

واکنش رقم Ch-Falat گوجه فرنگی نسبت به جمعیت‌های مختلف نماتود مولد گره ریشه

* علی خدائی^۱، عبدالحسین طاهری^۲ و کامران رهنما^۳^۱ دانشجوی سابق کارشناسی ارشد بیماری شناسی گیاهی دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی گرگان و مربی بیماری شناسی گیاهی دانشگاه مراغه، ^۲ دانشجویان گروه گیاهپزشکی دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی گرگان

* پست الکترونیک: khd_1@yahoo.com

چکیده

در این تحقیق واکنش رقم Ch-Falat گوجه فرنگی، یکی از ارقام رایج در منطقه، نسبت به جمعیت‌های مختلف نماتود مولد گره ریشه با چهار تیمار [۰ (شاهد)، یک، دو و سه لارو سن دوم به ازای هر گرم خاک] در قالب طرح بلوک‌های کامل تصادفی در ۵ تکرار مورد بررسی قرار گرفت. شاخص‌های وزن تر و خشک ریشه و ساقه، طول ساقه، تعداد کیسه تخم و تعداد گال به ازای هر گرم ریشه، جمعیت نماتود در ریشه و خاک، جمعیت نهایی و ضریب تکثیر نماتود هفت هفته بعد از تلقیح ارزیابی گردیدند. نتایج آزمایش نشان داد که با افزایش جمعیت نماتود فاکتورهای مربوط به نماتود (تعداد گره ریشه و تعداد کیسه تخم به ازای هر گرم از ریشه، جمعیت نماتود در ریشه و خاک، جمعیت نهایی و ضریب تکثیر نماتود) افزایش، ولی فاکتورهای رشدی گیاه (طول ساقه، وزن تر ریشه و ساقه و وزن خشک ریشه و ساقه) کاهش یافته بودند و این رقم در برابر نماتود مولد گره ریشه حتی در پایین‌ترین سطح جمعیتی مورد آزمایش حساس بود.

واژه‌های کلیدی: گوجه فرنگی، نماتود مولد گره ریشه، رقم Ch-Falat.

مقدمه

گوجه فرنگی زراعی با نام علمی *Lycopersicon esculentum* Mill یکی از اعضای خانواده بادنجانیان (Solanaceae) می‌باشد. کشت گوجه‌فرنگی با بسیاری از محیط‌ها سازگار است، به‌طوری که تولید آن از مناطق مرتفع نزدیک خط استوا تا مناطق معتدل دور از آن صورت می‌گیرد. این گیاه به‌طور موفقیت‌آمیزی بر روی انواع خاک‌های شنی تا بافت رسی خوب و نیز خاک‌هایی با محتوای مواد آلی بالا پرورش می‌یابد. محدوده pH خاک از ۵/۵-۷ معمولاً برای بیشتر کشت‌ها مناسب است. گوجه فرنگی را می‌توان در مناطقی با متوسط دمای بالاتر از ۱۶ درجه سانتی‌گراد که دارای حداقل ۳-۴ ماه شرایط آب و هوایی گرم و عاری از یخبندان است، پرورش داد (۳). نماتود مولد گره ریشه در بیشتر مناطق دنیا وجود دارد، اما غالباً به تعداد زیادتر در مناطق با آب و هوای گرم و زمستان‌های کوتاه و ملایم یافت می‌شود (۴). این نماتود در ایران تقریباً در همه جای کشور و بالاخص در شهرستان‌های مرکزی و حاشیه کویر به حد وفور وجود دارد (۲). نماتود *Meloidogyne* spp دارای دامنه میزبانی وسیعی است و می‌تواند بیش از ۲۰۰۰ گونه گیاهی را مورد حمله قرار دهد (۱۷).



علائم این نماتود روی اندام‌های هوایی شامل علائم ناشی از کمبود مواد معدنی، کاهش یا توقف رشد، ریزش زودهنگام برگ‌ها، پژمردگی، پیری زودرس و کاهش تولید محصول می‌باشد (۷). مشخص‌ترین علائم زیرزمینی تشکیل گره است. گره‌های ایجاد شده با این نماتود شامل سلول‌های هیپرتروفی شده احاطه کننده نماتودها می‌باشند و همچنین نماتود باعث تشکیل سلول‌های غول‌آسا در بافت آوندی می‌شود. این سلولها چند هسته‌ای با سیتوپلاسم متراکم هستند که در اثر تکرار میتوز در یک هسته منفرد در درون همان سلول تشکیل می‌شوند.

واکنش ژرم پلاسماهای گوجه‌فرنگی در برابر نماتود مولد گره ریشه *M. incognita* ارزیابی گردیده است (۱۳). گیاهان F2 گوجه‌فرنگی دارای ژن مقاوم به نماتود مولد گره ریشه، *M. incognita* غربال شده است (۱۰). واکنش ارقام گوجه فرنگی به نژاد یک نماتود *M. incognita* مورد بررسی قرار گرفته است (۱۸). ویرولانسی نماتود مولد گره ریشه روی ارقام گوجه فرنگی دارای ژن مقاوم *Mi* بررسی گردیده است (۱۴). واریته‌های نخود سبز مقاوم در برابر *M. incognita* غربال شده‌اند (۵). طی آزمایشات گلخانه‌ای و مزرعه‌ای ارقام گوجه‌فرنگی در برابر نماتود *M. javanica* مورد ارزیابی قرار گرفته‌اند (۱).

هدف از انجام این تحقیق بررسی واکنش رقم *Ch-Falat* گوجه فرنگی کشت شده در استان گلستان در برابر نماتود مولد گره ریشه، *M. javanica* بوده است.

مواد و روش‌ها

بذر رقم *Ch-Falat* گوجه فرنگی از فروشگاه‌های عرضه بذر گیاهی تهیه گردید. این بذور دارای پوشش ضدعفونی کننده نیز بودند. برای کاشت بذور گوجه‌فرنگی خاکی مناسب به نسبت مساوی از خاک برگ، لوم و ماسه (۱:۱:۱) از مزرعه دانشکده کشاورزی گرگان تهیه و کاملاً مخلوط شده و مخلوط حاصل در دمای ۱۲۱ درجه سانتی‌گراد به مدت ۲۰ دقیقه سترون گردید، سپس در جعبه‌های کاغذی مخصوص که با استفاده از هیپوکلریت سدیم یک درصد سترون شده بود، ریخته شده و بذور ارقام مختلف گوجه‌فرنگی در آنها کاشته شدند. بعد از رسیدن به مرحله چهار تا شش برگی، در گلدان‌های سفالی با قطر دهانه و ارتفاع ده سانتی‌متر که با هیپوکلریت سدیم یک درصد (محلول بیست درصد از وایتکس تجارتي) سترون شده و با خاک سترون مذکور در بالا پر شده بود، نشاء گردیده و یک هفته بعد از نشاء (برای جای‌گزینی بوته‌های احتمالی از بین رفته) آماده مایه زنی شدند.

برای تکثیر مایه تلقیح ابتدا از یک گلدان پلاستیکی با قطر دهانه ۱۰ سانتی‌متر استفاده گردید. بدین‌صورت که گلدان فوق با خاک سترون دارای مخلوطی از خاک و ماسه (۱:۱) پر شده و سپس بذور رقم ردکلود (رقمی حساس در برابر نماتود مولد گره ریشه) در آن کاشته شد و بعد از رسیدن به مرحله ۴-۲ برگی از تک توده تخم استخراج شده از گونه *M. javanica* برای مایه‌زنی آن استفاده شد. مایه زنی بدین صورت انجام گرفت که با استفاده از یک میله شیشه‌ای سترون شده خاک اطراف ریشه گیاه به عمق یک سانتی‌متر به آرامی کنار زده شده، مقداری از سوسپانسیون تهیه شده در مجاورت ریشه‌ها قرار گرفت و بعد از دو ماه ریشه‌های گیاه که حاوی گال‌های متعددی بود، در آورده شده و بعد از خرد کردن با خاک سترون مخلوط گردیده و بذور گوجه فرنگی رقم ردکلود در آنها کاشته شد و در نهایت بعد از چهارماه جمعیت زیادی از نماتود مولد گره ریشه بدست آمد.



برای استخراج مایه تلقیح از روش هوسی و بارکر (۱۹۷۳) استفاده گردید. برای تهیه لاروهای سن دوم نematود روش بارکر و همکاران (۱۹۸۵) بکار گرفته شد و سوسپانسیون حاوی تخم در پتری‌دیش‌هایی ریخته شده و در دمای ۲۷ درجه سانتی‌گراد به مدت پنج روز نگهداری شدند.

برای شمارش لاروهای سن دوم محتویات پتری‌دیش هادر یک بشر ریخته شده و حجم سوسپانسیون یادداشت گردید. سپس در سه نوبت بعد از بهم زدن محتویات بشر جهت یکنواخت شدن سوسپانسیون یک میلی‌لیتر از سوسپانسیون برداشته شده و در یک ظرف شمارش ریخته شد و در زیر بینوکلر تعداد تخم‌ها و لاروهای سن دو شمارش گردید. سپس تعداد کل تخم‌ها و لاروهای سن دوم از معادله (۱) بدست آمد:

معادله (۱): تعداد کل لاروهای سن دوم = میانگین لاروهای سن دو در یک ml × حجم کل سوسپانسیون در نهایت حجم سوسپانسیون لازم برای آزمایش ارزیابی ارقام مشخص گردید.

ارزیابی ارقام

با استفاده از یک میله فلزی سترون دو سوراخ به عمق ۲-۱ سانتی‌متری به فاصله یک سانتی‌متری در اطراف طوقه گیاه ایجاد گردیده و نصف سوسپانسیون لازم در هر یک از سوراخ‌ها وارد گردید و دهانه سوراخ‌ها با خاک پر شدند. این آزمایش در قالب طرح بلوک‌های کامل تصادفی با چهار تیمار نematودی (شامل صفر یک، دو و سه عدد لارو سن دوم به ازای هر گرم خاک) و در پنج تکرار انجام گرفت و در نهایت گلدان‌ها در گلخانه‌ای با دمای 25 ± 5 درجه سانتی‌گراد به مدت هفت هفته قرار داده شدند. تجزیه و تحلیل آماری توسط نرم‌افزارهای SAS انجام شد.

شمارش گال‌ها و کیسه‌های تخم با رنگ‌آمیزی ریشه‌ها با استفاده از روش بریج و همکاران (۱۹۸۲) انجام گردید. برای محاسبه جمعیت نematود داخل ریشه از روش هوسی و بارکر (۱۹۷۳) استفاده گردید. به منظور محاسبه جمعیت نematود داخل خاک از روش کوانس و جیسون (۱۹۵۵) کمک گرفته شد.

با استفاده از معادله (۲) فاکتور تولید مثل برای هر یک از تیمارها بر اساس فرمول زیر تعیین گردید.

$$R = PF/PI \quad \text{معادله (۲)}$$

که در آن R^1 فاکتور تولید مثل، PI^2 (جمعیت اولیه) و PF^3 [جمعیت نهایی] جمعیت استخراج شده از خاک + جمعیت استخراج شده از ریشه] می‌باشد.

- 1- Reproduction Rate
- 2- Initial Population
- 3- Final Population



نتایج و بحث

نتایج حاصل در جدول‌های ۱ و ۲ و شکل‌های ۱ و ۲ نشان می‌دهد که تمامی فاکتورهای مرتبط با نماتود به جز جمعیت نماتود در ریشه، بین بلوک‌ها اختلاف آماری معنی‌داری وجود ندارد، در حالی که در بین جمعیت‌های مختلف نماتود در تمامی فاکتورها، اختلاف آماری معنی‌دار ($P < 0.01$) است (جدول ۱). با افزایش جمعیت نماتود از یک به دو و از دو به سه لارو سن دوم در گرم خاک، تمامی فاکتورهای مربوط به نماتود با افزایش همراه بوده‌اند (شکل ۱ و ۲)، به طوری که در مورد فاکتور تعداد گال در هر گرم از ریشه با افزایش جمعیت از یک به دو و از دو به سه لارو سن دوم در گرم خاک، تعداد گال به ترتیب از ۱۹/۴ به ۲۵/۴ و ۵۲/۳ عدد افزایش یافته است. در ارزیابی واکنش ژرم پلاسماهای گوجه فرنگی در مقابل نماتود مولد گره ریشه *M. incognita* ژرم پلاسماهای با شاخص گال دو، مقاوم و ژرم پلاسماهای با شاخص گال سه، دارای مقاومت متوسط و ژرم پلاسماهای با شاخص گال ۴-۵، حساس تا خیلی حساس گزارش گردیده‌اند (۱۳). در بررسی واکنش ارقام گوجه فرنگی به نژاد یک نماتود *M. incognita* ارقام/لاین‌های با شاخص گال بین یک و ۱/۱۶ دارای مقاومت متوسط و ارقام/لاین‌های با شاخص گال ۲/۵ حساس گزارش شده‌اند (۱۸). در غربال گیاهان F2 گوجه فرنگی برای ژن مقاوم به نماتود مولد گره ریشه، *M. incognita* گیاهان با شاخص گال بیشتر از دو و گیاهان با شاخص گال برابر دو یا کمتر به ترتیب حساس و مقاوم و گیاهان با ضریب تکثیر صفر و بیشتر از یک به ترتیب مقاوم و حساس معرفی شده‌اند (۱۰). در انتخاب واریته‌های نخود سبز مقاوم در برابر *M. incognita* ژنوتیپ‌های با شاخص گال ۴-۳/۱، حساس معرفی شدند (۵). در بررسی واریته‌های نخود سیاه و نخود فرنگی به *M. incognita* واریته‌های با شاخص گال ۴-۳/۱، حساس، واریته‌های با شاخص گال ۵-۴/۱، خیلی حساس و ارقام با شاخص گال ۳-۲/۱، با مقاومت متوسط ارزیابی گردیده‌اند (۱۵). در برآورد واکنش کولتیوارهای سویا به نماتود *M. paranaensis*، کولتیوارهای با شاخص گال ۵-۳ حساس معرفی شده‌اند (۱۶).

جدول ۱- آنالیز واریانس صفات مورد مطالعه در بررسی مقاومت رقم *Ch-Falat* گوجه فرنگی به نماتود *M. javanica*

میانگین مربعات						
منابع تغییرات	درجه آزادی	تعداد گال در گرم ریشه	تعداد کیسه تخم در گرم ریشه	جمعیت نماتود در خاک	جمعیت نماتود در ریشه	ضریب تکثیر
بلوک	۴	۶۴/۰۸ ^{ns}	۰/۷۴ ^{ns}	۱۶۹۸۵۹۸/۴ ^{ns}	۱۳۹۰۶/۶۷*	۰/۵۲ ^{ns}
تیمار	۲	۳۰۷۰/۴۴**	۱۸/۷۶**	۳۰۳۳۶۲۵۶۲/۵**	۴۹۰۵۳/۳۳**	۱۰/۶۴**
خطا	۸	۹۵/۶۹	۱/۰۰	۹۴۲۰۹۶/۸	۷۰۱۳/۳۳	۰/۳۵
ضریب تغییرات %		۱۰/۶۹	۷/۷۳	۳/۱۹	۹/۷۲	۳/۸۲

NS: غیر معنی‌دار؛ * معنی‌دار در سطح احتمال ۵ درصد؛ ** معنی‌دار در سطح احتمال یک درصد

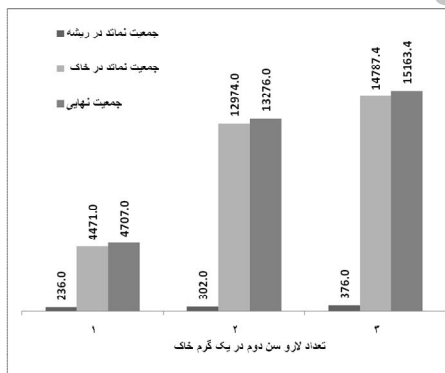


جدول ۲- مقایسه میانگین صفات مورد مطالعه در بررسی مقاومت رقم Ch-Falat گوجه فرنگی به نامتود *M. javanica*

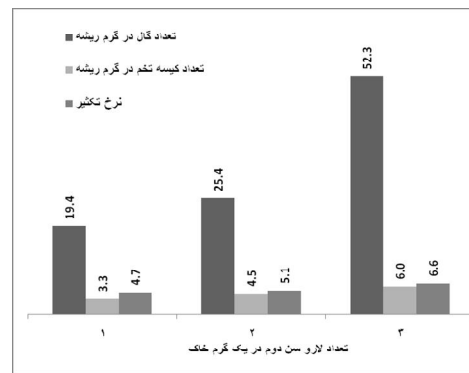
میانگین						
رقم	تیمار	طول ساقه (سانتی متر)		وزن تر (گرم)		وزن خشک (گرم)
		ساقه	ریشه	ساقه	ریشه	ریشه
شاهد(0)		29/0 ± 2/34 a	3/86 ± 0/33 a	1/69 ± 0/14 a	0/38 ± 0/03 a	0/39 ± 0/07 a
*1	Ch-Falat	19/6 ± 1/14 b	2/34 ± 0/27 b	1/31 ± 0/13 b	0/31 ± 0/07 b	0/27 ± 0/04 b
2		18/8 ± 1/6 b	1/67 ± 0/4 c	1/2 ± 0/3 b	0/27 ± 0/05 b	0/15 ± 0/03 c
3		16/2 ± 1/30 c	1/12 ± 0/23 d	0/59 ± 0/07 c	0/20 ± 0/04 c	0/14 ± 0/02 c
LSD (p=0.05)		2/30	0/38	0/24	0/072	0/056

*- تعداد لارو سن دوم بر گرم خاک؛ میانگین های دارای حروف مشترک در هر ستون در سطح احتمال پنج درصد اختلاف معنی داری ندارند؛ اعداد میانگین پنج تکرار بوده و شامل میانگین \pm انحراف استاندارد می باشند.

نتایج نشان داد (شکل ۱) که با افزایش جمعیت از یک و از دو به سه لارو سن دوم به ازای هر گرم خاک به ترتیب افزایش ۳۶ و ۸۱ درصد در تعداد کیسه تخم در هر گرم از ریشه صورت گرفته است. در بررسی تغییر در مقاومت به نامتود مولد گره ریشه *M. incognita* در ژنوتیپ های گوجه فرنگی حاوی ژن Mi با شمارش تعداد کیسه های تخم مشاهده شده است که ضریب تکثیر نامتود در ژنوتیپ های هتروزیگوس نسبت به ژنوتیپ های هموزیگوس، مشابه یا اغلب به طور معنی داری بالاتر بود (۱۲). در مطالعه واکنش کولتیوارهای سویا به نامتود *M. paranaensis* کولتیوارهای با شاخص توده تخم ۵-۴ حساس ارزیابی شده اند (۱۶).



شکل ۲- تاثیر تعداد نامتود روی فاکتورهای جمعیت ریشه، جمعیت خاک و جمعیت نهائی



شکل ۱- تاثیر تعداد نامتود روی فاکتورهای تعداد گال، تعداد کیسه تخم، نرخ تکثیر

نتایج (شکل ۱)، نشان داد که تناسبی بین تعداد کیسه تخم و تعداد گال وجود نداشت که این می تواند ناشی از سپری شدن مدت زمانی بیشتر از مدت زمان لازم برای تکمیل یک نسل نامتود در روی گیاه باشد که باعث رها شدن



نماتودها در خاک گردیده است، زیرا همانطوری که در شکل (۲) ملاحظه می‌شود جمعیت موجود در خاک در مقایسه با جمعیت موجود در ریشه تفاوت بسیار زیادی را نشان دادند.

فاکتورهای رشدی گیاهان شامل وزن تر و خشک ریشه، وزن تر و خشک ساقه و طول ساقه در هر یک از تیمارها بررسی و با شاهد مقایسه گردیدند (جدول ۲). بر اساس جدول فوق با افزایش جمعیت نماتود تمامی فاکتورهای رشدی گیاه کاهش نشان داده‌اند، بطوری‌که فاکتور طول ساقه در تیمارهای یک، دو و سه لاروسن دوم به ازای هر گرم خاک نسبت به تیمار شاهد به ترتیب کاهش ۴۱، ۵۷ و ۸۲ درصد نشان می‌دهد، هر چند که تیمارهای یک و دو لاروسن دوم در هر گرم خاک تفاوت آماری معنی‌داری نداشتند. در بررسی ویروالانس نماتود مولد گره ریشه روی ارقام گوجه‌فرنگی دارای ژن مقاوم Mi اعلام شده است که نماتود *M. javanica* در ارقام با ضریب تکثیر و شاخص گال ۴/۷۳ خیلی مهاجم بوده و پارامترهای رشدی (وزن تر و خشک ریشه و ساقه) با ضریب تکثیر همبستگی منفی داشته‌اند (۱۴).

با توجه به حساسیت این رقم نسبت به نماتود مولد گره ریشه حتی در جمعیت‌های پایین نماتود و کشت وسیع این رقم در استان گلستان توصیه می‌شود که کارشناسان محترم و زارعین عزیز نسبت این موضوع کاملاً حساس بوده و با مشاهده هر گونه آلودگی نسبت به معدوم نمودن آن اقدام لازم را به عمل آورند.

سپاسگزاری

نگارندگان بر خود لازم می‌دانند از آقایان محمدرضا زاهدی و مهندس حسین حقیقی و سرکار خانم مهندس تانیا داوریان به خاطر همکاری‌هایشان کمال تشکر و قدردانی را داشته باشند.

منابع

- ۱- احمدی، ع. و ا.، مرتضوی بک. ۱۳۸۱. معرفی ارقام مقاوم و متحمل گوجه‌فرنگی نسبت به نماتود مولد ریشه *Meloidogyne javanica*. خلاصه مقالات شانزدهمین کنگره گیاهپزشکی ایران. ص ۲۴۷.
- ۲- اعتباریان، ح. ر. ۱۳۷۶. بیماری‌های سبزی و صیفی و راههای مبارزه با آنها. موسسه انتشارات و چاپ دانشگاه تهران. ۵۵۴ ص.
- ۳- بهنامیان، م. و مسیحا، س. ۱۳۸۱. گوجه فرنگی. انتشارات ستوده تبریز. ۱۱۰ ص.
4. Agrios, G.N. 2005. Plant Pathology (Fifth ed.). Elsevier Academic Press, San Diego, USA, 922 pp.
5. Aparajita, B., Choudhury, B.N. and Rahman, M. F. 2004. Screening of greengram varieties for resistance against *Meloidogyne incognita*. Indian Journal of Nematology, 34(2): 216-217.
6. Barker, K.R. Carter, C.C. and Sasser, J.N. 1985. An advanced treatise on *Meloidogyne*. Vol. II. Methodology. A. Coop. Publ. Dep. of plant pathol. North Carolina state Univ. and United state Agency for int. Development. 233pp.
7. Bird, A.F. 1974. Plant response to root-knot nematode. Ann. Rev. Phytopathol. 12:69-84.
8. Bridge, J. Page, S. and Jordan, S. 1982. An improved method for staining nematodes in roots. Rep. Rothamst. exp. Stn. for 1981, Part 1, 171.
9. 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. Proceeding Helminth Soc. Wash. 22, 87-89.



- 10.Devran, Z. and Elekcioglu, I.H. 2004. The screening of F2 plants for the root-knot nematode resistance gene, Mi by PCR in tomato. Turkish Journal of Agriculture and Forestry, 28(4): 253-257.
- 11.Huusey, R.S. and Barker K.R. 1973. A comparison of methods of collecting inocula of *Meloidogyne* spp., including a new technique. Plant Diseases Reporter, 57: 1025-1028.
- 12.Jacquet, M. Bongiovanni, M. Martinez, M. Verschave, P. Wajnberg, E. and Castagnone Sereno, P. 2005. Variation in resistance to the root-knot nematode *Meloidogyne incognita* in tomato genotypes bearing the Mi gene. Plant-Pathology, 54(2): 93-99.
- 13.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.
- 14.Karajeh, M., Abu-Gharbieh, W. and Sameer M. 2005. Virulence of root-knot nematodes, *Meloidogyne* spp., on tomato bearing the Mi gene for resistance. Phytopathologia Mediterranea, 44(1): 24-28.
- 15.Rahman, M.F. Aparajita, B. and Choudhury, B.N. 2004.Screening of some black gram and pigeon pea varieties for resistance against *Meloidogyne incognita*. Indian Journal of Nematology, 34(2): 218-219.
- 16.Roese, A.D. Oliveira, R.D.L. and Lanes, F.F. 2004. Reaction of soybean (*Glycine max* L. Merrill) cultivars to *Meloidogyne paranaensis*. Nematologia Brasileira 28(2): 131-135.
- 17.Sasser, J.N. 1980. Root-Knot Nematodes: a global menace to crop protection. Plant Disease, 64: 36-41.
- 18.Sharma, H.K. Pankaj, S. Pachauri, D.C. and Singh, G. 2004. Reaction of tomato (*Lycopersicon esculentum*) varieties/lines to *Meloidogyne incognita* race-1. Indian Journal of Nematology, 34(1): 93.

