مقاله تحقیقی

تاثیر عصاره‌های گیاهی بر بیماری‌زایی نماتد مولد غده *Meloidogyne* sp. در خیارگلخانه‌ای (*Cucumis sativus*)

سمیه اشرف[۱]، جلال غلام‌نژاد[۲]، حیدر مفتاحی‌زاده[۳]، محمدرضا ارژنگ[۴]

۱، ۲،۳،۴– دانشجو کارشناسی ارشد، دانشیار، دانشیار، دانشجو کارشناسی ارشد، گروه علوم و مهندسی باغبانی، دانشکده کشاورزی و منابع طبیعی، دانشگاه اردکان، یزد، ایران.

مسئول مکاتبات: جلال غلام‌نژاد، ایمیل: jgholamnezhad@ardakan.ac.ir

تاریخ دریافت: ۱۴۰۳/۱۰/۲۵ ۱۲(۱) ۲۹–۴۹ تاریخ پذیرش: ۱۴۰۳/۱۱/۲۸

چکیده

نماتدهای گونه *Meloidoyne sp.* از مهم‌ترین نماتدهای خسارت‌زای محصولات گلخانه، زراعی و باغی می‌باشند. به‌دلیل خاصیت آفت‌کشی عصاره و فرآورده‌های بسیاری از گیاهان، می‌توان از آنها در کنترل آفات و بیماری‌های گیاهی بهره برد، این مواد گیاهی به سادگی قابل تهیه و بی‌خطر بوده، و دوستدار محیط زیست هستند. این مطالعه در قالب طرح کاملا تصادفی و در چهار تکرار انجام گرفت که در آن از پنج نوع عصاره آبی گیاه (آنغوزه *Ferula assa–foetida* L، زیتون تلخ *Melia azedarach*، مرزه *Satureja hortensis*، گل جعفری *Tagetes patula* و چای ترش *Hibiscus Sabdariffa*) استفاده شد. ابتدا، تأثیر این عصاره‌ها در محیط آزمایشگاه بر روی لارو و تخم نماتد و در گلخانه بر روی شاخص بیماری‌زایی نماتد انجام و سپس در بخشی دیگر آزمون عصاره‌های گیاهی بر میزان فعالیت آنزیم‌های دفاعی (پروتئین کل، کاتالاز و پراکسیداز) در گیاه خیارگلخانه‌ای (رقم نگین) بررسی شد. نتایج نشان داد که کلیه تیمارهای مورد بررسی سبب افزایش مرگ و میر لاروها در زمان‌های ۲۴ و ۴۸ ساعت بعد از آزمایش شدند. از بین عصاره‌های مورد بررسی، گل جعفری، بیشترین درصد مرگ و میر لاروها را در ۲۴ ساعت اول، در تمام غلظت‌ها نشان داد. در ۲۴ ساعت دوم (۴۸ ساعت بعد از شروع آزمون) نیز تمام غلظت‌های عصارهٔ گل جعفری (۰، ۵، ۱۵، ۲۵ و ۵۰ درصد)، در مقایسه با سایر عصاره‌ها بیشترین تأثیر را بر مرگ و میر لاروهای نماتد داشتند به طوری‌که غلظت‌های ۵۰ و ۲۵ درصد به‌ترتیب سبب مرگ ۱۰۰ و ۸۲/۵ درصدی لاروهای نماتد شدند. در بین عصاره‌های گیاهی، بیشترین بازدارندگی به ترتیب مربوط به عصارهٔ گل جعفری با بازدارندگی ۹۰٪، عصارهٔ آنغوزه با بازدارندگی ۷۳/۵۰ درصد، عصارهٔ زیتون تلخ با بازدارندگی ۶۷/۵۲ درصد و عصارهٔ چای ترش با بازدارندگی ۶۵/۲۱ درصد بود. در گلخانه، پس از گذشت ۴۵ روز اثر سطوح مختلف عصاره‌های گیاهی بر دو فاکتور شاخص گال و تعداد لارو سن دوم در ۲۰۰ گرم خاک مورد ارزیابی قرار گرفت. تمامی تیمارهای اعمال شده تعداد لارو موجود در خاک را به طور معنی داری در مقایسه با شاهد (۳۴۸ لارو) کاهش دادند. کمترین تعداد لارو در بین تیمارهای اعمال شده مربوط به غلظت ۱۰۰٪ عصارهٔ گل جعفری با تعداد ۴۱/۶۷ عدد لارو بود. نتایج اندازه‌گیری میزان پروتئین نشان داد که بیشترین میزان پروتئین به‌ترتیب مربوط به غلظت ۱۰۰ درصد عصارهٔ گل جعفری به همراه نماتد (در روز پانزدهم) به میزان پروتئین ۱/۹۹ میلی‌گرم در لیتر، و سپس غلظت ۷۵ درصد عصاره به همراه نماتد به میزان ۱/۶۳ میلی‌گرم در لیتر بود. بیشترین میزان فعالیت آنزیم پراکسیداز و کاتالاز، در غلظت ۱۰۰ درصد عصارهٔگل جعفری به همراه نماتد، به‌ترتیب به میزان ۳/۳۹ΔOD/Min/mg protein و ۵/۳۴ مشاهده شد و در بین روزهای نمونه برداری بیشترین میزان فعالیت هر دو آنزیم پراکسیداز و کاتالاز در روز پانزدهم صورت گرفت. براساس نتایج، بعد از عصارهٔ گل جعفری، عصارهٔ آبی آنغوزه دارای اثر نماتدکشی مطلوبی در مقایسه با عصاره سایر گیاهان مورد مطالعه بود. بر اساس نتایج این مطالعه از عصاره‌های گل جعفری و آنغوزه می‌توان در برنامه‌های کنترل تلفیقی آفات و بیماری‌های گیاهی استفاده کرد.

واژه‌های کلیدی: خیار، نماتد گره ریشه، عصاره گیاهی، فعالیت آنزیمی، گلخانه

مقدمه

خیار یکی از محصولات جالیزی مهم ایران است که آفات و عوامل بیماری‌زا، محدود کننده کشت این محصول بوده و منجر به کاهش عملکرد می‌شوند (Akbari Moghadam *et al*., 2018). عملکرد خیار گلخانه‌ای تحت تأثیر عوامل مختلف بیماری‌زا از جمله نماتدهای مولد گره ریشه کاهش می‌یابد. خسارت نماتدهای ریشه‌گره‌ای در گیاهان گوناگون، متفاوت گزارش شده است (Gholamnezhad *et al*., 2019). در مجموع نماتدهای گونه *Meloidogyne spp.*، از مهم‌ترین نماتدهای خسارت‌زای محصولات گلخانه، زراعی و باغی می‌باشند، گونه *M. javanica* یکی از گونه‌های شایع این در ایران است (Oliveira *et al*., 2012). در ایران تاکنون هفت‌گونه از میزبان‌های گوناگون جمع‌آوری، شناسایی و گزارش شده است، با این حال بیش از ۹۵ درصد خسارت وارده به محصولات کشاورزی مربوط به گونه‌های *M.incognita*، *M.javanica*، *M.hapla* و *M.arenaria* است (Damadzadeh, 2007).

به علت اقتصادی بودن خسارت این نماتد، روش‌های مختلفی جهت مدیریت و کنترل آن‌ها از جمله سموم شیمیایی، ارقام مقاوم، تناوب زراعی با گیاهان غیر میزبان، آیش، استفاده از عوامل کنترل بیولوژیک و تلفیق این عوامل استفاده می‌شود (Haji Allahvardipour *et al*., 2023). ابتدا از سموم شیمیایی برای مبارزه با آن استفاده شد (Wang *et al*., 2009). با توجه به مضرات ناشی از مصرف سموم شیمیایی مانند آلودگی آب‌های سطحی و زیرزمینی، بروز مقاومت به سموم در نماتد و در نتیجه نیاز به بالا بردن دز سم، باقیماندن سموم در محصولات کشاورزی، آلودگی محیط زیست، اخلال در تعادل طبیعی اکوسیستم‌های کشاورزی و صرف هزینه زیاد، توجه به استفاده از مواد گیاهی که این خطرها را ندارند، از اهمیت بالایی برخوردار گردیده است (Eskandarzadeh khiavi *et al*., 2020).

در سال‌های اخیر دانشمندان با توجه به مسائل اقتصادی و زیست‌محیطی، استفاده از فرآورده‌های گیاهی را مورد توجه قرار داده‌اند که در این میان استفاده از ترشحات ریشه‌ای، عصاره‌ها، کنجاله، ضایعات گیاهان دارویی و سمی به عنوان روشی مطمئن، آسان و ارزان در اصلاح خاک و کنترل نماتدهای انگل گیاهی دارای 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 دارند (Wrona *et al*., 2017).

Linford و همکاران (1938)، قابلیت برگ‌های آناناس در کاهش جمعیت نماتد مولد غده ریشه و افزایش نماتدهای آزاد در شرایط مزرعه را گزارش کردند که توجه سایر محققین را به استفاده از مواد گیاهی معطوف ساخت و سپس در این زمینه پژوهش‌های بسیاری انجام گرفت (Das *et al*., 2008).

نظر به این‌که نماتد مولد غده یکی از مهم‌ترین بیماری‌های خیار در کل دنیا محسوب می‌شود و از طرفی هر ساله مقادیر زیادی آفتکش برای این بیماری استفاده می‌شود که اثرات سو هم بر محیط زیست و هم بر سلامت انسان و سایر جانداران دارد، لذا در این مطالعه تأثیر عصاره آبی پنج نوع گیاه (آنغوزه، زیتون‌تلخ، مرزه، گل‌جعفری ،چای ترش) بر نماتد مولد غده در خیار گلخانه‌ای بررسی شد، همچنین تأثیر این عصاره‌ها در محیط آزمایشگاه بر روی لارو و تخم نماتد و در گلخانه بر روی بیماری‌زایی نماتد مطالعه شد.

مواد و روش‌ها

تهیه جمعیت و شناسایی نماتد

با توجه به اهمیت گونه *Meloidogyne javanica* در ایران، طی نمونه‌برداری از گلخانه‌های کشت خیار استان یزد (منطقه‌ی ابراهیم‌آباد رستاق) نمونه‌های خاک و ریشه تهیه و به آزمایشگاه منتقل شد. روستای روستاق در شمال غربی شهرستان یزد، در طول جغرافیایی۵۴ درجه و ۳۰ ثانیه و عرض ۳۱ درجه و ۵۶ دقیقه و ۳۰ثانیه و با ارتفاع ۱۲۱۸ متر از

آبهای آزاد واقع شده است. جداسازی لارو نماتد از خاک به روش سانتریفیوژ و جداسازی ماده‌های بالغ بصورت مستقیم از ریشه آلوده انجام شد. شناسایی گونه با اندازه‌گیری شاخص‌های مختلف مورفولوژیک لاروها و ماده‌های بالغ انجام شد. شناسایی توسط کلید ایسن باخ صورت گرفت (Eisenback, 1985).

شناسایی نماتدهای تکثیر شده

عامل بیماری نماتد مولد گره ریشه نماتد گونه *M. javanica* است، که یکی از مهم‌ترین علایم این بیماری ایجاد گال روی ریشه گیاهان می باشد. در شناسایی گونه نماتد *M. javanica* از شبکهٔ انتهایی بدن نماتد ماده که به الگوی انتهای بدن نماتد مرسوم است، استفاده شد. علاوه برآن برخی خصوصیات نماتد نر از جمله طول بدن، طول استایلت و طول اسپیکول و خصوصیات لارو سن دوم مانند طول دم، طول بدن، طول بخش شفاف انتهای بدن و غیره نیز در شناسایی نماتد مورد استفاده قرار می‌گیرد.

برش شبکه کوتیکولی انتهای بدن نماتد ماده بر اساس روش تیلور و نتسچر انجام شد (Taylor & Sasser, 1978). در این روش پس از زدودن خاک و مواد زائد ریشه به قطعات چند سانتی متری برش داده شد و در زیر بینوکولار به کمک سوزن نوک تیز و پنس گال‌های حاوی کیسه تخم به گونه‌ای شکافته شد تا محل اتصال سر و گردن نماتد به بافت سست گردد و بتوان آن‌را به راحتی خارج نمود. به کمک اسکالپل ابتدا گردن نماتد قطع شد و سپس بخش انتهای بدن نماتد برش داده شد و به کمک سوزن داخل بخش بریده شده تمیز شد. پس از تمیز کردن و تهیه برش‌های لازم از کوتیکول انتهای بدن، از آنها اسلایدهای میکروسکوپی تهیه شد (Taylor & Sasser, 1978). شناسایی توسط کلید ایسن باخ صورت گرفت (Eisenback, 1985). پس از شناسایی گونه *Meloidgyne javanica* چندین دوره متوالی تکثیر روی خیار انجام شد و جمعیت کافی نماتد به وجود آمد.

تهیه مایه تلقیح نماتد *M. javanica*

در این تحقیق از لارو سن دوم نماتد که طبق روش هوسی و بارکر استخراج شده بود، استفاده شد (Hussey & Barker, 1973).

تهیه گیاهچه‌های خیار

بذرهای ضدعفونی شده خیارگلخانه‌ای (رقم نگین) در گلدان‌های استریل یک کیلو و هشتصد گرمی (قطر دهانه گلدان ۱۵ سانتی‌متر) حاوی خاک سترون شامل خاک، پیت، کود برگ (به نسبت ۱:۱:۱) کشت و در شرایط مساعد گلخانه (شرایط ۱۶ ساعت نور و هشت ساعت تاریکی، دمای ۲۶– ۲۸ درجه سلسیوس) پرورش داده شدند؛ و سپس در مرحله چهار تا شش برگی با استفاده از لاروهای سن دوم نماتد تلقیح شدند تا اثر عصاره‌های گیاهی بر روی بیماری‌زایی نماتد بررسی شود.

تهیهٔ عصاره آبی

در این تحقیق از چای ترش، گل جعفری، آنغوزه، مرزه و زیتون تلخ، جهت تهیه عصاره آبی استفاده شد. کلیهٔ گیاهان از مراکز قابل قبول و معتمد تهیهٔ گیاهان دارویی گردآوری شدند. گیاهان مورد نظر در سایه کاملاً خشک شدند و پس از آسیاب کردن مقدار ۲۵ گرم از هریک از گیاهان مورد نظر در پارچه توری پیچانده شدند. برای تهیه عصاره آبی از دستگاه سوکسله استفاده شد (Ranjitsingh & Sucheta, 2009).

بررسی اثر عصاره‌های گیاهی بر مرگ و میر لاروهای نماتد در شرایط آزمایشگاه

برای انجام این آزمایش از غلظت‌های صفر (شاهد)، ۵، ۱۵، ۲۵ و ۵۰ درصد عصاره آبی گیاهان مورد نظر استفاده شد. این غلظت‌ها بر اساس پیش آزمایش‌هایی که انجام شد و همچنین تحقیقات قبلی به دست آمدند (Naserinasab *et al.*, 2019). آزمایش در قالب طرح کاملاً تصادفی، با چهار تکرار و در دمای اتاق (۳±۲۵ درجهٔ سلسیوس) انجام شد. یک میلی‌لیتر از غلظت‌های مورد نظر به داخل هر کدام از

حفره‌های ظروف کشت بافت با حفره‌های به عمق ۱۹ میلی‌متر و قطر ۱۶ میلی‌متر ریخته شد، سپس به هر حفره تعداد ۳۰ عدد لارو تازه تفریخ شده نماتد *M. javanica* اضافه شد و سپس درپوش ظرف روی آن قرار داده شد. مرگ و میر لاروها پس از ۲۴ و ۴۸ ساعت ثبت گردید. در این آزمایش از آب مقطر استریل به عنوان شاهد استفاده شد (Sun *et al*., 2006).

بررسی اثر عصاره‌های گیاهی بر تفریخ تخم‌های نماتد در شرایط آزمایشگاه

برای انجام این آزمون از غلظت‌های صفر (شاهد)، ۵، ۱۵، ۲۵ و ۵۰ درصد عصاره آبی گیاهان مورد نظر استفاده شد. آزمایش در قالب طرح کاملاً تصادفی با چهار تکرار و در دمای اتاق (۳±۲۵سانتی‌گراد) انجام شد. قطرهٔ آب حاوی تعداد ۵۰ عدد تخم نماتد *M. javanica* در داخل هر کدام از حفره‌های ظروف کشت (پلیت کشت همراه با آب مقطر) بافت با حفره‌های به عمق ۱۹ میلی‌متر و قطر ۱۶ میلی‌متر قرار داده شد و سپس به آن یک میلی‌لیتر از عصاره مورد نظر اضافه شد و سپس درپوش ظرف روی آن قرار داده شد. تعداد لاروهای سن دوم خارج شده از تخم‌ها پس از گذشت ۷۲ ساعت ثبت گردید. در این آزمایش از آب مقطر استریل به عنوان شاهد استفاده شد (Sun *et al*., 2006).

بررسی اثر عصاره‌های گیاهی بر فاکتورهای بیماری‌زایی نماتد مولد غده ریشه در شرایط گلخانه

در این بررسی از غلظت‌های ۲۵، ۵۰، ۷۵ و ۱۰۰ درصد عصاره آبی گیاهان مورد نظر(آنغوزه، گل‌جعفری، زیتون تلخ، چای‌ترش، مرزه) جهت تیمار گیاهچه‌های خیار استفاده شد.

گیاهچه‌های خیار در مرحله چهار الی شش برگی به گلدان‌های یک کیلوگرمی انتقال داده شدند و یک روز پس از انتقال ابتدا هر گیاهچه توسط مقدار ۳۰ میلی‌لیتر از هر یک از غلظت‌های مختلف آبیاری شد و بعد از گذشت ۲۴ ساعت هر گیاهچه توسط تعداد ۲۰۰۰ لارو سن دوم تازه تفریخ شده نماتد *M. javanica* مایه‌زنی گردید. گیاهچه‌های شاهد با آب مقطر استریل مایه‌زنی و برای هر تیمار سه تکرار در نظر گرفته شد. پس از گذشت ۴۵ روز شاخص گال و لارو سن دوم در ۲۰۰ گرم خاک تعیین شد. ترکیب تیمارها در جدول ۱ نشان داده شده است. شاخص گال بر اساس سیستم درجه‌بندی صفر تا پنج محاسبه شد.

در این آزمایش ۲۴ ساعت پس از آبیاری گیاهچه‌ها با عصاره، هر گیاهچه توسط ۲۰۰۰ لارو سن دوم نماتد مایه‌زنی گردید.

جدول ۱– ترکیب تیمارها جهت بررسی اثر عصاره‌های گیاهی بر فاکتورهای بیماریزایی نماتد مولد غده ریشه

Table 1. The combination of treatments to investigate the effect of plant extracts on pathogenic factors of root tuber producing nematode

treatment	1	2	3	4	5	6
Cucumber	nematode*	*Ferula assafoetida* +nematode	Tagetes +nematode	*Hibiscus* +*sabdariffa* nematode	Satureja +nematode	Melia azedarach nematode+
	%25	%25	%25	%25	%25	%5
	%50	%50	%50	%50	%50	%10
	%75	%75	%75	%75	%75	%15
	%100	%100	%100	%100	%100	%20

*نماتد: *M. javanica*.

* Nematode: *M. javanica*

انجام بررسی‌های آزمایشگاهی و اندازه‌گیری میزان فعالیت آنزیم‌های دفاعی

بررسی میزان پروتئین کل

برای محاسبه فعالیت اختصاصی آنزیم‌های مورد آزمون و تعمیم فعالیت آنزیم به میلی‌گرم پروتئین موجود در بافت گیاه؛ میزان پروتئین تام موجود در نمونه‌ها به روش برادفورد تعیین شد (Bradford, 1976). این روش بر مبنای اتصال رنگ کوماسی بریلیانت‌بلو موجود در معرف بردفورد به ملکول پروتئین استوار است.

آزمون عصاره‌های گیاهی بر میزان فعالیت آنزیم‌های دفاعی در بوتهٔ خیار

در این مطالعه میزان فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان شامل پراکسیداز و کاتالاز مورد بررسی قرار گرفتند.

میزان فعالیت آنزیم پراکسیداز

جهت ارزیابی میزان فعالیت آنزیم پراکسیداز به روش ریونی (Reuveni, 2017)، دو میلی‌لیتر از مخلوط واکنش شامل مقداری از عصاره که دارای ۵۰ میلی‌گرم پروتئین بود (این مقدار با استفاده از منحنی استاندارد محاسبه شد)، ۵ میلی‌مولار گوایکول و مقدار کافی بافر فسفات ۲۵ میلی‌مول با pH= ۷ را به حجم نهایی دو میلی‌لیتر رسانده، در یک لولهٔ آزمایش ریخته و دستگاه اسپکتروفتومتر با استفاده از این مخلوط در طول موج ۴۷۰ نانومتر صفر گردید. سپس پنج میکرولیتر پراکسیدهیدروژن ۳۰ درصد به این مخلوط اضافه و سریعاً تغییرات جذب نور به فواصل ۱۰ ثانیه، به مدت یک دقیقه اندازه‌گیری شدند. مقدار فعالیت آنزیم بر حسب تغییرات جذب نور بر دقیقه بر میلی‌گرم پروتئین بیان گردید.

میزان فعالیت آنزیم کاتالاز

فعالیت آنزیم کاتالاز بر اساس روش ارائه شده توسط گنگ و همکاران (Gong *et al.*, 1997) اقتباس شده از دو و برام لاگ (Du and Bramlage, 1995) انجام شد. مقداری از عصاره که دارای ۴۰ میکروگرم پروتئین بود (این مقدار با استفاده از منحنی استاندارد محاسبه شد)، با مقداری از بافر فسفات سدیم ۵۰ میلی‌مولار با pH=۷ به حجم دو میلی‌لیتر رسانده و سپس در دستگاه اسپکتروفتومتر قرار داده شد و دستگاه با آن کالیبره گردید. سپس به میزان ۱۰۰ میکرولیتر از پراکسید هیدروژن سه درصد به مخلوط واکنش اضافه و میزان جذب نور به مدت ۲ دقیقه اندازه‌گیری شد. میزان فعالیت آنزیم بر اساس مقدار تجزیه شدن پراکسید هیدروژن اندازه‌گیری شد. جذب محلول‌ها در ۲۴۰ نانومتر نسبت به آب با استفاده از دستگاه اسپکتروفتومتر قرائت شد. فعالیت کاتالاز بر اساس میلی‌مولار پراکسیدهیدروژن در دقیقه در میلی‌گرم پروتئین اندازه‌گیری شد.

نتایج

مشخصات عامل بیماری

بر اساس مطالعات مورفولوژیک گونهٔ نماتد تشخیص داده شد. داده های مورفولوژیک در این مقاله نشان داده نشده است. شناسایی *M. javanica* بر اساس مشخصات مورفولوژیک و مورفومتریک انجام شد (Eisenback, 1985).

بررسی اثر عصاره‌های گیاهی بر مرگ و میر لاروهای نماتد *M. javanica* در شرایط آزمایشگاهی

طبق جدول ۲، میانگین درصد مرگ و میر لاروهای نماتد در حضور تیمارهای مختلف، تفاوت معنی‌داری در سطح احتمال یک درصد ($p \leq ۰/۰۱$) داشت. بر اساس جدول تجزیهٔ واریانس بین غلظت‌های مختلف، عصاره‌های گیاهی مختلف و همچنین روزهای نمونه برداری در سطح احتمال یک درصد اختلاف معنی‌دار وجود داشت. اثرات متقابل این سه فاکتور هم داری اختلاف معنی دار بودند. بر اساس نتایج مقایسه میانگین (شکل۱)، تمام تیمارهای مورد بررسی سبب افزایش معنی‌دار مرگ و میر لاروها در زمان‌های ۲۴ و ۴۸ ساعت پس از انجام آزمایش شدند. از بین عصاره‌های مورد مطالعه بیشترین درصد مرگ و میر لاروها مربوط به غلظت‌های عصارهٔ گل جعفری بود که در تمام غلظت‌های مورد مطالعه در ۲۴ ساعت اول بالاترین

درصد مرگ و میر را نشان داد و بالاترین درصد مرگ و میر در تیمار ۲۵ درصد عصارهٔ گل جعفری با مقدار عددی ۷۱٪/۶۶ مشاهده شد. در ۲۴ ساعت دوم (۴۸ ساعت بعد از شروع آزمون) نیز تمام غلظت‌های عصارهٔ گل جعفری (۰، ۵، ۱۵، ۲۵ و ۵۰ درصد)، در مقایسه با سایر عصاره‌ها بیشترین تأثیر را بر مرگ و میر لاروهای نماتد داشتند به طوری که غلظت‌های ۵۰ و ۲۵ درصد سبب مرگ ۱۰۰ و ۸۲/۵ درصدی لاروهای نماتد شدند. بعد از عصارهٔ گل جعفری بالاترین درصد مرگ و میر در ۲۴ ساعت اول را غلظت ۵۰٪ عصارهٔ آنغوزه با مقدار ۵۹/۱۶ نشان داد. در ۲۴ ساعت دوم بیشترین درصد مرگ و میر بعد از گل جعفری مربوط به غلظت ۵۰ درصد عصارهٔ آنغوزه با میزان ۹۰ درصد کنترل کنندگی بود. کمترین درصد مرگ و میر در ۲۴ ساعت اول با مقدار عددی ۱۲/۵٪، مربوط به غلظت ۵٪ عصارهٔ مرزه بود که با تیمار ۵٪ عصارهٔ چای ترش در ۲۴ ساعت اول اختلاف معنی‌داری نداشت. کمترین درصد مرگ و میر لارو پس از گذشت ۴۸ ساعت، نیز مربوط به غلظت ۵٪ عصارهٔ مرزه با مرگ ۱۸/۳۳٪ از لاروهای مورد بررسی بود.

بررسی اثر عصاره‌های گیاهی بر تفریخ تخم‌های نماتد *M. javanica* در شرایط آزمایشگاه

آنالیز واریانس نتایج (جدول ۳) بررسی اثر عصاره‌های گیاهی بر تفریخ تخم‌های نماتد نشان‌دهندهٔ تفاوت معنی‌دار تیمارها در سطح احتمال یک درصد ($p \leq ۰/۰۱$) است. بر اساس نتایج مقایسه میانگین (شکل ۲)، بیشترین درصد بازدارندگی از تفریخ تخم نماتد در غلظت ۵۰ درصد عصاره‌های مختلف مشاهده شد و بیشترین بازدارندگی به ترتیب مربوط به عصارهٔ گل جعفری با بازدارندگی ۹۰٪، عصارهٔ آنغوزه با بازدارندگی ۷۳/۵۰٪، عصارهٔ زیتون تلخ با بازدارندگی ۶۷/۵۲٪ و عصارهٔ چای ترش با بازدارندگی ۶۵٪/۲۱ بود که هر یک از این غلظت‌ها با شاهد و عصارهٔ گیاهان دیگر، دارای اختلاف معنی‌دار بودند. بعد از غلظت صفر (شاهد)، کمترین درصد بازدارندگی مربوط به غلظت ۵٪ عصارهٔ آنغوزه با بازدارندگی ۲۰/۹۸٪ و به غیر از گیاه مرزه، دارای اختلاف معنی‌دار با سایر عصاره‌ها در همین غلظت بود. در سایر غلظت‌ها کمترین درصد بازدارندگی مربوط به عصارهٔ مرزه بود (شکل ۲). در مجموع همه عصاره‌های گیاهی در تمام غلظت‌ها باعث افزایش معنی‌دار درصد بازدارندگی از تفریخ تخم نماتد در مقایسه با شاهد شدند. عصارهٔ گل جعفری در تمام غلظت‌ها و به‌خصوص غلظت‌های بالاتر از ۱۵٪ اثر بخشی مطلوبی بر بازدارندگی از تفریخ تخم داشت.

جدول ۲– تجزیه واریانس اثر عصاره‌های گیاهی بر درصد مرگ و میر لاروهای نماتد *M. javanica* در شرایط آزمایشگاه

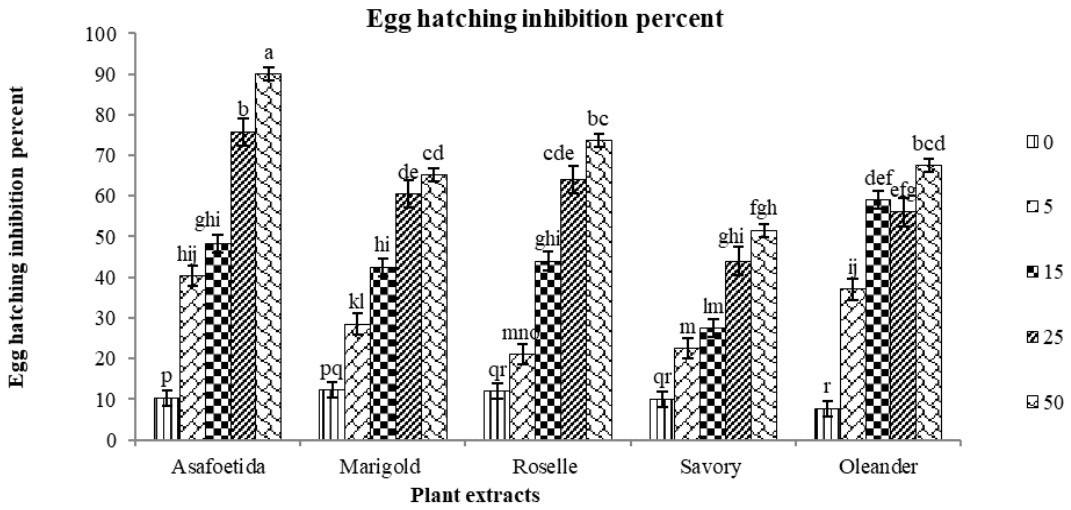
Table 2. Analysis of variance of the effect of plant extracts on the mortality rate of *M. javanica* nematode larvae in vitro

F	MS	SS	Df	S.O.V
335.94**	4068.61	16274.44	4	(A) Herbal extracts
2092.06**	25337.22	101348.88	4	(B) Different concentrations
655.43**	7938	7938	1	(C) Sampling days
22.72**	275.10	4401.66	16	(A×B) Extract × concentration
6.69**	81.5	324.22	4	(A×C) extract x day
61.33**	742.72	2970.88	4	(B×C) Concentration × day
3.86**	46.71	747.40	16	Extract × concentration × day (A×B×C)
	12.11	1816.60	150	Test error
		135822.22	199	Total

** به احتمال ۹۹ درصد ($P \leq 0.01$) اختلاف معنی دار است.

C.V= ٪ ۹/۶۶

** There is a significant difference with a probability of 99% ($P \leq 0.01$).
C.V. = 9.66%



شکل ۱– مقایسه میانگین اثر غلظت‌های ۰، ۵، ۱۵، ۲۵و ۵۰ درصد عصاره‌ی گیاهان زیتون تلخ، مرزه، آنغوزه، چای ترش و گل جعفری بر مرگ و میر لاروهای سن دوم نماتد *M. javanica* در شرایط آزمایشگاه پس از گذشت ۲۴ و ۴۸ ساعت میانگین‌هایی که با یکدیگر اختلاف دارند با حروف مختلف، مشخص شده‌اند. تفاوت‌ها با آزمون دانکن ($P\leq0.01$) ارائه شده‌اند.

Fig. 1. Comparison of the average effect of concentrations of 0, 5, 15, 25 and 50% of extracts of Bitter olive, Savory, *Ferula assa–foetida*, Hibiscus and Tagetes on the mortality of the second instar larvae of the nematode *M. javanica* in laboratory conditions after 24– and 48–hour Averages that differ from each other are marked with different letters. Differences are presented with Duncan's test ($P\leq0.01$).

جدول ۳– تجزیه واریانس اثر عصاره‌های گیاهی بر درصد بازدارندگی از تفریخ تخم‌های نماتد *M. javanica* در شرایط آزمایشگاه

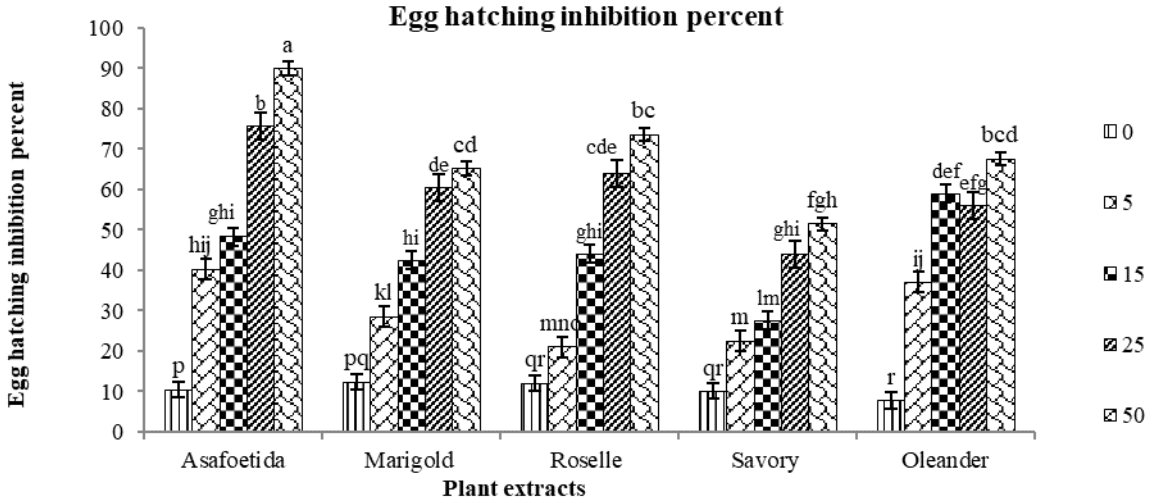
Table 3. Analysis of variance of the effect of plant extracts on the inhibition percentage of the hatching of the nematode *M. javanica* eggs *in vitro*

F	MS	SS	Df	S.O.V
165.96**	1289.47	5157.90	4	(A) Herbal extracts
1388.72**	10790.32	43161.30	4	(B) Different concentrations
28.14**	218.67	3498.80	16	(A×B) Extract × concentration
	7.77	582.75	75	Test error
			9.66	C.V

** به احتمال ۹۹ درصد ($P\leq0.01$) اختلاف معنی دار است.

C.V= ٪ ۷/۹۶

** There is a significant difference with a probability of 99% ($P\leq0.01$).
C.V. = 7.96%



شکل ۲– مقایسه میانگین درصد بازدارندگی غلظت‌های مختلف عصاره‌های گیاهان زیتون تلخ، مرزه، آنغوزه، چای ترش و گل جعفری بر تفریخ تخم‌های نماتد *M. javanica* در شرایط آزمایشگاه پس از ۷۲ ساعت میانگین‌هایی که با یکدیگر اختلاف دارند با حروف مختلف، مشخص شده‌اند. تفاوت‌ها با آزمون دانکن ($P\leq0.01$) ارائه شده‌اند.

Fig. 2. Comparison of the average inhibition percentage of different concentrations of of Bitter olive, Savory, *Ferula assa–foetida*, Hibiscus and Tagetes extracts on the hatching of nematode M. javanica eggs in laboratory conditions after 72 hours Averages that differ from each other are marked with different letters. Differences are presented with Duncan's test ($P\leq0.01$).

بررسی اثر عصاره‌های گیاهی بر فاکتورهای بیماری‌زایی نماتد مولد غده ریشه در شرایط گلخانه

در این بررسی پس از گذشت ۴۵ روز اثر غلظت‌های مختلف عصاره‌های گیاهی بر دو عامل (فاکتور) شاخص گال و تعداد لارو سن دوم در ۲۰۰ گرم خاک مورد ارزیابی قرار گرفت.

بررسی اثر عصاره‌های گیاهی بر فاکتور تعداد لارو در ۲۰۰گرم خاک

جمعیت نهایی لاروهای سن دوم در ۲۰۰ گرم از خاک هر گلدان با استفاده از جداسازی با سانتریفیوژ تعیین شد. بین تأثیر تیمارهای مختلف (عصاره‌های مختلف و سطوح مختلف غلظت) بر روی فاکتور تعداد لارو در خاک ۴۵ روز بعد از آلوده سازی با نماتد، اختلاف معنی‌دار در سطح احتمال یک درصد ($p \leq$ ۰/۰۱) وجود داشت (جدول ۴). تمامی تیمارهای اعمال شده تعداد لارو موجود در خاک را به طور معنی داری در مقایسه با شاهد (۳۴۸ لارو) کاهش دادند. کمترین تعداد لارو در بین تیمارهای اعمال شده مربوط به غلظت ۱۰۰٪ عصارهٔ گل جعفری با تعداد ۴۱/۶۷ لارو بود و در گروه آماری st قرار گرفت در حالی‌که مقادیر مربوط به سایر تیمارها در همین سطح غلظت، در گروه‌های آماری دیگر قرار گرفتند. در دیگر سطوح غلظت عصاره کمترین تعداد لارو (بیشترین اثر کنترل کنندگی) مربوط به عصارهٔ گل جعفری در غلظت ۷۵٪ بود به طوری که با سایر تیمارها نیز دارای اختلاف معنی‌دار بود. در سطح غلظت سوم نیز، تعداد لارو در خاک عصارهٔ گل جعفری (با تعداد ۱۲۲/۳۳ لارو در خاک) با سایر تیمارها در این غلظت، دارای اختلاف معنی دار بود. در آخرین سطح غلظت (۲۵٪ غلطت عصاره‌های گیاهی) نیز کمترین تعداد لارو در تیمار خاک با عصارهٔ گل جعفری با تعداد ۱۸۵/۶۷، مورد مشاهده قرار گرفت (شکل ۳).

جدول ۴– تجزیه واریانس اثر تیمارهای مختلف بر تعداد لارو در ۲۰۰ گرم خاک نماتد *M. javanica* در بوتهٔ خیار در شرایط گلخانه

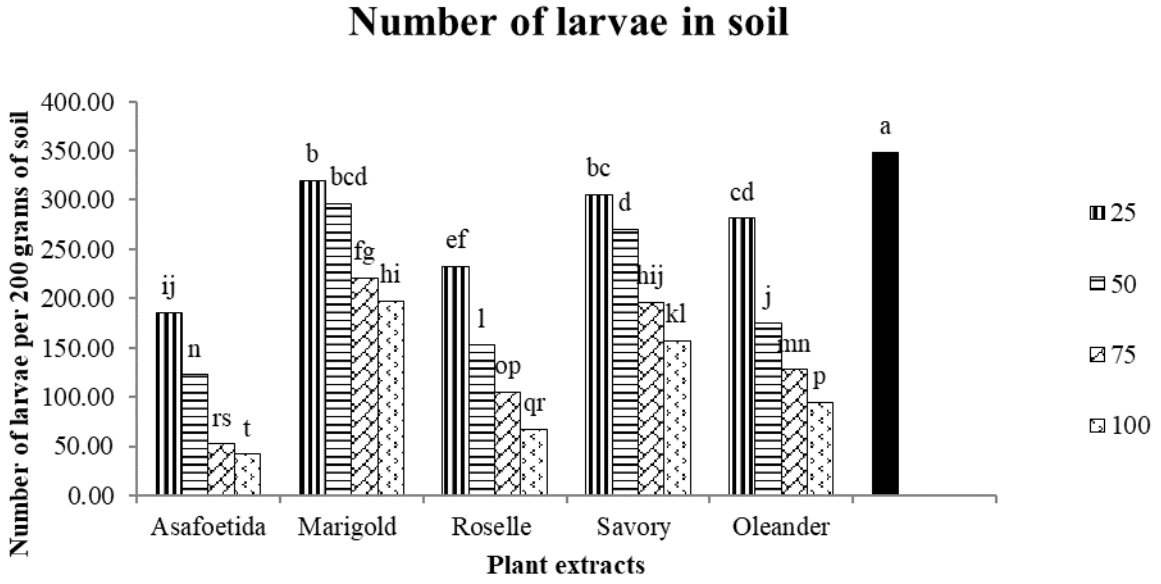
Table 4. Variance analysis of the effect of different treatments on the number of larvae in 200 grams of soil of the nematode M. javanica in the cucumber plant under greenhouse conditions

F	MS	SS	df	S.O.V
442.11**	25093.30	501866.14	20	Different treatments
	56.75	2383.86	42	Test error
		39298.88	62	Total

** به احتمال ۹۹ درصد ($P\leq0.01$) اختلاف معنی دار است

C.V= ٪ ۴/۰۰

** There is a significant difference with a probability of 99% ($P\leq0.01$).
C.V.=4.00%



شکل ۳– مقایسه میانگین اثر غلظت‌های مختلف عصاره‌های گیاهی شامل زیتون تلخ، مرزه، آنغوزه، چای ترش و گل جعفری بر تعداد لارو نماتد *M. javanica* در ۲۰۰ گرم خاک در شرایط گلخانه میانگین‌هایی که با یکدیگر اختلاف دارند با حروف مختلف، مشخص شده اند. تفاوت‌ها با آزمون دانکن ($P\leq0.01$) ارائه شده‌اند.

Figure 3– Comparison of the average effect of different concentrations of plant extracts including of Bitter olive, Savory, *Ferula assa–foetida*, Hibiscus and Tagetes on the number of larvae of the nematode M. javanica in 200 grams of soil under greenhouse conditions Averages that differ from each other are marked with different letters. Differences are presented with Duncan's test ($P\leq0.01$).

ارزیابی شاخص گال

بین تأثیر تیمارهای مختلف (عصاره‌های مختلف و سطوح مختلف غلظت) بر فاکتور شاخص گال ۴۵ روز بعد از آلوده‌سازی با نماتد در گیاه خیارگلخانه‌ای، اختلاف معنی‌دار در سطح احتمال یک درصد ($p\leq۰/۰۱$) وجود داشت (جدول ۵). همان‌طور که نتایج مقایسه میانگین انجام شده در نمودار شکل ۴ نشان می‌دهد بیشترین مقدار عددی شاخص گال، بعد از شاهد، مربوط به غلظت ۲۵ درصد عصارهٔ زیتون تلخ بود که مقدار عددی آن بدون اختلاف با شاهد، ۴/۶۷ بود، در این سطح غلظت بقیهٔ تیمارها اختلاف

معنی‌دار با شاهد نشان دادند. در سطح غلظت دوم نیز کاهش در شاخص گال در تمام تیمارها مشاهده شد و تمام تیمارها اختلاف معنی‌دار با شاهد نشان دادند و بیشترین کاهش در تیمار ۵۰٪ عصارهٔ گل جعفری مشاهده شد. در سطح غلظت سوم تیمار نیز تمام عصاره‌ها اختلاف معنی‌دار با شاهد نشان دادند، و کوچک‌ترین شاخص گال در تیمار ۷۵٪ عصارهٔ گل جعفری با مقدار عددی ۱/۶۷ مشاهده شد. در سطح غلظت چهارم تیمار عصارهٔ گل جعفری با تیمارهای زیتون تلخ و چای ترش دارای اختلاف معنی‌دار نبود.

جدول ۵– تجزیه واریانس اثر تیمارهای مختلف بر شاخص گال نماتد *M. javanica* در بوتهٔ خیار در شرایط گلخانه

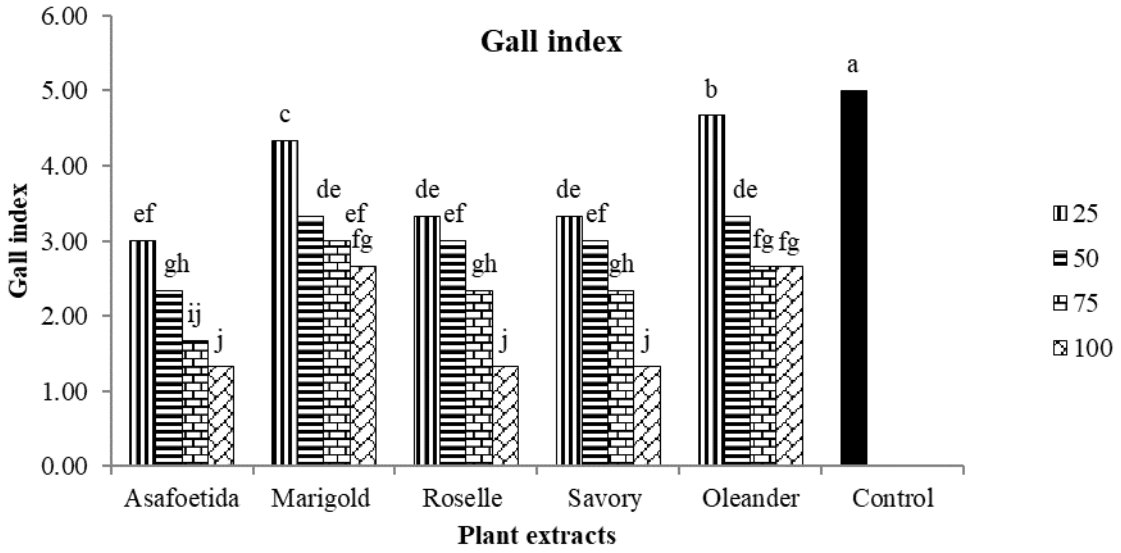
Table 5. Variance analysis of the effect of different treatments on the gall nematode index of M. javanica in cucumber plant under greenhouse conditions

F	MS	SS	df	S.O.V.
12.06**	3.06	61.26	20	Different treatments
	0.25	10.66	42	Test error
		71.93	62	Total

** به احتمال ۹۹ درصد ($P\leq0.01$) اختلاف معنی‌دار است.

C.V= ٪ ۱۶/۶۲

** There is a significant difference with a probability of 99% ($P\leq0.01$).
C.V. = 16.62%



شکل۴–مقایسه میانگین اثر غلظت‌های عصاره‌های گیاهی شامل زیتون تلخ، مرزه، آنغوزه، چای ترش و گل جعفری بر شاخص گال نماتد *M. javanica* در گیاه گوجه فرنگی در شرایط گلخانه، میانگین‌هایی که با یکدیگر اختلاف دارند با حروف مختلف، مشخص شده اند. تفاوت ها با آزمون دانکن ($P\leq0.01$) ارائه شده اند.

Fig. 4. Average comparison of the effect of the concentrations of plant extracts including of Bitter olive, Savory, *Ferula assa–foetida*, Hibiscus & Tagetes on the scale index of nematode M. javanica in tomato plants under greenhouse conditions, Averages that differ from each other are marked with different letters. Differences are presented with Duncan's test ($P\leq0.01$).

آزمون عصاره‌های گیاهی بر میزان فعالیت آنزیم‌های دفاعی در بوتهٔ خیار

پروتئین

بر اساس نتایج جدول تجزیه واریانس (جدول ۶) اثر عصاره‌های گیاهی بر میزان پروتئین کل در بوته‌های خیار، نشان دهندهٔ تفاوت معنی‌دار تیمارها در سطح احتمال یک درصد ($p \leq ۰/۰۱$) است. به عبارت دیگر بر اساس نتایج مقایسه میانگین (شکل ۵)، بین تیمارهای مختلف و همچنین بین روزهای نمونه‌برداری اختلاف معنی‌دار از نظر میزان پروتئین وجود داشت. بیشترین میزان پروتئین، در غلظت ۱۰۰ درصد عصارهٔ گل جعفری در تمام روزهای نمونه‌برداری مشاهده شد و در بین روزهای نمونه برداری بیشترین میزان پروتئین در روز پانزدهم مورد مشاهده قرار گرفت. بیشترین میزان پروتئین به ترتیب مربوط به غلظت ۱۰۰درصد عصارهٔ گل جعفری به همراه نماتد (در روز پانزدهم) به‌میزان پروتئین ۱/۹۹ میلی‌گرم در لیتر، و سپس غلظت ۷۵ درصد عصاره به همراه نماتد به میزان ۱/۶۳ میلی‌گرم بود. بعد از غلظت صفر (شاهد)، کمترین میزان پروتئین کل در تمام روزهای نمونه‌برداری مربوط به تیمار نماتد تنها بود که همواره با تمام تیمارهای دیگر در تمام روزهای نمونه برداری دارای اختلاف معنی‌دار در سطح یک درصد بود. بعد از تیمار نماتد تنها، تیمار نماتد همراه با غلظت ۲۵ درصد عصارهٔ گل جعفری میزان کمتری از غلظت پروتئین را نشان داد. در مجموع همه‌ی تیمارها در تمام غلظت‌های عصارهٔ گل جعفری باعث افزایش معنی‌دار در غلظت پروتئین در مقایسه با شاهد شدند و با افزایش غلظت عصارهٔ گل جعفری افزایش معنی‌داری در میزان پروتئین مشاهده شد (شکل ۵).

جدول ۶– تجزیه واریانس تأثیر عصاره‌ها و بر میزان پروتئین کل در بوته‌های خیار آلوده با نماتد *M. javanica*

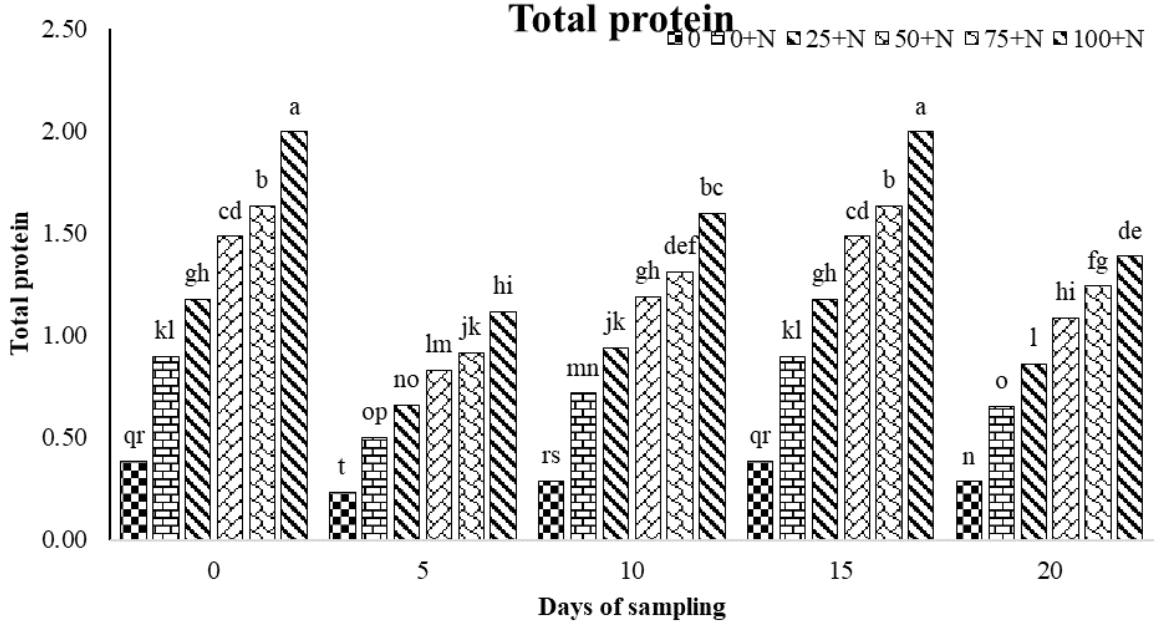
Table 6. Variance analysis of the effects of extracts & on the amount of total protein in cucumber plants infected with the nematode *M. javanica*

F	MS	SS	df	S.O.V.
1974.85**	1.28	5.11	4	(A) Herbal extracts
3699.03**	2.40	12	5	(B) Different concentrations
76.25**	0.049	0.98	20	Extract × concentration (A×B)
	0.0006	0.038	60	Test error
		18.15	89	Total

** به احتمال ۹۹ درصد ($P \leq 0.01$) اختلاف معنی دار است.

C.V= ٪ ۲/۸۵

** There is a significant difference with a probability of 99% ($P \leq 0.01$).
C.V. = 2.85%



شکل ۵– مقایسه میانگین اثر غلظت‌های عصاره‌های گیاهی شامل زیتون تلخ، مرزه، آنغوزه، چای ترش و گل جعفری بر میزان پروتئین کل در گیاه خیار آلوده با نماتد و مایه زنی شده با عصارهٔ گیاه گل جعفری، در شرایط گلخانه، میانگین‌هایی که با یکدیگر اختلاف دارند با حروف مختلف، مشخص شده‌اند. تفاوت‌ها با آزمون دانکن ($P\leq0.01$) ارائه شده‌اند.

Fig. 5. Comparison of the average effect of the concentrations of plant extracts including Bitter olive, Savory, *Ferula assa–foetida*, Hibiscus & Tagetes on the amount of total protein in cucumber plants infected with nematodes & inoculated with parsley flower extract, in greenhouse conditions, Averages that differ from each other are marked with different letters. Differences are presented with Duncan's test ($P\leq0.01$).

فعالیت آنزیم پراکسیداز

براساس نتایج جدول تجزیه واریانس (جدول ۷) اثر عصاره‌های گیاهی بر میزان فعالیت آنزیم پراکسیداز در بوته‌های خیار، نشان دهندهٔ تفاوت معنی دار تیمارها در سطح احتمال یک درصد ($p \leq ۰/۰۱$) است. بر اساس نتایج مقایسه میانگین (شکل ۶)، بین تیمارهای مختلف و همچنین بین روزهای نمونه‌برداری اختلاف معنی‌دار از نظر میزان فعالیت آنزیم پراکسیداز وجود داشت (شکل ۶)، بیشترین میزان فعالیت آنزیم پراکسیداز، در غلظت ۱۰۰ درصد عصارهٔ گل جعفری به‌همراه نماتد، به میزان ۳/۳۹، مشاهده شد و در بین روزهای نمونه‌برداری بیشترین میزان فعالیت آنزیم پراکسیداز در روز پانزدهم مورد مشاهده قرار گرفت. بعد از تیمار غلظت ۱۰۰ درصد گل جعفری به همراه نماتد، غلظت ۷۵ درصد عصاره به همراه نماتد به میزان ۳/۱۷ بیشترین میزان فعالیت آنزیم پراکسیداز را نشان داد. همچنین، بعد از غلظت صفر (شاهد)، کمترین میزان فعالیت آنزیم پراکسیداز در تمام روزهای نمونه برداری مربوط به تیمار نماتد تنها بود که همواره با تمام تیمارهای دیگر در تمام روزهای نمونه برداری دارای اختلاف معنی دار در سطح یک درصد بود. بعد از تیمار نماتد تنها، کمترین میزان فعالیت آنزیم پراکسیداز مربوط به تیمار نماتد همراه با غلظت ۲۵ درصد عصارهٔ گیاهی است. نتایج این آزمون نشان داد با افزایش غلظت عصارهٔ گل جعفری شاهد افزایش فعالیت آنزیم پراکسیداز در روزهای نمونه برداری هستیم. در مجموع همهٔ تیمارها در تمام غلظت‌های عصارهٔ گل جعفری باعث افزایش معنی‌دار در فعالیت آنزیم پراکسیداز در مقایسه با شاهد شدند (شکل ۶).

جدول ۷– تجزیه واریانس تأثیر عصاره‌ها بر میزان فعالیت آنزیم پراکسیداز در بوته‌های خیار آلوده با نماتد *M. javanica*

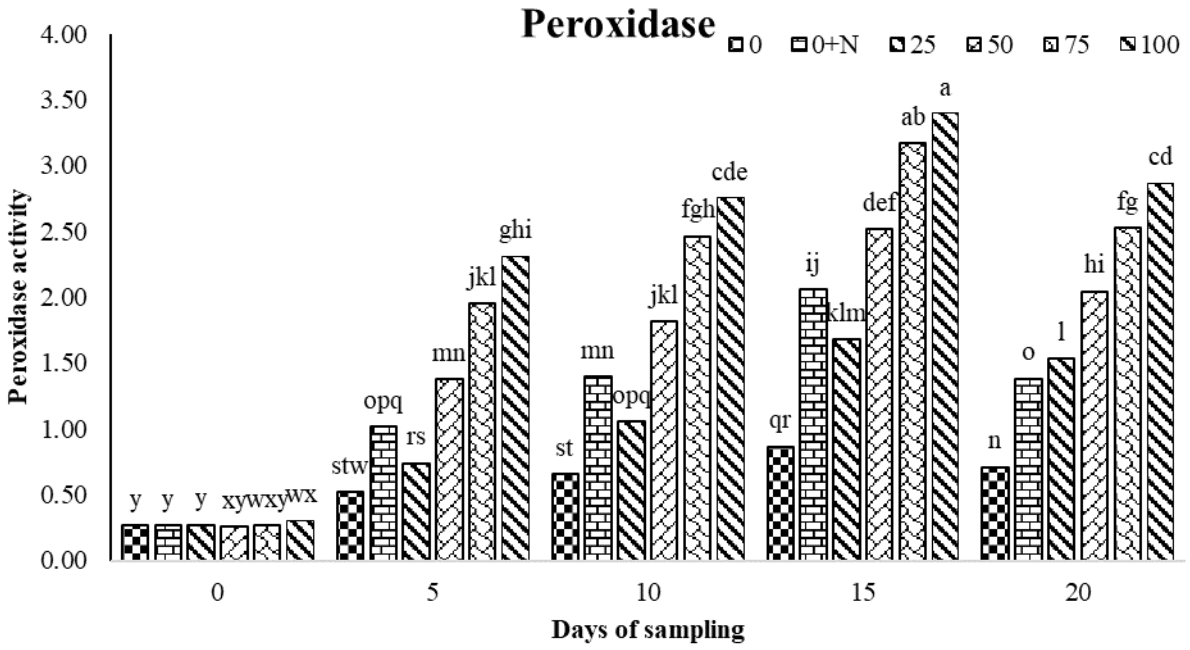
Table 7. Variance analysis of the effect of extracts on the activity of peroxidase enzyme in cucumber plants infected with the nematode *M. javanica*

F	MS	SS	df	S.O.V
4850.54**	10.34	41.39	4	(A) Herbal extracts
2944.02**	6.28	31.40	5	(B) Different concentrations
205.18**	0.43	8.75	20	(A×B) Extract × concentration
	0.0021	0.128	60	Test error
		16555	89	Total

** به احتمال ۹۹ درصد ($P\leq0.01$) اختلاف معنی دار است.

C.V= ٪ ۱۶/۶۲

** There is a significant difference with a probability of 99% ($P\leq0.01$).
C.V. = 16.62%



شکل ۶– مقایسه میانگین اثر غلظت های عصاره های گیاهی شامل زیتون تلخ، مرزه، آنغوزه، چای ترش و گل جعفری بر میزان فعالیت آنزیم پراکسیداز در گیاه خیار آلوده با نماتد و مایه زنی شده با عصارهٔ گیاه گل جعفری، در شرایط گلخانه، میانگین¬هایی که با یکدیگر اختلاف دارند با حروف مختلف ، مشخص شده اند. تفاوت ها با آزمون دانکن ($P\leq0.01$) ارائه شده اند.

Fig. 6. Comparison of the average effect of the concentrations of plant extracts including Bitter olive, Savory, Ferula assa–foetida, Hibiscus & Tagetes on the activity of peroxidase enzyme in cucumber plant infected with nematode & inoculated with parsley plant extract, in greenhouse conditions, Averages that differ from each other are marked with different letters. Differences are presented with Duncan's test ($P\leq0.01$).

فعالیت آنزیم کاتالاز

همانطور که نتایج جدول تجزیه واریانس (جدول ۸) نشان می دهد، اثر غلظت های مختلف عصارهٔ گل جعفری بر میزان فعالیت آنزیم کاتالاز در بوته‌های خیار، نشان دهنده‌ی تفاوت معنی دار تیمارها در سطح احتمال یک درصد ($p \leq ۰/۰۱$) است. بر اساس نتایج مقایسه میانگین (شکل ۷)، بین تیمارهای مختلف و همچنین بین روزهای نمونه‌برداری اختلاف معنی دار از نظر میزان فعالیت آنزیم کاتالاز وجود داشت (شکل ۷)، بیشترین میزان فعالیت آنزیم کاتالاز، در غلظت ۱۰۰ درصد عصاره‌ی گل جعفری به همراه نماتد، به میزان ΔOD/min/mg protein ۵/۳۴، مشاهده شد و در بین روزهای نمونه برداری بیشترین میزان فعالیت آنزیم پراکسیداز در روز پانزدهم مورد مشاهده قرار گرفت. بعد از تیمار غلظت ۱۰۰ درصد گل جعفری به همراه نماتد، غلظت ۷۵ درصد عصاره به همراه نماتد به میزان ΔOD/min/mg protein ۳/۱۷ بیشترین میزان فعالیت آنزیم کاتالاز را نشان داد. همچنین، بعد از غلظت صفر (شاهد)، کمترین میزان فعالیت آنزیم کاتالاز در تمام روزهای نمونه برداری مربوط به تیمار نماتد تنها بود که همواره با تمام تیمارهای دیگر در تمام روز های نمونه برداری دارای اختلاف معنی دار در سطح یک درصد بود. بعد از تیمار نماتد تنها، بیشترین میزان فعالیت آنزین کاتالاز مربوط به تیمار نماتد همراه با غلظت ۲۵ درصد عصارهٔ گیاهی است. نتایج این آزمون نشان داد با افزایش غلظت عصاره‌ی گل جعفری شاهد افزایش فعالیت آنزیم کاتالاز در روزهای نمونه برداری هستیم. در مجموع همه‌ی تیمارها در تمام غلظت‌های عصاره‌ی گل جعفری باعث افزایش معنی‌دار در فعالیت آنزیم کاتالاز در مقایسه با شاهد شدند (شکل ۷).

جدول ۸ – تجزیه واریانس تاثیر عصاره‌ها و بر میزان فعالیت آنزیم کاتالاز در بوته های خیار آلوده با نماتد *M. javanica*

Table 8. Variance analysis of the effect of extracts on the activity of catalase enzyme in cucumber plants infected with the nematode M. javanica

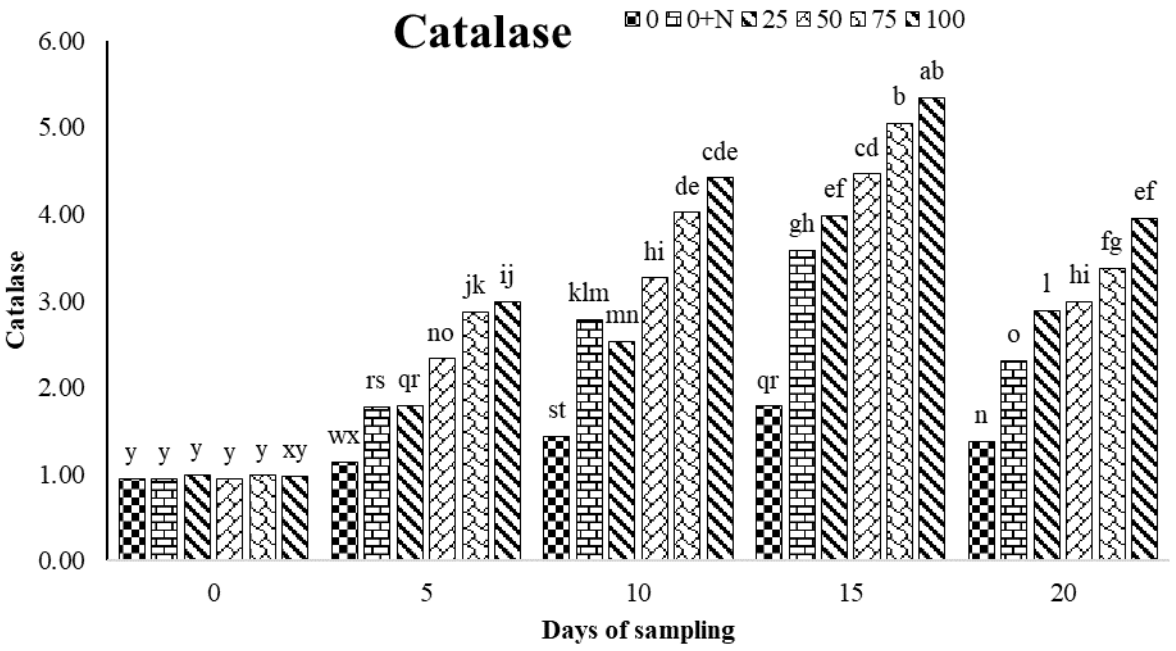
F	MS	SS	Df	S.O.V
3198.21 **	23.34	93.38	4	(A) Herbal extracts
1266.53**	9.24	46.22	5	(B) Different concentrations
105.20**	0.76	15.35	20	(A×B) Extract × concentration
	0.007	0.43	60	Test error
		155.41	89	Total

** به احتمال ۹۹ درصد ($P \leq 0.01$) اختلاف معنی دار است.

C.V= % ۳/۲۷

** There is a significant difference with a probability of 99% ($P \leq 0.01$).

C.V. = 3.27%



شکل ۷– مقایسه میانگین اثر غلظت های عصاره های گیاهی شامل زیتون تلخ، مرزه، آنغوزه، چای ترش و گل جعفری بر میزان فعالیت آنزیم کاتالاز در گیاه خیار آلوده با نماتد و مایه زنی شده با عصارهٔ گیاه گل جعفری، در شرایط گلخانه، هر عدد میانگین سه تکرار است. میانگین‌هایی که با یکدیگر اختلاف دارند با حروف مختلف ، مشخص شده اند. تفاوت ها با آزمون دانکن ($P\leq0.01$) ارائه شده اند.

Fig. 7. Comparison of the average effect of the concentrations of plant extracts including Bitter olive, Savory, Ferula assa–foetida, Hibiscus & Tagetes of catalase enzyme activity in cucumber plants infected with nematodes & inoculated with parsley plant extract, in greenhouse conditions, Averages that differ from each other are marked with different letters. Differences are presented with Duncan's test ($P\leq0.01$).

بحث

در این تحقیق آزمون‌ها در سه بخش انجام شد. در بخش اول شیبی از غلظت‌های هر عصاره تهیه شد و تأثیر این غلظت‌ها بر مرگ و میر لاروهای سن دوم نماتد در دو بازه زمانی (۲۴ ساعت و ۴۸ ساعت) در شرایط آزمایشگاهی بررسی شد، در بخش دیگر مطالعات آزمایشگاهی تأثیر غلظت‌های عصاره‌های مورد نظر بر تفریخ تخم‌های نماتد پس از گذشت ۷۲ ساعت بررسی شد. انجام آزمایشات مرتبط با اثر بازدارندگی عصاره‌های گیاهی در محیط آزمایشگاه نقش مهمی در شناسایی گیاهان دارای خاصیت نماتدکشی ایفا می‌کنند. در شرایط آزمایشگاهی عواملی مانند فضا، نور، مواد غذایی و رطوبت تحت کنترل محقق می‌باشد. علاوه بر آن در این شرایط تعداد زیادی نمونه در فضا و زمان محدود قابل بررسی و مطالعه می‌باشند.

به‌طور کلی بر اساس نتایج این آزمایش می‌توان بیان کرد که میزان مرگ و میر لاروهای نماتد با افزایش غلظت و افزایش مدت زمان قرارگرفتن لاروها در معرض عصاره نسبت مستقیم دارد زیرا که با افزایش غلظت عصاره هر گیاه، درصد مرگ و میر لارو نماتد سیر صعودی دارد. با وجود اثر نماتدکشی قابل قبول تمامی عصاره‌های مورد بررسی، تأثیر عصارهٔ آبی گل‌جعفری و پس از آن عصارهٔ آنغوزه بر مرگ لاروهای نماتد، بسیار چشمگیرتر از سایر عصاره‌ها بود. با توجه به نتایج در غلظت صفر، درصد کنترل کنندگی

نزدیک به صفر بود، که این موضوع نشان‌دهندهٔ اثر لاروکشی تمام عصاره‌ها است.

بر اساس نتایج مقایسه میانگین (شکل ۲) از بین غلظت‌های مورد مطالعه بیشترین درصد بازدارندگی از تفریخ تخم، مربوط به غلظت ۵۰٪ عصاره‌های گیاهی بود، که البته با توجه به بالاتر بودن مواد مؤثره در غلظت‌های بالاتر این نتیجه امری منطقی و توجیه پذیر به نظر می‌رسد.

عصاره‌های گیاهی مانند عصاره‌های گل‌جعفری و آنغوزه، دارای ترکیبات ارزشمندی هستند که حتی از بعضی از آن‌ها در ساخت داروهای با ارزش، سموم حشره کش و ضدآفات و بیماری‌ها می‌توان استفاده کرد (Farhadi *et al*., 2016). در استان یزد استفاده از شیرهٔ آنغوزه برای دفع حشرات طی چند سال استفاده شد (Gholamnejad, 2018). در نهایت، شناسایی این مواد استخراجی راهی برای دستیابی به اطلاعات بنیادی و ارزشمند برای محققین محسوب می‌گردد. نتایج مطالعه‌ای نشان داد که عصاره تام آبی برگ و سرشاخه‌های هوایی گیاه آنغوزه اثر مهاری و کشندگی علیه قارچ *Candida albicans* در شرایط برون تنی داشتند. *C. albicans* از قارچ‌های مخمری فلور نرمال بدن انسانی به‌عنوان شایع‌ترین عامل بیماری کاندیدیازیس شناخته می‌شود (Delavar *et al*., 2014).

براساس نتایج، بعد از عصارهٔ گل جعفری، عصارهٔ آبی آنغوزه دارای اثر نماتدکشی مطلوبی در مقایسه با عصاره سایر گیاهان مورد مطالعه بود. با افزایش زمان مواجهه لاروهای نماتد با عصارهٔ آنغوزه، اثر نماتدکشی آن در مقایسه با سایر عصاره‌ها افزایش یافت و پس از ۴۸ ساعت، غلظت ۲۵٪ عصاره و غلظت ۵۰ درصد عصاره به ترتیب سبب مرگ ۶۸/۳۳ و ۹۰٪ لاروهای مورد مطالعه شد.

وجود برخی مواد شیمیایی موجود در عصاره‌های گیاهی باعث ایجاد مرگ و میر در لارو نماتدها می‌شود. در برخی موارد این مواد شیمیایی مستقیماً به بدن نماتد نفوذ می‌کنند و از فعالیت آنزیم استیل‌کولین‌استراز و استرازهای شبیه کولین استراز جلوگیری می‌کنند. بازدارنده‌های استیل کولین استراز موجب جلوگیری از فعالیت و تحرک و همچنین باعث تأخیر در مراحل پوست اندازی نماتد می‌شوند (Naserinasab *et al*., 2019). اولین بار رود، نشان داد که با به کار بردن یک قسمت خاص از سوبسترای استیل کولین در نماتدهای انگل گیاهی، کولین استراز غیرفعال می‌شود.

گیاهان، استراتژی‌های متعددی برای دفاع از خود دارند که شامل عملکردهایی از قبیل موانع فیزیکی یا ترکیبات شیمیایی می‌باشند. سه گروه ترکیبات ثانویه در این فرآیندها نقش دارند؛ ترپن‌ها، ترکیبات فنلی و ترکیبات حاوی نیتروژن، که به احتمال قوی ترکیبات فنلی رایج‌ترین ترکیبات و وسیع‌ترین گروه بررسی شده در دفاع گیاه می‌باشند، مشتقات فنلی می‌توانند اکسید شوند و با پروتئین‌ها واکنش نشان دهند، و باعث ایجاد اختلال در کار آنزیم شوند و از این طریق زنده‌مانی مهاجم را محدود کنند یا می‌توانند در دیواره سلولی ته‌نشین شوند و به‌عنوان یکی از اولین سدها در دفاع گیاه علیه آلودگی عمل نمایند (Gholamnejad *et al*., 2009).

بر اساس پژوهش‌های انجام شده عصارهٔ بذر چریش خاصیت نماتدکشی قوی دارد و می‌توان با فروبردن ریشه نشاهای گوجه فرنگی در محلول ۵۰٪ این عصاره هم زمان با انتقال آن‌ها به زمین آلوده و یا افزودن به پای بوته‌های بیمار تا ۴۰ روز پس از تلقیح نماتد، برای مدیریت این نماتد گام موثری برداشت (Ardakani *et al*., 2009). محققان اثر مشتقات چریش بر نماتد مولد غده در گوجه فرنگی را مورد بررسی قرار دادند، نتایج آن‌ها نشان داد که همزمان با کاهش تعداد گره و تودهٔ تخم نماتد در تمامی گیاهانی که با عصارهٔ چریش تیمار شده‌اند، افزایش رشد این گیاهان در مقایسه با شاهد مشاهده شد (Oka *et al*., 2007).

در بخش دوم بررسی‌های آزمایشگاهی و مطالعه اثر غلظت‌های مختلف عصاره بر تفریخ تخم‌های نماتد، ترتیب اثربخشی عصاره‌ها مشابه اثر آن‌ها بر مرگ لاروها نبود و در بالاترین سطح غلظت، پس از گل جعفری، زیتون تلخ، آنغوزه، چای ترش و مرزه بیشترین اثر را بر بازدارندگی از تفریخ تخم‌های نماتد نشان دادند. در بررسی قبلی گل جعفری بیشترین اثر را بر مرگ لاروهای نماتد نشان داد. با توجه به نتایج می‌توان گفت اثر نماتدکشی عصارهٔ گل

جعفری در حالتی که نماتد هم به طور مستقیم و بدون حفاظ و هم به صورت تخم است، مشهود بود.

مطالعهٔ اثر غلظت‌های ۱۰، ۲۰، ۳۰ و ۴۰ و ۶۰ درصد عصاره آبی کرچک بر روی مرگ و میر لاروهای نماتد و تفریخ تخم نماتد *M. javanica* نشان داد که عصاره این گیاه اثر سمی و کشندگی بر روی این نماتد دارد و این سمیت با افزایش غلظت عصاره نسبت مستقیم دارد. در آزمون گلخانه‌ای نتایج نشان داد عصاره آبی گیاه کرچک سبب بهبود رشد گیاهچه‌های گوجه فرنگی (رشد طولی و وزن تر) و کاهش شاخص‌های بیماری زایی نماتد در مقایسه با شاهد شد (Adomako *et al*., 2013).

بخش بعدی مطالعات در گلخانه و در محیط گلدان انجام شد. هدف از انجام این بخش از مطالعه، کمک به ایجاد یک ارتباط منطقی بین بررسی‌های آزمایشگاهی و شرایط گلخانه می‌باشد چرا که عصاره‌های گیاهی باید در مجاورت خاک، نماتد و گیاه و در یک سیستم پویا تأثیر خود را بر نماتد و همچنین گیاه مورد آزمایش به نمایش بگذارند. در مورد خیار، عصاره‌ها به میزان زیادی فاکتورهای بیماری‌زایی یعنی تعداد لارو در ۲۰۰ گرم خاک و شاخص گال را کاهش دادند، که این کاهش را می‌توان به‌دلیل اثر مضاعف مقاومت گیاهی در کنار اثر کنترل‌کنندگی عصاره‌ها دانست. تأثیر عصاره بر کاهش فاکتورهای بیماری‌زایی نماتد می‌تواند به‌دلیل اثر مستقیم آن بر نماتد، شامل مرگ و میر لاروهای نماتد و همچنین تأثیر بر قابلیت تحرک و تشخیص ریشه گیاه باشد، یکی از دلایل دیگر اثر غیر مستقیم عصاره به صورت القای سیستم دفاعی گیاه و بهبود فاکتورهای رشدی گیاه بر کاهش جمعیت بیمارگر، نامساعد کردن شرایط رشد و تکثیر بیمارگر و افزایش توان دفاعی و تحمل گیاه تأثیرگذار باشند.

بر اساس نتایج مطالعات آزمایشگاهی عصارهٔ گل جعفری در مقایسه با سایر عصاره‌های مورد مطالعه بر مرگ و میر لاروهای نماتد مؤثرتر بود و اثر نماتدکشی آن با افزایش غلظت عصاره بیشتر شد. پس از عصارهٔ گل جعفری اثر عصاره آنغوزه بر مرگ لاروهای سن دوم نماتد، قابل توجه بود. با مقایسه نتایج بررسی‌های آزمایشگاهی با بررسی‌های انجام شده در شرایط گلخانه و با توجه به تأثیر قابل توجه گل جعفری بر مرگ و میر لاروهای نماتد در شرایط آزمایشگاه، می‌توان گفت تأثیر عصارهٔ گل جعفری در خاک و شرایط گلخانه نسبت به شرایط آزمایشگاه مقداری کاهش یافته است. نظریه‌ای که در این رابطه وجود دارد این است که بعد از اضافه نمودن عصاره‌های گیاهی به خاک، پایداری، در دسترس بودن و فعالیت بیولوژیکی مواد بازدارنده موجود در عصاره، تحت تأثیر میکروارگانیسم‌های خاک قرار می‌گیرد. لذا این احتمال وجود دارد که بعد از افزودن عصاره گیاهی به خاک، میکروارگانیسم‌های موجود در خاک فعال شده و با تبدیل یا تجزیه نسبی مواد بازدارنده، منجر به کاهش اثر بازدارندگی آنها نسبت به محیط آزمایشگاه شده باشد. در کل تمامی عصاره‌ها توانستند سبب کاهش فاکتورهای بیماری‌زایی نماتد در شرایط گلخانه نسبت به شاهد شوند که این تأثیر بسته به فاکتور بیماری‌زایی متفاوت بود.

احتمالاً برخی مواد شیمیایی توسط ریشه‌ها جذب می‌شوند و در نتیجه واکنش‌های زنجیره‌ای به‌دلیل وجود برخی فاکتورهای موجود در عصاره‌ها (Elicitor/Activator) شروع می‌شود که منجر به القا مقاومت در گیاه نسبت به نماتد می‌شود (Chitwood, 2002).

براساس گزارش ال هاماوی و همکاران در سال ۲۰۰۴ خارج کردن به موقع گیاه گل جعفری به عنوان گیاه تله، پس از نفوذ جمعیت لارو سن دوم نماتد ریشه گره‌ای که مرحلهٔ آلوده کنندهٔ این نماتد است، می‌تواند، باعث حذف جمعیت عظیمی از نماتد و کاهش آلودگی خاک شود (Abutorabi, 2022).

با توجه به نفوذ نماتد به داخل ریشهٔ گل جعفری و عدم تکامل زیستی آن در داخل ریشه، این گیاه به عنوان گیاهی تله معرفی شد (Ogden *et al*., 1997). عامل مهار نماتدها، مهار سمی موجود در ترشحات ریشهٔ گیاه گل جعفری به نام آلفا – ترتینیل است که دارای قدرت نماتدکشی است (Mohamed *et al*., 2000).

مقاومت القایی که از آن به عنوان مقاومت سیستمیک القایی نیز یاد می‌شود ترکیبی از فرآیندهای بیوشیمیایی با

مکانیسم‌های متفاوت است. مقاومت القایی ممکن است با ترکیبات شیمیایی (مولکول‌های محرک) مانند اسیدسالیسیلیک یا توسط تعدادی از میکروارگانیسم‌ها ایجاد شود (Guetsky *et al*., 2002).

عکس العمل گیاه ممکن است به‌صورت موضعی و یا سیستمیک باشد. میزان بعضی آنزیم‌ها مانند کیتیناز، پراکسیداز، کاتالاز و پلی‌فنل‌اکسیدازها در گیاه افزایش یافته و باعث ایجاد مقاومت در گیاه می‌گردند. آنزیم کاتالاز، پراکسید هیدروژن را به آب و اکسیژن تجزیه می‌کند و پراکسیداز با اکسیداسیون ترکیبات فنلی، پراکسید هیدروژن را تجزیه می‌کند. این آنزیم‌ها به همراه آنزیم سوپراکسیددیسموتاز سیستم‌های اصلی آنزیمی سلول در برابر صدمات اکسیداتیو هستند (Wang *et al*., 2010; Tommasi *et al*., 2008).

از نتایج آزمایش مربوط به میزان فعالیت آنزیم کاتالاز در گیاه خیار القا شده با عصارهٔ گل جعفری چنین استنباط می‌شود که این القاگر فعالیت آنزیم کاتالاز را در گیاه هم در حضور و هم در عدم حضور بیمارگر افزایش می‌دهد. در این آزمون حضور نماتد بیمارگر در کنار عصارهٔ گیاه باعث افزایش بیشتر فعالیت آنزیم در مقایسه با کاربرد عصاره به تنهایی است. به عبارت دیگر، بیمارگر باعث افزایش فعالیت آنزیم در گیاه می‌شود، اما میزان آنزیم در حضور عصاره افزایش می یابد. از طرفی دیگر، با مقایسهٔ کاربرد بیمارگر به تنهایی با کاربرد عصاره به تنهایی در خیار، غلظت‌های ۵۰ و ۷۵ درصد عصاره اثر بیشتری در افزایش فعالیت آنزیم در مقایسه با کاربرد بیمارگر به تنهایی داشتند. با توجه به این مطالب، عصارهٔ گل جعفری در غلظت‌های بالاتر از ۵۰ درصد تأثیر بیشتری در افزایش فعالیت آنزیم کاتالاز در گیاه خیار دارد. نتایج این آزمایش نشان داد که تیمار گیاه خیار با عصارهٔ گل جعفری باعث القای سیستم دفاعی گیاه در برابر بیمارگرها بالاخص نماتد می‌شود. آنزیم کاتالاز مؤثرترین آنزیم آنتی اکسیدانت در گیاه است (Andrea, 1998). Maksimov *et al*. (2013) طی یک مطالعه‌ای نشان دادند که آلودگی گندم با قارچ بیمارگر *S. nodorum* باعث افزایش نسخه‌های RNA ژن کاتالاز و در نتیجه تولید این آنزیم می‌شود. به منظور بررسی اثر نماتد ریشه گره‌ای *Meloidogyne incognita* بر روند تولید آنزیم‌های دفاعی گوجه‌فرنگی، آزمایشی گلدانی در شرایط گلخانه انجام شد. آزمون روی دو رقم حساس (فلات وای) و متحمل (جینا وی اف) گوجه‌فرنگی با چهار سطح جمعیتی نماتد صفر (شاهد)، ۵۰۰، ۱۰۰۰ و ۲۰۰۰ عدد لارو سن دوم انجام شد. نتایج نشان داد که با افزایش سطوح جمعیتی نماتد فعالیت‌های بیوشیمیایی گیاه تحت تأثیر قرار گرفته و میزان پروتئین کل کاهش یافت. میزان فعالیت آنزیم‌های دخیل در واکنش دفاعی میزبان نظیرکاتالاز، پراکسیداز، پلی‌فنل‌اکسیداز و فنیل آلانین آمونیالیاز افزایش یافت. بیشترین میزان افزایش در آنزیم کاتالاز و در رقم متحمل مشاهده شد. در حضور تنش وارده از سوی نماتد، گیاه مکانیسم دفاعی آنزیمی خود را فعال نموده که این افزایش فعالیت، پنج روز پس از مایه‌زنی از بیشترین مقدار برخوردار بود (Abdolmaleki *et al*., 2011).

بررسی فعالیت دو آنزیم آنتی‌اکسیدان کاتالاز و پراکسیداز نشان داد که عصارهٔ گیاه گل جعفری توانست سیستم دفاعی گیاه را القاء کند و سبب افزایش بیان فعالیت آنزیم‌های آنتی اکسیدان در گیاه خیار شود. در اکثر نقاط زمانی نمونه برداری و در گیاه خیار مورد مطالعه، در حالتی که عصاره در حضور عامل بیمارگر بر روی گیاه استفاده شده است فعالیت آنزیم‌های دفاعی بیشتر از زمانی است که عصاره بدون حضور عامل بیمارگر مورد استفاده قرار گرفته است. با توجه به نتایج مطالعهٔ فعالیت آنزیم‌های دفاعی گیاه مشخص شد که عصاره‌های گیاهی (گل جعفری) قابلیت القاء پاسخ‌های دفاعی حتی در ارقام حساس را نیز دارند. در این تحقیق این نکته به اثبات رسید که عصارهٔ گیاه گل جعفری با تأثیر چشمگیر خود بر افزایش بیان ژن‌های دفاعی گیاه و در نتیجه افزایش فعالیت ژن‌های دفاعی، باعث بالا رفتن مقاومت گیاه به بیمارگر *M. javanica* می‌شود.

References

Abdolmaleki, M., Bahraminejad, S., Salari, M., Abbasi, S. & Panjeke, N. 2011. Antifungal activity of peppermint (*Mentha piperita* L.) on phytopathogenic fungi. Journal of medicinal Plants, 10(38): 26–34.

Abutorabi, A. 2022. Planting parsley as a trap plant to control root–knot nematode (*Meloidogyne* spp.) population in greenhouse crops. Extension magazine of greenhouse vegetables, 5(1): 43–50.

Adomako J. & Kwoseh CK. 2013. Effect of Castor bean (*Ricinus communis* L.) aqueous extracts on the performance of root–knot nematodes (Meloidogyne spp.) on tomato (*Solanum lycopersicum*). Journal of Science & Technology, 3(1): 1–11.

Akbari Moghadam, E., Saberi–Riseh, R., Khodaygan, P. & Alaei, H. 2018. 'The effect of some bacteria strains on cucumber defense reactions for controlling of *Fusarium* stem & root rot disease', *BioControl in Plant Protection*, 6(1): 29–42.

Andrea, M., 1998. Superoxide dismutase & catalase activities in apple fruit during ripening & postharvest & with special reference to ethylene. Physiologia Plantarum, 10(4): 668–672.

Ardakani, A.S., Gaur, H.S. & Kamra A. Mohan, S. 2009. Impact of *Azadirachta indica* (neem) seed & kernel extracts on Meloidogyne incognita, Cephalobus persegnis & Heterorhabditis indica in vitro. International Journal of Nematology, 19(1): 87–95.

Bradford, M.M. 1976. A rapid & sensitive method for the quantitation of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein–dye binding. *Analytical biochemistry*, *72*(1–2): 248–254.

Chandru, H.K., Kim, E., Kuk, Y., Cho, K. & Han, O. 2003. Kinetics of wound–induced activation of antioxidative enzymes in Oryza sativa: differential activation at different growth stages. Plant Science, 164(6): 935–941.

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

Damadzadeh, M. 2007. Nematology in Agriculture. Andishe Gostar Publisher, Esfehan. 199–201.

Das, S., Demason, D.A., Ehlers, J.D., Jeffrey, D., Close, T.J. & Roberts, P.A. 2008. Histological characterization of root–knot nematode resistance in cowpea & its relation to reactive oxygen species modulation, J. Exp. Bot. 59: 1313–1305.

Delavar, H., Saharkhiz, M. & Kazerani, N. 2014. 'Essential oil analysis & phytotoxic activity of Ferula assa–foetida L.', Iranian Journal of Medicinal & Aromatic Plants Research, 30(3): 433–444.

Du, Z. & Bramlage, W.J. 1995. Peroxidative activity of apple peel in relation to development of poststorage disorders. HortScience, 30(2): 205–209.

Eisenback, J.D. 1985. Detailed morphology & anatomy of second_stage juveniles, males, & females of the genus Meloidogyne (Root_knot nematode). An advanced treatise on Meloidogyne, 1: 47–77.

Eskandarzadeh, N., Moslehi, S. & Vaez, N. 2020. 'Evaluation of the Effects of Thorne–apple & Henbane on Egg Hatching & Mortality of Juveniles of Meloidogyne javanica', Journal of Applied Research in Plant Protection, 9(2): 45–60.

Farhadi, A., Youssefi, M. & Abouhosseini tabari, M. 2016. Evaluation of the Anticestode & Antinematode Effects of the Methanol Extract of Ferula Asafoetida on Experim entally Infected Rats. J Babol Univ Med Sci, 18(6): 47–51.

Gholamnejad, J, Etebarian, HR, Sahebani, NA. & Roustaee A. 2009. Characterization of biocontrol activity of two yeast strains from Iran against blue mould of apple in order to reduce the environmental pollution. Journal of International Environmental Application & Science, 4(1): 28–36.

Gholamnezhad, J. 2019. Effect of plant extracts on activity of some defense enzymes of apple fruit in interaction with Botrytis cinerea. Journal of Integrative Agriculture, 17(0): 1–10.

Gholamnejad, J. 2017. Investigation of the inhibitory effect of the aqueous extract of the Angoze plant on the fungus causing apple gray mold, Botrytis cinerea, First National Conference on Agriculture, Natural Resources.

Gong, M., Li, Y.J., Dai, X., Tian, M. & Li, Z.G. 1997. Involvement of calcium & calmodulin in the acquisition of heat–shock induced thermotolerance in maize seedlings. Journal of Plant Physiology, 150(5): 615–621.

Guetsky, R., Shtienberg, D., Elad, Y., Fischer, E. & Dinoor, A. 2002. Improving biological control by combining biocontrol agents each with several mechanisms of disease suppression. Phytopathology, 92: 976–985.

Haji Allahvardipour, H. & Marzban, R. 2023. Evaluating the efficiency of the nematode Steinernema carpocapsae & the bacterium Bacillus thuringiensis in controlling the elm leaf–eating beetle (Xanthogaleruca luteola) in laboratory conditions. Medicinal plant, 46(1): 25–37.

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: 1025–1028.

Linford, M.B., Yap, F. & Oliveira, J.M. 1938. Reduction of soil populations of the root–knot nematode during decomposition of organic matter. Soil Science, 45(2): 127–142.

Maksimov, I.V., Yarullina, L.G., Burkhanova, G.F. & Zaikina, E.A. 2013. Relationship between the aggressiveness & catalase activity of Septoria nodorum Berk. in wheat Biology Bulletin, 40(5): 441–446.

Mohamed, M.A.H., Haris, P.J.C. & Handerson, J. 2000. *In vitro* selection & characterization of adrought tolerant clone of *Tagetes minuta*. Plant Science, 159: 213–222.

Naserinasab, F., Heydari, R., Sanjarian, F. & Rakhshandeh–Ro, F. 2019. Investigation of the effect of aqueous extract of green walnut fruit peel on the control of root–knot nematode Meloidogyne javanica and growth traits in tomato plants', Bi–Quarterly Journal of Plant Disease Research, 6(1): 1–16.

Naserinasab, F., Heydari, R., Sanjarian, F. & Rakhshandehroo, F. 2018. 'Investigation of the defense genes expression of Phenylalanine Ammoniumase and Peroxidase in interaction with Neem extract of and Meloidogyne javanica nematodes in tomato', Cell and Tissue Journal, 9(4): 360–377.

Nelmes, A. J. 1970. Behavioral responses of Heterodera rostochiensis larvae to aldicarb & its sulfoxide & sulfone. Journal of Nematology, 2: 223–227.

Oka, Y., Tkachi, N., Shuker, S. & Yermiyahu, U. 2007. Enhanced nematicidal activity of organic & inorganic ammonia–releasing amendments by *Azadirachta indica* extracts. Journal of Nematiology, 39: 9–16.

Oliveira, J.T.A., Andrade, N.C., Martins–Miranda A.S., Soares A.A., Gondim D.M.F., Araújo–Filho J.H., Freire–Filho F.R. & Vasconcelo I.M. 2012. Differential expression of antioxidant enzymes & PR–proteins in compatible & incompatible interactions of cowpea (*Vigna unguiculata*) & the root–knot nematode *Meloidogyne incognita*. Plant Physiology & Biochemistry, 51: 145–152.

Ranjitsingh, K.N. & Sucheta, K.R. 2009. Effect of root extracts to control root knot nematode (Meloidogyne spp) of Soybean (Glycine max). Biological Forum– An International Journal, 1(1): 65– 68.

Reuveni, R. (2017). Biochemical markers for disease resistance. In Molecular methods in plant pathology, 99–114.

Sun, M.H., Gao, L., Shi, Y.X., Li, B.J. & Liu, X.Z. 2006. Fungi & actinomycetes associated with *Meloidogyne spp.* eggs & females in China & their biocontrol potential. Journal of Invertebrate Pathology, 93: 22–28.

Tommasi, S. 2008. Molecular & in silico analysis of BRCA & BRCA variants. Mutation Research, 644: 64–70.

Wang., X., Tang, C., Zhang, G., Li, Y., Wang, C., Liu, B.Z., Zhao, J., Han, Q. & Huang, L. 2009. cDNA–AFLP analysis reveals differential gene expression in compatible interaction of wheat challenged with *Puccinia striifonnis f. sp. tritici*. *BMC genomics*, 10: 289–304.

Wrona, O., Rafińska, K., Możeński, C. & Buszewski, B. 2017. Supercritical fluid extraction of bioactive compounds from plant materials. Journal of AOAC International, 100(6): 1624–1635.

Effect of plant extracts on root–knot nematode pathogenicity caused by *Meloidogyne* sp. on greenhouse cucumber (*Cucumis sativus*)

Somayeh Ashraf[1], Jalal Gholamnejad[2], Hidar Meftahizadeh[3], Mohammad Reza Arzhang[4]

1., 2., 3., 4. MS.c. Student, Associate professor, Associate professor, MS.c. Student, Department of Horticultural Science and Engineering, Faculty of Agriculture and Natural Resources, Ardakan University, Yazd, Iran.
Corresponding author: Jalal Gholamnejad, email: jgholamnezhad@ardakan.ac.ir

Received: Jan., 14, 2025 12(1) 29–49 Accepted: Feb., 16, 2025

Abstract

Background & Objectives

Cucumber (*Cucumis sativus*), belongs to the pumpkin family, is an annual plant & is one of the most important vegetables in Iran & the world. *Meloidone sp*. nematodes are one of the most important nematodes causing damage to greenhouse, agricultural & garden products. Due to the pesticidal properties of the extracts & products of many plants, they can be used to control pests & plant diseases, these plant materials are easy to prepare & safe, & they are environmentally friendly.

Materials & Methods

This study was carried out in the form of a completely randomized design & in four replications & the effect of aqueous extracts of five types of plants (Ferula, bitter olive, savory, tagetes, roselle) on tuber producing nematode in greenhouse cucumber, the effect of these extracts in the laboratory environment on nematode larvae & eggs were investigated in the greenhouse on nematode pathogenicity, & in third section, plant extracts were tested on the activity of defensive enzymes (total protein, catalase & peroxidase) in cucumber plants.

Results

According to the results, all the investigated treatments caused a significant increase in larval mortality at 24 & 48 hours after the experiment. Tagetes, among the studied extracts, showed the highest percentage of larvae mortality in the first 24 hours, in all concentrations. In the second 24 hours (48 hours), all concentrations of tagetes extract (0, 5, 15, 25 & 50%) had the greatest effect on the mortality of nematode larvae compared to other extracts. that the concentrations of 50 & 25% caused the death of 100 & 82.5% of nematode larvae. Despite the acceptable nematicidal effect of all the investigated extracts, the effect of the aqueous extract of parsley flower & then the extract of Ferula on the death of nematode larvae was much more significant than other extracts. The highest percentage of inhibition of nematode egg hatching was observed at 50% concentration of different extracts, & the highest inhibition was related to tagetes extract with 90% inhibition, Ferula extract with 73.50% inhibition, bitter olive extract with 67.52% inhibition & Sour tea with inhibition was 65.21%. In the greenhouse, after 45 days, the effect of different levels of plant extracts on the two factors of gall index & the number of second instar larvae per 200 grams of soil was evaluated. All used treatments significantly reduced the number of larvae in the soil compared to the control (348 larvae). The lowest number of larvae among the applied treatments was related to the concentration of 100% tagetes extract with the number of 41.67 larvae. The highest numerical value of gall index, after the control, was related to the concentration of 25% bitter olive extract, whose numerical value was 4.67 without any difference with the control, the smallest gall index was showed in the treatment of 75% tagetes extract with a numerical value of 1.67. The results of measuring the amount of protein showed that the highest amount of protein was related to the concentration of 100% of tagetes extract with nematodes (on the fifteenth day) at a protein level of 1.99 mg/liter, & then the concentration of 75% of the extract with nematodes to the amount was 1.63 mg. The highest level of peroxidase enzyme activity was observed in 100% concentration of tagetes extract with nematode, at the rate of 3.39 ΔOD/Min/mg protein. The highest activity level of catalase enzyme was observed in 100% concentration of tagetes extract with nematode, at 34.5ΔOD/Min/mg protein, & among the days of sampling, the highest activity level of both catalase peroxidase enzymes was observed on the 15th day.

Discussion

According to the results of studying the activity of plant defense enzymes, it was found that plant extracts (tagetes) have the ability to induce defense responses even in sensitive cultivars. In this research, it was proved that the extract of parsley flower, with its significant effect on increasing the expression of defense genes of the plant & as a result of increasing the activity of defense genes, increases the resistance of the plant to the pathogen *M. javanica*.

Keywords: Cucumber, Root knot nematode, Plant extract, Enzyme activity