

آفات و بیماریهای گیاهی

جلد ۶۵، شماره ۱، شهریور ۱۳۷۶

شناسائی گونه ها و نژادهای نماتد مولد غده (*Meloidogyne* spp.) روی کیوی و تاثیر *M. incognita* روی نهالهای کیوی

Identification of species and races of root knot nematodes (*Meloidogyne* spp.) on
kiwifruit and the effect of *M. incognita* (Kofoid & white)

Chitwood 1949 on kiwifruit seedlings

زهرا تنهامعانی و سیداسمعیل مهدویان

موسسه تحقیقات آفات و بیماریهای گیاهی و مرکز تحقیقات کشاورزی مازندران

چکیده

از بین نمونه های ریشه کیوی آلوده به نماتد مولد غده که از مناطق مختلف استانهای گیلان و مازندران جمع آوری شده بود، تعدادی از نمونه های متعلق به شهرستانهای ساری، بابلسر، نور، نوشهر، چالوس، سلمان شهر و رودسر که تفاوتهایی را از نظر مشخصات مرفولوژی ماده ها و لاروها نشان می دادند، بصورت توده تخم های منفرد (single egg mass) تکثیر و به میزبانهای افتراقی منتقل شدند. براساس مشخصات مرفولوژی و مرفومتری لارو، ماده بالغ و نر و عکس العمل میزبانهای افتراقی چهار گونه نماتد مولد غده شامل نژاد شماره دو *M. hapla*، *Meloidogyne incognita*، نژاد شماره دو *M. arenaria* و *M. javanica* از نمونه های آلوده تشخیص داده شد.

بیشترین فراوانی برترتیب متعلق به نژاد شماره دو *M. incognita* مربوط به مناطق ساری، بابلسر، نور، چالوس، تنکابن، رودسر و بندرانزلی بود. گونه *M. hapla* اکثراً همراه با گونه *M. incognita* در نمونه های آلوده مشاهده گردید و در یک مورد نیز سه گونه *M. hapla*، *M. incognita* و *M. javanica* تواما در یک نمونه مشاهده شد. جهت تعیین میزان خسارت این نماتد روی کیوی، جمعیت های ۰، ۱۰^۱، ۱۰^۲، ۱۰^۳، ۱۰^۴، ۱۰^۵ نژاد شماره دو *M. incognita* در سه تکرار روی نهال های شش ماهه کیوی رقم هایوارد بمدت چهار ماه ونیم بررسی شد. تیمارهای ۱۰^۳، ۱۰^۲ و ۱۰^۵ در تعداد گال و تعداد تخم در ریشه همچنین دو تیمار اول در تعداد لارو در خاک تفاوت معنی داری با شاهد داشتند. در این بررسی گیاه کیوی به عنوان میزبان جدید این گونه ها معرفی میشود.

کیوی گیاهی است از خانواده Actinidiaceae و از جنس *Actinidia* که کشت آن در اکثر کشورهای تولید کننده این محصول در دو دهه اخیر رونق فراوانی یافته و قسمت مهمی از محصولات صادراتی کشورهای نیوزیلند، ایتالیا و اسپانیا را بصورت میوه و نهال بخصوص در نیوزیلند تشکیل میدهد. گزارشات متعددی مبنی بر آلودگی این گیاه به گونه‌های جنس *Meloidogyne* در کشورهای تولید کننده این محصول در دست است.

در نیوزیلند آلودگی ریشه های کیوی به *M. hapla* گزارش شده و جهت تهیه نهال عاری از آلودگی بخصوص جهت صادرات آزمایشگاهی با استفاده از نماتدکش‌ها صورت گرفته است (Dale and Mespel, 1972; Grandison, 1983) در بررسی هائیکه در ایتالیا صورت گرفته، گونه *M. hapla* بعنوان یکی از علل زوال کیوی گزارش شده است (Vovias and Roca, 1976; Thalame, 1976) لوردلو (Lordello, 1974) گونه *M. arenaria* را روی کیوی از برزیل و اسکوتولاماسه (Scotto La Massese, 1973) گونه *M. hapla* را روی این گیاه از فرانسه گزارش نموده است. مانسینی و همکاران (Mancini et al., 1978) هیستوپاتولوژی دو گونه *M. hapla* و *M. arenaria* را روی کیوی بررسی نموده اند و نتیجه، مشابه بیماریزایی این نماتد روی سایر میزبانان بوده است.

در ایران نیز در سالهای اخیر کشت ارقام مختلف کیوی رونق گرفته و میزان سطح زیر کشت این محصول در شمال خاصه استان مازندران روز به روز در حال افزایش است. در سال ۱۳۵۸ به نمونه هایی از آلودگی این گیاه به نماتد مولد غده ریشه (*Meloidogyne* spp.) برخورد گردید. گونه‌های *Meloidogyne javanica*، *M. incognita*، *M. arenaria* و *M. hapla* مهمترین گونه‌های نماتدهای غده ریشه هستند که بعلت کثرت دامنه میزبانی و پراکندگی وسیع و اثرات متقابل با قارچها و باکتریهای گیاهی دارای اهمیت اقتصادی میباشند (Sasser, 1979). امیدوار (۱۹۶۸) گسترش سه گونه *M. incognita*، *M. arenaria* و *M. hapla* را روی گیاهان زراعی در اکثر نقاط ایران مسلم میداند. امیدوار و موسوی (۱۹۷۳) چهار گونه *M. incognita*، *M. arenaria*، *M. hapla* و *M. javanica* را به ترتیب از جمله نماتدهای شناخته شده و مضر توتون در ناحیه گیلان ذکر میکنند. خیری (۱۹۷۳) گونه *M. javanica* را روی چای از لاهیجان و گونه های *M. arenaria* و *M. incognita* را روی توتون، کلم، کدو تنبل از احمدگواراب رشت و چای از لاهیجان گزارش نموده است. اخیانی و همکاران (۱۹۸۴) در بررسی نژادهای فیزیولوژیک نماتد مولد غده در ایران، نژاد شماره دو *M. incognita* را روی توتون، فلفل سبز و گوجه‌فرنگی از احمدگواراب رشت و لاهیجان و نژاد شماره دو *M. arenaria* را روی خیار از حسن رود گیلان گزارش نموده‌اند. اخیانی در بررسی یک نمونه خاک و ریشه کیوی آلوده، گونه *M. arenaria* را تشخیص و نژادهای یک و دو این گونه را بترتیب مغلوب و غالب در نمونه ارسالی قید کرده که نژاد شماره یک برای

اولین بار از ایران گزارش شده است (مکاتبه با موسسه تحقیقات آفات و بیماریهای گیاهی ۱۳۷۱). در این تحقیق گونه ها و نژادهای نماتد مولد غده روی کیوی شناسائی شده و بیماری زائی نژاد شماره دو *M. incognita* روی نهال های کیوی بررسی گردیده است.

روش بررسی

۱- نمونه برداری: مجموعاً ۵۰ نمونه خاک و ریشه از بیست منطقه کیوی کاری استان های مازندران و گیلان شامل ساری، بابلسر، نور، نوشهر، چالوس، سلمان شهر، نشتارود، تنکابن، چابکسر، رامسر، رودسر، لاهیجان و بندر انزلی جمع آوری و به آزمایشگاه منتقل گردید. جهت تعیین میزان آلودگی در باغ های آلوده، چهار باغ کیوی در مناطق یال بندان، سلمان شهر و رامسر انتخاب و بطور تصادفی از تعداد ۵ تا ۱۴ درخت هر باغ نمونه برداری خاک و ریشه در ماه های خرداد تا شهریور بعمل آمد.

۲- بررسی نمونه ها: در آزمایشگاه مقدار ۲۵۰ سانتیمتر مکعب از خاک هر نمونه به روش جنکینز (Jenkins, 1964) بررسی و سپس جمعیت لارو سن دوم نماتد مولد غده در سوسپانسیون استحصالی شمارش گردید.

ریشه ها نیز از نظر آلودگی مورد بررسی قرار گرفت، در صورت وجود غده روی آنها، تعدادی از آنها (حداقل ده غده) بطور تصادفی انتخاب شده و در زیر استریومیکروسکوپ ماده های کامل خارج و جهت تهیه برش در داخل اسید لاکتیک ۴۵ درصد و توده های تخم هر یک از ماده ها نیز بطور جداگانه در داخل آب مقطر قرار داده شدند. با تهیه برش از شبکه کوتیکولی انتهای بدن ماده ها و بررسی میکروسکپی آنها، در صورت مشاهده تفاوتی در این شبکه، توده تخم متعلق به برش های متفاوت، که در شرایط آزمایشگاه قرار داده شده بود، بعد از تفریح جهت تکثیر به نشاء گوجه فرنگی (رقم Rutgers) سه تا چهار هفته ای منتقل میگردد. بعد از دو ماه بوته های گوجه فرنگی از خاک خارج و ریشه ها خرد شده، مجدداً به نشاء های جوان گوجه فرنگی منتقل میشود.

جهت تعیین میزان آلودگی ریشه های کیوی، مقدار سه گرم از ریشه های هر نمونه توزین و به طول ۱ تا ۲ سانتیمتر خرد شده و در وایتکس تجارتي ۱۰ درصد به مدت ۴ دقیقه به شدت تکان داده شد تا ماده ژلاتینی اطراف تخم ها حل شده و تخم ها آزاد شوند. سپس سوسپانسیون حاصله را به ترتیب از الک های ۲۵۰، ۷۵ و ۲۰ میکرون عبور داده، محتویات روی الک ۲۰ میکرون را کاملاً با آب شسته و سوسپانسیون حاصله با استفاده از اسلاید شمارش، تعیین جمعیت شد.

۳- مشخصات مرفومتریک: از جمعیت حاصل از تکثیر توده تخم های منفرد هر نمونه تعدادی لارو، نماتد ماده ونر از ریشه ها جدا و در فیکساتیو TAF (۲cm³ تری اتانول امین، ۳cm³ فرمالین و ۹۱ cm³ آب مقطر) فیکس شده و اسلایدهائی از آنها تهیه گردید. با استفاده از میکروسکپ مجهز به لوله ترسیم مشخصاتی از قبیل طول استایلت و محل ریزش غده پشتی

مری در ماده‌ها، طول استایلت، محل ریزش غده پشتی مری و تعداد خطوط جانبی در نرها، طول دم و هیالینه (ناحیه شفاف انتهای دم) در لاروها اندازه‌گیری شد.

۴- مشخصات مرفولوژیک: شکل استایلت و شکل و مشخصات شبکه کوتیکولی انتهای بدن ماده‌ها، شکل استایلت و شکل سر در نرها و شکل دم در لاروها نیز از جمله مشخصات مرفولوژیک بود که جهت تعیین گونه مدنظر قرار گرفت.

۵- آزمایش میزبانان افتراقی: گوجه فرنگی رقم Rutgers، هندوانه Charleston Gray، توتون NC95، فلفل Early Clifornia Wonder، پنبه Deltapine 61 و بادام زمینی رقم گلی آستانه که مشابهت عکس‌العمل آن با رقم Flourrunner بررسی شده بود، در داخل گلدانهائی به قطر ۱۰ سانتیمتر حاوی خاک استریل کاشته شد. در مرحله دو تا چهار برگی هر یک از واحدهای آزمایشی با میزان جمعیت ۵۰۰۰ تخم و لاروسن دوم تلقیح شدند و در اتاق حرارت ثابت با حرارت ۲۵ تا ۲۷ درجه سانتیگراد و ۱۶ ساعت روشنائی ۸ ساعت تاریکی نگهداری شدند. بعد از گذشت دو ماه بوته‌ها از خاک خارج و تعداد گال و توده تخم‌های هر یک از تکرارها جداگانه شمارش گردید و براساس درجه بندی (Gall index) تایلر و ساسر (Taylor & Sasser, 1978) ارزیابی شد. این درجه بندی به صورت ذیل انجام گرفت:

عدد صفر: بدون گال یا توده تخم، عدد ۱: ۱ تا ۲ گال یا توده تخم، عدد ۲: ۳ تا ۱۰، عدد ۳: ۱۱ تا ۳۰، عدد ۴: ۳۱ تا ۱۰۰، عدد ۵: بیشتر از صد گال یا توده تخم.

۶- تهیه اینوکولم جهت میزبانان افتراقی: بوته‌های گوجه فرنگی رقم روتگرز که جهت تکثیر جمعیت نماتد در گلخانه کشت شده بود، از خاک خارج، اندامهای هوائی آنها قطع گردیده و سپس ریشه‌ها بملایمت زیر شیر آب شسته شد. جهت جداکردن تخم‌ها، ریشه‌ها به طول ۱ تا ۲ سانتیمتر خرد شده و در وایتکس تجارتي ده درصد بمدت چهار دقیقه بشدت تکان داده شد تا ماده ژلاتینی اطراف تخم‌ها حل شده و تخم‌ها آزاد شوند، سپس سوسپانسیون حاصله را بترتیب از الک های ۲۵۰، ۷۵ و ۲۰ میکرون عبود داده، محتویات روی الک ۲۰ میکرون کاملاً با آب شسته، به داخل بشر ریخته شد و سوسپانسیون حاصله به ازای هر سانتیمتر مکعب ۵۰۰ تخم رقیق گردید.

۷- آزمایش بررسی تاثیر گونه *M. incognita* روی نهال‌های کیوی: قلمه‌های کیوی که در ماسه استریل و در شرایط گلخانه ریشه دار شده بود، به گلدانهائی بقطر ۱۵ سانتیمتر به حجم ۱۵۰۰ cm³ خاک استریل منتقل گردید. آزمایش با این نهال‌ها در شش تیمار و سه تکرار در قالب طرح کاملاً تصادفی با تیمارهای صفر، ۱۰، ۱۰۰، ۱۰۰۰، ۱۰۰۰۰ تخم و لاروسن دوم *M. incognita* R.2 (جمعیت غالب منطقه) انجام و گلدانها به مدت چهار ماه ونیم در شرایط گلخانه نگهداری شد. بعد از این مدت ریشه‌ها از خاک خارج، پس از توزین، تعداد گال‌ها، تعداد تخم و لاروسن دوم (به روش بند ۶) در وزن معینی از ریشه شمارش گردید. همچنین مقدار ۲۵۰ سانتیمتر مکعبت خاک هر واحد آزمایشی به روش جنکینز (Jenkins, 1964) بررسی و میزان