

بررسی آزمایشگاهی تأثیر دو گیاه داتوره و بنگ‌دانه در تفریح تخم و مرگ و میر لاروهای نماتد گره

ریشه *Meloidogyne javanica* (Treub, 1885) Chitwood, 1949

نگین اسکندرزاده خیایوی^۱، شلاله مصلحی^{۲*} و ناهید واعظ^۲

^۱ دانشجوی کارشناسی ارشد بیماری‌شناسی گیاهی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه شهید مدنی آذربایجان

^۲ استادیاران گروه گیاهپزشکی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه شهید مدنی آذربایجان

*مسئول مکاتبه: sh.moslehi@yahoo.com

تاریخ پذیرش: ۹۹/۵/۷

تاریخ دریافت: ۹۹/۲/۳۰

چکیده

نماتدهای گره ریشه (*Meloidogyne spp.*) از نظر خسارت اقتصادی به محصولات کشاورزی، مهم‌ترین گروه نماتدهای انگل گیاهی می‌باشند. کنترل زیستی یکی از روش‌های نوین و محیط زیست دوستانه برای کنترل آن‌ها است. یکی از راه‌های کنترل زیستی نماتدها، استفاده از گیاهانی با ویژگی‌های ضدنماتدی است. در پژوهش حاضر، تأثیر عصاره‌های دو گونه از گیاه داتوره (*Datura metel*, *Datura stramonium*) و بنگ‌دانه (*Hyoscyamus niger*) در برابر جمعیت بومی نماتد گره ریشه گونه *Meloidogyne javanica* مورد بررسی قرار گرفت. ارزیابی‌ها بر اساس تأثیر عصاره‌ها در تفریح تخم نماتد و مرگ‌ومیر لارو سن دو در شرایط آزمایشگاهی بود. بدین منظور گیاهان مورد آزمایش در فیتوترون آزمایشگاه کشت شده و پس از رشد کامل، برگ‌های آن‌ها برداشت و خشک شدند. از برگ‌های پودر شده، عصاره‌های آبی ۳۰ به ۱ تهیه شده و غلظت‌های مختلفی از هر کدام از عصاره‌ها برای بررسی میزان تفریح تخم و مرگ و میر لارو سن دو استفاده گردید. از نظر تأثیر عصاره‌ها در تفریح تخم نماتد، هر سه گیاه به درجاتی در بازدارندگی تفریح تخم نماتد تأثیر داشتند. با افزایش غلظت عصاره این تأثیرگذاری نیز بیشتر بود و غلظت ۵۰ درصد عصاره ۳۰ به ۱ بیشترین تأثیر را در کاهش تفریح تخم داشته و غلظت ۲۵ درصد نیز پس از آن، بیشترین تأثیر را داشت. تأثیر عصاره‌ها بر روی مرگ و میر لاروهای سن دوم نماتد نیز قابل توجه بوده و هر سه گیاه به ویژه در غلظت‌های بالاتر سبب مرگ و میر درصد قابل توجهی از لاروها در مقایسه با شاهد شدند. از این میان غلظت ۲۵ درصد عصاره ۳۰ به ۱ هر سه گیاه تأثیر بالایی در مرگ لاروها داشت. در آزمایشی دیگر، تأثیر این عصاره‌ها در میزان جوانه‌زنی بذر رقم حساس گوجه‌فرنگی (Super Strain B) مورد بررسی قرار گرفت. غلظت‌های مختلف عصاره‌های گیاهان در داخل پتری‌های استریل پوشانده شده با کاغذ صافی استریل ریخته شده و بذور در داخل آن‌ها چیده شدند و درصد جوانه‌زنی تا یک هفته ثبت گردید. با در نظر گرفتن مجموع نتایج، می‌توان گفت که عصاره هیچ‌کدام از گیاهان تأثیر منفی در جوانه‌زنی بذور گوجه‌فرنگی نداشت.

واژه‌های کلیدی: کنترل زیستی، نماتد گره ریشه، *Hyoscyamus*, *Datura*

مقدمه

کشاورزی وارد می‌کنند که در یک بررسی این مقدار حدود ۱۷۳ میلیارد دلار آمریکا در سال برآورد شده است، (Elling, 2013). در ایران نیز در بسیاری از مناطق، نماتدهای گره ریشه به ویژه گونه‌های *M. M. hapla* و *M. javanica incognita* به دامنه وسیعی از میزبان‌ها در باغات، مزارع و گلخانه‌ها خسارت می‌زنند.

نماتدهای گره ریشه (*Meloidogyne spp.*) یکی از مهم‌ترین بیمارگرهای گیاهی می‌باشند که دامنه میزبانی وسیعی داشته و هرساله خسارات زیادی به محصولات گیاهی وارد می‌کنند. تاکنون هفت گونه در ایران از میزبان‌های مختلف جمع‌آوری، شناسایی و گزارش شده‌اند (قادری و همکاران، ۱۳۹۱). گونه‌های مختلف نماتدهای انگل گیاهی، سالانه خسارات زیادی را به انواع محصولات

چرخه‌های آنزیمی به ویژه آنزیم‌های گروه استراز سبب ایجاد اختلال در فرایندهای طبیعی نماتدها شده و در اثر کاهش تحرک و میزبان‌یابی، کاهش تغذیه و تولیدمثل، سبب کاهش خسارات نماتد می‌گردند. گیاهان ضدنماتد می‌توانند به صورت تناوب با گیاه اصلی، به صورت کشت مخلوط و همراه با محصول اصلی و یا قبل از کاشت محصول به صورت کود سبز استفاده شده و یا عصاره‌ها و محصولات تجاری‌سازی شده آن‌ها مورد استفاده قرار گیرد (Kokalis-Burelle and Kabana, 2006). آلوکمیکال‌ها هم می‌توانند بر روی نماتدها تاثیر مستقیم بگذارند و هم از طریق تاثیر غیرمستقیم روی جمعیت میکروبی خاک عمل کنند. برخی از گیاهان نیز که به‌عنوان کود سبز به خاک اضافه می‌شوند خاصیت ضدنماتدی بالایی دارند. (Cheng, 1992).

گونه‌های مختلف داتوره یا تاتوره (*Datura spp.*) متعلق به تیره Solanaceae و بومی هند بوده و از گیاهان علفی و دارویی مهم به شمار می‌روند. این گیاهان، یک ساله یا چند ساله بوده و عمدتاً در مناطق گرمسیر می‌رویند. *D. stramonium* یکی از گونه‌های رایج این جنس است که گیاهی علفی، یک‌ساله و بسیار سمی است. *D. metel* گونه‌ای دیگر از این جنس است که هم جنبه دارویی دارد و هم به‌عنوان علف هرز در بعضی مزارع مطرح است. آکالوئیدهای مختلفی از جمله هیوسیامین، اسکوپولامین و آتروپین در این گیاهان وجود دارند که مصارف دارویی در علم پزشکی از جمله مصارف روان‌پزشکی و درمان پارکینسون، خاصیت ضدتهوع و بیهوش‌کنندگی دارند (Tranca et al., 2017).

یکی دیگر از گیاهان مهم تیره سیب‌زمینی (*Solanaceae*) گیاه بنگدانه با نام جنس *Hyoscyamus* است که دارای ۱۸ گونه است که نه گونه آن انحصاری ایران می‌باشند. گونه *Hyoscyamus niger* با انتشار جغرافیایی نسبتاً وسیعی که دارد یکی از مهم‌ترین گونه‌های این جنس از نظر استخراج آکالوئیدها است (قربان‌پور و همکاران، ۱۳۹۷). تمام پیکر این گیاه حاوی ترکیبات آکالوئیدی از گروه تروپان آکالوئیدها است که

کنترل نماتدها با استفاده از روش‌های مختلف فیزیکی مانند حذف ریشه‌های آلوده، غرقاب زمین، شخم عمیق، استفاده از گیاهان تله و بازدارنده، بخاردهی و آفتاب‌دهی صورت می‌گیرد. اما سه روش اصلی کنترل نماتدهای انگل گیاهی استفاده از ارقام مقاوم، تناوب زراعی و سموم نماتدکش است. متأسفانه استفاده از سموم شیمیایی به عنوان یکی از روش‌های اصلی مبارزه با بیمارگرهایی مانند نماتدها است. به طوری که امروزه به میزان زیاد از نماتدکش‌های شیمیایی استفاده می‌شود. با توجه به این که کاربرد وسیع نماتدکش‌ها ممکن است باعث ایجاد مقاومت گردد و از طرفی اثرات مضر سموم بر محیط زیست و موجودات زنده اجتناب ناپذیر است، بسیاری از این ترکیبات منسوخ شده و یا مصرف آن‌ها توصیه نمی‌شود. بنابراین لازم است که روش‌های جدید و موثری جایگزین این ترکیبات شوند تا از اثرات نامطلوب آن‌ها به محیط زیست جلوگیری شود (Bornowski, 2015).

اخیراً، دانشمندان با توجه به مسائل اقتصادی و زیست محیطی، استفاده از فرآورده‌های گیاهی را مورد توجه قرار داده‌اند که در این میان استفاده از ترشحات ریشه‌ای، عصاره‌ها، کنجاله و ضایعات گیاهان دارویی و سمی به عنوان روشی مطمئن، آسان و ارزان در اصلاح خاک و کنترل نماتدهای انگل گیاهی حائز اهمیت می‌باشند. مواد حاصل از گیاهان نه تنها از نظر استفاده برای انسان و محیط زیست بی‌خطر هستند بلکه در مواردی توانایی بهبود ساختمان خاک و حاصل‌خیزی آن را نیز دارند. گیاهان عالی، حاوی طیف وسیعی از متابولیت‌های ثانویه از جمله فنل‌ها، فلاونوئیدها، کینون‌ها، تانن‌ها، اسانس‌ها، آکالوئیدها، ساپونین‌ها و استرول‌ها می‌باشند. این مواد به دلیل داشتن منشا طبیعی، قابل تجزیه زیستی بوده و معمولاً بقایای سمی یا فرآورده‌های جانبی آلوده کننده محیط زیست بر جا نمی‌گذارند. بسیاری از متابولیت‌های موجود در گیاهان در دفاع گیاه در مقابل آفات و بیماری‌ها مؤثر هستند. با توجه به این که ترکیبات فعال با منشأ گیاهی در محیط پایداری کم‌تری دارند، روی پستانداران و موجودات غیر هدف نیز معمولاً اثر سوء ندارند (Wrona, 2017). به طور کلی، گیاهان آنتاگونیست خاصیت نماتدکشی مستقیم ندارند. بلکه با اختلال در

چندین بار با آب مقطر شست و شو داده شدند. با توجه به عدم جوانه زنی بذور داتوره، از روش تغییر یافته قدمیاری و همکاران (۱۳۸۹) برای از بین بردن خواب بذور استفاده شد. به این صورت که بذور داتوره پس از ایجاد خراش سطحی به وسیله سمباده، به مدت ۲۴ ساعت در محلول نیترات پتاسیم ۵۰۰ ppm قرار داده شده و بعد از شست و شو با آب مقطر در درون ظروف پتری بر روی کاغذ صافی استریل چیده شدند. ظروف پتری حاوی بذور در داخل انکوباتور با دمای حدود 20 ± 2 درجه سلسیوس قرار داده شدند. بذور بنگدانه نیز بدون تیمار شکستن خواب، در داخل پتری‌ها قرار داده شدند. بستر کشت مورد استفاده برای تکثیر این گیاهان شامل نسبت‌های مساوی از خاک زراعی استریل، پرلایت و پیت‌ماس بود. بذور جوانه زده داخل گلدان‌ها کشت شده و در فیتوترون با دمای حدود 28 ± 2 درجه سلسیوس نگهداری شدند. گیاهان به طور مرتب آبیاری شده و پس از رشد کامل، از برگ‌های آن‌ها برای عصاره‌گیری استفاده شد.

تهیه عصاره‌های گیاهی

با رشد گیاهان و ظهور برگ‌های کامل، برگ‌ها چیده شده و پس از تمیزسازی سطح برگ، پهن شده و هوا خشک شدند. برگ‌های خشک شده، پودر شده و عصاره آبی آن‌ها تهیه گردید. به صورتی که پودرهای حاصل از هر گیاه داخل ارلن‌مایر ریخته شده و به ازای هر گرم از پودر گیاه ۳۰ میلی‌لیتر آب مقطر به ارلن اضافه شد. پس از اختلاط کامل پودر با آب، دهانه ارلن‌مایرها با فویل آلومینیومی و پنبه مسدود شده و ظروف در داخل بن ماری با دمای ۷۰ درجه سلسیوس به مدت دو ساعت نگهداری شده و هر نیم ساعت یک بار تکان داده شدند تا محتویات آن‌ها ته‌نشین نشود. پس از دو ساعت ظروف در داخل انکوباتور شیکردار با دمای حدود ۲۸ درجه سلسیوس و ۱۵۰ دور در دقیقه به مدت ۴۸ ساعت قرار داده شدند. پس از آن عصاره‌های حاصل، از کاغذ صافی عبور داده شده و رسوب و تقاله‌های آن‌ها به طور کامل جداسازی و حذف شدند. عصاره‌های آماده شده در داخل شیشه‌های در بسته ریخته شده و در داخل یخچال نگهداری شدند. عصاره‌های آبی ترجیحا به صورت تازه

مهم‌ترین آن‌ها هیوسیامین، آتروپین و آسکوپولامین می‌باشند.

در ایران تاثیر عصاره برخی گیاهان علیه نماتدها مورد آزمایش قرار گرفته است. اما در مورد گونه‌های مورد بررسی در پژوهش حاضر چندان کاری انجام نگرفته است. تنها یک مطالعه در مورد اثرات ضد نماتدی داتوره با استفاده از گونه *D. stramonium* انجام شده است. در این بررسی، تاثیر آزمایشگاهی عصاره بذری دو گیاه داتوره و تاجریزی علیه نماتد *M. javanica* بررسی شده است (فیاض، ۱۳۹۳). در مورد گیاه بنگدانه نیز در این مورد در ایران هیچ مطالعه‌ای انجام نشده است. در این پژوهش، اثر بازدارندگی این سه گونه گیاهی علیه جمعیت بومی نماتد گره ریشه *Meloidogyne javanica* در سطح آزمایشگاهی مورد بررسی قرار گرفت. با توجه به این‌که امروزه بسیاری از بیماری‌ها به‌ویژه سرطان بسیار همه‌گیر شده و روند رو به افزایشی را در سراسر جهان از جمله کشور ایران دارد، تمامی پژوهش‌هایی که منجر به حذف یا کاهش استفاده از سموم گردد ارزش و اهمیت بالایی خواهد داشت. نتایج حاصل از این پژوهش

مواد و روش‌ها

جمعیت نماتد مورد بررسی

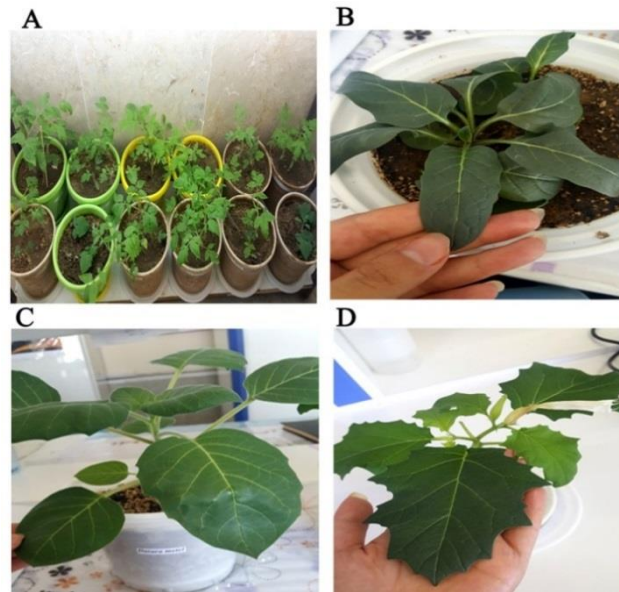
در این بررسی از گونه *Meloidogyne javanica* که قبلاً از پارس‌آباد مغان نمونه‌برداری، جداسازی، خالص‌سازی و شناسایی شده و در کلکسیون آزمایشگاه بیماری‌شناسی دانشگاه شهید مدنی آذربایجان نگهداری می‌شود، استفاده گردید. جمعیت مورد بررسی در فیتوترون آزمایشگاه بیماری‌شناسی بر روی ریشه‌های رقم حساس گوجه‌فرنگی (Super Strain B) تکثیر و در آزمایش‌های مختلف مورد استفاده قرار گرفت.

تکثیر گیاهان داتوره و بنگدانه جهت عصاره‌گیری

بذور دو گونه داتوره *Datura stramonium* و بنگدانه *Datura metel* از منابع معتبر تهیه گردید. این بذور در محلول هیپوکلریت سدیم یک درصد به مدت یک الی دو دقیقه ضدعفونی شده و

روش به طور تازه تهیه و استفاده گردید (روش تغییر یافته (Grewal, 1989).

و حداکثر به مدت دو هفته مورد استفاده قرار گرفته و برای انجام آزمایش‌های بعدی عصاره‌های گیاهی به همین



شکل ۱- گیاهان گوجه‌فرنگی برای تکثیر نماتد (A). گیاهان پرورش یافته *Datura metel*، *Hyoscyamus niger* و *Datura stramonium* در فیتوترون (به ترتیب B، C و D).

Fig. 1- Tomato plants for propagation of nematode (A). *Hyoscyamus niger*, *Datura metel* and *Datura stramonium* plants in phytotron (B, C and D respectively).

نگهداری شده و سپس مورد استفاده قرار گرفتند. با توجه به نتایج حاصل از آزمایش مقدماتی، غلظت‌های آزمایش اصلی برای عصاره‌های *D. metel*، *D. stramonium* و *Hyoscyamus niger* معادل ۱، ۵، ۱۰، ۲۵ و ۵۰ درصد از عصاره ۱ به ۳۰ در نظر گرفته شد و از آب مقطر خالص نیز به عنوان شاهد استفاده گردید. غلظت‌های تعیین شده برای هر سه عصاره تهیه شده و به میزان یک میلی‌لیتر از هر کدام در چاهک‌های ظروف کشت بافت ۲۴ چاهکی پلاستیکی ریخته شد. برای هر تیمار سه تکرار در نظر گرفته شد. داخل هر چاهک حدود ۵۰ لارو سن دوم نماتد اضافه شد. ظروف در دمای آزمایشگاه (حدود ۲۸ درجه سلسیوس) قرار گرفته و ثبت مرگ و میر لاروها ۲۴ ساعت پس از شروع آزمایش تا چهار روز انجام گرفت و درصد مرگ و میر محاسبه گردید. نماتدهای ثبت شده به عنوان نماتد مرده شامل افرادی بودند که بدن کاملاً کشیده یا

بررسی تاثیر عصاره‌های گیاهی در مرگ و میر لارو سن دوم نماتد

برای انجام آزمایش ابتدا سوسپانسیون لارو تهیه گردید. به این ترتیب که ریشه‌های آلوده به نماتد از گلدان‌های تکثیری آلوده خارج شده و پس از شستشوی کامل با آب، کیسه‌های تخم روی آن‌ها در زیر بینوکلر با استفاده از سوزن و تیغ جدا شدند. برای حل شدن کیسه‌های تخم از هیپوکلریت سدیم نیم درصد استفاده شد. بعد از یک دقیقه تخم‌ها به همراه آب مقطر در داخل میکروتیوپ‌های دو میلی‌لیتری ریخته شده و با دستگاه اسپینر چندین بار شستشو داده شدند. این کار چندین بار تکرار شد تا بوی هیپوکلریت سدیم در لوله‌ها حس نشود. سوسپانسیون تخم حاصل همراه با مقداری آب مقطر استریل در داخل پتری به مدت ۴۸ ساعت در انکوباتور با دمای 27 ± 2 درجه سلسیوس قرار گرفت. لاروهای سن دوم (J_2) حاصل به مدت سه روز جمع‌آوری و در یخچال

انجام گرفت. پس از تبدیل داده‌های با توزیع غیرنرمال، تجزیه واریانس با آزمون یک طرفه (ANOVA) و مقایسه میانگین داده‌ها با آزمون دانکن انجام گرفت.

نتایج و بحث

آزمایش مرگ و میر لاروها

در بررسی تاثیر عصاره‌ها بر روی مرگ و میر لاروها در مورد هر سه گونه گیاهی، داده‌های چهار روز اول آزمایش مورد بررسی قرار گرفتند. چنانچه در جدول تجزیه واریانس (جدول ۱) مشاهده می‌شود، از نظر تاثیر عصاره گیاه *D. stramonium* در مرگ و میر لارو سن دوم، بین تیمارها در هر چهار روز ثبت، تفاوت معنی‌داری در سطح احتمال یک درصد وجود داشت. مقایسه میانگین داده‌ها مشخص کرد که در هر چهار روز ثبت نتیجه، تیمارها با غلظت ۵۰، ۲۵، ۱۰، ۵ و ۱ درصد با تفاوت آماری از هم به ترتیب سبب افزایش مرگ و میر لاروهای سن دوم نسبت به شاهد شدند. به علت ثبات داده‌های روز آخر ثبت نتیجه، داده‌های روز چهارم (۹۶ ساعت) برای هر سه گیاه مورد بررسی دقیق‌تر قرار گرفت. چنانچه مشاهده می‌شود، عصاره گیاهی ۵۰٪ با حدود ۹۶٪ مرگ و میر بیشترین تاثیر را در مرگ و میر لاروها داشت. عصاره با غلظت ۲۵ درصد نیز با ۸۸ درصد مرگ و میر، با سایر غلظت‌ها تفاوت معنی‌داری دارد. پس از آن عصاره‌های با غلظت کمتر با اختلاف معنی‌دار از هم، با درصد پایین‌تری سبب مرگ و میر لاروها شدند. بین غلظت یک درصد عصاره و شاهد آب مقطر تفاوت معنی‌دار وجود نداشت (شکل ۲ AI). از نظر تاثیر عصاره گیاه *D. metel* در مرگ و میر لارو سن دوم چنانچه در جدول تجزیه واریانس (جدول ۲) مشاهده می‌شود، بین تیمارها در هر چهار روز ثبت نتیجه تفاوت معنی‌دار آماری در سطح احتمال یک درصد وجود داشت. مقایسه میانگین داده‌های روز چهارم نشان داد که غلظت ۵۰ درصد عصاره با حدود ۹۰ درصد مرگ و میر و تیمار با غلظت ۲۵ درصد با مرگ و میر ۸۸ درصد بدون اختلاف معنی‌دار از هم بیشترین تاثیر را در مرگ و میر لاروها داشتند. سایر تیمارها نیز با روند نزولی نسبت به غلظت‌های بالاتر سبب مرگ و میر لاروها شدند. اما بین غلظت یک درصد عصاره و

چنبیره زده داشته و در اثر تحریک با نوک سوزن واکنش و حرکتی نشان نمی‌دادند.

آزمایش تاثیر عصاره‌های گیاهی در تفریح تخم نماتد

سوسپانسیون تخم مشابه آزمایش مرگ و میر تهیه شد. غلظت‌های هر سه عصاره همانند آزمایش مرگ و میر تهیه و در چاهک‌های ظروف کشت بافت ریخته شدند. از آب مقطر نیز به عنوان شاهد استفاده شد. در هر چاهک حدود ۱۰۰ تخم به داخل عصاره‌ها اضافه گردید. برای تمام تیمارها سه تکرار در نظر گرفته شد. ظروف کشت در انکوباتور با دمای 27 ± 2 درجه سلسیوس قرار داده شدند. ثبت تفریح تخم‌ها از فردای آزمایش تا ثبات نتایج (چهار روز) ادامه یافت. در نهایت درصد تفریح تخم‌ها برای هر غلظت محاسبه شد.

آزمایش تاثیر عصاره‌های گیاهی در جوانه زنی بذور گوجه فرنگی

برای بررسی اثر عصاره‌ها بر روی میزان جوانه زنی بذور، از رقم گوجه فرنگی Super Strain B استفاده شد. در این آزمایش برای هر غلظت دو پتری و هرکدام حاوی ۱۰ بذر در نظر گرفته شد. تمامی غلظت‌های تعیین شده برای تفریح و مرگ و میر در این آزمایش نیز مورد استفاده قرار گرفت. یک میلی‌لیتر از غلظت‌های تهیه شده هر کدام از عصاره‌های گیاهی بر روی کاغذ صافی استریل قرار داده شده در کف پتری‌های پلاستیکی ریخته شده و بذور گوجه‌فرنگی با فاصله مناسب روی آن‌ها چیده شدند. برای تیمارهای شاهد نیز به جای عصاره گیاهی از آب مقطر استریل استفاده گردید. ظروف در محیط آزمایشگاه با شرایط دمایی حدود ۲۸ درجه سلسیوس قرار گرفتند. نتایج آزمایش از روز شروع جوانه‌زنی (روز سوم) تا یک هفته ثبت شده و درصد جوانه‌زنی محاسبه گردید.

طرح آزمایشی و نحوه تجزیه‌ی داده‌ها

آزمایش‌ها در قالب طرح پایه کاملاً تصادفی پیاده شدند. تجزیه آماری و رسم نمودارها به ترتیب، با استفاده از نرم‌افزارهای IBM SPSS Statistics 20 و Excel

آن نیز در غلظت ۲۵ درصد بدون تفاوت معنی‌دار با غلظت ۵۰ درصد، ۲۶ درصد تخم‌ها تفریح شده بودند. سایر غلظت‌ها بدون تفاوت آماری معنی‌دار از هم اما با تفاوت معنی‌دار از شاهد آب، درجه‌های پایین‌تری از درصد تفریح را سبب شدند. بیشترین میزان تفریح تخم نیز با تفاوت آماری معنی‌دار نسبت به تمام تیمارها در تیمار شاهد مشاهده شد (شکل ۲ B2). تجزیه واریانس داده‌های مربوط به تفریح تخم نماتد تحت تاثیر غلظت‌های مختلف عصاره *Hyoscyamus niger* نشان داد که در تمام روزهای ثبت نتیجه بین تیمارها تفاوت آماری معنی‌داری در سطح احتمال یک درصد وجود داشت (جدول ۶). مقایسه میانگین داده‌ها نشان داد که روندی تقریباً منظم در تفریح بین غلظت‌ها در روزهای ثبت نتیجه وجود داشت. نتایج روز آخر نشان داد که کمترین میزان تفریح (به ترتیب حدود شش و نه درصد) با تفاوت معنی‌دار نسبت به سایر تیمارها در غلظت‌های ۵۰ و ۲۵ درصد حاصل شد. پس از آن در تیمار ۱۰ درصد و پنج درصد میزان کمتری تفریح رخ داد که تمام این درصد تفریح‌ها در مقایسه با شاهد آب مقطر با تفاوت آماری معنی‌داری کم بود (شکل ۲ C2)

تاثیر عصاره‌های گیاهی در جوانه‌زنی بذور گوجه‌فرنگی

چنان‌چه از نتایج جداول تجزیه واریانس (جدول ۸، ۹) مشخص است، در مورد تاثیر عصاره‌های دو گیاه *D. stramonium* و *H. niger* تنها در روز اول ثبت نتیجه (روز سوم آزمایش) تفاوت معنی‌دار آماری بین تیمارها وجود داشت و در سایر روزها تفاوت آماری بین تیمارها معنی‌دار نبود. در مورد *D. metel* نیز در روز اول و دوم ثبت نتیجه اختلاف معنی‌دار بود. شاید بتوان گفت عصاره‌ها تا حدی سبب تاخیر در شروع جوانه‌زنی شدند اما با توجه به این‌که داده‌ها در روزهای بعد ثبت نتیجه تا روز آخر (یک هفته بعد از شروع آزمایش) یکنواخت بوده و بین تیمارها تفاوت معنی‌دار نداشت، بنابراین می‌توان گفت عصاره هیچ‌کدام از گیاهان اثر منفی در جوانه‌زنی بذور گوجه‌فرنگی نداشت.

شاهد تفاوت آماری معنی‌داری وجود نداشت (شکل ۲ B1). تجزیه واریانس داده‌های مربوط به تاثیر *niger* *Hyoscyamus* در مرگ و میر لاروها نشان داد که بین تیمارهای مختلف در تمام روزهای ثبت نتیجه تفاوت آماری معنی‌دار در سطح احتمال یک درصد وجود دارد (جدول ۳). نتایج روز آخر ثبت نتیجه (۹۶ ساعت) مشخص نمود که غلظت‌های عصاره *H. niger* با تفاوت معنی‌دار آماری از هم و از شاهد آب مقطر با سیر نزولی از غلظت بالا به شاهد سبب مرگ و میر لاروها شدند. به طوری که غلظت ۵۰ درصد عصاره مرگ تقریباً ۹۹ درصد لاروها را سبب شد و پس از آن غلظت ۲۵ درصد با ۹۳/۶ درصد مرگ و میر با اختلاف معنی‌داری از سایر غلظت‌ها سطح دوم تاثیرگذاری را داشت (شکل ۲ C1).

آزمایش تفریح تخم نماتد

نتایج تجزیه واریانس داده‌های مربوط به عصاره گیاه *D. stramonium* در تفریح تخم نماتد نشان داد که در هر چهار روز ثبت نتیجه، بین تیمارها تفاوت آماری معنی‌داری در سطح احتمال یک درصد وجود داشت (جدول ۴). مقایسه میانگین داده‌ها نشان داد که در تمام روزهای ثبت نتیجه روندی تقریباً مشابه بین غلظت‌ها برقرار بود. به طوری که بررسی نتایج روز آخر ثبت نتیجه نشان داد که بیشترین درصد تفریح تخم نماتد بدون تفاوت معنی‌دار در تیمارهای شاهد و یک درصد عصاره رخ داد. کمترین درصد تفریح (حدود نه درصد) نیز در غلظت ۵۰ درصد عصاره مشاهده گردید که این میزان در مقایسه با سایر غلظت‌ها تفاوت معنی‌داری نشان داد (شکل ۲ A2). چنان‌چه در جدول تجزیه واریانس داده‌های حاصل از تاثیر عصاره گیاه *D. metel* در تفریح تخم نماتد (جدول ۵) مشخص است، در تمام روزهای ثبت نتیجه بین تیمارها تفاوت آماری معنی‌داری در سطح احتمال یک درصد مشاهده می‌شود. مقایسه میانگین داده‌ها نشان داد که روندی تقریباً مشابه از نظر تاثیر غلظت‌ها در تفریح تخم نماتد وجود داشت. چنان‌چه در داده‌های روز آخر ثبت نتیجه مشاهده می‌شود، کمترین میزان تفریح (حدود هفت درصد) با اختلاف معنی‌دار از شاهد در عصاره با غلظت ۵۰ درصد مشاهده شد. پس از

بحث

راه‌های اصلی مدیریت نماتدهای گره ریشه مهار نماتد در مرحله تخم و لارو می‌باشد. به همین دلیل وقتی اثر ضدنماتدی سموم، عوامل کنترل زیستی، عصاره‌های گیاهی و غیره بررسی می‌گردد مطالعه اثرات تخم‌کشی و لاروکشی آن به‌عنوان اولین آزمایش‌ها انجام می‌گیرد. در این بررسی نیز میزان تاثیر عصاره سه گونه گیاهی بر مهار تفریح تخم نماتد و مرگ و میر لاروها بررسی گردید تا در صورت به دست آمدن نتایج مطلوب، سایر آزمایش‌های تکمیلی انجام گیرد.

با توجه به این‌که مرحله آلوده‌کننده نماتد گره ریشه لارو سن دوم این بیمارگر می‌باشد، درصد خروج لاروهای سن دوم از تخم، میزان مایه تلقیح اولیه را مشخص می‌کند. هرچه تعداد لارو بیشتری از تخم‌ها خارج شده و هرچه لاروهای سن دو توانایی بقای بیشتری داشته باشند، سبب آلوده‌سازی تعداد بیشتری از میزبان‌ها می‌شوند. نظر به این‌که کنترل نماتدها به‌ویژه بیمارگر مهمی چون نماتد گره ریشه پس از شیوع آلودگی و خسارت دیدن گیاهان مشکل می‌باشد، بنابراین یکی از

جدول ۱ - تجزیه واریانس تاثیر عصاره برگ *D. stramonium* بر مرگ‌ومیر لاروهای سن دوم *M. javanica*

Table 1. Variance Analysis of effects of *D. stramonium* leaf extract on mortality of J₂s of *M. javanica*.

میانگین مربعات (Means square)				درجه آزادی (Degree of freedom)	منابع تغییر (Source of variation)
۹۶ ساعت (96h)	۷۲ ساعت (72h)	۴۸ ساعت (48h)	۲۴ ساعت (24h)		
4609/68**	4433/97**	4168/39**	3646/86**	5	غلظت (Concentration)
15/40	10/65	16/01	26/61	12	خطا (Error)
299/30	416/29	260/32	137/02	-	F
82	84	87	88	-	ضریب تغییرات (CV%)

** دارای اختلاف معنی‌دار در سطح احتمال یک درصد

** Significant at 0.01 probability level

جدول ۲ - تجزیه واریانس تاثیر عصاره برگ *D. metel* بر مرگ‌ومیر لاروهای سن دوم *M. javanica*

Table 2. Variance Analysis of effects of *D. metel* leaf extract on mortality of J₂s of *M. javanica*.

میانگین مربعات (Means square)				درجه آزادی (Degree of freedom)	منابع تغییر (Source of variation)
۹۶ ساعت (96h)	۷۲ ساعت (72h)	۴۸ ساعت (48h)	۲۴ ساعت (24h)		
4699/71**	4619/09**	4121/41**	2896/03**	5	غلظت (Concentration)
24/12	29/29	23/57	28/39	12	خطا (Error)
194/77	157/66	174/83	101/98	-	F
87	89	90	88	-	ضریب تغییرات (CV%)

** دارای اختلاف معنی‌دار در سطح احتمال یک درصد

** Significant at 0.01 probability level

جدول ۳- تجزیه واریانس تاثیر عصاره برگي *H. niger* بر مرگومير لاروهای سن دوم *Meloidogyne javanica*
Table 3. Variance Analysis of effects of *H. niger* leaf extract on mortality of J₂s of *M. javanica*.

میانگین مربعات (Means square)				درجه آزادی (Degree of freedom)	منابع تغییر (Source of variation)
۹۶ ساعت (96h)	۷۲ ساعت (72h)	۴۸ ساعت (48h)	۲۴ ساعت (24h)		
5233/06**	5226/53**	4840/15**	4729/87**	5	غلظت (Concentration)
3/99	4/45	18/07	25/38	12	خطا (Error)
1311/17	1173/91	267/81	186/32	-	F
84	87	88	95	-	ضریب تغییرات (CV%)

** دارای اختلاف معنی دار در سطح احتمال یک درصد

** Significant at 0.01 probability level

جدول ۴- تجزیه واریانس تاثیر عصاره برگي *D. stramonium* در تفریح تخم *M. javanica*
Table 4. Variance Analysis of effects of *D. stramonium* leaf extract on hatching of J₂s of *M. javanica*.

میانگین مربعات (Means square)				درجه آزادی (Degree of freedom)	منابع تغییر (Source of variation)
۹۶ ساعت (96h)	۷۲ ساعت (72h)	۴۸ ساعت (48h)	۲۴ ساعت (24h)		
746/82**	656/34**	514/17**	381/02**	5	غلظت (Concentration)
74/31	70/42	38/87	60/06	12	خطا (Error)
10/05	9/32	13/22	6/28	-	F
43	48	47	51	-	ضریب تغییرات (CV%)

** دارای اختلاف معنی دار در سطح احتمال یک درصد

** Significant at 0.01 probability level

جدول ۵- تجزیه واریانس تاثیر عصاره برگي *D. metel* در تفریح تخم *M. javanica*
Table 5. Variance Analysis of effects of *D. metel* leaf extract on hatching of J₂s of *M. javanica*.

میانگین مربعات (Means square)				درجه آزادی (Degree of freedom)	منابع تغییر (Source of variation)
۹۶ ساعت (96h)	۷۲ ساعت (72h)	۴۸ ساعت (48h)	۲۴ ساعت (24h)		
940/41**	675/66**	518/67**	346/61**	5	غلظت (Concentration)
115/75	107/23	74/66	41/8	12	خطا (Error)
8/12	6/30	6/94	8/29	-	F
56	56	57	57	-	ضریب تغییرات (CV%)

** دارای اختلاف معنی دار در سطح احتمال یک درصد

** Significant at 0.01 probability level

جدول ۶ - تجزیه واریانس تاثیر عصاره برگ *H. niger* در تفریح تخم *M. javanica*Table 6. Variance Analysis of effects of *H. niger* leaf extract on hatching of J₂s of *M. javanica*.

میانگین مربعات (Means square)				درجه آزادی (Degree of freedom)	منابع تغییر (Source of variation)
۹۶ ساعت (96h)	۷۲ ساعت (72h)	۴۸ ساعت (48h)	۲۴ ساعت (24h)		
1420/78**	1001/7**	629/09**	373/42**	5	غلظت (Concentration)
26/04	9/36	7/81	6/25	12	خطا (Error)
54/54	107/02	80/51	59/65	-	F
73	72	69	67	-	ضریب تغییرات (CV%)

** دارای اختلاف معنی دار در سطح احتمال یک درصد

** Significant at 0.01 probability level

جدول ۷ - تجزیه واریانس تاثیر عصاره برگ *D. stramonium* در جوانه زنی بذور گوجه فرنگیTable 7. Variance Analysis of effects of *D. stramonium* leaf extract on tomato seed germination.

میانگین مربعات (Means square)				درجه آزادی (Degree of freedom)	منابع تغییر (Source of variation)
روز ششم (6th day)	روز پنجم (5th day)	روز چهارم (4th day)	روز سوم (3th day)		
95 ^{ns}	335 ^{ns}	873/33 ^{ns}	1348/33*	5	غلظت (Concentration)
91/66	158/33	250	191/66	6	خطا (Error)
1/03	2/11	3/49	7/03	-	F
10/9	18/6	30	37/7	-	ضریب تغییرات (CV%)

^{ns} و * به ترتیب، عدم وجود اختلاف معنی دار و دارای اختلاف معنی دار در سطح احتمال پنج درصد^{ns} and *: No significant and significant at 0.05 probability level, respectivelyجدول ۸ - تجزیه واریانس تاثیر عصاره برگ *D. metel* در جوانه زنی بذور گوجه فرنگیTable 8. Variance Analysis of effects of *D. metel* leaf extract on tomato seed germination.

میانگین مربعات (Means square)				درجه آزادی (Degree of freedom)	منابع تغییر (Source of variation)
روز ششم (6th day)	روز پنجم (5th day)	روز چهارم (4th day)	روز سوم (3th day)		
20 ^{ns}	28.33 ^{ns}	393.33*	575**	5	غلظت (Concentration)
33/33	25	66/66	25	6	خطا (Error)
0/6	1/13	5/9	23	-	F
5/4	5	16	20	-	ضریب تغییرات (CV%)

^{ns} عدم وجود اختلاف معنی دار، ** و * به ترتیب دارای اختلاف معنی دار در سطح احتمال یک و پنج درصد^{ns}, * and **: No significant and significant at 0.05 and 0.01 probability levels, respectively

جدول ۹ - تجزیه واریانس تاثیر عصاره برگي *H. niger* در جوانه زنی بذور گوجه فرنگی

Table 9. Variance Analysis of effects of *H. niger* leaf extract on tomato seed germination.

میانگین مربعات (Means square)				درجه آزادی (Degree of freedom)	منابع تغییر (Source of variation)
روز ششم (6th day)	روز پنجم (5th day)	روز چهارم (4th day)	روز سوم (3th day)		
153/33 ^{ns}	135 ^{ns}	335 ^{ns}	793/33*	5	غلظت (Concentration)
100	125	125	100	6	خطا (Error)
1/53	1/08	2/68	7/93	-	F
12/6	13	17	26	-	ضریب تغییرات (CV%)

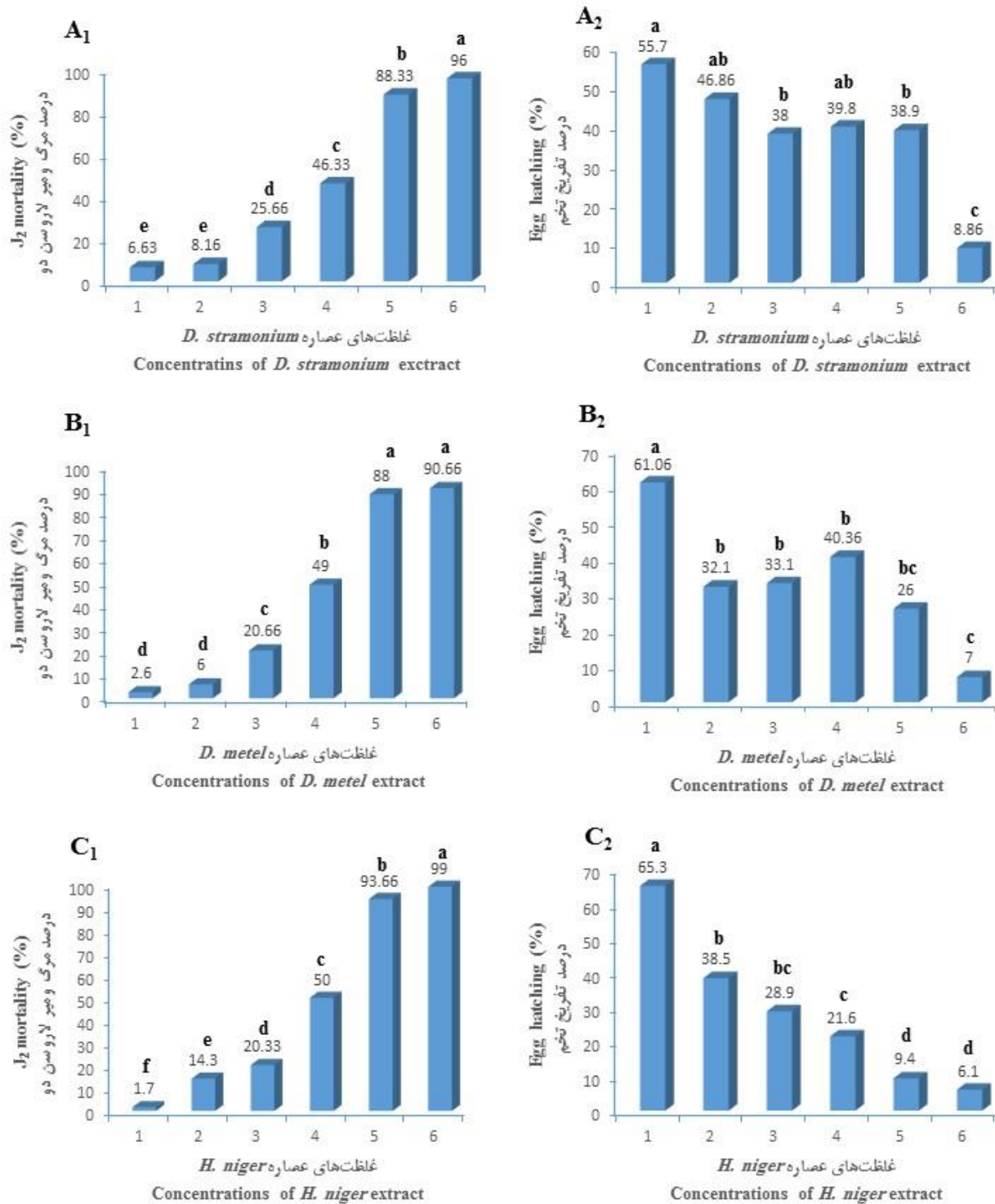
^{ns} و * به ترتیب، عدم وجود اختلاف معنی دار و دارای اختلاف معنی دار در سطح احتمال پنج درصد

^{ns} and *: No significant and significant at 0.05 probability level, respectively

مرگ و میر مورد قبول در آزمایشگاه می باشد و غلظت ۲۵ درصد از عصاره ۱ به ۳۰ این گیاه نیز می تواند غلظت مطلوب آزمایشگاهی در بررسی مرگ و میر لارو سن دوم باشد. اگر چه نتایج غلظت های مورد بحث، حاصل چندین بار پیش آزمایش و تکرار هستند، با این حال به نظر می رسد غلظتی بین ۱۰ الی ۲۵ درصد نیز در مورد این گونه، می تواند مورد بررسی های بعدی قرار گیرد. در مورد اثر عصاره ها در تفریح تخم نماتد مشاهده شد که در گونه *D. stramonium* در روز آخر ثبت نتیجه کاهش قابل قبولی در تفریح تخم نماتد در غلظت ۵۰ درصد عصاره ۱ به ۳۰ دست آمد و غلظت ۲۵ درصد نیز کاهش متوسطی حاصل کرده بود. در مورد گیاه *D. metel* نیز، بهترین تاثیر را به ترتیب، غلظت های ۵۰ و ۲۵ درصد حاصل کردند که تفاوت معنی داری باهم نداشتند. اما در صد کاهش تفریح تخم در غلظت ۵۰ درصد عصاره ۱ به ۳۰ این گیاه قابل قبول تر بود. در مورد عصاره *H. niger* نیز هر دو غلظت ۵۰ و ۲۵ درصد عصاره ۱ به ۳۰، درصد مهار تفریح قابل قبولی از تخمها را سبب شده بودند و عصاره ۲۵ درصد نیز کاهش چشمگیری را سبب شد. به نظر می رسد در هر دو مورد مرگ و میر و تفریح تخم، گیاه بنگدانه با غلظت های پایین تر نسبت به گونه های داتوره، اثرات مطلوبی در مرگ و میر و تفریح حاصل نمود. اما نتیجه قطعی در این مورد نیاز به بررسی های تکمیلی دارد.

چنانچه نتایج مربوط به مرگ و میر لاروهای سن دوم نشان داد، غلظت های مختلف عصاره های هر سه گیاه تاثیر معنی داری در مرگ و میر لاروهای سن دوم داشت. به طوری که غلظت ۵۰ درصد عصاره در شرایط پتری دیش، مرگ و میر حدود ۹۶ درصد را سبب شد و غلظت ۲۵ درصد نیز سبب مرگ ۸۸/۳ درصد لاروها گردید. با توجه به این که هدف از به کارگیری هر نوع ماده ضدنماتد و به طور کلی کنترل هر نوع بیماریگری مهار ۱۰۰ درصد بیماریگر نمی باشد و از طرفی در استفاده از سموم شیمیایی و میکروبی، هدف اصلی کاهش مقدار ماده موثر و مصرف آن می باشد به نظر می رسد، در این آزمایش غلظت ۲۵ درصد از عصاره ۱ به ۳۰ تهیه شده از گونه *D. stramonium*، غلظت مناسبی برای مرگ و میر نماتدها در شرایط آزمایشگاهی باشد. سایر غلظت های پایین تر اگر چه با شاهد آب تفاوت معنی دار آماری داشتند، اما مرگ و میر مطلوبی حاصل نکرده بودند.

در مورد عصاره *D. metel* نیز غلظت های ۵۰ و ۲۵ درصد از عصاره تهیه شده به صورت ۱ به ۳۰ بدون تفاوت از هم، مرگ و میر مطلوبی حاصل کرده بودند و بنابراین غلظت ۲۵ درصد این عصاره، غلظت آزمایشگاهی مناسبی جهت مهار تخم و لارو نماتد بود. در مورد گونه *H. niger* نیز، عصاره ۲۵ درصد اگرچه از نظر تاثیرگذاری با عصاره ۵۰ درصد تفاوت معنی داری داشت اما مرگ و میر حدود ۹۳/۶ درصد حداکثر میزان



شکل ۲- نمودارهای تاثیر عصاره‌های برگ *D. stramonium*، *D. metel* و *H. niger* بر روی مرگ و میر لاروهای سن دو و تفریح تخم نماتد در روز آخر ثبت نتایج (اعداد ۱ تا ۶ به ترتیب شامل غلظت‌های شاهد، ۱، ۵، ۱۰، ۲۵ و ۵۰ درصد)

Fig. 2- Diagrams of the effect of *D. stramonium*, *D. metel* and *H. niger* leaf extracts on mortality of J₂s and egg hatching of *M. javanica* in last Day (1 to 6 respectively: control, 1,5,10,25,50 %)

کنترل نماتد مورد بررسی قرار داده‌اند. اما پژوهش‌ها در مورد این سه گونه گیاهی بسیار محدود است. در آزمایشی عصاره برگ *Datura stramonium* علیه نماتد *Meloidogyne javanica* در نوعی خربزه استفاده شد. نتایج آزمایشگاهی نشان دادند که عصاره و پودر برگ داتوره سبب مرگ و میر درصد بالایی از لاروها گردید (Umar and Ngwamdai, 2015). نتایج آزمایش حاضر نیز تاثیر گیاه داتوره را در افزایش مرگ و میر لارو نشان داد. در آزمایشی دیگر، اثر عصاره‌های سه گونه *Datura stramonium*، *D. innoxia* و *D. tatula* در مرگ و میر لارو و تفریح تخم نماتد *M. incognita* مورد بررسی قرار گرفته و مشاهده شد که به طور کلی، عصاره‌های گیاهی سبب کاهش تفریح تخم نماتد و افزایش مرگ و میر لاروها شدند (Babaali et al., 2017). در آزمایش این پژوهشگران در مقایسه با بررسی حاضر، دو گونه متفاوت داتوره مورد استفاده قرار گرفت و گونه *D. metel* نیز گونه متفاوت در آزمایش حاضر بود. با این حال تمام گونه‌های مورد بررسی، تخم‌کشی و لاروکشی را سبب شدند که می‌تواند حاکی از پتانسیل اغلب گونه‌های این گیاه در کنترل نماتدها باشد. در بخشی از مطالعه مربوط به کنترل نماتد *M. javanica* از عصاره برگ *D. stramonium* استفاده گردید که تمام غلظت‌های عصاره سبب افزایش مرگ و میر لاروهای سن دوم نماتد گردید (Sidhu et al., 2017). (Nandakumar et al., 2017) در آزمایشی که برای بررسی تاثیر عصاره‌های الکلی برخی گیاهان علیه *M. incognita* انجام دادند نتیجه گرفتند که عصاره‌های برگ گل شیپوری فرشته در مقایسه با دو گونه داتوره تاثیر بیشتری در مرگ و میر لاروهای نماتد نشان داد. گونه نماتد مورد استفاده در بررسی این پژوهشگران با گونه بررسی حاضر متفاوت بود. از طرفی یکی از گونه‌های داتوره در این دو آزمایش متفاوت است. برخلاف پژوهش این محققین، عصاره برگ در پژوهش حاضر عصاره آبی است. اگرچه در بررسی حاضر گل شیپوری استفاده نشده و چنین مقایسه‌ای انجام نشده است اما تفاوت در نوع گیاهان و نوع عصاره می‌تواند دلیل نتایج متفاوت باشد.

تخم نماتد یک مرحله مقاوم در چرخه زندگی می‌باشد و چنانچه گفته شد مهار تفریح تخم و تبدیل آن به لاروهای سن دوم، قدم مهمی در کنترل نماتد گره ریشه می‌باشد. با این حال، آزمایش‌های انجام شده اغلب در مورد تخم‌های رها شده در داخل آب انجام گرفته و تاثیر شرایط طبیعی در تفریح تخم‌های داخل کیسه تخم مسلماً ممکن است نتایج متفاوتی ایجاد کند.

یکی دیگر از موارد مهمی که در استفاده از سموم شیمیایی یا میکروبی و عصاره‌های گیاهی اهمیت دارد این است که مواد مورد استفاده، بر روی گیاه میزبان اثرات گیاهسوزی نداشته باشد یا کیفیت و کمیت محصول را تحت تاثیر قرار ندهد. یکی از آزمون‌های اولیه که برای بررسی تاثیر یک ماده شیمیایی بر روی گیاهان انجام می‌شود آزمون جوانه‌زنی بذر می‌باشد. این مورد البته بیشتر در مورد موادی است که به صورت تیمار بذر مورد استفاده قرار می‌گیرند. اما به طور کلی می‌تواند نشان‌دهنده این باشد که ماده مورد استفاده تاثیر منفی بر روی گیاه دارد یا خیر. گوجه‌فرنگی یکی از سبزی‌های پرمصرف در کل جهان و ایران است که به شدت توسط نماتدهای گره ریشه آلوده می‌شود. بنابراین آزمایش تاثیر عصاره‌ها در جوانه‌زنی در این بررسی بر روی بذور گوجه‌فرنگی انجام شد.

در مورد تاثیر عصاره گونه *D. stramonium* در جوانه‌زنی بذور نتایج در روز اول ثبت نتیجه متفاوت از سایر روزها بود. به طوری که بین تیمارها از نظر آماری تفاوت معنی‌دار وجود داشت. اما از روز دوم ثبت نتیجه تا آخر که نتایج ثبات کامل داشتند هیچ تفاوتی در جوانه‌زنی بذور در تیمار شاهد و حتی تیمار با حداکثر غلظت عصاره وجود نداشت. تاثیر عصاره *D. metel* بر روی گوجه‌فرنگی نیز مشابه گونه دیگر این گیاه بود. عصاره گیاه بنگدانه نیز به جز روز اول ثبت نتیجه در بقیه روزها از نظر جوانه‌زنی تفاوتی بین تیمارهای دریافت کننده عصاره و شاهد آب حاصل نکرد. با در نظر گرفتن مجموع نتایج، تقریباً می‌توان گفت که هیچ‌کدام از عصاره‌های گیاهی اثر منفی در جوانه‌زنی بذور گوجه‌فرنگی نداشتند. مقایسه نتایج حاصل با آزمایش‌های مشابه نشان داد که پژوهشگران مختلفی تاثیر عصاره‌های گیاهی را در

دیگر، اثرات بازدارندگی علیه نماتدها بررسی شده است. خیاط و همکاران (۱۳۹۳) اثرات بازدارندگی اسانس‌های اکالیپتوس، کما و باریجه را در شرایط آزمایشگاهی بررسی نمودند. تاثیر این گیاهان بر تفریح تخم نماتد و مرگ و میر لاروهای سن دوم بررسی شده و از بین گیاهان، اکالیپتوس تاثیر بیشتری در بازدارندگی نماتد داشت. مظفریان و همکاران (۱۳۹۵) اثر بازدارندگی عصاره جاشیر و مرزه را علیه نماتد *M. javanica* در شرایط آزمایشگاهی و گلخانه‌ای بررسی کردند. هر دو گیاه اثرات کنترلی مثبتی بر روی نماتد نشان دادند. کتولی و همکاران (۱۳۸۹) تاثیر درمنه و کرچک را علیه نماتد گره ریشه بررسی نمودند. هر دو گیاه اثرات مطلوبی در کاهش آلودگی با نماتد نشان دادند. نتایج آزمایشگاه بالاترین فعالیت ضدنماتدی را در عصاره الکی برگ کرچک با ۶۱/۳۳ درصد و برگ درمنه با ۵۵/۶۷ درصد در غلظت ۱۰۰۰ ppm پس از ۷۲ ساعت نشان داد. بررسی‌های فوق اگرچه در مورد گیاهان دیگری انجام یافته و نتایج آن‌ها قابل مقایسه با نتایج بررسی حاضر نیست، اما موید این موضوع است که در مورد دو گیاه داتوره و بنگدانه بررسی کاملی در ایران انجام نشده است. اما گیاهان بسیاری بررسی شده‌اند که پتانسیل گیاهان بازدارنده را در کنترل نماتدهای انگل گیاهی مشخص‌تر می‌کند. فیضی لایین و همکاران (۱۳۹۳) اثرات موسیر، مریم گلی و کرفس کوهی را علیه نماتد *M. javanica* مورد بررسی قرار دادند. تمام گیاهان مورد آزمایش، به طور مشخصی جمعیت این نماتدها را کاهش دادند. اسانس موسیر در غلظت ۲۰۰۰ ppm تقریباً تأثیر بیش از ۹۰ درصد در مرگ و میر لاروها و بیش از ۳۰ درصد در عدم تفریح تخم (نسبت به شاهد) داشت. اسانس کرفس کوهی و مریم گلی نیز در غلظت ۴۰۰۰ ppm قادر به کنترل حدود ۵۰ درصد لارو و ۳۰ درصد تخم نماتد ریشه گرهی بودند. در پزشکی سنتی، گیاهان دارویی متنوعی علیه انگل‌های انسانی از جمله نماتدهای انگل انسانی تجویز می‌شد که بسیاری از آن‌ها هنوز هم مورد استفاده قرار می‌گیرد. از جمله گیاهانی که خاصیت ضدانگلی دارند می‌توان به سیر، پیاز، تخم کدو، بومادران، سیاه‌دانه،

در ایران مطالعات محدودی در مورد اثر گیاه داتوره در تفریح تخم نماتد و مرگ لاروها موجود است. در مورد تاثیر گیاه بنگدانه در مهار نماتدها نیز طبق منابع موجود هیچ بررسی مکتوبی در ایران انجام نشده است. اما در مورد برخی گیاهان دیگر، اثرات بازدارندگی علیه نماتدها بررسی شده است. به طور کلی، در کل جهان نیز مطالعات بر روی این گیاهان کمتر مورد توجه قرار گرفته است. با این حال چند مطالعه مرتبط با موضوع تحقیق حاضر انجام شده است. طی یک مطالعه در مورد اثرات ضد نماتدی داتوره با استفاده از گونه *D. stramonium* تاثیر آزمایشگاهی عصاره بذری دو گیاه داتوره و تاجرزی علیه نماتد *M. javanica* بررسی شده و مشاهده گردید که هر دو گیاه در غلظت‌های مختلف سبب کاهش تفریح تخم نماتد و افزایش مرگ و میر لاروها شدند (فیاض، ۱۳۹۳). برخلاف این بررسی، عصاره مورد استفاده در پژوهش حاضر، شامل عصاره برگ است. با این حال، نتایج بررسی حاضر از نظر تاثیر داتوره در مرگ و میر و تفریح با نتایج آزمایش فوق همخوانی داشت. در یک بررسی، پژوهشگران تاثیر چندین عصاره گیاهی از جمله بنگدانه را بر روی گونه‌های *M. incognita* و *M. javanica* مورد بررسی قرار داده و نتایج نشان داد که بنگدانه تاثیر بالایی در مهار تفریح تخم نماتد داشت (Kepenekci et al., 2016). نتایج این پژوهش با نتایج تحقیق حاضر از نظر تاثیر در کاهش تفریح تخم همخوانی داشت. در بررسی دیگری، اثرات تاجرزی سیاه و *Datura stramonium* در کنترل نماتدهای گره ریشه مورد بررسی قرار گرفت. در این آزمایش تاثیر این گیاهان بر مرگ و میر لارو سن دوم، تفریح تخم و آلودگی ریشه با نماتد بررسی شده بود. تاثیر داتوره بر روی هر دو گونه *M. incognita* و *M. javanica* یکسان بود. نتایج پژوهشگران نشان داد که داتوره در مقایسه با تاجرزی سبب مرگ و میر کندتر اما پایدارتر در *M. javanica* شده بود (Oplos et al., 2018).

در مورد تاثیر گیاه بنگدانه در مهار نماتدها از جمله نماتد گره ریشه طبق منابع موجود هیچ بررسی مکتوبی در ایران انجام نشده است. اما در مورد برخی گیاهان

گره ریشه داشتند. بنابراین می‌توانند به‌عنوان گیاهانی برای بررسی‌های بعدی شامل گلدانی و گلخانه‌ای، میدانی و مزرعه‌ای به کار روند. پایداری ترکیبات ضد نماتد در محیط طبیعی نیز باید مورد توجه قرار گیرد. این‌که گیاهان مورد بررسی به چه صورتی می‌توانند به‌عنوان عوامل کنترل زیستی به کار روند نیز مهم است. در صورت حصول نتایج کنترلی مناسب در شرایط طبیعی بررسی انواع حالات به کارگیری این گیاهان از جمله استخراج ترکیبات ضد نماتد آن‌ها و ساخت سموم گیاهی، استفاده به صورت کود سبز، کشت همراه با گیاه اصلی یا کاشت قبل از کشت گیاه اصلی از راهکارهایی است که باید مورد بررسی قرار گیرد.

گشنیز، سماق، تخم خرفه، صبر زرد، درخت چریش، انواع درمنه، افسنطین، ریشه بسفایج، میخک، سداب، برنجاسف کوهی، تخم کتان، زنجبیل، ترب و غیره اشاره کرد (صفایی و همکاران، ۱۳۹۲). بسیاری از این گیاهان علیه نماتدهای انگل جانوری مورد استفاده قرار می‌گرفتند و برخی هنوز هم در طب سنتی کاربرد دارند. از آنجایی که ماهیت نماتدها از نظر ریخت‌شناسی و ترکیب بدن یکسان است، شناخت و بهره‌برداری از گیاهانی که به‌عنوان دارو برای انگل‌های انسانی و جانوری به‌عنوان مهارکننده نماتدهای انگل گیاهی نیز باید مورد توجه قرار گیرد. در بررسی حاضر هر سه گیاه مورد بررسی در آزمایش‌های مهار تخم و لارو در آزمایشگاه مهارکنندگی خوبی علیه نماتد

منابع

- خیاط ف، مهدی‌خانی‌مقدم ع، روحانی ح، و عزیزی م، ۱۳۹۳. بررسی فعالیت نماتدکشی اسانس‌های اکالیپتوس، کما و باریجه روی نماتد ریشه گرهی *Meloidogyne javanica* در شرایط آزمایشگاه. نشریه حفاظت گیاهان (علوم و صنایع کشاورزی)، جلد ۲۸ شماره ۳. صفحات ۳۲۸-۳۴۵.
- صفایی ن، مهدیزاده و، عبادی م، و سعیدی ع، ۱۳۹۲. بیماری‌های گیاهان دارویی، انتشارات آموزش و ترویج کشاورزی، تهران، ۳۸۲ صفحه.
- فیاض م، ۱۳۹۳. بررسی آزمایشگاهی اثر نماتدکشی عصاره آبی دو گیاه دارویی از خانواده بادنجانیان روی نماتد *Meloidogyne javanica*. دومین همایش ملی گیاهان دارویی و کشاورزی پایدار، دانشگاه شهید مفتح همدان، صفحات ۸-۱.
- فیضی لایین ع، مهدیخانی‌مقدم ع، عزیزی م، و روحانی ح، ۱۳۹۳. تاثیر بازدارندگی اسانس‌های موسیر، مریم گلی و کرفس کوهی روی نماتد ریشه گرهی *Meloidogyne javanica* و استخراج مواد مؤثره آنها. نشریه حفاظت گیاهان (علوم و صنایع کشاورزی)، جلد ۲۸ شماره ۲. صفحات ۲۲۵-۲۲۰.
- قادری ر، کاشی‌نهنجی ل، و کارگربریده ا، ۱۳۹۱. نماتدهای ایران. تهران: انتشارات آموزش و ترویج کشاورزی.
- قربان‌پور م، صالحی ارجمند ح، حاتمی م، و حسینی ن، ۱۳۹۷. بررسی تنوع مورفولوژیکی و آلکالوئیدهای تروپانی در برخی از جمعیت‌های بذرالبنج (*Hyoscyamus niger* L.). فصل‌نامه گیاهان دارویی، جلد ۱۸ شماره ۱. صفحات ۱۰۵-۱۲۴.
- قدمیاری ش، مظفری ج، موسوی ل، سخندان بشیر ن، و رخشنده‌روف ف، ۱۳۹۰. اثرات افزایشی تیمارهای مکانیکی و شیمیایی بر جوانه زنی بذر گونه‌ای تاتوره (*Datura stramonium* L.). مجله زیست‌شناسی ایران، جلد ۲۴ شماره ۶. صفحات ۸۰۹-۸۱۷.
- کتولی ن، مهدیخانی‌مقدم ع، و مقصدولو ر، ۱۳۸۹. بررسی اثر عصاره برگ درمنه و کرچک در کاهش جمعیت نماتود ریشه گرهی خیار (*Meloidogyne incognita*). نشریه بوم‌شناسی کشاورزی، جلد ۲ شماره ۴. صفحات ۵۸۷-۵۹۲.
- مظفریان ش، عبداللهی م، و چاره‌گانی ح، ۱۳۹۵. اثر بازدارندگی عصاره جاشیر *Prangos ferulacea* و مرزه *Satureja hortensis* بر نماتد ریشه گرهی *Meloidogyne javanica*. بیماری‌های گیاهی، جلد ۵۲ شماره ۴. صفحات ۴۴۵-۴۶۴.

- Babaali D, Roeb J, Hammache M, Halmann J, 2017. Nematicidal potential of aqueous and ethanol extracts gained from *Datura stramonium*, *D. innoxia* and *D. tatula* on *Meloidogyne incognita*. *Journal of Plant Diseases and Protection* 124 (4): 339-348.
- Bornowski, N. 2015. Root knot nematode. University of Wisconsin.
- Cheng HH, 1992. A conceptual framework for assessing allelochemicals in the soil environment. In: Allelopathy, basic and applied aspects. S. J. H. Rizvi and V. Rizvi, eds. Chapman and Hall, NY. pp. 21-29.
- Elling AA, 2013. Major emerging problems with minor *Meloidogyne* species. *Phytopathology* 103: 1092–1102.
- Grewal PS, 1989. Nematicidal effects of some plant- extracts to *Aphelenchoides composticola* (Nematoda) infesting mushroom, *Agaricus bisporus*. *Revue Nematology* 12: 317-322.
- Kepenekci I, Erdogus D, Erdogan P, 2016. Effects of some plant extracts on root-knot nematodes *in vitro* and *in vivo* conditions. *Türkiye Entomoloji dergisi* 40(1): 3-14.
- Kokalis-Burelle N, Kabana R, 2006. Allelochemicals as biopesticides for management of plant-parasitic nematodes. In Inderjit and K.G. Mukerji eds. *Biological control of plant pathogens and diseases*, Springer, Netherland.
- Nandakumar A, Waganan MM, Sundararaju P, Udayakumar R, 2017. Phytochemical Analysis and nematicidal activity of ethanolic leaf extracts of *Datura metel*, *Datura innoxia* and *Brugmansia suaveolens* against *Meloidogyne incognita*. *Asian Journal of Biology* 2 (4): 1-11.
- Oplos CH, Eloh K, Spiroudi UM, Pierluigi C, Ntalli N, 2018. Nematicidal weeds, *Solanum nigrum* and *Datura stramonium*. *Journal of Nematology* 50 (3): 1-13.
- Sidhu HS, Kumar V, Madhu MR, 2017. Eco-friendly management of root-knot nematode, *Meloidogyne javanica* in okra (*Abelmoschus esculentus*) crop. *International Journal of Pure and Applied Bioscience* 5(1): 569 –574.
- Tranca SD, Szabo R, Cocis M, 2017. Acute poisoning due to ingestion of *Datura stramonium* – a case report. *Romanian Journal of Anaesthesia and Intensive Care* 24(1): 61-65.
- Wrona O, 2017. Supercritical Fluid Extraction of Bioactive Compounds from Plant Materials. *Journal of AOAC International* 100 (6): 1624-1635.
- Umar I, Ngwamdai PA, 2015. Evaluation of Leaf Powder and Extract of *Datura Stramonium* in controlling Root Knot Nematode *Meloidogyne Javanica* (Chitwood) on Sweet melon in Yola, Adamawa State. *International Journal of Chemical Environmental & Biological Sciences* 3(1): 2320–4087.

Evaluation of the Effects of Thorne-apple and Henbane on Egg Hatching and Mortality of Juveniles of root-knot nematode *Meloidogyne javanica* (Treub, 1885) Chitwood, 1949

N Eskandarzadeh Khiyavi¹, Sh Moslehi^{2*} and N Vaez²

¹MS Student of Plant Pathology, Faculty of Agriculture, Azarbaijan Shahid Madani University.

²Assistant Professors, Department of Plant Protection, Faculty of Agriculture, Azarbaijan Shahid Madani University.

Corresponding author: sh.moslehi@yahoo.com

Received: 19 may 2020

Accepted: 28 July 2020

Abstract

The root-knot nematodes (*Meloidogyne* spp.) are the most important group of plant parasitic nematodes in terms of economic damage to agricultural products. Biological control is one of the new and environmentally friendly methods to control of these pathogens. One way of biological control of nematodes is the use of anti-nematode plants. In the present study, the effect of *Datura stramonium*, *Datura metel* and *Hyoscyamus niger* extracts was evaluated against native nematode population of *Meloidogyne javanica*. Evaluations were based on the effect of extracts on nematode egg hatching and mortality of second stage juveniles (J₂s) in laboratory conditions. For this purpose, the plants were cultured in the phytotron and the leaves of grown plants were harvested and dried. The aquatic extracts of powdered leaves (1gr to 30ml) were prepared and different concentrations of each extract were used to evaluate the rate of hatching and mortality of J₂s. In terms of the effect of extracts on nematode egg hatching, all three plants were had inhibitory effects. High concentrations of the extract was more effective, so that the 50% concentration had the best effect in reducing hatching and the concentration of 25% had also good effect. The effect of extracts on the mortality of J₂s was also significant, and all three plants, caused a significant percentage of J₂ mortality compared with control, especially at higher concentrations. Of these, the concentration of 25% of all three plants had an appropriate inhibitory effect on J₂s death. In another experiment, the effect of these extracts on seed germination of tomato (Super Strain B) was examined. Different concentrations of extracts were placed in sterile petri dishes covered with sterile filter paper and the seeds were placed inside them. The percentage of seed germination was recorded within a week. In general, it can be said that the extract of the plants had no negative effect on the germination of tomato seeds.

Keywords: Biological control, Root-knot nematode, *Datura*, *Hyoscyamus*.