مطالعه‌ی وقوع هم‌زمان نماتد *Zygotylenchus guevarai* و قارچ *Fusarium oxysporum* در ریشه و فراریشه‌ی گیاه دارویی انجدان رومی و کنترل نماتد توسط نماتدکش کادوزافوس در شهرستان بویراحمد

سیمین انصاری[۱]، حبیب‌اله چاره‌گانی[۲*]، رضا قادری[۳] و محمد عبدالهی[۴]

۱- دانش‌آموخته کارشناسی‌ارشد نماتدشناسی، گروه گیاهپزشکی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه یاسوج، یاسوج، ایران.
۲ و ۴- به ترتیب استادیار و استاد بیماری‌شناسی گیاهی، گروه گیاهپزشکی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه یاسوج، یاسوج، ایران.
۴- استادیار بیماری‌شناسی گیاهی، گروه گیاهپزشکی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه شیراز، شیراز، ایران.
* مسئول مکاتبه h.charehgani@yu.ac.ir

تاریخ دریافت: ۹۶/۷/۱۲ تاریخ پذیرش: ۹۶/۱۱/۷

چکیده

نماتد مولد زخم گونه‌ی *Zygotylenchus guevarai* یکی از نماتدهای انگل گیاهی شناخته شده در سراسر دنیا می‌باشد. این نماتد اطراف ریشه گیاهان مختلف در بسیاری از کشورها گزارش شده است. در یک مزرعه‌ی گیاه انجدان رومی (*Levisticum officinale*) با نشانه‌های پژمردگی آوندی در شهرستان بویراحمد، وجود قارچ *Fusarium oxysporum* و نماتد *Z. guevarai* در فراریشه و ریشه‌ی گیاه محرز گردید. اثر نماتدکش کادوزافوس (با نام تجاری راگبی) به میزان صفر، ۰/۰۵ و ۰/۱ گرم در کیلوگرم خاک بررسی شد. آزمایش در قالب طرح کاملاً تصادفی با چهار تکرار در شرایط گلخانه انجام و از آب مقطر سترون به عنوان شاهد استفاده شد. نتایج نشان داد که تیمارهای ۰/۰۵ و ۰/۱ گرم در کیلوگرم خاک موجب کاهش جمعیت نماتد در خاک (به میزان ۸۱/۰ و ۹۱/۴ درصد)، جمعیت نهایی نماتد (به میزان ۴۷/۹ و ۷۳/۷ درصد) و عامل تولیدمثل نماتد (به میزان ۴۸/۰ و ۷۳/۵ درصد) نسبت به شاهد شدند اما جمعیت نماتد در ریشه به میزان ۲۸۱ و ۱۴۹ درصد به ترتیب در تیمار ۰/۰۵ و ۰/۱ گرم در کیلوگرم خاک در مقایسه با شاهد افزایش نشان داد.

واژه‌های کلیدی: پژمردگی آوندی، کنترل، نماتد انگل داخلی، نماتدکش.

مقدمه

نماتد *Zygotylenchus guevarai* (Tobar Jimeneza, 1963) Braun and Loof, 1966 با ایجاد زخم به ناحیه‌ی پوست ریشه‌ی گیاه حمله کرده و با ایجاد حفره‌های بزرگ، پوست ریشه گیاه را از بین می‌برد. تخریب بافت اپیدرمی و آوندی گیاه نیز توسط این نماتد گزارش شده است (کاراکاس ۲۰۱۲). به‌علاوه این نماتدها با ایجاد زخم راه را برای ورود سایر عوامل بیماری‌زای گیاهی ازجمله قارچ‌ها و باکتری‌ها باز کرده و به تخریب ریشه سرعت می‌بخشند. البته زمانی که جمعیت نماتدهای مولد زخم پایین و یا سن گیاه بالا باشد، حتی با وجود قارچ در خاک، تخریب ریشه رخ نمی‌دهد. به دلیل تغذیه‌ی این نماتدها از سلول زنده‌ی ریشه، پس از ایجاد بیماری مرکب با گونه‌های بیماری‌زای اعضای جنس *Fusarium* Link, 1809 به نظر می‌رسد جمعیت نماتد افزایش نمی‌یابد. نشانه‌های تنش ریشه در بخش هوایی گیاه شامل کوتولگی، کمبود مواد غذایی و گاه خشکیدگی سرشاخه، زمانی بروز می‌کند که جمعیت نماتد بالا و گیاه جوان باشد. بیماری‌زایی این نماتدها تنها زمانی تأیید می‌شود که از خاک وارد ریشه‌ی گیاه شده باشند (دیویس و مک گودین ۲۰۰۰). مدیریت این نماتدها پیچیده است زیرا قادر به آلوده‌سازی دامنه‌ی وسیعی از گیاهان بوده و توانایی تحمل به خشکی را دارا هستند. از طرفی همراه با قارچ‌های بیماری‌زای گیاهان باعث بروز بیماری‌های مرکب می‌شوند (کاستیلو و وولاس ۲۰۰۷). زمانی که روش‌های مبارزه‌ی غیرشیمیایی قادر به کنترل جمعیت نماتدهای انگل گیاهی نباشد، استفاده از سموم نماتدکش شیمیایی ضروری می‌نماید (زاسادا و همکاران

۲۰۱۰). عموما نیز استفاده از سموم غیرتدخینی نسبت به سموم تدخینی برای کشاورزان امن‌تر بوده و کاربرد ساده‌تری دارند (لمبرتی و همکاران ۲۰۰۰).

نماتدکش گرانوله و ارگانوفسفاته‌ی راگبی[1] با نام عمومی کادوزافوس[2]، یک نماتدکش غیرتدخینی و چربی‌دوست است و به دلیل خاصیت چربی‌دوستی، قابل جابجایی در گیاه است ولی مقدار این جابجایی به گیاه مربوطه بستگی دارد. در برخی از گیاهان این سم از حد ریشه فراتر نرفته و تجمع آن در بافت ریشه باعث گیاه‌سوزی یا کاهش وزن ریشه می‌شود (ژنگ و کوپر ۱۹۹۶). سم راگبی توسط گیاه جذب نشده و پس‌مانده‌ی آن در میوه یافت نمی‌شود. قابلیت انحلال محدود و جابجایی کم تا متوسط آن در خاک موجب عدم پراکنش اثر آن در اطراف منطقه آلوده می‌شود (صفدر و همکاران ۲۰۱۲).

گیاه دارویی و ادویه‌ای انجدان رومی، چندساله و از تیره چتریان است که از ریشه‌ی آن برای تهیه ادویه و دارو استفاده می‌شود (بامدادیان ۱۳۹۵). در تحقیق حاضر امکان کنترل نماتد *Z. guevarai* با استفاده از دوزهای مختلف سم راگبی مورد ارزیابی قرار گرفت.

مواد و روش‌ها

تهیه‌ی گیاه انجدان رومی آلوده به بیماری پژمردگی آوندی

به هنگام نمونه‌برداری از فراریشه‌ی گیاهان دارویی روستای دشت‌روم شهرستان بویراحمد، در ریشه‌ی گیاه انجدان رومی پوسیدگی و در برش عرضی آن حلقه‌ی قهوه‌ای روشن در محل آوندهای ریشه مشاهده شد. ریشه‌ی آلوده و خاک فراریشه‌ی آن به آزمایشگاه گیاه‌پزشکی دانشگاه یاسوج منتقل و قارچ *F. oxysporum* از بافت ریشه و طوقه‌ی گیاه جدا و خالص‌سازی گردید.

جداسازی، خالص‌سازی و شناسایی قارچ

قطعاتی از ریشه که در مرز محل آلوده و سالم بودند، با اسکالپل بریده و با پنس درون تشتک پتری سترون قرار داده شد و با استفاده از محلول هیپوکلریت سدیم[3] ۰/۵ درصد به مدت یک دقیقه ضدعفونی سطحی گردیدند. سپس به منظور حذف هیپوکلریت سدیم، قطعات با آب مقطر سترون به مدت ۳۰ ثانیه در سه نوبت شستشو شدند. برای حذف رطوبت، قطعات ضدعفونی شده به مدت چند دقیقه روی کاغذ صافی سترون قرار داده شدند. در نهایت، بافت‌های گیاهی در شرایط سترون به تشتک پتری حاوی محیط کشت پی‌دی‌ای (PDA) منتقل و به مدت ۴۸ ساعت در انکوباتور با دمای ۲۷ درجه‌ی سلسیوس قرار گرفت (امینی و همکاران ۱۳۹۲). پس از طی این مدت به منظور خالص‌سازی قارچ، قطعه‌ای از محیط کشت حاوی نوک ریسه‌های قارچ با پیپت پاستور سترون برداشته و به صورت وارونه، به‌طوری که ریسه‌ها با محیط کشت در تماس باشند، به محیط کشت پی‌دی‌ای دیگری منتقل و به مدت ۴۸ ساعت در انکوباتور با دمای ۲۷ درجه‌ی سلسیوس منتقل شد (صارمی ۱۳۷۷).

برای شناسایی گونه‌ی قارچ، مقداری از ریسه‌ی خالص‌سازی شده به محیط کشت آب و آگار و برگ میخک منتقل، پس از یک هفته از انکوباتور خارج و سپس از اسپورودوکیوم[4] و ماکروکنیدی‌های[5] تشکیل شده روی برگ میخک و از ریسه‌های مونوفیالید[6] و میکروکنیدی[7]های تشکیل شده بر روی محیط آب و آگار و دور از برگ میخک، اسلاید تهیه گردید (لسلییه و سومرل ۲۰۰۶). برای شناسایی گونه‌ی قارچ بر اساس شکل فیالید[8]، میکروکنیدی و ماکروکنیدی‌ها، از کلید نلسون و همکاران (۱۹۸۳) استفاده شد.

مقایسه‌ی خصوصیات نماتد *Z. guevarai* در ریشه و فراریشه‌ی گیاه

به منظور جداسازی نماتدها از فراریشه‌ی گیاهان آلوده به قارچ، از روش تکمیلی الک و سانتریفیوژ[9]

[1] Rugby
[2] Cadusafos
[3] Sodium hypochlorite
[4] Sporodochium
[5] Macroconidium
[6] Monophialid
[7] Microconidium
[8] Phialid
[9] Centrifuge

استفاده گردید (دگریس ۱۹۶۹). در نهایت به منظور شناسایی و نگهداری بلند مدت نماتدهای استخراج شده، اقدام به تهیه‌ی اسلاید میکروسکوپی دائمی گردید (سین‌هورست ۱۹۵۹).

پس از تهیه‌ی اسلایدهای دایمی از نماتدهای استخراج شده از ریشه و خاک، مهم‌ترین شاخص‌های ریخت‌سنجی این گونه در دو جمعیت موجود در خاک و ریشه، اندازه‌گیری و با هم مقایسه شد. برای این کار با استفاده از میکروسکوپ نوری، خصوصیات ریخت‌شناسی نماتدها بررسی و با استفاده از دوربین دیجیتالی دینولایت دینوکپچر[1]، مدل 7023b نسخه 10305[2]، خصوصیات ریخت‌سنجی نماتدها اندازه‌گیری گردید. برای شناسایی گونه‌ی نماتد نیز از کلید شناسایی گرارت (۲۰۱۳) استفاده گردید.

برای مقایسه‌ی جمعیت نماتد در ریشه با جمعیت نماتد در خاک در ابتدا نماتد باید در ریشه به وضوح مشاهده شود. برای این کار ریشه‌ی گیاه، به ترتیب زیر رنگ‌آمیزی شد. در ابتدا محلول پایه با غلظت ۰/۱ درصد، از حل کردن ۰/۱ گرم پودر اسید فوشین[3] در ۱۰۰ سی‌سی آب مقطر تهیه شد. سپس یک میلی‌لیتر از این محلول با ۱۹ میلی‌لیتر از ترکیب رقیق‌کننده کاملاً مخلوط شد. ترکیب رقیق‌کننده از مخلوط کردن آب مقطر، گلیسرین[4] و اسید لاکتیک[5] به مقدار مساوی حاصل شد. ریشه گیاهان را با آب شسته، در ادامه خشک و به قطعات یک سانتی‌متری تقسیم و در یک بشر کوچک قرار داده شد. مقداری از محلول رنگ‌آمیزی روی قطعات ریشه ریخته و سپس بشر حرارت داده شد. ۴۵ ثانیه پس از جوش آمدن مایع درون بشر محتویات بشر روی الک ۲۰ مش با منافذی به قطر ۸۴۱ میکرومتر ریخته و با آب شسته شدند. ریشه‌های رنگ شده پس از خشک کردن به یک تشتک پتری شش سانتی‌متری منتقل و بر روی آن‌ها ترکیب رنگ‌زدا ریخته شد. ترکیب رنگ‌زدا از مخلوط کردن آب مقطر و گلیسرین به نسبت مساوی و اضافه کردن چند قطره اسید لاکتیک، جهت جلوگیری از رشد میکروارگانیسم‌های مضر و رنگ‌بری بهتر، حاصل شد (هوپر ۱۹۸۶).

تأثیر نماتدکش کادوزافوس روی نماتد در شرایط گلخانه

برای تعیین اثر نماتدکش کادوزافوس بر نماتد در گیاه انجدان رومی، بذر گیاه در سینی نشا کشت گردید. پس از گذشت یک ماه، نشا به گلدان‌های چهار کیلوگرمی حاوی خاک مزرعه‌ی آلوده به ۱۲۴۰ نماتد *Z. guevarai* شامل همه‌ی مراحل زندگی نماتد و قارچ *F. oxysporum* منتقل شد و پس از یک هفته، نماتدکش کادوزافوس در مقادیر صفر (شاهد)، ۰/۰۵ و ۰/۱ گرم در کیلوگرم خاک به خاک اطراف ریشه افزوده شد. آزمایش در شرایط کنترل شده گلخانه (۱۶ ساعت روشنایی و هشت ساعت تاریکی در دمای ۵ ± ۲۸ درجه‌ی سلسیوس) با چهار تکرار در قالب طرح کاملاً تصادفی انجام گردید. پس از ۹۰ روز، جمعیت نماتد موجود در خاک و ریشه، جمعیت نهایی و فاکتور تولیدمثل نماتد، طبق فرمول: جمعیت نهایی نماتد/جمعیت اولیه نماتد، و همچنین شاخص‌های رشدی گیاه شامل طول، وزن تر و خشک شاخساره و وزن تر، طول ریشه و وجود قارچ مذکور بررسی و داده‌ها با استفاده از روش آنالیز واریانس یک طرفه (One-Way ANOVA) با استفاده از نرم‌افزار آماری SAS 9.1 آنالیز شد. آزمایش در قالب طرح کاملاً تصادفی انجام و مقایسه میانگین‌ها با استفاده از روش دانکن در سطح احتمال یک درصد انجام پذیرفت.

نتایج و بحث

شناسایی قارچ

قارچ جداشده از بافت آلوده‌ی ریشه‌ی گیاه انجدان رومی در محیط کشت پی‌دی‌ای به سرعت رشد کرده، رنگ پرگنه‌ی آن سفید کرم و سطح زیرین آن کرمی ارغوانی تا بنفش کم‌رنگ گردید. ماکروکنیدی‌ها تا حدی داسی شکل، دارای خمیدگی غیریکسان از یک طرف، سلول رأسی نازک و باریک و سلول پایه‌ای پاشنه‌ای شکل بود. میکروکنیدی گرد تا تخم‌مرغی شکل و بر روی

[1] Dino-Capture 2.0
[2] Version 1.3.5
[3] Fuchsin acid
[4] Glycerol
[5] Lactic acid

فیالیدها ایجاد شد و کنیدیوفور به صورت مونوفیالید کوتاه و ساده بود (شکل ۱). این مشخصات با مشخصات گونه‌ی *F. oxysporum* در کلید نلسون (نلسون و همکاران ۱۹۸۳) مطابقت دارد.

مقایسه‌ی جمعیت نماتد در ریشه با جمعیت نماتد در خاک

مشخصات ریخت‌شناسی و ریخت‌سنجی نماتد با مشخصات ریخت‌شناسی و ریخت‌سنجی گونه‌ی *Z. guevarai* در کلید گرارت (۲۰۱۳) مطابقت داشت. پس از رنگ‌آمیزی ریشه، تعداد نماتد *Z. guevarai* به طور میانگین در یک گرم ریشه ۳۲ و در صد گرم خاک ۲۱ عدد برآورد شد. جمعیت بالای نماتد در ریشه می‌تواند باعث پیش‌آمودگی گیاه نسبت به قارچ *F. oxysporum* شده باشد و یا بیماری پژمردگی آوندی گیاه را تشدید کرده باشد، که اثبات این مطلب نیاز به انجام آزمایشات تکمیلی در این خصوص دارد. تحقیقات زیادی درباره پیش‌آمودگی گیاه به عوامل بیماری‌زای ثانویه، از جمله قارچ‌ها، توسط نماتدها وجود دارد (سانکاری مینا و همکاران ۲۰۱۵). استار و همکاران (۱۹۸۹) اثر متقابلی را در جمعیت پایین نماتد *M. incognita* و جمعیت بالای قارچ *F. oxysporum* f. sp. *vasinfectum* مشاهده نکردند. همچنین نشان دادند که نماتد فقط در جمعیت بالا، رشد پنبه را در طی دو سال کاهش داده بود. ایشان نشان دادند که قارچ نه تنها بر رشد گیاه تأثیری نداشت بلکه تمایل به خنثی کردن اثرات نماتد داشت. همچنین ثابت نمودند که با افزایش زمان، نماتد باعث کاهش رشد و در نهایت مرگ گیاه شد. در کل کاهش رشد و محصول گیاه بیشتر در نتیجه‌ی حضور نماتد بود تا قارچ، ولی وجود قارچ در دراز مدت خسارت نماتد را افزایش داده بود. موزا و وبستر (۱۹۸۲) همکنش سطوح مختلف جمعیتی نماتد *Pratylenchus penetrans* و غلظت‌های مختلف قارچ *F. oxysporum* f. sp. *medicaginis* و *F. solani* را در گیاه یونجه بررسی کردند. نتایج نشان داد که نماتد و قارچ *F. oxysporum* f. sp. *medicaginis* اثر هم‌افزایی در بروز علایم بیماری دارند و در سطوح مختلف مانع از رشد یونجه شدند. آن‌ها نشان دادند که نماتد به تنهایی بیش‌تر از قارچ تنها باعث کاهش محصول می‌شود. جمعیت نماتد در ریشه در حضور قارچ *F. oxysporum* تغییر نکرد در حالی که گونه‌ی *F. solani* جمعیت نماتد را در ریشه کاهش داد. همچنین نشان دادند که آستانه‌ی خسارت اقتصادی، ۲۰۰ نماتد در هر گلدان بود و یک رابطه‌ی خطی منفی بین جمعیت نماتد و چگالی قارچ در ریشه مشاهده شد. در جمعیت‌های کم‌تر از ۲۰۰ نماتد، ورود قارچ به ریشه افزایش یافته بود. گونه‌ی *F. oxysporum* بیش از گونه‌ی *F. solani* رشد گیاه را به تعویق انداخته بود. همچنین مشخص شد که اثر متقابل نماتد و قارچ *F. oxysporum* بیش از حضور انفرادی قارچ، وزن تر شاخساره را کاهش داده بود.

مقایسه‌ی مشخصات ریخت‌سنجی جمعیت نماتد موجود در ریشه و خاک

در جمعیت نماتد ماده‌ی موجود در ریشه‌ی گیاه نسبت به جمعیت آن در خاک، طول بدن، طول استایلت، طول مری، میزان هم‌پوشانی غدد مری بر روده کم و دم نماتد کوتاه، عرض بدن در میانه‌ی بدن و عرض بدن در ناحیه‌ی روزنه‌ی تناسلی افزایش یافته و حباب میانی قطورتر شده بود. طول و عرض بدن، طول دم و استایلت نماتد نر در ریشه تغییر نکرده ولی طول مری افزایش و میزان هم‌پوشانی غدد مری بر روده کاهش یافته بود (جدول ۱، شکل ۱).

تغییرات شاخص‌های مذکور در نماتد ماده به سبب کاهش فاصله‌ی نماتد از منبع غذایی غنی به وجود آمده است. طول مری و میزان هم‌پوشانی غدد آن بر روی روده نیز به تبعیت از کوتاه شدن طول استایلت و طول بدن و به دلیل قطر و فعالیت بیش‌تر حباب میانی و ورود غذای بیش‌تر، در جمعیت ریشه کوتاه و عریض شده است (شکل ۲). شاخص‌های دستگاه گوارش نماتد نر در ریشه تغییرات اندکی نشان داده است ولی تعداد آن‌ها در ریشه به شدت کاهش یافته بود. به طوری که در نه گرم ریشه تنها یک نماتد نر رؤیت و شاخص‌های آن بررسی شد. قادری و همکاران (۱۳۸۷) طی پژوهشی در ۵۶ مزرعه‌ی ذرت و گندم منطقه‌ی مرودشت استان فارس اختلافاتی را در ریخت‌سنجی شاخص‌های دستگاه گوارش گونه‌های مختلف نماتدهای جنس *Pratylenchus*

Filipjev, 1936 در سه زیست‌گاه مختلف خاک، ریشه و دیسک هویج نشان داده و اعلام کردند این اختلافات احتمالاً به دلیل تغذیه‌ی بهتر نماتد ماده و در دسترس بودن مواد غذایی فراوان در ریشه نسبت به خاک می‌باشد.

شکل ۱- پرگنه، ریخت‌شناسی و اثر قارچ *Fusarium oxysporum* بر گیاه انجدان رومی؛ الف- گیاه آلوده به قارچ *Fusarium oxysporum* و نماتد *Zygotylenchus guevarai*؛ ب- برش عرضی ریشه‌ی گیاه آلوده؛ ج- پرگنه‌ی قارچ؛ د -مونوفیالید قارچ؛ ه- میکروکنیدی قارچ و و- ماکروکنیدی قارچ. خط رسم شده در شکل‌های د، ه و و معادل ۱۰ میکرومتر.

نقش اصلی مری ترشح آنزیم از غدد حباب انتهایی است. می و همکاران (۲۰۱۵) در نماتدهای مولد زخم ریشه، این آنزیم‌ها را نازک کننده‌ی دیواره‌های سلولی ریشه، جهت ورود و تغذیه از سلول، و اسمیلی (۲۰۱۵) آن‌ها را رقیق‌کننده‌ی سیتوپلاسم برای تسهیل در بلع می‌دانند.

بررسی تأثیر نماتدکش کادوزافوس روی نماتد در شرایط گلخانه

بیش‌ترین میزان وزن تر شاخساره مربوط به تیمار ۰/۰۵ گرم نماتدکش در کیلوگرم خاک بوده که البته با تیمار ۰/۱ گرم نماتدکش در کیلوگرم خاک از نظر آماری تفاوت معنی‌داری ندارد. بیش‌ترین میزان وزن تر ریشه و وزن خشک شاخساره مربوط به تیمار ۰/۰۵ گرم نماتدکش در کیلوگرم خاک بود که از لحاظ آماری تفاوت معنی‌داری با سایر تیمارها دارد (شکل ۳). بنابراین با افزایش دز سم این کاهش وزن ریشه بیش‌تر می‌شود. کم‌ترین جمعیت نماتد در ریشه مربوط به تیمار شاهد بوده که از لحاظ آماری تفاوت معنی‌داری با تیمار ۰/۱ گرم در کیلوگرم خاک ندارد. کم‌ترین جمعیت نماتد در خاک، جمعیت نهایی و فاکتور تولیدمثل مربوط به تیمار

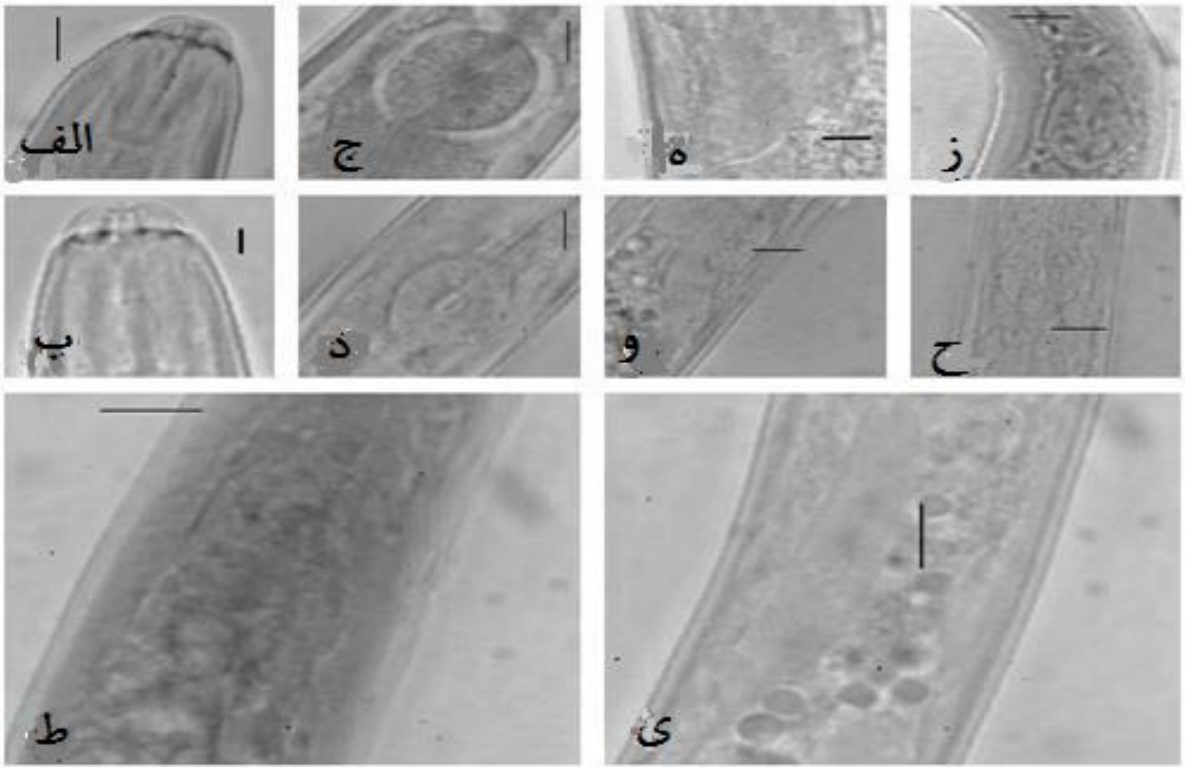
۰/۱ گرم نماتدکش در کیلوگرم خاک بوده که از لحاظ آماری تفاوت معنی‌داری با سایر تیمارها دارد ($P\leq0.01$) (شکل ۴). لازم به ذکر است که در تحقیق حاضر، جمعیت نماتد موجود در خاک و ریشه پس از ۹۰ روز مورد ارزیابی قرار گرفت. با توجه به اینکه این نماتد انگل داخلی مهاجر ریشه گیاهان است، زمان نمونه‌برداری در جمعیت موجود در ریشه و فراریشه تأثیرگذار خواهد بود.

یوئن و همکاران (۱۹۹۷) تأثیر این نماتدکش را با دزهای ۰/۰۲۵، ۰/۰۵ و ۰/۰۷۵ گرم در کیلوگرم خاک حاوی دو جنس نماتد *Pratylenchus* sp و *Paratylenchus* Micoletzky, 1922 بررسی کرده و نشان دادند که جمعیت نماتد *Pratylenchus* sp. در خاک در سه دز مذکور به ترتیب ۴۹/۹، ۵۹/۸ و ۶۰/۸ درصد نسبت به شاهد کاهش یافت و جمعیت نماتد *Paratylenchus* sp. به ترتیب ۱/۵۰ درصد افزایش، ۳/۶۱ و ۴/۲۱ درصد کاهش نشان داد. رادوان و همکاران (۲۰۱۲) نیز تأثیر این نماتدکش را با دز ۰/۱ گرم در کیلوگرم خاک بر نماتد *Meloidogyne incognita* (Kofoid and White, 1919) Chitwood 1949 بررسی و مشاهده کردند که جمعیت لارو سن دوم در خاک به میزان ۸۶/۶ درصد نسبت به شاهد کاهش یافته است. از طرفی رادی و همکاران (۲۰۱۳) نشان دادند که این سم با دز ۰/۱ گرم در کیلوگرم خاک جمعیت لارو سن دوم نماتد ریشه‌گرهی، *M. incognita* را در فراریشه‌ی گیاه گوجه‌فرنگی ۹۴/۵۷ درصد نسبت به شاهد کاهش داده است. در پژوهش حاضر جمعیت نماتد *Z. guevarai* در فراریشه‌ی گیاه انجدان رومی در دزهای ۰/۰۵ و ۰/۱ گرم نماتدکش در کیلوگرم خاک به ترتیب ۸۱/۰ و ۹۱/۴ درصد نسبت به شاهد کاهش یافته است. در تحقیق یوئن و همکاران جمعیت نماتد در ریشه‌ی گل داوودی در دزهای ۰/۰۲۵، ۰/۰۵ و ۰/۰۷۵ گرم در کیلوگرم خاک نماتدکش به ترتیب ۵۷/۹، ۸۲/۹ و ۸۵/۳ درصد نسبت به شاهد کاهش یافته بود. در حالی که در پژوهش حاضر جمعیت نماتد *Z. guevarai* در ریشه‌ی گیاه انجدان رومی در دزهای ۰/۰۵ و ۰/۱ گرم در کیلوگرم خاک نماتدکش نسبت به شاهد به ترتیب ۲۸۱/۸ و ۱۴۹/۵ درصد افزایش یافته است.

یوئن و همکاران خاک آلوده را سه روز قبل از کاشت با این سم تیمار نمودند. رادوان و همکاران (۲۰۱۲) این سم را سه روز پس از کاشت گیاه و پنج روز قبل از تلقیح گیاه به نماتد به خاک افزودند. رادی و همکاران نیز این سم را بلافاصله پس از تلقیح گیاه با نماتد ریشه‌گرهی به خاک فراریشه‌ی گیاه افزودند. این در حالی است که در پژوهش حاضر به جهت نزدیک بودن به شرایط مزرعه، سم کادوزافوس یک هفته پس از تلقیح گیاه به نماتد مولد زخم به خاک فراریشه‌ی گیاه افزوده شد اما احتمالاً توسط گیاه جذب نشده و بر مرگ و میر و تولیدمثل نماتدهای درون ریشه مؤثر نبود. همان‌طور که در قسمت مقدمه اشاره شد مقدار جذب و جابجایی این سم در گیاهان مختلف متفاوت است. کاهش جمعیت نماتد در خاک این امر را تأیید می‌کند که در صورت تیمار سم پیش از تلقیح نماتد، احتمالاً موجب کاهش نفوذ نماتد به ریشه می‌گردید. صفدر و همکاران (۲۰۱۲) نیز مصرف این سم را مانع نفوذ نماتد به ریشه می‌داند. اما در پژوهش حاضر به دلیل مصرف سم پس از تلقیح، نماتدهای موجود در خاک کشته شده و نماتدهایی که در فاصله‌ی زمانی یک هفته به ریشه نفوذ پیدا کرده بودند به دلیل ناامن و نامناسب شدن محیط خاک، درون ریشه‌ی گیاه باقی مانده و به خاک باز نگشتند. در حالی که در گیاهان تیمار نشده با سم، جمعیت نماتد در ریشه نسبت به سایر تیمارها کمتر بود. برای کاهش جمعیت نماتد در ریشه قبل از تلقیح می‌توان از روش‌های کنترل غیرشیمیایی مناسب و اقتصادی مانند آفتاب‌دهی خاک بهره جست. از ساقه، طوقه و ریشه‌ی هیچ تیماری قارچ *F. oxysporum* استخراج نشد. گرچه هدف این آزمایش بررسی اثر این قارچ بر گیاه مذکور نبود.

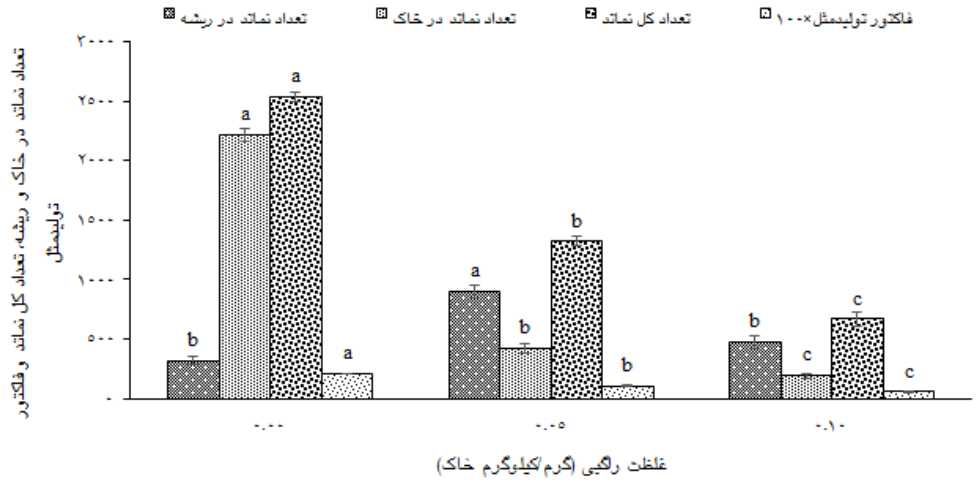
جدول ۱- مقایسه‌ی خصوصیات گونه‌ی ***Zygotylenchus guevarai***، جدا شده از فراریشه‌ی گیاه دارویی انجدان رومی با خصوصیات آن در ریشه‌ی همان گیاه. اندازه‌ها بر حسب میکرومتر (میانگین ± انحراف معیار(کمینه- بیشینه).

شاخص‌های اندازه‌گیری	نماتد موجود در ریشه	نماتد موجود در فراریشه	نماتد موجود در ریشه	نماتد موجود در فراریشه
N	♀۵	♀۹	♂۱	♂۶
L	۵۴۶ ± ۴۲/۹(۴۹۳-۵۸۲)	۶۳۶ ± ۵۴/۷(۵۱۸-۶۹۴)	۵۴۷	۵۳۳ ± ۳۳/۱(۴۸۸-۵۶۶)
a	۲۱/۳ ± ۱/۴(۲۰-۲۳/۸)	۲۷/۹ ± ۱/۴(۲۵/۵-۲۹/۸)	۲۶/۴	۲۸/۸ ± ۱/۹(۲۷-۳۱/۵)
b	۶/۸ ± ۰/۸(۵/۷-۸)	۶/۹ ± ۰/۵(۶-۷/۳)	۸/۳	۵/۹ ± ۰/۲(۵/۷-۶/۳)
b'	۴/۴ ± ۰/۸(۳/۶-۵/۴)	۴/۵ ± ۰/۴(۳/۸-۵/۱)	۵/۷	۴/۳ ± ۰/۲(۴/۱-۴/۵)
c	۱۸ ± ۱/۲(۱۶/۴-۱۹/۵)	۲۰/۳ ± ۱/۹(۱۸-۲۴/۵)	۱۸	۱۷/۱ ± ۰/۹(۱۶/۲-۱۸/۶)
c'	۲ ± ۰/۱(۱/۸-۲/۲)	۲/۳ ± ۰/۲(۲-۲/۸)	۲/۴	۲/۴ ± ۰/۴(۲-۳/۲)
V	۶۲/۱ ± ۰/۹(۶۰/۹-۶۳/۱)	۵۹/۸ ± ۱/۳(۵۸-۶۱/۵)	-	-
Stylet	۱۵/۴ ± ۰/۳(۱۵/۱-۱۵/۸)	۱۷ ± ۰/۸(۱۵/۷-۱۸/۱)	۱۵/۵	۱۵/۶ ± ۰/۸(۱۴/۱-۱۶/۴)
Conus	۷/۹ ± ۰/۱(۷/۷-۷/۹)	۸/۹ ± ۰/۸(۸-۱۰/۵)	۶/۹	۷/۷ ± ۰/۸(۶/۵-۸/۴)
m	۵۱ ± ۰/۴(۵۰/۳-۵۱/۴)	۵۲/۴ ± ۲/۷(۴۸/۵-۵۸/۱)	۴۴/۶	۴۹/۳ ± ۲/۷(۴۶/۱-۵۲/۴)
Median bulb	۵۷ ± ۲/۷(۵۲/۹-۵۹/۸)	۶۳ ± ۲/۷(۵۸/۶-۶۸/۲)	۴۶/۶	۵۹/۸ ± ۲/۱(۵۵/۸-۶۱/۳)
Pharynx	۸۱/۱ ± ۶/۲(۷۲/۶-۸۷/۸)	۹۲/۲ ± ۸(۸۲/۴-۱۰۹)	۸۸/۶	۸۹/۶ ± ۴/۲(۸۵/۶-۹۷/۲)
MB	۷۰/۵ ± ۲/۵(۶۶/۸-۷۲/۹)	۶۸/۷ ± ۵/۴(۵۵/۹-۷۴)	۷۰/۶	۶۶/۸ ± ۳/۸(۶۲/۸-۷۱/۳)
P. g. overlap	۴۳/۷ ± ۱۲/۱(۳۲/۴-۶۲)	۴۸/۵ ± ۴(۴۲/۲-۵۲/۸)	۳۰/۷	۳۷/۹ ± ۸/۷(۳۱/۱-۵۲/۹)
Head-vulva	۳۳۹ ± ۲۶/۱(۳۱۱-۳۷۰)	۳۷۹/۴ ± ۲۸/۱(۳۱۸-۴۰۴)	-	-
V. B.W	۲۸/۲ ± ۳/۷ (۲۳/۵-۳۱/۸)	۲۳/۱ ± ۱/۲(۲۱/۴-۲۵/۱)	-	-
Vagina/VBW	۰/۳ ± ۰/۱(۰/۲-۰/۴)	۰/۲ ± ۰(۰/۲-۰/۳)	-	-
B.W	۲۵/۸ ± ۳(۲۰/۷-۲۷/۹)	۲۲/۸ ± ۱/۵(۲۰/۳-۲۴/۳)	۲۰/۸	۱۹/۱ ± ۱/۸(۱۶/۵-۲۱/۹)
Head-anus	۵۱۶ ± ۴۲/۱(۴۶۵-۵۵۱)	۶۰۴ ± ۵۲/۷(۴۹۰-۶۵۶)	۵۱۷	۵۰۱ ± ۳۰/۴(۴۵۹-۵۳۱)
A. B. W	۱۵/۴ ± ۱/۶(۱۲/۸-۱۷/۲)	۱۴ ± ۰/۶(۱۲/۸-۱۴/۷)	۱۲/۷	۱۳/۱ ± ۱/۴(۱۰/۶-۱۴/۸)
Tail length	۳۰/۳ ± ۱/۴(۲۸/۱-۳۱/۸)	۳۱/۵ ± ۳/۴(۲۷/۱-۳۸/۵)	۳۰/۴	۳۱/۵ ± ۲/۹(۲۸-۳۴/۹)
Tail annuli	۲۳ ± ۱/۵(۲۲-۲۵)	۲۰/۱ ± ۴/۲(۱۶-۲۷)	-	-
Vulva-anus	۱۷۷ ± ۱۷/۳(۱۵۴-۱۹۷)	۲۲۵ ± ۲۶/۱(۱۷۳-۲۵۳)	-	-



شکل۲- جمعیت ایرانی از نماتد ***Zygotylenchus guevarai***، مقایسه‌ی جمعیت درون ریشه با جمعیت خاک فراریشه‌ی گیاه انجدان رومی. سر نماتد ماده، الف- درون ریشه و ب-خاک؛ حباب میانی نماتد ماده، ج- در ریشه و د- خاک؛ هم‌پوشانی غدد مری بر روده در نماتد ماده، ه- در ریشه و و- خاک؛ حباب میانی نماتد نر، ز- در ریشه و ح- خاک؛ هم‌پوشانی غدد مری بر روده در نماتد نر، ط- در ریشه و ی- در خاک. خط مقیاس در همه‌ی شکل‌ها معادل پنج میکرومتر

شکل ۳- تأثیر سطوح مختلف نماتدکش کادوزافوس بر طول و وزن تر شاخساره و ریشه و وزن خشک شاخساره انجدان رومی آلوده به نماتد ***Zygotylenchus guevarai***.



شکل ۴- تأثیر سطوح مختلف نماتدکش کادوزافوس بر تعداد نماتد *Zygotylenchus guevarai* در ریشه و خاک، جمعیت کل و فاکتور تولیدمثل نماتد.

نتیجه‌گیری کلی

در نهایت می‌توان نتیجه گرفت که برای افزایش شاخص‌های رشد گیاه، بهترین تیمار مقدار ۰/۰۵ گرم در کیلوگرم خاک و برای کاهش اغلب شاخص‌های جمعیتی و کنترل نماتد، بهترین تیمار مقدار ۰/۱ گرم نماتدکش کادوزافوس در کیلوگرم خاک می‌باشد. بنابراین می‌توان نماتدکش کادوزافوس را در مقادیر ۰/۰۵ و ۰/۱ گرم در کیلوگرم خاک برای کنترل نماتد *Z. guevarai* در مزارع زیر کشت گیاه دارویی انجدان رومی به کار برد.

سپاسگزاری

هزینه‌های این پژوهش از محل اعتبارات پژوهشی دانشگاه یاسوج تأمین شده است که نگارندگان بدین وسیله مراتب قدردانی خود را ابراز می‌دارند.

منابع مورد استفاده

امینی ج، کاظمی م، عبداله‌زاده ج و درویش‌نیا م، ۱۳۹۲. شناسایی و بیماری‌زایی گونه‌های فوزاریوم مرتبط با ریشه و طوقه گوجه‌فرنگی در منطقه‌ی مرودشت. نشریه دانش گیاه‌پزشکی ایران، جلد ۴۴، شماره ۱. صفحه‌های ۷۱ تا ۸۰.

بامدادیان ع، ۱۳۹۵. گیاه انجدان رومی. ماهنامه کشاورزی و غذا، جلد ۱۵۷. صفحه‌های ۳۶ تا ۳۷.

صارمی ه، ۱۳۷۷. اکولوژی و تاکسونومی گونه‌های قارچ *Fusarium*. جهاد دانشگاهی انتشارات مشهد.

قادری ر، کارگربیده ا، بنی‌هاشمی ض و تقوی س م، ۱۳۸۷. پراکنش گونه‌های *Pratylenchus* در مزارع گندم آبی و ذرت منطقه‌ی مرودشت (استان فارس) و مقایسه‌ی شاخص‌های مرفومتریک جمعیت‌های جدا شده از خاک، ریشه و دیسک هویج. صفحه ۵۷۰، خلاصه مقاله‌های هجدهمین کنگره‌ی گیاه‌پزشکی ایران، دانشگاه همدان، همدان، ایران.

Castilo P and Vovlas N, 2007. *Pratylenchus* (Nematoda: Pratylenchidae): Diagnosis, biology, pathogenicity and management. Nematology Monographs and Perspectives. Brill, Leiden-Boston.

De Grisse A T, 1969. Redescription ou modification de quelques techniques utilisées dans l'étude des nématodes phytoparasitaires. Medelingen van de Rijksfaculteit Landbow Wetenschappen Gent 34: 351-369.

Davis EL and MacGuidwin AE,. 2000. Lesion nematode disease. The plant health instructor. Doi, 1001094/PH 1-1-2000-1030-02.

Geraert E, 2013. The Pratylenchidae of the World- Indentification of the family Pratylenchidae (Nematoda: Tylenchida). Academia Press.

Hooper D J, 1986. Preserving and staining nematodes in plant tissues. Pp. 81-85 In: Southey JF (ed.) Laboratory methods for work with plant and soil nematodes. Ministry of Agriculture, Fisheries and Food, Her Majesty's Stationery Office, London.

Karakas M, 2012. Life cycle and mating behavior of *Zygotylenchus guevarai* (Nematoda: Pratylenchidae) on Excised *Pisum sativum* roots. Nevsehir Universitesi Fen Bilimleri Enstitu Dergisi 2: 104-109.

Lamberti F, D'Addabbo T, Sasanelli N, Carella A and Greco P, 2000. Chemical control of root-knot nematodes. Acta Horticulturae 532: 183-188.

Leslie JF and Summerell BA, 2006. The Fusarium laberatory manual. Blackwell Publishung.

May D, Dyer A, Johnson WA, Zuck P, Al-Khafaji R, Grey W, Burrows ME, Chen C and Johnston JA, 2015. Pathogenic nematodes of wheat and barley. Montana State University. Extension MT200801AG: 1.

Mauza BE and Webster JM, 1982. Suppression of alfalfa growth by concomitant populations of *Pratylenchus penetrans* and two *Fusarium* species. Nematology 14(3): 364-367.

Nelson PE, Toussoun TA and Marasas WFO, 1983. *Fusarium* Species*:* An illustrated manual for identification. Pennsylvania State University Press.

Raddy HM, Fouad AFA, Montasser SA, Abdel-Lateef MF and EL-Samadisy AM, 2013. Efficacy of six nematicides and six commercial bioproducts against root-knot nematode, *Meloidogyne incognita* on tomato. Journal of Applied Sciences Research 9(7): 4410-4417.

Radwan MA, Farrag SAA, Abu-Elamayem MM and Ahmed NS, 2012. Efficacy of some granular nematicide against root-knot nematode, *Meloidogyne incognita*, associated with tomato. Pakistan Journal of Nematology 30(1): 41-47.

Safdar H, Javed N, Aleem Khan S, Haq I u, Safdar A and Khan N A, 2012, Control of *Meloidogyne incognita* (Kofoid and White) Chitwood by Cadusafos (Rugby ®) on tomato. Pakistan journal zoology 44(6): 1703-1710.

Sankari Meena K, Ramyabharathi SA, Raguchander T and Jonathan EI, 2015. *Meloidogyne incognita* and *Fusarium oxyspoum* interaction in Gerbera. African Journal of Microbiology Research 9(18): 1281-1285.

Seinhorst JW, 1959. A rapid method for the transfer of nematodes from fixative to anhydrous glycerin. Nematologica 4: 67-69.

Smiley RW, 2015. Root-lesion nematodes: biology management in Pacific Northwest wheat cropping systems. A Pacific Northwest Extension Publication PNW 617: 1-2.

Starr JL, Jeger MJ, Martyn RD and Schilling K, 1989. Effects of *Meloidogyne incognita* and *Fusarium oxysporum* f.sp. *vasinfectum* on plant mortality and yield of cotton. Phytopathology 79(6): 640-646.

Yuen PM, Yau PY, Ahmad Shokri O and Quah KB, 1997. An evaluation of cadusafos against *Pratylenchus* sp. and *Paratylenchus* sp. on chrysanthemums in Cameron Highlands. Journal of Tropical Agriculture and Food Science 25(2): 167-171.

Zasada I, Walters TW and Pinkerton J, 2010. Post-plant nematicides for the control of root lesion nematode in red raspberry. HortTechnology 20(5): 856-862.

Zheng SQ and Cooper JF, 1996. Adsorption, desorption, and degradation of three pesticides in different soils. Archives of Environmental Contamination and Toxicology 30: 15-20.

Concurrent Occurrence of *Zygotylenchus guevarai* and *Fusarium oxysporum* in Lovage Medicinal Plant Root and Rhizosphere and Control of the Nematode by Cadusafos Nematicide in Boyer-Ahmad County

S Ansari[1], H Charehgani[2*], R Ghaderi[3] and M Abdollahi[4]

[1]Former MSc. Student of Nematology, Department of Plant Protection, College of Agriculture, Yasouj University, Yasouj, Iran.
[2, 4]Assistant Professor and Professor of Plant Pathology, Respectively. Department of Plant Protection, College of Agriculture, Yasouj University, Yasouj, Iran.
[3]Assistant Professor of Plant Pathology, Department of Plant Protection, College of Agriculture, Shiraz University, Shiraz, Iran.
*Corresponding author: H.charehgani@yu.ac.ir
Receive: 4 October 2017 Acceptance: 27 January 2018

Abstract

One of the most devastating plant parasitic nematodes of the world is the root lesion nematode *Zygotylenchus guevarai*. This nematode was recorded from most of the countries in association with the roots of various hosts. In a lovage (*Levisticum officinale*) farm with vascular wilt symptoms at Boyer-Ahmad county, the fungus *Fusarium oxysporum* was isolated from the infected roots and plant-parasitic nematode *Zygotylenchus guevarai* was also recovered from the roots and rhizospheric soil. After that, infected lovage plants with *Z. guevarai* were treated by 0.0, 0.05 and 0.1 g cadusafos (Rugby)/Kg of soil. The experiments were carried out in a completely randomized design with four replications under greenhouse conditions and distilled water treatment was used as control. Results showed that Rugby with concentration of 0.05 g/Kg of soil showed 81, 47.9 and 48 while concentration of 0.1 g/Kg of soil showed 91.4, 73.7 and 73.5 percent reduction of nematode population in soil, final population and reproduction factor, respectively. Also, Rugby with concentration of 0.05 and 0.1 g/Kg of soil showed 281 and 149 percent increase in nematode population in root, respectively.

Keywords: Control, Endoparasitic nematode, Nematicide, Vascular wilt.