نقش متابولیت قارچ فرصت‌طلب کاندیدا در کنترل زیست‌شناختی تخم و نوزاد عفونت‌زای نماتودهای سیاتوستومینه

دکتر محمد یخچالی[1] دکتر علیرضا خسروی[2] دکتر علی اسلامی[3]

مجله دانشکده دامپزشکی دانشگاه تهران، دوره ۵۶، شماره ۱، ۹۲-۸۹، (۱۳۸۰)

در کنترل زیست‌شناختی بهره‌گیری مستقیم از یک موجود و یا دستکاری در ساختمان ژنتیکی آن موجود برای فرونشاندن جمعیت زیستی موجود مورد نظر، هدف می‌باشد. در این بررسی اثر متابولیت پروتئینی قارچ فرصت‌طلب کاندیدا برای اولین بار در ایران و دنیا بر روی تخم و نوزاد عفونت‌زای کرمهای دون خانواده سیاتوستومینه موردآزمایش قرار گرفت. در بررسی آزمایشگاهی، رقتهای متابولیت قارچ فرصت‌طلب کاندیدا اثر تخم‌کشی نداشت ولی غلظت پایه و رقتهای $\frac{1}{5}$ تا $\frac{1}{100}$ در مدت ۷ ساعت باعث کاهش معنی‌دار نوزادهای عفونت‌زای نماتودهای سیاتوستومینه گردید ($P<0/0001$)، در حالی‌که در رقتهای $\frac{1}{1000}$ و $\frac{1}{10000}$ فاقد چنین خاصیتی بودند ($P<0/05$).

واژه‌های کلیدی : کنترل زیست‌شناختی، نوزاد سیاتوستومینه، متابولیت، کاندیدا.

کنترل زیست‌شناختی با بهره‌گیری مستقیم از یک دشمن طبیعی آفت مورد نظر و یا دستکاری در ساختمان ژنتیکی همان آفت صورت می‌گیرد (۱۰).

کرمهای سیاتوستومینه در روده بزرگ تک‌سمی‌ها زندگی می‌کنند، در برخی از نقاط دنیا بیماریزایی زیادی دارند. در ایران اگرچه تعداد زیادی گونه از این دون خانواده گزارش شده است ولی درباره بیماریزایی آن اطلاعی در دست نیست.

اگرچه درباره کنترل زیست‌شناختی نوزاد این کرمها با استفاده از چند گونه قارچ فرصت‌طلب گزارشاتی وجود دارد، ولی درباره تأثیر متابولیت‌ها برروی نوزاد این گروه از کرمها اطلاعات منتشرشده بسیار محدود است. در بررسی حاضر برای اولین بار در ایران اثر متابولیت قارچ فرصت‌طلب کاندیدا برروی نوزادهای عفونت‌زای سیاتوستومینه اسب مورد آزمایش قرار گرفت.

مواد و روش کار

برای انجام بررسی حاضر در اختیارداشتن تعداد کافی نوزاد عفونت‌زای کرمهای دون خانواده سیاتوستومینه و متابولیت قارچ فرصت‌طلب کاندیدا مورد نیاز بود که به روشهای زیر نسبت به تهیه آنها اقدام شد.

الف - تولید و نگهداری نوزاد مرحله سوم سیاتوستومینه : برای این منظور ابتدا نمونه مدفوع تازه اسب آزمایش شد و با روش شناورسازی تخم کرمها به کمک محلولهای اشباع، تعداد تخم مورد نیاز جمع‌آوری گردید. در مرحله بعدی نمونه مدفوعی که تعداد تخم انگل در آن کافی بود (بیش از ۵۰ عدد) به‌مدت ۷ روز در دمای ۲۷-۲۵ درجه سانتیگراد در انکوباتور قرار داده شد، تا نوزاد مرحله سوم به‌وجود آید. سپس نوزادها با استفاده از روش تکمیل‌شده برمن از مدفوع کشت‌شده جدا گردید (۱). با آزمایش تعدادی از نوزادها در زیر میکروسکوپ و اطمینان از زنده‌بودن آنها (با توجه به حرکت یا بی‌حرکت‌بودن آنها) در صورتی که بیش از ۷۰ درصد آنها زنده بودند نوزادها جمع‌آوری می‌گردیدند و در ۴۰ میلی‌لیتر سرم فیزیولوژی ۹ در هزار در ظرفهای شیشه‌ای و در دمای ۴+ درجه سانتیگراد نگهداری می‌شدند (۵). با استفاده از کلید تشخیص نوزاد استرونگل‌های اسب ارایه شده توسط لواین (۱۹۶۸) براساس طول نوزاد، طول دم، تعداد ردیف و شکل یاخته‌های روده‌ای تعلق نوزادها به استرونگل‌های بزرگ و یا دون خانواده سیاتوستومینه محرز می‌گردید.

ب - تهیه متابولیت قارچ کاندیدا : قارچ فرصت‌طلب کاندیدا در محیط جامد و اختصاصی مالت اکستراکت آگار در ۳۵ درجه سانتیگراد به‌مدت ۵ روز کشت شد. سپس به محیط سابورو گلوکز آگار ۵ درصد مایع منتقل گردید. به محیط فوق مواد پروتئینی و فسفولیپیدی افزوده شد. مجموعه حاصل در ۲۰۰۰ دور در یک دقیقه سانتریفوژ گردید تا سلولهای قارچ رسوب نمایند. این سلولها به روش سونیکه‌کردن متلاشی شدند و پس از افزودن ۲۰ برابر حجم سلول از مایع بافر نمکی فسفات به مخلوط مجدداً در ۳۵۰۰ دور در دقیقه به‌مدت ۵ دقیقه در دمای ۴+ درجه سانتیگراد سانتریفوژ گردید. یکبار دیگر مخلوط حاصله در ۵۰۰۰ دور در دقیقه به‌مدت ۴۵ دقیقه در دمای ۴ درجه سانتیگراد سانتریفوژ شد. با افزودن سولفات آمونیوم به مایع رو متابولیت تغلیظ گردید و به روش حجمی با توجه به اختلاف فاز جمع‌آوری شد (۹).

ج - نحوه بررسی اثر نوزادکشی و تخم‌کشی متابولیت : ۱) مراحل بررسی اثر نوزادکشی متابولیت : برای بررسی اثر غلظت پایه متابولیت کاندیدا بر روی نوزادهای زنده سیاتوستومینه به دو ظرف پتری ۳۰۰ عدد نوزاد زنده مرحله سوم سیاتوستومینه در دمای آزمایشگاه افزوده شد. به یک ظرف پتری ۲ سی‌سی از متابولیت و به ظرف پتری دیگر ۵ سی‌سی سرم فیزیولوژی ۹ در هزار اضافه شد و مدت ۷ ساعت در معرض این محلول قرار گرفتند. سپس با توجه به زنده‌بودن (حرکت‌داشتن یا نداشتن) میزان اثربخشی متابولیت در مقایسه با گروه شاهد بررسی گردید. اثر رقتهای حاصله از متابولیت پایه ($\frac{1}{10000}$، $\frac{1}{1000}$، $\frac{1}{100}$، $\frac{1}{90}$، $\frac{1}{80}$، $\frac{1}{70}$، $\frac{1}{60}$، $\frac{1}{50}$، $\frac{1}{40}$، $\frac{1}{30}$، $\frac{1}{25}$، $\frac{1}{20}$، $\frac{1}{15}$، $\frac{1}{10}$، $\frac{1}{5}$) بر ۳۰۰ عدد نوزاد زنده مرحله سوم سیاتوستومینه در دمای آزمایشگاه در مدت ۷ ساعت و در حضور گروه شاهد با ۳۰۰ عدد نوزاد زنده مرحله سوم در ۵ سی‌سی سرم فیزیولوژی ۹ در هزار، بررسی شد. سپس با توجه به زنده‌بودن (حرکت‌داشتن یا نداشتن) میزان اثربخشی متابولیت در مقایسه با گروه شاهد ثبت گردید. ۲) نحوه بررسی اثر مستقیم تخم‌کشی متابولیت : جمع‌آوری تخم انگل : به روش شناورسازی جمع‌آوری گردید. در آزمایش مدفوع اسبهایی که به‌طور طبیعی آلوده بودند به تعداد کافی تخم کرمهای دون خانواده سیاتوستومینه که قبلاً کشت مدفوع تعلق آنها را به این دون خانواده محرز کرده بود، جدا گردید. به پنج گروه از ۶ گروه ۵۰۰ تایی تخم کرم به‌طور جداگانه ۱، ۰/۷۵، ۰/۵ و ۰/۲۵ میلی‌لیتر غلظت پایه متابولیت کاندیدا اضافه شد. در گروه ششم (درمان‌شده) سرم فیزیولوژی ۹ در هزار اضافه شد و به‌مدت ۷ ساعت در شرایط آزمایشگاهی و در فواصل منظم (هر یک ساعت) رشد یاخته‌های جنینی و تشکیل نوزاد مرحله اول و خروج آن از تخم بررسی گردید. بررسی اثر تخم‌کشی متابولیت : به ۵۰۰ تخم استرونگل به‌ترتیب ۱، ۰/۷۵، ۰/۵ و ۰/۲۵ میلی‌لیتر از متابولیت پایه کاندیدا افزوده شد و برای تعیین قدرت تخم‌کشی آن ۲۴ و ۴۸ ساعت با میکروسکوپ نوری میزان رشد توده جنینی در تخم و قابلیت خروج نوزاد از تخم کنترل گردید.

بررسی آماری : نتایج حاصله از تأثیر متابولیت قارچ فرصت‌طلب کاندیدا روی تخم و نوزاد آزادزی کرمهای سیاتوستومینه از آزمون لوگ‌رنک استفاده شد.

نتایج

نتایج بررسی نوزادهای حاصل از کشت مدفوع اسب نشان داد که کلیه آنها متعلق به دون خانواده سیاتوستومینه بودند (دارابودن کمتر از ۸ یاخته روده‌ای). ضمناً متابولیت استخراج‌شده از قارچ کاندیدا، یک پروتئین فنله بود.

۱) گروه آموزشی پاتوبیولوژی دانشکده دامپزشکی دانشگاه ارومیه، ارومیه - ایران.
۲) گروه آموزشی میکروبیولوژی دانشکده دامپزشکی دانشگاه تهران، تهران - ایران.
۳) گروه آموزشی انگل‌شناسی دانشکده دامپزشکی دانشگاه تهران، تهران - ایران.

جدول ۱ - احتمال بقا و مرگ نوزادهای عفونت‌زای سیاتوستومینه در ۷ ساعت و اثر غلظت پایه متابولیت قارچ فرصت‌طلب کاندیدا در شرایط آزمایشگاهی

زمان (ساعت)	تعداد نوزادهای زنده (در آغاز دوره)		احتمال بقا نوزادها (تا شروع دوره بعد)	
	متابولیت	شاهد	متابولیت	شاهد
۰	۳۰۰	۳۰۰	۰/۸۳	۰/۹۸۳
۱	۲۵۰	۲۹۵	۰/۷۴	۰/۹۷۷
۲	۲۲۲	۲۹۳	۰/۷۰	۰/۹۶۳
۳	۲۱۰	۲۸۹	۰/۶۶	۰/۹۵۷
۴	۱۹۹	۲۸۷	۰/۶۵	۰/۹۵۷
۵	۱۹۵	۲۸۷	۰/۶۴	۰/۹۵۰
۶	۱۹۱	۲۸۵	۰/۶۲	۰/۹۴۳
۷	۱۸۵	۲۸۳	۰	۰

Logrank test statistic = ۹۵/۱۷۸ ،df = ۱ ،P<۰/۰۰۰۱

جدول ۲ - احتمال بقا و مرگ نوزادهای عفونت‌زای سیاتوستومینه در ۷ ساعت و اثر غلظتهای $\frac{۱}{۵}$ $\frac{۱}{۱۰}$ و $\frac{۱}{۱۵}$ (نسبت به غلظت اولیه) متابولیت قارچ فرصت‌طلب کاندیدا در شرایط آزمایشگاهی

زمان (ساعت)	احتمال نوزادهای زنده (در آغاز دوره)				احتمال بقا نوزادها (تا شروع دوره بعد)			
	$\frac{۱}{۵}$	$\frac{۱}{۱۰}$	$\frac{۱}{۱۵}$	شاهد	$\frac{۱}{۵}$	$\frac{۱}{۱۰}$	$\frac{۱}{۱۵}$	شاهد
۰	۳۰۰	۳۰۰	۳۰۰	۳۰۰	۰/۹۰	۰/۹۳	۰/۹۶	۰/۹۹۷
۱	۲۶۹	۲۸۰	۲۸۹	۲۹۹	۰/۸۸	۰/۹۰	۰/۹۳	۰/۹۹۳
۲	۲۶۵	۲۷۱	۲۷۸	۲۹۸	۰/۸۰	۰/۸۵	۰/۸۸	۰/۹۸۷
۳	۲۴۰	۲۵۴	۲۶۳	۲۹۶	۰/۷۶	۰/۸۰	۰/۸۲	۰/۹۷۷
۴	۲۲۷	۲۳۹	۲۴۶	۲۹۳	۰/۷۲	۰/۷۶	۰/۷۸	۰/۹۷۰
۵	۲۱۵	۲۲۸	۲۳۴	۲۹۱	۰/۷۰	۰/۷۱	۰/۷۵	۰/۹۶۷
۶	۲۱۰	۲۱۳	۲۲۵	۲۹۰	۰/۷۰	۰/۷۰	۰/۷۱	۰/۹۶۷
۷	۲۰۹	۲۱۰	۲۱۴	۲۹۰	۰	۰	۰	۰

Logrank test statistic = ۸۳/۴۳ ،df = ۳ ،P<۰/۰۰۰۱

الف - نتایج مجاورنمودن نوزادهای عفونت‌زای سیاتوستومینه با غلظت پایه متابولیت و رقتهای $\frac{۱}{۵}$ تا $\frac{۱}{۱۰۰}$ باعث کاهش تعداد نوزادهای آزادزی سیاتوستومینه گردید و در آنالیز آماری به روش لوگ رنگ نشان داد که این کاهش معنی‌دار می باشد (P<۰/۰۰۰۱)، (جداول ۱ تا ۶). ولی در غلظتهای $\frac{۱}{۱۰۰۰}$ و $\frac{۱}{۱۰۰۰۰}$ کاهش تعداد نوزادهای سیاتوستومینه معنی‌دار نبود (P<۰/۰۵).

ب - در مقابله تخم کرم با غلظتهای مختلف متابولیت کاندیدا کلیه تخمها در گروههای درمان شده به رشد خود ادامه داده، نوزاد از آنها خارج شد. بنابراین اثر تخم‌کشی مشاهده نگردید.

جدول ۳ - احتمال بقا و مرگ نوزادهای عفونت‌زای سیاتوستومینه در ۷ ساعت و اثر غلظتهای $\frac{۱}{۲۰}$ $\frac{۱}{۲۵}$ و $\frac{۱}{۳۰}$ (نسبت به غلظت اولیه) متابولیت قارچ فرصت‌طلب کاندیدا در شرایط آزمایشگاهی

زمان (ساعت)	تعداد نوزادهای زنده (در آغاز دوره)				احتمال بقا نوزادها (تا شروع دوره بعد)			
	$\frac{۱}{۲۰}$	$\frac{۱}{۲۵}$	$\frac{۱}{۳۰}$	شاهد	$\frac{۱}{۲۰}$	$\frac{۱}{۲۵}$	$\frac{۱}{۳۰}$	شاهد
۰	۳۰۰	۳۰۰	۳۰۰	۳۰۰	۰/۹۶	۰/۹۶	۰/۹۷	۰/۹۸۳
۱	۲۸۷	۲۸۹	۲۹۰	۲۹۵	۰/۹۲	۰/۹۲	۰/۹۳	۰/۹۷۷
۲	۲۷۵	۲۷۶	۲۷۹	۲۹۳	۰/۸۸	۰/۹۰	۰/۹۲	۰/۹۷۳
۳	۲۶۵	۲۷۰	۲۷۵	۲۹۲	۰/۸۲	۰/۸۲	۰/۸۵	۰/۹۷۳
۴	۲۴۶	۲۴۶	۲۵۴	۲۹۲	۰/۷۹	۰/۷۸	۰/۸۳	۰/۹۷۰
۵	۲۳۸	۲۳۵	۲۴۸	۲۹۱	۰/۷۷	۰/۷۷	۰/۷۸	۰/۹۶۷
۶	۲۳۰	۲۳۲	۲۳۵	۲۹۰	۰/۷۳	۰/۷۳	۰/۷۴	۰/۹۶۷
۷	۲۱۷	۲۱۸	۲۲۱	۲۹۰	۰	۰	۰	۰

Logrank test statistic = ۷۱/۲۳ ،df = ۳ ،P<۰/۰۰۰۱

جدول ۴ - احتمال بقا و مرگ نوزادهای عفونت‌زای سیاتوستومینه در ۷ ساعت و اثر غلظتهای $\frac{۱}{۴۰}$ $\frac{۱}{۵۰}$ و $\frac{۱}{۶۰}$ (نسبت به غلظت اولیه) متابولیت قارچ فرصت‌طلب کاندیدادر شرایط آزمایشگاهی

زمان (ساعت)	تعداد نوزادهای زنده (در آغاز دوره)				احتمال بقا نوزادها (تا شروع دوره بعد)			
	$\frac{۱}{۴۰}$	$\frac{۱}{۵۰}$	$\frac{۱}{۶۰}$	شاهد	$\frac{۱}{۴۰}$	$\frac{۱}{۵۰}$	$\frac{۱}{۶۰}$	شاهد
۰	۳۰۰	۳۰۰	۳۰۰	۳۰۰	۰/۹۸	۰/۹۸	۰/۹۹	۰/۹۹۳
۱	۲۹۴	۲۹۵	۲۹۶	۲۹۸	۰/۹۴	۰/۹۴	۰/۹۵	۰/۹۸۳
۲	۲۸۲	۲۸۳	۲۸۴	۲۹۵	۰/۹۳	۰/۹۳	۰/۹۴	۰/۹۸۰
۳	۲۷۸	۲۷۹	۲۸۱	۲۹۴	۰/۸۶	۰/۸۶	۰/۸۸	۰/۹۸۰
۴	۲۵۸	۲۵۸	۲۶۴	۲۹۴	۰/۸۴	۰/۸۴	۰/۸۴	۰/۹۷۷
۵	۲۵۱	۲۵۱	۲۵۳	۲۹۳	۰/۸۰	۰/۸۱	۰/۸۲	۰/۹۷۰
۶	۲۴۰	۲۴۲	۲۴۷	۲۹۱	۰/۷۶	۰/۷۷	۰/۷۸	۰/۹۷۰
۷	۲۲۷	۲۳۱	۲۳۳	۲۹۱	۰	۰	۰	۰

Logrank test statistic = ۵۸/۹۰ ،df = ۳ ،P<۰/۰۰۰۱

بحث

در این بررسی برای اولین بار در ایران اثر متابولیت قارچ فرصت‌طلب کاندیدا روی تخم و نوزادهای سیاتوستومینه در شرایط آزمایشگاهی شد. نتایج حاصله نشان داد که متابولیت قارچ در رقتهای مختلف برروی یاخته‌های جنینی اثر نداشته و نوزاد مرحله اول در داخل تخم به‌وجود می‌آید و از تخمها خارج می‌گردند. بنابراین متابولیت فاقد اثر تخم‌کشی می‌باشد در حالی‌که Lopez Liorka, (1990) نشان داد قارچ ور تیسیلیوم سوکلاسپوریوم با دارابودن سرین پروتئاز خارج سلولی یک قارچ مهاجم تخم است و اثر تخم‌کشی دارد. ظاهراً قارچ فرصت‌طلب کاندیدا فاقد چنین آنزیمی می‌باشد.

جدول ۵ - احتمال بقا و مرگ نوزادهای عفونت‌زای سیاتوستومینه در ۷ ساعت و اثر غلظتهای $\frac{1}{70}$ $\frac{1}{80}$ و $\frac{1}{90}$ (نسبت به غلظت اولیه) متابولیت قارچ فرصت‌طلب کاندیدا در شرایط آزمایشگاهی

زمان (ساعت)	احتمال نوزادهای زنده (در آغاز دوره)				احتمال بقا نوزادها (تا شروع دوره بعد)			
	$\frac{1}{70}$	$\frac{1}{80}$	$\frac{1}{90}$	شاهد	$\frac{1}{70}$	$\frac{1}{80}$	$\frac{1}{90}$	شاهد
۰	۳۰۰	۳۰۰	۳۰۰	۳۰۰	۰/۹۹۷	۰/۹۹۷	۱	۱
۱	۲۹۹	۲۹۹	۳۰۰	۳۰۰	۰/۹۶۳	۰/۹۶۳	۰/۹۷۳	۰/۹۹۷
۲	۲۸۹	۲۸۹	۲۹۲	۲۹۹	۰/۹۵۳	۰/۹۵۳	۰/۹۶۰	۰/۹۹۳
۳	۲۸۶	۲۸۶	۲۸۸	۲۹۸	۰/۹۰۰	۰/۹۱۰	۰/۹۲۰	۰/۹۸۷
۴	۲۷۰	۲۷۳	۲۷۶	۲۹۶	۰/۸۷۳	۰/۸۷۷	۰/۸۸۷	۰/۹۷۷
۵	۲۶۲	۲۶۳	۲۶۶	۲۹۶	۰/۸۴۰	۰/۸۲۷	۰/۸۴۷	۰/۹۷۷
۶	۲۵۲	۲۴۸	۲۵۴	۲۹۳	۰/۸۰۰	۰/۸۰۳	۰/۸۱۰	۰/۹۷۰
۷	۲۴۰	۲۴۱	۲۴۳	۲۹۱	۰	۰	۰	۰

Logrank test statistic = ۴۵/۸۱ ,df = ۳ ,P<۰/۰۰۰۱

جدول ۶ - احتمال بقا و مرگ نوزادهای عفونت‌زای سیاتوستومینه در ۷ ساعت و اثر غلظتهای $\frac{1}{100}$ $\frac{1}{1000}$ و $\frac{1}{10000}$ (نسبت به غلظت اولیه) متابولیت قارچ فرصت‌طلب کاندیدا در شرایط آزمایشگاهی

زمان (ساعت)	احتمال نوزادهای زنده (در آغاز دوره)				احتمال بقا نوزادها (تا شروع دوره بعد)			
	$\frac{1}{100}$	$\frac{1}{1000}$	$\frac{1}{10000}$	شاهد	$\frac{1}{100}$	$\frac{1}{1000}$	$\frac{1}{10000}$	شاهد
۰	۳۰۰	۳۰۰	۳۰۰	۳۰۰	۱	۱	۱	۱
۱	۳۰۰	۳۰۰	۳۰۰	۳۰۰	۱	۱	۱	۰/۹۹۷
۲	۳۰۰	۳۰۰	۳۰۰	۲۹۹	۰/۹۸۳	۰/۹۸۳	۱	۰/۹۹۷
۳	۲۹۵	۲۹۵	۳۰۰	۲۹۹	۰/۹۵۷	۰/۹۷۳	۰/۹۸۷	۰/۹۹۰
۴	۲۸۷	۲۹۲	۲۹۶	۲۹۷	۰/۹۳۳	۰/۹۶۳	۰/۹۶۷	۰/۹۸۳
۵	۲۸۰	۲۸۹	۲۹۰	۲۹۵	۰/۹۱۷	۰/۹۵۷	۰/۹۶۷	۰/۹۸۳
۶	۲۷۵	۲۸۷	۲۹۰	۲۹۵	۰/۹۰۳	۰/۹۴۰	۰/۹۵۳	۰/۹۷۰
۷	۲۷۱	۲۸۲	۲۸۶	۲۹۱	۰	۰	۰	۰

Logrank test statistic = ۴۵/۸۱ ,df = ۳ ,P<۰/۰۵

ضمناً غلظت پایه تا رقت $\frac{1}{100}$ متابولیت قارچ فرصت‌طلب کاندیدا در مقایسه با گروه شاهد اثر نوزادکشی داشت و آزمون آماری لوگ‌رنک نشان داد که این یافته‌ها از نظر آماری معنی‌دار هستند (P<۰/۰۰۰۱). این یافته با نظرات Driesche, (1937) و Duddington, (1955) درموردمتابولیت به‌دست آمده از برخی گونه‌های قارچ نماتودکش مشابهت دارد. Soprunov and Goliulina, (1951) از شبکه هایفی برخی گونه‌های قارچ نماتودکش یک ماده ترشحی سمی برای نوزاد نماتود شناسایی نمودند. این ماده نماتودکش از نظر شیمیایی ناپایدار بود.

بنابر عقیده Cooke, 1963 مرگ نوزاد به دام افتاده به‌دلیل تخریب مکانیکی و خستگی حاصل از تلاش برای رهایی نوزاد از تله نبود زیرا نوزاد نماتود قبل از به تله‌افتادن و سوراخ‌شدن کوتیکول، می‌میرد. به عقیده این محققین توجیه مناسبتر تولید متابولیت نماتودکش توسط قارچ می‌باشد. کلاژناز متابولیت آنزیمی است که قارچ نماتودکش تولید می‌کند (۱۲). این آنزیم قارچی باعث دگرگونی غیراختصاصی کلاژن و کوتیکول نوزاد نماتود می‌گردد (۱۵). در مطالعات فراساختمانی و بافت شیمی، محققین پی به نقش آنزیمهای هیدرولیتیک در نفوذ قارچ به داخل کوتیکول نماتود بردند (۱۸). اخیراً گروهی از محققین در آزمایشی توانستند به کمک پادتنهای نشاندارشده با طلا نقش پروتئازهای مترشحه از قارچ نماتودکش ضمن نفوذ به کوتیکول را نشان دهند (۱۷).

با توجه به این یافته‌ها می‌توان وجود ماده‌ای در متابولیت قارچ فرصت‌طلب کاندیدا را که قادر به کشتن نوزادهای آزادزی نماتودهای دون خانواده سیاتوستومینه می‌باشد را مورد تأیید قرار داد. در صورتی‌که وجود این قارچ در مدفوع اسب و یا سایر حیوانات وجود داشته باشد با شناسایی گونه قارچ، نوع متابولیت و تعیین آنزیمهای موجود در قارچ و مؤثربودن آن بر تخم و مراحل نوزادی انگل می‌توان گامهای جدیدتری برداشت.

تشکر و قدردانی

بدین‌وسیله از همکاری بخش فارماکولوژی دانشکده داروسازی دانشگاه تهران برای تعیین ماهیت متابولیت استخراج‌شده از قارچ فرصت‌طلب کاندیدا تشکر می‌نماییم.

منابع

۱. اسلامی، ع. کرم‌شناسی دامپزشکی (نماتود و آکانتوسفالا)، جلد سوم، انتشارات دانشگاه تهران، ۹۸-۹۷ و ۲۳۷-۱۹۵، (۱۳۷۶).

۲. اسلامی، ع.، پورسپاسی، ف.، ایمانی‌تبار، ف. و حسینی، س.ح. بررسی آلودگیهای کرمی اسبهای سواری اصفهان، مجله پژوهش و سازندگی، شماره ۳۸، (۱۳۷۷).

۳. خسروی، ع.ر. قارچ‌شناسی پزشکی (روشهای علمی)، انتشارات جهاد دانشگاهی دانشکده دامپزشکی دانشگاه تهران، ۴۹-۵، ۹۳-۸۳، (۱۳۷۰).

۴. طباطبایی‌اردکانی، و. بررسی آلودگیهای انگلی اسبهای سواری اسبداریهای اطراف تهران. پایان‌نامه دکتری دانشکده دامپزشکی دانشگاه آزاد اسلامی گرمسار، (۱۳۷۸).

۵. نیاک ع. و میرزایانس، آ. روشهای تشخیص آزمایشگاهی بیماریهای انگلی در دامپزشکی، مؤسسه چاپ و انتشارات دانشگاه تهران، ۱۴، ۲۷، ۲۴، (۱۳۵۴).

6. Cooke, R.C. Succission of nematophagus fungi during the decomposition of organic matter in the soil. Nature, 4863: 205, (1963).

7. Drechsler, C. Mycologia, 29: 252. Chapman & Hall, An International Thomson Publishing Co, (1937).

8. Driesche, R.G.V. and Bellows, T.S. Biological control, 7-20, 442-443, (1996).

9. Drouhet, E. Fungal antigens, Isolation and Detection, Plenum press, (1989).

10. Drummond, R.O., George, J.E. and Kunz, S.E. Control of arthropod pests of livestock: A review of technology, 21: 205-223, (1988).

11. Duddington, C.L. Trans. British Mycologic Soceity, 38:97, (1955).

12. Hurion, N. and Keil, B. Specifity of the collagenolytic enzyme from the fugus Entromophthora Coronata comparision with the bacterial collagenase from Achromobacter iophagus. Archieve biochemistry biophysic. 192: 438-445, (1979).

13. Levline, N.D. Strongyle infection, in equids. Nematode parasites of domestic animals and of man, Department of veterinary pathology of Illinois, Urbana, 127-134, (1968).

14. Lopez Liorka, L.V. Purification and properties of extracellular produced by the nematophagus fungus. Canadian Journal of Microbiology, 129: 431-438, (1990).

15. Schenck, S., Chase, T. and Pramer, D. Collagenase production by nematode - trapping fungi. Applied and environmental microbiology, 567-570, (1980).

16. Soprunov, F.F. and Goliulina, E.A. Microbiology, (Moscow), 20: 489, (1951).

17. Tunlid, A. and Janson, S. Proteases and their involvement to the infection and immobilization of nematodes by the neamtophagus fungi. Arthrobotrgs oligospera. Applied and environmental microbiology. 2863-2872, (1991).

18. Veenhuis, M. and Harder, W. An EM analysis of capture and initiall stages of penetration of nematodes by A. oligospora. Antonie vanleuvanhoek. 51: 385-398, (1985).

The role of metabolite of Candida spp. in biological control of egg and infective larvae cyathostominae nematodes

Yakhchali, M.[1], Khosravi, A.R.[3], Eslami, A.[2]

[1]*Department of Pathobiology, Faculty of Veterinary Medicine, Urmia University, Urmia - Iran.* [2]*Department of Microbiology, Faculty of Veterinary Medicine, Tehran University, Tehran - Iran.* [3]*Department of Parasitology, Faculty of Veterinary Medicine, Tehran University, Tehran - Iran.*

This study was carried out to determine the effect, of the metabolite of Candida spp. on 3rd stage larvae of the cyathostominae nematodes. The metabolite a saprophitic fungi, was a phenole proteine compound. The exposure of 3rd stage larvae to basic dilution of this metabolite and subsequently dilutions in 0.9 saline ($\frac{1}{5}, \frac{1}{10}, \frac{1}{15}, \frac{1}{20}, \frac{1}{25}, \frac{1}{30}, \frac{1}{40}, \frac{1}{50}, \frac{1}{60}, \frac{1}{70}, \frac{1}{80}, \frac{1}{90}, \frac{1}{100}$) under laboratory condition (in vitro) revealed a significant reduction in the nomber of larvae during 7 hours using Logrank test ($P<0.0001$). While the dilutions of $\frac{1}{1000}, \frac{1}{10000}$, and had no such effect.

Key words : Metabolite, Candida spp., Biological control, Cyathostominae larvae.