Journal of Plant Protection
Vol. 35, No. 3, Fall 2021, P. 279-291

نشریه حفاظت گیاهان (علوم و صنایع کشاورزی)
جلد ۳۵، شماره ۳، پاییز ۱۴۰۰، ص. ۲۹۱-۲۷۹

مقاله پژوهشی

ارزیابی مقاومت برخی ارقام گوجه‌فرنگی نسبت به نماتد ریشه‌گرهی *Meloidogyne javanica* در شرایط گلخانه

آمنه اسدی سرداری[۱]- عصمت مهدیخانی مقدم[۲]*- محمد زکی عقل[۳]

تاریخ دریافت: ۱۳۹۹/۰۲/۱۰
تاریخ پذیرش: ۱۳۹۹/۰۴/۲۴

چکیده

نماتدهای ریشه‌گرهی، از مهم‌ترین نماتدهای انگل گیاهی در سطح جهان می‌باشند که اغلب محصولات زراعی را مورد حمله قرار می‌دهند. استفاده از ارقام متحمل یا مقاوم به نماتد، یکی از روش‌های موثر در کاهش خسارت ناشی از نماتدهای ریشه‌گرهی است. در این مطالعه با هدف ارزیابی سطح مقاومت تعدادی از ارقام گوجه‌فرنگی شامل ALYSTE F-1، ARYZA F-1، Early Urbana، Rutgers و Mobil (هلند و مجارستان)، نسبت به حمله‌ی نماتد ریشه‌گرهی *Meloidogyne javanica*، در قالب پنج تکرار و در دو حالت مایه‌زنی و عدم مایه‌زنی در شرایط گلخانه‌ای، برخی شاخص‌های رشدی گیاه (وزن تر و خشک ریشه، وزن تر و خشک بخش هوایی، طول ریشه، ارتفاع گیاه و وزن تر و خشک کل) و تولیدمثلی نماتد (تعداد گال و توده تخم نماتد در گرم ریشه و کل ریشه، تعداد تخم موجود در توده تخم، تعداد لاروهای سن دوم موجود در خاک، جمعیت نهایی نماتد و فاکتور تولیدمثلی) بررسی شده است. نتایج نشان داد که رقم ALYSTE F-1، با کم‌ترین تعداد گال ریشه، توده‌تخم، تخم و لارو سن دوم موجود در خاک و به تبع آن کم‌ترین میزان جمعیت نماتد، به عنوان رقمی نسبتا مقاوم شناخته شد. از نظر صفات رویشی گیاه نیز مشخص گردید رقم ALYSTE F-1، در بالاترین سطح، از لحاظ ویژگی‌های رویشی بوده و از تفاوت آماری معنی‌داری نسبت به دیگر ارقام برخوردار بوده است. نتایج هم‌چنین نشان داد که ارقام موبیل هلند، موبیل مجارستان، ارلی‌اربانا، ARYZA F-1 و روتگرس نسبت به نماتد ریشه‌گرهی، براساس فاکتور تولیدمثل (RF) و شاخص گال در زمره‌ی ارقام خیلی حساس طبقه‌بندی شدند. براساس ویژگی های زایشی نماتد مشخص گردید که ارقام موبیل هلند، موبیل مجارستان و ارلی‌اربانا، بیش‌ترین جمعیت نماتد و بالاترین فاکتور تولیدمثل را به خود اختصاص دادند اما از لحاظ ویژگی‌های رویشی، رقم روتگرس در بین ارقام، از تاثیرپذیری بیش‌تری برخوردار بود. نتایج تجزیه خوشه‌ای براساس مجموع صفات رویشی گیاه و تولیدمثلی نماتد نیز نشان داد که رقم ALYSTE F-1 به صورت مجزا از دیگر ارقام قرار گرفت. در نهایت براساس مجموع نتایج حاصل از این پژوهش، رقم ALYSTE F-1، به عنوان مقاوم‌ترین رقم شناخته شد.

واژه‌های کلیدی: ارقام گوجه‌فرنگی، صفات تولیدمثلی نماتد، صفات رویشی گیاه، مقاومت، *Meloidogyne javanica*

مقدمه

گوجه فرنگی با نام علمی *Lycopersicon esculentum*، گیاهی است یک‌ساله و از خانواده بادمجانیان (Solanaceae)، که بومی آمریکای مرکزی و ساحل غربی آمریکای جنوبی می‌باشد (۲۶). از چالش‌های عمده تولید گوجه‌فرنگی در ایران، خسارت وارده توسط عوامل بیماری‌زای گیاهی است که از این میان نماتدهای ریشه گرهی (*Meloidogyne* spp.) با توجه به گستردگی دامنه‌ی انتشار و شدت خسارت، از عوامل محدودکننده‌ی کشت محصولات گلخانه‌ای از جمله گوجه‌فرنگی در کشور هستند.

امروزه به کارگیری ارقام مقاوم و شناسایی ژن‌های دخیل در مقاومت و سازوکارهای آن، توجه زیادی را به خود جلب کرده است (۴). مقاومت به نماتد ریشه‌گرهی، اولین بار توسط بایلی (۳) در گونه‌ی وحشی *Lycopersicon peruvianum*، مشاهده و اسمیت (۳۴)، موفق به انتقال این مقاومت به گونه‌ی زراعی *Lycopersicon esculentum*، گردید. پس از آن در این مورد تحقیقات مختلفی در

۱، ۲ و ۳- به‌ترتیب دانشجوی دکتری بیماری‌شناسی گیاهی، استاد و دانشیار گروه گیاه‌پزشکی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه فردوسی مشهد
(*- نویسنده مسئول: Email: mahdikhani-e@um.ac.ir)
DOI: 10.22067/JPP.2021.32748.0

سراسر جهان انجام گرفته است. مانی و زیدگالی (۲۳) با انتخاب شاخص گال، به عنوان معیار ارزیابی مقاومت، واکنش ۲۱ رقم گوجه‌فرنگی را در برابر *M. incognita*، مطالعه و دریافتند که تنها یکی از ارقام، مقاومت متوسطی در مقابل این گونه نشان می‌دهد. کمال‌وانشی و همکاران (۱۸)، واکنش ژرم‌پلاسم‌های گوجه‌فرنگی در مقابل نماتد ریشه‌گرهی *M. incognita* را ارزیابی نمودند. آن‌ها ژرم پلاسم‌های با شاخص دو را مقاوم، ژرم پلاسم‌های با شاخص ۳ را با مقاومت متوسط و ژرم پلاسم‌های با شاخص ۴-۳ را حساس تا خیلی حساس گزارش نمودند. در بررسی دیگر، غربال گیاهان F2 گوجه‌فرنگی از نظر مقاومت به نماتد ریشه‌گرهی گونه‌ی *M. incognita*، مورد ارزیابی قرار گرفت. براین اساس، گیاهان با شاخص گال بیش‌تر از دو و گیاهان با شاخص گال برابر دو و یا کمتر به ترتیب حساس و مقاوم و گیاهان با ضریب تکثیر صفر و بیشتر از یک را به ترتیب مقاوم و حساس، در نظر گرفتند (۸). هم‌چنین، واکنش شش رقم گوجه‌فرنگی در مقابل ۳ غلظت مختلف نماتد ریشه‌گرهی گونه‌ی *M. incognita* نیز مورد آزمایش قرار گرفت و مشخص گردید که تمامی ارقام از درجات مختلف حساسیت برخوردار می‌باشند (۳۳). اودو و همکاران (۳۸)، عکس‌العمل هفت رقم گوجه‌فرنگی و یک گونه‌ی وحشی (*Lycopersicon pimpinellifolium*) را در گلخانه و در برابر *M. javanica* بررسی نمودند. براساس نتایج آن‌ها دیده شد که کلیه ارقام نسبت به نماتد از حساسیت بالایی برخوردار بوده و تنها دو رقم HTA-18 و HTA-31 با شاخص گال سه، به عنوان ارقام نسبتا مقاوم معرفی شدند.

جیته و همکاران (۱۵)، واکنش ۳۳ رقم گوجه‌فرنگی را در پنج غلظت از مایه‌ی تلقیح نماتد ریشه‌گرهی، مورد مطالعه قرار دادند. طبق بررسی‌ها، بیش‌ترین مقدار تخم، لارو سن دوم نماتد و وزن تر ریشه، متعلق به غلظت ۱۵۰۰ تخم در هر گیاه، بود. در این بررسی، دو رقم Mongal T-11 و Tomato Beef Master، به عنوان ارقام با مقاومت بالا که شاخص تولیدمثلی آن‌ها به ترتیب ۰/۷۱ و ۰/۵۳ بود، معرفی گردیدند.

ردی و همکاران (۲۹)، از مارکرهای ملکولی برای یافتن ژنوتیپ‌های مقاوم حاوی ژن *Mi-1*، بهره جستند. طبق بررسی‌های آن‌ها، مارکرهای Mi 23 و Pmi، نسبت به دیگر مارکرها در انتخاب ژنوتیپ‌های *Mi-1*، ارجحیت داشتند. در بررسی دیگر، ۴۰ ژنوتیپ گوجه‌فرنگی در برابر نژاد ۳ *M. incognita*، مورد ارزیابی قرار گرفت و در نهایت ارقام Hisar Lalit، HN 2، PNR 7، IIHR 2614 و IIHR 2868، به عنوان ارقام مقاوم به نماتد معرفی شدند (۳۶).

بررسی مقاومت ارقام مختلف گوجه‌فرنگی نسبت به نماتد ریشه گرهی، این امکان را فراهم می‌سازد تا با معرفی ارقام مناسب چه از نظر مقاومت به نماتد و چه از نظر ویژگی‌های کمی و کیفی محصول، راهی ایمن و کارا را جهت جلوگیری از خسارات احتمالی نماتد، در پیش گیریم، بنابراین با این هدف، به بررسی مقاومت برخی ارقام گوجه‌فرنگی نسبت به نماتد ریشه‌گرهی *M. javanica* در شرایط گلخانه پرداخته شد.

مواد و روش‌ها

انتخاب بذور گوجه‌فرنگی

در این تحقیق از تعدادی ارقام گوجه‌فرنگی به نام‌های Rutgers و Early Urbana (تهیه شده از موسسه نهال و بذر کرج)، ALYSTE F-1 و ARYZA F-1 (تولید شرکت FITO (اسپانیا)) و Mobil (هلند و مجارستان) استفاده گردید.

جمع‌آوری، خالص‌سازی و تکثیر نماتد ریشه‌گرهی

بدین منظور پس از دریافت نمونه‌ی خاک و ریشه گوجه‌فرنگی آلوده به نماتد ریشه‌گرهی از مرکز تحقیقات تیرتاش، براساس روش هوسی و بارکر (۱۳) و هوسی و جانسن (۱۴)، نسبت به خالص‌سازی و تکثیر نماتد ریشه‌گرهی اقدام شد.

شناسایی گونه‌ی نماتد ریشه‌گرهی

برای شناسایی گونه‌ی نماتد ریشه‌گرهی، از مشخصات ریخت-شناسی و ریخت‌سنجی لارو سن دوم، ماده‌های بالغ، شبکه‌ی کوتیکولی انتهای بدن نماتدهای ماده‌ی بالغ یا همان اثر انگشت، بهره برده شد (۱۶). هم‌چنین برای شناسایی ملکولی گونه‌ی نماتد، ابتدا DNA مربوط به ماده بالغ نماتد، به روش الوانی و همکاران (۲) استخراج شد و سپس براساس روش مبصری و همکاران (۲۵)، نسبت به انجام واکنش زنجیره‌ای پلیمراز (PCR) با استفاده از جفت آغازگر اختصاصی OPAFjav (-'5 GGTGCGCGATTGAACTGAGC-3') و OPARjav (-'5 CAGGCCCTTCAGTGGAACTATAC-3') قطعه‌ای به طول ۶۷۰ جفت‌باز همانندسازی شد. پروفایل دمای واکنش شامل یک چرخه در $94^{\circ}C$ به مدت ۵ دقیقه و ۳۵ چرخه در $94^{\circ}C$ به مدت ۳۰ ثانیه، $64^{\circ}C$ به مدت ۳۰ ثانیه و $72^{\circ}C$ به مدت ۴۵ ثانیه و در پایان یک چرخه بسط نهایی در $72^{\circ}C$ به مدت ۵ دقیقه بود. محصول PCR در ژل آگارز یک درصد حاوی گرین ویور الکتروفورز و در نهایت پس از رویت باند مورد نظر بر روی ژل، برای توالی‌یابی به شرکت ماکروژن کره جنوبی منتقل شد.

استخراج تخم و لارو سن دوم نماتد ریشه‌گرهی از ریشه‌های آلوده

برای استخراج تخم‌های نماتد ریشه‌گرهی از ریشه‌ی گیاهان

میزبان، ابتدا ریشه‌های آلوده‌ی مربوط به گیاهان ۵۵-۴۵ روزه پس از زمان مایه‌زنی، از خاک خارج و توسط جریان آب شستشو داده شد تا کاملاً تمیز و عاری از خاک شوند، سپس براساس روش استیرلینگ و همکاران (۳۵) و هوسی و بارکر نسبت به استخراج تخم‌ها اقدام شد (۱۳). لاروهای سن دوم با استفاده از تخم‌های استخراج شده و نیز به کمک سینی وایت هد استخراج شد. بدین منظور تخم‌ها به الک ۲۶ میکرونی منتقل گردیده و در جریان آب سرد به خوبی شسته شدند. سپس الک به داخل سینی استیل یا پلاستیکی منتقل شده و مقدار کافی آب به آن اضافه شد تا سطح تخم‌ها کاملاً در آب محصور گردند. سپس سینی، در شرایط دمای اتاق قرار داده شد و پس از هر ۲۴ ساعت لاروهای سن دوم را به کمک استوانه مدرج جمع‌آوری نموده و تا زمان استفاده در چهار درجه سانتی‌گراد نگه‌داری شدند.

کشت ارقام انتخابی و تلقیح نماتد جهت بررسی مقاومت

بذور گوجه‌فرنگی در محلول وایتکس تجاری ۲ درصد به مدت ۵ دقیقه ضد عفونی شدند و چهار مرتبه با آب مقطر استریل به خوبی آبکشی گردیدند. برای کشت بذور از سینی نشاء استفاده شد. بدین صورت که بذور مربوطه را به چاهک‌هایی که حاوی نسبت مساوی کوکوپیت، پرلیت و ورمی‌کولیت بود، انتقال داده و به مدت سه هفته به طور منظم آبیاری گردیدند. سپس این گیاهچه‌ها به گلدان‌هایی با قطر ۹ سانتی‌متری و حاوی یک و نیم کیلوگرم خاک استریل (به نسبت مساوی خاک، ماسه و خاک برگ یا ورمی کولیت)، منتقل شدند و بعد از دو هفته با سه هزار لارو سن دوم (دو عدد به ازای هر گرم خاک) تلقیح گردیدند. گلدان‌های مربوطه با ۵ تکرار، به مدت ۷۰ روز در دمای ۳۳-۲۴ درجه‌ی سانتی‌گراد و رطوبت پنجاه درصد نگه‌داری شدند. تیمار گیاه با آب مقطر به عنوان شاهد در نظر گرفته شد. آزمایش در ماه‌های آذر، دی و بهمن سال ۹۷ در گلخانه‌ی گیاهپزشکی دانشگاه فردوسی انجام گردید.

ارزیابی مقاومت ارقام

ارزیابی مقاومت براساس شاخص‌های رشد گیاه و تولیدمثلی نماتد صورت گرفت. شاخص‌های رشد گیاه شامل وزن تر و خشک ریشه، وزن تر و خشک بخش هوایی، طول ریشه، ارتفاع گیاه و وزن تر و خشک کل گیاه بود که این صفات براساس روش قایدی و عبدالهی (۱۱) اندازه‌گیری شد.

شاخص‌های تولیدمثلی نماتد شامل تعداد گال و توده تخم نماتد در گرم ریشه و کل ریشه، تعداد تخم موجود در توده تخم، تعداد لارو سن دوم موجود در خاک، جمعیت نهایی نماتد و فاکتور تولیدمثلی (RF[1]) می‌باشد. جهت بررسی شاخص گال و کیسه‌تخم، پس از وزن کردن کل ریشه‌ی گیاه مربوطه و تقسیم نمودن آن به قطعات کوچک‌تر، نسبت به مخلوط نمودن آن جهت یکنواخت کردن نمونه، اقدام شد، سپس مقدار ۶ گرم از ریشه را به طور تصادفی برداشته و پس از شمارش تعداد گال و کیسه‌تخم، به کل ریشه تعمیم داده شد. البته لازم به ذکر است که با توجه به شفاف بودن کیسه‌تخم‌های موجود بر روی ریشه، نسبت به رنگ‌آمیزی ریشه براساس روش کاستاگنون-سرنو و همکاران، اقدام شد (۶). در ارزیابی شاخص گال و توده تخم از کلید توسعه یافته‌ی کوزنبری و همکاران (۲۷) استفاده گردید. در این درجه‌بندی از سیستم تایلور و ساسر (۳۷) برای تعیین شاخص گال یا کیسه‌تخم استفاده و در فرمول مربوطه درج می‌شود تا شاخص مقاومت[2]، که در ریشه دوم مجموع توان دوم شاخص گال و شاخص کیسه‌تخم است، محاسبه شود. بدین صورت که هیچ گال یا توده تخم در ریشه، شاخص صفر؛ ۲-۱ گال یا توده‌تخم در ریشه، شاخص ۱؛ ۱۰-۳ گال یا کیسه‌تخم، شاخص ۲؛ ۳۰-۱۱ گال یا کیسه‌تخم، شاخص ۳؛ ۱۰۰-۳۱ گال یا کیسه‌تخم، شاخص ۴ و بیش‌تر از ۱۰۰ گال یا کیسه‌تخم، شاخص ۵ لحاظ گردید.

فرمول ۱:

$$\text{Resistance Index (RI)} = \sqrt{(\text{gall index}^2 + \text{egg mass index}^2)}$$

براین اساس شاخص مقاومت ۰/۹-۰ به منزله مصون؛ ۱/۹-۱ بسیار مقاوم؛ ۲/۹-۲ مقاوم؛ ۳/۹-۳ نسبتا مقاوم؛ ۴/۹-۴ با مقاومت متوسط؛ ۵/۹-۵ نسبتا حساس؛ ۶/۹-۶ حساس و بیشتر از ۷ خیلی حساس در نظر گرفته شد (۱).

برای جداسازی و تخمین تعداد لاروهای سن دوم در خاک هر گلدان، ۲۰۰ گرم خاک پس از شستشو، با روش الک و شربت قند، سانتریفیوژ گردید و سپس به کل خاک تعمیم داده شد (۷). همچنین محاسبه‌ی فاکتور تولیدمثل طبق فرمول RF= Pf/Pi انجام گرفت (۳۹) که در آن RF فاکتور تولیدمثل، Pf جمعیت نهایی (تعداد تخم درون ریشه و تعداد لارو سن دوم موجود در خاک) و Pi جمعیت اولیه است که ۳۰۰۰ لارو سن دوم نماتد در نظر گرفته شد. برای شمارش تعداد کیسه‌ی تخم موجود بر روی سیستم ریشه، ریشه‌های هر رقم به طور جداگانه به مدت ۵ دقیقه در بشرهای شیشه‌ای در جریان ملایم آب شسته شدند تا خاک چسبیده به آن‌ها جدا شود ولی کیسه‌های تخم در انتهای بدن نماتد ماده باقی بماند. پس از تکه کردن ریشه به قطعات ۴-۳ سانتی‌متری، با روش کاستاگنون-سرنو و همکاران (۶) رنگ‌آمیزی ریشه انجام شد. به منظور تعیین تعداد تخم‌های موجود در ریشه، قطعات ریشه در فلاسک‌های حاوی محلول نیم درصد هیپوکلریت سدیم در شیکر تکان داده شدند و پس از ۵ دقیقه محتویات فلاسک بر روی الک ۲۰۰ مش که بر روی الک ۴۰۰ مش قرار گرفته بود، ریخته شد. محتویات الک ۴۰۰ مش به بشر

1- Reproduction Factor

2- Resistance Index

۲۵۰ میلی‌لیتری منتقل و حجم به ۱۰۰ میلی‌لیتر رسانده شد. با سه بار شمارش، تعداد تخم در ۱۰۰ میلی‌لیتر محاسبه گردید (۱).

پس از محاسبه‌ی فاکتور تولیدمثل، جهت گروه‌بندی ارقام از روش کانتو- سانز (۵) نیز استفاده گردید. بر این اساس، اگر فاکتور تولیدمثل کمتر یا برابر یک و شاخص گال کوچک‌تر یا مساوی ۲ بود، مقاوم؛ اگر فاکتور تولیدمثل کمتر یا برابر یک و شاخص گال بیشتر از ۲ بود، نیمه مقاوم؛ اگر فاکتور تولیدمثل بیش‌تر از یک و شاخص گال کوچک‌تر یا مساوی ۲ بود، متحمل و اگر فاکتور تولیدمثل بیش‌تر از یک و شاخص گال بیش‌تر از ۲ بود، حساس در نظر گرفته شد. در نهایت، تجزیه آماری صفات رشدی (به صورت فاکتوریل بر پایه طرح کاملا تصادفی در دو حالت تلقیح و بدون تلقیح نماتد) و صفات تولیدمثلی نماتد (بر پایه طرح کاملا تصادفی) با نرم‌افزار Minitab 17 صورت گرفت و سپس مقایسه میانگین آن‌ها براساس آزمون LSD انجام شد. هم‌چنین در این بررسی، نسبت به تجزیه خوشه‌ای براساس مجموع صفات رویشی گیاه و زایشی نماتد اقدام شد.

نتایج

شناسایی گونه‌ی *Meloidogyne javanica* براساس روش‌های مرفولوژیکی و ملکولی

پس از بررسی خصوصیات ریخت‌شناسی و ریخت‌سنجی مربوط به لاروهای سن دوم، نماتدهای ماده‌ی بالغ و شبکه‌ی کوتیکولی انتهای بدن نماتدهای ماده[1]، مشخص گردید که گونه‌ی مورد بررسی، *M. javanica* می‌باشد، هم‌چنین در ادامه برای تایید کار، از روش ملکولی نیز استفاده شد. بدین صورت که پس از دیدن باند مورد نظر به طول قطعه ۶۷۰ جفت باز و توالی‌یابی محصول PCR و تطابق توالی با بانک اطلاعات ژن (NCBI)، تعیین گردید که گونه‌ی مورد بررسی *M. javanica* می‌باشد.

نتایج تجزیه‌ی صفات رویشی

نتایج تجزیه واریانس صفات رشدی در ارقام مورد مطالعه‌ی گوجه‌فرنگی آلوده به نماتد ریشه‌گرهی در جدول ۱ و مقایسات میانگین آن‌ها در جداول ۲ و ۳ نمایش داده شده است. در صفت وزن تر ریشه، با توجه به معنی‌دار شدن اثرات متقابل رقم و مایه‌زنی نماتد در سطح یک درصد (جدول ۱)، دو رقم ALYST F-1 و ARYZA F-1، دارای بیش‌ترین وزن تر ریشه و موبیل هلند و روتگرس دارای کم‌ترین وزن بودند، هم‌چنین مشاهده گردید که در ارقام ALYSTE F-1، موبیل مجارستان و ارلی اربانا، تفاوت معنی‌دار در وزن تر ریشه بین تیمار شاهد و آلوده مشاهده نشد (جدول ۲). نتایج جدول ۱، معنی‌داری اثرات متقابل وزن خشک ریشه ، ارتفاع گیاه و طول ریشه را اثبات نمود. داده‌های حاصل از وزن خشک ریشه نشان داد که بیش‌ترین وزن خشک متعلق به ALYSTE F-1 و کم‌ترین مقدار متعلق به موبیل هلند و روتگرس (مایه‌زنی شده) می‌باشد، با این تفاوت که روتگرس نسبت به شاهد خود (حالت بدون تلقیح) تفاوت معنی‌داری را داشته و در مواجه با نماتد کاهش وزن خشک را داشته است. براساس صفت ارتفاع گیاه نیز، ALYSTE F-1 (در حالت مایه‌زنی و عدم مایه‌زنی)، بیش‌ترین ارتفاع را در بین ارقام مورد بررسی، به خود اختصاص داده و بعد از آن ARYZA F-1 ، در رتبه‌ی بعدی قرار داشت، این در حالی بودکه ارقام ارلی اربانا، روتگرس، موبیل مجارستان و موبیل هلند (در حالت مایه‌زنی شده)، از نظر ارتفاع گیاه، با یکدیگر تفاوت معنی‌داری نداشته و کم‌ترین مقدار صفت مربوطه را داشتند. بیش‌ترین اختلاف بین ارتفاع بوته‌های شاهد و مایه‌زنی شده در رقم روتگرس بود در حالی که عکس‌العمل دیگر ارقام نسبت به نماتد، تفاوت معنی‌داری را در مقایسه با شاهد در ارتفاع بوته نشان نداد که این ناشی از تاثیرپذیری بیش‌تر این رقم نسبت به نماتد ریشه‌گرهی می‌باشد (جدول ۲). بیش‌ترین طول ریشه متعلق به ARYZA F-1 و موبیل مجارستان و کم‌ترین متعلق به ALYSTE F-1 و ارلی اربانا (در حالت تلقیح) می‌باشد. هم‌چنین نتایج نشان داد که بیش‌ترین طول ریشه در تیمارهای شاهد قابل رویت است. در صفت وزن تر و خشک بخش هوایی، اثر متقابل رقم و مایه‌زنی معنی‌دار نبود (جدول ۱) و تنها مقایسه میانگین اثر رقم به صورت مستقل انجام شد. براین اساس، در صفت وزن تر بخش هوایی، ALYSTE F-1 و ارلی اربانا به ترتیب، بیش‌ترین و کم‌ترین مقدار و در صفت وزن خشک بخش هوایی، ALYSTE F-1 و ARYZA F-1، بیش‌ترین مقدار و ارلی اربانا، کم‌ترین میزان صفت مربوطه را به خود اختصاص داده اند (جدول ۳). براساس نتایج تجزیه واریانس جدول شماره‌ی ۱، مشاهده گردید که وزن تر کل و وزن خشک کل نیز از لحاظ اثرات متقابل رقم و تلقیح نماتد، معنی‌دار (در سطح یک درصد) می‌باشند. مقایسه میانگین وزن تر کل و وزن خشک کل، نشان داد که در هر دو صفت، رقم ALYSTE F-1 و موبیل هلند به ترتیب، بیش‌ترین و کم‌ترین وزن را به خود اختصاص داده‌اند (جدول ۲).

1- perennial pattern

جدول ۱- تجزیه واریانس صفات رشدی در ارقام مورد مطالعه گوجه‌فرنگی آلوده شده به نماتد ریشه‌گرهی *Meloidogyne javanica*

Table 1- Analysis of variance of growth- related parameters of tomato cultivars inoculated with root-knot nematode, *Meloidogyne javanica*

منابع تغییر S.O.V	درجه آزادی (df)	میانگین مربعات Mean squares (MS): وزن تر ریشه (Root fresh weight)	وزن تر بخش هوایی (Aerial part fresh weight)	طول ریشه (Root length)	وزن تر کل (Total fresh weight)	وزن خشک کل (Total dry weight)	df	میانگین مربعات وزن خشک ریشه* (MS of root dry weight)	df	میانگین مربعات وزن خشک بخش هوایی* (MS of aerial part dry weight)	df	میانگین مربعات ارتفاع گیاه* (MS of plant height)
رقم (Cultivar)	5	326.51^{**}	461.82^{**}	34.08^{**}	1007.58^{**}	53.23^{**}	5	18.11^{**}	5	10.60^{**}	5	132.14^{**}
تلقیح (Inoculation)	1	444.72^{**}	1.29^{ns}	313.46^{**}	206.13^{ns}	43.45^{**}	1	18.22^{**}	1	1.99^{ns}	1	247.62^{**}
رقم*تلقیح (Cultivar*inoculation)	5	66.84^{**}	52.01^{ns}	18.17^{*}	305.18^{**}	3.12^{*}	5	1.43^{**}	5	1.08^{ns}	5	130.47^{**}
خطا Error	48	17.30	21.99	6.25	61.50	1.25	39	0.26	46	0.68	44	20.82
CV%		11.35	10.1	8.85	9.37	10		13.18		11.19		11.95

* نتایج براساس طرح کاملا تصادفی نامتعادل (با تکرارهای نامساوی) می‌باشد. ns، * و ** به ترتیب غیر معنی‌دار و معنی‌دار در سطح احتمال ۵ درصد و ۱ درصد.

The results are based on completely unbalanced randomized design. ns, * and **: non-Significant, significant at 1% and 5% of probability, respectively.*

جدول ۲- مقایسات میانگین صفات رشدی در ارقام مورد مطالعه گوجه‌فرنگی آلوده شده به نماتد ریشه‌گرهی *Meloidogyne javanica*

Table 2- Comparison of the average of growth- related parameters of tomato cultivars inoculated with root-knot nematode, *Meloidogyne javanica*

رقم (Cultivar)	مایه‌زنی با نماتد (Inoculation)	وزن تر ریشه Root fresh weight (g)	طول ریشه Root length (cm)	وزن تر کل Total fresh weight (g)	وزن خشک کل Total dry weight (g)	وزن خشک ریشه Root dry weight (g)	ارتفاع گیاه Plant height (cm)
ALYSTE F-1	Control	43.41ab	32.4a	97.20ab	16.10a	5.42a	41b
	Inoculated	40.27bc	24.2e	102.44a	13.50bc	5.78b	40.7b
ARYZA F-1	Control	48.23a	32.2a	93.77abc	13.78b	5.22b	39.18bc
	Inoculated	39.56bc	29.4abcd	85.60cde	12.22cd	3.41de	38.5bc
Dutch Mobil (موبیل هلند)	Control	32.74d	26.67de	81.98def	9.51e	2.27fg	35.33bc
	Inoculated	25.89e	25.08e	73.33fg	7.74f	1.94g	34.60c
Hungarian Mobil (موبیل مجارستان)	Control	40.54bc	31.2abc	84.89cde	11.42d	4.20c	34.50c
	Inoculated	35.51cd	28.4cd	78.89ef	9.36e	2.89ef	33.6c
Early Urbana	Control	33.65d	29bcd	64.26g	9.52e	3.77cd	37.34bc
	Inoculated	36.71cd	24.36e	77.37ef	9.92e	3.70 cd	34.13c
Rutgers	Control	37.58cd	31.8ab	91.50bcd	11.54d	3.99cd	53.72a
	Inoculated	25.54e	24.4e	73.37fg	8.91ef	1.86g	34c

مقایسات میانگین براساس روش LSD می‌باشند. میانگین‌ها با حروف مشترک در هر ستون فاقد اختلاف معنی‌دار در سطح احتمال ۵٪ هستند.

Means followed by dissimilar letters in a column are significantly different ($P \leq 5\%$) based on Fisher's LSD test.

جدول ۳- مقایسات میانگین وزن تر و خشک بخش هوایی در ارقام مورد مطالعه گوجه‌فرنگی آلوده شده به نماتد ریشه‌گرهی *Meloidogyne javanica*

Table 3- Comparison of the average of aerial part fresh and dry weight of tomato cultivars inoculated with root-knot nematode, *Meloidogyne javanica*

رقم (Cultivar)	وزن تر بخش هوایی Aerial part fresh weight (g)	وزن خشک بخش هوایی Aerial part dry weight (g)
ALYSTE F-1	55.84a	8.69a
Rutgers	50.68b	7.30b
Dutch Mobil (موبیل هلند)	47.5bc	6.52bc
ARYZA F-1	45.79c	8.6a
Hungarian Mobil(موبیل مجارستان)	44.3c	6.83bc
Early Urbana	35.54d	6.26c

مقایسات میانگین براساس روش LSD می‌باشند. میانگین‌ها با حروف مشترک در هر ستون فاقد اختلاف معنی‌دار در سطح احتمال ۵٪ هستند.

Means followed by dissimilar letters in a column are significantly different (P≤5%) based on Fisher's LSD test.

نتایج تجزیه‌ی صفات تولیدمثلی نماتد

نتایج تجزیه واریانس صفات تولیدمثلی نماتد و مقایسه میانگین آن‌ها، در جداول ۴ و ۵ نمایش داده شده است. همان‌طور که از نتایج جدول تجزیه واریانس برمی‌آید صفات تولیدمثلی مورد مطالعه در این پژوهش، تفاوت معنی‌داری (در سطح یک درصد) را در ارقام مختلف، از خود بروز داده‌اند. نتایج مقایسه میانگین صفات تولیدمثلی نماتد (جدول ۵)، نشان داد که از لحاظ تعداد توده‌تخم و تعداد گال موجود در ریشه، رقم‌های ارلی‌اربانا، موبیل هلند و موبیل مجارستان، دارای بیش‌ترین تعداد توده‌تخم و بعد از آن، ارقام روتگرس و ARYZAF-1 در درجه بعدی اهمیت قرار گرفتند و در این بین، ALYSTE F-1، از کم‌ترین تعداد گال و توده‌تخم برخوردار بود. بیش‌ترین تعداد تخم در توده‌ی تخم در رقم ARYZA F-1، مشاهده شد که با سایر ارقام اختلاف معنی‌دار داشت و بقیه ارقام از این لحاظ در یک سطح قرار داشتند.

شمارش تعداد کل تخم‌های موجود در ریشه نشان داد که کم‌ترین تعداد تخم در رقم ALYSTE F-1 و بیش‌ترین تعداد تخم در ارقام موبیل مجارستان و ارلی‌اربانا بوده که می‌توانند تاثیری قابل توجه را در افزایش تعداد نماتد در خاک داشته باشد.

تعداد لارو سن دوم موجود در خاک، یکی دیگر از صفات تعیین‌کننده در بررسی مقاومت یا حساسیت گیاه نسبت به نماتد ریشه‌گرهی می‌باشد. بررسی‌ها نشان داد که رقم ارلی‌اربانا، بیش‌ترین تعداد لارو سن دوم خاک را به خود اختصاص داده است و بعد از آن موبیل مجارستان، موبیل هلند، ARYZA F-1 و روتگرس (به ترتیب اهمیت) قرار داشتند. هم‌چنین رقم ALYSTE F-1، کم‌ترین تعداد لارو سن دوم خاک را داشت.

بدون شک جمعیت نهایی نماتد ناشی از ۲ صفت تعداد لارو سن دوم خاک و تخم‌های موجود در ریشه، به عنوان یکی از صفات کارآمد، این قابلیت را دارد که در تعیین حساسیت و یا مقاومت میزبان به نماتد استفاده شود. با دانستن جمعیت نهایی نماتد و تقسیم آن بر جمعیت اولیه نماتد (RF)، می‌توان به درجه مقاومت یک گیاه نسبت به نماتد پی برد. براساس این صفت، موبیل مجارستان، ارلی‌اربانا و موبیل هلند به عنوان ارقامی با حساسیت بالا (براساس فاکتور تولیدمثل و شاخص گال)، از نظر مقدار جمعیت نماتد، در یک سطح بوده و تفاوت معنی‌داری با یکدیگر نداشته‌اند. این در حالی است که رقم ALYSTE F-1 به عنوان مقاوم‌ترین رقم (نسبت به دیگر ارقام) سهم کم‌تری را در افزایش جمعیت نهایی نماتد، از خود بروز داده است (جدول ۵).

در این پژوهش، برای تعیین سطح مقاومت ارقام مختلف، از دو روش کانتو-سانز (۶) و کوزنبری و همکاران (۲۲)، استفاده شد. براساس روش کانتو-سانز، مجموع دو فاکتور تولیدمثل (RF) و شاخص گال (GI)، نقش تعیین‌کننده‌ای در ارزیابی سطح مقاومت ارقام دارند. براین اساس، اگر شاخص گال بیش‌تر از دو و فاکتور تولیدمثل نیز بیش‌تر از یک باشد، آن رقم به عنوان رقم حساس تلقی می‌گردد. همان‌طور که در جدول ۶ مشخص می‌باشد ارقام روتگرس، ارلی‌اربانا، موبیل مجارستان، موبیل هلند و ARYZA F-1 با شاخص گال بیش‌تر از دو و فاکتور تولیدمثل بیشتر از یک، به عنوان ارقام حساس به نماتد، شناخته شدند. براساس همین روش، اگر شاخص گال بیش‌تر از دو و فاکتور تولیدمثل کم‌تر از یک باشد، آن رقم به عنوان رقمی نسبتا مقاوم تلقی می‌گردد و بنابراین رقم ALYSTE F-1 نسبت به نماتد ریشه‌گرهی نسبتا مقاوم است (جدول ۶). براساس درجه‌بندی شاخص مقاومت (RI) (روش کوزنبری و همکاران (۲۲))، نیز مشخص شد که رقم ALYSTE F-1 به عنوان رقم نسبتا مقاوم و ارقام روتگرس، ارلی‌اربانا، موبیل مجارستان، موبیل هلند و ARYZA F-1 به عنوان ارقام خیلی حساس نسبت به نماتد ریشه‌گرهی شناخته شدند.

جدول ۴- تجزیه واریانس شاخص‌های نماتد در ریشه ارقام مورد مطالعه‌ی گوجه‌فرنگی آلوده شده به نماتد ریشه گرهی *Meloidogyne javanica*

Table 4- Analysis of variance of nematode parameters of tomato cultivars inoculated with root-knot nematode, *Meloidogyne javanica*

منابع تغییر (S.O.V)	df	میانگین مربعات (MS) تعداد توده تخم در ریشه (No. of egg masses/root)	df	میانگین مربعات (MS) تعداد گال در ریشه (No. of galls/root)	تعداد تخم در توده تخم (No. of eggs/egg mass)	تعداد لارو سن دوم خاک (No. of J2s/soil)	تعداد تخم در ریشه (No. of eggs/root)	جمعیت نهایی (Total population)	فاکتور تولید مثل (Reproduction factor)
Cultivar	5	343572**	5	2422476**	73154**	40847753**	1864090725**	2329340926**	258.82**
Error	17	8433	24	34038	18041	107318	19863929	20268725	2.25
CV (%)		19.98		19.29	18.78	9.36	12.49	11.49	11.49

** معنی‌دار در سطح احتمال ۱ درصد. نتایج تعداد توده تخم در ریشه براساس طرح کاملا تصادفی نامتعادل (با تکرارهای نامساوی) می‌باشد.

**: significant at 1% of probability. The results of number of egg mass/root are based on unbalanced completely randomized design.

جدول ۵- مقایسه میانگین شاخص‌های نماتد در ریشه ارقام مورد مطالعه‌ی گوجه‌فرنگی آلوده شده به نماتد ریشه گرهی *Meloidogyne javanica*

Table 5- Comparison of the average of nematode parameters of tomato cultivars inoculated with root-knot nematode, *Meloidogyne javanica*

رقم	تعداد توده‌تخم در ریشه (No. of egg masses/root)	تعداد گال در ریشه (No. of galls/root)	تعداد تخم در توده تخم (No. of eggs/egg mass)	تعداد لارو سن دوم خاک (No. of J2S/soil)	تعداد تخم در ریشه (No. of eggs/root)	جمعیت نهایی (Total population)
ALYSTE F-1	7.59c	28.40d	584.24b	420.13f	460d	880.1d
ARYZA F-1	439.95b	407.09c	939.52a	1811.86d	41986.7b	43798.5b
Dutch Mobil (موبیل هلند)	713.68a	1340.72b	657b	4383.60c	46286.7ab	50670.3a
HungarianMobil (موبیل مجارستان)	740.09a	1733.96a	673b	5436.87b	50746.7a	56183.5a
Early Urbana	656.74a	1592.04a	734.60b	7793.46a	48220a	56013.5a
Rutgers	371.13b	635.15c	703.40b	1144.93e	26346.7c	27491.6c

اعداد نمایش داده شده شامل میانگین حداقل ۳ تکرار بوده، مقایسات میانگین براساس روش LSD می‌باشند. میانگین‌ها با حروف مشترک هر ستون فاقد اختلاف معنی‌دار در سطح احتمال ۵٪ هستند.

Data presented are means at least 3 replicates. Means followed by dissimilar letters in a column are significantly different (P≤5%) based on Fisher's LSD test.

تجزیه خوشه‌ای

براساس تجزیه خوشه‌ای مجموع صفات رویشی گیاه و زایشی نماتد (شکل ۱)، مشخص گردید که ارقام مورد مطالعه در دو گروه مجزا قرار گرفتند. در یک گروه رقم ALYSTE F-1 قرار داشته و در گروه دیگر ارقام روتگرس، ARYZAF-1، موبیل هلند، ارلی‌اربانا و موبیل مجارستان قرار داشتند که با نتایج طبقه‌بندی شاخص‌های مقاومت (جدول ۶) و هم‌چنین مقایسات میانگین صفات رویشی گیاه و صفات زایشی نماتد (جداول ۲، ۳ و ۵) که رقم ALYSTE F-1 را مقاوم‌تر از بقیه دانسته، هم‌خوانی داشت. براساس نتایج تجزیه خوشه‌ای دیده شد که در گروه دوم نیز رقم روتگرس متمایز از دیگر ارقام قرار داشته و این با نتایج مقایسات میانگین صفات زایشی نماتد (جدول ۵) هم‌راستا بود چرا که مشخص گردید رقم روتگرس بعد از ALYSTE F-1 قرار دارد. در ادامه دیده شد که ارقام موبیل هلند، ارلی‌اربانا و موبیل مجارستان در یک سطح بوده و متمایز از ARYZAF-1 قرار داشتند. هم‌چنین براساس نتایج جدول ۵ دیده شد که ارقام مورد نظر سبب ایجاد بیش‌ترین جمعیت نماتد شده و در بسیاری از صفات در یک سطح قرار دارند و بیش‌تر از روتگرس و ARYZA F-1 در افزایش جمعیت نماتد نقش دارند و این موضوع با نتایج تجزیه خوشه‌ای هم‌خوانی داشت.

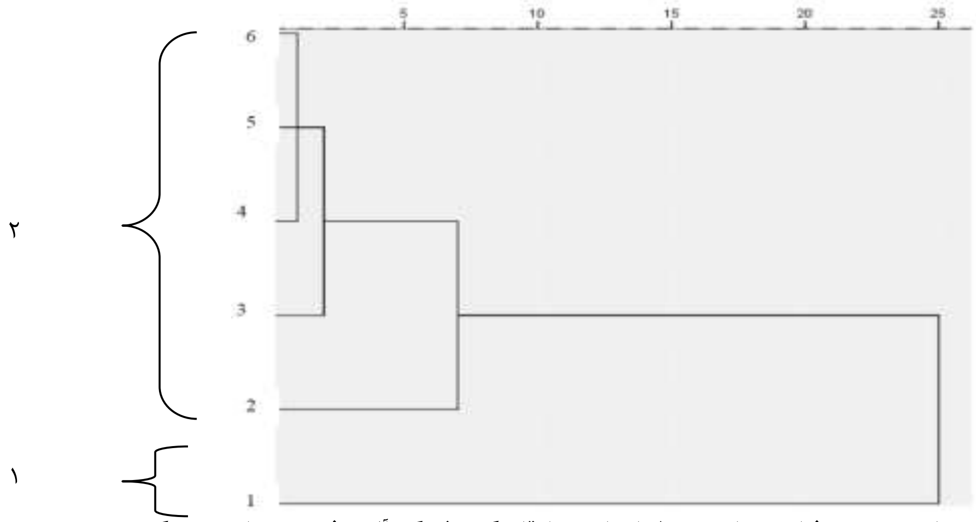
جدول ۶- واکنش ارقام مختلف گوجه‌فرنگی نسبت به نماتد ریشه‌گرهی *Meloidogyne javanica* براساس شاخص‌های تعیین کننده‌ی سطح مقاومت

Table 6- Response of tomato cultivars to root-knot nematode, *Meloidogyne javanica*, based on resistance indices

رقم	EI	GI	RI	سطح مقاومت براساس RI Host response based on RI	فاکتور تولیدمثل (RF)	سطح مقاومت براساس RF Host response based on RF
ALYSTE F-1	2	3	3.61	نسبتا مقاوم (MR)	0.29d	نیمه مقاوم (MR)
ARYZA F-1	4.8	5	7.07	خیلی حساس (HS)	14.60b	حساس (S)
Dutch Mobil (موبیل هلند)	5	5	7.07	خیلی حساس (HS)	16.89a	حساس (S)
Hungarian Mobil (موبیل مجارستان)	5	5	7.07	خیلی حساس (HS)	18.73a	حساس (S)
Early Urbana	5	5	7.07	خیلی حساس (HS)	18.67a	حساس (S)
Rutgers	5	5	7.07	خیلی حساس (HS)	9.16c	حساس(S)

EI: شاخص توده‌تخم ، GI: شاخص گال، RI: شاخص مقاومت، RF: فاکتور تولیدمثل، :MR نسبتا مقاوم، HS: خیلی حساس، S: حساس

EI: Egg mass Index, GI: Gall Index, RI: Resistance Index, RF: Reproduction Factor, MR: Moderately resistant, HS: Highly susceptible, S: Susceptible



شکل ۱- تجزیه خوشه‌ای شاخص‌های رویشی و شاخص‌های مرتبط با نماتد در ارقام گوجه‌فرنگی آلوده شده به نماتد ریشه‌گرهی *Meloidogyne javanica* به روش جاکارد

Cluster analysis of growth and nematode- related parameters on tomato cultivars inoculated with *Meloidogyne javanica*, using Jaccard's method.
1: ALYSTE F-1, 2: Rutgers, 3: ARYZA F-1, 4: Dutch Mobil, 5: Early Urbana, 6: Hungarian Mobil.

بحث

در نماتدشناسی گیاهی، مقاومت اشاره به توانایی گیاه در ممانعت از توسعه یا تولیدمثل نماتد دارد (۳۱). کارسن و مونز (۱۹)، گزارش کردند که گیاهان میزبان خیلی حساس، به لاروها اجازه ورود، بلوغ و تولیدمثل را داده در حالی که ارقام مقاوم از توسعه و تولیدمثل نماتد ممانعت می‌کنند. در همین راستا تیلور و ساسر (۳۷)، جهت بررسی مقاومت ارقام، شاخص توده تخم (EI) را پیشنهاد دادند. این شاخص براساس اندازه‌گیری تقریبی از تولیدمثل نماتد ریشه‌گرهی بوده و در آن به جای تعداد واقعی تخم‌ها و لاروهای سن دوم، فقط به شمارش تعداد توده‌تخم‌ها در گیاه بسنده نموده است. به همین ترتیب شاخص گال (GI)، که اساس درجه‌بندی آن مشابه EI است نیز به عنوان شاخص خسارت محسوب می‌گردد. نتایج نشان می‌دهد که تعداد گال‌ها و درجه گال‌زایی این امکان را دارد که توانایی گیاه را در کاهش یا غلبه بر نماتد ریشه‌گرهی ارائه دهد اما به طور مستقیم به تولیدمثل نماتد اشاره ندارد. اما تعداد توده‌تخم، شاخص توده تخم و

تعداد تخم در هر گرم ریشه می‌تواند تفسیر بهتری از تولیدمثل نماتد را ارائه دهد (۹). هادیسواگاندا و ساسر (۱۲) جهت گروه‌بندی ارقام، از ارتباط بین EI و IR (Index of Resistance) کمک گرفتند. براساس تقسیم‌بندی EI، شاخص بین ۱-۰ خیلی مقاوم، ۳-۱/۱ مقاومت بالا، ۳/۵-۳/۱ نسبتا مقاوم، ۳/۶-۴ مقاومت ضعیف و ۵-۴/۱ حساس در نظر گرفته شد. سپس به مقایسه ارقام مقاوم نسبت به رقم حساس استاندارد پرداختند تا درک درست‌تری از نوع مقاومت را به دست بیاورند. براین اساس با تقسیم جمعیت نهایی میزبان (تعداد تخم و لارو سن دوم) بخش بر جمعیت نهایی رقم حساس استاندارد توانستند IR را محاسبه کنند. اما این سیستم طرفداران چندانی نداشت چرا که در هر گیاه نیاز به رقم استاندارد حساس بود. در واقع رقم استاندارد حساس رقمی است که به گونه‌های اصلی نماتد و تمامی نژادهای آن حساس می‌باشد. جدا از یافتن رقم حساس استاندارد، در دسترس بودن آن نیز اهمیت دارد. هم‌چنین در این سیستم، رابطه بین EI و RI در بین محصولات مختلف بسیار متنوع بوده و این تفاوت ناشی از اختلافات تولیدمثلی نماتد روی کولتیوارهای حساس استاندارد می‌باشد. به همین دلیل RI شاخص مناسبی جهت گروه‌بندی ارقام نبوده زیرا دیده شده که یک کولتیوار بسیار مقاوم گوجه‌فرنگی را با کولتیوار نسبتا مقاوم یا با مقاومت ضعیف ذرت برابر دانسته است (۳۲). در ادامه کانتو-سانز (۵)، سیستمی مبتنی بر فاکتور تولیدمثل (RF) و شاخص گال (شاخص خسارت) را ارائه داد که خوشبختانه در آن نیازی به حضور میزبان حساس استاندارد نبود. کوزنبری و همکاران (۲۷) نیز سیستمی بر مبنای شاخص گال و شاخص توده‌تخم (RI) ارائه دادند که در نهایت در این پژوهش از دو روش کانتو-سانز (۵) و کوزنبری و همکاران (۲۷) استفاده گردید که نتایج کم و بیش مشابهی به دست آمد. براساس نتایج حاصل از این پژوهش، رقم ALYSTE F-1، به عنوان مقاوم‌ترین رقم شناخته شد. در واقع رقم ذکر شده با کم‌ترین تعداد گال، توده‌تخم، تخم و لارو سن دوم موجود در خاک و به تبع آن کم‌ترین مقدار جمعیت نماتد، به عنوان رقمی نسبتا مقاوم (براساس فاکتورهای RI، RF و شاخص گال) شناخته شد (جداول ۵ و ۶). هم‌چنین از نظر صفات رویشی، رقم ALYSTE F-1 نسبت به دیگر ارقام مورد مطالعه در این پژوهش از ویژگی‌های رویشی مناسب‌تری برخوردار بود و در مایه‌زنی با نماتد هم خصوصیات مطلوب آن نسبت به شاهد تفاوت معنی‌دار نداشت. نتایج تجزیه خوشه‌ای نیز نشان داد که رقم ALYSTE F-1 متمایز از بقیه و در خوشه‌ای جداگانه قرار گرفته (شکل ۱) و با نتایج مقایسات میانگین خصوصیات زایشی نماتد و رویشی گیاه (جداول ۲، ۳ و ۵) مطابقت داشت. نتایج هم‌چنین نشان داد که دیگر ارقام گوجه‌فرنگی نسبت به نماتد (براساس RF و شاخص گال)، بسیار حساس بودند. براین اساس دیده شد که از لحاظ خصوصیات زایشی نماتد، ارقام موبیل هلند، موبیل مجارستان و ارلی‌اربانا در یک سطح بوده و بیش‌ترین میزان جمعیت نماتد را سبب شده‌اند، این در حالی است که از لحاظ خصوصیات رویشی گیاه، در مجموع، ابتدا رقم روتگرس و سپس موبیل هلند، عکس‌العمل بیش‌تری را از خود بروز داده‌اند. اما در کل نتایج تجزیه خوشه‌ای براساس مجموع خصوصیات رویشی گیاه و زایشی نماتد (شکل ۱) نشان داد که ارقام موبیل هلند، ارلی‌اربانا و موبیل مجارستان در یک سطح بوده و متمایز از ارقام روتگرس و ARYZA F-1 قرار گرفتند. خدایی اربط و همکاران (۲۱)، به ارزیابی مقاومت چهار رقم گوجه‌فرنگی نسبت به گونه‌ی *M. javanica* پرداختند که نتایج آنان نشان داد که هیچ کدام از ارقام دارای مقاومت کافی در برابر نماتد ریشه‌گرهی نبودند. براساس پژوهش میره‌کی و همکاران (۲۴) نیز مشخص گردید که تمامی ارقام درجات مختلفی از حساسیت را در برابر نماتد ریشه‌گرهی گونه‌ی *M. javanica* دارند. براساس یافته‌های آنان دیده شد که ارقام CH12 و Ajeet به عنوان نیمه مقاوم، ارقام Manisha و CH1 به عنوان متحمل و ارقام Karina، Tolstoi، Cluster 5 و یک رقم بومی به عنوان حساس طبقه‌بندی شدند. در بررسی ردی و همکاران (۲۹) مشخص گردید که از بین ۳۲ واریته گوجه‌فرنگی، دو واریته ایمن (Motelle و H-88-78-1) و دو واریته مقاوم (Mogor و Hisar Lalit) و بقیه نسبت به نماتد ریشه‌گرهی گونه *M. incognita* حساس‌اند. مقایسه این یافته‌ها با نتایج حاصل از این پژوهش نشان می‌دهد که اکثر ارقام گوجه‌فرنگی نسبت به نماتد ریشه‌گرهی حساس‌اند. نتایج خان (۲۰)، نشان داد که مقاومت به نماتدها در گیاهان میزبان با لیستی از نرخ‌های کاهش‌یافته‌ی تولیدمثل نماتد، توده تخم و به تبع آن، جمعیت‌های پایین نماتد همراه است. او هم‌چنین ثابت کرد که توسعه‌ی گال‌ها روی ریشه‌ها، به طور معنی‌داری روی ژنوتیپ‌های حساس در مقایسه با ژنوتیپ‌های مقاوم، افزایش می‌یابد و در نتیجه روی عملکرد و کارایی گیاه، تاثیرگذار است که تا حدی با نتایج حاصل از این پژوهش هم‌خوانی دارد. هم‌چنین رقم موبیل، که رقم مشترک مورد بررسی توسط رمضانی و همکاران (۲۸) و تحقیق حاضر می‌باشد، به عنوان رقمی مقاوم در مقایسه با سایر ارقام ارزیابی گردید و با نتیجه این تحقیق که رقم نام‌برده به عنوان رقمی خیلی حساس، ارائه شد، هم‌خوانی ندارد. شواهد نشان از آن دارد که ارقام مقاوم معرفی شده توسط تحقیقات مختلف نیز این امکان را دارند که بر اثر عوامل محیطی مقاومت آن‌ها شکسته شوند. درجه حرارت، یکی از مهم‌ترین عوامل محیطی موثر در پاسخ ارقام گوجه‌فرنگی، نسبت به نماتدهای ریشه‌گرهی می‌باشد، دما بر روی بقا، پراکنش، تفریخ تخم، مهاجرت و نفوذ نماتد در خاک و ریشه، مراحل تکاملی و بیان علائم در گیاه، اثر دارد (۱۰). مقاومت در گونه‌های گیاهی غالباً به سبب وجود ژن‌های خاصی است که در داخل آن‌ها می‌تواند تفکیک شود. چالش اصلی در استفاده از میزبان مقاوم بخصوص مقاومت تک ژنی، این است که نماتدهای ریشه‌گرهی و سایر نماتدهای انگل گیاهی با تغییر ژنتیکی

می‌توانند روی میزبان‌های مقاوم، زاد و ولد نمایند و توده‌ای از زیر جمعیت‌های مقاوم نماتد را به وجود آورند، اما در ارقام با مقاومت کم‌تر، ژن‌های بیشتری البته با اثر پایین‌تر دخیل بوده و احتمال شکستن آن‌ها و واگیری نماتدها به حداقل می‌رسد. در این حالت از مقاومت، بالاخره مقداری بیماری هم به وجود می‌آید اما در عملکرد تاثیر چندانی نخواهد داشت (۱۷ و ۴۰). نتایج این تحقیق نشان داد رقم ALYSTE F-1 به عنوان رقمی نسبتا مقاوم امکان تکثیر کم‌تری را به نماتد ریشه گرهی داده و علاوه بر آن از ویژگی‌های رویشی خوبی نیز برخوردار است.

منابع

1. Abdollahi M. 2015. Response of ten greenhouse cucumber cultivars to root-knot nematode, *Meloidogyne javanica*. Seed and Plant Improvement Journal 30-1(1): 55-75. (In Persian)
2. Alvani S., Mahdikhani Moghadam E., Giblin-Davis R.M., and Pedram M. 2016. Description of *Ektaphelenchus berbericus* n.sp. (Rhabditida: Ektaphelenchinea) from eastern Iran. Nematology 18: 1063-1077.
3. Bailey D.M. 1941. The seedling method for root- knot nematode resistance. Proceeding of American Society of Horticultural Science 38: 573-575.
4. Bakker E., Dees R., Bakker J., and Govers A. 2006. Mechanisms involved in plant resistance to nematodes. In: Tuzun S., and Bent E (ed.). Multigenic and Induced Systemic Resistance in Plants. Springer science+Busines Media Inc.
5. Canto-Saenz M. 1983. The nature of resistance to *Meloidogyne incognita* (Kofoid & White) Chitwood. P. 160-165. In: C.C Carter (Ed.). Proceedings of the Third Research & Planning Conference on Root-Knot Nematodes, *Meloidogyne* spp. International Meloidogyne Project. Lima, Peru.
6. Castagnone-Sereno P., Wajnberg E., Bongiovanni M., Leroy F., and Dalmasso A. 1994. Genetic variation in *Meloidogyne incognita* virulence agianst the tomato *Mi* resistance gene: evidence from isofemale line selection studies. Theoretical and Applied Genetics 88: 749-753.
7. Caveness F.E., and Jepsen H.J. 1955. Modification of the centrifugal flotation technique for the isolation and concentration of nematodes and their eggs from soil and plant tissue. Proceedings of the Helminthological Society of Washington 22: 87-89.
8. Devran Z., and Elekcioglu I.H. 2004. The screening of F_2 plants for the root knot nematode resistance gene *Mi* by PCR in tomato. Turkish Journal of Agriculture and Forestry 28: 253-257.
9. Dong W., Holbrook C.C., Timper P., Brenneman T.B., and Mullinix G. 2007. Comparison of methods for assessing resistance to *Meloidogyne arenaria* in peanut. Journal of Nematology 39: 169-175.
10. Dropkin V.H. 1969. The necrotic reaction of tomatoes and other hosts resistance to *Meloidogyne*: reversal by temperature. Phytopathology 59:1632-1637.
11. Ghayedi S., and Abdollahi M. 2013. Evaluation of eight bean cultivars for resistance to root knot nematode, *Meloidogyne javanica*. Seed and Plant Improvement Journal 30-1(1): 17-36. (In Persian)
12. Hadisoeganda W.W,. and Sasser J.N. 1982. Resistance of tomato, bean, southern pea and garden pea cultivars to root-knot nematodes based on host suitability. Plant Disease 66: 145-150.
13. Hussey R.S., and Barker K.R.1973. Acomparison of methods of collecting inocula of *Meloidogyne* spp. including a new technique. Plant Disease Reports 57: 1025-1028.
14. Hussey R.S. and Jansen G.S. 2002. Root-knot nematodes: *Meloidogyne* species. P. 69-76. In: J. L. Starr et al. Plant Resistance to Parasitic Nematodes. CAB International.
15. Jaiteh F., Kwoseh C., and Akromah R. 2012. Evaluation of tomato genotypes for resistance to root-knot nematodes. African Crop Science 20: 41-49.
16. Jepson S.B. 1987. Identification of root-knot nematodes *Meloidogyne* species. CABI Publishing.
17. Kaloshian I., Williamson V.M., Miyao G., Lawn D.A., and Westerdahl B.B. 1996. Resistance- breaking nematodes in California tomatoes California Agriculture 50: 18-19.
18. Kamalwanshi R.S., Khan A., and Srivastava A.S. 2004. Reaction of tomato germplasm against root knot nematode, *Meloidogyne incognita*. Indian Journal of Nematology 34: 94-95.
19. Karssen G., and Moens M. 2006. Root- knot nematodes. p. 59-90. In R.N Perry and M Moens. (ed). Plant Nematology Wallingford. CABI Publishing.
20. Khan M.R. 1994. Nematology in developing countries. p. 379- 398. In: C.C. Carter and J. N. Sasser. (ed.) An Advanced Treatise on *Meloidogyne* vol. 1: Biology and control. Co-publication of Department of Plant Pathology, North Carolina State University and the USAID, Raleigh, North Carolina, USA.
21. Khodaei Arbat A., Taheri A.A.H., Pahlevani M.H., and Niknam CH. R. 2009. Evaluation of tomato cultivars resistance to root-knot nematode (*Meloidogynenjavanica* Chitwood, 1949). Journal of Plant Production 16: 45-55. (In Persian)
22. Li X.X., and Zhu D.W. 2005. Descriptors and data standard for cucumber (*Cucumis sativus* L.). Beijing: China

Agriculture Press, 78-79.

23. Mani A., and Zidgali T.Al. 1995. Screening of tomato cultivars for resistance against *Meloidogyne incognita*. Nematologia Mediterranea 23: 269.
24. Mirehki K., **Abdollahi M**., and Dehdari A. 2014. Response of eight tomato cultivars to root-knot nematode, Meloidogyne. javanica, under glasshouse condition. Iranian Journal of Plant Protection Science 44: 291-298. (In Persian)
25. Mobasseri M., Pedram M., and Pourjam E. 2017. A new species of the rare genus *Anguillonema* Fuchs, 1938 (Nematoda: Hexatylina, Sphaerulariodea) with its molecular phylogenetic study. Journal of Nematology 49: 286-294.
26. Nasohi G., and koshki M. 2002. Tomato in Greenhouse. Authors, 122p.
27. Quesenberry K.H., Baltensperger D.D., Dunn R.A., Wilcox C.J., and Hardy S.R. 1989. Selection for tolerance to root-knot nematodes in red clover. Crop Science 29: 62-65.
28. Ramezani B., Mahdikhani Moghadam E., and Rouhani H. 2013. Resistance evaluation of some tomato cultivars to root-knot nematode, *Meloidogyne javanica*, in greenhouse conditions. Journal of Plant Protection 27(3): 276-285. (In Persian)
29. Reddy Y.S., Sellaperumal C., Prasanna H.C., Yadav A., Kashyap S.P., Singh S., Rai N., Singh M., and Singh B. 2016. Screening of tomato genotypes against root-knot nematode and validation of *Mi 1* gene linked markers. Proceedings of the National Academy of Sciences, India Section B: Biological Sciences, 88.DOI: 10.1007/s40011-016-0731-1.
30. Roberts P.A. 2002. Concepts and consequences of resistance. Pp. 23–41 *in* J. L. Starr, R. Cook, and J. Bridge, eds. Plant Resistance to Parasitic Nematodes. Wallingford, UK: CAB International.
31. Sasser J.N., Carter C.C., and Hartman K.M. 1984. Standardization of host suitability studies and reporting of resistance to root-knot nematode. North Carolina State University, Raleigh and United States Agency for International Developmen, 7pp.
32. Singh S.J., and Khurma U.R. 2007. Susceptibility of six tomato cultivars to the root-knot nematode, *Meloidogyne incognita*. The south pacific Journal of Natural Science 13: 73-77.
33. Smith P.G. 1944. Embryo culture of a tomato species hybrid. In: Proceeding of American Society of Horticultural Science 44: 413-416.
34. Stirling G., Nicol J., and Reay F. 2002. Advisory services for nematode pests (operational guidelines). Publication No. 99/4. Rural Industries Research Development Corporation 99(4). 114 pp.
35. Sujatha R., Irene Vethamoni P., Manivanna N., and Sivakumar M. 2017. Screening of tomato genotypes for root knot nematode (*Meloidogyne incognita* Kofoid and White Chitwood). International Journal of Current Microbiology and Applied 6: 1525-1533.
36. Taylor A.L., and Sasser J.N. 1978. Biology, Identification and Control of Root Knot Nematodes (*Meloidogyne* spp.). A Cooperative Publication of the Department of Plant Pathology, North Carolina State University and The United States Agency for International Development. North Carolina State Graphics, Raleigh, N.C.
37. Udo I., Uguru M.I., Ogbuji R.O., and Ukeh D.A. 2008. Sources of tolerance to root-knot nematode *Meloidogyne javanica* In cultivated and wild tomato species. Plant Pathology 7: 40-44.
38. Walters S.A., Wehner T.C., and Barker K.R. 1999. Greenhouse and field resistance in cucumber to root-knot nematodes. Nematology 1: 279-284.
39. Williamson V.M., and Kumar A. 2006. Nematode resistance in plants: the battle underground. Trends in Genetics 22: 396-403.

Journal of Plant Protection
Vol. 35, No. 3, Fall 2021, P. 279-291

نشریه حفاظت گیاهان (علوم و صنایع کشاورزی)
جلد ۳۵، شماره ۳، پاییز ۱۴۰۰، ص. ۲۹۱-۲۷۹

Evaluation of Resistance to Root-Knot Nematode, *Meloidogyne javanica*, in Some Tomato Cultivars under Greenhouse Conditions

A. Asadi Sardari[1]- E. Mahdikhani-Moghadam[2*]- M. Zakiaghl[3]

Received: 29-04-2020
Accepted: 14-07-2020

Introduction: The root-knot nematodes of the genus *Meloidogyne* are highly adapted, obligate plant parasites, consisting of nearly one hundred valid species, and are considered the most economically important group of plant-parasitic nematodes. The control of root- knot nematodes has been sought by the use of nematicides, resistant varieties, crop protection and organic amendments. Because of toxicity of nematicides for environment, human health and wild life, application of them are restricted. Identification of genes responsible for resistance to root-knot nematode and their mode of actions have attracted a lot of attentions to develop resistant cultivars. Resistance in the plant species is often due to the presence of specific genes. In resistant cultivars, resistance genes can prevent or suppress one or more stages of nematode infection cycle. In fact, in response to nematode infection, resistance genes can prevent or suppress one or more stages of nematode infection process. In the most incompatible interactions, depending on the mechanism of resistance, the root galls are reduced or eliminated at the sites of infection. Assessment of resistance to the root-knot nematodes in different tomato cultivars is helpful for selection of suitable cultivars with satisfying plant growth and nematode tolerance traits for suitable management of the root-knot nematode. Thus, in the present study we evaluate the response of some tomato cultivars for resistance to root-knot nematodes, *Meloidogyne javanica*, in greenhouse conditions.

Materials and Methods: In this study, the nematode population was obtained from roots of tomatoes collected at a glasshouse in Tirtash–Mazandaran, Iran.The root-knot nematode were purified and multiplied on tomato cv. Early Urbana plants. Then the nematode species were identified based on morphological and molecular methods. The seeds of ALYSTE F-1, ARYZA F-1, Rutgers, Early Urbana, Dutch Mobil and Hungarian Mobil tomato cultivars were spawned in equal proportions of cocopit, perlite and vermiculite and irrigated for 3 weeks. Then, the seedlings were transferred to the pots containing mixture of sterile soil, sand and vermiculite (1:1:1) with 9 cm diameter. After 2 weeks, the seedlings were inoculated with 3000 second stage juveniles (J2s) of *M. javanica*. The pots were kept for 70 days at 24-33°C and 50% relative humidity. Resistance evaluation was based on plant growth and nematode reproduction indices. Growth indices were fresh and dry weight of root and aerial part, root length, plant height and total fresh and dry weight and nematode reproductive indices were number of galls and egg masses/g root and total root, eggs/egg mass, eggs/root, J2s /soil, final nematode population and reproduction factor (RF) were measured and recorded. The experiment was carried out in a completely randomized design with 5 replicates in the both of inoculated and non-inoculated with nematode. Data were analyzed in Minitab version 17. The means were compared by using Fisher׳s LSD. Also to determine the resistance level, resistance index (RI) and reproduction factor (RF) were calculated. The RI is depended to frequency of the gall and egg mass index in the root. To determine Gall Index (GI) and Egg mass Index (EI), 0= no galls or egg masses, 1= 1 to 2, 2= 3 to 10, 3= 11 to 30, 4= 31 to 100 and 5= more than 100 were considered, in the following for RI, 0-0.9= immune, 1-1.9= highly resistant, 2-2.0= resistant, 3-3.9= moderately resistant, 4-4.9= intermediate, 5-5.9= moderately susceptible, 6-6.9= susceptible and more than 7= highly susceptible. The reproductive factor (RF) of the root-knot nematode in the different genotypes was obtained by dividing the final and initial population densities of the nematode (RF = Pf/Pi).Thus, RF≤1, GI≤2 = resistant; RF≤1, GI>2= moderately resistant; RF>1, GI≤2= tolerant and RF>1, GI>2 susceptible.

Results and Discussion: This study results showed that ALYSTE F-1, had the lowest number of gall, egg mass, second stage juveniles and consequently the lowest nematode population and was recognized as moderately resistant cultivar. In terms of the growth indices, ALYSTE F-1 also had the highest growth characteristics and contained a significant difference with other cultivars. Totally, Rutgers, ARYZA F-1, Dutch

1, 2 and 3- Ph.D. Student of Plant Pathology, Professor and Associate Professor, Department of Plant Protection, Faculty of Agriculture, Ferdowsi University of Mashhad, respectively.
(*- Corresponding Author Email: mahdikhani-e@um.ac.ir)
DOI: 10.22067/JPP.2021.32748.0

Mobil, Hungarian Mobil and Early Urbana varieties were introduced as highly susceptible cultivars based on RF and GI. However, Dutch Mobil, Hungarian Mobil and Early Urbana had the highest nematode population and reproduction factor (RF). In terms of the growth traits, the results showed that Rutgers, as a highly susceptible cultivar, was more impressible than other cultivars followed by Dutch Mobil. The cluster analysis based on the sum of the plant growth and nematode reproductive traits showed that ALYSTE F-1 cultivar was distinct from the other cultivars. Thus, the cluster analysis confirmed the results of comparison of the average of the plant growth and nematode reproductive traits.

Conclusion: Based on the results of this study, ALYSTE F-1 was identified as a moderately resistant cultivar to the root- knot nematode, *M. javanica*. and the others were highly sensitive to the nematode.

Keywords: *Meloidogyne javanica*, Nematode reproductive traits, Plant growth traits, Resistance, Tomato cultivars