

بررسی تأثیر تنش خشکی بر بقای نماتودهای مولد زخم ریشه غلات
(*Pratylenchus neglectus* و *P. thornei*) در آزمایشگاه، گلخانه و شرایط طبیعی*

THE EFFECT OF WATER STRESS ON THE SURVIVAL OF COMMON
CEREAL ROOT-LESION NEMATODES (*Pratylenchus neglectus*
AND *P. thornei*), UNDER LABORATORY, GREENHOUSE,
MICROPLATS AND FIELD CONDITIONS

رضا قادری^۱ و اکبر کارگریده^{۲*}

(تاریخ دریافت: ۱۳۸۹/۴/۷؛ تاریخ پذیرش: ۱۳۸۹/۱۲/۱۸)

چکیده

گونه‌های *Pratylenchus neglectus* و *P. thornei* نماتودهای رایج مولد زخم ریشه در مزارع گندم آبی و ذرت منطقه مرودشت (فارس) هستند. غیرفعال شدن این نماتودها در شرایط وقوع تنش خشکی و فعالیت مجدد در شرایط مساعد، یک راه‌کار بسیار مهم برای بقای آنها محسوب می‌شود. در این تحقیق، تأثیر تنش خشکی بر بقای نماتودهای مولد زخم ریشه در شرایط آزمایشگاه، گلخانه، میکروپلات و مزرعه مورد بررسی قرار گرفت. نتایج مطالعه در آزمایشگاه نشان داد زمانی که خاک خشک دارای نماتودهای غیرفعال، مرطوب شود و به مدت ۷۲ ساعت در دمای ۲۵°C باقی بماند، بیشترین درصد نماتودها فعال می‌شوند. در گلخانه بعد از چهار ماه، ۸۶/۳٪ نماتودهای گونه *P. neglectus* در لایه چهار سانتی‌متری خاک هواخشک زنده ماندند. در شرایط میکروپلات طی مدت هشت ماه، جمعیت دو گونه بدون دریافت بارندگی تغییرات زیادی نداشته ولی در حالت دریافت بارندگی به شدت کاهش نشان داد. در شرایط مزرعه، تمام مراحل زندگی نماتد توانستند به حالت غیرفعال درآیند. این حالت از نظر حفظ جمعیت و بقای نماتودهای مولد زخم ریشه طی فرآیندهای تابستان‌گذرانی و زمستان‌گذرانی در منطقه مرودشت دارای اهمیت است.

واژه‌های کلیدی: بقا، انگل گیاهی، تنش خشکی، *Pratylenchidae*. anhydrobiosis

*: بخشی از پایان‌نامه کارشناسی ارشد نگارنده اول، ارائه شده به دانشکده کشاورزی، دانشگاه شیراز

** : مسئول مکاتبات، پست الکترونیکی: karegar@shirazu.ac.ir

۱. دانشجوی سابق کارشناسی ارشد و دانشجوی دکتری، دانشکده کشاورزی، دانشگاه شیراز

۲. دانشیار بیماری‌شناسی گیاهی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه شیراز

مقدمه

درآمدند (Glazer & Orion 1983).

در شرایط گلخانه، تعداد نماتودهای گونه *P. neglectus* در غیاب میزبان بعد از پنج هفته به سرعت کاهش یافته و بعد از آن روند میزان کاهش آهسته‌تر شد. این کاهش جمعیت در دمای 30°C بیشتر از 10°C و 20°C بود، در حالی که در 40°C بعد از دو هفته نماتود زنده‌ای مشاهده نگردید. کاهش رطوبت خاک از ۱۹/۵ به ۵٪، باعث از بین رفتن ۷۸/۷٪ نماتودها گردید (Baxter & Blake 1968). در مطالعه دیگر، هنگامی که رطوبت خاک در حد ظرفیت مزرعه‌ای (۲۴٪) حفظ شد، جمعیت به شدت کاهش یافته و نماتودها بعد از یک ماه از بین رفتند. در رطوبت‌های پایین‌تر، کاهش جمعیت روند آهسته‌تری داشته و جمعیت بعد از نه ماه بیش از ۵۰٪ و بعد از ۱۵ ماه بیش از ۲۰٪ جمعیت اولیه بود. بیشترین میزان دوام نماتود در دمای 2°C اتفاق افتاد که با افزایش دما کاهش یافت. نماتود دماهای زیر صفر درجه را نتوانست تحمل نماید. ماده‌ها و لاروهای سن چهار بیشتر از لاروهای سن دو و سه دوام یافتند (Townshend & Anderson 1976). در یک مطالعه دیگر بررسی دوام *P. penetrans* در دو خاک لومی و شنی لومی نشان داد زمانی که رطوبت در دو خاک مورد آزمایش ۵/۲ و ۳/۳ درصد باشد، به ترتیب ۶۱ و ۷۴ درصد نماتودها در حالت غیر فعال قرار می‌گیرند (Townshend 1984).

مدت زمان بقای این گروه از نماتودها با توجه به شرایط آب و هوایی در مناطق مختلف متفاوت است. در مورد وضعیت بقاء این نماتودها در ایران اطلاعی در دست نیست. با توجه به گسترش آلودگی مزارع گندم منطقه مرودشت به نماتودهای *P. thornei* و *P. neglectus*، میزان پراکنش و اهمیت این نماتودها در مزارع غلات

بسیاری از نماتودها در واکنش به تنش‌های محیطی قادرند با انجام یک سری تغییرات بیولوژیکی و متابولیکی، شرایط نامساعد را تحمل کنند. به طور کلی بقا در نماتودها به دو حالت *Dormancy* و *Cryptobiosis* می‌باشد. در حالت اول متابولیسم نماتد قابل اندازه‌گیری ولی در حالت دوم غیرقابل اندازه‌گیری است. حالت *Cryptobiosis* در اثر عوامل مختلفی مانند کاهش یا افزایش دما، شوری، کمبود اکسیژن و کمبود رطوبت اتفاق می‌افتد. تنش خشکی منجر به اتخاذ شیوه‌ای از زندگی توسط نماتود می‌شود که زندگی بدون آب (*Anhydrobiosis*) خوانده می‌شود (Wharton 2002). زندگی بدون آب به عنوان یک راه‌کار برای حفظ جمعیت *P. thornei* و *P. neglectus* در شرایط تنش خشکی محسوب می‌شود (Townshend & Anderson 1976; Glazer & Orion 1983).

شمارش جمعیت نماتودهای *Merlinus brevidens* و *P. thornei* بعد از سه ماه در ریشه ارقام مختلف گندم و چند میزبان دیگر نشان داد وقتی که میزبان مناسب کشت گردد، نماتودها تنش خشکی بعد از برداشت محصول را بهتر تحمل می‌کنند (Talavera & Valor 2000). در یک بررسی دیگر مشخص گردید که درصد زیادی از جمعیت *P. thornei* خشکی تابستان را در دشت نجف عراق تحمل نموده و در ابتدای فصل بارانی دو باره فعالیت کامل خود را به دست می‌آورد. برای اثبات این نوع تابستان‌گذرانی (زندگی بدون آب)، تمام مراحل زندگی نماتود در معرض سری‌های کاهش رطوبت با استفاده از محلول‌های آبی گلیسرین قرار گرفتند. در رطوبت نسبی ۹۷/۷٪ نماتودها به حالت پیچ خورده درآمده و قادر بودند تا رطوبت نسبی صفر درصد بقاء یابند. حدود ۴۰٪ نماتودها با افزایش تدریجی رطوبت دوباره به حالت فعال

بود. مزرعه آلوده به *P. neglectus* بعد از برداشت گندم پاییزه در تیر ماه ۸۴، به مدت یک سال به حالت آیش باقی مانده بود. استخراج نماتودها با روش سینی و تکمیل شده دگریسه نشان داد که تقریباً تمامی نماتوهای این مزارع به حالت غیرفعال قرار دارند. تمام بررسی‌های آزمایشگاه، گلخانه و میکروپلات در فاصله زمانی بین مهر ۸۵ تا تیر ۸۶ به شرح زیر انجام گرفت.

۱- آزمایشگاه

۱-۱- اثر مدت زمان مرطوب کردن خاک بر روی فعال شدن نماتوهای غیر فعال:

در ۱۸ ظرف پلاستیکی هر کدام ۱۰۰ سی‌سی از خاک آلوده به *P. thornei* ریخته و رطوبت خاک با اضافه کردن ۳۰ میلی‌لیتر آب به هر ظرف از ۳/۱ به ۱۹/۱ رسانیده شد. آزمایش در قالب طرح بلوک‌های کامل تصادفی با سه تکرار و تیمارهای صفر، ۲۴، ۴۸، ۷۲، ۹۶ و ۱۲۰ ساعت نگهداری بعد از مرطوب کردن خاک انجام گرفت. بعد از گذشت زمان لازم، استخراج نماتودها با روش سینی به مدت ۲۴ ساعت صورت گرفته و نماتوهای استخراج شده شمارش شد. از خاک روی صافی‌های مربوط به تیمار ۱۲۰ ساعت رطوبت، استخراج نماتودها با روش تکمیل شده دگریسه صورت گرفت تا تعداد کل نماتودها و نماتوهایی که فعال نشده‌اند مشخص شود.

۱-۲- اثر دما بر روی فعال شدن نماتوهای غیر فعال

خاک آلوده به *P. thornei* حاوی نماتوهای غیر فعال در ۲۴ ظرف پلاستیکی ریخته شد. به هر ظرف حاوی ۱۰۰ سی‌سی خاک ۳۰ میلی‌لیتر آب اضافه شده و رطوبت آن از ۳/۱ به ۱۹/۱ رسانیده شد. آزمایش در قالب طرح

مروودشت تعیین شده است (Ghaderi et al. 2009a, 2009b). ولی بسیاری از جنبه‌های مرتبط با بقای این نماتودها در این مزارع ناشناخته باقی مانده است. در دو مطالعه مذکور مشخص شد تعداد بسیار کمی از نماتوهای مولد زخم ریشه با روش سینی (Whithead & Hemming 1965) از خاک‌های خشک استخراج می‌شود، در حالی که تعداد نماتود بیشتری پس از استخراج همان خاک با روش تکمیل شده دگریسه (De Grisse 1969) و یا خاک مرطوب شده با روش سینی قابل ردیابی بود. این امر بیانگر غیر فعال شدن تعدادی از نماتودها در نمونه خاک و فعال شدن مجدد آنها پس از جذب رطوبت بود. همچنین دمای بالا یا پایین ممکن است باعث غیرفعال شدن نماتودها گردد. نکته بسیار مهم دیگر، توانایی نماتوهای غیر فعال برای فعالیت مجدد و نفوذ به درون ریشه بعد از برطرف شدن تنش خشکی و کشت میزبان مناسب است. بنابراین تحقیق حاضر به منظور درک بهتر دینامیک جمعیت نماتوهای مولد زخم ریشه در شرایط تنش خشکی در مزارع غلات مروودشت انجام شد.

روش بررسی

برای انجام تحقیق، از خاک دو مزرعه آلوده به *P. thornei* و *P. neglectus* به ترتیب واقع در جنب ایستگاه کشاورزی کوشک مروودشت (بافت لومی شنی، ۵۹/۴٪ شن، ۲۶٪ سیلت، ۱۴/۶٪ رس، Ec برابر ۰/۷۷۳ ds/m و pH برابر ۷/۴۷) و دانشکده کشاورزی دانشگاه شیراز (بافت لومی شنی، ۶۱/۴٪ شن، ۳۱٪ سیلت، ۷/۶٪ رس، Ec برابر ۰/۹۹۷ ds/m و pH برابر ۷/۳۵) استفاده شد. گندم پاییزه در مزرعه آلوده به *P. thornei* نیمه دوم تیر ماه ۸۵ برداشت شده و مزرعه در تابستان به حالت آیش

درون کیسه‌های پلاستیکی داخل لوله‌ها ریخته شد. برای هر گونه شش لوله در نظر گرفته که سه تا از آنها به حالت در باز (با دریافت بارندگی) و سه تای دیگر به حالت در بسته (بدون دریافت بارندگی) نگهداری شدند. آزمایش از آبان ماه ۸۵ شروع و تا تیر ماه ۸۶ ادامه یافت. شمارش جمعیت نماتودها از زمان شروع آزمایش هر دو ماه یک بار در ۱۰۰ سی‌سی خاک از هر تکرار انجام گرفت. جمعیت اولیه نماتودهای مولد زخم ریشه و درصد نماتودهای فعال در زمان شروع آزمایش از طریق استخراج نماتودها با دو روش سینی و تکمیل شده دگریسه به دست آمد. درصد رطوبت وزنی خاک بعد از مخلوط کردن نمونه‌های خاک با همان روش توضیح داده شده در آزمایش گلخانه برای هر تیمار تعیین گردید.

در آخرین نوبت نمونه‌برداری به منظور تعیین درصد فعالیت مجدد نماتودها، استخراج تکرارهای لوله‌های در بسته با روش تکمیل شده دگریسه انجام و نماتودها در یک لایه نازک آب درون تشتک‌های شش سانتی‌متری در دمای 25°C نگهداری شدند. برای هر گونه سه تکرار در نظر گرفته شد. شمارش کل نماتودها و نماتودهای فعال، ۷۲ و ۱۲۰ ساعت بعد از استخراج انجام شد.

۴- مزارع آلوده مرودشت

۴-۱- تغییرات جمعیت نماتودهای مولد زخم ریشه در سه مزرعه آیش

در یک مزرعه آلوده به *P. thornei* و دو مزرعه آلوده به *P. neglectus*، تغییرات جمعیت تابستان‌گذران نماتود با انجام دو نوبت نمونه‌برداری در تیر و آبان سال ۱۳۸۵ اندازه‌گیری شد. تعداد نماتودهای مولد زخم ریشه با روش سینی پس از مرطوب کردن خاک یک نمونه اصلی از

بلوک‌های کامل تصادفی با هشت تیمار و سه تکرار انجام گرفت. نمونه‌های خاک در دماهای صفر، ۹، ۱۵، ۲۰، ۲۵، ۳۰، ۳۵ و 40°C به مدت ۷۲ ساعت نگهداری شده و بعد از گذشت زمان لازم، استخراج نماتودها با روش سینی صورت گرفته و پس از ۲۴ ساعت نماتودهای استخراج شده جمع‌آوری و شمارش شدند. به منظور تعیین تعداد کل نماتودها در خاک، استخراج نماتودها در سه نمونه ۱۰۰ سی‌سی خاک با روش تکمیل شده دگریسه انجام و بر اساس آن درصد نماتودهای فعال در هر تیمار تعیین گردید.

۲- گلخانه

مقداری خاک مزرعه آلوده به *P. neglectus* در یک سینی به صورت یک لایه چهار سانتی‌متری پخش گردید. سینی در گلخانه با دمای ۲۰-۳۰ درجه سانتی‌گراد به مدت چهار ماه نگهداری شده تا به تدریج رطوبت آن کاهش یابد. شمارش نماتودهای مولد زخم در زمان شروع آزمایش و چهار ماه بعد انجام شد. برای این کار در هر نوبت، چهار نمونه خاک هر کدام به حجم ۱۰۰ سی‌سی برداشته شده و استخراج از سه نمونه با روش تکمیل شده دگریسه صورت گرفت. وزن نمونه چهارم قبل و بعد از نگهداری در آون با دمای 150°C به مدت ۲۴ ساعت اندازه‌گیری و بر اساس آن درصد رطوبت وزنی خاک تعیین شد.

۳- میکروپلات

تعداد ۱۲ لوله پلی‌اتیلنی با قطر ۱۵ سانتی‌متر و ارتفاع ۴۰ سانتی‌متر به صورت عمودی درون گودال‌های حفر شده درون خاک قرار داده و اطراف آنها با خاک پوشانده شد، به نحوی که پنج سانتی‌متر لوله‌ها خارج از خاک باشد. خاک دو مزرعه آلوده به *P. neglectus* و *P. thornei*

نماتودها بر اساس روش تونشند (Townshend 1984) از خاک دو مزرعه آلوده استخراج شدند. ۵۰ گرم از خاک مورد نظر به آرامی درون بشر حاوی ۲۰۰ سی سی فرمالین با دمای حدود 40°C ریخته شد. سوسپانسیون حاصله ابتدا در ۴۰۰۰ دور به مدت ۵ دقیقه سانتریفیوژ شده و در مرحله دوم بعد از حذف قسمت رویی در لوله‌ها و اضافه کردن محلول شکر، به مدت یک دقیقه در ۱۰۰۰ دور سانتریفیوژ شد. قسمت رویی داخل لوله‌ها بعد از عبور از الک ۵۰۰ مش در زیر جریان آب به درون یک تشتک پتری شش سانتی‌متری منتقل گردید. در این حالت نماتودهای غیر فعال به درجات مختلف به حالت ماریپیچی در آمده و از نماتودهای فعال متمایز می‌شوند. پس از تثبیت و تهیه اسلایدهای دائمی از نماتودهای غیر فعال، تغییرات ریخت‌شناسی و ساختاری بدن آنها بررسی و با نماتودهای فعال مقایسه گردید.

۴-۴- فعالیت و بیماری‌زایی نماتودهای غیر فعال پس از

کشت میزبان

خاک دو مزرعه آلوده به *P. neglectus* و *P. thornei* که به علت آیش در تابستان دارای نماتودهای غیر فعال بودند، هر کدام در ۱۵ گلدان رسی به حجم سه لیتر ریخته شده و در هر گلدان سه عدد بذر گندم رقم فلات ضدعفونی شده با هیپوکلریت سدیم ۰/۵٪ کاشته شد. تعداد کل نماتودها در خاک (استخراج با روش تکمیل شده دگریسه) و نماتودهای فعال (روش سینی) در زمان شروع آزمایش تعیین شد. گلدان‌ها در گلخانه با دمای 20°C - 25°C نگهداری شده و هر سه روز یکبار آبیاری شدند. شمارش نماتودها به فواصل یک هفته و تا یک ماه بعد از کشت گندم انجام گردید. استخراج نماتودها در هر تکرار از ۱۰۰ سی سی خاک با روش سینی انجام شد. یک گرم ریشه نیز

مخلوط پنجاه نمونه (پنج ردیف و در هر ردیف ده نقطه) تعیین شد. در تیر ماه سال ۱۳۸۵ در هر سه مزرعه، گندم پاییزه سال قبل برداشت گردید. در مزرعه آلوده به *P. thornei* زمین شخم زده شد، در یکی از دو مزرعه دیگر آلوده به *P. neglectus* کاه و کلش باقیمانده گندم در زمین ۱ سوزانده ولی در مزرعه ۲ هیچ‌گونه عملیاتی انجام نشد. تابستان هیچ محصولی در این مزارع کشت نشد. جهت بررسی تأثیر زمستان‌گذرانی روی جمعیت نماتود، نمونه‌برداری از هر سه مزرعه آلوده در خرداد ۱۳۸۶ انجام گرفت. ضمناً مزرعه آلوده به *P. thornei* تا خرداد ۸۶ که نمونه‌برداری بعدی در آن انجام گرفت به همان حالت آیش باقی ماند، ولی در دو مزرعه آلوده به *P. neglectus* (مزارع ۱ و ۲) به ترتیب چغندر و یونجه کشت شد.

۴-۲- تعیین مراحل زندگی نماتود در حالت غیر فعال

در مهر ماه ۱۳۸۵، بعد از استخراج نماتودهای موجود در ۱۰۰ سی سی خاک یک مزرعه آلوده به *P. neglectus* و یک مزرعه آلوده به *P. thornei* با روش تکمیل شده دگریسه، از هر گونه به صورت تصادفی اسلاید دائمی تهیه و با استفاده از میکروسکوپ نوری، تعداد نماتودهای ماده هر گونه تعیین گردید. در مورد هر گونه پنج عدد نماتود ماده و ۱۵ عدد لارو به صورت تصادفی ترسیم شده و شاخص‌های طول بدن، طول استایلت، طول دم، بیشترین عرض بدن، عرض بدن در ناحیه روزنه دفعی و هم‌چنین شاخص‌های *a*، *c* و *c'* در آنها اندازه‌گیری گردید. در نهایت بر اساس این اندازه‌ها و میزان رشد سیستم تولید مثل، مرحله لاروی هر نماتود تعیین شد.

۴-۳- بررسی تغییرات ریخت‌شناسی بدن نماتودهای غیر فعال

رطوبت لایه خاک در طول دوره این بررسی از ۱۵/۳ درصد در زمان شروع آزمایش به ۳/۸ درصد در انتهای آزمایش رسید. با این وجود جمعیت نماتود کاهش چندانی نشان نداده و اغلب نماتودها (۸۶/۳٪) زنده باقی ماندند (شکل ۳). بررسی تحرک و فعالیت نماتودهای استخراج شده از خاک در انتهای آزمایش (نوبت دوم نمونه‌برداری) نشان داد که اغلب نماتودهای مولد زخم ریشه به حالت غیر فعال قرار داشته، ولی بعد از باقی ماندن در آب به تدریج دوباره فعال می‌شوند، به طوری که ۲۴ و ۷۲ ساعت پس از استخراج از خاک، به ترتیب ۵۷/۸ و ۸۰/۸٪ نماتودها دوباره فعال شدند.

۳- میکروپلات

بارندگی در منطقه به صورت پراکنده از آذر ماه ۸۵ شروع شده، در ماه‌های زمستان ۸۵ و فروردین ۸۶ تداوم داشت ولی پس از آن میزان بارندگی بسیار پایین بود. بررسی بقای نماتود در شرایط طبیعی در دو حالت دریافت بارندگی (مرطوب) و بدون دریافت بارندگی (خشک) نشان داد که در حالت خشک، جمعیت نماتود تغییرات زیادی نداشته ولی در حالت مرطوب جمعیت در نوبت‌های نمونه‌برداری دی و اسفند کاهش چشمگیری نشان داد و بعد از آن نیز تعداد نماتودها به تدریج کاهش یافت (شکل‌های ۴ و ۵). در آخرین نوبت نمونه‌برداری نیز، بعد از ۷۲ و ۱۲۰ ساعت به ترتیب ۵۰/۸ و ۵۷/۱٪ نماتودهای گونه *P. neglectus* و ۲۹/۳ و ۴۲/۱ نماتودهای گونه *P. thornei* دوباره فعال شدند.

نماتودها در تیمار بدون دریافت بارندگی تا اتمام آزمایش به حالت غیر فعال بودند ولی در تیمار با دریافت

با محلول اسید فوشین-لاکتوفنل (به نسبت ۱ به ۱۹) رنگ‌آمیزی شده و پس از رنگ‌بری بافت با لاکتوفنل، نماتودهای درون ریشه شمارش گردید. در نهایت منحنی تغییرات جمعیت در خاک و ریشه گندم ترسیم شد.

۵- تجزیه و تحلیل آماری داده‌ها

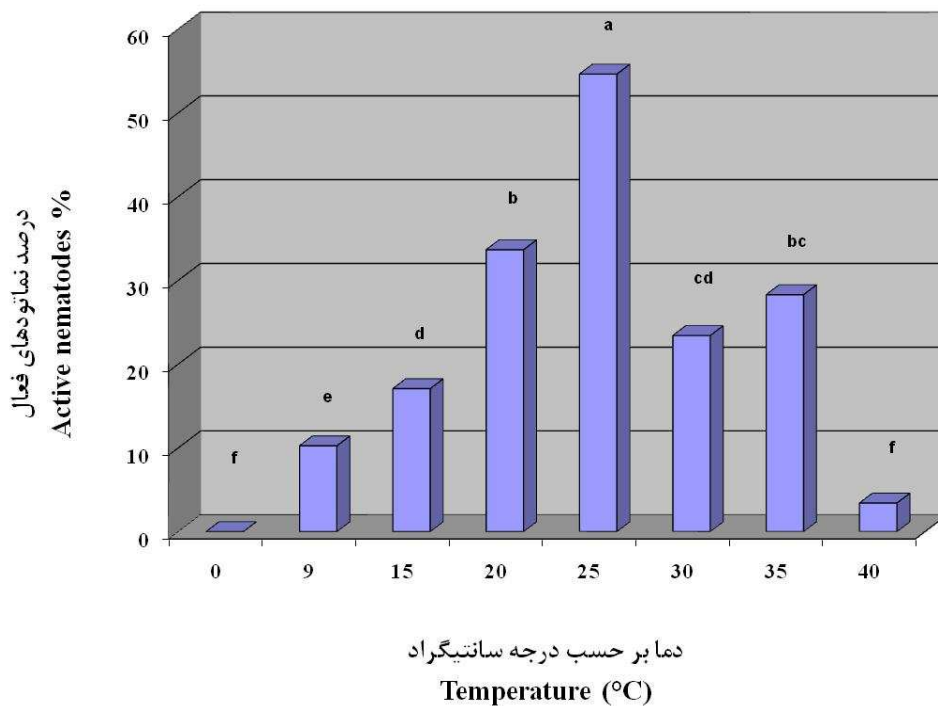
در تمامی شمارش‌های انجام گرفته در این تحقیق، برای هر تکرار، سوسپانسیون نهایی به حجم ۱۰ میلی‌لیتر رسانده شده و سپس شمارش تعداد نماتودهای مولد زخم در دو میلی‌لیتر از آن که با دمیدن هوا یک‌نواخت شده بود، در سه نوبت انجام گرفت. در نهایت داده‌های به دست آمده (هر تکرار سه داده) با استفاده از برنامه نرم‌افزاری MSTATC تجزیه آماری شده و میانگین‌ها با آزمون چند دامنه‌ای دانکن با هم مقایسه شدند. پس از تجزیه و تحلیل داده‌ها، در هر آزمایش تیمارها از نظر معنی‌داری در سطح ۱٪ بررسی شدند.

نتایج و بحث

۱- آزمایشگاه

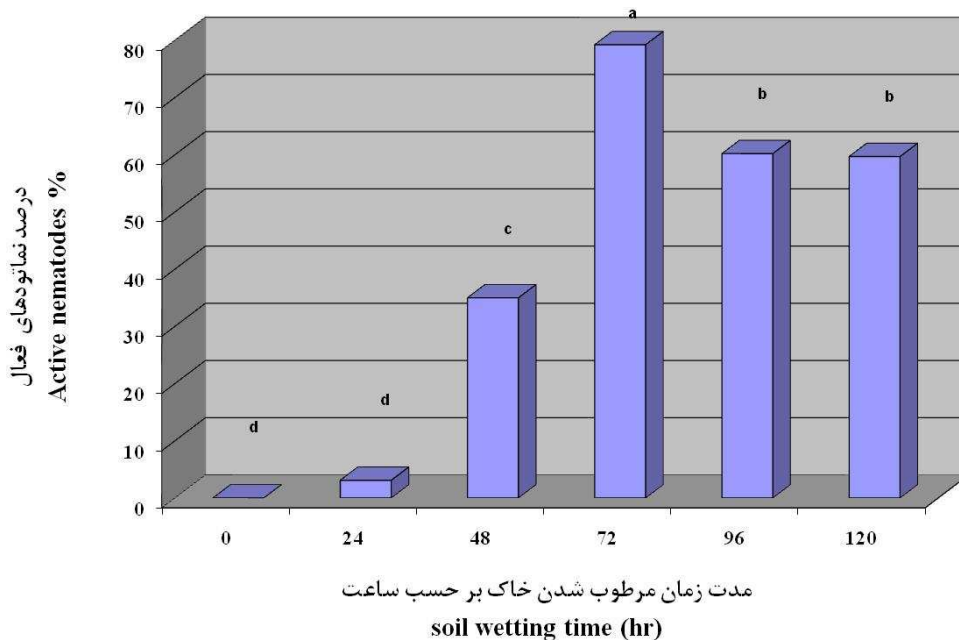
نتایج نشان داد به منظور استخراج بهینه نماتودهای مولد زخم ریشه، لازم است خاک مورد نظر با اضافه کردن آب در حد ظرفیت مزرعه‌ای حداقل به مدت ۷۲ ساعت قبل از استخراج به حالت مرطوب مانده تا نماتودهای موجود در آن به حالت فعال درآیند. بررسی اثر دما نیز نشان داد که بیشترین فعالیت نماتود در دمای ۲۵°C صورت می‌گیرد. در دماهای صفر و ۴۰°C حتی با وجود رطوبت مناسب، نماتودها فعال نشده و به همان حالت غیر فعال باقی می‌مانند (شکل‌های ۱ و ۲).

۲- گلخانه



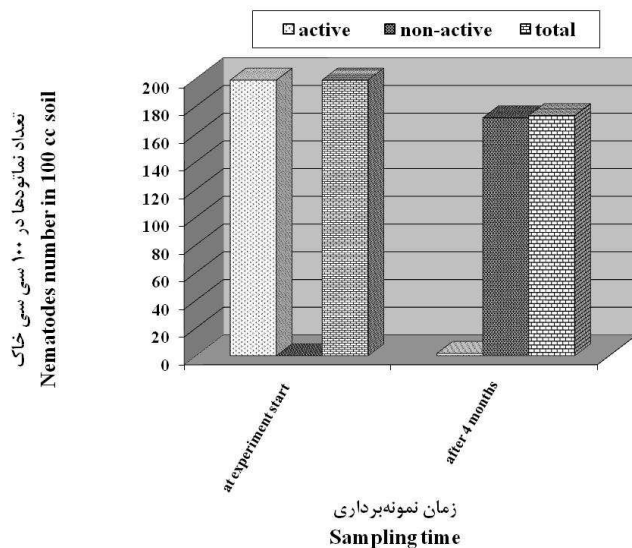
شکل ۱. تأثیر دما روی فعال شدن نماتوهای غیر فعال *Pratylenchus thornei* در خاک (هر تیمار میانگین سه تکرار و هر تکرار شامل سه داده، سطح معنی داری داده‌ها ۱٪ می‌باشد).

Fig. 1. The effect of temperature on activation rate of anhydrobioted *Pratylenchus thornei* (each treatment is the average of three replicates and each replicate include three data, $\alpha = 0.01$).

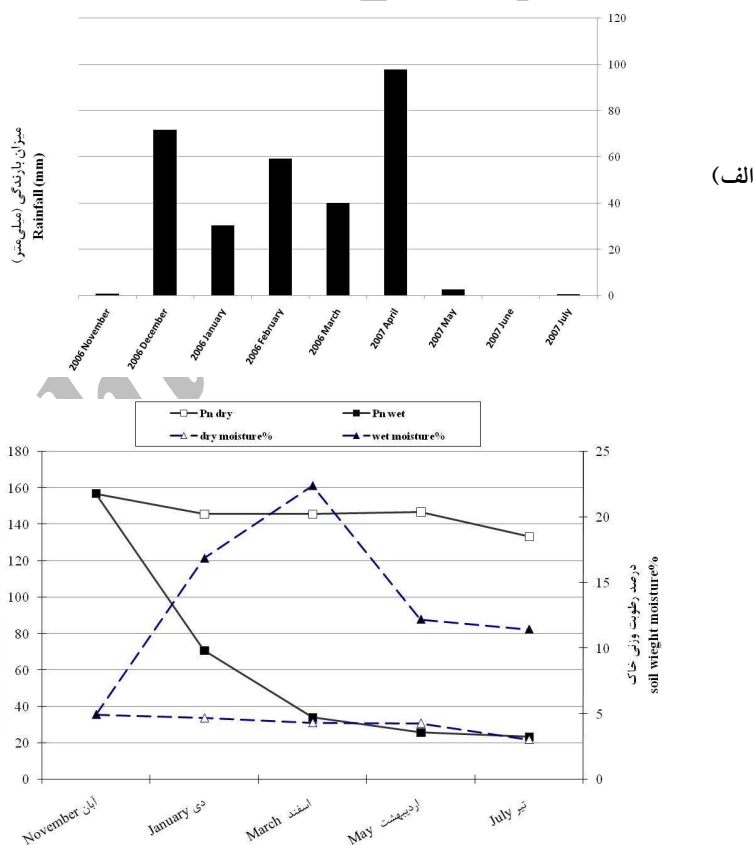


شکل ۲. تأثیر مدت زمان مرطوب شدن خاک بر فعال شدن نماتوهای غیر فعال *Pratylenchus thornei* (هر تیمار میانگین سه تکرار و هر تکرار شامل سه داده، سطح معنی داری داده‌ها ۱٪ می‌باشد).

Fig. 2. The effect of wetness duration on the activation rate of anhydrobioted *Pratylenchus thornei* (each treatment is the average of three replicates and each replicate include three data, $\alpha = 0.01$).

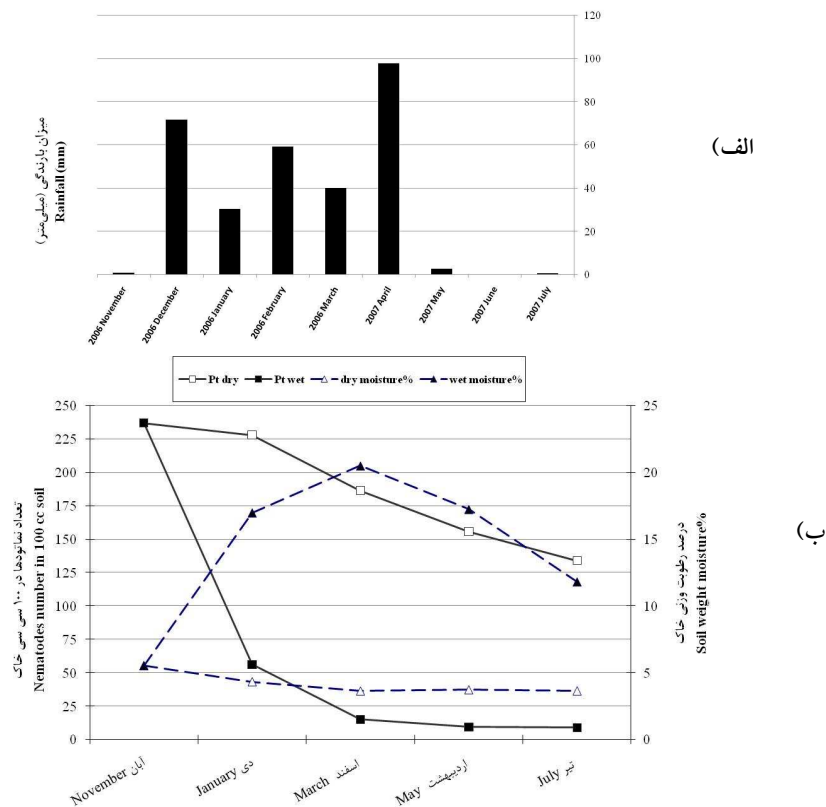


شکل ۳. تغییرات جمعیت *Pratylenchus neglectus* در خاک هوا خشک به صورت لایه چهار سانتی متری خاک در شرایط گلخانه. **Fig. 3. Changes in *Pratylenchus neglectus* population in 4cm air-dried soil layer under greenhouse condition.**



شکل ۴. الف: میزان بارندگی در طول اجرای آزمایش؛ ب: تغییرات جمعیت *Pratylenchus neglectus* در خاک آلوده بدون حضور میزبان در شرایط میکروپلات در دو حالت بدون بارندگی و با بارندگی.

Fig. 4. A: Rainfall in the during of experiment; B: Changes in population of *Pratylenchus neglectus* in two dry and wet soil conditions without host in microplats.



شکل ۵. الف: میزان بارندگی در طول اجرای آزمایش؛ ب: تغییرات جمعیت *Pratylenchus thornei* در خاک آلوده بدون حضور میزبان در شرایط میکروپلات در دو حالت بدون بارندگی و با بارندگی.

Fig. 5. A: Rainfall in the during of experiment; B: Changes in population of *Pratylenchus thornei* in two dry and wet soil conditions without host in microplats.

نشان داد که جمعیت نماتود در گلدان‌هایی که هر چهار روز یکبار آبیاری می‌شدند (میانگین فاکتور تولید مثل در دو نوبت آزمایش برابر با ۰/۸۷) نسبت به گلدان‌های بدون آبیاری (میانگین فاکتور تولید مثل در دو نوبت آزمایش برابر با ۰/۹۴) کمتر بود ولی اختلاف بین دو حالت به اندازه اختلاف مشاهده شده در این تحقیق نیست. در مزارع بررسی شده در تحقیق حاضر مشخص شد که به ترتیب ۶۷/۳ و ۳۰/۱ درصد جمعیت اولیه گونه‌های *P. neglectus* و *P. thornei* قادر به زمستان‌گذرانی در مزارع آیش یا مزارع دارای میزبان نامناسب هستند. در تحقیق حاضر، نمونه‌برداری تا عمق حدود ۲۵ سانتی‌متری

بارندگی، به دلیل وقوع بارندگی‌های پراکنده در طی ماه‌های آذر تا فروردین، احتمالاً چندین بار به حالت فعال درآمده و سپس به دلیل خشک شدن تدریجی خاک ناشی از عدم بارندگی در مدت چند هفته و عدم وجود میزبان، دوباره وارد حالت غیر فعال شده‌اند. قبلاً مشخص شده که چرخه‌های تناوبی فعال- غیر فعال شدن نماتودها مقادیر زیادی از انرژی آنها را مصرف می‌کند (Glazer & Orion 1983). بنابراین اگر ذخایر غذایی در اختیار نماتود نباشد، بسیاری از نماتودها در نوبت‌های بعدی قادر به ورود به مرحله غیر فعال نبوده و در نهایت می‌میرند. مطالعه قبلی (Ghaderi et al. 2009a) در شرایط گلخانه

وجود دارد (جدول ۲). بنابراین می‌توان نتیجه گرفت که تمام مراحل متحرک گونه‌های *P. thornei* و *P. neglectus* قادرند در مزارع مرودشت در واکنش به تنش آبی غیر فعال شده و وارد مرحله anhydrobiosis گردند. در بررسی‌های قبلی نیز بیان شده که نماتودهای ماده و لاروهای سن چهار *P. penetrans* گرچه بیشترین مرحله زمستان‌گذران نماتود را تشکیل می‌دهند ولی تمام مراحل به حالت غیرفعال درمی‌آیند (MacGuidwin & Forge 1991). در گونه *P. thornei* نیز تمام مراحل زندگی قادر به ورود به حالت غیر فعال هستند (Glazer & Orion 1983).

۴-۳- بررسی تغییرات ریخت‌شناسی بدن نماتودهای غیرفعال

یکسری تغییرات ریخت‌شناسی در نماتودهای غیرفعال مشاهده گردید. بدن آنها به درجات مختلف به حالت ماریچی درآمده، دیواره بدن چروکیده شده، مری به حالت نامنظم درآمده و در قسمت ابتدای بدن جمع گردید. حباب میانی مری نیز به شدت دچار تغییرات شد به طوری که دریچه حباب میانی به وضوح دیده نمی‌شود. تغییرات مشخصی در روده دیده نشد، ولی بعد از جذب آب یکسری واکوئل تشکیل شد. ظاهراً حالت پیچ‌خوردگی فرم عمومی حفاظت در نماتودهای غیر فعال است. این حالت باعث می‌شود نماتود به کمترین میزان در معرض محیط خارجی قرار گیرد. کوتیکول در طی این فرآیند تغییری پیدا نمی‌کند، ولی ماهیچه‌های طولی دچار تغییراتی می‌شوند که خشک شدن مایعات درون حفره عمومی کاذب، می‌تواند دلیل احتمالی آن باشد. تشکیل واکوئل‌ها در روده نیز احتمالاً به دلیل مصرف شدن قسمت زیادی از مواد غذایی روده و نشان‌دهنده گرسنگی نماتود است (Glazer & Orion 1983).

از لوله‌های پلی‌اتیلنی انجام گرفت و بنابراین ممکن است درصدی از کاهش جمعیت نماتود به دلیل خاکشویی بر اثر بارندگی و یا حرکت نماتود به سمت عمق خاک باشد.

۴-۲- مزارع آلوده مرودشت

۴-۱- تغییرات جمعیت نماتودهای مولد زخم ریشه در سه مزرعه آیش

نتایج نشان داد که درصد زیادی از نماتودهای مولد زخم ریشه، شرایط نامساعدی مانند شخم زمین بعد از برداشت، سوزاندن بقایای گیاه، کاهش رطوبت خاک و افزایش دما را در فصل تابستان تحمل نموده و جمعیت آنها در مزارع حفظ می‌شود (جدول ۱). استخراج نماتودها با روش سینی و تکمیل شده دگریسه نشان داد که اغلب نماتودهای موجود در خاک این مزارع به حالت غیر فعال درآمده‌اند. در هر سه مزرعه درصد تابستان‌گذرانی بیشتر از درصد زمستان‌گذرانی بود. این امر بیانگر اهمیت زندگی بدون آب نماتود در حفظ جمعیت آن طی فصل تابستان است. به نظر می‌رسد این پدیده در زمستان تا این اندازه به بقای نماتود کمک نمی‌کند، زیرا بارندگی‌های معمول پاییز و اوائل زمستان در منطقه، باعث فعال شدن نماتودها می‌شوند. علاوه بر آن دماهای نزدیک صفر درجه در این دوره زمانی، عامل محتمل دیگری برای کاهش شدید جمعیت نماتودهای مولد زخم ریشه است.

۴-۲- تعیین مراحل زندگی نماتود در حالت غیرفعال

در دو مزرعه آلوده به *P. neglectus* و *P. thornei* به ترتیب ۱۶ و ۱۹٪ نماتودهای غیر فعال، ماده و بقیه مراحل مختلف لاروی نماتود بودند. مطالعه ریخت‌شناسی و ریخت‌سنجی نماتودها نشان داد تمام مراحل لاروی (سن دو، سه و چهار) و نماتود ماده بالغ هر دو گونه در خاک

جدول ۱. تغییرات جمعیت *Pratylenchus thornei* و *P. neglectus* در سه مزرعه آیش در منطقه مرودشت در سال‌های ۱۳۸۵ و ۱۳۸۶

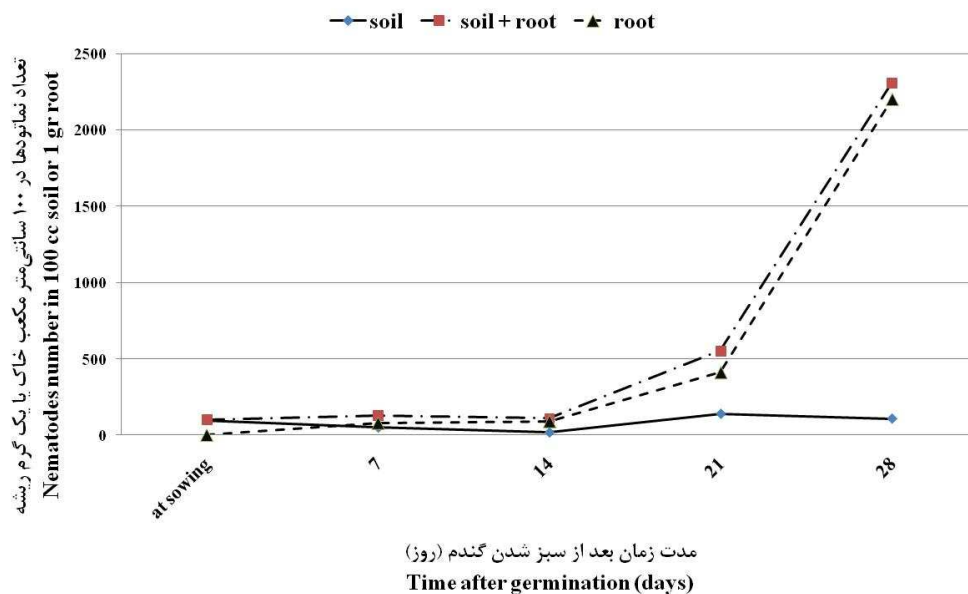
Table 1. Changes in population of *Pratylenchus thornei* and *P. neglectus* in three fallow fields in Marvdasht region during 2006 and 2007 years.

کد مزارع Fields code	تعداد نماتودها در ۱۰۰ سانتی‌متر مکعب خاک Nematodes in 100 cm ³ of soil			درصد تابستان‌گذرانی Summer survival%	درصد زمستان‌گذرانی Winter survival%
	تیر ۸۵ July 2006	آبان ۸۵ October 2006	خرداد ۸۶ June 2007		
<i>P. thornei</i>	169.3	144.7	97.4	85.47	67.31
<i>P. neglectus</i> (1)	126.7	70.0	20.8	55.25	29.71
<i>P. neglectus</i> (2)	127.6	107.1	41.4	83.93	38.66

جدول ۲. مشخصات ریخت‌سنجی افراد ماده و مراحل مختلف لاروی گونه‌های *Pratylenchus thornei* و *P. neglectus* در حالت غیر فعال، استخراج شده از خاک دو مزرعه (آیش گذارده شده در تابستان) در مرودشت (اندازه‌ها بر اساس میکرومتر می‌باشد).

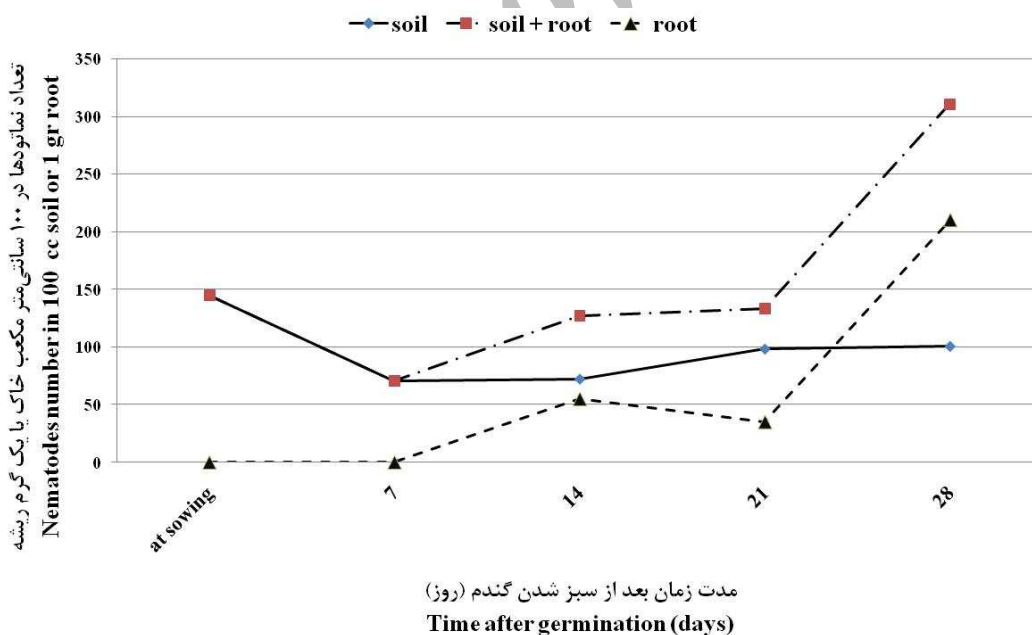
Table 2. Morphometric characters of *Pratylenchus thornei* and *P. neglectus* in anhydrobiosis state larvae and females in two Marvdasht fields, after summering fallow (measurements are in μm).

<i>P. thornei</i>	J2	J3	J4	Female
n	5	7	3	5
L	350 ± 44.7 (275-392)	412 ± 50.5 (328-476)	543 ± 26.9 (513-565)	674 ± 22 (643-703)
a	21.5 ± 2.5 (17.7-24.5)	23.3 ± 1.8 (19.9-25.1)	28.1 ± 1.4 (27-29.7)	31.7 ± 1.4 (29.6-33.3)
c	19.4 ± 4 (14.8-24.9)	17 ± 1.5 (14.3-18.8)	19.8 ± 1.9 (17.7-21.4)	20.3 ± 1.7 (17.6-21.8)
c'	1.7 ± 0.4 (1.4-2.2)	2.1 ± 0.2 (2-2.4)	2.2 ± 0.3 (1.9-2.4)	2.4 ± 0.2 (2.2-2.7)
Stylet	11.5 ± 0.6 (11-12.5)	12.4 ± 0.7 (11.5-13.5)	13.7 ± 0.6 (13-14)	14.2 ± 0.7 (13.5-15)
Tail length	18.7 ± 4.9 (14-24)	24.2 ± 1.8 (22-26.5)	27.7 ± 4 (24-32)	33.4 ± 3.8 (31-40)
Body width	16.3 ± 0.7 (15.5-17)	17.7 ± 1.2 (16-19)	19.3 ± 0.6 (19-20)	21.3 ± 1.2 (20-22.5)
Anal body width	10.7 ± 0.7 (10-11.5)	11.4 ± 0.7 (10.5-12.5)	12.5 ± 1 (11.5-13.5)	13.9 ± 1 (12.5-15)
<i>P. neglectus</i>				
n	5	4	6	5
L	283 ± 42.7 (216-335)	370 ± 20.3 (351-396)	441 ± 51.8 (384-515)	521 ± 47 (449-581)
a	17.5 ± 1.3 (15.4-18.6)	22.7 ± 1.9 (21-25.1)	23.6 ± 2.6 (21.3-28.6)	25.8 ± 1.7 (23-27.7)
c	15.7 ± 1.3 (13.5-16.9)	17.2 ± 1.6 (15-18.5)	18.1 ± 2.2 (14.8-20.2)	20.4 ± 2.7 (18.7-25.2)
c'	1.7 ± 0.1 (1.6-1.8)	2 ± 0.2 (1.9-2.3)	2 ± 0.1 (1.9-2.2)	2.3 ± 0.2 (2-2.6)
Stylet	12.6 ± 0.8 (11.5-13.5)	14.3 ± 0.6 (13.5-15)	15 ± 0.6 (14.5-16)	16 ± 0.7 (15-16.5)
Tail length	18 ± 1.9 (16-21)	21.6 ± 2.5 (19-25)	24.5 ± 2.4 (21-27.5)	25.8 ± 3.4 (21-30)
Body width	16.1 ± 1.5 (14-18)	16.4 ± 0.9 (15-17)	18.8 ± 1.5 (17.5-21.5)	20.2 ± 0.7 (19.5-21)
Anal body width	10.4 ± 0.7 (9.5-11.5)	10.9 ± 0.6 (10-11.5)	12.2 ± 1.7 (10-14)	11.1 ± 0.7 (10.5-12)



شکل ۶. افزایش جمعیت *Pratylenchus neglectus* در خاک و ریشه گندم در شرایط گلخانه (جمعیت اولیه نماتود ۹۹ عدد در ۱۰۰ سی سی خاک بوده است).

Fig. 6. Increasing population of *Pratylenchus neglectus* in wheat root and soil in greenhouse. (Initial population was 99 nematodes in 100 cc soil).



شکل ۷. افزایش جمعیت *Pratylenchus thornei* در خاک و ریشه گندم در شرایط گلخانه (جمعیت اولیه نماتود ۱۴۵ عدد در ۱۰۰ سی سی خاک بوده است).

Fig. 7. Increasing population of *Pratylenchus thornei* in wheat root and soil in greenhouse. (Initial population was 145 nematodes in 100 cc soil).

۴-۴- آزمایش بیماری‌زایی نماتوهای غیر فعال

نماتوهای غیر فعال بعد از جذب رطوبت و کشت گیاه میزبان (گندم) فعال شده و جمعیت آنها افزایش یافت. مراحل مختلف نماتود شامل تخم، لارو و نماتود ماده *P. neglectus* و *P. thornei* به ترتیب، یک و دو هفته پس از سبز شدن گیاه میزبان درون بافت ریشه مشاهده گردید. افزایش جمعیت در هفته چهارم نشان می‌دهد که چرخه زندگی این نماتوها در کمتر از یک ماه در ریشه گندم تکمیل می‌گردد (شکل‌های ۶ و ۷). این مطالعه نشان می‌دهد که نماتوها پس از گذراندن یک مرحله زندگی بدون آب (Anhydrobiosis)، قدرت بیماری‌زایی خود را از دست نداده و هنوز قادر به آلوده کردن میزبان و ایجاد خسارت می‌باشند. این موضوع توسط محققین دیگر نیز اشاره شده است (Glazer & Orion 1983; Demeure 1980; Townshend, 1984).

نتیجه‌گیری

غیر فعال شدن نماتوهای مولد زخم ریشه در شرایط نامساعد محیطی و ورود آنها به حالت زندگی بدون آب (Anhydrobiosis) در خاک‌های خشک، یک فاکتور مهم برای حفظ جمعیت و بقای نماتوهای مولد زخم ریشه در طی ماه‌های تابستان و زمستان در منطقه مرودشت

منابع

جهت ملاحظه به صفحات (45-46) متن انگلیسی مراجعه شود.

محسوب می‌شود. به ویژه این امر در مزارعی که بعد از برداشت گندم در اوائل تابستان تا کشت بعدی گندم در اواسط پاییز به حالت آیش می‌باشند بسیار حائز اهمیت بوده و نسبت بالایی از جمعیت نماتود در این مدت به واسطه غیر فعال شدن نماتوها حفظ می‌شود. حتی شخم زدن زمین و سوزاندن بقایای گیاهی مزرعه در تیر ماه باعث کاهش چشمگیر تعداد نماتوهای مولد زخم ریشه نگردید. بنابراین اگر چه آیش به عنوان یک راه‌کار برای کاهش جمعیت نماتوهای مولد زخم ریشه در مزارع غلات پیشنهاد شده (Smiley et al. 2004, 2005) ولی باید در نظر داشت که جمعیت این نماتوها در مزارع آیش نیز حفظ می‌شود. به طوری که در این تحقیق پس از یک سال آیش و در یک مطالعه دیگر (Todd 1991) پس از دو سال آیش، نماتوهای مولد زخم هنوز در خاک قابل ردیابی بودند. نکته مهم دیگر در مورد نماتوهای غیر فعال مزارع مرودشت این است که درصد نسبتاً بالایی از این نماتوها بعد از کشت میزبان مناسب دوباره فعال شده و می‌توانند با تولیدمثل و تکثیر در ریشه‌های میزبان، جمعیت خود را افزایش داده و باعث ایجاد خسارت شوند. این نکته در مدیریت این دسته از نماتوها در منطقه باید مد نظر قرار بگیرد.