



## اثر پودر برگ گیاهان بر فعالیت بیماری‌زایی نماتد ریشه‌گرهی *Meloidogyne javanica* در شرایط گلخانه

آیت اله سعیدی زاده<sup>۱\*</sup>، محمد حسین فتوکیان<sup>۲</sup> و فهیمه نیاستی<sup>۳</sup>

۱- دانشیار، دانشکده کشاورزی، دانشگاه شاهد، تهران

۲- دانشیار، دانشکده کشاورزی، دانشگاه شاهد، تهران

۳- کارشناس ارشد، دانشکده کشاورزی، دانشگاه شاهد، تهران

\*Email: (saeidizadeh@shahed.ac.ir)

### چکیده

امروزه استفاده از برخی فرآورده‌های گیاهی به عنوان راهکاری مناسب جهت کنترل جمعیت نماتدهای انگل گیاهی مطرح شده است. از این رو، در این تحقیق بررسی امکان کنترل فعالیت بیماری‌زایی نماتد ریشه‌گرهی *Meloidogyne javanica* به عنوان مهم‌ترین نماتد انگل گیاهان در ایران، با استفاده از پودر گیاهی در شرایط گلخانه در ریزوسفر گیاهچه‌های گوجه‌فرنگی 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 پودر برگ گیاهان چریش، اکالیپتوس، مورد و حنا بر فعالیت بیماری‌زایی نماتد *M. javanica* مورد بررسی قرار گرفت. نتایج نشان داد که پودر برگ گیاهان بکار رفته در خاک موجب کاهش فعالیت بیماری‌زایی نماتد گردید بطوری که تعداد گال، تعداد توده تخم و میزان فاکتور تولیدمثل به ترتیب در تیمارهای مربوط به چریش ۵/۴۸، ۱/۹۲ و ۰/۸۷، اکالیپتوس ۲۶/۲۸، ۱۰/۹۲ و ۱/۷۴، حنا ۴۷، ۱۸/۳ و ۲/۱ و مورد ۲۷/۲۸، ۲/۳۲ و ۲ بود. پودر گیاهان چریش و اکالیپتوس بیشترین اثر کنترلی را بر فعالیت بیماری‌زایی نماتد *M. javanica* در شرایط گلخانه داشته‌اند. بنابراین استفاده از بقایای شاخ و برگ این گیاهان جهت بهبود شرایط خاک و کاهش خسارت نماتدهای ریشه‌گرهی قابل پیشنهاد می‌باشد.

**کلمات کلیدی:** مهار غیرشیمیایی، نماتدهای انگل گیاهان، پودر 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. گونه *M. javanica* موجب آسیب گسترده به طیف وسیعی از محصولات کشاورزی در جهان و ایران شده است (Kiriga et al., 2018). در ایران گزارش دقیقی در مورد میزان خسارت نماتدهای انگل گیاهی روی محصولات مختلف منتشر نشده است. پراکندگی گونه‌های جنس *Meloidogyne* از جمله گونه *M. javanica* روی سبزیجات به ویژه خیار و گوجه‌فرنگی از استان‌های مختلف گزارش شده است. *M. javanica* مهم‌ترین نماتد انگل داخلی جدا شده از ریشه گیاهان در ایران می‌باشد (Hosseini Nejad and Khan, 2001). یکی از روش‌های متداول جهت کنترل نماتدها، تیمار شیمیایی خاک می‌باشد. با این وجود بسیاری از نماتدکش‌ها از جمله ارگانوفسفاته‌ها، کاربامات‌ها و فومیگانت‌ها بسیار سمی بوده و دارای اثرات نامطلوب زیست محیطی می‌باشند (Msayleb and Ibrahim, 2011). 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., 2018; Ntalli and Caboni, 2012; Oka et al., 2012; Naz et al., 2013). با توجه به افزایش رویکرد جهانی نسبت به کشاورزی ارگانیک و اهمیت سلامت محصولات کشاورزی و خاک، همچنین جایگزینی مواد سازگار با محیط زیست به جای سموم شیمیایی صنعتی، در تحقیق حاضر اثر نماتدکشی پودر برگ گیاهان چریش (*Azadirachta indica* Jussieu)، اکالیپتوس (*Eucalyptus camaldulensis* Dehnh.)، مورد (*Myrtus communis* L.) و حنا (*Lawsonia inermis* L.) بر فعالیت بیماری‌زایی نماتد *M. javanica* در محیط خاک و ریشه گیاهچه‌های میزبان (گوجه‌فرنگی) در شرایط گلخانه مدنظر قرار گرفت.



## ۲. مواد و روش‌ها

### ۲-۱. مایه تلقیح نماتد *M. javanica*

جهت تهیه مایه تلقیح نماتد *M. javanica* ابتدا نمونه برداری از گلخانه‌های خیار واقع در منطقه ورامین انجام پذیرفت. برای آماده سازی مایه تلقیح نماتد *M. javanica* خالص سازی 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. پودر 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 برای آزمون زیست‌سنجی استفاده شد (Oka et al., 2012).

### ۲-۳. آزمون زیست‌سنجی

جهت بررسی گلخانه‌ای اثر پودر برگ گیاهان چریش، اکالیپتوس، مورد و حنا بر فعالیت بیماری‌زایی نماتد *M. javanica* ابتدا خاک مورد نیاز برای این آزمون از همان منطقه و مزرعه‌ای که برای نمونه برداری نماتد بکار رفته بود، تهیه و جمع‌آوری شد. خاک جمع‌آوری شده (تقریباً به میزان ۱۱۰ کیلوگرم) ابتدا به خوبی مخلوط و سپس استریل (اتوکلاو) شد. پس از سرد شدن خاک، سوسپانسیون نماتد (لاروهای سن دوم نماتد در آب مقطر استریل) به میزان ۱۰ عدد لارو سن دوم در هر گرم خاک، به توده خاک اضافه شد. پس از همگن کردن خاک و نماتد، خاک مایه‌زنی شده به ۲۲ توده خاک (۴ نوع گیاه  $\times$  ۵ غلظت پودر، بعلاوه دو شاهد مثبت و منفی) پنج کیلوگرمی (یک کیلوگرم خاک برای پنج گلدان (تکرار) تقسیم شد. در این آزمایش، چهار نوع گیاه در نظر گرفته شد که شامل چریش، اکالیپتوس، حنا و مورد با پنج غلظت ۰/۵، ۱، ۲، ۴ و ۸ گرم از پودر برگ در کیلوگرم خاک بود. برای هر غلظت پنج تکرار در نظر گرفته شد. توده‌های خاک به طور جداگانه با توجه به نوع تیمار، با پودر گیاهان کاملاً مخلوط شد. سپس خاک‌های تیمار شده به گلدان‌های پلاستیکی به میزان یک کیلوگرم منتقل شد. پس از آن، یک گیاهچه چهار برگی از گیاه میزبان، گوجه‌فرنگی رقم سوپرچیف (Super Chief)، که قبلاً در بستر شن و ماسه سترون پرورش یافته بود، طبق تیمارهای تعریف شده، به صورت جداگانه در گلدان‌ها کاشته شد. هر گلدان حاوی یک گیاهچه به عنوان یک تکرار در نظر گرفته شد. گلدان‌ها در شرایط گلخانه (دمای  $27 \pm 2^\circ \text{C}$  و ۱۲ ساعت روشنائی) به مدت دو ماه نگهداری شدند. پس از اتمام آزمون، شاخص‌های بیماری‌زایی نماتدهای ریشه‌گرهی شامل تعداد گال و توده تخم در هر ریشه و فاکتور تولیدمثل در هر گلدان (خاک و ریشه) اندازه‌گیری شد (Soheili and Saedizadeh, 2017).

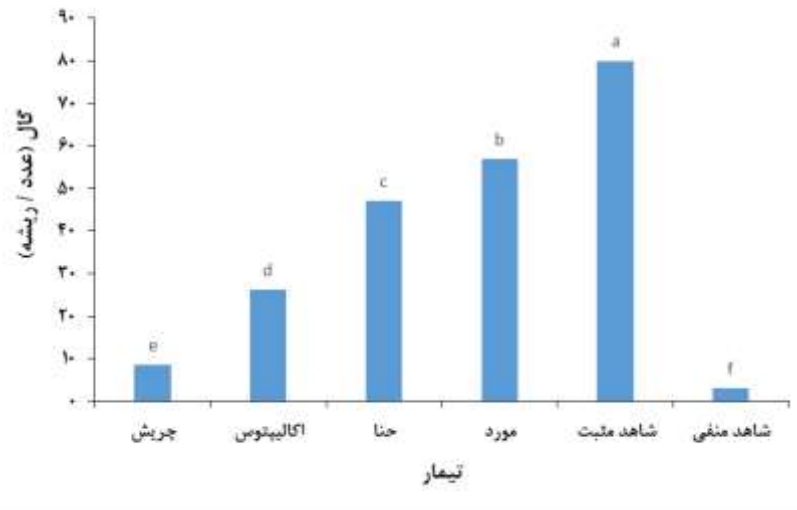
## ۳. نتایج و بحث

نتایج مقایسه میانگین داده‌های مربوط به اثر پودر برگ چریش، اکالیپتوس، حنا و مورد بر فعالیت بیماری‌زایی نماتد *M. javanica* در محیط خاک و شرایط گلخانه نشان داد که پودر این گیاهان موجب کاهش معنی‌دار ( $P \leq 0.05$ ) شاخص‌های بیماری‌زایی نماتد (تعداد گال و توده تخم در ریشه و میزان فاکتور تولیدمثل در خاک و ریشه) شد. کمترین تا بیشترین میزان فعالیت بیماری‌زایی نماتد به ترتیب در تیمارهای مربوط به گیاهان چریش (۵/۴۸ گال، ۱/۹۲ توده تخم و ۰/۸۷ فاکتور تولیدمثل)، اکالیپتوس (۲۶/۲۸ گال، ۱۰/۹۲ توده تخم و ۱/۷۴ فاکتور تولیدمثل)، حنا (۴۷ گال، ۱۸/۳ توده تخم و ۲/۱ فاکتور تولیدمثل) و مورد (۵۷ گال، ۲۷/۲۸ توده تخم و

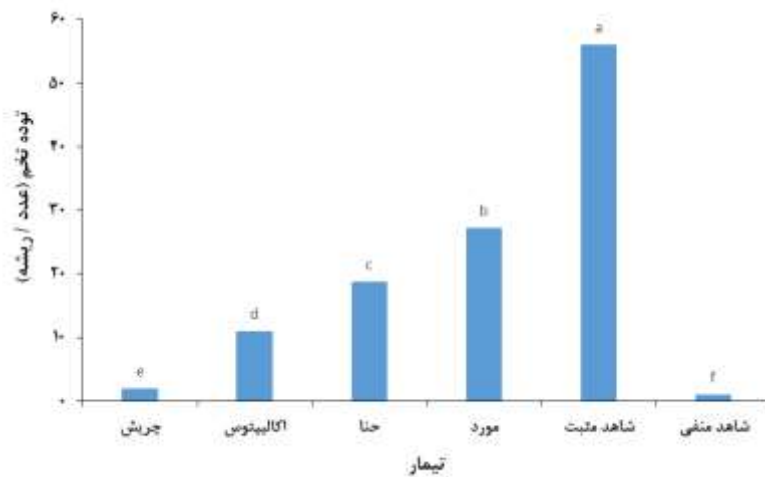
# ششمین کنگره ملی سالانه یافته‌های نوین در علوم کشاورزی و منابع طبیعی، محیط زیست و گردشگری



۲/۳۲ فاکتور تولیدمثل) مشاهده شد (شکل ۱ الی ۳). با افزایش غلظت پودر برگ گیاهان آنتاگونیست از میزان شاخص‌های بیماریزایی نماتد کاسته شد به طوری که کمترین میزان گالزایی، توده تخم و فاکتور تولیدمثل نماتد در غلظت پنجم (۸ گرم بر کیلوگرم خاک بستر) حاصل شد (شکل ۴ الی ۶).

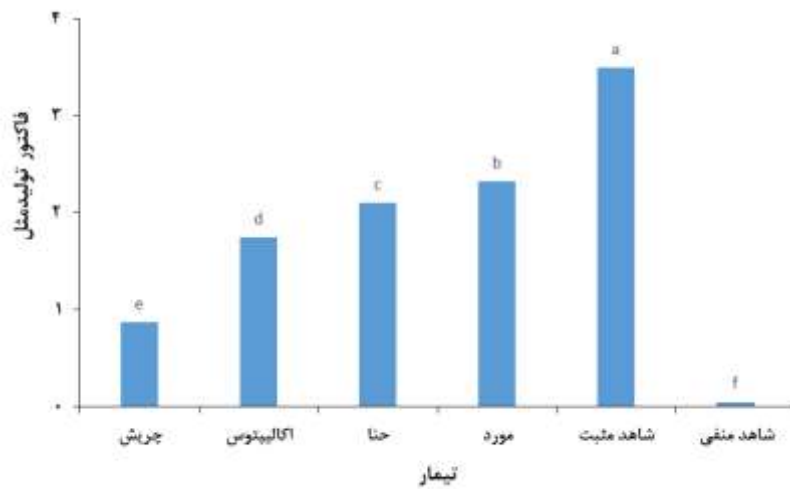


شکل ۱. اثر تیمار پودر گیاهان چریش، اکالیپتوس، حنا و مورد بر میزان گالزایی نماتد *Meloidogyne javanica* بر ریشه گیاه گوجه‌فرنگی در شرایط گلخانه

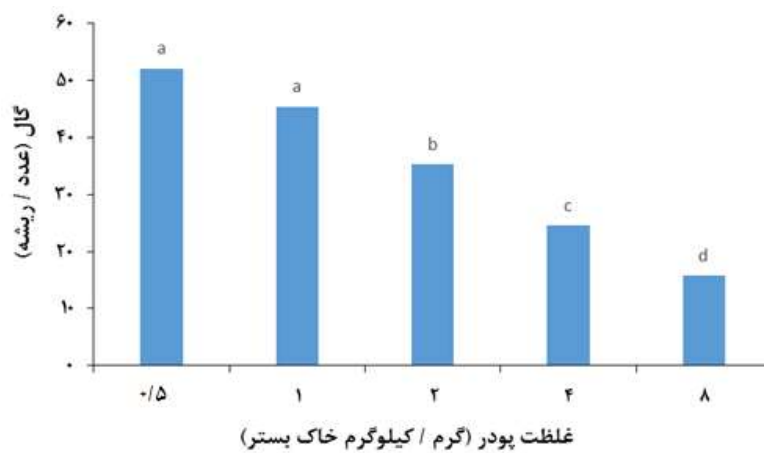


شکل ۲. اثر تیمار پودر گیاهان چریش، اکالیپتوس، حنا و مورد بر میزان توده تخم نماتد *Meloidogyne javanica* بر ریشه گیاه گوجه‌فرنگی در شرایط گلخانه

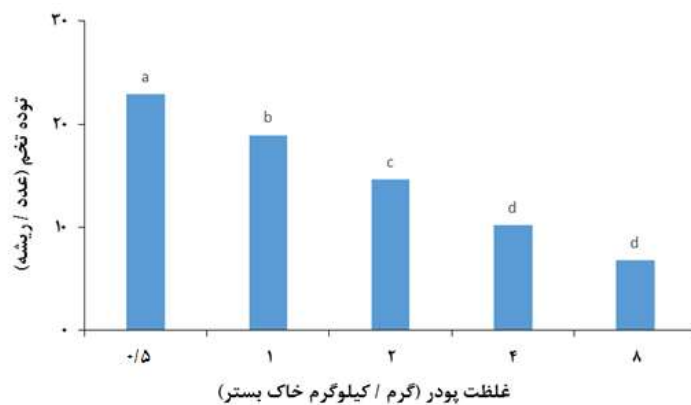
# ششمین کنگره ملی سالانه یافته‌های نوین در علوم کشاورزی و منابع طبیعی، محیط زیست و گردشگری



شکل ۳. اثر تیمار پودر گیاهان چریش، اکالیپتوس، حنا و مورد بر میزان فاکتور تولیدمثل نماتد *Meloidogyne javanica* در ریزوسفر گیاه گوجه‌فرنگی در شرایط گلخانه

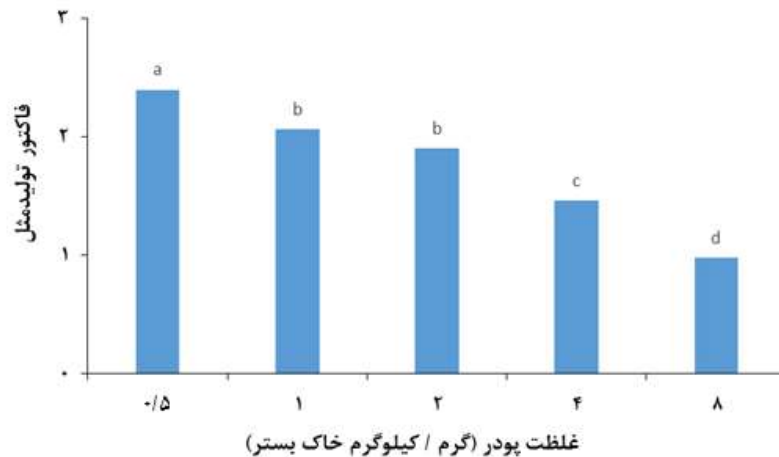


شکل ۴. اثر تیمار غلظت پودر گیاهان چریش، اکالیپتوس، حنا و مورد بر میزان گالزایی نماتد *Meloidogyne javanica* بر ریشه گیاه گوجه‌فرنگی در شرایط گلخانه



شکل ۵. اثر تیمار غلظت پودر گیاهان چریش، اکالیپتوس، حنا و مورد بر میزان توده تخم نماتد *Meloidogyne javanica* بر ریشه گیاه گوجه‌فرنگی در شرایط گلخانه

# ششمین کنگره ملی سالانه یافته‌های نوین در علوم کشاورزی و منابع طبیعی، محیط زیست و گردشگری



شکل ۶. اثر تیمار غلظت پودر گیاهان چریش، اکالیپتوس، حنا و مورد بر میزان فاکتور تولیدمثل نماتد *Meloidogyne javanica* در ریزوسفر گیاه گوجه‌فرنگی در شرایط گلخانه

نتایج مطالعه با یافته‌های دیگر محققین در زمینه کنترل غیرشیمیایی نماتدهای بیمارگر گیاهان از جمله نماتدهای ریشه‌گرهی، از طریق کاربرد فرآورده‌های گیاهان مطابقت دارد به طوری که نشان می‌دهد استفاده از استراتژی‌های غیر شیمیایی می‌تواند راه‌حل‌های قابل قبولی برای مدیریت نماتدهای انگل گیاهان باشند (Hu and Qi, 2010; McSorley, 2011; Soheili and Saedizadeh, 2017; Zasada et al., 2010; Kepenekci et al., 2017). 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). پیرو نتایج بدست آمده در این گونه تحقیقات، یافته‌های مربوط به تحقیق حاضر نشان داد که پودر برگ چریش و اکالیپتوس توانایی قابل توجهی را در کنترل جمعیت و فعالیت نماتد *M. javanica* داشته است. اثر نماتدکشی عصاره و پودر برگ گیاه مورد (*M. cummonis*) طی یک پژوهش آزمایشگاهی و گلخانه‌ای بر جمعیت نماتدهای *Ditylenchus dipsaci*، *Tylenchulus semipenetrans* و *Pratylenchus penetrans* 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). اسانس گیاهان علفی (herb plants) و گیاهان دارویی یا فرآورده‌های آنها ممکن است به عنوان منابعی جدید و موافق با محیط زیست در جهت کنترل نماتدهای بیمارگر گیاهان محسوب شوند. به عنوان مثال طی تحقیقات اخیر مشخص شد که برگ‌های گیاه *Inula viscosa* از تیره Asteraceae، که به عنوان یک علف هرز عمومی در منطقه مدیترانه دیده می‌شود، دارای خواص نماتدکشی است (Oka et al., 2001, 2003; Cohen et al., 2006). از نتایج بدست آمده از تحقیق حاضر چنین به نظر می‌رسد که استفاده از 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، این گونه مواد گیاهی می‌توانند علاوه بر مرتفع ساختن مشکلات ناشی از ترکیبات صنعتی، در کنار کاهش جمعیت فعال نماتد موجب افزایش و بهبود میزان مواد آلی خاک نیز شوند. برای درک بهتر ظرفیت نماتدکشی مواد گیاهی، تحقیقات بیشتری لازم است، با این حال، اصلاح خاک با مواد گیاهی دارای قابلیت نماتدکشی، جهت کنترل نماتدهای ریشه‌گرهی قابل پیشنهاد می‌باشد.

#### ۴. نتیجه‌گیری

پودر برگ گیاهان چریش، اکالیپتوس، حنا و مورد به ترتیب در کاهش فعالیت بیماری‌زایی نماتد *M. javanica* مؤثر بوده اند بطوری که تعداد گال، تعداد توده تخم و میزان فاکتور تولیدمثل به ترتیب در تیمارهای مربوط به چریش ۵/۴۸، ۱/۹۲ و ۰/۸۷، اکالیپتوس ۲۶/۲۸، ۱۰/۹۲ و ۱/۷۴، حنا ۴۷، ۱۸/۳ و ۲/۱ و مورد ۵۷، ۲۷/۲۸ و ۲/۳۲ بود. پودر گیاهان چریش و اکالیپتوس بیشترین اثر کنترلی را بر فعالیت بیماری‌زایی نماتد *M. javanica* در شرایط گلخانه داشته‌اند. از این رو استفاده از بقایای شاخ و برگ این گیاهان جهت بهبود شرایط خاک و کاهش خسارت نماتدهای ریشه‌گرهی قابل پیشنهاد می‌باشد.



## ۵. سپاسگزاری

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

## مراجع

- A. Soheili, and A. Saeedizadeh, "Suppression of brassicaceous tissue on *Meloidogyne javanica* in a rhizosphere," International J. Agri. Biol. Engineering, vol. 19, No. 5, pp. 1012-1018, 2017.
- 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. Contr., vol. 119, pp. 27-32, 2018.
- C. Hu, and Y. Qi, "Effect of compost and chemical fertilizer on soil nematode community in a Chinese maize field," Europ. J. Soil Biol., vol. 46, No. 3-4, pp. 230-236, 2010.
- 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, " Egypt. J. Biol. Pest Contr., vol. 27, No. 1, pp. 117-120, 2017.
- 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.
- I.A. Zasada, J.M. Halbrendt, N. Kokalis-Burelle, J. LaMondia, M.V. McKenry, and J.W. Noling, "Managing nematodes without methyl bromide, " Ann. Rev. Phytopathol., vol. 48, pp. 311-328, 2010.
- 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. Stud., 6(1): 1112-1116, 2018.
- N. Msayleb, and S. Ibrahim, "Treatment of Nematodes with Ozone Gas: A Sustainable Alternative to Nematicides, " Physics Procedia, vol. 21, pp. 187-192, 2011.
- N.G. Ntalli, P. Caboni, "Botanical nematicides in the mediterranean basin," Phytochem. Rev., vol. 11, pp. 351-359, 2012.
- R. McSorley, "Overview of organic amendments for management of plant-parasitic nematodes, with case studies from Florida," J. Nematol., vol. 43, pp. 69-81, 2011.
- 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.
- S.A. Hosseini Nejad, and M.W. Khan, "Interaction of root-knot nematode, *Meloidogyne incognita* (race 1), on chick-pea cultivars, " Appl. Entomol. Phytopathol., vol. 68, pp. 1-11, 2001.
- Y. Cohen, W.Q. Wang, B.H. Ben-Daniel, and Y. Ben-Daniel, "Extracts of *Inula viscosa* control downy mildew of grapes caused by *Plasmopara viticola*, " Phytopathol., vol. 96, pp. 417-24, 2006.
- Y. Oka, B. Ben-Daniel, Y. Cohen, "Nematicidal activity of powder and extracts of *Inula viscosa*," Nematol., vol. 3, pp. 735-742, 2001.
- 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. 61pp. 1012-1020, 2012.