تأثیر متقابل نماتد مولد زخم ریشه *(Pratylenchus vulnus)* و دو گونه فوزاریوم بر رشد نهال‌های افراپلت در منطقه بهشهر مازندران

احمد خیری[۱]، علی برهانی[۲]، سید محمود اخوت[۱] و حسن اشتیاقی[۱]

چکیده

در بررسی نهال‌های افراپلت در خزانه، که علایم کم رشدی، ضعف عمومی و کوتولگی نشان می‌دادند، نماتد مولد زخم ریشه و دو گونه قارچ فوزاریوم سولانی و فوزاریوم اکسیسپوروم از ریشه‌های آلوده جدا شد. اثر متقابل نماتد مولد زخم و قارچ‌های فوزاریوم در چارچوب طرح کاملاً تصادفی با شش تیمار و چهار تکرار در شرایط گلخانه بررسی شد. نماتدهای جدا شده از ریشه پس از سترون کردن در محیط کشت دیسک هویج به میزان کافی تکثیر گردید و ٤٠ نماتد در حجم ۱۰۰ سانتی‌متر مکعب (۵۲۰ عدد در ۱۳۰۰ cc) خاک نهال‌های دو برگی افراپلت افزوده شد.

نتایج نشان داد که اختلاف معنی‌داری در سطح ۱٪ بین تیمارهای مختلف وجود دارد. در تیمار نماتد تنها، هفت ماه پس از مایه‌زنی بیشترین کاهش رشد و ۷۵٪ مرگ و میر نهال‌ها دیده شد، و جمعیت نماتد در گرم خاک و بافت ریشه به ترتیب به ۱۱/۲ و ۱۲٦٦ عدد رسید. در تیمار توأم نماتد و قارچ، اثر تخریبی نماتد در گیاه کاهش یافت و جمعیت آن در بافت ریشه و خاک کمتر از تیمار نماتد تنها بود. یعنی قارچ اثر کنترل کنندگی بر نماتد داشت، و مشخص شد که این اثر در قارچ فوزاریوم اکسیسپوروم بیشتر از گونه دیگر است.

واژه‌های کلیدی: ***افرا، نماتد مولد زخم ریشه، فوزاریوم اکسیسپوروم، فوزاریوم سولانی، تأثیر متقابل***

مقدمه

گونه‌های جنس *Fusarium* از مهم‌ترین قارچ‌های خاکزی‌اند که در سراسر دنیا پراکنده هستند. این قارچ‌ها به بسیاری از گیاهان زراعی، باغی، زینتی، جنگلی و مراتع حمله کرده و موجب خسارت می‌شوند. وجود گونه‌ها و فرم‌های اختصاصی متفاوت و به ویژه تولید زهرابه (Mycotoxin) این قارچ‌ها، در مواد غذایی انسان و دام، باعث شده است که دانشمندان بسیاری به بررسی جنبه‌های مختلف طبقه‌بندی، شناسایی، بیولوژی،

۱. به ترتیب دانشیار، استاد و دانشیار گیاه‌پزشکی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه تهران
۲. پژوهشگر ایستگاه تحقیقات جنگل و مرتع پاسند، بهشهر، مازندران

[Downloaded from jstnar.iut.ac.ir on 2026-11-17]

[DOR: 20.1001.1.24763594.1382.7.3.16.4]

اکولوژی و بیماری‌زایی آنها بپردازند (٦ و ٢٦).

بیمارگرها سبب بروز عوارض گوناگونی چون پوسیدگی ریشه یا بخش‌های هوایی گیاه، گرفتگی آوندی، درجات مختلف کاهش رشد و زردی، و بالاخره مرگ گیاه می‌شوند. گروهی از این قارچ‌ها به صورت پوده‌زی در خاک حضور داشته و در اکوسیستم خاک، تبدیل مواد آلی و معدنی خاک به مواد غذایی مورد استفاده گیاهان، و نیز در اصلاح فیزیکی خاک نقش بسزایی دارند. برخی از گونه‌های جنس فوزاریوم نیز به صورت مهاجمان ثانویه عمل می‌کنند. در مواردی یک قارچ ممکن است در یک میزبان به عنوان عامل بیماری‌زا و در میزبان دیگر یک مهاجم ثانویه باشد (٦).

از جمله عوامل مهم و خسارت‌زایی که در نهالستان‌های جنگلی کمتر توجه شده است، نماتدها هستند. آنها در اکوسیستم خاک نیز بسیار نقش دارند (٤، ٥ و ١٧). نماتدهای مولد زخم ریشه (Root-lesion nematode, *Pratylenchus* spp.) یکی از مهم‌ترین و مخرب‌ترین عوامل بیماری‌زای گیاهی به شمار می‌آیند. این نماتدها انگل مهاجر داخلی بوده و در تمام مراحل رشدی می‌توانند بین خاک و ریشه حرکت کنند. تغذیه آنها از ریشه سبب ایجاد زخم‌های قهوه‌ای شده و خسارت می‌زند (١٦، ٢٠ و ٢٣).

اهمیت نماتدهای مولد زخم ریشه تنها به خسارت مستقیم، که در بیشتر موارد سنگین خواهد بود، محدود نمی‌شود، زیرا آنها علاوه بر تنوع گونه، پراکندگی، میزان جمعیت، دامنه میزبانی وسیع و نیز ویژگی‌های انگلی خاص، با دیگر عوامل بیماری‌زای خاکزی در ارتباط می‌باشند. تاکنون قارچ‌های مختلفی از جنس‌های ورتیسیلیوم (*Verticillium*)، فوزاریوم (*Fusarium*)، تریکودرما (*Trichoderma*)، فیتوفترا (*Phytophthora*)، پی‌تیوم (*Pythium*)، آفانومیسس (*Aphanomyces*) و سیلندروکارپون (*Cylindrocarpon*) در ریشه‌های گیاهان مختلف آلوده به این نماتدها دیده شده است (٢٤ و ٣١). در بیشتر موارد، نماتد، رشد قارچ و در نتیجه خسارت آن به گیاه را افزایش می‌دهد. گاهی اوقات رابطه ضدیت (آنتاگونیستیک) نیز بین آنها دیده شده است (٣٢). یکی از مهم‌ترین پیامدهای این نماتدها در گیاهان، از بین بردن مقاومت آنها در برابر دیگر عوامل بیماری‌زاست (٢٨ و ٣٠).

در زمینه اثر متقابل نماتدها و قارچ فوزاریوم بر افرا گزارشی در دسترس نیست. ولی در بارهٔ اثر متقابل نماتد مولد گره ریشه و قارچ ورتیسیلیوم بر افرا گزارشی وجود دارد (٢٩). بین نماتد مولد گره و قارچ ورتیسیلیوم داهلیه (*Verticillium dahliae*) تأثیر افزایشی (سینرژیستی) دیده شده است (١١).

در بررسی مقدماتی از خزانه افراپلت و شیردار، که باعث ضعف و مرگ و میر نهال‌ها (تا ٢٠٪) در نهالستان جنگلی چلمردی منطقه نکا شده بود، بارها نماتد مولد زخم ریشه و قارچ فوزاریوم از ریشه نهال‌ها جدا شد. نخستین نشانه‌های آلودگی پس از سبز شدن گیاهچه‌ها در مرحله دو تا چهار برگی آشکار می‌شود. گیاهچه‌هایی که در نقاط آلوده سبز شده بودند، کاهش رشد شدید نشان دادند، که با مرگ گیاهچه‌ها همراه بود، و در نگاه نخست ممکن بود با مرگ گیاهچه (Damping-off) ناشی از عوامل قارچی اشتباه شود. علایم در نهال‌های آلوده نهالستان به صورت کاهش در سیستم ریشه دیده شد، به طوری که تنها به یک یا چند ریشه فرعی در نزدیکی طوقه محدود بود. گیاهچه‌هایی که از این مرحله جان به در برده‌اند، در مراحل بعدی با کاهش رشد و کوتولگی همراه‌اند. به طوری که نقاط آلوده در نهالستان کاملاً از دور مشخص است. بدین شکل که، نقاط آلوده به صورت قطعات تقریباً دایره‌ای شکل، به قطرهای متفاوت در داخل نهالستان دیده می‌شوند، که نهال‌ها در این قسمت نسبت به نقاط دیگر به مراتب کوتاه‌تر هستند. یا در اثر مرگ و میر نهال‌ها، نهالستان کچل، لخت و یا تراکم نهال آن نسبت به دیگر نقاط کمتر است.

در بررسی ریشه با بینوکولر، نقاط قهوه‌ای رنگ گرد ناشی از زخم دیده می‌شد، که با کمی دقت این زخم با چشم غیر مسلح نیز قابل رؤیت بود.

با توجه به اهمیت درختان افرا، بررسی میزان نقش هر یک از این عوامل در ایجاد عارضه، و یا شناخت عامل یا عوامل این

[Downloaded from jstnar.iut.ac.ir on 2026-11-17]

[DOR: 20.1001.1.24763594.1382.7.3.16.4]

عارضه ضروری بود. از آن جا که هر دو عامل (نماتد و قارچ) در ریشه نهال‌های بیمار دیده شد، در این پژوهش تأثیر حضور هم‌زمان و مقایسه آنها با حضور هریک از عوامل به تنهایی، به منظور شناخت علل بیماری، و نیز تأثیر متقابل آنها بررسی گردید.

مواد و روش‌ها

نمونه‌برداری

نمونه‌برداری از خزانه‌های یکساله و دوساله نهال‌های افرا پلت در نهالستان چلمردی انجام گرفت. هر نمونه شامل ریشه نهال‌های افرا و خاک اطراف آن بود، که نشانه‌های آشکار بیماری را به صورت ریزش برگ از پایین و خشکیدگی نشان می‌دادند. این نهال‌ها معمولاً کوتاه بوده و کاهش رشد داشتند. در آزمایشگاه، نمونه‌ها تا زمان استخراج نماتدها و یا کشت برای جدا سازی قارچ در یخچال (٤-٧ درجه سانتی‌گراد) نگهداری شد.

استخراج نماتدها از خاک

استخراج نماتدها با استفاده از قیف بیرمن و با روش تغییر یافته وایت‌هد و همینگ (به نقل از پورجم، ۱۳۷۷)، صورت گرفت. در این روش، روی الک‌های درشت (۱۰-۱٦ مش)، حدود ۳۰۰ گرم خاک به طور یک‌نواخت روی یک لایه نازک دستمال پارچه‌ای پخش می‌شود. سپس الک محتوی خاک در یک سینی قرار می‌گیرد، و آب اضافه می‌شود تا لایه نازکی از آن روی خاک را بپوشاند. پس از حدود ٢٤ ساعت، آب زیر دستمال در یک بشر یا استوانه مدرج ریخته شده، پس از حدود دو ساعت آب اضافی تخلیه می‌گردد. بدین وسیله نماتدها ته ظرف قابل استخراج می‌باشند.

استخراج نماتدها از ریشه گیاه میزبان

ریشه‌های آلوده افرا در آزمایشگاه نخست زیر شیر آب کاملاً شسته شد تا عاری از هر گونه جسم خارجی گردند. سپس ریشه‌های نازک و خشبی نشده به قطعات ۲-۳ سانتی‌متر تقسیم (به منظور سترون شدن سطحی، ریشه‌ها به مدت یک دقیقه در الکل ٦۰ درصد قرار داده می‌شدند) و با مقداری آب کافی در دستگاه خردکن برقی آزمایشگاهی به مدت ٤-٥ دقیقه با دور متوسط خرد شد. ریشه‌های خرد شده با مقدار کافی آب روی سینی وایت‌هد و همینگ ۱۹٦٥ به مدت چند روز قرار داده شد تا بتوان نماتدهای آن را جدا کرد (۳).

جداسازی قارچ از ریشه گیاه میزبان

برای جدا سازی قارچ‌های مورد نظر از ریشه نهال‌های افرا، که علایم آشکار آلودگی به نماتد و پوسیدگی را نشان می‌دادند، استفاده شد. برای این منظور، ریشه‌ها کاملاً شسته شد تا عاری از هر گونه جسم خارجی شوند. سپس به مدت ۳-٤ دقیقه در محلول هیپوکلریت سدیم ۱۰ درصد، یا حدود ۳۰ ثانیه در الکل اتیلیک ۹٦ درصد قرار گرفتند تا ضدعفونی سطحی آنها انجام پذیرد، و چند بار با آب مقطر استریل شست‌شو شدند (٦). آن گاه سه تا چهار قطعه ریشه به طول ٥-۱۰ میلی‌متر در محیط کشت سیب‌زمینی، دکستروز، آگار(PDA) در تشتک‌ها گذاشته شد (در شرایط محیطی سترون)، و برای رشد به انکوباتور با درجه حرارت متناوب ۲۰ درجه سانتی‌گراد شب و ۲۵ درجه سانتی‌گراد روز منتقل گردید.

قارچ‌های رشد کرده به منظور شناسایی، خالص‌کردن و تکثیر تک اسپور شده و روی محیط‌های غذایی مناسب کشت داده شد.

تهیه مایه تلقیح نماتد

تاکنون روش‌های مختلفی برای کشت نماتدهای انگل گیاهی به کار رفته است. نماتدهای انگل گیاهی برحسب نوع نماتد ممکن است در بافت‌ها یا اندام‌های یک یا چند گیاه متنوع قابل کشت باشند. در این بررسی از محیط کشت دیسک هویج، به منظور تکثیر نماتد مولد زخم ریشه استفاده شده است.

تهیه محیط کشت دیسک هویج از روش‌های پیشنهادی

[Downloaded from jstnar.iut.ac.ir on 2026-11-17]

[DOR: 20.1001.1.24763594.1382.7.3.16.4]

پژوهندگان مختلف (۳، ۱۵، ۱۸، ۲۵ و ۲۷) با تغییر مختصر استفاده شد. نخست ریشه هویج‌های سالم و تازه خوب شسته شد تا کاملاً تمیز شوند. سپس ریشه‌ها با استفاده از الکل اتیلیک ۹۶٪ به مدت ۱۰-۱۵ دقیقه سترون شده و از روی شعله چراغ الکلی عبور داده شد تا الکل اضافی کاملاً تبخیر شود. پس از پوست گیری هویج، به صورت دیسک‌هایی به ضخامت ۵-۸ میلی‌متر بریده و با استفاده از پنس سترون در داخل پتری‌های سترون کوچک (به قطر پنج سانتی‌متر) قرار داده شد. سپس دور پتری با پارافیلم (Parafilm) بسته شد و در انکوباتور با دمای ۲۱-۲۳ درجه سانتی‌گراد نگهداری گردید. پس از حدود یک هفته، محیط‌های کشت بررسی شده و در صورت آلوده بودن، نمونه‌های آلوده حذف شدند. نمونه‌هایی که کالوز روی آنها تشکیل شده بود آماده تلقیح نماتد بودند.

ضدعفونی نماتدها و انتقال آنها به محیط کشت

برای سترون کردن نماتدهای مورد بررسی بر طبق روش‌های ارائه شده (۳)، از محلول ۶۰۰۰ قسمت در میلیون ((PPM) سولفات استرپتومایسین (Streptomycin sulfate)، که برای این منظور مناسب است، استفاده شد. نماتدها در پتری کوچک حاوی محلول فوق به مدت ۲۴ ساعت در دمای اتاق قرار داده شده، سپس از اتاق خارج (برای آسانی کار، مایع روی نماتد به وسیلهٔ سرنگ سترون خارج شد) و به مدت ۲۴ ساعت در آب مقطر سترون قرار داده شد تا محلول اضافی از نماتد کاملاً شسته شود. با استفاده از یک بینوکولر (استریو میکروسکپ) در زیر هود سترون، ۱۵ تا ۲۰ نماتد از سنین مختلف، به وسیله سوزن سترون، در یک قطره آب، به دیسک‌های هویج سترون منتقل گردید. آن گاه، دور ظرف پتری با پارافیلم کاملاً بسته شد، و به انکوباتور (بدون نور و دمای ۲۲ درجه سانتی‌گراد) منتقل و هر هفته بررسی گردید. حدود دو ماه پس از کشت یا تلقیح، جمعیت نماتد در بافت ریشه هویج به اندازه کافی تکثیر شد. به منظور استخراج نماتد از بافت، نخست بافت‌ها به قطعات کوچک تقسیم و نماتد به روش تغییر یافته قیف برمن جدا شده، به عنوان مایه تلقیح به کار رفت (۳).

تهیه مایه تلقیح گونه‌های فوزاریوم

به منظور تهیه مایه تلقیح قارچ‌ها، از روش‌های پیشنهادی (۲) با مختصری تغییر استفاده شد. برای این منظور، به شیشه‌های در سمباده‌ای یک لیتری، ۱۲۵ گرم گندم با ۱۱۰ سانتی‌متر مکعب آب مقطر افزوده شد و شیشه‌ها در اتوکلاو با حرارت ۱۲۰ درجه سانتی‌گراد و فشار یک اتمسفر به مدت ۲۰ دقیقه سترون شدند. برای هر گونهٔ قارچ مورد آزمایش پنج شیشه در نظر گرفته شد و به هر شیشه قطعه‌ای از کشت هفت روزه فوزاریوم روی PDA افزوده، و در انکوباتور با دمای ۲۵ درجه سانتی‌گراد روشنایی و ۲۰ درجه سانتی‌گراد تاریکی قرار داده شد. پس از گذشت ۲۵ روز از هنگام تلقیح، ریسه‌های قارچ تمامی دانه‌های گندم را فرا گرفت، به طوری که می‌شد آنها را به عنوان مایه تلقیح قارچ به کار برد.

افزودن مایه تلقیح قارچ و نماتد به خاک و کاشت نهال‌های افراپلت

در این بررسی، خاک مورد استفاده مخلوطی از ماسه، کود حیوانی کاملاً پوسیده و خاک مزرعه به نسبت یک سوم بود. نخست خاک مزبور به نسبت ۹ به یک با مایه تلقیح قارچ به طور جداگانه مخلوط، و سپس در گلدان‌های پلاستیکی با حجم حدود ۱۳۰۰ سانتی‌متر مکعب ریخته شد. به ترتیبی که نصف حجم هر گلدان شامل خاک بدون قارچ و نصف حجم بالایی آن شامل مخلوط خاک و مایه تلقیح قارچ بود. بلافاصله نهال‌های دو برگی با دقت از جعبه خزانه نهال به گلدان‌ها منتقل و به آرامی آبیاری گردید.

چهار روز پس از انتقال نهال‌ها به گلدان‌ها و مایه‌زنی با قارچ، مایه‌زنی با نماتد نیز انجام شد. مایه‌زنی با نماتد به میزان ۴۰ نماتد در هر ۱۰۰ سانتی‌متر مکعب خاک (۰/۴ نماتد به ازای هر سانتی‌متر مکعب خاک) صورت گرفت، و برای هر گلدان ۱۳۰۰ سانتی‌متر مکعبی، حدود ۵۲۰ نماتد در ۱۰ میلی‌لیتر آب

[Downloaded from jstnar.iut.ac.ir on 2026-11-17]

[DOR: 20.1001.1.24763594.1382.7.3.16.4]

مقطر به خاک اطراف هر نهال در گلدان به وسیله پیپت افزوده شد.

طرح آماری

طرح به صورت کاملاً تصادفی با چهار تکرار و شش تیمار انجام شد. هر تکرار شامل یک نهال گلدانی بود. تیمارها عبارت بودند از: ۱. شاهد بدون قارچ و نماتد، ۲. نماتد تنها، ۳. قارچ فوزاریوم سولانی (*Fusarium solani*) تنها، ٤. قارچ فوزاریوم اکسیسپوروم (*Fusarium oxysporum*) تنها، ٥. نماتد و قارچ فوزاریوم اکسیسپوروم با هم و ٦. نماتد و قارچ فوزاریوم سولانی با هم.

آزمایش در گلخانه شیشه‌ای یک‌طرفه رو به جنوب واقع در ایستگاه تحقیقات جنگل و مرتع پاسند بهشهر اجرا شد. عملیات مراقبت و نگهداری، شامل آبیاری و نصب سایبان در تابستان و آبیاری بر حسب نیاز در فواصل نامنظم، به طوری که آب از زیر گلدان جاری نشود، انجام شد.

پس از مایه‌زنی، به طور روزانه یا با فواصل نامنظم از نهال‌ها بازدید شد، و پس از گذشت حدود ٤٥ روز از مایه‌زنی نماتدها، نهال‌های افراپلت که اولین علایم در آنها دیده شد، یادداشت گردید. در یادداشت برداری، علایم مختلف مانند شادابی گیاه، علایم روی برگ و ارتفاع گیاه ثبت می‌شد. یادداشت برداری به فواصل معمولاً یک ماهه تکرار می‌شد. در پایان فصل رشد (اوایل آبان‌ماه) گیاهان باقی‌مانده از خاک خارج، رشد ریشه و علایم آن ثبت، و نیز شمار نماتد در بافت ریشه و خاک تعیین شد.

در پایان، میانگین‌های هر تیمار با استفاده از آزمون دانکن مقایسه گردید.

نتایج

شناسایی و تشخیص گونه قارچ‌های فوزاریوم

در این بررسی از دو سیستم طبقه‌بندی استفاده شده است (۸ و ۲٦). بر این اساس، قارچ‌های فوزاریوم جدا شده از ریشه‌های افرای آلوده به نماتد مولد زخم، دو گونه با مشخصات زیر تشخیص داده شد.

مشخصات شکل‌شناسی گونه فوزاریوم سولانی

قطر کنیدی‌های این گونه فوزاریوم در محیط کشت PDA پس از سه روز در ۲۵ درجه سانتی‌گراد ۲/۲ سانتی‌متر، شکل ظاهری کلنی در محیط از روی پتری به رنگ سفید پنبه‌ای و در زیر پتری به رنگ زرد تا زرد روشن بود. در این محیط تولید میکروکنیدی و ماکروکنیدی فراوان نبود؛ در محیط CLA (برگ میخک و آگار ۲٪) ماکروکنیدی روی اسپور دوخیوم کرم رنگ تولید شد. ماکروکنیدی‌ها بزرگ و دارای سه تا چهار دیواره عرضی، کمی خمیده، دارای سلول‌هایی با انتهای کمی گرد و یا کند بوده و روی فیالیدهای منفرد یا منشعب تولید شده‌اند. اندازه ماکروکنیدی‌ها ۲۳/٥×٤/۲ (۳/۸±۰/۸ × ۲۲±۸) میکرومتر بود.

میکروکنیدی‌ها تخم‌مرغی تا قهوه‌ای، معمولاً یک سلولی و گاهی دو سلولی، به اندازه ۳×۱٦ (۱۲±٤/٦×۰/۸±۳/۲) میکرومتر بود. میکروکنیدی‌های اولیه روی کنیدی‌برهای جانبی تشکیل شده‌اند، که ممکن است این کنیدی‌ها دارای فیالیدهای طویل باشند که به طرف نوک کمی باریک شده‌اند. میکروکنیدی‌برهای بعدی به میزان زیادی منشعب شده و بسیار طویل (۱۲۰ میکرومتر) بودند. میکروکنیدی‌ها عمدتاً به صورت مجتمع یا سرهای دروغین (False-head) یافت می‌شوند. کلامیدوسپورها در محیط برگ میخک آگار، به فراوانی تشکیل شدند. کلامیدوسپورها به صورت انتهایی و یا میانی سلول‌های ریسه و کنیدی‌ها تشکیل می‌شوند، که به ترتیب تخم‌مرغی یا تقریباً گرد بودند و به صورت انفرادی و یا جفت دیده می‌شوند. کلامیدوسپورها مرحله مقاوم فوزاریوم سولانی در خاک هستند، و معمولاً در خاک و محیط‌های غذایی ضعیف تشکیل می‌شوند.

مشخصات شکل شناسی گونه فوزاریوم اکسیسپوروم

قطر کلنی این قارچ در محیط کشت PDA، پس از سه روز در

[Downloaded from jstnar.iut.ac.ir on 2026-11-17]

[DOR: 20.1001.1.24763594.1382.7.3.16.4]

دمای ۲۵ درجه سانتی‌گراد ۲/۷ سانتی‌متر بود. شکل ظاهری کلنی در سطح پتری با ریسه‌های هوایی فراوان، به رنگ سفید با رنگ‌دانه‌های بنفش تا ارغوانی، در زیر پتری نیز رنگ محیط به‌صورت قهوه‌ای تیره تا خرمایی متمایل به بنفش دیده می‌شد. ماکروکنیدی‌ها فراوان و داسی شکل، دارای سه تا پنج دیواره عرضی و ابعاد ۰/٤ ± ۳/٦ × ۷/٦ ± ۲٦ میکرومتر بودند.

میکروکنیدی‌ها، که به فراوانی در محیط کشت تولید می‌شوند، عموماً به صورت مجتمع یا سرهای دروغین و روی منوفیالیدهای کوتاه (در مقایسه با فوزاریوم سولانی) تشکیل شدند. اندازه آنها ۲/٤×٦/۹ (۳/۸±۸/٤×۰/٤±۲/۸) میکرومتر، یک سلولی، گاهی دو سلولی، تخم‌مرغی شکل تا قلوه‌ای بود. کلامیدوسپورها به فراوانی در محیط برگ میخک آگار تولید شده و معمولاً به صورت جفت و یا منفرد بودند.

مشخصات نماتد جدا شده و مورد استفاده در آزمایش‌های بیمارگری

مشخصات و اندازه‌های مهم نماتدهای جدا شده از ریشه و خاک در جدول ۱ آمده است.

نماتدهای نر و ماده کرمی شکل پس از تثبیت تا حدودی از ناحیه شکم خمیده هستند، و سر نسبتاً بلند معمولاً سه حلقه (دو شیار) و گاهی چهار حلقه (سه شیار) دارند. شبکه کوتیکولی سر قوی و سفالیدها نامشخص و استایلت قوی با گره‌های گرد است. لوله اولیه مری در ابتدا پهن و در نزدیکی حباب باریک می‌شود. حباب میانی قوی، مشخص و کاملاً بیضوی با دریچه مشخص، لوله ثانویه مری بلند و باریک، همیزوویید بلافاصله قبل از منفذ دفعی ترشحی به طول۲-۳ حلقه به طرف سر، همیزونیون نامشخص و تخمدان در ماده‌ها به طرف جلوی بدن کشیده است. کیسه ذخیره اسپرم در حالتی که پر از اسپرماتوزوویید باشد بیضوی و در حالتی که خالی باشد تقریباً گرد است. کیسه عقبی رحم بلند و ۱/۱ تا ۲/۵ برابر عرض بدن در ناحیه فرج بوده، دم در آنها مخروطی با انتهای صاف و فاسمید تقریباً در وسط دم است. طول نماتدهای نر در نمونه‌های ریشه و خاک کمی از نماتدهای ماده کوچک‌تر است. حلقه عصبی تقریباً در وسط لوله ثانویه مری، دم ۲۰/۵-۲٦ میکرومتر در نمونه‌های بافت ریشه و ۱۸-۲۳ میکرومتر در نمونه‌های جدا شده از خاک، بورسا تا انتهای دم، بیضه تقریباً کشیده، اسپیکول ۱٤-۱۷/۵ میکرومتر گاهی به مقدار جزیی از منفذ دفعی- تناسلی بیرون آمده، و گوبرناکولوم ساده به طول ۳-۵ میکرومتر است. با مشخصاتی که ذکر شد این نماتد شبیه به گونه *Pratylenchus vulnus* است.

نتایج آزمایش در شرایط گلخانه (با آلودگی مصنوعی)

گیاهچه‌هایی که در مرحله دو برگی (با نماتد یا نماتد همراه قارچ و قارچ تنها) آلوده شده بودند، حدود ۵۰ روز پس از آلودگی، یک چهارم نهال‌های مایه‌زنی شده با نماتد تنها که علایم پژمردگی نشان داده بودند کاملاً خشک شدند. ولی در نهال‌های مایه‌زنی شده با نماتد و قارچ فوزاریوم، نخستین نشانه‌ها به صورت ریزش برگ‌های پایینی گیاه ظاهر شد، به طوری‌که فقط دو برگ انتهایی روی گیاه باقی مانده بود. در حالی که در تیمارهای شاهد و نهال‌های تیمار شده با هریک از قارچ‌های فوزاریوم، شاداب و سالم بودند. حدود چهار ماه پس از مایه‌زنی، تمامی نهال‌های مایه‌زنی شده با نماتد تنها دارای علایم مشخصی بودند. در این هنگام سه چهارم (۷۵٪) نهال‌ها در حالی که ارتفاعی بین ۵ تا ۱۰ سانتی‌متر داشتند کاملاً خشک شدند، و یک چهارم نهال باقی مانده بسیار کوتاه، با کاهش رشد شدید و کوتوله شده بودند. ولی در تیمارهای با آلودگی توأم نماتد و هریک از قارچ‌های فوزاریوم، یک چهارم از نهال‌ها خشک شده و نهال‌های باقی مانده نیز کاهش شدید رشد داشته، برگ‌های پایینی آنها ریزش کرده و تنها دو تا چهار برگ انتهایی روی نهال‌های باقی مانده بود.

پس از پایان فصل رشد، حدود اوایل آبان (هفت ماه پس از مایه‌زنی)، نهال‌ها از هریک از گلدان‌ها خارج شد. قطعاتی از ریشه‌ها پس از استریل کردن سطحی در محیط کشت PDA قرار داده شد. دوباره از تیمارهای قارچ تنها و قارچ و نماتد،

[Downloaded from jstnar.iut.ac.ir on 2026-11-17]

[DOR: 20.1001.1.24763594.1382.7.3.16.4]

جدول ۱. اندازه اندام‌های نماتدهای ماده جدا شده از خاک و ریشه نهال‌های افراپلت در خزانه پاسند بهشهر

طول اندام	اندازه اندام‌های نماتد ماده زخم ریشه به میکرومتر		پورجم (۳) از مغان
	ریشه	خاک	۱۳۷۷
بدن	۵۰۱ تا ٦٠٤	٤١٣ تا ٥٩٢	٤٥٠ تا ٦٢٥
استایلت	۱۵ تا ١٦/٦	۱۲/۷ تا ۱۵/۸	١٤ تا ۱۵
مری	٦٦/٤ تا ۱۱۸/۵	٥٦/٩ تا ٩٠/٦	۸۰ تا ۹۰
غده‌های مری	۳۳/٦ تا ٤٩	٣٤ تا ٥٥/٣	۳۰ تا ٤٥
فاصله منفذ دفعی ترشحی تا سر	۸۱ تا ۸۸	۷۲/۷ تا ۸۱/۳	۷۵ تا ۹۵
دم	۲۳/۷ تا ۲۸/٤	۲۰/۵ تا ۲٦/۱	۲۲ تا ۲۹

قارچ‌های مایه‌زنی شده بازیافت شد.

پس از خارج کردن نهال‌ها از خاک، تعداد نماتد در خاک و بافت ریشه شمارش شد. شمار نماتد در هر گرم ریشه و خاک در جدول ۲ آمده است. به دلیل وجود صفر در میان اعداد (X)، از تبدیل آنها به $\sqrt{X+0.5}$ در محاسبات آماری بهره‌گیری شد، که نشان می‌دهد بین تیمارها در سطح ۱٪ اختلاف معنی‌دار وجود دارد (جداول ۳ و ٤)، و بین گروه‌هایی که با حروف یکسان نشان داده شده، اختلاف معنی‌دار نیست (جدول ۲).

چنان که دیده می‌شود، هر یک از قارچ‌ها باعث کاهش جمعیت نماتد در ریشه و خاک، در مقایسه با تیمار نماتد به تنها شده است. این کاهش در ریشه بسیار بیشتر از خاک بوده است. در حالتی که نماتد با قارچ فوزاریوم اکسیسپوروم حضور داشت، جمعیت نماتد بسیار کمتر از حالتی بود که نماتد با قارچ فوزاریوم سولانی مایه‌زنی شده بود.

بحث

نتایج آزمایش‌ها نشان می‌دهد که میزان مرگ و میر نهال‌ها و کاهش رشد گیاه با شمار نماتد موجود در خاک و ریشه نسبت مستقیم دارد. همان گونه که دیده می‌شود، در تیمار نماتد تنها، که حداکثر نماتد در خاک و بافت ریشه وجود داشت، مرگ و میر و کاهش ارتفاع نهال‌ها نیز بیشترین بود. در تیمارهای افرا با نماتد به همراه قارچ‌های جنس فوزاریوم، جمعیت نماتد در خاک و بافت ریشه کاهش یافت. در نتیجه، میزان مرگ و میر نهال‌ها کمتر شد، و رشد آنها نسبت به تیمار نماتد تنها افزایش یافت.

درباره دلایل تظاهر چنین اثرهایی بین نماتد و قارچ نظریات و فرضیه‌های مختلفی وجود دارد. از جمله گفته‌اند اثر متقابل قارچ‌های خاکزی و نماتد مولد زخم در طبیعت بر گیاه میزبان بیشتر از نوع بیولوژیک و فیزیولوژیک همچون تولید فیتوالکسین است تا فیزیکی. یعنی نماتد تنها به عنوان ایجاد کننده مدخلی برای ورود قارچ عمل نمی‌کند، و تغییر در وقوع و شدت اثر به ترکیب نماتد و قارچ بستگی دارد (۱۳، ۲۱ و ۲۲).

هم‌چنین، نتایج این بررسی نشان می‌دهد که گرچه گاهی نماتد مولد زخم و قارچ فوزاریوم در یک بافت گیاهی حضور داشتند، ولی این حضور توأم در یک بافت نیز اثر مشخصی در شدت یا وقوع پژمردگی فوزاریومی نداشت. اعتقاد بر آن است که تغذیه نماتد مولد زخم ریشه باعث تغییرات گسترده‌ای در تغذیه، تعادل هورمونی و تغییر در فیزیولوژی میزبان می‌گردد (۱، ۱۱، ۱۲، ۲۳، ۲۸ و ۳۱).

نماتدهای مولد زخم ریشه در نمونه‌های استخراج شده از بافت ریشه افرا از نظر جثه قوی‌تر، و طول و عرض آنها بیشتر و بزرگ‌تر از نمونه‌های مشابهی است که از خاک جدا شده است (۱۹).

[Downloaded from jstnar.iut.ac.ir on 2026-11-17]

[DOR: 20.1001.1.24763594.1382.7.3.16.4]

جدول ۲. شمار نماتد در گرم خاک و ریشه نهال‌های افرا در تیمارهای مختلف، و تأثیر تیمارها در ارتفاع نهال‌ها در آزمایش گلخانه‌ای

تیمار	گروه و میانگین ارتفاع نهال‌ها در چهار تکرار پس از هفت ماه (cm)	گروه و میانگین شمار نماتد درگرم ریشه افرا با تبدیل $\sqrt{X+0.5}$ [1]	میانگین شمار نماتد در گرم ریشه[2]	میانگین شمار نماتد در گرم خاک[2]
شاهد	۳۰/۵ a	۰/۷۰۷ c	صفر	صفر
نماتد	۲/۲۵ c	۳۵/۵۶۵ a	۱۲۶۶	۱۱/۲
قارچ فوزاریوم سولانی	۲۵/۷۵ a	۰/۷۰۷ c	صفر	صفر
قارچ فوزاریوم اکسیسپوروم	۳۰ a	۰/۷۰۷ c	صفر	صفر
نماتد + قارچ فوزاریوم اکسیسپوروم	۱۲/۷۵ b	٤/٤٦٣ c	۲۰	٦/۲
نماتد + قارچ فوزاریوم سولانی	۵/۵ c	۲۷/۱۰۵ b	۷۳٦	٦/٤

۱. به منظور تعدیل نرمال به دلیل وجود صفر در میان اعداد (X)، از تبدیل آنها به $\sqrt{X+0.5}$ در محاسبات آماری بهره‌گیری شد.
۲. میانگین شمار نماتد در چهار تکرار
اعدادی که حروف یکسان دارند اختلاف معنی‌دار ندارند.

جدول ۳. تجزیه واریانس تعداد نماتد مولد زخم ریشه در گرم ریشه افراپلت در آزمایش مایه‌زنی مصنوعی بر اساس $\sqrt{X+0.5}$

مقدار K	منبع تغییرات	درجه آزادی	مجموع مربعات SS	میانگین مربعات MS	F
۱	تکرار	۳	–	–	
	تیمار	۵	٤۸۸٦/٤٤۷۵	۹۷۷/۲۸۹۵	۲۹/۱۹۳**
	خطای آزمایش	۱۸	٦۰۲/۵۹۰۹	۳۳/٤۷۷۳	
۲	کل	۲۳	۵٤۸۹/۰۳۸٤		

** : معنی‌دار در سطح یک درصد
LSD = ٦/۰۷۸

جدول ٤ تجزیه واریانس تیمارهای مختلف در بررسی تأثیر گونه‌های فوزاریوم و نماتد مولد زخم ریشه افرا بر اساس $\sqrt{X+0.5}$ به منظور تعدیل نرمال، روی ارتفاع نهال‌های افرا، هفت ماه پس از مایه‌زنی

مقدار K	منبع تغییرات	درجه آزادی	مجموع مربعات	میانگین مربعات	F
۱	تیمار	۵	٦۸/۷۵۷	۱۳/۷۵۲	
	خط آزمایش	۱۸	۲۲/۸۷۱	۱/۲۷۰٦	۱۰/۸۲۳**
۲	کل	۲۳	۹۲/۱٤۳	–	

** : معنی‌دار در سطح یک درصد
LSD = ۱/۱۸٤
sx = ۰/۵٦۳٦
t = ۲/۱۰۱ پنج درصد

[Downloaded from jstnar.iut.ac.ir on 2026-11-17]
[DOR: 20.1001.1.24763594.1382.7.3.16.4]

بیشتر مقالات و گزارش‌های موجود منبع استخراج نماتد را ذکر نکرده‌اند. این موضوع می‌تواند منشأ بروز اشتباه در تشخیص گونه‌ها شود. بنابراین، باید اندازه‌گیری طول بدن با دقت لازم صورت گرفته و منشأ استخراج نمونه (خاک یا بافت) نیز دقیقاً ذکر شود. در مجموع، بسته به جمعیت نماتد، ممکن است طول بدن نماتد از تغییرات نسبی زیادی برخوردار باشد، زیرا عوامل بسیاری چون میزان تغذیه، نوع گیاه میزبان و شرایط محیطی می‌توانند اندازه نماتد را تحت تأثیر قرار دهند (۳). با توجه به تغییرات احتمالی، اندازه‌گیری و بررسی مشخصات نماتدهای نر و ماده از جمعیت نماتد جدا شده از ریشه افراپلت و خاک خزانه افراپلت، به طور مجزا انجام، و با هم مقایسه شد. این نمونه با توجه به اندازه، شکل دم، شکل کیسه ذخیره اسپرم و مقایسه آن با گزارش‌های موجود (۱۰ ، ١٤ و ۱۹) بیشترین شباهت را با پرتیلنکوس ولنوس داشت.

پژوهندگان شش جمعیت مختلف این نماتد از اروپا و آمریکا را از نظر مورفولوژی و مورفومتری بررسی و اعلام کردند که جمعیت‌های مختلف دارای تغییرات درون گونه‌ای از جنبه‌های مختلف بوده و مشخصات آنها تحت تأثیر شرایط اقلیمی و میزبان قرار می‌گیرد (۳). در حال حاضر حدود ۸۰ گونه نماتد مولد زخم ریشه در منابع مختلف گزارش شده است (۹، ١٤ و ۲۰). تمامی گونه‌های این جنس انگل داخلی متحرک هستند؛ پس معمولاً داخل ریشه، ریزوم، یا غده گیاهان زندگی می‌کنند. نماتد پس از نفوذ به درون بافت، به سرعت تولید مثل کرده و جمعیت آن ممکن است تا ۳۵۰۰ در هر گرم ریشه برسد (۷ و ۱۰).

قدردانی

هزینه انجام این پژوهش از اعتبارات پژوهشی دانشگاه تهران تأمین شده است، که بدین وسیله سپاسگزاری می‌گردد.

منابع مورد استفاده

۱. اشتیاقی، ح. ١٣٥٦. ارتباط بین قارچ *Verticillium dahliae* و نماتد مولد غده در ریشه *Meloidogyne hapla* روی دو واریته نعنا روغنی. مجموعه مقالات ششمین کنگره گیاه‌پزشکی ایران، دانشگاه تهران.

۲. بهروزین، م. و پ. اسدی. ۱۳۷۳. معرفی سه گونه فوزاریوم عامل پوسیدگی ریشه و طبق پیاز خوراکی و تعیین فراوانی آنها در آذربایجان شرقی. بیماری‌های گیاهی ٤(۱): ٤١-٤٩.

۳. پورجم، ا. ۱۳۷۷. بررسی شکل‌شناسی و طبقه‌بندی گونه‌های جنس *Pratylenchus* در شمال ایران. پایان نامهٔ دکتری، دانشگاه تربیت مدرس.

٤. جعفرپور، ب. و ع. مهدیخانی (مترجم). ۱۳۷۵. *مقدمه‌ای بر نماتدشناسی گیاهی*. انتشارات دانشگاه فردوسی مشهد.

۵. حسینی نژاد، س. ع. ١٣٧٤. اثرات متقابل *Fusarium oxysporum* f. sp. *ciceri* و *Meloidogyne incognita* در ارقام نخود. خلاصه مقالات دوازدهمین کنگره گیاه‌پزشکی ایران، آموزشکده کشاورزی کرج.

٦. صارمی، ح. ۱۳۷۷. *اکولوژی و تاکسونومی گونه‌های فوزاریوم*. انتشارت جهاد دانشگاهی دانشگاه زنجان.

7. Allen, M. W. and H. J. Jensen. 1951. *Pratylenchus vulnus,* new species (*Nematoda*: *Pratylenchinae*), a parasite of trees in South Africa (Genus *Pratylenchus* family *Hoplolaimidae*). Technical Communication, Dept. Agric. Tech. Servies, No. 99, South Africa.

8. Booth, C. 1971. The Genus *Fusarium.* Commonwealth Mycological Institute, Kew, Surrey, England.

9. Calpfilho, A. C. and C. S. Huang. 1989. Description of *Pratylenchus pseudofallax* n. sp. with a key to the species of the genus *Pratylenchus* Filipjev, 1936 (*Nematoda*: *Pratylenchidae*). Revue de Nematol. 12: 7-15.

10. Castillo, P., M. P. Mora-Rodriguez, J. A. Navas-Cortes and R. M. Jimenez Diaz. 1998. Interaction of *Pratylenchus thornei* and *Fusarium oxysporum* f. sp. *ciceris* on chickpea. Phytopatol. 88: 828-836.

[Downloaded from jstnar.iut.ac.ir on 2026-11-17]

[DOR: 20.1001.1.24763594.1382.7.3.16.4]

11. Conroy, J. J., R. J. Green and J. M. Ferris. 1971. Interaction of *Verticillium* and root lesion nematode *Pratylenchus penetrans* on tomato roots at controlled inoculum densities. Phytopathol. 62: 362-366.
12. Faulkner, L. R., W. J. Bolander and C. B. Skotland. 1970. Interactions of *Verticillium dahliae* and *Pratylenchus minyus* in Verticillium wilt of peppermint: influence of nematode as determined by a double root technique. Phytopathol. 60: 100-103.
13. Frederik, J. J. and A. C. Tarjan. 1989. A compendium of genus *Pratylenchus* Filipjev, 1936. (*Nematoda*: *Pratylenchidae*). Revue de Nematol. 12: 243-356.
14. Huettle, R. N. 1985. Carrot disc culture. P. 212. *In*: B. N. Zuckerman, W. F. Mai and M. B. Harrison (Eds.), Laboratory Manual for Plant Nematology, Univ. Massachusetts, Amherst.
15. Hutton, D. G., R. E. Wilkinson and W. F. Mai. 1973. Role of two plant–parasitic nematodes in the Fusarium dry root rot of beans. Phytopathol. 63: 749-751.
16. Jin, X., J. B. Kotcon and J. B. Morton. 1991. Interaction between *Pratylenchus penetrans* and *Fusarium avenaceum* in red clover. Nematropica 21(1): 105-109.
17. Kheiri, A. 1972. Plant-parasitic nematodes (Tylenchidae) from Iran. Biologish. Jaarboek Dodonaea 40: 224-239.
18. Lawn, D. A. and G. R. Noel. 1984. Monoxenic culture of *Pratylenchus scribneri* on carrot discs. Proceeding of the First International Congress of Nematology (Abstr.).
19. Loof, P. A. A. 1991. The family *Pratylechidae* Thorne, 1949. PP. 363-421. *In*: W. R. Nickle (Ed.), Manual of Agricultural Nematology. Marcel Dekker Inc., New York.
20. Luc, M. 1987. A reappraisal of Tylenchina (*Nematoda*). The family *Pratylenchidae* Thorne, 1949. Revue de Nematol. 10: 203-218.
21. Mace, M. E., A. A. Bell. and R. D. Stipanovic. 1974. Histochemistry and isolation of gossypols and related terpenoids in roots of cotton seedlings. Phytopathol. 64: 1297-1302.
22. Mai, W. F. and G. S. Abawi. 1987. Interaction among root-knot nematodes and Fusarium wilt fungi on host plants. Annu. Rev. Phytopathol. 25: 317-338.
23. Mauza, B. E. and J. M. Webster. 1992. Suppression of alfalfa growth by concomitant population of *Pratylenchus penetrans* and two Fusarium species. J. Nematol. 14(3): 364-367.
24. Mehta, U. K., D. M. Raj and S. R. R. Devi. 1992. Interaction among *Pratylenchus zeae* Graham 1951 and *Hoplolaimus indicus* Cher 1963 and wilt fungi of sugar cane. Ann. Plant Protect. Sci. 2(2): 33-36.
25. Moody, E. H., B. F. Lownsbery and J. M. Ahmed. 1973. Culture of the root-lesion Nematode *Pratylenchus vulnus* on carrot discs. J. Nematol. 5: 225-226.
26. Nelson, P. E., T. A. Toussoun and W. F. O. Marasas. 1983. *Fusarium* Species, an Illustrated Manual for Identification. The Pennsylvania State Univ. Press.
27. O'Bannon, J. H. and A. L. Taylor. 1968. Migratory endoparasitic nematodes reared on carrot discs. Phytopathol. 58: 385.
28. Rowe, R. C., R. M. Riedel and M. J. Martin. 1985. Synergistic interactions between *Verticillium dahliae* and *Pratylenchus penetrans* in potato early dying disease. Phytopathol. 75: 412-418.
29. Santamour, F. S. 1992. Influence of root-knot nematode on Verticillium wilt of Maple J. Arboriculture 18(6): 298-301.
30. Sayyed. M. Q. 1960. Effect of nutrition, PH and nematodes on damping-off disease of pea, tomato and cucumber. Plant Diseases Abstr. 21: 1701-1702.
31. Seinhorst, J. W. and K. Kunijasu. 1971. Interaction of *Pratylenchus penetrans* and *Fusarium oxysporum* f. sp. *pisi* race 2 and of *Rotylenchus uniformis* and *F. oxysporum* f. sp. *pisi* race 1 on peas. Nematologica 17: 444-452.
32. Speijer, P. R. and R. A. Sikora. 1991. Biological and integrated control of highland banana and plantain pests and diseases. Proc Res. Coord. Meet., Cotonou, Benin, 12-14 Nov., 1991.

[Downloaded from jstnar.iut.ac.ir on 2026-11-17]
[DOR: 20.1001.1.24763594.1382.7.3.16.4]