نشریه حفاظت گیاهان (علوم و صنایع کشاورزی)
جلد ۲۷، شماره ۳، پاییز ۱۳۹۲، ص. ۲۸۵-۲۷۶

Journal of Plant Protection
Vol. 27, No. 3, Fall 2013, P. 276-285

ارزیابی مقاومت برخی ارقام گوجه فرنگی نسبت به نماتد ریشه گرهی (*Meloidogyne javanica*) در شرایط گلخانه

بهاره رمضانی[1*]- عصمت مهدیخانی مقدم[2]- حمید روحانی[3]

تاریخ دریافت: ۱۳۸۹/۸/۲۴
تاریخ پذیرش: ۱۳۹۱/۳/۱۳

چکیده

نماتدهای ریشه گرهی (Meloidogyne spp.) از جمله مهمترین نماتدهای انگل گیاهی مزارع گوجه فرنگی در دنیا و ایران می باشند. گونه M. javanica به طور گسترده ای در مزارع گوجه فرنگی استان خراسان رضوی پراکنده است. جهت ارزیابی مقاومت ۱۲ رقم گوجه فرنگی در دو سطح آلودگی اولیه ۵۰۰۰ و ۱۵۰۰۰ تخم و لارو نماتد در یک کیلوگرم خاک، فاکتورهای تعداد گال و تعداد کیسه تخم در ریشه، تعداد تخم و لارو در خاک، وزن تر و خشک ریشه و ساقه تعیین گردید. در تعیین نهایی واکنش ارقام از سیستم مبتنی بر دو فاکتور تولیدمثل (RF) و شاخص گال (GI) استفاده گردید. نتایج آزمایش ها نشان داد که ارقام از نظر شاخص های مورد بررسی دارای اختلاف معنی دار ($p\leq0/05$) می باشند. رقم Mobil در هر دو سطح آلودگی نسبت به نماتد مقاوم است. ارقام King Rock و Royal در سطح آلودگی ۵۰۰۰ تخم و لارو نماتد در یک کیلو گرم خاک دارای ویژگی فوق حساسیت و با افزایش جمعیت اولیه نماتد به ۱۵۰۰۰تخم و لارو در گروه رقم حساس قرار گرفتند و بقیه ارقام نیز در هر دو سطح آلودگی حساس ارزیابی شدند. به منظور بررسی تغییرات فنل کل ریشه در اثر تلقیح نماتد، چهار رقم از ارقام فوق انتخاب و نمونه برداری از آن ها به صورت روزانه به مدت ۱۲ روز انجام گردید و پس از آماده سازی عصاره ریشه ارقام، میزان جذب نوری در این عصاره ها توسط دستگاه اسپکتروفوتومتر اندازه گیری و بدین ترتیب میزان فنل کل موجود در عصاره ریشه هر رقم بر حسب میکرو گرم بر گرم ریشه محاسبه گردید. تجزیه و تحلیل آماری داده‌ها نشان داد که ارقام در روزهای مختلف پس از آلودگی بوته ها از نظر میزان فنل دارای اختلاف معنی داری ($p\leq0/05$) با شاهد هستند.

واژه های کلیدی: ارقام گوجه فرنگی، حساسیت، فنل کل ریشه، مقاومت، نماتد ریشه گرهی

مقدمه

در میان نماتدهای انگل گیاهی، نماتدهای ریشه گرهی *Meloidogyne* spp. از لحاظ اقتصادی دارای اهمیت بیشتری هستند و محدودکننده کیفیت و میزان تولیدات کشاورزی می‌باشند (۵). این گروه از نماتد ها می‌توانند موجب ۲۴ تا۳۸ درصد خسارت بر روی گیاه گوجه‌فرنگی شوند (۱۳). استفاده از ارقام مقاوم به نماتدها به تنهایی و یا در تلفیق با برنامه های دیگر کنترل ممکن است موثرترین روش باشد که بدین وسیله می توان استفاده از نماتدکش‌های شیمیایی معمول را کاهش داده و یا حتی حذف نمود. این گیاهان مقاوم، مانع استفاده از تناوب های طولانی مدت در بین گیاهان میزبان شده و همچنین برای کشاورزی پایدار در کشورهای در حال توسعه و یا در مورد گیاهان کم ارزش که استفاده از نماتدکش ها اقتصادی نیست، بسیار مناسب می باشد (۵). دیویس و مای (۷) بررسی هایی بر روی ۱۷ رقم پنبه جهت تعیین میزان مقاومت و تحمل به نماتد *Meloidogyne incognita* انجام دادند و دریافتند که تکثیر نماتد در رقم مقاوم ۱۰ درصد رقم حساس می باشد. کمال وانشی و همکاران (۱۴) در سال ۲۰۰۴ واکنش ژرم پلاسم های گوجه فرنگی را در مقابل نماتد ریشه گرهی *M. incognita* ارزیابی نمودند. آن ها ژرم پلاسم های با شاخص گال دو را مقاوم، ژرم پلاسم‌های با شاخص گال سه را با مقاومت متوسط و ژرم پلاسم‌های با شاخص گال ۵-۴ را حساس تا خیلی حساس گزارش نمودند. دروان و الکسی اوغلو (۸) در سال ۲۰۰۴ با غربال گیاهان F_2 گوجه فرنگی برای ژن مقاوم به نماتد ریشه گرهی *M. incognita* ، گیاهان با شاخص گال بیشتر از دو و گیاهان با شاخص گال برابر دو یا کمتر را به ترتیب حساس و مقاوم و گیاهان با ضریب تکثیر صفر و بیشتر از یک را به ترتیب مقاوم و حساس معرفی نمودند.

۱، ۲ و ۳- به ترتیب دانشجوی سابق کارشناسی ارشد، دانشیار و استاد گروه گیاهپزشکی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه فردوسی مشهد
(*- نویسنده مسئول: Email: Ramezanib152@yahoo.com)

احمدی و مرتضوی بک (۱) از سال ۱۳۶۱ تا ۱۳۷۱ عکس العمل حدود ۲۰ رقم گوجه فرنگی را نسبت به *M. javanica* مطابق استانداردهای پروژه بین المللی *Meloidogyne* مورد ارزیابی قرار داده و دریافتند که از بین آنها ۹۸٪ ارقام حساس و فقط ۲٪ دارای نشانه هائی از مقاومت و تحمل بودند. صادق موسوی و همکاران (۳) شش هفته پس از مایه زنی دریافتند که همه ارقام خیار سبز مورد بررسی به غیر از رقم Super duminus (رقم مزرعه ای) نسبت به نژاد یک گونه *M. incognita* حساس می باشند. خدایی اربط (۲) به بررسی چهار رقم گوجه فرنگی در سه سطح آلودگی یک، دو، سه لارو سن دوم در گرم خاک پرداخت و نتایج نشان دهنده وجود اختلاف معنی دار ($p \leq 0/05$) در فاکتورهای شاخص گال و کیسه تخم، جمعیت نهایی نماتد، ضریب تکثیر و فاکتورهای رشدی گیاه بین ارقام بود.

از جمله ترکیباتی که در واکنش دفاعی گیاه در مقابل بیمارگرها دخیل بوده و دارای اهمیت می باشند، ترکیبات فنلی هستند. تغییر ترکیبات فنلی و نقش آنها در ایجاد مقاومت در گیاهان مبتلا به بیماریها مورد مطالعه قرار گرفته و مشخص شده که تجمع مواد فنلی اغلب در ارتباط با واکنش مقاومت است (۱۱). در ارتباط میزبان و عامل بیماریزا و مقایسه ارقام مقاوم و حساس، در بیشتر موارد سرعت تجمع ترکیبات فنلی بعد از ابتلابه بیماری در رقم مقاوم زیادتر از رقم حساس است و یک رابطه خطی مثبت بین مقدار ترکیبات فنلی و مقاومت گیاه وجود دارد (۱۱). فلدمن و هنکس (۱۰) نشان دادند که مقاومت گیاهان حساس به نماتد *Radopholus similis* با میزان ترکیبات فنلی در بافت های این گیاهان ارتباط دارد. اسید کلروژنیک روی نماتد موثر بوده و توانایی دفعی آن و همچنین تنفس آن را مختل نموده و کاهش می دهد و این که ممکن است یک همبستگی میان درجه مقاومت و سطح فنل در گیاهان وجود داشته باشد. سپس در سال ۱۹۷۳ هونگ و رده میزان اسید کلروژنیک را در رابطه با مقاومت ارقام گوجه فرنگی مقایسه کردند و به این نتیجه رسیدند که رقم گوجه فرنگی مقاوم به *M. incognita* میزان بالایی از اسید کلروژنیک در ریشه ها نسبت به رقم حساس دارد (۱۲) .

هدف از این تحقیق، بررسی مقاومت و حساسیت ارقام گوجه فرنگی موجود در استان خراسان رضوی نسبت به نماتد ریشه گرهی گونه *M. javanica* و بررسی تغییرات میزان فنل کل عصاره ریشه برخی از ارقام در اثر تلقیح نماتد بوده است.

مواد و روش ها

انتخاب بذور گوجه فرنگی

جهت تهیه بذور ارقام مختلف گوجه فرنگی به فروشگاه ها و شرکت‌های توزیع کننده بذر در استان مراجعه و ۱۲رقم بذر گوجه فرنگی جمع آوری شده که برخی از خصوصیات آن ها به شرح جدول۱ می‌باشد.

جمع آوری و خالص سازی وتکثیر نماتد

به منظور مطالعه نماتد ریشه گرهی گوجه‌فرنگی در سال ۱۳۸۷ از مزارع آلوده به نماتد که قبلاً شناسایی شده بود، نمونه‌برداری انجام گرفت. این مناطق شامل روستاهای باغون‌آباد و گیزی از توابع شهرستان مشهد بودند. برای به دست‌آوردن یک جمعیت خالص از هر نمونه، ریشه‌های حاوی گره درون پتری حاوی آب قرار داده‌شد و زیر بینوکولار از هر نمونه یک کیسه‌تخم بزرگ انتخاب گردید. کیسه تخم با پنس به آرامی از ریشه جدا و هر تـوده تخـم بطـور جداگانـه درون ویال حاوی آب مقطر قرار داده شد.

جدول ۱ - خصوصیات ارقام مورد استفاده در ارزیابی مقاومت به نماتد ریشه گرهی

ردیف	رقم	متوسط وزن میوه	اندازه بوته	زودرسی	ردیف	رقم	متوسط وزن میوه	اندازه بوته	زودرسی
۱	Karoon	۱۴۰	کوچک	متوسط رس	۷	Mobil	۱۶۰	بزرگ	متوسط رس
۲	Super Queen	۱۵۵	متوسط	زودرس	۸	Kimia F_1	۱۶۰	بزرگ	زودرس
۳	Super Crystal	۱۵۰	متوسط	زودرس	۹	Early Urbana Y	۱۳۰	متوسط	زودرس
۴	Super Stone	۱۵۵	متوسط	زودرس	۱۰	Peto Early CH	۱۵۰	بزرگ	تقریبا زودرس
۵	Super Strain B	۱۴۰	بزرگ	متوسط رس	۱۱	Royal RS	۱۶۰	بزرگ	زودرس
۶	Roma	۱۴۵	متوسط	زودرس	۱۲	KingRock	۱۴۵	متوسط	متوسط رس

با استفاده از محلول هیپوکلریدسدیم ۱٪ به مدت ۳ دقیقه و سپس شستشو با آب مقطر استریل ضدعفونی شده و تخم های حاصل به گلخانه انتقال داده شد. در گلخانه سوسپانسیون تخم نماتد توسط پیپت پاستور سترون مکیده شده و به داخل حفره‌هایی که مجاور یک نشاء گوجه‌فرنگی رقم Red cloud تعبیه شده بود، ریخته‌شدند. گلدان ها حاوی یک کیلوگرم خاک سترون و نشاها در مرحله ۶-۴ برگی حقیقی بودند. پس از مایه‌زنی، آبیاری مختصری صورت گرفت و بعد از آن هر دو روز به صورت مرتب گلدان ها آبیاری شد. بعد از گذشت۶۰ تا۷۰ روز ریشه خارج و برای تشخیص و نیز تکثیر مجدد نماتدها استفاده شدند. تعیین گونه نماتد بر اساس خصوصیات ریخت شناسی و ریخت سنجی شبکه کوتیکولی انتهای بدن ماده بالغ وخصوصیات ریخت سنجی لارو سن دوم و ماده صورت گرفت. پس از شناسایی گونه *M. javanica* ، توده‌های تخم جمع آوری‌شده را ضدعفونی کرده و طبق مرحله قبل مجدداً در گلخانه تکثیر شد تا ایناکولوم کافی برای انجام آزمایش ها موجود باشد.

تعیین واکنش ارقام گوجه فرنگی در اثر تلقیح نماتد ریشه گرهی در شرایط گلخانه

این آزمایش در قالب یک طرح کاملاً تصادفی با سه تکرار و یک شاهد انجام گرفت. برای ارزیابی مقاومت ارقام مورد آزمایش به نماتد ریشه گرهی، ابتدا بذور ارقام در گلخانه درون گلدان کاشته شد. پس از مایه زنی و سپری شدن زمان لازم، فاکتورهای تعداد گال، تعداد توده تخم، جمعیت تخم و لارو در خاک، وزن تر و خشک ریشه و ساقه اندازه گیری شد. شاخص های گال و کیسه تخم تعیین و فاکتور تولید مثل محاسبه گردید و اعداد حاصل با استفاده از نرم افزار SPSS تجزیه آماری گردید و مقایسه میانگین ها با روش دانکن صورت گرفت. درجه بندی نهایی میزان حساسیت و مقاومت بر اساس درصد آلودگی (شاخص گال) و فاکتور تولید مثل انجام گردید. بدین ترتیب بر اساس روش کانتوسانز (۶) ارقام حساس RF بزرگتر از ۱ و GI بزرگتر از ۲، ارقام متحمل دارایRF بزرگتر از۱ و GI کوچکتر یا مساوی ۲، ارقام فوق حساس RF کوچکتر یا مساوی ۱ و GI بزرگتر از ۲ و ارقام مقاوم RF کوچکتر یا مساوی۱ و GI کوچکتر یا مساوی ۲ می باشند.

بررسی محتوای فنل کل در عصاره ریشه ارقام گوجه فرنگی

جهت بررسی میزان فنل کل ریشه چهار رقم Karoon، Super stone، Royal RS و Mobil از ارقام مورد بررسی انتخاب شدند. بذور ارقام ذکر شده پس از ضدعفونی در گلدان هایی حاوی یک کیلوگرم خاک استریل در شرایط گلخانه با دمای ۲۵ تا۲۷ درجه سانتی گراد کاشته شدند. پس از گذشت چند هفته در شرایطی که بوته ها در شرایط ۸- ۶ برگی بودند، تلقیح نماتد صورت گرفت. بدین منظور ابتدا کیسه های تخم نماتد از گلدان هایی که جهت تکثیر در نظر گرفته شده بودند، جدا گردید وپس از طی مراحل ضدعفونی، آن ها را به مدت ۲۴ ساعت در دمای آزمایشگاه قرار داده تا لاروهای سن دوم از تخم خارج شوند. سپس جهت آلودگی تیمارها ۵۰۰۰ تخم و لارو سن دوم نماتد در کنار ریشه گیاهان ریخته شدند. در این آزمایش برای هر رقم سه تکرار و شاهد (بدون تلقیح نماتد) در نظر گرفته شد و نمونه برداری از تیمارها پس از تلقیح به طور روزانه و به مدت ۱۲ روز متوالی انجام گرفت. بدین ترتیب برای استخراج از متانول۸۰٪ اسیدی استفاده شد.۸۰ میلی لیتر متانول به همراه۲۰ میلی لیتر آب مقطر بخوبی مخلوط شده و pH آن با افزودن اسید کلریدریک غلیظ به ۲ رسید. سپس۰/۳ گرم ریشه هر بوته درون هاون چینی و با استفاده از ازت مایع به صورت پودر نرمی ساییده شد. سپس ۳ میلی لیتر متانول۸۰٪ اسیدی (pH=۲) به آن اضافه و به خوبی یکنواخت گردید. محلول حاصل با استفاده از پارچه ململ دو لایه صاف شد و بقایای گیاهی باقیمانده روی پارچه ململ توسط ۰/۹ میلی لیتر متانول۸۰٪ اسیدی شسته و بعد از صاف شدن به محلول اول اضافه شد. نهایتاً عصاره حاصل به مدت پنج دقیقه در g۴۰۰۰ سانتریفوژ و رونشست به عنوان عصاره فنلی در۲۰- درجه سانتی گراد نگهداری گردید. ارزیابی مقدار ترکیبات فنلی در یک گرم بافت ریشه به روش سیورز و دالی (۱۷) با کمی تغییرات و بر اساس تغییر رنگ عصاره فنلی توسط معرف فولین و کربنات سدیم اشباع انجام شد. در یک لوله آزمایش مقدار ۲۱۰۰ میکرولیتر آب مقطر ریخته و۱۵۰ میکرولیتر عصاره فنلی گیاه و۱۵۰ میکرولیتر معرف فولین[1] به آن اضافه و بخوبی مخلوط گردید (محلول حاصل سبز مایل به زرد شد). سه دقیقه بعد از افزودن فولین،۳۰۰ میکرولیتر کربنات سدیم اشباع و۳۰۰ میکرولیتر آب مقطر اضافه و به خوبی مخلوط شد و محلولی به رنگ خاکستری تیره به دست آمد. پس از یک ساعت میزان جذب نور هر لوله در طول موج حداکثر ۷۲۵ نانومتر اندازه گیری گردید.

برای صفر کردن (کالیبره کردن) دستگاه اسپکتروفتومتر از همان محلول بدون عصاره گیاه استفاده شد. جهت تهیه محلول فنل با غلظت‌های استاندارد، ۱۰ میلی گرم اسید کافئیک[2] در ۵ میلی لیتر متانول خالص کاملاً حل گردید و حجم نهایی آن با آب مقطر به۵۰ میلی لیتر رسانده شد. سپس مقادیر۰، ۰/۵، ۱، ۲، ۳، ۴، ۵، ۶و ۸ میلی لیتر از این محلول جداگانه در لوله‌های آزمایش۱۰ میلی لیتری ریخته

1- Folin-ciocalteu's
2- 3,4-Dihydroxy cinnamic acid

و حجم هر لوله با افزودن آب مقطر به۱۰ میلی لیتر رسانده شد. به این ترتیب در۱۵۰ میکرولیتر از محلول هر یک از لوله‌ها به ترتیب صفر، ۱/۵، ۳، ۶، ۹، ۱۲، ۱۵، ۱۸، ۲۴ میکروگرم اسید کافئیک بودند.

برای تهیه منحنی استاندارد، به جای عصاره گیاه حاوی فنل، مقدار۱۵۰ میکرولیتر از محلول اسید کافئیک با غلظت مذکور، به تفکیک به هر یک از لوله ها اضافه گردید و سایر مراحل مانند آنچه توضیح داده شد، انجام گرفت. با استفاده از نرم افزار Excel معادله رگرسیونی خطی بین مقدار اسید کافئیک موجود در نمونه‌ها و جذب نور برقرار و معادله و ضریب تبیین (R^2) تعیین گردید و بدین ترتیب میزان فنل کل نمونه‌ها بصورت میلی گرم اسیدکافئیک در هر گرم وزن تر ریشه گیاه تعیین گردید.

نتایج

ارزیابی و برآورد واکنش ارقام

تعداد و شاخص گال: بین ارقام مختلف در سطح آلودگی ۱۵۰۰۰و۵۰۰۰ تخم و لارو در یک کیلوگرم خاک نماتد اختلاف معنی داری در سطح آماری ۵٪ وجود داشت. با مقایسه میانگین های تعداد گال در ریشه ارقام مشاهده گردید که سطح آلودگی ۵۰۰۰ تخم و لارو نماتد در خاک دارای بیشترین مقدار گال در رقم Karoon بود. در حالیکه در رقمMobil هیچ گره ای مشاهده نشد. با استفاده از آزمون دانکن ارقام از نظر مقدار میانگین گال در ریشه در ۶ سطح آماری قرار گرفتند.

جدول ۲ –نتایج مربوط به مقایسه میانگین تعداد گال های ریشه ارقام گوجه فرنگی با تلقیح ۵۰۰۰ تخم و لارو در یک کیلوگرم خاک

تیمار	۱	۲	۳	٤	٥	٦
Mobil	۰/۰۰					
King Rock	۵۲/۳۳					
Royal R.S.	۸۱/۰۰	۸۱/۰۰				
Super Queen		۱۷۵/۳۳	۱۷۵/۳۳			
Super Stone			۲۶۱/۶۷	۲۶۱/۶۷		
Roma			۲۸۱/۰۰	۲۸۱/۰۰		
Early Urbana Y				۳۶۹/۰۰		
Super Crystal				۳۶۹/۳۳		
Kimia F_1				۳۸۷/۳۳		
Super Strain B					۵۶۸/۳۳	
Peto Early C.H					۵۷۶/۳۳	
Karoon						۷۲۵/۰۰
p-value	۰/۱۸۵	۰/۱۰۶	۰/۰۸۷	۰/۰۵۵	۰/۸۸۸	۱/۰۰۰

اعداد جدول میانگین سه تکرار می باشند. میانگین ها به روش آزمون دانکن مقایسه شده اند .میانگین های یک گروه با احتمال p= 5% اختلاف معنی دار آماری ندارند.

جدول۳–نتایج مربوط به مقایسه میانگین تعداد گال های ریشه ارقام گوجه فرنگی با تلقیح ۱۵۰۰۰تخم و لارو نماتد *Meloidogyne javanica* در یک کیلوگرم خاک

تیمار	۱	۲	۳	٤	٥
Mobil	۴/۳۳				
King Rock		۱۷۲/۳۳			
Royal R.S.		۲۸۷/۰۰	۲۸۷/۰۰		
Super Queen			۳۲۰/۰۰		
Super Stone				۶۲۴/۳۳	
Roma				۶۶۸/۰۰	
Super Crytal				۷۱۰/۰۰	
Kimia F_1					۸۳۳/۳۳
p-value	۱/۰۰۰	۰/۰۸۰	۰/۴۶۸	۰/۱۷۰	۱/۰۰۰

اعداد جدول میانگین سه تکرار می باشند. میانگین ها به روش آزمون دانکن مقایسه شده اند.
میانگین های یک گروه با احتمال p= 5% اختلاف معنی دار آماری ندارند.

با توجه به سیستم تیلور و ساسر (۱۸) در تعیین شاخص گال به رقمMobil شاخص صفر و به ارقام Royal RS و King Rock شاخص چهار و به بقیه ارقام شاخص پنج تعلق می‌گیرد. در سطح آلودگی۱۵۰۰۰تخم و لارو در یک کیلوگرم خاک با مقایسه میانگین ها ملاحظه شد که ارقام در ۵ سطح آماری قرار گرفته و رقم Kimia F_1 دارای بیشترین و رقمMobil کمترین تعداد گال در ریشه بود. بنابر داده های به دست آمده و بر طبق سیستم پیشنهادی تیلور و ساسر (۱۸) رقم Mobil دارای شاخص ۲ و به بقیه ارقام شاخص ۵ تعلق می گیرد.

تعداد و شاخص کیسه تخم: در سطح آلودگی ۵۰۰۰ و ۱۵۰۰۰ تخم و لارو در یک کیلوگرم خاک اختلاف معنی دار آماری در سطح احتمال ۵٪ بین ارقام وجود دارد. در سطح آلودگی اولیه ۵۰۰۰ تخم و لارو نماتد در خاک، ارقام در ۵ سطح آماری قرار گرفتند و بیشترین تعداد کیسه تخم نماتد در ریشه در ارقام Peto Early CHو Super Strain B و کمترین تعداد مربوط به ارقام Mobil، King Rock ، Royal وSuper Queen می باشد. با توجه به میانگین کیسه تخم نماتد در ارقام، رقم Mobil شاخص صفر، King Rock شاخص ۲، Royal RS شاخص ۳، ارقام SuperQueen، Roma، Kimia، SuperCrystal، SuperStone شاخص۴و ارقامKaroon، Peto CH Early، Early Urbana Y و Super Strain B دارای شاخص ۵ می باشند. در سطح آلودگی ۱۵۰۰۰تخم و لارو در یک کیلوگرم خاک ملاحظه می شود ارقام در ۴ سطح آماری قرار می گیرند که بیشترین مقدار مربوط به رقم Super Stone و کمترین آن در ارقام Mobil ، King Rock وRoyal RS مشاهده می شود. شاخص کیسه تخم در این سطح آلودگی با توجه به میانگین ها، رقم Mobil دارای شاخص ۱، King Rock وRoyal RS شاخص ۴ و به بقیه ارقام شاخص ۵ تعلق می گیرد.

جمعیت تخم و لارو در خاک: در هر دو سطح آلودگی اختلاف معنی داری در سطح ۵٪ بین ارقام از لحاظ جمعیت تخم و لارو در خاک وجود دارد. در آلودگی اولیه با ۵۰۰۰ تخم و لارو نماتد در یک کیلوگرم خاک، داده ها در ۸ سطح آماری قرار می گیرند و بیشترین جمعیت در رقم Peto Early CH وکمترین تعداد در ارقام Mobil ،King Rock و Royal RS مشاهده می شود.

در سطح آلودگی اولیه۱۵۰۰۰تخم و لارو در یک کیلوگرم خاک، ارقام در ۵ سطح آماری قرار می گیرند و بدین ترتیب بیشترین جمعیت تخم و لارو نماتد در خاک در رقم Super Stone و کمترین مقدار در رقم های Mobil و King Rock مشاهده شد.

تعیین فاکتور تولید مثل (RF): بین ارقام از نظر میزان تکثیر نماتد اختلاف معنی دار آماری در سطح ۵٪ وجود دارد و تیمارها با آلودگی ۵۰۰۰ تخم و لارو نماتد در یک کیلوگرم خاک ، در ۵ سطح آماری قرار می گیرند.

جدول٤- نتایج مربوط به مقایسه میانگین های تعداد کیسه تخم روی ریشه ارقام گوجه فرنگی با آلودگی اولیه ۵۰۰۰ تخم و لارو نماتد *Meloidogyne javanica* در یک کیلوگرم خاک

تیمار	۱	۲	۳	٤	٥
Mobil	۰/۰۰				
King Rock	۹/۰۰	۹/۰۰			
Royal R.S.	۱۵/۳۳	۱۵/۳۳	۱۵/۳۳		
Super Queen	۶۵/۰۰	۶۵/۰۰	۶۵/۰۰		
Roma		۷۰/۰۰	۷۰/۰۰		
Kimia F_1		۷۴/۰۰	۷۴/۰۰		
Super Crystal			۷۶/۶۶		
Super Stone			۸۲/۳۳		
Early Urbana Y				۱۷۷/۶۶	
Karoon				۱۸۱/۶۶	
Super Strain B				۱۹۴/۰۰	۱۹۴/۰۰
Peto Early CH					۲۴۶/۳۳
p-value	۰/۰۵۰	۰/۰۵۵	۰/۰۵۲	۰/۶۰	۰/۰۸۵

اعداد جدول میانگین سه تکرار می باشند. میانگین ها به روش آزمون دانکن مقایسه شده اند.
میانگین های یک گروه با احتمال 5% =p اختلاف معنی دار آماری ندارند.

جدول۵- نتایج مربوط به مقایسه میانگین های تعداد کیسه تخم روی ریشه ارقام گوجه فرنگی با آلودگی اولیه ۱۵۰۰۰تخم و لارو نماتد *Meloidogyne javanica* در یک کیلوگرم خاک

تیمار	۱	۲	۳	٤
Mobil	۱/۰۰			
King Rock	۳۷/۳۳			
Royal R.S.	۵۵/۶۶			
Super Queen		۱۵۰/۶۶		
Roma		۲۰۴/۳۳	۲۰۴/۳۳	
Super Crystal		۲۰۶/۶۶	۲۰۶/۶۶	
Kimia F_1			۲۳۸/۳۳	
Super Stone				۳۶۳/۳۳
p-value	۰/۱۶	۰/۱۵	۰/۳۸	۱/۰۰

اعداد جدول میانگین سه تکرار می باشند. میانگین ها به روش آزمون دانکن مقایسه شده اند.
میانگین های یک گروه با احتمال p= 5% اختلاف معنی دار آماری ندارند.

جدول٦- نتایج مربوط به مقایسه میانگین های تعداد تخم و لارو نماتد *Meloidogyne javanica* در خاک پس ازآلودگی اولیه ارقام با ۵۰۰۰ تخم و لارو در یک کیلوگرم خاک

تیمار	۱	۲	۳	٤	۵	٦	۷	۸
Mobil	۰/۰۰							
King Rock	۳۳۱۰							
Royal R.S.	۴۱۶۲	۴۱۶۲						
Roma		۸۷۳۳	۸۷۳۳					
Super Crystal			۹۸۵۲					
Kimia F_1			۱۰۴۷۸	۱۰۴۷۸				
Super Queen			۱۲۱۶۹	۱۲۱۶۹				
Super Stone				۱۵۰۱۴	۱۵۰۱۴			
Early Urbana Y					۱۷۲۲۰	۱۷۲۲۰		
Super Strain B						۲۰۶۵۰	۲۰۶۵۰	
Karoon							۲۲۵۷۱	
Peto Early CH								۲۷۹۱۲
Sig.	۰/۰۹	۰/۰۵	۰/۱۷	۰/۰۶	۰/۳۳	۰/۱۴	۰/۴۰	۰/۰۰۱

اعداد جدول میانگین سه تکرار می باشند. میانگین ها به روش آزمون دانکن مقایسه شده اند
میانگین های یک گروه با احتمال p= 5% اختلاف معنی دار آماری ندارند.

و بیشترین مقدار تولید مثل نماتـد در ارقـام Peto Early CH ، Karoon وSuper Strain B و کمترین آن در رقم های Mobil ، King Rock و Royal RS صورت گرفته است. در تیمـار هـایی با آلودگی ۱۵۰۰۰تخم و لارو در یک کیلـوگرم خـاک، داده هـا در ۵ سطح آماری قرار گرفتنـد و بیشـترین میـزان تکثیـر نماتـد در رقـم Super Stoneو کمتـرین آن در ارقـام Mobil و King Rock صورت گرفته است.

بررسی فاکتورهای رشدی

تیمارها در هر دو سـطح آلـودگی از نظرتفـاوت بـا شـاهد دارای اختلاف معنی داری در سطح ۵٪ بودند و در تمام نمونه هـا وزن تـر و خشک ریشه تیمار آلوده نسبت به شاهد افزایش داشته است و از نظـر وزن تر و خشک ساقه تیمار آلوده نسبت به شاهد کاهش یافته بود.

تعیین واکنش ارقام نسبت به نماتد ریشه گرهی

برای ارزیابی واکنش هـای مقاومـت، تحمـل، فـوق حساسـیت و حساسیت ارقام گوجه فرنگی از روش کانتوسانز(۶) اسـتفاده گردیـد در این روش ارقام حسـاس RF بزرگتـر از ۱ و GI بزرگتـر از ۲، ارقـام متحمل دارایRF بزرگتر از۱ و GI کوچکتر یا مساوی ۲، ارقام فـوق حساس RF کوچکتر یا مساوی ۱ و GI بزرگتـر از ۲ و ارقـام مقـاوم RFکوچکتر یا مساوی۱ و GI کوچکتر یا مساوی ۲ می باشند.

جدول۷- نتایج مربوط به مقایسه میانگین های تعداد تخم و لارو نماتد *Meloidogyne javanica* در خاک پس ازآلودگی اولیه ارقام با ۱۵۰۰۰تخم و لارو در یک کیلوگرم خاک

تیمار	۱	۲	۳	٤	٥
Mobil	۵۰۶				
King Rock	۷۸۴۰	۷۸۴۰			
Royal R.S.		۲۰۲۵۷			
Roma			۲۱۸۴۲		
Kimia F_1			۲۴۸۹۵	۲۴۸۹۵پ	
Super Crystal			۲۶۴۱۱	۲۶۴۱۱	
Super Queen				۳۱۵۶۰	
Super Stone					۶۳۸۰
p-value	۰/۰۶	۰/۵۳	۰/۲۶	۰/۱۱	۱/۰۰

اعداد جدول میانگین سه تکرار می باشند.میانگین ها به روش آزمون دانکن مقایسه شده اند میانگین های یک گروه با احتمال p= 5% اختلاف معنی دار آماری ندارند.

جدول۸- نتایج مربوط به مقایسه میانگین های میزان تولید مثل نماتد *Meloidogyne javanica* در خاک پس ازآلودگی اولیه ارقام با ۵۰۰۰ تخم و لارو

تیمار	۱	۲	۳	٤	٥	٦	۷
Mobil	۰/۰۰						
King Rock	۰/۶۶						
Royal R.S.	۰/۸۳						
Roma		۱/۷۴					
Super Crystal		۱/۹۷					
Kimia F_1		۲/۰۹	۲/۰۹				
Super Queen		۲/۴۳	۲/۴۳				
Super Stone			۳/۰۰	۳/۰۰			
Early Urbana Y				۳/۴۴	۳/۴۴		
Super Strain B					۴/۱۳	۴/۱۳	
Karoon						۴/۵۱	
Peto Early CH							۵/۵۸
Sig.	۰/۰۸۰	۰/۱۵	۰/۰۵	۰/۳۱	۰/۱۲	۰/۳۸	۱/۰۰

اعداد جدول میانگین سه تکرار می باشند. میانگین ها به روش آزمون دانکن مقایسه شده اند میانگین های یک گروه با احتمال p= 5% اختلاف معنی دار آماری ندارند.

باتوجه به مطالب فوق در سطح آلودگی ۵۰۰۰ تخم و لارو در یک کیلوگرم خاک در هر گلدان، رقم Mobil با RF= ۰ و GI= ۰رقم مقاوم ، King Rock و Royal RS با RF= ۰/۶۶ و RF= ۰/۸۳ و GI=۴ ارقام فوق حساس و بقیه ارقام با GI= ۵ و RF>۱ حساس به نماتد تشخیص داده شدند.

داده های مربوط به آلودگی۱۵۰۰۰تخم و لارو در یک کیلوگرم خاک در هر گلدان نشان داد که رقم Mobil با RF= ۰/۱ و GI= ۲ رقم مقاوم و بقیه رقم ها با GI= ۵ و RF>1 حساس می باشند.

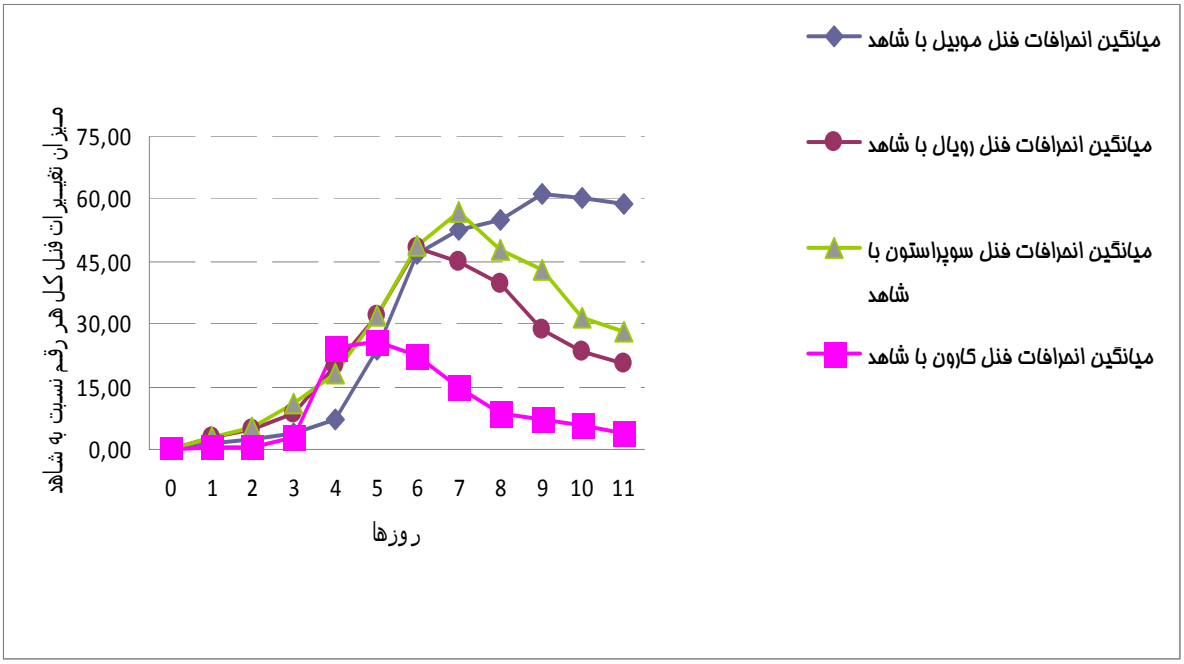
بررسی فنل کل عصاره ریشه ارقام

تیمار های رقم Karoon طی دوره ی آزمایش نسبت به شاهد (Karoon بدون تلقیح با نماتد) اختلاف معنی دار آماری ۵٪ نشان دادند. با توجه به مقایسه میانگین داده ها میزان فنل کل در روزهای اول تا سوم تغییرات جزئی نسبت به شاهد داشتند و از روز سوم تا پنجم این میزان افزایش یافت و بدین ترتیب بیشترین میزان فنل کل در روز پنجم، ۴۱/۷۳ میکروگرم بر گرم بافت ریشه اندازه گیری شد.

جدول۹- نتایج مربوط به مقایسه میانگین های میزان تولید مثل نماتد *Meloidogyne javanica* در خاک پس ازآلودگی اولیه ارقام با ۱۵۰۰۰تخم و لارو در یک کیلوگرم خاک

تیمار	۱	۲	۳	٤	٥
Mobil	۰/۱۰				
King Rock	۱/۵۷	۱/۵۷			
Royal R.S.		۲/۰۵۳			
Roma			۴/۳۶		
Kimia F_1			۴/۹۸	۴/۹۸	
Super Crystal			۵/۲۸	۵/۲۸	
Super Queen				۶/۳۱	
Super Stone					۱۱/۲۷
p-value	۰/۰۶	۰/۵۳	۰/۲۶	۰/۱۱	۱/۰۰

میانگین های یک گروه با احتمال p= 5% اختلاف معنی دار آماری ندارند.



شکل۱- تغییرات فنل کل عصاره ریشه در ارقام مختلف

از روز پنجم تا آخرین روز آزمایش مقدار فنل به تدریج کاهش یافت که این سیر کاهشی طی روزهای پنجم تا هشتم با سرعت بیشتری رخ داد و از روز هشتم پس از تلقیح تا روز یازدهم سیر نزولی آهسته تری را مشاهده کردیم. میزان فنل کل اندازه گیری شده در رقمSuper Stone در روزهای مختلف بین شاهد ها و تیمارها دارای اختلاف معنی دار آماری در سطح ۵٪ می باشند. با توجه به تغییرات مشاهده شده میزان فنل کل تیمارها نسبت به شاهد طی روزهای اول تا هفتم پس از تلقیح نماتد، روند افزایشی داشت و بیشترین اختلاف با شاهد در روز هفتم اندازه گیری شد که مقدار فنل کل در این روز ۸۳/۲۰ میکروگرم بر گرم بافت ریشه تعیین گردید. مقدار فنل در روزهای ششم و هشتم از نظر انحراف از شاهد اختلاف معنی داری با هم نداشتند و روند کاهشی تا روز یازدهم ادامه یافت.

در رقم Royal RS طی دوره ی آزمایش، تیمارها اختلاف معنی دار آماری در سطح ۵٪ با شاهد نشان دادند. میزان تغییرات فنل کل بین تیمارها و شاهد در روزهای اول تا پنجم افزایش یافته و در روز ششم به بیشترین مقدار خود رسید. میزان فنل کل در این روز

۸۴/۴۴ میکروگرم بر گرم ریشه اندازه گیری شد. از روز ششم به بعد مقدار فنل گیاه به تدریج کاهش یافت. تیمارهای رقم Mobil دارای اختلاف معنی دار با شاهد خود با احتمال ۵٪ بودند و افزایش فنل کل در این رقم نسبت به شاهد روند افزایشی در طی دوره نشان داد و بیشترین مقدار فنل در روز نهم، ۱۰۴/۰۷ میکروگرم بر گرم ریشه اندازه گیری شد. میزان فنل گیاه در روزهای نهم و دهم از نظرتغییر نسبت به شاهد تفاوت آماری معنی داری نداشتند.

بحث

مقاومت گوجه فرنگی به نماتدهای ریشه گرهی یک منشا ژنتیکی داشته و بیان گر اثرات ژن های میزبان است که از تکثیر نماتد در گونه های میزبان ممانعت می نماید (۱۹). در این تحقیق صرف نظر از وجود ژن *mi*، عکس العمل ۱۲ رقم گوجه فرنگی متداول در استان نسبت به نماتد *M. javanica* مورد ارزیابی قرار گرفت. جهت تعیین واکنش ارقام از روش های مختلفی از جمله بررسی تعداد و شاخص گال، تعداد و شاخص کیسه تخم و تعیین فاکتور تولیدمثل مورد استفاده قرار گرفت. با توجه به نتایج بین ارقام مورد بررسی، Mobil به عنوان رقم مقاوم به نماتد *M. javanica* تشخیص داده شد. این رقم در هر دو سطح آلودگی دارای RF < ۱ و GI<2 می باشد. ارقام King Rock و Royal RS به دلیل داشتن خاصیت فوق حساسیت هنگامی که آلودگی در حد ۵۰۰۰ تخم و لارو نماتد در یک کیلوگرم خاک باشد، نماتد وارد سیستم ریشه گوجه فرنگی شده ولی تعداد کمتری گال نسبت به رقم حساس ایجاد می شود و در صورت افزایش آلودگی مقاومت خود را از دست داده و در گروه رقم های حساس به نماتد قرار می گیرند. بقیه ارقام مورد بررسی با داشتن RF_{5000}=۱/۷۴-۵/۵۸، RF_{15000} = ۱/۵۷-۱۱/۲۷ و GI>2 حساس تشخیص داده شدند. نتایج حاصل از تحقیقات احمدی و مرتضوی بک (۱) نیز نشان دهنده حساسیت حدود۹۰-۸۵ درصد ارقام گوجه فرنگی مورد بررسی به نماتد *M. javanica* می باشد و برخی از ارقام با افزایش آلودگی مقاومت خود را نسبت به نماتد از دست دادند. شاخص های رشدی در تمامی ارقام نسبت به شاهد دارای اختلاف معنی دار در سطح ۵٪ می باشد و افزایش وزن ریشه های آلوده نسبت به ریشه های سالم احتمالا در اثر هیپرتروفی و هیپرپلازی سلول ها و همچنین افزایش ریشه های فرعی به عنوان واکنش میزبان به نماتد می باشد. نتیجه به دست آمده با نتایج حاصل از تحقیق خدایی اربط (۲) بر روی چهار رقم گوجه فرنگی در سه سطح آلودگی با نماتد *Meloidogyne javanica* مطابقت دارد. مقایسه نتایج این آزمایش با نتایج تحقیقات انجام شده در سایر کشورها به دلیل یکی نبودن ارقام مورد بررسی اندکی مشکل است ولی در حالت کلی می توان نتیجه گرفت که اغلب ارقام گوجه فرنگی به نماتدهای ریشه گرهی حساس می باشند. ارقام مقاومی که طی انجام تحقیقات مختلف معرفی می شوند نیز ممکن است بر اثر تاثیر عوامل محیطی مقاومت آن ها شکسته شود. درجه حرارت یکی از مهمترین عوامل محیطی موثر در پاسخ ارقام گوجه فرنگی به نماتد های ریشه گرهی است. دما بر روی بقاء، پراکنش، تفریخ تخم، مهاجرت و نفوذ نماتد در خاک و ریشه، مراحل تکاملی و بیان علایم در گیاه اثر دارد (۹).

در آزمایش هایی که بر روی میزان تغییرات فنل کل ریشه ارقام گوجه فرنگی بعد از تلقیح نماتد انجام شد با توجه به نتایج حاصل، میان میزان فنل کل عصاره ریشه در تیمار آلوده و شاهد تفاوت معنی دار آماری وجود داشت و بدین ترتیب مواد فنلی به همراه سایر آنزیم ها و مواد دفاعی نظیر پراکسیدازها و پلی فنل اکسیداز در مقاومت علیه نماتدها به صورت سیستمیک دخالت دارند و تغییراتی در مقدار و میزان این مواد در میزبان پدید می آید. این مطلب با نتایج تحقیقات ملکی زیارتی و همکاران (۴) و اوگالو و مک لور (۱۵) هم خوانی دارد. بیشترین میزان فنل عصاره در رقم Mobil ۱۰۴/۰۷، رقم Royal RS ۸۴/۴۴، رقم Super Stone ۸۳/۰۲ و در رقم Karoon ۴۱/۷۳میکروگرم بر گرم ریشه بودکه این نتایج با بررسی های ساسر (۱۶) که بیان نموده در ارقام مقاوم گوجه فرنگی میزان فنل کل بین۱۱۷- ۱۰۷، در ارقام متحمل حدود ۹۷ و در ارقام حساس حدود ۷۹ میکروگرم بر گرم ریشه است تقریباً مطابقت دارد. در تمامی ارقام مورد بررسی با تلقیح نماتد تغییراتی در میزان فنل کل ریشه مشاهده می شود ولی میزان افزایش آن در روزهای مختلف متفاوت می باشد و این موضوع احتمالا به خصوصیات فیزیولوژیکی و سیستم دفاعی هر رقم مرتبط می باشد.

منابع

۱-احمدی ع. و مرتضوی بک الف. ۱۳۸۴. واکنش تعدادی از ارقام گوجه فرنگی به نماتد مولد گره ریشه (*Meloidogyne javanica*). نشریه بیماریهای گیاهی. جلد۴۱، شماره۳ ، صفحات ۴۰۳ تا ۴۱۳.

۲- خدایی اربط ع.، طاهری ع.ح.، پهلوانی م.ه. و نیکنام غ.ر. ۱۳۸۸. ارزیابی مقاومت چهار رقم گوجه فرنگی نسبت به نماتد مولد گره ریشه. مجله پژوهش های تولید گیاهی ، جلد۱۶، شماره۱ ، صفحات۴۵ تا ۵۵.

۳ - صادق موسوی ش.، کارگربیده الف. و دلجو ع. ۱۳۸۵. بررسی عکس العمل تعدادی از ارقام خیار گلخانه ای رایج در ایران نسبت به نماتد ریشه

گرهی،*Meloidogyne incognita*. نشریه بیماریهای گیاهی، جلد ۴۲، صفحات ۲۴۲تا ۲۴۳.

۴-ملکی زیارتی ح.، صاحبانی ن.، رهنما ک. و نوری ن.۱۳۸۶. اثر قارچ *Trichoderma harzianum* در سیستمیک شدن ترکیبات فنلی ایجاد شده در گیاه گوجه فرنگی علیه نماتد مولد گره ریشه *Meloidogyne javanica*. مجله علوم کشاورزی و منابع طبیعی، جلد۱۴، صفحات ۲۵تا۳۳.

۵-نصر اصفهانی م. و احمدی ع. ۱۳۸۴. اثر کودهای آلی شیمیایی روی نماتد *Meloidogyne javanica* در خیار. نشریه بیماریهای گیاهی، جلد ۴۱، صفحات ۱ تا ۱۷.

6- Canto-Saenz M. 1983. The Nature of Resistance to *Meloidogyne incognita* (Kofoid and White 1919) Chitwood 1949. Pp: 160-165. In: Proceeding of third Research and Planning conference on Root-Knot Nematode *Meloidogyne* spp. (Carter, c.c. ed.), 22-26 March, 1982, International *Meloidogyne* Project. Lima, Peru

7- Davis R.F. and May O.L. 2003. Relationship between tolerance and resistance to *Meloidogyne incognita* in cotton. Journal of Nematology, 35(4):411-416.

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(4): 253-257.

9- Dropkin V.H. 1969. The necrotic reaction of tomatoes and other host resistance to *Meloidogyne*: reversal by temperature. Phytopathology, 59:1632-1637.

10- Feldman A.W. and Hanks R.W. 1971. Attempts to increase tolerance of Grapefruit seedlings to the burrowing nematode (*Radopholus similis*) by application of phenolics. Phytochemistry, 10:701-709.

11- Goodman R.N., Kiraly Z. and Wood K.R. 1986. The biochemistry and physiology of plant disease. University of Missouri Press, 433p.

12- Hung C.L. and Rohde R.A. 1973. Phenol accumulation related to resistance in tomtoto infection by root knot and lesion nematodes. Journal of Nematology, 5: 253-258.

13- Javed N., Gowen S.R., Inam-ul-haq M. and Anwar S.A. 2007. Protective and curative effect of Neem (*Azadirachta indica*) formulations on the development of root-knot nematode *Meloidogyne javanica* in roots of tomato plants. Crop Protec., 26: 530-534.

14- 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(1): 94-95.

15- Ogallo J.L. and McClure M.A. 1996. Systemic acquired resistance and susceptibility to root-knot nematode in tomato. Plant Pathology, 86: 498-501.

16- Sasser J.N. 1979. Pathogencity, host ranges and variability of *Meloidogyne*. In: F. Lamberti and C.E. Taylor (eds.) Root-knot nematodes (*Meloidogyne* species) Systemic, Biology and Control (New York: Academic Press), pp: 256 -268.

17- Seevers P.M. and Daly J.M. 1970. Studies on wheat stem rust resistance controlled at the Sr6 locus. 1. The role of phenolic compounds. Phytopathology, 60: 1322-1328.

18- Taylor A.L. and Sasser J.N. 1987. Biology, identification and control of root-knot nematode, (*Meloidogyne* species).A Coop. Publ. Dept. of Pathology North Carolina State University and the US. Agency for Int. Dev. 111 p.

19- Trudgill D.L. 1992. Resistance to and tolerance of plant parasite nematodes in plants. Annual Review of Plant Pathology 29 :167-192.