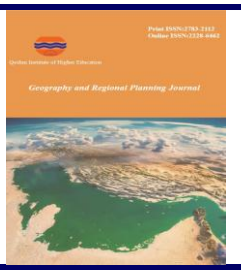
Iranian Association of Geopolitical

Geography and Regional Planning

ISSN (Print): 2783-2112 - ISSN (Online): 2228-6462

Homepage: https://www.jgeoqeshm.ir/



Environmental Vulnerability of Greenhouse Cucumber Cultivation and Regional Planning Strategies: Biological Control of Root-Knot Nematodes Using Antagonistic Fungi

Mohammad Abdollahi[1], Tahereh, Basirnia[2], Fariba Riyahi[3], Mohammadreza Mousavi[4]

1. Department of Plant Protection, Yasouj University, Yasouj, Iran. Email: mdabdollahi@gmail.com
2. Assistant Professor, Department of Plant Pathology, Marvdasht Branch, Islamic Azad University, Marvdasht, Iran. Email: tbasirnia_829@yahoo.com
3. Department of Plant Pathology, Marvdasht Branch, Islamic Azad University, Marvdasht, Iran. Email: fariba.riyahi91@gmail.com
4. Associate Professor, Department of Plant Pathology, Marvdasht Branch, Islamic Azad University, Marvdasht, Iran. Email: rmmoosavi@miau.ac.ir

ARTICLE INFO

Article type:
Research Paper

Article history:
Received: September 11, 2026
Revised: September 29, 2026
Accepted: November 12, 2026
Published online: November 15, 2026

Keywords:
Pochonia fungus
Lecanicillium fungus
nematode biological control
root-knot nematode
cucumber

Abstract

Root-knot nematodes are among the major factors limiting cucumber growth, and the use of biological control methods can provide a suitable alternative to chemical nematicides. The present study was conducted to investigate the efficacy of Pochonia fungi (isolates IRAN 1129 C, IRAN 1119 C, IRAN 1212 C, and IRAN 45s7 C) and Lecanicillium (IRAN 3022 C) in controlling the root-knot nematode of cucumber under laboratory and greenhouse conditions. The experiments were conducted in a completely randomized design with four replications, using sterile distilled water as the control. Seeds of the susceptible cucumber cultivar 'Emperor' were sown in a sterilized growing medium, and fungal and nematode treatments were applied after plant establishment. After 60 days, plant growth parameters and nematode population and reproduction indices were evaluated. The results showed that the Pochonia and Lecanicillium isolates improved plant growth parameters and reduced nematode population density and reproduction. Among the treatments, Pochonia isolates IRAN 1129 C, IRAN 1119 C, and IRAN 1212 C, as well as Lecanicillium IRAN 3022 C, exhibited greater efficacy in controlling the nematode, whereas IRAN 45s7 C showed a weaker effect. These findings demonstrate the potential of these fungi as biological control agents and their potential as alternatives to chemical nematicides.

How to cite: Abdollahi, M., Basirnia, T., Riyahi,, F. & Mousavi, M. (2026). Environmental Vulnerability of Greenhouse Cucumber Cultivation and Regional Planning Strategies: Biological Control of Root-Knot Nematodes Using Antagonistic Fungi. Geography and Regional Planning, 16(4),364-392. https://doi.org/10.22034/jgeoq.2026.603577.4557

© Author(s) retain the copyright and full publishing rights
Publisher: Qeshm Institute of Higher Education
DOI: https://doi.org/10.22034/jgeoq.2026.603577.4557

Introduction

Root-knot nematodes are among the major constraints on agricultural production, particularly cucumber cultivation, causing root gall formation, reduced plant growth, and substantial economic losses. Cucumber (Cucumis sativus) is an economically important crop in Iran, where greenhouse production has expanded considerably. Among plant-parasitic nematodes, Meloidogyne species are particularly damaging because of their wide host range and soil-borne nature. Chemical nematicides are commonly used for their management; however, their extensive application increases production costs, threatens human health, and contributes to environmental and food contamination. Consequently, biological control has gained increasing attention as an environmentally compatible alternative. Nematophagous fungi, particularly Pochonia and Lecanicillium, have demonstrated considerable potential through parasitizing nematode eggs and other developmental stages, thereby suppressing population growth and reproduction. Previous studies have reported their effectiveness in reducing nematode populations and improving plant growth. Given the economic importance of root-knot nematodes and the limitations of chemical control, this study compares four Pochonia isolates and one Lecanicillium isolate for controlling Meloidogyne javanica on cucumber under laboratory and greenhouse conditions.

Methodology

The study employed laboratory and greenhouse experiments to evaluate five fungal isolates against Meloidogyne javanica on cucumber. Fungal extracts were tested at 10% and 100% concentrations for effects on egg hatching, egg parasitism, and second-stage juvenile mortality, with four replicates. Greenhouse trials used seven treatments in a completely randomized design with five replicates. After two months, nematode population indices and cucumber growth parameters were measured. Data were analyzed using SAS 9.1 and LSD tests.

Results and Discussion

The results confirmed that the root-knot nematode collected from cucumber was Meloidogyne javanica. In laboratory tests, all five fungal isolates significantly inhibited egg hatching and increased second-stage juvenile mortality compared with the untreated control ($P \leq 0.01$). Higher extract concentrations and longer exposure produced stronger effects. Pochonia isolate IRAN 1129 at 100% concentration showed the greatest inhibition of egg hatching and juvenile mortality. After 72 hours, isolates IRAN 1119, IRAN 1129, and IRAN 1212 caused approximately 95% juvenile mortality, while Lecanicillium IRAN 3022 caused about 92%; Pochonia IRAN 457 was less effective, causing approximately 85% mortality. After three weeks, fungal isolates parasitized 70–90% of nematode eggs, with the lowest rate recorded for IRAN 457. Greenhouse results showed that all fungal treatments significantly reduced root galls, egg masses, total eggs, soil juveniles, and the nematode reproductive factor relative to nematode-only plants. Isolates IRAN 1119, IRAN 1129, IRAN 1212, and Lecanicillium IRAN 3022 generally provided stronger suppression than IRAN 457. These four treatments also maintained cucumber growth parameters close to those of healthy control plants, whereas IRAN 457 was less effective. Differences among treatments were statistically significant overall.

Conclusion

The findings demonstrate that Pochonia and Lecanicillium isolates have considerable potential for the biological management of root-knot nematode, Meloidogyne javanica, in cucumber. All five fungal isolates significantly inhibited egg hatching, parasitized nematode eggs, and increased juvenile mortality under laboratory conditions. Their effectiveness generally increased with extract concentration and exposure time. Among the tested isolates, Pochonia IRAN 1129, IRAN 1119, and IRAN 1212 showed stronger effects than IRAN 457, while Lecanicillium IRAN 3022 also performed effectively. After 72 hours, juvenile mortality reached approximately 95% with the three more effective Pochonia isolates and 92% with Lecanicillium IRAN 3022. Egg parasitism ranged from about 70% to 90%, with the lowest rate associated with Pochonia IRAN 457. Greenhouse experiments further confirmed that all fungal

treatments reduced gall numbers, egg masses, total eggs, soil juvenile populations, and the nematode reproductive factor compared with plants inoculated only with M. javanica. The strongest overall suppression was obtained with Pochonia isolates IRAN 1119, IRAN 1129, and IRAN 1212, and Lecanicillium IRAN 3022. These treatments also alleviated nematode-associated damage and maintained shoot and root growth parameters at levels comparable to healthy control plants. In contrast, Pochonia IRAN 457 was less effective in reducing nematode populations and protecting plant growth. Molecular analyses showed that inoculation treatments affected the expression of the defense-related genes PR1, PAL1, CsADF1, and CsADF6. Simultaneous inoculation with the nematode and Pochonia IRAN 1212 generally produced stronger gene expression than either inoculation alone, particularly by day 21. Overall, the results identify these fungal isolates, especially Pochonia IRAN 1212, as promising biological control agents and potential components of integrated nematode management under diverse cucumber production conditions. Further greenhouse and field evaluations, comparisons with conventional nematicides, and assessment of mass production are required before practical and commercial application.

Ethical considerations

Following the principles of research ethics

The authors have observed the principles of ethics in conducting and publishing this scientific research, and this is confirmed by all of them.

Data Availability Statement

Data available on request from the authors.

Acknowledgements

First author: Preparation of samples, conducting experiments and collecting data, performing calculations, statistical analysis of data, analysis and interpretation of information and results, preparing a draft of the article

Second author: Preparation of samples, conducting experiments and collecting data, performing calculations, statistical analysis of data, analysis and interpretation of information and results, preparing a draft of the article

Third author: Preparation of samples, conducting experiments and collecting data, performing calculations, statistical analysis of data, analysis and interpretation of information and results, preparing a draft of the article

Fourth author: Preparation of samples, conducting experiments and collecting data, performing calculations, statistical analysis of data, analysis and interpretation of information and results, preparing a draft of the article

Ethical Considerations

The authors affirm that they have adhered to ethical research practices, avoiding plagiarism, misconduct, data fabrication or falsification, and have provided their consent for this article's publication.

Funding

This research was conducted without any financial support from Payam Noor University.

Conflict of Interest

The authors declare no conflict of interest



فصلنامه جغرافیا و برنامه ریزی منطقه ای

شاپا چاپی: ۶۴۶۲- ۲۲۲۸ شاپا الکترونیکی: ۲۱۱۲ -۲۷۸۳

Homepage: https://www.jgeoqeshm.ir/

انجمن ژئوپلیتیک ایران

آسیب‌پذیری زیست محیطی کشت خیار گلخانه‌ای و راهبردهای برنامه‌ریزی منطقه‌ای: کنترل زیستی نماتد ریشه‌گرهی با قارچ‌های آنتاگونیست

محمد عبداللهی[1]✉، طاهره بصیرنیا[2]، فریبا ریاحی[3]، محمدرضا موسوی[4]

۱. نویسنده مسئول. استاد، گروه گیاه‌پزشکی، دانشگاه یاسوج، یاسوج، ایران. یارانامه:mdabdollahi@gmail.com

۲. استادیار، گروه بیماری‌شناسی گیاهی، واحد مرودشت، دانشگاه آزاد اسلامی، مرودشت، ایران. یارانامه:tbasirnia_829@yahoo.com

۳. گروه بیماری‌شناسی گیاهی، واحد مرودشت، دانشگاه آزاد اسلامی، مرودشت، ایران. یارانامه:fariba.riyahi91@gmail.com

٤. دانشیار، گروه بیماری‌شناسی گیاهی، واحد مرودشت، دانشگاه آزاد اسلامی، مرودشت، ایران. یارانامه:rmmoosavi@miau.ac.ir

اطلاعات مقاله

نوع مقاله: مقاله پژوهشی

تاریخ دریافت: ۱۴۰۵/۰۶/۲۰

تاریخ بازنگری: ۱۴۰۵/۰۷/۰۷

تاریخ پذیرش: ۱۴۰۵/۰۸/۲۱

تاریخ انتشار: ۱۴۰۵/۰۸/۲۴

کلیدواژه ها:

قارچ پوشونیا

قارچ لکانیسیلیوم

کنترل زیستی نماتد

نماتد ریشه‌گرهی

خیار

چکیده

نماتدهای ریشه‌گرهی از عوامل مهم محدودکننده رشد خیار هستند و استفاده از روش‌های زیستی می‌تواند جایگزین مناسبی برای نماتدکش‌های شیمیایی باشد. پژوهش حاضر با هدف بررسی اثر قارچ‌های پوشونیا (جدایه‌های IRAN 1129 C، IRAN 1119 C، IRAN 1212 C و IRAN 45s7 C) و لکانیسیلیوم (IRAN 3022 C) در کنترل نماتد ریشه‌گرهی خیار در شرایط آزمایشگاه و گلخانه انجام شد. آزمایش‌ها در قالب طرح کاملاً تصادفی با چهار تکرار و آب مقطر استریل به‌عنوان شاهد انجام گرفت. بذر رقم حساس خیار «امپراطور» در بستر کشت استریل کشت و پس از استقرار گیاهان، تیمارهای قارچی و نماتدی اعمال شدند. پس از ۶۰ روز، شاخص‌های رشد گیاه و شاخص‌های جمعیتی نماتد ارزیابی شدند. نتایج نشان داد جدایه‌های پوشونیا و لکانیسیلیوم موجب بهبود شاخص‌های رشدی گیاه و کاهش جمعیت و تولیدمثل نماتد شدند. در میان تیمارها، جدایه‌های IRAN 1129 C، IRAN 1119 C، IRAN 1212 C و لکانیسیلیوم IRAN 3022 C کارایی بیشتری در کنترل نماتد داشتند، در حالی که IRAN 45s7 C اثر کمتری نشان داد. یافته‌ها نشان‌دهنده ظرفیت این قارچ‌ها به‌عنوان عوامل کنترل زیستی و جایگزینی بالقوه برای نماتدکش‌های شیمیایی است.

استناد: عبداللهی، محمد، بصیرنیا، طاهره، ریاحی، فریبا و موسوی، محمدرضا. (۱۴۰۵). آسیب‌پذیری زیست‌محیطی کشت خیار گلخانه‌ای و راهبردهای برنامه‌ریزی منطقه‌ای: کنترل زیستی نماتد ریشه‌گرهی با قارچ‌های آنتاگونیست. جغرافیا و برنامه ریزی منطقه‌ای، ۱۶(۴)،۳۶۴-۳۹۲. DOI: 10.22034/jgeoq.2026.603577.4557

CC BY SA

ناشر: موسسه آموزش عالی قشم

© نویسندگان.

مقدمه

شناخت انسان از بیماری‌های گیاهی سابقه‌ای طولانی دارد و خسارت بیماری‌ها از گذشته یکی از عوامل محدودکننده تولید محصولات کشاورزی بوده است. امروزه با افزایش جمعیت و نیاز به تأمین مواد غذایی، کنترل عوامل بیماری‌زای گیاهی و کاهش خسارت آن‌ها اهمیت بیشتری یافته است. خیار با نام علمی Cucumis sativusاز گیاهان خانواده کدوئیان است که به دلیل اهمیت اقتصادی و امکان تولید خارج از فصل، طی سال‌های اخیر کشت گلخانه‌ای آن گسترش یافته است (ایاسی‌زاده و همکاران، ۱۳۹۴؛ دانشور، ۱۳۸۹). ایران نیز از تولیدکنندگان مهم خیار به شمار می‌رود و بر اساس آمارهای موجود، سطح قابل‌توجهی از اراضی کشاورزی کشور به کشت این محصول اختصاص دارد(Anonymous, 2013 ؛ عبداللهی، ۱۳۹۴)در میان عوامل محدودکننده تولید خیار، نماتدهای انگل گیاهی، به‌ویژه نماتدهای ریشه‌گرهی(Meloidogyne spp.) ، اهمیت ویژه‌ای دارند. این نماتدها دامنه میزبانی بسیار وسیعی داشته و طیف گسترده‌ای از سبزیجات، محصولات زراعی و باغی و علف‌های هرز را آلوده می‌کنند (Jepson, 1987). بیش از ۱۰۰ گونه از جنس Meloidogyneشناسایی شده است که چهار گونه M. javanica، M. incognita، M. arenaria وM. hapla از اهمیت و پراکندگی بیشتری برخوردارند (Hunt & Handoo, 2009). در ایران نیز M. javanica وM. incognita از گونه‌های غالب محسوب می‌شوند (اخیانی و همکاران، ۱۳۶۳). نماتدهای ریشه‌گرهی علاوه بر کاهش رشد و عملکرد گیاه، با ایجاد شرایط مناسب برای استقرار سایر عوامل بیماری‌زا، خسارت اقتصادی قابل‌توجهی ایجاد می‌کنند (عبداللهی، ۱۳۹۴؛ پورخواجه و همکاران، ۱۳۹۸). میزان خسارت این نماتدها در محصولات مختلف متفاوت است و در برخی سبزیجات می‌تواند به ۵۰ تا ۸۰ درصد برسد(Lamberti, 1979؛ Sasser, 1979 ؛ حسینی‌خواه چوشلی و همکاران، ۱۳۹۷) گونه M. javanicaنیز از مناطق مختلف ایران و روی میزبان‌های متعددی گزارش شده است (قادری و همکاران، ۱۳۹۰). کنترل نماتدهای ریشه‌گرهی به دلیل خاکزی بودن و دامنه میزبانی گسترده آن‌ها دشوار است. اگرچه استفاده از نماتدکش‌های شیمیایی همچنان یکی از روش‌های رایج کنترل این آفات است، کاربرد گسترده آن‌ها می‌تواند موجب افزایش هزینه تولید و آلودگی محیط‌زیست و محصولات غذایی شود و سلامت انسان را نیز تهدید کند (اسمعیل‌زاده آشینی و موسوی، ۱۳۹۷؛ موسوی و همکاران، ۱۳۹۶). ازاین‌رو، توسعه روش‌های جایگزین، به‌ویژه کنترل زیستی، مورد توجه قرار گرفته است. مطالعات نشان داده‌اند که استفاده از ارقام مقاوم، ترکیبات زیستی و عوامل میکروبی می‌تواند در کاهش جمعیت و خسارت نماتدها مؤثر باشد. با این حال، بررسی واکنش ارقام خیار گلخانه‌ای در ایران نشان داده است که بسیاری از ارقام تجاری نسبت به نماتد ریشه‌گرهی حساس‌اند (موسوی و همکاران، ۲۰۱۶). همچنین استفاده از Trichoderma harzianumو قارچ‌های مایکوریز در پژوهش‌های مختلف موجب کاهش گال، توده تخم، تخم و لارو سن دوم و فاکتور تولیدمثل نماتد شده است (پورخواجه و همکاران، ۱۳۹۸؛ حسینی‌خواه چوشلی و همکاران، ۱۳۹۷).

قارچ‌ها از مهم‌ترین عوامل کنترل زیستی نماتدها محسوب می‌شوند و گونه‌های جنس Pochoniaو Lecanicilliumبه دلیل فعالیت آنتاگونیستی و توانایی پارازیته‌کردن مراحل مختلف نماتد مورد توجه قرار گرفته‌اند (Moosavi & Zare, 2016). بسیاری از قارچ‌های خاکزی، به‌ویژه قارچ‌های مرتبط با تخم نماتد، می‌توانند با استقرار و رشد روی تخم‌ها و سایر مراحل نماتد، جمعیت آن را کاهش دهند(Askarian, 2007 ؛ Hallmann et al., 2009). گونه‌های جنس Pochoniaعمدتاً پارازیت نماتدهای ساکن، از جمله نماتدهای ریشه‌گرهی و سیستی هستند (Moosavi & Zare, 2020). مطالعات نیز کارایی این قارچ‌ها را تأیید کرده‌اند؛ برای نمونه، Yang et al. (2012)کاهش تعداد تخم و لارو سن دوم M. javanicaو بهبود برخی شاخص‌های رشد گیاه را در اثر استفاده از جدایه‌های P. chlamydosporiaگزارش کردند. همچنین گزارش شده است که قارچ‌های Pochoniaو Lecanicilliumمی‌توانند جمعیت نماتدهای ریشه‌گرهی را در خاک کاهش دهند (پورخواجه و همکاران، ۱۳۹۶).با توجه به اهمیت اقتصادی نماتدهای ریشه‌گرهی در کشت خیار، محدودیت‌های روش‌های شیمیایی و ظرفیت عوامل قارچی در کنترل زیستی، استفاده از قارچ‌های نماتدخوار می‌تواند رویکردی سازگارتر با محیط‌زیست باشد(Lopez-Llorca et al., 2008 ؛ Cumagun & Moosavi, 2015).بنابراین، پژوهش حاضر با هدف مقایسه توانایی جدایه‌های مختلف Pochoniaشامل IRAN 1119 C ، IRAN 45s7 C، IRAN 1129 C وIRAN 1212 C و جدایه Lecanicillium IRAN 3022 Cدر کنترل زیستی نماتد

ریشه‌گرهی خیار و ارزیابی اثر آن‌ها بر شاخص‌های رشدی گیاه و شاخص‌های جمعیتی نماتد در شرایط آزمایشگاه و گلخانه انجام شد.

۲-مواد و روش

در این پژوهش، اثر پنج جدایه قارچی شامل چهار جدایه Pochonia chlamydosporia (IRAN 1129 C، IRAN 1119 C، IRAN 1212 C و IRAN 457 C) و یک جدایه Lecanicillium lecanii (IRAN 3022 C) بر کنترل نماتد ریشه‌گرهی خیار (Meloidogyne javanica) در شرایط آزمایشگاه و گلخانه بررسی شد. جدایه‌های قارچی از کلکسیون قارچ‌های مؤسسه تحقیقات گیاه‌پزشکی کشور تهیه و روی محیط PDA در دمای ۲۵ درجه سلسیوس نگهداری شدند (Kerry et al., 1993). برای تهیه زادمایه قارچی، مخلوط استریل ماسه و سبوس جو به نسبت ۱:۱ تهیه، با آب مقطر سترون مرطوب و پس از سه مرحله اتوکلاو، با دیسک‌های قارچی مایه‌زنی شد و به مدت ۳ تا ۴ هفته در دمای ۲۵ درجه سلسیوس انکوبه گردید (De Leij & Kerry, 1991; Sorribas et al., 2003). جمعیت اولیه M. javanica در مهرماه ۱۴۰۰ از ریشه‌های آلوده خیار در یک گلخانه واقع در منطقه بیضا، استان فارس، تهیه شد. نماتد پس از خالص‌سازی از یک توده تخم و تکثیر روی گیاه خیار، بر اساس ویژگی‌های ریخت‌شناسی و ریخت‌سنجی ماده‌های بالغ و لاروهای سن دوم و الگوی کوتیکول انتهای بدن ماده، با استفاده از کلیدهای شناسایی تأیید شد (Hartman & Sasser, 1985; Eisenback & Triantaphyllou, 1991; Jepson, 1987). توده‌های تخم مورد نیاز نیز از ریشه‌های آلوده تهیه و تعداد تخم‌ها پس از استخراج با هیپوکلریت سدیم شمارش شد.

در آزمایش‌های آزمایشگاهی، اثر عصاره جدایه‌های قارچی بر تفریخ تخم، پارازیته‌شدن تخم و مرگ‌ومیر لارو سن دوم بررسی شد. برای این منظور، ۱۰۰ تخم یا ۱۰۰ لارو سن دوم در تشتک‌های پتری قرار گرفت و عصاره قارچی در غلظت‌های ۱۰ و ۱۰۰ درصد به آن‌ها افزوده شد. تیمار شاهد با آب مقطر سترون و هر تیمار با چهار تکرار انجام شد. تشتک‌ها در دمای ۲۷ درجه سلسیوس نگهداری و پس از ۲۴، ۴۸ و ۷۲ ساعت میزان تفریخ تخم و مرگ‌ومیر لاروها ارزیابی شد (Gokhan & Sevilhan, 2014; Dourado et al., 2013; Meyer et al., 2006). همچنین توانایی جدایه‌های قارچی در پارازیته‌کردن تخم‌های نماتد روی محیط آب آگار بررسی شد.(Sun et al., 2006) در آزمایش گلخانه‌ای، بذرهای خیار رقم حساس «امپراطور» پس از ضدعفونی سطحی با هیپوکلریت سدیم ۱۰ درصد در خاک استریل و پاستوریزه کشت شدند. گیاهچه‌ها در مرحله چهاربرگی به گلدان‌های حاوی بستر آلوده به زادمایه قارچی منتقل و پس از دو هفته با ۵۰۰۰ تخم و لارو سن دوم M. javanica مایه‌زنی شدند (De Leij & Kerry, 1991; Sorribas et al., 2003). هفت تیمار شامل پنج جدایه قارچی همراه با نماتد، نماتد به‌تنهایی و شاهد بدون نماتد، در پنج تکرار و به‌صورت کاملاً تصادفی اجرا شد.پس از دو ماه، شاخص‌های کنترل نماتد شامل تعداد گال، توده تخم، تعداد تخم، تعداد لارو سن دوم خاک و فاکتور تولیدمثل (Pf/Pi) ارزیابی شد. تعداد گال و توده‌های تخم بر اساس روش Barker et al. (1983) تعیین گردید. همچنین شاخص‌های رشدی شامل طول اندام هوایی و ریشه، وزن تر و وزن خشک اندام هوایی و وزن تر ریشه اندازه‌گیری شد. لاروهای سن دوم موجود در خاک با روش قیف برمن استخراج و شمارش شدند و تعداد تخم‌های موجود در ریشه پس از استخراج با هیپوکلریت سدیم تعیین گردید.

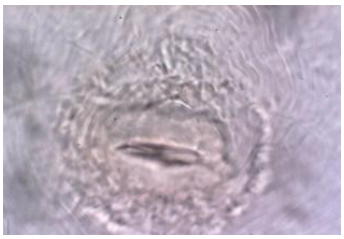
۲-۲ طرح آزمایشی و تجزیه آماری یافته‌ها

آزمایش اثر قارچ‌های Pochonia و Lecanicillium بر نماتد ریشه‌گرهی خیار در قالب طرح کاملاً تصادفی در شرایط گلخانه انجام و داده‌ها با نرم‌افزار SAS 9.1 تحلیل شد. مقایسه میانگین‌ها با آزمون LSD در سطح ۱ درصد صورت گرفت. همچنین اثر مایه‌زنی نماتد، قارچ Pochonia استرین ۱۲۱۲ و ترکیب نماتد و قارچ بر بیان ژن‌های PR1 ، PAL1، CsADF1 و CsADF6 بررسی شد. بیان ژن‌ها با روش Real-time RT-PCR و ژن TUA به‌عنوان کنترل داخلی ارزیابی و پس از نرمال‌سازی، در SAS تحلیل شد. نمونه‌برداری ریشه در روزهای ۷، ۱۴ و ۲۱ انجام، RNA استخراج و غلظت آن با نانودراپ تعیین شد.

۳- نتایج

۳-۱شناسایی گونه نماتد مولد غده

برای شناسایی گونه نماتد مولد غده، با توجه به خصوصیات ذکر شده، گونه‌ی Meloidogyne javanica تشخیص داده شد.



شکل ۱. شبکه کوتیکولی انتهای بدن نماتد ماده M. javanica

۲-۳- تاثیر استرین‌های قارچ‌های پوشونیا و لکانیسیلیوم بر تفریخ تخم و مرگ و میر لاروهای نماتد ریشه گرهی در شرایط آزمایشگاهی

تاثیر تیمارهای مختلف استرین‌های مخلف قارچ‌های پوشونیا (جدایه‌های IRAN 1129 C، IRAN 1119 C، IRAN 1212 C، IRAN 457 C) و لکانیسیلیوم (IRAN 3022 C) بر درصد تخم تفریخ نشده و درصد لارو مرده نماتد ریشه گرهی خیار در شرایط آزمایشگاهی بررسی شد. تجزیه واریانس داده‌ها در رابطه با اثر قارچ بر درصد تخم تفریخ نشده و درصد لارو مرده در زمان‌های مختلف نشان داد که بین تیمارهای زمان به تنهایی و تیمارهای غلظت قارچ و اثر متقابل آنها بر درصد تخم تفریخ نشده و درصد لارو مرده نماتد ریشه‌گرهی خیار اختلاف معنی‌دار در سطح یک درصد ($P\leq0.01$) وجود دارد.

جدول ۱. تجزیه واریانس داده‌ها در رابطه با اثر قارچ بر درصد تخم تفریخ نشده و درصد لارو مرده در زمان‌های مختلف

منبع تغییر S.V	درجه آزادی D.F	میانگین مربعات M.S	
		درصد تخم تفریخ نشده	درصد لارو مرده
زمان (A)	۲	۲۴۴۱/۲**	۱۳۱۷۲/۰**
قارچ (B)	۱۰	۱۴۳۸/۹**	۵۶۱۹/۸**
زمان × قارچ (AB)	۲۰	۸۰/۸**	۲۰۰/۴**
خطا	۹۹	۲/۸	۲/۹
ضریب تغییرات C.V%		½	۳/۰

** معنی‌دار در سطح ۱ درصد

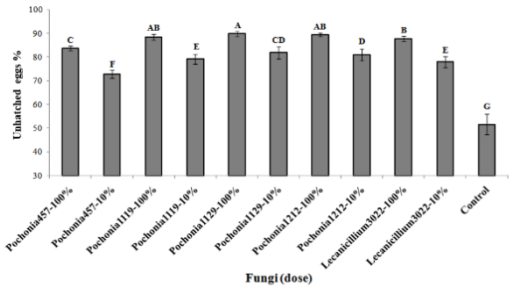
جدول ۲. مقایسه اثر زمان، قارچ و اثر متقابل آن‌ها بر درصد تخم تفریخ نشده

قارچ و غلظت	زمان (ساعت)			میانگین قارچ و غلظت	F value	P value
	۲۴	۴۸	۷۲			
Pochonia457-100%	f- ± ۰/۵۷ ††۸۷/۲j	± ۰/۷۲ ۸۴/۰klmn	± ۰/۵۷ ۷۹/۸op	± ۰/۹۶ †۸۳/۷C	۱۹/۴	<۰/۰۰۰۱
Pochonia457-10%	± ۰/۸۳ ۷۸/۸p	± ۰/۵۷ ۷۴/۸q	± ۰/۷۲ ۶۴/۷t	± ۱/۸۴ ۷۲/۸F	۷۶/۲	<۰/۰۰۰۱
Pochonia1119-100%	± ۰/۹۶ ۹۲/۳ab	c- ± ۱/۱۰ ۸۹/۲g	± ۰/۸۳ ۸۳/۸klmn	± ۱/۱۷ ۸۸/۴AB	۲۶/۴	<۰/۰۰۰۱
Pochonia1119-10%	i- ± ۰/۴۲ ۸۵/۵m	± ۰/۷۴ ۸۲/۵mno	± ۰/۹۸ ۶۹/۳rs	± ۲/۱۵ ۷۹/۱E	۱۰۵/۷	<۰/۰۰۰۱

Pochonia1129-100%	± ۱/۰۴ ۹۳/۰a	a- ± ۰/۸۳ ۹۰/۵e	h- ± ۱/۳۷ ۸۵/۸l	± ۱/۰۶ ۸۹/۸A	۱۸/۹	<۰/۰۰۰۱
Pochonia1129-10%	± ۰/۷۲ ۹۰/۰a-f	± ۱/۲۳ ۸۵/۷ijkl	± ۱/۳۶ ۷۰/۰r	± ۲/۶۶ ۸۱/۹CD	۱۵۸/۲	<۰/۰۰۰۱
Pochonia1212-100%	± ۰/۷۲ ۹۲/۰abc	b- ± ۰/۶۳ ۸۹/۸f	g- ± ۰/۶۹ ۸۶/۳k	± ۰/۷۹ ۸۹/۴AB	۱۱/۷	<۰/۰۰۰۱
Pochonia1212-10%	± ۰/۶۹ ۸۸/۳e-i	j- ± ۰/۶۹ ۸۴/۳n	± ۰/۶۹ ۷۰/۲r	± ۲/۳۸ ۸۱/۰D	۱۳۰/۳	<۰/۰۰۰۱
Lecanicillium3022-100%	± ۰/۸۳ ۹۱/۵abcd	d- ± ۱/۱۰ ۸۸/۸h	± ۰/۷۰ ۸۳/۰lmn	± ۱/۱۷ ۸۷/۸B	۱۳۳/۹	<۰/۰۰۰۱
Lecanicillium3022-10%	j- ± ۰/۵۷ ۸۴/۸n	± ۰/۹۸ ۸۲/۰no	± ۰/۵۷ ۶۶/۸st	± ۲/۴۱ ۷۷/۹E	۴۵۳/۳	<۰/۰۰۰۱
Control	± ۰/۸۳ ۶۷/۵rst	± ۰/۵۷ ۵۴/۸u	± ۰/۶۹ ۳۲/۳v	± ۴/۴۰ ۵۱/۶G	۲۷/۰	<۰/۰۰۰۱
میانگین زمان	± ۱/۱۲ †۸۶/۴A	± ۱/۵۰ ۸۲/۴B	± ۲/۲۶ ۷۲/۰C			
F value	۸۱/۶	۱۴۹/۰	۳۴۱/۳			
P value	<۰/۰۰۰۱	<۰/۰۰۰۱	<۰/۰۰۰۱			

†میانگین‌های دارای حروف بزرگ در ردیف پایین (اثر انفرادی زمان) و ستون سمت چپ (اثر انفرادی قارچ و غلظت) و ††میانگین‌های دارای حروف کوچک در ستون‌های میانی جدول (اثرمتقابل دو فاکتور) که حداقل دارای یک حرف مشترک هستند، در سطح ۱٪ آزمون LSD اختلاف معنی‌داری با هم ندارند.

نتایج بررسی اثر عصاره‌ی جدایه‌های قارچ‌ها بر بازدارندگی از تفریخ تخم نماتد ریشه‌گرهی خیار نشان داد که هر یک ازچهار جدایه قارچ پوشونیا و جدایه قارچ لکانیسیلیوم در غلظت‌های استفاده شده (۱۰ و ۱۰۰ درصد) توانستند به خوبی و به طور معنی‌دار ($P\leq0.01$) در مقایسه با شاهد از تفریخ تخم نماتد جلوگیری کنند. اختلاف معنی‌دار در بازدارندگی از تفریخ تخم در هر کدام از زمان‌های ۲۴، ۴۸ و۷۲ ساعت در غلظت‌های مختلف عصاره قارچ‌ها در مقایسه با شاهد مشاهده شد. به‌طور کلی، میزان تفریخ تخم در غلظت‌های ۱۰ و ۱۰۰ درصد از عصاره قارچ‌ها به طور معنی‌داری ($P\leq0.01$) در مقایسه با شاهد (بدون قارچ) کاهش یافت.



شکل ۲ مقایسه اثر غلظت‌های مختلف عصاره جدایه‌های قارچ پوشونیا و لکانیسیلیوم بر بازدارندگی از تفریخ تخم Meloidogyne javanica (درصد تخم تفریخ نشده). اعداد مربوط به هر ستون، میانگین سه زمان ۲۴، ۴۸ و ۷۲ ساعت است.مقایسه میانگین تاثیر غلظت‌های عصاره‌های قارچ در زمان‌های مختلف نشان داد که در همه تیمارهای قارچی، غلظت بالاتر قارچ تاثیر بیشتری بر بازدارندگی از تفریخ تخم نماتد داشت و اختلاف معنی‌داری ($P\leq0.01$) را نشان داد (شکل ۳-۲). به طور میانگین، بیشترین تاثیر

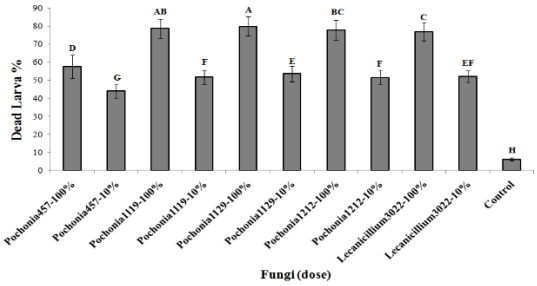
بر بازدارندگی از تفریخ تخم در غلظت ۱۰۰ درصد استرین ۱۱۲۹ قارچ پوشونیا مشاهده شد. استرین ۴۵۷ قارچ پوشونیا تاثیر کمتری نسبت به سایر استرین‌ها، بر بازدارندگی از تفریخ تخم نماتد M. javanica داشت.

جدول ۳ . مقایسه میانگین اثر غلظت‌های مختلف قارچ در سه زمان متفاوت و اثر متقابل آن‌ها بر درصد مرگ و میر لارو نماتد M. javanica

قارچ و غلظت	زمان (ساعت)			میانگین قارچ و غلظت	F value	P value
	۲۴	۴۸	۷۲			
Pochonia457-100%	± ۰/۵۷ ††۳۳/۵l	± ۰/۵۰ ۵۳/۵i	± ۰/۵۷ ۸۵/۵e	± ۶/۴۶ †۵۷/۵D	۹۴۶/۴	<۰/۰۰۰۱
Pochonia457-10%	± ۱/۴۴ ۳۰/۰m	± ۱/۵۲ ۴۲/۲j	± ۰/۶۱ ۵۹/۳h	۴۳/۸G ± ۳/۶۹	۲۹۸/۸	<۰/۰۰۰۱
Pochonia1119-100%	± ۰/۷۴ ۵۴/۲i	± ۰/۶۹ ۸۷/۵de	± ۰/۶۹ ۹۴/۵ab	± ۵/۳۲ ۷۸/۷AB	۶۳۸/۹	<۰/۰۰۰۱
Pochonia1119-10%	± ۰/۵۷ ۳۴/۸l	± ۰/۸۳ ۵۲/۸i	± ۰/۴۲ ۶۷/۲g	۵۱/۶F ± ۴/۰۰	۳۶۱/۰	<۰/۰۰۰۱
Pochonia1129-100%	± ۰/۹۸ ۵۴/۷i	± ۰/۷۲ ۸۹/۳cd	± ۰/۸۳ ۹۵/۵a	۷۹/۸A ± ۵/۴۴	۶۶۶/۴	<۰/۰۰۰۱
Pochonia1129-10%	± ۰/۶۳ ۳۵/۸kl	± ۰/۹۲ ۵۴/۲i	± ۰/۴۷ ۷۰/۷f	۵۳/۶E ± ۴/۳۰	۴۱۷/۶	<۰/۰۰۰۱
Pochonia1212-100%	± ۰/۷۴ ۵۲/۸i	± ۱/۳۶ ۸۶/۰e	± ۱/۰۶ ۹۴/۷ab	± ۵/۴۶ ۷۷/۸BC	۶۷۰/۷	<۰/۰۰۰۱
Pochonia1212-10%	± ۰/۹۶ ۳۴/۵l	± ۱/۲۹ ۵۳/۰i	± ۰/۸۰ ۶۷/۰g	۵۱/۵F ± ۴/۰۵	۳۶۵/۶	<۰/۰۰۰۱
Lecanicillium3022-100%	± ۰/۸۸ ۵۳/۰i	± ۰/۹۸ ۸۵/۳e	± ۱/۰۶ ۹۲/۰bc	۷۶/۸C ± ۵/۱۶	۲۳۹/۰	<۰/۰۰۰۱
Lecanicillium3022-10%	± ۰/۹۲ ۳۸/۵k	± ۰/۶۱ ۵۲/۷i	± ۰/۸۳ ۶۴/۸g	± ۳/۲۷ ۵۲/۰EF	۱۶/۱	<۰/۰۰۰۱
Control	± ۰/۳۲ ۲/۵o	± ۰/۴۳ ۶/۳n	± ۰/۴۷ ۹/۳n	۶/۱H ± ۰/۸۷	۵۹۸/۵	<۰/۰۰۰۱
میانگین زمان	± ۲/۲۴ †۳۸/۶C	± ۳/۶۸ ۶۰/۳B	± ۳/۶۷ ۷۲/۸A			
F value	۳۲۳/۶	۸۷۵/۲	۸۷۱/۷			
P value	<۰/۰۰۰۱	<۰/۰۰۰۱	<۰/۰۰۰۱			

†میانگین‌های دارای حروف بزرگ در ردیف پایین (اثر انفرادی زمان) و ستون سمت چپ (اثر انفرادی قارچ و غلظت) و ††میانگین‌های دارای حروف کوچک در ستون‌های میانی جدول (اثرمتقابل دو فاکتور) که حداقل دارای یک حرف مشترک هستند، در سطح ۱٪ آزمون LSD اختلاف معنی‌داری با هم ندارند.

در تیمارهای قارچی در هر کدام از زمان‌های ۲۴، ۴۸ و ۷۲ ساعت درصد میزان مرگ و میر لارو نماتد M. javanica در مقایسه با شاهد بدون قارچ به طور معنی‌داری افزایش یافت. بدین ترتیب که در تیمارهای ۷۲ ساعت و به طور کلی با افزایش زمان در معرض قرار گرفتن لاروها با جدایه‌های قارچ، میزان مرگ و میر لاروها به طور معنی‌داری افزایش یافت و این افزایش مرگ و میر در همه تیمارهای قارچی و در تمام غلظت‌های عصاره قارچ مشاهده شد .مقایسه میانگین تاثیر غلظت‌های عصاره‌های قارچ در زمان‌های مختلف نشان داد که در همه تیمارهای قارچی، غلظت بالاتر قارچ تاثیر بیشتری بر مرگ و میر لارو نماتد داشت و اختلاف معنی‌داری ($P\leq0.01$) را نشان داد .به طور میانگین، بیشترین تاثیر بر مرگ و میر لارو نماتد در غلظت ۱۰۰ درصد استرین ۱۱۲۹ قارچ پوشونیا مشاهده شد. به‌طورکلی، استرین ۴۵۷ قارچ پوشونیا نسبت به سایر استرین‌ها، تاثیر کمتری بر مرگ و میر لارو نماتد M. javanica داشت. این استرین پس از ۷۲ ساعت باعث حدود ۸۵ درصد مرگ و میر لارو نماتد شد، در حالی که استرین‌های ۱۱۲۹، ۱۲۱۲ و ۱۱۱۹پس از ۷۲ ساعت، حدود ۹۵ درصد مرگ و میر در لاروها ایجاد کردند که اختلاف معنی داری را با استرین ۴۵۷ این قارچ نشان دادند. استرین ۳۰۲۲ قارچ لکانیسیلیوم پس از ۷۲ ساعت حدود ۹۲ درصد لاروها را ازبین برد.



شکل ۳ نتایج اثر باکتری قارچ‌های پوشونیا (جدایه‌های IRAN 1129 C، IRAN 1119 C، IRAN 1212 C، IRAN 457 C) و لکانیسیلیوم (IRAN 3022 C) بر مرگ و میر لارو نماتد ریشه‌گرهی خیار (M. javanica).تجزیه واریانس داده‌ها در رابطه با اثر قارچ ها بر درصد پارازیتیسم و تفریخ تخم‌ها نشان داد که بین تیمارهای مختلف در سطح احتمال یک درصد، تفاوت معنی‌داری وجود دارد ($P\leq0.01$)

جدول ٤ . تجزیه واریانس داده‌ها در رابطه با اثر قارچ ها بر درصد پارازیتیسم و تفریخ تخم‌ها بعد از سه هفته

منبع تغییر S.V	درجه آزادی D.F	میانگین مربعات M.S	
		درصد پارازیتیسم	تفریخ تخم‌ها
قارچ (B)	۳	۴۹۵۵/۴**	۳۷۴/۳**
خطا	۱۸	۵/۷	۲/۰
ضریب تغییرات C.V%		۳/۴	۱۳/۰

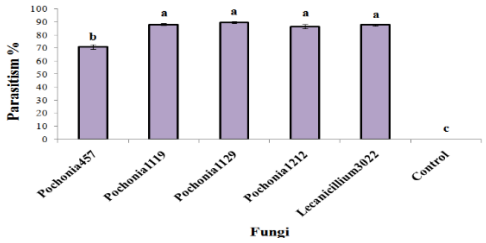
** معنی‌دار در سطح ۱ درصد

مقایسه میانگین درصد پارازیتیسم تخم‌ها پس از گذشت سه هفته توسط جدایه‌های قارچ های پوشونیا و لکانیسیلیوم نشان داد که تخم‌ها بین حدود ۷۰ تا ۹۰ درصد توسط استرین‌ها پارازیته شده و کمترین میزان پارازیته کردن تخم نماتد M. javanica مربوط به استرین پوشونیا ۴۵۷ بود که اختلاف معنی‌داری را با سایر استرین‌ها نشان داد. نتایج تاثیر استرین‌های قارچ برتفریخ تخم‌ها بعد از سه هفته نشان داد که استرین‌های قارچی در مقایسه با شاهد به طور موثری توانستند جلوی تفریخ تخم‌ها را بگیرند و از این نظر اختلاف معنی‌داری ($P\leq0.01$) با شاهد نشان دادند .

جدول ٥. مقایسه میانگین اثر قارچ‌ها بر درصد پارازیتیسم و تفریخ تخم‌های نماتد M. javanica بعد از سه هفته

قارچ	درصد پارازیتیسم	تفریخ تخم‌ها
Pochonia457	۷۰/۸b ± ۱/۸۹	۷/۹b ± ۰/۴۶۷
Pochonia1119	۸۸/۰a ± ۰/۹۳	۶/۶b ± ۰/۴۳۵
Pochonia1129	۸۹/۶a ± ۰/۷۹	۶/۶b ± ۰/۷۷۶
Pochonia1212	۸۶/۴a ± ۱/۶۸	۷/۶b ± ۰/۴۰۱
Lecanicillium3022	۸۷/۸a ± ۰/۸۰	۶/۶b ± ۰/۴۲۵
Control	۰/۰c ± ۰/۰۰	۳۰/۷a ± ۱/۳۱۳
LSD1%	۴/۸۴۹	۲/۹۱۵

میانگین‌های موجود در هر ستون که حداقل دارای یک حرف مشترک هستند، در سطح ۱٪ آزمون LSD اختلاف معنی‌داری با هم ندارند.



شکل ٤. اثر استرین‌های قارچ‌ها بر درصد پارازیتیسم تخم نماتد M. javanica

۳-۳- آزمایش‌های گلخانه‌ای

۳-۳-۱- تاثیر استرین‌های قارچ‌های پوشونیا و لکانیسیلیوم بر صفات و شاخص‌های جمعیتی نماتد ریشه گرهی خیار (M. javanica) در شرایط گخانه‌ای

نتایج اثر تیمارهای مختلف بر صفات مربوط به نماتد و شاخص‌های جمعیتی نماتد شامل تعداد تخم، گال و کیسه تخم در ریشه، تعداد تخم درون کیسه تخم و فاکتور تولید مثل در جداول ۳-۶ تا ۳-۸ آورده شده است. جدول تجزیه واریانس داده‌ها در رابطه با اثر تیمارهای مختلف بر صفات مربوط به نماتد نشان داد که در تمامی شاخص‌های مورد بررسی، اختلاف معنی‌داری ($P\leq0.01$) بین تیمارهای مایه‌زنی با قارچ و نماتد نسبت به گیاه شاهد (مایه‌زنی شده با نماتد به تنهایی) وجود داشت.

جدول ٦ . تجزیه واریانس داده‌ها در رابطه با اثر تیمارهای مختلف بر صفات مربوط به نماتد مولد غده خیار (M. javanica).

منبع تغییر S.V	درجه آزادی DF	میانگین مربعات M.S					
		Gall no/ root	Egg mass no/ root	Total egg no.	Total larva no./pot (soil)	Reproductive factor (RF)	Infection eggs %
تیمار	۵	۱۹۴۶۱/۱**	۱۰۷۱۱/۱**	۴۳۴/۷**	۴۰۲/۴**	۲۱/۰۳**	۳۴۶۹/۸**
خطا	۱۸	۲۴/۴	۱۵/۱	۰/۲	۰/۵	۰/۰۱	۳/۶
ضریب تغییرات C.V%		۵/۴	۵/۵	۲/۸	۳/۶	۲/۷	۳/۴

** معنی‌دار در سطح ۱ درصد

جدول ۷. مقایسه میانگین اثر تیمارهای مختلف بر صفات مربوط به نماتد مولد غده خیار (M. javanica)

صفت تیمار	Gall no/ root	Egg mass no/ root	Total egg no.	Total larva no./pot (soil)	Reproductive factor (RF)	Infected eggs %
Pochonia 457 + Mj	± ۲/۵۰ ۹۶/۵b	± ۲/۱۸ ۸۱/۸b	± ۲۶۱/۳ ۱۶۴۶۵b	± ۳۵/۸ ۲۰۰۷b	۳/۷۰۵b ± ۰/۰۵۵۶	± ۰/۸۶۸ ۴۳/۲d
Pochonia 1119 + Mj	± ۱/۹۶ ۵۵/۰c	± ۱/۰۸ ۴۱/۰c	± ۱۲۶/۲ ۹۴۴۷d	± ۳۰/۲ ۱۳۶۴c	۲/۱۶۵d ± ۰/۰۳۰۷	± ۰/۶۲۶ ۷۵/۹a
Pochonia 1129 + Mj	± ۲/۳۳ ۵۴/۵c	± ۱/۵۶ ۴۴/۵c	± ۱۴۴/۶ ۹۵۱۰d	± ۱۷/۲ ۱۳۶۸c	۲/۱۸۰d ± ۰/۰۲۸۰	± ۱/۷۸۱ ۶۸/۵c
Pochonia 1212 + Mj	± ۱/۷۱ ۵۲/۵c	± ۱/۷۱ ۴۱/۵c	± ۱۵۱/۸ ۹۷۴۴d	± ۳۲/۴ ۱۳۵۸c	۲/۲۵۰d ± ۰/۰۳۱۱	± ۰/۷۴۹ ۷۳/۴ab
Lecanicillium3022 + Mj	± ۲/۵۰ ۵۸/۲c	± ۱/۹۴ ۴۵/۵c	± ۱۷۲/۳ ۱۰۷۴۹c	± ۳۴/۷ ۱۴۸۴c	۲/۴۵۲c ± ۰/۰۴۰۵	± ۰/۷۱۴ ۶۹/۷bc
Mj	± ۳/۴۵ ۲۲۹/۲a	± ۲/۷۸ ۱۷۱/۸a	± ۳۲۷/۳ ۳۵۸۶۰a	± ۴۸/۰ ۳۸۹۶a	۷/۹۸۰a ± ۰/۰۷۲۷	± ۰/۰۰۰ ۰/۰e
LSD5%	۱۰/۰۴۶	۷/۹۱۹	۸۸۵/۴۱	۱۳۹/۵	۰/۱۸۷۳	۳/۸۵۸

میانگین‌های موجود در هر ستون که حداقل دارای یک حرف مشترک هستند، در سطح ۱٪ آزمون LSD اختلاف معنی‌داری با هم ندارند.

همه جدایه‌های قارچ پوشونیا و جدایه لکانیسیلیوم موجب کاهش تعداد گال نماتد در ریشه، کاهش تعداد کیسه تخم و تعداد کل تخم، کاهش تعداد کل لاروهای نماتد در خاک گلدان‌ها و کاهش فاکتور تولیدمثلی نماتد مولد غده (M. javanica) شدند و با گیاه شاهد بدون قارچ (نماتد به تنهایی) اختلاف معنی‌داری ($P\leq0.01$) را نشان دادند. در این بین استرین‌های ۱۱۱۹، ۱۱۲۹ و ۱۲۱۲ قارچ پوشونیا و استرین ۳۰۲۲ لکانیسیلیوم تاثیر بیشتری نسبت به استرین ۴۵۷ پوشونیا در کاهش تعداد گال در دریشه، تعداد تخم و لارو نماتد و کاهش فاکتور تولیدمثلی آن نشان دادند و این تاثیر معنی‌دار ($P\leq0.01$) بود. تمام استرین‌های قارچی باعث آلودگی معنی‌دار ($P\leq0.01$) در تخم نماتد نسبت به شاهد بدون قارچ شدند و بیشترین آلودگی در تخم نماتد در تیمارهای استرین‌های ۱۱۱۹ و ۱۲۱۲ پوشونیا مشاهده شد .

۲-۳-۳- تاثیر استرین‌های قارچ‌های پوشونیا و لکانیسیلیوم بر صفات رویشی گیاهان خیار آلوده به نماتد ریشه گرهی

تجزیه واریانس داده‌ها در رابطه با اثر تیمارهای مختلف بر صفات رویشی گیاهان مورد مطالعه در آزمون تأثیر غلظت‌های مختلف بر شاخص‌های رشدی گیاه خیار آلوده به نماتد ریشه‌گرهی نشان داد که بین تیمارهای مختلف تفاوت معنی‌داری وجود دارد. نتایج این بررسی تغییرات بر شاخص‌های رویشی شامل (طول شاخساره، وزن خشک و تر شاخساره، طول و وزن خشک و تر ریشه) در جدول ۳-۸ آورده شده است. نتایج نشان داد که در تمامی شاخص‌های مورد بررسی، اختلاف معنی‌دار آماری ($P\leq0.01$) بین تیمارها با گیاهان شاهد وجود دارد.

جدول ۸. تجزیه واریانس داده‌ها در رابطه با اثر تیمارهای مختلف بر صفات رویشی

		میانگین مربعات M.S

منبع تغییر S.V	درجه آزادی D.F	طول شاخساره	وزن تر شاخساره	وزن خشک شاخساره	طول ریشه	وزن تر ریشه	وزن خشک ریشه
تیمار	۶	۱۰۳/۷**	۱۰۵/۰**	۱/۳۶۸**	۳۶/۶۰**	۳/۵۷۸**	۰/۰۷۲**
خطا	۲۱	۱۱/۴	۶/۵	۰/۱۷۰	۲/۲۵	۰/۴۲۰	۰/۰۰۲
ضریب تغییرات C.V%		۸/۲	۸/۹	۱۳/۷	۸/۷	۱۰/۸	۳/۷

** معنی‌دار در سطح ۱ درصد

جدول ۹. مقایسه میانگین اثر تیمارهای مختلف بر صفات رویشی خیار

صفت تیمار	طول شاخساره	وزن تر شاخساره	وزن خشک شاخساره	طول ریشه	وزن تر ریشه	وزن خشک ریشه
Pochonia 457 + Mj	± ۱/۲۸۴ ۳۴/۹b	± ۱/۳۷۲ ۲۴/۹b	± ۰/۱۸۶ ۲/۵۸bc	± ۰/۵۷۹ ۱۳/۷b	± ۰/۲۶۹ ۳/۹۱b	± ۰/۰۰۴۱ ۱/۰۱c
Pochonia 1119 + Mj	± ۱/۸۰۹ ۴۳/۴a	± ۱/۳۴۰ ۳۱/۰a	± ۰/۱۷۱ ۳/۲۱ab	± ۰/۵۸۸ ۱۸/۸a	± ۰/۵۲۷ ۶/۴۰a	± ۰/۰۱۲۲ ۱/۳۳ab
Pochonia 1129 + Mj	± ۱/۹۰۴ ۴۳/۹a	± ۱/۱۱۲ ۳۱/۲a	۳/۴۱a ± ۰/۲۶۵	± ۰/۸۷۵ ۱۹/۰a	± ۰/۳۰۵ ۶/۴۵a	± ۰/۰۳۲۷ ۱/۳۸a
Pochonia 1212 + Mj	± ۱/۸۳۷ ۴۳/۴a	± ۱/۵۲۲ ۳۱/۳a	± ۰/۲۴۱ ۳/۳۴ab	± ۱/۱۱۱ ۱۸/۶a	± ۰/۳۲۲ ۶/۲۰a	± ۰/۰۲۸۶ ۱/۳۳ab
Lecanicillium + Mj	± ۱/۹۵۴ ۴۳/۲a	± ۱/۴۹۶ ۳۱/۰a	± ۰/۲۱۲ ۳/۲۶ab	± ۰/۵۸۷ ۱۸/۹a	± ۰/۲۵۹ ۶/۱۸a	± ۰/۰۲۰۴ ۱/۲۵b
Mj	± ۱/۴۴۰ ۳۲/۳b	± ۰/۴۸۴ ۱۸/۳c	۱/۸۷c ± ۰/۱۰۷	± ۰/۴۵۰ ۱۱/۹b	± ۰/۳۰۲ ۶/۷۳a	± ۰/۰۳۶۷ ۱/۴۱a
Control (healthy)	± ۱/۴۵۷ ۴۵/۲a	± ۱/۲۹۴ ۳۲/۰a	۳/۴۴a ± ۰/۲۲۲	± ۰/۸۴۰ ۱۹/۱a	± ۰/۱۶۹ ۶/۱۹a	± ۰/۰۱۶۳ ۱/۳۴ab
LSD1%	۶/۷۵۸	۵/۱۰۵	۰/۸۲۶	۳/۰۰۲	۱/۲۹۷	۰/۰۹۷

میانگین‌های موجود در هر ستون که حداقل دارای یک حرف مشترک هستند، در سطح ۱٪ آزمون LSD اختلاف معنی‌داری با هم ندارند.

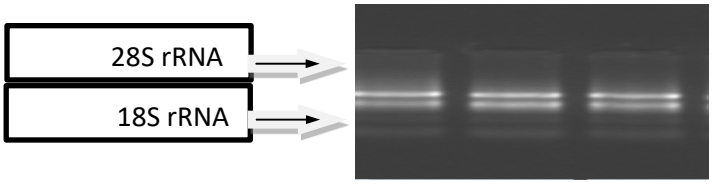
تیمارهای گلخانه‌ای شامل مایه‌زنی هر یک از استرین‌های قارچ‌های پوشونیا و لکانیسیلیوم همراه با نماتد M. javanica (Pochonia 1119 + Mj، Pochonia 1129 + Mj، Pochonia 1212 + Mj، Pochonia457+Mj و Lecanicillium3022+Mj)، مایه‌زنی نماتدM. javanica به تنهایی (Mj) و شاهد بدون مایه‌زنی (Control) بود. نتایج آزمایش‌های گلخانه‌ای در این مطالعه نشان داد که طول شاخساره، وزن تر شاخساره، وزن خشک شاخساره، طول ریشه، وزن تر و خشک ریشه در تیمارهای مایه‌زنی با نماتد M. javanica (Mj) همراه با استرین‌های ۱۱۱۹، ۱۱۲۹ و ۱۲۱۲ قارچ‌های پوشونیا و استرین ۳۰۲۲ لکانیسیلیوم (Lecanicillium + Mj) با شاهد بدون مایه‌زنی (Control) اختلاف معنی‌داری (P≤0.01) نداشتند که نشان‌دهنده تاثیر مثبت قارچ‌ها در کنترل نماتد بوده و نیز در این تیمارها اثر زیان‌آور نماتد روی ویژگی‌های رشدی گیاه توسط قارچ کاهش یافته است. در تیمار با استرین ۴۵۷ پوشونیا (Pochonia 457 + Mj) اختلاف معنی‌داری (P≤0.01) در ویژگی‌های

رشدی مذکور مشاهده شد و طول شاخساره، وزن تر و خشک شاخساره، طول ریشه و وزن تر و خشک ریشه نسبت به شاهد بدون مایه‌زنی (گیاهان سالم) کاهش یافت. بنابراین، کمترین اثر مربوط به استرین ۴۵۷ قارچ پوشونیا بود و اختلاف معنی‌داری ($P\leq0.01$) را در طول شاخساره، وزن خشک شاخساره و طول ریشه با تیمار مایه‌زنی با نماتد نشان نداد. باوجوداین، از نظر وزن تر شاخساره، وزن تر و خشک ریشه اختلاف معنی‌داری با تیمار نماتد به تنهایی نشان داد و باعث افزایش آنها نسبت به گیاهان آلوده شد. در تیمار مایه‌زنی با نماتد به تنهایی به دلیل ایجاد غده و گره در ریشه‌ها افزایش اندکی در وزن تر و خشک ریشه نسبت به سایر تیمارها مشاهده شد، هرچند این اختلاف معنی‌دار نبود.

۳-٤- بیان ژن‌های دخیل در مقاومت

۳-٤-۱- استخراج RNA از بافت ریشه وسنتز cDNA

پس از استخراج RNA از ریشه‌های گیاهان تیمار، به‌منظور بررسی کیفیت RNA، مقداری از آن روی ژل آگارز یک درصد برده شد و هر دو باند 18S rRNA و 28S rRNA به صورت واضح روی ژل مشاهده شدند و کیفیت خوب RNA تایید شد. همچنین، با استفاده از دستگاه نانودراپ نسبت جذب نوری (OD) در طول موج ۲۶۰ به ۲۸۰ نانومتر (۲۶۰/۲۸۰) تعیین و این نسبت در مورد نمونه‌ها بالاتر از ۲ بود که نشان‌دهنده‌ی وجود غلظت خوب RNA استخراج شده بود (شکل ۳-۱۷). پس از سنتز تمامی cDNAها از روی این RNA، با استفاده از آغازگر ژن کنترل داخلی، PCR انجام شد و محصول PCR مربوط به تمامی cDNAها روی ژل آگارز ۱٪ برده شد تا از صحت عمل سنتز اطمینان حاصل شود.



شکل ۵ الکتروفورز RNA استخراج شده از ریشه‌های خیار مربوط به تعدادی از تیمارها روی ژل آگارز یک درصد که منجر به تشکیل دو باند مربوط به 18S rRNA و 16S rRNA شد و تاییدکننده‌ی کیفیت بالای RNA می‌باشد.

۳-٤-۲- تغییر بیان ژن‌های PR1، PAL1، CsADF1 و CsADF6 در ریشه گیاهان خیارآلوده به نماتد Meloidogyne javanica با استفاده از Real time RT-PCR

به منظور بررسی اثر تیمارهای مایه‌زنی با نماتد، مایه‌زنی با قارچ پوشونیا (استرین ۱۲۱۲)، مایه‌زنی نماتد و قارچ بر میزان بیان ژن‌های PR1، PAL1، CsADF1 و CsADF6 در ریشه گیاهان در خیار آلوده به نماتد M. javanica آزمایشی در شرایط گلخانه انجام شد. تجزیه واریانس داده‌ها در بررسی اثر تیمارها در زمان‌های مختلف بر میزان بیان ژن‌های PR1، PAL1، CsADF1 و CsADF6 در ریشه گیاهان مورد مطالعه نشان داد که بین تیمارها (مایه‌زنی با نماتد به تنهایی، مایه زنی با قارچ به تنهایی، مایه زنی همزمان نماتد و قارچ و شاهد بدون مایه‌زنی) و میزان بیان ژن در زمان‌های مختلف اختلاف معنی‌داری در سطح یک درصد ($P\leq0.01$) وجود دارد. همچنین، اثر متقابل تیمارهای مختلف و زمان معنی‌دار بود.

جدول ۱۰. تجزیه واریانس داده‌ها در بررسی اثر تیمارها در زمان‌های مختلف بر میزان بیان ژن‌های PR1، PAL1، CsADF1 و CsADF6 در ریشه گیاهان مورد مطالعه.

ژن	منبع تغییر (میانگین مربعات)				ضریب تغییرات (C.V%)
	تیمار (A) D.F=3	زمان (B) D.F=2	اثرمتقابل AB D.F=6	خطا D.F=36	
PR1	۷/۲۲۷**	۲/۹۸۱**	۰/۵۸۵**	۰/۰۰۵	۳/۸
PAL1	۱۰/۷۶**	۰/۷۸**	۰/۲۵**	۰/۰۱	۳/۸
CsADF1	۲۱/۷۲**	۲۷/۵۱**	۵/۸۴**	۰/۰۱	۳/۵
CsADF6	۶/۴۰۰**	۱۴/۷۲۳**	۴/۱۸۹**	۰/۰۰۴	۳/۵

** معنی دار در سطح ۱ درصد

مقایسه میانگین میزان بیان نسبی ژن‌ها در اثر تیمارهای مختلف شامل مایه‌زنی با نماتد به تنهایی، مایه‌زنی با قارچ به تنهایی، مایه زنی هم‌زمان نماتد و قارچ و شاهد بدون مایه‌زنی نشان داد که بیان همه ژن‌های PR1، PAL1، CsADF1 و CsADF6 در تیمارهای مختلف مایه‌زنی نسبت به تیمار شاهد بیشتر شده و در تیمارهای مایه‌زنی اختلاف معنی‌داری را در سطح یک درصد آزمون LSD با ($P<0.01$) با شاهد نشان دادند .بیان نسبی ژن‌ها در تیمار مایه‌زنی هم‌زمان نماتد و قارچ به‌طور معنی‌داری از دو تیمار مایه‌زنی با نماتد و قارچ به تنهایی بیشتر بود. این موضوع نشان‌دهنده القای بیشتر بیان این ژن‌ها در تیمارهای توام نماتد+قارچ است. در مایه‌زنی نماتد به تنهایی، بیان هر چهار ژن نسبت به مایه‌زنی قارچ به تنهایی بیشتر بود. بنابراین، بیان این ژن‌ها در اثر حمله نماتد به ریشه گیاه بیشتر از حضور قارچ در مجاور ریشه تحریک می‌شود.

بیشترین میانگین بیان ژن، در تیمار مایه‌زنی هم‌زمان نماتد و قارچ در مورد ژن CsADF1 و کمترین میانگین بیان ژن، در تیمار مایه‌زنی با قارچ در مورد ژن CsADF6 مشاهده شدند.

جدول ۱۱. مقایسه میانگین میزان بیان نسبی ژن‌ها در اثر تیمارهای مختلف شامل مایه‌زنی با نماتد به تنهایی، مایه‌زنی با قارچ به تنهایی، مایه زنی هم‌زمان نماتد و قارچ و شاهد بدون مایه‌زنی (اثر تیمارها بر بیان ژن‌ها)

بیان نسبی ژن / تیمار	PR1	PAL1	CsADF1	CsADF6
مایه‌زنی با نماتد	۲/۰۱۲b	۲/۲۷۸b	۳/۳۴۷b	۲/۳۲۳b
مایه‌زنی با قارچ	۱/۵۴۸c	۱/۸۰۴c	۱/۷۴۴c	۱/۲۶۸c
مایه‌زنی هم‌زمان نماتد و قارچ	۲/۸۳۳a	۳/۲۶۷a	۳/۸۷۶a	۲/۴۴۰a
بدون مایه‌زنی (شاهد)	۱/۰۰۰d	۱/۰۰۰d	۱/۰۰۰d	۱/۰۰۰d

میانگین های موجود در هر ستون با حداقل یک حرف مشترک، تفاوت معنی داری در سطح ۱ درصد آزمون LSD با هم ندارند.

مقایسه میانگین میزان بیان نسبی ژن‌های PR1، PAL1، CsADF1 و CsADF6 در زمان‌های مختلف ۷، ۱۴ و ۲۱ روز پس از مایه‌زنی با نماتد و قارچ (dpi) نشان داد که میانگین بیان نسبی هر چهار ژن در روز ۲۱ بیشتر از روزهای ۷ و ۱۴ پس از مایه‌زنی بود. بیان نسبی ژن PR1 در زمان دوم یعنی ۱۴ روز پس از مایه‌زنی به وطور معنی‌داری کاهش یافت، ولی دوباره در ۲۱ روز پس از مایه‌زنی افزایش معنی‌داری را داشت. افزایش معنی‌دار ($P<0.01$) بیان ژن‌های PAL1، CsADF1 و CsADF6 تا آخرین زمان بررسی شده، یعنی ۲۱ روز پس از مایه‌زنی با تیمارهای مختلف، در مقایسه با شاهد مشاهده شد.

جدول ۱۲. مقایسه میانگین میزان بیان نسبی ژن‌ها در زمان‌های مختلف ۷، ۱٤ و ۲۱ روز پس از مایه‌زنی (اثر زمان).

بیان نسبی ژن / زمان (روز)	PR1	PAL1	CsADF1	CsADF6
۷	۱/۶۷۱b	۱/۸۵۳c	۱/۰۷۲c	۱/۰۴۱c
۱٤	۱/۵۳۴c	۲/۱۱۷b	۲/۷۴۶b	۱/۳۸۴b
۲۱	۲/۳۴۱a	۲/۲۹۲a	۳/۶۵۷a	۲/۸۴۸a

میانگین های موجود در هر ستون با حداقل یک حرف مشترک، تفاوت معنی داری در سطح ۱ درصد آزمون LSD با هم ندارند.

همان‌طور که در جدول ۳-۱۳ مشخص است، بیان ژن PR1 در تیمارهای نماتد و قارچ در زمان‌های مختلف بیشتر از تیمار بدون مایه‌زنی (شاهد) بود و کاهش بیان نسبت به شاهد مشاهده نشد. بیشترین بیان ژن PR1 به میزان ۳/۸۴۸ برابر تیمار شاهد، ۲۱ روز پس از مایه‌زنی هم‌زمان نماتد و قارچ مشاهده شد که اختلاف معنی‌داری ($P<0.01$) را با بیان این ژن در سایر تیمارها در

زمان‌های دیگر نشان داد. صرف‌نظر از شاهد که کمترین میزان بیان این ژن در آن مشاهده شد، کمترین میزان بیان این ژن ۱۴ روز بعد از مایه‌زنی با قارچ به‌تنهایی و به میزان ۱/۳۳۸ برابر شاهد بود. کاهش نسبی بیان ژن PR1، ۱۴ روز پس از مایه‌زنی (در زمان دوم) در تیمارهای مایه‌زنی با نماتد و مایه‌زنی هم‌زمان نماتد و قارچ در مقایسه با روزهای ۷ و ۲۱ پس از مایه‌زنی دیده شد. در روز ۱۴ پس از مایه‌زنی، بیان نسبی ژن PR1 در تیمارهای مایه‌زنی با نماتد و مایه‌زنی با قارچ اختلاف معنی‌داری را نشان ندادند، در حالی که این دو تیمار با تیمار مایه‌زنی هم‌زمان نماتد و قارچ اختلاف معنی‌داری (P<0.01) را نشان دادند.

جدول ۱۳. مقایسه میانگین اثر متقابل تیمار و زمان بر بیان نسبی ژن PR1

تیمار	بیان ژن PR1 در زمان (روز پس از مایه‌زنی)		
	۷	۱۴	۲۱
مایه‌زنی با نماتد	۱/۹۱۲e	۱/۵۲۰f	۲/۶۰۵b
مایه‌زنی با قارچ	۱/۳۳۸g	۱/۳۹۸fg	۱/۹۱۰e
مایه‌زنی هم‌زمان نماتد و قارچ	۲/۳۵ ۴c	۲/۲۱۸d	۳/۸۴۸a
بدون مایه‌زنی (شاهد)	۱/۰۰۰h	۱/۰۰۰h	۱/۰۰۰h

میانگین هایی که حداقل یک حرف مشترک دارند، تفاوت معنی داری در سطح ۱ درصد آزمون LSD با هم ندارند.

همان‌طور که در جدول ۳-۱۴ مشخص است، بیشترین بیان ژن PAL1 به میزان ۳/۷۴۲ برابر تیمار شاهد، ۲۱ روز پس از مایه‌زنی هم‌زمان نماتد و قارچ مشاهده شد که اختلاف معنی‌داری (P<0.01) را با بیان این ژن در سایر تیمارها در زمان‌های دیگر نشان داد. نسبت به شاهد، کمترین میزان بیان این ژن هفت روز بعد از مایه‌زنی با قارچ و به میزان ۱/۶۹۲ برابر شاهد بود. افزایش بیان ژن PAL1، به‌ترتیب با گذشت زمان تا روز ۲۱ پس از مایه‌زنی اتفاق افتاد. در هر یک از تیمارهای مایه‌زنی با نماتد و مایه‌زنی با قارچ در روزهای ۷ و ۱۴ پس از مایه‌زنی، اختلاف معنی‌داری (P<0.01) در بیان ژن PAL1 مشاهده نشد، ولی در روز ۲۱ پس از مایه‌زنی اختلاف معنی‌داری (P<0.01) در بیان این ژن مشاهده شد.

جدول ۱۴. مقایسه میانگین اثرمتقابل تیمار و زمان بر بیان نسبی ژن PAL1

تیمار	بیان ژن PAL1 در زمان (روز پس از مایه‌زنی)		
	۷	۱۴	۲۱
مایه‌زنی با نماتد	۲/۰۸۰d	۲/۲۲۲d	۲/۵۳۲c
مایه‌زنی با قارچ	۱/۶۹۲f	۱/۸۲۸ef	۱/۸۹۲e
مایه‌زنی هم‌زمان نماتد و قارچ	۲/۶۴۰c	۳/۴۱۸b	۳/۷۴۲a
بدون مایه‌زنی (شاهد)	۱/۰۰۰g	۱/۰۰۰g	۱/۰۰۰g

میانگین‌هایی که حداقل یک حرف مشترک دارند، در سطح ۱ درصد آزمون LSD با هم تفاوت معنی‌داری ندارند.

افزایش بیان ژن CsADF1، به‌ترتیب با گذشت زمان در تیمارهای مختلف مایه‌زنی با نماتد و قارچ تا روز ۲۱ پس از مایه‌زنی اتفاق افتاد. افزایش بیان این ژن نسبت به شاهد، در روز ۷ پس از مایه‌زنی بسیار اندک بود و در تیمارهای مختلف با یکدیگر و با شاهد اختلاف معنی‌داری (P<0.01) را نشان ندادند. باوجوداین، هیچ کاهش بیان نسبی در رابطه با این ژن (مانند سایر ژن‌های مورد مطالعه) در مقایسه با شاهد رخ نداد. بیشترین بیان ژن CsADF1، ۲۱ روز پس از مایه‌زنی با نماتد و مایه‌زنی هم‌زمان نماتد و قارچ به‌ترتیب به میزان ۵/۵۵۸ و ۵/۶۱۵ برابر تیمار شاهد مشاهده شد که اختلاف معنی‌داری (P<0.01) را با بیان این ژن در سایر تیمارها در زمان‌های دیگر نشان دادند. اختلاف معنی‌داری دربیان ژن CsADF1 در تیمارهای مایه‌زنی با نماتد و مایه‌زنی هم‌زمان نماتد و قارچ، در زمان‌های ۷ و ۲۱ روز پس از مایه‌زنی مشاهده نشد. نسبت به شاهد، کمترین میزان بیان این ژن هفت روز بعد از مایه‌زنی با قارچ و به میزان ۱/۰۶۵ برابر شاهد بود.

جدول ۱۵. مقایسه میانگین اثرمتقابل تیمار و زمان بر بیان نسبی ژن CsADF1

تیمار	بیان ژن CsADF1 در زمان (روز پس از مایه‌زنی)		
	۷	۱۴	۲۱
مایه‌زنی با نماتد	۱/۰۹۲f	۳/۳۹۰c	۵/۵۵۸a
مایه‌زنی با قارچ	۱/۰۶۵f	۱/۷۱۲e	۲/۴۵۵d
مایه‌زنی هم‌زمان نماتد و قارچ	۱/۱۳۰f	۴/۸۸۲b	۵/۶۱۵a
بدون مایه‌زنی (شاهد)	۱/۰۰۰f	۱/۰۰۰f	۱/۰۰۰f

میانگین‌هایی که حداقل یک حرف مشترک دارند، در سطح ۱ درصد آزمون LSD با هم تفاوت معنی‌داری ندارند.

مقایسه میانگین اثر متقابل تیمار و زمان بر بیان نسبی ژن CsADF6 نشان داد که بیان ژن CsADF6، به‌ترتیب با گذشت زمان در تیمارهای مختلف مایه‌زنی با نماتد و قارچ تا روز ۲۱ پس از مایه‌زنی افزایش داشته است. افزایش بیان این ژن نسبت به شاهد، در روز ۷ پس از مایه‌زنی بسیار اندک بود و در تیمارهای مختلف با یکدیگر و با شاهد اختلاف معنی‌داری (P<0.01) را نشان ندادند. باوجوداین، هیچ کاهش بیان نسبی در رابطه با این ژن (مانند سایر ژن‌های مورد مطالعه) در مقایسه با شاهد رخ نداد. بیشترین بیان ژن CsADF6، ۲۱ روز پس از مایه‌زنی هم‌زمان نماتد و قارچ به میزان ۴/۶۳۸ برابر تیمار شاهد بود که اختلاف معنی‌داری (P<0.01) را با بیان این ژن در سایر تیمارها در زمان‌های دیگر نشان دادند. اختلاف معنی‌داری دربیان ژن CsADF6 در تیمار مایه‌زنی با قارچ در زمان‌های ۱۴ و ۲۱ روز پس از مایه‌زنی مشاهده نشد. همچنین، در روزهای هفتم و چهاردهم پس از مایه‌زنی، بین تیمار مایه‌زنی با نماتد و مایه زنی هم‌زمان نماتد و قارچ اختلاف معنی‌داری در بیان این ژن مشاهده نشد، ولی در روز ۲۱ پس ازمایه‌زنی این اختلاف معنی‌دار بود و در مایه‌زنی هم‌زمان نماتد و قارچ، بیان این ژن افزایش بیشتری داشت.

جدول ۱٦. مقایسه میانگین اثرمتقابل تیمار و زمان بر بیان نسبی ژن CsADF6

تیمار	بیان ژن CsADF6 در زمان (روز پس از مایه‌زنی)		
	۷	۱۴	۲۱
مایه‌زنی با نماتد	۱/۰۶۰e	۱/۵۸۲c	۴/۳۲۸b
مایه‌زنی با قارچ	۱/۰۵۰e	۱/۳۲۸d	۱/۴۲۵d
مایه‌زنی هم‌زمان نماتد و قارچ	۱/۰۵۵e	۱/۶۲۸c	۴/۶۳۸a
بدون مایه‌زنی (شاهد)	۱/۰۰۰e	۱/۰۰۰e	۱/۰۰۰e

میانگین هایی که حداقل یک حرف مشترک دارند، تفاوت معنی داری در سطح ۱ درصد آزمون LSD با هم ندارند.

٤- بحث و نتیجه گیری

در پژوهش حاضر، اثر استرین‌های مختلف قارچ‌های پوشونیا (جدایه‌های IRAN 1129 C، IRAN 1119 C، IRAN 1212 C، IRAN 457 C) و لکانیسیلیوم (IRAN 3022 C) در کنترل نماتد ریشه گرهی خیار در شرایط آزمایشگاهی و گلخانه‌ای مورد بررسی قرار گرفت. در این مطالعه نتایج بررسی‌های آزمایشگاهی و گلخانه‌ای امیدوارکننده بود و استرین‌ها با درصد بالایی تخم‌های M. javanica را آلوده کردند و هر یک ازچهار جدایه قارچ پوشونیا و جدایه قارچ لکانیسیلیوم در غلظت‌های استفاده شده توانستند به خوبی و به طور معنی‌دار (P≤0.01) در مقایسه با شاهد از تفریخ تخم نماتد M. javanica جلوگیری کنند. در همه تیمارهای قارچی، غلظت بالاتر قارچ تاثیر بیشتری بر بازدارندگی از تفریخ تخم نماتد داشت. استرین ۴۵۷ قارچ پوشونیا نسبت به سایر استرین‌ها، بر بازدارندگی از تفریخ تخم نماتد M. javanica تاثیر کمتری داشت.

شناسایی و تفکیک گونه‌های نماتد ریشه‌گرهی توسط نقوش شبکه کوتیکولی انتهای بدن نماتد ماده‌ی بالغ امکان‌پذیر است. شبکه‌ی کوتیکولی انتهای بدن نماتد ماده به شکل اثر انگشت بوده و برای شناسایی گونه‌ها از اهمیت خاصی برخوردار است. اگر چه تنوع و یا تغییرات در شکل آن‌ها در افراد یک جمعیت و یا یک گونه وجود دارد، ولی خصوصیات اصلی آن به میزان زیادی ثابت است. در این راستا به روش (هارتمن و ساسر، 1985) مقداری از ریشه‌ی آلوده زیر استرئومیکروسکوپ قرار گرفت. سپس

ریشه‌ها را رنگ‌آمیزی کرده و با استخراج نماتدها از بافت ریشه‌ی آلوده بر اساس الگوی شبکه کوتیکولی انتهای بدن ماده‌ها و خصوصیات ریخت‌سنجی و ریخت‌شناسی ماده‌های بالغ و لاروهای سن دوم و با استفاده از کلید Jepson (1987) گونه M. javanica شناسایی گردید.

مقایسه میانگین درصد پارازیتیسم تخم‌ها پس از گذشت سه هفته توسط جدایه‌های قارچ های پوشونیا و لکانیسیلیوم نشان داد که تخم‌ها بین حدود ۷۰ تا ۹۰ درصد توسط استرین‌ها پارازیته شدند و کمترین میزان پارازیته کردن تخم نماتد M. javanica مربوط به استرین پوشونیا ۴۵۷ بود.

تحقیقات موسوی و همکاران (۱۳۸۶) نشان داد که جدایه‌های مختلف قارچ P. chlamydosporia var. chlamydosporia توانایی کلونیزه کردن تخم M. javanica را داشتند که درصد پارازیته کردن تخم بین ۳۹/۸۵ تا ۹۰/۱۷ درصد متغیر بود و اختلاف معنی‌داری از این نظر بین جدایه‌ها مشاهده شد.

تخم نماتدها از سه لایه از جمله لایه کیتینی تشکیل شده که مانعی بر سر راه قارچ‌ها برای نفوذپذیری به داخل آن است و قارچ‌هایی می‌توانند به داخل آن نفوذ کنند که توانایی تولید کیتیناز را داشته باشند و این مهمترین ویژگی قارچ‌های نماتدخوار است (Yang et al. 2007).

مختاری دستنایی و اولیا (۱۳۹۴) اثر چهار جدایه از قارچ P. chlamydosporia var. chlamydosporia را در شرایط آزمایشگاهی و گلخانه ای روی نماتد ریشه گرهی گوجه‌فرنگی (M. javanica) بررسی کردند. هر چهار جدایه نسبت به شاهد اثر نماتدکشی داشته و مانع تفریخ تخم نماتد شدند و تمام جدایه‌ها توانایی کلونیزه کردن گیاه را داشتند. با این حال، دو جدایه IRAN 504C و IRAN 1131C باعث توقف رشد نماتد روی گیاه شدند و درصد تکثیر نماتد نسبت به شاهد کاهش یافت به‌طوری‌که در مقایسه با شاهد اختلاف معنی‌داری را نشان داد.

تحیقات فاطمی (۱۳۹۸) نشان داد که قارچ‌های Pochonia chlamydosporia var. chlamydosporia و Purpureocillium lilacinum به طور متوسط ۳۶ درصد از تخم های جدید M. javanica را روی ریشه آلوده کردند. این قارچ‌ها تکثیر نماتد را به ترتیب ۶۵ و ۳۶ درصد کاهش و وزن خیار را افزایش دادند. گال نماتد روی ریشه بین ۵۶ تا ۷۸ درصد کاهش یافت و تاثیر مثبتی بر رشد و نمو خیار گذاشتند.

استرین ۴۵۷ قارچ پوشونیا اثر کمتری بر مرگ و میر لاروها در مقایسه با سایر استرین‌ها داشت. این استرین پس از ۷۲ ساعت حدود ۸۵ درصد مرگ و میر در لاروها ایجاد کرد، در حالی که استرین‌های ۱۱۲۹، ۱۲۱۲ و ۱۱۱۹پس از ۷۲ ساعت، حدود ۹۵ درصد مرگ و میر در لاروها ایجاد کردند که اختلاف معنی داری را با استرین ۴۵۷ نشان دادند. استرین ۳۰۲۲ قارچ لکانیسیلیوم پس از ۷۲ ساعت حدود ۹۲ درصد لاروها را ازبین برد.

گل‌میرزایی و همکاران (۱۳۹۱) عصاره استرین‌هایی از قارچ‌های آنتاگونیست Paecilomyces lilacinus ، Trichoderma harzianum و Pochonia chlamydosporia را روی مرگ و میر لارو سن دوم نماتد سیستی چغندر قند در دو بازه زمانی ۲۴ و ۴۸ ساعت بررسی کردند و نشان دادند که قارچ Trichoderma harzianum پتانسیل خوبی برای کنترل این نماتد دارد.

عباسی و موسوی (۱۳۹۳) در پژوهشی به این نتیجه رسیدند که قارچ Purpureocillium lilacinus با افزایش میزان آنزیم‌های دفاعی در گیاه کدو سبب کنترل بیشتر نماتد مولد گره ریشه (M. javanica) می‌شود.

همه جدایه‌های قارچ پوشونیا و جدایه لکانیسیلیوم موجب کاهش تعداد گال نماتد در ریشه، کاهش تعداد کیسه تخم و تعداد کل تخم، کاهش تعداد کل لاروهای نماتد در خاک و کاهش فاکتور تولیدمثلی نماتد مولد غده (M. javanica) شدند و در این بین استرین‌های ۱۱۱۹، ۱۱۲۹ و ۱۲۱۲ قارچ پوشونیا و استرین ۳۰۲۲ لکانیسیلیوم تاثیر بیشتر و معنی‌داری نسبت به استرین ۴۵۷ پوشونیا نشان دادند.

ویژگی‌های رشدی در خیار ازقبیل طول شاخساره، وزن تر شاخساره، وزن خشک شاخساره، طول ریشه، وزن تر و خشک ریشه در تیمارهای مایه‌زنی با نماتد M. javanica همراه با استرین‌های ۱۱۱۹، ۱۱۲۹ و ۱۲۱۲ قارچ‌های پوشونیا و استرین ۳۰۲۲ لکانیسیلیوم (Lecanicillium + Mj) نسبت به تیمار نماتد به تنهایی (Mj) اختلاف معنی‌داری ($P\leq0.01$) داشتند و بیشتر بودند

که نشان‌دهنده تاثیر مثبت قارچ‌ها در کنترل نماتد بوده و نیز در این تیمارها اثر زیان‌آور نماتد روی ویژگی‌های رشدی گیاه توسط قارچ کاهش یافته است.

در تیمار مایه‌زنی با نماتد به تنهایی در ابتدا با واکنش گیاه روبه رو شده و گیاه برای جبران خسارت وارده، ریشه های جدیدی را ایجاد می کند که باعث افزایش وزن ریشه می گردد. از طرف دیگر، آلودگی به نماتد باعث تشکیل گال روی ریشه می گردد که خود باعث افزایش وزن ریشه می شود. اگر جمعیت نماتدها از حدی فراتر رود، گیاه قادر به تحمل خسارت وارده نیست و تأثیر آن در رشد اندام های هوایی دیده می شود. پس از کاهش رشد اندام هوایی، مواد غذایی کمتری به ریشه می رسد و رشد ریشه کاهش پیدا می کند (Moosavi, 2014). وزن تر و وزن خشک شاخساره در تمام تیمارهای قارچ + نماتد افزایش معنی‌داری ($P\leq0.01$) نسبت به تیمار نماتد به تنهایی نشان داد.

در این مطالعه در گلخانه نیز نتایج تاثیر سه استرین پوشونیا و استرین لکانیسیلیوم در کنترل نماتد M. javanica مطلوب بود. توانایی گونه های جنس پوشونیا در کنترل نماتد مولد گره ریشه روی گوجه فرنگی قبلاً ثابت شده است (موسوی و همکاران، ۱۳۹۶).

منظورحسین و همکاران (Manzoor Hussain et al., 2018) نشان دادند که قارچ Lecanicillium muscarium به نحو موثری نماتد M. incognita را از طریق آلودگی تخم‌ها و لارو سن دو و همچنین تولید متابولیت‌های ثانویه‌ای که در گیاهان گوجه‌فرنگی منجر به ایجاد مقاومت سیستمیک می‌شود کنترل می‌کند.

قارچ P. chlamydosporia var. chlamydosporia یکی از متداولترین قارچ‌های همراه با نماتدهای ساکن است و یکی از امیدبخش‌ترین عوامل کنترل بیولوژیکی است که توانایی بالایی در کاهش جمعیت نماتدهای مولد غده و سیستی دارد. (Moosavi, 2014).

از آنجا که کاربرد انفرادی کنترل کننده های زیستی در مزرعه معمولاً باعث مهار قابل قبول نماتدها نمی گردد، علاقهٔ فراوانی به استفادهٔ ترکیبی از میکروارگانیسم‌ها در مطالعات کنترل بیولوژیک وجود دارد. در این راستا گاهی از کنترل کننده هایی که روش های عمل متفاوتی دارند استفاده می شود و گاهی از استرین‌های مختلف یک میکروارگانیسم استفاده شده است (Stirling, 2014).

هدف از پژوهش حاضر کاهش مصرف سموم زیان آور شیمیایی و استفاده از مواد بیولوژیک و سازگار با محیط زیست در کنترل بیمارگرهایی مانند نماتد مولد غده در مدیریت تلفیقی آنها است. در مطالعات آتی میزان کارایی این ترکیبات با نماتدکش‌های رایج در شرایط گلخانه و مزرعه می‌تواند مقایسه شود و پس از آن برای تولید تجاری و انبوه این استرین‌های قارچی به صورت تکی یا حتی ترکیب با یکدیگر اقدام نمود. احتمالاً این استرین‌های قارچی روی کنترل سایر گونه‌های نماتدهای ریشه گرهی مانند گونه مهم M. incognita نیز تاثیر مثبتی خواهند داشت و به طورکلی از شدت و وقوع نماتد مولد غده در خیار کم می‌کنند. از این استرین‌های قارچی در کنترل نماتد مولد غده در سایر میزبان‌های گیاهی و یا حتی روی سایر نماتدهای مهم مانند نماتد زخم ریشه، نماتدهای سیستی و طلایی و ... نیز در تحقیقات آتی می‌توان استفاده کرد.

با توجه به عملکرد قابل قبول استرین‌های قارچ‌های مورد مطالعه در کنترل بیولوژیک نماتد مولد غده در آزمایشگاه و در گلخانه، این استرین‌ها ممکن است توانایی آنتاگونیسیت علیه برخی از بیمارگرها و آفات دیگر را نیز داشته باشند و این موضوع در مطالعات آتی می‌تواند مد نظر قرار گیرد. همچنین، در پژوهش‌های آتی به صورت کاربردی در گلخانه و مزرعه ممکن است بتوان اثر کنترلی این استرین‌ها را در عمل مشاهده نمود.

بیان نسبی چهار ژن PR1، PAL1، CsADFA1 و CsADF6 در ریشه گیاهان خیار، ۷، ۱۴ و ۲۱ روز پس از مایه‌زنی با نماتد M. javanica به تنهایی، مایه‌زنی با قارچ پوشونیا استرین ۱۲۱۲، و مایه‌زنی هم‌زمان نماتد و قارچ بررسی شد. نتایج ما تأثیر مایه‌زنی نماتد و قارچ را بر سطوح بیان ژن‌های مذکور در ریشه نشان داد و مشاهده شد که مایه‌زنی نماتد و قارچ به ریشه گیاه منجر به افزایش بیان نسبی این ژن‌های شد.

یافته‌های ما نشان داد که افزایش بیان ژن‌های دفاعی PR1 و PAL1 که در برابر مایه‌زنی قارچ به گیاه رخ داد، می‌تواند در مراحل اولیه آلودگی شروع و به تحریک واکنش‌های دفاعی گیاه منجر شود. از طرفی در مایه‌زنی توام نماتد + قارچ بیان این ژن‌ها افزایش داشت که نشان از تحریک بیشتر سیستم دفاعی گیاه در مایه‌زنی نماتد و قارچ است.

در یک مطالعه مایه‌زنی گیاهان بادمجان با قارچ Pochonia suchlasporia (که توانایی آن در کنترل نماتدهای مولد گره ریشه قبلاً اثبات شده بود)، و با نماتد مولد گره ریشه، منجر به افزایش آنزیم های پراکسیداز (POX) و فنیل آلانین آمونیالیاز (PAL) در تیمار نماتد و نماتد+ قارچ شد (حسامی و موسوی، ۱۳۹۳).

مهدی‌نژاد و همکاران (۱۴۰۰) نشان دادند که قارچ‌های آنتاگونیست و مایکوریز موجب القای آنزیم‌های دفاعی فنیل آلانین آمونیالیاز (PAL)، پراکسیداز (POX) و پلی فنل اکسیداز (PPO) در نهال‌های پسته آلوده با نماتد M. javanica می‌شود (مهدی نژاد و همکاران، ۱۴۰۰).

یافته‌های این مطالعه نشان می دهد که قارچ پوشونیا (استرین ۱۲۱۲) به عنوان یک عامل بیوکنترل و همچنین القاگر برخی از ژن‌های دخیل در مقاومت در خیار، می‌تواند برای کاهش آلودگی به نماتد ریشه گرهی اهمیت داشته باشد. به طور کلی، قارچ‌هایی نظیر استرین قارچی استفاده شده در این مطالعه ممکن است یک جایگزین بالقوه برای نماتدکش های شیمیایی در مدیریت بهینه بیماری باشند.

در مطالعه‌ای که توسط سیکاندرا و همکاران (۲۰۲۱) انجام شد، پوشش بذر خیار با قارچ Penicillium chrysogenum استرین Snef1216 رشد گیاه خیار را افزایش داد و کنترل زیستی بسیار خوبی را نسبت به M. incognita نشان داد. همچنین، بیان بسیاری از ژن‌های دفاعی و دخیل در فعالیت‌های مختلف فیزیولوژیکی گیاه را در ریشه خیار تغییر داد. افزایش بیان دفاعی یا سایر ژن‌های حیاتی نشان داد که این قارچ پاسخ‌های دفاعی و تقویت‌کننده رشد گیاه را القا می‌کند و درک عمیق‌تری را در مورد سازوکارهای مولکولی دخیل در برهمکنش گیاه–نماتد در گیاهان حاصل از بذور پوشیده از قارچ فراهم کرد (Sikandar et al., 2021).

نتایج این مطالعه در افزایش بیان ژن PR1 نشان می‌دهد که احتمالاً مایه‌زنی نماتد و قارچ به گیاه خیار، بیان ژن‌های مربوط به دفاع SA را در ریشه آن القا کرده و مسیرهای سیگنالینگ SA و ET/JA را فعال و درنتیجه مقاومت نسبی گیاه را در برابر نماتد القا کرده است. اگرچه این مقاومت القاء شده با توجه به زمینه‌های ژنتیکی گیاه می‌تواند درجات مختلفی داشته باشد و الزاماً جلوی پیشرفت و بیماری‌زایی و ایجاد علایم بیمارگر را نمی‌تواند بگیرد (Szitenberg et al., 2017).

بر اساس نتایج به دست آمده احتمالاً هر یک از تیمارهای نماتد و قارچ موجب افزایش تجمع SA درون گیاه گردیده و در نهایت SAR را القاء کرده است و از این طریق به طور غیر مستقیم باعث افزایش بیان ژن PR1 گردیده است. بسیاری از PGPRها با استفاده از مکانیسم مقاومت اکتسابی سیستمیک همانند تولید سالیسیلیک اسید و اگزالات مقاومت گیاه را در مقابل عامل بیماری‌زا افزایش می‌دهند (Reddy ، ۲۰۰۲). خصوصیت عمومی SAR آن است که نکروز موضعی برای القاء آن لازم است و به طور معمول با افزایش پروتئین‌های مرتبط با بیماری‌زایی (PR) و لیگنینی شدن ارتباط دارد (کونتی و همکاران، ۱۹۹۶).

مطالعه حاضر نشان داد که بیان ژن‌های PR1، PAL1، CsADFA1 و CsADF6 در غیاب عفونت نماتد کاهش می‌یابند و در تیمار بدون مایه‌زنی (شاهد) همواره کاهش بیان ژن نسبت به سایر تیمارها مشاهده شد. به‌عبارت دیگر، افزایش نسبی بیان این ژن‌ها در تمام تیمارهای مایه‌زنی نسبت به شاهد بدون مایه‌زنی مشاهده شد. به طور مشابه، برخی از مطالعات قبلی نیز نشان دادند که ژن‌های مربوط به دفاع در غیاب عفونت بیمارگرها در گیاهان کاهش می‌یابند (Postnikovaet ؛2002 ،Gheysen & Fenoll ؛Przybylska & Obr˛ epalskaSt˛ eplowska. 2020 ؛Nam et al., 2018 ؛al., 2015).

در مورد هر چهار ژن PR1، PAL1، CsADFA1 و CsADF6، بیشترین بیان در هر زمان پس از مایه‌زنی در تیمار نماتد + قارچ رخ داد. در تیمارهای مایه‌زنی با نماتد و قارچ به تنهایی نیز افزایش بیان این ژن‌ها مشاهده شد و بیشتر بودن بیان نسبی ژن‌ها در تیمار توام نماتد+قارچ نشان دهنده اثرسینرژیستی نماتد و قارچ روی القای بیان ژن‌های مذکور در ریشه خیار است. بیشترین بیان ژن‌ها در تیمار نماتد+قارچ، در زمان سوم یعنی ۲۱ روز پس از مایه‌زنی اتفاق افتاد و بیان ژن‌های مورد مطالعه به‌طور

معنی‌داری ($P<0.01$) افزایش داشتند. به احتمال زیاد با گذشت زمان و وجود هر دو القاگر در کنار هم، بیان این ژن‌ها به میزان بیشتری القا شده است.

دهقانیان و همکاران (۱۳۹۵) نشان دادند که میزان بیان ژن PR1 به زمان تیمار گیاه با القاگر و باکتری و حتی زمان آلوده شدن گیاه به نماتد بستگی دارد و همچنین میزان بیان ژن PR1 در استفاده از باکتری Pseudomonas fluorescens استرین CHA0 و القاگر شیمیایی SA به تنهایی در مقایسه با تیمار توام، کاهش یافت (دهقانیان و همکاران، ۱۳۹۵).

افزایش بیان ژن CsADF1 در تیمارهای مایه‌زنی با نماتد و مایه‌زنی توام نماتد و قارچ در روز ۱۴ پس از مایه‌زنی به ترتیب ۳/۳۹۰ و ۴/۸۸۲ برابر شاهد بود، ولی این افزایش بیان در این زمان، برای ژن CsADF6 به‌ترتیب برای این تیمارها ۱/۵۸۲ و ۱/۶۲۸ برابر بیان این ژن در نمونه شاهد بود و بیان ژن CsADF6 نسبت به ژن CsADF1 افزایش کمتری داشت. به‌طورکلی، ژن CsADF1 افزایش بیان بیشتری نسبت به ژن CsADF6 در روزهای ۱۴ و ۲۱ پس از مایه‌زنی نشان داد. به‌عبارت دیگر، بیان ژن CsADF6 تا روز ۱۴ بعد از مایه‌زنی بیان قابل ملاحظه‌ای را نسبت به ژن CsADF1 نشان نداد، در صورتی که ۲۱ روز پس از مایه‌زنی، بیان ژن CsADF6 در تیمارهای نماتد و نماتد + قارچ به بیش از چهار برابر گیاه شاهد رسید و افزایش بیشتری را نشان داد.

نتایج نشان داد که بیان ژن‌های CsADF1 و CsADF6 در مراحل اولیه آلودگی (روز هفتم پس از مایه‌زنی) کم بود و با گذشت زمان از مراحل میانی آلودگی (از روز چهاردهم پس از مایه‌زنی) بیشتر شد. الگوهای بیان ژن و تجمع زیرسلولی CsADF می‌تواند سرنخ‌های مهمی در مورد عملکرد آنها به‌خصوص در زمان آلودگی به نماتدها ارائه دهد.

فاکتورهای دپلیمریزکننده اکتین (ADFs) از مهمترین پروتئین های اتصال دهنده اکتین هستند و از طریق فعالیت جداکننده یا دپلیمریزاسیون F–اکتین محافظت شده خود در تولید و بازسازی ساختار اسکلت سلولی اکتین نقش دارند. اسکلت سلولی اکتین از ساختمان سلول محافظت می‌کند و به آن شکل می‌دهد، اندامک‌ها را سازماندهی کرده و بین اندامک‌ها اتصال برقرار می‌کند و در انتقال مولکول‌ها، تقسیم سلولی و سیگنالینگ سلولی نقش دارد (Liu et al., 2016).

نتایج کمی RT-PCR نشان داد که رونویسی پنج ژن فاکتورهای دپلیمریزکننده اکتین (ADFs) به طور قابل توجهی در گال های ناشی از نماتد افزایش یافت. ژن ADF5 در مراحل اولیه آلودگی، ADF2-2، و ADF2-3 در مراحل میانی و ADF6 در مراحل بعدی عفونت (۱۴ تا ۲۱ روز پس از مایه‌زنی با نماتد) القا شدند. فعال‌سازی رونویسی ژن‌های ADF نشان می‌دهد که ADF یا خانواده کوفیلین بیشتری ممکن است برای بازآرایی اسکلت سلولی در گال‌های بزرگ مورد نیاز باشد. این نتایج نشان می‌دهد که دینامیک اکتین با واسطه ژن‌های CsADF با تغییرات ساختاری در ریشه‌ها در نتیجه آلودگی به نماتد مولد غده (M. incognita) مرتبط است (Liu et al., 2016).

لاروهای سن دوم نماتد مولد غده به ریشه گیاه نفوذ کرده و به داخل استوانه آوندی به سمت منطقه تمایز مهاجرت می کنند. این لاروها سلول های انگلی را نمی‌کشند، اما با گسترش سلول های پارانشیم در بافت آوندی ریشه، تولید برخی سلول های غول پیکر را به عنوان تنها منبع تغذیه القا می کنند (جونز و همکاران، ۲۰۱۳؛ مولیناری و همکاران، ۲۰۱۴). در طول گسترش سلول های غول پیکر، سازمان اسکلت سلولی اکتین به طور قابل توجهی تغییر می کند. بازسازی ساختاری و شیمیایی دیواره سلولی یکی از اجزای اساسی پاسخ های گیاه است که شامل تقویت و سخت شدن دیواره سلولی برای ایجاد یک مانع فیزیکی است که نفوذ نماتد به سلول را مهار می کند (de Almeida Engler et al., 2004; Clément et al., 2009 Li et al., 2018b).

درک واضح‌تر از اینکه چگونه نماتد مولد غده بر ریشه‌های خیار تأثیر می‌گذارد، اثرات آلودگی و تغییرات مرتبط با آن در بیان ژن‌های میزبان، ارزش قابل‌توجهی در توسعه استراتژی‌هایی برای جلوگیری از چنین حملاتی خواهد داشت. با این حال، تا به امروز چنین تحقیقاتی محدود بوده است.

امروزه اغلب روش های مورد استفاده در عرصه علم گیاهپزشکی علیه بیمارگرها و آفات با کاربرد سموم شیمیایی در ارتباط است، در حالی که سلامت انسان و محیط زیست را تهدید می کند. پدیده مقاومت القایی، که سازوکار دفاعی طبیعی گیاه را فعال می کند، می‌تواند به عنوان یک جایگزین غیرسنتی و دوستدار محیط زیست در این عرصه مورد بهره‌برداری قرار گیرد و کنترل شیمیایی را کاهش دهد و به این ترتیب در گسترش کشاورزی پایدار نقش داشته باشد (Edreva, 2004).

حمله نماتدها به گیاهان بر رشد گیاه تأثیر منفی می گذارد، زیرا نماتدها ژن‌های مرتبط با رشد گیاه را سرکوب می‌کنند (Ali et al., 2017). سیکاندرا و همکاران (۲۰۲۱) نشان دادند که در خیار آلوده با نماتد M. incognita بیان ژن‌های دخیل در سازوکارهای مرتبط با رشد کاهش پیدا می‌کند.

تغییر بیان ژن‌ها پس از تیمارهای مایه‌زنی در ارقام مختلف خیار با حساسیت و مقاومت‌های مختلف و زمینه‌های ژنتیکی متفاوت، ممکن است به یک صورت نباشد. در گیاهانی که مقاومت بیشتری به نماتد مولد غده دارند بیان ژن‌های دفاعی ممکن است چندین برابر بیان این ژن‌ها در گیاهان حساس باشد. برای مثال بیان ژن‌های مربوط به اتصال و انتقال (binding and transport-related genes) پس از آلودگی نماتد در گیاهان حساس تغییر زیادی دارد، در حالی که تغییر قابل توجهی در گیاهان مقاوم نداشتند (Shukla et al., 2018).

با توجه به تاثیر مثبت جدایه‌های قارچ‌های مورد استفاده در این مطالعه بر خصوصیات رشدی گیاه و از طرفی کاهش تفریخ تخم و افزایش مرگ و میر لاروهای سن دو نماتد مولد غده، درمطالعات آتی تغییر بیان ژن‌های مختلف در دفاع گیاه، ژن‌های مرتبط با تولید متابولیت‌های ثانویه، ژن‌های مرتبط با رشد گیاه، ژن‌های مرتبط با مسیر انتقال سیگنال‌های مختلف در گیاه و سایر ژن‌های مرتبط با تغییرات فیزیولوژیکی درون گیاه، پس از آلودگی با نماتد و مایه‌زنی با قارچ‌های موثر در کنترل بیولوژیکی نماتد مولد غده، می‌تواند مورد توجه باشد. همچنین، میزان افزایش یا کاهش بیان این ژن‌ها در میزبان‌های حساس تا متحمل می‌تواند بررسی شود و از این طریق نقش و اهمیت ژن‌های دخیل در مقاومت گیاه را برابر نماتد ریشه‌گرهی مطالعه نمود.

۵-نتیجه‌گیری کلی

استفاده از ترکیبات شیمیایی و ریزموجودات افزایش‌دهنده‌ی رشد گیاهی ازجمله قارچ‌های آنتاگونیست و میکوریزایی، در القای مقاومت در گیاهان، یکی از روش‌های کارآمد در مدیریت نماتدهای انگل گیاهی می‌باشد. در مطالعات حاضر مشخص شد که در صورت استفاده از قارچ‌های موثر در بیوکنترل نماتد و مایه‌زنی آن با نماتد و به تنهایی، جمعیت نماتد M. incognita در ریشه خیار را کاهش و باعث افزایش رشد رویشی گیاه شد. همچنین، مایه‌زنی نماتد و قارچ به تنهایی یا با هم منجر به افزایش بیان ژن‌های دفاعی PR1 و PAL1 و ژن‌های فاکتورهای دپلیمریزکننده اکتین شامل CsADF1 و CsADF6 در ریشه گیاهان خیار شد.

منابع

احمدی، ع.، ع.، شریفی تهرانی، ا.، خیری و ق .حجارود،۱۳۷۷، جداسازی قارچها ی Fusarium solani و Paecilomyces spp. ازHeterodera schachtii و کارآیی آنها در کنترل بیولوژیکی تخمهای نماتود در شرایط آزمایشگاه. بیماریهای گیاهی ۳۴(۳و۴) ، ۱۸۶-۱۹۷.

اخیانی، ا.، مجتهدی، ح. و نادری، ا. ۱۳۶۳. گونه‌ها و نژادهای فیزیولوژیک نماتدهای ریشه‌گرهی در ایران. نشریه بیماری‌های گیاهی، ۲۰ (۱): ۵۷-۷۰.

استرلینگ، گراهام آر، ۱۳۸۵، کنترل زیستی نماتدهای انگل گیاهی- پیشرفت مشکلات و چشم اندازها، حجت جلالی. علی اکبر، قاسمپور. حمیدرضا، دانشگاه رازی.

اسمعیل‌زاده آشینی روح‌الله و محمدرضا موسوی (۱۳۹۷) پژوهش تاثیر هیومیک اسید و هورمون جیبرلین در کنترل نماتد ریشه گرهی (Meloidogyne javanica) ،پایان نامه کارشناسی ارشد دانشگاه آزاد اسلامی واحد مرودشت، دانشکده فنی و مهندسی

اکبری مقدم الهام ، روح اله صابری ریسه، پژمان خدایگان، حسین علایی، ۱۳۹۷، بررسی تأثیر تعدادی از سویه های باکتریایی بر واکنش های دفاعی خیار نسبت به بیماری پوسیدگی فوزاریومی ساقه و ریشه، مهار زیستی در گیاهپزشکی، جلد ششم، شمارهٔ یک.

ایاسی زاده سکینه ، ناصر عالم زاده انصاری و میله عبدی پور، ۱۳۹۴، بررسی رشد و نمو ۶ رقم خیار گلخانه ای در بستر خاکی نهمین کنگره علوم باغبانی مقالات پوستری سبزیکاری ، اهواز.

باقری، ن.، احمدزاده، م. و حیدری، ر. ۱۳۹۲. تأثیر استرین UTPF5 باکتری Pseudomonas fluorescens بر جذب، مرگ و میر و تفریخ تخم نماتد ریشه‌گرهی Meloidogyne javanica. خلاصه مقالات همایش کنترل بیولوژیک در کشاورزی و منابع طبیعی، پردیس کشاورزی و منابع طبیعی دانشگاه تهران، کرج. ص۸۲.

پاک نیت، مجید، ۱۳۸۹، کنترل نماتد ریشه گرهی .Meloidogyne spp بوسیله ترکیبی از قارچ Paecilomyces lilacinus و سم کادازافوس بر روی گوجه‌فرنگی، خلاصه مقالات نوزدهمین کنگره گیاهپزشکی ایران، ۱۳۸۹، ۶۲۱

پورخواجه فائزه ، حبیب‌اله چاره‌گانی ، محمد عبدالهی ، مهدی صدروی، ۱۳۹۶،بررسی تأثیر قارچ Trichoderma harzianumو سالیسیلیک اسید بر خیار آلوده به نماتد ریشه‌گرهی (Meloidogyne javanica) در شرایط گلخانه، دانشگاه یاسوج، دانشکده کشاورزی و منابع طبیعی، رشته :مهندسی کشاورزی – بیماری‌شناسی گیاهی

پورخواجه، فائزه، حبیب اله چاره گانی، محمد عبدالهی و مهدی صدوری، اثر کنترلی جدایه از Trichoderma harzianum بر نماتد ریشه گرهی Meloidogyne javanica در خیار گلخانه ای، بیماری های گیاهی/ جلد ۵۵/ شماره ۱/ سال ۱۳۹۸: ۷۷-۸۲

پیرعلی خیرآبادی خداداد- مهدی رزاقی ابیانه- رسول زارع- شاهرخ رنجبر بهادری- صادق رهبری- صدیقه نبیان- محمد رضائیان، 1386، بررسی اولیه اثرات برخی از قارچ‌های انتموپاتوژن برروی مراحل مختلف رشد کنه بوافیلوس‌آنولاتوس در ایران ، دوره ۶۲، شماره ۴ – شماره پیاپی ۱۸۰۲.

پیرعلی خیرآبادی ، خداداد و امیر دهقانی سامانی۱۳۹۳ ،مکانیسم اثر کشندگی برخی سویه های قارچ های انتوموپاتوژن بر کنه ریپیسفالوس آنولاتوس ،کنفرانس پاتوبیولوژی مقایسه ای ایران

حجت جلالی، ع . و ژ . کاسمن، ۱۳۷۴، قارچ های آنتاگونیست نماتود سیستی چغندرقند در ایران. خلاصه مقالات دوازدهمین کنگره گیا هپزشکی ایران، آموزشکده کشاورزی کرج.

حسینی خواه چوشلی آمنه ، سعید رضایی ، سالار جمالی، حمیدرضا زمانی زاده و فرهاد رجالی تأثیر قارچ مایکوریز بر فاکتورهای بیماریزایی نماتد ریشه ی گرهی (Meloidogyne incognita) و تغییرات هیستوپاتولوژیکی در ارقام متحمل و حساس خیار، پژوهش های کاربردی در گیاه پزشکی/ جلد ۷ شماره ۴/ سال ۱۳۹۷

خلیقی، س.، خداکرمیان، غ.، تنهامعافی، ز.، حسینی نژاد، ع. و قاسمی، ا. ۱۳۸۹. بازدارندگی سودوموناس‌های فلورسنت علیه گال‌زایی نماتد Meloidogyne javanica روی گوجه‌فرنگی در شرایط گلخانه. مجله‌ی آفات و بیماری‌های گیاهی، ۷۸(۲): ۱۹۸-۱۷۷.

دانشنامه ویکی‌پدیای انگلیسی، ۲۶ دسامبر ۲۰۱۱

دانشور، م. ۱۳۸۹. پرورش سبزی. جلد اول، چاپ ششم، انتشارات دانشگاه شهید چمران، اهواز، صفحات ۱۶۱-۱۱۱.

سایت کشاورزی انلاین۱۳۹۷:

سرافرازنیکو، ف.، صاحبانی، ن. و امینیان، ح. ا. ۱۳۸۹. تأثیر Pseudomonas fluorescens CHA0 بر شدت بیماری‌زایی نماتد ریشه‌گرهی Meloidogyne javanica. خلاصه مقالات نوزدهمین کنگره گیاهپزشکی ایران، ص ۵۷۸.

سلگی. م. حیدری، ع. رضایی، س. طاهری، ل. صباغی، الف. ۱۳۹۰. مقایسه برخی صفات رویشی و عملکرد ارقام مختلف خیار گلخانه ای در شرایط کشت گلدانی. هفتمین کنگره علوم باغبانی ایران. دانشگاه صنعتی اصفهان. ۱۳۶۲-۱۳۵۹.

سیاهپوش، س.، صاحبانی، ن. و رحیمیان، ح. (۱۳۸۹). کاربرد تلفیقی باکتری Bacillus subtilis و سالیسیلیک اسید علیه نماتد ریشه‌گرهی Meloidogyne javanica روی خیار. نوزدهمین کنگره گیاهپزشکی ایران. تهران، ایران، موسسه تحقیقات گیاهپزشکی کشور (۹-۱۲ مرداد)، ص ۶۳۸.

صاحبانی، نوازاله، هادوی، نجمه السادات، روستایی، علی، ۱۳۸۵، کنترل بیولوژیک نماتد مولد گره ریشه Meloidogyne توسط Tricoderma viride، مجله علوم کشاورزی ایران،سال ، جلد۳۷، شماره۳، ۱۴۵-۱۵۲.

صلاحی‌اردکانی، س. و حسینی نژاد، س.ع. ۱۳۹۰. کاربرد بومادران، زیتون تلخ، و چریش در مبارزه با نماتد ریشه‌گرهی (Meloidogyne incognita) دانش بیماری‌شناسی گیاهی، ۱(۱): ۲۶-۱۴.

عبادی، م. ،ریاحی،ح.، فاطمی،ص.،۱۳۸۹، بررسی خواص نماتدکشی عصاره کشت جدایه‌های قارچ Pochonia chlamydosporia var chlamydosporia روی نماتد Meloidogyne javanica، خلاصه مقالات نوزدهمین کنگره گیاهپزشکی ایران،۵۸۸،۱۳۸۹.

عباسی الهام ، سیدمحمدرضا موسوی، ۱۳۹۳، بررسی امکان تحریک پاسخ‌های بیوشیمیایی گیاه کدو علیه نماتد مولد گره ریشه (Meloidogyne javanica) به وسیله قارچ آنتاگونیست Purpureocillium lilacinus دانشگاه آزاد اسلامی واحد مرودشت، دانشکده کشاورزی و منابع طبیعی

عبدالهی محمد ، ۱۳۹۴، واکنش ده رقم خیار گلخانه ای نسبت به نماتد ریشه گرهی Meloidogyne javanica، جلد ۱-۳۱، شماره ۱، سال ۱۳۹۴، مجله به نژادی نهال و بذر.

علیون جلال ،۱۳۹۷:نماتد،مجله کشاورزی مدرن،

قادری، ا. ۱۳۹۰. پرورش سبزی درس نامه‌ی دانشکده‌ی کشاورزی دانشگاه جندی شاپور اهواز. اهواز.

گل میرزایی، ندا و موسوی، سیدمحمدرضا و محمدی، صدیقه،۱۳۹۱،تاثیرعصاره پنج جدایه از سه قارچ مهم آنتاگونیست در مرگ و میر لاروهای سن دوم نماتد سیست چغندر قند Heterodera schachtii در شرایط آزمایشگاهی،سومین همایش ملی علوم کشاورزی و صنایع غذایی،فسا،https://civilica.com/doc/243217

محمدی،ص.،۱۳۸۸، اصول و روش‌های تشخیص در قارچ‌شناسی، انتشارات گنجینه علم. مدیریت تهیه و تدوین برنامه‌های کنترلی،۱۳۸۸، نماتد مولد گره ریشه، وب سایت مدیریت حفظ نباتات بخش قرنطینه.www.ppo.ir

مختاری، س.، صاحبانی، ن. و اعتباریان، ح. ر. ۱۳۸۸. بررسی کنترل بیولوژیک و القای سیستمیک فعالیت آنزیم پراکسیداز در گیاه گوجه‌فرنگی آلوده به نماتد مولد غده ریشه Meloidogyne javanica توسط باکتری آنتاگونیست Pseudomonas fluorescens CHA0. مجله کشاورزی، ۱۱(۱): ۱۶۱-۱۵۱.

ملکی‌زیارتی، ح.، صاحبانی، ن. و اعتباریان، ح. ر. ۱۳۹۱. کنترل بیولوژیک و القای سیستمیک آنزیم‌های پراکسیداز و پلی فنل اکسیداز به وسیله‌ی قارچ Trichoderma harzianum در گوجه‌فرنگی آلوده به نماتد Meloidogyne javanica، مجله‌ی کنترل بیولوژیک آفات و بیماری‌های گیاهی، ۱: ۷۲-۶۱.

ملکی زیارتی، ح. ، روستایی، ع. ، صاحبانی، ن. ، اعتباریان، ح . ر.، و امینیان، ح ،۱۳۸۸، بررسی امکان کنترل بیولوژیک نماتد مولد گره ریشه Meloidogyne javanica به وسیله قارچ Tricoderma harzianum در گلخانه و تغییرات کمی ترکیبات فنلی در گیاه، مجله به‌زراعی نهال و بذر، سال۱۳۸۸، جلد۲۵-۲، شماره ۳،۲۶۱-۲۷۴.

موسوی سید محمدرضا ، شیدا شاکری و صدیقه محمدی ، ۱۳۹۴، تأثیر انفرادی و ترکیبی پنج قارچ بیماری زای نماتد (nematophagous fungi) روی Meloidogyne javanica در گیاه بادنجان ، مجله دانش گیاهپزشکی ایران، دورهٔ 64 ، شمارهٔ1 ، ص139 .

موسوی، م.، فاطمی، ص.، زارع، ر.، زمانی زاده،ح.،۱۳۹۶، ارزیابی بیماری زایی جدایه‌های مختلف قارچ Pochonia chlamydosporia var chlamydosporia روی نماتد مولد گره ریشه (Meloidogyne javanica) در شرایط آزمایشگاهی، مجله دانش نوین کشاورزی، سال سوم، شماره ۸، ۸۱-۹۱.

References

Ahmadi, A., Sharifi Tehrani, A., Khayri, and Q. Hajaroud. (1998). Isolation of *Fusarium solani* and *Paecilomyces* spp. fungi from *Heterodera schachtii* and their efficacy in the biological control of nematode eggs under laboratory conditions. *Plant Diseases*, 34(3–4), 186–197. [In Persian]

Akhiani, A., Mojtahedi, H., and Naderi, A. (1984). Species and physiological races of root-knot nematodes in Iran. *Plant Diseases Journal*, 20(1), 57–70. [In Persian]

Stirling, G. R. (2006). *Biological Control of Plant-Parasitic Nematodes: Progress, Problems, and Prospects*. Translated by Hojat Jalali, Ali Akbar Ghasempour, and Hamid Reza. Razi University. [In Persian]

Esmailzadeh Ashini, R., and Mousavi, M. R. (2018). Investigation of the effects of humic acid and gibberellin hormone on the control of root-knot nematode (*Meloidogyne javanica*). Master's thesis, Islamic Azad University, Marvdasht Branch, Faculty of Engineering. [In Persian]

Akbari Moghadam, E., Saberi Riseh, R., Khodayegan, P., Alaei, H., and [author name unclear]. (2018). Investigation of the effects of several bacterial strains on cucumber defense responses against Fusarium stem and root rot. *Biological Control in Plant Protection*, 6(1). [In Persian]

Ayasizadeh, S., Alamzadeh Ansari, N., and Abdi Pour, M. (2015). Evaluation of the growth and development of six greenhouse cucumber cultivars in soil-based substrates. *Proceedings of the Ninth Iranian Horticultural Science Congress, Poster Papers on Vegetable Crops*, Ahvaz. [In Persian]

Bagheri, N., Ahmadzadeh, M., and Heydari, R. (2013). Effect of *Pseudomonas fluorescens* strain UTPF5 on attraction, mortality, and egg hatching of the root-knot nematode *Meloidogyne javanica*. Abstracts of the Conference on Biological Control in Agriculture and Natural Resources, College of Agriculture and Natural Resources, University of Tehran, Karaj, p. 82. [In Persian]

Pakniat, M. (2010). Control of the root-knot nematode *Meloidogyne* spp. on tomato using a combination of *Paecilomyces lilacinus* and cadazafos. Abstracts of the 19th Iranian Plant Protection Congress, p. 621. [In Persian]

Pourkhajeh, F., Charehgani, H., Abdollahi, M., and Sadori, M. (2017). Investigation of the effects of *Trichoderma harzianum* and salicylic acid on cucumber infected with the root-knot nematode (*Meloidogyne javanica*) under greenhouse conditions. Yasouj University, Faculty of Agriculture and Natural Resources, Department of Agricultural Engineering—Plant Pathology. [In Persian]

Pourkhajeh, F., Charehgani, H., Abdollahi, M., and Sadori, M. (2019). The control efficacy of a *Trichoderma harzianum* isolate against the root-knot nematode *Meloidogyne javanica* on greenhouse cucumber. *Plant Diseases*, 55(1), 77–82. [In Persian]

Pirali Kheirabadi, K., Razaghi Abyaneh, M., Zare, R., Ranjbar Bahadori, S., Rahbari, S., Nabian, S., and Rezaeian, M. (2007). Preliminary investigation of the effects of some entomopathogenic fungi on different developmental stages of *Boophilus annulatus* in Iran. Volume 62, Issue 4, Serial No. 1802. [In Persian]

Pirali Kheirabadi, K., and Dehghani Samani, A. (2014). Mechanisms of the acaricidal effects of some entomopathogenic fungal strains on *Rhipicephalus annulatus*. Iranian Conference on Comparative Pathobiology. [In Persian]

Jalali, H., and Kasman, J. (1995). Antagonistic fungi of the sugar beet cyst nematode in Iran. Abstracts of the 12th Iranian Plant Protection Congress, Karaj Agricultural Training College. [In Persian]

Hosseini Khah Choushli, A., Rezaei, S., Jamali, S., Zamani-Zadeh, H. R., and Rajali, F. (2018). Effects of mycorrhizal fungi on the pathogenicity factors of the root-knot nematode (*Meloidogyne incognita*) and histopathological changes in resistant and susceptible cucumber cultivars. *Applied Research in Plant Protection*, 7(4). [In Persian]

Khalighi, S., Khodakaramian, G., Tanhamaafi, Z., Hosseinizadeh, A., and Ghasemi, A. (2010). Inhibition of *Meloidogyne javanica* gall formation on tomato by fluorescent pseudomonads under greenhouse conditions. *Journal of Plant Pests and Diseases*, 78(2), 177–198. [In Persian]

English Wikipedia. (December 26, 2011).

Daneshvar, M. (2010). *Vegetable Cultivation* (Vol. 1, 6th ed.). Shahid Chamran University Press, Ahvaz, pp. 111–161. [In Persian]

Online Agriculture Website. (2018).

Sarafraz Niko, F., Sahebani, N., and Aminian, H. A. (2010). Effect of *Pseudomonas fluorescens* CHA0 on the pathogenicity of the root-knot nematode *Meloidogyne javanica*. Abstracts of the 19th Iranian Plant Protection Congress, p. 578. [In Persian]

Salgi, M., Heydari, A., Rezaei, S., Taheri, L., and Sabbaghi, A. (2011). Comparison of some vegetative traits and yield of different greenhouse cucumber cultivars under pot-culture conditions. *Proceedings of the Seventh Iranian Horticultural Science Congress*, Isfahan University of Technology, pp. 1359–1362. [In Persian]

Siahpoosh, S., Sahebani, N., and Rahimian, H. (2010). Integrated application of *Bacillus subtilis* and salicylic acid against the root-knot nematode *Meloidogyne javanica* on cucumber. 19th Iranian

Plant Protection Congress, Tehran, Iran, Iranian Research Institute of Plant Protection, August 9–12, p. 638. [In Persian]

Sahebani, N., Hadavi, N. S., and Rostaie, A. (2006). Biological control of the root-knot nematode *Meloidogyne* using *Trichoderma viride*. *Iranian Journal of Agricultural Sciences*, 37(3), 145–152. [In Persian]

Salahi Ardakani, S., and Hosseinizadeh, S. A. (2011). Application of yarrow, chinaberry, and neem for the control of the root-knot nematode (*Meloidogyne incognita*). *Plant Disease Science*, 1(1), 14–26. [In Persian]

Ebadi, M., Riahi, H., and Fatemi, S. (2010). Investigation of the nematicidal properties of culture extracts of *Pochonia chlamydosporia* var. *chlamydosporia* isolates against *Meloidogyne javanica*. Abstracts of the 19th Iranian Plant Protection Congress, p. 588. [In Persian]

Abbasi, E., and Mousavi, S. M. R. (2014). Investigation of the possibility of inducing biochemical defense responses in squash against the root-knot nematode (*Meloidogyne javanica*) using the antagonistic fungus *Purpureocillium lilacinus*. Islamic Azad University, Marvdasht Branch, Faculty of Agriculture and Natural Resources. [In Persian]

Abdollahi, M. (2015). Response of ten greenhouse cucumber cultivars to the root-knot nematode *Meloidogyne javanica*. *Journal of Plant Breeding and Seed Science*, 1–31(1). [In Persian]

Alioun, J. (2018). Nematodes. *Modern Agriculture Magazine*. [In Persian]

Ghaderi, A. (2011). *Vegetable Cultivation: Course Notes*. Faculty of Agriculture, Jundi Shapur University, Ahvaz. [In Persian]

Golmirzaei, N., Mousavi, S. M., and Mohammadi, S. (2012). Effects of extracts from five isolates of three major antagonistic fungi on the mortality of second-stage juveniles of the sugar beet cyst nematode *Heterodera schachtii* under laboratory conditions. Third National Conference on Agricultural Sciences and Food Industries, Fasa. https://civilica.com/doc/243217 [In Persian]

Mohammadi, S. (2009). *Principles and Methods of Diagnosis in Mycology*. Ganjineh Elm Publications. [In Persian]

Plant Protection Management, Control Program Development and Compilation Division. (2009). Root-knot nematode. Plant Protection Management website, Quarantine Section. www.ppo.ir [In Persian]

Mokhtari, S., Sahebani, N., and Etebarian, H. R. (2009). Investigation of biological control and systemic induction of peroxidase enzyme activity in tomato plants infected with the root-knot nematode *Meloidogyne javanica* by the antagonistic bacterium *Pseudomonas fluorescens* CHA0. *Journal of Agriculture*, 11(1), 151–161. [In Persian]

Maleki Ziarati, H., Sahebani, N., and Etebarian, H. R. (2012). Biological control and systemic induction of peroxidase and polyphenol oxidase enzymes by *Trichoderma harzianum* in tomato plants infected with *Meloidogyne javanica*. *Journal of Biological Control of Plant Pests and Diseases*, 1, 61–72. [In Persian]

Maleki Ziarati, H., Rostaie, A., Sahebani, N., Etebarian, H. R., and Aminian, H. (2009). Investigation of the potential for biological control of the root-knot nematode *Meloidogyne javanica* using *Trichoderma harzianum* under greenhouse conditions and quantitative changes in phenolic compounds in the plant. *Journal of Plant Breeding and Seed Science*, 25(2–3), 261–274. [In Persian]

Mousavi, S. M. R., Shakeri, S., and Mohammadi, S. (2015). Individual and combined effects of five nematophagous fungi on *Meloidogyne javanica* in eggplant. *Iranian Journal of Plant Protection Science*, 64(1), p. 139. [In Persian]

Mousavi, M., Fatemi, S., Zare, R., and Zamani-Zadeh, H. (2017). Evaluation of the pathogenicity of different isolates of *Pochonia chlamydosporia* var. *chlamydosporia* against the root-knot nematode (*Meloidogyne javanica*) under laboratory conditions. *Journal of New Agricultural Science*, 3(8), 81–91. [In Persian]

Anonymous (2013) Statistical yearbook of the food and agriculture organization of the United Nations. Food and Agriculture Organization of the United Nations, Rome, Italy.

Askarian, H. 2007. Genetic diversit y of various populat ions of root knot nematode (Meloidogyne sp.) on Pistachio trees using host different ial test and molecular marker in Kerman province. MSc. Thesis, Submitted to Isfahan Universit y of Technology, Iran.

Bourne JM, Kerry BR, De Leij FAAM, 1996, The importance of the host plant on the interaction between root-knot nematodes (Meloidogyne spp.) and the nematophagous fungus Verticillium chlamydosporium Goddard. Biocontrol Sci Technol., 6:539–548.

Cumagun, C.J.R. & Moosavi, M.R., 2015, Significance of biocontrol agents of phytonematodes. In T.H. Askary & P.R.P. Martinelli (Eds.), Biocontrol agents of phytonematodes. (pp. 50–78) CABI Publishing.

De Leij, F. A. A. M., and B. R. Kerry.,1991, The nematophagous fungus Verticillium chlamydosporium as a potential biological control agent for Meloidogyne arenaria. Revue de Nématologie., 14: 157–64.

Dhawan, S.C., and Singh, S. 2015. Biomanagement of root-knot nematode, Meloidogyne incognita by egg parasitic fungus, (Pochonia chlamydosporia) on Okra. Vegetable Science, 38(2): 128-134.

Duddington,C.L.,1955, Notes on the techniques of handling predacious fungi,transaction of the british mycological society.

Eisenback, J.D. and Triantaphyllou, H.H. (1991). Root-knot nematodes: Meloidogyne species and races. In: W. R. Nickle (ed.), Manual of Agricultural Nematology (pp: 191-274). Marcel Dekker, Inc. New York, USA.

Endo, B.Y. and Veech, J.A. (1969). The histochemical localization of oxidoreductive enzymes of soybean infected with the root-knot nematode, Meloidogyne incognita acrita. Phytopathology, 59: 418-425.

Endo, B.Y. and Wergin, W.P. (1973). Ultrastructural investigation of clover roots during early stages of infection by the root knot nematode, Meloidogyne incognita. Protoplasma, 78: 365-379.

Gokhan, A. and Sevilhan, M. (2014). Effect of some plant extracts on (Meloidogyne arenaria neal, (1889) Tylenchida: Meloidogynidae) and Tomato. Turkish Jornal of Entomology, 38(3): 323-332.

Hallman, J. and Sikora, R.A. (1995). Occurrence of plant parasitic nematodes and nonpathogenic species of Fusarium in tomato plants in Kenya and their role as mutualistic synergists for biological control of root-knot nematodes. International Journal of pest management, 40: 321-325.

Hallmann, J., Rodrı´guez-Ka´ bana, R., Kloepper, J.W., 2009, Chitin-mediated changes in bacterial communities of the soil, rhizosphere and within roots of cotton in relation to nematode control. Soil Biol. Biochem., 31, 551–560.

Hartman KM, Sasser JN., 1985, Identification of Meloidogyne species on the basis of differential host test and perineal-pattern morphology. In: Barker KR, Carter CC, Sasser JN (eds) An advanced treatise on Meloidogyne, Vol II. North Carolina State University, Raleigh., pp 69–77.

Hartman, K.M. and Sassre, J.N. (1985). Identification of Meloidogyne species on the basis of differential host and perineal-pattern morphology. In: K. R. Barker., C. C. Carter and J. N. Sasser (Eds.), An advanced treatise on Meloidogyne (pp. 69-77) A Cooperative publication of the department of plant pathology and the unitedStates agency for international development. North Carolina State University Graphics, Raleigh, North Carolina. 223pp.

Hay, F.S. and Bateson L., 2004, Biological control of clover cyst nematode (Heterodera trifolii) with fungi parasitic to nematodes of their eggs. Phytopathology., 152(7,8) , 514-518.

Hunt, D.J. and Handoo, Z.A. (2009). Taxonomy, identification and principal Species. In: R.N. Perry, M. Moens and J.L. Starr (Eds.), Root-knot nematodes (pp. 55-97). CAB International, Wallingford, UK, 488pp.

Hussain, M.A., Mukhtar, T. and Kayani, M.Z. (2011). Efficacy evaluation of Azadirachta indica, Calotropis procera, Datura stramonium and Tagetes erecta against root-knot nematodes Meloidogyne incognita. Pakistan Journal of Botany, 43: 197-204.

Hussey, R.S. and Barker, K.R. (1973). A comparison of methods of collecting inoculum of Meloidogyne spp. including a new techniqne. Plant Disease Reporter, 57: 1025-1028.

Janisiewicz W. J., Tworkoshi T. J. and Kurtzman C. P. 2001. Biocontrol potential of Metschnikowia pulcherrima strains against blue mold of apple. Journal of Phytopathology 91: 1098-1108.

Jatala, P. (1986). Biological control of plant parasitic nematodes. Annual Review of Phytopathology, 24: 453-489.

Jepson, S.B. 1987. Identification of root-knot nematodes (Meloidogyne species). CAB. International, Wallingford, UK. pp 265.

Jonathan, E.I., Barker, K.R., Abdel Alim, F.F., Vrain, T.C. and Dickson, D.W. (2000). Biological control of Meloidogyne incognita on tomato and banana with rhizobacteria, Actinomyces and Pasteuria penetrans. Nematropica, 30: 231-240.

Jonathan, E.I., Sandeep, A., Cannayane, I. and Umamaheswari, R. (2006). Bioefficacy of Pseudomonas fluorescens on Meloidogyne incognita in banana. Nematologia Mediterranea, 34: 19-25.

Kavari M., Mahdikhani Moghadam E. and Rouhani H. 2015. Survey on chitinase production by several isolates of Trichoderma and its biological control effect on tomato root-knot nematode Meloidogyne javanica. Iranian Journal of Plant Protection 29: 123-133. (In Persian with English Summary).

Kerry BR, Kirkwood IA, de Leij FAA.,1993, Growth and survival of Verticillium chlamydosporium Goddard, a parasite of nematodes, in soil. Biocontrol Sci Technol., 3, 355–365.

Kerry, B. R., and Evans K., 1996, New strategies for the management of plant parasitic nematodes. pp 134–152. In: Hall R. (ed.), Managing soilborne plant pathogens APS Press.

Lopez-Llorca.L.V & Duncan.J.M., 1990, study of fungal endoparasitism of the cereal cyst nematode (Heterodera avenae) by scanning electron microscopy, Canadian Journal of Microbiology, 34, 613-6

Meyer .S.L.F.Huettel.R.N. & Sayre .R.M, Isolation off fungi from Heterodera glycines and invitro bioassays for their antagonism to eggs, Journal of Nematology, 22, 221-234.

Meyer, S.L. F., Zasada, I.A., Roberts, D.P., Vinyard, B.T., Lakshman, D.K., Lee, J. chitwood, D. J. and Carta, L.K. (2006). Plantago lanceolata and plantago rugelii extracts are toxic to Meloidogyne incognita but not to certain microbes. Journal of Nematology, 38(3): 333-338.

Moosavi MR,Zare R,Zamanizadeh HR, Fatemy S., 2016, Pathogenicity of Pochonia species on eggs of Meloidogyne javanica. J Invertebr Pathol., 104, 125–133.

Moosavi, M. R. & Askary, T. H., 2015. Nematophagous fungi- Commercialization. In T.H. Askary & P.R.P. Martinelli (Eds.), Biocontrol agents of phytonematodes. (pp. 423–445) CABI Publishing. 27.

Moosavi, M. R. & Zare, R., 2012. Fungi as biological control agents of plant-parasitic nematodes. In: J. M. Merillon & K. G. Ramawat (Eds.), Plant defence: Biological control, Progress in Biological Control 12. (pp: 67–107). Springer Science + Business Media.

Naserinasab F., Sahebani N. and Etebarian H. R. 2013. Induction of plant defense response against root-knot nematode Meloidogyne javanica in tomato by Trichoderma harzianum BI. Journal Management System 1(4): 1-12. (In Persian with English Summary).

Nico, A.I., Jime´nez-Dı´az, R.M., Castillo, P.,2004, Control of root-knot nematod.

Olivares-Bernabeu, C.M., and Lopez-Liorca, L.V. 2018. Fungal egg-parasites of plant-parasitic nematodes from Spanish soils. Revista Iberoamericana de Micologia, 19: 104-110.

Sasser, J. N. (1979). Economic importance of Meloidogyne in tropical countries. . In: F. Lamberti and C.E. Taylor (eds.), Root-knot Nematodes (Meloidogyne species): Systematics, Biology and Control (pp. 359-374) Academic Pressure London, UK. 477pp.

Sharon, E., M. Bar-Eyal, I. Chet, A. Herrera-Estrella, O. Keleifed and Y., 2001, Spiegel. Biological control of the root knot nematode Meloidogyne javanica by Trichoderma harzianum. Phytopathology., 97, 687-693.

Sorribas FJ, Ornat C, Galeano M., 2003, Evaluation of a native and introduced isolate of Pochonia chlamydosporia against Meloidogyne javanica. Biocontrol Sci Technol .,13, 707–714

Sun, M.H., Gao, L., Shi, Y.X., Li, B.J. & Lio, X.Z. 2006. Fungi and actinomycetes associated with Meloidogyne spp. eggs and females in China and their biocontrol potential. Journal of Invertebrate Pathology, 93: 22- 28

Van Loon L. C. and Vanstrien E. A. 1998. The families of pathogenesis–related proteins, their activities and comparative analysis of PR-1 type proteins. Journal of Physiological and Molecular Plant Pathology 55: 85-97.

Warzybok, A., & Migocka, M. (2013). Reliable reference genes for normalization of gene expression in cucumber grown under different nitrogen nutrition. PloS one, 8(9), e72887. https://doi.org/10.1371/journal.pone.0072887Stirling, G. A., 1991, Biological control of plant parasitic nematodes. CAB International, Wallingford., UK.

Yang ,J., Huang, X., Tian, B. , Wang, M. , Niu, Q and Zhang, K., 2005, Isolation and Characterization of a Serine Protease from the Nematophagous Fungus, Lecanicillium psalliotae, Displaying Nematicidal Activity, Springer(Biotechnology letters).,27, 1123-1128.

Yang, J., Loffredo, A., Borneman, J., and Becker, J. 2012. Biocontrol efficacy among strains of Pochonia chlamydosporia obtained from a root-Knot nematode suppressive soil. Nematology, 44: 67-
Dourado, D. P., Lima, F. S. and Muraishi, C.T. (2013). Nematicidal activity In vitro and In vivo of neem oil on Meloidogyne incognita. Brazilian Journal of Applied Technology for Agricultural Science, 6: 63-68.