

بررسی واکنش برخی از ارقام توتون هواخشک به نماتد ریشه‌گرهی گونه *Meloidogyne. incognita* در شرایط مزرعه در استان گلستان

Study of reaction of some air-cured tobacco cultivars to Root-Knot nematode (*Meloidogyne. incognita*) in Golestan province

محمد قاسمی تیرتاشی^{۱*}، سعید نصراله‌نژاد^۲ و سید افشین سجادی^۳

دریافت: ۱۳۹۳/۹/۲۰

پذیرش: ۱۳۹۴/۲/۴

چکیده

نماتدهای ریشه‌گرهی، انگل‌های اجباری داخلی ساکن ریشه بسیاری از گیاهان از جمله توتون در ایران و کشورهای تولیدکننده توتون می‌باشند. این گروه از نماتدها دارای طیف میزبانی و گسترش جغرافیایی وسیع در دنیا هستند که در تعامل با گیاهان میزبان و سایر بیمارگرهای خاکزی، همه ساله خسارات فراوانی به گیاهان و محصولات کشاورزی وارد می‌کنند. به منظور بررسی واکنش برخی از ارقام توتون هواخشک (Burley 1, Burley 151, Burley 7, BB16 A) و بارلی (۲۱) به نماتد ریشه‌گرهی گونه *Meloidogyne. Incognita*، آزمایشات در قالب طرح بلوک‌های کامل تصادفی با ۳ تکرار در قطعاتی به ابعاد ۵×۸ در سال زراعی ۱۳۹۴ در روستای والش آباد گرگان با شرایط آلودگی طبیعی انجام گرفت. ارزیابی شدت بیماری بر اساس شاخص گال، ضریب تولیدمثل، تعداد توده تخم و میانگین تخم موجود در هر توده در انتهای فصل با خارج کردن ریشه توتون از خاک صورت گرفت. تجزیه و تحلیل آماری داده‌ها روی ۵ تیمار توتون هوا خشک در شرایط مزرعه نشان داد که رقم بارلی ۲۱ با شاخص گال و حساسیت ۸، حساس‌ترین رقم و ارقام بارلی یک و بارلی ۱۵۱ با حساسیت ۴/۵ و شاخص گال ۳ و ارقام BB 16 A و بارلی ۷ با شاخص حساسیت ۴ و شاخص گال دو و یک در گروه نیمه مقاوم نسبت به نژاد ۲ نماتد *M. incognita* قرار گرفتند.

واژگان کلیدی: نماتد ریشه‌گرهی، ارقام هواخشک، انگل اجباری، توتون

۱- دانشجوی کارشناسی ارشد، گروه گیاه‌پزشکی، دانشگاه آزاد اسلامی، گرگان، ایران

۲- دانشیار، گروه گیاه‌پزشکی، دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی گرگان

۳- محقق، بخش گیاه‌پزشکی مرکز تحقیقات و آموزش تیرتاش

مسئول مکاتبات: mohammadghasemi1975@yahoo.com

مقدمه

توتون (*Nicotiana tabacum* L.) از خانواده بادمجانیان و یکی از مهم‌ترین گیاهان زراعی است. سطح زیر کشت توتون سیگارت در سال ۱۳۹۳ در ایران برابر با ۶۱۰۰ هکتار و تولید برگ خشک برابر با ۱۱۰۰۰ تن بوده است (Anonymous, 2012).

نماتدهای ریشه‌گرهی از نظر اقتصادی مهم‌ترین نماتدهای پارازیت گیاهی در سطح جهان می‌باشند که به طیف وسیعی از گیاهان حمله می‌کنند. پراکندگی جهانی، وسعت دامنه میزبانی و تعامل با سایر بیمارگرهای گیاهی، آن‌ها را به عنوان یکی از پنج عامل درجه اول بیماری‌زا و در رده مهم‌ترین بیمارگرهای گیاهی، که تولید گیاهان را تهدید می‌کند، قرار داده است (Lucas, 1975). این نماتد، انگل داخلی ساکن بوده و به بیش از ۲۰۰۰ گونه گیاهی حمله می‌کند. این عامل به طور مستقیم و غیر مستقیم موجب خسارت توتون و کاهش عملکرد می‌گردد. گیاهان مبتلا به طور کلی کوتوله و زرد می‌شوند و بیشتر علائم آن کاهش کارایی سیستم ریشه می‌باشد که وجود گره‌ها یا گال‌هایی در ریشه از جمله مهم‌ترین نشانه‌های بیماری است (Lucas, 1975).

در تحقیق انجام شده از ۲۴۴ نمونه خاک و ریشه نمونه‌برداری شده از مزارع توتون در مناطق گرگان و علی‌آباد و برخی از مناطق مینودشت، ۴ گونه شامل نژاد دو گونه‌های *M. incognita* و *M. arenaria* همچنین گونه‌های *M. hapla* و *M. javanica* شناسایی شدند که گونه *M. incognita* بیش‌ترین فراوانی (۸۱/۹۳ درصد) را در بین گونه‌های شناسایی شده داشت (Sajjadi et al., 2014). در پژوهشی با بررسی واکنش توتون تیپ هواخشک به نماتد ریشه‌گرهی، سه رقم KY9, K17 و بارلی ارومیه ۳ به عنوان ارقام مقاوم و ارقام Ergo و Burley TMV4 به عنوان ارقامی که در بین ارقام مورد بررسی حساسیت بیش‌تری به این نماتد داشتند معرفی کردند (Hosseini et al., 2011). در تحقیقی ارقام NC 100, Bel 61-10، بارلی ارومیه ۳ و HB4105P در شرایط گلخانه به قارچ‌های خاکزی بیماری‌زا و نماتد ریشه‌گرهی مقاوم بودند (Sajjadi and Assemi, 2015). در بررسی ۱۶ رقم مختلف توتون از نظر مقاومت به نماتد ریشه‌گرهی در سطح مزرعه با آلودگی طبیعی در روستای جعفر آباد گرگان، واکنش ارقام مورد مطالعه به نماتد متفاوت بوده و هیچکدام از آن‌ها به نماتد مصونیت نداشتند. بر اساس درجه تشکیل غده، ارقام باسما ۲-۱۷۸، K30R و بارلی ۲۱ به ترتیب دارای بیش‌ترین میزان آلودگی (حساس‌ترین) با درجه ۹/۲، ۸/۹ و ۸/۲ در سال اول و به همین صورت به میزان ۸/۱، ۶/۷ و ۷/۲ در سال دوم و کم‌ترین درجه آلودگی (متحمل‌ترین)، رقم STNCB2-8 با درجه ۲/۲ در سال اول و ۱/۶ در سال دوم بود (Sajjadi et al., 2006).

نظر به گسترش جغرافیایی، دامنه میزبانی و اهمیت نماتدهای ریشه‌گرهی، مهار آن‌ها مشکل می‌باشد. شناسایی و استفاده از ارقام مقاوم و متحمل مناسب‌ترین روش مهار و مقابله با این نماتد است (Starr et al., 2002). این تحقیق با هدف بررسی واکنش ارقام مختلف توتون هواخشک به نماتد ریشه‌گرهی و شناسایی ارقام مقاوم در شرایط مزرعه انجام شده است.

مواد و روش‌ها

این پژوهش در سال زراعی ۱۳۹۴ در اراضی روستای والش‌آباد از توابع شهرستان گرگان در زمینی به مساحت ۱۲۰۰ متر مربع (با احتساب حاشیه‌ها و راهروها) انجام گردید. والش‌آباد دارای طول جغرافیایی $51^{\circ}32'6''$ و عرض جغرافیایی $19^{\circ}4'37''$ و متوسط ارتفاع از سطح دریا ۱۱۶ متر است. ۴ رقم توتون هواخشک شامل (Burley1, Burley151, BB16A)، به همراه رقم بارلی ۲۱ (به عنوان شاهد حساس) در اسفند ماه سال ۱۳۹۳ در خزانه شناور بذرگذاری شدند. نشاکاری این ارقام در ابتدای خرداد ۱۳۹۴ انجام شد. طرح در قالب طرح بلوک‌های کامل تصادفی و به صورت کرت‌های جفت شده با ۵ تیمار و ۳ تکرار در کرت‌هایی به ابعاد ۵×۸ متر در مزرعه‌ای با شرایط

آلودگی طبیعی در روستای والش آباد گرگان انجام شد. کلیه عملیات زراعی از قبیل آبیاری، مبارزه با علف‌های هرز، مبارزه با آفات، وجین، کوددهی، سرزنی طبق توصیه کارشناسان مرکز تحقیقات و آموزش تیرتاش انجام شد. قبل از نشاکاری از هر کرت نمونه‌برداری خاک انجام شد تا جمعیت اولیه نماتد در خاک محاسبه شود (جدول ۳). در انتهای فصل زراعی (مهر ۱۳۹۴)، بوته‌ها به آرامی از خاک خارج شده (ده بوته از هر کرت) و ریشه‌ها شستشو و از نظر شاخص گال، تعداد توده تخم و تعداد تخم در هر توده ارزیابی شد. ارزیابی بر اساس شاخص گال با مقیاس ۰-۱۰ انجام شد (جدول ۱)، به این ترتیب که به ریشه بدون نماتد نمره صفر و به ریشه با صد در صد آلودگی به گال نماتد، نمره ۱۰ داده شد (Zeck, 1971). برای شمارش توده‌های تخم، ریشه‌ها به قطعات ۳-۴ سانتی‌متری تقسیم شده و پنج گرم از آن انتخاب و در زیر بینوکولر شمارش گردید و با توجه به وزن ریشه تعداد کل توده ریشه محاسبه گردید.

برای محاسبه تعداد تخم‌های نماتد، قطعات ریشه درون ارلن حاوی هیپوکلیت سدیم ۰/۵ درصد ریخته و به مدت ۴-۵ دقیقه به سرعت تکان داده شد. سپس محتوی ارلن را روی الک‌های ۲۰۰ و ۵۰۰ مش ریخته و پس از شستشو با آب، محتویات الک ۵۰۰ مش را به ارلن ۲۵۰ میلی‌لیتری منتقل و حجم سوسپانسیون به ۱۰۰ میلی‌لیتر رسانده شد. تعداد تخم‌ها در یک میلی‌لیتر از سوسپانسیون در ۳ نوبت در زیر میکروسکوپ شمارش و در ۱۰۰ میلی‌لیتر حجم محاسبه گردید. تعیین گونه نماتد با استفاده از الگوی انتهای بدن نماتد ماده (Pattern Perineal) انجام گردید (Vovlas *et al.*, 2004). به این صورت که حداقل ده غده به طور تصادفی انتخاب شد پس از خارج کردن نماتدهای ماده بالغ از گال، درون یک قطره اسید لاکتیک ۴۵٪ روی طلق قرار داده و برش‌های لازم تهیه گردید. سپس قطعه برش داده شده انتهایی بدن به یک قطره گلیسرین انتقال داده شد و در زیر میکروسکوپ مطالعه برای شناسایی در سطح گونه صورت گرفت (Vovlas *et al.*, 2005). برای تعیین نژاد، از روش (Taylor and Sasser, 1978) استفاده شد.

محاسبه فاکتور تولید مثل طبق فرمول $RF = Pf/Pi$ انجام شد (Vovlas *et al.*, 2004) که در آن RF فاکتور تولیدمثل، Pf جمعیت نهایی و Pi جمعیت اولیه است. جمعیت نهایی مجموع جمعیت نماتد در خاک و ریشه است که استخراج نماتدها از خاک با استفاده از روش جنکینز (Jenkins, 1964) و از ریشه از روش کولن (Coolen, 1979) انجام شد. تعداد نماتدها با اسلاید شمارش محاسبه شد. تجزیه و تحلیل آماری با نرم افزار MSTATC انجام شده و مقایسه میانگین‌ها در سطح احتمال ۱٪ با آزمون چند دامنه دانکن صورت گرفت. به منظور یکنواخت کردن صفات مورد ارزیابی مقاومت ارقام توتون، داده‌های بدست آمده با روش درجه‌بندی یا نمره‌دهی به کمک توزیع نرمال به شاخص‌های مقاومت تبدیل شدند. در این روش میانگین \bar{X} و انحراف معیار Sd هر صفت به طور جداگانه محاسبه گردید و سپس به ارقامی که شاخص مقاومت آن‌ها در دامنه $R \leq \bar{X} + Sd$ و $\bar{X} - Sd \leq R \leq \bar{X}$ قرار داشتند، به ترتیب رتبه‌های ۸، ۶، ۴ و ۲ داده شد که رتبه کوچک‌تر بیانگر مقاومت بیش‌تر است. میانگین رتبه‌های به دست آمده برای نمره گال، درجه بیماری و فاکتور تولید مثل به عنوان رتبه کل و شاخص مقاومت کل در نظر گرفته شد. ارقام توتونی که میانگین شاخص‌های مقاومت کل آن‌ها ۲-۳/۵ و ۳/۵-۵، ۵-۶/۵ و ۶/۵-۸ بودند به ترتیب در گروه مقاوم، نیمه مقاوم، نیمه حساس و حساس قرار گرفتند (Zali and Jafari, 1990).

جدول ۱- ارزیابی ریشه گیاه بر اساس شاخص گال (Zeck, 1971)

Table 1. Evaluation of root accordin to gall index Zeck, 1971)

نمره scale	درصد آلودگی ریشه به گال نماتد Percentage of root infection to gall index
0	no galling
1	1-10% of root system galled
2	11-20% of root system galled
3	21-30% of root system galled
4	31-40% of root system galled
5	41-50% of root system galled
6	51-60% of root system galled
7	61-70% of root system galled
8	71-80% of root system galled
9	81-90% of root system galled
10	91-100% of root system galled

نتایج و بحث

بر اساس مشخصات مرفولوژیک شبکه کوتیکولی انتهای بدن ماده‌ها و همچنین عکس‌العمل میزبان‌های افتراقی، نماتد جدا شده از مزرعه توتون آزمایشی در روستای والش‌آباد گرگان، نژاد ۲ از گونه *M. incognita* شناسایی شد. عکس‌العمل میزبان‌های افتراقی در برابر جمعیت‌های مختلف این گونه یکسان بوده و نفوذ و تکثیر تمامی جمعیت‌های آزمایش شده روی پنبه و بادام زمینی منفی بود. در حالی‌که روی سایر میزبان‌ها به راحتی تکثیر یافته و غده تولید نمود که با جدول تست افتراقی (Taylor and Sasser, 1978) مطابقت داشت. جمعیت اولیه نماتد در نتایج تجزیه واریانس صفات مورد بررسی در این طرح نشان داد که بین کلیه تیمارها از نظر همه صفات مورد بررسی در سطح احتمال ۱ یا ۵ درصد اختلاف معنی‌دار وجود داشت. نتایج تجزیه واریانس نشان داد که واکنش ارقام توتون هواخشک به نماتد ریشه‌گرهی از نظر شاخص گال، درصد آلودگی، RF (ضریب تولید مثلی نماتد)، تعداد توده تخم، متوسط تعداد تخم در هر توده در سطح احتمال ۱ درصد معنی‌دار بودند (جدول ۱).

مقایسه میانگین شاخص گال نشان می‌دهد که از نظر شاخص گال رقم بارلی ۲۱ با نمره گال ۸ بیش‌ترین و ارقام بارلی ۱ و بارلی ۱۵۱ با نمره گال ۳ و ارقام بارلی ۷ و BB16A با نمره گال ۲ در گروه دیگری قرار داشتند. مقایسه میانگین تعداد توده تخم نشان می‌دهد که رقم بارلی ۲۱ با ۱۶۱ توده تخم بیش‌ترین و ارقام بارلی ۷ و BB16A به ترتیب با ۲۵ و ۱۸ عدد کم‌ترین توده تخم را داشتند. با مقایسه میانگین از نظر تعداد تخم در هر توده، رقم بارلی ۲۱ با ۵۰۵ عدد تخم در هر توده بیش‌ترین و رقم بارلی ۷ با ۴۵۵ عدد تخم در هر توده کم‌ترین مقدار را داشت. مقایسه میانگین ضریب تولید مثل نشان می‌دهد که رقم بارلی ۲۱ با ۹۷ بیش‌ترین و ارقام BB16A و بارلی ۷ به ترتیب با ۳۰ و ۲۴ کم‌ترین مقدار را داشتند. بر اساس نتایج بدست آمده در ارزیابی این مطالعه رقم بارلی ۲۱ با شاخص مقاومت ۸، رقم حساس و ارقام بارلی ۱ و بارلی ۱۵۱ با شاخص مقاومت ۴/۵ و ارقام BB16A و بارلی ۷ با شاخص مقاومت ۴ به عنوان رقم نیمه مقاوم معرفی می‌گردند (جدول ۲). نتایج این تحقیق با نتایج سایر محققان مطابقت داشت (Hosseini et al., 2012). در تحقیقی رقم بارلی ۲۱ با نمره گال ۸ و ضریب تولید مثل ۴۶/۳ و شاخص مقاومت ۸ در سطح گلخانه به عنوان رقم حساس و ارقام بارلی ۱، بارلی ۱۵۱، بارلی ۷، BB16 A با نمره گال ۲ و شاخص مقاومت ۴ ارقام نیمه مقاوم معرفی شدند (Sajjadi and Assemi, 2015).

نماتدهای پارازیت گیاهی یکی از عوامل محدود کننده کشت توتون می‌باشند که سالانه سبب میلیون‌ها ریال خسارت می‌گردند. نماتدهای ریشه‌گرهی، پارازیت‌های داخلی ساکن و پارازیت‌های اجباری بسیاری از گونه‌های گیاهی‌اند که به

غیر از مرحله تخم و بخشی از لارو سن دو تمام چرخه زندگی شان را درون ریشه های گیاهان عالی به سر می برند و مواد غذایی را از طریق مکان های تغذیه خاص دریافت می کنند. اکثر نماتدهای انگل گیاهی حداقل قسمتی از چرخه زندگی خود را در خاک بسر می برند بنابراین می توان با ترکیبات شیمیایی خاک را ضد عفونی کرد ولی این ترکیبات به طور معمول بسیار سمی بوده و موجب آلودگی محیط می گردند. به عنوان مثال نماتد کش هایی مانند آلدیکارب، اتوپروپ برای پستانداران، پرندگان و ماهی ها سمیت بالایی دارند و به دلیل نگرانی از احتمال آلودگی آب زیرزمینی مصرف این گونه نماتد کش ها محدود و یا ممنوع شده است (Ahmadi and Mortazavi Bac, 2005). کاشت ارقام مقاوم به نماتدها روش بسیار مناسب در حفظ تراکم جمعیت نماتدها زیر آستانه خسارت اقتصادی است. یکی از روش های موثر کنترل نماتد ریشه گری کاربرد ارقام مقاوم است که نفوذ نماتد را کاهش داده و یا از تولید مثل آن ممانعت به عمل می آورد. البته در این مقوله شرایط محیطی تاثیر زیادی بر مقاومت گیاه دارد. دما یکی از مهم ترین عوامل محیطی پاسخ گیاه نسبت به نماتدهای ریشه گری است. دما بر بقا، پراکنش، تفریح تخم، مهاجرت و نفوذ نماتد در خاک و ریشه، مراحل تکاملی و بیان علائم در گیاه تأثیر دارد (Ahmadi and Mortazavi Bac, 2005). افزایش دما برای گونه های گرمادوست مانند *M. javanica* مناسب بود. طوری که برای رشد و تولید مثل این گونه درجه حرارت ۳۰-۲۵ درجه سانتی گراد مورد نیاز است. تنش حرارتی ایجاد شده، گیاهان را به حمله توسط نماتدها حساس تر ساخت (Canto-Saenz, 1985) و در دمای بالا، ترکیبات شیمیایی مسئول ایجاد نکروز سلولی مانند ترکیبات فنلی یا تولید نمی شوند و یا ممکن است به محض تولید، خنثی و بی اثر شوند. احمدی و مرتضوی بک واکنش تعدادی از ارقام گوجه فرنگی به نماتد مولد گره ریشه (*M. javanica*) در گلخانه و مزرعه را بررسی نمودند و نتایج نشان داد که عکس العمل برخی از ارقام به نماتد در گلخانه و مزرعه متفاوت بوده و این اختلاف ناشی از تفاوت شرایط دمایی، شکسته شدن مقاومت توسط جمعیت های طبیعی و تراکم جمعیت نماتد است (Ahmadi and Mortazavi Bac, 2005).

گیاهان استراتژی های متعددی برای دفاع از خود دارند که به احتمال قوی ترکیبات فنلی رایج ترین ترکیبات و وسیع ترین گروه بررسی شده در دفاع گیاه می باشند. ترکیبات فنلی شامل لیگنین، اسیدهای فنلی، فلاونوئیدها می باشند که با ساختن موانع غیر قابل نفوذ مهمی که از انتشار بیماریگر و اثرات آنزیمی آن ممانعت می نماید نقش مهمی در مقاومت دفاعی دارند (Ruiz and Rivero, 2003). در تحقیقی با بررسی برخی مکانیزم های دفاع بیوشیمیایی چند رقم توتون نسبت به نماتد ریشه گری (*Meloidogyne incognita*) مشخص گردید که در ارقام مقاوم پس از مایه زنی افزایش میزان فنل کل با سرعت بالاتر و به میزان بیشتری انجام شده است اما در رقم حساس افزایش میزان فنل کل با تاخیر نسبت به ارقام مقاوم و به میزان کمتری مشاهده گردید. حتی در رقم حساس باسما ۲-۱۷۸ میزان فنل کل پس از مایه زنی نه تنها افزایش نداشت بلکه حتی در چهار روز اول کاهش نیز نشان داد (Hosseini et al., 2007).

نتیجه گیری

در این مطالعه مشخص گردید که ارقام Burley 151، Burley 1، Burley 7 و BB16 A به نماتد ریشه گری نیمه مقاوم بود. و تیمار شاهد (Burley 21) حساسیت بالایی نسبت به نماتد ریشه گری داشت. لذا پیشنهاد می گردد خصوصیات کمی و کیفی ارقام Burley 151، Burley 1، Burley 7 و BB16 A مطالعه و در صورت برتری نسبت به بارلی ۲۱ به توتون کاران توصیه نمود.

جدول ۲- تجزیه واریانس شاخص گال، ضریب تولیدمثل، تعداد توده تخم و تعداد تخم در هر توده در ارقام توتون هواخشک در مزرعه با آلودگی طبیعی

Table 2. Analysis of variance of Gall index, reproduction factor, number of egg mass and number of egg in each egg mass in air-dried tobacco varieties in field with natural infection

S.O.V	منابع تغییرات	درجه آزادی df.	میانگین مربعات Mean squaresg			
			گال Gall index	ضریب تولید مثل reproduction factor	توده تخم number of egg mass	تعداد تخم در هر توده number of egg in each egg mass
Replication (Block)	تکرار (بلوک)	2	0.02	0.94	24.06	35.46
Treatment error	تیمار خطا	4	26.91**	3829.4**	14125.7**	2058.4**
Coefficient of variation (%)	درصد ضریب تغییرات	8	0.35	5.9	39.8	20.8
			14.2	5.1	8.3	2.9

** : معنی‌دار در سطح احتمال ۱٪

. **: Significant of 1% level of probability

جدول ۳- مقایسه میانگین شاخص گال، ضریب تولیدمثل، تعداد توده تخم و تعداد تخم در هر توده در ارقام توتون هواخشک در مزرعه با آلودگی طبیعی

Table 3. Mean comparison of Gall index, reproduction factor, number of egg mass and number of egg in each egg mass in air-dried tobacco varieties in field with natural infection

ارقام varieties	شاخص گال Gall index	ضریب تولید مثل reproduction factor	تعداد توده تخم number of egg mass	تعداد تخم در هر توده number of egg in each egg mass	جمعیت اولیه نماتد در ۵۰۰ گرم خاک initial population of nematodes in 500 g of soil	شاخص مقاومت Resistance index	واکنش رقم Reaction of cultivar
Burley 21	8a	97a	161a	505a	1000	8	sensitivity
Burley 1	3b	65b	51b	470b	500	4.5	resistant
Burley 151	3b	56b	48b	465b	500	4.5	moderately resistant
BB16A	2b	30c	25c	460bc	500	4	resistant
Burley 7	2b	24c	18c	455c	500	4	moderately resistant

میانگین‌هایی که دارای حروف مشابه هستند در سطح احتمال ۱ درصد اختلاف معنی‌دار ندارند.

Means followed by same letter in each column are not significantly different at 1% of probability level according to DMRT.

References

- Ahmadi, R. and Mortazavi Bac, A. 2005.** Reaction of some tomato cultivars to root – knot nematode (*Meloidogyne javanica*). Iranian Journal of Plant Pathology 41 (3): 403-414.(In Persian with English Abstract).
- Anonymous 2012.** Statistical repertoire of Iranian Tobacco Company. 52pp (In Persian).
- Canto-Saenz, M. 1985.** The nature of resistance to *Meloidogyne incognita* (Kofoid & White, 1919) Chitwood, 1949 Pp. 225-231. In: Sasser, J. Nand Carter, C. C. (eds.) An advanced treatise on *Meloidogyne* Vol. 1 Biology and Control. North Carolina State University Graphics. Raleigh, North Carolina..
- Hosseini, A., Khatheri, H., Moarefzadeh, N., Salavati. M. R., Godarzian, N. and Sahebani, N. 2007.** Evaluation of some biochemical defense mechanism several cultivars to root-knot nematode. Annual Report Tirtash Research and Education Center 179-192.

- Hosseini, A., Moarefzadeh, N. and Salavati, M. R. 2011.** Studying the reaction of air-dried tobacco varieties to root knot nematode. Annual Report Tirtash Research and Education Center 149-170.
- Lucas, G. B. 1975.** Disease of Tobacco, 3rd, edition, Biological consulting Associates, Releigh, north Carolina. 621pp.
- Jenkins, W.R. 1964.** A rapid centrifugal-flotation technique for separating nematodes from soil. Plant Disease Report 48:692
- Ruiz, J. M. and Rivero, R. M. 2003.** Role of Ca^{2+} in the metabolism of phenolic compounds in tobacco leaves (*nicotiana tabacum* L.). Plant growth Regulation 41: 173-177.
- Sajjadi, S. A., Khateri, H., Hoseini, S. A., Moarefzadeh, N., Najafi, M. R., Assemi, H. and Rahbari, A. 2006.** Studying the reaction of tobacco cultivars to Root-Knot Nematode in Golestan province. Proceedings of the 17th Iranian plant protection congress. 509 pp. (In Persian with English Abstract)
- Sajjadi, A., Hosseininejad, A. and Assemi, H. 2014.** Identification and physiological races of root-knot nematode species (*Meloidogyne* spp.) in the tobacco fields in Golestan province, Iran. Applied Plant Protection 1(3): 233-248.
- Sajjadi, A. and Assemi, H. 2015.** The reaction of some of tobacco varieties to Fusarium wilt (*Fusarium oxysporum* f.sp. *nicotianae*), root knot nematode (*Meloidogyne incognita*) and their interaction. Research in Plant Pathology 3 (2): 69-86
- Starr, J. L., Bridge, J. and Cook, R. 2002.** Resistance to plant-parasitic nematodes: History, current use and future potential. Pp: 1-22. In: Starr, J. L. Bridge, J. Cook, R. (eds.) Plant resistance to parasitic nematodes. CABI Publishing, Walling ford, UK.
- Taylor, A. L. and Sasser, J. N. 1978.** Biology, identification and control of root knot nematode (*Meloidogyne* spp.) North Carolina State University Graphics. 111pp.
- Vovlas, N., Simoes, N. J. O. and Sasanellia, N. 2004.** Host-Parasite relationships in tobacco plants infected with a Root-Knot Nematode (*Meloidogyne incognita*) Population from the Azores. Phytoparasitica 32 (2): 167-173.
- Vovlas, N., Mifsud, D., Landa, B. B. and Castillo, P. 2005.** Pathogenicity of the root-knot nematode *Meloidogyne javanica* on potato. Plant Pathology 54. 657-664.
- Zali, M. R. and Jafari, J. 1990.** Introduction to Probability and Statistics. Tehran University Publication, 474. (in persian)
- Zeck, W. M. 1971.** A rating scheme for field evaluation of root knot nematode infestations. Pflanzenschutz- Nachrichten. Bayer AG 24: 141-144.