



جمهوری اسلامی ایران

وزارت جهاد کشاورزی

سازمان حفظ نباتات کشور



دستور العمل شناسائی و ردیابی

آفت قرنطینه خارجی

نماتد خنجری

Dagger nematode

***Xiphinema americanum* Cobb, 1913**

Nematoda: Xiphinematidae

تهیه و تنظیم:

احمد چراغیان

دفتر پایش و تحلیل خطر

1404

نماتد خنجری

Xiphinema americanum Cobb, 1913

Domain: Eukaryota

Kingdom: Metazoa

Phylum: Nematoda

Order: Dorylaimida

Family: Xiphinematidae

Synonyms:

Tylencholaimus americanus (Cobb, 1913) Micoletzky, 1922

Xiphinema taylori Lamberti et al., 1991

Xiphinema californicum Lamberti & Bleve-Zacheo, 1979

Common names:

Dagger nematode

American dagger nematode

Tobacco ring spot nematode

اهمیت اقتصادی:

در آمریکا در اثر طغیان این نماتد خسارت مستقیم به محصول توت‌فرنگی، درختان میوه، لگوم‌ها و درختان جنگلی گزارش شده است. به نظر می‌رسد که نماتد خنجری *X. americanum* عامل اصلی خسارت به درختان داکوتای جنوبی و شبدر قرمز در ایووا (Iowa) باشد. بازدهی برخی از کولتیوارهای هیبرید آمریکایی-فرانسوی انگور در ایالت میشیگان آمریکا به طور معنی‌داری در اثر 4 گونه نماتدی از جمله *X. americanum* کاهش پیدا کرد. این نماتد به عنوان یک ناقل بسیار مهم نپوویروس‌های آمریکایی به شمار می‌رود که در محصولات باغی و میوه‌ها بسیار خسارت‌زا هستند. ویروس موزاییک قرمز هلو (*Peach rosette mosaic nepovirus*) که در میشیگان آمریکا شایع است، سبب کاهش شدید محصول و مرگ کولتیوارهای لابروسکا (Labrusca) می‌شود. به دلیل هزینه بالای ضدعفونی خاک با تدخین‌کننده‌های خاک، برخی از ارقام انگور از نظر مقاومت به ویروس PRMV مورد آزمایش قرار گرفتند. در یک دوره 4 ساله، PRMV در کمتر از 5 درصد موهای رقم Chancellor و Couderc 1616، در 7 درصد موهای رقم Foch و Couderc 1202، در 18/2 از ارقام Nigra و Delaware، در 20 درصد ارقام Teleki 5C و در 50 درصد موهای رقم Teleki 5A، Vignoles مشاهده شد. نتایج کاربرد تلفیقی منامیفوس، کاربوفوران یا کاربوسولفاتان در درختان هلو آلوده به *X. americanum* و *X. index* نشان داد که بازدهی محصول نسبت به شاهد افزایش معنی‌داری داشته است. تدخین خاک قبل از کاشت منجر به افزایش رشد درختان و ریشه‌کنی *X. americanum* شد. با توجه به اهمیت خسارتزایی این نماتد در لیست آفات قرنطینه‌ای ایران و بسیاری از کشورها قرار گرفته است.

Major hosts(میزبانهای اصلی):

Avena sativa (oats), Citrus , *Citrus sinensis* (navel orange), *Cocos nucifera* (coconut), *Coffea* (coffee), *Coffea canephora* (robusta coffee), *Cucurbita pepo* (ornamental gourd), *Ficus carica* (fig), *Fragaria ananassa* (strawberry), *Glycine max* (soyabean), *Gossypium hirsutum* (Bourbon cotton), *Juglans regia* (walnut), *Linum usitatissimum* (flax), *Litchi chinensis* (lichi), *Lycopersicon esculentum* (tomato), *Malus domestica* (apple), *Malus sylvestris* (crab-apple tree), *Mangifera indica* (mango), *Nicotiana tabacum* (tobacco), *Oryza sativa* (rice), *Pistacia vera* (pistachio), Polyphagous (polyphagous), *Prunus* (stone fruit), *Prunus armeniaca* (apricot), *Prunus avium* (sweet cherry), *Prunus domestica* (plum), *Prunus dulcis* (almond), *Prunus persica* (peach), *Psidium guajava* (guava), *Rubus* (blackberry, raspberry), *Rubus idaeus* (raspberry), *Saccharum officinarum* (sugarcane), *Solanum tuberosum* (potato), *Sorghum bicolor* (sorghum), *Vaccinium* (blueberries), *Vaccinium angustifolium* (Lowbush blueberry), *Vaccinium corymbosum* (blueberry), *Vaccinium myrtillus* (blueberry), *Vitis labrusca* (fox grape), *Vitis rupestris* (sand-grape), *Vitis vinifera* (grapevine), *Zea mays* (maize).

Minor hosts(میزبانهای فرعی):

Acer platanoides (Norway maple), *Agropyron cristatum* (crested wheatgrass), *Agropyron desertorum* , *Anethum graveolens* (dill), *Bambusa* , *Bambusa tuldoidea* , *Callicarpa americana* (American beautyberry), *Cichorium intybus* (chicory), *Codiaeum variegatum* (croton), *Cydonia oblonga* (quince), *Manilkara zapota* (sapodilla), *Mentha* (mints), *Mentha piperita* (Peppermint), *Mentha spicata* (Spear mint), *Nerium oleander* (oleander), *Onobrychis viciifolia* (sainfoin), *Petunia hybrida* , *Picea glauca* (white spruce), *Picea pungens* (blue spruce), *Pinus* (pines), *Pinus echinata* (shortleaf pine), *Pinus elliottii* (slash pine), *Pinus resinosa* (red pine), *Pinus sylvestris* (Scots pine), *Pinus taeda* (loblolly pine), *Plantago* (Plantain), *Poncirus trifoliata* (Trifoliolate orange), *Potentilla* (Cinquefoil), *Rosa* (roses), *Shorea robusta* (sal), *Tectona grandis* (teak), *Trifolium* (clovers), *Trifolium pratense* (purple clover), *Trifolium repens* (white clover), *Zoysia japonica* (zoysiagrass).

پراکنش جغرافیائی:

اروپا: فرانسه، مجارستان، لهستان، روسیه، انگلستان، قزاقستان، ترکیه

آسیا: چین، هند، ژاپن، کره، عمان، پاکستان، فیلیپین، سریلانکا، تاجیکستان، ازبکستان

آفریقا: نیجریه

آمریکای مرکزی: گواتمالا، پاناما

آمریکای شمالی: کانادا، مکزیک، آمریکا

آمریکای جنوبی: آرژانتین، برزیل، شیلی، اکوادور، پرو، اروگوئه، ونزوئلا

اقیانوسیه: استرالیا



نقشه پراکنش نماد خنجرى *X.americanum*

شکل شناسی:

ماده‌ها: بدن در زمان مرگ به شکل مارپیچ باز قرار می‌گیرد. ناحیه سری نیمه کروی و کمی طویل است. ادونتواستایلت سوزنی شکلبه طول 70 تا 74 میکرومتر، پایه ادونتوفور با 3 گره متورم و بیضه مانند، به طول 45 تا 70 میکرومتر. حلقه هادی استایلت نزدیک به پایه ادونتواستایلت و دورتر از سر، مری دوقسمتی شامل قسمت جلویی استوانه‌ای و قسمت عقبی حبابی شکل. وولوا تقریباً در وسط بدن دم مخروطی شکل.

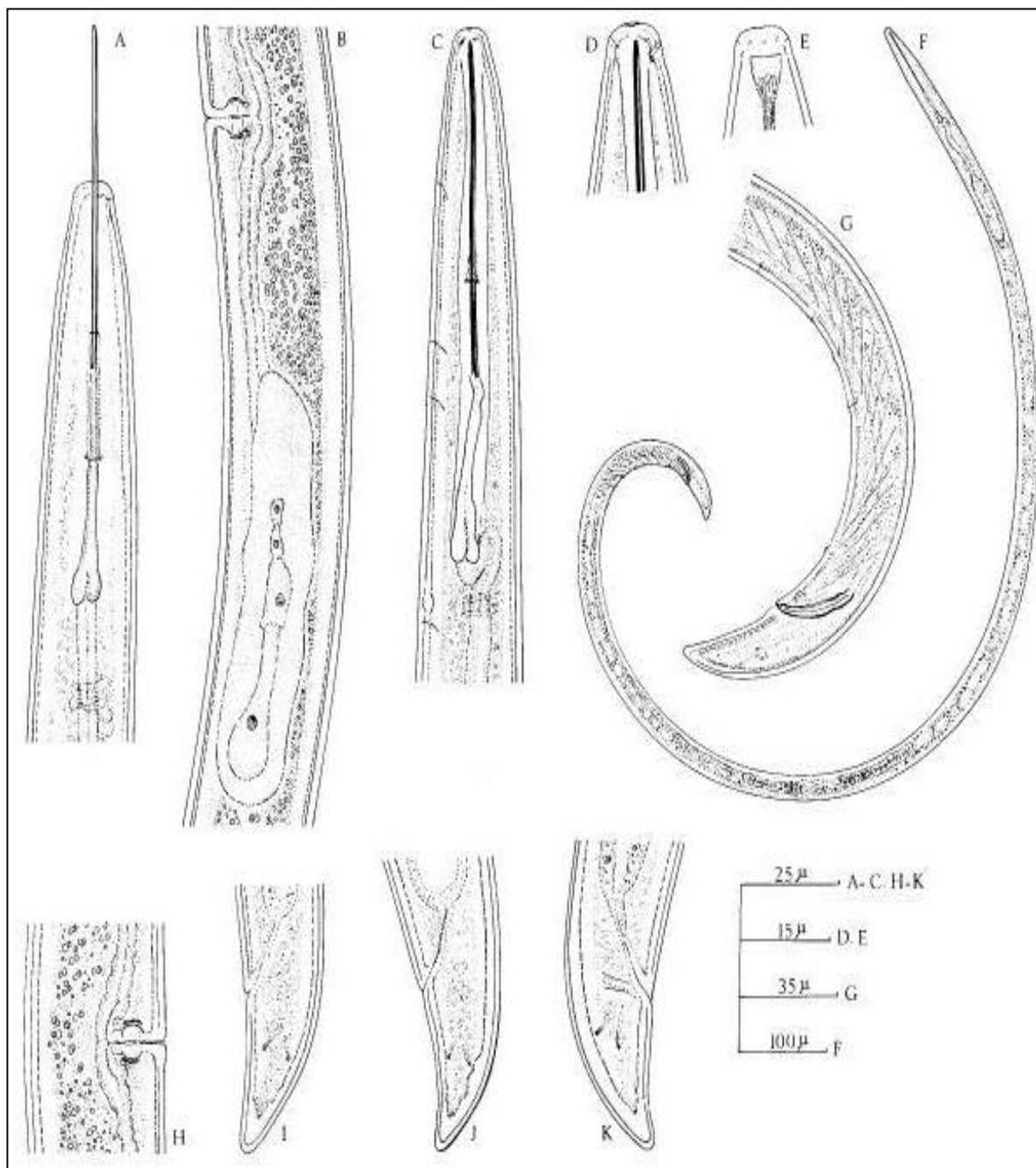
Measurements: four females (from bentgrass soil, Rhode Island, USA, after Siddiqi, 1973): body length = 1.66-1.71 (1.68) mm; a = 47-52 (50); b = 6.3-7.5 (6.6); c = 48-53 (51); c' = 1.6-1.8 (1.7); V = 51-54 (52.7)%; odontostyle = 70-74 (71.5) μ m; odontophore = 45-47 (46) μ m.

15 females (after Siddiqi, 1959, from Uttar Pradesh, India): body length = 1.55-1.73 mm; a = 41.5-45.5; b = 5.0-6.7; c = 45.5-48.1; V = 50.5-53.6%; odontostyle = 79 μ m; odontophore = 45.5 μ m.

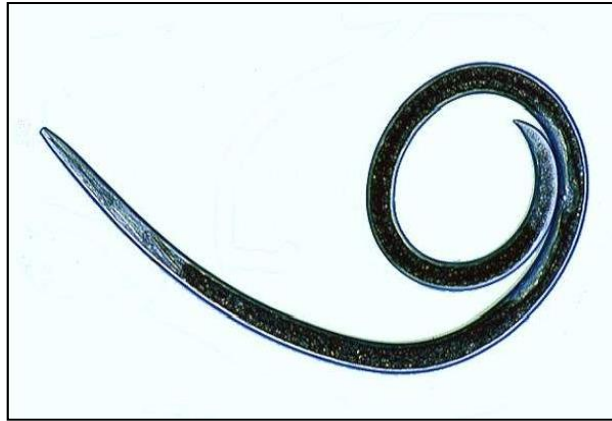
نرها: کمیاب و برای تولید مثل ضروری نیستند، بدن با خمیدگی در قسمت عقبی، حلقه هادی استایلت 51 میکرومتر طول. اسپیکول‌ها راست و مستقیم، به طول 29 میکرومتر، دم دو برابر عرض بدن طول دارد، با انتهای نیمه کرد.

3 males (rare) (after Tarjan, 1956): body length = 1.5-1.7 (1.6) mm; a = 39.7-51.6 (47.2); b = 61.-6.3 (6.2); c = 37.8-50.1 (43.6); T = 40-54 (46); spicules = 27-30 μ m.

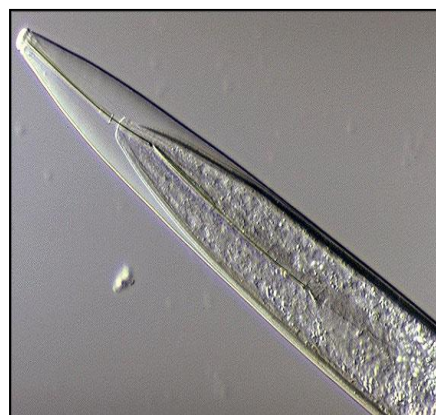
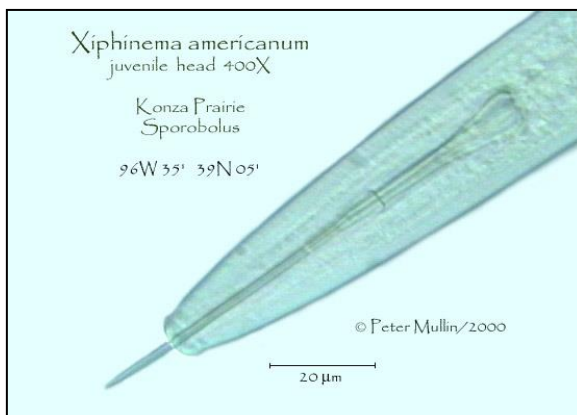
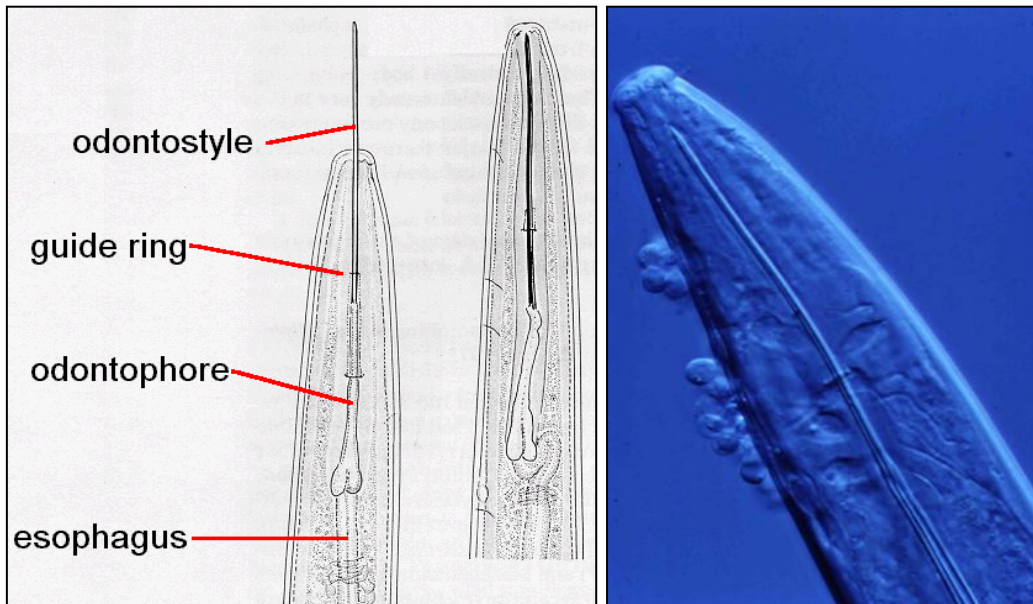
لاروها: دارای 3 یا 4 مرحله لاروی که در طول بدن و طول استایلت متفاوت هستند. در مراحل مختلف لاروی همیشه یک استایلت ذخیره‌ای وجود دارد. در نماتدهای راسته *Dorylaimida* که از رده *Adenophorea* هستند، استایلت به وسیله یک سلول مخصوص در قسمت جلویی مری ایجاد می‌شود. به همین دلیل به آن *Odontostylet* می‌گویند که استایلتی است که توسط یک سلول در مری تولید می‌شود و سپس به سمت حفره دهانی هدایت می‌شود. طول استایلت ذخیره یک مرحله لاروی با طول استایلت اصلی مرحله لاروی بعدی برابر است. نماتدهای گروه *X. americanum* بر اساس نحوه تکامل به زیرگروههایی تقسیم شده است. این 4 مرحله لاروی بر اساس خصوصیات نظیر طول بدن، اندازه استایلت اصلی و اندازه و تعداد استایلت ذخیره به راحتی از هم قابل تشخیص هستند. تمامی گونه‌های گروه *X. americanum* در آمریکای شمالی وجود دارد. در بین این گونه‌ها، *X. rivesi* دارای پراکندگی وسیعتری است. 6 گونه به تنهایی از فلوریدا گزارش شده است که شامل *X. lucii*، *X. laevistriatum*، *X. floridae*، *X. diffusum*، *X. americanum* و *X. sheri* که همگی در گروه *X. americanum* هستند. جدا کردن گونه‌های گروه *X. americanum* از نظر تاکسونومی اهمیت زیادی دارد زیرا به شناسایی ناقلین ویروس‌های گروه نیوویروس کمک می‌کند. *Vrain* و همکاران در 1992 سال با استفاده تکنیک RFLP برای شناسایی گونه‌ها در این گروه استفاده کردند. استفاده از این تکنیک در شناسایی گونه‌ها در گروه *X. americanum* نشان داد که 16 جمعیت از این گونه‌ها متعلق به *X. americanum*، *X. rivesi*، *X. pacificum* و *X. bricolensis* می‌باشد. تنوع خصوصیات مورفولوژیکی *X. americanum* در جمعیت‌هایی از گونه‌های شمال هند مطالعه شده است. در نماتدهای بالغ، طول و عرض ناحیه سری، طول استایلت اصلی و محل قرارگیری منفذ تناسلی (*Vulva*) کمترین تفاوت‌ها را دارند. طول کل بدن و اودوتوفور، موقعیت حلقه هادی استایلت، طول راست روده و طول دم تفاوت‌های کمتری را نشان می‌دهند. طول‌گدد جنسی جلویی و عقبی بدن و اندازه تخمدانها بیشترین تنوع را نشان می‌دهند. میزان تنوع بین لاروها و نماتدهای بالغ در مورد خصوصیات ویژه کم و بیش مشابه است به استثناء طول دم که به شدت در نماتدهای بالغ تنوع دارد (Malik and Jairajpuri, 1983).



***X. americanum*: C-G: نماتد نر، A,C: قسمت جلویی بدن نماتد، D,E: سر نماتد، G,I,J,K: انتهای دم نماتد، B: اندام تولیدمثلی در ماده ها، F: پیکره بدن نماتد نر، H: ناحیه ولوا**



پیکره جنسی ماده نماتد خنجری *X. americanum*



نمایی از قسمت های مختلف اندام های نماتد خنجری *X. americanum*

زیست‌شناسی و اکولوژی:

X. americanum sensu lato تماماً در خاک زندگی می‌کند و در لایه مرطوب بین ذرات خاک جابجا می‌شود. به نظر می‌رسد که این نماتد به طرف ریشه‌های جوان جذب می‌شود، جاییکه نماتد با سوراخ کردن لایه‌های متوالی بسیاری در بافت سیتوپلاسم تغذیه می‌کنند. ماده‌ها به روش پارتونوز تخم‌گذاری کرده و در اغلب جمعیت‌ها 4 مرحله لاروی دیده می‌شود. در بین جمعیت‌های آمریکای شمالی که ناقل ویروس‌های گیاهی هستند تنها 3 مرحله لاروی مشاهده می‌شود.

چرخه زندگی: *X. americanum* برای کامل کردن سیکل زندگی خود به حداقل 1 سال زمان نیاز دارد. درجه حرارت بهینه برای تولید مثل 20 تا 24 درجه سلسیوس است و همچنین 3 یا 4 مرحله لاروی نیز دارد که این تفاوتها باعث شده که گروه *X. americanum* به زیرگروههایی بر اساس رشد تکاملی‌شان تقسیم شوند و دیدگاه جدیدی در تاکسونومی و موقعیت سیستماتیک این گونه‌ها ایجاد شود. Malik و همکاران گزارش کرده‌اند که جمعیت‌های هندی 4 مرحله لاروی دارند که به راحتی از هم و از نماتدهای بالغ بر اساس تعدادی از خصوصیات مورفولوژیکی از قبیل طول بدن، اندازه استایلت‌های اصلی و ذخیره و اندازه اندامهای تناسلی قابل تشخیص هستند. نماتد دارای دو شکلی جنسی است اگرچه نرها به شدت تعداد کمتری داشته و نقش آنها در تولید مثل شناخته نشده است.

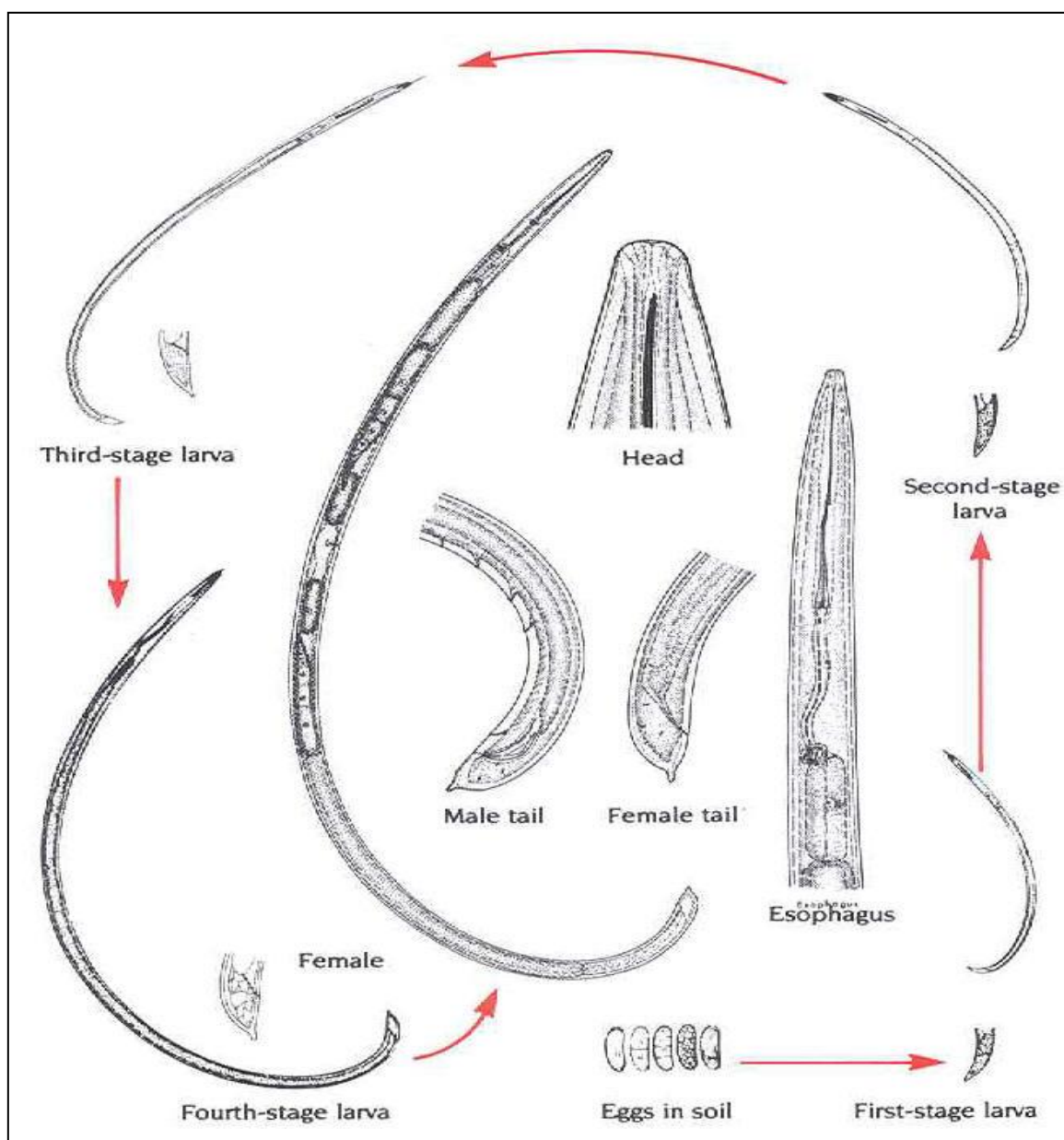
X. americanum تنها در خاک مرطوب می‌تواند زندگی کند و در آن محیط فقط حداکثر 1 متر در سال حرکت می‌کند مگر اینکه با آب آبیاری و زهکشی بتواند بیشتر جابجا شود. انتشار نماتد در فواصل بیشتر، تنها در خاک‌های مرطوب با گیاه یا بدون گیاه انجام می‌گیرد. در باغات سیب نیویورک در پنسیلوانیای آمریکا تمامی مراحل زندگی *X. americanum* در کل سال حضور داشتند و تمامی مراحل قادر به زمستان‌گذرانی بودند.

بقاء: بیشترین میزان بقاء و مهاجرت *X. americanum* در خاک‌های با منافذ زیاد دیده می‌شود، از اینرو خاک‌های لوم-سیلتی و لومی نسبت به خاک‌های رسی سیلتی و لوم رسی برای این نماتد مناسب‌تر هستند. درجه حرارت بهینه برای تولید مثل 20 تا 24 درجه سلسیوس است. نماتدها با pH خاک رابطه منفی نشان می‌دهند، بهینه pH برای رشد و توسعه نماتد 5/6 تا 7/4 است. *X. americanum* تا مدت‌های مدیدی بدون گیاه میزبان قادر به ادامه زندگی است اما قادر به تولیدمثل-های متوالی نخواهد بود. جمعیت نماتد در سطوح رطوبتی خیلی بالا یا خیلی پایین کاهش می‌یابد. نماتد در خاک یخ زده قادر به بقاء طولانی نیست و در نواحی با زمستانهای سرد زمستان‌گذرانی عمدتاً به صورت تخم می‌باشد. در جاییکه خاک یخ نمی‌زند تمامی مراحل نماتدی می‌توانند زمستان‌گذرانی کنند.

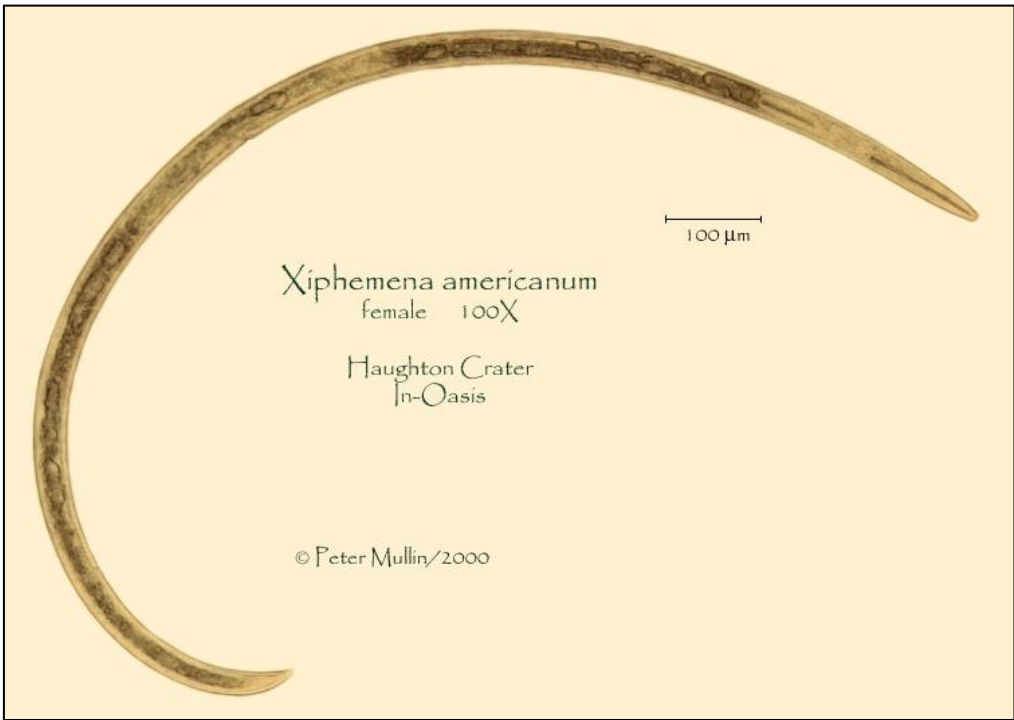
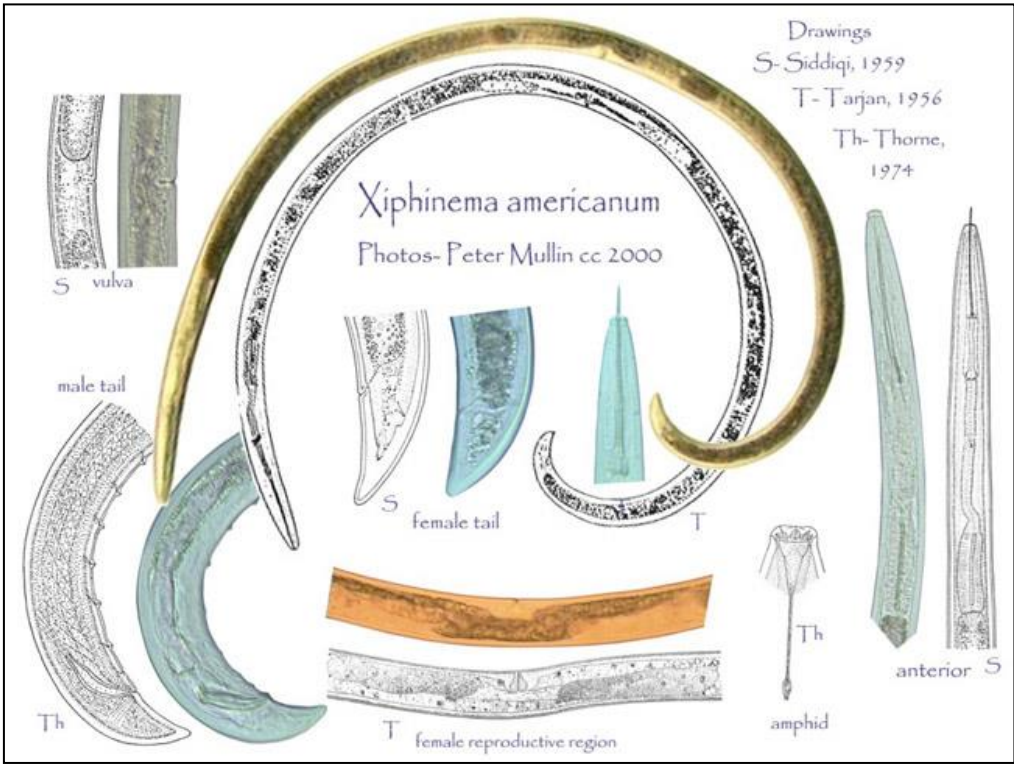
در آمریکای شمالی، *X. americanum* یک ناقل مناسب برای بسیاری از نپوویروسها است و نماتد بالغ و لاروها قادر به انتقال این دسته از ویروسها هستند. زمانیکه نماتد از گیاه آلوده به ویروس تغذیه می‌کند، پیکره ویروس از سلولهای داخل سیتوپلاسم برداشته شده و به دیواره استایلت یا دیواره مری نماتد می‌چسبند. سپس زمانیکه نماتد از گیاه بعدی تغذیه می‌کند، ویروس به گیاه سالم بعدی تزریق و منتقل می‌شود. اکتساب ویروس و انتقال آن به گیاه سالم بعدی تنها 1 ساعت زمان می‌برد و نماتد ممکن است قادر به انتقال ویروس‌های جذب کرده تا 2 سال دیگر باشد.

X. americanum sensu stricto ناقل 4 نپوویروس آمریکایی مهم یعنی: *tomato ringspot nepovirus* (ToRSV)، *cherry rasp leaf nepovirus* (CRLV)، *tobacco ringspot nepovirus* (TRSV)، *peach rosette mosaic nepovirus* (PRLV) می‌باشد. *X. rivesi* و *X. californicum* ناقل ویروسهای ToRSV

، TRSV و CRLV، نماتد *X. bricolens* تنها به عنوان ناقل ویروس ToRSV گزارش شده است. توانایی انتقال ویروس ممکن است در بین جمعیت‌های مختلف گونه‌های مشابه نماتد متفاوت باشد. Griesbach و همکاران در سال 1989 گزارش کردند که از 7 جمعیت از *X. americanum sensu lato* در کالیفرنیا، 2 جمعیت قادر به انتقال استرینهای از TRSV و ToRSV، یک جمعیت قادر به انتقال فقط ToRSV و 4 جمعیت دیگر قادر به انتقال هیچ نوع ویروسی نبودند. *X. americanum sensu stricto*، *X. californicum* و *X. rivesi* ویروسهای CRLV و ToRSV را منتقل می‌کنند. *X. bricolens* هم ناقل ToRSV می‌باشد.



سیکل زندگی گونه‌های نماتد جنس (*Xiphinema sp.*)



نماتدهای نر و ماده نماتد خنجری

علائم خسارت:

گیاهانی که ریشه‌های آنها مورد حمله *X. americanum sensu lato* واقع می‌شوند، در غیاب ویروسهای گیاهی، عموماً علائم خاصی را در قسمتهای اندامهای هوایی نشان نمی‌دهند. در جمعیت‌های بالا، ضعف عمومی در گیاه مشاهده می‌شود. تحت حمله شدید نماتد در جمعیت‌های بالاتر، ریشه‌ها در محلی که نماتد تغذیه می‌کند متورم می‌شوند و تشکیل گال مشاهده می‌شود. Perry (1958) نکروز گسترده و تخریب ریشه‌های توت‌فرنگی را در ویسکونزین آمریکا مشاهده کرد و متوجه شد که *X. americanum* ایجاد زخم‌های قهوه‌ای مایل به قرمز و فرورفته‌ای می‌کند که رفته رفته قهوه‌ای مایل به سیاه تا سیاه رنگ شده و سیستم ریشه‌ای کاهش پیدا می‌کند. نشاءهای پارازیته شده کاج (*Pinus banksiana*) با این نماتد، دارای سیستم ریشه‌ای ضعیف بوده و حساس به سرما می‌شوند. زمانیکه تغذیه نماتد منجر به انتقال ویروس می‌شود، علائم ویروسی خاصی در گیاه مشاهده می‌شود. این علائم ابتدا در اندامهای هوایی گیاه در طول فصل رشد ظاهر می‌شود.



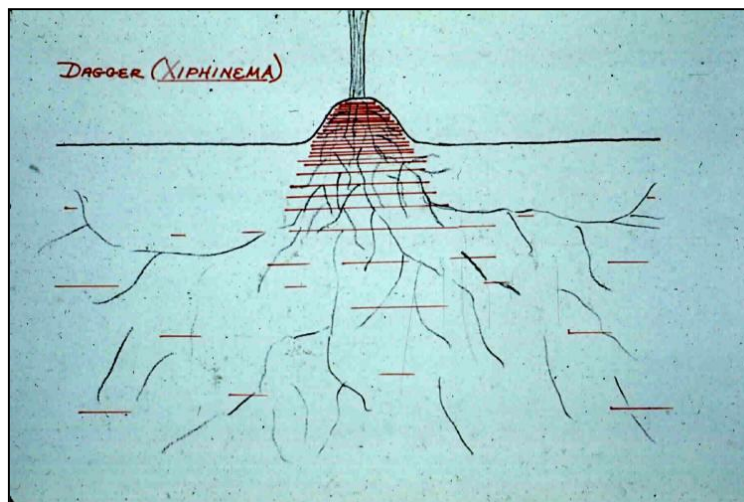
علائم خسارت و ایجاد گال روی ریشه های درختان نارون (*Ulmus parviflora*) توسط نماتد خنجری



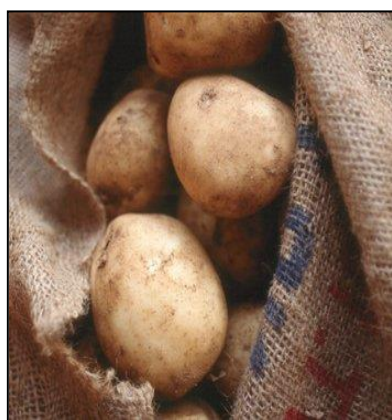
علائم خسارت و ایجاد گره روی ریشه های توت فرنگی (Strawberries) توسط نماتد خنجری

راههای انتقال و انتشار:

قسمتهایی از گیاه که قادر به انتقال این نماتد هستند شامل ریشه‌ها و نشاءها می‌باشد. نماتد به وسیله پوست، غده، پیاز، کورم، ریزوم، میوه، گل، برگها، ساقه، بذر و چوب قابل انتقال نیست. بهترین راه انتقال نماتد در مسافتهای زیاد آب آبیاری آلوده و خاک آلوده است.



الگوی پراکنش نماتد خنجری در ناحیه ریشه درختان مو (Grapevine)



جابجائی نهال گیاه میزبان و خاک همراه غده های بذری یکی از راههای ورود و پراکنش نماتد خنجری

اقدامات قرنطینه‌ای:

گزارشی از خسارت بالای *X. pachtaicum* و سایر گونه‌های *Xiphinema* از گروه *Americanum* و گزارش بیماریهای ویروسی که این نماتدها ناقل آنها باشد، در ناحیه EPPO وجود ندارد. حتی *X. rivesi* که در آمریکای شمالی ناقل ویروس ToRSV گزارش شده است، در اروپا گزارشی از ارتباط این گونه با انتقال ویروسی وجود ندارد. گونه‌هایی از گروه *Americanum* حاضر در آمریکای شمالی از نظر هویت، پراکنش جغرافیایی و توانایی ناقل بودن هنوز به طور کامل شناسایی نشده‌اند. زیرا توانایی انتقال ویروس، بیشتر با جمعیت‌های نماتدی مرتبط است تا گونه نماتدی. اینکه قوانین بهداشت نباتی و اقدامات قرنطینه‌ای برای ناحیه اروپا در خصوص این نماتدها در مورد جمعیت‌های آمریکایی *X. americanum sensu lato* لحاظ شده است مورد بحث می‌باشد. این جمعیت‌ها تنها جمعیت‌هایی هستند که قادر هستند عملاً نپوویروس‌ها را منتقل کنند. بنابراین جمعیت‌های *X. americanum sensu lato* از سایر نقاط دنیا در لیست آفات قرنطینه‌ای ناحیه EPPO قرار ندارند.

EPPO نماتد *X. americanum* را از برخی کشورهای اروپایی گزارش و حضور آن را به رسمیت شناخته است. این نماتد به عنوان ناقل نپوویروس‌های آمریکایی از اهمیت بسیار بالایی برخوردار است که بیشترین خسارت را بر روی محصولات باغی وارد می‌آورند.

Tomato ring spot nepovirus (که در لیست A2 آفات قرنطینه‌ای EPPO است) به‌وسیله *X. americanum sensu stricto*، *X. bricolens* و *X. californicum* و همچنین به‌وسیله *X. rivesi* منتقل می‌شود. *Tobacco ring spot nepovirus* (که اخیراً در لیست A2 آفات قرنطینه‌ای EPPO قرار گرفته) به‌وسیله *X. americanum sensu stricto*، *X. californicum* و *X. rivesi* منتقل می‌شود. *Cherry rasp leaf nepovirus* (که در لیست A1 آفات قرنطینه‌ای EPPO است) به‌وسیله *X. americanum sensu stricto*، *X. californicum* و *X. rivesi* منتقل می‌شود. *Peach rosette mosaic nepovirus* (که اخیراً در لیست A1 آفات قرنطینه‌ای EPPO قرار گرفته) به‌وسیله *X. americanum sensu stricto* منتقل می‌شود. این ویروس نسبت به 3 ویروس قبلی از اهمیت کمتری برخوردار است. *Soybean severe stunt nepovirus* یک پاتوژن نسبتاً درجه 2 از آمریکای شمالی است به‌وسیله *X. americanum sensu stricto* منتقل می‌شود. EPPO توصیه می‌کند که ورود خاک از نواحی غیر از کشورهای منطقه EPPO که حاوی *X. americanum sensu lato* هستند به ناحیه EPPO ممنوع است. همچنین گیاهان ریشه‌دار نیز در لیست ممنوعه‌ها قرار می‌گیرد به شرطی که عاری از نماتد بودن آنها تایید شده باشد. مزارعی که این گیاهان در آنها تولید می‌شوند نیز باید مورد بررسی قرار گرفته و عاری از نماتد شناسایی شوند.

روشهای ردیابی و بازرسی:

گروه *X. americanum* مشتمل بر تقریباً 30 گونه است، در مورد اغلب این گونه‌ها تفکیک از نظر خصوصیات مورفولوژیکی مشکل است. برخی از گونه‌های این گروه ناقل ویروسهای گیاهی هستند و از اینرو شناسایی و تفکیک آنها اهمیت زیادی دارد. *X. americanum sensu lato* اغلب در ریزوسفر مو، زردآلو، توت فرنگی، تمشک و گلابی یافت شده‌اند و همچنین به عنوان اکتوپارازیت چمن‌ها شناخته شده است. برای تعیین اینکه آیا نماتد در خاک وجود دارد یا نه، باید عمل استخراج نماتد از خاک که مناسب برای استخراج نماتدهای پارازیت مهاجر است، انجام گیرد. اندازه نمونه خاک مورد آزمایش 100 نمونه 500 گرمی از هر 4 هکتار می‌باشد.

شناسایی: برای شناسایی نماتد که احتمال حضور در محموله وارداتی دارد، اولین کار استخراج نمونه از ریشه‌ها، غده‌های و خاک است. ماده‌های بالغ می‌توانند در درون ریشه‌ها با استفاده از میکروسکوپ قابل مشاهده باشند. تشخیص در سطح گونه بر اساس ترکیب خصوصیات مورفولوژیکی و مورفومتریکی و متدهای ملکولی یا بیوشیمیایی (ایزوزایم‌ها یا PCR) می‌باشد.

روش استخراج: ماده‌های بالغ با استفاده از تلاشی کردن بافتها قابل استخراج هستند، اما سپس بایستی در محلول 0/9 درصد NaCl نگهداری شوند. سایر مراحل نظیر نماتدهای نر و لاروهای سن 2 بایستی از بافت گیاهی و یا از خاک با استفاده از روشهای مناسب استخراج، جداسازی شوند.

روشهای استخراج نماتد از گیاه:

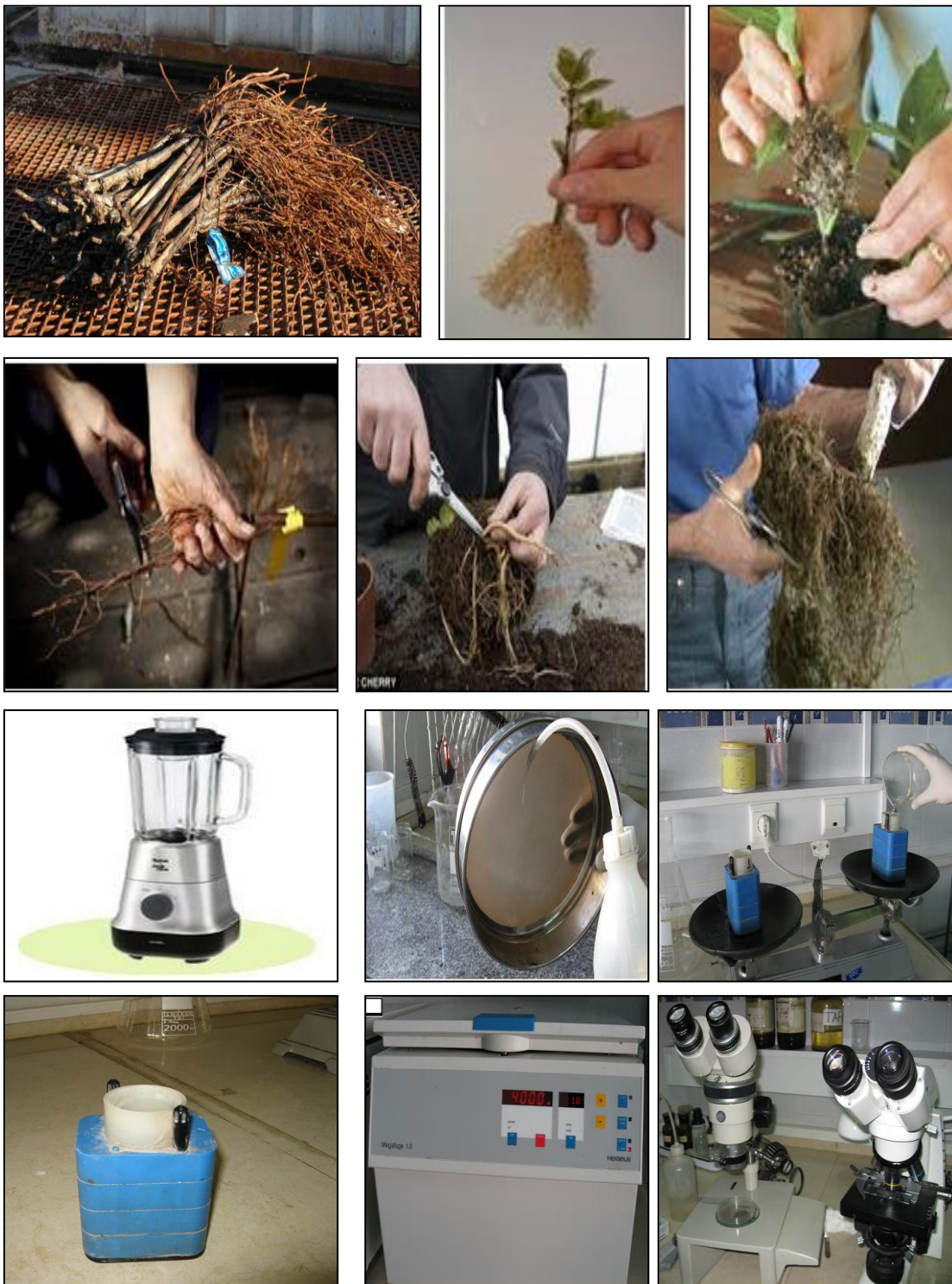
روش مستقیم: در این روش اندامهای گیاهی مورد نظر را با قیچی خرد نموده، قطعاتی از آن را در داخل آب و پتری قرار داده و نماتدها را با سوزن و چاقوی مخصوص از نسوج گیاهی استخراج می‌نمایند. این روش ساده‌ترین روش بررسی است و معمولاً با بینوکولر انجام می‌شود.

روش رنگ‌آمیزی: 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 رنگ‌آمیزی 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 نمادهای شسته شده را درون بشر می‌ریزند و سپس اقدام به مشاهده نمادهای استخراج شده توسط بینوکولر و میکروسکوپ می‌نمایند.



مراحل استخراج نماد از اندام گیاهی (بافت ریشه) و بررسی آزمایشگاهی

منابع :

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

<http://nematode.unl.edu/xamer.htm>

<http://www.freshfromflorida.com/Divisions-Offices/Plant-Industry/Plant-Industry-Publications/Tri-ology-FDACS-DPI/May-June-2012-Nematology-Section>

<http://plpnemweb.ucdavis.edu/nemaplex/images/Lecture7/slide304.jpg>

<http://plpnemweb.ucdavis.edu/nemaplex/images/XiphGrape1.jpg>