





دانشکده کشاورزی
پایان نامه کارشناسی ارشد

بررسی اثر نماتدکشی برخی گیاهان دارویی جهت کنترل نماتد مولد گره
ریشه *Meloidogyne javanica* در گوجه فرنگی در شرایط گلخانه

فاطمه خیاط

استاد راهنما
دکتر عصمت مهدیخانی مقدم

اساتید مشاور
دکتر مجید عزیزی و دکتر حمید روحانی

شهریور ۱۳۹۰

تعهد نامه

عنوان پایان نامه: بررسی اثر نماتدکشی برخی گیاهان دارویی جهت کنترل نماتد مولد گره ریشه *Meloidogyne javanivca* در گوجه‌فرنگی در شرایط گلخانه

اینجانب فاطمه خیاط دانشجوی دوره کارشناسی ارشد رشته بیماری‌شناسی کشاورزی دانشکده کشاورزی دانشگاه فردوسی مشهد تحت راهنمایی خانم دکتر عصمت مهدیخانی مقدم متعهد می‌شوم:

- نتایج ارائه شده در این پایان نامه حال مطالعات علمی و عملی اینجانب بوده، مسئولیت صحت و اصالت مطالب مندرج را به طور کامل بر عهده می‌گیرم.
- در خصوص استفاده از نتایج پژوهشهای محققان دیگر به مرجع مورد نظر استناد شده است.
- مطالب مندرج در این پایان نامه را اینجانب یا فرد دیگری به منظور اخذ هیچ نوع مدرک یا امتیازی تاکنون به هیچ مرجعی تسلیم نکرده است.
- کلیه حقوق معنوی این اثر به دانشگاه فردوسی مشهد تعلق دارد. مقالات مستخرج از پایان نامه، ذیل با نام دانشگاه فردوسی مشهد (Ferdowsi University of Mashhad) به چاپ خواهد رسید.
- حقوق معنوی تمام افرادی که در به دست آمدن نتایج اصلی پایان نامه تاثیر گذار بوده اند در مقالات مستخرج از رساله رعایت شده است.
- در صورت استفاده از موجودات زنده یا بافتهای آنها برای انجام پایان نامه، کلیه ضوابط و اصول اخلاقی رعایت شده است.

تاریخ

نام و امضاء دانشجو

مالکیت نتایج و حق نشر

- کلیه حقوق معنوی این اثر و محصولات آن (مقالات مستخرج، برنامه های رایانه ای، نرم افزارها و تجهیزات ساخته شده) به دانشگاه فردوسی مشهد تعلق دارد و بدون اخذ اجازه کتبی از دانشگاه قابل واگذاری به شخص ثالث نیست.

چکیده

نماتدهای پارازیت گیاهی از آفات اقتصادی مهم در محصولات جهانی به شمار می‌آیند. در این بین نماتدهای مولد گره ریشه *Meloidogyne spp* سهم بزرگی از این خسارات را در ایران به خود اختصاص می‌دهند. در سال‌های اخیر، استفاده از گیاهان دارویی به عنوان یکی از روش‌های مؤثر در کنترل آفات و بیماری‌ها توجه بسیاری از محققان را به خود جلب کرده است. در این تحقیق، اثر بازدارندگی اسانس گیاهان کما *Dorema ammoniacum*، باریجه *Ferula gommosa* و اکالیپتوس *Eucalyptus* و عصاره‌های آبی-الکی و استونی خرزهره *Nerium oleander* علیه نماتد مولد گره ریشه *M. javanica* در شرایط آزمایشگاه و گلخانه مورد ارزیابی قرار گرفت. سطوح LC₅₀ و LC₉₀ برای تخم و لاروتعیین شد. میزان عدم تفریخ تخم و مرگ و میر لارو با غلظت گیاهان مورد آزمایش ارتباط مستقیمی داشت. تمامی عصاره‌ها در بالاترین غلظت بکار رفته تاثیر بیش از ۹۰٪ در مرگ و میر لارو و عدم تفریخ تخم داشتند. در شرایط گلخانه اکثر گیاهان مورد آزمایش (عصاره و اسانس) بطور مشخصی جمعیت این نماتد را کاهش دادند. نتایج این بررسی نشان دهنده پتانسیل بالای اسانس‌ها و عصاره‌های مذکور بویژه اسانس اکالیپتوس و عصاره آبی-الکی خرزهره در کنترل نماتد مولد گره ریشه می‌باشد.

کلید واژه‌ها: نماتد مولد گره، *Meloidogyne javanica*، عصاره، اسانس، گوجه‌فرنگی.

فهرست عناوین

فصل اول: مقدمه و هدف	۱
۱-۱- مقدمه	۱
۱-۲- اهداف تحقیق و اهمیت اجرای طرح	۴
فصل دوم: بررسی منابع	۵
۱-۲- کلیات	۵
۱-۱-۲- گیاهشناسی گوجه‌فرنگی	۵
۲-۱-۲- نیازهای محیطی گوجه‌فرنگی	۶
۳-۱-۲- نماتدهای مولد گره ریشه	۶
۲-۲- کاربرد متابولیت‌های ثانویه گیاهی در کنترل نماتدها	۲۰
۳-۲- اسانس‌های گیاهی	۲۲
۱-۳-۲- کاربرد اسانس‌ها در کنترل نماتدها و مکانیسم عمل آن‌ها	۲۴
۴-۲- عصاره‌های گیاهی	۲۷
۱-۴-۲- کاربرد عصاره‌ها در کنترل آفات و مکانیسم عمل آن‌ها	۲۹
۵-۲- تحقیقات انجام شده جهت بررسی اثرات بیولوژیک ترکیبات گیاهی روی نماتدهای مولد گره ریشه	۲۹
۱-۵-۲- کاربرد اسانس‌ها در کنترل نماتدها	۲۹
۲-۵-۲- خواص نماتدکشی عصاره‌های گیاهی	۳۲
۶-۲- خصوصیات گیاهان مورد مطالعه	۳۶
۱-۶-۲- خانواده چتریان (Apiaceae)	۳۶
۲-۶-۲- خانواده مورد (Myrtaceae)	۴۰
۳-۶-۲- خانواده خرزهره (Apocynaceae)	۴۳
فصل سوم: مواد و روش‌ها	۴۵
۱-۳- استخراج نماتد <i>Meloidogyne javanica</i>	۴۵
۱-۱-۳- نمونه برداری	۴۵
۲-۱-۳- تکثیر نماتد مولد گره ریشه	۴۶
۳-۱-۳- تهیه برش از انتهای بدن ماده‌های بالغ و تهیه اسلاید میکروسکوپی از آنها	۴۷
۴-۱-۳- بررسی خصوصیات مورفولوژیک و مورفومتریک شبکه کوتیکولی انتهای بدن ماده‌های بالغ	۴۷

۴۸	۳-۱-۵- بررسی خصوصیات مورفومتریکی لارو سن دوم
۴۸	۳-۱-۶- تکثیر جمعیت های خالص
۴۹	۳-۲- استریل کردن بذور گوجه فرنگی
۴۹	۳-۳- تهیه نشاء
۴۹	۳-۴- تهیه و آماده سازی خاک
۵۰	۳-۵- شرایط رشد گیاه
۵۰	۳-۶- تهیه سوسپانسیون تخم
۵۱	۳-۷- تهیه سوسپانسیون لارو سن دو
۵۱	۳-۸- شمارش نماتد
۵۱	۳-۹- انتخاب گیاهان دارویی
۵۲	۳-۱۰- تهیه عصاره های گیاهی
۵۲	۳-۱۰-۱- تهیه عصاره استونی
۵۳	۳-۱۰-۲- تهیه عصاره آبی-الکلی
۵۳	۳-۱۰-۳- تعیین وزن خشک عصاره های آبی و الکلی
۵۳	۳-۱۱- تهیه اسانس
۵۴	۳-۱۲- بررسی اثر نماتد کشی اسانس گیاهان دارویی در آزمایشگاه
۵۴	۳-۱۲-۱- بررسی اثر نماتد کشی اسانس بر مرگ و میر لارو
۵۵	۳-۱۲-۲- بررسی اثر اسانس بر تفریخ تخم
۵۶	۳-۱۳- اثر نماتد کشی عصاره های استونی، آبی-الکلی گیاهان دارویی بر نماتد <i>M. javanica</i>
۵۶	۳-۱۳-۱- بررسی اثر عصاره استونی و آبی-الکلی بر مرگ و میر لارو
۵۶	۳-۱۳-۲- بررسی اثر مختلف عصاره استونی، آبی-الکلی بر تفریخ تخم
۵۶	۳-۱۴- روش تخمین LC ₅₀ برای اسانس و عصاره های گیاهی
۵۷	۳-۱۵- اثر ممانعت کنندگی و نماتد کشی گیاهان دارویی در شرایط گلخانه
۵۷	۳-۱۵-۱- اثر نماتد کشی اسانس گیاهان دارویی در خاک
۵۸	۳-۱۵-۲- اثر نماتد کشی عصاره استونی و آبی-الکلی خرزهره در خاک
۵۸	۳-۱۶- ارزیابی آلودگی تیمارهای مختلف
۵۸	۳-۱۶-۱- ارزیابی فاکتورهای رشدی

۵۸ ۳-۱۶-۲- شاخص گال
۵۹ ۳-۱۶-۳- تعیین تعداد لارو سن دو موجود در خاک
۵۹ ۲-۱۷-۱۷- شناسایی ترکیبات شیمیایی اسانس ها
۶۲ ۳-۱۷-۱۷- طرح آماری
۶۲ ۳-۱۷-۱- آزمایشگاه
۶۲ ۳-۱۷-۲- گلخانه
۶۵ فصل چهارم: نتایج
۶۵ ۴-۱- مشخصات مورفولوژیک و مورفومتریک گونه مورد مطالعه (<i>Meloidogyne javanica</i>)
۶۹ ۴-۲- نتایج ارزیابی اثر نماتدکشی گیاهان دارویی در آزمایشگاه
۶۹ ۴-۲-۱- نتایج اثر اسانس گیاهان دارویی بر مرگ و میر لارو سن دو و تفریح تخم
 ۴-۲-۲- نتایج ارزیابی اثر نماتدکشی عصاره آبی-الکلی و استونی خرزهره روی تخم و لارو سن دو نماتد
۷۷ گره ریشه
۸۱ ۴-۳- نتایج آزمایشات گلخانه‌ای
 ۴-۳-۱- نتایج آزمایش کاربرد اسانس گیاهان اکالیپتوس، کما و باریجه در خاک علیه <i>Meloidogyne javanica</i>
۸۱ <i>javanica</i>
۸۵ ۴-۳-۲- نتایج بررسی اثر محافظت کنندگی عصاره استونی خرزهره
۸۶ ۴-۳-۳- نتایج اثر محافظت کنندگی عصاره آبی-الکلی خرزهره
۸۷ ۴-۴- شناسایی ترکیبات شیمیایی اسانس‌های اکالیپتوس، کما و باریجه
۹۱ فصل پنجم: بحث و پیشنهادات
۹۸ پیشنهادات
۱۰۱ منابع
۱۱۱ پیوست: فهرست اسامی فارسی و لاتین موجود در پایان‌نامه

فهرست جداول

- جدول ۴-۱: خصوصیات مورفومتریک شبکه کوتیکولی انتهای بدن ماده‌های بالغ و لاروهای سن ۲ جمعیت‌هایی از گونه *Meloidogyne javanica* ۶۷
- جدول ۴-۲: تجزیه واریانس (سطح احتمال) درصد مرگ و میر لارو سن دو و عدم تفریح تخم نماتد *Meloidogyne javanica* در معرض اسانس گیاهان مختلف و غلظت‌های مختلف (در شرایط آزمایشگاه) ۷۲
- جدول ۴-۳: مقایسه میانگین اثر نماتد کشی اسانس گیاهان دارویی بر عدم تفریح تخم و مرگ و میر لارو سن دو نماتد گره ریشه گونه *Meloidogyne javanica* (در شرایط آزمایشگاه) ۷۲
- جدول ۴-۴: مقایسه میانگین اثر نماتد کشی غلظت‌های مختلف اسانس گیاهان دارویی بر عدم تفریح تخم و مرگ و میر لارو سن دو نماتد گره ریشه گونه *Meloidogyne javanica* (در شرایط آزمایشگاه) ۷۳
- جدول ۴-۵: مقایسه میانگین اثر متقابل غلظت‌های مختلف اسانس گیاهان دارویی بر مرگ و میر لارو سن دو نماتد گره ریشه گونه *Meloidogyne javanica* (در شرایط آزمایشگاه) ۷۳
- جدول ۴-۶: مقایسه میانگین اثر متقابل غلظت‌های مختلف اسانس گیاهان دارویی بر عدم تفریح تخم نماتد مولد گره ریشه گونه *Meloidogyne javanica* (در شرایط آزمایشگاه) ۷۴
- جدول ۴-۷: آنالیز پروبیت مرگ و میر - غلظت در آزمایش زیست‌سنجی جهت بررسی اثر کشندگی اسانس‌های اکالیپتوس، کما و باریجه علیه لارو سن دو و تخم نماتد گره ریشه گونه *Meloidogyne javanica* (در شرایط آزمایشگاه) ۷۵
- جدول ۴-۸: نسبت‌های LC₅₀ اسانسها نسبت به یکدیگر جهت مقایسه اثرات کشندگی آنها روی لارو نماتد گره ریشه *Meloidogyne javanica* (در شرایط آزمایشگاه) ۷۶
- جدول ۴-۹: نسبت‌های LC₅₀ اسانسها نسبت به یکدیگر جهت مقایسه اثرات بازدارندگی آنها بر تفریح تخم نماتد گره ریشه *Meloidogyne javanica* (در شرایط آزمایشگاه) ۷۶
- جدول ۴-۱۰: آنالیز پروبیت مرگ و میر - غلظت در آزمایش زیست‌سنجی جهت بررسی اثر کشندگی عصاره‌های استونی و آبی-الکلی خرزهره علیه لارو سن دو و تخم نماتد گره ریشه گونه *Meloidogyne javanica* (در شرایط آزمایشگاه) ۷۹

- جدول ۴-۱۱: نسبت‌های LC₅₀ عصاره‌ها نسبت به یکدیگر جهت مقایسه اثرات کشندگی آنها به ترتیب بر لارو و تخم نماتد گره ریشه *Meloidogyne javanica* (در شرایط آزمایشگاه) ۷۹
- جدول ۴-۱۲: مقایسه میانگین اثر نماتد کشی غلظت‌های مختلف عصاره‌های آبی-الکلی و استونی گیاه خرزهره بر مرگ و میر لارو سن دو نماتد مولد گره ریشه گونه *Meloidogyne javanica* (در شرایط آزمایشگاه) ۸۰
- جدول ۴-۱۳: مقایسه میانگین اثر غلظت‌های مختلف عصاره‌های آبی-الکلی و استونی گیاه خرزهره بر عدم تفریخ تخم نماتد مولد گره ریشه گونه *Meloidogyne javanica* (در شرایط آزمایشگاه) ۸۱
- جدول ۴-۱۴: تجزیه واریانس (سطح احتمال) صفات مورد مطالعه در بررسی اثر نماتد کشی اسانس گیاهان دارویی جهت کنترل نماتد گره ریشه گونه *Meloidogyne javanica* در گلخانه ۸۲
- جدول ۴-۱۵: مقایسه میانگین صفات مورد مطالعه در بررسی اثرات ساده اسانس گیاهان دارویی جهت کنترل نماتد گره ریشه *Meloidogyne javanica* در گلخانه ۸۳
- جدول ۴-۱۶: مقایسه میانگین صفات مورد مطالعه در بررسی اثرات ساده غلظت‌های مختلف اسانس گیاهان دارویی و سم راگی جهت کنترل نماتد *M.javanica* در گلخانه ۸۳
- جدول ۴-۱۷: مقایسه میانگین صفات مورد مطالعه در بررسی اثرات ساده غلظت‌های عصاره استونی خرزهره جهت کنترل نماتد *M.javanica* در گلخانه ۸۵
- جدول ۴-۱۸: مقایسه میانگین صفات مورد بررسی در آزمایش اثر غلظت‌های مختلف عصاره استونی خرزهره جهت کنترل نماتد *M.javanica* در گلخانه ۸۶
- جدول ۴-۱۹: مقایسه میانگین صفات مورد مطالعه در بررسی اثرات ساده غلظت‌های عصاره آبی-الکلی خرزهره جهت کنترل نماتد *M.javanica* در گلخانه ۸۷
- جدول ۴-۲۰: مقایسه میانگین صفات مورد بررسی در آزمایش اثر محافظت کنندگی غلظت‌های مختلف عصاره آبی-الکلی خرزهره در شرایط گلخانه ۸۷
- جدول ۴-۲۱: ترکیبات اصلی تشکیل دهنده اسانس باریجه و کما مورد استفاده در تحقیق ۸۸
- جدول ۴-۲۲: ترکیبات اصلی تشکیل دهنده اسانس اکالیپتوس مورد استفاده در تحقیق ۸۹

فهرست اشکال

- شکل ۲-۱- تخم نماتد *Meloidogyne javanica* ۸
- شکل ۳-۱- گلدان‌های آلوده به نماتد مولد گره ریشه جهت تکثیر و خالص سازی نماتد *Meloidogyne javanica* ۴۶
- شکل ۳-۲- تهیه نشاء گوجه‌فرنگی در مرحله ۴-۶ برگی ۴۹
- شکل ۳-۳- لام شمارش نماتد ۵۱
- شکل ۳-۴- دستگاه اوپراتور ۵۲
- شکل ۳-۵- دستگاه کلونجر ۵۴
- شکل ۳-۶- میکروتیوپ‌های حاوی لارو سن دوم و اسانس ۵۵
- شکل ۳-۷- اثر نماتد کشی اسانس در گلخانه ۵۷
- شکل ۳-۱- نحوه ارزیابی شاخص گال در ریشه گوجه‌فرنگی آلوده به نماتد مولد گره ریشه (بر اساس سیستم پیشنهادی تایلور و ساسر، ۱۹۷۸) ۶۳
- شکل ۴-۱- *Meloidogyne javanica* (juvenil , ♀) ۶۸
- شکل ۴-۲- مقایسه میانگین اثر نماتد کشی اسانس گیاهان مختلف روی مرگ و میر لارو (الف) و عدم تفریح تخم (ب) نماتد گره ریشه *Meloidogyne javanica* ۷۱
- شکل ۴-۳- مقایسه میانگین غلظت های مختلف اسانس گیاهان و سم راگی جهت کنترل نماتد مولد گره ریشه گونه در آزمایشات گلخانه ای ۸۴

فصل اول: مقدمه و هدف

۱-۱- مقدمه

گوجه‌فرنگی گیاهی پایا با نام علمی *Lycopersicon esculentum* Mill از خانواده Solanaceae می‌باشد که با تولید سالانه حدود ۵۰ میلیون تن، جزء محبوبترین سبزی‌ها محسوب می‌گردد. این گیاه بومی کشور پرو است که در اواسط قرن شانزدهم به اروپا وارد گردید و مدت‌های مدیدی به عنوان یک گیاه زینتی مورد استفاده قرار می‌گرفت. گوجه‌فرنگی در اواخر قرن هیجدهم به عنوان یک گیاه با مصرف خوراکی شناخته شد (قشم و کافی، ۱۳۷۸). وجود حالت تازه‌خوری و قابلیت فرآوری این محصول در پذیرش سریع و همگانی آن به عنوان یک محصول غذایی مهم، نقش بسزایی داشته است (خدایی اربط، ۱۳۸۶).

صدور فرآورده‌های گوجه‌فرنگی به دیگر کشورها، رونق بازار جهانی تولیدات حاصل از این فرآوری و امکانات وسیع تولید و فرآوری آن در ایران و بخصوص استان خراسان رضوی منجر به افزایش اهمیت اقتصادی این گیاه شده است، به طوری که به عنوان یک گیاه زراعی در سطوح وسیع مورد کشت و کار قرار

می‌گیرد. طبق آمارنامه کشاورزی در سال ۸۸-۱۳۸۷ سطح زیر کشت این گیاه حدود ۱۶۳۵۴۲ هکتار، تولید ۵۸۸۷۷۱۵ تن و عملکردی بالغ بر ۵۴۴۶۸/۲۹ کیلوگرم در کل کشور بوده است. در استان خراسان رضوی ۱۴۵۶۱ هکتار سطح زیر کشت، ۵۳۰۵۶۰ تن تولید و ۳۶۴۳۷/۰۶ کیلوگرم عملکرد داشته است. سود خالص کشت گوجه‌فرنگی از گندم، برنج و پنبه بیشتر است ضمن اینکه تعداد زیادی از مردم در این راه مشغول به کار می‌باشند.

گوجه‌فرنگی گیاهی است که در ایران در شرایط مزرعه و گلخانه جهت مصارف تازه‌خوری و فرآوری کشت می‌شود و در سال‌های اخیر نیز با توجه به افزایش سطح زیر کشت و مقرون به صرفه بودن و نیز افزایش کارخانجات فرآوری گوجه‌فرنگی (همچون رب گوجه‌فرنگی، سس و پودر گوجه‌فرنگی) بخصوص در استان‌های خراسان رضوی، خراسان شمالی، آذربایجان شرقی، گلستان و کرمان زمینه‌های بسیار مساعد صادرات این محصول فراهم شده است. هم‌اکنون این فرآورده‌ها به کشورهای همسایه از جمله عراق، افغانستان، ترکیه و امارات صادر می‌گردد. میوه گوجه‌فرنگی در حالت رسیده دارای ارزش غذایی بسیار بالایی می‌باشد و سرشار از ویتامین ث، ویتامین‌های گروه ب، پیش‌سازنده ویتامین آ (بتا کاروتن) و املاحی همچون آهن، پتاسیم، فسفر، منیزیم می‌باشد.

اهمیت این محصول در ایران و سایر نقاط جهان موجب می‌شود تا تحقیقات جامع، بیشتر و فراگیرتری در زمینه‌های مختلف این محصول از جمله اصلاح و بهبود بذور متناسب با شرایط آب و هوایی ایران، کنترل آفات و بیماری‌های گوجه‌فرنگی و انبارداری و فرآوری این محصول داشته باشند.

انواع بیماری‌های گیاهی از جمله بیماری‌های ویروسی، باکتریایی، قارچی و نماتدی منجر به بروز مشکلات زیادی در زراعت گوجه‌فرنگی شده است که از بین این عوامل بیماری‌زا، نماتدها و بویژه نماتد مولد گره ریشه *Meloidogyne spp.* از اهمیت ویژه‌ای برخوردار است. این نماتد از نظر اقتصادی از مهم‌ترین نماتدهای پرازیت گیاهی در سطح جهان محسوب می‌شود که در گیاهان خانواده Solanaceae به

خصوص فلفل، سیب زمینی و گوجه‌فرنگی ایجاد بیماری می‌کند. وسعت دامنه میزبانی و تعامل با سایر بیمارگرهای گیاهی در کمپلکس‌های بیماری، این نماتد را به عنوان یکی از پنج عامل درجه اول بیماری‌زا و در رده مهم‌ترین بیمارگرهای گیاهی، که تامین منابع غذایی جهان را تهدید می‌کند، قرار داده است (پگارد و همکاران، ۲۰۰۴).

این نماتد پارازیت داخلی غیر مهاجر بوده و رابطه تغذیه‌ای با میزبان خود برقرار کرده و آن را وادار به تولید ساختارهای تغذیه‌ای تخصص یافته‌ای به نام سلول‌های غول‌آسا^۱ می‌کند که این سلول‌ها برای تغذیه و رشد نماتد ضروری می‌باشند (پگارد و همکاران، ۲۰۰۴). خسارت‌های مستقیم و غیر مستقیمی که توسط این نماتد به گیاه وارد می‌شود به میزان قابل توجهی موجب محدود شدن کیفیت و کمیت تولیدات کشاورزی می‌شود بطوریکه موجب طراحی پروژه بین المللی نماتدهای ریشه‌گرهی^۲ گردید (نصر اصفهانی و احمدی، ۱۳۸۴). این نماتدها ممکن است روی گیاه گوجه‌فرنگی ۳۸-۲۴٪ خسارت وارد کنند. خسارت نماتد در زمینی که کاشت مداوم محصولات حساس صورت گیرد بیشتر خواهد شد و در صورت عدم کنترل مؤثر، موجب از بین رفتن کل محصول می‌شوند (جاود و همکاران، ۲۰۰۷).

حسینی نژاد در بررسی خود میزان خسارت نماتد *Meloidogyne javanica* را به محصول گوجه-فرنگی ۵۰٪ اعلام نمود. این نماتد علاوه بر خسارت‌های مستقیم، منجر به بروز خسارت‌های غیرمستقیم همچون ایجاد و تشدید پژمردگی ورتیسلیومی و فوزاریمی نیز می‌شود (حسینی نژاد، ۱۳۸۳).

نماتدهای بیماری‌زا با روش‌های زراعی، روش‌های شیمیایی و ژنتیکی (تولیدمثل) بطور متعادل کنترل می‌شوند. استفاده از این روش‌ها تاحدی به خاطر هزینه بالا، اثر غیرکامل و اختصاصی عمل نکردن محدود شده است (بارایال و همکاران، ۲۰۰۶). روش‌های مدیریتی دیگر، شامل تلفیق گیاهان هم‌ستیز^۳، عوامل

^۱ Giant cells

^۲ International *Meloidogyne* Project (IMP)

^۳ . Allelopathic plant

کنترل بیولوژیک، کودهای شیمیایی، ترکیبات طبیعی گیاهی و اصلاح کننده‌های آلی در خاک می‌باشد. معذالک با توجه به این که اغلب روش‌های کنترل، کارایی لازم را نداشته و یا در بعضی موارد نظیر مبارزه شیمیایی برای سلامتی انسان‌ها و محیط زیست مضر شناخته شده‌اند، لذا استفاده از ترکیبات و متابولیت‌های ثانویه گیاهی به دلیل برخورداری از ویژگی‌هایی چون مکانیسم عمل پیچیده و اختصاصی، طیف اثر محدود و قابلیت تجزیه به متابولیت‌های غیر سمی به عنوان بهترین استراتژی جایگزین برای کنترل نماتدها مطرح می‌شود (جاود و همکاران، ۲۰۰۸).

۱-۲- اهداف تحقیق و اهمیت اجرای طرح

هدف تحقیق حاضر، بررسی اثر نماتدکشی برخی گیاهان دارویی علیه نماتد مولد گره ریشه گوجه-فرنگی می‌باشد. در این پژوهش ابتدا گونه *M. javanica* پس از نمونه برداری از مزارع آلوده به نماتد جداسازی، شناسایی و تکثیر شد. سپس در آزمایشگاه اثر نماتدکشی اسانس گیاهان اکالیپتوس، باریجه و کما و عصاره برگ خرزهره علیه تخم و لارو سن دو تعیین گردید. در نهایت جهت بررسی عملی این اثرات، آزمایشات گلخانه‌ای به صورت کاربرد عصاره و اسانس حاصل از این گیاهان انجام گرفت.

فصل دوم: بررسی منابع

۱-۲- کلیات

۱-۱-۲- گیاهشناسی گوجه‌فرنگی

گوجه‌فرنگی یکی از اعضاء خانواده بادنجان (*Solanaceae*)، جنس *Lycopersicon* و گونه *esculentum* می‌باشد. از نظر گیاهشناسی ریشه این گیاه عمیق بوده و گاهی حتی بیش از یک‌متر در خاک نفوذ می‌کند و ریشه‌های جانبی زیادی تولید می‌کند. در این گیاه توانایی ایجاد ریشه نابجا در طوقه و ساقه به صورت تماس با خاک وجود دارد. ساقه گیاه علفی، گرد، صاف و ترد و شکننده است ولی در گیاه بالغ و مسن تقریباً گوشه‌دار و سخت می‌شود. ساقه و برگ پوشیده از کرک‌های ظریف است. برگ‌های آن متناوب و مرکب می‌باشد (نصوحی، ۱۳۸۰).

گل‌های گوجه‌فرنگی کامل بوده و دارای اندام نر و ماده فعال است. چندین گل در هر آذین مرکب وجود دارد و هر بوته ممکن است بیش از ۲۰ گل آذین متوالی در طی دوره زندگی تولید کند. کاسه گل کوتاه بوده و در زمان رسیدن میوه‌ها به رنگ سبز باقی می‌ماند. شش گلبرگ آن به رنگ زرد است و یک سانتیمتر طول دارند (بهنامیان و مسیحا، ۱۳۸۱).

۲-۱-۲- نیازهای محیطی گوجه فرنگی

گوجه فرنگی گیاهی است گرمادوست و کلیه ارقام آن حساس به سرما می‌باشند. درجه حرارت پایه برای جوانه زنی گیاه ۱۱ درجه سانتی گراد می‌باشد و در دمای ۲۵ تا ۲۷ درجه سانتی گراد بهترین رشد را داراست (قشم و کافی، ۱۳۷۸). گوجه فرنگی در دما و شرایط رشدی مناسب دوره تولید مثل خود را در ۹۵-۱۱۵ روز کامل می‌کند با این حال این مدت به رقم گوجه فرنگی بستگی دارد. اولین گلدهی ۷-۸ هفته پس از نشا کردن انجام می‌گیرد و پس از سپری شدن ۶ تا ۷ هفته از اولین گلدهی، میوه می‌رسد (بهنامیان و مسیحا، ۱۳۸۱). به‌طور کلی خاکی برای کشت گوجه فرنگی مناسب است که دارای بافت متوسط، حاصلخیز، عمیق، دارای زهکشی خوب و اسیدیته حدود ۶/۵ الی ۷ باشد. خاک‌های شور و قلیایی و خیلی اسیدی برای کشت گوجه فرنگی مناسب نیستند. آب مناسب آبیاری گوجه فرنگی باید عاری از املاح مضر باشد. البته سیستم آبیاری نیز تاحدی عکس العمل گیاهچه‌ها و گیاهان بالغ را به شوری تحت تاثیر قرار خواهد داد (قشم و کافی، ۱۳۷۸).

۲-۱-۳- نماتدهای مولد گره ریشه

نماتدهای مولد گره ریشه جزء مهمترین نماتدهای گیاهی هستند که متعلق به زیر راسته *Tylenchina*، بالاخانواده *Heteroderoidea* و خانواده *Meloidogynidae* و جنس *Meloidogyne* می‌باشد. مهمترین ویژگی این نماتد ایجاد غده یا گال‌های مشخص بر روی ریشه گیاهان آلوده به این نماتد است (جعفر پور و مهدیخانی مقدم، ۱۳۷۵). این نماتد پارازیت اجباری ریشه بیش از ۲۰۰۰ گونه گیاهی شامل علفی، چند ساله تک لپه و دو لپه هستند و به عنوان یکی از بزرگترین عوامل محدود کننده تولیدات زراعی و باغی در مناطق گرمسیری و نیمه گرمسیری شناخته می‌شوند. از مهمترین میزبان‌های نماتد مولد گره ریشه می‌توان به سبزیجات، غلات، موز، چغندر، چای، گوجه فرنگی و درختان مرکبات اشاره کرد. این نماتدهای پلی فاژ،

انتشار وسیع جهانی دارند. آلودگی به آن‌ها اثر منفی در تولید گیاهی داشته و بنابراین در منطقه‌ای که خسارت توسعه یافته، تاثیر اقتصادی قابل توجهی دارند (کریستوبال آلجو و همکاران، ۲۰۰۶). گسترش جهانی، طیف میزبانی وسیع، قدرت تغذیه زیاد (با ایجاد گره سبب تخریب ریشه می شوند) و خاصیت تشدیدکنندگی با برخی عوامل بیماریزاً خصوصاً عوامل پژمردگی (مثل *Fusarium*، *Pseudomonas solanacearum* و *Verticillium dahliae* و *oxysporum*) از مهمترین دلایل اهمیت نماتدهای مولد گره برشمرده می‌شود (جعفر پور و مهدیخانی مقدم، ۱۳۷۵).

نماتدهای مولد گره ریشه برای اولین بار توسط برکلی در سال ۱۸۵۵ بر روی ریشه خیار در کشور انگلستان شناسایی شدند. تا کنون در دنیا بیش از ۸۰ گونه برای جنس *Meloidogyne* معرفی شده است (عسگریان، ۱۳۸۴). براساس بررسی‌های صورت گرفته در ایران هفت گونه و پنج نژاد از نماتدهای مولد گره ریشه شناخته شده است که گونه *Meloidogyne javanica* وسیع‌ترین پراکندگی را در مزارع گوجه-فرنگی ایران داشته است (احمدی و مرتضوی یک، ۱۳۸۴). این گونه در تمام نقاط دنیا وجود داشته و دومین گونه معمول در جهان است که در ایران از نظر پراکندگی و فراوانی نسبت به سایر گونه‌های این جنس در درجه اول اهمیت قرار دارد. بر اساس گزارش احمدی و مرتضوی یک (۱۳۸۴) بیشترین انتشار گونه *M. javanica* از مزارع گوجه‌فرنگی استان‌های اصفهان، فارس، تهران و هرمزگان گزارش شده است.

۲-۱-۳-۱ شکل شناسی

ماده‌های بالغ انگل داخلی ساکن بوده، فلاسکی شکل، دارای گردن کوتاه و فاقد دم هستند. طول بدن آن‌ها بیشتر از ۰/۵ میلی‌متر و عرض بدن ۰/۳ تا ۰/۴ میلی‌متر است. سر کوچک و دارای سه شیار عرضی است. استایلت باریک و ظریف، طول آن ۱۲ تا ۱۵ میکرومتر، از طرف پشتی خمیده و دارای گره‌های مشخص می‌باشد. در ماده‌ها مری شامل یک حباب میانی کروی مشخص با ورقه‌های هلالی شکل بزرگ است. غده‌های

انتهای مری بزرگ، به هم فشرده و متراکم، نزدیک به حباب میانی مری و روی روده را می پوشاند. مجرای غده پشتی مری، به صورت یک آمپول بزرگ شده و دقیقاً پشت اتصال آن به مری دیده می شود. مجرای ترشحاتی در قسمت جلوی بدن، خیلی جلوتر از گره های استایلت، گاهی دقیقاً در پشت گره ها به بیرون باز می شود. دارای دو تخمدان است که به سمت جلوی بدن کشیده شده اند. تخم ها در کیسه ژلاتینی که به وسیله سلول های اطراف راست روده ترشح می شود در انتهای بدن ماده گذاشته می شود (شکل ۱-۲). ضخامت کوتیکول بدن ماده ها در بعضی از گونه ها ممکن است به ۳۰ میکرومتر نیز برسد. طرح مشخصی از شیارهای اطراف فرج^۱ برای شناسایی گونه ها به کار می رود. نرهای بالغ کشیده و بلند و به آهستگی در خاک حرکت می کنند. طول بدن آن ها متغیر است. حداکثر طول بدن به دو میلی متر می رسد و نسبت طول به عرض بدن ۴۵ است. سر همتراز بدن، طول استایلت در نرها غالباً دو برابر استایلت ماده هاست. دم نرها کوتاه و گرد و در قسمت عقبی بدن به اندازه ۱۸۰ درجه چرخیده و پیچ خورده است. نرها یک یا دو بیضه دارند (ویلیامز و سیدیکو، ۱۹۷۲؛ جعفرپور و مهدیخانی مقدم، ۱۳۷۵).

شکل ۱-۲. تخم نماتد *Meloidogyne javaniva*

^۱. perineal pattern

۲-۱-۳-۲ زیست شناسی

گونه‌های *Meloidogyne* انگل اجباری ریشه گیاهان می‌باشند که عموماً روی بافت‌های ریشه گیاهان میزبان گال تولید می‌کنند. گیاهان آلوده پژمرده و زرد رنگ و علائم مشابه کمبود مواد غذایی را نشان می‌دهند. دوره زندگی این نماتد از دو فاز تشکیل شده است که شامل فاز آزادی^۱ و فاز زندگی انگلی^۲ می‌باشد (داماد زاده، ۱۳۸۶).

فاز آزادی درون خاک‌های آلوده نماتد به صورت تخم درون کیسه ژلاتینی^۳ می‌باشد. در شرایط خشکی، آب ماده ژلاتینی کیسه تخم تبخیر شده و چروکیده و سخت می‌شود. در مورد نماتد *M. javanica* رنگ سفید آن به زرد تا نارنجی متمایل به قرمز تبدیل می‌گردد. سختی کیسه تخم احتمالاً مانع تفریخ شدن تخم و همچنین مانع تبخیر آب تخم‌ها می‌شود و بنابراین تخم‌ها در شرایط خشکی زنده می‌مانند. زمانی که حداقل رطوبت فراهم گردید تخم‌ها تفریخ می‌شوند. در این نماتدها تفریخ تخم نیازی به وجود شیر گیاهی ندارد البته وجود شیر گیاهی تفریخ را تسریع می‌کند. لاروهای سن دوم پس از تفریخ درون لایه نازک آب چسبیده به ذرات خاک و آب آزاد درون خاک حرکت می‌کنند. پس از رسیدن لارو به ریشه گیاه میزبان معمولاً در محل سلول‌های مریستم انتهایی^۴ یا ریشه‌های موئی و یا محل انشعاب ریشه‌های فرعی، نماتد استایلت خود را در ریشه فرو کرده و وارد ریشه می‌شود (داماد زاده، ۱۳۸۶). پس از وارد شدن به ریشه، نماتد از پوست ریشه با حرکت بین سلولی^۵ عبور کرده و در لایه دایره محیطیه که توسط نماتد دیگری احاطه نشده باشد ثابت شده و از سلول‌های اطراف سر نماتد شروع به تغذیه می‌کند. ترشح غدد مری به سلول‌های ریشه، آن‌ها را وادار به تولید سلول‌های غول آسای چند هسته‌ای می‌کند که این سلول‌ها منبع همیشگی غذا را برای پارازیت فراهم می‌آورند. لاروهای نماتد ماده پس از شروع به تغذیه تا حدود دو هفته مرتباً رشد کرده

1 . Free living phase

2 . Parasitic phase

3 . Gelatinous matrix

4 . Elongation zone

5 . Intracellular

و بزرگ می‌شوند و سپس در زمانی کوتاه سه بار جلد عوض کرده، تا اینکه به نemat ماده تبدیل شوند. در این تغییر جلدها، کوتیکول لارو سن دوم باقی می‌ماند و دم آن بشکل زائده (Spike) در انتهای بدن نematدهای متورم شده دیده می‌شود. لاروهای سن سه و چهار این نemat تغذیه نمی‌کنند. هر نemat ماده حدود ۳۰۰ الی ۵۰۰ عدد تخم می‌گذارد (داماد زاده، ۱۳۸۶). در گونه *M. javanica* بدن ماده کاملاً داخل گال قرار دارد و توده تخم نیز ممکن است به طور جزئی و یا کامل داخل گال فرورفته باشد و یا خارج از بافت بوده و از کورتکس پاره شده بیرون آمده باشد. تخم‌ها در یک توده ژلاتینی ترشح شده توسط سلول‌های غدد انتهایی در بین مخرج قرار می‌گیرند. تخم‌ها در معرض رطوبت و عوامل محرک از سوی میزبان تفریح می‌شوند.

مراحل رشد لاروی نemat نر نیز مانند نemat ماده به سه بار تغییر جلد است، لیکن در این مدت نemat-های نر تغذیه نمی‌کنند. نسبت جمعیت نemat نر به ماده معمولاً بستگی به فراوانی مواد غذایی دارد. در صورت وجود میزبان مناسب و در آلودگی‌های کم تمام لاروها به نemat ماده تبدیل می‌شوند. اما اگر آلودگی شدید باشد یا میزبان مناسب نباشد که غذای کافی در اختیار نemat قرار دهد بسیاری از لاروها به نemat نر تبدیل می‌شوند. نemat‌های نر در تولیدمثل نقشی ندارند و نemat‌های ماده به طور بکر زایی تکثیر می‌کنند. میزان زاد و ولد بستگی به سلامتی و مناسب بودن میزبان دارد. در شرایط مناسب دوره یک نسل بین ۴ تا ۶ هفته طول می‌کشد (داماد زاده، ۱۳۸۶).

۲-۱-۳-۳ خسارت

بنا بر گزارش ساسر در سال ۱۹۷۹ از ۵۰ درصد کاهش پتانسیل تولید محصولات ناشی از آفات، ۱۲/۳ درصد آن توسط نemat‌ها می‌باشد و این خسارت بیشتر در کشورهای توسعه یافته دیده شده است. نemat-های مولد گره ریشه یکی از عوامل بازدارنده رشد محصولات زراعی و باغی بوده و خسارات ناشی از آن‌ها به محصولات کشاورزی بالغ بر هفتاد میلیون دلار در جهان تخمین زده شده است. به لحاظ خسارتی که