مقاله پژوهشی

تأثیر قارچ‌های میکوریز آربوسکولار، *Glomus mosseae* و*G. intraradices* و قارچ‌های آنتاگونیست *Pochonia chlamydosporia* var. *chlamydosporia* و *Purpureocillium lilacinum* بر شاخص‌های بیماریزایی و تکثیر *Meloidogyne javanica* در سه پایه هلو در شرایط گلخانه*

اکرم عبداللهی ارجنکی[۱]، ناصر پنجه‌که[۲]، علی‌اکبر فدایی تهرانی[۳]**، محمد سالاری[۴] و عبدالحسین طاهری[۵]

(تاریخ دریافت: ۱۳۹۸/۸/۷؛ تاریخ پذیرش: ۱۳۹۹/۳/۱۰)

چکیده

کنترل زیستی یکی از روش‌هایی است که برای کاهش خسارت نماتدها به طور وسیع مورد مطالعه قرار گرفته است. به منظور بررسی اثر قارچ‌های مهار زیستی بر شاخص‌های بیماریزایی و تکثیر نماتد ریشه‌گرهی *Meloidogyne javanica*، از دو گونه قارچ میکوریز آربوسکولار *Glomus mosseae*، *G. intraradices* و قارچ‌های *Pochonia chlamydosporia* var. *chlamydosporia* و *Purpureocillium lilacinum* در سه رقم پایه هلو (هلندری، محلی شوراب ۳ و GF677) استفاده شد. آزمایش به صورت فاکتوریل در قالب طرح کاملاً تصادفی در ۳۰ تیمار و پنج تکرار در شرایط گلخانه انجام پذیرفت. ارزیابی‌ها ۹۰ روز بعد از مایه‌زنی پایه‌های رویشی با نماتد و با استفاده از اندازه‌گیری شاخص-های رشدی گیاه، و پارامترهای رشدی نماتد انجام شد. نتایج حاصل از بررسی شاخص‌های تکثیری نماتد، نشان دهنده‌ی تأثیر معنی‌دار قارچ *P. chlamydosporia* var. *chlamydosporia* روی کاهش فعالیت زیستی نماتد، در مقایسه با سایر قارچ‌های کنترل زیستی بود. به نحوی که تعداد گال، توده تخم، لارو سن دوم و فاکتور تولید مثل در رقم حساس GF677 تیمار شده با این قارچ به ترتیب ۴۲/۲، ۴۱/۸، ۳۹ و ٦/٣٦ درصد نسبت به شاهد این رقم بدون حضور قارچ کاهش یافت. هر چند قارچ مذکور روی تمام مراحل رشدی نماتد مؤثر بود، ولی در کاهش تعداد توده تخم و تعداد تخم در هر توده تخم، تأثیر بیشتری نشان داد.

کلیدواژه: پایه هلو ، مهار زیستی، نماتد ریشه‌گرهی

---

* محل انجام تحقیق: آزمایشگاه تحقیقانی بیماری شناسی گیاهی دانشگاه شهرکرد، مقاله مستخرج از پایان نامه دکترای تخصصی به راهنمایی آقایان دکتر ناصر پنجه‌که و دکتر علی اکبر فدایی تهرانی

**مسئول مکاتبات، پست الکترونیکی: ma_fadaei@yahoo.com

۱. دانشجوی دکترای بیماری شناسی گیاهی، دانشکده کشاورزی،دانشگاه زابل

۲. دانشیار گروه گیاهپزشکی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه زابل

۳. دانشیار گروه گیاهپزشکی ، دانشکده کشاورزی، دانشگاه شهرکرد

۴. دانشیار گروه گیاهپزشکی ، دانشکده کشاورزی، دانشگاه زابل

۵. دانشیار مرکز هیاتهای امنا و هیاتهای ممیزه وزارت علوم، تحقیقات و فناوری

Effect of arbuscular mycorrhizal fungi, *Glomus mosseae* and *G. intraradices* and antagonistic fungi *Pochonia chlamydosporia* var. *chlamydosporia* and *Purpureocillium lilacinum* on disease indices and reproduction rate of *Meloidogyne javanica* in three peach rootstocks under greenhouse conditions

A. Abdollahi-Arjenaki[1], N. Panjehkeh[2], A.A. Fadaei-Tehrani3[*], M. Salari[4], and A. H. Taheri[5]

(Received: 19.1.2019; Accepted: 4.5.2019)

Abstract

Biocontrol is one of the methods widely studied to reduce nematode damage. The biological control efficacy of two arbuscular mycorrhizal fungi, *Glomus mosseae* and *G. intraradices* and two antagonistic fungi, *Pochonia chlamydosporia* var. *chlamydosporia* and *Purpureocillium lilacinum* on disease indices and reproduction rate of root-knot nematode, *Meloidogyne javanica* were studied on three local cultivars of peach rootstocks namely Helendri, Shorabi3 and Gf677. The experiment was conducted as a factorial experiment in a completely randomized design with 30 treatments and five replications under greenhouse conditions. Evaluations were performed 90 days after nematode inoculation by measuring the plant growth parameters and growth and reproduction rate of *M. javanica*. Results of nematode reproduction indices showed more effect of *P. chlamydosporia* var. *chlamydosporia* on reduction of nematode biological activity than other biocontrol fungi. The number of galls, egg masses, second stage juveniles and reproduction factor in GF677 treated with this fungus decreased comparing to control, as 42.2, 41.8, 39 and 6.36 percent, respectively. Although the fungus was effective on all stages of nematode development, but the number of egg masses and number of eggs per egg mass were more affected.

Keywords: Biocontrol, Peach rootstocks, Root-knot nematode

*Corresponding author's E-mail: ma_fadaei@yahoo.com

1. PhD student of plant pathology. College of agriculture. Science and Research Unit of Zabol University. Zabol, Iran.
2. Associate Prof. for plant pathology, Plant Protection Dep., Faculty of Science and Agricultural Engineering. University of Zabol. Zabol. Iran.
3. Associate Professor, Plant Protection Department, Faculty of Agriculture, Shahrekord University, Shahrekord, Iran, ma_fadaei@yahoo.com
4. Associate Prof. for plant pathology, Plant Protection Dep., Faculty of Science and Agricultural Engineering.University of Zabol. Zabol. Iran.
5. Associate Professor of the Center for Board of Trustees and Audit Boards of the Ministry of Science, Research and Technology.

مقدمه

هلو با نام علمی (*Prunus persica* L. Batsch) یکی از میوه‌های هسته‌دار مهم متعلق به خانواده‌ی گل سرخیان (Rosaceae) است که به دلیل مصارف متعدد آن اهمیت اقتصادی بالایی در تأمین نیازهای غذایی و سلامت انسان دارد. تولید سالانه آن در جهان حدود ۲۱/۵ میلیون تن است که ایران با تولید ۵۹۱ هزار تن، مقام اول منطقه خاورمیانه و رتبه پنجم دنیا را به خود اختصاص داده است (FAO 2012). پرورش و تولید هلو مانند سایر محصولات باغی با عوامل محدودکننده‌ی متعددی روبه‌رو می‌باشد. عوامل بیماری‌زای گیاهی (قارچ‌ها، باکتری‌ها، نماتدها و ویروس‌ها) از مهم‌ترین عوامل خسارت‌زای آن به شمار می‌روند. در میان نماتدهای انگل گیاهی، نماتدهای ریشه-گرهی (*Meloidogyne* spp.)، از مهمترین نماتدهای انگل داخلی اجباری هستند که به طیف وسیعی از گیاهان از جمله به درختان هلو خسارت زیادی وارد می‌کنند (Mckenry 1985). نماتدهای ریشه‌گرهی با کاهش رشد و قدرت گیاه، باعث زوال زودرس درختان هلو (دو سال بعد از کاشت) می‌شوند (Nyczepir *et al.* 1993). انتشار جهانی، دامنه میزبانی وسیع و تعامل با سایر بیمارگرها (بیماری های کمپلکس)، نماتدهای ریشه‌گرهی را در رده مهم‌ترین عوامل بیماریزای گیاهی قرارداده است (Jones *et al.* 2013). به همین دلیل کشاورزان برای کنترل آنها به روش‌های مختلفی متوسل شده‌اند. با این حال کنترل این نماتدها عمدتاً بر پایه استفاده از ترکیبات شیمیایی استوار بوده که علاوه بر افزایش هزینه تولید، سبب آلودگی‌های فراوان زیست محیطی می‌گردد (Moosavi & Zare 2015). در سالهای اخیر مهار زیستی نماتدها به دلیل سازگاری با محیط زیست مورد توجه زیادی قرار گرفته است (Davies & Spiegel 2011). هر چند عوامل زنده مختلفی قابلیت کنترل زیستی نماتدهای پارازیت گیاهی را دارند، ولی توان و کارایی آنها با هم متفاوت است. قارچهای میکوریز آربوسکولار (arbuscular mycorrhizal fungi, AMF) از جمله عواملی هستند که اثر آنها بر افزایش رشد گیاهان از طریق بالا بردن جذب عناصر غذایی همچون فسفر به اثبات رسیده است. علاوه بر این در تعدادی از مطالعات انجام شده به اثر آنها در کاهش بیماری‌های گیاهی مختلف و از جمله نماتدها، اشاره شده است (Linderman 2000; Pandey 2013; Barea *et al.* 2002). در یک مطالعه گلخانه‌ای افزایش رشد درختان هلو آلوده به نماتد *M. incognita* به واسطه حضور دو گونه قارچ *Glomus etunicatus* و *Gigaspora margarita* نسبت به عدم حضور قارچ‌های مذکور مشاهده شده است (Strobel 1982). تأثیر قارچ *Pochonia chlamydosporia* var. *chlamydosporia* بعنوان یک عامل کنترل زیستی (Kerry *et al.* 1984) و *Purpureocillium lilacinum* (قارچ گندروی فرصت‌طلب) بصورت انگل تخم و ماده های بالغ نماتدهای ریشه‌گرهی، در کنترل این گروه از نماتدها به اثبات رسیده است (Jatala 1986). در بررسی چند جدایه از قارچ *P. chlamydosporia* علیه *M. javanica* در شرایط آزمایشگاهی، تمام جدایه‌های مورد بررسی توان کلونیزه و پارازیته کردن (۳۹/۹ تا ۹۰/۲ درصد) تخم نماتد *M. javanica* را، نشان دادند (Moosavi *et al.* 2010). همچنین بررسی تأثیر یک جدایه *P. lilacinum* روی نماتد ریشه‌گرهی *M. javanica* در گیاه گوجه‌فرنگی در شرایط گلخانه‌ای نشان داد که این جدایه روی کاهش تعداد گال و خسارت نماتد ریشه‌گرهی و افزایش شاخص‌های رشدی گیاه آلوده به نماتد تأثیر بسزایی دارد (Ganaie & Ahmadkhan 2010). با توجه به

خسارت نماتد ریشه‌گرهی به درختان هلو و محدودیت بسیاری از روش‌های مبارزه با آن، هدف از این پژوهش ارزیابی عوامل مهار زیستی بر کنترل نماتد ریشه‌گرهی *M. javanica* در پایه‌های مختلف هلو و بررسی شاخص‌های رشدی آنها در شرایط گلخانه‌ای بود.

مواد و روش‌های بررسی

تهیه پایه‌های مختلف هلو

به منظور یکسان سازی مراحل رشدی پایه‌های بذری هلو با قلمه‌های ریشه‌دار شده سایر پایه‌ها، بذور هلو ابتدا ضدعفونی سطحی و به مدت یک هفته در آب خیسانده شده و بعد از خشک کردن آنها، به مدت یک ماه در دمای ۵ درجه سلسیوس سرمادهی شدند. سپس بذرها در عمق ۶ تا ۸ سانتیمتری گلدان‌های پلاستیکی به قطر ۱۳ و ارتفاع ۲۰ سانتی‌متر، حاوی مخلوط خاک، ماسه و پرلایت با نسبت حجمی۱:۱:۲ (که قبلاً با گاز متیل بروماید به میزان ۱۵۰ گرم در مترمکعب خاک ضدعفونی شده بود) کشت گردید. هنگامی که نهال‌ها ارتفاعی حدود ۳۰ سانتی‌متر پیدا کردند قلمه‌های ریشه‌دار شده GF677، هیبرید محلی هلو × بادام شورابی ۳ با ارتفاع ۳۰ سانتی‌متر از مرکز تولید پایه‌های رویشی بادام در منطقه سامان استان چهارمحال و بختیاری تهیه و به گلدان‌های مشابه منتقل شدند. گلدان‌ها تا قبل از اضافه نمودن زادمایه‌ها به مدت یک ماه در شرایط گلخانه دانشگاه شهرکرد با دمای ۲۰ تا ۲۵ درجه سلسیوس، رطوبت نسبی ۶۰-۸۰ درصد و دوره نوری (۱۳ ساعت روشنایی، ۱۱ ساعت تاریکی) نگهداری و آبیاری منظم دو مرتبه در هفته انجام گرفت.

شناسایی و تهیه جمعیت نماتد ریشه‌گرهی

به منظور تهیه مایه تلقیح نماتد، ابتدا از باغات هلو مشکوک به آلودگی واقع در شهرستان سامان استان چهارمحال و بختیاری تعدادی نمونه‌ی ریشه‌ی آلوده همراه خاک اطراف آنها جمع‌آوری و به آزمایشگاه منتقل گردید. سپس توده‌های تخم موجود روی ریشه جدا و در ظروف جداگانه قرار داده شدند. جهت تکثیر و تولید جمعیت خالص نماتد، تخم‌های هر یک از توده‌های تخم جدا شده مطابق روش هوسی و بیکر (۱۹۷۳) استخراج و یک هفته بعد از انتقال نشاء گوجه‌فرنگی دو تا چهار برگی رقم حساس فلات، در کنار ریشه آن قرار گرفت (Hussey & Baker 1973). گیاهان مذکور در شرایط گلخانه در دمای ۲۸-۲۵ درجه سلسیوس و ۱۴ ساعت روشنایی با آبیاری مناسب (دوره سه روزه) نگهداری و اجازه داده شد حداقل سه نسل نماتد طی شود تا جمعیت کافی برای آزمایش از یک توده تخم حاصل گردد. برای تعیین گونه نماتد، بعد ازگذشت سه ماه بعضی از ریشه‌های آلوده از خاک خارج و پس از شستشو با آب، در زیر میکروسکوپ تشریح تعدادی از ماده‌های بالغ از بافت خارج و پس از تثبیت و آبگیری، از الگوی شبکه کوتیکولی انتهای بدن آنها اسلایدهای دائمی تهیه گردید. سپس خصوصیات ریخت‌سنجی و ریخت‌شناسی ماده‌ها و لاروهای سن دوم بررسی و اندازه‌گیری شد. جهت بررسی الگوی شبکه کوتیکولی انتهای بدن پس از آماده‌سازی ماده‌ها در اسید لاکتیک از قسمت انتهایی آنها برش عرضی تهیه گردید (Taylor & Netscher 1974). برای افزایش دقت در شناسایی، از خصوصیات مولکولی نماتدها نیز استفاده شد. به این منظور DNA از مراحل مختلف رشدی نماتد به روش سیلوا و همکاران استخراج گردید. برای انجام واکنش زنجیره‌ای پلیمراز، از دو جفت آغازگر اختصاصی OPAFjav / OPARjav و Mjavf / Mjavr، استفاده شد (Silva *et al.* 2000).

تهیه زادمایه قارچ‌های میکوریز آربوسکولار

زادمایه قارچ‌های میکوریز گونه‌های *G. mosseae* Trappe & Gerdemann و *G. intraradices* Shenck. & Smith از شرکت زیست‌فناور توران تهیه گردید و به روش کشت گلدانی تله (culture trap) روی شبدر سفید (*Trifolium subterraneum* L.) تکثیر گردید (Roserwarne *et al.* 1997). بدین ترتیب که بذرهای شبدر سفید بعد از ضدعفونی سطحی با هیپوکلریت سدیم یک درصد در گلدان‌های حاوی مخلوط ۱۰٪ وزنی زادمایه قارچ میکوریز در ماسه سترون کشت گردیدند و جهت تکثیر به مدت چهار ماه در شرایط گلخانه نگهداری شدند. در این مدت از محلول غذای بدون فسفر (هوگلند) جهت تغذیه گیاهان استفاده شد (Rezaee Danesh *et al.* 2007) که هفته‌ای دوبار به میزان ۳۰۰ میلی لیتر، به آب آبیاری هر گلدان اضافه شد. قبل از برداشت زادمایه و به منظور ایجاد تنش برای تحریک قارچ به اسپورزایی بیشتر، بخش‌های هوایی و سبز گیاهان قطع و گلدان‌ها به مدت یک ماه در شرایط خشک (بدون آبیاری) نگهداری شدند (Menge *et al.* 1984). به منظور اطمینان از خلوص قارچ‌ها و کلنیزه شدن ریشه‌ها، رنگ‌آمیزی ریشه‌های گیاهی انجام (Phillips & Hyman 1974) و بررسی میکروسکوپی جهت مشاهده اندام‌های مختلف قارچی (وزیکول، آربسکول و اسپور) صورت گرفت.

تهیه زادمایه قارچ‌های *P. chlamydosporia* var. *chlamydosporia* و *P. lilacinum*

قارچ *P. chlamydosporia* var. *chlamydosporia* (Goddard) Zare & Gams IRAN 1123C از مؤسسه تحقیقات گیاهپزشکی کشور تأمین و سپس جهت تهیه زادمایه قارچ از محیط کشت دانه جو استفاده گردید. بدین ترتیب که ابتدا ۱۵۰ گرم دانه جو پس از شستشو همراه ۲۵ میلی‌لیتر آب مقطر به هر فلاسک ۵۰۰ میلی‌لیتری منتقل گردید و پس از درزگیری درب آنها، به مدت ۲۰ دقیقه درون اتوکلاو با دمای ۱۲۱ درجه سلسیوس و فشار یک اتمسفر سترون شدند. بعد از خنک شدن، هر فلاسک با چهار قطعه زادمایه قارچی با قطر پنج میلی‌متر (کشت قارچ روی PDA) مایه‌زنی و به مدت ۴ هفته در دمای ۲۵ درجه‌ی سلسیوس نگهداری شدند. برای تکثیر یکنواخت قارچ، با تکان دادن فلاسک‌ها در فواصل زمانی پنج روزه، محتوای آنها مخلوط گردید (De Leij *et al.* 1993). از زادمایه تهیه شده به نسبت یک درصد (وزنی) در خاک بستر (۳۰ گرم مایه قارچ رشد درسه کیلوگرم خاک سترون گلدان) استفاده شد (Moosavi *et al.* 2010). قارچ *P. lilacinum* (Thom) Samson نیز از گروه بیماری‌شناسی دانشگاه شهرکرد تهیه، و به روش فوق روی دانه گندم تکثیر گردید.

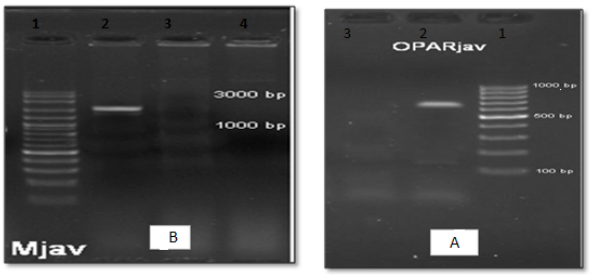
بررسی تأثیر قارچ‌های میکوریز آربوسکولار و قارچ‌های *P. chlamydosporia* var. *chlamydosporia* و *P. lilacinum* بر بیماریزایی و تکثیر نماتد روی پایه‌های هلو

بررسی تأثیر عوامل قارچی بر نماتد ریشه‌گرهی روی پایه‌های هلو، با استفاده از سه عامل اصلی قارچ با پنج سطح (*G. mosseae*، *G. intraradices*، *P. chlamydosporia* var. *chlamydosporia*، *P. lilacinum* و بدون قارچ)، پایه هلو با سه سطح (هلندری،GF677 و هیبرید محلی هلو × بادام شورابی) و نماتد با دو سطح (۲۰۰۰ لارو و تخم بر کیلوگرم خاک بستر و بدون نماتد) مجموعاً با ۳۰ تیمار در پنج تکرار به صورت فاکتوریل در

قالب طرح کاملاً تصادفی در شرایط گلخانه انجام شد. پایه‌های مختلف هلو با رشد یکسان انتخاب و به گلدان‌های سه کیلویی یکسان منتقل شدند. قبل از انتقال نهال‌ها، زادمایه قارچ‌های میکوریزی به نسبت ۱۰٪ وزنی و زادمایه قارچ‌های آنتاگونیست نیز به نسبت وزنی ۱٪ با خاک بستر تیمارهای مربوطه مخلوط گردید. پس از استقرار پایه‌ها، مایه‌زنی با ۲۰۰۰ تخم به همراه لارو نماتد به ازای هر کیلوگرم خاک، در حفره‌های ایجاد شده در اطراف نهال‌ها انجام شد (Hussey & Baker 1973). گیاهان آزمایشی به مدت سه ماه در شرایط مناسب گلخانه با دمای ۲۰ تا ۲۵ درجه سلسیوس، رطوبت نسبی ۶۰-۸۰ درصد و دوره نوری (۱۳ ساعت روشنایی، ۱۱ ساعت تاریکی) و آبیاری منظم (دو بار در هفته)، نگهداری شدند. ارزیابی براساس شاخص‌های رشدی گیاه (ارتفاع، وزن‌تر و خشک اندام‌های هوایی، طول، وزن‌تر و خشک ریشه) و پارامترهای رشدی نماتد شامل تعداد گال، تعداد لارو سن دوم، تعداد توده تخم در ریشه گیاه و تعداد تخم در هر توده تخم و همچنین فاکتور تولیدمثلی(RF) بود. فاکتور تولیدمثلی نیز از تقسیم جمعیت نهایی (تعداد کل تخم و لارو موجود در ریشه و خاک گلدان) بر جمعیت اولیه (جمعیت مایه‌زنی شده) بدست آمد (Oostenbrink 1966). تجزیه و تحلیل داده‌ها به کمک نرم‌افزار آماری SAS 9.4 و مقایسه میانگین تیمارها نیز در تمام حالات توسط آزمون LSD و در سطح ۵٪ صورت گرفت.

نتایج و بحث

تشخیص گونه نماتد: انحنای نسبتاً کم کمان پشتی با شیارهای مشخص جانبی در الگوی شبکه کوتیکولی انتهای بدن در نماتد ماده و انطباق خصوصیات ریخت‌سنجی و ریخت‌شناسی لاروهای سن دوم با شرح اصلی گونه، و



شکل ۱. تکثیر قطعه ۶۷۰ و ۱۶۰۰ جفت بازی از ژنوم نماتد با آغازگرهای اختصاصی، چاهک ۲: DNA استخراج شده از نماتد *Meloidogyne javanica* ، چاهک ۳ : شاهد منفی

A۱- قطعه ۶۷۰ جفت بازی با جفت آغازگر OPARjav / OPAFjav

B- قطعه ۱۶۰۰ جفت بازی با جفت آغازگر Mjavf / Mjavr

Fig 1. Amplification of the 670 and 1600bp fragment from the genome of nematode with specific primers, lane 2: template DNA of *Meloidogyne javanica*, lane3: no template DNA control.
A.670 bp fragment with OPARjav / OPAFjav primers.
B.1600bp fragment with Mjavr / Mjavf primers.

تکثیر زنجیره‌های ۶۷۰ و ۱۶۰۰ جفت بازی به ترتیب با استفاده از جفت آغازگرهای OPARjav / OPAFjav (Zijlstra *et al.* 2000) و Mjavf /Mjavr (Dong *et al.* 2001) در واکنش زنجیره‌ای پلی‌مراز مؤید تعلق نماتد مورد استفاده به گونه *M. javanica* بود (شکل ۱).

تأثیر قارچ‌های مورد بررسی بر شاخص های بیماریزایی و تکثیر نماتد ریشه‌گرهی در پایه‌های هلو

ارزیابی نتایج این بررسی بر اساس پارامترهای تکثیر نماتد و شاخص‌های رشدی پایه‌های مورد بررسی انجام شد:

الف- شاخص‌های بیماریزایی و تکثیر نماتد: نتایج تجزیه واریانس (جدول ۱) پارامترهای تکثیر نماتد در تیمارهای مختلف نشان‌دهنده اثر معنی‌دار کاربرد عوامل بیوکنترلی بر خصوصیات مذکور در هر سه پایه مورد

جدول ۱. نتایج تجزیه واریانس شاخص‌های بیماریزایی و تکثیر *Meloidogyne javanica* در سه پایه هلـو مایـه‌زنـی شـده بـا *Glomus intraradices*، *Glomus mosseae*، *Pochonia chlamydosporia* و *Purpureocillium lilacinum*

Table 1. The results of analysis variance of disease indices and reproduction of *Meloidogyne javanica* in three peach rootstocks inoculated with *Glomus intraradices*, *Glomus mosseae*, *Pochonia chlamydosporia* and *Purpureocillium lilacinum*

		Mean squares				
Source of Variation	DF	No. gall/g root	No. egg masses/g root	No. eggs/ egg mass	No. J2s /100 g soil	Reproductive factor (RF)
Biocontrol agent	4	2558.6*	2188.2*	23805.8*	1994.5*	61.7*
Variety	2	342.8*	125.3*	2436.8*	174.7ns	1.5ns
agent ×variety	8	94.7*	249*	2983.6*	119.5*	1.6ns
Error	60	19.5	22.5	110.1	28.7	1
CV%		13.1	18	25.2	23.1	41.5

Data are means of five replicates

*: significant difference at 5%,. ns: no significant difference

جدول ۲. نتایج مقایسه میانگین شاخص‌های بیماریزایی و تکثیر *Meloidogyne javanica* در سه پایه هلو مایـه‌زنـی شـده بـا *Glomus intraradices*، *Glomus mosseae*، *Pochonia chlamydosporia* و *Purpureocillium lilacinum* در شرایط گلخانه

Table 2. Mean comparison of disease indices and reproduction of *Meloidogyne javanica* on three peach rootstocks inoculated with *Glomus intraradices*, *Glomus mosseae*, *Pochonia chlamydosporia* and *Purpureocillium lilacinum* in greenhouse conditions

Variety	Biocontrol agent	Nematode	No. gall/ g^{-1} root	No. egg masses/g root	No. eggs/ egg mass	No. J2s /100 g soil	Reproductive factor (RF)
H	0	+	48.6^{b}	41.4^{b}	84.6^{c}	38.2^{b}	5.72^{ab}
	Gm	+	31.2^{cfg}	14.6^{ef}	33.4^{ecd}	22.6^{c}	0.97^{fg}
	Gi	+	$48.1b^{c}$	28.8^{c}	29.4^{ed}	20.4^{cd}	3.02^{ecd}
	Po	+	9.4^{i}	7.2^{f}	0^{f}	12.4^{d}	$.06^{g}$
	Pa	+	28.6^{g}	18.8^{ef}	15.8^{ef}	15.4^{cd}	1.73^{efg}
Gf	0	+	61.6^{a}	56.2^{a}	165.8^{a}	55.2^{a}	6.44^{a}
	Gm	+	36.2^{edfc}	28.7^{c}	32.4^{ed}	22.6^{c}	2.13^{efd}
	Gi	+	39.8^{dc}	29.6^{c}	31.4^{ed}	23.4^{c}	2.86^{ecd}
	Po	+	19.4^{h}	14.4^{ef}	0^{f}	16.2^{cd}	$.08^{g}$
	Pa	+	32.6^{edfg}	15.6^{e}	31.4^{ed}	13.2^{d}	2.3^{efd}
SH	0	+	42.2^{bc}	38.4^{b}	72^{b}	35.2^{b}	4.42^{cb}
	Gm	+	31.2^{efg}	26.4^{cd}	46.8^{cd}	20.6^{cd}	1.71^{efg}
	Gi	+	36.8^{edc}	28.2^{c}	50.8^{c}	18.6^{cd}	3.51^{cd}
	Po	+	16.8^{hi}	17.2^{e}	0^{f}	16.4^{cd}	$.08^{g}$
	Pa	+	28.8^{fg}	18.8^{ed}	30.8^{ed}	15.8^{cd}	2.13^{efd}

Po*: Pochonia chlamydosporia*, Pa: *Purpureocillium lilacinum*, Gm*: Glomus mosseae* Gi: *Glomus intraradices*
H: Helenderi, SH: Shorabi, Gf: Gf 677
RF: The ratio of final population to initial population

با استفاده از آزمون LSD میانگین‌های با حروف مشابه در هر ستون در سطح ۵٪ تفاوت معنی‌داری ندارند، هر تیمار نیز میانگین پنج تکـرار مـی-باشد.

Values followed by the same letter in each column are not significantly different using LSD test ($P \leq 0.05$, n= 5)

بررسی بود. مقایسه میـانگین پارامترهـای رشـدی نماتـدی (جدول ۲) بین تیمارهای مختلف نیز مؤید وجـود تفـاوت معنی‌دار در اغلب آنها بود. بـه عنـوان مثـال حضـور تمـام قارچ‌های مورد بررسی باعث کاهش معنی‌دار تعداد گال در

یک گرم ریشه در هر سه پایه هلو گردید. با این حال میزان کاهش بین قارچ‌ها و پایه‌های مختلف متفاوت بود. به نحوی که بیشترین تعداد گال در گرم ریشه در رقم حساس GF677 بدون حضور قارچ عامل مهار زیستی (۶۱/۶ درصد) مشاهده شد. هر چهار گونه قارچ باعث کاهش معنی‌دار تعداد گال در این پایه گردیدند. با این حال بیشترین کاهش تعداد گال (۱۹/۴ درصد) مربوط به حضور قارچ *P. chlamydosporia* var. *chlamydosporia* بود که با گونه‌های دیگر تفاوت معنی‌دار نشان داد ولی سه گونه دیگر تفاوت معنی‌داری با هم نداشتند. علی‌رغم تفاوت معنی‌دار تعداد گال در پایه‌های هلندری (۴۸/۶) و هیبرید شورابی (۴۲/۲) با پایه GF677 و عدم تفاوت معنی‌دار بین این دو، نحوه تأثیر قارچ در کاهش تعداد گال روند مشابهی نشان داد. به عبارت دیگر تمام قارچ‌ها در دو پایه دیگر نیز باعث کاهش معنی‌دار تعداد گال گردیدند، ولی بیشترین کاهش مربوط به حضور قارچ *P. chlamydosporia* var. *chlamydosporia* بود که با قارچ‌های دیگر تفاوت معنی‌دار نشان داد. قارچ‌های مورد بررسی بر سایر پارامترها تأثیر تقریباً مشابهی را نشان دادند، به طوری که حضور قارچ *P. chlamydosporia* var. *chlamydosporia* در پایه‌های مختلف باعث از بین رفتن کامل تخم‌ها درون توده‌های مورد بررسی شد. نتایج حاصل بیانگر اثر معنی‌داری قارچ های مورد بررسی روی تمام مراحل تکثیری نماتد بود، که در این میان پارامترهای تعداد توده تخم و تعداد تخم در هر توده تخم بیشتر تحت تأثیر قرار گرفتند. در بین عوامل کنترل زیستی مورد بررسی نیز قارچ *P. chlamydosporia* var. *chlamydosporia* بیشترین تأثیر را در کاهش پارامترهای رشدی نماتد نشان داد. مکانیسم اثر قارچ *P. chlamydosporia* var. *chlamydosporia* روی تخم و لارو نماتد ریشه‌گرهی به تولید آنزیم‌های مختلف نسبت داده شده است (Chen & Dickson 2004). یکی از مهم‌ترین آنزیم‌هایی که مورد بررسی قرار گرفته تولید آنزیم کیتیناز CHI43 است که می‌تواند نقش نماتدکشی داشته باشد (Tikhonov *et al.* 2002). تولید و ترشح پروتئاز نیز توسط این قارچ گزارش شده است. آنزیم مذکور می‌تواند پروتئین‌های پوسته تخم نماتد ریشه‌گرهی را هیدرولیز نماید (De Leij *et al.* 1991). لازم به ذکر است که گرچه نتایج این بررسی نشان‌دهنده اثر کاهنده قارچ‌های مورد بررسی روی لارو سن دوم نماتد است ولی روند اثرات تا حدودی با اثر روی پارامترهای دیگر فرق دارد، به نحوی که بیشترین کاهش در هر سه پایه مربوط به حضور قارچ *P. lilacinum* بود که احتمالاً به علت تفاوت در مکانیسم اثر روی مراحل مختلف رشدی نماتد می‌باشد.

ب- شاخص‌های رشدی گیاه: نتایج حاصل از تجزیه واریانس فاکتورهای رشدی پایه‌های مورد بررسی ناشی از حضور قارچ‌های بیوکنترل در گیاهان غیرآلوده و آلوده به نماتد بیانگر اثر معنی‌دار قارچ‌های مذکور بود (جدول ۳). مقایسه میانگین شاخص‌های مختلف نیز نشان‌دهنده وجود اختلاف معنی‌دار بین اکثر تیمارهای مورد بررسی است. بدین ترتیب که آلودگی به نماتد در شرایط عدم حضور عوامل بیوکنترل باعث کاهش معنی‌دار شاخص‌های رشدی در تمام پایه‌های رویشی نسبت به تیمارهای دیگر گردید. به عنوان مثال کمترین وزن‌تر اندام هوایی به ترتیب در پایه GF677 (۱/۴گرم) و شورابی (۱/۷گرم) آلوده به نماتد مشاهده شد که با اکثر تیمارها تفاوت معنی‌دار داشتند. به عبارت دیگر آلودگی به نماتد باعث کاهش معنی‌دار وزن‌تر اندام‌های هوایی در تمام پایه‌های مورد بررسی گردید که بیشترین کاهش ارتفاع مربوط به رقم هلندری و کمترین آن مربوط به رقم شورابی بود. سایر شاخص‌ها نیز روند

جدول ۳. نتایج تجزیه واریانس شاخص‌های رشدی سه پایه هلو در تیمارهای مختلف مایه‌زنی شده بـا *Glomus intraradices*، *Glomus mosseae*، *Pochonia chlamydosporia* و *Purpurcillium lilacinum* و نماتد *Meloidogyne javanica*

Table 3. The results of analysis of variance of the growth parameters in three peach rootstocks in different treatments inoculated with *Glomus intraradices, Glomus mosseae, Pochonia chlamydosporia* and *Purourecillium lilacinum* and *Meloidogyne javanica*

Source of Variation	DF	Mean squares					
		Shoot height (cm)	Shoot fresh weight (g)	Shoot dry weight (g)	Root length (cm)	Root fresh weight (g)	Root dry weight (g)
Biocontrol agent	4	3413.6*	675.7*	141.5*	411.9*	671.6*	273.4*
Nematode	1	811.6*	162*	38.6*	586.5*	494.7*	251.4*
Variety	2	31733.5*	3192*	493.1*	586.9*	651.4*	333.8*
nematode× biocontrol agent	4	157*	93.6*	18.8*	42.1*	166.8*	124.8*
variety× biocontrol agent	8	1435.1*	241.6*	50.1*	155.2*	101.2*	79.1*
variety× nematode	2	362.9*	10.2ns	1.7ns	64.4ns	167.1*	62.3*
variety×nematode×biocontrol agent	8	217*	22.5*	5.8*	71.7*	40.5ns	29.9ns
Error	120	27.8	5	1.2	17	19.7	10.9
CV%		17.5	20.9	21.8	14.1	31.1	34.5

Data are means of five replicates
*: significant difference at 5%,. ns: no significant difference

مشابهی را نشان دادند به جز افزایش وزن‌تر و خشک ریشه که احتمالاً در نتیجه تشکیل گال فراوان در ریشه این تیمارها بود (Oyekanmi *et al.* 2007). همچنین نتایج این مطالعات نشان داده است که همزمان با ورود لارو سن دوم نماتد ریشه‌گرهی در ریشه، آنزیم پروتئاز ترشح می‌گردد که سبب شکستن پروتئین‌های گیاه میزبان به اسیدهای آمینه می‌شود. تمرکز اسیدآمینه به خصوص تریپتوفان که پیش نیاز تولید ایندول استیک اسید است موجب تجمع اکسین و عدم تعادل هورمونی در محل تغذیه‌ای نماتد می‌گردد. در این مکان به جای رشد طولی سلول‌های پارانشیمی پوست، رشد عرضی اتفاق می‌افتد و موجب هیپرتروفی و ایجاد گال در محل ورود لارو سن دوم می‌شود. بنابراین افزایش وزن‌تر و وزن خشک ریشه در اثر حمله نماتد ریشه‌گرهی به دلیل تشکیل گال می‌باشد. نتایج فوق با بررسی‌های انجام شده روی اثر متقابل نماتد ریشه‌گرهی با قارچ‌های بیوکنترل مطابقت داشت (Waceke *et al.* 2001; Rumbos *et al.* 2009; Sohrabi *et al.* 2017). از طرف دیگر جذب مداوم مواد غذایی گیاه و ایجاد اختلالات متعدد فیزیولوژیکی توسط نماتد از طریق ترشح آنزیم‌ها و هورمون‌ها، از اثرات عمومی نماتدها روی گیاهان مختلف ذکر شده است که موجب بر هم خوردن تعادل هورمونی، ایجاد ساختارهای سلولی موسوم به سلول‌های غول‌آسا و اختلال در جذب آب و مواد معدنی توسط ریشه و نهایتاً مختل شدن فرایند حیاتی فتوسنتز در اندام‌های هوایی می‌شود و بدنبال آن کاهش مواد غذایی قابل دسترس ریشه باعث اختلال رشد و کوتاهی ریشه‌ها در گیاهان آلوده به نماتد می‌گردد (Berg & Tylor 2008).

مقایسه میانگین قارچ‌های بیوکنترلی مورد استفاده در تیمارهای سالم و آلوده به نماتد نشان‌دهنده تفاوت معنی‌دار در اکثر شاخص‌های رشدی گیاه بود. برای مثال حضور عوامل بیوکنترل مورد بررسی باعث افزایش طول ساقه در تمام پایه‌ها نسبت به شاهد گردید هر چند این افزایش در بعضی موارد معنی‌دار نبود که می‌توان به حضور *G. mosseae* نسبت به شاهد در پایه هلندری، حضور

جدول ٤. مقایسه میانگین شاخص‌های رشدی سه پایه هلو در تیمارهای مختلف مایه‌زنی شده با *Glomus intraradices*، *Glomus mosseae*، *Pochonia chlamydosporia* و *Purpureocillium lilacinum* آلوده به *Meloidogyne javanica* در شرایط گلخانه

Table 4. Mean comparison of the growth indices in three peach rootstocks in different treatments inoculated with *Glomus intraradices*, *Glomus mosseae*, *Pochonia chlamydosporia* and *Purpureocillium lilacinum* infected to *Meloidogyne javanica* in greenhouse conditions

Variety	Biocontrol agent	Nematode	Shoot height (cm)	Shoot fresh weight (g)	Shoot dry weight (g)	Root length (cm)	Root fresh weight (g)	Root dry weight (g)
H	0	-	49.7^{d}	11.7^{hgi}	5.2^{hgif}	33.9^{dbc}	7.1^{mkl}	3.3^{no}
		+	20^{jklm}	5.9^{ml}	2.8^{lkj}	26.2^{hig}	12.6^{igjh}	8.6^{jhik}
	Gm	-	50.8^{cd}	14.6^{ef}	7.9^{e}	31.4^{def}	9.7^{kjl}	4.7^{nom}
		+	34.3^{ef}	10.6^{hgi}	5.2^{hgif}	27^{hg}	14.2^{igfh}	9.7^{jhig}
	Gi	-	55.8^{c}	14.6^{ef}	7.2^{ef}	33.5^{dc}	13^{igjh}	12.1^{fhg}
		+	37.4^{e}	7^{kml}	3.2^{hij}	31.4^{def}	26.8^{b}	17.7^{cd}
	Po	-	92.6^{a}	37.2^{a}	25.5^{a}	31.6^{def}	21.2^{c}	12.6^{fg}
		+	71^{b}	20.9^{d}	12^{d}	27.5^{heg}	36.5^{a}	24.8^{a}
	Pa	-	76.4^{b}	30.7^{b}	19.9^{b}	28^{hegf}	21.7^{c}	13.1^{feg}
		+	56.3^{c}	23.3^{cd}	14.8^{c}	23.1^{hij}	28.3^{b}	16.4^{ed}
Gf	0	-	17.5^{nlm}	8^{kjl}	3.6^{hgij}	25.4^{hig}	5.7^{mnl}	3.4^{no}
		+	9.5^{qp}	1.4^{n}	0.5^{m}	21.4^{kij}	14.1^{igfh}	11.6^{fhig}
	Gm	-	28.4^{ghi}	9.2^{kji}	5.3^{hgf}	38.7^{b}	18.4^{ecd}	14.6^{fde}
		+	17.7^{nklm}	4.8^{m}	2.6^{lkmj}	32.3^{dec}	14.3^{egfh}	12.6^{fg}
	Gi	-	21.1^{jklm}	7.4^{kjl}	3.7^{hgij}	48.2^{a}	13.9^{igfh}	8.2^{jlikm}
		+	11.6^{qop}	2.1^{n}	0.7^{lm}	36.7^{bc}	21.4^{c}	13.9^{ef}
	Po	-	32.8^{gef}	30.7^{b}	17.9^{b}	31.3^{def}	15.9^{egfd}	11^{fhig}
		+	23.3^{jki}	7.1^{kml}	3.5^{hij}	28.1^{hegf}	30.6^{b}	21.3^{ab}
	Pa	-	29.6^{ghf}	29.7^{b}	18.8^{b}	33.3^{dc}	10.7^{ikjh}	5.1^{nlkm}
		+	23^{jkli}	15.8^{e}	8.2^{e}	29.3^{degf}	30.4^{b}	20.4^{cb}
SH	0	-	9.5^{qp}	7.2^{kml}	3.1^{kij}	21.5^{kij}	5.6^{mnl}	3.3^{no}
		+	2.6^{r}	1.7^{n}	0.9^{lkm}	5.8^{m}	9.3^{kjl}	7.4^{jlkm}
	Gm	_	24^{jhi}	$22.^{cd}$	11.4^{d}	26^{hij}	2.3^{n}	1.2^{o}
		+	13.6^{nop}	12.7^{gf}	7^{ef}	15.6^{l}	7.9^{mkl}	4.9^{nlm}
	Gi	-	13.3^{nop}	9.9^{hji}	5.7^{gf}	33.5^{dc}	10.1^{ikj}	8.4^{jlik}
		+	7.2^{qp}	4.8^{m}	2.3^{lkmj}	19.3^{klj}	18.1^{ecfd}	14.1^{fe}
	Po	-	15.8^{nom}	28.4^{b}	15.6^{c}	33.8^{dbc}	9.6^{kjl}	7.2^{jlkm}
		+	8.3^{qp}	6.9^{kml}	4.4^{hgij}	25.7^{hig}	18.1^{ecfd}	12.7^{fg}
	Pa	-	10.3^{qop}	24.3^{c}	12.4d	30.32^{degf}	4^{mn}	2.7^{no}
		+	2.2^{r}	12.3^{hgf}	5.3^{hgf}	17.8^{kl}	18.8^{cd}	12.8^{fg}

Po*: Pochonia chlamydosporia*, Pa: *Purpureocillium lilacinum*, Gm*: Glomus mosseae* Gi: *Glomus intraradices*
H: Helenderi, SH: Shorabi, Gf: Gf 677

با استفاده از آزمون LSD میانگین‌های با حروف مشابه در هر ستون در سطح ۵٪ تفاوت معنی‌داری ندارند، هر تیمار نیز میانگین پنج تکرار می‌باشد.

Values followed by the same letter in each column are not significantly different using LSD test ($P \leq 0.05$, n= 5)

intraradices نسبت به شاهد در پایه‌های شورابی و GF677 و حضور *P. chlamydosporia var. chlamydosporia* نسبت به شاهد در پایه شورابی اشاره نمود. با این حال حضور تمام عوامل مورد بررسی (به جز *G. intraradices*) باعث معنی‌دار شدن اختلاف طول اندام‌های هوایی بین گیاهان سالم و آلوده به نماتد در هر سه نوع پایه گردید. به عبارت دیگر عوامل مذکور در پایه‌های مورد بررسی موجب جلوگیری و یا جبران

خسارت نماتد گردیدند، اما اثر *G. intraradices* نسبت به عوامل دیگر کمتر بود به نحوی که اختلاف طول اندام هوایی در تیمارهای سالم و آلوده پایه شورابی معنی‌دار نبود که احتمالاً به دلیل خسارت زیاد نماتد به پایه مذکور بوده است. مقایسه میانگین سایر شاخص‌های رشدی گیاه نیز بیانگر روند تقریباً مشابهی بود. بررسی روابط متقابل بین قارچ‌های میکوریز آربوسکولار *G. fasciculatum* و نماتد ریشه‌گرهی *M. incognita* و اثرات آن‌ها در رشد و عملکرد گوجه‌فرنگی نشان داده است که حضور *G. fasciculatum* می‌تواند سبب افزایش رشد و عملکرد، گوجه‌فرنگی در مقایسه با گیاهان غیرمیکوریزی گردد (Shreenivasa *et al.* 2006). نتایج فوق با نتایج حاصل از بررسی‌اثر همزیستی قارچ‌های میکوریز *G. mosseae*، *G. intraradices* و *G. etunicatum* بر روی پایه هیبرید هلو-بادام، هلو، سیب و گیلاس مطابقت داشت (Calvet *et al.* 2001). مقایسه بین عوامل مهار زیستی در تحقیق حاضر نشان دهنده تأثیر بیشتر قارچ *P. chlamydosporia var. chlamydosporia* در افزایش شاخص‌های رشدی در تیمارهای آلوده به نماتد نسبت به تیمارهای غیرآلوده بود. برای مثال در رقم GF677 در تیمار آلوده به نماتد و بدون حضور قارچ *P. chlamydosporia var. chlamydosporia*، رشد طولی ساقه ۹/۵ سانتی‌متر بود در حالی که این شاخص در تیمار آلوده و دارای قارچ به ۲۳/۲ سانتی‌متر رسید. احتمالاً قارچ با کنترل نماتد سبب افزایش رشد گردیده است. نتایج این بررسی با تحقیقات دیگر در مورد افزایش فاکتورهای رشدی بعد از کاربرد قارچ *P. chlamydosporia var. chlamydosporia* برای کنترل زیستی نماتد ریشه‌گرهی مطابقت دارد (Abd El-Raheem *et al.* 2005; Moosavi *et al.* 2010).

به طور کلی، یافته‌های این تحقیق نشان‌دهنده‌ی اثر کاهنده قارچ‌های بیوکنترلی مورد استفاده روی تکثیر و خسارت نماتد ریشه‌گرهی بود. با این حال قارچ *P. chlamydosporia var. chlamydosporia* با کاهش چشمگیر شاخص‌های تکثیری نماتد، نقش مؤثرتری در کنترل نماتد ریشه‌گرهی در هر سه پایه هلو داشت که به نوبه خود باعث افزایش شاخص‌های رشدی گیاه نسبت به قارچ‌های دیگر گردید. قارچ‌های میکوریز آربوسکولار نیز با افزایش شاخص‌های رشدی گیاه باعث کاهش خسارت نماتد گردیدند. با این حال بین گونه‌های مورد استفاده تفاوت معنی‌داری از این نظر مشاهده نشد. هرچند قارچ-های مورد استفاده روی هر سه پایه مؤثر بودند ولی به دلیل حساسیت بیشتر GF677 به نماتد ریشه‌گرهی نسبت به ارقام هلندری و رقم محلی شورابی اثر عوامل قارچی روی پایه مذکور کمتر از دو پایه دیگر ظاهر شد.

منابع

Abd El-Raheem R. S., Samir A. S., Yehia A. G. M. and Doaa M. K. 2005. Evaluation of *Pochonia chlamydosporia*, *Paecilomyces lilacinus* and *Arthrobotrys dactyloide* as biocontrol agents for *Meloidogyne incognita* under greenhouse condition. Pakistan Journal of Biological Sciences 8 (11): 1511-1516.

Barea J. M., Azcon R. and Azcon-Aguilar C. 2002. Mycorrhizosphere interactions to improve plant fitness and soil quality. Antonie Van Leeuwenhoek 81: 343-351.

Berg R. H. and Tylor C. G. 2008. Cell biology of plant nematode parasitism. Heidelberg. Germany. 273 p.

Calvet C., Pinochet J., Hernández-Dorrego A., Estaún V. and Camprubí A. 2001. Field microplot performance of the peach-almond hybrid GF-677 after inoculation with arbuscular mycorrhizal fungi in a replant soil infested with root-knot nematodes. Mycorrhiza 10: 295–300.

Chen S. Y. and Dickson D. W. 2004. Biological control of nematodes by fungal antagonists. In: Chen Z. X, Chen

S. Y., and Dickson D. W. (eds.), Nematology, Advances and Perspectives-Vol. 2. Nematode management and utilization. CABI Publishing, Wallingford, UK. pp: 979-1039.

Davies K. G. and Spiegel Y. 2011. Biological control of plant-parasitic nematodes: Building coherence between microbial ecology and molecular mechanisms, Progress in Biological Control 11. Springer Science+Business Media, Dordrecht.

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

De Leij F. A. A. M., Kerry B. R. and Dennehy J. A. 1993. *Verticillium chlamydosporium* as a biological control agent for *Meloidogyne incognita* and *M. hapla* in pot and microplot tests. Nematologica 39: 115-126.

Dong K., Dean R. A., Fortnum B. A. and Lewis S. A. 2001. Development of PCR primer to identify species of root-knot nematode: *Meloidogyne arenaria*, *M. hapla*, *M. incognita* and *M. javanica*. Nematropica 31: 273-282.

Faostat. 2012. Available in http://faostat.fao.org/

Ganaie M. A. and Ahmadkhan T. 2010. Biological potential of *Paecilomyces lilacinus* on pathogenesis of *Meliodogyne javanica* infecting tomato plant. European Journal of Applied science 2: 80-84.

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

Jatala P. 1986. Biological Control of plant parasitic nematodes. Annual Review of Phytopathology 24: 453-489.

Jones J. T., Haegeman A., Danchin E. G., Gaur H. S., Helder J., Jones M. G., Kikuchi T., Manzanillia-Lopez R., Palomares-Rius J. E., Wesemael W. M., and Perry R. N. 2013. Top 10 plant-parasitic nematodes in molecular plant pathology. Molecular Plant Pathology 14: 946-961.

Kerry B. R., Simon A. and Rovira A. D. 1984. Observations on the introduction of *Verticillium chlamydosporium* and other parasitic fungi into soil for control of the cereal cyst-nematode *Heterodera avenae*. Annals of Applied Biology 105: 509–516.

Linderman R. G. 2000. Effects of mycorrhizas on plant tolerance to disease. Arbuscular Mycorrhizas: Physiology and Function. pp: 345-367.

Mckenry M. V. 1985. Integrated pest management for almond. University of California, Division of agriculture and natural resources, publication 3308.

Menge J. A., Powell C. L. and Bagyaraj D. P. 1984. Inoculum production. In: C. L. Powell and D. P. Bagyaraj (Eds.). VA Mycorrhiza. CRC Press Inc., Boca Raton, Florida, USA pp 187-199.

Moosavi M. R., Zare R., Zamanizadeh H. R. and Fatemy S. 2010. Pathogenicity of Pochonia species on eggs of *Meloidogyne javanica*. Invertebrate Pathology 104: 125- 133.

Moosavi M. R. and Zare R. 2015. Factors affecting commercial success of biocontrol agents of phytonematodes. In: T. H. Askary & P. R. P. Martinelli (Eds.), Biocontrol agents of phytonematodes. (pp 187–202) CABI Publishing.

Nyczepir A. P., Riley M. B and. Sharpe R. R. 1993. Dynamics of concomitant populations of *Meloidogyne incognita* and *Criconemella xenaplax* on peach. Journal of Nematology 25: 659-665.

Oostenbrink M. 1966. Major characteristics of the relation between nematodes and plants. Mededelingen Landbouwhogeschool Wageningen 66 (4): 1- 46.

Oyekanmi E. O., Coyneb D. L., Fagadea O. E. and Osonubia O. 2007. Improving root-knot nematode management on two soybean genotypes through the application of *Bradyrhizobium japonicum, Trichoderma pseudokoningii* and *Glomus mosseae* in full factorial combinations. Crop Protection 26: 1006–1012.

Pandey S. 2013. A Study on the interaction effect of various interaction levels of VAM fungi with phytoparasitic cyst nematode *H. cajani* infecting cowpea. Indian Journal of Fundamental and Applied Life Sciences 3 (1): 203-207.

Phillips J. M. and Hayman D. S. 1974. Improved procedures clearing root and staining parasitic and vesicular arbuscular mycorrhizal fungi for rapid assessment of infections. Transaction of British Mycological Society 55: 158-161.

Shreenivasa K. R., Krishnappa K. and Ravichandra N. G. 2006. Interaction effects of arbuscular mycorrhizal fungus *Glomus fasciculatum* and root-Knot nematode, *Meloidogyne incognita* on growth and phosphorous uptake of tomato. Karnataka Journal of Agricultural Sciences 20: 57 – 61.

Silva A. T., Penna J. C. V., Goulart L. R., Santos M. A. and Arantes N. E. 2000. Genetic variability among and within races of *Heterodera glycines* ichinohe assessed by RAPD markers. Genetics and Molecular Biology 23: 323-32.

Sohrabi F., Sheikholeslami M., Heydari R., Rezaee S. and Sharifi R. 2017. Study on combined application of arbuscular mycorrhizal fungi isolates and plant growth promoting rhizobacteriain controlling root-knot nematode *Meloidogyne javanica* in tomato under greenhouse conditions. Iranian Journal of Plant pathology 53 (4): 449-462.

Strobel N. E. 1982. Interactions of vesicular-arbuscular mycorrhizal fungi *Meloidogyne incognita* and soil fertility on peach. Phytopathology 72: 690-694.

Taylor D. P. and Netscher C. 1974. An improved technique for preparing perineal patterns of *Meloidogyne* spp. Nematologica 20: 268-269.

Tikhonov V. E., Lopez-Llorca L. V., Salinas J. and Jansson H. B. 2002. Purification and characterization of chitinases from the nematophagous fungi *Verticillium chlamydosporium* and *V. suchlasporium*. Fungal Genetics and Biology 35: 67–78.

Rezaee Danesh Y., Mohammadi Goltapeh A., Alizadeh A. and Varma A. 2007. Studies on taxonomy and in vitro culturing possibility of soybean and alfalfa-associated arbuscular mycorrhizas in Iran. Ph.D thesis. Plant protection department, Faculty of agriculture. Tarbiat Modarres university 346 p.

Roserwarne G. M., Barker S. J. and Smith S. E. 1997. Production of near-synchronous fungal colonization in tomato for developmental and molecular analyses of mycorrhiza. Mycological Research 101: 966–970.

Rumbos C., Reimann S., Kiewnick S. and Richard A. 2009. Interactions of *Paecilomyces lilacinus* strain 251 with the mycorrhizal fungus *Glomus intraradices*. Implications for *Meloidogyne incognita* control in tomato. Biocontrol Science and Technology 16 (9): 981-986.

Waceke J. V., Waudo S. V. and Sikora R. 2001. Suppression of *Meloidogyne hapla* by arbuscular mycorrhizal fungi on pyrethrum in Kenya. Pest Management Science 47: 135-14.

Zijlstra C., Donkers Venne D. and Fargette M. 2000. Identification of *Meloidogyne incognita, M. javanica* and *M. arenaria* using sequence characterized amplified region (SCAR) based PCR assays. Nematology 2: 847-853.