بیماری‌زایی جمعیت‌های مختلف نماتد سیستی چغندرقند (*Heterodera schachtii*) روی ژنوتیپ‌های چغندرقند

مریم اسماعیلی[۱]، سیدباقر محمودی[۲] و رامین حیدری[۱*]

(تاریخ دریافت: ۱۳۹۶/۷/۱۵؛ تاریخ پذیرش: ۱۳۹۷/۱/۲۷)

چکیده

این تحقیق با هدف مقایسه بیماری‌زایی و برخی ویژگی‌های زیست‌شناختی و ریخت‌سنجی ماده‌های چهار جمعیت نماتد سیستی *Heterodera schachtii*، جمع‌آوری شده از مزارع چغندرقند استان‌های اصفهان، شیراز، آذربایجان غربی و خراسان و واکنش ژنوتیپ‌های چغندرقند در برابر آن‌ها انجام شد. واکنش ۱۲ ژنوتیپ چغندرقند در گلخانه و بر اساس تعداد ماده بالغ تشکیل شده بر روی ریشه‌ها بررسی شد. همچنین در هر جمعیت اندازه ماده‌های تشکیل شده روی هر ژنوتیپ اندازه‌گیری و میزان تفریخ تخم و خروج لارو از سیست در جمعیت‌ها نیز در شرایط آزمایشگاهی مقایسه گردید. تجزیه خوشه‌ای ژنوتیپ‌ها بر اساس تعداد و اندازه ماده‌های تشکیل شده روی گیاهان نشان داد که ارقام Toucan، Cactus، Fernando، Sanetta و رقم مقاوم Pauletta در یک خوشه و ژنوتیپ‌های ۰۳۵، 7112*SB36*SB30، ۰۳۱، ۰۳٤، 7112*SB36*SB28 و رقم حساس 7112*SB36*SB29 نیز در یک خوشه قرار گرفتند. نتایج نشان داد که در ژنوتیپ‌های مقاوم علاوه بر کاهش تعداد ماده‌های تشکیل شده روی ریشه، اندازه آن‌ها نیز کوچک‌تر بود. نتایج مقایسه جمعیت‌ها نشان داد که جمعیت آذربایجان غربی از نظر بیماری‌زایی تفاوت معنی‌داری با جمعیت اصفهان داشته و ماده‌های کمتر و کوچک‌تر روی گیاهان آلوده به این جمعیت تشکیل داد. بیشترین تفریخ تخم و خروج لارو از سیست در جمعیت مشهد صورت گرفت.

کلیدواژه: ژنوتیپ‌های چغندرقند، حساس، مقاومت، *Heterodera schachtii*، بیماری‌زایی

---

* مسئول مکاتبات، پست الکترونیکی: rheydari@ut.ac.ir

۱. گروه گیاهپزشکی، پردیس کشاورزی و منابع طبیعی دانشگاه تهران.

۲. دانشیار موسسه تحقیقات اصلاح و تهیه بذر چغندر قند.

Pathogenicity of different populations of the sugar beet cyst nematode (*Heterodera schachtii*) on sugar beet genotypes

M. Esmaeli[1], B. Mahmoudi[2], and R. Heydari[1*]

(Received: 7.10.2017; Accepted: 16.4.2018)

Abstract

The aim of this research was to compare the pathogenicity and some biological and morphological characters of four populations of the sugar beet cyst nematode *Heterodera schachtii*, collected from infested farms of Isfahan, Shiraz, West Azerbaijan and Khorasan provinces. The responses of 12 sugar beet genotypes were evaluated in greenhouse based on the female number on the roots. Moreover, the sizes of females of the nematode populations on each genotype were determined, and egg hatching and emergence of the second stage juveniles (J2s) from the cysts were compared. The cluster analysis of genotypes based on the number and size of the females on the plants showed that the genotypes Toucan, Cactus, Fernando, Sanetta cultivars were clustered with the resistant cultivar Pauletta in one group, and the genotypes 035, 7112*SB36*SB30, 031, 034 and 7112*SB36*SB28 were clustered with the susceptible control (7112*SB36*SB29) in another group. Fewer and smaller females were produced on the resistant genotypes. Nematode population of West Azerbaijan showed a noticeable difference in pathogenicity with Isfahan population and produced fewer and smaller females. Mashhad population had the highest rate of egg hatching and juvenile emergence from cysts compared to the other populations.

Keywords: Sugar beet genotype, *Heterodera schachtii*, pathogenicity, resistance, susceptible

*Corresponding author's E-mail: rheydari@ut.ac.ir
1. Department of Plant Protection, College of Agriculture and Natural Resources, University of Tehran, Karaj, Iran.
2. Sugar Beet Seed Institute (SBSI), Karaj, Iran.

مقدمه

نماتد سیستی چغندرقند، *Heterodera schachtii* Schmidt 1871، مهم‌ترین عامل بیماری‌زا در کشت چغندرقند می‌باشد (Müller 1998). در حال حاضر این نماتد در مزارع چغندرقند استان‌های خراسان، اصفهان، آذربایجان غربی و فارس خسارت وارد می‌کند (Vahedi *et al.* 2012). بوته‌های آلوده کم‌رشد، زرد و ضعیف بوده و اغلب دچار پژمردگی می‌شوند (Damad Zadeh 2007). چغندرقند اغلب بد شکل می‌شود و ممکن است بیش از یک ریشه عمودی داشته باشد. علائم اولیه به صورت کاهش عملکرد ریشه و محتوای قند است هرچند در برخی موارد محتوای قند تحت تاثیر قرار نمی‌گیرد (Warner 2008). ماده‌های سفید یا شیری رنگ روی ریشه‌های فرعی با چشم غیرمسلح قابل روئت است (Parvizi *et al.* 1993). مبارزه با استفاده از روش‌هایی مانند تناوب، ضدعفونی خاک با نماتدکش، استفاده از گیاهان تله و گیاهان مقاوم صورت می‌گیرد (Vahedi *et al.* 2012). استفاده از ارقام مقاوم، ساده‌ترین، بهترین و ایمن‌ترین روش مبارزه با بیماری‌های خاکزاد از جمله نماتد سیستی چغندرقند می‌باشد (Müller 1998).

استیل و ساویستکی (Steele & Savistky 1981) در بررسی مقاومت هیبریدهای دیپلوئید و تریسومیک *Beta vulgaris* L. و *B. procumbens* Chr. Sm. به نماتد سیستی چغندرقند مشاهده کردند که مقاومت در این گیاهان به دلیل عدم بلوغ لاروها می‌باشد. همچنین مشاهده نمودند که تعداد نرها نسبت به ماده‌ها بر روی برش‌های ریشه کشت شده گیاهان مقاوم بسیار بیشتر از چغندرهای حساس می‌باشد. یو و استیل (Yu & Steele 1981) هیستوپاتولوژی و گسترش نماتد را در چغندرقندهای دیپلوئید مقاوم آلوده به نماتد *H. schachtii* بررسی کرده و مشاهده نمودند که نماتدها در بافت گیاه مقاوم بالغ نمی‌شوند. های‌بروک و همکاران (Hiejbrock *et al.* 1988) گزارش نمودند که توسعه لاروها در گیاه مقاوم به تاخیر افتاده و سیست‌ها در صورت تشکیل حجم کمتری در مقایسه با گیاه حساس دارند. مسکن و لکرکر (Mesken & Lekkerkerker 1988) مقاومت را به چندین ژنوتیپ چغندرقند انتقال دادند و به دنبال چندین نسل گزینش برای مقاومت موفق به بالابردن نسبت بوته‌های مقاوم و همچنین میزان مقاومت در جوامع مورد نظر شدند. مطالعات آن‌ها نشان داد که مقاومت ایجاد شده در ژنوتیپ‌ها به دلیل اثر مقاومت بر روی نسبت جنسی نماتد می‌باشد که مانع تولید ماده می‌شود و به همین دلیل سیست کمتری روی ریشه گیاه مقاوم تشکیل می‌شود.

لانگ و دی‌باک (Lange & De Bock 1994) اقدام به پیش پرورش برای مقاومت به نماتد سیستی چغندرقند با استفاده از *B. vulgaris* subsp. *maritima* نمودند و مشاهده کردند که اندازه سیست‌ها در گیاهان مقاوم کوچک‌تر از سیست‌های تشکیل شده در گیاهان حساس می‌باشد.

مک فارلان و همکاران (Mc Farlan *et al.* 1982) با انجام یک‌سری آزمایشات گلخانه‌ای و مزرعه‌ای نشان دادند که لاروها به ریشه گیاه مقاوم نیز حمله می‌کنند ولی نمی‌توانند در گیاه مقاوم چرخه زندگی خود را کامل کنند. همچنین گزارش کردند که جمعیت نماتد زنده در فراریشه گیاهان مقاوم نسبت به گیاهان حساس بسیار کمتر است. رحمانی و همکاران (Rahmani *et al.* 2009) مقاومت ۱۱ ژنوتیپ چغندرقند را نسبت به نماتد سیستی چغندرقند در شرایط گلخانه ارزیابی و منابع مقاوم w-1009، w-1010 و رقم تجاری مقاوم نماکیل را با کمترین تعداد سیست در

گروه مقاوم و رقم تجاری رسول را جزء حساس‌ترین ژنوتیپ‌ها دسته‌بندی کردند. واحدی و همکاران (Vahedi *et al.* 2012) مقاومت ۳۰ توده مختلف چغندرقند را نسبت به نماتد سیستی چغندرقند ارزیابی و ژنوتیپ MSR*W-1010 *231 را به عنوان یک ژنوتیپ مقاوم با عملکرد مناسب شناسایی کردند.

گریفین (Griffin 1981) بیماری‌زایی شش جمعیت مختلف نماتد *H. schachtii* را بر روی رقم TascoAH3 با هم مقایسه کرد و مشاهده نمود که یکی از جمعیت‌ها در شدت بیماری‌زایی، نفوذ لارو سن دوم به ریشه و خروج لارو از سیست با پنج جمعیت دیگر در شرایط یکسان تفاوت دارد. لانگ و همکاران (Lange *et al.* 1993) مقاومت گونه‌های گیاهی از جنس *Beta* را به سه جمعیت مختلف نماتد سیست چغندرقند سنجیدند و اولین پاتوتیپ‌هایی که توانایی شکست کروموزوم یک از *B. procumbens* را داشتند معرفی کردند. مولر (Müller 1998) شدت بیماری‌زایی (Virulence) دو جمعیت نماتد سیستی چغندرقند را بر روی لاین‌های دارای ژن‌های مقاومت منتقل شده از جنس *Beta* (گروه Procumbenres) به *B. vuigaris* را مورد بررسی قرار داد و پاتوتیپ‌های جدیدی از نماتد سیست چغندرقند را معرفی نمود. تفاوت در میزان تفریخ تخم و خروج لارو از سیست در جمعیت‌های مختلف نماتدهای سیستی از جمله در *H. glycines* نشان داده شده است (Sikora & Noel 1996). با وجود شواهدی مبنی بر احتمال تفاوت بین جمعیت‌های مختلف نماتد سیستی چغندرقند از نظر شدت بیماری‌زایی وجود دارد اما تاکنون مطالعه‌ای در این زمینه در ایران انجام نشده است.

این تحقیق با هدف ارزیابی واکنش برخی ژنوتیپ‌های چغندرقند به جمعیت‌های مختلف نماتد سیستی چغندرقند و مقایسه بیماری‌زایی و برخی ویژگی‌های زیست‌شناسی و ریخت‌سنجی جمعیت‌های مختلف این نماتد انجام شد.

جدول۱. مشخصات ژنوتیپ‌های مورد استفاده در آزمایش.

Table 1. Characteristics of the genotypes used in the experiment.

Genotype	Genotype source	
	Country	Company
031	Iran	SBSI
034	Iran	SBSI
035	Iran	SBSI
Pauletta	Germany	KWS
Sanetta	Sweden	Syngenta
Toucan	France	Florimond desprez
Cactus	Belgium	Sesvanderhave
Fernando	Germany	Strube
7112*SB36*SB28	Iran	SBSI
7112*SB36*SB30	Iran	SBSI
7112*SB36*SB29	Iran	SBSI
B. procumbens	Iran	SBSI

مواد و روش‌های بررسی

آزمون بیماری‌زایی و مقاومت

مشخصات ژنوتیپ‌های استفاده شده در آزمایش در جدول ۱ نشان داده شده است. بذر ژنوتیپ‌های مورد بررسی درون گلدان‌های پلاستیکی شفاف به ابعاد ۱۲/۵ * ۴/۵ * ۳ سانتی‌متر کشت شد.

گیاهان آلوده به نماتد *H. schachtii* و خاک همراه ریشه‌ها از مزارع چغندرقند استان‌های فارس (شیراز)، اصفهان (اصفهان)، آذربایجان غربی (خوی) و خراسان رضوی (مشهد) جمع‌آوری و به آزمایشگاه منتقل شد. سیست‌ها با استفاده از فشار آب از روی ریشه‌های آلوده چغندرقند جمع‌آوری شد. جداسازی سیست‌ها از خاک نیز با روش استخراج مرطوب به روش سانتریفیوژ (Jenkins 1964) انجام گرفت.

جهت تهیه لاروهای سن دوم نماتد به منظور تهیه جمعیت مورد نیاز و بررسی‌های زیست‌شناسی، از محلول

کلریدروی در دمای ۲۷ درجه سلسیوس استفاده شد (Griffin 1981). گیاهچه‌ها در مرحله چهار تا شش برگی با ۱۰۰۰ لارو سن دوم از جمعیت‌های مختلف نماتد مایه‌زنی شدند. آزمایش به صورت فاکتوریل در قالب طرح کاملا تصادفی با ده تکرار و در شرایط کنترل شده گلخانه و در دمای ۲۲-۲۵ درجه سلسیوس انجام شد. یک ماه بعد از مایه‌زنی و با تشکیل نماتدهای ماده سفید رنگ بر روی ریشه‌ها، ارزیابی واکنش ژنوتیپ‌ها بر اساس شمارش تعداد ماده‌های بالغ شده روی ریشه‌ها انجام شد (Eisenback & Zunke 1998). همچنین ۱۰ ماده بالغ از هر جمعیت از ریشه ژنوتیپ‌های مختلف به طور تصادفی جدا شده و اندازه‌گیری شدند.

آزمون خروج لارو سن دوم از سیست

جهت مقایسه میزان خروج لاروهای سن دوم از سیست در جمعیت‌های مختلف نماتد سیستی، بذر توده 7112*SB36*SB29 (حساس به همه جمعیت‌ها طبق نتایج حاصل از آزمون قبل) در خاک آلوده به هر جمعیت کشت شد. بعد از گذشت ۴۵ روز سیست‌های هم‌سن حاصل از نسل اول در هر جمعیت جدا شدند. تعداد ۱۰ سیست از هر جمعیت به صورت تصادفی انتخاب و به چاهک‌های ظروف کشت بافت محتوی یک میلی‌لیتر کلرید روی ۵٪ منتقل شد. ظروف در دمای ۲۳-۲۵ درجه سلسیوس نگهداری شده و تعداد لاروهای خارج شده از سیست‌ها به صورت روزانه به مدت ۱۴ روز شمارش شد. برای هر جمعیت چهار تکرار در نظر گرفته شد.

آزمون خروج لارو سن دوم از تخم

از هر جمعیت تعدادی سیست هم‌سن (به روش ذکر شده در قسمت قبل) انتخاب و پس از له کردن آن‌ها، تخم‌های حاصله جمع‌آوری شدند. در هر جمعیت سوسپانسیونی از تخم‌ها تهیه و حدود ۸۰ عدد تخم در ۲۰۰ میکرولیتر آب به چاهک‌های ظروف کشت بافت وارد شد. سپس حدود ۸۰۰ میکرولیتر کلرید روی (پنج درصد) به چاهک‌ها اضافه شد. ظروف در دمای ۲۳-۲۵ درجه سلسیوس نگهداری شده و تعداد لاروهای خارج شده از تخم‌ها به صورت روزانه به مدت ۱۴ روز شمارش شد. برای هر جمعیت چهار تکرار در نظر گرفته شد.

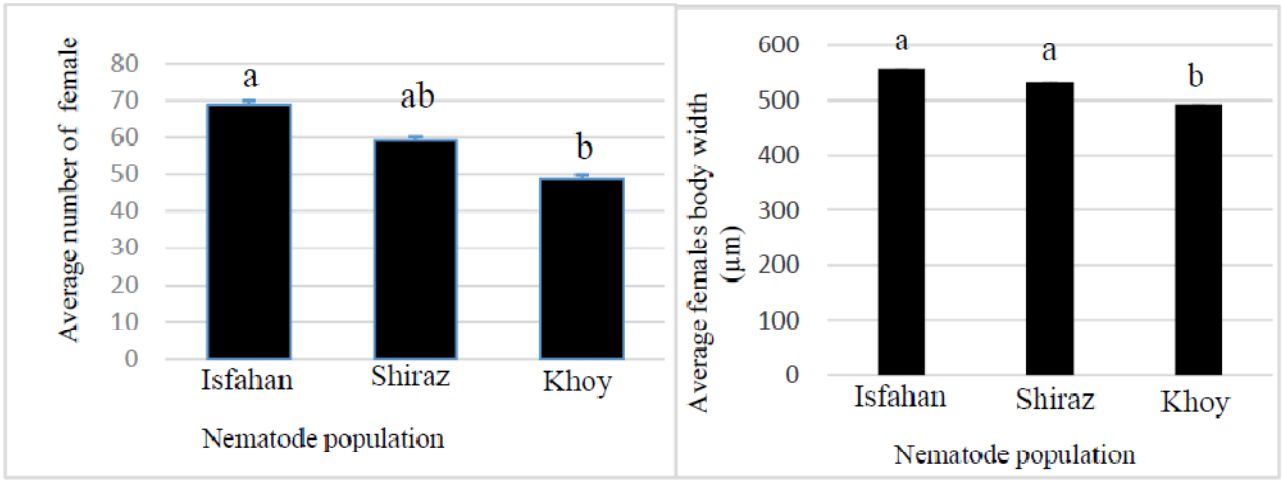
محاسبات آماری

تجزیه و تحلیل داده‌ها با استفاده از نرم افزار SAS 9.1 و SPSS 16.0 صورت گرفت. داده‌های حاصل از آزمایشات بیماری‌زایی و همچنین اندازه ماده‌ها با استفاده از رویه GLM در نرم افزار SAS آنالیز شد و نتایج بر اساس آزمون توکی در سطح ۰/۰۱ بررسی گردید. داده‌های مربوط به آزمون تفریخ تخم و خروج لارو از سیست با استفاده از روش تبدیل زاویه‌ای نرمال گردید و سپس مورد تجزیه و تحلیل قرار گرفت. داده‌های حاصل از آزمون خروج از تخم و خروج از سیست با استفاده از رویه Mixed (مدل اندازه‌های تکرار شونده) در نرم افزار SAS مورد تجزیه آماری قرار گرفت.

نتایج

آزمون بیماری‌زایی و مقاومت

ژنوتیپ‌های مورد آزمایش از نظر تعداد ماده‌های تشکیل شده روی ریشه و طول و عرض ماده‌های تشکیل شده در سطح ۱٪ دارای تفاوت معنی‌دار بودند. همچنین جمعیت‌های نماتد مورد بررسی نیز از نظر تعداد و عرض ماده‌های تشکیل شده در سطح ۱٪ دارای تفاوت معنی‌دار



شکل ۱. مقایسه میانگین تعداد و عرض ماده‌های تشکیل شده جمعیت‌های نماتد سیستی چغندر. (جمعیت‌های دارای حروف مشترک بر اساس آزمون توکی در سطح احتمال ۰/۰۱ دارای تفاوت معنی‌دار نمی‌باشند. داده‌ها میانگین همه ژنوتیپ‌ها می باشد).

Fig 1. Comparison of mean number and body width of the females of the sugar beet cyst nematode populations. (Means followed by common letters are not significantly different (P> 0.01) based on the Tukey's test. Data is the average of all genotypes).

بودند ولی از نظر طول تفاوتی نداشتند. اثر متقابل ژنوتیپ در جمعیت برای هیچ کدام از متغیرها معنی‌دار نبود. توده 7112*SB36*SB29 با بیشترین میانگین تعداد ماده بالغ تشکیل شده (۱۰۸/۹) حساس‌ترین شناخته شد و گونه وحشی *B. procumbens* با کمترین میانگین تعداد ماده در هر بوته (۲/۷) به عنوان مقاوم‌ترین ژنوتیپ شناخته شد. رقم‌های ۰۳۱، ۰۳۴، ۰۳۵ به همراه توده 7112*SB36*SB28 تفاوت معنی‌داری با 7112*SB36*SB29 نداشتند و در گروه حساس‌ها طبقه‌بندی شدند در حالی‌که رقم‌های Toucan، Pauletta، Cactus، Sanetta، Fernando و گونه وحشی *B. procumbens* در مقایسه با توده 7112*SB36*SB29 دارای تفاوت معنی‌دار بوده و به عنوان ژنوتیپ‌های مقاوم دسته‌بندی شدند. رقم Sanetta به همراه گونه وحشی *B. procumbens* با ارقام مقاوم دیگر دارای تفاوت معنی‌دار بوده بنابراین می‌توان آن‌ها را در گروه ژنوتیپ‌های بسیار مقاوم دسته‌بندی کرد (Müller 1998 Lange *et al.* 1993). به طور کلی، بیشترین تعداد ماده روی گیاهانی تشکیل شده که با جمعیت اصفهان آلوده شده بودند (حدود ۶۹ ماده) و کمترین تعداد ماده‌ها در گیاهان آلوده شده با جمعیت خوی مشاهده شد (حدود ۴۹ ماده) (شکل ۱).

در جمعیت اصفهان ماده‌ها با میانگین طول ۸۰۴/۴ میکرومتر بیشترین طول را دارا بودند و در جمعیت خوی ماده‌ها با میانگین ۷۸۱/۸ میکرومتر کمترین میزان طول را داشتند (جدول ۲). ماده‌های تشکیل شده بر روی ریشه‌های توده 7112*SB36*SB29 بیشترین طول (میانگین ۸۴۱/۸ میکرومتر) را دارا بودند و ماده‌های تشکیل شده بر روی ریشه رقم Toucan کمترین طول (میانگین ۷۴۹/۳ میکرومتر) را داشتند. رقم‌های Toucan، Pauletta و Cactus از نظر طول ماده‌های تشکیل شده دارای تفاوت معنی‌داری با رقم‌های ۰۳۴ و۰۳۵ و توده 7112*SB36*SB29 بودند (جدول ۲).

ماده‌های تشکیل شده در جمعیت نماتد خوی (میانگین

جدول ۲. مقایسه میانگین تعداد و اندازه ماده‌های بالغ تشکیل شده *Heterodera schachtii* بر روی ریشه ژنوتیپ‌های چغندرقند.

Table 2. Comparison mean number and size of *Heterodera schachtii* females on the root of sugar beet genotypes

	Means*											
	Female number				Body length (µm)				Body width (µm)			
Genotype	Isfahan	Shiraz	Khoy	Mean	Isfahan	Shiraz	Khoy	Mean	Isfahan	Shiraz	Khoy	Mean
031	101.7	86.2	98.96	**95.6ab**	841	792	810	**814.3ab**	612	565	538	**571.6ab**
034	106.1	84.4	63.25	**84.6ab**	831.2	905	781	**839.2a**	598	614	511	**574.3a**
035	127.3	70.7	52.25	**83.4abc**	838	842	815	**831.6a**	542	597	516	**551.6abc**
Pauletta	28.4	19.4	13.25	**20.35ef**	723	757.7	773	**751.2b**	458	483	514	**485c**
Sanetta	5.6	4.7	0.96	**3.75f**	791.1	691	781.4	**754.5ab**	565	472	430.2	**489.05bc**
Toucan	42.7	54	35.53	**44.07de**	779	748	721	**749.3b**	556	505	449	**503.3abc**
Cactus	48.9	46.3	33.5	**42.9de**	762	750	743	**751.6b**	530	522	491	**514.3abc**
Fernando	47.4	69.6	44.39	**53.8cd**	818	785	741.1	**781.6ab**	575	511	414.4	**500.1bc**
7112*SB36*SB28	108.1	88.2	82.96	**93.08ab**	767	782	801	**783.3ab**	537	520	511	**522.6abc**
7112*SB36*SB30	81.8	72.9	68.53	**74.4bc**	831	831	800	**820.7ab**	543	547	518	**536abc**
7112*SB36*SB29	126.4	111.2	88.96	**108.85a**	866	825.5	833.3	**841.8a**	620	550	531.1	**567.03ab**
B. procumbens	2.5	2.8	2.88	**2.7f**	-	-	-	-	-	-	-	-
Mean*	68.9a	59.2ab	48.8b		804.4	791.8	781.8		557.8a	535.09a	493.06b	

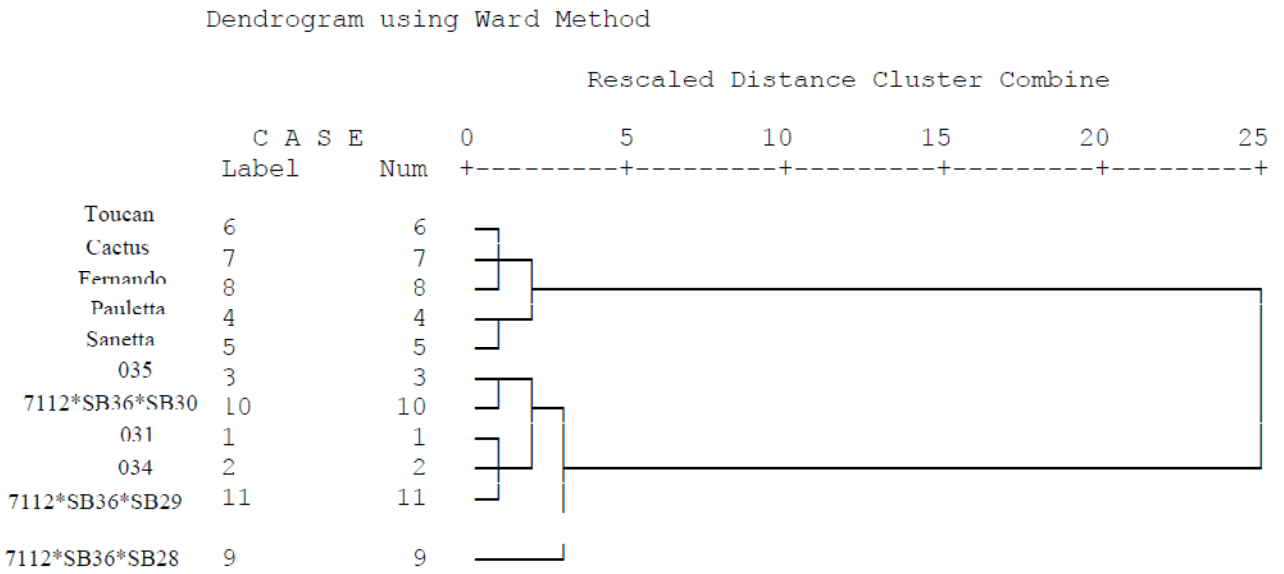
* حروف مشترک در هر ستون بر اساس آزمون توکی در سطح ۰/۰۱ دارای تفاوت معنی‌دار نمی‌باشند.

* Means followed by common letters in each column are not significantly different (P> 0.01) based on the Tukey test.

همه ژنوتیپ‌ها) با میانگین ۴۹۳/۰۶ میکرومتر کمترین عرض را دارا بوده و با دو جمعیت دیگر دارای تفاوت معنی‌داری بودند (شکل ۱). بیشترین میانگین عرض مربوط به ماده‌های تشکیل شده در جمعیت نماتد اصفهان با میانگین ۵۵۷/۸ میکرومتر بود. به ترتیب بیشترین و کمترین عرض ماده‌های تشکیل شده بر روی رقم ۰۳۴ (میانگین ۵۷۴/۳ میکرومتر) و رقم Pauletta (میانگین ۴۸۵ میکرومتر) مشاهده شد. رقم ۰۳۴ با ارقام Pauletta، Sanetta و Fernando دارای تفاوت معنی‌داری بود (جدول ۲). نتایج تجزیه خوشه‌ای نشان داد که ژنوتیپ‌های Toucan، Cactus، Fernando و Sanetta به همراه شاهد مقاوم Pauletta در یک خوشه قرار گرفتند (شکل ۲). این ژنوتیپ‌ها به عنوان ژنوتیپ‌های مقاوم دسته‌بندی شدند. ژنوتیپ‌های ۰۳۵، 7112*SB36*SB30، ۰۳۱، ۰۳۴، 7112*SB36*SB28 نیز به همراه شاهد حساس 7112*SB36*SB29 در یک خوشه قرارگرفته و به عنوان ژنوتیپ‌های حساس دسته‌بندی شدند (شکل ۲) (Müller Lange *et al.* 1993, 1998). بنابراین می‌توان نتیجه گرفت در ژنوتیپ‌های مقاوم علاوه بر کاهش تعداد ماده تشکیل شده روی ریشه، اندازه ماده‌ها نیز کاهش می‌یابد.

آزمون خروج لارو از سیست

تعداد لاروهای خارج شده از سیست در روزهای مختلف آزمایش متفاوت بود. همچنین جمعیت‌های نماتد از نظر تعداد خروج لاروها از سیست دارای تفاوت معنی‌دار با یکدیگر بودند ولی اثر متقابلی بین جمعیت و روز وجود نداشت. داده‌ها بر اساس مدل اندازه‌های تکرار شونده که برای داده‌هایی که تابع زمان هستند مورد تجزیه آماری قرار گرفتند. از میان چهار جمعیت، جمعیت مشهد با میانگین ۷۳۷/۲۵ عدد لارو در پایان ۱۴ روز بیشترین میانگین و شیراز با میانگین ۳۴/۲۵ عدد لارو در پایان ۱۴ روز کمترین میزان خروج لارو را دارا بودند. جمعیت‌های اصفهان و خوی در میزان خروج لارو از سیست تفاوت معنی‌داری با یکدیگر نداشتند ولی با جمعیت‌های مشهد و



شکل ۲. تجزیه خوشه‌ای ژنوتیپ‌های چغندرقند بر اساس تعداد و طول و عرض بدن ماده‌های تشکیل شده *Heterodera schachtii* بر روی ریشه.

Fig 2. Cluster analysis of sugar beet genotypes based on the number, length, and width of *Heterodera schachtii* females on the root

شیراز دارای تفاوت معنی‌داری بودند. نمودار روند خروج لارو از سیست در طی ۱۴ روز (شکل ۳) تفاوت جمعیت‌ها را نشان داده و جمعیت مشهد با تابع رگرسیونی Y = 44.341X + 114.53، سرعت خروج لارو بیشتری نسبت به جمعیت‌های دیگر دارد. کمترین میزان شیب مربوط به جمعیت شیراز با تابع رگرسیونی Y = 1.8511X + 7.706 می‌باشد.

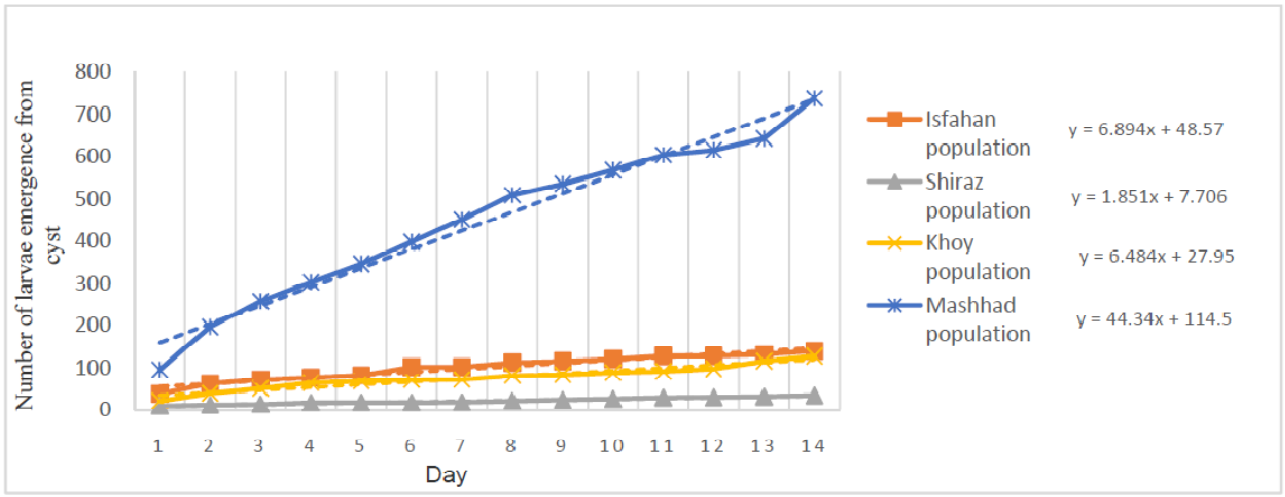
آزمون خروج لارو از تخم

از میان چهار جمعیت، جمعیت مشهد با میانگین ۵۰/۷۸٪ لارو در پایان ۱۴ روز بیشترین میانگین خروج از تخم را به خود اختصاص داد و جمعیت شیراز با میانگین ۱۶/۱۳٪ لارو در پایان ۱۴ روز کمترین خروج از تخم را دارا بود. جمعیت اصفهان و شیراز و خوی با یکدیگر در خروج لارو از تخم تفاوت معنی‌داری نداشتند. جمعیت نماتد مشهد با جمعیت‌های اصفهان و شیراز دارای تفاوت معنی‌دار بوده ولی با جمعیت خوی دارای تفاوت معنی‌داری نبود. درصد لاروهای خارج شده از تخم در طی ۱۴ روز افزایش می‌یابد ولی در جمعیت مشهد این افزایش با شیب بیشتری (Y = 3.484X + 2.252) صورت می‌گیرد و این افزایش شیب تقریبا ۲/۵ برابر جمعیت اصفهان، سه برابر جمعیت شیراز و ۱/۵ برابر جمعیت خوی می‌باشد (شکل ۴).

بحث

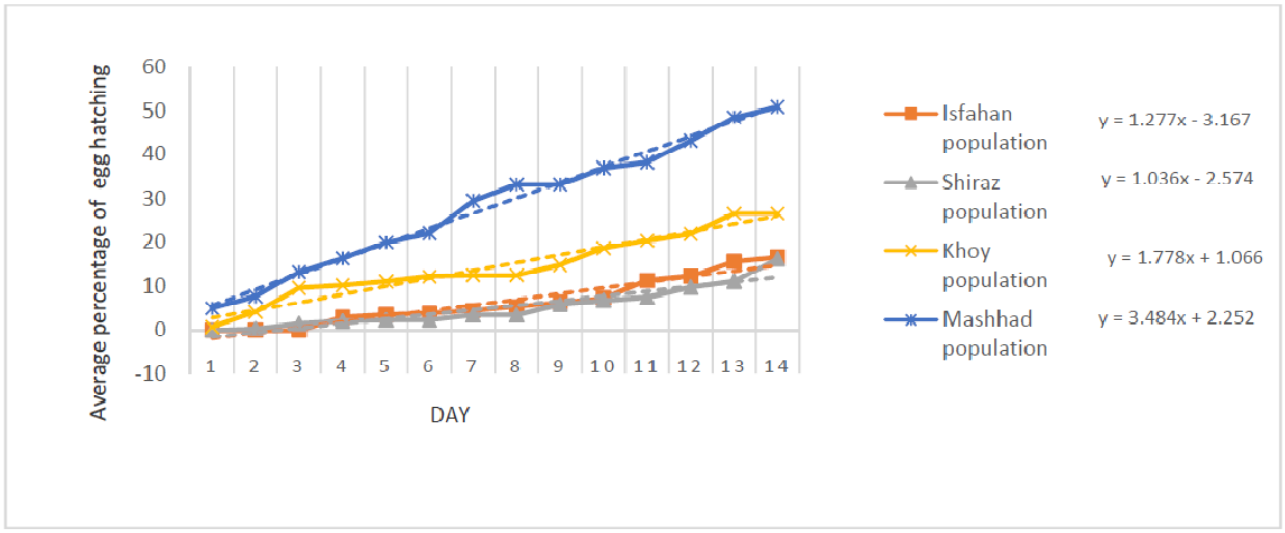
آزمون بیماری‌زایی و مقاومت

در این آزمایش رقم Pauletta به عنوان شاهد مقاوم و توده 7112*SB36*SB29 به عنوان شاهد حساس انتخاب شدند که میانگین تعداد سیست‌های تشکیل شده روی آن‌ها به ترتیب ۲۱ و ۱۰۹ بود. در این آزمایش ژنوتیپ‌های مختلف نسبت به نماتد واکنش‌های متفاوتی نشان دادند که



شکل ۳. مقایسه روند خروج لارو از سیست در چهار جمعیت *Heterodera schachtii* طی ۱۴ روز.

Fig 3. Comparison of emergence of larvae from cysts in four populations of *Heterodera schachtii* within 14 days.



شکل ٤. مقایسه روند خروج لارو از تخم در چهار جمعیت *Heterodera schachtii* طی ۱۴ روز.

Fig 4. Comparison of eggs hatching in four populations of *Heterodera schachtii* during 14 days.

با نتایج قبلی از جمله نتایج *رحمانی و همکاران* (۲۰۰۹) که با ارزیابی مقاومت ۱۱ ژنوتیپ چغندرقند نسبت به نماتد سیستی چغندرقند منابع مقاوم w-1009، w-1010 و رقم تجاری مقاوم نماکیل را در گروه مقاوم و رقم تجاری رسول را جزء حساس‌ترین ژنوتیپ‌ها دسته‌بندی کردند و نتایج *واحدی و همکاران* (۲۰۱۲) که با ارزیابی مقاومت ۳۰ توده مختلف چغندرقند نسبت به نماتد سیستی چغندرقند، ژنوتیپ MSR*W-1010 ✻231 را به عنوان یک ژنوتیپ مقاوم با عملکرد مناسب شناسایی کردند مطابقت داشت. بر اساس گزارشات *های‌بروک و همکاران* (۱۹۸۸) تفاوت مقاومت در کولتیوارهای چغندرقند به دلیل انتقال کمتر ژن‌های مقاومت به این کولتیوارها می‌باشد که باعث کاهش درصد مقاومت به نماتد و افزایش میزان سیست بر روی ریشه می‌شود. همچنین آن‌ها طی

آزمایشات خود بیان نمودند که بلوغ لاروها در گیاه مقاوم به تاخیر افتاده و یا سیست تشکیل نمی‌شود و در صورت تشکیل سیست، سیست‌ها حجم کمتری در مقایسه با گیاه حساس دارند. بر طبق گزارشات *یو و استیل* (۱۹۸۱) و *استیل و ساویستکی* (۱۹۸۱) مقاومت در گیاهان مقاوم به نماتد سیستی چغندرقند به دلیل ناتوانی لاروها در بلوغ می‌باشد. *مسکن و لکرکر* (۱۹۸۸) بیان داشتند که مقاومت ایجاد شده به دلیل اثر مقاومت بر روی نسبت جنسی نماتد می‌باشد که مانع تولید ماده می‌شود و به همین دلیل سیست کمتری روی ریشه گیاه مقاوم تشکیل می‌شود. *لانگ و دی‌باک* (۱۹۹۴) نشان دادند که اندازه سیست‌ها در گیاهان مقاوم کوچک‌تر از سیست‌های تشکیل شده در گیاهان حساس می‌باشد.

مک‌فارلان و همکاران (۱۹۸۲) و *مولر* (۱۹۹۸) نیز با استفاده از آزمایشات گلخانه‌ای توانستند گیاهان مقاوم و حساس را تفکیک کنند. به طور کلی ارزیابی مقاومت ارقام چغندرقند به نماتد سیستی چغندرقند و گروه‌بندی آن‌ها، به چند روش صورت گرفته است: مولر طی آزمایشات مکرر با مایه‌زنی ۱۰۰۰ لارو در پای هر بوته دریافت که تعداد سیست‌های تشکیل شده بر روی ارقام مقاوم معمولا کمتر از ۳۰ سیست می‌باشد. *لانگ و همکاران* (۱۹۹۳) در آزمایشات خود گیاهان را با ۳۰۰ لارو مایه‌زنی کردند و گیاهانی با کمتر از ۱۰ سیست را مقاوم می‌دانستند. آن‌ها در آزمایشاتی مشابه از سه جمعیت نماتد استفاده کردند که یکی از جمعیت‌ها دارای تعداد سیست کمتر و سیست‌هایی با حجم کمتر و کوچک‌تر بود. *رحمانی و همکاران* (۲۰۰۹) بوته‌های چغندرقند را در گلخانه با ۱۰۰۰ لارو مایه‌زنی کردند و معیار آن‌ها در انتخاب گیاه مقاوم وجود حداکثر ۱۰ سیست بود. بر اساس پروتکل شرکت KWS آلمان گیاهانی با کمتر از ۳۰ سیست مقاوم تلقی می‌شوند که بر اساس این پروتکل هر بوته باید با ۱۲۰۰ لارو مایه‌زنی شود بر این اساس رقم‌های Sanetta، Pauletta و گونه وحشی *B. procumbens* کاملاً مقاوم می‌باشند. تعداد سیست‌های تشکیل شده بر روی گیاهان حساس معمولا بیش از ۵۰ عدد بوده که با نتایج *مک‌فارلان و همکاران* (۱۹۸۲) و *لانگ و همکاران* (۱۹۹۳) مطابقت داشت. در رقم Sanetta و گونه وحشی *B. procumbens* تعداد سیست تشکیل شده کمتر از ده عدد می‌باشد که با نتایج *لانگ و همکاران* (۱۹۹۳)، *رحمانی و همکاران* (۲۰۰۹) و *مولر* (۱۹۹۸) مطابقت داشت.

مقایسه میانگین‌های طول و عرض ماده‌های تشکیل شده بر روی ریشه ژنوتیپ‌های چغندرقند نشان می‌دهد که ماده‌های تشکیل شده بر روی ژنوتیپ‌های حساس از میانگین طول و عرض بیشتری نسبت به ژنوتیپ مقاوم برخوردار بودند و این نشان‌دهنده حجم بیشتر سیست در ژنوتیپ‌های حساس نسبت به ژنوتیپ‌های مقاوم می‌باشد که می‌تواند تعداد تخم بیشتری را در خود جای دهد. به عبارتی کاهش حجم سیست در ژنوتیپ‌های مقاوم مساوی با کاهش تعداد تخم می‌باشد که کاهش تولیدمثل نماتد و در نتیجه کاهش جمعیت نهایی و خسارت را بدنبال خواهد داشت که با نتایج *لانگ و دی‌باک* (۱۹۹۴) و *های‌بروک و همکاران* (۱۹۸۸) مطابقت داشت.

گریفین (۱۹۸۱) در مقایسه شش جمعیت مختلف نماتد سیستی به این نتیجه رسید که یکی از جمعیت‌ها از نظر بیماری‌زایی، نفوذ لارو سن دوم به ریشه و خروج لارو از سیست متفاوت بود. همچنین *لانگ و همکاران* (۱۹۹۳) مقاومت گیاهانی از جنس *Beta* را به سه جمعیت مختلف نماتد سیستی چغندرقند سنجیدند و جمعیت‌هایی که توانایی شکست مقاومت را داشتند به عنوان پاتوتیپ معرفی کردند. *مولر* (۱۹۹۸) در مطالعه خود در مقایسه دو

جمعیت نماتد به این نتیجه رسید که یکی از این جمعیت‌ها توانایی شکست مقاومت را در توده‌های حاوی ژن‌های مقاومت دارد و بر روی آن‌ها بیماری‌زا می‌باشد در حالی که جمعیت دیگر بر روی این توده‌ها بیماری‌زا نبود.

سیکورا و نوئل (Sikora & Noel 1996) در مقایسه تفریخ تخم و خروج لارو از سیست نژاد سه و چهار نماتد *H. glycines* دریافتند که در نژاد سه این نماتد نسبت به نژاد چهار تفریخ تخم و خروج لارو از سیست بیشتر می‌باشد. در مقایسه جمعیت‌های انتخاب شده از ایران، جمعیت نماتد اصفهان و خوی از نظر بیماری‌زایی ارقام دارای تفاوت معنی‌دار بوده ولی جمعیت شیراز اختلاف معنی‌داری با دو جمعیت دیگر نداشت. طبق نتایج حاصل جمعیت نماتد خوی از قدرت بیماری‌زایی کمتری نسبت به جمعیت اصفهان برخوردار بود و تعداد ماده‌های تشکیل شده بر روی ریشه در مقایسه با جمعیت اصفهان و شیراز کمتر بود. همچنین تجزیه آماری نشان داد که عرض ماده‌های تشکیل شده در جمعیت خوی دارای تفاوت معنی‌داری با جمعیت شیراز و اصفهان می‌باشند و جمعیت خوی علاوه بر کاهش تعداد، ماده‌هایی با طول و عرض کمتر را نیز تولید کرده است. در مقابل جمعیت نماتد اصفهان تعداد ماده‌های بیشتری با طول و عرض بیشتر را تولید نموده است که با نتایج *گریفین* (۱۹۸۱)، *لانگ و همکاران* (۱۹۹۳) و *مولر* (۱۹۹۸) مبنی بر تفاوت جمعیت‌ها در بیماری‌زایی مطابقت داشت. متاسفانه جمعیت مشهد به دلیل از دست رفتن جمعیت نمونه‌برداری شده با عدم موفقیت در تولید لارو مواجه شد و از آزمایش‌های بیماری‌زایی و ارزیابی مقاومت حذف گردید.

نتایج حاصل از آزمون خروج لارو از سیست و تخم که نشان‌دهنده اختلاف بین جمعیت‌های مختلف نماتد سیستی بود، با نتایج *گریفین* (۱۹۸۱) و *سیکورا و نوئل* (۱۹۹۶) مطابقت داشت.

ارزیابی در شرایط گلخانه روشی ساده و مؤثر جهت شناسایی ژنوتیپ‌های مقاوم و حساس می‌باشد. ارقام Sanetta، Pauletta، Cactus، Fernando، Toucan و ژنوتیپ وحشی *B. procumbens* مقاوم به نماتد سیستی چغندرقند می‌باشند و توده‌های 7112*SB36*SB29، 7112*SB36*SB30، 7112*SB36*SB28 و ارقام ۰۳۱، ۰۳۴ و ۰۳۵ حساس به نماتد سیستی چغندرقند می‌باشند و جمعیت‌های نماتد ایران از نظر بیماری‌زایی، خروج از تخم و سیست با یکدیگر تفاوت دارند.

منابع

Damad Zadeh M. 2007. Nematology in agriculture. Andisheh Gostar Publication. 208 p. (In Persian).

Eisenback J. D. and Zunke U. 1998. Extraction, culturing, and microscopy, pp. 141-155. In: Sharma S. B. (Ed). The cyst nematodes. Kluwer Academic Publishers, Dordrecht, the Netherlands.

Griffin G. D. 1981. Pathological differences in *Heterodera schachtii* populations. Journal of Nematology 13: 191-195.

Heijbroek W., Roelands A. J., de Jong J. H., van Hulst C., Schoon A. H. L. and Munning R. G. 1988. Sugar beets homozygous for resistance to beet cyst nematode (*Heterodera schachtii* Schm.), developed from monosomic additions of *Beta procumbens* to *B. vulgaris*. Euphytica 38: 121-131.

Lange W. and De Bock Th. S. M. 1994. Pre-breeding for nematode resistance in beet. Journal of Sugar Beet Research 31: 13-26.

Lange W., Muller J. and De Bock Th. S. M. 1993. Virulence in the beet cyst nematode (*Heterodera schachtii*) versus some alien genes for resistance in beet. Fundamental and Applied Nematology 16: 447-454.

Mc Farlane J. S., Savitsky H. and Steele A. E. 1982. Breeding for resistance to the sugar beet nematode. Journal of the American Society of Sugar Beet Technologists 21: 311-323.

Mesken M. & Lekkerkerker B. 1988. Selectie op partiele resistentie tegen het bietecystenaaltje in kruisingen van suiker-en voederbieten met *B. maritime* (selection of partial risistance to the beet cyst nematode in crosses between sugar and fodderbeets and *B. maritima*). Prophyta Bijlage Januari 68-71.

Müller J. 1998. New pathothypes of the beet cyst nematode (*Heterodera schachtii*) differentiated on alien genes for resistance in beet (*Beta vulgaris*). Fundamental and Applied Nematology 21: 519-526.

Parvizi R., Eshtiaghi H. and Kheyri M. 1993. Effect of population density of sugar beet nematodes on yield and food elements of root and vein of sugar beet in Azerbaijan. Eleventh Plant Protection. Congress of Iran. Gilan. 129 p.

Rahmani N., Mesbah M., Norouzi P. and Mahmoudi S. B. 2009. Evaluation of resistance of several sugar beet genotypes to cyst nematode in greenhouse conditions. Sugar Beet 25: 13-22. (In Persian with English Summary)

Sikora E. J. and Noel G. R. 1996. Hatch and emergence of *Heterodera glycines* in root leachate from resistant and susceptible soybean cultivars. Journal of Nematology 28: 501.

Steele A. E. and Savistky H. 1981. Resistance of trisomic and diploid hybrids of *Beta vulgaris* and *B. procumbens* to the sugarbeet nematode, *Heterodera schachtii*. Journal of Nematology 13: 352-257.

Vahedi S., Rajabi A. Mahmoudi S. B. and Aghaei Zadeh M. 2012. Evaluation of different sugar beet populations for resistance to beet cyst nematode (*Heterodera schachtii* Schmidt). Plant Protection 35: 31-43. (In Persian with English Summary)

Warner F. 2008. Sugarbeet cyst nematode. Michigan state university. MSU Diagnostics services.

Yu M. H. and Steele A. E. 1981. Host-parasite interaction of resistant sugarbeet and *Heterodera schachtii*. Journal of Nematology 13: 206-212.