بیماری‌های گیاهی / جلد ۵۶ / شماره ۲ / سال ۱۳۹۹: ۱۵۳-۱۶۲
DOI: 10.22034/ijpp.2020.46900

مقاله پژوهشی

بررسی واکنش هفت اکوتیپ یونجه (*Medicago sativa* L.) نسبت به نماتد ساقه و پیاز (*Ditylenchus dipsaci*)*

فرزاد مرادی[۱]، حجت‌اله مظاهری لقب[۲]، لیلا کاشی[۳]* و سیدسعید موسوی[٤]

(تاریخ دریافت: ۱۳۹۸/۱۰/۹؛ تاریخ پذیرش: ۱۳۹۹/۲/۱۳)

چکیده

نماتدهای انگل گیاهی باعث کاهش معنی‌دار تولید محصولات کشاورزی می‌شوند. نماتد ساقه و پیاز (*Ditylenchus dipsaci*) یکی از بیمارگرهای مهم تعدادی از گیاهان زینتی و زراعی از جمله یونجه محسوب می‌شود. در این مطالعه واکنش هفت اکوتیپ یونجه نسبت به این نماتد در شرایط گلخانه بررسی گردید. آزمایش در قالب طرح کاملاً تصادفی با سه تکرار انجام گرفت. نتایج نشان داد که اکوتیپ‌های مایه‌زنی‌شده با نماتد از نظر کلیه صفات رشدی به‌جز طول ریشه، در مقایسه با تیمار شاهد دارای تفاوت معنی‌داری ($P<0.05$) بودند. نماتد توانایی تولیدمثل در همه‌ی اکوتیپ‌های یونجه مورد مطالعه را داشت، اما میزان تکثیر در آن‌ها متفاوت بود. بیشترین میزان تکثیر نماتد در اکوتیپ نیشابوری با نرخ تولیدمثل ۷/۱٤ و کمترین آن در اکوتیپ‌های فیض و همدانی با نرخ تولیدمثل، به‌ترتیب ۱/۲٤ و با ۱/۸۵ مشاهده گردید. نماتد بیشتر در ساقه، فراریشه و جوانه‌ها مشاهده شد. نتایج فاکتورهای رشدی اکوتیپ‌های مورد بررسی و فاکتور تولیدمثل نماتد نشان داد که هیچ‌یک از اکوتیپ‌های مورد بررسی نسبت به نماتد ساقه مقاوم یا متحمل نبودند.

کلیدواژه: فاکتور تولیدمثل، صفات رشدی، حساسیت، میزبان

---

* بخشی از رساله نگارنده اول، ارائه شده به دانشکده کشاورزی دانشگاه بوعلی‌سینا، همدان، ایران.

** مسئول مکاتبات، پست الکترونیکی: l.kashi@basu.ac.ir

۱. دانشجوی دکتری اصلاح نباتات، گروه زراعت و اصلاح نباتات، دانشکده کشاورزی، دانشگاه بوعلی سینا، همدان، ایران.

۲. دانشیار گروه زراعت و اصلاح نباتات، دانشکده کشاورزی، دانشگاه بوعلی سینا، همدان، ایران.

۳. استادیار گروه گیاه‌پزشکی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه بوعلی سینا، همدان، ایران.

۴. استادیار گروه زراعت و اصلاح نباتات، دانشکده کشاورزی، دانشگاه بوعلی سینا، همدان، ایران.

Evaluation of alfalfa ecotypes reactions (*Medicago sativa* L.) to the stem and bulb nematode (*Ditylenchus dipsaci*)*

F. Moradi[1], H. Mazaheri Laghab[2], L. Kashi[3], and S. S. Mousavi[4]**

(Received: 30.12.2019; Accepted: 2.5.2020)

Abstract

Plant-parasitic nematodes significantly reduce crop production. The stem and bulb nematode (*Ditylenchus dipsaci*) is one of the important pathogen of several ornamental and field crops including alfalfa. In this study, the reactions of seven alfalfa ecotypes to the nematode were investigated under greenhouse conditions. The experiment was conducted based on completely randomized design with three replicates. The results showed significant differences ($P<0.05$) among inoculated ecotypes with the nematode in all morphological traits (except of root length) compared to the control. The nematode reproduced in all studied alfalfa ecotypes, but the rate of reproduction was different. The highest reproduction factor (RF) was observed on the ecotype Neishabouri (RF = 7.14) and the lowest on Feiz and Hamedani with reproduction factors of 1.24 and 1.85, respectively. The highest number of the nematode was observed in stems, rhizosphere and buds. The results showed that none of these ecotypes were resistant or tolerant to the stem and bulb nematode.

Keywords: Reproduction factor, morphological characters, susceptibility, host.

---

* A Part of Ph.D. Thesis of the First Author, Submitted to Faculty of Agriculture, Bu-Ali Sina University, Hamedan, Iran.

Corresponding author's E-mail: l.kashi@basu.ac.ir

1. Ph.D. Student, Department of Agronomy and Plant Breeding, Faculty of Agriculture, Bu-Ali Sina University, Hamedan, Iran.
2. Associated Professor, Department of Agronomy and Plant Breeding, Faculty of Agriculture, Bu-Ali Sina University, Hamedan, Iran.
3. Assistant Professor, Department of Plant Protection, Faculty of Agriculture, Bu-Ali Sina University, Hamedan, Iran.
4. Assistant Professor, Department of Agronomy and Plant Breeding, Faculty of Agriculture, Bu-Ali Sina University, Hamedan, Iran.

مقدمه

در بین گیاهان علوفه‌ای، یونجه (*Medicago sativa* L.) به علت کیفیت خوب و خوش خوراکی برای دام، دارا بودن ذخایر غذایی از جمله مواد معدنی مختلف و انواع پروتئین‌های گوناگون، اهمیت خاصی پیدا کرده است (Karimi 2002). در بین نماتدهای انگل گیاهی، نماتد ساقه یونجه (*Ditylenchus dipsaci* (Kuhn, 1857) Filipjev 1936) یکی از بیمارگرهایی است که خسارت قابل توجهی به محصولات مختلف کشاورزی از جمله یونجه وارد می‌کند (Yavuzaslanoglu *et al.* 2018). اولین گزارش از نماتدهای یونجه در ایران مربوط به نماتد ساقه از ساوه است (Omidvar 1968). این نماتد بیش از ۳۰ نژاد دارد و به بیش از ۱۲۰۰ گونه از گیاهان زراعی و وحشی از قبیل سبزیجات، غلات، گیاهان زینتی و لگوم‌ها حمله می‌کند (IPPC 2016, Madani *et al.* 2015, Rosas-Hernandez *et al.* 2017). این نماتد اغلب به صورت انگل داخلی مهاجر و بیشتر در قسمت‌های هوایی گیاه (ساقه، برگ و گل) فعالیت داشته و به صورت لارو سن چهارم بقاء می‌یابد و حتی در بذر برخی گیاهانی از جمله باقلا، یونجه و پیاز نیز زندگی کرده و تکثیر می‌گردد (IPPC 2016, Madani *et al.* 2015, Douda 2005, Greco *et al.* 1991). علائم نماتد ساقه در گیاه یونجه معمولاً به صورت تورم پایه ساقه‌های جوان، سفید شدن رنگ ساقه و برجستگی‌ها و فرورفتگی‌هایی روی ساقه دیده می‌شود (IPPC 2016). فاصله‌ی بین گره‌ها کمتر شده و برگ‌های یونجه گاهی سفید، چروکیده و بدشکل شده و نهایتاً منجر به کاهش عملکرد علوفه‌تر و خشک می‌گردد (Griffin 1985, IPPC 2016, Campbell & Griffin 1973). در یک بررسی گلخانه‌ای در ایالت وایومینگ آمریکا نشان داده شده است که نماتد ساقه باعث کاهش عملکرد علوفه خشک و ارتفاع ساقه یونجه اکوتیپ لاداک (Ladak) به ترتیب به میزان ۵۹/۹ ٪ و ۲۰ ٪ شده است (Gray *et al.* 1984). طبق گزارش فصیحی و همکاران (Fasihi *et al.* 2010) نماتد ساقه یونجه، یکی از عوامل مؤثر در کاهش تولید محصول سیر در ایران می‌باشد. حساسیت میزبانی به نماتدهای انگل گیاهی با اندازه‌گیری قدرت تولیدمثل آن‌ها روی گیاهان مدتی پس از مایه‌زنی قابل بررسی می‌باشد (Lewis 1987). سامالیو و مارکووا (Samaliev & Markova 2015) از شاخص فاکتور تولیدمثل برای تعیین حساسیت نسبی برای ارزیابی ۱۰ اکوتیپ سیب‌زمینی نسبت به نماتدهای *D. dipsaci* و *D. destructor* در شرایط گلخانه استفاده کردند. با توجه به خطرات زیست‌محیطی ناشی از مصرف بی‌رویه سموم شیمیایی، کنترل این نماتدها با استفاده از روش‌های غیرشیمیایی ضروری به‌نظر می‌رسد. هدف از اجرای این آزمایش بررسی عکس‌العمل تعدادی از اکوتیپ‌های یونجه نسبت به نماتد ساقه بر اساس فاکتورهای رشدی گیاه و فعالیت زیستی نماتد در گیاه بود.

مواد و روش‌های بررسی

۱) تهیه بذر و جوانه‌دار کردن بذرها

بذور هفت اکوتیپ یونجه (همدانی، کریساری، فیض، پلی‌کراس شیراز، محلی میاندوآب، محلی نیشابوری و آباده) مورد استفاده در این آزمایش از مجموعه بذور دانشکده کشاورزی دانشگاه بوعلی‌سینا تهیه گردید. به منظور جوانه‌زدن، بذرها پس از شستشو و ضدعفونی آن‌ها با قارچ‌کش بنومیل ۱٪ و کشت در تشتک‌های پتری نه سانتی‌متری یک‌بار مصرف سترون، به مدت ۱۰ روز در دمای ۲۰ درجه سانتی‌گراد (۱۶ ساعت روشنایی و ۸

ساعت تاریکی) نگهداری شدند. سپس گیاهچه‌ها به لیوان-های کاغذی یک‌بار مصرف و بعد به گلدان‌های پلاستیکی با قطر دهانه ۱۴ و ارتفاع ۱۱ سانتی‌متری منتقل گردیدند. در هر گلدان، چهار کیلوگرم خاک شامل ترکیبی از خاک مزرعه گندم و ماسه رودخانه‌ای به نسبت دو به یک استفاده شد که پس از مرطوب کردن به صورت جداگانه با اتوکلاو سترون و سپس مخلوط گردید. بافت خاک مورد نظر لومی-شنی (ماسه ۶۵/۴٪ ماسه، ۱۸/۳٪ سیلت و رس ۱۶/۳٪) بود. آزمایش در قالب طرح کاملاً تصادفی با سه تکرار برای هفت اکوتیپ در آزمایشگاه و گلخانه اجرا شد. در هر گلدان ابتدا پنج گیاهچه کشت شد، سپس دو گیاهچه حذف و سه گیاهچه جهت مطالعه و بررسی، نگهداری و هر دو روز یک‌بار آبیاری انجام گردید.

۲) جمع‌آوری و تکثیر نماتد

نمونه‌های گیاه یونجه از یک مزرعه یونجه آلوده به *D. dipsaci* واقع در روستای قرخلر از توابع شهرستان قهاوند استان همدان، جمع‌آوری شد. نماتدها به روش سینی استخراج شدند (Whitehead & Hemming 1965). جهت تأمین جمعیت مورد نیاز از نماتد ساقه و پیاز، پس از سترون کردن آن‌ها با سولفات استرپتومایسین ۱٪ (Bakooie *et al.* 2009)، بر روی دیسک‌های هویج کشت داده شدند. سپس تشتک‌های پتری حاوی نماتد در دمای ۲۱-۲۰ درجه سانتی‌گراد درون انکوباتور نگهداری شدند (Fasihi *et al.* 2010.). نماتدها حداقل طی دو چرخه تولیدمثلی (حدود دو ماه) در بافت کالوس هویج نگهداری شدند تا بیشترین جمعیت نماتد به‌دست آید (Faulkner *et al.* 1974).

۳) مایه‌زنی نماتد روی اکوتیپ‌های یونجه

گیاهچه‌ها در میانگین دمایی ۲۱ درجه سانتی‌گراد در گلخانه نگهداری شده و هر گیاهچه با میانگین ۱۸۰ عدد نماتد بالغ و مراحل لاروی و تخم در مرحله سه تا چهار برگی مایه‌زنی شدند. بدین منظور سوسپانسیونی یکنواخت حاوی ۱۰ میکرولیتر کربوکسی متیل سلولز ۲ ٪ (Carboxy Methyl Cellulose)، در زاویه برگی قرار داده شد (Kühnhold *et al*, 2006). جهت اطمینان از آلوده‌شدن گیاهچه‌ها مایه‌زنی یک هفته بعد تکرار شد. جهت تأمین رطوبت حدود ۸۰٪ و نفوذ بهتر نماتد در گیاه میزبان، از دستگاه بخارساز به مدت یک هفته استفاده گردید (Hajihassani 2016). آزمایش برای تیمارهای شاهد، بدون افزودن نماتد انجام گردید. دو ماه پس از مایه‌زنی نماتد، صفات رشدی گیاهی شامل طول ساقه، طول ریشه، طول میان‌گره‌ها و تعداد شاخه فرعی بر روی ساقه اندازه‌گیری شدند. همچنین تعداد نماتد (بالغ، مراحل لاروی و تخم) در یک گرم از بافت ساقه، برگ، جوانه و نیز یک گرم از مخلوط بافت‌های اندام‌های هوایی شمارش گردید. به‌نحوی‌که هر یک از بافت‌های مذکور در هر تکرار به‌صورت جداگانه به قطعات کوچکتر تقسیم شده و سپس مخلوط گردید. سپس یک گرم از هر بافت انتخاب شده و نماتدهای (بالغ، لارو و تخم) آن شمارش شد. تعداد نهایی نماتد در هر تکرار از میانگین سه نمونه یک گرمی به‌دست آمد. برای شمارش تعداد نماتد در خاک، ابتدا خاک هر گلدان مخلوط شده، سپس ۱۰۰ سانتی‌متر مکعب از آن انتخاب گردید. نماتدها به روش سینی Whitehead & Hemming 1965) استخراج و شمارش شدند. تعداد نماتد هر تکرار از میانگین سه نمونه ۱۰۰ سانتی‌متر مکعبی هر گلدان به‌دست آمد. در نهایت فاکتور تولیدمثل (RF) با

جدول ۱. تأثیر *Ditylenchus dipsaci* بر طول ریشه و ساقه اکوتیپ‌های یونجه دو ماه پس از مایه‌زنی با استفاده از آزمون T.

Table 1. Effect of *Ditylenchus dipsaci* on root and stem lengths of alfalfa ecotypes, two months after inoculation using T-test.

Ecotype	Mean ± STD of root length (cm)		Mean ± STD of stem length (cm)	
	Control	Nematode treatment	Control	Nematode treatment
Kerisari	14.26 ± 0.9	16.23 ± 096^{ns}	13.47 ± 0.94	10.63 ± 1.40*
Hamedani	27.50 ± 2.06	21.63 ± 3.01^{ns}	18.63 ± 1.96	12.13 ± 2.25*
Faize	21.24 ± 2.58	20.30 ± 3.60^{ns}	12.83 ± 1.52	9.40 ± 0.85*
Miyan-Doab	26.36 ± 6.50	19.30 ± 3.01^{ns}	25.06 ± 2.21	18.30 ± 2.93*
Nishabouri	13.93 ± 3.25	13.90 ± 1.53^{ns}	18.63 ± 2.80	12.26 ± 1.98*
Abadeh	14.00 ± 2.45	14.67 ± 0.56^{ns}	18.80 ± 1.15	13.67 ± 1.41**
Polycros shiraz	26.37 ± 6.50	19.30 ± 3.01^{ns}	20.03 ± 1.36	13.73 ± 1.07**

*، ** و ns به ترتیب: معنی‌دار در سطح احتمال ۵ درصد، ۱ درصد و غیر معنی‌دار

*, ** and ns: significant at 5% and 1% level respectively and non significant

تعیین جمعیت نهایی و تقسیم آن به جمعیت اولیه محاسبه گردید، به هنگام شمارش مجموع تعداد نماتدهای بالغ، لارو و تخم در نظر گرفته شد (Taylor *et al.* 2000).

٤) محاسبات آماری

تجزیه و تحلیل داده‌ها با استفاده از نرم‌افزار SPSS 16 صورت گرفت. میانگین صفات رشدی برای هر اکوتیپ در تیمار شاهد و مایه‌زنی‌شده با نماتد با استفاده از آزمون t مورد مقایسه قرار گرفت. همچنین برای مقایسه میانگین، پس از آزمون نرمال بودن باقیمانده داده‌ها و آزمون یکنواختی واریانس تیمارها، از آزمون چند دامنه‌ای دانکن در سطح احتمال ۰/۰۵ استفاده شد.

نتایج و بحث

۱- تأثیر نماتد ساقه بر صفات رشدی اکوتیپ‌های یونجه مورد مطالعه

نتایج نشان داد که طول ریشه در تیمار مایه‌زنی‌شده با نماتد در مقایسه با شاهد در هیچ یک از اکوتیپ‌ها اختلاف معنی‌داری (P>0.05) نشان نداد (جدول ۱) زیرا نماتد ساقه یونجه یک انگل مهاجر بوده و بیشتر در درون ساقه، جوانه‌های ساقه و قسمت‌های هوایی گیاه فعالیت دارد (Chin *et al.* 2018). بنابراین، عدم تفاوت معنی‌دار در این صفت، بین تیمارهای تحت تأثیر نماتد در مقایسه با شاهد، ملاک مناسبی جهت تعیین میزان حساسیت یا مقاومت آن اکوتیپ نمی‌باشد. ممکن است مدت زمان آزمایش برای بروز تفاوت‌های رشدی این صفت کافی نبوده باشد.

مقایسه میانگین طول ساقه بین تیمار مایه‌زنی‌شده با نماتد و شاهد در هر اکوتیپ نشان داد که این شاخص تحت تأثیر نماتد کاهش یافته است. به‌نحوی‌که دو اکوتیپ آباده و پلی‌کراس شیراز در سطح ۱٪ و سایر اکوتیپ‌ها در سطح ۵٪ با شاهد خود اختلاف معنی‌داری را نشان دادند (جدول ۱).

از نظر میانگین تعداد شاخه‌های فرعی بر روی ساقه اصلی، در اکوتیپ‌های مختلف مورد مطالعه به استثنای کریساری، بین شاهد و تیمار مایه‌زنی‌شده با نماتد، تفاوت آماری معنی‌داری مشاهده گردید و تعداد شاخه‌های فرعی در تیمارهای مایه‌زنی‌شده با نماتد نسبت به شاهد خود کاهش یافت. این اختلاف در اکوتیپ پلی‌کراس شیراز در سطح ۱٪ و در پنج اکوتیپ دیگر شامل همدانی، فیض،

جدول ۲. تأثیر *Ditylenchus dipsaci* بر تعداد شاخه‌های فرعی و طول میان‌گره اکوتیپ‌های یونجه دو ماه پس از مایه‌زنی با استفاده از آزمون T.

Table 2. Effect of *Ditylenchus dipsaci* on sub-branches number and internodes length of alfalfa ecotypes, two months after inoculation using T-test.

Ecotype	Mean of sub-branches No.		Mean of internodes length (cm)	
	Control	Nematode treatment	Control	Nematode treatment
Kerisari	11.00 ± 2.00	7.67 ± 1.52ns	2.76 ± 0.40	1.83 ± 0.25*
Hamedani	11.00 ± 1.00	8.00 ± 1.00*	4.26 ± 0.68	2.93 ± 0.20*
Faize	9.67 ± 1.52	6.00 ± 1.00*	3.13 ± 0.35	2.16 ± 0.41*
Miyan-Doab	11.33 ± 0.57	8.00 ± 1.00**	3.23 ± 0.47	1.90 ± 0.20*
Nishabouri	11.67 ± 1.52	8.00 ± 1.00*	5.13 ± 0.40	3.20 ± 0.90*
Abadeh	11.33 ± 1.52	7.33 ± 1.52*	3.76 ± 0.37	2.60 ± 0.45*
Polycros shiraz	12.00 ± 1.00	8.33 ± 0.57**	4.26 ± 0.20	2.67 ± 0.51**

*، ** و ns به ترتیب: معنی‌دار در سطح احتمال ۵ درصد، ۱ درصد و غیر معنی‌دار

*, ** and ns: significant at 5% and 1% level respectively and non-significant

آباده، محلی میاندوآب و نیشابوری در سطح ۵٪ دیده شد (جدول ۲). هم‌چنین در بررسی میانگین طول میان‌گره‌ها در ساقه اصلی، بین تیمار تحت تأثیر نماتد در هر اکوتیپ نسبت به شاهد خود تفاوت آماری معنی‌داری وجود داشت. این اختلاف در اکوتیپ پلی‌کراس شیراز در سطح ۱٪ و در شش اکوتیپ دیگر مورد بررسی در سطح ۵٪ معنی‌دار بود (جدول ۲).

معنی‌دار شدن اختلاف صفات طول ساقه، تعداد شاخه‌های فرعی بر روی ساقه و طول میان‌گره‌ها در اکوتیپ‌های تحت تأثیر نماتد نسبت به شاهد همان اکوتیپ، نشان از تأثیر نماتد ساقه بر اندام‌های هوایی مورد بررسی و عکس‌العمل متفاوت اکوتیپ‌ها در برابر این نماتد می‌باشد. بنابراین با استفاده از صفات رشدی و بررسی خسارات حاصل از نماتد در مقایسه با خسارات درونی بافت‌های گیاهی به راحتی می‌توان ارقام و واریته‌های مقاوم و متحمل نسبت به نماتد را شناسایی کرد (Samaliev & Markova 2015).

۲- تأثیر اکوتیپ‌های یونجه مورد مطالعه بر فعالیت زیستی نماتد ساقه

طبق نتایج به‌دست آمده، اکوتیپ‌های مورد بررسی از نظر تعداد نماتد در هر گرم از ساقه و جوانه‌های ساقه، در مجموع اندام‌های هوایی و نیز فراریشه در سطح احتمال آماری ۱٪ و از نظر تعداد نماتد در هر گرم برگ در سطح احتمال آماری ۵٪ با یکدیگر اختلاف آماری معنی‌داری نشان دادند. می‌توان نتیجه گرفت که این اکوتیپ‌ها در برابر نماتد دارای واکنش‌های متفاوتی هستند. اکوتیپ نیشابوری بیشترین تعداد نماتد و پس از آن به ترتیب اکوتیپ‌های آباده، محلی میاندوآب، کریساری، پلی‌کراس شیراز قرار داشته و دو اکوتیپ همدانی و فیض کمترین تعداد نماتد را داشتند (جدول ۳). با توجه به این‌که دیواره سلولی گیاه از ساختار سخت و ضخیم میکروفیبریل‌های همی‌سلولز، پکتین و پروتئین تشکیل شده است نماتدهای انگل گیاهی جهت نفوذ به درون بافت‌های گیاهی از طریق دیواره سلولی میزبان و تغذیه و حرکت خود، اقدام به تولید آنزیم‌های مختلفی می‌نمایند و پروتئین‌های مؤثر در

جدول ۳. تأثیر اکوتیپ‌های مختلف یونجه بر فاکتور تولیدمثل و تعداد نماتد *Ditylenchus dipsaci* در اندام‌های مختلف گیاه آلوده دو ماه پس از مایه‌زنی

Table 3. Effects of different alfalfa ecotypes on reproduction factor and number of *Ditylenchus dipsaci* in different parts of infected plants two months after inoculation.

Ecotype	RF	nNR	nNS	nNB	nNL*	nTN
Kerisari	3.74bcd	174 a	219 b	119 bc	524 ab	1349 bcd
Hamedani	1.85de	70 bc	80 cd	73 cd	0 c	668 de
Faize	1.24e	75 bc	23 d	26 d	0 c	449 e
Miyan-Doab	4.80bc	157 ab	113 bc	120 bc	558 ab	1727 bc
Nishabuori	7.14a	202 a	382 a	173ab	892 a	2572 a
Abadeh	5.24b	79 bc	337 a	203 a	627 a	1888 b
Polycros Shiraz	2.87cde	38 c	58 cd	20 d	419 ab	1036 cde

تعداد نماتد در یک گرم بافت ساقه (nNS)، برگ (nNL)، جوانه (nNB) مجموع بافت‌های گیاه (nTN) و صد گرم فراریشه (nNR). RF: فاکتور تولیدمثل. همه داده‌ها میانگین سه تکرار می‌باشند. حروف مشابه در ستون تعداد نماتد در برگ در سطح ۵٪ و در هر یک از سایر ستون‌ها بیانگر عدم اختلاف معنی‌دار در سطح احتمال ۱٪ برحسب آزمون دانکن می‌باشد.

Number of nematode in one gram of stem (nNs), leaf (nNL), bud (nNB), all plant tissues (nTN) and 100 g of rhizosphere (nNR). RF: Nematode reproduction factor. All figures are average of three replicates. Values within each column followed by the same letter are not significantly different at P = 0.05 for nNL, and at P = 0.01 for each of the other columns (Duncan's Multiple Range Test).

بیماری‌زایی را از طریق استایلت به درون بافت گیاه منتقل نمایند (Davis *et al.* 2000). ترشحات نماتدهای انگل گیاهی در نفوذ و حرکت لارو سن دوم در بافت گیاه، هضم محتویات سلول و غیرفعال کردن سیستم‌های دفاعی گیاه میزبان و در نتیجه در افزایش تولیدمثل نماتد نقش دارند (Curtis 2007). اما در گیاهان غیرمیزبان، این ترشحات آنزیمی روی دیواره سلولی اثر نداشته و یا دارای تأثیر اندکی بوده و نماتد تولیدمثل ندارد و روند گسترس نماتد و تخریب بافت‌های گیاهای به تاخیر می‌افتد (Hillnhutter *et al.* 2011). نتایج به‌دست آمده از مطالعه حاضر نشان داد که ساقه و جوانه‌های ساقه محل مناسبی برای تکثیر و تولیدمثل نماتد ساقه یونجه می‌باشند، به‌نحوی‌که به‌ترتیب ساقه‌های اکوتیپ‌های نیشابوری، آباده، کریساری و محلی‌میان‌دوآب و نیز جوانه‌های ساقه در اکوتیپ‌های آباده، نیشابوری، محلی میان‌دوآب و کریساری دارای بیش‌ترین تعداد نماتد و اکوتیپ‌های همدانی، فیض و پلی‌کراس شیراز دارای کم ترین تعداد نماتد در ساقه و جوانه‌های ساقه بودند. البته شرایط محیطی کنترل شده، بیانگر شرایطی مناسب برای تولیدمثل نماتد ساقه می‌باشد (Douda 2005).

میانگین بیشترین تعداد نماتد به ترتیب در فراریشه اکوتیپ‌های نیشابوری، کریساری، محلی میان‌دوآب، آباده، فیض، همدانی و پلی‌کراس شیراز، و در برگ به ترتیب در اکوتیپ‌های نیشابوری، آباده، میان‌دوآب، کریساری و پلی‌کراس شیراز مشاهده شده و در اکوتیپ‌های فیض و همدانی نماتدی مشاهده نگردید (جدول ۳).

با توجه به اختلاف آماری معنی‌دار بین تیمار تحت تأثیر نماتد و شاهد در هر اکوتیپ، در تمام اندام‌های هوایی اکوتیپ‌های مورد بررسی (به غیر از تعداد شاخه‌های فرعی کریساری)، می‌توان گفت هر هفت اکوتیپ مورد مطالعه تحت تأثیر *D. dipsaci* قرار گرفته و فعالیت این نماتد منجر به کاهش رشد اندام‌های هوایی اکوتیپ‌های مورد بررسی شده است. همچنین علاوه بر فراریشه، نماتدها بیشتر در ساقه و جوانه‌های ساقه مشاهده شدند که خود

تأییدی بر مهاجر و متحرک بودن نماتد و حساسیت این نواحی نسبت به این نماتد است. طبق گزارش لیلیت (Lilieth 2019) نماتد ساقه یونجه به عنوان یک عامل تنش‌زا برای گیاه عمل کرده و سبب کاهش رشد و عملکرد گیاه می‌شود.

به‌طور کلی میانگین بیشترین تعداد مراحل مختلف نماتد در بین هفت اکوتیپ مورد بررسی در بافت ساقه، برگ، مجموع بافت‌های گیاهی و خاک فراریشه در اکوتیپ نیشابوری و در بافت جوانه در اکوتیپ‌های آباده و نیشابوری مشاهده گردید. همچنین میانگین کمترین تعداد نماتد در ساقه و جوانه در اکوتیپ پلی‌کراس شیراز و در بافت برگ و مجموع بافت‌های گیاهی و نیز خاک فراریشه در اکوتیپ‌های فیض، همدانی و پلی‌کراس شیراز شمارش شد.

تفاوت بین اکوتیپ‌ها از نظر تعداد نماتد تکثیر شده در آن‌ها در واقع نشان‌دهنده میزان تأثیرپذیری گیاه از نماتد است که در اکوتیپ‌های حساس، این میزان تأثیرپذیری بیشتر مشاهده می‌شود و می‌توان از نرخ تولیدمثل نماتد در درون بافت‌های گیاهی میزبان، به عنوان یک معیار برای ارزیابی کاهش عملکرد گیاهان زراعی استفاده کرد (Yavuzaslanoglu *et al.* 2015).

فاکتور تولیدمثل (RF) برای اکوتیپ‌های مورد بررسی، بین ۱/۲۴ تا ۷/۱۴ محاسبه گردید به‌نحوی‌که کم‌ترین فاکتور تولیدمثل در اکوتیپ‌های فیض و همدانی و پس از آن‌ها به ترتیب پلی‌کراس شیراز، کریساری، محلی میان‌دوآب، آباده و نیشابوری قرار گرفتند. طبق نظر تایلور و همکاران (Taylor *et al.* 2000) اگر فاکتور تولیدمثل (RF) کمتر از ۰/۱ باشد گیاه غیرمیزبان، اگر بین ۰/۱ و یک باشد گیاه به عنوان میزبان ضعیف و اگر بیشتر از یک باشد گیاه به عنوان میزبان مناسب و حساس شناخته می‌شود.

بنابراین می‌توان گفت همه اکوتیپ‌های مورد بررسی در این مطالعه به عنوان میزبان نماتد ساقه شناخته شدند، هرچند میزان تکثیر نماتد در آن‌ها بسیار متفاوت بوده است (جدول ۳). خصوصیات خاک مثل دما، رطوبت، وضعیت مواد غذایی و بافت خاک نیز بر فعالیت زیستی نماتد و گیاه تأثیرگذار است (Ploweright *et al.* 2002, Douda 2005, Kühnhold *et al.* 2006). همچنین مراحل لاروی بر میزان جمعیت نهایی نماتد، خسارت و شدت آن بر گیاه تأثیرگذار است و به همین دلیل باید شرایط محیطی تا حد امکان کنترل شده باشد تا بتوان میزان خسارت وارد شده از طرف نماتد بر گیاه را مورد بررسی دقیق قرار داد و به تبع آن میزان حساسیت و متحمل بودن گیاه نسبت به نماتد را تشخیص داد (Hajihassani 2016. Taylor *et al.* 2000, Yavuzaslanoglu *et al*, 2015). سمالیو و مارکووا (Samaliev & Markova 2015) بر اساس شاخص فاکتور تولیدمثل نشان دادند که از بین ده اکوتیپ سیب‌زمینی که به مدت ۱۸ هفته به نماتد *D .dipsaci* و *D. destructor* آلوده شده بودند، هشت اکوتیپ حساس و دو اکوتیپ مقاوم نسبت به *D. dipsaci* بود. حاجی‌حسنی و همکاران (Hajihassani *et al.* 2016) بر اساس صفات فاکتور تولیدمثل نماتد و بیوماس گیاه، میزان مقاومت و حساسیت گیاهان خارلته، گندم، لوبیا، سیر و نخود زرد را نسبت به نماتدهای *D. dipsaci* و *D. weischeri* ارزیابی و گزارش کردند که این گیاهان نسبت به گونه‌های مورد بررسی عکس‌العمل‌های متفاوتی دارند. لذا می‌توان اذعان داشت که جمعیت نماتد زنده در قسمت‌های هوایی گیاهان مقاوم نسبت به گیاهان حساس کمتر است (Samaliev & Stoyanov 2007, Singh *et al.* 2015, Poirier *et al.* 2019).

طبق تعریف کوک و ایوانز (Cook & Evans 1987)،

رقمی متحمل است که در حضور نماتدهای انگل گیاهی توانایی حفظ پتانسیل عملکردی مناسبی داشته باشد. در این مطالعه با توجه به اینکه مدت زمان رشد اکوتیپ‌ها محدود بوده و در شرایط مزرعه رشد نکرده‌اند به طور قطعی نمی‌توان گفت که اکوتیپ‌ها متحمل هستند. اما با توجه به مقایسه تعداد نماتد در اندام‌های گیاهی و مقایسه برخی از صفات رشدی گیاه در تیمارهای مایه‌زنی شده با نماتد نسبت به تیمار شاهد، مشاهده گردید که تأثیر نماتد ساقه بر این صفات و کاهش شاخص‌های رشدی مورد نظر قابل ملاحظه می‌باشد.

منابع

Bakooie M., Pourjam E. and Jalali J. M. 2009. Intraspecific variation and host specificity of Iranian populations of *Pratylenchus vulnus*. Journal of Agriculture Science and Natural Resources 16: 198-208 (In Persian with English summary).

Campbell W. F. and Griffin G. D. 1973. Fine structure analyses of stem nematode-induced white flagging in *Medicago sativa*. Journal of Nematology 5(2): 123-126.

Chin S., Behm C. A. and Mathesius U. 2018. Functions of flavonoids in plant–nematode interactions. Plants 7(4): 1-17.

Cook R. and Evans K. 1987. Resistance and tolerance. In: Brown RH, Kerry BR, editors. Principles and Practice of Nematode Control in Crops. New York, NY, USA: Academic Press, pp. 179–231.

Curtis R. H. C. 2007. Plant parasitic nematode proteins and the host-parasite interaction. Briefings in Functional Genomics and Proteomics 6: 50-58.

Davis E. L., Hussey R. S., Baum T. J., Bakker J., Schots A., Rosso M. N. and Abad P. 2000. Nematode parasitism genes. Annual Review of Phytopathology 38: 365-396.

Douda O. 2005. Host range and growth of stem and bulb nematode (*Ditylenchus dipsaci*) populations isolated from garlic and chicory. Plant Protection Science 41(3): 104-108.

Fasihi M., Tanha Maafi Z., Kargar Bideh A. and Eskandari A. 2010. Host ranges variabilities, multiplication and seed-borne ability of some population of stem and bulb nematode, *Ditylenchus dipsaci* in IRAN. Iranian Journal of Plant Pathology 46(2): 179-187. (In Persian with English summary).

Faulkner L. R., Bower D. B., Evans D. W. and Elgin J. H. 1974. Mass culturing of *Ditylenchus dipsaci* to yield large quantities of inoculum. Journal of Nematology 6(3): 126-129.

Gray F. A., Boelter R. H. and Roehrkasse G. P. 1984. Alfalfa stem nematode (*Ditylenchus dipsaci*) in Wyoming. Plant Disease 68: 620-623.

Greco N., Vovlas N., Inserra R. N. 1991. The stem and bulb nematode *Ditylenchus dipsaci*. Nematology Circular No. 187.

Griffin G. D. 1985. Nematode parasites of alfalfa, cereals and grasses, pp. 243-322. In: W. R. Nickle (Ed.). Plant and insect nematodes. Marcel Dekker Inc., USA.

Hajihassani A. 2016. Study of host preferences of the stem nematodes *Ditylenchus weischeri* and *D. dipsaci*. Ph.D thesis. Department of Soil Science University of Manitoba Winnipeg, Manitoba. 171 p.

Hajihassani A., Tenuta M. and Gulden R. H. 2016. Host preference and seed borne transmission of *Ditylenchus wiescheri* and *D. dipsaci* on select pulse and non-pulse crops grown in the Canadian prairies. Plant Disease 100(6): 1087-1092.

Hillnhutter C., Albersmeier A., Berdugo C. A. and Sikora R. A. 2011. Synergistic damage by interactions between *ditylenchus dipsaci* and *Rhizoctonia solani* (AG 2-2IIIB) on sugar beet. Journal of Plant Diseases and Protection 118: 127-133.

IPPC 2016. International standards for phytosanitary measures. ISPM 27 diagnostic protocols, DP 8: *Ditylenchus dipsaci* and *Ditylenchus destructor*. International Plant Production Convention. 34 p.

Karimi H. 2002. Alfalfa. 2th ed. Tehran University Academic Publishing Center. 372 p.

Kühnhold V., Kiewnick S. and Sikora R. A. 2006. Development of an in vivo bioassay to identify sugar beet resistance to the stem nematode *Ditylenchus dipsaci*. Nematology 8: 641-645.

Lewis S. A. 1987. Nematode plant compatibility, pp. 246-252. In: A. Veeh, and D. W. Dickson (Eds). Vistas on nematology. Hyattsville, MD, Society of Nematology, USA.

Lilieth I. 2019. Epidemiology and Management of Stem and Bulb Nematode. A Thesis Presented to the University of Guelph, Ontario, Canada. 227 p.

Madani M., Tenuta M., Chizhov V. N. and Subbotin S. A. 2015. Diagnostics of stem and bulb nematodes, *Ditylenchus weischeri* and *D. dipsaci* (Nematoda: Anguinidae), using PCR with species-specific primers. Canadian Journal of Plant Pathology 37(2): 212–220.

Omidvar M. 1968. Plants harmful nematodes. Ministry of Agriculture. 196 p. (In Persian).

Ploweright R. A., Caubel G. and Mizen K. A. 2002. *Ditylenchus* species, pp. 107-140. In: J. L. Starr, R. Cook and J. Bridge (Eds). Plant resistance to parasitic nematodes. CABI Publishing, UK.

Poirier S., Dauphinais N., Van Der Heyden H., Véronneau P. Y., Bélair G., Gravel V. and Mimee B. 2019. Host range and genetic characterization of *Ditylenchus dipsaci* populations from Eastern Canada. Plant Disease 103(3): 456-460.

Rosas-Hernandez L., Ramirez-Suarez A., Alcasio-Rangel S., Lopez-Buenfil J. A. and Medina-Gomez E. 2017. Detection, identification and phylogenetic inference of the stem nematode *Ditylenchus dipsaci* (Kuhn) filipjev (Nematoda: Anguinidae) affecting alfalfa *Medicago sativa* L. in Jalisco, Mexico. Mexican Journal of Phytopathology 35(3): 377-396.

Samaliev H. and Markova D. 2015. Resistance of potato cultivars to *Ditylenchus dipsasi* and *Ditylenchus destructor*. Science & Technologies 6: 1-7.

Samaliev H. and Stoyanov D. 2007. Parasitic nematodes of crop plants and their control. Agricultural Academic Press, Plovdiv. 328p.

Singh S., Singh B. and Singh A. P. 2015. Nematodes: A threat to sustainability of agriculture. Procedia Environmental Sciences 29: 215-216.

Taylor S., Hollaway G. J. and Hunt C. H. 2000. Effect of field crops on population densities of *Pratylenchus neglectus* and *P. thornei* in southeastern Australia; Part 1: *P. neglectus*. Journal of Nematology 32: 591-599.

Whitehead A. G. and Hemming J. R. 1965. A comparison of some quantitative methods of extracting small vermiform nematodes from soil. Annals of Applied Biology 55(1): 25-38.

Yavuzaslanoglu E., Ates Sonmezoglu O., Genc N., Akar Z. and Terzi B. 2018. Molecular characterization of *Ditylenchus dipsaci* on onion in Turkey. European Journal of Plant Pathology 151 (1): 195-200.