

تعامل نماتد سیستی (*Heterodera glycines*) و قارچ پوسیدگی ذغالی (*Macrophomina phaseolina*) در ارقام

حساس و مقاوم سویا

انیسه پازن^۱، سالار جمالی^{۱*}، محمدعلی آقاجانی^۳ و حسن ملکی زیارتی^۴

۱، ۲. دانش آموزته کارشناسی ارشد و دانشیار گروه گیاهپزشکی، دانشکده علوم کشاورزی، دانشگاه گیلان، رشت، ایران

۳. دانشیار بخش گیاهپزشکی، مرکز تحقیقات کشاورزی و منابع طبیعی گلستان، گرگان، ایران

۴، دانشجوی دکتری بیماری شناسی گیاهی، دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی ساری و محقق بیماری شناسی گیاهی واحد ثبت و

گواهی بذر و نهال، مرکز تحقیقات کشاورزی و منابع طبیعی گلستان، گرگان، ایران

(تاریخ دریافت: ۹۸/۱۰/۱۴ - تاریخ پذیرش: ۹۹/۰۷/۰۸)

چکیده

برهمکنش نماتد سیستی سویا *Heterodera glycines* و قارچ *Macrophomina phaseolina* عامل پوسیدگی ذغالی سویا روی ارقام حساس جی کا و ویلیامز و رقم مقاوم کتول در شرایط گلخانه مطالعه شد. تیمارها با استفاده از آزمون فاکتوریل با دو فاکتور تیمار و رقم، با شش تیمار مایه‌زنی شامل گیاه سالم، نماتد به تنهایی، قارچ به تنهایی، مایه‌زنی اولیه با قارچ و دو هفته بعد با نماتد، مایه‌زنی اولیه با نماتد و دو هفته بعد با قارچ و مایه‌زنی هم‌زمان قارچ و نماتد ارزیابی شدند. آزمون با سه سطح رقم، در قالب طرح بلوک‌های کامل تصادفی با پنج تکرار اجرا گردید. گیاهچه‌ها در مرحله دوبرگی با بیست عدد تخم و لارو سن دوم نماتد در هر گرم خاک، دو میلی‌لیتر از سوسپانسیون اسپور به ازای هر بوته مایه‌زنی شدند. گیاهچه‌های مایه‌زنی شده، در شرایط گلخانه و در دمای ۲۵ تا ۲۷ درجه سلسیوس نگهداری شدند. پس از گذشت پنج ماه، فاکتورهای رشدی، عملکرد گیاه، شدت بیماری و نرخ تکثیر نماتد ارزیابی شد. در رقم مقاوم کتول، شدت بیماری پوسیدگی ذغالی در تیمارهای متفاوت اختلاف معنی‌دار نشان نداد و اثر متقابل بین دو عامل وجود نداشت. در رقم حساس جی کا نیز شدت بیماری در تیمارهای یکسان بود و تکثیر در همه تیمارهای اتفاق افتاد ولی متأثر از تیمار قارچی نبود. در تیمار قارچ سپس نماتد، در رقم ویلیامز شدت بیماری پوسیدگی تفاوت معنی‌داری با سایر تیمارها داشت به طوری که می‌توان بیان کرد اثر متقابل قارچ و نماتد وجود داشت ولی تکثیر نماتد تحت تأثیر تیمارهای قارچی قرار نگرفت.

واژه‌های کلیدی: خسارت، لوبیا روغنی، مقاومت، بیماری‌زایی.

Interactions between soybean cyst nematode (*Heterodera glycines*) and charcoal rot fungus (*Macrophomina phaseolina*) in susceptible and resistant soybean cultivarsAniseh Pazan¹, Salar Jamali^{2*}, Mohammad Ali Aghajani³ and Hasan Maleki Ziarati⁴

1, 2. Former M.Sc. Student and Associate Professor, Department of Plant Protection, Faculty of Agricultural Sciences, University of Guilan, Rasht, Iran

3. Associate Professor, Department of Plant Protection, Golestan Agricultural and Natural Resources Research Center, Gorgan, Iran

4. Ph.D student of Department of Plant Protection, Sari Agricultural Sciences and Natural Resources University and Researcher in Seed and Plant Registration and Certification Unit, Golestan Agricultural and Natural Resources Research Center, Gorgan, Iran

(Received: January 4, 2020 - Accepted: September 29, 2020)

ABSTRACT

Interactions between the cyst nematode *Heterodera glycines* and charcoal rot fungus (*Macrophomina phaseolina*) in susceptible cultivars JK and Williams and Katol as a resistant cultivar were studied in greenhouse conditions. Treatments were evaluated by factorial test with two factors treatment and cultivar, six treatments of inoculation including healthy plants, nematode alone, fungus alone, primary inoculation with fungus and two weeks later with nematode, primary inoculation with nematode and two weeks later with fungus and inoculation with fungus and nematodes simultaneously. Experiments were conducted in three levels of cultivars in Random Complete Block Design with five replications. Twenty eggs and second stage juveniles of nematode and two microliters of spore's suspension per gram of soils were inoculated at two leaves stage of the seedlings. The inoculated seedlings were kept at 25-27 °C in greenhouse conditions. The growth factors, yields of plant, disease severity and nematode reproduction factor were evaluated after five months. In Katol resistance cultivar, the severity of charcoal rot disease did not show significant difference in treatments and there was no interaction. In JK susceptible cultivar, the severity of disease was the same in the treatments and reproduction occurred in all treatments but was not affected by fungal treatment. In Williams cultivar, inoculation with fungus and then nematode, the disease severity was significantly different from other treatments so that it can be stated that there was interaction between fungus and nematode but nematode reproduction was not affected by fungal treatments.

Keywords: loss, soybean, resistance, pathogenicity.

* Corresponding author E-mail: jamali_s2002@yahoo.com

مقدمه

سویا (*Glycine max* (L.) Merr.) گیاهی است از تیره نخود (لگومینوز) و یکی از مهم‌ترین اعضای این تیره در دنیا محسوب می‌شود. این محصول به دلیل دارا بودن مقادیر بالای پروتئین و روغن در دانه، در بین گیاهان زراعی بی‌رقیب است (Talei *et al.*, 2012). منشأ کشت سویا کشور چین است اما تولید آن به سرعت در ایالات متحده آمریکا افزایش یافته است به طوری که در حال حاضر بزرگ‌ترین تولیدکننده سویا در جهان به شمار می‌آید. استان گلستان با ۶۷/۸۱ درصد از سطح برداشت سویا در کشور مقام اول و استان‌های اردبیل با ۲۱/۴۱ درصد و مازندران با ۱۰/۴۴ درصد، مقام‌های دوم و سوم را به خود اختصاص داده‌اند. این سه استان ۹۹/۶۶ درصد سویای کشور را تولید می‌کنند (Ahmadi *et al.*, 2018).

نماتد سیستی سویا *Heterodera glycines* یکی از بیمارگرهای مهم و اقتصادی سویا در سطح جهان محسوب می‌شود (Mccarville *et al.*, 2017). این نماتد که تا مدت‌ها به عنوان آفت قرنطینه‌ای کشور شناخته می‌شد، در سال ۱۳۷۸ برای اولین بار از مزارع سویای استان‌های گلستان و مازندران گزارش شد (Tanha Maafi *et al.*, 1999). نماتد سیستی سویا دارای دامنه میزبانی وسیعی به خصوص در میان لگوم‌ها، توتون و تعدادی از گیاهان دیگر است و سویا مهم‌ترین میزبان اقتصادی آن محسوب می‌شود. بوته‌های سویای آلوده، کوتاه و کم رشد بوده و برگ‌هایشان قبل از موعد زرد شده و ریزش می‌کنند. این گیاهان تعداد گل کمتر و مقدار کمی دانه با اندازه کوچک تولید می‌کنند. بوته‌های آلوده‌ای که در خاک حاصلخیز با رطوبت فراوان رشد می‌کنند، ممکن است اوایل فقط کلروز یا زردی جزئی نشان دهند اما در سال‌های بعد، به دلیل افزایش جمعیت نماتد در خاک، به شدت زرد و کوتوله می‌شوند (Mccarville *et al.*, 2017). نماتد *H. glycines* به عنوان یک انگل داخلی ساکن، منجر به اختلال در عملکرد بافت‌های آوندی شده و حساسیت میزبان به تنش رطوبتی را افزایش می‌دهد (Winkler *et al.*,

1994). جمعیت‌های نماتد سیستی سویا از نظر ژنتیکی متفاوت بوده و توانایی آن‌ها در تولیدمثل روی ارقام سویا متفاوت است. همچنین میزان تولیدمثل جمعیت‌های مختلف نماتد روی یک رقم مشخص سویا متغیر است. نماتد سیستی سویا با ایجاد زخم روی ریشه گیاه، می‌تواند سبب رشد و توسعه دیگر بیمارگرها شود (Tylka *et al.*, 2016). از بین هفده رقم از رقم‌های متداول مورد مطالعه سویا در ایران، رقم کنترل (DPX) به عنوان رقم مقاوم تعیین شده است (Tanha Maafi *et al.*, 2008; Heydari *et al.*, 2012). یکی دیگر از عوامل بیماری‌زای خاک‌زاد که سالانه خسارت قابل توجهی به سویا وارد می‌سازد، قارچ *Macrophomina phaseolina* (Tassi) Goid عامل بیماری پوسیدگی ذغالی است. در شرایط مساعد، این بیمارگر سبب سوختگی و مرگ گیاهچه، پوسیدگی طوقه و ریشه می‌گردد (Jana *et al.*, 2003). علایم پوسیدگی ذغالی در گیاهان جوان شامل ایجاد لکه‌های سیاه و نامنظم است که از پایه لپه‌ها شروع و به سمت ساقه‌ها گسترش یافته و در نهایت موجب مرگ گیاه می‌شود. سامانه آوندی به دلیل تولید میکرواسکلروت، تیره یا خاکستری گردیده و گیاهان بالغ دچار پژمردگی می‌شوند (Sinclair and Backman, 1989). علایم مشخص بیماری شامل لکه‌های تیره یا خاکستری کشیده روی برگ‌های بالغ، تشکیل اسکلروت‌ها روی ساقه، کاهش توان گیاه و در نهایت کاهش عملکرد می‌باشند. این قارچ فوق‌العاده تغییرپذیر و دارای جدایه‌هایی است که از نظر میکرواسکلروت و وجود یا عدم وجود پیکنیدیوم متفاوت هستند (Short *et al.*, 1978). یکی از مباحث مطرح در علم بیماری‌شناسی گیاهی، اثر متقابل بین عوامل بیمارگر در آلودگی توأم گیاهان میزبان است. بررسی برهم‌کنش بین نماتد سیستی سویا و قارچ *Fusarium solani* f. sp. *glycines* در شرایط گلخانه نشان داد که آلودگی به نماتد و قارچ، کاهش مضاعف در رشد سویا را به دنبال داشته است. آلوده شدن ریشه‌های گیاه به نماتد، تأثیری بر کلونیزاسیون قارچ نداشته و باعث افزایش علایم برگی نشده بود. همچنین برهم‌کنش بین دو

نماتد سیستی در منطقه گرگان، از عمق ۱۰ تا ۳۰ سانتی‌متری خاک فراریشه و ریشه‌های آلوده به نماتد، نمونه‌برداری گردید. قارچ *M. phaseolina* با انجام نمونه‌برداری، از بافت ساقه‌های آلوده سویا جداسازی شد. پس از ضدعفونی کردن بافت آلوده در هیپوکلیت سدیم یک درصد، به مدت دو دقیقه با آب مقطر سترون شستشو و در محیط کشت PDA کشت داده شد. تشک‌های پتری به مدت چهار روز در شرایط انکوباتور و در دمای ۲۵ درجه سانتی‌گراد نگهداری گردیدند. خاک مورد استفاده در این پژوهش، متشکل از خاک بکر، ماسه و کود برگ به نسبت مساوی بود. خاک‌ها در دمای ۱۲۱ درجه سلسیوس به مدت دو ساعت اتوکلاو گردید. سه رقم سویا شامل کتول (DPX)، جی‌کا و ویلیامز از بخش اصلاح نهال و بذر مرکز تحقیقات کشاورزی استان گلستان تهیه شد. بذرها پس از ضدعفونی سطحی با هیپوکلیت سدیم یک درصد، به مدت ۱۰ دقیقه با آب مقطر سترون شستشو داده شدند. جهت کشت سویا، گلدان‌های شفاف پلاستیکی با قطر دهانه ۲۰ سانتی‌متر با وزن تقریبی سه کیلوگرم خاک در نظر گرفته شد. بذور کشت‌شده در دمای ۲۵-۲۷ درجه سلسیوس در شرایط گلخانه نگهداری و در مراحل بعد استفاده شد. بررسی خاک‌های نمونه‌برداری شده بر اساس روش (Dunn 1969) انجام شد. خاک مزرعه‌ای با آلودگی زیاد برای دستیابی به جمعیت یکسان نماتد، استفاده شد. پس از استخراج سیست‌ها، با استفاده از دستگاه سیست خردکن، شکسته و تعداد تخم و لارو موجود در آن توسط استریومیکروسکوپ شمارش شد. جهت مایه‌زنی نماتد، پس از مرحله دوبرگی شدن، تعداد ۲۰ عدد تخم و لارو نماتد در هر گرم خاک به تیمارها مایه‌زنی شد (Riggs et al., 1988). به‌منظور مایه‌زنی قارچ، مقدار دو میلی‌لیتر از زادمایه، اطراف هر گیاهچه و داخل چاهک‌هایی به عمق ۲ تا ۳ سانتی‌متر افزوده و با خاک پوشانده شد (Jimenez et al., 1983). سپس از گلدان‌های موردآزمون، در دمای ۲۵ تا ۲۷ درجه سلسیوس در شرایط گلخانه طی پنج ماه، مراقبت و نگهداری به عمل آمد. سپس گیاهان موردآزمون از

بیمارگر از نظر آماری، در سطح پایینی برآورد شد (Gao et al., 2006). نتایج مطالعه برهم‌کنش *H. glycines* و قارچ میکوریز *Glomus mosseae*، نشان دادند که تعامل نماتد و قارچ به ترتیب، ۲۹ و ۳۶ درصد وزن ریشه و اندام‌های هوایی سویا را کاهش داد. تراکم بالای جمعیت اولیه نماتد، کلونیزاسیون ریشه توسط قارچ را کاهش داد. همچنین تراکم جمعیت و تولیدمثل نماتد روی ارقام مقاوم، نسبت به ارقام حساس کمتر بود (Todd et al., 2001). برهم‌کنش نماتد سیستی سویا و قارچ *M. phaseolina* و میکوریزا در ایالت کانزاس آمریکا بررسی شد. نتایج نشان دادند که عملکرد دانه در رقم مقاوم ۶۴ درصد بالاتر از رقم حساس بود (Winkler et al., 1994). شماری از رگه‌ها یا لاین‌های سویا در شرایط کنترل‌شده و کشتزار ارزیابی شدند. نتایج آزمون‌های مزرعه‌ای نشان دادند که پنج رگه به‌طور کامل مقاوم، ۱۴ رگه نسبتاً مقاوم، ۲۲ رگه نسبتاً حساس و ۲۲ رگه به‌طور کامل حساس بودند. بیشتر موارد دارای مقاومت کامل و نسبی، دو رگه‌های ناشی از تلاقی رقم مقاوم کتول (DPX) با رقم‌های رایج سویا بودند (Dehghanzadeh et al., 2016). تأثیر متقابل نماتد سیستی سویا و باکتری همزیست *Bradyrhizobium japonicum* روی رقم حساس و رقم مقاوم، تفاوت معنی‌داری بین دو رقم از نظر جمعیت نهایی سیست، تخم و لارو نماتد را نشان داد (Ghafari et al., 2012). قارچ *M. phaseolina* و نماتد *H. glycines* هر دو از عوامل خسارت‌زای سویا در کشور محسوب می‌شوند. حضور توأم آن‌ها در مزارع سویا می‌تواند تغییردهنده معادلات توسعه بیماری به‌طور هم‌زمان باشد. با توجه به حضور جمعیت‌های این دو عامل در مزارع و شرایط حاکم بر کشت سویا، مطالعه برهم‌کنش آن‌ها ضروری است. در پژوهش حاضر، اثر متقابل *H. glycines* و *M. phaseolina* در ارقام حساس و مقاوم سویا بررسی شد.

مواد و روش‌ها

در شهریورماه سال ۱۳۹۵، از مزرعه سویای آلوده به

خشک، قسمت‌های مربوطه درون آون با دمای ۷۰ درجه سلیسیوس به مدت یک روز قرار گرفت (Imani *et al.*, 2014). در این آزمون، اثر تیمارها در شش سطح (شاهد (بدون قارچ و نماتد)، نماتد به‌تنهایی، قارچ به‌تنهایی، مایه‌زنی با نماتد و دو هفته بعد مایه‌زنی با قارچ، مایه‌زنی با قارچ و دو هفته بعد تلقیح با نماتد و تیمار مایه‌زنی نماتد و قارچ به‌طور هم‌زمان)، رقم در سه سطح (کتول، جی‌کا و ویلیامز) با پنج تکرار، در قالب طرح بلوک‌های کامل تصادفی به روش فاکتوریل ارزیابی شدند. تجزیه و تحلیل آماری با استفاده از نرم‌افزار STATGRAPHICS و مقایسه میانگین با روش LSD انجام شد.

نتایج

نتایج به‌دست‌آمده نشان داد که بین سطوح تیمارها، ارقام و اثرات متقابل تیمار در صفات موردبررسی اعم از وزن تر و خشک ریشه، وزن تر و خشک اندام هوایی، شدت بیماری، جمعیت نهایی و شاخص تکثیر نماتد، در سطح آماری یک درصد اختلاف معنی‌دار وجود دارد (جدول ۱).

خاک خارج شده و پس از حذف اندام هوایی، ماده‌ها و سیست‌های متصل به ریشه با فشار آب روی الک‌های با قطر منافذ ۵۰۰ و ۱۵۰ میکرون جمع‌آوری شد (Riggs *et al.*, 1988). همچنین نمونه خاک بررسی و پس از استخراج، ابتدا کل سیست‌های استحصالی با استفاده از دستگاه سیست خردکن، شکسته و در نهایت تعداد تخم و لارو موجود نمونه‌ها با استفاده از پتری مدرج و توسط استریومیکروسکوپ شمارش شد (Dunn, 1969). شدت بیماری پوسیدگی ذغالی بر اساس اندازه شاخک و میزان پیشروی قارچ روی ساقه، بر حسب مقیاس سانتی‌متر مربع ارزیابی شد (Agarwal and Goswami, 1973). همچنین به منظور سنجش سایر شاخص‌ها، ابتدا ریشه‌ها با ملایمت زیر جریان آب شستشو و روی کاغذ صافی قرار گرفتند. در مرحله بعد، فاکتورهای رشدی گیاه شامل وزن تر و خشک ریشه، وزن تر و خشک اندام هوایی، وزن تر و خشک غلاف و وزن کل دانه در تیمارهای مختلف اندازه‌گیری شد. نرخ تکثیر نماتد (Reproduction Factor) از تقسیم جمعیت نهایی بر جمعیت اولیه محاسبه گردید. برای به‌دست‌آوردن وزن

جدول ۱. تجزیه واریانس صفات اندازه‌گیری شده در اثر متقابل نماتد سیستی سویا *Heterodera glycines* و قارچ

Macrophomina phaseolina روی ارقام سویا

Table 1. Analysis of variances of measured traits in interaction of soybean cyst nematode *Heterodera glycines* and *Macrophomina phaseolina* on soybean cultivars

Sources of Variation	df	Fresh Root Weight	Dry Root Weight	Fresh Shoot Weight	Dry Shoot Weight	Disease Severity	Reproduction Factor	Final Population
Repeat	4	0.9 ns	0.05 ns	0.22 ns	0.07 ns	4.22 ns	0.75 ns	5.63 ns
Cultivar	2	139.65 **	62.38 **	423.14 **	75.34 **	338.04 **	1536.91 **	8762.28 **
Treatment	5	3.99 **	1.55 **	32.21 **	4.09 **	158.23 **	388.63 **	677.56 **
Treatment*Cultivar	10	2.34 **	0.77 **	3.09 **	0.66 **	37.8 **	154.15 **	369.25 **
Error	68	0.76	0.12	0.07	0.07	3.75	0.8	5.75
Total	89							

NS: غیر معنی‌دار، *: معنی‌دار در احتمال ۵ درصد، **: معنی‌دار در سطح احتمال ۱ درصد

Ns: non-significant, *: significant at 5% probability, **: significant at 1% probability

به‌طورکلی، از نظر برهمکنش که موضوع اصلی این پژوهش است، غالبیت تأثیرگذاری در شاخص‌های رشدی گیاه، در تیمار مایه‌زنی هم‌زمان قارچ و نماتد مشاهده می‌شود. این تأثیرپذیری به‌طور نسبی، در رقم کتول به‌عنوان رقم مقاوم بیش از دو رقم دیگر یعنی جی‌کا و ویلیامز بود (جدول ۲).

مقایسه میانگین شاخص‌های رشدی نشان داد که ارقام کتول، جی‌کا و ویلیامز به ترتیب دارای سیر نزولی بودند. مقایسه بین تیمارهای اعمال‌شده مشخص کرد که بیش‌ترین مقادیر متعلق به شاهد بود. اما کم‌ترین مقادیر از وحدت رویه مشخصی برخوردار نبوده و در بین ارقام مختلف، تفاوت نشان دادند.

جدول ۲- مقایسه میانگین شاخص‌های رشدی در تیمارهای مختلف (حروف مشابه در هر ستون، تفاوت معنی‌داری با یکدیگر ندارند).

Table 2. Mean comparison of growth indices in different treatments (The same letters in each column have not significant difference).

Cultivar	Treatment	Fresh Root Weight (g)	Dry Root Weight (g)	Fresh Shoot Weight (g)	Dry Shoot Weight (g)
Katol	C	5.8 ^a	3.74 ^a	12.05 ^a	5.2 ^a
	F	5.67 ^a	3.66 ^{ab}	10.53 ^b	4.14 ^{bc}
	FN	5.6 ^a	3.61 ^{ab}	10.53 ^b	4.53 ^{bc}
	N	4.44 ^a	3.1 ^{bcd}	9.83 ^c	3.41 ^e
	NF	5.68 ^a	3.67 ^{ab}	10.43 ^b	4.85 ^{ab}
	F+N	5.38 ^a	3.43 ^{abc}	9.85 ^c	4.02 ^d
JK	C	4.44 ^{ab}	2.96 ^{cd}	9.95 ^c	3.33 ^e
	F	2.57 ^{cd}	1.58 ^f	5.8 ^f	2.78 ^f
	FN	2.51 ^{cd}	1.47 ^{fg}	6.33 ^{de}	2.54 ^f
	N	3.67 ^{bc}	2.19 ^e	4.87 ^g	2.46 ^f
	NF	2.63 ^{cd}	2.53 ^{de}	6.02 ^{ef}	3.25 ^c
	F+N	1.97 ^{de}	1.31 ^{fg}	4.86 ^g	1.86 ^g
Williams	C	1.95 ^e	1.21 ^{gh}	6.72 ^d	2.41 ^f
	F	0.64 ^e	0.45 ^{ij}	2.23 ⁱ	0.8 ^h
	FN	0.59 ^e	0.59 ^{gh}	2.03 ⁱ	0.81 ^h
	N	2.37 ^{cd}	0.67 ^{hij}	3.25 ^h	1.44 ^h
	NF	0.62 ^e	0.32 ^j	2.8 ⁱ	1.98 ^h
	F+N	0.6 ^e	0.35 ^{ij}	1.98 ⁱ	0.89 ^h

F: fungus alone, FN: primary inoculation with fungus and two weeks later with nematode, N: nematode alone, NF: primary inoculation with nematode and two weeks later with fungus, F+N: inoculation with fungus and nematode simultaneously and C: control (healthy plants).

معنی‌دار نبود. میزان جمعیت نهایی نماتد نیز روندی مشابه با شاخص نرخ تکثیر نشان داد چون جمعیت اولیه مورد استفاده در این پژوهش، برای تیمارها یکسان بود. وزن تر و خشک غلاف، به ترتیب در ارقام کتول، جی‌کا و ویلیامز از روند نزولی برخوردار بود (جدول ۳).

شدت بیماری در رقم ویلیامز بیش‌ترین و در رقم کتول کم‌ترین مقادیر را دارا بود. شاخص نرخ تکثیر نماتد به‌جز رقم کتول که در کلیه تیمارها بین ۰/۸ تا ۰/۲۲ بود در ارقام جی‌کا و ویلیامز به ترتیب ۲۱/۲۲ تا ۲۲/۲۶ و ۸/۳۹-۷/۷۳ بود که اختلاف بین تیمارهایی که در آن‌ها مایه‌زنی نماتد وجود داشت،

جدول ۳- مقایسه میانگین اجزای عملکرد، شدت بیماری، شاخص تکثیر و جمعیت نهایی نماتد در تیمارهای مختلف (حروف مشابه در هر ستون، تفاوت معنی‌داری با یکدیگر ندارند).

Table 3. Mean comparison of yield components, disease severity, reproduction factor and final population of nematode in different treatments (The same letters in each column have not significant difference).

Cultivar	Treatment	Disease Severity	Reproduction Factor	Final Population (J2 and egg)	Fresh Pod Weight (g)	Dry Pod Weight (g)	Total Grain Weight (g)
Katol	C	0 ^d	0 ^d	0 ^d	10.7 ^a	8.17 ^a	18.24 ^a
	F	1.16 ^d	0 ^d	0 ^d	9.03 ^c	7.47 ^b	17.83 ^a
	FN	1.37 ^d	0.22 ^d	13200 ^d	9.25 ^{bc}	7.39 ^b	17.8 ^a
	N	0 ^d	0.28 ^d	16800 ^d	7.8 ^d	5.94 ^d	17.22 ^a
	NF	1.32 ^d	0.08 ^d	4800 ^d	9.78 ^b	7.66 ^b	17.81 ^a
	F+N	1.51 ^d	0.15 ^d	9000 ^d	9.12 ^{bc}	7.36 ^b	17.88 ^a
JK	C	0 ^d	0 ^d	0 ^d	9.25 ^{bc}	6.77 ^c	16.37 ^a
	F	5.07 ^c	0 ^d	0 ^d	4.83 ^f	2.69 ^f	6.64 ^d
	FN	5.98 ^c	21.67 ^{ab}	1300200 ^{ab}	5.62 ^e	2.59 ^f	6.38 ^d
	N	0 ^d	22.26 ^a	1335000 ^a	4.73 ^f	3.6 ^e	8.89 ^c
	NF	5.08 ^c	20.45 ^b	1227000 ^b	4.5 ^{fg}	3.41 ^e	7.39 ^c
	F+N	6.08 ^c	21.22 ^{ab}	1273200 ^{ab}	4.01 ^{gh}	1.53 ^h	3.68 ^d
Williams	C	0 ^d	0 ^d	0 ^d	8.87 ^c	6.27 ^d	14.49 ^b
	F	9.77 ^b	0 ^d	0 ^d	2.51 ^j	1.99 ^g	3.33 ^d
	FN	10.91 ^b	7.73 ^c	463800 ^c	3.58 ^h	2.2 ^g	5.41 ^d
	N	0 ^d	8.39 ^c	503400 ^c	-	-	-
	NF	10.73 ^b	7.88 ^c	472800 ^c	-	-	-
	F+N	14.51 ^a	7.74 ^c	464400 ^c	-	-	-

F: fungus alone, FN: primary inoculation with fungus and two weeks later with nematode, N: nematode alone, NF: primary inoculation with nematode and two weeks later with fungus, F+N: inoculation with fungus and nematode simultaneously and C: control (healthy plants).

که رقم مذکور دارای سطح مقاومت بیشتری نسبت به دیگر ارقام مورد مطالعه است. از این حیث، رتبه‌های بعدی به ترتیب به ارقام جی کا و ویلیامز اختصاص یافت. در بررسی وزن تر ریشه و وزن تر غلاف نتایج به دست آمده در رقم کتول، با نتایج پژوهش دیگر مطابقت نشان می‌دهد (Ghorbani et al., 2016).

همان‌گونه که مشاهده شد، وزن تر ریشه، با حضور نماتد در رقم‌های حساس کاهش یافت. نتیجه به دست آمده با نتایج برهم‌کنش نماتد سیستی سویا (*H. glycines*) و قارچ *Calonectria crotalariae* تطابق دارد (Overstreet et al., 1990). رقم ویلیامز نسبت به پوسیدگی ذغالی حساس (Hemmati et al., 2017) و به نماتد سیستی سویا هم حساس است (Dehghanzadeh et al., 2016). نتایج پژوهش حال حاضر نیز مؤید این مطلب در حالت تعامل این دو عامل با یکدیگر بودند به نحوی که رقم ویلیامز بیش‌ترین شدت بیماری را با میانگین ۱۴/۵۱ در تیمار مایه‌زنی هم‌زمان قارچ و نماتد داشت. به عبارت دیگر، تعامل قارچ با نماتد منجر به تشدید بیماری شده است. در شاخص نرخ تکثیر نماتد، بالاترین مقادیر را تیمار مایه‌زنی نماتد به تنهایی تشکیل داد. این نتیجه تأییدکننده افزایش جمعیت نماتد (هرچند به صورت نسبی)، در حالت مایه‌زنی بدون عامل ثانویه بود. در این شاخص رقم جی کا با ثبت بیش‌ترین مقادیر بالاتر از رقم ویلیامز قرار گرفت. این مطلب نشان‌دهنده حساسیت بیش‌تر این رقم نسبت به نماتد است. در رقم جی کا از نظر صفات رشدی مورد بررسی، بیش‌ترین مقادیر در تیمار شاهد و سپس در تیمار مایه‌زنی تنها با قارچ دیده شد. به عبارت دیگر، این رقم نسبت به قارچ نسبتاً متحمل است. اما در پژوهش همتی و همکاران این رقم به عنوان رقم حساس نسبت به نماتد معرفی شده است (Hemmati et al., 2017). بنابراین می‌توان گفت این رقم نسبت به قارچ تحمل نشان داده اما در تیمار مایه‌زنی اولیه با قارچ و سپس نماتد، مایه‌زنی اولیه با نماتد و سپس قارچ و همچنین آلودگی هم‌زمان قارچ و نماتد، دچار نقصان عملکرد شده است.

وزن کل دانه از شاخص‌های مهم و نماینده‌ای از عملکرد محصول است. در این ارتباط، رقم ویلیامز همانند سایر شاخص‌ها، از پایین‌ترین میزان به ترتیب در دو تیمار مایه‌زنی اولیه با قارچ و دو هفته بعد با نماتد و قارچ به تنهایی برخوردار بود. در این رقم، در تیمارهای آلودگی نماتد و آلودگی‌های توأم نماتد و قارچ و حالت مایه‌زنی هم‌زمان، خسارت به گونه‌ای بود که داده‌ای به ثبت نرسید. در رقم کتول، با وجود اختلاف در بین تیمارهای شاهد، مایه‌زنی هم‌زمان قارچ و نماتد، قارچ به تنهایی، مایه‌زنی اولیه با نماتد و دو هفته بعد با قارچ، مایه‌زنی اولیه با قارچ و دو هفته بعد با نماتد و نماتد به تنهایی تفاوت معنی‌دار نبود. در رقم جی کا، افت عملکرد در حالت اثر متقابل مشهود بود و گروه آماری مستقلی را به خود اختصاص داد. تیمارهای نماتد به تنهایی، مایه‌زنی اولیه با نماتد و دو هفته بعد با قارچ، قارچ به تنهایی، مایه‌زنی اولیه با قارچ و دو هفته بعد با نماتد به ترتیب بعد از شاهد قرار گرفتند (جدول ۳).

بحث

نتایج به دست آمده از این پژوهش نشان داد که برهم‌کنش بین نماتد سیستی و قارچ پوسیدگی ذغالی سویا می‌تواند سبب کاهش شاخص‌های رشدی گیاه و افت نسبی عملکرد محصول شود. به گونه‌ای که آلودگی هم‌زمان در پاره‌ای موارد می‌تواند افزایش خسارت و حتی نابودی کامل میزبان را در پی داشته باشد. مایه‌زنی هم‌زمان قارچ و نماتد سبب کاهش شاخص‌های رشدی و به دنبال آن حساس‌تر شدن سویا در رقم ویلیامز گردید. در مجموع غالبیت بیش‌ترین هم‌افزایی در حالت مایه‌زنی هم‌زمان قارچ و نماتد رؤیت شد. طبق نتایج به دست آمده از این پژوهش، در تعامل نماتد سیستی سویا و قارچ پوسیدگی ذغالی، اجزای عملکرد مورد بررسی شامل وزن ریشه (خشک و تر)، وزن اندام‌های هوایی (خشک و تر)، وزن غلاف (خشک و تر) و وزن کل دانه، در رقم کتول نسبت به رقم‌های جی کا و ویلیامز از وضعیت مطلوب‌تری برخوردار بود. نتایج مؤید این مطلب است

همزمان دو عامل بیشترین تأثیر را در کاهش اجزای عملکرد برجا می‌گذارد. تشدید بیماری‌زایی نیز به‌واسطه اعمال تیمار مایه‌زنی همزمان قارچ و نماتد مشاهده شد. رتبه بعدی به مایه‌زنی اولیه با قارچ و دو هفته بعد با نماتد اختصاص داشت.

این حالت در مقام مقایسه با مایه‌زنی اولیه با نماتد و دو هفته بعد با قارچ، نشان‌دهنده پیشرفت بیشتر بیماری در حالت اول بود. به‌عبارت‌دیگر، در حالتی که اول آلودگی با قارچ و سپس نماتد رخ داد، تشدیدکنندگی بیماری به‌مراتب بیشتر از حالت آلودگی ابتدایی با نماتد و در مرحله بعد با قارچ خواهد بود. نتایج ایمانی و همکاران نشان داد که در برهم‌کنش قارچ *M. phaseolina* و نماتد *M. javanica* روی لوبیا، تیمار شاهد بیشترین وزن محصول را به خود اختصاص داد، درحالی‌که تیمار مایه‌زنی اولیه با قارچ و دو هفته بعد با نماتد و مایه‌زنی همزمان با قارچ و نماتد به ترتیب دارای کمترین وزن محصول بودند (Imani et al., 2014) اما در پژوهش حاضر، در تیمار آلودگی همزمان با قارچ و نماتد، به‌طور غالب در سه رقم، کمترین میزان شاخص‌ها مشاهده شد. در رقم مقاوم کتول، شدت بیماری پوسیدگی ذغالی در تیمارهای متفاوت اختلاف معنی‌دار نشان نداد و اثرات متقابل بین دو عامل وجود نداشت. در رقم حساس جی‌کا نیز شدت بیماری در تیمارهای یکسان بود. تکثیر در این رقم در کلیه تیمارهای اتفاق افتاد ولی متأثر از تیمار قارچی نبود. در تیمار قارچ سپس نماتد، در رقم ویلیامز شدت بیماری پوسیدگی تفاوت معنی‌داری با سایر تیمارها داشت به‌طوری‌که می‌توان بیان کرد اثر متقابل قارچ و نماتد وجود داشت ولی تکثیر نماتد تحت تأثیر تیمارهای قارچی قرار نگرفت.

نتیجه‌گیری

نتایج حاصل از این پژوهش نشان داد که در کلیه تیمارهای دو رقم جی‌کا و ویلیامز به‌جز یک مورد (تیمار اول قارچ سپس نماتد) شدت بیماری پوسیدگی ذغالی در تیمارهای مختلف تفاوت معنی‌داری نداشت و تکثیر نماتد نیز تقریباً یکسان بود. ارقام حساس و

این مطلب تأییدکننده اصل شکسته شدن مقاومت یا تحمل گیاه در حالت اثر متقابل دو عامل است. رقم کتول در بین ارقام متداول در ایران، به‌عنوان رقم مقاوم معرفی شده است (Tanha Maafi et al., 2008; Heydari et al., 2012).

با توجه به کمترین میزان وزن خشک ریشه در تیمار مایه‌زنی اولیه با نماتد و سپس قارچ، می‌توان بیان کرد که احتمالاً نماتد در آلودگی اولیه سبب تضعیف بیشتر سامانه ریشه شده است. از سوی دیگر، کمترین میزان وزن خشک اندام هوایی در تیمار مایه‌زنی تنها با قارچ مشاهده شد. در نتیجه می‌توان گفت تیمار قارچ به‌تنهایی بیشترین تأثیر را روی وزن خشک اندام هوایی داشته است. به‌عبارت‌دیگر تأثیرپذیری اندام هوایی گیاه از آلودگی قارچی بیشتر از آلودگی به نماتد بوده است. که با منطبق خسارت زایی بخش زیرزمینی گیاه در اثر آلودگی به نماتد و بخش هوایی در اثر آلودگی قارچی سازگار است. این یافته‌ها با نتایج کسب‌شده در مورد اثر متقابل نماتد سیست سویا *H. glycines* و قارچ *M. phaseolina* در کانزاس در مواردی مشابهت داشت. نتایج پژوهش مذکور نشان داد که رشد ریشه سویا و عملکرد دانه در بین ارقام مقاوم و حساس متفاوت است. وزن ریشه برای ارقام مقاوم به‌طور متوسط ۱۸ درصد کمتر از وزن ریشه در ارقام حساس بود. در مقابل، عملکرد دانه ارقام مقاوم ۶۴ درصد بالاتر از عملکرد رقم حساس گزارش شد (Winkler et al., 1994). بدیهی است که وزن ریشه متأثر از نوع رقم مورداستفاده بوده و مهم‌ترین شاخص در این رابطه، عملکرد دانه است که از روندی مشابه برخوردار بود.

در بررسی‌های صدیقی و حسینی (Siddiqui and Husaini, 1991) خسارت نماتد *Meloidogyne incognita* و قارچ *M. phaseolina* زمانی که به‌تنهایی مایه‌زنی می‌شوند، یکسان است اما مایه‌زنی دو بیمارگر به‌صورت هم‌زمان، باعث خسارت بیشتر نسبت به مجموع آسیب‌های ناشی از آن‌ها به‌صورت مستقل می‌گردد. نتایج به‌دست‌آمده از این مطالعه با پژوهش یادشده مشابهت نشان می‌دهد. به‌عبارت‌دیگر، آلودگی

سپاسگزاری

بدین‌وسیله از حمایت‌ها و تأمین امکانات مرکز تحقیقات کشاورزی و منابع طبیعی استان گلستان در مراحل انجام این پژوهش، تشکر و قدردانی می‌شود.

مقاوم تحت تأثیر رابطه برهمکنش هیچ‌یک از این تیمارها قرار نگرفته و هر یک از عوامل یعنی قارچ و نماد بدون تأثیرپذیری از یکدیگر خسارت ایجاد کردند.

REFERENCES

1. Agarwal, D. K. & Goswami, B. K. (1973). Interrelationships between a fungus *Macrophomina phaseoli* (Maubl) Ashby and root-knot nematode *Meloidogyne incognita* (Kofoid and White) Chitwood in soybean [*Glycine max* (L.) Merrill, Proceedings of the Indian National Science Academy, *Biological Sciences*, 39 (6), 701-704.
2. Ahmadi, K., Gholizad, H., Ebadzade, H., Hatami, F., Fazli Estabargh, M., Hasanpoor, R., Kazemian, A. & Rafie, M. (2018). *Agricultural Statistics Crop year (2016-2017)*, Ministry of Agriculture- Jihad.
3. Dehghanzadeh, S., Tanha Maafi, Z., Rahnama, K., Mir Abadi, A. & Heydari, R. (2016). Evaluation of a number of soybean streams in relation to *Heterodera glycines* in controlled and field conditions, *Iranian Journal of Plant Protection Sciences*, 47 (1), 1-9. (In Farsi)
4. Dunn, R. A. (1969). Extraction of cysts of *Heterodera* species from soils by centrifugation in high density solutions. *Journal of Nematology*, 1, 7.
5. Gao, X., Jackson, T. A., Hartman, G. L. & Niblack, T. L. (2006). Interactions between the soybean cyst nematode and *Fusarium solani* f. sp. *glycines* based on greenhouse factorial experiments, *Phytopathology*, 96 (12), 1409-1415.
6. Ghafari, S., Tanha Maafi, Z., Heydari, R. & Eskandari, A. (2012). Investigating the interaction of *Heterodera glycines* soybean nematode and *Bradyrhizobium japonicum* on a soybean sensitive and resistant cultivar. *Pests and Plant Pathology*, 80 (1), 39-33. (In Farsi)
7. Ghaffarian, A. R. (1999). Biological struggle with *Macrophomina phaseolina* a cucurbit charcoal rot by *Trichoderma* and *Gliocalladium* antagonistic fungus. Master thesis of plant pathology, Shahid Chamran University of Ahvaz. (In Farsi)
8. Ghorbani, F., Nasrollah Nezhad, S., Panje ke, N., Salari, M. & Sabbagh, K. (2016). Biochemical evaluation of reaction of soybean cultivars to *Macrophomina phaseolina* incident soybean charcoal rot, *Journal of Seed Planting Research Oilseed Iran*, 2 (2), 34-17. (In Farsi)
9. Heydari, R., Pourjam, E. & Tanha maafi, Z. (2012). Yield loss caused by soybean cyst nematode, *Heterodera glycines*, in Iran. *Nematology*, 14(5), 589-593.
10. Hemmati, P., Zafari, D., Mahmoudi, S. B. & Hashemi, M. (2017). The pathogenicity of *Macrophomina phaseolina* isolates and the resistance of soybean genotypes to this mushroom under in vitro and greenhouse conditions, *Seedlings Breeding and Seed*, 1, 220-207. (In Farsi)
11. Imani, S., Mosavi, M. R. & Basirinia, T. (2014). Investigating the interaction of *Macrophomina phaseolina* and *Meloidogyne javanica* nematode on green bean (*Phaseolus vulgaris*), *Plant Diseases Research*, 2 (3), 41-50. (In Farsi)
12. Jana, T., Sharma, T. R., Prasad, R. D. & Arora, D. K. (2003). Molecular characterization of *Macrophomina phaseolina* and *Fusarium* species by a single primer RAPD technique, *Microbiological Research*, 158 (3), 249-257.
13. Jimenez, D. R. M., Blance, L. M. A., & Sackston, W. E. (1983). Incidence and distribution of charcoal rot of sunflower caused by *Macrophomina phaseolina* in Spain, *Plant Disease*, 67, 1033-1036.
14. Mccarville, M., Marett, C. C., Mullaney, M. P Gebhart, G. D. & Tylka, G. L. (2017). Increase in soybean cyst nematode virulence and reproduction on resistant soybean varieties in Iowa from 2001 to 2015 and the effects on soybean yields, *Plant Health Progress*, 18(3), 146-155.
15. Overstreet, C., McGawley, E. C. & Russin, J. S. (1990). Interactions between *Calonectria crotalariae* and *Heterodera glycines* on soybean, *Journal of Nematology*, 22(4), 496-505.
16. Riggs, R. D., Schmitt, D. P. & Noel, G. R. (1988). Variability in race tests with *Heterodera glycines*. *Journal of Nematology*, 20, 565-572.
17. Short, G. E., Wyllie, T. D. & Ammon, V. D. (1978). Quantitative enumeration of *Macrophomina phaseolina* in soybean tissues, *Phytopathology*, 68 (5), 736-741.
18. Siddiqui, Z. A. & Husain, S. I. (1991). Interaction of *Meloidogyne incognita* race-3 and *Macrophomina phaseolina* in a root-rot disease complex of chick pea, *Nematologia Mediterranea*, 19

- (2), 237-239.
19. Sinclair, J. B. & Backman, P. A. (1989). *Compendium of soybean diseases*, 3rd ed, Minnesota: American Phytopathological Society.
 20. Talei, F. Safai, N. & Aghajani, M. A (2012). The Relationship between the severity and incidence of soybean charcoal rot in Golestan province. *Plant Production Research*, 19 (3), 142-125. (In Farsi)
 21. Tanha Maafi, Z. Geraert, E. Kheiri, A. & Sturhan, D. (1999). The emergence of soybean nematode *Heterodera glycines* Ichinohe, 1952 in Iran, , *Iranian Journal of Plant Pathology*, 35, 181-182. (In Farsi)
 22. Tanha Maafi, Z., Salati, M. & Riggs, R.D. (2008). Distribution, population density, race and type determination of soybean cyst nematode, *Heterodera glycines*, in Iran. *Nematology*, 10, 919-924.
 23. Todd, T. C., Winkler, H. E. & Wilson, G. W. T. (2001). Interaction of *Heterodera glycines* and *Glomus mosseae* on soybean. *Journal of Nematology*, 33 (4), 306-310.
 24. Tylka, G. L., Gebhart, G. D., Marett, C. C. & Mullaney, M. P. (2016). Evaluation of soybean varieties resisyance to soybean cyst nematode in Iowa. *Extention Publication*, 99. Iowa State University.
 25. Winkler, H. E., Hetrick, B. A. D. & Todd, T. C. (1994). Interactions of *Heterodera glycines*, *Macrophomina phaseolina*, and mycorrhizal fungi on soybean in Kansas. *Journal of Nematology*, 26 (4), 675-682.