Journal of Vegetables Sciences
Vol 4, No 8, Autumn & Winter 2021, Pages (53-66)
DOI: 10.22034/iuvs.2020.128715.1101

دو فصلنامه علمی- پژوهشی علوم سبزی‌ها
سال ۴- شماره ۸- پاییز و زمستان ۱۳۹۹- صفحات (۶۶-۵۳)

اولین گزارش از وجود برخی گونه‌های قارچی جدا شده از نماتد سیست طلایی سیب‌زمینی (*Globodera rostochiensis*) در ایران

خدیجه عباسی[1*] و دوستمراد ظفری[2]
۱- استادیار گروه گیاه‌پزشکی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه ایلام، ایلام، ایران
۲- استاد گروه بیماری‌شناسی گیاهی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه بوعلی سینا، همدان، ایران
* نویسنده مسئول: ma_sarine86@yahoo.com
(تاریخ دریافت: ۱۳۹۹/۰۶/۲۲- تاریخ پذیرش: ۱۳۹۹/۰۹/۰۲)

چکیده

نماتد سیست طلایی سیب‌زمینی (*Globodera rostochiensis*) یکی از مخرب‌ترین و خسارت‌زاترین نماتدهای انگل سیب‌زمینی است؛ که این محصول را مورد هجوم قرار می‌دهد. ارائه راه‌کارهای مدیریتی مناسب جهت کنترل این بیماری بسیار ضروری به‌نظر می‌رسد. با توجه به ترکیبات پوسته تخم در نماتدهای سیستی و توانایی بسیاری از قارچها در تولید طیف وسیعی از آنزیم‌های تجزیه‌کننده دیواره‌ی تخم، شناسایی قارچ‌های همراه نماتد و نقش آن‌ها در کنترل بیولوژیک نماتدها از جمله نماتدهای سیستی بسیار حائز اهمیت می‌باشد. در این پژوهش، ۱۵۴ جدایه‌ی قارچی آلوده کننده‌ی نماتد سیست طلایی سیب‌زمینی جداسازی و خالص‌سازی شدند. بر اساس ویژگی‌های ریخت‌شناسی و تعیین توالی نواحی ITS از DNA ریبوزومی، ۱۵۴ جدایه‌ی مذکور در ۱۳ جنس *Alternaria*، *Aspergillus*، *Beauveria*، *Candida*، *Chaetomium*، *Cylindrocarpon*، *Fusarium*، *Lecanicillium*، *Plectosphaerella*، *Purpureocillium*، *Trichoderma*، *Trichocladium* و *Ulocladium* قرار گرفتند که پنج گونه‌ی قارچی *Candida parapsilosis*، *Cylindrocarpon olidum*، *Plectosphaerella cucumerina*، *Trichocladium griseum* و *Ulocladium dauci* برای اولین بار در ایران از روی نماتد سیست طلایی سیب‌زمینی گزارش می‌شوند که می‌توانند به‌عنوان تولید کننده آنزیم‌های مختلف از پتانسیل مناسبی برای کنترل بیولوژیکی نماتد سیستی طلایی سیب‌زمینی برخوردارند.

واژه‌های کلیدی: جدایه‌ی قارچی، ریخت‌شناسی، سیست طلایی، کنترل بیولوژیک.

مقدمه

نماتد سیست طلایی سیب‌زمینی (*Globodera rostochiensis*) به‌عنوان یکی از مخرب‌ترین و خسارت‌زاترین عوامل بیماری‌زای این محصول در دنیا محسوب می‌گردد که می‌تواند تا ۱۰۰ درصد باعث خسارت شود و تاکنون از مناطق سیب‌زمینی‌کاری ۶۵ کشور دنیا گزارش شده است (Gitty *et al*., 2011). به‌دلیل مضرات استفاده از نماتدکش‌های شیمیایی از قبیل اثرات مخرب آن‌ها روی انسان و محیط‌زیست، کاهش نسبت کربن به نیتروژن در خاک، ماندگاری در خاک و در نتیجه آلودگی آب‌های زیرزمینی، قیمت بالای بیشتر نماتدکش‌های مؤثر، عدم دسترسی به نماتدکش‌ها و کاهش تأثیر آن‌ها به سبب استفاده مداوم از این

ترکیبات، محققین به‌دنبال دست‌یابی به راه‌های مناسب برای مهار نماتدها هستند که روش مناسب برای این امر، کنترل به‌وسیله عوامل آنتاگونیستی مطرح شده است و از آن به‌عنوان یک روش عملی و امیدبخش یاد می‌شود (Dong *et al*., 2004; Liu *et al*., 2008; Sharon *et al*., 2009). دشمنان طبیعی زیادی نماتدهای انگل گیاهی را مورد حمله قرار می‌دهند و جمعیت آن‌ها را کاهش می‌دهند. این عوامل شامل بیمارگرها، شکارچیان، رقابت‌کنندگان و آنتاگونیست‌ها هستند. در مجموع، ۷۶ درصد از دشمنان طبیعی گزارش شده از نماتدها را قارچ‌ها تشکیل می‌دهند (Brown & Kerry, 1987)؛ که غالب قارچ‌های انگل داخلی نماتدها و انگل تخم آن‌ها مربوط به خانواده Clavicipitaceae و آنامورف‌های وابسته به آن‌ها می‌باشند (Khezri Nezhad, 2004). قارچ‌ها، ویژگی‌های مناسبی را به‌دلیل تولید آنزیم‌های قارچی با اثر آنتاگونیستی بالقوه جهت کنترل حشرات، قارچ‌ها و نماتدها از خود نشان داده‌اند. قارچ‌های آنتاگونیست و نقش آن‌ها در کنترل بیولوژیک نماتدها از جمله نماتدهای سیستی توسط محققین متعددی مطالعه شده است. گونه‌هایی از قارچ‌های *Acremonium*، *Arthrobotrys*، *Aspergillus*، *Cylindrocarpon*، *Dactylella*، *Fusarium*، *Lecanicillium*، *Monacrosporium*، *Paecilomyces*، *Penicillium*، *Pochonia*، *Pyrenochaeta*، *Trichoderma* و *Verticillium* شایع‌ترین جنس‌های قارچی مرتبط با پارازیتیسم تخم نماتدها هستند (Kok *et al*., 2001; Verdejo *et al*., 2002)؛ در آزمایشگاه فعالیت این قارچ‌ها با استفاده از شاخص انگلی تخم (Egg parasitic index; EPI)، شدت آلودگی تخم، اثر روی ریخت‌شناسی و تفریخ تخم‌ها، تحرک و مرگ‌ومیر لاروهای سن دوم (J2) تست شده و در بیشتر موارد تغییرات ریخت‌شناسی، کاهش درصد تفریخ و افزایش مرگ‌ومیر لاروها مشاهده شده است (Chen & Chen, 2002). قارچ‌های *Fusarium oxysporum*، *Fusarium sporotrichioides*، *Paecilomyces lilacinus*، *Phoma glomerata* و *Trichoderma viride* توسط Sankaranarayanan و همکاران (۲۰۰۲) از تخم‌های نماتد ریشه گرهی *Meloidogyne incognita* جداسازی شدند. همچنین Ebrahim و همکاران (۲۰۰۹) چندین قارچ از تخم و لارو نماتد *M. incognita* (بیمارگر گوجه‌فرنگی) جداسازی نمودند که شامل قارچ‌های *F. oxysporum*، *Aspergillus* spp.، *Rhizoctonia solani*، *P. lilacinus* و *Verticillium chlamydosporium* بودند. تأثیر کنترلی قارچ‌ها سبب کاهش قابل‌توجهی گال‌ها شده به‌طوری‌که مایه‌زنی ریشه‌ی گوجه‌فرنگی با *F. oxysporum* سبب کاهش درصد گال‌ها به‌میزان ۷/۹۲ درصد نسبت به گیاهان شاهد بدون قارچ شده بود. در بررسی دیگری که Ruanpanun و همکاران (۲۰۱۰) روی قارچ‌های جدا شده از نماتد *M. incognita* انجام داده‌اند، از بین ۶۷ جدایه قارچی مورد بررسی، گونه‌های غالب متعلق به قارچ‌های *Penicillium* و *Fusarium* بودند. گونه‌های فوزاریوم بیشترین تأثیر را روی تفریخ تخم نماتد داشته و موجب بیش از ۷۰ درصد مرگ‌ومیر لاروها شدند. در بررسی‌های انجام شده توسط Dackman (۱۹۹۰) مشاهده شد که گونه‌ی *V. suchlasporium* ۹۰ درصد تخم‌های *G. rostochiensis* را پس از ۱۰ روز پارازیته می‌کند. طی مطالعه‌ای توسط Tobin و همکاران (۲۰۰۸) اثر گونه‌ی قارچی *Pochonia chlamydosporia* بر نرخ تکثیر نماتدهای سیستی سیب‌زمینی بررسی شد و این قارچ به‌عنوان

عامل بیوکنترل با شایستگی بالا جهت کنترل این نماتدها معرفی گردید. همچنین در مطالعه‌ای که توسط Lopez Lima و همکاران (۲۰۱۳) صورت گرفت کاهش ۸۹ درصدی جمعیت نماتد سیست طلایی سیب‌زمینی با استفاده از قارچ *Paecilomyces* sp. مشاهده شد. دو گونه فرصت‌طلب *P. chlamydosporia* و *P. lilacinus* به‌عنوان عامل بیوکنترل در تهیه فرمولاسیون تجاری برای کنترل نماتدهای سیستی و ریشه‌گرهی استفاده شده‌اند (Rumbos & Kiewnick, 2006). خالص‌سازی و شناسایی یک کیتیناز (CHI43) و یک پروتئاز (P32) از دو قارچ نماتدخوار *V. chlamydosporium* و *V. suchlasporium* برای اولین بار توسط Tikonov و همکاران (۲۰۰۲) انجام شد. در بررسی‌های Khan و همکاران (۲۰۰۶) تخم‌های *Meloidogyne javanica* با پروتئازها و کیتینازهای نیمه‌خالص جدا شده از قارچ *P. lilacinus* هم به‌صورت جداگانه و هم ترکیبی تیمار شدند. این آنزیم‌ها به‌طور قابل‌توجهی رشد و نمو جنین و تفریخ لاروها را کاهش دادند که با تغییرات فیزیولوژیکی و ریخت‌شناسی در مرحله تخم و لاروی مرتبط بود. فعالیت زیستی مجموعه‌ای از پروتئازها و کیتینازها از جدایه‌های *P. lilacinus* علیه نماتد *M. javanica* توسط Park و همکاران (۲۰۰۴) بررسی شد. بیماری‌زایی و پارازیتیسم در این جدایه‌ها از چهار درصد تا ۱۰۰ درصد متفاوت بود.

با توجه به ترکیبات پوسته تخم در نماتدهای سیستی و توانایی بسیاری از قارچ‌ها در تولید طیف وسیعی از آنزیم‌های تجزیه کننده دیواره‌ی تخم، شناسایی قارچ‌های همراه نماتد و نقش آن‌ها در کنترل بیولوژیک نماتدها از جمله نماتدهای سیستی بسیار حائز اهمیت می‌باشد.

مواد و روش‌ها

تهیه جدایه‌های قارچ

طی ماه‌های اردیبهشت، خرداد و تیر سال ۱۳۹۳ از مزارع سیب‌زمینی کشت بهاره‌ی استان همدان واقع در دو شهر همدان (انصارالامام، امزاجرد، جورقان، مریانج، حسین‌آباد و دیزج) و بهار (گنج تپه، هارون‌آباد، صالح‌آباد، مهدی‌آباد، یکن‌آباد، لالجین، دینارآباد و تازه‌کند) که مشکوک به آلودگی به نماتد سیست طلایی بودند، نمونه‌برداری از خاک آلوده انجام شد. پس از انتقال به آزمایشگاه، نمونه‌ها در دمای محیط قرار گرفتند تا خشک شوند. سپس سیست‌ها به روش Fenwick (۱۹۴۰) و با استفاده از الک ۶۰ مش استخراج گردیدند و به کمک سوزن در زیر استریومیکروسکوپ از بقایای گیاهی و خاک جداسازی شدند.

از کشت سیست‌های چروکیده و بیمار نماتد سیست طلایی سیب‌زمینی، جدایه‌های قارچی همراه نماتد جداسازی و خالص‌سازی گردید. به این ترتیب که سیست‌های نماتد سه بار در آب مقطر شست‌وشو و با محلول هیپوکلریت سدیم ۰/۵ درصد ضدعفونی شدند. سپس روی کاغذ صافی سترون آب‌گیری شده و در داخل تشتک‌های حاوی محیط کشت WA (Water agar) کشت داده شدند. تشتک‌های حاوی سیست و تخم نماتد در انکوباتور با دمای ۲۵ درجه سانتی‌گراد نگهداری و قارچ‌های رشد کرده از آن‌ها به محیط کشت‌های PDA (Potato dextrose agar) منتقل و جداسازی شدند. برای خالص‌سازی جدایه‌ها از روش تک اسپور و نوک هیف استفاده شد.

شناسایی جدایه‌های قارچی

بررسی‌های ریخت‌شناسی: مشخصات ماکروسکوپی و میکروسکوپی برای تشخیص گونه‌های جدایه‌های قارچی با استفاده از کلیدهای شناسایی معتبر (Simmons, 1967; Seifert, 1996; Gams &

Bisset, 1998; Nagami *et al*., 2006; Kurtzman *et al*., 2011; Luangsa-ard *et al*., 2011) مورد بررسی قرار گرفت.

بررسی‌های مولکولی

استخراج DNA ژنومی

استخراج DNA ژنومی از زیست‌توده میسیلیومی تازه با استفاده از کیت تجاری (Qiagen DNAeasy plant mini kit, Hilden, Germany) مطابق با دستورالعمل سازنده انجام شد. تنظیم شرایط PCR با استفاده از آغازگرهای عمومیITS4–ITS1 (White *et al*., 1990) در مخلوط واکنشی به حجم ۲۵ میکرولیتر شامل: ۱۲/۵ میکرولیتر Takara EmeraldAmp GT Master Mix، ۲/۵ میکرولیتر آغازگر رفت ITS1 (پنج میکرومولار)، ۲/۵ میکرولیتر آغازگر برگشت ITS4 (پنج میکرومولار)، ۶/۵ میکرولیتر آب سترون دو بار تقطیر و یک میکرولیتر DNA الگو صورت گرفت.

تعیین توالی نواحی ITS و تجزیه و تحلیل فیلوژنتیکی:

تعیین توالی دو طرفه قطعات DNA تکثیر شده‌ی جدایه‌های مورد نظر، در آزمایشگاه منابع ژنومی دانشگاه ماساچوست آمریکا انجام گرفت. در این بررسی جهت تجزیه و تحلیل داده‌ها و رسم کلادوگرام از نرم‌افزار Mega 5 استفاده شد. به کمک جست‌وجوی بلاست و با توجه به مقالات متعدد (Kurtzman *et al*., 2011; Arzanlou *et al*., 2013) در زمینه تاکسونومی جدایه‌های منتخب، Outgroup مناسب انتخاب و بعد از هم‌ردیف کردن توالی‌های به‌دست آمده، کلادوگرام جدایه‌ها با هزار بار نمونه‌گیری کاذب (Bootstrap) رسم گردید.

نتایج و بحث

شناسایی ریخت‌شناسی و مولکولی

از کشت ۶۰۰ عدد سیست چروکیده و بیمار نماتد در محیط کشت WA، ۱۵۴ جدایه‌ی قارچی جداسازی و خالص‌سازی شد که بر اساس ویژگی‌های ریخت‌شناسی (ماکروسکوپی و میکروسکوپی) با استفاده از کلیدهای شناسایی معتبر، جدایه‌های مذکور در ۱۳ جنس *Alternaria*، *Aspergillus*، *Beauveria*، *Candida*، *Chaetomium*، *Cylindrocarpon*، *Fusarium*، *Lecanicillium*، *Plectosphaerella*، *Purpureocillium*، *Trichoderma*، *Trichocladium* و *Ulocladium* قرار گرفتند (جدول ۱).

بلاست حاصل از توالی نواحی ITS نشان دهنده شباهت ۹۹ درصد به بالای جدایه‌های مورد بررسی در این پژوهش به جدایه‌های موجود در بانک ژن بود. بر اساس بررسی‌های ریخت‌شناسی و مولکولی انجام شده، پنج گونه‌ی قارچی *Candida parapsilosis*، *Cylindrocarpon olidum*، *Plectosphaerella cucumerina*، *Trichocladium griseum* و *Ulocladium dauci* برای اولین بار در ایران از روی نماتد سیست طلایی سیب‌زمینی گزارش می‌شوند که در زیر به شرح هر یک از این گونه‌ها پرداخته می‌شود.

جدول ۱- نتایج شناسایی جنس‌های قارچی جدا شده از نماتد سیست طلایی سیب‌زمینی در استان همدان

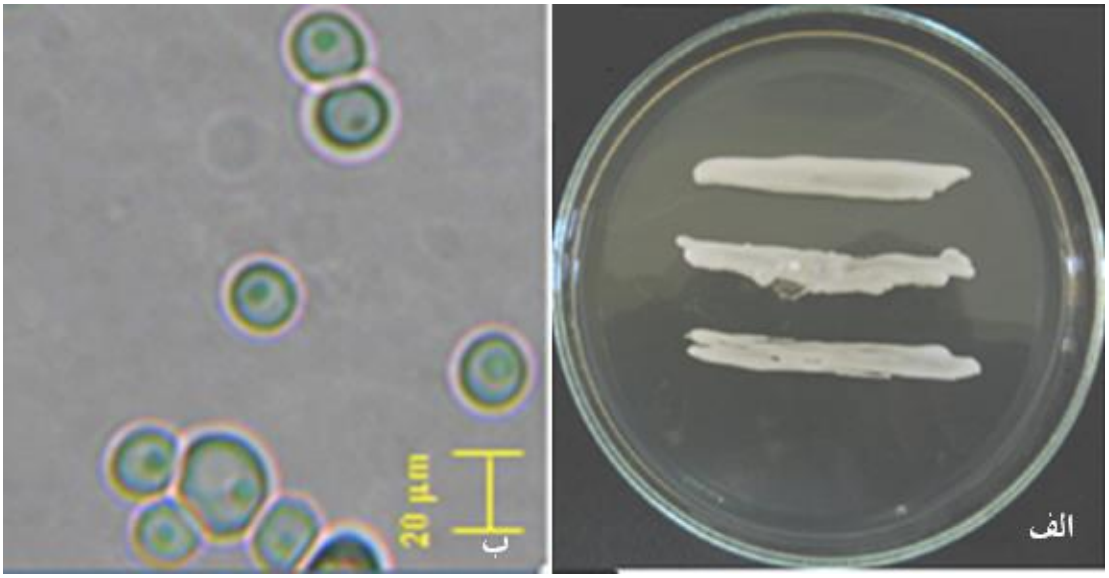
نام جدایه	جنس قارچ	محل جمع‌آوری	نام جدایه	جنس قارچ	محل جمع‌آوری	نام جدایه	جنس قارچ	محل جمع‌آوری
۱	*Fusarium*	انصارالامام	۴۰	*Plectosphaerella*	جورقان	۷۹	*Fusarium*	گنج‌تپه
۲	*Chaetomium*	انصارالامام	۴۱	*Chaetomium*	جورقان	۸۰	*Fusarium*	گنج‌تپه
۳	*Fusarium*	انصارالامام	۴۲	*Alternaria*	جورقان	۸۱	*Fusarium*	گنج‌تپه
۴	*Fusarium*	انصارالامام	۴۳	*Fusarium*	جورقان	۸۲	*Alternaria*	گنج‌تپه
۵	*Chaetomium*	انصارالامام	۴۴	*Fusarium*	حسین‌آباد	۸۳	*Fusarium*	گنج‌تپه
۶	*Candida*	انصارالامام	۴۵	*Fusarium*	حسین‌آباد	۸۴	*Fusarium*	گنج‌تپه
۷	*Fusarium*	انصارالامام	۴۶	*Alternaria*	حسین‌آباد	۸۵	*Fusarium*	گنج‌تپه
۸	*Fusarium*	امزاجرد	۴۷	*Fusarium*	حسین‌آباد	۸۶	*Fusarium*	گنج‌تپه
۹	*Alternaria*	امزاجرد	۴۸	*Fusarium*	دیزج	۸۷	*Fusarium*	گنج‌تپه
۱۰	*Fusarium*	امزاجرد	۴۹	*Cylindrocarpon*	دیزج	۸۸	*Alternaria*	گنج‌تپه
۱۱	*Plectosphaerella*	امزاجرد	۵۰	*Fusarium*	دیزج	۸۹	*Alternaria*	گنج‌تپه
۱۲	*Fusarium*	امزاجرد	۵۱	*Alternaria*	دیزج	۹۰	*Fusarium*	گنج‌تپه
۱۳	*Fusarium*	امزاجرد	۵۲	*Ulocladium*	دیزج	۹۱	*Alternaria*	گنج‌تپه
۱۴	*Fusarium*	امزاجرد	۵۳	*Fusarium*	دیزج	۹۲	*Alternaria*	گنج‌تپه
۱۵	*Chaetomium*	امزاجرد	۵۴	*Fusarium*	دیزج	۹۳	*Candida*	گنج‌تپه
۱۶	*Chaetomium*	امزاجرد	۵۵	*Alternaria*	دیزج	۹۴	*Alternaria*	گنج‌تپه
۱۷	*Fusarium*	امزاجرد	۵۶	*Fusarium*	دیزج	۹۵	*Fusarium*	گنج‌تپه
۱۸	*Fusarium*	امزاجرد	۵۷	*Fusarium*	دیزج	۹۶	*Fusarium*	لالجین
۱۹	*Candida*	امزاجرد	۵۸	*Fusarium*	دینارآباد	۹۷	*Fusarium*	لالجین
۲۰	*Fusarium*	امزاجرد	۵۹	*Fusarium*	دینارآباد	۹۸	*Fusarium*	لالجین
۲۱	*Fusarium*	امزاجرد	۶۰	*Fusarium*	دینارآباد	۹۹	*Fusarium*	لالجین
۲۲	*Alternaria*	امزاجرد	۶۱	*Fusarium*	دینارآباد	۱۰۰	*Alternaria*	لالجین
۲۳	*Fusarium*	امزاجرد	۶۲	*Fusarium*	صالح‌آباد	۱۰۱	*Alternaria*	مریانج
۲۴	*Fusarium*	امزاجرد	۶۳	*Fusarium*	صالح‌آباد	۱۰۲	*Alternaria*	مریانج
۲۵	*Fusarium*	امزاجرد	۶۴	*Fusarium*	صالح‌آباد	۱۰۳	*Alternaria*	مریانج
۲۶	*Fusarium*	امزاجرد	۶۵	*Fusarium*	صالح‌آباد	۱۰۴	*Alternaria*	مریانج
۲۷	*Alternaria*	امزاجرد	۶۶	*Fusarium*	صالح‌آباد	۱۰۵	*Alternaria*	مریانج
۲۸	*Alternaria*	تازه‌کند	۶۷	*Fusarium*	صالح‌آباد	۱۰۶	*Fusarium*	مریانج
۲۹	*Fusarium*	تازه‌کند	۶۸	*Fusarium*	صالح‌آباد	۱۰۷	*Fusarium*	مریانج
۳۰	*Alternaria*	جورقان	۶۹	*Fusarium*	گنج‌تپه	۱۰۸	*Fusarium*	مریانج
۳۱	*Fusarium*	جورقان	۷۰	*Fusarium*	گنج‌تپه	۱۰۹	*Fusarium*	مریانج
۳۲	*Fusarium*	جورقان	۷۱	*Fusarium*	گنج‌تپه	۱۱۰	*Fusarium*	مریانج
۳۳	*Alternaria*	جورقان	۷۲	*Fusarium*	گنج‌تپه	۱۱۱	*Candida*	مریانج
۳۴	*Fusarium*	جورقان	۷۳	*Fusarium*	گنج‌تپه	۱۱۲	*Fusarium*	مهدی‌آباد
۳۵	*Fusarium*	جورقان	۷۴	*Alternaria*	گنج‌تپه	۱۱۳	*Fusarium*	مهدی‌آباد
۳۶	*Fusarium*	جورقان	۷۵	*Fusarium*	گنج‌تپه	۱۱۴	*Chaetomium*	مهدی‌آباد
۳۷	*Fusarium*	جورقان	۷۶	*Candida*	گنج‌تپه	۱۱۵	*Fusarium*	مهدی‌آباد
۳۸	*Alternaria*	جورقان	۷۷	*Fusarium*	گنج‌تپه	۱۱۶	*Chaetomium*	مهدی‌آباد
۳۹	*Fusarium*	جورقان	۷۸	*Fusarium*	گنج‌تپه	۱۱۷	*Chaetomium*	مهدی‌آباد

ادامه جدول ۱- نتایج شناسایی جنس‌های قارچی جدا شده از نماتد سیست طلایی سیب‌زمینی در استان همدان

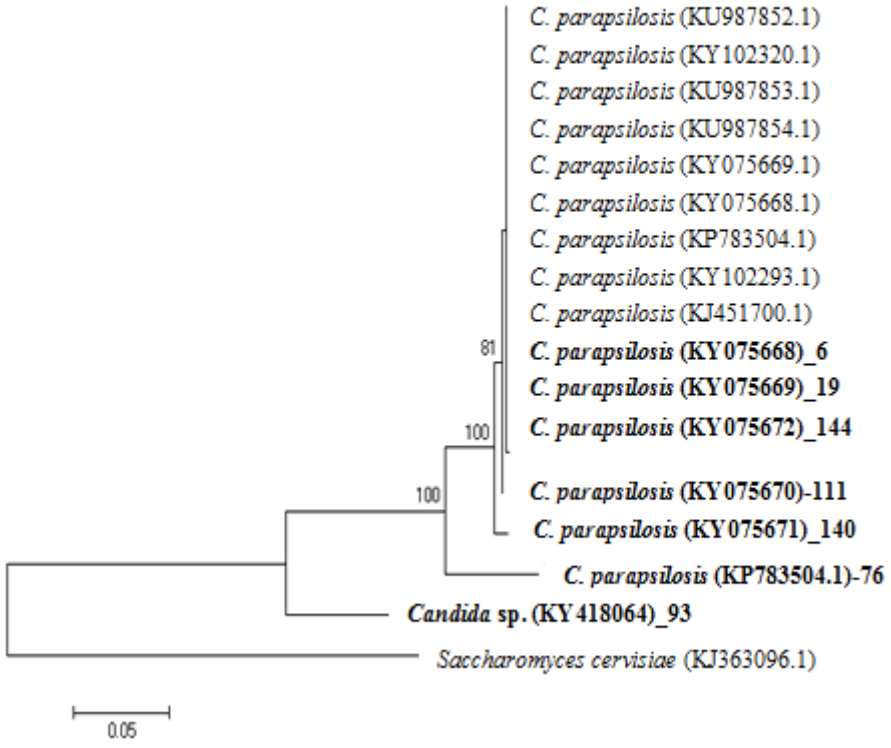
نام جدایه	جنس قارچ	محل جمع‌آوری	نام جدایه	جنس قارچ	محل جمع‌آوری	نام جدایه	جنس قارچ	محل جمع‌آوری
۱۱۸	*Fusarium*	مهدی‌آباد	۱۳۱	*Fusarium*	یکن‌آباد	۱۴۳	*Fusarium*	یکن‌آباد
۱۱۹	*Alternaria*	مهدی‌آباد	۱۳۲	*Fusarium*	یکن‌آباد	۱۴۴	*Candida*	یکن‌آباد
۱۲۰	*Fusarium*	مهدی‌آباد	۱۳۳	*Fusarium*	یکن‌آباد	۱۴۵	*Fusarium*	یکن‌آباد
۱۲۱	*Fusarium*	مهدی‌آباد	۱۳۴	*Fusarium*	یکن‌آباد	۱۴۶	*Fusarium*	یکن‌آباد
۱۲۲	*Fusarium*	مهدی‌آباد	۱۳۵	*Fusarium*	یکن‌آباد	۱۴۷	*Fusarium*	یکن‌آباد
۱۲۳	*Fusarium*	مهدی‌آباد	۱۳۶	*Fusarium*	یکن‌آباد	۱۴۸	*Aspergillus*	یکن‌آباد
۱۲۴	*Fusarium*	هارون‌آباد	۱۳۷	*Fusarium*	یکن‌آباد	۱۴۹	*Chaetomium*	یکن‌آباد
۱۲۵	*Fusarium*	هارون‌آباد	۱۳۸	*Fusarium*	یکن‌آباد	۱۵۰	*Fusarium*	یکن‌آباد
۱۲۶	*Fusarium*	هارون‌آباد	۱۳۹	*Alternaria*	یکن‌آباد	۱۵۱	*Beauveria*	یکن‌آباد
۱۲۷	*Fusarium*	هارون‌آباد	۱۴۰	*Candida*	یکن‌آباد	۱۵۲	*Lecanicillium*	یکن‌آباد
۱۲۸	*Fusarium*	هارون‌آباد	۱۴۱	*Trichocladium*	یکن‌آباد	۱۵۳	*Purpureocillium*	یکن‌آباد
۱۲۹	*Fusarium*	یکن‌آباد	۱۴۲	*Fusarium*	یکن‌آباد	۱۵۴	*Trichoderma*	یکن‌آباد
۱۳۰	*Fusarium*	یکن‌آباد						

تعداد نمونه‌های مورد بررسی در این پژوهش هفت جدایه بود که با کدهای: ۶، ۱۹، ۷۶، ۹۳، ۱۱۱، ۱۴۰ و ۱۴۴ عنوان شده‌اند از نماتدهای مزارع آلوده‌ی سیب‌زمینی مناطق مختلف شامل: ۶ (انصارالامام)، ۱۹ (امزاجرد)، ۷۶ (گنج‌تپه)، ۹۳ (گنج‌تپه)، ۱۱۱ (گنج‌تپه)، ۱۴۰ (یکن‌آباد) و ۱۴۴ (یکن‌آباد) جداسازی شدند. پرگنه این جنس روی محیط گلوکز پپتون آگار در دمای ۲۵ درجه سانتی‌گراد بعد از سه روز به رنگ کرم در آمده، صاف و دارای قطر دو میلی‌متر می‌باشد که بعد از هفت روز به ۷-۳ میلی‌متر می‌رسد (شکل ۱ الف). سلول‌های مخمری گرد تا بیضی شکل بوده (شکل ۱ ب)، گاهی اوقات سلول‌های درازتر به‌خصوص در پرگنه‌های چین‌دار که زنجیره تشکیل می‌دهند نیز دیده می‌شود، روی محیط کشت CMA (Corn meal agar) سودومیسلیوم تولید شده که زنجیره‌های منظم و مستقیم از سلول‌های دراز را بعد از ۳-۲ روز تشکیل می‌دهد. شاخه‌بندی بسیار منظم، شکلی شبیه جنگل کاج به سودومیسلیوم‌ها می‌دهد که معمولاً خوشه‌ای با دیواره نازک، اسپورهای کروی تا بیضوی (به‌عنوان بلاستوسپور نامیده می‌شوند) و به‌طور عمده در اتصالات سلول‌ها تولید می‌شود. در این گونه رنگ پرگنه در محیط کشت YME (Yeast malt extract agar) شیری بود.

سلول‌ها تخم‌مرغی و اندازه آن‌ها ۴-۳×۸-۵ میکرومتر و جوانه‌زنی در محیط کشت عصاره مالت مخمر مایع چند جانبه بود. در هیچ‌کدام از محیط‌های کشت آرتروسپور و بلاستوکنیدیوم تشکیل نشد. پرگنه‌های این گونه در واکنش با معرف دیازینیوم بلو بی‌تغییر رنگ ندادند و بنابراین نتیجه منفی بود. این جنس برای اولین بار از روی نماتد سیست طلایی سیب‌زمینی در ایران گزارش می‌شود. بلاست حاصل از توالی نواحی ITS نشان دهنده شباهت ۹۹ درصد به بالای جدایه‌های شماره ۶، ۱۹، ۷۶، ۹۳، ۱۱۱، ۱۴۰ و ۱۴۴ به جدایه‌های موجود در بانک ژن بود و کلادوگرام به‌دست آمده از تجزیه و تحلیل فیلوژنتیکی این جدایه‌ها، شناسایی ریخت‌شناسی آن‌ها را تأیید کرد (شکل ۲).

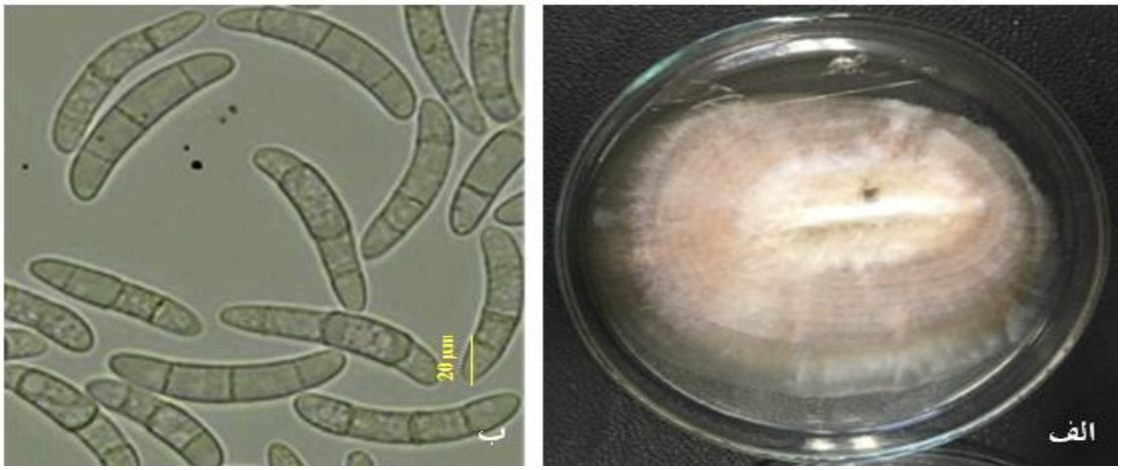


شکل ۱- *Candida parapsilosis*، الف) سطح رویی پرگنه، ب) شکل کنیدیوم.



شکل ۲- کلادوگرام به‌دست آمده از توالی نواحی ITS در جدایه‌هایی از قارچ *Candida* (۶، ۱۹، ۷۶، ۹۳، ۱۱۱، ۱۴۰ و ۱۴۴) با استفاده از نرم‌افزار Mega 5.

تنها یک جدایه (۴۹) از این جنس از منطقه دیزج از توابع شهر همدان جداسازی و شناسایی گردید که با کد هرباریوم IRAN 2834C در بخش کلکسیون قارچ‌های زنده در مؤسسه تحقیقات گیاهپزشکی ایران نگهداری می‌شود. پرگنه‌ی قارچ پس از هفت روز روی محیط PDA دارای قطر ۳۰ میلی‌متر می‌باشد. پرگنه در ابتدا سفید رنگ، دارای میسلیوم‌های هوایی پنبه‌ای که بعداً به تیرگی می‌گراید (شکل ۳ الف) و سطح زیرین آن به رنگ کرم می‌باشد. کنیدی‌ها معمولاً به وفور در بالشک (Sporodochium) لزج تشکیل می‌شوند و از خوشه‌های منشعب نامنظم از سلول‌های کنیدی‌زا (فیالیدها) منشأ می‌گیرند که دارای اندازه ۵-۴×۱۶-۱۱ میکرومتر هستند. سلول‌های کنیدی‌زا گاهی اوقات برای تشکیل یک فیالید ثانویه از نوک فیالید اولی توسعه یافته‌اند. کنیدی‌ها دارای ۵-۳ دیواره می‌باشند (شکل ۳ ب). زمانی‌که سه دیواره دارند اندازه آن‌ها ۸/۵-۷×۶۰-۵۰ میکرومتر بوده و زمانی که ۶-۵ دیواره دارند دارای ۹-۷×۸۰-۶۰ میکرومتر هستند. کلامیدوسپورها معمولاً در پرگنه‌ی بالغ با دیواره ضخیم، به‌صورت انفرادی یا زنجیری، گرد، صاف، بی‌رنگ یا به رنگ قهوه‌ای رنگ پریده با قطر ۲۰-۱۰ میکرومتر دیده می‌شوند. این قارچ برای اولین بار از روی نماتد سیست طلایی سیب‌زمینی در ایران گزارش می‌شود. بلاست حاصل از توالی نواحی ITS نشان دهنده شباهت ۹۹ درصد به بالای جدایه‌ی شماره ۴۹ به جدایه‌های موجود در بانک ژن بود و کلادوگرام به‌دست آمده از تجزیه و تحلیل فیلوژنتیکی این جدایه، شناسایی ریخت‌شناسی آن را تأیید کرد (شکل ۷).

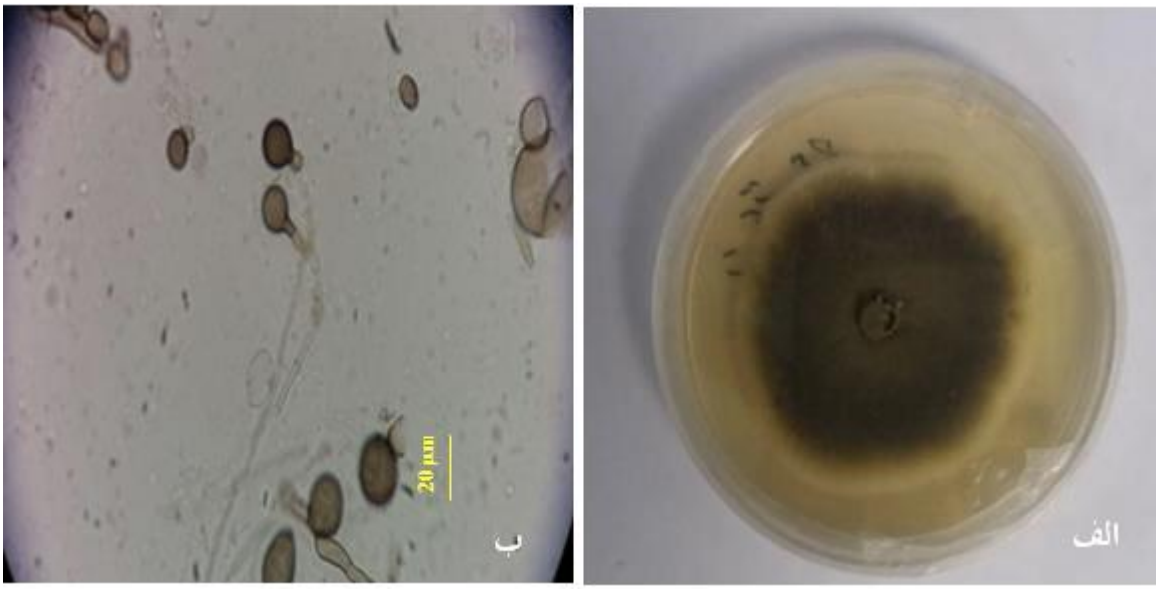


شکل ۳- *Cylindrocarpon olidum*، الف) سطح رویی پرگنه، ب) شکل کنیدیوم.

تنها یک جدایه با شماره ۱۴۱ از این گونه قارچی از نماتد سیست طلایی سیب‌زمینی از منطقه یکن‌آباد از توابع شهرستان بهار جداسازی و شناسایی گردید. پرگنه روی محیط PDA به‌صورت سبز مایل به خاکستری بوده (شکل ۴ الف) و رنگ سطح زیرین پرگنه خاکستری می‌باشد. میزان رشد پرگنه قارچی در دمای ۲۵ درجه سانتی‌گراد و به‌مدت ۱۰ روز روی محیط OA، ۵۰ میلی‌متر بود. این گونه قادر به تولید آلئوروکنیدیوم و همچنین تولید کنیدیفورهای فیالیدیک و تولید کنیدیوم می‌باشد. آلئوروکنیدیوم‌ها مستقیم روی هیف رویشی و یا روی استریگما، به‌صورت میانی و انتهایی، به شکل تقریباً کروی و به رنگ قهوه‌ای تیره مشاهده شدند (شکل ۴ ب).

ابعاد آلئوروکنیدیوم‌ها (۱۳) ۱۵-۱۲ میکرومتر اندازه‌گیری گردید. اگرچه این گونه توانایی تولید

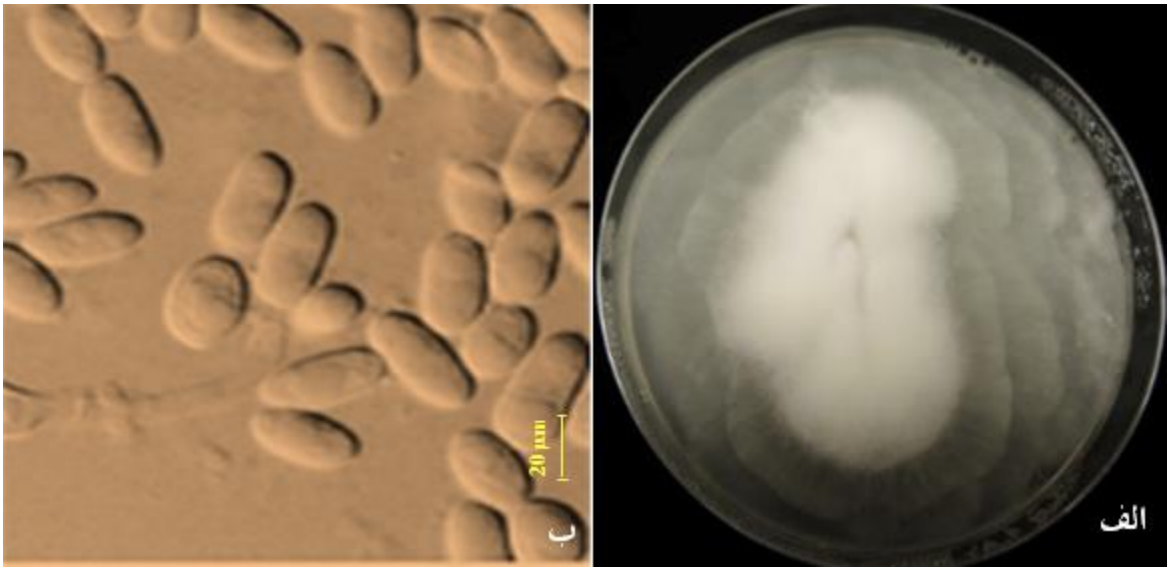
کنیدیوم‌های فیالیدیک را دارا می‌باشد، اما این فرم به‌ندرت تشکیل می‌شود و در برخی از جدایه‌ها این نوع از کنیدیوم‌ها تشکیل نمی‌شود. در این جدایه نیز مرحله کنیدیومی مشاهده نشد. این قارچ معمولاً به‌عنوان یک گونه خاک‌زی شناخته می‌شود. این گونه‌ی قارچی به‌نام *Humicola grisea* برای اولین بار توسط زارع و همکاران (۱۳۸۷) از ایران گزارش شد که قارچ مذکور را از نماتدهای *Heterodera schachtii* و *M. javanica* جدا کردند. طبق بررسی‌های Wang و همکاران (۲۰۱۹) قارچ *H. grisea* به *Trichocladium griseum* تغییر نام یافت. همراهی این قارچ با نماتدها می‌تواند دلیلی بر نقش آن در کنترل بیولوژیک این نماتدها باشد. بر اساس بررسی‌های انجام گرفته، این قارچ برای اولین بار از روی نماتد سیست طلایی سیب‌زمینی در ایران گزارش می‌شود. بلاست حاصل از توالی نواحی ITSنشان دهنده شباهت ۹۹ درصد به بالای جدایه‌ی شماره ۱۴۱ به جدایه‌های موجود در بانک ژن بود و کلادوگرام به‌دست آمده از تجزیه و تحلیل فیلوژنتیکی این جدایه، شناسایی ریخت‌شناسی آن را تأیید کرد (شکل ۷).



شکل ۴- *Trichocladium griseum* ، الف) سطح رویی پرگنه، ب) شکل کنیدیوم.

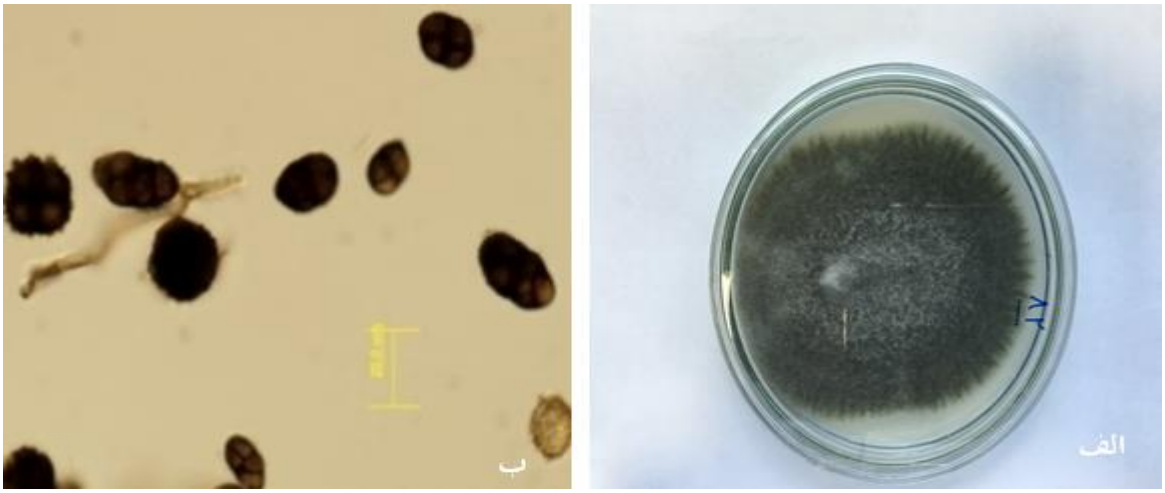
نمونه‌های مورد بررسی مربوط به این جنس در این پژوهش، دو جدایه با شماره‌های ۱۱ و ۴۰ به‌ترتیب از مناطق امزاجرد و جورقان بودند که جدایه شماره ۴۰ با کد هرباریوم IRAN 2831C در مؤسسه تحقیقات گیاهپزشکی ایران نگهداری می‌شود. پرگنه قارچ روی محیط کشت PDA و MEA (Malt extract agar) صاف و لزج بوده، دارای میسلیوم هوایی پراکنده، شفاف (شکل ۵ الف)، منشعب و دیواره‌دار با عرض ۴-۳ میکرومتر می‌باشد که با تشکیل آناستوموزهای متعدد، پیچ‌های هیفی را تشکیل می‌دهند. سطح زیرین پرگنه شفاف می‌باشد. کنیدیفورها انفرادی، شفاف، صاف، با دیواره نازک و غیرمنشعب یا به‌ندرت به‌صورت نامنظم منشعب شده‌اند. سلول‌های کنیدی‌زا فیالیدیک، مشخص، صاف، انفرادی و روی پیچ‌های هیفی تشکیل می‌شوند. فیالیدها بدون دیواره دارای اندازه ۵/۵-۳×۴۵-۱۲ میکرومتر، گاهاً دارای یک دیواره نزدیک پایه هستند و بعضی از

آن‌ها به‌طرف رأس کج شده و در بخش پایه پهن می‌باشند. کنیدی‌ها روشن، بیضی شکل، اغلب بدون دیواره و گاهی اوقات دارای یک دیواره هستند. اندازه کنیدی‌ها ۴-۳×۶/۵-۵/۵ میکرومتر بوده و بین کنیدی‌ها نیز آناستوموز دیده می‌شود (شکل ۵ ب) و کلامیدوسپور وجود ندارد. این جنس قارچی برای اولین بار از روی نماتد سیست طلایی سیب‌زمینی در ایران گزارش می‌شود. بلاست حاصل از توالی نواحی ITS نشان دهنده شباهت ۹۹ درصد به بالای جدایه‌های شماره‌های ۱۱و ۴۰ به جدایه‌های موجود در بانک ژن بود و کلادوگرام به‌دست آمده از تجزیه و تحلیل فیلوژنتیکی این جدایه‌ها، شناسایی خصوصیات ریخت‌شناسی آن‌ها را تأیید کرد (شکل ۷).

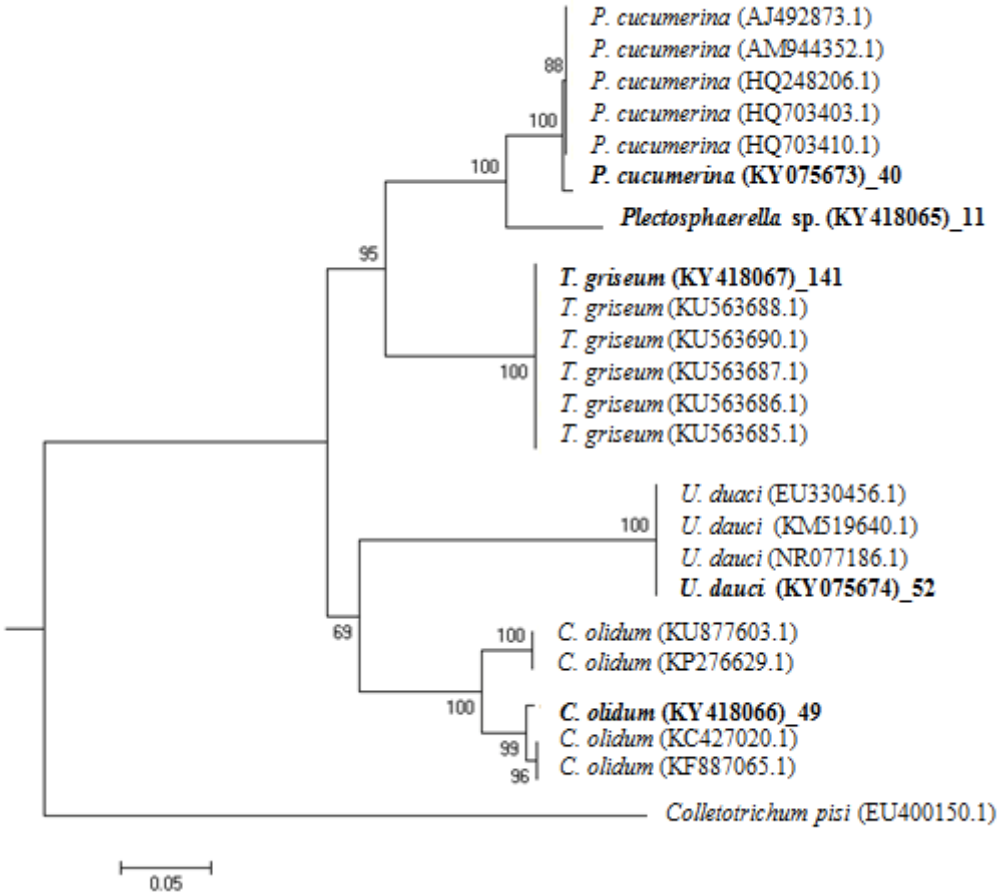


شکل ۵- *Plectosphaerella cucumerina*، الف) سطح رویی پرگنه، ب) شکل کنیدیوم

از این قارچ تعداد یک جدایه با شماره ۵۲ از منطقه دیزج جداسازی گردید که با کد هرباریوم IRAN 2833C در مؤسسه تحقیقات گیاهپزشکی ایران نگهداری می‌شود. رنگ پرگنه این قارچ روی محیط کشت PCA (Potato carrot agar)، سیاه با حاشیه سفید رنگ می‌باشد (شکل ۶ الف) و رنگ سطح زیرین پرگنه سبز تیره می‌باشد. کنیدیفورها صاف، به رنگ قهوه‌ای روشن یا تیره و اندازه آن‌ها ۵-۵/۴×۵۶-۵۰ میکرومتر می‌باشد. کنیدیوم‌ها به‌صورت انفرادی، اغلب گرد، به‌ندرت تخم‌مرغی وارونه، بیضوی و زگیل‌دار، دارای ۵-۳ دیواره عرضی و اغلب ۳-۰ دیواره طولی یا مورب هستند (شکل ۶ ب). اندازه کنیدیوم‌ها ۱۱-۹×۳۱-۲۳ میکرومتر می‌باشد. این قارچ برای اولین بار از روی نماتد سیست طلایی سیب‌زمینی در ایران گزارش می‌شود. بلاست حاصل از توالی نواحی ITS نشان دهنده شباهت ۹۹ درصد به بالای جدایه‌ی ۵۲ به جدایه‌های موجود در بانک ژن بود و کلادوگرام به‌دست آمده از تجزیه و تحلیل فیلوژنتیکی این جدایه، شناسایی این جدایه بر اساس ویژگی‌های ریخت‌شناسی را تأیید کرد (شکل ۷).



شکل ۶- *Ulocladium dauci*، الف) سطح رویی پرگنه، ب) شکل کنیدیوم.



شکل ۷- کلادوگرام به‌دست آمده از توالی نواحی ITS در جدایه‌هایی از قارچ‌های *Cylindrocarpon* (۴۹)، *Plectosphaerella* (۱۱ و ۴۰)، *Trichocladium* (۱۴۱)، و *Ulocladium* (۵۲) با استفاده از نرم‌افزار Mega 5.

نتیجه‌گیری کلی

نماتد سیست طلایی سیب‌زمینی یکی از مهمترین نماتدهای انگل این محصول در دنیا محسوب می‌گردد. با وجود این‌که تخم نماتد یکی از مقاوم‌ترین ساختارهای زیستی است اما به حمله‌ی قارچ‌های بیمارگر تخم حساس می‌باشد. بنابراین

شناسایی قارچ‌های همراه نماتدها و نقش آن‌ها در کنترل بیولوژیک نماتدها از جمله نماتدهای سیستی بسیار حائز اهمیت می‌باشد. در این پژوهش، ۱۵۴ جدایه‌ی مختلف قارچی از نماتد سیست طلایی سیب‌زمینی در استان همدان جداسازی شد که بر اساس ویژگی‌های ریخت‌شناسی و بررسی‌های مولکولی در ۱۳ جنس قارچی قرار گرفتند که پنج گونه‌ی قارچی *C. parapsilosis*، *C. olidum*، *P. cucumerina*، *T. griseum* و *U. dauci* برای اولین بار در ایران از روی نماتد مذکور گزارش می‌شوند. از قارچ‌های جدید شناسایی شده در این پژوهش تاکنون از قارچ *Cylindrocarpon* در منابع علمی به‌عنوان عامل کنترل بیولوژیک مطالعه و گزارش شده و مطالعات بیشتر در خصوص زیست‌شناسی این پنج گونه و برهمکنش آن‌ها با نماتدها و سایر قارچ‌های شناسایی شده در این مطالعه می‌تواند راه‌گشای افق‌های جدیدی در عرصه کنترل بیولوژیک نماتدهای انگل گیاهی باشد و می‌توان نتیجه گرفت که قارچ‌های رشته‌ای به‌عنوان تولیدکننده آنزیم‌های مختلف از پتانسیل مناسبی برای کنترل بیولوژیکی نماتد سیست طلایی سیب‌زمینی برخوردارند.

References

- Arzanlou, M., Torbati, M. & Khodaei, S. (2013). Phenotypic and molecular characterization of *Plectosphaerella cucumerina* on bamboo from Iran. *Mycosphere*, 4(3), 647-651.
- Brown, R. & Kerry, B. (1987). *Principles and practice of nematode control in crops* (No. 632.65182/B877). Academic Press.
- Chen, F. & Chen, S. (2002). Mycofloras in cysts, females, and eggs of the soybean cyst nematode in Minnesota. *Applied Soil Ecology*, 19(1), 35-50.
- Dackman, C. (1990). Fungal parasites of the potato cyst nematode *Globodera rostochiensis*: Isolation and reinfection. *Journal of Nematology*, 22(4), 594.
- Dong, J. Y., Zhao, Z. X., Cai, L., Liu, S. Q., Zhang, H. R., Duan, M. & Zhang, K. Q. (2004). Nematicidal effect of freshwater fungal cultures against the pine-wood nematode, Bursaphelenchus xylophilus. *Fungal Divers*, 15, 125-135.
- Fenwick, D. W. (1940). Methods for the recovery and counting of cysts of Heterodera schachtii from soil. *Journal of Helminthology*, 18(4), 155-172.
- Gams, W. & Bissett, J. (1998). Morphology and identification of *Trichoderma*. In: C. P. Kubicek & G. E. Harman (Eds.), *Trichoderma* and *Gliocladium*, Vol. 1, Basic Biology, Taxonomy and Genetics (pp. 3-34). Taylor and Francis, London.
- Gitty, M., TANHA, M. Z., Arjmandian, A. & Pishevar, S. (2011). Occurrence of potato golden cyst nematode in Iran and its distribution in Hamadan Province. *Agricultural Biolotechnology*, 10, 53-61.
- Ibrahim, G. H., Al Rehiayani, S. M. & Bellal, M. M. (2009). Use of biocontrol fungi, *Bacillus thuringiensis* and organic soil amendment to control root-knot nematode (*Meloidogyne incognita*) in tomato and eggplant. *Mansoura University Journal of Agricultural Sciences*, 34(11), 10761-10770.
- Khan, A., Williams, K. L. & Nevalainen, H. K. (2006). Control of plant-parasitic nematodes by *Paecilomyces lilacinus* and *Monacrosporium lysipagum* in pot trials. *Biocontrol*, 51(5), 643-658.
- Khezri Nezhad, N. (2004). Evaluation of the biodiversity of nematodes in sugar beet fields and natural infection of sugar beet cyst nematode with antagonistic fungi in West Azerbaijan province: Urmia University master's.

- Kok, C. H. & Papert, A. (2001). Microflora of *Meloidogyne* egg masses: species composition, population density and effect on the biocontrol agent *Verticillium chlamydosporium* (Goddard). *Nematology*, 3(8), 729-734.
- Kurtzman, C., Fell, J. W. & Boekhout, T. (2011). The yeasts: a taxonomic study. Elsevier, Amesterdam.
- Liu, T., Wang, L., Duan, Y. X. & Wang, X. (2008). Nematicidal activity of culture filtrate of *Beauveria bassiana* against *Meloidogyne hapla*. *World Journal of Microbiology and Biotechnology*, 24(1), 113-118.
- Lopez-Lima, D., Sanchez-Nava, P., Carrion, G. & Nunez-Sanchez, A. E. (2013). 89% reduction of a potato cyst nematode population using biological control and rotation. *Agronomy for Sustainable Development*, 33(2), 425-431.
- Luangsa-Ard, J., Houbraken, J., van Doorn, T., Hong, S. B., Borman, A. M., Hywel-Jones, N. L. & Samson, R. A. (2011). *Purpureocillium*, a new genus for the medically important *Paecilomyces lilacinus*. *FEMS Microbiology Letters*, 321(2), 141-149.
- Nagami, A., Kunwar I. K. & Manoharachary, C. (2006). Handbook of soil fungi. I K International press, New Delhi.
- Park, J. O., Hargreaves, J. R., McConville, E. J., Stirling, G. R., Ghisalberti, E. L. & Sivasithamparam, K. (2004). Production of leucinostatins and nematicidal activity of Australian isolates of *Paecilomyces lilacinus* (Thom) Samson. *Letters in Applied Microbiology*, 38(4), 271-276.
- Ruanpanun, P., Tangchitsomkid, N., Hyde, K. D. & Lumyong, S. (2010). Actinomycetes and fungi isolated from plant-parasitic nematode infested soils: screening of the effective biocontrol potential, indole-3-acetic acid and siderophore production. *World Journal of Microbiology and Biotechnology*, 26(9), 1569-1578.
- Rumbos, C. I. & Kiewnick, S. (2006). Effect of plant species on persistence of *Paecilomyces lilacinus* strain 251 in soil and on root colonization by the fungus. *Plant and Soil*, 283(1), 25-31.
- Sankaranarayanan, C., Hussaini, S. S., Kumar, P. S. & Rangeswaran, R. (2002). Parasitism of Meloidogyne incognita eggs by *Fusarium oxysporum* and other fungi. *Indian Journal of Nematology*, 32(1), 33-36.
- Seifert, K. (1996). Fus Key: *Fusarium* interactive key. Agriculture and Agri-Food Canada, Research Branch, Eastern Cereal and Oilseed Research Centre.
- Sharon, E., Chet, I. & Spiegel, Y. (2009). Improved attachment and parasitism of *Trichoderma* on *Meloidogyne javanica* in vitro. *European Journal of Plant Pathology*, 123(3), 291-299.
- Simmons, E. G. (1967). Typification of *Alternaria*, *Stemphylium*, and *Ulocladium*. *Mycologia*, 59(1), 67-92.
- Tikhonov, V. E., Lopez-Llorca, L. V., Salinas, J. & Jansson, H. B. (2002). Purification and characterization of chitinases from the nematophagous fungi *Verticillium chlamydosporium* and *V. suchlasporium*. *Fungal Genetics and Biology*, 35(1), 67-78.
- Tobin, J. D., Haydock, P. P. J., Hare, M. C., Woods, S. R. & Crump, D. H. (2008). Effect of the fungus Pochonia chlamydosporia and fosthiazate on the multiplication rate of potato cyst nematodes (*Globodera pallida* and *G. rostochiensis*) in potato crops grown under UK field conditions. *Biological Control*, 46(2), 194-201.

Verdejo-Lucas, S., Ornat, C., Sorribas, F. J. & Stchiegel, A. (2002). Species of root-knot nematodes and fungal egg parasites recovered from vegetables in Almeria and Barcelona, Spain. *Journal of Nematology*, 34(4), 405-408.

Wang, X. W., Yang, F. Y., Meijer, M., Kraak, B., Sun, B. D., Jiang, Y. L., Wu, Y. M., Bai, F. Y., Seifert, K. A., Crous, P. W., Samson, R. A. & Houbraken, J. (2019). Redefining *Humicola sensu* stricto and related genera in the Chaetomiaceae. *Studies in Mycology*, 93, 65-153.

White, T. J., Bruns, T. D., Lee, S. & Taylor, J. (1990). Amplification and direct sequencing of fungal ribosomal RNA genes for phylogenetics. In: M. A. Innis, D. H. Gelfand, J. I. Sninsky, J. J. & T. J. White (Eds.), PCR Protocols, a Guide to Methods and Applications. (pp. 315-322). San Diego, California: Academic Press.

Zare, R., Fatemi, S. & Mousavi, M. (2008). First report of *Humicola grisea* in Iran. *Rostaniha*, 9(1), 133-134.

First Report of Some Fungal Species on the Potato Golden Cyst Nematode, *Globodera rostochiensis* in Iran

Khadijeh Abbasi[1*] and Doustmorad Zafari[2]

1- Ph.D Graduate, Department of Plant Protection, Faculty of Agriculture, Bu-Ali Sina University, Hamedan, Iran
2- Professor, Department of Plant Protection, Faculty of Agriculture, Bu-Ali Sina University, Hamedan, Iran

*Corresponding author: ma_sarine86@yahoo.com
(Received: September. 12, 2020, Accepted: November. 22, 2021)

Abstract

Potato golden cyst nematode *(Globodera rostochiensis*) is the most destructive plant-parasitic nematode of this crop and searching for various control ways is very essential. Because of the chitin is a dominant composition in middle layer of the eggshell in nematodes, using of the chitinases by chitin-degrading enzymes in a wide range of the fungi is a good strategy for biological control of the potato golden cyst nematode. In this research 154 fungal isolates were recovered from infected eggs of the potato golden cyst nematode, *G. rostochiensis*. These isolates were identified based on morphological and molecular features including internal transcribed spacer regions (ITS1, ITS2 and 5.8S gene) of ribosomal DNA. The ITS1, ITS2 and 5.8S sequences were obtained by sequencing both strands in opposite directions using the PCR amplification primers, ITS1 and ITS4 in genomics resource laboratory at Massachusetts University, USA. In this study, according to morphological features and sequencing of ITS regions of ribosomal DNA, these 154 isolates were classified in 13 genera, *Alternaria, Aspergillus, Beauveria, Candida*, *Chaetomium, Cylindrocarpon*, *Fusarium, Trichocladium, Lecanicillium, Plectosphaerella*, *Purpureocillium*, *Trichoderma* and *Ulocladium*. The five fungal species *Candida parapsilosis, Cylindrocarpon olidum, Trichocladium griseum, Plectosphaerella cucumerina and Ulocladium dauci* are reported for the first timefrom *G. rostochiensis* in Iran. As a producer of various enzymes, the filamentous fungi has been suggested as an important means of biological control for *G. rostochiensis*.

Keywords: Biological control, Fungal isolate, Golden cyst, *Globodera rostochiensis*, Morphology.