تأثیر عصاره‌های جلبک‌دریایی (*Ascophyllum nodosum*) و تلخ‌بیان (*Sophora alopecuroides*) روی نماتد ریشه‌گرهی گوجه‌فرنگی (*Meloidogyne incognita*)

پریسا علیزاده [۱]، سالار جمالی [۲*] و صدیقه موسی‌نژاد [۳]

۱- دانشجوی کارشناسی ارشد بیماری شناسی گیاهی، گروه گیاه‌پزشکی، دانشکده علوم کشاورزی، دانشگاه گیلان، ایران

۲- *نویسنده مسوول: دانشیار، بیماری‌شناسی گیاهی، گروه گیاه‌پزشکی، دانشکده علوم کشاورزی، دانشگاه گیلان، ایران (jamali@guilan.ac.ir)

۳- استادیار، بیماری‌شناسی گیاهی، گروه گیاه‌پزشکی، دانشکده علوم کشاورزی، دانشگاه گیلان، ایران

تاریخ دریافت: ۹۹/۱۰/۲۱ تاریخ پذیرش: ۱۴۰۰/۰۲/۱۸

چکیده

نماتدهای ریشه گرهی (*Meloidogyne* spp.) از جمله عوامل بیماری زای بسیار مهمی هستند که خسارت زیادی به محصولات کشاورزی وارد می‌سازند. روش‌های متعددی مانند تناوب زراعی، ارقام مقاوم و ترکیبات شیمیایی برای کنترل آن‌ها به کار گرفته شده است. هزینه بالا و مشکلات زیست محیطی ترکیبات شیمیایی، توجه محققان را به استفاده از روش‌های غیرشیمیایی هم‌چون استفاده از گیاهان و عصاره‌های گیاهی برای مدیریت این نماتدها معطوف کرده است. هدف از انجام این مطالعه، بررسی اثرات بازدارندگی عصاره‌های جلبک‌دریایی (*Ascophyllum nodosum*) و تلخ‌بیان (*Sophora alopecuroides*) روی فعالیت نماتد ریشه گرهی (*Meloidogyne incognita*) شامل تفریخ تخم و مرگ و میر لارو سن دوم نماتد در شرایط آزمایشگاه و گلخانه بود. پس از انجام نمونه‌برداری، خصوصیات ریخت‌شناسی نماتدهای جداسازی شده بررسی و تعیین گونه صورت گرفت. از سه غلظت مختلف هر عصاره در سه تکرار در آزمایشگاه استفاده شد. میزان تفریخ تخم و مرگ و میر لارو سن دوم نماتد ریشه گرهی (*M. incognita*) پس از ۲٤، ٤٨ و ۷۲ ساعت در شرایط آزمایشگاهی ارزیابی شد. در آزمون گلخانه‌ای، دو ماه پس از مایه زنی، برخی صفات رشدی گیاه شامل (وزن تر اندام هوایی، وزن تر ریشه و طول ساقه) و صفات مربوط به آلودگی نماتد (تعداد گال، توده تخم و فاکتور تولیدمثل) اندازه‌گیری شد. مراحل آزمون دو بار تکرار شد و از میانگین داده‌ها برای تجزیه و تحلیل آماری استفاده گردید. تجزیه و تحلیل با استفاده از نرم افزار SAS و مقایسه میانگین تیمارها با آزمون توکی انجام گرفت. طبق نتایج آزمایشگاهی، میزان بازدارندگی از تفریخ تخم و مرگ و میر لاروهای سن دوم، با غلظت عصاره‌ها رابطه مستقیم داشت. بیشترین درصد مرگ و میر لارو و تفریخ تخم، مربوط به عصاره جلبک‌دریایی با غلظت چهار در هزار و عصاره تلخ‌بیان با غلظت یک و نیم در هزار بود. در نتایج گلخانه‌ای، متوسط میزان مرگ و میر لارو سن دوم نماتد در عصاره جلبک‌دریایی، تلخ‌بیان و نماتدکش کادوزافوس به ترتیب٦٦/٨٠، ۳۵/۸۱ و ۸۵/۳۱ درصد بود. افزودن عصاره‌های گیاهی باعث کاهش تولیدمثل نماتد ریشه گرهی در گیاهان گوجه‌فرنگی آلوده گردید. بیشترین شاخص‌های رشدی گیاه بدون نماتد زمانی مشاهده شد که عصاره جلبک‌دریایی در اختیار گیاه قرار گرفت. در گیاهان گوجه‌فرنگی آلوده به نماتد، تمام تیمارهای اعمال شده به خاک گلدان باعث افزایش معنی‌دار وزن تر اندام هوایی شدند. نتایج این مطالعه نشان‌دهنده اثر مثبت تیمارهای مورد مطالعه شامل عصاره‌های جلبک‌دریایی و تلخ‌بیان و نویدبخش استفاده از آنها برای کنترل نماتد ریشه گرهی گوجه فرنگی بود.

کلیدواژه‌ها: عصاره، مدیریت، نماتد ریشه گرهی

دبیر تخصصی: دکتر صدیقه عظیمی

مقدمه

گوجه‌فرنگی از جمله سبزیجات پر اهمیتی است که ارزش غذایی و اقتصادی بالا، آن را بعد از سیب زمینی در رتبه دوم اهمیت در خانواده بادمجانیان قرار داده است. با توجه به مصرف بالای میوه، می‌توان آن را به‌عنوان یک محصول استراتژیک در کشاورزی نوین تلقی کرد (Behnamian and Masiha, 2002). این گیاه همواره در معرض خطر ابتلا به آفات و بیماری‌های متعدد قرار دارد. در این بین، نماتد ریشه گرهی یکی از عوامل خسارت‌زای این محصول محسوب می‌شود (Peyvast, 2007). این گروه از نماتدها دارای اهمیت اقتصادی بالایی بوده، گسترش و دامنه‌ی میزبانی وسیعی دارد به طوری‌که به بیش از ۳۰۰۰ گونه گیاهی حمله می‌کند (Lamberti, 2004). خسارت نماتد مذکور در گوجه‌فرنگی ۲۰ الی ۳۰ درصد تخمین زده شده است (Sasser, 1989). برخی از گونه‌های این جنس، به علت محدود بودن پراکنش، اهمیت چندانی ندارند. عمده خسارت‌های وارده به محصولات کشاورزی مربوط به گونه‌های *M. incognita, M. javanica, M. M. M. hapla, chitwoodi, M. exigua arenaria,* و *M. graminicola* می‌باشد (Nasresfahani and Ahmadi, 2010). روش‌های کنترل نماتدها را می‌توان به سه گروه شیمیایی، زراعی و بیولوژیک تقسیم‌بندی کرد. به دلیل نگرانی‌های فزاینده زیست محیطی، سعی بر این است تا گزینه‌های کنترل شیمیایی محدودتر شوند (Trudgill, 1992). کنترل تلفیقی یکی از روش‌های پیشنهادی جهت محدود کردن کاربرد ترکیبات شیمیایی برای کنترل نماتدها به شمار می‌رود (Azhar and seddiqu, 2007). استفاده از گیاهان و عصاره‌های آن‌ها یکی از روش‌های بی‌خطر جهت مهار نماتد ریشه گرهی محسوب می‌شود. این روش‌ها ضمن هزینه کم و کاربرد آسان، توانایی بهبود ساختمان خاک و حاصلخیزی آن را نیز به همراه خواهند داشت (Qamar et al., 2005). ترکیبات فعال با منشأ گیاهی، پایداری کمتری در محیط داشته و روی پستانداران و موجودات غیر هدف اثر سوء ندارند و به همین دلیل توجه ویژه‌ای به آن‌ها معطوف شده است (Trivedi, 2003). با افزایش تولید و مصرف محصولات ارگانیک و مشاهده‌ی نتایج جالب در بخش کشاورزی و صنایع غذایی و نیز فشار سازمان‌ها و آژانس های ناظر بر حفظ کیفی غذا، محصولات کشاورزی و محیط‌زیست، موضوع جایگزینی سموم شیمیایی در مجامع علمی دنیا، با نگاه و رویکرد جدیدی دنبال می‌شود (Hassanzadeh, 2005). با توجه به دلایل فوق‌الذکر، لزوم استفاده از گیاهان بومی هر منطقه به ویژه در کشورهای در حال توسعه یک نیاز مبرم تلقی می‌گردد. مطالعات صورت گرفته حاکی از آن است که عصاره اندام‌های هوایی گل جعفری (*Tagetes* sp.)، برگ‌ها، ریشه و دانه چریش (*Azadirachta indica* L.) و برگ‌ها و دانه زیتون تلخ (*Melia azedarach* L.) از جمله گیاهانی هستند که فعالیت ضد نماتدی دارند (Azhar and seddiqu, 2007). همچنین آزمایش‌ها نشان داده است که بعضی از گیاهان دارویی از جمله زیره، رازیانه، نعناع و سیر فعالیت ضد نماتدی دارند و در برابر آلودگی به نماتدهای ریشه گرهی از خود مقاومت نشان می‌دهند (Oka et al, 2000). تحقیقات نشان داده است که محلول‌پاشی عصاره‌ی جلبک‌دریایی باعث افزایش رشد گیاه، تحریک رشد ریشه و بهبود تحمل به تنش‌های محیطی از قبیل خشکی، شوری و درجه حرارت‌های بالا می‌شود (Kingman and Moore, 1982 and Ludwig, 2000). عصاره‌ی جلبک‌دریایی استخراج شده از گونه *Ascophyllum nodosum* روی نماتد ریشه گرهی، *Meloidogyne javanica* در گیاهان گوجه‌فرنگی مورد ارزیابی قرار گرفته است. نتایج به‌دست آمده نشان‌دهنده اثر کنترل‌کنندگی روی لاروهای سن دوم و تخم نماتد بوده است (Catherine et al., 1994). هم‌چنین روی گیاه موز، تأثیر مثبت در کاهش لارو سن دوم نماتد *M. incognita* در خاک در مقایسه با شاهد داشته و وزن شاخساره گیاهان تیمار شده بسیار بیش‌تر از شاهد بوده است (Ragaa et al., 2017). علت اثرگذاری در رشد گیاهان تقویت شده با عصاره جلبک‌دریایی *A. nodosum*، ممکن است مربوط به ترکیبات آلی و

تنظیم‌کننده‌های رشد باشد. اکسین‌ها، جیبرلین‌ها، سیتوکینین‌ها، پیش‌سازهای اتیلن، بتائین و سیتوکینین‌ها حاوی خواص کنترل‌کننده زیستی هستند که در تقویت پاسخ‌های رشد گیاه به‌طور بالقوه نقش دارند (Khan et al., 2009; Sultana et al., 2009, 2011). جلبک‌ها می‌توانند به عنوان عامل کنترل زیستی و درمان برای نماتد ریشه گرهی به منظور سرکوب جمعیت نماتد در گیاهان مورد استفاده قرار گیرند (Elansary et al., 2014).

استفاده از عصاره‌ی گیاه تلخ‌بیان (*Sophora flavescens* Aiton)، به دلیل خاصیت آنتی‌اکسیدانی بالا، اثر مطلوبی روی رشد و عملکرد گوجه‌فرنگی داشته و باعث افزایش کیفیت تولید آن می‌گردد. این گیاه به‌عنوان آفت‌کش گیاهی جدید، ایمن و بی‌خطر مطرح شده است (Xiong et al., 2016). تأثیر عصاره‌ی اتانولی برگ دو گیاه *Datura innoxia* و *Sophora alopecuroides* روی تفریخ تخم نماتد و لارو سن دوم *M. incognita* مورد بررسی قرار گرفت. نتایج نشان‌دهنده مرگ و میر قابل توجه لارو سن دوم نماتد پس از گذشت ۷۲ ساعت بود (Javed, 2018). فعالیت ضد نماتدی برخی عصاره‌های گیاهی روی نماتد ریشه گرهی گوجه فرنگی در شرایط آزمایشگاه و گلخانه مورد بررسی قرار گرفت. نتایج نشان داد در شرایط آزمایشگاهی همه عصاره‌های مورد بررسی خاصیت نماتدکشی داشتند. در شرایط گلخانه نیز افزایش غلظت عصاره‌های گیاهی به طور معنی‌داری باعث بهبود شاخص‌های رشدی گوجه فرنگی شدند (Alikarami et al., 2017). اثر بازدارندگی عصاره حاصل از چهار گیاه دارویی شامل زیره سیاه ، پونه آویشن باغی و دو توده ارومیه و کرمان از کرچک بر میزان تفریخ تخم و مرگ‌ومیر لارو سن دو نماتد ریشه‌گرهی در شرایط آزمایشگاهی و کنترل این نماتد در گوجه‌فرنگی مورد ارزیابی قرارگرفت. نتایج نشان دهنده تأثیرات مثبت این گیاهان در کنترل نماتد بود (Bahmanziari et al., 2017).

تلخ بیان به عنوان ترکیب حشره‌کشی نیز مورد استفاده قرار می‌گیرد. هم‌چنین برای کنترل بیماری‌های گیاهی از قبیل لکه سیاه و عامل سفیدک داخلی و پودری به کار می‌رود (Zhou, 2009). کاربرد آلکالوئیدهای گیاه *Sophora alopecuroidae* باعث افزایش رشد گوجه‌فرنگی شده است (Xiong et al., 2015). به همین دلیل در مطالعه حاضر، استفاده از تلخ بیان برای کنترل نماتد ریشه گرهی مورد استفاده قرار گرفت.

به دلیل افزایش تقاضای روز افزون برای غذای سالم و ارگانیک، مطالعه‌ی تأثیر ترکیباتی با منشأ زیستی، می‌تواند نویدبخش کاربرد در مقیاس وسیع و پیشرفت در مهار زیستی نماتدها به‌عنوان یکی از عوامل کاهش عملکرد در محصولات کشاورزی باشد. هدف از انجام تحقیق حاضر، مطالعه کارایی عصاره‌ی جلبک‌دریایی و تلخ‌بیان در کنترل نماتد ریشه گرهی و مقایسه اثر آن‌ها با نماتدکش کادوزافوس (راگبی) می‌باشد.

مواد و روش‌ها

نمونه‌برداری از ریشه‌های حاوی گال و خاک فرا ریشه گیاهان آلوده از گلخانه و زمین‌های زیر کشت گوجه‌فرنگی شهرستان لاهیجان و سیاهکل انجام گرفت. در آزمایشگاه، ریشه‌های آلوده توسط جریان ملایم آب شستشو داده شدند. پس از زدودن خاک از سطح آن‌ها، چندین کیسه تخم که دورتر از بقیه کیسه‌های تخم قرار داشتند، با استفاده از اسکالپل تمیز در زیر بینوکولر جدا و هر کدام در یک شیشه درب‌دار کوچک حاوی آب مقطر قرار داده شدند. جهت تکثیر نماتد ریشه گرهی از رقم گوجه‌فرنگی حساس ارلی اوربانا[1] استفاده شد. به این منظور، بذرهای گوجه‌فرنگی حساس توسط هیپوکلریت سدیم ۱۰ درصد به مدت ۱۰ دقیقه ضدعفونی شده و در لیوان‌های پلاستیکی یک‌بار مصرف حاوی خاک و شن سترون به نسبت دو به یک کاشته شدند. جهت تلقیح

1- Early urbana Y

نماتد در اطراف طوقه گیاه در مرحله چهار برگی، چهار حفره به عمق تقریبی سه سانتی‌متر ایجاد و چهار عدد کیسه تخم در حفره‌های ایجاد شده قرار گرفت. روی حفره‌ها با خاک پوشانده و آبیاری گردید. یک هفته بعد از تلقیح، گیاهان به گلدان‌های یک کیلوگرمی حاوی مخلوط خاک و شن به نسبت دو به یک سترون شده با اتوکلاو به مدت ۳۰ دقیقه در دمای ۱۲۱ درجه سانتی گراد و فشار یک و نیم اتمسفر، منتقل شدند. گیاهان به مدت سه ماه در شرایط دمایی ۲۷-۲۵ درجه سلسیوس نگهداری شدند. در این حالت، جمعیت کافی از نماتد برای انجام آزمایش حاصل شد (Jepson, 1987). سپس با بررسی خصوصیات ریخت‌شناسی و ریخت سنجی لاروهای سن دوم و نماتدهای ماده، با استفاده از کلیدشناسایی (Eisenbak and Triantaphyllou, 1991) گونه مورد نظر، *M. incognita* تشخیص داده شد.

آزمون آزمایشگاهی

بررسی اثر نماتدکشی عصاره‌ها روی لارو سن دوم نماتد ریشه گرهی *(Meloidogyne incognita)* براساس روش Vrain (1976) صورت گرفت. جهت تهیه لارو سن دوم نماتد به‌منظور مطالعات آزمایشگاهی، یک کاغذ صافی روی توری فلزی گود شده قرار گرفته و درون یک تشتک پتری گذاشته شد. سپس سوسپانسیون تخم نماتد روی کاغذ صافی و در تشتک‌های پتری حاوی آب مقطر ریخته شد. سپس به مدت پنج روز در انکوباتور با دمای ۲۷ درجه سلسیوس نگهداری شدند. به این ترتیب تخم‌ها روی کاغذ صافی مرطوب تفریخ شدند و لاروهای سن دوم فعال پس از عبور از کاغذ صافی در کف تشتک‌های پتری جمع‌آوری شدند (Vrain, 1976). عصاره‌ی جلبک‌دریایی (با نام تجاری ویتا) و تلخ‌بیان (با نام تجاری بینو ۱) به ترتیب از شرکت های سبز گل و رها اندیش کاوان به صورت خالص تهیه گردیدند. عصاره جلبک‌دریایی با غلظت‌های دو، سه و چهار در هزار و عصاره تلخ‌بیان با غلظت‌های یک، یک ونیم و دو در هزار آماده شدند. به تشتک‌های پتری پنج سانتی‌متری حاوی ۱۰۰ عدد لارو سن دوم فعال، ۵ میلی لیتر از عصاره‌های مورد نظر به‌طور جداگانه اضافه شد. تشتک‌های پتری حاوی آب مقطر سترون به‌عنوان شاهد در نظر گرفته شدند. آزمایش در شرایط دمای ۲۵ درجه سانتی‌گراد انجام گرفت. پس از گذشت ۲۴، ۴۸ و ۷۲ ساعت، درصد مرگ و میر لارو سن دوم نماتد با استفاده از لام شمارش ثبت شد (Hasabo and Noweer, 2005). لاروهایی که فاقد حرکت بوده و لاروهای بدشکلی که به‌وسیله سوزن نیز تغییر حالت ندادند، به‌عنوان لارو مرده در نظر گرفته شدند. درصد میزان مرگ و میر لاروها به‌وسیله شمارش کل لاروهای زنده و مرده و بر طبق فرمول زیر محاسبه گردید (Oostenbrink,1966).

$$\frac{\text{تعداد کل لاروها}}{\text{تعداد لاروهای مرده}} * ۱۰۰ = \text{درصد میزان مرگ و میر لاروها}$$

جهت بررسی اثر بازدارندگی عصاره‌های مورد آزمون بر تفریخ تخم نماتد ریشه گرهی، تعداد ۱۰۰ تخم به پتری‌های پنج سانتی‌متری حاوی پنج میلی‌لیتر از غلظت‌های مختلف قبلی عصاره‌ی جلبک‌دریایی و تلخ بیان، به‌طور جداگانه اضافه گردید. تشتک‌های پتری به مدت سه روز نگهداری و به‌طور روزانه میزان تفریخ تخم‌ها بررسی گردید. آزمایش در شرایط دمای ۲۵ درجه سانتی‌گراد انجام گرفت. تعداد لاروهای تفریخ شده در هر تیمار یادداشت برداری شد (Tsay et al., 2004). تشتک‌های پتری حاوی آب مقطر سترون به‌عنوان شاهد در نظر گرفته شدند. درصد تفریخ تخم نماتد به‌وسیله شمارش کل تخم‌ها و لاروها و بر طبق فرمول زیر انجام گرفت (Oostenbrink, 1966).

$$\frac{\text{تعداد لاروها}}{\text{تعداد تخم ها و لاروها}} \times ۱۰۰ = \text{درصد تفریخ تخم نماتد}$$

آزمایش در قالب طرح آماری کاملا تصادفی به صورت فاکتوریل با فاکتورهای تیمار، ساعت و غلظت با ۳ تیمار و ۳ تکرار انجام شد. در انتها داده‌های آزمایش،

تجزیه واریانس شده و مقایسه میانگین‌ها با روش دانکن صورت گرفت. تجزیه واریانس و مقایسه میانگین در یک آزمایش فاکتوریل در قالب طرح پایه کاملاً تصادفی با سه تکرار انجام شد. کل آزمون دوبار تکرار شد و میانگین داده‌های دو مرحله برای تجزیه آماری مورد استفاده قرار گرفت. غلظت‌هایی که در شرایط آزمایشگاه بهترین نتایج را کسب نموده‌اند، جهت انجام آزمایش در شرایط گلخانه انتخاب و مورد استفاده قرار گرفتند.

آزمون گلخانه‌ای

بررسی گلخانه‌ای در قالب طرح پایه کاملاً تصادفی با هفت تیمار و چهار تکرار به مرحله اجرا درآمد. تیمارها شامل: عصاره جلبک‌دریایی به تنهایی، عصاره جلبک دریایی با نماتد، عصاره تلخ‌بیان به تنهایی، عصاره تلخ بیان با نماتد، نماتدکش کادوزافوس با نام تجاری راگبی (با فرمولاسیون گرانول ۱۰ درصد به میزان پنج گرم برای هر گلدان که چهار هفته پس از تلقیح استفاده گردید)، تعداد چهار گلدان به‌عنوان شاهد مثبت بدون آلودگی و شاهد منفی با تلقیح نماتد در نظر گرفته شد. مراحل آزمون دو بار تکرار و میانگین داده‌های دو مرحله برای تجزیه آماری مورد استفاده قرار گرفت. طبق نتایج به دست آمده از آزمون آزمایشگاهی، غلظت‌های بهینه چهار در هزار برای جلبک‌دریایی و یک‌نیم در هزار برای تلخ بیان مورد استفاده قرار گرفت. مقدار ۱۰۰ میلی لیتر از عصاره‌ی جلبک‌دریایی (Crouch and Van Staden, 1993) و مقدار ۱۵ میلی‌لیتر از عصاره‌ی تلخ بیان (Xiong et al., 2016) برای هر گلدان یک کیلوگرمی حاوی مخلوط شن و خاک سترون به نسبت ۲ به ۱ استفاده شد. البته دقت شد تا عصاره‌های مورد نظر در همان روز تزریق در هر گلدان‌ها، تهیه شود. جهت توزیع مناسب و یکنواخت، پس از اعمال تیمارها، آبیاری به اندازه‌ای انجام گرفت که باعث شستشوی خاک نگردد. پس از پیاده نمودن طرح آزمایشی، به مدت دو ماه مراقبت‌های لازم و معمول در شرایط گلخانه با دمای۲۵ تا ۲۷ درجه سلسیوس صورت پذیرفت. در نهایت ۶۰ روز بعد از تلقیح نماتد به گیاهان، شاخص‌های رشدی اعم از طول اندام هوایی و ریشه، با استفاده از متر اندازه‌گیری شدند و وزن کل نهال، اندام هوایی و ریشه با ترازوی دیجیتال اندازه‌گیری شد. برای به دست آوردن وزن خشک اندام هوایی، در تمامی تکرارهای آزمایشی اندام هوایی مورد نظر در دمای شصت درجه سانتی‌گراد به مدت ۲۴ ساعت در آون قرار داده و با کمک ترازوی دیجیتالی توزین شدند.

شاخص‌های نماتدی اعم از تعداد گال وکیسه‌های تخم در سیستم ریشه، ریشه‌ها به آرامی شسته و یک گرم ریشه از تیمار مورد آزمایش جدا و تعداد گال و کیسه تخم شمارش برای کل ریشه محاسبه شد. برای محاسبه تعداد لاروهای سن دوم نماتد، پس از خارج کردن ریشه‌های تیمار شده از گلدان‌ها، خاک حاوی نماتد در داخل سینی قرار داده و بعد از ۴۸ ساعت نماتدها از خاک استخراج شدند. مجموع جمعیت استحصالی به ظرف پتری مدرج منتقل و در زیر بینوکولار شمارش گردید (Jenkins, 1964). همچنین برای به دست آوردن تعداد تخم‌ها در داخل توده تخم، یک عدد توده تخم توسط سوزن جدا و توسط هیپوکلریت سدیم ۲ درصد ماده ژلاتینی اطراف آن حل شد. سپس تخم ها توسط ظرف شمارشگر شمارش شدند. این عمل سه بار تکرار و میانگین آن‌ها محاسبه گردید (Sasser et al., 1985). جمعیت نهایی (P_f) با در نظر گرفتن مجموع تعداد کل کیسه‌های تخم، تخم‌ها و لاروهای سن دوم نماتد محاسبه گردید و با تقسیم بر جمعیت اولیه (P_i)، فاکتور تولیدمثل تعیین گردید. از فرمول ($RF= P_f/P_i$) برای محاسبه فاکتور تولیدمثل استفاده شد (Oostenbrink, 1966). پس از ثبت داده‌ها، تجزیه و تحلیل آن‌ها با استفاده از نرم‌افزار SAS و به رویه مدل خطی عمومی (GLM) انجام گرفت. جهت مقایسه میانگین تیمارها برای صفات مورد نظر، آزمون توکی در سطح احتمال پنج درصد به کار گرفته شد. نمودارهای مورد نیاز به کمک نرم‌افزار Excel ترسیم گردید.

نتایج و بحث

نتایج بررسی‌های آزمایشگاهی

نتایج تجزیه واریانس اثر عصاره‌های جلبک‌دریایی و تلخ‌بیان بر مرگ و میر لارو سن دوم نماتد، در شرایط آزمایشگاهی حاکی از این بود که بین عصاره‌های مورد مطالعه نسبت به شاهد (آب مقطر) در سطح احتمال یک درصد اختلاف معنی‌داری وجود داشت (جدول ۱). در تمامی تیمارها، بیشترین مرگ و میر لارو سن دوم نماتد ۴۸ ساعت پس از شروع آزمایش و در بین غلظت‌ها، در غلظت چهار در هزار برای عصاره جلبک‌دریایی و در غلظت یک و نیم در هزار برای عصاره تلخ‌بیان مشاهده شد. در بین عصاره‌های مورد بررسی تلخ‌بیان و سپس جلبک‌دریایی در مرگ و میر لاروهای سن دوم نماتد نسبت به شاهد (آب مقطر) اثرگذار بودند (شکل ۱). نتایج نشان داد که غلظت‌های مورد استفاده از عصاره‌های مذکور، می‌توانند منجر به مرگ لاروهای سن دوم شوند. در آزمون آزمایشگاهی استفاده از عصاره جلبک دریایی، تلفات لارو سن دوم ۹۹ تا ۱۰۰ درصد نسبت به شاهد (آب مقطر)، بعد از ۷۲ ساعت در معرض قرارگیری عصاره به‌دست آمد (Khan et al., 2015). کاربرد عصاره‌ی جلبک‌دریایی استخراج شده از گونه *Ascophyllum nodosum* روی نماتد ریشه‌گرهی (*Meloidogyne javanica*)، در گیاهان گوجه‌فرنگی مورد ارزیابی قرار گرفت. نتایج نشان‌دهنده تأثیر مثبت روی لاروهای سن دوم و تخم نماتد بود (Catherine et al., 1994).

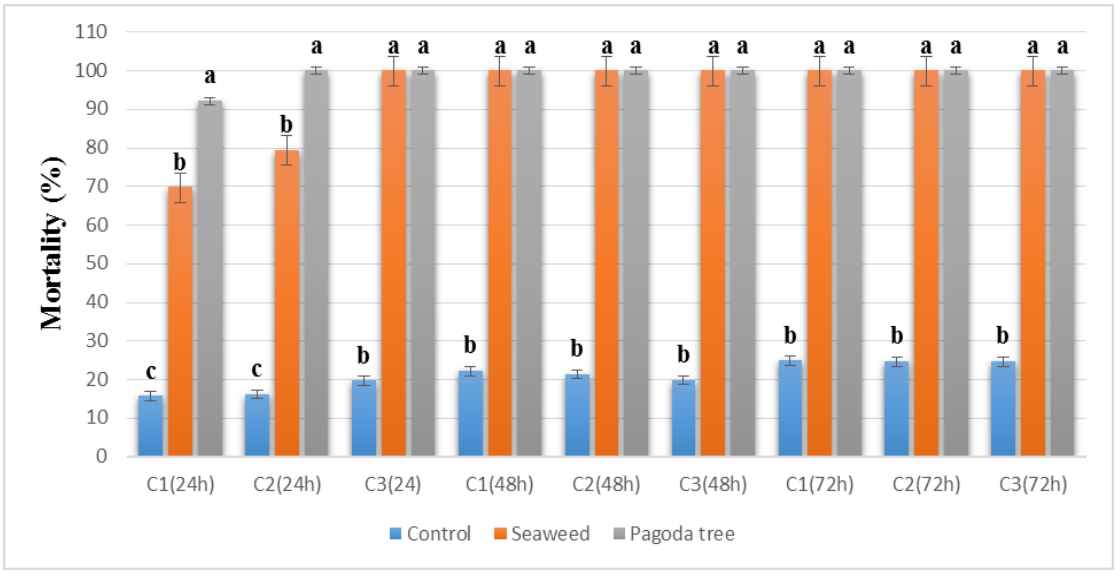
نتایج تجزیه واریانس اثر عصاره‌های جلبک‌دریایی و تلخ‌بیان بر میزان ممانعت از تفریخ تخم نماتد، در شرایط آزمایشگاهی نشان‌دهنده تفاوت معنی‌دار بین تیمارهای مختلف نسبت به شاهد (آب مقطر) در سطح یک درصد بود (جدول ۱). در بین عصاره‌های مورد بررسی به ترتیب تلخ‌بیان و جلبک‌دریایی بیشترین تأثیر را در بازدارندگی از تفریخ تخم نماتد داشتند (شکل۲ و جدول ۱). این موضوع می‌تواند مربوط به تفاوت در ترکیبات موثر در هر یک ازعصاره‌های مورد بررسی باشد. در بین غلظت های مورد استفاده، بیشترین ممانعت از تفریخ تخم نماتد در غلظت چهار در هزار جلبک‌دریایی و غلظت یک و نیم در هزار تلخ‌بیان مشاهده شد. علی‌رغم آن که با گذشت زمان تعداد تخم‌های تفریخ‌شده در تمام تیمارها افزایش یافت، ولی میزان افزایش در تیمارهای مختلف، متفاوت بود به نحوی که بیشترین تعداد تخم تفریخ نشده در غلظت یک و نیم در هزار و ۴۸ ساعت پس از شروع آزمایش مشاهده شد. تأثیر عصاره‌ی اتانولی برگ *Sophora alopecuroides* روی تفریخ تخم نماتد ریشه گرهی مورد بررسی قرار گرفته و نتایج مشابهی در شرایط آزمایشگاهی نشان داده است (Javed, 2018).

جدول ۱- نتایج تجزیه واریانس تأثیر عصاره‌های جلبک دریایی و تلخ بیان بر میزان مرگ و میر لارو سن دوم و تفریخ تخم نماتد ریشه گرهی (*Meloidogyne incognita*)

Table 1. The results of analysis of variance on the effect of Seaweed and Pagoda extracts on mortality of the second stage juvenile (J_2) and hatching of eggs of root-knot nematode (*Meloidogyne incognita*)

Source of Variation	df	Mean Square	
		Mortality	Egg hatched
Extract	2	51772.2**	26192.11**
Concentration	2	132.01**	7.62**
Time	2	652.96**	1175.45**
Concentration × Extract	4	64.81**	67.20**
Concentration × Time	4	181.53**	1019.28**
Extract × Time	4	158.53**	8.26**
Concentration × Extract × Time	8	55.36**	8.14**
Error	54	0.138	0.046
CV %	-	0.52	1.12

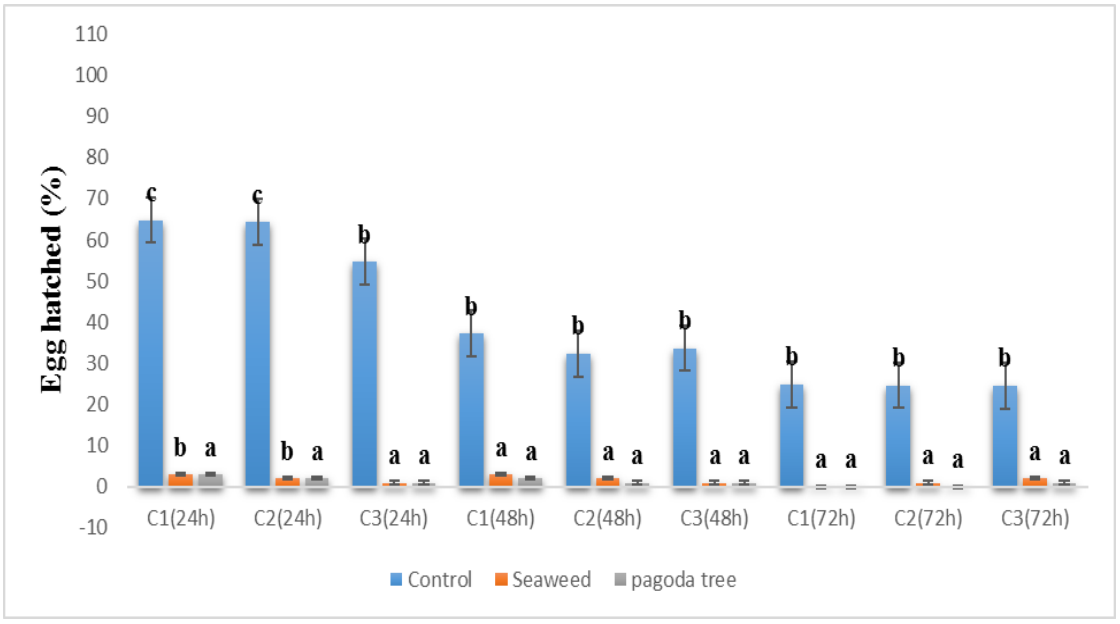
ns: no significant difference. **: significant difference 1%



شکل ۱- تأثیر عصاره‌های جلبک‌دریایی و تلخ بیان بر درصد مرگ و میر لارو سن دوم نماتد ریشه گرهی (*Meloidogyne incognita*) در زمان‌های مختلف

Figure 1. Effect of the seaweed and pagoda extracts on mortality percentage of second stage juvenile (J_2) of root-knot nematode (*Meloidogyne incognita*) at different times

C1 = غلظت دو در هزار عصاره جلبک‌دریایی و یک در هزار تلخ‌بیان، C2 = غلظت سه در هزار عصاره جلبک‌دریایی و یک و نیم در هزار تلخ‌بیان، C3 = غلظت چهار در هزار عصاره جلبک‌دریایی و دو در هزار تلخ‌بیان.



شکل ۲- تأثیر عصاره‌های جلبک‌دریایی وتلخ بیان بر تفریخ تخم نماتد *Meloidogyne incognita* در زمان‌های مختلف

Figure 2. Effect of the seaweed and pagoda extracts on hatching of eggs of *Meloidogyne incognita* at different times

C1 = غلظت دو در هزار عصاره جلبک‌دریایی و یک در هزار تلخ‌بیان، C2 = غلظت سه در هزار عصاره جلبک‌دریایی و یک و نیم در هزار تلخ‌بیان، C3 = غلظت چهار در هزار عصاره جلبک‌دریایی و دو در هزار تلخ‌بیان.

Khan et al. (2015) نشان دادند در شرایط آزمایشگاهی، فعالیت نماتدکشی چند گونه جلبک دریایی *Sargasssum tenerrimum*، *Padina tetrastromatica* و *Melano thamnusafa* علیه نماتد ریشه گرهی، موجب ممانعت از تفریخ تخم گونه *M. javanica* شد (Khan et al., 2015).

نتایج بررسی‌های گلخانه‌ای

نتایج گلخانه‌ای نشان داد که تلقیح عصاره‌ها باعث بهبود شاخص‌های رشدی در گوجه‌فرنگی می‌گردد. بین تیمارهای مورد بررسی در صفات رویشی گیاه در سطح احتمال یک درصد اختلاف معنی‌دار آماری وجود داشت (جدول ۲). همچنین عصاره‌ها به‌طور معنی‌داری جمعیت نماتد را در مقایسه با شاهد منفی، کاهش دادند (جدول ۳).

صفات رویشی گیاه

نتایج تجزیه واریانس مربوط به صفات رویشی در گوجه‌فرنگی حساس به نماتد ریشه گرهی در اثر تلقیح عصاره‌ها و نماتدکش راگبی در جدول ۲ و مقایسه میانگین آن در جدول ۴ آورده شده است. میانگین طول ساقه و ریشه، در گیاهان تیمار شده با عصاره‌ها به تنهایی افزایش یافت. کمترین میانگین طول ساقه در تیمار نماتد به تنهایی مشاهده گردید. میانگین طول ساقه و ریشه در گیاهان تیمار شده با نماتدکش راگبی و عصاره جلبک دریایی، نسبت به تیمارهای نماتدی افزایش یافت. میانگین طول ریشه در تیمار نماتد با کاهش همراه بود (جدول ۴). نتایج حاصل، نشان‌دهنده کاهش وزن ساقه و افزایش وزن تر ریشه در تیمارهای آلوده به نماتد بود. یکی از علایم بارز آلودگی گیاه به نماتد ریشه گرهی، کاهش تعداد برگ می‌باشد، به‌طوری که در میان تیمارهای آلوده به نماتد، کمترین وزن تر ساقه در تیمار شاهد آلوده مشاهده شد که بخش عمده‌ای از کاهش ناشی از مصرف مواد غذایی توسط نماتد در ریشه و بخشی نیز مربوط به ریزش و کاهش تعداد برگ ها بوده است. در میان تیمارهای مورد بررسی، تیمار جلبک دریایی بیشترین وزن تر ساقه را به همراه داشته است.

نتایج وزن خشک ریشه و ساقه، مشابه وزن تر اندام‌های مذکور بود (جدول ۲ و ۴). به‌طوری‌که گیاهان تیمار شده با عصاره جلبک‌دریایی، سبب افزایش ویژگی‌های رشدی محصول شدند. این نتیجه با نتایج سایر محققین در این رابطه همخوانی داشت. علت این واکنش، وجود برخی از مواد تقویت‌کننده رشد در عصاره جلبک‌دریایی عنوان شده است (Blunden, 1991). اگرچه بسیاری از مؤلفه‌های مختلف شیمیایی عصاره جلبک‌دریایی و نحوه عملکرد آن ها هنوز ناشناخته مانده است، اما دور از انتظار نیست که این مؤلفه‌ها فعالیت هم‌افزایی نشان دهند (Fornes et al., 2002; Vernieri et al., 2005). اعتقاد بر این است که افزایش عملکرد گیاهان تیمار شده با جلبک‌دریایی با مواد هورمونی موجود در عصاره‌ها، به‌ویژه سیتوکینین‌ها ارتباط دارد (Featonby smith and vanstaden, 1983). بر همین اساس، ترکیبات فعال زیستی موجود در *Ascophyllum nodosum* برای تقویت رشد گیاه استخراج و مورد استفاده قرار گرفته است (Van Oosten et al., 2017). گونه *A. nodosum*، با افزایش دسترسی و جذب مواد مغذی، سبب بهبود رشد و بازده محصولات زراعی شده است (Crouch and van Staden, 1993; Khan et al., 2009; Craigie, 2011; Sharma et al., 2014; Van Oosten et al., 2017). گزارش‌های متعدد حاکی از آن است که کاربرد اسپری شاخ و برگ عصاره جلبک‌دریایی به برگ‌های انگور، پس از تظاهر شکوفه کامل، باعث افزایش مواد مغذی میوه، به‌ویژه تجمع آنتوسیانین‌ها و فنل‌ها می‌شود (Norrie et al., 2002; Sabir et al., 2014; Frioni et al., 2018). عصاره تجاری جلبک‌دریایی، رشد ریشه و شاخه‌های کلزا (*Brassica napus* L.) را با تحریک تجمع نیتروژن و سولفات، بهبود بخشیده است (Jannin et al., 2013). همچنین مطالعه ترکیبات شیمیایی تلخ‌بیان، نشان‌دهنده وجود آلکالوئیدها، فلاونوئیدها و گلوکوزیدهای استروئیدی در آنها بوده است (Muosavi et al., 2014). وجود تعدادی از ترکیبات طبیعی مؤثر در کنترل نماتدهای

گیاهی، از قبیل استرول‌ها، ساپونین‌ها، تانن‌ها، آلکالوئیدها و فلاونوئیدها به اثبات رسیده است (Mousa et al., 2011).

جدول ۲- نتایج تجزیه واریانس تأثیر عصاره‌های جلبک دریایی و تلخ بیان بر صفت‌های رشدی گوجه فرنگی رقم ارلی اوربانا آلوده به نماتد ریشه گرهی (*Meloidogyne incognita*)

Table 2. The results of analysis of variance on the effect of seaweed and pagoda extracts on growth parameters of tomato var. Early Urbana infected with root-knot nematode (*Meloidogyne incognita*)

Source of Variation	df	Mean Square					
		Root dry fresh weight (g)	Shoot dry weight (g)	Root length (cm)	Shoot length (cm)	Root fresh weight (g)	Shoot weight (g)
Extract	6	0.683**	53.52**	336.72**	6092.20**	18.75**	1416.47**
Error	21	0.001	0.218	0.419	0.184	0.226	0.505
Total	27	-	-	-	-	-	-
CV %	-	3.17	8.41	2.75	0.46	9.07	1.92

ns: no significant difference.**: Significant difference at 1%

جدول ۳- نتایج تجزیه واریانس تأثیر عصاره‌های جلبک دریایی و تلخ بیان بر ویژگی‌های نماتد ریشه گرهی (*Meloidogyne incognita*)

Table 3. The results of analysis of variance on the effect of seaweed and pagoda extracts on growth parameters of root-knot nematode (*Meloidogyne incognita*)

Source of Variation	df	Mean Square				
		Gall /g of root	Egg mass/g of root	Egg/of root	J_2/100g soil	Reproduction factor
Extract	3	61.16**	244.39**	0.011**	0.058**	9.75**
Error	12	1.625	3.104	0.0002	0.0002	0.460
Total	15	-	-	-	-	-
CV%	-	26.83	13.36	3.35	0.68	25.12

ns: no significant difference. **: significant difference 1%

جدول ٤- مقایسه میانگین تاثیر عصارهای جلبک‌دریایی و تلخ بیان بر شاخص‌های رشدی گوجه‌فرنگی رقم ارلی اوربانا به نماتد ریشه گرهی (*Meloidogyne incognita*)

Table 4. Means Comparison of effect of seaweed and pagoda extracts on growth parameters of tomato plant var. Early Urbana infected with root-knot nematode, *Meloidogyne incognita*

	Shoot length (cm)	Root length (cm)	Shoot fresh weight (g)	Shoot dry weight (g)	Root fresh weight (g)	Root dry weight (g)
Control	48.95^{e}	25.86^{c}	19.01^{f}	2.39^{e}	2.05^{e}	0.20^{f}
Nematode	36.89^{f}	8.89^{f}	10.95^{g}	1.38	8.21^{a}	0.10^{d}
Seaweed	138.75^{a}	35.35^{a}	61.38^{a}	11.49^{a}	4.40^{cd}	0.82^{d}
Seaweed + Nem	97.91^{c}	20.78^{d}	37.84^{d}	3.45^{cd}	7.30^{a}	1.22^{b}
Pagoda tree	136.66^{b}	33.63^{b}	58.83^{b}	9.42^{b}	3.37	0.72^{e}
Pagoda tree + Nem	96.36^{d}	17.68^{e}	30.57^{e}	4.08^{d}	6.06^{b}	1.15^{bc}
Rugby + Nem	98.69^{c}	22.19^{d}	40.04^{c}	5.19^{c}	5.28^{bc}	0.12^{c}
SEM	6.95	1.64	3.35	0.65	0.39	0.07

Means followed by the same latter, in each column are not significantly different (P>0.05).

شاخص‌های بیماری‌زایی نماتد

نتایج تجزیه واریانس و مقایسه میانگین داده‌های حاصل از شمارش تعداد گال، تعداد توده تخم در یک گرم ریشه، تعداد تخم در کل ریشه، تعداد لارو سن دوم نماتد در صد گرم خاک و فاکتور تولیدمثل در جدول‌های ۳ و ۵ آورده شده است. عصاره‌ها به‌طور معنی داری سبب کاهش جمعیت نماتد در مقایسه با شاهد شده‌اند. یکی از شاخص‌های اصلی بیماری‌زایی نماتد ریشه گرهی، ایجاد گال روی ریشه است. میانگین تعداد گال در واحد وزن ریشه در کاربرد عصاره‌ها و راگبی، نسبت به شاهد تفاوت معنی‌دار داشتند ولی بین عصاره‌ها تفاوت معنی‌داری مشاهده نشد. بیشترین تعداد گال در تیمار شاهد آلوده و کمترین آن در تیمار راگبی رؤیت گردید. اگرچه نماتدکش راگبی در کاهش گال‌زایی گیاهان آلوده مؤثرترین تیمار بود ولی عصاره‌های جلبک دریایی و تلخ‌بیان در مقایسه با شاهد، موجب کاهش قابل قبولی در گال‌زایی ریشه گیاهان گوجه‌فرنگی شدند. این ممانعت می‌تواند ناشی از تأثیر مستقیم عصاره روی لارو و تخم نماتد و یا به‌طور غیرمستقیم از طریق فراهم کردن شرایط مناسب برای رشد گیاه و دفاع در مقابل حمله نماتد باشد. بیشترین و کمترین شاخص تولیدمثلی محاسبه شده به ترتیب مربوط به تیمارهای شاهد آلوده به نماتد و راگبی بود. علت پایین بودن شاخص مذکور در تیمار راگبی را می‌توان تأثیر در ممانعت از نفوذ نماتد به داخل ریشه عنوان کرد. داده‌های حاصل از اندازه‌گیری شاخص های آلودگی نماتد نشان می‌دهد که نماتدکش راگبی از بیشترین تأثیر در کنترل نماتد ریشه گرهی برخوردار بوده و به ترتیب تیمارهای جلبک‌دریایی و تلخ‌بیان در رتبه‌های بعدی قرار گرفتند. استفاده از جلبک‌های دریایی از چند دهه گذشته به‌طور چشمگیری افزایش یافته است (Jimenez-Escrig and Sanchez-Muniz, 2000). کاربرد جلبک‌دریایی، به‌عنوان یک روش بالقوه برای سرکوب نماتدهای انگل گیاهی مطرح شده است. گزارش‌های متعددی حاکی از آن است که برخی از گونه‌های جلبک دریایی، سبب مهار تولیدمثل نماتد می‌شوند (Featonby-Smith and van staden, 1983; Paracer et al., 1987; Whapham et al., 1994; Wu et al., 1997 and De Waele et al., 1998). مطالعات مشابهی که روی استفاده از جلبک‌ها متمرکز شد، مشخص نمود که کاربرد آن‌ها باعث کاهش قابل توجهی در جمعیت نماتد انگل گیاهی (*Meloidogyne* spp.) بامیه‌های آلوده گردیده و همچنین سبب سرکوب نماتد ریشه گرهی گوجه‌فرنگی *M. javanica* شدند (Ara et al., 1996).

جدول ۵- مقایسه میانگین تأثیر عصاره‌های جلبک دریایی وتلخ بیان بر شاخص‌های تولیدمثلی نماتد ریشه گرهی گوجه‌فرنگی *Meloidogyne incognita* در رقم ارلی اوربانا

Table 5. Means Comparison of effect of seaweed and pagoda extracts on reproduction parameters of tomato plant var. Early Urbana infected with root-knot nematode, *Meloidogyne incognita*

Treatments	Gall/g of root	Egg mass/g of root	Egg/of root	J_2/100 g soil	RF
Nematode	9.75[a]	20.75[a]	4.15[a]	2.35[a]	4.82[a]
Seaweed	3.25[b]	14.25[b]	4.08[b]	2.15[c]	2.15[bc]
Pagoda tree	5.50[b]	15.50[b]	4.08[b]	2.25[b]	2.70[b]
Rugby	0.50[c]	2.25[c]	4.02[c]	2.07[c]	1.12[c]
SEM	0.92	1.79	0.012	0.027	0.38

Means followed by the same latter, in each column are not significantly different (P>0.05).

گونه‌های مختلف جلبک‌دریایی فعالیت نماتدکشی متفاوتی نشان داده‌اند (Zaki, 2005). در تحقیقی، نقش بتائین موجود در عصاره جلبک‌دریایی قهوه‌ای (*Ascophyllum nodosum*) مانع از باروری نماتدهای ریشه گرهی گوجه‌فرنگی *M. javanica* و *M. incognita* شدند (Wu et al., 1997). استفاده از عصاره جلبک‌دریایی به خاک گیاهان *Arabidopsis thaliana* در مقایسه با خاک‌های تیمار نشده، تعداد نماتدهای ماده *M. javanica* و تعداد تخم آن را به میزان قابل توجهی کاهش داد. ماده بتائین موجود در عصاره، مسئول القای واکنش دفاعی در *A. thaliana* و *L. esculentum* (گوجه‌فرنگی) در برابر نماتد ریشه گرهی معرفی شده است (Wu et al., 1998).

عصاره‌های به کار گرفته شده در این پژوهش، اثرات ضد نماتدی از خود نشان دادند. مطالعات متعددی گویای فعالیت نماتدکشی عصاره جلبک دریایی بوده به نحوی که این عصاره حاوی ترکیبات تأثیرگذار روی نماتدهای انگل گیاهی معرفی شده است (Fornes et al., 2002; Vernieri et al., 2005; Gil-Chavez et al., 2013). نتایج گلخانه‌ای به دست آمده با نتیجه یک آزمایش گلخانه‌ای که تاثیر تلقیح گیاه بادمجان با شش گونه جلبک‌دریایی قهوه‌ای (*Cystoseria myrica*، *Cystoseria trinode*، *Padina pavonia*، *Digenia simplex*، *Caulerpa serrulata* و *Thallathodendron ciliatum*) در تکثیر نماتد ریشه گرهی *M. incognita* را بررسی کرده‌اند، مطابقت نشان داده است. هر شش گونه جلبک‌دریایی سبب کاهش گال ریشه شده گردیده و تعداد تخم‌ها در سیستم ریشه تلقیح یافته با عصاره‌های جلبک‌دریایی به طور قابل ملاحظه‌ای کاهش یافت (Afia and El-Nuby, 2016). هچنین نتایج مطالعه حاضر با نتایج Ibrahim et al. (2007) مشابهت داشت به گونه‌ای که در گیاهان آفتابگردان تیمار شده با جلبک‌های دریایی، کاهش گال ریشه و توده‌های تخم نماتد *M. incognita* و هم‌چنین افزایش شاخص‌های رشدی گیاه مشاهده گردید (Ibrahim et al., 2007). بر اساس گزارش موجود، پودر خشک جلبک‌دریایی قهوه‌ای، نماتد انگل گیاهی را روی گوجه‌فرنگی سرکوب نموده است (Sultana et al., 2009). تحقیقات صورت گرفته نشان داده است که ترکیبات فعال زیستی موجود در *A. nodosum* ، سبب تحریک پاسخ‌های دفاعی گیاه علیه بیمارگرهای مختلف می‌شود (Patier et al., 1995; Sharma et al., 2014).

نتایج به دست آمده در این پژوهش در مورد تلخ بیان، مؤید تحقیقات انجام شده در این زمینه بود. به نحوی‌که تلخ‌بیان از خاصیت ضدنماتدی علیه لارو *M. incognita* برخوردار بوده است (Nidiry et al., 1993). این اثرات در مورد نماتدهای دیگر نیز مشاهده گردیده است. طبق گزارش ارائه شده، ماترین یافت شده در جنس *Sophora* دارای اثرات نماتدکشی علیه نماتد چوب کاج می‌باشد (Kazuhiko et al., 1991). عصاره تلخ‌بیان به آسانی در آب و خاک تجزیه شده و از لحاظ زیست محیطی بسیار ایمن می‌باشد (Zheng, 2014). گونه‌های تلخ‌بیان سرشار از مواد آلکالوئید هستند (McDougal et al., 2015). اثرات ضد لاروهای نماتد به عنوان خاصیت مهم آن‌ها مطرح شده است (Wang et al., 2010). اصلی‌ترین ترکیبات فعال زیستی موجود در گیاه تلخ بیان، آلکالوئیدها، فلاونوئیدها، روغن‌های فرّار و کینون‌ها هستند (Huang et al., 2016). گزارشی از آلکالوئید جدا شده از تلخ‌بیان، که دارای اثرات نماتدکشی قابل توجهی روی نماتد مدل *Caenorhabditis elegans* می‌باشد، ارائه شده است. نتایج حاصله نشان داده است که این ترکیبات باعث اختلال رفتاری نظیر انقباض عضله و کاهش اندازه لارو می‌شوند. به دنبال آن، ظرفیت تولیدمثل نماتد کاهش یافته و طول عمر کوتاه تری دارد. اختلال در متابولیسم *C. elegans* اثبات‌کننده این مدعاست. با این حال، جهت روشن شدن دقیق

سازوکارها، انجام آزمایش‌های بیشتر توصیه شده است (Yan-Ping et al., 2018). آلکالوئیدهای جدا شده از تلخ‌بیان، فعالیت ضدنماتدی روی نماتد چوب کاج *Bursaphelenchus xylophilus* داشته است (Zhao, 1999).

بر اساس نتایج پژوهش حاضر، عصاره‌های مورد آزمون می‌توانند جهت کنترل نماتد ریشه گرهی مفید واقع شوند به گونه‌ای که سبب افزایش شاخص‌های رشدی گیاه شامل طول ساقه و ریشه، وزن تر و خشک ساقه و ریشه و همچنین تقلیل شاخص‌های آلودگی نماتد نظیر تعداد گال و لارو سن دوم شوند. انجام تحقیقات بیش‌تر می‌تواند مشخص‌کننده ویژگی‌های هر عصاره و نحوه‌ی اثر آنها باشد. پیشنهاد می‌شود کاربرد این ترکیبات در شرایط گلخانه‌های تجاری و مزارع در مطالعات تکمیلی مورد بررسی قرار گیرد تا در آینده بتوان استفاده از آنها را جهت مدیریت نماتد ریشه گرهی و در تلفیق با سایر روش‌های کنترل توصیه نمود.

سپاس‌گزاری

بدین‌وسیله از حمایت‌های مالی و امکانات فراهم شده توسط دانشگاه گیلان تشکر و قدردانی می‌گردد.

REFERENCES

Afia, A.I., and El-Nuby, A.S.M. 2016. Seaweeds as a managing approach for Root-Knot nematode disease. EgyptianJournal of Agronematology, 15(2): 95-108.

Alikarami, M., Charehgani, H., and Abdollahi, M. 2017. Nematicidal activity of some plant extracts on root-knot nematode on tomato (*Solanum lycopersicum*) in vitro and in vivo conditions. Iranian Journal of Plant Protection Science, 48(2): 317-326.

Ara, J., Ehteshamul-Haque, S., Sultana, V., Qasim, R., and Gaffar, A. 1996. Nematicidal activity of seaweeds against *Meloidogyne javanica* root-knot nematode. Pakistan Journal of Nematology, 14: 129-131.

Azhar, R.M., and Seddiqu, M. 2007. Nematicidal effect of some botanical against root-knot nematode (*Meloidogyne javanica*) on tomato. International Journal of Plant Sciences, 2: 49-52.

Bahmanziari, M., Olia, M., and Heidari, F. 2017. Effects of four medicinal plant on Root-Knot nematode (*Meloidogyne javanica*) infecting tomato. Plant Protection (Scientific Journal of Agriculture), 40(2): 1-12.

Behnamian, M., and Masiha, S. 2002. Tomato (*Lycopersicon esculentum*) Setoudeh Publication, Tabriz, Iran, P: 110.

Blunden, G. 1991. Agricultural uses of seaweeds and seaweed extracts. Seaweed resources in Europe, 65-81.

Catherine, A., Jenklns, T., Blunden, G., and Hanklns, D. 1994. The role of seaweed extracts *Ascophyllum nodosum* the reduction in fecundity of *Meloidogyne javanica*. Fundamental and Applied Nematology, 17(2): 181-183.

Craigie, J.S. 2011. Seaweed extract stimuli in plant science and agriculture. Journal of Applied Phycology, 23(3): 371-393.

De waele, D., Mcdonald, A.H., and De waele, E. 1988. Influence of seaweed concentrate on the reproduction of *Pralyienchus zeae* (Nematoda) on maize. Nematologica, 34(1): 71-77.

Eisenback, J.D., and Triantaphyllou H.H. 1991. Root-knot nematodes: *Meloidogyne* species and races, Manual of Agricultural Nematology, 1: 191-274.

Elansary, M.S.M., and Hamoda, R.A. 2014. Biocontrol of Root- Knot Nematode Infected Banana Plants by Some Marine Algae. Russian Journal of Marine Biology, 40(2): 140-146.

Featonby smith, B.C., and van Staden, J. 1983. The effect of seaweed concentrates on the growth of tomato plants in nematode infested soil. Scientia Horticulturae, 20(2): 137-146.

Fornes, F., Sanchez-Perales, M., and Guadiola, J.L. 2002. Effect of a seaweed extract on the productivity of ‘de Nules’ clementine mandarin and navelina orange. Botanica Marina, 45(5): 486-489.

Frioni, T., Sabbatini, P., Tombesi, S., Norrie. J., Poni, S., and Gatti, M. 2018. Effects of a biostimulant derived from the brown seaweed *Ascophyllum nodosum* on ripening dynamics and fruit quality of grapevines. Scientia Horticulturae, 232: 97-106.

Ghareeb, R.Y., Adss, I.A., Bayoumi, S.R., and Elhabashy, D.E. 2019. The nematicidal potentiality of some algal extracts and their role in enhancement the tomato defense genes against root. Egyptian Journal of Biological Pest Control, 29: 53.

Gil-Chavez, J., Fernando, J., Basilio Heredia, J., Sepulveda, D., and Gonzalez-Aguilar A. 2013. Technologies for extraction and production of bioactive compounds to be used as nutraceuticals and food ingredients: an overview. Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety, 12(1): 5-23.

Hasabo, S.A., and Noweer, E.M.A. 2005. Management of root-knot nematode *Meloidogyne incognita* on eggplant with some plant extracts. Egyptian Journal of Phytopathology, 33: 65-72.

Hassanzadeh, H. 2005. The use of natural material plant technology with special emphasis on the management of fire blight, Journal of Agricultural Science, 1: 67-53.

Huang, Y.X., Wang, G., Zhu, J., Zhang, R., and Zhang, J. 2016. Traditional uses phytochemistry and pharmacological properties of *Sophora alopecuroides*. European Journal of Inflammation, 14(2): 128-132.

Ibrahim, I.K.A., EL-Saedy, M.A.M., and Asmaa, A.A. 2007. Control of the root–knot nematode *Meloidogyne incognita* on sunflower plants with certain organic plant materials and biocontrol agents. Egyptian Journal of Phytopathology, 35(1): 13- 24.

Jannin, L., Arkoun, M., Etienne, P., Laine, P., Goux, D., and Garnica, M. 2013. Brassica napus growth is promoted by *Ascophyllum nodosum* (L). Le Jol. Seaweed extract: microarray analysis andphysiological characterization of N, C, and S metabolisms. Journal of Plant Growth Regulation, 32(1): 31-52.

Javed, S. 2018. Nematicidal effects of *Datura innoxia* and *Sophora alopecuroides* from balochistan for environmentally friendly control of plant parasitic nematodes. University of Karachi. Pakistan.

Jenkins, W.R. 1964. Arapid centrifugal-floatation technique for separating nematode from soil. Plant Disease Reporter, 48-692.

Jepson, S.B. 1987. Identification of root-knot nematodes (*Meloidogyne species*). CAB International, Wallingford, UK, 265 pp.

Jimenez, E., and Sanchez-Muniz, F.J. 2000. Dietary fiber from edible seaweeds chemical structure physiochemical properties and effects on cholesterol metabolism. Nutrition Research, 20(4): 585-598.

Kazuhiko, M., Yamada, K., Kimura, M., and Hamada, M. 1991. Nematicidal activity of matrine and its derivatives against pine wood nematodes". Journal of agricultural and food chemistry, 39(1): 189-191.

Khan, S., Abid, M., and Hussain, F. 2015. Nematicidal activity of seaweeds against *Meloidogyne javanica.* Pakistan Journal of Nematology, 33(2): 195-203.

Khan, W., Rayirath, U.P., Subramanian, S., Mundaya, N., and Jithesh, M.N. 2009. Seaweed extracts as biostimulants of plant growth and development. Journal of Plant Growth Regulation, (28): 386-399.

Kingman, A.R., and Moore, J. 1982. Isolation, purification and qualification of several growth regulating substances in *Ascophyllum nodosum* (Phaeophyta). Botanica Marina, 25(4): 149-154.

Lamberti, F., Sasoneli, N., Daddabbo, T., Ciccarese, A., and Schiavone, D. 2004. Relationship between plant parasitic nematods and *Verticillium dahliae* in olive. In IV International Symposium on Olive Growing, 586: 749-752.

Ludwig, M.J. 2000. Indole-3-butyric acid in plant growth and development. Plant Growth Regul, 32: 219-230.

McDougal, O.M., Heenan, P.B., and Jaksons, P. 2015. Alkaloid variation in New Zealand kowhai, *Sophora* species. Phytochemistry, 118: 9-16.

Mousa, E.M., Mahdy, M.E., and Younis, D.M. 2011. Evaluation of some plant extracts to control root-knot nematode *Meloidogyne* spp. on tomato plants. Egyptian Journal of Agronomy, 10: 1-4.

Muosavi, S.H., Motaez, M., Zamiri-Akhlaghi, A., Emami, S.A., Tayarani, Z., and Najaran, Z. 2014. In Vitro Evaluation of cytotoxic and apoptogenic properties of *Sophora Pachycarpa*. Iranian Journal of Pharmaceutical Research, 13: 73-665.

Nasresfahani, M., and Ahmadi, A. 2010. Principles and foundations of plant nematology. Publisher: Agricultural education and promotion, 336p. (In Farsi).

Nidiry, E.S.J., Khan, R.M. and Reddy, P.P. 1993. In vitro nematicidal activity of *Gloriosa superba* seed extract against *Meloidogyne incognita*. Nematologia Mediterranea, 21: 127-28.

Norrie, J., Branson, T., and Keathley, P.E. 2002. Marine plant extracts impact on grape yield and quality. International Symposium on Foliar Nutrition of Perennial Fruit Plants, 594: 315-319.

Oka, Y.N., Putievsky, S., Ravid, E., Yaniv, U., and Speigel, Y. 2000. Nematicidal activity of essential oils and their components against the root-knot nematode, Phytophatology, 90:710-715.

Oostenbrink, M. 1966. Major characteristics of the relation between nematode and plants. Medad. Landbouwhogesch.Wageningen, 66(4): 1-46.

Patier, P., Potin, P., Rochas, C., Kloareg, B., Yvin, J., and Licnart, Y. 1995. Free or silica-bound oligokappa-carrageenans elicit laminarinase activity in Rubus cells and protoplasts. Plant Science, 9452: 27-35.

Paracer, S., Tarjan, A.C., and Hodgson, L.M. 1987. Effective use of marine algal products in the management of plant-parasitic nematodes. Journal of nematology, 19(2), 194.

Peyvast, G. 2007. Vegetabele Production. 4thed, Daneshpazir Press, Rasht, 362 p.

Qamar, F., Begum, S., Wahab, A., and Siddiqui, B.S. 2005. Nematicidal natural products from the aerial parts of Lantana camara Linn. Natural product research, 19(6), 609-613.

Ragaa, A.H., and El ansary, M.S.M. 2017. Potential of plant parasitic nematode control in banana plants by microalgae as a new approach towards resistance. Egyptian Journal of Biological Pest Control, 27(2): 165-172.

Sabir, A., Yazar, K., Sabir, F., Kara, Z., Yazici, M.A., and Goksu, N. 2014. Vine growth, yield, berry quality attributes and leaf nutrient content of grapevines as influenced by seaweed extract (*Ascophyllum nodosum*) and nanosize fertilizer pulverizations. Scientia Horticulturae, 175, 1-8.

Sasser. J.N., and Carter, C.C. 1985. An Advanced Treatise on *Meloidogyne.* Vol. I: Biology and Control. North Carolina State University Graphics, 422 p.

Sasser, J.N. 1989. Plant parasitic nematodes. The farmer's hidden enemy. Department Plant Pathology, North Carolina State University, Raleigh, US, pp: 115.

Sharma, H.S.S., Fleming, C., Selby, C., Rao, J.R., and Martin, T. 2014. Plant biostimulants a review on the processing of macroalgae and use of extracts for crop management to reduce abiotic and biotic stresses. Journal of applied phycology, 26(1): 465-490.

Sultana, V., Baloch, G.N., Ara, J., and Ehteshamul-Haque, S. 2011. Seaweeds as an alternative to chemical pesticides for the management of root diseases of sunflower and tomato. Journal of Applied Botany and Food Quality, 84: 162-168.

Sultana, V., Ehteshamul-Haque, S., Ara, J., and Athar, M. 2009. Effect of brown seaweeds and pesticides on root rotting fungi and root-knot nematode infecting tomato roots. Journal of Applied Botany and Food Quality, 83: 50-53.

Trivedi, P.C. 2003. Plant Protection a biocontrol Approach, Avishkar; Publishers, Distributors, India, 1320.

Trudgill, D.L. 1992. Resistance to and tolerance of plant parasite nematodes in plants. Annual Review of Plant Pathology, 29: 167-192.

Tsay, T., Wu, S., and Lin, Y. 2004. Evaluation of Asteraceae Plants for Control of *Meloidogyne incognita*. Journal of Nematology, 36: 36-41.

Van Oosten, M.J., Pepe, O., De Pascale, S., Sillett, S., and Maggio, A. 2017. The role biostimulants and bioeffectors as alleviators of abiotic stress in crop plant. Chemical and Biological Technologies in Agriculture, 4(1): 5.

Vernieri, P., Borghesi, E., Ferrante, A., and Magnani, G. 2005. Application of biostimulants in floating system for improving rocket quality. Journal of Food, Agriculture and Environment, 3: 86-88.

Vrain, T.C. 1976. A Technique for the Collection of Larvae of *Meloidogyne* spp. and a Comparison of Eggs and Larvae as Inocula. Former graduate student, Department of Plant Pathology, North Carolina State University, Raleigh, NC 27607.

Wang, G.X., Zhou, Z., and Jiang, D.X. 2010. In vivo anthelmintic activity of five alkaloids from *Macleaya microcarpa* (Maxim) Fedde against *Dactylogyrus intermedius* in Carassius auratus [J]. Veterinary Parasitology, 171(3-4): 305-313.

Whapham, C.A., Jenkins, T., Blunden, G., and Hankins, S. 1994. The role of seaweed extracts, *Ascophyllum nodosum*, in the reduction in fecundity of *Meloidogyne javanica*. Fundamental and Applied Nematology, 17: 181-183.

Wu, Y., Jenkins, T., Blunden, G., von Mende, N., and Hankins, S.D. 1998. Suppression of fecundity of the root-knot nematode, *Meloidogyne javanica*, in monoxenic cultures of *Arabidopsis thaliana* treated with an alkaline extract of *Ascophyllum nodosum*. The Journal of Applied Phycology, 10: 91-94.

Wu, Y., Jenkins, T., Blunden, G., Whapham, C., and Hankins, S.D. 1997. The role of betaines in alkaline extracts of *Ascophyllum nodosum* in the reduction of *Meloidogyne javanica* and *M. incognita* infestations of tomato plants. Fundamental and Applied Nematology. 20: 99-102.

Xiong, X., Li, S.Q.L., Guo, Z., Ma, Q., and Zhang, X. 2015. Effect of *Sophora alopecuroides* alkaloids on tomato growth and fruit quality. Science Agricultural Sinica. 8: 1737-1746.

Xiong, X., Mana, Y., Leileia, F., Zhi-qinga, M., and Xing, Z. 2016. The botanical pesticide derived from *Sophora flavescens* for controlling insect pests can improve growth and development of tomato plant. Industrial Crops and Products, 92: 3-18.

Yan-Ping, L., Yuan, Z., Hui-Min, Z., Hong, Z., and Hong-Juan, Y.U. 2018. Anti-parasitic effects of water-soluble alkaloid fractions fromn ethanolic extracts of *Sophora moorcroftiana* seeds in *Caenorhabditis elegans*. Chinese Journal of Natural Medicines, 16(9): 665-673.

Zaki, M.J., Amer-Zareen, S.A., and Khan, M.Q. 2005. Effect of seaweeds on the efficacy of *Pasteuria penetrans* in the control of root-knot nematode, *Meloidogyne javanica* in eggplant. International Journal of Psychology and Psychological Therapy, 1: 65-72.

Zheng, W. 2014. The behavior of marine in soil and water environment and its effect on soil microorganisms. Shaanxi, Northwest Agriculture and Foresty University, 128 p.

Zhao, B.G. 1999. Nematicidal activityof quinolizidine alkaloids and the functional group pairs in their molecular structure. Journal of Chemical Ecology, 25: 2205-2214.

Zhou, L. 2009. The progress about the biological activity of matrine andoxymatrine. Journal of Agricultural Science and Technology, 6: 66–68.

© 2021 Shahid Chamran University of Ahvaz, Ahvaz, Iran. This article is an open access article distributed under the terms and conditions of the Creative Commons Attribution-NonCommercial 4.0 International. (CC BY-NC 4.0 license) (http://creativecommons.org/licenses/by-nc/4.0/).

The effects of Seaweed (*Ascophyllum nodosum*) and Pagoda tree (*Sophora alopecuroides*) extracts on tomato root-knot nematode (*Meloidogyne incognita*)

P. Alizadeh [1], S. Jamali [2]* and S. Mousanejad [3]

1. M.Sc. student of Plant Pathology, Department of Plant Protection, Faculty of Agricultural Sciences, University of Guilan, Iran
2. ***Corresponding Author:** Associate Professor, Department of Plant Protection, Faculty of Agricultural Sciences, University of Guilan, Iran (jamali@guilan.ac.ir)
3. Assistant Professor, Department of Plant Protection, Faculty of Agricultural Sciences, University of Guilan, Iran

(DOI): 10.22055/PPR.2021.16779

Received: 10 January 2021 Accepted: 8 May 2021

Abstract

Background and Objective

Root-knot nematodes (*Meloidogyne* spp.) are among the most important pathogens which cause great damage to the agricultural products. However, only a few methods such as crop rotation, resistant cultivars, and chemical compounds were approved for their control so far. Considering their environmental hazards and the relatively high price of chemical compounds, using non-chemical methods such as the application of plants and plant extracts for the nematode management increased. This study aimed to investigate the inhibitory effects of seaweed (*Ascophyllum nodosum*), and pagoda tree (*Sophora alopecuroide*s) extracts on the activity of root-knot nematode (*Meloidogyne incognita*), including eggs hatching inhibition and second-stage juveniles (J2) mortality through the laboratory and greenhouse conditions.

Materials and Methods

After the sampling, the morphological properties of isolated nematodes were characterized and the species determined. Three different concentrations of each extract were used in three replications in laboratory tests. Egg hatching and second juvenile mortality (*M. incognita*) were evaluated after 24, 48, and 72 hours. In the greenhouse tests, two months after the inoculation, some plant growth traits (fresh shoot weight, fresh root weight, stem length) and nematode-related characteristics (number of galls, egg mass, and reproduction factor) were measured. The experiments were repeated twice, and the mean of two-step data was used for the statistical analysis. The analysis was performed using SAS software, and the comparison of means was achieved by the Tukey test.

Results

The laboratory results showed that the rate of egg hatching inhibition and mortality of J2 were directly related to the concentrations of applied extracts. Moreover, the results indicated that there was a significant difference among the treatments. The highest assessed percentage of larval mortality and hatching inhibition was observed in the seaweed extract application with 4/1000 concentration and pagoda tree extract with 1.5/1000 concentration, respectively. According to greenhouse results, the mean

mortality of nematodes (J2) in seaweed, pagoda tree, and cadusafos nematicide was 66.80%, 35.81%, and 85.31%, respectively. Furthermore, the addition of plant extracts reduced the reproduction of root-knot nematodes in the infected tomato plants. The highest growth factors were observed on the nematode-free plant when seaweed extract was inoculated to the plant. In the nematode-infected tomato plants, all treatments which were applied to potting soil caused a significant increase in fresh shoot weight.

Discussion

The results indicated the positive effects of the studied treatments of Seaweed and Pagoda tree extracts and are promising for using plant extracts to control tomato root-knot nematode in greenhouses, the point that can be considered in the management of this nematode in greenhouse crops and combination with other control methods.

Keywords: Extracts, Management, Root-knot nematode