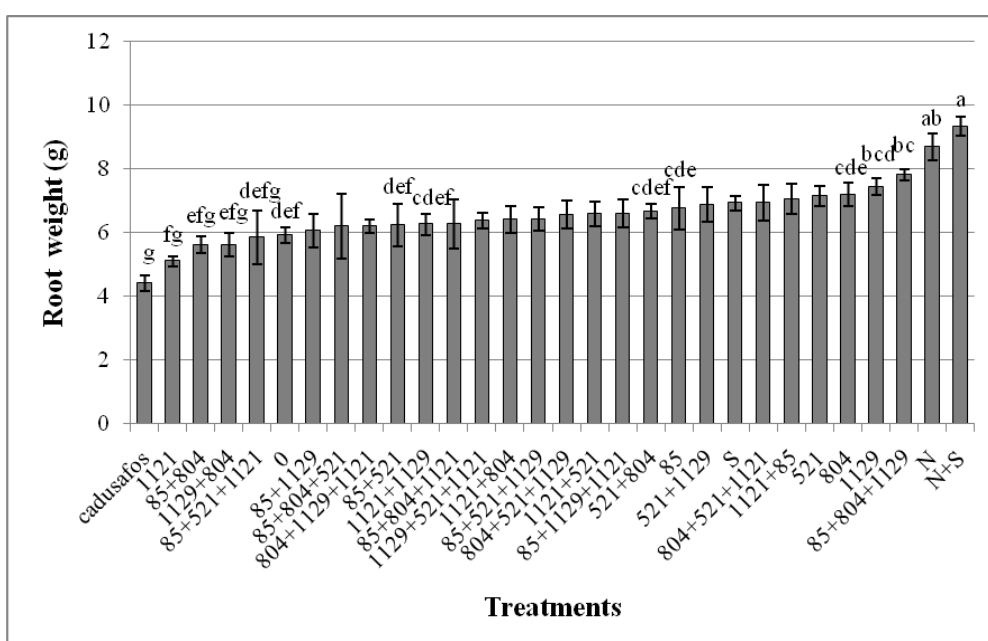


شکل ۱. مقایسهٔ میانگین وزن تر اندام هوایی (گرم) گیاه بادنجان در تیمارهای مختلف، هشت هفته پس از نگهداری در گلخانه. میله‌های روی هر ستون نشان‌دهندهٔ خطای استاندارد است. ستون‌هایی که حداقل یک حرف مشترک دارند، بر اساس آزمون دانکن با یکدیگر تفاوت معناداری ندارند ( $P < 0.05$ ).

|      |   |           |  |
|------|---|-----------|--|
| 521  | <i>Pochonia bulbillosa</i>                          | 0         | گیاه بادنجان بدون سیبوس و نماتد        |
| 1121 | <i>P. chlamydosporia</i> var. <i>chlamydosporia</i> | S         | گیاه بادنجان به همراه سیبوس            |
| 1129 | <i>P. chlamydosporia</i> var. <i>catenulata</i>     | N         | گیاه بادنجان به همراه نماتد            |
| 804  | <i>Lecanillium aphanocladii</i>                     | N+S       | گیاه بادنجان به همراه سیبوس و نماتد    |
| 85   | <i>Tricoderma harzianum</i>                         | cadusafos | گیاه آلوده به نماتد و کاربرد کادوزوفوس |

بدین معنا که آلودگی با نماتد در ابتدا با واکنش گیاه روبه‌رو شده و گیاه برای جبران خسارت وارده، ریشه‌های جدیدی را ایجاد می‌کند که باعث افزایش وزن ریشه می‌گردد. از طرف دیگر، آلودگی به نماتد باعث تشکیل گال روی ریشه می‌گردد که خود باعث افزایش وزن ریشه می‌شود. اگر جمعیت نماتدها از حدی فراتر رود، گیاه قادر به تحمل خسارت وارده نیست و تأثیر آن در رشد اندام‌های هوایی دیده می‌شود. پس از کاهش رشد اندام هوایی، مواد غذایی کمتری به ریشه می‌رسد و رشد ریشه کاهش پیدا می‌کند (Moosavi, 2014).

به جز قارچ Pcc (جدایه IRAN 1121 C)، در تیمارهای دیگر وجود نماتد باعث کاهش وزن تر اندام هوایی گیاه نسبت به شاهد (0 یا S) نشد. حضور نماتد روی ریشه باعث خسارت به گیاه می‌شود و اثر خود را به‌صورت کاهش رشد (طول و وزن) نشان می‌دهد. هر چه صدمه وارده به گیاه بیشتر باشد، میزان کاهش رشد نیز بیشتر است (Abad et al., 2009). وزن تر ریشه در بیشتر تیمارها از نظر آماری با تیمارهای شاهد 0 یا S تفاوت معناداری نداشت، اما با تیمارهای شاهد N+S و N تفاوت بود. تأثیر نماتد روی وزن ریشه، یک تأثیر دوگانه است.



شکل ۲. مقایسه میانگین وزن تر ریشه (گرم) گیاه بادنجان در تیمارهای مختلف، هشت هفته پس از نگهداری در گلخانه. میله‌های روی هر ستون نشان‌دهنده خطای استاندارد است. ستون‌هایی که حداقل یک حرف مشترک دارند، بر اساس آزمون دانکن با یکدیگر تفاوت معناداری ندارند ( $P < 0.05$ ).

|      |   |           |  |
|------|---|-----------|--|
| 521  | <i>Pochonia bulbillosa</i>                        | 0         | گیاه بادنجان بدون سبوس و نماتد         |
| 1121 | <i>P. chlamyosporia</i> var. <i>chlamyosporia</i> | S         | گیاه بادنجان به همراه سبوس             |
| 1129 | <i>P. chlamyosporia</i> var. <i>catenulata</i>    | N         | گیاه بادنجان به همراه نماتد            |
| 804  | <i>Lecanillium aphanocladii</i>                   | N+S       | گیاه بادنجان به همراه سبوس و نماتد     |
| 85   | <i>Trichoderma harzianum</i>                      | cadusafos | گیاه آلوده به نماتد و کاربرد کادوزوفوس |

معنادار تعداد تخم‌های تشکیل‌شده گردید. تیمارهایی که در آنها از قارچ به صورت انفرادی یا ترکیبی استفاده شده بود، نتوانسته بودند باعث کاهش بسیار چشمگیر تعداد تخم‌ها (مجموع تخم‌های سالم و آلوده) روی سیستم ریشه‌ای گردند. تفاوت‌چندانی نیز میان کاربرد انفرادی،

کاربرد نماتدکش شیمیایی در خاک باعث بیشترین کاهش در تعداد کل تخم موجود روی سیستم ریشه‌ای در انتهای آزمایش شد. بیشترین تعداد کل تخم در سیستم ریشه‌ای گیاه شاهد (N) دیده شد، هر چند استفاده از سبوس در خاک آلوده به نماتد (N+S) باعث کاهش

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

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

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

۱. تیمارها عبارتند از: 521 *Pochonia bulbillosa*; 1121 *Tricoderma harzianum*; 85 *Lecanillium aphanocladii*; N: گیاه بادنجان به همراه نماتد؛ N+S: گیاه بادنجان به همراه سبوس و نماتد و *xadusafos* گیاه آلوده به نماتد و کاربرد سم شیمیایی کادوزوفوس.

۲. در هر ستون میانگین هر تیمار (± خطای استاندارد) نشان داده شده است. میانگین‌هایی که حداقل یک حرف مشترک دارند، بر اساس آزمون دانکن با یکدیگر تفاوت معناداری ندارند ( $P < 0.05$ ).

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

بیشتر تخم‌های نماتد نسبت به زمانی گردید که این قارچ در ترکیب با جدایه‌های از جنس *پوشونیا* استفاده شده بود. در تیمارهای متناظری که فقط در جدایه T85 با هم تفاوت داشتند، حضور Th عموماً باعث کاهش درصد آلودگی تخم‌های نماتد شد (جدول ۳).

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

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

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

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

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

بررسی درصد تخم‌های آلوده‌شده نماتد توسط قارچ‌ها (در تیمارهای مختلف نشانگر تأثیر بیشتر آنها در زمانی بود که به صورت ترکیبی استفاده می‌شدند. البته کمترین درصد آلودگی تخم‌ها (در تیمار T85 و قارچ Th) ۴۸٪ برآورد شد که خود قابل توجه است. جدایه IRAN 1129 C (Pccat) در بین تیمارهایی که در آنها فقط از یک قارچ استفاده شده بود بیشترین کارایی را داشت. بالاترین درصد آلودگی در تیمارهایی دیده شد که در آنها از سه جدایه قارچی استفاده شده بود و دو گونه Pccat و La در آنها مشترک بود. البته استعمال دوتایی این دو گونه نیز از کارایی بالایی برخوردار بود. استفاده دوتایی جدایه IRAN 1129 C (Pccat) با گونه‌های غیر از *پوشونیا*، باعث آلودگی



کنترل‌کننده‌ها با حداقل یکی از آنها تفاوت قابل توجهی دیده نشده است (Meyer & Roberts, 2002). این موضوع در تعدادی از پژوهش‌های بعدی نیز نشان داده شده است. مخلوط دو قارچ *Glomus mosseae* و *Trichoderma virens* باعث کاهش معنادار تمامی فاکتورهای مرتبط با نماتد *M. javanica* در گیاه گوجه‌فرنگی شد، هر چند بین شاخص‌های رشدی گیاه در تیمارهای آلوده و شاهد اختلافی مشاهده نشد (Mirehki et al., 2013).

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

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

#### نتیجه‌گیری کلی

در پژوهش حاضر، اثر انفرادی، دوتایی یا سه‌تایی قارچ‌ها

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

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

به نظر می‌رسد ترکیب مبارزه‌گرها باعث پایداری بیشتر مبارزه زیستی می‌شود. بهترین ترکیب زمانی حاصل می‌شود که روش عمل کنترل‌کننده‌ها با هم متفاوت باشد (Timper, 2011). مثال‌هایی از کاربرد ترکیبی کنترل‌کننده‌های زیستی علیه نماتدها که تا قبل از سال ۲۰۰۲ انجام گرفته است در یک مقاله مروری بررسی شده است. در آن پژوهش‌ها، کاربرد دو یا چند کنترل‌کننده عموماً باعث کاهش بیشتر جمعیت نماتد و/ یا کاهش نفوذ نماتد به درون گیاه شده بود، هر چند از نظر فاکتورهای رشدی گیاه بین کاربرد تلفیقی

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

## REFERENCES

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

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

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