



جمهوری اسلامی ایران

وزارت جهاد کشاورزی

سازمان حفظ نباتات کشور

سازمان حفظ نباتات

راهنمای شناسائی و ردیابی

آفت قرنطینه خارجی

Rhadinaphelenchus spp

نماتد حلقه قرمز

red ring nematode

Rhadinaphelenchus cocophilus (Cobb, 1919)

Goodey, 1960

Nematoda: Aphelenchoididae

تهیه و تنظیم:

احمد چراغیان

دفتر پایش و تحلیل خطر

1404

نماتد حلقه قرمز

Rhadinaphelenchus cocophilus (Cobb, 1919) Goodey, 1960

Domain: Eukaryota

Kingdom: Metazoa

Phylum: Nematoda

Family: Belonolaimidae

Other scientific names

Aphelenchus cocophilus Cobb, 1919

Aphelenchoides cocophilus (Cobb, 1919) Goodey, 1933

Chitinoaphelenchus cocophilus (Cobb, 1919) Chitwood in Corbett, 1959

Bursaphelenchus cocophilus (Cobb, 1919) Baujard, 1989

Common names:

red ring nematode

اهمیت اقتصادی:

R. cocophilus باعث از بین رفتن عمده محصول مزارع نارگیل در منطقه محدود پراکندگی خود می‌شود. همچنین می‌تواند به نخل‌های روغنی آسیب جدی برساند. درصد خسارت می‌تواند از چند درصد تا نابودی کامل نارگیل‌های جوان متغیر باشد. نخل‌های نارگیل جوان به راحتی در برابر حمله *R. cocophilus* تسلیم می‌شوند. هیچ سابقه‌ای از بهبودی هیچ درختی، پس از آسیب دیدن، وجود ندارد. سنگین‌ترین خسارات ناشی از *R. cocophilus* در پایان فصل مرطوب و در 2-3 ماه اول فصل خشک (دسامبر تا مارس) در کشور ترینیداد و توباگو رخ داده است. لذا با توجه به اهمیت خسارتزائی نماتد‌های این جنس مذکور در لیست آفات قرنطینه ای ایران و بسیاری از کشورها قرار گرفته است.

میزبانها:

میزبانهای اصلی:

Cocos nucifera (coconut), *Elaeis guineensis* (African oil palm).

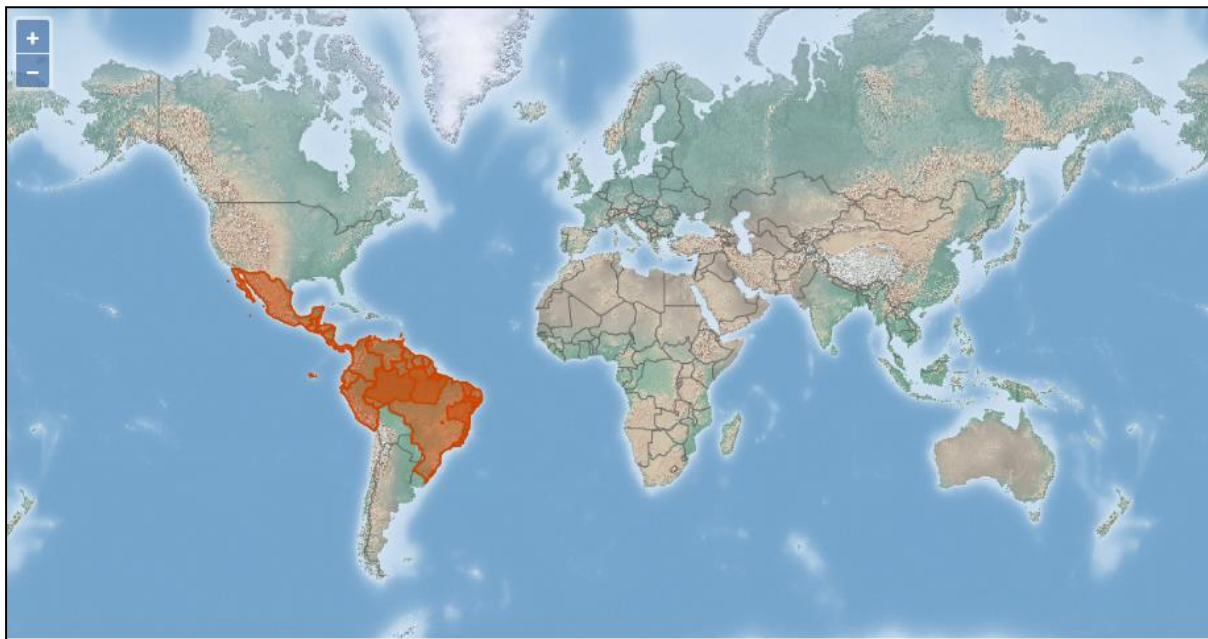
میزبانهای فرعی:

Phoenix canariensis (palm (Canary Island)), *Phoenix dactylifera* (date-palm), *Sabal palmetto* (Cabbage palmetto)

پراکنش جغرافیائی:

آمریکای شمالی: مکزیک

آمریکای مرکزی و حوزه کارائیب: پاناما، نیکاراگوئه، هندوراس، السالوادور، گواتمالا، ترینیدا و توباگو، ساینٹ ویسنت و گراندیس
آمریکای جنوبی: برزیل، کلمبیا، اکادر، ونزوئلا، پرو، گینه، سورینام،



نقشه پراکندگی نماد حلقه قرمز

شکل شناسی:

ماده

بدن حدود ۱ میلی‌متر طول و بسیار باریک ($a=60-96$)، در حالت استراحت، کمانی تا تقریباً صاف؛ کوتیکول نازک، با خطوط عرضی با فاصله ۰.۶ تا ۱ میکرومتر؛ سطوح جانبی با چهار شیار و یک خط میانی ضعیف که نشان‌دهنده شیار پنجم است و ۰.۲۵ عرض بدن را اشغال می‌کند (Goodey, 1960)؛ فاقد دیربده‌ها و فاسمیدها. ناحیه لب صاف، بلند، در قسمت قدامی مسطح با کناره‌های نسبتاً صاف، کمی باریک‌تر از بدن؛ چارچوب سر برجسته، اسکروتیزه. نیزه به طول ۱۱ تا ۱۳ میکرومتر، در پایه دارای برآمدگی ضعیف است اما برآمدگی‌ها ممکن است مبهم باشند، به خصوص در نمونه‌های نابالغ (Thorne, 1961)؛ قسمت قدامی کمتر از نصف طول نیزه و نوک تیز؛ عضلات بیرون‌زده نیزه برجسته، متصل به صفحه پایه چارچوب لب. پروکوریپوس استوانه‌ای کشیده؛ متاکوریپوس یا حباب میانی بیضی شکل، معمولاً حدود دو برابر طول، با صفحات دریچه‌ای برجسته درست در خلف مرکز؛ دهانه غده مری پشتی در وسط بین لبه قدامی حباب و صفحات دریچه‌ای. غدد مری در قسمت پشتی روده همپوشانی دارند و معمولاً مبهم هستند. حلقه عصبی، نوار پهنی است که تنگه را احاطه کرده و حدود ۰.۵ تا ۱ برابر

طول حباب در پشت حباب قرار دارد. منفذ دفعی کمی پشت حلقه عصبی و در قدام همی‌زونید قرار دارد که حدود 3 حلقه طول دارد. روده با گرانول‌های کوچک و مجرای نامشخص. فرج شکاف‌دار که در نمای شکمی به شکل یک C باز دیده می‌شود، کمی توسط یک لب پشتی پهن و ضخیم آویزان است. لب خلفی نیز ضخیم و به شدت اسکروتیزه است. اسر در کتاب خود می‌گوید که ممکن است یک فلپ فرج، همانطور که توسط گودی (1960) نشان داده شده است، وجود داشته باشد یا خیر.

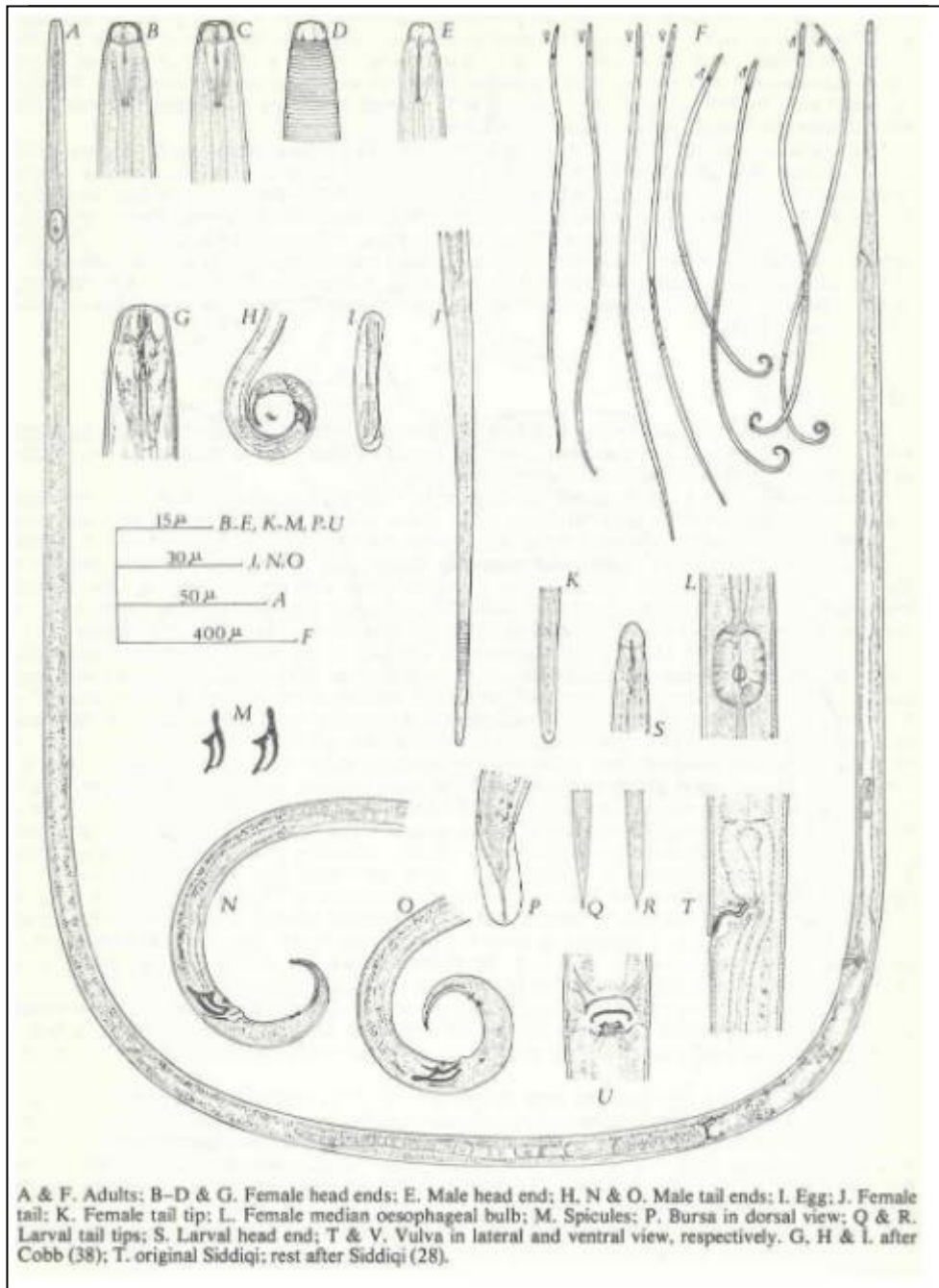
از ۱۲ ماده‌ای که او معاینه کرد، احتمالاً یکی از آنها دارای زائده فرج بود. واژن دیواره ضخیمی داشت و کمی خمیده بود، زیرا به سمت داخل و تا فاصله حدود ۰.۵ برابر عرض بدن امتداد داشت. گناد قدامی به خوبی توسعه یافته و کشیده شده بود؛ تخمک‌ها در یک ردیف قرار داشتند. کیسه رحمی پس از فرج کشیده شده و تا حدود ۰.۷۵ برابر فاصله فرج تا مقعد امتداد داشت، اغلب با چند اسپرم بزرگ کروی. رکتوم حدود ۱.۵ برابر عرض بدن مقعدی طول داشت؛ مقعد مشخص بود. دم کشیده - نیمه استوانه‌ای با انتهای گرد و بدون مخطط، به طول ۱۰ تا ۱۷ برابر عرض بدن مقعدی.

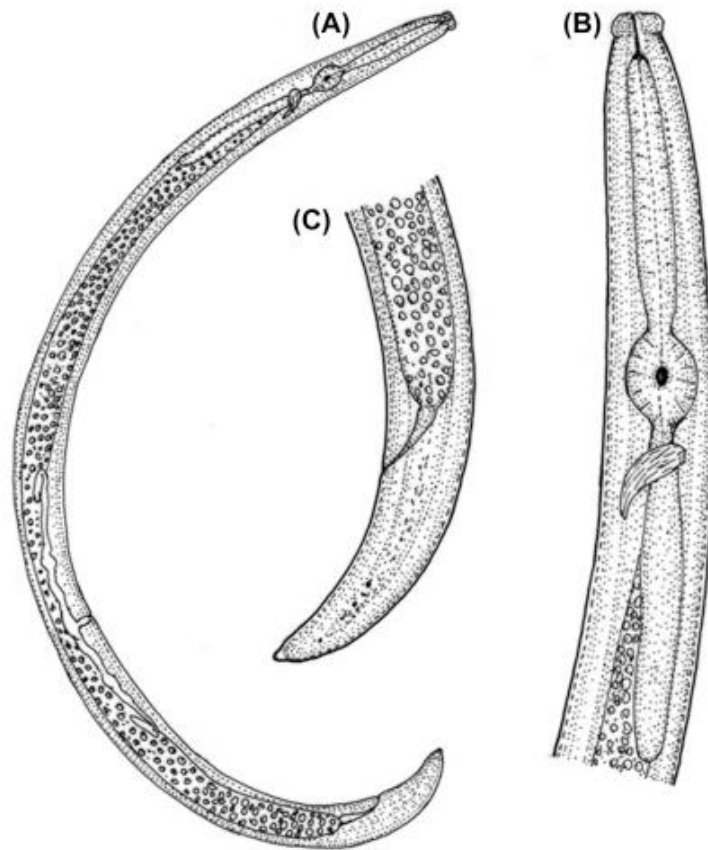
نر

بدن در ناحیه شکمی قوسی شکل، در ناحیه دم انحنای قوی‌تری دارد. سر، نیزه و هاگ مانند ماده است. بیضه منفرد، به سمت جلو کشیده شده و اسپرماتوگونی‌ها در یک ردیف قرار دارند. خارها جفت، کوچک؛ اندام پشتی ۹-۱۱ میکرومتر طول با یک رأس گرد و کشیده و انتهای آن در قسمت دیستال قبل از اندام شکمی است که انتهای دیستال آن به نظر می‌رسد برای اتصال به اندام پشتی انحنای پیدا می‌کند، به طوری که کل خار در قسمت دیستال بریده به نظر می‌رسد. عنصر شکمی دارای یک روستروم مشخص در قسمت پروگزیمال است و به نظر می‌رسد از طریق یک میله عرضی با یک سوراخ مرکزی برای عبور اعصاب به اندام پشتی متصل است. فاقد گوبیرناکولوم است، اما دیواره پشتی کیسه خار ضخیم شده و آپوفیز تشکیل می‌دهد. دم در قسمت شکمی به شدت خمیده است (ممکن است ۱.۵ دایره تشکیل دهد)، در نیمه قدامی زیر استوانه‌ای است، سپس به یک انتهای نوک تیز مخروطی شکل می‌رسد. بورس (یا پره‌های دم) انتهایی، برجسته در نمای پشتی یا شکمی (در نمای جانبی به راحتی قابل تشخیص نیست زیرا از خط دم بیرون نمی‌زند) با حاشیه‌های ریز مخطط، که ۰.۴ تا ۰.۵ انتهای انتهایی دم را می‌پوشاند. دو جفت پاییلای شکمی-زیرمیانی مجزا در نزدیکی پایه بورس و یک جفت پیش منخرجی، حدود ۰.۵ طول خار در جلوی کلواک وجود دارد. یک جفت چهارم پاییلای شکمی-جانبی در پشت کلواک توسط تورن (1961) و نیکل (1970) گزارش شده است، اما این پاییلاها بسیار مبهم هستند و اغلب قابل تشخیص نیستند.

لاروها

لاروها سرهای گنبدی شکل و بلندی دارند که از بدن فاصله ندارند. دم لاروهای مرحله دوم و سوم دارای نوک مخروطی یا نوک‌های موکرونی تیز است و نوک دم لاروهای مرحله چهارم دارای دو شکل است: در لاروهای ماده مانند ماده گرد و در لاروهای نر به شدت کشیده شده است.





[Sign in to download full-size image](#)

Figure 3.84. *Bursaphelenchus* sp.: (A) female; (B) pharyngeal region; (C) female posterior region.

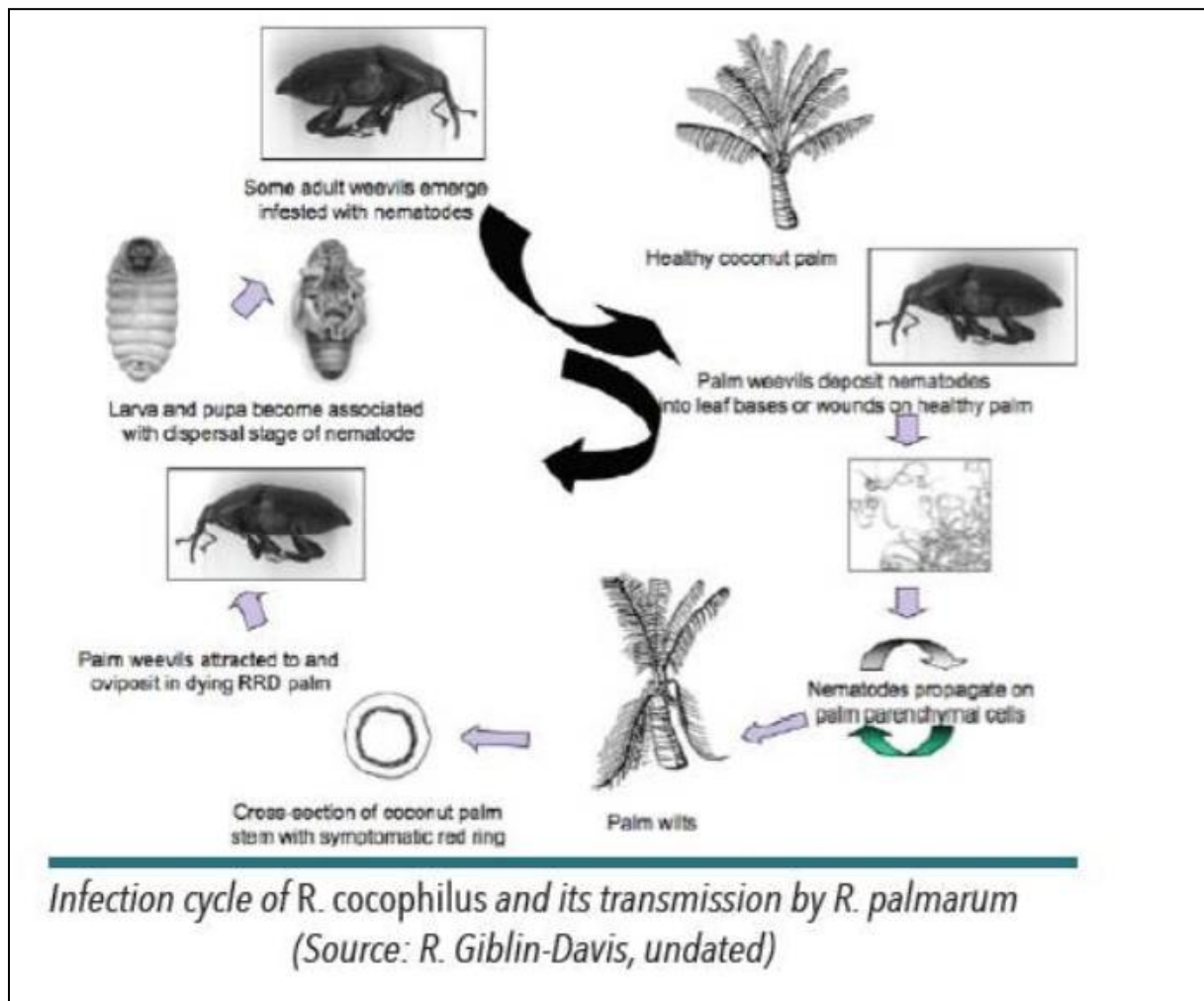
زیست‌شناسی و اکولوژی:

ناقل *R. cocophilus* سرخرطومی نخل، *Rhynchophorus palmarum* است و زیست‌شناسی و چرخه زندگی *R. cocophilus* ارتباط نزدیکی با سرخرطومی دارد. گفته می‌شد اندازه سرخرطومی شاخصی از ناقل بودن آن است، اما شواهد اخیر نشان می‌دهد که این‌طور نیست (Gerber and Giblin-Davis, 1990). به طور تجربی، همچنین نشان داده شده است که بیماری حلقه قرمز می‌تواند توسط نماتدهایی که از طریق سیستم ریشه وارد گیاه می‌شوند، ایجاد شود. لاروهای *R. palmarum* با نقب زدن در ساقه‌های نارگیل تغذیه می‌کنند و وقتی این اتفاق در درختانی که به *R. cocophilus* آلوده شده‌اند رخ می‌دهد، لاروها می‌توانند با نماتد تلقیح شوند. سرخرطومی‌های بالغ که از درختان آلوده به *R. cocophilus* بیرون می‌آیند، نماتد را به مکان‌های جدید حمل می‌کنند. *R. cocophilus* از طریق دستگاه گوارش وارد هموکوئل لاروهای سرخرطومی می‌شود. در سرخرطومی‌های بالغ، *R. cocophilus* را می‌توان در روده، حفره بدن و ناحیه تخم‌ریز یافت. در بافت‌های نارگیل، *R. cocophilus* به بافت پارانثیم در ریشه‌ها، ساقه‌ها و برگ‌ها و همچنین آجیل‌هایی که به صورت مصنوعی آلوده شده‌اند، حمله می‌کند. در ابتدا، نماتدها به عنوان انگل‌های بین سلولی در بافت تازه آلوده شده ظاهر می‌شوند، اما بعداً می‌توانند هم به صورت بین سلولی و هم به صورت درون سلولی یافت شوند. در بسیاری از موارد، حفره‌های لیزیژن تشکیل می‌شوند که در آنها تعداد زیادی نماتد یافت می‌شود. یک گرم از چنین بافتی می‌تواند حاوی 10000 نماتد باشد. سنگین‌ترین تلفات ناشی از *R. cocophilus* در پایان فصل مرطوب و در 2-3 ماه اول فصل خشک (دسامبر تا مارس) در ترینیداد رخ داده است. *R. cocophilus* تلقیح شده به مزوکارپ نارگیل، چرخه زندگی از تخم تا تخم، 9-10 روز دارد. آلودگی به *R. cocophilus* بیشتر در درختان 2.5 تا 10 ساله رخ می‌دهد و بیشترین میزان بروز در درختان 4 تا 7 ساله است. گاهی اوقات، یک نخل با سن 1.5 سال یا بیشتر از 20 سال ممکن است مورد حمله قرار گیرد.



Figure 3. The palm weevil *Rhynchophorus palmarum* acts as the primary vector for red ring nematode, *Bursaphelenchus cocophilus*, which causes red ring disease in coconut and oil palms.

Credit: Ulrich Zunke, University of Hamburg, Germany



علائم خسارت:

نخل‌های نارگیل جوان به راحتی در برابر حمله *R. cocophilus* تسلیم می‌شوند. هیچ ساقه‌ای از بهبودی هیچ درختی که پس از ابتلا بهبود یافته باشد، وجود ندارد. این بیماری بیشتر در درختان ۲.۵ تا ۱۰ ساله رخ می‌دهد و بیشترین میزان بروز آن در درختان ۴ تا ۷ ساله است. گاهی اوقات، نخلهای ۱.۵ ساله تا ۲۰ سال یا بیشتر ممکن است مورد حمله قرار آفت قرار گیرند. علائم شرح داده شده مربوط به نخل‌های رقم بلند نارگیل یا «تیپیکا» است که در جزایر هند غربی رشد می‌کنند. این علائم در رقم کوتوله «نانا» و همچنین برخی از درختان بلند پاناما تا حدودی متفاوت است. کلروز ابتدا در نوک برگ‌های قدیمی‌تر ظاهر می‌شود و به سمت پایه‌های آنها گسترش می‌یابد، اما گاهی اوقات، برگ‌های جوان‌تر ممکن است ابتدا تحت تأثیر قرار گیرند. برگ‌های قهوه‌ای پایینی ممکن است در امتداد دم‌برگ قسمت پایینی محور سنبله بشکنند، یا ممکن است تا حدی از پایه جدا شده و آویزان شوند. میوه‌ها یا همزمان با ایجاد علائم برگ یا کمی قبل از آن، زودتر می‌ریزند. تاج اغلب حدود ۴ تا ۶ هفته پس از اولین ظهور علائم، به دلیل آسیب شدید داخلی ناشی از لاروهای شپشک نخل، واژگون می‌شود. با این حال، تنه برای چند ماه در مزرعه باقی می‌ماند تا زمانی که پوسیده شود. در شروع علائم، ظاهر زرد کلروتیک برگ‌های اطراف ساقه گاهی اوقات از درختانی که در شرایط زهکشی ضعیف یا در طول خشکسالی شدید رشد می‌کنند، قابل تشخیص نیست.

مشخص‌ترین علائم، ضایعات داخلی هستند. در برش عرضی ساقه، این ضایعات به صورت حلقه‌ای به رنگ نارنجی تا قرمز آجری، به عرض ۲ تا ۴ سانتی‌متر و در فاصله ۳ تا ۵ سانتی‌متر از محیط ساقه ظاهر می‌شوند. در برش طولی، بافت قرمز شده ممکن است به صورت دو نوار متحد که در تنه به هم متصل شده‌اند و شکل U را تشکیل می‌دهند، ظاهر شود. ضایعات در انتهای بالایی ساقه در مجاورت تاج، مجزا هستند و ابتدا به صورت رگه‌ها و سپس به صورت نقاط ظاهر می‌شوند. بافت مریستمی در جوانه سفید و ظاهراً سالم باقی می‌ماند. هیچ‌گونه پوسیدگی در جوانه مرتبط با حمله *R. cocophilus* وجود ندارد. در ریشه‌ها، قشر نرم که معمولاً سفید است، به رنگ نارنجی تا قرمز کم‌رنگ در می‌آید و در هنگام بیماری بافتی خشک و پوسته پوسته دارد. در برگ‌ها، یک هسته جامد از بافت لکه‌دار، به رنگ قرمز کدر تا قهوه‌ای، از پایه برگ تا ۷۵ سانتی‌متر در دم‌برگ‌ها امتداد می‌یابد.

این بیماری در مراحل بسیار اولیه از نظر ظاهری قابل تشخیص نیست. ریشه‌ها، ساقه‌ها و دم‌برگ‌های برگ از قبل آلوده شده‌اند و قبل از اینکه اولین علائم خارجی قابل مشاهده باشند، علائم داخلی به طور کامل توسعه می‌یابند. در ارقام پاکوتاه، رنگ قرمز جای خود را به سایه‌های قهوه‌ای می‌دهد. بنابراین، به جای یک حلقه قرمز در داخل، یک نوار قهوه‌ای وجود دارد. لکه‌های مجزا نیز قهوه‌ای هستند و تغییر رنگ زرد برگ‌ها اغلب آشکار نیست. به طور کلی، برگ‌ها خشک و قهوه‌ای می‌شوند و از نوک برگ‌چه‌ها شروع شده و به سمت پایین پیشرفت می‌کنند. ارقام پاکوتاه زرد به همان شیوه سبز و تلافی بین بلند و کوتاه، یا بین پاناما بلند و هر کوتوله‌ای واکنش نشان می‌دهند. آنها به جای قرمز شدن مشخص برگ‌ها و بافت ساقه، قهوه‌ای شدن را نشان می‌دهند.

سنگین‌ترین خسارات ناشی از *R. cocophilus* در کشور ترینیداد در پایان فصل مرطوب و در ۲-۳ ماه اول فصل خشک (دسامبر تا مارس) رخ داده است.

علائم مربوط به قسمت‌های آسیب‌دیده گیاه

میوه‌ها/غلاف‌ها: ریزش زودرس.

برگ‌ها: رنگ‌های غیرطبیعی؛ ریزش غیرطبیعی برگ؛ پژمردگی؛ زرد یا مرده.

ریشه‌ها: زخم.

ساقه‌ها: تغییر رنگ داخلی.

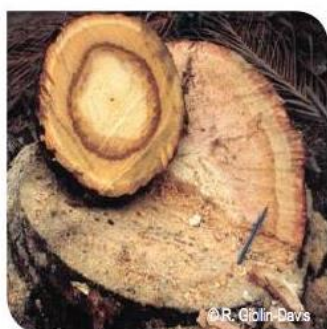
کل گیاه: مرگ گیاه؛ سرخشکیدگی.



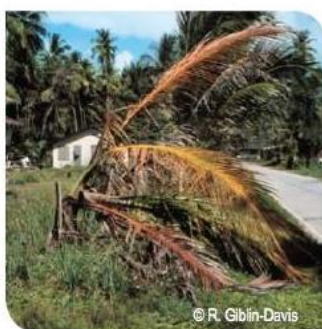
Figure 1. The telltale red ring seen here in a cross-section of a palm indicates that this particular tree is infested by red ring nematode, *Bursaphelenchus cocophilus*.
Credit: Society of Nematologists slide collection

Red ring disease nematode

Rhadinaphelenchus cocophilus (= *Bursaphelenchus cocophilus*)



Characteristic red ring in the trunk of an infected oil palm



Chlorosis and wilting due to *Rhadinaphelenchus cocophilus*



'Little-leaf syndrome'



Figure 2. Cross-section of infected host palm. Characteristic red ring is visible as well as *R. palmarum* galleries (R. Giblin-Davis).



Figure 3. Host palm showing chlorosis and wilting due to *B. cocophilus* (R. Giblin-Davis).

علائم مشخص آلودگی به نماتد حلقه قرمز

راههای انتقال و انتشار:

بخش های گیاهی که در تجارت/حمل و نقل مستعد حمل آفت هستند

- پوست درخت: تخم، جوان، بالغ؛ حمل داخلی؛ قابل مشاهده در زیر میکروسکوپ نوری.
- محیط کشت گیاهان همراه: تخم، جوان، بالغ؛ حمل خارجی؛ قابل مشاهده در زیر میکروسکوپ نوری.
- برگ ها: تخم، جوان، بالغ؛ حمل داخلی؛ قابل مشاهده در زیر میکروسکوپ نوری.
- نهال ها/گیاهان ریزازدیادی: تخم، جوان، بالغ؛ حمل داخلی؛ قابل مشاهده در زیر میکروسکوپ نوری.
- ریشه ها: تخم، جوان، بالغ؛ حمل داخلی؛ قابل مشاهده در زیر میکروسکوپ نوری.
- ساقه ها (بالای زمین)/شاخه ها/تنه/شاخه ها: تخم، جوان، بالغ؛ حمل داخلی؛ قابل مشاهده در زیر میکروسکوپ نوری.
- چوب: تخم، جوان، بالغ؛ حمل داخلی؛ قابل مشاهده در زیر میکروسکوپ نوری.

قسمت هایی از گیاه که مشخص نیست آفت را در تجارت/حمل و نقل حمل می کنند

- پیازها/غده ها/بنه ها/ریزوم ها
- میوه ها (شامل غلاف ها)
- گل ها/گل آذین ها/مخروط ها/کاسه گل
- دانه های واقعی (شامل دانه).

مسیرهای حمل و نقل برای جابجایی در مسافت های طولانی

- وسایل حمل و نقل (وسایل نقلیه حمل و نقل): در خاک و بافت گیاه.

اقدامات قرنطینه ای:

R. cocophilus یک خطر بالقوه بهداشت گیاهی برای نارگیل در تمام کشورهای گرمسیری است، به خصوص در مناطقی که شپش خرما، *Rhynchophorus palmatus* وجود دارد. انتشار محلی توسط ناقل شپشک رخ می دهد، اما حرکت گسترده تر فقط می تواند با انتقال نارگیل آلوده و سایر بافت های نخل رخ دهد.

روشهای ردیابی و بازرسی:

روش های مورد استفاده برای بازیابی نماتدها از نخل، بسته به میزان فعالیت نماتدها در بافت و همچنین تراکم نماتدها در هر گرم از بافت آلوده، متفاوت است. در روشی که در ابتدا توسط فنویک (فنویک و مهاراج، ۱۹۶۳) استفاده شد، بافت نارگیل بیمار به قطعات ریز حدود ۱ سانتی متر ضخامت خرد شده و در یک قیف بزرگ آب قرار می گیرد که ساقه آن از یک انتها با یک لوله و گیره بسته شده است و گردن آن دارای یک درپوش سبک پنبه ای است که به عنوان فیلتر عمل می کند و بافت را از ۱۰ تا ۲۰ میلی لیتر آب زلال موجود در ساقه جدا می کند. این روش را می توان با خیساندن بافت بیمار در مخلوط کن به منظور آزادسازی نماتدهای بی حال تر، اصلاح کرد. اصلاح زیر توسط شولینگ و ون دینتر (۱۹۸۱) ابداع شد. ۱۵ گرم بافت خرد شده، که در ۲۵۰ میلی لیتر آب معلق شده است، به مدت ۳۰ ثانیه در یک میکسر برقی مخلوط می شوند. سوسپانسیون حاصل تا حجم ۱ لیتر در یک بطری درست شده و به مدت ۳۰ دقیقه به حال خود رها می شود. سپس محتویات بطری روی ظرف دیگری پر از آب ته نشین می شود. پس از ۳۰ دقیقه، محتویات بطری پایینی دور ریخته می شود. محتویات بطری بالایی چهار بار از الک ۶۰ میکرومتری عبور داده می شود.

نمونه برداری از نماتدها از درختان زنده

یک لوله فولادی ضد زنگ که از یک سر تیز شده است، با زاویه ۴۵ درجه در نقطه انتخاب شده برای نمونه برداری رانده می‌شود. هسته استخراج شده در مخلوط‌کنی با ۵۰ میلی‌لیتر آب قرار داده شده و به مدت ۲ دقیقه فرآوری می‌شود. سپس محتویات مخلوط‌کن در یک ظرف ریخته شده و به مدت ۲۰ دقیقه برای بیرون آمدن نماتدها باقی می‌ماند. سپس نماتدها با الک کردن بازیابی می‌شوند. به طور کلی، در طول روش‌های استخراج از سطح فعالیت نماتد استفاده می‌شود. در نارگیل و نخل‌های نخل، نماتدها به جز در نواحی بسیار نکروزه، بیشترین فعالیت را در بافت ساقه دارند. بافت هسته معمولاً یک استوانه قرمز از بافت نکروزه را نشان می‌دهد. ساقه نارگیل باید یا با برش یا با نمونه برداری از درخت زنده بررسی شود.

روشهای استخراج نماتد از گیاه :

روش مستقیم: در این روش اندامهای گیاهی مورد نظر را با قیچی خرد نموده، قطعاتی از آن را در داخل آب و پتری قرار داده و نماتدها را با سوزن و چاقوی مخصوص از نسوج گیاهی استخراج می‌نمایند. این روش ساده ترین روش بررسی است و معمولاً با بینوکولر انجام می‌شود.

روش رنگ آمیزی: در این روش برشهای باریک و ریزی از اندامهای گیاه تهیه و سپس آنها را به کمک مواد شیمیایی از جمله کاتن بلو و یا اسیدفوشین رنگ آمیزی می‌کنند. با این روش نماتدها بهتر مشخص شده و قابل رویت خواهند بود.

روش سانتریفوژ: اندامهای گیاهی را با قیچی به قطعات کوچک خرد کرده و سپس در دستگاه خردکن کاملاً خرد کرده و از الک 60 مش عبور می‌دهند. آب بدست آمده از زیر الک را روی الک 400 مش ریخته و مواد بدست آمده از روی الک را با آب به داخل لوله‌های سانتریفوژ می‌شویند. سپس لوله‌ها را روی ترازو قرار داده یک قاشق پودر کائولین به آنها اضافه کرده و خوب به هم زده و توزین می‌نمایند. سپس لوله‌ها را در دستگاه سانتریفوژ قرار داده و به مدت 10 دقیقه در 4000 دور در دقیقه می‌چرخانند تا نماتد به همراه پودر کائولین رسوب نماید. بعد از توقف سانتریفوژ، آب اضافی لوله‌ها را خارج نموده و به جای آن شربت قند اضافه و دوباره با ترازو وزن لوله‌ها را مساوی می‌کنند. (برای تهیه محلول شکر با وزن مخصوص 1/18 ، مقدار 700 میلی‌لیتر آب در داخل مزور یک لیتری ریخته و آن قدر شکر به آب اضافه می‌کنند تا حجم آن به یک لیتر برسد و حل شود).

مواد ته نشست و شربت قند در لوله‌ها را مجدداً به صورت سوسپانسیون در می‌آورند. در ادامه لوله‌ها را در دستگاه سانتریفوژ قرار داده و به مدت یک دقیقه در همان سرعت چرخانیده تا نسوج و پودر کائولین ته نشین شده و نماتدها در شربت قند معلق بمانند. پس از توقف سانتریفوژ، محتویات لوله‌ها را روی الک 400 مش ریخته و با آب آن را می‌شویند و نماتدهای شسته شده را درون بشر می‌ریزند و سپس اقدام به مشاهده نماتدهای استخراج شده توسط بینوکولر و میکروسکوپ می‌نمایند.



Detection and inspection Root of Host plant

بررسی های آزمایشگاهی:

1- برآدها یا تکه های چوبی را در ظرف بشر حاوی آب خیسانده و بعد از 48 ساعت، محلول حاصله را از الک 400 مش عبور داده، باقی مانده محلول روی الک را به داخل پتری منتقل، سپس در زیر بینوکولر و میکروسکوپ بررسی آزمایشگاهی می شوند.

2- در روش تست سریع برای چوبهای وارداتی در گمرکات کشور، برآدها یا تکه های چوبی را در داخل دستگاه مخلوطکن صنعتی خرد نموده، از الکهای 60 ، 200 و 400 مش عبور داده، باقی مانده روی الک انتهائی همراه با آب شستشو داده و محلول مورد نظر را برای مدت 10 دقیقه با سرعت 4000 دور در دقیقه سانتریفیوژ می نمایند، محلول رویی به دست آمده از سانتریفیوژ را دور ریخته و رسوب باقی مانده را در محلول شکر حل نموده و بعد از اضافه نمودن محلول شکر، نمونه را برای مدت یک دقیقه با سرعت 4000 دور در دقیقه مجدداً سانتریفیوژ می کنند، سپس محلول رویی بدست آمده از سانتریفیوژ را از الک 400 مش رد کرده و پس از شستشو با آب، در پتری ریخته و زیر بینوکولر و میکروسکوپ بررسی، جداسازی و سپس اقدام به شناسائی می نمایند.

مراحل بررسی تست نماد بزمردگی کاج در آزمایشگاه



نمونه برداری از درختان مشکوک و چوبهای وارداتی



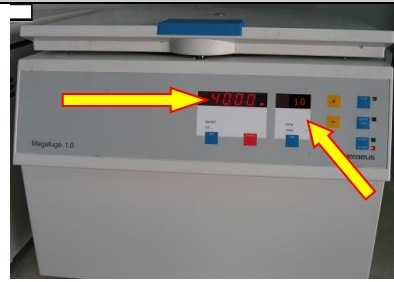
1- تهیه برآده چوبی با استفاده از وسائل نمونه برداری مانند دریل، منه، اره و استخراج برآدههای چوبی



4- ریختن نمونه جهت سانتریفیوژ

3- عبور دادن نمونه از الکها

2- ریختن برآدهها در خردکن



7- اضافه نمودن محلول شکر

6- شستشو و جدا کردن نمونه

5- سانتریفیوژ 10 دقیقه با 4000 دور



10- بررسی میکروسکوپی نمونهها

9- شستشو و استخراج نمونه

8- سانتریفیوژ 1 دقیقه 4000 دور

منابع :

CAB International. 2025. Crop Protection Compendium. 2025 Edition . CAB, International . Wallingford, Oxon, UK.

<https://www.cabdigitallibrary.org/doi/full/10.1079/cabicompendium.47035>

<https://edis.ifas.ufl.edu/publication/IN392>

<http://sawitsecure.mpob.gov.my/red-ring-disease-nematode/>

Sullivan, M. 2013. CPHST Pest Datasheet for Bursaphelenchus cocophilus. USDA-APHIS-PPQ-CPHST.

<https://www.sciencedirect.com/topics/agricultural-and-biological-sciences/bursaphelenchus>

<http://www231.pair.com/fzwester/courses/slides/filegif/sympgif/srcoco1.GIF>