



هشتمین کنفرانس ملی زیست شناسی و علوم طبیعی ایران

اثر عصاره گیاهی بر جمعیت لارو سن دوم نماتد ریشه‌گرهی *Meloidogyne javanica* در شرایط آزمایشگاه

آیت اله سعیدی زاده*، محمد حسین فتوکیان و فهیمه نیاستی

۱- دانشیار، دانشکده کشاورزی، دانشگاه شاهد، * نویسنده مسئول – Email: saeidizadeh@shahed.ac.ir

۲- دانشیار، دانشکده کشاورزی، دانشگاه شاهد – Email: fotokian@yahoo.com

۳- کارشناس ارشد، دانشکده کشاورزی، دانشگاه شاهد – Email: fniasti95@gmail.com

چکیده

نماتدهای ریشه‌گرهی (*Meloidogyne* spp.) از بیمارگرهای کلیدی روی انواع گیاهان زراعی، باغی و گلخانه‌ای محسوب می‌شوند. کاربرد ترکیبات شیمیایی نماتدکش موجب مهار سریع جمعیت و فعالیت این نماتدها شده است، اما این ترکیبات علاوه بر هزینه‌های سنگین، اثرات نامطلوب زیست محیطی را در پی داشته‌اند. امروزه استفاده از برخی عصاره‌های گیاهی به عنوان راهکاری مناسب جهت کنترل جمعیت نماتدهای انگل گیاهی مطرح شده است. در این تحقیق بررسی اثر عصاره آبی برخی گیاهان بر جمعیت لارو سن دوم نماتد ریشه‌گرهی *Meloidogyne javanica* در شرایط آزمایشگاه مورد ارزیابی قرار گرفت. پس از نمونه‌برداری از ریشه گیاهان گوجه‌فرنگی از مزارع آلوده به نماتدهای ریشه‌گرهی، جداسازی، شناسایی و تکثیر نماتد مورد نظر انجام گرفت. در این آزمون اثر عصاره آبی برگ گیاهان چریش (*Azadirachta indica*)، اکالیپتوس (*Eucalyptus camaldulensis*)، مورد (*Myrtus communis*) و حنا (*Lawsonia inermis*) بر درصد مرگ و میر جمعیت لارو سن دوم نماتد *M. javanica* در شرایط آزمایشگاه مورد بررسی قرار گرفت. نتایج نشان داد که در آزمون اول عصاره گیاهان چریش، اکالیپتوس، حنا و مورد به ترتیب بیشترین تا کمترین اثر کنترلی بر جمعیت نماتد *M. javanica* را داشته‌اند. میزان مرگ‌ومیر لاروهای سن دوم در رابطه با عصاره چریش ۶۸/۲۳، اکالیپتوس ۳۸/۶۸، حنا ۳۳/۵۹ و مورد ۲۸/۷۴ درصد بوده است. اثر متقابل نوع گیاه، غلظت عصاره و زمان در معرض بودن نشان داد که بیشترین میزان مرگ و میر لاروها در گیاه چریش، غلظت ۴۰۰ میلی گرم بر لیتر و در زمان روز پنجم از آغاز تیمار بدست آمد.

کلمات کلیدی: مهار غیرشیمیایی، نماتدهای انگل گیاهان، عصاره گیاهی.

۱. مقدمه

نماتدهای ریشه‌گرهی (root-knot nematodes) متعلق به جنس *Meloidogyne* دارای بیشترین پراکنش جهانی و دامنه میزبانی در میان نماتدهای انگل گیاهان می‌باشند. چهار گونه *M. javanica*، *M. incognita*، *M. arenaria* و *M. hapla* به ترتیب بیشترین فراوانی جمعیت را در خاک‌های مزارع، باغ‌ها و گلخانه‌های نقاط مختلف جهان دارا می‌باشند. نماتدهای ریشه‌گرهی در کنار نماتدهای مولد سیست ریشه (root-cyst nematodes) متعلق به جنس *Heterodera* و نماتدهای مولد زخم ریشه (root-lesion nematodes) متعلق به جنس *Pratylenchus* یکی از سه جنس مطرح و مهم از نظر میزان خسارت در بین نماتدهای انگل گیاهان محسوب می‌شوند. از چهار گونه مهم متعلق به جنس *Meloidogyne*، گونه *M. javanica* موجب آسیب گسترده به طیف وسیعی از محصولات کشاورزی در جهان و ایران شده است (Kiriga et al., 2018). استفاده از نماتدکش‌ها در خاک اطراف گیاهان در مزارع، باغ‌ها و گلخانه‌ها، میزان فعالیت نماتد و نشانه‌های بیماری را روی ریشه و متعاقباً اندام‌های هوایی گیاه کاهش داده است ولی تداوم این عمل موجب افزایش مقاومت نماتدها نسبت به نماتدکش‌ها شده و از طرفی استفاده بی‌رویه از ترکیبات شیمیایی، به ویژه ترکیبات تدخینی با دامنه اثر وسیع، موجب بروز عوارض نامطلوب زیست محیطی شده است. هزینه‌های تولید، نگهداری و کاربرد ترکیبات شیمیایی، تمایل مردم به خرید محصولات سم نخورده و محدودیت‌های استفاده از سموم روی سبزیجات،



هشتمین کنفرانس ملی زیست شناسی و علوم طبیعی ایران

موجب افزایش تمایل محققین و زارعین به استفاده از روش‌های غیرشیمیایی جهت کنترل نماتدهای انگل گیاهان شده است. با افزایش آگاهی و دانش بشر در مورد خطرات کاربرد ترکیبات شیمیایی برای زارعین و مصرف کنندگان محصولات کشاورزی، محققین در پی یافتن سیستم‌های تلفیقی و راهکارهای جدیدی جهت جایگزینی با روش‌های شیمیایی و یا به حداقل رساندن مصرف این ترکیبات شده‌اند. استفاده از ترکیبات گیاهی برای کنترل برخی از نماتدهای انگل گیاهان مورد توجه محققین قرار گرفته و در مواردی مؤثر بوده است (Niranjana Prabhu *et al.*, 2013; Naz *et al.*, 2013; Ntalli and Caboni, 2012; 2018). در تحقیق حاضر اثر نماتدکشی عصاره آبی برگ گیاهان چریش (*Azadirachta indica* Jussieu)، اکالیپتوس (*Eucalyptus camaldulensis* Dehnh.)، مورد (*Myrtus communis* L.) و حنا (*Lawsonia inermis* L.) بر جمعیت لارو سن دوم نماتد ریشه گرهی *M. javanica* در شرایط آزمایشگاه مدنظر می‌باشد.

۲. مواد و روش‌ها

۲-۱. مایه تلقیح نماتد *M. javanica*

جهت تهیه مایه تلقیح نماتد *M. javanica* ابتدا نمونه‌برداری از گلخانه‌های خیار واقع در منطقه ورامین انجام پذیرفت. برای آماده‌سازی مایه تلقیح نماتد *M. javanica* خالص‌سازی و تکثیر نماتد به روش توده تخم منفرد (single egg mass) انجام گرفت (Hussey and Barker, 1973). پتری‌های حاوی تخم در انکوباتور تاریک با دمای ۲۵ درجه سلسیوس به مدت ۲۴-۴۸ ساعت قرار داده شد. پس از این، سوسپانسیون نماتد به مدت یک دقیقه در محلول یک درصد هیپوکلریت سدیم استریل نه‌ایتا و تعداد لاروهای زنده شمارش گردید.

۲-۲. عصاره گیاهان مورد آزمایش

یک کیلوگرم از برگ تازه گیاهان چریش، اکالیپتوس و مورد از گلخانه‌های محلات تهیه شد. برگ‌ها در دمای اتاق خشک شدند. با استفاده از دستگاه آسیاب (پودرساز) برقی (Pars Khazar, ML-320P model, Iran) برگ‌های خشک شده آسیاب و به صورت پودر همگن آماده شد. در مورد حنا از پودر تجاری آن استفاده شد. از پودر برگ گیاهان مورد آزمایش جهت تهیه غلظت‌های عصاره آبی استفاده شد. جهت تهیه عصاره ها، پودر برگ به میزان تعیین شده (بر اساس آزمون‌های زیست‌سنجی با پنج غلظت ۲۵، ۵۰، ۱۰۰، ۲۰۰ و ۴۰۰ میلی‌گرم بر لیتر) در یک لیتر آب مقطر با استفاده از دستگاه همزن برقی به آرامی به مدت پنج ساعت حل شد. پس از آن محلول حاصل از کاغذ صافی واتمن (Whatman, No. 42, filter speed: slow) عبور داده شد و برای آزمون زیست‌سنجی مورد استفاده قرار گرفت (Oka *et al.*, 2012).

۲-۳. آزمون زیست‌سنجی

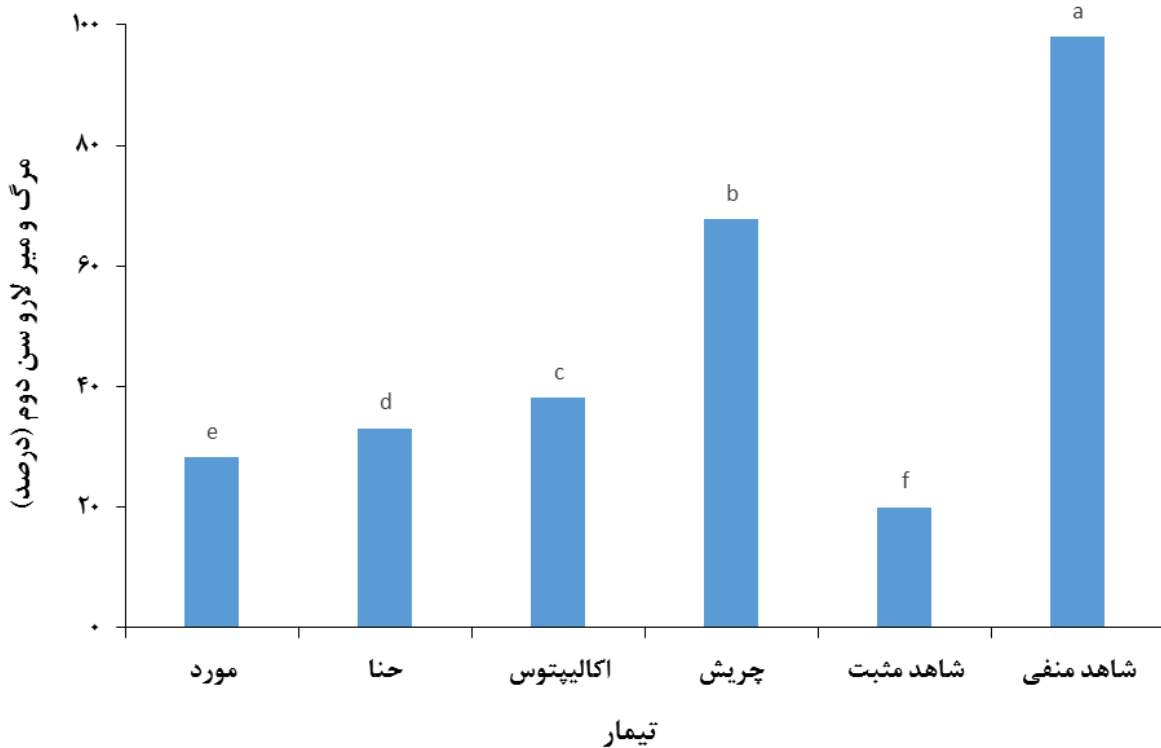
بررسی اثر عصاره آبی برگ گیاهان چریش، اکالیپتوس، مورد و حنا بر میزان مرگ و میر جمعیت لارو سن دوم نماتد *M. javanica* در محیط تشک پتری انجام گرفت. پنج غلظت ۲۵، ۵۰، ۱۰۰، ۲۰۰ و ۴۰۰ میلی‌گرم بر لیتر، از عصاره آبی هر یک از گیاهان مورد نظر تهیه شد. واحد آزمایش شامل یک تشک پتری پلاستیکی به قطر پنج سانتی‌متر حاوی پنج میلی‌لیتر سوسپانسیون دارای ۱۰۰ عدد لارو سن دوم بود. هر غلظت از عصاره به میزان پنج میلی‌لیتر منظور گردید. پتری‌ها در شرایط ژرمیناتور (دمای ۲۷ درجه سلسیوس، رطوبت نسبی ۷۰ درصد، بدون روشنایی) به مدت پنج روز نگهداری شدند. میزان مرگ و میر لاروها در پنج زمان در معرض شامل ۱، ۲، ۳، ۴ و ۵ روز پس از اضافه کردن عصاره، اندازه‌گیری شد. پتری شاهد مثبت پنج میلی‌لیتر آب مقطر استریل دریافت کرد. پتری شاهد منفی پنج میلی‌لیتر از غلظت توصیه شده (دو گرم بر لیتر) نماتدکش کادوسافوس (Cadusafos: Rugbi®، Granule 10%، Bayer Crop Science AG, Germany) بود. آزمون انجام گرفته در این تحقیق به صورت فاکتوریل در قالب طرح کاملاً تصادفی در پنج تکرار انجام گرفت. برای تجزیه آماری از نرم افزار SAS و برای رسم نمودارها از نرم افزار Excel استفاده شد.

۳. نتایج و بحث

نتایج مقایسه میانگین داده‌های مر بوط به اثر عصاره‌های آبی برگ چریش، اکالیپتوس، حنا و مورد بر میزان مرگ‌ومیر لارو سن دوم نماتد *M. javanica* در شرایط آزمایشگاه نشان داد که عصاره این گیاهان موجب افزایش معنی‌دار ($P \leq 0.05$) مرگ و میر جمعیت لاروهای سن دوم نماتد

هشتمین کنفرانس ملی زیست شناسی و علوم طبیعی ایران

شد. بیشترین تا کمترین میزان مرگومیر لاروها به ترتیب در تیمارهای مربوط به گیاهان چریش (۶۸/۲۳ درصد)، اکالیپتوس (۳۸/۶۸ درصد)، حنا (۳۳/۵۹ درصد) و مورد (۲۸/۷۴ درصد) مشاهده شد (شکل ۱).



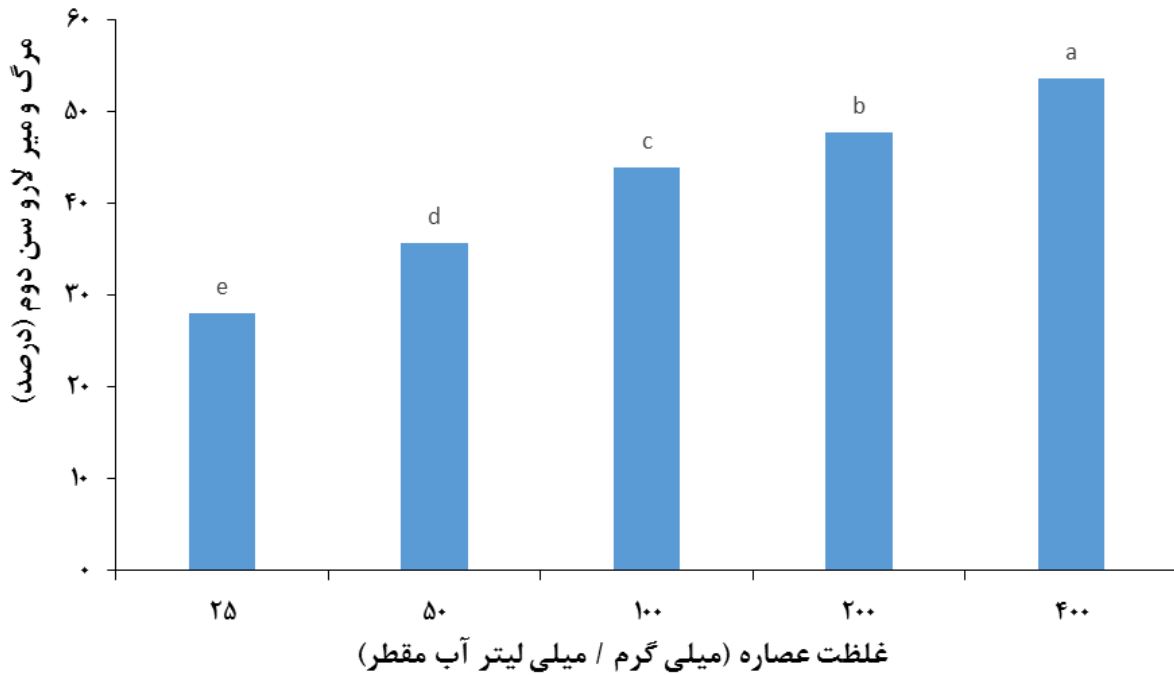
شکل ۱. اثر تیمار عصاره گیاهان چریش، اکالیپتوس، حنا و مورد بر میزان مرگومیر جمعیت لارو سن دوم نماتد *Meloidogyne javanica* در شرایط آزمایشگاه

با افزایش غلظت عصاره گیاهان بر میزان مرگ و میر لاروها افزوده شد به طوری که بیشترین میزان درصد (۱۰۰٪) مرگومیر لاروها در غلظت پنجم (۴۰۰ میلی گرم بر لیتر) حاصل شد (شکل ۲). همین طور با افزایش زمان در معرض بودن بر میزان مرگومیر لاروها اضافه شد به گونه ای که بیشترین میزان درصد (۱۰۰٪) مرگومیر لاروها در روز پنجم بدست آمد (شکل ۳).

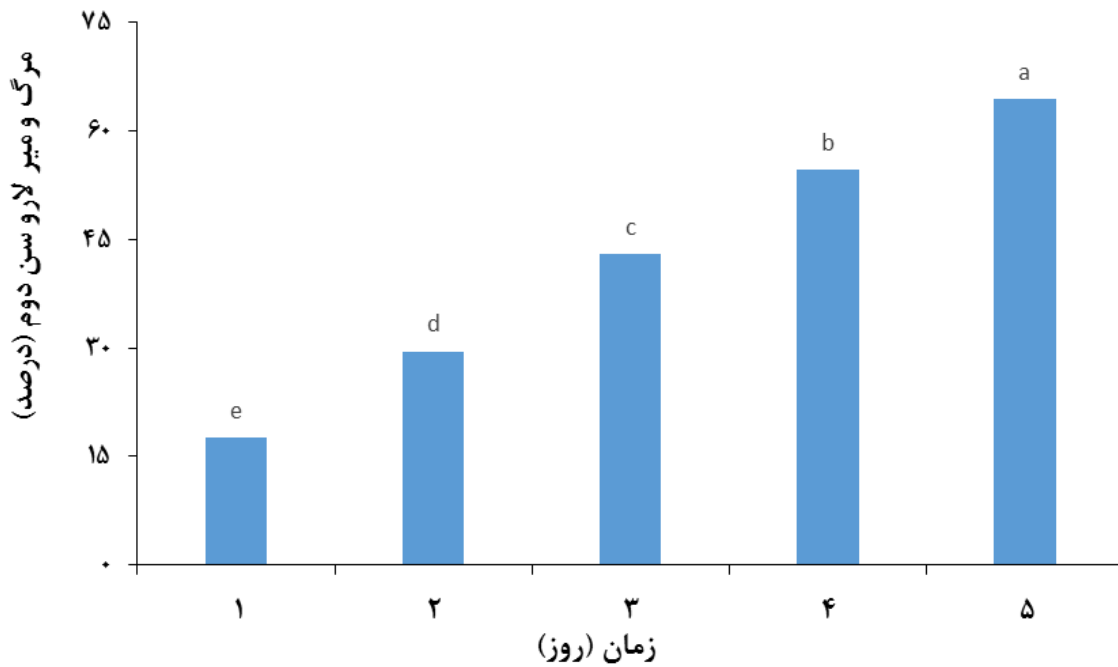
نتایج مطالعه با یافته های دیگر محققین در زمینه کنترل غیرشیمیایی نماتدهای بیمارگر گیاهان از جمله نماتدهای ریشه گرهی، از طریق کاربرد عصاره، کودها و بقایای گیاهان مطابقت دارد به طوری که نشان می دهد استفاده از استراتژی های غیر شیمیایی می توانند راه حل های قابل قبولی برای مدیریت نماتدهای انگل گیاهان باشند (Soheili and Saeedizadeh, 2017; Tranier *et al.*, 2014; Kepenekci *et al.*, 2017).



هشتمین کنگره ملی زیست شناسی و علوم طبیعی ایران



شکل ۲. اثر تیمار غلظت عصاره گیاهان چریش، اکالیپتوس، حنا و مورد بر میزان مرگ و میر جمعیت لارو سن دوم نماتد *Meloidogyne javanica* در شرایط آزمایشگاه



شکل ۳. اثر زمان در معرض بودن عصاره گیاهان چریش، اکالیپتوس، حنا و مورد بر میزان مرگ و میر جمعیت لارو سن دوم نماتد *Meloidogyne javanica* در شرایط آزمایشگاه



هشتمین کنفرانس ملی زیست شناسی و علوم طبیعی ایران

تحقیقات متعددی نشان داده است که استفاده از عصاره‌های گیاهی به عنوان نماتدکش در کنترل نماتدهای ریشه‌گرهی در شرایط آزمایشگاه و گلخانه مؤثر بوده است (Naz et al., 2013; Aissani et al., 2013; Ntalli and Caboni 2012; Asadi Sardari et al., 2015). پیرو نتایج بدست آمده در این گونه تحقیقات، یافته‌های مربوط به تحقیق حاضر نشان داد که عصاره و پودر برگ چریش و اکالیپتوس توانایی قابل توجهی را در کنترل جمعیت و فعالیت نماتد *M. javanica* داشته است.

ازمیر و گوزل (۲۰۱۷) دریافتند که کاربرد برخی اسانس‌های گیاهی قابلیت و پتانسیل بالایی برای تبدیل شدن به یک استراتژی جایگزین جهت کنترل نماتدهای انگل گیاهی را دارا هستند (Ozdemir and Gozel, 2017). اثر نماتدکشی عصاره و پودر برگ گیاه مورد (*M. cummunis*) طی یک پژوهش آزمایشگاهی و گلخانه‌ای بر جمعیت نماتدهای *Pratylenchus Ditylenchus dipsaci*, *Tylenchulus semipenetrans* و *Steinernema feltiae* مورد بررسی قرار گرفت. نتایج حاصل از این تحقیق نشان داد که پودر برگ و عصاره خمیر برگ‌های مورد دارای توانایی و پتانسیل نماتدکشی علیه نماتدهای ریشه‌گرهی می‌باشند (Oka et al., 2012). تحقیقات گذشته نشان داده است که گیاه چریش دارای قابلیت نماتدکشی است و محصولی به نام نیم (Neem) جهت مهار جمعیت بسیاری از نماتدهای بیمارگر ریشه گیاهان به بازار عرضه شده است (Mosumder, 1995). با گذشت زمان بر میزان توجه و پذیرش ترکیبات و فرآورده‌های گیاهی از جمله عصاره، اسانس و کود برای مهار جمعیت و فعالیت بیماری‌زایی نماتدهای انگل گیاهان بطور قابل توجهی افزوده خواهد شد، چرا که اغلب نماتدکشی‌های قدیمی و سنتی به علت هزینه‌های شدید مصرف و نگرانی‌های زیست محیطی به مرور زمان کنار گذاشته خواهند شد. از نتایج بدست آمده از تحقیق حاضر چنین به نظر می‌رسد که استفاده از عصاره و پودر برخی گیاهان، از جمله چریش و اکالیپتوس، در بستر و خاک مورد استفاده جهت کشت، می‌تواند یک استراتژی مناسب و مطمئن جهت مدیریت نماتدهای ریشه‌گرهی باشد.

۴. نتیجه‌گیری

به عنوان نتیجه‌گیری از یافته‌های بدست آمده از آزمون آزمایشگاهی در این تحقیق چنین برمی‌آید که استفاده از عصاره گیاهانی نظیر چریش و اکالیپتوس به طور مؤثرتر و گیاهانی نظیر حنا و مورد با اثر کمتر، می‌تواند موجب کاهش جمعیت لارو سن دوم نماتد ریشه‌گرهی *M. javanica* گردد.

۵. سپاسگزاری

نویسندگان از دانشگاه شاهد برای حمایت مالی از این تحقیق تشکر و قدردانی می‌کنند.

مراجع

1. N. Aissani, P. Tedeschi, A. Maietti, V. Brandolini, V.L. Garau, and P. Caboni, "Nematicidal activity of allylthiocyanate from horseradish (*Armoracia rusticana*) roots against *Meloidogyne incognita*," J. Agri. Food Chem., vol. 61, pp. 4723-4727, 2013.
2. A. Asadi Sardari, A.A. Hojat Jalali, S. Bahraminejad, and D. Safaee, "Effect of plant extracts on the mortality of root-knot nematodes' J₂, *Meloidogyne javanica*," Arch. Phytopath. Plant Protect., vol. 48, No.4, pp. 365-375, 2015.
3. R.S. Hussey, and K.R. Barker, "A comparison of methods of collecting inocula of *Meloidogyne* spp. including a new technique," Plant Dis. Rep., vol. 57, pp. 1025-1028, 1973.
4. I. Kepenekci, H.D. Saglam, E. Oksa, D. Yanar, and Y. Yanar, "Nematicidal Activity of *Beauveria bassiana* (Bals.-Criv.) Vuill. Against Root-Knot Nematodes on Tomato Grown under Natural Conditions," Egyptian J. Biol. Pest Control, vol. 27, No. 1. pp. 117-120, 2017.
5. A.W. Kiriga, S. Haukeland, G.M. Kariuki, D.L. Coyne, and N.V. Beek, "Effect of *Trichoderma* spp. and *Purpureocillium lilacinum* on *Meloidogyne javanica* in commercial pineapple production in Kenya," Biol. Control, vol. 119, pp. 27-32, 2018.
6. V. Mosumder, "Nematoda, Nematodes", Pp. 129-150. In *The Neem Tree: Azadirachta indica* A. Juss. and Other Meliaceous Plants; Source of Unique Natural Products for Integrated Pest Management Medicine, Industry and Other Purposes (Ed. H. Schmutterer), Weinheim, Germany, V.c.B. Publications, 1995.
7. I. Naz, J.E. Palomares-Rius, S. Saifullah, V. Blok, M.R. Khan, and S. Ali, "In vitro and in planta nematicidal activity of *Fumaria parviflora* (Fumariaceae) against the southern root-knot nematode *Meloidogyne incognita*," Plant Pathol., vol. 62, pp. 943-952, 2013.



هشتمین کنگره ملی زیست شناسی و علوم طبیعی ایران

8. K.J. Niranjana Prabhu, V. Kantharaju, T.N. Pushpa, N. Thammaiah, and Y.S. Mahesh, "Management of root-knot nematode (*Meloidogyne incognita*) in turmeric," J. Entomol. Zool. Studies, vol. 6, No. 1, pp. 1112-1116, 2018.
9. N.G. Ntalli, and P. Caboni, "Botanical nematicides in the mediterranean basin," Phytochem. Rev., vol. 11, pp. 351-359, 2012.
10. Y. Oka, B. Ben-Daniel, and Y. Cohen, "Nematicidal activity of the leaf powder and extracts of *Myrtus communis* against the root-knot nematode *Meloidogyne javanica*. Plant Pathol., vol. 61, pp. 1012-1020, 2012.
11. E. Ozdemir, and U. Gozel, "Efficiency of Some Plant Essential Oils on Root-Knot Nematode *Meloidogyne incognita*," J. Agri. Sci. Technol., vol. 7, No. 3, pp. 178-183, 2017.
12. A. Soheili, and A. Saeedizadeh, "Suppression of brassicaceous tissue on *Meloidogyne javanica* in a rhizosphere," Inter. J. Agri. Biol. Engin., vol. 19, No. 5, pp.1012-1018. 2017.
13. M.-S. Tranier, J. Pognant-Gros, R.D. Quiroz, C.N. González, T. Mateille, and S. Roussos, "Commercial biological control agents targeted against plant-parasitic root-knot nematodes," Braz. Arch. of Biol. Technol., vol. 57, No. 831-841, 2014.