جداسازی قارچ‌های آنتاگونیست از باغ‌های چای و بررسی تأثیر آن‌ها روی نماتود مولد زخم ریشه *Pratylenchus loosi* در آزمایشگاه

ابوالفضل یحیوی‌آزاد[۱]، علی سراجی[۲]، علی‌اکبر حجت‌جلالی[۱]، صمد جمالی[۱]

۱- گروه گیاه‌پزشکی پردیس کشاورزی و منابع طبیعی دانشگاه رازی، کرمانشاه، ایران

۲- پژوهشکدهٔ چای، موسسهٔ تحقیقات علوم باغبانی، سازمان تحقیقات، آموزش و ترویج کشاورزی، لاهیجان، ایران

مسئول مکاتبات: ابوالفضل یحیوی‌آزاد، پست الکترونیک: saeid.yahyavi1989@gmail.com

تاریخ دریافت: ۹۶/۰۱/۱۶ ۹۱-۸۱(۱) ۵ تاریخ پذیرش: ۹۶/۱۰/۱۹

چکیده

درحال حاضر در بسیاری از کشورها از جمله ایران، نماتود مولد زخم ریشه *Pratylenchus loosi* مهم‌ترین عامل خسارت‌زای چای محسوب می‌شود. به‌منظور مهار زیستی این نماتود با استفاده از قارچ‌های آنتاگونیست، نمونه‌برداری از خاک و ریشه درختچه‌های چای در بهار و تابستان ۱۳۹۲ در مناطق چای‌کاری استان‌های گیلان و مازندران صورت گرفت. جدایه‌های مختلفی از قارچ‌ها از نمونه‌های خاک و یا از نماتودهای انگلی شده جداسازی و شناسایی شدند. این جدایه‌ها شامل *Paecilomyces lilacinus* (T1, N1, N3)، *Fusarium culmorum*، *F. graminearum*، *Cladosporium* sp.، *Trichoderma harzianum* (T1, T2, T3) بودند. آزمایش‌های مربوط به‌آنتاگونیستی این قارچ‌ها علیه نماتود *P. loosi* در محیط آب آگار ۱/۵ درصد انجام شد و درصد مرگ و میر سنین لاروی و نماتود بالغ *P. loosi* در سه فاصله زمانی ۴۸، ۷۲ و ۱۶۸ ساعت (یک هفته) بررسی و ثبت شد. از میان ۱۱ جدایه مورد آزمایش، پس از یک هفته جدایهٔ (T1) قارچ *P. lilacinus*، با ایجاد ۶۴ و ۲۹ درصد و جدایهٔ (N1) *P. lilacinus* با ۴۷ و ۲۴ درصد مرگ و میر به‌ترتیب در سنین لاروی و نماتود بالغ *P. loosi* با تفاوت معنی‌داری بالاترین میزان مرگ و میر را نسبت به‌سایر تیمارها به‌خود اختصاص دادند. ضمناً در این بررسی هیچ کدام از جدایه‌های قارچ *Trichoderma harzianum* در مقایسه با شاهد تأثیری در مهار زیستی نماتود مورد بحث نداشتند.

واژه‌های کلیدی: چای، مهار زیستی، نماتود مولد زخم ریشه، *Pratylenchus loosi*، *Paecilomyces lilacinus*

مقدمه

چای ازجمله قدیمی‌ترین نوشیدنی‌های مورد استفادهٔ بشر می‌باشد. از بین عوامل بیماری‌زای گیاهی، قارچ‌ها و نماتودها مهم‌ترین عوامل خسارت‌زای چای محسوب می‌شوند (Willson, 1999). نماتود مولد زخم ریشه *Pratylenchus loosi* Loof, 1960، برای اولین‌بار در سال ۱۹۳۰ توسط گاد (Gadd) در باغ‌های چای سری‌لانکا مشاهده و در سال ۱۹۶۰ توسط لوف (Loof) گزارش شد (Loof, 1960). در ایران، این نماتود در سال ۱۳۶۸ روی نهال‌های وارداتی چای از کشور ژاپن مشاهده و در سال ۱۳۷۱ گزارش شد (Tanhamoafi, 1992). درحال حاضر از مجموع ۳۲ هزار هکتار باغ چای در شمال کشور، بیش از ۲۰ هزار هکتار آن آلوده به‌این نماتود انگل می‌باشند (Bagheri & Seraji, 2012). استفاده از ترکیبات شیمیایی اگرچه در مواردی سبب کاهش جمعیت نماتودهای چای شده است؛ اما هیچ یک از این ترکیبات نتوانسته آن‌ها را کاملاً مهار کنند. در چند دههٔ اخیر، بحث امکان مهارزیستی عوامل بیماری‌زای گیاهی با استفاده از قارچ‌های آنتاگونیست مورد توجه بسیاری از محققان قرارگرفته است (Qureshi *et al.*, 2011). به‌طور کلی، مهار زیستی نماتودها عبارت است از کاهش جمعیت نماتودها در اثر فعالیت موجودات زنده از طریق دست‌ورزی طبیعت و یا وارد کردن دشمنان آن‌ها. میکروارگانیسم‌هایی که در ناحیهٔ فرایشه گیاهان رشد می‌کنند، توانایی کاهش بیماری‌ها و افزایش

Archive of SID

www.SID.ir

باردهی گیاهان میزبان در شرایط گلخانه را دارند. از جمله این موجودات، قارچ‌ها هستند که به مقدار زیادی در خاک وجود داشته و برخی از آن‌ها نیز توانایی زیادی در مهار زیستی نماتودها دارند. در بین میکروارگانیسم‌های مهارکنندهٔ زیستی نماتودهای انگل گیاهی، قارچ‌های آنتاگونیست نماتودها از اهمیت خاصی برخوردار هستند (Hojjat Jalali & Ghasempour, 2006). به‌کارگیری عوامل آنتاگونیست موجود در خاک می‌تواند ابزار مناسب و بی‌خطری برای مدیریت بهینهٔ نماتودهای انگل گیاهی باشد (Qureshi *et al.*, 2011). آنتاگونیست‌هایی که اغلب در مهار زیستی نماتودهای انگل گیاهی استفاده می‌شوند، شامل قارچ‌های انگل تخم، قارچ‌های تله‌گذار نماتودها، قارچ‌های انگل داخلی، قارچ‌های ریشه، باکتری‌های ریشهٔ افزایش دهندهٔ رشد گیاه و باکتری‌های انگل اجباری می‌باشند (Sikora & Hoffman, 1992). در محیط کشت آگار، قارچ‌های تله‌گذار نماتودها از قبیل؛ *Arthrobotrys dactyloides*، *A. oligospora*، *Monacrosporium ellipsosporum* و *M. cionopagum* باعث مرگ و میر اکثریت لاروها و بالغین *P. penetrans* شد. به‌طور مشابه، *Arthrobotrys arthrobotryoides*، *A. dactyloides*، *Dactylaria thaumasia* و *Monacrosporium doedycoides* به‌میزان قابل توجهی مانع از نفوذ نماتود *P. penetrans* به‌درون ریشه‌های گیاه یونجه شدند (Rao, 1973). قارچ‌های نماتودخوار انگل داخلی، مانند *Drechmeria coniospora* توانایی انگلی نمودن *P. penetrans* و هم‌چنین *P. coffeae* را دارند (Jansson *et al.*, 1987). براساس مطالعات دیگری نشان داده شده که قارچ‌های *Verticillium* spp. و *Drechmeria* spp.، تنها به ناحیه لب‌ها و نواحی اطراف اسپیکول *P. penetrans* می‌چسبند (Timper & Brodie, 1993). بررسی ریشه‌های سیب‌زمینی آلوده به *P. penetrans*، در حضور قارچ *Hirsutella rhossiliensis*، نشان می‌دهد که تعداد نماتودها به‌میزان ۲۵ درصد کاهش یافته است (Timper & Brodie, 1994). گزارش کاسترو و همکارانش نشان می‌دهد که قارچ *Arthrobotrys musiformis* حدود ۳۰ درصد از جمعیت *P. brachyurus* را مهار می‌نماید (Castro *et al.*, 2000). بررسی دیگری نشان می‌دهد که قارچ‌های *P. lilacinus* باعث کاهش جمعیت نماتودهای جنس *Pratylenchus* در ذرت و *P. coffeae* در نخود شده و با افزایش این قارچ‌ها، جمعیت نماتود، کاهش یافته است (Gapasin, 1995; Tiyagi & Shamim, 2004). در شرایط آزمایشگاهی، بررسی مهارزیستی گونهٔ *Pratylenchus neglectus* با استفاده از قارچ *Monacrosporium lysipagum* نشان داده که تنها ۲۰ ساعت پس از وارد کردن نماتود به محیط حاوی قارچ، ۸۱ درصد آن‌ها معدوم شدند که در این بررسی نماتودهای بالغ نسبت به لاروها، حساسیت بیشتری را نشان داده‌اند. این قارچ با تولید گره‌های چسبنده، نماتودها را مورد حمله قرار داده است (Khan *et al.*, 2006). قارچ‌های غیر نماتود خوار نظیر *Trichoderma harzianum* و *Clonostachys rosea* دارای پروتئاز سرین هستند که به‌این طریق باعث مرگ و میر نماتودها می‌شوند. در ضمن میزان خسارت ناشی از *P. penetrans* در هویج، با مایه‌زنی *Glomus* sp.، ۴۹ درصد کاهش یافته است (Talavera *et al.*, 2001). مطالعات صورت‌گرفته روی مهار *P. coffeae* با استفاده از قارچ *Glomus intraradices* در موز، نشان داد که این قارچ می‌تواند جمعیت نماتود را به‌میزان پنج تا ۱۲ درصد کاهش دهد (Elsen *et al.*, 2008). در جدیدترین بررسی‌های صورت گرفته روی مهار نماتود *P. penetrans* در گوجه‌فرنگی با استفاده از قارچ *Glomus mosseae*، دیده شده که تعداد نماتودهای ماده و هم‌چنین میزان تولید مثل آن‌ها در ریشه‌های همراه با قارچ، در مقایسه با ریشه‌های فاقد قارچ *G. mosseae*، کمتر بوده است (Vos *et al.*, 2012). در شرایط آزمایشگاهی، قارچ *Fusarium oxysporum* می‌تواند با تولید زهرابه‌هایی، سبب کاهش جمعیت *P. zeae* در داخل ریشه شود که علت آن ممکن است ناشی از تولید زهرابه و یا رقابت بر سر اشغال فضای ریشه باشد. هم‌چنین این قارچ می‌تواند با ایجاد تغییرات فیزیولوژیک در بافت ریشه و یا از طریق کلونیزه کردن سلول‌های تغذیه‌ای، به نماتود مذکور، خسارت وارد کند (Moosavi & Zare, 2012). براساس مطالعات صورت گرفته در شرایط گلخانه‌ای،

Archive of SID

www.SID.ir

نماتود مولد زخم ریشه *P. loosi* با سه جنس قارچ ساکن ریشه *Rhizoctonia*، *Fusarium* و *Sclerotium* در تعامل بوده و اثرات متقابل بین این قارچ ها و نماتود مذکور از نوع تشدید کننده می‌باشد، که این مسأله اهمیت این عامل بیماری‌زا را دو چندان می کند (Nassaj Hosseini, 2003). مطالعات اخیر در زمینهٔ مهارزیستی نماتود مولد زخم ریشه با استفاده از عوامل آنتاگونیست باکتریایی در شرایط آزمایشگاهی نشان داده که *Pseudomonas fluorescens* به‌میزان ۶۳ تا ۹۵ درصد و *Bacillus subtilis* به‌میزان ۶۲ تا ۸۶ درصد باعث مرگ و میر لاروهای *Pratylenchus loosi* می‌شوند (Rahanandeh *et al*., 2012). لازم به‌توضیح است که تاکنون پژوهشی در خصوص مهار زیستی نماتود مولد زخم ریشه *P. loosi* با استفاده از عوامل آنتاگونیست قارچی در شرایط گلخانه در کشور انجام نشده است و این تحقیق با عنایت بر اهمیت عامل بیماری و نقش قارچ‌ها در مهار زیستی آن به‌انجام رسیده است. هدف از انجام این بررسی، مطالعهٔ کارآیی گونه‌های قارچی شناسایی شده به‌عنوان عوامل آنتاگونیست نماتود مولد زخم ریشه *Pratylenchus loosi* و معرفی آنتاگونیست برتر (در شرایط آزمایشگاه) می‌باشد.

مواد و روش‌ها

الف) جمع‌آوری نمونه خاک و ریشه چای

تعداد ۹۱ نمونه خاک و ریشه از مناطق مختلف چای‌کاری استان‌های گیلان و مازندران شامل شهرهای رشت، لاهیجان، سیاهکل، لنگرود (مرکزی، کوملـه و اطاقور)، املش، رودسر، شفت، فومن، رامسر و تنکابن در فصل‌های بهار و پاییز سال ۱۳۹۲جمع‌آوری شد. نمونه‌برداری از عمق پنج تا ۴۰ سانتی‌متری قسمت‌های مختلف فراریشه و ریشه درختچه‌های چای و به‌صورت تصادفی صورت گرفت. نمونه‌های جمع‌آوری شده به آزمایشگاه گیاه‌پزشکی پژوهشکده چای منتقل و تا زمان استفاده در دمای چهار درجهٔ سلسیوس نگه‌داری شدند.

ب) استخراج نماتود مولد زخم *P. loosi* از ریشهٔ چای

به‌منظور فراهم نمودن جمعیت مورد نیاز نماتود، از یک باغ چای آلوده به‌نماتود مولد زخم ریشه *P. loosi* واقع در روستای زیده در شهرستان فومن نمونه خاک و ریشه جمع‌آوری شد. برای استخراج نماتود از ریشه، از روش کولن و دهرد (Coolen & d'Herd, 1972) استفاده شد. هم‌چنین برای بررسی آزمون‌های مربوط به اثر آنتاگونیستی قارچ و نماتود، از روش استخراج سینی (Whitehead & Hemming, 1965) استفاده شد. با توجه به‌این‌که برای انجام آزمون‌های مربوط به مهارزیستی نیاز به‌جمعیت زیادی از نماتودهای زنده و فعال می‌باشد، به‌همین دلیل از این روش استخراج استفاده شد که در آن نمونه‌های ریشه با قیچی خرد شده و سپس به‌مدت سه تا پنج روز روی سینی‌های مخصوص استخراج قرار داده شدند. نماتودها بلافاصله پس از استخراج با استفاده از محلول سولفات استرپتومایسین ۲۰۰۰ قسمت در میلیون به‌مدت ۲۴ ساعت ضدعفونی شدند. پس از سه مرتبه شست‌وشو با آب مقطر سترون، از این نماتودها برای بررسی آزمون استفاده شد (Pinochet *et al*., 1995).

ج) جداسازی قارچ‌های آنتاگونیست از فراریشهٔ درختچه‌های چای و یا نماتود مولد زخم ریشهٔ چای

برای جداسازی قارچ‌های آنتاگونیست از فراریشهٔ درختچه‌های چای، از دو روش استفاده شد. در روش اول، ابتدا نمونه‌های خاک جمع‌آوری شده را به‌مدت ۲۴ تا ۴۸ ساعت در یک محیط خشک قرار داده تا رطوبت آن‌ها کاهش یابد. سپس خاک کوبیده شده از الک ۱۰۰ مش (۱۵۰ میکرومتر) عبور داده شد. یک گرم خاک هر نمونه با ۱۰۰ میلی‌لیتر آب مقطر سترون مخلوط شده و با استفاده از دستگاه شیکر دورانی با سرعت ۱۰۰ دور در دقیقه به‌مدت ۱۵ تا ۲۰ دقیقه به‌خوبی مخلوط شد. یک میلی‌لیتر از رقت‌های 10^{-1} تا 10^{-5} روی محیط کشت عصارهٔ سیب‌زمینی دکستروز آگار (PDA) در تشتک‌های پتری پخش شد. به‌منظور جلوگیری از رشد باکتری‌ها در محیط‌های کشت، اسید لاکتیک ۵۰ درصد به‌میزان ۶۰ قطره در یک لیتر اضافه شد. سپس نمونه‌ها در انکوباتور با دمای ۲۵ درجهٔ سلسیوس به‌مدت سه تا پنج روز قرار داده شدند (Carling & Sumner, 1992). در روش دوم، قارچ‌های

Archive of SID

www.SID.ir

مورد نظر با کشت نماتودهای آلوده شده جداسازی شدند. برای جداسازی قارچ از لارو، تخم و بالغین نماتود *P. loosi*، از محیط کشت آب آگار (water agar) ۱/۵ درصد همراه با سولفات استرپتومایسین (۵۰ میلی‌گرم در لیتر) استفاده شد. بدین‌منظور پس از اتوکلاو و کاهش حرارت محیط کشت آب آگار؛ سولفات استرپتومایسین در شرایط هود سترون به‌محیط کشت اضافه شد. سپس مقدار ۰/۵ تا دو میلی‌لیتر از سوسپانسیون تخم، لاروها و بالغین نماتود مورد نظر به‌تشتک‌های پتری حاوی این محیط کشت منتقل و تشتک‌ها توسط نوارهای پارافیلم کاملاً مسدود و در انکوباتور با دمای ۲۵ درجهٔ سلسیوس به‌مدت سه تا هفت روز نگه‌داری شدند. پس از آن تشتک‌های تیمار شده با استفاده از استرئومیکروسکوپ مورد بررسی قرارگرفتند. قارچ‌های رشد یافته از نماتود به‌تشتک‌های حاوی محیط کشت PDA انتقال یافتند (Chavooshisani *et al*., 2013). پس از جداسازی و خالص‌سازی، شناسایی قارچ‌ها با استفاده از کلیدهای تاکسونومیک معتبر از جمله Barnet & Hunter, 1998، Samson, 1974 و Leslie & Summerell, 2006 صورت گرفت. علاوه بر این نمونه‌های جداسازی شده، از دو جدایه آماده دیگر شامل *Clonostachys rosea* و *Acremonium strictum* (دو قارچ اخیر به‌ترتیب از دکتر صمد جمالی از دانشگاه رازی کرمانشاه و دکتر علی‌اکبر خداپرست از دانشگاه گیلان دریافت شد) به‌منظور انجام آزمون آنتاگونیستی استفاده شد.

د) آزمون آنتاگونیستی جدایه‌های قارچی روی نماتود مولد زخم ریشه

در بررسی تأثیر آنتاگونیستی جدایه‌های قارچی روی لاروها و بالغین *P. loosi* در شرایط آزمایشگاهی، از آب آگار ۱/۵ درصد آنتی‌بیوتیک‌دار استفاده شد. بدین صورت که تعداد ۱۰۰ عدد نماتود (نماتودهای نر، ماده و لاروها) با استفاده از پیپت سترون از پتری حاوی نماتود برداشته و روی لام شمارش نماتودها شمارش شد و سپس به‌محیط آب آگار ۱/۵ درصد حاوی کشت پنج روزهٔ قارچ آنتاگونیست، اضافه شد. برای شمارش، ردیابی آسان‌تر و هم‌چنین ثبت دقیق درصد مرگ و میر نماتود از طلق شطرنجی شده در زیر ظروف پتری استفاده شد. یک ظرف پتری حاوی آب آگار ۱/۵ درصد دارای ۱۰۰ نماتود نیز به‌عنوان شاهد منظور شد. لازم به‌توضیح است که تمامی مراحل این آزمایش در زیر هود سترون انجام گرفت. سپس درب تشتک‌های پتری با استفاده از پارافیلم مسدود و در انکوباتور با دمای ثابت ۲۵ درجهٔ سلسیوس نگه‌داری شدند. هر ۲۴ ساعت یک بار، میزان مرگ و میر لاروها و نماتودهای بالغ بررسی و ثبت شد. شاخص‌های مهم در این بررسی، میزان مرگ و میر لاروها و نماتودهای بالغ، بدشکل شدن و هم‌چنین بی‌حرکت و کلونیزه شدن آن‌ها توسط قارچ‌ها پس از ۴۸، ۷۲ ساعت و یک هفته با استفاده از استرئومیکروسکوپ شمارش و ثبت شد. یازده جدایه قارچ (تیمار) با در نظر گرفتن سه تکرار مورد آزمایش قرارگرفت. هم‌چنین نماتودهای مرده هر تیمار مجدداً روی محیط کشت برده شد تا مطمئن شویم در اثر آلودگی به‌همان قارچ، مرده است (Khan *et al*., 2006).

ه) تجزیه و تحلیل داده‌ها

آزمایش بر پایهٔ طرح آماری کاملاً تصادفی دارای ۱۲ تیمار در سه تکرار انجام شد. به‌منظور تجزیه و تحلیل داده‌های آماری برای شاخص‌های مورد مطالعه از لحاظ نرمال بودن و منحنی توزیع یکنواختی واریانس، از نرم‌افزارهای SAS نسخه ۹/۱ و Excel استفاده شد. برای مقایسه میانگین‌ها، از آزمون LSD در سطح احتمال ۱٪ و هم‌چنین برای رسم جداول و نمودارها به‌ترتیب از نرم‌افزارهای WORD و Excel استفاده شد.

نتایج

پس از جداسازی نماتود مولد زخم ریشه *P. loosi* از خاک و ریشه و بررسی ویژگی‌های ریخت‌شناسی و ریخت‌سنجی نماتودهای بالغ و با استفاده از شرح گونه ارایه شده توسط Castillo & Vovlas (2007)، جمعیت مورد مطالعه با گونهٔ *Pratylenchus loosi* مطابقت کامل نشان داد. بررسی‌های ریخت‌شناسی و ریخت‌سنجی مبین آن بود که مشخصات با توصیف گونه ارائه شده توسط محققان مختلف (Tanhamoafi, 1992; Seraji, 2007; Mirghasemi, *et al*., 2014) کاملاً

Archive of SID

www.SID.ir

مطابقت دارد. پس از خالص‌سازی قارچ‌ها و تهیه اسلایدهای میکروسکوپی، قارچ‌های آنتاگونیست با استفاده از منابع معتبر علمی شناسایی شدند. این قارچ‌ها شامل سه جدایه *Trichoderma harzianum* (T1, T2, T3)، سه جدایه *Paecilomyces lilacinus* (T1, N1, N3) و هم‌چنین قارچ‌های *Fusarium graminearum*، *F. culmorum* و *Cladosporium* sp. بودند. قابل به‌ذکر است که در این میان، دو جدایهٔ فوزاریوم و *Cladosporium* sp. و هم‌چنین یک جدایه از *Paecilomyces lilacinus* از نماتود و سایر جدایه‌ها از خاک جداسازی شدند. نتایج محاسبات آماری نشان داد که درصد مرگ و میر لاروها و بالغین *P. loosi* در اثر جدایه قارچ‌های آنتاگونیست تفاوت آماری معنی‌داری بین تیمارها در سطح احتمال ۱٪ وجود دارد (جدول ۱). ۴۸ و ۷۲ ساعت پس از قرار دادن لاروهای نماتود در محیط حاوی قارچ، جدایه (T1) *P. lilacinus*، بیش‌ترین درصد مرگ و میر را نشان داد و تفاوت آماری معنی‌داری با شاهد و هم‌چنین سایر جدایه‌ها داشت. به‌طوری که پس از گذشت ۷۲ ساعت، ۵۴ درصد لاروهای نماتود از بین رفتند. پس از گذشت ۷۲ ساعت، جدایه‌های (N1) *P. lilacinus*، *Clonostachys rosea* و *Fusarium culmurum* به‌ترتیب با ۴۲، ۱۹ و ۱۹ درصد، سبب بیشترین میزان مرگ‌ومیر نماتود مولد زخم ریشه شده‌اند. پس از گذشت ۱۶۸ ساعت (یک هفته) از قرار دادن لاروهای نماتود در محیط برهم‌کنش، جدایه (T1) *P. lilacinus* به‌میزان ۶۴ درصد بیشترین اثر آنتاگونیستی را از خود نشان داد (شکل ۱) و با جدایه (N1) *P. lilacinus* که ۴۷ درصد کشندگی داشت، تفاوت آماری معنی‌داری از خود نشان داد. پس از آن به‌ترتیب جدایه‌های *Acremonium strictum*، *C. rosea*، (N3) *P. lilacinus* و *Fusarium culmurum* تا حدودی مؤثر واقع شدند. در این بررسی جدایه‌های مختلف قارچ *T. harzianum* و هم‌چنین جدایه *Cladosporium* sp. جزء کم‌تأثیرترین قارچ‌ها بوده و آن‌طور که انتظار می‌رفت، عمل ننمودند. بیش‌ترین میزان مرگ و میر بالغین پس از ۴۸ ساعت، مربوط به‌جدایه (T1) *P. lilacinus* بوده که ۲۶ درصد بالغین را نابود کرد و تفاوت آماری معنی‌داری با شاهد از خود نشان داد. پس از آن، تمامی جدایه‌ها به‌استثنای *F. culmorum* با تیمار شاهد سالم تفاوت آماری معنی‌داری نشان دادند. پس از گذشت ۷۲ و ۱۶۸ ساعت (یک هفته)، بیشترین میزان کشندگی بالغین نماتود مربوط به‌دو جدایه (T1) *P. lilacinus* و (N1) *P. lilacinus* بوده که تفاوت آماری معنی‌داری در سطح یک درصد با شاهد از خود نشان دادند و مؤثرتر از سایر جدایه‌ها بودند. ۱۶۸ ساعت (یک هفته) پس از قرار دادن بالغین نماتود در مجاورت قارچ‌های آنتاگونیست، جدایه (T1) *P. lilacinus* سبب مرگ و میر ۲۹ درصد از بالغین *P. loosi* شد. پس از آن بیشترین درصد مرگ و میر متعلق به‌جدایه (N1) *P. lilacinus* به‌میزان ۲۴ درصد بود.

جدول ۱- تجزیه واریانس تأثیر ۱۱ جدایه قارچ هم‌ستیر روی مرگ و میر لاروها و بالغین نماتود مولد زخم ریشهٔ چای *Pratylenchus loosi* در محیط کشت آب آگار ۱/۵ درصد.

Table 1. Analysis of variance of the effects of 11 antagonistic fugal isolates on the mortality of juveniles and adult of tea root lesion nematode (*Pratylenchus loosi*) on 1.5% water agar.

Sources of Variance	df	Mean of Square (MS)					
		Juvenile mortality (%)			Adult mortality (%)		
		48 Hours	72 Hours	168 Hours	48 Hours	72 Hours	168 Hours
Treatment	11	473.37**	535.67**	717.04**	68.42**	71.55**	100.73**
Error	24	3.85	6.16	4.43	1.25	0.81	0.85
Total	35	-	-	-	-	-	-
CV	-	10.39	11.93	8.68	8.4	6.6	6.12

** تفاوت معنی‌دار در سطح احتمال ۱ ٪.

** Significant at 1% probability level.

Archive of SID

www.SID.ir

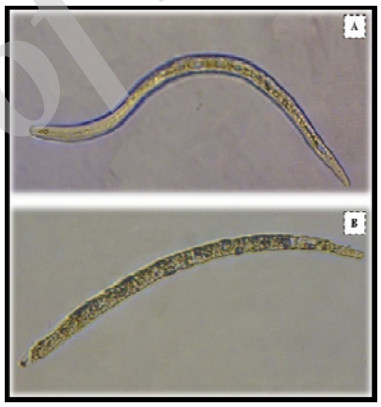
جدول ۲- مقایسهٔ تأثیر ۱۱ جدایه قارچ آنتاگونیست روی مرگ و میر لاروها و بالغین نماتود مولد زخم ریشهٔ چای *Pratylenchus loosi* در محیط کشت آب آگار ۱/۵ درصد.

Table 2. Comparison of the effects of 11 antagonistic fungal isolates on the mortality of juveniles and adult of tea root lesion nematode (*Pratylenchus loosi*) on 1.5% water agar.

Treatments	Iinfected juveniles (%)			Infected adults (%)		
	48 Hours	72 Hours	168 Hours	48 Hours	72 Hours	168 Hours
Paecilomyces lilacinus (T1)	50.3^{a}	54.47^{a}	64.11^{a}	26.24^{a}	26.66^{a}	29.77^{a}
Paecilomyces lilacinus (N1)	39.72^{b}	42.22^{b}	47.84^{b}	18.95^{b}	20.26^{b}	24.26^{b}
Fusarium culmurum	16.83^{c}	19.45^{c}	20.34^{cd}	9.45^{d}	9.84^{d}	11.8^{d}
Clonostachys rosea	16.26^{cd}	19.94^{c}	21.29^{cd}	12.35^{c}	12.48^{c}	13.35^{cd}
Acremonium strictum	15.93^{cd}	16.54^{cd}	21.81^{c}	12.9^{c}	12.84^{c}	13.99^{c}
Paecilomyces lilacinus (N3)	14.9^{cde}	16.73^{cd}	20.83^{cd}	12.35^{c}	12.67^{c}	13.83^{c}
Trichoderma harzianum (T1)	13.47^{def}	14.33^{d}	18.15^{de}	11.95^{c}	12.2^{c}	13.27^{cd}
Fusarium graminearum	12.31^{ef}	12.98^{d}	16.27^{ef}	11.73^{c}	11.87^{c}	12.86^{cd}
Cladosporium sp.	12.1^{ef}	13.83^{d}	15.57^{ef}	11.67^{c}	11.7^{c}	12.81^{cd}
T. harzianum (T2)	11.79^{ef}	13.61^{d}	15.52^{ef}	11.79^{c}	11.96^{c}	12.7^{cd}
T. harzianum (T3)	11.58^{f}	12.55^{d}	15.8^{ef}	11.66^{c}	11.96^{bc}	12.44^{cd}
Control	11.35^{f}	12.85^{d}	13.36^{f}	8.53^{d}	9.52^{d}	9.91^{e}
LSD	3.3	4.18	3.54	1.88	1.52	1.55

براساس آزمون LSD، میانگین‌ها با حروف مشابه در هر ستون در سطح احتمال ۱٪ اختلاف معنی‌داری ندارند.

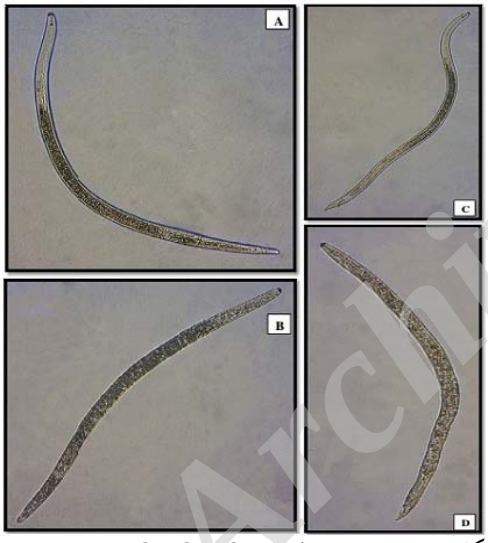
According to LSD test, means with the similar letters in each column were not statistically different at 1% probability level.



شکل ۱- A: لارو سالم *Pratylenchus loosi*، B: لارو نماتود تحت تأثیر قارچ *Paecilomyces lilacinus* (T1) پس از ۱۶۸ ساعت (یک هفته) در محیط آب آگار ۱/۵ درصد.

Fig. 1. A: Healthy *Pratylenchus loosi* juvenile, B: Juvenile nematode under the influence of *Paecilomyces lilacinus* (T1) after 168 hours (one week) o 1.5% water agar.

در این شاخص هم جدایه‌های مختلف قارچ *T. harzianum* و هم‌چنین جدایه *Cladosporium* sp. جزء کم‌اثرترین قارچ‌ها بوده و برخلاف انتظار، مؤثر واقع نشدند. هم‌چنین درصد ناچیز مرگ و میر تیمارهای شاهد ممکن است ناشی از خطای آزمایشی و یا قرارگرفتن نماتود در محیط فاقد مواد غذایی باشد (جدول ۲).



شکل ۲- A: ماده سالم *Pratylenchus loosi*، B: نماتود ماده تحت تأثیر قارچ *Paecilomyces lilacinus* (T1) پس از ۱۶۸ ساعت (یک هفته) در محیط آب آگار ۱/۵ درصد، C: نماتود نر سالم، D: نماتود نر تحت تأثیر قارچ *Paecilomyces lilacinus* (T1) پس از ۱۶۸ ساعت (یک هفته) در محیط آب آگار ۱/۵ درصد.

Fig. 2. A: Healthy female *Pratylenchus loosi*, B: female nematode under the influence of the fungus *Paecilomyces lilacinus* (T1) after 168 hours (a week) on water agar 1.5%, C: healthy male nematode, D: male nematode under the influence of the fungus *Paecilomyces lilacinus* (T1) after 168 hours (a week) on 1.5% water agar.

Archive of SID

www.SID.ir

بحث

پژوهش‌های پیشین نشان داده که قارچ *P. lilacinus* سبب کاهش جمعیت نماتودهای جنس *Pratylenchus* در ذرت و *P. coffeae* در نخود شده است. به‌طوری که با افزایش زادمایه قارچ مذکور، درصد کاهش جمعیت نماتود، افزایش یافت (Gapasin, 1995; Tiyagi & Shamim, 2004). هم‌چنین جیان و همکاران گزارش نمودند که قارچ *P. lilacinus* لاروهای نماتودهای انگل گیاهی را با تولید اسید استیک نابود می‌کنند (Djian *et al*., 1991). نتایج به‌دست آمده در این تحقیق نشان می‌دهد که مرگ ۶۴ درصد از لاروهای نماتود مولد زخم ریشهٔ چای تحت تأثیر قارچ *P. lilacinus*، ممکن است به‌دلیل تولید همین ماده و یا متابولیت‌های دیگر نماتودکش باشد. نتایج بررسی‌های متعدد نشان می‌دهد که *P. lilacinus* به‌طور دائم نماتودهای سیستی و تخم‌های آن‌ها را اشغال می‌نمایند (Nicolay & Sikora, 1989). هم‌چنین بر اساس بررسی‌های صورت‌گرفته، عصاره کشت قارچ *P. lilacinus* محتوی اسید استیک است که اثر کشندگی روی لاروهای سن دوم نماتود دارد و متابولیت‌های سمی تولید شده توسط قارچ‌ها، روی سیستم عصبی و گیرنده‌های حسی نماتودها تأثیرگذار است (Cayrol *et al*., 1989). هم‌چنین براساس مطالعات صورت گرفته، استفاده از چهار جدایه *P. lilacinus* در مهار زیستی نماتود مولد گرهٔ ریشه (*Meloidogyne javanica*) در شرایط آزمایشگاهی نشان داد که این جدایه‌ها باعث نابودی تخم‌ها و هم‌چنین غیرفعال شدن لاروهای سن دوم این نماتود شدند که در این میان جدایه (P3) مؤثرترین جدایه بود (Sabet *et al*., 2013). مطابق آزمایش‌های صورت گرفته در این تحقیق، گزارش‌ها حاکی از آن است که قارچ *P. lilacinus* در شرایط آزمایشگاهی موجب کاهش درصد قابل توجهی از نماتودهای گرهٔ ریشه *M. javanica* شده است که این امر، قابلیت این قارچ در مهار زیستی نماتودهای انگل گیاهی را دو چندان می‌کند. با توجه به‌ویژگی‌های آنتاگونیستی جدایه‌های مختلف یک گونه قارچی، تفاوت در عملکرد سه جدایه مختلف قارچ *P. lilacinus* را می‌توان این‌گونه استنباط کرد که هر جدایه ممکن است از لحاظ ویژگی‌های آنتاگونیستی و کشندگی روی نماتود مورد بحث، متفاوت باشد و این تفاوت می‌تواند ناشی از ویژگی‌های ژنتیکی و تهاجمی باشد (Ganaie *et al*., 2010). هم‌چنین در این پژوهش، قارچ *C. rosea* باعث مرگ و میر ۲۱ درصد از لاروهای نماتود مورد بحث شد؛ اما تأثیر قابل توجهی روی نماتودهای بالغ از خود نشان نداد و اثر بسیار ضعیفی داشت. براساس مطالعات صورت‌گرفته در بستر آب آگار، قارچ *C. rosea* باعث مرگ و میر ۴۲ درصد از لاروهای سن دوم و هم‌چنین نابودی ۶۱ درصد تخم‌های *M. incognita* در شرایط آزمایشگاهی شد (Ghasemi *et al*., 2007). قارچ‌های *T. harzianum* و *C. rosea* دارای پروتئاز سرین هستند که به‌این طریق باعث مرگ و میر نماتودها می‌شوند (Lopez-Llorca *et al*., 2008). هم‌چنین جدایهٔ *Acremonium strictum* هیچ‌گونه تأثیر قابل ملاحظه‌ای در مرگ و میر لاروها و بالغین *P. loosi* از خود نشان نداد. سه جدایهٔ *T. harzianum* هم که در این آزمایش مورد بررسی قرارگرفتند، هیچ‌گونه اثر کشندگی روی لاروها و بالغین *P. loosi* از خود نشان ندادند. بررسی‌های اخیر نشان می‌دهد که برخی جدایه‌ای این گونه، ریشهٔ گیاهان را اشغال نموده و ضمن رشد و توسعهٔ ریشه، محصول را افزایش داده و سبب مقاومت در مقابل تنش‌های غیرزنده و جذب و استفاده از مواد غذایی می‌شوند. گونه‌های جنس *Trichoderma* می‌توانند با دامنهٔ وسیعی از قارچ‌ها، ویروس‌ها، باکتری‌ها و نماتودهای مهم انگل گیاهی مانند نماتودهای ریشهٔ گرهی (*Meloidogyne* spp.) آنتاگونیست بوده و آن‌ها را مهار نمایند. این قارچ‌ها با مکانیسم‌های مختلفی مانند انگلی نمودن، هضم آنزیمی توسط آنزیم‌های پروتئولیتیک، کیتینولیتیک، تولید متابولیت‌های نماتودکش و ایجاد مقاومت سیستمیک در گیاهان میزبان سبب مهار زیستی نماتودهای انگل گیاهی می‌شوند (Sharon *et al*., 2011). هم‌چنین براساس مطالعات Nassaj Hosseini (2003)، نماتود مولد زخم ریشه *P. loosi* با سه جنس قارچ ساکن ریشه شامل *Rhizoctonia*، *Fusarium* و *Sclerotium* در تعامل بوده و اثرات متقابل بین این قارچ‌ها و نماتود مذکور

Archive of SID

www.SID.ir

از نوع تشدیدکننده می‌باشد که نتایج این آزمایش نیز نشان داد که جدایه‌های *Fusarium* توانایی از بین بردن نماتودهای *P. loosi* را نداشته و در مهار این نماتود ضعیف عمل می‌نمایند. هم‌چنین در برخی موارد میسلیوم‌های قارچ در داخل بدن نماتود مشاهده شد. اما در ارتباط با جدایه‌های *P. lilacinus* که مؤثرتر بودند چنین چیزی مشاهده نشد. زیرا براساس منابع موجود، این قارچ بیشتر با تولید متابولیت‌های ثانویه نماتودها را بی‌حرکت و آن‌ها را نابود می‌نماید و معمولاً در از بین بردن لاروها و بالغین مکانیسم عمل یکسانی از خود نشان می‌دهند. با احتساب مقایسهٔ میانگین‌ها و درصد مرگ و میر لاروها و بالغین *P. loosi*، شش جدایه (T1) *P. lilacinus*، (N1) *P. lilacinus*، *C. rosea*، *F. culmurum*، *A. strictum* و (N3) *P. lilacinus* مؤثرتر از سایر جدایه‌ها بودند. به‌طور کلی نتایج حاصل از این پژوهش نشان داد که در شرایط آزمایشگاهی، قارچ *P. lilacinus* (T1) نسبت به سایر قارچ‌های مورد آزمایش و در مقایسه با سایر جدایه‌های آنتاگونیست برای مهار نماتود مولد زخم ریشه *P. loosi* مناسب‌تر است. کارآیی این گونه علیه *P. loosi* نیاز به تحقیق بیشتر دارد؛ اگرچه به‌نظر می‌رسد نسبت به‌سایر عوامل آنتاگونیست قارچی که علیه نماتودهای انگل جنس *Pratylenchus* استفاده می‌شوند، این گونه کارایی مناسبی در مهارزیستی نماتود مولد زخم ریشهٔ چای دارد.

سپاس‌گزاری

نگارندگان این مقاله از همکاری صمیمانهٔ مدیران و کارکنان پژوهشکدهٔ چای لاهیجان که در اجرای این پژوهش نهایت همکاری را داشته و از هیچ کمکی دریغ ننمودند، کمال تشکر و قدردانی را دارند.

References

Bagheri, M. & Seraji, A. 2012. Control of tea root lesion nematode *Pratylenchus loosi* by manure, dolomite and ragbi in greenhouse. Proceeding of the 20th Congress of Iranian Plant Protection, 26-29 August, Shiraz, Iran. (In Persian).

Carling, L.E. & Sumner, D.R. 1992. Rhizoctonia, pp., 157-165. In: Singleton, L.L., Mihail, J.D. & Rush, C.M. (eds.), Methods for Research on Soil-borne Phytopathogentic Fungi. APS Press, USA.

Castillo, P. & Vovlas, N. 2007. Pratylenchus (Nematoda: Pratylenchidae)*:* diagnosis, biology, pathogenicity and management. Nematology Monographs and Perspectives, 6: 1-530.

Castro, J.M.C., Lima, R.D., Ferraz, S. & Neves, J.C.L. 2000. Capacidade de predacao de *Arthrobotrys musiformis* a fitonematoides. Summa Phytopathologica, 26: 58-62.

Cayrol, J.C., Djian, C. & Pijarowski, L. 1989. Study of nematicidal properties of the culture filtrate of the nematophagous fungus *Paecilomyces lilacinus*. Journal of Nematology, 12: 331-336.

Chavooshisani, M., Jamali, S., Taheri, H. & Khodaparast, A. 2013. Biological control of citrus nematode (*Tylenchulus semipenetrans*) using antagonistic fungi. Plant Protection (Scientific Journal of Agriculture), 36(1): 75-88. (In Persian).

Coolen, W.A. & d'Herd, C.J. 1972. A Method for the Quantitative Extraction of Nematodes from Plant Tissue. Ghent Agri. Res. Cent., Belgium.

Djian, C., Pijarowski, L., Ponchet, M., Arpin, N. & Favrebonvin, J. 1991. Acetic-acid a selective nematocidal metabolite from culture filtrates of *Paecilomyces lilacinus* (Thom) Samson and *Trichoderma longibrachiatum* Rifai. Nematologica, 37: 101-112.

Archive of SID

www.SID.ir

Elsen, A., Gervacio, D., Swennen, R. & Waele, D. 2008. AMF-induced biocontrol against plant parasitic nematodes in *Musa* sp.: a systemic effect. Mycorrhiza, 18: 251-256.

Ganaie, M.A. & Khan, T.A. 2010. Biological Potential of *Paecilomyces lilacinus* on pathogenesis of *Meloidogyne javanica* infecting tomato plant. European Journal of Applied sciences, 2: 80-84.

Gapasin, R.M. 1995. Evaluacion de *Paecilomyces lilacinus* (Thom) Samson para el controd de *Pratylenchus* sp. en maiz. Biocontrol, 1: 35-39.

Ghasemi, F., Kargarbideh, A., Banihashemi, Z. & Zarghani, H. 2007. Effect of *Clonostachys* spp. on *Meloidogyne incognita* activity in greenhouse. Proceeding of the 20th Congress of Iranian Plant Protection, 26-29 August, Shiraz, Iran. (In Persian).

Hojjat Jalali, A.A. & Ghasempour, H. 2006. Biological control of plant parasitic nematodes, progress, problems and perspectives (Compilation: Graham, R. Stirling). Razi University of Kermanshah Publication, First Edition. (In Persian).

Jansson, H.B., Dackman, C. & Zuckerman, B.M. 1987. Adhesion and infection of plant parasitic nematodes by the fungus *Drechmeria coniospora*. Nematologica, 33: 480-487.

Khan, A., Willians, K.L. & Nevalainen, H.K.M. 2006. Infection of plant-parasitic nematode by *Paecilomyces lilacinus* and *Monacrosporium lysipagum*. Biocontrol, 51: 659-678.

Leslie, F.J. & Summerell, A.B. 2006. The *Fusarium* Laboratory Manual. Blackwell Publishing Asia, Carlton, Victoria, Australia.

Loof, P.A.A. 1960. Taxonomic studies on the genus *Pratylenchus* (Nematoda). T. Pl. Ziekten, 66: 29-90.

Lopez-Llorca, L.V., Macia-Vicente, J.G. & Jansson, H.B. 2008. Mode of action and interactions of nematophagus fungi. pp. 51-76 In: Ciancio, A. & Mukerji, K.G. (eds.), Integrated Management and Biocontrol of Vegetable and Grain Crops Nematodes. Springer, The Netherlands.

Mirghasemi, S.N., Seraji, A., Jamali, S. & Hosseinikhah Choshali, A. 2014. Reported some new species of plant parasitic nematodes from rhizosphere of tea plantation in Iran. International Journal of Biosciences, 9(5): 37-46.

Moosavi, M.R. & Zare, R. 2012. Fungi as biological control agents of plant-parasitic nemetodes, pp. 67-107. In: Merrillon, J.M. & Ramawat, K.G. (eds.), Plant Defence: Biological Control. Springer.

Nassaj Hosseini, M. 2003. Study of intraction between four species of root and tea root lesion nematode. M.Sc. Thesis, Tarbiat Modarres university, Tehran, Iran. (In Persian).

Nicolay, R. & Sikora, R.A. 1989. Techniques to determine the activity on fungal egg parasites of *Heterodera schachtii* in field soil. Revue de, Nematologie, 12: 97-102.

Pinochet, J., Calvet, C., Camprubi, A. & Fernandez, C. 1995. Interaction between the root-lesion nematode *Pratylenchus vulnus* and the mycorrhizal association of *Glomus intraradices* and Santa Lucia 64 cherry rootstock. Plant and Soil, 170: 323-329.

Qureshi, A.S., Bhutto, M.A., Khushk, I. & Dahot, M.U. 2011. Optimization of cultural conditions for protease production by *Bacillus subtilis* EFRL 01. African Journal of Biotechnology, 10(26): 5173-5181.

Rahanandeh, H., Khodakaramian, G., Hassanzadeh, N., Seraji, A. & Asghari, S.M. 2012. Characteristics and antagonistic potential of *Pseudomonas* spp. against *Pratylenchus loosi*. Plant Pathology & Microbiology, 3: 6.

Archive of SID

www.SID.ir

Rao, G.V. 1973. Effects of nematode-trapping fungi on the biology of the lesion nematode, *Pratylenchus penetrans* (Cobb) Filipjev & Shuurmans Stekhoven. Dissertation Abstracts International 34B, 486-487.

Sabet, F., Lia, M. & Sharifnabi, B. 2013. Biological control of the root-knot nematode *Meloidogyne javanica* by four isolates of *Paecilomyces lilacinus* and an isolate of *Isaria farinosa* on tomato plants. Journal of Plant Pathology, 49: 65-67.

Samson, R.A. 1974. *Paecilomyces* and some allied *Hyphomycetes*. Studies in Mycology, 6: 1-119.

Seraji. A. 2007. Biology and population dynamics of tea root lesion nematode (*Pratylenchus loosi*) in Iran and the possibility of its loss assessment on the host usin epidemiological models. Ph.D Thesis, Tarbiat Modarres University, Tehran. (In Persian).

Seraji, A., Pourjam, E., Tanha Moafi, Z. & Safaei, N. 2007. Biology and population dynamics of tea root lesion nematode (*Pratylenchus loosi*) in Iran. Iranian Journal of Plant pathology, 43: 98-115.

Sharon, E., Chet, I. & Spiegel, Y. 2011. *Trichoderma* as a biological control agent. pp. 183-201. In: Davies, K. & Spiegel, Y. (eds.), Biological Control of Plant Parasitic Nematodes: Building Coherence between Microbial Ecology and Molecular Mechanisms. Springer Science, Business Media B.V.

Sikora, R.A. & Hoffman, H.S. 1992. Importance of plant health – promoting rhizobacteria for the control of soil-borne fungal disease and plant parasitic nematodes. Arabian Journal plant protection, 10: 48-53.

Talavera, M., Ltou, K. & Mizukubo, T. 2001. Reduction of nematode damage by root colonization with arbuscular mycorrhiza (*Glomus* spp.) in tomato- *Meloidogyne incognita* (*Tylenchida*:*Meloidogynidae*) and carrot- *Pratylenchus penetrans* (*Tylenchida*: *Pratylenchide*) pathosystems. Applied Entomolgy and Zoology, 36: 387-392.

Tanha Moafi, Z. 1992. Report of root lesion nematode *Pratylenchus loosi* from the tea seeding imported from Japan. Journal of Plant Pests and Disease, 60: 93-94. (In Persian).

Timper, P. & Brodie, B.B. 1993. Infection of *Pratylenchus penetrans* by nematode-pathogenic fungi. Journal of Nematology, 25: 297-302.

Timper, P. & Brodie, B.B. 1994. Effect of *Hirsutella rhossiliensis* on infection of potato by *Pratylenchus penetrans*. Journal of Nematology, 26(3): 304-307.

Tiyagi, S.A. & Shamim, A. 2004. Biological control of plant parasitic nematodes associated with chickpea using oil cakes and *Paecilomyces lilacinus*. Indian Journal of Nematology, 34: 44-48.

Vos, C.M., Tesfahun, A.N., Panis, B., De Waele, D. & Elsen, A. 2012. Arbuscular mycorrhizal fungi induce systemic resistance in tomato against the sedentary nematode *Meloidogyne incognita* and the migratory nematode *Pratylenchus penetrans*. Applied Soil Ecology, 61: 1-6.

Whitehead, A.G. & Hemming, G.R. 1965. A comparison of some quantitative methods of extracting small vermiform nematodes from soil. Annals of Applied Biology, 53: 485-942.

Willson, K.C. 1999. Coffee, Cocoa and Tea. CABI publishing.

Archive of SID

www.SID.ir

Isolation of antagonistic fungi from tea plantation and study of their impact on tea root lesion nematode *Pratylenchus loosi* in laboratory

Aboulfazl Yahyavi Azad[1], Ali Seraji[2], Ali Akbar Hojjat Jalali[1], Samad Jamali[1]

1. Department of Plant Protection, College of Agriculture and Natural Resources, Razi University, Kermanshah, Iran

2. Tea Research Center, Horticultural Science Research Institute, Agricultural Research, Education and Extension Organization (AREEO), Lahijan, Iran

Corresponding author: Aboulfazl Yahyavi Azad, email: saeid.yahyavi1989@gmail.com

Received: Apr., 05, 2017 5 (1) 81-91 Accepted: Jan., 09, 2018

Abstract

Tea root lesion nematode, (*Pratylenchus loosi*) is currently considered as the most important damage-causing agent in the most tea-producing countries including Iran. In order to use antagonistic fungi for biological control of this nematode, samples of soil and tea roots were collected during the spring and summer of 2013 in tea plantation of Guilan and Mazandaran provinces. Different fungi were isolated and identified from collected soil samples and or parasitic nematodes. These isolates included *Paecilomyces lilacinus* (isolates T1, N1, N3), *Fusarium culmorum, F. graminearum, Cladosporium* sp. and *Trichoderma harzianum* (isolates T1, T2, T3). Pathogenicity tests of these fungi on nematode were conducted on 1.5% water agar and mortality rate of Juvenile and adult nematodes were determined at three different periods of 48, 72 and 168 hours. Among the 11 tested isolates, the isolate of *P. lilacinus* (T1) with causing 64% mortality of juveniles and 29% the adults and also the isolate of *P. lilacinus* (N1) with having 47% mortality rate in juveniles and 24% in adults after 168 hours, had the highest mortality rate compared with other fungi. Also in this study, *T. harzianum* fungus was a very weak biocontrol agent compared with other isolates. The overall results showed that *P. lilacinus* have high potential to control tea root lesion nematode.

Keywords: biological control, *Paecilomyces lilacinus*, *Pratylenchus loosi*, root lesion nematode, tea

Archive of SID

www.SID.ir