دو فصلنامه تحقیقات بیماری‌های گیاهی
سال ششم، شماره اول، بهار و تابستان ۱۳۹۹
صص ۸۶-۷۳

تأثیر بازدارندگی عصاره آبی اندام‌های مختلف برخی از علف‌های هرز مزارع گوجه فرنگی بر مرگ و میر نماتد ریشه گرهی (*Meloidogyne javanica*) در شرایط آزمایشگاه و گلخانه

الهام حسین پور*[1]، زهرا خورسند[2]

تاریخ دریافت: ۱۳۹۹/۶/۱۷ تاریخ پذیرش: ۱۴۰۰/۱/۷

چکیده

نماتد ریشه‌گرهی یکی از مهم‌ترین نماتدهای انگل گیاهی می‌باشد که با ایجاد گال در ریشه میزبان خسارت زیادی به محصولات کشاورزی وارد می‌کند. استفاده از متابولیت‌های ثانویه گیاهی به دلیل برخورداری از ویژگی‌هایی چون مکانیسم عمل اختصاصی، طیف اثر محدود و قابلیت تجزیه به متابولیتهای غیر سمی به عنوان یکی از بهترین استراتژی‌های جایگزین برای کنترل نماتدها مطرح گردیده است. این پژوهش به منظور بررسی اثر بازدارندگی عصاره آبی گیاهان سلمه تره، تاج خروس و پیچک صحرایی بر نماتد ریشه‌گرهی (*Meloidogyne javanica*) در شرایط آزمایشگاهی و گلخانه انجام شد. آزمایش فاکتوریل در قالب طرح کاملا تصادفی با ۳ فاکتور نوع عصاره (در ۳ سطح سلمه تره، تاج خروس و پیچک صحرایی)، غلظت عصاره (در ۳ سطح با نسبت ۰/۰۴، ۰/۲ و ۰/۴٪) و اندام عصاره‌گیری شده (در ۳ سطح برگ، ساقه و ریشه) در سه تکرار برای هر تیمار در شرایط آزمایشگاه و دو گیاهی که بیشترین تأثیر را داشتند در شرایط گلخانه انجام شد. عصاره هر سه گیاه باعث افزایش چشمگیر درصد مرگ و میر لاروهای سن دوم نماتد در شرایط آزمایشگاه شد به نحوی که عصاره ۰/۴ ٪ برگ تاج‌خروس با ۹۸/۳٪ مرگ و میر لارو سن ۲ بیشترین مرگ و میر و عصاره ۰/۲٪ و ۰/۰۴٪ ریشه پیچک با ۳۷٪ کمترین میزان مرگ و میر را نشان داد. دو گیاه تاج خروس و سلمه تره که دارای بهترین نتایج در شرایط آزمایشگاهی بودند در شرایط گلخانه مورد بررسی قرار گرفتند. کارآیی گیاه تاج خروس در کاهش آلودگی به نماتد نسبت به سلمه تره بیشتر بود. برگ گیاه تاج خروس نسبت به سایر اندامها در کاهش جمعیت نماتد موثرتر بود. عصاره هر دو گیاه باعث کاهش رشد گیاهان بدون آلودگی به نماتد نسبت به شاهد (بدون نماتد و بدون عصاره) گردید. به نظر می‌رسد اضافه کردن علفهای هرزی مثل تاج‌خروس و سلمه تره به خاک مزارع گوجه فرنگی، می‌تواند جمعیت لارو سن دو *M. javanica* در خاک را کاهش دهد، هرچند که رشد گیاه گوجه فرنگی نیز کاهش می‌یابد.

واژه های کلیدی: نماتد ریشه‌گرهی، عصاره گیاهی، تاج خروس، سلمه تره، پیچک صحرایی.

---

[1]- دانش آموخته ی کارشناسی ارشد، گروه بیماری شناسی گیاهی، واحد شوشتر، دانشگاه آزاد اسلامی، شوشتر، ایران.

[2]- استادیار، گروه بیماری شناسی گیاهی، واحد شوشتر، دانشگاه آزاد اسلامی، شوشتر، ایران.

*- نویسنده مسئول مقاله: e_hosseinpour95@yahoo.com

مقدمه

نماتد ریشه‌گرهی (*Meloidogyne* spp.) یکی از مضرترین آفات بـه خصـوص در منـاطق گرمسـیری و نیمـه گرمسیری بوده و خسارت شدید اقتصـادی بـه محصـولات مهـم وارد مـی‌سـازد (Sikora and Fernandez, 2005). خسارت این نماتدها در بسیاری از کشورها حدود ۱۵٪ از محصول و در سبزیجات خسارت ۸۰-۵۰ درصدی ایـن نماتدها به عنوان یک خسارت متداول در نظر گرفته شده است (Siddiqi, 2000). کنترل بیماری‌های خاکزاد بسـیار مشکل و روش متداول از بین بردن آن‌ها توسط سموم شیمیایی پرهزینه و خطرنـاک مـی‌باشـد (Wellman, 1977). کاربرد آسان، سازگاری با محیط زیست، عدم ایجاد مقاومت، کم ضرر بـودن بـرای موجـودات مفیـد و ارزان بـودن عصاره، اسانس و روغن گیاهی از مزایای مهم سموم طبیعی هستند (Ezhilan, *et al*., 1994).

علف‌های هرز به عنوان جزء جدایی ناپذیر بوم نظام‌های زراعی و از مهم‌ترین عوامـل کـاهش‌دهنـده عملکـرد گیاهان زراعی به شمار می‌روند (Gupta, 2000). تاج خروس بـا نـام علمـی *Amaranthus retroflexus* از خـانواده Amaranthaceae گیاهی یکساله، علفی، تک‌پایه، جزء دو لپه‌ای‌ها و به ارتفاع ۱۰ تا ۱۵۰ سانتیمتر می‌باشد. برگ‌های آن تخم‌مرغی و رنگ اجزای گیاه سبز، سبز مایل به زرد، و قرمز تا زرشکی می‌باشد. گونه‌های تاج‌خروس گیاهان ۴ کربنه بوده و در برابر تنش‌های محیطی نظیر کم‌آبی، خشکی هوا و گرما مقاومند و تولید بایومس بالایی دارنـد و در شرایطی که خاک و بستر کشت مملو از مواد غذایی باشد، رشد و تولید حداکثر را دارند (Azadi, 2012). این علف هرز یکی از مهم‌ترین علف‌های هرز اصلی دنیای جدید است که عملکرد گیاهان زراعی را از طریق رقابـت کـاهش می‌دهد (Mitich, 1997). تاج‌خروس سومین علف‌هرز غالب دولپـه‌ای در جهـان اسـت کـه در شـرایط اکولوژیـک متفاوت و در مزارع مختلف به عنوان علف‌هرز مزاحم رشد می‌کند و به دلیل تولیـد دانـه زیـاد و کـوچکی دانـه بـه راحتی در نقاط مختلف انتشار پیدا می‌کند (Ronald and Smith, 1969; Santos *et al*., 1997).

سلمه تره با نام علمی (*Chenopodium album*) گیاهی‌است یکساله با ساقه ایستاده که فقط از طرق بذر تولیـد مثل می کند و توان تولید بذر در آن بسیار بالا است. سلمه تره که از سازگاری مناسب برای رشد در انواع اقلیم ها و خاک‌ها برخوردار است، به عنوان یکی از علف‌های هرز مزارع کشاورزی سرتاسر مناطق معتدله معرفی شـده اسـت که مقاومت شدیدی به برخی از علف ها نیز نشان می‌دهد. توان بالای تولید بذر، استمرار تهاجم ایـن گیـاه پـس از استقرار اولیه در یک مزرعه را تضمین می کند (Zeinali and Ehteshami, 2006). سلمه‌تره علف هـرزی اسـت کـه برای بسیاری از محصولات زراعی ایجاد مزاحمت می‌کند و از مهم‌ترین گیاهان هرز مزارع چغندرقند، سویا و ذرت به حساب می‌آید (Mighati, 2003). پیچک صحرایی (*Convolvulus arvensis*) یکـی از مهـم‌تـرین علفهـای هـرز مزارع و باغات دنیا می‌باشد که می‌تواند به تنهایی عملکرد محصول را ۶۰-۵۰ درصد کاهش می‌دهد. عـلاوه بـر آن، این علف هرز مشکلاتی در امر برداشت محصولاتی مانند غلات دانه ریز ایجاد می‌نماید (Rashedmohasel *et al*., 2001; Zand *et al*., 2004).

استفاده از ترکیبات متابولیتهای ثانویه گیاهی به دلیل برخورداری از ویژگیهایی چون مکانیسم عمل اختصاصی، طیف اثر محدود و قابلیت تجزیه به متابولیتهای غیر سمی به عنوان بهترین استراتژی جایگزین برای کنتـرل نماتـدها

مطرح گردیده است (Javad *et al*., 2007). این ترکیبات، تولیدات متابولیکی ثانویه هستند که در متابولیسم اولیه درگیر نمی‌شوند و در پدیده دفاع گیاه شرکت می‌کنند (Taba *et al*., 2007). در حالی که نقش دقیق ترکیبات هنوز به درستی مشخص نیست، اما به طور کلی برخی از این ترکیبات به تنهایی یا به صورت سینرژیکی، نوعی سد دفاعی شیمیایی برای گیاه در برابر آفات و بیماری ها ایجاد می‌کنند. این سد دفاعی عموماً موجب مرگ فوری پاتوژنها و حشرات نمی‌شود، بلکه روی فعالیتهای بیوشیمیایی و فیزیولوژیکی آنها تأثیر می گذارد (Fujii, 2000). بنابراین استفاده از فرآورده‌های گیاهی نماتدکش به جای ترکیبات شیمیایی درکنترل نماتدها عوارض جانبی بسیار کمتری به دنبال خواهد داشت و می تواند فواید اقتصادی نیز به همراه داشته باشد (Perez *et al*., 2003). هدف از انجام آزمایش حاضر مشخص نمودن این است که آیا برگرداندن علف‌های هرز مزارع گوجه فرنگی به خاک، مثل تاج خروس، سلمه تره و پیچک صحرایی، می‌تواند در کاهش جمعیت نماتد لارو سن دو ریشه‌گرهی مؤثر باشد و خسارت نماتد را کاهش دهد.

مواد و روش‌ها

تهیه جمعیت خالص و تکثیر نماتد

برای تهیه جمعیت خالص نماتد ریشه‌گرهی، از گلخانه‌های آلوده شهرستان شوشتر نمونه برداری شد. ریشه‌های آلوده با آب شستشو داده شدند و پس از قطعه قطعه شدن، با کمک استریومیکروسکوپ یک توده تخم جدا گردید و روی ریشه گیاه گوجه فرنگی (رقم کانیون) تلقیح گردید. سه ماه بعد، ریشه گیاه از خاک خارج شد و برای شناسایی گونه‌ی نماتد، از برش انتهای بدن نماتدها اسلاید میکروسکوپی تهیه گردید. بر اساس نقوش انتهایی بدن نماتد ماده و صفات لارو سن دوم و نماتد نر و با استفاده از کلیدهای معتبر (Hunt and Handoo, 2009) شناسایی اقدام به تشخیص گونه نماتد گردید. ریشه‌ها قطعه قطعه شده و به خاک اضافه شدند و پس از کاشت مجدد گیاه گوجه فرنگی، جمعیت نماتد به اندازه‌ی کافی تکثیر گردید.

برای استخراج تخم های نماتد، ریشه های آلوده شسته و قطعه قطعه شدند و به مخلوط کن منتقل گردید. محلول یک درصد هیپوکلریت سدیم به ریشه‌های حاوی کیسه تخم اضافه شد و به مدت ۳۰ ثانیه با سرعت متوسط خرد گردید. محتویات داخل مخلوط‌کن از الک ۱۰۰ مش که زیر آن الک ۵۰۰ مش قرار داده شده بود عبورداده، سطح الک ۵۰۰ مش را با آب شسته تا آثار هیپوکلریت سدیم از سطح تخم ها پاک گردد و در نهایت محتویات الک ۵۰۰ مش به درون بشر انتقال داده شد (Hussey and Barker, 1973). برای تهیه لارو سن دوم نماتد به منظور مطالعات آزمایشگاهی، یک کاغذ صافی بر روی توری فلزی گود شده قرار داده و درون یک تشتک پتری گذاشته شد. سپس سوسپانسیون تخم نماتد روی کاغذ صافی و در تشتک های پتری حاوی آب مقطر ریخته شد و به مدت پنج روز در انکوباتور با دمای۲۸ درجه سلسیوس نگهداری شدند. به این ترتیب تخم ها روی کاغذ صافی مرطوب تفریخ گردید و لاروهای سن دوم فعال نماتد پس از عبور از کاغذ صافی در کف تشتک‌های پتری جمع شدند (Vrain, 1977).

شمارش لارو سن دوم نماتد

حجم سوسپانسیون لارو سن دوم به دست آمده از مرحله قبل به یک لیتر رسانیده شد. از طریق دمیدن با پی پت به داخل محلول، تراکم و غلظت لارو سن دوم در کل حجم یکنواخت گردید (Sasser, 1972; Hussey and Barker, 1973). سپس سریعا مقدار ۱۰ میلی لیتر از محلول جهت شمارش با اسلاید شمارشگر برداشته شد. برای کاهش درصد خطا، عمل شمارش ۵ مرتبه تکرار و میانگین جمعیت محاسبه گردید.

تهیه عصاره‌های گیاهی

بوته‌های علف‌های هرز سلمه تره، تاج خروس و پیچک از مزارع گوجه‌فرنگی شهرستان شوشتر جمع‌آوری گردید و پس از شناسایی دقیق در دانشکده کشاورزی، شستشو شده و در محل تاریک خشک شدند. پس از خشک شدن، برگ، ساقه و ریشه از همدیگر جدا گردیده و با استفاده از آسیاب برقی پودر شدند. مقدار ۸ گرم پودر از بخش‌های مختلف خشک شده گیاهان را درون کیسه پارچه‌ای ململ دو لایه بصورت جداگانه ریخته و پس از بستن درب کیسه، در ارلن شیشه‌ای که حاوی ۱۰۰ میلی لیتر آب مقطر بود قرار داده شد. سپس ارلن‌ها درون شیکر قرار گرفته و به مدت ۴۸ ساعت در دمای ۲۵ درجه سانتی گراد با دور۱۵۰ تکان در دقیقه حرکت داده شدند. محتویات هر ارلن از کاغذ صافی واتمن شماره یک عبور داده شد و مایع به دست آمده بعنوان محلول پایه ۸٪ (وزن به حجم) در نظر گرفته شد و با اضافه کردن آب مقطر غلظت‌های ۰/۰۴، ۰/۲ و ۰/۴ درصد از هر اندام گیاه تهیه گردید و در درون بالن شیشه‌ای با روپوش آلومینیومی در درون یخچال نگه‌داری گردید (Grewal, 1989).

بررسی تأثیر عصاره آبی سلمه تره، تاج‌خروس و پیچک بر لارو سن دو نماتد ریشه‌گرهی (*Meloidogyne javanica*) در شرایط آزمایشگاهی

غلظت‌های تهیه شده بصورت جداگانه در درون پتری‌دیش‌های حاوی ۱۰۰ عدد لارو سن دو نماتد *M. javanica* قرار داده شد. آزمایش به صورت فاکتوریل در قالب طرح کاملا تصادفی با سه فاکتور۱- نوع عصاره در سه سطح پیچک صحرایی، سلمه تره وتاج خروس ۲- غلظت عصاره در سه سطح ۰/۰۴ و ۰/۲ و ۰/۴ درصد، ۳- اندام مورد عصاره گیری در سه سطح برگ، ساقه و ریشه در ۳ تکرار برای هر تیمار و آب مقطر بعنوان تیمار شاهد در شرایط آزمایشگاهی انجام شد.

آزمایش گلخانه‌ای

آزمایش به صورت فاکتوریل در قالب طرح کاملا تصادفی با چهار فاکتور و ۳۸ تیمار در سه تکرار در شرایط گلخانه انجام شد. تیمارهای گلخانه‌ای شامل ۱- نوع عصاره در دو سطح سلمه‌تره و تاج خروس ۲- غلظت عصاره در سه سطح ۰/۰۴ و ۰/۲ و ۰/۴ درصد، ۳- اندام مورد عصاره گیری در سه سطح برگ، ساقه و ریشه، ۴- نماتد در دو سطح تلقیح بانماتد و تیمارهای بدون نماتد بود. دو تیمار شاهد (یکی بدون تلقیح با نماتد و دیگری آلوده شده با نماتد) نیز برای آزمایش در نظر گرفته شد. خاک استفاده شده در این پژوهش خاک بکر بوده که به نسبت مساوی با خاک برگ و ماسه مخلوط شد. نشای گوجه فرنگی رقم کانیون در گلدان‌های یک کیلوگرمی کاشته شده و یک هفته بعد با تعداد دو عدد لارو سن دوم و تخم نماتد *M. javanica* در یک گرم خاک تلقیح شدند.

گلدان‌ها ۱۱ هفته در درجه حرارت ۲ ± ۲۸ درجه سانتی‌گراد نگه‌داری شدند. سپس گلدان‌ها برگردانده و ریشه‌های هر یک با ملایمت زیر جریان آب شسته شد و روی کاغذ صافی قرار گرفت تا آب اضافی آن‌ها خارج شود. ارزیابی خسارت بر اساس طول اندام هوایی، وزن خشک اندام هوایی و ریشه و فاکتور تولیدمثل (جمعیت نهایی/جمعیت اولیه) انجام گردید. برای محاسبه جمعیت نهایی در انتهای آزمایش، تعداد لارو سن دو در خاک با تعداد تخم‌های تشکیل شده روی سیستم ریشه‌ای گیاهان جمع شد. داده‌های به دست آمده ابتدا از نظر یکنواختی بررسی شده و تجزیه و تحلیل داده ها و مقایسه میانگین‌ها با نرم‌افزار SPSS و توسط آزمون دانکن انجام شد.

نتایج

بررسی تأثیر عصاره آبی سلمه تره، تاج‌خروس و پیچک بر لارو سن دو نماتد ریشه‌گرهی (*Meloidogyne javanica*) در شرایط آزمایشگاهی

گونه نماتد مورد آزمایش *Meloidogyne javanica* تشخیص داده شد. تجزیه واریانس اثر عصاره‌ها بر مرگ و میر لارو سن دوم نماتد در شرایط آزمایشگاهی در جدول ۱ و مقایسه میانگین تیمارها در شکل‌های ۱ و ۲ نشان داده شده است. نتایج این آزمایش نشان داد که عصاره آبی اندام‌های مختلف گیاهان مورد استفاده در غلظت‌های مورد بررسی نسبت به تیمار شاهد باعث تفاوت معنی‌دار در مرگ و میر لارو سن دوم نماتد گردیده است. در این بررسی گیاه تاج خروس با ایجاد ۷۹/۴ درصد مرگ و میر در لارو سن ۲ دارای بیشترین مرگ و میر می‌باشد ولی با میانگین مرگ میر ایجاد شده توسط سلمه تره (۷۱/۱ درصد) تفاوت معنی‌داری نداشت.

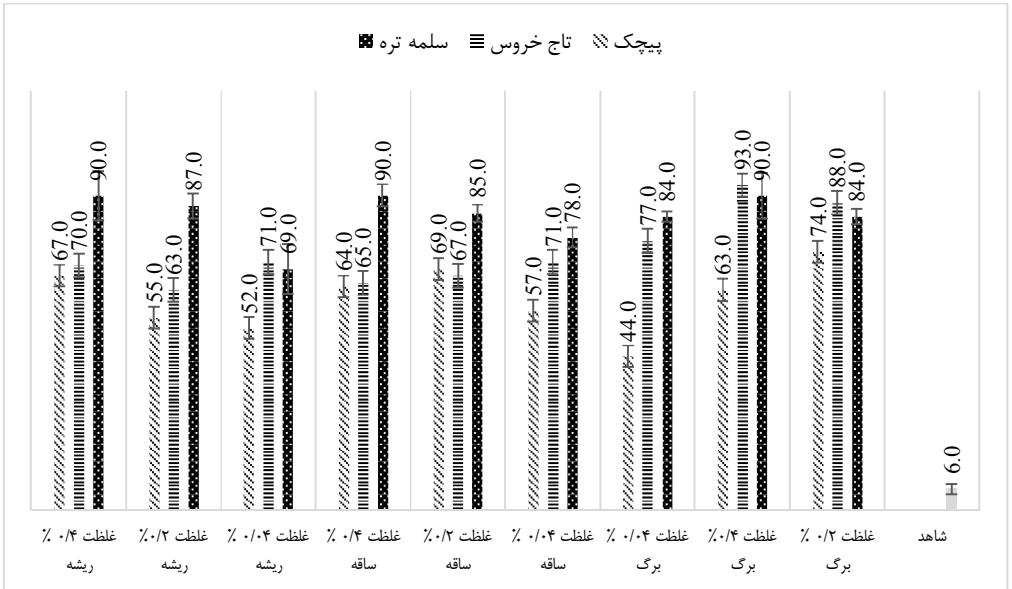
جدول ۱- تجزیه واریانس درصد مرگ و میر لارو سن دو نماتد *Meloidogyne javanica* تیمار شده با عصاره اندام‌های مختلف گیاهان سلمه تره، تاج خروس و پیچک صحرایی در غلظت‌های مختلف در شرایط آزمایشگاه

متغیر	درجه آزادی	میانگین‌مربعات
نوع گیاه	۲	۵۲۴۶**
غلظت	۲	۳۲/۲^{ns}
اندام گیاه	۲	۲۹۹۴/۹**
نوع گیاه × اندام	۴	۱۹۵/۸^{ns}
نوع گیاه × غلظت	۴	۳۱/۲^{ns}
اندام × غلظت	۴	۸۹/۳^{ns}
نوع گیاه × غلظت × اندام گیاه	۸	۱۶/۸^{ns}
خطا	۳۷	۶۸

**، * و ^{ns} به ترتیب دارای اختلاف معنی‌دار در سطح یک، پنج درصد و غیر معنی دار.

عصاره ۰/۴٪ برگ تاج‌خروس با ۹۸/۳٪ مرگ و میر لارو سن ۲ دارای بیشترین مرگ و میر بوده ولی با مرگ و میر ایجاد شده توسط عصاره ۰/۲٪ و ۰/۰۴ ٪ برگ تاج‌خروس و عصاره ۰/۴٪ برگ سلمه تره تفاوت معنی‌داری نداشت. همچنین عصاره ۰/۲٪ و ۰/۰۴٪ ریشه پیچک با ۳۷٪ دارای کمترین میزان مرگ و میر بوده ولی با تیمار شاهد دارای تفاوت معنی‌دار می‌باشد. بر اساس نتایج آزمایشگاه دو گیاه تاج‌خروس و سلمه تره با همان غلظت‌ها در شرایط گلخانه ای مورد بررسی قرار گرفت.

شکل ۱- تأثیر عصاره آبی سه گیاه پیچک صحرایی، سلمه تره و تاج خروس به عنوان فاکتور اصلی بر میانگین درصد مرگ و میر لارو سن دو نماتد ریشه گرهی (*Meloidogyne javanica*) در شرایط آزمایشگاهی



شکل ۲- نمودار مقایسه میانگین‌های درصد مرگ و میر لارو سن دو نماتد *Meloidogyne javanica* تیمار شده با عصاره اندام‌های مختلف گیاهان سلمه تره، تاج خروس و پیچک صحرایی در غلظت‌های مختلف در شرایط آزمایشگاهی.

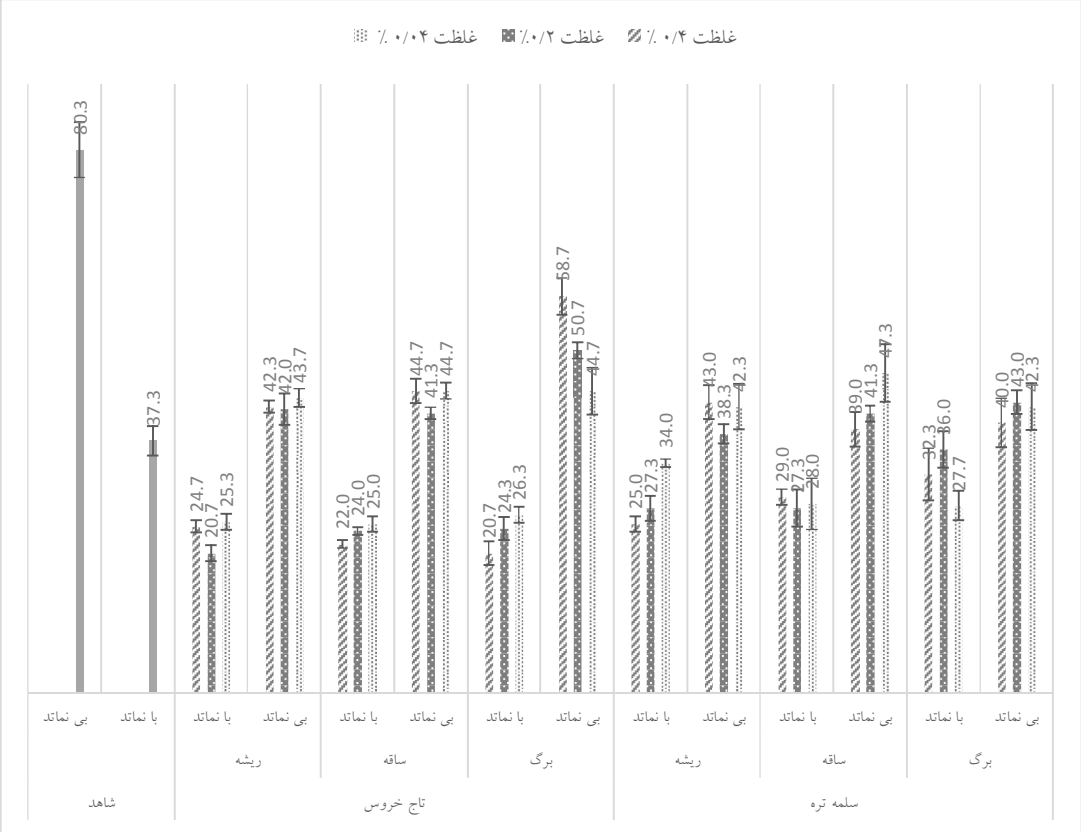
آزمایش گلخانه‌ای

تجزیه واریانس و سطوح معنی‌داری فاکتور تولید مثل نماتد *Meloidogyne javanica*، طول اندام هوایی، وزن خشک ریشه و اندام هوایی گیاه گوجه فرنگی آلوده شده با این نماتد هنگامی که با غلظت‌های مختلف برگ، ساقه و ریشه گیاه تاج خروس و سلمه تره تیمار شده بودند در جدول ۲ نشان داده شده است.

جدول ۲ – تجزیه واریانس فاکتور تولید مثل نماتد *Meloidogyne javanica*، طول اندام هوایی، وزن خشک ریشه و اندام هوایی گیاه گوجه فرنگی آلوده شده با نماتد با غلظت های مختلف برگ، ساقه و ریشه گیاه تاج خروس و سلمه تره در شرایط گلخانه.

تیمار	درجه آزادی	میانگین مربعات			
		وزن خشک اندام هوایی	وزن خشک ریشه	طول اندام هوایی	فاکتور تولیدمثل
گیاه	۱	۱۳۹/۶**	۰/۷ ^{ns}	۲۶ ^{ns}	۳/۸ ^{ns}
اندام	۲	۲۷۱/۱**	۶/۱ ^{ns}	۱۰۶/۶**	۴/۶ ^{ns}
نماتد	۱	۳۰۲۱/۲**	۲۰۱/۶**	۱۰۰۶۳/۵**	۶۳۶۵/۷**
غلظت	۲	۵/۴ ^{ns}	۴/۴ ^{ns}	۱۴/۶ ^{ns}	۴/۷ ^{ns}
گیاه × اندام	۲	۲۵/۹ ^{ns}	۱۷/۹**	۱۸/۴ ^{ns}	۳/۴ ^{ns}
گیاه × نماتد	۱	۲/۹ ^{ns}	۲۳/۲**	۶۷۰**	۳/۸ ^{ns}
گیاه × غلظت	۲	۱۰/۷ ^{ns}	۸/۴*	۲۱/۱ ^{ns}	۳/۳ ^{ns}
اندام × نماتد	۲	۱۲ ^{ns}	۴/۱ ^{ns}	۱۸/۸ ^{ns}	۴/۶ ^{ns}
اندام × غلظت	۴	۱۲/۵*	۷/۴*	۵۲/۵*	۷/۳ ^{ns}
نماتد × غلظت	۲	۲ ^{ns}	۱۳/۵**	۲۱/۹ ^{ns}	۴/۶ ^{ns}
گیاه × اندام × نماتد	۲	۹/۸ ^{ns}	۱/۸ ^{ns}	۱۰۳/۹**	۳/۴ ^{ns}
گیاه × اندام × غلظت	۴	۲/۲ ^{ns}	۴/۱ ^{ns}	۶/۵ ^{ns}	۱/۱ ^{ns}
گیاه × نماتد × غلظت	۲	۱۱/۶ ^{ns}	۱/۴ ^{ns}	۵۳/۲ ^{ns}	۳/۳ ^{ns}
اندام × نماتد × غلظت	۴	۲/۶ ^{ns}	۲/۱ ^{ns}	۲۲/۶ ^{ns}	۷/۳ ^{ns}
گیاه × اندام × نماتد × غلظت	۴	۳/۶ ^{ns}	۳/۸ ^{ns}	۷۰/۱**	۱/۱ ^{ns}
خطا	۷۶	۴/۴	۲/۲	۱۵/۶	۶
ضریب تغییرات (درصد)		۶/۳۲	۷/۴۱	۵/۲۸	۸/۶۷

تیمار شاهد بدون آلودگی با نماتد با ۸۰/۳ سانتی‌متر دارای بیشترین طول اندام هوایی بوده و با دیگر تیمارها دارای اختلاف معنی‌دار می‌باشد و تیمار غلظت ۰/۲٪ ریشه تاج‌خروس و آلوده شده با نماتد با ۲۰/۷ سانتی‌متر از نظر عددی (اما نه از نظر آماری) دارای کمترین طول اندام هوایی است (شکل ۳).



شکل ۳- نمودار مقایسه میانگین طول اندام هوایی، گیاه گوجه‌فرنگی آلوده به*Meloidogyne javanica* تیمار شده با عصاره اندام‌های مختلف گیاهان سلمه تره، تاج خروس در غلظت‌های مختلف در شرایط آزمایشگاه

از نظر وزن خشک اندام هوایی تیمار شاهد بی‌نماتد با ۳۷/۴ گرم دارای بیشترین وزن خشک اندام هوایی بوده و با دیگر تیمارها دارای اختلاف معنی‌دار است و تیمار غلظت ۰/۴٪ ساقه و ۰/۲٪ ریشه تاج‌خروس آلوده با نماتد دارای کمترین مقدار وزن خشک از نظر عددی (اما نه از نظر آماری) بود. از نظر وزن خشک ریشه تیمار شاهد آلوده با نماتد با ۲۶/۳ گرم دارای بیشترین مقدار وزن خشک ریشه بوده و دارای اختلاف معنی‌دار با سایر تیمارها می‌باشد. تیمار غلظت ۰/۰۴٪ ریشه سلمه تره دارای کمترین مقدار عددی (اما نه از نظر آماری) وزن خشک ریشه بود در فاکتور تولید مثل که مهمترین فاکتور نماتدی می‌باشد، تیمار شاهد با میانگین ۵۸/۱ دارای بیشترین شاخص تولید مثل بوده و با دیگر تیمارها دارای اختلاف معنی‌داری بود و تیمار غلظت ۰/۲٪ برگ تاج‌خروس با میانگین ۵/۱ دارای کمترین مقدار عددی (اما نه از نظر آماری) بود (جدول ۳).

جدول ۳- مقایسه میانگین فاکتورهای رشدی و نماتدی گیاه گوجه‌فرنگی آلوده به نماتد *Meloidogyne javanica* در شرایط گلخانه‌ای

نماتد	تیمار: گیاه	تیمار: اندام	غلظت (٪)	طول اندام هوایی	وزن خشک اندام هوایی	وزن خشک ریشه	فاکتور تولیدمثل
بدون نماتد	سلمه تره	برگ	0.04	42.3^{d-f}	33.9^{b}	12.0^{g-l}	-
			0.2	43.0^{d-f}	30.8^{b-c}	10.6^{j-n}	-
			0.4	40.0^{d-g}	31.2^{b}	11.3^{h-m}	-
		ساقه	0.04	47.3^{c-d}	24.7^{d-f}	10.3^{l-n}	-
			0.2	41.3^{d-g}	23.5^{e-g}	10.4^{k-n}	-
			0.4	39.0^{e-h}	24.2^{d-f}	8.5^{m-n}	-
		ریشه	0.04	42.3^{d-f}	27.8^{c-d}	8.0^{n}	-
			0.2	38.3^{e-h}	25.3^{d-f}	11.2^{i-m}	-
			0.4	43.0^{d-f}	24.9^{d-f}	10.2^{l-n}	-
	تاج خروس	برگ	0.04	44.6^{c-e}	25.8^{d-f}	10.7^{j-n}	-
			0.2	50.6^{c}	25.9^{d-f}	11.0^{j-n}	-
			0.4	58.6^{b}	27.8^{b-c}	8.6^{m-}	-
		ساقه	0.04	44.6^{c-e}	23.2^{e-g}	10.5^{k-n}	-
			0.2	41.3^{d-g}	23.5^{e-g}	14.1^{c-h}	-
			0.4	44.6^{c-e}	22.9^{f-g}	10.6^{j-n}	-
		ریشه	0.04	43.6^{c-f}	25.2^{d-f}	11.4^{h-m}	-
			0.2	42.0^{d-f}	24.8^{d-f}	11.9^{h-m}	-
			0.4	42.3^{d-f}	25.7^{d-f}	10.8^{j-n}	-
دارای نماتد	سلمه تره	برگ	0.04	27.6^{i-l}	17.0^{h-j}	16.8^{c}	8.2 $^{a-c}$
			0.2	36.0^{f-h}	17.7^{h-i}	12.5^{g-l}	7.0 $^{a-c}$
			0.4	32.3^{h-i}	19.9^{g-h}	16.3^{c-d}	9.6 $^{a-c}$
		ساقه	0.04	28.0^{i-l}	14.3^{k-l}	15.7^{c-f}	10.1^{b-c}
			0.2	27.3^{i-l}	14.1^{i-l}	13.3^{e-k}	9.8 $^{a-c}$
			0.4	29.0^{i-k}	12.7^{k-n}	14.0^{c-i}	6.6 $^{a-c}$
		ریشه	0.04	34.0^{g-i}	13.8^{j-m}	14.2^{c-h}	10.3^{c}
			0.2	27.3^{i-l}	14.4^{k-l}	13.6^{d-j}	8.1 $^{a-c}$
			0.4	25.0^{j-l}	12.7^{k-n}	13.0^{e-l}	5.5^{a-c}
	تاج خروس	برگ	0.04	26.3^{j-l}	13.7^{j-m}	12.9^{f-l}	5.4^{a-b}
			0.2	24.3^{k-l}	14.6^{k-l}	13.0^{e-l}	5.1^{a}
			0.4	20.7^{l}	15.9^{i-k}	13.2^{e-l}	8.0 $^{a-c}$
		ساقه	0.04	25.0^{j-l}	12.2^{k-n}	15.8^{c-e}	9.9 $^{a-c}$
			0.2	24.0^{k-l}	11.5^{l-n}	14.9^{c-g}	8.3 $^{a-c}$
			0.4	22.0^{k-l}	9.5^{n}	12.6^{g-l}	7.2 $^{a-c}$
		ریشه	0.04	25.3^{j-l}	12.8^{k-n}	11.8 $^{h-m}$	8.9 $^{a-c}$
			0.2	20.7^{l}	9.8^{m-n}	12.4^{g-l}	7.3 $^{a-c}$
			0.4	24.7^{k-l}	13.1^{j-m}	13.1^{e-l}	8.5 $^{a-c}$
شاهد بدون نماتد				80.3^{a}	37.4^{a}	23.2^{b}	-
شاهد دارای نماتد				37.3^{e-h}	27.0^{d-e}	26.3^{a}	58.1^{d}

بحث

در این آزمایش عصاره آبی سه گیاه تاج‌خروس، سلمه تره و پیچک صحرایی در سه غلظت ۰/۰۴، ۰/۲ و ۰/۴ درصد در سه اندام ریشه، ساقه و برگ علیه مرگ‌ومیر لارو سن دو نماتد ریشه‌گرهی مورد مقایسه قرار گرفت. به منظور بررسی میزان مرگ میر لارو سن دو نماتد ریشه گرهی و همچنین تفریخ تخم ابتدا آزمایش در شرایط آزمایشگاه انجام گرفت که نتیجه آن افزایش میزان مرگ و میر نماتد در تیمارهایی که با عصاره تیمار شده بودند شد (شکل ۲). گیاهی که در شرایط آزمایشگاهی تاثیر کمی بر مرگ و میر لارو سن دو داشت (پیچک صحرایی) حذف گردید و دو گیاه دیگر مجددا در شرایط گلخانه بررسی شدند (شکل ۱). در شرایط گلخانه‌ای نیز، نتایج نشان می‌دهد که عصاره‌های استفاده شده بر فاکتورهای نماتدی تأثیر خوبی داشته‌اند و در تیمارهایی که در آنها عصاره استفاده شده بود فاکتور تولید مثل نماتد کمتر بود که احتمالاً عصاره‌های مورد استفاده به نحوی باعث گمراهی لاروهای سن دوم در پیدا کردن میزبان و نفوذ به درون آن شده یا در بیولوژی نماتد ریشه‌گرهی تأثیر گذاشته و باعث کاهش تعداد تخم در هر توده تخم یا عدم ایجاد توده تخم شده بود.

تاثیر تیمارها در طول اندام هوایی گیاه گوجه فرنگی نشان می‌دهد که گیاهانی که با نماتد تلقیح شده بودند دارای طول اندام هوایی کمتری (با اختلاف معنی‌داری) نسبت با سایر تیمارها می‌باشند که نشان می‌دهد نماتد باعث کاهش رشد گیاه شده است که این یافته با گزارش‌های قبلی مطابقت دارد (Siddiqui and Alam, 2001). حضور نماتد روی ریشه باعث صدمه به گیاه شده و با منحرف کردن مسیر غذایی تولید شده در گیاه به سمت ریشه و مصرف آن، باعث کاهش رشد و کاهش محصول می‌گردد. با توجه به تنوع ترکیبات ضد میکروبی عصاره و اسانس‌های گیاهی، مکانیسم‌های متفاوتی نیز برای مجموعه فعالیت‌های آنها وجود دارد. این ترکیبات در اثر فعالیت مشترک و هم‌پوشانی ترکیبات گوناگون، دیواره و غشاء سلولی آفات و بیمارگرها را تخریب و نفوذ پذیری و نشت یونی سلول‌ها را افزایش می‌دهند. در پی تجزیه لیپیدهای دیواره سلولی، میتوکندری‌ها و پروتئین‌های غشاء و نیز لخته شدن سیتوپلاسم، مرگ سلول‌های آسیب دیده اتفاق می‌افتد (Burt, 2004) در تیمارهایی که در آنها از عصاره استفاده شده بود ولی به نماتد آلوده نشده بودند در مقایسه با تیمار شاهد بدون عصاره و بدون نماتد، شاخص‌های رویشی گیاه کاهش معنی داری یافته بود و این نشان می‌دهد که عصاره گیاهان مورد استفاده باعث کاهش رشد در اندام‌های گیاهی شده است که این نتایج با نتایج به دست‌آمده توسط *شاکری و همکاران* (Shakeri *et al*., 2013) مطابقت دارد ولی با نتایج *جان و هبسی* (John and Hebsy, 2000) مغایرت دارد. در نتایج بدست آمده توسط *جان و هبسی* نوع عصاره استفاده شده متفاوت می‌باشد، لذا ممکن است مغایرت در نتایج به دلیل متفاوت بودن نوع عصاره استفاده شده باشد.

نتایج به دست آمده نشان می‌دهد که عصاره‌های مورد استفاده در شرایط آزمایشگاهی نسبت به همان غلظت‌ها در شرایط گلخانه‌ای دارای اثر کشندگی بیشتری می‌باشند که *ایندرجیت* در این رابطه بیان داشت که بعد از اضافه نمودن عصاره‌های گیاهی به داخل خاک، پایداری، در دسترس بودن و فعالیت بیولوژیکی مواد بازدارنده موجود در عصاره، تحت تأثیر شرایط فیزیوشیمیایی خاک قرار می‌گیرد لذا این احتمال وجود دارد که بعد از افزودن عصاره

گیاهی به خاک، میکروارگانیسم‌های موجود در خاک فعال شده و با تبدیل یا تجزیه نسبی مواد بازدارنده، منجر به کاهش اثر بازدارندگی آن‌ها نسبت به محیط پتری‌دیش شده باشند (Inderjit, 2005).

اثر بازدارندگی عصاره آبی گیاهان مختلف بر نماتد ریشه گرهی توسط محققین مختلف انجام شده است که از آن جمله می‌توان به تأثیر عصاره‌های آبی درخت چریش (*Azadirachta indica*) و درخت زیتون (*Melia azadirach*) بر نماتد *M. incognita* در گوجه فرنگی (Siddiqui and Alam, 2001)، کنترل نماتد ریشه گرهی با زیتون تلخ (D'Addabbo *et al*., 2000)، عصاره قسمت‌های مختلف گیاه چریش (Zasada *et al*., 2002)، عصاره گیاه *Ipomoea fistulosa* (Alam, 1985)، عصاره گیاه *Argemone Mexicana* (Shaukat et al., 2002, 2004)، گیاه چریش و اکالیپتوس *Eucalyptus tereticornis* (Sellami and Mouffarrah, 1994)، عصاره برگ درمنه و کرچک (Katooli *et al*., 2010)، عصاره گزنه (Ibrahim *et al*., 2006) و عصاره ریشه علف هرز سیام *Chrmolaena odorata*، چریش، کرچک و علف لیمو *Ricinus communis* (Adegbite and Adesiyan, 2006) اشاره کرد.

در ایران نیز از گیاهان مختلفی علیه نماتد مولد غده (*Meloidogyne* spp.) استفاده شده است که از آن جمله می‌توان به تحقیق *غزلباش و عبدالهی* اشاره کرد که در آن عصاره آبی چویل و آویشن شیرازی را بر نماتد *M. javanica* آزمایش کردند (Ghazalbash and Abdullahi, 2013) و *کیانی و عبدالهی* که اثر عصاره گل گیاه کبر (*Capparis spinose*) و برگ انجیر *Ficus carica* بر نماتد *M. incognita* در شرایط آزمایشگاهی را امتحان نمودند (Kiani and Abdullahi, 2014). همچنین *بهمن زیاری و همکاران* اثر بازدارندگی عصاره زیره سیاه، پونه، آویشن باغی و دو توده کرچک از ارومیه و کرمان را بر میزان تفریخ تخم و مرگ و میر لارو سن ۲ نماتد ریشه گرهی بررسی کردند (Bahmanziari *et al*., 2017).

گیاهان مورد استفاده در این آزمایش علف‌های هرز مزارع می‌باشند. با در نظر گرفتن پتانسیل نماتدکشی عصاره‌های این گیاهان علاوه بر مزایایی که استفاده از عصاره‌های گیاهی دارند مانند جلوگیری از آلوده شدن محیط زیست، کاهش مصرف سموم باعث مبارزه با علف‌های هرز نیز می‌شود که به توسعه کشاورزی پایدار کمک فراوانی می‌کند.

سپاسگزاری

نویسندگان از داوران محترم و سردبیر محترم مجله به دلیل نظرات ارزشمندشان در تقویت این مقاله تشکر و قدردانی می‌کنند.

References

1. Adegbite AA and Adesiyan SO. 2006. Root extract of plant to control root-knot nematode on edible soybean. Journal of Vegetable Science 12: 5–12.
2. Alam MM. 1985. A single method for "in vitro" screening for nematotoxicity. International Nematology Network Newsletter, 2: 6.
3. Azadi R. 2012. Amaranthaceae. pp. 9–50, In M Assadi, AA Maassoumi, M Khatamsaz, V Mozaffarian (eds). Flora of Iran, No. 75. Tehran: Forests and Rangelands Research Institute Press.
4. Bahmanziari M, Olia M and Heydari F. 2017. Effects of four medicinal plant on root-knot nematode (*Meloidogyne javanica*) infecting tomato. Plant Protection (Shahid Chamran University) 40 (2): 1–12.
5. Burt S. 2004. Essential oils their antimicrobial properties and potential applications in foods-a review. International Journal of Food Microbiology 94: 223–253.
6. D'Addabbo T, Sassanelli N, Lamberti F, Greco P and Carella A. 2000. Control of root-knot nematodes by olive and grape pomace soil amendments. ISHS Acta Horticulturae 532: 53–57.
7. Ezhilan GJ, Chandrasekhar V and Kurucheve V. 1994. Effect of six selected plant products and oil cakes on the sclerotial production and germination of *Rhizoctonia solani*. Indian Phytopathology 47: 183–185.
8. Fujii Y. 2000. Allelopathy in the Action and Utilization of Allelopathy Substance. Tokyo: Noubunkyo. 428 p.
9. Ghazalbash N and Abdullahi M. 2013. Inhibition of aqueous extract of *Ferulago angulata* and *Zataria Multiflora* on root-knot nematode *Meloidogyne javanica* in vitro and some of their compounds. Research in Plant Pathology 1(1): 53–62.
10. Grewal PS. 1989. Nematicidal effects of some plant-extracts to *Aphelenchoides composticola* (Nematoda) infesting mushroom, *Agaricus bisporus*. Revue de Nematologie 12: 317–322.
11. Gupta OP. 2000. Modern Weed Management. Jodhpur: Agrobios Publisher. 339 p.
12. Hunt DJ and Handoo ZA. 2009. Taxonomy, identification and principal species. pp. 55–97. In: RN Perry, M Moens and JL Starr (eds). Root-Knot Nematodes. Wallingford: CABI.
13. Hussey RS and Barker KR. 1973. A comparison of methods of collecting inocula of *Meloidogyne* spp., including a new technique. Plant Disease Reporter 57: 1025–1028.
14. Ibrahim SK, Traboulsi AF and El-haj S. 2006. Effect of essential oils and plant extracts on hatching, migration and mortality of *Meloidogyne incognita*. Phytopathologia Mediterranea 45: 238–246.
15. Inderjit J. 2005. Soil microorganisms: an important determinant of allelopathic activity. Plant and Soil 274: 227–236.
16. Javed N, Gowen SR, Inam-ul-Haq M and Anwar SA. 2007. Protective and curative effect of Neem (*Azadirachta indica*) formulations on the development of

root-knot nematode *Meloidogyne javanica* in roots of tomato plants. Crop Protection 26: 530–534.

17. John A and Hebsy B. 2000. Bare-root dip treatment of brinjal seedlings in phytochemicals for the management of root-knot nematodes (*Meloidogyne incognita*). Journal of Tropical Agriculture 38 (1–2): 69–72.
18. Katooli N, Mahdikhani Moghadam E and Maghsoudlu R. 2010. Effect of leaf extracts of sweet wormwood and castor bean in reducing population of root-knot nematode (*Meloidogyne incognita*) on cucumber. Agroecology 2: 587–592.
19. Kiani Gh and Abdullahi M. 2014. Inhibition of aqueous extract of flower of *Capparis spinosa* and leaf of *Ficus carica* on *Meloidogyne incognita* nematode in vitro condition. Research in Plant Pathology 3 (1): 37–46.
20. Mighati F. 2003. Allelopathy, from Concept to Application. Tehran: Parto-e vaghehe Press. 256 p.
21. Mitich LW. 1997. Redroot pigweed (*Amaranthus retroflexus*). Weed Technology 11:199-202
22. Perez MP, Navas-Cortes JA, Pascual-Villalobos MJ and Castillo P. 2003. Nematicidal activity of essential oils and organic amendments from Asteraceae against root-knot nematodes. Plant Pathology 52: 395–401.
23. Rashedmohasel M, Najafi H and Akbarzadeh M. 2001. Biology and Weed Control. Mashhad: Ferdowsi University of Mashhad Press. 404 p.
24. Ronald AE and Smith EC. 1969. The flora of the Nova Scotia. Halifx: Nova Scotian Institute of Science. 746 p.
25. Santos BM, Dusky JA, Stall WM, Shilling DJ and Bewick TA. 1997. Influence of smooth pigweed and common purslane on lettuce as affected by phosphorus fertility. Proceeding of Florida State Horticulture Society 110: 315–317.
26. Sasser JN. 1972. Physiological variation in the genus *Meloidogyne* as determined by differential hosts. EPPO Bulletin 2: 41–48.
27. Sellami S and Mouffarrah A. 1994. Effect of some aqueous plant extracts on juvenile hatching and larval mortality against *Meloidogyne incognita*. Mededelingen Faculteit Landbouwkundige en Toegepaste Biologische Wetenschappen Universiteit Gent 59(2b): 813–816.
28. Shakeri M, Soudaizadeh H and Hakimi MH. 2013. Effects of allelopathy and nematodeicide of aqueous extract of *Capparis spinose* L. on growth characteristics of cucumber and tomato. Journal of Agricultural science and Sustainable Production 23 (2): 97–111.
29. Shaukat S, Siddiqui IA and Zarina B. 2004. Effects of some common weeds from Pakistan on plant-parasitic nematodes in vitro and population densities and survival of *Meloidogyne incognita* in okra and brinjal. Nematologia Mediterranea 32: 111–115.
30. Shaukat SS, Siddiqi IA, Khan GH and Zaki MJ. 2002. Nematicidal and allelopathic potential of *Argemone mexicana*, a tropical weed. Plant and Soil 245: 239–247.

31. Siddiqi MR. 2000. Tylenchida, Parasites of Plants and Insects, 2nd ed. Wallingford: CABI. 833 p.
32. Siddiqui MA and Alam MM. 2001. Neem allelopathy and the root-knot nematode. IPM Practitioner 23: 9–11.
33. Sikora RA and Fernandez E. 2005. Nematode parasites of vegetables. pp: 319–392, In M Luc, RA Sikora and J Bridge (eds). Plant Parasitic Nematodes in Subtropical and Tropical Agriculture. Wallingford: CABI.
34. Taba S, Sawada J and Moromizato ZI. 2007. Nematicidal activity of Okinawa island plants on the root-knot nematode *Meloidogyne incognita* (Kofoid and White) Chitwood. Plant and Soil 303: 207–216.
35. Vrain TC. 1977. A technique for the collection of larvae of *Meloidogyne* spp. and a comparison of eggs and larvae as inocula. Journal of Nematology 9(3): 249–251.
36. Wellman RH. 1977. Problem in development, registration and use of fungicides. Annual Review of Phytopathology 15: 155–163.
37. Zand A, Rahimian Mashhadi K, Kouchaki A, Khalqani J, Mousavi K and Ramezani K. 2004. Weed Ecology (Managerial Application). Mashhad: Jahad Daneshgahi of Mashhad Mashhad University Press. 244 p.
38. Zasada IA, Ferris H and Zheng L. 2002. Plant sources of chinese herbal remedies: laboratory efficacy, suppression of *Meloidogyne javanica* in soil, and phytotoxicity assays. Nematology 34: 124–129.
39. Zeinali A and Ehteshami M. 2006. Biology and Control of Important Weed Species. Gorgan: Gorgan University Press. 312 p.