مجله کنترل بیولوژیک آفات و بیماری‌های گیاهی
شماره دوم، ۱۳۹۱ (۱۲۹-۱۲۱)

اثرات قارچ میکوریز (*Glomus mosseae* و *G. intraradices*) بر نماتود ریشه‌گرهی (*Meloidogyne javanica*) روی گوجه‌فرنگی

هادی گلزاری[1*]، ناصر پنجه‌که[2]، محمد سالاری[2]، ابراهیم صداقتی‌خروی[3] و فرهاد رجالی[4]
۱، دانشجوی سابق کارشناسی ارشد بیماری‌شناسی گیاهی، ۲، دانشیاران گروه گیاه‌پزشکی، دانشگاه زابل،
۳، استادیار گروه گیاه‌پزشکی، دانشگاه ولی عصر (عج) رفسنجان، ٤، استادیار موسسه تحقیقات خاک و آب، تهران

چکیده

مطالعات گلخانه‌ای نشان داد در نشاهای گوجه‌فرنگی که دو هفته قبل از آلودگی با نماتود با دو گونه میکوریز *G. mosseae* و *G. intraradices* مایه‌زنی شده بودند، کاهش رشد ناشی از نماتود به‌میزان قابل توجهی جبران شد. لازم به ذکر است که درصد کلنیزه‌شدن ریشه‌ها با دو گونه مذکور به‌ترتیب ٦٦/٣ و ٦٢/٢ درصد بود و این تحقیق بر اساس طرح آماری کاملاً تصادفی با پنج تیمار و پنج تکرار تنظیم شد. وزن خشک شاخه و ریشه نشاهای مایه‌زنی شده با *G. mosseae* نسبت به تیمار نماتود تنها به‌ترتیب ٤٤٪ و ٤٥٪ بیشتر بود (P≤٠/٠٥). وزن خشک شاخه و ریشه نشاهای مایه‌زنی شده با *G. intraradices* به‌ترتیب ٤٠٪ و ٣٧٪ بیشتر بود. تعداد گره، قطر گره و میزان نفوذ نماتود به ریشه‌های مایه‌زنی شده با *G. mosseae* نسبت به تیمار نماتود تنها به‌ترتیب ٥٥٪ و ٤٧٪ و ٥٥٪ کاهش یافت (P≤٠/٠٥). تعداد گره، قطر گره و میزان نفوذ نماتود به ریشه‌های مایه‌زنی شده با *G. intraradices* به‌ترتیب ٤٧٪ و ٤١٪ و ٥١٪ کاهش یافت. در گیاهان تیمار شده با G1M و G2M شاخص گال نسبت به شاهد آلوده ١ واحد کاهش یافت (P≤٠/٠٥). جمعیت نماتود در خاک گلدان‌های تیمار شده با هر یک از دو گونه میکوریز به کمتر از نصف شاهد آلوده به نماتود تنها کاهش یافت (P≤٠/٠٥).

واژه های کلیدی: نماتود ریشه‌گرهی، *Meloidogyne javanica*، *Glomus* sp.، گوجه‌فرنگی، کلنیزاسیون، میکوریز.

مقدمه

گوجه‌فرنگی (*Solanum lycopersicum*) یکی از محصولات مهمی است که در سراسر دنیا کشت می‌شود و از طرفی بیماری ریشه‌گرهی یکی از مهمترین بیماری‌های گوجه‌فرنگی می‌باشد. گیاهان آلوده به *Meloidogyne* spp. دچار کوتولگی می‌شوند، ریشه‌های آنها گره‌دار می‌شود و برخی گیاهان علائم کمبود موادغذایی به‌ویژه کمبود نیتروژن را نشان می‌دهند (Zaki *et al*. 2006). درمیان نماتودهای ریشه-گرهی، *M. javanica* (Treub) Chitw., *M. incognita* (Kofoid and White) Chitw., *arenaria* (Neal) Chitw., *M. hapla* Chitw. و از جمله خسارت‌زاترین بیمارگرهای کشاورزی محسوب می‌شوند و این درحالی است که حداقل ٩٠٪ خسارات ناشی از نماتودها مربوط به گونه‌های مذکور می‌باشد (Castagnone-Sereno 2002). خسارت سالانه نماتودها به محصولات کشاورزی دنیا ١١٨ بیلیون دلار تخمین زده شده است (Atkinson *et al*. 2012). ریزوسفر و

* نویسنده مسئول: هادی گلزاری تلفن: ۰۹۸۹۱۳۲۷۹۷۲۰۴+ E-mail: Hadigolzary@gmail.com

ریزوپلان به‌وسیله تعداد زیادی از میکروارگانیسم ها کلنیزه می‌شوند.

از بین میکروارگانیسم‌های حاضر، قارچ‌های میکوریز آربوسکولار (AM[1]) در زمینه افزایش رشد و ارتقای محصول گیاهان از ارزش زیادی برخوردار هستند (Siddiqui and Mahmood 1998). قارچ‌های مذکور به‌میزان وسیعی در خزانه‌ها استفاده می‌شوند و آب و موادغذایی قابل استفاده برای گیاه را افزایش می‌دهند. آنها همچنین رشد گیاهان گوجه‌فرنگی را بهبود می‌بخشند (Saad *et al*. 2011; Saad *et al*. 2012) و در مقابل بیماری‌های نماتودی حفاظت قابل توجهی فراهم می‌سازند (Siddiqui *et al*. 1999, Waceke *et al*. 2002, Thygesen *et al*. 2004). از گذشته تاکنون، چند مکانیسم اصلی عملکرد میکوریز جهت حفاظت زیستی میزبان در نظر گرفته شده است که شامل رقابت مستقیم، مکانیسم غیرمستقیم بهبود رشد گیاه، جذب موادغذایی، تغییرات بیوشیمیایی و مولکولی در گیاهان میکوریزی ناشی از القای مقاومت نسبت به بیمارگر، تغییرات میکروبی در خاک و بهبود خاصیت آنتاگونیستی در مقابل بیمارگر می‌باشد (Vierheilig *et al*. 2008).

طی تحقیقی ارتباط بین قارچ‌های میکوریز و نماتود ریشه‌گرهی سویا بررسی و مشاهده شد که در گیاهانی که ۱۴ روز بعد از تلقیح میکوریز با نماتود تلقیح شده بودند، نسبت به شاهد آلوده تعداد گره آنها کمتر و وزن خشک ریشه و میزان محصول به‌طور معنی‌داری بیشتر بود (Kellam *et al*. 1980). نتایج یک بررسی نشان داده است که اضافه‌کردن فسفر، نماکور و *Glomus* sp. تعداد گره را به‌طور معنی‌داری کاهش می‌دهد. اضافه کردن میزان زیاد فسفر به خاک درصد کلنیزه شدن ریشه توسط قارچ میکوریز را کاهش داد درحالیکه نماکور چنین اثری نداشت. اگر تلقیح میکوریز به گیاه قبل از تلقیح نماتود صورت گیرد وزن خشک گیاه به‌طور معنی-داری افزایش و تعداد گره کاهش می‌یابد (Mirghani and elsheikh 1996).

طی تحقیقی کاهش خسارت نماتود *M. incognita* به‌وسیله کلنیزه‌شدن ریشه‌های گوجه‌رنگی توسط قارچ‌های میکوریز بررسی و مشاهده شده است که با تلقیح همزمان قارچ و نماتود مذکور گیاهان قبل از محصول‌دهی از بین می‌روند و تلقیح میکوریز ۳ هفته قبل از نماتود، کاهش رشد و خسارت نماتود را جبران می‌کند (Talavera *et al*. 2001). طی پژوهشی بهبود مدیریت نماتود دو ژنوتیپ سویا به‌وسیله دو قارچ تریکودرما و میکوریز بررسی و مشاهده شده است که ترکیب این دو قارچ نسبت به سم کاربوفوران، ریشه‌ها را در مقابل نماتود ریشه‌گرهی بهتر حفاظت می‌کند (Oyekanmi *et al*. 2007).

طی مطالعه‌ای که در زمینه تاثیر *G. moseae* روی رابطه انگلی *M. incognita* و چهار واریته لوبیا چشم بلبلی در شرایط گلخانه و مزرعه صورت گرفته است مشاهده شد که میزان گال ایجاد شده در تمام واریته‌های مایه زنی شده با *G. moseae* به‌میزان قابل‌توجهی کاهش یافت و بهبود مقاومت به نماتود مذکور در تمام واریته‌ها قابل توجه بود (Odeyemi *et al*. 2010). طی پژوهشی که در زمینه اثرات حفاظت زیستی دو گونه *G. moseae* و *G. intraradices* در مقابل *M. graminicola* در برنج صورت گرفته است مشاهده شد که *G. moseae* نسبت به*G. intraradices* درصد کلنیزاسیون بالاتری داشته و از تکثیر نماتود مذکور جلوگیری کرد (Manandhar 2011).

هدف از این تحقیق تعیین اثرات دو گونه از قارچ *Glomus* sp. در کاهش شاخص‌های بیماری ریشه گرهی، افزایش شاخص‌های رشد گوجه‌فرنگی و همچنین کاهش خسارت ناشی از نماتود *M. javanica* به نشاهای گوجه‌فرنگی در جهت توسعه کشاورزی پایدار و در شرایط کنترل شده بوده است.

مواد و روش‌ها

جداسازی، تشخیص و تکثیر نماتود *M. javanica*

نماتودهای ماده بالغ از گره‌های ریشه گیاهان گوجه‌فرنگی جمع‌آوری شده از بخش آلوئک شهرستان ورامین جداسازی شد. لام‌های (۱۰ تا ۲۰ عدد) الگوی انتهایی بدن (perineal pattern) هر نمونه تهیه شد و مطالعه میکروسکوپی ویژگی‌های الگوی انتهایی بدن نماتود ماده بالغ و اندازه‌گیری سایر شاخص‌ها جهت

1. Arbuscular mycorrhizal

تشخیص انجام شد (Jepson 1987). به‌منظور تکثیر نماتود، توده‌های تخم منفرد از انتهای بدن نماتود ماده جدا شد و به سه چاهک حفر شده در خاک اطراف نشاهای رقم حساس گوجه‌فرنگی (Early Urbana) در شرایط گلخانه‌ای اضافه گردید. پس از مایه‌زنی نماتود به گیاهان متعدد و بعد از گذشت هشت هفته مرحله تکثیر نماتود به پایان رسید.

زادمایه نماتود *M. javanica*

پس از پایان مرحله تکثیر نماتود، با تکان دادن شدید ریشه‌ها در محلول هیپوکلریت سدیم یک درصد به مدت سه دقیقه تخم‌های نماتود جداسازی گردید. سپس سوسپانسیون حاصل از الک‌های با اندازه مش‌های متفاوت عبور داده شد و تخم‌ها روی الک ۵۰۰ مش جمع‌آوری شدند. با نگهداری تخم‌ها در آب مقطر استریل ۲۸ درجه سلسیوس به مدت ۵ روز لاروهای نماتود بدست آمد (Siddiqui and Shaukat 2006).

زادمایه اولیه میکوریز

زادمایه اولیه خالص دو گونه میکوریز *Glomus intraradices* و *G. mosseae* از موسسه تحقیقات خاک و آب تهران توسط آقای دکتر فرهاد رجالی تهیه شد. گیاه سورگوم (*Sorghum bicolor* L.) که همزیست مناسب میکوریز، سریع‌الرشد و با ریشه‌زایی فراوان می‌باشد به‌منظور تکثیر اسپورهای زادمایه اولیه کشت شد (Talavera *et al.* ۲۰۰۱). برای کشت، ابتدا بذور سورگوم با هیپوکلریت سدیم ۱/۲۵٪ به‌مدت ۲۰ دقیقه ضدعفونی سطحی شدند و پس از جوانه‌دار شدن در ۱۵ گلدان حاوی یک کیلوگرم خاک سترون لومی مخلوط شده با ماسه (۲:۱) کشت شدند (Zaki *et al.* 2006). جهت تحریک به اسپورزایی، زادمایه اولیه به مدت ۴۸ ساعت در دمای پنج درجه سلسیوس یخچال نگهداری شد سپس برای تکثیر و ازدیاد اسپورها، ۵۰۰ اسپور شامل ۱۵ گرم زادمایه اولیه *G. mosseae* (در هر گرم ۳۴ اسپور) و ۱۷ گرم زادمایه اولیه *G. Intraradices* (در هر گرم ۲۹ اسپور) به چاهک‌هایی اطراف ریشه سورگوم اضافه گردید (Zaki *et al.* 2006). گیاهان در گلخانه طی مدت تکثیر در شرایط دمایی ۱۹-۲۴ درجه سلسیوس دمای شب و ۲۹-۳۳ درجه سلسیوس دمای روز و با نور کافی نگهداری، با کود کامل فوسامکو (یک در هزار) به صورت ماهانه محلول‌پاشی و از طریق تشتک‌های زیر گلدان‌ها آبیاری می‌شدند. به‌منظور افزایش سرعت تکثیر و تحریک بیشتر اسپورها، ماهانه گیاهان سه هفتگی سورگوم در کنار گیاهان قبلی کشت و قطعات کاغذ صافی استریل (سلولز محرک اسپورزایی) اضافه می‌شد. جهت برآورد زادمایه مورد احتیاج، ماهانه شمارش اسپور بر اساس روش اول کلی‌کامپ و همکاران (Kleikamp *et al.* 2002) و درصد کلنیزاسیون بر اساس روش گیووانتی و موسه (Giovannetti and Mosse 1980) صورت می‌گرفت. پس از چهار ماه اسپورهای قارچ بر اساس روش دوم کلی‌کامپ و همکاران، جداسازی و شمارش اسپورها بک کمک یک قلم مو زیر استرئو میکروسکوپ انجام شد (Kleikamp *et al.* 2002). در هر گرم خاک ۳۲ اسپور *G. mosseae* و ۲۶ اسپور *G. intraradices* وجود داشت.

کنترل زیستی نماتود ریشه‌گرهی به‌وسیله میکوریز در شرایط گلخانه‌ای

بر اساس روش شافی و محمود (۲۰۰۰) نشاهای گوجه‌فرنگی (رقم حساس Early Urbana) به گلدان‌های سترون حاوی یک کیلوگرم خاک خاک سترون لومی مخلوط شده با ماسه (۲:۱) انتقال داده شدند و بعد از یک هفته، تعدادی از نشاهای سه برگی (۱۰ عدد) با ۴۰ گرم خاک (در هر گرم ۳۲ اسپور شامل ۱۲۰۰ اسپور *G. mosseae*) و تعدادی (۱۰ عدد) با ۵۰ گرم خاک (در هر گرم ۲۶ اسپور شامل ۱۲۰۰ اسپور *G. intraradices*) تیمار شدند که زادمایه مذکور به چاهک ایجاد شده در اطراف ریشه هر گیاه اضافه گردید. پس از مایه زنی قارچ مذکور، از ریشه نشاها به صورت هفتگی نمونه‌برداری صورت می‌گرفت و درصد کلنیزاسیون بررسی می‌شد تا اینکه درصد مطلوب زمان تکثیر میکوریز (۶۵ تا ۷۰ درصد) بعد از دو هفته در ریشه‌ها مشهود گردید. بنابراین دو هفته بعد از مایه‌زنی قارچ، بر اساس روش شافی و محمود، ۲۰۰۰ لارو تازه تفریخ شده *M. javanica* در سه چاهک ایجاد شده در اطراف هر نشا اضافه گردید (Shafi and Mahmood 2000). گیاهان گلخانه طی این مدت در شرایط دمایی ۱۹-۲۴ درجه سلسیوس دمای شب و ۲۹-۳۳ درجه سلسیوس دمای روز و با نور کافی نگهداری و از طریق تشتک‌های

زیر گلدان‌ها آبیاری می‌شدند. گیاهان هشت هفته بعد از مایه زنی نماتود برداشت شدند و وزن خشک ریشه و اندام‌هوایی، تعداد و قطر گره در هر ریشه، جمعیت نماتود در خاک و ریشه‌ها و درصد کلنیزه‌شدن ریشه‌ها به‌وسیله قارچ‌های AM ارزیابی و ثبت گردید. در این مطالعه، برای هر تیمار که شامل نماتود تنها (شاهد آلوده)، قارچ تنها، قارچ و نماتود بود، پنج تکرار در نظر گرفته شد و تجزیه و تحلیل داده‌های آزمایشی با روش تجزیه واریانس در قالب طرح کاملاً تصادفی با استفاده از نرم افزار SAS (نسخه ۹,۱) انجام شد سپس میانگین داده‌ها با آزمون دانکن در سطح ۵٪ مقایسه شد.

ارزیابی جمعیت نماتود *M. javanica* در ریشه

مقداری از ریشه‌ها به قطعات کوچکی برش داده و مخلوط شدند آنگاه برای دستیابی به تخم‌ها، نماتود ماده و لارو یک گرم ریشه رنگ‌آمیزی و به مدت ۴۵ ثانیه در آسیاب الکتریکی له شد. جمعیت نماتود با شمارش لاروها و نماتودهای ماده در یک گرم ریشه تخمین زده شد و به کل وزن ریشه تعمیم داده شد (Zaki *et al*, 1998).

رنگ آمیزی ساختارهای AM و تخمین نسبت کلنیزاسیون در ریشه‌های نازک

کیتین موجود در دیواره سلولی میکوریز بر اساس روش فیلیپس و هایمن با تریپان بلو رنگ‌آمیزی شد (Philips and Hayman 1970)

محاسبه درصد کلنیزه‌شدن ریشه‌ها

بر اساس روش گیووانتی و موسه ۱/۵ گرم ریشه تازه انتخاب و پس از رنگ‌آمیزی در پتری مدرجی که اندازه ضلع هر مربع آن ۰/۵ اینچ بود، پخش شد (اگر ابعاد این مربع‌ها ۰/۵ اینچ باشد تعداد نقاط برخورد برابر با طول ریشه‌های کلنیزه شده می‌باشد). خطوط طولی و عرضی بررسی شد و وجود یا عدم وجود کلنیزاسیون ریشه در هر نقطه که خط را قطع کرده بود ثبت شد. درصد کلنیزه‌شدن ریشه‌ها با تشکیل تناسب بدست آمد. (Giovannetti and Mosse 1980).

استخراج و شمارش اسپور میکوریز در خاک

استخراج و شمارش اسپورهای قارچ با دو روش که در تایید یکدیگرند و هر کدام کاربرد خاص خود را دارند انجام شد. بر اساس روش اول کلی‌کامپ (۲۰۰۲) که بیشتر جهت برآورد تعداد اسپورها در حجم کمی از خاک و طی تکثیر میکوریز استفاده می‌شود، ۵-۳ گرم خاک حاوی اسپور میکوریز وزن شد و سوسپانسیونی از آن تهیه و هم زده شد و روی کاغذ صافی مدرج درون قیف شیشه‌ای ریخته شد.کاغذ صافی درون پتری قرار داده شد و تعداد اسپور روی آن در زیر استرئومیکروسکوپ شمارش شد. شمارش اسپور در ۵-۴ نمونه خاک دیگر انجام شد و جمعیت آن به کل خاک تعمیم داده شد (Kleikamp *et al.* 2002). بر اساس روش دوم کلی‌کامپ که بیشتر جهت استخراج و شمارش اسپورها در حجم زیاد خاک و در پایان تکثیر میکوریز می‌باشد، سوسپانسیون خاک روی الک‌های ۵۰ و ۵۰۰ مش خالی شد و ذرات روی الک ۵۰۰ مش به مدت ۵ دقیقه در ۹۰۰۰ دور سانتریفیوژ شد. محلول شناور بالای لوله بیرون ریخته شد و ذرات در محلول شکر ۵۰ درصد مجدداً شناور شد و به مدت ۱ دقیقه در ۹۰۰۰ دور سانتریفیوژ شد. اسپورهای شناور در سطح لوله سانتریفیوژ روی الک ۵۰۰ مش ریخته شد و از روی آن با فشار آب فشان در شیشه ساعت ریخته شد و شمارش اسپور در زیر استرئومیکروسکوپ انجام شد (Kleikamp *et al.* 2002).

نتایج

کنترل زیستی نماتود ریشه‌گرهی توسط دو گونه از قارچ آربوسکولار میکوریز

گیاهان آلوده به نماتود تیمار شده با هر یک از دو گونه قارچ میکوریز نسبت به گیاهان آلوده به نماتود تنها، از نظر میزان رشد و بیماری متفاوت بودند که این تفاوت در سطح ۵ درصد معنی دار بود (جدول۱ و ۲).

شاخص‌های رشد

وزن مرطوب اندام‌های هوایی گیاهان تیمار شده با گونه‌های *G. interaradices* (G2) و *G. mosseae* (G1) نسبت به شاهد سالم به ترتیب ۱۲ و ۱۸ درصد افزایش یافت. افزایش وزن ناشی از تیمارهای G1M وG2M نزدیک به دو برابر شاهد آلوده به نماتود تنها بود که این افزایش در سطح ۵ درصد تفاوت معنی‌داری داشت. میزان خسارت وارد شده به وزن مرطوب گیاه آلوده به نماتود ۵۱ درصد بود (جدول۱).

اثر گونه‌های G2 وG1 در افزایش وزن خشک اندام-های هوایی به ترتیب ۱۶ و ۲۱ درصد بود. وزن گیاهان تیمار شده با تیمارهای G1M وG2 نسبت به شاهد آلوده به ترتیب ۴۴ و۴۰ درصد افزایش یافت که در سطح ۵ درصد تفاوت معنی‌داری داشت. میزان خسارت وارد شده به گیاه آلوده به نماتود ۵۲ درصد بود (جدول۱).

اثر گونه‌هایG1 و G2 در افزایش وزن خشک ریشه به‌ترتیب ۳۱ و ۲۲ درصد بود. افزایش وزن تیمارهای G1M وG2M به‌ترتیب ۴۵ تا ۳۷ درصد بود که نسبت به شاهد آلوده به نماتود تنها، در سطح ۵ درصد تفاوت معنی‌داری داشت. میزان خسارت به وزن گیاه آلوده به نماتود ۴۶ درصد بود.

بیشترین درصد کلنیزه‌شدن ریشه مربوط به تیمارهایG1 و G1M بود که این درصدهای کلنیزاسیون در سطح ۵ درصد تفاوت معنی‌داری نداشت. درصد کلنیزه‌شدن ریشه از۶۲ تا ۷۴ درصد متغیر بود (جدول ۱).

جدول ۱– مقایسه میانگین کنترل نماتود ریشه‌گرهی توسط دو تیمار در گلخانه

گونه قارچ میکوریز	وزن مرطوب اندام‌های هوایی (گرم)	وزن خشک اندام‌های هوایی(گرم)	وزن خشک ریشه (گرم)	درصد کلنیزه شدن ریشه توسط میکوریز
G2	۱۴/۳۷ab	۳/۱۹ab	۱/۳۶ab	۶۶/۶۰a
G1	۱۵/۵۰a	۳/۳۸a	۱/۶۸a	۷۳/۵۹a
Control	۱۲/۷۴bc	۲/۶۹bc	۱/۱۱bc	-
G1M	۱۱/۱۲c	۲/۲۷c	۱/۰۸bc	۶۶/۲۸a
G2M	۱۰/۶۳c	۲/۱۷c	۰/۹۵c	۶۲/۱۸a
M	۶/۲۰d	۱/۳۴d	۰/۶۱d	-
CV	۱۳/۷	۱۲/۴	۹/۱	۱۱/۱

حروف غیر مشترک نشان دهنده تفاوت معنی‌دار تیمارها در سطح ۵ درصد می‌باشد. G1 گونه قارچ میکوریز *Glomus mosseae*، گونه *G. interaradices*، M گیاه آلوده به نماتود *Meloidogyne javanica*، Control گیاه فاقد نماتود و میکوریز، GM آلوده به میکوریز و نماتود.

شاخص‌های بیماری

در گیاهان تیمار شده با G1M وG2M تعداد گره‌ها به ترتیب ۵۵ و ۴۷ درصد کاهش یافت که تفاوت کاهش آنها نسبت به شاهد آلوده به نماتود تنها در سطح ۵ درصد معنی‌دار بود (جدول ۲).

جدول ۲- مقایسه میانگین تاثیر دو تیمار در کاهش آلودگی نماتود

گونه قارچ میکوریز	تعداد گره	شاخص گال (R. I)	قطر گره (میلی‌متر)	میزان نفوذ نماتود به ریشه (کل ریشه)	میزان نفوذ نماتود به ریشه (در هر گرم)	جمعیت نماتود در خاک (در ۱۰۰ گرم)	تعداد گره متوسط	قطر بزرگترین گره
M	۷۸۴a	۳/۹a	۶/۶۵a	۱۴۵۸a	۴۷۸a	۱۰۸۲۱a	۱۸۹a	۷/۶۵a
G1M	۳۵۶b	۲/۷b	۳/۵۰b	۱۲۰۸b	۲۲۴b	۴۹۱۵b	۸۵b	۴c
G2M	۴۱۷b	۳/۱b	۳,۹۵b	۱۲۲۳b	۲۵۷b	۵۷۵۶b	۵۹c	۵/۷۵b
CV	۱۳/۷	۱۳/۷	۱۰/۲	۱۰/۸	۱۰/۸	۱۱/۲	۱۲/۴	۱۳/۶

حروف غیر مشترک نشان دهنده تفاوت معنی‌دار تیمارها در سطح ۵ درصد می‌باشد. G1 گونه قارچ میکوریز*Glomus mosseae*، G2 گونه *G. interaradices*، M گیاه آلوده به نماتود *Meloidogyne javanica*، Control گیاه فاقد نماتود و میکوریز، GM گیاه آلوده به میکوریز و نماتود، R. I شامل عدد صفر (۲۰-۰ گره)، ۱ (۴۰-۴)، ۲ (۱۲۰-۴۴)، ۳ (۴۰۰-۱۲۴)، ۴ (۸۰۰-۴۰۱)، ۵ (بیش از ۸۰۰ گره).

در گیاهان تیمار شده با G1M و G2M شاخص گال نسبت به شاهد آلوده ۱ واحد کاهش یافت که این کاهش در سطح ۵ درصد معنی‌دار بود (جدول ۲). تیمارهای G1M و G2M نفوذ نماتود به گیاهان را به بیش از نصف گیاهان غیرمیکوریزی (شاهد آلوده) کاهش داد که تفاوت کاهش آنها نسبت به شاهد آلوده در سطح ۵ درصد معنی‌دار بود. در گیاهان تیمار شده با G1M و G2M تعدادگره‌های متوسط نماتود نسبت به گیاهان غیرمیکوریزی (شاهد آلوده) به ترتیب ۶۹ و ۵۵ درصد کاهش یافت که تفاوت کاهش آنها نسبت به شاهد آلوده در سطح ۵ درصد معنی‌دار بود. تیمارهای G1M وG2M قطر متوسط گره را به حدود نصف شاهد آلوده کاهش دادند که تفاوت کاهش آنها در سطح ۵ درصد معنی‌دار بود (جدول ۲). جمعیت نماتود در خاک گلدان‌های تیمار شده با هر یک از دو گونه میکوریز به کمتر از نصف شاهد آلوده به نماتود تنها کاهش یافت که این تفاوت جمعیت در سطح ۵ درصد معنی‌دار بود (جدول ۲). قطر بزرگترین گره در تیمارهای G1M و G2M و M به ترتیب ۴، ۵,۷۵ و ۷,۶۵ بود که تفاوت کاهش آنها در سطح ۵ درصد معنی‌دار بود (جدول ۲).

در تیمارهای G1M و G2M قطر بزرگترین گره نسبت به گیاهان غیرمیکوریزی (شاهد آلوده) به ترتیب ۴۸ و ۲۵ درصد کاهش یافت که تفاوت کاهش آنها نسبت به شاهد آلوده به نماتود تنها در سطح ۵ درصد معنی‌دار بود.

بحث

در گیاهان مایه‌زنی شده با نماتود و میکوریز گره‌های خیلی کوچکی ایجاد شد و از طرفی قارچ میکوریز تکثیر نماتود را کاهش داد. همچنین در ریشه‌های مایه زنی شده با میکوریز تعداد لاروهایی که به مرحله بلوغ رسیدند کاهش یافت و از طرفی رشد گیاهان افزایش یافت. زکی و همکاران (۲۰۰۶) نیز در گیاهان مایه‌زنی شده با *G. mosseae* افزایش میزان رشد گیاهان و کاهش میزان تکثیر نماتودها را شاهد بودند (Zaki *et al.* 2006). در این تحقیق، با در نظر گرفتن زمان مناسب مایه‌زنی، در زمینه کاهش میزان بیماری و رشد گیاه نتایج خوبی را شاهد بودیم. در گیاهانی که ۱۴ روز بعد از مایه‌زنی میکوریز به وسیله نماتود مایه‌زنی شده بودند نسبت به شاهد آلوده، قطر، تعداد گره و شاخص‌گال به میزان معنی‌داری کاهش و وزن خشک ریشه به مقدار معنی‌داری افزایش یافت. کلام و شنک نیز ارتباط بین قارچ‌های میکوریز و نماتود ریشه‌گرهی سویا را بررسی و به نتایج مذکور دست یافتند (Kellam and Schenck 1980).

در این مطالعه، تعداد اسپورهای میکوریز برای مایه‌زنی کافی بود و از طرفی میزان کلنیزاسیون ریشه توسط هر دو گونه میکوریز رضایت‌بخش بود و به‌تبع آن میزان نفوذ نماتود به ریشه‌های کلنیزه‌شده با هر دو گونه به میزان قابل توجهی کاهش یافت. کلام و شنک (۱۹۸۰) نیز به این نتیجه رسیدند که تراکم بیشتر زادمایه‌اولیه نماتود ممکن است روی کلنیزاسیون اولیه قارچ‌ها موثر باشد و از طرفی افزایش زادمایه اولیه قارچ‌ها ممکن است به عنوان عامل موثر در تعداد نماتودهای نفوذ کرده به نشاهای گوجه‌فرنگی عمل کند؛ زیرا نماتودها جهت آلودگی ریشه به چند ساعت زمان نیاز دارند. درحالیکه، قارچ‌ها جهت استقرار روی ریشه حداقل ۱۰ روز زمان احتیاج دارند. لازم به ذکر است که مایه‌زنی میکوریز قبل از نماتود اثر شدت بخشی دارد و اسپورها بیشتر از سایر زمان‌ها شکل می‌گیرند. به این علت، نسبت به مایه‌زنی همزمان نماتود و میکوریز کنترل نماتودها به میزان موثری صورت می‌گیرد (Kellam and Schenck 1980). السن و بای‌می (۲۰۰۳) نیز دریافتند که در حین کلنیزه‌کردن AMF، شواهد کمی مبنی بر وقوع واکنش دفاعی گیاه در سطوح بالا وجود دارد. گر چه طی ارتباط متناوب با بیمارگر واکنش دفاعی میزبان به میزان زیادی تشدید می‌شود ولی کلنیزاسیون خوب AMF شرط ضروری این واکنش است. به نظر می‌رسد که کلنیزاسیون AMF به عنوان یک سیستم آماده باش عمل می‌کند و گیاه را در مقابل یک بیمارگر محافظت می‌کند (Elsen and Baimey 2003).

در این پژوهش، *Glomus* sp. از طریق کاهش تکثیر نماتود که کاهش جمعیت نماتود در خاک و ریشه مویّد آن است، رشد گیاهان آلوده به نماتود را بهبود بخشید. زکی و همکاران (۲۰۰۶) نیز متوجه شدند که این

موضوع برای سایر قارچ‌هایAM نیز مصداق دارد و فرض را بر این گذاشتند که خاصیت بازدارنگی بیماری به‌وسیله *G. intraradices* ممکن است با افزایش میزان فسفر ارتباط داشته باشد، زیرا میزان فسفر و توده خشک ریشه‌ها افزایش معنی‌داری داشت. در مجموع، عقیده بر این است که تغییر جذب موادغذایی و سیستم ریشه‌ای و فعال‌سازی مکانیسم های دفاعی گیاه مسئول بازدانگی بیماری بوسیله قارچ AM می‌باشد (Zaki *et al*. 2006).

در این مطالعه، درصد کلنیزه‌شدن ریشه گیاهان تیمار شده با گونه قارچ میکوریز *G. mosseae* (G1) ۸ درصد بیشتر از گیاهانی بود که با گونه *G. interaradices* (G2) مایه‌زنی شده بودند. از طرفی در مجموع، با توجه به تمامی فاکتورهای مورد بررسی از جمله قطر گره، تعداد گره، میزان نفوذ نماتود و جمعیت نماتود در خاک و ریشه G1 نسبت به G2، میزان بیماریزایی نماتود را به میزان بیشتری کاهش داد و در این زمینه موثرتر بود. لیو و همکاران (۲۰۰۷) *G. Mosseae* و *G. intraradices* را از نظر قابلیت القاء مقاومت سیستمیک مقایسه کردند و مشخص شد که در گیاه آنزیم‌های هیدرولیتیک متفاوتی ایجاد می‌شود در حالیکه محققین سابق بر این تفکر بودند که فقط علائم بیماری کاهش می‌یابد (Liu *et al*. 2007).

نتایج بدست آمده توسط کلام و شنک (۱۹۸۰) نیز این مطالب را تایید می‌کند که هرچه درصد کلنیزه‌شدن ریشه بیشتر باشد میزان نفوذ نماتود به ریشه و تعداد گره کاهش می‌یابد. سیستم ریشه‌ای گیاهان مایه‌زنی شده با میکوریز نسبت به گیاهان فاقد میکوریز بزرگتر بود و تعداد گره‌های تولید شده در گیاهان میکوریزی کمتر از غیر میکوریزی بود. کمتربودن تعداد گره‌ها در ریشه‌های مایه‌زنی‌شده با میکوریز می‌تواند ناشی از کاهش توانایی نفوذ نماتود به ریشه های کلنیزه شده با میکوریز باشد یا ممکن است حضور قارچ روی توسعه و شکل‌گیری سلول‌های غول آسا موثر باشد که از این طریق نماتود را دگرگون می‌کند و در رشد نماتود اختلال بوجود می‌آورد (kellam and Schenck 1980) .

نتایج حاصل از تحقیق حاضر نشان داد که می‌توان با استفاده از قارچ‌های AM و تعیین شرایط بهینه جهت رشد هرچه بهتر گوجه‌فرنگی به مدیریت نماتود ریشه‌گرهی در مزارع آلوده کمک نمود.

سپاسگزاری

این تحقیق با حمایت موسسه تحقیقات کنترل بیولوژیک آفات و بیماری‌های گیاهی دانشگاه تهران در آزمایشگاه کنترل بیولوژیک بیماری‌های گیاهی گروه گیاه‌پزشکی انجام شده است.

REFERENCES

Atkinson HJ, Lilley CJ, Urwin PE (2012) Strategies for transgenic nematode control in developed and developing world crops. Food Biotechnology and Plant Biotechnology 23(2): 251-256.

Castagnone-Sereno P (2002) Genetic variability in parthenogenetic root-knot nematodes, *Meloidogyne* spp., and their ability to overcome plant resistance genes. Nematology(4**)**: 605-608.

Elsen A, Baimey H (2003) Relative mycorrhizal dependency and mycorrhiza-nematode interaction in banana cultivars differing in nematode susceptibility. Plant soil (256): 303-313.

Giovannetti M, Mosse B (1980) Evaluation of techniques for measuring vesicular arbuscular mycorrhizal infection in roots. New Phythology(84): 489-500.

Jepson SB (1987) Identification of root knot nematodes. Cambrian News, Ltd.

Kellam MK, Schenck NC (1980) Interactions between a vesicular-arbuscular mycorrhizal fungus and root-knot nematode on soybean. Phtopathology(70): 293-296.

Kleikamp B, Jorgensen RG, Vlek PLG (2002)Studies on arbuscular mycorrhiza (AM) inthe Alentejo (Portugal) using pea mutantsresistant to AM fungi as a control tool forfield conditions.Dissertation to obtain the academic degree of Doctor of Agricultural Sciences in Germany, Univercity of Germany, Germany.

Li B, Ravnskov S, Xie GL, Larsen J (2007) Biocontrol of *Pythium* damping-off in cucumber by arbuscular mycorrhiza-associated bacteria from the genus *Paenibacillus*. Biocontrol(52): 863–875.

Liu J, Maldonado-Mendoza I, Lopez-Meyer M, Cheung F, Town CD, Harrison MJ (2007) Arbuscular mycorrhizal symbiosis is accompanied by local and systemic alterations in gene expression and an increase in disease resistance in the shoots.ThePlantJournal(50): 529–544.

Manandhar S (2011) Study on the bioprotective effect of endomycorrhizae against *M. graminicola* in rice. Journal of Biopest 5(1): 28-35.

Mirghani MO, Elsheikh AE (1996) Interaction of VA mycorrhizal fungi and root-knot nematode on tomato plants: Effects of nemacur, phosphorus and infection time. Elbuhuth Scientific (5): 88-107.

Odeyemi1 IS, Afolami1 SO, Sosanya OS (2010) Effect of *Glomus mosseae* (arbucular mycorrhizal fungus) on host parasite relationship of *Meloidogyne incognita* on four improved cowpea varieties. Journal of Plant Protection Research Vol (50): 320-325.

Oyekanmi EO, Coyne DL, Fagade OE, Osonubi 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.

Phillips JM, Hayman DS (1970) Improved procedures for clearing roots and staining parasitic and vesiculararbuscular mycorrhizal fungi for rapid assessment of infection. Trans Brit Mycology Society(55):158-161.

Saad ASA, Massoud MA, Ibrahim HS, Khalil MS (2011) Management study for the root- knot nematodes, *Meloidogyne incognita* on tomatoes using fosthiazate and arbuscular mycorrhizal fungus. Journal of Advance Agricultural Research(16**)**: 137-147.

Saad ASA, Massoud MA, Ibrahim HS, Khalil MS (2012) Activity of nemathorin, natural product and bioproducts against root-knot nematodes on tomatoes. Archives Phytopathology and Plant Protection 45(8): 955-962.

Shafi M, Mahmood I (2000) Role of *Glomus mosseae* and *Paecilomyces lilacinus* in the management of root knot nematode on tomato. Phtopathology(33):131-140.

Siddiqui ZA, MahmoodI, Khan MW (1999) VAM fungi as prospective biocontrol agents for plant parasitic nematodes. Modern approaches and innovations in soil management. Rastogi, Meerut, India, pp 47–58.

Siddiqui IA, Shaukat SS (2006) Role of cyanide production by *Pseudomonas fluorescens* CAHO in the suppression of root-knot nematode, *Meloidogyne javanica* in tomato. Microbiol and Biotechnol(22): 641-650.

Talavera M, Itou K, Mizukubo T (2001) Reduction of root-knot nematode damage by root colonization with Vam fungi (*Glomus* spp.). Entomology(36): 387-392.

Thygesen K, Larsen J, Bodker L (2004) Arbuscular mycorrhizal fungi reduce development of pea root-rot caused by Aphanomyces euteiches using oospores as pathogen inoculum. European Journal of Plant Pathology(110):411–419.

Vierheilig H, Steinkellner S, KhaosaadT, Garcia-Garrido JM (2008) The Biocontrol Effect of Mycorrhization on Soilborne Fungal Pathogens and the Autoregulation of the AM Symbiosis: One Mechanism, Two Effects? Springer-VerlagBerlinHeidelberg, Berlin.

Waceke JW, Waudo SW, Sikora R (2002) Effect of inorganic phosphatic fertilizers on the efficacy of an arbuscular mycorrhiza fungus against root-knot nematode on pyrethrum. International Journal Pest Management(48):307–313.

Zaki A, Siddiqui ZA, 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. Application Soil Ecology(8):77–84.

Zaki A, Siddiqui IA, Sayeed Akhtar M (2006) Effects of AM fungi and organic fertilizers on the reproduction of the nematode *Meloidogyneincognita* and on the growth and water loss of tomato. Biological Fertility Soils. DOI 10.1007/s00374-006-0131-4. Dev. 111.

Effects of mycorrhizal fungi (*Glomus mosseae* and *Glomus intraradices)* on root-knot nematode (*Meloidogyne javanica*) on tomato

GOLZARI H.[1*], PANJEHKEH N.[2], , SALARI M.[2], SEDAGHATI KHORAVI E.[3] and REJALI F.[4]

1, Prior student of M. Sc. of Plant Pathology, 2, Associated professor of Department of Plant Protection, University of Zabol 3, Assistant professor of Department of Plant Protection, University of Rafsanjan, 4, Assistant professor of Research Institute of Soil and Water, Tehran

ABSTRACT

Greenhouse studies showed in the transplant of tomato that two weeks before infection with nematodes with two species of mycorrhizal *G. mosseae* and *G. intraradices* had been inoculated, were significantly offseted the reduction of growth that had been done by nematodes. It should be noted that the percentage of root colonization with two species 66.3% and 62.2% respectively and based on this study were set completely randomized design with five treatments and five replicates. Dry weight of shoots and roots of inoculated transplant with *G. mosseae* 44% and 45%, respectively, was higher compared with Nematodes alone ($P \leq 0.05$). Dry weight of shoots and roots of inoculated transplant with *G. intraradices* was more than 40% and 37%. Number of nodes, the diameter of the root-knot nematode penetration in inoculated roots with *G. mosseae* was decreased 55%, 47%, and 55%respectively, compared with Nematodes alone ($P \leq 0.05$). Number of nodes, the diameter of the root-knot nematode penetration in inoculated roots with *G. intraradices* was decreased 47%, 41% and 51% respectively. In treated plants with G1M and G2M, gall index was decreased the 1 unit compared with infection control ($P \leq 0.05$). Nematode population in treated soil with each two species mycorrhizal fungus was decreased less than half compared with infection control with nematodes only ($P \leq 0.05$).

Keywords: Root-knot nematode, *Meloidogyne javanica*, *Glomus* sp., Tomato, Colonization, Mycorrhizal.

* Corresponding author: H. Golzari Tel: +989132797204 E-mail: Hadigolzary@gmail.com