مهار زیستی نماتود ریشه‌گرهی (*Meloidogyne javanica*) با استفاده از چهار جدایه قارچ *Paecilomyces lilacinus* و یک جدایه از قارچ *Isaria farinosa* در گوجه فرنگی*

BIOLOGICAL CONTROL OF ROOT-KNOT NEMATODE, *Meloidogyne javanica*, BY FOUR ISOLATES OF *Paecilomyces lilacinus* AND AN ISOLATE OF *Isaria farinosa* ON TOMATO PLANTS

فرید ثابت[۱]، مجید اولیاء[۱]** و بهرام شریف نبی[۲]

(تاریخ دریافت: ۱۳۹۰/۷/۱۳؛ تاریخ پذیرش: ۱۳۹۱/۱۰/۵)

چکیده

در این تحقیق اثر همستیزی چهار جدایه از قارچ *Paecilomyces lilacinus* و یک جدایه از قارچ *Isaria farinosa* روی مهار نماتود ریشه‌گرهی *Meloidogyne javanica* در شرایط آزمایشگاهی و گلخانه‌ای روی گوجه فرنگی ارزیابی گردید. ابتدا با استفاده از ویژگی‌های ریخت‌شناسی و استفاده از آغازگر اختصاصی، نماتود ریشه‌گرهی و جدایه‌های قارچی مورد شناسایی قرار گرفتند. سپس در شرایط آزمایشگاهی توانایی جدایه‌های قارچی در انگلی نمودن تخم‌های نماتود ریشه‌گرهی و نیز اثر عصاره کشت جدایه‌های قارچی روی مرگ‌ومیر نوزادان سن دوم (J_2) و نیز جلوگیری از تفریخ تخم‌ها مورد آزمون قرار گرفت. نتایج مطالعات آزمایشگاهی نشان داد، درصد انگلی کردن تخم‌های نماتود به وسیله جدایه‌های قارچی و اثر عصاره کشت جدایه‌های مختلف قارچ روی مرگ‌ومیر نوزاد سن دوم و جلوگیری از تفریخ تخم‌های نماتود متفاوت بوده و جدایه P3 قارچ *P. lilacinus* نسبت به سایر جدایه‌ها در مهار زیستی نماتود مؤثرتر است. در شرایط گلخانه‌ای اثر جدایه‌های *P. lilacinus* و *I. farinosa* روی فاکتورهای رشدی گیاه گوجه‌فرنگی و جمعیت نماتود ریشه‌گرهی بررسی گردید. جهت این ارزیابی از مایه تلقیح قارچ‌های رشد یافته روی دانه گندم با نسبت وزنی نیم درصد و مخلوط با خاک سترون گلدان استفاده شد. به هرگلدان از تیمارها یک گیاهچه چهار برگی گوجه فرنگی رقم حساس فلات منتقل و بعد از ۱۰ روز، ۴۰۰۰ تخم و نوزاد سن دوم به آنها اضافه شد و به مدت ۶۰ روز در شرایط گلخانه نگهداری شدند. جدایه‌های P3، P1، P4 و P2 قارچ *P. lilacinus* و قارچ *I. farinosa* به ترتیب ۶۵٪، ۴۴٪، ۴۲٪، ۲۹٪ و ۲۳٪ جمعیت نماتود را کاهش دادند، که نشان از توانایی بعضی از این جدایه‌های قارچی در مهار زیستی نماتود ریشه‌گرهی دارد.

واژه‌های کلیدی: آغازگر اختصاصی، عصاره کشت قارچ، نماتودهای انگل گیاهی، قارچ‌های همستیز، *Paecilomyces Isaria*

---

*: بخشی از پایان‌نامه کارشناسی ارشد نگارنده اول، ارائه شده به دانشکده کشاورزی، دانشگاه شهرکرد

**: مسئول مکاتبات، پست الکترونیکی:olia100@yahoo.com

۱. به ترتیب دانشجوی سابق کارشناسی ارشد و استادیاران بیماری شناسی گیاهی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه شهرکرد

۲. استاد بیماری شناسی گیاهی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه صنعتی اصفهان

Archive of SID

www.SID.ir

مقدمه

نماتودهای ریشه‌گرهی *Meloidogyne* spp. از نظر اقتصادی مهم‌ترین نماتودهای انگل گیاهی در سطح جهان محسوب می‌شوند. پراکندگی جهانی، دامنه وسیع میزبانی و تعامل با سایر بیمارگرهای گیاهی آن‌ها را به عنوان یکی از عوامل درجه اول بیماری‌زا که تامین غذای جهان را تهدید می‌کند، مطرح نموده است. این نماتودها باعث ایجاد گال روی ریشه، ضعف عمومی، کاهش رشد و پژمردگی در اندام های هوایی می‌شوند (Perry *et al.* 2010). برای مهار این گروه از عوامل بیماری‌زا از روش‌های مختلفی استفاده می‌شود که اغلب روش‌های معمول، کارایی لازم را نداشته و یا در برخی موارد نظیر مبارزه شیمیایی برای سلامتی انسان و محیط زیست مضر شناخته شده‌اند. در این راستا مهار زیستی می‌تواند به عنوان روشی مکمل با سایر روش‌ها به کار گرفته شود که در این زمینه از باکتری‌ها و قارچ‌های زیادی استفاده شده است (Stirling & West 1991).

قارچ *Paecilomyces lilacinus* (Thom) Samson یک قارچ فرصت‌طلب گندرو بوده که قادر به انگلی کردن ماده بالغ و تخم نماتودهای *ریشه‌گرهی* می‌باشد. اولین بار ارتباط این قارچ با تخم‌های نماتود توسط لیسک مشاهده و سپس توسط *جاتالا* (Jatala *et al.* 1979) توانایی انگلی کردن تخم‌های نماتود ریشه‌گرهی *Meloidogyne incognita* (Kofoid &White) Chitwood توسط این قارچ به اثبات رسیده است. *کابانیلاس و همکاران* (Cabanillas *et al.* 1988) با مطالعه اثر چند جدایه *P. lilacinus* روی فاکتورهای رشدی گیاه گوجه فرنگی آلوده به نماتود *M. incognita* به این نتیجه رسیدند که استفاده همزمان جدایه‌ها، بیشترین تأثیر را روی افزایش رشد گیاه گوجه فرنگی آلوده به نماتود ریشه‌گرهی دارد. آنها هم‌چنین بهترین کارایی قارچ برای مهار نماتود ریشه‌گرهی را دمای ۱۶ °C تا ۲۸ °C به‌دست آوردند.

تحقیقات *هلند و همکاران* (Holland *et al.* 2001) در مورد قارچ *P. lilacinus* مشخص کرد، که به دلیل سازگاری این قارچ با طیف وسیعی از شرایط آب و هوایی، امکان استفاده در بسیاری از مناطق جهت مهار موفق نماتود ریشه‌گرهی را دارد. استفاده از جدایه ۲۵۱ این قارچ در مهار نماتود ریشه‌گرهی در گیاه گوجه‌فرنگی توسط شنک (Schenck 2004) افزایش سطح تولید گوجه‌فرنگی در خاک آلوده به نماتود را نشان داد. *خان و همکاران* (Khan *et al.* 2004) مطالعاتی روی آنزیم‌های ترشحی *P. lilacinus* انجام دادند و آنزیم‌های کیتیناز و سرین‌پروتئاز را مؤثر در نفوذ ریسه‌های قارچ در کیسه تخم معرفی کردند. *واراپورن و همکاران* (Waraporn *et al.* 2009) با مطالعه اثر جدایه‌هایی از *P. lilacinus* روی نماتود ریشه‌گرهی در کاهو به این نتیجه رسیدند که بعضی جدایه‌ها در کاهش شاخص گال و افزایش وزن اندام‌های هوایی مؤثرتر هستند. *اکلاریت و کوماگون* (Oclarit & Cumagun 2009) اثر غلظت‌های مختلف اسپور قارچ *P. lilacinus* در خاک آلوده به نماتود *M. incognita* را مورد آزمون قرار دادند و غلظت ۸×۱۰^{۶} اسپور در میلی‌لیتر را، مناسب‌ترین غلظت جهت مهار نماتود مزبور شناختند. *گانایی و احمدخان* (Ganaie & Ahmadkhan 2010) تأثیر یک جدایه *P. lilacinus* روی *Meloidogyne javanica* (Treub) Chitwood در گیاه گوجه‌فرنگی در شرایط گلخانه‌ای را مورد آزمون قرار دادند، که مشخص شد این جدایه *P. lilacinus* روی کاهش گال و خسارت نماتود ریشه‌گرهی و افزایش شاخص‌های رشدی گیاه آلوده به نماتود تأثیر بسزایی دارد و مؤثرترین حالت زمانی است که قارچ ده روز قبل از

Archive of SID
www.SID.ir

آلودگی نماتود ریشه‌گرهی به گلدان‌های حاوی نشا گوجه فرنگی اضافه گردد.

فاطمی (۱۳۷۷) ضمن بررسی اثر همستیزی *Paecilomyces fumosoroseus* (Wize) Brown & Smith در محیط کشت آب- آگار روی نماتودهای *M. Javanica* و *Heterodera schachtii* (Schmidt) به این نتیجه رسید که این قارچ می‌تواند تخم و نوزادان این نماتودها را تا حد زیادی انگلی کند. *احمدی و همکاران* (۱۳۷۹) ضمن گزارش جداسازی و شناسایی قارچ *Paecilomyces farinosus* (Holm) Brown &Smith از سیست چغندر قند، اثر همستیزی آن روی تخم‌های نماتود مذکور را مورد بررسی قرار دادند. آنها هم‌چنین اثر قارچ مذکور در مهار زیستی نماتود *H. schachtii* روی چغندر قند در شرایط اتاقک رشد بررسی نموده و به این نتیجه رسیدند، که بعضی از جدایه‌ها می‌توانند، جمعیت نماتود را حدود ۹۰٪ کاهش دهد.

در این پژوهش، تأثیر چهار جدایه قارچ *P. lilacinus* و یک جدایه از قارچ *Isaria farinosa* (Holm) Fries درمهار زیستی نماتود ریشه‌گرهی *M. javanica* در شرایط آزمایشگاهی و گلخانه‌ای روی گیاه گوجه فرنگی بررسی شده است.

روش بررسی

شناسایی و تهیه زاد مایه نماتود ریشه‌گرهی *M. javanica*

جهت تهیه جمعیت خالص نماتود، از گوجه‌فرنگی‌های آلوده به نماتود ریشه‌گرهی جمع‌آوری شده از استان اصفهان، یک تک کیسه تخم (egg mass) جدا و در مجاورت ریشه یک گیاهچه چهار برگی گوجه فرنگی رقم Rutgers درگلدان حاوی ۵۰۰ گرم خاک سترون در شرایط گلخانه قرار داده شد. بعد از گذشت ۶۰ روز، استخراج نماتود از ریشه‌های آلوده با استفاده از هیپوکلریدسدیم ۱/۵٪ به روش *هوسی و بارکر* (Hussey & Barker 1973) انجام گردید. جهت شناسایی نماتود از روش ریخت‌شناسی استفاده شد. به همین منظور، از انتهای بدن ده عدد نماتود ماده به روش *تیلور و نتسچر* (Taylor & Netscher 1974) برش تهیه و مشخصات آن بررسی گردید. هم‌چنین از خصوصیات ریخت‌شناسی و ریخت‌سنجی نوزادان سن دوم نیز استفاده شد. شناسایی گونه با استفاده از روش مولکولی زیلسترا و همکاران (Zijlstra *et al*., 2000) نیز ارزیابی شد.

جداسازی و شناسایی قارچ *Paecilomyces* sp.

با توجه به گندرو بودن قارچ مورد نظر، نمونه برداری از خاک فراریشه (Rhizospher) تعدادی از گیاهان چند ساله باغی از جمله انگور، هلو، زردآلو، بادام در استان‌های فارس و اصفهان انجام شد. سپس خاک خشک و پودر شده روی محیط کشت عصاره سیب زمینی- دکستروز- آگار (PDA) حاوی ۵۰ppm از هر یک از آنتی‌بیوتیک‌های استرپتومایسین، تتراسایکلین و پنی‌سیلین، منتقل گردید. قارچ‌های رشد یافته با روش نوک ریسه (Hyphal tip) خالص‌سازی شدند. برای شناسایی ریخت‌شناسی قارچ *Paecilomyces* sp. اندازه طول و عرض کنیدی، کنیدیوفور، اندازه و مشخصات فیالید تعیین و از کلید شناسایی *سامسون* (Samson 1970) استفاده گردید. جهت شناسایی مولکولی قارچ *P. lilacinus*، DNA آن از توده میسلیوم رشد یافته در محیط کشت مایع عصاره سیب زمینی- دکستروز (PDB) به روش CTAB استخراج گردید (Murray & Thompson 1980). واکنش زنجیره‌ای پلی‌مراز با یک جفت آغازگر اختصاصی (PaeF و PaeR)

Archive of SID

www.SID.ir

قارچ *P.lilacinus* طراحی شده براساس ناحیه rDNA-ITS بر پایه روش *آتکینز و همکاران* (Atkins *et al.* 2005) انجام و محصول واکنش در بافر TAE یک درصد الکتروفورز گردید (جدول ۱).

در این بررسی چهار جدایه قارچ *P.lilacinus* شامل جدایه P1 (ارسالی توسط پاک نیت، مرکز تحقیقات کشاورزی و منابع طبیعی فارس، جدا شده از تخم نماتود ریشه‌گرهی) جدایه P2 (ارسالی توسط فاطمی، موسسه تحقیقات گیاهپزشکی کشور، جدا شده از تخم نماتود ریشه‌گرهی) جدایه P3 (ارسالی توسط زارع، موسسه تحقیقات گیاهپزشکی کشور، جدا شده از خاک) و جدایه P4 (جدا شده از خاک اطراف ریشه انگور از باغات شهرستان آباده از استان فارس) و یک جدایه قارچ *I. farinosa* (ارسالی توسط زارع، مؤسسه تحقیقات گیاهپزشکی کشور، جدا شده از خاک) مورد استفاده قرار گرفت.

ارزیابی آزمایشگاهی اثر چهار جدایه قارچ *P. lilacinus* و یک جدایه از قارچ *I. farinosa* روی نماتود ریشه‌گرهی *M. javanica*

تعیین درصد انگلی شدن تخم‌های موجود در کیسه‌های تخم به وسیله چهار جدایه‌ی قارچ *P. lilacinus* و یک جدایه از قارچ *I. farinosa*

به منظور بررسی توانایی انگلی کردن تخم‌های موجود در کیسه‌های تخم به وسیله قارچ‌ها از روش *گوسوامی و اومو* (Goswami & Umo 1997) استفاده شد، به این صورت که دوایری با قطر یک سانتیمتر از حاشیه رشد فعال جدایه‌های قارچی به مرکز تشتک‌های حاوی محیط کشت سیب زمینی- دکستروز- آگار (PDA) منتقل و تعداد پنج کیسه تخم سترون به روش *فاطمی* (۱۹۹۸) در اطراف آن قرار داده شد (از محیط کشت PDA فاقد قارچ به عنوان شاهد استفاده گردید). بعد از گذشت دو روز توده‌های تخم به محیط کشت آب- آگار (WA) منتقل و به مدت دو هفته در در دمای ۲۵°C نگهداری شدند. ابتدا کلونیزه شدن کیسه‌های تخم بررسی شد، سپس با برش کیسه‌های تخم در محلول لاکتوفنل در کاتن بلو و تهیه اسلاید، تخم‌های انگلی شده بررسی گردیدند. آزمایش در قالب طرح پایه کاملا تصادفی و در چهار تکرار اجرا گردید.

بررسی اثر نماتودکشی عصاره‌کشت چهار جدایه‌ی قارچ *P. lilacinus* و یک جدایه از قارچ *I. farinosa* روی مرگ‌ومیر نوزاد سن دوم نماتود ریشه‌گرهی

دوایری با قطر یک سانتیمتر از حاشیه رشد فعال جدایه‌های قارچی در داخل ظرف حاوی محیط‌کشت مایع، عصاره سیب زمینی-دکستروز (PDB) تلقیح و به مدت ۱۴ روز در دمای ۲۵°C در محیط ساکن انکوباتور نگهداری شدند، سپس محیط کشت مایع PDB حاوی توده‌های رشد کرده قارچ، از کاغذ صافی Whatman شماره یک سترون عبور داده شد، تا عصاره‌کشت قارچ به دست آید (Khan & Goswami 1999). سپس با افزودن میزان لازم آب مقطر سترون، غلظت‌های 10^{-1} و 10^{-2} از عصاره کشت تهیه شد، از آب مقطر سترون هم به عنوان شاهد استفاده گردید. غلظت‌های مختلف عصاره کشت قارچ‌ها و آب مقطر داخل تشتک‌های سترون منتقل و به هر یک حدود ۲۰۰ عدد نوزاد سن دوم نماتود اضافه گردید، بعد از ۲۴، ۴۸، ۷۲ ساعت درصد مرگ‌ومیر نماتود ثبت شد. آزمایش به صورت فاکتوریل در قالب طرح پایه کاملاً تصادفی و در چهار تکرار اجرا گردید.

www.SID.ir

جدول ۱. مشخصات و توالی یک جفت آغازگر اختصاصی قارچ *Paecilomyces lilacinus*

Table 1. Name and sequence of specific primers for *Paecilomyces lilacinus*

نام آغازگرها Primer name	توالی آغازگرها Primers sequences	
PaeF	5'-CTCAGTTGCCTCGGCGGGAA-3'	(Forward)
PaeR	5'-GTGCAACTCAGAGAAGAAATTCCG-3'	(Reverse)

بررسی اثر عصاره‌کشت چهار جدایه قارچ *P. lilacinus* و یک جدایه از قارچ *I. farinosa* روی تفریخ تخم‌های نماتود ریشه‌گرهی *M. javanica*

سه غلظت مختلف عصاره کشت قارچ‌ها طبق روش قبل تهیه و آب مقطر سترون نیز به عنوان شاهد انتخاب گردید، پس از آن شش کیسه تخم سترون به هر تشتک افزوده شد. کیسه‌های تخم سترون به مدت ۷۲ ساعت در معرض عصاره‌کشت قرار گرفتند، سپس توده‌های تخم به آب مقطر سترون منتقل و شمارش تعداد تخم تفریخ شده دو، چهار، شش، هشت روز بعد به نوبت انجام و ثبت گردید. آزمایش به صورت فاکتوریل در قالب طرح پایه کاملا تصادفی و در چهار تکرار اجرا شد.

آزمایش گلخانه‌ای

الف) تهیه زادمایه قارچ و نماتود و افزودن به خاک گلدان‌ها

برای تهیه زادمایه قارچ از محیط کشت دانه گندم با نسبت وزنی نیم درصد در خاک استفاده شد. ابتدا پنج گرم دانه گندم درون لوله‌های مک‌کارتی قرار داده‌شدند. پس از شستشو با آب مقطر، سه میلی لیتر آب مقطر به درون هر لوله اضافه و درب لوله‌ها به صورت نیمه باز، بسته شد. لوله‌های آزمایش حاوی دانه گندم، در اتوکلاو با دمای ۱۲۱°C و فشار یک اتمسفر به مدت ۲۰ دقیقه و به تناوب دو روز سترون شدند. سوسپانسیونی از اسپور جدایه‌های قارچی از کشت ۱۴ روزه قارچ روی محیط کشت PDA تهیه گردید، با استفاده از لام گلبول شمار، سوسپانسیون 10^6 اسپور در میلی‌لیتر از قارچ‌های فوق تهیه و در اتاق کشت سترون یک میلی‌لیتر از سوسپانسیون به درون لوله‌های آزمایش حاوی دانه گندم سترون منتقل و پس از تکان دادن به طور یکنواخت پخش گردید. در تیمار شاهد، یک میلی‌لیتر آب مقطر سترون اضافه شد. لوله‌ها به مدت یک ماه با درپوش نیمه‌باز (جهت انجام تبادلات گازی) و تکان دادن در فواصل پنج روزه (برای یکنواختی رشد) در انکوباتور با دمای ۲۵°C نگهداری شدند. پنج گرم زادمایه قارچ تولیدی (این پنج گرم زادمایه قارچ در جدایه‌های P1، P2، P3 و P4 از قارچ *P. lilacinus* به ترتیب حاوی $2/15\times10^9$، $1/87\times10^9$، $1/9\times10^9$، $1/96\times10^9$ اسپور و در قارچ *I. farinose* $2/12\times10^9$ اسپور می‌باشد و اختلاف تعداد اسپورها در تیمارهای مختلف قارچی در سطح ۵٪ معنی‌دار نمی‌باشد) با یک کیلوگرم خاک سترون به طور کامل مخلوط و به هر گلدان منتقل و یک گیاهچه چهار برگی گوجه‌فرنگی رقم فلات در آنها کشت گردید. بعد از ۱۰ روز نگهداری درگلخانه با دمای ۲۰°C تا ۲۵°C، هر گلدان یک کیلویی با ۴۰۰۰ تخم و نوزاد سن دوم نماتود *M. javanica* استخراج شده به روش *هوسی و بارکر* (Hussey & Barker 1973) تلقیح شد. در تیمار شاهد، به

Archive of SID

www.SID.ir

گلدان‌ها فقط آب مقطر سترون اضافه گردید.

ب) شرایط نگه‌داری، تیمارها و شاخص‌های اندازه‌گیری شده

گلدان‌ها به مدت ۶۰ روز در شرایط گلخانه با دمای ۲۰°C تا ۲۵°C و رطوبت نسبی ۶۰-۸۰ درصد نگهداری و آبیاری منظم یک روز در میان انجام شد. هر واحد آزمایشی، یک گلدان حاوی یک کیلوگرم خاک سترون با بافت شنی لومی دارای ۰/۹٪ ماده آلی می‌باشد، تیمارهای آزمایش اثر قارچ‌ها روی شاخص‌های رشدی گیاه شامل، شش تیمار می‌باشند که عبارتند از: شاهد (بدون هیچگونه تیمار) و پنج جدایه قارچی مورد استفاده، آزمایش در قالب طرح کامل تصادفی در چهار تکرار اجرا گردید. آزمایش اثر جدایه‌های قارچ روی نماتود ریشه‌گرهی شامل هشت تیمار که عبارتند از: شاهد بدون تیمار، شاهد دارای نماتود، پنج جدایه قارچی به همراه نماتود و دانه گندم فاقد قارچ با نماتود می‌باشند، که آزمایش در قالب طرح کامل تصادفی و در چهار تکرار اجرا شد.

ارزیابی اثر جدایه‌های قارچ‌ها روی نماتود ریشه‌گرهی در شرایط گلخانه‌ای، به کمک اندازه‌گیری شاخص‌های رشدی گیاه (از جمله وزن تر و خشک ریشه و اندام هوایی، طول ریشه و اندام هوایی) و شاخص‌های آلودگی به نماتود (از جمله تعداد گال، تعداد کیسه تخم، تعداد تخم داخل هر کیسه تخم و تعداد نوزاد سن دوم در ۲۰۰ گرم خاک) تعیین گردید، شاخص گال به روش *جوناتان و همکاران* (Jonathan *etal*. 2000) و براساس سیستم درجه بندی صفر تا پنج محاسبه شد و در نهایت فاکتور تولیدمثل (Rf) یا نسبت جمعیت نهایی (مجموع نوزادان داخل خاک به همراه تمامی تخم‌های نماتود موجود روی ریشه) به جمعیت اولیه و درصد تکثیر(Mr%) یا نسبت جمعیت نهایی هر تیمار به جمعیت نهایی تیمار نماتود تعیین گردید (Oostenbrink 1966). تعداد پروپاگول قارچ در هر گرم خاک (CFU/gr) در پایان آزمایش به روش *کابانیلاس و بارکر* (Cabanillas & Barker 1989) محاسبه شد. کلیه داده‌ها توسط نرم‌افزار آماری SAS 9.2 آنالیز شدند. جدول تجزیه واریانس ترسیم و مقایسه میانگین‌ها با آزمون LSD در سطح احتمال ۵٪ انجام شد.

نتایج و بحث

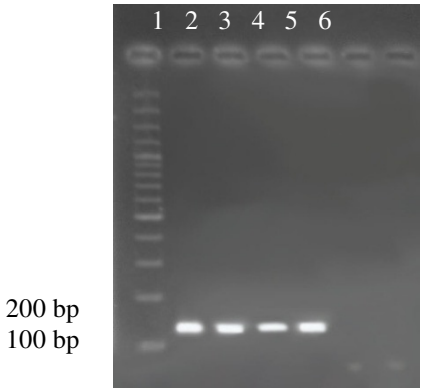
شناسایی گونه نماتود ریشه‌گرهی

با بررسی خصوصیات ریخت‌شناسی و ریخت‌سنجی نماتود ماده و نوزاد سن دوم و استفاده از کلید شناسایی *ایسنباک و تریانتافیلو* (Eisenback & Triantaphyllou 1991) گونه نماتود *M. javanica* شناسایی گردید، که با روش مولکولی نیز تایید شد (Zijlstra *et al*. 2000).

شناسایی گونه قارچ‌های *Paecilomyces*

قارچ *P. lilacinus*: پرگنه قارچ روی محیط مالت-آگار (MA) در دمای ۲۵°C بعد از گذشت دو هفته، پنج تا هفت سانتی‌متر رشد کرده و به رنگ ارغوانی یا صورتی و از پشت ظرف معمولا بی‌رنگ و در تعدادی از جدایه‌ها ارغوانی بود، کلامیدوسپور هم تشکیل ندادند. بر اساس کلید *سامسون* (Samson 1974) جدایه P1، P2، P3 و P4 با اندازه کنیدی (۲/۷)۲/۴-۳×۲-۲/۳(۲/۱) میکرومتر و ابعاد فیالید (۲/۷)۲/۴-۳×۷/۴-۸/۷(۸) میکرومتر، با مشخصات *P. lilacinus* مطابقت دارند. با استفاده از یک جفت آغازگر اختصاصی PaeF و PaeR قطعه ۱۳۰ جفت بازی در این چهار جدایه تکثیر شد، که نشان دهنده قارچ *P. lilacinus* می‌باشد (شکل ۱).

www.SID.ir



شکل ۱. تکثیر قطعه ۱۳۰ جفت بازی با استفاده از جفت آغازگر اختصاصی PaeF و PaeR، چاهک۱، شناساگر۱۰۰ جفت بازی و چاهک۲، شاهد مثبت، چاهک‌های ۳، ۴ و ۵ DNA استخراج شده از جدایه‌های P2، P3 و P4 قارچ *Paecilomyces lilacinus* و چاهک ۶ شاهد منفی.

Fig. 1. Amplification 130 bp product of PCR reaction using primer PaeF and PaeR, lane 1: 100bp DNA size marker, lane 2: Positive control, lane 3, 4, 5: template DNA of *Paecilomyces lilacinus* from isolates P2, P3 and P4, lane 6: no template DNA control.

قارچ *I. farinosa*: پرگنه قارچ روی محیط مالت-آگار سفید پودری و از پشت ظرف زرد کم رنگ و اندازه کنیدی (۱/۳)۱-۱/۷×۲-۳/۱(۲/۵) میکرومتر و ابعاد فیالید (۹/۶)۵/۲- ۱۴×۱/۲-۲/۳(۱/۷) میکرومتر می‌باشد، که با مشخصات کلید *سامسون* (Samson 1974) مطابقت دارد، این قارچ در گذشته با نام *Paecilomyces farinosus* شناخته می‌شد.

نتایج آزمون‌های آزمایشگاهی

ارزیابی آزمایشگاهی اثر چهار جدایه قارچ *P. lilacinus* و یک جدایه از قارچ *I. farinosa* روی نماتود ریشه‌گرهی *M. javanica*

اثر چهار جدایه از قارچ‌های *P. lilacinus* و یک جدایه *I. farinosa* روی کیسه تخم‌های نماتود *M. javanica*

الف- اثر روی کیسه تخم: کلیه کیسه‌های تخم توسط تمامی جدایه‌های قارچی مورد مطالعه، کلونیزه شدند.

ب- اثر قارچ‌ها روی انگلی شدن تخم‌های موجود در کیسه‌های تخم: بیشترین آلودگی مربوط به جدایه P3 بود که حدود ۸۱٪ تخم‌ها را انگلی کرد و کمترین میزان آلودگی هم در قارچ *I. farinosa* با ۶۰٪ آلودگی در تخم‌ها دیده شد (جدول ۲). این قارچ‌ها با نفوذ به داخل تخم‌ها سبب ایجاد اختلالات فیزیولوژیکی و توقف رشد و بلوغ نوزادان می‌گردد، قارچ‌ها ضمن تکثیر و تولید کنیدی زیاد، فضای داخل تخم را پر کرده و تمام محتویات تخم را از بین می‌برد (Dunn 1983) و هم‌چنین تخم‌های نماتود ریشه‌گرهی به وسیله میسلیوم‌های قارچ جایگزین می‌شود (Jatala 1986). *فاطمی* (۱۳۷۷) با مطالعه اثر قارچ *P. fumosorosceus* و *استیرلینگ و وست* (Stirling & West 1991) با بررسی تأثیر قارچ *P. lilacinus* روی توده‌های تخم نماتود ریشه‌گرهی *M. javanica* در شرایط آزمایشگاهی نیز، تفاوت در میزان انگلی شدن تخم‌های نماتود توسط گونه‌ها و جدایه‌های مختلف این قارچ‌ها را نشان داده‌اند.

Archive of SID
www.SID.ir

جدول ۲. اثر چهار جدایه از قارچ *Paecilomyces lilacinus* و یک جدایه از قارچ *Isaria farinosa* روی درصد انگلی شدن تخم‌های موجود در کیسه‌های تخم نماتود ریشه‌گرهی *Meloidogyne javanica* در شرایط آزمایشگاه.

Table 2. Effects of four isolates of *Paecilomyces lilacinus* and an isolate of *Isaria farinosa* on the eggs infection (%) with in eggmasses of the root-knot nematode, *Meloidogyne javanica* in *in vitro* conditions.

تیمار Treatment	*P. lilacinus*(P1)	*P. lilacinus*(P2)	*P. lilacinus*(P3)	*P. lilacinus*(P4)	*I. farinosa*
درصد آلودگی تخم‌ها % Infected eggs	74.66 b	69.33 c	81.33 a	72 bc	60.66 d

اعداد، میانگین چهار تکرار هر تیمار می‌باشند.

Mean of the four replicates.

اعداد دارای حروف مشابه در سطح ۵ درصد بر اساس آزمون LSD معنی‌دار نیستند.

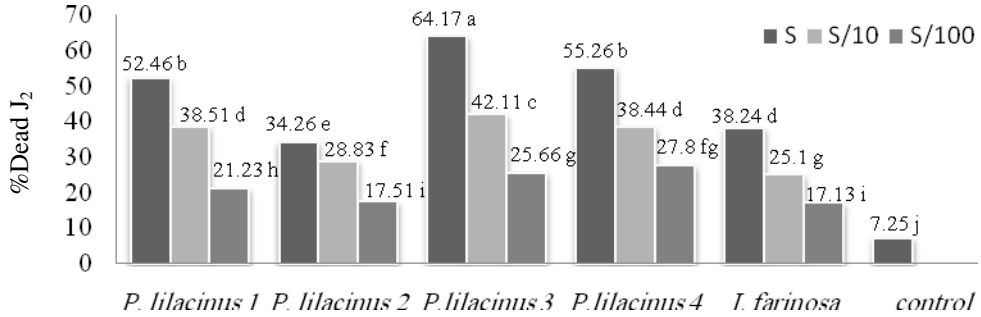
Number with the same letters are not significantly different at 5% level according to LSD test.

اثر عصاره کشت چهار جدایه از قارچ‌های *P. lilacinus* و یک جدایه *I. farinosa* روی مرگ‌ومیر نوزاد سن دوم نماتود ریشه‌گرهی *M. javanica*

میانگین درصد مرگ‌ومیر نوزادان سن دوم نماتود ریشه‌گرهی *M. javanica* در اثر عصاره کشت جدایه‌های مختلف قارچ‌ها، با آب مقطر، تفاوت معنی‌داری در سطح ۵٪ دارد، که در بین آنها عصاره کشت جدایه P3 با ۶۴٪ مرگ‌ومیر، بیشترین میزان مرگ‌ومیر را نشان داد. عصاره کشت جدایه‌های P4 و P1 هم به طور میانگین حدود ۵۰٪ مرگ‌ومیر را ایجاد کردند. عصاره کشت جدایه P2 و قارچ *I. farinosa* باعث حدود ۳۶٪ مرگ‌ومیر شدند (شکل ۲). غلظت‌های S، 10^{-1}، 10^{-2} عصاره کشت قارچ‌ها به ترتیب با ۴۸، ۳۴ و ۲۱ درصد مرگ‌ومیر با یکدیگر تفاوت معنی‌داری در سطح ۵٪ دارند. سه زمان ۲۴، ۴۸ و ۷۲ ساعت با ۲۸، ۳۵ و۴۲ درصد مرگ‌ومیر تفاوت معنی‌داری در سطح ۵٪ ایجاد کرده‌اند.

بررسی‌ها نشان می‌دهند که آنزیم‌های پروتئاز و کیتیناز (Mukhtar & Pervaz 2003) اسیداستیک (Djian *et al.* 1999) و پاسیلوتوکسین (Fukushima *et al.* 1989) توسط قارچ *P. lilacinus* در محیط کشت مایع تولید می‌گردد. میزان آنزیم‌های پروتئاز و کیتیناز بعد از گذشت ۱۴ روز در محیط کشت مایع به حداکثر می‌رسد و رابطه مستقیمی بین تولید این آنزیم‌ها و میزان مرگ‌ومیر نوزادان سن دوم نماتود وجود دارد (Goratari *et al.* 2008). اسید استیک باعث کاهش قدرت تحرک نوزادان سن دوم در محیط می‌شود، عدم تحرک در زمان آلودگی به وسیله ریسه‌های قارچ اهمیت زیادی دارد (Djian *et al.* 1999). ترکیبات سمی بسیاری توسط قارچ *P. lilacinus* تولید می‌شود که به طور کامل شناخته نشده‌اند ولی ممکن است، روی سیستم عصبی نماتود تأثیر گذار باشند (Mukhtar & Pervaz 2003). در تحقیقات *خان و گوسوامی* (Khan & Goswami 1999) تا ۷۷٪ مرگ‌ومیر در نوزادان سن دوم نماتود *M. incognita* در عصاره کشت یک جدایه قارچ *P. lilacinus* نشان داده شد و با گذشت زمان pH عصاره کشت تغییر کرد و سمیت برای نماتودها کاهش یافت. این در حالی است که بیشترین مرگ‌ومیر نوزادان سن دوم نماتود *M. javanica* در این مطالعه ۶۴٪ بود، که این اختلاف به دلیل تفاوت اثر جدایه‌های مختلف

www.SID.ir



شکل ۲. اثر عصاره سیب زمینی-دکستروز کشت چهار جدایه از قارچ *Paecilomyces lilacinus* و یک جدایه از قارچ *Isaria farinosa* روی مرگ‌ومیر نوزادان سن دوم (J_2) نماتود ریشه‌گرهی *Meloidogyne javanica* در شرایط آزمایشگاه در مجموع زمان‌ها.

Fig 2. Effect of the PDB culture filtrate of four isolates of *Paecilomyces lilacinus* and an isolate of *Isaria farinosa* on mortality of the root-knot nematode juveniles of *Meloidogyne javanica* in *vitro* conditions in total times.

اعداد، میانگین چهار تکرار هر تیمار می‌باشند.

Mean of the four replicates.

اعداد دارای حروف مشابه در سطح ۵٪ بر اساس آزمون LSD معنی‌دار نیستند.

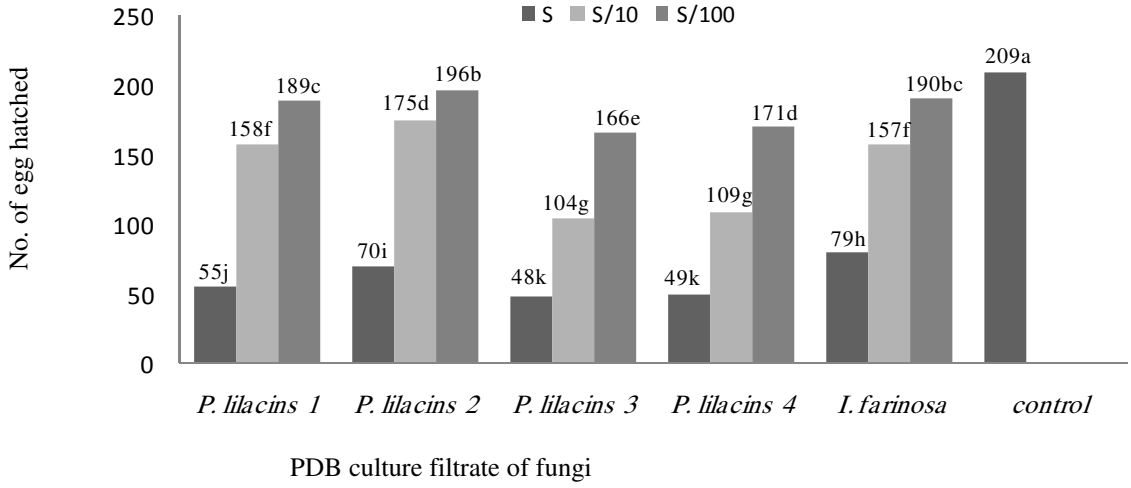
Number with the same letters are not significantly different at 5% level according to LSD test.

قارچ و تفاوت گونه‌های نماتود مورد آزمایش می‌باشد، زیرا تفاوت اثر سمیت قارچ *P. lilacinus* روی گونه‌های مختلف نماتود به وسیله *کایرول و همکاران* (Cayrol *et al.* 1989) نیز به اثبات رسیده است. *ردی و همکاران* (Reddi *et al.* 2008) بیان داشتند با کاهش غلظت عصاره کشت قارچ‌ها درصد مرگ‌ومیر به شدت کاسته شده‌است، در حالی که در این پژوهش در غلظت 10^{-1} از جدایه‌های P3، P4 و P1 حدود ۴۰ درصد مرگ‌ومیر ایجاد شده است.

اثر عصاره کشت چهار جدایه از قارچ‌های *P. lilacinus* و یک جدایه *I. farinosa* روی تفریخ تخم‌های درون کیسه‌های تخم نماتود ریشه‌گرهی *M. javanica*

عصاره کشت جدایه‌های P3 و P4 به دلیل بیشترین کاهش در تفریخ تخم مؤثرتر تشخیص داده شدند. حتی عصاره کشت ده برابر رقیق شده این جدایه هم تا حد زیادی توانست از تفریخ تخم‌ها جلوگیری نماید. عصاره کشت جدایه‌های P2 و P1 هم تا حدی از تفریخ تخم‌ها جلوگیری کردند. کمترین تأثیر روی تفریخ تخم هم مربوط به عصاره کشت قارچ *I. farinosa* بود، که این قارچ هم در هر سه غلظت با آب مقطر تفاوت معنی‌داری در سطح ۵٪ دارد (شکل ۳). سه غلظت عصاره کشت قارچ‌ها در سطح ۵٪ با یکدیگر تفاوت معنی‌داری دارند و کاهش غلظت عصاره کشت، باعث کاهش اثر مؤثر روی جلوگیری از تفریخ تخم‌ها شده‌است. تیمارها در سه زمان دو، چهار و شش روز با یکدیگر تفاوت معنی داری در سطح ۵٪ دارند و در زمان‌های شش و هشت روز با یکدیگر تفاوت معنی‌داری ندارند، که نشان از تأثیر موقت عصاره کشت قارچ‌هاست.

Archive of SID
www.SID.ir



شکل ۳. اثر عصاره سیب زمینی- دکستروز کشت چهار جدایه از قارچ *Paecilomyces lilacinus* و یک جدایه از قارچ *Isaria farinosa* روی تفریخ تخم‌های نماتود ریشه‌گرهی *Meloidogyne javanica* در شرایط آزمایشگاه در مجموع زمان‌ها.

Fig. 3. Effect of the PDB culture filtrate of four isolates of *Paecilomyces lilacinus* and an isolate of *Isaria farinosa* on hatching eggs of the root-knot nematode, *Meloidogyne javanica* in *vitro* condition in total times.

اعداد، میانگین چهار تکرار هر تیمار می باشند.

Mean of the four replicates.

اعداد دارای حروف مشابه در سطح ۵٪ بر اساس آزمون LSD معنی‌دار نیستند.

Number with the same letters are not significantly different at 5% level according to LSD test.

آنزیم‌های پروتئاز و کیتیناز موجود در عصاره کشت PDB قارچ‌های *P. lilacinus* باعث ایجاد حفره و تغییر در ساختار لایه‌های دیواره تخم می‌شود (Khan & Goswami 2000). هم‌چنین نفوذ عصاره به داخل تخم سبب تغییر شکل جنین و مرگ آن می‌گردد (Goratari *et al*. 2008). علاوه بر اثر مواد سمی و آنزیم‌های از بین برنده لایه‌های تخم موجود در عصاره کشت قارچ‌ها، با توجه به امکان عبور اسپور قارچ‌ها از کاغذ صافی مورد استفاده در عصاره‌گیری، کاهش تفریخ تخم‌های نماتود می‌تواند هم‌چنین به سبب انگلی شدن مستقیم تخم‌ها به وسیله قارچ‌ها باشد. در این آزمایش چهار جدایه *P. lilacinus* روی تعداد تخم تفریخ شده با یکدیگر تفاوت دارند، که با نتایج آزمایشات *وردجولوکاس* و همکاران (Verdejo-Lucas *et al*. 2009) که تفاوت در اثر عصاره کشت جدایه‌های قارچ *P. lilacinus* روی تفریخ تخم‌ها را نشان می‌دهد، مطابقت دارد. به طور کلی جدایه P3 از *P. lilacinus* در تمامی آزمون‌های آزمایشگاهی موفق عمل کرد که نشان از قدرت بالای انگلی کردن و تولید طیف وسیع انواع آنزیم‌ها و سموم مؤثر روی مراحل مختلف زندگی نماتود ریشه‌گرهی *M. javanica* می‌باشد.

نتایج آزمایش گلخانه‌ای

اثر چهار جدایه قارچ *P. lilacinus* و یک جدایه از قارچ *I. farinosa* روی رشد گیاه گوجه فرنگی

گیاهان گوجه‌فرنگی تیمار شده با چهار جدایه قارچ

www.SID.ir

P. lilacinus و یک جدایه از قارچ *I. farinosa* با گیاه گوجه‌فرنگی بدون تیمار، از نظر وزن تر و خشک و طول اندام‌های هوایی و ریشه تفاوت معنی‌داری در سطح ۵٪ نداشتند.

اثر چهار جدایه قارچ *P.lilacinus* و یک جدایه از قارچ *I. farinosa* روی رشد گیاه گوجه فرنگی در خاک آلوده به نماتود ریشه‌گرهی *M. javanica*

گیاهان دارای خاک بدون تیمار و دارای تیمار فقط نماتود به ترتیب بیشترین و کمترین رشد ساقه و ریشه را نشان می‌دهند و با بقیه گیاهان دارای تیمار نماتود همراه با قارچ تفاوت معنی‌داری در سطح ۵٪ دارند، گیاهان دارای تیمار نماتود همراه قارچ‌های جدایه P3 و P4 تقریبا میزان رشد یکسانی را نشان می‌دهند و کاهش شاخص‌های رشد در این دو تیمار نسبت به تیمار فقط نماتود خیلی کمتر بوده است، گیاهان گوجه‌فرنگی دارای تیمار نماتود همراه با جدایه‌های P1، P2 و قارچ *I. farinosa* هم تقریبا از نظر شاخص‌های رشد ریشه و ساقه یکسان عمل کرده‌اند. تیمار دانه گندم فاقد قارچ هم از نظر شاخص‌های رشدی با شاهد آلوده به نماتود مشابه عمل کرده است (جدول ۳).

اثر چهار جدایه‌ی قارچ *P.lilacinus* و یک جدایه از قارچ *I. farinosa* در کاهش آلودگی گیاه گوجه فرنگی آلوده به نماتود ریشه‌گرهی *M. javanica*

تیمار نماتود همراه با جدایه P3 کمترین آلودگی ناشی از نماتود ریشه‌گرهی را نشان می‌دهد، تعداد گال، کیسه تخم، تعداد تخم موجود در هر کیسه‌تخم و شاخص گال در این گیاهان به میزان زیادی کاهش یافته و تفاوت چشمگیر و معنی‌داری در سطح ۵٪ با بقیه تیمارها دارد. جدایه‌های P4 و P1 هم تاحدی توانستند تعداد گال، تعداد کیسه‌تخم، تعداد تخم داخل هر کیسه‌تخم و شاخص گال را در سیستم ریشه کاهش دهند و تفاوت معنی‌داری در سطح ۵٪ با بقیه تیمارها ایجاد کنند. جدایه P2 و قارچ *I. farinosa* شاخص‌های بالایی از آلودگی به نماتود را نشان می‌دهند. گیاهان فقط دارای تیمار نماتود و گیاهان دارای تیمار دانه گندم فاقد قارچ و نماتود هم از نظر تعداد گال، تعداد کیسه‌تخم، تعداد تخم موجود در هر کیسه‌تخم و شاخص گال و جمعیت نوزاد سن دوم در خاک با بقیه تیمارها تفاوت معنی‌داری در سطح ۵٪ داشته و بیشترین میزان آلودگی به نماتود را دارند (جدول ۴).

اثر چهار جدایه قارچ *P.lilacinus* و یک جدایه از قارچ *I. farinosa* روی شاخص جمعیت نماتود ریشه‌گرهی *M. javanica*

تیمار نماتود همراه با جدایه P3 کمترین جمعیت نهایی نماتود، شاخص تولید مثل و درصد تکثیر را نشان می‌دهد، این جدایه قارچ حدود ۶۵ ٪ توانسته جمعیت نماتود را در شرایط گلخانه مهار نماید، که با بقیه تیمارها تفاوت معنی‌داری در سطح ۵٪ دارد. جدایه‌های P4 و P1 حدود۴۰ ٪ جمعیت نماتود را مهار نمودند و از نظر جمعیت نهایی و شاخص تولیدمثل هم مانند هم عمل کردند، ولی با بقیه، تفاوت معنی‌داری در سطح ۵٪ دارند. جدایه P2 و قارچ *I. farinosa* حدود ۲۵ ٪ جمعیت نماتود را مهار نمودند. این دو تیمار از نظر کاهش جمعیت نماتود مشابه عمل کردند. گیاهان فقط دارای تیمار نماتود و تیمار دانه گندم فاقد قارچ همراه با نماتود، بیشترین شاخص‌های جمعیت نماتود را نشان می‌دهند (جدول ۵).

Archive of SID

www.SID.ir

جدول ۳. اثر چهار جدایه از قارچ *Paecilomyces lilacinus* و یک جدایه از قارچ *Isaria farinosa* روی رشد گیاه گوجه فرنگی در خاک آلوده به نماتود ریشه‌گرهی *Meloidogyne javanica*

Table 3. Effect of four isolates of *Paecilomyces lilacinus* and an isolate of *Isaria farinosa* on the growth of tomato plants in infested soil by the root-knot nematode, *Meloidogyne javanica*

طول ساقه Length shoot (cm)	وزن تر ساقه Fresh weight shoot(g)	وزن خشک ساقه Dry weight shoot(g)	طول ریشه Length root(cm)	وزن تر ریشه Fresh weight root(g)	وزن خشک ریشه Dry weight root(g)
67.33 a	54.14 a	7.23 a	64 a	25.17 a	2.53 a
25.66 e	12.04 f	3.37 c	21 e	6.6 c	1.09 d
36 cd	39.75 c	4.99 b	47.33 bc	12.31 b	1.59 c
31.33 d	25.42 e	3.53 c	35 d	11.46 b	1.5 c
44 b	42.92 c	5.56 b	52.33 b	24.98 a	2.47 ab
43.66 b	46.74 b	5.88 b	45.33 c	23.64 a	2.23 b
36.33 c	31.14 d	4.97 b	30.33 d	10.6 b	1.5 c
25.5 e	12 f	3.4 c	21.2 e	6.5 c	1 d

اعداد، میانگین چهار تکرار هر تیمار می‌باشند.

Mean of the four replicates.

اعداد دارای حروف مشابه در هر ستون در سطح ۵٪ بر اساس آزمون LSD معنی دار نیستند.

Number with the same letters in each column are not significantly different at 5% level according to LSD test.

تعداد پروپاگول (CFU) چهار جدایه قارچ *P.lilacinus* و یک جدایه از قارچ *I. farinosa* در هر گرم خاک

با محاسبه تعداد پروپاگول در هر گرم خاک مشخص می‌شود، که کلیه جدایه‌های قارچی توانایی زنده ماندن در مدت زمان آزمایش را دارند، ولی تعداد پروپاگول (CFU) چهار جدایه قارچ *P.lilacinus* و یک جدایه از قارچ *I. farinosa* در هر گرم خاک گلدان‌ها در پایان آزمایش تفاوت معنی‌داری در سطح ۵٪ ندارد (جدول ۵) در نتیجه با توجه به عدم تفاوت معنی‌دار در جمعیت جدایه‌های قارچی در خاک، اختلاف در میزان مهار نماتودها به خصوصیات ژنتیکی و استفاده از مکانیسم‌های مختلف در هریک از این جدایه‌های قارچی برمی‌گردد.

قارچ *P. lilacinus* با ایجاد آنزیم‌ها و ترکیبات ضد نماتودی و هم‌چنین اثر مستقیم قارچ روی مراحل مختلف زندگی نماتود به عنوان یک عامل مهار زیستی موفق نماتودهای انگل گیاهی شناخته می‌شود (Bhat *et al.* 2009). این قارچ در داخل خاک با حمله به ماده‌های بالغ روی سطح ریشه از توانایی تخم‌گذاری آنها تا حد زیادی می‌کاهد و با نفوذ به داخل کیسه‌های تخم نماتود ریشه‌گرهی سبب آلودگی تخم‌ها و جلوگیری از تفریخ تخم‌های آنها می‌گردد (Oclarit *et al.* 2009). در بررسی‌های گلخانه‌ای در این پژوهش، اثر جدایه‌های قارچ روی رشد گیاه مورد آزمایش قرار گرفت و مشخص شد، تغییری در میزان رشد گیاه ایجاد نمی‌کنند، که می‌توان نتیجه گرفت کاربرد این قارچ در خاک زیانی برای گیاه میزبان ندارد، که با نتایج آزمایشات *کابانیلاس و همکاران*

www.SID.ir

جدول ۴. تاثیر چهار جدایه قارچ *Paecilomyces lilacinus* و یک جدایه از قارچ *Isaria farinosa* در کاهش آلودگی نماتود ریشه گرهی *Meloidogyne javanica* روی گوجه فرنگی

Table 4. Effect of four isolates of *Paecilomyces lilacinus* and an isolate of *Isaria farinosa* on the reduction of infestation of the root-knot nematode, *Meloidogyne javanica* on tomato plants.

تیمار Treatment	تعداد گال در یک گرم ریشه No. of gall/1 gr root	تعداد کیسه تخم در یک گرم ریشه No. of eggmass/1 gr root	تعداد تخم داخل هر کیسه تخم No. of Eggs/eggmass	شاخص گال[1] Gall index (0-5 scale)	جمعیت نوزاد سن دوم(J_2) در ۲۰۰ گرم خاک J_2 soil population/200 gr soil
M. javanica	72.33 a	63 a	179.66 a	4.16 a	4644 a
M. javanica + *P. lilacinus* (P1)	30.66 cd	31 c	103 d	2.86 cd	3148.7 c
P. lilacinus (P2)	35 c	38.33 b	120.33 c	2.96 c	3253.3 c
P. lilacinus (P3)	17 e	10.33 e	84.66 e	2 e	2346 e
P. lilacinus (P4)	24 ed	19 d	95.66 d	2.5 d	2608.6 d
I. farinosa	48.66 b	39 b	143 b	3.56 b	3878 b
Wheat seed	71.76 a	62.1 a	180 a	3.91 a	4542 a

اعداد، میانگین چهار تکرار هر تیمار می‌باشند.

Mean of the four replicates.

اعداد دارای حروف مشابه در هر ستون در سطح ۵٪ بر اساس آزمون LSD معنی دار نیستند.

Number with the same letters in each column are not significantly different at 5% level according to LSD test.

۱. شاخص گال صفر=عدم وجود گال، ۱=۱–۲ گال، =۳–۱۰ گال، ۳=۱۱–۳۰ گال، ۴=۳۱–۱۰۰ گال، ۵=بیش از ۱۰۰ گال در سیستم ریشه.

1. Gall index 0=0 galls, 1=1-2 galls, 2=3-10 galls, 3=11-30 galls, 4=31-100 galls, 5=more than 100 galls per root system.

(Cabaniilas *et al.* 1988) مطابقت دارد. در بررسی‌های دیگری که در خاک آلوده به نماتود انجام شد، جدایه P3 که در آزمون‌های آزمایشگاهی بیشترین موفقیت را داشت، در شرایط گلخانه‌ای هم توانست تا حد قابل قبولی نماتود را مهار کند، که نشان از سازگاری آن با محیط و توانایی بقا و قدرت رقابت با دیگر میکروارگانیسم‌های موجود در خاک را دارد. جدایه P3 با مهار جمعیت نماتود ریشه‌گرهی در خاک، شاخص‌های آلودگی ریشه شامل تعداد گال و کیسه تخم و شاخص‌گال در ریشه را کاهش داد و به همان نسبت هم شاخص‌های رشدی گیاه گوجه فرنگی افزایش یافت، اگرچه از نظر شاخص‌های رشدی با تیمار سالم در یک گروه آماری قرار نگرفتند ولی تفاوت ناچیزی بین آنها وجود دارد. جدایه‌های P1 و P4 نیز میزان جمعیت نماتود را به نصف کاهش دادند و از میزان خسارت نماتود تا حد زیادی کاستند. تیمار دانه گندم فاقد قارچ به همراه نماتود کاهش چشمگیر شاخص‌های رشدی در اثر خسارت نماتود را نشان داد، که حاکی از عدم تأثیر این میزان دانه گندم (ماده بستره قارچ) در مهار نماتود می‌باشد. قابل ذکر است هدف از مهار نماتود نزدیک شدن به حد آستانه اقتصادی خسارت نماتود بوده، که می‌توان نتیجه

Archive of SID

www.SID.ir

جدول۵. تاثیر چهار جدایه قارچ *Paecilomyces lilacinus* و یک جدایه از قارچ *Isaria farinosa* روی شاخص‌های جمعیت نماتود ریشه‌گرهی *Meloidogyne javanica* در شرایط گلخانه و تعداد پروپاگول قارچ در هر گرم خاک.

Table 5. Effects of four isolates of *Paecilomyces lilacinus* and one isolate of *Isaria farinosa* on the population factor of the root-knot nematode, *Meloidogyne javanica* in greenhouse conditions and colony forming unit (CFU) of fungi per gram soil.

تیمار Treatment	تعداد پروپاگول قارچ در گرم خاک CFU/gr soil	جمعیت نهایی Final population (PF)	شاخص تولیدمثل[1] Reproductive factor (RF)	درصد تکثیر نماتود[2] Multiplication rate (Mr%)	درصد کنترل نماتود[3] Nematode control%
M. javanica	0 b	97943 a	24.48 a	100 a	0 d
M. javanica+					
P. lilacinus (P1)	2.6×10^5 a	54829 c	13.7 c	55.9 c	44.1 b
P. lilacinus (P2)	2.1×10^5 a	69309 b	17.32 b	70.75 b	29.25 c
P. lilacinus (P3)	2.7×10^5 a	33622 d	8.4 d	34.32 d	65.67 a
P. lilacinus (P4)	2.9×10^5 a	56231 c	14.05 c	57.39 c	42.61 b
I. farinosa	2.2×10^5 a	75291 b	18.82 b	76.87 b	23.13 c
Wheat seed	0 b	96651 a	24.16 a	98 a	2 d

اعداد، میانگین چهار تکرار هر تیمار می باشند.

Mean of the four replicates.

اعداد دارای حروف مشابه در هر ستون در سطح ۵ ٪ بر اساس آزمون LSD معنی دار نیستند.

with the same letters in each column are not significantly different at 5% level according to LSD test.

۱. RF: نسبت جمعیت نهایی به اولیه نماتود، جمعیت اولیه ۴۰۰۰ تخم و نوزاد سن دوم (J_2) است. $Rf = \frac{Pf}{Pi}$

۲. Mr%: نسبت Pf هر تیمار به Pf تیمار فقط نماتود در صد.

۳. درصد کنترل نماتود: ۱۰۰- درصد تکثیر نماتود.

گرفت سه جدایه P3، P4 و P1 تا حدی ما را در شرایط گلخانه‌ای در رسیدن به این مقصود نزدیک کرده‌اند، ولی جدایه‌های P2 و قارچ *I. farinosa* در مهار نماتود موفق عمل نکرده‌اند. امید است با ادامه بررسی‌ها بتوان، کارایی این جدایه‌ها را در کنترل جمعیت نماتود ریشه‌گرهی در شرایط مزرعه‌ای نیز به اثبات رسانید.

سپاسگزاری

از کارشناسان گروه گیاهپزشکی دانشگاه صنعتی اصفهان به خاطر فراهم کردن امکان اجرای قسمتی از آزمایشات در این دانشگاه و هم‌چنین از آقای دکتر رسول زارع، خانم دکتر صدیقه فاطمی و آقای مهندس مجید پاک نیت که جدایه‌های قارچ را در اختیار قرار دادند، کمال تشکر را داشته و از همکاری آقای مهندس مهدی خدایی و خانم‌ها مهندس المیرا هادی علیجانوند و مهندس فاطمه سهرابی در اجرای این طرح، تقدیر و تشکر می‌شود.

منابع

جهت ملاحظه به صفحات (67-65) متن انگلیسی مراجعه شود.

www.SID.ir