



جمهوری اسلامی ایران

وزارت جهاد کشاورزی

دستورالعمل ردیابی و شناسایی نماتد سیست سبب زمینی
Globodera rostochiensis* و *Globodera Pallida
در مزارع سیب زمینی کاری کشور



تهیه و تنظیم:

- سازمان حفظ نباتات

- موسسه تحقیقات گیاهپزشکی

تیر ماه ۱۳۸۷

اهمیت بیماری:

سیب‌زمینی یکی از مهمترین گیاهان دولپه‌ای در رژیم غذایی انسان است. در جهان این محصول از نظر اهمیت بعد از محصولاتی چون گندم، برنج، ذرت و جو در مقام پنجم قرار داشته و در ایران نیز از جایگاه ویژه‌ای در تغذیه مردم برخوردار است. یکی از عوامل مهم در کاهش محصول سیب‌زمینی وجود انواع بیماریهای قارچی، باکتریایی، ویروسی، و پروئیدی، میکوپلاسمایی، نامادی و بیماریهای فیزیولوژیکی ناشی از شرایط نامناسب محیطی است که با شناخت صحیح این بیماریها و به کارگیری روشهای پیشگیری و مبارزه می‌توان از خسارت آنها تا حد زیادی جلوگیری کرد.

بر اساس برآوردهای انجام شده نماتدهای پارازیت گیاهی سالانه میلیون ها دلار خسارت به محصولات کشاورزی وارد می‌نمایند. از خطرناکترین عوامل نامادی قرنطینه ای که با خاک همراه غده های سیب زمینی قابل انتقال هستند، نماتد های سیست سیب زمینی *Globodera pallida* و *Globodera rostochiensis* می باشد.

نماتد سیست سیب زمینی، در انگلستان سالانه حدود ۵۰ میلیون دلار خسارت وارد می‌نماید و در سایر کشورهای اروپایی نیز بویژه در نواحی معتدله میزان خسارت تقریباً همین مقدار می‌باشد. خسارت زمانی بیشتر می‌شود که نژادهای جدید و بیماریزای عامل بیماری ظاهر شود که در این وضعیت، هر نوع مقاومتی را در گیاهان درهم می‌شکند. در مناطقی که ارقام تجارتي با مقاومت بالا، کمتر کاشته می‌شوند خسارت *G. pallida* بیشتر است. میزان خسارت با تعداد تخم‌های زنده در هر واحد خاک رابطه مستقیم دارد و خسارت به صورت کاهش وزن غده‌های سیب‌زمینی بروز می‌کند.

این بیماری تاکنون از ایران گزارش نشده است و با توجه به اینکه خسارت زیادی به محصول سیب‌زمینی وارد می‌آورد و کنترل آن بسیار مشکل است، جزء بیماریهای مهم قرنطینه ای در کشور محسوب می‌شود.

وضعیت تاکسونومیک:

نماتد های سیست سیب زمینی متعلق به خانواده Heteroderidae و جنس *Globodera* می باشند. دو گونه *G. pallida* (دارای ماده های بالغ به رنگ سفید) و *G. rostochiensis* (دارای ماده های بالغ به رنگ زرد طلائی) می باشد.

دامنه میزبانی:

میزبانهای اولیه و اصلی *G. rostrata* و *G. pallida* به خانواده سولاناسه (*Solanaceae*) بویژه سیبزمینی (*Solanum tuberosum*)، گوجه فرنگی (*Lycopersicon esculentum*) و بادمجان (*Solanum melongena*) محدود شده است، ولی تعداد ۹۰ گونه از جنس *Solanum* بعنوان میزبان این گونه ها ذکر شده است.

ردیابی نماتد سیب زمینی در مزارع سیب زمینی مشکوک به آلودگی:

- مزارع سیب زمینی را از نظر آلودگی به نماتد سیب زمینی، می توان به سه دسته تقسیم کرد.
- ۱- مزارع سالم: مزارعی هستند که در مشاهدات میدانی هیچگونه علائم ظاهری روی اندام های هوایی و ریشه دیده نشود و در بررسی های آزمایشگاهی تخم، لارو و سیست نماتد مشاهده نگردد.
 - ۲- مزارع به ظاهر سالم: در این مزارع ظاهرا علائم آلودگی در قسمتهای هوایی گیاه دیده نمی شود، اما زمانیکه بوته ها از خاک بیرون کشیده شوند سیست های نماتد بر روی ریشه ها دیده می شود. روش ردیابی نماتد در چنین مزارعی، از طریق مشاهده سیست ها بر روی ریشه ها و یا آزمایش نمودن خاک مزرعه می باشد.
 - ۳- مزارع مشکوک به آلودگی: در مزارع مشکوک به آلودگی، علائم تقریبا بارزی دیده می شود که عبارتند از:

الف- علائم عمومی:

اولین علامت در یک مزرعه آلوده به نماتد سیب زمینی ظهور نقاط با پوشش گیاهی کم به صورت لکه ای در قسمتهای مختلف مزرعه است که در این نقاط، رشد گیاه بسیار ضعیف بوده و علائم کمبود شدید مواد غذایی را نشان می دهد. این لکه ها در جهتی که شخم زده می شود کشیده شده و گسترش می یابند. اگر آلودگی در مزرعه از چند سال قبل شروع شده باشد این نواحی آلوده بزرگتر بوده و در آلودگی های شدید کل مزرعه از بین می رود (شکل ۱).



شکل ۱- علائم بیماری در مزرعه سیب زمینی به صورت ظهور نواحی لکه ای

بنابراین در مزرعه ای که چنین علائمی در آن وجود دارد به سراغ بوته هایی خواهیم رفت که در نواحی لکه ای وجود دارند. اثرات نماتد سیست سیب زمینی روی گیاه شامل تنش آبی و پیری زودرس برگها می باشد و در گیاه شدیداً آلوده، زمین کاملاً با برگهای ریزش کرده پوشیده می شود. علائم آلودگی در برگها شبیه به علائم کمبود مواد غذایی و به صورت کلروز، زردی غیرطبیعی و پژمردگی، زرد و نکروزه شدن حاشیه برگچه ها و چرمی شدن برگها می باشد. ساقه ها باریک و ضعیف شده و رشد ریشه ها تا حد زیادی کاهش یافته، ریشه ها معمولاً کوچک، افشان و به میزان زیاد منشعب شده و به شدت دچار پوسیدگی می شوند و علائمی شبیه به خسارت بیماری پوسیدگی ریزوکتونیایی نشان می دهند. غده ها نیز از لحاظ تعداد و اندازه کاهش می یابد و غده های برداشت شده از چنین مزارعی کوچک بوده و تعداد غده در هر بوته به شدت کم خواهد بود. بوته ها در اوقات گرم روز پژمرده شده و در شب تا اندازه ای به حالت اولیه برمی گردند. همچنین در قسمت انتهایی ممکن است ظاهری کپه ای به خود بگیرند. گیاهانی که شدیداً آلوده هستند هرگز سبز نکرده و یا به زودی پس از خروج از خاک، از پای درمی آیند. به طور کلی علائم در کل گیاه بصورت کوتولگی و پیری زودرس و در نهایت مرگ گیاه می باشد. کاهش محصول تحت تأثیر نوع خاک، رطوبت و میزان آلودگی قرار دارد. آب و هوای خشک و خاک سبک شرایط مناسبی را جهت آلودگی شدید نماتد فراهم می سازد.

ب- علائم اختصاصی:

مهمترین علامت بیماری ناشی از نماتد سیست سیب زمینی *G. rostochiensis*، وجود سیست های طلایی رنگ می باشد که نامگذاری نماتد از آنها گرفته شده است (شکل ۲، ۳ و ۴) می باشد. این سیست ها قهوه ای طلایی و یا قهوه ای تیره بوده و حاوی تعداد زیادی تخم هستند که بعداً به لارو تفریخ شده و این لاروها به گیاهان

میزبان حمله می‌کنند (شکل ۵). زمانیکه بوته سیب زمینی از خاک بیرون آورده شود، سیست‌های قهوه‌ای به اندازه سر سنجاق با اندکی دقت بر روی ریشه‌ها مشاهده خواهد شد. گاهی نیز در بوته‌هایی که هیچگونه علائم بیماری نشان نمی‌دهند، زمانیکه بوته از خاک بیرون کشیده شود باز هم سیست‌های نماتد بر روی ریشه‌ها دیده می‌شود، بنابراین ندیدن علائم در قسمتهای اندامهای هوایی گیاه، دلیل بر سالم بودن آن گیاه نمی‌باشد و در بررسیهای مزرعه‌ای حتماً بایستی به این موضوع توجه داشت. عامل بیماری به صورت سیستهای کوچک حاوی تخم توسط خاکهای آلوده، ظروف حمل و نقل، وسایل و تجهیزات دیگر و نیز از طریق حمل و نقل مواد گیاهی آلوده (پیاز، غده، کورم و ریزوم، ریشه و ساقه) منتقل می‌شوند.



شکل ۳- سیست‌های پیر و قهوه‌ای رنگ



شکل ۲- سیست‌های جوان نماتد طلایی روی ریشه‌های سیب زمینی



شکل ۵- خروج تخم از سیست



شکل ۴- پیکره سیست نماتد



سیست های کرم رنگ نماتد *Globodera pallida* روی ریشه های سیب زمینی



علائم بیماری روی غده های سیب زمینی

نمونه برداری از خاک برای انجام تست های ردیابی:

به دلیل اینکه در اکثر آلودگیهای نماتدی، علائم خاصه و بارزی در مزارع دیده نمی شود بررسی آزمایشگاهی خاک جهت اثبات وجود یا عدم وجود آلودگی نماتدهای سیست سیب زمینی الزامی می باشد. به طور کلی ۳ روش نمونه برداری از خاک وجود دارد.

۱- نمونه برداری انتخابی: در این طریقه با توجه به علائم و خسارت نماتد و نوع گیاه میزبان محل لکه های آلوده را مشخص نموده و از خاک و اندامهای گیاه آلوده و مشکوک به نماتد نمونه برداری می شود. تعداد نمونه در این روش بستگی به وسعت لکه های آلوده و وسعت کل مزرعه دارد.

مثال: از لکه ۵۰۰ مترمربعی حداقل ۵ نمونه ۱۰۰ گرمی خاک برداشته و نمونه ها با هم مخلوط می شوند. مقدار هر نمونه خاک کلی بین ۲ الی ۳ کیلوگرم در نظر گرفته می شود.

۲- نمونه برداری تصادفی: در این طریقه بدون توجه به علائم و خسارت نماتد روی گیاهان میزبان اقدام به نمونه برداری از خاک و گیاه می گردد تعداد نمونه بستگی به نوع محصول دارد. مثلا در مورد سیب زمینی به ازای هر هکتار حداقل ۱۰ زیر نمونه برداشته شده که نمونه‌ها با هم مخلوط و یک نمونه کلی تهیه می گردد.

۳- نمونه برداری عمومی: در نمونه برداری عمومی بدون توجه به نوع میزبان و علائم آلودگی کلیه منطقه در سطح وسیع مورد نمونه برداری قرار می گیرد و در واقع هدف تهیه نقشه پراکندگی نماتد و فون نماتد های منطقه است.

مراحل نمونه برداری از خاک مزارع سیب زمینی مشکوک به آلودگی به شرح زیر می باشد:

در مناطقی که آلودگی به نماتد سیست دیده شده است، کلیه مزارع سیب زمینی بذری و ترجیحاً کلیه مزارع سیب زمینی خوراکی باید نمونه برداری گردد. در مزارعی که مشکوک به آلودگی بوده و علائم به صورت لکه ای در مزرعه قابل مشاهده می باشد نمونه برداری انتخابی صورت می گیرد.

۱- داخل مزرعه به صورت انتخابی از محل هر لکه حداقل ۵ نمونه برداشته شده و مقدار هر نمونه حدود ۱۰۰ گرم خواهد بود. هر ۵ نمونه در همان محل نمونه برداری با یکدیگر مخلوط شده و یک نمونه ۵۰۰ گرمی (که متعلق به یک لکه است) تهیه گردد.

۲- از قطعات دارای بافت خاک و تاریخچه کشت یکسان، نمونه واحد و در صورت تنوع بافت از هر یک به طور جداگانه نمونه گرفته شود.

۳- نمونه برداری از عمق ۵ تا ۳۰ سانتیمتری صورت گیرد.

۴- نمونه ها در یک سطل یا جعبه مخلوط گردند.

۵- نمونه های ۵۰۰ گرمی تهیه شده از محل لکه ها باهم مخلوط شده و یک نمونه کلی ۲ تا ۳ کیلوگرمی تهیه نموده و در کیسه های پلاستیکی یا کاغذی به آزمایشگاه نماتولوژی ارسال گردد.

۶- کلیه مشخصات نمونه از قبیل نام جمع آوری کننده، نام منطقه نمونه برداری، تاریخ نمونه برداری، وسعت مزرعه، سابقه کشت، نام مالک یا نام مزرعه، آدرس مزرعه، سموم مورد استفاده در حال حاضر و گذشته و پوشش علف هرز منطقه یادداشت گردد.

۷- برچسب مشخصات مربوط به نمونه نباید در داخل پلاستیک یا پاکت قرار داده شود مخصوصاً اگر خاک مرطوب باشد.

۸- درب پلاستیک یا پاکت کاغذی حاوی نمونه خاک باید کاملاً بسته و یا اینکه به خوبی گره زده شود.

- ۹- جهت بررسی نمونه ها، بایستی آنها را به نزدیکترین آزمایشگاه به یک فرد نماتولوژیست ارائه نمود.
- ۱۰- در آزمایشگاه، تقریباً ۲۵۰ تا ۵۰۰ گرم از نمونه کلی، جدا شده و جهت انجام آزمایش مورد استفاده قرار گیرد (working sample) و باقی مانده خاک برای آزمایشات بعدی در یخچال نگه داری گردد.
- ۱۱- لازم است در حین نمونه برداری، موارد ذیل از مالک مزرعه سؤال گردد و پاسخ ها در مقابل هر کدام نوشته شود:

- غده های بذری چند سال اخیر را از کجا تهیه نموده است؟
- آیا در چند سال اخیر خودش غده بذری تولید نموده است؟
- اگر خودش غده بذری تولید نموده، به چه کسانی فروخته است؟
- چه مدت است که علائم مشکوک را در مزرعه خود می بیند؟

مراحل نمونه برداری از مزارع سیب زمینی به ظاهر سالم :

در مزارعی که آلودگی دیده نشده است ابتدا کلیه مزارع سیب زمینی بذری باید نمونه برداری گردد، سپس در مزارع سیب زمینی خوراکی بر حسب وسعت منطقه و وسعت سیب زمینی کاری منطقه، یک بیستم سطح زیر کشت سیب زمینی منطقه بطوریکه تقریباً تمامی جهات آن منطقه را زیر پوشش قرار دهد، نمونه برداری شود.

در مزارعی که علائم آلودگی به وضوح مشاهده نمی گردد نمونه برداری به صورت تصادفی انجام می گیرد، به این ترتیب که:

۱- کارشناس باید در دو قطر مزرعه حرکت نموده و به ازاء هر هکتار، ۱۰ نمونه خاک (primary sample) برداشت نماید.

۲- خاک حداکثر هر ۲۰ نمونه برداشت شده از یک مزرعه، کاملاً باهم مخلوط گردیده و یک نمونه کلی ۲ تا ۳ کیلو گرمی تهیه گردیده و در کیسه های پلاستیکی یا کاغذی به آزمایشگاه نماتولوژی ارسال گردد.

۳- اگر کمتر از ۲۰ نمونه بدست آمد همان تعداد موجود با یکدیگر مخلوط گردد و توجه شود که نمونه های مزارع مختلف با هم مخلوط نشود.

۴- لازم به ذکر است عمل مخلوط کردن نمونه ها در محل هر مزرعه انجام گرفته و تنها نمونه خاک بدست آمده از عمل اختلاط نمونه ها به آزمایشگاه ارسال گردد.

۵- کلیه مشخصات نمونه از قبیل نام جمع آوری کننده، نام منطقه نمونه برداری، تاریخ نمونه برداری، وسعت مزرعه، سابقه کشت، نام مالک یا نام مزرعه، آدرس مزرعه، سموم مورد استفاده در حال حاضر و گذشته و پوشش علف هرز منطقه یادداشت گردد.

۶- برچسب مشخصات مربوط به نمونه نباید در داخل پلاستیک یا پاکت قرار داده شود مخصوصاً اگر خاک مرطوب باشد.

۷- درب پلاستیک یا پاکت کاغذی حاوی نمونه خاک باید کاملاً بسته و یا اینکه به خوبی گره زده شود.

۸- جهت بررسی نمونه ها بایستی آنها را به نزدیکترین آزمایشگاه به یک فرد نماتولوژیست ارائه نمود.

۹- در آزمایشگاه، یک نمونه ۲۵۰ تا ۵۰۰ گرمی از نمونه کلی، جدا شده و جهت بررسی های نماتد شناسی استفاده گردد (working sample) و باقی مانده خاک جهت آزمایشات بعدی در یخچال نگه داری گردد.

زمانیکه آلودگی مزرعه ای به نماتد سیب زمینی مشخص گردید، دیگر نیازی به نمونه برداری همه ساله نمی باشد. بهترین زمان نمونه برداری از مزارع سیب زمینی برای تعیین آلودگی به نماتد سیب زمینی در این مرحله گلدھی می باشد در این مرحله جمعیت نماتد افزایش یافته و نماتد های ماده و سیبست ها تولید شده اند. نمونه برداری در زمان ذکر شده از این جهت دارای اهمیت است که وقت کافی جهت بررسی و ارائه اطلاعات مورد نیاز زارع در اختیار نماتولوژیست قرار خواهد گرفت. از طرفی در مورد انتخاب ارقام مناسب و یا گیاه جایگزین سال بعد نیز می توان تصمیم گرفت.

استخراج نماتد سیبست از خاک در آزمایشگاه :

همانگونه که اشاره گردید بهترین راه تشخیص وجود نماتدها، نمونه برداری و تست خاک و یا مشاهده مستقیم سیبست ها و نماتد های ماده روی ریشه و یا غده ها است. البته علائم بیماری روی غده های سیب زمینی در ارقام بسیار حساس، بصورت کوچک شدن اندازه غده ها و تشکیل سیبست در زیر پوست غده ها می باشد. سیبست ها تنها زمانیکه جوان باشند روی غده دیده می شوند و سیبست های بالغ از غده جدا شده و در خاک می افتند. پس از نمونه گیری و ارسال نمونه ها به آزمایشگاه، خاکشویی های مختلفی به منظور جمع آوری سیبست های نماتدی از خاک انجام می گیرد که عبارتند از:

۱- روش شناور سازی :

یک روش صحرائی و بسیار آسان برای جدا نمودن سیست ها این است که، ابتدا بایستی خاک مورد نظر را خشک نموده سپس خاک خشک در ظرف حاوی آب ریخته شود، سیستهای نماتد به علت سبکی و خشک بودن روی سطح آب باقی می مانند. از این روش تنها برای بدست آوردن سیست های نماتد استفاده می شود. برای بدست آوردن میزان آلودگی خاک، با توجه به مقدار نمونه تست شده می توان تعداد سیست ها را شمارش نموده و با تعمیم به مقدار نمونه اولیه، برای آن نرم تهیه کرد. برای اینکار کافی است یک قطره مایع ظرفشویی در وسط تشتک حاوی خاک و سیست ها قرار داد، با اینکار تمامی سیست ها به سمت کناره های ظرف رانده می شوند، و با نشان کردن قسمتی از ظرف، سیست ها را از آن سمت شمارش نمود.

۲- روش فنویک:

در این روش خاک را خشک نموده و با استفاده از دستگاه فنویک آن را شسته و سیست های نماتد را به کمک الک ۶۰ میکرون جدا می نمایند.

امحاء باقیمانده خاک در آزمایشگاه:

باقیمانده خاک حاصل از آزمایش در صورت اثبات وجود آلودگی بایستی به روش انباشته نمودن خاکهای آلوده در داخل بشکه های فلزی و ضد عفونی آنها با سم واپام، معدوم شود.