تقويم الكفاءة الافتراسية لبعض الفطريات الصائدة للنيماتود ضد نيماتود تعقد الجذور *Meloidogyne javanica*

كامل سلمان جبر علي ابراهيم حمادي عادل عدنان علي
كلية الزراعة-جامعة بغداد كلية العلوم-جامعة بغداد

المستخلص

أجري هذا البحث لتقويم الكفاءة الافتراسية لبعض الفطريات الصائدة للنيماتود وتحديد آلية تأثيرها على نيماتود تعقد الجذور *Meloidogyne javanica* أظهرت النتائج اختلاف الكفاءة الافتراسية للانواع المختبرة وهي *Arthrobotrys oligospora Fres.* و *A. conoides Drechsler* و *A. arthrobotryoides (Berlese) Lindau* و *A.cladodes Drechsler* و *Nematoctonus haptocladus Drechsler* و *N. robustus Jones* و *Dactylaria candida (Nees:Fr.) Schenck,Kendrick&Pramer* و *Dactylella brochopaga Drechsler* و *D. lepyospora* و *Monacrosporium eudermatum* و *Monacrosporium sp.* بعد 9و18 يوما من الحضن فقد تراوحت اعداد النيماتود المقتولة في معاملات جميع الفطريات من 30.0-99.33و36.66-100.00نيماتودا بعد 9و18 يوما على التتابع. وقد تفوق الفطر *A. oligospora* معنويا على بقية الانواع الفطرية الاخرى ولكنه لم يختلف معنويا عن النوع *D. brochopaga* في حين اظهر الفطر *A. cladodes* أقل كفاءة افتراسية. اما فيما يخص تأثير عمر المستعمرات الفطرية في الكفاءة الافتراسية فقد اعطت المستعمرات بعمر 18يوما كفاءة افتراسية اعلى وبشكل معنوي من المستعمرات بعمر 9ايام وان اعلى كفاءة افتراسية ابداها الفطر *A. oligospora* عند عمر 18 يوما. اذ كان معدل اعداد النيماتود المقتولة في معاملته 100 تلاه الفطر *D. brochopaga* بمعدل قتل 98.66 في حين اظهر الفطر *A. cladodes* بعمر 9أيام أقل كفاءة افتراسية اذ ان معدل افراد النيماتود المقتولة في معاملته 30 .كما أظهرت النتائج ان راشح المزرعة النقية للفطر *A. oligospora* لم تؤثر في نيماتود تعقد الجذور، في حين أظهر مستخلص النيماتود المصابة بخمسة عزلات من الفطر *A. oligospora* كل على انفراد بعد 12و24ساعة ارتفاعا معنويا في اعداد النيماتود المقتولة. فقد تراوحت اعداد النيماتود المقتولة في معاملات العزلات الخمسة 95.00-96.66 و 100نيماتود للفترتين على التعاقب مقارنة بمعاملة القياس التي كانت الاعداد المقتولة في معاملتها 2.33و2.66 للفترتين على التعاقب. كما اظهرت نتائج تقويم فعالية خمسة مواد وهي عائق النيماتود والماء المقطر ومحلول الكحول الاثيلي 2% وهيدروكسيد الصوديوم 0.1عياري والوسط الزرعي water agar في استحثاث ادوات الاصطياد في الفطر *A. oligospora* ،أن جميع المواد حفزت تكوين المصائد وكان الاكفأ بينها عائق النيماتود.

Th Iraqi Journal of Agricultural Science 39 (4) : 15-24 (2008) Juber et.al

EVALUATION THE PREDACITY EFFICIENCY OF SOME NEMATODE-TRAPPING FUNGI AGAINST ROOT-KNOT NEMATODE *MELOIDOGYNE JAVANICA*

K.S.Juber A.I.Hamadi A.A.Ali
College of Agriculture, University of Baghdad College of Science-University of Baghdad

Abstract

This experiment was conducted to evaluate the predacity efficiency for some nematode-trapping fungi and determine their mechanism of effects on root-knot nematode *Meloidogyne javanica.* The results showed the differences between the tested species *Arthrobotrys oligospora Fres. ,A. conoides Drechsler ,A. arthrobotryoides (Berlese) Lindau, A.cladodes Drechsler* و *Nematoctonus haptocladus Drechsler , N. robustus Jones, Dactylaria candida (Nees:Fr.) Schenck,Kendrick&Pramer, Dactylella brochopaga Drechsler. D. lepyospora, Monacrosporium eudermatum, Monacrosporium sp.* In the predacity efficiency after 9 and 18days of inoculation, the number of killed nematode in the treatments of all fungi ranged 30.0-99.33 and 36.66-100.00 nematode after 9 and 18 days respectively. *A. oligospora* was significantly superior than the rest other fungi, but it wasn't significantly differ from *D.brochopaga*, while *A. cladodes* showed lower predacity efficiency. In the effect of fungal colony age in the predacity efficiency, the results revealed that the 18days colony age gave significantly higher predacity efficiency from 9days colony age and the fungus *A. oligospora* gave the highest predacity efficiency after 18days, the number of killed nematode in its treatment 100, followed by the fungus *D. brochopaga* with 98.66 mean number of killed nematode, while the fungus *A. cladodes* in the age of 9 days showed less predacity efficiency with 30 mean number of killed nematode in its treatment. The results showed that the pure filtrate of *A. oligospora* doesn't affect the root-knot nematode, while the extract of the infected root-knot nematode with five isolates of *A. oligospora* individually revealed significantly higher number of killed nematode after 12 and 24h of inoculation, the number of killed nematode in the treatments of the five isolates ranged 95.00-96.66 and 100.00nematode for the two periods respectively, compared with 2.33 and 2.66 number of killed nematode in the control treatment for the two periods respectively. Results of evaluations of five materials (nematode suspension, distill water, 2%ethanol alcohol, 0.1 sodium hydroxide and water agar) in the induction of trapping devices in the fungus *A. oligospora* also showed that all the materials induced formation of the traps, and the nematode suspension was the most efficient between them

Part of M. Sc. thesis of the third author البحث مستل من رسالة ماجستير للباحث الثالث

المقدمة

تعد الفطريات من أهم الأعداء الطبيعية للنيماتود والتي يطلق عليها Nematophagous fungi وتشمل الفطريات الصائدة للنيماتود والفطريات المتطفلة داخلياً والفطريات المتطفلة على البيض والحوصلات(22،30،32،37). تشكل الفطريات الصائدة للنيماتود مجموعة من الكائنات الدقيقة التي تعيش بصورة رمية تتحول الى الطور الإفتراسي تحت ظروف بيئية معينة ، كوجود النيماتود، مكونة تراكيب محورة متخصصة قد تكون لاصقة أو غير لاصقة ، تسمى أدوات الإصطياد. تختلف المصائد التي تكونها الفطريات الصائدة للنيماتود بأختلاف الأنواع الفطرية (19،36)، وتعد الحلقات المتقلصة هي أكثر الأدوات تعقيداً. وهناك أنواع أخرى من هذه المصائد ، مثل الخيوط الفطرية اللاصقة التي تكونها الفطريات الواطئة التابعة لصف Zygomycetes مثل الفطر *Stylopage grandis* ، والفروع اللاصقة التي يكونها الفطر *Monacrosporium gephyropagum* ، والعقد اللاصقة كما في الفطر *Dactylella leptospora* ، والشباك اللاصقة للفطر *Arthrobotrys oligospora* ، والحلقات غير المتقلصة كما في الفطر *Dactylaria candida* ، قسم من الفطريات تكون مصائد من نوع واحد ، وقليل منها يكون أكثر من نوع من المصائد مثل الفطر *D. leptospora* والفطر *D. candida* اللذان يكونان عقداً لاصقة وحلقات غير متقلصة في الوقت نفسه Predators (5،10، 26،29،31،34). فيما يتعلق بالتخصص العائلي في أفتراس النيماتود ، فتشير الدراسات الى أن أغلب الفطريات المفترسة للنيماتود تهاجم جميع النيماتود الخيطية الشكل (اليرقات والبالغات) تقريباً ، أي لا يوجد تخصص عائلي في الإصابة ، ولكنها تختلف فيما بينها في شدة أفتراسها للنيماتود ، (7،23،27،31). ويعود سبب أختلاف هذه الفطريات في شدة الأفتراس ، الى أختلاف طبيعة الأنزيمات والسموم التي تنتجها تلك الفطريات (21،25)، إذ لوحظ أن إضافة هذه الفطريات الى التربة قد أدى الى خفض الأضرار المتسببة عن النيماتود الممرضة للنبات(13،14،18،23). كما تعزى محدودية الأضرار التي يحدثها النيماتود في المحاصيل الزراعية في كثير من البيئات والمناطق المختلفة من العالم الى دور الفطريات المفترسة للنيماتود في الحد من مجتمعات النيماتود في التربة (35) . ولغرض أستعمال هذه الفطريات في المكافحة الأحيائية ، لابد من دراسة الكفاءة الأفتراسية لها في المختبر ، لتحديد الأنواع الأكثر كفاءة (24). تنمو معظم الفطريات المفترسة للنيماتود بشكل رمي في البيئة التي تخلو من النيماتود . ففي المزارع النقية لا تتكون أدوات الإصطياد في الفطريات المفترسة ، خاصة الشباك اللاصقة، ولكن بإضافة قطرات من الماء الحاوي على النيماتود أو المواد المشتقة منها ، أو إضافة مركبات أخرى من أصل حيواني مثل مصل الدم ومستخلص ديدان الارض فأن ذلك يؤدي الى تكوين المصائد بغزارة (5) ولوحظ أن إضافة راشح الوسط الذي تنمو فيه النيماتود الى مزرعة نقية للفطر المفترس أدى الى الحث على تكوين المصائد (3،9،31). ولأهمية نيماتود تعقد الجذور كأحد المسببات المرضية المهمة في العديد من العوائل النباتية وللدور الذي تلعبه الفطريات الصائدة للنيماتود في خفض اعدادها ولندرة الدراسات في القطر حول هذا الموضوع هدفت هذه الدراسة الى تقويم الكفاءة الافتراسية وألية التأثير لبعض الفطريات الصائدة للنيماتود.

المواد وطرائق العمل

مصادر الاحياء المستخدمة

تم الحصول على الفطريات المفترسة للنيماتود *Arthrobotrys oligospora* Fres. و *A. conoides* Drechsler و *A. arthrobotryoides* (Berlese) Lindau و *A.cladodes* Drechsler و *Nematoctonus haptocladus* Drechsler و *N. robustus* Jones و *Dactylaria candida* (Nees:Fr.) Schenck,Kendrick&Pramer و *Dactylella brochopaga* Drechsler و *D. lepyospora* و *Monacrosporium eudermatum* و *Monacrosporium sp.* بعزلها من التربة بأستخدام يرقات النيماتود كطعوم وفقا لطريقة Drechsler(11) حضرت اطباق بتري تحتوي 15-20مل من الوسط الزرعي الاكر المائي Water Agar(10غم أكر تضاف الى لتر ماء). أضيف لها عالق يرقات النيماتود *M. javanica* بمعدل

1000يرقة/طبق ووضعت الاطباق في الحاضنة تحت درجة حرارة 25±1 وفي اليوم التالي نثرت عليها عينات التربة التي جمعت من المناطق الزراعية التي شملت بساتين الفاكهة والخضر والمحاصيل والترب الملاصقة لاكوام المخلفات الحيوانية، بمعدل 1غم/طبق وبعد 5أيام فحصت الاطباق تحت المجهر المركب وبقوى تكبير مختلفة وشخصت الانواع الفطرية الصائدة للنيماتود اعتمادا على نوع وشكل ادوات الاصطياد والصفات المظهرية للابواغ الكونيدية والحوامل الكونيدية وبأتباع المفتاح التصنيفي الذي وضعه (8). أما يرقات نيماتود تعقد الجذور *Meloidogyne javanica* فقد استخلصت من التربة بأستخدام طريقتي المنخل وقمع بيرمان(1).

1- تقييم الكفاءة الإفتراسية للفطريات المفترسة للنيماتود ضد النوع *Meloidogyne javanica*

أستعملت في هذا الأختبار المزارع الفطرية لاحدى عشر نوعا من الفطريات المفترسة للنيماتود التي ذكرت في الفقرة السابقة. نميت على الوسط الزرعي الخاص الذي حضر بجلب 20 دودة ارض كبيرة الحجم الى المختبر وعقمت سطحيا بأستعمال محلول هيبوكلوريت الصوديوم 1%كلور حر لمدة 1.5دقيقة ثم غسلت بالماء المقطر المعقم ووضعت في خلاط كهربائي وسكب عليها 50مل ماء مقطر معقم. خلطت المحتويات لمدة 1.5دقيقة على السرعة القصوى. سكب العالق على ورقة ترشيح Whatman No.1 الموضوعة على قمع بخنر وبمساعدة جهاز التفريغ الكهربائي Air vaccum . مرر الراشح من خلال مرشح دقيق Millipore قطر فتحته0.45 مايكروميتر للحصول على راشح معقم. أضيف الراشح الى الوسط الحاوي على 2غم KH2PO4 و0.05غم MgSO4.7H2O و500000يرقة نيماتود و5غم أكر و950 من ماء مقطر بعد تعقيمه بالموصدة عند درجة حرارة 121°م وضغط 1.5 كغم/سم^2 ، لمدة 20دقيقة وبعد ان برد الى درجة حرارة45°م أضيف له 50ملغم من المضاد الحيوي Streptomycin وصب في اطباق بتري زجاجية بواقع 15-20مل/طبق ولقحت بالفطريات التي ذكرت اعلاه. وحضرمنها مستعمرات بعمر9و18 يوما،أضيف 100يرقة حية/طبق لكل نوع فطري واستعملت ثلاث مكررات لكل معاملة، فضلاً عن معاملة المقارنة (نيماتود من دون فطر). ولغرض تجهيز الأطباق بالعدد المعلوم من النيماتود ، أستعملت شريحة عدّ النيماتود 1ml eelwarm counting slide (20) أذ تم أخذ 1 مل من عالق النيماتود ووضعت على الشريحة التي مرت على اللهب لتثبيط حركة النيماتود ، وحسبت أعداد النيماتود في الشريحة ، وأستعملت 3 مكررات لكل قراءة وأخذ المعدل وعُدّل التركيز في العالق الأصلي الى 100 يرقة/1 مل ، وتم تقييم الكفاءة الأفتراسية للفطريات المفترسة المختلفة عن طريق حساب عدد أفراد النيماتود الحية والمقتولة بالفطر تحت المجهر وحساب النسبة المئوية للقتل الحاصل في أفراد مجتمع النيماتود في الأطباق بعد 72 ساعة من الحضن عند درجة حرارة 25±1 م° .

2- تأثير راشح الفطر *Arthrobotrys oligospora* في نيماتود تعقد الجذور *Meloidogyne javanica*

لإجراء هذا الإختبار أستعملت دوارق زجاجية سعة 300 مل تحوي 100 مل من الوسط الزرعي السائل(16) المكونة من:

Glucose	10 g
KH2PO4	1.0 g
MgSO4.7H2O	0.2 g
FeCl3	0.02 g
Asparagines	2.0 g
Yeast extract	2.0 g
Distilled water	1 L

عقم الوسط الزرعي في الموصدة عند درجة حرارة 121م° وضغط 1.5 كغم/سم^2 لمدة عشرين دقيقة ، بعدها لقحت الدوارق بإضافة قرص واحد قطر 5 ملم من المزرعة النقية للفطر *Arthrobotrys oligospora* المنمى على وسط الكايتين المحضر وفقا لطريقة(28) بعمر 2 أسبوع لكل دورق وحضنت عند درجة حرارة 25±1 م° لمدة 21 يوما . رشحت بعد ذلك المزارع الفطرية بأستعمال ورق ترشيح Whatman No.1 وبأستعمال قمع بخنر بمساعدة جهاز التفريغ الهوائي ، مرر الراشح من خلال مرشح دقيق Millipore (0.45µm) للحصول على راشح معقم ، وحضرت تراكيز 20,40,60 % عن طريق التخفيف بالماء المقطر المعقم . أجريت الخطوات نفسها على راشح الوسط السائل من دون فطر (المقارنة) ، وتم معاملة الأطباق الحاوية

على النيماتود الحية بالتراكيز المختلفة بواقع ثلاثة مكررات لكل معاملة.

3- تقييم تأثير مستخلص النيماتود المصابة ببعض عزلات الفطر *Arthrobotrys oligospora* في النيماتود الحية :

حضر مستخلص النيماتود بوضع 4 اطباق حاوية على النيماتود المصابة بكل عزلة من عزلات الفطر *A. oligospora* المنماة على الوسط W.A في دوارق زجاجية سعة 300مل وأكمل الحجم الى 100مل بأضافة الماء المقطر، رجت الدوارق جيدا ثم وضع العالق في خلاط كهربائي وخلط على السرعة القصوى لمدة نصف دقيقة للحصول على عالق متجانس لمستخلص النيماتود المصابة بالفطريات. وأستعمل في هذا الأختبار خمس عزلات من الفطر *A. oligospora* وبواقع 3 مكررات لكل معاملة فضلاً على معاملة المقارنة (نيماتود+ ماء مقطر معقم) أضيف بضع قطرات من الراشح الى أطباق زجاجية صغيرة تحتوي كل منها 100 نيماتود ، فحصت الأطباق تحت القوة الصغرى للمجهر المركب بعد مدة 6 ، 12 و 24 ساعة ، لملاحظة تأثير الراشح في النيماتود الحية ، وحساب أعداد النيماتود المقتولة أن وجدت .

4- أستحداث أدوات الإصطياد في الفطر *A. oligospora* :

أ. بإضافة قطرات من عالق النيماتود :

أستعملت في هذه التجربة أطباق زجاجية قطر 9 سم حاوية على الوسط W.A وأضيف لها قطرات من عالق النيماتود، نقلت قطعة دائرية بقطر 5 ملم من المزرعة النقية للفطر *A. oligospora* بعمر سبعة ايام الى وسط كل طبق وحضنت الأطباق عند درجة حرارة 25±1 مْ وبعد 24 ساعة تم فحص الأطباق بالمجهر لمشاهدة أدوات الإصطياد أستعملت ثلاثة مكررات فضلاً على المقارنة الخالية من النيماتود .

ب. بإضافة قطرات من ماء المطر :

أستعمل في هذه التجربة وسط W.A في أطباق زجاجية قطر 9 سم . أضيف له بضع قطرات من ماء المطر ونقل إليها قرص بقطر 5 ملم من المزرعة النقية للفطر *Arthrobotrys oligospora* لكل طبق(33)، حضنت الأطباق عند درجة حرارة 25±1 مْ وفي اليوم التالي فحصت الأطباق تحت القوة الصغرى للمجهر المركب لمشاهدة أدوات الاصطياد .

ج. بإضافة قطرات من محلول 2% كحول أثيلي (33).

د. بإضافة قطرات من محلول (0.1N NaOH) (7.8-7.5PH) (33).

وفي التجربتين (ج ، د) أستعملت نفس طريقة عمل التجربة (ب) بأستثناء أختلاف المواد المعاملة .

هـ. تنمية الفطريات في وسط فقير جداً : في هذه التجربة أستعملت أطباق بتري الزجاجية 9 سم تحوي على طبقة خفيفة جداً 5 مل من وسط ضعيف W.A وتم نقل قرص بقطر 5 ملم من مزرعة الفطر *Arthrobotrys oligospora* النقية وبعد 24 ساعة من الحضن عند درجة 25±1 مْ تم فحص الأطباق تحت المجهر .

وفي جميع التجارب أعلاه ، أستعملت ثلاثة مكررات لكل معاملة فضلاً على المقارنة .

النتائج والمناقشة :

1-الكفاءة الإفتراسية للفطريات المفترسة للنيماتود الممرضة للنبات :

أوضحت النتائج (جدول1) اختلاف الكفاءة الافتراسية للانواع الفطرية المختلفة إذ تفوق الفطر *A. oligospora* على بقية الفطريات وبشكل معنوي ، ولم يختلف معنوياً عن الفطر *Dactylella brochopaga* ، في حين أظهر الفطر *A. cladodes* أقل كفاءة أفتراسية. وأعطت المستعمرات بعمر 18 يوماً كفاءة أفتراسية أعلى من المستعمرات بعمر 9 ايام. وأن أعلى كفاءة أفتراسية قد أبداها الفطر *A. oligospora* لكلا العمرين أذ كانت معدلات أعداد النيماتود المقتولة 100 و99.66 على التوالي ، والتي لم تختلف معنوياً عن الفطر *D. brochopaga* عند عمر 18 يوماً الذي سبب قتل معدل 98.66 من أفراد النيماتود. وأظهر الفطر *A. cladodes* أقل كفاءة أفتراسية وبفارق معنوي مع بقية الأنواع ، أذ كان معدل أفراد النيماتود المقتولة 30و36 لكلا العمرين على التوالي وبفارق معنوي بينهما وتفوقت المستعمرات بعمر 18 يوماً على المستعمرات بعمر 9 أيام ، حيث كان معدل اعداد النيماتود المقتولة 78.30 و 74.52 على التوالي(جدول 1). وقد تعزى الكفاءة الافتراسية العالية للفطرين *A.oligospora* والفطر *D.brochopaga* ، كون ان الفطر الاول يتميز بشباكه اللاصقة التي تفرز مواد جاذبة

قوية التأثير وبشكل مثير للانتباه وهذا ما لوحظ خلال الفحص المجهري المستمر في هذه الدراسة (شكل ب)، اذ لوحظ بأن النيماتود الموجودة في الوسط تنجذب بشدة الى الفطر ، وهي التي تسعى في حركتها نحو حلقات الشباك اللاصقة ، وهذا مايفسر الكفاءة الافتراسية العالية لهذا الفطر بغض النظر عن عمر المستعمرة الفطرية وغزارة النمو الفطري ، في حين ان بقية الفطريات الاخرى وان كان بعضها يفرز مواد جاذبة فأن مدى تأثيرها يكون محدود جداً وتكاد تتركز فقط في اداة الاصطياد ، وعليه فأن اصطياد النيماتود في هذه الانواع الفطرية يعتمد غالباً على عامل الصدفة، وهذا ماقد يفسر تفوق المستعمرات الفطرية بعمر 18 يوماً.

جدول 1. كفاءة مستعمرات الفطريات المفترسة بعمر 9 ، 18 يوماً في أفتراس *Meloidogyne javanica* يرقات النيماتود

الفطريات	أعداد النيماتود المفترسة من قبل المستعمرات الفطرية بعُمر/ يوم		المعدل
	9	18	
Arthrobotrys oligospora Fres.	99.33	100	99.66
A. conoides Drechsler	90.66	93.00	92.00
A. arthrobotryoides (Berlese) Lindau	31.33	37.00	34.16
A.cladodes Drechsler	30.00	36.66	33.33
Nematoctonus haptocladus Drechsler	75.66	80.00	77.83
N. robustus Jones	85.33	63.00	60.66
Dactylaria candida (Nees:Fr.) Schenck,Kendrick&Pramer	79.66	85.66	82.66
Dactylella brochopaga Drechsler	96.33	98.66	97.30
D. lepyospora	80.00	85.66	82.83
Monacrosporium eudermatum	88.33	91.66	90.00
Monacrosporium sp.	85.33	90.00	87.66
المعدل	74.05	78.33	
L.S.D 0.05	1.117		

كل رقم يمثل معدل 3 مكررات .

على المستعمرات بعمر 9 أيام ، اذ ان غزارة النمو الفطري في الوسط يعني احتمالية أعلى لإصطياد عدد اكبر من افراد النيماتود ، فكلما امتدت الخيوط الفطرية في الوسط بشكل اكثر ومن ثم زيادة اعداد ادوات الاصطياد كلما زاد من احتمالية الامساك بالنيماتود وهذا ما لوحظ من خلال الفحص المجهري المتواصل لساعات وايام وشهور . أما بالنسبة للفطر *D. brochopaga* والذي اظهر كفاءة افتراسية عالية عند عمر 18 يوماً والتي لم تختلف معنويا مع الفطر *A. oligospora* عند كلا العمرين 9،18 يوماً فيعزى الى تكوينه للحلقات المتقلصة والتي تعد من اكثر أدوات الاصطياد كفاءة(شكل 1أ) ، ولكن قوة جذبها للنيماتود اقل من قوة جذب الشباك اللاصقة للفطر *A. oligospora* وهذه النتائج تنطبق مع نتائج الدراسات السابقة (5،32). ان التصاق النيماتود بأدوات الاصطياد الفطرية يعتمد على ارتباط الـ glycoprotein

الموجود على سطح الفطر مع الكاربوهيدرات الموجودة على أدمة النيماتود والتي تعد جزيئات مكملة بعضها بعضاً، وأن أحد أنواع الـ glycoprotein هو lectin والذي بارتباطه مع الكاربوهيدرات ، مثل Sialic acid و -N(GalNAc) acetyl-D-galactosamine فأنه يؤدي الى تكتل الخلايا والتصاقها مع بعض بقوة (32،31). كما اظهرت النتائج انه ليس هنالك علاقة بين ستراتيجية التكاثر لهذه الفطريات وقابليتها على افتراس النيماتود ، فالانواع الاكثر انتاجا للكونيدات ليس بالضرورة ان تكون ذات كفاءة افتراسية عالية مقارنة بالانواع الاقل انتاجا للكونيدات فعلى سبيل المثال لا الحصر ، فقد لاحظنا بأن الفطر *A. cladodes* ينتج عدداً كبيراً من الكونيدات مقارنة مع غيره من كثير من الانواع الاخرى ولكنه مع ذلك كان اقل كفاءة افتراسية . وقد أشار (24) ايضاً ، الى أنه ليس بالضرورة ان تكون الانواع الاكثر انتاجاً للكونيدات هي الاكثر كفاءة في افتراس النيماتود .

2-تقييم تأثير راشح الفطر *A.oligospora* في النيماتود الحية :

اظهرت نتائج هذه الدراسة، بأن راشح المزرعة النقية للفطر *A.oligospora* لم يؤثر في نيماتود تعقد الجذور *Meloidogyne javanica* اذ ان الفطر يفرز المادة السامة ، و التي يعتقد حديثا بانها مادة Subtilisin وهي من مشابهات Serine Protease ، فقط عند أصابته للنيماتود ، أذ تحقن داخل جسم النيماتود ، وعند موتها و تحللها ، فأن السم يفرز الى الوسط (2). وبينت نتائج هذا الاختبار ، بأن تأثير راشح الفطر في النيماتود الحية ، لم يختلف عن نتائج معاملة المقارنة (نيماتود + ماء مقطر معقم) . وهذه النتائج تتطبق مع نتائج الدراسات السابقة (17،16). ونعتقد بأن المادة السامة مرتبطة بتكوين ادوات الاصطياد . اذ ان الفطر *A.oligospora* لا يكون المصائد في المزارع النقية بغياب النيماتود ، لذلك فأن مستخلص المزرعة النقية يكون غير سام للنيماتود ، على العكس من فطريات مفترسة للنيماتود اخر مثل *A.dactyloides* الذي يكون مصائد في المزارع النقية كما اشارت (32) لذلك فأن مستخلص المزرعة النقية للفطر *A.dactyloides* يؤدي الى قتل النيماتود بعد 12،24،48 ساعة و حسب تركيز المادة السامة (3)، وهذا ايضاً ما قد يفسر لنا بان الفطريات التي لاتكون ادوات اصطياد متخصصة ، ولكن الخيوط الفطرية نفسها تكون لاصقة ، مثل الفطرين *Stylopage* و *Cystopage* ، فان فرائسها من النيماتود ، لاتموت بسرعة بل تستغرق و قتاً طويلاً نسبياً ، لانها لا تفرز مواد سامة في فرائسها من النماتود ، فقد يكون السبب هو عدم تكوينها لادوات اصطياد متخصصة .

3- تقييم تأثير مستخلص النيماتود المصابه ببعض عزلات الفطر *A.oligospora* في النيماتود الحية :

أظهرت النتائج(جدول2) الى ان مستخلصات النيماتود المصابة بجميع العزلات، لم تؤثر في النيماتود الحية بعد6 ساعات من معاملة النيماتود، و لم تختلف معنوياً عن معاملة المقارنة ، اذ ان الافراد القليلة الميتة من النيماتود يمكن ان يعزى سبب موتها الى عوامل اخرى ، منها الموت الطبيعي مثلاً . وان تأثير المادة السامة لم يظهر على النيماتود خلال مدة 6 ساعات و قد يكون السبب هو قلة تركيز المادة السامة ، اذ ان التركيز العالي للسم (عند التصاق النيماتود بالشبكة اللاصقة مباشرة) يؤدي الى قتل النيماتود بوقت قصير نسبياً وكما لوحظ في الاطباق المفحوصة ، وهذا الوقت تراوح بين 50-60 دقيقة ، اما التركيز القليلة فانها تستغرق مدة اطول ،أمابعد 12 ساعة فقد أظهر مستخلص النيماتودا المصابة بجميع العزلات ارتفاعا معنوياً في اعداد النيماتود المقتولة فقد تراوحت اعداد النيماتود المقتولة 95.00-96.66 نيماتود في حين كان في معاملة المقارنة 2.33نيماتود وهذه النتيجة تتطبق مع ما ذكر كل من (3) اذ وجدا بان تركيز 8-9 ميكروغرام /مل ماء من كاربونات الامونيوم تؤدي الى قتل النيماتود خلال 12 ساعة.

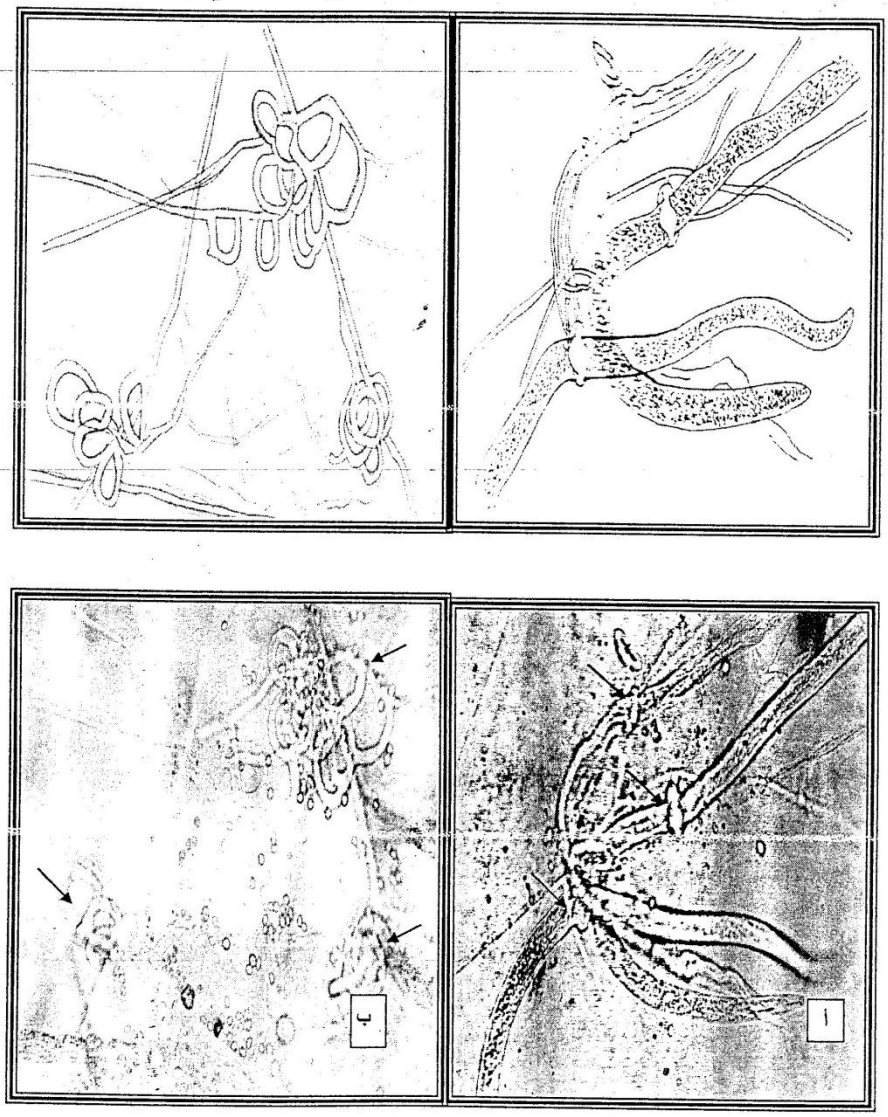
جدول .2. تأثير مستخلص النيماتود المصابة ببعض عزلات الفطر *A. oligospora* في نيماتود تعقد الجذور *Meloidogyne javanica* الحية خلال مدد من الزمن

العزلات	أعداد النيماتود المقتولة بعد / ساعة			المعدل
	6	12	24	
A1	2.66	96.33	100.00	66.33
A2	2.00	96.66	100.00	66.22
A3	2.66	96.33	100.00	66.33
A4	3.00	95.00	100.00	66.00
A5	2.33	96.33	100.00	66.22
المقارنة	2.00	2.33	2.66	2.33
LSD0.05	0.77	0.79	0.26	0.36

ويعتقد بأن المادة السامة المسؤولة عن قتل النيماتود ، هي الامونيا وعلى الرغم من اثبات تأثير الامونيا القاتل في المختبر ، الا ان هناك احتمال بوجود مواد سامة اخرى ، الا ان ذلك مازال يحتاج الى مزيد من الدراسة، كما اشار الى ذلك (32) كما بينت نتائج هذه الدراسة بان العزلات جميعها لم تختلف فيما بينها في تأثيرها في النيماتود بعد 24 ساعة أذ أدت الى قتل كل افراد النيماتود في الاطباق بعد 24 ساعة ، و اظهرت اختلافاً معنوياً كبيراً عن معاملة المقارنة 2.66، ويلاحظ من خلال هذه نتائج بان الفطر *A.oligospora* يفرز المادة السامة بعد اصابته للنيماتود ، أذ أن مستخلص المزارع النقية للفطر والخالية من النيماتود ، لا يؤثر في النيماتود الحية . وهذه نتائج تتفق مع ماوجده (5) .

4- أستحثاث تكوين أدوات الأصطياد في الفطر *A.oligospora* :

بينت نتائج هذه الدراسة ، أن هناك عدة عوامل تؤدي الى تحفيزتكوين المصائد Traps في بعض الفطريات المفترسة للنيماتود مثل الفطر *A.oligospora* ، أذ أن هذا الفطر لا يكون أدوات الأصطياد في المزارع النقية الخالية من النيماتود ، بينما في المزارع الملوثة وبوجود النيماتود تتكون المصائد وكما لوحظ في هذه الدراسة. ولوحظ عند نقل قطعة من المزرعة النقية بقطر 5 ملم ووضعها في وسط W.A يحوي على بضع قطرات من عالق النيماتود ، أدى ذلك الى تحفيز تكوين المصائد(شكل 1ب) ، وهذه النتيجة تتطبق مع نتائج الدراسات السابقة (4،15،25،31،32). كما أشارت النتائج أيضاً أن كل من الماء المقطر ، الكحول الأثيلي 2% و NaOH عيارية 0.1 لها نفس تأثير النيماتود ، أذ أدت الى تحفيز تكوين المصائد عند نقل قطع من المستعمرة النقية للفطر *A.oligospora* الى كل من أوساط W.A الحاوية على كل من المواد المذكورة أعلاه ، تكونت المصائد ، وهذه النتائج تتطبق مع نتائج الدراسات السابقة التي اجرها (33).ولوحظ أن أستحثاث تكوين المصائد بوجود النيماتود كان بدرجة أكبر ، مقارنة مع بقية العوامل الاخرى. كما بينت نتائج هذه الدراسة بأن وجود الفطر في بيئة فقيرة جداً يؤدي الى تحفيزه على تكوين المصائد وهذا ينطبق مع ما توصل إليه (4).



شكل.1. أدوات الاصطياد للفطرين *Dactylella brochopaga* و *Arthrobotys oligospora*

أ- الحلقات المتقلصة للفطر *D. brochopaga*

ب- الشباك الثلاثية الابعاد للفطر *A. oligospora*

المصادر

1. البياتي، عادل عدنان علي. 2005. التحري عن الفطريات المفترسة للنيماتود المتطفلة على النبات في بعض ترب المنطقة الوسطى من العراق. رسالة ماجستير- قسم وقاية النبات – كلية الزراعة- جامعة بغداد. 116 اصفحة.

2.Ahmed. A.M. 2002. Nematoxin. (from internet). www.nematophage.palze.de/nplit.htm.

3.Balan, J. and N. Gerber . 1972 . Attraction and killing of the nematode Panagrellus redivivus by the predaceous fungus Arthrobotrys dactyloides . Nematologica 18 : 163 – 173 .

4.Balan, G. and J. Lechevalier. 1972. The predaceous fungus Arthrobotrys dactyloides : Induction of trap formation. Mycologia 64: 919-922.

5.Barron, G.L. 1977. The Nematode – Destroying Fungi. Topics in Mycobiology No 1 , Canadian Biological Publication , Guelph .Ont./ Canada . 140 PP.

6.Belder ,M. 1994 . Trapping of Root – knot Nematodes by the adhesive hyphae forming fungus Arthrobotrys oligospora . (From internet) http// library . wur.nl / wda/ abstracts / ab1776. htm.

7.Cooke ,R.C. 1963 . The Predaceous activity of Nematode-Trapping Fnngi added to soil . Ann . Appl . Biol . 51: 295- 299.

8.Cooke,R.C. and B.E.S. Godfrey. 1964 . A Key to the Nematode-Destroying fungi. Trans . Brit. Mycol .Soc. 47(1), 61- 74.

9.Couch, J.N . 1937 . the formation and operation of the traps in the nematode catching fungi Dactylella bembicodes Drechsler . Jour . Elisha Mitchell Sci . Soc . 53 : 30

10. Dixon, S.M . 1952 . Predaceous fungi from rotten wood . Trans . Bri. Mycol. Soc. 35 : 144-148.

11. Drechsler, G. 1941. Some Hyphomycetes Parasitic on Free-living Terricdorus Nematodes. Phytopathology 31:773-801.

12. Drechsler, C. 1950 . Several species of Dactylella and Dactylaria that capture Free – living Nematode. Mycologia 42: 1- 79 .

13. Duddington, C.L .1955. Notes on the Technique of Handling Predaceous Fungi. Trans . Brit .Mycol . soc. 38: 97.

14. Duddington, C.L. 1962. Predaceous fungi and the control of eelworms in : Viewpoints of Biology. (eds. J.D. Carthy, and C.L. Duddington) , Butterworths, London. Pp.151-200.

15. Feder, Everard and Wootton . 1963 . Sensitivity of several species of the Nematophagous Fungus Dactylella to a morphogenic substance derived from Free-living Nematodes.Nematologica 9: 49- 54.

16. Giuma,A.y. R.C. Cooke. 1971. Nematotoxin Production by Nematoctonus haptocladus and N. concurrens . Trans . Brit . Mycol. Soc. 56(1) ; 89- 94.

17. Giuma, A.Y. and R.C. Cooke. 1972.Some Endozoic parasites on soil Nematode. Trans. Bri. Mycol. Soc.50:213- 218.

18. Godfrey, B.E. and C.M. Duthoitn .1963. Effect of green manure and predacious fungi on cereal root eelworm in oats. Plant. Path. 12: 18.

19. Gomes T.H. .2001 . In vitro interaction of Brazilian strains of the Nematode- Trapping Fungi Arthrobotrys spp. on Panagrellus sp . and cooperia punctata (From internet) www. Difd. Gov.uk

20. Goodey, T. 1963. Soil and Freshwater Nematodes. (Rev. Edn. By J. B. Goodey) . 544 pp. Mathuen & Co. Ltd. , London.

21. Gray, N.F.1983. Ecology of nematophagous fungi: Distribution and Habitat . Ann. Appl. Biol.102: 501- 509.

22. Hamadi , A. I. 1990 . Factors afflicting populations of globodera pallida (Nematoda :Heteroderiidae). Ph.D. thesis. University college of Wales. 113 PP.

23. Hams, A.F. and G.D. Wilkin. 1961 . Observation on the use of predacious fungi for the control of Heterodera spp. Ann . Appl . Biol. 49: 515.

24. Heintz , 1978 . Assessing the predacity Of Nematode- Trapping fungi in vitro .Mycologia 70 : 106 – 1100.

25. Jansson, H.B. and B. Nordbring-Hertz. 1980. Interaction between nematodephagous fungi and plant-parasitic nematodes: Attraction induction of trap formation and capture. Nematologica 26: 383-389.

26. Jansson, H.B .2004.Nematode-trappingfungi.ww.sarep.ucdaris.edu/news/sa-7.htm .

27. Kerry, B.R and D.H. Crump. 1977. Observation on Fungal parasites of females and

Eggs of the Cereal Cyst – Nematode . Heterodera avenae , and Other Cyst Nematodes . Nematologica 23 : 193 – 201.

28. Lingappa,y. and J. lockwood. 1962 Chitin media for selective isolation and culture of actinomycetes. Phytopathdogy 52: 317- 323.

29. Mankau , R.1980 . Biological control of Nematode pests by a natural enemies . Annu.Rev. phytopathol 18 : 415-440.

30. Nilsson , N. andSoderberg , H.2004. Nematode- trapping Fungi. (from internet) www.biol.lu.se/ekomibi/pub2.html.

31. Nordbring – B. Hertz. 1988. Ecology and Recognition in the nematode – nematophagons Fungus system . In : K.C .Marshall. ed. Advances in Microbial Ecology .

32. Nordbring –Hertz , B., H. B. Jansson,. and A. Tunlid .2002. Nematophagous Fungi (from internet) Encyclopedia 0f life science / www.Els.net

33. Soprunov, F.F. 1958. Predaceous fungi Hyphomycetes and their application in the control of pathogenic nematodes. Acad. Sci. Turkmen. S.S.R. Ashabad. 365 PP.

34. Stirling, G.R. 1991. Biological control of plant parasitic nematode: progress problems and prospects. Walling ford : Academic press. 282. PP.

35. Tunlid, C. and jansson, H.B.2004 . Nematophagous Fungi (from in ternet) www. sarep ucdaris . edu / news Tr/ v10n2 / sa-7htm

36. Wang, C. 2002. Nematophagous fungi. (from internet) agroecology.ifas.ufl.edu/.

37. Wang , C. . 2003 . Nematophagous fungi. (from. Internet). agro ecology.ifas.Ufl.edul/.