

تأثیر دما، مرحله رشدی و زه‌آب گیاهان میزبان و غیرمیزبان روی میزان تفریخ تخم نماتد سیستی کلم (*Heterodera cruciferae*)

Effect of temperature, life stage and soil drainages of host and non-host plants on hatching of cabbage cyst nematode, *Heterodera cruciferae*

حبیبه جباری^۱، غلامرضا نیکنام^{۲*}، سیدابوالقاسم محمدی^۳، زهرا تنهامعافی^۴

(تاریخ دریافت: ۱۳۹۳/۸/۲۰؛ تاریخ پذیرش: ۱۳۹۳/۱۱/۱۱)

چکیده

اثر دما، مرحله رشدی گیاه میزبان و زه‌آب گیاهان میزبان (کلم قمری و کلم برگ) و غیرمیزبان (کاهو) در مراحل رشدی مختلف و در شرایط دمایی مختلف شامل ۵، ۱۰، ۱۵، ۲۰ و ۲۵ درجه سانتی‌گراد بر تفریخ تخم نماتد سیستی کلم (*Heterodera cruciferae*) مورد بررسی قرار گرفت. زه‌آب گیاه غیرمیزبان و گیاهان میزبان با دوره رشدی سه و شش ماهه در چهار مرحله رشدی (دو، چهار، شش و هشت برگی) جمع‌آوری شدند. غلظت‌های مختلف زه‌آب شامل خود زه‌آب و رقت‌های یک چهارم و یک شانزدهم آن تهیه و همراه با دو شاهد منفی (زه‌آب گلدان‌های تیمار نشده و آب) و یک شاهد مثبت (محلول ۰/۳ مولار کلریدروی) مورد استفاده قرار گرفتند. تعداد ۲۵ سیست نماتد در داخل این محلول‌ها در ظروف پلاستیکی ۲۴ چاهکی قرار گرفته و با فواصل یک هفته، تعداد لاروهای تفریخ شده تا سه هفته یادداشت‌برداری گردید. نتایج نشان داد که رقت یک چهارم زه‌آب گیاه کلم برگ با دوره رشدی شش‌ماهه در مرحله رشدی شش برگی در دمای ۲۰°C، موجب افزایش میزان تفریخ تخم گردید.

کلیدواژه: زه‌آب گیاه، تفریخ تخم، دما، کاهو، کلم قمری، کلم برگ، نماتد سیستی کلم

* مسئول مکاتبات، پست الکترونیکی: g_niknam@tabrizu.ac.ir

۱- دانشجوی سابق دکتری بیماری‌شناسی گیاهی، گروه گیاهپزشکی دانشکده کشاورزی دانشگاه تبریز

۲- دانشیار گروه گیاهپزشکی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه تبریز

۳- استاد گروه به‌نژادی و بیوتکنولوژی گیاهی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه تبریز

۲- دانشیار مؤسسه تحقیقات گیاهپزشکی کشور

مقدمه

شیمیایی مختلف روی تفریخ تخم نماتدها مؤثر بوده که در این مورد حدود ۴۰۰ ترکیب متفاوت از نظر تأثیر روی تفریخ تخم نماتد سیستی چغندر قند و نماتد طلائی سیب‌زمینی بررسی شده است (Perry 2002). برخی از این ترکیبات مانند فلاویانیک اسید (flavianic acid) بازه اثر نسبتاً وسیعی دارند (Clarke & Shepherd 1967). هم‌چنین مشخص شده است که یون‌های Zn^{2+} ، Ba^{2+} و La^{3+} محرک تفریخ تخم چندین نماتد سیستی می‌باشند (Clarke & Hennesy 1987).

در بررسی میزان خروج لاروهای *H. ciceri* جمع‌آوری شده از مزارع آلوده در حضور تراوه‌های گل‌دان‌های مختلف حاوی ۱۲ گیاه متنوع و غلظت‌های ۰/۶ میلی‌مولار سدیم متاوانادات، ۰/۳ میلی‌مولار اسید پیکرولونیک و سه میلی‌مولار از کلریدروی مشخص گردید که زه‌آب نخود بیشترین اثر مثبت را در تفریخ تخم این نماتد داشته و سن گیاه میزبان، اندازه ریشه، دما و هم‌چنین محلول کلریدروی با غلظت سه میلی‌مول باعث افزایش تفریخ شدند (Greco et al. 1992). هم‌چنین میزان تفریخ این نماتد در یادداشت‌برداری‌های منظم ۱۰ روز یک‌بار و به مدت دو ماه که در معرض زه‌آب گیاهان بودند به سن و نوع گیاه میزبان بستگی داشت (Di Vito et al. 1993).

با وجود گزارش نماتد سیستی کلم از مزارع چغندر قند مشهد (مهدی‌خانی ۱۹۹۸)، مزارع اطراف تبریز (Jabbari & Niknam 2008) و مزارع بادام‌زمینی استان گیلان (میرقاسمی و همکاران، ۲۰۱۴) هنوز عوامل مؤثر و یا محدودکننده تفریخ تخم در این نماتد مورد بررسی دقیق قرار نگرفته است. در این مطالعه تأثیر زه‌آب ریشه گیاهان میزبان و غیرمیزبان، دما و مرحله رشد و نموی گیاهان میزبان و غیرمیزبان روی تفریخ تخم نماتد سیستی کلم بررسی شد.

شرایط محیطی مانند دمای مناسب، دسترسی به اکسیژن و میزان رطوبت خاک هم‌چنین نیاز یا عدم نیاز تخم نماتد به گذر از دیپوز و تراوه گیاه میزبان در تفریخ تخم نماتدها تأثیر دارند (Perry 2002). نماتدها جزو جانوران خونسرد بوده و دما تأثیر زیادی در تفریخ تخم آن‌ها دارد. دمای $30^{\circ}C$ حد بالایی برای تفریخ تخم نماتد طلائی سیب‌زمینی (*Globodera rostochiensis*) بوده (Perry 2002) و تفریخ تخم نماتد سیستی ذرت (*Heterodera zae*) در دمای $40^{\circ}C$ صورت نمی‌گیرد (Hashmi & Krusberg 1995). دامنه دمایی مناسب برای تفریخ تخم نماتد سیستی گندم (*H. avenae*) بین پنج تا $20^{\circ}C$ متغیر است (Clarke & Perry 1977). تفریخ تخم‌های نماتد سیستی هویج (*H. carotae*) و گندم (*H. avenae*) در دمای بالای تابستان متوقف شده ولی در پاییز به صورت معمول انجام می‌گیرد (Greco 1981) که نشان‌دهنده اثر مستقیم دما در خروج لاروها از پوسته تخم می‌باشد. ترشحات گیاهان نیز از عوامل مؤثر در تفریخ تخم نماتدها است. اولین بار دن‌اودن (Den Ouden 1956) تأثیر تراوه‌های ریشه گیاهان میزبان و غیرمیزبان روی جمعیت‌های نماتد سیستی چغندر قند (*H. schachtii*) را بررسی کرد و نشان داد که تفاوت معنی‌دار بین لاروهای سن دوم و سیست‌های نماتد وجود دارد. مشخص شده است که نماتدهای سیستی از نظر واکنش به تراوه ریشه میزبان به چهار گروه عمده تقسیم می‌شوند. در این گروه‌بندی نماتد سیستی کلم (*H. cruciferae*) به همراه *H. carotae*، *G. pallida*، *G. rostochiensis* و *H. goettingiana* و *humuli* گروهی را تشکیل می‌دهند که در آن‌ها تفریخ تخم به میزان بسیار زیادی وابسته به تراوه ریشه گیاهان میزبان است و فقط درصد کمی در آب صورت می‌گیرد (Perry 2002). علاوه بر این، ترکیبات

روش بررسی

تهیه سیست

در طی سال‌های ۱۳۹۱-۱۳۹۰ و در طول سال زراعی از خاک مزارع آلوده به نماتد سیستی کلم واقع در سبزی‌کاری‌های اطراف تبریز و فراریشه میزبان‌های آلوده شامل کلم قمری (*Brassica oleracea* L. var. *gongylodes*) و کلم برگ (*Brassica oleracea* L. var. *capitata alba*) با دوره‌های رشدی سه و شش ماهه نمونه‌برداری گردید. پس از انتقال نمونه‌های خاک به آزمایشگاه، سیست‌ها با استفاده از روش فن‌ویک (۱۹۴۰) استخراج و در لوله‌های اپندورف در دمای اتاق نگهداری شدند.

تهیه گیاه

چهار رقم کلم (دو رقم کلم قمری و دو رقم کلم برگ سه و شش ماهه) به عنوان گیاهان میزبان و گیاه کاهو (*Lactuca sativa*) به عنوان غیرمیزبان در گلدان‌های پلاستیکی به قطر و ارتفاع ۱۵ سانتی‌متر در بستر خاک و ماسه سترون به نسبت ۳:۱ کشت شده و در شرایط کنترل شده گلخانه نگهداری گردیدند. زه آب ریشه این گیاهان در مراحل رشدی دو، چهار، شش و هشت برگی جمع‌آوری شدند.

تهیه زه آب از گیاهان میزبان و غیرمیزبان و شاهدهای مثبت و منفی

برای این منظور خاک گلدان‌ها به میزان مساوی آبیاری و زه آب از قسمت پائین گلدان‌ها جمع‌آوری گردید (Di Vito & Sasanelli 1990, Sasanelli & D'Addabbo 1992, Di Vito et al. 1993, Greco et al. 1992). پس از

عبور دادن زه آب‌ها از کاغذ صافی، رقت‌های یک به چهار و یک به شانزده از زه آب اصلی تهیه شد. رقت‌های مختلف از زه آب برای استفاده در کوتاه مدت در دمای ۴°C و جهت استفاده در بلندمدت در دمای ۲۰°C- نگهداری شدند. علاوه بر آن محلول کلریدروی با غلظت سه میلی‌مولار به عنوان شاهد مثبت و آب استفاده شده جهت آبیاری گلدان‌ها و زه آب گلدان‌های فاقد گیاه به عنوان شاهد منفی نیز مورد استفاده قرار گرفتند.

تهیه و آماده‌سازی مقدمات بررسی تفریخ تخم نماتد در شرایط آزمایشگاه

به منظور بررسی تفریخ تخم، از پلیت‌های پلاستیکی ۲۴ چاهکی، با قطر نزدیک یک و عمق دو سانتی‌متر استفاده شد. درون هر کدام از چاهک‌ها پارچه توری ظریف و لایه‌ای از دستمال کاغذی قرار داده شد و سپس با کمک پنس ظریف تعداد ۲۵ سیست با اندازه یکسان، که به صورت تصادفی انتخاب شده بودند، روی لایه دستمال کاغذی قرار داده شد. در هر چاهک که دارای گنجایشی حدود چهار میلی‌لیتر بود، دو میلی‌لیتر از محلول‌ها ریخته شد.

پلیت‌های مربوط به زه آب هر گیاه به تفکیک در دماهای ۵، ۱۰، ۱۵، ۲۰ و ۲۵ درجه سانتی‌گراد نگهداری گردیدند. برای اعمال دمای ۵°C از یخچال و برای سایر دماها به تفکیک از ژرمیناتورهایی که در دمای لازم تنظیم شده بودند بهره گرفته شد. هرکدام از تیمارهای فوق دارای چهار تکرار بود.

شمارش تعداد لاروهای تفریخ شده در سه مرحله هر هفت روز یک‌بار و در طول ۲۱ روز صورت پذیرفت. ادامه شمارش پس از این مدت احتمال آلودگی‌های

کمک نرم‌افزار آماری SAS, v. 6.12 صورت گرفت. مقایسه میانگین‌های میزان تفریخ نیز در سطح آماری ۱٪ و با کمک روش دانکن صورت پذیرفت.

با توجه به حجم بالای داده‌های به دست آمده در این بررسی، امکان تجزیه آماری به صورت جداگانه میسر نبود. به همین دلیل در گام اول تجزیه واریانس تنها بر اساس نوع گیاه و ترکیب تیماری که شامل غلظت‌های مختلف زه‌آب، دما و مرحله رشدی بود، انجام گرفت. در مرحله بعدی تجزیه واریانس به تفکیک برای اجزای ترکیب تیماری و برای کلیه گیاهان میزبان و غیرمیزبان به منظور مشخص کردن شرایط مطلوب تفریخ تخم این نماتد صورت پذیرفت.

نتایج و بحث

تعیین میزان تفریخ تخم در زه‌آب گیاهان و گروه‌بندی بر اساس میزان تفریخ شدگی

نتایج تجزیه واریانس میزان تفریخ در زه‌آب گیاهان مختلف میزبان و غیرمیزبان و ترکیب تیماری مربوط، در جدول ۱ ذکر شده است. چنانچه مشاهده می‌شود، اختلاف معنی‌داری بین میزان تفریخ تخم در اثر زه‌آب گیاهان مختلف اعم از میزبان و غیرمیزبان و هم‌چنین ترکیب تیمارها وجود دارد. با انجام مقایسه میانگین میزان تفریخ تخم در بین گیاهان مورد استفاده، مشخص گردید که این گیاهان در سه گروه قرار گرفتند. گروه اول شامل کلم برگ با دوره رشدی شش ماهه، گروه دوم شامل کلم برگ با دوره رشدی سه ماهه و کلم قمری با دوره رشدی سه و شش ماهه و گروه سوم شامل کاهو به عنوان گیاه غیرمیزبان بود. مشخص گردید که تفریخ تخم نماتد سیستمی کلم در زه‌آب گیاه کلم برگ با دوره رشدی شش

جدول ۱. تجزیه واریانس میزان تفریخ تخم نماتد سیستمی کلم در حضور زه‌آب ریشه گیاهان میزبان و غیرمیزبان و ترکیب تیماری (شامل زه‌آب ریشه، دما، مرحله زیستی و زمان قرائت میزان تفریخ شدگی).

Table 1. Analysis of variance for egg hatching of *Heterodera cruciferae* were exposed to the soil drainage of host and non-host plants and pooled treatments (including soil drainage, temperature, life stage and time of data collection).

منابع تغییر Source	درجه آزادی Degree of Freedom	میانگین مربعات Mean Square
Replication	3	1096.33**
Plant	4	2082.45*
Treatments***	359	153*
Plant × Treatment	1436	107*
Error	5394	0.0341

* معنی‌دار در سطح احتمال ۵٪

** معنی‌دار در سطح احتمال ۱٪

*** ترکیبی از غلظت‌های مختلف زه‌آب، دما، مرحله رشدی و زمان خوانش میزان تفریخ

*Significant differences in 95% probability

** Significant differences in 99% probability

*** Comprising different soil drainage, temperature, life stage and time of data collection.

باکتریایی و قارچی در تخم‌ها را به دنبال داشت. شمارش لاروهای تفریخ شده با کمک استرئومیکروسکپ در محلول‌های هر چاهک به صورت مجزا انجام و یادداشت گردید. پس از اتمام آزمایش، با توجه به تعداد تخم‌های تخمینی هر چاهک، درصد لاروهای سن دوم تفریخ شده محاسبه گردید.

محاسبات آماری

تجزیه و محاسبات آماری داده‌های حاصل از این بررسی که در قالب طرح کامل تصادفی انجام گردید با

تأثیر عوامل مختلف در تفریخ نماتد سیستی کلم در زه آب گیاهان مورد بررسی

در جدول ۳ نتایج حاصل از تجزیه واریانس میزان تفریخ تخم در حضور زه آب گیاهان کلم برگ و کلم قمری سه و شش ماهه و کاهو ذکر شده است. چنانچه مشاهده می شود میزان تفریخ تخم نماتد سیستی کلم در بین تکرارها و تیمارهای مختلف زه آب ها، دما، مرحله رشدی و زمان یادداشت برداری (خوانش) دارای اختلاف معنی دار می باشد.

تعیین تأثیر غلظت زه آب ریشه در تفریخ تخم نماتد سیستی کلم

نمودارهای مربوط به نتایج حاصل از مقایسه میانگین تفریخ تخم نماتد سیستی کلم در غلظت های مختلف زه آب ریشه گیاهان میزبان و غیرمیزبان و شاهد ها در شکل ۱ آورده شده است. تأثیر زه آب خالص و رقت یک به شانزده آن در گیاه کلم برگ شش ماهه، از نظر آماری در سطح احتمال ۱٪ معنی دار نبوده است، هرچند باعث تفریخ بیشتر تخم در مقایسه با شاهد های منفی و مثبت شده است. در گیاه غیرمیزبان کاهو کمترین میزان تفریخ تخم نماتد در کنترل منفی (آب) و بیشترین آن در زه آب خالص بود. ولی مقدار تفریخ تخم در حضور کاهو خیلی کمتر از گیاه میزبان (کلم برگ شش ماهه) است. نتایج حاصل از تفریخ تخم نماتد سیستی کلم در حضور زه آب های استفاده شده در این بررسی نشان داد که زه آب گیاهان میزبان در تفریخ نماتد سیستی کلم دخالت دارند و میزان تفریخ در آب کمتر از مقدار آن در تیمارهای حاوی زه آب ریشه است. این نتیجه با نظر پری (۲۰۰۲)، که تخم نماتد سیستی کلم در حضور تراوه های ریشه در مقایسه با آب تفریخ

جدول ۲. مقایسه میانگین میزان تفریخ تخم نماتد سیستی کلم در زه آب گیاهان مورد بررسی.

Table 2. Mean comparison of the egg hatching of cabbage cyst nematode against the soil drainage of the under study plants.

زه آب گیاه Plant soil drainage	میانگین تفریخ Hatching mean
Cauliflower (6 months)	3.6 A*
Cabbage (3 months)	1.2 B
Kohlrabi (6 months)	1.1 B
Kohlrabi (3 months)	0.8 B
Lettuce	0.7 C

* تیمارهای دارای حروف یکسان، اختلاف معنی دار آماری در سطح ۱٪ ندارند

*Groups with the same letter are not significantly different in 99% probability

ماهه نسبت به سایر ارقام کلم و گیاه غیرمیزبان (کاهو) بیشتر بود. هم چنین زه آب ریشه کاهو کمترین اثر را در تفریخ تخم این نماتد داشت (جدول ۲).

از آنجایی که نماتد سیستی کلم اولین بار در سال ۱۹۴۵ توسط فرانکلین از روی باقی مانده ریشه های کلم برگ در مزرعه توصیف شده است و این گیاه یکی از میزبان های اصلی این نماتد می باشد، بیشتر بودن میزان تفریخ تخم در حضور زه آب ریشه آن قابل توجه می باشد. بعد از مشخص شدن وجود اختلاف معنی دار بین میزان تفریخ تخم نماتد سیستی کلم در زه آب گیاهان مختلف و گروه بندی آن ها بر اساس مقایسه میانگین میزان تفریخ، تجزیه واریانس های جداگانه ای برای هر یک از گیاهان انجام شد تا معنی دار بودن میزان تفریخ در اجزا ترکیب تیماری (شامل ترکیبی از غلظت های مختلف زه آب، دما، مرحله رشدی و زمان خوانش میزان تفریخ) مشخص گردد.

جدول ۳. تجزیه واریانس میزان تفریح تخم نماتد سیستی کلم در حضور زه‌آب ریشه گیاهان میزبان و غیرمیزبان و ترکیب تیماری (شامل زه‌آب ریشه، دما، مرحله زیستی و زمان قرائت میزان تفریح شدگی).

Table 3. Analysis of variance for egg hatching of *Heterodera cruciferae* were exposed to the soil drainage of host and non-host plants and pooled treatments (including soil drainage, temperature, life stage and time of data collection).

منابع تغییر Source	درجه آزادی Degree of freedom	میانگین مربعات Mean square				
		کلم برگ شش ماهه White cabbage six months growing time	کلم برگ سه ماهه White cabbage, three months growing time	کلم قمری شش ماهه Kohlrabi, six months growing time	کلم قمری سه ماهه Kohlrabi, three months growing time	کاهو Lettuce
Replication	3	136**	20**	35**	65**	48**
Soil drainages	5	2115*	230*	3*	152*	16*
Temperature	4	3550*	259*	50*	171*	115*
Growth stage	3	5394*	81*	12*	190*	10*
Sampling time	2	1792*	452*	40*	214*	71*
Error	1077	45	6	3	13	6

* Significant differences in 95% probability

* معنی‌دار در سطح احتمال ۰.۰۵

** Significant differences in 99% probability

** معنی‌دار در سطح احتمال ۰.۰۱

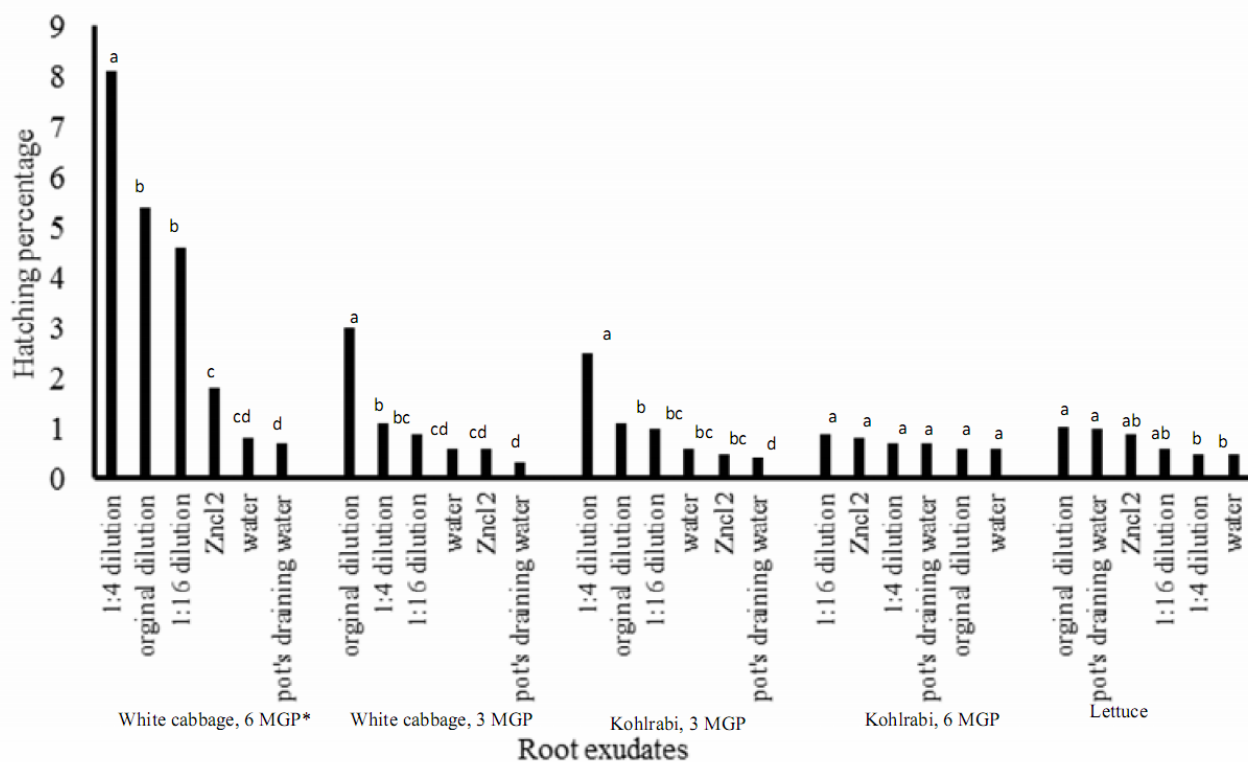
یک، یک به چهار و یک به شانزده تراوه گیاه میزبان (نخود) نشان داد که میزان تفریح در رقت اصلی تراوه بیشتر از سایر رقت‌ها بوده است (Perry et al. 1980). بر اساس یافته‌های بررسی حاضر، شاید دلیل افزایش تفریح تخم نماتد در رقت یک چهارم زه‌آب کلم برگ شش ماهه این است که در شرایط مزرعه‌ای تخم نماتدها در معرض زه‌آب خالص و دست نخورده گیاهان قرار نمی‌گیرند و زه‌آب‌های ریشه گیاهان به تدریج از نظر زمان و مکان رقیق می‌شود. به علاوه با افزایش رقت تراوه در صورت وجود مواد بازدارنده تفریح در آن‌ها، از میزان این بازدارنده‌ها کاسته شده و میزان تفریح تخم نیز افزایش می‌یابد (Perry et al. 1980).

تأثیر دماهای مختلف روی تفریح تخم نماتد سیستی کلم

با توجه به جدول ۳ و شکل ۲ مشخص می‌شود که در

بیشتری دارد، تطابق دارد. نتایج بررسی تفریح تخم نماتد سیستی سیب‌زمینی (*G. rostochiensis*) در حضور رقت‌های یک چهارم، یک شانزدهم، یک شصت و چهارم و یک دویست و پنجاه و ششم از تراوه‌های گیاهان میزبان نشان داد که تراوه ریشه سیب‌زمینی در تفریح تخم تأثیر داشته و با افزایش رقت از میزان تفریح تخم نماتد سیستی سیب‌زمینی کاسته می‌شود (Evans 1983).

تفریح تخم نماتد سیستی سویا در اثر تراوه‌های ریشه حالت ثابتی نداشته و در تکرارهای مختلف، تراوه سویا سبب افزایش، کاهش و یا حتی بدون تأثیر در تفریح تخم بوده است (Charlson et al. 2008). از طرف دیگر میزان تفریح تخم‌های *H. mediterranea* در مجاورت آب و رقت‌های مختلف تراوه ریشه زیتون تفاوت معنی‌داری نشان نداده‌اند (Castilo & Vovlas 2002). نتایج بررسی میزان تفریح تخم *H. goettingiana* در حضور رقت‌های

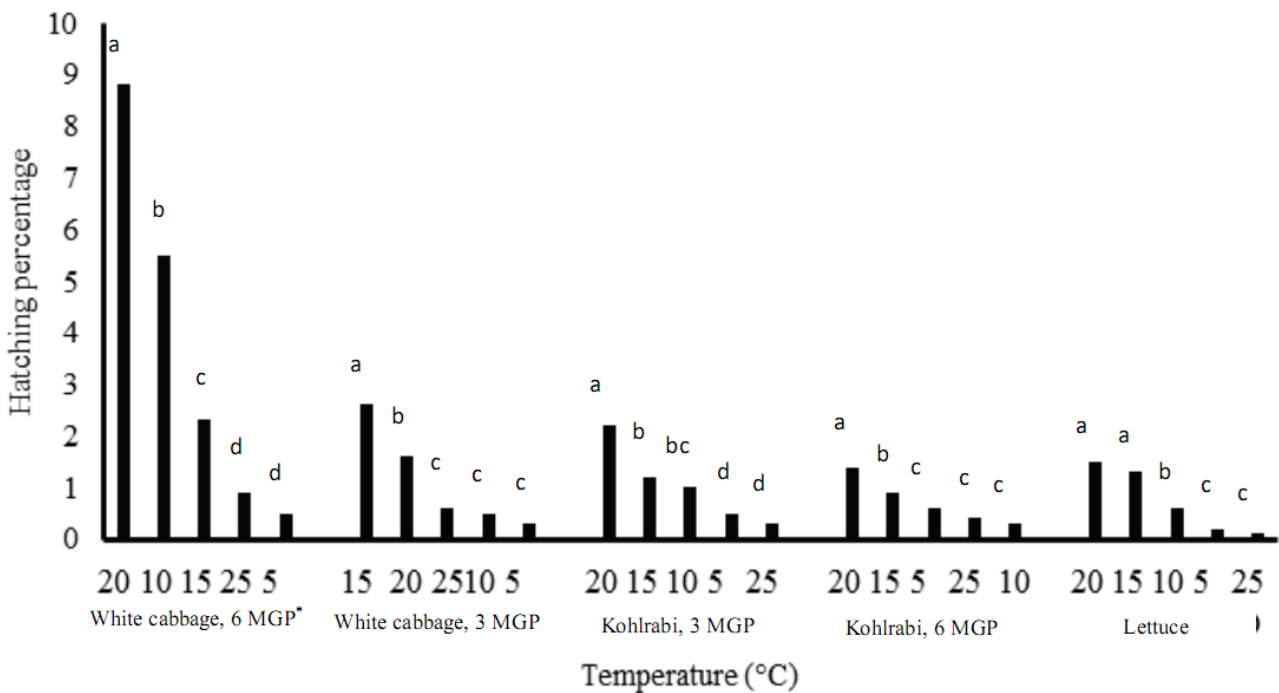


شکل ۱. مقایسه میانگین میزان تفریخ تخم نماتد سیستی کلم در حضور زه آب گیاهان مختلف مورد بررسی

Fig.1. Mean comparison for egg hatching of the cabbage cyst nematode were exposed to the soil drainage of host and non-host plants *: Months growing period

هستند. در این گیاه نیز میزان تفریخ تخم نماتد در دماهای ۵ و ۲۵ درجه سانتی گراد اختلاف معنی داری نشان نداده اند و کمترین تأثیر را در تفریخ تخم نماتد داشته اند. در ارتباط با مناسب ترین دمای تفریخ تخم نماتد سیستی کلم هیچ بررسی در دسترس نمی باشد. دمای بهینه برای تفریخ تخم نماتد سیستی هویج که نزدیک ترین گونه با نماتد سیستی کلم می باشد، ۱۰°C گزارش شده است (Greco 1981)، در حالی که مطالعه دیگری دمای ۲۰°C را مناسب ترین دما برای تفریخ تخم این نماتد گزارش کرده است (Greco & Brandonisio 1986) که با نتایج ما روی نماتد سیستی کلم هم خوانی دارد. نماتد سیستی سیب زمینی (*G. rostochiensis*) در دمای زیر ۱۰°C بیشترین میزان تفریخ را دارد (Clarke & Perry 1977). نتایج حاصل از

تیمار زه آب گیاه کلم برگ شش ماهه، بیشترین تفریخ تخم نماتد در دمای ۲۰°C رخ داده است بعد از آن دمای ۱۰°C قرار می گیرد که دارای اختلاف معنی داری با میزان تفریخ تخم در دمای ۲۰°C و سایر دماهای مورد بررسی می باشد. کمترین درصد تفریخ تخم نماتد سیستی کلم در دماهای ۵ و ۲۵ درجه سانتی گراد در گیاه کلم برگ شش ماهه صورت گرفته است و تفاوت معنی داری بین این دو تیمار دمایی از نظر تأثیر در تفریخ تخم نماتد سیستی کلم وجود ندارد. در گیاه غیر میزبان کاهو نیز دمای ۲۰°C مناسب ترین دما برای تفریخ است اما اختلاف معنی داری بین تفریخ در دماهای ۱۵ و ۲۰ درجه دیده نمی شود ولی با پنج، ۲۵ و ۱۰ درجه سانتی گراد تفاوت آماری معنی داری دارد و دمای آخری نیز با دو دمای پنج و ۲۵ از نظر آماری معنی دار



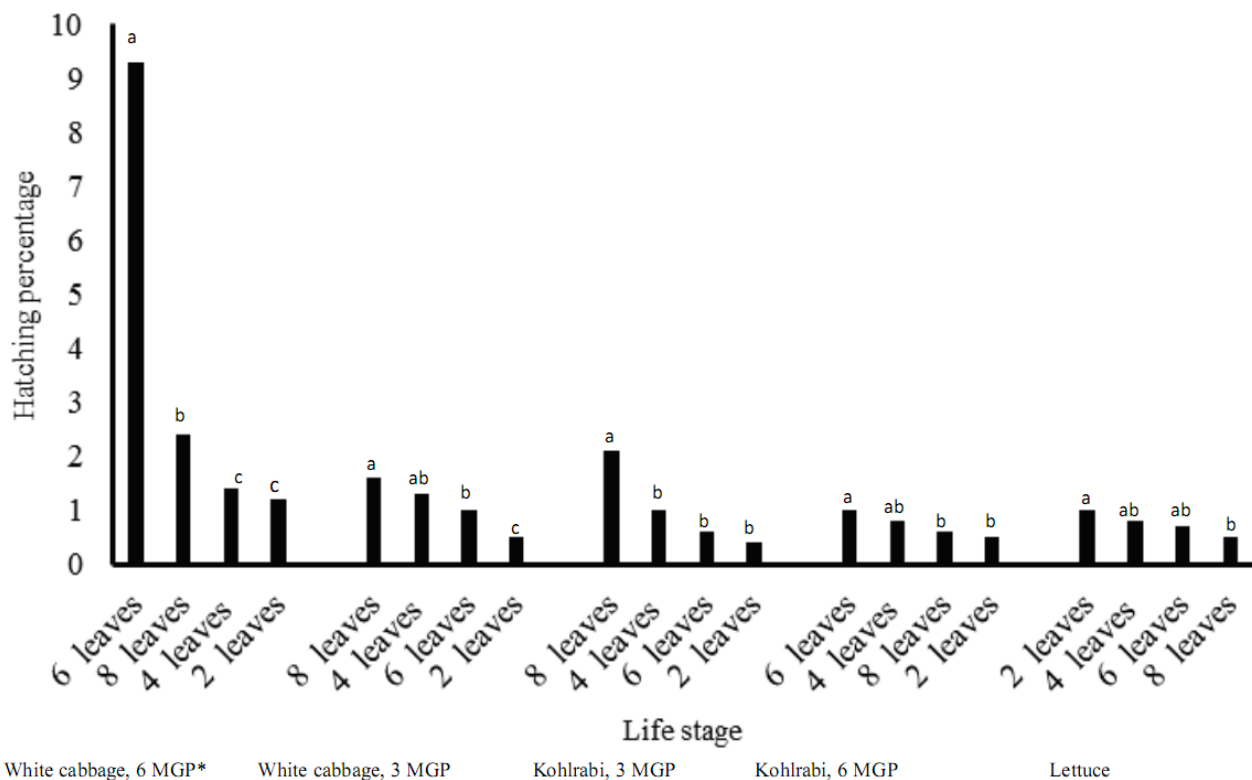
شکل ۲. مقایسه میانگین میزان تفریخ تخم نماتد سیستی کلم در دماهای مختلف مورد بررسی

Fig. 2. Mean comparison for egg hatching of the cabbage cyst nematode under different temperatures (*: Months growing period).

تأثیر مرحله رشدی گیاه در تفریخ تخم نماتد سیستی کلم

از میان چهار مرحله رشدی منظور شده در این بررسی، نتایج مقایسه میانگین میزان تفریخ نماتد سیستی کلم نشان داد که زه‌آب‌های مرحله شش برگی در گیاه کلم برگ شش ماهه باعث بیشترین میزان تفریخ در مقایسه با سایر مراحل رشدی شد. میزان تفریخ در مراحل دو و چهار برگی با هم تفاوت معنی‌داری را نشان نداد و کمترین میزان تأثیر را در تفریخ تخم داشته‌اند. در زه‌آب‌های گیاه غیرمیزبان کاهو بیشترین میزان تفریخ تخم مربوط به مرحله دوبرگی بوده و با افزایش سن گیاه از میزان تفریخ تخم کاسته شده است. هرچند بین بقیه تیمارها و تیمار مرحله دوبرگی هم اختلاف جزئی بوده و معنی‌دار نمی‌باشد. نتایج حاصل از مقایسه میانگین درصد تفریخ نماتد سیستی کلم در مراحل

بررسی تأثیر دما روی تفریخ تخم نماتدهای سیستی، به علت شرایط متنوع آزمایش‌ها اغلب قابل مقایسه با یکدیگر نیستند و شرایطی از جمله دمای محلی که سیستم‌های حاوی تخم‌ها قبل از شروع بررسی اثر دما روی تفریخ از آن‌جا جمع‌آوری شده و یا نگهداری می‌شوند و نیز استفاده از تخم‌های خارج‌شده از سیستم‌ها، نتایج آزمون‌ها را تحت تأثیر قرار می‌دهند (Clarke & Perry 1977). معمولاً گفته می‌شود که نماتد سیستی کلم، نماتد مناطق خنک و معتدله می‌باشد و دمای مطلوب برای فعالیت آن حداقل ۴°C به عنوان دمای موثر بر تفریخ تخم این نماتد به دست آمد (Stone & Rowe 1976). بدیهی است که شرایط آزمایشگاهی و ثابت نگه‌داشتن دما با شرایط مزرعه‌ای و نوسان‌های دمایی طبیعی آن متفاوت می‌باشد.



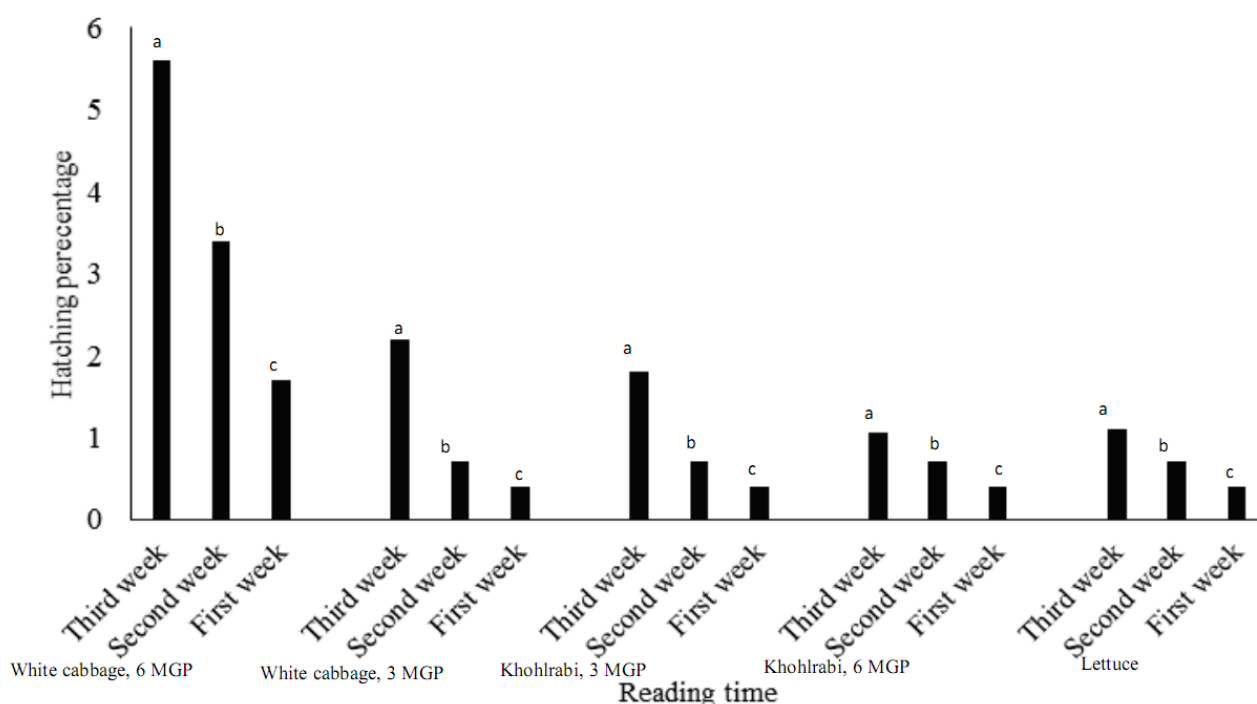
شکل ۳. مقایسه میانگین میزان تفریخ تخم نماتد سیستی کلم در مراحل زیستی مختلف گیاهان مورد بررسی

Fig. 3. Mean comparison for egg hatching of the cabbage cyst nematode in different life stages of host and non-host plants (*: Months growing period).

احتمالاً تفاوت در کمیت و کیفیت ترکیبات شیمیایی موجود در زه آب گلدانها در سنین مختلف گیاهان علت بروز تغییرات در میزان تفریخ نماتدهای سیستی در حضور زه آب مراحل مختلف زیستی گیاهان می باشد (Di Vito et al. 1993). گزارش شده است که ریشه گیاهان میزبان در عین حال که ترکیبات محرک تفریخ در زه آب خود دارند، ممکن است مواد بازدارنده تفریخ را نیز ترشح نمایند که مقدار و زمان آن متناسب با مرحله رشدی گیاه متغیر می باشد (Byrne et al. 2002). دلیل دیگر این است که احتمال دارد تخمها نیازمند دوره های زمانی مشخصی برای کسب آمادگی فیزیولوژیکی لازم به منظور انجام تفریخ باشند (Greco & Brandonisio 1986). احتمال دارد مواد محرک تفریخ در ریشه گیاهان میزبان متناسب با سن

مختلف رشدی گیاهان میزبان و غیرمیزبان در شکل ۳ نشان داده شده است. درباره تأثیر سن گیاهان میزبان روی تفریخ تخم نماتدهای، بررسی انجام شده نشان داده است که سن گیاه در تفریخ تخم *H. ciceri* بی تأثیر بوده است (Di Vito et al. 1993). نماتد سیستی هویج در حضور تراوه های ریشه گیاهان با سن پنج تا هفت هفته تفریخ بیشتری در مقایسه با سنین کمتر یا بیشتر از این میزان داشته است (Greco & Brandonisio 1986).

در حالی که میزان تفریخ *H. goettingiana* در تراوه میزبان تحت تأثیر سن میزبان بوده و بیشترین میزان تفریخ در تراوه های گیاهان چهار تا شش هفته ای صورت گرفته است، برعکس آن، تراوه گیاهانی با سن دو یا ۱۰ هفته کمترین اثر را در تفریخ داشته اند (Perry et al. 1980).



شکل ۴. مقایسه میانگین میزان تفریخ تخم نماتد سیستی کلم در زمان‌های مختلف یادداشت‌برداری

Fig. 4. Mean comparison for egg hatching of the cabbage cyst nematode at different reading times of hatching rate

با توجه به نتایج حاصل از این تحقیق می‌توان نتیجه‌گیری کرد که از میان پنج گیاه مورد استفاده در آزمون، زه‌آب گیاه کلم برگ با دوره رشدی شش ماهه بیشترین اثر را در تفریخ تخم نماتد سیستی کلم دارد. تخم نماتد سیستی کلم برای انجام تفریخ نیاز به ترشحات ریشه میزبان خود داشته و دمای 20°C را می‌توان بر اساس این بررسی مناسب‌ترین دما برای تفریخ تخم نماتد سیستی کلم در شرایط آزمایشگاهی در نظر گرفت و در مراحل ابتدایی رشد گیاه زه‌آب آن اثر کمتری روی تفریخ تخم در مقایسه با مراحل بعدی رشد دارند ولی این همراهی در مراحل بعدی رشد و نمو گیاه میزبان ادامه نمی‌یابد. با توجه به نبود بررسی‌های قبلی در رابطه با تفریخ تخم نماتد سیستی کلم، امکان مقایسه داده‌های به‌دست آمده حاضر با شرایط مشابه وجود ندارد. هرچند با برخی گونه‌های نزدیک به آن

افزایش یابد ولی این نکته در مورد همه گیاهان میزبان صدق نمی‌کند و با توجه به شروع فصل رشد و فعالیت گیاه، نماتدهای انگل آن میزبان نیز با کمی تأخیر فعالیت خود را شروع می‌نمایند. بنابراین بدیهی است که گیاهان جوان از نظر زه‌آب‌های ریشه بیشتر از گیاهان مسن فعال باشند.

تأثیر زمان یادداشت‌برداری در تفریخ تخم نماتد سیستی کلم

در شکل ۴ نتایج مقایسه میانگین میزان تفریخ تخم نماتد سیستی کلم نشان داده شده است و چنانچه مشخص است با افزایش طول دوره نگهداری تخم‌ها در مجاورت تیمارهای مختلف اعم از زه‌آب‌های ریشه، کنترل مثبت و منفی تعداد لاروهای تفریخ‌شده افزایش می‌یابد.

تفریخ تخم نماتد سیستی کلم، می تواند ناشی از عوامل مختلفی از جمله تفاوت های ژنتیکی باشد. گرچه در بررسی حاضر، مواردی درباره نیازهای تفریخ تخم نماتد سیستی کلم در شرایط آزمایشگاهی مشخص گردید اما تنها آغازی برای مطالعه های جامع و عمیق تر بعدی است.

از نظر نیازهای تفریخ تخم مثل *H. carotae* مقایسه های لازم صورت گرفت.

تفریخ تخم نماتدها فرآیندی بسیار پیچیده بوده و به عوامل مرتبط با محیط، میزبان و خود نماتد وابسته است. تفاوت های مشاهده شده در نتایج بررسی ها از جمله رقت زه آب یا تراوه ریشه، بازه دما و مرحله رشدی مناسب برای

منابع

- Byrne, J. T., Maher, N. J. and Jones. P. W. 2002. Comparative responses of *Globodera rostochiensis* and *G. pallida* to hatching chemicals. *J. Nematol.* 34(4): 195-202.
- Castilo, P. and Vovlas, N. 2002. Factors affecting egg hatch of *Heterodera mediterranea* and differential responses of Olive cultivars to infestation. *J. Nematol.* 34(2): 146-150.
- Charlson, D. V. Harkins, K. R. and Tylka, G. L. 2008. Relationship between juvenile hatching and acridine orange fluorescence of *Heterodera glycines* eggs. *Nematology* 10 (5): 603-610.
- Clarke, A. J. and Hennesy, J. 1987. Hatching agent as stimulants of movement of *Globodera rostochiensis* juveniles. *Revue Nématol.* 10: 471-476.
- Clarke A. J. and Perry R. N. 1977. Hatching of cyst-nematodes. *Nematologica* 23: 350-368.
- Clarke A. J. and Shepherd, A. M. 1967. Flavianic acid as a hatching agent for *Heterodera cruciferae* Franklin, 1945 and other cyst nematodes. *Nature* 214: 419-420.
- Den Ouden, H. 1956. The influence of hosts and non-susceptible hatching plants on populations of *Heterodera schachtii*. *Nematologica* 1(2): 138-144.
- Di Vito, M and Sasanelli, N. 1990. The effect of natural and artificial hatching agents on the emergence of juveniles of *Heterodera fici*. *Nematol. Medit.* 8: 55-57.
- Di Vito, M., Zaccheo, G. and Catalano, F. 1993. Effect of root leachates of some legumes of different ages on the hatching of *Heterodera ciceri*. *Nematol. Medit.* 21: 17-19.
- Evans, K. 1983. Hatching of potato cyst nematode in root diffuses collected from twenty-five potato cultivars. *Crop Protec.* 2(1): 97-103.
- Fenwick, D. W. 1940. Methods for the recovery and counting of cysts of *Heterodera schachtii* from soil. *J. Helminth.* 18: 155-172.
- Franklin, M. T. 1945. On *Heterodera cruciferae* n.sp. of Brassicas, and on a *Heterodera* Strain infecting Clove and Dock. *J. Helminth.* 21: 71-84.
- Greco, N., Di Vito, M. and Nombel, G. 1992. The emergence of juveniles of *Heterodera ciceri*. *Nematologica* 38: 514-519.
- Greco, N., and Brandonisio, A. 1986. The biology of *Heterodera carotae*. *Nematologica* 13: 273-178.
- Greco, N. 1981. Hatching of *Heterodera carotae* and *H. avenae*. *Nematologica* 27: 366-371.
- Hashmi, S. and Krusberg, L. R. 1995. Factors influencing emergence of juveniles from cyst of the *Heterodera zae*. *J. Nematol.* 27(3): 362-369.
- Jabbari, H. and Niknam, G. H. 2008. SEM observations and morphometrics of the cabbage cyst nematode, *Heterodera cruciferae* Franklin, 1945, collected where *Brassica* spp. are grown in Tabriz, Iran. *Turk. J. Zool.* 32: 253-262.
- Mahdikhani, E. 1998. Reports of *H. cruciferae* and *H. carotae* and distribution of other cyst forming nematodes in Mashhad sugarbeet fields. *Proc. 13th Iran. Plant Protec. Cong., Karaj, Iran.* 139 (Abs.)
- Mirghasemi, S. N., Jamali, S and Sharifi, K. 2014. Identification of plant parasitic nematodes of peanut (*Arachis hypogaea*) in Guilan province. *Proc. 21th Iran. Plant Protec. Cong., Urmia, Iran.* 315 (Abs.)
- Perry, R. N., Clarke, A. J. and Bean, J. 1980. Hatching of *Heterodera goettingiana* in vitro. *Nematologica* 26: 493-495.

- Perry, R.N. 2002. Hatching. Pp. 147-170. In: Lee, D. L. (ed). Biology of Nematodes. Taylor and Francis. British Library Cataloguing Publication Data.
- Sasanelli, N and D'Addabbo T. 1992. The Hatching response of *Heterodra cruciferae* to different concentrations of odium metavanate solutions. Nematol. Medit. 20: 3-4.
- Stone, A. R. and Rowe, J. A. 1976. *Heterodera cruciferae*. C.I.H. Descriptions of Plant-parasitic Nematodes, set 6, No, 90. St Albans, UK, Commonwealth Institute of Helminthology, 4 p.