نشریه حفاظت گیاهان (علوم و صنایع کشاورزی)
جلد ۲۴، شماره ۱، بهار ۱۳۸۹، ص ۶۸-۶۲

Journal of Plant Protection
Vol. 24, No. 1, Spring 2010, p. 62-68

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

زهرا صادقی[۱*] – عصمت مهدی خانی مقدم[۲]- مجید عزیزی[۳]

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 اثـر بازدارنـدگی اسـانس 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 تفریخ تخم و مرگ و میر لارو سـن دو نمـاتود ریشـه گرهـی *Meloidogyne javanica* در شرایط آزمایشگاهی مورد ارزیابی قرار گرفت. درصد مرگ ومیر لارو بعد از ۲۴ ساعت قرارگیری لاروها در معرض اسانس و نیـز درصـد عدم تفریخ 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 بـا غلظت ۲۰۰۰*ppm* به میزان ۹۲/۳۲ درصد موجب عدم تفریخ تخم شد. اسانس رازیانه در غلظت ۲۰۰۰*ppm* به میزان ۹۸/۳ درصد در مرگ و میر لارو مؤثر بود. آنالیز پروبیت نشان داد در بین گیاهان،اسانس زنیان (LC_{50}=311ppm) برای تخم نماتد و اسانس رازیانـه (LC_{50}=773ppm) بـرای لارو سن دو *M. javanica* بیشترین سمیت را داشتند.

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

مقدمه

نماتودهـای ریشـه گرهـی *Meloidogyne* spp. یکـی از نماتودهـای بیمـارگر گیـاهی از جملـه خـانواده Solanaceae بـه خصوص فلفل، سیب زمینی و گوجه‌فرنگی می‌باشند. این نماتودهـای انگل داخلی غیرمهاجر، رابطه تغذیه‌ای را با میزبان گیاهی خود برقرار کرده و آن را وادار به تولید ساختارهای تغذیـه‌ای تخصصـی بـه نـام سلول‌های غول آسا می کنند که این سلول‌ها برای تغذیـه و تکامـل نماتود ضروری می‌باشند (۱۴). تاکنون در ایران هفت گونه و پنج نژاد از جـنس *Meloidogyne* شـناخته شـده اسـت کـه گونـه *Meloidogyne javanica* (Treub,1885) Chitwood 1949 وسیع‌ترین پراکندگی را در مزارع گوجه فرنگـی دارد. میـزان خسارت این گونه با جمعیت اولیه ۲۰ عدد تخم و لارو در گرم خـاک تحت شرایط نسبتاً کنترل شده طبیعی در میکروپلات بر روی گوجـه فرنگی رقم Red cloud vf در اصفهان ۳۷ درصد تعیـین گردیـده-است (۱). دامنه میزبانی وسیع نماتود ریشه‌گرهی، سرعت بالای تکثیر آن، کوتاهی مدت زمان نسل‌ها که بین ۲۰ تا ۳۰ روز در خـاک‌هـای گرمسیری می‌باشد، انگل داخلی بودن و نیـز وجـود مـاده‌هـایی کـه توانایی تولیـد بـیش از ۱۰۰۰ تخـم را دارنـد و بـرهمکنش بـا سـایر بیمارگرهای خاکزی نظیر قارچها کنترل این نماتود را نسبت به دیگر نماتودها مشکل‌تر ساخته است(۹). امروزه نماتودهـای انگـل گیـاهی عمدتاً با استفاده از روش‌های زراعی ،نماتودکشهای شمیایی و کاشت ارقام مقاوم به نماتود مهار می‌شوند (۱۱). با این‌وجود، روش استفاده از نماتودکش‌های تدخینی مرسوم اگرچه برای کاهش جمعیت گونه‌های انگل مؤثر هستند اما اختصاصی عمل نمـی‌کننـد و موجـب تغییـرات زیادی در اکولوژی خاک می‌شوند. با ادامه استفاده از این سموم، تأثیر آن‌ها بر روی نماتود می‌تواند کاهش یابد، ضـمن اینکـه ایـن سـموم اثرات مخربی بر محیط زیست و سـلامت انسـان و جـانوران دارنـد. استفاده از ارقام مقاوم یکی از ابزارهای مـدیریتی مـؤثر علیـه نمـاتود

۱، ۲ و ۳- به ترتیب دانشجوی کارشناسی ارشد، استادیاران، دانشـکده کشـاورزی، دانشگاه فردوسی مشهد
(*- نویسنده مسئول: Email: Zahra.sadeghi5181@gmail.com)

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 میکروارگانیسم‌های همستیز 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 ریشه گرهی 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 فوق الذکر 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 مورد Myrtaceae (از جمله میخک هندی با نام علمی *Eugenia caryophyllata*) را به اثبات رساندند (۱۶). اُکا و همکاران اثر نماتودکشی اسانس‌ها و ترکیبات حاصل از ۲۷ گونه گیاهی را علیه نماتود ریشه گرهی 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) درسال 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. آلبوکوئرکو و همکاران اسانس دوگونه 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 تفریخ تخم و مرگ و میر لاروهای گونه *M. javanica* مورد مطالعه قرار گرفته است.

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 دمایی۲۸-۲۵ درجه سانتی‌گراد و ۱۴ ساعت روشنایی پرورش یافت. پس از دوماه ریشه های آلوده جمع آوری و براساس برش انتهای بدن ماده‌ها گونه *M. javanica* با استفاده از کلید جپسون 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 ۲۷درجه 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 شدو 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 ۵۰گرم پودر بذر گیاهی همراه با ۵۰۰ میلی لیتر آب مقطر با استفاده از دستگاه اسانس‌گیر شیشه‌ای کلونجر در ۱۰۰ درجه سانتی‌گراد به روش تقطیر با آب، اسانس‌گیری شد. زمان اسانس‌گیری برای هر نمونه سه ساعت بود. اسانس‌های جمع آوری شده با کمک سولفات سدیم آبگیری شد. از توئین۸۰ به عنوان سورفاکتانت استفاده گردید. اسانس‌ها تا زمان استفاده در ظرف‌های شیشه ای 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 میکروتیوب های 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 (ppm)۲۰۰۰-۵۰ 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

۷۵۰g 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 (۴دقیقه در ۷۵۰g)، 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 ۳°c ±۲۵ 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 تفریخ تخم نماتود ریشه گرهی 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 غلظت های 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 ۳°c ±۲۵ قرار داده شد. سپس درصد تفریخ تخم بعد از ۱۴ روز با شمارش تعداد لاروهایی که در هر چاهک از تخم تفریخ شده بودند محاسبه گردید. ارتباط بین غلظت های اسانس و میزان تفریخ 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 داده ها با نرم افزارهای آماری SAS (GLM) و MSTATC انجام گرفت.

نتایج

اثر اسانس بر مرگ و میر لارو سن دو نماتود ریشه گرهی 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 گرهی از نظر آماری اختلاف معنی‌داری ($P\leq$۰/۰۵) وجود دارد. همچنین بین غلظت‌های مختلف اسانس حاصل از گیاهان دارویی اختلاف معنی‌داری وجود دارد ($P\leq$۰/۰۵). مقایسه میانگین‌ها در گیاهان مورد بررسی نشان می‌دهد که اسانس زیره سبز دارای بیشترین درصد مرگ و میر بوده و اختلاف معنی داری ($P\leq$۰/۰۵) با اسانس سایر گیاهان مورد آزمایش دارد. بیشترین و کمترین میزان درصد مرگ و میر لارو به ترتیب مربوط به اسانس گیاه رازیانه با ۲۶درصد و زنیان با ۱۷/۲درصد می‌باشد(جدول۱). مقایسه میانگین بین غلظت‌های مختلف نشان داد که غلظت ۲۰۰۰ppm بعد از ۲۴ ساعت بیشترین درصد مرگ ومیر لارو نماتود ریشه گرهی را به خود اختصاص داده است. تأثیر این غلظت اختلاف معنی‌داری ($P\leq$۰/۰۵) با دیگر غلظتهای مورد آزمایش داشته است. بیشترین و کمترین میزان درصد مرگ و میر لارو نماتود ریشه گرهی به ترتیب مربوط به غلظت‌های ۲۰۰۰ppm با ۸۸/۱۲درصد وغلظت ۵۰ppm با۱/۸۲درصد بوده است (جدول۲).

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 ۲۰۰۰ppm در میان دیگر غلظت‌های اسانس های مورد بررسی با ۹۸/۳۰٪ بیشترین تأثیر را در مرگ و میر لارو سن دوم داشته است(جدول۳). 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(۲۰۰۰ppm) در مقایسه با اسانس گیاهان دیگر، اثر کشندگی ضعیف تری را علیه لارو سن دوم نماتود ریشه گرهی نشان می‌دهد(جدول۳). طبق آنالیز پروبیت، بیشترین سمیت علیه لارو سن دوم نماتود ریشه گرهی براساس LC_{50} و LC_{90} مربوط به اسانس زیره سبز و رازیانه می باشد(جدول۵).

نتایج آزمایش اثر اسانس بر تفریخ تخم نماتود ریشه گرهی گونه *M. javanica* نتایج تجزیه واریانس داده‌های بدست آمده نشان می‌دهد که بین غلظت‌های بکار رفته از نظر درصد عدم تفریخ تخم اختلاف معنی دار وجود دارد ($P\geq$۰/۰۵) اما بین اسانس گیاهان مورد آزمایش به لحاظ آماری این اختلاف معنی دار نبود($P\leq$۰/۰۵). بنابراین تقریباً تمام گیاهان مورد آزمایش اثر یکسانی بر تفریخ تخم داشته‌اند. مقایسه میانگین(اثرات ساده) بین غلظت‌های مورد بررسی نشان می‌دهد که غلظت ۲۰۰۰ppm با ۹۰/۹۹درصد بیشترین اثر را بر عدم تفریخ تخم نماتود داشته است و اختلاف معنی‌دار ($P\leq$۰/۰۵) با سایر غلظت‌های مورد آزمایش دارد(جدول۲). بنابراین می‌توان نتیجه گرفت که با افزایش غلظت اسانس، درصد تفریخ تخم روندنزولی داشته است. اگرچه از لحاظ آماری و براساس تجزیه واریانس اختلاف معنی داری بین میانگین تأثیر غلظت‌های اسانس گیاهان مختلف بر تفریخ تخم نماتود وجود نداشت اما به نظر میرسد در مقایسه میانگین اثرات متقابل اسانس گیاهان با غلظت‌های مختلف، اسانس گیاه زیره سیاه در غلظت ۲۰۰۰ppm ، نسبت به شاهد (غلظت صفر ppm) با ۲۶/۹۷درصد در عدم تفریخ تخم تأثیر داشته است (جدول۴).

طبق آنالیز پروبیت، بیشترین سمیت برای تخم نماتود براساس LC_{50} مربوط به اسانس زنیان و براساسLC_{90} مربوط به زیره سیاه می‌باشد (جدول۵). بطور کلی می توان گفت که با افزایش غلظت اسانس، درصد مرگ و میر لاروهای نماتود ریشه گرهی افزایش و درصد تفریخ تخم آن کاهش یافته است (جدول ۳ و ۴).

(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*

نام اسانس	درصد مرگ و میر لارو	درصد عدم تفریخ تخم
زیره سیاه	۲۲/۱۸ b	۷۸/۱۶ a
زیره سبز	۲۶ a	۷۸/۲۰ a
زنیان	۱۷/۲۱ c	۷۸/۵۸ a
رازیانه	۲۷.۲۵ ab	۷۵/۹۹ a
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.

(جدول۲)- 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 a	۹۰/۹۹ a
۱۰۰۰	۴۱/۸۵ b	۸۷/۶۵ a
۵۰۰	۱۴/۷۳ c	۷۸/۸۴ b
۲۰۰	۷/۹۱ d	۷۶/۳۱ bc
۱۰۰	۴/۱۲ de	۷۳/۴۱ cd
۵۰	۱/۸۲ e	۷۰/۲۷ de
۰	۰/۱۰ e	۶۶/۳۴ e
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.

(جدول۳)- اثر غلظت های 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 a	۹۵/۸۸ a	۶۲/۱۹ b	۹۸/۳۰ a
۱۰۰۰	۳۶/۹۶ d	۵۵/۲۳ bc	۲۴/۴۱ de	۴۷/۶۷ c
۵۰۰	۸/۱۱ ghijk	۲۲/۹۵ ef	۱۳/۳۶ fgh	۱۴/۶۲ fg
۲۰۰	۵/۰۷ ghijk	۴/۶۱ hijk	۱۰/۵۰ ghij	۱۱/۴۷ ghi
۱۰۰	۵/۲۰ ghijk	۱/۷۸ ijk	۵/۲۹ ghijk	۴/۲۱ hijk
۵۰	۳/۴۰ ijk	۱/۵۱ jk	۱/۶۹ ijk	۱/۳۶ jk
۰	۰/۴ k	۰ k	۰ k	۰ k

-حروف مشابه در مقابل میانگین های جدول بیانگر عدم اختلاف معنی‌دار در سطح ۵٪ بین آنها است.(LSD=9.841)

(جدول٤)- اثر غلظت های مختلف اسانس چهار گیاه دارویی (زیره سیاه، زیره سبز،زنیان و رازیانه) بر درصد عدم تفریخ تخم‌های نماتود ریشه گرهی گونه *M. javanica*

غلظت(ppm)	زیره سیاه	زیره سبز	زنیان	رازیانه
۲۰۰۰	۹۲/۳۲^{a}	۹۱/۱۰^{a}	۹۱/۴۲^{a}	۸۹/۱۲^{ab}
۱۰۰۰	۹۰/۲۹^{a}	۸۸/۱۷^{ab}	۸۶/۲۹^{abc}	۸۷/۰۴^{abc}
۵۰۰	۷۴/۲۸^{defgh}	۸۱/۵۷^{bcde}	۷۷/۷۶^{defg}	۸۱/۷۵^{bcd}
۲۰۰	۷۱/۷۳^{fghij}	۷۲/۹۷^{efghi}	۸۱/۱۳^{bcde}	۷۹/۴۳^{cdef}
۱۰۰	۷۰/۵۴^{ghij}	۷۴/۹۲^{defgh}	۷۶/۹۳^{defg}	۷۱/۲۷^{ghij}
۵۰	۶۵/۱۶^{ij}	۶۹/۹۶^{ghij}	۷۲/۷۸^{efghi}	۷۳/۲۰^{efghi}
۰	۶۵/۳۵^{hij}	۶۶/۸۳^{hij}	۷۳/۰۹^{j}	۶۸/۴۲^{ij}

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

(جدول۵)- 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_{50} (ppm)		LC_{90} (ppm)	
	لارو سن دوم	تخم	لارو سن دوم	تخم
زیره سیاه (*Bunium persicum*)	۱۰۸۴(۴۱۰-۳۶۸۰)*	۷۷۵(۳۴۰-۱۵۹۰)	۴۹۸۰	۳۳۵۰
زیره سبز (*Cuminum cyminum*)	۷۵۴(۳۶۰-۲۷۴۰)	۷۰۶(۴۵۰-۱۱۰۰)	۲۳۵۹	۱۳۰۱۸
زنیان (*Carum copticum*)	۱۹۳۸(۱۰۸۰-۷۱۸۰)	۳۱۱(۳۴-۷۸۰)	۱۵۲۹۱	۱۴۲۶
رازیانه (*Foeniculum vulgare*)	۷۷۳(۳۷۰-۲۲۸۰)	۷۰۶(۴۴۰-۱۱۵۰)	۲۶۹۱	۱۰۵۷۹

*اعداد داخل پرانتز حدود اطمینان ۹۵درصد را نشان می‌دهد.

بحث

در این آزمایشات اسانس تمامی گیاهان دارویی مورد استفاده در غلظت ppm۲۰۰۰ اثر نماتودکشی مطلوبی را نشان می‌دهند. بطوری‌که تقریباً تأثیر بیش از ۹۰درصد در مرگ و میر لارو و بیش از ۲۰درصد در عدم تفریخ تخم(نسبت به شاهد) داشتند (جدول۳و۴). اکا و همکاران (۱۱) گزارش کردند که غلظت‌های 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* می‌شوند. همچنین چهار ترکیب روغن گیاهی در غلظت ۱۲۵ میکرولیتر در لیتر مانع تفریخ 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 می‌باشند (۳). اسانس‌های حاوی کارواکرول مؤثرتر از اسانس‌های حاوی تیمول بودند. آنها خاطر نشان کردند که ارتباط قوی بین فعالیت نماتودکشی و حشره‌کشی این ترکیبات وجود دارد (۱۱).

ابراهیم و همکاران (۷) اثر اسانس و عصاره رازیانه و چندگیاه دیگر را بر تفریخ، 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 وتخم نماتود ریشه گرهی گونه *M. javanica* از خود نشان دادند و این اولین گزارش از فعالیت نماتودکشی این گیاهان می‌باشد. بنابراین شناسایی ترکیبات مؤثر موجود در اسانس این گیاهان که دارای خاصیت نماتودکشی هستند لازم به نظر میرسد.

تخم نماتود جزء مقاوم‌ترین مراحل در چرخه زندگی نماتود است و این شاید به‌خاطر وجود پوسته سه لایه اطراف تخم می‌باشد(۱۹). مسلماً تخم نسبت به لارو مقاوم‌تر است. در این تحقیق نتایج حاصل از آنالیز پروبیت (جدول ۵) بیانگر این نیست که لارو نماتود مقاوم‌تر از تخم بوده است زیرا تفاوت در میان مقادیر LC_{50} در تخم و لارو به روش انجام آزمایش و مدت زمان قرارگیری تخم و لارو در معرض اسانس مربوط می‌شود. 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 تفریخ تخم در آزمایش بررسی اثر نماتودکشی اسانس، بعد از ۱۴ روز و بدون حذف اسانس محاسبه شد. عکس العمل لاروهای نماتود به نوع گیاه اسانس‌گیری شده، غلظت اسانس و زمان قرارگیری لارو در معرض اسانس و نیز روش انجام آزمایش بستگی دارد.

نحوه‌ی عمل اسانس‌ها از اهمیت کاربردی برای مهار نماتودها برخوردار می‌باشد زیرا می‌تواند اطلاعات مفیدی که در تهیه

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 می شوند (۱۱). البته در مورد نماتودها هم می تواند تأثیر روی فعالیت استیل‌کولین‌استراز 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 کرده اند. 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).

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 هرکدام 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.

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، جلد۴۱، شماره۳ ، 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 viscose* 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.