



## بررسی اثر نماتودکشی اسانس تعدادیاز گیاهان دارویی خانواده چتریان (*Apiaceae*) بر نماتود ریشه گرهی (*Meloidogyne javanica*) در شرایط آزمایشگاه

زهرا صادقی<sup>۱\*</sup> - عصمت مهدی خانی مقدم<sup>۲</sup> - مجید عزیزی<sup>۳</sup>

تاریخ دریافت: ۸۸/۴/۳

تاریخ پذیرش: ۸۹/۲/۱۲

### چکیده

استفاده از اسانس گیاهان دارویی به عنوان روشی مؤثر و ایمن جهت کنترل نماتود ریشه گرهی می‌باشد. در این تحقیق اثر بازدارندگی اسانس حاصل از چهار گیاه دارویی متعلق به خانواده چتریان (*Apiaceae*) شامل زیره سیاه *Bunium persicum*، زیره سبز *Cuminum cyminum*، زنیان *Carum copticum* و رازیانه *Foeniculum vulgare* بر میزان تفریح تخم و مرگ و میر لارو سن دو نماتود ریشه گرهی *Meloidogyne javanica* در شرایط آزمایشگاهی مورد ارزیابی قرار گرفت. درصد مرگ و میر لارو بعد از ۲۴ ساعت قرارگیری لاروها در معرض اسانس و نیز درصد عدم تفریح تخم بعد از ۱۴ روز محاسبه شد. تجزیه و تحلیل آماری نشان داد که بین تیمارها در سطح پنج درصد اختلاف معنی داری وجود دارد. بیشترین درصد مرگ و میر در بین گیاهان، مربوط به اسانس گیاه رازیانه و در بین غلظتها مربوط به غلظت ۲۰۰۰ ppm بود. همچنین اسانس گیاه زیره سیاه با غلظت ۲۰۰۰ ppm به میزان ۹۲/۳۲ درصد موجب عدم تفریح تخم شد. اسانس رازیانه در غلظت ۲۰۰۰ ppm به میزان ۹۷/۳ درصد در مرگ و میر لارو مؤثر بود. آنالیز پروبیت نشان داد در بین گیاهان، اسانس زنیان (LC<sub>50</sub>=311 ppm) برای تخم نماتود و اسانس رازیانه (LC<sub>50</sub>=773 ppm) برای لارو سن دو *M. javanica* بیشترین سمیت را داشتند.

واژه‌های کلیدی: اسانس، گیاهان دارویی، خانواده چتریان، *Apiaceae*، کنترل، نماتود ریشه گرهی، *Meloidogyne javanica*

### مقدمه

تحت شرایط نسبتاً کنترل شده طبیعی در میکروپلات بر روی گوجه فرنگی رقم Red cloud vf در اصفهان ۳۷ درصد تعیین گردیده- است (۱). دامنه میزبانی وسیع نماتود ریشه گرهی، سرعت بالای تکثیر آن، کوتاهی مدت زمان نسل‌ها که بین ۲۰ تا ۳۰ روز در خاک‌های گرمسیری می‌باشد، انگل داخلی بودن و نیز وجود ماده‌هایی که توانایی تولید بیش از ۱۰۰۰ تخم را دارند و برهمکنش با سایر بیمارگرهای خاکزی نظیر قارچ‌ها کنترل این نماتود را نسبت به دیگر نماتودها مشکل‌تر ساخته است (۹). امروزه نماتودهای انگل گیاهی عمدتاً با استفاده از روش‌های زراعی، نماتودکشی‌های شیمیایی و کاشت ارقام مقاوم به نماتود مهار می‌شوند (۱۱). با این وجود، روش استفاده از نماتودکش‌های تدخینی مرسوم اگرچه برای کاهش جمعیت گونه‌های انگل مؤثر هستند اما اختصاصی عمل نمی‌کنند و موجب تغییرات زیادی در اکولوژی خاک می‌شوند. با ادامه استفاده از این سموم، تأثیر آنها بر روی نماتود می‌تواند کاهش یابد، ضمن اینکه این سموم اثرات مخربی بر محیط زیست و سلامت انسان و جانوران دارند. استفاده از ارقام مقاوم یکی از ابزارهای مدیریتی مؤثر علیه نماتود

نماتودهای ریشه گرهی *Meloidogyne spp.* یکی از نماتودهای بیمارگر گیاهی از جمله خانواده Solanaceae به خصوص فلفل، سیب زمینی و گوجه‌فرنگی می‌باشند. این نماتودهای انگل داخلی غیرمهاجر، رابطه تغذیه‌ای را با میزبان گیاهی خود برقرار کرده و آن را وادار به تولید ساختارهای تغذیه‌ای تخصصی به نام سلول‌های غول آسا می‌کنند که این سلول‌ها برای تغذیه و تکامل نماتود ضروری می‌باشند (۱۴). تاکنون در ایران هفت گونه و پنج نژاد از جنس *Meloidogyne* شناخته شده است که گونه *Meloidogyne javanica* (Treub, 1885) Chitwood 1949 وسیع‌ترین پراکندگی را در مزارع گوجه فرنگی دارد. میزان خسارت این گونه با جمعیت اولیه ۲۰ عدد تخم و لارو در گرم خاک

۱، ۲ و ۳- به ترتیب دانشجوی کارشناسی ارشد، استادیار، دانشکده کشاورزی، دانشگاه فردوسی مشهد  
\* - نویسنده مسئول: (Email: [Zahra.sadeghi5181@gmail.com](mailto:Zahra.sadeghi5181@gmail.com))

## مواد و روش ها

**تکثیر نماتود:** ریشه‌های آلوده به نماتود ریشه گرهی در تابستان ۱۳۸۶ از مزارع گوجه فرنگی استان خراسان رضوی جمع آوری شد و سپس با استفاده از یک توده تخم، تکثیر نماتود در گلخانه انجام شد. جهت تکثیر نماتود، گیاه گوجه فرنگی رقم Red cloud (حساس به نماتود) استفاده شد. نماتود روی نشاء یک ماهه گوجه فرنگی در گلخانه و تحت شرایط دمایی ۲۸-۲۵ درجه سانتی‌گراد و ۱۴ ساعت روشنایی پرورش یافت. پس از دوماه ریشه‌های آلوده جمع آوری و براساس برش انتهایی بدن ماده‌ها گونه *M. javanica* با استفاده از کلید چسبون شناسایی شد (۸). توده‌های تخم نماتود را از ریشه‌های آلوده دارای گال خارج کرده، سپس با استفاده از محلول هیپوکلریت سدیم یک درصد به مدت چهار دقیقه جداسازی و ضد عفونی گردید (۱۰). بعد از آن نمونه‌ها را توسط الک ۳۸ میکرون سه بار با آب مقطر استریل شستشو داده و در آب مقطر استریل جمع آوری و در دمای ۲۷ درجه سانتی‌گراد در انکوباتور نگهداری شدند. برای بدست آوردن لارو سن دو از روش اصلاح شده برمن (۱۷) استفاده گردید و هر ۲۴ ساعت لاروها جمع آوری شد فقط لاروهایی که کمتر از ۴۸ ساعت عمر داشتند جهت انجام آزمایشات استفاده می‌شد.

**تهیه اسانس:** بذر گیاهان دارویی از مزرعه نمونه دانشگاه فردوسی مشهد به میزان لازم تهیه شد. در هر نوبت اسانس گیری ۵۰ گرم پودر بذر گیاهی همراه با ۵۰۰ میلی لیتر آب مقطر با استفاده از دستگاه اسانس گیر شیشه‌ای کلونجر در ۱۰۰ درجه سانتی‌گراد به روش تقطیر با آب، اسانس گیری شد. زمان اسانس گیری برای هر نمونه سه ساعت بود. اسانس‌های جمع آوری شده با کمک سولفات سدیم آگیری شد. از توئین ۸۰ به عنوان سورفاکتانت استفاده گردید. اسانس‌ها تا زمان استفاده در ظرف‌های شیشه‌ای تیره به حجم ۱۰۰ میلی‌لیتر با درپوش آلومینیومی داخل یخچال در شرایط دمایی ۴ درجه سانتی‌گراد نگهداری شد.

## بررسی اثر اسانس چهار گیاه دارویی بر مرگ و میر

### لارو نماتود ریشه گرهی گونه *M. javanica*

حدود ۱۰۰ میکرولیتر از غلظت‌های مختلف اسانس (۵۰۰ ppm، ۱۰۰۰، ۲۰۰۰، ۵۰۰۰ و ۱۰۰۰۰) در میکروتیوب‌های جداگانه ریخته و ۹۰۰ میکرولیتر سوسپانسیون نماتود حاوی ۱۵۰ تا ۲۰۰ لارو سن دو به هر میکروتیوب اضافه شد تا شش غلظت اسانس، با فاصله لگاریتمی مساوی (فاصله ۰/۳۲) در مقادیر بین ۲۰۰-۵۰۰ (ppm) اعمال گردد. آب مقطر استریل به عنوان شاهد مورد استفاده قرار گرفت. هر تیمار چهار تکرار داشت و آزمایش دو بار انجام شد. پس از قرار دادن نماتودها در معرض غلظت‌های مختلف اسانس به مدت ۲۴ ساعت، میکروتیوب حاوی اسانس و لارو سن دوم به مدت ۴ دقیقه در

ریشه‌گرهی می‌باشد. اما این ارقام در همه محصولات دیده نمی‌شود. بعلاوه مقاومت نماتود در گوجه‌فرنگی با افزایش دمای خاک بالاتر از ۲۸°C کاهش می‌یابد (۱۲). روش‌های مهار نماتودهای انگل گیاهی، نظیر آفتاب‌دهی خاک، ضدعفونی اندام‌های گیاهی و تزریق آب داغ جهت جایگزینی روش‌های شیمیایی بکار رفته است اما میزان تأثیر این روش‌ها تحت شرایط محیطی، نوع خاک و ظرفیت رطوبت موجود در خاک متفاوت است. اگرچه میکروارگانیزم‌های همسستیز نظیر *Pasteuria penetrans* و قارچ‌های نماتودخوار در کنترل زیستی بکار می‌روند ولی استقرار موفق و هزینه بالا، از فاکتورهای محدود کننده استفاده از این عوامل بیولوژیک هستند (۱۸). بنابراین جستجو جهت دیگر روش‌های مدیریتی مهار نماتودهای انگل با مضرات کمتر، جهت مهار نماتودهای ریشه‌گرهی لازم و ضروری به نظر می‌رسد. استفاده از گیاهان و فرآورده‌های گیاهی یکی از روش‌های ایمن برای مهار نماتود ریشه‌گرهی می‌باشد. این روش، ارزان و با کاربرد آسان، بدون خطرات آلودگی محیط زیست و با توانایی اصلاح خاک از لحاظ ساختاری و تغذیه‌ای می‌باشد (۱۵). در نتیجه این منابع فراوان ترکیبات زنده فعال مورد توجه خاص محققان در سالهای اخیر قرار گرفته است. با توجه به دلایل فوق‌الذکر لزوم استفاده از گیاهان بومی هر منطقه به‌ویژه در کشورهای در حال توسعه یک نیاز مبرم تلقی می‌گردد.

سانگوان و همکاران فعالیت نماتودکشی اسانس حاصل از سه گیاه متعلق به خانواده نعناع *Lamiaceae* و دو گونه گیاهی از خانواده *Myrtaceae* (از جمله میخک هندی با نام علمی *Eugenia caryophyllata*) را به اثبات رساندند (۱۶). آکا و همکاران اثر نماتودکشی اسانس‌ها و ترکیبات حاصل از ۲۷ گونه گیاهی را علیه نماتود ریشه‌گرهی گونه *M. javanica* بررسی کردند و نتایج آنها نشان داد اسانس رازیانه، زنیان و نعناع بالاترین فعالیت نماتودکشی را در بین اسانس‌های آزمایش شده در شرایط آزمایشگاهی داشتند (۱۱). پارک و همکاران (۱۳) در سال ۲۰۰۵، اسانس دارچین و سیر و چوی و همکاران (۴) در سال ۲۰۰۷، اسانس گیاهان دارویی حاصل از ۲۹ گونه گیاهی موجود در ۱۸ تیره گیاهی را از لحاظ فعالیت نماتودکشی بررسی کردند و دریافتند که اسانس برخی گیاهان مورد آزمایش موجب مرگ و میر افراد نر، ماده و لارو نماتود تا حد صددرصد می‌شود. آلبوکوئرو و همکاران اسانس دو گونه از جنس *Pectis* را در دستگاه گاز کروماتوگرافی GC-MS قرار دادند و ترکیبات مونوترپن را استخراج و اثرات این ترکیبات را بر بقای لاروهای گونه *M. incognita* بررسی کردند (۲).

در این تحقیق اثرات اسانس گیاهان دارویی معمول در ایران شامل زیره سبز، زیره سیاه، رازیانه، زنیان متعلق به خانواده چتریان (*Apiaceae*) بر میزان تفریح تخم و مرگ و میر لاروهای گونه *M. javanica* مورد مطالعه قرار گرفته است.

و کمترین میزان درصد مرگ و میر لارو به ترتیب مربوط به اسانس گیاه رازیانه با ۲۶ درصد و زنیان با ۱۷/۲ درصد می باشد (جدول ۱). مقایسه میانگین بین غلظت‌های مختلف نشان داد که غلظت ۲۰۰۰ ppm بعد از ۲۴ ساعت بیشترین درصد مرگ و میر لارو نماتود ریشه گری را به خود اختصاص داده است. تأثیر این غلظت اختلاف معنی داری ( $P \leq 0.05$ ) با دیگر غلظت‌های مورد آزمایش داشته است. بیشترین و کمترین میزان درصد مرگ و میر لارو نماتود ریشه گری به ترتیب مربوط به غلظت‌های ۲۰۰۰ ppm با ۸۸/۱۲ درصد و غلظت ۵۰ ppm با ۱/۸۲ درصد بوده است (جدول ۲).

مقایسه میانگین بین تأثیر غلظت‌های اسانس گیاهان (اثر متقابل اسانس گیاه × غلظت) بر درصد مرگ و میر لارو نشان داد که اسانس گیاه رازیانه در غلظت ۲۰۰۰ ppm در میان دیگر غلظت‌های اسانس های مورد بررسی با ۹۸/۳۰٪ بیشترین تأثیر را در مرگ و میر لارو سن دوم داشته است (جدول ۳). اسانس گیاهان زیره سیاه و زیره سبز نیز در این غلظت درصد بالای مرگ و میر را به خود اختصاص دادند. اسانس زنیان در همین غلظت (۲۰۰۰ ppm) در مقایسه با اسانس گیاهان دیگر، اثر کشندگی ضعیف تری را علیه لارو سن دوم نماتود ریشه گری نشان می‌دهد (جدول ۳). طبق آنالیز پروبیت، بیشترین سمیت علیه لارو سن دوم نماتود ریشه گری براساس  $LC_{50}$  و  $LC_{90}$  مربوط به اسانس زیره سبز و رازیانه می باشد (جدول ۵).

نتایج آزمایش اثر اسانس بر تفریح تخم نماتود ریشه گری گونه *M. javanica* نتایج تجزیه واریانس داده‌های بدست آمده نشان می‌دهد که بین غلظت‌های بکار رفته از نظر درصد عدم تفریح تخم اختلاف معنی دار وجود دارد ( $P \geq 0.05$ ) اما بین اسانس گیاهان مورد آزمایش به لحاظ آماری این اختلاف معنی دار نبود ( $P \leq 0.05$ ). بنابراین تقریباً تمام گیاهان مورد آزمایش اثر یکسانی بر تفریح تخم داشته‌اند. مقایسه میانگین (اثرات ساده) بین غلظت‌های مورد بررسی نشان می‌دهد که غلظت ۲۰۰۰ ppm با ۹۰/۹۹ درصد بیشترین اثر را بر عدم تفریح تخم نماتود داشته است و اختلاف معنی دار ( $P \leq 0.05$ ) با سایر غلظت‌های مورد آزمایش دارد (جدول ۲). بنابراین می‌توان نتیجه گرفت که با افزایش غلظت اسانس، درصد تفریح تخم روند نزولی داشته است. اگرچه از لحاظ آماری و براساس تجزیه واریانس اختلاف معنی داری بین میانگین تأثیر غلظت‌های اسانس گیاهان مختلف بر تفریح تخم نماتود وجود نداشت اما به نظر میرسد در مقایسه میانگین اثرات متقابل اسانس گیاهان با غلظت‌های مختلف، اسانس گیاه زیره سیاه در غلظت ۲۰۰۰ ppm، نسبت به شاهد (غلظت صفر ppm) با ۲۶/۹۷ درصد در عدم تفریح تخم تأثیر داشته است (جدول ۴).

طبق آنالیز پروبیت، بیشترین سمیت برای تخم نماتود براساس  $LC_{50}$  مربوط به اسانس زنیان و براساس  $LC_{90}$  مربوط به زیره سیاه می‌باشد (جدول ۵). بطور کلی می‌توان گفت که با افزایش غلظت اسانس، درصد مرگ و میر لاروهای نماتود ریشه گری افزایش و درصد تفریح تخم آن کاهش یافته است (جدول ۳ و ۴).

۷۵۰ g سانتریفیوژ شد. مایع بالایی (Supernatant) را با استفاده از سمپلر برداشته تا اینکه ۳۰۰ میکرولیتر باقی بماند. سپس آب مقطر اضافه کرده تا حجم نهایی به یک میلی‌لیتر برسد. میکروتیوب‌ها مجدداً سانتریفیوژ شدند (۴ دقیقه در ۷۵۰ g)، سپس مایع بالایی حذف و به محلول باقی مانده در پایین هر میکروتیوب (Pellet) ۳۰۰ میکرولیتر آب مقطر استریل اضافه گردید. پس از ۲۰ ساعت درصد مرگ و میر لاروهای سن دو با استفاده از لام شمارش نماتود و در زیر میکروسکوپ محاسبه گردید. (روش اصلاح شده فریز و ژنگ، ۱۹۹۹) آزمایشات در شرایط دمایی  $3 \pm 25^\circ C$  انجام گرفت. ارتباط بین غلظت‌های مختلف اسانس و مرگ و میر لارو تحت آنالیز پروبیت قرار گرفت و سطح غلظت  $LC_{50}$  و  $LC_{90}$  بدست آمد.

### بررسی اثر اسانس چهار گیاه دارویی بر تفریح تخم نماتود ریشه گری گونه *M. javanica*

حدود ۹۰۰ میکرولیتر سوسپانسیون نماتود حاوی ۵۰۰ عدد تخم را در چاهک‌های پلیت ۲۴ خانه ای (پلی‌استیرن) ریخته و سپس ۱۰۰ میکرولیتر از غلظت‌های مختلف اسانس‌های گیاهی (شش غلظت مانند آزمایش قبل) به هر چاهک اضافه شد تا به غلظت‌های مورد نظر برسند. آب مقطر به عنوان شاهد استفاده شد. هر تیمار در چهار چاهک تکرار شد و آزمایش دو بار انجام شد. پلیت را پوشانده و در دمای  $3 \pm 25^\circ C$  قرار داده شد. سپس درصد تفریح تخم بعد از ۱۴ روز با شمارش تعداد لاروهای که در هر چاهک از تخم تفریح شده بودند محاسبه گردید. ارتباط بین غلظت‌های اسانس و میزان تفریح تخم تحت آنالیز پروبیت قرار گرفت تا سطح  $LC_{50}$  و  $LC_{90}$  آن بدست آید (روش اصلاح شده زاسادا و همکاران، ۲۰۰۶). در این آزمایشات از قالب طرح فاکتوریل در پایه‌ی کاملاً تصادفی برای بررسی اثرات ساده و متقابل استفاده شد. مقایسه میانگین‌ها براساس آزمون LSD در سطح ۵٪ صورت گرفت. تجزیه واریانس داده‌ها با نرم افزارهای آماری (GLM) SAS و MSTATC انجام گرفت.

### نتایج

اثر اسانس بر مرگ و میر لارو سن دو نماتود ریشه گری گونه *M. javanica* نتایج تجزیه واریانس حاکی از این است که بین اسانس‌های گیاهان دارویی مورد مطالعه از نظر درصد مرگ و میر لاروهای نماتود ریشه گری از نظر آماری اختلاف معنی داری ( $P \leq 0.05$ ) وجود دارد. همچنین بین غلظت‌های مختلف اسانس حاصل از گیاهان دارویی اختلاف معنی داری وجود دارد ( $P \leq 0.05$ ). مقایسه میانگین‌ها در گیاهان مورد بررسی نشان می‌دهد که اسانس زیره سبز دارای بیشترین درصد مرگ و میر بوده و اختلاف معنی داری ( $P \leq 0.05$ ) با اسانس سایر گیاهان مورد آزمایش دارد. بیشترین

(جدول ۱) - اثر نماتودکشی اسانس چهار گیاه دارویی بر درصد عدم تفریخ تخم و درصد مرگ و میر لارو سن دوم نماتود ریشه گرهی گونه *M. javanica*

<i>javanica</i>		
نام اسانس	درصد مرگ و میر لارو	درصد عدم تفریخ تخم
زیره سیاه	۲۲/۱۸ <sup>b</sup>	۷۸/۱۶ <sup>a</sup>
زیره سبز	۲۶ <sup>a</sup>	۷۸/۲۰ <sup>a</sup>
زنیان	۱۷/۲۱ <sup>c</sup>	۷۸/۵۸ <sup>a</sup>
رازیانه	۲۷.۲۵ <sup>ab</sup>	۷۵/۹۹ <sup>a</sup>
LSD	۳/۷۱۹	۳/۲۰۳

-کلیه اعداد میانگین ۴ تکرار است

-حروف مشابه در مقابل میانگین ها در هر ستون بیانگر عدم اختلاف معنی دار در سطح ۵٪ بین آنها است.

(جدول ۲) - اثر نماتودکشی غلظت‌های مختلف اسانس چهار گیاه دارویی (زیره سیاه، زیره سبز، زنیان و رازیانه) بر درصد مرگ و میر لارو سن دو و

درصد عدم تفریخ تخم نماتود ریشه گرهی گونه *M. javanica*

غلظت اسانس مورد آزمایش (ppm)	درصد مرگ و میر لارو	درصد عدم تفریخ تخم
۲۰۰۰	۸۸/۱۲ <sup>a</sup>	۹۰/۹۹ <sup>a</sup>
۱۰۰۰	۴۱/۸۵ <sup>b</sup>	۸۷/۶۵ <sup>a</sup>
۵۰۰	۱۴/۷۳ <sup>c</sup>	۷۸/۸۴ <sup>b</sup>
۲۰۰	۷/۹۱ <sup>d</sup>	۷۶/۳۱ <sup>bc</sup>
۱۰۰	۴/۱۲ <sup>de</sup>	۷۳/۴۱ <sup>cd</sup>
۵۰	۱/۸۲ <sup>e</sup>	۷۰/۲۷ <sup>de</sup>
.	۰/۱۰ <sup>e</sup>	۶۶/۳۴ <sup>e</sup>
LSD	۴/۹۲۰	۴/۲۳۸

-کلیه اعداد میانگین ۴ تکرار است.

-حروف مشابه در مقابل میانگین ها در هر ستون بیانگر عدم اختلاف معنی دار در سطح ۵٪ بین آنها است.

(جدول ۳) - اثر غلظت‌های مختلف اسانس چهار گیاه دارویی (زیره سیاه، زیره سبز، زنیان و رازیانه) بر درصد مرگ و میر لارو سن دوم نماتود ریشه

گرهی گونه *M. javanica*

غلظت (ppm)	زیره سیاه	زیره سبز	زنیان	رازیانه
۲۰۰۰	۹۶/۱۲ <sup>a</sup>	۹۵/۸۸ <sup>a</sup>	۶۲/۱۹ <sup>b</sup>	۹۸/۳۰ <sup>a</sup>
۱۰۰۰	۳۶/۹۶ <sup>d</sup>	۵۵/۲۳ <sup>bc</sup>	۳۴/۴۱ <sup>de</sup>	۴۷/۶۷ <sup>c</sup>
۵۰۰	۸/۱۱ <sup>ghijk</sup>	۲۲/۹۵ <sup>ef</sup>	۱۳/۳۶ <sup>fgh</sup>	۱۴/۶۲ <sup>fg</sup>
۲۰۰	۵/۰۷ <sup>ghijk</sup>	۴/۶۱ <sup>hijk</sup>	۱۰/۵۰ <sup>ghij</sup>	۱۱/۴۷ <sup>ghi</sup>
۱۰۰	۵/۲۰ <sup>ghijk</sup>	۱/۷۸ <sup>ijk</sup>	۵/۲۹ <sup>ghijk</sup>	۴/۲۱ <sup>hijk</sup>
۵۰	۳/۴۰ <sup>ijk</sup>	۱/۵۱ <sup>jk</sup>	۱/۶۹ <sup>ijk</sup>	۱/۳۶ <sup>jk</sup>
.	۰/۴ <sup>k</sup>	.	.	.

-حروف مشابه در مقابل میانگین های جدول بیانگر عدم اختلاف

معنی دار در سطح ۵٪ بین آنها است. (LSD=9.841)

(جدول ۴) - اثر غلظت های مختلف اسانس چهار گیاه دارویی (زیره سیاه، زیره سبز، زنیان و رازیانه) بر درصد عدم تفریح تخم های نماتود ریشه

گرهی گونه *M. javanica*

غلظت (ppm)	زیره سیاه	زیره سبز	زنیان	رازیانه
۲۰۰۰	۹۲/۳۳ <sup>a</sup>	۹۱/۱۰ <sup>a</sup>	۹۱/۴۳ <sup>a</sup>	۸۹/۱۲ <sup>ab</sup>
۱۰۰۰	۹۰/۲۹ <sup>a</sup>	۸۸/۱۷ <sup>ab</sup>	۸۶/۲۹ <sup>abc</sup>	۸۷/۰۴ <sup>abc</sup>
۵۰۰	۷۴/۲۸ <sup>defgh</sup>	۸۱/۵۷ <sup>bcde</sup>	۷۷/۷۶ <sup>defg</sup>	۸۱/۷۵ <sup>bcd</sup>
۲۰۰	۷۱/۷۳ <sup>fghij</sup>	۷۲/۹۷ <sup>efghi</sup>	۸۱/۱۳ <sup>bcde</sup>	۷۹/۴۳ <sup>cdef</sup>
۱۰۰	۷۰/۵۴ <sup>ghij</sup>	۷۴/۹۲ <sup>defgh</sup>	۷۶/۹۳ <sup>defg</sup>	۷۱/۲۷ <sup>ghij</sup>
۵۰	۶۵/۱۶ <sup>ij</sup>	۶۹/۹۶ <sup>ghij</sup>	۷۲/۷۸ <sup>efghi</sup>	۷۳/۲۰ <sup>efghi</sup>
۰	۶۵/۳۵ <sup>hij</sup>	۶۶/۸۳ <sup>hij</sup>	۷۳/۰۹ <sup>i</sup>	۶۸/۴۳ <sup>ij</sup>

-حروف مشابه در مقابل میانگین ها بیانگر عدم اختلاف معنی دار در سطح ۵٪ بین آنها است. (LSD=8.476)

(جدول ۵) - نتایج آنالیز پروبیت مرگ و میر - غلظت در آزمایش زیست سنجی جهت بررسی تأثیر اسانس چهار گیاه دارویی (زیره سیاه، زیره

سبز، زنیان و رازیانه) علیه لاروسن دو و تخم نماتود ریشه گرهی گونه *M. javanica*

اسانس	LC <sub>50</sub> (ppm)		LC <sub>90</sub> (ppm)	
	لارو سن دوم	تخم	لارو سن دوم	تخم
زیره سیاه ( <i>Bunium persicum</i> )	۱۰۸۴(۴۱۰-۳۶۸۰) <sup>*</sup>	۷۷۵(۳۴-۱۵۹۰)	۴۹۸۰	۳۳۵۰
زیره سبز ( <i>Cuminum cyminum</i> )	۷۵۴(۳۶۰-۲۷۴۰)	۷۰۶(۴۵-۱۱۰۰)	۲۳۵۹	۱۳۰۱۸
زنیان ( <i>Carum copticum</i> )	۱۹۳۸(۱۰۸۰-۷۱۸۰)	۳۱۱(۳۴-۷۸۰)	۱۵۲۹۱	۱۴۲۶
رازیانه ( <i>Foeniculum vulgare</i> )	۷۷۳(۳۷۰-۲۲۸۰)	۷۰۶(۴۴-۱۱۵۰)	۲۶۹۱	۱۰۵۷۹

\*اعداد داخل پرانتز حدود اطمینان ۹۵ درصد را نشان می دهد.

## بحث

در این آزمایشات اسانس تمامی گیاهان دارویی مورد استفاده در غلظت ۲۰۰۰ ppm اثر نماتودکشی مطلوبی را نشان می دهند. بطوری که تقریباً تأثیر بیش از ۹۰ درصد در مرگ و میر لارو و بیش از ۲۰ درصد در عدم تفریح تخم (نسبت به شاهد) داشتند (جدول ۳ و ۴). اکا و همکاران (۱۱) گزارش کردند که غلظت های بالاتر از ۱۰۰۰ میکرولیتر در لیتر اسانس گیاهان رازیانه، زنیان و نعناع منجر به افزایش مرگ و میر لارو های نماتود ریشه گرهی گونه *M. javanica* می شوند. همچنین چهار ترکیب روغن گیاهی در غلظت ۱۲۵ میکرولیتر در لیتر مانع تفریح تخم شد. این ترکیبات شامل کارواکرول (Carvacrol) و تیمول از پونه کوهی (از خانواده نعناع Lamiaceae)، Trans-anthenol از رازیانه و کاروون (Carvone) از زنیان می باشند (۳). اسانس های حاوی کارواکرول مؤثرتر از اسانس های حاوی تیمول بودند. آنها خاطر نشان کردند که ارتباط قوی بین فعالیت نماتودکشی و حشره کشی این ترکیبات وجود دارد (۱۱).

ابراهیم و همکاران (۷) اثر اسانس و عصاره رازیانه و چنند گیاه دیگر را بر تفریح، مهاجرت و مرگ و میر لارو سن دوم نماتود ریشه گرهی گونه *M. incognita* بررسی کردند و نشان دادند که ترکیبات کارواکرول، تیمول و لینول بیشترین اثر سمیت را علیه

لاروهای این نماتود دارند و عصاره گل رازیانه بالاترین اثر را بر مرگ و میر لاروهای این نماتود داشته است. در این تحقیق اسانس گیاهان زیره سیاه و زیره سبز اثرات مطلوبی علیه لارو و تخم نماتود ریشه گرهی گونه *M. javanica* از خود نشان دادند و این اولین گزارش از فعالیت نماتودکشی این گیاهان می باشد. بنابراین شناسایی ترکیبات مؤثر موجود در اسانس این گیاهان که دارای خاصیت نماتودکشی هستند لازم به نظر می رسد.

تخم نماتود جزء مقاوم ترین مراحل در چرخه زندگی نماتود است و این شاید به خاطر وجود پوسته سه لایه اطراف تخم می باشد (۱۹). مسلماً تخم نسبت به لارو مقاوم تر است. در این تحقیق نتایج حاصل از آنالیز پروبیت (جدول ۵) بیانگر این نیست که لارو نماتود مقاوم تر از تخم بوده است زیرا تفاوت در میان مقادیر LC<sub>50</sub> در تخم و لارو به روش انجام آزمایش و مدت زمان قرارگیری تخم و لارو در معرض اسانس مربوط می شود. چنان چه در بررسی اثر اسانس بر مرگ و میر لارو بعد از ۲۴ ساعت اسانس حذف و آب اضافه شد در صورتی که درصد تفریح تخم در آزمایش بررسی اثر نماتودکشی اسانس، بعد از ۱۴ روز و بدون حذف اسانس محاسبه شد. عکس العمل لاروهای نماتود به نوع گیاه اسانس گیری شده، غلظت اسانس و زمان قرارگیری لارو در معرض اسانس و نیز روش انجام آزمایش بستگی دارد. نحوه عمل اسانس ها از اهمیت کاربردی برای مهار نماتودها برخوردار می باشد زیرا می تواند اطلاعات مفیدی که در تهیه

استفاده از اسانس‌های گیاهی به جای ترکیبات خالص شده یا سموم شیمیایی خطرات زیست محیطی کمتری در مهار نماتود به دنبال خواهد داشت و به‌علاوه ممکن است فواید اقتصادی نیز داشته باشد. هزینه‌ی تهیه عصاره و اسانس بر خلاف مواد سنتتیک، تابعی از پیچیدگی تولید هر کدام می‌باشد (۴).

نتایج این بررسی نشان می‌دهد که تمامی گیاهان مورد آزمایش می‌توانند به عنوان نماتودکش جهت استفاده علیه نماتود ریشه گرهی مفید واقع شوند. پیشنهاد می‌شود مطالعات بیشتری جهت تولید فرمولاسیونهای مناسب انجام گیرد تا این فرمولاسیونها بتوانند موجب افزایش پایداری و بهبود قابلیت تأثیر ترکیبات گیاهی بر نماتود شوند و هزینه‌ها را نیز کاهش دهند. همچنین کاربرد آنها در خاک و شرایط طبیعی نیز مورد بررسی قرار گیرد. بنابراین لازم است تحقیقات بیشتری جهت شناسایی ویژگی‌های هر اسانس و نحوه‌ی عمل آن بر نماتود و نیز اثر ترکیبی اسانس‌های مختلف انجام گیرد.

فرمولاسیون‌های اختصاصی و مناسب کاربرد دارد فراهم کند (۴). نحوه‌ی عمل اسانس‌ها علیه نماتودها به درستی روشن نیست. در حشرات اسانس‌های مختلفی مانع فعالیت استیل کولین استراز می‌شوند (۱۱). البته در مورد نماتودها هم می‌تواند تأثیر روی فعالیت استیل کولین استراز داشته باشد زیرا بعضی نماتودکش‌های شیمیایی نیز نحوه‌ی اثرشان بدین صورت است. توجه به این نکته مهم است که ترکیبات اصلی اسانس‌هایی که فعالیت نماتودکشی آنها در این تحقیق مشخص شد، گزارش شده که دارای فعالیت حشره کشی نیز می‌باشند. دخالت ترکیبات اسانس در قطع (وقفه) جریان سیستم عصبی نماتود روشن نیست (۱۱). به هر حال شاید اسانس‌ها پوست بدن نماتود را تخریب کرده و یا نفوذپذیری آن را تغییر می‌دهند (۱۱). در برخی تحقیقات با استفاده از حشره مدل نحوه عمل اسانس‌های گیاهی را مشخص کرده‌اند. مدارکی مبتنی بر تداخل این اسانس‌ها و تعدیل کننده عصبی اکتوپامین وجود دارد. ترکیبات اسانس، آنتاگونیست گیرنده‌های اکتوپامین هستند. اکتوپامین یک انتقال دهنده عصبی در حشرات می‌باشد (۵).

## منابع

- ۱- احمدی ع. و مرتضوی یک ا. ۱۳۸۴. واکنش تعدادی از ارقام گوجه فرنگی به نماتود مولد گره ریشه (*Meloidogyne javanica*). مجله بیماریهای گیاهی، جلد ۴۱، شماره ۳، ص. ۴۱۳-۴۰۳.
- 2- Albuquerque M.R.J.R., Costa S.M.O., Bandeir P.N., Santiago G.M.P., Andrade-Neto M., Silveira E.R., and Pessoa O.D.L. 2007. Nematicidal and larvicidal activities of the essential oils from aerial parts of *Pectis oligocephala* and *Pectis apodocephala* Baker. An Acad. Bras. Sci., 7(2): 209-213.
- 3- Chitwood D.J. 2002. Phytochemical based strategies for nematode control. Ann. Rev. Phytopathol., 40: 221-249.
- 4- Choi I.H., Park J.Y., Shin S.C., Kim J., and Park I.K. 2007. Nematicidal activity of medicinal plant essential oils against the pinewood nematode (*Bursaphelenchus xylophilus*). Appl. Entomol. Zool., 42(3): 397-401.
- 5- Enan E. 2001. Insecticidal activity of essential oils: octopamin sites of action. Comp. Biochem. Physiol., 130: 325-337.
- 6- Ferris H., and Zheng L. 1999. Plant sources of Chinese herbal remedies: Effects on *Pratylenchus vulnus* and *Meloidogyne javanica*. Nematol., 31:241-263.
- 7- Ibrahim S.K., Trabulsi A.F., and El-haj S. 2006. Effect of essential oils and plant extracts on hatching, migration and mortality of *Meloidogyne incognita*. Phytopathol. Mediterr., 45: 238-246.
- 8- Jepson S.B. 1987. Identification of Root-Knot Nematode(*Meloidogyne*) Species. CAB International, Wallingford, UK, 265pp.
- 9- Natarajan N., Cork A., Boomathi N., Pandi R., Velavan S., and Dahkshnamoorthy G. 2006. Cold aqueous extracts of African marigold, *Tagetes erecta* for control tomato root knot nematode, *Meloidogyne incognita*. Crop Protect., 25: 1210-1213.
- 10-Nico A.I., Jimenez R.M., and Castillo P. 2004. Control of root knot nematodes by composted agro-industrial wastes in potting mixtures. Crop Protec., 23:581-587.
- 11-Oka Y., Nacar S., Putievsky E., Ravid U., Zohara Y., and Spiegel Y. 2000. Nematicidal activity of essential oils and their components against the root-knot nematode. Phytopathol., 90: 710-715.
- 12-Oka Y., Ben-Daniel B.H., and Cohen Y. 2006. Control of *Meloidogyne javanica* by formulations of *Inula viscosa* leaf extracts. Nematol., 38(1): 46-51.
- 13-Park I.K., Kim L.S., Choi I.H., Kim C.S., and Shin S.C. 2005. Nematicidal activity of plant essential oils

- and components from garlic (*Allium sativum*) and cinnamon (*Cinnamomum verum*) oils against the pine wood nematode (*Bursaphelenchus xylophilus*). *Nematol.*, 7: 767-774.
- 14-Pegard A., Brizzard G., Fazari A., Soucaze O., Abad P., and Djian-Caporalino C. 2004. Histological characterization of resistance to different root-knot nematode species related to phenolics accumulation in *Capsium annuum*. *Phytopatol.*, 95: 158-165.
- 15-Qamar F., Begum S., Wahab A., and Siddiqui B.S. 2005. Nematicidal natural products from the aerial parts of *Lantana camara* Linn. *Natu. Prod. Res.*, 19(6): 609-613.
- 16-Sangwan N.K., Verma B.S., Verma K.K., and Dhindsa K.S. 1990. Nematicidal activity of some essential oils. *Pestic. Sci.*, 28: 331-335.
- 17-Southey J.F. 1986. Laboratory methods for work with plant and soil nematodes. Technical bulletin. Naff/Adas. HMSO, London, 202 pp.
- 18-Taba S., Sawada J., and Moromizato Z.I. 2007. Nematicidal activity of Okinawa Island plants on the root-knot nematode *Meloidogyne incognita* (Kofoid and White) Chitwood. *Plant and Soil.*, 303(1-2): 207-216.
- 19-Zasada I.N., Klassen W., Meyer S., Codallo M., and Abdul-Baki A.A. 2006. Velvetbean (*Mucuna pruriens*) extracts: impact on *Meloidogyne incognita* survival and on *Lycopersicon esculentum* and *Lactuca sativa* germination and growth. *Pest Manag. Sci.*, 62:1122-1127.