آفات و بیماری‌های گیاهی
جلد ۸۵، شماره ۲، اسفند ۱۳۹۶

بررسی اثر کنترل کنندگی عصاره برگ گیاهان رازیانه (*Foeniculum vulgaris*) و گزنه (*Urtica dioica*) بر نماتد مولد گره ریشه (*Meloidogyne javanica*) در گیاه خیار

نرگس قبادی[۱]، فرشاد رخشنده رو[۲]✉ و آیت‌اله سعیدی‌زاده[۳]

۱ و ۲- به ترتیب دانش آموخته‌ی کارشناسی ارشد، استادیار گروه بیماری شناسی گیاهی، دانشکده کشاورزی و منابع طبیعی، واحد علوم و تحقیقات دانشگاه آزاد اسلامی، تهران، ایران؛ ۳- استادیار گروه گیاهپزشکی، دانشکده علوم کشاورزی، دانشگاه شاهد، تهران

(تاریخ دریافت: آذر ۱۳۹۵؛ تاریخ پذیرش: آذر ۱۳۹۶)

چکیده

اثر کنترل کنندگی عصاره‌های آبی و الکلی گیاهان رازیانه و گزنه دوپایه بر علیه نماتد ریشه گرهی (*M. javanica*) در گیاه خیار در شرایط گلخانه ای بررسی شد. عصاره‌های خام برگ خشک گیاهان گزنه و رازیانه توسط دستگاه سوکسله استخراج شد. تعداد ۱۰۰۰ عدد لارو سن ۲ و تخم نماتد به اطراف ریشه‌های گیاه خیار هیبرید رقم Beit Alpha 192 F1 اضافه و بعد از ۱۰ روز عصاره‌های خام آبی و الکلی گزنه و رازیانه در غلظت های ۱۰۰ و ۲۰۰ ppm به ریزوسفر خاک گلدان ها به صورت مستقیم اضافه شد. تا ۱۵ روز بعد از اضافه کردن عصاره، محتوی کلروفیل‌های a و b و پس از دو ماه تعداد لارو سن ۲ و تخم نماتد و فاکتورهای رشدی گیاهان تیمار شده بررسی شد. عصاره خام گیاهان رازیانه و گزنه موجب کاهش ۳ برابری شدت بیماری زایی نسبت به شاهد تیمار نشده و آلوده به نماتد شدند. بین تیمارهایی که هر یک از عصاره ها به کار رفته است از نظر شاخص‌های رشدی شامل وزن‌های تر و خشک ریشه و برگ و هم چنین طول ساقه و ریشه در مقایسه با شاهد سالم تیمار نشده و یا تیمار شده با سم اختلاف معنی‌داری وجود داشت. عصاره خام رازیانه تاثیر بهتری نسبت به عصاره گزنه داشت و بهترین تاثیر در کنترل نماتد با غلظت ۱۰۰ ppm عصاره آبی رازیانه حاصل شد.

واژه‌های کلیدی: رازیانه، عصاره خام، کلروفیل، گزنه، *Meloidogyne javanica*

Study on the control effect of fennel (*Foeniculum vulgaris*) and stinging nettle leaf (*Urtica dioica*) extract against root knot nematode in cucumber plant

N. GHOBADI[1], F. RAKHSHANDEHROO[2]✉ and A. SAEEDIZADEH[3]

1 and 2- MSc. Graduated, Assistant Professor, of Department of Plant Pathology; College of Agriculture and Natural Resources, Science and Research Branch, Islamic Azad university, Tehran, Iran; 3- Assistant Professor, Plant Pathology Department, Faculty of Agricultural Sciences, Shahed University, Tehran, Iran

Abstract

The nematicidal effect of aquatic and alcoholic extracts of fennel and nettle plants against the root-knot nematode (*M. javanica*) in cucumber plants was studied under the greenhouse condition. The crude extract of dried leaf material of fennel and nettle crude extracts were extracted by soxhlet apparatus. A number of 1000 second-stage juvenile of the nematode as well as egg masses was added to the hybrid cucumber plant Beit Alpha 192 F1. The aquatic and alcoholic fennel and nettle crude extracts were added directly into the soil rhizosphere in the pods at the concentrations of 100 and 200 ppm, 10 days post inoculation. The chlorophyll content was assessed up to 15 days after extract addition. The second-stage juvenile of the nematode, egg mass, nematode gall and growth factors of the treated plants evaluated two month after extract addition. Experiments were carried out as factorial based on completely randomized design with 3 replications. Results indicated that the disease severity of the nematode reduced three times in comparison to the infected none treated control plant. Significant increase in the growth factors and chlorophyll content in fennel and nettle crude extracts treated plants was also observed. It was also revealed that the fennel crude extracts were more effective in controlling the nematode compared to the nettle extract. Aquatic fennel crude extract at the concentration of 100 ppm showed the best nematicidal activity.

Key words: Chlorophyll, crude extract, fennel, *Meloidogyne javanica*, stinging nettle.

✉ **Corresponding author: rakhshandehroo_fa@srbiau.ac.ir**

مقدمه

گیاه خیار از سبزیجات مهم در ایران و جهان می‌باشد و در ایران به میزان قابل توجهی در مقایسه با سایر سبزیجات به صورت مزرعه و گلخانه‌ای کشت می‌شود. طبق آمارنامه کشاورزی در سال زراعی ۹۴-۹۳ خیار رسمی با ۲۱/۸٪ بعد از محصولات هندوانه و خربزه، رتبه سوم سطح برداشت محصولات جالیزی کشور را به خود اختصاص داده است. در سال زراعی مذکور مجموع کل سطح برداشت خیار آبی و دیم کشور حدود ۶۶/۴۸ هزار هکتار و میزان تولید محصول ۱/۵۸ میلیون تن برآورد بوده است که معادل ۲۰/۷٪ درصد از کل میزان تولید محصولات جالیزی کشور می‌باشد (Anonymous, 2016). از نظر میزان تولید، ایران در رده سوم تولید خیار بعد از کشورهای چین و ترکیه قرار گرفته است (Anonymous, 2014). در مجموع نماتدهای گونه *Meloidogyne* spp. از مهم‌ترین نماتدهای خسارت زای محصولات گلخانه، زراعی و باغی می‌باشد. گونه *M. javanica* یکی از گونه‌های شایع این جنس است و بعد از *M. incognita* دومین گونه‌ی مهم نماتد ریشه گرهی در جهان و مهم‌ترین گونه این نماتد در ایران می‌باشد (Sahraneshin Samani and Fadaei Tehrani, 2015). این گونه دارای دامنه میزبانی وسیعی بوده و تا کنون ۲۰۰۰ گونه‌ی گیاهی به عنوان میزبان این نماتد شناخته شده است (Yang *et al*., 2015). در مناطق گرمسیر و در زراعت خیار قادر به ایجاد بیش از ۹۰٪ خسارت می‌باشد (Viggiano *et al*., 2014) با این وجود هنوز گزارش دقیقی از میزان خسارت آن در محصولات جالیزی کشور ارایه نشده است. نماتد ریشه گرهی از طریق مستقیم (تشکیل گال درسطح ریشه و ایجاد اختلال در فیزیولوژی گیاهی) و غیرمستقیم (اثر متقابل این نماتد با سایر عوامل بیماریزای خاکزاد از جمله قارچ‌ها) به صورت هم افزایی، موجب خسارت شدید در گیاهان می‌شود (Jenkins and Coursen, 1978). به دلیل اهمیت اقتصادی این نماتدها روش‌های گوناگونی جهت مدیریت و کنترل آن‌ها از جمله سموم شیمیایی، ارقام مقاوم، تناوب زراعی با گیاهان غیرمیزبان، آفتاب دهی‌خاک، آیش، استفاده از عوامل کنترل بیولوژیک و تلفیق این عوامل، به کار گرفته می‌شود (Sharma *et al*., 1980; Jatala, 1986; Pakeerathan *et al*., 2009). اغلب این روش‌ها از نظر اقتصادی مقرون به صرفه نیست و باعث آلودگی جدی زیست محیطی، آلودگی آب‌های زیرزمینی، افزایش فشار انتخاب، افزایش نرخ جهش‌های ژنتیکی و غیره می‌گردد. در دو دهه اخیر استفاده از فرآورده‌های گیاهی جهت مدیریت آفات و بیماری‌های گیاهی بسیار مورد توجه قرار گرفته است و همچنین از آن‌ها به عنوان کود سبز جهت رشد بهتر گیاهان زراعی استفاده می‌شود. لینفورد و همکاران اولین بار از برگ‌های خرد شده آناناس (*Ananas comosus* L.) بر علیه نماتد ریشه گرهی بهره گرفتند (Linford *et al*., 1938). از آن زمان تاکنون گیاهان مختلفی همچون ریشه‌ی گیاه چریش، کرچک و چمن معطر (Adegbite and Adesiyan, 2005) زیتون تلخ (*Melia azedarach* L.) (Ntalli *et al*., 2009) عصاره برگ درمنه (*Artemisia obsinthium* L.) کرچک (*Ricinus communis* L.) (Sadeghi *et al*., 2012) اسانس موسیر (*Allium hirtifolium*) مریم گلی (*Salvia officinalis*) کرفس کوهی (*Relussia oforatissima*) (Feyzi *et al*., 2014) گیاه آویشن (*Hymus vulgaris*) نعناع (*Mentha vividis* L.) (Oka *et al*., 2000) گیاه زیره (*Carum carvil*) سیر (*Allium sativum* L.) و گیاه مورد (*Communis myrtus*) (Oka, 2001) با اثرات کنترل کنندگی روی نماتد ریشه گرهی شناخته شده‌اند. در این تحقیق عصاره‌های آبی و الکلی گیاهان رازیانه و گزنه بر گیاه خیار در مقابل نماتد ریشه گرهی بررسی شده است. همچنین فعالیت‌های رشدی و محتوی کلروفیل نیز بررسی شد و این دو عصاره از نظر توان کنترل کنندگی و فاکتورهای رشدی و محتوی کلروفیل با هم مقایسه شد.

روش بررسی

تهیه عصاره‌ها و نماتد: گیاه گزنه دو پایه *Urtica dioica*

L. (Urticaceae)، از شهرستان نور واقع در استان مازندران در اوائل اردیبهشت جمع‌آوری و در سایه در دمای ۲۵°C به مدت بیست روز خشک و عصاره‌گیری شد. دانه‌های گیاه رازیانه (*Foeniculum vulgare*) از بازار تهیه، آسیاب و عصاره‌گیری شد. تشخیص دقیق گونه‌های گیاهان داروئی مورد استفاده در این تحقیق توسط گروه شناسایی و مبارزه با علف‌های هرز دانشکده کشاورزی و منابع طبیعی دانشگاه آزاد واحد علوم و تحقیقات تهران انجام پذیرفت. برای تهیه عصاره آبی مقدار ۱۵ گرم بافت پودر شده گیاه با ۲۵۰ میلی‌لیتر آب و برای عصاره‌گیری الکلی ۱۵ گرم بافت پودر شده گیاه با ۲۵۰ میلی‌لیتر اتانول ۷۰ درصد به مدت ۶ ساعت در دستگاه سوکسله قرار داده و عصاره گیری مطابق روش (Warthen *et al*., 1984) انجام شد. سپس با استفاده از دستگاه روتاری، حلال حذف گردید. عصاره گیاهان رازیانه و گزنه برای محاسبه ماده خشک در شیشه ساعت خشک گردید. جهت تهیه منبع آلودگی، ریشه و خاک آلوده به نماتد ریشه گرهی از گلخانه‌های شهرستان ورامین نمونه برداری و برای استخراج نماتد از خاک از روش جنکینز (Jenkins, 1964) و استخراج نماتد از ریشه گیاه آلوده از روش (Coolen an De Hard, 1972) بهره گرفته شد. جداسازی و تهیه برش عرضی از نماتدهای ماده *M. javanica* بر مبنای الگوی Perennial Pattern مطابق روش (Dropkin, 1989) انجام گرفت. جهت خالص سازی و تهیه مایه تلقیح نماتد *M. javanica* از روش هوسی و بارکر با استفاده از توده تخم منفرد (Single Egg Mass) استفاده شد (Hussey and Barcker,1973). برای این منظور پس از شناسایی گونه نماتد چندین دوره متوالی تکثیر روی گوجه فرنگی انجام شد و جمعیت کافی نماتد به وجود آمد. برای تکثیر نماتد از نشاء گوجه فرنگی رقم متین استفاده شد. پس از شستشوی ریشه های دارای غده ریشه با آب، کیسه‌های تخم نماتد در زیر بینوکولر با اسکالپل جدا و در آب مقطر به گلخانه منتقل شدند. تخم های استخراج شده روی کاغذ صافی قرار داده و سپس در یک الک ۵۰۰ mesh ریخته شد. الک در یک تشتک پتری حاوی مقداری آب مقطر سترون که با سطح زیرین الک در تماس بود در انکوباتور ۲۵ درجه سلسیوس نگهداری گردید. تخم های نماتد روی کاغذ صافی تفریخ شده و لاروهای سن دوم پس از عبور از کاغذ صافی در ظرف پتری جمع آوری و برای آزمایشات مختلف استفاده قرار گرفت. برای شمارش لاروها از لام شمارش استفاده شد.

بررسی اثر عصاره گیاهان گزنه و رازیانه بر مرگ و میر لارو سن دوم و توده تخم نماتد ریشه گرهی *M. javanica* در شرایط درون شیشه (*in vitro*): بررسی اثر نماتدکشی عصاره ها روی لارو سن دوم نماتد بر اساس روش Feyzi *et al.* (2014) صورت گرفت. ۵۰۰ میکرولیتر از غلظت‌های مختلف ۵۰ تا ۶۰۰ ppm هر یک از عصاره ها در میکروتیوب‌های ۱.۵ ml ریخته و ۵۰۰ میکرولیتر سوسپانسیون حاوی ۱۰۰۰ لارو سن دوم و تخم نماتد به هر میکروتیوب حاوی نماتد *M. javanica* اضافه شد. برای این منظور چهار غلظت ۵۰ppm، ۱۰۰ppm، ۲۰۰ppm، ۴۰۰ppm و ۶۰۰ppm از هر یک از عصاره‌های آبی و الکلی رازیانه و گزنه استفاده شد و هر تیمار در ۳ تکرار انجام شد. آزمایشات در شرایط دمایی ۲۵±۳°C انجام گرفت. پس از گذشت ۴۸ ساعت، درصد مرگ ومیر لاروهای سن دو با استفاده از لام شمارش نماتد و در زیر میکروسکوپ محاسبه گردید. ارتباط بین غلظت های مختلف اسانس و مرگ ومیر لارو تحت آنالیز پروبیت قرار گرفت و سطح غلظت LC50 و LC 90 برای انتخاب بهترین غلظت برای ادامه آزمایشات بدست آمد.

اضافه نمودن عصاره‌ها به خاک: برای انجام آزمایشات گلخانه‌ای بذرهای خیار هیبرید رقم Beit Alpha 192 F1 (Sab Tagh Fadak Co.Ltd, Iran) از ارقام رایج زراعی در گلدان‌های ۲۰۰ گرمی که خاک آنها قبلاً در دمای ۸۵ درجه سلسیوس به مدت ۳۰ دقیقه اتوکلاو شده بودند کاشته و در شرایط دمایی ۲۵±۳°C درجه سلسیوس و رطوبت نسبی ۷۵ تا ۸۰ درصد و شدت نور ۵۰۰۰ lux با دوره نوری ۱۵ ساعت نور و ۱۱ ساعت تاریکی قرار داده شدند. گلدان‌های مذکور

لوله‌ای شکل و پلی کربنه به طول حدود ۲۵ سانتی‌متر بودند تا ریشه بتواند توسعه یابد. در مرحله‌ی ۵ تا ۷ برگی گیاهچه‌های خیار، ۱۰۰۰ عدد تخم و لارو سن ۲ نماتد گره ریشه به خاک گلدان‌ها اضافه شد. عصاره‌های آبی و الکلی گیاه‌های گزنه و رازیانه در غلظت‌های ppm ۱۰۰ و ppm ۲۰۰ در دو نوبت ۵ و ۱۰ روز بعد از مایه زنی با نماتد به خاک گلدان‌ها و محیط ریشه اضافه شدد. سم راگبی در غلظت‌های ppm ۵۰ و ppm ۲۰۰ به عنوان شاهد مورد استفاده قرار گرفت. در آزمون‌های درون شیشه میزان ۰/۰۵ و ۰/۲ گرم از سم در یک لیتر از آب حل شد و میزان ۵۰۰ ماکرولیتر آن به میکروتیوب‌ها اضافه شد. برای آزمون‌های گلخانه‌ای میزان مشابه از سم به ۱ کیلوگرم خاک اضافه شد. رقم مورد استفاده دارای درجاتی از مقاومت به بیمارگرهای قارچی، باکتریایی و ویروسی بود. دلیل انتخاب این رقم امکان تحریک واکنش‌های دفاعی سیستمیک در آن با استفاده از عصاره‌های گیاهی بود.

بررسی شاخص‌های رشدی: برای بررسی میزان محتوی کلروفیل کل گیاه میزان ۰/۵گرم از بافت گیاه خرد شده با ازت مایع در ۲۰ میلی‌لیتر استون ٪۸۰ مخلوط شده و در سرعت ۶۰۰۰ دور در دقیقه به مدت ۱۰ دقیقه سانتریفوژ شد. ۳، ۹ و ۱۵ روز بعد از اضافه نمودن عصاره‌ها میزان جذب نور در طول موج‌های ۶۶۳ و ۶۴۵ و ۴۷۰ نانومتر مطابق روش آرنون (Arnon, 1987) با رابطه زیر:

Chlorophyll a : (19.3*A663- 0.86*A645)V/100w

Chlorophyll b : (19.3*A645 – 3.6*A663)V/100w

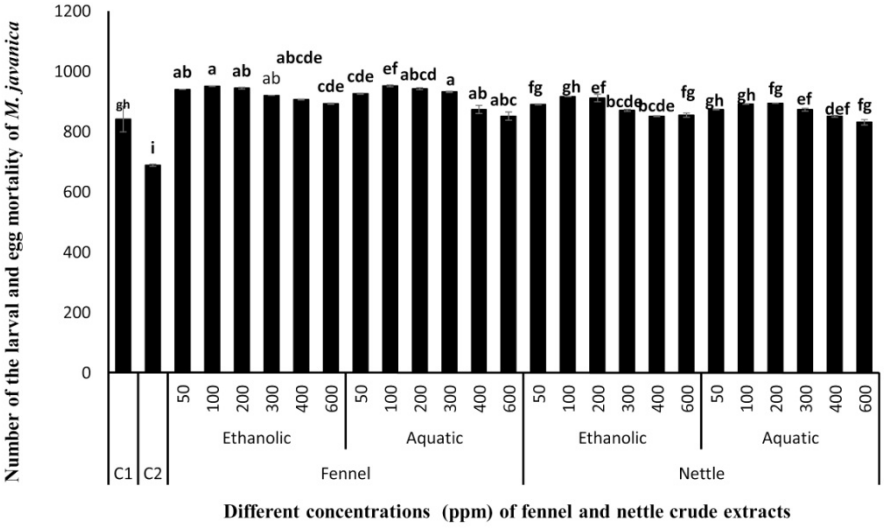
Chlorophyll total : (Chlorophyll a + Chlorophyll b)

اندازه‌گیری شد. در نهایت گیاهچه‌های خیار ۶۰ روز پس از مایه زنی نماتد برای بررسی از گلدان‌ها خارج و از نظر تعداد گال، تعداد تخم و لارو نماتد، و شاخص‌های مرفولوژیکی مانند طول ریشه، طول ساقه، فاصله میان گره، وزن‌های تر و خشک ریشه، ساقه و برگ اندازه گیری شد. تجزیه واریانس داده‌ها بر اساس طرح فاکتوریل در قالب طرح کاملاً تصادفی در روزهای ۳، ۹ و ۱۵ با سه فاکتور تیمار، روز و زمان انجام گرفت و در نهایت تجزیه و تحلیل آماری با استفاده از آزمون چند دامنه ای دانکن درسطح ۵ درصد با نرم افزار SPSS انجام شد.

نتیجه و بحث

بررسی اثر کنترل کنندگی عصاره‌ها تحت شرایط آزمایشگاهی نشان داد که غلظت‌های ۱۰۰ و ۲۰۰ ppm هر کدام از عصاره‌ها بهترین غلظت‌ها با توان بالای کنترل کنندگی در محیط آزمایشگاهی می‌باشند و لذا برای انجام تحقیقات گلخانه‌ای غلظت‌های مذکور انتخاب شدند (شکل ۱). نتایج نشان داد که عصاره‌های آبی و الکلی گزنه و رازیانه در میزان مرگ و میر لاروهای سن دوم نماتد در شرایط درون شیشه مؤثرتر از سم راگبی عمل نمودند و عصاره‌های آبی و الکلی رازیانه مؤثرتر از عصاره‌های آبی و الکلی گزنه بود (جدول ۳). همچنین مشخص شد غلظت ۱۰۰۰ppm هر یک از عصاره‌ها باعث گیاهسوزی می‌شود و لذا غلظت مذکور برای انجام تحقیقات حذف شد. بر طبق آنالیز پروبیت، بیشترین سمیت علیه لارو سن دوم و تخم نماتد بر اساس میزان LC50 به طور کلی مربوط به عصاره آبی رازیانه (LC50: 611.94) و الکلی رازیانه (LC50:808.8) بود(جدول ۳).

تجزیه واریانس داده‌های حاصل از آزمون های سنجش مورفولوژیکی گیاه در گلخانه و مقایسه میانگین‌ها با آزمون چند دامنه‌ای دانکن نشان داد که بین تیمارهایی که در آنها هر یک از عصاره‌ها به کار رفته است از نظر شاخص های رشدی شامل وزن های تر و خشک ریشهٔ و برگ و هم چنین طول ساقه و ریشه در مقایسه با شاهدهای سالم تیمار نشده و یا تیمار شده با سم اختلاف معنی داری $P< ۰/۰۵$ داشت. طول ساقه گیاه خیار پس از تیمار با عصاره آبی رازیانه با غلظت ppm ۱۰۰ بدون حضور نماتد بالاترین رشد را در بین سایر تیمارها دارا بود. همچنین طول ساقه در تیمار با غلظت ppm ۱۰۰عصاره آبی گزنه نیز نسبت به نمونه شاهد به طور معنی‌داری افزایش زیادی داشته ولی در مقایسه با عصاره رازیانه مقدار افزایش کمتری داشته است (جدول ۱).



شکل ۱- مقایسه میانگین تعداد مرگ و میر لارو سن دوم و تخم های نماتد *M. javanica* در شرایط آزمایشگاهی پس از تیمار با عصاره های آبی و الکلی گیاهان گزنه و رازیانه، درغلظت های مختلف ۵۰ ppm تا ۶۰۰ . از سم Rugby در غلظت‌های مختلف (C1: ۲۰۰ppm و C2: ۵۰ ppm) به عنوان کنترل مثبت استفاده شد. مقایسه های آماری با استفاده از آزمون دانکن با سطح معنی داری (α=۰/۰۵) صورت پذیرفت است.

Fig. 1. Comparing the mean of mortality of second stage juveniles and eggs of *M. javanica* nematode under laboratory conditions after treatment with the aquatic and alcoholic crude extracts of the nettle and fennel plants at different concentrations of 50 to 600 ppm. Rugby nematicide at two concentrations of C1: 200 ppm and C2: 50 ppm used as a positive control. Statistical comparisons performed with the Duncan's test at the significance level of α= 0.05.

در ارزیابی شاخص رشدی طول ریشه گیاه خیار نیز بالاترین مقدار رشد در نمونه‌های آلوده به نماتد و یا بدون نماتد تیمار شده با غلظت ۲۰۰ ppm عصاره آبی رازیانه مشاهده شد. علیرغم آنکه طول ریشه پس از تیمار با غلظت ۱۰۰ ppm عصاره الکلی گزنه افزایش قابل توجهی در مقایسه با نمونه‌های شاهد سالم تیمار نشده و یا تیمار شده با سم و سایر تیمارها داشته است ولی در مقایسه با هر یک از عصاره‌های رازیانه عملکردآن ضعیف تر بوده است (جدول ۱). وزن‌های تر و خشک ساقه گیاهچه‌های خیار، پس از تیمار با عصاره آبی رازیانه با غلظت ۱۰۰ ppm بیشترین میزان افزایش را در مقایسه با نمونه شاهد و سایر تیمارها نشان دادند و در تیمار با عصاره گزنه آبی ۱۰۰ ppm عملکرد بهتری داشتند (جدول ۲).

در اندازه‌گیری وزن تر برگ گیاه خیار، تیمار با غلظت ۲۰۰ ppm عصاره آبی رازیانه بیشترین مقدار افزایش را نشان داد. عصاره الکلی گزنه در غلظت ۲۰۰ ppm عملکردی مشابه گیاه سالم داشت بدین معنی که علاوه بر کنترل کنندگی بیماری نماتد، مشکلی در رشد گیاه به وجود نیاورده است. در مورد وزن خشک برگ گیاه خیار تیمار با عصاره آبی رازیانه ۲۰۰ ppm مقدار افزایش قابل توجهی نسبت به شاهدهای سالم تیمار نشده و یا تیمار شده با سم داشته است. در مورد فاصله میانگره نتایج نشان داد تیمار با غلظت ۲۰۰ ppm عصاره آبی رازیانه و نیز با غلظت ۱۰۰ ppm عصاره آبی گزنه به ترتیب به بیشترین میزان نسبت به شاهد سالم تیمار نشده در بین سایر تیمارها موجب افزایش معنی دار فاصله بین میانگره‌ها شده است (جدول ۲). نتایج ارزیابی میزان وزن‌های تر و خشک ریشه گیاهان خیار سالم و آلوده به نماتد تیمار نشان داد تیمار با غلظت ۲۰۰ ppm عصاره آبی رازیانه و همچنین تیمار با غلظت ۲۰۰ppm عصاره آبی گزنه باعث بیشترین میزان افزایش رشد هر یک از وزن‌های ریشه شده است که این امر نیز می‌تواند بیانگر آن باشد که عصاره آبی رازیانه عملکرد بهتری را در افزایش فاکتورهای رشدی گیاه

خیار در مقایسه با سایر عصاره‌ها و نیز سم داشته است (جدول ۱). در بررسی تاثیر هر یک از عصاره‌ها در جمعیت نماتد و نیز میزان شکل‌گیری گره در ریشه نتایج نشان داد کمترین مقدار گره ریشه و نماتد در خاک در تیمار با غلظت ۱۰۰ppm عصاره‌های آبی رازیانه و گزنه صورت می‌پذیرد (جدول ۲). افزایش وزن‌های تر و خشک ساقه، طول ساقه و همچنین طول میانگره‌ها بعد از تیمار با سم راگبی در نمونه‌های خیار مشاهده شد ولی با نسبت بسیار کمتر در مقایسه با عصاره‌های گیاهی (جدول ۲). چنین اثری برای سم راگبی در گذشته نیز گزارش شده بود (Mahdikhani Moghadam *et al*., 2009). ارزیابی‌ها نشان داد که عصاره‌های آبی رازیانه و گزنه توانسته اند به ترتیب باعث کاهش ۹۳٪ و ۸۹٪ تعداد نماتد و ۷٤٪ و ٦۸٪ تعداد گره‌های ریشه شوند. در صورتی که سم راگبی باعث کاهش به ترتیب ٦۰٪ و ٤۱٪ تعداد نماتد و گره ریشه شد (جدول ۲). در مجموع نتایج حاکی از آن بود که عملکرد عصاره‌های آبی بویژه عصاره آبی رازیانه در افزایش شاخص‌های رشدی و کنترل نماتد نسبت به سایر عصاره‌ها بهتر بوده است. نکته جالب توجه آن بود که در نمونه خیار تیمار شده با آب مقطر پس از ۲ ماه جمعیت نماتد به میزان ٪۵۰ کاهش یافته بود که این امر می‌تواند به دلیل مقاومت پایه رقم هیبرید Beit Alpha 192 به نماتد مولد گره ریشه باشد. با این وجود کاهش جمعیت نماتد در رقم خیار هیبرید مورد تحقیق در تمام تیمارها به صورت نسبی وجود داشت.

میزان محتوی کلروفیل‌های a و b و کلروفیل کل بافت برگ تیمار شده با عصاره‌های آبی و الکلی رازیانه و گزنه در زمان‌های ۳، ۹ و ۱۵ روز پس از تیمار نمونه‌های خیار به نماتد نشان داد تا ۱۵ روز پس از تیمار به صورت یکنواخت و به طور معنی داری در مقایسه با روز سوم میزان محتوی کلروفیل a کاهش پیدا می کند با این وجود عصاره های آبی و الکلی رازیانه و گزنه در غلظت ppm ۱۰۰ موجب افزایش معنی‌دار محتوی کلروفیل a در مقایسه با نمونه‌های شاهد و سم شدند (شکل ۲). همچنین مشخص شد تا ۳ روز بعد از اضافه نمودن هر یک از عصاره‌ها میزان محتوی کلروفیل a به بیشترین سطح خود افزایش یافت و تیمار گیاه با عصاره آبی رازیانه در غلظت ppm ۲۰۰ موجب بیشترین میزان افزایش محتوی کلروفیل a در تمام زمان‌های پس از تیمار شد(شکل ۲). تیمار گیاهچه‌های خیار با غلظت ۱۰۰ppm از عصاره آبی گزنه نیز در رتبه پایین‌تر نسبت به عصاره آبی رازیانه در غلظت مشابه توانست موجب افزایش معنی دار محتوی کلروفیل a تا ۳ روز پس از تیمار نمونه‌ها شود. با این وجود تاثیر مثبت آن با حفظ رتبه مذکور در تمام زمان‌های بررسی شده پس از تیمار مشاهده شد.

در مورد کلروفیل b کاهش معنی دار محتوی کلروفیل b از زمان ۹ تا ۱۵ روز پس از تیمار نمونه‌ها با هر یک از عصاره‌ها مشاهده شد. با این وجود تا روز نهم پس از تیمار این کاهش معنی دار نبود. همچنین مانند کلروفیل a عصاره آبی رازیانه در غلظت ۱۰۰ppm از قدرت بیشتری در افزایش محتوی کلرورفیل b در گیاهچه‌های خیار تیمار در مقایسه با نمونه‌های شاهد، سم و سایر تیمارها برخوردار بود (شکل ۳). در روز ۳ باز هم بالاترین مقدار افزایش محتوی کلروفیل b مرتبط با تیمار با عصاره آبی رازیانه ppm ۱۰۰ بود (شکل ۳).

در مورد محتوی کلروفیل کل روند کاهشی بین روزها و روند تاثیر عصاره در غلظت‌های مختلف در این روند مانند کلروفیل a بود (شکل ٤). به این مفهوم که احتمالاً کلروفیل a در گیاهچه خیار جزء اصلی تشکیل دهنده کل رنگدانه فوتوسنتزی بافت برگ می‌باشد. در روزهای مورد مطالعه بالاترین مقدار مربوط به تیمار گیاه با عصاره آبی رازیانه در غلظت ۱۰۰ppm و کمترین مقدار مربوط به گیاه تیمار شده با نماتد و سم بود (شکل ٤).

جدول ۱- مقایسه میانگین (میانگین ± خطای استاندارد) صفات ریخت شناختی اندازه گیری شده در گیاه خیار بعد از آلودگی با نماتد *M. javanica* و پس از تیمار با غلظت های ۱۰۰و ۲۰۰ ppm عصاره‌های آبی و الکلی گیاهان گزنه و رازیانه

Table 1. Mean comparison (Mean± standard error) between measured morphological indices in cucumber plant after infection with the *M. javanica* and treating with the concentrations of 100 and 200 ppm of aquatic and alcoholic nettle and fennel crude extracts

Treatments				Presence of nematode In the treated pot	Stem height (cm)	Length of the roots (cm)	Fresh weight of roots (g)	Dry weight of roots (g)	Fresh weight of leaves (g)	Dry weight of leaves (g)
Kind	Concentration (ppm)	Solvent								
Rugby (nematicide)	200			With the nematode	39.33±3.48j	13±2.65h	0.61±0.11e	0.17±0.04h	0.42±0.11e	0.15±0.02d
				Without the nematode	91.67±1.45cd*	23.5±0.5cd	0.93±0.03bcd	0.37±0.06bcdef	0.97±0.03ab	0.37±0.06b
DD_2O (Control)				With the nematode	49±1i	18.33±0.67fg	0.82±0.01bcde	0.21±0.01gh	0.61±0.01d	0.17±0.02d
				Without the nematode	52±2.65hi	17.67±0.33fg	0.66±0.03ed	0.18±0h	0.72±0.02d	0.17±0.01d
Fennel	100	Water		With the nematode	51.67±3.28hi	20.33±1.45ef	0.99±0.09bc	0.39±0.1bcde	0.68±0.05d	0.19±0.01d
				Without the nematode	117.67±1.45a	32±0.58ab	1.04±0.04b	0.5±0.03ab	0.99±0.01ab	0.37±0.05b
		Ethanol		With the nematode	49±1.53i	18.67±0.33fg	0.81±0.01bcde	0.25±0.03efgh	0.62±0.01d	0.18±0.01d
				Without the nematode	68.33±0.88fg	24.83±0.6cd	0.86±0.03bcde	0.27±0.03defgh	0.82±0.01c	0.21±0.01d
	200	Water		With the nematode	60±3.61gh	19.33±0.67fg	0.83±0.01bcde	0.3±0defgh	0.7±0.04d	0.2±0.02d
				Without the nematode	107.67±1.45	34.33±0.67a	1.69±0.33a	0.6±0.05a	1.04±0.04a	0.5±0.02a
		Ethanol		With the nematode	51.67±4.26hi	18±1fg	0.84±0bcde	0.25±0.03efgh	0.68±0.03d	0.18±0.01d
				Without the nematode	84.33±0.67de	22.83±0.6de	0.88±0.01bcde	0.27±0.03defgh	0.92±0.04bc	0.29±0.04bc
Nettle	100	Water		With the nematode	56±6.11hi	18.67±0.67fg	0.8±0.01bcde	0.23±0.04fgh	0.65±0.02d	0.18±0.02d
				Without the nematode	97.67±2.33c	30±0.58b	0.97±0.01bc	0.36±0.04bcdef	0.97±0.02ab	0.36±0.03bc
		Ethanol		With the nematode	57±4.04hi	19.67±0.33fg	0.79±0.01bcde	0.18±0h	0.61±0d	0.16±0.01d
				Without the nematode	76.33±0.88ef	24.5±0.29cd	0.91±0.04bcd	0.34±0.04cdefg	0.9±0.03bc	0.29±0.03c
	200	Water		With the nematode	54.67±6.33hi	18±1.53fg	0.8±0.03bcde	0.2±0gh	0.63±0.01d	0.17±0.02d
				Without the nematode	93.33±3.18cd	26.33±1.2c	1.03±0.05b	0.45±0.06bc	0.92±0.01bc	0.31±0bc
		Ethanol		With the nematode	52.33±2.85hi	17±0.58g	0.74±0.03cde	0.27±0.07defgh	0.6±0.01d	0.17±0.02d
				Without the nematode	88.33±2.03cd	26.5±0.76c	0.99±0.01bc	0.41±0.05bcd	0.95±0.01ab	0.32±0bc

*حروف مشترک نشان دهنده عدم اختلاف معنی دار است. محاسبات آماری به روش دانکن (A=۰/۰۵) انجام شده است.

*Identical letters indicated that there is not any significant difference. Statistical analysis performed with the Duncan's test with an alpha level of 0.05.

جدول ۲- مقایسه میانگین (میانگین ± خطای استاندارد) صفات ریخت شناختی اندازه گیری شده در گیاه خیار بعد از آلودگی با نماتد *M. javanica* و پس از تیمار با غلظت های ۱۰۰و ۲۰۰ ppm عصاره های آبی و الکلی گیاهان گزنه و رازیانه

Table 2. Mean comparison (Mean± standard error) between measured morphological indices in cucumber plant after infection with the *M. javanica* and treated with the concentrations of 100 and 200 ppm of aquatic and alcoholic nettle and fennel crude extracts

Treatments				Presence of nematode In the treated pot	Fresh weight of stem (g)	Dry weight of stem (g)	Internodes length (cm)	Number of the galls in roots	Nematode density in roots (individuals 10 g^{-1} root biomass)
Kind	**Concentration (ppm)**	**Solvent**							
DD_20 (control)				With the nematode	3.07±0.31g*	0.75±0.12h	4±0g	20±1.15a	559.33±46.94a
				Without the nematode	5.49±0.25d	1.33±0.01defg	7.17±0.17b	0±0g	0±0e
Rugby (nematicide)	200			With the nematode	3.74±0.35fg	1.1±0.07efgh	4.67±0.33ef	11.67±0.33b	222.33±19.38b
				Without the nematode	4.43±0.12ef	0.81±0.34gh	6.03±0.03c	0±0g	0±0e
Fennel	100	Water		With the nematode	6.47±0.13c	1.75±0.14bcd	5.17±0.17de	5.33±0.33f	38.67±2.4de
				Without the nematode	9.34±0.18a	2.76±0.13a	6.93±0.23b	0±0g	0±0e
		Ethanol		With the nematode	4.75±0.02de	1.39±0.14def	5.27±0.18de	7.33±0.33cd	67±4.36cd
				Without the nematode	6.68±0.19c	1.64±0.19bcde	6.83±0.26b	0±0g	0±0e
	200	Water		With the nematode	5.48±0.21d	1.53±0.18cdef	5.5±.29cd	6±0.58ef	47±0.58cd
				Without the nematode	7.57±0.15b	2.06±0.03bc	7.8±0.31a	0±0g	0±0e
		Ethanol		With the nematode	3.83±0.27fg	1.02±0.25fgh	4.47±0.24fg	7.67±0.33c	78.33±1.33c
				Without the nematode	6.34±0.3c	1.44±0.23def	6.73±0.23b	0±0g	0±0e
Nettle	100	Water		With the nematode	4.34±0.28ef	1.03±0.05fgh	5±0.06def	6.33±0.33def	58±3.21cd
				Without the nematode	7.86±0.29b	2.19±0.15b	7.23±0.12ab	0±0g	0±0e
		Ethanol		With the nematode	3.87±0.04fg	0.82±0.11gh	4.8±0.12ef	6.67±0.33cde	77±1.53c
				Without the nematode	6.67±0.23c	1.64±0.12bcde	6.8±0.17b	0±0g	0±0e
	200	Water		With the nematode	4.22±0.16ef	0.75±0.33h	437±0.18fg	6.3±0.53cde	58±5cd
				Without the nematode	7.71±0.62b	2.09±0.2bc	7.07±0.17b	0±0g	0±0e
		Ethanol		With the nematode	3.64±0.37fg	0.81±0.11gh	4.77±0.23ef	6.4±0.12cde	81±1c
				Without the nematode	6.64±0.21c	1.68±0.1bcd	7.07±0.15b	0±0g	0±0e

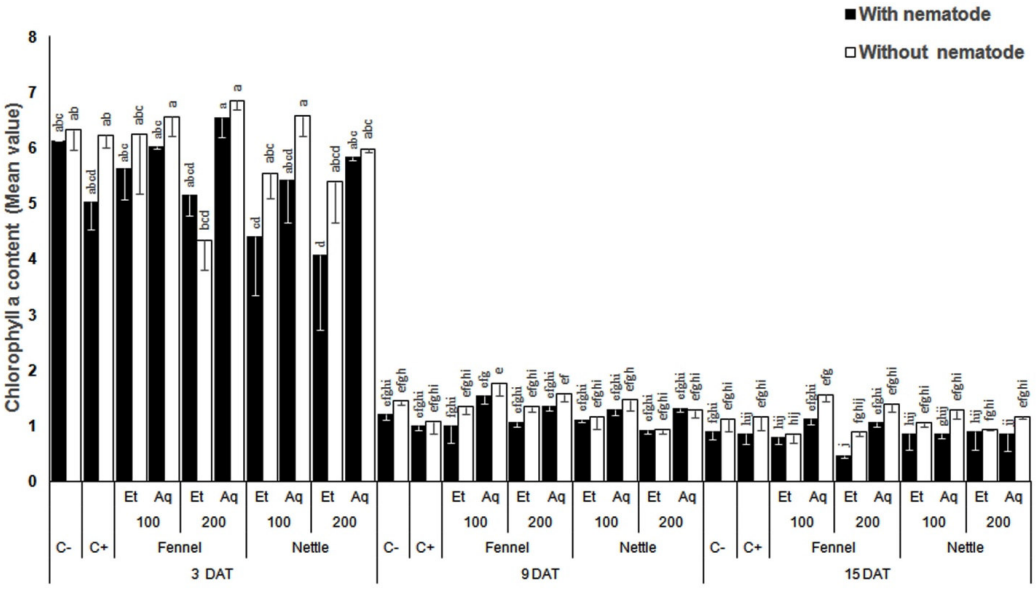
*حروف مشترک نشان دهنده عدم اختلاف معنی دار است. محاسبات آماری توسط آزمون چند دامنه ای دانکن با سطح معنی داری (A۰/۰۵ =) انجام شده است.

*Identical letters indicated that there is not any significant difference. Statistical analysis performed with the Duncan's multiple range tests with an alpha level of 0.05.

جدول ۳- نتایج آنالیز پروبیت مرگ و میر- غلظت در آزمایش زیست سنجی تحت شرایط درون شیشه جهت بررسی اثر بازدارندگی غلظت های مختلف عصاره خام گیاهان گزنه و رازیانه علیه تخم و لارو نماتد *M. javanica*

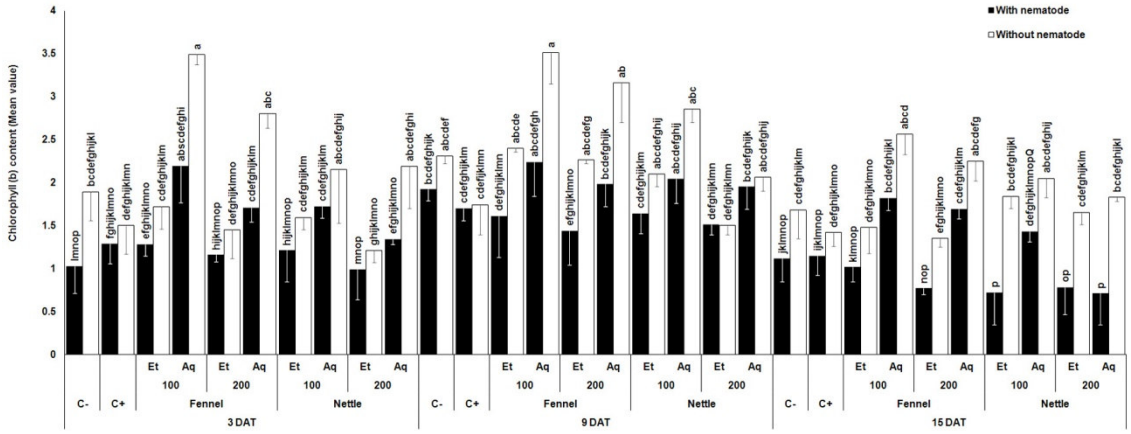
Table 3. The probit analysis results in bioassay assessments for studying the inhibitory effect of different concentrations of fennel and stinging nettle weed crude extracts on *M. javanica* eggs and larva mortality under laboratory conditions.

Treatments	IC90	IC50	Chi-Square	df	*p*
Aquatic extract of fennel	0.04	611.945	83.5	4	0.212
Ethanolic extract of fennel	0.07	808.8	805.6	4	0.144
Aquatic extract of nettle	3.57	9761.01	44.5	4	0.244
Ethanolic extract of nettle	10.83	6804.2	33.3	4	0.503



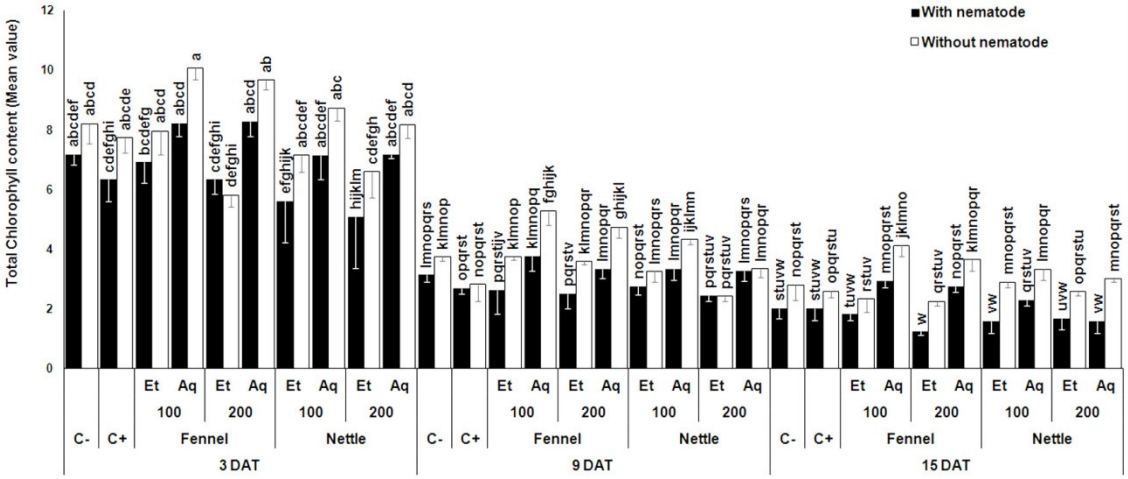
شکل ۲- نمودارهای مقایسه میانگین رنگدانه (کلروفیل a) در گیاه خیار بعد از آلودگی با نماتد *M. javanica* و پس از تیمار با غلظت‌های ۱۰۰و ۲۰۰ ppm عصاره‌های آبی و الکلی گیاهان گزنه و رازیانه در زمان‌های ۳، ۹ و ۱۵ روز پس از تیمار با عصاره. (DAT): روزهای پس از تیمار با عصاره؛ (Et): عصاره اتانولی؛ (Aq): عصاره آبی؛ (-C): شاهد منفی- گیاه بدون تیمار؛ (+C): کنترل مثبت-تیمار شده با سم راگبی. محاسبات آماری توسط آزمون چند دامنه ای دانکن بـا سـطح معنی داری (α=۰/۰۵) انجام شده است. حروف مشترک نشان دهنده عدم اختلاف معنی دار است.

Fig. 2. Mean comparison of the chlorophyll pigments (chlorophyll a) in cucumber plant infected with the *M. javanica* and treated with the concentrations of 100 and 200 ppm of aquatic and alcoholic nettle and fennel crude extracts, 3, 9 and 15 days post treatment with extracts. (DAT): days after treatments with each extract; (Et): Ethanolic extract; (Aq): Aquatic extract; (C-): negative control-untreated plant; (C+): positive control-treated with the Rugby nematicide. Statistical analysis performed with the Duncan's multiple range test with an alpha level of 0.05. Identical letters indicated that there is not any significant difference.



شکل ۳- نمودارهای مقایسه میانگین رنگدانه (کلروفیل b) در گیاه خیار بعد از آلودگی با نماتد *M. javanica* و پس از تیمار با غلظت های ۱۰۰و ۲۰۰ ppm عصاره های آبی و الکلی گیاهان گزنه و رازیانه در زمان های ۳، ۹ و ۱۵ روز پس از تیمار با عصاره. (DAT): روزهای پس از تیمار با عصاره؛ (Et): عصاره اتانولی؛ (Aq): عصاره آبی؛ (-C): شاهد منفی- گیاه بدون تیمار؛ (+C): کنترل مثبت-تیمار شده با سم راگبی. محاسبات آماری توسط آزمون چند دامنه ای دانکن با سطح معنی داری (α=۰/۰۵) انجام شده است. حروف مشترک نشان دهنده عدم اختلاف معنی دار است.

Fig. 3. Mean comparison of the chlorophyll pigments (chlorophyll b) in cucumber plant infected with the *M. javanica* and treated with the concentrations of 100 and 200 ppm of aquatic and alcoholic nettle and fennel crude extracts, 3,9 and 15 days post treatment with extracts. (DAT): days after treatments with each extract; (Et): Ethanolic extract; (Aq): Aquatic extract; (C-): negative control-untreated plant; (C+): positive control-treated with the Rugby nematicide. Statistical analysis performed with the Duncan's multiple range test with an alpha level of 0.05. Identical letters indicated that there is not any significant difference.



شکل ۴- نمودارهای مقایسه میانگین رنگدانه گیاهی (کلروفیل کل) در گیاه خیار بعد از آلودگی با نماتد *M. javanica* و پس از تیمار با غلظت های ۱۰۰و ۲۰۰ ppm عصاره های آبی و الکلی گیاهان گزنه و رازیانه در زمان های ۳، ۹ و ۱۵ روز پس از تیمار با عصاره. (DAT): روزهای پس از تیمار با عصاره؛ (Et): عصاره اتانولی؛ (Aq): عصاره آبی؛ (C-): شاهد منفی- گیاه بدون تیمار؛ (C+): کنترل مثبت-تیمار شده با سم راگبی. محاسبات آماری توسط آزمون چند دامنه ای دانکن با سطح معنی داری (α=۰/۰۵) انجام شده است. حروف مشترک نشان دهنده عدم اختلاف معنی دار است.

Fig. 4. Mean comparison of the chlorophyll pigments (total chlorophyll) in cucumber plant infected with the *M. javanica* and treated with the concentrations of 100 and 200 ppm of aquatic and alcoholic nettle and fennel crude extracts, 3,9 and 15 days post treatment with extracts. (DAT): days after treatments with each extract; (Et): Ethanolic extract; (Aq): Aquatic extract; (C-): negative control-untreated plant; (C+): positive control-treated with the Rugby nematicide. Statistical analysis performed with the Duncan's multiple range test with an alpha level of 0.05. Identical letters indicated that there is not any significant difference.

در جمع بندی کلی تحقیقات گلخانه‌ای افزایش طول ساقه و ریشه، وزن‌های تر و خشک ساقه، ریشه و برگ، کاهش تعداد گره ریشه و لارو سن ۲ در تیمار با غلظت‌های ۱۰۰ ppm و ۲۰۰ ppm عصاره های آبی و الکلی گیاهان داروئی رازیانه و گزنه را نسبت به سم راگبی و شاهد نشان داد. با این وجود عصاره های آبی در مقایسه با عصاره الکلی کارامدتر عمل نمودند و در این میان غلظت ۱۰۰ppm عصاره آبی رازیانه بهترین عملکرد را در افزایش شاخص های رشدی مورد ارزیابی و نیز میزان مرگ و میر لاروها و ممانعت از تشکیل غده در ریشه در مقایسه با سایر تیمارها و نیز سم راگبی نشان داد. لذا می تواند جایگزین مناسبی به جای سموم شیمیایی در محیط های گلخانه‌ای برای کنترل نماتد مولد گره ریشه بویژه در کشت خیار باشد.

گیاه خیار از جمله صیفی جات مختص نواحی گرمسیری است که تقاضا برای مصرف آن در جوامع مختلف در حال افزایش است و از بین عوامل بیماری‌زای گیاهی تهدید کننده، نماتد مولد ریشه گرهی *M. javanica* از مهم‌ترین عوامل خسارت زای خیار محسوب می‌شود. استفاده از سموم شیمیایی موثرترین روش جهت مدیریت کنترل و مبارزه با نماتد در ایران و جهان محسوب می‌شود. بدلیل اثرات مخرب و پایدار زیست محیطی سموم شیمیایی درخاک جهت کنترل نماتد، در حال حاضر تقاضای بالایی برای استفاده از مواد زیستی تجزیه پذیر و بی ضرر جهت کنترل نماتد مولد ریشه گرهی وجود دارد. مشتقات چریش در کاهش نماتد ریشه گرهی *M. javanica* و افزایش رشد در گیاه خیار نسبت به شاهد نقش موثری داشته است (Hosseininejad, 2004). همچنین نقش بازدارندگی اسانس‌های موسیر، مریم گلی و کرفس کوهی روی نماتد ریشه گرهی (Feyzi *et al*., 2014) و اثر عصاره برگ درمنه و کرچک در کاهش جمعیت نماتد ریشه گرهی خیار (*Meloidogyne incognita*) ثابت شده است (Katooli *et al*., 2010). نتایج این پژوهش حاکی از آن بود که عصاره آبی گیاهان داروئی رازیانه و گزنه دارای توان کنترل

نماتد مولد گره ریشه در گیاه خیار به ترتیب بـه میـزان ۹۳٪ و ۸۹٪ لارو نماتد و ۷٤٪ و ٦۸٪ گره ریشه در مقایسه بـا شـاهد تیمار شده با آب بود. در خصوص تأثیر کنترل کنندگی عصاره خام رازیانه با نتـایج صـادقی (Sadeghi *et al*., 2010) مطابقـت داشت. اسانس روغنی رازیانه از توان ۹۳٪ جلوگیری از تفریخ توده تخم و ۹۸/۳٪ مرگ و میز لارو سن دوم نماتد مولد گـره ریشه در شرایط گلخانـه‌ای برخـوردار بـوده اسـت (Sadeghi *et al*., 2010). با این وجـود در ایـن تحقیـق از عصـاره آبـی و الکلی خام رازیانه استفاده شد و شاخص‌های رشدی علاوه بر میزان درصد مرگ و میر لاروها محاسبه شد. سـتفاده از پـودر خشـک گیاهـان مرزنجـوش *Glyuyrrhize globra*، شـیرین بیـان *Origanum vulgara* و مـریم گلـی *Salvia officinalis* در خاک گلدان‌های خیـار در محـیط گلخانـه مـی‌توانـد تـا ۸۰٪ موجب کاهش جمعیت لارو سن دوم نماتد *M. javanica* شود. با این وجود درصدهای کنترل کنندگی در نوع خاص عصـاره به کار گرفته شده در این تحقیـق چـه در حالـت آبـی و چـه الکلی بیشتر از تحقیق مذکور بود (Kella *et al*., 2012). فعالیت ضد نماتدی پودر خشک گزنه و افزودن مستقیم آن در خـاک در زراعـت‌هـای لوبیـا و گوجـه فرنگـی علیـه نماتـدهای *Pratylenchus* و *Aphelenchoides* قـبلاً اثبـات شـده بـود (Nasiri *et al*., 2013). تا کنون مشخص نشده است چه بخشـی از عصاره خام گزنه از توان نماتدکشـی برخـوردار اسـت امـا نقش لکتین‌ها و پروتئین‌های مرتبط با لکتین در برخـی مـوارد مطـرح شـده اسـت (Ibrahim *et al*., 2006). تـاثیر مثبـت عصاره‌های خام گیاهان مورد بررسی در این تحقیـق در رشـد گیاه خیار می‌تواند بدلیل افـزایش متابولیسـم گیـاه و مقاومـت فیزیکی گیاه به آلودگی نماتدی باشد. همچنین این امکان دارد که دفاع‌های سیستمیک در گیاه خیـار بـه دلیـل افـزایش تـوان متابولیکی گیاه افزایش یافته باشد کـه جـای دارد تـا مقاومـت گیاهچه‌های خیار تیمار شده با عصاره به سایر عوامل بیمـاریزا در آینده مورد ارزیابی‌های دقیق مولکولی و بیوشـیمیایی قـرار گیرد. عصاره‌های آبی و الکلی گیاه گزنه برای اولین بار در این تحقیق جهت کنترل نماتد *M. javanica* استفاده شد. نتایج ایـن تحقیق مـی‌توانـد بـرای افـزایش تولیـد محصـولات مختلـف گلخانه‌ای کاربرد داشته باشد.

سپاسگزاری

نویسندگان مقاله بدین وسیله از زحمات خانم دکتر اطهـر علیشـیری در گـروه بیمـاری شناسـی گیـاهی واحـد علـوم و تحقیقات دانشگاه آزاد اسلامی تهران به جهت کمک به اجرای تحقیق کمال تشکر و قدردانی را دارند.

References

ADEGBITE, A. A. and O. S. ADESIYAN, 2005. Root extract of plant to control root-knot nematode on edible soybean. World Journal of Agricultural Sciences, 1:18-21.

ANONYMOUS, 2016. Statistical annual report of Iranian agricultural crops. Volume 1, Field Crops, Iranian Ministry of Agriculture.163 pp. (In Farsi).

ANONYMOUS, 2014. FAOSTAT. Preliminary 2012. Production Data. Statistical Data. http://www.faostat.fao.org.

ARNON, D. I. 1987. Photosynthetic CO_2 assimilation by chloroplasts: assertion, refutation, discovery. Trends in Biochemical Sciences, 12: 39-42.

COOLEN, W. A. and C. J. D'HERDE, 1972. A method for the quantitative extraction of nematodes from plant tissue. Nematology and Entomology Research. Ghent, Belgium.

DROPKIN, V. H. 1989. *Introduction to plant nematology* (No. Ed 2nd). John Wiley and Sons Inc. Pub., New York.

FEYZI, A., E. MAHDIKHANI MOGHADAM, M. AZIZI, and H. ROUHANI, 2014. Inhibitory Effects of Essential Oils of *Allium hirtifolium*, *Salvia officinalis* and *Kelussia odoratissima* on *Meloidogyne javanica* and to extract of their active substances. Journal of Plant Protection. 28: 220-225.

HOSSEININEJAD, S. A. 2004. Effect of neem *Azadirachta indica* on root-knot nematode, *M. javanica*, infecting tomato. Applied Entomology and Phytopathology. 71: 69-89.

HUSSEY, R. S. and K. R. BARKER, 1973. A Comparison of Methods of Collecting Inocula of *Meloidogyne* spp. Including A New Technique. Plant Disease Reporter. 57: 1025-1028.

IBRAHIM, S. K., A. F. TRABOULSI and S. EL-HAJ, 2006. Effect of essential oils and plant extracts on hatching, migration and mortality of Meloidogyne incognita. Phytopathologia Mediterranea. 45: 238–246.

JATALA, P. 1986. Biological control of plant parasitic nematodes. Annual Review of Phytopathology. 24: 453–489.

JENKINS, W. R. 1964. A Rapid Centrifugal-Flotation Technique for Separating Nematodes from Soil. Plant Disease Reports. 48: 692.

JENKINS, W. R. and B. W. COURSEN, 1978. The effect of root-knot nematodes, *Meloidogyne incognita acrita* and *M. hapla* on *Fusarium* wilt of tomato. Plant Disease Reports. 41: 182-186.

KATOOLI, N., E. MAHDIKHANI MOGHADAM and R. MAGHSOUDLU, 2010. Effect of leaf extracts of sweet wormwood and castor bean in reducing population of root-knot nematode (*Meloidogyne incognita*) on cucumber. Agroecology. 2: 587-592.

KELLA, A. M., M. A. BEKHEIT, A. E. ANANY and A. S. MANSOUR, 2012. Alternative control of root knot nematode infecting cucumber by dry powder of some native plants comparative with nematicide. Egypt Journal of Agronematology. 11: 272–284.

LINFORD, M. B., F. YAP and J. M. OLIVEIRA, 1938. Reduction of soil population of root-knot nematode during decomposition of organic matter. Soil sciences. 45: 127-141.

MAHDIKHANI MOGHADAM, E., H. ROHANI and M. FLAHI RASTEGAR, 2009. Biological Control of Sugar Beet Cyst Forming Nematode with Trichoderma Under In Vitro and Green House Condition. Journal of Science and Technology of Agriculture and Natural Resources. 13 (48) :301-312.

NASIRI, M., K. AZIZI, H. HAMZEHZARGHANI and R. GHADERI, 2013. Studies on the nematicidal activity of stinging nettle (*Urtica dioica*) on plant parasitic nematodes. Archives of Phytopathology and Plant Protection. 47: 591-599.

NTALLI, N. G., U. MENKISSOGLU-SPIROUDI, I. O. GIANNAKOU and D. A. PRPPHETOU-ATHANASIADOU, 2009. Efficacy evaluation of neem (Azadirachta indica A. Juss) formulation against root- knot nematode, Meloidogyne incognita. Journal of Crop Protection. 28: 489 -494.

OKA, Y. 2001. Nematicidal activity of essential oil components against the root-knot nematode *M. javanica*. Nematology, 3: 159-164.

OKA, Y., S. NACER, E. PUTIEVSKY, U. RAVID, Z. YANIV and Y. SPEIGEL, 2000. Nematicidal activity of essential oils and their components against the root-knot nematode. Phytopathology. 90: 710-715.

PAKEERATHAN, K., G. MIKUNTHAN and N. THARSHANI, 2009. Eco-Friendly Management of Root-knot Nematode Meloidogyne incognita (Kofid and White) Chitwood Using Different Green Leaf Manures on Tomato under Field Conditions. American-Eurasian Journal of Agriculture & Environmental Sciences. 6: 494-497.

SADEGHI, Z., E. MAHDIKHANI MOGHADAM and M. AZIZI, 2010. Evaluation of nematicidal effect of essential oils from some medicinal plants (Apiaceae) against the root-knot nematode. Journal of Plant Protection (Agricultural Science Technoogy). 24: 62-68.

SADEGHI, S., E. MAHDIKHANI MOGHADAM and M. AZIZI, 2012. Evaluation of plant products to control *M. javanica* on tomato. Iranian Journal of Plant Pathology. 48: 155-163.

SAHRANESHIN SAMANI, M. and A. A. FADAEI TEHRANI, 2015. Investigating the pathogenicity and loss of root knot nematode (*Meloidogyne javanica*) on several stocks and scion composition of almond. Journal of plant protection. 38: 25-36.

SHARMA, S. K., I. SINGH and P. K. SAKHUJA, 1980. Influence of different cropping sequences on the

P. KONZEMPEL, 1984. Estimation of azadirachtin content in neem extracts and formulations, Journal of Liquid Chromatography. 7: 591-598.

YANG, X., W. WANG, K. WANG, L. SU, H. LI and Q. SHEN, 2015. The nematicidal effect of camellia seed cake on root-knot nematode *Meloidogyne javanica* of banana. PLoS ONE 10: e0119700. doi:10.1371/journal.pone.0119700.

population of root-knot nematode, *Meloidogyne incognita*, and the performance of the subsequent mungbeen crop. Indian Journal of Nematology. 10: 53-58.

VIGGIANO, J. R., L. G. FREITAS and E. A. LOPES, 2014. Use of Pochonia hlamydosporia to control Meloidogyne incognita in cucumber. Biological Control. 69: 72-77.

WARTHEN, J. R., J. B. STOKES, M. JACOBSON and M.