نشریه حفاظت گیاهان (علوم و صنایع کشاورزی)
جلد ۲۸، شماره ۳، پاییز ۱۳۹۳، ص. ۳۶۶-۳۶۱

Journal of Plant Protection
Vol. 28, No. 3, Fall 2014, P. 361-366

تأثیر آلاینده سرب بر رشد، نمو، تولید و کارآیی تله و ترشح پروتئاز *Arthrobotrys oligospora*

حدیث مصطفی نژاد[1*]- نوازاله صاحبانی[2]- فاطمه ناصری نسب[3]- سارا سیاهپوش[4]

تاریخ دریافت: ۱۳۹۲/۰۱/۳۰
تاریخ پذیرش: ۱۳۹۲/۱۲/۱۴

چکیده

در سال‌های اخیر میزان سرب در مزارع مختلف، خصوصاً در اطراف شهرها و نواحی صنعتی در حال افزایش است. در این تحقیق تأثیر غلظت‌های مختلف استات سرب بر میزان رشد، اسپورزایی، تولید و کارآیی تله و فعالیت آنزیم پروتئاز خارج سلولی قارچ *Arthrobotrys oligospora* که از مهم‌ترین قارچ‌های کنترل بیولوژیک نماتدهای بیماری‌زای گیاهی است مورد مطالعه قرار گرفت. نتایج نشان داد که درصد بازدارندگی از رشد قارچ در غلظت‌های ۵۰۰-۱۵۰ میلی‌گرم بر لیتر سرب بیش از ۸۰ درصد بوده و غلظت ۵۰۰ میلی‌گرم بر لیتر سرب بیش‌ترین درصد بازدارندگی از رشد قارچ را موجب شد. اسپوردهی قارچ در غلظت ۱۵۰ میلی‌گرم بر لیتر و بیش از این غلظت به صورت معنی‌داری کاهش یافت. کاهش تولید تله قارچ تحت تأثیر افزایش غلظت سرب نیز از دیگر دست‌آوردهای این تحقیق بود. غلظت ۲۰۰ میلی‌گرم بر لیتر و بالاتر از آن، نه تنها سبب کاهش تولید تله بلکه موجب کاهش کارآیی آن نیز گردید. غلظت ۱۰۰ میلی‌گرم بر لیتر افزایش تولید تله را به همراه داشت، که می‌تواند ناشی از القاء تولید تله بر اثر استرس مختصر باشد. تمامی غلظت‌های مورد بررسی (۳۰۰-۱۰۰ میلی‌گرم بر لیتر) کاهش معنی‌دار فعالیت پروتئاز خارج سلولی قارچ را موجب شد. به نظر می‌رسد موفقیت این قارچ در کنترل نماتدهای بیماری‌زای گیاهی تحت تأثیر فاکتورهای مختلف محیطی از جمله آلودگی و غلظت سرب در خاک بوده که قبل از استفاده از آن باید اندازه‌گیری شود.

واژه‌های کلیدی: *Arthrobotrys oligospora*، کنترل بیولوژیک، سرب، پروتئاز

مقدمه

بسیاری از قارچ‌های شکارگر نماتدها با استفاده از ساختارهای تخصصی و با بهره‌گیری از مکانیزم‌های مکانیکی و شیمیایی نماتدها را شکار می‌کنند. تعداد و عملکرد این اندام‌ها در یک قارچ به شدت تحت تأثیر شرایط محیطی و رشدی قارچ قرار دارد. قارچ *Arthrobotrys oligospora* از پر استفاده‌ترین قارچ‌های ایجاد کننده تله علیه نماتدهای بیماری‌زای گیاهی می‌باشد که نه تنها تولید شبکه چسبنده برای به دام اندازی نماتدها می‌کند، بلکه تولید حلقه های هیفی در اطراف هیف سایر قارچ‌ها و اپرسوریوم در ریزوسفر محصولات زراعی نیز می‌نماید (۱۸). فلزات سنگین گروهی از عناصر هستند که چگالی آن‌ها بیش از پنج گرم بر سانتی‌متر می‌باشد. این عناصر از جمله مهم‌ترین آلاینده‌های محیط زیست به شمار می‌آیند که در چند دهه اخیر به شدت مورد توجه قرار گرفته‌اند. هر چند این عناصر به طور طبیعی و در مقادیر بسیار کم در خاک یافت می‌شوند ولی فعالیت‌های انسان موجب افزایش غلظت این عناصر در محیط شده است (۴). برخی از فلزات سنگین از جمله روی، نیکل، آهن، مس و کبالت برای رشد طبیعی گیاهان ضروری هستند، ولی برخی از جمله جیوه، کادمیم، کروم و سرب هیچ نقش بیولوژیکی شناخته شده‌ای به عنوان مواد غذایی، ساختاری یا فیزیولوژیکی نداشته و حتی مقادیر کمی از آن‌ها نیز برای بسیاری از میکروارگانیزم‌ها، جانوران، گیاهان و حتی انسان سمی بوده و سبب پاره‌ای اختلالات فیزیولوژیکی می‌گردند (۱۷). از جمله اثرات فلزات سنگین در خاک، کاهش جمعیت (۱۲) و تغییر در ساختار و نوع ترکیب جمعیتی میکروارگانیزم‌های خاک (۲۰) می‌باشد.

سرب یکی از مهم‌ترین فلزات سنگین و سمی است که عمدتاً در سنگ‌ها، خاک و گیاهان وجود دارد (۷). از بین فرم‌های ترکیبی مختلف فلز سرب، استات و نیترات فراوانی و اهمیت بیش‌تری دارند. افزایش این فلز در خاک اثر سوء بر حاصلخیزی خاک داشته و حتی غلظت‌های پایین آن می‌تواند از برخی فرآیندهای حیاتی گیاهان از جمله فتوسنتز، تقسیم میتوز و جذب آب جلوگیری کرده و پژمردگی

۱، ۲، ۳ و ۴- به ترتیب دانشجوی کارشناسی ارشد، دانشیار و دانشجویان سابق کارشناسی ارشد گروه گیاهپزشکی، پردیس ابوریحان، دانشگاه تهران
(*- نویسنده مسئول: Email: h.mostafanezhad@yahoo.com)

برگ‌های پیر، کوتولگی و قهوه‌ای شدن ریشه‌ها را موجب شود (۱۹).

میانگین غلظت سرب در قشر پوسته زمین حدود ۱۵ میلی‌گرم بر کیلوگرم است. غلظت سرب در خاک‌های غیر آلوده کم‌تر از ۲۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم است اما در نواحی آلوده غلظت‌های ۱۰۰ تا ۱۰۰۰ برابر غلظت طبیعی آن یافت می‌شود (۲۱). بر اساس استاندارد کشور سوئیس (۵)، حد مجاز سرب کل موجود در خاک ۵۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم می‌باشد. گلچین با بررسی نمونه‌های خاک جمع آوری شده از زمین‌های کشاورزی مجاور کارخانجات استان زنجان، مقدار سرب قابل عصاره‌گیری با دی اتیلن تری آمین پنتا استیک اسید (DTPA) را در دامنه ۰/۵ تا ۹۸ میلی‌گرم بر کیلوگرم خاک گزارش کرد (۳). امینی و همکاران (۱) با بررسی میزان سرب در زمین‌های زراعی استان اصفهان نشان دادند که بیش‌ترین نرخ انباشت سالیانه سرب مربوط به شهرستان اصفهان با نرخ ۲۶۰ گرم در هکتار و کم‌ترین آن مربوط به شهرستان مبارکه با نرخ ۱۰ گرم در هکتار بود. نصری فرد و همکاران (۲) نیز با ارزیابی غلظت سرب در خاک مزارع تحت کشت گندم در استان خوزستان نشان دادند که میانگین غلظت سرب در کل خاک منطقه مطالعاتی ۱۳/۷۵ میلی‌گرم بر کیلوگرم بود.

این تحقیق با هدف بررسی امکان تحت تأثیر قرار گرفتن رشد، نمو، تولید و کارآیی تله و هم‌چنین ترشح پروتئاز *A. oligospora* توسط آلاینده سرب صورت گرفت.

مواد و روش‌ها

تهیه *Arthrobotrys oligospora*

این قارچ از کلکسیون گروه گیاهپزشکی پردیس ابوریحان دانشگاه تهران تهیه و به روش اسپور منفرد روی محیط کشت Zapek dox agar خالص‌سازی و تکثیر شد.

تهیه لاروهای سن دوم *Meloidogyne javanica*

گوجه فرنگی آلوده به نماتد از مزارع اطراف شیراز تهیه شد و پس از تهیهٔ توده تخم منفرد روی گوجه فرنگی رقم روت‌گرز تکثیر گردید. استخراج تخم و تهیه لارو سن دوم با استفاده از روش هوسی و بارکر (۹) انجام گرفت. گونه نماتد با استفاده از خصوصیات مورفولوژیکی و مورفومتریک، تعیین گردید (۱۰).

استات سرب

استات سرب شرکت Merck آلمان به صورت آماده خریداری شد.

بررسی اثر استات سرب بر میزان رشد *Arthrobotrys oligospora*

ابتدا در هر یک از ارلن‌های ۲۵۰ میلی‌لیتری، مقدار ۳/۸۴ گرم پودر محیط کشت Czapek dox agar ریخته و با آب مقطر حجم آن‌ها به ۸۰ میلی‌لیتر رسانده و سترون شد. سپس جهت تهیه غلظت‌های ۰، ۱۰۰، ۱۵۰، ۲۰۰، ۲۵۰، ۳۰۰ و ۵۰۰ میلی‌گرم در هر لیتر استات سرب، به عنوان تیمارهای آزمایش مقادیر متناسب با هر غلظت از استات سرب محلول در آب پس از سترون نمودن به طور جداگانه به ارلن‌ها اضافه و محتویات هر ارلن در چهار تشتک پتری سترون منتقل شد که هر یک به عنوان یک تکرار در نظر شد. از پرگنه کشت پنج روزه قارچ یک قطعه با قطر یک سانتی‌متر در وسط هر تشتک پتری قرار داده و جهت رشد در انکوباتور در دمای ۱ ±۲۵ درجه سانتی‌گراد قرار داده شدند. قطر پرگنه‌های قارچ روزانه و به مدت پنج روز اندازه‌گیری شد و پس از این که در تشتک شاهد (غلظت صفر میلی‌گرم بر لیتر استات سرب) در تمام سطح تشتک رشد نمود، آزمایش به اتمام رسید. این آزمایش در قالب طرح فاکتوریل ۷ × ۵ با چهار تکرار انجام شد و مقایسه میانگین داده‌ها بر اساس آزمون دانکن در سطح احتمال یک درصد و با استفاده از نرم افزار SAS انجام شد.

بررسی درصد بازدارندگی استات سرب از رشد *Arthrobotrys oligospora*

درصد بازدارندگی غلظت‌های مختلف استات سرب از رشد قارچ *A. oligospora* با استفاده از فرمول $n=(a-b/a)\times 100$ محاسبه شد. در فرمول ذکر شده، n درصد بازدارندگی از رشد، a مساحت پرگنه قارچ در ظروف کشت شاهد و b مساحت پرگنه قارچ در ظروف کشت تیمار است (۸).

بررسی اثر استات سرب بر میزان اسپوردهی *Arthrobotrys oligospora*

در ارلن‌های ۲۵۰ میلی‌لیتری غلظت‌های ۰، ۱۰۰، ۱۵۰، ۲۰۰، ۲۵۰ و ۳۰۰ میلی‌گرم بر لیتر استات سرب در محیط کشت مایع سیب زمینی دکستروز (PDB) تهیه شد. سپس یک قطعه یک سانتی‌متری از محیط پنج روزه قارچ به هر ارلن اضافه شد. ارلن‌ها جهت رشد یکنواخت قارچ، روی شیکر با دور g× ۱۳۳ در دمای اتاق (۲۵-۲۲ درجه سانتیگراد) قرار داده شدند. پس از چهار روز شمارش تعداد اسپور تولید شده در هر میلی‌لیتر از سوسپانسیون قارچ انجام شد. آزمایش در قالب طرح کاملاً تصادفی با چهار تکرار و شش تیمار صورت گرفت. مقایسه میانگین داده‌ها بر اساس آزمون دانکن در سطح احتمال یک درصد با استفاده از نرم‌افزار SAS انجام شد.

بررسی اثر استات سرب بر بر میزان تولید تله *Arthrobotrys oligospora*

ابتدا در ارلن‌های ۲۵۰ میلی‌لیتری، مقدار ۸۰ میلی‌لیتر آب مقطر و

۱/۵ گرم آگار اضافه شد و در اتوکلاو با دمای ۱۲۱ درجه سانتی‌گراد به مدت ۲۰ دقیقه سترون شد. جهت تهیه غلظت‌های۰ ، ۱۰۰، ۱۵۰، ۲۰۰، ۲۵۰ و ۳۰۰ میلی‌گرم بر لیتر استات سرب مقادیر متناسب با هر غلظت از استات سرب محلول در آب پس از سترون نمودن به طور جداگانه به ارلن‌ها اضافه گردید. محتویات هر ارلن در چهار تشتک سترون با قطر نه سانتی‌متر ریخته شد. از پرگنه قارچ رشد یافته روی محیط Zapek dox agar یک قطعه با قطر یک سانتی‌متر در وسط هر تشتک قرار داده و تشتک‌ها جهت رشد قارچ و تولید تله در انکوباتور در دمای ۱±۲۵ درجه سانتی‌گراد قرار داده شدند. پس از پنج روز تعداد تله‌های تولید شده توسط قارچ در هر تشتک به کمک استرئومیکروسکوپ مورد شمارش قرار گرفت. این آزمایش نیز در قالب طرح کاملاً تصادفی با چهار تکرار صورت گرفت. مقایسه میانگین داده‌ها بر اساس آزمون دانکن در سطح احتمال یک درصد و با استفاده از نرم‌افزار SAS انجام شد.

بررسی اثر استات سرب بر کارآیی تله‌های *Arthrobotrys oligospora*

جهت انجام این آزمایش از تشتک‌های کشت آزمایش قبل استفاده گردید. سوسپانسیونی از لاروهای سن دوم نماتد در آب مقطر سترون تهیه گردید، سپس به هر تشتک حدود ۵۰ لارو تازه تفریخ شده نماتد (۱۰۰ میکرولیتر) اضافه گردید. این ظروف در دمای ۱±۲۵ درجه سانتیگراد نگهداری شد و پس از گذشت ۴۸ ساعت، تعداد نماتدهای مرده با کمک استرئومیکروسکوپ در ظروف کشت تیمار و شاهد مشخص گردید. درصد مرگ و میر لاروها از فرمول IP=(C-T/C)×۱۰۰ که در آن IP درصد مرگ و میر لارو، C تعداد لاروهای زنده در تیمار شاهد و T تعداد لاروهای زنده در سایر تیمارها بود، محاسبه گردید. لاروهایی مرده در نظر گرفته شدند که فاقد تحرک بوده و هنگامی که با سوزن سترون به آن‌ها ضربه زده می‌شد تحرکی نداشتند (۶). ظروف کشت فاقد قارچ به عنوان شاهد در نظر گرفته شدند. این آزمایش در قالب طرح کاملاً تصادفی با چهار تکرار صورت گرفت. مقایسه میانگین داده‌ها بر اساس آزمون چند دامنه‌ای دانکن در سطح احتمال یک درصد و با استفاده از نرم‌افزار SAS انجام شد.

بررسی تأثیر استات سرب بر آنزیم پروتئاز *Arthrobotrys oligospora*

میزان آنزیم پروتئاز خارج سلولی تولید شده توسط *A. oligospora* با روش ارائه شده توسط کوماری و پاندا (۱۳) در دمای ۱±۲۵ درجه سانتی‌گراد اندازه‌گیری شد. در این روش، فعالیت پروتئولیتیک بر اساس هیدرولیز کازئین ارزیابی گردید. یک واحد آنزیم به عنوان مقداری از آنزیم که تغییرات جذب برابر ۰/۲ را در ۲۰ دقیقه سبب می‌شود تعریف شد.

نتایج

اثر استات سرب بر رشد *Arthrobotrys oligospora*

نتایج نشان داد غلظت ۵۰۰ میلی‌گرم بر لیتر استات سرب در مقایسه با شاهد (غلظت صفر میلی‌گرم بر لیتر) و با سایر تیمارها ($p\leq$۰/۰۱) بیش‌ترین ممانعت از رشد قارچ را موجب شد (شکل ۱). رشد قارچ در غلظت ۱۰۰ میلی‌گرم بر لیتر استات سرب با شاهد اختلاف معنی‌داری نشان نداد. غلظت‌های ۱۵۰ و ۲۰۰ میلی‌گرم بر لیتر استات سرب با یکدیگر و با سایر تیمارها اختلاف معنی‌داری ($p\leq$۰/۰۱) نشان دادند. غلظت ۲۵۰ میلی‌گرم بر لیتر استات سرب با غلظت ۳۰۰ میلی‌گرم بر لیتر استات سرب اختلاف معنی‌داری ($p\leq$۰/۰۱) نشان نداد.

اثر بازدارندگی استات سرب از رشد *Arthrobotrys oligospora*

بین درصد بازدارندگی غلظت‌های مختلف استات سرب از رشد قارچ اختلاف معنی‌داری ($p\leq$۰/۰۱) وجود داشت (شکل ۲). غلظت ۱۰۰ میلی‌گرم بر لیتر استات سرب همانند شاهد هیچ گونه بازدارندگی رشدی نشان نداد. درغلظت ۵۰۰ میلی‌گرم بر لیتر استات سرب بیش‌ترین درصد بازدارندگی از رشد قارچ مشاهده گردید. بین غلظت ۱۵۰ و ۲۰۰ میلی‌گرم بر لیتر استات سرب اختلاف معنی‌داری ($p\leq$۰/۰۱) مشاهده شد و غلظت ۲۵۰ میلی‌گرم بر لیتر استات سرب با غلظت ۳۰۰ میلی‌گرم بر لیتر استات سرب اختلاف معنی‌داری ($p\leq$۰/۰۱) نشان نداد.

بررسی اثر استات سرب بر میزان اسپوردهی *Arthrobotrys oligospora*

بین شاهد (غلظت صفر میلی‌گرم بر لیتر استات سرب) و غلظت ۱۰۰ میلی‌گرم بر لیتر استات سرب در میزان اسپوردهی قارچ اختلاف معنی‌داری ($p\leq$۰/۰۱) وجود ندارد (جدول ۱). در غلظت ۱۵۰ و ۲۰۰ میلی‌گرم بر لیتر استات سرب کاهش اسپوردهی قارچ مشاهده شد که با شاهد و یکدیگر اختلاف معنی‌دار ($p\leq$۰/۰۱) نشان دادند. غلظت‌های بالاتر از ۲۰۰ میلی‌گرم بر لیتر مانع اسپوردهی قارچ شدند.

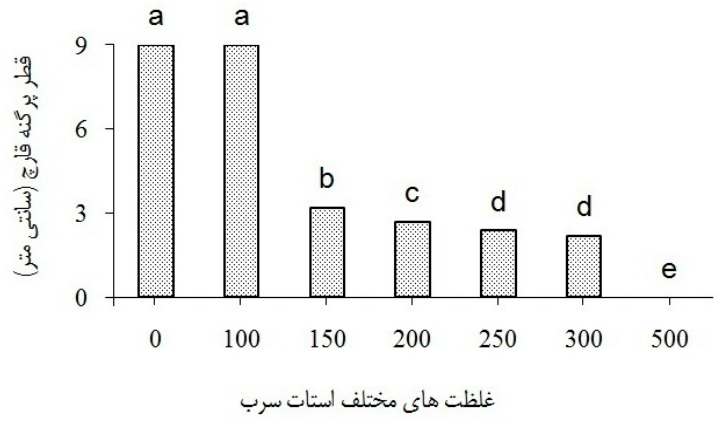
اثر استات سرب بر میزان تولید تله *Arthrobotrys oligospora*

بیش‌ترین میزان تله تولید شده توسط این قارچ مربوط به قارچ رشد یافته بر روی محیط حاوی ۱۰۰ میلی‌گرم بر لیتر استات سرب است (جدول ۱) ولی با شاهد فاقد اختلاف معنی‌داری ($p\leq$۰/۰۱) بود. در تعداد تله‌های تولید شده در غلظت ۱۵۰ میلی‌گرم بر لیتر استات سرب با شاهد و با غلظت ۲۰۰ میلی‌گرم بر لیتر استات سرب اختلاف معنی‌داری ($p\leq$۰/۰۱) مشاهده نشد. در غلظت‌های بالاتر از ۲۰۰ میلی‌گرم بر لیتر استات سرب با افزایش غلظت، کاهش معنی‌داری ($p\leq$۰/۰۱) در تعداد تله‌های تولید شده مشاهده گردید.

جدول ۱- تأثیر غلظت‌های مختلف استات سرب بر تعداد اسپور، تعداد تله، درصد کارآیی تله و فعالیت پروتئازی قارچ *Arthrobotrys oligospora*

غلظت استات (میلی‌گرم بر لیتر)	تعداد اسپور در هر میلی‌لیتر	تعداد تله در هر پتری	درصد کارآیی تله	واحد فعالیت پروتئازی
۰	۶۲/۵ a	۱۳۷۳ ab	۴۴ a	۲/۰ a
۱۰۰	۵۶/۴ a	۱۴۲۹ a	۴۱ ab	۱/۴ b
۱۵۰	۳۶/۲ b	۱۲۶۷ bc	۴۰ ab	۱/۳ b
۲۰۰	۱۵/۰ c	۱۱۵۴ c	۳۸ b	۱/۱ b
۲۵۰	۰ d	۸۳۵ d	۳۷ b	۱/۱ b
۳۰۰	۰ d	۶۰۰ e	۲۷ c	۰/۶ c

میانگین‌هایی که در هر ستون با حروف یکسان نشان داده شده‌اند بر اساس آزمون دانکن در سطح احتمال یک درصد فاقد اختلاف معنی‌دار می‌باشند.



شکل ۱- بررسی تأثیر غلظت‌های مختلف استات سرب بر رشد پرگنه قارچ *Arthrobotrys oligospora*. ستون‌هایی که با حروف یکسان نشان داده شده‌اند بر اساس آزمون دانکن در سطح احتمال یک درصد اختلاف معنی‌دار ندارند.

بررسی تأثیر غلظت‌های مختلف استات سرب بر کارآیی تله‌های *Arthrobotrys oligospora*

کم‌ترین کارآیی تله‌های تولید شده در قارچ رشد یافته در محیط حاوی ۳۰۰ میلی‌گرم بر لیتر استات سرب مشاهده شد. کارآیی تله‌های تولیدی قارچ در محیط‌های حاوی ۱۰۰ و ۱۵۰ میلی‌گرم بر لیتر استات سرب فاقد اختلاف معنی‌داری ($p\leq$۰/۰۱) با محیط فاقد استات سرب بود. کارآیی تله‌های تولیدی در غلظت‌های ۲۰۰ و ۲۵۰ میلی‌گرم بر لیتر استات سرب با یکدیگر اختلاف معنی‌داری ($p\leq$۰/۰۱) مشاهده نشد (جدول ۱).

تأثیر غلظت‌های مختلف استات سرب بر آنزیم پروتئاز *Arthrobotrys oligospora*

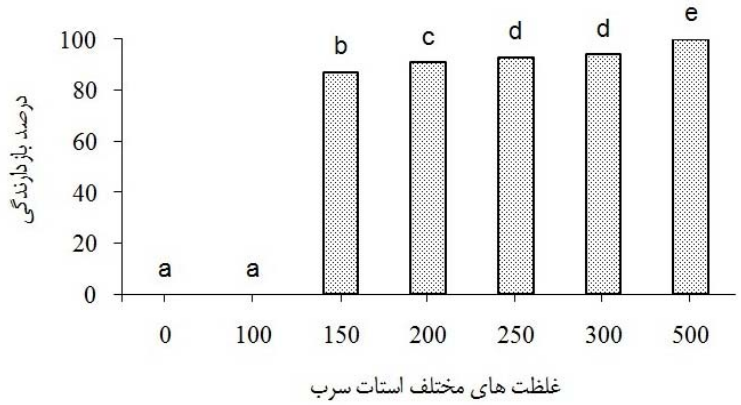
تمامی غلظت‌های استفاده شده استات سرب در مقایسه با شاهد موجب کاهش معنی‌داری ($p\leq$ ۰/۰۱) بر میزان پروتئاز خارج سلولی *A. oligospora* شدند (جدول ۱). بیش‌ترین کاهش در اثر بیش‌ترین غلظت (۳۰۰ میلی‌گرم بر لیتر) مشاهده شد. تفاوت بین غلظت‌های ۱۰۰، ۱۵۰، ۲۰۰ و ۲۵۰ میلی‌گرم بر لیتر معنی‌دار ($p\leq$۰/۰۱) نبود.

بحث

سرب از جمله فلزات سنگین سمی است که به دلیل استفاده وسیع در صنایع مختلف و اثرات بسیار سوء و شناخته شده آن بر سلامتی انسان و محیط زیست در زمینه‌های مختلف مورد توجه محققان قرار گرفته است. آلودگی خاک به سرب نه تنها عامل تغییر در تنوع میکروارگانیزم‌ها، بلکه موجب تغییر در فعالیت زیستی هر کدام از اجزاء اکوسیستم خاک می‌شود (۱۵). این اتفاق به ویژه در اکوسیستم‌های کشاورزی در نهایت منجر به انتقال و تجمع این فلز در اجزاء اکوسیستم و بدن انسان از طریق زنجیرهٔ غذایی می‌گردد (۱۴). در بررسی اثر آلودگی سرب در خاک بر زیست توده (Biomass) میکروبی و فعالیت آنزیماتیک خاک مشخص شده است که افزایش غلظت سرب به میزان قابل توجهی زیست توده میکروبی خاک را کاهش می‌دهد، به طوری که سرب موجب ۱۰ درصد کاهش تولید زیست توده می‌گردد (۱۱). به علاوه مشخص شده است که

غلظت‌های کم این فلز منجر به افزایش فعالیت آنزیماتیک ناشی از میکروب‌های خاک می‌شود. شای و همکاران (۲۲) غلظت بازدارندگی ۵۰ درصد (IC_{50}) سرب را ۰/۰۱ میلی‌مولار گزارش کرده‌اند. وقتی میزان سرب در خاک به ۵۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم خاک می‌رسد تأثیر سرب بر دو شاخص زیست توده میکروبی و فعالیت آنزیماتیک بسیار بالا است (۲۳). در تحقیق حاضر غلظت ۵۰۰ میلی‌گرم بر لیتر سرب بیش‌ترین درصد بازدارندگی از رشد *A. oligospora* را داشت. غلظت‌های بالاتر از ۲۵۰ میلی‌گرم بر لیتر این فلز بازدارندگی کامل از اسپورزایی این قارچ در محیط کشت را داشت. در بررسی‌هایی که بر تغییرات جمعیتی قارچ‌های شکارگر نماتدها در خاک‌های آلوده به سرب انجام گرفته مشخص شده است که بین جمعیت و تولید تله در این قارچ‌ها و غلظت‌های کم آلودگی سرب رابطه مثبت وجود دارد ولی در غلظت‌های بیش از ۱/۸ میلی‌مول، رشد میسلیومی این قارچ‌ها کاملاً متوقف می‌شود (۱۶). در این تحقیق نیز غلظت ۱۰۰ میلی‌گرم بر لیتر سرب سبب افزایش تولید تله در این قارچ گردید. این میزان سرب موجب کاهش معنی‌داری در رشد و اسپورزایی قارچ نشد ولی کاهش ایجاد شده در این دو شاخص کم و بیش محسوس بود که می‌تواند همانند یک استرس خفیف، محرک تولید تله توسط این قارچ باشد. کشت این قارچ در محیط‌های غذایی ضعیف مانند آب آگار نیز موجب القاء تولید تله می‌شود. افزایش غلظت تا بیش از ۲۰۰ میلی‌گرم بر لیتر به میزان قابل توجهی موجب کاهش تولید تله و کاهش رشد و اسپورزایی قارچ می‌شود که می‌تواند ناشی از اختلال در اعمال فیزیولوژیکی قارچ باشد. غلظت بیش از ۲۰۰ میلی‌گرم بر لیتر سرب موجب کاهش کارآیی تله شد. احتمال داده می‌شود که اثر سرب بر قارچ *A. oligospora* از جمله تأثیر آن بر آنزیم پروتئاز خارج سلولی قارچ، موجب کاهش کارآیی آن در به دام انداختن و مرگ نماتدها شده است. کاهش میزان تله و کارآیی آن‌ها موجب کاهش عملکرد این قارچ در اکوسیستم می‌شود. از آن‌جایی که پروتئاز مهم‌ترین آنزیم خارج سلولی قارچ در پارازیته نمودن نماتدها می‌باشد و فلز سرب موجب کاهش فعالیت این آنزیم می‌گردد، این مسأله باید در استفاده از این قارچ برای مدیریت بیولوژیک نماتدها در خاک‌های آلوده به سرب مد نظر قرار گیرد. در بررسی اثر سرب بر فعالیت آنزیماتیک میکروب‌های خاک تأثیر آن حتی در غلظت‌های کم مشاهده شده است (۲۳).

امروزه استفاده از قارچ *A. oligospora* برای مدیریت نماتدهای بیماری‌زای گیاهی روند رو به افزایش داشته و محصولات تجاری این قارچ در بازارهای دنیا مورد استقبال فراوان قرار گرفته است. بر اساس نتایج به دست آمده در این تحقیق، آلودگی سرب می‌تواند به میزان قابل توجهی بر کارآیی این قارچ مؤثر باشد. اگرچه این فلز در محیط خاک تحت تأثیر فعالیت بیوشیمیایی ارگانیزم‌های موجود در خاک قرار گرفته و بخش قابل توجهی از آن جذب این ارگانیزم‌ها می‌شود ولی این فلز سنگین حتی در غلظت‌های کم نیز اثرات قابل توجهی بر موجودات مفید به ویژه عوامل بیوکنترل دارد و این موضوع نباید در استفاده از آن‌ها در این گونه مزارع نادیده گرفته شود. با این وجود انجام تحقیقات بعدی در محیط خاک با وجود دیگر ارگانیزم‌های خاکزی و گیاه، در شرایط گلخانه و مزرعه، ضروری به نظر می‌رسد.



شکل ۲- بررسی تأثیر غلظت‌های مختلف استات سرب بر درصد بازدارندگی قارچ *Arthrobotrys oligospora*. ستون‌هایی که با حروف یکسان نشان داده شده‌اند بر اساس آزمون دانکن در سطح احتمال یک درصد اختلاف معنی‌دار ندارند.

منابع

۱- امینی م.، افیونی م.، و خادمی ح. ۱۳۸۵. مدل سازی توازن جرمی عناصر کادمیوم و سرب در زمین‌های زراعی منطقه اصفهان. نشریه علوم و فنون کشاورزی و منابع طبیعی ۱۰: ۸۹-۷۷.

۲- نصری فرد م.، صیاد غ.، جعفرنژادی ع.، و افیونی م. ۱۳۹۲. ارزیابی غلظت سرب در خاک و بذر مزارع تحت کشت گندم و تأثیر برخی ویژگی‌های خاک بر آن (مطالعه موردی: استان خوزستان). نشریه علوم و فنون کشاورزی و منابع طبیعی، علوم آب و خاک ۱۷: ۱۲۳-۱۱۳.

۳- گلچین ا. ۱۳۸۲. فعالیت‌های صنعتی و آلودگی خاک‌های کشاورزی به فلزات سنگین. هشتمین کنگره علوم خاک ایران، رشت.

4- Alloway B. 2013. Heavy Metals in Soils. Springer Netherlands.

5- Bern: 1998. FOEFL (Swiss Federal Office of Environment, Forest and Landscape): Commentary on the Ordinance Relating to Pollutants in Soils**.**

6- Cayrol J.C., Djian C., and Pijarowski L. 1989. Study of the nematicidal properties of the culture filtrate of the nematophagous fungus *Paecilomyces lilacinus*. Revue de Nematologie, 12: 331-336.

7- Dogan-Saglamtimur N., and Kumbur H. 2002. Toxic elements in marine products and human hair samples in Mersin, Turkey. Bulletin of Environmental Contamination and Toxicology, 69: 15-21.

8- Etebarian H.R., Sholberg P.L., Eastwell K.C., and Sayler R.J. 2005. Biological control of apple blue mold with *Pseudomonas fluorescens*. Canadian Journal of Microbiology, 51:591-598.

9- Hussey R.S., and Barker K.R. 1973. A comparison of methods of collecting inocula of *Meloidogyne* spp., including a new technique. Plant Disease Reporter, 75:1025–1028.

10- Jepson S.B. 1987. Identification of Root-Knot Nematodes (*Meloidogyne* species). Cambrian News Ltd.

11- Konopka A., Zakharova T., Bischoff M., Oliver L., Nakatsu C., and Turco R. 1999. Microbial biomass and activity in lead-contaminated soil. Applied and Environmental Microbiology, 65: 2256-2259.

12- Knight B.P., McGrath S.P., and Chaudri A.M. 1997. Biomass carbon measurements and substrate utilization patterns of microbial populations from soils amended with cadmium, copper, or zinc. Applied and Environmental Microbiology, 63:39-43.

13- Kumari J.A., and Panda T. 1992. Studies on critical analysis of factors influencing improved production of protoplasts from *Trichoderma reesei* mycelium. Enzyme and Microbial Technology, 14:241-248.

14- Liu J., Li K., Xu J., Zhang Z., Ma T., Lu X., Yang J., and Zhu Q. 2003. Lead toxicity, uptake, and translocation in different rice cultivars. Plant Science, 165:793-802.

15- Majer B.J., Tscherko D., Paschke A., Wennrich R., Kundi M., Kandeler E., and Knasmüller S. 2002. Effects of heavy metal contamination of soils on micronucleus induction in Tradescantia and on microbial enzyme activities: a comparative investigation. Mutation Research/Genetic Toxicology and Environmental Mutagenesis, 515:111-124.

16- Mo M.H., Chen W.M., Su H.Y., Zhang K.Q., Duan C.Q., and He D.M. 2006. Heavy metal tolerance of nematode-trapping fungi in lead-polluted soils. Applied Soil Ecology, 31:11-19.

17- Nies D.H. 1999. Microbial heavy-metal resistance. Applied Microbiology and Biotechnology, 51:730-750.

18- Nordbring-Hertz B. 2004. Morphogenesis in the nematode-trapping fungus *Arthrobotrys oligospora* an extensive plasticity of infection structures. Mycologist, 18:125-133.

19- Patra M., Bhowmik N., Bandopadhyay B., and Sharma A. 2004. Comparison of mercury, lead and arsenic with respect to genotoxic effects on plant systems and the development of genetic tolerance. Environmental and Experimental Botany, 52:199-223.

20- Pennanen T., Frostegard A., Fritze H., and Baath E. 1996. Phospholipid fatty acid composition and heavy metal tolerance of soil microbial communities along two heavy metal-polluted gradients in coniferous forests. Applied and Environmental Microbiology, 62:420-428.

21- Sarkar B. 2002. Heavy Metals in the Environment. Marcel Dekker Pub.: CRC Press, New York.

22- Shi W., Becker J., Bischoff M., Turco R., and Konopka A. 2002. Association of microbial community composition and activity with lead, chromium, and hydrocarbon contamination. Applied and Environmental Microbiology, 68: 3859-3866.

23- Zeng L.S., Liao M., Chen C.L., and Huang C.Y. 2007. Effects of lead contamination on soil enzymatic activities, microbial biomass, and rice physiological indices in soil lead rice (*Oryza sativa* L.) system. Ecotoxicology and Environmental Safety, 67:67-74.