مقاله تحقیقی

تاثیر گوگرد و سه گونه قارچ *Trichoderm* بر تفریخ تخم و مرگ و میر لارو نماتد *Meloidogyne javanica* در شرایط آزمایشگاهی

فاطمه سلطانی‌طالع[۱]، لیلا کاشی[۲]، دوستمراد ظفری[۳]

۱، ۲، ۳–دانش‌آموخته کارشناسی ارشد، استادیار، استاد، گروه گیاه‌پزشکی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه بوعلی سینا، همدان، ایران.

مسئول مکاتبات: لیلا کاشی، ایمیل: l.kashi@basu.ac.ir

تاریخ دریافت: ۱۴۰۳/۰۹/۲۲ ۱۱(۲) ۳۱–۳۹ تاریخ پذیرش: ۱۴۰۳/۱۰/۱۶

چکیده

نماتد مولد غده (*Meloidogyne* spp.) با ۱۰۵ گونه شناخته شده و دامنه میزبانی وسیع، خسارت‌زاترین نماتد بیماری‌زای گیاهی محسوب می‌گردد. در مطالعه حاضر، میزان اثربخشی گوگرد آلی و گونه‌های قارچی *Trichoderma afroharzianum*، *T. crassum* و دو جدایه از *T. harzianum* بر تفریخ تخم و مرگ و میر لارو سن دو نماتد *Meloidogyne javanica* در بازه‌های زمانی مختلف و در قالب طرح پایه کاملاً تصادفی با پنج تکرار در شرایط آزمایشگاه مورد بررسی قرار گرفت. اثر عصاره‌ی قارچ‌ها در سه سطح پایه ،۰/۱ و ۰/۰۱ در دو آزمایش مجزا بر روی مرگ و میر لارو سن دو نماتد پس از ۲۴، ۴۸ و ۷۲ ساعت و نیز تفریخ تخم پس از ۲، ۴، ۶ و ۸ روز مورد بررسی قرار گرفتند. نتایج بررسی‌ها نشان داد مؤثرترین تیمار، گونه *T. carssum* می‌باشد که در غلظت پایه و زمان ۷۲ ساعت موجب مرگ و میر لارو سن دو *M. javanica* به میزان ۸۳/۳ درصد و در غلظت پایه و زمان هشت روز باعث جلوگیری از تفریخ تخم‌ها به میزان ۶۳/۱ درصد گردید.

واژه‌های کلیدی: آنتاگونیست، مهارگر، مهار *Trichoderma. afroharzianum*، *T. crassum*، *T. harzianum*، مهار زیستی

مقدمه

نماتدهای مولد غده با بیش از ۱۰۵ گونه شناخته شده خسارت‌زاترین نماتد انگل گیاهی محسوب می‌گردند (Jones *et al*, 2013) که در سراسر جهان به‌ویژه در مناطق گرمسیری و نیمه‌گرمسیری گسترش دارند. این نماتدها در اغلب کشورهای جهان باعث کاهش محصول می‌گردد. گونه‌های *M. hapla*، *M. incognita*، *M. javanica* و *M. arenaria* از لحاظ اقتصادی بسیار مهم و گستره جغرافیایی و دامنه میزبانی وسیعی دارند. حدود ۹۵ درصد از خاک‌های آلوده به نماتدهای ریشه‌گرهی مرتبط با همین چهار گونه بوده و بیش از ۹۰ درصد خسارت وارده به گیاهان در اثر نماتد ریشه‌گرهی مربوط به این چهار گونه می‌باشد که موجب ضرر اقتصادی سالانه بیش از ۱۰۰ میلیارد دلار در سراسر جهان می‌شوند (Nicol *et al*, 2011).

مدیریت نماتدهای ریشه گرهی به دلیل نرخ تولیدمثل بالا و کوتاه بودن چرخه زندگی، دشوار است (Trudgill & Black, 2001) و از روش‌های مختلف فیزیکی (آفتاب دهی خاک و غرقاب کردن آن)، زراعی (از بین بردن ریشه‌های آلوده و علف‌های هرز، کوددهی مناسب خاک، استفاده از ارقام مقاوم) و شیمیایی می‌توان استفاده کرد. اگرچه استفاده از سموم شیمیایی نظیر راگبی، نماکور، ولوم تأثیر قابل توجهی بر کنترل نماتدهای انگل گیاهی از جمله نماتدهای مولد غده نشان داده‌اند اما کاهش کارایی پس از استفاده طولانی مدت و اثرات سوء زیست‌محیطی آنها را برای استفاده نامناسب می‌کند. ار این رو، نیاز به سیستم‌های مدیریت جایگزین برای کنترل نماتدهای انگلی گیاهی طی سال‌های گذشته به‌طور چشمگیری افزایش یافته و تحقیقات

زیادی با هدف شناسایی عوامل بالقوه مهار زیستی صورت گرفته است (Khan *et al*, 2008).

در بین عوامل کنترل کننده زیستی، قارچ‌ها چندین راه کارآمد دارند و می‌توانند از طریق حلقه‌های منقبض شونده و غیرمنقبض شونده، اندامک‌های چسبنده جذب‌کننده و کلونیزه‌کردن بدن نماتدها یا با تولید متابولیت‌های سمی آن‌ها را از بین ببرند (Li *et al*, 2017). بسیاری از قارچ‌های ساکن خاک مانند *Paecilomyces lilacinus*، *Trichoderma harzianum*، *Verticillium chlamydosporium*، *Pochonia* spp. و *Fusarium* spp. و *Penicillium* spp. به‌عنوان عوامل مهار زیستی مؤثر ثابت شده‌اند. این قارچ‌ها در از بین بردن تخم‌ها، لاروها و ماده‌های نماتد مؤثر بوده و تراکم نماتدهای انگلی را در خاک کاهش می‌دهند (Khalil *et al*, 2012; Khan *et al*, 2020).

گونه‌های تریکودرما قارچ‌های خاکزادی هستند که در سراسر دنیا یافت می‌شوند و جنس *Trichoderma* فرم غیرجنسی قارچ و *Hypocera* فرم جنسی آن می‌باشد. پرگنه این قارچ‌ها معمولاً سریع‌الرشد و سبز رنگ، دارای ریسه‌هایی با سطح صاف و دارای دیواره بین سلولی است که از مکانیسم‌های مختلفی از جمله آنتی بیوز، رقابت و ترشح آنزیم‌های هیدرولیز کننده برای کنترل نماتدها استفاده می‌کند. القای مقاومت در گیاه، روشی است که در آن بدون آلوده شدن محیط زیست، گیاه دربرابر عوامل بیماری‌زا از خود محافظت می‌کند. مقاومت القاشده گیاهان دربرابر عوامل بیماری‌زا معمولا توسط شبکه‌هایی از مسیرهای پیام‌رسانی مرتبط با هم که اجزای اولیه آن مولکول‌های علامت‌دهنده گیاهی (سالیسیلیک اسید و جاسمونیک اسید) هستند، تشکیل می‌شود. در برهم‌کنش‌های میزبان –عامل بیماری‌زا، گیاهان با تشدید تولید این مواد به حمله عامل بیماری‌زا پاسخ می‌دهند (Durrant & Dong, 2004).

مواد و روش‌ها

تهیه جمعیت اولیه نماتد *M. javanica*

برای انجام آزمایشات در پژوهش حاضر از جمعیت خالص‌سازی شده *M. javanica* موجود در گلخانه بخش گیاه‌پزشکی دانشگاه بوعلی‌سینا استفاده گردید. به منظور تکثیر نماتد و دستیابی به جمعیت مورد نظر، از گیاهچه‌های چهاربرگی رقم early urbana گوجه‌فرنگی استفاده شد و تخم نماتد در عمق ۲–۳ سانتی‌متری مجاور ریشه قرار داده شد. پس از سه ماه نگهداری در شرایط گلخانه جمعیت کافی از نماتد در دسترس بود. برای جداسازی تخم‌های نماتد، ریشه‌های آلوده پس از شستشو با آب، درون خردکن ریخته شده و هیپوکلریت سدیم یک درصد به آن اضافه شده و پس از پنج دقیقه محتویات داخل خردکن به ترتیب روی الک‌های با منافذ ۶۰ مش و ۵۰۰ مش ریخته شده و نهایتاً تخم‌های روی الک ۵۰۰ مش در یک ارلن ریخته شده و با آب مقطر به حجم رسانیده شده و تخم‌ها به وسیله پتری شمارش، شمرده شده و با استفاده از تناسب ریاضی تعداد مورد نیاز مشخص گردید (Hussey & Barker, 1973). برای بدست آوردن لاروهای سن دو نماتد، تخم‌های مرحله قبل با استفاده از روش سینی (Whitehead & Hemming, 1965)، به مدت پنج روز در دمای ۲ ± ۲۵ درجه سلسیوس نگهداری گردید و پس از استخراج، مانند مرحله قبل شمارش و جمعیت مورد نظر محاسبه گردید.

تهیه جمعیت اولیه قارچ تریکودرما

قارچ‌های مورد آزمایش شامل دو جدایه از *T. harzianum*، یک جدایه *T. afroharzianum* و یک جدایه *T. crassum* بود که قبلاً از مزارع مختلف شهرستان رزن استان همدان جداسازی و شناسایی شده بود.

بررسی اثر مستقیم جدایه‌های *Trichoderma* بر تخم نماتد *M. javanica*

به‌منظور بررسی توانایی پارازیته کردن تخم‌های موجود در کیسه‌های تخم به‌وسیله قارچ‌ها از روش گوسوامی و اومو استفاده شد (Goswami & Uma, 1997). به این صورت که

دوایری با قطر یک سانتی‌متر از حاشیه رشد فعال جدایه‌های قارچی به مرکز پتری‌های حاوی محیط کشت سیب زمینی–دکستروز–آگار (PDA) منتقل و تعداد پنج عدد کیسه تخم سترون به روش فاطمی (Fatemy, 1998) در اطراف آن قرارداده شد. از محیط کشت PDA فاقد قارچ به‌عنوان شاهد استفاده شد. آزمایش در سه تکرار و در قالب طرح پایه کاملا تصادفی انجام شد. بعد از گذشت دو روز توده‌های تخم به محیط کشت آب –آگار (WA) منتقل شده و به مدت یک هفته در دمای ۲ ± ۲۵ درجه سلسیوس نگهداری گردید و پس از آن توسط استرئومیکروسکپ و میکروسکپ نوری Leica مورد بررسی قرار گرفتند.

بررسی اثر نماتدکشی عصاره کشت جدایه‌های قارچ *Trichoderma* و گوگرد روی مرگ و میر لارو سن دو نماتد *M. javanica*

ابتدا دوایری با قطر پنج میلی‌متر از حاشیه رشد فعال جدایه‌های قارچی در داخل ظرف حاوی محیط کشت مایع عصاره سیب زمینی–دکستروز (PDB) مایه‌زنی و به مدت ۱۴ روز در دمای ۲ ± ۲۵ درجه سلسیوس در محیط انکوباتور شیکردار نگهداری شدند، سپس محیط کشت مایع PDB حاوی توده‌های رشد کرده قارچ، از کاغذ صافی Whatman شماره یک سترون عبور داده شد، تا عصاره کشت قارچ با غلظت پایه به‌دست آید. سپس با افزودن میزان لازم آب مقطر استریل به غلظت پایه، ۰/۰۱ و ۰/۰۱ از عصاره کشت تهیه شد، از آب مقطر استریل هم به‌عنوان شاهد استفاده گردید. غلظت‌های مختلف عصاره قارچ‌ها و آب مقطر داخل پتری‌های استریل منتقل و به هر یک ۲۵ ± ۳۰۰ عدد لارو سن دو نماتد اضافه گردید. برای بررسی اثر گوگرد با توجه به ماده موثره ترکیب (کود آلی سه کاره شرکت راسکود) ۰/۰۲۵ گرم گوگرد وزن شده، سپس با آب مقطر استریل به حجم ۱۰۰۰ میلی‌لیتر رسانده شد و برای هر تیمار حاوی گوگرد یک میلی‌لیتر اضافه شد. بعد از ۲۴ ، ۴۸ و ۷۲ ساعت درصد مرگ و میر لارو سن دو نماتد بررسی شد. آزمایش به صورت فاکتوریل و در قالب طرح کاملاً تصادفی و با پنج تکرار انجام شد (شکل ۱).

شکل ۱- کشت قارچ تریکودرما در محیط PDB (محیط کشت مایع) و بررسی تأثیر عصاره قارچ‌ها و گوگرد روی مرگ و میر لاروهای سن دو *Meloidogyne javanica*

Fig. 1. Cultivation of *Trichoderma* sp. in PDB medium (liquid culture medium) and investigation of the effect of fungal extracts and sulfur on the mortality of second–stage larvae of *Meloidogyne javanica*

بررسی اثر عصاره کشت جدایه‌های قارچ *Trichoderma* و گوگرد روی تفریخ تخم‌های نماتد *M. javanica*

سه غلظت مختلف عصاره کشت قارچ‌ها و نیز گوگرد طبق روش قبل تهیه و آب مقطر سترون نیز به‌عنوان شاهد انتخاب گردید، سپس ۱۴ ± ۲۰۰ عدد تخم نماتد به هر پتری اضافه شد. پس از گذشت دو، چهار، شش و هشت روز تعداد تخم‌های تفریخ نشده در هر پتری شمارش شده و درصد آن محاسبه و ثبت گردید. آزمایش به‌صورت فاکتوریل در قالب طرح پایه کاملاً تصادفی و در پنج تکرار انجام شد.

آنالیز آماری: آنالیز آماری داده‌های به‌دست آمده با استفاده از نرم افزار SAS.9.4 انجام شد و میانگین‌ها با آزمون توکی در سطح یک درصد مورد مقایسه قرار گرفت.

نتایج

اثر دو جدایه از قارچ‌های *T. harzianum* و گونه‌های *T. afroharzianum* و *T. crassum* بر کلنیزاسیون تخم‌های نماتد *M. javanica*

طبق بررسی‌های انجام شده و مشاهده تخم‌ها زیر میکروسکوپ، پس از گذشت یک هفته، تمامی تخم‌های *M. javanica* توسط تمامی جدایه‌های قارچی مورد مطالعه، کلنیزه شدند (شکل ۲).

شکل ۲- تخم کلنیزه شده نماتد *Meloidogyne javanica* توسط *Trichoderma crassum*

Fig. 2. Colonized egg of *Meloidogyne javanica* by *Trichoderma crassum*

بررسی اثر عصاره کشت جدایه‌های قارچ *Trichoderma* و گوگرد بر درصد مرگ و میر لاروهای سن دو نماتد *M. javanica*

نتایج این آزمایش نشان داد که بین خاصیت نماتدکشی تیمارهای مختلف، غلظت‌های آنها و زمان‌های مختلف در سطح یک درصد نسبت به نمونه شاهد اختلاف معنی‌دار وجود دارد. علاوه بر این، تجزیه واریانس میانگین اثر متقابل سه‌گانه (تیمار + غلظت + زمان) در صفت میزان مرگ و میر لاروهای سن دو نماتد در این آزمایش در سطح یک درصد معنی‌دار بود (جدول ۱).

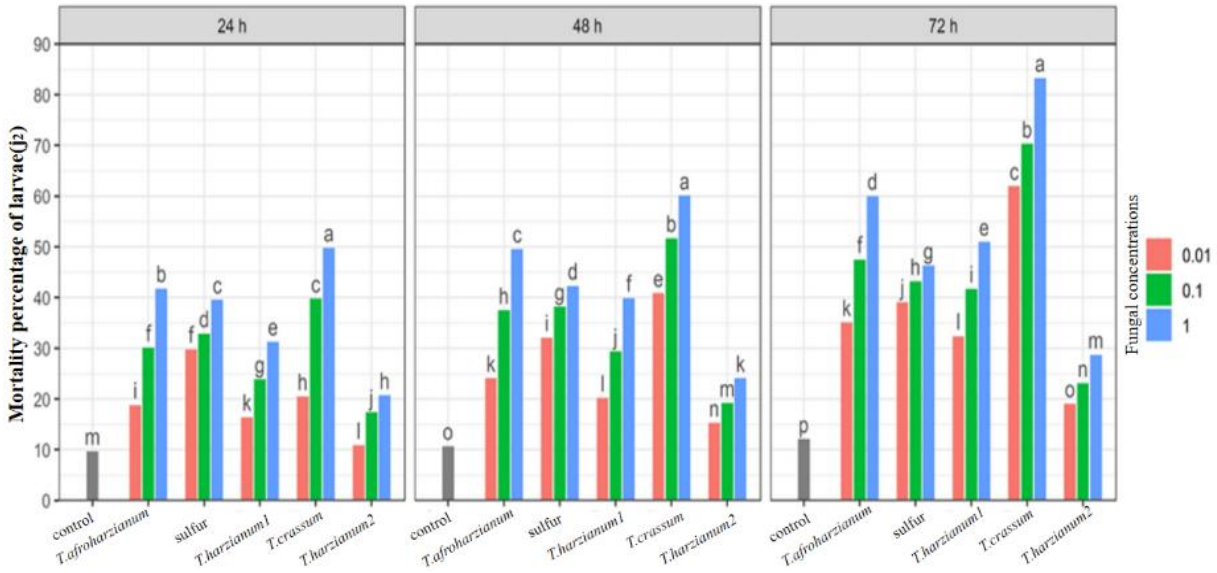
نتایج مقایسه میانگین‌ها ۲۴، ۴۸ و ۷۲ ساعت پس از شروع آزمایش نشان داد همه تیمارها در همه غلظت‌های مورد استفاده در سطح یک درصد نسبت به شاهد تفاوت معنی‌دار دارند. به نحوی که پس از ۲۴ ساعت در تیمار *T. crassum* در غلظت پایه (غلظت ۱) با ۴۹/۸ و *T. harzianum* 2 در غلظت ۰۱/. با ۱۰/۹ درصد، پس از ۴۸ ساعت با ۶۰/۱ و ۱۵/۳ درصد و پس از ۷۲ ساعت با ۸۳/۳ و ۱۹/۱ درصد به ترتیب بیشترین و کمترین تأثیر را در مرگ و میر لاروهای سن دو نماتد نشان دادند (شکل ۳).

جدول ۱- تجزیه واریانس تأثیر عصاره جدایه‌های قارچ *Trichoderma* در غلظت‌ها و زمان‌های مختلف بر درصد مرگ و میر لارو سن دو *Meloidogyne javanica* در شرایط آزمایشگاهی.

Table 1. Analysis of variance of the effect of extracts of *Trichoderma* isolates at different concentrations and times on the percentage of mortality of second–stage larvae of *Meloidogyne javanica* in vitro.

Mean squares	Degrees of freedom	Sources of variation
5280.6***	2	Concentration
5668.7***	2	Time
6558.6***	2	Fungi type
5.96***	4	Concentration × Time
203.6***	8	Concentration × Fungi type
470.1***	8	Time × Fungi type
17.7***	16	Concentration × Time × Fungi type
0.085	180	Experiment error

***All sources of variation are significant at the 0. 001 statistical probability level.



شکل ۳- مقایسه میانگین درصد میزان مرگ و میر لاروهای سن دو نماتد *Meloidogyne javanica* تحت تأثیر سه غلظت مختلف گوگرد و همچنین جدایه‌های مختلف قارچ تریکودرما پس از ۲۴، ۴۸ و ۷۲ ساعت در شرایط آزمایشگاهی. حروف غیرهمسان با توجه به آزمون توکی در سطح ۱٪ اختلاف معنی‌دار با یکدیگر دارند.

Fig. 3. Comparison of the mean of the percentage mortality of second–stage larvae of *Meloidogyne javanica* under the effect of three concentrations of sulfur and also *Trichoderma* isolates after 24, 48 and 72 hours under labilatory conditions. Unlike letters are significantly different from each other according to Tukey's test at the 1% level.

بررسی اثر عصاره‌های کشت جدایه‌های قارچ *Trichoderma* و گوگرد بر تفریخ تخم‌های *M. javanica*

غلظت‌های مختلف (پایه، ۰/۱، ۰/۰۱) عصاره‌ی کشت ایزوله‌های مختلف قارچ و نیز گوگرد در شرایط آزمایشگاهی بر ۱۴ ± ۲۰۰ عدد تخم نماتد ریشه‌گرهی اعمال شد و وضعیت تفریخ تخم پس از ۲، ۴، ۶ و ۸ روز مورد بررسی قرار گرفت و تعداد تخم‌های تفریخ شده شمارش گردید. بر اساس نتایج تجزیه واریانس میانگین اثر متقابل سه‌گانه (تیمار + غلظت + زمان)، اثر هر سه عامل بر صفت ممانعت از تفریخ تخم نماتد در این آزمایش معنی‌دار بود (جدول ۲).

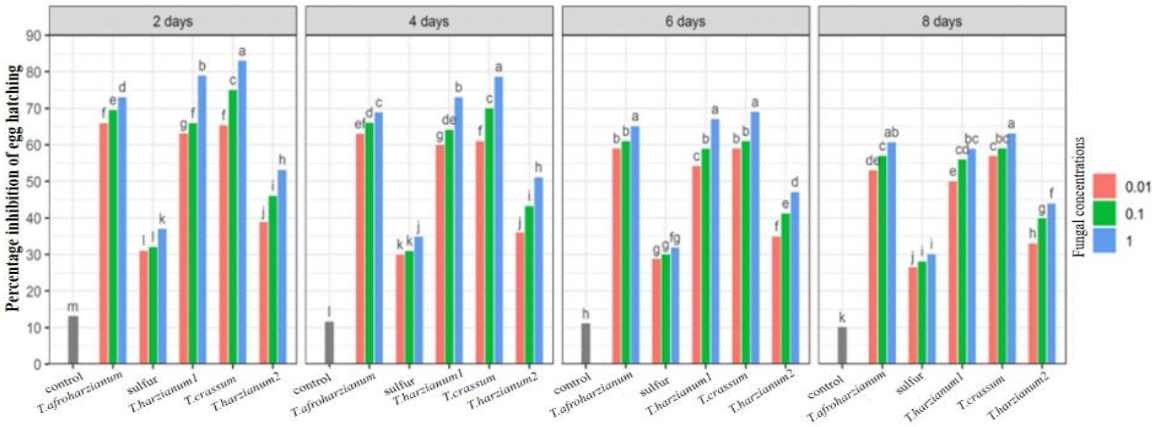
نتایج نشان داد تمام تیمارها در همه غلظت‌های مورد استفاده پس از گذشت ۲، ۴، ۶ و ۸ روز در ممانعت از تفریخ تخم‌های نماتد با شاهد در سطح یک درصد آزمون توکی اختلاف معنی‌دار دارند. به نحوی که پس از دو روز *T. crassum* در غلظت پایه با ۸۳ درصد و گوگرد در غلظت ۰/۰۱٪ با ۳۷ درصد، پس از چهار روز همین تیمارها با ۷۸/۶ و ۲۹/۹ درصد، پس از ۶ روز با ۶۹ و ۲۸/۸ درصد و پس از هشت روز با ۶۳/۱ و ۲۶/۵ درصد به ترتیب به ترتیب بیشترین و کمترین تأثیر را در ممانعت از تفریخ تخم *M. javanica* داشتند (شکل ۴).

جدول ۲- تجزیه واریانس تأثیر عصاره کشت جدایه‌های مختلف قارچ *Trichoderma* در سطوح متفاوت غلظت و زمان بر درصد بازدارندگی تفریخ تخم‌های نماتد *Meloidogyne javanica* در شرایط آزمایشگاهی.

Table 2. Analysis of variance of the effect of culture extracts of different *Trichoderma* isolates at different levels of concentration and time on the percentage of inhibition of *Meloidogyne javanica* eggs hatching under labolatory conditions.

Mean squares	Degrees of freedom	Sources of variation
2117.9***	2	Concentration
1504/7***	3	Time
15008.6***	2	Fungi type
67.3***	8	Concentration × Time
137.7***	6	Concentration × Fungi type
68.9***	12	Time × Fungi type
14.4***	24	Concentration × Time × Fungi type
1.60	240	Experiment error

***All sources of variation are significant at the 0. 001 statistical probability level.



شکل۴. مقایسه میانگین درصد بازدارندگی تفریخ تخم‌های *Meloidogyne javanica* تحت تأثیر سه غلظت مختلف گوگرد و همچنین جدایه‌های مختلف قارچ تریکودرما پس از ۲، ۴، ۶ و ۸ روز در شرایط آزمایشگاهی. حروف غیرهمسان با توجه به آزمون توکی در سطح ۱٪ اختلاف معنی‌دار با یکدیگر دارند.

Fig. 4. Comparison of the average percentage of inhibition of *Meloidogyne javanica* eggs hatching under the effect of three concentrations of sulfur and also *Trichoderma* isolates after 2, 4, 6and 8 days, under laboratory counditions Unlike letters are significantly different from each other according to Tukey's test at the 1% level.

بحث

تریکودرما

جنس تریکودرما یکی از معروف‌ترین گروه‌های قارچی است که به عنوان عامل مهار زیستی مورد استفاده قرار می‌گیرد، گونه‌های آن اغلب بسیار سریع رشد می‌کنند، به‌سرعت بسترها را کلنیزه می‌کنند و با استفاده از مکانیسم‌های مختلف، بیماری‌های مختلف را به طور موثر کنترل می‌کنند (Cherif & Benhamou, 1990; Vinale *et al*, 2008). اکثر قارچ *Trichoderma* spp. یک عامل مهار زیستی بالقوه نماتدهای انگلی گیاهی به‌شمار می‌رود (Spiegel & Chet, 1998). مهار زیستی نماتدهای ریشه گرهی توسط گونه‌های مختلف تریکودرما در چندین مطالعه نشان داده شده است (Mascarin *et al*, 2012; Al shammari *et al*, 2013). از سوی دیگر، به منظور ارزیابی کامل توانایی یک عامل مهار زیستی، بررسی میزان تأثیر غلظت‌های مختلف ضروری است و در این رابطه مطالعات مختلفی انجام شده است نتایج این بررسی نشان می‌دهد که تیمار خاک با جدایه‌های دو گونه‌ی *T. harzianum* و *T.*

konigii سبب کاهش تعداد تخم تولید شده توسط نماتد *M. arenaria* می‌گردد (Smith *et al.*, 1997).

گونه *T. harzianum* در خاک‌هایی با اسیدیته ۶/۵ و یا کمتر فعال می‌باشد. دادن پاسخ مناسب به تغییرات اسیدیته یکی از مکانیسم‌های قارچ تریکودرما برای کنترل بیمارگرها می‌باشد (Backer, 1998). اسیدیتهٔ محیط از مهم‌ترین فاکتورهای موثر بر تریکودرما و بیمارگرها و مواد مترشحه از آنهاست. فاکتورهای بیماری‌زایی یک بیمارگر تنها در یک دامنهٔ محدود از اسیدیته‌ها تولید می‌شوند. سویه‌های قارچ تریکودرما سبب تغییر اسیدیته محیط شده و قادر به سازگار کردن متابولیت‌های خود با اسیدیته محیط هستند (Prusky, 2003).

نماتد

پوستهٔ تخم نماتد از مهم‌ترین ساختارهایی است که وظیفه محافظت از لارو نماتد در داخل تخم را بر عهده دارد. در نماتد ریشه‌گرهی پوستهٔ تخم شامل ۵۰ درصد پروتئین، ۳۰ درصد کیتین و ۲۰ درصد لیپید است. با توجه به ترکیبات موجود در پوستهٔ تخم آنزیم‌های تجزیه‌کننده تولید شده توسط جدایه‌های مختلف تریکودرما مانند کیتیناز، پروتئاز و لیپاز سبب تخریب تخم، کاهش تفریخ تخم و افزایش مرگ و میر لاروهای نماتد می‌گردد (Suarez *et al*, 2004).

گوگرد

تاثیر عناصر غذایی و اصلاح کننده‌های خاک در کاهش بیماری‌های گیاهی باعث شده است که در بسیاری از مواقع در خط اول دفاع علیه بیمارگرها قرار گیرند (Li *et al*, 2017). گوگرد عنصری است که در خاک توسط باکتری‌های شیمیوتروف (*Thioabacillus* sp.) اکسید شده و منجر به افزایش اسیدیته خاک می‌گردد. ترکیبات حاوی گوگرد شاخص‌های رشدی گیاه را افزایش داده و باعث کاهش جمعیت نماتدهای انگل گیاهی می‌شوند. سولفات به وسیلهٔ باکتری‌های احیاءکنندهٔ سولفات، به سولفید هیدروژن که یک ترکیب سمی برای نماتدها می‌باشد، تبدیل می‌گردد. نتایج حاصل از تحقیقات نشان داده است که سولفات آمونیوم (Noweer & Hasabo, 2005). سولفات آهن (Zhang *et al*, 2010)، سولفات پتاسیم و سولفات روی (Seifi & Karegarbideh, 2013) سبب کاهش جمعیت نماتدهای انگل گیاهی از جمله *Pratylenchus penetrans*، *M. incognita*، *Heterodera glycine* می‌شوند.

در یک پژوهش دیگر نیز با کاربرد گونه‌های مختلف قارچ *T. harzianum* اثر کنترلی آنها را جهت مهار نماتد *M. Incognita* بررسی کردند و بیان کردند که گونه‌های تریکودرما، سبب کاهش تعداد تخم و لارو سن دو نماتد شدند. دریک بررسی اثر بیوکنترلی گونه‌های *T. viride*، *T. asperellum* علیه فعالیت نماتدهای ریشه‌گرهی آزمایش شده و مشخص شد که استفاده از این قارچ‌ها سبب کاهش گال‌های ریشه شده، رشد میزبان را بهبود بخشیده و سبب افزایش تحمل گیاه نیز می‌شود (Sharon *et al*, 2007).

نتایج بدست‌آمده از بررسی حاضر نشان داد استفاده از گوگرد و گونه‌های تریکودرمای مورد استفاده در این پژوهش شامل دو جدایه از *T. harzianum*، *T. afroharzianum* و *T. crassum* بر مهار زیستی *M. javanica* موثر بوده و نسبت به شاهد از نظر آماری تفاوت معنی‌دار داشتند. در این میان *T. crassum* بیشترین تأثیر را هم در مرگ و میر لارو سن دو و هم ممانعت از تفریخ تخم این نماتد داشت در حالیکه کمترین میزان مرگ و میر لاروهای سن دو مربوط به *T. harzianum*2 و کمترین درصد ممانعت از تفریخ تخم متعلق به تیمار گوگرد بود.

پیشنهادات

با توجه به نتایج بدست آمده از پژوهش حاضر و اثر *T. crassum* بر مهار زیستی *M. javanica* پیشنهاد می‌گردد آزمایشات بیشتری در ارتباط با میزان تأثیر این گونه بر سایر گونه‌های رایج نماتد مولد غده هم در شرایط آزمایشگاه و هم گلخانه صورت پذیرد.

سپاسگزاری

نویسندگان از دانشگاه بوعلی‌سینا بابت حمایت‌های مالی از این پژوهش سپاسگزاری می‌نمایند.

References

Al–Shammari, T.A., Bahkali, A.H., Elgorban, A.M., El–Kahky, M.T. & Al–Sum, B.A. 2013. The use of *Trichoderma longibrachiatum* and *Mortierella alpina* against root–knot nematode, *Meloidogyne javanica* on tomato. Journal of Pure and Applied Microbiology, 7: 199–207.

Cherif, M. & Benhamou, N. 1990. Cytochemical aspects of chitin breakdown during the parasitic action of a *Trichoderma* sp. on *Fusarium oxysporum* f. sp. *radicis–lycopersici*. Phytopathology, 80(12): 1406–1414.

Durrant, W.E. & Dong, X. 2004. Systemic acquired resistance. Annual Review Phytopathology, 42: 185–209.

Fatemy, S. 1998. Antagonistic activity of *Paecillomyces fumosoroseus* against *Meloidogyne javanica* and *Heterodera schachtii*. Iranian Journal of Plant Pathology, 34: 67–75.

Goswami, B.K. & Uma, R. 1997. Studies on different isolates of *Paecilomyces lilacinus* collected from different agroclimatic regions in India. Indian Journal of Nematology, 27(2): 238–240.

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.

Jones, J.T., Haegeman, A., Danchin, E.G., Gaur, H.S., Helder, J., Jones, M.G. & Perry, R.N. 2013. Top 10 plant-parasitic nematodes in molecular plant pathology. Molecular plant pathology, 14(9): 946–961.

Khalil, M.S.E.D.H., Allam, A.F.G. & Barakat, A.S.T. 2012. Nematicidal activity of some biopesticide agents and microorganisms against root–knot nematode on tomato plants under greenhouse conditions. Journal of Plant Protection Research, 52(1).

Khan, R.A.A., Najeeb, S., Hussain, S., Xie, B. & Li, Y. 2020. Bioactive secondary metabolites from *Trichoderma* spp. against phytopathogenic fungi. Microorganisms, 8(6): 817.

Khan, Z., Kim, S.G., Jeon, Y.H., Khan, H.U., Son, S.H. & Kim, Y.H. 2008. A plant growth promoting rhizobacterium, *Paenibacillus polymyxa* strain GBR–1, suppresses root–knot nematode. Bioresource Technology, 99(8): 3016–3023.

Li, Y., Stirling, G.R. & Seymour, N.P. 2017. The effect of organic amendment input and crop management practices on the nematode community and suppression of root–lesion nematode (*Pratylenchus thornei*) in a grain–growing soil. Australasian Plant Pathology, 46(5): 463–472.

Mascarin, G.M., Junior, M.F.B. & de Araújo, J.V. 2012. *Trichoderma harzianum* reduces population of *Meloidogyne incognita* in cucumber plants under greenhouse conditions. Journal of Entomology and Nematology, 4(6): 54–57.

Nicol, J.M., Turner, S.J., Coyne, D.L., Nijs, L.D., Hockland, S. & Maafi, Z.T. 2011. Current nematode threats to world agriculture. Genomics and Molecular Genetics of Plant–Nematode Interactions, 21–43.

Noweer, E.M.A. & Hasabo, S.A. 2005. Effect of different management practices for controlling root–knot nematode *Meloidogyne incognita* on squash. Egyptian Journal of Phytopathology, 33(2): 73–81.

Prusky, D. 2003. Pathogenic fungi: leading or led by ambient pH. Molecular Plant Pathology, 4(6): 509–516.

Seifi, S. & Karegar Bide, A. 2013. Effect of mineral fertilizers on cereal cyst nematode *Heterodera filipjevi* population and evaluation of wheat. World Applied Programming, 3(4): 137–141.

Sharon, E., Chet, I., Viterbo, A., Bar–Eyal, M., Nagan, H., Samuels, G.J. & Spiegel, Y. 2007. Parasitism of *Trichoderma* on *Meloidogyne javanica* and role of the gelatinous matrix. European Journal of Plant Pathology, 118: 247–258.

Sikora, R.A., Schäfer, K. & Dababat, A.A. 2007. Modes of action associated with microbially induced in planta suppression of plant–parasitic nematodes. Australasian Plant Pathology, 36: 124–134.

Smith, K.P., Handelsman, J. & Goodman, R.M. 1997. Modeling dose–response relationships in biological control: partitioning host responses to the pathogen and biocontrol agent. Phytopathology, 87(7): 720–729.

Spiegel, Y. & Chet, I. 1998. Evaluation of *Trichoderma* spp. as a biocontrol agent against soilborne fungi and plant–parasitic nematodes in Israel. Integrated Pest Management Reviews, 3:169–175.

Suarez, B., Rey, M., Castillo, P., Monte, E. & Llobell, A. 2004. Isolation and characterization of PRA1, a trypsin–like protease from the biocontrol agent *Trichoderma harzianum* CECT 2413 displaying nematicidal activity. Applied Microbiology and Biotechnology, 65: 46–55.

Trudgill, D.L. & Blok, V.C. 2001. Apomictic, polyphagous root–knot nematodes: exceptionally successful and damaging biotrophic root pathogens. Annual Review of Phytopathology, 39(1): 53–77.

Vinale, F., Sivasithamparam, K., Ghisalberti, E.L., Marra, R., Woo, S.L. & Lorito, M. 2008. Trichoderma–plant–pathogen interactions. Soil Biology and Biochemistry, 40(1): 1–10.

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.

Effect of sulfur and Tree *Trichoderma* species on egg hatching and mortarity of root–knot nematode (*Meloidogyne javanica*) under laboratory conditions

Fatemeh Soltani Tale[1], Leila Kashi[2], DoostMorad Zafari[3]

1., 2., 3. M.Sc., Assistant Professor, Professor, Department of Plant Protection, Bu–Ali Sina University, Hamedan, Iran.

Corresponding author: Leila Kashi, email: l.kashi@basu.ac.ir

Received: Dec., 12, 2024 11(2) 31–39 Accepted: Jan., 05, 2025

Abstract

Root–knot nematode (*Meloidogyne* sp.) with 105 known species and a wide host range is considered the most damaging plant parasitic nematode. Doing esearch on the control of this nematode without using of chemical pesticides is necessary in order to preserve the environment. The interaction effect of *Meloidogyne javanica*, sulfur and *Trichoderma afroharzianum*, *T. crassum* and two isolates of *T. harzianum* was investigated in a completely randomized basic design with five replications under laboratory conditions. The effect of fungal extracts at three levels of concentration (basic, 0.1 and 0.01) were investigated in two separate experiments on second stage larval mortality of the nematode at 24, 48 and 72 hours as well as egg hatching after 2, 4, 6 and 8 days. The results of the studies showed that after 72 hours, *T. carssum* at the basic concentration level had the greatest effect on the mortality of second stage larvae of *M. javanica*, with a rate of 83.3%. Also, it was showed that *T. crassum* at the basic level of concentration had the highest effect on inhibiting egg hatching after eight days with a rate of 63.1%.

Keywords: antagonist, *Trichoderma afroharzianum*, *T. crassum*, *T. harzianum*, biocontrol