

## اثرات نماتد ریشه‌گرهی (*Meloidogyne javanica*) بر روی گیاه دارویی بادرنجبویه (*Melissa officinalis* L.)

فاطمه ابن‌علی سامانی<sup>۱</sup>، مجید اولیاء<sup>۲\*</sup>، علی‌اکبر فدایی تهرانی<sup>۳</sup> و کامکار جایمند<sup>۴</sup>

- ۱- دانشجوی سابق کارشناسی ارشد بیماری‌شناسی گیاهی، گروه گیاهپزشکی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه شهرکرد
  - ۲- نویسنده مسوول: استادیار بیماری‌شناسی گیاهی، گروه گیاهپزشکی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه شهرکرد، (Olia100@yahoo.com)
  - ۳- استادیار بیماری‌شناسی گیاهی، گروه گیاهپزشکی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه شهرکرد
  - ۴- استاد پژوهش بخش گیاهان دارویی، موسسه تحقیقات جنگل‌ها و مراتع کشور
- تاریخ دریافت: ۱۳۹۱/۱۲/۱۶ تاریخ پذیرش: ۱۳۹۲/۰۹/۲۳

### چکیده

بادرنجبویه با نام علمی *Melissa officinalis* L. از جمله گیاهان دارویی مفید است که سابقه طولانی در درمان بیماری‌های مختلف دارد. در این پژوهش ضمن ارزیابی بیماری‌زایی نماتد ریشه‌گرهی *Meloidogyne javanica* (Treub, 1885) Chitwood, 1949 بر گیاه بادرنجبویه، اثر سطوح مختلف مایه تلقیح اولیه نماتد روی شاخص‌های رشدی گیاه و تکثیر نماتد بررسی گردید. ترکیبات شیمیایی موجود در اسانس برگ‌های گیاه ۹۰ روز پس از تلقیح با نماتد مذکور، توسط دستگاه کروماتوگرافی گازی متصل به طیف سنج جرمی (GC/MS) بررسی گردید. نتایج حاصل نشان دهنده حساسیت بادرنجبویه به این گونه از نماتد ریشه‌گرهی بود. با افزایش سطح جمعیت نماتد، وزن تر و خشک اندام هوایی، طول اندام هوایی و ریشه کاهش یافت. فاکتور تولید مثل نماتد با سطوح جمعیت تلقیح شده رابطه معکوس داشت، به نحوی که بیشترین مقدار عددی فاکتور تولیدمثل در کمترین سطح جمعیت تلقیح شده و کمترین مقدار آن در بیشترین سطح جمعیت نماتد، بدست آمد. (Z)- $\alpha$ -terpinene, carophyllene oxide,  $\alpha$ -humulene, borneol, hydroxyl citronellal, caryophyllene, dihydrocitronellolacetate و citronellol, trans-carveol, trans-pulegol isoborneol از جمله ترکیباتی بودند که مقدار آنها در گیاهان مایه‌زنی شده با نماتد نسبت به شاهد افزایش نشان داد.

کلید واژه‌ها: *Meloidogyne javanica*، *Melissa officinalis*، ترکیبات شیمیایی و کروماتوگرافی

### مقدمه

فنون کشاورزی و تقاضای بازارهای جهانی، در حال گسترش می‌باشد (پارک و همکاران<sup>۱</sup>، ۲۰۰۵). بادرنجبویه با نام علمی *Melissa officinalis* L. گیاهی از خانواده‌ی Lamiaceae است که خواص درمانی متعددی همچون ممانعت از بیماری آلزایمر، ضد سرطان، ضد ویروس، درمان و پیشگیری‌کننده از برونشیت، آرام‌بخش، ضد التهاب و آسم، کاهنده‌ی تب، تقویت‌کننده‌ی قلب و غیره می‌باشد (ادزت<sup>۲</sup> و همکاران،

سابقه استفاده از گیاهان دارویی به منظور درمان بیماری‌های جسمی و روحی به شروع تاریخ زندگی انسان برمی‌گردد و اهمیت این گیاهان و آثار شفابخشی آنها همواره از مباحث مهم پزشکی بوده است. در سال‌های اخیر با توجه به مشخص شدن اثرات زیان‌آور داروهای شیمیایی، استفاده از گیاهان دارویی در صنعت داروسازی روند رو به رشدی طی کرده است. به همین دلیل کشت و کار گیاهان مذکور به موازات رشد روز افزون علوم و

1- Park et al

2- Adzet et. al

ابن علی سامانی و همکاران: اثرات نماتد ریشه گرهی...

از نظر انتشار، دومین گونه‌ی شایع این جنس در جهان محسوب می‌شود (هیرشمن<sup>۷</sup>، ۱۹۸۵؛ جیپسون<sup>۸</sup>، ۱۹۸۷؛ پارک<sup>۹</sup> و همکاران، ۲۰۰۵).

حاسب و پندی<sup>۱۰</sup> (۱۹۹۵) با مطالعه روی گیاهان دارویی مختلف هشت گونه گیاه دارویی متعلق به هفت خانواده را برای اولین بار به عنوان میزبان گونه‌های نماتدهای ریشه گرهی *Meloidogyne spp.* گزارش نمودند. نتایج حاصل از بررسی عکس‌العمل گیاهان دارویی مختلف (شامل *Gautheria*، *Cinochona officinalis fragrantissima*، *Solanum citroidora*، *Eucalyptus khazianum*) در برابر گونه‌های رایج نماتد ریشه گرهی، نشان‌دهندهٔ غالبیت *Meloidogyne hapla* از نظر بیماری‌زایی روی گیاهان مذکور بوده است (سیواکومار و وادیولو<sup>۱۱</sup>، ۱۹۹۷). در بررسی اثر چندین نماتد پارازیت گیاهی بر روی رشد و نمو گیاه ریحان، گونه‌های *Belonolaimus*، *M. incognita* و *Pratylenchus scribneri* و *longicaudatus* بیشترین جمعیت را در اطراف ریشه گیاه مذکور داشته و باعث کاهش قابل توجهی در عملکرد اندام‌های هوایی گیاه میزبان شدند (رودس<sup>۱۲</sup>، ۱۹۹۸). در هند شیلا<sup>۱۳</sup> و همکاران (۱۹۹۸) با مطالعه نماتدهای انگل همراه با ریشه گیاهان دارویی، نماتدهای ریشه گرهی و گونه‌های مختلف جنس *Helicotylenchus* را از مهم‌ترین نماتدهای انگل در این گیاهان گزارش کردند. تحقیقات انجام شده روی نماتدهای انگل گیاهی به ویژه نماتدهای ریشه گرهی در مزارع گیاهان دارویی در پاکستان نشان‌دهندهٔ آلودگی شدید بعضی از گیاهان دارویی (برای

۱۹۹۲؛ لیونگ<sup>۱</sup> و همکاران، ۲۰۰۳؛ اسپریگز<sup>۲</sup>، ۱۹۹۲؛ توت<sup>۳</sup> و همکاران، ۲۰۰۳). روغن‌های فرار شامل سیترال (نرال و گراینال)، سیترونال، لینولال، ژرانیول و بتاکاریوفیلین اکسید از مهم‌ترین ترکیبات این گیاه می‌باشند. فلاونوئیدها، اسیدهای فنولیک، ترپن‌ها، اسید رزماریک، اسید کافئیک، تاتن‌ها و ویتامین‌های B و C از دیگر ترکیبات این گیاه می‌باشند (فرانک<sup>۴</sup>، ۱۹۷۸؛ ریبیرو<sup>۵</sup> و همکاران، ۲۰۰۱).

با توجه به استفاده فراوان از گیاهان دارویی و ترکیبات طبیعی آن‌ها در صنایع دارویی، غذایی و آرایشی و بهداشتی، تحقیقات بنیادی و کاربردی در زمینه آفات و بیماری‌های این گیاهان به عنوان یک گام موثر در روند افزایش کیفیت و کمیت تولیدات گیاهان دارویی امری ضروری به نظر می‌رسد.

در میان عوامل بیماری‌زای گیاهی، نماتدهای انگل توانایی بیماری‌زایی بالایی داشته و میزان خسارت آن‌ها سالیانه حدود صد بلیون دلار برآورد شده است (اوکا و همکاران<sup>۶</sup>، ۲۰۰۰ و پارک و همکاران، ۲۰۰۴). از مهم‌ترین گروه نماتدهای انگل گیاهی، نماتدهای ریشه گرهی *Meloidogyne spp.* می‌باشند که به دلیل انتشار در دامنه‌ی جغرافیایی وسیع، تاثیر متقابل با سایر عوامل بیماری‌زای گیاهی و دامنه‌ی میزبانی گسترده از عوامل بیماری‌زای مهم گیاهی محسوب می‌شوند. فعالیت این گروه از عوامل بیماری‌زا بر روی ریشه گیاهان و عکس‌العمل گیاه میزبان، موجب ایجاد گره روی ریشه و اختلال در جذب آب و مواد غذایی در گیاه می‌گردد. گونه‌ی *Meloidogyne javanica* از گونه‌های شایع در جهان است که تقریباً در تمام نقاط دنیا وجود داشته و

7- Hirschmann

8- Jepson

9- park

10- Haaseb & Pandey

11- Sivakumar & Vadivelu

12- Rhoades

13- Sheel

1- Leung *et. al*

2- Spriggs

3- Thot

4- Franke

5- Ribiero

6- Oka

چهار برگی گوجه‌فرنگی رقم راتجرز<sup>۳</sup> که در گلدان حاوی ۵۰۰ گرم خاک سترون در شرایط گلخانه رشد کرده بود، قرار داده شد. پس از گذشت ۶۰ روز، استخراج نماتد از ریشه‌های آلوده با استفاده از هیپوکلریت سدیم ۱۵٪ تجارتي به روش هوسی و بارکر<sup>۴</sup> (۱۹۷۳) انجام گردید. جهت شناسایی نماتد از روش‌های ریخت‌شناسی، ریخت‌سنجی و ملکولی استفاده گردید. در روش ریخت‌شناسی، با تهیه برش از انتهای بدن نماتد ماده به روش تیلور و نشتر<sup>۵</sup> (۱۹۷۴)، الگوی شبکه کوتیکولی، اندازه شکاف تناسلی و فاصله آن با مخرج در زیر میکروسکوپ نوری بررسی گردید. از خصوصیات ریخت‌سنجی لاروهای سن دوم (J2) نماتد نیز استفاده شد. برای استفاده از خصوصیات مولکولی جهت تأیید شناسایی نماتد، ضمن استخراج DNA به روش سیلوا و همکاران<sup>۶</sup> (۲۰۰۰) از تکثیر توالی‌های اختصاصی با دو جفت آغازگر اختصاصی OPAFjav / OPARjav و Mjavr / Mjavf معرفی شده توسط زیلسترا و همکاران<sup>۷</sup> (۲۰۰۰) در واکنش زنجیره‌ای پلی‌مراس استفاده شد.

### بررسی تأثیر بادرنجبویه بر شاخص‌های بیماری‌زایی *M. javanica*

جهت تعیین حساسیت بادرنجبویه به نماتد ریشه‌گرهی در یک بررسی اولیه مشاهده‌ای تعداد پنج گیاه چهار هفته‌ای با ۵۰۰۰ تخم و لارو سن دوم *M. javanica* مایه‌زنی شده و دو ماه بعد شاخص گال (GI) در سیستم ریشه براساس سیستم تیلور و ساسر (۱۹۷۸)، تعداد تخم در کل سیستم ریشه گیاه و جمعیت لارو سن دوم نماتد در ۲۰۰ گرم خاک هر گلدان اندازه‌گیری، و فاکتور تولیدمثل نماتد با استفاده از فرمول  $Rf = \frac{Pf}{Pi}$  محاسبه، و با گیاهان شاهد مقایسه گردید.

مثال آلوده‌ورا با *M. incognita* با گونه‌های مختلف نماتدهای ریشه‌گرهی بوده است (تریگ و همکاران<sup>۱</sup>، ۲۰۰۷). مودند. والکر<sup>۲</sup> (۱۹۹۵) نیز ضمن مطالعه اثر نماتد *M. incognita* بر روی تعدادی از گیاهان دارویی، حساسیت این گیاهان از جمله بادرنجبویه را به نماتد مذکور گزارش کرده است.

گونه *M. javanica* در ایران از نظر پراکندگی و فراوانی در درجه اول اهمیت قرار دارد (دامادزاده، ۱۳۸۶). با این حال اثرات بیماری‌زایی این گروه از عوامل بیمارگر بر روی گیاهان دارویی کمتر مورد بررسی قرار گرفته است. نصر اصفهانی و همکاران (۲۰۰۸)، گیاهان دارویی همیشه بهار، علف‌چای، افسنتین، بابونه، آویشن، مریم‌گلی، رزماری، بادرنجبویه و کرفس را به عنوان گونه‌های حساس نسبت به نماتد *M. javanica* معرفی کردند. همچنین رزاهاشمی و اکبری‌نیا (۲۰۰۸)، منداب، کرچک، بادرنجبویه، زیره سبز و زیره سیاه را به عنوان گونه‌های حساس به نماتد *M. javanica* معرفی نمودند.

هدف از این پژوهش، بررسی بیماری‌زایی و تعیین اثر سطوح مختلف مایه تلقیح اولیه نماتد *Meloidogyne javanica* روی گیاه دارویی بادرنجبویه *Melissa officinalis* و اثرات نماتد بر بعضی ترکیبات شیمیایی گیاه میزبان بوده است.

### مواد و روش‌ها

**تهیه مایه تلقیح و تعیین گونه نماتد ریشه‌گرهی**  
جهت تهیه جمعیت خالص نماتد ریشه‌گرهی، تعدادی ریشه گوجه‌فرنگی آلوده به نماتد ریشه‌گرهی از مناطق مختلف استان چهارمحال و بختیاری جمع‌آوری گردید. در آزمایشگاه تک‌توده تخم‌ها، از ریشه آلوده گوجه‌فرنگی جدا شده و در مجاورت ریشه گیاهچه‌های

3- Rutgers

4- Hussey &amp; Barker

5- Taylor &amp; Netscher

6-Silva et al.

7- Zijlstra et al.

1- Tariq

2- Walker

ابن علی سامانی و همکاران: اثرات نماتد ریشه گرهی...

شد، که این شناسایی با روش مولکولی نیز مورد تایید واقع گردید (زیلسترا و همکاران، ۲۰۰۰).

### تأثیر بادرنجبویه بر شاخص‌های بیماری‌زایی *M. javanica*

بر اساس میانگین گال شمارش شده در ریشه گیاهان بادرنجبویه، دو ماه بعد از مایه‌زنی با نماتد ریشه گرهی و محاسبه فاکتور تولیدمثل، شاخص گال (GI) ۵ و فاکتور تولیدمثل  $0.52 \pm 17/5$  بدست آمد. بنابراین با توجه به درجه‌بندی انجام شده توسط تیلور و ساسر (۱۹۷۸)، (شاخص گال  $(GI > 2)$  و فاکتور تولیدمثل  $(RF > 1)$ ) گیاه بادرنجبویه در گروه گیاهان حساس به *M. javanica* قرار می‌گیرد.

### تأثیر سطوح مختلف جمعیت اولیه *M. javanica* بر بادرنجبویه

نتایج تجزیه واریانس و مقایسه میانگین شاخص‌های رشدی گیاهان تحت تأثیر جمعیت‌های مختلف نماتد، نشان‌دهنده تفاوت معنی‌دار بین تیمارهای مختلف بود. بدین ترتیب که وزن خشک و تر اندام هوایی، طول اندام هوایی و ریشه بادرنجبویه در همه سطوح تلقیحی در مقایسه با شاهد کاهش یافت. در حالی که وزن تر و خشک ریشه نه تنها کاهش نیافت بلکه اندکی نیز افزایش نشان داد (جدول ۱). مایه‌زنی گیاه با ۱۰۰۰ تا ۱۰۰۰۰ تخم و لارو سن دوم نماتد، به ترتیب بین ۱۳/۵ تا ۶۵/۵٪ وزن خشک، ۱۱ تا ۵۰٪ وزن تر و ۱۰ تا ۹۳٪ طول اندام‌های هوایی و بین ۸ تا ۴۴٪ طول ریشه را نسبت به گیاهان شاهد (بدون نماتد) کاهش داد.

کاهش اکثر شاخص‌های رشدی گیاه با افزایش جمعیت نماتد، نشان‌دهنده حساسیت گیاه به خصوص در جمعیت بالای نماتد می‌باشد. رشد ریشه از شاخص‌های مهم متأثر از حمله نماتد بود، به نحوی که کمترین میزان طول ریشه مربوط به تیمار مایه‌زنی شده با ۱۰۰۰۰ تخم و لارو بود. کاهش رشد ریشه می‌تواند به دلیل حمله نماتد

به منظور بررسی تأثیر نماتد بر میزان ترکیبات شیمیایی گیاه، استخراج ترکیبات شیمیایی از برگ‌های گیاه به روش آدامس<sup>۱</sup> (۱۹۸۹) با استفاده از دستگاه کروماتوگراف متصل به طیف‌سنج جرمی<sup>۲</sup> انجام شده و با مقادیر مواد شیمیایی استخراج شده از گیاهان شاهد (بدون مایه زنی با نماتد) مقایسه گردید.

### بررسی سطوح مختلف جمعیت اولیه نماتد روی بادرنجبویه

به منظور بررسی بیماری‌زایی و تعیین میزان خسارت سطوح مختلف جمعیت نماتد ریشه گرهی روی بادرنجبویه، آزمایشی با هفت تیمار و پنج تکرار در قالب طرح بلوک‌های کامل تصادفی در شرایط گلخانه انجام شد. بدین ترتیب که چهار هفته بعد از سبز شدن بذرهای کشت شده در خاک استریل، با حذف گیاهچه‌های اضافی، تعداد بوته هر گلدان به یک عدد کاهش داده شد. گلدان‌ها در تیمارهای مختلف با ۱۰۰۰، ۲۰۰۰، ۳۰۰۰، ۴۰۰۰، ۵۰۰۰ و ۱۰۰۰۰ تخم و لاروسن دوم نماتد تلقیح شدند ولی گلدان‌های شاهد نماتدی دریافت نکردند. ارزیابی نتایج سه ماه بعد از نگهداری گیاهان در گلخانه با میانگین ۲۷ درجه سانتی‌گراد، و با استفاده از شاخص‌های رشدی گیاه (طول اندام هوایی و ریشه، وزن تر اندام هوایی و ریشه) و شاخص‌های رشد و نمو نماتد (شاخص گال، تعداد تخم در کل سیستم ریشه گیاه، جمعیت لاروسن دوم نماتد در ۲۰۰ گرم خاک هر گلدان و فاکتور تولید مثل) انجام شد.

## نتایج و بحث

### شناسایی گونه نماتد ریشه گرهی

با بررسی خصوصیات ریخت‌شناسی و ریخت‌سنجی نماتدهای ماده و لارو سن دوم و استفاده از کلید شناسایی چسبون (۱۹۸۷)، نماتد، *M. javanica* تشخیص داده

1- Adams

2- GC/MS

خاک نیز با افزایش مایه تلقیح نماتد افزایش یافت (جدول ۲). که بر اساس سیستم تیلور و ساسر<sup>۶</sup> (۱۹۷۸)، شاخص گال و توده تخم در همه‌ی سطوح ۵ بود. فاکتور تولیدمثل نماتد با افزایش سطوح تلقیح کاهش یافت. بدین ترتیب که بیشترین مقدار فاکتور تولیدمثل برای نماتد ریشه‌گرهی در گلدان‌هایی با کمترین مقدار مایه تلقیح (سطح تلقیح ۱۰۰۰) و کمترین مقدار فاکتور تولیدمثل در گلدان‌هایی با بیشترین مقدار مایه تلقیح (سطح تلقیح ۱۰۰۰۰) مشاهده شد (شکل ۱). کاهش تکثیر نماتد در بالاترین سطح جمعیتی شاید ناشی از تخریب سیستم ریشه و ناتوانی نماتدها در یافتن مکان و غذا به دلیل رقابت باشد (بوتول و حاسب<sup>۷</sup>، ۱۹۹۸). روند کاهشی در تکثیر نماتد با افزایش سطح مایه تلقیح در مطالعات نماتدهای ریشه‌گرهی روی برخی گیاهان دارویی دیده می‌شود که با نتایج این بررسی (جدول ۱) مطابقت دارد (خان و همکاران، ۲۰۰۴؛ پاتل و همکاران، ۱۹۹۶؛ راکش و همکاران، ۲۰۰۴). دیوایا<sup>۸</sup> (۲۰۰۸) ایجاد گال‌های فراوان در سیستم ریشه گیاه دارویی *Coleus forskohlii* در اثر فعالیت نماتد *M. incognita* بر روی گیاه مذکور را گزارش نمود. همچنین تعداد گال و تعداد تخم در بابونه و آویشن با افزایش سطح مایه تلقیح نماتد *M. javanica* افزایش یافت (والکر، ۱۹۹۵).

#### اثر نماتد روی ترکیبات شیمیایی بادرنجبویه

نتایج حاصل از گاز کروماتوگرافی اسانس گیاهان تلقیح شده با نماتد و گیاهان شاهد در اشکال ۲ و ۳ و جدول ۳ نشان داده شده است. مقایسه درصد ترکیبات موجود در گیاه آلوده و گیاه شاهد آنها را در چند گروه

به نوک ریشه و ایجاد اختلال و توقف رشد طولی ریشه در محل مورد حمله نماتد باشد برگ و تیلور<sup>۱</sup>، ۲۰۰۸). کاهش طول ریشه‌ها در اثر حمله نماتد و اختلال در جذب آب و مواد غذایی باعث کاهش رشد گیاه و به تبع آن کاهش طول اندام هوایی، و کاهش وزن تر و خشک گیاه می‌گردد.

کاهش وزن خشک و ارتفاع اندام‌های هوایی در *Impatiens balsamina* در جمعیت‌های اولیه بالاتر از ۵۰۰ تخم و لارو سن دوم نماتد *M. javanica* (خان و همکاران<sup>۲</sup>، ۲۰۰۶) و کاهش رشد گیاه در نتیجه تلقیح با سطوح مختلف گونه‌های مختلف نماتد ریشه‌گرهی در گیاهان دیگر نیز گزارش شده است (راکش و همکاران<sup>۳</sup>، ۱۹۹۲؛ پاتل و همکاران<sup>۴</sup>، ۱۹۹۶؛ پاتک و همکاران<sup>۵</sup>، ۲۰۰۰؛ خان و همکاران، ۲۰۰۴).

افزایش اندک وزن ریشه به موازات افزایش مایه تلقیح را می‌توان ناشی از تشکیل گال و افزایش ریشه‌های فرعی دانست. به عبارت دیگر با ورود لارو سن دوم به ریشه، و ترشح آنزیم پروتئاز توسط آن، پروتئین‌های گیاه تجزیه و اسیدهای آمینه خصوصاً اسید آمینه تریپتوفان در ریشه گیاه تجمع می‌یابد. تریپتوفان که پیش نیاز تولید ایندول استیک اسید است افزایش سنتز هورمون مذکور را به دنبال دارد که موجب اختلال در تعادل هورمونی و در نتیجه ایجاد گال می‌گردد. ورود لاروهای سن دوم به ریشه تولید ریشه‌های فرعی در گیاه را تحریک می‌کند (برگ و تیلور، ۲۰۰۸؛ هیرشمن، ۱۹۸۵).

شاخص‌های رشد و نمو نماتد همچون تعداد گال، تعداد توده تخم، تعداد تخم در ریشه و تعداد لارو در

1- Berg & Taylor

2- Khan *et al.*

3- Rakesh *et al.*

4- Patel *et al.*

5- Pathak *et al.*

6- Taylor & Sasser

7- Butool & Haseeb

8- Devappa

ابن علی سامانی و همکاران: اثرات نماتد ریشه گرهی...

جدول ۱- مقایسه شاخص‌های رشدی *Melissa officinalis* در سطوح مختلف مایه تلقیح *Meloidogyne javanica*

اندام هوایی			ریشه			سطوح مایه
طول	وزن تر	وزن خشک	طول	وزن تر	وزن خشک	تلقیح نماتد
(cm)	(g)	(g)	(cm)	(g)	(g)	
۳۳/۳ <sup>a</sup>	۲۷/۸ <sup>a</sup>	۵ <sup>a</sup>	۲۱ <sup>a</sup>	۶/۱ <sup>e</sup>	۰/۸ <sup>e</sup>	۰
۳۰ <sup>b</sup>	۲۴/۸ <sup>b</sup>	۴/۳ <sup>b</sup>	۱۹/۳ <sup>b</sup>	۷/۱ <sup>d</sup>	۱ <sup>d</sup>	۱۰۰۰
۲۷/۷ <sup>b</sup>	۲۱/۷ <sup>c</sup>	۳/۵ <sup>c</sup>	۱۸/۸ <sup>b</sup>	۸ <sup>c</sup>	۱/۲ <sup>cd</sup>	۲۰۰۰
۲۴ <sup>c</sup>	۲۰/۴ <sup>c</sup>	۳/۲ <sup>cd</sup>	۱۸ <sup>b</sup>	۸/۲ <sup>c</sup>	۱/۴ <sup>c</sup>	۳۰۰۰
۲۱ <sup>cd</sup>	۱۹/۷ <sup>c</sup>	۲/۹ <sup>d</sup>	۱۵/۷ <sup>c</sup>	۸/۴ <sup>c</sup>	۱/۷ <sup>b</sup>	۴۰۰۰
۱۹/۱ <sup>d</sup>	۱۷ <sup>d</sup>	۲/۲ <sup>e</sup>	۱۳/۷ <sup>d</sup>	۹/۱ <sup>b</sup>	۱/۹ <sup>b</sup>	۵۰۰۰
۱۶/۴ <sup>e</sup>	۱۳/۹ <sup>d</sup>	۱/۷ <sup>e</sup>	۱۱/۷ <sup>e</sup>	۹/۹ <sup>a</sup>	۲/۳ <sup>a</sup>	۱۰۰۰۰

میانگین‌های با حروف مشابه در هر ستون با آزمون دانکن در سطح احتمال ۱٪ با یکدیگر اختلاف معنی‌داری ندارند

جدول ۲- مقایسه میانگین شاخص‌های رشد و نمو نماتد *Meloidogyne javanica* روی بادرنجبویه *Melissa officinalis* مایه زنی‌شده با سطوح مختلف مایه تلقیح اولیه

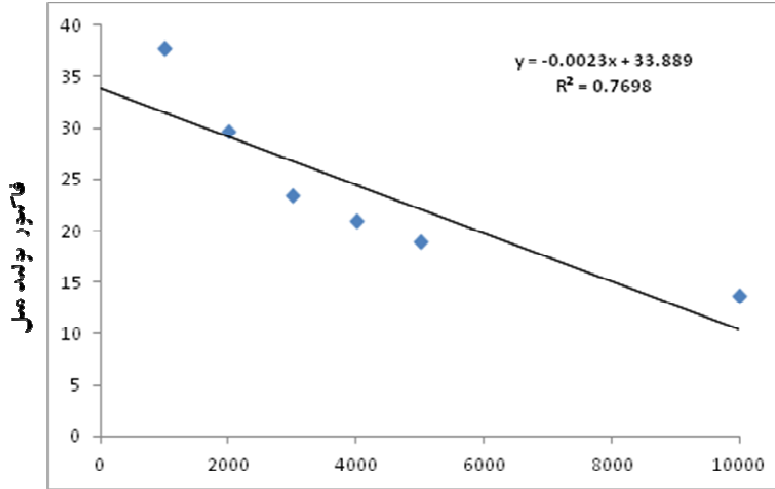
فاکتور تولیدمثلی	تعداد لارو در ۲۰۰	تعداد تخم در	تعداد توده تخم	تعداد گال در	سطوح مختلف مایه
	گرم خاک	ریشه	در ریشه	ریشه	تلقیح
	g	g	g	g	
۰ <sup>e</sup>	۰ <sup>g</sup>	۰ <sup>g</sup>	۰ <sup>g</sup>	۰ <sup>g</sup>	۰
۳۷/۸ <sup>a</sup>	۸۰ <sup>f</sup>	۳۶۹۰۴ <sup>f</sup>	۱۱۵ <sup>f</sup>	۱۳۹ <sup>f</sup>	۱۰۰۰
۲۹/۷ <sup>b</sup>	۱۵۸ <sup>e</sup>	۵۷۶۸۴ <sup>e</sup>	۲۰۵ <sup>c</sup>	۲۰۹ <sup>e</sup>	۲۰۰۰
۲۳/۵ <sup>cb</sup>	۲۵۳ <sup>d</sup>	۶۷۶۰۰ <sup>d</sup>	۲۴۰ <sup>d</sup>	۲۷۰ <sup>d</sup>	۳۰۰۰
۲۰/۹ <sup>c</sup>	۳۲۱ <sup>c</sup>	۸۰۳۰۲ <sup>c</sup>	۲۶۶ <sup>c</sup>	۳۱۷ <sup>c</sup>	۴۰۰۰
۱۹ <sup>cd</sup>	۴۶۱ <sup>b</sup>	۹۰۲۵۰ <sup>b</sup>	۲۹۴ <sup>b</sup>	۳۶۱ <sup>b</sup>	۵۰۰۰
۱۳/۷ <sup>d</sup>	۷۲۵ <sup>a</sup>	۱۲۹۰۶۵ <sup>a</sup>	۳۸۹ <sup>a</sup>	۴۶۲ <sup>a</sup>	۱۰۰۰۰

میانگین‌های با حروف مشابه در هر ستون با آزمون دانکن در سطح احتمال ۱٪ با یکدیگر اختلاف معنی‌داری ندارند

isopulegol, trans-verbenol, cis-verbenol, geraniol و verbenone در گیاهان آلوده کمتر از گیاهان سالم بود در حالی که میزان ترکیباتی همچون limonene, geraniol, α-copaene و ledol در گیاهان آلوده و شاهد تفاوتی نداشتند. و ترکیباتی همچون (Z,E)-carophyllene, isobornyl acetate و farnesol تنها در گیاهان شاهد وجود داشتند. اکثر ترکیباتی

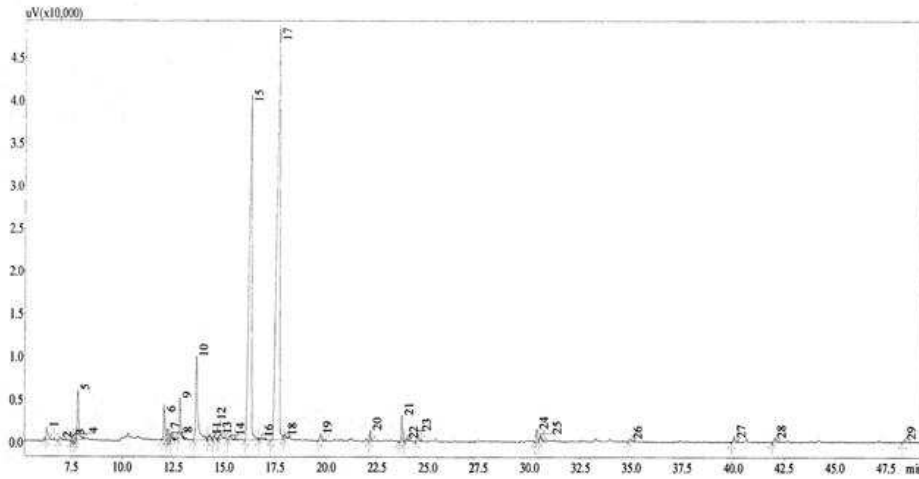
قرار داد. میزان ترکیباتی چون (Z)-caryophyllene, α-humulene, borneol, hydroxyl citronellal, isoborneol, terpineneα, carophyllene oxide و citronellol, trans-carveol, trans-pulegol و dihydrocitronellolacetate در گیاهان آلوده بیش از گیاهان سالم بود. مقدار گروه دیگری از ترکیبات شامل 3-cis-limonene oxide, (Z)-β-ocimene, octanol

که در گیاهان مایه‌زنی شده با نماد، غلظت بالاتری نسبت به گیاهان شاهد داشتند از متابولیت‌های ثانویه گیاهی و متعلق به ترکیبات فلاونوئیدی و ترپنوئیدی بودند که در مکانیسم‌های دفاعی گیاهان دخالت دارند لذا افزایش ترکیبات مورد بحث



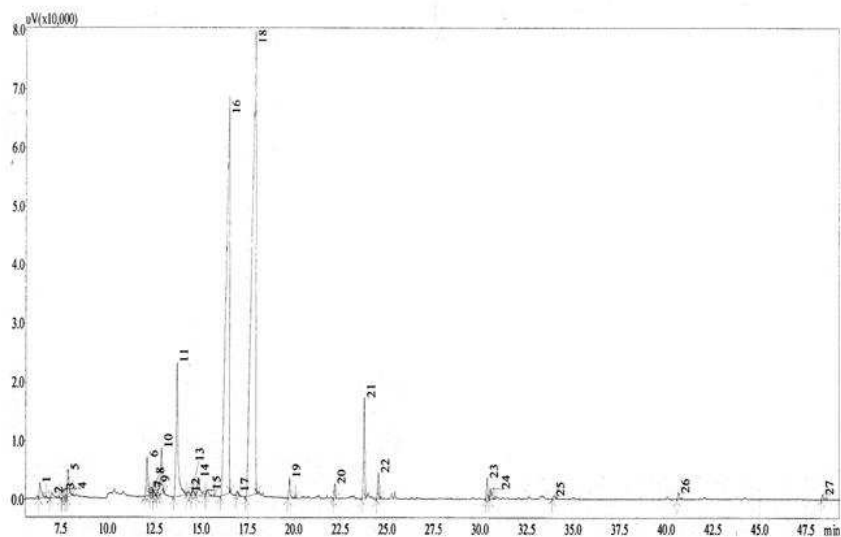
سطوح جمعیت نماد

شکل ۱- رابطه بین جمعیت مایه تلقیح *Meloidogyne javanica* و فاکتور تولید مثل آن روی *Melissa officinalis* ۹۰ روز پس از تلقیح



شکل ۲- گاز کروماتوگرام اسانس *Melissa officinalis* نمونه شاهد..

ابن علی سامانی و همکاران: اثرات نماتد ریشه گرهی...

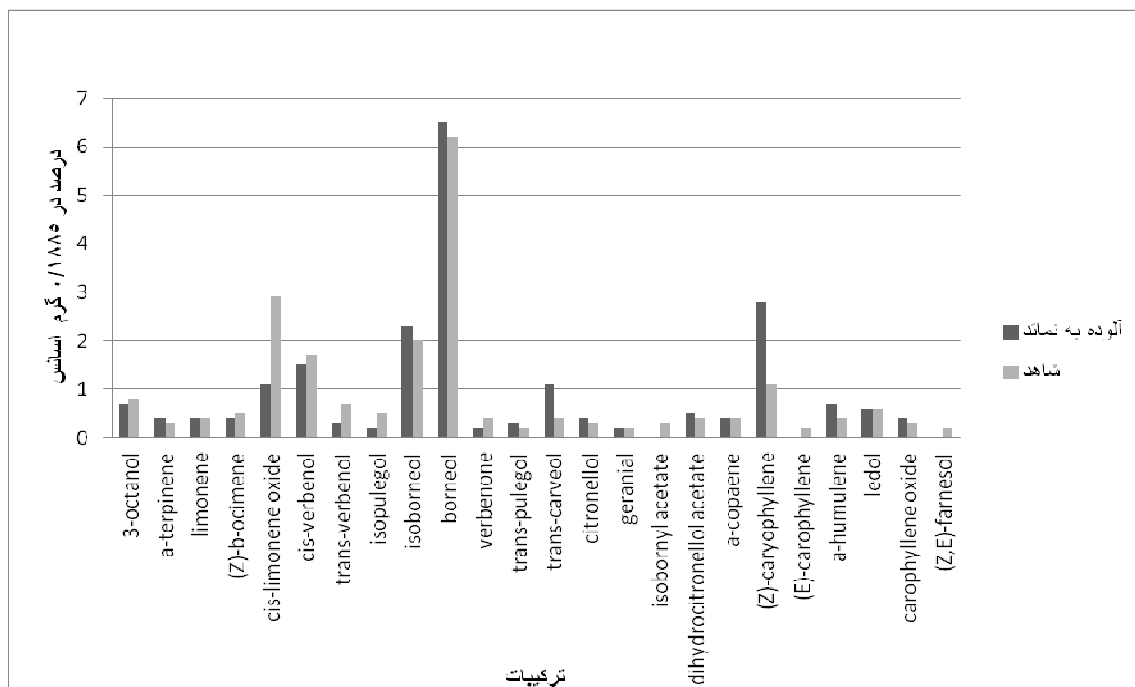


شکل ۳- گاز کروماتوگرام اسانس گیاه *Melissa officinalis* دو ماه پس از مایه‌زنی با ۵۰۰۰ نماتد *Meloidogyne javanica*

جدول ۳- ترکیبات شیمیایی موجود در گاز کروماتوگرام گیاهان *Melissa officinalis* شاهد و مایه‌زنی شده با ۵۰۰۰ نماتد *Meloidogyne javanica* بعد از دو ماه

شاهد (%)	تیمار شده (%)	ترکیب
۰/۸	۰/۷	3-octanol
۰/۳	۰/۴	$\alpha$ -terpinene
۰/۴	۰/۴	Limonene
۰/۵	۰/۴	(Z)- $\beta$ -ocimene
۲/۹	۱/۱	cis-limonene oxide
۱/۷	۱/۵	cis-verbenol
۰/۷	۰/۳	trans-verbenol
۰/۵	۰/۲	Isopulegol
۲	۲/۳	Isoborneol
۶/۲	۶/۵	Borneol
۰/۴	۰/۲	Verbenone
۰/۲	۰/۳	trans-pulegol
۰/۴	۱/۱	trans-carveol
۰/۳	۰/۴	Citronellol
۳۲/۷	۳۲/۲	Geraniol
۰/۲	۰/۲	Geranial
۴۴/۴	۴۵/۲	hydroxyl citronellal
۰/۳	.	isobornyl acetate
۰/۴	۰/۵	dihydrocitronellol acetate
۰/۴	۰/۴	$\alpha$ -copaene
۱/۱	۲/۸	(Z)-caryophyllene
۰/۲	.	(E)-caryophyllene
۰/۴	۰/۷	$\alpha$ -humulene
۰/۶	۰/۶	Ledol
۰/۳	۰/۴	caryophyllene oxide
۰/۲		(Z,E)-farnesol





شکل ۴- نمودار میزان ترکیبات شیمیایی گیاهان *Melissa officinalis* سالم و مایه‌زنی شده با ۵۰۰۰ نماتد *Meloidogyne javanica* بعد از دو ماه

دخاله ترکیبات مذکور در واکنش‌های دفاعی گیاهان در مقابل نماتدها محسوب می‌شوند (کاپلان<sup>۳</sup>، ۱۹۸۲؛ ویچ<sup>۴</sup>، ۱۹۸۲). حضور نماتد احتمالاً باعث تحریک سنتر میزان قابل توجهی ترکیبات شیمیایی (Z)-caryophyllene، trans-carveol و hydroxycitronellal نسبت به دیگر ترکیبات گردیده است (جدول ۳). این ترکیبات در گیاه نقش دفاعی داشته و از لحاظ دارویی نیز برای انسان دارای اهمیت می‌باشند.

در مجموع نتایج حاصل از این بررسی نشان‌دهنده حساسیت نسبتاً بالای بادرنجبویه به نماتد ریشه‌گرهی (*M. javanica*) بود، زیرا اکثر شاخص‌های رشدی گیاه، بویژه در جمعیت‌های بالای نماتد تحت تأثیر قرار گرفته و کاهش یافت. علاوه بر این حمله نماتد به گیاه باعث تغییر ترکیبات موجود در گیاه گردید که این امر می‌تواند خواص دارویی آن را تحت تأثیر قرار دهد.

در گیاهان مذکور با فرآیندهای فیزیولوژیکی گیاهان بیمار قابل توجهی می‌باشند.

سوریانو و همکاران<sup>۱</sup> (۲۰۰۴) نشان دادند که flavones C-glycoside در واکنش‌های دفاعی گیاه در مقابل حمله نماتدهای *Pratylenchus neglectus* و *Heterodera avenae* به چاودار نقش دارند. افزایش ۲ تا ۴ برابری ترکیب‌های ایزوفلاونوئیدی در ریشه سویای آلوده به نماتد *Heterodera glycines* نسبت به گیاهان سالم نیز دلیل دیگری بر نقش ترکیبات فوق در واکنش‌های دفاعی گیاه بوده است (کندی و همکاران<sup>۲</sup>، ۱۹۹۹).

وجود غلظت‌های بالای glyceolin در ارقام سویا مقاوم به *M. incognita* بعد از حمله و افزایش comestrol و psoralidin در قسمتهایی از ریشه لویا که مورد حمله نماتد *Pratylenchus scribneri* قرار گرفته بود، شواهدی از

3- Kaplan

4- Veech

1- Soriano *et al.*

2- Kennedy *et al.*

### منابع

۱. دامادزاده، م. ۱۳۸۶. نماتدشناسی در کشاورزی، انتشارات اندیشه گستر اصفهان.
2. Adams, R.P.1989. Identification of essential oils by ion trap mass spectroscopy. Academic press: New York, 142p.
3. Adzet, T., Ponz, R., Wolf, E., and Schalt, E. 1992. Content and composition of *Melissa officinalis* oil in relation to leaf position and harvest time. *Planta Medica*, 58(6): 562-564.
4. Berg, R.H., and Taylor, C.G. 2008. Cell biology of plant nematode parasitism. Heidelberg. Germany.
5. Bird, A.F., and Rogers, G.E. 1965. Ultrastructure of cuticle and its formation in *Meloidogyne javanica*. *Nematologica*, 11: 244-230.
6. Butool, F., and Hasseb, A. 1998. Effect of *Meloidogyne incognita* on *Hyoscyamus muticus*. *Journal of herb, speses & medicinal plants*, 5: 13-19.
7. Devappa, V. 2008. Studies on root-knot nematodes and wilt complex in *Coleus forskohlii* (wild). Briq. Caused by *Meloidogyne incognita* (Kofoid and White) Chitwood and *Fusarium chlamydosporium* (fray and cif) Booth. Thesis submitted to the University of Agricultural Sciences, Dharwad, India. Pp. 76.
8. Franke, W. 1978. On the contents of vitamin C and thiamine during the vegetation period in leaves of three species plant (*Allium schoenoprasum* L. *Melissa officinalis* L. and *Petroselinum crispum*) nym.ssp.crispum. *Acta Horticulture*, 73: 205-21.
9. Hasseb, A., and Pandey, R. 1995. Addition to the host records of root-knot nematodes among medical and aromatic plants. *Nematology*, 23: 211-212.
10. Hirschmann, H. 1985. The genus *Meloidogyne* and morphological characters differentiating its species. In Sasser J.N. and Carter C.C. (eds.), *An advanced treatise on Meloidogyne*. Vol. I. North Carolina State University Graphics, Raleigh, USA. pp: 79-93.
11. Hussey, R. S., and Barker, K.R.1973. A comparison of method of collecting inocula of *Meloidogyne* spp., including a new technique. *Plant Disease Reporter*, 57: 1025-1028.
12. Jepson, S.B. 1987. Identification of root knot nematode (*Meloidgyne* species) .C.A.B. International, Wallingford, Oxon, United Kingdom, 265pp.
13. Kaplan, D. 1982. Plant resistance to nematodes symposium introduction. *Journal of Nematology*, 14: 1-2.

14. Kennedy, M.J., Niblack, T.L., and Krishnana, H.B. 1999. Infection by *Heterodera glycines* elevates isoflavonoid production and influences soybean nodulation. *Journal of Nematology*, 3: 341-347.
15. Khan, T.A., Nisar, S., and Ashraf, M.S. 2004. Effect of population levels of *Meloidogyne javanica* on plant growth and nematode multiplication on cucurbits. *Pakistan Journal of Nematology*, 22: 83-89.
16. Khan, T.A., Ashraf, M.S., and Hasan, S. 2006. Pathogenicity and life cycle of *Meloidogyne javanica* on balsam (*Impatiens balsamina*). *Archives of Phytopathology and Plant Protection*, 39: 45-48.
17. Leung, A.Y., and Foster, S. 2003. Encyclopedia of common natural ingredients used in food, drug and cosmetics. *Journal of herbs, species and medicinal plant*. 8(2/3): 91-117.
18. Nasresfahani, M., Karimpourfard, H., and Ahmadi, A.R. 2008. Studies on the infection of medicinal plants to root-knot nematodes in Esfahan province. *Iranian Journal of Plant Pathology*, 44: 99-101(Abst.)
19. Oka, Y., Koltai, H., and Bar-Eyal, M. 2000. New strategies for the control of plant parasitic nematodes. *Pest Management Science*, 56: 983-988.
20. Park, S.D., Khan, Z., Ryu, J.G., Seo, Y.J., and Yoon, J.T. 2005. Effect of initial density of *Meloidogyne hapla* on its pathogenic potential and reproduction in three species of medicinal plants. *Journal of Phytopathology*, 153: 250-253.
21. Park, S.D., Kim, J.C., and Khan, Z. 2004. Host status of medicinal plants for *Meloidogyne hapla*. *Nematropica*, 34: 39-43.
22. Patel, M.B., Patel, D.J. and Patel, B.A. 1996. Pathogenic effects of *Meloidogyne incognita* and *M. javanica* on cotton. *Afro-Asian Journal of Nematology*, 6: 156-161.
23. Pathak, K.N., Keshari, N., and Haider, M.G. 2000. Effect of population levels of *Meloidogyne incognita* on seed germination, seedling emergence and plant growth of cauliflower. *Indian Journal of Nematology*, 30: 8-12.
24. Rakesh, P., Haseeb, A., and Husain, A. 1992. Distribution, pathogenicity and management of *Meloidogyne incognita* on *Mentha aruensis* CV. MAS-1. *Afro-Asian Journal of Nematology*, 2: 27-34.
25. Rammaha, A., and Hirschmann, H. 1990. Morphological comparison of three host races of *Meloidogyne javanica*. *Journal of Nematology*, 22: 56-68.
26. Razzaz Hashemi, S.R., and Akbarinia, A. 2008. Responses of some medicinal plants to root-knot nematode *Meloidogyne javanica* under greenhouse conditions. Proc.18<sup>th</sup> Iranian Plant protection Congress, Hamedan, Iran, 561(Abst.).

27. Rhoades, H.L. 1998. Effect of several phytoparasitic nematodes on the growth of basil, *ocinum basilicum*. Journal of Nematology, 20 (2): 22-24.
28. Ribiero, M.A., Bernardo-Gil, M.G. and Esquivel, M.M. 2001. *Melissa officinalis* L. study of antioxidant activity in super critical residues. Journal of Supercritical fluids, 21: 51-60.
29. Sheela, M.S., Rajani, T.S. and Mehtra, V. K. 1998. Status of phytonematodes as a part of medicinal plants in Kerala. Proceeding of the Third International Symposium of Afro-Asian Society of Nematologist, Coimbatore, India, 2-5.
30. Silva, A.T., Penna, J.C.V., Goulart, L.R., Santos, M.A. and Arantes, N.E. 2000. Genetic variability among and within races of *Heterodera Glycines* Ichinohe assessed by RAPD markers. Genetic Molecular Biology, 23: 323-329.
31. Sivakumar, M. and Vadivelu, S. 1997. Parasitic nematodes associated with medicinal and aromatic plants. Indian Journal of Nematology, 27: 58-62.
32. Soriano, I. R., Asenstorfer, R. E., Schmidt, O. and Riley. I.T. 2004. Inducible flavone in oats (*Avena sativa*) is a novel defense against plant parasitic nematodes. Phytopathology, 94: 1027-1214.
33. Spriggs, D. 1992. Natural health encyclopedia, word renowned health author, Hopkins technology. ll. C. Tax. Diasprings, (CD).
34. Tariq, M., Firoza, K., and Shahina, F. 2007. Medicinal plants as new hosts of root-knot and other nematodes from Hamdared University, Karachi, Pakistan. Pakistan Journal of Nematology, 25: 165-172.
35. Taylor, A.L., and Sasser, J.N. 1978. Biology, identification and control of root-knot nematodes, (*Meloidogyne* species). North Carolina state university and U.S. Agency for International Development, Rleigh, NC. U. S. A.
36. Taylor, D.P., and Netscher, C. 1974. An improved technique for preparing perineal patterns of *Meloidogyne* spp. Nematologica, 220: 268-269.
37. Veech, J.A. 1982. Phytoalexins and their role in the resistance of plants to nematodes. Journal of Nematology, 14:2-9.
38. Walker, J.T. 1995. Garden herbs as hosts for southern root knot nematode *Meloidogyne incognita*, race3. Hort Science, 30(2): 292-293.
39. Zijlstra, C., Donkers-Venne, D.T.H.M., and Fargette, M. 2000. Identification of *Meloidogyne incognita*, *M. javanica* and *M. arenaria* using sequence characterized amplified region (SCAR) based PCR assays. Nematology, 2: 847-853.