وضعیت آلودگی و تأثیر دما بر فعالیت نماتد نوک سفیدی برگ برنج در رقم هاشمی

سیده زهره اسعدی[۱]، سالار جمالی[۲]، فاطمه حبیبی[۳] و صمد صبوری[۴]
۱- دانشجوی کارشناسی ارشد، گروه گیاهپزشکی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه گیلان
۲- استادیار، گروه گیاهپزشکی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه گیلان
۳- استادیار پژوهش، مؤسسه تحقیقات برنج کشور
۴- مربی پژوهش، مؤسسه تحقیقات برنج کشور
*Zohre_asadi99@yahoo.com

چکیده

نماتد نوک سفیدی برگ (*Aphelenchoides besseyi* Christie, 1942) موجود در ۴۰ نمونه از بذور برنج رقم هاشمی جمع‌آوری شده از استان گیلان استخراج و شمارش شدند. استخراج نماتدها با استفاده از روش ماتور و لال انجام گرفت. همچنین تاثیر درجه حرارت بر میزان فعالیت نماتد در سه تیمار دمایی مورد بررسی قرار گرفت. خصوصیات ریخت‌شناسی و ریخت‌سنجی گونه مورد مطالعه با شرح اصلی *A. besseyi* مطابقت کامل داشت. نتایج بررسی نشان داد که ۶۷/۵ درصد نمونه های جمع‌آوری شده به این نماتد مبتلا هستند. تعداد نماتد جمع‌آوری شده از بذور برنج بین ۰-۴۰۰ عدد به ازای هر ۱۰۰ عدد بذر متغیر بودند. در مجموع ۱۳ نمونه عاری از نماتد تشخیص داده شدند، که ۸ نمونه مربوط به انزلی، ۳ نمونه از فومن و صومعه سرا و ۲ نمونه از لاهیجان بودند. از سایر نمونه ها جمعیتی بین ۱۰۰ تا ۴۰۰ نماتد استخراج گردید. بیشترین جمعیت استخراج شده با ۴۰۰ عدد، به روستای راسته‌کنار صومعه‌سرا تعلق داشت. با توجه به نتایج حاصل، درصد آلودگی در غرب گیلان بیشتر از سایر نقاط تشخیص داده شد. بررسی انجام شده روی خروج نماتد از بذرهای خیسانده شده در دماهای مختلف نشان داد که در ۲۰، ۲۵ و ۳۰ درجه سانتی‌گراد نماتد قادر به خروج از بذر می‌باشد ولی سرعت خروج در آب ۳۰ درجه سانتیگراد به مراتب بیشتر است.

کلمات کلیدی: انتشار، برنج، نماتد نوک سفیدی

مقدمه

برنج یکی از مهم‌ترین و اصلی‌ترین غذاهای بشر محسوب می‌شود. سهم بالای برنج به‌عنوان غذای اصلی بیش از نیمی از جمعیت جهان در مقایسه با سایر منابع انرژی، نشان‌دهنده‌ی جایگاه و اهمیت ویژه این محصول در تأمین نیازغذایی بشر می‌باشد. میلیون‌ها نفر در آسیا وابستگی غذایی کامل به آن دارند به‌طوری‌که بیش از ۹۰ درصد برنج دنیا در این قاره پهناور تولید و مصرف می‌شود (Shukla et al., 2003). از نظر سطح زیر کشت برنج، استان مازندران با اختصاص ۴۱/۳۵ درصد در رتبه‌ی اول و استان‌های گیلان و گلستان به‌ترتیب با اختصاص ۳۳/۹۱ و ۹/۴۵ درصد در رتبه دوم و سوم قرار دارند (بی‌نام، ۱۳۸۹). نماتد نوک سفیدی برگ یکی از نماتدهای مهم بیماری‌زا روی گیاه برنج می‌باشد. این نماتد برای اولین بار در سال ۱۹۱۵ در کیوشوی ژاپن کشف شد (Kakuta,1915). در آن زمان نام "بیماری دانه سیاه" برای آن برگزیده شد. در سال ۱۹۴۴ نام این بیماری به "نماتد سوختگی قلب" تغییر یافت و عامل آن *Aphelenchoides oryzae* نام‌گذاری شد (Yokoo,1948). در سال ۱۹۴۱ طغیان بیماری مذکور در ژاپن خسارت قابل

توجهی به بار آورد. در سال ۱۹۴۹ مشخص شد که بیماری رؤیت شده در ایالات متحده شبیه بیماری ناشی از نماتد در ژاپن است (Cralley, 1949). در ایران اولین بار توسط خیری از خمام و لاهیجان (Kheiri, 1971) و سپس توسط طلاچیان و اخیانی از رشت گزارش گردید (طلاچیان و اخیانی، ۱۳۵۵). این نماتد پراکنش وسیعی در سطح جهان دارد زیرا از طریق بذر به سادگی انتشار می‌یابد. با این وجود، اهمیت آن در مناطق، کشورها و نواحی مختلف متفاوت است. حتی در یک ناحیه وقوع و شدت بیماری ممکن است از سالی به سال دیگر متغیر باشد و به‌شدت تحت تأثیر اقدامات زراعی و نوع رقم کشت شده قرار می‌گیرد (Bridge et al., 2005). نماتد نوک سفیدی برگ، انگل خارجی گیاه برنج می‌باشد. این نماتد از طریق گل به زیر پوسته شلتوک وارد شده و سن چهارم لاروی می‌تواند ۲ تا ۳ سال در زیر پوسته شلتوک بقای خود را حفظ کند. علائم ایجاد شده روی گیاهان آلوده معمولاً متفاوت است و بستگی به شرایط محیطی، رقم و خاک دارد (Gergon and Misra, 1992). واضح ترین علائم بیماری، پدید آمدن برگهای جدید با نوک سفید شده به طول سه تا پنج سانتیمتر در طی مراحل ابتدایی رشد می‌باشد. در این صورت ممکن است بخش‌های پایینی برگ حالت طبیعی خود را حفظ کنند یا سبزتر باشند. نام نوک سفیدی از علائم مشخصه این بیماری اقتباس گردیده است. سفید شدن برگ به دلیل ممانعت نماتد از حرکت شیره گیاهی و قطع ارتباط سلول‌های آوند آبکش می‌باشد. در این وضعیت رشد سلول‌های برگ کندتر شده و کلروپلاست از بین می‌رود و با پیشرفت بیماری، نکروز ایجاد می‌گردد (Tiwari and Khare, 2003). این نواحی در مراحل بعدی به مرور زمان قهوه‌ای رنگ و خشک شده و ریزش حاصل می‌کنند. بعضی مواقع کلروز تا قسمت میانی یا پایه برگ‌ها گسترش می‌یابد (Gergon and Misra, 1992). حاشیه برگ‌ها ممکن است بد شکل و پیچیده شوند اما غلاف برگ‌ها بدون علامت هستند. قابلیت زنده ماندن بذرهای آلوده کم می شود و جوانه‌زنی آن‌ها به تأخیر می‌افتد (Tamura and Kegasawa, 1959). روش‌های متعددی برای جداسازی نماتد نوک سفیدی از بذر ارائه شده است. به‌طور مثال برای استخراج نماتد از بافت‌های گیاهی، ابتدا شلتوک را در دستگاه خردکن برقی خرد نموده، سپس با استفاده از محلول شکر، پودر کائولن و سانتریفوژ عمل جداسازی نماتدها را انجام دادند (Coolen and D'Herde,1972). در روش دیگر، ابتدا شلتوک را خرد کرده و سپس با استفاده از قیف برمن نماتدها را استخراج می‌شود (Nandakumar et al., 1975). در روش ساده‌ای که برای استخراج ارائه شده، ابتدا بذرها را به طریق طولی برش داده و به لوله‌ی نوک میکروسمپلر منتقل می‌شوند. این لوله‌ها در داخل یک ویال شیشه‌ای قرار می‌گیرند و پس از چهار ساعت نماتدها استخراج می‌شود (Hoshino and Togashi, 2002) . در این تحقیق از روش ماتور و لال استفاده شد (Mathur and Lal, 1989). با توجه به این‌که استان گیلان یکی از مناطق برنج خیز کشور محسوب می‌شود و پراکنش نماتد نوک سفیدی برگ برنج نیز در این استان وسیع است. برنج هاشمی یکی از ارقام برنج ایرانی می‌باشد که علاوه بر داشتن قد مناسب از عطر و طعم مطبوع و بازار پسندی مطلوبی برخوردار است. کسب اطلاع از وضعیت آلودگی چنین رقمی با سطح زیر کشت زیاد در استان گیلان، می‌تواند زمینه‌ساز مطالعات بعدی در این راستا باشد.

مواد و روش‌ها

در این مطالعه ابتدا مقدار ۵۰ گرم شلتوک، از ۴۰ منطقه گیلان به طور تصادفی از رقم هاشمی نمونه‌برداری گردید. سپس از هر نمونه ۱۰۰ عدد بذر برای انجام آزمایش انتخاب شده و نماتدهای موجود در آن‌ها به روش ماتور و لال

استخراج گردیدند. برای انجام این کار بذور ابتدا در پتری شیشه‌ای به‌مدت ۱۶ ساعت خیس خورده تا پوسته‌ی بذر نرم شود. پس از آن پوسته در زیر بینوکولر با استفاده از سوزن تشریح جدا شده و نماتدهایی که به حالت غیرفعال (anabiosis) در پوسته‌ی داخلی بذر بودند، آزاد شدند. در نهایت نماتدهای استخراج شده از هر نمونه شمارش و ثبت گردید. به منظور تعیین دمای بهینه جهت خروج و فعالیت نماتد، آزمونی در سه تیمار دمایی ۲۰، ۲۵ و ۳۰ درجه سانتی‌گراد با چهار تکرار در قالب طرح کاملاً تصادفی اجرا شد. تعداد نماتدهای فعال در هر تیمار شمارش و نتایج به ثبت رسید (جدول ۱).

جدول ۱- تعداد نماتدهای استخراج شده در تیمارهای دمایی مورد بررسی

تیمار / تکرار	تیمار اول ۲۰ċ	تیماردوم ۲۵ċ	تیمارسوم ۳۰Ċ
۱	۲۳۵	۲۵۰	۳۶۰
۲	۲۳۲	۲۴۹	۳۶۲
۳	۲۳۶	۲۴۶	۲۹۴
۴	۲۳۰	۲۵۲	۲۹۸

نتایج و بحث

مشخصات نماتدهای استخراج شده با سنوال (۱۹۶۱)، فرانکلین و صدیقی (۱۹۷۲)، هانت (۱۹۹۳) و شاهینا (۱۹۹۶) استفاده از منابع موجود مورد بررسی قرار گرفت با توجه به تطابق بالا در خصوصیات مرفولوژیک و اندازه‌گیری‌های انجام شده، آلودگی به گونه *A. besseyi* در نمونه های مورد مطالعه محرز گردید. نتایج بررسی نشان داد که غالب نمونه های جمع‌آوری شده از گیلان به این نماتد مبتلا هستند. تعداد نماتد ثبت شده از بذور برنج، بین ۰-۴۰۰ عدد به ازای هر ۱۰۰ عدد بذر متغیر بودند. در مجموع ۱۳ نمونه عاری از نماتد تشخیص داده شدند، که ۸ نمونه مربوط به انزلی، ۳ نمونه از فومن و صومعه سرا و ۲ نمونه از لاهیجان بودند. در یک نمونه جمع‌آوری شده از روستای راسته‌کنار صومعه‌سرا، تعداد ۴۰۰ نماتد استخراج شد که بیشترین جمعیت نماتد استخراج شده را شامل گردید. همان‌طور که از نتایج جدول ۲ استنباط می‌شود، میزان آلودگی در مزارع غرب گیلان به مراتب بیشتر از سایر نقاط می‌باشد که خود نیازمند رعایت نکات مدیریتی و عدم استفاده از بذرهای آلوده در کشت سال‌های بعد در این مزارع است. با عنایت به اینکه حد آستانه خسارت اقتصادی این نماتد جمعیت ۳۰۰ نماتد در۱۰۰ عدد بذر گزارش شده (Yamaguchi, 1977) و جمعیت‌های ثبت شده در برخی موارد بیشتر از این حد می‌باشند، خسارت نماتد روی رقم هاشمی در منطقه اقتصادی بوده و باید مورد توجه قرار گیرد. نتایج تحقیق روی درصد خروج نماتد از بذرهای خیسانده شده در دماهای مختلف نشان داد که در ۲۰، ۲۵ و ۳۰ درجه سانتی‌گراد نماتد قادر به خروج از بذر می‌باشد ولی سرعت خروج در آب ۳۰ درجه سانتی‌گراد دارای اختلاف معنی‌دار با دو سطح آماری دیگر است (جدول ۳ و ۴). این نکته نشان‌دهنده خروج سریع‌تر نماتد و فعالیت بیشتر آن در مزارع آلوده و دمای مذکور است.

جدول ۲- تعداد نماتدهای استخراج شده از بذور آلوده در ۱۰۰ عدد شلتوک

محل جمع‌آوری بذر	تعداد نماتد شمارش شده	محل جمع‌آوری بذر	تعداد نماتد شمارش شده
فومن- سنگ بیجار	۳۰۰	صومعه سرا	۱۱۰
فومن- بوئین	۲۲۰	لاهیجان	۱۴۰
فومن- بوئین	۱۵۰	لاهیجان	۹۰
فومن- کلفت	۸۰	لاهیجان	۱۰۰
فومن- نوگراب	۴۰	لاهیجان	۱۲۰
فومن	۲۵۰	لاهیجان	۱۰۰
صومعه سرا	۲۳۰	لاهیجان	۱۲۰
صومعه سرا-سپیران	۲۵۰	لاهیجان	۷
صومعه سرا	۶۰	لاهیجان	۲۲۰
صومعه سرا-راسته کنار	۴۰۰	لاهیجان	۲۰۰
صومعه سرا- کلسر	۱۴۰	-	-

به‌دلیل آلودگی بسیار کم در خمام و انزلی از ذکر آن‌ها در جدول خودداری شده است.

جدول۳- تجزیه واریانس تیمارهای دمایی مورد بررسی در آزمایشگاه

منبع تغییرات	درجه آزادی	میانگین مربعات	مجموع مربعات	مقدار F	Pr≥f
تیمار	۲	۲۰۸۱۲/۱۶	۱۰۴۰۶/۰۸	۲۱/۹**	۰/۰۰۰۳
اشتباه	۹	۴۲۷۶/۵	۴۷۵/۱۶		
کل	۱۱	۲۵۰۸۸/۶۶			

**معنی دار در سطح ۱٪

جدول۴- گروه بندی تیمارهای دمایی مورد بررسی در آزمایشگاه

تیمار	مقدار میانگین
تیمار اول	۲۳۳/۲۵[b]
تیمار دوم	۲۴۹/۲۵[b]
تیمار سوم	۳۲۸/۵[a]

ستون‌های دارای حروف مشترک، اختلاف معنی‌دار آماری ندارند.

منابع

بی‌نام، آمارنامه محصولات کشاورزی، ۱۳۸۹. وزارت جهاد کشاورزی سال زراعی ۱۳۸۸-۱۳۸۷. دفتر آمار و فناوری اطلاعات، معاونت برنامه ریزی و اقتصادی، جلد ۱. ۱۴۴ صفحه.

Bridge JR, Plowright A and Peng D, 2005. Nematode parasites of rice. *In*: Luc. M, R.A. Sikora and J. Bridge. (Eds.), Plant Parasitic Nematodes in Subtropical and Tropical Agriculture. 2nd ed., CAB International Publishing pp 87- 129.

Coolen WA and D'Herde CJ, 1972. A Method for the Quantitative Extraction of Nematodes from Plant Tissue. State Agriculture Research Centre, Ghent, Belgium, 77pp.

Cralley EM, 1949. White tip of rice. Phytopathology 39: 5.

Franklin MT, Siddiqi MR, 1972. CIH Descriptions of Plant-parasitic Nematodes Set 1, No. 4. CAB International, Wallingford, UK.

Gergon EB and Misra JK, 1992. White tip disease of rice. Plant diseases of international importance pp 201-211.

Hoshino S and Togashi K, 2002. Mass extrtaction method for determinating *Aphelenchoides besseyi* density in Oryzae sativa seeds. Japanese Journal of Nematology 32: 25-29.

Hunt DJ, 1993. Aphelenchida, Longidoridae, and Trichodoridae: Their systematics and bionomics. CAB International, Wallingford, UK.

Kakuta T, 1915. Black grain dissease of rice. J. Plant Prot. Tokyo 2: 214.

Kheiri A, 1971. Plant parasite nematodes (*Tylenchida*) from Iran. Biol. Jb. Dodonaea 40: 224-239.

Mathur VK and Lal A, 1989. A simple technique for the detection of white Tip nematode (*Aphelenchoides besseyi*) in rice germplasm under exchange. Indian Journal of Nematology 19(1): 71.

Nandakumar C, Prasad JS, Rao YS and Rao J, 1975. Investigations on the white Tip nematode (*Aphelenchoides besseyi* Christie, 1942) of rice (*Oryza sativa* L.). Indian Journal of Nematology 5(1): 62-69.

Sanwal KC, 1961. A key to the species of the nematode genus *Aphelenchoides* Fischer, 1894. Canadian Journal of Zoology 39:143-148

Shahina F, 1996. A diagnostic compendium of the genus Aphelenchoides Fischer, 1894 (Nematoda: Aphelenchida) with some new records of the group from Pakistan. Pakistan Journal of Nematology 14: 1-32.

Shukla BN, Vadhera I and Bhatt J, 2003. *Aphelenchoides besseyi* a major threat to rice cultivation. In: Nematode Management in Plants (Trivedi, P.C, eds.). Scientific publishes pp 19-30.

Tamura I and Kagasawa K. 1958. Study on the ecology of rice nematode, *Aphelenchoides besseyi* Christie, 1942, On the parasitic ability of rice nematodes and their movement into hills. Japanese Journal of Ecology 8; 37-42.

Yamaguchi T, 1977. New methods of rice seed disinfection in Japan. Rev. Plant Protec. Res 10: 49-59.

Yokoo T, 1948. *Aphelenchoides oryzae* sp., Parasitic nematode of rice. Ann. Phytopath. Soc. Japan 13: 40.