نشریه حفاظت گیاهان (علوم و صنایع کشاورزی)
جلد ۳۲، شماره ۲، تابستان ۱۳۹۷، ص. ۱۸۳-۱۷۳

Journal of Plant Protection
Vol. 32, No. 2, Summer 2018, P. 173-183

ارزیابی عکس‌العمل تعدادی از ارقام سویا نسبت به نماتد ریشه گرهی *Meloidogyne javanica*

طیبه سلیمانی[۱]- مجید اولیاء[۲*]- فریبا حیدری[۳]- محمودرضا تدین[۴]

تاریخ دریافت: ۱۳۹۵/۰۹/۲۹
تاریخ پذیرش: ۱۳۹۶/۱۱/۱۴

چکیده

شناسایی و استفاده از ارقام مقاوم به عنوان یکی از اقتصادی‌ترین و بی‌خطرترین روش‌های مدیریتی در اولویت می‌باشد. در این تحقیق به منظور ارزیابی عکس‌العمل تعدادی از ارقام سویا نسبت به نماتد ریشه گرهی (*Meloidogyne javanica*)، نمونه‌های ریشه آلوده به نماتد ریشه گرهی از یک گلخانه گوجه فرنگی در استان اصفهان جمع‌آوری شده و به آزمایشگاه منتقل شدند. توده تخم منفرد جدا شده از گال‌ها، برای تکثیر در مجاورت ریشه‌های سالم نشاء گوجه فرنگی رقم ps در گلدان‌های حاوی خاک سترون قرار داده شدند. جهت تشخیص و شناسایی گونه نماتد از خصوصیات ریخت‌شناسی و نشانگرهای مولکولی استفاده گردید و با توجه به الگوی خطوط شبکه کوتیکولی انتهای بدن ماده‌های بالغ، تکثیر باند ۶۷۰ جفت بازی از DNA استخراجی از تخم، گونه نماتد *M. javanica* شناسایی گردید. عکس‌العمل ارقام مختلف سویا شامل سحر، الیت، ویلیامز، ۰۳۳، L-17، DPX و JK به این گونه در آزمایشی در قالب طرح کاملا تصادفی با پنج تکرار مورد بررسی قرار گرفت. بدین منظور در مرحله ۵-۴ برگی ارقام سویا، تعداد ۸۰۰۰ تخم در ۲/۵ کیلوگرم خاک اطراف ریشه این گیاهان تلقیح شد. ۸۰ روز پس از تلقیح صفات رشدی و فیزیولوژیک گیاهان شامل وزن تر و خشک ریشه و اندام هوایی به همراه طول ریشه و اندام هوایی، تعداد غلاف در بوته، تعداد دانه در غلاف، وزن دانه، نسبت سطح برگ (LIR)، شاخص سطح برگ (LIA) اندازه‌گیری شد. سپس برای ارزیابی میزان مقاومت ارقام، از سیستم مبتنی بر دو فاکتور تولیدمثل نماتد و میزان آلودگی ریشه استفاده شد. نتایج نشان داد که رقم JK حساس و ارقام الیت و ویلیامز متحمل می‌باشند و چهار رقم ۰۳۳، L-17، DPX و سحر مقاوم شناخته شدند.

واژه‌های کلیدی: سویا، مقاومت، نماتد ریشه‌گرهی

مقدمه

سویا (*Glycine max*) در خانواده Legominosae، و جنس گلایسین طبقه‌بندی می‌شود (۴) و مهم‌ترین گیاه تیره حبوبات در دنیاست که به دلیل مقادیر بالای روغن و پروتئین در دانه، در بین گیاهان زراعی دانه‌ای بی‌رقیب است (۱۴). سویا به عنوان گیاه دانه روغنی در فرآورده‌های غذایی استفاده می شود. کنجاله سویا نیز جهت خوراک انسان یا دام مورد استفاده قرار می‌گیرد. مصرف روغن و کنجاله سویا دو دلیل عمده‌ی گسترش توسعه‌ی این گیاه به عنوان یک محصول اساسی می‌باشد (۴). سطح زیر کشت این گیاه در ایران در سال زراعی ۱۳۸۴-۱۳۸۳ حدود ۸۲۰۰۰ هکتار و میزان تولید آن ۱۲۹۵۳۱ تن برآورد شده است. استان‌های گلستان، مازندران و اردبیل به ترتیب ۶۲/۱، ۳۰ و ۷/۴۴ درصد از سطح زیر کشت این گیاه را به خود اختصاص داده‌اند (۱۴). این گیاه مورد حمله‌ی آفات و بیماری‌های متعددی قرار می‌گیرد. از جمله‌ی این بیماری‌ها می‌توان به نماتد سیست سویا و نماتد ریشه‌گرهی اشاره کرد (۶).

نماتدهای ریشه‌گرهی *Meloidogyne* spp. از نظر اقتصادی مهم‌ترین نماتدهای پارازیت گیاهی در سطح جهان می‌باشند که به اغلب محصولات زراعی حمله می‌کنند (۱۱). پراکندگی جهانی، وسعت دامنه‌ی میزبانی و تعامل با سایر بیمارگرهای گیاهی در کمپلکس بیماری، آن‌ها را به عنوان یکی از ۵ عامل درجه اول بیماری‌زا در رده‌ی مهم‌ترین بیمارگرهای گیاهی، قرار داده است. این موفقیت چشمگیر بیمارگر، باعث کاهش حدود ۵٪ در تولید محصولات کشاورزی درسطح جهان شده و یکی از عمده‌ترین موانع تولید غذای مناسب در بسیاری ازکشورهای در حال توسعه به شمار می‌آید (۳۳). گونه *M. javanica* در سرتاسر جهان پراکنده است و بعد از *M. incognita* دومین گونه مهم نماتد ریشه‌گرهی در جهان است و در ایران مهم‌ترین گونه این نماتد به شمار می‌رود. با توجه به این‌که اغلب روش‌های کنترل نماتدها یا کارآیی لازم را نداشته و یا در برخی موارد نظیر مبارزه شیمیایی برای سلامتی انسان و محیط زیست مضر

۱، ۲ و ۳- به‌ترتیب دانشجوی سابق کارشناسی ارشد، دانشیار و دانشجوی سابق کارشناسی ارشد گروه گیاه‌پزشکی، دانشگاه شهرکرد، ایران
(*- نویسنده مسئول: Email: olia100@yahoo.com)
۴- دانشیار گروه زراعت، دانشگاه شهرکرد، ایران
DOI: 10.22067/jpp.v32i2.60969

www.SID.ir

Archive of SID

شناخته شده‌اند و همچنین حساسیت رقم‌های سویا به یک گونه نماتد معین، به مقدار قابل توجهی متفاوت است. لذا شناسایی و استفاده از ارقام مقاوم به نماتد به عنوان اقتصادی‌ترین و بی‌خطرترین روش‌های مدیریتی امری لازم و ضروری است (۱۹). نیبلاک و همکاران (۲۹) تأثیر شرایط آب و هوایی، سطوح مایه تلقیح نماتد ریشه‌گرهی (*M. incognita*) و ژنوتیپ سویا را برروی برهمکنش نماتد و سویا بررسی کردند. کین‌لوک و همکاران (۲۱)، ۴۱ رقم سویا را برای کشت در خاک‌های آلوده به نماتد ریشه‌گرهی *M. incognita* از نظر میزان محصول و تعداد گال‌های روی ریشه مورد مقایسه قرار دادند و از بین آن‌ها ۱۳ رقم برای کشت در زمین های آلوده مناسب معرفی شدند. کیرک پاتریک و مای (۲۲) مناسبت میزبانی ارقام مختلف سویا برای نماتدهای *M. Incognita* و *M. arenaria* را مورد ارزیابی قرار دادند. در مطالعه‌ای، تعدادی از ارقام سویا از نظر میزان مقاومت به دو نژاد از *M. arenaria* مورد سنجش قرار گرفتند (۲۳). در شمال غربی آرژانتین، میزان مقاومت لاین‌ها و ارقام مختلف سویا به نماتد ریشه گرهی (*M. javanica*) ارزیابی شد و از بین ۱۹ رقم مورد بررسی ۱۰ رقم کمی مقاوم و بقیه حساس بودند (۱۲). مطالعه‌ای در خصوص پاسخ تعدادی از ارقام سویا به نماتد *M. javanica* و نژادهای ۱، ۲، ۳ و ۴ نماتد *M. incognita* صورت پذیرفت (۲۸). اگباجی و اوولولا (۳۰) عکس العمل ارقام سویا به نماتد ریشه گرهی (*M. javanica*) را ارزیابی کردند. تغییرات سه عنصر نیتروژن، فسفر و کلسیم در سویای آلوده به نماتدهای *M. incognita* و *M. javanica* توسط کارنرو و همکاران مورد مطالعه قرار گرفت (۱۰) و اثر کود اوره بر نماتد ریشه گرهی سویا (*M. javanica*) توسط اگو بررسی شد (۱). خالق اوزاما (۲۰) تأثیر سطوح مایه تلقیح نماتد ریشه گرهی (*M. javanica*) را بر رشد و باروری سویا مطالعه کرد. در مطالعه‌ای دیگر، واکنش ارقام سویا و پنبه به جمعیت‌هایی از نماتد *M. javanica* و *M. incognita* در زیمباوه مورد ارزیابی قرار گرفت (۲۴). استیرلینگ و همکاران (۳۵) واکنش ارقام سویا و دیگر لگوم‌ها را به *M. incognita* و *M. javanica* مورد بررسی قرار دادند، به جز رقم استوارت، روی ریشه همه‌ی ارقام سویای مورد مطالعه، گال‌های زیادی ایجاد شد. اگو (۲) اثر کشت مخلوط را روی نماتد ریشه گرهی سویا ارزیابی کرد. بررسی منابع علمی نشان می‌دهد که تاکنون در ایران به ارزیابی برهمکنش نماتد ریشه‌گرهی و سویا پرداخته نشده است. اما، نیاز تولیدکنندگان سویا در راستای کاهش میزان خسارت نماتد ریشه‌گرهی و محدویت استفاده از مبارزه شیمیایی، همچنین، طیف وسیع ارقام مورد استفاده برای کاشت این محصول، جستجوی دقیق تر منابع مقاومت برای شناسایی و معرفی ارقام مقاوم به این نماتد را ضروری می‌سازد. هدف از این پژوهش ارزیابی عکس‌العمل ۷ رقم سویای رایج در ایران نسبت به نماتد ریشه‌گرهی *M. javanica* و معرفی ارقام مقاوم یا متحمل نسبت به این نماتد است.

مواد و روش‌ها

شناسایی گونه و تهیه جمعیت نماتد

جهت تهیه نماتد در سال ۱۳۹۲ نمونه‌های گوجه فرنگی آلوده به نماتد ریشه‌گرهی از یک گلخانه در استان اصفهان جمع‌آوری شد. پس از شستشوی ریشه، تک توده تخم‌ها از آن جدا شده و در روی گوجه فرنگی رقم حساس PS تکثیر گردید. تشخیص ریخت‌شناسی گونه نماتد، پس از تهیه اسلاید دائمی، با استفاده از نقوش انتهای بدن ماده و خصوصیات ریخت‌شناسی و ریخت‌سنجی ماده و لاروهای سن دوم (J_2) صورت پذیرفت. برای شناسایی مولکولی گونه نماتد با استفاده از پرایمرهای اختصاصی، DNA به روش سیلوا و همکاران (۳۳) استخراج گردید. برای انجام واکنش زنجیره‌ای پلیمراز، از یک جفت آغازگر اختصاصی (OPAFjav/OPARjav) معرفی شده توسط زایلسترا و همکاران (۳۹) استفاده شد. پس از شناسایی گونه مورد نظر، جهت تکثیر نهایی برای به دست آوردن جمعیت نماتد، از بوته‌های گوجه فرنگی ۲۰ روزه رقم PS استفاده گردید و پس از گذشت ۶۰ روز جمعیت کافی جهت مایه‌زنی به دست آمد.

ارزیابی ارقام

به منظور ارزیابی مقاومت، ارقام سویا شامل سحر، الیت، ویلیامز، ۰۳۳، L-17، DPX و JK در گلدان‌های ۲/۵ کیلوگرمی خاک شنی لوم (۶۰ ٪ شن، ۲۶ ٪ سیلت و ۱۴ ٪ رس) ضد عفونی شده با متیل بروماید کشت گردیدند. پس از استخراج و ضدعفونی تخم‌ها به وسیله هیپوکلریت سدیم، تعداد ۸۰۰۰ تخم نماتد در نزدیکی ریشه بوته‌های سویا که ۲۷ روز از کاشت آن‌ها می‌گذشت مایه‌زنی شد (۲۶). در طول آزمایش دمای گلخانه بین ۲۲ تا ۳۲ درجه سانتی‌گراد نگه داشته شد. مقدار کلی سبزینگی برگ‌ها پس از گذشت دو ماه از زمان تلقیح با دستگاه کلروفیل‌متر مدل CL-01 اندازه‌گیری شد. پس از گذشت ۸۰ روز از زمان تلقیح، بوته‌های سویا از گلدان بیرون آورده شده و هر یک در تشت بزرگ حاوی آب شستشو داده شدند. وقتی ریشه‌ها کاملا تمیز شدند، در روی کاغذ خشک کن آب آن‌ها گرفته شده و شاخص‌های رشدی گیاه از جمله وزن تر و خشک ریشه و اندام هوایی به همراه طول ریشه و اندام هوایی اندازه‌گیری شد. صفات فیزیولوژیک ارقام سویا از جمله تعداد غلاف در بوته، تعداد دانه در غلاف، وزن صد دانه، LAR (نسبت سطح برگ)، LAI (شاخص سطح برگ) تعیین شد. شاخص‌های آلودگی به نماتد شامل تعداد گال، تعداد توده تخم، تعداد تخم داخل هر توده و تعداد لارو سن دوم در ۱۰۰ گرم خاک که به روش جنکینز (۱۷) از خاک استخراج شدند، اندازه‌گیری شد. شاخص گال و فاکتور تولیدمثل (Rf) نماتد تعیین گردید. فاکتور تولیدمثل از طریق فرمول $Rf = Pf/Pi$ که درآن Rf

www.SID.ir

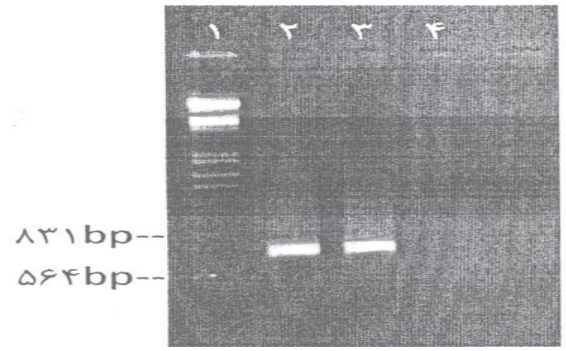
Archive of SID

برابر با فاکتور تولیدمثل، Pf برابر جمعیت نهایی و Pi جمعیت اولیه است، محاسبه گردید (۳) و شاخص گال به روش هاسی و جنسن (۱۶) و براساس سیستم درجه بندی ۵-۰ محاسبه شد. آزمایش به صورت طرح کاملا تصادفی با پنج تکرار پایه‌ریزی و به مرحله اجرا درآمد.کلیه داده‌ها توسط نرم‌افزار آماری SAS در قالب طرح پایه کاملا تصادفی آنالیز شدند. جدول تجزیه واریانس رسم شده و میانگین‌های معنی‌دار شده در سطح احتمال ۵ درصد با استفاده از آزمون Fishers LSD مورد مقایسه قرار گرفت. عکس‌العمل میزبان با توجه به میزان گال ایجاد شده و تولیدمثل نماتد بر اساس سیستم کانتوسنز (۹) ارزیابی شد.

نتایج و بحث

شناسایی گونه

با استفاده از اندازه‌گیری‌های ریخت‌سنجی و بررسی‌های ریخت‌شناسی نماتدهای ماده و مقایسه این مشخصات با منابع (۱۸) گونه مورد نظر شناسایی شد. جفت آغازگر OPAFjav/OPARjav یک قطعه ۶۷۰ جفت بازی را در گونه *M. javanica* تکثیر نمود (شکل ۱) که با نتایج به دست آمده توسط عسکریان و همکاران (۷) مطابقت دارد.



شکل ۱- تکثیر قطعه ۶۷۰ جفت بازی با استفاده از جفت آغازگرهای اختصاصی OPARjav و OPAFjav

Figure 1- Amplification of the 670 bp of PCR product respectively using primers OPAFjav and OPARjav

ارزیابی عکس‌العمل ارقام سویا

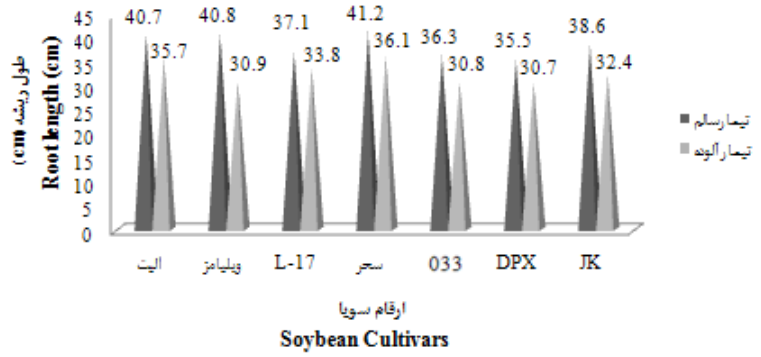
الف) ارزیابی ارقام بر اساس مقایسه صفت‌های رشدی گیاه میزبان

صفات رشدی گیاه میزبان مانند وزن تر و خشک ریشه و اندام هوایی به همراه طول ریشه و اندام هوایی ارقام سویا در تیمارهای شاهد و آلوده به نماتد مورد بررسی قرار گرفتند.

نتایج تحلیل داده‌ها نشان دهندهٔ افزایش طول ریشه‌های سالم ارقام سویا نسبت به ریشه‌های آلوده بوده است و بیشترین طول ریشه را رقم سحر داشته است (شکل ۲). هورمون اکسین، باعث القای ریشه‌زایی می‌شود لیکن، پس از ریشه‌زایی، افزایش غلظت اکسین و در صورت باقی ماندن در ریشه، مانع از رشد ریشه می‌شود. در نتیجه طول ریشه‌های آلوده به نماتد نسبت به ریشه‌های سالم کوتاه‌تر است. با توجه به شکل ۳ می‌توان دریافت که بیشترین وزن تر ریشه را تیمارهای آلوده به نماتد داشته‌اند که با تیمار سالم کاملاً تفاوت معنی داری را داشته است و این افزایش وزن تر ریشه در رقم JK مشهودتر است که با رقم الیت تفاوت معنی‌داری دارد (شکل ۳). همزمان با ورود لارو سن دو نماتد ریشه گرهی به ریشه، نماتد آنزیم پروتئاز را ترشح می‌کند که باعث شکستن پروتئین‌های گیاه میزبان به اسیدهای آمینه می‌شود. افزایش اسیدهای آمینه به خصوص تریپتوفان، که پیش نیاز تولید ایندول استیک اسید است، موجب تجمع اکسین و عدم تعادل هورمونی در محل تغذیه نماتد می‌گردد. در این مکان‌ها به جای رشد طولی سلول‌های پارانشیمی پوست، رشد عرضی اتفاق می‌افتد و موجب هایپرتروفی شده و ایجاد گال یا غده در محل ورود لارو سن دوم می‌کند (۱۵). همچنین افزایش ریشه‌های فرعی (واکنش میزبان نسبت به وجود نماتد) توسط نماتد ریشه‌گرهی، عامل اصلی افزایش وزن در ریشه تیمارهای آلوده می‌باشد. به دلیل اینکه نماتد ریشه‌گرهی دائما باعث تحریک تولید اکسین می‌شود (۸)، بنابراین همیشه در ریشه اکسین وجود دارد. از طرفی، به دلیل اینکه سلول‌های غول‌آسا قسمت زیادی از مواد غذایی تولید شده توسط گیاه را در اختیار نماتد می‌گذارند (۸)، کل سیستم ریشه گیاه با ضعف مواد غذایی روبه رو می‌شود و در نتیجه اختلالات رشدی ایجاد شده، رشد طولی ریشه تیمارهای آلوده نسبت به تیمارهای سالم کاهش می‌یابد. به طبع بیشترین وزن خشک ریشه نیز مانند وزن تر ریشه، مربوط به تیمارهای آلوده است (شکل ۴). همچنین کاهش رشد ریشه را می توان مربوط به اختلالات ایجاد شده در نوک ریشه دانست. زیرا نماتد ریشه گرهی با حمله به نوک ریشه باعث توقف رشد طولی در قسمت های مورد حمله می‌گردد و گیاه را به تولید ریشه‌های فرعی تحریک می‌کند اما با تشکیل ریشه‌های فرعی، نماتد به آن‌ها نیز حمله کرده و از رشد آن‌ها ممانعت می‌کند و به این ترتیب باعث کوتاهی ریشه‌ها می‌گردد (۳۳). در نتیجه کاهش طول ریشه جذب مواد غذایی نیز کمتر می‌شود. از طرف دیگر بخشی از مواد غذایی که توسط ریشه جذب شده توسط نماتدها و قسمتی هم توسط سلول‌های غول آسا مصرف می‌شود. وزن تر و طول شاخساره به دلیل کاهش جذب مواد غذایی و کاهش میانگره‌ها در تیمارهای آلوده کاهش یافت (شکل ۵ و ۶). در مورد وزن خشک ساقه نیز با بررسی آنالیزها می‌توان به این نتیجه رسید که تیمارهای سالم دارای بهترین و بیشترین وزن خشک بوده و از سویی با تیمارهای آلوده تفاوت کاملا معنی‌داری را دارند (شکل ۷).

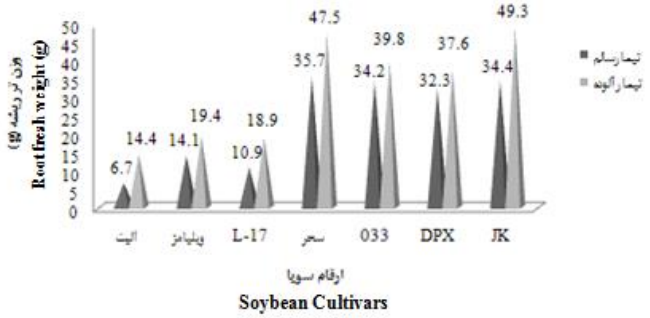
www.SID.ir

Archive of SID



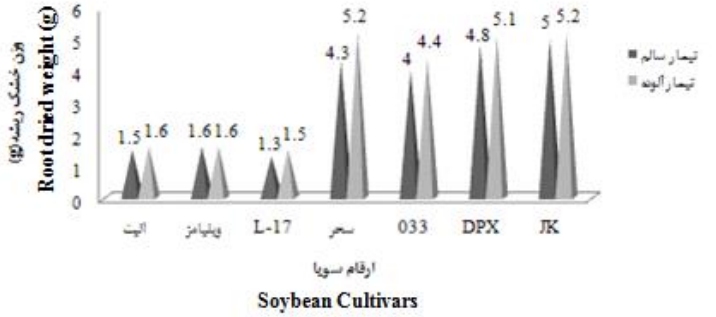
شکل ۲- مقایسه عددی تأثیر تیمارهای سالم و آلوده به نماتد بر طول ریشه ارقام سویا

Figure 2- Mean numeral of effect of healthy and infested by nematode treatments on root length of soybean cultivars



شکل ۳- مقایسه عددی تأثیر تیمارهای سالم و آلوده به نماتد بر وزن تر ریشه ارقام سویا

Figure 3- Mean numeral of effect of healthy and infested by nematode treatments on root fresh weight of soybean cultivars

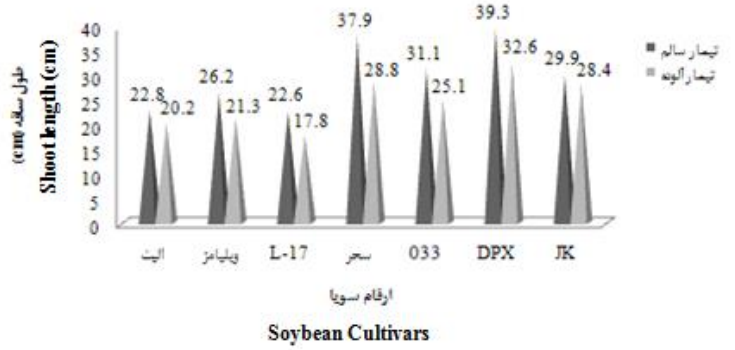


شکل ٤- مقایسه عددی تأثیر تیمارهای سالم و آلوده به نماتد بر وزن خشک ریشه ارقام سویا

Figure 4- Mean numeral of effect of healthy and infested by nematode treatments on root dried weight of soybean cultivars

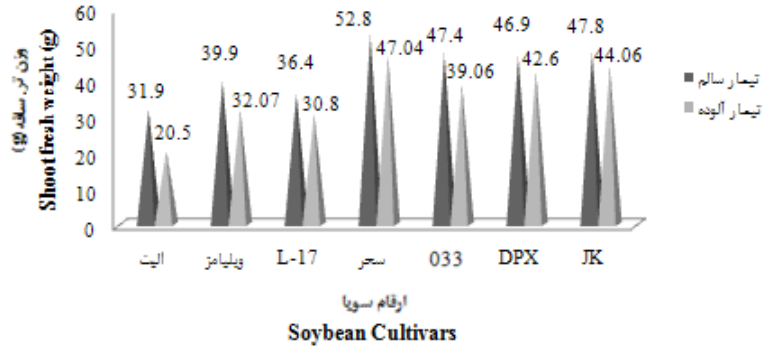
www.SID.ir

Archive of SID



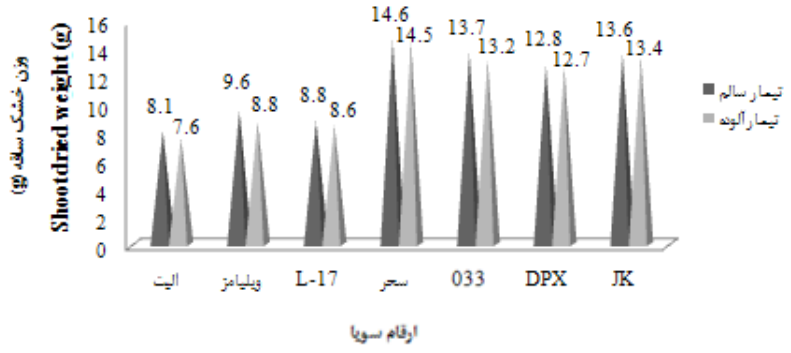
شکل ۵- مقایسه عددی تأثیر تیمارهای سالم و آلوده به نماتد بر طول ساقه ارقام سویا

Figure 5- Mean numeral of effect of healthy and infested by nematode treatments on shoot length of soybean cultivars



شکل ٦- مقایسه عددی تأثیر تیمارهای سالم و آلوده به نماتد بر وزن تر ساقه ارقام سویا

Figure 6- Mean numeral of effect of healthy and infested by nematode treatments on shoot fresh weight of soybean cultivars



شکل ۷- مقایسه عددی تأثیر تیمارهای سالم و آلوده به نماتد بر وزن خشک ساقه ارقام سویا

Figure 7- Mean numeral of effect of healthy and infested by nematode treatments on shoot dried weight of soybean cultivars

ب) ارزیابی ارقام بر اساس مقایسه صفات فیزیولوژیک گیاه میزبان

با بررسی مقایسه میانگین تعداد غلاف در بوته تعیین شد که بین بوته‌های سالم و آلوده به نماتد در صفت مذکور تفاوت معنی‌داری وجود ندارد (شکل ۸). تعداد غلاف در بوته از ویژگی‌های مربوط به رقم گیاه می‌باشد، با توجه به شکل می‌توان دریافت که در هر دو سطح تیمارها، رقم سحر به نسبت سایر ارقام، دارای بیشترین تعداد

www.SID.ir

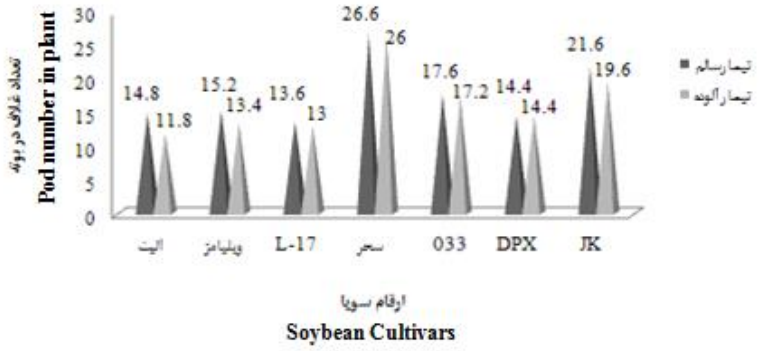
Archive of SID

غلاف در بوته است. ویور و همکاران (۳۸) گزارش کردند که ارقام رشد محدود سویا به علت داشتن شاخه‌های فرعی بیشتر و در نتیجه داشتن مکان‌های تشکیل غلاف افزون‌تر، می‌توانند تعداد غلاف بیشتری در هر بوته تولید کنند. تعداد دانه در غلاف هم صفتی وابسته به ژنوتیپ و تا حد زیادی مستقل از عوامل محیطی می‌باشد و تنش های محیطی خاصی در دوره تشکیل دانه بر آن تأثیر می‌گذارند. ضمن اینکه این قبیل تنش‌ها نیز بیش از آنکه باعث کاهش تعداد دانه در غلاف شوند موجب ریزش گل‌ها و غلاف‌ها و در نتیجه کاهش تعداد غلاف در بوته می‌شوند و اگر در دوره پر شدن دانه رخ دهند کاهش وزن دانه‌ها را در پی دارند (۱۳). در این خصوص نتایج نشان داده است که تعداد دانه در غلاف صفتی کاملا ژنتیکی است که بین ارقام تفاوت معنی‌دار نشان می‌دهد ولی ارقام تحت تأثیر آلودگی به نماتد قرار نگرفته‌اند (شکل ۹). صفت وزن صد دانه در بررسی‌ها تعیین شد که رقم L-17 دارای بیشترین وزن بوده که حتی در تیمارهای آلوده و سالم این رقم، رقم بهتری بوده است (شکل ۱۰). وزن صد دانه صفتی است که وابستگی بیشتری به ویژگی‌های ژنتیکی ارقام دارد و کمتر تحت تأثیر عوامل محیطی قرار می‌گیرد (۲۵). وزن صد دانه جزء با ثبات عملکرد دانه می‌باشد که در اکثر گیاهان زراعی تغییرات آن در حد کم و ناچیز می‌باشد و وزن هر دانه در یک رقم معین، ویژگی تا حدی ثابتی است (۳۲). پونلایت و همکاران (۳۱) نشان دادند که وزن دانه در تنظیم عملکرد دانه جزء مؤثری می‌باشد اما نسبت به سایر اجزای عملکرد از حساسیت کمتری برخوردار است. تیمارهای آلوده دارای میزان بسیار پایینی از کلروفیل بوده که میزان کلروفیل در رقم الیت کمتر از سایر ارقام است (شکل ۱۱). زردی برگ ها از علائم عمومی حمله نماتدها به گیاه می‌باشد. ملاکبرهان و همکاران (۲۷)، کاهش مقدار فتوسنتز را بر اساس کاهش مقدار کلی کلروفیل در گیاه لوبیا می‌دانند. حضور نماتد در کنار گیاه سبب کاهش میزان آب لازم برای گیاه خواهد شد به نوعی که گیاه حالت پژمردگی و کم آبی را در خود نشان می‌دهد و یکی از آثار کم‌آبی، کاهش رشد سلولی و بنابراین کاهش نسبت و حتی شاخص سطح برگ شده است چرا که شاخص سطح برگ برابر است با نسبت سطح برگ به سطح خاک اشغال شده و نسبت سطح برگ برابر است با سطح برگ به وزن خشک برگ (cm^2/g) که این میزان در تیمارهای آلوده بسیار پایین است. از طرف دیگر در تیمارهای سالم در هر دو صفت اندازه گیری شده، رقم سحر دارای بیشترین میزان نسبت و شاخص سطح برگ است (شکل ۱۲ و ۱۳). از آنجایی که ریشه‌های آلوده نمی‌توانند وظیفه خود را به خوبی انجام دهند و کم آبی در گیاه به وجود می‌آید، بنابراین گیاه برای حفظ بقا و فرار از تنش کم آبی مکانیسم‌هایی را به کار می گیرد. برگ‌ها ممکن است سرعت تعرق و دریافت انرژی ناشی از تابش خورشید را بوسیله لوله‌ای شدن کاهش دهند. یکی از اثرات دیگر کم آبی، کاهش رشد سلولی و در نتیجه کاهش گسترش سطح برگ است (۳۶). وقتی گیاهان با کم آبی مواجه می‌شوند، انعطاف‌پذیری دیواره سلول‌های در حال رشد برگ‌ها و ساقه‌ها عمدتا کم شده و با کاهش تورژسانس سلولی توسعه سلول و در نتیجه رشد برگ کاهش می‌یابد (۵).

ج) ارزیابی ارقام بر اساس شاخص‌های آلودگی به نماتد

میانگین‌های به دست آمده برای هر رقم با آزمون Fishers LSD مقایسه شدند که نتایج آن در جدول ۱ آمده است. همان‌طور که در این جدول دیده می‌شود رقم JK بیشترین و رقم سحر کمترین میزان جمعیت نهایی نماتد را دارا هستند.

برای ارزیابی میزان مقاومت ارقام از دو فاکتور تولید مثل و شاخص گال استفاده شد (جدول ۲).

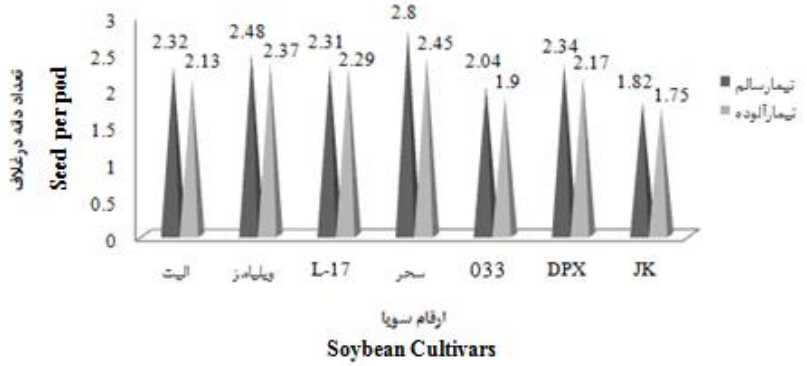


شکل ۸- مقایسه عددی تأثیر تیمارهای سالم و آلوده به نماتد بر تعداد غلاف در بوته ارقام سویا

Figure 8- Mean numeral of effect of healthy and infested by nematode treatments on pod number in plant of soybean cultivars

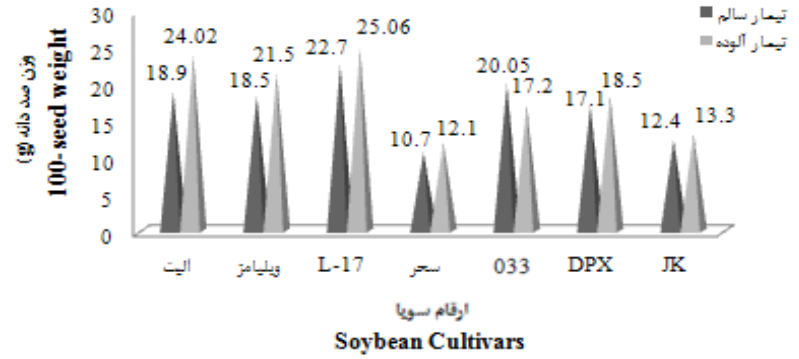
www.SID.ir

Archive of SID



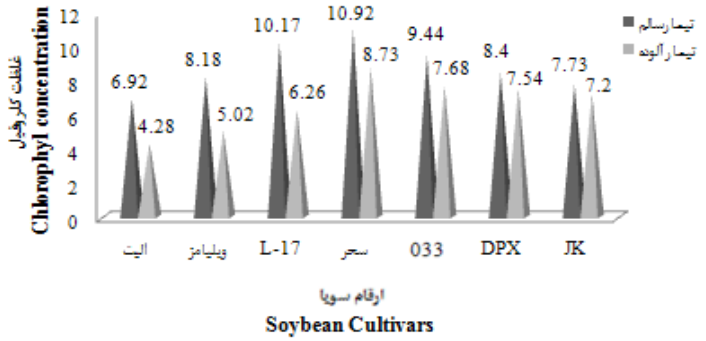
شکل ۹- مقایسه عددی تأثیر تیمارهای سالم و آلوده به نماتد بر تعداد دانه در غلاف ارقام سویا

Figure 9- Mean numeral of effect of healthy and infested by nematode treatments on seed per pod of soybean cultivars



شکل ۱۰- مقایسه عددی تأثیر تیمارهای سالم و آلوده به نماتد بر وزن صد دانه ارقام سویا

Figure 10- Mean numeral of effect of healthy and infested by nematode treatments on 100- seed weight of soybean cultivars

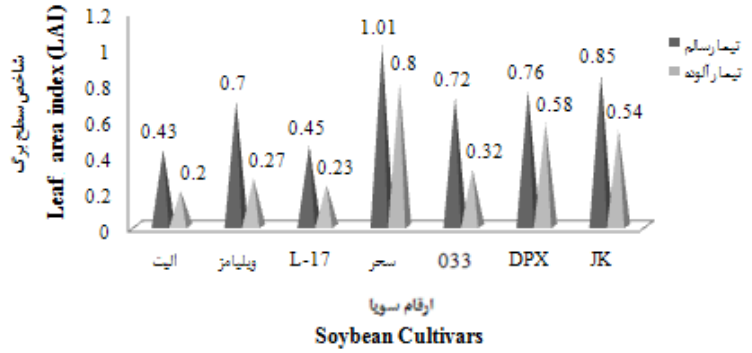


شکل ۱۱- مقایسه عددی تأثیر تیمارهای سالم و آلوده به نماتد بر غلظت کلروفیل ارقام سویا

Figure 11- Mean numeral of effect of healthy and infested by nematode treatments on chlorophyll concentration of soybean cultivars

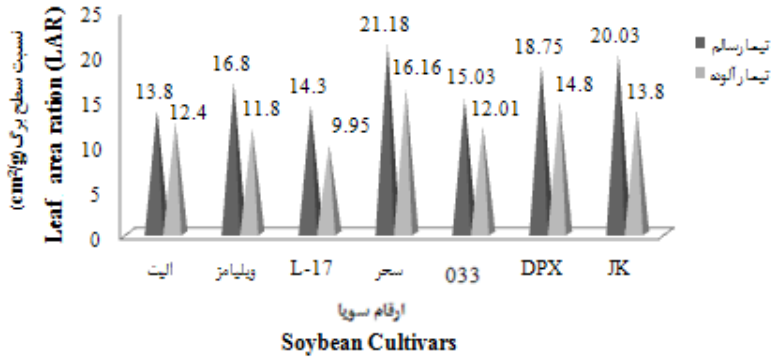
www.SID.ir

Archive of SID



شکل ۱۲- مقایسه عددی تأثیر تیمارهای سالم و آلوده به نماتد بر شاخص سطح برگ ارقام سویا

Figure 12- Mean numeral of effect of healthy and infested by nematode treatments on leaf area index of soybean cultivars



شکل ۱۳- مقایسه عددی تأثیر تیمارهای سالم و آلوده به نماتد بر نسبت سطح برگ ارقام سویا

Figure 13- Mean numeral of effect of healthy and infested by nematode treatments on leaf area ration of soybean cultivars

جدول ۱- مقایسه میانگین شاخص‌های نماتد ریشه گرهی *Meloidogyne javanica* در ارقام سویا

Table 1- Mean comparison of effect of treatments on the indices of the root-knot nematode *Meloidogyne javanica* in soybean cultivars

تیمار ارقام Cultivars Treatment	تعدادگال در یک گرم ریشه No. of gall/1 g root	تعداد توده تخم در یک گرم ریشه No. of egg mass/ g root	تعداد تخم در توده تخم No. of Egg/egg mass	جمعیت لارو سن دوم در ۱۰۰ گرم خاک J_2/100 g soil	جمعیت نهایی Final population	فاکتور تولید مثل Reproductive factor	شاخص گال Gall Index
JK	37 a	381.4 a	5.6 a	70.2a	90981.2 a	11.37 a	2.65a
الیت (Elit)	11.4bc	176 b	3.8 b	57.2 ab	8700b	1.088 b	0.9bc
ویلیامز (Williams)	16.8b	61.06 b	3 bc	55.2 a	8620 b	1.08b	1.3b
L-17	17.6b	154 b	2.6 c	46.6 bc	7150 c	0.89c	1.36b
۰۳۳ (033)	13.4bc	71.2 c	1 d	44.6 bc	3120 e	0.38e	1.06bc
DPX	14.2bc	101.4 c	1.2 d	39.2 bc	3690 d	0.46d	1.1bc
سحر (Sahar)	8.2c	0 d	0 e	32.6 c	9910 f	0.00f	0.6c

اعداد میانگین پنج تکرار هر تیمار می‌باشند؛ ستون‌های دارای حروف مشابه در سطح ۵ درصد بر اساس آزمون Fishers LSD دارای اختلاف معنی‌دار نیستند

Data are means of five replicates; Bars with the same letters are not significantly different at 5% level according to Fishers LSD test

www.SID.ir

Archive of SID

جدول ۲- ارزیابی ارقام بر اساس سیستم کانتو سنز (۱۹۸۵)

Table 2- Evaluate of cultivars on Canto-Saenz (1985)

تیمار ارقام Cultivars treatment	فاکتور تولید مثل Reproductive factor	شاخص گال Gall index	درجه مقاومت Resistance grade
JK	11.37	2.65	Sensitive
الیت (Elit)	1.088	0.9	Tolerance
ویلیامز (Williams)	1.08	1.3	Tolerance
L-17	0.89	1.36	Resistance
۰۳۳ (033)	0.38	1.06	Resistance
DPX	0.46	1.1	Resistance
سحر (Sahar)	0.00	0.6	Resistance

بر این اساس رقم JK با داشتن بیشترین شاخص گال و فاکتور تولید مثل، نسبت به نماتد *M. javanica* حساس بوده و دو رقم الیت و ویلیامز به ترتیب با داشتن ۰/۹ و ۱/۳ شاخص گال، متحمل بوده و ارقام L-17، ۰۳۳، DPX و سحر مقاوم به این نماتد شناخته شدند. در واقع معیار بسیار مهمی که بتوان بر اساس آن تعیین کرد که کدام رقم گیاه نسبت به نماتدهای ریشه گرهی بیشترین یا کمترین مقاومت را دارد، شاخص‌های گال و میزان زادو ولد نماتد ماده است. نظر به جدول فوق می‌توان دریافت که مقاوم‌ترین رقم سویا نسبت به نماتد ریشه‌گرهی *M. javanica*، رقم سحر می‌باشد که بر اساس تعریف رقمی مقاوم است که عامل بیمارگر توان تولید مثل و تکثیر را در گیاه میزبان نداشته باشد که در این مطالعه نیز در رقم سحر این موضوع مشهود و نمایان بوده است. نتایج حاصل از تحقیقات انجام شده در سایر کشورها نشان داده است ارقام SPS 5x9 RR ،EEAOC 1 ، SRM 4901 RR ،EEAOC 2 ،SRM 6900 RR ،DM 8473 RR ،EEAOC 3 ،EEAOC 4 ،EEAOC 5 و Potencia نسبت به نماتد *M. javanica* کمی مقاوم و واریته‌های TJ 2175 RR، DM 8576 RR ،EEAOC 6 ،RA 744 RR ،Munasqa RR ،TJ 2264 RR ،EEAOC 7 ،NS 7211 RG و EEAOC 8 حساس هستند (۱۲). در آزمایشی که توسط مندس و رودریگوئز (۲۸) انجام شد، ارقام GOBR-25، BR-30، EMGOPA-306، BR-29، FT-Cometa، MSBR-34 و Palmetto نسبت به نماتد *M. javanica* مقاوم معرفی شدند. در مطالعات اگباجی و اوولولا (۳۰) سه رقم میان‌رس TGX 536-02D، TGX 539-5E و TGX 297-10F نسبت به نماتد *M. javanica* مقاوم شناخته شدند. کاتیوایو و همکاران (۲۴)، نشان دادند ارقام Gazelle، Viking، Soma، Soprano، Solitaire، SNK 60، Storm وPrima نسبت به نماتدهای *M. javanica* و نژادهای ۱ و ۳ *M. incognita* حساس‌اند و رقم A 7119 تنها به نژاد ۱ *M. incognita* مقاوم می‌باشد. نتایج پژوهش حاضر نشان داد که بین ارقام مختلف سویا درجات متفاوتی از حساسیت، تحمل تا مقاومت به نماتد ریشه‌گرهی وجود دارد. این موضوع نشان می‌دهد که پژوهشگران می‌توانند با اصلاح و اصول به‌نژادی، ارقام متحمل و یا مقاوم به نماتد سویا را تولید نمایند و کشاورزان می‌توانند با انتخاب ارقام مقاوم سویا به نماتد ضمن کاهش خسارت این آفت به گیاهان و جلوگیری از کاهش عملکرد، از بکارگیری روش‌های شیمیایی کنترل نماتد اجتناب نمایند. این موضوع با توجه به اینکه تاکنون در ایران مطالعه‌ای در این خصوص صورت نگرفته است، اهمیت بیشتری دارد. با توجه به اهمیت مقاومت به نماتد ریشه‌گرهی پیشنهاد می‌گردد که تعداد واریته‌های بیشتری از گیاه سویا نسبت به نماتد ریشه‌گرهی مورد ارزیابی قرار گیرد تا ارقام مقاوم شناخته شده و به کشاورزان معرفی گردند و یا در برنامه‌های اصلاحی به عنوان منابع مقاومت به این نماتد استفاده شوند.

سپاسگزاری

بدین‌وسیله از آقای دکتر علی اکبر فدایی تهرانی، دانشیار دانشکده کشاورزی دانشگاه شهرکرد که در انجام این تحقیق کمک شایانی نمودند، تشکر و قدردانی می‌شود.

منابع

1- Ago C.M. 2002. Effect of Urea Fertilizer on Root-Gall Disease of *Meloidogyne javanica* in Soybean *(Glycine max* (L.) *Merril)*. Sustainable Agriculture, 20:95-100.

2- Ago C.M. 2008. Effects of intercropping on Root-Gall Nematode Disease on Soybean *(Glycine max* (L) *Merril)*. Vol.

www.SID.ir

Archive of SID

I. New York Science Journal.
3- Alan Walter S., Wehner T.C., and Barker K.R. 1999. Green house and field resistance in cucumber to root-knot nematode. Nematology, 1:279-284.
4- Amani F. 2006. Effects of sulfur on the gland packing, biological nitrogen fixation and absorption of some nutrients in two soybean cultivars. Thesis of Soil Sciences. Faculty of Agriculture. Shahrekord. (In Persian).
5- Amarjit S., and Basra R. 1958. Mechanisms of environmental stress resistance in plants. Thenetherlands by Harwood Academic Publishers.
6- Arthur Geoffrey N. 1950. Soybean Physiology agronomy and utilization. New York: Academic Press.
7- Asgarian H., Sharifnabi B., Olia M., Mehdikhani-moghadam A., and Akhavan A. 2009. Identified *Meloidogyne javanic*a by using f morphological and morphmeterical and speces specific primers in Kerman. Journal of Science and Technology of Agriculture and Natural Resources, 47: 279-289. (In Persian).
8- Berg R.H., and Tylor C.G. 2008. Cell biology of plant nematode Parasitism. Heidelberg. Germany.
9- Canto-Saenz M. 1985. The nature of resistance to *M. incognita*. In: J.N. Sasser and C.C. Carter (Eds.), an advanced treaties on *Meloidogyne*. Vol. I. North Carolina State University Graphics, Raleigh, USA, pp: 225-231.
10- Carneiro R.G., Mazzafera P., Ferraz L.C.C.B., Muraoka T., and Trevelin P.C.O. 2002. Uptake and translocation of nitrogen, phosphorus and calcium in soybean infected with *Meloidogyne incognita* and *M. javanica*. Fitopatologia Brasileira, 27:141-150.
11- Chen P., and Robert P.A. 2003. Virulence in *Meloidogyne hapla* differtiat by resistance in root-knot nematode. International Nematology Network Newsletter, 7:13-14.
12- Coronel N.B., Devani M.R., Ledesma F., and Sanchez J.R. 1998. Evaluation for resistance in soybean breeding lines and cultivars to *Meloidogyne javanica* in Northwest Argentine.
13- Egli D.B. 1975. Rate of accumulation of dry weight in seed of soybeans and its relationship to yield. Can. J. Plant, 55: 215-219.
14- Heydari R., Pourjam A., tanha-maafi Z., and Safai N. 2008. Evaluation of some common soybean cultivars to the major type of the soybean cyst nematode of Iran, *Heterodera glycines* HG Type 0. Iranian Journal of Plant Pathology, 44: 319-329. (In Persian).
15- Hirshmann H. 1985. The genus *Meloidogyne* and morphological characters differentiating its species. In: Sasser J.N. and Carter C.C. (eds), An University Graphics, pp: 79-93.
16- Hussey R.S., and Jenssen G.J.W. 2002. Root-knot nematodes: *Meloidogyne* species. In: Starr J.L. Cook R. and Brige j. (eds), Plant resistance to parasitic nematodes, CAB International, pp. 69-76.
17- Jenkins W.R. 1964. A rapid centrifugal-floatation technique for separating nematode from soil. Planta disease, 48:692-700.
18- Jepson S.B. 1987. Identification of root-knot nematode (*Meloidogyne* species). C.A.B. International, Wallingford, Oxon, United Kingdom, pp: 265.
19- Kaplan D. 1982. Plant resistance to nematode symposium introduction. Nematology 14:1-2.
20- Khalequzzaman K.M. 2003. Effect of Inocula Levels of *Meloidogyne javanica* and *Sclerotium rolfsii* on the Growth, Yield and Galling Incidence of Soybean. Plant Pathology Journal, 2:56-64.
21- Kinloch R.A., Hiebsch C.K., and Peacock H.A. 1987. Evaluation of soybean cultivars for production in *Meloidogyne incognita-infested soil.* Annals of applied Nematology, 1: 32-34.
22- Kirkpatrick T.L., and May M.L. 1989. Host suitability of soybean cultivars for *Meloidogyne incognita* and *M. arenaria.* Supplement to Journal of Nematology, 21: 666-670.
23- Koening S.R., and Barker K.R. 1992. Field evaluation of selected soybean cultivars for resistance to two races of *Meloidogyne arenaria.* Supplement to journal of Nematology, 24: 735-737.
24- Kutywayo V., Kutywayo D., and Gwata E. 2006. Reaction of cotton and soybean cultivars to populations of *Meloidogyne javanica* and *M. incognita* in Zimbabwe. Journal of Food, Agriculture & Environment, 4:223-227.
25- Lafond G.P. 1994. Effects of row spacing, seeding rate and nitrogen on yield of barley and wheat under zero-tillmanagement. Can. Plant Sci., 74:703-711.
26- Maleki Ziarati H., Roostai A., Sahebai N., Etebarian H., and Aminian H. 2010. Study of Biological Control of Root-Knot Nematode, *Meloidogyne javanica* (Trube) Chitwood, in Tomato by *Trichoderma harzianum* Rifai in Greenhouse and Quantitative Changes of Phenolic Compounds in Plant. Seed and Plant Production Journal, 2:1-25. (In Persian with English abstract)
27- Melakeberhan H., Webster J.M., Brooke R.C., Dauria J.M., and Cackette M. 1987. Effect of *Meloidogyne incognita* on plant nutrient concentration and its influence on the physiology of beans. Journal of Nematology, 19:324-330.
28- Mendes M., and Rodriguez P.B.N. 2000. Remove from marked records reaction of soybean cultivars to *Meloidogyne javanica* and *M. incognita* races 1, 2, 3 and 4. Nematologia Brasileira, 24: 211-217.
29- Niblack T.L., Hussey R.S., and Boerma H.R. 1986. Effects of Environments, *Meloidogyne incognita* Inoculum Levels, and *Glycine max* Genotype on Root-knot Nematode-Soybean Interactions in Field Microplots. J Nematol, 18:338-346.
30- Ogbuji R.O., and Awolola T.A. 2001. Studies on the reactions of soybean cultivars to the root-knot nematode,

www.SID.ir

Archive of SID

Meloidogyne javanica infections and their nodulation ability in the soil. Agro-Science, 1: 63-66.
31- Penleit C.G., Egli D.B., Cornelius P.L., and Reikosky D.A. 1980. Variation and association of kernel growth characteristics in maize populations. Crop Sci., 20:766-770.
32- Robert K. M., Hay J., and Porter R. 2006. The Physiology of Crop Yield. New York.
33- Sadegh-moosavi Sh., Karegar A., and Deljo A. 2006. Responses of some common cucumber cultivars in Iran to root-knot nematode, *Meloidogyne incognita*, under greenhouse conditions. Iranian Journal of Plant Pathology, 42: 241-252. (In Persian).
34- Silva A.T., Penna J.C.V., Goulart L.R., Santos M.A., and Arantes N.E. 2000. Genetic variability among and within races of *Heterodera glycines* ichinohe assessed by RAPD markers. Genet. Mol. Biol., 23: 323-329.
35- Stirling G.R., Berthelsen J.E., Garside A.L., and James A.T. 2006. The reaction of soybean and other legume crops to root-knot nematodes (*Meloidogyne* spp.), and implications for growing these crops in rotation with sugarcane. Australasian plant pathology, 30:707-714.
36- Tadayon M.R. 2009. Physiological responses of plants to environmental stresses. Publishers of shahrekord university, Iran.
37- Walters S.A., Wehner T.C., and Barker K.R. 1999. Greenhouse and field resistance in cucumber to root-knot nematode. Nematology, 1: 279-284.
38- Weaver D.B., Akridge R.L., and Thomas C.A. 1991. Growth habit, planting date and row spacing effects on late planted soybean. Crop Sci., 31: 805-810.
39- Zijlstra C., Donkers-Venne T.M., and Fargette M. 2000. Identification of *Meloidogyne incognita*, *M. javanica* and *M. arenaria* using sequence characterized amplified region (SCAR) based PCR assays. Nematology, 2: 847-853.

www.SID.ir