

Research Article

Biological control of root-knot nematode (*Meloidogyne javanica*) on tomato plant by some plant growth promoting bacteria (PGPRs)**Mohammad Hadipoor, Hossein Mirzaei Najafaghali[✉], Kourosh Azizi**

Department of Plant Protection, Faculty of Agriculture, Lorestan University, Khorramabad, Iran

Corresponding author[✉]Mirzaei.h@lu.ac.ir**Abstract****Keywords**

Greenhouse, Laboratory, Mortality, PGPR, Root-knot nematode

Received: 4 January 2025**Revised:** 17 March 2025**Accepted:** 5 April 2025**Available online:** 19 May 2025

Root-knot nematodes (*Meloidogyne* spp.) are among the most important pathogens of plants, including tomato. In this study the effect of six bacteria viz., *Bacillus amyloliquefaciens*, *Curtobacterium* sp., *Staphylococcus epidermidis*, *Stenotrophomonas rhizophila*, *Pseudomonas* sp., and *Stenotrophomonas* sp. strain LU2 on *Meloidogyne javanica* was investigated. In the egg hatching test in laboratory conditions eighty days after inoculation, respectively *Curtobacterium* sp. with 61%, *B. amyloliquefaciens* with 46%, and *Stenotrophomonas* sp. with 26% showed the most control effect. In testing the number of live larvae in laboratory conditions, three days after inoculation, respectively *Curtobacterium* sp. with 43% mortality, *B. amyloliquefaciens* with 32% mortality, and *Stenotrophomonas* sp. with 8/5% mortality showed the most control effect. In the growth indices related to the greenhouse among the infected and healthy treatments, the treatments (with and without nematode - *Curtobacterium* sp.) in the plant height index respectively with 16, 22%, in the root length index with 20, 34% in plant fresh weight index with 40, 86% and in plant dry weight index with 30, 69% compared to control with nematodes showed the most positive effect. Also, the treatments (with and without nematode - *B. amyloliquefaciens*) in plant height with 14, 17, in root length with 5/76, 22, in plant fresh weight with 29, 36, in plant dry weight index with 23, 26 percent compared to control with nematodes showed a positive effect. The number of galls in one gram of root, the number of eggs in one gram of root of the treatment containing the bacteria *Curtobacterium* sp. 84%, 15%, and 70%, respectively, and *B. amyloliquefaciens* respectively showed 73%, 5/9%, and 66% control compared to the control.

Cite this article:Hadipoor M, Mirzaei Najafaghali H, Azizi K, 2025. Biological control of root-knot nematode (*Meloidogyne javanica*) on tomato plant by some plant growth promoting bacteria (PGPRs). *J Appl Res Plant Prot* 14 (3): 239–250.<https://dx.doi.org/10.22034/arpp.2025.19831>

Copyright© 2025 University of Tabriz, Published by the University of Tabriz.

This is an open access article under the CC BY NC license (<https://creativecommons.org/licenses/by-nc/2.0/>)

کنترل زیستی نماتد ریشه گرهی (*Meloidogyne javanica*) در گوجه‌فرنگی توسط برخی از

باکتری‌های محرک رشد

محمد هادی پور، حسین میرزایی نجفقلی[✉]، کورش عزیزی

گروه گیاه‌پزشکی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه لرستان، خرم‌آباد، ایران

نویسنده مسئول: Mirzaei.h@lu.ac.ir[✉]

دریافت: ۱۴۰۳/۱۰/۱۵ بازنگری: ۱۴۰۳/۱۲/۲۷ پذیرش: ۱۴۰۴/۰۱/۱۶

چکیده

نماتدهای ریشه گرهی (*Meloidogyne spp.*) از مهمترین بیمارگرهای گیاهان از جمله گوجه‌فرنگی هستند. در این پژوهش تاثیر شش باکتری *Stenotrophomonas* *Staphylococcus* *epidermidis*، *Curtobacterium* *sp.* *Bacillus* *amyloliquefaciens* و *Pseudomonas* *sp.* *rhizophila* strain LU2 بر نماتد *M. javanica* در گوجه‌فرنگی بررسی شد. در آزمون تاثیر این باکتری‌ها بر تفریح تخم این نماتد در شرایط آزمایشگاهی *Curtobacterium* *sp.* با ۶۱٪، *S. rhizophila* با ۵۲٪ و *B. amyloliquefaciens* با ۴۶٪ به ترتیب بیشترین اثر کنترلی را نشان دادند. در آزمون تاثیر باکتری‌ها بر مرگ و میر لاروها در شرایط آزمایشگاهی به ترتیب *Curtobacterium* *sp.* با ۴۳٪، *S. epidermidis* با ۳۳٪ و *B. amyloliquefaciens* با ۳۲٪ بیشترین تاثیر را داشتند. در شاخص‌های رشدی گیاه در گلخانه در تیمارهای با و بدون نماتد حاوی باکتری تیمار بدون نماتد حاوی باکتری *S. Rhizophila* و تیمار نماتددار حاوی باکتری *S. epidermidis* در شاخص ارتفاع بوته به ترتیب با ۴۸، ۱۸٪، در شاخص طول ریشه با ۴۹، ۲۹٪، در شاخص وزن تر بوته با ۱۷۸، ۳۹٪ و در شاخص وزن خشک بوته با ۱۸۲، ۳۰٪ بیشترین تاثیر مثبت را نسبت به تیمار نماتد نشان دادند. در شاخص‌های بیماری‌زایی مربوط به تعداد لارو در ۱۰۰ گرم خاک، تعداد گال در یک گرم ریشه، تعداد تخم در یک گرم ریشه تیمار حاوی باکتری *Curtobacterium* *sp.* به ترتیب ۸۴٪، ۱۵٪، ۷۰٪ و تیمار حاوی باکتری *B. amyloliquefaciens* به ترتیب ۷۳٪، ۵۹٪، ۶۶٪ و تیمار حاوی باکتری *S. epidermidis* به ترتیب ۸۴٪، ۴۲٪، ۱۷٪ کنترل را نسبت به شاهد آلوده به نماتد بدون باکتری نشان دادند.

کلمات کلیدی: آزمایشگاهی، گلخانه‌ای، مرگ و میر، نماتد ریشه‌گرهی، PGPR

مقدمه

مهمترین و مشخص‌ترین علائم زیر زمینی، شامل تشکیل گال‌هایی است که در ریشه‌های آلوده به نماتد دیده می‌شوند. میزان خسارت وارد شده بستگی به گیاه میزبان، جمعیت و گونه نماتد و شرایط زراعی دارد (Gharabadian & Jamali 2012). از رایج‌ترین و موثرترین روش‌های کنترل برای نماتدها استفاده از سموم شیمیایی محسوب می‌شود. در حال حاضر با توجه به خطرات و مشکلات حاصل از کنترل شیمیایی و اثرات سوء سموم بر سلامت انسان، منابع طبیعی و محیط زیست استفاده از سایر روش‌ها به عنوان جایگزین مورد توجه قرار گرفته که از بین آن‌ها به کار گرفتن میکروارگانیسم‌های آنتاگونیست علیه عوامل بیماری‌زا بیش‌تر از سایر روش‌ها نظر محققین را به خود جلب کرده است (Roberts et al. 2005). تاکنون تلاش‌های زیادی برای استفاده از قارچ‌ها و باکتری‌های آنتاگونیست صورت گرفته است (Khan et al. 2008). باکتری‌های محرک رشد، باکتری‌های ریزوسفری، همراه با اثرات مفید در رشد و توسعه گیاه هستند،

گوجه‌فرنگی با نام علمی (*Lycopersicon esculentum*) (Mill.) از خانواده بادنجانیان (Solanaceae) می‌باشد. این گیاه به دلیل وجود انواع ویتامین‌ها و املاح معدنی که به مقادیر زیاد در آن یافت می‌شود دارای اهمیت فراوانی است. نماتدهای انگل گیاهی آسیب‌های زیادی به محصولات کشاورزی وارد می‌کنند (Ripoll et al. 2003). در بین نماتدهای انگل گیاهی، نماتدهای ریشه‌گرهی *Meloidogyne spp.* از لحاظ اقتصادی دارای اهمیت بسیار بیشتری هستند. این گروه از نماتدها می‌توانند موجب ۲۴ تا ۳۸ درصد خسارت بر روی گیاه گوجه‌فرنگی شوند (Javed et al. 2007). میزان خسارت نماتد ریشه‌گرهی در سبزیجات در مناطق گرمسیری و نیمه گرمسیری به هشتاد درصد در مزارع آلوده می‌رسد (Sikora & Bridge 2005). علائم حاصل از نماتدهای ریشه‌گرهی در گیاهان آلوده به صورت زردی، ضعف عمومی، کوتولگی، پژمردگی و کاهش محصول می‌باشد. ولی

مواد و روش‌ها

تکثیر و تک‌گال کردن نماتد و تهیه باکتری

برای تهیه نمونه خالص از نماتد، از روش Hussey (1973) & Barker استفاده شد. بعد از گذشت ۹۰-۶۰ روز ریشه‌های آلوده برای تشخیص و تکثیر مجدد به آزمایشگاه منتقل شدند. برای شناسایی نماتد از مشخصات شبکه کوتیکولی انتهای بدن ماده بالغ و مشخصات ریخت‌شناختی و ریخت‌سنجی لاروها و نرها استفاده شده و بر اساس کلیدهای رایج، شناسایی انجام شد (Badakhshan et al. 2017). برای تهیه لارو سن دو، سوسپانسیون تخم نماتد بر روی کاغذ صافی که بر روی یک توری فلزی درون تشتک پتری حاوی آب مقطر قرار داشت، ریخته شده و به مدت چهار تا پنج روز در انکوباتور در دمای ۲۷ درجه سانتی‌گراد نگهداری گردید، لاروهای تفریخ شده برای آزمایشات استفاده شدند (Vrain 1977). باکتری‌های مورد استفاده شامل *Bacillus amyloliquefaciens*, *Curtobacterium* sp., *Stenotrophomonas*, *Staphylococcus epidermidis* *Stenotrophomonas* sp. و *Pseudomonas* sp. *rhizophila* strain LU2 بودند از کلکسیون گروه گیاه پزشکی دانشگاه لرستان تهیه شدند. این باکتری‌ها بر روی محیط کشت نوترینت آگار (NA) کشت شده و بعد از آزمون آزمایشگاهی باکتری‌های *B. amyloliquefaciens* و *Curtobacterium* sp. و *S. epidermidis* و *S. rhizophila* که بیشترین تاثیر را از خود نشان دادند، برای آزمون گلخانه‌ای به همراه نماتدکش (Nematex) مورد استفاده قرار گرفتند.

اثر سویه‌های باکتری بر تفریخ تخم و مرگ و میر لارو سن دوم برای بررسی تاثیر باکتری‌ها بر میزان تفریخ تخم، 5 ± 100 تخم نماتد با سه تکرار در طرح کاملاً تصادفی داخل تشتک پتری ریخته شد. سپس یک میلی‌لیتر از سوسپانسیون 10^8 cfu/ml هر یک از باکتری‌ها که غلظت آن‌ها توسط دستگاه اسپکتروفتومتر به طور دقیق تعیین شده بود به یک میلی‌لیتر آب حاوی تخم اضافه گردید. در تشتک شاهد از آب مقطر سترون استفاده شد. تشتک‌های پتری در دمای 2 ± 27 درجه سانتی‌گراد در داخل انکوباتور نگهداری شده و پس از گذشت سه، پنج و هفت روز تعداد لاروهای سن دوم و تعداد تخم‌های تفریخ نشده شمارش گردید. برای بررسی تاثیر باکتری‌ها بر مرگ و میر لارو سن دو نماتد با چهار تکرار، یک میلی‌لیتر از سوسپانسیون 10^8 cfu/ml از هر سویه باکتری به داخل تشتک‌های پتری حاوی یک میلی‌لیتر آب مقطر به همراه 5 ± 100 لارو سن دو نماتد که به

که به عنوان باکتری‌های (PGPR) یا (Plant Growth Promoting Rhizobacteria) شناخته می‌شوند. باکتری‌های محرک رشد گیاه مجموعه متنوعی از باکتری‌های مختلف، باکتری‌های همزیست و غیرهمزیست محیط ریشه که تثبیت کننده نیتروژن و محلول کننده، فسفر، پتاسیم، گوگرد و سیلیکات هستند، را دربر می‌گیرند (Abbas Dokht 2016). در این بین گونه‌های قارچ تریکودرما و باکتری باسیلوس از جمله عواملی به شمار می‌روند که به صورت بالقوه به عنوان مناسب‌ترین عوامل کنترل بیولوژیکی مطرح می‌باشند. میکروارگانیسم‌های مفید فراریشه از طریق اثر بر جذب مواد غذایی، چرخه‌نیتروژن، بهبود ساختار خاک و سرکوب انگل‌ها بر رشد گیاه تأثیر می‌گذارند و یک سد اولیه علیه عوامل بیماری‌زای حمله کننده به ریشه محسوب می‌شوند (Alkader 2008; Zaki et al. 2009). فعالیت باکتری‌های محرک رشد (PGPR) با دو روش مستقیم و غیرمستقیم بر رشد و نمو گیاهان تأثیر می‌گذارند. از طریق مستقیم با افزایش انحلال عناصر غذایی کم محلول، تولید هورمون‌های رشد گیاهی تولید د-آمیناز، تولید سیدروفور، تثبیت نیتروژن، حل‌الیت فسفات، کاهش غلظت اتیلن، باعث افزایش رشد و عملکرد گیاه می‌شوند. به طور غیر مستقیم باعث مهار عوامل بیماری‌زا می‌شوند که بدین طریق رشد و عملکرد گیاه را تحت تاثیر قرار می‌دهند (Glick et al. 1995; Zahir & Arshad 2004). این باکتری‌ها بر خلاف سموم شیمیایی که میکروارگانیسم‌ها را تحت تاثیر قرار می‌دهند، فقط در یک دامنه خاص فعالیت دارند. مطالعه Badakhshan et al. (2017) نشان داد که کاربرد توام *Trichoderma* و *Bacillus subtilis* علاوه بر افزایش شاخص‌های رشدی باعث کاهش شاخص‌های بیماری‌زایی نماتد ریشه‌گرهی در گیاه گوجه فرنگی می‌شود (Badakhshan et al. 2017). مطالعات (Dawar et al. 2008) نشان داد باکتری *B. subtilis* به شکل قابل توجهی باعث کاهش تفریخ تخم در نماتد می‌شود (Dawar et al. 2008). بر اساس مطالعات (2014) Ruiz et al. باکتری *B. subtilis* با تولید آنزیم‌های هیدرولتیک از جمله گلوکاناز، پروتئاز و آنتی بیوتیک‌هایی مانند لیپوپتید سورفاکتین، فنجاپسین و ایتبورین A قادر به فعالیت علیه نماتدها و قارچ‌ها هستند (Ruiz et al. 2014). (Siddiqui et al. 2005) مشخص کردند که تلقیح ریشه گوجه‌فرنگی با *Pseudomonas fluorescences* CHAO به علت تولید سیانید هیدروژن سبب کاهش نفوذ نماتد به داخل ریشه می‌شود (Siddiqui et al. 2005).

تیمارهای حاوی باکتری، نماتدکش نماتکس (نماتدکش شیمیایی تماسی گوارشی با فعالیت سیستماتیک محدود و فرمولاسیون 2% SC و به مقدار توصیه شده) مورد استفاده قرار گرفت. بعد از گذشت حدود ۹۰ روز، تیمارها به ترتیب برای بررسی شاخص‌های مد نظر به آزمایشگاه منتقل شدند. شاخص‌های رشدی گیاه شامل طول ساقه، طول ریشه، وزن تر ریشه، وزن تر اندام هوایی، وزن خشک ریشه و وزن خشک اندام هوایی و شاخص‌های بیماری‌زایی نماتد شامل تعداد گال و تعداد تخم در یک گرم ریشه و تعداد لارو سن دوم در ۱۰۰ گرم خاک تعیین شد.

نتایج

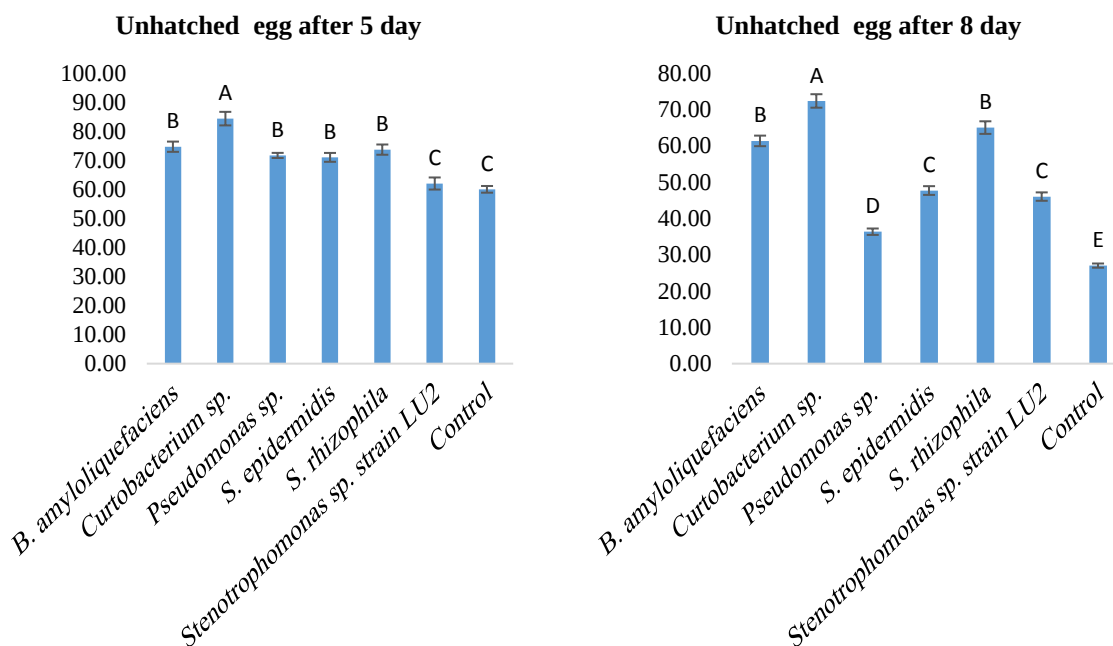
شناسایی نماتد ماده

با توجه به خصوصیات اندازه‌گیری شده در نماتدهای نر، لارو سن دوم و همچنین ویژگی‌های انتهای بدن نماتد ماده بر اساس کلیدهای معتبر، گونه نماتد به عنوان *M. javanica* شناسایی شد (Jepson 1987; Badakhshan et al. 2017).

تازگی تفریخ شده بودند، ریخته شد. تشک‌های پتری در دمای 27 ± 2 درجه سانتی‌گراد در داخل انکوباتور نگهداری شدند. پس از گذشت ۲۴، ۴۸ و ۷۲ ساعت، تعداد لاروهای مرده شمارش شده و درصد مرگ و میر لاروها مشخص گردید (Majzoub et al. 2011).

کشت گیاهان و اعمال تیمارها در گلخانه

در بررسی اثر باکتری‌ها در گلخانه، پژوهش در قالب طرح کاملاً تصادفی با چهار تکرار انجام شد. در مجموع ۴۸ گلدان در نظر گرفته شد. نشاءهای گوجه فرنگی در گلدان‌های سفالی یک کیلوگرمی حاوی خاک زراعی ضد عفونی شده، کوکوپیت و ماسه به نسبت ۱:۲:۲ کشت شدند. گلدان‌ها به مدت سه ماه پس از مایه زنی نماتد در گلخانه با دمای حدود ۲۷ تا ۲۸ درجه سانتی‌گراد نگهداری شد. در مرحله چهاربرگی گیاهچه‌های گوجه فرنگی به هر گلدان ۲۵۰۰ تخم و لارو اضافه شد (Abo-Elyousr et al. 2010). همچنین بعد از حدود یک هفته به هر گلدان ۵۰ سی‌سی باکتری با غلظت 10^8 cfu/ml اضافه شد. در این آزمون به منظور بررسی خاصیت نماتدکشی و همچنین امکان مقایسه



شکل ۱. مقایسه میانگین تعداد تخم تفریخ شده تحت تیمارهای باکتری در شرایط آزمایشگاهی (حروف مشابه لاتین بر اساس آزمون دانکن نشان دهنده عدم تفاوت معنی‌دار بین تیمارها در سطح احتمال ۵ درصد می‌باشد).

Figure 1. Comparison of the number of egg hatching under bacterial treatment in laboratory condition (Values followed by the same letters in each column based on the Duncan test are not significantly different ($P \leq 0.05$)).

مورد بررسی قرار گرفت. در روز سوم تخم تفریخ شده‌ای مشاهده نگردید. با توجه به مقایسه میانگین‌ها در شکل (۱) بیشترین

تأثیر باکتری‌های مورد آزمایش بر درصد تفریخ تخم نماتد در این آزمون که در بازه‌های زمانی سه، پنج و هشت روز

۷۲ ساعت بعد از تلقیح بررسی شد. با توجه به مقایسه میانگین‌ها در شکل (۲) بیشترین مرگ و میر لارو در ۲۴، ۴۸، ۷۲ ساعت در تیمار *Curtobacterium* sp. به ترتیب ۲۰٪ و ۳۱٫۵٪ و ۴۳٪ درصد کاهش لارو زنده نسبت به شاهد سپس در تیمارهای *B. amyloliquefaciens* به ترتیب ۱۴٫۶٪ و ۲۲٫۷٪ و ۳۲٫۶٪ درصد و *S. epidermidis* به ترتیب ۱۲٫۴٪ و ۲۶٪ و ۳۳٫۵٪ درصد کاهش لارو زنده نسبت به شاهد مشاهده شد. در تیمار *Stenotrophomonas* sp. strain LU2 به ترتیب ۴٫۷٪ و ۶٫۱٪ و ۸٪ درصد کاهش نسبت به شاهد می‌باشد.

میزان کاهش تفریح تخم در روز پنجم و هشتم در تیمار *Curtobacterium* sp. به ترتیب ۶۰٪ و ۶۱٫۷٪ درصد کاهش تفریح تخم نسبت به شاهد و سپس در تیمارهای *B. amyloliquefaciens* به ترتیب ۳۷٫۵٪ و ۴۶٫۶٪ درصد و *Rhizophila* به ترتیب ۳۵٪ و ۵۲٫۱٪ درصد کاهش تفریح تخم نسبت به شاهد می‌باشد. میزان کاهش تفریح تخم در روز پنجم و هشتم در تیمار *Stenotrophomonas* sp. strain LU2 به ترتیب ۵٪ و ۲۶٫۱٪ درصد کاهش تفریح تخم نسبت به شاهد می‌باشد.

تاثیر باکتری‌های مورد آزمایش بر مرگ و میر لارو سن دوم نماتد در این آزمون تاثیر تیمارها بر شاخص لارو زنده در ۲۴، ۴۸،

جدول ۱. تجزیه واریانس تاثیر تیمارهای مختلف باکتری در دو سطح زمانی بر درصد بازدارندگی تفریح تخم‌های نماتد *M. javanica* در شرایط آزمایشگاهی.

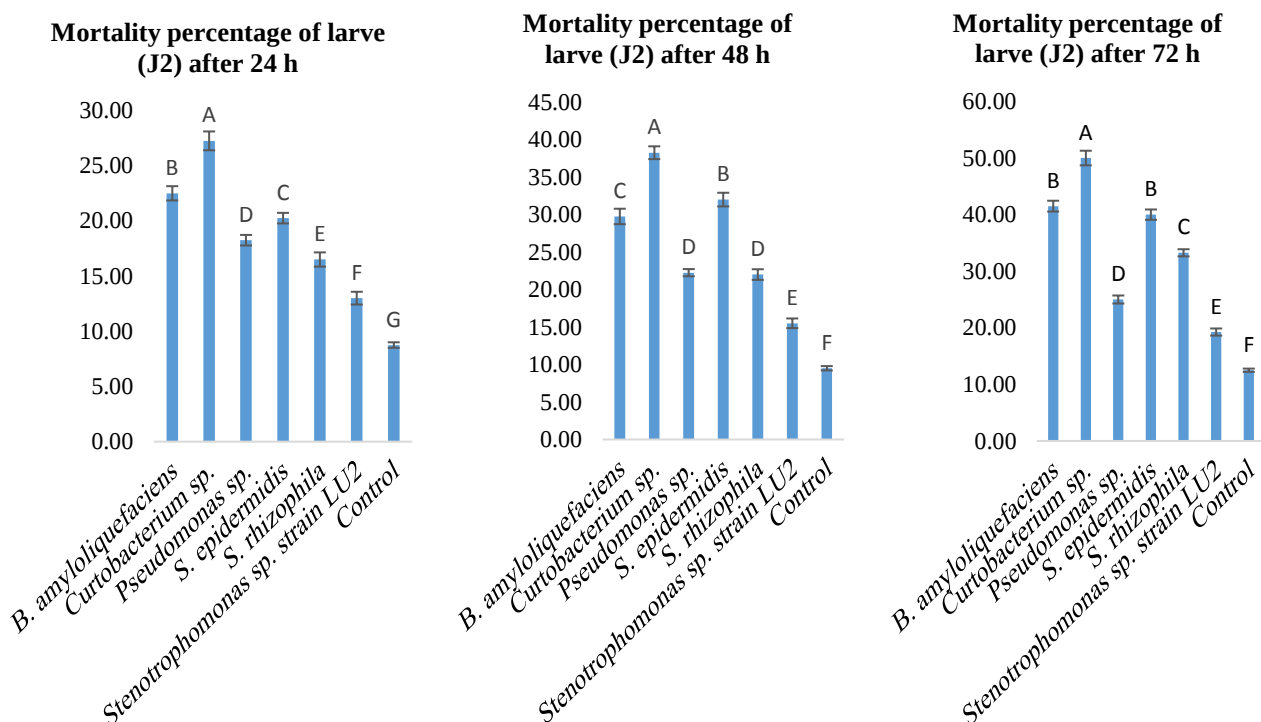
Table 1. Analysis of variance of the different bacteria at two levels of time on the percentage of inhibition of hatching of *Meloidogyne javanica* eggs under laboratory conditions.

Source	Type III Sum of Squares	Df	Mean Square	F	Sig.
Corrected Model	10257.452 ^a	13	789.035	111.958	0.000
Intercept	155916.214	1	155916.214	22123.247	0.000
Treatments	4955.286	6	825.881	117.186	0.000
Time	4300.595	1	4300.595	610.220	0.000
Treatments * time	1001.571	6	166.929	23.686	0.000
Error	197.333	28	7.048		
Total	166371.000	42			
Corrected Total	10454.786	41			

جدول ۲. تجزیه واریانس تاثیر تیمارهای مختلف باکتری در سه سطح زمانی بر مرگ و میر لارو سن دوم نماتد *Meloidogyne javanica* در شرایط آزمایشگاهی.

Table 2. Analysis of variance of the different bacteria at tree levels of time on the percentage of mortality of second-stage larvae of *Meloidogyne javanica* under laboratory conditions.

Source	Type III Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Corrected Model	10122.810 ^a	20	506.140	240.202	0.000
Intercept	50961.440	1	50961.440	24185.090	0.000
Treatments	6776.310	6	1129.385	535.979	0.000
Time	2587.167	2	1293.583	613.904	0.000
Treatments * Time	759.333	12	63.278	30.030	0.000
Error	132.750	63	2.107		
Total	61217.000	84			
Corrected Total	10255.560	83			



شکل ۲. مقایسه میانگین مرگ و میر لاروها تحت تیمارهای باکتری در شرایط آزمایشگاهی (حروف مشابه لاتین نشان بر اساس آزمون دانکن دهنده‌ی عدم تفاوت معنی‌دار بین تیمارها در سطح احتمال ۵ درصد می‌باشد).

Figure 2. Comparison of the larva mortality under bacterial treatment in laboratory condition (The columns that have common letters are not significantly different from each other based on the Duncan test at the 5% probability level).

با نماتد به ترتیب در تیمار (بدون نماتد تلقیح شده با باکتری *S. rizophila*) به میزان ۴۹/۰۳٪ و سپس در تیمار (تلقیح شده با نماتد و باکتری-*S. epidermidis*) به میزان ۲۹/۸۰٪ نسبت به تیمار نماتد و کمترین طول ریشه در تیمار تلقیح شده با نماتد بدون باکتری به طول ۲۶ سانتی‌متر (منفی ۸/۸ درصد تغییر نسبت به شاهد) اندازه‌گیری شد. در این شاخص، طول ریشه در تیمار شاهد ۲۸/۵ سانتی‌متر با ۹/۶۱ درصد افزایش نسبت به تیمار نماتد اندازه‌گیری شد.

در شاخص وزن تر بوته با توجه به مقایسه میانگین‌ها در شکل (۴) بیشترین وزن تر بوته در تیمارهای بدون نماتد و تلقیح شده با نماتد به ترتیب در تیمار (بدون نماتد تلقیح شده با باکتری *S. rizophila*) به میزان ۱۷۸٪ و سپس در تیمار (نماتد تلقیح شده با باکتری *S. epidermidis*) به میزان ۲۰/۴۰٪ و همچنین در تیمار (نماتد تلقیح شده با باکتری *Curtobacterium sp.*) به میزان ۲۳٪/۳ نسبت به تیمار نماتد و کمترین وزن تر بوته در تیمار نماتد با وزن ۸/۹۷ گرم (منفی ۳۶ درصد تغییر نسبت به شاهد) اندازه‌گیری شد. در این شاخص، وزن تر تیمار شاهد ۱۴

شاخص‌های رشدی گلخانه‌ای

باکتری‌های *B. amyloliquefaciens*، *Curtobacterium sp.* و *S. epidermidis* که بیشترین تاثیر را در آزمون‌های آزمایشگاهی از خود نشان دادند به همراه نماتد کش استفاده شدند. سپس شاخص‌های مختلف رشدی گیاه و شاخص‌های بیماری‌زایی نماتد مورد بررسی قرار گرفت.

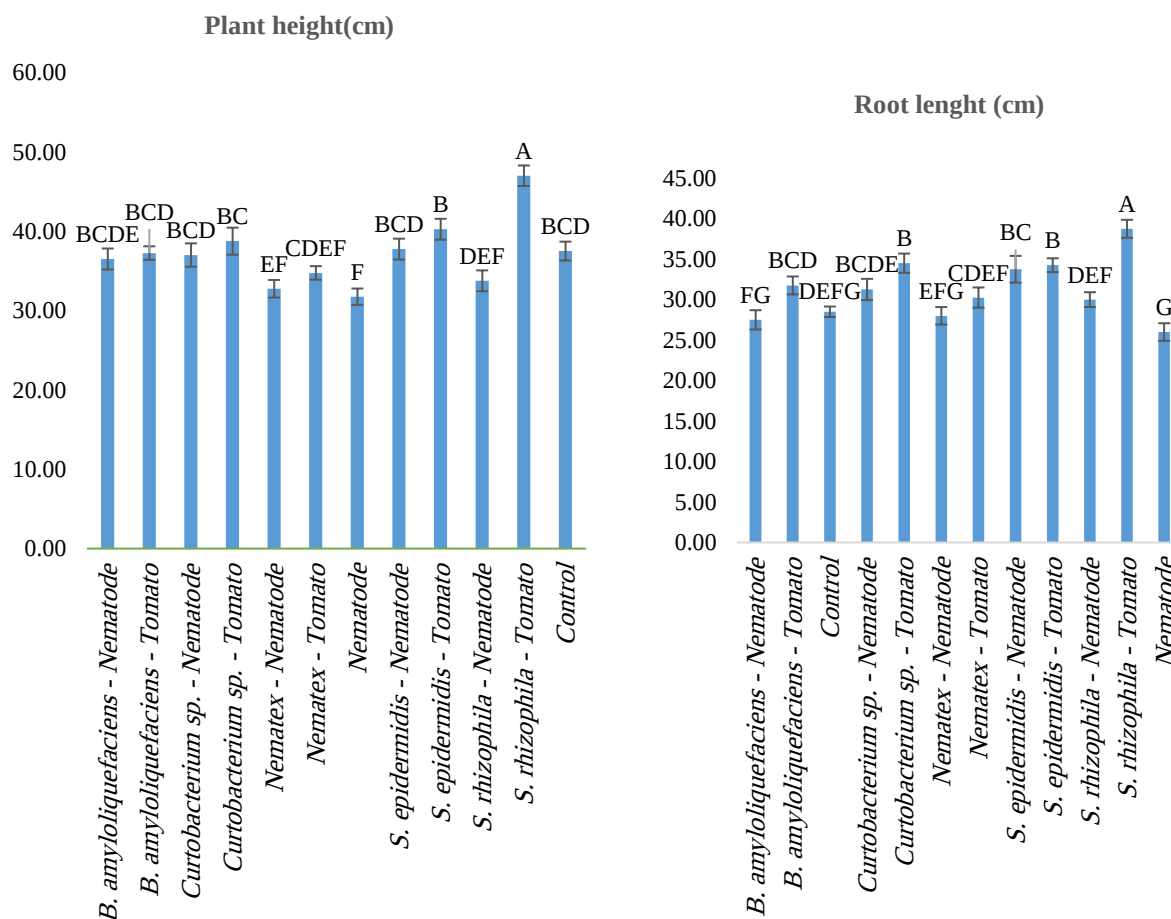
در شاخص ارتفاع گیاه گوجه فرنگی با توجه به مقایسه میانگین‌ها در شکل (۳) بیشترین ارتفاع بوته در تیمارهای بدون نماتد و آلوده به نماتد به ترتیب در تیمار (بدون نماتد تلقیح شده با باکتری *S. rizophila*) به میزان ۴۸٪ و تیمار (با نماتد تلقیح شده با باکتری *S. epidermidis*) به میزان ۱۸/۸۹٪ نسبت به تیمار نماتد و کمترین ارتفاع بوته در تیمار نماتد با ارتفاع ۳۱/۷۵ سانتی‌متر (منفی ۱۵/۴ درصد تغییر نسبت به شاهد) اندازه‌گیری شد. در این شاخص، ارتفاع شاهد ۳۷/۵ سانتی‌متر با ۱۸/۱۱ درصد افزایش نسبت به تیمار نماتد اندازه‌گیری شد.

در شاخص طول ریشه با توجه به مقایسه میانگین‌ها در شکل (۳) بیشترین طول ریشه در تیمارهای بدون نماتد و تلقیح شده

در تیمار (نماتد تلقیح شده با باکتری *Curtobacterium* sp.) به میزان ۳۰/۴۳٪ نسبت به تیمار نماتد و کمترین وزن خشک بوته در تیمار آلوده به نماتد بدون باکتری با وزن ۱/۱۵ گرم (منفی) ۳۶/۲ درصد تغییر نسبت به شاهد) اندازه‌گیری شد. در این شاخص، وزن خشک تیمار شاهد ۱/۸ گرم با ۵۶/۵۳ درصد افزایش نسبت به تیمار نماتد اندازه‌گیری شد.

گرم با ۵۶/۰۷ درصد افزایش نسبت به تیمار نماتد اندازه‌گیری شد.

در شاخص وزن خشک بوته با توجه به مقایسه میانگین‌ها در شکل (۴) بیشترین وزن خشک بوته در تیمارهای بدون نماتد و تلقیح شده با نماتد به ترتیب در تیمار (بدون نماتد تلقیح شده با باکتری - *S. rizophila*) به میزان ۱۸۲/۶۰٪ و تیمار (نماتد تلقیح شده با باکتری - *S. epidermidis*) به میزان ۳۰/۴۳٪ و همچنین



شکل ۳. تاثیر تیمارهای مختلف بر ارتفاع اندام هوایی و طول ریشه گیاه گوجه فرنگی در شرایط گلخانه (ستون‌هایی که دارای حروف مشترک هستند، براساس آزمون دانکن در سطح احتمال ۵٪ با یکدیگر اختلاف معنی‌داری ندارند).

Figure 3. The effect of different treatments on tomato plant shoot height and root length in the greenhouse conditions (The columns that have common letters are not significantly different from each other based on the Duncan test at the 5% probability level).

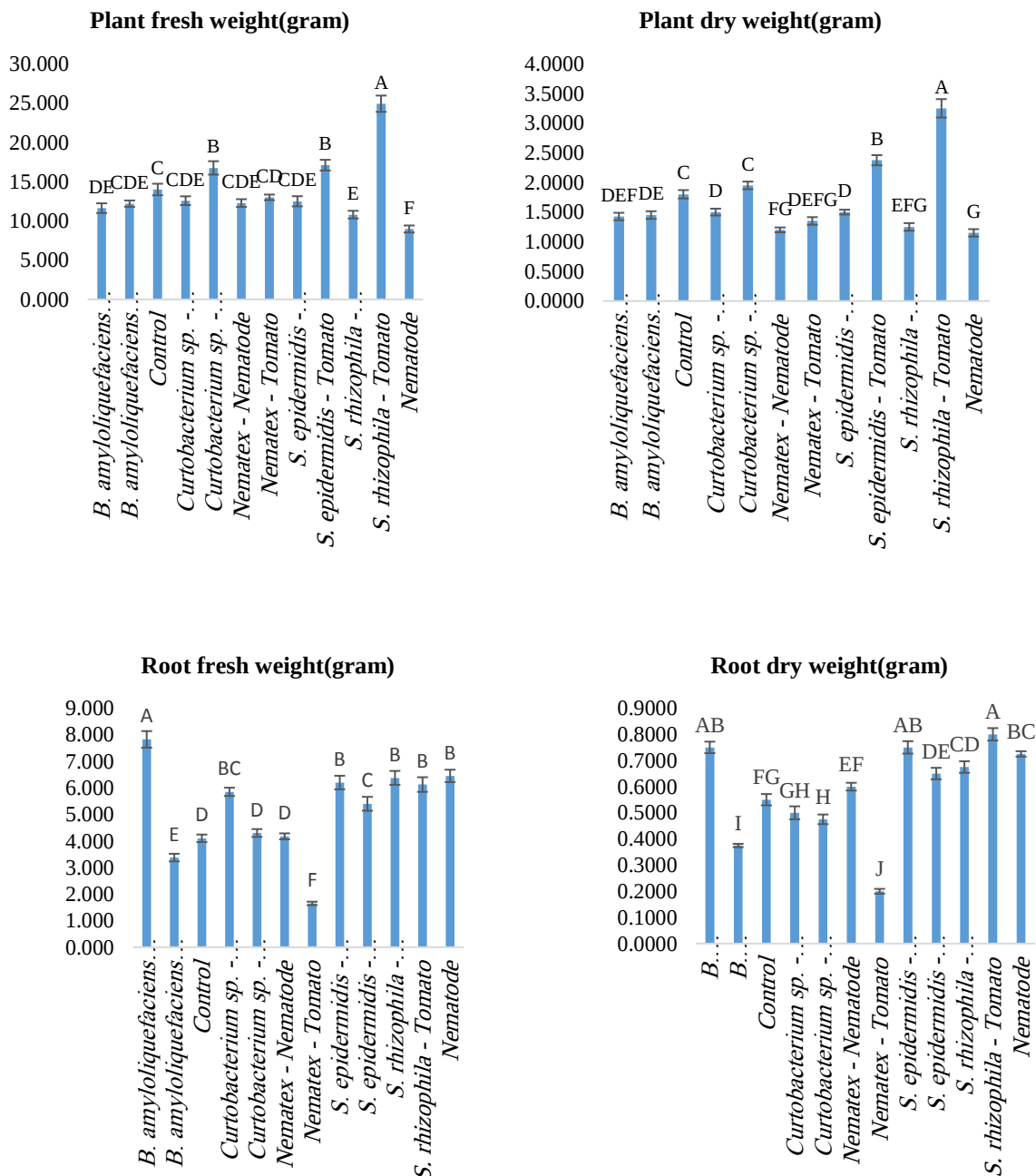
کمترین وزن تر ریشه در تیمار (بدون نماتد - نماتدکشی) با وزن ۱/۶۵ گرم (به ترتیب ۱/۷۰ و منفی ۳۵/۵ درصد تغییر نسبت به شاهد و تیمار نماتد) اندازه‌گیری شد. در این شاخص، وزن تر ریشه در شاهد ۴/۱ گرم با ۳۶/۵ درصد کاهش نسبت به تیمار نماتد اندازه‌گیری شد.

در شاخص وزن خشک ریشه با توجه به مقایسه میانگین‌ها

در شاخص وزن تر ریشه که به علت حضور نماتد در داخل بافت ریشه که باعث افزایش وزن آن می‌شود و معیار مناسبی برای سنجش عملکرد نیست با توجه به مقایسه میانگین‌ها در شکل (۴) بیشترین وزن تر ریشه در تیمار (نماتد تلقیح شده با باکتری - *B. amyloliquefaciens*) با ۷/۸۲ گرم (به ترتیب ۹۰/۷۳ و ۲۱/۲۴ درصد افزایش نسبت به شاهد و تیمار نماتد) و

منفی ۱۷/۳ درصد تغییر نسبت به شاهد و تیمار نماتد) اندازه گیری شد. در این شاخص، وزن خشک ریشه در تیمار شاهد ۰/۵۵ گرم با ۲۴/۲ درصد کاهش نسبت به تیمار نماتد اندازه گیری شد.

در شکل (۴) بیشترین وزن خشک ریشه در تیمار (بدون نماتد *S. rhizophila* - ۰/۸ گرم (به ترتیب ۰/۳۴ و ۱۰/۳۴ درصد افزایش نسبت به شاهد و تیمار نماتد) و کمترین وزن تر ریشه در تیمار (بدون نماتد - نماتد کش) با وزن ۰/۲ گرم (به ترتیب ۹/۰۹ و



شکل ۴. تاثیر تیمارهای مختلف بر وزن تر و خشک اندام هوایی و ریشه گیاه گوجه فرنگی در شرایط گلخانه (ستون‌هایی که دارای حروف مشترک هستند، براساس آزمون دانکن در سطح احتمال ۵٪ با یکدیگر اختلاف معنی‌داری ندارند).

Figure 4. The effect of different treatments on the fresh and dry weight of plants shoot and roots in greenhouse conditions (The columns that have common letters are not significantly different from each other based on the Duncan test at the 5% probability level).

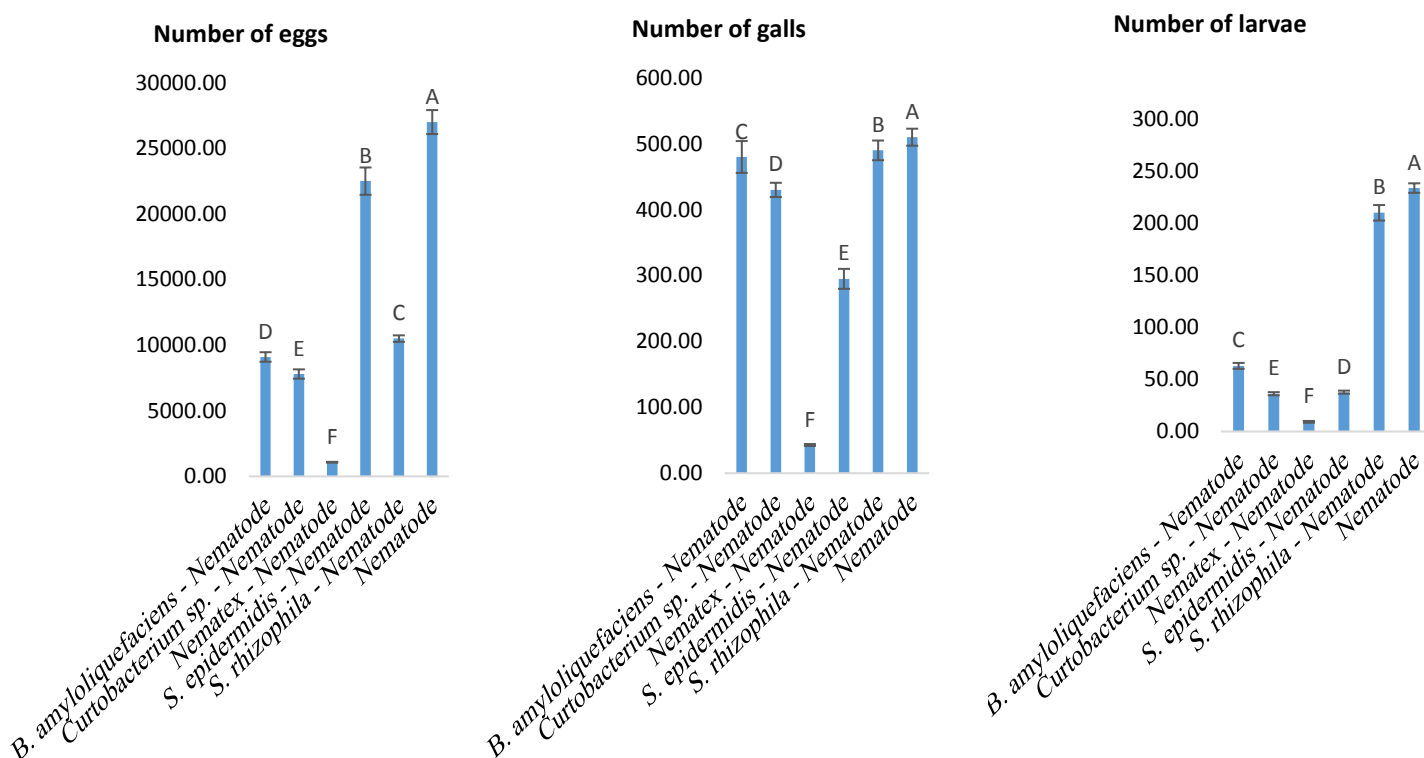
به ترتیب در تیمار (نماتد - نماتد کش) به میزان ۰/۹۶/۰۵ کاهش نسبت به شاهد با نماتد، در تیمار (نماتد تلقیح شده با باکتری - *Curtobacterium* sp.) به میزان ۰/۸۴/۵ کاهش نسبت به شاهد با

شاخص‌های بیماری‌زایی در گلخانه در شاخص تعداد لارو در ۱۰۰ گرم خاک با توجه به مقایسه میانگین‌ها در شکل (۵) کمترین تعداد لارو در ۱۰۰ گرم خاک

نسبت به شاهد با نماتد، در تیمار (نماتد تلقیح شده با باکتری - *S. epidermidis*) به میزان ۴۲٪ کاهش نسبت به شاهد با نماتد، در تیمار (نماتد تلقیح شده با باکتری - *Curtobacterium* sp.) به میزان ۱۵/۷٪ کاهش نسبت به شاهد با نماتد و سپس در تیمار (نماتد تلقیح شده با *B. amyloliquefaciens*) به میزان ۵/۹٪ کاهش نسبت به شاهد با نماتد مشاهده شد. و بیشترین تعداد گال در یک گرم ریشه در تیمار آلوده با نماتد به میزان ۵۱۰ گال اندازه گیری شد.

نماتد، در تیمار (نماتد تلقیح شده با باکتری - *S. epidermidis*) به میزان ۸۴٪ کاهش نسبت به شاهد با نماتد و سپس در تیمار (نماتد تلقیح شده با باکتری - *B. amyloliquefaciens*) به میزان ۷۳٪ کاهش نسبت به تیمار آلوده با نماتد مشاهده شد. بیشترین تعداد لارو در تیمار آلوده با نماتد به میزان ۲۳۳/۷۵ لارو اندازه گیری شد.

در شاخص تعداد گال در یک گرم ریشه با توجه به مقایسه میانگین‌ها در شکل (۵) کمترین تعداد گال در یک گرم ریشه به ترتیب در تیمار (نماتد - نماتدکش) به میزان ۹۱/۶۲٪ کاهش



شکل ۵. تاثیر تیمارهای مختلف بر تعداد لارو در صد سی سی خاک، تعداد گال و تعداد تخم در گرم ریشه گیاه گوجه فرنگی در شرایط گلخانه (ستون‌هایی که دارای حروف مشترک هستند، براساس آزمون دانکن در سطح احتمال ۵٪ با یکدیگر اختلاف معنی‌داری ندارند).

Figure 5. The effect of different treatments on the number of larvae per 100 cc of soil, gall and egg per gram of root in tomato plant greenhouse conditions (The columns that have common letters are not significantly different from each other based on the Duncan test at the 5% probability level).

با نماتد و سپس در تیمار (نماتد تلقیح شده با - *B. amyloliquefaciens*) به میزان ۶۶/۶۶٪ کاهش نسبت به شاهد آلوده با نماتد مشاهده شد. و بیشترین تعداد تخم در یک گرم ریشه در تیمار (شاهد با نماتد) به میزان ۲۷۰۰۰ تخم اندازه گیری شد.

در شاخص تعداد تخم در یک گرم ریشه با توجه به مقایسه میانگین‌ها در شکل (۵) کمترین تعداد تخم در یک گرم ریشه به ترتیب در تیمار (نماتد - نماتدکش) به میزان ۹۶/۲٪ کاهش نسبت به شاهد آلوده با نماتد، در تیمار (نماتد تلقیح شده با - *Curtobacterium*) به میزان ۷۰/۴٪ کاهش نسبت به شاهد آلوده

بحث

با توجه به خطرات و هزینه‌های ناشی از کنترل شیمیایی در مبارزه با آفات و بیماری‌های گیاهی استفاده از روش‌های جایگزین از جمله کنترل بیولوژیک مورد توجه قرار گرفته است. استفاده از باکتری‌های محرک رشد یا (PGPR) ها از جمله این روش‌ها به شمار می‌رود. در پژوهش حاضر، در آزمون آزمایشگاهی تاثیر شش باکتری *Curtobacterium* sp. B، *amyloliquefaciens* و *S. epidermidis* و *S. rhizophila* بر *Stenotrophomonas* sp. strain LU2 و *Pseudomonas* sp. نماتد مولد گره مورد بررسی قرار گرفت، که نتایج نشان دهنده تاثیر مثبت این شش باکتری در کنترل میزان تفریح تخم و لارو زنده این نماتد بودند. بیشترین میزان کنترل در آزمون آزمایشگاهی مربوط به صفات‌های تعداد تخم تفریح شده و تعداد لارو زنده با درصد‌های مختلف به ترتیب در باکتری *Curtobacterium* sp. و سپس در باکتری‌های *S. Rhizophila* و *B. amyloliquefaciens* و *S. epidermidis* دیده شد. میزان کنترل تفریح تخم و لارو زنده در باکتری *B. amyloliquefaciens* به ترتیب ۴۶ درصد و ۳۲ درصد بود که با نتایج (Oka et al. 1993) بر روی کنترل نماتد مولد گره توسط یک گونه از جنس باسیلوس بنام *Bcillus cereus* که باعث ۹۵ درصد کنترل در شرایط آزمایشگاهی شد و نتایج (Chinheya et al. 2017) بر روی کنترل بیولوژیکی نماتد *M. javanica* توسط گونه‌هایی از باکتری باسیلوس که باعث کنترل ۵۰ تا ۸۰ درصدی لارو سن دوم در آزمایشگاه شد و نتایج (Turatto et al. 2018) در استفاده از گونه‌هایی از باکتری باسیلوس در کنترل ۵۰ درصدی تفریح تخم نماتد *M. javanica* همخوانی دارد (Oka et al. 1993; Chinheya et al. 2017; Turatto et al. 2018). در آزمون آزمایشگاهی تفریح تخم و تعداد لارو زنده، باکتری *Curtobacterium* sp. به ترتیب با ۶۱/۷ درصد و ۴۳ درصد بیشترین تاثیر را در کنترل این دو عامل بیماری از خود نشان داد. که با نتایج (Saad et al. 2022) در بررسی تاثیر باکتری‌های مختلف از جمله *Curtobacterium luteum* TC 10 در کنترل نماتدهای بیماری‌زایی مانند *M. incognita* و همچنین نتایج (Aravind et al. 2009) در بررسی ۱۲۰ جدایه باکتری از جمله باکتری *Curtobacterium* sp. در کنترل نماتدهای بیمارگر گیاهی مطابقت دارد (Aravind et al. 2009; Saad et al. 2022). در بخش گلخانه‌ای چهار باکتری اول که بیشترین تاثیر را از خود نشان دادند به همراه نماتد کش مورد استفاده قرار گرفتند. با توجه به نتایج بررسی در گلخانه که شامل شاخص‌های رشدی از جمله

طول ساقه، طول ریشه، وزن تر ساقه، وزن خشک ساقه، وزن تر ریشه، وزن خشک ریشه و شاخص‌های بیماری‌زایی در گلخانه که شامل تعداد لارو در ۱۰۰ گرم خاک، تعداد گال در یک گرم ریشه، تعداد تخم در یک گرم ریشه می‌شدند. تمام ویژگی‌های رشدی به جز وزن تر و وزن خشک ریشه در تیمارهای (بدون نماتد - باکتری) بیشتر از تیمارهای (نماتد - باکتری) بود. همچنین در این شاخص‌ها تیمار (بدون نماتد - *S. rhizophila*) بیشترین تاثیر را در ویژگی‌های رشدی گیاه داشته است. به طور مثال در شاخص مهمی مانند وزن تر و خشک بوته به ترتیب ۷۸ درصد، ۸۰/۵ درصد نسبت به تیمار شاهد و ۱۷۸ درصد، ۱۸۲/۶۰ درصد نسبت به تیمار نماتد افزایش رشد را داشته است. بعلاوه این باکتری در کاهش شاخص‌های بیماری‌زایی در آزمایشگاه و گلخانه تاثیر مثبت داشته که با نتایج تحقیقات (2020) Groover et al. در کنترل نماتد *M. incognita* توسط باکتری‌هایی مانند *S. rhizophila* و همچنین نتایج (2018) Ortiz et al. در کنترل گونه‌های جنس *Meloidogyne* توسط باکتری *S. maltophilia* مطابقت دارد. همچنین در بین باکتری‌های مورد استفاده در گلخانه در شاخص‌های تعداد لارو در ۱۰۰ سی‌سی، تعداد گال در یک گرم، تعداد تخم در یک گرم به ترتیب باکتری‌های *Curtobacterium* sp.، *S. epidermis*، *Curtobacterium* sp. با ۸۴ درصد (تعداد ۲۵/۳۶ لارو در ۱۰۰ سی‌سی)، ۴۲/۲ درصد (تعداد ۲۹۵ گال)، ۷۰/۴ درصد (تعداد ۸۰۰ تخم) بیشترین تاثیر را نسبت به شاهد از خود نشان دادند. باکتری *S. epidermis* در این آزمایش به عنوان عاملی جهت کنترل نماتد مذکور و افزایش شاخص‌های رشدی در گیاه گوجه فرنگی معرفی می‌گردد.

تیمارهای با نماتد و بدون نماتد تلقیح شده با *B. amyloliquefaciens* در ارتفاع بوته به ترتیب به میزان ۱۴٪ و ۱۷٪ در طول ریشه به میزان ۵/۷۶٪ و ۲۲٪ و در وزن تر بوته به میزان ۲۹٪ و ۳۶٪ و در وزن خشک بوته به میزان ۲۳٪ و ۲۶٪ افزایش نسبت به تیمار نماتد را نشان دادند. همچنین در شاخص‌های بیماری‌زایی تیمار حاوی این باکتری در تعداد لارو در ۱۰۰ گرم خاک، تعداد گال در یک گرم ریشه، تعداد تخم در یک گرم ریشه به ترتیب به میزان ۷۳٪، ۵/۹٪، ۶۶٪ کنترل را نسبت به تیمار نماتد از خود نشان داد. که با تحقیقات (2006) Khyami-Horani et al. در اثربخشی باکتری *Bacillus thuringiensis* بر روی این نماتد و کاهش ۵۱ تا ۵۹ درصدی تخم و لارو در خاک و نتیجه تحقیقات (2017) Eltayeb et al. در بررسی اثر باکتری *Bacillus subtilis* در کنترل نماتد *M.*

تخم و لارو و کاهش گال‌ها می‌شود در مورد این جنس باکتری مطابق دارد (Khyami-Horani *et al.* 2006; Eltayeb *et al.* 2017; Díaz-Manzano *et al.* 2023).

References

- Abbasdokht H, 2016. Book Seed Ecology (priming). Publications of Shahrood University of Technology. 194 pp.
- Abo-Elyousr KA, Khan Z, E-Morsi Award M, Abdel-Moneim MF, 2010. Evaluation of plant extracts and *Pseudomonas* spp. for control of root-knot nematode, *Meloidogyne incognita* on tomato. *Nematropica* 40(2): 289–299.
- Alkader MAA, 2008. In vitro studies on nematode interactions with their antagonistic fungi in the rhizosphere of various plants. PhD Thesis, Albert-Ludwigs-Universität. Germany.
- Aravind R, Antony D, Eapen SJ, Kumar A, Ramana KV, 2009. Isolation and evaluation of endophytic bacteria against plant parasitic nematodes infesting black pepper (*Piper nigrum* L.). *Indian Journal of Nematology* 39(2): 211–217.
- Badakhshan M, Mahdikhani Moghadam E, Baghaee Ravari S, Rouhani H, 2017. The combined use of two species of *Trichoderma* and *Bacillus subtilis* in the control of tomato root-knot nematode (*Meloidogyne javanica*). *Plant Pests & Diseases* 85(2): 269–278 (In Persian with English abstract).
- Bagheri N, Ahmadzadeh M, Afsharmanesh H, Saberbaghban Z, 2015. Evaluation of molecular and biological characteristics of *Pseudomonas fluorescens* UTPF5 biocontrol agent of *Meloidogyne javanica* on tomato. *Journal of Cellular & Molecular Researches (Iranian Journal of Biology)* 29(1): 15–32 (In Persian with English abstract).
- Chinheya CC, Yobo KS, Laing MD, 2017. Biological control of the rootknot nematode, *Meloidogyne javanica* (Chitwood) using *Bacillus* isolates, on soybean. *Biological Control* 109: 37–41.
- Dawar S, Tariq M, Zaki MJ, 2008. Application of *Bacillus* species in control of *Meloidogyne javanica* (Treub) chitwood on cowpea and mash bean. *Pakistan Journal of Botany* 40: 439–444.
- Díaz-Manzano FE, Amora DX, Martínez-Gómez Á, Moelbak L, Escobar C, 2023. Biocontrol of

javanica و افزایش رشد گیاه گوجه فرنگی و همچنین نتایج تحقیقات (Díaz-Manzano *et al.* 2023) در کنترل نماتد مولد گره با دو سویه از باکتری *Bacillus* که باعث کنترل میزان تغریخ

Meloidogyne spp. in *Solanum lycopersicum* using a dual combination of *Bacillus* strains. *Frontiers in Plant Science* 13: 1077062.

- Eltayeb FME, 2017. The effects of *Bacillus subtilis* bacteria on *Meloidogyne javanica* (Nematode) infection and tomato plant growth. *European Journal of Advanced Research in Biological & Life Sciences* 5: 45–51.
- Gharabadian F, Jamali S, 2012. Application of corrective materials in control of root knot nematode. *Quarterly Journal of Engineering Agriculture & Natural Resources* 10(39): 33–31 (In Persian with English abstract).
- Glick BR, Karaturović DM, Newell PC, 1995. A Novel procedure for rapid isolation of plant growth promoting *Pseudomonads*. *Canadian Journal of Microbiology* 41: 533–536.
- Groover W, Held D, Lawrence K, Carson K, 2020. Plant growth-promoting rhizobacteria: a novel management strategy for *Meloidogyne incognita* on turfgrass. *Pest Management Science* 76(9): 3127–3138.
- Hussey RS, Barker KR, 1973. A comparison of methods of collecting inocula of *Meloidogyne* spp. including a new technique. *Plant Disease Reporter* 57: 1025–1028.
- Javed N, Gowen SR, Inam-ul-Haq M, Anwar SA, 2007. Protective and curative effect of neem (*Azadirachta indica*) formulations on the development of root-knot nematode *Meloidogyne javanica* in roots of tomato plants. *Crop Protection* 26: 530–534.
- Jepson SB, 1987. Identification of root-knot nematodes (*Meloidogyne species*). 1st ed. Wallingford, UK; CAB International. 265pp.
- Khan Z, Kim SG, Jeon YH, Khan HU, Son SH, *et al.*, 2008. A plant growth promoting rhizobacterium, *Paenibacillus polymyxa* strain GBR-1, suppresses root-knot nematode. *Bioresource Technology* 99: 3016–3023.
- Khyami-Horani H, Al-Banna L, 2006. Efficacy of *Bacillus thuringiensis jordanica* against *Meloidogyne*

- javanica* infecting tomato. *Phytopathologia Mediterranea* 45(2), 153–157.
- Majzoub S, Kargarbideh A, Taghvi S, Hamze Zarghani H, 2011. Investigating the effect of paraphytic bacteria on root-knot nematode (*Meloidogyne javanica*) on cucumber under greenhouse conditions. *Iranian Journl of Plant Pathology* 48(1) : 69–84 (In Persian).
- Merillon JM, Ramawat KG, 2012. Plant defence: Biological control, Progress in Biological Control. 12. Dordrecht, Springer Science Business Media. 414 pp.
- Oka Y, Chet I, Spiegel Y, 1993. Control of the rootknot nematode *Meloidogyne javanica* by *Bacillus cereus*. *Biocontrol Science & Technology* 3(2): 115–126.
- Ortiz IS, Lugo IA, Vázquez EP, Campos JM, 2018. Characterization of Cuban native bacteria isolated from nematodes as potential biological control agents for *Meloidogyne* spp. *Revista de Protección Vegetal* 33(1): 1–11.
- Ripoll C, Favery B, Lecomte P, Van Damme E, Peumans W, et al., 2003. Evaluation of the ability of lectin from snowdrop (*Galanthus nivalis*) to protect plants against root-knot nematodes. *Plant Science* 164: 517–523.
- Roberts DP, Lohrke SM, Meyer SLF, Buyer JS, Bowers JH, et al., 2005. Biocontrol agents applied individually and in combination for suppression of soil born diseases of cucumber. *Crop Protection* 24(2): 141–155.
- Ruiz SE, Cristóbal AJ, Reyes RA, Tun SJ, García RA, et al., 2014. In vitro antagonistic activity of *Bacillus subtilis* strains isolated from soils of the Yucatan Peninsula against *Macrophomina phaseolina* and *Meloidogyne incognita*. *Phyton International Journal of Experimental Botany* 84: 45–47.
- Saad AM, Salem HM, El-Tahan AM, El-Saadony MT, Alotaibi SS, et al., 2022. Biological control: An effective approach against nematodes using black pepper plants (*Piper nigrum* L.). *Saudi Journal of Biological Sciences* 29(4): 2047–2055.
- Siddiqui IA, Hass D, Heeb S, 2005. "Extracellular protease of *Pseudomonas fluorescens* CHA0, a biocontrol factor with activity against root-knot nematode, *Meloidogyne incognita*". *Applied & Environmental Microbiology* 71: 5646–5649.
- Sikora, RA, Bridge J, 2005. Plant parasitic nematodes in subtropical and tropical agriculture. 2th edition, CABI publishing. 666 pp.
- Turatto MF, Dourado FDS, Zilli JE, Botelho GR, 2018. Control potential of *Meloidogyne javanica* and *Ditylenchus* spp. using *Pseudomonas fluorescent* and *Bacillus* spp. *Brazilian Journal of Microbiology* 49: 54–59.
- Vrain TC, 1977. A Technique for the collection of larvae of *Meloidogyne* spp. and a comparison of eggs and larvae as inocula. *Journal of Nematology* 9(3): 249–251.
- Zahir ZA, Arshad M, 2004. Plant growth promoting rhizobacteria: applications and perspectives in agriculture. *Advances in Agronomy* 81: 98–169.
- Zaki M, Siddique Z, Akhtar S, 2009. Effects of antagonistic fungi, plant growth promoting rhizobacteria, and arbuscular mycorrhizal fungi alone and in combination on the reproduction of *Meloidogyne incognita* and growth of tomato. *Journal of General Plant Pathology* 75: 144–153.