

اثر عصاره آبی گیاهان بر تفریح تخم نماتد ریشه گرهی *Meloidogyne javanica* در شرایط آزمایشگاه

۱- آیت اله سعیدی زاده* ۲- محمد حسین فتوکیان ۳- فهیمه نیاستی

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

Email: fotokian@yahoo.com

Email: fniasti95@gmail.com

چکیده

نماتدهای ریشه گرهی (*Meloidogyne spp.*) از بیمارگرهای کلیدی روی انواع گیاهان زراعی، باغی و گلخانه‌ای محسوب می‌شوند. امروزه استفاده از برخی عصاره‌های گیاهی به عنوان راهکاری مناسب جهت کنترل جمعیت نماتدهای انگل گیاهی مطرح شده است. از این رو، در این تحقیق اثر عصاره آبی برگ گیاهان چریش (*Azadirachta indica*)، اکالیپتوس (*Eucalyptus camaldulensis*)، مورد (*Myrtus communis*) و حنا (*Lawsonia inermis*) بر درصد تفریح تخم نماتد *M. javanica* در شرایط آزمایشگاه مورد بررسی قرار گرفت. نتایج نشان داد که عصاره گیاهان چریش و اکالیپتوس بیشترین اثر کنترلی را بر جمعیت و فعالیت بیماریزایی نماتد *M. javanica* در شرایط آزمایشگاه داشته‌اند.

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

۱. مقدمه و هدف

نماتدهای بیمارگر گیاهی (plant parasite nematodes) از جمله مهمترین عوامل کاهنده محصولات کشاورزی محسوب شده که غالباً از طریق آسیب به سیستم ریشه موجب بروز خسارت و کاهش کمیت و کیفیت محصول می‌شوند. نماتدها تنها انگل‌های گیاهی هستند که به سلسله جانوران تعلق و محصولات و فرآورده‌های کشاورزی متنوعی را در سراسر عالم خصوصاً در نواحی گرمسیر و نیمه گرمسیر مورد تهدید قرار می‌دهند. این جانوران میکروسکوپی اندام‌های مختلف گیاه از جمله ریشه، ساقه، جوانه، برگ و دانه نارس گیاهان را مورد حمله قرار می‌دهند [10]. نماتدهای ریشه گرهی (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 ریشه گرهی 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 [6]. یکی از روش‌های متداول جهت کنترل نماتدها، تیمار شیمیایی خاک می‌باشد [8]. استفاده از ترکیبات گیاهی برای کنترل برخی از نماتدهای انگل گیاهان مورد توجه محققین قرار گرفته و در مواردی مؤثر بوده است [9, 11, 12, 13]. 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 تخم نماتد ریشه گرهی *M. javanica* در شرایط آزمایشگاه مدنظر می‌باشد.

۲. تئوری و پیشینه تحقیق

نماتدکشی‌های به کار رفته جهت کنترل نماتدهای ریشه گرهی و سایر نماتدهای انگل خاکزی در اغلب موارد اثر خود را روی نماتدها از دست داده و یا بسیار سمی بوده و موجب آلودگی محیط می‌شوند. برخی از این ترکیبات شیمیایی موجب آلودگی آب-های سطحی (مانند اتیلن بروماید)، تخریب لایه ازن (مانند متیل بروماید) و عقیمی انسان و یا سرطان‌زایی (مانند اتیلن بروماید و دی بروموکلروپروپان) شده‌اند [8]. با توجه به اهمیت خسارت نماتدها، محققین درصدد جایگزین کردن ترکیبات سالم و سازگار با محیط زیست به جای نماتدکشی‌های شیمیایی متداول شده‌اند. مطالعات متعددی در زمینه کنترل نماتدهای ریشه‌گرهی با استفاده از مواد فرآوری شده یا مستخرج از گیاهان انجام گرفته است [2, 9, 11, 12, 13].

طی یک تحقیق کاربرد جداگانه و توأم ماده گیاهی نیم (Neem) و عوامل بیوکنترل نظیر *Trichoderma viride* و *Paecilomyces lilacinus* موجب کنترل جمعیت و فعالیت نماتد ریشه‌گرهی *M. incognita* در ریزوسفر گیاه زردچوبه شده است [11].

ویراتنو و همکاران [17] فعالیت نماتدکشی عصاره‌های گیاهی مربوط به توتون (*Nicotiana tabacum* L.)، میخک صدپر (*Syzygium aromaticum* L.)، فلفل بتل (*Piper betle* L.) و سوسن صغیر (وج یا پرچم شیرین) (*Acorus calamus* L.) بر نماتد *M. incognita* در شرایط آزمایشگاه روی جمعیت لارو سن دوم مورد بررسی قرار دادند. نتایج این تحقیق نشان داد عصاره آبی گیاهان مذکور در مرگ‌ومیر لاروهای نماتد مؤثر بوده‌اند و در مقام مقایسه میزان غلظت مؤثر بر ۵۰ درصد جمعیت این نماتد در مورد عصاره این گیاهان ۵-۱۰ برابر کمتر از ترکیبات شیمیایی نماتدکشی نظیر Carbosulfan و Deltamethrin بوده است. در میان گیاهان آزمون شده، بکارگیری غنچه‌های میخک صدپر به عنوان یک آفت‌کش گیاهی (botanical pesticide) می‌تواند جایگزین پیشنهادی مناسبی برای نماتدکشی‌های شیمیایی در شرایط کنترل شده باشد.

همچنین طی تحقیق میزان اثر نماتدکشی عصاره ساقه گیاه شاه‌تره گل‌ریز (*Fumaria parviflora* L.) بر جمعیت نماتدهای ریشه‌گرهی در شرایط آزمایشگاه و گلخانه مورد مطالعه قرار گرفت. نتایج نشان داد که عصاره این گیاه موجب افزایش مرگ‌ومیر لارو سن دوم و کاهش تفریح تخم در شرایط *in vitro* شده است. داده‌های بدست آمده در این موارد با زمان در معرض بودن ارتباط مستقیم دارد. در شرایط گلخانه، تیمار خاک گیاهچه‌های گوجه فرنگی رقم ریوگراند (Rio Grande) با غلظت‌های ۱۰۰۰، ۲۰۰۰ و ۳۰۰۰ پی‌پی‌ام موجب کاهش میزان گالزایی و توده تخم نماتد شده است. نتایج *in vitro* و *in planta* نشان داده است که عصاره ساقه شاه‌تره گل‌ریز می‌تواند پتانسیل یک نماتدکشی جدید را داشته باشد [9].

۳. مواد و روشها

۳-۱. 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 آماده‌سازی مایه تلقیح نماتد *M. javanica*، خالص‌سازی و تکثیر نماتد به روش توده تخم منفرد (single egg mass) انجام گرفت [4]. پتری‌های حاوی تخم نماتد پس از تعیین غلظت جهت آزمون زیست‌سنجی مورد استفاده قرار گرفت.

۳-۲. عصاره گیاهان مورد آزمایش

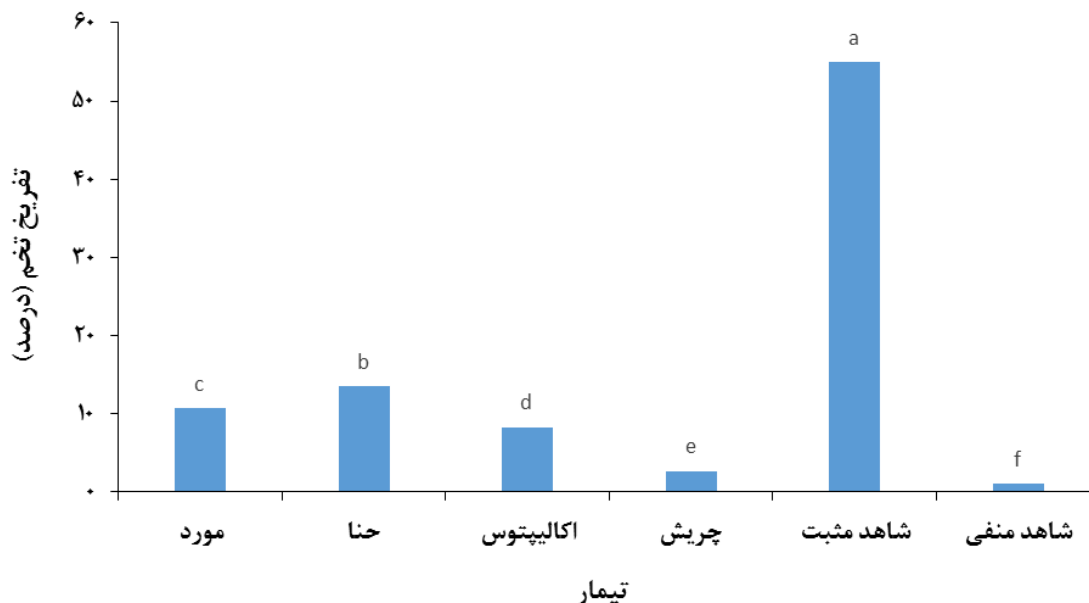
یک کیلوگرم از برگ تازه گیاهان چریش، اکالیپتوس و مورد از گلخانه‌های محلات تهیه شد. برگ‌ها در دمای اتاق خشک شدند. با استفاده از دستگاه آسیاب (پودرساز) برقی (Pars Khazar, ML-320P model, Iran) برگ‌های خشک شده آسیاب و به صورت پودر همگن آماده شد. در مورد حنا از پودر تجاری آن استفاده شد. از پودر برگ گیاهان مورد آزمایش جهت تهیه غلظت‌های عصاره آبی استفاده شد. جهت تهیه عصاره‌ها، 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 [13].

۳-۳. آزمون زیست‌سنجی

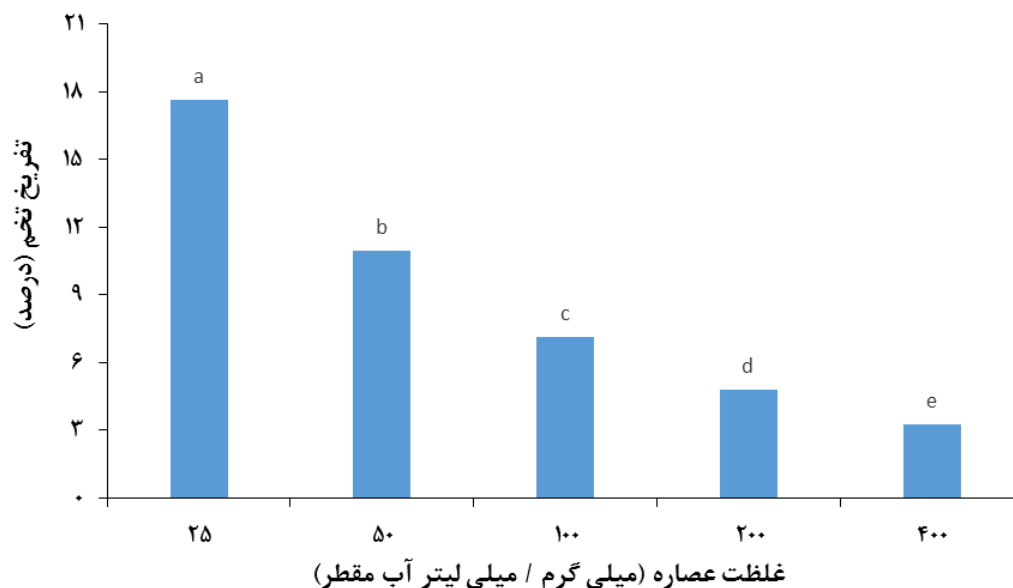
بررسی اثر عصاره آبی برگ گیاهان چریش، اکالیپتوس، مورد و حنا بر میزان تفریح تخم نماتد *M. javanica* در محیط تشک پتری انجام گرفت. پنج غلظت ۲۵، ۵۰، ۱۰۰، ۲۰۰ و ۴۰۰ میلی‌گرم بر لیتر، از عصاره آبی هر یک از گیاهان مورد نظر تهیه شد. واحد آزمایش شامل یک تشک پتری پلاستیکی به قطر پنج سانتی‌متر حاوی پنج میلی‌لیتر سوسپانسیون دارای ۱۰۰ عدد تخم نماتد 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 تفریح تخم‌ها یک روز در میان به مدت ده روز 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.

۴. نتایج و بحث

نتایج مقایسه میانگین داده‌های مربوط به اثر عصاره‌های آبی برگ چریش، اکالیپتوس، حنا و مورد بر جمعیت تخم‌های تفریح شده نماتد *M. javanica* در شرایط آزمایشگاه نشان داد که عصاره این گیاهان موجب کاهش معنی‌دار ($P \leq 0.05$) جمعیت تخم‌های تفریح شده نماتد شد. کمترین تا بیشترین میزان تخم‌های تفریح شده به ترتیب در تیمارهای مربوط به گیاهان چریش (۲/۶۳ درصد)، اکالیپتوس (۳/۷۷ درصد)، مورد (۶/۵۳ درصد) و حنا (۱۳/۴۹ درصد) مشاهده شد (شکل ۱). با افزایش غلظت عصاره گیاهان از میزان تفریح تخم‌ها کاسته شد به طوری که کمترین میزان درصد تخم‌های تفریح شده در غلظت اول (۲۵ میلی‌گرم بر لیتر) حاصل شد (شکل ۲).



شکل ۱. اثر تیمار عصاره گیاهان چریش، اکالیپتوس، حنا و مورد بر میزان تفریح تخم نماتد *Meloidogyne javanica* در شرایط آزمایشگاه



شکل ۲. اثر تیمار غلظت عصاره گیاهان چریش، اکالیپتوس، حنا و مورد بر میزان تفریح تخم نماتد *Meloidogyne javanica* در شرایط آزمایشگاه

نتایج مطالعه با یافته‌های 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 می‌دهد استفاده از استراتژی‌های غیر شیمیایی می‌تواند راه‌حل‌های قابل قبولی برای مدیریت نماتدهای انگل گیاهان باشند [3,7,15,16,18,5]. تحقیقات متعددی نشان داده است که استفاده از عصاره‌های گیاهی به عنوان نماتدکش در کنترل نماتدهای ریشه گرهی در شرایط آزمایشگاه و گلخانه مؤثر

بوده است [9,1,12]. 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 تخم نماتد *M. javanica* داشته است. اثر نماتدکشی عصاره و پودر برگ گیاه مورد (*M. cummonis*) طی یک پژوهش آزمایشگاهی و گلخانه‌ای بر جمعیت نماتدهای *Tylenchulus* *Ditylenchus dipsaci*, *Pratylenchus penetrans* و *Steinernema feltiae* مورد بررسی قرار گرفت. نتایج حاصل از این تحقیق نشان داد که پودر برگ و عصاره خمیر برگ های مورد دارای توانایی و پتانسیل نماتدکشی علیه نماتدهای ریشه‌گرهی می‌باشند [13]. ترشحات ریشه گل جعفری (*Tagetes spp.*) دارای ترکیباتی نظیر آ-ترتینیل (a-Terthienyl) می‌باشند که دارای اثرات نماتدکشی قابل توجهی می‌باشد. گونه‌های مختلف متعلق به جنس گل جعفری به صورت گیاه پوششی و یا در بین ردیف‌های کشت در مزارع جهت کنترل نماتدهای ریشه‌گرهی (*Meloidogyne spp.*) و نماتدهای مولد زخم ریشه (*Pratylenchus spp.*) بکار رفته‌اند [14].

با گذشت زمان بر میزان توجه و پذیرش ترکیبات و فرآورده های 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، 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.

۵. نتیجه‌گیری

عصاره گیاهان چریش و اکالیپتوس بیشترین اثر کنترلی را بر میزان تفریح جمعیت تخم نماتد *M. javanica* در شرایط آزمایشگاه داشته‌اند.

۶. قدردانی

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

۷. مراجع

1. Aissani, N., et al., Nematicidal activity of allylthiocyanate from horseradish (*Armoracia rusticana*) roots against *Meloidogyne incognita*. *Journal of Agriculture and Food Chemistry*, Vol. 61, 2013, pp. 4723-4727.
2. Cetintas R., and Yarba M.M., Nematicidal effects of five plant essential oils on the southern root-knot nematode, *Meloidogyne incognita* race 2. *Journal of Animal and Veterinary Advances*, Vol. 9, 2010, 222-225.

3. Hooks, C.R., et al., Using marigold (*Tagetes spp.*) as a cover crop, to protect crops from plant-parasitic nematodes. *Applied Soil Ecology*, Vol. 46, 2010, pp. 307-320.
4. Hussey, R.S. and Barker K.R., A comparison of methods of collecting inocula of *Meloidogyne spp.* including a new technique. *Plant Diseases Reports*, Vol. 57, 1973, pp. 1025-1028.
5. Kepenekci, I., et al., Nematicidal Activity of *Beauveria bassiana* (Bals.-Criv.) Vuill. Against Root-Knot Nematodes on Tomato Grown under Natural Conditions. *Egyptian Journal of Biological Pest Control*, Vol. 27(1), 2017, 117-120.
6. Kiriga, A.W., et al., Effect of *Trichoderma spp.* and *Purpureocillium lilacinum* on *Meloidogyne javanica* in commercial pineapple production in Kenya. *Biological Control*, Vol. 119, 2018, 27-32.
7. McSorley, R., Overview of organic amendments for management of plant-parasitic nematodes, with case studies from Florida. *Journal of Nematology*, Vol. 43, 2011, 69-81.
8. Msayleb, N. and Ibrahim, S., Treatment of Nematodes with Ozone Gas: A Sustainable Alternative to Nematicides. *Physics Procedia*, Vol. 21, 2011, 187-192.
9. Naz, I., et al., In vitro and in planta nematicidal activity of *Fumaria parviflora* (Fumariaceae) against the southern root-knot nematode *Meloidogyne incognita*. *Plant Pathology*, Vol. 62, 2013, pp. 943-952.
10. Nickle, W.R., *Manual of Agricultural Nematology*. Marcel Dekker. Inc. New York. 103 pp, 1991.
11. Niranjana Prabhu, K.J., et al., Management of root-knot nematode (*Meloidogyne incognita*) in turmeric. *Journal of Entomology and Zoology Studies*, Vol. 6(1), 2018, pp. 1112-1116.
12. Ntalli, N.G. and Caboni, P., Botanical nematicides in the mediterranean basin. *Phytochemistry Reviews*, Vol. 11, 2012, pp. 351-359.
13. Oka, Y., et al., Nematicidal activity of the leaf powder and extracts of *Myrtus communis* against the root-knot nematode *Meloidogyne javanica*. *Plant Pathology*, Vol. 61, 2012, pp. 1012-1020.
14. Ploeg, A, Greenhouse studies on the effect of marigolds (*Tagetes spp.*) on four *Meloidogyne* species. *Journal of Nematology*, Vol. 31, 1991, pp. 62-9.
15. Soheili, A. and Saeedizadeh, A., Suppression of brassicaceous tissue on *Meloidogyne javanica* in a rhizosphere. *International Journal of Agricultural and Biological Engineering*, Vol. 19(5), 2017, pp. 1012-1018.
16. Tranier, M.-S., et al., Commercial biological control agents targeted against plant-parasitic root-knot nematodes. *Brazilian Archives of Biology and Technology*, Vol. 57, 2014, pp. 831-841.
17. Wiratno, W., et al., Nematicidal activity of plant extracts against the root-knot nematode, *Meloidogyne incognita*. *The Open Natural Products Journal*, Vol. 2, 2009, pp. 77-85.
18. Zasada, I.A., et al., Managing nematodes without methyl bromide. *Annual review of phytopathology*, Vol. 48, 2010, pp. 311-328.