دوفصلنامه تحقیقات بیماری‌های گیاهی
سال چهارم، شماره اول، بهار و تابستان 1395
صص 30-15

وقوع نماتد ریشه گرهی (*Meloidogyne* spp.) در مزارع بارلی‌کاری توتون در استان مازندران

سید افشین سجادی*[1]، هدی عاصمی[2]

تاریخ دریافت: 93/8/25 تاریخ پذیرش: 93/12/20

چکیده

به منظور بررسی و شناسایی گونه‌ها و نژادهای نماتد ریشه گرهی مزارع بارلی‌کاری توتون در استان مازندران، طی فصل زراعی 1393 در چندین مرحله، 102 نمونه خاک و ریشه از مزارع بارلی‌کاری توتون در استان مازندران، جمع‌آوری گردید. نماتدهای موجود در خاک با روش جنکینز و نماتدهای ریشه با استفاده از روش کولن و دهرد استخراج و شمارش شدند. با استفاده از الگوی انتهای بدن نماتد ماده بالغ و عکس‌العمل میزبان‌های افتراقی (پنبه رقم دلتاپاین شانزده، توتون رقم ان سی نود و پنج، هندوانه رقم چارلستون گری، فلفل رقم ارلی کالیفرنیا، گوجه‌فرنگی رقم روتگرس و بادام‌زمینی رقم فلورونر)، شناسایی گونه‌های جنس *Meloidogyne* انجام شد و در نتیجه 59/52 درصد نمونه‌ها آلوده به گونه *M. incognita* Race 2، 40/47 درصد نمونه‌ها آلوده به گونه *M. javanica*، 14/28 درصد حاوی *M. arenaria* Race 2 و 7/14 درصد حاوی *M. hapla* بودند. 21/42 درصد از نمونه‌ها به صورت مخلوط، آلوده به گونه *M. incognita* با یکی از گونه‌های *M. javanica*، *M. arenaria* و *M. hapla* بودند. این گونه‌ها در مزارع بارلی‌کاری توتون اسبوکلا، ولاشد و خارکش مشاهده شدند.

واژه های کلیدی: استان مازندران، پراکنش، توتون، گونه¬ها، نماتد ریشه‌گرهی.

[1]- مربی پژوهش، بخش گیاهپزشکی، مرکز تحقیقات و آموزش تیرتاش، بهشهر، ایران.
[2]- استادیار پژوهش، بخش گیاهپزشکی، مرکز تحقیقات و آموزش تیرتاش، بهشهر، ایران.
*- نویسنده مسئول مقاله: sajjadi_a@yahoo.com

مقدمه

نماتدهای ریشه‌گرهی مهم‌ترین نماتدهای انگل گیاه توتون در جهان و ایران می‌باشند. جنس، *Meloidogyne* Goeldi اهمیت اقتصادی بالایی دارند به عنوان مثال، گونه‌هایی چون *M. javanica* (Treub) Chitwood و *M. incognita* (Kofod & White) Chitwood تقریبا هر نوع گیاهی را در هر منطقه‌ای به خصوص مناطق گرم و نیمه‌گرم مورد حمله قرار داده و به آن خسارت وارد می‌سازند. برای شناسایی و تفکیک گونه‌های این جنس، امروزه از خصوصیات ریخت شناسی، سیتولوژیکی، اکولوژیکی، مولکولی و بیماری‌زایی روی میزبان‌های افتراقی استفاده می‌شود (Mehdikhani Moghadam *et al*., 2007). *امیدوار و همکاران* در سال 1353 نماتد عامل غده ریشه توتون در رشت را گونه‌های *M. incognita*، *M. javanica*، *M. arenaria* (Neal) Chitwood و *M. hapla* Chitwood معرفی کردند (Tanha Maafi and Mahdavian, 1997). همچنین گونه *M. javanica* از روی چای از لاهیجان و گونه‌های *M. incognita* و *M. arenaria* از روی توتون، کلم و کدو از منطقه احمد گوراب رشت گزارش شده است (Kheiri, 1972). نژاد دو گونه *M. incognita* نیز از میزبان توتون، فلفل و گوجه فرنگی از منطقه احمد گوراب رشت و لاهیجان و نژاد دو *M. arenarai* از خیار از حسن رود گیلان گزارش شده است (Akhiani *et al*., 1984). در سال 2000 با بررسی گونه و نژاد نماتد مولد غده ریشه توتون در رشت، نژاد دو گونه *M. incognita* به عنوان گونه و نژاد غالب در منطقه معرفی گردید (Mahdavian *et al*., 2000). *تنهامعافی و مهدویان* (1997) چهار گونه مختلف نماتد مولد غده خسارت‌زای کیوی شامل نژاد دو گونه‌های *M. incognita* و *M. arenaria* و گونه‌های *M. hapla* و *M. javanica* را شناسایی نمودند که گونه *M. incognita*، بیشترین فراوانی را داشت. آستانه خسارت نماتد برای ارقام توتون کا326، بارلی 21 و کوکر347 جمعیت 3 نماتد در هر گرم خاک تعیین شد یعنی اگر 3 نماتد در هر گرم خاک وجود داشته باشد به ارقام ذکر شده خسارت اقتصادی وارد می‌شود (Sajjadi *et al*., 2012). در تحقیق انجام شده توسط *سجادی و همکاران* از 244 نمونه خاک و ریشه نمونه برداری شده از مزارع توتون در مناطق گرگان و علی آباد و برخی از مناطق مینودشت، 4 گونه شامل نژاد دو گونه‌های *M. incognita* و *M. arenaria* همچنین گونه‌های *M. javanica* و *M. hapla* شناسایی شدند که گونه *M. incognita* بیشترین فراوانی (81/93 درصد) را در بین گونه‌های شناسایی شده داشت (Sajjadi *et al*., 2014).

ریچ و کاین لخ (Rich and Kinloch, 2001) نماتدهای *M. incognita* ، *M. javanica* و *M. arenaria* را مهم‌ترین نماتدهای مولد غده ریشه توتون در مزارع توتون در فلوریدا امریکا معرفی نمودند. *شفرد* بیان داشت که پراکندگی نماتد مولد غده ریشه توتون با نوع اقلیم رابطه دارد (Shepherd, 1999). گونه *M. hapla* در آب و هوای خنک‌تر (15 – 0 درجه سانتی‌گراد)، *M. incognita* در نواحی گرمسیری و نیمه گرمسیری مرطوب که با *M. arenaria* همپوشانی دارد و *M. javanica* در شرایط گرم غالب است. وقتی ذرت یا پنبه در تناوب با توتون کشت می‌شود، *M. incognita* به سمت غالب شدن پیش می‌رود در حالی‌که با کشت سویا و بادام زمینی، جمعیت *M. arenaria* بیشتر می‌گردد. *واولاس و همکاران* بر روی میزان جمعیت نماتد مولد غده ریشه توتون در مجع الجزائر آزور (Azores) واقع در اقیانوس اطلس-غرب پرتغال بررسی‌های به عمل آوردند و نژاد یک گونه *M. incognita* در

مزارع توتون را به عنوان گونه و نژاد غالب معرفی کردند که موجب کوتولگی و کاهش محصول می‌شود (Vovalas *et al*., 2004).

هدف از این تحقیق شناسایی مناطق آلوده به نماتد ریشه گرهی توتون مزارع بارلی‌کاری توتون در استان مازندران و تعیین گونه و نژاد غالب و بررسی میزان جمعیت نماتد می‌باشد.

مواد و روش‌ها

نمونه¬برداری

طی چندین مرحله نمونه‌برداری، تعداد 102 نمونه خاک و ریشه (به صورت تک نمونه) از مناطق مختلف بارلی‌کاری توتون از استان مازندران طی فصل زراعی 1393 جمع‌آوری شد. در فرم نمونه‌برداری موارد مختلفی مانند نمره گال (بر اساس مقیاس 10-0 به این ترتیب که ریشه بدون گال نمره صفر و به ریشه با صد درصد آلوده به گال نماتد، نمره 10 داده شد) (Zeck, 1971)، تعداد و اندازه لکه آلودگی، نوع تناوب، رقم توتون، علف‌های هرز و سایر موارد ثبت گردید. درصد آلودگی مناطق مختلف از رابطه زیر محاسبه گردید (Nasr Esfahani, 2009).

$$\text{درصد آلودگی} = \frac{\text{تعداد مزارع آلوده به نماتد ریشه گرهی}}{\text{تعداد کل مزارع نمونه برداری شده}} \times 100$$

بررسی نمونه¬ها

در آزمایشگاه گیاه‌پزشکی مرکز تحقیقات و آموزش تیرتاش، استخراج نماتدها از خاک با استفاده از روش جنکینز انجام شد (Jenkins, 1964). جهت تهیه اسلاید از روش دگریسه و سین هورست (De Griss, 1969; Seinhorst, 1959) استفاده شد.

جهت تعیین میزان آلودگی ریشه‌ها، مقدار 3 گرم از ریشه‌های هر نمونه توزین و به طول 1 تا 2 سانتیمتر خرد شده و در وایتکس تجاری 10 درصد به مدت 4 دقیقه به شدت تکان داده شد تا ماده ژلاتینی اطراف تخم‌ها حل شده و تخم‌ها آزاد شوند. سپس سوسپانسیون حاصله به ترتیب از الک‌های 250، 75 و 20 میکرون عبور داده، محتویات روی الک 20 میکرون کاملا با آب شسته شده و سوسپانسیون حاصله با استفاده از اسلاید شمارش، تعیین جمعیت گردید (Karssen, 2002).

تهیه مایه تلقیح

در گلخانه با دمای 22 تا 26 درجه سانتی‌گراد ،توده‌های تخم هر یک از ماده‌ها بطور جداگانه در داخل آب مقطر قرار داده شد و با تهیه سوسپانسیون، همزمان با نشاکاری به هر بوته توتون بارلی 21 در خاک سترون رس،

پرلیت و کود حیوانی به نسبت 1:1:1 جهت تکثیر مایه زنی شد. بعد از گذشت دو ماه بوته‌های توتون بارلی21 که جهت تکثیر جمعیت نماتد در گلخانه کشت شده بود، از خاک خارج، اندام‌های هوایی آن قطع و سپس ریشه‌ها به ملایمت با آب شسته شد. ریشه‌ها به طول 1 تا 2 سانتیمتر خرد شده و با وایتکس تجاری ده درصد به مدت 3/5 الی 4 دقیقه به شدت تکان داده تا ماده ژلاتینی اطراف تخم‌ها حل شده و تخم‌ها آزاد شوند، سوسپانسیون حاصله از الک‌های 250، 75 و 20 میکرون عبور داده، محتویات روی الک 20 میکرون را کاملا با آب شسته و سوسپانسیون حاصله با استفاده از اسلاید شمارش، تعیین جمعیت گردید.

مشخصات ریخت سنجی و ریخت شناسی

از جمعیت حاصل از تکثیر توده تخم‌های منفرد هر نمونه تعدادی لارو، نماتد ماده و نر از ریشه‌ها و خاک جدا و اسلایدهایی از آن‌ها تهیه گردید. با اندازه‌گیری مشخصاتی از قبیل طول استایلت و محل ریزش غده پشتی مری در نماتد ماده، طول استایلت، محل ریزش غده پشتی مری و تعداد خطوط جانبی در نماتد نر، طول دم و ناحیه شفاف انتهای دم در لاروهای سن دوم مشخصات ریخت سنجی ثبت گردید. شکل استایلت و شکل و مشخصات شبکه کوتیکولی انتهای بدن ماده‌ها و شکل استایلت و شکل سر در نرها و شکل دم در لاروهای سن دوم از جمله مشخصات کلیدی جهت تعیین گونه بود.

از هر نمونه ریشه آلوده، ده غده بطور تصادفی انتخاب شد و ماده‌های کامل خارج و جهت تهیه برش در داخل اسید لاکتیک 45 درصد و توده‌های تخم هر یک از ماده‌ها نیز بطور جداگانه در داخل آب مقطر قرار داده شد. با تهیه برش از شبکه کوتیکولی[1] انتهای بدن ماده‌ها و انتقال آنها به یک قطره گلیسیرین و بررسی میکروسکوپی آن‌ها، شناسایی در حد گونه صورت گرفت (Vovlas *et al*., 2004; Southey *et al*., 1985).

تعیین نژاد

برای تعیین نژاد، از روش تایلر و ساسر استفاده شد (Taylor and Sasser, 1978). به این صورت که میزبان‌های افتراقی در چهار تکرار در گلدان‌هایی به قطر دهانه 10 سانتی‌متر حاوی خاک استریل کاشته شد و هر گلدان با 5000 لارو و تخم حاصل از یک توده تخم خالص شده مایه‌زنی شدند. بعد از گذشت 60 روز از زمان مایه‌زنی، بوته‌ها از خاک در آورده و سیستم ریشه طبق روش تایلر و ساسر بررسی و نژاد نماتد تعیین گردید (Taylor and Sasser, 1978). میزبان‌های افتراقی شامل پنبه رقم Deltapin 16، توتون رقم NC-95، هندوانه رقم Charleston grey، فلفل رقم Early California، گوجه‌فرنگی رقم Rutgerse و بادام‌زمینی رقم Florunner بود.

[1] Perineal patterns

نتایج و بحث

از 102 نمونه خاک و ریشه نمونه‌برداری شده از مزارع بارلی‌کاری توتون در استان مازندران، 42 نمونه آلوده و 60 نمونه سالم بود و 21/42 درصد نمونه‌های آلوده دارای آلودگی مشترک به گونه‌های مختلف نماتد ریشه گرهی بودند. از 21 روستای نمونه‌برداری شده، سه روستای اسبوکلا، ولاشد و خارکش آلوده به نماتد ریشه گرهی بودند و 18 روستای دیگر آلودگی مشاهده نشد (جدول 1).

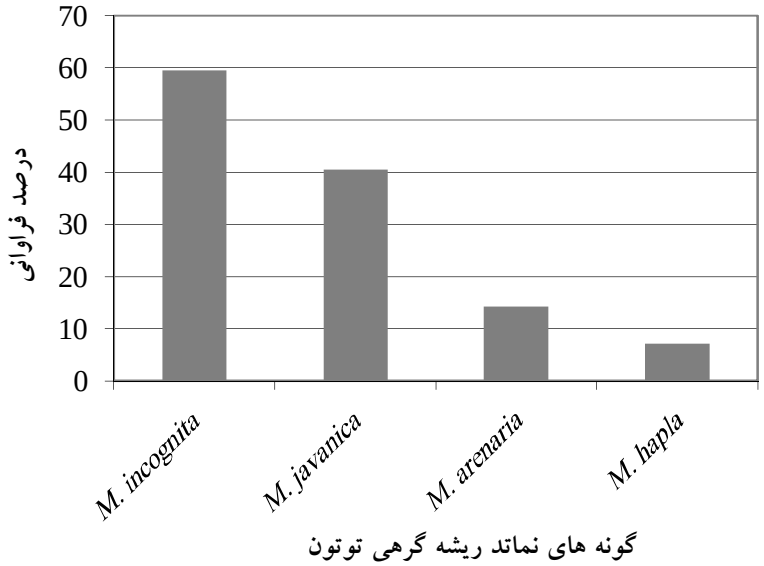
جدول 1- تعداد نماتد ریشه گرهی در مزارع بارلی‌کاری توتون در مناطق نمونه برداری شده استان مازندران

ردیف	مناطق	تعداد کل مزارع نمونه‌برداری شده	تعداد مزارع آلوده	درصد آلودگی مزارع نمونه‌برداری شده	تعداد نماتد[1] در 300 گرم خاک	تعداد نماتد در 3 گرم ریشه
1	ساری- اسبوکلا	34	32	94/11	300 -5400	1500 -12000
2	ساری - ولاشد	19	8	42/1	900-1800	2100-12000
3	ساری - خارکش	2	2	100	900 - 1800	1200 – 5400
4	ساری - واردمحله	1	0	0	-	-
5	ساری –آبکسر	3	0	0	-	-
6	ساری - اجارستاق	1	0	0	-	-
7	ساری - اروت	2	0	0	-	-
8	ساری - امره	4	0	0	-	-
9	ساری - بندافروز	1	0	0	-	-
10	ساری - پلسک	1	0	0	-	-
11	ساری - ولاغوز	3	0	0	-	-
12	ساری - مسکوپا	1	0	0	-	-
13	ساری - چاچکام	3	0	0	-	-
14	ساری – پرویچ‌آباد	1	0	0	-	-
15	ساری – سرخ‌ولیک	1	0	0	-	-
16	ساری - کرسب	1	0	0	-	-
17	ساری - کولا	2	0	0	-	-
18	سورک - دارابکلا	4	0	0	-	-
19	سورک - کیاپی	1	0	0	-	-
20	سورک – زرین‌آباد	6	0	0	-	-
21	ساری - جامخانه	11	0	0	-	-

[1] تعداد نماتدها بر اساس نر و لارو سن دوم محاسبه شده است.

[2] تعداد نماتدها بر اساس ماده، تخم و لارو سن دوم محاسبه شده است.

سه روستای آلوده در نزدیکی و کنار هم قرار دارند که به‌نظر می‌رسد کانون آلودگی در یکی از این سه روستا بوده و به احتمال زیاد به علت استفاده از ادوات کشاورزی مشترک آلودگی منتقل شده است. با توجه به اینکه 18 روستا آلودگی وجود ندارد رعایت نکات پیشگیری اهمیت بسیار دارد. مشخصات ریخت‌سنجی و ریخت‌شناسی ماده‌ها، نرها و لاروهای سن دوم گونه‌های مختلف نماتد ریشه گرهی در جدول 2 ارایه شده است و واکنش میزبان-های افتراقی به جنس و نژادهای فیزیولوژیکی مختلف نماتد ریشه‌گرهی در جدول 3 مشخص شده است که بر اساس آن‌ها، 59/52 درصد نمونه‌ها آلوده به نژاد 2 از گونه *M. incognita*، 40/47 درصد دارای گونه *M. javanica*، 14/28 درصد حاوی نژاد 2 از گونه *M. arenaria* و 7/14 درصد آلوده به *M. hapla* تشخیص داده شده، که با شرح این گونه‌ها توسط جپسون (1978) مطابقت داشتند (شکل 1 و جدول 2).



شکل 1- درصد فراوانی گونه‌های مختلف نماتد ریشه گرهی توتون در مناطق بارلی‌کاری توتون در استان مازندران

این گونه‌ها در مزارع بارلی‌کاری توتون اسبوکلا، ولاشد و خارکش مشاهده شدند. 94/11 درصد نمونه‌های روستای اسبوکلا دارای آلودگی به نماتد ریشه گرهی بودند که 51/3 درصد نژاد دو گونه *M. incognita*، 29/7 درصد دارای گونه *M. javanica*، 13/5 درصد نژاد دو گونه *M. arenaria* و 5/4 درصد آلوده به *M. hapla* بودند. 42/1 درصد نمونه‌های روستای ولاشد دارای آلودگی به نماتد ریشه گرهی بودند که 40 درصد نژاد دو گونه *M. incognita* و گونه *M. javanica*، 10 درصد نژاد دو گونه *M. arenaria* و *M. hapla* بودند. گونه غالب در روستای خارکش نژاد 2 از گونه *M. incognita* Race با 100 درصد فراوانی بود (شکل 2). تعداد نماتد در هر گرم خاک در

جدول۲- مشخصات ریخت‌سنجی و ریخت‌شناسی ماده‌ها، نرها و لاروهای سن دوم گونه‌های مختلف نماتد ریشه گرهی جداسازی شده از مناطق مختلف استان مازندران (اندازه‌ها به میکرومتر می‌باشد).

مشخصات	*M. incognita* Race 2			*M. javanica*			*M. arenaria* Race 2			*M. hapla*		
	ماده‌ها*	نرها*	لارو سن دوم*	ماده‌ها	نرها	لارو سن دوم	ماده‌ها	نرها	لارو سن دوم	ماده‌ها	نرها	لارو سن دوم
طول بدن	۶۲۰±۷۴/۷ (۵۱۲-۷۲۰)	۱۶۹۰±۲۰۲ (۱۲۰۰-۲۰۰۰)	۴۰۲±۱۴ (۳۷۲-۴۱۲)	۸۲۸±۸۱ (۶۹۰-۹۴۹)	۱۰۵۱±۲۰۱ (۷۵۶-۱۲۹۷)	۴۰۹±۲۱ (۳۹۶-۴۲۱)	۷۴۱±۵۲ (۶۰۱-۹۸۶)	۱۷۲۰±۲۲۳ (۹۷۸-۲۲۷۹)	۵۰۴±۳۴ (۳۹۱-۶۰۶)	۶۶۲±۶۹ (۵۵۰-۷۹۰)	۱۵۶۱±۴۸ (۱۵۲۰-۱۶۰۳)	۳۲۳±۲۹ (۱۸۴-۳۵۵)
عرض بدن	۴۱۲±۳۱/۲ (۲۳۱-۵۲۲)	۳۶/۱±۲/۵ (۳۴-۳۸)	۱۴±۱/۱ (۱۲/۱-۱۵/۵)	۴۶۳±۳۱/۹ (۳۵۰-۵۳۰)	۲۷/۶±۱/۸ (۲۵-۲۹)	۱۰/۶±۱/۲ (۹-۱۱)	۴۴۸±۴۱/۶ (۳۳۴-۶۲۶)	۳۸/۸±۲/۹ (۳۵-۴۰)	۱۷±۱/۸ (۱۵-۲۰)	۳۴۲±۲۱/۷ (۲۲۵-۴۹۵)	۳۰/۸±۲/۵ (۲۸-۳۱)	۱۰/۸±۱/۵ (۱۰-۱۲)
طول استایلت	۱۶/۵±۱/۲ (۱۶-۱۷)	۲۴±۲/۸ (۲۳-۲۶)	۱۱/۷±۱/۸ (۱۰/۶-۱۲/۳)	۱۶±۱/۹ (۱۵/۵-۱۸)	۲۳±۲/۹ (۲۱-۲۶)	۱۱/۲±۲/۷ (۱۰/۵-۱۳)	۱۵/۲±۳/۸ (۱۳-۱۷)	۲۳±۳/۴ (۲۲-۲۸)	۱۱/۲±۲/۴ (۱۰-۱۲)	۱۲±۴/۷ (۱۰-۱۴)	۲۲±۲/۳ (۱۹-۲۳/۲)	۱۱±۲/۶ (۱۰-۱۲)
ارتفاع گره استایلت	۳±۰/۱۴ (۳-۳/۵)	۵±۰/۴۴ (۳/۵-۵/۵)	۱/۲±۰/۱۶ (۰/۹-۱/۴)	۲/۶±۰/۱۹ (۲-۳)	۳/۶±۰/۶۷ (۳-۵)	۱/۴±۰/۲۴ (۱-۱/۶)	۲/۵±۰/۳۶ (۲/۲-۳/۱)	۴±۰/۳۲ (۳-۵)	۱/۹±۰/۳۱ (۱/۱-۲)	۲/۷±۰/۱۲ (۲/۵-۳)	۲/۷±۰/۱۵ (۲/۵-۳)	۱±۰/۱۲ (۰/۸-۱/۱)
عرض گره استایلت	۴/۴/±۰/۶۲ (۳/۳-۴/۹)	۵/۶±۰/۲ (۵/۵-۶/۵)	۲±۰/۱۲ (۱/۸-۲/۲)	۴±۰/۸۲ (۲-۵)	۴/۷±۰/۲ (۴-۵/۵)	۲/۲±۰/۱۲ (۲-۲/۴)	۳/۹=۰/۵۲ (۲/۱-۴/۵)	۵=۰/۴ (۴-۶)	۲/۶±۰/۲ (۲/۲-۲/۸)	۳/۱=۰/۱۳ (۲/۵-۳/۵)	۴/۵±۰/۱۸ (۴-۵)	۱/۸±۰/۱۳ (۱/۶-۲)
محل ریزش محتوای غده پشتی	۳/۹±۰/۱۶ (۳/۳-۴/۱)	۲/۵±۰/۱۴ (۱/۷۵-۳/۵)	۲/۵±۰/۲۱ (۳/۲-۴/۱)	۴/۶=۰/۹ (۳-۶)	۴±۰/۸ (۲/۲-۴/۷)	۳/۲±۰/۷ (۲/۵-۴)	۴/۷±۰/۸۵ (۳/۱-۶/۷)	۶=۱/۱ (۴-۸)	۳/۷±۰/۴۴ (۳-۵)	۵/۳±۰/۳۸ (۳-۶/۵)	۵±۰/۴۷ (۴-۶)	۲/۶±۰/۱۲ (۲/۵-۲/۹)
حد فاصل انتهای بالایی تا روزنه ترشحی	۳۷=۲/۴ (۳۵-۴۳)	-	-	۴۵=۱/۸ (۴۲-۴۷)	-	-	۴۲/۲±۷/۸ (۲۲-۶۷)	-	-	۳۶/۴±۶/۴ (۲۵-۵۰)	-	-

ادامه جدول ۲

مشخصات	*M. incognita*			*M. javanica*			*M. arenaria*			*M. hapla*		
	ماده‌ها*	نرها*	لارو سن دوم*	ماده‌ها	نرها	لارو سن دوم	ماده‌ها	نرها	لارو سن دوم	ماده‌ها	نرها	لارو سن دوم
حد فاصل انتهای بالایی تا مرکز حباب میانی	۸۰/۱±۴/۶ (۷۵-۸۷)	–	–	۹۳/۲±۳/۶ (۹۰-۹۶)	–	–	۸۶/۲±۴/۷ (۸۰-۹۲)	–	–	۷۸/۲±۶/۲ (۶۵-۸۲)	–	–
طول شکاف مخرج	۲۷=۳/۶ (۱۹ ۳۱)	–	–	۲۵±۳/۹ (۱۸ ۲۹)	–	–	۲۹/۲±۲/۴ (۲۴ ۳۷)	–	–	۲۳/۹±۳/۷ (۲۰ ۳۰)	–	–
فاصله شکاف فرج تا مخرج	۱۹/۵±۱/۹ (۱۷-۲۱)	–	–	۱۶/۵±۲/۳ (۱۱-۳۱)	–	–	۲۰/۸±۱/۷ (۱۸-۲۲)	–	–	۱۷/۷±۳/۳ (۱۴-۲۲/۵)	–	–
فاصله بین دو فاسمید	۲۶±۲/۸ (۲۱-۳۱)	–	–	۲۵±۳/۱ (۲۰-۳۰)	–	–	۲۸=۳/۵ (۲۲-۳۲)	–	–	۲۰/۸±۳/۶ (۱۲/۵-۳۰)	–	–
طول آلت نری	–	۳۵±۰/۶ (۳۴-۳۶)	–	–	۲۶/۳±۲/۶ (۲۰/۹-۳۱/۷)	–	–	۳۲±۵/۲ (۲۷-۳۹)	–	–	۲۳/۳±۱/۹ (۲۰-۲۵)	–
جسم هادی آلت نری	–	۹/۴±۰/۷ (۸/۲-۱۰/۴)	–	–	۸/۴±۱/۱ (۷/۲-۹/۴)	–	–		۸/۸±۰/۷ (۷-۱۰)	–	۷/۲±۰/۳ (۷-۷/۵)	–
طول دم	–	۴۷/۴±۶/۹ (۳۹-۵۹)	۴۳/۲±۸/۱ (۴۳/۹-۵۵/۵)	–	۴۳/۱±۹/۴ (۳۶-۵۴)	۴۲/۴±۶/۷ (۳۲-۵۲)	–	۵۶/۵±۶/۷ (۴۴-۶۹)	۴۶/۲±۲/۷ (۴۰-۴۹)	–	۴۴/۶±۵/۹ (۳۳-۴۸)	۴۱/۵±۷/۲ (۳۰-۴۷/۵)
طول بخش شفاف انتهای دم	–	–	۱۲/۸±۲/۴ (۱۰/۶-۱۴/۲)	–	–	۱۳±۱/۳ (۱۱-۱۵)	–	–	۱۴/۶±۱/۷ (۸-۱۸)	–	–	۱۰/۹±۱/۷ (۵-۱۵)
نسبت طول بدن به بزرگترین عرض بدن	۱/۶±۰/۱ (۱/۴-۱/۹)	۴۶/۴±۷/۸ (۳۵/۹-۵۲/۲)	۲۹/۲±۶/۱ (۲۷/۹-۳۱/۵)	۱/۷±۰/۱ (۱/۶-۱/۹)	۳۸/۲±۵/۳ (۳۰/۹-۴۴/۵)	۴۰/۲±۶/۸ (۳۸/۹-۴۲/۵)	۱/۸±۰/۱۲ (۱/۶-۱/۹)	۴۵/۸±۹/۷ (۳۵/۲-۵۶/۱)	۲۹/۶±۵/۱ (۲۶/۷-۳۰/۸)	۱/۹±۰/۲ (۱/۶-۲/۱)	۴۷/۶±۷/۱ (۴۱/۸-۵۱/۵)	۳۰/۲±۶/۳ (۲۸/۲-۳۲/۵)

ادامه جدول ۲

مشخصات	*M. incognita*			*M. javanica*			*M. arenaria*			*M. hapla*		
	ماده‌ها*	نرها*	لارو سن دوم*	ماده‌ها	نرها	لارو سن دوم	ماده‌ها	نرها	لارو سن دوم	ماده‌ها	نرها	لارو سن دوم
نسبت طول بدن به مری	-	۱۱/۲±۱/۴ (۸/۸-۱۲/۵)	۵/۲±۰/۵ (۴/۹-۵/۵)	-	۱۱/۹±۱/۴ (۸/۶-۱۲/۸)	۵/۸±۰/۶ (۴/۷۹-۶/۵)	-	۱۱/۷±۱/۳ (۸/۹-۱۲/۳)	۵/۶±۰/۷ (۴/۶-۵/۹)	-	۱۰/۲±۱/۱ (۷/۹-۱۱/۵)	۴/۷±۰/۴ (۴/۳-۵/۲)
نسبت طول بدن به طول دم	-	۳۵/۲±۶/۴ (۳۰/۸-۳۸/۵)	۹/۲±۱/۵ (۸/۶-۹/۵)	-	۲۴/۴±۵/۴ (۲۱/۶-۲۵/۸)	۹/۸±۱/۶ (۸/۷-۱۲/۵)	-	۳۰/۷±۷/۳ (۲۲/۹-۳۲/۳)	۱۰/۶±۱/۷ (۹/۶-۱۲/۳)	-	۳۵/۲±۸/۱ (۳۳/۹-۳۸/۵)	۱۰/۷±۱/۴ (۶/۳-۱۱/۲)
نسبت طول دم به عرض بدن در ناحیه مخرج	-	-	۵/۹±۱/۹ (۴/۸-۶/۲)	-	-	۵/۱±۲/۳ (۴/۲-۶/۸)	-	-	۵/۷±۲/۱ (۴/۶-۶/۳)	-	-	۵/۳±۱/۴ (۴/۷-۵/۶)

*: ۲۰ عدد ماده و ۳۰ عدد لارو و نر اندازه‌گیری شد.

روستای اسبوکلا ساری 18-1 نماتد بود و در روستاهای ولاشد و خارکش 6-3 نماتد بود و این در حالی است که آستانه خسارت نماتد مولد گره ریشه برای توتون 3 نماتد در هر گرم خاک می‌باشد. بنابراین با توجه به جدول 1 و تعداد جمعیت نماتد در خاک، در روستاهای اسبوکلا، ولاشد و خارکش این میزان جمعیت برای توتون خسارت‌زا بوده و موجب کاهش عملکرد و کیفیت توتون می‌شود. اخیانی و همکاران طی 3 سال (1359، 1360 و 1361)، 145 نمونه ریشه گیاهان آلوده به نماتد ریشه گرهی از مزارع و باغات کشور جمع‌آوری و بر اساس مطالعات شبکه کوتیکولی انتهای بدن نماتد ماده و عکس‌العمل میزبان‌های افتراقی، 4 گونه به ترتیب وسعت پراکندگی در کشور شامل *M. javanica*، نژاد دوم و چهارم *M. incognita*، *M. hapla* و نژاد دوم *M. arenaria* گزارش نمودند (Akhiani *et al*.,1985).

عکس‌العمل میزبان‌های افتراقی در برابر جمعیت‌های مختلف *M. incognita* یکسان بوده و نفوذ و تکثیر تمامی جمعیت‌های آزمایش شده روی پنبه و بادام زمینی منفی بوده در صورتی‌که روی سایر میزبان‌ها به راحتی تکثیر یافته و غده تولید نمود.

M. javanica دومین گونه‌ای بود که بیشترین فراوانی (40/47 درصد) را در بین گونه‌های شناسایی شده، دارا بود. در اکثر نمونه‌ها این گونه با گونه اولی بطور مخلوط با هم حضور داشتند. شبکه کوتیکولی انتهای بدن ماده در این گونه با داشتن دو خط جانبی کاملا" مشخص که شبکه را به دو بخش پشتی و شکمی تقسیم می‌نماید، بطور کامل این گونه را از سایر گونه‌های جنس *Meloidogyne* متمایز می‌سازد. این گونه توسط خیری در سال 1972 روی چای از لاهیجان گزارش شده است (Kheiri, 1972). عکس‌العمل میزبان‌های افتراقی در برابر جمعیت‌های مختلف این گونه یکسان بوده و نفوذ و تکثیر تمامی جمعیت‌های آزمایش شده روی پنبه، بادام زمینی و فلفل منفی بوده در صورتی‌که روی سایر میزبان‌ها به راحتی تکثیر یافته و غده تولید نمود.

M. arenaria سومین فراوانی (14/28 درصد) را در بین گونه‌های شناسایی شده داشت. این گونه به صورت مخلوط با *M. incognita* حضور داشت. این گونه بر روی توتون، هندوانه و گوجه فرنگی به راحتی تکثیر یافته و تولید غده نمود، اما بر روی سایر میزبان‌های افتراقی قادر به تکثیر و تولید غده نبود. این گونه تاکنون از گیلان توسط خیری (1972)، اخیانی و همکاران (1984) و همچنین توسط تنها معافی و مهدویان از سلمانشهر مازندران از روی کیوی در سال 1376 گزارش شده است (Tanha Maafi and Mahdavian, 1997).

M. hapla کمترین فراوانی (7/14 درصد) را در بین گونه‌های شناسایی شده داشت. اندازه گال‌های تولید شده بوسیله این گونه کوچک‌تر از سایر گونه‌هاست و درصد کمتری از ریشه دارای گال می‌شود (Karegarbideh, 2006). شکل خاص شبکه کوتیکولی انتهای بدن ماده‌ها در این گونه از جمله مشخصات معیارهای مشخصه جهت تشخیص این گونه محسوب می‌شود. این گونه بر روی پنبه و هندوانه قادر به تکثیر نبوده ولی بر روی سایر میزبان‌ها تکثیر شده و تولید غده نمود. ابیوردی و همکاران (1980) این گونه را از آباده فارس و اخیانی و همکاران (1984) آن را در جمعیت بسیار کم از ریشه بارهنگ و مو از شهرستان قمشه و از ریشه جعفری از شهرستان گلپایگان گزارش نموده اند. کارگربیده این گونه را از چغندرقند از استان همدان در سال 1385 گزارش نمود (Karegarbideh, 2006).

شکل 2- درصد فراوانی گونه‌های مختلف نماتد ریشه گرهی توتون در مناطق بارلی‌کاری توتون در اسبوکلا، ولاشد و خارکش در استان مازندران

نماتد ریشه گرهی بطور مستقیم و غیر مستقیم موجب خسارت توتون و کاهش عملکرد می‌گردد. گیاهان مبتلا به طور کلی کوتوله و زرد می شوند و بیشتر علائم آن در نتیجه کاهش کارایی سیستم ریشه می‌باشد که وجود گره‌ها یا گال‌هایی در ریشه از جمله مهمترین نشانه‌های بیماری است (Vovalas *et al*., 2004).

با توجه به اینکه در این مناطق نمونه‌برداری شده از ارقام تجاری حساس به نماتد ریشه گرهی جهت کشت استفاده می‌گردد در چند مزرعه آلودگی صد درصد بود. لذا جهت مدیریت این بیماری نیاز به بررسی مقاومت ارقام مختلف توتون می‌باشد که جایگزین ارقام تجاری رایج گردد. همانطور که در شکل دو آمده است در روستاهای اسبوکلا و ولاشد هر چهار گونه حضور دارند. با توجه به اینکه در این روستا تناوب زراعی رعایت نمی‌گردد و هر ساله کشت توتون با ارقام حساس در این روستا متداول است و در هنگام خاک‌ورزی زمین جهت آماده سازی زمین تعداد محدودی ادوات کشاورزی مزارع توتون روستا را آماده‌سازی می‌نماید، لذا میزان آلودگی در آن بالا می‌باشد و انتقال آلودگی از مزارع آلوده به مزارع سالم در هنگام خاکورزی وجود دارد. لذا با توجه به نقشه پراکنش تهیه شده و با برگزاری کلاس‌های آموزشی برای کشاورزان و کارشناسان و مروجان شعبات دخانیات باید ترتیبی اتخاذ نمود که از آلودگی مزارع سالم اجتناب گردد. همچنین از تهیه خزانه سنتی در مزارع توتون بارلی‌کاری در روستاهای اسبوکلا، ولاشد و خارکش جلوگیری به عمل آید.

جدول 3- واکنش میزبان‌های افتراقی به جنس و نژادهای فیزیولوژیکی مختلف نماتد ریشه‌گرهی (*Meloidogyne* spp.)

شماره	نام منطقه	رقم توتون	تعداد نماتد در ریشه[1]	تعداد نماتد در خاک[2]	گونه شناسایی شده	واکنش میزبان‌های افتراقی						نژاد تعیین شده
						توتون	پنبه	فلفل	هندوانه	بادام زمینی	گوجه فرنگی	
1	اسبوکلا	بارلی21	1500	600	*M. incognita*	+	-	+	+	-	+	2
2	اسبوکلا	بارلی21	2100	900	*M. incognita*	+	-	+	+	-	+	2
3	اسبوکلا	بارلی21	1500	300	*M. incognita*	+	-	+	+	-	+	2
4	اسبوکلا	بارلی21	2400	600	*M. javanica*	+	-	-	+	-	+	-
5	اسبوکلا	بارلی21	2100	600	*M. incognita*	+	-	+	+	-	+	2
6	اسبوکلا	بارلی21	2400	300	*M. javanica*	+	-	-	+	-	+	-
7	اسبوکلا	بارلی21	2100	600	*M. arenaria*	+	-	-	+	-	+	2
8	اسبوکلا	بارلی21	2400	900	*M. incognita*	+	-	+	+	-	+	2
					M. javanica	+	-	-	+	-	+	-
9	اسبوکلا	بارلی21	5400	3300	*M. incognita*	+	-	+	+	-	+	2
					M. arenaria	+	-	-	+	-	+	2
10	اسبوکلا	بارلی21	8400	4500	*M. incognita*	+	-	+	+	-	+	2
11	اسبوکلا	بارلی21	9000	2100	*M. incognita*	+	-	+	+	-	+	2
					M. javanica	+	-	-	+	-	+	-
12	اسبوکلا	بارلی21	8400	4500	*M. incognita*	+	-	+	+	-	+	2
13	اسبوکلا	بارلی21	3300	1800	*M. arenaria*	+	-	-	+	-	+	2
14	اسبوکلا	بارلی21	3000	1200	*M. javanica*	+	-	-	+	-	+	-
15	اسبوکلا	بارلی21	2100	900	*M. incognita*	+	-	+	+	-	+	2
16	اسبوکلا	بارلی21	4200	2100	*M. incognita*	+	-	+	+	-	+	2
17	اسبوکلا	بارلی21	3000	1200	*M. javanica*	+	-	-	+	-	+	-
18	اسبوکلا	بارلی21	7200	4500	*M. incognita*	+	-	+	+	-	+	2
					M. arenaria	+	-	-	+	-	+	2
19	اسبوکلا	بارلی21	6900	2100	*M. incognita*	+	-	+	+	-	+	2
20	اسبوکلا	بارلی21	3000	900	*M. javanica*	+	-	-	+	-	+	-
21	اسبوکلا	بارلی21	3600	600	*M. incognita*	+	-	+	+	-	+	2
22	اسبوکلا	بارلی21	5400	1200	*M. hapla*	+	-	+	-	+	+	-
23	اسبوکلا	بارلی21	6900	2100	*M. incognita*	+	-	+	+	-	+	2
24	اسبوکلا	بارلی21	3300	1200	*M. javanica*	+	-	-	+	-	+	-

[1] تعداد نماتد بر اساس تعداد نماتدهای ماده، تخم و لارو سن دوم در 3 گرم ریشه محاسبه شده است.

[2] تعداد نماتد بر اساس تعداد نماتدهای نر و لارو سن دوم در 300 گرم خاک محاسبه شده است.

ادامه جدول 3

شماره	نام منطقه	رقم توتون	تعداد نماتد در ریشه[1]	تعداد نماتد در خاک[2]	گونه شناسایی شده	واکنش میزبان‌های افتراقی						نژاد تعیین شده
						توتون	پنبه	فلفل	هندوانه	بادام زمینی	گوجه فرنگی	
25	خارکش	بارلی21	5400	900	*M. incognita*	+	-	+	+	-	+	2
26	خارکش	بارلی21	1200	1800	*M. incognita*	+	-	+	+	-	+	2
27	ولاشد	بارلی21	3000	1200	*M. incognita*	+	-	+	+	-	+	2
					M. javanica	+	-	-	+	-	+	-
28	ولاشد	بارلی21	3600	1500	*M. hapla*	+	-	+	-	+	+	-
29	ولاشد	بارلی21	7200	2100	*M. incognita*	+	-	+	+	-	+	2
30	ولاشد	Ky907	3300	2100	*M. javanica*	+	-	-	+	-	+	-
31	اسبوکلا	Ky907	12000	5400	*M. incognita*	+	-	+	+	-	+	2
32	اسبوکلا	Ky907	3900	2100	*M. incognita*	+	-	+	+	-	+	2
					M. hapla	+	-	+	-	+	+	-
33	اسبوکلا	Ky907	9000	4500	*M. incognita*	+	-	+	+	-	+	2
					M. javanica	+	-	-	+	-	+	-
34	اسبوکلا	HB4105p	6900	2100	*M. javanica*	+	-	-	+	-	+	-
35	اسبوکلا	HB4105p	3600	1500	*M. javanica*	+	-	-	+	-	+	-
36	اسبوکلا	HB4105p	2100	900	*M. javanica*	+	-	-	+	-	+	-
37	اسبوکلا	HB4105p	9000	4500	*M. incognita*	+	-	+	+	-	+	2
					M. arenaria	+	-	-	+	-	+	2
38	اسبوکلا	Ky907	12000	5400	*M. javanica*	+	-	-	+	-	+	-
39	ولاشد	بارلی 21	12000	5400	*M. incognita*	+	-	+	+	-	+	2
40	ولاشد	Ky907	12000	5400	*M. javanica*	+	-	-	+	-	+	-
41	ولاشد	Ky907	2100	900	*M. incognita*	+	-	+	+	-	+	2
					M. arenaria	+	-	-	+	-	+	2
42	ولاشد	Ky907	3900	2100	*M. javanica*	+	-	-	+	-	+	-

[1] تعداد نماتد بر اساس تعداد نماتدهای ماده، تخم و لارو سن دوم در 3 گرم ریشه محاسبه شده است.

[2] تعداد نماتد بر اساس تعداد نماتدهای نر و لارو سن دوم در 300 گرم خاک محاسبه شده است.

References

1. Akhiani A, Mojtahedi H and Naderi A. 1984. Species and physiological races of root-knot nematodes in Iran. Paper presented at: 12th Iranian Plant Protection Congress; 2–7 September; Karaj, Iran.
2. Akhiani A, Mojtahedi H and Naderi A. 1985. Species and physiological races of root-knot nematodes in Iran**.** Iranian Journal of Plant Pathology 20: 57–71 (in Persian).
3. Coolen WA and D'Herde CJ. 1972. A method for the quantitative extraction of nematodes from plant tissue. Nematology and Entomology Research, Ghent, Belgium.
4. De Grisse AT. 1969. Redescription ou modification de quelques techniques utilisées dans Létude des nematodes phytoparasitaires. Mededelingen Rijksfaculteit der Landbouwwetenschappen Gent 34: 351–369.
5. Jenkins WR. 1964. A rapid centrifugal flotation technique for extracting nematodes from soil. Plant Disease Reporter 48: 692.
6. Jepson SB. 1987. Identification of root knot nematodes *(Meloidogyne* species). Wallingford: CAB International. 265 p.
7. Karegarbideh A. 2006. Identification of plant-parasitic nematodes associated with sugar beet and their distribution in Hamadan province**,** Iran. Iranian Journal of Plant Pathology 42: 159–178.
8. Karssen G. 2002. The plant-parasitic nematode genus *Meloidogyne* Göldi, 1892 (Tylenchida) in Europe. Leiden: Koninklijke Brill NV. 157 p.
9. Kheiri A. 1972. Study of plant parasitic nematodes in some regions of Iran. Paper presented at: 7th Iranian Plant Protection Congress; 12–14 September; Isfahan, Iran.
10. Koenning SR, Wrather JA, Kirkpatrick TL, Walker RN, Starr JL and Muller JD. 2004. Plant-parasitic nematodes attacking cotton in the United States. Plant Disease 88: 100–113.
11. Mahdavian H, Eshtiaghi H, Barooti S and Mojdehi H. 2000. An effective method to control *Meloidogyne incognita* on tobacco in greenhouse. Paper presented at: 7th Iranian Plant Protection Congress; 12–14 September; Isfahan, Iran.
12. Mehdikhani Moghadam E, Kheiri A and Mohammadi M. 2007. Enzyme polymorphism in *Meloidogyne* species of Iran. Iranian Journal of Plant Pathology 43: 17–31 (in Persian).
13. Nasr Esfahani, M. 2009. Distribution and identification of root-knot nematode species in tomato fields. Mycopathology 7: 45–49.
14. Rich JR and Kinloch RA. Tobacco Nematode Management [Internet]. 2001. West Florida (FL): Fact Sheet ENY-005 (NG019), Florida Cooperative Extension Service; [cited 2014 Jun 27]. Available from: http://nematology.ifas.ufl.edu/ assaylab/Documents/Tobacco.pdf .
15. Sajjadi A, Hosseininejad A and Assemi H. 2012. Determination of damage of root knot nematode (*Meloidogyne incognita*) on some of tobacco commercial cultivar. Applied Entomology and Phytopathology 80: 13–22 (in Persian).
16. 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: 233–248.
17. Seinhorst JW. 1959. A rapid method for the transfer of nematodes from fixative to anhydrous glycerin. Nematologica 4: 67–69.

18. Shepherd JA. 1999. Nematode pests of tobacco. pp. 216–227, *In* D L Davis and MT Nielsen (eds). Tobacco Production Chemistry and technology. Oxford: Blackwell Science.
19. Tanha Maafi Z and Mahdavian SE. 1997. 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. Iranian Journal of Plant Pathology 65: 425–436 (in Persian).
20. Taylor AL and Sasser JN. 1978. Biology, identification and control of root knot nematode (*Meloidogyne* spp.). Raleigh: North Carolina State University Graphics. 111p.
21. Vovlas N, Simoes NJO and Sasanellia N. 2004. Host-parasite relationships in tobacco plants infected with a root-knot nematode (*Meloidogyne incognita*) population from the Azores. Phytoparasitica 32: 167–173.
22. Zeck WM. 1971. A rating scheme for field evaluation of root knot nematode infestations. Pflanzenschutz Nachrichten Bayer 24:141–144.

Occurrence of root knot nematode (*Meloidogyne* spp.) in the air-cured tobacco fields in Mazandaran province, Iran

A. Sajjadi*[1], H. Assemi[2]

Abstract

In order to identify the species and the races of root knot nematodes in the air-cured tobacco fields of Mazandaran province, 102 soil and root samples from tobacco fields were collected during 2014. Nematodes were extracted from soil and roots using Jenkins and Coolen and D'Herde methods, respectively. The number of nematodes were counted, and the species and races were determined by studying perineal patterns obtained from adult females and the reaction of differential host plans (cotton Deltapin 16, tobacco NC-95, watermelon Charleston grey, tomato Rutgers, Peanut Florunne, pepper Early California Wonder) to nematode infection. This study revealed that 59.52 percent of the samples were infected with *M. incognita* Race 2, 40.47 percent *M. javanica*, 14.28 percent *M. arenaria* Race 2 and 7.14 percent *M. hapla*. About 21 percent of samples were infected with two species where *M. incognita* was always one member of the mixed populations, the other members were *M. javanica*, *M. arenaria* or *M. hapla*. These species were distributed in Sboukola, Velashed and Kharkesh tobacco fields in Mazandaran province, Iran.

Keywords: Distribution, Mazandaran province, root-knot nematode, species, tobacco.

[1] - Research Instructor, Department of Plant Protection, Tirtash Research and Education Center, Behshahr, Iran.

[2] - Research Associate Professor, Department of Plant Protection, Tirtash Research and Education Center, Behshahr, Iran.

*Corresponding author: sajjadi_a@yahoo.com