کنترل بیولوژیکی نماتود سیستی چغندر قند *Heterodera schachtii* به‌وسیله قارچ تریکودرما در آزمایشگاه و گلخانه

عصمت مهدی‌خانی‌مقدم*، حمید روحانی و ماهرخ فلاحی رستگار[1]

(تاریخ دریافت ۱۳۸۷/۴/۱۶ ؛ تاریخ پذیرش: ۱۳۸۸/۳/۲)

چکیده

نماتود سیستی چغندر قند (*Heterodera schachtii*) یکی از مهم‌ترین عوامل بیماری‌زای چغندر قند در ایران می‌باشد. به منظور کنترل بیولوژیکی این نماتود اثر ۱۰ جدایه از قارچ تریکودرما متعلق به گونه‌های *Trichoderma harzianum* و *T. virens* طی دو سال در آزمایشگاه و گلخانه روی تخم و سیست نماتود مورد بررسی قرار گرفت. جدایه‌های قارچ تریکودرما در آزمایشگاه باعث شدند که به‌طور متوسط ۶۰ در صد تخم‌ها نسبت به شاهد بارازیته شده و از بین بروند. در بین آنها دو جدایه *T. harzianum* Bi و *T. virens* VM1 به ترتیب با ۷۶/۱۸ و ۷۲/۵۵ در صد پارازیتیسم بهتر از جدایه‌های دیگر عمل کردند. آزمایش‌ها در گلخانه به‌صورت طرح کاملاً تصادفی با ۱۲ تیمار و سه تکرار در خاک اتوکلاو شده و خاک اتو کلاو نشده (خاک مزرعه) به‌طور جداگانه اجرا شد. تجزیه واریانس داده‌ها و مقایسه میانگین‌ها با آزمون چند دامنه‌ای دانکن نشان داد که بین تیمارهایی که در آنها قارچ تریکودرما به‌کار رفته از نظر جمعیت نماتود در پایان آزمایش، میزان آلودگی و وزن تر و خشک غده‌ها و هم‌چنین وزن تر و خشک شاخ و برگ اختلاف معنی‌داری ($P < 0/05$) با تیمار شاهد وجود دارد. در این آزمایش‌ها نیز دو جدایه ذکر شده به ترتیب با ۷۶/۶۸ و ۷۲/۶۵ در صد کاهش آلودگی در خاک اتو کلاو شده اثر بهتری نسبت به دیگر جدایه‌ها نشان دادند. در خاک اتوکلاو نشده نماتود کش راگبی، جدایه‌های *T. harzianum* Bi و *T. virens* VM1 به ترتیب با ۸۱/۶۵، ۷۵/۱۵ و ۷۲/۷۸ در صد کاهش آلودگی بهترین تأثیر را در کنترل نماتود سیستی چغندر قند از خود نشان دادند.

واژه‌های کلیدی: کنترل بیولوژیکی، نماتود سیستی چغندرقند، تریکودرما

مقدمه

نماتود سیستی چغندرقند یکی از مهم‌ترین عوامل بیماری‌زای چغندرقند در جهان و ایران است. کنترل این نماتود با روش‌های زراعی و شیمیایی بسیار مشکل است، زیرا سیست‌های این نماتود می‌توانند در غیاب میزبان سال‌ها در خاک باقی بمانند و حیات خود را حفظ کنند. در این راستا، کنترل بیولوژیکی می‌تواند جایگزین روشی جایگزین و یا روشی مکمل سایر روش‌ها مد نظر قرار گیرد. تحقیقات در زمینه کنترل بیولوژیکی نماتود چغندرقند بیشتر روی عواملی بوده است که می‌توانند در هر مرحل مختلف زندگی نماتودها روی آنها اثر کرده و باعث از بین بردن آنها شود. در این بین قارچ‌های انگل تخم، ماده و سیست‌ها از اهمیت بسیاری برخوردارند. این قارچ‌ها از نظر تاکسونومیکی و اکولوژیکی بسیار متنوع بوده و شامل قارچ‌های زئوسپوردار انگل اجباری تا گونه‌های فرصت طلب ساپروفیت در خاک

[1] و [*] به ترتیب استادیار، دانشیار و استاد بیماری‌شناسی گیاهی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه مشهد
* مسئول مکاتبات، پست الکترونیکی: mahdikhani_e@yahoo.com

هستند (۲۵). از سایر قارچ‌های بیماری‌زا، گونه *Catenaria auxiliaris* مادههای جوان *Heterodera schachtii* را مورد حمله قرار داده و باعث از بین رفتن آنها می‌شود. قارچ *Nematophthora gynophila* نماتودها را قبل از تبدیل شدن به سیست تخریب می‌کند (۱۳). نای و همکاران (۱۹) گونه‌های *Acremonium strictum* و *Fusarium oxysporum* را از تخم‌های نماتود سیستی چغندرقند در کالیفرنیا جدا کردند. لوپز و ردمرو (۱۴) انگل‌های قارچی نماتود سیستی چغندر قند را در اسپانیا بررسی نمودند. وستفال و یک (۲۶) جمعیت *Heterodera schachtii* را در خاک‌های بازدارنده (Suppressive soils) و خاک‌های مستعد (Conducive soils) مورد بررسی قرار دادند. در خاک‌های بازدارنده، یک سوم سیست‌ها سه قارچ‌هایی از جمله *Fusarium oxysporum* ،*Fusarium* sp و *Dactylella oviparasitica* ،*Paecilomyces lilacinus* آلوده بودند. گایو و بکر (۱۱) جمعیت مادهها و برهای *Heterodera schachtii* را در خاک‌های بازدارنده و خاک‌های مستعد برای دو نسل در گلخانه بررسی کردند. در نسل دوم تولید مثل نماتود در خاک‌های بازدارنده به مقدار زیادی کاهش یافت. عوامل بیماری‌زای دیگری از جمله باکتری‌های *Pasteuria penetrans* ،*Bacillus thuringiensis* *Burkholderia cepacia* و قارچ‌های *Hirsutella rhossiliensis* ،*Trichoderma harzianum* ،*Verticillium chalmydosporium* ،*Arthrobotrys dactyloides* و *Paecilomyces lilacinus* ،*Myrothecium verrucaria* برای کنترل نماتودها توصیه شده‌اند (۹ و ۱۲). تلاش‌های بسیاری در کاربرد گونه‌های تریکودرما برای کنترل نماتودهای پارازیت گیاهی صورت گرفته است. وینددهام و همکاران (۲۷) گزارش کردند که گونه *Trichoderma harzianum* جدایه T-12 و گونه *T. koningii* جدایه T-8 در کاهش تولید تخم نماتود مولد گره ریشه *Meloidogyne arenaria* در خاک تأثیر دارند. رایو و همکاران (۲۰) گونه‌های *T. harzianum* و *T. lingnorum* را در کاهش جمعیت *M. incognita* مؤثر می‌دانند. اثر متقابل بین گونه *T. harzianum* و نماتود طلایی سیب زمینی *Globodera rostochiensis* در شرایط آزمایشگاه به وسیله سیف الله و توماس (۲۲) گزارش شده است. قارچ در سیست و تخم داخل آن رشد کرده و باعث مرگ لاروها می‌شود. ردی و همکاران (۲۱) معتقدند ترکیبی از گونه *T. harzianum* جدایه T-12 و بقایای زیتون، جمعیت نماتود مرکبات را کاهش می‌دهد. شارون و همکاران (۲۳) در بررسی کنترل بیولوژیکی نماتود مولد گره ریشه *M. javanica* به وسیله قارچ *T. harzianum*، چندین جدایه از قارچ مذکور را مورد آزمایش قرار دادند. همه جدایه‌های قارچ تریکودرما، تخم‌ها و لاروهای سن دوم نماتود مولد گره ریشه را در شرایط آزمایشگاهی کلونیزه کردند. آنها معتقدند که تریکودرما باعث القای آنزیم‌هایی مثل کیتیناز و پراکسیداز در گیاه می‌شود و به این وسیله علاوه بر اثر مستقیم آنتاگونیستی روی نماتود، باعث افزایش مقاومت گیاه نیز می‌گردد. مابر و همکاران (۱۵ و ۱۶) باکتری *Burkholderia cepacia* جدایه Bc-2 و قارچ *T. virens* جدایه GI-3 را در رابطه با فعالیت آنتاگونیستی آنها علیه نماتود مولد گره ریشه *M. incognita* به تنهایی و به صورت ترکیب علیه این نماتود روی فلفل مورد بررسی قرار دادند. سایکورا (۲۴) نیز دو جدایه T-35 و T-203 از قارچ *T. harzianum* را برای کنترل نماتودهای مولد گره ریشه معرفی نموده است.

در ایران فاطمی (۴) قارچ *Paecilomyces fumosoroseus* را از سیست‌های *H. schachtii* از مشهد جدا نمود. احمدی و همکاران (۱) جهار جدایه *Fusarium solani* را از نماتود سیستی چغندرقند در اصفهان جدا کردند. درصد پارازیتیسم تخم‌های نماتود در شرایط آزمایشگاهی، به وسیله جدایه‌های مختلف این قارچ از ۱۲ تا ۳۰/۶ درصد متغیر بوده است. حجت جلالی و کاسمن (۳) از سیست‌های جمع‌آوری شده، از مزارع چغندرقند استان‌های آذربایجان غربی، فارس، کرمانشاه، کرمان و خراسان گونه‌های *Fusarium* spp. ،*Paecilomyces lilacinus* ،*Acremonium* spp. ،*V. chlamydosporium* ،*Verticillium lecani* ،*Scophulariopsis brevicaulis* و *Embellisia chlamydospora*

جدا نموده که تعدادی از آنها پارازیت تخم نماتود چغندرقند می‌باشند. احمدی و همکاران (۲) قارچ *Paecilomyces farinosus* و *Paecilomyces* spp. و *Fusarium solani* را در پارازیتیسم تخم‌های نماتود چغندرقند بر روی محیط آب آگار مورد بررسی قرار داده و مشخص شد که قارچ‌های جنس *Paecilomyces* ۶۱ تا ۷۷ درصد و جدایه‌های *Fusarium solani* ۱۲ تا ۳۱ درصد تخم‌های نماتود را پارازیته می‌کنند. فاطمی (۵) اثر بیماری‌زایی قارچ *Paecilomyces fumosoroseus* را روی مراحل مختلف نماتود مولد گره ریشه و نماتود سیستی چغندرقند در محیط کشت مورد بررسی قرار داد. در مورد *H. schachtii* صد در صد ماده‌ها و نزدیک به ۷۵ درصد تخم‌های درون آنها پس از یک ماه در حرارت ۲۰°C آلوده شده بودند. در این تحقیق، هدف بررسی تأثیر جدایه‌هایی از قارچ تریکودرما روی جمعیت نماتود سیستی چغندرقند (*H. schachtii*) در آزمایشگاه و گلخانه بوده است و اثر آنها روی کاهش خسارت ناشی از این نماتود مورد ارزیابی قرار گرفت.

مواد و روش‌ها

نمونه برداری

طی سال‌های ۱۳۸۵ و ۱۳۸۶ در تابستان و پاییز ۲۵ نمونه آلوده به نماتود از مزارع چغندرقند استان خراسان رضوی جمع‌آوری گردید. نمونه‌های خاک به همراه ریشه‌های آلوده تا شروع کار آزمایشگاهی در یخچال نگه‌داری گردید.

- استخراج سیست‌های *Heterodera* و شناسایی گونه *H. schachtii*

برای استخراج سیست‌های *Heterodera* از روش فنویک استفاده شد (۱۰). برای شناسایی گونه *H. schachtii* از کلیدهای مول ویگ (۱۷) و مول وی و مرگان گلدن (۱۸) استفاده شد.

- تهیه جمعیت *H. schachtii*

ارتشای دو هفته‌ای چغندر قند در گلدان حاوی ۵۰۰ گرم خاک سترون کاشته شد و توسط یک سیست *H. schachtii* مایه زنی شد و به مدت ۷۰ روز در گلخانه نگه‌داری شدند. سپس ریشه‌ها از خاک خارج و پس از مشاهده سیست‌های تشکیل شده، خاک گلدان با مقداری خاک سترون مخلوط گردید و در چند گلدان کاشته شد. این عمل سه بار تکرار شد تا جمعیت همگن و کافی از نماتود جهت آزمایش‌ها فراهم گردید. با استفاده از سیست خرد کن تخم و لارو درون سیست‌ها آزاد شدند. پوسته‌های سیست روی الک ۶۰ میکرونی و تخم و لاروها روی الک ۳۸ میکرونی جمع‌آوری گردید و به نسبت ۱۰۰۰۰ عدد تخم و لارو به هر گلدان حاوی ۳ کیلوگرم خاک متشکل از یک قسمت خاک مزرعه، یک قسمت کود دامی پوسیده و یک قسمت ماسه بادی اضافه و کاملاً با آن مخلوط گردید. در کل آزمایش‌ها از این خاک استفاده شد.

- جداسازی و خالص نمودن تریکودرماها از مزارع چغندر قند

۲۵ نمونه خاک به‌طور تصادفی از مزارع چغندرقند استان خراسان رضوی جمع‌آوری شد، با استفاده از روش دینگرا (۸) و محیط نیمه اختصاصی آب آگار حاوی ۱/۶ گرم قارچ‌کش ریدو میل (متالاکسیل) گرانول دارای ۵ در صد ساده مؤثره در لیتر استفاده شد. جدایه‌های به‌دست آمده با استفاده از کلید بی ست (۶ و ۷) مورد شناسایی قرار گرفتند.

- انتخاب جدایه‌های تریکودرما

در این بررسی ۱۸ جدایه متعلق به دو گونه *T. harzianum* و *T. virens* شامل ۱۰ جدایه مربوط به خاک‌های مزارع چغندرقند مشهد (۵×۵) و هشت جدایه (۴×۴) تهیه شده از کلکسیون روحانی مورد استفاده قرار گرفت. جدایه‌ها به‌طور تصادفی انتخاب شدند. برای تهیه اینوکولوم کافی جهت آزمایش‌های گلخانه‌ای، جدایه‌های انتخاب شده روی ارزن سترون تکثیر شد به این ترتیب که دو دیسک با قطر دو سانتی‌متر از هر جدایه خالص شده روی محیط کشت PDA در یک فلاسک یک لیتری حاوی ۲۵۰ گرم ارزن اتوکلاو شده انداخته شده و کاملاً

با آن مخلوط شد. فلاسک‌ها به مدت ۱۵ روز در دمای ۲۵°C قرار داده شدند. به منظور جلوگیری از به هم چسبیدن دانه‌های ارزن و یکنواخت شدن رشد قارچ از روز هفتم به بعد فلاسک‌ها هر دو روز یک مرتبه کاملاً تکان داده می‌شدند. پس از رشد کامل قارچ‌ها، فلاسک‌ها تا زمان مصرف در یخچال نگه‌داری شده و در موقع مصرف به نسبت ۵ درصد وزنی با خاک گلدان‌ها مخلوط گردید.

- پارازیتیسم جدایه‌های تریکودرما روی سیست وتخم‌های *H. schachtii* در آزمایشگاه

سیست‌های گونه *H. schachtii* پس از ضدعفونی سطحی با هیپوکلریت سدیم ۰/۵ درصد به مدت سه دقیقه و چندین بار شستشو با آب مقطر سترون به‌صورت دسته‌های ۱۰ تایی به فاصله چهار سانتی‌متری یک دیسک پنج میلی‌متری از کشت پنج روزه تریکودرما در یک پتری دیش حاوی ۲۰ میلی لیتر آب آگار سترون قرار داده شد. برای هر جدایه پنج پتری دیش در نظر گرفته شد و به مدت دو هفته در دمای ۲۵°C قرار داده شدند. پس از این مدت سیست‌ها شکافته شد و درصد تخم‌ها و لاروهای سالم و بیمار در زیر میکروسکوپ با بزرگنمایی ۲۰۰ تعیین گردید. در هر تکرار یک صد عدد تخم و لارو به صورت تصادفی شمارش گردید و به این ترتیب در صد تخم‌های پارازیته شده تعیین گردید. در آزمایشی دیگر که به‌منظور بررسی دقیق نحوه پارازیتیسم سیست‌ها و هم‌چنین عکس‌برداری از آنها صورت گرفت، تعدادی سیست در یک طرف یک لام سترون قرار داده شد ودر طرف دیگر به فاصله دو سانتی‌متر یک دیسک پنج میلی‌متری از محیط کشت PDA که با کمی اینوکولوم مربوط به هر جدایه تلقیح شده بود قرار داده شد. لام‌های تهیه شده برای هر جدایه در یک پتری دیش سترون که حاوی دو لایه کاغذ فیلتر و پنج میلی‌لیتر آب مقطر سترون بود روی یک لوله شیشه‌ای V شکل به قطر پنج میلی‌متر قرار داده شد. برای هر جدایه پنج پتری دیش در نظر گرفته شد. پتری دیش‌ها به مدت ۱۴ روز در دمای ۲۵°C نگه‌داری شدند. بعد از این مدت لام‌ها با بزرگنمائی ۲۰۰، ۴۰۰ و ۱۰۰۰ میکروسکوپ مورد بررسی قرار گرفتند و وضعیت سیست‌ها و تخم‌ها از نظر پارازیته شدن بوسیله جدایه‌های تریکودرما مورد ارزیابی قرارگرفت.

- آزمایش‌های گلخانه‌ای

آزمایش‌های گلخانه‌ای در دو سال انجام گردید. در آزمایش سال اول تمام ۱۸ جدایه تریکودرما که درآزمایشگاه بررسی شده بودند، در شرایط گلخانه نیز مورد مطالعه قرار گرفتند. در سال دوم تنها جدایه‌هایی بررسی شدند که در آزمایشگاه و گلخانه در سال اول نتیجه خوبی نشان داده بودند. دمای گلخانه در طول آزمایش بین ۲۲°C تا ۲۸°C در روز و ۱۷°C تا ۲۲°C در شب بود. مدت روشنایی با نور طبیعی حدود ۱۴ ساعت و مدت تاریکی ۱۰ ساعت بود. خاک مورد استفاده یک قسمت خاک مزرعه و یک قسمت کود دامی پوسیده الک شده و یک قسمت ماسه بادی کاملاً باهم مخلوط شدند و با اتوکلاو سترون گردید. بذر مورد استفاده، بذر چغندرقند رقم Orbis بود.

آزمایش سال اول در قالب طرح کاملاً تصادفی در خاک اتوکلاو شده (سترون) با ۲۰ تیمار شامل ۱۸ تیمار مربوط به۱۸ جدایه تریکودرما + سیست نماتود و دو تیمار شاهد شامل: ۱- خاک دارای نماتود (۱۰۰۰۰ عدد تخم و لارو در هر گلدان حاوی سه کیلوگرم خاک) بدون قارچ تریکودرما و ۲- خاک بدون نماتود و بدون قارچ تریکودرما انجام شد. هر تیمار دارای سه تکرار و هر تکرار شامل یک گلدان حاوی چهار بوته بود. آبیاری گلدان‌ها هر ۴ روز یک بار و آمار برداری از بوته‌ها ۷۰ روز پس از کاشت صورت گرفت. معیار انتخاب جدایه‌های برتر تعداد تخم و لارو موجود در خاک گلدان‌ها در پایان آزمایش بود. از این نظر در بین ۱۸ تیمار مربوط به جدایه‌های تریکو درما، ۱۰ تیمار که کمترین تعداد نماتود در آنها شمارش شد به‌عنوان تیمارهای برتر انتخاب و در آزمایش‌های سال دوم مورد استفاده قرار گرفتند.

در سال دوم، این آزمایش به‌طور هم‌زمان در خاک اتوکلاو شده و خاک مزرعه در گلخانه انجام شد.

شرایط انجام آزمایش در هر دو مورد، خاک اتوکلاو شده و خاک مزرعه، شبیه آزمایش سال اول بود با این تفاوت که در سال دوم به‌جای ۱۸ جدایه تریکودرما، از ۱۰ جدایه که اثر بهتری در کاهش جمعیت نماتود داشتند، استفاده شد. این جدایه‌ها عبارت بودند از ۵ جدایه به‌دست آمده از خاک مزارع چغندر قند مشهد شامل: سه جدایه (*T. harzianum* HM (2,4,5 دو جدایه (1,4) *T.virens* VM و ۵ جدایه انتخاب شده از کلکسیون ورحانی شامل: چهارجدایه *T. harzianum* HC Bi ، (1,3,4) و یک جدایه *T. virens* VC5 دو تیمار شاهد در خاک اتوکلاو شده عبارت بودند از:۱- خاک اتوکلاوشده + تخم و لارو نماتود، ۲- خاک اتوکلاو شده بدون تخم و لارو نماتود و در خاک اتو کلاو نشده ۱- خاک مزرعه که به‌صورت طبیعی آلوده به نماتود سیستی چغندرقند بود (۴۰۰ عدد تخم و لارو در ۱۰۰ گرم خاک) و ۲- خاک مزرعه که دوهفته قبل از کاشت با نماتودکش راگبی به میزان ۱۰ گرم برای هر گلدان سه کیلوگرمی تیمار شده بود. معیارهای آمار برداری عبارت بودند از: جمعیت نهایی نماتود، وزن تر و خشک غده چغندرقند، وزن تر و خشک قسمت‌های هوایی گیاه.

نتایج به‌دست آمده در قالب طرح کاملاً تصادفی محاسبه آماری گردید و میانگین‌ها با استفاده از آزمون دانکن در سطح احتمال ۵٪ با استفاده از نرم افزار آماری MSTATC مقایسه شدند.

نتایج و بحث

شناسایی نماتود سیستی چغندرقند گونه *H. schachtii*

با توجه به این‌که در مزارع چغندرقند منطقه مورد مطالعه بیش از یک گونه نماتود سیستی یافت می‌شود. گونه مورد نظر (*H. schachtii*) پس از جداسازی از خاک و ریشه چغندر قند و تهیه برش از مخروط انتهای بدن سیست‌ها و بررسی خصوصیات مرفولوژیکی و مرفومتریکی سیست‌ها و لاروهای سن دوم با استفاده از کلیدهای مول موی (۱۷) و مول وی و مرگان گلدن (۱۸) شناسایی گردید. برجستگی ناول مانند نزدیک مخرج بزرگ و شبیه دندان آسیاب، پهنای‌هاله شفاف دور پنجره‌های خروجی لارو که نصف عرض پنجره‌هاست از مشخصاتی است که گونه*H. schachtii* را از گونه‌های مشابه متمایز می‌کند.

- شناسایی جدایه‌های تریکودرما

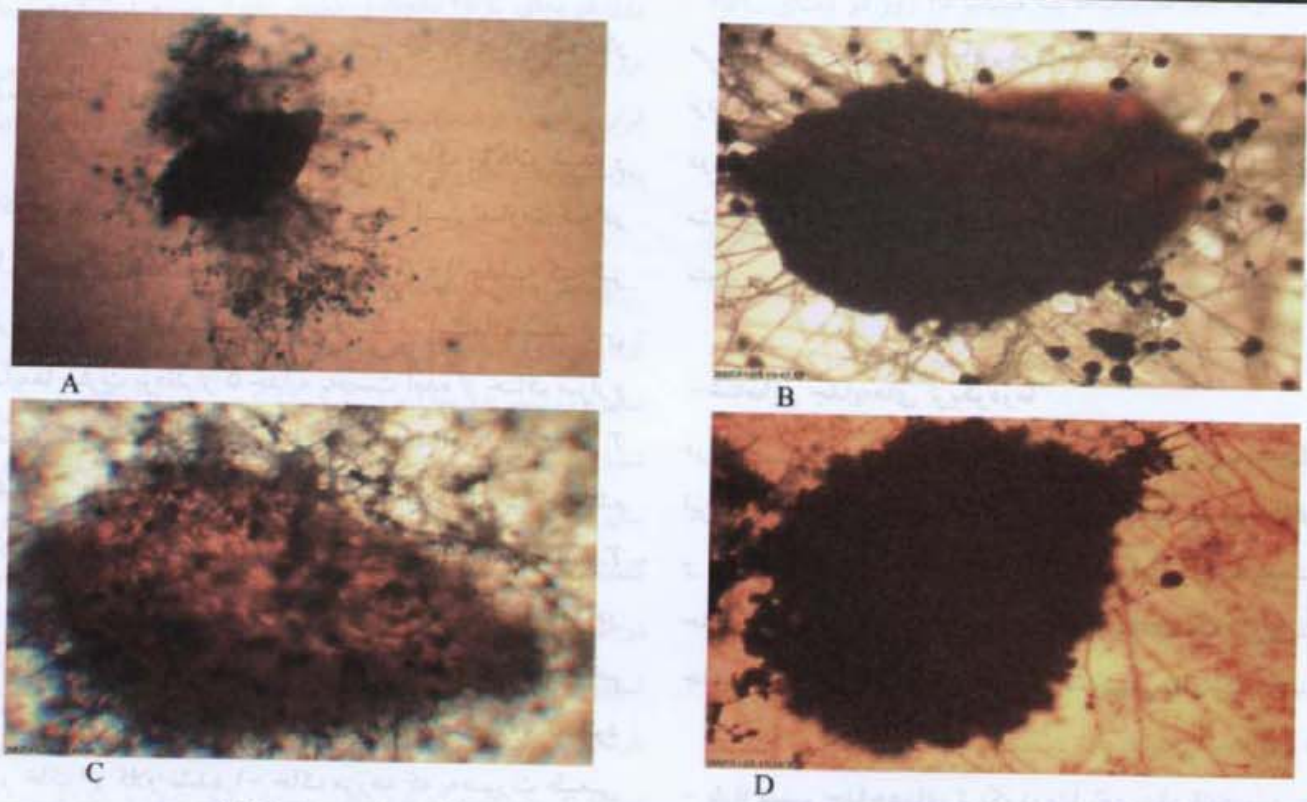
در بررسی مزارع چغندرقند استان خراسان رضوی، از خاک این مزارع جمعا ۱۳ جدایه قارچ تریکودرما جداسازی، خالص و با استفاده از کلید بی ست (۶و۷) شناسایی گردید. هشت جدایه متعلق به (*Trichoderma harzianum* HM (1-8 و پنج جدایه متعلق به (*T. virens* VM (1-5 تشخیص داده شد.

- پارازیتیسم جدایه‌های تریکودرما روی نماتود سیستی چغندرقند در آزمایشگاه

در این آزمایش مشخص شد که تمام جدایه‌های تریکودرما کم و بیش قادرند سیست‌ها و تخم‌های*H. schachtii* را کلونیزه نمایند اما از نظر دو حد پارازیتیسم بین جدایه‌های تریکودرما تفاوت وجود داشت. در میان آنها دو جدایه *T. harzianum* Bi (جدایه خارجی) و*T. virens* VM1 که از خاک مزارع چغندر قند مشهد جدا شده بود شدیدتر از بقیه جدایه‌ها سیست‌ها و تخم‌ها را کلونیزه کردند. مطالعه دقیق سیست‌ها روی لام میکروسکوپی با بزرگنمایی ۲۰۰و ۴۰۰ نشان داد که دو جدایه برترکاملاً روی سیست‌ها مستقر شدند به‌طوری که روی آنها نیالید و اسپورتولید نمودند. این خصوصیت را احتمالا می‌توان به قدرت ترشح کیتیناز به‌وسیله جدایه‌های مزبور نسبت داد (شکل ۱و ۲).

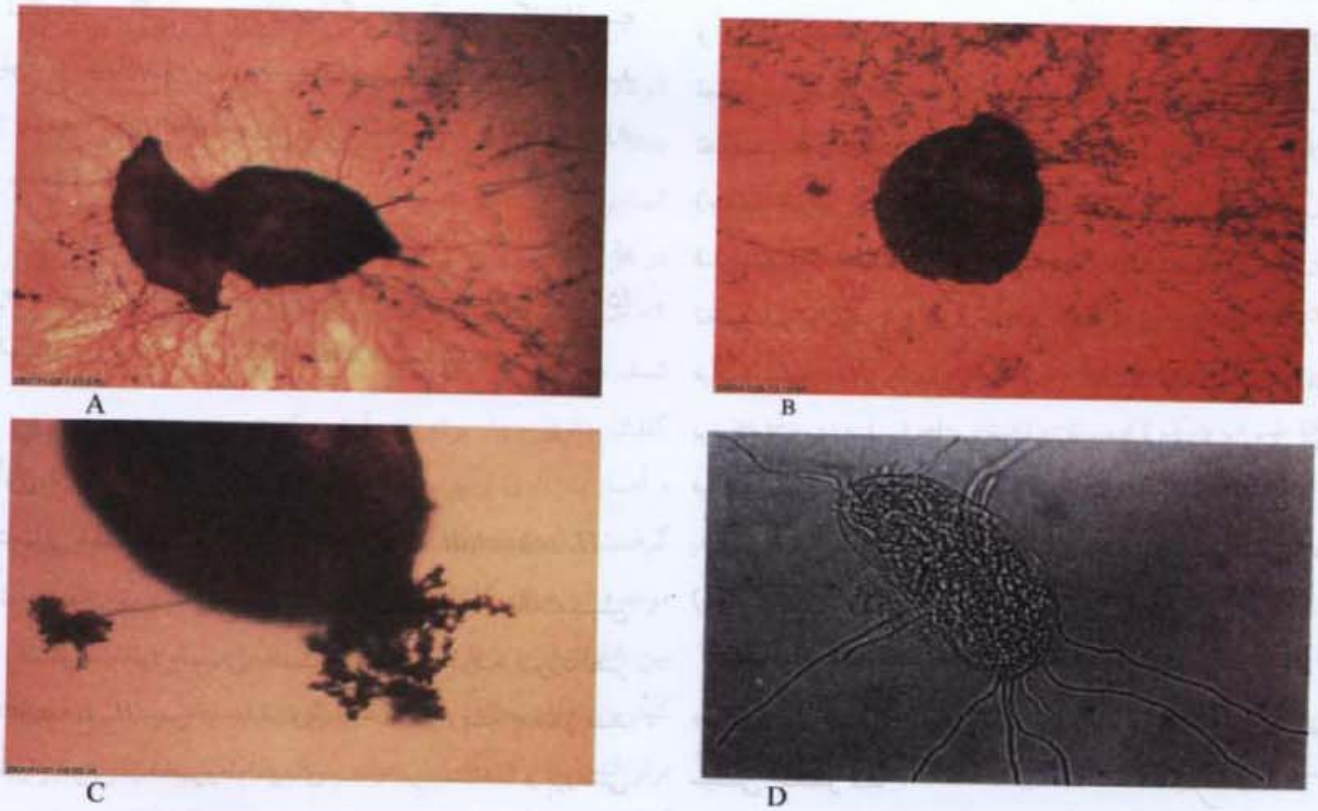
- اثر کنترل کنندگی جدایه‌های تریکودرما روی نماتود سیستی چغندر قند

در سال اول آزمایش ۱۸ جدایه انتخاب شده مورد بررسی قرار گرفتند. شمارش سیست‌های موجود در خاک تیمارها در پایان



شکل ۱. سیست‌های *Heterodera schachtii* پارازیته شده به‌وسیله *Trichoderma virens*

A- بزرگنمایی ۲۰۰ ، D,C, B – بزرگنمایی ۴۰۰ .



شکل ۲. سیست‌ها و تخم *Heterodera schachtil* پارازیته شده به‌وسیله *Trichoderma harzianum*

B,A – بزرگنمایی ۲۰۰ ، C – بزرگنمایی ۴۰۰ ، D – بزرگنمایی ۱۰۰۰.

A

B

شکل ۳. آزمایش گلخانه‌ای- اثر جدایه‌های تریکودرما بر نماتود سیستی چغندرقند (تیمارهای دارای تریکودرما از رشد بیشتری برخوردارند)

A – سمت راست بدون قارچ تریکودرما، سمت چپ دارای قارچ تریکودرما

B – ماده‌های جوان و شیری رنگ نماتود روی ریشه چغندرقند

آزمایش (۷۰ روز پس از کاشت) و مقایسه میانگین آنها نشان داد که تفاوت معنی‌داری بین تیمارها وجود دارد. از بین ۱۸ جدایه بررسی شده،۱۰ جدایه از آنها که بیشترین تأثیر را در کاهش تعداد تخم و لارو نماتود چغندر قند در پایان آزمایش باعث شده بودند برای آزمایش سال دوم انتخاب شدند این جدایه‌ها عبارت بودند از: *Trichoderma harzianum* جدایه‌های HM2, HM4,HM5, HC1, HC3, HC4, Bi و *T. virens* جدایه‌های VM1, VM4, VC5,. جدایه‌های *T. harzianum* به ترتیب ۷۶/۱۸، ۵۶/۷۲، ۶۴/۳۵، ۵۸/۰۷، ۴۸/۱۴، ۵۲/۲۳، ۵۸/۱۲ و جدایه‌های *T. virens* به ترتیب ۶۱/۱۵، ۷۲/۵۵ و ۵۹/۲۳ در صد تخم‌های نماتود چغندر قند را روی محیط کشت پارازیته کردند. متوسط پارازیتیسم جدایه‌ها ۶۰ در صد بود. در تیمار شاهد هیچ گونه تخم نماتودی پارازیته نشده بود. در بین آنها جدایه‌های *T. harzianum*i Bi (جدایه خارجی) و *T. virens* VM1 جداشده از خاک مزارع چغندر قند مشهد نسبت به جدایه‌های دیگر بهتر عمل کردند. متوسط پارازیتیسم این دو جدایه منجر به از بین رفتن تخم‌های نماتود به ۷۴ درصد بالغ شد در حالی که این متوسط در مورد دیگر جدایه‌ها ۵۷ در صد نسبت به شاهد تعیین گردید.

در سال دوم آزمایش ۱۰ جدایه تریکودرمای انتخاب شده از سال اول در خاک اتو کلاو شده و خاک مزرعه مورد مقایسه قرار گرفتند (شکل ۳).

تجزیه واریانس داده‌های به‌دست آمده از بررسی قابلیت بیوکنترلی۱۰ جدایه تریکودرما روی نماتود *H. schachtii* و عملکرد تیمارهای آزمایشی درخاک اتوکلاو شده و خاک مزرعه (اتوکلاو نشده) از جمله جمعیت نهایی نماتود، وزن تر و خشک غده و شاخ و برگ نشان می‌دهند که تفاوت معنی‌داری بین تیمارهای آزمایشی در خاک اتوکلاو شده و خاک اتوکلاو نشده (خاک مزرعه) وجود دارد. میانگین تیمارهای مختلف آزمایشی با استفاده از آزمون چند دامنه‌ای دانکن و مقایسه میانگین‌ها در جداول ۱، ۲، ۳ و ۴ نشان داده شده‌اند. همان‌طور که در جدول ۱ و ۲ مشاهده می‌شود جمعیت نهایی نماتود در تیمارهای مورد آزمایش در خاک اتوکلاو شده و خاک مزرعه نسبت به تیمار شاهد کاهش یافته و اختلاف معنی‌داری در سطح پنج در صد بین آنها دیده می‌شود. در میان جدایه‌های تریکودرمای مورد استفاده، تیمارهای ۳ و ۴ یعنی جدایه‌های *T. harzianum* Bi و *T. virens* VM1 بیشترین تأثیر را در کاهش جمعیت نهایی نماتود نشان دادند.

با توجه به تجزیه واریانس عملکرد چغندر قنددر خاک اتوکلاو شده، بین تیمارهایی که قارچ به‌کار رفته با تیمارهای

جدول ۱. اثر جدایه‌های تریکودرما روی جمعیت نماتود سیستی چغندرقند در خاک مشرون آلوده شده به نماتود در شرایط گلخانه

۴	۳	۲	۱		
درصد کنترل	درصد تکثیر %Mr	شاخص تولید مثل Rf	جمعیت نهایی نماتود Pf	جدایه‌ها	تیمار
۵۶/۵۲ bc	۴۳/۴۷ dc	۲۰/۱۸ dc	۶۷۲۴/۷۶ dc	مشهد *T. harzianum* HM2	۱
۴۰/۹۰ dc	۵۹/۱۰ bc	۲۷/۳۷ bc	۹۰۹۱/۱۶ bc	مشهد *T. harzianum* HM4	۲
۷۶/۶۸ a	۲۳/۳۲ e	۱۰/۷۶ e	۳۵۸۷/۱۷ e	کلکسیون *T. harzianum* Bi	۳
۷۲/۶۵ a	۲۷/۳۵ e	۱۲/۶۲ e	۴۲۰۷/۷۳ e	مشهد *T. virens* VM1	۴
۳۸/۵۵ c	۶۱/۴۵ b	۲۸/۳۵ b	۹۲۵۲/۹۰ b	مشهد *T harzianum* HM5	۵
۲۳/۰۹ dc	۵۶/۹۱ bc	۲۶/۲۶ bc	۸۷۵۲/۲۷ bc	کلکسیون *T. harzianum* HC4	۶
۵۷/۶۹ bc	۴۲/۳۱ dc	۱۹/۵۲ dc	۶۵۰۷/۹۳ dc	مشهد *T. virens* VM4	۷
۴۴/۹۰ d	۵۵/۱۰ c	۲۵/۴۲ c	۸۴۷۵/۵۷ c	کلکسیون *T. harzianum* HC1	۸
۵۱/۶۵ c	۴۸/۳۵ d	۲۲/۳۱ d	۷۴۳۷/۵۰ d	کلکسیون *T. virens* VC5	۹
۵۸/۵۴ b	۴۶/۱۴ c	۱۹/۱۳ c	۶۳۷۷/۶۷ c	کلکسیون *T. harziamum* HC3	۱۰
۰ f	۱۰۰ a	۴۶/۱۴ a	۱۵۳۸۱/۳۳ a	شاهد آلوده (نماتود بدون قارچ)	۱۱
–	–	–	–	شاهد سالم (بدون نماتود و قارچ)	۱۲

۱. هر عدد متوسط ۳ تکرار است

۲. Rf نسبت جمعیت نهایی نماتود به جمعیت اولیه است. جمعیت اولیه نماتود ۳۳۳ عدد تخم و لارو در ۱۰۰ گرم خاک است.

۳. $\%\ Mr = \frac{\text{Pf تیمار}}{\text{Pf تیمار نماتود بدون قارچ}} \times 100$

۴. درصد تکثیر – ۱۰۰= درصد کنترل

– میانگین‌های دارای حروف مشابه در ستون بر اساس آزمون دانکن در سطح پنج درصد معنی‌دار نیستند.

شاهد از نظر وزن تر غده اختلاف معنی‌داری در سطح یک در صد مشاهده می‌شود ولی در رابطه با وزن تر شاخ و برگ اختلاف معنی‌دار نیست. در رابطه با وزن خشک غده و شاخ و برگ بین تیمارهایی که قارچ به‌کار رفته با تیمار شاهد اختلاف معنی‌داری در سطح پنج در صد مشاهده می‌شود. در میان جدایه‌های قارچ مورد استفاده، تیمارهای ۳ و ۴ یعنی جدایه‌های *T. harzianum* Bi و *T. virens* VM1 بیشترین تأثیر را در افزایش وزن غده چغندر قند و افزایش وزن شاخ و برگ در خاک اتوکلاو شده داشته‌اند. همان‌گونه که در جدول (۱ و ۲) مشاهده می‌شود آلودگی خاک به نماتود در تیمارهای ۳ و ۴ یعنی جدایه‌های *T. harzianum* Bi و *T. virens* VM1 به میزان چشمگیری کاهش یافته، به‌طوری که کنترل نماتود توسط دو تیمار ذکر شده در خاک اتوکلاو شده به ترتیب ۷۶/۶۸ و ۷۲/۶۵ و در خاک مزرعه به ترتیب ۷۵/۱۴ و ۷۲/۷۷ در صد است. میانگین عملکرد نیز در تیمارهای مذکور با شاهد سالم برابری می‌کند که نشان دهنده کارآیی نسبتاً بالای این قارچ‌ها می‌باشد. وزن تر غده و شاخ و برگ و وزن خشک غده و شاخ و برگ در تیمارهای مذکور افزایش نشان داده است (جدول ۲). در شرایط خاک مزرعه (خاک اتوکلاو نشده) نیز تجزیه واریانس به‌دست آمده از بررسی میزان کارآیی قارچ‌های آنتاگونیست در کنترل نماتود سیستی چغندر قند نشان می‌دهد که اختلاف معنی‌داری در رابطه با عملکرد محصول (وزن تر و وزن خشک غده) بین تیمارهای مورد بررسی در رابطه با شاهد در سطح پنج درصد و یک درصد مشاهده می‌شود. در خاک مزرعه نیز جدایه‌های *T. harzianum* Bi و *T. virens* VM1 تأثیر مثبتی در افزایش

جدول ۲. اثر جدایه‌های تریکودرما روی جمعیت نماتود سیستی چغندرقند درخاک مزرعه با آلودگی طبیعی به نماتود در شرایط گلخانه

۴	۳	۲	۱	
درصد کنترل	درصد تکثیر %Mr	شاخص تولید مثل RF	جمعیت نهایی نماتود Pf	جدایه‌ها	تیمار
۵۹/۲۳ °	۴۰/۶۷ °	۱۶/۳۱ °	۶۵۲۲ /۷۰ °	مشهد *T.harzianum* HM2	۱
۲۱/۱۶ ef	۵۸/۷۲ de	۲۳/۵۶ de	۹۲۲۴ /۳۷ de	مشهد *T. harzianum* HM4	۲
۷۵/۱۵ b	۲۴/۸۵ f	۹/۹۶ f	۳۹۸۷ /۲۲ f	کلکسیون *T. harzianum* Bi	۳
۷۲/۷۸ b	۲۷/۱۲ f	۱۰/۹۱ f	۴۳۲۷ /۲۲ f	مشهد *T. virens* VM1	۴
۳۹/۰۰ f	۶۱/۰۰ b	۲۴/۲۶ b	۹۷۸۵ /۸۲ b	مشهد *T. harzianum* HM5	۵
۳۳/۳۵ de	۵۶/۴۵ cd	۲۲/۷۲ cd	۹۰۸۸ /۱۰ cd	کلکسیون *T. harzianum* HC4	۶
۵۵/۱۶ cd	۴۴/۷۲ de	۱۷/۹۲ de	۷۱۷۷ /۶۰ de	مشهد *T. virens* VM4	۷
۴۵/۴۶ c	۵۴/۵۴ c	۲۱/۸۷ c	۸۷۴۹/۰۰ c	کلکسیون *T. harzianum* HC1	۸
۵۱/۹۳ cd	۴۸/۰۷ d	۱۹/۲۷ d	۷۷۱۲/۰۰ d	کلکسیون *T. virens* VC5	۹
۴۵/۳۳ c	۵۴/۶۷ c	۲۱/۹۲ c	۸۷۷۱ /۰۰ c	کلکسیون *T. harzianum* HC3	۱۰
۰ a	۱۰۰ a	۴۰/۱۰ a	۱۶۰۴۰/۰۰ a	شاهد آلوده (نماتود بدون قارچ)	۱۱
۸۱/۹۵ a	۱۸/۲۵ e	۷/۲۵ e	۲۹۴۲/۰۰ e	شاهد سالم(نماتودکش و بدون قارچ)	۱۲

۱. هر عدد متوسط ۳ تکرار است

۲. Rf نسبت جمعیت نهایی نماتود به جمعیت اولیه نماتود است. جمعیت اولیه نماتود ۴۰۰ عدد تخم و لارو در ۱۰۰ گرم خاک

۳. $\frac{\text{Pf هر تیمار}}{\text{Pf تیمار نماتود بدون قارچ}} \times 100 = \%$ تکثیر

۴. درصد تکثیر − ۱۰۰ = درصد کنترل نماتود کش راگبی ۱۰G و میزان مصرف ۱۰ گرم در هر گلدان سه کیلوگرمی

- میانگین‌های دارای حروف مشابه هر ستون بر اساس آزمون دانکن در سطح پنج درصد معنی‌دار نیستند.

جدول ۳. اثر جدایه‌های تریکودرما روی عملکرد چغندر قند در خاک ستون آلوده شده به نماتود سیستی چغندر قند در شرایط گلخانه

تیمار	جدایه‌ها	وزن تر غده (گرم)	وزن تر شاخ و برگ (گرم)	وزن خشک غده (گرم)	وزن خشک شاخ و برگ (گرم)
۱	مشهد *T. harzianum* HM2	۵۰/۶۹ bc	۶۲/۲۸ ab	۱۸/۰۲ abcd	۱۳/۱۵ abc
۲	مشهد *T. harzianum* HM4	۳۲/۰۹ e	۵۴/۰۷ ab	۱۰/۰۲ cd	۱۲/۰۱ bc
۳	کلکسیون *T. harzianum* Bi	۷۱/۵۸ a	۸۴/۴۴ a	۲۵/۴۷ a	۱۶/۷۲ ab
۴	مشهد *T. virens* VM1	۷۱/۱۴ a	۷۹/۲۰ ab	۲۱/۵۲ ab	۱۶/۲۵ ab
۵	مشهد *T. harzianum* HM5	۳۲/۱۷ e	۴۲/۴۷ b	۸/۷۹ d	۹/۰۲ c
۶	کلکسیون *T. harzianum* HC4	۳۴/۸۲ e	۷۹/۸۳ ab	۱۱/۸ bcd	۱۳/۳۹ abc
۷	مشهد *T. virens* VM4	۵۰/۷۹ bc	۲۸/۷ ab	۱۹/۵۲ abc	۱۲/۱۷ bc
۸	کلکسیون *T. harzianum* HC1	۴۵/۶۴ c	۵۸/۳۱ ab	۱۶/۶۵ abc	۱۱/۷۹ bc
۹	کلکسیون *T. virens* VC5	۴۲/۲۲ c	۶۷/۵۷ ab	۱۳/۱۷ abcd	۱۲/۳۱ bc
۱۰	کلکسیون *T. harzianum* HC3	۵۲/۵۵ bc	۴۸/۰۲ ab	۱۸/۵۲ abc	۱۱/۴۲ bc
۱۱	شاهد آلوده (نماتود بدون قارچ)	۵۱/۷۰ bc	۵۶/۴۷ ab	۱۵/۲۲ abcd	۱۰/۷۲ c
۱۲	شاهد سالم (بدون نماتود وقارچ)	۷۶/۰۵ a	۸۲/۳۳ a	۲۱/۰۳ ab	۱۷/۴۷ a

میانگین‌های دارای حروف مشابه در ستون بر اساس آزمون دانکن در سطح ۵٪ در یک گروه آماری قرار دارند.

جدول ۲. اثر جدایه‌های تریکودرما روی عملکرد چغندر قند در خاک مزرعه با آلودگی طبیعی به نماتود سیستی چغندر قند در شرایط گلخانه

تیمار	جدایه‌ها	وزن تر غده (گرم)	وزن تر شاخ و برگ (گرم)	وزن خشک غده	وزن خشک شاخ و برگ
۱	مشهد *T.harzianum* HM2	۴۶/۹۵ ab	۴۱/۱۰ a	۱۶/۷۵ a	۷/۹۶ cd
۲	مشهد *T. harzianum* HM4	۴۵/۷۵ ab	۴۳/۴۵ a	۱۸/۶۹ a	۶/۵۶ cd
۳	کلکسیون *T. harzianum* Bi	۴۲/۹۶ a	۶۷/۰۰ a	۲۱/۹۰ a	۱۶/۸۲ ab
۴	مشهد *T. virens* VM1	۴۳/۹۰ a	۶۸/۰۰ a	۲۱/۳۰ a	۲۰/۴۰ a
۵	مشهد *T. harzianum* HM5	۲۸/۸۲ b	۳۶/۶۳ a	۴/۷۵ b	۶/۴۵ d
۶	کلکسیون *T. harzianum* HC4	۳۲/۴۵ b	۵۳/۰۰ a	۱۵/۷۲ a	۶/۵۰ d
۷	مشهد *T. virens* VM4	۴۶/۲۳ ab	۴۱/۳۹ a	۲۱/۹۵ a	۸/۶۸ bcd
۸	کلکسیون *T. harzianum* HC1	۳۶/۴۳ b	۴۱/۷۵ a	۲۲/۵۰ a	۱۱/۶۰ abcd
۹	کلکسیون *T. virens* VC5	۴۵/۱۲ ab	۶۳/۵۷ a	۲۱/۴۰ a	۱۰/۶۸ bcd
۱۰	کلکسیون *T. harzianum* HC3	۴۵/۰۸ ab	۲۲/۵۰ a	۴/۵۵ b	۶/۴۵ d
۱۱	شاهد سالم (نماتودکش بدون قارچ)	۳۶/۵۹ b	۵۰/۴۲ a	۱۶/۴۰ a	۱۴/۵۲ abc
۱۲	شاهد آلوده(نماتود بدون قارچ)	۲۹/۰۰ b	۳۸/۰۰ a	۸/۳۵ b	۶/۸۰ cd

میانگین‌های دارای حروف مشابه در ستون بر اساس آزمون دانکن در سطح ۵٪ در یک گروه آماری قرار دارند.

عملکرد محصول وزن غده چغندر قند نسبت به تیمارهای دیگر به‌کار رفته نشان می‌دهد (جدول۲) با وجود این‌که این دو تیمار با تیمار سم راکیی دو یک گروه آماری قرار نمی‌گیرند اما در کاهش جمعیت نماتود، کاهش آلودگی و افزایش عملکرد اختلاف چندانی بین آنها مشاهده نمی‌شود (جدول۲ و ۴). مایر و همکاران (۱۶) گونه *T. virens* G1-3 را در کاهش جمعیت نماتود مولد غده ریشه موثر می‌دانند. آنها این جدایه و باکتری *Burkholderia cepacia* Bc-2 را علیه نماتود مولد گره ریشه *M. incognita* مورد بررسی قرار دادند. محیط کشت فیلتر شده حاوی ترکیبات خارج سلولی قارچ و باکتری از تفریخ تخم و حرکت لاروهای سن دوم جلوگیری کرد. هم‌چنین آغشته کردن ریشه‌های گوجه فرنگی به محیط کشت فیلتر شده *T. virens* باعث شد که تعداد تخم و لارو نماتود در گرم ریشه ۴۲ در صد نسبت به شاهد کاهش یابد. در این تحقیق نیز گونه *T.* VM1 *virens* در کاهش جمعیت نماتود سیستی چغندرقند تا ۷۲ درصد و افزایش عملکرد موثر بوده است. ویندهام و همکاران (۲۷) گزارش کردند که گونه *T. harzianum* T-12 و گونه T-8 *T. koningii* در کاهش تولید تخم و لارو نماتود مولد گره ریشه *Meloidogyne arenaria* در خاک تأثیر دارند. رایو و همکاران (۲۰) گونه‌های *T. harzianum* و *T. lignorum* را در کاهش جمعیت *M. incognita* مؤثر می‌دانند. اثر متقابل بین گونه *T. harzianum* و نماتود طلایی سیب زمینی *Globodera rostochiensis* در شرایط آزمایشگاه به وسیله سیف الله و توماس (۲۲) مورد بررسی قرار گرفته است. آنها مشخص نمودند که تریکودرما سیست‌های نماتود طلایی سیب زمینی را کلونیزه کرده و به تخم‌های داخل سیست نیز نفوذ کرده و باعث مرگ لاروها می‌شود. شارون و همکاران (۲۳) در بررسی کنترل بیولوژیکی نماتود مولد گره ریشه *M. javanica* به وسیله قارچ *T. harzianum*، چندین جدایه از قارچ مذکور را مورد آزمایش قرار دادند. آنها معتقدند همه جدایه‌های تریکودرما، تخم‌ها و

لاروهای سن دوم نماتود مولد گره ریشه را در شرایط آزمایشگاهی کلونیزه کردند. سایکورا و همکاران (۲۴) نیز دو جدایه از گونه *T. harzianum* (T35, T203) را برای کنترل نماتودهای مولد گره ریشه معرفی نمودند.

عوامل آنتاگونیست با مکانیسم‌های مختلفی موجب محدودیت رشد و بیماری‌زایی عوامل بیماری‌زای گیاهی می‌شوند. به عنوان مثال قارچ *T. harzianum* با ایجاد رقابت، خواص مایکوپارازیتیسمی و تولید آنزیم و ترکیبات سمی با عوامل بیماری‌زا مقابله می‌کند. این قارچ به‌طور اختصاصی در مقابل عوامل نماتودی دارای مکانیسم‌های ایجاد ترکیبات ضد نماتودی و اثر مستقیم روی لاروهای سن دوم و تخم نماتود و هم‌چنین با کاهش میزان جذب نماتودها توسط ریشه، نفوذ آنها را محدود کرده رعلاوه بر این با القای مکانیسم‌های دفاعی گیاه در مقابل حمله نماتود موجب محدودیت بیماری‌زایی آن می‌شود. به‌طوری که می‌توان گفت مکانیسم‌های مختلف قارچ *T. harzianum* به جز رقابت بر علیه نماتودها موثر می‌باشد (۲۳).

یکی از نکات قابل توجه که در بررسی‌های گلخانه‌ای مشاهده شد وضعیت رشدی، سرسبزی و شادابی بیشتر به همراه توسعه بهتر اندام‌های هوایی در کل تیمارهایی بود که تریکودرما در زمان کاشت با خاک گلدان‌ها اضافه شده بود به‌طوری‌که در جدول ۴ مشاهده می‌شود وزن شاخ و برگ در خاک مزرعه در کل تیمارهای به‌کار رفته نسبتاً مناسب است و همه تیمارها در یک گروه آماری قرار گرفته‌اند. به‌نظر می‌رسد قارچ تریکودرما علاوه بر خاصیت آنتاگونیستی باعث تحریک رشد در بسیاری از گیاهان می‌شود. البته میزان رشد شاخ و برگ در تیمارهای T۲ یعنی جدایه‌های *T. harzianum* Bi و *T. virens* VM1 بیشتر از تیمارهای دیگر می‌باشد لذا به نظر می‌رسد دو جدایه مذکور علاوه بر این‌که جمعیت نماتود سیستی را در خاک کاهش می‌دهند باعث افزایش رشد غده و شاخ و برگ در شرایط خاک اتوکلاو شده و خاک مزرعه می‌گردند. البته بعضی از جدایه‌های تریکودرما نیز باعث کاهش وزن غده شده‌اند (جدول ۳). لذا نمی‌توان تغییرات وزن بوته را به تنهایی به نماتود نسبت داد زیرا جدایه‌های تریکودرما می‌توانند با تولید ترکیبات رشد یا ترکیبات بازدارنده به سهم خود روی رشد گیاه اثر گذار باشند.

نتایج به‌دست آمده از این تحقیق نشان داد که دو جدایه *T. harzianum* Bi و *T. virens* VM1 در شرایط آزمایشگاه و گلخانه در خاک اتوکلاو شده و در خاک مزرعه نسبت به جدایه‌های دیگر که در این تحقیق مورد استفاده قرار گرفتند در افزایش عملکرد محصول و فاکتورهای رشدی گیاه و کاهش میزان آلودگی خاک تأثیر بسزایی داشته است. لذا پیشنهاد می‌شود این دو جدایه در شرایط مزرعه نیز مورد بررسی قرار گیرد تا بتوان در مورد استفاده عملی این آنتاگونیست‌ها در مزرعه اظهار نظر نمود.

سپاسگزاری

از حوزه معاونت محترم پژوهشی دانشگاه فردوسی مشهد به خاطر تأمین بودجه و فراهم آوردن امکانات اجرایی این طرح تشکر و قدردانی می‌شود. هم‌چنین از مدیریت محترم کارخانه قند نیرین و بخش کشاورزی آن (خانم مهندس لعیا غفورنیا) در تهیه بذر و ارسال نمونه تشکر و قدردانی می‌شود. همکاری‌های خانم‌ها مهندس فاطمه آزاد دیسفانی، مهندس متینه رضایی و آقایان مهندس حمیدرضا رفیعی و مهندس اردشیر غلامی در اجرای طرح و ارسال نمونه قابل تقدیر و تشکر است.

منابع مورد استفاده

۱. احمدی، ع.، ف. حجارود، ع. شریفی تهرانی، ا. خیری و ا. اخیانی. ۱۳۷۴. جداسازی *Fusarium solani* از نماتود سیستی چغندر قند و بررسی اثر آنتاگونیستی آن روی تخم در شرایط آزمایشگاه. خلاصه مقالات دوازدهمین کنگره گیاه‌پزشکی ایران، آموزشکده کشاورزی کرج.

۲. احمدی، ع.، ع. شریفی تهرانی، ا. خیری و ق. حجاروند. ۱۳۷۷. جداسازی قارچ‌های *Paecilomyces* spp. و *Fusarium solani* از *Heterodera schachtii* و کارآیی آنها در کنترل بیولوژیکی نخم‌های نماتود در شرایط آزمایشگاه. بیماری‌های گیاهی ۳۴(۳و۴):۱۸۶-۱۹۷.

۳. حجت جلالی، ع. و ژ. کامن. ۱۳۷۴. قارچ‌های آنتاگونیست نماتود سیستی چغندرقند در ایران. خلاصه مقالات دوازدهمین کنگره گیاه‌پزشکی ایران، آموزشکده کشاورزی کرج.

۴. فاطمی، ص. ۱۳۷۲. جدا سازی *Paecilomyces fumosoroseus* از سیست‌های *Heterodera schachtii* خلاصه مقالات یازدهمین کنگره گیاه‌پزشکی ایران، دانشگاه گیلان، رشت.

۵. فاطمی، ص. ۱۳۷۷. مطالعه اثر آنتاگونیستی *Paecilomyces fumosoroseus* روی *Meloidogyne javanica* و *Heterodera schachtii* . بیماری‌های گیاهی ۳۴: ۶۷ - ۷۶.

6. Bisset, J. 1991a. A revision of the genus *Trichoderma*. II. Infragenoric classification. Can. J. Bot. 69: 2357-2372.
7. Bisset, J. 1991b. A revision of the genus *Trichoderma*. III. Section *Pachybasium*. Can. J. Bot. 69: 2373-2417.
8. Dhingra, O. D. and J. B. Sinclair. 1995. Basic Plant Pathogenic Methods. CRS Press Inc., 2nd ed., USA.
9. Dufour, R., M. Guerena and R. Earles. 2003. Alternative nematode control. ATTRA. 14p.
10. Fenwick, D.W. 1940. Methods for recovery and counting of *Heterodera schachtii* from soil. J. Helminthological Soc. Washington 18:155-177.
11. Gao, X. and J.O. Backer. 2002. Population development of both sexes of *Heterodera schachtii* is diminished in a beet cyst nematode- suppressive soil. Biol. Control 25 : 187- 194.
12. Hay, F.S. and L. Bateson. 2004. Biological control of clover cyst nematode (*Heterodera trifolii*) with fungi parasitic to nematodes of their eggs. Phytopathology 152(7,8) : 514-518.
13. Kerry, B.R. 1987. Biological control. PP. 233- 263 *In*: Brown & B.R. Kerry (Eds.), Principles and Practice of Nematode Control in Crops. R.H. Aps, New york.
14. Lopez, D. J. and M.D. Romer. 1988. Fungal parasites of eggs and cysts of *Heterodera schachtii* in the Duero valley. Helminthological Abstract 58(1) :30 (Abstract) .
15. Meyer, S.L.F., S.I. Massoud, D.J. Chitwood and D.P. Roberts. 2000. Evaluation of *Trichoderma virens* and *Burkholderia cepacia* for antagonistic activity against root knot nematode, *Meloidogyne incognita*. Nematology 2 (8) : 871-879.
16. Meyer, S.L.F., D.P. Roberts, D.J. Chitwood , L.K. Carta, R.D. Lumsden and W. Mao. 2001. Application of *Burkholderia cepacia* an *Trichoderma virens* alone and combinations, against *Meloidogyne incognita* on Bell pepper. Nematropica 31(1) : 75- 86.
17. Mulvey, R.H. 1972. Identification of *Heterodera* cyst by terminal and cone top structures. Can. J. Zool. 50(10):1277-1292.
18. Mulvey, R.H. and M.A. Golden. 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.
19. Nigh, E.A., I.J. Thomason and S.O. Vangundy. 1980. Identification and distribution of fungal parasites of *Heterodera schachtii* eggs in California. Phytopathology 10: 887-889.
20. Rao, M.S., P.P. Reddey and M. Nagesh. 1998. Evaluation of plant based formulations of *Trichoderma harzianum* for the management of *Meloidogyne incognita* on egg plant. Nematologica Mediterranea 26: 56- 62.
21. Reddey, P.P., M.S. Rao and M. Nagesh. 1996. Management of citrus nematode, Tylenchulus semipenetrans, by integration of *Trichoderma harzianum* with oil cakes. Nematologica Mediterranea 24: 265-267.
22. Saifullah and B. J. Thomas. 1996. Studies on the parasitism of *Globodera rostochiensis* by *Trichoderma harzianum* using low temperature scaning electron microscopy. Afro-Asian J. Nematol. 6: 117-122.
23. Sharon, E., M. Bar-Eyal, I. Chet, A. Herrera-Estrella, O. Keleifed and Y. Spiegel. 2001. Biological control of the root knot nematode *Meloidogyne javanica* by *Trichoderma harzianum*. Phytopathology 97:687-693.
24. Sikora, R.A. 2005. Use of *Trichoderma harzianum* and *T. virens* for the biological control of *Meloidogyne incognita* on tomato. Phytopathol. and Nematol. in Soil Ecosys. Page:1-7.
25. Stirling, G. A. 1991. Biological control of plant parasitic nematodes. CAB International, Wallingford, UK.
26. Westphal, A. and J.O. Becker. 2001. Components of soil suppressive ness against *Heterodera schachtii*. Soil Biol. and Biochem. 33(1): 9-16.
27. Windham, G.L., M.T. Windham and W.P. Williams. 1989. Effects of *Trichoderma* spp. on maize growth and *Meloidogyne arenaria* reproduction. Plant Dis. 73: 493-494.

J. Sci. & Technol. Agric. & Natur. Resour., Vol. 13, No. 48, Summer 2009, Isf. Univ. Technol., Isf., Iran.

Biological Control of Sugar Beet Cyst Forming Nematode *with Trichoderma* Under *In Vitro* and Green House Condition

E. Mahdikhani Moghadam*, H. Rouhani and M. Fallahi Rastgar[1]

(Received : Jul. 6-2008 ; Accepted : May 24-2009)

Abstract

Sugar beet cyst forming nematode (*Heterodera schachtii*) is one of the most important pathogens of the sugar beet in Iran. For biological control of *Heterodera schachtii*, 10 isolates of *Trichoderma* related to two species *T. harzianum* and *T. virens* were examined in laboratory and green house on eggs and cysts for two years. Results obtained from the laboratory assay showed that isolates of *Trichoderma* parasitized 60% eggs on average. Among them two isolates *T. harzianum* Bi and *T. virens* $VM_1$with % 76.18 and %72.55 parasitism, respectively, showed more efficiency compared with the control. In green house, experiments were carried out in autoclaved and non autoclaved soils (field soils) separately with 12 treatments and 3 replications including non infested control (using Ragbi nematicide in field soils experiment), and infested control treated with isolates of *Trichoderma* using Randomized Complete Design. Then analysis of variance for the bio-control potential of isolates, final population of nematode, fresh and dry root weight, fresh and dry leaves weight inoculated with isolates of *Trichoderma* was carried out. The results revealed a significant difference ($P<0.05$) between treatments and control according to Duncan's Multiple Range Test. *T. harzianum* Bi and *T. virens* VM_1 decreased population of nematodes, and increased yield in autoclaved and field soils. In autoclaved soils, the two isolates (*T. harzianum* Bi and *T. virens* VM_1) decreased population of nematodes by %76.68 and %72.65, respectively compared with the control. The Ragbi nematicide, *T. harzianum* Bi and *T. virens* VM_1 decreased population of nematodes by %81.65, %75.15 and %72.85, respectively compared with the control in field soils experiments.

Keywords: Biological control, *Heterodera schachtii*, *Trichoderma*.

1. Assis. Prof., Assoc. Prof. and Prof. of Plant Pathol., Respectively, College of Agric., Ferdowsi Univ. of Mashhad, Mashhad, Iran.

*: Corresponding Author, Email: mahdikhani_e@yahoo.com