دوفصلنامه تحقیقات بیماری‌های گیاهی
سال ششم، شماره اول، بهار و تابستان ۱۳۹۹
صص ۱۶-۱

بررسی اثر عصاره آبی پوست سبز میوه گردو بر کنترل نماتد ریشه گرهی *Meloidogyne javanica* و صفات رشدی در گیاه گوجه فرنگی

فاطمه ناصری نسب [۱]، رامین حیدری*[۲]، فروغ سنجریان[۳]، فرشاد رخشنده رو[۴]

تاریخ دریافت: ۹۵/۱۱/۱۳ تاریخ پذیرش: ۹۶/۲/۲۶

چکیده

در دهه‌های اخیر تحقیقات بسیاری برای دستیابی به ترکیبات گیاهی مناسب در جهت جایگزین‌نمودن ترکیبات شیمیایی با ترکیبات طبیعی برای کنترل نماتدها انجام گرفته است. در این تحقیق به منظور دستیابی به روشی موثر، کم‌خطر و اقتصادی برای کنترل نماتد ریشه‌گرهی *Meloidogyne javanica* بر روی گیاه گوجه فرنگی، اثر نماتدکشی و آللوپاتی عصاره آبی پوست سبز میوه گردومورد بررسی قرار گرفت. بررسی‌ها در دو قسمت آزمایشگاهی و گلخانه‌ای انجام شد. در بررسی آزمایشگاهی غلظت‌های مختلف عصاره به طور معنی‌داری درصد مرگ و میر لاروهای نماتد را افزایش دادند، به‌طوری که غلظت‌های ۲۰٪ و ۲۵٪عصاره پس از ۴۸ ساعت سبب از بین رفتن ۱۰۰٪ لاروهای مورد آزمایش شدند. بالاترین درصد بازدارندگی از تفریخ تخم نیز در تیمار ۲۵٪ و با مقدار عددی ۷۵/۵٪ در شرایط آزمایشگاهی مشاهده شد. در بررسی‌های گلخانه‌ای با وجود کاهش اثر عصاره نسبت به بررسی‌های آزمایشگاهی، فاکتورهای بیماریزایی نماتد، شامل شاخص گال، تعداد توده تخم و تعداد لارو در خاک، در مقایسه با شاهد کاهش معنی‌داری در سطح یک درصد داشت. بررسی اثر غلظت-های عصاره بر صفات رشدی گیاه نشان داد که غلظت های ۵٪، ۱۰٪ و ۱۵٪ عصاره بدون ایجاد تأثیر منفی در صفات رشدی گیاه، سبب کاهش معنی دار فاکتورهای بیماریزایی نماتد در مقایسه با شاهد شدند. در مجموع نتایج این تحقیق بیانگر قابلیت بالای نماتدکشی عصاره آبی پوست سبز میوه گردو می باشد.

واژه‌های کلیدی: نماتد ریشه¬گرهی، عصاره، پوست سبز میوه گردو، گوجه فرنگی.

[۱]- دانشجوی دکتری بیماری شناسی گیاهی، دانشگاه آزاد اسلامی واحد علوم و تحقیقات، تهران، ایران.
[۲]- دانشیار، گروه گیاهپزشکی، پردیس کشاورزی و منابع طبیعی، دانشگاه تهران، تهران، ایران.
[۳]- استادیار پژوهش، پژوهشکده بیوتکنولوژی کشاورزی، پژوهشگاه ملی مهندسی ژنتیک و زیست فناوری، تهران، تهران، ایران.
[۴]- استادیار، گروه بیماری شناسی گیاهی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه آزاد اسلامی واحد علوم و تحقیقات، تهران، ایران.
*- نویسنده مسئول مقاله: rheydari@ut.ac.ir

مقدمه

گوجه‌فرنگی گیاهی از خانواده Solanaceae و از گونه‌های اهلی جنس *Solanum* با نام علمی *S. Lycopersicum* L. است و از محصولات مهم کشاورزی در جهان به شمار می‌رود. به دلیل بالا بودن ارزش غذایی و همچنین ارزش اقتصادی، این گیاه بعد از سیب‌زمینی در رتبه دوم اهمیت قرار گرفته است (Naserinasab *et al*., 2010). با توجه به مصرف بالای میوه گوجه‌فرنگی به‌صورت تازه‌خوری و همچنین فراوری شده، می توان آن را یک محصول استراتژیک در کشاورزی مدرن تلقی کرد (Behnamian and Masiha, 2002). نماتدهای ریشه گرهی جنس *Meloidogyne* یکی ازمهم‌ترین محدودیت‌های کشت گوجه فرنگی محسوب می‌شوند و سالانه خسارت‌های چشمگیری به این محصول وارد می‌کنند. این نماتدها پراکنش جهانی دارند، انگل اجباری هستند و دامنهٔ میزبانی وسیعی شامل سبزیجات، گیاهان زراعی و حتی برخی درختان دارند که بیش از ۳۰۰۰ گونه گیاهی اهلی و وحشی را شامل می شوند (Lamberti *et al*., 2004). کنترل نماتد ریشه‌گرهی به دلیل دامنهٔ وسیع میزبانی، دوره کوتاه چرخه زندگی، تولید مثل زیاد و نیز انگل داخلی بودن آن دشوار می باشد (Trudgill and Blok, 2001; Manzanilla-López *et al*. 2004).

از جمله روش‌های مورد استفاده در کنترل نماتد گره‌ریشه استفاده از نماتدکش‌ها، تیمار گرمایی قطعات گیاهی، غرقاب و آیش، تیمار خاک یا بستر، استفاده از گیاهان آنتاگونیست، ریشه‌کنی میزبان، مهار زیستی و استفاده از ارقام مقاوم می‌باشد. سال‌ها کنترل نماتد با استفاده از نماتدکش‌ها مورد توجه بوده است. استفاده از سموم و کودهای شیمیایی در مزارع وگلخانه‌ها، علیرغم بازدهی اولیه خوبی که دارند، در درازمدت عملاً اثرات سوئی بر جا می-گذارند. استفاده از مهار زیستی از روش‌های نوین برای مدیریت نماتدها می‌باشد و با کاربرد آسان، بدون خطرات آلودگی محیط زیست و توانایی تأثیر مفید در ساختار و مواد مغذی خاک می‌باشد (Qamar *et al*., 2005). استفاده از ترکیبات آلی با منشاء گیاهی به دلیل عوارض جانبی کمتر، عدم مقاومت بیمارگر، پایین بودن نسبی هزینهٔ تولید، تجزیه شدن در خاک و عدم آلودگی زیست محیطی می‌تواند به عنوان جایگزین مناسب سموم شیمایی مطرح شوند (Ploeg, 2002). گزارش‌های بسیاری در رابطه با فعالیت نماتدکشی گیاهان، علیه نماتدهای انگل گیاهی در دسترس است. *اختر و آلم* گزارش کردند که اصلاح خاک با عصاره چریش اثر مطلوبی علیه نماتد *M. incognita* در نیشکر و نخودفرنگی داشته است (Ahktar and Alm, 1991). *پوتر* و همکاران تأثیر عصاره‌های گیاهان خانواده Brassicaceae را در سرکوب نماتدهای انگل گیاهی به اثبات رساندند (Potter *et al*., 1998). *کریستوبال آلجو* و همکاران فعالیت عصاره حاصل از ۵۵ گیاه بومی از جمله گیاهان تیره *Myrataceae* را علیه لاروهای سن دو نماتد *M. incognita* در شرایط آزمایشگاه بررسی کردند. نتایج نشان داد که عصاره گیاه *Eugenia winzerlingii* در بین گیاهان مورد آزمایش، بهترین اثر را در مرگ و میر لاروها داشتند (Cristobal-Alejo *et al*., 2006). در بررسی دیگری عصاره آبی گیاهان زیره سبز، زیره سیاه، رازیانه و زنیان علیه نماتد *M. javanica* مورد استفاده قرار گرفت. بر اساس نتایج، عصاره آبی زیره سبز بهترین اثر را در کاهش تعداد لارو سن دوم نماتد و همچنین کاهش نرخ تولید مثل نماتد نشان داد (Sadeghi *et al*, 2012).

گیاه گردو با نام علمی *Juglans rejia*، از راسته Juglandales و از خانواده Juglandaceae است. این خانواده متشکل از ۷ جنس و ۵۹ گونه است. وجود ترکیبات مختلفی در پوست و بخصوص برگ گیاه گردو نظیر تانن‌ها، ترکیبات نفتاکینونی (به ویژه Juglone) و مشتقات اکسیژنه نفتالن، فلاونوئیدها (به ویژه Quercetin)، فنولیک اسیدها، روغن‌ها و اسیدهای چرب سبب کاربرد گسترده اجزای این گیاه در طب سنتی شده است. با این حال عمده فعالیت ضدمیکروبی و ضد قارچی این گیاه، به ترکیبات فنولیک و پلی فنولیک مشتق از آن نسبت داده شده است. در مطالعات مختلفی اثرات دارویی و ضدمیکروبی گیاه گردو مورد بررسی قرار گرفته است (Buttery *et al*, 1986; Thakur, 2011). به طور مثال نتایج یک بررسی اثر ضد قارچی عصاره متانولی پوست میوه و برگ گردو را بر روی گونه های قارچ بیمارگر *Candida albicans* نشان داد (Arji *et al*, 2015). با توجه به اهمیت نماتد ریشه‌گرهی در کشت گوجه‌فرنگی و همچنین محدودیت استفاده از نماتدکش‌های شیمیایی به دلیل سمیت بالا، میزان بالای مصرف و خطرات زیست‌محیطی و از طرفی وجود گزارش‌های بسیاری در خصوص کنترل موفق نماتد مذکور با استفاده از فراورده‌های طبیعی حاصل از گیاهان نماتدکش، تحقیق حاضر با هدف بررسی اثر غلظت‌های مختلف عصاره آبی پوست میوه گردو بر شاخص‌های بیماری‌زایی نماتد ریشه گرهی و صفات رشدی گیاه گوجه فرنگی رقم Early urbana Y صورت پذیرفت.

مواد و روش ها

جداسازی و شناسائی عامل‌بیماری

ریشه‌های آلوده به نماتد مولد گال از گلخانه‌های کشت گوجه‌فرنگی استان البرز، جمع‌آوری شد. با استفاده از یک توده تخم انفرادی جداشده از ریشه گیاه آلوده، تکثیر نماتد روی رقم ارلی اوربانا وای انجام شد. شناسایی گونه نماتد بر اساس شکل تزئینات کوتیکول انتهای بدن ماده‌ها و ویژگی‌های شکل‌شناسی و اندازه‌ای لاروهای سن دوم و با استفاده از کلید شناسایی جپسون (Jepson, 1987) صورت گرفت. پس از چندین دوره تکثیر متوالی نماتد، جمعیت کافی از نماتد ایجاد شد. استخراج تخم و لارو سن دو با استفاده از روش هوسی و بارکر انجام‌شد (Hussey and Barker, 1973).

تهیه گیاهچه های گوجه فرنگی

بذور ضدعفونی شده گوجه فرنگی، در بستر مناسب شامل خاک، ماسه، کود برگ (۱:۱:۲) و مقداری پیت و پرلیت در سینی‌های نشاء کشت داده شدند. گیاهچه‌ها ۴ هفته پس از کاشت، در مرحله ۶-۴ برگی به گلدان‌های یک کیلوگرمی منتقل شدند. سه روز پس از انتقال نشاءها، مایه‌زنی با ۲۰۰۰ لارو سن دوم نماتد *M. javanica* صورت پذیرفت (Sahebani and Hadavi, 2008) و گلدان‌ها در شرایط محیطی یکسان در محیط گلخانه در دمای ۲۸-۲۶ درجه سانتیگراد و رطوبت نسبی تقریبی ۶۰ درصد قرار داده شدند و آبیاری هر ۴۸ ساعت یک بار انجام گرفت (Hosseininejad and Vajedkhan, 2000).

تهیه عصاره آبی

در این تحقیق از پوست سبز میوهٔ گردو جهت تهیه عصاره آبی استفاده شد. پوست سبز گردو در سایه کاملاً خشک شد و پس از آسیاب‌کردن مقدار ۲۵ گرم از پوست پودر شده در ۱۰۰ میلی لیتر آب مقطر خیسانده شد و با استفاده از پارافیلم درب ظرف حاوی آن پوشانده شد، سپس به مدت ۲۴ ساعت در rpm ۱۰۰روی شیکر تکان داده شد. برای تهیه عصارهٔ آبی و جدا کردن بقایای گیاهی از پارچه ململ عبور داده شد و پس از سانتریفوژ (۳۰ دقیقه در ۱۲۰۰۰ دور) از کاغذ واتمن شماره ۱ عبور داده شد (Feriz and Zheng, 1999). عصاره حاصل (۲۵ گرم گیاه در ۱۰۰ میلی لیتر آب مقطر) به عنوان محلول پایه ۱۰۰ درصد در نظر گرفته شد و با رقیق‌کردن آن غلظت‌های ۵، ۱۰، ۱۵، ۲۰ و ۲۵ درصد تهیه شدند. عصاره‌های تهیه‌شده درون شیشه‌های تیره و حداکثر به مدت دو هفته در دمای ۴ درجه سانتیگراد نگهداری شدند.

بررسی اثر غلظت‌های مختلف عصاره بر مرگ و میر لاروهای سن دوم و تفریخ تخم نماتد در شرایط آزمایشگاه

برای انجام این آزمایش از غلظت‌های ۵، ۱۰، ۱۵، ۲۰ و ۲۵ درصد عصاره پوست سبز میوه گردو استفاده شد. آزمایش در قالب طرح کاملاً تصادفی و با چهار تکرار و در دمای اتاق (۳ ±۲۵ °C) انجام شد. یک میلی‌لیتر از غلظت‌های موردنظر به داخل هر کدام از حفره‌های ظروف کشت بافت با حفره‌های به عمق ۱۹ میلیمتر و قطر ۱۶ میلیمتر ریخته شد، سپس به هر حفره تعداد ۳۰ عدد لارو تازه تفریخ شده نماتد *M. javanica* اضافه شد و سپس درپوش ظرف روی آن قرار داده شد. مرگ و میر لاروها پس از ۲۴ و ۴۸ ساعت ثبت گردید. جهت بررسی اثر غلظت‌های مختلف عصاره بر تفریخ تخم نماتد، سوسپانسیون حاوی تعداد ۵۰ عدد تخم نماتد *M. javanica* در داخل هر کدام از حفره های ظروف کشت بافت با حفره های به عمق ۱۹ میلیمتر و قطر ۱۶ میلیمتر قرار داده شد و سپس به آن ۱ میلی لیتر از عصاره مورد نظر اضافه شد و سپس درپوش ظرف روی آن قرار داده شد. تعداد لاروهای سن دوم خارج شده از تخم‌ها پس از گذشت ۷۲ ساعت ثبت گردید. در این آزمایش از آب مقطر استریل به عنوان شاهد استفاده شد (Sun *et al*, 2006).

بررسی اثر غلظت های مختلف عصاره بر فاکتورهای بیماریزایی نماتد ریشه گرهی در شرایط گلخانه

جهت بررسی تأثیر عصاره پوست سبز میوه گردو بر شاخص‌های رشدی گیاه گوجه‌فرنگی از غلظت ۵، ۱۰، ۱۵و ۲۰ درصد استفاده شد. گیاهچه‌های گوجه‌فرنگی در مرحله ۶-۴ برگی به گلدان‌های یک کیلوگرمی منتقل شدند و یک روز پس از انتقال ابتدا هر گیاهچه توسط مقدار ۳۰ میلی لیتر از هر یک از غلظت های مختلف عصاره به روش خیساندن خاک (Soil drenching) تیمار گردیدند و بعد از گذشت ۲۴ ساعت هر گیاهچه توسط تعداد ۲۰۰۰ لارو سن دوم تازه تفریخ شده نماتد *M. javanica* مایه‌زنی گردید. گیاهچه های شاهد با آب مقطر تیمار شدند.

پس از گذشت ۴۵ روز شاخص رشدی گوجه‌فرنگی (وزن تر، خشک ریشه و اندام‌های هوایی) با استفاده از ترازوی دیجیتال با دقت۰/۰۰۱ گرم اندازه‌گیری شد. وزن خشک با قراردادن ریشه و ساقه در آون به مدت پنج روز در دمای ۵۰ درجه سانتی گراد اندازه گیری شد. همچنین شاخص گال بر اساس سیستم درجه بندی ۰ تا ۵ (Hussey and Janssen, 2002) محاسبه شد. این سیستم به صورت زیر است:

۰= بدون گال، ۱= آلودگی بسیار کم با تعداد بسیار کم گال، ۲= کمتر از ۲۵٪ ریشه آلوده به گال است، ۳= ۲۵ تا ۵۰٪ ریشه آلوده به گال است، ۴= ۵۱ تا ۷۵٪ ریشه آلوده به گال است و ۵= بیشتر از ۷۵٪ ریشه آلوده به گال است.

تعداد توده تخم در یک گرم ریشه شمارش شد. جمعیت نهایی لاروهای سن دوم در ۲۰۰ گرم از خاک هر گلدان با استفاده از جداسازی با سانتریفوژ (Castagnone-Sereno *et al*., 1994) تعیین شد.

محاسبات آماری

آزمایشات در قالب طرح کاملاً تصادفی و در سه تکرار انجام شدند. آزمون بررسی اثر غلظت‌های مختلف عصاره بر مرگ و میر لاروها به صورت آزمایش فاکتوریل در قالب طرح کاملاً تصادفی انجام شد که شامل فاکتورهای A: غلظت و B: زمان بود. تجزیه و تحلیل آماری داده‌های به‌دست آمده با استفاده از نرم افزار SAS انجام شد و میانگین‌ها با آزمون چند دامنه دانکن ($P\leq0.05$) مورد مقایسه قرار گرفت.

نتایج و بحث

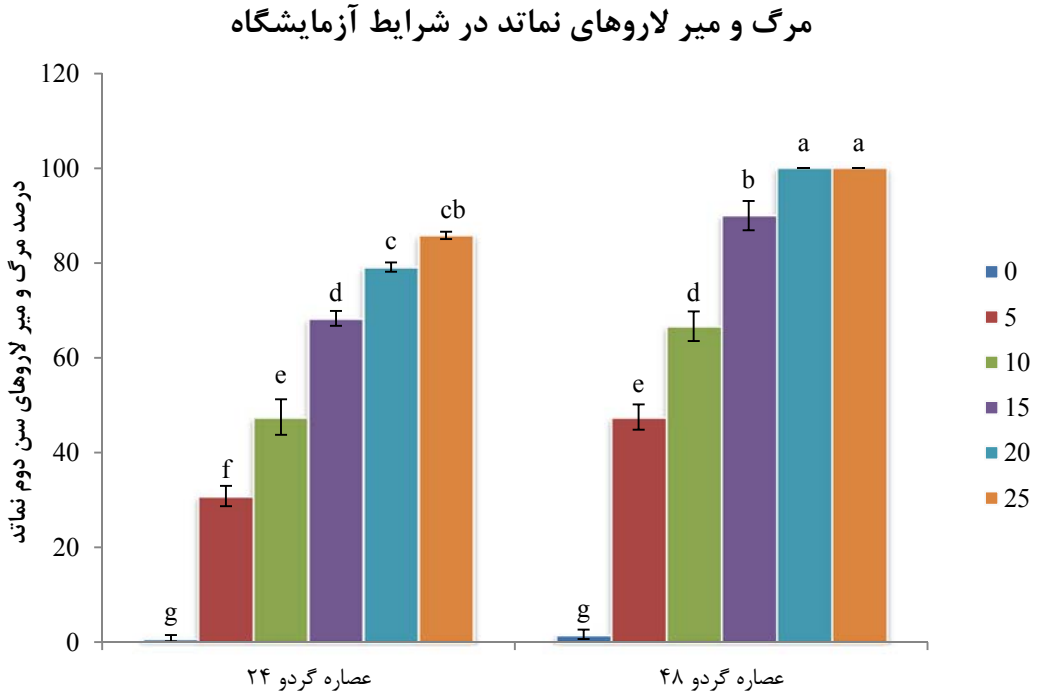
بررسی اثر غلظت های مختلف عصاره بر مرگ و میر لاروها و تفریخ تخم نماتد در شرایط آزمایشگاه

در بررسی اثر غلظت‌های مختلف عصاره آبی پوست سبز گردو بر مرگ و میر لاروهای نماتد *M. javanica* در شرایط آزمایشگاه نتایج آنالیز واریانس حاکی از آن است کـــه تفاوت معنی داری بین اثر غلظت‌های مختلف عصاره بر کنترل لاروهای سن دوم نماتد مشاهده شد (شکل ۱، جدول ۱). بر اساس نتایج مقایسه میانگین ($P\leq0.05$) در ۲۴ ساعت اول تمامی غلظت‌های عصاره مورد آزمایش سبب افزایش معنی‌دار مرگ و میر لاروها در مقایسه با شاهد (آب مقطر) شدند و بیشترین میزان مرگ و میر لارو نماتد در غلظت ۲۵ درصد و با مقدار عددی ۸۵/۸۳ درصد مشاهده شد. پس از گذشت ۴۸ ساعت در غلظت‌های ۲۰ و ۲۵ درصد عصاره آبی پوست سبز گردو، مرگ و میر لاروهای سن دوم نماتد به میزان ۱۰۰ درصد مشاهده شد و اثر عصاره بر مرگ‌ومیر لاروهای سن دوم نماتد در این غلظت‌ها دارای اختلاف معنی دار با شاهد و سایر غلظت ها بود. به طور کلی بر اساس نتایج این آزمایش می‌توان بیان کرد که میزان مرگ و میر لاروهای نماتد با افزایش غلظت و افزایش مدت زمان قرار گرفتن لاروها در معرض عصاره نسبت مستقیم دارد. محققان زیادی اثر غلظت‌های مختلف عصاره‌های گیاهی را روی نماتدها مطالعه کرده‌اند و به این نتیجه رسیده‌اند که غلظت بالاتر عصاره در برابر لارو سن دوم نماتد و تفریخ تخم نماتد مولد گره ریشه دارای اثر بازدارندگی بیشتری می‌باشند (Sharma and Trivedi, 2002).

جدول ۱- تجزیه واریانس تأثیر عصارهٔ آبی گردو و زمان های نمونه برداری بر مرگ ومیر لارو

منبع تغییرات (S.O.V)	درجه آزادی (df)	مجموع مربعات (SS)
غلظت (فاکتور A)	۵	۹۹۵۲/۰۳**
روز (فاکتورB)	۱	۲۹۰۳/۷۰**
غلظت × روز (فاکتورA×فاکتورB)	۵	۱۱۹/۲۵**
خطای آزمایش	۳۶	۲۶/۶۹
کل	۴۷	

** معنی دار در سطح ۵ درصد و ns غیرمعنادار



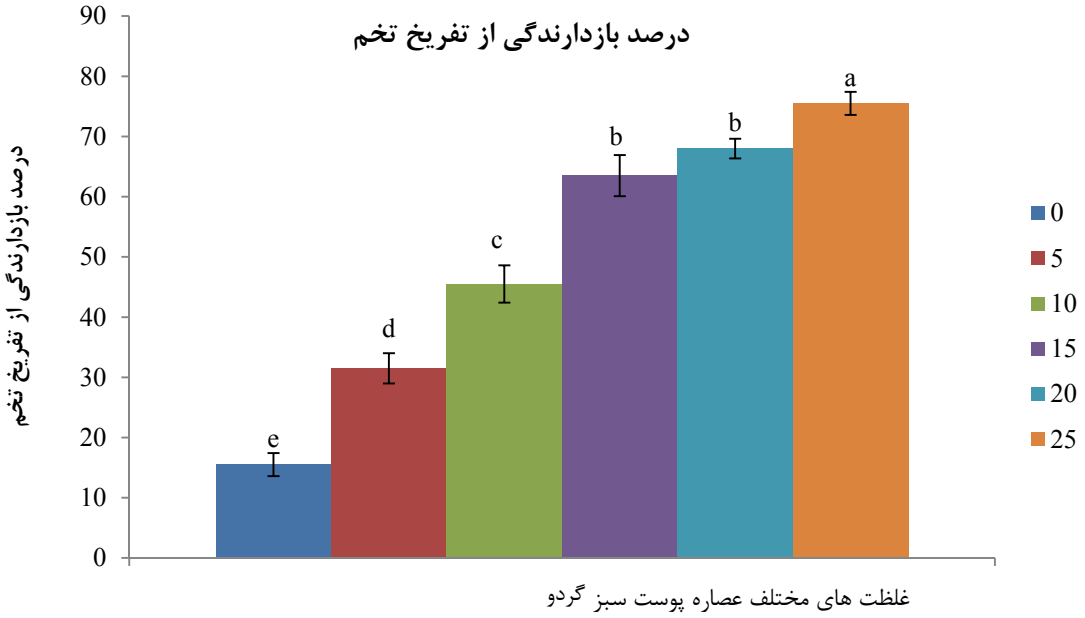
شکل۱- اثر غلظت های مختلف عصاره آبی پوست سبز میوه گردو برمرگ و میر لاروهای سن دوم نماتد *M. javanica* . هر عدد میانگین ۴ تکرار است. میانگین هایی که از نظر آماری با یکدیگر اختلاف دارند با حروف متفاوت مشخص شده اند. تفاوت ها با آزمون دانکن ($P\leq0.05$) ارائه شده اند

برای بررسی اثر عصاره‌های گیاهی بر تفریخ تخم‌های نماتد در شرایط آزمایشگاه، درصد بازدارندگی از تفریخ تخم نماتد *M. javanica* محاسبه شد. بر اساس نتایج مقایسه میانگین ($P\leq0.05$)، با افزایش غلظت عصاره آبی پوست سبز گردو درصد بازدارندگی از تفریخ تخم نیز افزایش یافت. بیشترین و کمترین درصد بازدارندگی از تفریخ تخم به ترتیب در غلظت ۲۵٪ و ۰ ٪ (شاهد) با مقدارهای ۷۵/۵ و ۱۵/۵ درصد مشاهده شد (شکل۲، جدول ۲). می‌توان اثر عصاره مورد آزمایش را بر مرگ و میر لاروها و نیز بازدارندگی از تفریخ تخم نماتد *M. javanica* با ترکیبات موجود در گردو از جمله ترکیبات فنولی شامل جوگلون و فلاونوئیدها (Gupta *et al*., 1972) مرتبط دانست.

جدول ۲- تجزیه واریانس تأثیر عصارهٔ آبی گردو بر درصد بازدارندگی از تفریخ تخم نماتد

منابع تغییرات	درجه آزادی (df)	میانگین مربعات (MS)
تیمارها	۵	۲۱۶۷/۳۶**
خطای آزمایش	۱۸	۹/۲۷
ضریب تغییرات		۸/۱۰

** معنی دار در سطح ۵ درصد و ns غیرمعنادار



شکل۲- درصد بازدارندگی غلظت های مختلف عصاره آبی پوست سبز میوه گردو از تفریخ تخم های نماتد *M. javanica* هر عدد میانگین ۴ تکرار است. میانگین هایی که از نظر آماری با یکدیگر اختلاف دارند با حروف متفاوت مشخص شده اند. تفاوت ها با آزمون دانکن ($P\leq0.05$) ارائه شده اند

در سال های اخیر توجه زیادی به ضایعات محصولات کشاورزی حاوی آنتی اکسیدان‌های طبیعی معطوف شده است. یکی از این منابع پوستهٔ سبز گردو است که حاوی ترکیبات آنتی اکسیدانی می‌باشد. ترکیبات فنولی شامل هیدروکسی سینامی کاسیدها، هیدروکسی بنزوئیکاسیدها، اسیدگالیک، اسیدالاژیک، اسید سیرینژیکواسید و انیلیک، فلاونوئیدها (کاتکین، اپیکاتکین، میرستین) و ژوگلوندر عصارهٔ گیاهی گردو شناسایی شده است (Stampar *et al.*, 2006). گیاهان استراتژی‌های متعددی برای دفاع از خود دارند که شامل عملکردهایی از قبیل موانع فیزیکی یا ترکیبات شیمیایی می باشند. سه گروه ترکیبات ثانویه در این فرایند ها نقش دارند؛ ترپنها، ترکیبات فنولی و ترکیبات حاوی نیتروژن، که به احتمال قوی ترکیبات فنولی رایج ترین ترکیبات و وسیع ترین گروه بررسی شده در دفاع گیاه می باشند (Ruuhola and Yang, 2005). مشتقات فنولی می‌توانند اکسید شوند و با پروتئین‌ها واکنش نشان دهند و باعث ایجاد اختلال در کار آنزیم شوند و از این طریق زنده مانی مهاجم را محدود کنند یا می‌توانند در دیواره سلولی ته نشین شوند و به عنوان یکی از اولین سدها در دفاع گیاه بر علیه آلودگی عمل نمایند (Gholamnezhad *et al.*, 2009).

تحقیقات زیادی تاثیر نماتدکشی گیاهان دارویی را به اثبات رسانده است. مدیریت نماتد *M. incognita* نیز به وسیله بسیاری از گیاهان آزمایش شده است که از آن جمله می‌توان بـه تاثیر بازدارندگی قسمت‌های گوناگون درخت چریش (*Azadirachta indica*) و درخت زیتون تلخ (*Melia azadirach*) بـر ایـن نماتد در گوجه‌فرنگی

اشاره کرد (Siddiqui *et al*., 2000). در ایران نیز از گیاهان ضد کرم علیه نماتدهای پارازیت گیاهی استفاده شده است (Abivardi, 1971).

در مطالعه‌ای اثر عصارهٔ آبی پودر خشک شده پوست میوه گردو، بر مرگ و میر لارو سن دوم نماتد ریشه گرهی گونه *M. javanica* در شرایط آزمایشگاهی مورد ارزیابی قرار گرفت. پس از گذشت ۴۸ ساعت، نتایج نشان داد که میزان مرگ و میر لارو سن دوم نماتد در غلظت ۶ درصد از عصاره پوست میوه گردو ۹۸/۷ درصد، نسبت به شاهد افزایش یافت و در غلظت‌های بالاتر، مرگ و میر تمامی لاروها مشاهده گردید (Alikarami *et al*., 2016). با توجه به تنوع ترکیبات ضد میکروبی عصاره، مکانیسم‌های متفاوتی نیز برای این ترکیبات وجود دارد. این ترکیبات در اثر فعالیت مشترک و هم‌پوشانی ترکیبات گوناگون دیواره و غشاء سلولی آفات و بیمارگرها را تخریب و نفوذپذیری و نشت یونی سلول را افزایش می‌دهند. در پی تجزیهٔ لیپیدهای دیواره سلولی، میتوکندری‌ها و پروتئین سلول‌های غشاء و نیز لخته شدن سیتوپلاسم، مرگ سلول‌های آسیب دیده اتفاق می افتد(Burt, 2004). اثر بازدارندگی عصاره‌ها ممکن است به دلیل وجود مواد شیمیایی موجود در عصاره باشد که دارای خواص کشندگی برای جنین و تخم باشند. این مواد شیمیایی روی رشد جنین تاثیر گذاشته یا موجب کشته شدن جنین موجود در تخم‌ها شده و یا حتی توده تخم‌ها را در خود حل می‌کنند (Adegbite and Adesiyan, 2005).

بررسی اثر غلظت های مختلف عصاره بر فاکتورهای بیماریزایی نماتد مولد غده ریشه در شرایط گلخانه

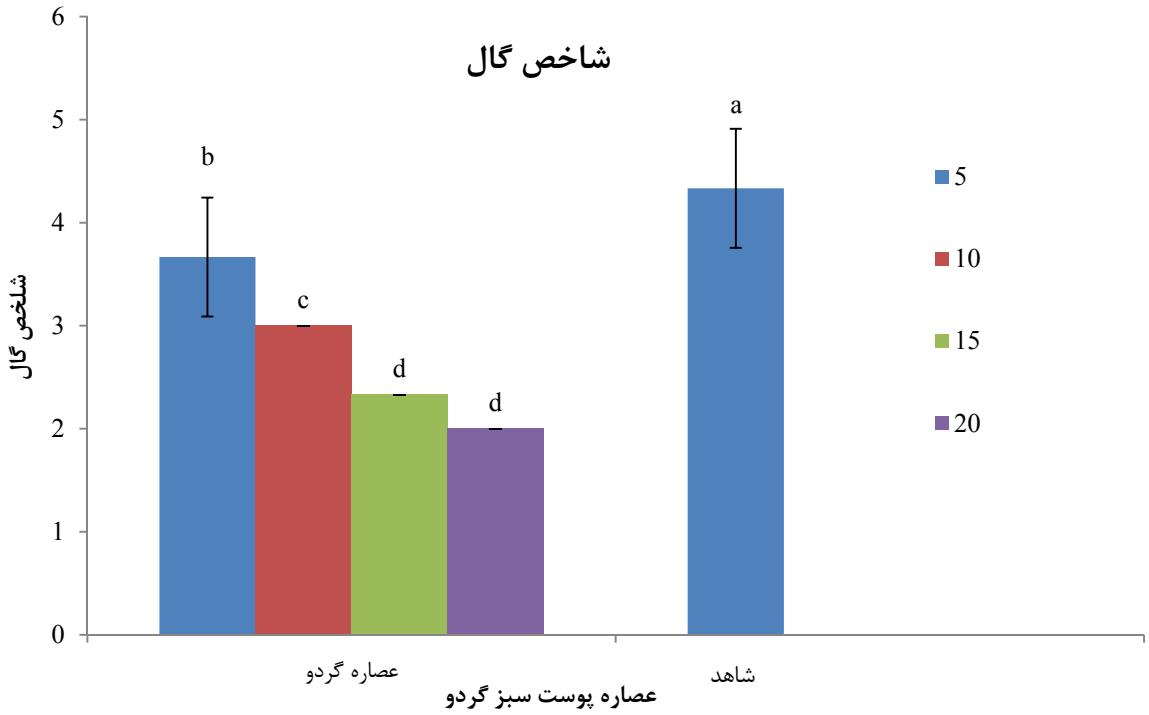
چهل و پنج روز پس از تلقیح، بوته‌ها از خاک خارج شدند و فاکتورهای بیماریزایی شامل شاخص گال، تعداد توده تخم در یک گرم ریشه و تعداد لارو سن دوم نماتد در ۲۰۰ گرم خاک و همچنین شاخص‌های رشدی گیاه شامل وزن تر و خشک ریشه و اندام‌های هوایی، ارزیابی شد.

بر اساس نتایج مقایسه میانگین بین غلظت‌های مختلف عصاره آبی پوست سبز گردو با شاهد آلوده به نماتد و تیمار شده با آب مقطر استریل، اختلاف معنی‌دار در فاکتور شاخص گال، در سطح ۵٪ مشاهده شد (شکل ۳، جدول ۳). غلظت‌های مختلف عصاره آبی پوست گردو به طور چشمگیری سبب کاهش شاخص گال در مقایسه با شاهد شدند و با افزایش غلظت عصاره تعداد گال‌های ایجاد شده بر روی ریشه گوجه فرنگی کاهش یافت.

جدول ۳- تجزیه واریانس تأثیر عصارهٔ گیاهی گردو بر فاکتورهای بیماری زایی نماتد مولد گره ریشه

منابع تغییرات	درجه آزادی (df)	میانگین مربعات		
		تودهٔ تخم	**تودهٔ تخم تعداد لارو (در ۲۰۰ گرم خاک)**	**شاخص گال**
تیمارها	۴	۵۶/۰۰**	۴۳۲۶۸/۱**	۳/۱۶**
خطای آزمایش	۱۰	۱/۰۰	۱۸۵۹/۱۳	۰/۱۳۳
ضریب تغییرات		۱۴/۰۵	۱۵/۹۴	۱۲/۱۷

** معنی دار در سطح ۵ درصد و ns غیرمعنادار

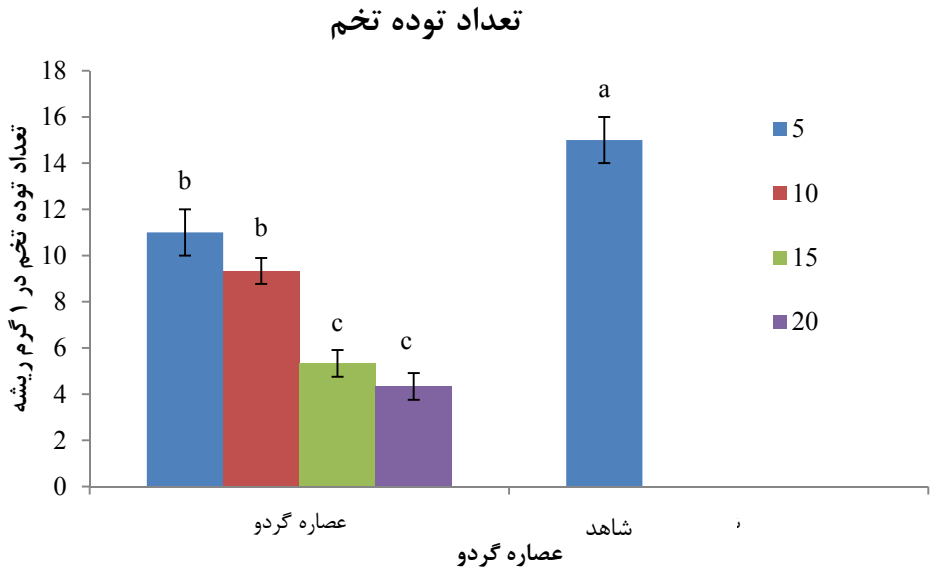


شکل۳- اثر غلظت های مختلف عصاره آبی پوست سبز میوه گردو بر شاخص گال نماتد *M. javanica* . هر عدد میانگین ۳ تکرار است. میانگین هایی که از نظر آماری با یکدیگر اختلاف دارند با حروف متفاوت مشخص شده اند. تفاوت ها با آزمون دانکن ($P\leq0.05$) ارائه شده اند

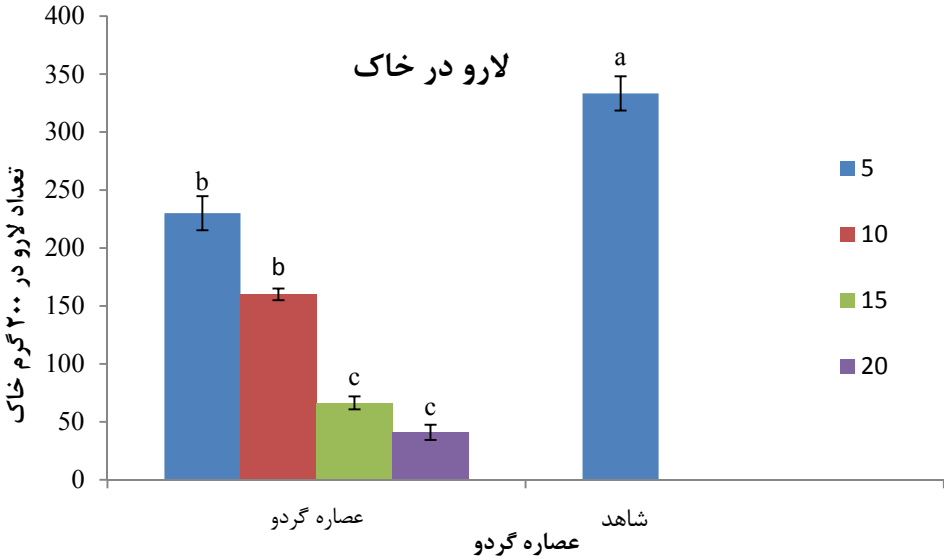
شمارش تعداد توده تخم نماتد *M. javanica* در مقدار یک گرم ریشه صورت گرفت. بر اساس مقایسه میانگین نتایج بدست آمده تمامی غلظت‌های مورد آزمایش سبب کاهش معنی‌دار تعداد توده تخم در مقایسه با شاهد در سطح ۵٪ شدند. کمترین تعداد توده تخم (۴/۳۳) در تیمار با غلظت ۲۰٪ عصاره آبی پوست گردو مشاهده شد که با تعداد توده تخم در تیمار ۱۵٪ عصاره (۵/۳۳) اختلاف معنی دار نداشت (شکل ۴).

با توجه به نتایج بدست آمده از شمارش تعداد لاروهای سن دوم نماتد *M. javanica* در مقدار ۲۰۰ گرم از خاک گلدان، غلظت‌های عصاره مورد بررسی باعث کاهش معنی دار در تعداد لارو در خاک نسبت به شاهد مایه زنی شده با آب مقطر شدند. بر اساس نتایج مقایسه میانگین (شکل ۵) با افزایش غلظت عصاره مورد بررسی کاهش تعداد لارو در خاک مشاهده شد. کمترین تعداد لارو در خاک به ترتیب در غلظت های ۱۵٪ و ۲۰٪ با مقدار عددی ۴۱ و ۶۶/۳۳ مشاهده شد. این مقادیر با یکدیگر اختلاف معنی‌دار نداشتند ولی با مقادیر عددی سایر غلظت‌ها و شاهد دارای اختلاف معنی‌دار بودند. با مقایسه نتایج بررسی های آزمایشگاهی با بررسی‌های انجام شده در شرایط گلخانه، با توجه به اثر غلظت‌های بالای عصاره گردو بر مرگ و میر کل لاروها در شرایط آزمایشگاه، می‌توان گفت تأثیر عصاره مورد بررسی در خاک و شرایط گلخانه کاهش یافته است. نظریه‌ای که در این رابطه وجود دارد این است که بعد از اضافه نمودن عصاره‌های گیاهی به خاک، پایداری، در دسترس بودن و فعالیت بیولوژیکی مواد بازدارنده موجود در عصاره، تحت تاثیر میکروارگانیسم های خاک قرار می‌گیرد. لذا این احتمال وجود دارد که بعد از افزودن

عصاره گیاهی به خاک، میکروارگانیسم‌های موجود در خاک فعال شده و با تبدیل یا تجزیه نسبی مواد بازدارنده، منجر به کاهش اثر بازدارندگی آنها نسبت به محیط آزمایشگاه شده باشد (Inderjit, 2005).



شکل۴- اثر غلظت های مختلف عصاره آبی پوست سبز میوه گردو بر تعداد توده تخم نماتد *M. javanica* . هر عدد میانگین ۳ تکرار است. میانگین هایی که از نظر آماری با یکدیگر اختلاف دارند با حروف متفاوت مشخص شده اند. تفاوت ها با آزمون دانکن ($P\leq0.05$) ارائه شده اند.



شکل۵- اثر غلظت های مختلف عصاره آبی پوست سبز میوه گردو بر تعداد لارو نماتد *M. javanica* در ۲۰۰ گرم خاک. هر عدد میانگین ۳ تکرار است. میانگین هایی که از نظر آماری با یکدیگر اختلاف دارند با حروف متفاوت مشخص شده اند. تفاوت ها با آزمون دانکن ($P\leq0.05$) ارائه شده اند.

احتمالاً برخی مواد شیمیایی توسط ریشه‌ها جذب می‌شوند و در نتیجه واکنش‌های زنجیره‌ای بـه دلیل وجود برخی فاکتورهای موجود در عصاره‌ها (Elicitor/Activator) شروع می‌شود که منجر به القاء مقاومت در گیاه نسبت به نماتد می‌شود (Chitwood, 2002). گزارش شده است که عصاره برخی گیاهان دارای فعالیت نماتدکشی ممکن است بر رفتارهای نماتد نظیر قابلیت تشخیص میزبان اثرگذار باشند (Zuckerman and Esnard 1994). مطالعات رائو و همکاران نشان داد که استفاده از برگ *Calotropis procera* Aiton به همراه *Glomus fasciculatum* Tul. در خاک علیه نماتد غده ریشه *M. incognita* سبب کاهش تعداد گال و تعداد تخم در هر کیسه‌ی تخم شد و علاوه بر این سبب بهبود رشد گیاه گوجه فرنگی و افزایش کلنیزاسیون آن توسط قارچ مایکوریز شد(Rao *et al*., 1996).

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

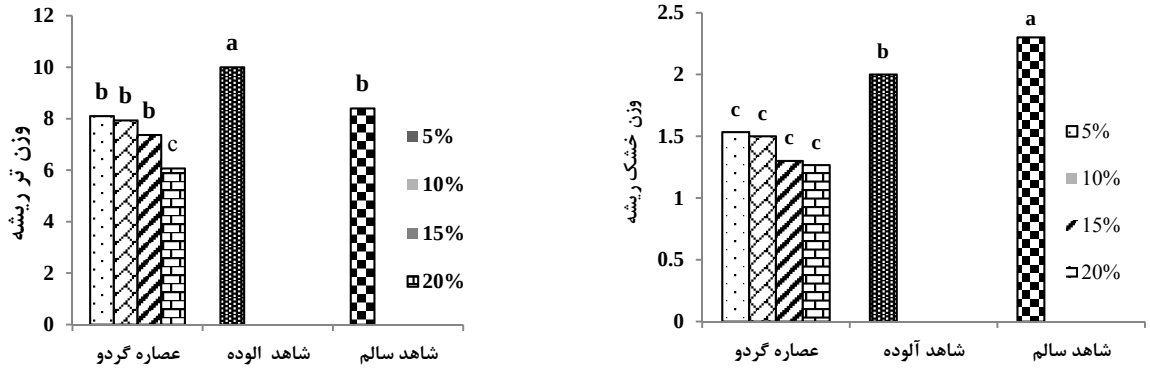
نتایج تحقیق دیگری نشان داد استفاده از پودر برگ و پودر میوه سبز و میوه خشک چریش علیه نماتد *M. incognita* در شرایط آزمایشگاهی سبب افزایش مرگ و میر لارو سن دوم نماتد و جلوگیری از تفریخ تخم نماتد و در شرایط گلخانه‌ای نیز سبب کاهش گال‌زایی نماتد و افزایش رشد گیاه میزبان (بامیه) شد (Resha and Savita Rani, 2015). *شاهچراغی* نیز نشان داد که‌اضافه‌کردن ۱۵۰ و ۳۰۰ میلی‌گرم عصاره گیاه درمنه (*Artemisia cina*) به هر ۵۰۰ گرم خاک آلوده به نماتد ریشه گرهی *M. incognita* می‌تواند تا ۹۹ درصد نماتد را کنترل و از بروز بیماری در گیاه گوجه فرنگی ممانعت بعمل آورد (Shahcheraghi, 1980). مواد عصاره‌ای کلیه اندام‌های درخت گردو دارای ترکیبات ارزشمندی است که حتی از بعضی از آن‌ها در ساخت داروهای با ارزش، سموم حشره کش و ضد آفات و بیماری‌ها می‌توان استفاده کرد. در نهایت، شناسایی این مواد استخراجی راهی برای دستیابی به اطلاعات بنیادی و ارزشمند برای محققین محسوب می‌گردد. عصارهٔ گردو بر روی باکتری‌های *Pseudomonas aeruginosa*، *Bacillus cereus* و باکتری *Escherichia coli* خواص ضد باکتریایی دارد (Zhang *et al*, 2009. Ayoughi *et al*, 2011).

نتایج مقایسه میانگین وزن تر و خشک ریشه و اندام‌های هوایی بوته‌های گوجه‌فرنگی (شکل ۶، جدول ۴) تیمار شده با غلظت‌های متفاوت عصارهٔ آبی پوست گردو نشان داد که وزن تر اندام‌های هوایی در تیمارهای ۵٪ و ۱۰٪ با شاهد آلوده به نماتد (شاهد +) اختلاف معنی‌دار نداشت و بیشترین وزن تر مربوط به شاهد سالم (شاهد−) بود، در حالی که با شاهد آلوده به نماتد و تیمار ۵٪ عصاره اختلاف معنی دار نداشت. بر اساس نتایج مقایسه میانگین مربوط به وزن خشک اندام‌های هوایی، وزن خشک در شاهد سالم، شاهد آلوده به نماتد و گیاهچه های گوجه فرنگی آلوده به نماتد تیمار شده با غلظت های ۵٪ و ۱۰٪ عصاره با یکدیگر اختلاف معنی دار نداشتند. اما تیمارهای ۱۵٪ و ۲۰٪ باعث کاهش معنی دار وزن خشک اندام های هوایی در مقایسه با شاهد سالم و آلوده شدند.

جدول ۴- تجزیه واریانس تأثیر عصارهٔ آبی گردو بر وزن تر و خشک ریشه و اندام های هوایی گیاه گوجه فرنگی

منابع تغییرات	درجه آزادی (df)	میانگین مربعات			
		وزن تر ریشه	وزن تر اندام هوایی	وزن خشک ریشه	وزن خشک اندام هوایی
تیمارها	۵	۵۳/۰۳**	۷۰/۱**	۰/۵۱**	۱/۱۴**
خطای آزمایش	۱۲	۰/۳۲	۹/۹	۰/۰۲	۰/۱۹
ضریب تغییرات		۱۴/۲	۱۳/۱۹	۱۰/۱	۱۳/۴۲

** معنی دار در سطح ۵ درصد و ns غیرمعنادار



شکل۶- اثر غلظت های مختلف عصاره آبی پوست سبز میوه گردو بر وزن تر و خشک گیاه گوجه فرنگی آلوده به نماتد *M. javanica*بر حسب گرم. هر عدد میانگین ۳ تکرار است. شاهد آلوده(+) با نماتد و آب مقطر استریل مایه زنی شده است و شاهد سالم(-) تنها با آب مقطر استریل مایه زنی شده است. میانگین هایی که از نظر آماری با یکدیگر اختلاف دارند با حروف متفاوت مشخص شده اند. تفاوت ها با آزمون دانکن ($P\leq0.05$) ارائه شده اند.

مقایسه نتایج مربوط به وزن‌تر ریشه نشان داد که بالاترین وزن‌تر ریشه به شاهد آلوده به نماتد مربوط می‌شد که از نظر آماری در بالاترین سطح (a) قرار داشت و دارای اختلاف معنی‌دار با سایر تیمارها بود. تیمار شاهد سالم و تیمارهای ۵٪ و ۱۰٪ و ۱۵٪ عصاره در سطح آماری b قرار داشتند و فاقد اختلاف معنی دار با یکدیگر بودند. بالاتر بودن وزن تر ریشه در شاهد آلوده را می توان با آلودگی شدید ریشه به نماتد *M. javanica* مرتبط دانست.

بر اساس نتایج مقایسه میانگین مربوط به وزن خشک ریشه نیز بالاترین وزن خشک متعلق به شاهد سالم بود که دارای اختلاف معنی‌دار با تمامی تیمارها بود. گیاهان تیمار شده با غلظت‌های مختلف عصاره پایین ترین وزن خشک ریشه را داشتند و دارای اختلاف معنی دار با شاهدسالم و آلوده بودند (شکل ۶).

به طور کلی در تیمار گیاه آلوده به نماتد با غلظت ۲۰٪ عصاره، وزن تر و خشک اندام‌های هوایی در مقایسه با شاهد و سایر تیمارها بجز تیمار ۱۵٪ عصاره کاهش یافت. در مورد وزن تر و خشک ریشه نیز کمترین وزن مربوط به تیمار ۲۰٪ عصاره بود. میتوان کاهش وزن گیاه را در غلظت‌های بالا با اثر آللوپاتی عصاره گردو مرتبط دانست.

مواد شیمیایی سمی موجود در برگ، پوست، میوه، ریشه و چوب گردو تحت عنوان جوگلاندین به علت خاصیت آللوپاتی (گیاهکشی) یا بازدارنده رویش گیاهان، کم و بیش دارای اثر گیاه‌کشی و بازدارندگی رویش گیاهان اطراف خود از جمله درختان سیب می‌باشد (Willis, 2000). نتایج مطالعات متعدد نشان می‌دهد شدت اثر بازدارندگی مواد شیمیایی بر روی رشد گیاه هدف بسته به نوع گیاه متفاوت می‌باشد. مواد بازدارنده‌ای که در غلظت مشخص منجر به کاهش رشد یک گیاه می‌گردند در همان غلظت ممکن است منجر به اثرات بازدارندگی کمتر یا عدم توقف رشد در گیاه دیگر شوند (Sodaeizadeh and Hakimi Meybodi, 2009).

نتیجه گیری و پیشنهادات

در مجموع نتایج تحقیق حاضر بیانگر قابلیت‌های بالای عصاره‌ی آبی گردو در کاهش شاخص‌های بیماری‌زایی نماتد مولد گره ریشه *M. javanica* و نیز خاصیت نماتدکشی آن می‌باشد. با توجه به تأثیر قابل توجه غلظت ۱۵٪ عصاره آبی پوست گردو در کاهش فاکتورهای بیماریزایی نماتد مولد گره ریشه و نیز بازدارندگی کم آن از رشد گیاه گوجه‌فرنگی، این غلظت به عنوان غلظتی مؤثر علیه نماتدهای مولد گره ریشه در خاک تشخیص داده شد. در نظر گرفتن این نکته که کاهش وزن تر وخشک گیاه تنها در غلظت ۲۰٪ مشاهده شد و این‌که غلظت مورد بحث، سبب گیاه‌سوزی و حذف گیاه از طرح آزمایشی نشده است می‌توان عصاره آبی پوست گردو را به عنوان گزینه‌ای مناسب جهت کنترل نماتد مولد گره ریشه در گیاه گوجه فرنگی برای انجام تحقیقات بیشتر معرفی کرد. پیشنهاد می‌شود عصاره آبی پوست سبز گردو در سطوحی از غلظت‌های مختلف و در مورد گیاهان میزبان مختلف، در جهت دستیابی به مناسب‌ترین غلظت عصاره برای گیاه میزبان هدف، مورد مطالعه قرار گیرد. نکته قابل توجه در این قسمت دسترسی به فرمولاسیون مناسب است که علاوه بر اینکه باعث گیاهسوزی نشود، بتوان آن را به کشاورز توصیه نمود تا زارع بتواند به راحتی آن را در مزرعه یا گلخانه استفاده نماید. صرف انجام یک طرح تحقیقاتی برای معرفی یک نماتدکش با منشأ گیاهی کفایت نمی‌کند، بلکه باید نحوهٔ اثر و همچنین پایداری اثر این نماتدکش در برهمکنش با سایر عوامل زیستی و غیر زیستی مورد بررسی قرار گیرد، و بعد از رسیدن به فرمولاسیون مناسب این ماده به مرحلهٔ تجاری سازی برسد. این تحقیق می‌تواند به عنوان پایه‌ای برای تحقیقات بیشتر در زمینهٔ معرفی فرمولاسیون‌های نماتدکش با منشأ طبیعی و دوستدار محیط زیست قلمداد شود.

References

1. Abivardi C. 1971. Studies on the effects of 9 Iranian anti-helminthic plant extracts on the root-knot nematode *Meloidogyne incognita*. Phytopathology 71: 300–308.
2. Adegbite AA and Adesiyan SO. 2005. Root extracts of plants to control root-knot nematode on edible soybean. World Journal of Agricultural Sciences 1: 18–21.
3. Adomako J and Kwoseh CK. 2013. Effect of Castor bean (*Ricinus communis* L.) aqueous extracts on the performance of root-knot nematodes (*Meloidogyne* spp.) on tomato (*Solanum lycopersicum*). Journal of Science and Technology 3(1): 1–11.
4. Ahktar M and Alm MM. 1991. Integrated control of plant parasitic nematode on potato with organic amendments, nematicide and mixed cropping with mustard. Nematologia Mediterranea 19: 169–171.
5. Alikarami M, Charehgani HA and Abdolahi M. 2016.The inhibitory effect of extracts of some plants on root-knot nematode (*Meloidogyne javanica*) in laboratory conditions. Paper presented at: 22nd Iranian Plant Protection Congress; 27–30 August; Karaj, Iran.
6. Arji A, Naseri A, Rakhshandeh H, Najafzadeh MJ. 2015. Investigation of antifungal activity of methanol and aqueous extracts of walnut (*Juglans regia*) leaves and peel against *Candida* species. Journal of Birjand University of Medical Sciences 22 (2): 115–124 (In Farsi).
7. Ayoughi F, Barzegar M, Sahari MA, Naghdibadi H. 2011. Chemical compositions of essential oils of *Artemisia dracunculus* L. and endemic *Matricaria chamomilla* L. and an evaluation of their antioxidative effects. Journal of Agricultural Science and Technology 13: 79–88.
8. Behnamian M and Masiha S. 2002. Tomato (*Lycopersicon esculentum*). Tabriz: Setoudeh Publication. 110 p. (In Persian).
9. Burt S. 2004. Essential oils: their antimicrobial properties and potential applications in foods–a review. International Journal of Food Microbiology 94: 223–253.
10. Buttery RG, Flath RA, Mon TR, Ling LC. 1986. Identification of germacrene D in walnut and fig leaf volatiles. Journal of Agricultural and Food Chemistry 34(5): 820–822.
11. Castagnone-Sereno P, Bongiovanni M, and Dalmasso A. 1994. Reproduction of virulent isolates of *Meloidogyne incognita* on susceptible and Mi-resistant tomato. Journal of Nematology 26(3): 324–328.
12. Chitwood DJ. 2002. Phytochemical based strategies for nematode control. Annual Review of Phytopathology 40: 221–249
13. Cristobal-Alejo J, Tun-Suarez JM, Moguel-Catzin S, Marban-Mendoza N, Medina-Baizabal L, Sima-Polanco P, Peraza-Sanchez SR, Gamboa-Angulo MM. 2006. In vitro sensitivity of *Meloidogyne incognita* to extracts from native yucatecan plants, Nematropica 36(1): 89–96.
14. Ferris H and Zheng L. 1999. Plant sources of Chinese herbal remedies: Effects on *Pratylenchus vulnus* and *Meloidogyne javanica*. Journal of Nematology 31:241–263.
15. Gholamnejad J, Etebarian HR, Sahebani NA. 2009. Biological control of apple blue mold with *Candida membranifaciens* and *Rhodotorula mucilaginosa*. African Journal of Food Science 4(1): 1–7.
16. Gupta S, Ravindranah RB and Seshari TR. 1972. Juglandaceae: Polyphenols of *juglans nigra*. Phytochemistry 11: 2634–2636.

17. Hosseininejad E and Vajedkhan M. 2000. Interactions of root-knot nematode *Meloidogyne javanica* (Race1) and wilt fungus, *Fusarium oxysporium* f.sp. *ciceri* on pea varieties. Plant Pests and Diseases 68(1,2): 1–12.
18. Hussey RS and Barker KR. 1973. A comparison of methods of collecting inocula of *Meloidogyne* spp., including a new technique. Plant Disease Reporter 57:1025–1028.
19. Hussey RS and Janssen GJW. 2002. Root-knot nematode: *Meloidogyne* species. pp. 43–70 *In* JL Starr, R Cook, J Bridge (eds.) Plant Resistance to Parasitic Nematodes. Wallingford, UK: CAB International.
20. Inderjit. 2005. Soil microorganisms: an important determinant of allelopathic activity. Plant and Soil 274: 227–236.
21. Jepson SB. 1987. Identification of root-knot nematodes (*Meloidogyne* species). Wallingford, UK: C.A.B. International.
22. Lamberti F, Hockland S, Agostinelli A, Moens M, Brown DJF. 2004. The *Xiphinema americanum* group. III. Keys to species identification. Nematologia Mediterranea 32: 53–56.
23. Manzanilla- López RH, Franco J, Peteira B and Kerry B. 2004. *Nacobbus aberrans*: Its molecular diagnosis in soil and potato tubers. Paper presented at: 34th ONTA Annual Meeting; 4–8 October; Puerto Vallarta, Mexico.
24. Naserinasab F, SahebaniN, Etebarian HR. 2010. Biological control of *Meloidogyne javanica* by *Trichoderma harzianum* BI and salicylic acid on Tomato. African Journal of Food Science 5(3): 276–280.
25. Ploeg AT. 2002. Effects of selected marigold varieties on root-knot nematodes and tomato and melon yields. Plant Disease 86: 505–508.
26. Potter MJK, Davies A and Rathjen AJ. 1998. Suppressive impact of glucosinolates in Brassica vegetative tissues on root lesion nematodes (*Pratylenchus neglectus*). Journal of Chemical Ecology, 24: 67–80.
27. Qamar M, Saquib MMuneer M. 2005. Photocatalytic degradation of two selected dye derivatives, chromotrope 2B and Amido Black 10B, in aqueous suspensions of titanium dioxide. Dyes Pigments 65: 1–9.
28. Rao MS, Reddy PP and Das SM. 1996.Effect of integration of *Calotropis procera* leaf and *Glomus fasciculatum* on the management of *Meloidogyne incognita* infesting tomato. Nematologia Mediterranea 24: 59–61.
29. Resha and Savita R. 2015.Management of root-knot nematode (*Meloidogyne Incognita*) using neem (*Azadiractha Indica*). Journal of Environmental Science, Toxicology and Food Technology (IOSR-JESTFT) 9(3): 12–15.
30. Sadeghi Z, Mahdikhani Moghaddam E, Azizi M. 2012. Evaluation of plant products of various species to control *Meloidogyne javanica* on tomato. Iranian Journal of Plant Pathology 48(2): 155–163 (In Persian).
31. Sahebani N., Hadavi N. 2008. Biological control of the root knot nematode *Meloidogyne javanica* by *Trichoderma harzianum*. Soil Biology and Biochemistry 40: 2016–2020.
32. Shahcheraghi M. 1980. Inhibition of root-knot nematode, *Meloidogyne incognita* by aqueous extract of *Artemisia cina* in tomato [MSc]. [Shiraz (Iran)]: University of Shiraz. (In Persian)
33. Sharma N and Trivedi PC. 2002. Screening of leaf extract of some plants for their nematicidal and fungicidal properties against *Meloidogyne incognita* and *Fusarium oxysporium*. Asian Journal of Experience science 16: 21–28.

34. Siddiqui BS, Rasheed M, Ghiasuddin, Faizi S, Naqvi SH, Tariq RM. 2000. Biologically active triterpenoids of biogenetic interest from the fresh fruit coats of *A. indica*. Tetrahedron 56: 3547-3551.
35. Sodaeizadeh H, Hakimi Meybodi MH. 2009. Allelopatic Effects of *Capparis spinosa*, *Herttiaangustifolia* and *Peganum harmala* on germination and seedling growth of wheat and alfalfa. Sustainable Agriculture and Production Science 2(20): 181–189 (In Persian).
36. Stampar F, Solar A, Hudina M, Veberic R and Colaric M, 2006. Traditional walnut liqueur-cocktail of phenolics. Food Chemistry 95: 627–631.
37. Sun MH, Gao L, Shi YX, Li BJ, Liu XZ. 2006 Fungi and actinomycetes associated with *Meloidogyne* spp. eggs and females in China and their biocontrol potential. Journal of Invertebrate Pathology93: 22–28
38. Thakur A. 2011. Juglone: A therapeutic phytochemical from *Juglans regia* L. Journal of Medicinal Plant Research 5(22): 5324–5330.
39. Trudgill DL and Blok VC. 2001. Apomictic, polyphagous root-knot nematodes: exceptionally successful and damaging biotrophic root pathogens. Annual Review of Phytopathology 39: 53–77.
40. Willis RJ. 2000. *Juglans* spp., juglone and allelopathy. AllelopathyJournl 7: l–55.
41. Zhang Z, Liao L, Moore J, Wua T and Wang Z. 2009. Antioxidant phenolic compounds from walnut kernels (*Juglans regia* L.). Food Chemistry 113: 160–165.
42. Zuckerman BM and Esnard J. 1994. Biological control of plant nematodes, current status and hypothesis. Japanese Journal of Nematology 24: 1–13.