



دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی گرگان

مجله پژوهش‌های تولید گیاهی
جلد شانزدهم، شماره چهارم، ۱۳۸۸
www.gau.ac.ir/journals

گزارش کوتاه علمی

جداسازی نژاد *Meloidogyne incognita* Author از زیتون در منطقه گرگان

*حسین حقیقی^۱، مریم ممقانی^۱، سیداسماعیل رضوی^۲،

کامران رهنما^۳ و عبدالحسین طاهری^۳

^۱دانشجوی کارشناسی ارشد گروه گیاهپزشکی، دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی گرگان،

^۲مربی گروه گیاهپزشکی، دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی گرگان،

^۳دانشیار گروه گیاهپزشکی، دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی گرگان

تاریخ دریافت: ۱۳/۸/۸۶؛ تاریخ پذیرش: ۲۵/۷/۸۸

چکیده

نماتوهای گره ریشه یکی از عوامل محدودکننده تولید نهال و احداث باغ‌های جدید زیتون در کشور هستند. نظر به یافتن ارقام مقاوم به نماتوهای مولد گره ریشه، شناسایی دقیق و تعیین نژاد آنها اهمیت بالایی دارد. به منظور بررسی نماتوهای مولد گره، نمونه‌هایی از خاک و ریشه درختان زیتون از باغات و مراکز تولید نهال در منطقه گرگان جمع‌آوری شدند. در این مطالعه، پس از بررسی ویژگی‌های مورفولوژیکی و مورفومتریکی ماده‌های بالغ و لاروهای سن دوم، گونه *Meloidogyne incognita* Author تشخیص داده شد. طول استایلیت، طول بدن نماتود ماده، طول دم و طول ناحیه شفاف انتهای دم لاروهای سن دوم جمعیت بررسی شده، با شرح اصلی گونه تفاوت‌هایی را نشان دادند. به طوری که در شرح اصلی گونه، طول بدن ماده‌ها ۵۰۰ تا ۷۲۳ (۶۰۹) میکرومتر است، در حالی که در گونه مورد بحث، طول بدن ۵۱۲ تا ۷۵۱ (۶۲۲) میکرومتر بود. در شرح اصلی گونه، طول دم لاروهای سن دو ۴۸/۷ (۴۵-۵۲/۲) میکرومتر و طول ناحیه شفاف انتهای دم به ترتیب (۴۳/۹-۵۵/۴) ۵۲/۱ و (۱۰/۶-۱۴/۲) ۱۲/۹ میکرومتر بودند. در تست میزبان‌های افتراقی، این گونه توانست روی توتون، گوجه‌فرنگی، فلفل و هندوانه به‌خوبی تکثیر یافته و ایجاد غده نماید، در حالی که پاسخ گیاهان پنبه و بادام‌زمینی به این گونه منفی بود. براساس ویژگی‌های

* مسئول مکاتبه: haghghi_karizak@yahoo.com

مرفولوژیکی و مرفومتريکی ماده‌های بالغ، برش انتهای بدن آنها، لاروهای سن دوم و عکس‌العمل ميزبان‌های افتراقی، نژاد شماره ۲ *M. incognita* تشخیص داده شد.

واژه‌های کلیدی: زیتون، نماتود، مولد گره ریشه، نژاد ۲، گرگان

مقدمه

گونه‌های *Meloidogyne* از دامنه ميزبانی وسیعی برخوردارند و کمتر محصولی را می‌توان یافت که مورد حمله گونه‌ای از این نماتودها قرار نگیرد. در حال حاضر، بیش از ۳۰ کشور جهان در زمینه کاشت زیتون گونه (*Olea europaea* Author) فعال هستند. بزرگ‌ترین کشورهای تولیدکننده زیتون در منطقه دریای مدیترانه قرار دارند که از مهم‌ترین آنها می‌توان کشورهای اسپانیا، ایتالیا، یونان و ترکیه را نام برد (کاستیلو و همکاران، ۲۰۰۳). در ایران نیز زیتون در بسیاری از نقاط کشت می‌شود. استان گلستان با توجه به اقلیم مناسب و دارا بودن شرایط بوم‌شناختی مورد نیاز زیتون یکی از قطب‌های مهم زیتون‌کاری کشور محسوب می‌شود (حسن‌عباسی، ۱۹۹۴). روند رو به گسترش کشت زیتون در استان گلستان لزوم پژوهش در زمینه عوامل محدودکننده موجود از جمله نماتودهای مولد گره ریشه را هرچه بیشتر روشن می‌سازد. گونه‌های *M. javanica* Author *M. incognita* *M. arenaria* Author *M. hapla* Author مهم‌ترین نماتودهای مولد گره ریشه هستند و به‌علت زیادی دامنه ميزبانی و پراکندگی وسیع و اثرات متقابل با قارچ‌ها و باکتری‌های گیاهی دارای اهمیت اقتصادی می‌باشند (ساسر، ۱۹۷۲). گونه‌های مختلفی از این جنس از باغ‌ها و نهالستان‌های زیتون جهان گزارش شده‌اند که شامل (نژاد ۲) *M. javanica* *M. hapla* *M. incognita* *M. arenaria* *M. baetica* *M. lusitanica* می‌باشند (کاستیلو و همکاران، ۲۰۰۳). تاکنون هر ۴ گونه اصلی نماتودهای مولد گره ریشه، یعنی *M. javanica* *M. incognita* *M. arenaria* *M. hapla* توسط محققان مختلف از مناطق مختلف کشور گزارش شده است (باروتی و علوی، ۱۹۹۴؛ اخیانی و همکاران، ۱۹۸۴؛ مهدیخانی و همکاران، ۱۹۹۵؛ مهدیخانی و همکاران، ۲۰۰۳؛ حسینی‌نژاد و همکاران، ۱۹۹۷؛ تنهامعافی و مهدویان، ۱۹۹۷). با توجه به گسترش سطح زیر کشت درختان زیتون در استان گلستان و وجود اثرات متقابل این نماتود مولد گره با قارچ ورتسیلیوم در این منطقه، لازم گردید تا جهت شناسایی گونه و تعیین نژاد آنها بررسی دقیقی انجام گیرد.

مواد و روش‌ها

نمونه برداری: طی بازدیدهای مکرر در مرداد و شهریور ۱۳۸۴، از باغ‌ها و مراکز تولید نهال زیتون در روستاهای توشن، مسیر جاده کردکوی و جاده علی‌آباد، اقدام به نمونه برداری شد. خالص سازی و تهیه جمعیت آلوده کننده نماتود: پس از تهیه توده تخم منفرد، روی گوجه فرنگی رقم رد کلود، کشت‌های انبوه و خالص از این نماتود به دست آمد. این کار تا رسیدن به جمعیت مورد نیاز نماتود ادامه یافت (چپسون، ۱۹۸۷).

استخراج توده‌های تخم: در این مرحله از محلول هیپوکلرید سدیم استفاده شد (هوسی و بارکر، ۱۹۷۳). شناسایی نماتودهای تکثیر شده: از جمعیت حاصل از تکثیر توده تخم‌های منفرد (شکل ۱)، تعداد ۱۰ نماتود ماده و لارو سن دوم از ریشه‌ها جدا سازی شد و طی مراحل لاروهای سن دوم در ماده تثبیت، فیکس و اسلایدهایی از آنها تهیه شد. همچنین طی مراحل از کوتیکول انتهای بدن نماتودهای ماده بالغ، چندین مقطع تهیه شد (چپسون، ۱۹۸۷).

اندازه گیری و ترسیم شکل‌ها

مشخصات مرفومتریک: اندازه گیری و ترسیم نماتود با استفاده از لوله ترسیم کالیبره شده‌ای که روی میکروسکوپ نوری المپیوس نصب شده بود، صورت پذیرفت. پارامترهای اندازه گیری شده عبارت بودند از: طول بدن (L)، عرض بدن در ناحیه گره‌های استایلت، عرض بدن در ناحیه مخرج، طول استایلت، عرض قاعده استایلت، فاصله محل ریزش غده پشتی مری از زیرگره‌های استایلت (DGO)، طول مری میانی، طول دم، نسبت طول بدن به بزرگترین عرض بدن (a)، نسبت طول بدن به طول مری (b)، نسبت طول بدن به طول دم (c)، نسبت طول دم به عرض بدن در ناحیه مخرج (c)، ناحیه شفاف انتهای دم و بیشترین عرض بدن.

مشخصات مرفولوژیک: شکل استایلت، شکل و مشخصات شبکه کوتیکولی انتهای بدن ماده‌ها و شکل دم در لاروها از جمله مشخصات مرفولوژیکی بود که در تعیین گونه مورد استفاده قرار گرفتند. تست میزبان‌های افتراقی: جهت تعیین نژاد از تست میزبان‌های افتراقی استفاده شد (تریتسافیلو و ساسر، ۱۹۶۰). میزبان‌های افتراقی شامل بادام زمینی رقم Florunner، توتون رقم NC95، قلفل رقم California Wonder، پنبه رقم Delta pine 61، هندوانه رقم Charleston Grey و گوجه فرنگی رقم Redclud بود.

2. Dorsal Esophageal Gland Orifice

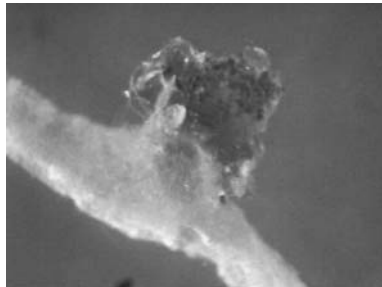
نتایج

مشخصات مرفولوژیک و مرفومتريک گونه *M. incognita* مشخصات مرفولوژیک و مرفومتريک ماده‌ها و لاروهای سن دوم در جدول (۱) ارایه شده‌اند که براساس آنها، گونه مزبور *M. incognita* تشخیص داده شد، که با شرح این گونه توسط جپسون (۱۹۸۷) مطابقت داشت.

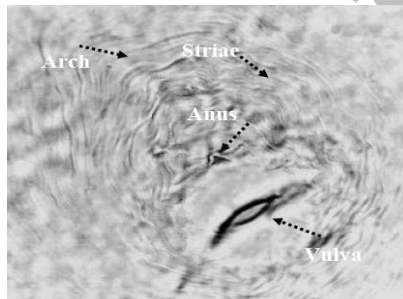
ماده: موقعیت تقریبی مخرج و شکاف تناسلی، نقش خطوط لایه مانند اطراف مخرج و شکاف تناسلی در ناحیه انتهایی بدن و نیز طول و شکل استایلت و شکل بدن در ماده‌های بالغ مورد بررسی قرار گرفتند. ماده‌های بالغ، متورم و کروی، گلابی یا سیبی شکل با گردن کشیده، کوتیکول ضخیم و نرم که به سمت قاعده استایلت از ضخامت آن کاسته می‌شود. استایلت مشخص، گره‌های استایلت گرد، قسمت مخروطی استایلت باریک و از طرف پشتی دارای خمیدگی است، قسمت استوانه‌ای آن مستقیم و در قسمت انتها پهن‌تر است. مری در آنها کاملاً توسعه یافته، منفذ ترش‌حی صاف، غدد مری رشد یافته و بخش ابتدایی روده را می‌پوشاند. دارای دو تخمدان رشد یافته هستند و شکاف تناسلی در انتهای بدن قرار دارد.

جدول ۱- مشخصات مرفولوژیک و مرفومتريک ماده‌ها و لاروهای سن دوم نژاد *M. incognita* جداسازی شده از منطقه گرگان.

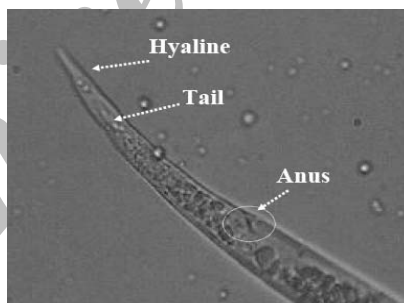
صفت	ماده	لارو سن دوم
تعداد	۱۰	۱۰
طول بدن	۶۲۲ (۵۱۲-۷۲۱)	۴۰۲/۷ (۳۷۳/۲-۴۱۲/۵)
عرض بدن در ناحیه گره‌های استایلت		۹/۵ (۸/۷-۱۰/۵)
عرض بدن در ناحیه مخرج		۱۰/۳ (۸/۹-۱۲/۳)
طول استایلت	۱۶/۵ (۱۶/۳-۱۶/۹)	۱۱/۸ (۱۰/۶-۱۲/۴)
عرض قاعده استایلت	۴/۴ (۳/۴-۴/۹)	
DGO	۳/۹ (۳/۳-۴/۱)	۲/۸ (۲/۵-۳/۱)
طول مری میانی	۴۴/۱ (۳۵/۱-۴۸/۲)	
عرض مری میانی	۴۲/۴ (۳۲/۷-۵۰/۹)	
طول دم		۵۲/۱ (۴۳/۹-۵۵/۴)
a		۴۹/۵ (۲۷/۲-۵۵/۵)
b		۵/۲ (۴/۸-۵/۴)
c		۸/۱ (۷/۶-۸/۷)
طول ناحیه شفاف انتهایی دم		۱۲/۹ (۱۰/۶-۱۴/۲)
c'		۵/۹ (۴/۸-۶/۲)
بیشترین عرض بدن	۴۱۴ (۲۳۱/۵-۵۲۲)	۱۴/۱ (۱۲/۱-۱۵/۵)
تعداد خطوط جانبی		۴



شکل ۱- توده تخم منفرد.



شکل ۲- شبکه کوتیکولی انتهای بدن نماتود ماده بالغ (X1000).



شکل ۳- مخرج، ناحیه دم و هیالین لارو سن دوم (X400).

لاروهای سن دوم: نخعی شکل و تقریباً ضعیف، بدنشان پس از تثبیت به صورت راست و کشیده درمی آید. از دید جانبی، سر در امتداد بدن به شکل مخروطی ناقص، گره‌های استایلت مشخص، گرد شده، در ناحیه جانبی دارای ۴ شیار طولی، رکتوم متورم شده، دم بلند و مخروطی شکل و انتهای آن گرد است. قسمت انتهای دم شفاف و با هیالین بلند می‌باشد (شکل ۳).

شبکه کوتیکولی انتهای بدن: با استفاده از کلید چپسون (۱۹۸۷) برش‌های شبکه کوتیکولی انتهای بدن در زیر میکروسکوپ مطالعه شد. نقش و نگار انتهای بدن از شکاف فرج، مخرج، انتهای دم و شیارهای کوتیکولی انتهای بدن که به صورت ساده و مضرس ناحیه تناسلی را در بر می‌گیرد تشکیل شده است. ناحیه تناسلی در این جنس صاف و تخت است. همچنین کمان پشتی شبکه کوتیکولی انتهای بدن، چهار گوش بلند است (شکل ۲). بنابراین، این جمعیت براساس مشخصات مرفولوژیک شبکه کوتیکولی انتهای بدن ماده‌ها، مشخصات مرفولوژیک و مرفومتري ماده‌ها، لاروهای سن دوم و همچنین، عکس‌العمل ميزبان‌های افتراقی، نژاد *M. incognita* ۲ تشخیص داده شد. در تست ميزبان‌های افتراقی، این گونه توانست روی توتون، گوجه‌فرنگی، فلفل و هندوانه به‌خوبی تکثیر یافته و غده ایجاد نماید، در حالی که پاسخ گیاهان پنبه و بادام‌زمینی به این گونه منفی بود.

بحث

طول استایلت در نماتودهای ماده جمعیت بررسی شده تفاوت‌هایی را با اندازه‌های ایسبک (۱۹۸۲) نشان می‌دهد، به‌طوری‌که طول استایلت در گونه شرح داده شده توسط ایسبک (۱۹۸۲)، ۱۴/۲ تا ۱۵/۶ میکرومتر بود، اما در گونه مورد بحث، ۱۶/۳ تا ۱۶/۹ میکرومتر اندازه‌گیری شد. در شرح این گونه توسط تنها معافی و مهدویان (۱۹۹۷)، طول استایلت نماتد ماده جداسازی شده از نهال‌های کیوی منطقه نور (۱۶) ۱۴ تا ۱۷، بابلسر (۱۷/۳۵) ۱۶ تا ۱۹ و سلمانشهر (۱۵/۸) ۱۵ تا ۱۷ میکرومتر بود. همچنین، فاصله محل ریزش غده پشتی مری از گره‌های استایلت در ماده‌های گونه مورد مطالعه، در منطقه نور (۴/۵۸) ۳ تا ۶، بابلسر (۵/۲) ۴ تا ۶ و سلمانشهر (۴/۶) ۴ تا ۵ میکرومتر اندازه‌گیری شد. دامنه تغییرات طول بدن ماده‌ها نسبت به شرح اصلی گونه بیشتر بود، به‌طوری‌که در شرح اصلی گونه، طول بدن ماده‌ها (۵۰۰ تا ۷۲۳) ۶۰۹ میکرومتر و در گونه مورد بحث طول بدن (۵۱۲ تا ۷۵۱) ۶۲۲ میکرومتر است. مشخصات شبکه کوتیکولی انتهای بدن ماده‌ها و اندازه‌های ماده‌ها و لاروهای سن دوم با مشخصات و اندازه‌ها گزارش شده که برای این گونه (چپسون، ۱۹۸۷)، مطابقت دارد. اندازه‌های مرفومتريک به‌ویژه طول دم و طول ناحیه شفاف انتهای دم در لاروهای سن دوم جمعیت بررسی شده با اندازه‌های چپسون (۱۹۸۷) تفاوت‌هایی را نشان می‌دهد، به‌طوری‌که در شرح اصلی گونه، طول دم (۴۵ تا ۵۲/۲) ۴۸/۷ میکرومتر و طول ناحیه شفاف انتهای دم (۶/۳ تا ۱۳/۵) ۸/۹ میکرومتر است، اما در گونه مورد بحث، طول دم (۴۳/۹ تا ۵۵/۴) ۵۲/۱ میکرومتر و طول ناحیه شفاف انتهای دم (۱۰/۶ تا ۱۴/۲) ۱۲/۹ میکرومتر اندازه‌گیری شد. در شرح این گونه توسط تنها معافی و مهدویان (۱۹۹۷)، طول ناحیه شفاف انتهای دم لارو سن دوم منطقه نور (۱۱/۸)

۱۰ تا ۱۴ میکرومتر، در بابلسر (۸/۷۵) تا ۱۱ و در سلمانشهر (۱۰/۵۸) تا ۸ تا ۱۴ میکرومتر اندازه‌گیری شده است. با توجه به آلودگی نواحی شمالی ایران از جمله گرگان به نماتوهای مولد گره ریشه و ایجاد کانون‌های بزرگ تولید نهال زیتون در این مناطق، حضور این بیمارگر را باید جدی تلقی کرد و از توسعه و اشاعه هر چه بیشتر نهال‌های آلوده به سایر نقاط کشور جلوگیری نمود.

منابع

1. Akhyani, A., Mojtahedi, H., and Naderi, A. 1984. Physiology Races Root-Knot Nematodes in Iran. *Plant pathology*, 20: 1-4. 57-70. (In Persian)
2. Barooti, Sh., and Alavi, A. 1994. *Plant nematology, the principles and pathogen nematodes and Iran quarantine*. Golden Press, 278p. (In Persian)
3. Castillo, P., Vovlas, N., Subbtin, S., and Troccoli, A. 2003. A New root-knot nematode, *Meloidogyne baetica* n. sp. (Nematoda: *Heteroderidae*), parasitizing wild olive in southern Spain. *Phytopathology*, 93: 1093-1102.
4. Eisenback, J.D. 1982. Morphological comparison of head shape and stylet morphology of second stage Juveniles of *Meloidogyne* species. *Journal of Nematology*, 14: 339-343.
5. Hasanabbasi, N.A. 1994. Olive the holy tree, wonderful with different uses. First congress of olive problems in Iran. Agricultural Organization of Gorgan and Gonbad, Pp: 29-49. (In Persian)
6. Hosseininejad, S.A., Tanhamafi, Z., and Barooti, Sh. 1997. Nematodes associated with olive trees (*Olea europaea*) in Iran. *Pest and Plant pathology*, 65: 46-53. (In Persian)
7. Hussey, R.S., and Barker, K.R. 1973. A comparison of methods of collecting inocula of *Meloidogyne* spp. including a new technique. *Plant Disease Report*, 57: 1025-1028.
8. Jepson, S. 1987. Identification of root-knot nematodes (*Meloidogyne* species). London, UK. C.A.B International, 293p.
9. Mahdikhani, E., Kheiri, A., Mohamadi, M., Eshtiyaghi, H., and Okhovat, M. 2003. Three new records of *Meloidogyne* species for Iran. *Iranian Journal of Plant pathology*, 39: 189-211. (In Persian)
10. Mahdikhani, E., Kheiri, A., and Okhovat, M. 1996. Morphological and morphometrical study of three endoparasitic nematodes of sugar beet in Mashhad region. *Iranian Journal of Plant pathology*, 32: 1-2. 1-8. (In Persian)
11. Sasser, J.N. 1972. Physiological variation in the genus *Meloidogyne* as determined by differential hosts. *Bulletin OEPP*, 6: 41-48.
12. Tanhamafi, Z., and Mahdavian, E. 1997. Identification of species and races of root-knot nematode (*Meloidogyne* spp.) on kiwifruit and effect of *M. incognita* on kiwifruit seedlings. *Pest and plant pathology*, 65: 1. 1-11. (In Persian)
13. Triantaphyllou, A.C., and Sasser, J.N. 1960. Variations in perineal patterns and host specificity of *Meloidogyne incognita*. *Phytopathology*, 50: 724-735.



Isolation of *Meloidogyne incognita* Author race 2 from Olive in Golestan area

*H. Haghighi¹, M. Mamaghani¹, S.E. Razavi²,
K. Ranama³ and A.H. Taheri³

¹Former M.Sc. Students, Dept. of Plant Pathology, Gorgan University of Agricultural Sciences and Natural Resources, ²Instructor, Dept. of Plant Pathology, Gorgan University of Agricultural Sciences and Natural Resources, ³Associate Prof., Dept. of Plant Pathology, Gorgan University of Agricultural Sciences and Natural Resources

Abstract

Root-knot nematodes are one of the limiting factors in seedling production and new olive gardens establishment in Iran. In view of find resistance cultivars to root-knot nematodes, importance of careful identification of species and races are clarified. In order to investigate root-knot nematodes on olive, soil and root samples of gardens and nursery in Gorgan area were collected. In this study, *Meloidogyne incognita* was identified based on females and second stage juvenils morphometrical and morphological characters. Stylet length, body length of female nematode, tail and hyaline length of second stage juveniles were shown some differences with original description. In original description, body length of females was 500 to 723 micrometer (609 micrometer average), whereas in under consideration species body length was (512-751) 622 micrometer. In original description tail length of second stage juveniles was (45-52.2) 48.7 micrometer and hyaline was (6.3-13.5) 8.9 micrometer while in investigated species tail length and hyaline were (43.9-55.4) 52.1 and (10.6-14.2) 12.9 micrometer, respectively. In response to differential hosts, the nematode showed a good multiply on tobacco, tomato, pepper and watermelon plants and able to produce knot whereas response cotton and peanut plants were negative. On the basis of morphological and morphometrical characteristics of matured female, perineal pattern, second stage juveniles, and response to differential hosts of *M. incognita* race 2 was detected.

Keywords: Olive, *Meloidogyne incognita*, Race 2, Gorgan

* Corresponding Author; Email: haghighi_karizak@yahoo.com