فصلنامه گیاه‌پزشکی
۱۳۹۲ - ۵ : ۵۷-۶۹

تأثیر قارچ‌های میکوریز آربوسکولار *Glomus mosseae* و *G. intraradices* روی بیماریزایی نماتد ریشه‌گرهی *Meloidogyne javanica* و تغییرات هیستوپاتولوژیکی در گیاه گوجه‌فرنگی آلوده به نماتد

فاطمه سهرابی*، علی اکبر فدایی تهرانی
گروه گیاه‌پزشکی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه شهرکرد، شهرکرد، ایران

چکیده

نماتد ریشه‌گرهی *Meloidogyne javanica* یکی از بیمارگرهای مهم در بسیاری از محصولات کشاورزی به ویژه گوجه‌فرنگی می‌باشد. تشکیل سلول‌های غول‌آسا توسط نماتد یکی از تغییرات مهم سلولی در فرآیند ایجاد بیماری در گیاه می‌باشد. به منظور بررسی تأثیر قارچ‌های میکوریز روی بیماریزایی و تغییرات سلولی و بافتی ریشه گوجه‌فرنگی، از دو گونه قارچ میکوریز *Glomus mosseae* و *G. intraradices* استفاده شد. پس از تکثیر قارچ‌های مذکور روی شبدر سفید و شناسایی گونه نماتد و تکثیر آن روی رقم حساس گوجه‌فرنگی، آزمایشی به صورت طرح کاملاً تصادفی در شرایط گلخانه انجام شد. پس از طی ۹۰ روز، شاخص‌های رشد و نموی نماتد و تغییرات سلولی ریشه گیاهان مورد بررسی قرار گرفت. تجزیه و تحلیل آماری نتایج حاصل، نشان‌دهنده اثر مثبت قارچ‌های میکوریز در کاهش بیماریزایی و خسارت نماتد بود. مقایسه میانگین تعداد و اندازه سلول‌های غول‌آسای ریشه نشان‌دهنده اختلاف معنی‌دار آماری بین گیاهان آلوده به نماتد میکوریزی و گیاهان آلوده به نماتد غیرمیکوریزی بود. به عبارت دیگر قارچ‌های مذکور تعداد و اندازه سلول‌های غول‌آسا را کاهش دادند. این کاهش به نوبه خود باعث کاهش رشد لاروها و تکامل آن‌ها گردیده بود. بنابراین قارچ‌های مورد بررسی می‌توانند به عنوان کاندیداهای مناسبی جهت استفاده درکنترل بیولوژیکی نماتد ریشه‌گرهی مورد توجه قرارگیرند.

واژه‌های کلیدی: نماتد ریشه گرهی، *Meloidogyne javanica*، *Glomus mosseae*، *Glomus intraradices*، گوجه‌فرنگی، سلول غول‌آسا

* مسئول مکاتبات، پست الکترونیکی: h.sohrabi2010@yahoo.com
تاریخ دریافت: ۱۳۹۲/۰۴/۰۲، تاریخ پذیرش: ۱۳۹۲/۱۲/۲۵

مقدمه

نماتدهای ریشه‌گرهی (*Meloidogyne* spp.) به عنوان یکی از گروه‌های مهم عوامل بیماری‌زا، هدف بسیاری از تحقیقات در سال‌های اخیر می‌باشند. نماتدهای ریشه‌گرهی از مخرب‌ترین نماتدهای انگل گیاهان مختلف به ویژه گوجه‌فرنگی به شمار می‌روند (Chen & Robert, 2003). هر چند از روش‌های مختلف فیزیکی، زراعی و شیمیایی برای کنترل این نماتدها استفاده می‌شود، ولی هیچ یک از این روش‌ها، روش قاطع و مؤثری برای مبارزه محسوب نمی‌شوند (Trudgill & Block, 2001). برای غلبه بر این مشکلات، محققان برای دست‌یابی به راه‌های مناسب‌تر کنترل نماتد، در سال‌های اخیر تحقیقات خود را متوجه استفاده از عوامل بیوکنترل از جمله ریز جانداران متنوع کرده‌اند (Sharon *et al*., 2001). قارچ‌های میکوریز از جمله عواملی هستند که سبب کاهش چندین بیماری گیاهی شده و به طور مستقیم و یا غیرمستقیم می‌توانند روی جمعیت نماتد ریشه‌گرهی اثر بگذارند (Barea *et al*., 2003; Linderman, 2000). قارچ‌های میکوریز در طبیعت در تأمین نیازهای آبی و تغذیه‌ای گیاهان نقش مؤثری دارند و با افزایش جذب فسفر، آب و مواد معدنی سبب افزایش رشد و سلامتی گیاه می‌گردند (Rai, 2001). قارچ‌های میکوریز آربوسکولار امروزه در شاخه‌ای جداگانه به نام Glomeromycota طبقه‌بندی می‌شوند. یکی از مهم‌ترین جنس‌های این گروه *Glomus* می‌باشد (Schubler, 2002). در سال‌های اخیر نقش این قارچ‌ها در تغییر عکس‌العمل گیاهان نسبت به عوامل بیماری‌زا از جمله نماتدها، مورد توجه قرار گرفته است. نقش مثبت این نوع همزیستی در اقتصاد کشاورزی دلیل اصلی تحقیقات وسیع در این زمینه می‌باشد (Abbot & Robson, 1991). بنابراین بررسی دقیق تأثیر قارچ‌های میکوریز در کنترل نماتد ریشه‌گرهی در گیاهان مختلف از جمله گوجه‌فرنگی ضروری به نظر می‌رسد.

تحقیقات انجام شده در مورد روابط قارچ‌های میکوریز با نماتدهای انگل گیاهی خصوصاً نماتدهای ریشه‌گرهی باعث روشن شدن اهمیت آن‌ها در مدیریت این نماتدها شده است. برای مثال نتایج مطالعات استروبل و همکاران نشان‌دهنده کاهش خسارت نماتد ریشه‌گرهی در درختان هلوی آلوده به *M. incognita* در حضور دو قارچ *Gigaspora margarita* و *Glomus etunicatum* در شرایط گلخانه‌ای می‌باشد (Stroble *et al*., 1981). هم‌چنین افزایش رشد گیاه کتان و کاهش خسارت نماتد ریشه‌گرهی *M. incognita* به دلیل حضور قارچ میکوریز *Glomus* بوده است (Saleh & Sikora, 1988). آزمایش‌های گلخانه‌ای نشانگر تأثیر قارچ‌های میکوریز آربوسکولار *Glomus mosseae* و *Gigaspora margarita* در کاهش رشد و تکثیر نماتد *M. incognita* و هم‌چنین افزایش رشد گیاه گوجه‌فرنگی و کاهش تعداد گال و رشد و تکثیر نماتد مؤثر بوده است (Zaki *et al*., 2007). در یک آزمایش گلخانه‌ای تأثیر سه گونه قارچ میکوریز آربوسکولار در کاهش تولید و تکثیر نماتد ریشه‌گرهی *M. incognita* و هم‌چنین افزایش رشد

گیاه خیار مشخص شد. در این بررسی هر سه گونه قارچ میکوریز سبب کاهش تعداد گال و تعداد توده تخم‌ها در ریشه شدند (Zhang *et al*.,2008). بررسی تأثیر قارچ‌های میکوریز روی رشد گیاه گوجه‌فرنگی و کاهش خسارت نماتد ریشه‌گرهی نشان داد که حضور قارچ‌های میکوریز باعث افزایش رشد گوجه‌فرنگی و هم‌چنین به حداقل رساندن خسارت نماتد ریشه-گرهی *M. incognita* می‌گردند (Liu *et al*., 2011). یکی از اثرات مهم نماتدهای ریشه‌گرهی روی گیاهان میزبان، تغییرات سلولی و بافتی در گیاهان برای تسهیل دسترسی به مواد غذایی می‌باشد. از طرف دیگر بررسی دقیقی روی مکانیسم کاهش خسارت و بیماریزایی نماتد توسط قارچ های میکوریز انجام نشده است. بررسی تأثیر دو گونه قارچ میکوریز آربوسکولار در کنترل نماتد ریشه‌گرهی و چگونگی اثرات آن‌ها بر تغییرات سلولی و بافتی ریشه گیاه گوجه‌فرنگی مایه‌زنی شده با نماتد ریشه‌گرهی *M. javanica* به عنوان اهداف اصلی در این تحقیق بررسی گردید.

مواد و روش‌ها

تهیه مایه تلقیح نماتد ریشه‌گرهی

جهت تهیه مایه تلقیح نماتد، تعدادی نمونه خاک و ریشه از مزارع آلوده گوجه‌فرنگی جمع‌آوری شد. در آزمایشگاه با استفاده از 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 (Rutgers) قرار داده شدند. نشاهای تلقیح شده به مدت ۹۰ روز در شرایط مساعد گلخانه نگهداری شدند. برای شناسایی گونه جمعیت خالص تهیه شده از خصوصیات ریخت‌شناسی و ریخت سنجی ماده بالغ و لاروهای سن دوم (الگوی شبکه کوتیکولی انتهای بدن ماده، استایلت و گره‌های آن و ....) استفاده شد Taylor & Netscher, (1974). استخراج نماتد از بافت‌های آلوده برای انجام آزمایشات، به روش هوسی و جانسن (Hussey & Janssen, 2002) انجام شد.

تهیه مایه تلقیح قارچ‌های میکوریز آربوسکولار

جهت تهیه مایه تلقیح دو گونه قارچ میکوریز آربوسکولار *Glomus mosseae* (Nicol. & Gerd) Gerdemann & Trapp و *Glomus intraradices* Shenck & Smith (اهدایی از دانشگاه ارومیه) از روش کشت گلدانی تله (Trap Culture) با استفاده از شبدر سفید (*Trifolium subterraneum*) به عنوان گیاه تله استفاده شد (Roserwarne *et al*., 1997). پس از کشت بذرهای مذکور در گلدان‌های حاوی مایه تلقیح قارچ میکوریز خالص به نسبت ۱۵٪ در ماسه استریل، گلدان‌ها جهت تکثیر به مدت ۴ ماه در شرایط مطلوب گلخانه نگهداری

شدند. از محلول‌های غذایی مکمل بدون فسفر (هوگلند) جهت تغذیه گیاهان استفاده شد (Rezaee Danesh *et al*., 2007). 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, 1984) . جهت تعیین فراوانی جمعیت اسپور قارچ‌های میکوریز در نمونه‌های خاک اقدام به شمارش اسپورها گردید. بدین منظور ۱۰۰ گرم از نمونه خاک هر تیمار انتخاب و با استفاده از روش استاندارد شستشو توسط الک و سانتریفیوژ در محلول سوکروز اسپورها جدا و در زیر بینوکولار شمارش گردید (Jenkins, 1964). به منظور اطمینان از خلوص قارچ‌ها و کلنیزه شدن ریشه‌ها، رنگ‌آمیزی ریشه‌های گیاهی انجام (Phillips & Hayman, 1970) و بررسی میکروسکوپی جهت مشاهده اندام‌های مختلف قارچ صورت گرفت.

تأثیرقارچ‌های میکوریز آربوسکولار روی بیماریزایی نماتد و اثرات هیستوپاتولوژیکی نماتد ریشه‌گرهی روی گیاه گوجه‌فرنگی

به منظور بررسی اثرات قارچ‌های میکوریز روی نماتد ریشه‌گرهی و میزان خسارت آن روی گوجه‌فرنگی آزمایشی با سه تیمار و نه تکرار به صورت طرح کاملاً تصادفی انجام شد. ابتدا بذر گوجه‌فرنگی رقم فلات درون ماسه سترون کشت گردید. سپس نشاهای یکنواخت چهار برگی به گلدان‌های حاوی حدود یک و نیم کیلو ماسه سترون منتقل گردید. ۱۵٪ بستر تیمارهای حاوی قارچ‌های میکوریز را مایه تلقیح (۲۵-۲۰ اسپور در هر گرم) تشکیل می‌داد. چهار هفته بعد از انتقال نشاها به تیمارهای حاوی نماتد ۵۰۰۰ تخم و لارو سن دوم نماتد اضافه گردید (Hussey & Barker, 1973). گلدان‌ها در گلخانه به مدت ۹۰ روز با دمای ۲۵ درجه سلسیوس نگهداری شدند. برای تأمین مواد غذایی مورد نیاز گیاهان از محلول غذایی (هوگلند) بدون فسفر استفاده شد. در پایان شاخص‌های رشد و نموی نماتد (متوسط تعداد گال و توده تخم در ریشه گیاه، تعداد تخم در هر توده تخم و تعداد لارو سن دوم در خاک) اندازه‌گیری شدند. هم-چنین به منظور مطالعات هیستوپاتولوژیکی، از هر تکرار، نمونه‌های هم قطر از ریشه که حاوی بزرگ‌ترین گال‌ها بودند انتخاب، و به دقت با آب شسته شدند. از نمونه‌های مذکور نیز یک بخش به ابعاد یک سانتی‌متر از بزرگترین گال تشکیل شده جدا گردید. سپس نمونه‌ها در گلوترآلدهید ۲٪ در بافر کاکودیلیت سدیم ۰/۱ مولار به مدت ۴۸ ساعت در دمای ۴ درجه سلسیوس قرار گرفتند. سپس نمونه‌ها در پارافین قالب‌گیری شده و به کمک میکروتوم برش-های سریال با ضخامت حدود پنج میکرومتر تهیه شد. به منظور بررسی تعداد و اندازه سلول-های غول‌آسا در ریشه، از هر نمونه، ده برش با استفاده از رنگ آنیلین بلو در لاکتوفنل ۲٪ رنگ‌آمیزی و توسط میکروسکوپ نوری مورد مطالعه قرارگرفتند و برش‌هایی که در آن‌ها سلول‌های غول‌آسا به‌طور کامل و مسطح قابل رؤیت بودند برای شمارش و اندازه‌گیری انتخاب و

پس از شمارش میانگین دو قطر عمود برهم سلول به‌عنوان اندازه در نظر گرفته شد. بسته به تعداد برش‌هایی که در آن‌ها شرایط مذکور وجود داشت (بین دو تا سه برش از ۱۰ برش) اندازه نهایی از محاسبه میانگین آن‌ها بدست آمد (Proite *et al*., 2008). نتایج حاصل از اندازه‌گیری خصوصیات مورد مطالعه، به کمک نرم افزار SAS مورد تجزیه و تحلیل آماری قرار گرفتند. مقایسه میانگین تیمارها در تمام حالات توسط آزمون LSD صورت گرفت.

نتایج و بحث

بررسی میکروسکوپی نمونه ریشه‌های شبدر، و مشاهده اندام‌های مختلف قارچ‌های میکوریز شامل اسپور، وزیکول، آربوسکول، هیف‌های درون ریشه‌ای و آپرسوریوم در آن‌ها حاکی از کلنیزاسیون موفق ریشه‌ها و تکثیر مناسب گونه‌های قارچی روی ریشه‌های مذکور بود که به عنوان مایه تلقیح مورد استفاده قرار گرفت.

مقایسه الگوی شبکه کوتیکولی در برش‌های تهیه شده از انتهای بدن نماتدهای ماده و سایر خصوصیات ریخت‌سنجی و ریخت‌شناسی و نیز خصوصیات لاروهای سن دوم با مشخصات موجود در شرح گونه‌های مختلف جنس *Meloidogyne*، گونه مورد مطالعه *M. javanica* تشخیص داده شد.

اثر قارچ‌های میکوریز بر شاخص‌های رشد و نموی نماتد در گوجه فرنگی

بررسی اثرات قارچ‌های میکوریز بر شاخص‌های رشد و نموی نماتد (تعداد گال، توده تخم، تعداد تخم در هر توده تخم، فاکتور تولیدمثل و تعداد لارو سن دوم) نشان دهنده تأثیر مثبت حضور قارچ‌های میکوریز بر کاهش شاخص‌های مذکور بود. بدین صورت که متوسط تعداد گال در ریشه گیاهان مایه‌زنی شده با نماتد در گیاهان میکوریزی و غیرمیکوریزی تفاوت معنی‌دار نشان داد. با این‌حال تفاوت مذکور بین دو گونه قارچ معنی‌دار نبود (شکل یک). این نتایج با مشاهدات (Sikora & Schonbech (1975) و Atillanto (1981) مطابقت داشت. تعداد گال‌های تشکیل شده روی ریشه میزبان با تعداد لاروهای سن دوم وارد شده به ریشه و رشد و نمو آن‌ها ارتباط مستقیم دارد (Hillocks, 1995). مقایسه میانگین تعداد تخم در هر توده تخم و تعداد تخم در تیمار نیز نتایج مشابهی نشان داد که با تحقیقات اخیر روی گیاهان دیگر هم‌خوانی داشت (Mahaveer *et al*., 1994 ; Zhang *et al*., 2008) . حضور قارچ میکوریز در گیاهان، در تیمارهای مایه‌زنی شده با نماتد باعث کاهش تعداد توده تخم در سیستم ریشه شد. تعداد تخم‌های داخل هر توده تخم در گیاهان تلقیح شده با قارچ میکوریز و نماتد نسبت به گیاهان تلقیح شده با نماتد دارای اختلاف معنی‌دار بود (شکل ۱و ۲). متوسط جمعیت لارو سن دوم در خاک اطراف ریشه گیاهان میکوریزی همراه با نماتد نیز با تیمارهای بدون میکوریز

اختلاف بسیار معنی‌دار نشان داد. به عبارت دیگر حضور قارچ میکوریز باعث کاهش جمعیت لارو سن دوم در بستر گیاهان میکوریزی شده بود (شکل ۳). نتایج فوق نشان‌دهنده آن است که قارچ‌های میکوریز مورد بررسی می‌توانند در تمام مراحل بیماریزایی نماتد ریشه‌گرهی اثرگذار باشند. به عبارت دیگر کاهش تعداد گال در گیاهان میکوریزی نسبت به تیمارهای غیرمیکوریزی، مؤید نقش مثبت قارچ‌های مذکور در جلوگیری از ورود لاروهای آلوده‌کننده به ریشه است. یکی دیگر از دلایل احتمالی کاهش تعداد گال در گیاهان میکوریزی آلوده به نماتد، می‌تواند به دلیل نقصان تفریخ تخم و ورود لارو به داخل ریشه باشد. این کاهش ممکن است به نوبه خود ناشی از تحریک سیستم دفاعی گیاه توسط قارچ میکوریز آربوسکولار و تولید کیتینازهای گیاهی باشد. چنین آنزیم‌هایی علاوه بر اثر روی انواع میکروارگانیسم‌ها و حشراتی که دارای کیتین در ساختمان خود هستند، می‌تواند روی لایه کتینی موجود در تخم نماتد اثر گذاشته و مانع تکامل تخم و تولد لارو گردد. این نتایج با نتایج مطالعات اخیر که نشان‌دهنده توانایی بالای قارچ‌های میکوریز در کنترل نماتد ریشه‌گرهی می‌باشد مطابقت دارد (Oykanmi *et al*., 2007). وجود اختلاف معنی‌دار در تعداد توده تخم در ریشه بین تیمارهای میکوریزی و شاهد نیز می‌تواند ناشی از تحریک سیستم دفاعی توسط قارچ‌های میکوریز باشد که از تکثیر و تولیدمثل نماتد جلوگیری می‌کند. مطالعه عملکرد قارچ‌های میکوریز آربوسکولار و نماتد *M. exigua* در خاک و ریشه درختان کائوچو نیز نشان‌دهنده وجود رابطه معکوس بین جمعیت قارچ‌های میکوریز آربوسکولار و تعداد لاروهای سن دوم تخم نماتد در ریشه بوده است (Schwob, 1988). علیرغم آن که نتایج حاصل از این بررسی، مؤید توانایی بیشتر قارچ *G. mosseae* نسبت به قارچ *G. intraradices* در کنترل نماتد ریشه‌گرهی بود ولی این اختلاف از نظر آماری معنی‌دار نبود. توانایی پایین گونه *G. intraradices* در کنترل شاخص‌های رشد و نموی نماتد می‌تواند به دلایل مختلف باشد که پایین بودن درصد کلنیزاسیون این قارچ یکی از آن‌ها می‌باشد. زیرا افزایش کلنیزاسیون منجر به افزایش اندام‌های قارچی نظیر آربوسکول می‌گردد و بسیاری از الیسیتورهای میکوریزی که منجر به تحریک سیستم دفاعی گیاه می‌گردند در سطح آربوسکول ایجاد می‌شوند. کلنیزاسیون بیشتر علاوه بر کاهش قدرت ورود نماتد می‌تواند از طریق جبران خسارت وارده توسط نماتد، باعث ظهور بهتر اثر قارچ گردد.

قارچ‌های میکوریز بر تغییرات هیستوپاتولوژیکی ناشی از آلودگی به نماتد ریشه‌گرهی

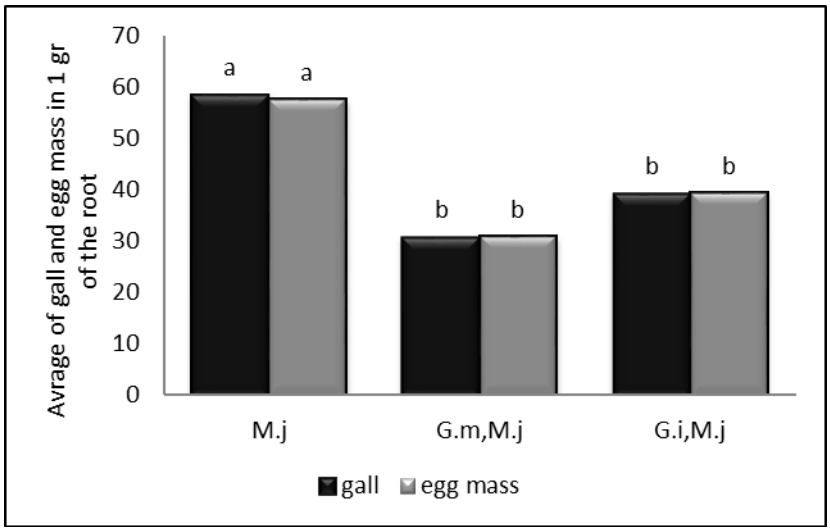
یکی از تغییرات مهم ناشی از آلودگی به نماتد ریشه گرهی، تحریک سلول‌های غول‌آسا در ریشه میزبان جهت تأمین غذای نماتد است. تعداد و اندازه سلول‌های مذکور می‌تواند تعیین کننده شدت آلودگی باشد. میانگین تعداد سلول‌های غول‌آسای ریشه، در تیمارهای مختلف آزمایش با هم تفاوت معنی‌دار داشتند. به عبارت دیگر تعداد سلول‌های مذکور در تیمارهای

مایه‌زنی شده با نماتد بدون حضور قارچ میکوریز بیشتر از تیمارهای بدون قارچ‌های میکوریز بود و حضور قارچ، تعداد سلول‌های غول‌آسای تشکیل شده در اثر حمله نماتد ریشه‌گرهی را کاهش داد. این کاهش در گونه *G. intraradices* کمتر از *G. mosseae* بود (شکل ۴).

مقایسه میانگین اندازه سلول‌های غول‌آسا در ریشه‌های آلوده به نماتد نیز مؤید نقش کاهنده قارچ‌های میکوریز در اندازه سلول‌های مذکور بود. میزان کاهش به وسیله گونه *G.intraradices* نسبت به شاهد (بدون قارچ) معنی‌دار بود ولی این میزان برای *G. mosseae* معنی‌دار نبود (شکل ۵). این نتایج با یافته‌های Suresh *et al.* (1985) در مورد کاهش تعداد و اندازه سلول‌های غول‌آسا در گیاهان میکوریزی، مطابقت داشت. محققین مذکور تفاوت زیادی در نفوذ و توسعه لاروها، بین گیاهان میکوریزی و غیر میکوریزی مشاهده کردند. آن‌ها تأخیر در رشد و توسعه نماتد در گیاهان میکوریزی را ناشی از کلنیزاسیون ریشه توسط میکوریز دانستند. 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. در نتیجه رشد ریشه مختل می‌شود. قارچ میکوریز با افزایش جذب مواد غذایی در گیاه می‌تواند باعث جبران این خسارت گردد. حضور قارچ میکوریز نفوذ و توسعه نماتد در ریشه را به حداقل می‌رساند. نماتدهایی نیز که موفق به ورود به ریشه می‌شوند به دلیل تأخیر زمانی پیش آمده و نیز آمادگی دفاعی گیاه امکان ایجاد و رشد سلول‌های غول‌آسا را کاهش می‌دهند (Proite *et al.*, 2008).

مطالعه مکانیسم‌های درگیر در کنترل نماتدهای ریشه‌گرهی توسط قارچ‌های میکوریز می‌تواند به استفاده عملی آن‌ها در کنترل بیمارگرهای مذکور کمک نماید. مطالعات انجام شده در این زمینه بسیار محدود می‌باشد. بخشی از کاهش بیماری‌زایی نماتد می‌تواند مربوط به حفاظت مستقیم ریشه توسط قارچ میکوریز و یا رقابت برای اشغال محل‌های تغذیه و استقرار باشد (Hol & Cook, 2005). در تعدادی از این بررسی‌ها بخشی از کاهش خسارت نماتد در اثر حضور قارچ میکوریز را می‌توان به افزایش رشد گیاه به دلیل جذب عناصر معدنی به ویژه فسفر (Smith & Read 1997) و افزایش فتوسنتز (Auge, 2001) نسبت داد. بخش از کاهش بیماری‌زایی نماتد روی گیاه می‌تواند به دلیل تحریک سیستم دفاعی گیاه توسط قارچ از طریق مکانیسم‌های مختلف باشد. نقش چندین ژن و فرآورده پروتئینی در واکنش دفاعی گیاهان در همزیستی میکوریزایی مشخص شده است. این ژن‌ها در تولید فیتوآلکسین‌ها، بتا ۱و۳ گلوکاناز، کیتیناز و PR پروتئین‌ها نقش دارند. در تحقیقات مختلف به افزایش فعالیت برخی از آنزیم‌ها، شامل کیتیناز در گیاهان میکوریزی اشاره شده (Azcon-Aguilar & Barea, 1996) و در مواردی نقش آنزیم‌های مذکور در کنترل پاتوژن‌ها نشان داده شده است افزایش فنیل آلانین و سرین در گیاهان مایه‌زنی شده با میکوریز نیز گزارش شده است. در مجموع افزایش مواد

غذایی، تغییرات بیوشیمیایی در بافت‌های گیاهی، تغییرات آناتومیکی، تغییرات میکروبی در ریزوسفر و تغییرات مورفولوژیکی ریشه از مکانیسم‌های عمده‌ای است که به دخالت آن‌ها در روابط میکوریزی اشاره شده است (Hol & Cook, 2005). با توجه به نحوه فعالیت نماتد و قارچ و اثرات متقابل آن‌ها در رابطه با گیاه و نیز نتایج حاصل از این بررسی و نتایج آزمایشات مشابه (Forge, 2001; Siddiqui, 1998; Stroble, 1982)، این نظر که قارچ‌های میکوریز آربوسکولار قادر به محدود کردن بیماری‌زایی نماتد ریشه‌گرهی و کاهش خسارت نماتد باشند، بیشتر تقویت می‌گردد و احتمال استفاده از آن‌ها به عنوان عوامل بیوکنترل نماتد ریشه‌گرهی افزایش می‌یابد (Varma, 2008; Williamson, 1998).

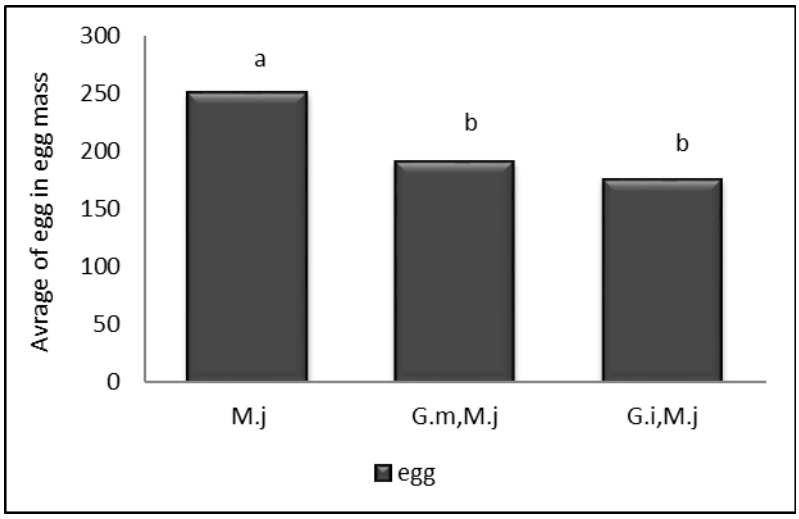


شکل ۱- مقایسه میانگین تعداد گال و توده تخم در گوجه‌فرنگی‌های مایه‌زنی شده با نماتد ریشه‌گرهی *M. javanica* با و بدون حضور قارچ‌های میکوریز *G. mosseae* و *G. intraradices*

Figure 1. Mean comparison of number of gall and egg mass in inoculated tomatoes with root-knot nematode (*M. javanica*) with and without mycorrhizal fungi (*G. mosseae* and *G. intraradices*) M.j: *Meloidogyne javanica*, G.m+M.j: *Glomusmosseae +Meloidogyne javanica*, G.i+M.j: *Glomusintraradices+Meloidogyne javanica*

میانگین‌های دارای حروف مشابه در هر ستون با رنگ مشابه در سطح ۱٪ اختلاف معنی‌دار ندارند.

Values followed by the same letter on columns of same color are not significantly different (p=0.01)

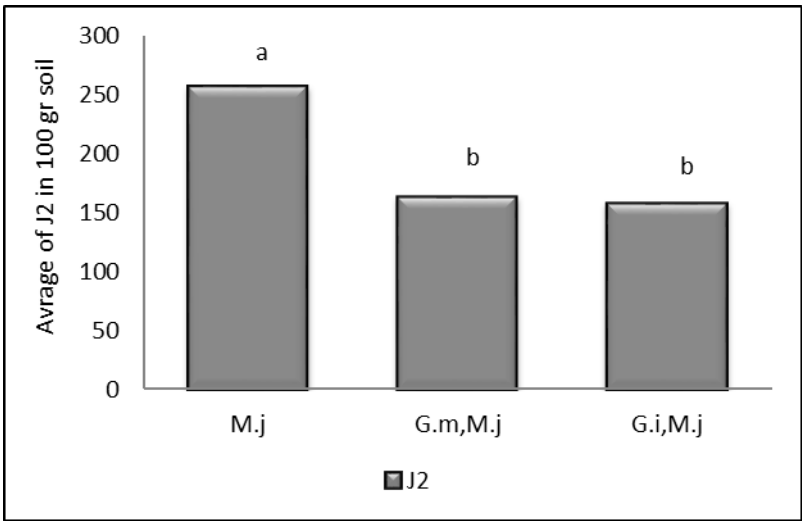


شکل ۲- مقایسه میانگین تعداد تخم در داخل هر توده تخم در گوجه‌فرنگی‌های مایه‌زنی شده با نماتد ریشه‌گرهی *M. javanica* با و بدون حضور قارچهای میکوریز *G. mosseae* و *G. intraradices*

Figure 2. Mean comparison of number of egg in egg mass in inoculated tomatoes with root- knot nematode (*M. javanica*) with and without mycorrhizal fungi (*G. mosseae* and *G. intraradices*)

میانگین‌های دارای حروف مشابه در سطح ۱٪ اختلاف معنی‌دار ندارند.

Values followed by the same letter are not significantly different (p=0.01).

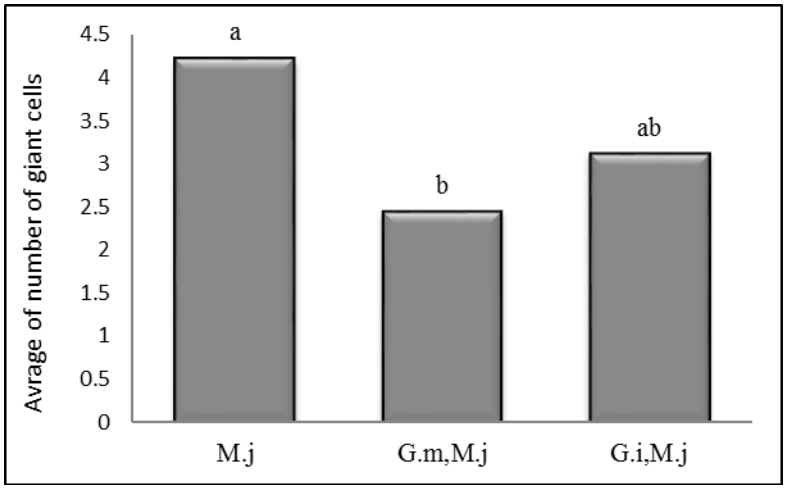


شکل ۳- مقایسه میانگین تعداد لارو سن دوم نماتد ریشه‌گرهی در گوجه‌فرنگی‌های مایه‌زنی شده و مایه‌زنی نشده با قارچهای میکوریز *G. mosseae* و *G. intraradices*

Figure 3. Mean comparison of number of J2 of root- knot nematode in inoculated and non-inoculated tomatoes with mycorrhizal fungi (*G. mosseae* and *G. intraradices*)

میانگین‌های دارای حروف مشابه در سطح ۱٪ اختلاف معنی‌دار ندارند.

Values followed by the same letter are not significantly different (p=0.01).

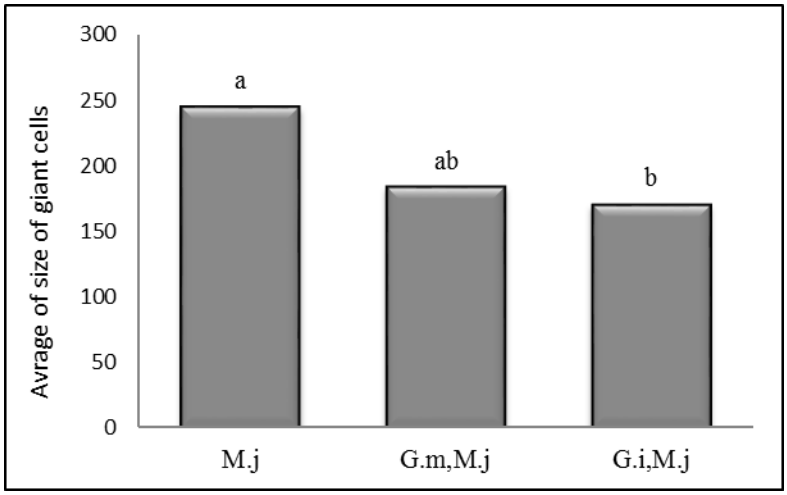


شکل ۴- مقایسه میانگین تعداد سلول‌های غول‌آسا در گوجه‌فرنگی‌های مایه‌زنی شده با نماتد ریشه‌گرهی *M. javanica* با و بدون حضور قارچ‌های میکوریز *G. mosseae* و *G. intraradices*

Figure 4. Mean comparison of number of giant cells in inoculated tomatoes with root- knot nematode (*M. javanica*) with and without mycorrhizal fungi (*G. mosseae* and *G. intraradices*)

میانگین‌های دارای حروف مشابه در سطح ۱٪ اختلاف معنی‌دار ندارند.

Values followed by the same letter are not significantly different (p=0.01).



شکل ۵- مقایسه میانگین اندازه سلول‌های غول‌آسا در گوجه‌فرنگی‌های مایه‌زنی شده با نماتد *M. javanica* با و بدون حضور قارچ‌های *G. mosseae* و *G. intraradices*

Figure 5. comparison of avrage of size of giant cells in inoculated tomatoes with root- knot nematode (*M. javanica*) with and without mycorrhizal fungi (*G. mosseae* and *G. intraradices*)

میانگین‌های دارای حروف مشابه در سطح ۱٪ اختلاف معنی‌دار ندارند.

Values followed by the same letter are not significantly different (p=0.01).

منابع

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

Atillanto, R.A., Menge J.A., & Vanggundy, S.D. 1981. Interaction of *Meloidogynearenaria* and *Glomus fasciculatum* in grape, *Nematology*, 13: 52-57.

Auge, R. 2001. Water relations, drought and VA mycorrhizal symbiosis. *Mycorrhiza*, 11: 3-42

Azcon-Aguilar C. & Barea J.M. 1996. Arbuscular mycorrhizal and biological control of soil born plant pathogens on overview of the mechanisms involved. *Mycorrhiza*, 6: 457-464.

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

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

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

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

Hol, W.H.G. & Cook, R. 2005. An overview of arbuscular mycorrhizal fungi- nematode interactions. *Basic Applied Ecology*, 6:489-503.

Hussey, R.S. & Barker, K.R. 1973. A comparison of methods of collecting inocula of *Meloidogyne* spp. including a new technique. *Plant Disease Reporter* 57:1025-1028.

Hussey, R. S. & Janssen, G. S. W. 2002. Root- knot nematodes: *Meloidogyne* species, pp: 69-77. In: Starr J.L., Cook R. and Brige J. *Plant Resistance to Pareasitic Nematods*. CAB International.

Jenkins, W.R. 1964. A rapid centrifugal technique for separating nematodes from soil. *Plant Disease Reporter*, 48: 672-693.

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

Liu, R., Dai, M., Wu, X., Li M. & 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.

Mahaveer, P., Sharma, S., Bhargava, M.K., Verma. & Alokadholeya. 1994. Interaction between the endomycorrhizal fungus, *Glomus fasciculatum*. *Mycorrhiza*, 5: 270-279

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

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

Phillips, J.M. & 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.

Proite, K., Carneiro, R., Falcao, R., Gomes, A., Leal-Bertioli, S., Guimaraes, P., & Bertioli, D. 2008. Post-infection development and histopathology of *Meloidogyne arenaria* 1 on Arachis spp. *Plant Pathology*, 57: 974-980.

Rai, M. K. 2001. Current advances in mycorrhization in micropropagation. In vitro cell. *Plant Developmental Biology*, 37:158-167.

Rezaee Danesh, Y., Mohammadi Goltapeh, A., Alizadeh, A., & Varma, A. 2007. *Studies on Taxonomy and in vitro Culturing Possibility Soybean and Alfalfa-Associated Arbuscular Mycorrhizas in Iran.* Ph.D thesis. Faculty of agriculture. Tarbiat Modarres University, Iran.

Roserwarne, G. M., Barker, S. J. & Smith, S. E. 1997. Production of near-synchronous fungal colonization in tomato for developmental and molecular analyses of mycorrhiza. *Printed in Great Britain*, 101(8): 966-970.

Saleh, H. M. & Sikora, R. A. 1988. Effect of quintozen, benomyl and carbendazim on the interaction between the endomycorrhizal fungus *Glomus Fasciculatum* and the root-knot nematode *Meloidogyne incognita* on cotton. *Nematologica*, 432-442.

Schwob, A. Ducher, C. & Coudret, S. A. 1988. Effects of climatic factors on native arbuscular mycorrhizae and *Meloidogyne exigua* in a Brazilian rubber tree (*Heveabrasiliensis*) plantation. *Plant Pathology* pp19-25.

Schubler, A. 2002. Molecular phylogeny, taxonomy and evolution of *Geosiphon pyriformis* and arbuscular mycorrhizal fungi. *Plant Soil*, 244: 75-83.

Sharon, E., Bar-Eyal M., Chet, I., Herrera-Esterella, A., Keleifeld, O. & Spiegel, Y. 2001. Biological control of the root-knot nematode *Meloidogyne javanica* by *Trichoderma harzianum*. *Phytopathology*, 91(7): 687-693.

Siddiqui, Z. A. & Mahmood, I. 1998. Effect of a plant growth promoting bacterium, an AM fungus and soil types on the morphometrics and reproduction of *Meloidogyne javanica* on tomato. *Applied Soil Ecology*, 8:77-84.

Sikora, R. A. & Schonbech, F. 1975. Effect of vesicular arbuscular mycorrhizal (*Endogonemosseae*) on the population dynamics of the (*Meloidogyne incognita* and *Meloidogyne hapla*). Plant Prot. Congr. Reports and Information, pp 158-166.

Smith, S. E. & Read. D.J. 1997. *Mycorrhizal Symbiosis* 2nd ed. Academic Press, London.

Strobel, N. E. 1981. Interactions of Vesicular Arbuscular Mycorrhizal Fungi, *Meloidogyne incognita*, and Soil Fertility on Peach. *Ecology and Epidemiology*, 72:690-694.

Suresh, D. K., Bagyaraj, D. J. & Reddy, D.D. 1985. Effect of Vesicular arbuscular mycorrhiza on survival, penetration and development of root- knot nematode in tomato. *Plant and Soil*, 87: 305-308.

Taylor, D. P. & Netscher, C. 1974. An improved technique for preparing perineal patterns of *Meloidogyne* spp. 16. *Nematologica*, 20: 268-269.

Trudgill, D. L. & Block, V. C. 2001. Apomictic, polyphagous root-knot nematodes: dxceptionally successful and damaging biotrophic root pathogens. *Annual Review of Phytopathology*, 39:53-77.

Varma, A. 2008. *Mycorrhiza*. Springer.

Williamson, V. M. & Hussey, R. S., 1996. Nematode pathogenesis and resistance in plants. *The Plant Cell*, 8:1735-1745.

Zaki, A. M., Siddiqui, M. & SaeedAkhtar, 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.

Zhang, L., Zhang, J. & Christie, P. 2008. Pre-in oculation with arbuscular mycorrhizal fungi suppresses root-knot nematode (*Meloidogyne incognita*) on cucumber (*Cucumissativus*). *Biology and Fertility of Soils*, 45:205–211.