DOI: http://dx.doi.org/10.22092/jsb.2015.11535

سطوح بهینه زادمایه جهت ارزیابی مقاومت به نماتد مولد گره ریشه چغندرقند در شرایط گلخانه

Optimal inoculum levels for the resistance screening of sugar beet to root-knot nematode under greenhouse condition

منصوره باکویی[1]، سید باقر محمودی*[2]، ابراهیم پورجم[3] و ناصر صفایی[4]

تاریخ دریافت: ۹۳/۲/۸ ؛ تاریخ پذیرش: ۹۳/۷/۲۲

م. باکویی، س.ب. محمودی، ا. پورجم و ن. صفایی. ۱۳۹۳. سطوح بهینه زادمایه جهت ارزیابی مقاومت به نماتد مولد گره ریشه چغندرقند در شرایط گلخانه. **چغندرقند، ۳۰(۲): ۱۶۶-۱۵۷**

چکیده

چغندرقند یکی از گیاهان میزبان گونه‌های مختلف نماتد مولد گره ریشه است. در این مطالعه، ابتدا تأثیر شش سطح زادمایه ۲۵۰+۲۵۰، ۵۰۰، ۵۰۰+۲۵۰، ۷۵۰، ۵۰۰+۵۰۰ و تعداد ۱۰۰۰ لارو سن دوم *Meloidogyne javanica* در ٤٥٠ سانتی‌متر مکعب خاک، روی رقم حساس جلگه بررسی شد. نتایج نشان داد که تمامی سطوح زادمایه قادر به آلوده کردن بوته‌های چغندرقند بودند و از نظر تعداد گره‌های حاصل از مایه‌زنی طی یک یا دو نوبت، اختلاف آماری وجود نداشت. بنابراین، ۵۰۰ لارو سن دوم نماتد مولد گره ریشه کمترین سطح زادمایه است که قادر به آلوده کردن چغندرقند در شرایط گلخانه می‌باشد. در آزمایش دوم تیمار مطلوب، بر روی دو رقم جلگه (حساس به نماتد مولد گره ریشه) و پائولتا (رقم تجاری مقاوم به نماتد سیستی چغندرقند) و هفت خانواده نیمه‌خواهری که از یک جمعیت (SB33) مقاوم به نماتد مولد گره ریشه منشأ گرفته بودند مایه‌زنی شدند تا عمومی بودن تیمار مناسب غربال‌گری، بررسی شود. تعداد گره‌های تشکیل شده روی ریشه ملاک ارزیابی مقاومت بود. بر اساس نتایج حاصله رقم جلگه با میانگین گره بالای ۱۰۰ عدد جزو گیاهان حساس و هفت خانواده نیمه‌خواهری جمعیت SB33 با میانگین تعداد گره کمتر از یک، جزو گیاهان مقاوم دسته‌بندی شدند. رقم تجارتی پائولتا که به نماتد سیستی چغندرقند مقاوم بود به نماتد مولد گره ریشه حساسیت بالایی داشت.

واژه‌های کلیدی: چغندرقند، سطح بهینه زادمایه، مقاومت، نماتد مولد گره ریشه

[1]- دانشجوی دکتری گروه بیماری‌شناسی گیاهی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه تربیت مدرس، تهران

۲- دانشیار مؤسسه تحقیقات چغندر قند- کرج * - نویسنده مسئول mahmoudi@sbsi.ir

[3]- استاد گروه بیماری‌شناسی گیاهی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه تربیت مدرس، تهران

۴- دانشیار گروه بیماری‌شناسی گیاهی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه تربیت مدرس، تهران

مقدمه

چغندرقند (*Beta vulgaris* L.) یکی از گیاهان صنعتی و دومین منبع تولید شکر بعد از نیشکر در جهان می‌باشد و سالانه ۲۷ درصد کل شکر مصرفی دنیا را تأمین می‌کند. تاکنون چند گونه مهم از نماتدهای مولد گره ریشه (*Meloidogyne* spp.) به عنوان انگل‌های مهم اقتصادی چغندرقند در بسیاری از نقاط جهان؛ بخصوص نواحی گرمسیری و نیمه‌گرمسیری، معرفی شده است (Whitehead 1969; Janati *et al.* 1982; Arnold 1984; Ibrahim 2004). گونه‌های مهم اقتصادی نماتد مولد گره بر روی چغندرقند شامل *Meloidogyne arenaria* Chitwood، *M. incognita* Chitwood، *M. hapla* Chitwood، *M. javanica* Chitwood، *M. fallax* Chitwood و *M. chitwoodi* هستند (Whitney and Duffus 1986; Franklin 1979).

علائم حاصل از نماتد مولد گره ریشه بر روی چغندرقند با تشکیل گره روی ریشه‌های جانبی و اصلی مشخص شده (Whitney and Duffus 1986) و عملکرد و کیفیت چغندرقند را به شدت تحت تأثیر قرار می‌دهد. به دلیل دامنه میزبانی وسیع نماتد مولد گره ریشه، سمیت شدید نماتدکش‌ها برای انسان و محیط زیست و افزایش مقاومت نماتد به نماتدکش‌ها، کنترل این نماتد روی چغندرقند مشکل است (Weiland and Yu 2003). به همین دلیل مقاومت گیاه میزبان به این نماتد مهم‌ترین راه‌کار سالم جهت کم کردن مشکلات تولید چغندرقند، کاهش خطرات نماتدکش‌ها و مهمترین روش اقتصادی است که نه تنها برای کشاورز بلکه برای صنعت چغندرقند نیز مهم است (Panella and Lewellen 2007). سطح اولیه زادمایه بیمارگر، سرعت و میزان آلودگی را در گیاه میزبان تحت تأثیر قرار می‌دهد. تعیین سطح بهینه زادمایه نماتد کارآیی و ارزیابی دقیق مقاومت میزبان را تسهیل می‌کند (Hashmi *et al.* 1994).

اطلاعات کمی در مورد مقاومت گونه‌های *Beta* به نماتدهای مولد گره ریشه در دسترس است. اکثر مطالعات مربوط به تعامل چغندرقند و نماتد مولد گره ریشه در کشورهای مختلف، در ارتباط با عملکرد ارقام و حساسیتشان متمرکز شده است (Ismail *et al.* 1996; Maarg *et al.* 1998; Pathak and Keshari 2000; Korayem *et al.* 2012). پژوهش‌گران مختلف جهت بررسی مقاومت ژنوتیپ‌های چغندرقند از ۱۲۰۰ لارو سن دوم در جعبه‌های پلی‌اتیلن به حجم ۱۱۰ سانتی‌متر مکعب (Weiland and Yu 2003; Yu 2003)، ۱۰۰۰ لارو در گلدان‌های ۱۱۰ سانتی‌متر مکعبی (Yu 1995) و ۵۰۰ لارو سن دوم در گلدان‌های ۱۷۰ سانتی‌متر مکعبی (Di Vito 1983) استفاده کرده‌اند و در زمان‌های مختلف ۲۸، ۴۰، ۵۰ و ۶۰ روز پس از مایه‌زنی، گره‌های روی ریشه مورد بررسی قرار گرفت. در ایران نیز گونه‌های *M. incognita* (Akhiyani *et al.* 1993; Omidvar 1968)، *M. javanica* (Akhiyani *et al.* 1993; Mehdikhani Moghadam *et al.* 1996; Niknam and Kheiri 1996; Karegar 2006; Ommati and Giti 2010)، *M. hapla* (Ommati and Giti 2010; Karegar 2006) و *M. arenaria* (Omidvar 1968) از مزارع چغندرقند مناطق مختلف اصفهان، دشت مغان، مشهد و همدان شناسایی و جداسازی شده‌اند. ولی تاکنون هیچ‌گونه بررسی در مورد حساسیت ارقام چغندرقند در ایران صورت نگرفته است. پیش‌نیاز این کار بهینه‌سازی روش ارزیابی در گلخانه می‌باشد. لذا این مطالعه جهت تعیین سطوح بهینه زادمایه نماتد مولد گره ریشه جهت ارزیابی

مقاومت یا حساسیت مواد اصلاحی چغندرقند در شرایط گلخانه انجام شده است.

مواد و روش‌ها

آماده‌سازی زادمایه نماتد

ریشه‌های چغندرقند آلوده به نماتد مولد گره ریشه از مزرعه‌ای در شهرستان جغتای در استان خراسان رضوی در ایران جمع‌آوری گردید. خالص‌سازی با استفاده از مایه‌زنی تک کیسه تخم بر روی گوجه‌فرنگی رقم روتگرز و تکثیر روی رقم حساس جلگه انجام شد. توده‌های تخم تشکیل شده روی ریشه رقم جلگه، در محیط تاریک با دمای ۲۵-۲۷ درجه سانتی‌گراد تفریخ و سپس لاروهای سن دوم با سولفات استرپتومایسین یک درصد به مدت یک ساعت ضدعفونی و در غلظت ۵۰۰ عدد لارو در یک میلی‌لیتر آب مقطر جهت مایه‌زنی آماده شدند.

تعیین سطوح بهینه زادمایه نماتد جهت ارزیابی مقاومت/حساسیت چغندرقند

دو ماه پس از کاشت بذر، گیاهچه‌ها با لاروهای سن دوم نماتد مولد گره ریشه خالص شده مایه‌زنی شدند. موقع مایه‌زنی سه سوراخ در خاک گلدان ایجاد و انتقال سوسپانسیون آب و نماتد در پای گیاه با استفاده از سرنگ صورت گرفت. پس از اتمام مایه‌زنی، سوراخ ایجاد شده با خاک پر شد. برای گیاهان شاهد همان مقدار آب مقطر سترون بدون نماتد در نظر گرفته شد.

در این تحقیق دو آزمایش گلخانه‌ای انجام شد.

در آزمایش اول ابتدا از شش سطح مختلف لارو سن دوم نماتد مولد گره ریشه طی یک و دو نوبت مایه‌زنی، جهت بررسی بهترین میزان زادمایه در ایجاد آلودگی روی رقم حساس جلگه استفاده شد. این شش سطح شامل: تیمار ۱: ۲۵۰+۲۵۰، تیمار ۲: ۵۰۰، تیمار ۳: ۵۰۰+۲۵۰، تیمار ۴: ۷۵۰، تیمار ۵: ۵۰۰+۵۰۰ و تیمار ۶: ۱۰۰۰ لارو سن دوم نماتد مولد گره ریشه در ۴۵۰ سانتی‌متر مکعب خاک بودند. در تیمارهای ۱، ۳ و ۵، مایه‌زنی دوم به فاصله یک هفته از مایه‌زنی اول صورت گرفت.

در آزمایش دوم به منظور ارزیابی تیمار مناسب حاصل از آزمایش اول، مقاومت و حساسیت هفت خانواده نیمه‌خواهری (Half-Sib Family) از توده گرده‌افشان چندجوانه‌ای (جمعیت SB33) حامل ژن مقاومت به نماتد مولد گره ریشه به همراه یک رقم حساس به نماتد مولد گره ریشه (به نام جلگه) و یک رقم مقاوم به نماتد مولد سیست چغندرقند (به نام پائولتا) ارزیابی شد. گیاهچه‌ها با ۵۰۰ لارو سن دوم نماتد مولد گره ریشه یک بار مایه‌زنی شدند.

گیاهچه‌های مایه‌زنی شده در هر دو آزمایش در گلخانه مؤسسه تحقیقات چغندرقند واقع در کرج با دمای ۳±۲۲ درجه سانتی‌گراد به مدت ۷۰ روز نگه‌داری شدند. در پایان آزمایش با غرقاب نمودن گلدان‌ها درون آب، گیاهچه‌ها از داخل گلدان خارج و با جریان آب شسته شد. تعداد گره ریشه تمامی گیاهچه‌ها با استفاده از استرئومیکروسکوپ شمارش شد. گیاهان با ۱۰ و کمتر از ۱۰ گره روی ریشه در گروه مقاوم و گیاهان با بیش از ۱۰ گره در گروه حساس طبقه‌بندی شدند (Taylor and Sasser 1978).

تجزیه و تحلیل داده‌ها

آزمایش‌ها در قالب طرح کرت‌های کاملاً تصادفی در گلخانه انجام شد. پس از شمارش گره‌های روی ریشه تمامی بوته‌ها، گیاهان مقاوم و حساس مشخص شدند (Taylor and

Sasser 1978). جهت تجزیه و تحلیل داده‌ها در آزمایش اول از تحلیل واریانس یکطرفه (One Way ANOVA) با مقایسه میانگین‌ها به روش دانکن و در آزمایش دوم از آزمون ناپارامتری Kruskal-Wallis با مقایسه میانگین‌ها به روش‌های Mann-Whitney و Binomial استفاده شد. تجزیه و تحلیل آماری با استفاده از نرم‌افزار SPSS نسخه ۱۶ انجام شد.

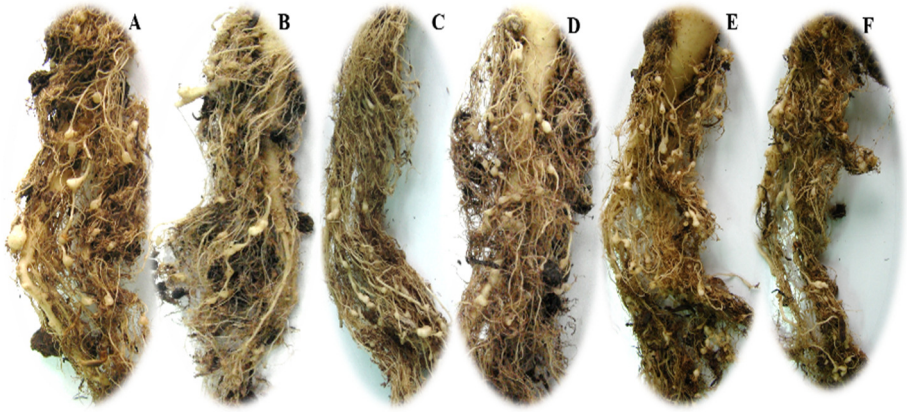
نتایج

گونه نماتد

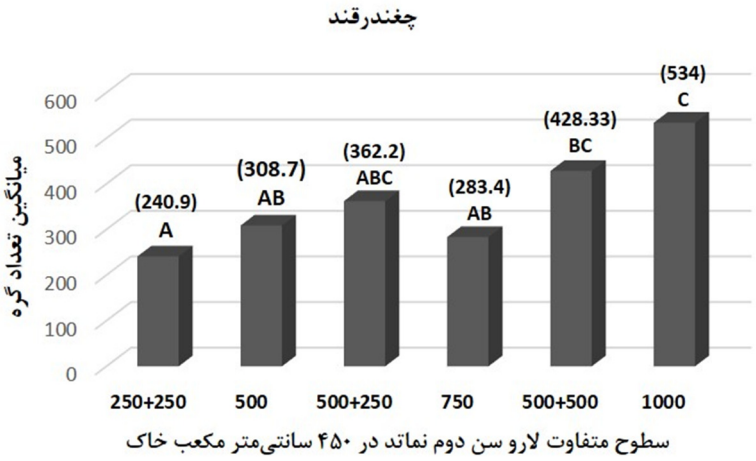
پس از خالص‌سازی و تکثیر تک توده تخم (Single Egg Mass)، شناسایی گونه بر اساس خصوصیات ریخت‌شناسی و ریخت‌سنجی نماتد ماده بالغ، لارو سن دوم و نماتد نر و با استفاده از منابع موجود صورت گرفت (Jepsen 1987). جدایه نماتدی خالص شده به گونه *Meloidogyne javanica* تعلق داشت.

زادمایه بهینه جهت آلودگی چغندرقند به نماتد مولد گره ریشه در گلخانه

بررسی ریشه‌های رقم حساس جلگه مایه‌زنی شده، نشان‌دهنده تشکیل گره و کیسه‌های تخم کاملاً مشخص در تمامی تیمارها بود (شکل ۱). تعداد گره‌های شمارش شده روی کل ریشه بین ۶۵ تا ۷۸۸ عدد به ترتیب در تیمارهای ۱ و ۶ متغیر بود. نتایج نشان داد که تیمار ۱ (۲۵۰+۲۵۰ لارو) با تیمارهای ۲ (۵۰۰ لارو)، ۳ (۵۰۰+۲۵۰ لارو) و ۴ (۷۵۰ لارو) اختلاف معنی‌دار ندارد، اما با تیمارهای ۵ (۵۰۰+۵۰۰ لارو) و ۶(۱۰۰۰ لارو) اختلاف معنی‌داری داشت ($P\leq0.01$). اختلاف میانگین تعداد گره‌های تشکیل شده در کمترین (۲۵۰+۲۵۰) و بیشترین (۵۰۰+۵۰۰ و ۱۰۰۰) سطح زادمایه معنی‌دار بود ($P\leq0.01$). همچنین اختلاف معنی‌داری در تعداد گره‌های حاصل از مایه‌زنی با چهار سطح اول زادمایه و تیمار ۶ وجود داشت ($P\leq0.01$). از طرف دیگر نتایج نشان‌دهنده عدم وجود اختلاف در مایه‌زنی طی یک یا دو بار بود (شکل ۲). لذا کمترین میزان زادمایه جهت آلوده شدن چغندرقند به نماتد مولد گره ریشه در شرایط گلخانه، ۵۰۰ لارو سن دوم در یک بار مایه‌زنی می‌باشد.



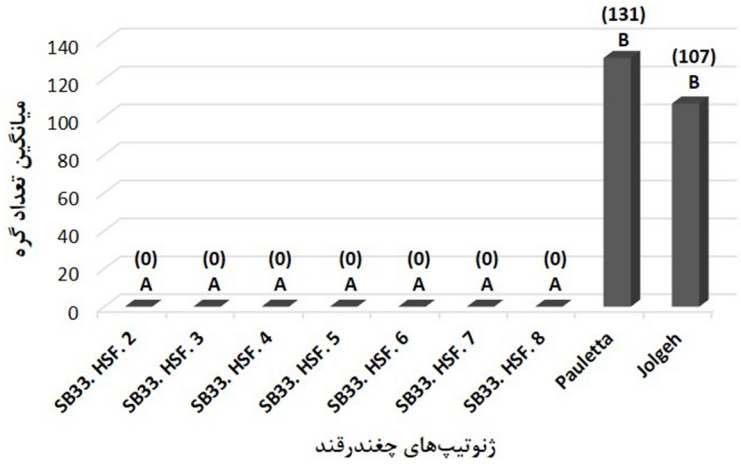
شکل ۱ گره‌های تشکیل شده روی ریشه رقم حساس جلگه ۷۰ روز پس از مایه‌زنی با سطوح مختلف A: ۲۵۰+۲۵۰، B: ۵۰۰، C: ۵۰۰+۲۵۰، D: ۷۵۰، E: ۵۰۰+۵۰۰ و F: ۱۰۰۰ لارو سن دوم *Meloidogyne javanica*



شکل ۲ تأثیر سطوح متفاوت زادمایه نماتد *Meloidogyne javanica* در میزان گره‌زایی روی رقم حساس جلگه.
ستون‌های دارای حروف مشترک فاقد اختلاف معنی‌دار می‌باشند ($p\geq0.01$)

بررسی روش بهینه جهت غربال‌گری تعدادی از ژنوتیپ‌های چغندرقند

نتایج نشان داد که ارقام پائولتا و جلگه به ترتیب با میانگین تعداد ۱۳۱ و ۱۰۷ گره روی ریشه در گروه حساس قرار گرفتند. تمامی خانواده‌های نیمه خواهری حاصل از جمعیت SB33 فاقد گره و در گروه ژنوتیپ‌های مقاوم دسته‌بندی شدند (Taylor and Sasser 1978) (شکل ۳).



شکل ۳ مقایسه میانگین تعداد گره‌های تشکیل شده روی ریشه ژنوتیپ‌های مختلف چغندرقند مایه‌زنی شده با ۵۰۰ لارو سن دوم *Meloidogyne javanica* در ۴۵۰ سانتی‌متر مکعب خاک.
ستون‌های دارای حروف مشترک فاقد اختلاف آماری معنی‌دار می‌باشند ($p\geq0.05$)

بحث

تعداد تخم و یا لارو سن دوم که به عنوان زادمایه جهت ارزیابی مقاومت به نماتد مولد گره ریشه در گلخانه استفاده می‌شود، بسته به اندازه گلدان حاوی گیاه برای رشد، حساسیت گونه گیاهی میزبان، شرایط محیطی و سایر عوامل تغییر می‌کند. به این دلیل لازم است قبل از ارزیابی مقاومت، آزمون‌های مقدماتی صورت گیرد تا بهترین غلظت زادمایه نماتد مشخص گردد (Hussey and Janssen 2002). تمامی زادمایه که مورد استفاده قرار می‌گیرد موفق به برقراری واکنش بیماری‌زایی نمی‌شود. برای مثال غلظت زادمایه برای تخم نماتد بر اساس درصد تفریخ تخم ۲۰–۲۵ درصد تعیین می‌شود. هر چه توده تخم مسن‌تر باشد، نسبت تخم‌های جنین‌دار بالاتر بوده و تفریخ این تخم‌ها بیشتر خواهد بود (Ehwaeti *et al.* 1998). تراکم یک تا دو عدد لارو به ازای هر سانتی‌متر مکعب از خاک نقطه شروع خوبی است. استفاده از لاروها به عنوان ماده آلوده‌کننده تخمین خیلی معتبری از زمان و میزان آلودگی می‌دهد و این روش در مطالعات جزئی‌تر مقاومت ترجیح داده می‌شود. حال آنکه لاروها نسبت به تخم‌ها به دستکاری نیز حساس‌ترند. بین زمان بررسی شاخص‌های مقاومت و میزان زادمایه استفاده شده رابطه مستقیمی وجود دارد؛ به طوری که استفاده از میزان بسیار کم زادمایه در یک گیاه حساس نیازمند زمان بیشتری جهت بررسی علائم قابل اندازه‌گیری می‌باشد. در غیر این صورت ممکن است واکنش حساسیت به اشتباه به واکنش مقاومت نسبت داده شود. بنابراین استفاده از مقدار مشخص و یکسان زادمایه از موارد بسیار مهم در ارزیابی مواد ژنتیکی طی برنامه‌های غربال‌گری مقاومت به نماتد است، بر این اساس بایستی مناسبت‌ترین مقدار زادمایه و هم چنین تعیین رابطه آن با تولید علائم قابل اندازه‌گیری در گیاه میزبان را در شروع برنامه‌های ارزیابی مشخص کرد. بررسی‌های محققین نشان داده است که از پنج سطح زادمایه ۲۰، ۱۰۰، ۲۰۰، ۱۰۰۰ و ۲۰۰۰ لارو و تخم نماتد مولد گره ریشه، مقاومت گوجه‌فرنگی در گلخانه در دمای ۳۲/۵ درجه سانتی‌گراد با ۲۰۰ تخم و لارو قابل ارزیابی می‌باشد (Araujo *et al.* 1982). هم‌چنین سطوح بهینه زادمایه نماتد مولد گره ریشه در ارزیابی مقاومت ریشه‌های گوجه‌فرنگی و هلو در محیط کشت بافت به ترتیب ۷۵ و ۲۰۰ لارو سن دوم تشخیص داده شد (Hashmi *et al.* 1994). پژوهشگران مختلف جهت بررسی مقاومت ژنوتیپ‌های چغندرقند از ۱۲۰۰ لارو سن دوم در جعبه‌های پلی‌اتیلن به حجم ۱۱۰ سانتی‌متر مکعب (Weiland and Yu 2003; Yu 2003)، ۱۰۰۰ لارو در گلدان‌های ۱۱۰ سانتی‌متر مکعبی (Yu 1995) و ۵۰۰ لارو سن دوم در گلدان‌های ۱۷۰ سانتی‌متر مکعبی (Di Vito 1983) استفاده کرده‌اند و در زمان‌های مختلف ۲۸، ۴۰، ۵۰ و ۶۰ روز پس از مایه‌زنی گره‌های روی ریشه را مورد بررسی قرار دادند. در یک بررسی از ۵۰۰ لارو سن دوم *M. hapla* در گلدان‌هایی به حجم ۳۵۰ سانتی‌متر مکعب جهت غربال مقاومت استفاده شد. نتایج آنها نشان داده است که از بین سه تیمار ۵۰۰، ۷۵۰ و ۱۲۵۰ لارو مایه‌زنی شده گونه مذکور، ۵۰۰ لارو طی دوبار نسبت به یک بار گره بیشتری ایجاد کرده بود. در حالی که در مقادیر بالاتر زادمایه، تعداد گره‌های حاصل از مایه‌زنی یکباره نسبت به دو بار بیشتر بوده است. دلیل آن شدت بیماری‌زایی کمتر *M. hapla* نسبت به پنج گونه معمول دیگر این جنس در چغندرقند می‌باشد (Yu *et al.* 1999)، لذا در مقادیر پایین زادمایه، استفاده از مایه‌زنی اولیه سبب مستعد شدن گیاه جهت حمله ثانویه توسط انگل می‌گردد. چرا که برخلاف بیماری‌های ویروسی، گیاهان در برابر نماتدها مصونیت

نداشته و تیمار اولیه با انگل، سبب آلودگی مجدد گیاه می‌شود (Jatala and Jensen 1976). به هر حال، نتایج این تحقیق نشان می‌دهد که مایه‌زنی دو بار نسبت به یک بار تفاوتی در میزان گره‌زایی *Meloidogyne javanica* نداشت (شکل ۳) و ۵۰۰ لارو سن دوم میزان زادمایه مناسب جهت بررسی واکنش چغندرقند نسبت به نماتد مولد گره ریشه می‌باشد که می‌توان از یک یا دو بار مایه‌زنی استفاده نمود. در حالی که سایر محققین از تعداد بیشتری لارو گونه‌های مشابه در غربال مقاومت استفاده کرده‌اند (Di Vito 1983; Yu 1995, 2003; Weiland and Yu 2003).

جمعیت SB33 حامل ژن مقاومت به نماتد مولد گره ریشه است (Yu and Lewellen 2004). از آنجا که عمل این ژن غالب است، تمامی فامیل‌های نیمه خواهری تهیه شده از آن نیز در ایران حاوی ژن مقاوم می‌باشند. ارزیابی مقاومت چغندرقند نسبت به نماتد مولد گره ریشه بر اساس تعداد گره‌های تشکیل شده روی ریشه صورت می‌گیرد. گیاهان با تعداد ۱۰ گره یا کمتر به‌عنوان مقاوم و گیاهان با بیشتر از ۱۰ گره به عنوان حساس منظور می‌شوند. میزان تولیدمثل نماتد ارتباط مستقیمی با تعداد گره ریشه داشته و این معیاری برای مقاومت چغندرقند نسبت به نماتد مولد گره است (Taylor and Sasser 1978; Yu 1995; Yu et al. 1999; Weiland and Yu 2003; Gohar and Maareg 2009). نتایج حاصل از این آزمایش‌ها نشان دادند که با استفاده از ارزیابی گلخانه‌ای می‌توان ژنوتیپ‌های مقاوم و حساس چغندرقند به نماتد مولد گره ریشه را تفکیک کرد. در همه گیاهان حساس، تعداد گره‌های تشکیل شده در روی ریشه بیش از ۱۰ عدد می‌باشد، اما تعداد گره‌ها به وضعیت رشدی گیاه بستگی دارد. رشد و تولیدمثل گونه‌های *Meloidogyne* به‌عنوان انگل-های داخلی ساکن اجباری، نیازمند گیاهان سالم است. در گیاهانی که رشد مناسب‌تر و ریشه‌های بیشتری دارند، تعداد گره در آنها بیشتر از همان ژنوتیپ با رشد ضعیف و میزان ریشه کمتر می-باشد. به همین دلیل تعداد گره‌های تشکیل شده در رقم حساس جلگه در دو آزمایش با سطح زادمایه یکسان ۵۰۰ لارو سن دوم، متفاوت بود. با وجود این در هر دو آزمایش این رقم در گروه حساس دسته‌بندی شد.

روش غربال‌گری لاین‌های مقاوم به نماتد مولد گره ریشه باید بتواند ژنوتیپ‌ها را به آسانی شناسایی نماید. با وجود این، ارزیابی گلخانه‌ای جهت شناسایی لاین‌های در حال توسعه برای مقاومت به نماتد مولد گره ریشه، نیازمند تهیه کشت خالص زادمایه نماتد بر روی گیاهان حساس می‌باشد. میزان زادمایه نماتد از محدودیت‌های ارزیابی وسیع در شرایط گلخانه است. به همین دلیل کمترین میزان زادمایه که قادر به غربال ژنوتیپ‌های مقاوم باشد مورد توجه بسیار است. در این پژوهش کمترین میزان زادمایه نماتد مولد گره ریشه جهت غربال مقاومت ۵۰۰ لارو سن دوم در ۴۵۰ سانتی‌متر مکعب خاک می‌باشد. حال آنکه سایر محققین در بررسی ژنوتیپ‌های مقاوم چغندرقند، تعداد بیشتری لارو سن دوم نماتد مولد گره ریشه را توصیه کردند.

منابع مورد استفاده:

References:

Akhiyani A, Damadzadeh M, Ahmadi AR. Identification of plant parasitic nematodes in sugar beet fields in Esfahan. Proceedings of the 11th Iranian Plant Protection Congress, Guilan University, Rasht Iran. 1993. P. 123.

Araujo MT, Dickson DW, Augustine JJ, Bassett MJ. Optimum initial inoculum levels for evaluation of resistance in tomato to *Meloidogyne* spp. at two different soil temperature. Journal of Nematology. 1982; 14(4): 536-540.

Arnold ES. Nematode parasites of sugar beet. In: W.R. Nickle, eds. Plant and Insect Nematodes. New York, Marcel Decker Inc. 1984; pp. 507-569.

Di Vito M. Reaction of *Beta* spp. to root knot nematodes. Journal of Nematology. 1983; 15(1): 144-145.

Ehwaeti ME, Phillips MS, Trudgill DL. The viability of *Meloidogyne incognita* eggs released from egg masses of different ages using different concentrations of sodium hypochlorite. Nematologica. 1998; 44: 207-217.

Franklin MT. Economic importance of *Meloidogyne* in temperature climates. In: F. Lamberti and C.E. Taylor, eds. Root-knot Nematodes (*Meloidogyne* species) Systematic, Biology and Control. London and New York: Academic Press. 1979. pp. 331-339.

Gohar IMA, Maareg MF. Effect of inoculum level, type, plant age and assessment date on evaluating sugar beet resistance methods for root- knot nematode, *Meloidogyne incognita*. Journal of Agricultural Science. 2009; 34(5): 5401-5419.

Hashmi G, Huettel RN, Hammerschlac FA, Krusberg LR. Optimal levels of *Meloidogyne incognita* inoculum for infection of tomato and peach in vitro. Journal of Nematology. 1994; 26(4): 531-534.

Hussey RS. Janssen GJW. Root-knot nematodes: *Meloidogyne* species. In: J.L. Starr, R. Cook and J. Bridge, eds. Plant resistance to parasitic nematodes. CABI publishing, Wallingford, UK. 2002; pp. 43-70.

Ibrahim IKA. Nematode Parasites of Field and Horticulture Crops. (In Arabic). Dar El-Maaref, Alexandria, Egypt. 2004; 330 pp.

Ismail AE, Aboul-Eid HZ, Besheit SY. Effects of *Meloidogyne incognita* on growth response and technological characters of certain sugar beet varieties. Afro-Asian Journal of Nematology. 1996; 6(2): 195-202.

Janati A, Aouragh EH, Meskine M. The root- knot nematodes *Meloidogyne* spp. in Morocco. 3th Research and Planning Conference on Root Knot Nematodes *Meloidogyne* spp. Coimbra, Portugal; 1982. P. 85-93

Jatala P, Jensen HJ. Self-interaction of *Meloidogyne hapla* and *Heterodera schachtii* on *Beta vulgaris*. Journal of Nematology. 1976; 8(1): 43-48.

Jepsen SB. Identification of Root Knot Nematode (*Meloidogyne*) species, CABI international Wallingford, UK. 1987; 265 pp.

Karegar A. Identification of plant-parasitic nematodes associated with sugar beet and their distribution in Hamadan province, Iran. Iranian Journal of Plant Pathology. 2006; 42(1): 159-178. (in Persian).

Korayem AM, El-Bassiouny HMS, Abd El-Monem AA, Mohamed MMM. Physiological and biochemical changes in different sugar beet genotypes infected with root-knot nematode. Acta Physiologiae Plantarum. 2012; 34: 1847-1861.

Maareg MF, Hassanein MA, Allam AI, Oteifa BA. Susceptibility of twenty six sugar beet varieties to root knot nematodes *Meloidogyne* spp. in the newly reclaimed sandy soils of Al-Bostan region. Egyptical Journal of Agronematology. 1998; 2(1): 111-125.

Mehdikhani Moghadam E, Kheiri A, Okhovat M. Morphological and morphometrical study of three endoparasitic nematodes of sugar beet in Mashhad region. Iranian Journal of Plant Pathology. 1996; 32(1-2): 1-15. (in Persian).

Niknam G, Kheiri A. Identification of plant parasitic nematodes (Tylenchida) in Moghan fields. Journal of Agricultural Science. 1996; 7(1,2): 1-33.

Omidvar AM. Plant Parasitic Nematodes, Behavior, Biology, Systematics and their Control, Ministry of Agriculture, Tehran, Iran. 1968; 192 pp.

Ommati F, Giti M. Identification and spread of sugar beet parasitic nematodes of Semnan province. Proceedings of the 19th Iranian Plant Protection Congress, Iranian Research Institute of Plant Protection, Tehran, Iran. 2010. P. 5495.

Panella L, Lewellen RT. Broadening the genetic base of sugar beet: introgression from wild relatives. Euphytica. 2007; 154: 383-400.

Pathak KN, Keshari N. Effect of inoculum levels of *Meloidogyne incognita* (Kofoid and White, 1949) Chitwood, 1919, on seed germination, seedling emergence and plant growth of red beet (*Beta vulgaris* var. *crassa*). Pest Management in Horticultural Ecosystems. 2000; 6(2): 118-123.

Taylor AL, and Sasser JN. Biology, Identification and Control of Root-Knot Nematodes (*Meloidogyne* Species). Raleigh: North Carolina State University Graphics. 1978. 111 pp.

Weiland JJ, Yu MH. A cleaved amplified polymorphic sequence (CAPS) marker associated with root-knot nematode resistance in sugar beet. Crop Science. 2003; 43: 1814-1818.

Whitehead AG. The distribution of root-knot nematode, *Meloidogyne* spp. in tropical Africa. Nematologica. 1969; 15: 315-333.

Whitney ED, Duffus E. Compendium of Beet Disease and Insects. APS Press, USA. 1986; 76 pp.

Yu MH, Heijbroek W, Pakish LM. The sea beet source of resistance to multiple species of root-knot nematode. Euphytica. 1999; 108: 151-155.

Yu MH, Lewellen RT. Registration of root-knot nematode resistant sugar beet germplasm M6-2. Crop Science. 2004; 44: 1502-1503.

Yu MH. Development of root-knot nematode resistant sugar beet. 1st Joint IIRB-ASSBT Congress, 26th Feb.-1st March. USA: San Antonio; 2003; pp. 763-65

Yu MH. Root-knot nematode development and root gall formation in sugar beet. Journal of Sugar Beet Research. 1995; 32(1): 47-58.