دومین همایش ملی گیاهان دارویی،طب سنتی و کشاورزی ارگانیک
۵ شهریور ۹۴

بررسی اثر ریبوفلاوین در کنترل نماتد مولد گره ریشه *Meloidogyne javanica* در گیاه گوجه فرنگی

فرنازفکرت *[1]، ذبیح الله اعظمی ساردویی[۲]،افسانه آویش کوهشاهی[۳]
[۱]* مربی و عضو هیات علمی دانشکده کشاورزی، دانشگاه جیرفت
f_k1271@yahoo.com
[2] استاد یار و عضو هیات علمی دانشکده کشاورزی، دانشگاه جیرفت
Zabih_azami@yahoo.com
[3] دانشجوی کارشناسی سال آخر مهندسی گیاهپزشکی دانشگاه جیرفت
Afsanehavish@gmail.com

۱- مقدمه

گوجه فرنگی (*Solanum lycopersicum*) یکی از محصولات مهم غذایی است که در سرتاسر دنیا کشت میشود و از طرفی بیماری نماتد ریشه گرهی(*Meloidogyne spp.*) یکی از مهمترین بیماریهای گوجه فرنگی می باشد. این نماتد ها، عوامل بیمارگر اجباری، انگل داخلی ریشه، غیر مهاجر یا ساکن بوده که باعث تغییرات ساختمانی، فیزیولوژیکی، بیوشیمیایی، بروز اختلال در گیاه میزبان و در نتیجه کاهش رشد آن می شوند(*Oka et al., 2000*). در میان نماتد های مولد گره ریشه *M. incognita, M. javanica, M. hapla arenaria* از جمله خسارت زا ترین بیمارگرهای محصولات کشاورزی محسوب میشوند و این در حالی است که حداقل ۹۰درصد خسارت ناشی از نماتدها مربوط به گونه های مذکور میباشد. خسارت سالانه نماتد ها به محصولات کشاورزی دنیا ۱۱۸بیلیون دلار تخمین زده شده است(*Atkinson, et al., 2012*). لذا با توجه به شدت خسارت و دامنه میزبانی گسترده این نماتدها، کنترل کامل آن نا ممکن است. در چند دهه اخیر استفاده از ترکیبات شیمیایی نماتد کش مهمترین روش کاهش خسارت نماتدهای انگل گیاهی محسوب میشود ولی در حال حاضر کاربرد بسیاری از این ترکیبات به دلیل اثرات مخربی که بر محیط زیست و سلامت انسان داشته اند، محدود و در مواردی متوقف شده است. این ملاحظات به علاوه قیمت زیاد نماتد کش ها، توجه به روش های جایگزین روش های شیمیایی را به صورت مدیریت تلفیقی نماتد های انگل گیاهی افزایش داده است. روش های کنترل بیولوژیک، یکی از بخش های مهم مدیریت تلفیقی نماتد های انگل گیاهی است و شامل استفاده از عوامل زنده در کاهش جمعیت نماتد ها می باشد. استفاده از مواد

شیمیایی محافظت کننده و فعال کننده سیستم دفاعی گیاه به منظور کاهش خسارت ناشی از این بیماری ها از جمله روش های مورد توجه محققین می باشد که در سال های اخیر نتایج رضایت بخشی از کاربرد آن ها در کنترل بیماری های گیاهی مشاهده شده است.

گیاهان قادر به افزایش میزان مقاومت خود علیه عوامل بیماری زا میباشند این پدیده به عنوان مقاومت القایی (*Induced resistance*) شناخته شده است که توسط برخی میکرو ارگانیسم ها، مواد شیمیایی، طبیعی و یا مصنوعی در گیاه تحریک و فعال میگردد. در کنار چندین عامل غیر زنده محرک سیستم مقاومت در گیاه(*Reignault & Walter, 2007*) به نظر می رسد ویتامین ها از ترکیبات ارگانیکی هستند که پتانسیل ایجاد مقاومت در گیاهان را دارند. تا کنون کنترل پاتوژن های مختلف با اسپری کردن ویتامین ها به تنهایی یا بطور ترکیبی بر روی ایجاد مقاومت در گیاهان موفقیت هایی حاصل شده است. به طور مثال ریبوفلاوین: *(Azooz, 2009(و) (Saikia, et al., 2006) ,(Zhang, et al.,2009) , (,) Pushpalatha, et al., 2007(,) Dong & Beer, 2000(* کاربرد تیامین *Tzeng,& Devay., ( )Kang, 2008*)و مخلوطی از ریبوفلاوین و متیونین(*Ahn et al., 2007a*) ,(*Ahn et al., 2005b* *1989(*

ریبوفلاوین (ویتامین ۲B) محلول در آب است که در چرخه های تنفسی و تولید انرژی به عنوان کوآنزیم در واکنش های انتقال الکترن و تولید یا تخریب رادیکال های اکسیژن در متابولیسم دخالت دارد. کاربرد ریبوفلاوین به عنوان محرک بالا بردن مقاومت سیستمیک القایی در تعدادی از گیاهان علیه برخی از عوامل بیماریزا گیاهی شناخته شده است.*(Azami-Sardooei, et al., 2011)*

اسپری کردن گیاه با ریبوفلاوین نه تنها سیستم مقاومت در گیاهان دولپه ای را فعال می کند بلکه روی گیاهان تک لپه ای مانند برنج و ارزن نیز موءثر شناخته شده است. استفاده از ریبوفلاوین روی گیاهان دولپه ای آرابیدوپسیس و تنباکو توانست مقاومت القایی و حفاظت نسبی این گیاهان را در برابر عوامل بیماری زای چندین قارچ از گروه اوومیست ها، بیماریهای باکتریایی و پاتوژن های زنده را بالا ببرد.*(Dong & Beer, 2000) ,(Liu, et al., 2010)*

کاربرد ریبوفلاوین در گیاه برنج و ارزن توانست به طور معنی داری به ترتیب شدت پیشرفت **بیماری** *Rhizoctonia spp.* و *Sclerospora graminicola*را در این گیاهان کاهش دهد*(Pushpalatha, et al., 2007) ,(Taheri, 2006)*

بر اساس بررسی‌های بعمل آمده تا کنون مطالعاتی در زمینه مطالعه کاربرد ریبوفلاوین بر روی گیاه گوجه فرنگی و ردیابی میزان زاد و ولد نماتد *Meloidogyne javanica* در ریشه گوجه فرنگی صورت نگرفته است لذا در تحقیق حاضر با هدف مطالعه اثر ریبوفلاوین بر رشد گیاه گوجه فرنگی و نفوذ لارو سن دوم نماتد *M. javanica*به ریشه گیاه و ارزیابی میزان زاد و ولد نماتد در ریشه برای اولین بار بررسی شد. آزمایش در قالب طرح کاملا" تصادفی در پنج تکرار و سه تیمار شامل اسپری آب به عنوان شاهد (صفر)،*52*/۰ و ۰/۵ درصد ریبوفلاوین، بر روی گیاه گوجه فرنگی در گلخانه پژوهشی دانشگاه جیرفت انجام گرفت.

تجزیه آماری داده‌ها با نرم افزار *SAS* و *MSTAT-C* مقایسه میانگین‌ها با آزمون *Duncan* و رسم نمودارها با نرم افزار *Excel* انجام شد.

۲- مواد وروش ها

۲-۱ تکثیر نماتد

ریشه آلوده به نماتد ریشه گرهی که قبلا" گونه آن با تست ملکولی شناسایی شده بود از بخش گیاهپزشکی دانشگاه شهید باهنر کرمان دریافت شد و سپس برای بدست آوردن لارو سن دوم از روش برمن فانل استفاده شد*(Southy, 1970)*. بعد از ۲۴ ساعت، ۲۰۰۰ لارو تازه تفریخ شده از تخم، پای هر بوته گیاه گوجه فرنگی دو برگ حقیقی، ریخته شد. گیاه گوجه فرنگی در شرایط دمایی ثابت (دمای روز۲۸ درجه و شب ۱۸ درجه سانتی گراد نگهداری شد) در شرایط گلخانه ای برای مدت دو ماه نگهداری شد تا یک سیکل کامل نماتد طی شود.

۲-۲ اسپری کردن گیاه با ریبوفلاوین و سپس تلقیح با نماتد

نشاهای گوجه فرنگی رقم ارلی اوربانا(حساس به نماتد) در مرحله دو برگ حقیقی به گلدان منتقل شدند و بعد از ۴ روز اولین اسپری گیاه با ریبوفلاوین در غلظت های ۰/۲۵ درصد و ۰/۵درصد انجام شد و در همین زمان تیمار شاهد با آب اسپری شد. بعد از گذشت دو روز، لارو سن دو تازه استخراج شده از ریشه های گوجه فرنگی آلوده به نماتد به روش *Hussey & Barker 1973)* جمع آوری شد سپس به ازای هر گرم خاک گلدان دو عدد نماتد محاسبه و پای ریشه های گوجه فرنگی ریخته شد. همچنین دومین اسپری هم ۷روز بعد صورت گرفت.

۲-۳ اندازه گیری شاخص های رشدو نموی

اندام هوایی گیاهان ۵۷ روز بعداز آلودگی گیاه با نماتد قطع شدند سپس با ترازو وزن تر ریشه و ساقه توزین شدند. طول اندام هوایی و طول ریشه نیز با کمک خط کش اندازه گیری شدند. به منظور اندازه گیری وزن خشک اندام هوایی و ریشه ها، به مدت ۴۸ ساعت آنها را در آون دمای ۶۰درجه قرار داده سپس وزن خشک آنها با ترازوی دیجیتال دقت ۰/۰۰۱ اندازه گیری شدند.

۲-۴ ارزیابی گال ها در ریشه و شمارش نماتد های ماده در آنها

بدین منظور به طور تصادفی یک گرم از ریشه گوجه فرنگی برای شمارش گال وزن شد سپس درون بشر قرار داده و *25ml* آب به همراه *55ml* هیپوکلریت سدیم(۵/۲۵٪) به آن اضافه و اجازه داده شد تا ریشه ها به مدت ۴ دقیقه درون این محلول بمانند، سپس ریشه ها در آب جاری شسته شدند(۳۰ تا ۴۵ ثانیه) و به مدت ۱۵ دقیقه در آب معمولی قرار گرفتند تا باقیمانده *Naocl* حذف شود. سپس ریشه ها درون اسید فوشین ۳۰ بار رقیق شده با آب، روی هیتر قرار داده و ۳۰ ثانیه بعد از به جوش آمدن برداشته شدند سپس

رنگ اضافی ریشه ها با آب جاری حذف شد. ریشه ها درون گلیسیرین حاوی چند قطره اسید کلریدریک *5N Hcl* قرار داده و به کمک دو لام شیشه ای و بینو کولار، تعداد گال ها (هر گال بایستی معرف یک ماده نماتد باشد) شمارش گردید *(Bybd , et al., 1983)*.

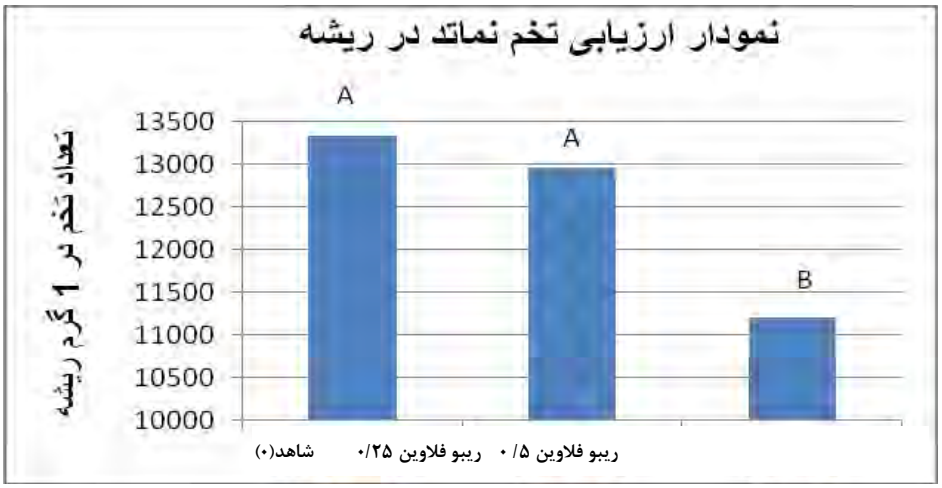
۲-۵ استخراج و شمارش تخم

در این قسمت به طور تصادفی یک گرم از ریشه های خورد و به مدت دو دقیقه درون هیپوکلریت سدیم ۵٪ در ظرف در بسته تکان داده شد. محتوی این ظرف روی الکهای ۶۰مش و ۵۰۰ مش(به ترتیب سوار شده بر روی همدیگر) ریخته و با آب چند دقیقه روی الک ها شستشو داده شد تا کاملا" هیپوکلریت سدیم حذف گردد. تخم ها با کمک پیست از روی الک ۵۰۰ مش(الک زیرین) به درون ظرفی جمع آوری و سپس به کمک پتری مدرج و استفاده از بینوکولار تعداد تخم ها شمارش گردیدند *(Hussy& Barker,1973)*.

۳- نتایج

۳-۱ بررسی جمعیت تخم نماتد در ریشه گیاه گوجه فرنگی

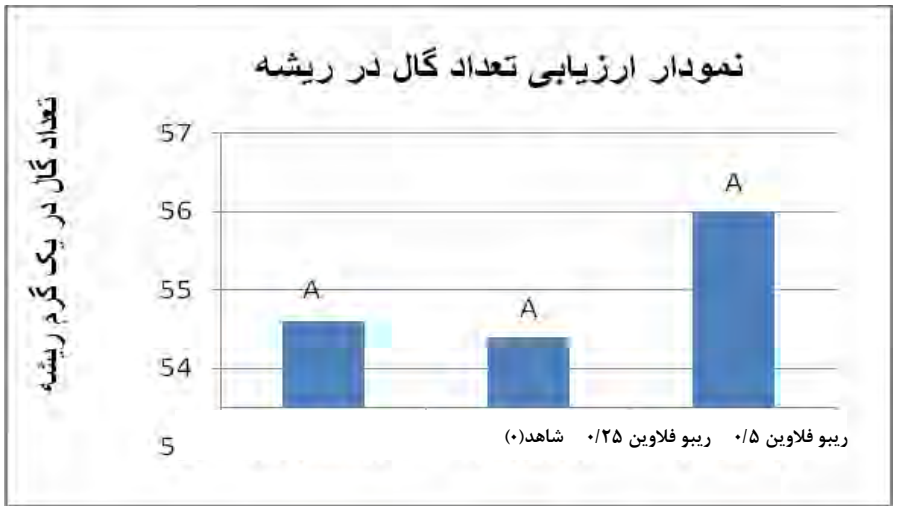
بعد از گذشت ۵۷ روز از زمان تلقیح گیاه با لارو سن دوم نماتد، جمعیت نهایی نماتد در گیاهان گوجه فرنگی تیمار شده با غلظت‌های رقیق شده ریبوفلاوین ۰/۵ و ۰/۲۵ درصد و آب به عنوان شاهد(صفر)، مورد بررسی قرار گرفت. بر اساس نتایج نشان داده شده در شکل ۱، به طور کلی با افزایش غلظت ریبوفلاوین متوسط تشکیل تخم در ریشه روند کاهشی نشان داد به طوری که تیمار ۰/۵ درصد ریبوفلاوین نسبت به تیمار شاهد صفر (آب) و تیمار ۰/۲۵ درصد ریبوفلاوین با اختلاف معنی داری کاهش یافت، هر چند بین تیمار شاهد (آب) و کاربرد غلظت ۰/۲۵ درصد ریبوفلاوین اختلاف معنی داری در تعداد تخم نماتد مشاهده نشد ولی با کاربرد ریبوفلاوین، تعداد تخم های نماتد ها به مقدار کمی کاهش پیدا کرد.



شکل (۱): نمودار متوسط تعداد تخم نهایی نماتد ها در یک گرم ریشه بعد از گذشت ۵۷ روز از زمان آلودگی اولیه گیاه گوجه فرنگی با لارو سن دوم نماتد. حروف غیر مشابه نشاندهنده معنی دار بودن تیمارها در سطح ۰/۰۵ درصد آزمون دانکن است. تیمار ها شامل: شاهد (۰) غلظت ۰/۲۵ و ۰/۵ درصد ریبوفلاوین می باشد.

۳-۲ نتایج بررسی تعداد گال در ریشه های رنگ آمیزی شده

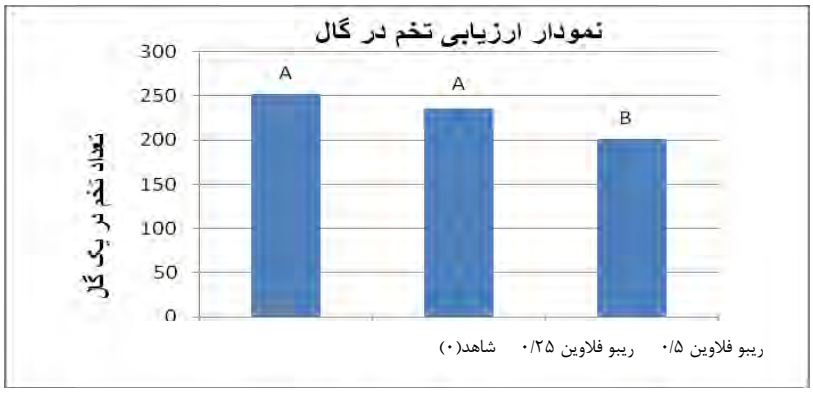
بر اساس ارزیابی های انجام شده در شکل ۲ نمودار، مشخص شد که متوسط تعداد این گال ها در هر گرم ریشه گیاه گوجه فرنگی، اختلاف معنی داری نسبت به یکدیگر نداشتند.



شکل (۲): نمودار متوسط تعداد گال در یک گرم ریشه بعد از گذشت ۵۷ روز از زمان آلودگی اولیه گیاه گوجه فرنگی با لارو سن دوم نماتد. حروف مشابه نشاندهنده غیر معنی دار بودن تیمارها در سطح ۰/۰۵آزمون دانکن است. تیمار های : شاهد (۰)، غلظت ۰/۲۵ و ۰/۵ درصد ریبوفلاوین میباشد.

۳-۳ نتایج حاصل از ارزیابی متوسط تعداد تخم در هر گال

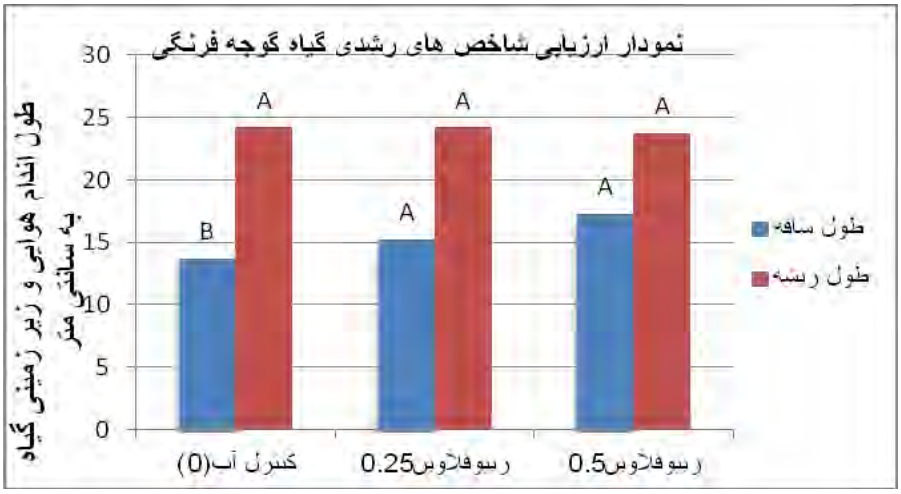
در این بررسی با کاربرد ریبوفلاوین تعداد تخم در هر گال کاهش یافت به طوری که در تیمار گیاه با ۰/۵ درصد ریبوفلاوین، متوسط تعداد تخم در هر گال نسبت به شاهد و تیمار گیاه با ۰/۲۵ درصد ریبوفلاوین به طور معنی داری کاهش یافت ولی در تیمار ۰/۰۲۵ درصد، هر چند تعداد تخم در هر گال نسبت به شاهد کاهش یافت ولی این مقدار معنی دار نبود. (شکل شماره۳)



شکل(۳): نمودار متوسط تعداد تخم در هر گال یا توده تخم انتهای ماده بدن نماتد. حروف غیر مشابه نشاندهنده معنی دار بودن تیمارها در سطح ۰/۰۵ آزمون دانکن است. تیمارها شامل: شاهد (۰)، غلظت ۰/۲۵ و ۰/۵ درصد ریبوفلاوین میباشد.

۳-۴ بررسی نتایج شاخص های رشد و نموی گیاه گوجه فرنگی

بر اساس نتایج نمودار شماره۴، در رابطه با شاخص‌های رشدی گیاه گوجه فرنگی که ۵۷ روز بعد از تلقیح گیاه با لارو سن دوم نماتد ارزیابی شد، کمترین طول رشدی ساقه مربوط به تیمار گیاه با آب و بیشترین طول آن مربوط به تیمار ۰/۵ درصد ریبوفلاوین بود. به طور کلی تیمار گیاه با غلظت ۰/۵ و ۰/۲۵درصد ریبوفلاوین، توانست طول اندام هوایی گیاه را به طور معنی داری نسبت به شاهد افزایش دهد. هر چند طول ریشه در تیمار گیاه با غلظت های متفاوت ریبوفلاین نسبت به شاهد اختلاف معنی دار نشان نداد.



شکل (۴): نمودار متوسط طول ساقه و طول ریشه به سانتی متر در تیمار شاهد (۰)، غلظت ۰/۲۵ و ۰/۵ درصد ریبوفلاوین. حروف غیر مشابه نشاندهنده معنی دار بودن تیمارها در سطح ۰/۰۵ درصد آزمون دانکن است.

۳-۵ نتایج ارزیابی وزن گیاه گوجه فرنگی

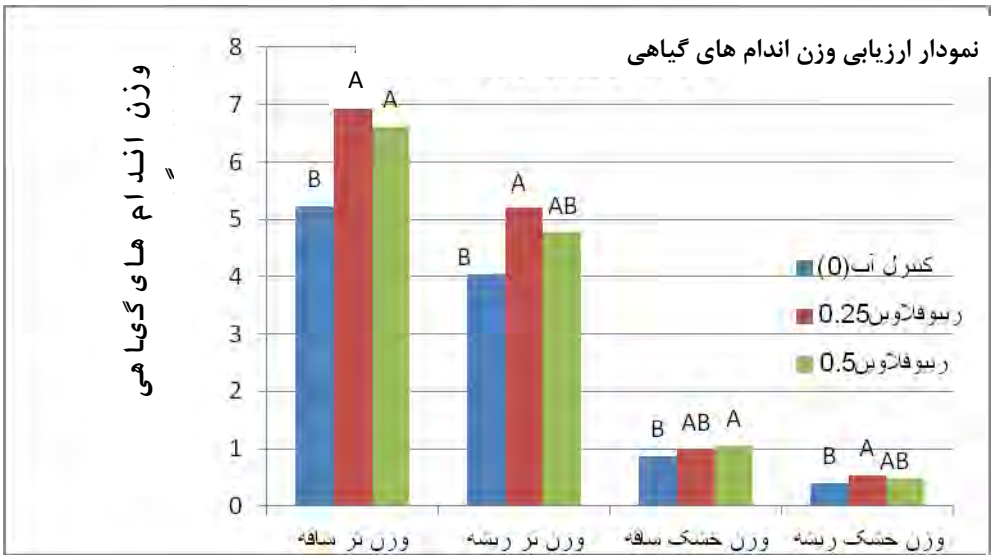
به طور کلی بیشترین وزن تر ساقه مربوط به تیمار ۰/۲۵ درصد ریبوفلاوین و کمترین آن مربوط به تیمار شاهد (آب) بود. در رابطه با این شاخص، با کاربرد ریبوفلاوین وزن تر ساقه نسبت به شاهد افزایش یافت به طوری که این مقادیر اختلاف معنی داری با شاهد نشان دادند.(شکل ۵)

وزن خشک ساقه در تیمار ۰/۵ درصد ریبوفلاوین بیشترین مقدار و در تیمار شاهد کمترین مقدار مشاهده شد به طوری که این مقدار اختلاف معنی داری با یکدیگر داشتند ولی بین تیمار ۰/۲۵ و ۰/۵ درصد ریبوفلاوین اختلاف معنی داری مشاهده نشد.

۳-۶ شاخص وزن تر ریشه:

بر اساس نتایج شکل ۵ نمودار، در رابطه با وزن تر و خشک ریشه گیاه گوجه فرنگی، بیشترین مقدار این وزن مربوط به تیمار ۰/۲۵ درصد ریبوفلاوین و کمترین این مقدار مربوط به تیمار شاهد (۰) بود به طوری که این مقادیر اختلاف معنی داری با یکدیگر داشتند.

با کاربرد ریبوفلاوین وزن خشک و تر ریشه نیز نسبت به تیمار شاهد بیشتر شد به طوری که این وزن ها در تیمار ۰/۲۵ درصد غلظت ریبوفلاوین بیش تر از بقیه تیمار ها بود و نسبت به شاهد کاملا" رقم معنی داری را نشان داد. این شاخص در تیمار ۰/۵درصد ریبوفلاوین کمی کمتر از ۰/۲۵ درصد ریبوفلاوین بود ولی این اختلاف معنی دار نبود.



شکل (۵): متوسط وزن تر و خشک ساقه و ریشه بر حسب گرم در تیمار شاهد (۰)، غلظت ۰/۲۵ ، ۰/۵ درصد ریبوفلاوین. حروف غیر مشابه نشاندهنده معنی دار بودن تیمارها در سطح ۰/۰۵آزمون دانکن است.

۴- بحث

در خصوص نحوه ی مقاومت القایی ریبوفلاوین بر روی گوجه فرنگی در برابر حمله نماتد ها تحقیقات واطلاعات زیادی در دسترس نیست. در این تحقیق برای اولین بار اثر اسپری ریبوفلاوین بر روی گیاه گوجه فرنگی جهت کنترل نماتد *M.javanica* بررسی شد. نتایج بدست آمده نشان داد که کاربرد ریبوفلاوین، به طور معنی داری توانست تعداد تخم در بدن ماده *M. javanica* را کاهش دهد. در حالی که تعداد گالهای تشکیل شده در ریشه ها تفاوت معنی داری با تیمار شاهد نداشتند به عبارت دیگر احتمالا" وجود فاصله زمانی بین تیمار گیاه گوجه فرنگی با این غلظت های ریبوفلاوین و تلقیح نماتد، بر حمله و نفوذ لارو سن دو به داخل ریشه مؤثر نبود.

Azami-Sardooei, et al., 2010 نشان دادند که اسپری ریبوفلاوین روی گیاهان گوجه فرنگی در محافظت این گیاه در برابر حمله قارچ کپک خاکستری(*Botrytis cinerea*) تاثیری ندارد.

نکته قابل توجه در این پژوهش حکایت از تاثیر مثبت ریبوفلاوین در کاهش تخم گذاری و اختلال در زاد و ولد نماتد ماده نفوذ کرده در ریشه می باشد.

نتایج حاصل از این آزمایش با یافته های پژوهش *Chinnasri* در سال ۲۰۰۶ مطابقت دارد. در این تحقیق تاثیر القای مقاومت ریبوفلاوین در تولید و مثل نماتد *Meloidogyne javanica* روی ریشه آناناس مورد بررسی قرار گرفت. نتایج بدست آمده نشان داد که تعداد تخم در بدن ماده نماتد مذکور کاهش پیدا کرد.

همچنین ارزیابی شاخص های رشدی نشان داد طول اندام های هوایی، وزن تر و خشک ریشه در گیاهان تیمار شده با ریبوفلاوین به طور آشکاری بیشتر از تیمار شاهد است. این بررسی بیانگر این است هر چند تیمار گیاه با ریبوفلاوین نتوانست تعداد لارو های سن دوم نماتد حمله کننده به ریشه گیاه را کاهش دهد ولی باعث بهبود شاخص های رشد و نموی گیاه گوجه فرنگی آلوده به نماتد شد که نسبت به شاهد اختلاف معنی داری داشتند. در سال۱۹۸۷ تحقیقات *Oertl* نشان داد اسپری ویتامین ها همچون ریبوفلاوین به عنوان تنظیم کننده های رشد، در توسعه و رشد و نمو گیاه مؤثر است.

نتیجه اینکه با کاربرد ریبوفلاوین علاوه بر موارد فوق احتمالا" تحمل گیاه گوجه فرنگی آلوده به این نماتد نیز افزایش می یابد که برای اثبات این ادعا و مکانیسم عمل مقاومت و اختلال در تولید مثل نماتد، نیاز به تحقیق و آزمایشات تکمیلی بیشتری است.

۵- منابع:

Ahn, IP., Kim, S., Lee, YH., Suh., SC.)2007b(; Vitamin B1-induced priming is dependent on Hydrogen Peroxide and the NPR1 Gene in Arabidopsis, Plant physiology, 143, 838-848.

Atkinson, H.J., Lilley C.J. and Urwin P.E. (2012); Strategies for transgenic nematode control in developed and developing world crops, Current opinion in biotechnology, 23(2): 251-256.

Azami-Sardooei, Z., França, SC., De Vleesschauwer, D., Höfte, M. (2010) ; Riboflavin induces resistance against Botrytis cinerea in bean, but not in tomato, by priming for a hydrogen peroxide-fueled resistance response, Physiological and Molecular Plant Pathology, 75, 23-29.

Azooz, MM. (2009); Folair application with riboflavin (Vitamin B2) enhancing the resistance of Hibischus sabdariffa L, (deep red sepals variety) to salinity stress, Journal of Biological Sciences, 9, 109-118.

Byrd, D.W., Jr., T. Kirkpatrick and K.R. Barker. (1983); An improved technique for clearing and staining plant tissue for detection of nematodes, Journal of Nematology, 14,142-143.

Chinnasri B, Sipes BS, Schmitt DP. (2006); Effects of Inducers of Systemic Acquired Resistance on Reproduction of Meloidogyne javanica and Rotylenchulus reniformis in Pineapple, Journal of Nematology, 38(3):319-25.

Dong, H., Beer, SV. (2000); Riboflavin induces disease resistance in plants by activating a novel signal transduction pathway, Phytopathology, 90, 801–11.

Hussey, RS., Barker, KR. (1973); A comparison of methods of collecting inocula of Meloidogyne spp. , including a new technique. Plant Dis, Rep, 57:1025–1028.

Kang, N.J. (2008); Inhibition of powdery mildew development and activation of antioxidant enzymes by induction of oxidative stress with foliar application of a mixture of riboflavin and methionine in cucumber, Scientia Horticulturae, 118, 181-188.

Liu; F., Wei; F., Wang; L., Liu, H.; Zhu; X., Liang, Y. (2010); Riboflavin activates defense responses in tobacco and induces resistance against Phytophthora parasitica and Ralstonia solanacearum, Physiological and Molecular Plant Pathology,74, 330-336.

Oertli, J.J. (1987); Exogenous application of vitamins as regulators for growth and development of plants: A review, Zpflanzenernahr Bodenk, 150: 373-391.

Oka;Y., H. Koltai; M. Bar-Eyal; M. Mor, E. Sharon, I. Chet,. and Y. Spiegel,. (2000); New strategies for the control of Plant- Parasitic nematodes, Pest Management Science, 56(11): 983-988.

Pushpalatha, HG., Mythrashree, SR., Shetty, R., Geetha, NP., Sharathchandra, RG., Amruthesh, KN and Shetty, HS. (2007); 'Ability of vitamins to induce mildew disease resistance and growth promotion in pearl millet' Crop Protection, 26(11): 1674-1681.

Reignault, P., Walters, D. (2007); Topical application of inducers for disease control, In: Walters D, Newton A, Lyon G(eds), Induved resistance for plant defence, A substainable approach to crop protection, Oxford, Uk, Blackwell publishing, 179-200.

Saikia, R., Yadav, M., Varghesh., S, Singh, B P., Gogoi, DK ., Kumar . R., Arora, DK. (2006); Role of Riboflavin in induced resistance against Fusarium wilt and charcoal rot disease of chickpea. The Plant Pathology Journal (Korea), 22 (4): 339-347.

Southy, JF. (1970); Laboratory methods for work with plant and soil nematodes, H. M. S. Office London.

Taheri, P., and Höfte, M. (2006); Riboflavin induces resistance in rice against Rhizoctonia sheath diseases by activating signalling pathways leading to upregulation of rice cationic peroxidase and formation of lignin,Communications in Agricultural and Applied Biologial Sciences, 70, 255–258.

Tzeng, DDS., Devay, JE. (1989); Biocidai activity of mixtures of methionine and Riboflavin against plant pathogenic fungi and bacteria and possible mode of action, Mcologia, 81, 404-412.