نشریه حفاظت گیاهان (علوم و صنایع کشاورزی)
جلد ۲۸، شماره ۲، تابستان ۱۳۹۳، ص. ۲۱۰-۲۰۳

Journal of Plant Protection
Vol. 28, No. 2, Summer 2014, P. 203-210

تأثیر قارچ‌های میکوریز آربوسکولار *Glomus mosseae* و *Glomus intraradices* روی سطوح مختلف جمعیت نماتد ریشه‌گرهی *Meloidogyne javanica* در گوجه‌فرنگی

فاطمه سهرابی[۱] - علی اکبر فدایی تهرانی[۲]- یونس رضایی دانش[۳*]

تاریخ دریافت:۱۳۹۱/۵/۳۱
تاریخ پذیرش:۱۳۹۲/۹/۱۶

چکیده

جهت ارزیابی تأثیر قارچ‌های میکوریز آربوسکولار در کنترل جمعیت‌های مختلف نماتد ریشه‌گرهی در گوجه‌فرنگی از دو گونه قارچ *Glomus mosseae* و *Glomus intraradices* و نماتد *Meloidogyne javanica* استفاده شد. بدین منظور اقدام به تکثیر قارچ‌های میکوریز روی شبدر سفید و هم‌چنین تکثیر و شناسایی نماتد شد. سپس آزمایشی با هشت تیمار و چهار تکرار به صورت فاکتوریل در قالب طرح کاملاً تصادفی در شرایط گلخانه انجام شد و شاخص‌های رشدی گیاه و پارامترهای رشد و نموی نماتد (تعداد گال و توده تخم روی هر گیاه، تعداد تخم در هر توده تخم، تعداد لارو سن دوم در خاک) مورد ارزیابی قرار گرفت. در این آزمایش از جمعیت‌های ۵۰۰۰، ۱۰۰۰۰ و ۱۵۰۰۰ نماتد استفاده شد. نتایج حاصل از تجزیه آماری نشان داد که قارچ‌های میکوریز باعث کاهش بیماری‌زایی و خسارت نماتد می‌گردند. هم‌چنین حضور قارچ‌های میکوریز باعث افزایش رشد بخش‌های مختلف گیاه می‌شوند و بین دو قارچ مذکور از این نظر تفاوت معنی‌داری مشاهده نشد. نتایج بررسی نشان داد که قارچ‌های میکوریز دارای توانایی بالایی در کنترل موفق نماتد ریشه‌گرهی حتی در جمعیت‌های بالای نماتد می‌باشند.

واژه‌های کلیدی: قارچ میکوریز آربوسکولار، نماتد ریشه گرهی، گوجه‌فرنگی

مقدمه

تولیدات کشاورزی به عنوان مهم‌ترین منابع غذایی مردم جهان با چالش‌های متعددی روبرو می‌باشند که حمله بیمارگرهای گیاهی و خسارت ناشی از آن‌ها از اهمیت اقتصادی و استراتژیک بالایی برخودار است. نماتدهای انگل گیاهی به ویژه نماتدهای ریشه‌گرهی از جمله عوامل بیماری‌زای مهم هستند که به اغلب محصولات زراعی در سراسر جهان حمله کرده و باعث خسارت اقتصادی می‌شوند (۲، ۷ و ۲۶). گوجه‌فرنگی با نام علمی *Lycopersicon esculentum* گیاهی یک ساله از خانواده‌ی بادمجانیان (Solanaceae) است (۳۱). افزایش روزافزون تقاضای مصرف این محصول موجب گسترش سطح زیر کشت آن در شرایط مزرعه و گلخانه و جلب سرمایه‌گذاری وسیع در تولید آن شده است. نماتدها به ویژه نماتدهای ریشه‌گرهی (*Meloidogyne* spp.) سهم زیادی در کاهش عملکرد گوجه‌فرنگی بر عهده دارند. خسارت بالای این نماتدها و اهمیت محصول، موجب شده است که تلاش زیادی برای مهار این بیمارگرها صورت گیرد (۳۱). در ایران نیز تاکنون چندین گونه از این نماتد روی محصولات مختلف گزارش شده است که بیشترین شیوع را گونه *M. javanica* داشته است. روش‌های مختلفی در مدیریت این گروه از نماتدها استفاده می‌شود (۳۸) ولی هیچ یک روش قاطع و مؤثری برای مبارزه محسوب نمی‌شوند. یکی از روش‌هایی که در سال‌های اخیر برای کنترل نماتدهای ریشه‌گرهی مورد توجه قرار گرفته است، استفاده از ریز جانداران متنوعی است که نماتدهای ریشه‌گرهی را تحت تأثیر قرار داده و موجب کاهش جمعیت آن‌ها می‌گردند. آلودگی‌های زیست محیطی ناشی از کاربرد آفت‌کش‌ها در سال‌های اخیر موجب تقویت این ایده شده است (۳۵).

همزیستی میکوریزایی یکی از شناخته شده‌ترین و مهم‌ترین روابط همزیستی موجود در کره زمین است. میکوریزها در طبیعت در تأمین نیازهای آبی و تغذیه‌ای گیاهان نقش مؤثری دارند و با افزایش جذب فسفر و آب و مواد معدنی سبب افزایش رشد و سلامتی گیاه می‌گردند (۱۸ و ۲۹). میکوریزهای داخلی از جمله عواملی هستند که به طور مستقیم و یا غیرمستقیم می‌توانند روی جمعیت نماتد ریشه-گرهی اثر بگذارند (۴، ۱۵ و ۲۲). نقش مثبت این نوع همزیستی در اقتصاد کشاورزی دلیل اصلی تحقیقات وسیع در این زمینه می‌باشد (۱). در سال‌های اخیر نقش این قارچها در تغییر عکس العمل گیاهان نسبت به عوامل بیماری‌زا از جمله نماتدها، مورد توجه قرار گرفته است. بنابراین بررسی دقیق تأثیر قارچ‌های میکوریز در کنترل نماتد ریشه‌گرهی در گیاهان مختلف از جمله گوجه‌فرنگی ضروری به نظر

۱و۲- دانشجوی کارشناسی ارشد و استادیار گروه گیاهپزشکی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه شهرکرد
۳- دانشیار گروه گیاهپزشکی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه ارومیه
(*- نویسنده مسئول: Email: Younes_rd@yahoo.com)

می‌رسد.

بررسی‌هایی پیرامون اثر قارچ‌های میکوریز روی بیمارگرهای گیاهی انجام شده است. برای مثال افزایش رشد گیاه کتان و کاهش خسارت نماتد ریشه‌گرهی *Meloidogyne incognita* به دلیل حضور قارچ میکوریز *Glomus* بوده است (۳۴ و ۴۲). با آزمایشات گلخانه‌ای تأثیر قارچ‌های میکوریز آربوسکولار *Glomus mosseae* و *Gigaspora margarita* را در کاهش رشد و تکثیر نماتد *Meloidogyne incognita* و هم‌چنین افزایش رشد گیاه گوجه-فرنگی و کاهش تعداد گال و رشد و تکثیر نماتد مؤثر دانستند. در آزمایشات با قارچ میکوریز آربوسکولار *Glomus intraradices* و قارچ *Paecilomyces lilacinus* جهت کنترل نماتد *Meloidogyne incognita* درگوجه‌فرنگی نیز نتایج مشابهی به دست آمده است (۳۳). لیو و همکاران (۲۳) در سال ۲۰۱۱ با بررسی تأثیر قارچ‌های میکوریز روی رشد گیاه گوجه‌فرنگی و کاهش خسارت نماتد ریشه-گرهی متوجه شدند که حضور قارچ‌های میکوریز و باکتری‌های تقویت کننده رشد گیاه باعث افزایش رشد گوجه‌فرنگی و هم‌چنین به حداقل رساندن خسارت نماتد ریشه‌گرهی *Meloidogyne incognita* می‌گردند.

بررسی تأثیر دو گونه قارچ میکوریز آربوسکولار در کنترل سطوح مختلف نماتد ریشه‌گرهی و چگونگی بروز اثرات آن‌ها روی بیماری-زایی نماتد و یا کاهش خسارت گوجه‌فرنگی از اهداف اصلی این تحقیق می‌باشند.

روش‌های بررسی

تهیه مایه تلقیح نماتد

جهت تهیه مایه تلقیح نماتد، تعدادی نمونه خاک و ریشه از مزارع آلوده گوجه‌فرنگی جمع‌آوری گردید. این ریشه‌ها به همراه خاک اطراف آن‌ها به آزمایشگاه منتقل شد. برای استخراج مایه تلقیح از روش هوسی و جنسن (۱۷) استفاده شد. با مشاهده ریشه‌های شسته شده در زیر میکروسکوپ تشریح، تک توده تخم‌هایی از گال‌های ریشه انتخاب و جهت تکثیر و تهیه جمعیت خالص نماتد در نزدیکی ریشه نشاهای گوجه‌فرنگی ۲ تا ۴ برگی رقم حساس روتگرز[1] قرار داده شدند. نماتدهای ماده تولیدکننده توده‌های تخم از گال‌ها خارج و جهت شناسایی از انتهای بدن آن‌ها برش تهیه گردید. نشاهای تلقیح شده به مدت ۶۰ روز در شرایط مساعد گلخانه جهت تکثیر نماتد نگهداری شدند. از این گیاهان در تکثیرهای بعدی نیز استفاده شد. از انتهای بدن نماتدهای ماده بالغ مجدداً برش تهیه و الگوی شبکه کوتیکولی انتهای بدن جهت شناسایی مورد بررسی قرار گرفت (۱۳).

تهیه مایه تلقیح قارچ‌های میکوریز آربوسکولار

جهت تهیه مایه تلقیح دو گونه قارچ میکوریز آربوسکولار (*Glomus mosseae* و *Glomus intraradices*) از روش کشت گلدانی تله[2] با استفاده از شبدر سفید (*Trifolium subterraneum*) به عنوان گیاه تله استفاده شد (۳۲). پس از ضدعفونی بذرها توسط هیپوکلریت سدیم ۲۰٪ تجاری بذرها در پتری‌های استریل مرطوب کشت شدند و دو روز بعد از جوانه‌زنی، بذرهای مذکور به گلدان‌های حاوی مایه تلقیح قارچ میکوریز خالص به نسبت ۱۵درصد در ماسه استریل منتقل شدند. سپس جهت تکثیر به مدت ۴ ماه در شرایط مطلوب گلخانه نگهداری شدند. از محلول‌های غذایی مکمل بدون فسفر (هوگلند) جهت تغذیه گیاهان استفاده شد (۳۰). 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 (۲۵). سپس رنگ‌آمیزی ریشه‌های گیاهی انجام (۲۸) و بررسی میکروسکوپی اندام‌های مختلف قارچ جهت اطمینان از خلوص قارچ‌ها و کلنیزه شدن ریشه‌ها صورت گرفت. به منظور جداسازی اسپورها و برآورد میزان تولید آن، از روش شستشو توسط الک و سانتریفیوژ در محلول سوکروز ۵۵٪ استفاده شد (۱۱ و ۲۰).

بررسی تأثیر قارچ‌های میکوریز روی جمعیت‌های مختلف نماتد ریشه‌گرهی

به منظور بررسی تأثیر قارچ‌های میکوریز بر جمعیت‌های مختلف نماتد و میزان خسارت گوجه‌فرنگی آزمایشی با هشت تیمار و چهار تکرار به صورت فاکتوریل در قالب طرح کاملاً تصادفی انجام شد. بدین منظور بذر گوجه‌فرنگی رقم فلات درون ماسه استریل کشت گردید. سپس نشاهای یکنواخت چهار برگی به گلدان‌های حاوی حدود یک و نیم کیلو ماسه استریل منتقل گردید. ۱۵درصد بستر تیمارهای حاوی قارچ‌های میکوریز را مایه تلقیح (ماسه حاوی ریشه‌های میکوریزایی شبدر سفید) تشکیل می‌داد. چهار هفته بعد از انتقال نشاها به تیمارهای حاوی نماتد میزان ۵۰۰۰، ۱۰۰۰۰ و ۱۵۰۰۰ تخم و لارو سن دوم نماتد اضافه گردید (۱۶). گلدان‌ها در گلخانه با دمای ۲۵ درجه به مدت ۶۰ روز نگهداری شدند. برای تأمین مواد غذایی مورد نیاز گیاهان از محلول غذایی (هوگلند) بدون فسفر استفاده شد. در پایان شاخص‌های رشد و نموی گیاه و شاخص رشد و نموی نماتد اندازه‌گیری و به کمک نرم افزار SAS مورد تجزیه و تحلیل آماری قرار گرفتند. مقایسه میانگین تیمارها در تمام حالات توسط آزمون LSD و در سطح ۱٪ صورت گرفت.

1- Rutgers

2- Trap Culture

نتایج و بحث

با مشاهده الگوی شبکه کوتیکولی انتهای بدن نماتد ماده و نتایج حاصل از بررسی ریخت‌شناسی و ریخت‌سنجی نماتدهای ماده و لاروهای سن دوم و مقایسه آن‌ها با شرح گونه‌های مختلف جنس *Meloidogyne*، گونه نماتد *M. javanica* تشخیص داده شد (شکل ۲). در تمام موارد، تلقیح گونه‌های قارچی میکوریز آربوسکولار باعث کلنیزاسیون ریشه گیاهان میزبان شده که پس از رنگ آمیزی ریشه ها ساختارهای مختلف قارچی شامل هیف های درون و برون ریشه ای، اسپورهای قارچی، وزیکول ها، آربوسکول و اپرسوریوم قابل مشاهده بودند (شکل ۱).

اثرات روی شاخص‌های رشد و نموی گیاه

با وجود معنی‌دار شدن میانگین ارتفاع گیاهان در تیمارهای مختلف، تفاوت میانگین رشد بین گیاهان تلقیح شده با قارچ میکوریز *G.mosseae* نسبت به گیاهان شاهد (بدون میکوریز) معنی‌دار نبود. گیاهان تلقیح شده با جمعیت‌های مختلف (۵۰۰۰، ۱۰۰۰۰ و ۱۵۰۰۰ لارو و تخم در کیلوگرم بستر) نماتد نسبت به تیمارهای بدون نماتد (بدون نماتد و با قارچ، بدون قارچ و نماتد) دارای میانگین رشد کمتری بوده و تفاوت آن‌ها معنی‌دار بود. نتایج تجزیه واریانس ارتفاع گیاهان تلقیح شده با قارچ میکوریز *G. intraradices* نیز تقریباً روندی مشابه با مقایسات میانگین ارتفاع تیمارهای تلقیح شده با قارچ *G. mosseae* نشان داد (جدول‌های ۱و۲). هر چند نماتد ریشه‌گرهی بیمارگر ریشه محسوب می‌شود ولی اثر آن روی کاهش رشد اندام‌های هوایی قابل توجه است. حمله نماتد به ریشه احتمالاً موجب اختلال در سنتز یا جابه‌جایی هورمون‌های رشد میزبان، و در نتیجه کاهش رشد اندام‌های هوایی گیاهان می‌گردد. رقابت مستقیم قارچ‌های میکوریز با نماتد و اثر افزایشی روی رشد گیاه می‌تواند تا حدودی این کاهش رشد را جبران نماید (۲۱). این نتایج با دیگر تحقیقات انجام شده در این زمینه، مطابقت دارد (۶ و ۴۰). مطالعه روابط متقابل قارچ میکوریز آربوسکولار *G. coronatum* و استرین F0162 *Fusarium oxysporum* در کنترل نماتد *M. incognita* در گیاه گوجه‌فرنگی مؤید نتایج فوق می‌باشد (۸). نکته قابل توجه در این تحقیق معنی‌دار نبودن هم زمان تیمارهای دارای قارچ با تیمار شاهد (بدون قارچ و نماتد) و معنی‌دار شدن تیمار قارچ و نماتد با تیمار نماتد بدون قارچ است. به عبارت دیگر می‌توان نتیجه گرفت که کاهش خسارت نماتد در اثر وجود قارچ مربوط به جبران رشد توسط تحریک قارچ نیست بلکه مکانیسم دیگری دخالت دارد که مانع از ایجاد خسارت توسط نماتد می‌گردد و بنابراین قارچ روی بیماری‌زایی نماتد مؤثر است.

نتایج مقایسه میانگین طول ریشه تیمارهای مختلف نشان‌دهنده تشابه تأثیرپذیری این شاخص رشدی با اندام‌های هوایی در نتیجه اعمال تیمارهای مختلف بود. این موضوع در هر دو گونه قارچ نیز مشابه بود (جدول‌های ۱و۲). یکی از اثرات عمده نماتد روی ریشه، تحریک ساختارهای سلولی موسوم به سلول‌های غول‌آسا می‌باشد که وظیفه آن‌ها تغذیه نماتد است. قارچ میکوریز با افزایش جذب مواد غذایی در گیاه می‌تواند باعث جبران این خسارت گردد. سلول‌های غول‌آسا قسمت زیادی از مواد غذایی تولید شده توسط گیاه را در اختیار نماتد می‌گذارند و کل سیستم ریشه را با ضعف مواد غذایی روبرو می‌سازند.

جدول ۱- مقایسه میانگین شاخص‌های رشدی گوجه‌فرنگی‌های تلقیح شده با قارچ میکوریز آربوسکولار *Glomus mosseae* و جمعیت‌های مختلف نماتد ریشه‌گرهی *Meloidogyne javanica*

تیمار	طول ساقه (سانتی‌متر)	وزن تر ساقه (گرم)	وزن خشک ساقه (گرم)	طول ریشه (سانتی‌متر)	وزن تر ریشه (گرم)	وزن خشک ریشه (گرم)
Control	۳۸/۵۰ ab	۱۲/۱۰ a	۲/۰۵ ab	۱۰ ab	۱۱/۵۵ a	۱/۰۹ ab
G.m	۴۲ a	۱۳/۵۷ a	۲/۱۶ a	۱۳/۲۵ a	۱۱/۱۵ a	۱/۱۵ a
G.m,M.j$_1$	۳۰/۲۵ bc	۱۰/۷۰ a	۱/۶۳ ab	۸/۷۵ bc	۵/۱۹ b	۰/۷۶ c
M.j$_1$	۱۹/۲۵ de	۸/۶۰ ab	۰/۶۷ c	۵ de	۱/۶۰ c	۰/۲۱ d
G.m,M.j$_2$	۲۸/۵۰ bcd	۱۱/۷۰ a	۱/۷۲ ab	۷/۷۵ bcd	۵/۹۴ b	۰/۸۲ bc
M.j$_2$	۱۸/۲۵ de	۳/۵۸ bc	۰/۶۸ c	۵/۷۵ cde	۱/۸۱ c	۰/۲۵ d
G.m,M.j$_3$	۲۲/۵۰ cde	۱۰/۱۰ a	۱/۴۹ b	۷/۵۰ bcd	۶/۶۶ b	۱/۰۲ d
M.j$_3$	۱۷ e	۲/۰۶ c	۰/۳۵ c	۳/۷۵ e	۱ c	۰/۱۸ d

G. mosseae + *M. javanica* (5000) : G.m,M.j$_1$
G. mosseae + *M. javanica* (10000) : G.m,M.j$_2$
G. mosseae + *M. javanica* (15000) : G.m,M.j$_3$

اعداد، میانگین چهار تکرار می‌باشند.
میانگین‌های با حروف مشابه در سطح ۱٪ تفاوت معنی‌دار ندارند.

جدول ۲- مقایسه میانگین شاخص‌های رشدی گوجه‌فرنگی های تلقیح شده با قارچ میکوریز آربوسکولار *Glomus intraradices* و جمعیت‌های مختلف نماتد ریشه‌گرهی *Meloidogyne javanica*

تیمار	طول ساقه (سانتی‌متر)	وزن تر ساقه (گرم)	وزن خشک ساقه (گرم)	طول ریشه (سانتی‌متر)	وزن تر ریشه (گرم)	وزن خشک ریشه (گرم)
Control	۳۶/۷۵ ab	۹/۳۸ ab	۱/۲۳ ab	۹/۲۵ ab	۹/۳۱ ab	۱/۱۰ a
G.i	۳۸/۲۵ a	۱۱/۶۵ a	۱/۵۷ a	۱۲/۲۵ a	۹/۶۷ a	۱/۱۰ a
G.i,M.j_1	۲۷/۲۵ bc	۷/۹۹ bc	۱/۰۳ bc	۸ bc	۶/۶۷ bc	۰/۷۹ ab
M.j_1	۱۸/۵۰ cd	۳/۷۴ de	۰/۴۵ d	۶ bcd	۲/۲۲ d	۰/۲۲ c
G.i,M.j_2	۲۲/۲۵ cd	۵/۷۸ cd	۰/۶۵ cd	۷/۷۵ bcd	۵/۹۶ c	۰/۷۴ b
M.j_2	۱۶/۲۵ d	۳/۰۳ de	۰/۴۹ d	۵/۷۵ cd	۱/۷۸ d	۰/۲۷ c
G.i,M.j_3	۲۲ cd	۵/۵۱ cd	۰/۶۵ cd	۷/۲۵ bcd	۷/۵۳ bc	۰/۸۵ ab
M.j_3	۱۶/۲۵ d	۲/۱۴ e	۰/۲۹ d	۴/۵ d	۱/۲۳ d	۰/۱۲ c

G. intraradices + *M. javanica* (5000) : G.i,M.j_1
G. intraradices + *M. javanica* (10000) : G.i,M.j_2
G. intraradices + *M. javanica* (15000) : G.i,M.j_3

اعداد، میانگین چهار تکرار می‌باشند.
میانگین‌های با حروف مشابه در سطح ۱٪ تفاوت معنی‌دار ندارند.

جدول ۳- مقایسه میانگین شاخص‌های رشد و نموی مربوط به سطوح مختلف جمعیت نماتد ریشه‌گرهی *M. javanica* روی گوجه‌فرنگی با و بدون حضور قارچ میکوریز *G. mosseae*

تیمار	تعداد گال در یک گرم ریشه	تعداد تخم در یک گرم ریشه	تعداد تخم در داخل توده تخم	تعداد لارو سن ۲ در صد گرم خاک
G.m,M.$j_۱$	۲۷/۵۰ a	۳۱ a	۱۵۱/۵۰ a	۱۱۳/۵۰ a
G.m,M.$j_۲$	۳۰ a	۳۱ a	۱۶۱/۵۰ a	۱۶۰ a
G.m,M.$j_۳$	۳۰/۵۰ a	۳۰ a	۱۸۳ a	۱۸۱/۵۰ a

G. mosseae + *M. javanica* (5000) : G.m,M.j_1
G. mosseae + *M. javanica* (10000) : G.m,M.j_2
G. mosseae + *M. javanica* (15000) : G.m,M.j_3

اعداد، میانگین چهار تکرار می‌باشند.
میانگین‌های با حروف مشابه در سطح ۱٪ تفاوت معنی‌دار ندارند.

جدول ٤- مقایسه میانگین شاخص‌های رشد و نموی مربوط به سطوح مختلف جمعیت نماتد ریشه‌گرهی *M. javanica* روی گوجه‌فرنگی با و بدون حضور قارچ میکوریز *G. mosseae*

تیمار	تعداد گال در یک گرم ریشه	تعداد تخم در یک گرم ریشه	تعداد تخم در داخل توده تخم	تعداد لارو سن ۲ در صد گرم خاک
G.i,M.$j_۱$	۲۴/۲۵ a	۳۳/۲۵ a	۱۶۲/۵۰ a	۱۲۳/۵۰ a
G.i,M.$j_۲$	۲۸/۷۵ a	۳۲ a	۱۹۵/۵۰ a	۱۳۶ a
G.i,M.$j_۳$	۳۲ a	۳۸ a	۲۱۳/۵۰ a	۱۶۸ a

G. intraradices + *M. javanica* (5000) : G.i,M.j_1
G. intraradices + *M. javanica* (10000) : G.i,M.j_2
G. intraradices + *M. javanica* (15000) : G.i,M.j_3

اعداد، میانگین چهار تکرار می‌باشند.
میانگین‌های با حروف مشابه در سطح ۱٪ تفاوت معنی‌دار ندارند.

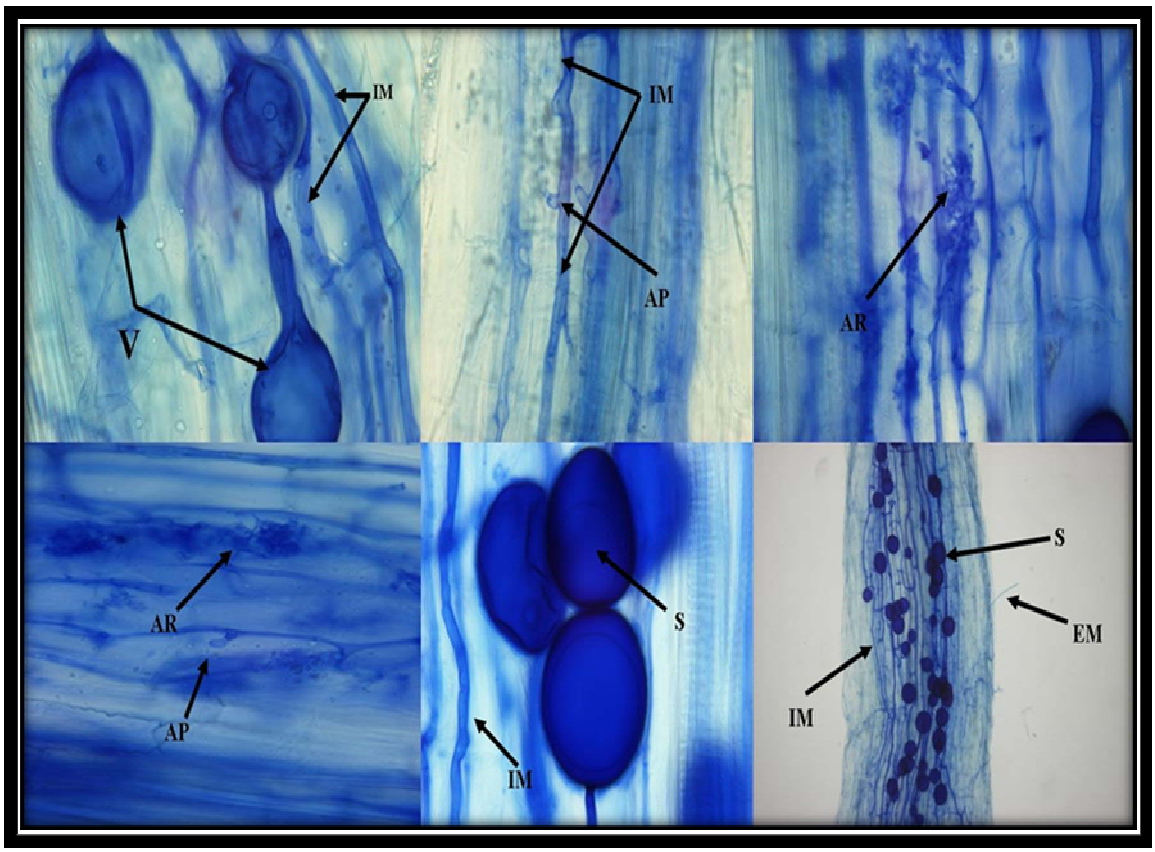
در نتیجه رشد ریشه مختل شده و طول آن کاهش می‌یابد (۵). یافته‌های این تحقیق با نتایج بررسی‌های صورت گرفته روی عکس العمل متقابل بین قارچ میکوریز *G. fasciculatum* و نماتد ریشه-گرهی *M. incognita* روی گیاه کتان مشابه می‌باشد (۳۴).

نتایج مقایسه میانگین داده‌های حاصل از اندازه‌گیری وزن تر اندام‌های هوایی در گیاهان تلقیح شده با نماتد نسبت به گیاهان شاهد

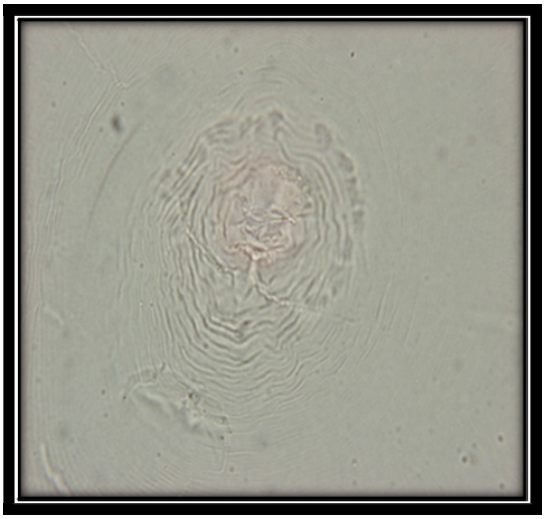
و میکوریزی معنی‌دار بود (جدول‌های ۱و ۲). این نتایج با نتایج به دست آمده از بررسی اثرات عکس العمل متقابل بین قارچ‌های میکوریز آربوسکولار و نماتد ریشه‌گرهی *M. incognita* در رشد و توسعه گیاه موز در شرایط گلخانه تطابق داشت (۱۹).

رشد و تکثیر غیر معمول از جمله واکنش‌هایی است که گیاه در محل‌های تغذیه نسبت به حمله نماتد از خود نشان می‌دهد. این دو فرایند همراه با افزایش ریشه‌های فرعی توسط نماتد، عامل اصلی افزایش وزن ریشه در تیمارهای آلوده می‌باشد. هرچند نتایج برخی مطالعات نشان‌دهنده افزایش وزن تر ریشه در اثر حمله نماتد ریشه-گرهی به دلیل تشکیل گال بوده است (۲۷) ولی در این بررسی حمله نماتد به ریشه به خصوص در جمعیت‌های ۱۰۰۰۰ و ۱۵۰۰۰ نماتد باعث تخریب شدید ریشه و کاهش بسیار معنی‌دار وزن آن‌ها نسبت به گیاهان شاهد و میکوریزایی گردید. قارچ میکوریز باعث کلنیزه شدن ریشه گیاهان و سبب کاهش تخریب ریشه توسط نماتد شد. به طوری که گیاهان تلقیح شده با قارچ میکوریز *G. mosseae* و سه جمعیت مختلف نماتد دارای اختلاف معنی‌دار با گیاهان تلقیح شده با نماتد بودند. میانگین وزن خشک اندام‌های هوایی در تیمارهای دارای قارچ میکوریز *G. intraradices* با گیاهان شاهد (بدون میکوریز) تفاوت معنی‌دار نداشتند. کلنیزاسیون ریشه‌ها با وجود قارچ میکوریز حتی در جمعیت‌های ۱۰۰۰۰ و ۱۵۰۰۰ نماتد نیز باعث کاهش خسارت نماتد شد. به طوری که میانگین وزن خشک اندام هوایی در این تیمارها در مقایسه با تیمارهای تلقیح شده با سه جمعیت مختلف نماتد از نظر آماری تفاوت معنی‌دار نشان دادند (جدول ۲). این نتایج با نتایج حاصل از بررسی‌های صورت گرفته توسط استروبل و همکاران (۳۷) که نشان دادند که حضور دو قارچ میکوریز *Gigaspora margarita* و *G. etunicatum* در شرایط گلخانه‌ای باعث افزایش رشد اندام‌های مختلف درختان هلوی آلوده به *M. incognita* می‌شود، مطابقت دارد.

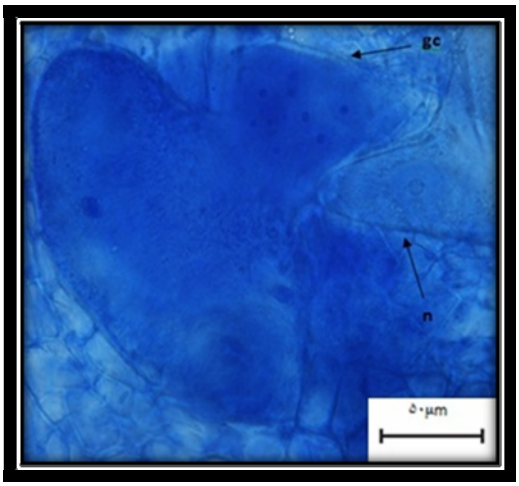
مقایسه میانگین وزن خشک اندام‌های هوایی تیمارهای مختلف نشان‌دهنده معنی‌دار بودن تفاوت‌ها و تأثیر مثبت قارچ *G. mosseae* در جبران کاهش وزن خشک اندام‌های هوایی ناشی از حمله سطوح مختلف جمعیت نماتد بود. در حالی‌که قارچ *G. intraradices* علیرغم افزایشی که در وزن خشک ساقه در سطوح مختلف جمعیت نماتد به وجود آورد ولی از نظر آماری معنی‌دار نبود (جدول‌های ۱و ۲).



شکل ۱- ساختارهای قارچی مشاهده شده در ریشه های رنگ آمیزی شده. IM: هیف های درون ریشه‌ای، V: وزیکول، AP: اپرسوریوم، AR: آربوسکول، S: اسپور، EM: هیف های برون ریشه‌ای



شکل ۲- شبکه کوتیکولی انتهای بدن نماتد ماده (۱۰۰۰×)



شکل ۳- نماتد ریشه‌گرهی در ریشه گیاه و سلول غول‌آسای تشکیل شده در اطراف سر نماتد ماده بالغ
n : نماتد ریشه‌گرهی gc : سلول غول آسا

تفاوت میانگین وزن خشک ریشه گیاهان در سطوح مختلف جمعیت نماتد نیز از نظر آماری معنی‌دار نبود. قارچ‌های میکوریز معمولاً با بالا بردن جذب عناصر غذایی و به ویژه فسفر باعث رشد بیشتر و نهایتاً افزایش وزن خشک اندام‌های هوایی می‌شوند. افزایش رشد موزهای آلوده به نماتد *M. javanica* در اثر قارچ‌های میکوریز قبلاً مشاهده شده است (۹).

مقایسه میانگین داده‌های حاصل از اندازه‌گیری وزن خشک ریشه نیز هر چند نشان‌دهنده تفاوت بین تیمارها بود ولی از نظر آماری معنی‌دار نبودند. به عبارت دیگر قارچ میکوریز *G. mosseae* هر چند با بالا بردن قدرت جذب گیاه توانایی افزایش رشد گیاه (وزن تازه) را داشت ولی به دلیل فقر مواد غذایی در بستر گیاهان آزمایشی این توانایی در افزایش وزن خشک معنی‌دار نبود. آزمایش با گونه *G. intraradices* نتایج مشابهی به دست داد (شکل ۴).

اثرات روی شاخص‌های رشد و نموی نماتد و بیماری‌زایی

حضور قارچ‌های میکوریز باعث زنده ماندن گیاهان در سطوح ۱۰۰۰۰ و ۱۵۰۰۰ تخم و لارو گردید. بررسی اثرات قارچ‌های میکوریز *G. mosseae* و *G. intraradices* بر شاخص‌های رشد و نموی نماتد نشان‌دهنده تفاوت تأثیر قارچ‌های میکوریز بر این شاخص‌ها در سطوح مختلف جمعیت نماتد بود. علیرغم وجود اختلاف بین میانگین تعداد گال در گیاهان میکوریزی تلقیح شده با سطوح مختلف جمعیت نماتد، تفاوت مذکور از نظر آماری معنی‌دار نبود. دو گونه *G. mosseae* و *G. intraradices* نیز از این نظر مشابه بودند. مقایسه میانگین تعداد توده تخم در ریشه، تعداد تخم در هر توده تخم و تعداد لارو در صد گرم بستر گیاهان نیز نتایج مشابهی نشان داد (جدول‌های ۳ و ۴) که با تحقیقات اخیر روی گیاهان دیگر هم‌خوانی داشت (۱۴، ۲۴ و ۴۳).

در طی بررسی اثر سه گونه قارچ میکوریز آربوسکولار در کنترل نماتد پارازیت گیاهی *M. incognita* در شبدر سفید در شرایط گلخانه‌ای نشان داده شده است که نماتدها در گیاهان غیرمیکوریزایی خسارت وارد کردند (۱۲). هم‌چنین بررسی آزمایشات گلخانه‌ای روی تأثیر قارچ میکوریز آربوسکولار *G. mosseae* و *Gigaspora margarita* در رشد و تکثیر نماتد *M. incognita* و رشد گیاه گوجه‌فرنگی نشان‌دهنده افزایش رشد گیاه گوجه‌فرنگی در اثر تلقیح با قارچ میکوریز و هم چنین کاهش تعداد گال و رشد و تکثیر نماتد بود (۴۲). نتایج حاصل از این بررسی با نتایج آزمایشات مشابه (۳، ۱۰، ۳۶، ۳۹ و ۴۱) مطابقت دارد.

نتیجه‌گیری

نتایج حاصل از این بررسی مؤید تأثیر مشهود قارچ‌های میکوریز آربوسکولار در افزایش رشد و سلامتی گیاهان و هم‌چنین کاهش بیماری‌زایی و خسارت نماتد ریشه‌گرهی بود. به عبارت دیگر قارچ‌های میکوریز مورد بررسی باعث افزایش قابل توجهی در رشد بخش‌های مختلف گیاه گردید و تأثیر مثبت آن‌ها روی کاهش خسارت نماتد به نحوی بود که حضور قارچ‌های میکوریز در سطوح بالای جمعیت نماتد، گیاهان تیمار شده را از مرگ نجات داد. به طور کلی نتایج بررسی نشان دهنده توانایی بالای قارچ‌های میکوریز در محدود کردن بیماری‌زایی نماتد ریشه‌گرهی و کنترل موفق نماتد حتی در جمعیت‌های بالای نماتد می‌باشند. بنابراین امکان موفقیت در استفاده از قارچ‌های میکوریز به عنوان عوامل بیوکنترل نماتد ریشه‌گرهی بالا می‌باشد.

منابع

1- Abbot L.K., and Robson A.D. 1991. Factors influence the occurrence of vesicular – arbuscular mycorrhizas. Agriculture, Ecosystems and Environment, 35: 121 – 150.

2- Agrios G.N. 2005. plant pathology .Elsevier Academic press, San Diego, 952p.

3- Bagyaraj D.J., Manjunath A. and Reddy D.D.R. 1979. Interaction of vesicular arbuscular mycorrhiza with root-knote nematodes on tomato. Plant and Soil, 51: 397-403.

4- Barea J.M., Azcon R. and Azcon-Anguilar C. 2002. Mycorrhizospher interactions to improve plant fitness and soil quality. Plant and Soil, 81: 342-351.

5- Berg R.H. and Tylor C.G. 2008. Cell biology of plant nematode parasitism. Heidelberg, Germany, 272p.

6- Castilo P., Nico A.I., Azcon-Aguilar C., Del Rio Rincon C., Calvet C. and Jimenez-Diaz R.M. 2006. Protection of olive planting stocks against parasitism of root knot nematodes by arbuscular mycorrhizal fungi. Plant Pathology, 55: 705-713.

7- Chen P. and Robert P.A. 2003. Virulence in *M.hapla* differetiat by resistance in common beant. Nematology, 5:39-47.

8- Diedhiou P.M., Hallmann J., Oerke E.C. and Dehne H.W. 2003. Effects of arbuscular mycorrhizal fungi and a non-pathogenic *Fusarium oxysporum* on *Meloidogyne incognita* infestation of tomato. Mycorrhiza, 13:199–204.

9- Elsen A., Declerck S. and De Waele D. 2002. Effect of three arbuscular mycorrhizal fungi on root-knot nematode *(Meloidogyne* spp.) infection of Musa. Infomusa, 11:21-23.

10- Forge T., Muehlchen A., Hachenberg C., Neilsen G. and Vrain T. 2001. Effects of preplant inoculation of apple with arbuscular mycorrhizal fungi on population growth of the root lesion nematode, *pratylenchus penetrans*. Plant and Soil, 236:185-196.

11- Gerdemann G.W. and Nicolson T.H. 1963. Spore of mycorrhizal *Endogone* species extracted from soil by wet sieving and decanting. Transcations of the British Mycological Society, 46: 235- 244.

12- Habte M., Zhang Y.C. and Schmitt D.P. 1999**.** Effectiveness of Glomus species in protecting white clover against nematode damage. Plant Pathology, 48:19-25.

13- Hartman K.M. and Sasser J.N. 1985. Identification of *Meloidogyne* species on the basis of defferential host test and preneal-pattern morphology. In: An Advanced Treatise on *Meloidogyne* Vol 2: Methodology. (K.R. Barker, C.C. Carter, and J.N. Sasser, eds.). Plant Pathology, pp 67-77.

14- Hillocks R.J., Stockes S. and Joves M. 1995. Reproduction of *M. javanica* on legume crops and some weed species associated with their cultivation in Malavi. Nematologica, 41: 505-515.

15- Hooker J.E., Jaizme-vega M. and Atkinson D. 1994. Biocontrol of plant pathogens using arbuscular mycorrhizal fungi. Impact of arbuscular mycorrhizas on sustainable. Agriculture and Natural Ecosystem, pp 191-200.

16- Hussey R.S. and Barker K.R. 1973. A comparsion of methods of collecting inocula of *Meloidogyne* spp. Including: a new technique. Nematology, 57,1025-1028.

17- Hussey R.S. and Janssen G.S.W. 2002. root- knot nematodes: *Meloidogyne* species. In: Starr J.L. Cook R. and Brige J. Plant Resistance to pareasitic Nematodes. CAB International, PP: 69-77.

18- Ibijbijen J., Urquiage S., Ismaili M., Alves B.J.R. and Boodey R.M. 1996. Effect of arbuscular mycorrhiza on

uptake of nitrogen by *Bachiaria arrecta* and Sorghum vulgar from soil labeled for several years with. New Phytologist, 133: 487-494.
19- Jaizme-Vega M.C., Tenoury P. Pinochet J. and Jaumot. M. 1997. Interactions between the root-knot nematode *Meloidogyne incognita* and *Glomus mosseae* in banana. Plant and Soil, 197: 27-35.
20- Jenkins W.R. 1964. A rapid centrifugal technique for separating nematodes from soil. Plant Disease Reporter, 48: 672-693.
21- Jepson S.B. 1987. Identification of root−Knot nematode (*Meloidogyne* species). Wallingford, Oxon, United kingdom. CAB International, 265 pp.
22- Linderman R.G. 2000. Effects of mycorrhizas on plant tolerance to disease. Arbuscular Mycorrhizas: Physiology and Function, pp 345-367.
23- Liu R., Dai M., Wu X., Li M. and Liu X. 2011. Suppression of the root-knot nematode [*Meloidogyne incognita* (Kofoid & White) Chitwood] on tomato by dual inoculation with arbuscular mycorrhizal fungi and plant growth-promoting rhizobacteria. Mycorrhiza, 10:379-39.
24- Mahaveer P., Sharma S., Bhargava M.K. and Alokadholeya. 1994. Interaction between the endomycorrhizal fungus, *Glomus fasciculatum*. Mycorrhiza, 5: 270-279.
25- Menge J.A. 1984. Inoculum production. In*:* C.L. Powell and D.P. Bagyaraj (Eds.). CRC Press Inc., Boca Raton, Florida, USA. VA Mycorrhiza, pp187-199.
26- Moosavi M.R., Zare R., Zamanizadeh H.R. and Fatemy S. 2010. Pathogencity of pochonia species on eggs of *Meloidogyne javanica*. Invertebrate Pathology, 125-133.
27- 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 pseudokoning*ii and *Glomus mosseae* in full factorial combinations. Crop Protection, 26: 1006–1012.
28- 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. Transcations of the British Mycological Society,55: 158-161.
29- Rai M.K. 2001. Current advances in mycorrhization in micropropagation. In vitro cell. Plant Developmental Biology, 37:158-167.
30- Rezaee Danesh Y., Mohammadi Goltapeh A., Alizadeh A. and Varma A. 2007. Studies on taxonomy and in vitro culturing possibility soybean and alfalfa-associated arbuscular mycorrhizas in Iran. Ph.D tesis. Plant protection Department, Faculty of agriculture. Tarbiat Modarres University, Pp 346.
31- Richard A. and Emilio C. 2005. Plant parasitic in subtropical and tropical agricultur . CAB International, Pub., 319p.
32- 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. Printed in Great Britain. Mycorrhiza, 101: 966-970.
33- 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 on tomato. Science and Technology, 16: 981-986.
34- Saleh H.M., and Sikora R.A. 1988. Effect of quintozen, benomyl and carbendazim on the interaction between the endomycorrhizal fungus *Glomus Fasciculatum* and the root-knot nematode *Meloidugyne Incognita* on cotton. Nematologica, 432-442.
35- Sharon E., Bar-Eyal M., Chet I., Herrera-Esterella A., Keleifeld O. and Spiegel Y. 2001. Biological control of the root-knot nematode *Meloidogyne javanica* by *Trichoderma harzianum*. Plant parasitic in subtropical and tropical agricultur. CAB International , 91(7): 687-693.
36- Siddiqui Z.A. and Mahmood I. 1998. Effect of a plant growth promothing bacterium, an AM fungus and soil types on the morphometrics and reproduction of *Meloidogyne javanica* on tomato. Applied Soil Ecology, 8:77-84.
37- Strobel N.E. 1981. Interactions of Vesicular Arbuscular Mycorrhizal Fungi, *Meloidogyne incognita*, and Soil Fertility on Peach. Ecology and Epidemiology, 72:690-694.
38- Trudgill D.L. and Block V.C. 2001. Apomictic, polyphagous root-knot nematodes: dxceptionally successful and damaging biotrophic root pathogens. Annual Review Phytopathology, 39:53-77.
39- Varma A. 2008. Mycorrhiza. Springer, 798p.
40- Waceke J.V., Waudo S.V. and Sikora R. 2001. Suppression of *Meloidogyne hapla* by arbuscular mycorrhizal fungi on pyrethrum in Kenya. Pest Management, 47:135-14.
41- Williamson V.M. and Hussey R.S. 1996. Nematode pathogenesis and resistance in plants. Plant Cell, 8:1735-1745.
42- Zaki A., Siddiqui M. and Sayeed Akhtar M. 2007. Effects of AM fungi and organic fertilizers on the reproduction of the nematode *Meloidogyne incognita* and on the growth and water loss of tomato. Biology and Fertility of Soils, 43:603–609.
43- Zhang L., Zhang J. and Christie P. 2008. Pre-in oculation with arbuscular mycorrhizal fungi suppresses root-knot nematode (*Meloidogyne incognita*) on cucumber (*Cucumis sativus*). Biology and Fertility of Soils, 45:205–211.