تاثیر قارچ مایکوریز بر فاکتورهای بیماریزایی نماتد ریشه‌ی گرهی (*Meloidogyne incognita*) و تغییرات هیستوپاتولوژیکی در ارقام متحمل و حساس خیار

آمنه حسینی خواه چوشلی[۱]، سعید رضایی[۱]، سالار جمالی[۲*]، حمیدرضا زمانی زاده[۳] و فرهاد رجالی[۴]

۱- به ترتیب دانشجوی فارغ التحصیل دکتری و استادیار گروه گیاهپزشکی، دانشکده علوم کشاورزی و صنایع غذایی، دانشگاه آزاد اسلامی واحد علوم و تحقیقات، تهران. ایران.

۲- دانشیار گروه گیاه پزشکی، دانشکده علوم کشاورزی، دانشگاه گیلان، رشت.

۳- دانشیار گروه گیاهپزشکی، دانشکده علوم کشاورزی و صنایع غذایی، دانشگاه آزاد اسلامی واحد علوم و تحقیقات، تهران. ایران.

۴- دانشیار موسسه تحقیقات خاک و آب کرج.

* مسئول مکاتبه jamali@guilan.ac.ir

تاریخ دریافت: ۹۷/۷/۲۱ تاریخ پذیرش: ۹۷/۱۱/۱۴

چکیده

نماتدهای مولد گره ریشه (*Meloidogyne* spp.) از مهمترین نماتدهای انگل گیاهی است که سبب ایجاد خسارت روی اکثر محصولات کشاورزی می شوند. در این تحقیق، به بررسی اثر قارچ مایکوریز آربوسکولار *Funneliformis mosseae* در کنترل نماتد ریشه‌ی گرهی خیار، *M. incognita* پرداخته شد. بدین منظور آزمونی در قالب طرح کاملا تصادفی با چهار تیمار و چهار تکرار انجام شد. نتایج نشان داد که اضافه کردن قارچ مایکوریز به خاک یک ماه قبل از تلقیح نماتد، موجب کاهش معنی دار فاکتورهای بیماریزایی نماتد (تعداد گال، تعداد کیسه‌ی تخم، تعداد تخم در هر کیسه‌ی تخم و تعداد لارو سن دوم) در هر دو رقم متحمل و حساس گردید. علی رغم اینکه پارامترهای بیماریزایی نماتد در رقم متحمل در مقایسه با رقم حساس، کمتر بود اما تلقیح ریشه‌های حساس با قارچ مایکوریز در رقم حساس، موجب کاهش قابل توجه عوامل بیماریزایی نماتد شد. عامل تولیدمثل در گیاهان مایه‌کوبی شده با قارچ مایکوریز در دو رقم متحمل و حساس به ترتیب ۵۰ و ۶۶/۶ درصد کاهش نشان داد. حضور قارچ مایکوریز قبل از تلقیح نماتد در رقم متحمل و حساس به ترتیب سبب کاهش ۶۴ و ۶۳/۳ درصدی جمعیت لارو سن دوم در خاک گردید. همچنین مقایسه میانگین تعداد و اندازه‌ی سلول‌های غول آسا، تعداد و قطر هسته و مساحت سلول غول آسا در دو رقم، نشان‌دهنده‌ی اختلاف معنی دار آماری بین گیاهان تلقیح شده با قارچ مایکوریز و گیاهان غیرمایکوریزی بود. با توجه به اینکه قارچ مایکوریز باعث کاهش بیماریزایی نماتد ریشه‌ی گرهی و افزایش مقاومت رقم حساس نسبت به نماتد می گردد، می تواند به عنوان گزینه ای در جهت مهار زیستی نماتد ریشه‌ی گرهی مورد توجه قرار گیرد.

واژه‌های کلیدی: خیار، مهار زیستی، *Meloidogyne incognita*، قارچ مایکوریز آربوسکولار .

مقدمه

حدود ۷۵۰۰۰ هکتار از زمین‌های کشاورزی ایران زیر کشت خیار با میانگین تولید، ۳۰۰ تن در هکتار قرار دارد. خیار گلخانه ای مساحت ۵۸۰۰ هکتار و در مجموع حدود ۱۴۵۴۲۱۸ تن تولید را به خود اختصاص داده است (فائو، ۱۳۹۴). خیار توسط برخی از نماتدهای انگل گیاهی به ویژه نماتدهای ریشه‌ی گرهی (*Meloidogyne* spp.) که معمولا باعث کاهش ۶۰ درصدی محصول می شوند، مورد حمله قرار می گیرد (کیمینجو و همکاران، ۱۹۹۹). نماتدهای ریشه‌ی گرهی دارای اهمیت اقتصادی زیادی بوده و دامنه‌ی میزبانی وسیعی دارند (لمبرتی و همکاران، ۲۰۰۴). عمده خسارت‌های وارده به محصولات کشاورزی مربوط

بـه گونـه‌هـای *M. incognita*، *M. javanica*، *M. arenaria*، *M. hapla*، *M graminicola*، *M. chitwoodi* و *M. exigua* می‌باشند (پری، ۲۰۰۹). این نماتدها با نفوذ به داخـل ریشـه و ترشـح آنزیم‌هایی چون پروتئاز، متابولیسم میزبان را به نفع خـود و قارچ‌های بیماری‌زا تغییر می‌دهند. گیاهان میزبان نیـز بـا بزرگ شدن سلول‌ها و ازدیاد آنها در نسوج ریشه، با سنتز اکسین و سایر مـواد یـا هورمـون‌هـای رشـدی بـه مقابلـه برخاسته، و از حالت طبیعی خارج شده و گال یـا غـده‌هـای ریشه را به وجود می‌آورند (دراپ کـین، ۱۹۸۹). هـر نماتـد مولد گره ریشه پـنج تـا هفـت سـلول اطـراف سـر خـود را تحریـک نمـوده و هـر کـدام حـاوی تعـداد زیـادی هسـته می‌شـوند (اسـترلینگ و همکـاران، ۲۰۰۴). در نهایـت گالهـا باعث تغییر سیستم آوندی و اختلال در انتقال مـواد غـذایی از خاک و در نتیجه تغییر فیزیولوژیکی در کل گیاه میزبان می‌شوند (وولاس و همکاران، ۲۰۰۵). افزایش ابعاد سلول و افزایش تقسیم سلولی در کورتکس، پری سـیکل و ناحیـه‌ی آوندی ریشه دیده می‌شود (اعظـم و هسـام الـدین، ۲۰۰۸ و اعظم و همکاران، ۲۰۱۱). با توجه به اینکه اغلـب روش‌هـای کنترل کارایی لازم را نداشته و یـا در بعضـی مـوارد نظیـر مبارزه‌ی شیمیایی بـرای سـلامتی انسـان و محـیط زیسـت مضر شناخته شده‌انـد، لـذا شناسـایی و اسـتفاده از ارقـام مقاوم بـه عنـوان یکـی از اقتصـادی‌تـرین و بـی خطرتـرین روش‌های مدیریتی امری لازم و ضـروری اسـت (اسـتار و همکاران، ۲۰۰۲). از سوی دیگر، نقش قـارچ‌هـای مـایکوریز در تغییر عکس‌العمل گیاه نسبت به عوامل بیماریزا از جملـه نماتدها مورد توجه واقع شده است. قارچ‌هـای مـایکوریزی آربوسـکولار یـا (Arbuscular mycorrhizal fungi= AMF) از اعضای شاخه گلومرومایکوتا[1] از سلسه‌ی قارچ‌هـا بـوده و جزو قارچ‌های مـایکوریز داخلـی مـی‌باشـند. ایـن قـارچ‌هـا همزیست ریشه‌ی ۸۰ درصد از گیاهان هستند (گاسـلینگ و همکاران،۲۰۰۶). همزیستی با این قارچ‌هـا اثـرات مثبتـی بـر گیاه همزیست گذاشته و غلظت مواد تنظـیم کننـده‌ی رشـد، ترشحات ریشه و دیگر مواد شیمیایی در بافت‌های گیـاه را تغییـر مـی‌دهـد. همچنـین میـزان فتوسـنتز و انتقـال فرآورده‌های آن به ریشه و ساقه، مقاومـت گیـاه در برابـر تنش‌های محیطی، عوامل بیماری‌زای خاکزاد را بالا بـرده و سبب رشد و افزایش محصول خواهد شد (فلگر و لیندرمن، ۱۹۹۴). بـر طبـق گزارشـات، وجـود قـارچ‌هـای مـایکوریز *Glomus caledonium*، *G. macrocarpum* و *G. mosseae* سبب کاهش عوامل بیمـاریزایی نماتـد *Radopholus similis* شـده است (السـن و همکـاران، ۲۰۰۲). اسـتقرار قـارچ مـایکوریز آربوسکولار قبل از آلودگی به نماتد، باعث کاهش تولیدمثل نماتد مولد گره *M. incognita* شده و کاهش شـدت بیمـاری در خاک آلوده را به همراه داشـته اسـت (دوس آنجـوس و همکاران، ۲۰۱۰). تلقیح ریشه‌هـای گوجـه فرنگـی بـا قـارچ مـایکوریز *Funneliformis coronatus*، ضـمن تحریـک رشـد گیاه، آلودگی نسبت به نماتـد *M. incognita* را نیـز بـه طـور معنی‌داری کاهش داد (دایدهایو و همکـاران، ۲۰۰۳). نتـایج بررسـی تـأثیر دو گونـه قـارچ مـایکوریز آربوسـکولار *G. mosseae* و *Gigaspora margarita* در تکثیـر نماتـد *M. incognita* و رشد گوجه فرنگی، نشان دهنـده‌ی افـزایش رشد گیاه و کاهش فاکتورهای بیماریزایی نماتد بـود (زکـی و همکاران، ۲۰۰۷). تلقیح گیاه خیار با سـه قـارچ مـایکوریز آربوسـکولار *G.mosseae*، *G.intraradices* و *G.versiforme* سبب کاهش گال وتعداد تخم‌ها در سیستم ریشه آلـوده بـه نماتد *M. incognita* شد (ژانگ و همکاران، ۲۰۰۸). مطالعـات گلخانه‌ای نشان داد در نشاهای گوجه فرنگـی کـه دو هفتـه قبل از آلودگی با نماتد، با دو گونه مـایکوریز *G. mosseae* و *G. intraradices* مایه زنی شده بودند، کاهش رشد ناشـی از نماتد به میزان قابل توجهی جبران شد (گلزاری و همکاران، ۲۰۱۱). نقـش دو گونـه مـایکوریزی *G. mosseae* و *G. intraradices* در کنترل بیماری ناشی از نماتد مولد گـره ریشه گوجه فرنگی (*M. javanica*)، در گلخانه و آزمایشـگاه بررسی و تأثیر برهمکنش قـارچ و نماتـد بـر شـاخص‌هـای رشـدی گیـاه، بیمـاریزایی نماتـدی و توسـعه مـایکوریزی ارزیابی شـد. نتـایج نشـان داد کـه همزیسـتی مـایکوریزی

[1]Glomeromycota

آربوسکولار، منجر به بهبود شاخص‌های رشدی گیاه مانند وزن تر و خشک اندام‌های هوایی و کاهش شاخص‌های آلودگی نماتد مانند تعداد گال و کیسه تخم گردید. همچنین شاخص‌های توسعه مایکوریز مانند درصد فراوانی و درصد کلونیزاسیون تحت تأثیر آلودگی نماتدی قرار نگرفت (قربانی و همکاران،۱۳۹۲). جهت ارزیابی تأثیر قارچ‌های مایکوریز آربوسکولار در کنترل جمعیت‌های مختلف نماتد ریشه‌ی گرهی گوجه فرنگی (*M. javanica*) از دو گونه قارچ *G. mosseae* و *G. intraradices* استفاده شد. نتایج حاصل از تجزیه آماری نشان داد که قارچ‌های مایکوریز باعث کاهش بیماری‌زایی و خسارت نماتد می‌گردند. هم‌چنین حضور قارچ‌های مایکوریز باعث افزایش رشد بخش‌های مختلف گیاه شده و بین دو قارچ مذکور از این نظر تفاوت معنی‌داری مشاهده نشد. در مجموع نتایج نشان داد که قارچ‌های مایکوریز دارای توانایی بالایی در کنترل موفق نماتد ریشه گرهی حتی در جمعیت‌های بالای نماتد می‌باشند (سهرابی و همکاران، ۱۳۹۳). هم‌چنین در تحقیقی دیگر به منظور بررسی تأثیر قارچ‌های مایکوریز آربوسکولار روی بیماری‌زایی نماتد *M. javanica* و تغییرات سلولی و بافتی ریشه‌ی گوجه فرنگی از دو گونه قارچ مایکوریز *G. mosseae* و *G. intraradices* استفاده شد. نتایج حاصل نشان دهنده‌ی اثر مثبت قارچ‌های مایکوریز در کاهش بیماری‌زایی و خسارت نماتد بود. به عبارت دیگر قارچ‌های مذکور تعداد و اندازه‌ی سلول‌های غول آسا را کاهش دادند. این کاهش به نوبه‌ی خود باعث کاهش رشد لاروها و تکامل آن‌ها شد (سهرابی و فدایی تهرانی، ۱۳۹۳). در طی تحقیقی، تغییرات هیستوپاتولوژیکی در ریشه گیاه لیف تلقیح شده با قارچ AMF بررسی گردید. قارچ مایکوریز سبب جلوگیری از تکثیر نماتد شده و در ریشه‌های تلقیح شده با قارچ به تنهایی، بافت آوندی افزایش یافت. ریشه‌های تلقیح شده با نماتد و قارچ مایکوریز به طور همزمان، دارای سلول‌های غول‌آسای زیاد، چگالی بالا و سیتوپلاسم دانه‌دار بوده است. همچنین اسپورهای قارچ در لایه کورتیکال مشاهده شدند. در ریشه‌های تلقیح شده با قارچ قبل از نماتد، سلول‌های غول‌آسا در آندودرم و نواحی آوندی مشاهده شد. در اثر حضور قارچ مایکوریز که برای جذب مواد غذایی بیش‌ترنقش کمک کننده دارد، بافت آوند آبکشی افزایش یافت تا از خسارت نماتد کاسته شود. ریشه‌هایی که قبل از تلقیح قارچ توسط نماتد تلقیح شدند، اندودرم و پری سیکل تخریب شده و تخریب جزئی بافت فلوئم در ریشه‌ها، در مراحل ابتدایی حمله نماتد مشاهده گردید (هجارا و همکاران، ۲۰۱۵). با توجه به خسارت قابل ملاحظه ای که سالانه از طریق آلودگی به نماتد مولد گره ریشه به خیار وارد می شود، نگهداشتن جمعیت نماتد در زیر سطح آستانه‌ی زیان اقتصادی اقدامی مدیریتی محسوب می‌شود. از آنجاییکه تولید این محصول در طی فصول زراعی هم در گلخانه ها و هم در مزرعه صورت می‌گیرد می‌توان با مدیریت صحیح و استفاده از عوامل کنترل کننده‌ی زیستی، سبب کاهش مصرف سموم و در نهایت کاهش آلودگی زیست محیطی از جمله منابع آب وخاک گردید. در ایران تحقیقات معدودی در زمینه مهار زیستی نماتدها با استفاده از قارچ مایکوریز صورت گرفته است.همچنین ویژگیهای بافت شناسی بافت آلوده به نماتد در حضور قارچهای مایکوریز بررسی نشده است. بنابراین مهمترین هدف این تحقیق، بررسی تاثیر قارچ مایکوریز *Funneliformis mosseae* در کاهش بیماریزایی نماتد ریشه گرهی خیار *M. incognita* و تغییرات سلولی و بافتی ناشی از آن می باشد. بنابراین تحقیق حاضر به نوبه‌ی خود در مورد گونه‌ی نماتد و محصول خیار جدید در نظر گرفته می‌شود.

مواد و روش‌ها

۱- تهیه‌ی مایه‌ی تلقیح نماتد

جمعیت خالص تکثیر یافته به روش تک کیسه‌ی تخم از نماتد مولد گره ریشه *Meloidogyne incognita* نژاد یک، از بخش گیاهپزشکی دانشکده کشاورزی دانشگاه گیلان تهیه

شد. جهت تکثیر نماتد، از گوجه فرنگی رقم حساس به نماتد با نام ارلی اوربانا وای (Early urbana Y) استفاده شد. به این منظور، بذور گوجه‌فرنگی توسط هیپوکلریت سدیم دو درصد به مدت ۱۰ دقیقه ضدعفونی و در لیوان‌های پلاستیکی یکبار مصرف حاوی خاک و شن استریل به نسبت دو به یک کاشته شدند. پس از گذشت چهار هفته و چهار برگی شدن گیاهچه‌ها، جهت تلقیح نماتد در اطراف طوقه گیاه، چهار حفره به عمق تقریبی سه سانتی‌متر ایجاد و در هر حفره یک عدد کیسه‌ی تخم نماتد قرار گرفت. سپس روی حفره‌ها با خاک پوشیده شده و آبیاری گردید. یک هفته بعد از تلقیح کیسه‌ی تخم نماتد، گیاهان به گلدان‌های دو کیلوگرمی حاوی مخلوط شن و خاک استریل به نسبت دو به یک منتقل و به مدت دو ماه در شرایط گلخانه (دمای ۲۷-۲۵ درجه‌ی سلسیوس، رطوبت ۷۰ درصد و ۱۲ ساعت نوردهی) نگهداری شدند. تخم نماتد با استفاده از روش هوسی و بارکر استخراج گردید (هوسی و بارکر، ۱۹۷۳). برای شمارش جمعیت لاروهای سن دوم، از پتری دیش مدرج استفاده شد.

۲- تهیه‌ی مایه‌ی تلقیح قارچ

قارچ مایکوریز گونه‌ی تجاری *F. mosseae* به صورت خاک حاوی اسپورهای قارچ، از شرکت زیست فناور توران فراهم گردید. به منظور تلقیح گیاهچه‌های خیار با مایه‌ی تلقیح قارچ مایکوریز، استخراج اسپور با استفاده از روش تغییر یافته الک مرطوب و گرادیان ساکارز، به کمک سانتریفیوژ انجام شد (برونـدرت و همکاران، ۱۹۹۴). فراوانی اسپورها از طریق شمارش آن‌ها زیر بینوکولار تعیین گردید.

۳- آماده سازی گیاهان مورد آزمایش

این تحقیق در قالب طرح کاملاً تصادفی با چهار تیمار و چهار تکرار انجام گرفت، تیمارهای در نظر گرفته شده به شرح زیر بوده‌اند: الف- شاهد (فاقد مایکوریز و نماتد)، ب- تیمار نماتد به تنهایی، ج- تیمار مایکوریز به تنهایی و د- تیمار نماتد به همراه قارچ مایکوریز. در این پژوهش، از بذور دو رقم خیار رایج گلخانه‌ای در ایران (رقم دانیتو به عنوان رقم حساس و سوپردومینوس به عنوان رقم متحمل) که درجه‌ی مقاومت و حساسیت آن‌ها نسبت به نماتد مولد گره ریشه گونه *M. incognita* در آزمایشات قبلی مشخص شده بود، استفاده گردید (صادق موسوی و همکاران، ۲۰۰۶). بذور توسط هیپوکلریت سدیم دو درصد به مدت ۱۰ دقیقه ضدعفونی و در لیوان‌های پلاستیکی یکبار مصرف حاوی خاک و شن استریل به نسبت دو به یک کاشته شدند. در مرحله‌ی چهار برگی، گیاهچه‌ها به گلدان‌های دو کیلوگرمی حاوی خاک و شن استریل به نسبت دو به یک منتقل شدند. هنگام انتقال نشاها در تیمارهای ج) (قارچ مایکوریز به تنهایی) و تیمار د) (قارچ مایکوریز + نماتد)، میزان ۰/۰۷ گرم مایه‌ی تلقیح قارچ در هر گرم خاک گلدان اضافه گردید. بخشی از مایه‌ی تلقیح قارچ در تماس با ریشه خیار قرار گرفت و بقیه هم با خاک گلدان مخلوط شد. به تیمارهای ۱ و ۲ فاقد قارچ مایکوریز، به میزان مساوی مایه‌ی تلقیح قارچ استریل شده در اتوکلاو (به مدت یک ساعت در دو روز پیاپی) استفاده گردید تا شرایط گلدان‌ها یکسان باشد. گلدان‌ها هر روز با آب استریل آبیاری شدند. به منظور اطمینان از کلونیزاسیون قارچ مایکوریز در ریشه‌ی گیاهچه‌های خیار، قطعات ریشه به طور تصادفی با استفاده از روش فیلیپس و هایمن، (۱۹۷۰) رنگ آمیزی و جهت مشاهده اندامهای مختلف قارچ (اسپور، وزیکول و آربوسکول) درزیر میکروسکوپ بررسی شدند. در نهایت ۴۵ روز بعد از تلقیح قارچ مایکوریز، تعداد ۱۵۰۰ لارو سن دوم نماتد به تیمارها اضافه گردید. بدین منظور در اطراف طوقه گیاه چهار حفره به عمق تقریبی سه سانتی‌متر ایجاد و با پیپت مایه تلقیح به درون حفرات ایجاد شده تزریق گردید. روی حفره با خاک پوشانده شده و گلدان‌ها هر روز با آب استریل آبیاری گردیدند.

۴- بررسی عوامل تولیدمثلی

لاروهای سن دوم نماتد مولد گره ریشه به کمک روش الک و سانتریفیوژ (جنکینز، ۱۹۶۴). از خاک استخراج و

شمارش گردید. برای استخراج تخم نماتد از روش هوسی و بارکر استفاده شد (هوسی و بارکر، ۱۹۷۳). همچنین برای به دست آوردن تعداد تخم‌ها در داخل توده تخم، یک عدد توده‌ی تخم توسط سوزن جدا و توسط هیپوکلریت سدیم ۲٪ ماده ژلاتینی اطراف آن حل شد. سپس تعداد تخم‌ها توسط اسلاید شمارش محاسبه شدند. این عمل سه بار تکرار و میانگین آن‌ها محاسبه شد. برای شمارش تعداد گال در سیستم ریشه، یک گرم ریشه از تیمار مورد آزمون جدا و تعداد گال شمارش و برای کل ریشه محاسبه شد (ساسر و کارتر، ۱۹۸۵). عامل تولیدمثل از طریق فرمول RF= Pf/Pi محاسبه گردید. به طوریکه با تقسیم جمعیت نهایی (Pf: final population) ، یعنی تعداد کل تخمها و لاروهای سن دوم در ریشه و خاک بر جمعیت اولیه (Pi: initial population) بدست آمد (اوستنبرینک ، ۱۹۶۶). در نهایت، درصد تغییرات با استفاده از فرمول ابوت (C-T)/C*100 محاسبه شد. در این فرمول C به عنوان میزان شاخص تولیدمثلی در تیمار شاهد بدون مایکوریز و T میزان شاخص تولیدمثلی در تیمار حاوی قارچ مایکوریز در نظر گرفته شد (ابوت، ۱۹۲۵).

۵- هیستوپاتولوژی

جهت بررسی تغییرات سلول غول آسا در دو رقم متحمل و حساس خیار در گیاهان پیش مایه زنی شده با قارچ مایکوریز، از ریشه‌ی گیاهان بعد از گذشت ۳۰ روز از تلقیح نماتد، نمونه برداری شد. ریشه‌ها کاملاً با آب شسته شده و به قطعات ۳-۲سانتی‌متری تقسیم و در محلول فیکساتیو FAA (۱۰٪ فرمالین+ ۵٪ اسید استیک+ الکل اتیلیک ۳۵٪+ آب مقطر) به مدت ۲۴ ساعت قرار گرفتند. پس از جدا کردن بافت از بقیه بخش‌ها، ابتدا فرمالین نمونه‌ی بافتی را با کاغذ خشک‌کن گرفته و سپس آبگیری نمونه‌ها با الکل‌های ۳۰، ۵۰، ۷۰، ۸۰، ۹۵، ۱۰۰ درجه (هر یک به مدت ۲۰ دقیقه) انجام شد. جهت شفاف سازی، بافت‌ها را به ترتیب در محلول‌هایی به نسبت۱-۳ ،۲-۲ و۳-۱ تولوئن - اتانول، (هر یک به مدت ۳۰ دقیقه) قرار داده و سپس به مدت یک ساعت در محلول خالص تولوئن نگهداری شدند. نمونه‌ها به ترتیب در محلول‌هایی به نسبت ۱-۳ ،۲-۲ و۳-۱ از پارافین- تولوئن، (هر یک به مدت ۳۰ دقیقه) منتقل و سپس به مدت یک ساعت در محلول خالص پارافین قرار گرفتند. سپس جهت قالب گیری در داخل پارافین مذاب و در وضعیت مناسب قرار داده شدند. قالب‌ها به یخچال منتقل و بعد از یک تا دو ساعت بلوک‌ها را از قالب آلومینیومی خارج و برش‌گیری با دستگاه میکروتوم به ضخامت ۵ تا ۱۰ میکرون انجام گرفت. قبل از رنگ‌آمیزی، برای حذف کردن پارافین از تولوئن و برای آب‌دهی از الکل اتیلیک با درجات نزولی استفاده گردید. بعد از رنگ‌آمیزی، مقاطع آبگیری و شفاف سازی شد. عمل آبگیری با استفاده از الکل خالص و شفاف سازی با تولوئن انجام گردید. جهت رنگ آمیزی مقاطع، از رنگ هماتوکسیلین وائوزین استفاده گردید (جانسون، ۱۹۴۰). برش‌هایی که در آن‌ها سلول غول‌آسا به وضوح قابل مشاهده بود، انتخاب گردید و میانگین دو قطر عمود بر هم سلول غول آسا به عنوان اندازه سلول غول‌آسا در نظر گرفته شد. اندازه‌ی نهایی از محاسبه‌ی میانگین ۱۰ برش به دست آمد. آنالیزهای آماری با استفاده از نرم افزار SAS و مقایسه میانگین تیمارها به روش آزمون LSD انجام گردید. برای رسم نمودارها نیز از نرم افزار Excel استفاده شد.

نتایج و بحث

بررسی تاثیر قارچ مایکوریز *Funneliformis mosseae* در کاهش بیماری‌زایی نماتد گرهی ریشه خیار *M. incognita* نشان داد که در رقم حساس، بیش‌ترین میانگین تعداد گال ، تعداد توده‌ی تخم و تعداد تخم در یک گرم ریشه و هم‌چنین بیش‌ترین میانگین تعداد لارو سن دوم در صد گرم خاک مشاهده گردید. همچنین بیش‌ترین فاکتور تولیدمثل در گیاهان غیر مایکوریزی به ثبت رسید (جدول ۱). علاوه بر این، در گیاهان مایه‌کوبی شده با قارچ مایکوریز، فاکتورهای مذکور کاهش یافتند. عامل تولیدمثل در گیاهان مایه‌کوبی شده با قارچ مایکوریز در دو رقم متحمل و حساس به ترتیب ۵۰ و ۶۶/۶ درصد کاهش نشان

داد (جدول ۱). حضور قارچ مایکوریز قبل از تلقیح نماتد در رقم متحمل و حساس به ترتیب سبب کاهش ۶۴ و ۶۳/۳ درصد جمعیت لارو سن دوم در خاک گردید. هم‌چنین مایه‌زنی قارچ مایکوریز قبل از تلقیح نماتد، تعداد کیسه‌ی تخم در هر گرم ریشه را در رقم متحمل و حساس به ترتیب ۵۳/۳ و ۶۹/۲ درصد کاهش داد. در گیاهان مایه‌کوبی شده با قارچ مایکوریز در رقم متحمل و حساس به ترتیب تعداد گال در هر گرم ریشه ۲۰ و ۵۵/۵ درصد کاهش یافت. همچنین تعداد تخم در هر گرم ریشه در رقم متحمل و حساس به ترتیب ۶۳/۶ و ۵۲/۶ درصد در گیاهان مایه زنی شده با قارچ مایکوریز کاهش نشان داد (جدول ۱). نتایج بدست آمده در این تحقیق با نتایج سهرابی و همکاران (۱۳۹۳) در ارتباط با کاهش شاخص‌های بیماری‌زایی نماتد *M. javanica* روی گوجه فرنگی مطابقت نشان داد. در رقم حساس میانگین شاخص‌های بیماری‌زایی در گیاهان دریافت کننده‌ی مایکوریزی همراه با نماتد، با گیاهان فاقد مایکوریز اختلاف معنی‌دار نشان داد (جدول ۱). این مطلب بیانگر نقش این عامل مهار زیستی در کاهش میزان خسارت نماتد می باشد. بر طبق گزارشات موجود، قارچ‌های مایکوریز آربوسکولار از افزایش جمعیت نماتد *R. similis* در ریشه‌های ژنوتیپ‌های مختلف موز جلوگیری به عمل آورده است (السن و همکاران، ۲۰۰۳a). تلقیح ریشه‌های گوجه فرنگی با قارچ مایکوریز *F. coronatus* ضمن تحریک رشد گیاه، آلودگی آن‌ها را نسبت به *M. incognita* به میزان قابل توجهی کاهش داده است (دایدهایو و همکاران، ۲۰۰۳). روابط متقابل بین قارچ مایکوریز آربوسکولار و نماتد مولد گره ریشه *M. hapla* نیز در ارقام حساس و مقاوم یونجه نشان داد که تلقیح یونجه با قارچ، سبب افزایش تحمل ارقام حساس و بالا رفتن درصد مقاومت ارقام مقاوم شده است (گوردون و همکاران، ۱۹۸۶). در این مطالعه نیز تلقیح قارچ مایکوریز قبل از نماتد، سبب کاهش تعداد لارو سن دوم نماتد در هر دو رقم متحمل و حساس خیار شده و مقاومت رقم حساس را نسبت به نماتد ریشه گرهی افزایش داد. این نتیجه گویای نقش غیر قابل انکار قارچ مایکوریز در ارتقای رشد و کاستن از درجه آلودگی نسبت به نماتد ریشه گرهی در حالت قبل از مایه‌زنی نماتد می باشد. به طریق مشابه، استقرار قارچ مایکوریز آربوسکولار قبل از آلودگی نماتد باعث کاهش تولیدمثل نماتد *M. incognita* و تقلیل شدت بیماری در خاک آلوده شده است (دوس آنجوس و همکاران، ۲۰۱۰). در گیاه موز نین، جمعیت نماتد *Radopholus similis* در خاک‌های دارای قارچ مایکوریز در مقایسه با خاک‌های فاقد مایکوریز کاهش یافته است (السن و همکاران، ۲۰۰۳b).

یکی از تغییرات مهم ناشی از آلودگی به نماتد ریشه‌ی گرهی، تحریک سلول‌های غول آسا[1] در ریشه‌ی میزبان، جهت تأمین مایحتاج غذایی نماتد است. تعداد و اندازه‌ی این سلول‌ها می‌تواند تعیین کننده‌ی شدت آلودگی باشد. در مطالعه‌ی حاضر، نتایج حاصل از مطالعه‌ی تغییرات بافتی و سلول غول‌آسا در رقم خیار متحمل به نماتد مولد گره ریشه *M. incognita* ۲۸ روز بعد از تلقیح نماتد (ایجاد یک نسل) نشان داد که بین تیمارها از نظر تعداد هسته در هر سلول، مساحت سلول و قطر هسته‌ی سلول و درصد ناحیه‌ی اشغال شده توسط سلول غول‌آسا در ناحیه‌ی آوندی، در سطح یک درصد تفاوت معنی‌داری وجود دارد. بین تیمارها از نظر تعداد سلول غول‌آسا در هر سایت تغذیه‌ای در سطح پنج درصد اختلاف معنی‌دار مشاهده شد (جدول ۲). در رقم خیار حساس به *M. incognita* ۲۸ روز بعد از تلقیح نماتد بین تیمارها از لحاظ تعداد هسته در هر سلول ، مساحت سلول و قطر هسته‌ی سلول ، درصد ناحیه‌ی اشغال شده توسط سلول و تعداد سلول غول‌آسا در هر سایت تغذیه‌ای، اختلاف معنی‌دار در سطح یک درصد وجود داشت (جدول ۲). نتایج مشخص کرد که تعداد سلول غول‌آسا در سایت تغذیه‌ای در رقم حساس دانیتو، بیش‌تر از رقم متحمل سوپردومینوس بود. با این وجود در رقم حساس، در تیمار تلقیح شده با قارچ مایکوریز، تعداد سلول غول‌آسا به طور قابل ملاحظه‌ای

[1]Giant cells

جدول ۱- مقایسه میانگین شاخص‌های تولیدمثلی نماتد مولد گره ریشه *M. incognita* در تیمارهای مختلف با و بدون حضور قارچ مایکوریز *F. mosseae* در دو رقم خیار حساس (دانیتو) و متحمل (سوپردومینوس) خیار

	تیمار	تعداد گال در هر گرم ریشه	تعداد توده تخم در هر گرم ریشه	تعداد تخم در هر گرم ریشه	تعداد تخم در کل سیستم ریشه	تعداد لارو سن دوم در صد گرم خاک	تعداد لارو سن دوم در دو کیلوگرم خاک	فاکتور تولیدمثل (RF)
رقم حساس	نماتد	۳۶/۲۵ a	۳۲/۵۰ a	۸۳۴۷/۳ a	۱۵۷۴۹/۵ a	۴۸۷/۵۰ a	۸۰۲۴/۰a	۲/۸۰ a
	قارچ + نماتد	۱۵/۵۰ b	۱۰/۰۰ b	۳۰۳۱/۳ a	۱۳۲۲۵/۸ b	۲۰۷/۰۰ a	۳۱۵۳/۸b	۱/۰۰ a
	درصد تغییرات	۵۵/۵	۶۹/۲	۵۲/۶	۱۶/۰۲	۵۷/۵۳	۶۳/۳	۶۶/۶
	LSD	۹/۳۵	۹/۰۸	۵۵۹۱/۵	۲۴۱۲/۸	۲۹۲/۶۷	۱۵۱۲/۴	۱/۹۳
رقم متحمل	نماتد	۸/۷۵a	۷/۵۰a	۳۰۶۸/۵۰a	۸۷۳۳/۵ a	۲۳۵/۷۵a	۵۱۳۸/۳a	۱/۰۲a
	قارچ + نماتد	۴/۰۰b	۳/۵۰b	۱۴۵۲/۵۰b	۳۵۸۹/۵ b	۹۴/۰۰b	۲۰۳۵/۰b	۰/۴۷b
	درصد تغییرات	۲۰	۵۳/۳	۶۳/۶	۵۸/۸۹	۶۰/۱۲	۶۴	۵۰
	LSD	۳/۰۱	۱/۲۹	۱۷۶/۲۲	۱۱۰۳/۶	۴۹/۸۰۳	۸۷۲	۰/۹۲

اعداد میانگین چهار تکرار می‌باشند. میانگین‌های با حروف مشابه در هر ستون از نظر آماری در سطح یک درصد اختلاف معنی‌داری ندارند. فاکتور تولیدمثل از طریق فرمول RF= Pf/Pi محاسبه گردید. به طوریکه با تقسیم جمعیت نهایی (Pf: final population) ، یعنی تعداد کل تخمها و لاروهای سن دوم در ریشه و خاک بر جمعیت اولیه (Pi: initial population) بدست آمد (اوستنبرینک ، ۱۹۶۶).

جدول۲- مقایسه میانگین تغییرات سلول غول‌آسا در تیمارهای مختلف در رقم خیار حساس (دانیتو) به نماتد مولد گره ریشه *M. incognita* ۳۰ روز بعد از تلقیح نماتد

تیمار	تعداد سلول غول‌آسا در هر سایت تغذیه‌ای	تعداد هسته در هر سلول غول‌آسا	مساحت سلول غول‌آسا (میکرومترمربع)	قطر هسته سلول غول‌آسا (میکرومتر)	درصد مساحت اشغال شده توسط سایت تغذیه ای نماتد / ناحیه آوندی
نماتد	۶/۷۵ a	۱۴/۷۵ a	۴۱۰/۲۵a	۲۴/۷۷ a	۳۳/۲۱ a
قارچ + نماتد	۳/۲۵ b	۷/۰۰ b	۱۵۱/۰ b	۱۰/۷۹ b	۲۰/۶۳ b
LSD	۱/۵۹	۲/۳۹	۲۹/۲۱	۲/۶۲	۰/۵۸
نماتد	۴/۵۰ a	۷/۷۵ a	۱۸۶/۰۰a	۱۱/۷۸ a	۲۸/۲۳ a
قارچ + نماتد	۱/۵ b	۳ b	۱۲۸/۷۵ b	۶/۸۸ b	۱۷/۲۰ b
LSD	۱/۸۴	۱/۵۲	۶/۱۴	۱/۳۶	۰/۹۷

اعداد میانگین چهار تکرار می‌باشند. میانگین‌های با حروف مشابه در هر ستون از نظر آماری در سطح یک درصد اختلاف معنی‌داری ندارند.

کاهش یافت. این اتفاق نشاندهنده‌ی تغییرات ایجاد شده از نظر بافت شناسی در بافت آلوده به نماتد در حضور عامل زیستی کاهش دهنده‌ی حساسیت یعنی قارچ مایکوریز می‌باشد. البته این تأثیر در مورد هر دو رقم مشهود بود به گونه ای که قارچ مایکوریز سبب کاهش تعداد سلول‌های غول‌آسای تشکیل شده گردید (جدول ۲). اما شاید بتوان اظهار داشت که این رخداد در مورد رقم حساس ملموس‌تر بود. مقایسه‌ی تعداد هسته در سلول غول‌آسا در دو رقم خیار بعد از گذشت زمان مذکور نشان داد که میانگین تعداد هسته در تیمار نماتد بدون حضور قارچ مایکوریز، در هر دو رقم بیش‌تر از تیمار نماتد در حضور قارچ بود. هم‌چنین بیش‌ترین میانگین تعداد هسته در سلول غول‌آسا در رقم حساس دانیتو و در تیمار نماتد بدون حضور قارچ مایکوریز مشاهده گردید (جدول ۲). بیش‌ترین میانگین قطر هسته در سلول غول‌آسای تشکیل شده در بافت حساس تلقیح شده با نماتد بدون حضور قارچ مایکوریز رویت شد. تلقیح نماتد بعد از کلونیزاسیون ریشه با قارچ مایکوریز، سبب کاهش میانگین قطر هسته نسبت به تیمار نماتد بدون حضور قارچ مایکوریز گردید. در رقم متحمل، میانگین قطر هسته در تیمار نماتد با حضور قارچ مایکوریز نسبت به تیمار نماتد بدون حضور قارچ مایکوریز، کاهش قابل ملاحظه‌ای یافت (جدول ۲). مقایسه‌ی مساحت سلول غول‌آسا (Giant cell stellar%)، در دو رقم نشان داد که در رقم حساس بیش‌ترین میانگین مساحت سلول غول‌آسا در گیاهان مایه زنی شده با نماتد بدون حضور قارچ مایکوریز دیده شد. در گیاهان مایه زنی شده با نماتد در حضور قارچ مایکوریز، به طور چشم‌گیری مساحت سلول غول‌آسا کاهش یافت. در رقم متحمل میانگین مساحت سلول غول‌آسا در هر دو تیمار به نسبت رقم حساس کم‌تر بود. میانگین مساحت سلول غول‌آسا در گیاهان مایه‌زنی شده با نماتد بالاتر از گیاهان مایه‌زنی شده با نماتد و قارچ بود جدول ۲). درصد مساحت اشغال شده توسط سلول غول‌آسا در ناحیه‌ی آوندی، در رقم حساس به طور قابل ملاحظه‌ای از رقم متحمل بیش‌تر بود. همچنین در رقم متحمل، مساحت اشغال شده توسط سلول غول‌آسا، در گیاهان مایه‌زنی شده با نماتد بیش‌تر از تیمار نماتد و قارچ بود (جدول ۲). میانگین تعداد سلول‌های غول‌آسا در تیمارهای مختلف آزمایش با هم تفاوت معنی‌داری نشان دادند. این نتایج با یافته‌های سهرابی و همکاران در مورد کاهش تعداد سلول‌های مذکور، در تیمارهای مایه‌زنی شده با قارچ مایکوریز مشابهت نشان داد. (سهرابی و همکاران ۱۳۹۳). در بررسی‌های انجام شده، بخشی از کاهش خسارت نماتد در اثر حضور قارچ‌های مایکوریز به افزایش رشد گیاه در اثر جذب عناصر معدنی به ویژه فسفر (اسمیت و رید، ۱۹۹۷ و اوزگونن و همکاران، ۱۹۹۹) و افزایش فتوسنتز (اوج، ۲۰۰۱) نسبت داده شده است. ولی سهم از کاهش بیماری‌زایی نماتد روی گیاه می تواند ناشی از تحریک واکنش دفاعی گیاه توسط قارچ باشد. در تحقیقات انجام شده تا کنون نقش چندین ژن و فرآورده‌ی پروتئینی در واکنش دفاعی گیاهان در همزیستی‌های میکوریزی مشخص شده است (هریر و واتسون، ۲۰۰۴).

بخش دیگری از کاهش بیماریزایی نماتد می‌تواند ناشی از حفاظت مستقیم ریشه توسط مایکوریز و یا رقابت برای اشغال محل های تغذیه و استقرار موجودات ریز فرا ریشه باشد (هول و کوک، ۲۰۰۵). هم‌چنین مشخص شده است که قارچ‌های مایکوریز آربوسکولار دارای توانایی القای مقاومت سیستمیک در برابر نماتدهای انگل گیاهی در سیستم ریشه هستند (السن و همکاران، ۲۰۰۸). برخی از عوامل درگیر در این مکانیسم شامل افزایش مواد غذایی، تغییرات بیوشیمیایی در بافت‌های گیاهی (افزایش کیتیناز، آمینو اسید، پراکسیداز و فیتوآلکسین)، تغییرات آناتومیکی (افزایش قابلیت لیگنینی شدن)، تغییرات میکروبی در ریزوسفر و تغییرات مرفولوژیکی ریشه (افزایش انشعابات و توسعه طول ریشه) می‌باشند (السن و همکاران، ۲۰۰۲). در بین تغییرات بیوشیمیایی، نقش آنزیم های مختلف، به ویژه کیتیناز در مهار زیستی تعدادی از بیمارگرهای گیاهی مورد توجه قرار گرفته است. در تحقیقات مختلف به افزایش فعالیت برخی از آنزیم ها، شامل کیتیناز در گیاهان

حاوی مایکوریز اشاره شده است (لامبیاس و مهدی، ۱۹۹۵؛ پوزو و همکاران، ۱۹۹۶ و اسپانو و همکاران، ۱۹۸۹). فعالیت آنزیم کتیناز در ریشه‌ی گیاهان تیمار شده با قارچ مایکوریز در مقایسه با گیاهان غیر مایکوریزی افزایش نشان داد (سهرابی و همکاران ۱۳۹۴). به نظر می رسد که قارچ با تحریک سیستم دفاعی گیاه و اختلال در فعالیت نماتد، باعث کاهش تعداد توده‌ی تخم و تعداد تخم داخل هر توده می گردد (سهرابی و همکاران، ۲۰۱۲). نتایج حاصله از تحقیق حاضر، با یافته ژانگ و همکاران (۲۰۰۸) مطابقت نشان می‌دهد. آنها مشخص کردند که قارچ مایکوریز سبب کاهش تعداد گال و تعداد تخم نماتد *M. incognita* در سیستم ریشه تلقیح شده با قارچهای مایکوریز آربوسکولار می گردد. نتایج حاصل از این تحقیق بیانگر نقش موثر قارچ مایکوریز درکاهش عوامل تولیدمثلی نماتد و افزایش مقاومت گیاه حساس در برابر آلودگی به نماتد ریشه‌ی گرهی می‌باشد. با توجه به نتایج حاصل از این بررسی و بررسیهای مشابه، نقش مثبت قارچ مایکوریز در مهار زیستی نماتد ریشه‌ی گرهی تقویت گردیده به نحوی که می توان با مطالعه‌ی بیشتر در زمینه‌ی کنترل نماتد ریشه گرهی توسط این گروه، استفاده وسیعتر آنها در کنترل نماتدها را تحقق بخشید.

منابع

سهرابی ف، فدایی تهرانی ع الف، و رضایی دانش ی، ۱۳۹۳. تأثیر قارچهای میکوریز آربوسکولار *Glomus intraradices* و *Glomus mosseae* روی سطوح مختلف جمعیت نماتد ریشه گرهی *Meloidogyne javanica* در گوجه فرنگی. نشریه حفاظت گیاهان (علوم و صنایع کشاورزی) جلد ۲۸ ، شماره ۲، صفحه های ۲۱۰-۲۰۳.

سهرابی ف، فدایی تهرانی ع الف، و رضایی دانش ی، ۱۳۹۴. بررسی تغییرات آنزیم کیتیناز در برهمکنش قارچ میکوریز آربوسکولار (*Glomus mosseae*) و نماتد ریشه گرهی (*Meloidogyne javanica*) در گوجه فرنگی نشریه حفاظت گیاهان (علوم و صنایع کشاورزی) جلد ۲۹ ، شماره ۳، صفحه های ۳۵۶-۳۴۹.

سهرابی ف و فدایی تهرانی ع الف، ۱۳۹۲. تاثیر قارچ های میکوریز آربوسکولار *Glomus mosseae* و *G. intraradices* روی بیماری زایی نماتد ریشه گرهی *Meloidogyne javanica* و تغییرات هیستوپاتولوژیکی در گیاه گوجه فرنگی. فصلنامه گیاه پزشکی جلد ۶، شماره ۱، صفحه های ۶۹-۵۷.

قربانی م، روحانی ح، مهدیخانی مقدم ع، رضائی دانش ی، و میرشمسی الف، ۱۳۹۲. ارزیابی مقاومت ایجاد شده توسط قارچهای مایکوریزی آربوسکولار (AMF) علیه نماتد ریشه گرهی (*Meloidogyne javanica*) در گوجه فرنگی (*Lycopersicon esculentum* Mill.). نشریه حفاظت گیاهان (علوم و صنایع کشاورزی). جلد ۲۷ ، شماره ۳، صفحه های ۲۹۳-۲۸۶.

Abbott, WS, 1925, *J. of Economic Entomolgy*, 18: 265.

Auge RM, 2001. Water relations, drought and vesicular arbuscular mycorrhizal symbiosis. Mycorrhiza 11: 3-42.

Azam T and Hisamuddin ss, 2008. Histopathological study of the roots of tomato infected with *Meloidogyne incognita*. Proceedings of the 31st All India Botanical Conference and International Symposium on Plant biology and Environment: Changing Scenario, December 17-19, 2008, Department of Botany, University of Allahabad, Allahabad, India, 67.

Azam T, Hisamuddin SS and Robab MI, 2011. Effect of different inoculum levels of *Meloidogyne incognita* on growth and yield of *Lycopersicon esculentum*, and internal structure of infected root. *Archives of* Phytopathology and Plant Protection 44: 1829–1839.

Brundrett M, Melville L and Peterson RL, 1994. Practical Methods in Mycorrhiza Research. Mycologue Publications, Waterloo, Canada. 161 p.

Diedhiou PM, Hallmann J, Oerke EC and Dehne HW, 2003. Effects of arbuscular mycorrhizal fungi and a non-pathogenic *Fusarium oxysporum* on *Meloidogyne incognita* infestation on tomato. Mycorrhiza, 13: 199–204.

Dos Anjos, ÉCT, Cavalcante UMT, Gonçalves DMC, Pedrosa EMR, dos Santos VF and Maia LC, 2010. Interactions between an arbuscular mycorrhizal fungus (*Scutellospora heterogama*) and the root-knot nematode (*Meloidogyne incognita*) on sweet passion fruit (*Passiflora alata*). Brazilian Archives of Biology and Technolog, 53: 801–809.

Dropkin VH, 1989. Introduction to plant Nematology. 2nd ed. New York: John Willey and Sons, Inc. 304 p.

Elsen A, Baimey H, Swennen R and De Waele D, 2003a. Relative mycorrhizal dependency and mycorrhiza nematode interaction in banana cultivars (*Musa* spp.) differing in nematode susceptibility. Plant and Soil, 256: 303–313.

Elsen A, Beeterens R, Swennen R and De Waele D, 2003b. Effects of an arbuscular mycorrhizal fungus and two plant-parasitic nematodes on *Musa* genotypes differing in root morphology. Biology and Fertility of Soils, 38: 367–376.

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.

Elsen A, Gervacio D, Swennen R and De Waele D, 2008. AMF-induced biocontrol against plant parasitic nematodes in *Musa* sp.: a systemic effect. Mycorrhiza. 18(5):251-256.

FAO. 2011. Major Crops – By Countries/Regions, Rankings; Choose Cucumber and Gherkins, World". Food and Agricultural Organization, FAOSTAT.

Golzari H, Panjehkeh M, Ahmadzadeh M, Salari M and Sedaghtikhoravi E, 2011. Elucidating the parasitic capabilities of *Trichoderma* against *Meloidogyne javanica* on tomato. Plant Disease. 1(1): 12-19.

Gordon S, Grandison and Karen M, 1986. Interaction of vesicular-arbuscular mycorrhizae and cultivars of alfalfa susceptible and resistant to *Meloidogyne hapla*. Nematology 18(2): 141–148.

Gosling, P, Hodge A, Goodlass G and Bending GD, 2006. Arbuscular mycorrhizal fungi and organing farming. Agriculture, Ecosystems and Environment: 17-35.

Elsen A, Declerck S and De Waele D. 2001. Effects of *Glomus intraradices* on the reproduction of the burrowing nematode (*Radopholus similis*) in dixenic culture. Mycorrhiza 11, 49–51.

Hol W. H and Cook R, 2005. An overview of arbuscular mycorrhizal fungi–nematode interactions. Basic and Applied Ecology. 6(6): 489–503.

Hajra N, Shahina F and Firoza K, 2015. Damage induced by root-knot nematodes and its alleviation by vesicular arbuscular mycorrhizal fungi in roots of Luffa cylindrica. Pakistan Journal of Nematology 33: 71-78.

Harrier LA and Watson CA, 2004. The potential role of arbuscular mycorrhizal fungi in the bioprotection of plant against soil-borne pathogens in organic and or sustainable farming systems. Pest Management, 60: 149-157.

Hussey RS and Barker KR, 1973. A comparison of methods of collecting inoculation of *Meloidogyne* species, including a new technique. Plant Disease 57:1025–1028.

Jenkins WR. 1964. A rapid centrifugel flotation technique for separating nematodes from soil. *Plant Diseases*, 48: 692.

Johnson DA, 1940: Plant Microtechnique. McGraw Hill Book Company Inc., New York: 502

Kimenju JW, Karanja NK and Macharia I, 1999. Plant parasitic nematodes associated with common beans in Kenya and the effect of *Meloidogyne* infection on bean nodulation. African Crop Science Journal 7: 503-510.

Lamberti F, Hockland S, Agostinelli A, Moens M and Brown DJF, 2004. The *Xiphinema americanum* group. III. Keys to species identification. Nematologia mediterranea, 32: 53-56.

Lambais MR and Mehdy MC, 1995. Differential expression of defense related gens in arbuscular mycorrhiza. Journal of Botany, 73: 533-540.

Nasr Isfahani, M and Ahmadi A, 2003. Nematology Fundamentals. Isfahan Jehad Daneshghahi. Press, 334p. (In Persian).

Oostenbrink M, 1966. Major characteristics of the relation between nematode and plants. Medad. Landbouwhogesch. Wageningen, 66(4): 1-46.

Ozgonen H, Bicici M and Erkilic A, 1999. The effect of salicylic acid and *endomy corrhizal* fungus *G. intraradices* on plant development of tomato and Fusarium wilt caused by *Fusarium oxysporum* f. sp. *lycopersici*. Turkish Journal of Agriculture and Forestry 25: 25-29.

Pfleger FL and Linderman RG, 1994. Mycorrhizae and Plant Health, p. 337– 344. In: F.L. Pfleger and R.G. Linderman (eds.). APS Press, St. Paul, Minn.

Phillips JM and Hayman DS, 1970. 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.

Pozo MJ, Dumas-Gaudot E, Slezack S, Cordier C, Asselin A, Gianinazzi S, Gianinazzi-Pearson V, Azcón-Aguilar C and Barea JM, 1996. Induction of new chitinase isoforms in tomato roots during interactions with Glomus mosseae and/or Phytophthora nicotianae var parasitica. Agronomie 16: 689–697.

Sadegh Moosavi S, Karegar A and Deljoo A, 2006. Responses of some common cucumber cultivars in Iran to root-knot nematode, *Meloidogyne incognita*, under greenhouse condition. Iranian Journal of Plant Pathology 42(2): 241-252 (in Persian).

Sasser JN and Carter CC, 1985. An Advanced Treatise on *Meloidogyne*. Vol. I: Biology and Control. North Carolina State University Graphics. 422 p.

Sohrabi F, Fadaei-Tehrani AA, Rezaee Danesh Y and Jamalli-Zavareh A, 2012. Study on interaction between arbuscular mycorrhizal fungi (*Glomus mosseae* and *Glomus intraradices*) and root-knot nematode (*Meloidogyne javanica)* in tomato. Journal of Plant Pathology, 48(3): 131 -134.

Smith SE and Read DJ, 1997. Mycorrhizal Symbiosis. Academic Press, Cambridge.

Spanu P, Boller T, Ludwig A, Wiemken A, Faccioa A and Bonfante-Fasolo P, 1989. Chitinase in roots of Mycorrhizal *Allium porrum* regulation and localization. Planta, 177: 447-550.

Starr JL, Bridge J and Cook R, 2002. Resistance to plant-parasitic nematodes: History, current use and future potential. pp: 1-22. In: Starr, J.L., Bridge, J., and Cook, R. (eds.) Plant Resistance to Parasitic Nematodes. CABI Publishing, Wallingford, UK.

Stirling GR, Stirling AM, Seymour NP and Bell MJ, 2004. Use of free-living nematodes in soil food-web diagnostics: An example from the vertosols of the northern grain belt. Proceedings of the Third Australasian Soilborne Diseases Symposium, Rowland Flat, South Australia. South Australian Research and Development Institute. 3-4.

Perry RN and Starr JL. 2009. Root-knot nematodes. Wallingford, UK: CAB Int. pp. 98–118.

Vovlas N, Mifsud D, Landa BVb and Castillo P, 2005. Pathogenicity of the root-knot nematode *Meloidogyne javanica* on potato. *Plant Pathology* 54: 657-664.

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.

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

Effect of Mycorrhizal Fungus on Pathogenicity of Root-Knot Nematode (*Meloidogyne incognita*) and Histopathological Changes in Tolerant and Susceptible Cucumbers

A Hosseinikhah Choshali[1], S Rezaee[1], S Jamali[2]*, H R Zamanizadeh[3] and F Rejali[4]

[1]Respectively, Asistant Professor and Associate Professor, Department of Plant Protection, Faculty of Agricultural Sciences and Food Industries, Science and Research Branch, Islamic Azad University, Tehran, Iran.
[2]Associate Professor, Department of Plant Protection, Faculty of Agricultural Sciences, University of Guilan, Rasht, Iran.
[3]Associate Professor, Department of Plant Protection, Faculty of Agricultural Sciences and Food Industries, Science and Research Branch, Islamic Azad University, Tehran, Iran.
[4]Associate Professor, Soil and Water Research Institute, Tehrān, Iran.
*Corresponding author: jamali@guilan.ac.ir

Received: 13 October 2018 Accepted:3 February 2019

Abstract

Root knot nematodes (*Meloidogyne* spp.) are one of the most important plant parasitic nematodes that cause damage to most agricultural crops. In this study, the effect of the arbuscular mycorrhizal fungus (AMF) *Funneliformis mosseae* on root knot nematode *M. incognita* on two cucumber cultivars; tolerant and susceptible was investigated. This experiment was conducted in a completely randomized design with four treatments and four replications. The results showed that adding mycorrhizal fungus one month before inoculation of nematode caused a significant decrease in nematode pathogenicity factors (number of galls, number of eggs, eggs per egg mass and number of second stage juveniles) in both tolerant and susceptible cultivars (cv). Although the pathogenicity of the nematode in tolerant cultivars was lower than that of susceptible cvs, inoculation of susceptible roots with mycorrhizal fungus significantly reduced the pathogenicity of the nematode. The reproductive factor decreased in mycorrhizal plants in tolerant and susceptible cultivars in 50 and 66.6%, respectively. The presence of mycorrhizal in tolerant and sensitive cultivar reduced 64 and 63.3% of the second larval population in the soil, respectively. Also, the comparison of the mean number, size and area of giant cells and the number and diameter of the nucleus in 2 cvs showed a significant difference between the plants with or without mycorrhizal fungus. Since mycorrhizal fungus reduces the pathogenicity of the root knot nematode and increases the resistance of the cv susceptible to nematode, it can be considered as an option for biologic control of the root knot nematode.

Keywords: Cucumber, Biocontrol, *Meloidogyne incognita* and Arbuscular mycorrhizal fungi.