کنترل بیولوژیک آفات و بیماری‌های گیاهی
دورهٔ ۸، شمارهٔ ۲،پاییز و زمستان ۱۳۹۸ (۱۲-۱)
DOI: 10.22059/jbioc.2019.271064.248

ردیابی قارچ‌های همراه با نماتد سیستی غلات (*Heterodera filipjevi*) از برخی مزارع گندم خوزستان و تأثیر گونه‌های فوزاریوم جدا شده روی نماتد در شرایط آزمایشگاه

هاجر صالحی کهریزسنگی[۱]، علیرضا احمدی*[۲]، ذبیح‌اله اعظمی ساردویی[۱]، سید مهدی شتاب بوشهری[۲] و فرناز فکرت[۱]

۱.دانش آموخته کارشناسی ارشد، استادیار و مربی بیماری شناسی گیاهی، گروه گیاهپزشکی، دانشکده کشاورزی دانشگاه جیرفت، ایران.

۲.استادیار و مربی پژوهشی، بخش تحقیقات گیاهپزشکی، مرکز تحقیقات و آموزش کشاورزی و منابع طبیعی استان خوزستان، سازمان تحقیقات، آموزش و ترویج کشاورزی ایران

(تاریخ دریافت: ۱۳۹۷/۱۰/۰۱- تاریخ پذیرش: ۱۳۹۸/۰۲/۱۶)

چکیده

نماتدهای سیستی غلات یکی از مهمترین بیماریهای خاکزی غلات در جهان می‌باشند که در ۳۸ درصد مزارع گندم و جو استان خوزستان با جمعیت‌های خسارتزا ردیابی شده‌اند. به منظور مطالعه قارچ‌های همراه با گونه ***Heterodera filipjevi*** جهت کنترل بیولوژیکی آنها، ۳۹ نمونه خاک و ریشه از مزارع گندم استان خوزستان طی سال های ۹۳-۱۳۹۲جمع آوری گردید. سیست‌های موجود در نمونه‌های خاک جداسازی و پس از ضدعفونی سطحی بر روی محیط‌های **WA, PDA** و**CMA** کشت داده شد. نتایج نشان داد در میان ٦٤ جدایه قارچی به دست آمده از سیست و تخم نماتد، بیشترین فراوانی به جنس ***Fusarium*** و شش گونه با میزان ۵۱/۵٦ درصد و کمترین به گونه‌های ***Spadicoides atra*** ،***Macrophomina phaseolina*** و ***Lecanicillium lecanii*** با میزان هر کدام ۳/۱۲ درصد تعلق داشت. فراوانی جنس‌های قارچی دیگر شامل ***Alternaria*** ،***Paecilomyces*** ،***Penicillium*** ،***Chaetomium*** و ***Ulocladium*** به ترتیب ۱۵/٦۲، ۷/۸۱، ٦/۲۵، ٤/٦۸ و ٤/٦۸ درصد بود. گونه ***S. atra*** برای نخستین بار در جهان و گونه‌های دیگر نیز برای اولین بار در ایران ازگونه ***H. filipjevi*** گزارش می‌گردند. تاثیر ۱۰ جدایه فوزاریوم شامل ***F. dimerum*** ،***F. chlamydosporum*** ،***F. equiseti*** ،***F. nygamai*** ،**(3 isolates) *F.solani*** ،***F. beomiforme*** **(2 isolates) *F.oxysporum*** روی سیست‌های نماتد در محیط آب آگار آنتی بیوتیکی نشان داد که هر ۱۰ جدایه قادر به پارازیته‌کردن تخم به میزان ۹۰-۱۲ و لاروهای موجود در تخم به میزان ٥٤-۳ درصد هستند.

واژه‌های کلیدی: استان خوزستان، قارچ، کنترل بیولوژیک، ***Heterodera filipjevi***

Detection of fungi associated with cereal cyst nematode, *Heterodera filipjevi*, on some wheat fields of Khuzestan and effect of isolated *Fusarium* species on the nematode under in vitro condition

Hajar Salehi Kahrizsangi [1], Ali Reza Ahmadi [*2], Zabihollah Azami Sardooei [1],Seyed Mehdi Shetab Booshehri [2] and Farnaz Fekrat [1]

1. Former Ms.c. Student, Assistant Professor and Instructor, Department of Plant Protection, Faculty of Agriculture, University of Jiroft, Iran.
2. Assistant Professor and Instructor, Department of Plant Protection, Agricultural and Natural Resources Research and Education Center of Khuzestan Province, Agricultural Research, Education and Extension Organization (AREEO), Ahvaz, Iran.

(Received: December 22, 2018 - Accepted: May 6, 2019)

ABSTRACT

Cereal cyst nematodes are one of the most important cereal diseases in the world, which are detected in 38% of Khuzestan wheat and barley fields with harmful populations. In order to study and identify of fungi associated with cereal cyst nematode, *Heterodera filipjevi*, in Khuzestan province 39 of root and soil samples were taken from wheat fields infested with it during 2013-14. The extracted cysts were sterilized and cultured on PDA, CMA and WA media supplemented with antibiotics. The isolated fungi were purified and identified based on macroscopic and microscopic studies. The results showed that among of the 64 isolates were purified from cysts and eggs nematode, the most frequency common isolated fungi were *Fusarium* spp. (6 species) with 51.56 percent and the lowest were *Spadicoides atra*, *Macrophomina phaseolina* and *Lecanicillium lecanii* each of 3.12 percent. The frequency of other fungal genera including Alternaria, Paecillomyces, Penicillium, Chaetomium and Ulocladium were 15.62, 7.81, 6.25, 4.68 and 4.68 percent respectively. *S. atra* is reported for the first time in the world and other fungal species listed were reported on *H. filipjevi* for the first time from Iran. The effect of 10 *Fusarium* isolates including *F. dimerum*, *F. chlamydosporum*, *F. equiseti*, *F. nygamai*, *F.solani* (3 isolates), *F. beomiforme* and *F.oxysporum* (2 isolates) on the cyst nematode in antibiotic WA indicated all of the *Fusarium* isolates parasite eggs and larvae inside eggs by 12-90 and 3-54 percent respectively.

Key words: Biological control, Fungus, *Heterodera filipjevi*, Khuzestan.

* Corresponding author E-mail: alirahmadi2000@gmail.com

تازه های تحقیق

این مطالعه نخستین تحقیق در ارتباط با قارچ‌های مرتبط با نماتد سیستی غلات گونه *Heterodera filipjevi* در ایران می‌باشد که با همکاری دانشگاه جیرفت و مرکز تحقیقات و آموزش کشاورزی و منابع طبیعی استان خوزستان صورت گرفت. در این پژوهش نخستین بار ۶۴ جدایه قارچی از نماتد مذکور جدا گردید و گونه های فوزاریوم با موفقیت تخم و لاروهای نماتد را پارازیته کردند.

مقدمه

غلات مهمترین منبع غذایی در جهان هستند و در بین آنها گندم، ذرت و برنج با اختصاص ۵۸ درصد سطح کاشت سالیانه ۵۰ درصد کالری غذایی انسان را تامین می‌کنند و با توجه به افزایش جمعیت جهان نیاز غذایی آنها به غلات نیز افزایش خواهد یافت (Fischer *et al*. 2009). در ایران گندم به عنوان مهمترین محصول غذایی مطرح بوده و سطح زیر کشت آن حدود ۵/۷ میلیون هکتار در سال زراعی ۹۵-۱۳۹۴ بوده است. استان خوزستان با تولید ۱/۸۶ میلیون تن، ۹ درصد از تولید گندم کشور را به خود اختصاص داده و از این نظر جایگاه اول تولید را در کشور دارد (Anonymous 2017). نماتدهای سیستی غلات با گونه‌های *Heterodera avenae* و *H. filipjevi* از مهمترین نماتدهای خسارت‌زای گندم در جهان می‌باشند که در ۳۸ درصد از مزارع گندم و جو استان خوزستان با متوسط جمعیت ۲۸۰ تخم و لارو در یکصد گرم خاک مشاهده شده‌اند (Ahmadi and Tanha Maafi 2009, 2014). میزان خسارت نماتد سیستی غلات در شرایط مزرعه با گونه *H. avenae* در جمعیت اولیه ۱۰ تخم و لارو در گرم خاک در شهرستان بهبهان ۲۱-۱۱درصد (Ahmadi *et al*. 2012). و گونه *H. filipjevi* با جمعیت اولیه ۹ تخم و لارو در گرم خاک در شهرستان رامشیر ۷۳-۳۱ درصد تعیین گردیده است (Ahmadi *et al*. 2014). روش‌های مدیریتی مختلفی برای کنترل این نماتدها مانند استفاده از تناوب زراعی، کاربرد ارقام مقاوم و متحمل، آیش و شخم تابستانه،کاشت زود و تقویت زمین، مبارزه شیمیایی و بیولوژیکی پیشنهاد شده که هر کدام از روشهای فوق با محدودیت‌هایی مواجه است (Nicol and Rivoal 2008). کنترل بیولوژیکی به عنوان یکی از راهکارهای مدیریتی همراه با دیگر روش‌ها برای کنترل نماتدهای انگل گیاهی مورد توجه قرار گرفته است (Jatala 1986; Whitehead 1998). بر خلاف تحقیقات صورت گرفته در خصوص مدیریت نماتد سیستی غلات ولی در مورد استفاده از آنتاگونیست‌های آنها تاکنون پژوهشی در کشور صورت نگرفته است.

از میان آنتاگونیست‌های یمارگرها، شکارگرها و رقابت کنندها که نماتدهای انگل گیاهی را در خاک مورد حمله قرار می‌دهند حدود ۷۶ درصد از آنها به قارچ‌های آنتاگونیست تعلق دارند (Brown and Kerry1987). قارچ‌های کنترل کننده نماتدهای‌انگل گیاهی در شاخه‌های Zygomycota، Oomycota، Basidiomycota، Deutromycota و Chytridiomycota قرار دارند (Barron 1977). تاکنون گونه‌های *Nematophthora gynophila* و یک گونه از جنس *Lagenidia* را از ماده نماتدهای سیستی غلات گزارش شده است (Kerry 1980). همچنین گونه *Pochonia chlamydosporia* به عنوان یکی از قارچ‌های آنتاگونیست موفق نماتد سیستی غلات شناخته شده است (Kerry *et al*. 1982). گونه‌های *Microdochium bolleyi*، *Cylindrocarpon* sp و *Paecilomyces lilacinus* از تخم‌های داخل سیست‌های جدا شده از خاک به دست آمده‌اند (Dackman and Nordbring-Hertz 1985). باروتی و همکاران قارچ‌های *Dactylaria* sp و *Catenaria anguillulae* را برای اولین بار از روی نماتدهای مختلف از ایران گزارش کردند (Barooti *et al*. 1985). حجت جلالی و کاسمن قارچ‌های مختلفی را از سیست‌های نماتد چغندرقند از مزارع چغندرقند استانهای آذربایجان غربی، فارس، کرمانشاه، کرمان و خراسان جدا نمودند که تعدادی از آنها پارازیت تخم نماتد سیستی چغندرقند بودند (Hojjat Jalali and Coosemans 1995). احمدی و همکاران قارچ انگل اجباری *Catenaria auxiliaris* را از سیست‌های نماتد چغندرقند با میزان آلودگی ۱۷ درصد گزارش نمودند (Ahmadi *et al*. 1995). همچنین آنها قارچ‌های *Paecilomyces* spp. و *Fusarium solani* را از تخم‌های *Heterodera schachtii* از مزارع چغندرقند استان

اصفهان جدا کرده که در بررسی های آزمایشگاهی و روی محیط کشت آب آگار گونه‌های *Paecilomyces* spp. به میزان ۷۶-۶۱ درصد و *F. solani* به میزان ۳۱-۱۲ درصد تخم‌های نماتد را پارازیته کردند (Ahmadi *et al.* 1998). فاطمی گونه *Paecilomyces fumosoroseus* را از سیست‌های *H. schachtii* جداسازی و گزارش کرد (Fatemy 1998). فاطمی و همکاران ۴۳۸ جدایه قارچ را از تخم و لارو نماتد سیستی چغندرقند در استان‌های مختلف ایران جدا ساختند که در بررسی‌های مزرعه‌ای تا ۳۰ درصد تخم‌ها دارای آلودگی به قارچها بودند (Fatemy *et al.* 1998). در تحقیق دیگری، ۱۶ گونه از ۹ جنس مختلف قارچ از نماتد سیستی چغندرقند گزارش گردید و بیماریزایی ۱۰ جدایه از آنها روی تخم و لاروهای نماتد در شرایط آزمایشگاه بررسی شد که چهار جدایه از جنس فوزاریوم قادر به پارازیته‌کردن تخم و لارو نماتد به میزان ۶۶-۴۷ درصد بودند (Saeidi Naini *et al.* 2002) . با بررسی ۳۰۰ جدایه قارچ همراه با نماتد سیستی چغندرقند در استان آذربایجان‌غربی، گونه‌های *Plectosporium tabacinum*، *Myrothecium verrucaria*، *Lecanicillium aphanocladii* برای اولین بار در ایران گزارش شد و گونه‌های *Acremonium*, *M. verrucaria*, *Fusarium sulphureum L. aphanocladii kiliense*, *P. tabacinum* و *Acremonium sclerotigenu* به عنوان گونه‌های جدید مرتبط با نماتد سیستی چغندرقند معرفی گردیدند (Khezrinejhad *et al.* 2006, 2009). در تحقیق دیگری اثر ۱۰جدایه ازگونه‌های *Trichoderma harzianum* و *T. virens* در آزمایشگاه و گلخانه روی تخم و سیست نماتد سیستی چغندرقند مورد بررسی قرار گرفت و جدایه‌های مذکور در آزمایشگاه به طورمتوسط ۶۰ درصد تخم‌های نماتد را در مقایسه با شاهد پارازیته کردند (Mehdikhani Moghaddam *et al.* 2006, 2009). در ترکیه از نماتد سیستی غلات، *H. filipjevi*، ۱۰۰ گونه قارچی و ۶۳ جدایه باکتری جداسازی شد که در بین قارچ‌های جداسازی شده *Pochonia chlamydosporia*, *Acremonium* spp., *Fusarium* spp. و *Paecilomyces* spp. بیشترین فراوانی را داشتند در ادامه پارازیتیسم جدایه‌های قارچی روی سیست بررسی شد که جدایه‌های *P. chlamydosporia*, *Paecilomyces A. persicinum*, *Gliomastix fumosoroseus murorum*, و *F. acuminatum* پتانسیل پارازیت‌کنندگی نماتد به میزان بیش از ۵۰ درصد را داشتند (Ashrafi *et al.* 2015). با توجه به اهمیت نماتد سیستی غلات در استان خوزستان و ایران و همچنین توجه به عوامل آنتاگونیست نماتدها برای اولین بار بررسی‌هایی در زمینه شناسایی قارچهای همراه با نماتد سیستی غلات استان خوزستان و تاثیر تعدادی از گونه‌های جداسازی شده روی نماتد *H. filipjevi* در شرایط آزمایشگاهی صورت گرفت.

مواد و روش‌ها

نمونه‌برداری و استخراج نماتد

نمونه‌برداری از اواخر دوره داشت تا برداشت گندم از ریشه و خاک اطراف ریشه که بیشترین جمعیت سیست در خاک را دارد از عمق ۱۰ تا ۳۰ سانتی متری و به میزان ۲ کیلوگرم خاک صورت گرفت. در زمان نمونه‌برداری اطلاعات مربوط به محل نمونه‌برداری، نام زارع، تاریخ کاشت، طول جغرافیایی، عرض جغرافیایی و ارتفاع از سطح دریا با استفاده از دستگاه GPS ثبت گردید. نمونه‌های ریشه به آزمایشگاه منتقل گردیده و تا قبل از استخراج نماتد، در یخچال با دمای ۵ درجه سانتیگراد نگهداری شدند. در آزمایشگاه سیست‌های قهوه‌ای رنگ نماتد از ۲۵۰ سانتی‌متر مکعب خاک با استفاده از روش فنویک (Fenwick, 1940) و کاغذ خشک کن و همچنین از سطح ریشه‌های آلوده با استفاده از سوزن استخراج شدند.

جداسازی قارچ از سیست‌ها و شناسایی آنها

جهت جداسازی قارچ از نماتد ابتدا سیستهای استخراج شده به منظور حذف عوامل قارچی و باکتریایی از سطح آنها با هیپوکلریت سدیم تجاری ۱۰ درصد و آنتی‌بیوتیک‌های سولفات استرپتومایسین به میزان ۵۰ میلی‌گرم در لیتر، کلرامفنیکل ۱۰ میلی‌گرم در لیتر و پنی‌سیلین جی۵۰ میلی‌گرم در لیتر در زیر هود سترون ضدعفونی سطحی شدند و سپس بر روی محیط

کشت‌های WA، CMA و PDA حاوی جنتامایسین به میزان ۲۰ میلی‌گرم در لیتر کشت داده شدند. ۵ عدد سیست در یک پتری ۹ سانتی متری قرار داده شد (Dackman and Nordbring-Hertz 1985). از هر نمونه ۱۰۰ سیست قهوه‌ای رنگ کشت داده شد. در روش دوم پوسته سیست‌ها به وسیله سیست خردکن تخریب و تخم و لارو درون آن آزاد گردید. از این سوسپانسیون به میزان یک سی‌سی به هر پتری اضافه گردید. پس از نگهداری پتری‌ها در انکوباتور با دمای ۲۵-۲۰ درجه سانتیگراد به مدت ۱۰-۷ روز قارچ‌های رشد یافته از سیست و تخم لاروها به محیط PDA جهت رشد بهتر انتقال یافتند و از آنها کشت خالص تهیه گردید. برای شناسایی جدایه‌های قارچی بدست آمده از سیست‌های نماتد، مشخصات ریخت‌شناسی ماکروسکوپی و میکروسکوپی شامل میزان رشد و رنگ پرگنه، وضعیت ریسه‌های هوایی روی محیط کشت مورد بررسی قرار گرفت. درصد فراوانی جدایه‌های قارچی در هر شهر بر اساس تعداد جنس مورد نظر از هر شهر تقسیم بر تعداد کل جدایه قارچی در همان شهر، ضرب در عدد صد به دست آمد.

تاثیر جدایه‌های فوزاریوم روی نماتد

قارچ‌های مختلفی از سیست‌های قهوه‌ای رنگ نماتد سیستی غلات جدا شد که با توجه به فراوانی و غالب بودن جنس فوزاریوم جدایه‌های این قارچ مورد بررسی قرار گرفت. ۱۰ جدایه شامل سه جدایه از *Fusarium solani*، دو جدایه از *F. oxysporum* و یک جدایه از هر یک از گونه‌های *F. beomiforme*، *F. chlamydoporum*، *F. dimerum*، *F. equiseti* و *F. nygamai* مورد استفاده قرارگرفتند. ابتدا از حاشیه کلنی‌های چهار روزه جدایه‌های فوزاریوم رشد یافته روی محیط کشت PDA، قطعاتی به قطر پنج میلی‌متر برداشته و در مرکز پتری‌های حاوی محیط کشت WA آنتی‌بیوتیکی قرار داده شد. به طور همزمان چهار عدد سیست قهوه‌ای رنگ سالم نماتد در رئوس یک مربع به ضلع ۲ سانتی‌متر در اطراف قارچ اضافه شد و در تیمار شاهد تنها از چهار عدد سیست بدون قارچ استفاده گردید. پتری‌ها به مدت یک ماه در انکوباتور با دمای ۲۵ درجه سانتی‌گراد و در شرایط تناوب نوری نگهداری شدند. سپس سوسپانسیون تخم و لارو حاصل را پیپت کرده و یک میلی لیتر از آن بر روی لام شمارش طی سه بار شمارش گردید. ارزیابی آزمایش بر اساس شمارش تعداد تخم‌های سالم و پارازیته و لاروهای سالم و غیرطبیعی توسط میکروسکوپ با بزرگنمایی ۱۰۰ صورت گرفت. برای هر تیمار چهار تکرار در نظر گرفته شد و برای هر تکرار یکصد عدد تخم و لارو به صورت تصادفی مورد شمارش قرار گرفت. آزمایش در قالب طرح کامل تصادفی با ۱۱ تیمار و ۳ تکرار انجام شد. تجزیه واریانس داده ها با نرم افزارMSTATC و مقایسه میانگین تیمارها با روش دانکن صورت گرفت.

نتایج و بحث

نمونه برداری و شناسایی جدایه های قارچ

۳۹ نمونه خاک و ریشه از مزارع گندم شهرستان‌های ایذه، بستان، بهبهان، خرمشهر، دزفول، رامشیر، رامهرمز، سوسنگرد، شوشتر، شوش،گتوند و هفتگل طی سال‌های ۹۳-۱۳۹۲جمع‌آوری گردید. بر اساس نتایج حاصله ۶۴ جدایه قارچی از نماتد سیستی غلات، *H. filipjevi*، از مزارع گندم شهرستان‌های ایذه، بهبهان، خرمشهر، رامشیر، رامهرمز، شوش و شوشتر به دست آمد که درصد فراوانی قارچ‌های جدا شده به تفکیک هر شهرستان در جدول شماره یک درج گردیده است. بیشترین جدایه‌های قارچی با ۱۹ جدایه از شهرستان رامشیر و کمترین جدایه‌ها با سه جدایه از شهرستان خرمشهر به دست آمد. از شهرستان‌های بستان، دزفول، سوسنگرد و گتوند قارچی از سیست‌ها جدا نگردید. به طور کلی بیشترین فراوانی جدایه‌های قارچی به میزان ۵۱/۵۶ درصد مربوط به جنس *Fusarium* و کمترین آن به میزان ۳/۱۲ درصد مربوط به جنس‌های *Spadicoides*، *Macrophomina* و *Lecanicillium* بود. فراوانی جنس‌های قارچی دیگر به میزان ۱۵/۶۲، ۷/۸۱، ۶/۲۵، ۴/۶۸ و ۴/۶۸ درصد به ترتیب به جنس‌های *Alternaria*، *Paecilimyces*، *Penicillium*، *Chaetomium* و *Ulocladium* تعلق داشت (شکل ۱). جداسازی قارچ‌های *Fusarium*، *Alternaria*، *Chaetomium*، *Ulocladium*، *Spadicoides*، *Lecanicillium*، *Penicillium*،

Paecilomyces و *Macrophomina* از نماتد سیستی غلات، *H.filipjevi* ، برای اولین بار در ایران و جهان گزارش شد. به عنوان نمونه قارچ‌های آنتاگونیست *Fusarium*، *Alternaria*، *Chaetomium*، *Ulocladium*، *Lecanicillium* و *Paecilomyces* جداسازی شده در این تحقیق با قارچ‌های گزارش شده از نماتد سیستی چغندرقند در استان‌های اصفهان و آذربایجان‌غربی یکی بودند (Ahmadi *et al*. 1998, Khezrinejhad *et al*. 2006, 2009). در بین قارچ‌های جداسازی شده از *H. filipjevi* در ترکیه نیز ۱۰۰ گونه قارچی و ۶۳ جدایه باکتری جداسازی شد که فراوانی قارچ‌های *Pochonia chlamydosporia*, *Fusarium* , *Acremonium* spp. و *Paecilomyces* spp. در بین آنها بیشتر بود و در بین قارچ‌ها نیز بیشترین فراوانی به جنس *Fusarium* با میزان ۸۸ درصد اختصاص داشت (Ashrafi *et al*., 2015) که با تحقیق اخیر نیز در خصوص جنس *Fusarium* و با درصد فراوانی ۵۷ درصد در میان جدایه‌های قارچی مطابقت داشت.

جدول ۱: فراوانی جدایه‌های قارچی بدست آمده از نماتد سیستی غلات، *Heterodera filipjevi*، در بعضی از مناطق استان خوزستان طی سال‌های ۹۳-۱۳۹۲

Table 1. Frequency of fungal isolates obtained from cereal cyst nematode, *Heterodera filipjevi*, in some regions of Khuzestan province during 2013-14

Location	Number of samples	Total number of fungal isolates	Fungal genus	Number of fungal isolates	%Frequency
Behbahan	4	9	*Fusarium*	6	66.66
			Paecilimyces	2	22.22
			Penicillium	1	11.11
Bostan	3	0	0	0	0
Dezful	3	0	0	0	0
Gotvand	3	0	0	0	0
Izeh	3	6	*Fusarium*	6	100
Khorramshahr	4	4	*Fusarium*	4	100
Ramshir	4	19	*Ulocladium*	3	15.78
			Alternaria	4	21.05
			Paecilimyces	5	26.31
			Penicillium	2	10.52
			Fusarium	3	15.78
			Spadicoides	2	10.52
Ramhormoz	4	12	*Fusarium*	7	58.33
			Paecilimyces	3	25
			Penicillium	1	8.33
			Macrophomina	1	8.33
Shush	4	9	*Fusarium*	7	77.77
			Lecanicillium	2	22.22
Shushtar	4	5	*Alternaria*	1	20
			Chaetomium	3	60
			Macrophomina	1	20
Susangerd	3	0	0	0	0
Total	39	64		64	

در این بررسی ۱۶ گونه قارچ متعلق به نه جنس شناسایی گردید. گونه‌های شناسایی شده به شرح زیر است:

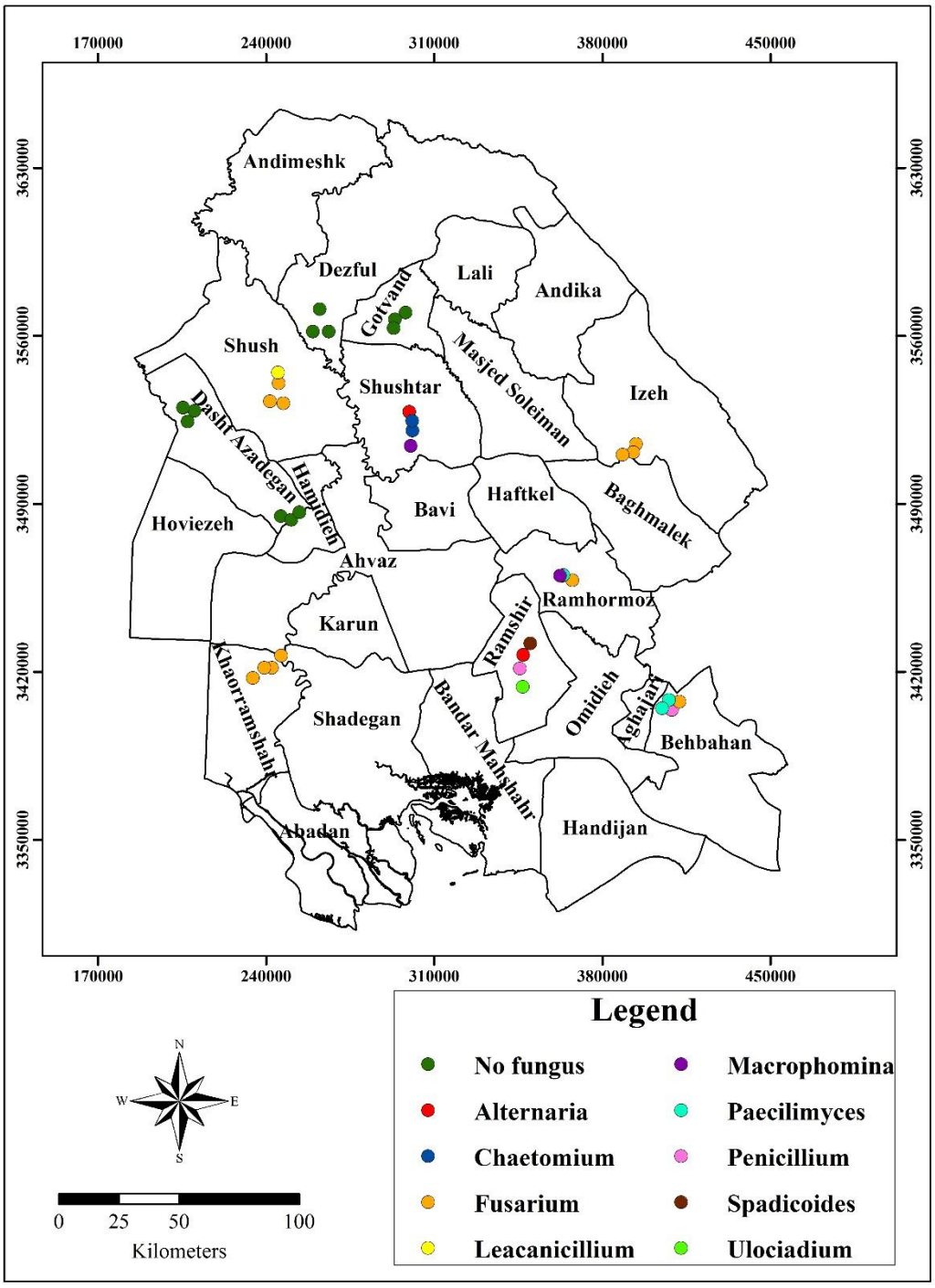
Alternaria alternata (Fr.) Keissl

یک جدایه از شوشتر و چهار جدایه از رامشیر جداسازی شدند. سه جدایه از این گونه قبلاً از سیست‌های نماتد سیستی چغندرقند از استان آذربایجان‌غربی گزارش گردیده است Khezrinejhad *et al*. 2009). این گونه برای اولین بار از نماتد سیستی غلات، *H. filipjevi*، از ایران گزارش می‌شود.

enicillium expansum Link*P*

دو جدایه از رامشیر، یک جدایه از بهبهان و یک جدایه از رامهرمز جداسازی شدند. این گونه تاکنون به عنوان قارچ همراه از سیست گزارش نشده بود و برای اولین بار از نماتد سیستی غلات، *H. filipjevi*، از ایران گزارش می‌شود.

haetomium globosum Kunze ex Fr*C*



شکل۱. نقشه پراکنش GIS جدایه‌های قارچی همراه با نماتد سیستی غلات، *Heterodera filipjevi*، در بعضی از مناطق استان خوزستان

Figure 2. GIS distribution of fungi isolates associated with cereal cyst nematode, *Heterodera filipjevi*, in some regions of Khuzestan province

سه جدایه از شوشتر جداسازی شد. قبلاً یک گونه به نام *Chaetomium piralotrichom* به عنوان قارچ همراه از نماتد سیستی چغندر قند (*Heterodera schachtii*) در آذربایجان‌غربی جداسازی شده است Khezrinejhad (*et al*. 2009). این گونه برای اولین بار از نماتد سیستی غلات غلات، *H. filipjevi*، از ایران گزارش می‌شود.

Ulocladium atrum Preuss
Ulocladium chartarum (Preuss) E.G. Simmons

گونه *U. atrum* اولین بار در ایران از گیاه گندم گزارش شده است (Ershad 2009). هم‌چنین این گونه به عنوان قارچ همراه نماتد سیستی چغندر قند از آذربایجان‌غربی گزارش شده است Khezrinejhad *et al*. (2009). سه جدایه از این گونه از رامشیر جداسازی شد. یک جدایه مربوط به گونه *U. chartarum* و دو جدایه مربوط به گونه *U. atrum* بودند. این جدایه‌ها برای اولین بار از ایران و از نماتد سیستی غلات، *H. filipjevi*، گزارش می‌شوند.

Paecilomyces victoriae (Szilvinyi) A.H.S. Br. & G. Sm

دو جدایه از بهبهان، پنج جدایه از رامشیر و سه جدایه از رامهرمز جداسازی شد. این گونه برای اولین بار از ایران و نماتد سیستی غلات، *H. filipjevi*، گزارش می‌شود. گونه *Paecilomyces farinosus* بر روی محیط کشت آگاردار بین ۶۱ تا ۷۷ درصد تخم‌های نماتد سیستی چغندرقند را در محیط آزمایشگاه پارازیته کرد و در شرایط طبیعی نیز پتانسیل پارازیت‌کنندگی خوبی را از خود نشان داد (Ahmadi *et al*. 1998). احتمال می‌رود گونه *P.victoriae* جدا شده از نماتد سیستی غلات نیز پتانسیل پارازیت‌کنندگی بالایی داشته باشد و بتوان از آن به عنوان عامل بیوکنترل استفاده کرد.

Macrophomina phaseoli (Maubl.) S.F. Ashby

یک جدایه نیز از این قارچ از رامهرمز جداسازی شد. این گونه برای اولین بار در ایران از نماتد سیستی غلات، *H. filipjevi*، گزارش می‌شود.

Lecanicillium fungicola (Preuss) Zare & W. Gams

دو جدایه از این گونه از شوش جداسازی شد. این گونه برای اولین بار در ایران از نماتد سیستی غلات، *H. filipjevi*، گزارش می‌شود. گونه *L. fungicola* با گونه گزارش شده روی قارچ دکمه‌ای مطابقت داشت (Mehrparvar 2012).

این گونه که از نماتد سیستی غلات جداسازی شده است و قبلاً در جنس *Verticillium* قرار داشت می‌تواند به عنوان عاملی برای مطالعه پارازیتیسم این نماتدها به کار رود به طوریکه جدایه‌های مختلف *Lecanicillium* برای کنترل بیولوژیک نماتد سیستی سویا *Heterodera glycines* بکار رفته‌اند (Shinya *et al*., 2008).

Spadicoides atra (Corda) S. Hughes

مشخصات گونه *S. atra* با کلید شناسایی این جنس مطابقت داشته و مورد تایید قرار گرفت (Goh & Hyde, 1996). دو جدایه از این گونه از رامهرمز جداسازی شد. این جدایه‌ها برای اولین بار از ایران و جهان از گونه *H. filipjevi* گزارش می‌شوند.

جنس فوزاریوم

کلیه مشخصات گونه‌ها با کلید شناسایی ارائه شده توسط صارمی (Saremi 2005) و لزلی و سامرل (Leslie and Summerell, 2006) مطابقت داده شد.

Fusarium beomiforme P.E. Nelson, Toussoun and L.W. Burgess

دو جدایه از این گونه از شهرستان ایذه جداسازی شد. این گونه برای اولین بار در ایران از نماتد سیستی غلات، *H. filipjevi*، گزارش می‌شود.

Fusarium chlamydosporum Wollenw. and Reinking

هفت جدایه از این گونه از شهرستان شوش جداسازی شد. این گونه برای اولین بار در ایران از نماتد سیستی غلات، *H. filipjevi*، گزارش می‌شود.

Fusarium solani (Mart.) Sacc

هفت جدایه از این قارچ از سیست‌های شهرستان‌های رامشیر، ایذه و خرمشهر جداسازی شد. این گونه در ایران قبلاً از تخم‌های نماتد سیستی چغندرقند جداسازی شده است (Ahmadi *et al*. 1998, Fatemy *et al*. 1999, Khezrinejhad *et al*. 2006). این گونه برای اولین بار در ایران از نماتد سیستی غلات، *H. filipjevi*، گزارش می‌شود.

Fusarium dimerum Penz.

شش جدایه از این گونه از شهرستان بهبهان جداسازی شد. این گونه برای اولین بار در ایران از نماتد سیستی غلات، *H. filipjevi*، گزارش می‌شود.

Fusarium equiseti (Corda) Sacc.

یک جدایه از این گونه از سیست‌های نماتد از ایذه جداسازی شد. این گونه قبلاً در ایران از تخم‌های *H. schachtii* جداسازی گردیده است (Fatemy *et al*.

(1999, Khezrinejhad *et al*. 2006). این گونه برای اولین بار در ایران از نماتد سیستی غلات، *H. filipjevi*، گزارش می‌شود.

Fusarium nygamai L.W. Burgess & Trimboli

یک جدایه از این گونه از سیست‌های نماتد از خرمشهر جداسازی شد که قبلاً از تخم‌های *H. schachtii* نیز جدا سازی شده بود Khezrinejhad *et al*. (2006) و برای اولین بار در ایران از نماتد سیستی غلات، *H. filipjevi*، گزارش می‌شود.

Fusarium oxysporum Schltdl.

هشت جدایه از این گونه از سیست‌های نماتد از شهرستان‌های رامشیر و رامهرمز جدا شد. این گونه قبلاً از تخم‌های *H. schachtii* جداسازی شده (Fatemy *et al*. 1999, Khezrinejhad *et al*. 2006) و در ایران برای اولین بار از نماتد سیستی غلات، *H. filipjevi*، گزارش می‌شود.

تاثیر جدایه‌های فوزاریوم روی تخم و لارو

نتایج این بررسی نشان داد که تیمارهای آزمایشی شامل *F. chlamydosporum* ,*F. equiseti* , *F.* ,*F. dimerum* *F. beomiforme* , *nygamai* ,*F.solani* (3 isolates) *F.oxysporum* (2 isolates) قادر به پارازیته‌کردن تخم نماتد سیستی غلات، *H. filipjevi*، هستند (شکل‌های ۲ و ۳). تجزیه واریانس داده‌های آزمایش، تفاوت معنی‌دار میان تیمارها را در سطح احتمال یک درصد نشان داد (جدول ۲). مقایسه میانگین تخم‌های پارازیته شده توسط جدایه‌های قارچی نشان داد که بالاترین قدرت پارازیتیسم با میزان ۸۹/۳ درصد مربوط به جدایه سه *F. solani* جمع‌آوری شده از رامشیر بود که تفاوت معنی‌داری با سایر گونه‌های قارچی داشت و پایین‌ترین قدرت پارازیتیسم مربوط به گونه *F. nygamai* با ۱۲/۵درصد بود (جدول ۳). تفاوت قدرت پارازیتیسم بین بهترین تیمار جدایه شماره سه *F. solani* و ضعیف‌ترین تیمار جدایه *F. nygamai* ۷۶/۵ درصد بود. هر چند همه تیمارهای مورد آزمایش توانایی پارازیته‌کردن تخم‌های نماتد را دارا بودند ولی مقدار پارازیت‌کنندگی آنها متفاوت بود. گونه *F. solani* که قبلاً به عنوان آنتاگونیست قارچی تخم نماتد سیستی چغندر قند با درصد پارازیتی ۷۷-۳۰ درصد گزارش گردیده بود در حالی که در تحقیق اخیر جدایه جمع آوری شده این گونه باعث پارازیته شدن ۹۰-۳۰ درصد تخم‌های نماتد شد (Ahmadi *et al*. 1998). در میان قارچ‌های جداسازی شده از نماتد سیستی نخودفرنگی *Heterodera cajani* از هندوستان نیز قارچ‌های *Cephalosporium* spp. ,*F. solani* و .*Fusarium* spp بیشترین فراوانی را داشته‌اند و استفاده از یکی از جدایه‌های توانمند *F. solani* در خاک‌های آلوده به نماتد به عنوان عامل کنترل بیولوژیک به صورت معنی‌داری موجب کنترل نماتد گردیده است (Singh *et al*., 1996). جدایه‌های *F. oxysporum* بدست آمده از شهرستان‌های رامشیر و رامهرمز نیز به میزان ۴۵-۴۳ درصد تخم‌های نماتد را پارازیته کردند (شکل ۴). تمامی تیمارهای مورد بررسی به طور معنی داری قادر به پارازیته کردن لارو نماتد در سطح آماری یک درصد بودند (شکل ۳). نتایج تجزیه واریانس داده‌های حاصل از میزان پارازیتیسم لارو نماتد سیستی غلات توسط جدایه‌های فوزاریوم مورد استفاده در آزمایش، تفاوت معنی‌دار آنها را در سطح آماری ($P\leq ۰/۰۱$) نشان داد. دسته‌بندی میانگین تیمارها بر اساس آزمون چنددامنه دانکن وجود دو گروه را مشخص نمود. در این میان بهترین جدایه از نظر میزان پارازیتیسم جدایه سه رامشیر *F. solani* با میزان پارازیتیسم ۵۳ درصد بود که در گروه مجزا قرار گرفت و بقیه جدایه‌های فوزاریوم با میزان پارازیتیسم ۱۱-۳ درصد در گروه دیگری قرار گرفتند (جدول ۳). همانطوریکه ملاحظه می‌گردد میزان پارازیتیسم تخم از تخم حاوی لارو بیشتر است. به نظر می‌رسد ایجاد پوسته کوتیکولی در لاروهای موجود در سلول تخم نماتد به عنوان یک سد به مقابله به نفوذ قارچها کمک می‌کند. این مورد در تحقیقی مشابه و بر روی پارازیتیسم نماتد سیستی سویا توسط قارچها نیز مشاهده شده که تخم‌های نماتد در مراحل اولیه جنینی و در مقایسه با تخم‌های دارای لارو نسبت به نفوذ قارچها حساس‌تر هستند (Chen and Chen, 2003). تفاوت در میزان پارازیتیسم جدایه‌های مختلف فوزاریوم روی تخم و لارو نماتد می‌تواند به نوع آنزیم‌های خارج سلولی (لیگنولیتیک) متفاوت گونه‌های مختلف

مرتبط باشد به‌طوریکه در برخی جدایه‌های *F.solani* آنزیم آریل‌الکل‌اکسیداز و در برخی دیگر آنزیم‌های لاکاز و لیگنین پراکسیداز مشاهده شده است (Saparrat *et al.*,2000). با توجه به توانایی بالای جدایه سوم گونه *F.solani* در پارازیته کردن تخم و لارو نماتد به میزان به ترتیب تا ۹۰ و ۵۳ درصد می توان این گونه را به عنوان عامل آنتاگونیست این نماتد پیشنهاد داد اما به تحقیقات تکمیلی در خصوص تاثیر آن روی نماتد در شرایط گلخانه و میکروپلات، غیر بیماریزا بودن آن روی گیاهان زراعی، مکانیسم تاثیر آن روی تخم و لارو نماتد و همچنین کاربردی کردن و تهیه فرمولاسیون‌های قارچی از آنها در قالب مدیریت تلفیقی آفات نیاز است.

شکل ۲ . تخم پارازیت شده گونه *Heterodera filipjevi* توسط *Fusarium solani* (بزرگنمایی ۴۰۰)

(400 X) Figure 2. A parasitized egg of *Heterodera filipjevi* by *Fusarium solani*

شکل ۳. تخم و لارو پارازیته شده گونه *Heterodera filipjevi* توسط *Fusarium. solani* (بزرگنمایی ۴۰۰)

Figure 3. The parasitized egg and juvenile of *Heterodera filipjevi* by *Fusarium solani* (400 X)

جدول ۲- تجزیه واریانس تخم و لاروهای پارازیته گونه *Heterodera filipjevi* توسط گونه‌های فوزاریوم در شرایط آزمایشگاه

Table 2. Analysis of variance for the parasitized eggs and juveniles of *Heterodera filipjevi* by *Fusarium* species in laboratory condition

Source	Degree of freedom	Mean Square	
		Egg	Juvenile
Treatment	9	2031.77	9.7
Replication	27	31.78	0.37
Total	39		
Coefficient of Variation		15.9	20.41

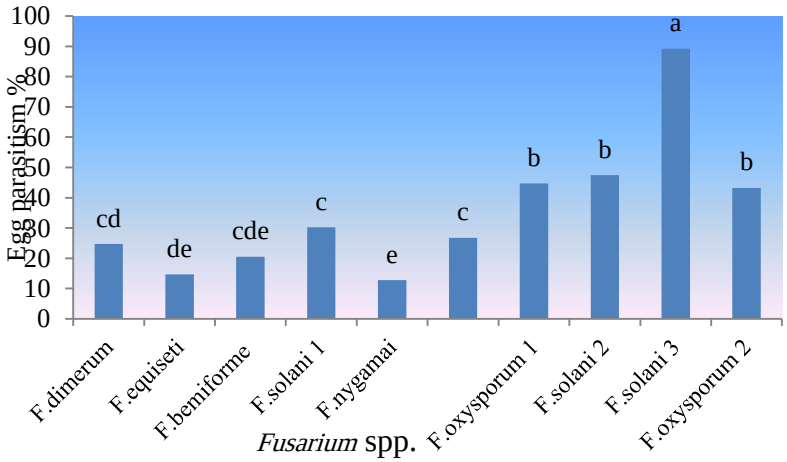
جدول ۳- مقایسه میانگین درصد پارازیتیسم تخم و لارو گونه *Heterodera filipjevi* توسط گونه‌های فوزاریوم جدا شده از نماتد با استفاده از آزمون دانکن در سطح احتمال ۰/۰۱

Table 3. Mean comparison of parasitism percentage of egg and larvae of *Heterodera filipjevi* by *Fusarium* species isolated from the nematode using Duncan test in a≤0.01

Species	Parasitized egg %	Parasitized larvae %
Fusarium solani (Isolate 3)	89.25 a	53.25 a
Fusarium solani (Isolate 2)	47.5 b	4 b
Fusarium oxysporum (Isolate 1)	44.75 b	9.75 b
Fusarium oxysporum (Isolate 2)	43.25 a	3.75 b
Fusarium solani (Isolate 1)	30.25 c	4.25 b
Fusarium chlamydosporum	26.75 c	8 b
Fusarium dimerum	24.75 cd	6.5 b
Fusarium bemiforme	20.5 cde	10.75 b
Fusarium equiseti	14.75 de	10.75 b
Fusarium nygamai	12.75 e	7.75 b

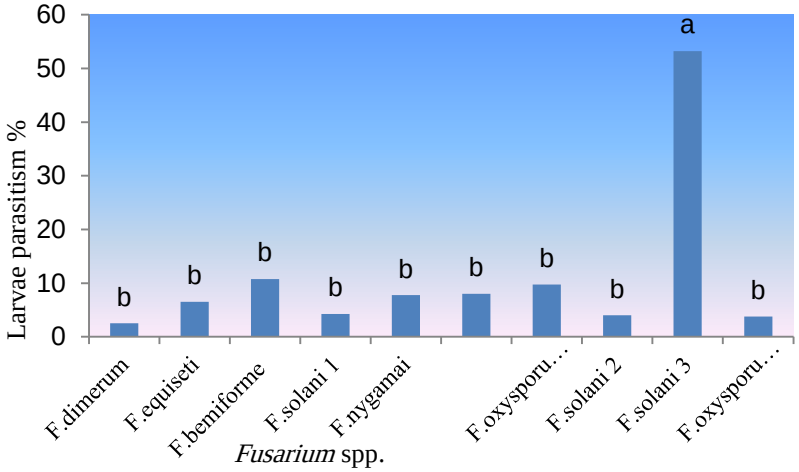
اعداد با حروف مشابه در هر ستون در سطح یک درصد معنی‌دار می باشند.

The numbers with the same letters in each column are not significant at 1 % level.



شکل ۴- مقایسه میانگین تخم‌های پارازیته گونه *Heterodera filipjevi* توسط گونه‌های فوزاریوم در شرایط آزمایشگاه.

Figure 4. Mean comparison of the parasitized eggs of *Hetrodera filipjevi* by *Fusarium* species in laboratory condition.



شکل ۵- مقایسه میانگین لاروهای پارازیته شده گونه *Heterodera filipjevi* توسط گونه‌های فوزاریوم در شرایط آزمایشگاه

Figure 5. Mean comparison of the parasitized Larva of *Heterodera filipjevi* by *Fusarium* species in laboratory conditions

REFERENCES

Ahmadi AR, Hedjaroude GHA, Akhiani A, Kheiri A (1995) Parasitism of *Catenaria auxiliaris* on *Heterodera schachtii* in Iran. Proceedings of the 12th Iranian plant protection congress. 2-7 September, Karaj, Iran. P: 357.

Ahmadi AR, Sharifi Tehrani A, Kheiri A, Hedjaroude CHA (1998) Isolation of *Paecilomyces* spp. and *Fusarium solani* from *Heterodera schachtii* and their efficiency in biocontrol of nematode eggs in vitro. Iranian Journal of Plant Pathology. 34: 56-59 (In Persian with English summary).

Ahmadi AR, Tanha Maafi Z (2009) Occurrence and distribution of two species of cereal cyst nematodes *Heterodera avenae* and *H. filipjevi* in Khuzestan province, Iran. In Riley IT, Nicol JM and Dababat AA(eds) Cereal cyst nematode: Status and research and outlook. CIMMYT, Antalya, Turkey. Pp: 79-81.

Ahmadi AR, Tanha Maafi Z, Dababat AA, Nicol JM (2012) Impact of *Heterodera avenae* type B on four commercial wheat cultivars under field conditions in southwest of Iran. 31th International Symposium of the European Society of Nematologists. 22-27 September, Adana, Turkey: P: 315.

Ahmadi AR, Tanha Maafi Z, Abeyat T (2014) Responses of some wheat, barley and triticale cultivars to cereal cyst nematode, *Heterodera filipjevi*, under field conditions in Khuzestan Province. Journal of Plant Protection. 6: 123-132 (In Persian with English summary).

Ahmadi AR, Tanha Maafi Z (2014) Incidence of cereal cyst nematodes (*Heterodera avenae* type B and *H. filipjevi*) in southwestern Iran. Journal of Crop Protection. 3: 75-88.

Anonymous (2017) Statistical yearbook of agriculture. Vol. I: Agricultural productions year 2015-16. Tehran, Iran, Ministry of Jihad-E-Agriculture, statistical and information technology unit: 136 P.

Ashrafi S, Dababat AA, Maier W (2015) Towards harboring the diversity of microorganism associated with eggs and cysts of cereal cyst nematodes for biological control. In: Dababat AA, Muminjanov H and Smiley RW(eds), Nematodes of small grain cereals current status and research. CIMMYT. Ankara. Turkey. Pp: 285-287.

Barooti Sh, Danesh Pajhoh B, Torabi M (1985) Identification of two fungal parasite and predator from nematodes in Iran. Iranian Journal of Plant Pathology, 21: 49-41(In Persian with English summary).

Barron GL (1977) The nematode destroying fungi, topics in mycobiology, No 1. Canadian Biological Publications, Guelf, Ontario, Canada.

Brown RH, Kerry BR (1987) Principles and practice of nematode control in crops. Academic Press, New York.

Chen SY, Chen FJ (2003) Fungal parasitism of *Heterodera glycines* eggs as influenced by egg age and pre-colonization of cysts by other fungi. Journal of Nematology. 35(3): 271–277.

Dackman C, Nordbring-Hertz B (1985) Fungal parasites of the cereal cyst nematode *Heterodera avenae* in southern Sweden. Journal of Nematology. 17(1): 50–55.

Fatemy, S (1998) The study of antagonistic effects *Paecilomyces* spp. on *Meloidogyne javanica* and *Heterodera schachtii*. Iranian Journal of Plant Pathology. 1: 67-75 (In Persian with English summary).

Fatemy S, Ahmadian-Yazdi A, Parvizy R, Ahmadi AR, Pakniyat M, Barooti Sh, Askari M, Ershad J (1999) Fungal parasites of *Heterodera schachtii* in Iran. Pakistan Journal of Nematology. 17: 61–66.

Fenwick BW (1940) Methods for the recovery and counting of cyst of *Heterodera schachtii* from soil. Journal of Helminthology. 18, 155-172.

Ershad D (2009)**.** Fungi of Iran. Iranian research institute of plant protection. 558 P.

Fischer RA, Byerlee D, Edmeades GO (2009) Can technology deliver on the yield challenge to 2050? FAO expert meeting on how to feed the world in 2050. 65 P.

Goh TK, Hyde KD (1996) *Spadicoides cordanoides* sp. nov., a new dematiaceous hyphomycete from submerged wood in Australia, with a taxonomic review of the genus. Mycologia, 88:1022-1031.

Hojat Jalali AA, Coosemans J (1995) Antagonistic fungi of sugar beet cyst nematode of Iran. Proceedings of the 12th Iranian plant protection congress. 2-7 September, Karaj, Iran. P: 128.

Jatala P (1986) Biological control of plant parasitic nematodes. Annual Review of Phytopathology, 24: 453–489.

Kerry B (1980) Biocontrol: Fungal parasites of female cyst nematodes. Journal of Nematology, 12: 253-259.

Kerry BR, Crump DH, Mullen LA (1982) Natural control of the cereal cyst nematode *Heterodera avenae* by soil fungi at three sites. Crop Protection, 1: 99–109.

Khezrinejhad N, Niknam Gh, Ghosta Y (2006) Fungi associated with sugar beet cyst nematode from fields of W. Azerbaijan (I) Rostaniha (Botanical Journal of Iran). 7: 149-162 (In Persian with English summary).

Khezrinejad N, Ghosta Y, Niknam Gh (2009) Fungi associated with sugar beet cyst nematode from fields

of W. Azerbaijan (I). Journal of Sustainable Agriculture and Production Science. 19:96-106 (In Persian with English summary).

Lesli JF, Summerell AB (2006) The *Fusarium* Laboratory Manual. Blackwell Publishing, Oxford, UK. 388 P

Mehdikhani Moghaddam E, Rouhani H, Flahi Rastgar M (2009) Biological control of sugar beet cyst forming nematode with *Trichoderma* under in vitro and green house condition. The Journal of Science and Technology of Agriculture and Natural Resources, Water and Soil Science. 48: 301-312 (In Persian with English summary).

Mehrparvar M, Mohammadi Goltapeh E, Safaie N (2012) Evaluation of genetic diversity of Iranian *Lecanicillium fungicola* isolates using URP marker. Journal of Crop Protection. 1:229-238 (In Persian with English summary).

Nicol, JM and Rivoal, R (2008) Global knowledge and its application for the integrated control and management of nematodes on wheat. In Ciancio A and Mukerji KG (eds), Integrated management and biocontrol of vegetable and grain crops nematodes. Springer, The Netherlands. Pp: 251-283.

Saeidi Naini F, Fatemy S, Alizadeh A (2002) Pathogenicity of parasitic fungi isolated from sugar beet cyst nematode eggs and larvae *Heterodera schachtii*. Proceedings of 11th Iranian Plant Protection Congress, Kermanshah. P: 143.

Saremi H (2005) *Fusarium*, biology, ecology and taxonomy. Iranian Student Book Agency, Mashhad (In Persian with English summary).

Shinya R, Aiuchi D, Kushida A, Tani M, Kuramochi K, Kushida A, Koike M (2008) Effects of fungal culture filtrates of *Verticillium lecanii* (*Lecanicillium* spp.) hybrid strains on *Heterodera glycines* egg and juveniles. Journal of Invertebrate Pathology.97: 291–297.

Singh M, Sharma SB, Sharma R (1996) Parasitism of *Heterodera cajani* by *Fusarium solani* and other soil fungi. Indian Journal of Nematology. 26: 189-198.

Whitehead AG (1998) Plant nematode control. CAB International, Wallingford, UK: 384 P.