

مطالعه زیست‌شناسی و دینامیک جمعیت نماتود مولد زخم ریشه چای (*Pratylenchus loosi*) در ایران*

Biology and population dynamics of tea root lesion nematode (*Pratylenchus loosi*) in Iran

علی سراجی، ابراهیم پورجم**، زهرا تنها معافی و ناصر صفایی

گروه بیماری‌شناسی گیاهی دانشکده کشاورزی دانشگاه تربیت مدرس، تهران بخش تحقیقات
نماتودشناسی مؤسسه تحقیقات گیاهپزشکی کشور، تهران

پذیرش ۱۳۸۶/۲/۲۶

دریافت ۱۳۸۵/۹/۵

چکیده

زیست‌شناسی و دینامیک جمعیت نماتود مولد زخم ریشه چای، *Pratylenchus loosi* به عنوان مهمترین عامل خسارتزای گیاه چای در ایران، به مدت پنج سال در شرایط طبیعی، در یکی از باغ‌های چای آلوده و هم چنین در شرایط آزمایشگاهی مورد مطالعه قرار گرفت. براساس این بررسی، نماتود مولد زخم ریشه چای، به عنوان انگل داخلی مهاجر، با رسیدن دمای خاک به ۱۵ درجه سانتی‌گراد و بالاتر فعالیت خود را جهت پارازیته کردن ریشه‌های مؤیین چای شروع می‌نماید. در این نماتود، لاروهای سنین مختلف و ماده‌های بالغ عامل آلوده‌کننده می باشند و زمستان‌گذرانی آن غالباً به صورت تخم در خاک و یا درون ریشه‌های تغذیه‌کننده است، ولی به صورت لارو سن چهارم و نماتود بالغ نیز می‌تواند زمستان‌گذرانی نماید. مطالعات آزمایشگاهی نشان داد که دمای مناسب برای تکثیر این نماتود بر روی دیسک هویج، ۲۰ تا ۲۱ درجه سانتی‌گراد بوده و دمای مناسب جهت تفریح تخم‌ها بر روی آب آگار دو درصد، ۱۷ درجه سانتی‌گراد می‌باشد. چرخه کامل زندگی این گونه در شرایط آزمایشگاهی ۴۶ تا ۴۹ روز، شامل دوره تفریح تخم ۱۵ تا ۱۷ روز، سنین مختلف لاروی ۱۵ تا ۱۶ روز و

* بخشی از رساله دکتری نگارنده اول ارائه شده به دانشگاه تربیت مدرس

** مسئول مکاتبه

دوره زندگی نماتوهای بالغ تا زمان تخم‌ریزی ۱۶ روز به طول می‌انجامد. بررسی‌های پنج ساله دینامیک جمعیت در شرایط طبیعی نشان داد که این نماتود دارای سه تا چهار اوج جمعیتی در سال، مصادف با ماه‌های اردیبهشت، تیر، شهریور و آبان یا اسفند (بسته به تغییرات اقلیمی سالانه و دمای خاک) می‌باشد. تجزیه رگرسیون تغییرات جمعیت در طی پنج سال نشان داد که رابطه معنی‌داری بین دمای خاک و بارندگی و روند تغییرات جمعیت وجود دارد. بین این دو عامل، دمای خاک نقش مهم‌تری در دینامیک جمعیت این نماتود داشته و در صورت مطلوب بودن این عامل، بارندگی به عنوان دومین عامل کلیدی تأثیر معنی‌داری در این روند دارد.

واژه‌های کلیدی: نماتود مولد زخم ریشه، چای، *Pratylenchus loosi* زیست‌شناسی و دینامیک

جمعیت

مقدمه

چای قدیمی‌ترین نوشیدنی است که بشر از آن استفاده کرده است و امروز جزو متداول‌ترین نوشابه‌ها در جهان می‌باشد. علاوه بر اثر آرام بخشی آن، به عنوان چاشنی در نوشابه‌های الکلی، شیرینی‌ها، لبنیات، شکلات، غذاهای پخته، ژله و دسر استفاده می‌شود و هم‌چنین منبعی از رنگ‌های غذایی مختلف است. علاوه بر آن از روغن دانه‌های آن که حاوی ساپونین است جهت نظافت مکان‌های مقدس استفاده می‌شود (James 1983).

کشور ایران، یکی از مصرف‌کنندگان عمده چای است و این محصول در زندگی و اقتصاد خانواده‌های ایرانی به ویژه شمال کشور جایگاه ویژه‌ای دارد. سطح زیر کشت این محصول در نواری به طول ۲۵۰ کیلومتر و عرض ۹۰ کیلومتر در شمال کشور حدود ۳۵ هزار هکتار می‌باشد. کشور ما با دارا بودن حدود یک درصد از جمعیت جهان، حدود چهار درصد از مصرف کل چای جهان را به خود اختصاص داده است و فقط ۱/۸ درصد تولید چای جهان را دارا می‌باشد. به همین دلیل بخش فراوانی از مصرف چای از طریق واردات تأمین می‌شود (Ookhovat & Vakili 1998). در حال حاضر، بر اساس آخرین گزارش سازمان خوار و بار جهانی (FAO) میزان تولید چای خشک در جهان حدود دو میلیون و هشتصد هزار تن می‌باشد که سهم ایران از این مقدار تولید جهانی، حدود ۵۰ هزار تن است (FAO 2005).

نماتود مولد زخم ریشه چای با نام علمی *Pratylenchus loosi* Loof 1960 از خانواده Pratylenchidae، برای اولین بار در سال ۱۹۳۰ میلادی توسط گاد (Gadd) در باغ‌های چای سری‌لانکا مشاهده و در سال ۱۹۶۰ میلادی توسط لوف (Loof) گزارش گردید (Sivaplan 1967).

تاکنون بیش از ۴۰ گونه نماتود انگل گیاهی متعلق به ۲۰ جنس، در کشورهای مختلف از روی چای گزارش شده است که از بین این تعداد گونه گزارش شده، بالاترین خسارت مربوط به نماتود مولد زخم ریشه چای (*P. loosi*) می‌باشد، به طوری که این گونه یکی از مهم‌ترین عوامل خسارتزای چای در کشورهایی چون سری‌لانکا، هندوستان، چین، ژاپن و بنگلادش می‌باشد. این نماتود از روی گیاهانی چون چای، مرکبات، سیب، گلابی، به، سورگوم، چمن و چندین گونه علف‌هرز گزارش گردیده، ولیکن چای میزبان اختصاصی آن می‌باشد (Compos et al. 1990). علاوه بر این میزبان‌ها، این نماتود از روی توت‌فرنگی نیز گزارش و این گیاه به عنوان میزبان ضعیف نماتود معرفی شده است (Mohotti 1998).

در ایران، این نماتود در سال ۱۳۶۸ بر روی نهال‌های وارداتی چای از کشور ژاپن در ایستگاه تحقیقات چای کاشف سیاهکل (ازبرم) مشاهده و در سال ۱۳۷۱ گزارش گردید (Maafi 1993). آلودگی باغ‌های چای شمال کشور (شرق استان گیلان در شهرستان املش) در سال ۱۳۷۲ مشاهده شد (Baruoti & Alavi 2002). نمونه‌برداری از خاک و ریشه بوته‌های مشکوک به آلودگی که اکثراً خزان کرده بودند، منجر به استخراج تعداد ۵۰ تا ۳۵۰ نماتود از ده گرم ریشه و ۱۰۰ تا ۶۰۰ نماتود از ۵۰۰ گرم خاک گردید (Ookovat & Vakili 1998).

نماتود مولد زخم ریشه چای، مهم‌ترین عامل خسارتزای باغ‌های چای شمال کشور است که سالانه خسارت قابل توجهی به این محصول وارد نموده، به طوری که میزان رشد گیاهان آلوده شدیداً کاهش یافته و به علت عدم توانایی ایجاد شاخه و برگ جدید میزان محصول افت شدیدی دارد (Maafi and Mirhoseini Moghadam 2001).

دمای مناسب خاک جهت فعالیت و تکثیر نماتود مولد زخم ریشه چای در شرایط طبیعی، ۱۸ تا ۲۴ درجه سانتی‌گراد می‌باشد و در بوته های چای آلوده میزان ازت کل بالا رفته، در حالی که در همین بوته ها مقدار منیزیم کاهش می‌یابد (Sivapalan & Gnanapragasam 1975).

نماتود مولد زخم ریشه چای در غیاب میزبان در داخل ریشه‌های آلوده چای که در زمین باقی‌مانده است، به مدت سه تا چهار سال زنده می‌ماند (Gnanapragasam *et al.* 1988). شدت آلودگی به این نماتود به اثرات متقابل عواملی نظیر بافت خاک، شرایط آب و هوایی و عوامل زراعی دارد. بیشترین خسارت در خاک‌های رسی با زهکشی نامناسب بوده و بالا بودن اسیدیته خاک نیز باعث تشدید خسارت این عامل بیماریزا می‌شود (Gnanapragasam 1987; Gnanapragasam & Sivaplan 1991).

گونه *P. loosi* از روی چای در تایوان نیز گزارش شده و زیست‌شناسی آن بر روی محیط کشت مصنوعی هویج مطالعه گردیده است. دمای مطلوب جهت تکثیر آن در شرایط آزمایشگاهی، ۲۰ درجه سانتی‌گراد و برای تفریح تخم نیز ۱۶ درجه سانتی‌گراد عنوان شده و چرخه زندگی این گونه در شرایط آزمایشگاهی ۴۵ تا ۴۶ روز ذکر شده است (Wu *et al.* 2002).

علی‌رغم اهمیت این نماتود در کشور، تحقیقات چندانی در مورد آن صورت نگرفته است. هم‌چنین با وجود خسارت‌زا بودن نماتود مولد زخم ریشه چای (*P. loosi*) در کشورهای مهم چای خیز دنیا هم چون هندوستان، چین، سری لانکا و ژاپن، در این کشورها نیز تحقیقات مدونی در مورد آن انجام نشده است. با توجه به اهمیت این نماتود در باغ‌های چای شمال کشور و عدم اطلاع کافی از زیست‌شناسی و دینامیک جمعیت آن، این تحقیق صورت گرفته است.

روش بررسی

الف- نمونه‌برداری: نمونه‌برداری از باغ مورد آزمایش و قطعه‌های آزمایشی در این تحقیق (باغ چای تحقیقاتی شهید اسلامی مرکز تحقیقات چای کشور به مساحت ۱۰۰۰ متر مربع)، به صورت تصادفی و مرکب صورت گرفت. هر نمونه متشکل از ده ریز نمونه (Sub sample) بوده که از عمق ۱۵ تا ۲۵ سانتی‌متری و به فاصله ۲۰ سانتی‌متر از طوقه چای به وزن یک و نیم کیلوگرم و ده گرم ریشه چای جمع‌آوری و بعد از ثبت مشخصات لازم به آزمایشگاه انتقال داده می‌شد.

ب- **استخراج نماتود:** جداسازی نماتود مولد زخم ریشه چای از خاک طبق روش جنکینز (Jenkins 1964) با استفاده از الک و سانتریفیوژ و جداسازی از ریشه بر اساس روش کولن و دهرد (Coolen & d'Herde 1972) صورت گرفت.

ج- **شمارش نماتود:** برای شمارش نماتود با استفاده از میکروسکوپ نوری از اسلاید شمارش (Counting slide) استفاده شد.

د- **کشت نماتود:** جهت تکثیر و کشت نماتودهای مورد نیاز و مطالعه زیست‌شناسی بر روی محیط کشت مصنوعی در شرایط آزمایشگاهی، از دیسک هویج طبق روش ارائه شده توسط مودی و همکاران (Moody *et al.* 1973) با مختصری تغییرات استفاده گردید (Pourjam 1998).

ه- مطالعه زیست‌شناسی نماتود مولد زخم ریشه چای در شرایط آزمایشگاهی

به منظور تعیین مناسب‌ترین دما جهت تکثیر در شرایط آزمایشگاهی، نماتود بر روی دیسک‌های هویج کشت داده شد (در هر تشتک حاوی دیسک هویج ۴۰ نماتود از سنین مختلف لاروی و نماتود بالغ) و به‌طور هم‌زمان نمونه‌ها با پنج تکرار داخل انکوباتورهای مختلف با دماهای ۱۸، ۱۹، ۲۰، ۲۱ و ۲۲ درجه سانتی‌گراد قرار داده و به مدت دو ماه روزانه مورد بازدید قرار می‌گرفتند. جهت به حداقل رساندن خطا، این آزمایش سه بار تکرار گردید. به منظور تعیین دمای مناسب تفریح تخم از روش وو و همکاران (Wu *et al.* 2002) استفاده شد. ابتدا پنج انکوباتور با دماهای ۱۵، ۱۶، ۱۷، ۱۸ و ۱۹ درجه سانتی‌گراد در نظر گرفته و در هر دما، پنج تشتک حاوی محیط کشت آب آگار دو درصد و در هر تشتک ۱۰۰ عدد تخم قرار داده شد. هر انکوباتور با دمای خاص به مدت سه هفته در تاریکی کامل نگهداری شدند. پس از طی زمان تعیین شده، تعداد تخم‌های تفریح شده به تفکیک تکرار در هر تیمار (دماهای مختلف) شمارش گردید و این آزمایش نیز جهت دقت بیشتر، سه بار تکرار شد. در این آزمایش علاوه بر تعیین دمای بهینه جهت تفریح تخم، تعیین نسبت نماتودهای ماده و نر نیز انجام گردید. جهت انجام این امر پس از تفریح تخم، لاروهای تفریح شده به تشتک‌های حاوی دیسک‌های استریل هویج تازه انتقال داده شده و حداقل به مدت پنج هفته درون انکوباتور با دمای بهینه تکثیر (۲۰ تا ۲۱ درجه سانتی‌گراد) نگهداری گردید. این آزمایش مشابه آزمایش قبلی با پنج تکرار انجام شد. پس از گذشت زمان لازم، عمل استخراج صورت گرفته و نماتودهای بالغ به تفکیک جنسیت شمارش شدند.

به منظور تعیین چرخه کامل زندگی نماتود و همچنین تعیین مراحل مختلف زیستی به تفکیک (تفریح تخم، سنین مختلف لاروی و نماتود بالغ) در طی سال‌های ۱۳۸۳ و ۱۳۸۴ آزمایشی در سه نوبت متوالی با سه تکرار انجام شد. در هر آزمایش مبنای چرخه کامل زندگی، از تخم تا تشکیل مجدد تخم بود. جهت انجام آزمایش، ابتدا نماتود را بر روی دیسک‌های هویج کشت داده و تخم‌های تولید شده به صورت روزانه جمع‌آوری و بر روی تشتک‌های حاوی دیسک هویج انتقال داده (تعداد ۱۰ تخم هم سن در هر تشتک) و با سه تکرار در دمای ۲۰ تا ۲۱ درجه سانتی‌گراد در انکوباتور قرار داده شد. با بررسی روزانه، مدت زمان طی شده تا تفریح تخم‌ها یادداشت گردید. سپس با بازدیدهای روزانه، زمان ظهور سنین مختلف لاروی و نماتود بالغ یادداشت و زمان لازم جهت طی کردن سنین مختلف لاروی تعیین گردید. علاوه بر این، زمان ظهور نماتود ماده بالغ تا زمان مشاهده‌ی مجدد تخم‌ها در محیط یادداشت و از اطلاعات مذکور جهت محاسبه چرخه کامل زندگی از تخم تا تخم استفاده شد.

(و) مطالعه دینامیک جمعیت و زیست‌شناسی نماتود مولد زخم ریشه چای در شرایط طبیعی

برای مطالعه دینامیک جمعیت و زیست‌شناسی نماتود در شرایط طبیعی، سه قطعه زمین آلوده به نماتود مولد زخم ریشه (هر قطعه به مساحت ۱۰۰ متر مربع، شامل ۱۰۰ بوته بالغ چای آلوده)، در باغ چای شهید اسلامی مرکز تحقیقات چای کشور در نظر گرفته شد. سپس از نیمه دوم سال ۱۳۸۰ به مدت پنج سال (پایان نیمه اول سال ۱۳۸۵) به طور مرتب هر دو هفته یک بار نمونه مرکب خاک و ریشه (حداقل از ۱۰ بوته) از قطعات آزمایشی جمع‌آوری شد. سپس به ترتیب با استفاده از روش‌های جنکینز (Jenkins 1964) و کولن و دهرد (Coolen & d'Herde 1972) نماتودها از خاک و ریشه استخراج و با استفاده از اسلاید شمارش گردیدند. علاوه بر شمارش جمعیت، با چندین بار شمارش تصادفی، نسبت تعداد نماتودهای بالغ نر و ماده به ویژه در نمونه‌های خاک نیز تعیین گردید. در طول انجام آزمایش، درجه حرارت خاک و میزان بارندگی نیز در قطعات آزمایشی اندازه‌گیری شد. بر اساس تغییرات فصلی و یا ماهیانه جمعیت، پیک‌های جمعیتی نماتود در شرایط طبیعی تعیین شد. در طول فصول زمستان سال‌های مختلف و نمونه‌برداری‌های مکرر و آنالیز نمونه‌ها، نحوه زمستان‌گذرانی نماتود مذکور نیز مشخص گردید. پس از آنالیز داده‌ها و ترسیم نمودارها با استفاده از نرم افزارهای آماری، دینامیک جمعیت نماتود جهت تعیین پیک‌های جمعیتی در هر سال و

ارتباط آن‌ها با دمای خاک و میزان بارندگی مورد بررسی قرار گرفت.

نتیجه و بحث

زیست‌شناسی نماتود مولد زخم ریشه چای در شرایط آزمایشگاهی و طبیعی بررسی گردید. مطالعه دمای مطلوب جهت تولید انبوه نماتود *P. loosi* بر روی دیسک هویج و تجزیه و تحلیل آماری داده‌های آن نشان داد که مطلوب‌ترین دما جهت تکثیر این نماتود، دمای ۲۰ تا ۲۱ درجه سانتی‌گراد می‌باشد. نتیجه به دست آمده با آنچه که توسط وو و همکاران (Wu et al. 2002) در خصوص این نماتود در تایوان به دست آورده اند کاملاً مطابقت دارد (جدول ۱).

نتایج آزمایش مطلوب‌ترین دما جهت تفریخ تخم در شرایط آزمایشگاهی نشان داد که در دمای ۱۷ درجه سانتی‌گراد بیشترین تعداد تخم تفریخ شده است (جدول ۲). نتایج این قسمت از تحقیق نیز با آنچه وو و همکاران (Wu et al. 2002) در خصوص این نماتود به آن دست یافته‌اند (دمای ۱۶ درجه سانتی‌گراد)، یک درجه سانتی‌گراد اختلاف نشان می‌دهد. در دمای ۱۷ درجه سانتی‌گراد، ۷۸/۶ درصد و در دمای ۱۶ درجه سانتی‌گراد، ۶۴/۸ درصد از تخم‌ها تفریخ شده‌اند. نتایج تجزیه واریانس نشان داد که اختلاف معنی‌داری بین تیمارهای حرارتی در سطح احتمال یک درصد برای تفریخ تخم‌ها وجود دارد (جدول ۲). در این آزمایش، تخم‌های تفریخ شده پس از چند روز به محیط کشت‌های جدید انتقال داده شده و جهت تعیین نسبت نماتودهای نر و ماده پس از بلوغ، به مدت پنج هفته در دمای بهینه تکثیر (۲۰ تا ۲۱ درجه سانتی‌گراد) نگهداری شدند. نتایج حاصل نشان داد میانگین نسبت جنسی، ۷۴/۲۰ درصد نماتود ماده در مقابل ۲۵/۸۰ درصد نماتود نر می‌باشد (۲۶:۷۴)، در حالی که این نسبت در شرایط طبیعی بسته به فصل نمونه‌برداری و شرایط اقلیمی در سال‌های مختلف متفاوت بوده است. میانگین نسبت جنسی در نمونه‌های بررسی شده در شرایط طبیعی ۷۶/۹۲ درصد نماتود ماده در مقابل ۲۳/۰۸ درصد نماتود نر می‌باشد (۲۳:۷۷). مقایسه این نسبت‌ها با استفاده از آزمون *t* نشان داد که بین اعداد ۲۳ و ۲۶ و همچنین ۷۴ و ۷۷ اختلاف معنی‌داری ($\alpha = 1\%$) وجود ندارد. نتایج نسبت جنسی نماتودهای بالغ در شرایط آزمایشگاهی و طبیعی در جداول ۳

و ۴ آمده است. همچنین نتایج نشان داد که در شرایط آزمایشگاهی، حدود ۷۵ درصد از تخم های تفریخ شده به نماتود بالغ تبدیل می شوند که این نتیجه ممکن است در اثر فقر غذایی در محیط کشت باشد. البته نباید تلف شدن بعضی از نماتودها در حین عمل استخراج را نیز نادیده گرفت. در مجموع، از نتایج نسبت جنسی در شرایط آزمایشگاهی و طبیعی می توان نتیجه گرفت که نسبت جنسی نر به ماده تقریباً ۱ به ۳ می باشد.

جدول ۱- میانگین تعداد نماتود مولد زخم ریشه چای در دماهای مختلف در شرایط آزمایشگاهی

Table 1. Mean number of tea root lesion nematode at different temperatures under *in vitro* condition

تکرار Replication	تعداد نماتود دو ماه پس از کشت بر روی دیسک هویج (Number of nematode on carrot disc culture after two months)				
	18 °C	19 °C	20 °C	21 °C	22 °C
1	220	585	2180	2300	1050
2	175	440	2450	1850	930
3	285	650	1790	2160	780
4	95	530	2100	1750	1120
5	180	610	3040	2920	890
میانگین Mean	191 ^{d*}	563 ^c	2312 ^a	2196 ^a	954 ^b

* میانگین های دارای حروف مشترک، از نظر آزمون DMRT در سطح ۵٪ تفاوت معنی داری با یکدیگر ندارند.

Means with the same letter are not significantly different at 5 % level according to DMRT.

بررسی چرخه کامل زندگی نماتود مولد زخم ریشه چای (*P. loosi*) نیز در شرایط آزمایشگاهی بر روی محیط کشت مصنوعی هویج از تخم تا تخم نشان داد که این چرخه در شرایط آزمایشگاهی ۴۶ تا ۴۹ روز طول می کشد که دوره تفریخ تخم ۱۵ تا ۱۷ روز، سنین مختلف لاروی ۱۵ تا ۱۶ روز و دوره زندگی نماتودهای بالغ تا تولید تخم ۱۶ روز به طول می انجامد (جدول ۵). نتایج این قسمت از تحقیق نیز تا حدودی با نتایج کار تحقیقاتی وو و

همکاران (Wu et al. 2002) مطابقت دارد. البته این محققین چرخه زندگی مراحل مختلف زیستی نماتود مورد نظر را تعیین نکرده‌اند، اما چرخه کامل زندگی نماتود را ۴۵ تا ۴۶ روز ذکر نموده‌اند.

همان‌طوری که در جدول ۵ نشان داده شده است، میانگین مدت زمان لازم برای تکمیل چرخه کامل زندگی نماتود مولد زخم ریشه چای در شرایط آزمایشگاهی ۴۷/۳۳ روز بوده که از ۴۶ تا ۴۹ روز متغیر می‌باشد. هم‌چنین میانگین مدت زمان تفریخ تخم و طی شدن سنین مختلف لاروی به ترتیب (۱۷-۱۵)/۸۹ و (۱۶-۱۵)/۴۴ روز می‌باشد. مدت زمان دوره زندگی نماتود ماده بالغ تا تشکیل تخم، ۱۶ روز می‌باشد که در طی آزمایش‌های مختلف و در تکرارهای متعدد این زمان یکسان بود. شایان ذکر است به دلیل همپوشانی مراحل مختلف زیستی در شرایط طبیعی و عدم قابلیت کنترل در این شرایط، امکان تعیین چرخه کامل زندگی و مراحل مختلف آن در مورد این نماتود در شرایط باغ مقدور نبود، ولیکن نتایج حاصل از تغییرات فصلی جمعیت و دینامیک آن که اصولاً نمایانگر تعداد نسل این نماتود در شرایط طبیعی است مؤید این موضوع است که نماتود مذکور در طی ۴۵ تا ۶۰ روز دارای یک اوج جمعیتی بوده (در صورت مناسب بودن شرایط تغذیه‌ای، اقلیمی و هم‌چنین دمای مناسب خاک) که با زیست‌شناسی نماتود در شرایط آزمایشگاهی تقریباً مطابقت دارد.

نتایج بررسی زیست‌شناسی نماتود مولد زخم ریشه چای در شرایط طبیعی نشان داد که این نماتود مشابه سایر نماتودهای مولد زخم ریشه، انگل داخلی و مهاجر ریشه بوده که ریشه‌های مویین و تغذیه‌کننده چای را بیشتر مورد حمله قرار می‌دهد و با رسیدن دمای خاک به ۱۵ درجه سانتی‌گراد و بالاتر فعالیت خود را جهت پارازیت‌ه کردن ریشه‌های تغذیه‌کننده و مویین چای شروع می‌نماید. بیشترین میزان جمعیت این نماتود در خاک با بافت مناسب گیاه چای (لومی رسی) در عمق ۱۵ تا ۲۵ سانتی‌متری از سطح خاک مشاهده گردید. به نظر می‌رسد لاروهای سنین مختلف (L_2 , L_3 و L_4) و هم‌چنین افراد بالغ ماده این نماتود می‌توانند به ریشه‌های مویین و تغذیه‌کننده جوان چای حمله نمایند.

جدول ۲- درصد تفریح تخم‌های نماتود مولد زخم ریشه چای در دماهای مختلف در شرایط آزمایشگاهی

Table 2. Hatching percentage of tea root lesion nematode eggs at different temperatures under *in vitro* condition

تکرار Replication	درصد تخم‌های تفریح شده پس از سه هفته (Percentage of hatched eggs after three weeks)				
	15 °C	16 °C	17 °C	18 °C	19 °C
1	48	63	82	68	60
2	53	59	78	52	52
3	52	68	73	58	48
4	46	63	84	56	52
5	47	71	76	62	56
انحراف معیار ± میانگین	^{d*} ±1.39	64.8 ^b ± 2.11	78.6 ^a ± 1.99	59.2 ^{bc} ± 2.73	^{cd} ± 2.04
SE±Mean	49.2				53.6

* میانگین‌های دارای حروف مشترک از نظر آزمون DMRT در سطح ۵٪ تفاوت معنی‌داری با یکدیگر ندارند.

Means with the same letter are not significantly different at 5 % level according to DMRT.

جدول ۳- نسبت جنسی افراد بالغ نماتود مولد زخم ریشه چای، حاصل از تفریح ۱۰۰ عدد تخم در شرایط آزمایشگاهی

Table 3. Sex ratio of adult tea root lesion nematode, resulted from hatching of 100 eggs under *in vitro* condition

تکرار Replication	تعداد کل نماتودهای بالغ Total No. of adult N.	تعداد ماده‌ها Females(No.)	تعداد نرها Males(No.)	درصد ماده‌ها Females (%)	درصد نرها Males (%)
1	78	59	19	75.64	24.36
2	74	52	22	70.27	29.73
3	68	53	15	77.94	22.06
4	82	60	22	73.17	26.83
5	83	54	19	73.97	26.03
انحراف معیار ±					
میانگین	75 ± 1.28	55.60 ± 1.98	19.40 ± 2.18	74.20 ± 1.28	25.80 ± 1.28
SE±Mean					

جدول ۴- نسبت جنسی افراد بالغ نماتود مولد زخم ریشه چای در شرایط طبیعی

Table 4. Sex ratio of adult tea root lesion nematode under *in vitro* conditions

سال Year	تعداد نمونه Sample(No.)	میانگین تعداد	میانگین تعداد	درصد ماده‌ها	درصد نرها
		نماتود ماده Mean of female nematode(No.)	نماتود نر Mean of male nematode(No.)	Females (%)	Males (%)
1380-81	24	179.64	60.36	74.85	25.15
1381-82	24	239.98	44.02	84.50	15.50
1382-83	24	281.32	87.68	76.24	23.76
1383-84	24	123.76	52.24	70.32	29.68
1384-85	24	208.58	56.42	78.71	21.29
انحراف معیار ± میانگین	24	205.22 ± 1.44	61.57 ± 1.44	76.92± 2.33	23.08 ± 2.33
SE±Mean					

جدول ۵- طول دوره مراحل مختلف چرخه زندگی نماتود مولد زخم ریشه چای در شرایط

آزمایشگاهی (برحسب روز)

Table 5. Duration of life cycle of tea root lesion nematode under *in vitro* conditions (days)

مراحل زیستی Life stages	آزمایش اول			آزمایش دوم			آزمایش سوم			دامنه) میانگین Mean(Range)
	I	II	III	I	II	III	I	II	III	
تخم Egg	15	17	15	17	16	15	15	16	17	15.89 (15-17)
سنین مختلف لاروی Different juveniles stages	15	15	16	16	16	15	15	15	16	15.44 (15-16)
نماتود بالغ Adult	16	16	16	16	16	16	16	16	16	16
چرخه کامل زندگی Life cycle	46	48	47	49	48	46	46	47	49	47.33 (46-49)

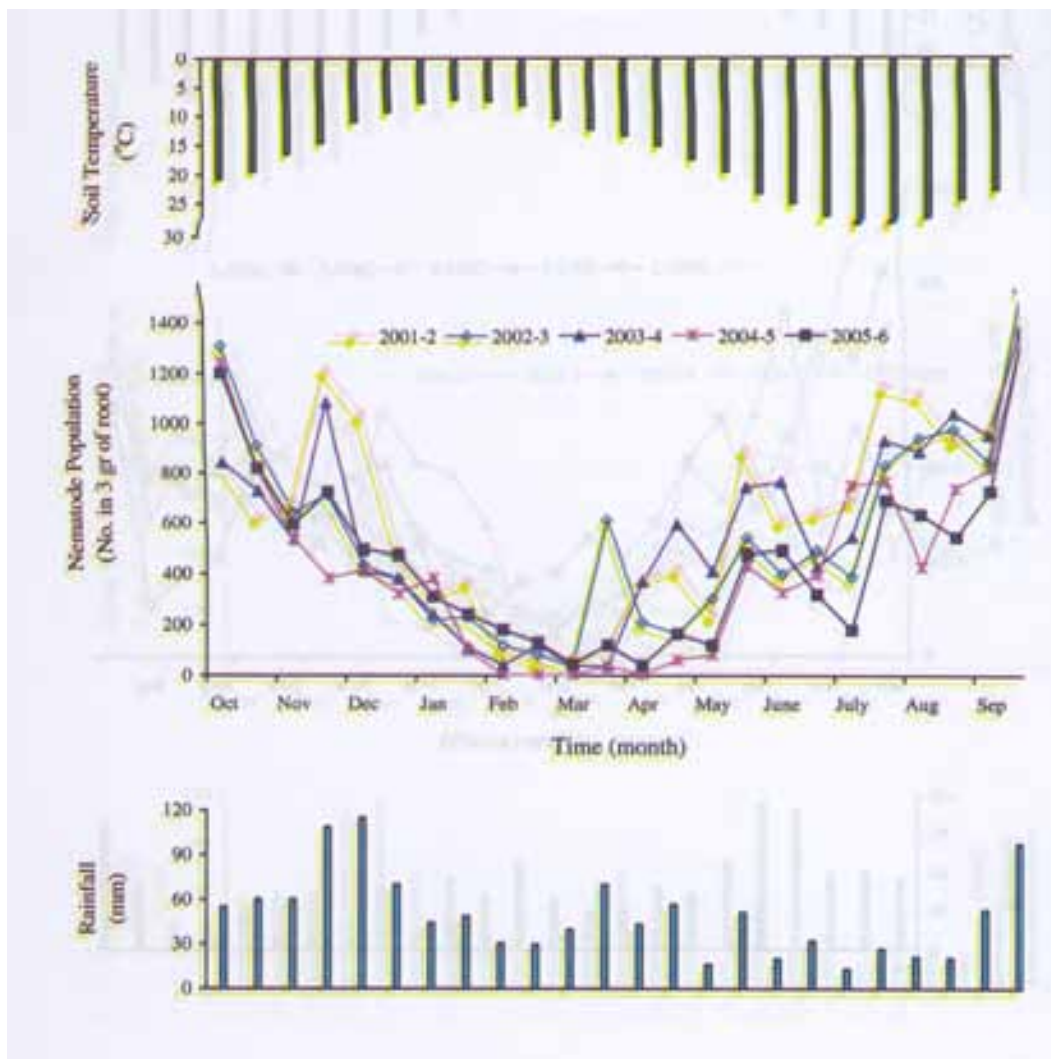
این نماتود به شکل‌های مختلف می‌تواند زمستان‌گذرانی کند، نتایج حاصل از این مطالعه نشان می‌دهد که زمستان‌گذرانی نماتود مولد زخم ریشه چای غالباً به صورت تخم در خاک و

یا تونل‌های ایجاد شده در ریشه‌های تغذیه‌کننده می‌باشد. البته در فصول زمستان در سال‌های انجام تحقیق، این نماتود به صورت لارو سن چهارم و نماتود بالغ در ریشه و خاک نیز دیده شد. بنابراین، به نظر می‌رسد این نماتود علاوه بر تخم، به صورت لارو سن چهارم و نماتود بالغ نیز زمستان‌گذرانی نماید. بر اساس نمونه‌برداری‌های مکرر چندین ساله و هم‌چنین بررسی دینامیک جمعیت در خاک و ریشه در شرایط طبیعی، این نماتود دارای سه تا چهار اوج جمعیتی در سال می‌باشد (شکل ۱ تا ۴)، که اوج جمعیت‌ها خود می‌تواند دال بر تولید یک نسل نماتود باشد. این نماتود در طول سال، سه اوج جمعیتی در ماه‌های اردیبهشت، تیر و شهریور ماه داشته ولی نسل چهارم آن بسته به تغییرات اقلیمی سالانه و دمای خاک متغیر است. در طی پنج سال بررسی‌های مزرعه‌ای (شرایط باغ)، به استثناء یک سال، این نماتود علاوه بر سه نسل به شرح فوق، دارای نسل چهارم نیز بوده که در صورت زمستان زودرس، سرد شدن هوا در فصل پاییز و رسیدن دمای خاک به زیر ۱۵ درجه سانتی‌گراد، نسل چهارم نماتود در اسفند ماه دیده می‌شود و چنانچه فصل پاییز خنک بوده و شرایط خاک به ویژه دمای خاک مناسب باشد، نسل چهارم نماتود در آبان ماه ظاهر می‌شود. در سال ۱۳۸۳ به دلیل برودت هوا و برف سنگین در استان گیلان، این نماتود دارای سه اوج جمعیتی بوده و این اوج‌های جمعیتی در زمان‌های مرسوم (اردیبهشت، تیر و شهریور ماه) دیده شد.

در طی این تحقیق، در شرایط طبیعی به مدت پنج سال به طور مرتب و هر دو هفته یک بار میزان جمعیت نماتود در سه گرم ریشه، ۲۵۰ گرم خاک و میانگین جمعیت خاک و ریشه اندازه‌گیری شد. علاوه بر آن دو عامل مهم محیطی دمای خاک و میزان بارندگی نیز تعیین گردید (شکل‌های ۱ تا ۴). بررسی دینامیک جمعیت این نماتود نشان می‌دهد که در صورت مساعد بودن شرایط اقلیمی به ویژه دمای خاک، نماتود مذکور دارای سه تا چهار اوج جمعیتی در طول سال می‌باشد. نتایج حاصل از تجزیه رگرسیون ارتباط معنی‌داری بین میزان جمعیت نماتود با دو عامل دمای خاک و میزان بارندگی نشان داد همان طوری که در اشکال ۱ تا ۴ نشان داده شده است. بر این اساس رابطه بین میزان جمعیت *P. loosi* در ریشه با دمای خاک و میزان بارندگی از مدل خطی ($R^2 = 0.54$) و T_s $\times 38/3895 + R \times 3/88542 + Pr = -330/78$ که در آن Pr جمعیت نماتود در ریشه، R

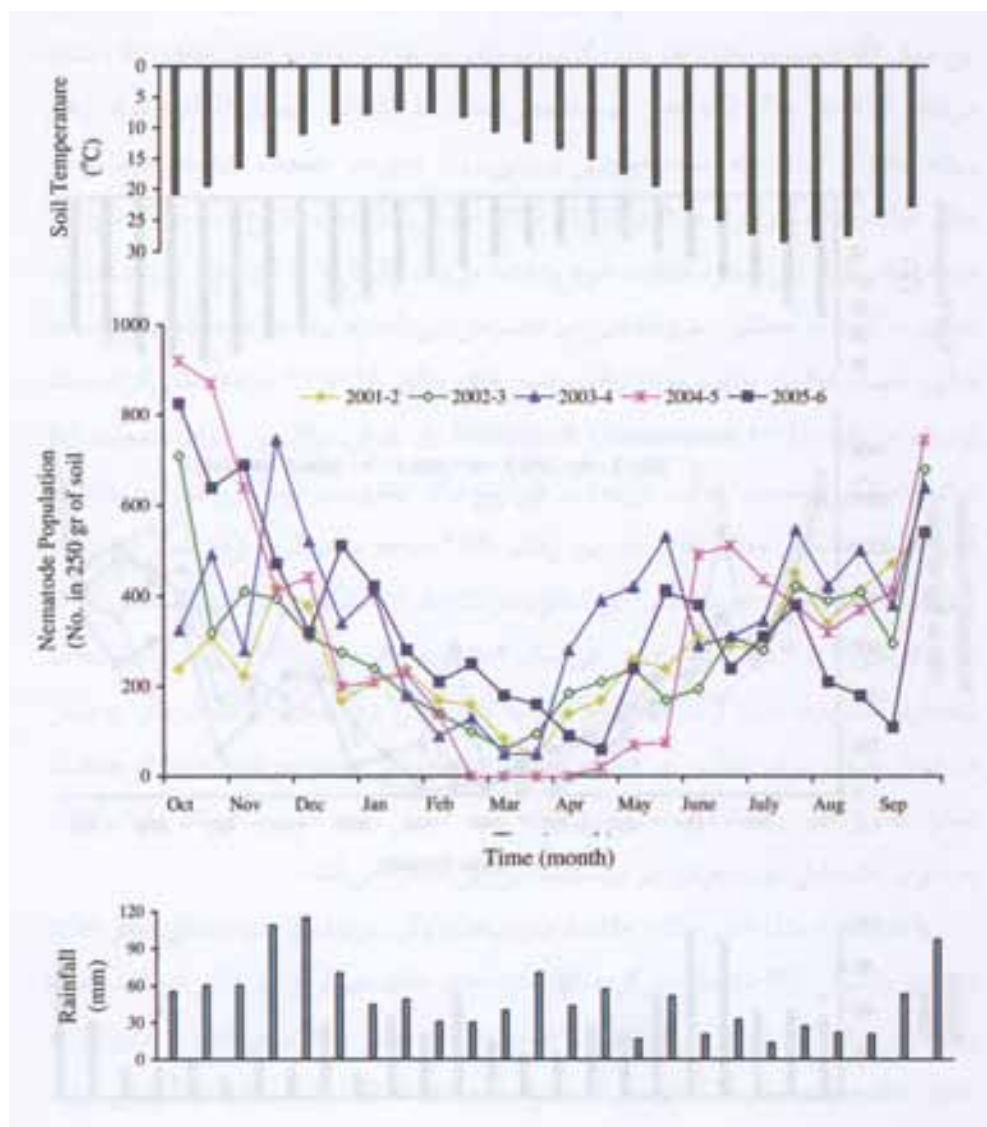
متوسط بارندگی ماهانه و T_s متوسط ماهانه دمای خاک می باشد، تبعیت می کند. ضریب تبیین این مدل ۵۴ درصد می باشد. ضریب رگرسیون متغیر مستقل مربوط به دمای خاک (T_s) نشان می دهد که دمای خاک یک عامل مهم محیطی است که تغییرات جمعیتی نماتود مولد زخم ریشه چای به آن وابسته است. هم چنین بررسی روند تغییرات جمعیت نشان می دهد که در دمای ۱۵ درجه سانتی گراد و بالاتر فعالیت نماتود مذکور در خاک شروع شده و تا دمای ۲۵ درجه سانتی گراد این نماتود فعالیت خود را ادامه می دهد (شکل ۱ تا ۴). نتایج این قسمت از تحقیق با آنچه که محققین سری لانکایی در خصوص این نماتود بیان نموده اند که بهترین دامنه دمایی جهت فعالیت نماتود مولد زخم ریشه چای دمای ۱۸ تا ۲۴ درجه سانتی گراد است نزدیک می باشد (Sivaplan & Gnanapragasm 1975). از طرفی، بالاترین میزان جمعیت این نماتود (میانگین جمعیت خاک و ریشه) در طی پنج سال تحقیق، در نیمه دوم شهریور ماه دیده شده است. میانگین دمای خاک در این زمان، ۲۲/۸ درجه سانتی گراد بوده است که بسیار نزدیک به دمای بهینه جهت تکثیر این نماتود در شرایط آزمایشگاهی می باشد. همانطوری که در شکل های ۱ تا ۴ دیده می شود، در طی سال ۱۳۸۳ سه اوج جمعیتی دیده شده که هر سه در نیمه اول سال بوده است و در نیمه دوم سال به دلیل پایین بودن دمای خاک، سرمای زودرس در فصل پاییز و برف سنگین در فصل زمستان، اوج جمعیتی دیده نمی شود و میزان جمعیت نماتود به ویژه در ریشه کاهش معنی داری یافته است که این روند خود بیانگر نقش دمای خاک به عنوان یک عامل مهم محیطی در زیست شناسی این نماتود می باشد.

با عنایت به مدل خطی بالا و مقایسه ضریب های رگرسیون متغیرهای مستقل دمای خاک (T_s) و بارندگی (R) ملاحظه می گردد که نقش دمای خاک مهم تر از بارندگی می باشد. اما با وجود این، بارندگی نیز در روند تغییرات جمعیت نقش مهمی را بازی می کند. در صورتی که دمای خاک جهت فعالیت نماتود مولد زخم ریشه (*P. loosi*) مطلوب باشد با افزایش میزان بارندگی میزان جمعیت نیز افزایش می یابد، به طوری که در ماه های نیمه اول هر سال که دمای خاک (T_s) در حد مطلوب است با افزایش میزان بارندگی جمعیت نماتود افزایش می یابد و در شهریور ماه که دمای خاک و میزان بارندگی همزمان مطلوب هستند، بالاترین میزان جمعیت مشاهده می گردد.



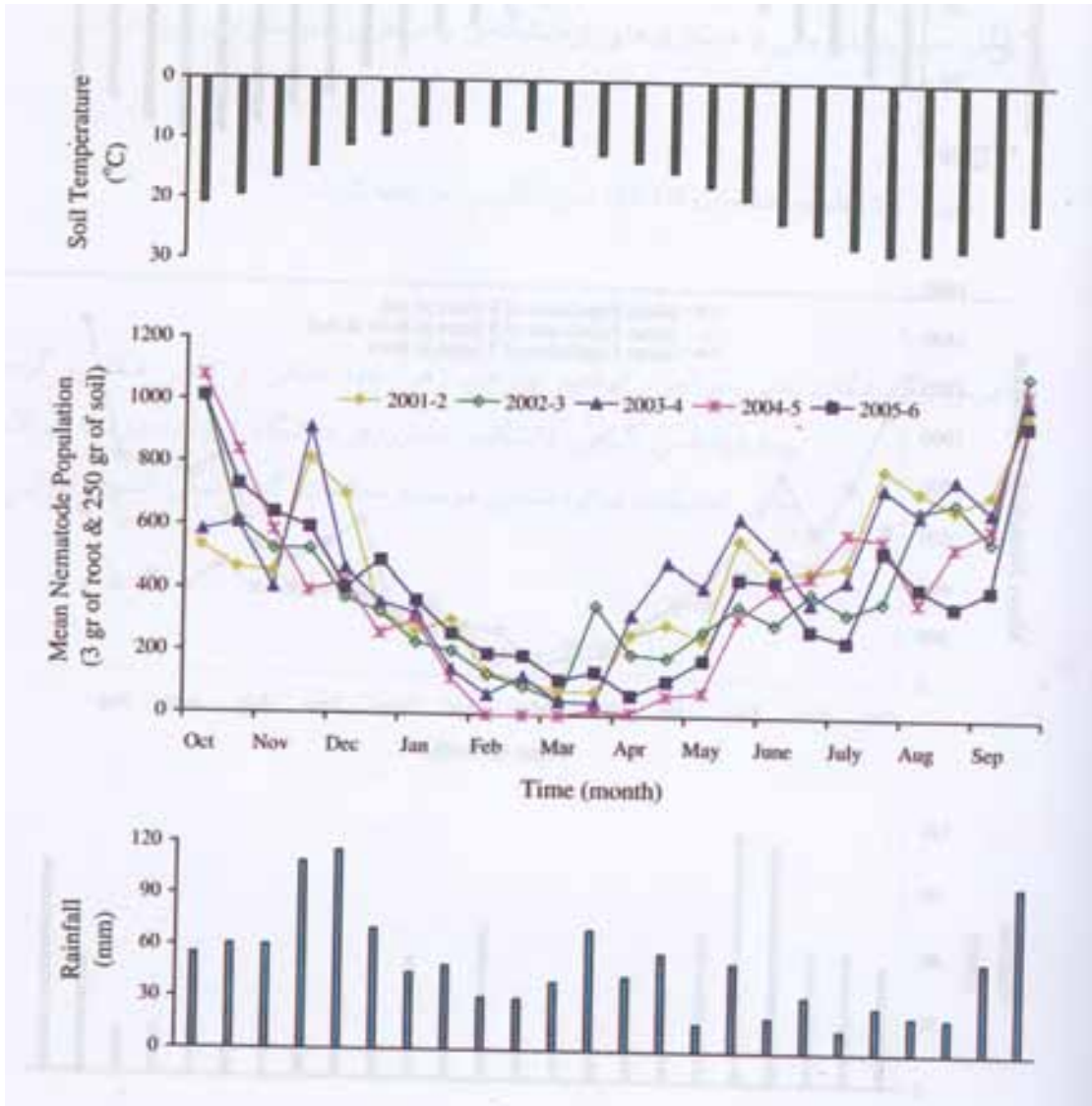
شکل ۱- تغییرات جمعیت نماتود مولد زخم ریشه چای در ریشه با توجه به میزان درجه حرارت خاک و بارندگی در طی پنج سال.

Fig. 1. Population dynamics of *Pratylenchus loosi* in root, rainfall and soil temperature during 2001 to 2006.



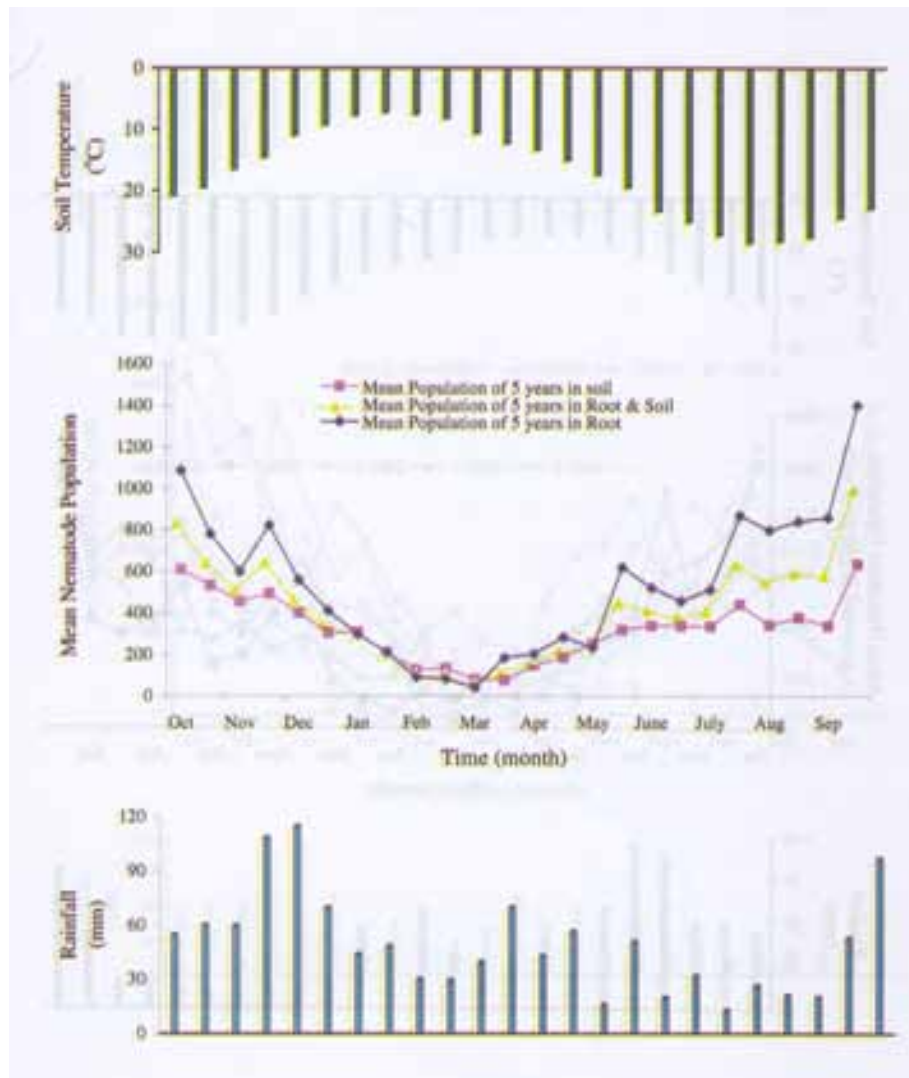
شکل ۲- تغییرات جمعیت نماتود مولد زخم ریشه چای در خاک با توجه به میزان درجه حرارت خاک و بارندگی در طی پنج سال.

Fig. 2. Population dynamics of *Pratylenchus loosi* in soil, rainfall and soil temperature during 2001 to 2006.



شکل ۳- میانگین تغییرات جمعیت نماتود مولد زخم ریشه چای در خاک و ریشه با توجه به میزان درجه حرارت خاک و بارندگی در طی پنج سال.

Fig. 3. Mean population dynamics of *Pratylenchus loosi* in soil and root, rainfall and soil temperature during 2001 to 2006.



شکل ۴- میانگین تغییرات جمعیت نماتود مولد زخم ریشه چای در ریشه، خاک، خاک و ریشه با توجه به میزان درجه حرارت خاک و بارندگی.

Fig. 4. Mean population dynamics of *Pratylenchus loosi* in root, soil, sum of soil and root, rainfall and soil temperature during 2001 to 2006.

سپاسگزاری

نگارندگان از مسئولین دانشگاه تربیت مدرس به ویژه دانشکده کشاورزی، هم‌چنین پرسنل ایستگاه تحقیقات چای شهید افتخاری فومن (فشالم) و مرکز تحقیقات چای کشور به خاطر حمایت‌های مالی و همکاری‌های آزمایشگاهی و صحرایی سپاسگزاری می‌نمایند.

منابع

جهت ملاحظه به صفحات (42-43) متن انگلیسی مراجعه شود.

آدرس نگارندگان: علی سراجی، ابراهیم پورجم، زهرا تنها معافی و ناصر صفایی، گروه بیماری‌شناسی گیاهی دانشکده کشاورزی دانشگاه تربیت مدرس، تهران
بخش تحقیقات نماتودشناسی مؤسسه تحقیقات گیاه‌پزشکی کشور، تهران

References

- BAROUTI, S. and ALAVI, A. 2002. Plant nematology, principle and parasite and quarantine nematodes of Iran (2nd edition). Carbord agricultural science publication, Tehran, 302 p.
- CAMPOS, V. P., SIVAPALAN, P. and GNANAPRAGASAM, N. C. 1990. Nematodes parasites of coffee, cocoa and tea. pp: 387-430, *In*: M. Luc, R. A. Sikora, and J. Bridge (eds). **Plant parasitic nematodes in subtropical and tropical agriculture**. CAB International, Wallingford, UK.
- COOLEN, W. A. and D'HERD, C. J. 1972. A method for the quantitative extraction of nematodes from plant tissue. Ghent Agri. Res. Cent., Belgium, 77p.
- FAO .2005. Current market situation and medium-term out look, Intergovernmental group on tea, p.8.
- GNANAPRAGASAM, N. C.1987. Effect of soil acidity on the population levels of *Pratylenchus loosi*. **Int. Nematol. Network Newsl. 4**: 23-24.
- GNANAPRAGASAM, N. C., JEBAMALAI, A.S. and SIVAPALAN, P. 1988. Control of root lesion nematode *Pratylenchus loosi* in tea nursery plants. **J. Tea Science 56**: 95-97.
- GNANAPRAGASAM, N. C. and SIVAPALAN, P.1991. Influence of soil types and storage conditions on the recovery of *Pratylenchus loosi* from soil samples. **Afro-Asian J. Nematol. 1**: 150- 153.
- JAMES, A. D.1983. *Camellia sinensis* (L.) Kuntze. Hand book of energy crops, unpublished. WWW: url: [http://hort-purdus.edu/new_crop/nexus/Camellia sinensis-nex.html/](http://hort-purdus.edu/new_crop/nexus/Camellia_sinensis-nex.html/).
- JENKINS, W. R. 1964. A rapid centrifua flotation technique for separating nematodes from soil. **Plant Diseases Reporter 48**: 692.
- MAAFI, T. Z. 1993. Observation of root lesion nematode, *Pratylenchus loosi* in imported tea seedlings from Japan. **Appl. Ent. Phytopath. 60**: 29-30 [93-94], (in Persian with English summary).
- MOHOTTI, K. M. 1998. Effect of biological, ecological and morphological factors on the control and pathogenicity of root lesion nematode, *Pratylenchus loosi* on tea. Ph.D thesis, Department of Agriculture, University of Reading, UK., 289 p.
- MOODY, E. H., LOWNSBERY, B. F. and AHMAD, J. M. 1973. Culture of the root- lesion nematode *Pratylenchus vulnus* on carrot discs. **J. Nematol. 3**: 225-226.
- OOKHOVAT, M. and VAKILI, D. 1998. Tea (cultivation and harvesting). Farabi

publication, 1st. edition, Tehran, 306 p.

- POURJAM, E. 1998. Investigation on morphology and systematic of *Pratylenchus* (Tylenchida : Pratylenchidae) in north of Iran. Ph.D Thesis, College of Agriculture, Tarbiat Modares University, Tehran, 261 p.
- SIVAPALAN, P. 1967. Nematodes and tea. **Tea Quarterly** **38**: 178-185.
- SIVAPALAN, P. and GNANAPRAGASAM, N.C. 1975. The effect of soil temperature and infestation by *Pratylenchus loosi* on the growth and nutrient status of a susceptible and tolerant variety of young tea (*Camellia sinensis* L.). **Tea Quarterly** **45**: 29-35.
- TANHAMAIFI, Z. and MIRHOSEINI MOGHADAM, A. 2001. Study on the effect of organophosphate nematicides on the root lesion nematode, *Pratylenchus loosi*, in tea plantations Iran. **Iran. J. Plant Path.** **37**: 9-10 [29-38], (in Persian with English summary).
- WU, H. Y., TSAY, T. T. and LIN, Y. Y. 2002. Identification and biological study of *Pratylenchus* spp. isolated from the crops in Taiwan. **Plant Pathol. Bull.** **11** : 123-136.

Address of the authors: A. SERAJI, E. POURJAM, Z. TANHAMAIFI and N. SAFAIE Dept. Plant Pathology, College of Agriculture, Tarbiat Modares University, Tehran Dept. Research Nematology, Plant Protection Institute of Iran, Tehran