

Research Article

Comparison of nematicidal activity of some fungal crude extract and *Foeniculum vulgare* essential oil against *Ditylenchus dipsaci* under laboratory conditionsGholamreza Niknam[✉], Roghaiyeh Karimzadeh, Sepideh Biabani, Abolfazl Narmani

Plant Protection Department, Faculty of Agriculture, University of Tabriz, Tabriz, Iran

Corresponding author[✉]g_niknam@tabrizu.ac.ir**Keywords**

Bioassay, Biological control, Integrated management, Lethal concentration, Secondary metabolite

Abstract

The stem and bulb nematode *Ditylenchus dipsaci* is one of the most damaging plant parasitic nematodes with global distribution. This nematode has a wide host range. Biological control is one of the alternative approaches for chemical control of plant parasitic nematodes. Several studies have reported the nematicidal effect of compounds with fungal and plant origin. Accordingly, in this research, the nematicidal activity of the metabolites of four species of fungi including *Pochonia chlamydosporia* var. *chlamydosporia*; *Microdochium bolleyi*; *Exophiala equina* and *Scytalidium* sp. and fennel (*Foeniculum vulgare* Mill.) essential oil were studied in laboratory conditions in comparison with Metam sodium as a positive control against *D. dipsaci*. Bioassay tests on the effects of metabolites of fungi, plant essential oil and Metam sodium were carried out in four replications and seven treatments on the nematodes (60 days old) and the mortality percent of the nematodes were recorded after 24 and 48 hours. After performing the probit analysis of the resulted data, LC₅₀ values after 24 hours for the metabolites of *P. chlamydosporia*, *M. bolleyi*, *E. equina* and *Scytalidium* sp. were 69.49, 142.97, 135.24, 330.49 ppm, respectively, and for fennel essential oil and Metam sodium were 1217 and 11.32 ppm, respectively. LC₉₀ values after 24 hours for metabolites of *P. chlamydosporia*, *M. bolleyi*, *E. equina* and *Scytalidium* sp. were 109.48, 198.03, 191.13, and 460.96 ppm, respectively, and 1640 and 15.39 ppm obtained for fennel essential oil and Metam sodium, respectively. Gas chromatography (GC) and gas chromatography connected to mass spectrometer (GC-MS) equipped with a DB5 column were used to identify the components of the metabolites of the fungi and plant essential oil. Based on the results, fatty acids and Trans-Anethole were the main components of the crude extract of these fungi and fennel essential oil, respectively. According to the results, all the tested compounds showed suitable control effects against the nematode *D. dipsaci* and are worth conducting further studies.

Received: 6 September 2025**Revised:** 22 April 2026**Accepted:** 23 April 2026**Available online:** 24 April 2026**Cite this article:**

Niknam G, Karimzadeh R, Biabani S, Narmani A, 2026. Comparison of nematicidal activity of some fungal crude extract and *Foeniculum vulgare* essential oil against *Ditylenchus dipsaci* under laboratory conditions. *J Appl Res Plant Prot* 15 (1): 25–34.

<https://dx.doi.org/10.22034/arpp.2026.21806>



Copyright© 2026 University of Tabriz, Published by the University of Tabriz.

This is an open access article under the CC BY NC license (<https://creativecommons.org/licenses/by-nc/2.0/>)

مقایسه فعالیت نماتدکشی عصاره خام چند قارچ و اسانس گیاه رازیانه بر نماتد *Ditylenchus dipsaci* در شرایط آزمایشگاهی

غلامرضا نیکنام[✉]، رقیه کریم‌زاده، سپیده بیابانی، ابوالفضل نرمانی

گروه گیاه‌پزشکی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه تبریز، تبریز، ایران

نویسنده مسئول: g_niknam@tabrizu.ac.ir

دریافت: ۱۴۰۴/۰۶/۱۵ بازنگری: ۱۴۰۵/۰۲/۰۲ پذیرش: ۱۴۰۵/۰۲/۰۳

چکیده

نماتد ساقه و پیاز *Ditylenchus dipsaci* یکی از خسارت‌زاترین نماتدهای انگل گیاهی است که انتشار جهانی دارد. این نماتد دارای دامنه میزبانی وسیع می‌باشد. کنترل زیستی یکی از رویکردهای جای‌گزین برای مدیریت شیمیایی نماتدهای انگل گیاهی به‌شمار می‌رود. مطالعات متعددی اثر نماتدکشی ترکیباتی با منشأ قارچی و گیاهی را گزارش کرده‌اند. بر همین اساس در این پژوهش فعالیت نماتدکشی عصاره‌های خام چهار گونه قارچ شامل *Scytalidium* sp. و *Exophiala equina*، *Microdochium bolleyi*، *Pochonia chlamydosporia* var. *chlamydosporia*، گیاه رازیانه *Foeniculum vulgare* و نماتدکش شیمیایی متامسدیم در برابر *D. dipsaci* در شرایط آزمایشگاهی مورد مقایسه قرار گرفت. آزمایش‌های زیست‌سنجی با هفت غلظت و چهار بار تکرار در روزهای مختلف روی نماتدهای تکثیر شده (۶۰ روزه) انجام و مرگ نماتدها بعد از ۲۴ و ۴۸ ساعت ثبت شد. بعد از انجام تجزیه پروبیت داده‌های حاصل، مقادیر LC₅₀ پس از ۲۴ ساعت برای عصاره خام قارچ‌های *P. chlamydosporia*، *E. equina*، *M. bolleyi* و *Scytalidium* sp. به‌ترتیب ۶۹/۴۹، ۹۲/۹۷، ۱۳۵/۲۴ و ۳۳۰/۴۹ پی‌پی‌ام و برای اسانس رازیانه و سم متامسدیم به‌ترتیب برابر ۱۲۱۷ و ۱۱/۳۲ پی‌پی‌ام به‌دست آمد. مقادیر LC₉₀ پس از ۲۴ ساعت به‌ترتیب ۱۰۹/۴۸، ۱۹۸/۰۳، ۱۹۱/۱۳ و ۴۶۰/۹۶ پی‌پی‌ام برای عصاره‌های قارچ‌ها و برای اسانس رازیانه و سم متامسدیم به‌ترتیب ۱۶۴۰ و ۱۵/۳۹ پی‌پی‌ام به‌دست آمد. جهت شناسایی اجزای عصاره‌های قارچ‌ها و اسانس گیاهی از دستگاه کروماتوگرافی گازی متصل به طیف‌سنج جرمی (GC-MS) استفاده شد. بر اساس نتایج، اسیدهای چرب و - Trans Anethole به ترتیب بخش اصلی تشکیل دهنده عصاره خام این قارچ‌ها و اسانس رازیانه بود. با توجه به نتایج، تمامی عصاره‌های خام مورد آزمایش اثرات کنترلی مطلوبی را علیه *D. dipsaci* نشان دادند و ارزش انجام بررسی‌های بیشتر را دارند.

کلمات کلیدی: زیست‌سنجی، غلظت‌کننده، کنترل زیستی، متابولیت ثانویه، مدیریت تلفیقی

مقدمه

شناسایی شده است (Sturhan & Brzeski 1991). در طول سال‌های گذشته، در کنترل نماتدها بر استفاده از مواد شیمیایی تاکید می‌شد، اما این موضوع سبب نگرانی‌هایی از جمله پیامدهای مضر زیست‌محیطی شده است. بنابراین محققین در پی یافتن روش‌های کم‌ضرر و موثر غیرشیمیایی هستند. از جمله این رویکردها، کنترل زیستی است که یکی از روش‌های نسبتاً امن و سالم برای کنترل نماتدهای انگل گیاهی به‌شمار می‌رود. در بین عوامل زیستی مختلفی که قادر به کاهش جمعیت نماتدهای انگل گیاهی هستند، قارچ‌ها اهمیت بیشتری داشته و بعضی از آن‌ها پتانسیل بالایی در کنترل زیستی نماتدها دارند (Ciancio & Mukerji 2007). قارچ‌ها می‌توانند نماتدها را به‌طور مستقیم پارازیت کنند یا این‌که متابولیت‌ها و آنزیم‌هایی ترشح کنند که بر آن‌ها اثر بازدارندگی داشته باشند (Ghayedi & Abdollahi 2013). نحوه عمل بسیاری از میکروارگانیسم‌هایی که برای کنترل زیستی نماتدها به کار گرفته می‌شوند تاثیر آن‌ها روی

نماتدهای انگل گیاهی از نظر اقتصادی تاثیر زیادی روی محصولات کشاورزی دارند. کنترل این بیمارگرها جهت بهبود رشد گیاهان میزبان و در نتیجه افزایش عملکرد آنها با توجه به رشد روزافزون جمعیت جهان و افزایش نیازهای غذایی آن‌ها، امری لازم و اجتناب‌ناپذیر است (Dropkin 1989). نماتد ساقه و پیاز ۱۹۳۶ Filipjev (Kuhn 1857) *Ditylenchus dipsaci* یکی از خسارت‌زاترین نماتدهای انگل گیاهی است که انتشار جهانی دارد. این نماتد دارای دامنه میزبانی وسیعی است و بیش از ۳۰۰ گونه گیاهی از جمله سیر، پیاز، یونجه، شبدر قرمز، چغندر قند، ذرت، توت‌فرنگی و بسیاری دیگر از گیاهان زراعی و باغی، به‌ویژه گیاهان زینتی پیازدار از قبیل نرگس، سنبل و لاله را آلوده می‌کند. در ایران، این گونه از روی گیاهان سیر، پیاز، یونجه و لوبیا گزارش شده است (Fasihi et al. 2010). تاکنون حدود ۳۰ نژاد بیولوژیکی برای این نماتد با توجه به ترجیح میزبانی متفاوت

تکثیر نماتد

در این مطالعه برای غربال‌گری قارچ‌ها از نظر تولید ترکیبات ضد نماتد، به دلیل سهولت تکثیر، از نماتد *Aphelenchoides besseyi* Christie 1942 استفاده شد. برای تکثیر این نماتد، قارچ *Alternaria alternata* (Fr.) Keissl. 1912 روی محیط کشت سیب‌زمینی- دکستروز- آگار (PDA) کشت داده شد و پس از رشد کافی قارچ، نماتد *A. besseyi* روی آن مایه‌زنی و داخل انکوباتور با دمای ۲۶ درجه سانتی‌گراد در شرایط تاریکی قرار داده شد (Rao 1985). پس از حدود ۱۵ روز از زمان مایه‌زنی، نماتدهای تکثیر یافته برای استفاده در آزمایش‌های زیست‌سنجی جمع‌آوری شدند.

به‌منظور تکثیر *D. dipsaci*، خالص‌سازی و تامین جمعیت مورد نیاز آن، کشت پایه این نماتد روی دیسک‌های هویج در آزمایشگاه به‌طور مداوم انجام شد. جهت تهیه دیسک‌ها، از هویج‌های قطور و سالم پس از شست‌وشو با آب و ضدعفونی با الکل ۷۰ درصد، قطعاتی به قطر تقریبی سه سانتی‌متر و به ضخامت ۰/۵ سانتی‌متر برش داده شد و داخل هر تشتک پتری سترون یک دیسک قرار گرفت (Moody et al. 1973). تشتک‌های حاوی دیسک هویج پس از مسدود شدن با پارافیل، به مدت دو هفته داخل انکوباتور با دمای 1 ± 25 درجه سلسیوس به‌منظور تولید بافت پینه (کالوس) و نیز ردیابی آلودگی‌های باکتریایی و قارچی احتمالی و در نهایت حذف دیسک‌های آلوده نگهداری شدند (Kühnhold et al. 2006). نماتدهای جداسازی شده از حبه سیر جهت ضدعفونی به مدت ۱۰ دقیقه درون محلول سولفات استرپتومایسین یک درصد قرار داده شدند و بعد از آبکشی با آب مقطر استریل، حدود ۸۰ نماتد بالغ نر و ماده (Kühnhold et al. 2006) به حاشیه بافت کالوس هر دیسک هویج انتقال داده شد و درب پتری‌ها به‌وسیله پارافیل مسدود گردید. تشتک‌های پتری در شرایط تاریکی در داخل انکوباتور با دمای 1 ± 18 درجه سلسیوس به مدت ۶۰ روز نگهداری شدند. پس از بررسی نماتد-های تکثیر شده حاصل از خالص‌سازی، یک جمعیت انتخاب شده و برای تکثیر مجدد، مورد استفاده قرار گرفت.

انتخاب جدایه‌های قارچ‌ها

از ۱۸۱ جدایه قارچی حاصل از پژوهش قبلی که از سیستم پوسته و تخم نماتد سیستی غلات (*Heterodera filipjevi*) (Stelter, 1984) (Madzhidov, 1981) جداسازی شده بودند (Karimpour 2019)، بر اساس تنوع گروه‌های مختلف قارچی و بستره جداسازی در مجموع ۱۲ جدایه قارچی جهت مطالعه

پوسته تخم و کوتیکول نماتدها می‌باشد. آنزیم‌های معمول که توسط آنتاگونیست‌های قارچی برای از بین بردن کوتیکول و پوسته تخم تولید و ترشح می‌شوند شامل پروتئازها و کیتینازها می‌باشند (Bonants et al. 1995).

استفاده از ترکیبات و متابولیت‌های ثانویه گیاهی به دلیل برخورداری از ویژگی‌هایی چون سازوکار پیچیده و اختصاصی که ممکن است مانع از بروز مقاومت در نماتدها شود، دامنه اثر محدود و قابلیت تجزیه به متابولیت‌های غیرسمی به‌عنوان یکی از راهبردهای جای‌گزین برای کنترل نماتدها مطرح گردیده است (Javed et al. 2008). هم‌چنین اثر نماتدکشی بسیاری از گیاهان دارویی در مطالعات مختلف به اثبات رسیده است. فرآورده‌های مشتق‌شده از گیاهان که معمولاً برای کنترل بیمارگرهای گیاهی استفاده شده‌اند، اسانس‌ها و عصاره‌های گیاهی هستند (Burt 2007; Mizubuti et al. 2004). اکثر تحقیقات انجام شده نشان داده‌اند که اسانس‌های گیاهی و یا ترکیبات موجود در آن‌ها دارای ظرفیت بالقوه به‌عنوان ترکیبات جای‌گزین با مواد تدخینی رایج شیمیایی هستند (Lee et al. 2004; Tewary et al. 2005). اسانس‌ها دارای اثرات ضد میکروبی، ضد قارچی، حشره‌کشی، کنه-کشی و نماتدکشی هستند اما ویژگی‌های نماتدکشی تعداد کمی از اسانس‌های گیاهی و ترکیبات آن‌ها مورد بررسی قرار گرفته است (Ibrahim et al. 2006).

در این بررسی اثر نماتدکشی عصاره خام چهار گونه قارچ شامل *Pochonia chlamydosporia* (Goddard) Zare & W. *Microdochium bolleyi*, Gams 2001 var. *chlamydosporia* *Exophiala* (R. sprague) de Hoog & Herm.-Nijh. 1977 *equina* (Pollacci) de Hoog, V.A. Vicente, Najafz., Scytalidium sp. Harrak, Badali & Seyedm. 2011 و اسانس گیاه رازیانه (*Foeniculum vulgare* Mill) در مقایسه با متام-سدیم در میزان مرگ‌ومیر جمعیت ۶۰ روزه (تکثیر شده) نماتد *D. dipsaci* در شرایط آزمایشگاهی مورد مطالعه قرار گرفت.

مواد و روش‌ها

جداسازی و شناسایی نماتد

نمونه‌های سیر آلوده به این نماتد از مزارع شهرستان شاهین-دژ واقع در استان آذربایجان غربی جمع‌آوری و سپس به روش سینی (Whitehead & Hemming 1965) جداسازی و گونه آن بر اساس صفات ریخت‌شناختی و ریخت‌سنجی مورد شناسایی قرار گرفت.

متابولیت‌ها انتخاب شدند.

زیست‌سنجی عصاره‌های خام قارچ‌ها

برای انجام زیست‌سنجی با عصاره خام قارچ‌ها ابتدا یک غلظت مادر ۴۰۰۰۰ پی‌پی‌ام از آنها تهیه و برای کمک به پخش سریع آنها در آب از توئین چهار درصد استفاده شد. آزمایش‌های مقدماتی با غلظت‌های ۵۰، ۲۰۰، ۴۰۰، ۶۰۰، ۸۰۰ پی‌پی‌ام انجام و محدوده غلظت‌های آزمایش‌های اصلی تعیین گردید. برای این منظور بسته به غلظت موردنظر حجم مشخصی از سوسپانسیون حاوی ۶۰ فرد نماتد به همراه حجم محاسبه‌شده از محلول پایه عصاره خام به داخل میکروتیوب‌های ۲۰۰ میکرولیتری اضافه گردید. بر اساس نتایج آزمایش‌های مقدماتی، غلظت‌هایی که باعث حدود ۸۰ درصد و ۲۰ درصد مرگ نماتدها شدند به ترتیب به‌عنوان بالاترین و پایین‌ترین غلظت در آزمایش‌های اصلی در نظر گرفته شدند و هفت غلظت با فاصله لگاریتمی در آزمایش‌های اصلی تعیین شد. ترکیب آب مقطر سترون و توئین به‌عنوان شاهد در نظر گرفته شدند.

زیست‌سنجی اسانس رازیانه و سم متام‌سدیم

در این مطالعه از نماتدکش متام‌سدیم با نام تجاری (Vapam® 32.7 EC)، که از سازمان حفظ نباتات، مرکز نظارت بر سموم تهیه شده بود، استفاده شد.

آزمایش‌های مقدماتی با غلظت‌های اولیه ۵۰، ۱۰۰۰، ۲۰۰۰، ۴۰۰۰ و ۸۰۰۰ پی‌پی‌ام برای اسانس‌ها و ۱، ۵، ۱۰، ۳۰ و ۵۰ پی‌پی‌ام برای متام‌سدیم انجام و محدوده غلظت‌های آزمایش‌های اصلی تعیین شد. برای این منظور، ۱۰۰۰ میکرولیتر از غلظت مورد نظر به همراه آب مقطر سترون و توئین چهار درصد و ۱۰۰۰ میکرولیتر سوسپانسیون حاوی ۶۰ فرد نماتد به داخل میکروتیوب‌های دو میلی‌لیتری اضافه گردید. بر اساس نتایج آزمایش‌های مقدماتی، غلظت‌های نهایی انتخاب شدند. در آزمایش اصلی هفت غلظت ۶۴۵، ۷۴۱، ۸۵۱، ۹۷۷، ۱۱۲۲، ۱۲۸۸ و ۱۵۰۰ پی‌پی‌ام با فاصله لگاریتمی برای اسانس و هفت غلظت ۶/۴۵، ۷/۴۱، ۸/۵۱، ۹/۷۷، ۱۱/۲۲، ۱۲/۸۸ و ۱۵ پی‌پی‌ام با فاصله لگاریتمی برای متام‌سدیم تعیین شد. آب مقطر سترون به همراه توئین به‌عنوان شاهد استفاده گردید.

آزمایش‌های اصلی مربوط به تمام ترکیبات چهار بار در چهار روز متفاوت تکرار شدند. میکروتیوب‌های حاوی نماتد و مواد آزمایشی در داخل انکوباتور در دمای 1 ± 25 درجه سلسیوس قرار داده شدند و مرگ نماتدها بعد از ۲۴ و ۴۸ ساعت ثبت گردید. نماتدهای زنده و مرده در زیر دستگاه استریومیکروسکوپ شمارش شده و درصد مرگ محاسبه گردید. مرگ کامل معیار

غربال‌گری جدایه‌های انتخاب‌شده جهت تولید متابولیت‌های ضدنماتد

به‌منظور انتخاب جدایه‌های قارچی برای تخمیر در حجم بالا، قارچ‌های خالص‌سازی‌شده، روی محیط کشت جامد YMG (Yeast extract Malt Glucose) کشت و به مدت یک ماه برای تولید متابولیت‌های قارچی در انکوباتور با دمای 1 ± 25 درجه سلسیوس نگهداری شدند. به منظور استخراج عصاره خام، از ۳۰۰ الی ۴۰۰ میلی‌گرم میسلیم قارچ‌های کشت‌شده به همراه لایه نازکی از محیط کشت با ۵۰۰ میکرولیتر متانول استفاده شد. بعد از جداسازی فاز مایع متانولی از فاز جامد، فاز آلی به‌وسیله دستگاه تقطیر در خلا خشک شد. برای غربال‌گری، غلظت‌های تصادفی متابولیت‌ها (۵۶۰، ۱۲۵۰، ۲۲۵۰ و ۴۵۰۰ پی‌پی‌ام) روی نماتد *A. besseyi* ارزیابی گردیدند (زیست‌سنجی اولیه). بر اساس نتایج این زیست‌سنجی، چهار گونه *P. chlamydosporia* var. *Scytalidium* sp. و *E. equina* *M. bolleyi* *chlamydosporia* با توجه به درصد مرگ بالا در غلظت‌های پایین، جهت بررسی اثر متابولیت‌ها روی نماتد *D. dipsaci* انتخاب شدند.

تهیه و استخراج عصاره خام قارچ‌های منتخب مورد آزمایش

جدایه‌های منتخب حاصل از غربال‌گری، در محیط کشت جامد YMG با $\text{pH} = 6/3$ کشت و به مدت یک ماه برای تولید متابولیت‌های قارچی در انکوباتور در دمای 1 ± 25 درجه سلسیوس نگهداری شدند. سپس میسلیم قارچ به همراه یک لایه نازک از محیط کشت به‌وسیله اسکالپل خراش داده شد و با اضافه کردن حلال متانول، با استفاده از دستگاه همگن‌ساز فراصوتی در دمای ۴۰ درجه سلسیوس به مدت نیم ساعت استخراج شدند. بعد از جداسازی فاز مایع متانولی از فاز جامد، فاز آلی به‌وسیله دستگاه تقطیر در خلا خشک شد. سپس با اضافه کردن مخلوط ۱:۱ حلال اتیل استات و آب دو بار تقطیر، عصاره‌های موردنظر استخراج و فاز آلی با استفاده از دستگاه تقطیر در خلا خشک گردید و برای انجام آزمایش‌های زیست‌سنجی مورد استفاده قرار گرفت.

تهیه اسانس رازیانه

برای این منظور بذور رازیانه به‌وسیله آسیاب‌برقی پودر گردید. عمل اسانس‌گیری از پودر بذور رازیانه با استفاده از دستگاه اسانس‌گیر و به روش تقطیر با آب در دمای ۱۰۰ درجه سلسیوس به مدت دو ساعت بعد از جوش آمدن آب انجام شد.

متغیر وابسته یعنی پروبیت درصد مرگ نماتد تجزیه شدند و مقادیر LC₅₀ و LC₉₀ ترکیبات مورد آزمایش تخمین زده شد. تجزیه پروبیت با استفاده از نرم‌افزار SPSS نسخه ۱۶ صورت گرفت. خطوط دوز-اثر با استفاده از نرم‌افزار Excel ترسیم شدند. میزان سمیت ترکیبات مختلف با مقایسه مقادیر LC₅₀ به‌دست آمده تعیین گردید.

نتایج و بحث

غربال‌گری جدایه‌های قارچی از نظر تولید متابولیت‌های ضدنماتد نتایج نشان داد اکثر عصاره‌های خام استخراج شده دارای خاصیت ضدنماتد بودند و بر اساس نتایج غربالگری از ۱۲ جدایه، چهار جدایه *P. chlamydosporia* var. *chlamydosporia* S10I13، *M. bolleyi* S7I19، *E. equina* S10I16 و *Scytalidium* sp. S12I5 برای تخمیر در حجم بالا انتخاب شدند.

بود و نماتدهایی که بدون حرکت بودند، برای اطمینان از مرگ آن‌ها چند بار تکانی توسط سوزن در آب مجاور آن‌ها اعمال گردید، در صورت عدم واکنش به‌عنوان نماتد مرده در نظر گرفته شدند.

شناسایی ترکیبات شیمیایی عصاره خام قارچ‌ها و اسانس رازیانه جهت شناسایی اجزای متابولیت‌های قارچ‌ها و اسانس گیاه رازیانه، از کروماتوگرافی گازی مدل Agilent 6890N متصل به طیف‌سنج جرمی (GC-MS) Quadrupole و ستون DB5 استفاده شد.

تجزیه داده‌ها

داده‌های حاصل از آزمایش‌های زیست‌سنجی با استفاده از روش رگرسیون بین متغیر مستقل یعنی فاکتور مورد آزمایش و

جدول ۱. غلظت‌های کشنده اسانس گیاه *Foeniculum vulgare* (رازیانه)، عصاره‌های خام قارچ‌های *Pochonia chlamydosporia* var. *chlamydosporia*، *Microdochium bolleyi*، *Exophiala equina*، *Scytalidium* sp. و سم متام سدیم، ۲۴ و ۴۸ ساعت بعد از تیمار.

Table 1. Lethal concentrations of *Foeniculum vulgare* (fennel) essential oil, crude extracts of *Pochonia chlamydosporia* var. *chlamydosporia*, *Microdochium bolleyi*, *Exophiala equina*, *Scytalidium* sp. and Metam sodium, 24 and 48 hours after treatment.

Treatment	Hours after treatment	LC50 (ppm) (Confidence limits)	LC90 (ppm) (Confidence limits)	Slope ± SE	χ ² (df)
<i>Pochonia chlamydosporia</i> var. <i>chlamydosporia</i>	24	69.49 (51.12-81.99)	109.48 (94.36-148.55)	6.21 ± 0.002	0.07 ^{ns} (5)
	48	47.5 (44.26-50.05)	72.43 (70.01-75.31)	8.06 ± 0.004	0.005 ^{ns} (5)
<i>Microdochium bolleyi</i>	24	142.97 (126.82-158.65)	198.03 (177.11-248.84)	8.88 ± 0.001	0.17 ^{ns} (5)
	48	120.85 (114.17-126.53)	161.75 (153.85-173.35)	9.98 ± 0.002	0.008 ^{ns} (5)
<i>Exophiala equina</i>	24	135.24 (126.37-144.22)	191.13 (177.09-213.4)	7.42 ± 0.001	0.01 ^{ns} (5)
	48	99.38 (97.04- 101.53)	129.82 (126.83-133.38)	11.75 ± 0.002	0.01 ^{ns} (5)
<i>Scytalidium</i> sp.	24	330.49 (312.5-349.34)	460.96 (431.34-504.14)	7.71 ± 0.0	0.02 ^{ns} (5)
	48	216.69 (208.95-223.4)	303.97 (295.83-313.78)	9.14 ± 0.001	0.005 ^{ns} (5)
<i>Foeniculum vulgare</i>	24	1217 (1141.13-1315.73)	1640 (1499.93-1881.28)	8.49 ± 0.0	0.13 ^{ns} (5)
	48	1004 (915.79-1096.84)	1429 (1293.24-1683.48)	7.71 ± 0.0	0.09 ^{ns} (5)
Metam sodium	24	11.32 (11.09-11.56)	15.39 (14.94-15.91)	7.63 ± 0.01	0.007 ^{ns} (5)
	48	7.25 (7.1-7.38)	9.11 (8.92-9.34)	12.57 ± 0.04	0.002 ^{ns} (5)

Scytalidium sp. و *E. equina*، *M. bolleyi*، *chlamydosporia* به‌ترتیب ۰/۱۶۵، ۰/۱۸۹۸، ۰/۰۸۵۳ و ۰/۰۷۴۱ گرم به‌دست آمد.

استخراج متابولیت‌های قارچ‌های منتخب در حجم بالا وزن عصاره‌های خام جدایه‌های *P. chlamydosporia* var.

زیست‌سنجی عصاره‌های خام قارچی و اسانس گیاه رازیانه

نتایج حاصل از زیست‌سنجی نشان داد که اسانس گیاه رازیانه، عصاره‌های خام قارچ‌های *P. chlamydosporia* var. *chlamydosporia* *Scytalidium* sp. و *E. equina* دارای اثر کشندگی روی *D. dipsaci* است (جدول ۱). بر اساس

نتایج تجزیه پروبیت ۲۴ ساعت و ۴۸ ساعت بعد از تیمار، مقدار LC_{50} بعد از ۲۴ ساعت به ترتیب ۱۲۱۷، ۶۹/۴۹، ۱۴۲/۹۷، ۱۳۵/۲۴ و ۳۳۰/۴۹ پی‌پی‌ام و مقادیر LC_{90} پس از ۲۴ ساعت به ترتیب ۱۶۴۰، ۱۰۹/۴۸، ۱۹۸/۰۳، ۱۹۱/۱۳ و ۴۶۰/۹۶ پی‌پی‌ام در تیمارهای فوق به‌دست آمد (جدول ۱).

جدول ۲. ترکیبات شیمیایی تشکیل‌دهنده عصاره‌های خام قارچ‌های *Microdochium Pochonia chlamydosporia* var. *chlamydosporia*، *Exophiala equine bolleyi* و *Scytalidium* sp. بر اساس آنالیز GC-MS.

Table 2. Chemical constituents of crude extracts of *Pochonia chlamydosporia* var. *chlamydosporia*, *Microdochium bolleyi*, *Exophiala equine* and *Scytalidium* sp. based on GC-MS analysis.

Chemical compounds of fungi			
<i>Pochonia chlamydosporia</i> var. <i>chlamydosporia</i>	<i>Microdochium bolleyi</i>	<i>Exophiala equina</i>	<i>Scytalidium</i> sp.
n-Hexadecanoic acid	n-Hexadecanoic acid	n-Hexadecanoic acid	n-Hexadecanoic acid
Hexadecanoic acid, ethyl ester	6-Octadecenoic acid, (Z)-	Hexadecanoic acid, ethyl ester	Hexadecanoic acid, ethyl ester
9-Octadecenoic acid, (E)-	Linoleic acid ethyl ester	Heptadecene-(8)-carbonic acid-(1)	Heptadecene-(8)-carbonic acid-(1)
Linoleic acid ethyl ester	8-Octadecenoic acid, methyl ester	Linoleic acid ethyl ester	9,12-Octadecadienoic acid, ethyl ester
Ethyl Oleate	Oleic Acid	Ethyl Oleate	Ethyl Oleate
Heptadecanoic acid, 15-methyl-, ethylester	9,12-Octadecadienoic acid (Z,Z)-	Heptadecanoic acid, 15-methyl-, ethylester	Heptadecanoic acid, 15-methyl-, ethylester
9,12-Octadecadienoic acid (Z,Z)-	Mono(2-ethylhexyl) phthalate	9,12-Octadecadienoic acid (Z,Z)-	9,12-Octadecadienoic acid, methyl ester, (E,E)-
Bis(2-ethylhexyl) phthalate	-	Bis(2-ethylhexyl) phthalate	Mono(2-ethylhexyl) phthalate

حدود اطمینان LC_{50} در عصاره‌های خام قارچ‌ها نشان می‌دهد که اثر این ترکیبات باهم اختلاف معنی‌دار دارند. عصاره خام *P. chlamydosporia* var. *chlamydosporia* کم‌ترین LC_{50} (۶۹/۴۹ پی‌پی‌ام) بعد از ۲۴ ساعت به‌عنوان موثرترین و عصاره خام *Scytalidium* sp. با بیش‌ترین LC_{50} (۳۳۰/۴۹ پی‌پی‌ام) به‌عنوان کم‌اثرترین عصاره خام قارچی مورد مطالعه روی *D. dipsaci* در شرایط آزمایشی حاضر تعیین شدند. مقایسه مقادیر

LC_{50} عصاره خام قارچ‌ها با مقدار LC_{50} متامسیدیم نشان داد که این ترکیبات در مقایسه با نماتدکش شیمیایی مذکور اثر کشندگی ضعیف‌تری دارند، ولی تاثیر آنها در مقایسه با اسانس رازیانه بیشتر بود (جدول ۱). گذشت زمان در همه موارد آزمایش موجب افزایش تاثیر شد به‌طوری که مقادیر LC_{50} بعد از ۴۸ ساعت در تمام موارد کم‌تر از LC_{50} بعد از ۲۴ ساعت بود.

جدول ۳. ترکیبات شیمیایی تشکیل‌دهنده اسانس گیاه رازیانه (*Foeniculum vulgare*) بر اساس آنالیز GC-MS.

Table 3. Chemical constituents of fennel (*Foeniculum vulgare*) essential oil based on GC-MS analysis.

Metabolite	%Area
Trans-Anethole	58.44
Norbornanone	17.56
Benzene, 1methoxy-4-(2-propenyl)	7.72
Limonene	3.70
Carene	3.08
Cyclohexen-1-ol, 2-methyl-5	2.2
Alpha- pinen	1.48
Camphor	1.31
Estragole	1.11
Sabinene	0.7
Camphene	0.66

نتایج تجزیه شیمیایی عصاره خام قارچ‌ها

نتایج تجزیه شیمیایی عصاره خام قارچ‌های var.

موجود، تاثیر متابولیت قارچ *E. equina* در مرگ *D. dipsaci* را می‌توان به وجود ترکیباتی با خاصیت ضدنماتد موجود در آن مثل Hexadecanoic acid (Palmitic acid) و Linoleic acid ethyl ester (Linoleic acid) و 9,12-Octadecadienoic acid (Z,Z) Bis(2-ethylhexyl) phthalate نسبت داد.

عصاره خام *M. bolleyi* سومین متابولیت موثر در مرگ *D. dipsaci* در بررسی حاضر می‌باشد. تاکنون مطالعه‌ای در مورد ظرفیت بازدارندگی یا کشندگی متابولیت‌های *M. bolleyi* در نماتدها انجام نشده است، اما این قارچ از تخم نماتد سیستمی سیب‌زمینی (Behrens, 1973) *Globodera pallida* (Stone, 1973) در آمریکا (Kooliyottil et al. 2017) و هم‌چنین از نماتد سیستمی غلات (*H. avenae* Wollenweber, 1924) از جنوب سوئد (Dackman & Nordbring-Hertz 1985) جداسازی شده است که می‌تواند دلیلی بر نقش احتمالی آن در کنترل نماتدها باشد. با توجه به نتایج تجزیه شیمیایی متابولیت و مطالعات گذشته، تاثیر متابولیت قارچ *M. bolleyi* در مرگ *D. dipsaci* را می‌توان ناشی از وجود ترکیباتی با خاصیت ضدنماتد موجود در آن مثل Hexadecanoic acid (Palmitic acid) و Linoleic acid ethyl ester (Linoleic acid) و 9,12-Octadecadienoic acid (Z,Z) Oleic acid دانست.

عصاره خام *Scytalidium* sp. در مقایسه با متابولیت‌های قارچ‌های مورد بررسی، دارای کمترین تاثیر بود. در مطالعه Khosravani (2023) اثر عصاره خام یک جدایه از *Scytalidium* sp. روی *D. dipsaci* مقدار LC₅₀ پس از ۲۴ و ۴۸ ساعت به ترتیب، ۲۰۷/۶ و ۱۹۹/۵ پی‌پی‌ام گزارش شده که در مقایسه با بررسی حاضر بیشتر بود (به ترتیب، ۴۹/۳۳۰ و ۶۹/۲۱۶ پی‌پی‌ام)، احتمالاً تفاوت در جدایه قارچی سبب متفاوت بودن نتایج این دو مطالعه می‌باشد. با توجه به نتایج تجزیه شیمیایی عصاره خام در مطالعه حاضر، تاثیر عصاره خام *Scytalidium* sp. در مرگ *D. dipsaci* را می‌توان به وجود ترکیباتی با خاصیت ضدنماتدی موجود در آن مثل Hexadecanoic acid (Palmitic acid) و Hexadecanoic acid, ethyl ester نسبت داد.

Stadler et al. (1994) در غربال‌گری فعالیت‌های نماتدکشی بازیدیومیست‌ها، کشت‌های *Pleurotus pulmonarius* (Fr.) Quél. و *Hericium coralloides* (Scop.) Pers. را دارای اثرات سمی نسبت به نماتد *Caenorhabditis elegans* (Maupas, 1900) Dougherty, 1955 معرفی کردند و ترکیبات S-coriolic، P-anisaldehyde، Linoleic acid، 1-P-anisyl alcohol

E. M. bolleyi، *P. chlamydosporia*، *chlamydosporia* و *Scytalidium* sp. وجود ترکیبات مختلف با خاصیت احتمالی ضدنماتد را مشخص کرد که در جدول ۲ ارائه شده‌اند. اسیدهای چرب بخش اصلی تشکیل‌دهنده عصاره خام این قارچ‌ها را شامل می‌شود.

نتایج تجزیه شیمیایی اسانس رازیانه

نتایج تجزیه شیمیایی اسانس رازیانه نشان داد که Trans - Anethole (ترکیب ترپنوئیدی) ترکیب اصلی تشکیل‌دهنده این اسانس است و سایر ترکیبات و مقادیر مربوط در جدول ۳ ذکر شده است.

بحث

عصاره خام *P. chlamydosporia* var. *chlamydosporia* با دارا بودن کم‌ترین LC₅₀ در بین عصاره خام قارچ‌های مورد بررسی، دارای بیش‌ترین تاثیر بود. با توجه به نتایج تجزیه شیمیایی عصاره‌های خام و پژوهش‌های قبلی، تاثیر متابولیت قارچ *P. chlamydosporia* var. *chlamydosporia* در مرگ نماتد *D. dipsaci* را می‌توان به وجود ترکیباتی با خاصیت ضد-نماتد موجود در آن مثل Hexadecanoic acid (Palmitic acid) و Linoleic acid ethyl ester (Linoleic acid) و 9,12-Octadecadienoic acid (Z,Z) Bis(2-ethylhexyl) phthalate نسبت داد.

Niu et al. (2010) اثر سمی دو ترکیب از نوع Aurovertin را که از *P. chlamydosporia* YMF 1.00613 جداسازی کرده بودند به ترتیب با مقادیر LC₅₀ ۸۸/۶ و ۴۱/۷ میکروگرم در میلی-لیتر پس از ۴۸ ساعت روی نماتد آزادزی *Panagrellus redivevus* (Linnaeus, 1767) Goodey, 1945 نشان دادند که مقادیر به دست آمده با وجود تفاوت در نماتد مورد بررسی و جدایه قارچ با نتایج بررسی حاضر (۶۹/۴۹ پی‌پی‌ام) نزدیک بود.

عصاره خام *E. equina* دومین ترکیب موثر روی *D. dipsaci* در این تحقیق می‌باشد. تاکنون مطالعه‌ای در مورد توان بازدارندگی یا کشندگی متابولیت‌های این قارچ در مرگ نماتدها انجام نشده است. گونه‌های *E. jeanselmei* (Langeron) McGinnis & A.A. Padhye 1977 و *E. pisciphila* McGinnis & Ajello 1974 از سیستم، تخم و افراد ماده نماتد سیستمی سوپا گزارش شده‌اند (Susan et al. 1990) که احتمالاً گونه *E. equina* نیز می‌تواند در کنترل زیستی نماتدها نقش داشته باشد. با توجه به نتایج تجزیه شیمیایی عصاره خام و منابع

در محیط طبیعی تحت تاثیر عوامل زیادی نظیر دما، اسیدیته، رطوبت، بافت خاک و رفتار سایر میکروارگانیسم‌ها و پوشش گیاهی می‌باشد (Shirazi et al. 2019).

گیاهان خانواده چتریان از جمله رازیانه از گیاهان اسانس‌داری هستند که خواص نماتدکشی آن‌ها بررسی شده است (Choi et al. 2007). در مطالعه حاضر تاثیر اسانس رازیانه در کشندگی روی *D. dipsaci* در مقایسه با متابولیت‌های قارچ‌های مورد بررسی و همچنین سم متامسدیم اثر ضدنماتد ضعیف‌تری داشت.

Oka et al. (2000) اثر نماتدکشی اسانس‌ها و ترکیبات حاصل از ۲۷ گونه گیاهی علیه نماتد ریشه‌گره‌ی *Meloidogyne javanica* (Treub, 1885) Chitwood, 1949 را بررسی کردند که اسانس رازیانه بالاترین فعالیت نماتدکشی را در بین اسانس‌های آزمایش‌شده در شرایط آزمایشگاهی داشت. اما در مطالعه حاضر اسانس گیاه رازیانه در بالاترین غلظت به‌کاررفته در آزمایش (۱۵۰۰ پی‌پی‌ام) پس از ۲۴ ساعت باعث مرگ حدود ۸۲ درصد این نماتد شد. ترکیب موثر رازیانه در آزمایش آن‌ها Trans-Anethole (۴۰ درصد) بود که در تجزیه اسانس ما نیز همان ترکیب بر اساس بیش‌ترین مقدار (۵۸/۴۴ درصد) به‌عنوان ترکیب اصلی به‌دست آمد. دلیل این اختلاف در نتایج ممکن است ناشی از تفاوت در درصد ترکیبات مختلف تشکیل‌دهنده اسانس، گونه نماتد و شرایط آزمایش باشد. (Sadeghi et al. 2019) و Ntalli et al. (2011) نیز اثر کشندگی اسانس گیاه رازیانه را به‌ترتیب روی لارو سن دو نماتد *M. javanica* و *M. incognita* Chitwood 1949 (Kofoed & White, 1919) گزارش کرده‌اند.

کاربرد ترکیبات گیاهی از جمله اسانس‌های گیاهی در برنامه‌های مدیریت نماتدها، مستلزم کسب اطلاعات و آگاهی بیشتر در مورد نحوه عمل این ترکیبات می‌باشد. متأسفانه علی‌رغم بررسی‌های صورت‌گرفته هنوز اطلاعات جامعی در مورد سازوکار عمل اسانس‌ها به‌دست نیامده است. با این وجود، نتایج حاصل نشان می‌دهد که احتمالاً این ترکیبات به‌صورت یک سم روی سیستم عصبی حشرات و دیگر بندپایان تاثیر می‌گذارند (Enan 2001). برخی محققین گمان دارند که اسانس‌ها با تخریب پوست نماتد و ایجاد اختلال در غشای سلولی نماتدها و تغییر نفوذپذیری آن موجب مرگ نماتدها می‌شوند (Oka 2001). همچنین فعالیت نماتدکشی عصاره‌ها و اسانس‌ها ممکن است به خاطر تغییر شکل و تخریب پروتئین‌ها، ممانعت از فعالیت آنزیم‌ها، مداخله با جریان الکترون در مسیر زنجیره تنفسی و یا با فسفوریلاسیون ATP باشد (Katooli et al. 2010). توجه به این نکته ضروری است که

2-Hydroxy-(4'- (4-Methoxyphenyl)-1,2-propanediol methoxy)-propiophenone از کشت *P. pulmonarius* جدا شد که تمام ترکیبات، دارای اثر نماتدکشی روی *C. elegans* بودند. فعال‌ترین ترکیبات، S-coriolic acid و Linoleic acid با مقادیر LD₅₀ بین پنج تا ۱۰ پی‌پی‌ام بودند. از کشت *H. coralloides*، یک مخلوط اسید چرب نماتدکش نیز به‌دست آمد که Linoleic acid، Oleic acid و Palmitic acid به‌عنوان اجزای اصلی آن بودند. در بررسی حاضر نیز، ترکیب Linoleic acid در متابولیت قارچ‌های *P. chlamydosporia*، *E. equina* و *M. bolleyi*، ترکیب Oleic acid در متابولیت قارچ *M. bolleyi* و ترکیب Palmitic acid در متابولیت قارچ‌های *P. Scytalidium sp.* و *M. bolleyi*، *E. equina*، *chlamydosporia* از نتایج حاصل از تجزیه شیمیایی به‌دست آمد.

در مطالعه Cayrol et al. (1989) روی ویژگی‌های نماتدکشی فیلتریت محیط کشت *Purpleocillium lilacinum* (Thom) Luangsa-ard, Houbraiken, Hywel-Jones & Samson 2011 (*Paecilomyces lilacinus*) احتمال داده شده است که متابولیت‌های سمی تولیدشده توسط قارچ‌ها روی سیستم عصبی و گیرنده‌های حسی نماتد تاثیرگذار باشد. در بررسی حاضر نیز، ترکیب Palmitic acid در متابولیت قارچ‌های *P. Scytalidium sp.* و *M. bolleyi*، *E. equina*، *chlamydosporia* و ترکیب Oleic acid در متابولیت قارچ *M. bolleyi* حاصل از تجزیه شیمیایی به‌دست آمد. تعدادی از این اسیدهای چرب در مطالعه Zhang et al. (2012) توانسته‌اند تولیدمثل *M. incognita* را کاهش دهند.

در مطالعه حاضر، ترکیب n-Hexadecanoic acid در متابولیت قارچ‌های *P. chlamydosporia*، *E. equina*، *M. bolleyi* و *Scytalidium sp.* حاصل از تجزیه شیمیایی به‌دست آمد. نقش احتمالی این ترکیب به همراه تعدادی دیگر از ترکیبات مانند 2,4-Di-tert-butyl-phenol و Dibutyl phthalate به‌دست آمده از متابولیت‌های *Ganoderma lucidum* در مرگ لارو سن دو *M. incognita* گزارش شده است (Akshaya et al. 2021).

هر چند بررسی‌های آزمایشگاهی روش مناسبی برای شناسایی مقدماتی بازدارندگی متابولیت‌های قارچ‌های بیماری‌زای نماتدهای انگل گیاهی محسوب می‌شوند ولی بر اساس نتایج آزمایشگاهی، به‌طور کامل نمی‌توان مفید بودن یک قارچ عامل کنترل زیستی را تعیین کرد، زیرا در آزمایشگاه عموماً اثر یک عامل کنترل زیستی به‌طور مستقیم در تقابل با عامل بیماری روی یک محیط غذایی است، در حالی که اثر میکروارگانیسم‌ها

قارچ مورد بررسی *P. chlamydosporia* var. *chlamydosporia* و اسانس گیاه رازیانه *Scytalidium* sp. *E. equina* *M. bolleyi* با داشتن ترکیباتی با ویژگی تاثیر احتمالی ضدنماتد می‌توانند به عنوان ترکیبات بالقوه جهت کنترل *D. dipsaci* در نظر گرفته شوند که نیاز است آزمایش‌های تکمیلی در مورد آن‌ها انجام شود.

References

- Akshaya SB, Krishnamoorthy AS, Nakkeeran S, Poornima K, Sivakumar U, 2021. Inhibitory potential of ethyl acetate extract from mushrooms against root-knot nematode (*Meloidogyne incognita*). *Journal of Entomology & Zoology Studies* 9(1): 528–534.
- Bonants PJ, Fitters PF, Thijs H, Belder ED, Waalwijk C, et al., 1995. A basic serine protease from *Paecilomyces lilacinus* with biological activity against *Meloidogyne hapla* eggs. *Microbiology* 141(4): 775–784.
- Burt S, 2004. Essential oils: their antibacterial properties and potential applications in foods—a review. *International Journal of Food Microbiology* 94(3): 223–253.
- Ciancio A, Mukerji KG, 2007. Integrated Management and Biocontrol of Vegetable and Grain Crops Nematodes. Vol. 2, Springer Science & Business Media. 278 pp.
- Cayrol JC, Djian C, Pijarowski L, 1989. Study of the nematicidal properties of the culture filtrate of the nematophagous fungus *Paecilomyces lilacinus*. *Revue de Nematologie* 12(4): 331–336.
- Chitwood DJ, 2002. Phytochemical based strategies for nematode control. *Annual Review of Phytopathology* 40(1): 221–249.
- Choi IH, Park JY, Shin SC, Kim J, Park IK, 2007. Nematicidal activity of medicinal plant essential oils against the pinewood nematode (*Bursaphelenchus xylophilus*). *Applied Entomology & Zoology* 42(3): 397–401.
- Dackman C, Nordbring-Hertz B, 1985. Fungal parasites of the cereal cyst nematode *Heterodera avenae* in southern Sweden. *Journal of Nematology* 17(1): 50–55.
- Dropkin VH, 1989. Introduction to Plant Nematology. 2nd edition, Wiley, New York. 304 pp.
- Enan E, 2001. Insecticidal activity of essential oils: توسعه تجارتي یک ترکیب ضدنماتد نظیر نماتدکش یا دورکننده، تنها به میزان تاثیر آن بستگی ندارد بلکه به هزینه تولید یا فرآوری و اثرات زیست محیطی کاربرد آن نیز وابسته است (Taba et al. 2008).
- نتایج این تحقیق نشان داد که عصاره‌های خام چهار گونه octopaminergic sites of action. *Comparative Biochemistry & Physiology Part C: Toxicology & Pharmacology* 130(3): 325–337.
- Fasihi M, Tanha Maafi Z, Karegar A, Eskandari A, 2010. Host ranges variabilities, multiplication and seed-borne ability on some populations of stem and bulb nematode, *Ditylenchus dipsaci* in Iran. *Iranian Journal of Plant Pathology* 46(2): 179–185.
- Ghayedi S, Abdollahi M, 2013. Biocontrol potential of *Metarhizium anisopliae* (Hypocreales: Clavicipitaceae), isolated from suppressive soils of the BoyerAhmad region, Iran, against J2s of *Heterodera avenae*. *Journal of Plant Protection Research* 53(2): 166–170.
- Ibrahim SK, Traboulsi AF, El-Haj S, 2006. Effect of essential oils and plant extracts on hatching, migration and mortality of *Meloidogyne incognita*. *Phytopathologia Mediterranea* 45(3): 238–246.
- Javed N, Gowen SR, El-Hassan SA, Inam-ul-Haq M, Shahina F, et al., 2008. Efficacy of neem (*Azadirachta indica*) formulations on biology of root-knot nematodes (*Meloidogyne javanica*) on tomato. *Crop Protection* 27(1): 36–43.
- Karimpour E, 2019. Identification of the fungi associated with cereal cyst nematode (*Heterodera filipjevi*) in East Azarbaijan province. MSc. Thesis, Plant Pathology, University of Tabriz, Iran.
- Katooli N, Mahdikhani Moghadam E, Maghsodlu R, 2010. Effect of leaf extracts of sweet wormwood and castor bean in reducing population of root-knot nematode (*Meloidogyne incognita*) on cucumber. *Journal of Agroecology* 2(4): 587–592. (In Persian with English abstract).
- Khosravani S, 2023. Comparison of nematicidal activity of some essential oils and fungal metabolites against *Ditylenchus dipsaci* under laboratory conditions. MSc. Thesis, Plant Pathology, University of Tabriz, Iran.
- Kooliyottill R, Dandurand LM, Knudsen GR, 2017. Prospecting fungal parasites of the potato cyst

- nematode *Globodera pallida* using a rapid screening technique. *Journal of Basic Microbiology* 57(5): 386–392.
- Kühnhold V, Kiewnick S, Sikora RA, 2006. Development of an *in vivo* bioassay for sugar beet resistance to the stem nematode *Ditylenchus dipsaci*. *Nematology* 8(5): 641–645.
- Lee BH, Annis PC, Choi WS, 2004. Fumigant toxicity of essential oils from the Myrtaceae family and 1, 8-cineole against 3 major stored-grain insects. *Journal of Stored Products Research* 40(5): 553–564.
- Mizubuti ES, Junior VL, Forbes GA, 2007. Management of late blight with alternative products. *Pest Technology* 1(2): 106–116.
- Moody EH, Lownsbery BF, Ahmad JM, 1973. Culture of the root-lesion nematode *Pratylenchus valnus* on carrot disks. *Journal of Nematology* 5(3): 225–226.
- Niu XM, Wang YL, Chu YS, Xue HX, Li N, *et al.*, 2010. Nematodetoxic aurovertin-type metabolites from a root-knot nematode parasitic fungus *Pochonia chlamydosporia*. *Journal of Agricultural & Food Chemistry* 58(2): 828–834.
- Ntalli NG, Ferrari F, Giannakou I, Menkissoglu-Spiroudi U, 2011. Synergistic and antagonistic interactions of terpenes against *Meloidogyne incognita* and the nematicidal activity of essential oils from seven plants indigenous to Greece. *Pest Management Science* 67(3): 341–351.
- Oka Y, Nacar S, Putievsky E, Ravid U, Yaniv Z, *et al.*, 2000. Nematicidal activity of essential oils and their components against the root-knot nematode. *Phytopathology* 90(7): 710–715.
- Oka Y, 2001. Nematicidal activity of essential oil components against the root-knot nematode *Meloidogyne javanica*. *Nematology* 3(2): 159–164.
- Rao J, 1985. Population build-up of white - tip nematode (*Aphelenchoide besseyi* Christie, 1942) in different monoxenic cultures. *Oryzae* 22(1): 45–49.
- Sadeghi Z, Mahdikhani Moghadam E, Azizi M, 2019. Investigation of the nematicide effect of a collection of medicinal plants from the Apiaceae on the root-knot nematode (*Meloidogyne javanica*) in laboratory conditions. *Journal of Plant Protection* 24(1): 62–68. (In Persian with English abstract).
- Shirazi RS, Fatemi S, Naeimi S, 2019. Solid-state fermentation and viability of *Pochonia chlamydosporia* and *Purpureocillium lilacinum* on some organic substrates. *Biocontrol in Plant Protection* 6(2): 1–14.
- Stadler M, Mayer A, Anke H, Sterner O, 1994. Fatty acids and other compounds with nematicidal activity from cultures of Basidiomycetes. *Planta Medica* 60(2): 128–132.
- Sturhan D, Brzeski MW, 1991. Stem and bulb nematodes, *Ditylenchus* spp. In: Nickle WR (ed.). *Manual of Agricultural Nematology*. Marcel Dekker Inc., New York. Pp. 423–464.
- Susan L, Meyer F, Huettel N, Richard M, 1990. Isolation of fungi from *Heterodera glycines* and in vitro bioassays for their antagonism to egg. *Journal of Nematologists* 22 (4): 532–537.
- Taba S, Sawada J, Moromizato ZI, 2008. Nematicidal activity of Okinawa island plants on the root-knot nematode *Meloidogyne incognita* (Kofoid and White) Chitwood. *Plant & Soil* 303(1-2): 207–216.
- Tewary DK, Bhardwaj A, Shanker A, 2005. Pesticidal activities in five medicinal plants collected from mid hills of western Himalayas. *Industrial Crops & Products* 22(3): 241–247.
- Whitehead AG, Hemming JR, 1965. A comparison of some quantitative methods of extracting small vermiform nematodes from soil. *Annals of Applied Biology* 55(1): 25–38.
- Zhang WP, Ruan WB, Deng YY, Gao YB, 2012. Potential antagonistic effects of nine natural fatty acids against *Meloidogyne incognita*. *Journal of Agricultural & Food Chemistry* 60(46): 11631–11637.

