

کارایی دو گونه از قارچ *Pleurotus* در کنترل بیولوژیک نماتد مولد گره ریشه *Meloidogyne javanica*

رامین حیدری* و ابراهیم پورجم
* (مسول مکاتبه) گروه گیاهپزشکی، پردیس کشاورزی و منابع طبیعی دانشگاه تهران، کرج
گروه بیماری شناسی گیاهی دانشکده کشاورزی دانشگاه تربیت مدرس

چکیده

کارایی دو قارچ *Pleurotus ostreatus* و *P. sajor-caju* در کاهش جمعیت مرحله آلوده کننده نماتد مولد گره ریشه، *Meloidogyne javanica*، امکان کاربرد آنها در کنترل بیولوژیک این نماتد در آزمایشگاه و گلخانه بررسی شد. جمعیت نماتد تکثیر شد و اثر عصاره کشت قارچ‌ها بر لاروهای سن دوم نماتد آزمایش شد. اثر سه سطح وزنی کمپوست حاصل از کشت این گونه‌ها بر کاهش جمعیت نماتد و شاخص گال ریشه و بهبود شاخص‌های رشد گیاهان گوجه فرنگی آلوده شده با دو سطح جمعیتی نماتد، ارزیابی شد. عصاره کشت هر دو گونه مورد مطالعه بر روی لاروهای نماتد مولد گره ریشه سمیت نشان دادند و میزان مرگ و میر لاروها در عصاره کشت *P. ostreatus* بیشتر بود. کاربرد ۱۰۰ و ۱۵۰ گرم از کمپوست حاصل از کشت این قارچ‌ها، افزایش وزن ریشه و کاهش جمعیت لارو خاک و شاخص گال ریشه را سبب شد. این اثرات در کاربرد کمپوست *P. ostreatus* بیشتر از کمپوست *P. sajor-caju* مشاهده شد.

واژه‌های کلیدی: گال ریشه، گوجه فرنگی، *Pleurotus sajor-caju*، *Pleurotus ostreatus*

مقدمه

زندگی نماتد و ایجاد تغییرات شدید متابولیکی در گیاه است (Jung and Wyss 1999). در چند دهه اخیر، استفاده از ترکیبات شیمیایی نماتدکش مهم ترین روش کاهش خسارت نماتدهای انگل گیاهی محسوب می شد ولی در حال حاضر کاربرد بسیاری از این ترکیبات بدلیل اثرات مخربی که بر محیط زیست و سلامت انسان داشتند، محدود شده، در مواردی متوقف شده است. این ملاحظات به‌علاوه قیمت زیاد نماتدکش‌ها، توجه به روش‌های جایگزین روش‌های شیمیایی را بصورت مدیریت تلفیقی نماتدهای انگل گیاهی افزایش داده است (Oka and Yermiyahu

خسارت سالانه نماتدهای انگل گیاهی در محصولات کشاورزی بیش از ۸۰ بیلیون دلار تخمین زده می شود (Agrios 2005). در بین نماتدهای انگل گیاهی، نماتدهای مولد گره ریشه (گونه‌های جنس *Meloidogyne*) بیشترین خسارت را به محصولات کشاورزی وارد می آورند (Moens et al. 2009). بسیاری از گونه‌های نماتد های مولد گره ریشه دارای طیف وسیع میزبانی از گونه های مختلف گیاهان هستند و روی گیاهان میزبان علایمی بصورت "گال‌های ریشه‌ای" ایجاد می کنند. این گال‌ها محل استقرار و تکمیل چرخه

(Hibbet and Thorn 1994; Truong et al. 2007). بعضی از قارچ‌های کلاهکدار از جمله گونه‌های *Pleurotus* بصورت تجاری و جهت مصرف خوراکی کشت می‌شوند. هدف از این تحقیق، بررسی توانایی نماتدکشی دو گونه *P. sajor-caju* و *P. ostreatus* و کارایی کاربرد این قارچ‌ها در کنترل بیولوژیک یکی از گونه‌های مهم نماتدهای مولد گره ریشه (*Meloidogyne javanica*) روی گیاه گوجه فرنگی بوده است.

مواد و روش‌ها

تهیه جمعیت نماتد *Meloidogyne javanica*

ریشه یک بوته گوجه فرنگی با علایم آلودگی به نماتدهای مولد گره ریشه از مزرعه آلوده ای جمع‌آوری شد. پس از شستشوی ریشه، یک توده تخم نماتد به‌وسیله سوزن و تیغ از ریشه گیاه آلوده جدا شده و در محل ریشه یک نشای ۱۴ روزه گوجه فرنگی (*Lycopersicon esculentum*) رقم حساس Early Urbana درون گلدانی حاوی خاک شنی استریل قرار داده شد. نماتد ماده جهت بررسی مشخصات الگوی کوتیکول انتهای بدن استفاده شد. پس از دو ماه نگهداری گیاهچه تلقیح شده در گلخانه با دمای ۳۰-۲۵ درجه سلسیوس و مشاهده علایم آلودگی پس از ۴۵ روز، نشاهای جدیدی توسط خاک گلدان مذکور آلوده شدند و جمعیت مورد نیاز آزمایش‌ها تکثیر و نگهداری شد. شناسایی نماتد بر اساس مشخصات مورفولوژیک و مورفومتریک لاروهای سن دوم و ماده‌های بالغ و مشخصات الگوی کوتیکول انتهای بدن ماده‌ها (Sasser and Carter 1985) انجام شده و گونه مورد آزمایش *M. javanica* تشخیص داده شد.

تخم‌های نماتد، طبق روش هوسی و بارکر (Hussey and Barker 1979) و با استفاده از محلول هیپوکلریت سدیم، جداسازی شد. لاروهای آلوده کننده سن دوم روی الک ۳۰ میکرومتری تفریح شده (Barker 1985) و بصورت روزانه جمع‌آوری و نگهداری شدند.

بررسی سمیت عصاره کشت قارچ‌ها روی لاروهای *M. javanica*

کشت‌های خالص *P. sajor-caju* و *P. ostreatus* روی محیط کشت سیب زمینی دکستروز آگار (PDA) تکثیر و نگهداری شد. ظروف ارلن حاوی ۳۰۰ میلی لیتر

(2002). روش‌های کنترل بیولوژیک، یکی از بخش‌های مهم مدیریت تلفیقی نماتدهای انگل گیاهی است و شامل استفاده از عوامل زنده در کاهش جمعیت نماتدها می‌باشد. در بین عوامل مختلفی که قادر به کاهش جمعیت نماتد‌های گیاهی می‌شوند، قارچ‌ها اهمیت بیشتری داشته و بعضی از آنها پتانسیل بالایی در کنترل بیولوژیک نماتدها داشته‌اند (Ciancio and Mukerji 2008). تاکنون قارچ‌های مختلفی به‌عنوان عامل کنترل بیولوژیک نماتدها معرفی شده‌اند و کارایی بعضی از آنها نظیر *Verticillium chlamyosporium*، *Hirsutella rossiliensis* و *Paecilomyces lilacinus* حداقل در شرایط آزمایشگاهی ثابت شده است (Jatala 1986, Jaffee and Zehr 1982, Timper and Broalie 1994, Lopez-Llorca et al. 2008). خاصیت نماتدکشی در قارچ‌های شاخه Basidiomycota اولین بار در گونه‌های قارچ *Nematocotonus* مشاهده و گزارش شد (Barron 1977). مرحله جنسی این قارچ‌ها در گونه‌های *Hohenbuehelia* قرار می‌گیرد که قارچی کلاهکدار بوده و از عوامل پوسیدگی چوب است (Barron 2003). از این پس گونه‌های مختلفی از بازیدیومیست‌های کلاهکدار با توانایی نماتدکشی معرفی شدند. از جمله گونه‌هایی از *Pleurotus*، *Conocybe* و *Resupinatus* (Barron and Tzean and Liou 1993). بارون و تورن (Barron and Thorn 1987) سمیت هیف‌های رویشی *Pleurotus ostreatus* را گزارش کرده و رفتار نماتدها در تماس با این قارچ را تشریح کردند. ویژگی سمیت هیف‌های این قارچ به ترشحات حاوی توکسین trans-2-decenedoic acid ارتباط داده شده است (Kwok et al. 1992). بررسی‌های دیگری نیز توانایی نماتدکشی این قارچ را روی نماتدهای مختلفی نشان داده است (Satou et al. 2000, HongQiong and ZhiXin 2008). شارما نماتدهای فعال *Aphelenchoides composticola* را به عصاره کشت *P. sajor-caju* انتقال داده و مشاهده کرد که نماتدها پس از دو روز کشته شدند (Sharma 1994). گونه‌های دیگری از جنس *Pleurotus* از جمله *P. P. levis*، *P. cystidiosus*، *cornucopiae* و *P. eryngii* و *coremiopleurotus* توانایی کشتن نماتدها را با روش مشابهی دارند (Thorn and Barron 1984).

در آزمایش گلخانه ای استفاده شد. بسترهای تلقیح نشده با اعمال شرایط مشابه، به عنوان شاهد نگهداری شد.

ارزیابی اثر قارچها روی نماتد در شرایط گلخانه

مقادیر ۵۰، ۱۰۰ و ۱۵۰ گرم کمپوست قارچها با خاک شنی استریل مخلوط و به گلدانهای ۵ کیلویی وارد شدند. نشاهای سی روزه گوجه فرنگی رقم ارلی اوربانا به این گلدانها منتقل شده و یک هفته پس از انتقال، ریشه گیاهان با ۲۰۰۰ و ۴۰۰۰ تخم و لارو *M. javanica* تلقیح شد. تیمارهای شاهد فقط آب مقطر استریل دریافت کردند. گیاهان به مدت ۶۵ روز در گلخانه‌ای با دمای ۲۵-۳۰ درجه سلسیوس نگهداری شدند. پس از این مدت، گیاهان از گلدانها خارج شده، شاخص گال ریشه، وزن تر ریشه و اندامهای هوایی و تعداد لارو در ۲۰۰ گرم خاک گلدانها اندازه‌گیری شد. برای تعیین شاخص گال ریشه از درجه‌بندی (Taylor and Sasser 1978) استفاده شد: ۰ = فاقد گال یا توده تخم، ۱ = ۱-۲، ۲ = ۳-۱۰، ۳ = ۱۱-۳۰، ۴ = ۳۱-۱۰۰ و ۵ = بیش از ۱۰۰ گال روی ریشه. جداسازی لاروها از خاک به روش سانتریفوژ (Jenkins 1964) انجام شد. تیمارها شامل همه ترکیبات ممکن از سه سطح جمعیت نماتد (صفر، ۲۰۰۰ و ۴۰۰۰ تخم و لارو)، سه سطح قارچ (بدون قارچ، *P. sajor-caju* و *P. ostreatus*) و سه سطح کمپوست (۵۰، ۱۰۰ و ۱۵۰ گرم) بود. هر تیمار دارای چهار تکرار بوده و آزمون در قالب فاکتوریل با طرح پایه بلوک‌های کامل تصادفی اجرا شد. مقایسه میانگینها توسط آزمون چند دامنه‌ای دانکن در سطح پنج درصد انجام شد.

نتایج و بحث

کشندگی عصاره های کشت قارچها روی لاروهای *M. javanica*

عصاره تهیه‌شده از هر دو گونه مورد بررسی روی لاروهای نماتد اثر کشندگی نشان دادند. به دلیل اینکه تکرار آزمایش نتایج مشابهی نشان داد، میانگین نتایج دو آزمایش در نمودار ۱ نشان داده شده است. میزان مرگ و میر نماتدها در عصاره کشت دو قارچ متفاوت بوده و در *P. ostreatus* بیشتر بود بطوریکه حدود ۸۰ درصد

محیط کشت مایع عصاره مالت (MEB)، توسط بلوک یک سانتیمتر مکعبی از کشت یک هفته ای قارچها، تلقیح شده و به مدت سه هفته روی دستگاه تکان دهنده با سرعت ۴۰-۵۰ دور در دقیقه در دمای ۲۵-۲۲ درجه سلسیوس نگهداری شدند. عصاره کشت قارچها طبق روش شارما (Sharma 1994) با عبور دادن از یک لایه کاغذ صافی استریل (Whatman cat No: 1001110) و فیلتر ۰/۴۵ میکرومتری تهیه شد. عصاره‌های به‌دست آمده توسط آب مقطر استریل رقیق شده و از غلظت پایه (۱۰۰٪) و رقیق‌شده (۲۰٪ و ۵٪) در آزمایشها استفاده شد. پنجاه لارو سن دوم فعال نماتد *M. javanica* به چاهک‌های محتوی ۵ میلی لیتر عصاره‌های کشت قارچی اضافه شد و محیط MEB و آب مقطر استریل به عنوان شاهد در نظر گرفته شد. تعداد نماتدهای زنده پس از چهار، هشت و بیست و چهار ساعت شمارش شده و درصد تلفات لاروها در هر واحد آزمایشی محاسبه شد. آزمون دو بار بطور مشابه در قالب طرح کاملا تصادفی با پنج تکرار در دمای ۲۵ درجه سلسیوس اجرا شد. مقایسه میانگینها برای درصد تلفات لاروها در هر تیمار توسط آزمون حداقل اختلاف معنی دار (LSD) در سطح پنج درصد انجام شد.

تکثیر قارچها بر بستر سلولزی

جهت تکثیر قارچها بمنظور استفاده در آزمایشهای گلدانی، قارچهای رشد یافته روی PDA به بذر گندم و سپس به بستر سلولزی کاه گندم منتقل شد (Aneja 2002). بذرهای سالم گندم پس از جوشاندن در آب با سولفات کلسیم هیدراته ($\text{CaSO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$) و کربنات کلسیم (CaCO_3) به ترتیب به نسبت ۲ و ۰/۵ درصد مخلوط شدند. برش‌های یک سانتی‌متر مکعبی از کشت خالص قارچها به ارلن‌های محتوی بذرهای اتوکلاو شده منتقل شد و سه هفته در تاریکی و دمای ۲۵ درجه سلسیوس نگهداری شدند. قطعات خردشده کاه گندم، پس از جوشاندن در آب به کیسه‌های پلاستیکی ۲۵×۶۰ سانتیمتری منتقل شده و همزمان با انتقال، با بذور گندم کلونه شده با میسیلیوم‌های قارچی به نسبت ۵-۲ درصد وزنی کلش مرطوب تلقیح شدند. پس از ۱۸ روز نگهداری در دمای ۲۵ درجه سلسیوس، از بستر کلنیزه شده قارچها (کمپوست) به عنوان ماده آزمایشی قارچی

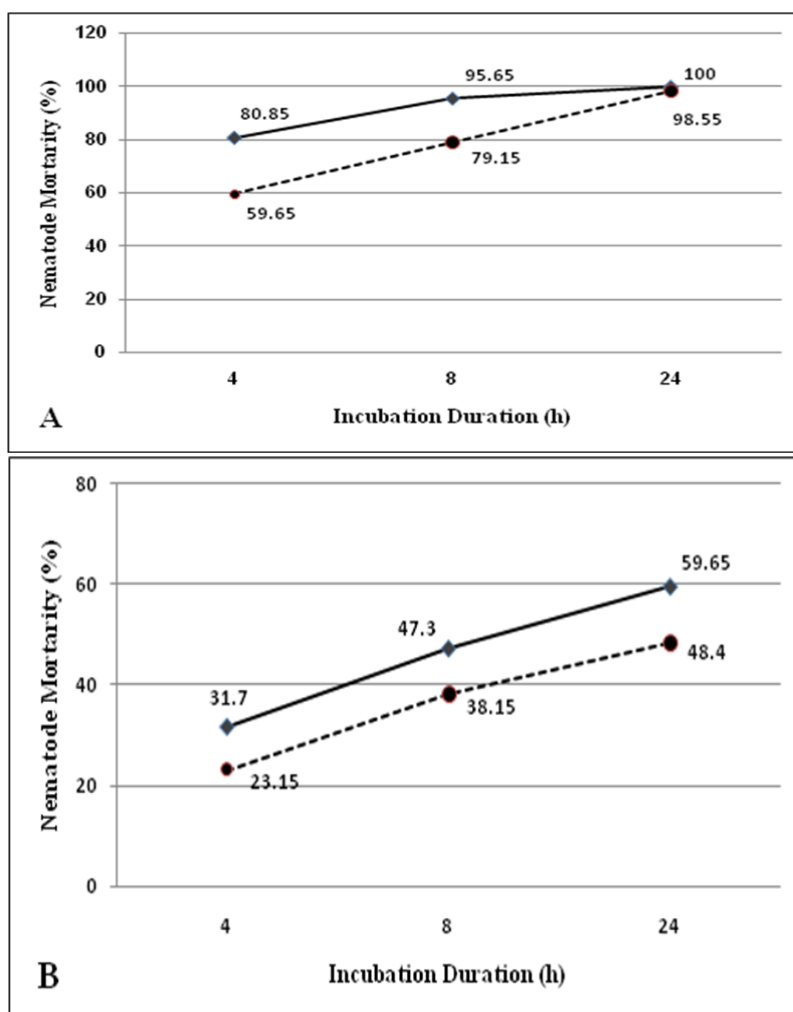
sajor-caju نیز توانست شاخص وزن ریشه را در تیمارهای تلقیح شده با نماتد، تغییر دهد. در تیمارهای تلقیح شده با جمعیت ۲۰۰۰ نماتد نیز روند مشابهی مشاهده شد (جدول ۱). در تیمارهای بدون نماتد، میانگین وزن ریشه در سطوح مختلف وزنی قارچ اختلافی نداشت. همچنین این مقادیر با تیمارهای شاهد (بدون نماتد و قارچ) تفاوتی نداشت. بنابراین کاربرد کمپوست قارچ‌ها به تنهایی نتوانسته است اثری بر افزایش وزن ریشه داشته باشد. در تیمارهای تلقیح شده، کاربرد ۵۰ گرم از کمپوست قارچ‌ها اثر چندانی بر شاخص وزن ریشه نداشت ولی استفاده از ۱۵۰ گرم کمپوست از هر دو قارچ، این شاخص را بطور مشهود، بهبود داد (جدول ۱).

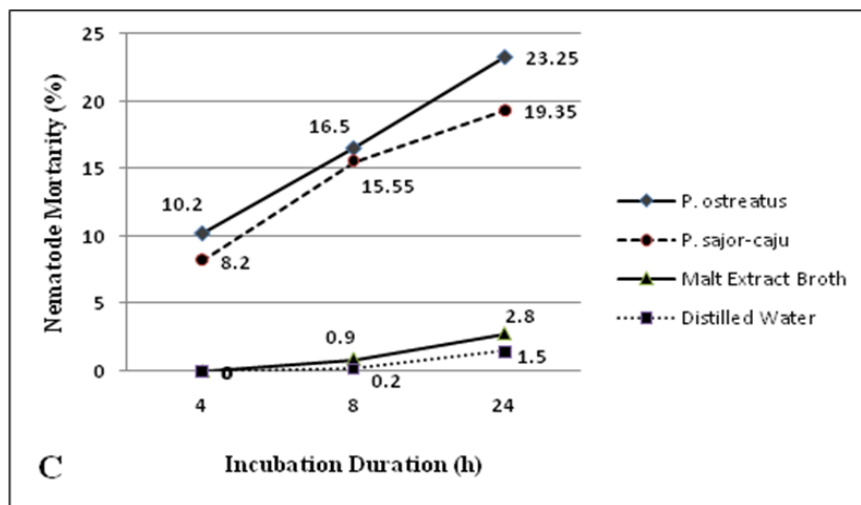
لاروها پس از ۴ ساعت قرار گیری در عصاره پایه *P. ostreatus* و ۱۰۰ درصد آنها پس از ۲۴ ساعت کشته شدند. کشندگی عصاره کشت *P. sajor-caju* نیز قابل توجه بود بطوریکه میزان مرگ و میر در عصاره ۵٪ این قارچ نیز بیشتر از تیمارهای شاهد بود. با افزایش غلظت عصاره‌ها، میزان سمیت افزایش یافت.

آزمایش‌های گلخانه‌ای

اثر کاربرد کمپوست قارچ‌ها بر وزن ریشه و اندام‌های هوایی

در بین تیمارهای تلقیح شده با جمعیت ۴۰۰۰ نماتد، بیشترین وزن ریشه در تیمارهایی مشاهده شد که از ۱۵۰ گرم کمپوست *P. ostreatus* استفاده شد. البته کاربرد ۱۰۰ گرم کمپوست همین قارچ نیز اثر زیادی بر بهبود این شاخص داشت. کاربرد ۱۵۰ گرم کمپوست *P.*





نمودار (۱) درصد مرگ و میر لاروهای سن دوم *M. javanica* در عصاره کشت پایه (A)، ۲۰٪ (B)، و ۵٪ (C) *P. sajor-* و *P. ostreatus* و تیمارهای شاهد پس از چهار، هشت و بیست و چهار ساعت نگهداری. مقدار LSD برای مقایسه در چهار، هشت و بیست و چهار ساعت به ترتیب ۶/۸، ۷/۱ و ۶/۳ است.

جدول ۱- اثر کاربرد کمپوست حاصل از کشت *Pleorotus ostreatus* و *P. sajor-caju* بر فاکتورهای رشدی و آلودگی گیاهان تلقیح شده با نماتد *Meloidogyne javanica*

گونه قارچ	وزن کمپوست (گرم)*	جمعیت نماتد تلقیح شده	وزن ریشه (گرم)	وزن اندام هوایی (گرم)	شاخص گال ریشه**	جمعیت نماتد در ۲۰۰ گرم خاک**
بدون قارچ	۵۰	۰	۹/۸۷ ab	۱۳/۸۲ab	۰ g	۰ i
	۲۰۰	۲۰۰۰	۶/۴ d-g	۹/۵۴ de	۲/۷۵b-e	۸۸۵ d-g
	۴۰۰	۴۰۰۰	۴/۲۵ h	۶/۷۹ de	۲/۷۵ab	۱۲۲۴abc
	۱۰۰	۰	۱۰/۵ a	۱۴/۳۵ab	۰ g	۰ i
	۲۰۰	۲۰۰۰	۶/۳ efg	۱۰/۴۳bcd	۳ a-d	۱۰۲۷a-e
	۴۰۰	۴۰۰۰	۴/۶ h	۷/۱۹ de	۴ a	۱۳۲۱ a
	۱۵۰	۰	۹/۰۵abc	۱۴/۶ a	۰ g	۰ i
	۲۰۰	۲۰۰۰	۵/۲fgh	۸/۶۳ de	۲/۲۵def	۷۳۵ e-h
	۴۰۰	۴۰۰۰	۴/۵h	۷/۰۲ de	۳/۵ ab	۱۲۶۴ ab
	۵۰	۰	۱۰/۲۲b	۱۴/۲۹ ab	۰ g	۰ i
	۲۰۰	۲۰۰۰	۷de	۹/۰۳ de	۲/۲۵def	۷۰۸ fgh
	۴۰۰	۴۰۰۰	۴/۱۷h	۸/۳۲ de	۳/۲۵abc	۱۰۹۳a-d
<i>P.ostreatus</i>	۱۰۰	۰	۹/۶۵ab	۱۳/۷ ab	۰ g	۰ i
	۲۰۰	۲۰۰۰	۷/۹cd	۹/۸۴ cde	۱/۷۵f	۶۵۰ gh
	۴۰۰	۴۰۰۰	۶/۵def	۸/۱۱ de	۲/۷۵b-e	۸۳۲ d-g
	۱۵۰	۰	۹/۹ab	۱۳/۳۲abc	۰ g	۰ i
	۲۰۰	۲۰۰۰	۸/۸۷bc	۱۰/۷۷a-d	۱/۵f	۵۵۵ h
	۴۰۰	۴۰۰۰	۷/۹ cd	۸/۵۷ de	۲/۲۵ c-f	۸۲۵ d-g
	۵۰	۰	۱۰/۲۷ab	۱۳/۵۴ ab	۰ g	۰ i
	۲۰۰	۲۰۰۰	۶/۳ efg	۸/۷۲ de	۲/۲۵ c-f	۹۷۶ b-f
	۴۰۰	۴۰۰۰	۴/۳ h	۶/۲۹ e	۳/۵ ab	۱۳۴۴ a
	۱۰۰	۰	۹/۱۲abc	۱۳/۶۷ ab	۰ g	۰ i
	۲۰۰	۲۰۰۰	۶/۵ def	۸/۳ de	۲ ef	۹۲۱ c-g
	۴۰۰	۴۰۰۰	۴/۹ gh	۷/۹۴ de	۳/۲۵ ab	۱۰۱۴ b-f
<i>P.sajor-caju</i>	۱۵۰	۰	۹/۷ ab	۱۳/۹۳ab	۰ g	۰ i
	۲۰۰	۲۰۰۰	۷/۱ de	۸/۳۴ de	۲/۲۵def	۵۴۶ h
	۴۰۰	۴۰۰۰	۵/۲fgh	۸/۱ de	۲/۷۵b-e	۹۶۱ b-f

در هر ستون، تیمارهای دارای حروف مشترک، اختلاف معنی دار ندارند. * تیمارهای شاهد بدون قارچ وزن های مختلف بستر تلقیح نشده را دریافت کردند. ** داده ها با انتقال به رابطه $\sqrt{x+0.5}$ نرمال گردیدند.

لاروها در مقایسه با تیمارهای شاهد مربوطه شد (جدول ۱). سطح پایین کمپوست قارچ‌ها (۵۰ گرم) اثری بر جمعیت لارو در خاک نداشت.

گونه‌های *Pleurotus* از قارچ‌های مهم عامل پوسیدگی چوب در طبیعت هستند. با توجه به کمبود نیتروژن قابل دسترس در بسترهای چوبی، قدرت نامتدکشی در این قارچ‌ها، جهت کسب نیتروژن مورد نیاز و در پاسخ به این نیاز بیولوژیک، تکامل یافته است (Barron 2003). همانطور که برخی از گونه‌های قارچ کلاهکدار *Agaricus* برای تأمین نیاز نیتروژنی خود، قابلیت مصرف باکتری‌ها را کسب کرده‌اند (Barron, 1998). نتایج تحقیق حاضر خاصیت نامتدکشی قارچ‌های جنس *Pleurotus* را که در مطالعات پیشین بر روی نامتدهای آزاد گزارش شده بود (Thorn and Barron 1984, Barron and Thorn 1986, Sharma 1994, Hibbet and Thorn 1994, Lopez-LLorca et al. 2008, Satou et al. 2008)، بر یکی از نامتدهای مهم انگل گیاهی، *M. javanica* و امکان کاربرد آنها در برنامه‌های مدیریت نامتد گره ریشه نشان می‌دهد. نامتدهای مولد گره ریشه گونه‌های مختلفی از جنس *Meloidogyne* spp. را شامل می‌شوند که استراتژی بیماریزایی مشابهی دارند. دامنه میزبانی این نامتدها وسیع است و برخی گونه‌ها نظیر *M. javanica* قادر به ایجاد بیماری روی طیفی از گیاهان چوبی، علفی و سبزیجات هستند (Sasser and Carter 1985). بنابراین اثراتی که کاربرد قارچ‌های مورد مطالعه در این تحقیق بر فاکتورهای رشدی و آلودگی گیاهان گوجه‌فرنگی، بعنوان میزبان تیپ، داشته‌اند، در میزبانهای دیگر نیز مورد انتظار است و این موضوع نیازمند بررسی جداگانه‌ای است.

جمعیت اولیه نامتد آلوده کننده نقش مهمی در شدت آلودگی و بروز علائم بیماری دارد (Greco and Di Vito 2009). بطوریکه با افزایش جمعیت نامتد تلقیح شده به گیاه، بر تعداد گال ریشه افزوده شد و فاکتورهای رشدی و عملکردی کاهش می‌یابد (جدول ۱). این مساله اهمیت روش‌های کاهش دهنده جمعیت اولیه نامتدهای آلوده‌کننده را نسبت به روش‌های درمانی نشان می‌دهد. عامل بیوکنترل موفق نامتدهای انگل

باوجودیکه در بین تیمارهای تلقیح شده با جمعیت ۴۰۰۰ نامتد، بیشترین میانگین وزن تر اندام‌های هوایی در تیمار استفاده شده از ۱۵۰ گرم کمپوست *P. ostreatus* مشاهده شد، ولی این میزان با سایر تیمارهای تلقیح شده با جمعیت مشابه نامتد، تفاوت آماری ($\alpha=0.05$) نداشت. همچنین کاربرد کمپوست *P. sajor-caju* اثری در افزایش میانگین وزن اندام‌های هوایی در تیمارهای تلقیح شده با نامتد نداشت.

اثر کاربرد کمپوست قارچ‌ها بر شاخص گال ریشه

کاربرد ۱۰۰ و ۱۵۰ گرم کمپوست هر دو قارچ توانست شاخص گال ریشه را در مقایسه با تیمارهای شاهد مربوطه، کاهش دهد. در بین تیمارهای تلقیح شده با ۴۰۰۰ نامتد، کمترین میانگین شاخص گال ریشه در تیمارهای استفاده شده از ۱۵۰ گرم کمپوست *P. ostreatus* و سپس در تیمارهای استفاده شده از همین مقدار کمپوست *P. sajor-caju* مشاهده شد (جدول ۱). گرچه مقدار عددی شاخص گال ریشه با افزایش وزن کمپوست قارچ‌ها کاهش یافته است، ولی این تفاوت‌ها معنی‌دار ($\alpha=0.05$) نیست. در مقایسه با تیمارهای شاهد که نامتد و بستر بدون قارچ دریافت کردند، کاربرد قارچ‌ها توانست شاخص گال ریشه را کاهش دهد. با توجه به عدم وجود تفاوت آماری (جدول ۱) بین تیمارهای تلقیح شده با جمعیت مشابه نامتد و وزن کمپوست مشابه از قارچ‌های مختلف، این دو قارچ از نظر تأثیر بر شاخص گال ریشه، تفاوت چندانی ندارند.

اثر کاربرد کمپوست قارچ‌ها بر جمعیت لارو خاک

کاربرد ۱۰۰ و ۱۵۰ گرم کمپوست قارچ‌های مورد مطالعه، جمعیت لارو در خاک را بطور مشخصی کاهش داد. به این ترتیب که کمترین مقدار عددی جمعیت لارو در تیمارهای تلقیح شده با نامتد، مربوط به تیمارهایی بود که از ۱۵۰ گرم کمپوست قارچ‌ها استفاده شده بود. در تیمارهای تلقیح شده با ۴۰۰۰ نامتد، کمترین تعداد لارو در ۲۰۰ گرم خاک تیماری مشاهده شد که ۱۵۰ گرم کمپوست *P. ostreatus* دریافت کرده بود (جدول ۱). این تعداد با تیمار کاربرد ۱۵۰ گرم کمپوست *P. sajor-caju* تفاوتی نداشت ($\alpha=0.05$). کاربرد ۱۰۰ گرم کمپوست قارچ‌ها نیز بطور مشابهی سبب کاهش جمعیت

مورد بررسی هستند ولی تعداد محدودی از آنها به استفاده فراگیر رسیده اند. بین اثبات کارایی یک عامل در آزمایشگاه و شرایط کنترل شده تا استفاده عملی آن فاصله زیادی وجود دارد (Stirling 1991). نتایج تحقیق حاضر شواهدی از امکان کاربرد گونه های *Pleurotus* در برنامه های مدیریت نماتدهای انگل گیاهی را نشان می دهد و تا قبل از انجام بررسی های تکمیلی در زمینه هایی نظیر فرمولاسیون، استقرار در شرایط پیچیده خاک، دامنه و مدت فعالیت، اثرات جانبی کاربرد و سایر جنبه های ضروری، امکان توصیه کاربرد وسیع آنها وجود ندارد.

گیاهی خاکزی بایستی توانایی استقرار مناسب در خاک داشته و همزمان با شروع آلوده سازی نماتدها، فعالیت کند. مشاهدات اولیه برای *P. ostreatus* قدرت بقای زیاد این قارچ را در خاک گلخانه نشان داد. ملاحظات اقتصادی تکثیر و تولید عوامل کنترل بیولوژیک، نقش مهمی در انتخاب عامل بیوکنترل ایفا می کنند (Stirling 1991). تکثیر و تولید انبوه *Pleurotus* spp. نیاز به تکنولوژی پیچیده و مواد اولیه گرانبه نیست. این موضوع یکی از مزیت های نسبی این قارچها بمنظور کنترل بیولوژیک نماتدهای انگل گیاهی است. استفاده از ارگانسیم های زنده به منظور کاهش خسارت نماتدها، از جهات مختلف مورد توجه است و عوامل مختلفی نیز

REFERENCES

- Agrios GN (2005) Plant Pathology. Elsevier Academic Press. 922pp.
- Aneja KR (2002) Experiments in microbiology, plant pathology, tissue culture and mushroom production technology. New age International pub. 568pp.
- Barker KR (1985) Nematode extraction and bioassays, In: Barker KR, Carter CC and JN Sasser (eds), An advance treatise on *Meloidogyne*, Vol. ii, Methodology. North Carolina State University Graphics.
- Barron GL (1977) The Nematode-Destroying Fungi. Canadian Biological Publications. Guelph, Ontario.
- Barron GL (1998) Microcolonies of bacteria as a nutrient source for lignicolous and other fungi. Canadian Journal of Botany 66: 2505-2510.
- Barron GL (2003) Predatory fungi, wood decay, and the carbon cycle. Biodiversity 4: 3-9.
- Barron GL, Thorn RG (1987) Destruction of nematodes by species of *Pleurotus*. Canadian Journal of Botany 65: 774-778.
- Ciancio A, Mukerji KG (2008) Integrated Management and Biocontrol of Vegetable and Grain Crops Nematodes. Springer Pub. 356 pp.
- Greco N, Di Vito M (2009) Population dynamics and damage levels. In: Perry RN, Moens M and JL Starr (eds), Root-knot Nematodes CAB International Pub.
- Hibbet DS, Thorn RG (1994) Nematode-trapping in *Pleurotus tuberregium*. Mycologia 86: 696-699.
- Hussey RS, Barker KR (1973) A comparison of methods of collecting inocula for *Meloidogyne* spp., including a new technique. Plant Disease Reporter 57: 1025-1028.
- Jatala P (1986) Biological control of plant parasitic nematodes. Annual Review of Phytopathology 24: 452-489.
- Jaffee BA, Zehr EI (1982) Parasitism of the nematode *Circonemella xenoplax* by the fungus *Hirsutella rhossiliensis*. Phytopathology 72: 1378-1381.
- Jatala P (1986) Biological control of plant parasitic nematodes. Annual Review of Phytopathology 24: 453-489.
- Jenkins WR (1964) A rapid centrifugal-flotation technique for extraction nematodes from soil. Plant Disease Reporter 48: 692.
- Jung C, Wyss U (1999) New approaches to control plant parasitic nematodes. Appl Microbiol Biotechnol 51: 439-446.
- Kwok OCH, Plattner R, Weislender D, Wicklow, DT (1992) A nematocidal toxin from *Pleurotus ostreatus* NR RL 3526. Journal of Chemical Ecology 18: 127-136.
- Lopez-Llorca, LV, Macia-Vicente, Jansson HB (2008) Mode of action and interactions of nematophagous fungi. In: Ciancio A and K. G. Mukerji (eds.), Integrated Management and Biocontrol of Vegetable and Grain Crops Nematodes, 51-76.
- Moens M, Perry R, Starr J (2009) Meloidogyne species – a diverse group of novel and important plant parasites. In: Perry RN, Moens M and JL Starr (eds), Root-knot Nematodes CAB International Pub. 1-17.

- Oka Y, Yermiahu Y** (2002) Suppressive effects of composts against the root-knot nematode *Meloidogyne javanica* on tomato. *Nematology* 4: 891-898.
- Oka Y, Kaltai H, BarEyl M, More M, Sharon E, Chet I, Spiegel Y** (2000) New strategies for the control of plant parasitic nematodes. *Pest Management Science* 56: 983-988.
- Sasser JN** (1980) Root knot nematodes: a global menace to crop production, *Plant Disease*. 64: 36-41.
- Sasser JN, Carter CC** (1985) An advance treatise on *Meloidogyne*. North Carolina State University Graphics 422 pp.
- Sharma VP** (1994) Potential of *Pleurotus sajor-caju* for biocontrol of *Aphelenchoides composticola* in *Agaricus bisporus* cultivation. *Mushroom Research.*, 3: 15-20.
- Siddiqui ZA, Mahmood I** (1996) Biological control of Plant parasitic nematodes by fungi: A Review of Bioresource Technology. 58: 229-239.
- Stirling GR** (1991) Biological control of plant parasitic nematodes, progress, problems and prospects. CAB International, Wallingford, UK.
- Taylor AL, Sasser JN** (1978) Biology, Identification and control of root-knot nematodes (*Meloidogyne* species). North carolina state university, Raleigh, North carolina, 111pp.
- Thorn RG, Barron GL** (1984) Carnivorous mushrooms. *Science* 224: 67-78.
- Timper P, Brodie BB** (1994) Effect of *Hirsutella rhossiliensis* on infection of potato by *Pratylenchus penetrans*. *Journal of Nematology* 26: 304-307.
- Tzen SS, Liou JY** (1993) Nematophagous resupinate basidiomycetous fungi. *Phytopathology* 83: 1015-1020.

Efficiency of two species of *Pleurotus* in biological control of the root knot nematode, *Meloidogyne javanica*

HEYDARI R.^{1*} AND POURJAM E.²

1, Department of Plant Protection, College of Agriculture and Natural resources, University of Tehran, Karaj, Iran

2, Department of Plant Pathology, Faculty of Agriculture, Tarbiat Modares University, Tehran, Iran

ABSTRACT

Efficiency of *Pleurotus ostreatus* and *P. sajor-caju* as biocontrol agents of the root knot nematode, *Meloidogyne javanica*, was evaluated *in vitro* and in greenhouse experiments. Population of the nematode were prepared and nematicidal effects of culture filtrates of the fungal species on second stage juveniles of *M. javanica* were tested. Substrates completely colonized by tested fungi as fungal inoculums in three weight levels and two levels of nematode populations were used to evaluate the effect of the fungi on severity of disease caused by the nematode in a greenhouse trial. Culture filtrates of the fungi were toxic to nematodes and filtrates of *P. ostreatus* showed greater nematicidal activity. Application of 100 and 150 gr. of completely colonized composts of the fungi improved the fresh root weight of the seedlings and reduced the galling index and nematode population as compared to the controls and application of *P. ostreatus* was more effective than *P. sajor-caju*.

Keywords: *Pleurotus ostreatus*, *Pleurotus sajor-caju*, Root gall, Tomato