مقاله پژوهشی DOI:10.22034/IJON.2025.710621

تأثیر عصاره‌های شاخساره گیاهان بر تفریخ تخم و مرگ لارو سن دو نماتد ریشه‌گرهی *Meloidogyne incognita* در شرایط آزمایشگاهی

رقیه حسین‌پور، اکبر کارگر بیده✉، حبیب‌اله حمزه‌زرقانی
بخش گیاه‌پزشکی دانشگاه شیراز، شیراز
✉ پست الکترونیکی مسئول مکاتبات: karegar@shirazu.ac.ir

دریافت: ۱۴۰۴/۰۶/۳۱ بازنگری: ۱۴۰۳/۰۸/۲۴ پذیرش: ۱۴۰۴/۰۸/۳۰

چکیده

نماتدهای ریشه‌گرهی (*Meloidogyne* spp.) خسارت‌زاترین گروه از نماتدهای انگل گیاهی هستند که باعث کاهش عملکرد محصولات کشاورزی در سطح جهان می‌گردند. گونه‌های *M. incognita* و *M. javanica*، به‌ترتیب رایج‌ترین آن‌ها در دنیا و ایران هستند. در این پژوهش اثر عصاره‌های شاخساره گیاهان مختلف بر مرگ لارو سن دو و یا تفریخ تخم این گونه‌ها در شرایط آزمایشگاهی بررسی شد. ابتدا اثر عصاره آبی ۵۰ درصد ۴۴ گونه گیاهی بر مرگ لارو سن دو *M. javanica* بررسی گردید. در بین ۱۸ گیاه با تأثیر بیش از ۵۰ درصدی، نعناع‌گربه‌ای (۶۹/۳ درصد)، خاکشیر طبی (۶۶/۷ درصد) و فرفیون (۶۳/۳ درصد) مؤثرترین گیاهان بودند. سپس اثر عصاره‌های آبی، اتانولی، هگزانی و آبی- اتانولی-هگزانی هفت گیاه مؤثر، به صورت تکی یا ترکیب چهارتایی، بر مرگ لارو و تفریخ تخم *M. incognita* در آب مقطر و یا ماسه سترون بررسی شد. عصاره‌های آبی و آبی-اتانولی-هگزانی کلزا، فرفیون، گچ‌دوست و منداب پس از هشت روز تفریخ تخم را، به‌ترتیب به میزان ۵۹/۳ تا ۶۹/۹ و ۶۱/۰ تا ۷۲/۰ درصد در ماسه سترون کاهش دادند. هم‌چنین، عصاره‌های آبی و آبی-اتانولی-هگزانی این گیاهان پس از پنج روز، به‌ترتیب باعث مرگ ۴۷/۵ تا ۵۶/۰ و ۴۴/۵ تا ۵۴/۵ درصد لاروها شدند. در آب مقطر، عصاره‌های آبی و آبی-اتانولی کلزا، فرفیون، گچ‌دوست، خاکشیر طبی و منداب، به ترتیب با ۴۶ تا ۶۶ درصد و ۶۰ تا ۶۹ درصد مرگ لاروها پس از ۴۸ ساعت مؤثرترین عصاره‌ها بودند. در بین گیاهان بررسی شده، کلزا، فرفیون، گچ‌دوست، خاکشیر طبی و منداب مؤثرترین گیاهان بودند. اثر کشندگی عصاره‌های آبی، آبی-اتانولی یا آبی-اتانولی-هگزانی بیشتر از اثر عصاره هر کدام از دو حلال آلی به تنهایی بود. ولی ترکیب چهارتایی گیاهان باعث افزایش تأثیر آن‌ها نشد. این نتایج نشان می‌دهد عصاره‌های گیاهی پتانسیل بالایی در کاهش تفریخ تخم و مرگ لارو سن دو نماتد ریشه‌گرهی دارد که با شناسایی و استخراج ترکیبات مؤثره آن‌ها و تولید نماتدکش‌های گیاه‌پایه می‌توان روی‌کردی برای کاهش مصرف نماتدکش‌های شیمیایی انتخاب کرد.

واژه‌های کلیدی: عصاره گیاهی، عصاره حلال آلی، مهار نماتد انگل گیاهی، *Meloidogyne javanica*

Effects of plant shoots extracts on egg hatching and mortality of second-stage juvenile of the root-knot nematode *Meloidogyne incognita* under laboratory conditions

Roghayeh Hoseinpoor, Akbar Karegar✉, Habiballah Hamzehzarghani

Department of Plant Protection, School of Agriculture, Shiraz University, Shiraz, Iran

✉ Corresponding author E-mail: karegar@shirazu.ac.ir

Received: 2025/09/22 Revised: 2025/11/15 Accepted: 2025/11/21

Abstract

Root-knot nematodes (*Meloidogyne* spp.) are the most damaging group of plant-parasitic nematodes, causing substantial reductions in yields of agriculture worldwide. *Meloidogyne incognita* and *M. javanica* are the most widespread species globally and in Iran, respectively. This study was conducted to evaluate the effect of different plant shoot extracts on the mortality of second-stage juveniles (J2) or egg hatching of the nematodes under laboratory conditions. First, the effect of 50% aqueous extracts from 44 plant species on J2 mortality of *M. javanica* was evaluated. Of the 18 plants that showed a mortality effect of over 50%, the plants catmint (69.3%), hedge mustard (66.7%) and sun spurge (63.3%) were the most effective plants. Next, aqueous, ethanolic, hexanoic and aqueous-ethanolic-hexanoic extracts from seven of the 18 effective plants were tested individually or in combinations in distilled water and sterile sand on *M. incognita* egg hatching and J2 mortality. In sterile sand, aqueous and aqueous-ethanolic-hexanoic extracts of rapeseed, sun spurge, chalk plant and arugula reduced egg hatch by 59.3-69.9 and 61.0-72.0% after eight days, respectively. The aqueous and aqueous-ethanolic-hexanoic extracts of these plants also caused a mortality of 47.5-56.0% and 44.5-54.5% of J2 after five days, respectively. In distilled water, aqueous or aqueous-ethanolic extracts of these plants and hedge mustard caused 46-66% and 60-69% J2 mortality after 48 hours, respectively. In all tests, rapeseed, sun spurge, chalk plant, hedge mustard and arugula showed the highest efficacy. The efficacy of aqueous, aqueous-ethanolic or aqueous-ethanolic-hexane extracts was higher than organic solvent extracts alone. However, combining plants did not increase the efficacy of their extracts. These results suggest that plant extracts have a high potential to reduce egg hatching and mortality of second-stage juvenile of root-knot nematodes, and that an alternative approach to reduce the use of the chemical nematicides can be provided by identifying and extracting their effective components and producing plant-based nematicides.

Key words: *Meloidogyne javanica*, Organic solvent extract, Plant extract, Plant-parasitic nematode control

How to cite: Hoseinpoor, R., Karegar, A. & Hamzehzarghani, H. 2025. Effects of plant shoots extracts on egg hatching and mortality of second-stage juvenile of the root-knot nematode Meloidogyne incognita under laboratory conditions. Iranian J. of Nematology 1(2), 215-231.

مقدمه

نماتدهای ریشه‌گرهی (*Meloidogyne* spp.) با بیش از ۱۰۰ گونه معتبر (Ghaderi & Karssen 2020; Hunt & Handoo 2009; Karssen *et al.* 2013)، به عنوان مهم‌ترین نماتدهای انگل گیاهی، باعث کاهش عملکرد در دامنه وسیعی از محصولات کشاورزی به‌خصوص سبزی و صیفی می‌گردند (Sasser & Carter 1985). گونه‌های *M. incognita*، *M. javanica*، *M. arenaria* و *M. hapla*، به ترتیب با ۵۳، ۳۰، ۸ و ۸ درصد فراوانی در بین ۱۰۰۰ جمعیّت نماتدهای ریشه‌گرهی جمع‌آوری‌شده از ۷۵ کشور جهان، به عنوان رایج‌ترین و مهم‌ترین نماتدهای ریشه‌گرهی دنیا محسوب می‌شوند (Sikora & Frenández 2005).

میزان خسارت این گروه از نماتدها در مناطق گرمسیری بیش از مناطق معتدله است و به گونه نماتد، میزبان، تناوب زراعی، فصل زراعی و نوع خاک بستگی دارد. میانگین سطح آستانه اقتصادی این نماتدها در چندین گیاه در دامنه ۰/۵ تا ۲/۰ لارو سن دو در گرم خاک برآورد شده است (Moens *et al.* 2009).

در بین روش‌های شیمیایی و غیرشیمیایی مهار نماتدهای ریشه‌گرهی، استفاده از ترکیبات آلی با منشأ گیاهی یکی از مطلوب‌ترین روش‌هایی است که در سال‌های اخیر مورد توجه قرار گرفته است (Ferraz & Freitas 2004). گیاهان عالی دارای ترکیبات فعال از قبیل پلی‌اتیلن‌ها، ایزوتیوسیانیدها، گلی‌کوزیدها، گلوکوسینولات‌ها، آلکالوییدها، لیپیدها، ترپنوییدها، فنول‌ها، تانن‌ها، آزادیراختین و رایسین هستند و گیاهانی که مشتقاتی از قبیل آمونیاک، نیتریت، سولفید هیدروژن در خاک آزاد می‌کنند، برای نماتدها خاصیت آنتاگونیستی دارند (Chitwood 2002; D'Addabbo 1995).

در سطح جهان پژوهش‌های متعددی در خصوص فعالیّت نماتدکشی عصاره، پودر و روغن گیاهان زینتی، علف هرز، گیاهان دارویی و درختان میوه، بر روی نماتدهای انگل گیاهی صورت گرفته است (Pérez *et al.* 2003). بررسی منابع نشان می‌دهد بیشتر پژوهش‌ها در زمینه کارآیی اسانس‌های گیاهی در مهار نماتدهای انگل گیاهی، روی نماتدهای ریشه‌گرهی و *Bursaphelenchus xylophilus* متمرکز شده است و اسانس‌های سیر و آویشن معمولی (*Thymus vulgaris* L.) بیش‌ترین فعالیت نماتدکشی داشته‌اند. ولی قیمت بالا و فرار بودن زیاد آن‌ها باعث شده است که برای فرموله‌کردن مؤثر و ارزان به صرف هزینه و پژوهش‌های بیشتری نیاز داشته باشند (Catani *et al.* 2023). هم‌چنین بیش از ۳۴۸ گونه گیاهی از ۸۱ خانواده از نظر فعالیت نماتدکشی مورد بررسی قرار گرفته است. تقریباً ۴۲٪ پژوهش‌ها در مورد چریش (*Azadirachta indica* A. Juss.)، زیتون تلخ (*Melia azedarach* L.)، کرچک (*Ricinus communis* L.) و گونه‌هایی از جنس‌های *Eucalyptus*، *Satureja*، *Solanum*، *Allium*، *Thymus*، *Artemisia* و *Citrus* انجام شده است. هشتاد درصد بررسی‌ها روی نماتدهای ریشه‌گرهی متمرکز بوده است (Mwamula *et al.* 2022). نتایج بررسی اثر نماتدکشی پودر و عصاره زنجبیل (*Inula viscosa*) نشان داده است که عصاره با حلال آلی اثر نماتدکشی قوی‌تری نسبت به عصاره آبی پودر برگ و مواد گیاهی تازه علیه لاروهای سن دو *M. javanica* داشته است (Oka *et al.* 2001). در شرایط آزمایشگاهی، عصاره آبی برگ با غلظت ۱۵ و ۲۰ درصد گونه‌ای از فرفیون (*Euphorbia hirta*)، *Cassia obtusifolia* و *Phyllanthus amarus* پس از هفت روز باعث مرگ‌ومیر ۱۰۰ درصد لارو سن دو *M. incognita* در شرایط آزمایشگاهی شده است. تجزیه شیمیایی، وجود ترکیبات نماتدکش از قبیل تانن، آلکالوئید، ساپونین و فلاونوئید را در این گیاهان نشان داد. هم‌چنین عصاره ۲۰ درصد برگ علف هرز گربه دشتی (*Andropogon gayanus*) پس از هفت روز موجب ۱۰۰ درصد مرگ‌ومیر لارو سن دو *M. incognita* در شرایط آزمایشگاهی گردیده است. تجزیه ترکیبات شیمیایی عصاره برگ این گیاه نیز نشان داده است که حاوی ساپونین، آلکالوئید و فلاونوئید است (Olabiyi *et al.* 2008).

استفاده از عصاره گیاهی برای مهار نماتدهای انگل گیاهی اولین‌بار توسط ابیوردی (Abivardi 1969) در ایران بررسی گردید و نشان داده شد که در بین ۶۰ گیاه، افسنطین و درمنه کوهی دارای خاصیت نماتدکشی هستند و عصاره قسمت‌های هوایی گیاه افسنطین نماتد *Xiphinema index* را پس از ۲۴ ساعت کشته و نماتد ریشه‌گرهی *M. incognita* را مهار کرده است. نتایج مطالعه دیگر نشان داد که عصاره آبی چهار گیاه دارویی از تیره چتریان (*Apiaceae*)، شامل زیره سیاه، زیره سبز، زنیان و رازیانه در غلظت هفت میلی‌گرم بر میلی‌لیتر از تفریخ تخم نماتد ریشه‌گرهی *M. javanica* ممانعت کرده و موجب مرگ‌ومیر لارو سن دو این نماتد شده است. عصاره‌های زیره سیاه و رازیانه به ترتیب بالاترین میزان مرگ‌ومیر لارو و بازدارندگی از تفریخ تخم را نشان داده است (Sadeghi *et al.* 2010).

تخم یا لارو منبع اولیه آلودگی توسط نماتدهای ریشه‌گرهی است. کاهش آن‌ها قبل از کشت باعث کاهش میزان خسارت نماتد خواهد شد؛ بنابراین، این پژوهش حاضر به منظور بررسی اثر عصاره آبی شاخساره برخی از گیاهان زراعی یا علف‌های هرز بر مرگ لارو سن دو *Meloidogyne javanica* به

عنوان رایج‌ترین، هم‌چنین عصاره آبی یا حلال‌های آلی بر تفریخ تخم و مرگ‌ومیر لارو سن دو *M. incognita*، به عنوان دومین گونه رایج نماتدهای ریشه‌گرهی در ایران در شرایط آزمایشگاهی انجام شده است.

مواد و روش‌ها

تهیه جمعیّت نماتدهای ریشه‌گرهی *Meloidogyne javanica* و *M. incognita*

برای تهیه جمعیت خالص نماتدها، ابتدا یک گال مجزا حاوی کیسه تخم پر، از ریشه‌های آلوده به هر کدام از نماتدها انتخاب و به ظرف حاوی محلول هیپوکلریت سدیم ۰/۵ درصد منتقل گردید. سپس به مدت دو تا سه دقیقه تکان داده شد و محتویات ظرف بر روی الک ۵۰۰ مش شسته شد تا هیپوکلریت سدیم کاملاً حذف گردد. تخم‌های سطح الک با آب مقطر درون تشتک پتری شش۶ سانتی‌متری جمع‌آوری و با ایجاد سه سوراخ در اطراف ریشه گوجه‌فرنگی رقم شفت فلات کشت‌شده درون خاک مخلوط (شامل سه قسمت ماسه نرم رودخانه و یک قسمت خاک مزرعه) سترون شده با بخار آب، ، مایه‌زنی گردید. بعد از دو ماه، ریشه‌های آلوده از خاک خارج و خالص‌سازی نماتد مجدداً به روش فوق تکرار گردید.

دو ماه بعد از مایه‌زنی مرحله دوم، ریشه‌های گوجه‌فرنگی دارای گال و کیسه تخم نماتد از خاک خارج و پس از شست‌وشو با آب به قطعات ۲ تا ۳ سانتی‌متری تقسیم گردید. ریشه‌های خردشده، درون مخلوط‌کن برقی ریخته و پس از اضافه کردن مقدار کافی محلول هیپوکلریت سدیم ۰/۵درصد به مدت ۴۰ ثانیه مخلوط گردید تا ضمن ضدعفونی، تخم‌های درون کیسه ژلاتینی آزاد گردد. محتویات مخلوط‌کن به الک ۲۰۰ مش که بر روی الک ۵۰۰ مش قرار داشت انتقال یافت و بلافاصله با آب شست‌وشو داده شد. تخم‌های آزادشده بر روی الک ۵۰۰ مش با آب مقطر سترون جمع‌آوری و به یک بشر منتقل گردید. سپس با استفاده از تشتک شمارش، تعداد تخم موجود در یک میلی‌لیتر در سه نوبت شمارش و میانگین تخم‌های موجود در هر میلی‌لیتر محاسبه گردید (Hussey & Barker 1973).

به منظور تهیه لارو سن دو، سوسپانسیون حاوی تخم‌های نماتد به الک کوچکی که سطح آن با کاغذ صافی واتمن پوشانده شده بود و درون تشتک پتری قرار داشت انتقال داده شد. پس از اضافه‌کردن مقدار کمی آب، به مدت سه تا چهار روز درون انکوباتور با دمای ۲°C ± ۲۶ نگه‌داری گردید. لاروهای سن دو تفریخ شده پس از عبور از کاغذ صافی و قرارگرفتن درون تشتک پتری به صورت روزانه جمع‌آوری شدند.

جمع‌آوری گیاهان و تهیه عصاره‌های مختلف آن‌ها

در این بررسی ۴۴ گونه مختلف از ۲۱ تیره گیاهی از محوطه دانشکده کشاورزی دانشگاه شیراز و مزارع اطراف شهر شیراز جمع‌آوری و با آب شست‌وشو داده شدند. مقدار کمی از شاخساره گیاهان تازه جهت عصاره‌گیری مورد استفاده قرار گرفت و باقیمانده آن‌ها در سایه و دور از تابش مستقیم نور خورشید خشک گردید. گیاهان خشک‌شده با استفاده از آسیاب برقی پودر شده و درون پاکت‌های کاغذی در محیط خشک و خنک برای مصارف بعدی نگه‌داری گردیدند.

عصاره خام از بافت تازه شاخساره گیاهان و یا عصاره آبی پودر خشک آن‌ها تهیه شد. برای تهیه عصاره آبی از بافت تازه گیاهی مقداری ساقه، برگ و گل درون دستگاه مخلوط‌کن ریخته شد و به قطعات ریز تبدیل گردید. سپس عصاره‌ها درون ظروف کوچک جمع‌آوری و از قیف بوخنر و کاغذ واتمن عبور داده شد تا بقایای ریز گیاهی از عصاره گرفته شود. محتویات حاصل به مدت ۲۴ ساعت درون یخچال نگه‌داری شد تا کلروپلاست‌ها ته‌نشین شده و عصاره شفاف شود. پس از گذشت زمان لازم، تأثیر آن‌ها بر لارو سن دو نماتد مورد ارزیابی قرار گرفت.

برای تهیه عصاره آبی، یک گرم پودر خشک‌شده گیاهان در ۱۰ میلی‌لیتر آب مقطر سترون به مدت ۲۴ ساعت در دمای اتاق خیسانده شد. سپس از پارچه ململ و کاغذ واتمن عبور داده شد تا بقایای گیاهی حذف گردد. عصاره آبی به‌دست‌آمده درون یخچال نگه‌داری گردید. تهیه عصاره با استفاده از اتانول ۷۰٪ و هگزان همانند عصاره‌گیری با آب مقطر انجام گرفت. عصاره‌ها پس از عبور از پارچه ململ و کاغذ واتمن و حذف بقایای گیاهی درون یخچال نگه‌داری گردیدند. در زمان استفاده، ابتدا عصاره‌ها به مدت ۲۴ ساعت درون انکوباتور با دمای ۳۵°C نگه‌داری شدند تا اتانول و هگزان تبخیر شود. سپس معادل حجم حلال تبخیر شده، به رسوب حاصل آب مقطر اضافه گردید.

بررسی تأثیر عصاره‌های گیاهی بر دو گونه رایج نماتدهای ریشه‌گرهی در شرایط آزمایشگاهی

در این پژوهش ابتدا اثر عصاره آبی بافت تازه شاخساره ۴۴ گونه گیاهی از فلور استان فارس بر لارو سن دو *M. javanica* در آزمایشگاه بررسی شد. سپس اثر عصاره‌های مختلف شش گیاه برتر در این آزمایش و گیاه منداب که قبلاً مؤثر بودن آن ثابت شده بود (زندیه شیرازی و کارگر بیده ۲۰۱۹)، به‌تنهایی و یا در ترکیب چهارتایی، بر تفریخ تخم و مرگ لارو سن دو *M. incognita* بررسی گردید:

تأثیر عصاره خام ۵۰ درصدی بافت تازه شاخساره گیاهان بر لارو سن دو *M. javanica*

در این آزمایش تشتک‌های پتری حاوی یک میلی‌لیتر سوسپانسیون حاوی حدود ۱۰۰ فرد لارو سن دو نماتد و یک میلی‌لیتر عصاره پایه (غلظت ۵۰٪) به مدت ۴۸ ساعت در دمای ۲۵°C نگه‌داری شد. لارو سن دو درون آب مقطر سترون به عنوان شاهد در نظر گرفته شد. پس از ۴۸ ساعت، با استفاده از استرئومیکروسکپ تعداد لاروهای غیرفعال (مرده) در تشتک‌های تیمار و شاهد شمارش گردید. آزمایش در قالب طرح کاملاً تصادفی با سه تکرار انجام شد (جدول ۱).

تأثیر عصاره‌های مختلف گیاهی بر تفریخ تخم *M. incognita* در ماسه سترون

اثر عصاره‌های ۱۰ درصدی هر کدام از گیاهان به‌تنهایی: در این آزمایش اثر عصاره‌های آبی، اتانولی، هگزانی و آبی- اتانولی-هگزانی گیاهان خاکشیر طبی، فرفیون، کاردی، کلزا، گچ‌دوست و نعناع که در آزمایش قبلی موجب مرگ بیش از ۵۰ درصد لارو سن دو *M. javanica* شده بودند همراه با منداب بر میزان تفریخ تخم *M. incognita* بررسی گردید. به منظور فراهم کردن شرایط مشابه خاک و تأمین اکسیژن مورد نیاز، آزمایش در ماسه رودخانه‌ای نرم سترون انجام گردید. بدین منظور پنج میلی‌لیتر از عصاره‌های آبی، اتانولی (۷۰٪)، هگزانی و آبی-اتانولی-هگزانی (پس از حذف حلال و جایگزینی آن با آب مقطر) به طور جداگانه درون تشتک‌های پتری با ۵۰ گرم شن سترون خشک مخلوط گردید. سپس پنج میلی‌لیتر سوسپانسیون با حدود ۱۰۰۰ تخم نماتد به تشتک‌های پتری حاوی عصاره‌ها اضافه شد و پس از تکان‌دادن، به مدت سه و هشت روز درون انکوباتور با دمای ۲۵°C نگه‌داری گردیدند. آزمایش در قالب طرح کاملاً تصادفی با چهار تکرار انجام شد. پس از گذشت زمان‌های مورد نظر، لاروهای تفریخ شده با روش سینی استخراج و شمارش گردید. این آزمایش دو بار تکرار شد.

اثر عصاره‌های ۱۰ درصدی ترکیب چهارتایی گیاهان: علاوه بر بررسی تأثیر عصاره هر کدام از گیاهان به‌تنهایی، اثر عصاره‌های ۱۰ درصدی آبی، اتانولی، هگزانی و آبی- اتانولی-هگزانی ترکیب چهارتایی گیاهان خاکشیر طبی، فرفیون، کاردی، گچ‌دوست و منداب، شامل کاردی-گچ‌دوست -خاکشیر طبی-فرفیون، کاردی-گچ‌دوست- منداب- فرفیون، کاردی-گچ‌دوست-منداب- خاکشیر طبی، کاردی- منداب- خاکشیر طبی-فرفیون، کاردی-گچ‌دوست- خاکشیر طبی- فرفیون، به روش فوق بر مرگ لارو سن دو بررسی گردیدند. این آزمایش نیز دو بار تکرار شد.

بررسی تأثیر عصاره‌های گیاهی بر مرگ لارو سن دو *M. incognita*

الف- در ماسه سترون

اثر عصاره‌های ۵۰ درصدی هر کدام از گیاهان به‌تنهایی: در این بررسی پنج میلی‌لیتر از هر کدام از عصاره‌های ۵۰ درصدی آبی، اتانولی (۷۰٪) و هگزانی (پس از حذف حلال و جایگزینی آن با آب مقطر) یا مخلوط آن‌ها از هفت گیاه شامل خاکشیر طبی، فرفیون، کاردی، کلزا، گچ‌دوست، منداب و نعناع به طور جداگانه درون تشتک‌های پتری با ۵۰ گرم ماسه سترون مخلوط گردید. سپس حدود ۴۰۰ لارو سن دو *M. incognita* در پنج میلی‌لیتر آب مقطر به تشتک‌های پتری حاوی عصاره‌ها اضافه شد و به مدت پنج روز درون ژرمیناتور با دمای ۲۵°C نگه‌داری گردیدند. آزمایش در قالب طرح کاملاً تصادفی با چهار تکرار انجام شد. لاروهای زنده با روش سینی به مدت ۲۴ ساعت در دمای اتاق استخراج و شمارش گردیدند. این آزمایش دو بار تکرار شد.

اثر عصاره‌های ۵۰ درصدی ترکیب چهارتایی گیاهان: علاوه بر اثر عصاره هر کدام از گیاهان به‌تنهایی، اثر عصاره‌های آبی، اتانولی، هگزانی و آبی- اتانولی- هگزانی ترکیب چهارتایی گیاهان خاکشیر طبی، فرفیون، کاردی، گچ‌دوست و منداب (همانند آزمایش بررسی اثر تیمار بر تفریخ تخم) به روش فوق بر مرگ لارو سن دو بررسی گردید. این آزمایش نیز دو بار تکرار شد.

جدول ۱. مقایسه تأثیر عصاره خام ۵۰ درصدی بافت تازه شاخساره گیاهان مختلف بر مرگ لارو سن دو نماتد ریشه‌گرهی *Meloidogyne javanica* در شرایط آزمایشگاهی.

Table 1. Comparison of the effect of a 50% crude extract of fresh shoot tissue from different plants on the mortality of second-stage juvenile (J2) of the root-knot nematode *Meloidogyne javanica* under laboratory conditions.

Common name	Scientific name	Family	Dead J2 (out of 100) Number	%*
Control (water)	-	-	12.7	-
Dandelion[1]	*Taraxacum* sp.	*Asteraceae*	13.0 ns	0.3
High mallow[2]	*Malva sylvestris* L.	*Malvaceae*	14.0 ns	1.3
Common stork's-bill[3]	*Erodium cicutarium* (L.) L'Her. ex Aiton	*Geraniaceae*	14.3 ns	1.7
Pale speedwell[4]	*Veronica cymbalaria* Bodard	*Plantaginaceae*	16.7 ns	4.0
Prickly lettuce[5]	*Lactuca serriola* L.	*Asteraceae*	18.3 ns	5.7
Prickly sowthistle[6]	*Sonchus asper* (L.) Hill	*Asteraceae*	18.3 ns	5.7
Shepherd's purse[7]	*Capsella bursa-pastoris* (L.) Medik.	*Brassicaceae*	21.7 s	9.0
Tobacco[8]	*Nicotiana tabacum* L.	*Solanaceae*	21.7 s	9.0
Common henbit[9]	*Lamium amplexicaule* L.	*Lamiaceae*	22.7 s	10.0
Common sowthistle[10]	*Sonchus oleraceus* L.	*Asteraceae*	23.7 s	11.0
Hairy vetch[11]	*Vicia villosa* Roth	*Fabaceae*	29.3 s	16.7
Thorn apple[12]	*Datura stramonium* L.	*Solanaceae*	30.7 s	18.0
White clover[13]	*Trifolium repens* L.	*Fabaceae*	31.7 s	19.0
Cleavers[14]	*Galium aparine* L.	*Rubiaceae*	34.7 s	22.0
Yarrow[15]	*Achillea* sp.	*Asteraceae*	35.7 s	23.0
White goosefoot[16]	*Chenopodium album* L.	*Chenopodiaceae*	36.0 s	23.3
Curly dock[17]	*Rumex crispus* L.	*Polygonaceae*	37.3 s	24.7
Redroot pigweed[18]	*Amaranthus retroflexus* L.	*Amaranthaceae*	38.7 s	26.0
Cornflower[19]	*Centaurea cyanus* L.	*Asteraceae*	38.7 s	26.0
Indian mallow[20]	*Abutilon hirtum* (Lam.) Sweet	*Malvaceae*	39.0 s	26.3
Common fumitory[21]	*Fumaria officinalis* L.	*Fumaricaceae*	40.7 s	28.0
Field bindweed[22]	*Convolvulus arvensis* L.	*Convolvulaceae*	41.3 s	28.7
Sophora[23]	*Sophora alopecuroides* L.	*Fabaceae*	42.3 s	29.7
Shirazi thyme[24]	*Zataria multiflora* Boiss	*Lamiaceae*	45.0 s	32.3
Grape hyacinth[25]	*Muscari* sp.	*Asparagaceae*	54.7 s	42.0
Scarlet sage[26]	*Salvia splendens* Sellow ex Roem. & Schult.	*Lamiaceae*	61.3 s	48.7
Broad-leaf plantain[27]	*Plantago major* L.	*Plantaginaceae*	63.0 s	50.3
Chinese lantern[28]	*Physalis alkekengi* L.	*Solanaceae*	63.7 s	51.0
Narrow-leaf plantain[29]	*Plantago lanceolata* L.	*Plantaginaceae*	64.3 s	51.7
Wild radish[30]	*Raphanus raphanistrum* L.	*Brassicaceae*	65.7 s	53.0
Red horned-poppy[31]	*Glaucium corniculatum* (L.) Curtis	*Papaveraceae*	68.3 s	55.7
Whitetop[32]	*Lepidium draba* L.	*Brassicaceae*	68.3 s	55.7
Meadow garlic[33]	*Allium canadense* L.	*Liliaceae*	68.7 s	56.0
Persian viper's bugloss[34]	*Echium amoenum* Fisch. & Mey.	*Boraginaceae*	70.0 s	57.3
Chalk plant[35]	*Gypsophila pilosa* Huds.	*Caryophyllaceae*	70.7 s	58.0
Black nightshade[36]	*Solanum nigrum* L.	*Solanaceae*	72.7 s	60.0
Common ivy[37]	*Hedera helix* L.	*Araliaceae*	73.3 s	60.7
Spearmint[38]	*Mentha spicata* L.	*Lamiaceae*	73.7 s	61.0
Rapeseed[39]	*Brassica napus* L.	*Brassicaceae*	74.0 s	61.3
Tumbling mustard[40]	*Sisymbrium altissimum* L.	*Brassicaceae*	74.0 s	61.3
Pennyroyal[41]	*Mentha pulegium*	*Lamiaceae*	74.7 s	62.0
Sun spurge[42]	*Euphorbia helioscopia* L.	*Euphorbiaceae*	76.0 s	63.3
Hedge mustard[43]	*Sisymbrium officinale* (L.) Scop.	*Brassicaceae*	79.3 s	66.7
Catmint[44]	*Nepeta cataria* L.	*Lamiaceae*	82.0 s	69.3

*: Percentage of dead juveniles compared to control.
ns: The difference between treatment and control was not significant. s: Significant difference between treatment and control ($P < 0.01$). Data are the means of three replicates.

۱- گل قاصد، ۲- پنیرک، ۳- نوک‌لک‌لکی هرز (قیطران)، ۴- سیزاب، ۵- کاهوک، ۶- شیر تیغک (خس)، ۷- کیسه کشیش، ۸- توتون، ۹- گزنه‌سای ساقه‌آغوش (غربیلک)، ۱۰- شیر تیغک معمولی، ۱۱- ماشک گل خوشه‌ای، ۱۲- داتوره، ۱۳- شبدر سفید، ۱۴- بی‌تی‌راخ، ۱۵- بومادران، ۱۶- سلمه‌تره، ۱۷- ترشک، ۱۸- تاج خروس وحشی، ۱۹- گل گندم، ۲۰- گاو پنبه، ۲۱- شاتره طبی، ۲۲- پیچک صحرایی، ۲۳- تلخ بیان، ۲۴- آویشن شیرازی، ۲۵- کلاغک،

ادامه جدول ۱. ۲۶- سلوی، ۲۷- بارهنگ، ۲۸- عروسک پشت پرده، ۲۹- کاردی (بارهنگ نیزه‌ای)، ۳۰- ترب وحشی، ۳۱- شقایق، ۳۲- ازمک، ۳۳- سیرموک، ۳۴- گل گاو زبان ایرانی، ۳۵- گچ‌دوست، ۳۶- تاجریزی سیاه، ۳۷- عشقه، ۳۸- نعناع، ۳۹- کلزا، ۴۰- خاکشیر وحشی، ۴۱- پونه، ۴۲- فرفیون (شیر سگ)، ۴۳- خاکشیر طبی، ۴۴- نعناع گربه‌ای.

ب- در آب سترون

اثر عصاره‌های ۵۰ درصدی هر کدام از گیاهان به‌تنهایی: یک میلی‌لیتر عصاره‌های آبی، اتانولی و ترکیب آبی-اتانولی از هفت گیاه شامل خاکشیر طبی، منداب، فرفیون، کلزا، کاردی، نعناع و گچ‌دوست با یک میلی‌لیتر آب مقطر سترون حاوی حدود ۱۰۰ لارو سن دو نماتد به تشتک‌های پتری حاوی عصاره‌های گیاهی مایه‌زنی و به مدت ۲۴ و ۴۸ ساعت درون انکوباتور با دمای ۲۵°C نگه‌داری شدند. آزمایش در قالب طرح کاملاً تصادفی با چهار تکرار انجام گردید. تعداد لاروهای غیرفعال پس از زمان‌های ذکرشده شمارش گردید. به منظور بررسی فعال-شدن احتمالی لاروهای غیرفعال و جداسازی آن‌ها از لاروهای مرده، با استفاده از الک ۵۰۰ مش عصاره‌های گیاهی حذف و لاروهای سطح الک با آب مقطر سترون شست‌وشو داده شد. سپس با استفاده از آب‌فشان دارای آب مقطر لاروهای سطح الک جمع‌آوری و به تشتک پتری انتقال داده شد. نماتدهای درون آب مقطر سترون به مدت ۲۴ ساعت در دمای اتاق نگه‌داری و سپس شمارش گردید.

اثر عصاره ترکیب چهارتایی گیاهان: علاوه بر اثر عصاره هر کدام از گیاهان به‌تنهایی، اثر عصاره‌های آبی، اتانولی و آبی-اتانولی ترکیب چهارتایی هفت گیاه خاکشیر طبی، منداب، فرفیون، کلزا، کاردی، نعناع و گچ‌دوست نیز با روش فوق بررسی شد.

محاسبات آماری

تجزیه واریانس داده‌ها با استفاده از نرم‌افزار SAS 9.3 به روش مدل‌های خطی تعمیم‌یافته (generalized linear models) با توزیع دوجمله‌ای منفی و مقایسه میانگین‌های آزمایش تأثیر عصاره آبی بافت تازه شاخساره گیاهان بر لارو سن دو *M. javanica* با آزمون Lsmeans و مقایسه میانگین‌ها در سایر آزمایش‌ها با آزمون دانکن انجام شد.

نتایج

تأثیر عصاره خام ۵۰ درصدی بافت تازه شاخساره گیاهان بر مرگ لارو سن دو *M. javanica*

پس از گذشت ۴۸ ساعت اثر تیمارها بر مرگ لارو سن دو نماتد ریشه‌گرهی *M. javanica* مورد ارزیابی قرار گرفت. عصاره خام ۵۰ درصدی گیاهان تأثیر معنی‌داری بر افزایش مرگ لارو نماتد داشتند. به استثنای شش گونه از ۴۴ گونه گیاهی شامل گل قاصد، پنیرک، نوک‌لک‌لکی هرز، سیزاب، کاهوک و شیر تیغک، اثر عصاره‌های سایر گیاهان بر مرگ لارو سن دو نسبت به شاهد در سطح یک درصد معنی‌دار بود و عصاره‌ها باعث مرگ لاروها به میزان ۹/۰ تا ۶۹/۳ درصد گردیدند (جدول ۱). عصاره‌های ۱۸ گیاه شامل بارهنگ، عروسک پشت پرده، کاردی، ترب وحشی، ازمک، شقایق، سیرموک، گاوزبان ایرانی، گچ‌دوست، تاجریزی سیاه، عشقه، نعناع، کلزا، خاکشیر وحشی، پونه، فرفیون، خاکشیر طبی، و نعناع گربه‌ای باعث مرگ ۵۰/۳ تا ۶۹/۳ درصد لارو سن دو *M. javanica* شدند. نعناع گربه‌ای، خاکشیر طبی و فرفیون، به ترتیب با ۶۹/۳، ۶۶/۷ و ۶۳/۳ درصد مؤثرترین گیاهان بودند.

نتایج بررسی تأثیر عصاره‌های مختلف گیاهی بر تفریخ تخم *M. incognita* در ماسه سترون

الف) اثر عصاره‌های ۱۰ درصدی هر کدام از گیاهان به‌تنهایی: عصاره‌های آبی، اتانولی، هگزانی و آبی-اتانولی-هگزانی گیاهان مورد استفاده تأثیر معنی‌داری در سطح یک درصد بر کاهش تفریخ تخم نماتد ریشه‌گرهی *M. incognita* در هر دو نوبت آزمایش داشتند. با افزایش زمان از سه به هشت روز تعداد تخم‌های تفریخ‌شده افزایش یافت. با این‌حال، این افزایش در اکثر تیمارها نسبت به شاهد کم‌تر بود (جدول ۲).

در تیمارهای عصاره آبی، به استثنای کاردی سایر گیاهان باعث کاهش معنی‌دار میزان تفریخ تخم نماتد ریشه‌گرهی بعد از سه یا هشت روز شدند. بعد از هشت روز، عصاره‌های کلزا، فرفیون، گچ‌دوست و منداب با کاهش حداقل ۵۹ درصدتفریخ تخم (۶۸/۷ تا ۶۹/۹ و ۵۹/۳ تا ۶۰/۸ درصد، به ترتیب در نوبت اول و دوم آزمایش) مؤثرترین تیمارها بودند.

در تیمارهای عصاره اتانولی نیز، به استثنای کاردی سایر گیاهان باعث کاهش معنی‌دار میزان تفریخ تخم *M. incognita* بعد از سه یا هشت روز شدند. گچ‌دوست، منداب و فرفیون با ۶۱/۸ تا ۶۶/۸ درصد کاهش در نوبت اول و تیمارهای گچ‌دوست و فرفیون با ۵۹/۱ و ۵۷/۸ درصد کاهش در نوبت دوم آزمایش، مؤثرترین تیمارها در کاهش تفریخ تخم بعد از هشت روز بودند.

در تیمارهای عصاره هگزانی به استثنای کاردی در زمان هشت روز، سایر گیاهان باعث کاهش معنی‌دار میزان تفریخ تخم ریشه‌گرهی در هر دو زمان شدند. کلزا با ۶۹/۰ و ۶۵/۲ درصد کاهش، به ترتیب در نوبت اول و دوم آزمایش، مؤثرترین تیمار در کاهش تفریخ تخم بعد از هشت روز بود.

نتایج تیمارهای عصاره آبی-اتانولی-هگزانی همانند عصاره آبی بود. به استثنای کاردی سایر گیاهان باعث کاهش معنی‌دار میزان تفریخ تخم نماتد ریشه‌گرهی بعد از سه یا هشت روز شدند. کلزا، فرفیون، گچ‌دوست و منداب مؤثرترین عصاره‌ها در کاهش تفریخ تخم بعد از هشت روز بودند. این تیمارها، به ترتیب باعث

کاهش ۶۹/۸ تا ۷۲/۰ و ۶۱/۰ تا ۶۴/۱ درصد در تفریخ تخم در نوبت اول و دوم آزمایش شدند.

ب) اثر عصاره‌های ۱۰ درصدی ترکیب چهارتایی گیاهان: عصاره‌های آبی، اتانولی، هگزانی و آبی-اتانولی-هگزانی ترکیب چهارتایی گیاهان کاردی، گچ‌دوست، خاکشیر طبی، فرفیون و منداب تأثیر معنی‌داری در سطح یک درصد بر تفریخ تخم نماتد ریشه‌گرهی *M. incognita* در هر دو نوبت آزمایش داشتند. با افزایش زمان از سه روز به هشت روز تعداد تخم‌های تفریخ‌شده در شاهد و عصاره‌های مختلف افزایش یافت (جدول ۳). به استثنای تیمار عصاره آبی-اتانولی-هگزانی کاردی-گچ‌دوست-منداب-خاکشیر طبی در پس از سه روز در هر دو نوبت و پس از هشت روز در نوبت اول آزمایش، چهار تیمار دیگر باعث کاهش معنی‌دار تفریخ تخم پس از سه و هشت روز در هر دو نوبت آزمایش شدند. تأثیر عصاره هگزانی نسبت به

جدول ۲. تأثیر عصاره‌های مختلف شاخساره چند گیاه بر تفریخ نماتد ریشه‌گرهی *Meloidogyne incognita* در ماسه سترون بعد از سه و هشت روز در شرایط آزمایشگاهی.

Table 2. Effect of different extracts of several plants shoots on egg hatching of the root-knot nematode *Meloidogyne incognita* in sterile sand after three and eight days under laboratory conditions.

	Mean number of hatched juveniles (out of about 1000 eggs)											
	Aqueous (Aq)			Ethanolic (Et)			Hexanic (He)			Aq-Et-He		
Treatments	3 days	8 days	%*	3 days	8 days	%*	3 days	8 days	%	3 days	8 days	%*
First trial												
Control (water)	241a	722a	-	243a	662a	-	241a	668a	-	237a	703a	-
Narrow-leaf plantain[1]	149ab	311ab	56.9	159ab	339ab	48.8	166b	413a	38.2	154ab	314ab	55.3
Rapeseed[2]	97.2c	217d	69.9	100e	271cd	59.1	85.3f	207e	69.0	94.0c	197d	72.0
Sun spurge[3]	101c	219d	69.7	106de	253de	61.8	121de	293d	56.1	97.5c	203d	71.1
Chalk plant[4]	105c	222d	69.3	102e	220e	66.8	113e	307d	54.0	102c	212d	69.8
Hedge mustard[5]	122b	258c	64.3	127c	274cd	58.6	132d	342c	48.8	119b	245c	65.1
Arugula[6]	106c	226d	68.7	114d	249de	62.4	102f	284d	57.5	103c	212d	69.8
Spearmint[7]	130b	275bc	61.9	137bc	295bc	55.4	147c	375b	43.9	121b	253bc	64.0
Second trial												
Control (water)	219a	610a	-	225a	607a	-	201a	609a	-	230a	613a	-
Narrow-leaf plantain[1]	135ab	334ab	45.2	147ab	362ab	40.4	154b	416b	31.7	139ab	341ab	44.4
Rapeseed[2]	89.0d	244c	60.0	85.5e	298c	50.9	100d	212g	65.2	89.2d	220c	64.1
Sun spurge[3]	89.0d	239c	60.8	90.3e	256de	57.8	105d	328de	46.1	84.3d	227c	63.0
Chalk plant[4]	85.5e	247c	59.5	100d	248e	59.1	89.3d	312e	48.8	89.0d	236c	61.5
Hedge mustard[5]	109c	280b	54.1	115cd	298c	50.9	118c	349d	42.7	105c	271b	55.8
Arugula[6]	92.8d	248c	59.3	102d	272d	55.2	89.3e	289f	52.5	87.5d	239c	61.0
Spearmint[7]	118bc	296b	51.5	125bc	318bc	47.6	135b	379c	37.8	111cb	275b	55.1

*: Reduction percentage of egg hatching compared to the control after eight days. Data are the means of four replicates. Data with the same letters in each column of the same trial are not significantly different ($P \leq 0.01$) according to Duncan's multiple range test.

*: درصد کاهش تفریخ تخم نسبت به شاهد بعد از هشت روز. ۱- کاردی، ۲- کلزا، ۳- فرفیون، ۴- گچ‌دوست، ۵- خاکشیر طبی، ۶- منداب، ۷- نعناع.

سایر عصاره‌ها کم‌تر بود. عصاره‌های آبی تیمار کاردی-گچ‌دوست-منداب-فرفیون با ۶۹/۳ درصد و عصاره آبی-اتانولی-هگزانی آن با ۶۹/۸ کاهش، هم‌چنین عصاره آبی تیمار گچ‌دوست-منداب-خاکشیر طبی-فرفیون با کاهش ۶۸/۷ و عصاره آبی-اتانولی-هگزانی آن با ۶۹/۸ درصد کاهش تفریخ تخم مؤثرترین تیمارها در نوبت اول بودند. در نوبت دوم آزمایش عصاره آبی تیمارهای کاردی-گچ‌دوست-منداب-فرفیون، کاردی-گچ‌دوست-منداب-خاکشیر طبی و گچ‌دوست-منداب-خاکشیر طبی-فرفیون، با

کاهش ۶۱/۲-۶۴/۰ درصدی و عصاره آبی-اتانولی-هگزانی آن‌ها با ۶۲/۹-۶۶/۱ درصد تفریخ تخم مؤثرترین تیمارها در نوبت دوم آزمایش بودند.

نتایج بررسی تأثیر عصاره‌های گیاهی بر مرگ لارو سن دو *M. incognita*

الف- در ماسه سترون

اثر عصاره‌های ۵۰ درصدی هر کدام از گیاهان به‌تنهایی: عصاره‌های آبی، اتانولی، هگزانی و آبی-اتانولی-هگزانی گیاهان مورد استفاده تأثیر معنی‌داری در سطح یک درصد بر مرگ لاروهای سن دو نماتد ریشه‌گرهی *M. incognita* در هر دو نوبت آزمایش داشتند. مقایسه میانگین‌ها نشان داد که به استثنای کاردی، سایر عصاره‌های گیاهی باعث کاهش معنی‌دار در تعداد لاروهای زنده نماتد ریشه‌گرهی در هر دو نوبت آزمایش گردید. تأثیر عصاره هگزانی کاردی بر کاهش تعداد لاروهای سن دو نیز معنی‌دار بود (جدول ۴).

جدول ۳. تأثیر عصاره‌های مختلف ترکیب‌های چهارتایی شاخساره پنج گیاه بر تفریخ تخم نماتد ریشه‌گرهی *Meloidogyne incognita* در ماسه سترون بعد از سه و هشت روز در شرایط آزمایشگاهی.

Table 3. Effect of different extracts shootof quadruple combinations of five plants on the root-knot nematode *Meloidogyne incognita* egg hatching in sterile sand after three or eight days under laboratory conditions.

	Mean number of hatched juveniles (out of about 1000 eggs)											
	Aqueous (Aq)			Ethanolic (Et)			Hexanic (He)			Aq-Et-He		
Treatments	3 days	8 days	%*	3 days	8 days	%*	3 days	8 days	%	3 days	8 days	%*
First trial												
Control (water)	241a	722a	-	243a	662a	-	241a	668a	-	237a	703a	-
NLP-ChP-HeM-SuS	122c	258c	64.3	127c	274c	58.6	132d	343d	48.7	119b	245b	65.1
NLP-ChP-Aru-SuS	106d	222d	69.3	102e	221e	66.6	113e	307e	54.0	102b	212c	69.8
NLP-ChP-Aru-HeM	149b	311b	56.9	159b	339b	48.8	166b	413b	38.2	154a	314a	55.3
NLP-Aru-HeM-SuS	130bc	275c	61.9	137c	295c	55.4	147c	375c	43.9	121b	252b	64.2
ChP-Aru-HeM-SuS	106d	226d	68.7	114d	249d	62.4	102f	284f	57.5	103b	212c	69.8
Second trial												
Control (water)	238a	652a	-	240a	652a	-	246a	650a	-	246a	657a	-
NLP-ChP-HeM-SuS	130c	284c	56.4	135c	302c	53.7	140d	371d	42.9	127b	276b	58.0
NLP-ChP-Aru-SuS	117d	251d	61.5	113e	255e	60.9	123e	336e	48.3	112b	241c	63.3
NLP-ChP-Aru-HeM	157b	235d	64.0	168b	249e	61.8	172b	301f	53.7	161a	223d	66.1
NLP-Aru-HeM-SuS	144bc	301b	53.8	150c	326b	50.0	157c	547c	15.8	131b	278b	57.7
ChP-Aru-HeM-SuS	120d	253d	61.2	128d	280d	57.1	115f	562b	13.5	117b	244c	62.9

*: Percentage reduction of egg hatching compared to the control after eight days. Data are the means of four replicates. Data with the same letters in each column of the same trial are not significantly different ($P \leq 0.01$) according to Duncan's multiple range test. NLP: narrow-leaf plantain; ChP: chalk plant; HeM: hedge mustard; SuS: sun spurge; Aru: arugula.

*: درصد کاهش تفریخ تخم نسبت به شاهد بعد از هشت روز. NLP: کاردی؛ ChP: گچ‌دوست؛ HeM: خاکشیر طبی؛ SuS: فرفیون؛ Aru: منداب.

تیمارهای عصاره آبی، کلزا، فرفیون و گچ‌دوست در هر دو نوبت آزمایش و منداب در نوبت اول آزمایش مؤثرترین عصاره‌ها در مرگ‌ومیر لاروها بودند. این تیمارها بعد از پنج روز باعث مرگ لارو سن دو به میزان ۵۴/۸ تا ۵۶/۰ در نوبت اول و ۴۷/۵ تا ۵۰/۸ درصد در نوبت دوم آزمایش شدند. در بین تیمارهای عصاره اتانولی، گچ‌دوست و فرفیون به ترتیب با ۴۹/۵ و ۴۸/۳ درصد و ۴۲/۸ و ۴۰/۵ درصد مرگ در نوبت اول و دوم آزمایش مؤثرترین تیمارها بودند. در تیمارهای عصاره هگزانی، کلزا و منداب به ترتیب با ۵۰/۸ و ۴۵/۸ درصد و ۴۷/۸ و ۴۵/۸ درصد مرگ در نوبت اول و دوم آزمایش مؤثرترین تیمارها بودند. در تیمارهای عصاره آبی-اتانولی-هگزانی همانند تیمارهای عصاره آبی، کلزا، فرفیون، گچ‌دوست و منداب در هر دو نوبت آزمایش مؤثرترین

عصاره‌ها بودند. این تیمارها باعث مرگ لاروهای سن دو به میزان ۵۲/۸ تا ۵۴/۵ و ۴۴/۵ تا ۴۶/۸ درصد، به ترتیب در نوبت اول و دوم آزمایش شدند.

اثر عصاره‌های ۵۰ درصدی ترکیب چهارتایی گیاهان: عصاره‌های مختلف ترکیب چهارتایی گیاهان کاردی، گچدوست، خاکشیر طبی، فرفیون و منداب در هر دو نوبت آزمایش اثر معنی‌داری در سطح یک درصد بر افزایش مرگ لاروهای سن دو *M. incognita* داشتند (جدول ۵). به استثنای تیمار عصاره آبی- اتانولی-هگزانی گچدوست- منداب- خاکشیر طبی- فرفیون در نوبت اول آزمایش و کاردی-گچدوست- منداب- خاکشیر طبی در نوبت دوم آزمایش، چهار تیمار دیگر باعث مرگ‌ومیر معنی‌دار لاروها در هر دو نوبت آزمایش شدند. تأثیر عصاره هگزانی نسبت به سایر عصاره‌ها کم‌تر بود. عصاره‌های آبی یا آبی- اتانولی- هگزانی تیمار کاردی- گچدوست - منداب- خاکشیر طبی، به ترتیب با ۵۵/۰ و ۵۰/۵ درصد در نوبت اول، و ۳ گچدوست - منداب- خاکشیر طبی و فرفیون با ۴۷/۵ و ۴۷/۳ درصد در نوبت دوم مؤثرترین تیمار در مرگ لاروهای سن دو بودند (جدول ۵).

جدول ۴. تأثیر عصاره‌های مختلف شاخساره تعدادی گیاه بر مرگ لاروهای سن دو نماتد ریشه‌گرهی *Meloidogyne incognita* در ماسه سترون بعد از پنج روز در شرایط آزمایشگاهی.

Table 4. Effect of different shoot extracts from several plants on mortality of the second-stage juvenile of the root-knot nematode *Meloidogyne incognita* in sterile sand after five days, under laboratory conditions.

	Mean number and precent of dead juveniles (out of about 400)							
	Aqueous (Aq)		Ethanolic (Et)		Hexanic (He)		Aq-Et-He	
Treatments	Number	%*	Number	%*	Number	%*	Number	%*
First trial								
Control	118d	-	147d	-	145f	-	130d	-
Narrow-leaf plantain[1]	295cd	44.3	283d	34.0	246e	25.3	291cd	40.3
Rapeseed[2]	342a	56.0	319b	43.0	348a	50.8	348a	54.5
Sun spurge[3]	341a	55.8	340a	48.3	296bc	37.8	346a	54.0
Chalk plant[4]	341a	55.8	345a	49.5	300b	38.8	341a	52.8
Hedge mustard[5]	321b	50.8	316bc	42.3	283c	34.5	325b	48.8
Arugula[6]	337a	54.8	311bc	41.0	328a	45.8	343a	53.3
Spearmint[7]	312cb	48.5	304c	39.3	265d	30.0	320bc	47.5
Second trial								
Control	127e	-	157e	-	142f	-	149c	-
Narrow-leaf plantain[1]	282de	38.8	271de	28.5	235e	23.3	276bc	31.8
Rapeseed[2]	330a	50.8	303b	36.5	333a	47.8	336a	46.8
Sun spurge[3]	329a	50.5	319a	40.5	279b	34.3	333a	46.0
Chalk plant[4]	325ab	49.5	328a	42.8	287b	36.3	328a	44.8
Hedge mustard[5]	308c	45.3	304b	36.8	269c	31.8	311b	40.5
Arugula[6]	317bc	47.5	299bc	35.5	325a	45.8	327a	44.5
Spearmint[7]	300cd	43.3	287cd	32.5	253d	27.8	309b	40.0

*: Percentage of dead juveniles compared to control. Data are the means of four replicates. Data with the same letters in each column of the same experiment are not significantly different ($P \leq 0.01$) according to Duncan's multiple range test.

*: درصد مرگ‌ومیر لارو سن دو نسبت به شاهد. ۱- کاردی، ۲- کلزا، ۳- فرفیون، ۴- گچدوست، ۵- خاکشیر طبی، ۶- منداب، ۷- نعناع

ب- در آب سترون

اثر عصاره‌های ۵۰ درصدی هر کدام از گیاهان به‌تنهایی: عصاره‌های آبی، اتانولی و آبی-اتانولی گیاهان اثر معنی‌داری در سطح یک درصد بر افزایش مرگ لارو سن دو نماتد ریشه‌گرهی *M. incognita* در هر دو نوبت آزمایش داشتند.

نتایج نوبت اول آزمایش نشان داد که به استثنای کاردی، عصاره‌های مختلف سایر گیاهان باعث افزایش معنی‌دار در تعداد لاروهای مرده یا غیرفعال پس از ۲۴ و ۴۸ ساعت نسبت به شاهد شدند. با افزایش زمان از ۲۴ ساعت به ۴۸ ساعت تعداد لاروهای مرده یا غیرفعال افزایش یافت. در اکثر تیمارها در زمان ۲۴ ساعت تعدادی از لاروها که به صورت موقت غیرفعال شده بودند، پس از حذف عصاره و قرارگرفتن در آب مقطر مجدداً فعال شده و تعداد واقعی نماتدهای مرده کاهش یافت. بیش‌ترین فعال‌شدن در تیمار نعناع و کاردی اتفاق افتاد. پس از حذف عصاره‌ها در زمان ۴۸ ساعت، عصاره‌های آبی یا آبی- اتانولی کلزا، فرفیون، گچ‌دوست، خاکشیر طبی و منداب مؤثرترین عصاره‌ها بودند. عصاره آبی این گیاهان باعث ۴۶ تا ۵۸ درصد و عصاره آبی- اتانولی آن‌ها باعث ۶۲ تا ۶۹ درصد مرگ لارو سن دو نسبت به شاهد شدند (جدول ۶).

نتایج نوبت دوم مشابه نوبت اول آزمایش بود. پس از حذف عصاره‌ها، تعداد لاروهای مرده تیمار کاردی با شاهد در یک گروه آماری قرار گرفت. در زمان ۴۸ ساعت، اثر تیمارها به استثنای کاردی بر مرگ لارو معنی‌دار بود. عصاره‌های آبی یا آبی- اتانولی کلزا، فرفیون، گچ‌دوست، خاکشیر طبی و منداب مؤثرترین عصاره‌ها بودند. عصاره آبی این گیاهان باعث ۵۶ تا ۶۶ و عصاره آبی-اتانولی آن‌ها باعث ۶۰ تا ۶۹ درصد مرگ لارو سن دو نسبت به شاهد شدند (جدول ۶).

جدول ۵. تأثیر عصاره‌های مختلف ترکیب چهارتایی شاخساره پنج گیاه بر مرگ لارو سن دو نماتد ریشه‌گرهی *Meloidogyne incognita* در ماسه سترون بعد از پنج روز در شرایط آزمایشگاهی.

Table 5. Effect of different extracts of quadruple combinations of shoots of five plants on mortality of the second-stage juvenile of the root-knot nematode *Meloidogyne incognita* in sterile sand after five days under laboratory conditions.

	Mean number of dead juveniles (out of about 400)							
	Aqueous (Aq)		**Ethanolic (Et)**		**Hexanic (He)**		**Aq-Et-He**	
Treatments	Number	%*	Number	%*	Number	%*	Number	%*
First trial								
Control	109d		138d		125e		131c	
NLP-ChP-HeM-SuS	300bc	47.8	293 b	38.8	253c	32.0	309b	44.5
NLP-ChP-Aru-SuS	308b	49.8	303b	41.3	268b	35.8	311b	45.0
NLP-ChP-Aru-HeM	329a	55.0	324a	46.5	279ab	38.5	333a	50.5
NLP-Aru-HeM-SuS	325a	54.0	328a	47.5	294a	42.3	328a	49.3
ChP-Aru-HeM-SuS	281c	43.0	271c	33.3	235d	27.5	276c	36.3
Second trial								
Control	110d		109d		110d		113c	
NLP-ChP-HeM-SuS	270bc	40.0	263bc	38.5	224c	28.5	278b	41.3
NLP-ChP-Aru-SuS	281b	42.8	274b	41.3	239b	32.3	282b	42.3
NLP-ChP-Aru-HeM	256c	36.5	243c	33.5	217c	26.8	250c	34.3
NLP-Aru-HeM-SuS	299a	47.3	302a	48.3	269a	39.8	301a	47.0
ChP-Aru-HeM-SuS	300a	47.5	295a	46.5	248ab	34.5	302a	47.3

*: Percentage of dead juveniles compared to control. Data are the means of four replicates. Data with the same letters in each column of the same experiment are not significantly different ($P \leq 0.01$) according to Duncan's Multiple Range Test. NLP: narrow-leaf plantain; ChP: chalk plant; HeM: hedge mustard; SuS: sun spurge; Aru: arugula.

*: درصد مرگ‌ومیر لارو سن دو نسبت به شاهد. NLP: کاردی؛ ChP: گچ‌دوست؛ HeM: خاکشیر طبی؛ SuS: فرفیون؛ Aru: منداب.

اثر عصاره ترکیب چهارتایی گیاهان: اثر عصاره‌های آبی، اتانولی و آبی- اتانولی ترکیب چهارتایی هفت گیاه خاکشیر طبی، منداب، فرفیون، کلزا، کاردی، نعناع و گچ‌دوست بر مرگ لارو سن دو نماتد ریشه‌گرهی *M. incognita* پس از مدت‌زمان ۲۴ و ۴۸ ساعت در معرض عصاره بودن، هم‌چنین پس از حذف عصاره و ۲۴ ساعت قرارگرفتن درون آب مقطر سترون در شرایط

آزمایشگاه در هر دو نوبت آزمایش بر حسب آزمون دانکن در سطح یک درصد معنی‌دار بود.

جدول ۶. میانگین تعداد لارو سن دو مرده نماتد ریشه‌گرهی *Meloidogyne incognita* ۲۴ و ۴۸ ساعت پس از قرارگرفتن در معرض عصاره‌های آبی و یا اتانولی شاخساره برخی گیاهان و ۲۴ ساعت پس از شست‌وشو و قرارگرفتن در آب مقطر در شرایط آزمایشگاهی.

Table 6. The average number of dead second-stage juvenile of the root-knot nematode *Meloidogyne incognita* 24 and 48 hours after exposure to aqueous and/or ethanolic extracts of the shoots of some plants and 24 hours after washing and exposure to distilled water under laboratory conditions.

Treatments	Mean number of dead juveniles (out of about 100)									
	24 hours				48 hours					
	Exposure	Aqueous (Aq)	Ethanolic (Et)	Aq-Et	Aq	%*	Et	%*	Aq-Et	%*
First trial										
Control	Water	3.0c	6.8c	4.0b	15c	-	24c	-	18c	-
Narrow-leaf plantain[1]	Extract	39bc	37bc	43ab	67bc	52.0	59bc	35.0	71bc	53.0
Rapeseed[2]	Extract	53a	53a	57a	80ab	65.0	74a	50.0	83ab	65.0
Sun spurge[3]	Extract	54a	48a	56a	83a	68.0	71a	47.0	88a	70.0
Chalk plant[4]	Extract	51a	46ab	54a	80ab	65.0	67ab	43.0	85ab	67.0
Hedge mustard[5]	Extract	48ab	46ab	56a	78ab	63.0	68ab	44.0	84ab	66.0
Arugula[6]	Extract	48ab	47a	54a	77ab	62.0	69ab	45.0	82ab	64.0
Spearmint[7]	Extract	51a	48a	54a	78ab	63.0	70a	46.0	82ab	64.0
Control	Water	10d	13d	13c	27e	-	23e	-	19d	-
Narrow-leaf plantain[1]	Water	26cd	24cd	32bc	52de	25.0	44de	21.0	59cd	40.0
Rapeseed[2]	Water	49ab	50a	55a	82ab	55.0	78a	55.0	88a	69.0
Sun spurge[3]	Water	53a	45ab	54a	85a	58.0	70ab	47.0	88a	69.0
Chalk plant[4]	Water	48ab	44ab	53a	79ab	52.0	63bc	40.0	84ab	65.0
Hedge mustard[5]	Water	45ab	44ab	53a	74bc	47.0	67ab	44.0	81ab	62.0
Arugula[6]	Water	46ab	45a	53a	73bc	46.0	67ab	44.0	82ab	63.0
Spearmint[7]	Water	36bc	33bc	41b	64cd	37.0	54cd	31.0	68bc	49.0
Second trial										
Control	Water	5.3b	9.2b	6.5b	19c	-	23c	-	19c	-
Narrow-leaf plantain[1]	Extract	54a	52a	57a	71bc	52.0	62bc	39.0	77bc	58.0
Rapeseed[2]	Extract	58a	57a	62a	83ab	64.0	78a	55.0	88ab	69.0
Sun spurge[3]	Extract	58a	53a	60a	88a	69.0	75a	52.0	93a	74.0
Chalk plant[4]	Extract	55a	50ab	60a	85ab	66.0	73ab	50.0	90ab	71.0
Hedge mustard[5]	Extract	53a	51a	60a	83ab	64.0	72ab	49.0	88ab	69.0
Arugula[6]	Extract	51a	53a	59a	82ab	63.0	73a	50.0	85ab	66.0
Spearmint[7]	Extract	66a	62a	66a	82ab	63.0	74a	51.0	86ab	67.0
Control	Water	11c	17c	14b	22d	-	25d	-	24d	-
Narrow-leaf plantain[1]	Water	39bc	37bc	43ab	54cd	32.0	45cd	20.0	61cd	37.0
Rapeseed[2]	Water	53a	53a	57a	83a	61.0	79a	54.0	90a	66.0
Sun spurge[3]	Water	54a	48a	56a	88a	66.0	74a	49.0	93a	69.0
Chalk plant[4]	Water	51ab	46ab	54a	82a	60.0	69ab	44.0	88a	64.0
Hedge mustard[5]	Water	48ab	46ab	55a	79a	57.0	70ab	45.0	85ab	61.0
Arugula[6]	Water	48ab	47a	54a	78ab	56.0	70a	45.0	84ab	60.0
Spearmint[7]	Water	51a	48a	54a	66bc	44.0	58bc	33.0	73bc	49.0

*: Percentage of dead juveniles compared to control. Data are the means of four replicates. Data with the same letters in each column of the same experiment are not significantly different ($P \leq 0.01$) according to Duncan's multiple range test.

*: درصد مرگ‌ومیر لارو سن دو نسبت به شاهد. ۱- کاردی، ۲- کلزا، ۳- فرفیون، ۴- گچ‌دوست، ۵- خاکشیر طبی، ۶- منداب، ۷- نعناع.

در نوبت اول آزمایش، به استثنای عصاره آبی تیمار کاردی-گچ‌دوست-منداب-خاکشیر طبی، عصاره‌های مختلف سایر تیمارها باعث افزایش معنی‌دار تعداد لاروهای مرده یا غیرفعال پس از ۲۴ و ۴۸ ساعت نسبت به شاهد شدند. تأثیر عصاره‌های

آبی یا اتانولی بیشتر از عصاره آبی-اتانولی همان تیمار بود. با افزایش زمان از ۲۴ ساعت به ۴۸ ساعت تعداد لاروهای مرده یا غیرفعال افزایش یافت، ولی میزان افزایش پس از ۴۸ ساعت نسبت به حالت قبل کم‌تر بود. پس از حذف عصاره‌ها در زمان ۴۸ ساعت، عصاره‌های آبی یا اتانولی تیمارهای مختلف به ترتیب باعث ۴۳-۵۵ و ۴۳-۵۶ درصد مرگ‌ومیر لارو سن دو نسبت به شاهد شدند. عصاره‌های آبی یا اتانولی گچ‌دوست-منداب-خاکشیر طبی-فرفیون، به ترتیب با ۵۵ و ۵۶ درصد مرگ لاروها مؤثرترین تیمار بود (جدول ۷).

در نوبت دوم آزمایش نیز مشابه نوبت اول آزمایش، به استثنای عصاره آبی تیمار کاردی-گچ‌دوست-منداب-خاکشیر طبی سایر تیمارها باعث افزایش معنی‌دار مرگ لاروها پس از هر دو زمان شدند. پس از حذف عصاره‌ها در زمان ۴۸ ساعت، عصاره‌های آبی یا اتانولی تیمارهای مختلف به ترتیب باعث ۵۶-۴۵ و ۴۶-۵۸ درصد مرگ لارو سن دو نسبت به شاهد شدند. عصاره‌های آبی یا اتانولی گچ‌دوست-منداب-خاکشیر طبی-فرفیون، به ترتیب با ۵۶ و ۵۸ درصد مرگ لاروهای سن دو مؤثرترین تیمار بود (جدول ۷).

بحث

مواد آلی گیاهی و یا ترکیبات حاصل از تجزیه آن‌ها می‌توانند با کاهش یا جلوگیری از تفریخ تخم، مرگ مراحل فعال نماتدهای انگل گیاهی درون خاک و یا افزایش تحمل و القاء مقاومت در گیاه میزبان از خسارت این گروه از بیمارگرهای گیاهی بکاهند. این پژوهش نشان داد عصاره اکثر گیاهان مورد استفاده دارای ترکیباتی هستند که باعث مرگ لارو سن دو نماتد ریشه‌گرهی *M. javanica* می‌شوند. عصاره آبی بافت تازه ۱۸ گیاه از ۴۴ گیاه مختلف مورد بررسی در غلظت ۵۰ درصد باعث مرگ ۵۰/۳ تا ۶۹/۳ درصد لارو سن دو نماتد گردید. البته میزان تأثیرگذاری گونه‌های مختلف گیاهی یک‌سان نبود. از این ۱۸ گونه گیاهی، پنج گونه به تیره کَلَمیان (شب‌بویان؛ *Brassicaceae*)، سه گونه به تیره نعنائیان (*Lamiaceae*) و دو گونه به هر کدام از تیره‌های بارهنگیان (*Plantaginaceae*) و بادنجانیان (*Solanaceae*) تعلق دارد. نتایج حاصل از پژوهش‌های قبلی نشان داده است که عصاره پودر یا اسانس بخش‌های مختلف بسیاری از گونه‌های گیاهی از تیره‌های مختلف از جمله *Brassicaceae*، *Lamiaceae*، *Solanaceae*، *Plantaginaceae*، *Euphorbiaceae*، *Fabaceae* و *Asteraceae* نسبت به مراحل زندگی نماتدهای انگل گیاهی بازدارنده هستند (Mwamula *et al.* 2022). این مواد به صورت مستقیم با تأثیر بر مراحل مختلف زندگی نماتدها و یا با افزایش تحمل و مقاومت گیاه میزبان، میزان خسارت آن‌ها را کاهش می‌دهند. هم‌چنین گزارش شده است که گونه‌هایی از ۵۷ تیره گیاهی از جمله *Lamiaceae*، *Asteraceae*، *Myrtaceae*، *Rutaceae* و *Lauraceae* دارای ترکیبات نماتدکش هستند (Andrés *et al.* 2012).

نتایج پژوهش حاضر نشان داد ویژگی بازدارندگی عصاره گیاهان مؤثر، اختصاص به نماتد ریشه‌گرهی *M. javanica* ندارد، بلکه علاوه بر مرگ لارو سن دو این گونه، قادر است باعث مرگ لارو سن دو *M. incognita* نیز شده و از تفریخ تخم آن جلوگیری کند. این عدم اختصاصی بودن قبلاً نیز نشان داده شده است. مثلانتایج پژوهش آزمایشگاهی نشان داده است که عصاره آبی برخی گیاهان از جمله منداب، کنجد، کرچک و زیتون‌تلخ پس از ۴۸ ساعت باعث مرگ بیش از ۵۰ درصد لاروهای هر دو گونه فوق شده است (زندیه شیرازی و کارگر بیده ۲۰۱۹).

جلوگیری از تفریخ تخم: میزان تأثیر عصاره آبی و عصاره‌های حاصل از حلال‌های آلی بر تفریخ تخم یک‌سان نیست.

مقایسه اثر انواع عصاره‌های گیاهان خاکشیر طبی، فرفیون، کاردی، کلزا، گچ‌دوست، نعناع و منداب به‌تنهایی یا در حالتترکیب چهارتایی بر تفریخ تخم نماتد ریشه‌گرهی *M. incognita* در ماسه سترون نشان داد که عصاره‌های آبی یا آبی-اتانولی- هگزانی مؤثرتر از عصاره‌های اتانولی یا هگزانی بودند. از طرف دیگر اختلاف قابل‌ملاحظه‌ای بین عصاره آبی و عصاره آبی-اتانولی-هگزانی گیاهان مورد استفاده مشاهده نگردید. عصاره آبی گیاهان پس از هشت روز باعث کاهش تفریخ تخم به میزان ۹/۲-۶۹/۴۵ درصد در دو نوبت آزمایش گردید و عصاره آبی-اتانولی- هگزانی آن‌ها تفریخ تخم را به میزان ۴۴/۴ تا ۷۲/۰ درصد کاهش داد. به نظر می‌رسد عمده ترکیبات گیاهی مؤثر بر تفریخ تخم نماتد، ترکیبات محلول در آب باشند. با افزایش زمان از سه به هشت روز تعداد تخم‌های تفریخ‌شده افزایش یافت، ولی میزان افزایش در اکثر تیمارها نسبت به شاهد کم‌تر بود. با توجه به این‌که عصاره‌ها علاوه بر کاهش تفریخ تخم باعث مرگ لارو نیز می‌شوند، این احتمال وجود دارد درصدی از لاروها پس از خروج از تخم تحت تأثیر عصاره‌ها از بین رفته و با روش سینی استخراج نشده باشند. لذا در این باره لازم است به‌جای روش سینی از روش سانتریفیوژ استفاده گردد تا لاروهای مرده نیز استخراج شوند.

جدول ۷. میانگین تعداد لارو سن دو مرده نماتد ریشه‌گرهی *Meloidogyne incognita* ۲۴ و ۴۸ ساعت پس از قرارگرفتن در معرض عصاره‌های مختلف ترکیب‌های چهارتایی شاخساره پنج گیاه و ۲۴ ساعت پس از شست‌و شو و قرارگرفتن در آب مقطر در شرایط آزمایشگاهی.

Table 7. The average number of dead second-stage juveniles of the root-knot nematode *Meloidogyne incognita* 24 and 48 hours after exposure to different extracts of quadruple combinations of shoots of five plants and 24 hours after washing and exposure to distilled water in laboratory conditions.

Treatments	Exposure	Mean number of dead juveniles (out of about 100)								
		24 hours			48 hours					
		Aqueous (Aq)	Ethanolic (Et)	Aq-Et	Aq	%*	Et	%*	Aq-Et	%*
First trial										
Control	Water	16b	16b	19c	19c	-	20b	-	20b	-
ChP-Aru-HeM-SuS	Extract	78a	79a	76a	94a	75.0	91a	71.0	88a	68.0
NLP-Aru-HeM-SuS	Extract	76a	69a	67ab	87ab	68.0	84a	64.0	79a	59.0
NLP-ChP-Aru-HeM	Extract	68a	67a	63b	79bc	60.0	81a	61.0	76a	56.0
NLP-ChP-Aru-SuS	Extract	74a	72a	69ab	90a	71.0	90a	70.0	82a	62.0
NLP-ChP-HeM-SuS	Extract	70a	67a	62b	86ab	67.0	80a	60.0	78a	58.0
Control	Water	21b	22b	24b	28c	-	28c	-	30b	-
ChP-Aru-HeM-SuS	Water	73a	74a	70a	83a	55.0	84a	56.0	78a	48.0
NLP-Aru-HeM-SuS	Water	71a	66a	62a	78ab	50.0	76ab	48.0	72a	42.0
NLP-ChP-Aru-HeM	Water	63ab	63a	59a	71bc	43.0	72b	44.0	68a	38.0
NLP-ChP-Aru-SuS	Water	69a	67a	63a	78ab	50.0	79ab	51.0	73a	43.0
NLP-ChP-HeM-SuS	Water	65a	62a	58a	76ab	48.0	71b	43.0	68a	38.0
Second trial										
Control	Water	9.3c	7.8b	13b	28c	-	28b	-	30b	-
ChP-Aru-HeM-SuS	Extract	68a	66a	63a	88a	60.0	87a	59.0	83a	53.0
NLP-Aru-HeM-SuS	Extract	64ab	60a	53a	81ab	53.0	79a	51.0	76a	46.0
NLP-ChP-Aru-HeM	Extract	56bc	57a	52a	75bc	47.0	76a	48.0	72a	42.0
NLP-ChP-Aru-SuS	Extract	63ab	60a	54a	84a	56.0	85a	57.0	77a	47.0
NLP-ChP-HeM-SuS	Extract	56bc	55a	52a	81ab	53.0	75a	47.0	72a	42.0
Control	Water	13b	11b	16b	22c	-	21c	-	24b	-
ChP-Aru-HeM-SuS	Water	62a	62a	58a	78a	56.0	79a	58.0	74a	50.0
NLP-Aru-HeM-SuS	Water	59a	55a	49a	74ab	52.0	71ab	50.0	67a	43.0
NLP-ChP-Aru-HeM	Water	51ab	52a	48a	67bc	45.0	67b	46.0	64a	40.0
NLP-ChP-Aru-SuS	Water	57a	55a	50a	73ab	51.0	73ab	52.0	68a	44.0
NLP-ChP-HeM-SuS	Water	53a	50a	46a	70ab	48.0	67ab	46.0	63a	39.0

*: Percentage of dead juveniles compared to control. Data are the means of four replicates. Data with the same letters in each column of the same experiment are not significantly different ($P \leq 0.01$) according to Duncan's Multiple Range Test .NLP: narrow-leaf plantain; ChP: chalk plant; HeM: hedge mustard; SuS: sun spurge; Aru: arugula.

*: درصد مرگ‌ومیر لارو سن دو نسبت به شاهد. NLP: کاردی؛ ChP: گچ‌دوست؛ HeM: خاکشیر طبی؛ SuS: فرفیون؛ Aru: منداب.

میزان کاهش تفریخ تخم در عصاره آبی تیمارهای تلفیقی پس از هشت روز ۵۳/۸ تا ۶۹/۳ درصد و در عصاره آبی-اتانولی-هگزانی ۵۵/۳ تا ۶۹/۸ درصد بود. مقایسه نتایج دو بخش آزمایش نشان داد میزان تأثیر عصاره‌های گیاهان به‌تنهایی با عصاره‌های ترکیب چهارتایی آن‌ها تقریباً به یک اندازه است و ترکیب آن‌ها باعث افزایش میزان مؤثربودن آن‌ها نشده است.

مرگ لارو سن دو: میزان تأثیر عصاره‌ها بر لارو سن دو کم‌تر از تأثیر آن‌ها بر تفریخ تخم بود. مقایسه اثر عصاره‌های مختلف گیاهان به‌تنهایی یا ترکیب چهارتایی آن‌ها بر مرگ لارو سن *M. incognita* درون ماسه سترون نشان داد، همانند تأثیر آن‌ها بر تفریخ تخم، عصاره آبی یا عصاره آبی-اتانولی-هگزانی گیاهان مؤثرترین عصاره‌ها بودند و عصاره هگزانی کم‌ترین تأثیر بر لارو سن دو *M. incognita* داشت. هم‌چنین اختلاف قابل‌ملاحظه‌ای بین عصاره آبی و عصاره آبی- اتانولی- هگزانی گیاهان مختلف مشاهده نگردید. عصاره آبی گیاهان مختلف در هر دو نوبت آزمایش پس از پنج روز باعث مرگ لارو به میزان ۳۸/۸ تا ۵۶/۰ درصد گردید. درحالی‌که درصد مرگ‌ومیر در عصاره آبی-اتانولی-هگزانی آن‌ها ۳۱/۸ تا ۵۴/۵ درصد بود. اختلاف در میزان تأثیرگذاری عصاره‌ها می‌تواند مربوط به گونه گیاه و غلظت و حلالیت ترکیبات مؤثر آن‌ها باشد. در یک بررسی نشان داده شده است که عصاره حاصل از شاخه‌های *Magnolia tripetala* با استفاده از اتیل‌استات اثر نماتدکشی علیه نماتدهای باکتری‌خوار *Panagrellus redivivus* و *Caenorhabditis elegans*، هم‌چنین نماتد انگل گیاهی *Bursaphelenchus xylophilus* داشته و دو ترکیب فنولی نماتدکش magnolol و honokiol از عصاره این گیاه جداسازی و شناسایی شده است (Li *et al.* 2008).

عصاره‌های آبی، متانولی و کلروفرمی گیاه شنبلیله (*Trigonella foenum-graecum* L.) موجب مرگ معنی‌دار *M. javanica* در سطح پنج درصد شده است. عصاره متانولی این گیاه در غلظت ۱۰ میلی‌گرم/میلی‌لیتر باعث بالاترین (۸۲ درصد) مرگ لارو نماتد ریشه‌گرهی شده است. درحالی‌که میزان مرگ در عصاره‌های آبی و کلروفرومی، به‌ترتیب ۷۱ و ۷۸ درصد بوده است. اجزای خالص شده از متانول که ماهیت قطبی داشتند بالاترین اثر نماتدکشی در مقایسه با کلروفرم (حلال غیرقطبی) نشان دادند (Zia *et al.* 2001).

مقایسه نتایج تأثیر عصاره‌های گیاهان به‌تنهایی و عصاره‌های ترکیب چهارتایی گیاهان اختلاف قابل‌ملاحظه‌ای را نشان نداد. در ترکیب چهارتایی گیاهان نیز، عصاره آبی و عصاره آبی-اتانولی-هگزانی گیاهان مؤثرترین عصاره‌ها بر لارو سن نماتد ریشه‌گرهی بودند. مقایسه تعداد لاروهای مرده نماتد ریشه‌گرهی نشان داد اختلافی بین عصاره آبی و عصاره آبی- اتانولی- هگزانی گیاهان مختلف وجود ندارد. عصاره آبی ترکیب گیاهان مختلف در هر دو نوبت آزمایش باعث مرگ لارو به میزان ۳۶/۵ تا ۵۵/۰ درصد گردید. درحالی‌که درصد مرگ‌ومیر در عصاره آبی-اتانولی- هگزانی آن‌ها ۳۴/۳ تا ۵۰/۵ درصد بود.

نتایج پژوهش حاضر نشان داد علاوه بر نوع عصاره، شرایط انجام آزمایش نیز بر نتایج حاصل تأثیر دارد. در آب مقطر سترون عصاره‌های آبی و آبی- اتانولی هر کدام از هفت گیاه مورد استفاده یا ترکیب آن‌ها بیش از عصاره اتانولی آن‌ها بود. پس از ۴۸ ساعت، عصاره‌های آبی و آبی- اتانولی گیاهان باعث مرگ یا غیرفعال‌شدن لارو سن دو، به‌ترتیب به میزان ۵۲ تا ۶۹ و ۵۳ تا ۷۴ درصد در هر دو نوبت آزمایش گردید. البته پس از حذف عصاره و قرارگرفتن در آب مقطر تعدادی از لاروها مجدداً فعال شده و تعداد واقعی نماتدهای مرده در عصاره‌های آبی و آبی-اتانولی، به‌ترتیب به ۲۵ تا ۶۶ و ۳۷ تا ۶۹ درصد کاهش یافت. میزان اکسیژن، نوع عصاره و گونه گیاه می‌توانند از عوامل این اختلاف باشند. در آب مقطر نسبت به ماسه سترون اکسیژن کم‌تری وجود دارد. برخی از نماتدهای آزاد خاک‌زی و انگل گیاهی قادراند در شرایط کمبود اکسیژن فعالیت خود را کاهش داده و برای مدتی غیرفعال شوند (Wharton 2002). از نظر نوع عصاره، بیش‌ترین برگشت‌پذیری در عصاره آبی گیاهان و از نظر گونه گیاهی بیش‌ترین فعال‌شدن لاروها در عصاره آبی کاردی با ۲۷ و ۲۰ درصد و در عصاره آبی- اتانولی آن با ۱۳ و ۲۱ درصد، به‌ترتیب در نوبت اول و دوم آزمایش، هم‌چنین در عصاره آبی نعناع با ۲۶ و ۱۹ درصد و در عصاره آبی- اتانولی آن با ۱۵ و ۱۸ درصد اتفاق افتاد. سرعت برگشت‌پذیری در آب با افزایش دوره در معرض قرارگرفتن عصاره کاهش پیدا می‌کند (Ferris & Zheng 1999).

در مقایسه نتایج تأثیر عصاره گیاهان به‌تنهایی و عصاره ترکیب چهارتایی هفت گیاه مورد استفاده اختلاف قابل‌ملاحظه‌ای مشاهده نگردید. در ترکیب چهارتایی تأثیر عصاره‌های آبی یا اتانولی بیشتر از عصار آبی- اتانولی همان تیمار بود. پس از حذف عصاره‌ها در زمان ۴۸ ساعت و قراردادن لاروها در آب مقطر در نوبت اول و دوم آزمایش، به‌ترتیب ۱۷ تا ۲۱ درصد و ۱ تا ۵ درصد آن‌ها فعال شدند و درصد مرگ واقعی لارو سن دو در عصاره‌های آبی و اتانولی تیمارهای مختلف به ترتیب به ۴۳ تا ۵۶ و ۴۳ تا ۵۸ درصد رسید. اختلاف در میزان برگشت‌پذیری در دو نوبت آزمایش می‌تواند به دمای محل آزمایش مرتبط باشد.

مؤثرترین گیاهان: از هفت گیاه منتخب، پنج گیاه کلزا، فرفیون، گچ‌دوست، خاکشیر طبی و منداب بالاترین تأثیر بر جلوگیری از تفریخ و مرگ لارو سن دو نماتد ریشه‌گرهی *M. incognita* هم‌چنین مرگ لارو گونه *M. javanica* داشتند. کلزا، خاکشیر طبی و منداب به تیره کَلَمیان (*Brassicaceae*) تعلق دارند. این تیره شامل تعداد زیادی گونه با توانایی نماتدکشی است و بررسی‌های زیادی در مورد آن‌ها صورت گرفته است. این ویژگی به طور عمده به دلیل وجود گلوکوسینولات‌ها (glucosinolates) و ایزوتیوسیانات‌های (isothiocyanates) حاصل از تجزیه آن‌ها است (Avato *et al.* 2013; Fourie *et al.* 2016). گلوکوسینولات‌ها ترکیبات گوگرددار محلول در آب هستند. فرفیون عضوی از تیره فرفیونیان (*Euphorbiaceae*) است. جنس *Euphorbia* گروه بسیار بزرگ و متنوعی است که شاخساره آن‌ها دارای شیرابه شیری‌رنگ سمی است و ترپنوییدها رایج‌ترین متابولیت‌های ثانویه آن را تشکیل می‌دهند. این شیرابه خاصیت دارویی و ضد حشره‌ای دارد (Benjamaa *et al.* 2022). بررسی‌ها نشان داده است پروتئازهای موجود در شیرابه گونه *E. milii* پس از ۴۸ ساعت باعث مرگ بیش از ۹۶ درصد لاروهای نماتد باکتری‌خوار *Panagrellus redivivus* شده است (Sufiate *et al.* 2017). هم‌چنین پروتئازهای موجود در شیرابه گونه *E. trigona* پس از ۲۴ ساعت باعث مرگ ۹۶ درصد از لارو نماتد ریشه‌گرهی *M. incognita* شده است (Sufiate *et al.* 2021). گچ‌دوست گونه‌ای از تیره میخکیان (*Caryophyllaceae*) است. جنس *Gypsophila* با حدود ۱۵۰ گونه، چهارمین جنس بزرگ این تیره در جهان است. ایران با داشتن ۳۸ گونه، دومین مرکز تنوع عمده پراکنش این جنس در جهان محسوب می‌شود (نژاد فلاطوری و همکاران، ۲۰۱۷). نشان داده شده است که ساپونین موجود در گونه *G. paniculata* باعث مرگ گونه‌های *Xiphinema index* و *X. diversicaudatum* شده است (Pensec

et al. 2013). ساپونین‌های گیاهی ترکیبات محلول در آب و چربی هستند و نقش‌های زیادی در گیاهان دارند که می‌توان به نقش بازدارندگی آن‌ها در میزبان‌های گیاهی نسبت به آفات و بیماری‌ها اشاره کرد.

نتیجه‌گیری: اولین قدم در ارزیابی پتانسیل گیاهان در مهار نماتدهای انگل گیاهی، بررسی آزمایشگاهی اثر آن‌ها بر تفریخ تخم و مراحل فعال نماتد در خاک است. این پژوهش نشان داد ویژگی ممانعت از تفریخ تخم و مرگ لارو سن دو گونه‌های رایج نماتدهای ریشه‌گرهی به درجات مختلف در بسیاری از گیاهان زراعی و علف‌های هرز مزارع وجود دارد، که می‌توان در مدیریت تلفیقی نماتدها مد نظر قرار داد. تأثیر عصاره آبی یا عصاره آبی- اتانولی- هگزانی بیشتر از تأثیر عصاره هر کدام از دو حلال آلی بود. تجزیه ترکیبات تشکیل‌دهنده عصاره آبی و عصاره با حلال‌های آلی هر کدام از گیاهان و بررسی میزان مواد مؤثره آن‌ها در انتخاب نوع گیاه و روش استخراج کمک خواهد کرد. زمانی‌که لاروها در معرض عصاره قرار می‌گیرند، تعدادی از آن‌ها غیرفعال شده و پس از حذف عصاره مجدداً فعالیت خود را از سر می‌گیرند. بنابراین، لازم است پس از تیمارکردن، عصاره مورد استفاده با آب مقطر جایگزین شده و شمارش نماتدها پس از ۲۴ انجام شود. عصاره ترکیب چهارتایی گیاهان مؤثر منجر به افزایش تأثیر عصاره هر کدام از گیاهان به‌تنهایی نگردید. با توجه به تأثیر تقریباً یک‌سان پنج گیاه کلزا، فرفیون، گچ‌دوست، خاکشیر طبی و منداب و راحتی تهیه عصاره آبی، می‌توان از عصاره آبی هر کدام از این گیاهان در آزمایش‌های گلخانه‌ای یا مزرعه‌ای استفاده کرد. ولی برای انجام این آزمایش‌ها لازم است میزان در دسترس بودن و فراوانی هر کدام از گیاهان در فصول مختلف سال مد نظر قرار گیرد.

تضاد منافع

نویسندگان با یکدیگر، با تحقیق انجام شده و محل انجام پژوهش تضاد منافعی ندارند.

سپاس‌گزاری

این پژوهش بخشی از پایان‌نامه کارشناسی ارشد نویسنده اول است و با حمایت مالی دانشگاه شیراز انجام شده است که مراتب قدردانی اعلام می‌گردد.

References

Abivardi F. 1969. Iranian anthelmintic plants and their active integrates, as a possible source for control of plant parasitic nematodes. In *Second Plant Medicine Congress of Iran* (pp. 41–44). Tehran, Iran. (In Persian)

Andrés M.F., González-Coloma A., Sanz J., Burillo J. & Sainz P. 2012. Nematicidal activity of essential oils: a review. *Phytochemistry Reviews* 11, 371–390.

Avato P., D'Addabbo T., Leonetti P. & Argentieri M.P. 2013. Nematicidal potential of Brassicaceae. *Phytochemistry Reviews* 12, 791–802. https://doi.org/10.1007/s11101-013-9303-7

Benjamaa R., Moujanni A., Kaushik N., Choi E.H., Essamadi A.K. & Kaushik N.K. 2022. *Euphorbia* species latex: A comprehensive review on phytochemistry and biological activities. *Frontiers in Plant Science* 13 (1008881), 1-24. https://doi.org/10.3389/fpls.2022.1008881

Chitwood D.J. 2002. Phytochemicals based strategies for nematode control. *Annual Review of Phytopathology* 40, 221–249.

Catani L., Manachini B., Grassi E., Guidi L. & Semprucci F. 2023. Essential oils as nematicides in plant protection– A review. *Plants* 12 (1418), 1-21. https://doi.org/10.3390/plants12061418

D'Addabbo T. 1995. The nematicidal effect of organic amendments: A review of the literature. *Nematologia Mediterranea* 23, 299–305.

Ferraz S. & Freitas L.G. 2004. Use of antagonist plants and natural products. In Chen Z.X., Chen S.Y. & Dickson D.W. (Eds), *Nematology advanced and perspectives, volume 2. nematode management and utilization* (pp. 913–977). Wallingford, CABI publishing.

Ferris H. & Zheng L. 1999. Plant sources of Chinese herbal remedies: Effects on *Pratylenchus vulnus* and *Meloidogyne javanica*. *Journal of Nematology* 31, 241–263.

Fourie H., Ahuja P., Lammers J. & Daneel M.S. 2016. Brassicacea-based management strategies as an alternative to combat nematode pests: A synopsis. *Crop Protection* 80, 21–41. https://doi.org/10.1016/J.CROPRO.2015.10.026

Ghaderi R. & Karssen G. 2020. An updated checklist of *Meloidogyne* Göldi, 1887 species, with a diagnostic compendium for second-stage juveniles and males. *Journal of Crop Protection* 9(2), 183–193.

Hunt D.H. & Handoo Z.A. 2009. Taxonomy, identification and principal species. In Perry R.N., Moens M. & Starr J. L. (Eds), *Root-knot nematodes* (pp. 55–97). Wallingford, CAB International.

Hussey R.S. & Barker K.R. 1973. A comparison of methods of collecting inocula of *Meloidogyne* spp., including a new technique. *Plant Disease Reporter* 57(12), 1025–1028.

Karssen G., Wesemael W. & Moens M. 2013. Root-knot nematodes. In Perry R.N. & Moens M. (Eds.), *Plant*

nematology, 2nd edition (pp. 3–39). Wallingford. CABI Publishing.

Li G.-H., Dang L.-Z., Hong L.-J., Zheng L.-J., Liu F.-F., Li L., Liu Y.-J. & Zhang K.-Q. 2008. Nematicidal activity of honokiol and magnolol isolated from *Magnolia tripetala*. *Journal of Phytopathology* 157(6), 390–392.

Moens M., Perry R.N. & Starr J.L. 2009. *Meloidogyne* species, a diverse group of novel and important plant parasites. In Perry R.N., Moens M. & Starr J.L. (Eds), *Root-knot Nematodes* (pp. 1–17). Wallingford, CAB International.

Mwamula A.O., Kabir M.F. & Lee D. 2022. A review of the potency of plant extracts and compounds from key families as an alternative to synthetic nematicides: history, efficacy, and current developments. *The Plant Pathology Journal* 38(2), 53–77. https://doi.org/10.5423/PPJ.RW.12.2021.0179

Nejad Falatoury A., Ghahremaninejad F. & Assadi M. 2017. Palynological study of the genus *Gypsophila* in Iran. *Rostaniha* 18(1), 16–32. (in Persian with English abstract). https://doi.org/10.22092/botany.2017.113228

Oka Y., Ben-Daniel B.H. & Choen Y. 2001. Nematicidal activity of powder and extracts of *Inula viscosa*. *Nematology* 3, 735–742.

Olabiyi T.I., Oyedunmade E.E.A., Ibikunle G.J., Adesina G.O. Adelasoye K.A. & Ogunniran T.A. 2008. Chemical composition and bio-nematicidal potential of some weed extracts on *Meloidogyne incognita*. *International Journal of Nematology*, 18 (1), 29–34.

Pensec F., Marmonier A., Marchal A., Gersch S., Nassr N., Chong J., Henry M., Demangeat G. & Bertsch C. 2013. *Gypsophila paniculata* root saponins as an environmentally safe treatment against two nematodes, natural vectors of grapevine fanleaf degeneration. *Australian Journal of Grape and Wine Research* 19, 439–445. https://doi.org/10.1111/AJGW.12031

Pérez M.P., Navas-Cortés J.A., Pascual-Villalobos M.J., Castillo P. 2003. Nematicidal activity of essential oils and organix amendments from Astreraceae against root-knot nematodes. *Plant Pathology* 52, 395–401. https://doi.org/10.1046/j.1365-3059.2003.00859.x

Sadeghi Z., Mehdikhani Moghaddam E. & Azizi M. 2010. Nematicidal activity of aqueous extracts from four species of Apiaceae plants against root-knot nematode *Meloidogyne javanica*. In *Proceedings of the 19th Iranian Plant Protection Congress, Volume II: Plant diseases* (p. 584). Iranian Research Institute of Plant Protection, Tehran, Iran.

Sasser J.N. & Carter C.C. 1985. Overview of the International *Meloidogyne* Project 1975-1984. In Sasser J.N. & Carter C.C. (Eds), *An advanced treatise on Meloidogyne, biology and control* (pp. 19–24). North Carolina State University Graphics.

Sikora R.A. & Frenández E. 2005. Nematode parasites of vegetables. In Luc M., Sikora R.A. Bridge J. (Eds), *Plant parasitic nematodes in subtropical and tropical agriculture*, 2nd edition (pp. 319–392). Wallingford, CAB International.

Sufiate B.L., de Freitas Soares F.E., de Freitas Ferreira T., Dias J.P., de Souza Gouveia A., Moreira S.S. & de Queiroz J.H. 2021. *Euphorbia trigona* latex nematicidal activity on the root-knot nematode *Meloidogyne incognita*. *Research, Society and Development*, 10(9), e19910918037, 1-7.

Sufiate B.L., de Freitas Soares F.E., Roberti Á.S. & de Queiroz J.H. 2017. Nematicidal activity of proteases from *Euphorbia milii*. *Biocatalysis and Agricultural Biotechnology*, 10, 239–241. https://doi.org/10.1016/j.bcab.2017.03.014

Wharton D.A. 2002. Nematode survival strategies. In Lee D.L. (Ed.), *The biology of nematodes* (pp. 389–412). London and New York, Taylor & Francis.

Zandieh Shirazy L. & Karegar A. 2019. Effect of aqueous extracts and dry powder of some plants on the root-knot nematodes *Meloidogyne incognita* and *M. javanica* under greenhouse conditions. *Iranian Journal of Plant Pathology* 55, 129–148. (In Persian with English abstract)

Zia T., Siddiqui I.A. & Nazrul-Hasnain N.H. 2001. Nematicidal activity of *Trigonella foenum-graecum* L. *Phytothrapy Research* 15, 538–540. https://doi.org/10.1002/ptr.742