

اثر بازدارندگی عصاره بلوط (*Quercus brantii* L.) بر نماتد ریشه گرهی (*Meloidogyne javanica*) در گیاه گوجه فرنگی

ثریا هاشمی^۱، محمد عبدالهی^{۲*} و حبیب‌اله چاره‌گانی^۳

۱- دانشجوی کارشناسی ارشد، گروه گیاه پزشکی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه یاسوج، یاسوج، ایران

۲- نویسنده مسئول، استاد، گروه گیاه پزشکی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه یاسوج، یاسوج، ایران

پست الکترونیک: mdabdollahi@gmail.com

۳- استادیار، گروه گیاه پزشکی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه یاسوج، یاسوج، ایران

تاریخ پذیرش: خرداد ۱۳۹۵

تاریخ اصلاح نهایی: اردیبهشت ۱۳۹۵

تاریخ دریافت: آذر ۱۳۹۴

چکیده

نماتدهای ریشه‌گرهی غالب‌ترین نماتد در میان نماتدهای انگل گیاهی در سبزیجات می‌باشند. از نظر اهمیت، این نماتدها جزو سه گروه مهم نماتدهای انگل گیاهی تلقی می‌شوند و از برخی جهات، از جمله دامنه میزبانی و تعامل با بسیاری از عوامل بیماری‌زا، از مهمترین نماتدهای انگل گیاهی به‌شمار می‌آیند. خسارت این نماتدها در گوجه‌فرنگی ۲۰٪ تا ۳۰٪ محصول تخمین زده شده‌است. از روش‌های نوین در کنترل آفات و بیماری‌های گیاهی و به‌ویژه در تولید محصولات ارگانیک، استفاده از مواد و ترکیب‌های طبیعی با منشأ میکروبی و گیاهیست. در این تحقیق، به‌منظور بررسی اثر بازدارندگی عصاره گیاهی بلوط (*Quercus brantii* L.) بر نماتد ریشه‌گرهی گونه *M. javanica* در گیاه گوجه‌فرنگی، به‌صورت ترکیب تیماری با دو جزء، ۱- دو اندام گیاهی شامل: برگ و میوه ۲- پنج غلظت عصاره: ۱، ۲، ۳، ۵ و ۷ درصد وزن به حجم (پودر خشک در آب) در شرایط آزمایشگاهی و پنج نسبت پودر: ۰/۰۵، ۰/۱، ۰/۱۵، ۰/۲۵ و ۰/۳۵ درصد (گرم پودر خشک در ۱۰۰ گرم خاک) در شرایط گلخانه‌ای، در قالب طرح کاملاً تصادفی در چهار تکرار انجام شد. در بررسی‌های آزمایشگاهی، بیشترین میزان مرگ و میر لارو سن دوم مربوط به غلظت‌های ۵ و ۷ درصد عصاره برگ و میوه بلوط بود که در غلظت ۷٪ عصاره‌ها ۱۰۰٪ مرگ و میر لارو سن دوم مشاهده شد. در بررسی‌های گلخانه‌ای، از نظر فاکتورهای رشدی گیاه شامل طول، وزن تر و خشک ریشه و شاخساره، هیچ‌یک از تیمارها اثر نامطلوب بر رشد گیاه نداشتند و تیمارهای مایه‌زنی شده با نسبت ۰/۳۵٪ بیشترین تأثیر را بر شاخص‌های نماتدی داشتند.

واژه‌های کلیدی: عصاره بلوط، مهار زیستی، نماتد ریشه‌گرهی (*Meloidogyne javanica*).

مقدمه

و املاح معدنی نقش مهمی را در تغذیه انسان ایفاء می‌کند (Khoshkhoy et al., 2010). نماتدهای ریشه‌گرهی جنس *Meloidogyne* مهمترین نماتدهای خسارت‌زای کشاورزی در جهان هستند (Oka et al., 2000). در این جنس حدود

گوجه‌فرنگی با نام علمی *Solanum lycopersicon* L. یکی از محصولات مهم کشاورزی در جهان به‌شمار می‌رود که به‌دلیل داشتن انواع ویتامین، کاروتن، اسیدهای مفید، قند

دارد (Sabeti et al., 2013). به دلیل وجود ترکیب‌های مذکور و خواص ضدباکتریایی این گیاه، بر آن شدیم تا اثر عصاره برگ و میوه بر لارو سن دوم نماتد ریشه‌گرهی (*M. javanica*) را در شرایط آزمایشگاهی و اثر پودر برگ و میوه بلوط بر نماتد ریشه‌گرهی (*M. javanica*) را در شرایط گلخانه بررسی کنیم.

مواد و روش‌ها

تهیه جمعیت نماتد

برای تهیه کلنی مادر نماتد ریشه‌گرهی، از مزارع و گلخانه‌های آلوده واقع در شهرستان‌های بویراحمد، گچساران و باشت نمونه برداری شد. ریشه‌های آلوده با جریان ملایم آب شستشو داده شدند. پس از قطعه قطعه کردن ریشه‌ها، با استفاده از استریومیکروسکوپ از هر یک از ریشه‌های آلوده چندین نماتد ماده جدا گردید و از ناحیه شبکه کوتیکولی انتهای بدن آنها اسلاید میکروسکوپی تهیه و بررسی شد. سپس از توده تخم همان نماتدها برای خالص‌سازی و تکثیر نماتدها استفاده شد. برای خالص‌سازی نماتدها از روش تک توده تخم استفاده گردید. پس از خالص‌سازی نماتدها، برای اطمینان از شناسایی گونه مورد نظر، دوباره از برش انتهای بدن نماتدها اسلاید میکروسکوپی تهیه گردید و با استفاده از کلیدهای معتبر شناسایی اقدام به تشخیص گونه نماتد گردید (Hunt & Handoo, 2009). برای استخراج تخم‌های نماتد، ریشه‌های آلوده شسته و قطعه قطعه شدند. چند میلی‌لیتر از محلول ۱٪ هیپوکلریت سدیم به ریشه‌های حاوی کیسه تخم درون مخلوط‌کن اضافه و به مدت ۳۰ ثانیه با سرعت متوسط خرد شد. بعد از این مرحله، محتویات داخل خردکن را از الک ۱۰۰ مش که زیر آن الک ۵۰۰ مش قرار داده شده بود عبور داده و سطح الک ۵۰۰ مش را با آب جاری شسته تا آثار هیپوکلریت سدیم از سطح توده تخم پاک گردد. در نهایت محتویات الک ۵۰۰ مش به درون بشر انتقال داده شد (Hussey & Barker, 1973). برای تهیه لارو سن دوم نماتد یک کاغذ صافی بر روی توری فلزی قرار داده شد و درون یک ظرف پتری گذاشته شد. سپس سوسپانسیون تخم نماتد

۱۰۰ گونه شناسایی شده است (Hunt & Handoo, 2009) که گونه‌های *M. incognita* و *M. javanica* به دلیل میزان خسارت و دامنه میزبانی وسیع، از بقیه مهمتر می‌باشند (Sikora & Fernandez, 2005). در کشاورزی مدرن، مبارزه شیمیایی به‌عنوان یکی از روش‌های اصلی مبارزه مطرح است و از این رو امروزه به میزان زیاد از نماتدکش‌های مصنوعی استفاده می‌شود. کاربرد گسترده این مواد می‌تواند باعث کاهش کارایی آنها شده و از طرف دیگر بسیاری از آنها منسوخ شده‌اند، از این رو لازم است که روش‌های جدید و مؤثری برای کنترل نماتدهای انگل گیاهی ابداع شوند. بر این اساس، کشف و توسعه فرآورده‌های گیاهی نماتدکش یا بازدارنده نماتدها نیز افزایش قابل توجهی یافته‌اند (Chitwood, 2002). طبق تعریف، گیاهان آنتاگونیست نماتدها، گیاهانی هستند که ترکیب‌هایی تولید می‌کنند که با نفوذ به خاک یا تمرکز در بافت گیاهی، از رشد نماتد جلوگیری می‌کنند یا اثر نماتدکشی دارند و در نهایت موجب کاهش تراکم جمعیت نماتد می‌شوند (Sano, 2005). یکی دیگر از موارد، واکنش فوق حساسیت است که پس از حمله نماتد و تخریب بافت ریشه اتفاق می‌افتد، در نتیجه ترکیب‌های نماتدکش مثل آلکالوئیدها، ترین‌ها، فنل‌ها و آمینواسیدها آزاد می‌شوند (Sano et al., 1983).

بلوط با نام علمی *Quercus brantii* L. درختی به ارتفاع ۲۰ متر از خانواده Fagaceae، با تاج کروی بزرگ است که به‌طور گسترده در جنگل‌های کردستان، لرستان و کهگیلویه و بویراحمد می‌روید. میوه آن کشیده، بیضی‌شکل و در پیاله‌ای سفید رنگ، مخملی و مخروطی شکل قرار گرفته است. فرآورده‌های درخت بلوط مصارف دارویی بسیاری از جمله اثر ضدعفونی‌کنندگی دارد که این اثرات به دلیل وجود تانن‌ها در ترکیب‌های آن است. از دیگر ترکیب‌های موجود در میوه بلوط می‌توان به مواد روغنی، قندهای مختلف، کوئرستین، نیتوزان و آمیدان اشاره کرد. نتایج بررسی‌های انجام شده نشان داده که عصاره هیدروالکلی برگ‌ها و میوه در دو گونه از بلوط خاصیت ضدباکتریایی

دوم بودند، ریخته شد. پس از ۴۸ ساعت، سوسپانسیون نماتد در سیستم سینی قرار داده شد و آب مقطر اضافه گردید تا نماتدهای فعال از نماتدهای غیرفعال جدا شوند. ۴۸ ساعت بعد از انتقال نماتدها به سیستم سینی، ظروف پتری با استفاده از استریومیکروسکوپ مورد بررسی قرار گرفته و تعداد نماتدهای فعال شمارش شدند (Tsai et al., 2004).

بررسی اثر پودر بر نماتد ریشه‌گرهی (*Meloidogyne javanica*)، در شرایط گلخانه

تعداد ۳۰۰ بذر گوجه‌فرنگی در جعبه کاشت حاوی خاک سترون کاشته شد و پس از گذشت ۱۵ روز، برای مایه‌زنی آماده گردید. پودرهای تهیه شده از برگ و میوه بلوط با نسبت‌های ۰/۰۵، ۰/۱، ۰/۱۵، ۰/۲۵ و ۰/۳۵ درصد با دو کیلوگرم خاک سترون شده مخلوط و در گلدان‌ها ریخته شد. یک هفته پس از افزودن پودر برگ و میوه به خاک گلدان‌ها، انتقال نشاءهای گوجه‌فرنگی در مرحله چهار برگی انجام شد. همزمان تعداد ۶۰۰۰ تخم و لارو سن دوم نماتد، یعنی به‌ازای هر گرم خاک سه عدد، در عمق چهار سانتی‌متری ریشه مایه‌زنی گردید. پس از گذشت ۶۰ روز، گیاهان برداشت و شاخص‌های رشدی گیاه شامل طول، وزن تر و خشک ریشه و شاخساره و شاخص‌های جمعیتی نماتد شامل تعداد تخم، گال و توده تخم در ریشه، تعداد لارو سن دوم در خاک و فاکتور تولیدمثل مورد ارزیابی قرار گرفت. فاکتور تولیدمثل با تقسیم کردن جمعیت نهایی نماتد (مجموع تعداد تخم و نماتد ماده در ریشه و تعداد لارو سن دوم در خاک) به جمعیت اولیه نماتد محاسبه گردید. برای ارزیابی شاخص‌های رشدی گوجه‌فرنگی (وزن تر و خشک اندام‌های هوایی، ریشه و طول آنها) از ترازوی دیجیتالی با دقت ۰/۰۰۱ گرم و خط‌کش فلزی استفاده شد. برای به دست آوردن وزن خشک اندام‌های گیاهی، پس از اندازه‌گیری وزن تر، اندام‌های هوایی به مدت ۴۸ ساعت و ریشه‌ها به مدت ۲۴ ساعت در آن با دمای ۷۲ درجه

روی کاغذ صافی و در ظروف پتری حاوی آب مقطر ریخته شد و به مدت چهار تا پنج روز در انکوباتور با دمای ۲۸ درجه سلسیوس نگهداری گردید. به این ترتیب تخم‌ها روی کاغذ صافی مرطوب تفریح گردید و لاروهای سن دوم نماتد پس از عبور از کاغذ صافی در کف ظروف پتری قرار گرفتند (Vrain, 1977).

تهیه عصاره گیاهی

در تابستان ۱۳۹۳، میوه و برگ درخت بلوط از جنگل‌های استان کهگیلویه و بویراحمد جمع‌آوری شد. خشک کردن اندام‌های جمع‌آوری شده در یک محل تاریک و خشک با تهویه مناسب انجام شد. برای تهیه عصاره، مواد گیاهی خشک شده آسیاب گردید و ۱۰ گرم پودر بخش‌های خشک شده به تفکیک درون کیسه پارچه‌ای ململ دو لایه ریخته شد. کیسه‌ها را در ارلن شیشه‌ای حاوی ۱۰۰ میلی‌لیتر آب مقطر قرار داده و به مدت ۴۸ ساعت در دمای ۲۸ درجه سلسیوس به وسیله شیکر با دور ۱۵۰ تکان داده شدند. پس از ۴۸ ساعت، عصاره از کاغذ صافی واتمن شماره یک عبور داده شد تا ناخالصی‌های عصاره گرفته شود. مایع شفاف به‌عنوان محلول پایه ۱۰٪ (وزن به حجم) در نظر گرفته شد. عصاره‌های تهیه شده در درون بالن شیشه‌ای با روپوش آلومینیومی در دمای چهار درجه سلسیوس در داخل یخچال نگهداری شدند و در زمان مصرف، با افزودن آب مقطر به آن، بقیه محلول‌های مورد نیاز تهیه گردید (Grewal, 1989).

بررسی اثر عصاره بر نماتد ریشه‌گرهی (*M. Javanica*) در شرایط آزمایشگاهی

به‌منظور بررسی اثر عصاره گیاهان مورد آزمایش بر درصد مرگ و میر لارو سن دوم نماتد ریشه‌گرهی در شرایط آزمایشگاهی، غلظت‌های ۱، ۲، ۳، ۵ و ۷ درصد از عصاره برگ و میوه در چهار تکرار در ظروف پتری با قطر هشت سانتی‌متر، که هر یک حاوی ۱۰۰ لارو سن

بعدی قرار گرفتند.

بررسی اثر پودر برگ و میوه بلوط بر نماتد ریشه گرهی (*Meloidogyne javanica*) در شرایط گلخانه

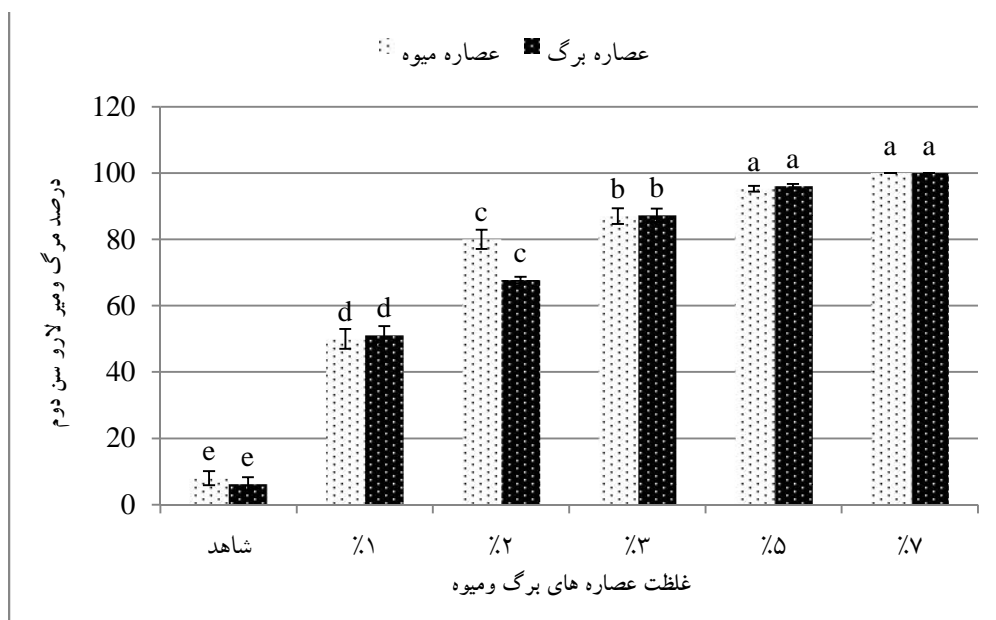
نتایج بررسی مقایسه میانگین (جدول‌های ۱-۳ و شکل‌های ۲ و ۳) نشان داد که در آزمایش استفاده از پودر برگ و میوه بلوط، هیچ‌یک از تیمارها از نظر صفات رویشی گیاه اثر نامطلوب بر رشد گیاه نداشتند. با افزایش غلظت پودر برگ و میوه بلوط، طول، وزن تر و خشک ریشه و شاخساره گیاهان سالم و آلوده به نماتد به‌طور معنی‌داری افزایش پیدا کردند و در تیمارهایی که ۰/۳۵ گرم در ۱۰۰ گرم خاک (۰/۳۵٪) پودر برگ و میوه بلوط دریافت کرده بودند، بیشترین تأثیر بر شاخص‌های جمعیتی نماتد (تعداد گال، لارو سن دوم، توده‌ی تخم، تخم در ریشه و فاکتور تولیدمثلی) مشاهده شد و بین تیمارهای آزمایش اختلاف معنی‌داری در سطح ۱٪ وجود داشت.

سلسیوس نگه‌داری شدند. تجزیه واریانس با استفاده از نرم‌افزار SAS و مقایسه میانگین با آزمون چند دامنه‌ای دانکن و رسم نمودار با استفاده از نرم‌افزار Excel انجام شد.

نتایج

اثر عصاره برگ و میوه بلوط بر مرگ و میر لارو سن دوم ریشه گرهی (*Meloidogyne javanica*) در شرایط آزمایشگاهی

نتایج بررسی اثر عصاره برگ و میر لارو (شکل ۱) نشان داد که عصاره ۷٪ برگ و میوه بلوط با ایجاد ۱۰۰٪ مرگ و میر بهترین تیمار آزمایش بوده و عصاره ۵٪ برگ و میوه بلوط به ترتیب با ایجاد ۹۶٪ و ۹۵٪ درصد مرگ و میر که به لحاظ آماری، در سطح ۱٪ اختلاف معنی‌داری با عصاره ۷٪ نداشت و همچنین عصاره ۳٪ برگ و میوه بلوط به ترتیب با ایجاد ۸۵٪ و ۸۷٪ تلفات، در مرتبه



شکل ۱- مقایسه میانگین اثر عصاره آبی برگ و میوه بلوط بر مرگ و میر لارو سن دوم نماتد ریشه گرهی (*Meloidogyne javanica*) (نوار خطا نشان‌دهنده خطای استاندارد است)

جدول ۱- مقایسه میانگین شاخص‌های رویشی (طول شاخساره و ریشه) تحت تأثیر برگ و میوه بلوط در گوجه‌فرنگی آلوده به *Meloidogyne javanica* نماتد ریشه‌گرهی

طول ریشه (سانتی‌متر)		طول شاخساره (سانتی‌متر)		تیمار
پودر میوه	پودر برگ	پودر میوه	پودر برگ	
(۲۰-۲۵) d	(۲۰-۲۵) fg	(۲۳-۲۴) cd	(۲۳-۲۴) fg	شاهد
۲۲/۷۵±۱/۱۰	۲۲/۷۵±۱/۱۰	۲۳/۵۰±۰/۲۸	۲۳/۵۰±۰/۲۸	
(۱۳-۱۵) h	(۱۳-۱۵) i	(۱۸-۲۱) g	(۱۸-۲۱) h	شاهد مایه‌زنی شده با نماتد
۱۴/۲۵±۰/۴۷	۱۴/۲۵±۰/۴۷	۱۹/۵۰±۰/۸۶	۱۹/۵۰±۰/۸۶	
(۱۸-۱۹) f	(۱۹-۲۲) g	(۲۲/۸۶-۲۶) e	(۲۳-۲۷) f	۰/۰۵٪ در شاهد
۱۸/۵±۰/۲۸	۲۰/۷۵±۰/۷۵	۲۶±۰/۴۰	۲۵/۲۵±۰/۹	
(۱۵-۱۷) g	(۱۵-۱۸) h	(۲۰-۲۲) g	(۲۰-۲۳) gh	۰/۰۵٪ + نماتد
۱۵/۷۵±۰/۴۷	۱۶/۲۵±۰/۷۵	۲۱±۰/۴۰	۲۱/۵±۰/۶۴	
(۲۰-۲۲) de	(۲۳-۲۷) ef	(۲۷-۳۱) d	(۲۸-۳۰) e	۰/۱٪ در شاهد
۲۱±۰/۵۷	۲۴/۵۰±۰/۹۵	۲۹±۰/۴۷	۲۹±۰/۴۱	
(۱۸-۲۳) e	(۲۰-۲۳) g	(۲۲-۲۵) f	(۲۰-۲۳) f	۰/۱٪ + نماتد
۲۰/۷۵±۰/۷۰	۲۱/۷۵±۰/۷۵	۲۳/۷۵±۰/۹۵	۲۵±۰/۸۱	
(۲۴-۲۶) c	(۲۶-۲۸) d	(۳۱-۳۳) c	(۳۵-۳۸) c	۰/۱۵٪ در شاهد
۲۵±۰/۴۰	۲۷±۰/۴۰	۳۲/۲۵±۰/۹۱	۳۴±۰/۹۱	
(۲۱-۲۴) d	(۲۴-۲۷) e	(۲۴-۲۸) e	(۲۷-۳۰) e	۰/۱۵٪ + نماتد
۲۳±۱/۰۳	۲۵±۰/۷۰	۲۶/۵±۰/۷۵	۲۸/۷۵±۰/۶۲	
(۲۵-۲۶) c	(۲۹-۳۱) bc	(۲۹-۳۴) c	(۳۵-۳۸) b	۰/۲۵٪ در شاهد
۲۵/۲۵±۰/۲۸	۲۹/۸±۰/۴۷	۳۱/۵±۱/۰	۳۶/۲۵±۰/۶۲	
(۲۸-۳۱) b	(۲۸-۲۹) cd	(۳۴-۳۸) b	(۳۰-۳۳) d	۰/۲۵٪ + نماتد
۲۹±۰/۷۰	۲۸/۵±۰/۲۸	۳۶±۰/۹۱	۳۱/۷۵±۰/۷۵	
(۳۱-۳۴) a	(۳۲-۳۴) a	(۴۱-۴۴) a	(۳۹-۴۳) a	۰/۳۵٪ در شاهد
۳۲/۵۰±۰/۶۴	۳۲/۵±۰/۵	۴۲/۵±۰/۶۴	۴۰/۷۵±۰/۸۵	
(۳۰-۳۱) b	(۳۰-۳۲) ab	(۳۴-۳۷) b	(۳۴-۳۵) bc	۰/۳۵٪ + نماتد
۳۰/۵۰±۰/۲۸	۳۱±۰/۴۰	۳۵/۵±۰/۶۴	۳۵±۰/۴۰	

تعداد ۴ تکرار، میانگین خارج از پرانتز ± خطای استاندارد و دامنه در داخل پرانتز آورده شده است. حروف مشابه لاتین در هر ستون، نشان‌دهنده عدم وجود تفاوت معنی‌دار آماری (در سطح ۱٪) بین تیمارها می‌باشد.

جدول ۲- مقایسه میانگین شاخص‌های رویشی (وزن تر و خشک شاخساره) گیاه گوجه‌فرنگی آلوده به نماتد ریشه‌گرهی

Meloidogyne javanica تحت تأثیر پودر برگ و میوه بلوط

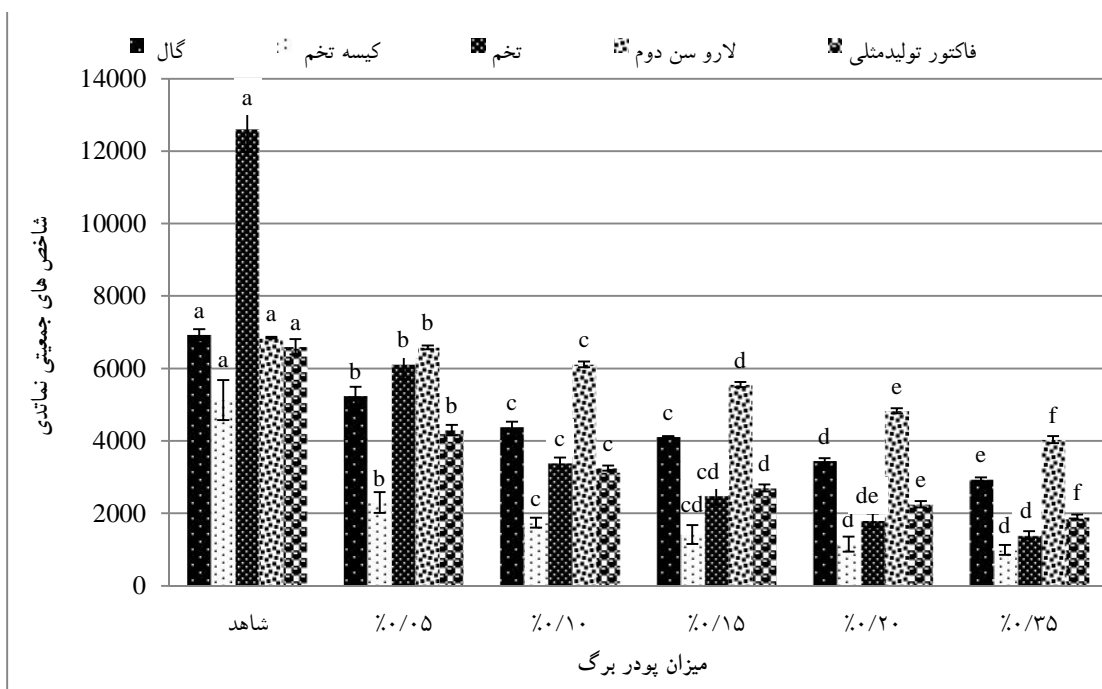
وزن خشک شاخساره (گرم)		وزن تر شاخساره (گرم)		تیمار
پودر میوه	پودر برگ	پودر میوه	پودر برگ	
(۱/۸-۱/۹) d	(۱/۸-۱/۹) ef	(۵/۸-۶/۱) ef	(۵/۸-۶/۱) ef	شاهد
۱/۸۵±۰/۰۲۸	۱/۸۵±۰/۰۳	۵/۹۷±۰/۰۸	۵/۹۷±۰/۰۸	
(۰/۷-۰/۸) f	(۰/۷-۰/۸) i	(۳/۲-۳/۴) i	(۳/۲-۳/۴) i	شاهد مایه‌زنی شده با نماتد
۰/۷۵±۰/۰۲۸	۰/۷۵±۰/۰۲۸	۳/۲±۰/۰۴۷	۳/۲±۰/۰۴۷	
(۴/۹-۶/۱) d	(۱/۵-۱/۹) f	(۱/۶-۱/۹) de	(۵/۲-۶/۱) f	۰/۰۵٪ در شاهد
۵/۶±۰/۰۳	۱/۶۷±۰/۰۸۵	۱/۷۷±۰/۰۶۲	۵/۵۵±۰/۰۲۰	
(۴/۲-۴/۸) f	(۰/۹-۱/۲) h	(۰/۶-۱/۰) f	(۴/۰-۵/۰) h	۰/۰۵٪ + نماتد
۴/۴۲±۰/۱۴	۱/۰۲±۰/۰۶۲	۰/۸۶±۰/۰۵۷	۴/۴۷±۰/۰۲۰	
(۲۷-۳۱) c	(۱/۹-۲/۲) de	(۲/۲-۲/۹) cd	(۶/۱-۶/۹) d	۰/۱٪ در شاهد
۵/۹±۰/۱۱	۲/۰۵±۰/۰۸۶	۲/۳±۰/۰۲۰	۶/۵۲±۰/۰۲۱	
(۴/۶-۵/۴) ef	(۱/۱-۱/۶) g	(۰/۹-۱/۵) ef	(۴/۸-۵/۳) g	۰/۱٪ + نماتد
۴/۹۲±۰/۱۷	۱/۳۲±۰/۱۳	۱/۰۷±۰/۱۴	۵/۰۲±۰/۱۳	
(۶/۰-۷/۴) b	(۲/۵-۲/۷) c	(۲/۹-۳/۲) c	(۷/۲-۷/۶) c	۰/۱۵٪ در شاهد
۶/۶۲±۰/۰۲۸	۲/۶۲±۰/۰۴۷	۳±۰/۰۷۰	۷/۴۵±۰/۰۹۵	
(۴/۹-۶/۲) e	(۱/۷-۱/۹) ef	(۱/۰-۱/۷) de	(۵/۵-۶/۱) f	۰/۱۵٪ + نماتد
۵/۴۷±۰/۰۲۸	۱/۷۷±۰/۰۴۷	۱/۳۵±۰/۱۷	۵/۷۲±۰/۱۴	
(۶/۵-۸/۵) b	(۲/۷-۳/۳) b	(۲/۷-۳/۲) b	(۷/۶-۸/۴) b	۰/۲۵٪ در شاهد
۷/۴۲±۰/۰۴۲	۳/۰۲±۰/۱۲	۳±۰/۱۲	۷/۹۵±۰/۱۸	
(۵/۸-۶/۹) cd	(۱/۹-۲/۵) d	(۱/۹-۲/۱) cd	(۶/۱-۶/۶) de	۰/۲۵٪ + نماتد
۶/۱۷±۰/۰۲۴	۲/۲۷±۰/۱۳	۱/۹۷±۰/۰۴۷	۶/۴۲±۰/۱۱	
(۸/۵-۹/۵) a	(۳/۱-۳/۵) a	(۳/۳-۳/۸) a	(۸/۱-۹/۲) a	۰/۳۵٪ در شاهد
۹/۰۷±۰/۰۲۵	۳/۳۲±۰/۱۰	۳/۵۷±۰/۱۳	۸/۷۵±۰/۰۲۵	
(۷/۶-۸/۵) b	(۲/۳-۲/۷) c	(۲/۶-۳/۰) b	(۷/۲-۷/۶) c	۰/۳۵٪ + نماتد
۸/۰۷±۰/۰۲۴	۲/۵۵±۰/۰۸	۲/۷۷±۰/۱۰	۷/۳۷±۰/۰۸۵	

تعداد ۴ تکرار، میانگین خارج از پرانتز± خطای استاندارد و دامنه در داخل پرانتز آورده شده‌است.
حروف مشابه لاتین در هر ستون، نشان‌دهنده عدم وجود تفاوت معنی‌دار آماری (در سطح ۱٪) بین تیمارها می‌باشد.

جدول ۳- مقایسه میانگین شاخص‌های رویشی (وزن تر و خشک ریشه) گیاه گوجه‌فرنگی آلوده به نماتد ریشه‌گرهی (*Meloidogyne javanica*) تحت تأثیر پودر برگ و میوه بلوط

وزن خشک ریشه (گرم)		وزن تر ریشه (گرم)		تیمار
پودر میوه	پودر برگ	پودر میوه	پودر برگ	
(۰/۷-۰/۸) e	(۰/۷-۰/۸) e	(۲/۷-۳/۰) h	(۲/۷-۳/۰) h	شاهد
۰/۷۵±۰/۰۲	۰/۷۵±۰/۰۲	۲/۸۲±۰/۰۶۲	۲/۸۲±۰/۰۶۲	
(۱/۰-۱/۴) d	(۱/۰-۱/۴) d	(۴/۳-۵/۰) fg	(۴/۳-۵/۰) fg	شاهد مایه‌زنی شده با نماتد
۱/۲۲±۰/۰۸۵	۱/۲۲±۰/۰۸۵	۴/۶۷±۰/۱۴	۴/۶۷±۰/۱۴	
(۴/۵-۶/۰) e	(۰/۹-۱/۲) d	(۰/۹-۱/۰) f	(۴/۰-۵/۰) g	۰/۰/۰۵٪ در شاهد
۳/۵۵±۰/۲۶	۱±۰/۰۷۰	۰/۸۵±۰/۰۶۴	۴/۴۲±۰/۲۹	
(۴/۲-۴/۸) de	(۱/۲-۲/۰) e	(۰/۸-۱/۲) e	(۴/۸-۶/۱) e	۰/۰/۰۵٪ + نماتد
۴/۵۰±۰/۱۲	۱/۶±۰/۱۶	۱±۰/۰۹۱	۵/۳۵±۰/۲۳	
(۴/۷-۵/۰) de	(۱/۰-۱/۲) d	(۰/۹-۱/۲) de	(۴/۸-۵/۰) ef	۰/۰/۱٪ در شاهد
۴/۹۲±۰/۰۷۵	۱/۱۵±۰/۰۵	۱±۰/۰۴۷	۴/۹۵±۰/۱۵	
(۱۸-۲۳) cd	(۱/۸-۲/۳) b	(۱/۱-۱/۶) cd	(۵/۹-۶/۶) c	۰/۰/۱٪ + نماتد
۵/۲۵±۰/۳۳	۲/۰۵±۰/۱۰	۱/۳۵±۰/۱۴	۶/۳۲±۰/۰۵	
(۵/۱-۵/۶) cd	(۱/۵-۱/۹) c	(۱/۱-۱/۶) bcd	(۵/۰-۵/۶) e	۰/۰/۱۵٪ در شاهد
۵/۳۵±۰/۱۰	۱/۶۷±۰/۱۰	۱/۳۵±۰/۱۴	۵/۲۷±۰/۱۲	
(۵/۶-۶/۶) b	(۲/۳-۲/۶) a	(۱/۴-۲/۲) b	(۶/۵-۷/۱) b	۰/۰/۱۵٪ + نماتد
۶±۰/۲۲	۲/۴۲±۰/۰۶	۱/۷۲±۰/۱۶	۶/۷۷±۰/۱۳	
(۵/۱-۵/۹) bc	(۱/۸-۲/۰) b	(۱/۲-۱/۷) bc	(۵/۵-۶/۰) d	۰/۰/۲۵٪ در شاهد
۵/۶۲±۰/۱۸	۱/۹۵±۰/۰۵	۱/۴۷±۰/۱۱	۵/۸۲±۰/۱۴	
(۶/۱-۶/۷) a	(۲/۵-۲/۸) a	(۲/۰-۲/۷) a	(۷/۰-۷/۶) b	۰/۰/۲۵٪ + نماتد
۶/۷۲±۰/۲۳	۲/۵۷±۰/۰۷۵	۲/۳۵±۰/۱۴	۷/۱۷±۰/۱۱	
(۵/۱-۶/۰) b	(۲/۰-۲/۳) b	(۲/۳-۲/۹) a	(۶/۰-۶/۵) cd	۰/۰/۳۵٪ در شاهد
۵/۷۲±۰/۲۰	۲/۰۷±۰/۰۷۵	۲/۵۵±۰/۱۲	۶/۱۲±۰/۱۲	
(۶/۵-۷/۸) a	(۲/۵-۲/۶) a	(۲/۳-۲/۹) a	(۷/۴-۸/۰) a	۰/۰/۳۵٪ + نماتد
۷/۰۵±۰/۲۷	۲/۶۰±۰/۰۴۰	۲/۵۵±۰/۱۲	۷/۷۵±۰/۱۲	

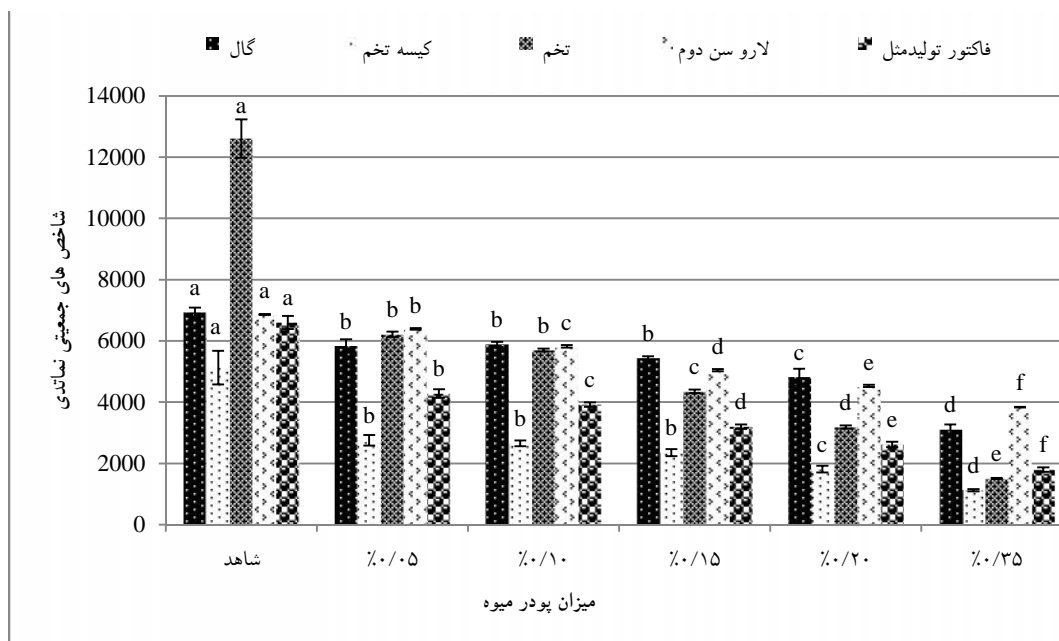
تعداد ۴ تکرار، میانگین خارج از پراکنش خطای استاندارد و دامنه در داخل پراکنش آورده شده است.
حروف مشابه لاتین در هر ستون، نشان‌دهنده عدم وجود تفاوت معنی‌دار آماری (در سطح ۱٪) بین تیمارها می‌باشد.



شکل ۲- مقایسه میانگین اثر پودر برگ بلوط بر شاخص‌های جمعیتی نماتد در گوجه‌فرنگی آلوده به

نماتد ریشه‌گرهی (*Meloidogyne javanica*)

(گال و کیسه تخم $\times 10$ و فاکتور تولیدمثلی $\times 2000$ ؛ نوار خطا نشان‌دهنده خطای استاندارد است)



شکل ۳- مقایسه میانگین اثر پودر میوه بلوط بر شاخص‌های جمعیتی نماتد در گوجه‌فرنگی آلوده به

نماتد ریشه‌گرهی (*Meloidogyne javanica*)

(گال و کیسه تخم $\times 10$ و فاکتور تولیدمثلی $\times 2000$ ؛ نوار خطا نشان‌دهنده خطای استاندارد است)

بحث

نماتدهای ریشه‌گرهی با نفوذ به داخل ریشه و با ترشح برخی آنزیم‌ها از جمله پروتئاز، متابولیسم میزبان را به نفع خود تغییر می‌دهند. گیاهان میزبان نیز با ایجاد سلول‌های بزرگ و ازدیاد سلول‌ها در نسوج ریشه با سنتز اکسین و سایر مواد یا هورمون‌های رشدی به مقابله برخاسته از حالت طبیعی خارج می‌شود. اطراف نماتدهای مهاجم را سلول‌های زیادی احاطه می‌کند که منجر به تشکیل غده بر روی ریشه می‌شود، در نتیجه ریشه گیاه میزبان نمی‌تواند وظایف اصلی خود یعنی تأمین مواد غذایی را از طریق جذب مواد از خاک به خوبی انجام دهد (Mayo & Bergeson, 1970).

البته وجود برخی مواد شیمیایی موجود در عصاره‌های گیاهی باعث ایجاد مرگ و میر در لارو نماتدها می‌شود. برخی از این مواد شیمیایی به‌طور مستقیم به بدن نماتد نفوذ می‌کنند و از فعالیت آنزیم استیل کولین استراز و استرازهای شبیه کولین استراز جلوگیری می‌کنند. بر این اساس، بازدارنده‌های استیل کولین استراز موجب جلوگیری از فعالیت و تحرک نماتد و همچنین باعث تأخیر در مراحل پوست‌اندازی می‌شوند (Nelmes, 1970). Ghazalbash و Abdollahi (۲۰۱۳) اثر عصاره آبی برگ آویشن شیرازی (*Zataria multiflora* Boiss.) و اندام‌های مختلف چویل (*Ferulago angulata* (Schlecht) Boiss.) بر نماتد *M. javanica* را در شرایط آزمایشگاهی بررسی کردند. نتایج آنان نشان داد که عصاره ۰/۴٪ گل چویل موجب مرگ و میر ۹۷/۳ درصدی لاروهای سن دوم و جلوگیری از تفریح ۹۰٪ تخم‌ها شدند. در همین بررسی، تجزیه شیمیایی وجود فلاونوئید و تانن را در اندام‌های گیاهان مورد بررسی ثابت کرد. به‌طور کلی ضروری است که قبل از تعیین خاصیت آفت‌کشی عصاره گیاهان آلوپاتیکی، اثر آنها بر روی رشد گیاهان بررسی و واکنش گیاهان مختلف را نسبت به آنها آزمایش کرد. در این تحقیق در تیمارهای آلوده افزایش وزن تر ریشه مشاهده گردید که براساس نظر Postuka و همکاران (۱۹۸۶) به علت ایجاد گال و سلول‌های غول‌آسا می‌باشد. در بررسی‌های Shakeri

همکاران (۲۰۱۳) اثر بازدارندگی عصاره گیاه کور (*Capparis spinosa* L.) در غلظت‌های ۵، ۱۰، ۱۵ و ۲۰ درصد بر نماتد ریشه‌گرهی *M. javanica* و همچنین اثر این عصاره بر رشد گیاهان گوجه‌فرنگی و خیار نشان داده شد. نتایج نشان داد که با افزایش غلظت، جمعیت نماتد به‌طور معنی‌داری کاهش و وزن قسمت‌های هوایی گیاه به‌طور معنی‌دار افزایش پیدا کرد. با توجه به بررسی‌های Shakeri و همکاران (۲۰۱۳)، گیاه کور می‌تواند به‌عنوان یک نماتدکش بیولوژیک مورد توجه قرار بگیرد. اگرچه گیاه کور دارای خاصیت کشندگی بر نماتدهای انگل گیاهی است ولی اثر نماتدکشی آن بر نماتدهای ساپروفیت از قبیل *Rhabditis* sp. کمتر است و این در حالی است که سایر سموم نماتدکش کلیه نماتدهای موجود در خاک، اعم از پارازیت و آزادزی را از بین می‌برند که این ویژگی از نظر حفظ تعادل بیولوژیکی خاک دارای اهمیت می‌باشد.

فرآورده‌های گیاهی مختلف اثرات بازدارندگی متفاوتی بر نماتدها دارند. از آن جمله، می‌توان به نتایج بررسی Gupta و Walia (۱۹۹۵) که با استفاده از ۶ گرم پودر برگ درخت چریش در هر کیلوگرم خاک افزایش رشد گوجه‌فرنگی و کاهش تعداد گال‌های نماتد *M. javanica* را نشان دادند، اشاره کرد. در آزمایشی دیگر اثر عصاره ۱۸ گیاه مختلف بر روی نماتد ریشه‌گرهی بررسی شده است که از میان آنها تنها عصاره دو گیاه چریش (*Azadirachta indica* L.) و اکالیپتوس (*Eucalyptus tereticornis*)، بیشترین اثر را در کاهش گال و افزایش رشد گیاه گوجه‌فرنگی (Sellami & Mouffarah, 1994) داشتند. البته مدیریت نماتد *M. incognita* نیز به‌وسیله بسیاری از گیاهان آزمایش شده‌است که از آن جمله می‌توان به تأثیر بازدارندگی قسمت‌های گوناگون درخت چریش و زیتون تلخ (*Melia azadirach*) بر این نماتد در گوجه‌فرنگی اشاره کرد (Siddiqui & Alam, 2001). کنترل نماتد ریشه‌گرهی توسط میوه تازه زیتون نیز به اثبات رسیده است (D'Addabbo, 1995). عصاره تمامی قسمت‌های مختلف گیاه چریش (*Azadirachta indica*) علیه نماتد ریشه‌گرهی

- D'Addabbo, T., 1995. The nematicidal effect of organic amendments: a review of the literature. *Nematologia Mediterranea*, 23(2): 299-305.
- Ghazalbash, N. and Abdollahi, M., 2013. In vitro inhibition of root-knot nematode, *Meloidogyne javanica* by aqueous extract of *Zataria multiflora* and *Ferulago angulata* and some of their compounds. *Research in Plant Pathology*, 1(3): 51-60.
- Grewal, P.S., 1989. Nematicidal effects of some plant-extracts to *Aphelenchoides composticola* (Nematoda) infesting mushroom, *Agaricus bisporus*. *Revue Nematology*, 12: 317-322.
- Hunt, D.J. and Handoo, Z.A., 2009. Taxonomy, identification and principal species: 55-97. In: Perry, R.N., Moens, M. and Starr, J.L., (Eds.). *Root-Knot Nematodes*. CABI, Wallingford, 520p.
- Hussey, R.S. and Barker, K.R., 1973. A comparison of methods of collecting inocula of *Meloidogyne* spp., including a new technique. *Plant Disease Reporter*, 57: 1025-1028.
- Khoshkhoy, M., Sheibani, B., Rohani, E. and Tafazzoli, E., 2010. *Principles of Horticulture*. Shiraz University Press, Shiraz, Iran, 596p.
- Mayo, P.S. and Bergeson, G.B., 1970. The role of secondary invaders in *Meloidogyne incognita* infection. *The Journal of Nematology*, 2(1): 80-83.
- Nelmes, A.J., 1970. Behavioral responses of *Heterodera rostochiensis* larvae to aldicarb and its sulfoxide and sulfone. *Journal of Nematology*, 2: 223-227.
- Oka, Y., Kaltai, H., Bar-Eyal, M., Mor, M., Sharon, E., Chet, I. and Spiegel, Y. 2000. New strategies for the control of plant parasitic nematodes. *Pest Management Science*, 56(11): 983-988.
- Postuka, J.W., Dropkin, V.H. and Nelson, C.J. 1986. Photosynthesis, photorespiration, and respiration of soybean after infection with Root knot nematode. *Photosynthetica*, 20: 405-410.
- Sabeti, H., 2013. *Forests, Trees and Shrubs of Iran*. Yazd University Press, 576p.
- Sano, Z., 2005. Cultural control of the nematode damage: 281-316. In: Noubunkyo, (Ed.). *Large Encyclopedia of Environmental Conservation Agriculture*. Noubunkyo, Tokyo.
- Sano, Z., Nakasono, T. and Araki, M., 1983. Penetration and development of *Meloidogyne incognita* in some enemy and host plants. *Kyushu Plant Protection Research*, 29: 132-136.
- Sellami, S. and Mouffarah, A., 1994. Effect of some aqueous plant extracts on juvenile hatching and larval mortality against *Meloidogyne incognita*. *Mededelingen Faculteit Landbouwkundige en*

مؤثر بوده ولی در غلظت‌های بالا برای گیاه سمی است (Zasada et al., 2002). درخت بلوط به دلیل وجود تانن‌ها در ترکیب‌های آن، مصارف دارویی بسیاری از جمله اثر ضد عفونی‌کنندگی دارد. در این بررسی، پودر برگ و میوه بلوط باعث کاهش فاکتور تولیدمثلی، توده تخم و لارو سن دوم نماتد در خاک شد. از این رو احتمال دارد که میوه بلوط به دلیل پایداری، در دسترس بودن و فعالیت بیولوژیکی مواد بازدارنده موجود در آن، تحت تأثیر میکروارگانسیم‌های خاک قرار گیرد. بنابراین هر گونه تغییر در فعالیت مواد بازدارنده در خاک، در اثر جذب شدن به کلویدهای خاک و همچنین تجزیه شیمیایی یا میکروبی، بعد از ورود بقایای گیاهی به خاک قابل اثبات می‌باشد (Singh et al., 2003). با توجه به تأثیر پودر برگ و میوه بلوط در کاهش خسارت نماتد ریشه‌گرهی گونه *M. javanica* و مقادیر کم مورد نیاز (۳/۵ گرم پودر در کیلوگرم خاک) و همچنین در دسترس بودن درخت بلوط و فراوانی برگ‌های درخت در اواخر فصل میوه‌دهی و میوه‌های ریزش کرده روی زمین که در حال پوسیدن می‌باشند، نتایج این تحقیق برای کنترل نماتد ریشه‌گرهی اقتصادی و قابل توصیه می‌باشد.

سیاسگزاری

این مقاله به‌عنوان بخشی از پایان‌نامه کارشناسی ارشد ثریا هاشمی تحت راهنمایی محمد عبدالهی و حبیب‌الله چاره‌گانی در دانشگاه یاسوج ارائه شده است. نویسندگان لازم می‌دانند از مسئولان محترم دانشگاه یاسوج به لحاظ فراهم کردن امکانات مالی و پژوهشی قدردانی کنند. از بررسی‌کنندگان محترم دوماهنامه تحقیقات گیاهان دارویی و معطر که با نکته‌سنجی‌های ظریف خود بر کیفیت مقاله افزودند، نهایت تشکر را داریم.

منابع مورد استفاده

- Chitwood, D.J., 2002. Phytochemical based strategies for nematode control. *Annual Review of Phytopathology*, 40: 221-249.

- conyzoides with wheat (*Triticum aestivum*). Journal of Agronomy and Crop Science, 189: 341-346.
- Tsay, T., Wu, S. and Lin, Y., 2004. Evaluation of Asteraceae plants for control of *Meloidogyne incognita*. Journal of Nematology, 36: 36-41.
 - Vrain, T.C., 1977. A technique for the collection of larvae of *Meloidogyne* spp. and a comparison of eggs and larvae as inocula. Journal of Nematology, 9(3): 249-251.
 - Walia, K.K. and Gupta, D.C., 1995. Neem an effective biocide against *Meloidogyne javanica* attacking vegetable crops. Plants Diseases Research, 10: 59-61.
 - Zasada, I.A., Ferris, H. and Zheng, L., 2002. Plant sources of chinese herbal remedies: laboratory efficacy, suppression of *Meloidogyne javanica* in soil, and phytotoxicity assays. Nematology, 34: 124-129.
 - Toegepaste Biologische Wetenschappen Universiteit Gent, 59(2b): 813-816.
 - Shakeri, M., Sodaizadeh, H. and Hakimi, M.H., 2013. Allelopathic and nematocidal effects of *Capparis spinosa* aqueous extract on growth parameters of cucumber and tomato. Sustainable Agriculture and Production Science, 23(2): 97-111.
 - Siddiqui, M.A. and Alam, M.M., 2001. Screening of Tomato Varieties/Lines for Resistance Against Root-Knot. Nematode (*Meloidogyne incognita*). The IPM Practitioner, 23: 9-11.
 - Sikora, R.A. and Fernandez, E., 2005. Nematode parasites of vegetables. In: Luc, M., Sikora, R.A. and Bridge, J., (Eds.). Plant Parasitic Nematodes in Subtropical and Tropical Agriculture. CAB International, Wallingford, UK, 871p.
 - Singh, H.P., Batish, D.R. Kaur, S. and Kohli, R.K., 2003. Phytotoxic interference of *Ageratum*

Inhibitory effect of *Quercus brantii* L. extract on *Meloidogyne javanica*, the causal agent of Root-knot disease, in tomato plants

S. Hashemi¹, M. Abdollahi^{2*} and H. Charehgani³

1- MSc. Student, Department of Plant Protection, Faculty of Agriculture, University of Yasouj, Yasouj, Iran

2*- Corresponding author, Department of Plant Protection, Faculty of Agriculture, University of Yasouj, Yasouj, Iran

E-mail: mdabdollahi@gmail.com

3- Department of Plant Protection, Faculty of Agriculture, University of Yasouj, Yasouj, Iran

Received: November 2015

Revised: May 2016

Accepted: June 2016

Abstract

Root-knot nematodes are one of the most important plant parasitic nematodes. The damage of these nematodes on tomatoes is estimated about 20-30%. One of the latest methods for controlling pests and plant diseases is application of organic products and use of natural ingredients with microbial and herbal origin. In order to reduce the damage of root-knot nematode in tomato plants, the nematicidal effects of aqueous extract of oak (*Quercus brantii* L.) were evaluated on root-knot nematode, *Meloidogyne javanica* *in vitro* as well as in greenhouse conditions. An experiment was conducted in a completely randomized design. The treatments consisted of 1- plant parts (leaf and fruit) 2- plant extracts (at five concentrations, 1%, 2%, 3%, 5% and 7% for laboratory tests, and 0.05%, 0.1%, 0.15%, 0.25% and 0.35% (g dry powder in 100 grams of soil) for greenhouse experiments). Extracts of different parts of both tested plants caused maximum mortality of the second stage larvae, at the rates of 5% and 7%. Leaf and fruit extract at the rate of 7% caused 100% larval mortality. In case of reproduction factor, none of treatments had hazardous effect on plant growth including root and shoot length, fresh and dry weight. Between all treatments, the best treatment was identified at the rate of 0.35%, which was effective enough against nematode and also had no harmful effect on the tested plant.

Keywords: Oak extract, biological control, root-knot nematode (*Meloidogyne javanica* L.).