

تأثیر عصاره اتانولی میوه چریش (*Azadirachta indica*) بر روی نماتد مولد گره (*Meloidogyne sp*)

* شروین هادیان^۱، کامران رهنما^۲، سالار جمالی^۳، علی اسکندری^۴
 ۱ گروه گیاهپزشکی دانشگاه آزاد دامغان، ۲ گروه گیاهپزشکی دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی گرگان،
 ۳ گروه گیاهپزشکی دانشگاه گیلان
 * پست الکترونیک: Zhinaz.hadian@gmail.com

چکیده

کنترل شیمیایی نماتدهای پارازیت با استفاده از نماتدکش‌های سیستمیک صورت می‌گیرد. به دلیل هزینه‌های سنگین سموم و افزایش نگرانی برای حفظ سلامتی محیط زیست، استفاده از سموم نماتدکش برای کنترل نماتد کاهش یافته است. به همین منظور مطالعات جهت یافتن روش‌های کنترل مناسب بدون اثرات سوء زیست محیطی و مناسب شرایط اکولوژیکی در حال توسعه است. در این بررسی تخم‌های *Meloidogyne incognita* تحت تأثیر غلظت‌های متفاوت از عصاره گیاه چریش (*Azadirachta indica* A.Jass) آزمایش شد. عصاره چریش در چهار غلظت ۵، ۱۰، ۲۰ و ۱۰۰ درصد تهیه شد و آب مقطر به‌عنوان شاهد در نظر گرفته شد. غلظت ۱۰۰ درصد عصاره چریش بر روی ممانعت تفریح تخم و مرگ و میر لاروها کاملاً تأثیرگذار بوده است. درحالی‌که در غلظت ۵ درصد تنها باعث ۶۸ درصد ممانعت از تفریح تخم و ۱۵ درصد مرگ و میر لاروها شده است. درصد ممانعت تفریح تخم و مرگ و میر لاروها با زیاد شدن غلظت عصاره افزایش می‌یابد. همچنین با افزایش زمان مشخص شد درصد مرگ و میر لاروها نیز افزایش یافت.

واژه‌های کلیدی: میوه چریش، نماتد مولد گره، مرگ و میر لاروها

مقدمه

نماتدهای مولد گره ریشه (Root-knot nematode) بیمارگرهای بیوتروف اجباری انگل داخلی غیرمهاجر یا ساکن هستند که باعث تغییرات ساختمانی و فیزیولوژیکی، بیوشیمیایی، بروز اختلالات در گیاه میزبان و کاهش رشد آن می‌شوند. تاکنون بیش از ۸۰ گونه از این جنس در دنیا معرفی شده است که اغلب این گونه‌ها به‌علت داشتن گیاه میزبان غیراختصاصی و یا محدود بودن پراکندگی در دنیا اهمیت چندانی ندارد. اما بیش از ۹۵ درصد خسارت‌های وارده به محصول زراعی با گونه‌های *M.hapla* و *M.javanica*, *M.incognita*, *M.arenaria* می‌باشد و در میان این گونه‌ها دو گونه *M.javanica*, *M.incognita* از بقیه متداول‌تر می‌باشد (۲). بعضی گونه‌ها مانند *M.incognita* دارای چند نژاد فیزیولوژیک هستند (۲). بررسی‌های خوزینی بر روی فون نماتدهای مولد گره در نهالستان‌های زیتون در استان گلستان وجود دو گونه *M.javanica*, *M.incognita* را نشان داد (۴).



تاکنون هر چهار گونه اصلی این نماتد از مناطق مختلف ایران گزارش شده است. باروتی (۱۳۷۴) بررسی فون نماتدهای انگل گیاهی خاک‌های زراعی آذربایجان شرقی و اردبیل و مغان گونه *M.javanica* را از روی خیار، گوجه‌فرنگی، یونجه، بارهنگ و سیب زمینی از مناطق مختلف ذکر شده گزارش نمود. روش‌های متفاوتی برای مبارزه با این نماتدها در سیستم کشاورزی وجود دارد، استفاده از ارقام مقاوم و نماتدکش‌ها و تناوب زراعی را می‌توان نام برد. کنترل شیمیایی بسیار پرهزینه بوده و فقط برای گیاهانی که ارزش اقتصادی دارند، مقرون به‌صرفه است. علاوه بر این سموم شیمیایی اثرات سوء بر روی محیط و سلامتی انسان‌ها دارد. در نتیجه جستجو برای روشی که از نظر اقتصادی مقرون به‌صرفه و از نظر زیست محیطی فاقد اثر سوء باشد رو به افزایش است (۱۰).

در اغلب گیاهان ترکیبات ثانویه با خاصیت آلویشیمیایی مختلف وجود دارد که به درجات گوناگون آنها را در برابر دشمنان طبیعی خودشان محافظت می‌کند. تاکنون بیش از ۱۳۰۰۰۰ ترکیب ثانویه گیاهی شناخته شده است که به‌عنوان مثال ترپنوئید، پلی‌استیلن، فنیل پروپانوئید، فلاونوئید، اسیدآمینه غیرپروتئینی، آمین آلکالوئید شناسایی شده است (۷، ۸ و ۱۲). یکی از خانواده‌های گیاهی که طی دو دهه گذشته بسیار مورد توجه می‌باشد گیاهان خانواده *Meliaceae* هستند (۵) که دارای مواد شیمیایی گوناگون بوده و غنی از ترکیبات ترپنوئیدی می‌باشد. این خانواده شامل ۴۵ جنس و ۷۵ گونه بوده و به‌صورت درخت و درختچه در نواحی گرمسیر خاورمیانه پراکنده است. چریش *Azadirachta indica* مؤثرترین گیاه این خانواده بوده و بیشترین ماده موثره را دارد.

گیاه چریش به‌صورت درختی همیشه سبز که ارتفاع آن برحسب شرایط آب و هوایی مختلف از ۵ الی ۳۰ متر متغیر است. گل‌های آن کوچک و به رنگ کرم متمایل به‌صورتی با عطر تند و میوه‌ها تخم مرغی شکل بوده و شفت مانند است. میوه‌هایی که خام است در اثر فشردن ماده شیری رنگ از آن خارج می‌شود، رنگ میوه به هنگام رسیدن زرد می‌شود (۵). این درخت بومی شبه قاره هند می‌باشد و تاکنون به نواحی گرمسیری و نیمه‌گرمسیری آفریقا، آمریکای جنوبی و مرکزی و بسیاری از بخش‌های آسیای گسترش یافته است (۶). حدود ۶۰ سال پیش توسط مهاجرین هندی، پاکستانی و بنگلادش به ایران وارد شد و هم‌اکنون در نواحی گرمسیری جنوب کشور در بندرعباس، چابهار، جزیره قشم و بوشهر می‌روید.

در این مطالعه تأثیر غلظت‌های متفاوت عصاره اتانولی چریش بر روی ممانعت تفریح تخم‌ها و مرگ و میر لاروها در شرایط آزمایشگاه بررسی گردیده است.

مواد و روش‌ها

عصاره اتانولی به‌صورت آماده از مرکز تحقیقات کشاورزی تهران تهیه شد و از آن سه غلظت ۵، ۱۰، ۲۰ و ۱۰۰ درصد تهیه شد.

توده تخم از ریشه گیاهان آلوده به نماتد مولد گره جداسازی شد و در ۲۰۰ میلی‌لیتر هیپوکلریت سدیم ۱۰ درصد برای ۳ دقیقه به‌شدت تکان داده شد. سپس با آب مقطر از روی الک ۸۰ مش و سپس ۶۰۰ مش عبور داده، محتویات روی الک ۶۰۰ مش را به داخل ظرف مدرج حاوی آب مقطر برای تهیه سوسپانسیون تخم منتقل گردید. مقداری از تخم‌ها را جهت تفریح به‌مدت چند روز در داخل انکوباتور در دمای ۲۵ درجه سانتی‌گراد قرار داده و به این ترتیب مقدار لازم از لارو سن دو به‌دست می‌آید.



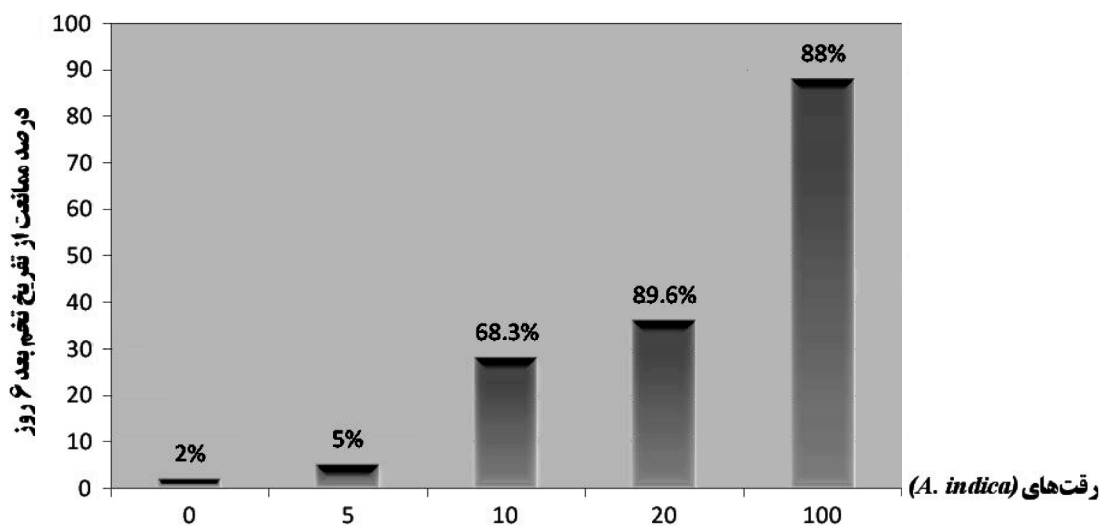
مقداری از سوسپانسیون تخم در داخل پتری ریخته و بر روی آن غلظت‌های متفاوت عصاره با پیبت ریخته شد و ظرف پتری حاوی آب مقطر به‌عنوان شاهد بود. سپس پتری‌ها در دمای ۲۵ درجه سانتی‌گراد در انکوباتور قرار داده شد و تفریخ تخم‌ها پس از ۷ روز شمارش و هر تیمار چهار بار تکرار شد.

برای بررسی تأثیر عصاره بر روی لارو سن دو یک میلی‌لیتر از سوسپانسیون حاوی ۲۰ عدد لارو تازه را تحت تأثیر رقت‌های متفاوت عصاره قرار داده شد و پتری‌ها در دمای ۲۵ درجه سانتی‌گراد نگهداری شد. هر تیمار چهار بار تکرار شد. درصد مرگ و میر نماتدها پس از ۱۲ ساعت، ۲۴ ساعت و ۴۸ ساعت اندازه‌گیری شد. تمامی داده‌های جمع‌آوری شده به‌صورت طرح کاملاً تصادفی با استفاده از آنالیز واریانس مورد تجزیه و تحلیل آماری قرار گرفت.

نتایج و بحث

تفریخ تخم

در شکل یک تأثیر غلظت‌های عصاره چریش را بر روی درصد ممانعت از تفریخ تخم نشان می‌دهد که غلظت صد درصد چریش بیشترین تأثیر را در ممانعت تفریخ تخم داشته است و سایر غلظت‌ها به‌ترتیب تأثیر کمتری را داشته است. بنابراین با کم شدن غلظت، تأثیر سمیت کاهش می‌یابد و منجر به کاهش تأثیر بر روی ممانعت تفریخ تخم می‌شود. کمترین ممانعت تفریخ در آب مقطر (شاهد) مشاهده شد. تأثیر ممانعت تفریخ تخم عصاره چریش به‌دلیل وجود ماده شیمیایی خاصی در آن می‌باشد که بر روی تفریخ تأثیرگذار است (۸ و ۹). این ماده شیمیایی بر روی رشد سن ابتدایی نماتد موثر است و خاصیت کشندگی برای تخم‌ها دارد و حتی توده ژلاتینی تخم را حل می‌کند (۹). این عصاره حاوی آلکالوئید، فلاونوئید، ساپونین، آمیدها از جمله بنزامید و کتن‌ها هستند که به‌طور معناداری باعث ممانعت از تفریخ تخم می‌شود (۱۲).



شکل ۱- بررسی تأثیر رقت‌های متفاوت چریش بر روی درصد ممانعت تفریخ تخم نماتد مولد گره ریشه بعد از ۶ روز.



مرگ و میر لاروها

جدول یک تأثیر غلظت‌های متفاوت عصاره را در طی سه دوره زمانی (حداکثر ۴۸ ساعت) بر روی لاروهای سن دو نشان می‌دهد. غلظت صد درصد عصاره به مراتب اثر بیشتری بر روی لاروها داشته است و اختلاف معناداری را نسبت به سایر غلظت‌ها نشان می‌دهد. غلظت صد درصد عصاره حتی بعد از ۱۲ ساعت باعث صد درصد مرگ و میر لاروها شده است و مرگ و میر لاروها با افزایش زمان طی مدت ۴۸ ساعت افزایش می‌یابد.

جدول ۱- تأثیر عصاره چریش را در طی ۴۸ ساعت از شروع آزمایش بر روی لارو سن دو نماتد مولد گره ریشه.

غلظت‌های <i>A.indica</i> درصد	درصد مرگ و میر لارو سن دو		
	۱۲ ساعت	۲۴ ساعت	۴۸ ساعت
۱۰۰	٪۹۰	٪۹۱	٪۹۶
۲۰	٪۳۰	٪۳۷	٪۴۵
۱۰	٪۲۳	٪۲۸	٪۳۴
۵	٪۴	٪۱۱	٪۲۰
۰	٪۱	٪۲	٪۵

* شاهد آب مقطر.

جدول ۲- آنالیز و واریانس تأثیر چریش بر روی مرگ و میر لاروهای نماتد مولد گره ریشه.

F	میانگین مربعات	مجموع مربعات	درجه آزادی	منبع تغییرات
۱۹۲,۶۸	۴۸۸۷,۷	۱۹۵۵۰,۷	۴	تیمار
	۲۵,۴	۳۸۰,۵	۱۵	خطا

نتایج نشان می‌دهد که عصاره گیاه چریش می‌تواند یک منبع اقتصادی و مناسب جهت نماتدکشی‌ها باشد. با توجه به خاصیت عصاره اتانلی چریش این خاصیت نماتدکشی چریش از نظر اینکه بدون استفاده از سموم نماتدکشی، چریش قادر به کنترل نماتد مولد غده می‌باشد و نظر به اینکه این گیاه هیچ‌گونه اثر سوء زیست محیطی ندارد، دارای اهمیت زیادی است (۹). در آینده نزدیک به نظر می‌رسد نماتدکشی‌های با منشاء گیاهان طبیعی ساخته شود که بتواند جایگزین سموم شیمیایی سیستمیک خطرناک مورد مصرف کنونی شود. تاکنون بیش از ۱۰۰ ترکیب گوناگون از اندام‌های مختلف درخت چریش شناسایی شده است که برخی عبارتند از: آزاد پراکتین، نیمین، آزادیرون و سالانین، همچنین بسیاری از ترکیبات گوگردی، هیدروکربن‌ها، اسیدهای چرب، استرول‌ها و ده‌ها ماده دیگر را می‌توان نام برد (۷ و ۹). درباره طرز تأثیر آزاد پراکتین فرضیه‌های متفاوتی مطرح گردیده است، یکی از موارد مهم تأثیر ماده مؤثره با سیستم عصبی - غدد درون ریز کنترل‌کننده تولید اکدیزون (*Ecdysone*) و مهارکننده سنتز کیتین در حشرات مطرح بوده است (۹ و ۱۱). این ماده مؤثره در برگ‌ها و بذرها چریش وجود دارد و مقدار آن برحسب شرایط محیطی، از قبیل

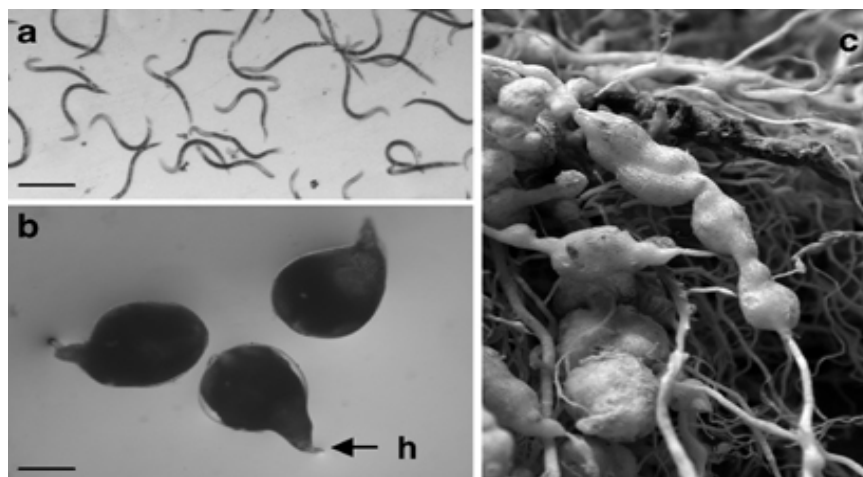


رطوبت و درجه حرارت و میزان بارندگی از ۲/۷ تا ۶/۶ میلی‌گرم در هر گرم بذر متفاوت است. فرآورده‌های تجارتهی چریش از قبیل Margo San، Neemoil و Neem Azals بر علیه بسیاری از قارچ‌های عامل بیماریزای گیاهی مانند سفیدک داخلی انگور *Plasmopara viticola* و قارچ عامل بیماری پژمردگی آوندی در گوجه‌فرنگی *Fusarium oxysporum* آزمایش شده است که باعث کاهش شدت بیماری به‌میزان بیش از ۷۰ درصد گردیده است.



شکل ۲- معرفی اندام‌های گیاه چریش *Azadirachta indica* که از بخش‌های مختلف آن در این آزمایش عصاره تهیه گردید، به‌ترتیب از راست تصویر بالا شامل میوه تازه رسیده زرد رنگ، میوه خشک شده به همراه بذر قهوه‌ای رنگ (سمت چپ) و گل‌های صورتی تا آبی رنگ.





شکل ۳- مراحل مختلف زندگی نماتد مولد غده ریشه *M. javanica* در گیاه گوجه‌فرنگی.
به ترتیب a: مرحله سن یک لاروی. b: کیست در نماتد ماده و c: ریشه‌های مولد غده آلوده به نماتد.

منابع

۱. باروتی، ش.، علوی، ا. ۱۳۷۴. نماتدشناسی گیاهی، اصول و نماتدهای انگل و قرنطینه ایران. چاپ گلدان. ۲۷۸ صفحه.
۲. تنها معافی، ز.، مهدویان، ا. ۱۳۷۶. شناسایی گونه‌ها و نژادهای نماتد مولد غده (*Meloidogyne spp*) روی کیوی و تأثیر *M. incognita* روی نهال‌های کیوی. آفات و بیماری‌های گیاهی. ۶۵ (۱): ۱۱-۱.
۳. جعفرپور، ب.، مهدیخانی، ع. ۱۳۷۵. مقدمه‌ای بر نماتد شناسی گیاهی (ترجمه). دانشگاه فردوسی مشهد.
۴. خوزینی، ف. ۱۳۷۹. بررسی فون نماتدهای مولد گره ریشه در نهالستان‌های استان گلستان. پایان‌نامه کارشناسی ارشد. دانشگاه آزاد اسلامی تهران. ۱۱۳ صفحه.
۵. قاسمخانی، م. ۱۳۷۸. مقایسه برخی ساختارهای شیمیایی مشترک دو گیاه چریش و زیتون تلخ و اثرات پاتولوژیک (ضدآفت) بعضی از آن ترکیبات. پایان‌نامه کارشناسی ارشد علوم گیاهی. دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی گرگان. ۷۵ صفحه.
6. Akhtar, M. 2000. Nematocidal potential of neem tree *Azadirachta indica*. Integrated pest management reviews. 5:57-66
7. Ahmad, F., Rather, M.A., and Siddiqui, M.A. 2008. Influence of organic additives on the incidence of root-knot nematode, *Meloidogyne javanica* in roots of tomato plants. Archives of Phytopathology and Plant Protection. 3-7: 319-326.
8. Khurma, U.R., & Singha, A. 1997. Nematicidal potential of seed extracts. In vitro effects on juvenile mortality and egg hatch of *Meloidogyne incognita* and *M. javanica*. Nematologia mediterranea (Italy). 25 (1): 49-54
9. Koul, I. et al. 1986. New insect ecdysis inhibitory limonoid deacetyl azadirachtinol isolated from *Azadirachta indica* (meliaceae) oil. Tetrahedron. (20): 489-496
10. Nazir, J. et al. 2006. Systemic and persistent effect of neem (*Azadirachta indica*) formulations against root-knot nematodes, *Meloidogyne javanica* and their storage life. Crop protection. 26: 911-916
11. Van ran de, E.J., & Roitberg, D. 1998. Effect of a neem (*Azadirachta indica*)-based insecticide on survival and development of juvenile western cherry fruit fly (*Rhagoletis indifferens*). Canadian Entomologist. 130: 869-876.
12. Yuji, O. et al. 2000. Nematocidal activity of essential oils and their components against the root-knot nematode. The American phytopathological society. p-2000-0509-01r
13. Yasmin, L. et al. 2003. Use of neem extract in controlling root-knot nematode (*Meloidogyne javanica*) of sweet-ground. Pakistan journal of plant pathology. 2(3): 161-168.

