



نخستین گزارش از اثر آنتاگونیستی قارچ *Catenaria anguillulae* بر نماتد مولد زخم ریشه چای

(*Pratylenchus loosi*) در شرایط آزمایشگاهی

ابوالفضل یحیوی آزاد^{۱*}، علی سراجی^۲ و سیده نگین میرقاسمی^۳

۱- دانشجوی دکتری تخصصی بیماری‌شناسی گیاهی، گروه گیاه‌پزشکی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه زنجان، زنجان، ایران.

۲- استادیار، پژوهشکده چای، موسسه تحقیقات علوم باغبانی، سازمان تحقیقات، آموزش و ترویج کشاورزی، لاهیجان، ایران.

۳- گروه گیاه‌پزشکی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه گیلان، رشت، ایران.

تاریخ دریافت: ۱۴۰۴/۱۰/۰۷ تاریخ پذیرش: ۱۴۰۵/۰۶/۳۰

چکیده

نماتد مولد زخم ریشه چای (*Pratylenchus loosi*) مهم‌ترین عامل خسارت‌زای چای در ایران و جهان است که مدیریت آن از اصلی‌ترین اولویت‌های حوزه گیاه‌پزشکی این محصول می‌باشد. به‌منظور مهار زیستی این نماتد با استفاده از قارچ‌های آنتاگونیست، پس از نمونه‌برداری از مناطق مختلف چای‌کاری، اقدام به جداسازی و شناسایی قارچ‌های آنتاگونیست و بررسی میزان کارایی آن‌ها در مهار زیستی نماتد *P. loosi* گردید. در طی بررسی‌های انجام شده در این پژوهش، گونه قارچی *Catenaria anguillulae* از روی نماتدهای انگلی شده *P. loosi* جداسازی و پس از شناسایی گونه قارچی توسط کلیدهای معتبر، آزمایشات مربوط به بررسی کارایی آن انجام گرفت. پس از انجام آزمون‌های مربوط به اثر آنتاگونیستی قارچ *C. anguillulae* روی نماتد *P. loosi* در آب آگار ۱/۵ درصد، هر ۲۴ ساعت، میزان مرگ و میر نماتدهای مورد مطالعه (لاروها و بالغین) مورد بررسی قرار گرفت. نتایج نشان داد پس از گذشت ۷۲ و ۱۶۸ ساعت از مایه‌زنی، به‌ترتیب ۱۹/۰۸ و ۴۶/۴ درصد لاروها و ۱۴/۹۱ و ۳۰/۷۶ درصد بالغین نماتد مورد حمله قرار گرفته و با گذشت زمان به تدریج بدن نماتد تخریب گردید. این پژوهش اولین گزارش از این گونه قارچی و اثر آنتاگونیستی آن روی نماتدها در باغ‌های چای ایران به ویژه روی نماتد عامل زخم ریشه چای است. **واژگان کلیدی:** چای، قارچ آنتاگونیست، مهار زیستی، نماتدهای انگل گیاهی.

First report of the antagonistic effect of the fungus *Catenaria anguillulae* on the tea root-lesion nematode (*Pratylenchus loosi*) under laboratory conditions

Aboulfazl Yahyavi Azad^{1*}, Ali Seraji², Seyedeh Negin Mirghasemi³

1- Ph.D student in Plant Pathology, Department of Plant Protection, Faculty of Agriculture, University of Zanjan, Zanjan, Iran.

1- Assistant Professor, Tea Research Center, Horticultural Sciences Research Institute (HSRI), Agricultural Research, Education and Extension Organization (AREEO), Lahijan, Iran.

2- Department of Plant Protection, Faculty of Agriculture, University of Guilan, Rasht, Iran.

Received: December 2025

Accepted: September 2026

Abstract

Tea root-lesion nematode (*Pratylenchus loosi*) is the most important damaging agent of tea in Iran and worldwide, and its management is one of the main priorities in plant protection of this crop. For biological control of this nematode using antagonistic fungi, following sampling from different tea-growing areas, antagonistic fungi were isolated and identified, and their efficacy in controlling of *P. loosi* was evaluated. During the investigations conducted in this study, the fungal species *Catenaria anguillulae* was isolated from parasitized *P. loosi* nematodes, and after identification of the fungal species using valid taxonomic keys, experiments related to evaluating its efficacy were performed. After conducting tests on the antagonistic effect of *C. anguillulae* against *P. loosi* on 1.5% water agar, the mortality rate of the studied nematodes (juveniles and adults) was examined every 24 hours. The results showed that 72 and 168 hours after inoculation, 19.08% and 46.4% of juveniles and 14.91% and 30.76% of adults, were attacked, respectively, and over time the nematode body was gradually degraded. This study represents the first report of this fungal species and its antagonistic effect on nematodes in Iranian tea gardens, particularly on the tea root-lesion nematode.

Keywords: Antagonistic Fungi, Biological Control, Tea, Plant Parasitic Nematodes.

۱- مقدمه

داشتن پتانسیل بالا، جهت مهار زیستی نماتدهای انگل گیاهی، مورد توجه قرار گرفته است. این قارچ، انگل داخلی نماتدها بوده و در طبیعت به صورت پوده‌زی یا ساپروفیت روی بقایای گیاهی و در آزمایشگاه، بر روی محیط کشت حاوی آگار، قابلیت رشد دارد (Alexopoulos et al., 1996). قارچ *C. anguillulae* تعداد زیادی زئوسپور تولید کرده و با سرعت بالایی تکثیر می‌شود و می‌تواند چرخه زندگی خود را طی ۲۴ ساعت در دمای حدود ۳۱ درجه سانتی‌گراد، کامل نماید. زئوسپورهای متحرک این قارچ، در جهت شیب غلظت مواد مترشح از بدن میزبان، به جست‌وجوی نماتدهای میزبان می‌پردازند. این قارچ در هر اسپورانژیوم نزدیک به ۲۰۰ زئوسپور تولید می‌کند که نشان‌دهنده نرخ بالای تولید اسپور در آن است. افزون بر این، یکی دیگر از ویژگی‌های بارز آن، رهاسازی غیرهمزمان زئوسپورهاست که در دسترس بودن زئوسپورهای فعال برای انگلی کردن نماتدها را تضمین می‌نماید (Singh et al., 2012). این قارچ قادر است در دامنه وسیعی از pH و دما رشد کند و برای مدت طولانی زنده بماند (Penzkofer et al., 2017). علی‌رغم این‌که آلودگی *C. anguillulae* می‌تواند در هر نقطه‌ای از بدن نماتد رخ دهد، با این حال، بیشتر آلودگی‌ها از ناحیه بین استایل و مری آغاز می‌شوند. زئوسپورها از طریق منافذ طبیعی موجود در بدن نماتدها مانند دهان، منفذ دفعی و مخرج وارد شده، تشکیل سیست می‌دهند و با ایجاد لوله تندش جوانه می‌زنند. سپس این لوله به هیف تبدیل شده و طی فرایند اسپورزائی، زئوسپورها آزاد و منجر به آلودگی مجدد نماتد می‌گردند (Singh et al., 1993).

در یک بررسی آزمایشگاهی مشخص گردید که قارچ *C. anguillulae* به‌عنوان یک آنتاگونیست و انگل داخلی نماتدها قادر است به‌طور مؤثر لاروهای سن دوم نماتد *Anguina tritici* را آلوده و بیش از ۸۰ درصد آن‌ها را در مدت ۲۴ ساعت از بین ببرد. این مطلب، نشان‌دهنده توانایی بالای این قارچ در مهار زیستی نماتدهای انگل گیاهی می‌باشد (Singh et al., 2012). قارچ‌های انگل داخلی نماتدها از جمله *C. anguillulae* و *Dactylaria brochopaga* سبب کاهش جمعیت نماتدهای ریشه گرهی *Meloidogyne graminicola* می‌شوند که این امر بیانگر نقش مهم و

چای با نام علمی *Camellia sinensis* (L.) O Kuntze از جمله قدیمی‌ترین نوشیدنی‌های مورد استفاده بشر می‌باشد. از بین عوامل بیماری‌زای گیاهی، قارچ‌ها و نماتدها مهم‌ترین عوامل خسارت‌زای چای محسوب می‌شوند (Willson and Clifford, 2012). نماتدهای انگل گیاهی از جمله مهم‌ترین عوامل خسارت‌زا در محصولات کشاورزی و باغبانی به شمار رفته و سالانه سبب کاهش قابل توجه عملکرد و کیفیت محصولات مختلف می‌شوند. نماتدها در خاک و اطراف ریشه گیاهان حضور دارند و با تغذیه از بافت‌های ریشه، موجب اختلال در جذب آب و مواد غذایی و در نهایت کاهش رشد گیاهان می‌گردند. نماتد مولد زخم ریشه چای (*Pratylenchus loosi* Loof, 1960)، در بسیاری از کشورهای چای‌خیز جهان و ایران، مهم‌ترین عامل خسارت‌زای چای به شمار می‌رود (سراجی و همکاران، ۱۳۸۶). در ایران، این نماتد در سال ۱۳۶۸ روی نهال‌های وارداتی چای از کشور ژاپن مشاهده و در سال ۱۳۷۱ گزارش شد (تنهامعافی، ۱۳۷۱). در حال حاضر از مجموع ۳۲ هزار هکتار باغ چای در شمال کشور، بیش از ۲۰ هزار هکتار آن آلوده به این نماتد انگل می‌باشند. کنترل این نماتدها با استفاده از روش‌های شیمیایی رایج معمولاً مؤثر است، اما با توجه به مضرات زیست‌محیطی ناشی از مصرف ترکیبات شیمیایی، مقاومت نماتدها و مقررات محدودکننده در استفاده از سموم، امروزه توسعه روش‌های مهار زیستی مورد توجه جدی قرار گرفته است.

قارچ‌های آنتاگونیست می‌توانند به‌صورت مستقیم یا غیرمستقیم سبب کاهش جمعیت نماتدها شده و به‌عنوان گزینه‌ای پایدار و دوست‌دار محیط زیست، به‌منظور مدیریت نماتدهای انگل گیاهی مورد استفاده قرار گیرند. قارچ‌های آنتاگونیست نماتدها از جایگاه ویژه‌ای در بین موجودات میکروسکوپی به‌عنوان مهارکننده‌های زیستی نماتدهای انگل گیاهی برخوردارند که شامل قارچ‌های انگل تخم، قارچ‌های تله‌گذار نماتدها، قارچ‌های انگل داخلی و قارچ‌های ریشه، می‌باشند (Rahman et al., 2023). در میان این قارچ‌ها، *Catenaria anguillulae* Sorokin, 1876 به‌دلیل

نماتد از ریشه، از روش کولن و دهر (Coolen and D'herde, 1972) و همچنین به منظور استخراج نماتدها از خاک، از روش استخراج سینی (Whitehead and Hemming, 1965) استفاده گردید. در بررسی‌های صورت گرفته، زئوسپورهای قارچ *C. anguillulae* که تعداد زیادی از نماتدهای آزاد و انگل از جمله نماتد مولد زخم ریشه‌ی چای را مورد حمله قرار داده بودند، مشاهده شد.

۲-۲- جداسازی و شناسایی قارچ

ابتدا نماتدهای انگلی شده توسط قارچ، در زیر بینوکولار (مدل OLYMPUS SZ-PT, Japan) جمع‌آوری شده و پس از ضدعفونی با محلول هیپوکلریت سدیم ۰/۵ درصد وزنی حجمی به مدت دو دقیقه، پنج مرتبه با آب مقطر سترون، شسته شدند. سپس این نماتدهای انگلی شده، روی محیط کشت آب آگار (Water Agar) ۱/۵ درصد + سولفات استرپتومایسین ۰/۰۱ درصد، کشت گردیدند و به منظور رشد قارچ مورد نظر، در دمای ۲۴ درجه سانتی‌گراد نگهداری شدند. به منظور خالص‌سازی قارچ، هر کلنی قارچی با استفاده از لوپ استریل به تشک‌های جدید آب‌آگار منتقل و مجدد به مدت چهار روز در شرایط مذکور، نگهداری شد. سپس کلنی‌های منفرد قارچ، به محیط کشت سیب‌زمینی دکستروز آگار (Potato Dextrose Agar) منتقل و به مدت پنج روز در دمای ۲۵ درجه سانتی‌گراد قرار داده شدند تا جدایه خالص قارچی، به طور کامل رشد نماید (Singh, 1989). به منظور شناسایی جدایه قارچی جداسازی شده، از منابع معتبر علمی از جمله کتاب الکسوپولوس (Alexopoulos et al., 1996) و همچنین شرح گونه ارائه شده توسط (Couch, 1945) استفاده شد.

۲-۳- بررسی تاثیر قارچ *C. anguillulae* بر مرگ و

میر نماتد *P. loosi* در شرایط آزمایشگاهی

به منظور انجام آزمون اثر آنتاگونیستی جدایه‌های قارچی روی لاروها و بالغین *P. loosi* در شرایط آزمایشگاهی، از آب آگار ۱/۵ درصد + سولفات استرپتومایسین ۰/۰۱ درصد که فاقد هرگونه تأثیر قابل توجه روی بقاء نماتد و یا اثر سوء روی قارچ مورد آزمایش باشد، استفاده شد. بدین صورت که ابتدا با استفاده از یک لوپ استریل، مقداری از کلونی قارچ به قطر

تأثیرگذار این گروه از قارچ‌ها در کنترل نماتدهای انگل گیاهی می‌باشد (Singh et al., 2013). در سال ۲۰۱۷، توانایی قارچ *C. anguillulae* به عنوان عامل مهار زیستی نماتدهای گیاهی مهمی مانند *Meloidogyne incognita* و *Heterodera glycines* مورد بررسی قرار گرفت که نتایج این مطالعه، پتانسیل بالای این قارچ را در جهت کاهش جمعیت این نماتدها در شرایط آزمایشگاهی و گلخانه‌ای نشان داد (Dyer, 2017). زئوسپورهای سیست شده قارچ *C. anguillulae* پس از چسبیدن به کوتیکول نماتدها، به داخل بدنشان نفوذ می‌کنند. پس از ۲۴ ساعت، تولید زئوسپورانژیوم کرده و سپس با آزاد شدن زئوسپورها، میزبان جدید را آلوده می‌نماید. (حجت‌جلالی و قاسم‌پور، ۱۳۸۵). جدیدترین مطالعات نشان داده است که قارچ‌های مختلفی نظیر *Nematoctonus* *Dactylaria scaphoides* *leiosporus* و *C. anguillulae* سبب کاهش چشم‌گیر جمعیت نماتدهای انگل گیاهی در خاک می‌گردند (Sander and Neumann, 2025).

با وجود شواهد فراوان مبنی بر نقش مؤثر قارچ‌های انگل داخلی نماتدها در مهار زیستی نماتدهای انگل گیاهی، تاکنون گزارشی در خصوص اثر آنتاگونیستی قارچ *C. anguillulae* علیه نماتد مولد زخم ریشه چای (*P. loosi*) منتشر نشده است. از این رو، بررسی توانایی این قارچ در مهار نماتد مذکور، به عنوان یکی از خلأهای موجود در این حوزه پژوهشی، ضروری به نظر می‌رسد. بر این اساس، پژوهش حاضر با هدف ارزیابی کارایی قارچ *C. anguillulae* به عنوان یک عامل آنتاگونیست علیه نماتد مولد زخم ریشه *P. loosi* در شرایط آزمایشگاهی انجام شد تا ظرفیت آن در مهار زیستی این نماتد مورد بررسی قرار گیرد.

۲- مواد و روش‌ها

۲-۱- نمونه برداری و استخراج نماتد

تعداد ۹۱ نمونه خاک و ریشه از مناطق مختلف چای‌کاری استان‌های گیلان و مازندران شامل شهرهای رشت، لاهیجان، سیاہکل، لنگرود (مرکزی، کومله و اطاقور)، املش، رودسر، شفت، فومن، رامسر و تنکابن در فصل‌های بهار و پاییز سال‌های ۱۳۹۸ تا ۱۴۰۰ جمع‌آوری شد. به منظور استخراج

۳- نتایج

پس از جداسازی نماتد از خاک و ریشه و بررسی خصوصیات ریخت‌شناسی و ریخت‌سنجی بالغین، با استفاده از کلیدهای شناسایی موجود، به تشخیص گونه نماتد اقدام گردید. با استفاده از شرح گونه ارائه شده توسط کاستیلو و وولاس (Castillo and Vovlas, 2007)، جمعیت مورد مطالعه با گونه *P. loosi* مطابقت کامل نشان داد (جدول ۱). در گونه مورد مطالعه، بدن ماده‌ها بسیار باریک و بلند که پس از فیکس شدن، تقریباً راست و مستقیم است. سطوح جانبی عریض و دارای چهار خط در جلو و سه خط عقب‌تر از مخرج است. ناحیه‌ی لبی در این نماتد گرد و دارای دو شیار می‌باشد. همچنین دارای دیسک لبی نامتوازن همراه با ناحیه‌ی لب‌های جانبی بوده که بین لب‌ها جدایی وجود ندارد. لبه‌های پشتی ناحیه‌ی لبی گسترده و دارای دو شیار است. گره استایلت گرد، عریض که با ناحیه‌ی ستون میانی آن ادغام شده است. نسبت طول بدن به فاصله سر تا انتهای غده‌های مری، ۳/۴-۵/۷ میکرومتر می‌باشد. کیسه‌ی ذخیره‌ی اسپرم (اسپرماستیکا) مستطیلی که طول آن بالای ۲۰ میکرومتر بوده و به ندرت بیشتر است. کیسه‌ی عقبی رحم در تخمدان ۳۵-۵۰ درصد از مسافت بین فرج و مخرج را اشغال می‌کند. همچنین نسبت فاصله‌ی بین ابتدای بدن تا روزنه یا شکاف تناسلی به طول بدن (V)، ۷۹-۸۵ درصد است. دم طویل و مخروطی که به تدریج نوک آن صاف بوده و معمولاً انتهای آن گرد و کم‌عرض است. نرها فراوان، اسپیکول نازک و بلند که نوک آن دارای قوس در سمت شکمی است. پرده‌ی بورسا دارای شیارهای بسیار ظریف است که تا انتهای دم کشیده شده است (شکل ۱). مطالعات ریخت‌شناسی و ریخت‌سنجی نشان داد که مشخصات غیر از مطابقت با کلید شناسایی گونه، با توصیف گونه ارائه شده توسط محققان مختلف (تنهامعافی، ۱۳۷۱؛ سراجی و همکاران، ۱۳۸۶؛ میرقاسمی، ۱۳۹۱). کاملاً مطابقت دارد و لذا گونه *P. loosi* تشخیص داده شد.

پنج میلی‌متر برداشته و سپس روی محیط آب‌آگار ۱/۵ درصد، کشت گردید و سپس به مدت چهار روز، در انکوباتور با دمای ۲۵ درجه سانتی‌گراد قرار داده شد تا ریشه‌های قارچ به‌طور کامل رشد کرده و تولید اسپور نماید. برای هر تکرار از هر تیمار، ۱۰۰ نماتد (نماتدهای نر، ماده و لاروهای سنین مختلف) درون محلول استرپتومایسین ۲۰۰۰ پی‌پی‌ام به مدت ۲۴ ساعت قرار داده شدند و سپس پنج‌مرتبه با استفاده از آب مقطر استریل، شست‌وشو انجام شد (Khan et al., 2012). پس از آن، نماتدهای ضدعفونی‌شده به تشک‌های استریل شش سانتی‌متری حاوی کلونی قارچ رشد کرده در محیط آب‌آگار ۱/۵ درصد، اضافه گردیدند. به‌منظور شمارش، ردیابی آسان‌تر و همچنین ثبت دقیق درصد مرگ و میر نماتد از طلق شطرنجی شده در زیر تشک‌ها استفاده گردید. هر تیمار دارای سه تکرار بود و همچنین تشک‌های حاوی آب‌آگار ۱/۵ درصد (فاقد قارچ) با جمعیت ۱۰۰ نماتد نیز به عنوان شاهد در نظر گرفته شد. لازم به توضیح است که تمامی مراحل این آزمایش در زیر هود سترون صورت گرفت. سپس درب تشک‌ها با استفاده از پارافیلیم مسدود و در انکوباتور با دمای ثابت ۲۵ درجه سانتی‌گراد نگهداری شدند. هر ۲۴ ساعت یک بار، میزان مرگ و میر لاروها و نماتدهای بالغ بررسی و ثبت گردید. شاخص‌های مهم در این بررسی از قبیل میزان مرگ و میر لاروها و نماتدهای بالغ، بدشکل شدن و همچنین بی‌حرکت و کلونیزه شدن آن‌ها توسط قارچ‌ها بعد از ۴۸، ۷۲ ساعت و یک هفته با استفاده از استرنومیکروسکوپ (مدل OLYMPUS SZ61, Japan) شمارش و ثبت گردید (Dai et al., 2022; Jansson and Thiman, 1992). آزمایش بر پایه طرح آماری کاملاً تصادفی انجام شد. به‌منظور تجزیه و تحلیل داده‌های آماری برای شاخص‌های مورد مطالعه از لحاظ نرمال بودن و منحنی توزیع یکنواختی واریانس، از نرم‌افزارهای SAS 9.4 و Excel استفاده گردید. مقایسه میانگین‌ها با استفاده از آزمون توکی در سطح احتمال یک‌درصد انجام شد و همچنین برای رسم جداول و نمودارها، به‌ترتیب از نرم‌افزارهای Word و Excel استفاده گردید.



شکل ۱- نماتد *P. loosi*: سمت راست: قسمت انتهایی بدن نماتد نر، سمت چپ: قسمت انتهایی بدن نماتد ماده

جدول ۱- داده‌های مورفومتریک مربوط به نماتد نر و ماده *P. loosi* مورد مطالعه در مقایسه با نمونه‌های منبع (Castillo and Vovlas, 2007).

خصوصیات مورفومتریک	(Castillo and Vovlas, 2007)		نمونه مورد مطالعه	
	نر	ماده	نر	ماده
L	530 (490-560)	650 (460-700)	481 (483-540)	664 (539-758)
A	36 (31-38)	33 (27-35)	32.9 (27.6-37.9)	31.6 (26.6-37.9)
b	5.7 (5.2-6.5)	6.5 (5.6-6.8)	6.5 (5.9-7.3)	7 (6.3-7.7)
b'	4 (3.4-4.5)	4.1 (3.5-5)	4 (3.5-4.6)	4.2 (3.7-4.7)
c	20 (17-24)	21 (17-25)	19.6 (18.1-23)	18.1 (14.1-21.3)
c'	2.7 (2.4-3)	2.8 (2.5-3.5)	2.5 (2.1-2.6)	2.5 (2.2-3.8)
v	-	83 (79-85)	-	86 (79-85)
Stylet	15 (13-16)	16 (15-18)	15 (14.7-17)	17.3 (15-17.6)
Spicule	18 (16-20)	-	16.7 (15-18)	-
Gub	4-7	-	4-7	-

نتایج حاصل از تأثیر قارچ *C. anguillulae* روی لاروهای نماتد *P. loosi* نشان داد که بر اساس جدول تجزیه واریانس داده‌ها، بین تمامی تیمارها در سطح احتمال یک‌درصد، اختلاف آماری معنی‌داری وجود دارد. همچنین در خصوص تأثیر قارچ مذکور روی بالغین نماتد، در دو بازه زمانی ۲۴ و ۴۸ ساعت، در سطح احتمال پنج‌درصد و در دو بازه زمانی ۷۲ و ۱۶۸ ساعت (یک هفته) در سطح احتمال یک‌درصد، بین تیمارهای مورد آزمایش، اختلاف آماری معنی‌داری وجود دارد (جدول ۲).

بررسی داده‌های مربوط به شناسایی مورفولوژیکی جدایه قارچی *C. anguillulae* در محیط کشت نشان داد که در خصوص شکل بیضوی تا کشیده اسپورانژیوم‌ها، تولید ریشه‌های زنجیری منشعب، ریشه‌های دارای دیواره عرضی و ریزوئیددار و وجود تورم روی نقاط مشخصی از هیف، گونه جداسازی شده، با مشاهدات (Couch, 1945) تطابق کامل دارد و تحت عنوان *C. anguillulae* شناسایی گردید. همچنین مشاهده شد که اسپورانژیوم‌های تشکیل‌شده در بخش مرکزی بدن نماتد، بدون توجه به نوع جداسازی، اندازه بزرگ‌تری داشتند.

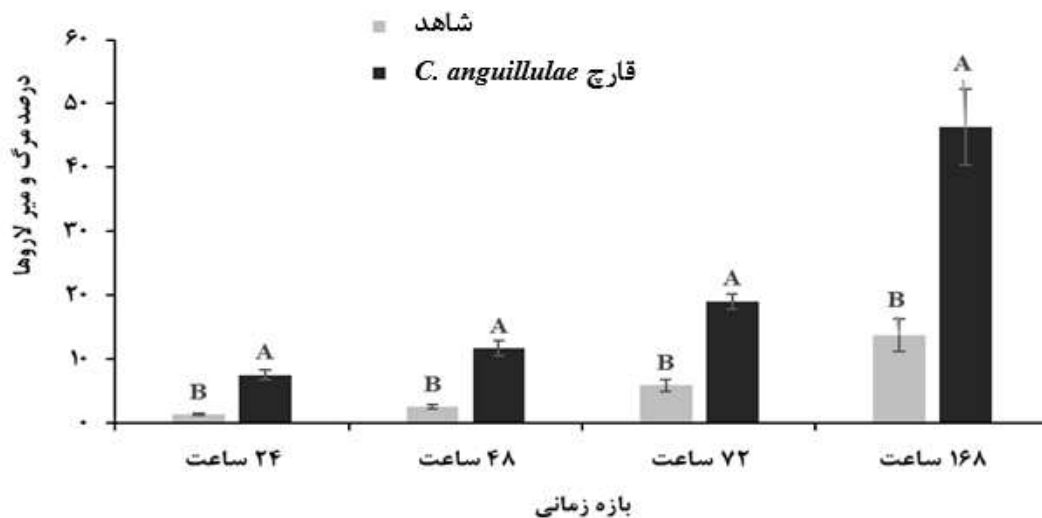
جدول ۲- تجزیه واریانس تأثیر جدایه قارچ آنتاگونیست *C. anguillulae* روی مرگ و میر لاروها و بالغین نماتد مولد زخم ریشه چای (*P. loosi*) در محیط کشت آب آگار ۱/۵ درصد.

منابع تغییرات (S.O.V)	درجه آزادی (df)	میانگین مربعات (MS)							
		درصد مرگ و میر بالغین				درصد مرگ و میر لاروها			
		۱۶۸ ساعت	۷۲ ساعت	۴۸ ساعت	۲۴ ساعت	۱۶۸ ساعت	۷۲ ساعت	۴۸ ساعت	۲۴ ساعت
تیمار	۱	۵۸۷/۴۶**	۱۳۴/۴۲**	۶۷/۷۳*	۳۲/۶۶*	۱۶۰۴/۵۲**	۲۵۹/۷۷**	۱۲۷/۲۳**	۵۷/۴۱**
خطا	۴	۱۸/۲۴	۲/۶۴	۳/۵۴	۲/۷	۷۵/۷۶	۳/۴۷	۲/۲۳	۱/۰۴
کل	۵	-	-	-	-	-	-	-	-
ضریب تغییرات	-	۲۰/۴۶	۱۵/۹۸	۲۹/۱۹	۲۸/۷۷	۲۸/۹۶	۱۴/۹۲	۲۰/۹۴	۲۲/۹۱

** و * به ترتیب معنی دار در سطح احتمال یک درصد و پنج درصد

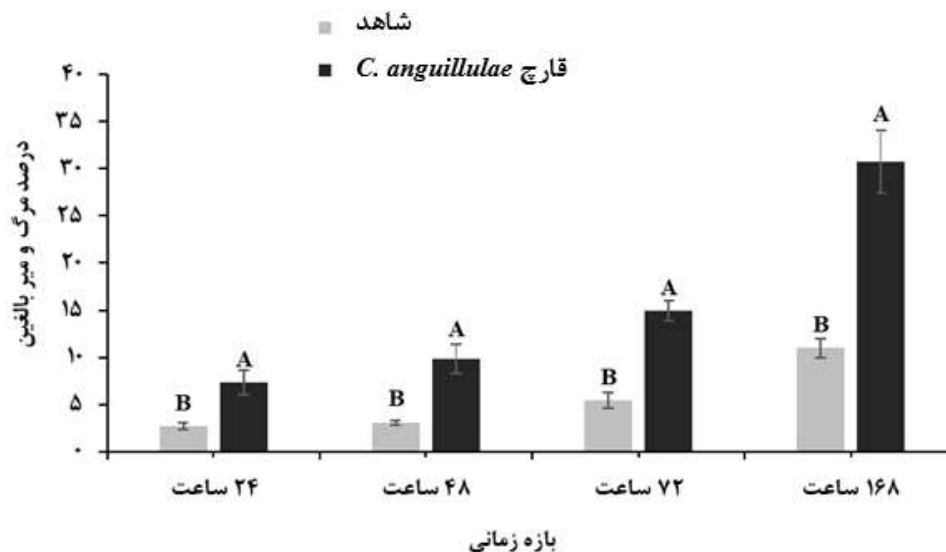
آنتاگونیست *C. anguillulae* نتایج بیان گر این امر بود که پس از گذشت ۱۶۸ ساعت (یک هفته)، ۳۰/۷۶ درصد نماتدهای بالغ، از بین رفته و با گذشت زمان، به تدریج بدن نماتد تخریب گردید. لازم به ذکر است که درصد مرگ و میر بالغین نماتد پس از گذشت ۲۴، ۴۸ و ۷۲ ساعت به ترتیب ۷/۳۵، ۹/۸ و ۱۴/۹۱ درصد مشاهده شد (شکل ۳).

نتایج نشان داد که بیشترین میزان مرگ و میر لاروهای نماتد *P. loosi* پس از گذشت ۱۶۸ ساعت (یک هفته) به میزان ۴۶/۴ درصد بود. همچنین میزان مرگ و میر لاروها پس از گذشت ۲۴، ۴۸ و ۷۲ ساعت، به ترتیب به میزان ۷/۵۴، ۱۱/۷۴ و ۱۹/۰۸ درصد مشاهده گردید (شکل ۲). در خصوص میزان مرگ و میر بالغین نماتد *P. loosi* تحت تأثیر قارچ



شکل ۲- درصد مرگ و میر لاروهای *P. loosi* تحت تأثیر قارچ آنتاگونیست *C. anguillulae* در شرایط آزمایشگاهی.

نخستین گزارش از اثر آنتاگونیستی قارچ *Catenaria anguillulae* بر نماتد مولد زخم ریشه چای (*Pratylenchus loosi*) ...



شکل ۳- درصد مرگ و میر بالغین *P. loosi* تحت تأثیر قارچ آنتاگونیست *C. anguillulae* در شرایط آزمایشگاهی.

زنوسپورانژیوم‌های قارچ *C. anguillulae* در داخل بدن نماتد کاملاً قابل مشاهده بود (شکل ۴، C و D).

هم‌چنین پس از گذشت حدود پنج تا هفت روز از قرار گرفتن نماتد *P. loosi* در معرض قارچ *C. anguillulae*، بدن نماتد توسط قارچ، به‌طور کامل انگلی شده و



شکل ۴- (A) کلونی قارچ *C. anguillulae* رشد کرده در محیط کشت آب آگار ۱/۵ درصد پس از گذشت یک هفته، (B) ریشه‌های قارچ *C. anguillulae* و تورم‌های روی ریشه، (C) زنوسپورانژیوم‌های قارچ *C. anguillulae* در داخل بدن نماتد *P. loosi* و (D) نماتد *P. loosi* انگلی شده توسط قارچ *C. anguillulae* (عکس اصلی).

۴- بحث

میر نماتد، بسیار ناچیز بود. سازوکار آنتاگونیستی در قارچ‌های انگل داخلی نماتدها شامل چسبیدن زئوسپورها به کوتیکول و سپس نفوذ به درون بدن نماتد نهایتاً منجر به مرگ میزبان می‌شود. مطالعات میکروسکوپی و بیوشیمیایی نشان داده‌اند که زئوسپورهای *C. anguillulae* با استفاده از پلیمرهای پروتئینی، به سطح میزبان نماتدی چسبیده و سپس آن‌ها را آلوده می‌کنند. این روند نفوذ و توسعه قارچ در بدن نماتد، می‌تواند بیانگر افزایش تدریجی مرگ‌ومیر مشاهده‌شده در این پژوهش باشد (Tunlid et al., 1992). در مطالعات اخیر در زمینه مهار زیستی نماتدها با استفاده از قارچ‌ها، استفاده از قارچ‌های انگل داخلی نماتدها افزایش یافته است، زیرا آن‌ها می‌توانند به‌عنوان جایگزینی مناسب برای نماتدکش‌های شیمیایی عمل کنند. بررسی‌ها نشان داده‌اند که استفاده از قارچ‌ها در مدیریت نماتدهای انگل گیاهی در محصولات زراعی و باغی، نتایج امیدوارکننده‌ای داشته و می‌تواند با کاهش جمعیت نماتدهای مولد زخم ریشه (*Pratylenchus* spp.) در خاک و ریشه گیاهان میزبان و همچنین بهبود فعالیت میکروارگانیسم‌های موجود در فراریشه، نقش بسیار مهمی در راستای کنترل عوامل بیماری‌زای نماتدی داشته باشد (Costa et al., 2025). به‌طور کلی گونه‌های قارچی انگل اجباری نماتدها ممکن است اثرات بیشتری روی کاهش جمعیت نماتدها داشته و مورد توجه بیشتری قرار گیرند؛ اما به‌علت عدم توانایی در کشت آن‌ها، پیشرفت دانش در این زمینه کند است. شاخص اصلی که اثرات انگل‌های داخلی زئوسپوری از جمله قارچ *C. anguillulae* را به‌عنوان عامل قارچی مهارکننده زیستی محدود می‌کند، وابستگی آن‌ها به آب آزاد برای فعالیت است (حجت‌جلالی و قاسم‌پور، ۱۳۸۵). اگرچه نتایج به‌دست‌آمده در شرایط آزمایشگاهی بسیار امیدوارکننده است، تعمیم آن به مدیریت مزرعه‌ای نیازمند بررسی‌های بیشتر است. عوامل محیطی مانند ترکیب میکروبیوم خاک، تنش‌های محیطی و برهم‌کنش‌های پیچیده با گیاه میزبان می‌توانند قدرت مهار زیستی قارچ را تحت تأثیر قرار دهند. پیشنهاد می‌شود در مطالعات آینده و در صورت امکان، از توالی‌یابی نواحی ریبوزومی مانند ITS و یا 18S rDNA به‌منظور تأیید دقیق‌تر گونه قارچی استفاده گردد. این کار، به‌ویژه برای تفکیک گونه‌های خویشاوند و اثبات عدم

نتایج تحقیق حاضر بیان‌گر این امر بود که بیشترین میزان مرگ و میر نماتدها، (لاروها و بالغین) پس از ۱۶۸ ساعت می‌باشد. همچنین، رشد قارچ و اسپورزایی آن، بر روی نماتدهای مرده به‌وضوح مشاهده گردید. بر اساس تحقیقات مشابه، زئوسپورهای سیست شده‌ی قارچ *C. anguillulae* قادر است تا تخم نماتدهایی از قبیل *M. incognita* و همچنین لاروها و بالغین *Pratylenchus* spp. را آلوده کند (حجت‌جلالی و قاسم‌پور، ۱۳۸۵). یافته‌های حاصل از پژوهش حاضر، نتایج مطالعات پیشین در خصوص انگلی‌شدن نماتدها توسط *C. anguillulae* را تأیید می‌نمایند (Gupta et al., 2003; Vaish et al., 2010). تحقیقات مشابه قبلی نشان داد که قارچ *C. anguillulae* می‌تواند نماتدهای مختلفی نظیر *Xiphinema americanum* و *X. rivesi* را انگلی نموده و سبب نابودی و تخریب شدید و کامل آن‌ها شوند (Jaffee and Shaffer, 1987). تحقیقات پیشین نشان داده که قارچ *Purpureocillium lilacinum* سبب کاهش جمعیت نماتدهای جنس *Pratylenchus* در ذرت و *P. coffeae* در شرایط آزمایشگاهی می‌گردد و با گذشت زمان، درصد کاهش جمعیت نماتد، افزایش می‌یابد (Tiyagi and Ajaz, 2004). در شرایط آزمایشگاهی، بررسی مهار زیستی گونه‌ی *Pratylenchus neglectus* با استفاده از تعداد ۲۸۹ نماتد و قارچ *Monacrosporium lysipagum* نشان داده که تنها ۲۰ ساعت پس از وارد کردن نماتد به محیط حاوی قارچ، ۸۱ درصد آن‌ها کشته شدند. این قارچ با تولید گره‌های چسبنده، نماتدها را مورد حمله قرار داده است (Khan et al., 2006). در زمینه‌ی مهار زیستی *P. loosi* با استفاده از باکتری‌های آنتاگونیست، نتایج نشان داد که *Pseudomonas fluorescens* به‌میزان ۹۵/۲۴ - ۶۳/۱ درصد و همچنین *Bacillus subtilis* به‌میزان ۸۶/۰۱ - ۶۲/۸۸ درصد باعث مرگ و میر لاروهای *P. loosi* می‌گردد (Rahanandeh et al., 2012). در تأیید این مطالعه، نتایج حاصل از تحقیق حاضر هم نشان داد که بیشترین میزان مرگ و میر نماتد *P. loosi* تحت تأثیر *C. anguillulae* پس از گذشت یک هفته رخ داد و در بازه‌های زمانی کوتاه‌تر (۲۴، ۴۸ و ۷۲ ساعت) درصد مرگ و

آلودگی با قارچ‌های مشابه، حائز اهمیت است. هم‌چنین به بررسی تأثیر بافت خاک، رطوبت، دما و حضور سایر میکروارگانیسم‌ها بر استقرار و کارایی *C. anguillulae* پرداخته شود و از سوی دیگر، انجام آزمایشات گلخانه‌ای با خاک غیراستریل و گیاه چای می‌تواند تصویر روشن‌تری از توانایی مهار زیستی ارائه دهد که این موارد می‌توانند به‌عنوان گام‌های بعدی پژوهش، مسیر تحقیقات آینده را هموارتر و روشن‌تر نماید.

۵- نتیجه‌گیری کلی

به‌طور کلی، نتایج حاصل از تحقیق حاضر نشان داد که کاربرد قارچ *C. anguillulae* در مهار زیستی نماتد *P. loosi* در شرایط آزمایشگاهی می‌تواند سبب کاهش

قابل‌توجه لاروها و هم‌چنین بالغین نماتد شود که این میزان مرگ و میر با گذشت زمان افزایش یافته و این قارچ آنتاگونیست، پس از گذشت حدود یک هفته، کل بدن نماتد مذکور را انگلی و سپس آن را تخریب می‌نماید. با توجه به خاک‌زی بودن ماهیت بیمارگر، دائمی بودن درختچه چای و مقرون به صرفه نبودن مبارزه شیمیایی، نتایج حاصل از تحقیق درباره به کارگیری عوامل زیستی می‌تواند نویدبخش به کارگیری این روش در مدیریت نماتدهای انگل چای از جمله نماتد موصوف باشد. این پژوهش اولین گزارش از این گونه‌ی قارچی و اثر آنتاگونیستی آن روی نماتدها در باغ‌های چای ایران به‌ویژه روی نماتد عامل زخم ریشه چای با نام علمی *P. loosi* است.

تضاد و تعارض منافع - نویسندگان هر گونه تعارض و تضاد منافع اعم از تجاری و غیر تجاری و شخصی را که در ارتباط مستقیم یا غیرمستقیم با اثر منتشر شده است، رد می‌نمایند.

تشکر و قدردانی - با عنایت به این که این تحقیق در پژوهشکده چای صورت پذیرفته است، نگارندگان بر خود لازم می‌دانند که از کلیه کسانی که در پژوهشکده چای و مؤسسه تحقیقات علوم باغبانی، در تأمین امکانات لازم برای اجرای این تحقیق همکاری داشته‌اند، کمال تشکر و قدردانی را داشته و برای این عزیزان آرزوی سلامتی و موفقیت روزافزون از درگاه ایزد منان خواستارند.

فهرست منابع

- تنهامعافی، ز. (۱۳۷۱). گزارش نماتد مولد زخم ریشه *Pratylenchus loosi* از روی نهال‌های چای وارداتی از ژاپن. *مجله آفات و بیماری‌های گیاهی*، ۶۰، ۹۳ - ۹۴.
- حجت جلالی، ع. ا. و ح. قاسم‌پور. (۱۳۸۵). کنترل (مهار) زیستی نماتدهای انگل گیاهی؛ پیشرفت، مشکلات و چشم اندازها (تالیف: گراهام. آر. استرلینگ). انتشارات دانشگاه رازی کرمانشاه، چاپ اول، ۳۵۰ صفحه.
- سراجی، ع.، پورجم، ا.، تنهامعافی، ز. و ن. صفایی. (۱۳۸۶). مطالعه زیست‌شناسی و دینامیک جمعیت نماتد مولد زخم ریشه چای (*Pratylenchus loosi*) در ایران. *فصلنامه علمی- پژوهشی بیماری‌های گیاهی*، ۴۳ (۱)، ۹۸-۱۱۵.
- میرقاسمی، س. ن. (۱۳۹۱). شناسایی نماتدهای انگل گیاهی باغ‌های چای ایران. پایان‌نامه‌ی کارشناسی ارشد گروه گیاه‌پزشکی دانشکده علوم کشاورزی دانشگاه گیلان، ۸۵ صفحه.

- AGI, S. A. A. T., & Ajaz, S. (2004). Biological control of plant parasitic nematodes associated with chickpea using oil cakes and *Paecilomyces lilacinus*. *dian Journal of Nematology*, 34(1), 44-48.
- Alexopoulos, C. J., Mims, C. W., & Blackwell, M. (1996). *Introductory mycology*, 4th edn., John Wiley and Sons, New York, 600P.
- Castillo, P., & Vovlas, N. (2007). *Pratylenchus (Nematoda: Pratylenchidae): diagnosis, biology pathogenicity and management*. Brill Academic Publishers.
- Coolen, W. A., & D'herde, C. J. (1972). A method for the quantitative extraction of nematodes from plant tissue.

- Costa, M. K. L., Borges, J. F., Rocha, S. M. B., Puerari, H. H., de Lima, M. E. B., Costa, R. M., ... & Araujo, A. S. F. (2025). Biological control of *Pratylenchus* and its impact on rhizosphere microbiome interactions. *Physiological and Molecular Plant Pathology*, 102871.
- Couch, J. N. (1945). Observations on the genus *Catenaria*. *Mycologia*, 37(2), 163-193.
- Dai, Z., Gan, Y., Zhao, P., & Li, G. (2022). Secondary metabolites from the endoparasitic nematophagous fungus *Harposporium anguillulae* YMF 1.01751. *Microorganisms*, 10(8), 1553.
- Dyer, D. R. (2017). Evaluation of *Catenaria anguillulae* and its potential use as a biological control agent of *Meloidogyne incognita*, *Heterodera glycines*, and *Rotylenchulus reniformis* (Master's thesis, Auburn University).
- Gupta, R. C., Singh, R. K., Singh, N. K., & Singh, K. P. (2003). Natural parasitism of nematodes by *Catenaria anguillulae* Sorokin in the rhizosphere of different fruit plants. *Indian Journal of Plant Pathology*, 21, 33-40.
- Jaffee, B. A., & Shaffer, R. L. (1987). Parasitism of *Xiphinema americanum* and *X. rivesi* by *Catenaria anguillulae* and other zoospore fungi in soil solution, Baermann funnels, or soil. 220-231.
- Jansson, H. B., & Thiman, L. (1992). A preliminary study of chemotaxis of zoospores of the nematode-parasitic fungus *Catenaria anguillulae*. *Mycologia*, 84(1), 109-112.
- Khan, A., Williams, K. L., & Nevalainen, H. K. (2006). Infection of plant-parasitic nematodes by *Paecilomyces lilacinus* and *Monacrosporium lysipagum*. *BioControl*, 51(5), 659-678.
- Loof, P. A. (1960). Taxonomic studies on the genus *Pratylenchus* (Nematoda) Met een samenvatting: Taxonomische onderzoekingen aan het Nematodengeslacht *Pratylenchus*. *Tijdschrift over Plantenziekten*, 66(2), 29-90.
- Penzkofer, A., Scheib, U., Stehfest, K., & Hegemann, P. (2017). Absorption and emission spectroscopic investigation of thermal dynamics and photo-dynamics of the rhodopsin domain of the rhodopsin-guanylyl cyclase from the nematophagous fungus *Catenaria anguillulae*. *International journal of molecular sciences*, 18(10), 2099.
- Rahanandeh, H., Khodakaramian, G., Hassanzadeh, N., Seraji, A., & Asghari, S. M. (2012). Characteristics and antagonistic potential of *Pseudomonas* spp. against *Pratylenchus loosi*. *Journal of Plant Pathology and Microbiology*, 3(6), 140-145.
- Rahman, M. U., Chen, P., Zhang, X., & Fan, B. (2023). Predacious strategies of nematophagous fungi as bio-control agents. *Agronomy*, 13(11), 2685.
- Sander, C., & Neumann, S. (2025). Nematophagous fungi as biological control agents of parasitic nematodes in soils of wildlife parks. *International Journal for Parasitology: Parasites and Wildlife*, 26, 101033.
- Singh, K. P. (1989). Artificial culture of *Catenaria anguillulae* from monosporangial zoospores. 107.
- Singh, K. P., Stephen, R. A., & Makesh Kumar, T. (1993). Development of *Catenaria anguillulae* in *Heterodera cajani*. *Mycological Research*, 97(8), 957-960.
- Singh, K. P., Vaish, S. S., Kumar, N., Singh, K. D., & Kumari, M. (2012). *Catenaria anguillulae* as an efficient biological control agent of *Anguina tritici* in vitro. *Biological control*, 61(3), 185-193.
- Singh, U. B., Sahu, A., Sahu, N., Singh, R. K., Singh, D. K., Singh, B. P., ... & Prasad, S. R. (2013). Nematophagous fungi: *Catenaria anguillulae* and *Dactylaria brochopaga* from seed galls as potential biocontrol agents of *Anguina tritici* and *Meloidogyne graminicola* in wheat (*Triticum aestivum* L.). *Biological Control*, 67(3), 475-482.
- Sorokin, N. (1876). Note sur les vegetaux parasites des Anguillulae. *Annales des Sciences Naturalles Botanique Ser 6*, 4, 62-71.
- Tunlid, A., Jansson, H. B., & Nordbring-Hertz, B. (1992). Fungal attachment to nematodes. *Mycological research*, 96(6), 401-412.
- Vaish, S. S., Gupta, R. C., & Singh, K. P. (2010). Natural variability in *Catenaria anguillulae* Sorokin. *Journal of Biotechnology*, 150, 475.
- Whitehead, A. G., & Hemming, J. R. (1965). A comparison of some quantitative methods of extracting small vermiform nematodes from soil. *Annals of applied Biology*, 55(1), 25-38.
- Willson, K. C., & Clifford, M. N. (Eds.). (2012). *Tea: cultivation to consumption*. Springer Science & Business Media.