مقاله تحقیقی

اثر حامل‌های مختلف در کارآیی قارچ بیمارگر *Metarhizium anisopliae* و تاثیر آن بر *Meloidogyne javanica* در گیاه گوجه‌فرنگی و بررسی استقرار آن در خاک و ریشه

سعید ایمانی[۱]، سید محمد رضا موسوی[۲]، رسول زارع[۳]

۱، ۲– دکتری نماتدشناسی، استادیار، گروه بیماری شناسی گیاهی، واحد مرودشت، دانشگاه آزاد اسلامی، مرودشت، فارس، ایران.
۳– پروفسور، موسسه تحقیقات گیاه‌پزشکی کشور، سازمان تحقیقات، آموزش و ترویج کشاورزی، تهران، ایران.
مسئول مکاتبات: سعید ایمانی، ایمیل: saeed_i5@yahoo.com

تاریخ دریافت: ۱۴۰۳/۰۸/۲۸ ۱۱(۲) ۴۱–۵۱ تاریخ پذیرش: ۱۴۰۳/۱۰/۲۶

چکیده

قارچ *Metarhizium anisopliae* یکی از عوامل مهم مهار زیستی نماتدهای ریشه‌گرهی و حشرات است که می‌تواند جایگزین مناسبی برای سموم شیمیایی شود. در این بررسی، تعیین فرمولاسیون اولیه مناسب این قارچ و تاثیر آن در کنترل نماتدهای ریشه‌گرهی روی گیاه گوجه‌فرنگی اجرا شد. قارچ مذکور در شرایط آزمایشگاهی روی بذر ماش کشت داده شد. سپس روی حامل‌های پودری تالک، کائولن، کنجاله سویا، کنجاله آفتابگردان و کنجاله کلزا فرموله شد و ماندگاری اسپور قارچ در حامل‌های مذکور طی ۱۲ ماه بررسی شد. تاثیر قارچ در حامل‌های پودری روی نماتد ریشه‌گرهی روی گیاه گوجه‌فرنگی در شرایط گلخانه‌ای در قالب طرح کاملا تصادفی بررسی شد. بیشترین ماندگاری اسپورهای قارچ ۱۲ ماه و مربوط به حامل‌های کنجاله کلزا، سویا و آفتابگردان بود. قارچ فرموله‌شده در حامل‌های کنجاله کلزا، سویا و آفتابگردان در شرایط گلخانه‌ای بالاترین توانایی مهار نماتد (۸۶/۵٪، ۸۷/۲٪و ۸۴/۵٪) را داشت که از نظر آماری شبیه نماتدکش شیمیایی فلوپیرام ۸۶/۹٪ بود. همچنین حامل‌های کنجاله‌های دانه‌های روغنی در استقرار اسپور قارچ در خاک و ریشه و در پی آن کاهش شاخص‌های بیماری‌زایی نماتد و رشد بهتر گیاه موثرتر بودند. نتایج این پژوهش نشان داد کنجاله‌های دانه‌های روغنی حاملی مناسب برای فرموله‌کردن قارچ بیمارگر *M. anisopliae* بوده و باعث ماندگاری و استقرار آن در خاک و ریشه می‌شوند و می‌توانند پایهٔ یک فرمولاسیون مناسب جامد برای این قارچ در جهت مهارزیستی نماتد ریشه‌گرهی باشند.

واژه‌های کلیدی: ماندگاری، نماتد ریشه‌گرهی، مهار زیستی و *Metarhizium anisopliae*

مقدمه

نماتدهای انگل گیاهی آفت مهم بسیاری از محصولات کشاورزی هستند. میانگین خسارت سالانه ناشی از نماتدها برای ۴۰ محصول ۱۳/۵٪ تخمین زده شده است. نماتدهای ریشه‌گرهی *Meloidogyne javanica* (Treub) Chitwood و نماتدهای سیستی انگل اجباری ریشه گیاهان و از مهمترین آفات اقتصادی محصولات کشاورزی در جهان به شمار می‌روند. سموم نماتدکش با وجود تاثیر منفی روی موجودات غیر هدف و محیط زیست و ممنوعیت کامل یا محدودیت استفاده از بعضی آن‌ها، چه به تنهایی یا در یک برنامه کنترل تلفیقی یکی از اجزاء مهم برنامه‌های مدیریت نماتدها باقی می‌مانند. در هر صورت توسعه روش‌های جدید مدیریت آفات که سالم و بی‌خطر برای محیط زیست باشند کاملا ضروری می‌باشد. بکارگیری دشمنان طبیعی به عنوان یک جایگزین مهم کنترل شیمیایی مطرح شده است. قارچ‌های بیمارگر از امید بخش‌ترین عوامل کنترل میکروبی

نماتدها هستند که با دامنهٔ اثر نسبتاً گسترده و از نظر زیست‌محیطی بی‌خطر محسوب می‌شوند. از ویژگی‌های قابل توجه این قارچ‌ها نحوه اثر از طریق تماس و نفوذ به داخل بدن میزبان است. این قارچ‌ها گروه متنوعی از بیش از ۱۰۰ جنس با تقریباً ۷۵۰ گونه را شامل می‌شوند که از حشرات مختلف جدا شده‌اند (Rashki, 2024; Stirling, 2011). مهار زیستی یکی از راهبردهای مهم در کنترل نماتدهای بیمارگر در کشاورزی پایدار است (Mokhtari *et al*., 2009). قارچ *Metarhizium anisopliae* (Metchnikoff) Sorokin (1883) یکی از موثرترین عوامل مهار زیستی آفات است و بیش از ۲۰۰ گونه از حشرات متعلق به راسته‌های سخت‌بال‌پوشان، گوشخیزک‌ها، ناجوربالان و جوربالان، بالپولکداران و راست بالان را مورد حمله قرار می‌دهد (Rashki, 2024; Cumagun & Moosavi, 2015). این گونه متعلق به راسته Hypocreales و خانواده Clavicipitaceae است که در تحقیقات قبلی تاثیر آن روی نماتد *Meloidogyne incognita* بررسی شده است (Karaborklu *et al*., 2022). قارچ *Metarhizium anisopliae* با تولید کنیدی‌های چسبنده وجوانه‌زنی این کنیدی‌ها، نماتد را پارازیته می‌کند. نفوذ مستقیم از طریق کوتیکول و تولید هیف رویشی در درون بدن نماتد، موجب مرگ آن می‌شود. در تحقیقی در کهکیلویه و بویر احمد اثر تلفیقی قارچ *Metarhizium anisopliae* و باکتری *Pseudomonas fluorescens* بر نماتد ریشه‌گرهی *Meloidogyne incognita* روی گوجه‌فرنگی بررسی شد و باعث کاهش رشد چشمگیری در نماتد ریشه‌گرهی شد (Jahanbazian *et al*., 2015). در تحقیقی دیگر توانایی بیماری‌زایی قارچ *Metarhizium* علیه نماتد *Heterodera avenae* بررسی و توانایی آن در پارازیته کردن لارو این نماتد تا ۴۷/۱ درصد برآورد شد (Ghayedi & Abdollahi, 2013). بیش از ۲۰۰ محصول تجاری براساس قارچ‌های بیمارگر حشرات موجود است (Jaronski, 2023). همچنین قارچ *Metarhizium* به صورت مایع، گرانول و جامد فرموله شده است (Abd–Elgawad &Askari, 2018; Cianco *et al*., 2016). اولین مرحله در تولید و تجاری‌سازی یک فرمولاسیون مناسب برای قارچ‌های بیمارگر، شناسایی یک حامل مناسب است که توانایی ماندگاری و استقرار اسپورهای قارچ را داشته باشد و بتواند در ریشه گیاه و خاک مستقر شود و سازگار با سیستم‌های کشاورزی نوین باشد (Moosavi & Askari, 2015; Moosavi & Zare, 2015). در مطالعات قبلی کارایی دو حامل تالک و کائولن در فرمولاسیون قارچ *Purpureocillium lilacinum* بررسی شد (Imani *et al*., 2021). در تحقیقی در ایران تولید انبوه قارچ *Metarhizium anisopliae* روی بسترهای کشت غلات با استفاده از روش تخمیر دو مرحله‌ای بررسی شد (Rashki, 2024). همچنین در تحقیقی سازگاری و قابلیت اختلاط آفتکش‌های هورمونی ضد سنتز کیتین و خاک دیاتومه با قارچ *Metarhizium anisopliae* و توانایی‌های کشندگی آن‌ها در حالت اختلاط وجداگانه در جمعیت لارو سوسک شاخدارنخل خرما مورد بررسی قرار گرفت (Latifian & Rad, 2019).

در این پژوهش هدف تعیین میزان ماندگاری اسپور این قارچ در حامل‌های مختلف (تالک، کائولن، کنجاله کلزا، کنجاله سویا و کنجاله آفتابگردان) به صورت پودری به مدت دوازده ماه در بازه‌های زمانی یک ماهه در دمای ۲۵ درجه سیلسیوس بررسی و سپس پتانسیل قارچ به همراه هرکدام از این حامل‌ها در مقابل نماتد ریشه‌گرهی *Meloidogyne javanica* (Treub) Chitwood در شرایط گلخانه‌ای روی گیاه گوجه‌فرنگی آزمایش شد.

روش بررسی

تهیه سویه قارچ

سویهٔ قارچ مورد استفاده در این آزمایش با کد دسترسی IRAN 437 C (جدا شده از کرم ساقه خوار برنج، *Chilo suppressalis* در رشت و شناسایی و تایید شده توسط آقای دکتر رسول زارع در سال ۲۰۰۱) از موسسه تحقیقات گیاه‌پزشکی کشور، کلکسیون قارچ‌های زنده ایران، بخش تحقیقات رستنی‌ها تهیه شد. برای انجام آزمایش سویه قارچ روی محیط PDA (سیب‌زمینی، آگار و دکستروز) کشت و در دمای ۲۵ درجه سلسیوس به مدت هفت روز تا رشد

کلنی در انکوباتور نگهداری شد (Ghayedi &Abdollahi, 2013).

آماده‌سازی قارچ

جهت اسپورزایی، قارچ روی بستر دانهٔ ماش خرد شده تکثیر شد، بدین منظور ۵۰ گرم از ماده مذکور به یک ارلن ۲۵۰ میلی لیتری اضافه شد و پس از رساندن رطوبت بستر به ۵۰ درصد، اتوکلاو شد. پس از اتوکلاو مقدار ده میلی‌لیتر از سوسپانسیون حاوی^{5}۱۰ × ۴ اسپور قارچ به این محیط‌ها اضافه شد. ظروف در مدت زمان ۳۰ روز در دمای ۲±۲۵ درجه سیلسیوس در تاریکی در انکوباتور نگهداری شدند (Agala *et al*., 2018). جهت جلوگیری از متراکم شدن محیط‌کشت و رشد یکنواخت قارچ، ظرف حاوی قارچ روزانه با دست تکان داده شد (Imani *et al*., 2021). پس از هفت روز تعداد اسپورهای روی بستر هدف توسط لام هموسیتومتر (Neubauer, Germany) با بزرگنمایی ۴۰× شمرده شدند (Latifian *et al*., 2014). برای تهیه حامل، بستر حاوی قارچ، به مدت ۱۸ ساعت در معرض هوای اتاق زیر هود آزمایشگاهی، خشک و با استفاده از مخلوط کن در شرایط استریل پودر شد. ماده حمل کننده (تالک، کائولن، کنجاله کلزا، کنجاله سویا و کنجاله آفتابگردان) به مدت سه روز در سینی‌های فلزی در آون با دمای ۷۰ درجه سیلسیوس قرار داده شد و سپس مقدار ۲۵ گرم از بستر حاوی قارچ، با ۷۵ گرم پودر حامل با استفاده از هاون چینی استریل مخلوط شده و درون کیسه‌های پلی اتیلن مقاوم در برابر عبور هوا و در دمای ۲۵ درجه سیلسیوس نگهداری شدند. .مدت زمان بقای اسپورهای این قارچ در یک گرم حامل به مدت دوازده ماه با فواصل زمانی یک ماه در قالب طرح کاملا تصادفی با پنج تکرار برای هر تیمار مورد بررسی قرار گرفت (Gulsar Banu *et al*., 2006). به منظور اثبات زنده بودن اسپورهای باقی مانده با گذشت زمان، آزمون زنده‌مانی انجام شد. بدین منظور که مقدار یک گرم از حامل پودری در آب مقطر استریل حل شده و به کمک سری رقت، غلظت آن ^{5}۱۰ برابر رقیق شد. سپس یک سی‌سی از این محلول رقیق شده روی محیط کشت PDA ریخته شده و در دمای ۲۵ درجه نگهداری شد، پس از گذشت زمان هفت روز، تعداد کلنی‌های قارچ شمرده شده و بر اساس آن و با توجه به رقت محلول مورد نظر، تعداد اسپور زنده مانده محاسبه شد (Latifian & Rad, 2019; Rashki, 2024). اسپورها با لام هموسیتومتر با بزرگ نمای ۴۰× زیر میکروسکوپ به صورت ماهیانه طی ۱۲ ماه شمارش شد (Mathulwe *et al*., 2023). جهت چسبیدن مواد به هم به ازای هر ۱۰۰ گرم حامل، مقدار ۰/۵ گرم کربوکسی‌متیل سلولز اضافه شد (Imani *et al*., 2021). کنجاله‌های دانه‌های روغنی که در این پژوهش به عنوان ماده حامل استفاده شدند از کارخانه روغن‌گیری در شیراز تهیه شدند.

قارچ‌های بیمارگر از کربن و نیتروژن به منظور سوخت و ساز استفاده می‌کنند که میزان کربن و نیتروژن بهینه برای این قارچ‌ها بین ۱۰ تا ۲۰ می‌باشد (Mo *et al*.,2005). به منظور تعیین نسبت کربن به نیتروژن مواد آلی (کنجاله‌های دانه‌های روغنی)، در آزمایشگاه خاک با استفاده از روش احتراق و دستگاه CHN Analyserکربن و نیتروژن هر نمونه جدا و سنجیده شدند (Patil *et al*., 2014; Comite *et al*., 2020).

تهیه زادمایه نماتد ریشه‌گرهی

زادمایه مورد نیاز از ریشه‌های گوجه‌فرنگی (رقم Early–Urbana) آلوده به *M. javanica* از گلخانه آموزشی دانشگاه آزاد اسلامی واحد مرودشت تهیه شد. گونه این نماتد قبلا شناسایی شده و جمعیت مورد نیاز از طریق تکثیر یک توده تخم روی گیاه گوجه‌فرنگی به دست آمد (Ahmadi & Moosavi. 2018). ریشه‌های آلوده از خاک خارج شده و زیر آب جاری شسته شدند تا گل و لای چسبیده به آن جدا شود. سپس ریشه‌های حاوی کیسه تخم به قطعات کوچک تقسیم شده و همراه با محلول هیپوکلریت سدیم ۱٪ به مدت۴۰ ثانیه در مخلوط کن با سرعت متوسط خرد شد. سپس محتویات مخلوط کن از الک ۲۰۰ مش که در زیر آن الک ۵۰۰ مش قرار دارد عبور داده شده و با آب شسته شد. محتوای سطح الک ۵۰۰ مش با آب شسته و در بشر جمع‌آوری شد (Imani *et al*., 2021; Hussey &

(Barker 1973). تعداد تخم‌ها به کمک لام شمارش سه بار شمرده و میانگین شمارش‌ها محاسبه و در نظر گرفته شد.

آزمایش تاثیر حامل‌های پودری روی نماتد ریشه‌گرهی در گلخانه

برای این آزمایش از گلدان‌های پلاستیکی دو کیلوگرمی با ارتفاع ۲۰ و قطر ده سانتی‌متر استفاده شد. گلدان‌ها با خاک و ماسه ضدعفونی شده با گرما به نسبت (۱:۲) پر شدند. آزمایش در قالب طرح کاملا تصادفی انجام شد. هر تیمار پنج تکرار داشت. این آزمایش دو بار تکرار شد. تیمارها شامل حامل‌های پودری قارچ با سن ۱۲ ماهگی (قارچ در حامل تالک، کائولن، کنجاله کلزا، کنجاله سویا و کنجاله آفتابگردان) به روش زیر به گلدان‌ها اضافه شدند. بدین منظور مقدار یک گرم از حامل‌های پودری مذکور که حاوی $۱۰^{۵}$ × ۹۰ اسپور قارچ بود در سطح خاک ریخته شد و تا عمق پنج سانتی‌متری خاک مخلوط گردید. بذر گیاه گوجه‌فرنگی (رقم Early–Urbana) بعد از گذشت ۱ هفته از استقرار کامل قارچ (اسپور قارچ در هر کدام از مواد حامل با سن ۱۲ ماهگی)، کاشته شد. حساسیت این گیاه قبلا به نماتد ریشه‌گرهی اثبات شده بود (Imani *et al*., 2014). در مرحله دو برگی مقدار ۶۰۰۰ تخم و لارو سن دو نماتد ریشه‌گرهی به تمام تیمارها اضافه شد. تیمارهای شاهد شامل تیمارهای مثبت و منفی بودند. گیاهان گلدان‌های تیمارشاهد منفی فقط با ۶۰۰۰ هزار زادمایه نماتد آلوده شدند. تیمار مثبت گیاهان آلوده به نماتد که با فرمولاسیون نماتد کش شیمیایی فلوپرایم کنترل شدند (شش میکرولیتر به ازای هر گلدان دو کیلوگرمی). تمام گلدان‌ها در شرایط گلخانه در دمای ۲ ± ۲۵ درجه سیلسیوس و رطوبت نسبی ۶۰٪ نگهداری و دو بار در هفته آبیاری شدند (Imani *et al*., 2021). پس از ۱۴ هفته گیاهان برداشت و وزن تر قسمت‌های هوایی و ریشه و وزن محصول اندازه‌گیری شد. برای بررسی توانایی کلنیزه کردن خاک و سطح ریشه‌ها توسط جدایه قارچ، در انتهای آزمایش با استفاده از یک چوب پنبه سوراخ کن با قطر پنج میلی‌متر از هر تکرار سه نمونه تهیه شد و پس از آماده‌سازی سری رقت تا $۱۰^{۵}$ (یک سی‌سی از این محلول رقیق شده روی محیط کشت PDA ریخته شد)، تعداد واحدهای تشکیل دهندهٔ کلنی (CFU) خاک روی محیط کشت سیب زمینی، دکستروز و آگار (PDA) و در دمای ۲۵ درجه سیلسیوس به مدت هفت روز در تاریکی مشخص شد (Moosavi *et al*., 2010; Mathulwe *et al*., 2023). ریشه‌های هر تیمار به قطعات کوچک تقسیم و پس از مخلوط کردن، به صورت تصادفی مقدار یک گرم ریشه که با محلول هیپوکلریت سدیم ۰/۴ درصد ضدعفونی شده بود، برداشته شد و پس از له کردن در هاون، با ۹ میلی‌لیتر آب مقطر سترون مخلوط و روی دستگاه همزن مگنت‌دار (stirrer) به مدت یک دقیقه با سرعت ۹۰۰۰ دور در دقیقه قرار داده شد. سپس از آن سری رقت تهیه و تعداد واحدهای تشکیل دهنده‌ی کلنی روی محیط کشت مذکور به روش ذکر شده تعیین شد(Hallmann & Meressa, 2018; Imani *et al*., 2021). به منظور تعیین درصد تخم‌های آلوده، از هر تکرار تعداد ده عدد توده تخم نماتد به صورت تصادفی انتخاب و توانایی جدایه‌ی قارچ در آلوده کردن نماتد بررسی گردید. هر توده تخم در یک قطره هیپوکلریت سدیم یک درصد (جهت ضدعفونی سطحی) که روی لام آزمایشگاهی گذاشته شده بود، قرار گرفت و با فشار لامل خرد شد تا تخم‌ها آزاد شود. تخم‌های آلوده بر اساس نفوذ ریسه به درون آنها تشخیص داده شدند. با استفاده از میکروسکوپ با بزرگ نمایی ۴۰ و ۱۰۰ تعداد تخم‌های آلوده و سالم ثبت و درصد آلودگی بر اساس تقسیم تعداد تخم‌های آلوده به تعداد کل تخم‌های هر توده تخم محاسبه شد (Fatemy *et al*., 2005). برای اطمینان از این که آلودگی تخم‌ها توسط قارچ مورد نظر صورت گرفته است، تخم‌های آلوده سه بار با آب مقطر استریل شسته شد و روی محیط کشت سیب زمینی، دکستروز و آگار (PDA) (Mathulwe *et al*., 2023; Latifian, 2014) قرار داده شدند و پس از بررسی روزانه و مشاهده رشد قارچ در شرایط سترون، قارچ رشد کرده شناسایی و تأیید شد. تعداد تخم‌های موجود در سیستم ریشه شمارش شدند. تعداد گره‌های روی ریشه شمارش و شاخص گره ریشه‌ها بلافاصله پس از برداشت بر اساس مقیاس صفر

تا ده مشخص شد که در آن شاخص صفر، بیانگر سیستم ریشه‌ای سالم و شاخص ۱۰ بیانگر گال زدگی کل ریشه‌ها هستند. خاک هر گلدان به صورت کامل مخلوط شد و ۲۵۰ گرم از آن انتخاب و نماتدهای آن استخراج و جمعیت لاروهای سن دو برآورد شد (Jenkins, 1964). در نهایت تعداد کل تخم‌های سالم و لاروهای سن دو ریشه و خاک با یکدیگر جمع و جمعیت کل نماتد در هر گلدان محاسبه شد. همچنین فاکتور تولید مثل (Pf/Pi) از محاسبه نسبت جمعیت نهایی تخم و لارو سالم در هر گلدان به جمعیت اولیه تلقیح شده به خاک (۶۰۰۰ عدد تخم و لارو) به دست آمد. جهت تعیین درصد کنترل هر جدایه، تعداد تخم‌ها و لاروهای سن دوم در هر گرم خاک شاهد حاوی نماتد به تنهایی (X) و تعداد تخم‌های سالم و لاروهای سن دوم در هر گرم خاک هر تیمار (Y) با استفاده از فرمول (control efficacy = $\frac{X-Y}{X}$ × 100) محاسبه شد. این کاهش ممکن است در اثر پارازیته شدن تخم‌ها توسط قارچ یا کاهش تعداد تخم‌های هر توده تخم به دلائل مختلف باشد (Moosavi *et al.*, 2010). تجزیه و تحلیل داده‌های آماری و مقایسه میانگین‌ها (ANOVA) در تمامی آزمایشات، با استفاده از آزمون توکی در سطح ۵ درصد توسط برنامه نرم افزاری SPSS 16 صورت پذیرفت. تمام آزمایشات دوبار تکرار شد اما ازآنجا که نتایج از یک روند مشابه پیروی می‌کردند داده‌ها با هم مخلوط و میانگین داده‌ها گرفته و سپس مورد تجزیه و تحلیل قرار گرفتند.

نتایج

ماندگاری اسپور قارچ در حامل‌های پودری

بین میانگین ماندگاری اسپور قارچ در حامل‌های تالک، کائولن، کنجاله کلزا، کنجاله آفتابگردان و کنجاله سویا در طول دوازده ماه در دمای ۲۵ درجه سلسیوس اختلاف معنی‌دار وجود داشت (P <0.05). در پایان ۱۲ ماه حامل‌های کنجاله کلزا با ۷۱/۲، کنجاله سویا با ۷۳/۲ (اسپور در یک گرم حامل) و کنجاله آفتابگردان با ۷۲/۶ نسبت به دو حامل تالک و کائولن بیشترین میزان اسپور قارچ را داشتند. حامل کائولن با ۴۲/۲ در رتبه دوم قرار داشت و نسبت به حامل تالک ۲۲/۶ موثرتر بود (P<0.05) (جدول۱).

جدول ۱– ماندگاری اسپور *Metarhizium anisopliae* در پنج حامل مختلف در طی دوره‌ی دوازده ماهه در دمای ۲۵ درجه سلسیوس.

Table 1. Viability of *Metarhizium anisopliae* in five different carriers during 12 months at (25 °C).

Carrier	Number of active conidia per gram of carrier (×10^5) Mean ± SE in different months [1]						
	0[2]	1	2	3	4	5	6
	F=2	F= 7.3	F=14.2	F=21	F=14.3	F=15.7	F=17.4
Talk	227.8±0.6a	200.8±1.5b	161.6±3b	143.2±1b	138.2±2b	123.8±0.7b	110.6±3.8b
Kaolin	232.4±0.2a	202±2b	171±2.2b	158.6±1.5b	148.4±1b	138.2±1b	118.6±1.8b
RM	234.2±0.2a	219±6 a	192.8±4.6 a	182.4±5.5 a	170.8±5.3 a	161.8±5.6 a	151.6±5.8 a
SBM	233±1.5a	221.2±3.2 a	200.4±6.8 a	190±6.3 a	177.6±6.7 a	164.4±6.6 a	152.8±5.8 a
SFM	231.6±2a	217.6±3.7 a	194±3.8 a	182.8±4.2 a	172.2±4.7 a	159±4.7 a	146±5.1 a
	7	8	9	10	11	12	
	F=19.6	F=19.3	F=27.4	F=30.4	F=31.4	F=34.4	
Talk	94.4±3.4 b	76.6±2.7c	56.2±2.7 c	45.4±2.8 c	31.4±2 c	22.6±1.6 c	
Kaolin	107.2±3.7 b	99.2±2.4 b	81±1.2 b	67±2.3 b	55.8±2.7 b	42.2±1.4 b	
RM	137.8±6 a	123.8±5.5 a	111.4±5.2 a	99.4±3.7 a	84±3.8 a	71.2±3.4 a	
SBM	142.8±5 a	126.8±5.9 a	116.8±6.4 a	102.4±5.8 a	88.8±5.4 a	73.2±4.6 a	
SFM	134.2±5.1 a	122.6±6.3 a	111.2±6.6 a	96.8±6.3 a	84.6±6.3 a	72.6±6.1 a	

[1]– در هر ستون (ماه پس از شروع آزمایش)، تیمارهایی که حروف متفاوتی دارند از نظر آماری با هم متفاوت هستند.

[2]– منظور از ماه صفر، ابتدای شروع آزمایش است.

1.Treatment in each column (the month after the start time of the experiment) who do not share any common letter are statistically different (P < 0.05); [2] Month 0 refers to the beginning of the experiment; RM = Rapeseed meal; SBM= Soybean meal; SFM= Sunflower meal

نتایج تاثیر حامل‌های حاوی اسپور قارچ بر نماتد ریشه‌گرهی در گلخانه

حامل پودری کنجاله‌های کلزا، سویا و آفتابگردان در کنترل شاخص‌های بیماری‌زای نماتد موثرتر بودند. از این جهت، گیاهان این سه تیمار کمترین تعداد گره روی ریشه، توده تخم روی ریشه، شاخص گال و لارو سن دوم در خاک (J2) را داشتند. نتایج نشان داد که این سه حامل بالاترین درصد کنترل نماتد را داشتند که به ترتیب (۸۶/۵، ۸۷/۲ و ۸۶/۴ درصد بدون اختلاف معنی‌داری، ($P < 0.05$) بود. حامل‌های کائولن و بعد از آن تالک با اختلاف در رتبه های دوم و سوم قرار گرفتند (۶۶/۳ و ۳۹/۵ درصد). تیمارهایی که با نماتدکش شیمیایی تیمار شده بودند (شاهد مثبت) مانند حامل‌های اولیه کنجاله‌های روغنی در کنترل نماتد عمل کردند و اختلاف آماری معنی‌داری با این گروه نداشتند (درصد کنترل نماتد ۸۶/۹). در تمامی حامل‌ها، میسلیوم قارچ توانایی آلوده کردن تخم نماتدها را داشت و مشاهده شد اما در تیمارهای حامل‌های کنجاله‌های روغنی این میزان بیشتر بود و میسلیوم بیشتری مشاهده شد. در بین پنج ماده پایدار کننده اسپور قارچ (حامل)، قارچ در حامل تالک کمترین درصد آلودگی تخم نماتد را در سطح ۵ درصد داشت (۲۳/۶) و گیاهان تیمار شده با این ماده بیشترین تعداد گال (۱۰۷/۴) را داشتند (جدول‌های ۲ و ۳). بهبود شاخص‌های رشدی گیاه (وزن اندام هوایی، وزن ریشه و وزن میوه) در تیمارهایی که با حامل کنجاله‌های روغنی تیمار شده بودند نسبت به حامل‌های کائولن و تالک کاملا مشهود بود و با تیمار مثبت (سم نماتدکش) اختلاف معنی‌داری نداشتند. ریشه‌های این گیاهان هم رشد طبیعی خود داشتند. در انتهای آزمایش، جمعیت قارچ در خاک اطراف ریشه و روی ریشه هنگامی که حامل آن‌ها کنجاله دانه‌های روغنی بودند (حامل‌های پودری کنجاله سویا، کلزا و آفتابگردان) بیشتر از تیماری بود که در آن حامل قارچ پودر تالک بود (جدول ۳).

جدول ۲– مقایسه میانگین پارامترهای رشدی نماتد *Meloidogyne javanica* و قارچ *Metarhizium anisopliae* در یک گرم خاک و ریشه در گلدان‌های گوجه‌فرنگی ۱۴ هفته پس از آلوده شدن با نماتد.

Table 2. Comparison of *Meloidogyne javanica* Growth parameters in green beans pots containing *Metarhizium anisopliae* on five different carriers 14 weeks after inoculation with nematode [1]

Treatments (Formulation of fungus isolate 437C)	Gall numbers F=349.4	Root Gall Index F=562.1	Eggs per g root F=7223.4	J2 per g soil F=664.2	Pf/Pi F=638.5	Control efficacy F=553
Talk	107.4±4.6b	7.1±0 b	3346±43.6 b	169±4.2 b	94.6±2 b	39.5±1.5 c
Kaolin	58.2±3.5 c	4.6±0.2 c	1903±18.7 c	101.8±2.8 c	52.6±1.4 c	66.3±0.7 b
RM	21±1.5d	1.1±0 d	219±4.1 d	42±1.8 d	21±0.9 d	86.5±0.4 a
SBM	22.2±2.6 d	1.1±0 d	219±4.2 d	39.8±2 d	19.9±1 d	87.2±0.5 a
SFM	21.2±2.5 d	1.2±0.1 d	222±4.2 d	42.4±1.8 d	21.2±0.9 d	86.4±0.7 a
Nematode alone	171.4±3.5a	9.5±0.2 a	4343±24.7 a	264.8±6.3 a	157.1±4.6 a	–
Fluopyram	24.2±2.1 d	1.3±0 d	221±4.2 d	40.8±1.6 d	20.4±0.8 d	86.9±0.5 a

[۱] در ستون‌های عمودی، تیمارهایی که حروف متفاوتی دارند از نظر آماری با هم متفاوتند.

[1] In each column, the treatments that do not share any common letter are statistically different. Data are means ± SE

RM = Rapeseed meal

SBM= Soybean meal

SFM= Sunflower meal

نتایج آزمون تعیین C:N فرمولاسیون‌های اولیه کنجاله‌های روغنی در آزمایشگاه

میزان نسبت C:N هر کدام از مواد آلی با روش احتراق توسط دستگاه CHN Analyzer در آزمایشگاه خاک تعیین شد. نتایج نشان داد که میزان C:N برای کنجاله کلزا ۱۱/۷۳، کنجاله سویا ۱۶/۹۳ و برای کنجاله آفتابگردان ۱۸/۶۹ می‌باشد که همگی زیر عدد ۲۰ می‌باشند و در حد بهینه خود هستند.

جدول ۳– مقایسه میانگین شاخص‌های رشدی گیاه گوجه‌فرنگی و توانایی استقرار قارچ *Metarhizium anisopliae* در یک گرم خاک و ریشه در گلدان‌های گوجه‌فرنگی ۱۴ هفته پس از آلوده شدن با نماتد.

Table 3. Comparison of tomato growth indices, nematode egg infection percentage, and *Metarhizium anisopliae* establishment ability in soil and roots of Green beans plants in pots 14 weeks after inoculation with *Meloidogyne javanica* [1]

Treatments (Formulation of fungus isolate 437C)	Root Weight (g) F=114.2	Shoot Weight (g) F=111.2	Fruit Weight (g) F=404.4	CFU (g Root)[1] F=306.8	CFU (g Soil) [2] F=270.4	Infected Egg (%) F=306.7
Talk	24±1.1b	31.2±1.2 c	7.4±3.1c	5±0.2 c	44.2±1.6 c	23.6±1.7 c
Kaolin	15.2±0.1 c	42.4±2 b	104.6±7.5 b	15.9±0.6 b	81±4 b	63±1.6 b
RM	5.8±0.4 d	72.2±3.3 a	372.8±17.8 a	36.1±0.9 a	124.2±1.2 a	89.2±1.6 a
SBM	7±0.3 d	74.2±2.2 a	373.6±9.8 a	35.3±0.8 a	126±1 a	90.4±2.1 a
SFM	6.2±0.6 d	73.6±2.1 a	380.6±5.5 a	35.4±1.1 a	125±1.7 a	90.2±0.9 a
Nematode alone	34.2±2.1 a	13.8±2.6d	0±0 c	–	–	–
Fluopyram	5.2±0.4 d	75±2.3 a	377.4±8.8 a	–	–	–

[1] در ستون‌های عمودی، تیمارهایی که حروف متفاوتی دارند از نظر آماری با هم متفاوتند.

[2] تعداد واحدهای تشکیل دهنده‌ی کلنی روی خاک و ریشه باید در 10^5 ضرب شود.

[1] In each column, the treatments that do not share any common letter are statistically different. Data are means ± SE

[2] the of fungal colony–forming units (CFU) in the soil and roots should be multiplied by 10^5

RM = Rapeseed meal

SBM= Soybean meal

SFM= Sunflower meal

بحث

یک ترکیب نماتدکش که بر پایه قارچ‌های بیمارگر ساخته می‌شود زمانی کارایی دارد که توانایی حفظ اسپور قارچ را داشته باشد و زمانی که جهت مبارزه بیولوژیک مورد استفاده قرار می‌گیرد توانایی استقرار در ریشه و خاک را داشته باشد و بتواند اندام‌های رویشی قارچ را تکثیر دهد. از مهم ترین ویژگی‌های یک نماتدکش زیستی تجاری خوب، ارزان و در دسترس بودن حامل می‌باشد که علاوه بر حفظ طولانی مدت زادمایه قارچ، باعث کاهش درصدجوانه‌زنی زادمایه‌ها نگردد (Moosavi &Askari 2015). در تحقیق حاضر، کنجاله‌های دانه‌های روغنی که به عنوان حامل در تولید یک پایدارکننده اسپورقارچ پودری استفاده شدند، قابلیت‌های حفظ اسپور قارچ را به مدت ۱۲ ماه داشتند و بعد از گذشت این مدت هم در برابر نماتد ریشه‌گرهی کارایی خود را نشان دادند. بنابراین از جهت انبارداری موثرتر از دو حامل تالک و کائولن هستند. از طرفی به دلیل اینکه این مواد جز ضایعات کشاورزی در کارخانه‌های روغن به حساب می‌آیند هم در دسترس‌اند و هم ارزان و به راحتی می‌توان از این مواد در فرمولاسیون‌های تجاری قارچ استفاده کرد (Mathulwe *et al*., 2023). از آن جا که فرایند ماندگاری قارچ در این مواد بیشتر بود، به نظر می‌رسد کنجاله‌های دانه‌های روغنی باعث بهبود چسبندگی به سطوح

آبگریز بافت‌های گیاهی هنگام استفاده در شرایط مزرعه دارد. این احتمالاً آن را به حامل مناسب‌تری برای ماندگاری قارچ تبدیل می‌کند (Moore *et al*., 1995; Humber 1997; Roberts & Leger 2004). در این پژوهش، آزمایش گلخانه‌ای نشان داد که کارآیی قارچ *M. anisopliae* در حامل‌های دانه‌های روغنی از نظر کنترل نماتد ریشه‌گرهی در حد ترکیب نماتدکش شیمیایی فلوپرایم بود. با توجه به اینکه اسپورهای قارچ *M. anisopliae* در حامل‌های دانه‌های روغنی، به راحتی توانستند زنده بمانند و در پی آن به صورت فعال در خاک و ریشه مستقر شوند و نهایتا به درون نماتدها نفوذ کنند. این موضوع به نسبت C:N این حامل‌ها بر می‌گردد. قارچ‌های بیمارگر نماتدها برای رشد و سوخت و ساز، از کربن و نیتروژن استفاده می‌کنند. نسبت مناسب C:N برای این دسته از قارچ‌ها ۱۰:۱ می‌باشد (Mo *et al*., 2005). با توجه به اینکه نسبت C:N حامل‌های کنجاله‌های دانه‌های روغنی در آزمایشگاه تعیین شد و نزدیک به مقدار مذکور بود، برای زنده‌مانی اسپور قارچ این حامل‌هامناسب به نظر می‌رسید و می‌توانند شرایط لازم برای نگهداری و انبارداری این قارچ را برای مدت طولانی مهیا کنند. از طرفی مواد حامل مذکور آلودگی‌های زیست محیطی ترکیبات شیمیایی را ندارند. از این جهت، استفاده از *M. anisopliae* همراه با حامل‌های کنجاله دانه‌های روغنی مانند کنجاله کلزا، کنجاله سویا و کنجاله آفتابگردان برای تولید یک محصول تجاری کاربردی و کارآمد برای کنترل نماتدهای ریشه‌گرهی توصیه می‌شود. تأثیر مطلوب این حامل‌ها بر بقای اسپورها و نماتد انگل، یک راه امیدوارکننده برای توسعه یک استراتژی مهار زیستی پایدار و مؤثر علیه نماتد ریشه‌گرهی در کشاورزی ارائه می‌کند. تحقیقات بیشتر و آزمایشات میدانی را می‌توان برای تأیید کاربرد عملی و اثربخشی این مواد در مقیاس بزرگتر انجام داد و راه را برای اجرای آن به عنوان یک جایگزین مناسب برای نماتدکش‌های شیمیایی هموار کرد. علاوه بر این، در شرایط گلخانه‌ای، این حامل‌ها توانایی قابل توجهی برای القای نرخ مرگ و میر در محدوده ۸۶٪ تا ۸۷٪ در *M. javanica* نشان دادند. این یافته‌ها پتانسیل استفاده از حامل‌های کنجاله دانه‌های روغنی، مانند کنجاله کلزا، کنجاله سویا و کنجاله آفتابگردان را به‌عنوان حامل‌های مؤثر برای فرمول‌بندی عوامل مهار زیستی مبتنی بر *M. anisopliae* در برابر نماتدهای ریشه‌گرهی برجسته می‌کند. توانایی این مواد در کاهش چشمگیر آلودگی نماتد و بهبود رشد گیاه بر نقش امیدوارکننده آن‌ها در استراتژی‌های مدیریت پایدار نماتد برای کشاورزی تأکید می‌کند. با ارائه یک جایگزین مقرون‌به‌صرفه، سازگار با محیط‌زیست و کارآمد برای نماتدکش‌های شیمیایی، استفاده از *M. anisopliae* روی حامل‌های کنجاله دانه‌های روغنی، پتانسیل زیادی برای افزایش بهره‌وری محصول دارد و در عین حال، شیوه‌های کنترل آفات مسئول زیست‌محیطی را ترویج می‌کند. با این حال، تحقیقات بیشتر و آزمایشات میدانی برای تأیید کاربرد عملی و اثربخشی طولانی مدت این رویکرد در مقیاس بزرگتر مورد نیاز است. با این وجود، نتایج به دست آمده دلیل مهمی برای در نظر گرفتن این حامل‌های مبتنی بر کنجاله‌های دانه‌های روغنی به عنوان یک ابزار ارزشمند در اصول مدیریت تلفیقی آفات علیه نماتدهای ریشه‌گرهی فراهم می‌کند.

سپاسگزاری

نگارندگان از ریاست محترم دانشگاه آزاد اسلامی واحد مرودشت، جناب آقای دکتر سیروس فارسی و مدیریت کلینیک گیاه‌پزشکی دانش بنیان (واقع در شهرستان شیراز، خیابان تختی، پاساژ ملت) به خاطر در اختیار گذاشتن آزمایشگاه و گلخانهٔ دانشکده کشاورزی، سپاسگزاری می‌نماید.

References

Ahmadi, H. & Moosavi, M.R. 2018. The relationship of initial population densities of *Meloidogyne javanica* and damage level on okra plant (Abelmoschus esculentus). Iranian Journal of Plant pathology, 53(4): 385–398.

Abd–Elgawad, M.M.M. & Askary, T.H. 2018. Fungal and bacterial nematicides in integrated nematode management strategies. Egyptian Journal of Biological Pest Control 28, 74. https://doi.org/10.1186/s41938–018–0080–x.

Agala, S.V., Gopalakrishnan, S., Ambhure, K.G., Chandravanshi, H., Gupta, R. & Wani, S.P. 2018. Mass Production of Entomopathogenic Fungi (*Metarhizium anisopliae*) using Different Grains as a Substrate. International Journal of Current Microbiol and Applied Science, 7(01). https:// doi.org/ 10.20546/ ijcmas. 2018.701.268

Comite, V., Pozo–Antonio, J.S., Cardell, C., Randazzo, L., Russa, M.F.L. & Fermo, P. 2020. A multi analytical approach for the characterization of black crusts on the facade of an historical cathedral. Microchemical Journal 158, 105121. https://doi.org/ 10.1016/j.microc.2020.105121.

Cumagun, C.J.R. & Moosavi, M.R. 2015. Significance of biocontrol agents of phytonematodes. In: Askary, T.H. & Martinelli, P.R.P. (Eds). *Biocontrol agents of phytonematodes*. Wallingford, UK, CAB International, pp. 50–78.https://doi.org/ 10.1079/9781780643755.0050.

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.

Ghayedi, S. & AbdoLlahy, M. 2013. Biocontrol PotentialL of *Metarhizium anisopliae* (Hypocreales: clavicipitaceae), isolated from suppressive soils of the Boyer–Ahmad region, Iran, Against J2S of *Heterodera aveena.* Journal of plant protection research. 35: 2(2013). https://doi.org/10.2478/jppr–2013–0025.

Gulsar Banu, J., Iyer, R. & Gunasekaran, M. 2006. Mass multiplication and formulation of nematophagous fungus, *Paecilomyces lilacinus*. International Journal of Nematology, 16: 145–152.

Hallmann, J. & Meressa, B.H. 2018. Nematode parasites of vegetables. In: Sikora, R.A. Coyne, D. Hallmann, J. & Timper, P. (Eds). *Plant parasitic nematodes in subtropical and tropical agriculture* 3rd edn. Wallingford, UK, CAB International, 346–410.

Humber, R.A. 1997. Fungi: preservation of cultures. In: Lacey LA, editor. Manual of Tech in Insect Pathol. Cambridge, Massachusetts: Academic Press. p. 269–279. https://doi.org/10.1016/ B978–012432555–5/50015–4

Hussey, R. S. & Barker, K. 1973. Comparison of methods of collecting inocula for *Meloidogyne* spp., including a new technique. Plant Disease Reporter, 57, 1025–1028.

Imani, S., Moosavi, M.R. & Basirnia, T. 2014. Interaction of *Macrophomina phaseolina* and *Meloidogyne javanica* on green bean. Research in plant pathology, 2(1): 41–50.

Imani, S., Moosavi, M.R., Zare, R. & Basirnia, T. 2021. Optimum substrate and carrier for *Purpureocillium lilacinum* and its effectiveness against *Meloidogyne javanica* on tomato. Plant Pathology Science, 10:(2) 50–64. https://doi.org/10.2982/PPS.10.2.50

Jaronski, S.T. 2023. Mass production of entomopathogenic fungi–state of the art. In: J. A., Morales–Ramos, M.G., Rojas & D.I., Shapiro–Ilan (Eds.), Mass production of beneficial organisms: Invertebrates and entomopathogens, 2nd edition (pp. 317–358). Academic Press, Elsevier Inc, New York.

Jahanbazian, L., Abdollahi, M. & Rezaie, R. 2015. Combined effect of *Metarhizium anisopliae* and *Pseudomonas fluorescens* CHA0 on root–knot nematode, *Meloidogyne incognita* in tomato. Iranian Journal of Plant pathology. 51(3): 339–355.

Jenkins, W.R. 1964. A rapid centrifugal–flotation technique for separating nematode from soil. Plant Disease Reporter, 48: 692–1964.

Karabörklü, S., Aydinli, V. & Dura, O. 2022. The potential of *Beauveria bassiana* and *Metarhizium anisopliae* in controlling the root–knot nematode *Meloidogyne incognita* in tomato and cucumber. Journal of Asia–Pacific Entomology. 25(1):101846. https://doi.org/ 10.1016/j.aspen.2021.101846

Latifian, M., Rad, B. & Amani, M. 2014. Mass production of entomopathogenic fungi *Metarhizium anisopliae* by using agricultural products based on liquid– solid diphasic method for date palm pest control. International Journal of Farming and Alli Science, 3(4): 368–372

Latifian, M. & Rad, B. 2019. Study the synergistic effects of ecdysoids and diatomaceous earth on *Metarhizium anisopliae* for control of date horned beetle larvae, *Oryctes elegans* Prell. Biocontrol in Plant Protection, 7(1): 15–27

Mo, M., Xu, C. & Zhang, K. 2005. Effects of carbon and nitrogen sources, carbon–nitrogen ratio, and initial pH on the growth of nematophagous fungus *Pochonia chlamydosporia* in liquid culture. Mycopathologia, 159: 381–387. https://doi.org/10.1007/s11046–004–5816–3.

Mokhtari, S., Sahebani, N. & Etebarian, H.R. 2009. Study on biological control and systemic induction of peroxidase enzyme activity in tomato plant infected with root–knot nematode (*Meloidogyne javanica*) by *Pseudomonas fluorescens* CHA0 antagonist. Journal of Agriculture, 11(1): 151–161

Mathulwe, L.L., Malan, A.P. & Stokwe, N.F. 2023. Formulation of *Metarhizium pinghaense* and *Metarhizium robertsii* and the infection potential of the formulations against *Pseudococcus viburni* (Hemiptera: Pseudococcidae) after storage. African Entomology 2023, 31: e12814 (7 pages) https://doi.org/10.17159/2254–8854/2023/a12814.

Moore, D., Bateman, R.P., Carey, M. &Prior, C. 1995. Long term storage of *Metarhizium flavoviride* conidia in oil formulations for the control of locusts and grasshoppers. Biocontrol Science and Technology, 5(2): 193–200. https://doi.org/10.1080/09583159550039918

Moosavi, M.R. & Askary, T.H. 2015. Nematophagous fungi commercialization. In: Askary, T.H. & Martinelli, P.R.P. (Eds). *Biocontrol agents of phytonematodes*. Wallingford, UK, CAB International, pp. 187–202. https://doi.org/10.1079/9781780643755.0187.

Moosavi, M.R. & Zare, R. 2015. Factors affecting commercial success of biocontrol agents of phytonematodes. In: (T.H. Askary & P.RP. Martinelli. Eds.). Biocontrol agents of phytonematodes. pp. 423–445. Wallingford, UK. CAB International.

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. https://doi.org/10.1016/j.jip.2010.03.002.

Patil, V., Sigh, A., Naik, N. & Unnikrishnan, S. 2014. Estimation of carbon stocks in Avicennia marina stand using allometry, CHN analysis, and GIS methods. Wetlands 34, 379–391. https://doi.org/ 10.1007/s13157–013–0505–y.

Rashki, M. 2024. Mass production of two entomopathogenic fungi *Metarihium anisopliae* and *beauveria bassiana* using diphasic fermentation. Biological control of pests and plant diseases, 12(1): 11–28. https://doi.org/10.22059/JBIOC.2024.374002.338

Roberts, D.W. & Leger, R.J. 2004. *Metarhizium spp*., cosmopolitan insectpathogenic fungi: mycological aspects. Adv Appl Microbiology, 54:1–70. https://doi.org/10.1016/S0065–2164 (04)54001–7.

Stirling, G.R. 2011. Biological control of plant–parasitic nematodes: An ecological perspective, a review of progress and opportunities for further research. In: pp. 1–38. Davies, K.G. & Spiegel, Y. (eds.), and Biological control of plant –parasitic nematodes: Building coherence between microbial ecology and molecular mechanisms, Progress in Biological Control. Springer.

Sharma, M.K. & Bhargava, S. 2008. Efficacy of green muscardine fungi, *Metarhizium anisopliae* against reniform nematode, *Rotylenchulus reniformis* on tomato. Indian Journal of Nematology, 38: 242–244.

The effect of different carriers on the efficiency of the pathogenic fungus of *Metarhizium anisopliae* and testing its efficacy against *Meloidogyne javanica* in tomato and its establishment in the soil and roots

Saeid Imani[1], Mohammad Reza Moosavi[2], Rasoul Zare[3]

1., 2. Ph.D. of Nematology, Assistant Professor, Department of Plant Pathology, Marvdasht Branch, Islamic Azad University, Marvdasht, Fars, Iran.
3. Professor, Iranian Research Institute of Plant Protection, Agricultural Research, Education and Extension Organization, Tehran, Iran.
Corresponding author: Saeid Imani, email: saeed_i5@yahoo.com

Received: Nov., 18, 2024 11(2) 41–51 Accepted: Jan., 15, 2025

Abstract

The *Metarhizium anisopliae*, a valuable biocontrol agent against nematodes and insects, offers a promising alternative. This study aimed to identify the most suitable carrier for the solid formulations of *M. anisopliae* for effective control of tomato nematodes. *Metarhizium anisopliae* was cultivated *in vitro* on mung bean seeds, and spore production was initiated after inoculation. The survival of fungal spores was investigated over 12 months using different carriers, including talc, kaolin, soybean meal, rapeseed meal, and sunflower meal. Subsequently, the effectiveness of the fungus in these carriers against *M. javanica* on tomato plants was assessed in a greenhouse experiment employing a completely randomized design. The oil seed meals consistently exhibited the highest number of surviving spores throughout the 12–month study period. Among the carriers tested, rapeseed meal, soybean meal, and sunflower meal demonstrated remarkable control efficacy against *M. javanica*, with suppression rates of 86.5%, 87.2%, and 84.5%, respectively, comparable to the commercial nematicide, Floyram (86.9%). Furthermore, these carriers exhibited superior colonization of the rhizosphere and root tissues (36.1, 35.3, and 35.4 × 10^5 CFU in gram of root, respectively), contributing to enhanced plant growth. Based on the findings, rapeseed meal, soybean meal, and sunflower meal present promising bases for the development of an efficient carrier for the solid formulations against *M. javanica*. Implementing such formulations could offer an environmentally friendly and economically viable strategy for managing nematode infestations in tomato cultivation.

Keywords: Durability, *Metarhizium anisopliae*, biocontrol agent, root–knot nematode.