Plant Protection (Scientific Journal of Agriculture)
46(4), Winter, 2024

10.22055/ppr.2024.46320.1736

Evaluation of eleven cucumber hybrid's reaction to root-knot nematode (*Meloidogyne incognita*) in greenhouse conditions

F. Ghanbari [1], S. Jamali [2*], J. Olfati [3], S. Mousanejad [4]

1. Instructor, Department of Plant Protection, Faculty of Agricultural Sciences, University of Guilan, Rasht, Iran
2. ***Corresponding Author:** Assistant Professor, Department of Plant Protection, Faculty of Agricultural Sciences, University of Guilan, Rasht, Iran (jamali@guilan.ac.ir)
3. Associate Professor, Department of Plant Protection, Faculty of Agricultural Sciences, University of Guilan, Rasht, Iran
4. Associate Professor, Department of Horticultural Science, Faculty of Agricultural Sciences, University of Guilan, Rasht, Iran

Received: 8 March 2024 Accepted: 15 May 2024

Abstract

Background and Objectives

Cucumber (*Cucumis sativus* L.) holds significant agricultural importance in Iran, occupying extensive cultivation areas. Greenhouse conditions favor the proliferation of numerous pests and diseases affecting cucumber growth. Root-knot nematodes inflict yearly damage on cucumber farmers and producers, particularly in tropical and subtropical regions. Cucumbers are susceptible to various plant-parasitic nematodes, with *Meloidogyne* species, notably root-knot nematodes, posing significant threats. Controlling the nematode is challenging due to its wide host range, short life cycle, high reproductive rate, and parasitism. While chemical control remains prevalent for nematode population management, growing public concern over the environmental and human health impacts of nematicides is driving efforts to restrict their usage. Employing resistant varieties either independently or in conjunction with other strategies is increasingly recognized as a highly effective means of nematode control. Resistant plants prevent the need for long-term rotations and are highly suitable for sustainable agriculture. Consequently, the development of new cucumber varieties and hybrids and the assessment of their resistance can be applied in integrated nematode management. Hence, this research aims to evaluate the resistance of cucumber hybrids to root-knot nematodes (*M. incognita*) under greenhouse conditions.

Materials and Methods

Soil and root sampling was undertaken from cucumber cultivation sites in Guilan province. Egg masses were then introduced to the root systems of tomato seedlings, specifically the Early Urbana variety, at the two to four true leaf stage. Subsequently, these seedlings were nurtured for 45 to 60 days under greenhouse conditions. Identification involved the analysis of perineal patterns alongside morphological and morphometric traits of second-stage juveniles. Staining of female nematodes in root tissue was accomplished using the Hartman and Sasser method. Multiple consecutive inoculation cycles were executed on susceptible tomato plants to cultivate a substantial and uncontaminated nematode population. Seed germination took place in Petri dishes, with transfer to individual pots containing a mix of perlite and coco peat in equal measures after 48 hours. These pots were then randomly distributed within the greenhouse, with

subsequent maintenance performed as required. The experiment followed a completely randomized design with three replications. Ten weeks post-inoculation, nematode-related parameters, such as the count of galls and egg masses using the Taylor and Sasser method, alongside the number of second-stage juveniles in the soil using the Barker method, were assessed. Subsequently, statistical analysis was carried out utilizing SAS 9.0 software following data normalization. Mean comparisons were conducted using the Tukey test.

Results

The results showed significant differences in some traits of the hybrids treated with nematodes. Variance analysis revealed no significant differences in specific indicators, including gall count, egg sacs, eggs, second-stage juveniles in the soil, reproduction factor, as well as fresh and dry shoot and root weights across the assessed hybrids. However, significant differences were observed among the growth indices of plants, particularly in fresh and dry shoot weight, fresh root weight, and root volume. The mean weight of the aerial parts in the control was 103.66 g. Hybrid 5×3 exhibited the highest reduction, with a weight of 63.33 g, reflecting a 38.9% decrease compared to the control. Conversely, hybrid 7×6 showed the least disparity, with a weight of 100 g and only a 3.53% reduction. Notably, significant differences were evident in gall index, egg mass index, resistance index, root dry weight, and root length. According to the Taylor and Sasser ranking for determining gall and egg masses indices, hybrid 2×6 exhibited sensitivity, while the remaining hybrids were classified as very sensitive. Regarding the egg masses index, hybrids 5×3, 2×6, and 3×4 displayed relative resistance, whereas the other hybrids were categorized as sensitive. Evaluation based on the reproduction factor and gall index indicated that all hybrids were classified as sensitive.

Discussion

The study concluded that none of the hybrids exhibited significant resistance indices. However, hybrid 2×6 demonstrated statistical significance in gall index, egg masses, and resistance, while hybrid 2×7 displayed superiority over the control variety in terms of larval count, egg count, and dry shoot weight. Consequently, pending further complementary experiments, these hybrids may be regarded as promising replacement candidates.

Keywords: Cucumber, Gall index, Nematode, Resistance

Associate editor: S. Azimi (Ph.D.)

Citation: Ghanbari, F., Jamali, S., Olfati, J. & Mousanejad, S. (2024). Evaluation of eleven cucumber hybrid's reaction to root-knot nematode (*Meloidogyne incognita*) in greenhouse conditions. *Plant Protection (Scientific Journal of Agriculture)*, *46*(4), 91-103. https://doi.org/ 10.22055/ppr.2024.46320.1736.

گیاه‌پزشکی (مجله علمی کشاورزی)
جلد ٤٦، شماره ٤، زمستان ١٤٠٢

10.22055/ppr.2024.46320.1736

ارزیابی واکنش یازده هیبرید خیار نسبت به نماتد ریشه گرهی (*Meloidogyne incognita*) در شرایط گلخانه

فرشته قنبری[1]، سالار جمالی*[2]، جمالعلی الفتی[3]، صدیقه موسی نژاد[4]

۱- مربی، گروه گیاه‌پزشکی، دانشکده علوم کشاورزی، دانشگاه گیلان، رشت، ایران
۲- **نویسنده مسوول**: استادیار، گروه گیاه‌پزشکی، دانشکده علوم کشاورزی، دانشگاه گیلان، رشت، ایران (jamali@guilan.ac.ir)
۳- دانشیار، گروه گیاه‌پزشکی، دانشکده علوم کشاورزی، دانشگاه گیلان، رشت، ایران
۴- دانشیار، گروه علوم و مهندسی باغبانی، دانشکده علوم کشاورزی، دانشگاه گیلان، رشت ایران

تاریخ دریافت: ۱۴۰۲/۱۲/۱۸ تاریخ پذیرش: ۱۴۰۳/۰۲/۲۶

چکیده

پژوهش حاضر در شرایط گلخانه، با ارزیابی مقاومت یازده هیبرید خیار (۳×۲، ٤×٦، ۳×۷، ۵×۳، ۲×۷، ۳×٤، ٤×۲، ۲×٦، ۳×٦، ٦×۷) و یک رقم تجاری نگین به‌عنوان شاهد نسبت به نماتد ریشه‌گرهی در قالب طرح کاملا تصادفی با سه تکرار به اجرا در آمد. نماتد روی گوجه‌فرنگی رقم حساس ارلی‌اوربانا خالص‌سازی، تکثیر و با استفاده از خصوصیات ریخت‌شناسی شناسایی گردید. در هر کیلوگرم خاک، گیاهچه‌های خیار با ۲۰۰۰ تخم و لارو سن دوم مایه‌زنی و پس از ۱۰ هفته، شاخص‌های تولیدمثلی نماتد ارزیابی گردیدند. هیبریدها از نظر شاخص بیماریزایی تفاوت معنی‌داری با یکدیگر داشتند. با توجه به رتبه‌بندی تیلور و ساسر، هیبرید ٦×۲ با شاخص گال چهار، حساس و شاهد نگین، هیبریدهای ۳×۲، ٦×٤، ۳×۷، ۵×۳، ۲×۷، ۳×٤، ٤×۲، ٦×۳ و ٦×۷ با شاخص پنج، بسیار حساس و از نظر شاخص توده تخم، هیبریدهای ۵×۳، ۲×٦ و ٤×۳ با شاخص سه، دارای مقاومت نسبی و هیبریدهای نگین، ۳×۲، ٦×٤، ۳×۷، ۲×۷، ٤×۲، ۳×٦ و ٦×۷ با شاخص چهار، حساس بودند. با در نظر گرفتن فاکتور تولیدمثل و شاخص گال، تمام هیبریدها حساس ارزیابی شدند. از نظر شاخص مقاومت بین هیبریدها تفاوت معنی‌داری وجود داشت و طبق شاخص مقاومت در روش Quesenberry et al. (1989)، هیبریدهای ۵×۳، ۲×٦ و ٤×۳ نسبتاً حساس و سایر هیبریدها حساس بودند. وزن تر و خشک اندام هوایی، وزن تر ریشه و حجم ریشه به لحاظ آماری معنی‌دار شدند. هیبریدهای تولیدی نسبت به هیبرید تجاری نگین، از نظر مقاومت به نماتد برتری داشتند که پس از آزمایش‌های تکمیلی می‌توانند به‌عنوان جایگزین، مورد توجه واقع شوند.

کلیدواژه‌ها: خیار، شاخص گال، مقاومت، نماتد

دبیر تخصصی: دکتر صدیقه عظیمی

مقدمه

خیار یکی از محصولات مهم باغبانی است و کشور چین بزرگترین کشور تولیدکننده خیار است. ایران از لحاظ تولید این محصول در جهان در جایگاه دوازدهم قرار دارد. طبق آخرین آمارنامه منتشره در سال ۱۴۰۰، سطح زیر کشت خیار گلخانه‌های ایران در سال ۱۴۰۰ برابر با ۴۸۵۳ هکتار و میزان تولید آن حدود ۱۱۳۵۰۰۰ تن بوده است. ایران حدود ۳/۲ درصد از سطح زیر کشت خیار در جهان را به خود اختصاص داده است (FAO, 2021).

خیار با نام علمی *Cucumis sativus* L. گیاهی یکساله از خانواده کدوئیان، بومی هندوستان و جزء میوه‌هایی است که به صورت خام و فرآوری به مصرف می‌رسد. شرایط کشت خیار گلخانه‌ای برای رشد بسیاری از آفات و بیماری‌های گیاهی مساعد می‌باشد. از جمله مهم‌ترین این آفات و بیماری‌ها می‌توان به ویروس موزاییک خیار، سفیدک حقیقی، بوته‌میری و نماتد ریشه‌گرهی اشاره کرد. در بین این بیماری‌ها، نماتد ریشه‌گرهی یکی از مهمترین آن‌ها محسوب شده و هرساله خسارت‌هایی را به کشاورزان و تولیدکنندگان ، خصوصاً در مناطق گرمسیری و نیمه گرمسیری تحمیل می‌کند (Peyvast, 2017). با گسترش کشت خیار درگلخانه‌های کشور، شرایط انتشار این نماتد فراهم گردیده و در اثر عدم رعایت مسایل بهداشتی و توسعه روزافزون این عامل، شدت آلودگی گلخانه‌ها بالا رفته است. استفاده از کودهای دامی نپوسیده و عدم کاربرد اصول علمی مبارزه با این نماتد، موجبات ایجاد خسارت شدید را فراهم ساخته، به‌طوریکه در بعضی موارد در اثر آلودگی، کل گیاهان از بین می‌روند (Abdulahi, 2014).

نماتدهای انگل گیاهی، یکی از عوامل مهم کاهش محصولات کشاورزی در سراسر جهان محسوب می‌شوند (Briar et al., 2016; Ibrahim et al., 2019). نماتد ریشه‌گرهی برای اولین بار در سال ۱۸۰۵ در فلوریدا روی ریشه خیار مشاهده گردیدند و در سال ۱۹۴۹، چیتوود این نماتد را در جنس *Meloidogyne* که قبلا توسط گلدی در سال ۱۸۸۷ توصیف شده بود، قرار داد (Perry et al., 2009). نماتد ریشه‌گرهی در ایران اولین بار در سال ۱۳۳۵ توسط شریف با نام *Heterodera marioni* از روی ریشه گوجه‌فرنگی در قصر شیرین مشاهده و گزارش شد (Akhiani et al., 1986). با وجود اینکه این نماتد در بیشتر مناطق دنیا وجود دارد، اما غالباً در مناطق با آب و هوای گرم و زمستان‌های کوتاه و ملایم، یافت می‌شود (Agrios, 2005). خیار توسط بسیاری از نماتدهای انگل گیاهی به‌ویژه نماتدهای ریشه‌گرهی جنس *Meloidogyne*، که گاهی کاهش ۶۰ درصدی محصول را سبب می‌شوند، مورد حمله قرار می‌گیرد (Kimenju et al., 1999). نماتد ریشه‌گرهی جنس *Meloidogyne* در ایران روی ۱۹ تیره گیاهی از جمله گوجه‌فرنگی، سیب‌زمینی و انواع کدوئیان یافت شده و حدود ۹۵ درصد از بیماری‌های ناشی از نماتدهای ریشه‌گرهی در اثر حمله چهار گونه شامل، *M. arenaria, M. hapla, M. incognita, M. javanica* ایجاد می‌شوند (Akhiani et al., 1986). این نماتدها انگل داخلی و ساکن هستند که با نفوذ به داخل ریشه و با ترشحات آنزیمی مخصوص به خود از جمله پروتئاز، متابولیسم میزبان را به نفع خود و به دنبال ایجاد راه نفوذ برای قارچ‌های بیماریزا تغییر می‌دهند و گیاه در مقابل با تقسیم مکرر هسته و القاء تولید ترکیبات هورمونی مانند اکسین و سایر مواد، موجب بزرگ شدن سلول‌ها و ازدیاد سلولی در ریشه شده و در نتیجه از حالت عادی خارج می‌شود و علایم به صورت برجستگی‌های گره مانند ظاهر می‌شود. در قسمت‌های هوایی گیاه علائم آلودگی شامل کاهش رشد، پژمردگی، تعداد برگ‌های کم، کوچک و رنگ پریده، شکوفه و میوه‌های کوچک و نامرغوب می‌باشد. گیاهان مسن با آلودگی شدید، ابتدا پژمرده و سپس از بین می‌روند (Perry et al., 2010).

کنترل نماتد ریشه‌گرهی به دلیل دامنه میزبانی وسیع، چرخه زندگی کوتاه، سرعت تولیدمثل بالا و انگل داخلی بودن، دشوار است (Nasr Esfahani & Ahmadi, 2003). اگرچه مبارزه شیمیایی هنوز یک روش معمول در کاهش جمعیت نماتدها می‌باشد اما فشار تهدیدات زیستی و ایمنی غذایی برای محدود کردن و حتی ممنوعیت مصرف نماتدکش‌ها وجود دارد (Abootorabi & Naraghi, 2016). استفاده از ارقام مقاوم به نماتدها به تنهایی یا در تلفیق با برنامه‌های دیگر کنترل ممکن است مؤثرترین روش باشد که به این وسیله می‌توان

استفاده از نماتدکش‌های شیمیایی معمول را کاهش داده و یا حتی حذف نمود. این گیاهان مقاوم، مانع استفاده از تناوب‌های طولانی مدت در بین گیاهان میزبان شده و همچنین برای کشاورزی پایدار در کشورهای در حال توسعه و یا در مورد گیاهان کم ارزش که استفاده از نماتدکش‌ها اقتصادی نیست، بسیار مناسب می‌باشد (Nasr Esfahani & Ahmadi, 2003; Starr et al., 2002). با توجه به توسعه کشت محصولات در گلخانه و افزایش سطح زیر کشت خیار گلخانه‌ای، شناسایی و معرفی ارقام مقاوم به‌عنوان راهکاری در جلوگیری از خسارت نماتد ریشه‌گرهی یکی از گزینه‌های کاربردی و مقرون به‌صرفه محسوب می‌شود. اکثر ارقام مایه‌زنی شده با نماتد *M. incognita* روی ریشه گال‌هایی به اندازه‌های مختلف ایجاد نموده و باعث کاهش وزن خشک ریشه می‌شوند (Ahmad et al., 1992). در این راستا، تولید ارقام و هیبریدهای جدید خیار و سنجش مقاومت، می‌تواند زمینه‌ساز توسعه کاربرد آن‌ها در مدیریت تلفیقی این نماتد باشد. بنابراین هدف از انجام این پژوهش، ارزیابی مقاومت ۱۱ هیبرید خیار نسبت به نماتد ریشه‌گرهی *M. incognita* در شرایط گلخانه می‌باشد.

مواد و روش‌ها

تهیه زادمایه نماتد: ابتدا نمونه‌برداری از خاک و ریشه آلوده به نماتد ریشه‌گرهی در مناطق کشت خیار استان گیلان صورت گرفت. بعد از شستشوی ریشه‌ها با استفاده از روش تک کیسه تخم، به تکثیر نماتد در سطح گلخانه اقدام گردید. توده‌تخم در سوراخی به عمق سه تا پنج سانتی‌متر مجاور ریشه‌های نشاء گوجه‌فرنگی، رقم ارلی‌اوربانا در مرحله دو تا چهار برگی قرار داده شد. گلدان‌ها حاوی دو کیلوگرم خاک بودند که توسط اتوکلاو به مدت ۳۰ دقیقه در دمای ۱۲۱ درجه سلسیوس و فشار ۱/۵ اتمسفر سترون گردیدند. این گیاهچه‌ها به مدت ۴۵ تا ۶۰ روز در شرایط گلخانه (۱۶ ساعت نور و ۸ ساعت تاریکی و دمای ۲۶ تا ۲۸ درجه سلسیوس) نگهداری شدند. پس از تکثیر نماتد و ایجاد گال روی ریشه، شناسایی نماتد انجام شد، برای این منظور تشخیص گونه از طریق برش انتهای بدن نماتد ماده یا الگوی اثرانگشتی[1] و مشخصات لاروهای سن دوم انجام گرفت (Hussey & Barker, 1973; Tylor & Netscher, 1974). جهت رنگ‌آمیزی نماتدهای ماده در بافت ریشه، از روش هارتمن و ساسر استفاده شد (Hartman & Sasser, 1985). به منظور بررسی مشخصات ریخت‌شناسی و ریخت‌سنجی لاروهای سن‌دوم، از کیسه‌های تخم نماتد ماده‌ای که برش تهیه شده بود، برای تفریخ لاروها و تهیه اسلاید استفاده گردید. مایه تلقیح از گوجه فرنگی‌هایی که به روش تک‌کیسه تخم آلوده شده بودند، تهیه گردید. هر کدام از گلدان‌ها حاوی یک کیلو به نسبت (یک به دو) پرلیت و کوکوپیت بودند. جهت استخراج توده تخم از ریشه طبق روش هوسی و بارکر عمل شد (Hussey & Barker, 1973). طبق روش سینی وایت هد، لاروهای سن دوم استخراج شده به استوانه مدرج منتقل و در نهایت جمعیت به دست آمده در زیر بینوکولار توسط پتری مدرج شمارش شدند (Whitehead & Heming, 1965).

مطالعات گلخانه‌ای: این پژوهش با ارزیابی مقاومت ده هیبرید خیار گلخانه‌ای ۳×۲، ۶×۴، ۳×۷، ۵×۳، ۲×۷، ۳×۴، ۴×۲، ۳×۶، ۷×۶ ،۲×۶ که طی تحقیقات قبلی در گروه علوم و مهندسی باغبانی دانشگاه گیلان اصلاح شده بودند و یک هیبرید تجاری نگین به عنوان شاهد، به مرحله اجرا درآمد. آزمایش در قالب طرح کاملاً تصادفی با سه تکرار انجام شد. ابتدا بذرها را داخل پتری در دمای ۲۵ درجه سلسیوس جوانه‌دار کرده و بعد از ۴۸ ساعت، بذرهای جوانه‌دار شده به لیوان یکبار مصرف که حاوی نسبت برابر پرلیت و کوکوپیت بود، انتقال داده شدند. بعد از گذشت دو هفته، گیاهچه‌ها به دو برگی حقیقی و دو برگ لپه رسید و به گلدان اصلی به قطر ۲۵ سانتی‌متر حاوی یک کیلو پرلیت و کوکوپیت (نسبت یک به دو) انتقال داده شد. بعد از تکثیر جمعیت خالص و سپس با اندازه‌گیری تعداد لارو سن دوم در هر میلی‌لیتر از سوسپانسیون، حجم مورد نیاز برای مایه‌زنی ۲۰۰۰ تخم و لارو

1- Pattern Perineal

سن دوم به هر کیلوگرم خاک تعیین گردید. سپس گلدان‌ها به‌صورت کاملاً تصادفی در گلخانه چیده و آبیاری و نگهداری گلدان‌ها در مواقع مورد نیاز انجام شد.

ارزیابی شاخص‌های بیماریزایی نماتد: ۱۰ هفته بعد از مایه‌زنی، گلدان‌ها به آزمایشگاه منتقل و بعد از شستشوی ریشه‌ها در جریان ملایم آب، مورد بررسی قرار گرفتند. صفات مرتبط با نماتد شامل تعداد گره و کیسه تخم با استفاده از روش تایلور و ساسر (Taylor & Sasser, 1978) و تعداد لارو سن دوم در خاک با استفاده از روش بارکر(Barker, 1985) تعیین شد. جهت شمارش گال و نماتد ماده بالغ، ابتدا ریشه‌ها به قطعات دو تا چهار سانتی‌متری تقسیم و حدود یک گرم از آنها به کمک ترازو وزن گردیدند. سپس درون لوله آزمایش ریخته و روی آن محلول لاکتوفنل اسید فوشین اضافه و با چراغ الکلی تا نزدیک به نقطه جوش حرارت داده شد. برای ازبین بردن رنگ اضافی، ریشه‌ها با آب شسته شدند. ریشه در زیر بینوکولار بررسی و تعداد گال شمارش شد. برای شمارش نماتد ماده بالغ، گال-های دارای کیسه تخم و بدون کیسه تخم به کمک سوزن و پنس شکافته و در صورت وجود نماتد ماده بالغ شمارش شدند. جهت شمارش تخم و لارو سن دوم، حدود یک گرم از ریشه‌ها به کمک ترازو وزن شد. ریشه‌ها به قطعات دو تا چهار سانتی‌متری تقسیم و درون همزن ریخته و به آن‌ها محلول هیپوکلریت سدیم ۰/۵ درصد اضافه و حداکثر یک دقیقه همزده شدند. سوسپانسیون آماده شده به ترتیب از الک‌های ۷۰، ۱۰۰، ۴۰۰ و ۵۰۰ عبور داده شده و محتویات الک‌ها توسط آب به خوبی شسته شده تا بقایای تخم و لارو از آن بگذرد و محلول هیپوکلریت سدیم از بین برود. در آخر تخم‌های نماتد روی الک ۵۰۰ مش را به کمک آب فشان داخل استوانه مدرج ریخته و سوسپانسیون حاوی تخم به مدت ۲۴ تا ۴۸ ساعت درون انکوباتور تاریک با دمای ۲۰ تا ۲۲ درجه سانتی‌گراد قرار گرفت. اکثر تخم‌ها پس از این مدت تفریخ شدند (Mc clure et al., 1973). حدود پنج میلی‌لیتر از سوسپانسیون حاصل درون پتری مدرج ریخته شد و جمعیت موجود در آن زیر بینوکولار شمارش گردید.

میانگین تعداد تخم و لارو در پنج میلی‌لیتر × حجم محلول سوسپانسیون = تعداد تخم و لارو در سوسپانسیون

برای تعیین شاخص تولیدمثل نماتد از فرمول RF=Pf/Pi استفاده شد که در آن Rf فاکتور تولیدمثل، Pf جمعیت نهایی نماتد، Pi جمعیت اولیه نماتد می‌باشد (Oostenbrink, 1966). شاخص مقاومت از فرمول زیر محاسبه گردید:

$$\text{Resistance Index (RI)} = \sqrt{(\boldsymbol{gall\ index^2 + egg\ mass\ index^2})}$$

ارزیابی شاخص‌های رشدی:

ابتدا گلدان‌های خیار به آزمایشگاه نماتدشناسی منتقل و به دو بخش ریشه و شاخساره تفکیک گردیدند. گلدان‌ها را غرقاب کرده تا ریشه‌ها به آرامی از گلدان خارج و طول ریشه با استفاده از خط‌کش اندازه‌گیری و ثبت شد. برای محاسبه حجم ریشه، ریشه‌ها درون یک بشر یک لیتری قرار گرفتند. سپس به میزان یک لیتر آب به آنها اضافه شد. میزان آب اضافی به استوانه مدرج منتقل و میزان آب اضافی، به عنوان حجم ریشه در نظر گرفته شد. سپس ریشه‌های خیار به مدت چند دقیقه روی دستمال کاغذی جهت حذف رطوبت اضافی، گذاشته شد تا خشک شدند.

جدول ۱- تعیین واکنش مقاومت براساس شاخص گال و کیسه تخم (Taylor and Sasser, 1978)

Table1. Determining the resistance reaction based on gall index and egg sacs (Taylor and Sasser, 1978)

(Reaction)	(Gall index or Egg mass Index)	(Number of gall or egg mass)
Extremely resistant	0	No gall or egg sac
Very resistant	1	1-2
Semi resistant	2	3-10
Relative resistant	3	11-30
Sensitive	4	31-100
Very sensitive	5	›100

جدول ۲- تعیین واکنش مقاومت براساس شاخص گال و فاکتور تولیدمثل (Canto-Saenz, 1983)

Table2. Determining the resistance reaction based on gall index and reproduction factor (Canto-Saenz, 1983)

(Reaction)	(Gall index)	(Reproduction factor)
Sensitive	>2	>1
Super sensitive	>2	≤1
Tolerable	≤2	>1
Resistance	≤2	≤1
Safe	0	0

جدول ۳- تعیین واکنش مقاومت براساس شاخص مقاومت(Quesenberry et al., ¬1989¬)

Table3. Determining the resistance reaction based on the resistance index (Quesenberry et al., ¬1989)

(Reaction)	(Resistance index)
Safe	0-0.9
Very resistant	1-1.9
Resistance	2-2.9
Relatively resistant	3-3.9
Medium resistance	4-4.9
Relatively sensitive	5-5.9
Sensitive	6-6.9
Very sensitive	>7

وزن تر ریشه با دقت یک صدم با ترازوی دیجیتال اندازه‌گیری شد. پس از اندازه‌گیری وزن تر، داخل پاکت قرار گرفتند، به این صورت که برای محاسبه وزن خشک، بخش‌های هوایی و ریشه‌ها به طور جداگانه در داخل پاکت‌های کاغذی که قبلا وزن شده بودند قرار گرفته و به مدت ۴۸ ساعت در دمای ۷۲ درجه سلسیوس، در آون خشک شده و به وسیله ترازو با دقت یک صدم وزن گردیدند.

بعد از نرمال‌سازی داده‌ها، تجزیه وتحلیل آماری با استفاده از نرم افزار SAS 9.0 و مقایسه میانگین‌ها با استفاده از آزمون توکی در سطح احتمال یک درصد انجام شد.

نتایج و بحث

نتایج تجزیه واریانس نشان داد که تفاوت معنی‌داری بین برخی از صفات هیبریدهای تیمارشده با نماتد وجود دارد (جدول۴ و ۵). نتایج حاصل از مقایسه میانگین تعداد گال در یک گرم ریشه نشان داد که به جزء هیبریدهای ۳×۲ و ۲×۶، سایر هیبریدها اختلاف معنی‌داری با شاهد ندارند (جدول ۶). میانگین گال در یک گرم ریشه در هیبرید شاهد ۱۳۵ گرم بود. هیبرید ۲×۶ با میانگین ۸۰/۶۶ و درصد کاهش ۴۰/۲۵ نسبت به شاهد بیشترین و هیبرید ۲×۷ با میانگین ۱۳۲/۳۳ و درصد کاهش ۱/۹۷ کمترین اختلاف را نشان داد. همچنین هیبرید ۳×۲ با میانگین ۱۹۰گال و ۴۰/۷۴ درصد افزایش نسبت به شاهد، بیشترین مقدار را نشان داد. نتایج حاصل از مقایسه میانگین تعداد توده تخم در یک گرم ریشه نشان داد هیچکدام از هیبریدها اختلاف معنی‌داری با شاهد ندارند. میانگین هیبرید شاهد (نگین)، ۵۲/۶۶ و هیبریدهای ۳×۲ و ۴×۶ نسبت به شاهد، به‌ترتیب با میانگین‌های ۷۵ و ۶۷/۳۳ بیشترین تعداد را نشان دادند. می‌توان این هیبریدها را نسبت به هیبریدهای دیگر آزمون، به عنوان هیبریدهایی که بیشترین آلودگی با نماتد را دارند، در نظر گرفت (جدول ۶). هیبرید‌های ۵×۳، ۲×۶ و ۳×۴ با شاخص سه، دارای مقاومت نسبی بودند. هیبریدهای نگین، ۳×۲، ۴×۶، ۳×۷، ۵×۳، ۴×۲، ۳×۶ و ۷×۶ با شاخص چهار، حساس ارزیابی شدند (جدول ۸).

میانگین تعداد لارو و تخم در هیبرید شاهد ۱۵۵۶/۶۶ بود، که هیبرید ۲×۷ با میانگین ۶۰۰ و ۶۱/۴۵ درصد کاهش نسبت به شاهد، بیشترین اختلاف و هیبرید ۳×۷ با میانگین ۱۴۸۰ و ۴/۹۲ درصد کاهش، کمترین اختلاف را نشان داد. همچنین هیبرید ۴×۳ با میانگین ۶۴۷۸/۳۳ تخم و لارو و ۳۱۶/۱۶ درصد افزایش نسبت به شاهد، بیشترین مقدار را نشان داد (جدول ۶). نتایج حاصل از مقایسه میانگین تعداد لارو سن

دوم در هزار گرم ریشه، بیانگر این مطلب بود که میانگین تعداد لارو سن دوم در هیبرید شاهد ۹۵۶۶/۶۷ بود، که هیبرید ۵×۳ با میانگین ۱۰۳۸۳/۳۳و ۴۶/۹۳ درصد کاهش نسبت به شاهد، بیشترین و هیبرید ۳×۶ با میانگین ۱۱۴۰۰ و ۴۱/۷۳ درصد کاهش، کمترین اختلاف را نشان داد. همچنین هیبرید ۲×۶ با میانگین ۶۵۳۰۰ لارو سن دوم و ۲۳۳/۷۳ درصد افزایش نسبت به شاهد، بیشترین مقدار را نشان داد (جدول ۶). نتایج حاصل از مقایسه میانگین فاکتور تولیدمثل نشان داد که هیچکدام از هیبریدها اختلاف معنی‌داری با شاهد ندارند. میانگین فاکتور تولیدمثل در هیبرید شاهد ۴۷/۲۶ بود، هیبرید ۵×۳ با میانگین ۱۸/۸ و ۶۰/۲۲ درصد کاهش نسبت به شاهد بیشترین و هیبرید ۷×۶ با میانگین ۳۴/۸۲ و درصد کاهش ۱۰/۱۵ کمترین اختلاف را نشان داد. همچنین هیبرید ۳×۴ با میانگین ۱۱۳/۷۸ فاکتور تولیدمثل و ۱۴۰/۷۵ درصد افزایش نسبت به شاهد، بیشترین مقدار را نشان داد (جدول ۶). نتایج حاصل از مقایسه میانگین وزن تر اندام هوایی مشخص نمود که به جزء هیبرید ۴×۲، سایر هیبریدها اختلاف معنی‌داری با شاهد ندارند. میانگین وزن تر اندام هوایی در شاهد ۱۰۳/۶۶ گرم بود، هیبرید ۵×۳ با میانگین ۶۳/۳۳ گرم و درصد کاهش ۳۸/۹ نسبت به شاهد، بیشترین و هیبرید ۷×۶ با میانگین ۱۰۰ گرم و ۳/۵۳ درصد کاهش، کمترین اختلاف را نشان داد. همچنین هیبرید ۴×۲ با میانگین ۱۹۶ گرم و ۸۹/۰۷ درصد افزایش، نسبت به شاهد بیشترین مقدار را نشان داد. نتایج حاصل از مقایسه میانگین وزن خشک اندام هوایی نشان داد که به جز هیبریدهای ۲×۷ و ۳×۴، سایر هیبریدها اختلاف معنی‌داری با شاهد ندارند. میانگین وزن خشک اندام هوایی در هیبرید شاهد ۸/۷۳ گرم بود، که هیبرید ۴×۶ با میانگین ۸/۴۲ گرم و ۳/۵۵ درصد کاهش نسبت به شاهد اختلاف نشان داد. همچنین هیبرید ۲×۷ با میانگین ۱۶/۱۹ گرم و ۸۵/۴۵ درصد افزایش، نسبت به شاهد بیشترین مقدار را نشان داد (جدول ۷). نتایج حاصل از مقایسه میانگین وزن تر ریشه نشان داد که به جز هیبرید ۳×۷ و ۴×۲ سایر هیبریدها اختلاف معنی‌داری با شاهد دارند. میانگین وزن تر ریشه در هیبرید شاهد ۴۰/۸۳ گرم بود، هیبرید ۵×۳ با میانگین ۱۱/۶۶ گرم و ۷۱/۴۴ درصد کاهش نسبت به شاهد، بیشترین و هیبرید ۴×۲ با میانگین ۳۷/۴۵ گرم و ۸/۲۷ درصد کاهش کمترین اختلاف را نشان داد. نتایج حاصل از مقایسه میانگین حجم ریشه نشان داد که غیر از هیبریدهای ۳×۷، ۴×۲ و ۶×۲، سایر هیبریدها اختلاف معنی‌داری با شاهد ندارند. میانگین حجم ریشه در هیبرید شاهد ۲۰ میلی لیتر بود. هیبرید ۵×۳ با میانگین ۱۰ میلی لیتر و ۵۰ درصد کاهش نسبت به شاهد، بیشترین و هیبرید ۳×۴ با میانگین ۱۳/۳۳ میلی لیتر و ۳۳/۳۵ درصد کاهش، کمترین اختلاف را نشان داد. همچنین هیبرید ۴×۲ با میانگین ۷۰ میلی‌لیتر و ۲۵۰ درصد افزایش نسبت به شاهد، بالاترین مقدار را داشت (جدول ۷).

از روش تیلور و ساسر برای تعیین شاخص گال استفاده گردید (Taylor & Sasser, 1978). با توجه به این معیار، هیبرید ۶×۲ با شاخص چهار، حساس و هیبریدهای نگین، ۳×۲، ۶×۴، ۳×۷، ۵×۳، ۷×۲، ۳×۴، ۴×۲، ۳×۶ و ۷×۶ با شاخص پنج، بسیار حساس ارزیابی شدند (جدول ۱ و ۸). از نظر شاخص توده تخم، هیبریدهای ۵×۳، ۶×۲ و ۴×۳ با شاخص سه، دارای مقاومت نسبی بودند و هیبریدهای نگین، ۳×۲، ۶×۴، ۳×۷، ۷×۲، ۴×۲، ۶×۳ و ۷×۶ با شاخص چهار، حساس ارزیابی شدند (شکل ۱). مطالعه‌ای در رابطه با واکنش ارقام مختلفی از گوجه‌فرنگی، فلفل، بادمجان و بامیه با سطح زادمایه‌ی ۱۰۰۰ لارو *M. incognita* صورت گرفته است که به علت بالا بودن شاخص گره و کیسه تخم، هیچ‌یک از ارقام، مقاوم یا ایمن نبوده‌اند (Anwar & Khan, 1992). نتایج تجزیه واریانس شاخص مقاومت نشان داد اختلاف بین هیبریدها معنی‌دار نیست و براساس شاخص مقاومت در روش Quesenberry et al. (1989)، هیبریدهای ۵×۳، ۶×۲ و ۴×۳، نسبتاً حساس و سایر هیبریدها حساس ارزیابی شدند که با نتایج خان و همکاران (Khan et al., 2000) مبنی بر ارزیابی واکنش ده رقم گوجه‌فرنگی در گلدان، که هیچ‌یک از ارقام نسبت به *M. incognita* ایمن یا دارای مقاومت بالا نبودند، مطابقت داشت. باتوجه به فاکتور تولیدمثل یک و شاخص گال دو (GI>2 , RF>1) واکنش تمام هیبریدهای مورد بررسی حساس بودند (جدول ۲).

شکل ۱- ریشه گیاه مایه‌زنی شده با نماتد *M. incognita* در A. هیبرید ۲×٦ ، B. نگین

Figure 1. The root of the plant inoculated with the nematode *M. incognita* in A. hybrid 2x6, B. Nagin

جدول ٤- تجزیه واریانس شاخص‌های بیماریزایی نماتد

Table 4. Variance analysis of nematode¬ pathogenicity indices

Sources of variation	Degrees of freedom	Average of squares							
		The number of galls /gram root	The number of egg masses/g root	The number of j2[1] and eggs/g root	The number of j2/ 1kg soil	Reproductive factor	Gall index	Egg sac index	Resistance index
Hybrid	10	3627.94**	0.77*	33.87**	131.57**	1.57**	0.21^{ns}	0.4^{ns}	0.46*
Error	22	165.26	0.123	2.53	6.41	0.313	0.15	0.15	0.17
CV		8.92	10.33	12.32	8.62	15.81	8.12	10.61	6.97

Tip: *, ** and ns, according to the significance level at five percent, one percent and no significant difference

براساس واکنش نهایی هیبریدها، شاخص مقاومت هیبریدهای نگین، ۳×۲، ۶×۴، ۳×۷، ۲×۷، ۴×۲، ۳×۶ و ۷×۶ با شاخص مقاومت ۶/۹-۶، حساس و هیبریدهای ۵×۳، ۳×۴ و ۲×۶ با شاخص مقاومت ۵/۹-۵ نسبتاً حساس بودند (جدول۸). محققین در یک آزمایش گلخانه‌ای، با بررسی مقاومت نسبی نشان دادند که هیچ‌کدام از رقم‌های گیاه خیار مقاوم نبودند ولی درجه حساسیت آن‌ها از نظر شاخص‌های تولیدمثلی نماتد متفاوت بود (Abdulahi, 2014; Buttarat et al.,2020; Golzar et al., 2022) که با نتایج پژوهش حاضر هماهنگ بود.

بررسی همبستگی بین شاخص مقاومت و صفات رشدی هیبریدهای خیار مورد مطالعه و شاخص‌های بیماریزایی نماتد با توجه به آنچه در جدول ۹ آمده است، نشان داد که همبستگی شاخص مقاومت با تعداد گال و توده تخم در یک گرم ریشه، مثبت و معنی‌دار شده است. با توجه به جدول ۳، هر چقدر شاخص مقاومت افزایش یابد واکنش هیبریدها به سمت حساسیت به نماتد بیشتر می‌شود (Quesenberry et al., 1989).

1- Second stage juvenile

جدول ۵- تجزیه واریانس شاخص‌های رشدی گیاه

Table 5. Variance analysis of plant growth indices

Sources of variation	Degrees of freedom	Average of squares					
		Shoot fresh weight	Shoot dry weight	Root fresh weight	Root dry weight	Root volume	Root length
Hybrid	10	5355.95**	19.31**	314.40**	0.13ns	1065.09**	145.15ns
Error	22	622.96	1.98	8.47	0.05	37.69	48.75
CV		20.55	11.71	11.14	16.69	18.90	17.68

Tip: *, * and ns, according to the significance level at five percent, one percent and no significant difference

جدول ٦- مقایسه میانگین اثر هیبرید بر شاخص‌های بیماریزایی نماتد

Table 6. Mean comparison of the hybrid effect on nematode pathogenicity indices

Treatment	The number of galls/g root	The number of egg masses/g root	The number of J2 and egg/g root	The number of J2/kg soil	Resistance index
Negin	135 b-d	]52.66 ab	1556.66 b-d	19566.67 c	47.26 ab
2×3	190 a	75 a	4015 a-c	21733.33 c	54.61 ab
4×6	172.5 a-c	67.33 a	1105 cd	21050 c	24.04 b
7×3	169 a-c	36.33 ab	1480 cd	58166.67 a	48.3 ab
3×5	106.33 de	22.66 b	659 d	10383.33 c	18.8 b
7×2	132.33 cd	33.41 ab	600 d	24150 bc	20.61 b
4×3	111.33 de	66.19 b	6478.33 a	10463.33 c	113.78 a
2×4	180 ab	52.33 ab	3362.66 a-d	49250 ab	82.32 ab
6×2	80.66 e	22.33 b	3276.66 b-d	65300 a	79.88 ab
6×3	140 b-d	40.66 ab	1661.66 b-d	11400 c	34.82 b
6×7	166.66 a-c	38 ab	4616.66 ab	30333.33 bc	42.46 ab

In each column, the averages that have at least one letter in common do not have a statistically significant difference.

جدول ۷- مقایسه میانگین اثر هیبرید بر شاخص¬های¬ رشدی گیاه

Table 7. Mean comparison of the hybrid effect on plant growth indices

Treatment	Shoot fresh weight	Shoot dry weight	Root fresh weight	Root volume
Negin	103.66 bc	8.73 bc	40.83 a	20 de
3×2	129 ab	13.51 ab	20 cd	28.33 c-e
6×4	72.5 c	8.42 c	20.5 cd	27.33 c-e
3×7	106 bc	13.11 a-c	42.25 a	45 bc
5×3	63.33 c	11.81 a-c	11.66 d	10 e
2×7	178 ab	16.19 a	28 bc	40 b-d
3×4	165.66 ab	15.76 a	19.66 cd	13.33 e
4×2	196 a	12.06 a-c	37.45 ab	70 a
2×6	105 bc	10.66 bc	29 bc	51.66 ab
3×6	116.33 a-c	11.99 a-c	21.16 cd	40 b-d
7×6	100 bc	9.99 bc	16.79 d	11.66 e

In each column, the averages that have at least one letter in common do not have a statistically significant difference.

جدول ۸- مقایسه شاخص گال، کیسه تخم و شاخص مقاومت در ۱۱هیبرید خیار آلوده به نماتد ریشه‌گرهی *M.incognita*

Table 8. Comparison of gall index, egg sac and resistance index in 11 cucumber hybrids infected with root-knot nematode *M. incognita*

Treatment	Hybrid	Gall index	Egg sac index	Resistance index
1	Negin	5	4	6.4
2	2×3	5	4	6.4
3	4×6	5	4	6.4
4	7×3	5	4	6.4
5	3×5	5	3	5.83
6	7×2	5	4	6.4
7	4×3	5	3	5.83
8	2×4	5	4	6.4
9	6×2	4	3	5
10	6×3	5	4	6.4
11	6×7	5	4	6.4

جدول ۹- نتایج تجزیه همبستگی بین صفات رشدی و بیماریزایی اندازه گیری شده در ۱۱ هیبرید خیار

Table 9. The results of correlation analysis of growth traits and pathogenicity measured in 11 cucumber hybrids

	Shoot fresh weight	Shoot dry weight	Root fresh weigh t	Root dry weig ht	Root volum e	Root length	Gall/g root	Eggs mass/g root	J2 and egg/g root	J2/1kg soil	J2 100 g/ soil	Reproductio n Factor
Resistance index	0.162	0.0008-	0.171	0.22	0.037-	0.055-	0.822**	0.65*	0.237-	0.489-	0.511-	0.423-

* and ** Significant at the five and one percent probability level

نتیجه‌گیری

با توجه به نتایج تجزیه واریانس، در برخی شاخص‌ها مانند تعداد گال، کیسه تخم، تخم و لارو داخل یک گرم ریشه، لارو سن دوم در یک کیلوگرم خاک و فاکتور تولیدمثل، وزن تر اندام هوایی، وزن خشک اندام هوایی و وزن تر ریشه در هیبریدهای مورد بررسی، تفاوت معنی‌داری مشاهده نشد درحالی‌که صفات شاخص گال، شاخص کیسه تخم، شاخص مقاومت، وزن خشک ریشه و طول ریشه معنی‌دار شدند. با توجه به رتبه‌بندی تیلور و ساسر برای تعیین شاخص گال و توده تخم، از نظر شاخص گال، هیبرید ۲×۶ با شاخص چهار، حساس و سایر هیبریدها با شاخص پنج، بسیار حساس ارزیابی شدند. از نظر شاخص توده تخم، هیبریدهای ۵×۳، ۲×۶ و ۳×۴ با شاخص سه، دارای مقاومت نسبی بوده و سایر هیبریدها با شاخص چهار، حساس بودند. براساس روش کانتوسانز، از نظر فاکتور تولیدمثل و شاخص گال، تمام هیبریدها حساس ارزیابی شدند. نتایج شاخص مقاومت نشان داد هیچکدام از هیبریدها از نظر این صفت معنی‌دار نشدند. شاخص مقاومت بر اساس روش Quesenberry et al. (1989) هیبریدهای ۵×۳، ۲×۶ و ۳×۴ نسبتاً حساس و سایر هیبریدها حساس ارزیابی شدند. باتوجه به یافته‌های حاصل از این تحقیق، هیبرید ۲×۶ از نظر برخی صفات مانند شاخص گال، شاخص توده تخم و شاخص مقاومت از نظر آماری برتری نسبی به رقم نگین (تیمار شاهد) و سایر هیبریدها داشته و پس از آزمایش‌های تکمیلی می‌تواند در آینده به عنوان هیبرید جایگزین، برای ادامه بررسی‌ها مورد توجه واقع شود.

سپاس‌گزاری

نگارندگان از دانشگاه گیلان بابت حمایت‌های مالی در اجرای پژوهش و همچنین مسئول محترم آزمایشگاه نماتدشناسی دانشکده علوم کشاورزی کمال تشکر را دارند.

REFRENCES

Abdulahi, M. (2014). Reaction of ten greenhouse cucumber cultivars to root knot nematode. *Journal of seedling and seed breeding*, *31*(1), 55-75. https://doi.org/10.22092/SPIJ.2017.111248

Abootorabi, E., & Naraghi, L. (2016). Biological control of tomato root knot nematode, *Meloidogyne javanica* by *Talaromyces flavus* and *Trichoderma harzianum* in the greenhouse condition. *Biocontrol in plant protection, 4*(2), 1-9. https://doi.org/ 10.22092/BCPP.2017.112885

Agrios, G. (2005). *Plant Pathology.* Elsevier Academic Press.

Ahmad, R., Khan, M. A. Sahi, S. T., & Dogar, M. A. (1992). Reaction and development of selected tomato cultivars against root-knot nematode (*Meloidogyne javanica* Treub.). *Pakistan Journal of Phytopathology, 4*(1), 37-40.

Akhiani, A., Mojtahedi, H., & Naderi, A. (1986). The hosts of root knot nematode in Iran. Proc. 8th Plant Protection Congress, Isfahan, Iran, pp. 134.

Anwar, S. A., & Khan, M. A. (1992). Evaluation of four vegetables against *Meloidogyne incognita*. *Journal of Agricultural Research, 30*, 415-421.

Barker, K. R. (1985). Nematode extraction and bioassays. In: K. R., Barker, J. N., Sasser, & C. C. Carter (Eds.)*,* An advanced treatise on *Meloidogyne*, Vol.II Methodology*. North Carolina State University Graphics* (pp. 19-35). Raleigh NC-USA.

Briar, S. S., Wichman, D., & Reddy, G. V. (2016). *Plant-parasitic nematode problems in organic agriculture*. Springer international publisher (pp. 107-122). https://doi.org/: 10.1007/978-3-319-26803- 3-5.

Buttarat, H. S., Sukhjeet, N. k. Dhall, R. K., & Sekhon, A. (2020). Identification of resistant sources of cucumber against *Meloidogyne incognita*. *Journal of Entomology and Zoology studies, 8*(3),732-735.

Canto-Saenz, M. (1983). The nature of resistance to *Meloidogyne incognita*. In: Proceeding of third Research and Planning Conference on Root-Knot Nematode *Meloidogyne* spp. C. C. Carter, (Ed.). 22-26 March. (1982)*, International Meloidogyne Project,* Lima, Peru*,*160-165.

Eisenback, J. D., & Traintaphyllou, H. (1991). Root-knot nematodes. *Meloidogyne* species and races. In W. R. Nickle (Ed.), Manual of agricultural nematology (pp. 191-274). New York. https://doi.org/: 10.1201/9781003066576-6.

FAO, (2021). *Statistical Yearbook of the Food and Agriculture Organization of the United Nations*. Retrieved from http//www.faostat.fao.org/site/339/default.aspx//

Golzar, R. M. A., Umar, A. U., Shahid, M. & Khan, M. F. (2022). Evaluation of genetic and induced resistance phenomena in cucumbers against the root-knot nematode (*Meloidogyne incognita*). *Journal of Plant Protection Science, 58*(4), 338-350.

Hartman, K. M. & Sasser, J. N. (1985). Identification of *Meloidogyne* species on the basis of differential host test and perineal-pattern morphology In K. R. Barker, J. N. Sasser, & C. C. Carter, (Eds.)*, An advanced treatise on Meloidogyne,* Methodology (2th ed., pp. 69-77)*.* North Carolina State University Graphics, Raleigh NC. USA.

Hussey, R. S. & Barker, K. R. (1973). A comparison of methods of collecting inoculate of *Meloidogyne* spp., including a new technique. *Journal of Plant Disease, 57*, 1025-1028.

Ibrahim, H. M., Ahmad, E., Ahmad, M., Martínez-Medina, A., & Aly, M. A. (2019). Effective approaches to study the plant-root knot nematode interaction*. Journal of Plant Physiology and Biochemistry, 141*, 332-342. https://doi.org/: 10.1016/j.plaphy.2019.06.009.

Khan, H. U., Waqar, A., Riaz, A., & Khan, M. A. (2000). Evaluation of resistance in 15 tomato cultivars against the root-knot nematode (*Meloidogyne incognita*). *Pakistan Journal of Phytopathology, 12*(1), 50-52.

Kimenju, J. W., Karanja., N. K., & Macharia, F. L. (1999). Plant parasitic nematodes associated with common bean in Kenya and the effect of *Meloidogyne* infection on bean nodulation. *African Crop Science Journal, 7*(4), 503-510. https://doi.org/: 10.4314/acsj.v7i4.27744

Mc clure, T., Macharia, A., Kruk, H., & Misaghi, I. (1973). A method for obtaining quantities of clean *Meloidogyne* eggs. *Journal of nematology, 5*(3), 230.

Naserinasab, F., Sahebani, N., & Etebarian, H. R. (2011). Biological control of *Meloidogyne javanica* by *Trichoderma harzianum* BI and salicylic acid on tomato. *African Journal of Food Science, 5*(3), 276-280.

Nasr Esfahani, M., & Ahmadi, A. (2003). *The principles of plant nematology*. Jihad Daneshgahi Esfahan, Iran. 334 pp. (In Farsi).

Oostenbrink, M. (1966). Major characteristics of the relationships between nematodes and plants. *Meloidogyne Land blowhole school, 66*, 1-46.

Perry, R. N., Mones, M., & Starr, J. L. (2009). *Root-knot nematode*. CAB International Press Wallingford, (pp. 520). https://doi.org/10.1079/9781845934927.0000.

Perry, R.N., Maurice, M., & Starr, J. L. (2010), *Root-knot Nematodes*, CABI, 531 pp.

Peyvast, G. A. (2017). *Vegetable production*. Gahvareh ketab Iran publishers. 416 pp.

Quesenberry, K. H., Baltensperger, D. D., Dunn, R. A., Wilcox, C. J., & Hardy, S. R. (1989). Selection for tolerance to root-knot nematodes in red clover, *Journal of Crop Science, 29*, 62-65. https://doi.org/10.2135/cropsci1989.0011183X002900010014x

Southey, J. F. (1970). Ministry of agriculture, fisheries and food. *Laboratory methods for work with plant and soil nematodes*. London. pp. 115-132.

Starr, J. L., Bridge, J., & Cook, R. (2002). History, current use, and future potential. *Plant Resistance to Parasitic Nematodes* (pp. 1-22). CAB International Publishing, Wallingford, UK. https://doi.org/10.1079/9780851994666.0001

Taylor, A. L., & Sasser, J. N. (1978). *A Cooperative Publication of the Department of Plant Pathology,* Biology, identification and control of root-knot nematodes (*Meloidogyne* spp.), North Carolina State University and The United States Agency for International Development. (pp. 111). North Carolina State Graphics, Raleigh, N.C.

Tylor, D. P., & Netscher, C. (1974). Nematologica, *International Journal of nematological researc*h, *20*, 268-269.

Whitehead, A. G., & Hemming, J. R. (1965). A comparison of some quantitative methods extracting small vermiform nematodes from the soil. *Annals of Applied Biology*, *55*, 25-38. http://dx.doi.org/10.1111/j.1744-7348.1965.tb07864.x.

© 2024 by the authors. Licensee SCU, Ahvaz, Iran. This article is an open access article distributed under the terms and conditions of the Creative Commons Attribution-NonCommercial 4.0 International (CC BY-NC 4.0 license) (http://creativecommons.org/licenses/by-nc/4.0/.