

بررسی اثر عصاره برگ درمنه و کرچک در کاهش جمعیت نماتود ریشه گرهی خیار (*Meloidogyne incognita*)

نقیسه کتولی^{۱*}، عصمت مهدیخانی مقدم^۲ و راحله مقصودلو^۳

تاریخ دریافت: ۱۳۸۹/۰۳/۲۹

تاریخ پذیرش: ۱۳۸۹/۰۷/۰۷

چکیده

یکی از روش‌های کنترل نماتود ریشه گرهی خیار (*Meloidogyne incognita*)، بکارگیری عصاره گیاهانی است که اثر ضد نماتودی دارند. در این تحقیق گیاهان کرچک و درمنه انتخاب شده و فعالیت ضد نماتودی آنها علیه نماتود مولد گره ریشه خیار در آزمایشگاه و گلخانه مورد بررسی قرار گرفت. بدین منظور تحقیقی با طرح آزمایشی فاکتوریل در قالب کاملاً تصادفی در شرایط آزمایشگاه و گلخانه به اجرا درآمد. برای این منظور، ابتدا در آزمایشگاه اثر عصاره‌های الکلی برگ درمنه و کرچک در غلظت‌های صفر، ۵۰، ۱۰۰، ۲۰۰، ۳۰۰، ۴۰۰، ۵۰۰ و ۱۰۰۰ پی پی ام در سه زمان ۲۴، ۴۸ و ۷۲ ساعت روی درصد عدم تحرک لاروهای سن دوم و تفریح تخم‌های نماتود مورد بررسی قرار گرفت. پس از اثبات فعالیت ضد نماتودی این گیاهان، این فعالیت در گلخانه با اضافه کردن عصاره گیاهان ذکر شده به گلدان‌های حاوی خاک آلوده به نماتود و نشاء خیار بررسی شد. نتایج آزمایشگاه بالاترین فعالیت ضد نماتودی را در عصاره الکلی برگ کرچک با ۶۱/۳۳ درصد و برگ درمنه با ۵۵/۶۷ درصد در غلظت ۱۰۰۰ پی پی ام پس از ۷۲ ساعت نشان داد. همچنین مشاهده شد که اضافه کردن عصاره به گلدان‌ها، به خوبی تعداد گال‌ها و جمعیت نماتود را کاهش داده است. نتایج حاصل از این تحقیق نویدبخش به کارگیری عصاره این گیاهان در کنترل نماتود ریشه گرهی خیار به جای سموم شیمیایی خصوصاً در گلخانه‌ها می‌باشد.

واژه‌های کلیدی: اثر ضد نماتودی، عصاره الکلی، کنترل نماتود، گیاهان نماتود کش

مقدمه

نماتودهای انگل گیاهی، دشمنان پنهان گیاهان و از پراکنده‌ترین عوامل کاهش دهنده‌ی محصول در گیاهان مختلف محسوب می‌شوند. نماتودهای ریشه گرهی *Meloidogyne spp.* یکی از انگل‌های مهم گیاهان و بخصوص سبزی و صیفی بوده و خسارات قابل توجهی به این محصولات وارد می‌سازد. گونه *M. incognita* دارای اهمیت اقتصادی زیاد و گسترش دامنه میزبانی وسیعی است و از مهمترین گونه‌های نماتودهای انگل خیار گلخانه‌ای می‌باشد (Shokohiyan, 2000). علاوه بر خسارت‌های مستقیم، نماتود ریشه گرهی به دلیل قابلیت آماده سازی و تشدید پژمردگی

ورتیسیلیومی و فوزاریومی در گیاهان از اهمیت خاصی برخوردار است و تا کنون اثرات متقابل^۴ این نماتود با سایر عوامل بیماریزای خاکزاد از جمله قارچ‌های *Fusarium oxysporum f.sp. lycopersici* و *Verticillium dahliae* در گوجه فرنگی (*Lycopersicon esculentum* L. به صورت هم افزایی^۵ گزارش شده است (Jenkins & Coursen, 1978).

به دلیل اهمیت و اقتصادی بودن خسارت‌های وارده از این نماتودها، تدابیر متعددی در جهت مدیریت و کنترل آنها به کار گرفته شده است از جمله: استفاده از سموم شیمیایی، ارقام مقاوم، بکارگیری عملیات زراعی (Sharma et al., 1980)، استفاده از عوامل کنترل بیولوژیک (Jatala, 1986) و تلفیق این عوامل. کنترل نماتودهای ریشه گرهی با سموم شیمیایی در شرایط مزرعه‌ای از نظر اقتصادی مقرون به صرفه نمی‌باشد و پر خطر است و همچنین باعث

۱، ۲ و ۳- به ترتیب عضو باشگاه پژوهشگران جوان دانشگاه آزاد اسلامی واحد مشهد، استادیار گروه گیاه پزشکی دانشکده کشاورزی دانشگاه فردوسی مشهد و کارشناس ارشد بیماری شناسی گیاهی دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی گرگان

*- نویسنده مسئول: (Email: n.katooli@gmail.com)

مواد و روش‌ها

برگ گیاهان درمنه و کرچک در اواخر بهار جمع‌آوری و پس از شستشو در سایه خشک شدند. برگ‌های خشک شده کاملاً خرد و آماده برای عصاره‌گیری شدند. عصاره‌گیری با استفاده از روش خیساندن با اتانول ۷۰ درصد به این صورت انجام شد که ۳۰۰ میلی‌لیتر اتانول با ۲۰ گرم برگ پودر شده درون کیف جداکننده مخلوط شد و در مدت ۴۸ ساعت، سه مرتبه حلال قبلی گرفته و حلال اضافه شده و درون شیشه‌ی تیره رنگ و درب بسته‌ای نگهداری گردید. سپس برای جداسازی اتانول از عصاره، محلول به دست آمده ابتدا از کاغذ صافی عبور داده شد و در نهایت از دستگاه تبخیر کننده روتاری در دمای ۴۰ درجه سانتی‌گراد در خلاء استفاده شد. پس از خارج شدن کامل الکل از عصاره، این محلول به عنوان عصاره پایه در آزمایش‌ها مورد استفاده قرار گرفت (Cristobal-Alejo et al., 2006).

بررسی تاثیر بازدارندگی در آزمایشگاه: برای بررسی تاثیر بازدارندگی از فعالیت لاروهای نماتود، تعداد ۱۰۰ عدد لارو سن دوم تازه تفریخ شده و برای بررسی تفریخ تخم‌ها ۱۰۰ عدد تخم نماتود به تفکیک به همراه ۱۰ سی‌سی آب مقطر به ظروف پتری حاوی عصاره‌های الکلی با غلظت‌های صفر، ۵۰، ۱۰۰، ۲۰۰، ۳۰۰، ۴۰۰، ۵۰۰ و ۱۰۰۰ پی‌پی‌ام اضافه گردید. تیمار حاوی آب مقطر یا غلظت صفر به عنوان شاهد در نظر گرفته شد. تیمارها در سه تکرار و به صورت طرح آزمایشی فاکتوریل در قالب طرح کاملاً تصادفی انجام شد. ظروف پتری در انکوباتور در دمای 26 ± 2 درجه‌ی سانتی‌گراد نگهداری شدند. تعداد لاروهای غیر متحرک بعد از ۲۴، ۴۸ و ۷۲ ساعت و تعداد تخم‌های تفریخ شده بعد از هفت روز شمارش و درصد بازدارندگی با به دست آوردن نسبت تعداد لاروهای غیر متحرک و تعداد تخم‌های تفریخ شده به ۱۰۰ برای هر یک به تفکیک محاسبه گردید.

بررسی تاثیر بازدارندگی در گلخانه: عصاره‌ها به تفکیک به گلدان‌های حاوی نشای خیار و نماتود اضافه شدند به این صورت که پس از ۵ تا ۷ روز که نشاهای خیار در گلدان استقرار یافتند و شروع به رشد کردند، با پیپت اکسفورد به درون چاهک‌های ایجاد شده در اطراف ریشه‌ی خیار 10 ± 2000 عدد لارو سن دوم نماتود تازه تفریخ شده ریخته شد. پس از دو روز عصاره‌های الکلی برگ گیاهان به مقدار ۲۰ میلی‌لیتر به خاک اطراف نشاها اضافه شد، تا حدی که رطوبت خاک گلدان‌ها به حد ظرفیت زراعی برسد، اما آب از ته گلدان‌ها خارج نشود. اضافه کردن عصاره الکلی برگ گیاهان دو روز متوالی انجام شد و در مجموع به هر گلدان ۴۰ میلی‌لیتر عصاره الکلی اضافه شد.

سم راگبی به مقدار ۲ گرم در یک کیلوگرم خاک آلوده به $10 \pm$

آلودگی جدی محیط زیست می‌شود. در دو دهه اخیر، دانشمندان با توجه به مسایل اقتصادی و زیست محیطی، استفاده از فرآورده‌های گیاهی را مورد توجه قرار داده‌اند از جمله استفاده از ترشحات ریشه‌ای، عصاره‌ها، کنجاله و ضایعات گیاهان دارویی و سمی به عنوان روشی مطمئن، آسان و ارزان در اصلاح خاک و کنترل نماتودهای انگل گیاهی می‌باشد. مواد حاصل از گیاهان نه تنها از نظر استفاده بی‌خطر هستند بلکه توانایی بهبود ساختمان خاک و حاصلخیزی آن را نیز دارند (Sharma et al., 1980). در چند سال اخیر استفاده از گیاهان با ترکیبات نماتودکش هم به عنوان یکی از روش‌های زراعی مبارزه با نماتودها و هم به عنوان کود سبز برای غنی‌سازی خاک در برخی از کشورها از جمله هند مورد استفاده قرار می‌گیرد.

اولین بار لینفورد و همکاران (Linford et al., 1938) اثر نماتودکشی برگ‌های خردشده‌ی آناناس (*Ananas comosus* L.) را در اصلاح خاک علیه نماتودهای ریشه‌گرهی استفاده کردند و توجه محققان را به استفاده از موادالی معطوف ساختند. از آن زمان تا کنون گیاهان بیشماری با فعالیت ضد نماتودی شناخته شده‌اند که از مهمترین آنها گل جعفری (*Tagetes* sp.)، چریش (*Azadirachta indica* L.)، زیتون تلخ (*Melia azedarach* L.) (Azhar et al., 2007)، درمنه (*Artemisia obsinthium* L.) و آویشن (*Artemisia vulgaris* L.) و نعنا (*Mentha viridis* L.) (Korayem et al., 1993) و اسانس‌های گیاهی زیره (*Carum carvi* L.)، رازیانه (*Foeniculum vulgare* L.)، نعنا (*Mentha spicata* L.) و سیر (*Allium sativum* L.) (Oka et al., 2000) می‌باشند. از مهمترین نماتودکش‌های گیاهی که امروزه به صورت تجاری مورد مصرف قرار می‌گیرند می‌توان آزادیراکتین^۱ را با نام تجاری نیم^۲ نام برد که از برگ گیاه چریش استخراج می‌شود. این ترکیبات دارای خواص دورکنندگی و ضدتغذیه‌ای هستند و به طور تماسی و گوارشی بر حشرات و نماتودها اثر کشندگی دارند. این ترکیبات در پوست‌اندازی نیز اختلال ایجاد می‌کنند (Rakhshani & Taheri, 2006).

در این تحقیق از عصاره الکلی برگ دو گیاه بومی کشور که در پزشکی خاصیت کرم‌کشی آنها به اثبات رسیده است، استفاده شد (Khajehpour, 2005). گیاهان درمنه (*Artemisia annua* L.) از تیره کاسنی و کرچک (*Ricinus communis* L.) از تیره فرفیون انتخاب و اثر ضد نماتودی آنها در آزمایشگاه و گلخانه مورد بررسی قرار گرفت.

- 1- Azadirachtin
- 2- Neem

گردید. نتایج ارزیابی میزان عدم تحرک لاروهای سن دوم نماتود در ظروف پتری حاوی عصاره های الکلی گیاهی در مقایسه با شاهد نشان داد که بالاترین درصد عدم تحرک لارو در حضور عصاره الکلی برگ کرچک با ۶۱/۳۳ درصد و عصاره الکلی برگ درمنه با ۵۵/۶۷ درصد در غلظت ۱۰۰۰ پی پی ام پس از ۷۲ ساعت مشاهده شد (شکل ۱). نتایج آزمایشات کمترین میزان تفریح تخم نماتود در تمام تیمارها در غلظت ۱۰۰۰ پی پی ام مشاهده شد. بررسی ها کمترین درصد تفریح تخم را در عصاره الکلی برگ درمنه با ۱۷ درصد و عصاره الکلی برگ کرچک با ۲۱/۶۷ درصد در غلظت ۱۰۰۰ پی پی ام نشان داد.

نتایج حاصل در شرایط آزمایشگاه نشان داد که عصاره الکلی برگ کرچک و درمنه موجب کاهش فعالیت لارو و تفریح تخم نماتود شده است که با نتایج تحقیق آدسیان و آدسیان (Adegbite & Adesiyun, 2005) مطابقت دارد. آنها اثر عصاره آبی ریشه گیاهان چریش، کرچک و چمن معطر را در آزمایشگاه بررسی کرده و بیان کردند که عصاره ریشه چریش به طور ۱۰۰ درصد مانع از تفریح تخم و موجب مرگ و میر لارو نماتود ریشه گرهی شده و کرچک و علف معطر (*Valeriana officinalis* L.) به ترتیب ۹۳ و ۹۵ درصد مانع از تفریح تخم و ۶۲ و ۷۵ درصد و موجب مرگ و میر لارو نماتود گردیدند.

۲۰۰۰ عدد لارو سن دوم نماتود تازه تفریح شده به خوبی مخلوط شد و دو روز بعد، نشای خیار در این گلدان کشت گردید. تیمارهای نشاء خیار به تنهایی و بدون آلودگی و نشاء خیار در خاک آلوده به نماتود به عنوان شاهد انتخاب شدند. گلدانها در محیط گلخانه با دمای ۲۵-۲۸ درجه سانتی گراد نگهداری و روزانه یک بار آبیاری شدند. تیمارها در سه تکرار در قالب طرح کاملا تصادفی انجام شد. پس از ۶۰ روز تمام فاکتورهای رشدی و تولید مثلثی اندازه گیری و مورد مقایسه قرار گرفت.

نتایج و بحث

نتایج بررسی آزمایشگاهی: نتایج بررسی میزان عدم تحرک لارو سن دوم و تفریح تخم نماتود در حضور عصاره های الکلی با توجه به تجزیه واریانس بدست آمده، بین هر سه فاکتور عصاره الکلی، غلظت و زمان بررسی در سطح ۵ درصد تفاوت معنی داری مشاهده شد. نتایج حاصل از تحقیق برای میزان عدم تحرک لارو سن دوم در حضور عصاره گیاهی بین هر سه زمان ۲۴، ۴۸ و ۷۲ ساعت در سطح ۵ درصد تفاوت معنی داری را نشان داد (جدول ۱).

همچنین، در تمامی تیمارها در غلظت ۱۰۰۰ پی پی ام و پس از ۷۲ ساعت بیشترین درصد عدم تحرک لارو سن دوم نماتود مشاهده

جدول ۱- تجزیه واریانس تاثیر سه فاکتور عصاره الکلی، غلظت و زمان بر بازدارندگی لاروها

Table 1- Analysis of variance of the effect of three factors (alcoholic extract, concentration and time) on larva immobility

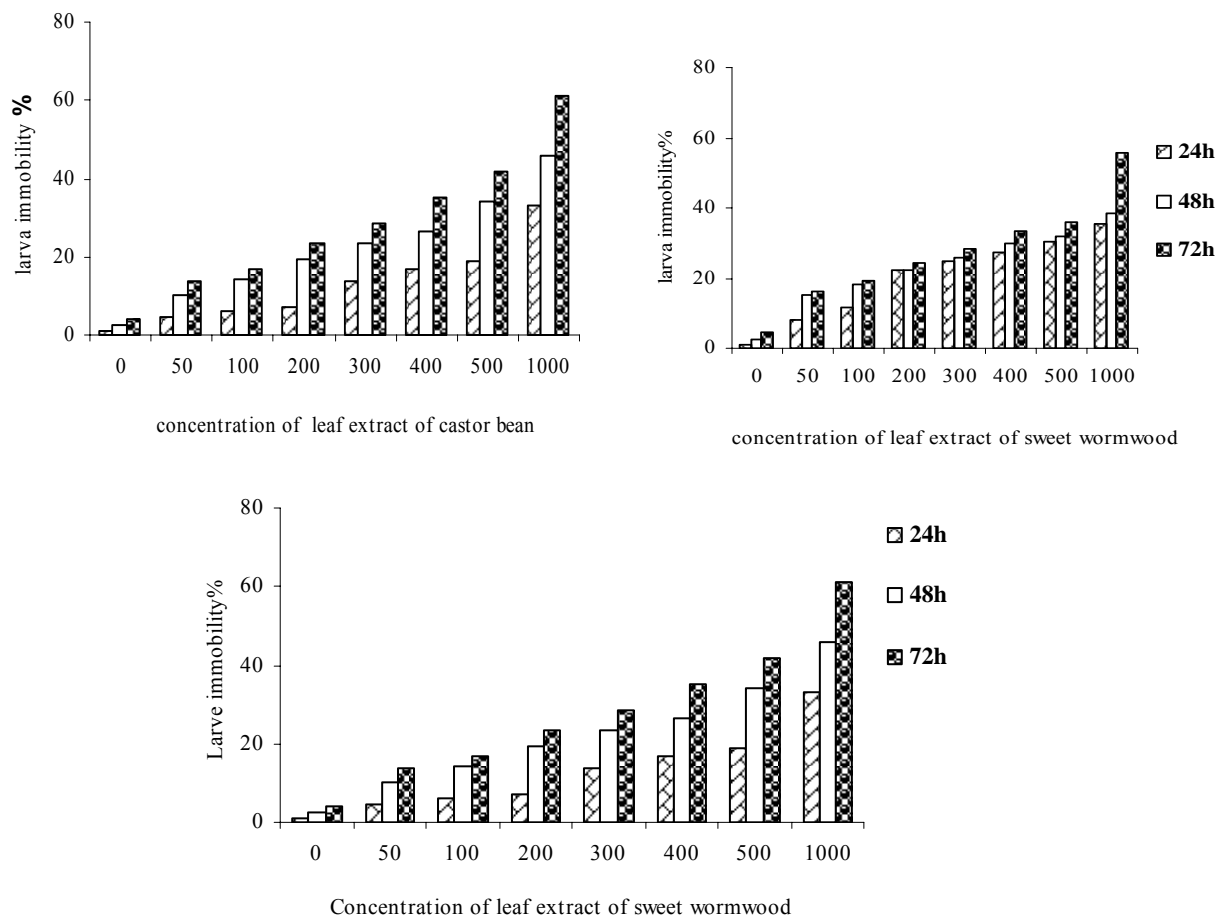
منبع تغییرات S.O.V	درجه آزادی DF	میانگین مربعات Mean of square
عصاره الکلی Alcoholic extract	1	764.96**
غلظت Concentration	7	6217.14**
زمان Time	2	33714.37**
عصاره الکلی × غلظت Alcoholic extract × Concentration	7	172.93**
عصاره الکلی × زمان Alcoholic extract × Time	2	5678.2**
غلظت × زمان Time × Concentration	14	138.26**
عصاره الکلی × غلظت × زمان Alcoholic extract × Concentration × Time	14	18.57**
خطا Error	108	4.16**

LSD= 0.67 ضریب تغییرات ۸/۴۷

Least significant difference = 0.67 Coefficient variable = 8.47

** معنی داری در سطح ۵ درصد

Significant differences $p \leq 0.05$ **



شکل ۱- تاثیر غلظت‌های مختلف عصاره‌های الکلی بر عدم تحرک لارو سن دوم نماتود پس از سه زمان ۲۴، ۴۸ و ۷۲ ساعت
 Fig. 1- Effect of alcoholic extracts on several concentrations in larva immobility after 24, 48 and 72 h

نتایج نشان داد با اینکه عصاره الکلی تعداد گال را در ریشه به خوبی کاهش داد، اما تیمار سم راگی بیش از همه موجب کاهش تعداد گال روی ریشه گردیده است. در تیمار عصاره الکلی کرچک افزایش وزن ریشه نیز مشاهده شد (جدول ۲).

نتایج بدست آمده از آزمایشات گلخانه نیز نشان داد که کرچک بیش از درمنه موجب کاهش جمعیت نماتود و کاهش فاکتورهای تولید مثلی شده است و در برخی از فاکتورهای رشدی گیاه اثر مثبت داشته است، که این مطلب با نتایج تحقیقات اظهار و صدیقی (Azhar & Seddiqu, 2007) که اثر نماتودکشی عصاره آبی قسمت‌های مختلف چریش، زیتون تلخ و گل جعفری را در آزمایشگاه و گلخانه علیه نماتود ریشه گرهی *M. javanica* بررسی کرده‌اند مطابقت نشان می‌دهد. آنها نشان دادند که این عصاره‌ها در گلخانه علاوه بر اینکه تعداد گال ریشه را به خوبی کاهش می‌دهند، به طور معنی‌داری موجب افزایش فاکتورهای رشدی در گیاه گوجه‌فرنگی می‌شوند. این نتایج با نتایج بدست آمده از آزمایشات اختر و محمود (Akhtar & Mahmood, 1994) و لشین (Lashein, 2002) همخوانی دارد.

نتایج بدست آمده با نتایج حاصل از تحقیقات کریستوبال آلبو (Cristobal- Alejo et al., 2005) همسو می‌باشد. آنها عصاره الکلی قسمت‌های مختلف از ۲۰ گیاه بومی و محلی مکزیک از خانواده‌های فرفیون^۱، کاسنی^۲، سنجد تلخیان^۳ و لگومینوز^۴ را بر علیه نماتود ریشه گرهی در آزمایشگاه با غلظت‌های مختلف بررسی کردند و نشان دادند که عصاره الکلی برگ و ریشه *Calea urticifolia* از خانواده کاسنی و عصاره ساقه *Tephrosia cinerea* از خانواده لگومینوز در بالاترین غلظت بیشترین خاصیت نماتودکشی را دارند.

نتایج بررسی گلخانه‌ای: با توجه به نتایج به‌دست آمده از فاکتورهای مورد بررسی در گلخانه، مشاهده شد که عصاره گیاهان ذکر شده به طور معنی‌داری جمعیت نماتود را در مقایسه با شاهد کاهش داده است. بررسی‌ها نشان داد که عصاره الکلی برگ کرچک بیش از درمنه موجب کاهش فاکتورهای تولید مثلی نماتود شده است.

- 1- Euphorbiaceae
- 2- Asteraceae
- 3- Meliaceae
- 4- Fabaceae

جدول ۲- تاثیر عصاره‌های الکلی بر فاکتورهای رشدی و تولید مثلی نماتود مولد گره ریشه خیار (*Meloidogyne incognita*)
 Table 2- Effect of alcoholic extracts on growth and developmental parameters of (*Meloidogyne incognita*) on cucumber

تیماها Treatments	وزن تر Fresh weight (g)	وزن خشک Dry weight (g)	طول Length (cm)	تعداد گال No. of galls	نرخ تولید مثل Report rate
تیمار بدون اینوکولوم (شاهد) Untreated non inoculated (Control)	45.83b	4.82a	170.32a	0.00e	0.00e *
تیمار همراه با اینوکولوم (شاهد) Untreated inoculated (Control)	34.23e	3.78d	135.32e	163.33a	2.02a
سم راگی Rugby toxin	36.49d	3.82cd	144.09d	3.66d	0.143b
کرچک Castor bean	51.13a	4.83a	168.66a	23.33c	0.38c
درمنه Sweet wormwood	38.03c	3.98b	157.10b	27.33b	0.40b

اعداد میانگین سه تکرار است.

Data are means of three replications.

*اعداد دارای حروف مشابه در هر ستون بر حسب آزمون دانکن در سطح ۵٪ با یکدیگر اختلاف معنی دار ی ندارند.

*Values followed by the same letters in each column are not significantly different ($P \leq 0.05$)

استفاده از عصاره الکلی گیاهان انتخاب شده برای این تحقیق از تیره‌های مختلف مبین این مطلب می‌باشد که این گیاهان دارای ترکیباتی هستند که فعالیت ضدنماتودی از خود نشان می‌دهند و با نتایج حاصل از تحقیقات چیت‌وود (Chitwood, 2002) که نشان داد گیاهان آلی دارای یک طیف وسیع و گسترده از ترکیبات فعال از جمله: ایزوتیوسیانات‌ها^۱ و گلوکوزینولات‌های^۲ جدا شده از تیره Brassicaceae، گلوکوسیدازهای سیانوژنیک^۳، پلی استیلن‌های^۴ جدا شده از تیره Asteraceae و آلکالوئیدها^۵، لیپیدها^۶ و ترپنوئیدها^۷ جدا شده از تیره Meliaceae که دارای خاصیت نماتودکشی می‌باشند، تطبیق دارد. فعالیت نماتودکشی عصاره‌های تست شده ممکن است به خاطر تغییر شکل دادن و انحطاط پروتئین‌ها، ممانعت از فعالیت آنزیم‌ها، مداخله با جریان الکترون در مسیر زنجیر تنفسی و یا با فسفوریلاسیون ADP باشد (Knostantopoulou et al., 1994).

- 1- Isothiocyanates
- 2- Glucosinolates
- 3- Cyanogenic glycosides
- 4- Polyacetylenes
- 5- Alkaloids
- 6- Lipid
- 7- Terpenoides

منابع

- 1- Adegbite, A.A., and Adesiyan, O.S. 2005. Root extract of plant to control root-knot nematode on edible Soybean. World Journal of Agricultural Sciences 1 (1): 18-21.
- 2- Akhtar, M., and Mahmood, I. 1994. Prophylactic and therapeutic use of oil cakes and leaves of neem and castor extract for control of root-knot nematode on chili. Nematology Mediterranean 22: 127-129.
- 3- Azhar, R.M., and Seddiq, M. 2007. Nematicidal effect of some botanical against root-knot nematode, (*Meloidogyne javanica*) on tomato. International Journal of Plant Sciences 2 (2): 49-52
- 4- Azhar, R.M., Ahmad, F., and Seddiq, M. 2007. Bio efficacy of some botanical extracts for the management of root-knot nematode *Meloidogyne incognita* in *Lycopersicon esculentum*. National Journal of Life Science 4(1): 101-104.
- 5- Chitwood, D.J. 2002. Phytochemical based strategies for nematode control. Phytopathology 40: 221-49.
- 6- Cristobal- Alejo, J., Tun- Suarez, J.M., Moguel- Catzin, S., and Mabana-Mendoza, N. 2006. In vitro sensitivity of *Meloidogyne incognita* to extracts from native yucatecan plants. Nematropica 36 (1): 553-558.
- 7- Jatala, P. 1986. Biological control of nematode pests by natural enemies annual. Review of Phytopathology 24: 453-489.
- 8- Jenkins, W.R., and Coursen, B.W. 1978. The effect of root-knot nematodes, *Meloidogyne incognita acrita* and *M. hapla* on *Fusarium* wilt of tomato. Plant Disease Reports 41: 182-186.
- 9- Khajeh pour, M.R. 2005. Industrial plants. Academic Center Education Culture and Research of Esfahan 580 pp. (In Persian)
- 10- Korayem, A.M., Hasabo, S.A., and Ameen, H.H. 1993. Effect and mode of action of some plant extract on certain plant parasitic nematodes. Nz. Pflanzenschutz, schadlingskunde Umweltschutz 66: 23- 36.
- 11- Knostantopoulou, I., Vassilopoulou, L., Mawogantisi, Pidou P., and Scouras, G. 1994. Insecticidal effect of essential oil, a study of essential oils extracted from eleven Ggreek aromatic plants on drosophila auroria. Experiential 48: 616-619.
- 12- Lashein, A.M.S.A. 2002. Biological control of root-knot nematode in some vegetable. M.Sc Thesis Facultative Agricultural Cairo University 107 pp.
- 13- Linford, M.B., Yap, F., and Oliveira, J.M. 1938. Reduction of soil population of roo-knot nematode during decomposition of organic matter. Soil sciences 45: 127-141.
- 14- Oka, Y., Nacer, S., Putievsky, E., Ravid, U., Yaniv, Z., and Speigel, Y. 2000. Nematicidal activity of essential oils and their components against the root-knot nematode. Phytopathology 90: 710-715.
- 15- Rakhshani, A., and Taheri, A. H. 2006. Principles of Agriculture Toxicology. Publisher, Farhange Jame 446 p. (In Persian)
- 16- Sharma, S.K., Singh, I., and Sakhuja, P.K. 1980. Influence of different cropping sequences on the population of root-knot nematode, *Meloidogyne incognita*, and the performance of the subsequent mungbeen cropo. Indian Journal of Nematology 10: 53-58.
- 17- Shokohian, A.A. 2000. Breeding of Greenhouse Cucumber in Soil and Perimeter without Soil. Publisher, Baghe Andishe 218pp. (In Persian)