بررسی اثر بازدارندگی عصاره آبی گیاه اکالیپتوس *Eucalyptus camaldulensis* بر نماتد ریشه‌گرهی *Meloidogyne incognita* در گیاه توتون

Investigating the inhibitory effect of aqueous extract of *Eucalyptus camaldulensis* on root-knot nematode *Meloidogyne incognita* in tobacco

مرضیه شازده احمدی*

دریافت: ۱۴۰۲/۹/۱۹ پذیرش: ۱۴۰۲/۱۲/۱۶

چکیده

نماتدهای ریشه‌گرهی، *Meloidogyne* spp.، از مهم‌ترین نماتدهای انگل گیاهی در جهان هستند و به علت پراکنش و تنوع میزبانی وسیع از بیمارگرهای مهم در گیاهان به شمار می‌روند. استفاده از ترکیبات طبیعی موجود در عصاره‌های گیاهی به دلیل ارزانی، قابل دسترس بودن و عدم وجود آثار سوء، برای کنترل نماتدهای انگل گیاهی مناسب می‌باشند. در این تحقیق، اثر بازدارندگی عصاره آبی برگ و ساقه اکالیپتوس، *Eucalyptus camaldulensis*، روی نماتد ریشه‌گرهی توتون *Meloidogyne incognita* در شرایط آزمایشگاه مورد بررسی قرار گرفت. آزمایشات زیست‌سنجی، جهت بررسی اثر عصاره‌ها بر میانگین تفریخ تخم و نرخ مرگ و میر لارو سن دوم نماتد *M. incognita* با پنج غلظت متفاوت از هر دو عصاره، در قالب طرح کاملاً تصادفی با چهار تکرار انجام شد. غلظت کشنده ۵۰ درصد (LC50) پس از ۲۴ ساعت با استفاده از برنامه پروبیت محاسبه شد. عصاره برگ اکالیپتوس با LC50 معادل ۷۶۸ و ۲۱۵۰ پی‌پی‌ام، به ترتیب علیه لارو سن دوم و تخم نماتد، مؤثرتر از عصاره ساقه بود. در بالاترین غلظت مورد آزمایش ۲۰ درصد، میزان بازدارندگی از تفریخ تخم و مرگ و میر لارو سن دوم نماتد تحت تأثیر عصاره برگ اکالیپتوس به ترتیب، ۹۴/۵ و ۱۰۰ درصد محاسبه گردید. در مجموع، نتایج به‌دست آمده از این تحقیق نشان داد که عصاره هر دو اندام گیاهی به‌ویژه عصاره برگ اکالیپتوس از قدرت بازدارندگی خوبی علیه نماتد ریشه‌گرهی توتون برخوردار می‌باشند.

واژگان کلیدی: نماتدکش، کنترل زیستی، عصاره، اکالیپتوس، *Meloidogyne*

مقدمه

در بین نماتدهای انگل گیاهی، نماتدهای ریشه‌گرهی جنس *Meloidogyne*، یکی از مهم‌ترین محدودیت‌های کشت محصول در سراسر جهان محسوب می‌شود و سالانه خسارت‌های چشم‌گیری از لحاظ کمی و کیفی به محصولات مختلف کشاورزی وارد می‌کند (ایزدپناه و همکاران، ۱۳۸۹). این نماتدها با پراکنش جهانی، انگل اجباری هستند و دامنه میزبانی وسیعی دارند که بیش از ۳۰۰۰ گونه گیاهی را شامل می‌شوند (Sikora and Fernandez, 2005). تقریباً تمامی محصولات زراعی، باغی و علف‌های هرز، مورد حمله یک یا چند گونه از نماتدهای جنس *Meloidogyne* قرار می‌گیرند (Sasser, 1979). تاکنون هفت گونه از این جنس در ایران از گیاهان میزبان مختلف جمع‌آوری، شناسایی و گزارش شده‌اند. در بسیاری از مناطق کشور، گونه‌های *M. hapla*، *M. javaniva*، *M. arenaria* و *M. incognita* به دامنه وسیعی از میزبان‌ها در باغات، مزارع و گلخانه‌ها خسارت می‌زنند (قادری و همکاران، ۱۳۹۱). گونه‌های مختلف نماتدهای انگل گیاهی، سالانه خسارات زیادی را به انواع محصولات کشاورزی وارد می‌کنند که در یک بررسی این مقدار حدود ۱۷۳ میلیارد دلار آمریکا در سال برآورد شده

محقق، بخش بیوتکنولوژی، مرکز تحقیقات و آموزش توتون تیرتاش، بهشهر، مازندران، ایران
نویسنده مسئول مکاتبات: noshinshazdeahmadi@yahoo.com

است (Elling, 2013).

میزان خسارت وارده به محصولات زراعی توسط این نماتدها، حدود ۵۰-۳۰ درصد گزارش شده است. کنترل نماتدهای ریشه گرهی، به دلیل دامنه وسیع میزبانی، دوره کوتاه چرخه زندگی، نرخ تولید مثل زیاد و نیز انگل داخلی بودن، دشوار می‌باشد (Siddiqui *et al*., 2001). نماتدهای ریشه گرهی، انگل داخلی ساکن بوده و رابطه تغذیه‌ای با میزبان خود برقرار کرده و آن را وادار به تولید ساختارهای تغذیه‌ای تخصص یافته‌ای به نام سلول‌های غول‌آسا می‌کنند که برای تغذیه و رشد نماتد ضروری می‌باشد (Dropkin, 1989). خسارت این نماتدها هم به‌صورت مستقیم در اثر تغذیه نماتد از بافت‌های گیاهی و هم به‌صورت غیرمستقیم در اثر تعامل و برهم‌کنش نماتد در خاک با عوامل بیماری‌زای خاکزی در گیاهان می‌باشد (Abbas *et al*., 2009). خسارت‌های مستقیم و غیرمستقیم ناشی از این نماتدها، به میزان قابل توجهی موجب کاهش کیفیت و کمیت تولیدات کشاورزی می‌شود، به‌طوری‌که موجب طراحی پروژه بین‌المللی نماتدهای ریشه گرهی (International *Meloidogyne* Project= IMP) گردید. خسارت این نماتد در مزارعی که کاشت مداوم محصولات حساس صورت گیرد، بیشتر خواهد بود و در صورت عدم کنترل مؤثر، موجب از بین رفتن کل محصول می‌گردد (Pakeerathan *et al*., 2009).

روش‌های مدیریت نماتدها عبارتند از کاربرد روش‌های مختلف فیزیکی مانند غرقاب زمین، شخم عمیق، استفاده از گیاهان تله و بازدارنده، بخاردهی و آفتاب‌دهی؛ اما سه روش اصلی کنترل نماتدهای انگل گیاهی استفاده از ارقام مقاوم، تناوب زراعی و سموم نماتدکش است (Ripoll *et al*., 2003). متأسفانه استفاده از سموم شیمیایی به عنوان یکی از روش‌های اصلی مبارزه با بیمارگرهایی مانند نماتدها است. به طوری که امروزه به میزان زیاد از نماتدکش‌های شیمیایی استفاده می‌شود. با توجه به این که کاربرد وسیع نماتدکش‌ها ممکن است باعث ایجاد مقاومت گردد و از طرفی اثرات مضر سموم بر محیط زیست و موجودات زنده اجتناب ناپذیر است، بسیاری از این ترکیبات منسوخ شده و یا مصرف آن‌ها توصیه نمی‌شود. بنابراین، ضروری است که روش‌های جدید و مؤثری جایگزین این ترکیبات شوند تا از اثرات نامطلوب آن‌ها به محیط زیست جلوگیری شود (هاشمی و همکاران، ۱۳۹۶).

اخیراً، دانشمندان باتوجه به مسائل اقتصادی و زیست محیطی، استفاده از فرآورده‌های گیاهی را مورد توجه قرار داده‌اند. استفاده از مهار زیستی، از روش‌های نوین برای مدیریت نماتدها می‌باشد که دارای مکانیسم عمل اختصاصی، کاربرد آسان، بدون خطرات آلودگی محیط زیست و توانایی تأثیر مفید در ساختار و مواد مغذی خاک می‌باشد (Jatala, 1986). گیاهان، حاوی طیف وسیعی از متابولیت‌های ثانویه از جمله فنل‌ها، فلاونوئیدها، کینون‌ها، تانن‌ها، اسانس‌ها، آلکالوئیدها، ساپونین‌ها و استرول‌ها می‌باشند. این مواد به دلیل داشتن منشأ طبیعی، زیست‌تجزیه‌پذیر بوده ومعمولاً بقایای سمی یا فرآورده‌های جانبی آلوده کننده محیط زیست بر جا نمی‌گذارند. بسیاری از متابولیت‌های موجود در گیاهان در دفاع گیاه در مقابل آفات و بیماری‌ها مؤثر هستند. با توجه به این که ترکیبات فعال با منشأ گیاهی در محیط پایداری کمتری داشته و روی پستانداران و موجودات غیرهدف نیز معمولاً اثر سوء ندارند (Ibrahim *et al*., 2006). به‌طور کلی، گیاهان آنتاگونیست، خاصیت نماتدکشی مستقیم ندارند، بلکه با اختلال در چرخه‌های آنزیمی به‌ویژه آنزیم‌های گروه استراز سبب ایجاد اختلال در فرایندهای طبیعی نماتدها شده و در اثر کاهش تحرک و میزبان‌یابی، کاهش تغذیه و تولید مثل، سبب کاهش خسارات نماتد می‌گردند (سعیدی‌زاده و همکاران، ۱۴۰۰الف).

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 (شعله‌ورفرد و همکاران، ۱۳۹۱). یکی دیگر از موارد، واکنش فوق‌حساسیت است که پس از حمله نماتد و تخریب بافت ریشه اتفاق می‌افتد، در نتیجه ترکیب‌های نماتدکش مثل آلکالوییدها، ترپن‌ها، فنل‌ها و آمینواسیدها آزاد می‌شوند. گیاهان ضد نماتد

می‌توانند به صورت تناوب با گیاه اصلی، به‌صورت کشت مخلوط و همراه با محصول اصلی و یا قبل از کاشت محصول به‌صورت کود سبز استفاده شده و یا عصاره‌ها و محصولات تجاری سازی شده آن‌ها مورد استفاده قرار گیرند. استفاده از ترکیبات آلی با منشأ گیاهی، به دلیل عوارض جانبی کم‌تر، عدم مقاومت بیمارگر، پایین بودن نسبی هزینه تولید، تجزیه شدن در خاک و عدم آلودگی زیست محیطی، می‌تواند به‌عنوان جایگزین مناسب سموم شیمیایی مطرح شود (Ripoll *et al*., 2003).

گزارش‌های بسیاری، فعالیت نماتدکشی گیاهان علیه نماتدهای انگل گیاهی را نشان داده‌اند. تأثیر اسانس‌های گیاهان خانواده *Asteraceae* در سرکوب نماتدهای ریشه‌گرهی به اثبات رسیده است (Perez *et al*., 2003). اثرات عصاره حاصل از ۵۵ گیاه بومی از جمله گیاهان تیره *Myrtaceae*، علیه لاروهای سن دوم نماتد *M. incognita* در شرایط آزمایشگاه بررسی گردید. نتایج نشان داد که عصاره گیاه *Eugenia winzerlingji* در بین گیاهان مورد آزمایش، بهترین اثر را در مرگ و میر لاروها داشتند (علی کرمی و همکاران، ۱۳۹۵). در پژوهش دیگری، عصاره آبی گیاهان زیره سبز، زیره سیاه، رازیانه و زنیان علیه نماتد *M. javanica* مورد استفاده قرار گرفت. عصاره آبی زیره سبز، بهترین اثر را در کاهش تعداد لارو سن دوم نماتد و همچنین، کاهش نرخ تولید مثل نماتد نشان داد (صادقی و همکاران، ۱۳۹۱). اثرات حفاظتی و درمانی فرمولاسیون عصاره چریش، علیه نماتد *M. javanica* در ریشه‌های گیاه گوجه‌فرنگی گزارش شده است (Javed *et al*., 2007). بر اساس گزارش صادقی و همکاران (۱۳۸۹)، اسانس گیاهان زیره سیاه *Bunium persicum*، زیره سبز *Cuminum cyminum*، زنیان *Carum copticum* و رازیانه *Foeniculum vulgare*، سمیت قابل توجهی روی نماتد ریشه گرهی در شرایط آزمایشگاه داشته‌اند. در پژوهشی، ضمن بررسی اثر نماتدکشی اسانس‌ها و ترکیبات حاصل از ۲۷ گونه گیاهی روی نماتد ریشه گرهی گونه *M. javanica*، بالاترین اثر نماتدکشی در شرایط آزمایشگاهی در اسانس گیاهان رازیانه و زنیان از خانواده چتریان مشاهده شد (Oka *et al*., 2000b). در پژوهش انجام شده توسط کتولی و همکاران (۱۳۸۹)، فعالیت ضد نماتدی گیاهان کرچک و درمنه علیه نماتد ریشه گرهی خیار در شرایط آزمایشگاه و گلخانه مورد بررسی قرار گرفت. بر اساس نتایج آزمایشگاه، بالاترین فعالیت ضدنماتدی مربوط به عصاره الکلی برگ کرچک با ۶۱/۳۳ درصد و برگ درمنه با ۵۵/۶۷ درصد در غلظت ۱۰۰۰ پی‌پی‌ام، پس از گذشت ۷۲ ساعت بوده است. همچنین، اضافه کردن عصاره به گلدان‌ها، به‌خوبی توانست که تعداد گال‌ها و جمعیت نماتد را کاهش دهد. همچنین، در تحقیقی، اثر عصاره برگی چهار گیاه مختلف در سه زمان ۳، ۶ و ۹ روز بر تفریخ تخم و مرگ و میر لاروهای سن دوم نماتد *M. javanica* مورد بررسی قرار داده و مشاهده نمودند که با گذشت زمان، از تفریخ تخم و مرگ و میر لاروها کاسته شد (Nandal and Bhatti, 1986).

در تحقیق دیگری، اثر غلظت‌های مختلف گیاهی روی نماتدها بررسی و گزارش شد که غلظت بالاتر عصاره، در برابر لارو سن دوم و تفریخ تخم نماتد ریشه گرهی، دارای اثر بازدارندگی بیشتری می‌باشد (Sharma and Trivedi, 2002). همچنین، اثر مشتقات گیاه چریش *Azadirachta indica* علیه نماتد ریشه گرهی *M. javanica* در گوجه‌فرنگی بررسی شد و علی‌رغم مشاهده کاهش معنی‌دار در جمعیت نهایی، تعداد گال و توده‌های تخم نماتد در همه تیمارهای چریش، بیشترین افزایش رشد گیاه در مقایسه با شاهد در تیمار پودر مغز دانه چریش گزارش شده است (حسینی‌نژاد، ۱۳۸۳). در پژوهشی توسط فتحی و همکاران (۱۳۷۴)، پنج ترکیب گیاهی شامل گرد ضایعات توتون، گرد ضایعات چای، گرد کنجاله میوه درخت چریش، گیاه گل جعفری در مقابل نماتدکش کربوفوران در خاک آلوده به نماتد مورد بررسی قرار گرفت و اثر ترکیبات با منشأ گیاهی نظیر چریش و توتون در کاهش خسارت نماتد *Meloidogyne* sp. برتر از نماتدکش شیمیایی فورادان ذکر شد. در مطالعه‌ای، تخم‌های نماتد *M. incognita* در گیاه سویا، در معرض غلظت‌های عصاره ریشه علف‌هرز سیام *Chrmolaena odorata*، چریش *Azadirachta indica*، کرچک *Ricinus communis* و علف لیمو *Cymbopogon citratus* قرار داده شد و نتایج نشان داد که همه گیاهان مطالعه شده دارای خاصیت بازدارندگی از تفریخ تخم نماتد بودند (Adegbite and Adesiyan, 2005). اثر بازدارندگی عصاره متانولی سه گیاه دارویی شامل سداب *Ruta graveolens*، پونه *Mentha pulegium* و ریشه انار

Punica granatum روی درصد مرگ و میر لارو سن دوم نماتد *M. javanica* در شرایط آزمایشگاه مورد بررسی قرار گرفت و بین تیمارهای مورد بررسی، اختلاف معنی‌دار در سطح یک درصد مشاهده گردید. در بین گیاهان مورد بررسی، بیشترین درصد مرگ و میر مربوط به گیاه سداب بوده و با افزایش غلظت عصاره، خواص نماتدکشی افزایش یافت (زارع بیدکی، ۱۳۸۹).

گیاه اکالیپتوس، *E. camaldulensis*، از درختان بومی استرالیا هستند و رشد بسیار سریعی دارند. اندازه اکالیپتوس متناسب با گونه‌های مختلف آن متفاوت است. برگ اکالیپتوس حاوی فلاوونوئیدها و تانن‌هاست. فلاونوئیدها آنتی اکسیدان‌های گیاهی هستند و تانن‌ها نیز ترکیباتی هستند که به کاهش التهابات کمک می‌کنند. خواص اکالیپتوس بسیار زیاد بوده و از جمله خواص اکالیپتوس می‌توان به مواردی مانند ضدنفخ، تب‌بر، خلط‌آور، کاهش قند خون، درمان سرماخوردگی، درمان عفونت‌های تنفسی و داشتن خاصیت آنتی‌بیوتیکی اشاره نمود (خیاط و همکاران، ۱۳۹۳).

با توجه به اهمیت و خسارت بسیار زیاد نماتد ریشه گرهی در گیاه توتون و همچنین، محدودیت‌های استفاده از نماتدکش‌های شیمیایی به دلیل سمیت بالا، میزان بالای مصرف و خطرات زیست‌محیطی، بروز و ظهور گونه‌های مقاوم آفت و غیره ناشی از مصرف بی‌رویه سموم شیمیایی، استفاده از روش‌های غیر شیمیایی و طبیعی جهت کنترل این نماتد، ضروری به نظر می‌رسد. لذا، تحقیق حاضر با هدف بررسی اثر بازدارندگی غلظت‌های مختلف عصاره آبی برگ و ساقه اکالیپتوس *E. camaldulensis* روی نرخ تفریخ تخم و میزان مرگ و میر لاروهای سن دوم نماتد ریشه گرهی *M. incognita* در گیاه توتون انجام شد.

مواد و روش‌ها

تهیه جمعیت *Meloidogyne incognita*

ریشه‌های آلوده به نماتد ریشه گرهی از مزارع توتون در استان گلستان (شهرستان‌های گرگان و علی‌آباد کتول)، جمع‌آوری شدند و پس از انتقال به آزمایشگاه بخش گیاه‌پزشکی مرکز تحقیقات و آموزش توتون تیرتاش، ریشه‌های آلوده با جریان ملایم آب شستشو داده شدند. پس از قطعه قطعه کردن ریشه‌ها، با استفاده از استریومیکروسکوپ (ساخت شرکت Optika، مدل SZM-2)، از هر یک از ریشه‌های آلوده، چندین نماتد ماده جدا گردید و از ناحیه شبکه کوتیکولی انتهای بدن، اسلاید میکروسکوپی تهیه و بررسی شد و با استفاده از کلیدهای معتبر شناسایی، اقدام به تشخیص گونه نماتد گردید (Jepson, 1987). سپس، از توده تخم همان نماتدها برای خالص‌سازی و تکثیر نماتدها استفاده شد. برای خالص‌سازی نماتدها، از روش تک توده تخم (Single egg mass) استفاده شد. برای استخراج تخم‌های نماتد، ریشه‌های آلوده شسته و قطعه قطعه شدند. ۱۰ میلی‌لیتر از محلول هیپوکلریت سدیم یک درصد 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 به ترتیب از الک ۱۰۰ مش و الک ۵۰۰ مش عبور داده و محتویات سطح الک ۵۰۰ مش جمع‌آوری شد (Hussey and Barker, 1973). برای تهیه لارو سن دوم نماتد، یک کاغذ صافی بر روی توری فلزی قرار داده و درون یک ظرف پتری گذاشته شد. سپس، سوسپانسیون تخم نماتد روی کاغذ صافی و در ظروف پتری حاوی آب مقطر ریخته شد و به مدت ۵-۴ روز در انکوباتور با دمای ۲۸ درجه سلسیوس نگه‌داری شد. به این ترتیب، تخم‌ها روی کاغذ صافی مرطوب تفریخ گردید و لاروهای سن دوم نماتد، پس از عبور از کاغذ صافی، در کف ظروف پتری قرار گرفتند (Vrain, 1977).

تهیه عصاره‌های گیاهی

برای تهیه عصاره آبی، برگ و ساقه گیاه اکالیپتوس، خشک شده و آسیاب گردید و ۱۰ گرم از پودر بخش‌های خشک شده به تفکیک درون کیسه پارچه‌ای ململ دو لایه ریخته شد. کیسه‌ها در ارلن شیشه‌ای حاوی ۱۰۰ میلی‌لیتر آب مقطر قرار گرفت و به مدت ۴۸ ساعت در دمای ۲۸ درجه سلسیوس روی شیکر با دور ۱۵۰ قرار 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 درصد (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، بقیه غلظت‌های مورد نیاز تهیه گردید (Grewal, 1989).

آزمایشات زیست‌سنجی

بررسی اثر عصاره‌ها بر مرگ و میر لارو سن دوم نماتد *M. incognita* در شرایط آزمایشگاه

بررسی اثر نماتدکشی عصاره‌ها روی لارو سن دوم نماتد بر اساس روش (Abbas *et al*., 2009) صورت گرفت. بدین منظور، حدود ۵۰۰ میکرولیتر از عصاره ساقه و برگ اکالیپتوس، در میکروتیوب ریخته و ۵۰۰ میکرولیتر سوسپانسیون حاوی ۲۰۰ عدد لارو سن دوم نماتد *M. incognita* به هر میکروتیوب اضافه شد. عصاره‌های آبی برگ و ساقه اکالیپتوس، هر کدام در پنج غلظت مختلف با مقادیر غلظت‌های یک، پنج، ۱۰، ۱۵ و ۲۰ درصد مورد استفاده قرار گرفتند. آب مقطر استریل به‌عنوان شاهد در نظر گرفته شد. برای هر تیمار، چهار تکرار در نظر گرفته شد. پس از قرار دادن لارو نماتدها در معرض غلظت‌های مختلف عصاره‌ها، میکروتیوب حاوی عصاره و لارو سن دوم نماتد داخل انکوباتور با دمای ۲±۲۷ درجه سلسیوس قرار گرفت. شمارش لاروهای نماتد زنده (فعال) و مرده بعد از گذشت ۲۴ و ۴۸ ساعت، با استفاده از لام شمارش و میکروسکوپ انجام و درصد مرگ و میر لاروهای سن دوم نماتد محاسبه شد. نماتدهایی که در اثر تحریک با نوک سوزن، واکنش و حرکتی نشان نمی‌دادند، به‌عنوان مرده ثبت شدند. ارتباط بین غلظت‌های مختلف عصاره و مرگ و میر لارو سن دوم نماتد، تحت آنالیز پروبیت قرار گرفت و سطح غلظت LC50 به‌دست آمد (خیاط و همکاران، ۱۳۹۳).

بررسی اثر عصاره‌ها بر تفریخ تخم نماتد *M. incognita* در شرایط آزمایشگاه

بررسی اثر عصاره‌ها بر تفریخ تخم نماتد بر اساس روش (Costa *et al*., 2004) انجام شد. بدین منظور، حدود ۵۰۰ میکرولیتر سوسپانسیون نماتد حاوی ۵۰۰ عدد تخم در چاهک‌های پلیت ۲۴ خانه‌ای پلاستیکی ریخته و سپس ۵۰۰ میکرولیتر از رقت‌های مختلف عصاره‌های گیاهی (پنج غلظت از هر عصاره) به هر چاهک اضافه شد تا به غلظت‌های مورد نظر برسند. از آب مقطر به‌عنوان شاهد استفاده شد. برای هر تیمار، چهار تکرار در نظر گرفته شد. درب ظروف پلیت پوشانده شد و داخل انکوباتور با دمای ۲±۲۷ درجه سلسیوس قرار داده شد. تعداد تفریخ تخم‌ها طی ۲۴ و ۴۸ ساعت بعد از انجام آزمایش شمارش شد. در نهایت، درصد تفریخ تخم‌ها برای هر غلظت محاسبه شد. ارتباط بین غلظت‌های مختلف عصاره و میزان تفریخ تخم نماتد، تحت آنالیز پروبیت قرار گرفت و سطح غلظت LC50 به‌دست آمد (خیاط و همکاران، ۱۳۹۳).

تجزیه و تحلیل آماری

آزمایشات در قالب طرح کاملاً تصادفی در شرایط آزمایشگاه انجام شد. داده‌های حاصله پس از وارد کردن در نرم‌افزار excel، توسط نرم‌افزار SAS ver. 9.1 مورد تجزیه و تحلیل قرار گرفت و مقایسه میانگین‌ها با استفاده از آزمون حداقل اختلاف معنی‌دار (LSD) انجام گرفت. از روش تجزیه پروبیت و نرم افزار POLO-PC برای تخمین LC50 استفاده شد.

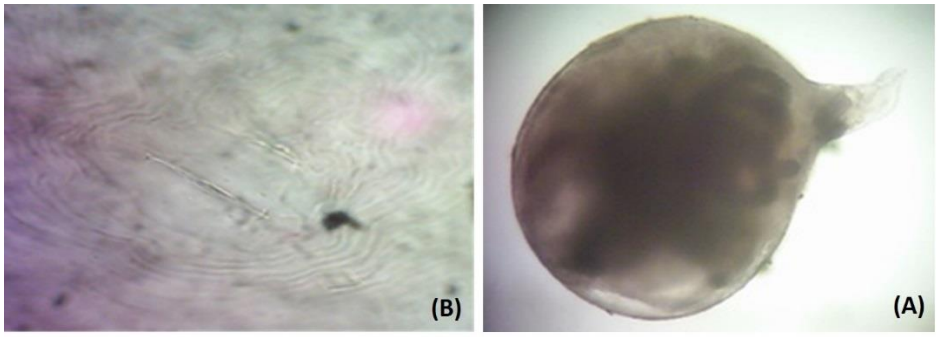
نتایج

تشخیص گونه نماتد مورد بررسی

با بررسی نقوش کوتیکولی ناحیه انتهای بدن نماتد ماده (Perineal pattern)، گونه نماتد مورد مطالعه، *M. incognita* تشخیص داده شد (شکل ۱ و ۲؛ Jepson, 1987).

تأثیر بازدارندگی عصاره‌ها روی عدم تفریخ تخم و مرگ و میر لاروهای سن دوم نماتد *M. incognita*

نتایج نشان داد که در هر دو عصاره برگ و ساقه، با افزایش غلظت عصاره‌ها، میزان مرگ و میر لارو سن دوم نماتد افزایش یافت.



شکل ۱- نماتد ماده ریشه گرهی *M. incognita* با بزرگنمایی × ۴۰ (A)، الگوی انتهای بدن نماتد ماده گونه *M. incognita* (B)

Fig. 1. Root-Knot nematode, *M.. incognita* X40 (A), Perineal pattern on female *M. incognita* nematodes (B)

طبق آنالیز پروبیت، شاخص LC50 عصاره‌ها، نشان دهنده اثر کشندگی بالاتر عصاره برگ اکالیپتوس در مقایسه با عصاره ساقه علیه تخم و لاروهای سن دوم نماتد *M. incognita* بود. میزان LC50 عصاره برگ و ساقه اکالیپتوس روی لاروهای سن دوم نماتد به ترتیب، به میزان ۷۶۸ و ۱۰۱۲ پی‌پی‌ام بود. میزان LC50 عصاره برگ و ساقه اکالیپتوس روی تخم نماتد به ترتیب، به میزان ۲۱۵۰ و ۳۶۰۵ پی‌پی‌ام بود (جدول ۱).

جدول ۱- آنالیز پروبیت مرگ و میر- غلظت در آزمایشات زیست‌سنجی جهت بررسی اثر بازدارندگی عصاره ساقه و برگ اکالیپتوس علیه لارو سن دوم و تخم نماتد ریشه گرهی توتون (*Meloidogyne incognita*)

Table 1. Mortality-concentration probit analysis in bioassay experiments to investigate the inhibitory effect of Eucalyptus stem and leaf extract against second-stage juvenile (J2) and eggs of tobacco root-knot nematode (*Meloidogyne incognita*).

LC50 (ppm)	Slope ± SE	P-value	X^2	Eucalyptus Extract	نام عصاره اکالیپتوس	Age	مرحله سنی
2150	1.8 ± 0.6	0.92	0.35	(Leaf extract)	عصاره برگ اکالیپتوس	Egg	تخم
3605	1.2 ± 0.3	1.31	1.06	(Stem extract)	عصاره ساقه اکالیپتوس		
768	2.1 ± 0.7	0.72	4.2	(Leaf extract)	عصاره برگ اکالیپتوس	Second-stage juvenile (J2)	لارو سن دوم
1012	1.9 ± 0.4	0.98	2.13	(Stem extract)	عصاره ساقه اکالیپتوس		

نتایج تجزیه واریانس درصد مرگ و میر لاروهای سن دوم، نشان دهنده وجود اختلاف معنی‌دار ($P\leq 0.01$) بین عصاره‌های گیاهی مورد مطالعه علیه نماتد *M. incognita* بود (جدول ۲). مقایسه میانگین بین عصاره‌های گیاهان مورد مطالعه نشان داد که عصاره برگ اکالیپتوس، بیشترین درصد مرگ و میر را ایجاد کرده و دارای اختلاف معنی‌دار ($P\leq 0.01$) با عصاره ساقه اکالیپتوس بود. میانگین اثر نماتدکشی عصاره برگ و ساقه اکالیپتوس در بالاترین غلظت (۲۰ درصد) بعد از گذشت ۲۴ ساعت، روی مرگ و میر لارو سن دوم نماتد *M. incognita* به ترتیب، ۹۶/۱۵ و ۶۸/۳ درصد بوده است. میانگین اثر نماتدکشی عصاره برگ و ساقه اکالیپتوس در بالاترین غلظت (۲۰ درصد) بعد از گذشت ۴۸ ساعت، روی مرگ و میر لارو سن دوم نماتد *M. incognita* به ترتیب، ۱۰۰ و ۷۲/۱ درصد بوده است.

مقایسه میانگین غلظت‌های مختلف عصاره‌ها نشان دهنده بیشترین درصد مرگ و میر لاروها در غلظت ۲۰ درصد عصاره‌ها بعد از گذشت ۴۸ ساعت بود. به طوری‌که، بیشترین میزان مرگ و میر لارو نماتد، مربوط به غلظت ۲۰ درصد عصاره برگ

اکالیپتوس بعد از گذشت ۴۸ ساعت با ۱۰۰ درصد و کمترین میزان آن، مربوط به غلظت یک درصد عصاره ساقه اکالیپتوس با ۳۵/۲ درصد، بعد از گذشت ۲۴ ساعت بود (جدول ۳).

جدول ۲- تجزیه واریانس اثر بازدارندگی غلظت‌های مختلف عصاره ساقه و برگ اکالیپتوس روی درصد مرگ و میر لارو سن دوم نماتد ریشه‌گرهی توتون (*Meloidogyne incognita*) در شرایط آزمایشگاه

Table 2. Variance analysis of the inhibitory effect of different concentrations of Leaf and Stem extracts of *E. camaldulensis* on mortality of second-stage juvenile (J2) of *Meloidogyne incognita* in laboratory condition.

منابع تغییرات	S. O. V	درجه آزادی (df)	میانگین مربعات (MS) ۲۴ ساعت (24 h)	۴۸ ساعت (48 h)
تیمار	Treatment	10	317.07 **	591.8 **
خطا	Error	33	5.73	4.12
ضریب تغییرات (درصد)	CV %		3.76	2.19

**: معنی‌دار در سطح احتمال یک درصد

**: Significant at the 1% probability level.

نتایج تجزیه واریانس روی درصد جلوگیری از تفریخ تخم نماتد *M. incognita* نشان داد که بین عصاره‌های گیاهی مورد مطالعه، اختلاف معنی‌داری در سطح احتمال یک درصد وجود داشت ($P\leq 0.01$) (جدول ۴). مقایسه میانگین‌ها نشان داد که اثر بازدارندگی از تفریخ تخم عصاره‌های گیاهی مورد مطالعه در غلظت‌های مختلف، بعد از گذشت زمان و با افزایش غلظت، افزایش یافت، به‌طوری‌که عصاره برگ اکالیپتوس با غلظت ۲۰ درصد، بعد از گذشت ۴۸ ساعت، با ۹۴/۵ درصد، دارای بیشترین تأثیر و عصاره ساقه اکالیپتوس با غلظت یک درصد، بعد از گذشت ۲۴ ساعت، با ۳۴/۲ درصد، دارای کمترین میزان تأثیر روی عدم تفریخ تخم نماتد *M. incognita* بوده است. عصاره برگ اکالیپتوس با غلظت ۲۰ درصد با ۱۰۰درصد تأثیر، بیشترین اثر را بر عدم تفریخ تخم نماتد *M. incognita* داشته است و اختلاف معنی‌داری با سایر غلظت‌های مورد آزمایش داشت ($P\leq 0.01$) (جدول ۵).

جدول ۳- مقایسه میانگین اثر غلظت‌های مختلف عصاره برگ و ساقه اکالیپتوس بر مرگ و میر لاروهای سن دوم نماتد ریشه گرهی توتون (*Meloidogyne incognita*) در شرایط آزمایشگاه

Table 3. Mean comparison of different concentrations of leaf and stem extracts of *E. camaldulensis* on mortality of second-stage juvenile (J2) of *Meloidogyne incognita* in laboratory condition

تیمار	Treatment	غلظت Concentration	درصد مرگ و میر لاروهای سن دوم (٪) Percentage of mortality of second stage juveniles (%) ۲۴ ساعت 24 hours	۴۸ ساعت 48 hours
برگ اکالیپتوس	Eucalyptus leaf	20%	96.15 a	100 a
		15%	91.3 ab	94.2 a
		10%	83.8 b	88.4 b
		5%	80.09 c	81.2 bc
		1%	76.8 d	81.5 c
ساقه اکالیپتوس	Eucalyptus stem	20%	68.3 e	72.1 de
		15%	60.1 f	65 ef
		10%	50.1 gh	54.2 g
		5%	43.6 h	48.9 h
		1%	35.2 i	39.8 i
آب مقطر (شاهد)	Control		0 j	0 j

حروف مشابه در هر ستون، بیانگر عدم اختلاف معنی‌دار در سطح احتمال یک درصد می‌باشد.

Similar letters in each column indicate no significant difference at the 1% probability level.

جدول ۴- تجزیه واریانس اثر بازدارندگی غلظت‌های مختلف عصاره ساقه و برگ اکالیپتوس بر تفریخ تخم‌های نماتد ریشه گرهی توتون (*Meloidogyne incognita*) در شرایط آزمایشگاه

Table 2. Variance analysis of the inhibitory effect of different concentrations of leaf and stem extracts of *E. camaldulensis* on egg hatching of *Meloidogyne incognita* in laboratory conditions

منابع تغییرات	S. O. V	درجه آزادی (df)	میانگین مربعات (MS)	
			۲۴ ساعت (24 h)	۴۸ ساعت (48 h)
تیمار	Treatment	10	452.03 **	814.3 **
خطا	Error	33	3.12	5.9
ضریب تغییرات (درصد)	CV %		4.63	3.28

**: معنی‌دار در سطح احتمال یک درصد

**: Significant at the 1% probability level

نتایج نشان داد که در هر دو عصاره برگ و ساقه اکالیپتوس، در پنج غلظت مورد بررسی (۱، ۵، ۱۰، ۱۵ و ۲۰ درصد)، با افزایش غلظت عصاره‌ها و با گذشت زمان، درصد مرگ و میر لاروهای سن دوم نماتد و همچنین، درصد عدم تفریخ تخم نماتد افزایش یافته است. مقایسه میانگین بین غلظت‌های عصاره گیاهان نشان داد که عصاره برگ اکالیپتوس در بالاترین غلظت (۲۰ درصد) و بعد از گذشت ۴۸ ساعت، با ایجاد ۹۴/۵ درصد عدم تفریخ تخم و ۱۰۰ درصد مرگ و میر لاروهای سن دوم نماتد و عصاره ساقه اکالیپتوس در کمترین غلظت (یک درصد) و بعد از گذشت ۲۴ ساعت، با ایجاد ۳۴/۲ درصد عدم تفریخ تخم و ۳۵/۲ درصد مرگ و میر لاروهای سن دوم نماتد، به ترتیب بیشترین و کمترین تأثیر را روی تخم نماتد *M. incognita* داشتند.

جدول ۵- مقایسه میانگین اثر غلظت‌های مختلف عصاره برگ و ساقه اکالیپتوس بر تفریخ تخم نماتد ریشه گرهی توتون (*Meloidogyne incognita*) در شرایط آزمایشگاه

Table 3. Mean comparison of different concentrations of leaf and stem extracts of *E. camaldulensis* on egg hatching of *Meloidogyne incognita* in laboratory conditions

تیمار Treatment	غلظت Concentration	درصد بازدارندگی از تفریخ تخم (٪) Suppression rate of egg hatching (%)	
		۲۴ ساعت (24 h)	۴۸ ساعت (48 h)
عصاره برگ اکالیپتوس Eucalyptus leaf extract	20%	90.1 a	94.5 a
	15%	91.3 ab	91.2 a
	10%	84.8 b	88.1 b
	5%	80.09 c	82.3 bc
	1%	73.8 d	78.5 c
عصاره ساقه اکالیپتوس Eucalyptus stem extract	20%	68.5 e	75.1 de
	15%	60.8 f	63 ef
	10%	49.1 gh	53.2 g
	5%	41.6 h	45.9 h
	1%	34.2 i	38.8 i
شاهد (آب مقطر) Control		0 j	0 j

حروف مشابه در هر ستون، بیانگر عدم اختلاف معنی‌دار در سطح احتمال یک درصد می‌باشد.

Similar letters in each column indicate no significant difference at the 1% probability level.

بحث

نماتدهای ریشه‌گرهی، با نفوذ به داخل ریشه و با ترشح برخی آنزیم‌ها از جمله پروتئاز، متابولیسم میزبان را به نفع خود تغییر می‌دهند. اطراف نماتدهای مهاجم را سلول‌های زیادی احاطه می‌کنند که منجر به تشکیل غده روی ریشه می‌شوند. در نتیجه، ریشه گیاه میزبان نمی‌تواند وظایف اصلی خود، یعنی تأمین مواد غذایی از طریق جذب مواد در خاک را به خوبی انجام

دهد (اسکندرزاده و همکاران، ۱۳۹۹). با توجه به مخاطرات بسیار زیاد ترکیبات شیمیایی، امروزه ترکیبات و عصاره‌های گیاهی، جایگزین مناسبی برای سموم شیمیایی محسوب می‌شوند. استفاده از فرآورده‌های گیاهی نماتدکش، به جای ترکیبات شیمیایی در کنترل نماتدها، عوارض جانبی بسیار کمتری به دنبال خواهد داشت و می‌تواند فواید اقتصادی نیز به همراه داشته باشد. در تحقیق حاضر، عصاره آبی برگ و ساقه اکالیپتوس، اثر نماتدکشی مطلوبی را در شرایط آزمایشگاهی نشان دادند. به‌طوری‌که عصاره برگی، در بالاترین غلظت به‌کار رفته (۲۰ درصد)، دارای ۱۰۰ درصد تأثیر در مرگ و میر لارو سن دوم و ۹۴/۵ درصد تأثیر در عدم تفریخ تخم نماتد *M. incognita* داشتند. با توجه به اینکه عدم تفریخ تخم و نیز مرگ و میر لاروهای سن دوم نماتد در تیمار شاهد، صفر درصد بوده، لذا استفاده از عصاره گیاه دارویی مذکور باعث شده که عدم تفریخ تخم و مرگ و میر لاروهای سن دوم نماتد، نسبت به شاهد، افزایش یابند.

اکالیپتوس، یکی از گیاهان معروف خانواده Myrtaceae است که موطن اصلی آن استرالیا بوده و از آنجا به سایر نقاط دنیا، از جمله ایران برده شده است. درختان جوان دارای برگ‌های نوک تیز و نازک هستند، در حالی که درختان مسن‌تر و شاخه‌های آن‌ها برگ‌های پهن‌تر و گسترده‌تری دارند. این تنوع در شکل برگ‌ها، به درختان اکالیپتوس کمک می‌کند تا در شرایط محیطی مختلف به خوبی سازگار شوند. برگ‌های این گیاه به‌طور معمول مورد استفاده قرار می‌گیرند. پودر اکالیپتوس، که به رنگ سبز روشن و با بویی تند و مشخص همراه با مزه‌ای کمی تلخ است، از ویژگی‌های بارز این گیاه محسوب می‌شود. مهم‌ترین ترکیبات شیمیایی موجود در اکالیپتوس، شامل ۱ و ۸ سینئول بوده که این ترکیب به اکالیپتوس کمک می‌کند تا خواص دارویی و درمانی مؤثری از خود نشان دهد و به عنوان یک گیاه دارویی ارزشمند در درمان انواع بیماری‌ها مورد استفاده قرار گیرد. ترکیب ۸ و ۱- سینئول موجود در اسانس روغنی اکالیپتوس، با ایجاد خواص دورکنندگی و حشره‌کشی و دفع آفات، می‌تواند به‌عنوان جایگزین امن و مؤثر برای حشره کش‌های شیمیایی در برنامه‌های مدیریت آفات مورد استفاده قرار گیرد (میری، ۱۴۰۰).

فرآورده‌های گیاهی مختلف، اثرات بازدارندگی متفاوتی بر روی نماتدها دارند. از آن جمله، می‌توان به تأثیر عصاره‌های دو گونه از گیاه داتوره *Datura stramonium*، *Datura metel* و بنگدانه *Hyoscyamus niger* در برابر جمعیت بومی نماتد ریشه‌گرهی گونه *M. javanica* اشاره کرد. ارزیابی‌ها بر اساس تأثیر عصاره‌ها در تفریخ تخم نماتد و مرگ و میر لارو سن دوم در شرایط آزمایشگاهی بود. با افزایش غلظت عصاره‌ها، این تأثیرگذاری نیز بیشتر و غلظت ۵۰ درصد عصاره ۳۰ به ۱، بیشترین تأثیر را در کاهش تفریخ تخم داشته و غلظت ۲۵ درصد نیز پس از آن، بیشترین تأثیر را داشت. تأثیر عصاره‌ها بر روی مرگ و میر لاروهای سن دوم نماتد نیز قابل توجه بوده و هر سه گیاه به‌ویژه در غلظت‌های بالاتر سبب مرگ و میر درصد قابل توجهی از لاروها در مقایسه با شاهد شدند. از این میان، غلظت ۲۵ درصد عصاره ۳۰ به ۱ هر سه گیاه تأثیر بالایی در مرگ و میر لاروها داشت (اسکندرزاده و همکاران، ۱۳۹۹).

در آزمایشی دیگر، فعالیت نماتدکشی اسانس گیاهان اکالیپتوس، کما و باریجه روی نماتد ریشه‌گرهی *M. javanica* در شرایط آزمایشگاه مورد بررسی قرار گرفت. نتایج نشان داد که میزان بازدارندگی از تفریخ تخم و مرگ و میر لاروهای سن دوم نماتد، با افزایش غلظت اسانس‌ها رابطه مستقیم داشت. اسانس اکالیپتوس با LC50 معادل ۸۳۹ پی‌پی‌ام و ۲۱۲۲ پی‌پی‌ام، به ترتیب علیه لارو سن دوم و تخم نماتد، مؤثرتر از سایر اسانس‌های مورد بررسی بود (خیاط و همکاران، ۱۳۹۳). که با نتایج حاصل از تحقیق حاضر، مبنی بر تأثیر بالای عصاره اکالیپتوس بر نماتد *M. incognita* مطابقت داشت.

طی یک مطالعه در مورد اثرات ضد نماتدی داتوره گونه *D. stramonium*، تأثیر آزمایشگاهی عصاره بذری دو گیاه داتوره و تاجریزی علیه نماتد *M. javanica* بررسی شده و مشاهده گردید که هر دو گیاه در غلظت‌های مختلف سبب کاهش تفریخ تخم نماتد و افزایش مرگ و میر لاروها شدند (فیاض، ۱۳۹۳). تأثیر غلظت‌های مختلف عصاره آبی برگ گیاهان پنیرک *Malva sylvestris*، شقایق *Papaver rhoeas* و پوست سبز میوهٔ گردو *Juglanse regia* در جلوگیری از تفریخ تخم و مرگ

ومیر لارو سن دوم نماتد *M. javanica* در شرایط آزمایشگاهی بررسی شد. نتایج نشان داد که همه عصاره‌های گیاهی مورد بررسی اثر نماتدکشی خوبی داشتند. افزایش غلظت عصاره‌های گیاهی به‌طور معنی‌داری باعث افزایش تأثیر علیه نماتد *M. javanica* گردید (علی کرمی و همکاران، ۱۳۹۵). که با نتایج حاصل از تحقیق حاضر، مطابقت داشت. همچنین، تأثیر بازدارندگی قسمت‌های مختلف درخت چریش *Azadirachta indica* و زیتون تلخ *Melia azadirach* بر روی نماتد *M. incognita* در گیاه گوجه‌فرنگی گزارش شده است (Siddiqui and Alam, 2001).

علاوه بر این، فعالیت ضد نماتدی عصاره برگ درمنه و کرچک، علیه نماتد *M. incognita* در گیاه خیار در شرایط آزمایشگاه و گلخانه مورد بررسی قرار گرفت. نتایج بررسی آزمایشگاه، بالاترین فعالیت ضدنماتدی را در عصاره الکلی برگ کرچک با ۶۱/۳۳ درصد و برگ درمنه با ۵۵/۶۷ درصد در غلظت ۱۰۰۰ پی‌پی‌ام پس از ۷۲ ساعت نشان داد. همچنین مشاهده شد که اضافه کردن عصاره به گلدان‌ها، به خوبی تعداد گال‌ها و جمعیت نماتد را کاهش داده است (کتولی و همکاران، ۱۳۸۹).

بررسی‌های صادقی و همکاران (۱۳۸۹)، نشان داد که اسانس برخی از گیاهان خانواده چتریان، از جمله زیره سیاه، زیره سبز، رازیانه و میخک هندی در غلظت ۲۰۰۰ پی‌پی‌ام، تأثیری بیش از ۹۰ درصد در مرگ و میر لارو و عدم تفریخ تخم نماتد ریشه گرهی داشتند. در پژوهش دیگری، نیز گزارش شده است که اسانس برخی از گیاهان خانواده چتریان، در غلظت‌های بالاتر از ۴۰۰۰ میکرولیتر در لیتر، منجر به افزایش مرگ و میر لاروهای نماتد *M. javanica* شدند (Perez *et al*., 2003). بر اساس گزارش (Oka *et al*., 2000a)، اسانس گیاه زیره سیاه اروپایی *Carum carvi* حاوی ۴۸ درصد لیمونن، در غلظت ۱۰۰۰ پی‌پی‌ام، تأثیری بیش از ۹۰ درصد در مرگ و میر لارو سن دوم و عدم تفریخ تخم‌های نماتد ریشه گرهی داشته است.

با توجه به تنوع ترکیبات ضدمیکروبی موجود در عصاره‌های گیاهی، مکانیسم‌های متفاوتی نیز برای این ترکیبات وجود دارد. این ترکیبات، در اثر فعالیت مشترک و همپوشانی ترکیبات گوناگون دیواره و غشای سلولی بیمارگرها را تخریب و نفوذپذیری و نشت یونی سلول را افزایش می‌دهند. در پی تجزیه لیپیدهای دیواره سلولی، میتوکندری‌ها و پروتئین‌های سلول‌های غشا و نیز لخته شدن سیتوپلاسم، مرگ سلول‌های آسیب دیده اتفاق می‌افتد (فیاض، ۱۳۹۳). اثر بازدارندگی عصاره‌های گیاهی، ممکن است به دلیل وجود مواد شیمیایی موجود در عصاره باشد که دارای خواص کشندگی برای جنین و تخم باشد. این مواد شیمیایی، روی رشد جنین، تأثیر گذاشته یا موجب کشته شدن جنین موجود در تخم‌ها شده و یا حتی توده تخم‌ها را در خود حل می‌کنند (Adegbite and Adesiyan, 2005).

منابع References

اسکندرزاده خیاوی، ن.، مصلحی، ش. و واعظ، ا. ۱۳۹۹. بررسی آزمایشگاهی تأثیر دو گیاه داتوره و بنگدانه در تفریخ تخم و مرگ و میر لاروهای نماتد گره‌ریشه (*Meloidogyne javanica*). پژوهش‌های کاربردی در گیاه‌پزشکی ۹(۲): ۶۰ – ۴۵.

ایزدپناه، ک.، رحیمیان، ح.، اشکان، س. م.، میناسیان، و. و بنی هاشمی، ض. ۱۳۸۹. بیماری‌شناسی گیاهی. نشر آییژ. جلد ۳، ۳۵۸ صفحه.

حسینی‌نژاد، ع. ۱۳۸۳. اثر مشتقات چریش *Azadirachta indica* بر نماتد ریشه‌گرهی *Meloidogyne javanica* در گوجه‌فرنگی. مجله آفات و بیماری‌های گیاهی ۷۳(۱): ۸۹-۶۹.

خیاط، ف.، مهدی‌خانی مقدم، ع.، روحانی، ح. و عزیزی، م. ۱۳۹۳. بررسی فعالیت نماتدکشی اسانس‌های اکالیپتوس، کما و باریجه روی نماتد ریشه‌گرهی (*Meloidogyne incognita*) در شرایط آزمایشگاه. نشریه حفاظت گیاهان (علوم و صنایع کشاورزی) ۲۸(۳): ۳۴۵-۳۳۸.

زارع بیدکی، ا. ۱۳۸۹. اثرات بازدارندگی عصاره چند گیاه دارویی در کنترل نماتد مولد گره ریشه در گوجه‌فرنگی. پایان‌نامه کارشناسی ارشد رشته بیماری‌شناسی گیاهی. دانشکده کشاورزی دانشگاه زابل. ۱۸۳ صفحه.

سعیدی زاده، آ.، فتوکیان، م.ح. و نیاستی، ف. ۱۴۰۰الف. اثر عصاره آبی گیاهان بر تفریخ تخم نماتد ریشه‌گرهی *Meloidogyne javanica* در شرایط آزمایشگاه، یازدهمین همایش سراسری محیط زیست، انرژی و منابع طبیعی پایدار، تهران.

سعیدی زاده، آ.، فتوکیان، م.ح. و نیاستی، ف. ۱۴۰۰ب. اثر عصاره گیاهی بر جمعیت لارو سن دوم نماتد ریشه گرهی *Meloidogyne javanica* در شرایط آزمایشگاه. هشتمین کنگره ملی زیست‌شناسی و علوم طبیعی ایران، تهران.

شعله‌ور فرد، ع.، موسوی، م. ر. و شرره‌ای، ع. ۱۳۹۱. بررسی اثر نماتدکشی عصاره آبی برخی گیاهان در کنترل نماتد مولد گره ریشه گوجه‌فرنگی (*Meloidogyne javanica*) در شرایط آزمایشگاهی. سومین همایش ملی علوم کشاورزی و صنایع غذایی ایران.

صادقی، ز.، مهدی‌خانی مقدم، ع. و عزیزی، م. ۱۳۸۹. بررسی اثر نماتدکشی تعدادی گیاهان دارویی خانواده چتریان بر نماتد ریشه گرهی (*Meloidogyne javanica*) در شرایط آزمایشگاه. نشریه حفاظت گیاهان ۳۴(۱): ۸۲ –۶۲.

فیاض، م. ۱۳۹۳. بررسی آزمایشگاهی اثر نماتدکشی عصاره آبی دو گیاه دارویی از خانواده بادنجانیان روی نماتد *Meloidogyne javanica*. دومین همایش ملی گیاهان دارویی و کشاورزی پایدار، دانشگاه شهید مفتح همدان. ص: ۱-۸.

فتحی، ق.، اشتیاقی، ح.، رسولیان، غ. و ارومچی، س. ۱۳۷۴. بررسی تأثیر چند فرآورده گیاهی در کنترل نماتد مولد گره ریشه به‌طور همزمان. مقالات دوازدهمین کنگره گیاه‌پزشکی ایران. صفحه ۳۸۶.

قادری، ر.، کاشی نهنجی، ل. و کارگربیده، ا. ۱۳۹۱. نماتدهای ایران. انتشارات آموزش و ترویج کشاورزی.

کتولی، ن.، مهدی‌خانی مقدم، ع. و مقصودلو، ر. ۱۳۸۹. بررسی اثر عصاره برگ درمنه و کرچک در کاهش جمعیت نماتد ریشه‌گرهی خیار (*Meloidogyne incognita*). نشریه بوم‌شناسی کشاورزی ۲(۴): ۵۹۲-۵۸۷.

علی کرمی، م.، چاره‌گانی، ح. ا.، عبداللهی، م. و قانع جهرمی، م. ۱۳۹۵. بررسی اثر بازدارندگی عصاره برخی گیاهان بر نماتد ریشه گرهی (*Meloidogyne incognita*) در شرایط آزمایشگاه. خلاصه مقالات بیست و دومین کنگره گیاه‌پزشکی ایران. صفحه ۳۷۱.

میری، ا. ۱۴۰۰. اهمیت اکالیپتوس در گیاه‌پزشکی. خلاصه مقالات هفتمین همایش بین‌المللی دانش و فناوری علوم کشاورزی، منابع طبیعی و محیط زیست ایران، تهران.

هاشمی، ث.، عبداللهی، م. و چاره گانی، ح.ا. ۱۳۹۶. اثر بازدارندگی عصاره بلـوط (*Quercus brantii* L.) بر نماتد ریشه گرهی (*Meloidogyne javanica*) در گیاه گوجه‌فرنگی. مجله تحقیقات گیاهان دارویی و معطر ایران ۳۳(۱): ۵۰-۳۹.

Abbas, S., Dawar, S., Tariq, M. and Javed-Zaki, M. 2009. Nematicidal activity of spices against *Meloidogyne javanica* (Treub) Chitwood. Pakistan Journal Botany 41: 2625-2632.

Adegbite, A.A. and Adesiyan, S.O. 2005. Root extracts of plants to control root- knot nematode on edible soybean. World Journal of Agricultural Sciences 1(1): 18-21.

Dropkin, V.H. 1989. Introduction to Plant Nematology. 2nd. Edition. John Wiley and Sons Inc. Publications, New York.

Costa, S., Santos, M.N. and Ryan, M. 2004. Effect of *Artemisia vulgaris* rhizome extracts on hatching, mortality and plant infectivity of *Meloidogyne megadora*. Journal of Nematology 35: 437-442.

Elling, A.A. 2013. Major emerging problems with minor *Meloidogyne* species. Phytopathology 103(11): 1092–1102.

Grewal, P.S. 1989. Nematicidal effects of some plant- extracts to *Aphelenchoides composticola* (Nematoda) infesting mushroom, *Agaricus bisporus*. Revue Nematology 12: 317-322.

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(12): 1025-1028.

Ibrahim, S.K., Traboulsi, A.F. and El-Haj, S. 2006. Effect of essential oils and plant extracts on hatching, migration and mortality of *Meloidogyne incognita*. Phytopathologia Mediterranea 45: 238–246.

Jatala, P. 1986. Biological control of plant parasitic nematodes. Annual Review of Phytopathology 24: 453-489.

Jepson, S.B. 1987. Identification of Root-Knot Nematodes. Wallingford, UK, CAB International.

Javed, N., Qureshi, F.F., Ahmad, R. and Ashfaq, M. 2001. Evaluation of products of bionature against root-knot nematode *Meloidogyne javanica* on tomato. Pakistan Journal of Phytopathology 13(2): 155-159.

Nandal, S.N. and Bhatti, D.S. 1986. Influence of four plant extracts on the hatching of *Meloidogyne javanica* and invasion of host roots. Nematologia Mediterranea 14: 291-294.

Oka, Y., Kaltai, H., Bar-Eyal, M., Mor, M., Sharon, E., Chet, I. and Spiegel, Y. 2000a. New strategies for the control of plant parasitic nematodes. Pest Management Science 56(11): 983-988.

Oka, Y., Nacar, S., Putievsky, E., Ravid, U., Yaniv, Z. and Spiegel, Y. 2000b. Nematicidal activity of essential oil components against the root-knot nematode *M. javanica.* Phytopathology 90(7): 710-715.

Pakeerathan, K., Mikunthan, G. and Tharsani, N. 2009. Effect of different animal manures on *Meloidogyne incognita* (Kofoid and White) on tomato. World Journal of Agricultural Sciences 5(4): 432-435.

Perez, M.P., Navas-Cortes, J.A., Pascual-Villalobos, M.J. and Castillo, P. 2003. Nematicidal activity of essential oils and organic amendments from Asteraceae against root-knot nematodes. Plant Pathology 52: 395-401.

Ripoll, C., Favery, B., Lecomte, P., Van Damme, E., Peumans, W., Abad, P. and Jouanin, L. 2003. Evaluation of the ability of lectin from Snowdrop (*Galanthus invalid*) to protect plants against root- knot nematodes. Plant Science 164: 517-523.

Sasser, J.N., 1979. Economic importance of *Meloidogyne* to tropical countries. Pp. 359-374. In: Lamberti, F. and Taylor, C.E. (eds.). Root-Knot Nematodes (*Meloidogyne* spp.) Systematics Biology and Control. Academic Press, New York, London, San Francisco.

Sasser J.N., and Carter C.C. 1985. Overview of the international *Meloidogyne* project 1975-1984. Pp. 19-24. In: Sasser J.N., and Carter C.C.(eds.). An advanced treatise on *Meloidogyne*, vol. 1, Raleigh, USA, North Carolina State University Graphics.

Sharma, N. and Trivedi, P.C. 2002. Screening of leaf extract of some plants for their nematicidal and fungicidal properties against *Meloidogyne incognita* and *Fusarium oxysporium*. Asian Journal of Experience Science 16: 21-28.

Sikora, R.A. and Fernandez, E. 2005. Nematode parasites of vegetables. Pp. 319-392. In: Luc, M., Sikora. R.A. and Bridge, J. (eds.). Plant Parasitic Nematodes in Subtropical and Tropical Agriculture., 2nd. edition, CABI Wallingford, UK.

Siddiqui, I.A., Amer Zareen, M., Javad Zaki, M. and Shaukat, S.S. 2001. Use of *Trichoderma* species in the control of *Meloidogyne javanica*, root-knot nematode in the okra and mungbean. Pakistan Journal of Biological Sciences 4(7): 846–848.

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.

Investigating the inhibitory effect of aqueous extract of (*Eucalyptus camaldulensis*) on root-knot nematode (*Meloidogyne incognita*) in tobacco

M. Shazdeahmadi*

Received: 10 Dec., 2023 Accepted: 6 March, 2024

ABSTRACT

Root-knot nematodes (*Meloidogyne* spp.) are one of the most important plant parasitic nematodes in the world, and due to their wide distribution, and host diversity, they are considered important pathogens in plants. The use of natural compounds in plant extracts is suitable for controlling plant parasitic nematodes due to their cheapness, availability and absence of side effects. In this research, the inhibitory effect of eucalyptus leaf and stem extract (*Eucalyptus camaldulensis*) on tobacco root-knot nematode (*Meloidogyne incognita*) was investigated in laboratory conditions. After extracting the aqueous extract of Eucalyptus stem and leaf, biometric experiments were conducted to investigate the effect of the extracts on egg hatching and mortality of the second-stage juvenile (J2) of the *M. incognita* with five different concentrations of both extracts, in a completely randomized design. It was done with 4 repetitions. The 50% lethal concentration (LC50) after 24 hours was calculated using the probit program. Eucalyptus leaf extract with LC50 equivalent to 768 and 2150 ppm was more effective than the stem extract against second-stage juvenile and nematode eggs, respectively. In the highest tested concentration (20%), the rate of inhibition of egg hatching and mortality of second-stage juveniles due to eucalyptus leaf extract was calculated as 94.5 and 100%, respectively. In general, the results obtained from this research showed that the extracts of both plant organs, especially the leaf extract of *E. camaldulensi*s, have good inhibitory power against *M. incognita*.

Key words: Nematicide, biological control, extract, Eucalyptus, Meloidogyne

Researcher, Department of Biotechnology, Tirtash Tobacco Research and Education Center, Behshahr, Mazandaran, Iran

Corresponding author: noshinshazdeahmadi@yahoo.com