



## شناسایی قارچهای همراه با نماتد سیستی غلات (*Heterodera filipjevi*)

### در استان خوزستان

هاجر صالحی کهریزسنگی<sup>۱</sup>، ذبیح اله اعظمی ساردویی<sup>۲</sup>، علیرضا احمدی<sup>۲</sup>، مهدی شتاب بوشهری<sup>۳</sup>، فرناز فکرت<sup>۲</sup>

<sup>۱</sup> دانشجوی کارشناسی ارشد بیماری شناسی گیاهی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه جیرفت

<sup>۲</sup> هیئت علمی گروه گیاهپزشکی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه جیرفت

<sup>۳</sup> هیئت علمی مرکز تحقیقات کشاورزی و منابع طبیعی استان خوزستان

Email: Hajar\_salehik@yahoo.com

### چکیده

به منظور مطالعه و شناسایی قارچ های همراه با نماتد سیستی غلات در استان خوزستان طی سال های ۹۲-۹۳، ۵۷ جدایه قارچی از مراحل مختلف رشدی این نماتد جداسازی شده و مورد مطالعه تاکسونومیکی قرار گرفت. نمونه های خاک آلوده به نماتد سیستی غلات از مزارع گندم شهرستانهای: رامشیر، شوشتر، بهبهان خرمشهر، دزفول، ایذه، هفتگل، شوش، گتوند، رامهرمز، سوسنگرد و بستان تهیه شدند. سپس نمونه ها در آزمایشگاه با استفاده از کیف فنویک جداسازی و پس از ضدعفونی سطحی بر روی محیط های کشت MA، PDA، CMA، WA و MA حاوی آنتی بیوتیک کشت داده شدند. جدایه های قارچی به دست آمده سپس خالص سازی و مورد بررسی ماکروسکوپی و میکروسکوپی قرار گرفتند. جدایه های قارچی با استفاده از کلیدهای معتبر موجود به طریق مرفولوژیکی شناسایی گردیدند. نتایج بدست آمده نشان داد که در میان ۵۷ جدایه قارچی خالص سازی شده از سیست و تخم غلات بیشترین فراوانی به جنس *Fusarium* با ۵۲/۶۳٪ تعلق داشت و دیگر جنس های مشاهده شده به ترتیب فراوانی عبارت بودند از: ۱۷/۵۴٪ جنس *Paecilomyces*، ۸/۷۷٪ جنس *Alternaria*، ۸/۷۷٪ جنس *Penicilium*، ۵/۲۶٪ قارچ *Ulocaldium*، ۴/۵۰٪ جنس *Macrophomina*، ۸/۷۵٪ جنس *Chaetomium*، ۱/۷۵٪ جنس *Trichoderma* بودند.

کلمات کلیدی: استان خوزستان، قارچ، نماتد سیستی غلات (*Heterodera filipjevi*)

### مقدمه

نماتدهای سیستی غلات (گونه های *Heterodera avenae* و *H. filipjevi*) از مهمترین نماتدهای خسارتزای گندم و جو در جهان می باشند که اخیراً در ۳۸ درصد از مزارع گندم و جو استان خوزستان با متوسط جمعیت



۲۸۰ تخم و پوره در یکصد گرم خاک مشاهده شده اند و علائم خسارت ایجادشده توسط آنها نیز بسیار بارز است (Ahmadi & Tanha Maafi, 2009, 2014). میزان خسارت نماتد سیستی غلات گونه *H. avenae* با جمعیت اولیه ۱۰ تخم و پوره در گرم خاک در شهرستان بهبهان ۲۱-۱۱ درصد و گونه *H. filipjevi* با جمعیت اولیه ۹ تخم و پوره در گرم خاک در شهرستان رامشیر ۷۳-۴۰ درصد تعیین گردیده است (احمدی و همکاران ۱۳۹۰). روش های 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 است که هر کدام از روشهای فوق با محدودیتهایی مواجه است. تحقیق در خصوص روشهای مدیریتی برای این نماتدها در کشور شروع شده اما در خصوص استفاده از دشمنان طبیعی نماتدهای سیستی غلات در کشور تاکنون تحقیقی صورت نگرفته است. کنترل بیولوژیکی به عنوان یکی از راهکارهای مدیریتی همراه با دیگر روش ها برای کنترل نماتدهای انگل گیاهی مورد توجه قرار گرفته است (Jatala, 1986; Whitehead, 1998). از میان دشمنان طبیعی مختلفی (بیمارگرها، شکارچیان، رقابت کنندگان) که نماتدهای انگل گیاهی را در خاک مورد حمله قرار می دهند حدود ۷۶ درصد به قارچهای آنتاگونیست تعلق دارد (Brown and Kerry, 1987). قارچ ها و شبه قارچ هایی که به نماتدهای انگل گیاهی حمله کرده و آنها را می کشند در شاخه های *Oomycota*، *Zygomycota*، *Basidiomycota*، *Deutromycota* و *Chytridiomycota* قرار داده شده اند (Barron, 1977).

Kerry در سال ۱۹۸۰ گونه های *Nematophthora gynophila* و یک گونه از جنس *Lagenidia* را از ماده های نماتدهای سیستی گزارش کرده است. قارچ *Pochonia chlamyosporia* به عنوان عامل زوال طبیعی نماتد سیست غلات شناخته شده است (Kerry et al., 1982). هم چنین گونه های *Microdochium bolleyi*، *Cylindrocarpon sp.* و *Paecilomyces lilacinus* از تخمهای داخل سیستهای جدا شده از خاک به دست آمده اند (Dacman and Nordbring-Hertz, 1985). در ایران مطالعات زیادی روی قارچ های انگل و یا همراه با نماتدها صورت نگرفته است. باروتی و همکاران در سال ۱۳۶۴، دو قارچ *Dactylaria sp.* و *Catenaria anguillulae* را برای اولین بار از روی نماتدهای مختلف از ایران گزارش کردند. احمدی و همکاران (۱۳۷۴)، قارچ های *Paecilomyces spp.* و *Fusarium solani* را از تخم های *H. schachtii* از مزارع چغندر قند



استان اصفهان جدا ساختند، در بررسی های آزمایشگاهی و روی محیط کشت آب آگار دارای آنتی بیوتیک *Paecilomyces spp* به میزان ۷۶-۶۱ درصد و *F. solani* به میزان ۳۱-۱۲ درصد تخم های نماتد را پارازیته کردند. گونه *fumosoroseu* از سیست های *H.schachtii* جداسازی و گزارش شده است (فاطمی، ۱۳۷۷). اثر ۱۰ جدایه از قارچ *Trichoderma harzianu* و *T. virens* در آزمایشگاه و گلخانه روی تخم و سیست نماتد سیستی چغندر قند مورد بررسی قرار گرفت و جدایه های قارچ *تریکودرما* در آزمایشگاه به طور متوسط ۶۰ درصد تخم های نماتد را در مقایسه با شاهد پارازیته کردند. (مهدی خانی مقدم و همکاران، ۱۳۸۸). نبی خضری نژاد و همکاران طی سال های ۸۲ تا ۸۳ قارچ های همراه با نماتد سیستی چغندر قند در مزارع استان آذربایجان غربی را مورد بررسی قرار دادند و حدود ۳۰۰ جدایه قارچی از روی آنها جدا شد و مورد مطالعه تاکسونومیکی قرار گرفت. از بین آنها گونه های *Plectosporium tabacinum* \_ *Myrothecium verrucaria* \_ *Lecanicillium aphanocladii* برای اولین بار در ایران از روی چغندر قند گزارش گردید، هم چنین گونه های *Plectosporium -tabacinum* \_ *Myrothecium verrucaria* \_ *Lecanicillium aphanocladii* - *Acremonium kiliense* \_ *Fusarium.sulphureum* \_ *Acremonium sclerotigenu* گزارش های جدیدی از آلودگی های طبیعی نماتد سیستی چغندر قند به این نماتد بودند.

با توجه به اهمیت نماتد سیست غلات از دیدگاه بیماری شناسی در استان خوزستان و دیگر استان های کشور و اینکه تاکنون تحقیقات لازم در جهت شناسایی قارچ های همراه این نماتد در کشور صورت نگرفته است در این تحقیق در نظر است در راستای توسعه کشاورزی ارگانیک و پایدار و توجه به دشمنان طبیعی نماتدها بررسی هایی در خصوص شناسایی قارچ های همراه با نماتد سیستی غلات گونه *H. filipjevi* صورت گیرد.

## مواد و روش ها

### ۱- نمونه برداری و استخراج نماتد

نمونه برداری از اواخر دوره داشت تا برداشت گندم از ریشه و خاک اطراف ریشه که بیشترین جمعیت سیست در خاک صورت گرفت. پس از انتقال نمونه های خاک و ریشه به آزمایشگاه با استفاده از قیف فنویک (Fenwick, 1940)، نماتدهای کرمی شکل و سیستهای سفید و قهوه ای رنگ نماتد از ۲۵۰ سانتی متر مکعب خاک استخراج



شدند. مشخصات لازم از هر نمونه به صورت فرم نمونه برداری و شامل اطلاعاتی از قبیل تاریخ، محل، تناوب های سه سال قبل، علفهای هرز و بیماریهای دیگر با استفاده از دستگاه GPS ثبت گردید. پس از انتقال نمونه ها به آزمایشگاه و تا قبل از استخراج نماتد، نمونه ها در یخچال با دمای ۵ درجه سانتیگراد نگهداری گردیدند.

۲- جداسازی قارچ از سیست ها و شناسایی جنس قارچ ها  
جهت جدا سازی قارچ از نماتد پس از ضدعفونی سطحی سیستهای استخراج شده با هیپو کلورور سدیم ۱۰ درصد و آنتی بیوتیکهای سولفات استرپتومایسین به میزان ۵۰ میلی گرم در لیتر، کلرامفنیکل ۱۰ میلی گرم در لیتر و پنی سیلین جی ۵۰ میلی گرم در لیتر به منظور حذف عوامل قارچی و باکتریایی سطح سیستها) در زیر هود سترون سیستهای قهوه ای رنگ ضدعفونی شده توسط سوزن برداشته شده و بر روی محیط کشتیابی WA و CMA حاوی جنتامایسین به میزان ۲۰ میلی گرم در لیتر کشت داده شدند. ۵ عدد سیست در یک پتری ۹ سانتی متری قرار داده شد (Dackman, 1990). از هر نمونه ۱۰۰ سیست قهوه ای رنگ کشت داده شد. پس از نگهداری پتری ها در انکوباتور با دماهای ۲۵-۲۰ درجه سانتیگراد به مدت ۱۰-۷ روز قارچهای رشد یافته از سیست ها به محیط PDA جهت رشد بهتر انتقال می یابند و سپس از آنها کشت خالص تهیه می گردد. در این مرحله با توجه به فراوانی گونه های قارچی جدا شده از نماتد چند جدایه که با فراوانی بیشتری جدا شده اند برای آزمایشات بعدی انتخاب می شوند.  
جهت شناسایی جدایه های قارچی بدست آمده از سیستهای نماتد ، مشخصات ریخت شناسی ماکروسکوپی و میکروسکوپی شامل میزان رشد ، رنگ پرگنه و وضعیت ریشه های هوایی روی محیط کشت مورد بررسی قرار گرفت. برای شناسایی جدایه های بدست آمده با استفاده از کلیدهای مربوط به هر قارچ در حد جنس صورت گرفت.

#### نتایج و بحث

نتایج بدست آمده نشان داد که در میان ۵۷ جدایه قارچی خالص سازی شده از سیست و تخم و مراحل مختلف رشدی نماتد سیست غلات بیشترین فراوانی به جنس *Fusarium* با  $52/63\%$  تعلق داشت و دیگر جنس های مشاهده شده به ترتیب فراوانی عبارت بودند از:  $117/54\%$  جنس *Paecilomyces* و  $5/77\%$  جنس *Penicillium*،  $5/77\%$  جنس *Alternaria*،  $5/26\%$  قارچ *Ulocaldium*،  $3/50\%$  *Macrophomina*،  $1/75\%$  جنس *Chaetomium*،  $1/75\%$  *Trichoderma*. جنس های *Ulocaldium*، *Fusarium* و *Alternaria* و *Paecilomyces* و *Trichoderma*، *Chaetomium* قبلاً توسط خضری نژاد و همکارانش طی سالهای ۸۳-۸۲ از سیست های چغندر قند در آذربایجان غربی



گزارش شده است. جنس های *Macrophomina* ، *Penicillium* برای اولین بار از نماتد سیستی غلات (*Heterodera.filipjevi*) در ایران گزارش می شوند.

شهرستان	تعداد نمونه	تعداد جدایه قارچی	درصد فراوانی هر جدایه
رامشیر	۴۲	۳: <i>Ulocaldium</i> ۴: <i>Alternaria</i> ۲: <i>Penicillium</i> ۵: <i>Paecilomyces</i>	۷/۱۴٪ ۹/۵۲٪ ۴/۷۶٪ ۱۱/۹۰٪
رامهرمز	۴۲	۷: <i>Fusarium</i> ۳: <i>Paecilomyces</i> ۱: <i>Macrophomina</i> ۱: <i>Penicillium</i>	۱۶/۶٪ ۷/۱۴٪ ۱٪ ۱٪
جاده خرمشهر	۴۲	۴: <i>Fusarium</i>	۹/۵۲٪
شوشتر	۴۲	۱: <i>Chaetomium</i> ۱: <i>Alternaria</i> ۱: <i>Macrophomina</i>	۱٪ ۱٪ ۱٪
بهبهان	۴۲	۶: <i>Fusarium</i> ۲: <i>Paecilomyces</i> ۱: <i>Penicillium</i>	۱۴/۲۸٪ ۴/۷۶٪ ۱٪
شوش	۴۲	۷: <i>Fusarium</i>	۱۶/۶٪
ایذه	۴۲	۶: <i>Fusarium</i>	۱۴/۲۸٪
بستان	۴۲	فاقد سیست و جدایه	-



شهرستان	تعداد نمونه	تعداد جدایه قارچی	درصد فراوانی هر جدایه
سوسنگرد	۴۲	فاقد سیست و جدایه قارچی همراه	-
دزفول	۴۲	فاقد سیست و جدایه قارچی همراه	-
گتوند	۴۲	فاقد سیست و جدایه قارچی همراه	-

#### منابع

احمدی، علیرضا. ۱۳۹۰. گزارش نهایی پروژه تحقیقاتی ارزیابی میزان خسارت به گندم در اثر نماتد سیستی غلات و مبارزه غیر شیمیایی با آن در استان خوزستان. مرکز تحقیقات کشاورزی و منابع طبیعی خوزستان. صفحه ۲۸.

باروتی، ش.، دانش پژوه، ب. و ترابی، م. ۱۳۶۴. شناسایی دو قارچ پارازیت و پراتور نماتدها در ایران. مجله بیماریهای گیاهی، ۲۱: ۴۹-۴۱.

خضری نژاد، ن.، قوستان، ی. و نیکنام، غ. ۱۳۸۵. معرفی قارچ های همراه نماتد سیستی چغندر قند از مزارع آذربایجان غربی (۱)، رستنیها، ۷(۲): ۱۶۲-۱۵۰.

خضری نژاد، ن.، قوستان، ی. و نیکنام، غ. ۱۳۸۸. معرفی قارچ های همراه نماتد سیستی چغندر قند از مزارع آذربایجان غربی (۲)، مجله دانش کشاورزی پایدار، ۱: ۱۰۶-۹۶.

Ahmadi, A. R. and Tanha Maafi, Z. 2009. Occurrence and distribution of two species of cereal cyst nematodes *Heterodera avenae* and *H. filipjevi* in Khuzestan province, Iran. In: Cereal cyst nematode: status and research and outlook. (eds, Riley, I.T., Nicol, J.M., Dababat, A.A.). pp. 79-81. CIMMYT, Ankara, Turkey.

Ahmadi, A. R. and Tanha Maafi, Z. 2014. Incidence of Cereal Cyst Nematodes (*Heterodera avenae* type B and *H. filipjevi*) in southwestern Iran. J. Crop Prot. 2014, 3 (1): 75-88.



Barron, G.L. 1977. The nematode destroying fungi, topics in mycobiology, No 1. *Canadian Biological Publications*, Guelf, Ontario, Canada, 140 p.

Brown, R.H. and Kerry, B.R. 1987. Principles and practice of nematode control in crops. *Academic Press, New York*. 447 p.

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

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, B.R., Crump, D.H. and Mullen, L.A. 1982. Natural control of the cereal cyst, nematode *Heterodera avenae* Woll. by soil fungi at three sites. *Crop Protection*, 1: 99–109.

Mulvey, R.H. and Golden, M.A. 1983. An illustrated key to the cyst forming genera and species of *Heteroderidae* in the western hemisphere with species morphometrics and distribution. *Nematology*. 15(1): 1-59.

Rivoal, R. and Cook, R. 1993. Nematode pests of cereals. In: Plant parasitic nematodes in temperate agriculture. (eds, Evans, K., Trudgill, D.L., Webster, J.M.). pp. 259-303. CAB International, Wallingford, UK.

Tanha Maafi, Z., Sturhan, D., Kheiri, A., and Geraert, E. 2007. Species of the *Heterodera avenae* group (Nematoda:Heteroderidae) from Iran. *Russian Journal of Nematology*, 15,(1) 49-58.