فهرست مطالب

عنوان شماره صفحه

فصل اول - مقدمه ۹

۱- ۱ کلیات و اهداف تحقیق ۹

فصل دوم – بررسی منابع ۱۱

۲-۱ گوجه‌فرنگی ۱۱

۲-۲ نماتدهای ریشه‌گرهی (*Meloidogyne* spp.) ۱۲

۲-۲-۱ مطالعات انجام شده روی نماتد ریشه‌گرهی در جهان ۱۲

۲-۲-۲ مطالعات انجام شده روی نماتد ریشه‌گرهی در ایران ۱۳

۲-۲-۳ جایگاه تاکسونومی جنس *Meloidogyne* ۱۴

۲-۲-۴ مشخصات افراد ماده ۱۵

۲-۲-۵ مشخصات افراد نر ۱۶

۲-۲-۶ مشخصات لاروها ۱۶

۲-۳ دامنه میزبانی و پراکنش گونه‌های نماتد ریشه‌گرهی جنس *Meloidogyne* درجهان ۱۷

۲-۴ دامنه میزبانی و پراکنش گونه‌های نماتد ریشه‌گرهی جنس *Meloidogyne* در ایران ۱۷

۲-۵ گونه *M. javanica* ۱۷

۲-۶ زیست‌شناسی و چرخه زندگی نماتد ریشه‌گرهی ۱۸

۲-۷ مراحل ایجاد آلودگی توسط نماتدهای ریشه‌گرهی و چگونگی شکل‌گیری سلول غول‌آسا ۱۸

۲-۸ اثرات و علائم ایجاد شده در گیاهان آلوده به نماتد ریشه‌گرهی ۱۹

۲-۹ مدیریت کنترل نماتد ریشه‌گرهی ۱۹

۲-۱۰ کنترل بیولوژیک یا مهار زیستی ۱۹

۲-۱۱ همزیستی میکوریزایی ۲۰

۲-۱۱-۱ انواع روابط همزیستی میکوریزایی ۲۰

۲-۱۲ آربوسکولار میکوریز (Arbuscular mycorrhiza) ۲۰

۲-۱۲-۱ چرخه زندگی قارچ‌های میکوریز آربوسکولار ۲۱

۲-۱۲-۲ جوانه‌زنی اسپور ۲۱

۲-۱۲-۳ رشد اولیه هیف‌های رویشی ۲۱
۲-۱۲-۴ تمایز مورفولوژیکی هیف‌های رویشی ۲۲
۲-۱۲-۵ تشکیل آپرسوریوم (Appressorium) در سطح ریشه ۲۲
۲-۱۲-۶ نفوذ هیف قارچ به داخل بافت ریشه ۲۲
۲-۱۲-۷ تشکیل آربوسکول (Arbuscule) ۲۲
۲-۱۲-۸ تشکیل وزیکول‌ها (Vesicule) ۲۳
۲-۱۲-۹ تشکیل اسپور ۲۳
۲-۱۲-۱۰ گسترش هیف قارچ در خاک اطراف ۲۴
۲-۱۲-۱۱ فراوانی و پراکنش اکولوژیکی قارچ‌های میکوریز آربوسکولار ۲۴
۲-۱۲-۱۲ نقش قارچ‌های میکوریز آربوسکولار ۲۴
۲-۱۲-۱۳ مطالعات انجام شده روی قارچ‌های میکوریز آربوسکولار در جهان ۲۵
۲-۱۲-۱۴ مطالعات انجام شده روی قارچ‌های میکوریز آربوسکولار در ایران ۲۶
۲-۱۳ بررسی مکانیسم‌های درگیر در کنترل نماتد ریشه‌گرهی توسط قارچ میکوریز ۲۷
۲-۱۳-۱ نقش آنزیم کیتیناز در اثرات متقابل قارچ میکوریز آربوسکولار و نماتد ریشه‌گرهی ۲۷
۲-۱۴ تأثیر قارچ‌های میکوریز آربوسکولار بر بیمارگرهای گیاهی ۲۸
۲-۱۴-۱ اثرات متقابل قارچ‌های میکوریز آربوسکولار و نماتد ریشه‌گرهی ۲۹
فصل سوم – مواد و روش کار ۳۲
۳-۱ تهیه مایه تلقیح نماتد ۳۲
۳-۱-۱ خالص‌سازی مقدماتی نماتد ریشه‌گرهی و تکثیر تک‌کیسه تخم‌ها ۳۲
۳-۱-۲ تکثیر انبوه نماتد ریشه‌گرهی ۳۳
۳-۲ بررسی مورفولوژیکی نماتد ریشه‌گرهی ۳۳
۳-۲-۱ بررسی شبکه کوتیکولی انتهای بدن نماتد ماده بالغ ۳۳
۳-۲-۲ بررسی خصوصیات مورفولوژیکی لارو سن دوم و نماتد نر ۳۴
۳-۳ استخراج مایه تلقیح نماتد از ریشه گوجه‌فرنگی ۳۴
۳-۴ تهیه مایه تلقیح قارچ ۳۵
۳-۵ بررسی و مشاهده اندام‌های مختلف قارچ‌های میکوریز ۳۶
۳-۶ بررسی اثرات متقابل قارچ‌های میکوریز و نماتد ریشه‌گرهی ۳۷

۳-۷ بررسی تأثیر قارچ‌های میکوریز روی جمعیت‌های مختلف نماتد ریشه‌گرهی ۳۷
۳-۸ محاسبه و ارزیابی شاخص‌های مورد آزمایش ۳۷
۳-۸-۱ محاسبه و ارزیابی فاکتورهای رشدی گیاهان مورد آزمایش ۳۷
۳-۸-۲ محاسبه فاکتورهای رشد و نموی نماتد ۳۸
۳-۸-۳ شمارش اسپور قارچ‌های میکوریز ۳۸
۳-۸-۴ تعیین درصد کلنیزاسیون ریشه‌های میکوریزایی ۳۸
۳-۹ بررسی اثرات هیستوپاتولوژیکی نماتد ریشه‌گرهی روی گیاه گوجه‌فرنگی ۴۰
۳-۱۰ بررسی مکانیسم درگیر در اثرات متقابل قارچ‌های میکوریز و نماتد ریشه‌گرهی ۴۰
۳-۱۰-۱ استخراج عصاره پروتئینی ۴۱
۳-۱۰-۱-۱ ارزیابی مقدار کل پروتئین محلول عصاره ۴۱
۳-۱۰-۲ ارزیابی فعالیت کیتیناز عصاره گیاه ۴۲
فصل چهارم- نتیجه و بحث ۴۴
۴-۱ شناسایی گونه نماتد ریشه‌گرهی ۴۴
۴-۲ نتایج بررسی میکروسکوپی چگونگی کلنیزاسیون ریشه و تشکیل اندام‌های مختلف قارچ‌های میکوریز آربوسکولار.. ۴۶
۴-۳ نتایج بررسی تأثیر قارچ‌های میکوریز *Glomus mosseae* و *Glomus intraradices* و نماتد ریشه‌گرهی *Meloidogyne javanica* در گیاه گوجه‌فرنگی ۴۷
۴-۳-۱ اثرات روی شاخص‌های رشد و نموی گیاه ۴۷
۴-۳-۲ اثرات روی شاخص‌های رشد و نموی نماتد و بیماری‌زایی ۵۴
۴-۴ بررسی تغییرات سلولی و بافتی ریشه ناشی از حمله نماتد ریشه‌گرهی و حضور قارچ‌های میکوریز آربوسکولار ۵۷
۴-۵ اثر نماتد ریشه‌گرهی *M. javanica* روی قارچ‌های میکوریز آربوسکولار *G. mosseae* و *G. intraradices*..... ۶۰
۴-۶ تأثیر قارچ‌های میکوریز آربوسکولار *G. mosseae* و *G. intraradices* روی سطوح مختلف جمعیت نماتد ریشه‌گرهی *M. javanica* در گوجه‌فرنگی ۶۲
۴-۶-۱ اثرات روی شاخص‌های رشد و نموی گیاه ۶۲
۴-۶-۲ اثرات روی شاخص‌های رشد و نموی نماتد و بیماری‌زایی ۷۰
۴-۷ مکانیسم‌های آنزیمی درگیر در اثرات متقابل قارچ میکوریز آربوسکولار *Glomus mosseae* و نماتد ریشه‌گرهی *Meloidogyne javanica*..... ۷۴
۴-۸ نتیجه‌گیری ۸۲
۴-۹ پیشنهادات ۸۳

فهرست شکل‌ها

عنوان شماره صفحه

شکل ۲-۱ ریشه آلوده به نماتد ریشه‌گرهی ۱۲

شکل ۲-۲ نماتد ماده جنس *Meloidogyne* (پری و مونز، ۲۰۰۶)..... ۱۵

شکل ۲-۳ نماتد نر جنس *Meloidogyne* (پری و مونز، ۲۰۰۶)..... ۱۶

شکل ۲-۴ آربوسکول (Arbuscule)..... ۲۳

شکل ۲-۵ اسپور و وزیکول (Spore & Vesicule) ۲۴

شکل ۳-۱ تکثیر نماتد ریشه‌گرهی روی گیاه گوجه‌فرنگی..... ۳۳

شکل ۳-۲ تکثیر قارچ‌های میکوریز روی گیاه شبدر سفید ۳۵

شکل ۴-۱ عکس برش عرضی انتهای بدن نماتد ماده..... ۴۵

شکل ۴-۲ دیاگرام ترسیمی از کوتیکول انتهای بدن نماتد ماده..... ۴۵

شکل ۴-۳ اندام‌های قارچی مشاهده شده در ریشه‌های رنگ‌آمیزی شده شبدر..... ۴۶

شکل ۴-۴ مقایسه میانگین طول ساقه و ریشه گوجه‌فرنگی تلقیح شده با قارچ‌های میکوریز *G. mosseae* و *G. intraradices* و نماتد ریشه‌گرهی *M. javanica*..... ۴۹

شکل ۴-۵ مقایسه میانگین وزن تر ساقه و ریشه گوجه‌فرنگی تلقیح شده با قارچ‌های میکوریز *G. mosseae* و *G. intraradices* و نماتد ریشه‌گرهی *M. javanica*..... ۵۱

شکل ۴-۶ مقایسه میانگین وزن خشک ساقه و ریشه گوجه‌فرنگی تلقیح شده با قارچ‌های میکوریز *G. mosseae* و *G. intraradices* و نماتد ریشه‌گرهی *M. javanica*..... ۵۲

شکل ۴-۷ مقایسه تفاوت میزان رشد و نمو گوجه‌فرنگی در تیمارهای مختلف ۵۳

شکل ۴-۸ میانگین تعداد گال و توده تخم در ریشه آلوده به نماتد ریشه‌گرهی *M. javanica* با و بدون حضورقارچ‌های میکوریز *G. mosseae* و *G. intraradices*..... ۵۶

شکل ۴-۹ میانگین تعداد لارو سن دوم نماتد ریشه‌گرهی در گوجه‌فرنگی‌های تلقیح شده و تلقیح نشده با قارچ‌های میکوریز *G. mosseae* و *G. intraradices*..... ۵۶

شکل ۴-۱۰ میانگین تعداد سلول‌های غول‌آسا در ریشه گوجه‌فرنگی آلوده به نماتد ریشه‌گرهی *M. javanica* با و بدون حضور قارچ‌های میکوریز *G. mosseae* و *G. intraradices* ۵۹

شکل ۴-۱۱ میانگین اندازه سلول‌های غول‌آسا در ریشه گوجه‌فرنگی آلوده به نماتد ریشه‌گرهی *M. javanica* با و بدون حضور قارچ‌های میکوریز *G. mosseae* و *G. intraradices* ۵۹

شکل ۴-۱۲ اندازه‌گیری سلول غول‌آسای تشکیل شده در اطراف سر نماتد ماده بالغ ۵۹

شکل ۴-۱۳ میانگین تعداد اسپور و درصد کلنیزاسیون ریشه توسط قارچ‌های میکوریز *G. mosseae* و *G. intraradices* با و بدون حضور نماتد ریشه‌گرهی *M. javanica* ۶۱

شکل ۴-۱۴ میانگین طول ساقه و ریشه گوجه‌فرنگی‌های تلقیح شده با جمعیت‌های مختلف نماتد ریشه‌گرهی *M. javanica* با و بدون حضور قارچ میکوریز *G. mosseae* ۶۶

شکل ۴-۱۵ میانگین طول ساقه و ریشه گوجه‌فرنگی‌های تلقیح شده با جمعیت‌های مختلف نماتد ریشه‌گرهی *M. javanica* با و بدون حضور قارچ میکوریز *G. intraradices* ۶۶

شکل ۴-۱۶ میانگین وزن تر ساقه و ریشه گوجه‌فرنگی‌های تلقیح شده با سطوح مختلف جمعیت نماتد ریشه‌گرهی *M. javanica* با و بدون حضور قارچ میکوریز *G. mosseae* ۶۷

شکل ۴-۱۷ مقایسه میانگین وزن تر ساقه و ریشه گوجه‌فرنگی‌های تلقیح شده با سطوح مختلف جمعیت نماتد ریشه‌گرهی *M. javanica* با و بدون حضور قارچ میکوریز *G. intraradices* ۶۸

شکل ۴-۱۸ میانگین وزن خشک ساقه و ریشه گوجه‌فرنگی‌های تلقیح شده با سطوح مختلف جمعیت نماتد ریشه‌گرهی *M. javanica* با و بدون حضور قارچ میکوریز *G. mosseae* ۶۹

شکل ۴-۱۹ میانگین وزن خشک ساقه و ریشه گوجه‌فرنگی‌های تلقیح شده با سطوح مختلف جمعیت نماتد ریشه‌گرهی *M. javanica* با و بدون حضور قارچ میکوریز *G. intraradices* ۷۰

شکل ۴-۲۰ میانگین تعداد توده تخم و گال در ریشه گوجه‌فرنگی‌های تلقیح شده با سطوح مختلف جمعیت نماتد ریشه‌گرهی *M. javanica* در حضور قارچ میکوریز *G. mosseae* ۷۲

شکل ۴-۲۱ میانگین تعداد لارو در ۱۰۰ گرم خاک بستر گوجه‌فرنگی‌های تلقیح شده با سطوح مختلف جمعیت نماتد ریشه‌گرهی *M. javanica* در حضور قارچ میکوریز *G. mosseae* ۷۳

شکل ۴-۲۲ میانگین تعداد توده تخم و گال در ریشه گوجه‌فرنگی‌های تلقیح شده با سطوح مختلف جمعیت نماتد ریشه‌گرهی *M. javanica* در حضور قارچ میکوریز *G. intraradices* ۷۳

شکل ۴-۲۳ میانگین تعداد لارو در ۱۰۰ گرم خاک بستر گوجه‌فرنگی‌های تلقیح شده با سطوح مختلف جمعیت نماتد ریشه‌گرهی *M. javanica* در حضور قارچ میکوریز *G. intraradices* ۷۴

شکل ۴-۲۴ مقایسه میانگین میزان تغییرات مقدار کل پروتئین و فعالیت آنزیم کیتیناز در گیاهان گوجه‌فرنگی شاهد (بدون میکوریز و نماتد) ۷۷

شکل ۴-۲۵ مقایسه میانگین میزان تغییرات مقدار کل پروتئین و فعالیت آنزیم کیتیناز در گیاهان گوجه‌فرنگی مایه‌زنی شده با قارچ میکوریز *G. mosseae* ۷۷

شکل ۴-۲۶ مقایسه میانگین میزان تغییرات مقدار کل پروتئین و فعالیت آنزیم کیتیناز دو روز بعد از مایه‌زنی گیاهان گوجه‌فرنگی با نماتد ریشه‌گرهی *M. javanica* ۷۸

شکل ۴-۲۷ مقایسه میانگین میزان تغییرات مقدار کل پروتئین و فعالیت آنزیم کیتیناز چهار روز بعد از مایه‌زنی گیاهان گوجه‌فرنگی با نماتد ریشه‌گرهی *M. javanica* ۷۹

شکل ۴-۲۸ مقایسه میانگین میزان تغییرات مقدار کل پروتئین و فعالیت آنزیم کیتیناز شش روز بعد از مایه‌زنی گیاهان گوجه‌فرنگی با نماتد ریشه‌گرهی *M. javanica* ۸۰

شکل ۴-۲۹ مقایسه میانگین میزان تغییرات مقدار کل پروتئین و فعالیت آنزیم کیتیناز هشت روز بعد از مایه‌زنی گیاهان گوجه‌فرنگی با نماتد ریشه‌گرهی *M. javanica*..... ۸۰

فهرست جدول‌ها

عنوان شماره صفحه

جدول ۴-۱ تجزیه واریانس شاخص‌های رشدی گوجه‌فرنگی در بررسی اثرات متقابل قارچ‌های میکوریز *G. mosseae* و *G. intraradices* و نماتد ریشه‌گرهی *M. javanica* ۴۷

جدول ۴-۲ مقایسه میانگین شاخص‌های رشدی گوجه‌فرنگی تیمارهای مختلف در بررسی اثرات متقابل قارچ‌های میکوریز *G. mosseae* و *G. intraradices* و نماتد ریشه‌گرهی *M. javanica* ۴۸

جدول ۴-۳ تجزیه واریانس شاخص‌های رشد و نموی نماتد ریشه‌گرهی *M. javanica* روی گوجه‌فرنگی در تیمارهای مختلف با و بدون حضور قارچ‌های میکوریز *G. mosseae* و *G. intraradices* ۵۴

جدول ۴-۴ مقایسه میانگین شاخص‌های رشد و نموی نماتد ریشه‌گرهی *M. javanica* روی گوجه‌فرنگی با و بدون حضور قارچ‌های میکوریز *G. mosseae* و *G. intraradices* ۵۴

جدول ۴-۵ تجزیه واریانس تعداد و اندازه سلول‌های غول‌آسای ریشه، ناشی از حمله نماتد ریشه‌گرهی *M. javanica* با و بدون حضور قارچ‌های میکوریز *G. mosseae* و *G. intraradices* ۵۷

جدول ۴-۶ مقایسه میانگین تعداد و اندازه سلول‌های غول‌آسای ریشه، ناشی از حمله نماتد ریشه‌گرهی *M. javanica* با و بدون حضور قارچ‌های میکوریز *G. mosseae* و *G. intraradices* ۵۸

جدول ۴-۷ میانگین تعداد اسپور در خاک و میزان کلنیزه شدن ریشه توسط قارچ‌های میکوریز *G. mosseae* و *G. intraradices* با و بدون حضور نماتد ریشه‌گرهی *M. javanica* ۶۱

جدول ۴-۸ تجزیه واریانس شاخص‌های رشدی گوجه‌فرنگی‌های تلقیح شده با قارچ میکوریز *G. mosseae* و جمعیت‌های مختلف نماتد ریشه‌گرهی *M. javanica* ۶۲

جدول ۴-۹ تجزیه واریانس شاخص‌های رشدی گوجه‌فرنگی‌های تلقیح شده با قارچ میکوریز *G. intraradices* و جمعیت های مختلف نماتد ریشه‌گرهی *M. javanica* ۶۳

جدول ۴-۱۰ مقایسه میانگین شاخص‌های رشدی گوجه‌فرنگی‌های تلقیح شده با قارچ میکوریز *G. mosseae* و جمعیت های مختلف نماتد ریشه‌گرهی *M. javanica* ۶۳

جدول ۴-۱۱ مقایسه میانگین شاخص‌های رشدی گوجه‌فرنگی‌های تلقیح شده با قارچ میکوریز *G. intraradices* و جمعیت های مختلف نماتد ریشه‌گرهی *M. javanica* ۶۴

جدول ۴-۱۲ میانگین شاخص‌های رشد و نموی مربوط به سطوح مختلف جمعیت نماتد ریشه‌گرهی *M. javanica* روی گوجه‌فرنگی با و بدون حضور قارچ میکوریز *G. mosseae* ۷۱

جدول ۴-۱۳ مقایسه میانگین شاخص‌های رشد و نموی مربوط به سطوح مختلف جمعیت نماتد ریشه‌گرهی *M. javanica* روی گوجه‌فرنگی با و بدون حضور قارچ میکوریز *G. intraradices* ۷۱

جدول ۴-۱۴ تجزیه واریانس میزان فعالیت آنزیم کیتیناز در گوجه‌فرنگی مایه‌زنی شده با قارچ میکوریز *G. mosseae* و نماتد ریشه‌گرهی *M. javanica* ۷۴

جدول ۴-۱۵ مقایسه میانگین میزان فعالیت آنزیم کیتیناز در گوجه‌فرنگی، پس از مایه‌زنی گیاه با قارچ میکوریز *G. mosseae* و قبل و بعد از مایه‌زنی با نماتد ریشه‌گرهی *M. javanica* ۷۵

جدول ۴-۱۶ مقایسه میانگین میزان فعالیت آنزیم کیتیناز در گوجه‌فرنگی، پس از مایه‌زنی گیاهان با قارچ میکوریز *G. mosseae* و نماتد ریشه‌گرهی *M. javanica*..... ۷۵

فصل اول

مقدمه

۱- ۱ کلیات و اهداف تحقیق

تولیدات کشاورزی به عنوان مهم‌ترین منابع غذایی مردم جهان با چالش‌های متعددی روبرو هستند که حمله بیمارگرهای گیاهی و خسارت ناشی از آن‌ها از اهمیت اقتصادی و استراتژیک بالایی برخوردار می‌باشد. نماتدهای انگل گیاهی به ویژه نماتدهای ریشه‌گرهی از جمله عوامل بیماری‌زای مهم هستند که به اغلب محصولات زراعی در سراسر جهان حمله کرده و باعث خسارت اقتصادی زیادی می‌شوند. انتشار جهانی، دامنه‌ی میزبانی وسیع و تعامل با سایر انگل‌های گیاهی در ایجاد بیماری‌های مرکب، نماتدهای ریشه‌گرهی را در رده‌ی مهم‌ترین بیمارگرهای گیاهی قرار داده است که تأمین منابع غذایی جهان را تهدید می‌نمایند. خسارت ناشی از این نماتدها در جهان بیش از ۱۰٪ تخمین زده شده است (خویی، ۱۳۸۷).

گوجه‌فرنگی با نام علمی *Lycopersicon esculentum* گیاهی یک ساله از خانواده‌ی بادمجانیان (Solanaceae) است که بومی آمریکای مرکزی و ساحل غربی آمریکای جنوبی می‌باشد (هلفیر و باردن، ۱۹۷۹ و نصوحی و کوشکی، ۱۳۸۰). افزایش روزافزون تقاضای مصرف این محصول موجب گسترش سطح زیر کشت آن در شرایط مزرعه و گلخانه و جلب سرمایه‌گذاری وسیع در تولید آن شده است. عدم رعایت اصول صحیح کشاورزی در مراحل کاشت، داشت و برداشت و نیز مشکلات ناشی از خسارت آفات، بیماری‌ها، نماتدها و علف‌های هرز، از جمله عواملی هستند که باعث کاهش عملکرد گوجه‌فرنگی در مناطق مختلف تحت کشت این محصول می‌گردند. نماتدها و به ویژه نماتدهای ریشه‌گرهی (*Meloidogyne* spp.) سهم زیادی در این کاهش تولید دارند. برآورد خسارت این نماتدها در محصول گوجه‌فرنگی در مناطق گرمسیری تا ۳۸٪ برآورد شده است. خسارت بالای این نماتدها و اهمیت محصول، موجب شده است که تلاش زیادی برای مهار این بیمارگرها صورت گیرد (ریچارد و امیلیو، ۲۰۰۵). در ایران نیز تاکنون چندین گونه از این نماتد روی محصولات مختلف گزارش شده است که

بیشترین شیوع را گونه *M. javanica* داشته است (دامادزاده، ۱۳۸۶). روش‌های فیزیکی (مانند آفتاب‌دهی خاک و غرقاب کردن خاک)، روش‌های زراعی (تناوب زراعی، حذف علف‌های هرز و ...) و روش‌های شیمیایی (ضدعفونی خاک، محلول‌پاشی روی گیاه) از جمله روش‌های مدیریت این گروه از نماتدها به شمار می‌روند (الهی‌نیا، ۱۳۸۴). با این‌حال به دلیل محدودیت‌هایی که هریک از روش‌های فوق دارند، هیچ یک روش قاطع و مؤثری برای مبارزه محسوب نمی‌شوند. همانند سایر عوامل بیماری‌زا، یکی از روش‌هایی که در سال‌های اخیر برای کنترل نماتدهای ریشه‌گرهی مورد توجه قرار گرفته است، استفاده از عوامل بیولوژیکی می‌باشد (شارون، ۲۰۰۱). آلودگی‌های زیست محیطی ناشی از کاربرد آفت‌کش‌ها در سال‌های اخیر موجب تقویت این ایده شده است (هارمن، ۲۰۰۴). میکروارگانیسم‌های متنوعی در خاک به نماتد ریشه‌گرهی حمله می‌کنند و موجب کاهش جمعیت آن‌ها می‌شوند که قارچ‌ها، باکتری‌ها و نماتدها مهم‌ترین آن‌ها محسوب می‌شوند (حجت جلالی و قاسم پور، ۱۳۸۵).

همزیستی میکوریزایی یکی از شناخته شده‌ترین و مهم‌ترین روابط همزیستی موجود در کره زمین است. میکوریزها در طبیعت در تأمین نیازهای آبی و تغذیه‌ای گیاهان نقش مؤثری دارند و با افزایش جذب فسفر و آب و مواد معدنی سبب افزایش رشد و سلامتی گیاه می‌گردند (آیبجبیجن و همکاران، ۱۹۹۶ و ری، ۲۰۰۱). میکوریزهای داخلی از جمله عواملی هستند که به طور مستقیم و یا غیرمستقیم می‌توانند روی جمعیت نماتد ریشه‌گرهی اثر بگذارند (هوکر،۱۹۹۴؛ لیندرمن،۲۰۰۰ و بارآ، ۲۰۰۲). جنس‌ها و گونه‌های مختلف این گروه از عوامل همزیست گیاهی اثرات مختلفی روی گیاهان دارند. نقش مثبت این نوع همزیستی در اقتصاد کشاورزی دلیل اصلی تحقیقات وسیع در این زمینه می‌باشد (ابوت و رابسون، ۱۹۹۱). در سال‌های اخیر نقش این قارچ‌ها در تغییر عکس‌العمل گیاهان نسبت به عوامل بیماری‌زا از جمله نماتدها مورد توجه قرار گرفته است و نشانه‌هایی وجود دارد که امکان به‌کارگیری آن‌ها در کنترل نماتدها وجود دارد. بنابراین بررسی دقیق عکس العمل متقابل بین این قارچ‌ها و نماتد ریشه‌گرهی در گیاهان مختلف و از جمله گوجه‌فرنگی ضروری به نظر می‌رسد.

فصل دوم

بررسی منابع

نماتدها به عنوان یکی از گروه‌های مهم عوامل بیماری‌زا هدف بسیاری از تحقیقات در سال‌های اخیر می‌باشند زیرا علاوه بر خسارت مستقیمی که به کمیت و کیفیت تولیدات کشاورزی وارد می‌سازند با انتقال عوامل بیماری-زای دیگر و شرکت در بیماری‌های مرکب، به صورت غیر مستیقم در کاهش راندمان تولید کشاورزی نقش دارند. بنابراین مدیریت این گروه از عوامل بیماری‌زا و به ویژه نماتدهای ریشه‌گرهی از اهداف اصلی متخصصین این رشته از علم می‌باشد. استفاده از روش‌های مختلف زراعی و شیمیایی هر چند در موارد زیادی توانسته است خسارت این نماتدها را کاهش دهد، ولی محدودیت‌ها و خطرات زیست محیطی هر یک از روش‌های فوق باعث ادامه تلاش جهت جستجوی روش‌های مؤثرتر و کم‌خطرتر برای مدیریت این گروه از عوامل بیماری‌زای مهم شده است.

۲-۱ گوجه‌فرنگی

گوجه‌فرنگی با نام علمی *Lycopersicon esculentum L.* گیاهی یک ساله از خانواده‌ی بادمجانیان (Solanaceae) است. این گیاه که بومی آمریکای مرکزی و ساحل غربی آمریکای جنوبی می‌باشد (هلفیر و باردن، ۱۹۷۹ و نصوحی و کوشکی، ۱۳۸۰) دارای ساقه‌های ترد، کرک‌دار، خزنده و منشعب بوده که گاهی طول آن‌ها به ۱/۵ متر می‌رسد. برگ‌های آن متناوب و مرکب می‌باشد. گل‌ها به صورت خوشه‌ای و هر گل دارای ۵ گلبرگ زردرنگ به هم پیوسته و ۵ کاسبرگ بلند و کشیده است، که در ابتدا کوچک، ولی با رشد میوه بلندتر می‌شود، میوه‌های گوشتی دارای تعدادی تخم‌های قلبی شکل کوچک می‌باشند (نصوحی و کوشکی، ۱۳۸۰). سطح زیر کشت این محصول در جهان، ۴ میلیون هکتار و تولید سالانه‌ی آن ۱۲۵ میلیون تن است. در حال حاضر سهم ایران، سطح زیر کشتی معادل ۱۴۰ هزار هکتار با تولید ۵ میلیون و ۳۰۰ هزار تن می‌باشد. عدم رعایت اصول

صحیح کشاورزی در مراحل کاشت، داشت و برداشت و نیز مشکلات ناشی از خسارت آفات، بیماری‌ها، نماتدها و علف‌های هرز، از جمله عواملی هستند که کاهش عملکرد گوجه‌فرنگی در مناطق مختلف تحت کشت این محصول را به دنبال دارند. نماتدها به ویژه نماتدهای ریشه‌گرهی (*Meloidogyne* spp.) سهم عمده‌ای را در این کاهش به عهده دارند (چن و رابرت، ۲۰۰۳). برآورد خسارت این نماتدها در محصول گوجه‌فرنگی در مناطق گرمسیری حدود ۳۸ درصد تخمین زده می‌شود. به دلیل بالا بودن میزان خسارت این نماتدها و اهمیت محصول، تلاش زیادی در جهت مهار این بیمارگرها صورت گرفته و یا در حال انجام می‌باشد (ریچارد و امیلیو، ۲۰۰۵).

۲-۲ نماتدهای ریشه‌گرهی (*Meloidogyne* spp.)

این جنس شامل مهم‌ترین گونه‌های نماتدهای انگل گیاهی در سراسر دنیاست. علت اطلاق نام نماتد ریشه-گرهی به این نماتدها، ایجاد رشد ناهنجار یا گال‌های مشخص روی ریشه گیاهان آلوده به آن‌ها می‌باشد (شکل ۲-۱). نماتدهای ریشه‌گرهی از نظر اقتصادی از مهم‌ترین نماتدهای انگل گیاهی در جهان می‌باشند که به اغلب محصولات زراعی حمله می‌نمایند و سبب آلودگی بیش از ۲۰۰۰ گونه گیاهی می‌گردند (موسوی، ۲۰۱۰). پراکندگی جهانی، وسعت دامنه‌ی میزبانی و تعامل با سایر انگل‌های گیاهی در بیماری‌های مرکب، آن‌ها را در رده‌ی مهم‌ترین بیمارگرهای گیاهی قرار داده است که تأمین منابع غذایی جهان را تهدید می‌نمایند (هوسی و جنسن، ۲۰۰۲) .

شکل ۲-۱ ریشه آلوده به نماتد ریشه‌گرهی

۲-۲-۱ مطالعات انجام شده روی نماتد ریشه‌گرهی در جهان

بررسی‌ها نشان داده است که گره‌های روی ریشه گیاهان میزبان نماتد ریشه‌گرهی، از سال ۱۸۰۵ در فلوریدای آمریکا شناخته شده‌اند. سپس، در سال ۱۸۵۵ برکلی در انگلیس برای اولین بار نماتدهایی را که باعث تشکیل گال روی ریشه خیار شد را توصیف نمود (هوسی و جنسن، ۲۰۰۲). در سال ۱۸۷۵، در ایتالیا این گال‌ها روی ریشه‌های گیاه *Sempervirum tectorum* مشاهده شد. جوبرت در سال ۱۸۷۸ در برزیل اولین بیماری ایجاد شده به وسیله نماتد ریشه‌گرهی روی ریشه گیاه قهوه را شرح داد و در سال ۱۸۷۹ این نماتد از روی ریشه‌های اسپرس جدا شد. نماتد مذکور به عنوان گونه جدیدی از جنس *Anguillula* با نام *A. marioni* معرفی گردید (که در حال حاضر این جنس *Anguina* نامیده می‌شود). سپس نام *Heterodera radicicola* برای این نماتد انتخاب شد. آتیکسون و گوئلدی در سال ۱۸۹۲ بیماری‌های مربوط به نماتدهای ریشه‌گرهی را به طور مستقلی کشف نمودند (چن و همکاران، ۲۰۰۵). تا سال ۱۹۴۹ تمام گونه‌های مربوط به نماتدهای ریشه‌گرهی به عنوان *Heterodera radicicola* یا *A. marioni* شناخته شده بودند، تا اینکه چیت وود در سال ۱۹۴۹ نماتدهای ریشه‌گرهی را در گروه جداگانه‌ای در نظر گرفت و آن‌ها را در جنس *Meloidogyne* قرار داد. تعداد گونه‌های شناخته شده این جنس پیوسته در حال افزایش است. در سال ۱۹۸۲، به بیش از ۴۰ گونه و در سال۱۹۸۷ تعداد گونه‌ها به ۵۱ گونه رسید (دیکر، ۱۹۷۲). به نظر ایزن‌باک و هیرشمن نماتدهای ریشه‌گرهی دارای۶۰ گونه می‌باشند که تعدادی از آن ها از جمله *M. javanica* ، *M. incognita*، *M. hapla* و *M. arenaria* از نظر اقتصادی دارای اهمیت ویژه‌ای هستند. این نماتدها عامل ۹۵ درصد آلودگی‌های نماتدهای ریشه‌گرهی در زمین‌های کشاورزی می‌باشند (هوسی و جنسن، ۲۰۰۲). در سال ۲۰۰۵ تعداد گونه‌ها به بیش از ۹۰ گونه و در سال ۲۰۰۹ به بیش از ۹۷ گونه رسیده است که چهار گونه آن از نظر اقتصادی اهمیت ویژه‌ای در تولید سبزیجات دارند. بررسی انجام شده در بیش از یک هزار جمعیت جمع‌آوری شده این نماتد در بیش از ۷۵ کشور جهان نشان داده است که ۵۳ درصد این نماتدها را گونه *M. incognita*، ۳۰ درصد *M. javanica*، ۸ درصد *M. arenaria*، ۸ درصد *M. hapla* و ۲ درصد را *M. exigua* و سایر گونه‌ها به خود اختصاص داده‌اند (ریچارد و امیلیو، ۲۰۰۵).

۲-۲-۲ مطالعات انجام شده روی نماتدهای ریشه‌گرهی در ایران

سابقه بررسی نماتدها در ایران چندان طولانی نیست. به طوری که بررسی نماتدهای ریشه‌گرهی عملاً از سال ۱۳۴۰ شروع شده است. قوام الدین شریف در سال ۱۳۳۵ برای اولین بار نماتد ریشه‌گرهی را از روی ریشه‌های گوجه‌فرنگی در باغ فلاحت قصرشیرین با نام *Heterodera marioni* گزارش نمود. از سال ۱۳۴۵ در استان اصفهان نسبت به جمع‌آوری نمونه‌های آلوده به نماتد ریشه‌گرهی اقدام شد ولی مطالعات اساسی برای تعیین گونه، میزبان، تغییرات جمعیت و زیست شناسی این انگل گیاهی عملاً از سال ۱۳۵۲ انجام گردید. در سال ۱۳۴۷، امیدوار نماتدهای ریشه‌گرهی را از سایر مناطق کشاورزی ایران گزارش و پراکندگی سه گونه *M. hapla*، *M. incognita* و *M. arenaria* را مشخص نمود (باروتی، ۱۳۵۳). با مطالعاتی که تاکنون انجام شده ، نماتد ریشه-گرهی و پراکندگی گونه‌های غالب آن در سطح کشور تا حد قابل توجهی مشخص شده است، به طوری که چهار گونه *M.hapla* ، *M.incognita* ، *M .arenaria* و *M. javanica* از استان‌های مختلف کشور گزارش شده است که از این میان، گونه *M. javanica* از پراکندگی وسیع‌تری برخوردار می‌باشد. خیری در سال ۱۳۵۱ گونه *M.*

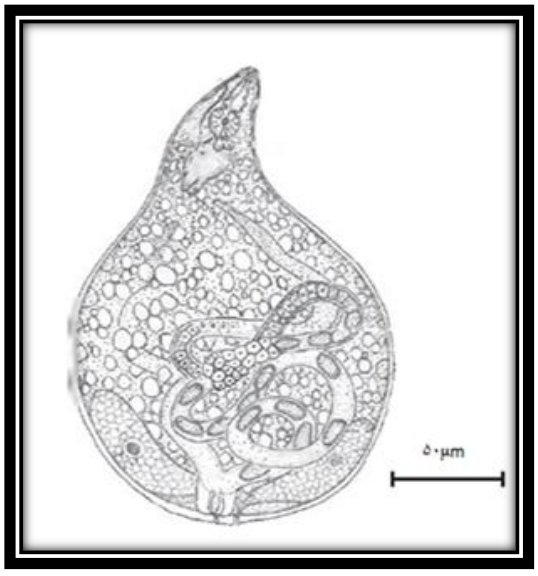
M. arenaria را از گیلان گزارش نمود. باروتی در سال ۱۳۵۳ و ابیوردی و همکاران در سال ۱۳۵۸ گونه *M. incognita* را از گیلان، فارس و اصفهان گزارش نمودند. بررسی‌های بیشتر نشان داده است که *M. javanica* دارای پراکنش وسیع‌تری بوده و از گیلان، اصفهان، مغان، و فارس و کرمانشاه گزارش شده است (مجتهدی و باروتی، ۱۳۵۵). اخیانی و همکاران در سال ۱۳۶۳ حدود ۱۶۸ نمونه ریشه آلوده به نماتد ریشه‌گرهی را از مناطق مختلف کشور جمع‌آوری و آن‌ها را مورد مطالعه قرار دادند که به ترتیب وسعت پراکندگی گونه‌های آن در سطح کشور به ترتیب *M. javanica*، *M. incognita*، *M. hapla* و *M. arenaria* بودند. درسال ۱۳۶۵ انستیتو باغبانی دانشگاه صنعتی اصفهان با همکاری آزمایشگاه بررسی آفات و بیماری‌های اصفهان و بهره‌گیری از امکانات دانشگاه کارولینای شمالی آمریکا مطالعات وسیعی را برای شناسایی نماتدهای ریشه‌گرهی و نژادهای آن انجام دادند که طی این تحقیق نیز مشخص شد گونه *M. javanica* رایج‌ترین گونه در سطح کشور است. هم‌چنین از میان گونه‌های این نماتد، گونه *M. javanica* مهم‌ترین گونه نماتد ریشه‌گرهی روی گوجه‌فرنگی در ایران است. اخیانی و همکاران طی مطالعاتی دامنه میزبانی ۱۷۸ گونه گیاه میزبان را برای نماتد ریشه‌گرهی مشخص نمودند (اخیانی و همکاران، ۱۳۶۵). مهدیخانی و همکاران در بررسی نماتدهای انگل داخلی چغندرقند، گونه *M. javanica* را روی ریشه چغندرقند از بخش تبادکان مشهد جدا و شناسایی کردند (مهدیخانی و همکاران، ۱۳۷۴). نیکنام و خیری در سال ۱۳۷۵ گونه *M. javanica* را از روی ریشه‌های چغندرقند از دشت مغان گزارش کردند. تنها معافی و مهدویان نیز در سال ۱۳۷۶ ریشه‌های کیوی آلوده به نماتد ریشه‌گرهی را از مناطق مختلف استان‌های گیلان و مازندران جمع‌آوری نموده و مورد بررسی قرار دادند (تنها معافی و مهدویان، ۱۳۷۶). حسینی نژاد و همکاران در سال ۱۳۷۶ در بررسی نماتدهای درخت زیتون در ایران گونه *M. javanica* را با جمعیت بالا از روی ریشه درختان زیتون جدا نمودند (حسینی نژاد و همکاران، ۱۳۷۶). باروتی در سال ۱۳۷۶ در بررسی فون نماتدهای انگل گیاهی خاک‌های زراعی آذربایجان شرقی، اردبیل و مغان گونه *M. javanica* را از روی خیار، گوجه‌فرنگی، یونجه، بارهنگ و سیب-زمینی در مناطق ذکر شده جدا کرد. نامبرده همچنین *M. javanica* را از استان کرمانشاه گزارش نمود. علاوه بر چهار گونه قبلی شناخته شده در ایران ۳ گونه جدید *M. cruciani, M. thamesi* و*M. microcephalusm* توسط مهدیخانی و همکاران در سال ۱۳۸۲ گزارش شده است. رزاز هاشمی در سال ۱۳۸۸ نیز دو گونه *M. incognita* و *M. javanica* را از باغات پسته استان قزوین گزارش نمود. رفیعی و همکاران در سال ۱۳۸۸ گونه‌های *M. javanica* و *M. cruciania* را از مزارع و گلخانه‌های خیار منطقه جیرفت و کهنوج گزارش نمودند. اسحاقی و همکاران نماتد *M. javanica* را از روی بادام در استان چهار محال بختیاری جداسازی و شناسایی کردند و این نماتد را به عنوان یکی از مخرب‌ترین نماتدها که بیشترین خسارت اقتصادی را به محصول وارد می‌آورد، معرفی نمودند (هانت و هاندو، ۲۰۰۹ و کارخانه، ۱۳۹۰).

۲-۲-۳ جایگاه تاکسونومی جنس *Meloidogyne*

نماتدهای ریشه‌گرهی متعلق به رده Chromadorea زیررده Chromadoria راسته Rhabditida، زیرراسته Tylenchina، فوق بالاخانواده Tylechomorpha، بالاخانواده‌ی Tylenchoidea و خانواده‌ی Heteroderidae و زیر خانواده Meloidogyninae می‌باشند (دی‌لی و بلاکستر ۲۰۰۲ و ایزنبک و تریانتافیلو، ۱۹۹۱).

۲-۲-۴ مشخصات افراد ماده

از نظر ظاهری ماده‌های بالغ این نماتدها فلاسکی شکل، با گردن کوتاه و فاقد دم و به طول حدود ۰/۵ و عرض ۰/۳ تا ۰/۴ میلی‌متر هستند که انگل داخلی ساکن ریشه به شمار می‌روند. سر کوچک و دارای سه شیار عرضی است. استایلت باریک و ظریف، طول آن ۱۲ تا ۱۵ میکرومتر، از طرف پشتی خمیده و دارای گره‌های مشخص می‌باشد. مری شامل یک حباب میانی کروی مشخص با ورقه‌های هلالی شکل بزرگ است. غده‌های انتهای مری بزرگ، به هم فشرده و متراکم، نزدیک به حباب میانی مری و روی روده را می‌پوشاند. مجرای غده پشتی مری، دقیقاً پشت اتصال آن به مری دیده می‌شود. مجرای ترشحی در قسمت جلوی بدن، خیلی جلوتر از گره‌های استایلت و گاهی دقیقاً در پشت گره‌ها به بیرون باز می‌شود. روده فرمش را در ماده‌های بالغ از دست می‌دهد و به راست روده متصل نمی‌شود. دارای دو تخمدان گسترده و پیچیده که بیشتر فضای حفره بدن را اشغال می‌کند. شش غده تک سلولی مخرجی بزرگ در انتهای بدن وجود دارد که به راست روده متصل هستند و در زمان تخم-ریزی مقدار زیادی ماده ژلاتینی تولید می‌کنند. ترشحات این غده‌ها تشکیل یک کیسه تخم را داده که تخم‌های زیادی در آن جای می‌گیرند. رحم‌های تخمدان‌ها در قسمت جلو فرج به همدیگر متصل می‌شوند. تخم‌ها در کیسه تخم بزرگی که به وسیله سلول‌های اطراف راست روده ترشح می‌شوند، گذاشته می‌شوند. ضخامت کوتیکول بدن ماده‌ها در بعضی گونه‌ها ممکن است به ۳۰ میکرومتر نیز برسد. طرح مشخصی از شیارهای اطراف فرج و مخرج برای شناسایی گونه‌ها به کار می‌رود (جعفرپور و مهدیخانی، ۱۳۷۵ و ایزنبک و تریانتافیلو، ۱۹۹۱). تخم-های نماتد ریشه‌گرهی از نظر شکل و اندازه متنوع هستند اما معمولاً ۹۵ میکرومتر طول و ۴۵ میکرومتر قطر دارند. پوسته تخم دارای پوسته بیرونی، لایه میانی و لایه درونی است. خاصیت ضخیم و ستبر بودن آن سبب مقاومت تخم‌ها به مواد شیمیایی و سموم نماتدکش می‌شود (پری و مونز، ۲۰۰۶).



شکل ۲-۲ نماتد ماده جنس *Meloidogyne* (پری و مونز، ۲۰۰۶)

۲-۲-۵ مشخصات افراد نر

نماتدهای نر، کرمی شکل و فاقد بورسا می‌باشند. نرهای بالغ کشیده و بلند و به آهستگی در خاک حرکت می‌کنند. طول بدن آن‌ها متغیر است و حداکثر طول بدن به ۲ میلی‌متر می‌رسد. سر همطراز بدن و طول استایلت در نرها غالباً دو برابر استایلت ماده‌ها می‌باشد. دم نرها کوتاه و گرد و در قسمت عقبی بدن به اندازه ۱۸۰ درجه چرخیده و پیچ خورده می‌باشد. غده‌های انتهای مری اغلب از طرف شکمی، ابتدای روده را می‌پوشاند. شبکه کوتیکولی سر دارای رشد متوسط می‌باشد. دستگاه تناسلی دارای یک بیضه و در شرایط نامساعد رشدی دارای دو بیضه می‌باشد. اسپیکول باریک، و طول آن ۲۵ تا ۳۳ میکرومتر و طول گوبرناکولوم ۷ تا ۱۱ میکرومتر است. فاسمیدها ته سنجاقی و نزدیک به منفذ دفعی– تناسلی می‌باشند (جعفرپور و مهدیخانی، ۱۳۷۵ و پری و مونز، ۲۰۰۶).

شکل ۲-۳ نماتد نر جنس *Meloidogyne* (پری و مونز، ۲۰۰۶)

۲-۲-۶ مشخصات لاروها

تنها مرحله آلوده‌کننده نماتد، لارو سن دوم است که می‌تواند در خاک زندگی آزاد (تا یک ماه در خاک مرطوب) داشته باشد. اولین تعویض جلد در داخل تخم صورت گرفته و لارو سن دوم متولد می‌شود که طول بدن آن بین ۰/۳ تا ۰/۶ میلی‌متر می‌باشد. دم مخروطی با انتهای گرد و دارای یک بخش شفاف و کوتیکولی (hyaline) است که اندازه آن برای تفکیک گونه‌ها مورد استفاده قرار می‌گیرد. حباب میانی مری بسیار توسعه یافته با دریچه بزرگ و دارای سه غده مری گسترده که از سمت شکمی با روده همپوشانی دارد. نوزادان سن اول در داخل تخم تفریخ شده و نوزادان سن دوم از تخم خارج می‌شوند. این نوزادان همگی کرمی شکل بوده و طول آن‌ها بین ۳۰۰ تا ۵۰۰ میکرون می‌باشد. شکل سر در بین گونه‌های مختلف کاملاً یکسان است. لاروهای سن سوم و چهارم متورم، ساکن و فاقد استایلت بوده و در داخل کوتیکول از لارو سن دوم به وجود می‌آیند. لاروهای سن دوم قادرند به مدت یک ماه در خاک مرطوب دوام آورند بدون اینکه تغییرات قابل ملاحظه‌ای در سن فیزیولوژی آن‌ها ایجاد گردد (ون‌گاندی، ۱۹۸۵؛ لوک و همکاران، ۱۹۸۸ ؛ نصر اصفهانی و احمدی، ۱۳۸۲ و ایزنبک و تریانتافیلو، ۱۹۹۱).

۲-۳ دامنه میزبانی و پراکنش گونه‌های نماتد ریشه‌گرهی جنس *Meloidogyne* درجهان

هر چند جنس *Meloidogyne* دارای گونه‌های زیادی می‌باشد و تاکنون بیش از ۹۰ گونه از آن شناسایی شده است ولی از این تعداد چهار گونه گسترش جهانی داشته و در تولید محصولات مختلف، به ویژه سبزیجات و صیفی‌جات اهمیت زیادی دارند. نتایج حاصل از مطالعه بیش از هزار جمعیت جمع‌آوری شده این نماتد از ۷۵ کشور جهان مؤید این شیوع بود. به طوری‌که گونه‌ی *M. incognita* ۵۳ درصد، *M. javanica* ۳۰ درصد، *M. arenaria* ۸ درصد، *M. hapla* ۸ درصد و *M. exiqua* و سایر گونه‌ها تنها ۲ درصد جمعیت را به خود اختصاص داده‌اند (ریچارد و امیلیو، ۲۰۰۵).

۲-۴ دامنه میزبانی و پراکنش گونه‌های نماتد ریشه‌گرهی جنس *Meloidogyne* در ایران

در ایران نیز هر چند تاکنون چندین گونه مختلف شامل *M. arenaria*, *M. incognita*, *M. javanica*, *M. microcephala* , *M. cruciani* و ... از روی محصولات مختلف گزارش شده است ولی بیشترین شیوع مربوط به *M. javanica* می‌باشد (برومند و همکاران، ۲۰۱۰).

۲-۵ گونه *M. javanica*

این گونه به طور وسیعی در آب و هوای گرم انتشار دارد و در سر تا سر دنیا پراکنده است و دومین گونه شایع در جهان و اولین گونه دارای اهمیت در ایران می‌باشد (اگریوس، ۲۰۰۵). این گونه دارای دامنه میزبانی وسیع و در مناطقی که میانگین دمای سردترین ماه‌های سال کمتر از سه درجه باشد کمیاب است. به نظر می‌رسد که پراکندگی این گونه با سرد شدن دما محدود شده و با افزایش دوره‌های خشکی افزایش می‌یابد. تا کنون ۷۷۰ گونه گیاهی میزبان این نماتد شناخته شده است. گیاهانی که از نظر اقتصادی مهم هستند مانند چای، توتون،

سیب زمینی، گوجه‌فرنگی، سبزی‌ها، درختان میوه، غلات و گیاهان زینتی میزبان این گونه نماتد می‌باشند (اورتون ویلیامز، ۱۹۷۲ و جیپسون، ۱۹۸۷).

۲-۶ زیست‌شناسی و چرخه زندگی نماتد ریشه‌گرهی

این انگل‌های داخلی اجباری در نواحی گرمسیری و معتدل دنیا گسترش وسیع دارند. هر چند تولید مثل بدون وجود نر در اغلب گونه‌ها روش اصلی تکثیر می‌باشد ولی در برخی از گونه‌ها وجود نر و ماده برای تولید مثل ضروری است. تخم‌ها درون کیسه‌ی ژلاتینی تولید می‌شوند که آن‌ها را از خشک شدن و حمله‌ی میکروارگانیسم های خاک محافظت می‌کند. کیسه‌های تخم تازه تولید شده، شفاف و بی‌رنگ هستند ولی با گذشت زمان قهوه‌ای می‌شوند. جنین موجود در تخم‌ها در شرایط مناسب به نوزاد تبدیل می‌شود که اولین پوست اندازی را درون تخم انجام می‌دهد. در شرایط حرارتی و رطوبتی مناسب، تخم‌ها تفریخ شده و لاروهای سن دوم خارج شده در خاک به طرف ناحیه‌ی رشد نوک ریشه جلب می‌شوند. در ناحیه پشت مریستم انتهایی با استفاده از استایلت خود وارد ریشه شده و ضمن حرکت محدود در بافت کورتکس ریشه سرانجام در محلی نزدیک به استوانه‌ی مرکزی مستقر می‌گردند. تحریک سلول‌های مجاور استوانه مرکزی موجب تشکیل سلول‌های غول‌آسا می‌گردد که محل‌های اصلی تغذیه نماتد در مراحل بعدی رشد و نمو می‌باشند. پوست اندازی‌های دوم و سوم به سرعت صورت گرفته و بالاخره به نماتدهای بالغ نر و ماده تبدیل می‌شوند. نرهای بالغ درون کوتیکول مرحله چهارم لاروی، کشیده و طویل شده و از ریشه خارج می‌شوند ولی ماده‌ها در داخل ریشه به تغذیه ادامه می‌دهند. مدت سیکل زندگی بر حسب میزبان و درجه حرارت متغییر است. این مدت ممکن است حداقل سه هفته و حداکثر تا چندین ماه برسد. نسبت نر و ماده نیز تحت شرایط محیطی قرار می‌گیرد. هنگامی که ریشه‌ها به شدت مورد حمله قرارگیرند و یا مواد غذایی کافی نباشد، جمعیت نماتدهای نر خیلی زیاد است (جعفرپور و مهدیخانی، ۱۳۷۵؛ ون‌گاندی، ۱۹۸۵؛ دراپکین، ۱۹۸۹ و برد و برد، ۲۰۰۱).

۲-۷ مراحل ایجاد آلودگی توسط نماتدهای ریشه‌گرهی و چگونگی شکل‌گیری سلول غول‌آسا

شکل‌گیری سلول‌های غول‌آسا یکی از پاسخ‌های بسیار پیچیده در بافت گیاهی تحریک شده به وسیله نماتد می‌باشد. لاروهای آلوده‌کننده، در محلی نزدیک نوک ریشه به داخل ریشه نفوذ نموده ، از اندودرم عبور کرده و به صورت بین سلولی خود را به ناحیه بافت آوندی می‌رسانند. پروتئین‌های ترشحی نماتد از طریق استایلت سبب تغییر شکل حدود ۷-۵ سلول که در اطراف سر نماتد قرار دارند، می‌گردند. این سلول‌ها بزرگ شده و تبدیل به سلول‌های غول‌آسا (Giant cell) می‌شوند. این سلول‌ها منبع تغذیه نماتد در طی مراحل رشد می‌باشند. سلول-های غول‌آسا خیلی بزرگ‌تر از سلول‌های عادی هستند، هسته آن‌ها بزرگ شده، پلی‌پلوئید می‌شوند و یک‌سری تقسیمات همزمانی را انجام می‌دهند، به طوری که صدها هسته ممکن است در یک سلول غول‌آسا وجود داشته باشد. ضمائم درون سلولی نیز تعدادشان افزایش می‌یابد، واکوئل مرکزی پاره شده و به تعداد زیادی واکوئل

کوچکتر تبدیل می‌شود و در دیواره سلول‌های حاشیه سلول‌های آوندی رشد داخلی به وجود می‌آید. سلول‌های غول‌آسا از لحاظ متابولیکی به شدت فعال بوده و غذای کافی را برای ادامه زندگی نماتد ماده و تولید تخم، فراهم می‌آورند. آن‌چه از فتوسنتز به‌دست می‌آید به طرف سلول‌های غول‌آسای ریشه حرکت نموده و منجر به کاهش رشد و ضعف گیاه می‌گردد (جعفرپور و مهدیخانی، ۱۳۷۵؛ ایزنبک و تریانتافیلو، ۱۹۹۱ و دیویس و میچام، ۲۰۰۵).

۲-۸ اثرات و علائم ایجاد شده در گیاهان آلوده به نماتد ریشه‌گرهی

زردی و پژمردگی، کوتولگی و کمی رشد، تغییر در فیزیولوژی گیاه میزبان و کاهش عملکرد و کیفیت محصول از مهم‌ترین علائم آلودگی نماتد ریشه‌گرهی روی قسمت‌های هوایی گیاهان می‌باشد. مهم‌ترین اثر آلودگی نماتد ریشه‌گرهی کاهش عمومی در روند رشد گیاه میزبان است. علائمی که در اثر حمله این نماتد در گیاه ایجاد می‌شود در تمام اندام گیاه اثر خود را نشان می‌دهد. علائم در اندام‌های هوایی در گیاهان میزبان باعث کاهش یا توقف رشد گیاه، پژمردگی، پیری زودرس، کاهش تولید میوه و محصول و یا شبیه به علائم کمبود عناصر معدنی نظیر زردی اندام‌های هوایی می‌باشد. این علائم معمولاً در اثر خسارت ریشه و اختلال در سنتز یا حرکت هورمون‌های رشد میزبان مانند سیتوکینین‌ها و جیبرلین‌ها ایجاد می‌شود و در نهایت باعث کاهش فتوسنتز در گیاه و ایجاد علائم فوق می‌گردد. علائم در اندام‌های زیرزمینی در گیاهان آلوده شامل ریشه‌های گره‌دار حاوی نماتد می‌باشد که این گره‌ها در نتیجه فعالیت نماتد و پر رشدی سلول‌ها ایجاد می‌گردند. سرانجام آلودگی نماتدی فرایندهای فیزیولوژیکی را در سراسر گیاه دچار اختلال نموده و اثرات خود را به صورت ممانعت از رشد، کاهش یا افزایش مواد مغذی و کاهش محصول نشان می‌دهد (دنیس و همکاران، ۲۰۰۴ و دامادزاده، ۱۳۸۶).

۲-۹ مدیریت کنترل نماتد ریشه‌گرهی

کنترل نماتدهای ریشه‌گرهی به دلیل دامنه میزبانی گسترده، چرخه تولید مثلی کوتاه مدت و همچنین میزان تولید مثل بالا بسیار مشکل است (ترادجیل و بلوک، ۲۰۰۱). مدیریت مهار آن‌ها با توجه به نوع گیاه میزبان، گونه و شرایط محیطی متفاوت است. روش‌های فیزیکی (شامل آفتاب دهی خاک و غرقاب کردن خاک)، روش‌های زراعی (شامل تناوب زراعی، حذف علف‌های هرز و از بین بردن ریشه‌های آلوده، کوددهی و تقویت خاک، تنظیم زمان کاشت و استفاده از ارقام مقاوم)، روش‌های کنترل شیمیایی (شامل ضدعفونی با سموم تدخینی، محلول‌پاشی روی گیاه)، استفاده از گیاهان تله یا همستیز و کنترل بیولوژیک یا مهار زیستی از جمله روش‌های مدیریت این گروه از نماتدها به شمار می‌روند (الهی نیا، ۱۳۸۴).

۲-۱۰ کنترل بیولوژیک یا مهار زیستی

علیرغم تنوع روش‌های کنترل این نماتدها، به دلیل محدودیت‌هایی که هر یک از روش‌های مذکور دارند، هیچ یک روش قاطع و مؤثری برای مبارزه محسوب نمی‌شوند. یکی از روش‌هایی که در سال‌های اخیر همانند سایر

عوامل بیماری‌زا برای کنترل مورد توجه قرار گرفته است استفاده از عوامل بیوکنترلی می‌باشد. میکروارگانیسم‌های متنوعی در خاک به نماتد ریشه‌گرهی حمله می‌کنند و موجب کاهش جمعیت آن‌ها می‌شوند که قارچ‌ها، باکتری‌ها و نماتدها مهم‌ترین آن‌ها محسوب می‌شوند. از قارچ‌های مهم می توان قارچ *Dactylella oviparasitica* که انگل تخم نماتدهای ریشه‌گرهی است و قارچ *Pochonia chlamydosporia* را نام برد که یک گونه‌ی غیراختصاصی و فرصت‌طلب است و توانایی رقابت برای استفاده از سوبستراهای موجود در خاک از جمله نماتدها را دارد و از انگل‌های تخم نماتد ریشه‌گرهی محسوب می‌شود. از باکتری‌های مهم می‌توان گونه‌ی *Pasteuria penetrans* را نام برد. این گونه اختصاصاً به تعداد زیادی از گونه‌های نماتد ریشه‌گرهی حمله می‌کند. از شکارگرهای این نماتد می‌توان جنس‌هایی از راسته Dorylaimida مانند *Mononchus* و *Dorylaimus* و غیره را نیز نام برد (حجت جلالی و قاسم پور، ۱۳۸۵). در بین قارچ‌های کنترل‌کننده نماتد ریشه‌گرهی قارچ‌های میکوریز می‌توانند به طور مستقیم و یا غیر مستقیم سبب کاهش بیماری و روی جمعیت نماتد ریشه‌گرهی اثر بگذارند (هوکر، ۱۹۹۴ و لیندرمن،۲۰۰۰).

۲-۱۱ همزیستی میکوریزایی

همزیستی میکوریزایی یکی از شناخته شده‌ترین و در عین حال گسترده‌ترین و مهم‌ترین روابط همزیستی موجود در کره زمین است (آلن، ۱۹۹۱). واژه میکوریز از دو کلمه Mykes به معنای قارچ و Rhiza به معنای ریشه گرفته شده است و برای اولین بار توسط دانشمند آلمانی به نام فرانک در سال ۱۸۸۵ میلادی معرفی گردید (فرانک، ۱۸۸۵). این ارتباط نوعی همزیستی متقابل است که بین برخی از قارچ‌های Basidiomycetes ,Ascomycetes Zygomycetes و Glomeromycetes با گیاهان ایجاد می‌شود و هر دو شریک از این همزیستی بهره می‌برند (موکرجی، ۱۹۹۶). قارچ‌های میکوریز تقریباً با ۷۰٪ خانواده‌های گیاهی شامل بسیاری از نهاندانگان از جمله گیاهان مهم زراعی، برخی بازدانگان، برخی سرخس‌ها و خزه‌ها و حتی چند جلبک ارتباط همزیستی برقرار می‌کنند. *Glomus*، *Acaulospora*، *Entrophospora*، *Gigaspora*، *Sclerocystis* و *Scutellospora* از جنس‌های مهم این راسته به شمار می‌روند (صارمی و پیغامی، ۱۳۸۰).

۲-۱۱-۱ انواع روابط همزیستی میکوریزایی

فرانک متعاقب شناسایی رابطه همزیستی میکوریزایی، آن‌ها را به دو گروه میکوریز خارجی (Ectomycorrhiza) و میکوریز داخلی (Endomycorrhiza) تقسیم‌بندی نمود. با شناسایی هر چه بیشتر این نوع همزیستی، روابط همزیستی میکوریزایی به هفت نوع اکتومیکوریز، اکتندومیکوریز، آربوتوئید میکوریز، اریکوئید میکوریز، مونوتروپوئید میکوریز، ارکید میکوریز و آربوسکولار میکوریز تقسیم‌بندی گردید (مستأجران و ضوئی، ۱۳۷۸).

۲-۱۲ آربوسکولار میکوریز (Arbuscular mycorrhiza)