تاثیر عصاره هیدروالکلی گیاهان نعناع‌فلفلی، اکالیپتوس و سیر بر فعالیت نماتود مولد زخم ریشه چای (*Pratylenchus loosi*) در شرایط آزمایشگاهی

The effect of hydroalcoholic extracts of *Mentha piperita* L., *Eucalyptus camaldulensis* and *Allium sativum* on biological inhibition of *Pratylenchus loosi* in vitro

نیلوفر محفوظی[1]، علی سراجی[2*]، صنم صفائی چائی‌کار[2] و ابوالفضل یحیوی‌آزاد[3و4]

دریافت: ۱۳۹۶/۴/۳ پذیرش: ۱۳۹۶/۱۰/۲

چکیده

در این تحقیق، اثر بازدارندگی عصاره‌های آبی، اتانولی و متانولی سه گیاه دارویی نعناع‌فلفلی *Mentha piperita L.*، اکالیپتوس *Eucalyptus camaldulensis* و سیر *Allium sativum* بر درصد مرگ و میر تمام مراحل لاروی و بالغین نماتود مولد زخم ریشه چای (*Pratylenchus loosi*)، در پژوهشکده چای کشور مورد بررسی قرار گرفت. آزمایش در قالب فاکتوریل بر پایه طرح آماری کاملاً تصادفی با سه تکرار انجام شد. پنج سطح غلظت‌های مختلف از هر یک از عصاره‌های گیاهی نعناع‌فلفلی (صفر، ۵۰۰، ۱۰۰۰، ۱۵۰۰ و ۲۰۰۰ پی‌پی‌ام)، اکالیپتوس (صفر، ۵۰۰، ۱۱۰۰، ۲۳۰۰ و ۴۰۰۰ پی‌پی‌ام) و سیر (صفر، ۵۰، ۱۲۵، ۲۵۰ و ۵۰۰ پی‌پی‌ام) به عنوان فاکتور اول و فاکتور دوم شامل چهار بازه زمانی ۲۴، ۴۸، ۷۲ و ۹۶ ساعت در نظر گرفته شدند. نتایج حاصل از تأثیر تیمارهای مختلف روی مرگ و میر سن‌های مختلف لاروی و بالغین نماتود مولد زخم ریشه چای نشان داد که بین غلظت‌ها و بازه‌های زمانی تفاوت بسیار معنی‌داری در سطح احتمال یک درصد وجود دارد. بر اساس نتایج حاصل از مقایسه میانگین اثرات متقابل غلظت × بازه زمانی، هر یک از عصاره‌ها تأثیر قابل توجهی را در مرگ و میر لاروها و بالغین نشان دادند و نتایج حاکی از کارآیی بالای متابولیت‌های ثانویه موجود در عصاره‌های گیاهان مذکور در جهت غیر فعال-سازی نماتود مولد زخم ریشه چای بود. بیشترین درصد مرگ و میر لاروها و بالغین نماتود با استفاده از ۵۰۰ پی‌پی‌ام عصاره سیر پس از گذشت ۹۶ ساعت به‌ترتیب با ۹۳/۹۰ و ۹۰/۹۲ درصد مشاهده گردید.

واژگان کلیدی: چای، *Pratylenchus loosi*، عصاره‌های گیاهی، درصد کنترل کنندگی جمعیت

۱- دانشجوی سابق کارشناسی‌ارشد، گروه بیماری‌شناسی گیاهی، مؤسسه آموزش عالی غیرانتفاعی دیلمان، لاهیجان، ایران

۲- استادیار پژوهشی بیماری‌شناسی گیاهی و اصلاح نباتات، پژوهشکده چای، موسسه تحقیقات علوم باغبانی، سازمان تحقیقات، آموزش و ترویج کشاورزی، لاهیجان، گیلان، ایران.

۳- دانشجوی سابق کارشناسی‌ارشد، گروه بیماری‌شناسی گیاهی، دانشگاه رازی کرمانشاه، کرمانشاه، ایران

۴- مربی، گروه گیاه‌پزشکی، مؤسسه آموزش عالی غیرانتفاعی دیلمان، لاهیجان، ایران.

نویسنده مسئول مکاتبات: seraji1167@gmail.com

مقدمه

چای گیاهی است با نام علمی *Camellia sinensis* (L.) O. Kuntze، که شناخت و مدیریت بیماری‌های آن بخشی از نیاز-های تحقیقاتی مربوط به تولید این محصول صنعتی مهم می‌باشد. نماتود مولد زخم ریشه چای با نام علمی *Pratylenchus loosi* یکی از مهم‌ترین عوامل خسارت‌زای چای در کشورهایی همچون سری‌لانکا، هندوستان، چین، ژاپن و بنگلادش می‌باشد (Compos *et al*., 1990). در ایران، این نماتود در سال ۱۳۶۸ روی نهال‌های وارداتی چای از کشور ژاپن در ایستگاه تحقیقات چای کاشف سیاهکل (ازبرم) مشاهده و در سال ۱۳۷۱ گزارش گردید (تنهامعافی، ۱۳۷۱). در سال‌های اخیر این نماتود به‌عنوان عامل بیماری‌زای کلیدی و خسارت‌زای چای به‌حساب آمده و به‌طوری‌که میزان رشد گیاهان آلوده شدیداً کاهش یافته و میزان محصول افت شدید داشته است (تنهامعافی و میرحسینی‌مقدم،۱۳۸۰؛ سراجی و همکاران، ۱۳۸۶). در حال حاضر، از مجموع ۳۲ هزار هکتار باغ چای در شمال کشور، بیش از ۲۰ هزار هکتار آن آلوده به این نماتود انگل می‌باشد (باقری و سراجی، ۱۳۹۱).

امروزه به‌دلیل بروز برخی مشکلات و تهدیدهای ناشی از مصرف سموم شیمیایی در سیستم‌های کشاورزی، گرایش زیادی به استفاده از پتانسیل بالقوه مواد بیولوژیکی در کنترل آفات، بیماری‌ها و علف‌های هرز شده است (Edris and Farrag, 2003; Pitaroki *et al*., 2002). در این بین استفاده از ترکیب‌های طبیعی گیاهان برای دست‌یابی به هدف فوق مورد توجه پژوهشگران زیادی قرار گرفته است (Pitaroki *et al*., 2003; Muyima *et al*., 2004). استفاده از ترشحات ریشه‌ای، عصاره‌ها، کنجاله و ضایعات گیاهان دارویی و سمی به‌دلیل برخورداری از ویژگی‌هایی چون مکانیسم عمل اختصاصی، طیف اثر محدود و قابلیت تجزیه به متابولیت‌های غیر سمی، به‌عنوان روشی مطمئن، آسان و ارزان در اصلاح خاک و کنترل نماتودهای انگل گیاهی می-تواند مؤثر واقع شود (Sharma *et al*., 1980; Javed *et al*., 2008).

گیاه نعناع فلفلی *Mentha piperita* از خانواده Lamiaceae از جمله گیاهان دارویی و معطری است که اسانس آن مصارف دارویی، غذایی، آرایشی و بهداشتی فراوانی دارد (Foster, 1996; Peirce, 1999). ترکیبات موجود در این گیاه دارای خاصیت آنتی‌اکسیدانی، قارچ‌کشی و حشره‌کشی می‌باشند (Iserin, 2001; Pavela, 2005; Yadegariani *et al*., 2006). خاصیت ضدمیکروبی آن علیه *Escherichia coli*، *Staphylococcus aureus* و *Candida albicans* تأیید شده است (Aridogan *et al*., 2002; Yadegariani *et al*., 2006). اثر عصاره این گیاه روی تشکیل مایه قارچ‌های اندوفیت برگی مورد بررسی قرار گرفته و تأثیر بازدارندگی آن به اثبات رسیده است (Mucciarelli *et al*., 2003). وجود شش ماده شیمیایی به نام‌های ایزومنتول، پلی-گون، نئومنتول، منتول، پیپریتون و نئوایزومنتول در روغن این گیاه مشخص شده است (Schnelle and Hoerst, 1960; Lawrence, 1998؛ صارمی، ۱۳۸۴). نئوترپن‌ها و سزکویی‌ترپن‌ها نیز در گیاه نعناع فلفلی سنتز می‌شود (McCaskill and Croteau, 1995). وجود فلاونوئیدها در برگ نیز گزارش شده است (Hoffmann and Lunder, 1984). فلاونوئیدها گروهی از متابولیت‌های ثانویه هستند که در بسیاری از فعالیت‌های دفاعی گیاه دخالت دارند (Bahraminejad *et al*., 2008).

گیاه اکالیپتوس با نام علمی *Eucalyptus camaldulensis* منبع غنی از پلی‌فنول و ترپنوئیدهاست و ترکیب اصلی برگ آن سینئول (۵۰ ٪ تا ۸۰ ٪) به فرمول $C_{10}H_{18}O$ می‌باشد که به نام‌های اوکالیپتول و کاژه پوتول نیز نامیده می‌شود (صمصام و معطر، ۱۳۷۰). مهم‌ترین مواد مؤثره به‌دست آمده از عصاره‌گیری گیاه مذکور Tannins، Saponins و Cardiac Glycosides می‌باشند (Ayepola and Adeniyi, 2008). استفاده از اسانس اکالیپتوس، کما و باریجه در کنترل نماتود ریشه گرهی *Meloidogyne javanica* توسط خیاط و همکاران (۱۳۹۱) مورد بررسی قرار گرفت و نتایج نشان داد که اسانس اکالیپتوس علیه لارو سن دوم و تخم، مؤثرتر از سایر اسانس‌های مورد مطالعه می‌باشد. در راستای کاهش مصرف سموم و با در نظر گرفتن اهمیت مرکبات در ایران، پلاشی و همکاران (پلاشی و همکاران، ۱۳۹۲) اثر عصاره‌های آبی دو گیاه دارویی اکالیپتوس و آویشن شیرازی (*Zataria multiflora*) بر نماتود مرکبات را در شرایط آزمایشگاهی و گلخانه‌ای و تعامل آن با قارچ عامل گموز مرکبات در شرایط گلخانه روی دو پایه نارنج و بکرایی مورد بررسی قرار دادند. نتایج نشان داد که عصاره هر دو گیاه در غلظت‌های مورد آزمایش باعث مرگ و میر قابل توجه لاروهای سن دوم نماتود شدند. در گزارشی که فرجی و همکاران (Faraji *et al*., 2015) در ارتباط با تاثیر اسانس‌های اکالیپتوس، زیره سبز و نعناع‌فلفلی علیه سوسک چهار نقطه‌ای حبوبات (*Callosobruchus maculatus*) ارائه دادند؛ هر سه اسانس گیاهی پس از گذشت ۲۴ ساعت به طور معنی‌داری موجب مرگ و میر آفت شدند و

هم‌چنین استفاده توأم اسانس‌های گیاهی یعنی کاربرد هم‌زمان دو ترکیب، خاصیت کشندگی بیش‌تری نسبت به کاربرد هر یک از آن‌ها به‌تنهایی روی حشرات ماده سوسک چهار نقطه‌ای حبوبات داشت.

سیر با نام علمی *Allium sativum* گیاهی دوساله با پیازی مرکب می‌باشد. ترکیب‌های موجود در سیر به دو گروه عمده ترکیب‌های سولفوره و غیرسولفوره تقسیم می‌شوند و خواص دارویی سیر عمدتاً به دلیل حضور ترکیب سولفوره‌ای به نام آلیسین می‌باشد (دهخوارخانی، ١٣٧٣). آلیسین که در اثر عمل آنزیم آلئیناز از آلئین ایجاد می‌شود، مهم‌ترین ماده ضدمیکروبی سیر است (Block, 1992; Ahsam, 1999; Emest, 1987; Silagy and Neil, 1994)، این ترکیب آنتی‌بیوتیکی اثر کشندگی بر روی نماتودهای گیاهی دارد (Kumar and Berwal, 1998).

با توجه به اهمیت نماتود مولد زخم ریشه چای در باغ‌های چای شمال کشور، مدیریت و مهار آن جزو اولویت‌های اصلی بخش تحقیقات گیاه‌پزشکی پژوهشکده چای کشور است. بنابراین، هدف از این مطالعه تعیین تأثیر عصاره‌های آبی، متانولی و اتانولی گیاهان نعناع‌فلفلی، اکالیپتوس و سیر بر میزان مرگ و میر لاروها و بالغین نماتود مولد زخم ریشه چای در شرایط آزمایشگاه بود؛ که در صورت کارا بودن در شرایط طبیعی نیز مورد آزمایش و تحقیق قرار گیرد.

مواد و روش‌ها

الف) استخراج نماتود مولد زخم *P. loosi* از ریشه چای

به‌منظور فراهم نمودن جمعیت مورد نیاز نماتود، از یک باغ چای آلوده به نماتود مولد زخم ریشه *P. loosi* واقع در روستای زیده در شهرستان فومن، نمونه خاک و ریشه جمع‌آوری شد. برای استخراج نماتود از ریشه، از روش استخراج سینی (Whitehead and Hemming, 1965) استفاده گردید. نماتودها بلافاصله پس از استخراج با استفاده از محلول سولفات استرپتومایسین ٢٠٠٠ قسمت در میلیون به مدت ٢۴ ساعت ضدعفونی شدند. پس از سه مرتبه شستشو با آب مقطر سترون، از این نماتودها برای بررسی آزمون استفاده گردید (Pinochet *et al*., 1995).

ب) آماده‌سازی عصاره های گیاهی

گیاه نعناع فلفلی در مرحله گل‌دهی از مزرعه‌ای در استان فارس در شیراز جمع‌آوری و پس از شستشو و خشک‌کردن و جداکردن برگ از ساقه، به‌وسیله آسیاب خرد گردید؛ به‌طوری‌که از الک یک مش که معادل است با ۴,٧۵ میلی‌متر عبور کند (عبدالمالکی و همکاران، ١٣٨٧). برگ‌های درخت اکالیپتوس در مرداد ماه ١٣٩۶ از ایستگاه گل و گیاهان زینتی شهرستان لاهیجان جمع‌آوری گردید. گیاه در سایه و دمای مناسب خشک شد، سپس توسط آسیاب پودر گردید (Dezfooli *et al*., 2011). در تابستان ١٣٩۶، از بازار شهرستان لاهیجان سیر بودار تهیه گردید. به‌منظور آماده‌سازی بافت گیاهی، بولب‌های سیر را ابتدا جدا و سپس پوست کنده و پس از شستشو و تمیز کردن، به مدت دو هفته در مجاورت نور غیرمستقیم در محیط، خشک گردید. بعد از آن‌که کاملاً خشک شد، آن‌ها را در خردکن آسیاب کرده و پودر سیر تهیه شد (موسوی و همکاران، ١٣٨۶).

ج) عصاره‌گیری با استفاده از حلال‌های مختلف

عصاره‌گیری با آب: در این روش مقدار ١٠ گرم از پودر خشک آسیاب شده اندام‌های هوایی گیاهان نعناع‌فلفلی و اکالیپتوس با ٢٠٠ میلی‌لیتر آب مقطر استریل مخلوط و در بن‌ماری جوش به مدت ٣ ساعت قرار داده شد. سپس با استفاده از کاغذ صافی واتمن شماره یک صاف شد و به منظور تبخیر آب و استحصال عصاره در آون در دمای ۵۵/۵ درجه سلسیوس برای نعناع فلفلی ١٢ ساعت (Azimi *et al*., 2006) و ۴۵ درجه سلسیوس برای اکالیپتوس به مدت ١٢ ساعت (انصاری دزفولی و همکاران، ١٣٩١) قرار داده شد. به‌منظور تهیه عصاره آبی سیر، ۵٠٠ گرم پودر سیر به مدت چهار روز در ٢۵٠ سی‌سی آب مقطر استریل در دمای آزمایشگاه نگه‌داری و سپس به مدت ۴٨ ساعت در دمای ۵٠ درجه سلسیوس خشک شد (موسوی و همکاران، ١٣٨۶).

عصاره‌گیری با متانول: مقدار ۱۰ گرم از پودر خشک آسیاب شده نعناع‌فلفلی در ۲۰۰ میلی‌لیتر متانول به مدت ۲۴ ساعت در دمای ۲۰ درجه سلسیوس روی شیکر قرار داده شد. سپس با استفاده از کاغذ صافی واتمن شماره یک صاف شده، به منظور تبخیر متانول و استحصال عصاره به مدت یک روز در زیر هود نگهداری شد (Bahraminejad *et al*., 2008) و به دلیل حساس بودن عصاره به شرایط محیطی در آون در دمای ۵۵/۵ درجه سلسیوس به مدت ۲۴ ساعت خشک گردید. همچنین مقدار ۱۰۰ گرم پودر تهیه شده اکالیپتوس در بشر دو لیتری ریخته شد و به آن ۱۰۰۰ میلی‌لیتر متانول ۹۶/۵ درجه اضافه گردید و با دستگاه شیکر به مدت ۲۴ساعت به هم زده شد. محلول عصاره متانولی از کاغذ صافی عبور داده شد، سپس توسط پمپ خلاء، الکل آن تبخیر گردید و در آون تحت دمای ۴۰ درجه سلسیوس خشک شد (صمدانی و باغستانی، ۱۳۸۲؛ He *et al*., 2002). عصاره متانولی سیر همانند عصاره آبی سیر (متانول ۹۶ درصد به جای آب) تهیه گردید (موسوی و همکاران، ۱۳۸۶).

عصاره‌گیری با اتانول: عصاره‌گیری با اتانول برای هر سه گیاه، مطابق روش عصاره‌گیری با متانول انجام گرفت؛ با این تفاوت که به‌جای متانول، از اتانول استفاده گردید.

د) ارزیابی اثر بازدارندگی عصاره‌های گیاهی روی نماتود

به‌منظور بررسی تأثیر عصاره‌ها بر میزان مرگ و میر لاروها و بالغین، تعداد ۱۰۰ عدد لاروهای سنین مختلف و ۱۰۰ عدد نماتودهای بالغ نر و ماده به پتری‌دیش‌های استریل حاوی عصاره‌های آبی، اتانولی و متانولی نعناع‌فلفلی، اکالیپتوس و سیر هر یک با غلظت‌های مشخص ۵۰۰، ۱۰۰۰، ۱۵۰۰ و ۲۰۰۰ پی‌پی‌ام برای عصاره‌های هیدروالکلی نعناع‌فلفلی (عبدالمالکی و همکاران، ۱۳۸۷)، ۵۰۰، ۱۱۰۰، ۲۳۰۰ و ۴۰۰۰ پی‌پی‌ام برای عصاره‌های هیدروالکلی اکالیپتوس (خیاط و همکاران، ۱۳۹۱) و غلظت‌های ۵۰، ۱۲۵، ۲۵۰ و ۵۰۰ پی‌پی‌ام برای عصاره‌های هیدروالکلی سیر (زارع‌بیدکی و همکاران، ۱۳۸۹) اضافه گردید. غلظت صفر به عنوان شاهد در نظر گرفته شد. ظروف پتری در دمای محیط در آزمایشگاه نگه‌داری شدند. میزان مرگ و میر لاروها و بالغین هرکدام بعد از ۲۴، ۴۸، ۷۲ و ۹۶ ساعت جهت ارزیابی تأثیر عصاره‌ها شمارش گردید. برای هریک از عصاره‌ها به‌طور جداگانه بازه زمانی پنج روزه در نظر گرفته شد.

ه) آنالیز داده‌ها

آزمایش در قالب فاکتوریل در پایه طرح آماری کاملاً تصادفی با ۳ تکرار انجام گردید. فاکتور اول شامل غلظت‌های مختلف هر یک از عصاره‌های گیاهی در ۵ سطح و فاکتور دوم شامل بازه‌های زمانی در ۴ سطح بود. به‌منظور تجزیه و تحلیل داده‌های آماری از نرم‌افزار SAS نسخه ۹/۴ استفاده گردید. برای انجام مقایسه میانگین از آزمون LSD در سطح احتمال ۵٪ استفاده شد.

نتایج

پس از جداسازی نماتود مولد زخم ریشه *P. loosi* و بر اساس ویژگی‌های ریخت‌شناسی و ریخت‌سنجی نماتودهای بالغ و شرح گونه ارائه شده توسط کاستیلو و وولواس (Castillo and Volvas, 2007)، جمعیت مورد مطالعه با گونه *Pratylenchus loosi* مطابقت کامل داشت.

تاثیر عصاره‌های آبی، اتانولی و متانولی نعناع فلفلی بر مرگ و میر نماتود زخم ریشه

نتایج تجزیه واریانس اثر عصاره‌های آبی، اتانولی و متانولی نعناع‌فلفلی بر میزان مرگ و میر سنین مختلف لاروی و بالغین نماتود مولد زخم ریشه چای نشان داد که بین غلظت‌ها و بازه‌های زمانی مختلف تفاوت بسیار معنی‌داری در سطح احتمال یک درصد وجود دارد (جدول ۱). اثر متقابل غلظت × بازه زمانی عصاره آبی و اتانولی نعناع‌فلفلی به‌ترتیب در سطح احتمال یک و پنج درصد در لاروها و بالغین معنی‌دار گردید، درحالی‌که در رابطه با عصاره متانولی اختلاف معنی‌داری مشاهده نشد (جدول ۱). نتایج حاصل از مقایسه میانگین اثر متقابل غلظت‌های مختلف و بازه‌های زمانی نشان داد که عصاره آبی نعناع‌فلفلی با

غلظت ۲۰۰۰ پی‌پی‌ام (جدول ۲) پس از گذشت ۹۶ ساعت (جدول ۳)، بیشترین تأثیر را در میزان مرگ و میر لاروهای نماتود مولد زخم ریشه نشان داد و با سایر تیمارها اختلاف بسیار معنی‌داری داشت. در رابطه با بالغین، غلظت ۱۵۰۰ پی‌پی‌ام (جدول ۲) عصاره آبی نعناع فلفلی پس از گذشت ۹۶ ساعت (جدول ۳) بیشترین میزان مرگ و میر بالغین نماتود مولد زخم ریشه چای را در پی داشت، به‌طوری‌که بین این غلظت و ۲۰۰۰ پی‌پی‌ام از نظر تأثیر بر میزان مرگ و میر بالغین تفاوت معنی‌داری مشاهده نگردید. هم‌چنین غلظت ۲۰۰۰ پی‌پی‌ام عصاره اتانولی و متانولی نعناع‌فلفلی پس از گذشت ۹۶ ساعت منجر به بیشترین میزان مرگ و میر سنین مختلف لاروی و بالغین نماتود مولد زخم ریشه چای شد (جداول ۲ و ۳). نتایج حاصل از مقایسه میانگین اثر متقابل غلظت × بازه زمانی عصاره‌های آبی و اتانولی نعناع فلفلی نشان داد که بیشترین میزان مرگ و میر لاروها متعلق به غلظت ۲۰۰۰ پی‌پی‌ام عصاره‌های آبی و اتانولی نعناع فلفلی پس از گذشت ۹۶ ساعت به ترتیب با ۸۱/۱۶ و ۷۹/۵۲ درصد بود. غلظت ۱۵۰۰ پی‌پی‌ام عصاره آبی و غلظت ۲۰۰۰ پی‌پی‌ام عصاره اتانولی نعناع فلفلی پس از گذشت ۹۶ ساعت منجر به بیشترین میزان مرگ و میر بالغین به ترتیب با ۶۲/۶۰ و ۸۷/۳۰ درصد گردید (جدول ۴).

تأثیر عصاره‌های آبی، اتانولی و متانولی اکالیپتوس بر مرگ و میر نماتود زخم ریشه

نتایج تجزیه واریانس اثر عصاره‌های آبی، اتانولی و متانولی اکالیپتوس بر میزان مرگ و میر سنین مختلف لاروی و بالغین نماتود مولد زخم ریشه چای، نشان داد که بین غلظت‌ها و بازه‌های زمانی مختلف تفاوت بسیار معنی‌داری در سطح احتمال یک درصد وجود دارد (جدول ۱). اثر متقابل غلظت × بازه زمانی عصاره اتانولی اکالیپتوس بر میزان مرگ و میر لاروها در سطح احتمال پنج درصد معنی‌دار گردید، درحالی‌که اثر متقابل غلظت × بازه زمانی عصاره‌های آبی و متانولی اکالیپتوس معنی‌دار نگردید. در ارتباط با تأثیر عصاره‌های آبی، اتانولی و متانولی اکالیپتوس بر میزان مرگ و میر لاروها و بالغین، غلظت۴۰۰۰ پی‌پی‌ام پس از گذشت ۹۶ ساعت بیشترین تأثیر را در میزان مرگ و میر لاروها و بالغین نماتود مولد زخم ریشه چای داشتند (جداول ۲ و ۳). نتایج حاصل از مقایسه میانگین اثر متقابل غلظت × بازه زمانی نشان داد که بیشترین میزان مرگ و میر لاروها متعلق به غلظت ۴۰۰۰ پی‌پی‌ام عصاره اتانولی اکالیپتوس پس از گذشت ۹۶ ساعت با ۶۸/۸۸ درصد بود (جدول ۴).

تأثیر عصاره‌های آبی، اتانولی و متانولی سیر بر مرگ و میر نماتود زخم ریشه

نتایج تجزیه واریانس اثر عصاره‌های آبی، اتانولی و متانولی سیر بر میزان مرگ و میر سنین مختلف لاروی و بالغین نماتود مولد زخم ریشه چای، نشان داد که بین غلظت‌ها و بازه‌های زمانی مختلف تفاوت بسیار معنی‌داری در سطح احتمال یک درصد وجود دارد (جدول ۱). نتایج اثر متقابل غلظت × بازه زمانی عصاره‌های مختلف گیاه سیر روی سنین مختلف لاروی و بالغین نماتود مولد زخم ریشه چای در بیشتر موارد معنی‌دار گردید؛ به‌طوری‌که این اثر در عصاره‌های آبی و اتانولی سیر بر لاروها و بالغین نماتود مولد زخم ریشه چای در سطح احتمال یک درصد و در عصاره متانولی در سطح احتمال پنج درصد روی بالغین معنی‌دار گردید. نتایج حاصل از مقایسه میانگین تأثیر غلظت‌های مختلف (جدول ۲) و بازه‌های زمانی (جدول ۳) عصاره‌های آبی، اتانولی و متانولی سیر بر میزان مرگ و میر لاروها و بالغین نشان داد که عصاره‌های آبی، اتانولی و متانولی سیر با غلظت ۵۰۰ پی‌پی‌ام پس از گذشت ۹۶ ساعت، بیشترین تأثیر را در میزان مرگ و میر لاروها و بالغین نماتود مولد زخم ریشه چای داشتند. نتایج حاصل از مقایسه میانگین اثر متقابل غلظت × بازه زمانی نشان داد که بیشترین میزان مرگ و میر لاروها متعلق به غلظت ۵۰۰ پی‌پی‌ام عصاره‌های آبی و اتانولی سیر پس از گذشت ۹۶ ساعت به ترتیب با ۹۰/۹۰ و ۹۳/۹۰ درصد بود. همچنین بیشترین میزان مرگ و میر بالغین متعلق به غلظت ۵۰۰ پی‌پی‌ام عصاره‌های آبی، اتانولی و متانولی سیر پس از گذشت ۹۶ ساعت به ترتیب با ۹۷/۸۰، ۹۰/۹۲ و ۶۶/۸۱ درصد بود (جدول ۴).

جدول ۱- تجزیه واریانس تأثیر عصاره‌های آبی، اتانولی و متانولی نعناع‌فلفلی، اکالیپتوس و سیر بر میزان مرگ و میر لاروها و بالغین نماتود مولد زخم ریشه چای

Table 1. Analysis of variance of the effect of aqueous, ethanolic and methanolic extracts of mint, eucalyptus and garlic on the mortality rate of juveniles and adults of tea root lesion nematode

			MS				میانگین مربعات	
	منابع تغییرات SOV	درجه آزادی Df.	عصاره آبی Aqueous extract		عصاره اتانولی Ethanolic extract		عصاره متانولی Methanolic extract	
			لارو Juvenile	بالغین Adults	لارو Juvenile	بالغین Adults	لارو Juvenile	بالغین Adults
نعناع فلفلی Mint	غلظت Concentration	4	7070.04**	3710.80**	8358.14**	8803.38**	6079.02**	6243.52**
	زمان Time	3	2311.24**	1189.72**	487.30**	1029.19**	758.50**	741.01**
	غلظت × بازه زمانی Concentration× Time	12	96.68**	90.86**	31.59*	69.32*	29.72ns	35.60ns
	خطا Error	40	43.32	25.26	15.73	29.34	35.44	55.18
	کل Total	59	-	-	-	-	-	-
	ضریب تغییرات CV	-	14.04	14.36	7.74	11.48	13.24	17.70
اکالیپتوس Eucalyptus	غلظت Concentration	4	5415.90**	3979.62**	4857.51**	5152.29**	5381.42**	2619.13**
	زمان Time	3	581.44**	670.98**	235.86**	377.02**	699.83**	499.23**
	غلظت × بازه زمانی Concentration× Time	12	13.86ns	17.29ns	11.96*	1556ns	14.38ns	21.02ns
	خطا Error	40	15.62	10.10	4.90	9.73	30.10	12.53
	کل Total	59	-	-	-	-	-	-
	ضریب تغییرات CV	-	8.98	8.70	5.07	8.30	12.16	12.01
سیر Garlic	غلظت Concentration	4	5765.01**	9242.96**	5342.32**	6236.24**	6524.68**	5197.41**
	زمان Time	3	2341.37**	4933.39**	1446.74**	1950.91**	554.87**	1058.83**
	غلظت × بازه زمانی Concentration× Time	12	230.28**	950.66**	231.58**	537.91**	18.71ns	58.35*
	خطا Error	40	28.34	15.12	9.70	11.97	19.65	25.69
	کل Total	59	-	-	-	-	-	-
	ضریب تغییرات CV	-	13.84	12.51	8.58	11.50	9.14	12.85

ns، * و **: به ترتیب غیر معنی‌دار و معنی‌دار در سطح احتمال ۵٪ و ۱٪

ns, * and **: Non-significant and significant at the probability level of %5 and %1, respectively.

جدول ٢- مقایسه میانگین تأثیر غلظت عصاره‌های آبی، اتانولی و متانولی نعناع‌فلفلی، اکالیپتوس و سیر بر میزان مرگ و میر لاروها و بالغین نماتود مولد زخم ریشه چای

Table 2. Comparison of the mean effect of concentration of aqueous, ethanolic and methanolic extracts of mint, eucalyptus and garlic on the mortality rate of juveniles and adults of tea root lesion nematode

	غلظت (ppm) Concentration (ppm)	عصاره آبی Aqueous extract		عصاره اتانولی Ethanolic extract		عصاره متانولی Methanolic extracts	
		لارو Juvenile	بالغین Adults	لارو Juvenile	بالغین Adults	لارو Juvenile	بالغین Adults
نعناع فلفلی Mint	0	8.54^{e}	5.12^{d}	4.55^{c}	2.73^{e}	6.75^{d}	4.52^{c}
	500	39.27^{d}	33.33^{c}	58.79^{b}	42.06^{d}	45.14^{c}	40.17^{b}
	1000	54.77^{c}	43.38^{b}	61.25^{b}	55.42^{c}	52.73^{b}	44.88^{b}
	1500	61.10^{b}	47.99^{a}	61.95^{b}	65.29^{b}	54.87^{b}	57.73^{a}
	2000	70.64^{a}	45.12^{ab}	69.53^{a}	70.35^{a}	65.16^{a}	62.42^{a}
اکالیپتوس Eucalyptus	0	8.54^{e}	5.12^{e}	9.52^{e}	2.90^{e}	7.68^{d}	4.31^{d}
	500	41.66^{d}	38.54^{d}	44.73^{d}	36.80^{d}	50.26^{c}	28.27^{c}
	1100	51.59^{c}	41.29^{c}	47.17^{c}	41.73^{c}	53.19^{bc}	36.22^{b}
	2300	56.11^{b}	46.18^{b}	56.08^{b}	51.13^{b}	55.21^{a}	38.17^{ab}
	4000	62.40^{a}	51.38^{a}	60.56^{a}	55.28^{a}	59.22^{a}	40.29^{a}
سیر Garlic	0	5.06^{e}	2.07^{e}	5.06^{d}	2.07^{d}	7.68^{d}	4.31^{d}
	50	31.56^{d}	10.85^{d}	27.56^{c}	16.11^{c}	53.74^{c}	37.53^{c}
	125	40.28^{c}	21.86^{c}	42.89^{b}	33.82^{b}	54.91^{c}	48.42^{b}
	250	54.84^{b}	55.90^{b}	45.00^{b}	35.82^{b}	59.85^{b}	49.97^{b}
	500	60.53^{a}	64.68^{a}	60.98^{a}	62.51^{a}	66.16^{a}	56.84^{a}

میانگین‌ها با حروف مشابه در هر ردیف فاقد اختلاف معنی‌دار در سطح احتمال ۵٪ هستند

Means within each row followed by the same letter are not statistically different (P<0.05).

جدول ٣- مقایسه میانگین تأثیر بازه‌های زمانی عصاره‌های آبی، اتانولی و متانولی نعناع‌فلفلی، اکالیپتوس و سیر بر میزان مرگ و میر لاروها و بالغین نماتود مولد زخم ریشه‌ی چای

Table 3. Comparison of the mean effect of time intervals of aqueous, ethanolic and methanolic extracts of mint, eucalyptus and garlic on the mortality of juveniles and adults of tea root lesion nematode

	زمان (ساعت) Time (hour)	عصاره آبی Aqueous extract		عصاره اتانولی Ethanolic extract		عصاره متانولی Methanolic extracts	
		لارو Juvenile	بالغین Adults	لارو Juvenile	بالغین Adults	لارو Juvenile	بالغین Adults
نعناع فلفلی Mint	24	31.50^{d}	25.28^{d}	44.63^{d}	37.12^{d}	36.72^{d}	33.77^{c}
	48	43.58^{c}	30.68^{c}	48.94^{c}	45.14^{c}	42.46^{c}	39.47^{b}
	72	51.65^{b}	38.35^{b}	53.44^{b}	49.50^{b}	47.03^{b}	44.22^{b}
	96	60.73^{a}	45.65^{a}	57.85^{a}	56.93^{a}	53.52^{a}	50.31^{a}
اکالیپتوس Eucalyptus	24	36.54^{c}	28.36^{d}	38.99^{d}	31.12^{d}	37.12^{c}	22.98^{d}
	48	42.80^{b}	34.18^{c}	42.59^{c}	36.46^{c}	43.02^{b}	27.09^{c}
	72	45.31^{b}	39.75^{b}	44.33^{b}	39.95^{b}	46.93^{b}	31.28^{b}
	96	51.59^{a}	43.71^{a}	48.54^{a}	42.75^{a}	53.39^{a}	36.46^{a}
سیر Garlic	24	25.48^{d}	13.80^{d}	26.26^{d}	17.43^{d}	41.17^{d}	28.68^{d}
	48	31.64^{c}	17.55^{c}	30.72^{c}	24.13^{c}	46.27^{c}	37.63^{c}
	72	42.97^{b}	42.52^{b}	39.88^{b}	35.82^{b}	51.24^{b}	42.91^{b}
	96	53.73^{a}	50.42^{a}	48.33^{a}	42.84^{a}	55.19^{a}	48.43^{a}

میانگین‌ها با حروف مشابه در هر ردیف فاقد اختلاف معنی‌دار در سطح احتمال ۵٪ هستند

Means within each row followed by the same letter are not statistically different (P<0.05).

جدول ۴-مقایسه میانگین اثر متقابل غلظت × بازه زمانی عصاره‌های آبی، اتانولی و متانولی نعناع‌فلفلی، اکالیپتوس و سیر بر میزان مرگ و میر لاروها و بالغین نماتود مولد زخم ریشه چای

Table 4. Comparison mean of the interactions of concentration × time intervals of aqueous, ethanolic and methanolic extracts of mint, eucalyptus and galic on the mortality rate of juveniles and adults of tea root lesion nematode

		غلظت/بازه زمانی	Juvenile			لارو	Adults			بالغین
		Concentration/Time	24h	48h	72h	96h	24h	48h	72h	96h
نعناع فلفلی Mint	عصاره آبی Aqueous extract	A	25.12^{i-k}	35.23^{g-i}	35.50^{g-i}	61.23^{a-f}	25.14^{f}	35.78^{d-f}	29.70^{ef}	42.69^{c-e}
		B	34.01^{h-j}	52.22^{e-h}	60.69^{b-f}	72.15^{a-e}	31.24ef	35.83^{d-f}	49.51^{a-d}	56.93^{a-c}
		C	42.37^{f-i}	54.43^{d-g}	72.63^{a-d}	74.99^{a-c}	34.46^{d-f}	36.37^{d-f}	58.55^{ab}	62.60^{a}
		D	55.99^{c-f}	68.71^{a-e}	76.72^{ab}	81.16^{a}	35.56^{d-f}	40.49^{d-f}	46.99^{b-d}	57.46^{a-c}
		E	0^{l}	7.33^{kl}	12.71^{kl}	14.15^{j-l}	0^{g}	4.91^{g}	7.00^{g}	8.59^{g}
	عصاره اتانولی Ethanolic extract	A	52.12^{f}	60.79^{b-f}	64.82^{b-e}	67.28^{a-d}	32.51^{h}	40.33^{gh}	44.92^{f-h}	50.50^{e-g}
		B	51.09^{f}	55.64^{d-f}	60.30^{b-f}	68.21^{a-d}	41.07^{gh}	53.19^{c-g}	58.53^{b-f}	68.89^{b-d}
		C	53.81^{ef}	58.19^{c-f}	66.78^{b-d}	69.03^{a-c}	52.71^{d-g}	64.72^{b-e}	69.58^{bc}	74.17^{ab}
		D	62.28^{b-f}	65.78^{b-e}	70.53^{ab}	79.52^{a}	57.91^{b-f}	64.97^{b-e}	71.21^{ab}	87.30^{a}
		E	3.87^{g}	4.30^{g}	4.75^{g}	5.30^{g}	1.40^{i}	2.47^{i}	3.27^{i}	3.79^{i}
اکالیپتوس Eucalyptus	عصاره اتانولی Ethanolic extract	A	41.55^{j}	43.30^{ij}	45.71^{h-j}	48.35^{f-j}	-	-	-	-
		B	44.08^{ij}	45.81^{h-j}	47.66^{g-j}	51.13^{e-h}	-	-	-	-
		C	49.12^{e-i}	55.13^{c-f}	57.32^{b-e}	62.77^{ab}	-	-	-	-
		D	53.37^{d-g}	59.23^{b-d}	60.76^{bc}	68.88^{a}	-	-	-	-
		E	6.84^{k}	9.48^{k}	10.18^{k}	11.57^{k}	-	-	-	-
سیر Garlic	عصاره آبی Aqueous extract	A	23.66^{g}	25.20^{g}	31.67^{e-g}	45.71^{c-e}	6.17^{gh}	6.55^{gh}	7.60^{gh}	23.08^{d-f}
		B	28.67^{fg}	34.29^{e-g}	43.24^{d-f}	54.93^{cd}	12.19^{f-h}	14.61^{e-g}	26.53^{c-e}	34.13^{cd}
		C	36.86^{e-g}	46.88^{c-e}	60.62^{bc}	75.01^{ab}	23.42^{d-f}	27.28^{cd}	79.82^{b}	93.10^{a}
		D	34.10e-g	47.40^{c-e}	73.86^{b}	90.90^{a}	26.03^{c-e}	37.64^{c}	96.33^{a}	97.11^{a}
		E	4.12	4.44^{h}	5.45^{h}	6.24^{h}	1.20^{h}	1.66^{h}	2.32^{gh}	3.09^{gh}
	عصاره اتانولی Ethanolic extract	A	20.89^{k}	23.67^{jk}	29.52^{i-k}	36.15^{f-i}	13.52^{hi}	13.86^{hi}	17.33^{h}	19.73^{gh}
		B	33.66^{h-j}	40.04^{e-h}	45.60^{d-f}	52.27^{cd}	22.57^{gh}	31.13^{d-g}	36.81^{b-f}	44.77^{bc}
		C	34.95^{g-i}	40.95^{e-h}	47.52^{c-e}	56.57^{c}	23.98^{f-h}	32.22^{c-g}	38.80^{b-e}	48.29^{b}
		D	37.68^{e-i}	44.52^{d-g}	71.32^{b}	93.90^{a}	26.09^{e-h}	41.79^{b-d}	83.84^{a}	90.92^{a}
		E	4.12^{l}	4.44^{l}	5.45^{l}	6.24^{l}	1.20^{i}	1.66^{i}	2.32^{i}	3.09^{i}
	عصاره متانولی Methanolic extract	A	-	-	-	-	29.43^{g-i}	32.77^{e-i}	40.90^{d-f}	47.01^{c-e}
		B	-	-	-	-	34.97^{e-g}	45.87^{d-e}	52.43^{b-d}	60.41^{b}
		C	-	-	-	-	35.81^{e-g}	48.90^{c-e}	53.61^{b-d}	61.55^{b}
		D	-	-	-	-	40.66^{d-f}	56.96^{bc}	62.95^{b}	66.81^{a}
		E	-	-	-	-	2.56^{i}	3.65^{i}	4.67^{i}	6.35^{i}

1. A: 500 ppm, B: 1000ppm, C: 1500ppm, D: 2000ppm, E: Control, h: hours
2. A: 500ppm, B: 1100ppm, C: 2300ppm, D: 4000ppm, E: Control

A: 50 ppm, B: 125 ppm, C:250 ppm, D:500 ppm, E: Contro

بحث و نتیجه‌گیری

پژوهش‌های پیشین نشان داده‌اند که عصاره‌های آبی، اتانولی و متانولی گیاهان دارویی باعث مرگ و میر جمعیت نماتودهای مختلف بیماری‌زای گیاهی شده و نتایج به‌دست آمده با نتایج حاصل از بررسی‌های این تحقیق مشابه بوده است؛ به‌طوری که فتحی و همکاران (۱۳۸۳) طی تحقیقی اثرات پودر ضایعات و عصاره گیاهانی مانند توتون، چریش، مارچوبه و گل جعفری را علیه نماتود ریشه‌گرهی *M. javanica* مورد بررسی قرار داده و به این نتیجه دست یافتند که بین تیمارهای مختلف اختلاف بسیار معنی‌داری در سطح احتمال یک درصد در مقایسه با شاهد وجود دارد. همچنین طی بررسی که ذهبی و همکاران (۱۳۸۹) بر تأثیر عصاره آبی گیاه درمنه خزری (*Artemisia annua*) و عصاره آبی دو گونه گل‌جعفری (*Tagetes patula* و *Tagetes erecta*) روی نماتود مولد زخم ریشه چای انجام دادند، به نتایج مشابه، در ارتباط با اثرگذاری عصاره‌ها بر میزان مرگ و میر نماتود مولد زخم ریشه چای دست یافتند. نتایج به‌دست آمده در تحقیق حاضر نشان داد که عصاره‌های حاصل از بخش‌های مختلف اندام هوایی گیاهان نعناع فلفلی، اکالیپتوس و سیر باعث غیرفعال‌سازی و مرگ و میر سنین مختلف لاروی و بالغین این نماتود می‌گردند و این نتایج نشان‌دهنده کارایی بالای متابولیت‌های ثانویه موجود در عصاره‌های گیاهی جهت مهار زیستی نماتود مولد زخم ریشه چای است. در هر عصاره، متابولیت‌های متفاوتی وجود داشته و وجود همین متابولیت‌های ثانویه دلیلی بر فعالیت‌های بیولوژیکی گیاه و نهایتاً مهار زیستی نماتودها هستند. هم‌چنین اثر بازدارندگی در عصاره‌ها ممکن است به‌دلیل وجود مواد شیمیایی موجود در عصاره باشد که دارای خواص جنین و تخم‌کشی می‌باشند. این مواد شیمیایی یا بر روی رشد جنین تأثیر گذاشته یا موجب کشته شدن جنین موجود در تخم‌ها شده و یا حتی توده تخم‌ها را در خود حل می‌کنند (Adegbit *et al*., 2005).

باتاچاریا و همکاران (Bhattachrya *et al*., 2012) خاصیت نماتودکشی گیاهان دارویی *Glycosmis pentaphylla* و *Holarrbena antidysenterica* را علیه نماتود *Meloidogyne incognita* در چای مورد بررسی قرار دادند. غلظت‌های مختلف (۰/۵، ۱، ۵، ۱۰، ۲۰ درصد) عصاره برگ *G. pentaphylla* تأثیر بالاتری (۹۸/۱-۳۵/۹٪) را نسبت به عصاره پوست *H. antidysenterica* (۸۴/۳-۲۸/۳٪) بر میزان مرگ و میر تخم‌ها و لاروهای نماتود *M. incognita* داشت. درصد مرگ و میر بالغین با افزایش غلظت و گذشت زمان افزایش یافت. نتایج پژوهش این محققین نشان داد که اصلاح خاک با برگ‌های خرد شده *G. pentaphylla* منجر به کاهش جمعیت *M. incognita* و بهبود رشد چای خواهد گردید. نتایج تحقیق حاضر نیز نشان داد که درصد مرگ و میر لاروها و بالغین نماتود مولد زخم ریشه چای با افزایش غلظت هر یک از عصاره‌های آبی، اتانولی و متانولی و گذشت زمان افزایش خواهد یافت. نتایج حاصل از بررسی خاصیت نماتودکشی عصاره آبی گیاه مرتعی کور (*Capparis spinosa* L.) بر روی نماتودهای *Rhabditis* sp. نشان داد که در غلظت ۵ و ۱۰ درصد عصاره، به‌ترتیب ۴۲/۴ و ۷۶/۷ درصد مرگ و میر وجود دارد. هم‌چنین در آزمایش‌های گلخانه‌ای غلظت‌های ۲۵، ۵۰ و ۱۰۰ درصد عصاره بیشترین اثر هم‌ستیزی را بر تعداد نماتود گره ریشه موجود در خاک داشته است (شاکری و همکاران، ۱۳۹۲). همچنین تأثیر عصاره‌های آبی تر و خشک چهار گیاه رزماری (*Rosmarinas officinalis*)، اسطوخودوس (*Lavanduia anyustifolia*)، آویشن شیرازی (*Zataria multiflora*) و شیرخشت آتشین (*Pyracantha coccinea*) بر مرگ و میر نماتود مولد زخم مورد بررسی قرار گرفت و اثر کشندگی عصاره‌ها بر نماتود *Pratylenchus thornei* در شرایط آزمایشگاه به اثبات رسید (فاطمی و چاره گانی، ۱۳۹۵). در گزارشی دیگر، اثر نماتودکشی عصاره هیدروالکلی دو گیاه بادرنجبویه (*Melissa officinalis* L)و جعفری (*Petroselinum cripum*) بر دو گونه نماتود *Aphelenchus avenae* و *Pratylenchus neglectus* که به‌ترتیب پارازیت قارچ و انگل داخلی ریشه گیاهان هستند، اثبات گردید (روشن‌بخش قنبری و همکاران، ۱۳۹۵).

نتایج این تحقیق با نتایج تحقیق زارع بیدکی (۱۳۸۹)، که در مورد اثر بازدارندگی عصاره متانولی شش گیاه دارویی سیر، افسنطین (*Artemisia absintium*)، آویشن (*Thymus vulgaris*)، سداب (*Ruta graveolens*)، پونه (*Mentha pulegium*) و ریشه انار (*Punica granatum*) بر درصد مرگ و میر لارو سن دوم نماتود مولد گره ریشه *M. javanica* در شرایط آزمایشگاه بود، مطابقت داشت. به‌طوری‌که عصاره گیاه سیر بیشترین اثر کشندگی در این گزارش و در گزارش زارع بیدکی را دارا بود، عصاره اتانولی گیاه سیر در لاروها با میانگین ۹۳/۹۰ درصد و عصاره آبی این گیاه در بالغین با میانگین ۹۷/۱۱ درصد بیشترین میزان مرگ و میر *P. loosi* را به دنبال داشت. همچنین در گزارشی دیگر که در راستای کاهش مصرف سموم و با در نظر

گرفتن اهمیت مرکبات در ایران بود، پلاشی و همکاران (۱۳۹۲)، اثر عصاره‌های آبی دو گیاه دارویی اکالیپتوس و آویشن شیرازی بر نماتود مرکبات را مورد بررسی قرار دادند؛ نتایج نشان داد که عصاره هر دو گیاه باعث مرگ و میر قابل توجهی در لاروهای سن دوم نماتود شدند. چنان‌که در این تحقیق، عصاره اتانولی گیاه اکالیپتوس با میانگین ۶۸/۸۸ درصد باعث مرگ و میر لاروهای نماتود مولد زخم ریشه چای شد. موریرا و همکاران (Moreira *et al*., 2005) اثر عصاره آبی نعناع فلفلی بر رشد میسیلیومی قارچ‌های مهم بیماری‌زای گیاهی را در شرایط آزمایشگاهی مورد بررسی قرار دادند. نتایج این تحقیق نیز اثرگذاری عصاره‌های هیدروالکلی گیاه نعناع‌فلفلی را به اثبات رسانیده است، به‌طوری‌که عصاره آبی و اتانولی نعناع‌فلفلی باعث مرگ و میر ۸۱/۱۶٪ لاروها و ۸۷/۳۰٪ بالغین نماتد زخم ریشه چای شد.

به طور کلی نتایج حاصل از این پژوهش نشان داد که در شرایط آزمایشگاهی، عصاره‌های آبی، اتانولی و متانولی گیاهان نعناع‌فلفلی، اکالیپتوس و سیر دارای ترکیباتی هستند که فعالیت ضدنماتودی از خود بروز می‌دهند. البته با توجه به اینکه شرایط جغرافیایی و فاکتورهای محیطی مختلفی از جمله میزان مواد غذایی موجود در خاک، شرایط اقلیمی منطقه کاشت (از جمله ارتفاع، دما و بارندگی) و زمان برداشت بر مقدار و حتی نوع متابولیت‌ها مؤثر است (Marzuk *et al*., 2006)، استخراج عصاره گیاهان در مناطق مختلف رشد آن‌ها نیز می‌تواند نتایج متفاوتی داشته باشد.

سپاسگزاری

این تحقیق در پژوهشکده چای کشور (یکی از پژوهشکده‌های تابعه مؤسسه تحقیقات علوم باغبانی) در شهرستان لاهیجان با حمایت مالی آن پژوهشکده انجام شده است. نگارندگان مقاله ضمن تشکر از مدیران محترم پژوهشکده به ویژه معاونت پژوهش، فناوری و انتقال یافته‌های پژوهشکده؛ از کارکنان آزمایشگاه گیاه‌پزشکی گروه فناوری و مدیریت تولید پژوهشکده سپاسگزاری و کمال تشکر و قدردانی را دارند. این تحقیق بخشی از پایان‌نامه کارشناسی‌ارشد بیماری‌شناسی گیاهی نگارنده اول مقاله است که به راهنمایی دکتر علی سراجی به انجام رسیده است.

منابع **References**

انصاری‌دزفولی، ن.، حسن‌زاده، ن. و رضایی، م. ب. ۱۳۹۱. بررسی فعالیت ضدمیکروبی اسانس و عصاره آبی و آلی برگ اکالیپتوس بر باکتری *Pseudomonas tolaasii* در شرایط *In vitro* و *In vivo*. فصلنامه علمی-پژوهشی تحقیقات دارویی و معطر ایران ۲۸(۴): ۷۱۹-۷۰۹.

باقری، م. و سراجی، ع. ۱۳۹۱. کنترل نماتود مولد زخم ریشه چای *Pratylenchus loosi* توسط کود دامی پوسیده، دولومیت و سم نماتودکش راگبی در شرایط گلخانه. خلاصه مقالات بیستمین کنگره‌ی گیاهپزشکی ایران، ۷-۴ شهریور، شیراز، ایران. صفحه ۶۸۹.

تنهامعافی، ز. ۱۳۷۱. گزارش نماتود مولد زخم ریشه *Pratylenchus loosi* از روی نهال‌های چای وارداتی از ژاپن. مجله آفات و بیماری‌های گیاهی، ۶۰: ۹۴-۹۳.

تنهامعافی، ز. و میرحسینی‌مقدم، س. ع. ۱۳۸۰. مطالعه تأثیر نماتودکش‌های فسفره روی نماتود مولد زخم ریشه چای (*Pratylenchus loosi*) در باغ‌های چای ایران. مجله بیماری‌های گیاهی، ۳۷(۱و۲): ۳۸-۲۹.

پلاشی، ن.، نجفی نیا م. و عبدالهی، م. ۱۳۹۲. بررسی اثر بازدارندگی عصاره گیاهی آویشن شیرازی و اکالیپتوس بر واکنش متقابل بین نماتود مرکبات و قارچ عامل پوسیدگی ریشه مرکبات در نهال‌های بذری مرکبات. دانشگاه یاسوج. کشاورزی.

ذهبی‌اصلی، س.، سراجی، ع.، جمالی، س.، جلالی سندی، ج. و شیرین‌فکر، ا. ۱۳۸۹. تأثیر عصاره دو گونه گل‌جعفری *Tagetes patula*، *Tagetes erecta* و عصاره آبی درمنه‌خزری (*Artemisia annua*) روی نماتود مولد زخم ریشه چای. دومین همایش ملی گیاهان دارویی ایران، ساری.

دهخوارخانی، ب. ۱۳۷۳. تأثیر عصاره سیر بر فلور اصلی باکتری‌های باکتریایی روده. دانشگاه آزاد اسلامی.

روشن‌بخش‌قنبری، ع.، پورجم، ا. و عیاری‌نوش‌آبادی، م. ۱۳۹۵. اثر نماتودکشی عصاره‌های هیدروالکلی بادرنجبویه و جعفری بر نماتدهای *Aphelenchus avenae* و *Pratylenchus neglectus* در شرایط آزمایشگاهی. ۱۳۳۳-IPPC22 (R1).

زارع بیدکی، ع.، سالاری، م. و شاکری، م. ۱۳۸۹. اثرات مهاری چند عصاره گیاهی در کنترل نماتد گره ریشه در گوجه-فرنگی. پایان نامه کارشناسی ارشد، دانشگاه زابل.

خیاط، ف.، مهدی‌خانی مقدم، ع.، روحانی، ح.، و عزیزی، م. ۱۳۹۱. بررسی فعالیت نماتودکشی اسانس‌های اکالیپتوس، کما و باریجه روی نماتود ریشه‌گرهی *Meloidogyne javanica* در شرایط آزمایشگاهی. نشریه حفاظت گیاهان (علوم و صنایع کشاورزی). ۲۸(۳): ۳۳۸-۳۴۵.

فاطمی، الف. و چاره‌گانی، ح. ۱۳۹۵. ارزیابی اثر عصاره‌ی آبی تر و خشک چهار گیاه دارویی بر مرگ و میر نماتد مولد زخم (*Pratylenchus thornei*) در شرایط آزمایشگاهی. IPPC22 (R1)-۱۰۴۲.

فتحی ، س.، خیری، ا. و شریفی، ا. ت. ۱۳۸۳. بررسی ریشه، عصاره و وعده‌های غذایی برخی از گیاهان در کنترل نماتد ریشه گرهی. دومین کنفرانس بین المللی گیاهان دارویی، دانشگاه شاهد، تهران، صفحه ۲۴۸.

فرجی، ن.، صراف معیری، ح. ر.، صابر، م.، و کاوسی، ا. ۱۳۹۴. بررسی خاصیت حشره‌کشی و اثرات ترکیبی اسانس‌های اکالیپتوس، زیره سبز و نعناع‌فلفلی روی سوسک چهار نقطه‌ای حبوبات (Col.: Bruchidae) *Callosobruchus maculatus*. سومین همایش ملی کنترل بیولوژیک در کشاورزی و منابع طبیعی، ۱۳ و ۱۴ بهمن ۱۳۹۴. صفحه ۱۳۶

سراجی، ع.، پورجم، ا.، تنهامعافی، ز. و صفایی، ن. ۱۳۸۶. مطالعه زیست‌شناسی و دینامیک جمعیت نماتود مولد زخم ریشه چای (*Pratylenchus loosi*) در ایران. فصلنامه علمی- پژوهشی بیماری‌های گیاهی ۴۳(۱): ۱۱۵-۹۸.

شاکری، م.، سودایی‌زاده، ح. و حکیمی، م. ح. ۱۳۹۲. اثرات آللوپاتی و نماتودکشی عصاره آبی گیاه مرتعی کور (*Capparis spinosa* L.) روی خصوصیات رشد خیار و گوجه‌فرنگی. نشریه دانش کشاورزی و تولید پایدار ۲۳: ۱۱۱-۹۸.

صارمی، ح. ۱۳۸۴. اکولوژی و تاکسونومی گونه‌های فوزاریوم. جهاد دانشگاهی. انتشارات جهاد دانشگاهی مشهد. ۱۸۹ صفحه.

صمدانی، ب. و باغستانی م، ع. ۱۳۸۲. اثر آللوپاتیک عصاره ماشک گل خوشه‌ای روی جوانه‌زنی بذر بعضی علف‌های هرز ذرت و سویا. مجله بیماری‌های گیاهی ۳۹: ۱۳۶-۱۲۳.

صمصام شریعت، ه. و معطر، ف. ۱۳۷۰. گیاهان و داروهای طبیعی. انتشارات مشعل، اصفهان، ۴۳۲ صفحه.

عبدالملکی، م.، بهرامی‌نژاد، ص.، سالاری، م.، عباسی، س. و پنجه‌که، ن. ۱۳۹۰. بررسی اثر ضدقارچی گیاه نعناع‌فلفلی (*Mentha piperita* L.) بر قارچ‌های بیماری‌زای گیاهی. فصل‌نامه گیاهان دارویی ۱۰(۳۸): ۳۴-۲۶

موسوی، س. ا.، مهرابیان، م. و یغمایی، ب. ۱۳۸۶. تأثیر غلظت های مختلف متانول و عصاره‌های آبی سیر بر قارچ‌های فرصت طلب *Cryptococcus neoformans*، *Sporothrix schenckii* و *Candida albicans* مجله علمی دانشگاه علوم پزشکی رفسنجان ۷(۴): ۲۳۴-۲۲۷.

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

Ahsam, M. J. 1999. *In vitro* acitivities of five new antimicrobial agents against *Brucella melitensis*. International Journal of Antimicrobial Agents 12: 185-186.

Aridogan, B. C., Mumcu, E., Ozbasar, D., Demiric, M., Kaya, S. and Baydar, H. 2002. Antimicrobial activity and chemical composition of some essential oils. Archives of Pharmacal Research 25(6): 860-864.

Ayepola, O. O. and Adeniyi, B. A. 2008. The antibacterial activity of leaf extracts of *Eucalyptus camaldulensis* (*Myrtaceae*). Journal of Applied Sciences Research 4(11): 1410-1413.

Azimi, A. A., Delnavaz, H. B. and Mansour, G. A. 2006. Antifungal effect of aqueous alcoholic and phenolic extracts of seed and leaves of *Sorghum bicolor* against *Fusarium solani*. Medical Plant 6(1): 26-32.

Bahraminejad, S., Asenntorfer, R. E., Riley, I. T., Zwer, P., Schultz, C. J. and Schmidt, O. 2008. Genetic variation of flavonoid defense compound concentration in oat (*Avena sativa* L.) entries and testing of their biological activity. Australasian Plant Breeding Conference, Christchurch, New Zealand. pp. 1127.

Block, E. 1992. The chemistry of garlic and onions. Scientific American 252: 114-119.

Castillo, P. and Vovlas, N. 2007. *Pratylenchus* (Nematoda: Pratylenchidae)*:* diagnosis, biology, pathogenicity and management. Nematology Monographs and Perspectives 6: 1-530.

Compos, V. P., Sivapalan, P. and Gnanapragasam, N. C. 1990. Nematodes parasites of coffee, cocoa and tea. Pp., 387-430. In: M. Luc, R., Sikora, A. and Bridge, J. (eds.). Plant parasitic nematodes in subtropical and tropical agriculture. CAB International, Wallingford, UK.

Edris, A. E. and Farrag, E. S. 2003. Antifungal activity of peppermint and sweet basil essential oils and their major aroma constituents on some plant pathogenic fungi from the vapor phase. Nahrung/Food 47: 117-21.

Emest, E. 1987. Cardiovasular effects of garlic (*Allium sativum*): A review. Pharmathera 5: 83-9.

Foster, S. 1996. Peppermint: *Mentha piperita*. American Botanical Council-Botantical Series 306: 3- 8.

He, Y., Zhang, M., He, T. and Gu, W. 2002. Studies on the allelopathic effects of *Chromolaena odoratum*. Journal of South China Agricultural University 23: 60-62.

Hoffmann, B. G. and Lunder, L. T. 1984. Flavonoids from *Mentha pipertia* leaves. Planta Medica 50(4): 361.

Iserin, P. 2001. Encyclopedies des plants medicinal: identification, preparation, soins. Larousse/ VUEF. 334 p.

Javed, N., Gowen, S. R., El-Hassan, S. A., Inam-ul-haq, M., Shahina, F. and Pembroke, B. 2008. Efficacy of Neem (*Azadirachta indica*) formulations on biology of root-knot nematodes (*Meloidogyne javanica*) on tomato. Crop Protection 27: 39-43.

Kumar, M. and Berwal, J. S. 1998. Sensitivity of food pathogens to garlic (*Allium sativum*). Journal of Applied Microbiology 84: 213-215.

Lawrence, B. M. 1998. Composition of three oils of *Mentha pulegium* produced from plant grown in North Carolina. Perf. Flav 76(7-8): 691-696.

McCaskill, D. and Croteau, R. 1995. Monoterpene and sesquiterpene biosynthesis in glandular trichomes of peppermint (*Mentha piperita*) rely exclusively on plastid-derived isopentenyl diphosphate. Planta 1432-2048.

Marzuk, Z., Marzuk, B., Ehraief, I. and Boukef, K. 2006. Analysis of Tunisian *Mentha pulegium* L. oils from Monastir. SIPAM. 2006.

Moreira, M., Ponce, A., Dell Valle, C. and Roura, S. 2005. Inhibitory parameters of essential oils to reduce a foodborne pathogen. LWT Food Science and Technology 38(5): 565-570.

Mucciarelli, M., Scannerini, S., Bertea, C. and Maffei, M. 2003. *In vitro* and *in vivo* peppermint (*Mentha piperita*) growth promotion by non-mycorrhizal fungal colonization. New Phytologist 158(3): 579– 91.

Muyima, N. Y. O., Nziweni, S. and Mabinya, L. V. 2004. Antimicrobial and antioxidant activities of *Tagetes mimuta, Lippia javanica* and *Foeniculum vulgar* eccential oils from Eastern Cape Province of South Africa. Journal of Essential Oil Bearing Plants 7: 68-78.

Pavela, R. 2005. Insecticidal activity of some essential oils against larvae of *Spodoptera littoralis*. Fitoterapia 76(7-8): 691- 696.

Peirce, A. 1999. The American pharmaceutical association practical guide to natural medicines. New York: William Morrow and Company, Inc.

Pinochet, J., Calvet, C., Camprubi, A. and Fernandez, C. 1995. Interaction between the root-lesion nematode *Pratylenchus vulnus* and the mycorrhizal association of *Glomus intraradices* and Santa Lucia 64 cherry rootstock. Plant and soil 170: 323-329.

Pitaroki, D., Couladis, M., Ptsikos-Panayotarou, N. and Tzakou, O. 2002. Composition and antifungal activity on soil-borne pathogens of the essential oil of *Salvia sclarea* from Greece. Journal of Agricultural and Food Chemistry 51: 3249-301.

Schnelle, F. J. and Hoerst, H. 1960. GLC-Analyse des Aetheris canen Oeles von *Mentha requiennii* (freiland = grow in open air). Planta Medica 16: 48- 53.

Sharma, S. K., Singh, I. and Sakhuja, P. K. 1980. Influence of different cropping sequences on the population of root-knot nematode, *Meloidogyne incognita*, and the performance of the subsequent mungbeen crope. Indian Journal of Nematology 10: 53-58.

Silagy, C. and Neil, A. 1994. Garlic as a lipid lowering agent. Ameta-analysis. Journal of the Royal College of Physicians of London 28: 39-45.

Whitehead, A. G. and Hemming, J. R. 1965. A comparison of some quantitative methods extracting small vermiform nematodes from the soil. Annals of Applied Biology 55: 25-38.

Yadegariani, D., Shakiba, A. M., Taghizadeh, M., Rezaei, M. B., Gachkar, L. and Rassoli, I. 2006. Biochemical activities of Iranian *Mentha piperita* L. and *Myrtus communis* L. essential oils. Phytochem 67: 1249- 1255.