بررسی تاثیر عصاره دو گونه قارچ نماتد خوار *Arthrobotrys oligospora* و *A. conoides* بر فعالیت لاروهای سن دو نماتدهای *Meloidogyne incognita* و *M. javanica*

سیده لاوین نورانی[۱]، ابراهیم محمدی گل تپه[۱]، ناصر صفایی[۲]*، مختار جلالی جواران[۳]، ابراهیم پورجم[۴]، فرحناز جهانشاهی افشار[۵] و مسعود شمس بخش[۶]

۱- دانشجوی مقطع دکتری و استاد گروه بیماری شناسی گیاهی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه تربیت مدرس، تهران

۲*- **نویسنده مسوول:** دانشیار گروه بیماری شناسی گیاهی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه تربیت مدرس، تهران (nsafaie@modares.ac.ir)

۳- دانشیار گروه اصلاح نباتات و بیوتکنولوژی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه تربیت مدرس، تهران

۴و۶- به ترتیب استاد و دانشیار گروه بیماری شناسی گیاهی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه تربیت مدرس، تهران

۵- مربی بخش نماتد شناسی، موسسه تحقیقات گیاه پزشکی کشور، تهران

تاریخ دریافت: ۹۲/۷/۸ تاریخ پذیرش: ۹۲/۱۲/۲۶

چکیده

در این پژوهش تاثیر عصاره دو گونه قارچ شکارگر نماتد *Arthrobotrys oligospora* و *A. conoides* علیه لاروهای سن دو نماتدهای *Meloidogyne incognita* و *M. javanica* جهت بررسی نرخ فلج کنندگی لاروها مورد ارزیابی قرار گرفت. عصاره های کشت قارچی در سه رقت (×۱)، (×۰/۵۰) و (×۰/۲۵) از عصاره پایه تهیه شدند. آزمایش ها به صورت فاکتوریل در قالب طرح پایه کاملا تصادفی انجام شد. نتایج نشان داد که تحت شرایط آزمایشگاهی عصاره های قارچی بر روی فعالیت لاروهای سن دو نماتد های *M. incognita* و *M. javanica* دارای اثرات مختلفی بودند. در خصوص لاروهای سن دو *M. incognita* پس از ۲٤ ساعت بیشترین میزان غیر فعال شدن لاروها مربوط به عصاره پایه (×۱) گونه *A. oligospora* بود که ۷۵/۵ درصد از لاروها را غیر فعال نمود. همچنین کمترین میزان فلج کنندگی هم مربوط به رقت (×۰/۲۵) گونه *A. conoides* با ۲۱/۲۵ درصد بود. این در حالیست که بیشترین میزان غیر فعال شدن لاروهای *M. javanica* مربوط به عصاره (×۰/۵۰) گونه *A. conoides* با ٤۳/۱۷ درصد بود. پس از گذشت ٤۸ ساعت هم هر دو گونه اثر بازدارندگی از خود نشان دادند. به طوری که بیشترین میزان فلج کنندگی مربوط به عصاره پایه (×۱) گونه *A. conoides* بر روی لاروهای سن دو *M. incognita* با ۱۰۰ درصد فلج کنندگی بود. در این زمان بیشترین میزان فلج کنندگی بر روی لاروهای *M. javanica* مربوط به عصاره پایه (×۱) گونه *A. conoides* با ۹۸/٦ درصد کنترل بود. پس از ۷۲ ساعت ۱۰۰ درصد لاروهای هر دو گونه *M. incognita* و *M. javanica* در غلظت عصاره پایه (×۱) گونه *A. conoides* غیر فعال گردیدند.

کلید واژه ها: عصاره کشت قارچی، *Arthrobotrys oligospora*، *A. conoides*، فلج کنندگی، *Meloidogyne incognita* و *M. javanica

مقدمه

نماتدهای بیماریزای گیاهی باعث ایجاد خسارت جدی به محصولات کشاورزی به خصوص در مناطق گرمسیری و نیمه گرمسیری می شوند (لوک و همکاران[۱]، ۲۰۰۵). گونه های *Meloidogyne* spp.

1- Luc *et al.*

از جمله عوامل بیماریزای گیاهی می باشند که خسارت زیادی را در پهنه وسیعی از محصولات کشاورزی در جهان ایجاد می کنند. نماتدهای مولد گره ریشه گسترش جهانی داشته اما در مناطقی با آب و هوای گرم و زمستان های ملایم بیشتر یافت می شوند. تولید گال یا غده توسط گونه های مختلف جنس *Meloidogyne* در محصولات مختلف به خصوص در مناطق گرمسیری بین ۱۱ تا ۶۰ درصد کل محصول تخمین زده شده است (ابراهیم[1]، ۱۹۸۵؛ لامبرتی[2]، ۱۹۸۱). گونه *M. incognita* از فراوان ترین و وسیع ترین نماتدهای مولد غده روی انواع مختلفی از گیاهان زراعی و صیفی جات می باشد. همچنین گونه *M. javanica* به طور وسیعی از مزارع و گلخانه های مناطق گرمسیری ایران گزارش شده است و دامنه میزبانی فراوانی مانند توتون، سبزیجات، درختان میوه، موز، نیشکر و غیره دارد (دامادزاده، ۱۳۸۶).

نیاز به کنترل و مدیریت جمعیت نماتدها جهت نگه داشتن آنها در سطوح قابل قبول و نیز کاهش خسارت ناشی از آنها به عنوان یک نگرانی بزرگ برای نماتدشناسان در کشور می باشد. افزایش علاقه مندی به مطالعه در زمینه کنترل زیستی نماتدهای بیماریزای گیاهی یک واکنش منطقی به نگرانی های عمومی در استفاده از سموم شیمیایی در کشاورزی می باشد. نیاز به کاهش وابستگی به کنترل شیمیایی با استفاده از نماتدکش ها نیروی محرکی را برای پژوهش در زمینه بهره برداری از توانایی عوامل کنترل زیستی بر علیه نماتدهای بیماری زای گیاهی فراهم آورده است (گراردسون[3]، ۲۰۰۲؛ کوک[4]، ۱۹۸۸). از زمان شناخته شدن نماتدهای انگل گیاهی به عنوان عوامل مهم بیماریزای گیاهی، نماتدشناسان تدریجا به سمت استفاده از عوامل کنترل زیستی برای این گروه از عوامل بیماریزای گیاهی روی آوردند (استرلینگ[5]، ۱۹۹۱).

از آنجایی که قارچ ها و نماتدها در ریزوسفر همراه هم وجود دارند، ممکن است متابولیت های سمی که به طور طبیعی توسط قارچ ها تولید می شوند، جمعیت نماتدها را در سطح پایینی نگهدارند (صدیقی و همکاران[6] ۲۰۰۱). بسیاری از قارچ ها در تولید ترکیبات سمی ضد نماتدی معروف می باشند (کایرول و همکاران[7]، ۱۹۸۹؛ انک و همکاران[8]، ۱۹۹۵؛ هالمن و سیکورا[9]، ۱۹۹۶؛ انک و استرنر[10]، ۱۹۹۷؛ چن و همکاران[11]، ۲۰۰۰؛ میر و همکاران[12]، ۲۰۰۰؛ میر و همکاران، ۲۰۰۴).

بسیاری از قارچ های خاک برد مانند قارچ های تله گذار یا شکارگر نماتد یا اندوپارازیت ها، انگل تخم و کیست نماتدها تولید متابولیت های سمی علیه نماتدها را می کنند (استرلینگ، ۱۹۹۱). عصاره های کشت قارچی *Fusarium* spp.، *Paecilimyces lilacinus* و *Pochonia chlamidosporia* با تولید مواد سمی علیه لاروهای سن دو نماتد *M. incognita* مانع تفریخ تخم می شوند یا مانع استقرار تخم یا لارو سن دو روی گیاهان می گردند (هالمن و سیکورا، ۱۹۹۶؛ انک و استرنر، ۱۹۹۷؛ خان[13]، ۱۹۹۹؛ شارما[14]، ۱۹۹۹؛ وانگ و همکاران[15]، ۱۹۹۹؛ کوستا و همکاران[16]، ۲۰۰۰؛ راندواوا و همکاران[17]، ۲۰۰۱؛ نیتاوو و

1-Ibrahim
2- Lamberti
3- Gerhardson
4- Cook
5- Stirling
6- Siddiqui *et al*.
7- Cayrol *et al*
8- Anke *et al*.
9- Hallman & Sikora
10- Anke & Sterner
11- Chen *et al*.
12- Meyer *et al*.
13- Khan
14- Sharma
15- Wang *et al*.
16- Costa *et al*.
17- Randhawa *et al*.

همکاران[1]، ۲۰۰۱). عصاره های کشت قارچی سطوح مختلفی از فعالیت ضد نماتدی را روی نماتدهای مناطق مختلف به خصوص مناطق گرمسیری نشان داده اند (هالمن و سیکورا، ۱۹۹۶). همچنین گزارش شده است که تولید مقادیر زیاد از متابولیت های ثانویه توسط قارچ ها حین رشد رویشی آنها اتفاق نمی افتد بلکه در یک حالت معین، زمانی که رشد رویشی متوقف شده است و به فاز زایشی وارد می شوند، صورت می گیرد (فائول[2]، ۱۹۸۸). در تحقیقی که توسط پالیزی و همکاران[3] (۲۰۰۹) در ایران در خصوص تاثیر عصاره های کشت قارچی شش گونه *Pleurotus* روی فعالیت نماتد *Heterodera shachti* انجام پذیرفت، گونه *Pleurotus osteratus* حدود۹۰ درصد نماتدها را غیر فعال کرد. قارچ *Pleurotus osteratus* ترکیب ضد نماتدی *trans*-2 – decenedionic را تولید می کند. اسید استیک هم به عنوان یک ترکیب فعال از عصاره های کشت قارچی دو گونه *P. lilacinus* و *Trichoderma longibrachiatum* شناسایی گردیده است (دیان و همکاران[4]، ۱۹۹۱؛ واک و همکاران[5]، ۱۹۹۲). همچنین اسید لینولئیک به عنوان یک ترکیب ضد نماتدی از قارچ های تله گذار نماتد *A. oligospora* و *A. conoides* شناسایی شده است (انک و همکاران، ۱۹۹۵). ترکیبات فعال کشت های قارچی که برای نماتدهای انگل گیاهی زیان آور هستند، می توانند به عنوان یک نماتدکش جدید استفاده شوند. این روش قبلا در مورد قارچ *Myrothecium* که به طور طبیعی از نماتد *Heterodera glycines* جدا شده است به کار گرفته شده است. فعالیت تولیدات کشت قارچی شامل اثرات نماتدکشی روی نماتدهای جوان، تغییر در اکولوژی ریزوسفر، جلوگیری از تفریخ تخم و توسعه لاروها می باشد (واریور و همکاران[6]، ۱۹۹۹؛ پری و همکاران[7]، ۲۰۰۰؛ تامی و همکاران[8]، ۲۰۰۰؛ ۲۰۰۲؛ فرناندز و همکاران[9]، ۲۰۰۱).

با توجه به اینکه نماتدهای *M. incognita* و *M. javanica* از اکثر مناطق ایران گزارش شده اند و باعث ایجاد خسارت جدی روی محصولات کشاورزی می شوند و همچنین گونه های قارچ *Arthrobotrys* هم به عنوان عوامل شکارگر نماتدها بسیار مورد توجه می باشند، لذا تحقیق حاضر به منظور بررسی فعالیت ضد نماتدی عصاره های کشت گونه های *A. oligospora* و *A. conoides* بر فعالیت لاروهای سن دو نماتدهای *M. incognita* و *M. javanica* صورت پذیرفته است.

مواد و روش ها

تهیه و نگهداری جدایه قارچی و زاد مایه نماتدی

جدایه های قارچی

جدایه های قارچ شکارگر مورد استفاده در این تحقیق شامل *A. oligospora* (IRAN678C) جداسازی شده از خاک منطقه نور استان مازندران تهیه شده از موسسه تحقیقات گیاهپزشکی کشور (بخش تحقیقات رستنیها) همچنین جدایه قارچی *A. conoides* (CBS575.91) تهیه شده از هرباریوم قارچی مرکز CBS هلند می باشد. جدایه های فوق بر روی تشتک های پتری حاوی محیط CMA (Corn Meal Agar) رشد داده و نگهداری شدند.

تهیه عصاره های کشت قارچی

به منظور تهیه عصاره کشت قارچ از محیط کشت مایع سیب زمینی – دکستروز استفاده شد. کشت ها به

1- Nitao *et al*.
2- Faull
3- Palizi *et al*.
4- Djian *et al*.
5- Kwok *et al*.
6- Warrior *et al*.
7- Perry *et al*.
8- Twomey *et al*.
9- Fernandez *et al*.

مدت دو هفته بر روی دستگاه تکان دهنده با سرعت ۱۰۰ دور در دقیقه و دمای ۲۶ درجه سلسیوس قرار داده شدند. سپس محیط ها دو بار از کاغذ صافی سترون عبور داده شدند. مجددا محیط عبور داده شده از کاغذ صافی، دوبار از فیلترهای میکروبیولوژیک ۰/۲ میکرومتری (Millipore) برای حذف کامل بقایای قارچ عبور داده شده تا سترون شوند. محصول حاصل به عنوان عصاره پایه (۱۰۰٪) در نظر گرفته شد. سپس با اضافه کردن آب مقطر سترون، رقت های ۵۰ و ۲۵ درصد از عصاره پایه تهیه شد.

تهیه زاد مایه اولیه نماتدی

تک توده تخم نماتدهای *M. incognita* و *M. javanica* جمع آوری شده از استان مازندران روی میزبان حساس (گوجه فرنگی) کاشته شده در خاک سترون تکثیر شد. سپس ریشه های گره دار گوجه فرنگی آلوده به نماتد خالص از خاک خارج شده و با آب به خوبی شستشو داده شدند و به قطعات دو تا چهار سانتیمتری خرد شدند. ریشه های خرد شده به مدت چهار دقیقه داخل ۲۰۰ سی سی محلول ۵/. درصد هیپوکلریت سدیم به شدت تکان داده شدند. سپس محتویات داخل شیشه روی دو الک ۳۵ و ۵۰۰ مش ریخته شده و به مدت ۱۵ دقیقه با آب شیر کاملا شسته شدند. برای تهیه سوسپانسیون لارو سن دو، به تخم های جدا شده از مرحله قبل اجازه داده شد تا به مرور تفریخ شوند، بدین صورت که سوسپانسیون تخم و لارو جدا شده به آرامی داخل سبدهای کوچک حاوی دو لایه دستمال کاغذی که در یک تشتک آب قرار داده شده بودند ریخته شدند. به تدریج لاروهای موجود و لاروهای حاصل از تفریخ از دستمال کاغذی عبور کرده و در آب داخل تشتک جمع آوری گردیدند. هر ۲۴ ساعت یکبار آب زیر سبدها (داخل تشتک ها) که فقط حاوی لارو سن دو بود، داخل یک بشر جمع آوری و تا زمان تلقیح در یخچال نگهداری شدند (هاسی و بارکر[1]، ۱۹۷۳). پس از استخراج لارو سن دو نماتد و قبل از استفاده، لاروها با کمک محلول ۴ تا ۶ در هزار استرپتومایسین ضد عفونی گردیدند (پورجم، ۱۳۷۷).

تاثیر غلظت های مختلف عصاره های دو گونه *A. oligospora* و *A. conoides* بر فعالیت لاروهای سن دو نماتد های *M. incognita* و *M. javanica*

به منظور بررسی تاثیر عصاره های کشت قارچ روی فعالیت دو گونه نماتدهای *M. incognita* و *M. javanica* از سه رقت عصاره قارچ شامل رقت پایه (×۱)، (×۰/۵۰) و (×۰/۲۵) استفاده شد. همچنین آب مقطر سترون (×۰) و محیط کشت به عنوان شاهد در نظر گرفته شدند. این آزمایش در میکروتیوب های یک و نیم میلی لیتری حاوی یک میلی لیتر از عصاره های قارچی و ۱۵ میکرولیتر سوسپانسیون نماتد حاوی ۱۰۰ عدد لارو نماتد انجام پذیرفت. سپس میکروتیوب ها در دمای ۲۲ درجه سلسیوس نگهدای شدند. درصد بی حرکتی نماتدها بعد از ۲۴، ۴۸ و ۷۲ ساعت با شمارش لاروهای غیر فعال شده اندازه گیری و تعیین گردید (کایرول و همکاران، ۱۹۸۹). آزمایش به صورت فاکتوریل در قالب طرح پایه کاملا تصادفی و با چهار تکرار انجام شد.

نتایج و بحث

در این تحقیق سه رقت از عصاره های کشت قارچی متعلق به دو گونه *A. oligospora* و *A. conoides* به منظور غیر فعال کردن لاروهای سن دو نماتدهای *M. incognita* و *M. javanica* مورد ارزیابی قرار گرفتند. نتایج حاصل از تجزیه واریانس نشان داد که بین میزان غیر فعال شدن لاروها و غلظت های مختلف عصاره کشت دو گونه قارچ تله گذار نماتد پس از گذشت ۲۴، ۴۸ و ۷۲ ساعت تفاوت معنی داری در سطح ۱ درصد وجود داشت. همچنین بین میزان غیرفعال

1- Hussey & Barker

کردن لاروهای سن دو نماتدهای فوق توسط دو گونه قارچی مورد استفاده اختلاف معنی دار در سطح ۱ درصد) مشاهده شد بطوری که در مجموع میزان فلج کنندگی لاروها توسط گونه *A. conoides* بیشتر از گونه *A. oligospora* بود.

تاثیر عصاره های کشت قارچی بر فعالیت لاروهای سن دو نماتد *M. incognita.*

نتایج نشان داد که پس از این که لاروهای *M. incognita* به مدت ۲۴ ساعت در معرض عصاره های کشت قارچی قرار گرفتند، هر دو گونه اثر فلج کنندگی را نشان دادند. تمایز بین میزان بی حرکت شدن لاروها در رقت های مختلف و همچنین اختلاف بین میزان بی حرکت شدن لاروها در عصاره های مورد مطالعه و شاهد (آب مقطر سترون) مشاهده گردید. پس از ۲۴ ساعت بیشترین میزان کنترل مربوط به رقت پایه گونه *A. oligospora* با غیرفعال شدن ۷۵/۵ درصد از لاروها بود. در این رقت میزان غیر فعال شدن لاروها توسط گونه *A. conoides* ۳۸/۵ درصد بود. همچنین کمترین میزان فلج کنندگی هم مربوط به رقت (۲۵٪) گونه *A. conoides* با ۲۱/۲۵ درصد بود. پس از گذشت ۴۸ ساعت هر دو گونه اثر بازدارندگی خوبی از خود نشان دادند. به طوری که بیشترین میزان کنترل مربوط به رقت پایه گونه *A. conoides* با ۱۰۰ درصد کنترل بود. در همین رقت ۷۹/۶۴ درصد از لاروها توسط عصاره گونه *A. oligospora* غیر فعال شدند. کمترین میزان فلج کنندگی هم مربوط به رقت (۲۵٪) عصاره گونه *A. conoides* با ۲۹/۵۷ درصد بود. در نهایت پس از سپری شدن ۷۲ ساعت ۱۰۰درصد لاروها در رقت پایه گونه *A. conoides* غیر فعال گردیدند. همچنین در این رقت میزان غیر فعال شدن لاروها توسط گونه *A. oligospora* ۸۶/۲۸ درصد بود. کمترین میزان فلج کنندگی هم مربوط به رقت (۲۵٪) *A. oligospora* بود، که در آن حدود ۷۳/۴۶ درصد از لاروها غیر فعال شده بودند. می توان نتیجه گرفت که تاثیر عصاره های قارچی بر میزان غیر فعال شدن لاروها با افزایش غلظت عصاره افزایش پیدا کرده است. چنانچه بعد از گذشت ۴۸ و ۷۲ ساعت بیشترین میزان فلج کنندگی دو گونه قارچی مربوط به رقت پایه و رقت (۵۰٪) آنها است (جدول ۱). شکل های ۱، ۲ و ۳ روند بی حرکت شدن لاروهای سن دو نماتد مولد غده *M. incognita* را در سه رقت در زمان های مورد بررسی نشان می دهد.

تاثیر غلظت های مختلف عصاره های کشت قارچی بر فعالیت لاروهای سن دو نماتد *M. javanica*

نتایج این قسمت از آزمایش نشان داد که پس از اینکه لاروهای *M. javanica* به مدت ۲۴ ساعت در معرض عصاره های کشت قارچی دو گونه *A. oligospora* و *A. conoides* قرار گرفتند، هر دو گونه تاثیر فلج کنندگی را نشان دادند. در این آزمایش هم تمایز بین میزان بی حرکت شدن لاروها در رقت های مختلف و همچنین اختلاف بین میزان بی حرکت شدن لاروها در عصاره های مورد مطالعه و شاهد (آب مقطر سترون) مشاهده گردید. پس از ۲۴ ساعت بیشترین میزان کنترل مربوط به عصاره پایه گونه *A. oligospora* بود که حدود ۶۹ درصد از لاروها غیر فعال گردیدند. در همین رقت میزان غیر فعال شدن لاروها توسط گونه *A. conoides* حدود ۲۵/۷۵ درصد بود. کمترین میزان فلج کنندگی هم مربوط به رقت (۲۵٪) گونه *A. oligospora* با ۶/۵ درصد بود. پس از گذشت ۴۸ ساعت هم هر دو گونه اثر بازدارندگی خوبی از خود نشان دادند. بیشترین میزان کنترل مربوط به عصاره پایه گونه *A. conoides* با ۹۸/۶ درصد بود. در همین رقت حدود ۸۰/۴۵ درصد از لاروها توسط گونه *A. oligospora* غیر فعال شدند. کمترین میزان فلج کنندگی هم مربوط به رقت (۲۵٪) گونه *A. oligospora* با ۱۵/۸۳ درصد بود. بعد از ۷۲

جدول ۱- مقایسه میانگین تاثیر غلظت های مختلف عصاره های دو گونه قارچ *A. oligospora* و *A conoides* روی فعالیت لاروهای سن دو نماتد *M. incognita*

منبع قارچی	غلظت عصاره قارچی	نرخ غیر فعال شدن لاروها پس از ۲۴ ساعت	نرخ غیر فعال شدن لاروها پس از ۴۸ ساعت	نرخ غیر فعال شدن لاروها پس از ۷۲ ساعت
A. conoides	٪۰	۰±۰e	۰±۰f	۰±۰i
	۰/۲۵	۲۱/۲۵±۷/۹c	۲۹/۵۷±۸/۹۳d	۹۰±۰bc
	۰/۵۰	۶۵/۷۵±۲/۰۹a	۷۸/۶۸±۰/۸۲b	۹۷/۸۴±۰/۴a
	٪۱۰۰	۳۸/۵±۲/۹۸ b	۱۰۰±۰a	۱۰۰±۰a
A. oligospora	٪۰	۰±۰e	۰±۰f	۰±۰i
	٪۲۵	۳۵±۱/۷۳ b	۴۵/۸۶±۱/۷۳c	۷۳/۴۶±۳/۴۵f
	٪۵۰	۳۹/۵±۲/۰۶ b	۵۲/۳۶±۱/۳۶ c	۸۸/۳۹±۳/۹۷bc
	٪۱۰۰	۷۵/۵±۲/۲۷ a	۷۹/۶۴±۴/۳۷b	۸۶/۲۸±۳/۲۳cd

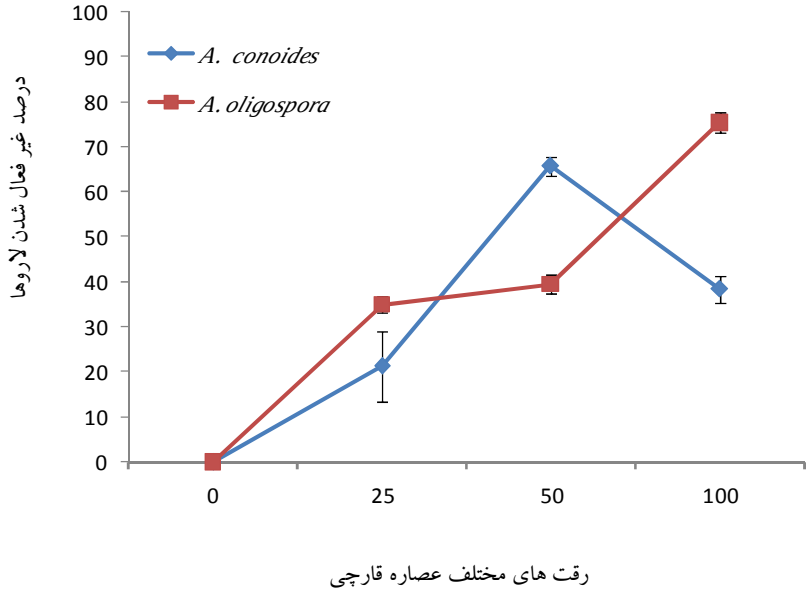
*میانگین هایی که از هر ستون بر اساس آزمون دانکن دارای اخلاف معنی دار (P =<۰/۰۱) می باشند با حروف مختلف نشان داده شده اند.

ساعت ۱۰۰ درصد لاروها در غلظت عصاره پایه گونه *A. conoides* غیر فعال گردیدند. همچنین در این رقت میزان غیر فعال شدن لاروها توسط گونه *A. oligospora* ۸۱/۴۸ درصد بود. کمترین میزان فلج کنندگی هم مربوط به رقت (٪۲۵) *A. conoides* بود که حدود ۳۸/۰۸ درصد از لاروها غیر فعال شده بودند. لذا در خصوص تاثیر غلظت های مختلف عصاره هر دو گونه می توان چنین نتیجه گرفت که میزان غیر فعال شدن لاروها با افزایش غلظت عصاره افزایش پیدا کرده است. چنانچه بعد از گذشت ۴۸ و ۷۲ ساعت بیشترین میزان فلج کنندگی دو گونه قارچی مربوط به عصاره پایه (٪۱۰۰) و رقت (٪۵۰) آنها است (جدول ۲). شکل های ۴، ۵ و ۶ روند بی حرکت شدن لاروهای سن دو نماتد مولد غده *M. javanica* را در سه رقت مورد مطالعه در زمان های مورد بررسی نشان می دهد.

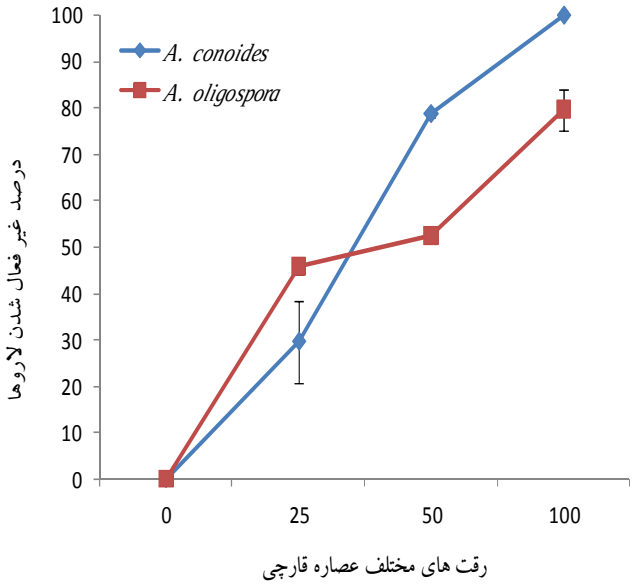
استفاده از تولیدات طبیعی قارچی به عنوان منابع ترکیبات ضد نماتدی توانا در مدیریت نماتد های انگل گیاهی بسیار نوید دهنده می باشد (انک و استرنر، ۱۹۹۷). به کارگیری آنتاگونیست های میکروبی به عنوان عوامل کنترل کننده نماتدهای انگل گیاهی به عنوان یک روش جایگزین سموم شیمیایی محسوب می گردد. بسیاری از قارچ های مفید در خاک دارای فعالیت بازدارندگی نماتدها با تاثیر مستقیم بر روی فعالیت آنها یا با تولید متابولیت های سمی می باشند. شمار زیادی از قارچ ها در خصوص داشتن ترکیبات ضد نماتدی یا آنزیم های موثر بر فعالیت نماتدها شناسایی شده اند (نیتاوو و همکاران، ۱۹۹۹). چنانچه ذکر گردید بسیاری از قارچ های خاک برد و خاکزی هم مانند قارچ های تله گذار یا شکارگر نماتد یا اندوپارازیت ها، انگل تخم و کیست نماتد ها هم تولید متابولیت های سمی علیه نماتدها را می کنند (استرلینگ، ۱۹۹۱).

در بین قارچ های تله گذار نماتد، قارچ *Arthrobotrys* به عنوان یکی از عوامل مهم شکارگر نماتد بسیار مورد توجه و با اهمیت می باشد، ولی تحقیقات اندکی در رابطه با تاثیر عصاره این قارچ ها علیه نماتدها انجام پذیرفته است. در این بررسی تاثیر رقت های مختلف دو گونه *A. oligospora* و *A.*

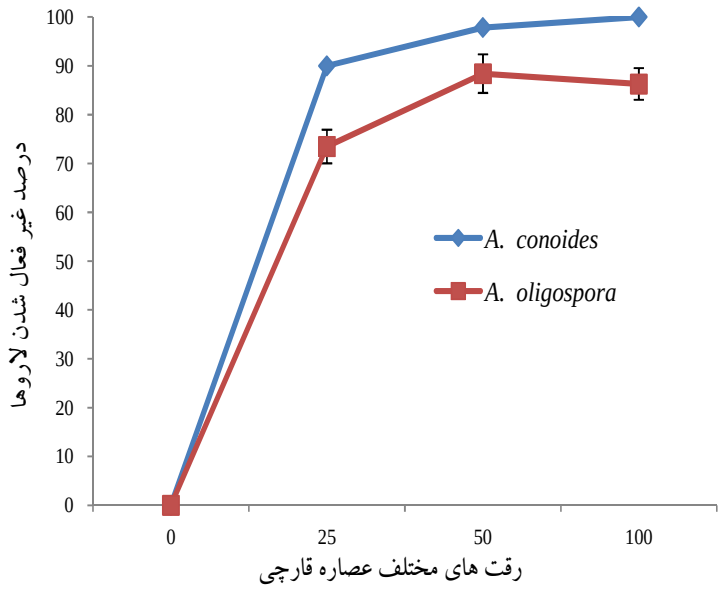
conoides جهت غیر فعال کردن لاروهای سن دو نماتدهای *M. incognita* و *M. javanica* مورد بررسی قرار گرفت. با توجه به نتایجی که از این تحقیق به دست آمد، مشاهده شد که در مجموع گونه *A. conoides* در مقایسه با *A. oligospora* دارای قدرت فلج کنندگی بیشتری می باشد. همچنین مشاهده گردید که لاروهای سن دو نماتد *M. incognita* در مقایسه با *M. javanica* نسبت به متابولیت های عصاره های قارچی از حساسیت بیشتری برخوردار بودند. همچنین نتایج به دست آمده از رقت های مختلف عصاره های قارچی گواه این مطلب هستند که کاهش نرخ لاروهای غیر فعال شده با افزایش غلظت عصاره ها نسبت مستقیم دارد بطوریکه بیشترین میزان کنترل در عصاره هایی با رقت پایه (۱۰۰٪) می باشد. زمان هم به عنوان یک عامل تعیین کننده نقش بسزایی در میزان غیر فعال سازی لاروها ایفا می کند چنانچه بیشترین میزان غیر فعال شدن لاروها ۷۲ ساعت پس از در معرض قرار گرفتن لاروها در عصاره های قارچی بود.



شکل ۱- مقایسه روند غیر فعال شدن لاروهای سن دو نماتد *M. incognita* در سه رقت عصاره های دو گونه *A. conoides* و *A. oligospora* پس از گذشت ۲٤ ساعت



شکل۲ – مقایسه روند غیر فعال شدن لاروهای سن دو نماتد *M. incognita* درسه رقت عصاره های دو گونه *A. conoides* و *A. oligospora* پس از گذشت ٤٨ ساعت

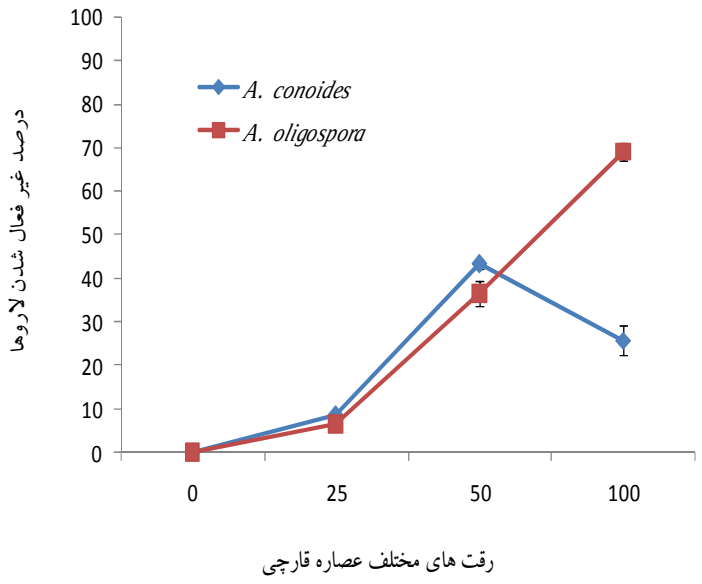


شکل ۳– مقایسه روند غیر فعال شدن لاروهای سن دو نماتد *M. incognita* درسه رقت عصاره های دو گونه *A. conoides* و *A. oligospora* پس از گذشت ۷۲ ساعت

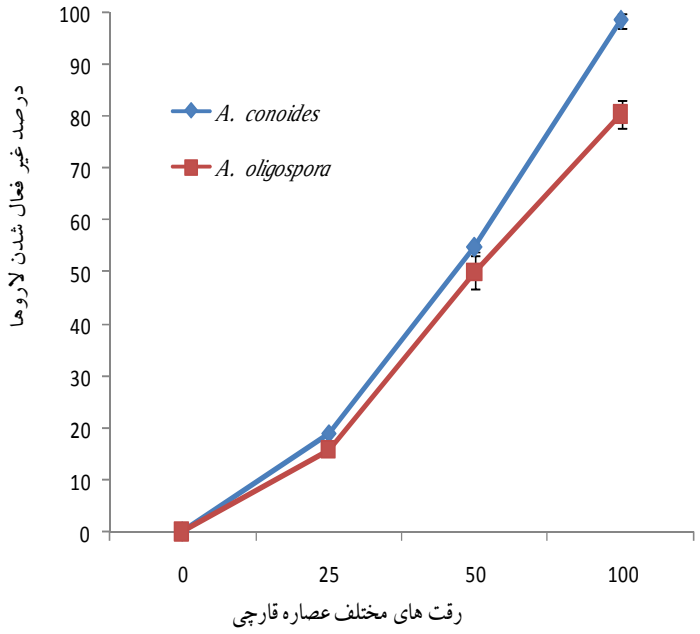
جدول ۲- مقایسه میانگین تاثیرغلظت های مختلف عصاره های دو گونه قارچ *A. oligospora* و *A. conoides* روی فعالیت لاروهای سن دو نماتد *M. javanica*

منبع قارچی	غلظت عصاره های قارچی	نرخ غیر فعال شدن لاروها پس از ۲۴ ساعت	نرخ غیر فعال شدن لاروها پس از ۴۸ ساعت	نرخ غیر فعال شدن لاروها پس از ۷۲ ساعت
A. conoides	٪۰	۰±۰e	۰±۰f	۰±۰i
	٪۲۵	۸/۵۹±۰/۲۴ d	۱۹/۰۴±۰/۳۷e	۳۸/۰۸±۰/۷۵h
	٪۵۰	۴۳/۱۷±۱/۰۷ b	۵۴/۷۰±۰/۵۸c	۹۴/۳۰±۱/۰۶ab
	٪۱۰۰	۲۵/۷۵±۳/۳۷ c	۹۸/۶۰±۱/۴۰	۱۰۰±۰a
A. oligospora	٪۰	۰±۰e	۰±۰f	۰±۰i
	٪۲۵	۶/۵۰±۱/۱۹ d	۱۵/۸۳±۰/۴۸e	۶۳/۳۳±۲/۳۳g
	٪۵۰	۳۶/۵۰±۲/۹۸ b	۵۰±۳/۲۱c	۷۷/۶۴±۲/۱۸ef
	٪۱۰۰	۶۹±۱/۹۱ a	۸۰/۴۵±۲/۵۷b	۸۱/۴۸±۲/۴۲de

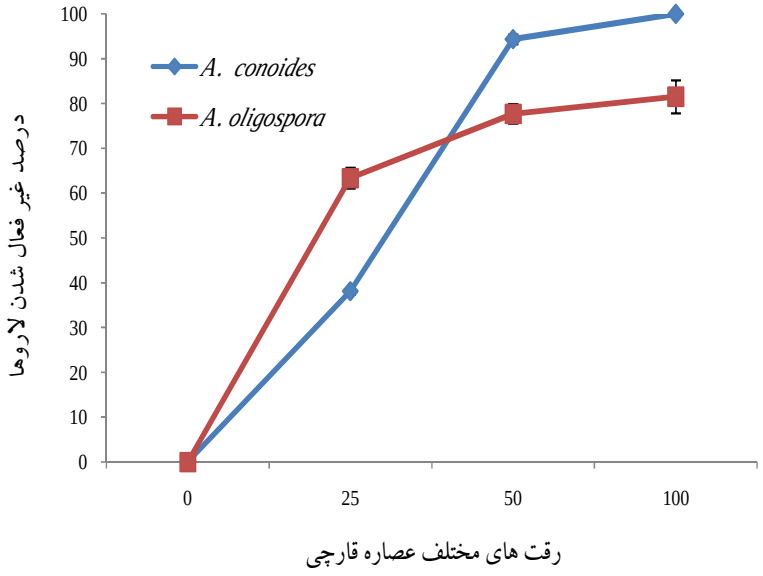
*میانگین هایی که از هر ستون بر اساس آزمون دانکن دارای اخلاف معنی دار (P =<۰/۰۱) می باشند با حروف مختلف نشان داده شده اند.



شکل ٤- مقایسه روند غیر فعال شدن لاروهای سن دو نماتد *M. javanica* درسه رقت عصاره های دو گونه *A. conoides* و *A. oligospora* پس از گذشت ٢٤ ساعت



شکل ۵- مقایسه روند غیر فعال شدن لاروهای سن دو نماتد *M. javanica* درسه رقت عصاره های دو گونه *A. conoides* و *A. oligospora* پس از گذشت ٤٨ ساعت



شکل ٦- مقایسه روند غیر فعال شدن لاروهای سن دو نماتد *M. javanica* درسه رقت عصاره های دو گونه *A. conoides* و *A. oligospora* پس از گذشت ۷۲ ساعت

تحقیقات زیادی در مورد اثرات عصاره های قارچی بر میزان غیر فعال شدن لاروها، مرگ و میر و نیز جلوگیری از تفریخ تخم نماتدها انجام پذیرفته است. یافته ها نشان می دهند که چنانچه عصاره های مربوط به جنس های مختلف می تواند اثرات متفاوتی بر روی غیر فعال شدن نماتد ها داشته باشد، این اختلاف را می توان در گونه های مختلف یک جنس هم مشاهده کرد. نتایج به دست آمده از این تحقیق بیانگر این مطلب است که تا چه اندازه متابولیت های ثانویه سمی تولید شده قارچی یا آنزیم های خارج سلولی متناسب با اجزای شیمیایی سازنده کوتیکول نماتد می تواند در کنترل نماتد مولد غده ریشه به خصوص گونه *M. incognita* مهم و تعیین کننده باشند.

منابع

۱. پورجم، ا. ۱۳۷۷. بررسی شکل شناسی و طبقه بندی گونه های جنس *Pratylenchus* در شمال ایران. رساله دکتری، بیماری شناسی گیاهی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه تربیت مدرس، ۲۶۱ ص.

۲. داماد زاده، م. ۱۳۸۶. نماتد شناسی در کشاورزی. ناشر: اندیشه گستر اصفهان. ۲۲۰ ص.

3. Anke, H., Stadler, M., Mayer, A, and Sterner, O. 1995. Secondary metabolites with nematicidal & antimicrobial activity from nematophagous fungi & Ascomycetes. Canadian Journal of Botany, 973: 932- 93.

4. Anke, H., and Sterner, O. 1997. Nematicidal metabolites from higher fungi. Current Organic Chemistry, 1: 361- 374.

5. Cayrol, J.C., Djian, C., and Pijarowaski, L. 1989. Study of the nematicidal properties of the culture filtrate of nematophagous fungus *Paesilomyces lilacinus*. Revue-de-Nematology, 12(4): 331- 336.

6. Chen, S.Y., Dickson, D.W., and Mitchell, D.J. 2000. Viability of *Heterodera glycin*es exposed to fungal filtrates. Journal of Nematology, 32: 190- 197.

7. Cook, J.R. 1988. Biological control and holistic plant- health care in agricultural. American Journal of Alternative Agriculture, 3: 51- 62.

8. Costa, M.J.N., Campos, V.P., Pfenning, L.H., and Oliveira, D.F. 2000. Pathogenicity and reproduction of *Meloidogyne incognita* in tomato plants (*Lycopersicone sculentum*) with application of fungal filtrates or plant & animal manure extracts. Nematologia Brasileira, 24: 219- 226.

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

10. Faull, J.L. 1988. Competitive antagonism of soil-borne plant pathogens. In: M.N. Burge (ed.) Fungi in Biological Control Systems. Manchester University Press, Manchester, UK. 129 p.

11. Fernandes, C., Rodriguez -Kabana, R., Warrior, P., and Kloepper, J.W. 2001. Induced soil suppressiveness to a root-knot nematode species by a nematicide. Biological Control, 22: 103- 114.

12. Gerhardson, B. 2002. Biological substitutes for pesticides. Trends in Biotechnology. 20: 338- 343.

13. Hallmann, J., and Sikora, R.A. 1996. Toxicity of fungal endophyte secondary metabolites to plant-parasitic nematodes & soil-borne plant-pathogenic fungi. European Journal of Plant Pathology, 102: 155- 162.

14. Hussey, R.S., and Barker, K.R. 1973. A comparison of method of collecting inocola of *Meloidogyne* spp. including a new technique. Plant Disease Reporter, 57(12): 1025- 1028.

15. Ibrahim, Y.K.A. 1985. The status of root-knot nematodes in the Middle East, region VII of the international *Meloidogyne* project. In K.R. Barker, C.C. Carter, and Sasser, J.N. (eds). An advanced treatise on *Meloidogyne*, methodology. Raleigh: North Carolina State University Graphics, 2: 373- 378

16. Khan, T.A. 1999. Studies on the toxic effect of culture filtrate of some fungi on root-knot nematode. Bionotes, 1: 38- 39.

17. Kwok, O.C.H., Plattner, R., Weisleder, D., and Wicklow, D.T. 1992. A nematicidal toxin from *Pleurotus ostreatus* NRRL-3526. Journal of Chemical Ecology, 18: 127-136.

18. Lamberti, F. 1981. Plant nematode problems in the Mediterranean region. Helminthologial Abstracts. Series B. 50: 145- 166.

19. Luc, C.M. Sikora, R.A., and Bridge, J. (eds). 2005. Plant parasitic nematodes in subtropical & tropical agricultural. CAB International, Wallinford, UK. P871.

20. Meyer, S.L.F., Massoud, S.I., Chitwood, D.J., and Roberts, D.P. 2000. Evaluation of *Trichoderma virens* and *Burkholderia cepacia* for antagonistic activity against root-knot nematode, *Meloidogyne incognita*. Journal of Nematology, 2: 871- 879.

21. Meyer, S.L.F., Huettel, R.N., Liu, X.Z., Humber, R.A., Juba, J., and Nitao, J.K. 2004. Activity of fungal culture filtrates against soybean cyst nematode and root-knot nematode egg hatch and juvenile motility. Journal of Nematology, 6: 23- 32.

22. Nitao, J.K., Meyer, S.L.F., and Chitwood, D.J. 1999. *In-vitro* assays of *Meloidogyne incognita* & *Heterodera glycines* for detection of nematode-antagonistic fungal compounds. Journal of Nematology, 31: 172- 183.

23. Nitao, J.K., Meyer, S.L.F., Schmidt, W.F., Fettinger, J.C., and Chitwood, D.J. 2001. Nematode-antagonistic trichothecenes from *Fusarium equiseti*. Journal of Chemical Ecology, 27: 859- 869.

24. Palizi, P. MohammadiGoltapeh, E., Pourjam, E., and Safaie N. 2009. Potential of oyster mushrooms for the biocontrol of sugar beet nematode (*Heterodera schachtii*). Journal of Plant Protection Research, 49: 27- 33.

25. Perry, R.N., Twomey, U., Rolfe, R.N., and Warrior, P. 2000. Effects of DiTera® on aspects of the life cycle of *Globodera rostochiensis.* Aspects of Applied Biology, 59: 53- 58.

26. Randhawa, N., Singh, P., Sandhu, K.S., and Bhatia, A. 2001. Effect of culture filtrates of soil fungi on hatching of *Meloidogyne incognita*. Plant Disease Research, 16: 280- 282.

27. Sharma, D.D. 1999. Effect of culture filtrates of biocontrol agents on larval mortality of *Meloidogyne incognita*, in comparison with Rugby 10G. Indian Journal of Sericulture, 38: 152- 154.

28. Siddiqui, I.A., and Ehteshamul-Haque, S. 2001. Suppression of the root- knot disease complx by *Pseudomonas aeruginosa* in tomato: the influence of inocolum density, nematode populations, moisture & other plant associated bacteria. Plant Soil, 237: 81- 89.

29. Stirling, G.R. 1991. Biological Control of Plant Parasitic Nematodes, Progress, Problems & Prospects. CAB International, pp: 282.

30. Twomey, U., Warrior, P., Kerry, B.R., and Perry, R.N., 2000. Effects of the biological nematicide, DiTera®, on hatching of *Globodera rostochiensis* and *G. pallida.* Nematology, 2: 355- 362.

31. Twomey, U., Rolfe, R.N., Warrior, P., and Perry, R.N. 2002. Effects of the biological nematicide, DiTera®, on movement and sensory responses of second stage juveniles of *Globodera rostochiensis*, & stylet activity of *G. rostochiensis* & fourth stage juveniles of *Ditylenchus dipsaci*. Nematology, 4: 909- 915.

32. Wang, L.F., Yang, B.J., and L.I, C.D. 1999. Evaluation of pathogenicity of parasitic fungi to root-knot nematodes. Scientia Silvae Sinicae, 35: 41- 47.

33. Warrior, P., Rehberger, L.A., Beach, M., Grau, P.A., Kirfman, G.W., and Conley, J.M. 1999. Commercial development & introduction of DiTera®, a new nematicide. Pesticide Science, 55: 376- 379.