جمهوری اسلامی ایران

وزارت جهاد کشاورزی

سازمان حفظ نباتات کشور

راهنمای شناسائی و ردیابی

آفت قرنطینه خارجی

نماتد سیستی گراس

grass cyst nematode

Punctodera punctata (Thorne, 1928) Mulvey & Stone, 1976

Nematoda: Heteroderidae

تهیه و تنظیم:

احمد چراغیان

دفتر پایش و تحلیل خطر

1404

نماتد سیستی گراس

Punctodera punctata (Thorne, 1928) Mulvey & Stone, 1976

Domain: Eukaryota
Kingdom: Metazoa
Phylum: Nematoda
Family: Heteroderidae

Other scientific names

Heterodera punctata Thorne, 1928

Common names:

grass cyst nematode
grass cyst eelworm

اهمیت اقتصادی:

هیچ سابقه‌ای از خسارت اقتصادی *P. punctata* در مزرعه وجود ندارد (Webley and Lewis, 1977). P. punctata اولین بار در سال ۱۹۲٦ در یک مزرعه گندم که کاهش رشد نشان می‌داد، در ساسکاچوان، کانادا مشاهده شد. این بیماری نه بار در مزارع گندم ساسکاچوان بین سال‌های ۱۹۲۷ تا ۱۹٤۲ ثبت شد (Franklin, 1951). اینها مزارعی بودند که اخیراً از مرتع به زمین‌های دیگر تبدیل شده بودند. در طول یک دوره زمانی، نماتد و علائم از چنین مزارعی ناپدید شدند (Baker, 1945; Horne and Thames, 1966; Thorne and Malek, 1968). بنابراین به نظر می‌رسد که در ساسکاچوان، وقتی گندم در مزارعی که اخیراً از مرتع به زمین‌های دیگر تبدیل شده‌اند و حاوی جمعیت بالایی از *P. punctata* هستند، کشت می‌شود، ممکن است در چند سال اول انتظار مقداری خسارت وجود داشته باشد، اما در نهایت به نظر نمی‌رسد که نماتد کشت را تحمل کند و هم نماتد و هم علائم از بین می‌روند (Thorne and Malek, 1968). جمعیت‌های اروپایی *P. punctata* گندم را آلوده نمی‌کنند. برزسکی و همکاران (1971) کلروز مشخص و فقدان عمومی قدرت را در چمن‌های آلوده Poa annua در میشیگان، ایالات متحده مشاهده کردند. هورن (1965) *P. annua* ناسالم را در تگزاس در خاکی که به *P. punctata* آلوده بود، گزارش کرد. *Agrostis stolonifera [A. stolonifera var. palustris]* به عنوان میزبان در مزرعه شناسایی شد (Franklin, 1938; Franklin, 1951)، اما در آزمایش‌های آزمایشگاهی یافت نشد (Radice et al., 1985). لذا با توجه به اهمیت خسارتزائی نماتدمذکور در لیست آفات قرنطینه ای ایران و بسیاری از کشورها قرار گرفته است.

میزبانها:

میزبانهای اصلی:

Agrostis capillaris (brown bentgrass), *Agrostis stolonifera* (creeping bentgrass), *Agrostis stolonifera var. palustris* (bent grass), *Festuca rubra* (red fescue), *Lolium perenne* (perennial ryegrass), *Poa annua* (annual meadowgrass), *Poa pratensis* (smooth-stalked meadowgrass)

میزبانهای فرعی:

Avena sativa (oats), *Hordeum vulgare* (barley), *Triticum* (wheat),

پراکنش جغرافیائی:

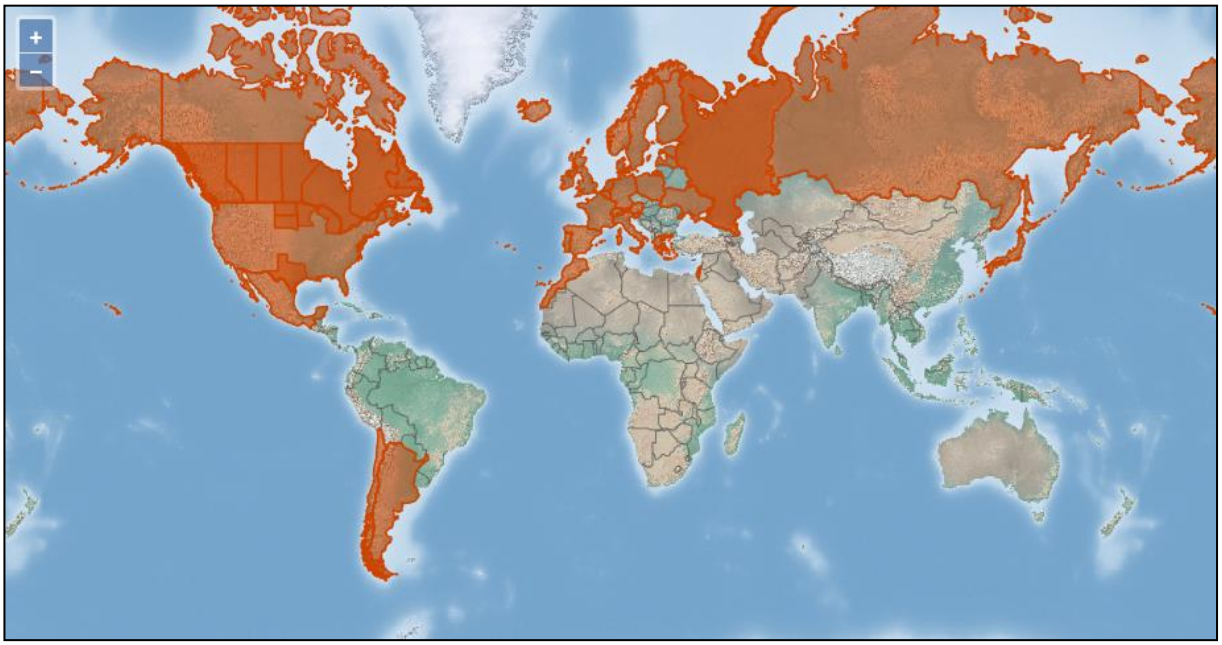
اروپا:اطریش، بلژیک، ،دانمارک،فرانسه،آلمان، ایرلند، استونی،مجارستان،ایتالیا،یونان ،هلند،نروژ،لهستان،پرتغال،اسپانیا، روسیه، لتوانی، سوئیس، سوئد،فنلاند، اکراین ،ایرلندف صربستان، انگلستان.

آسیا: ژاپن، فلسطین

آفریقا: مراکش

آمریکای شمالی: آمریکا،کانادا،مکزیک،

آمریکای جنوبی: شیلی،آرژانتین



نقشه پراکندگی نماتد سیستی گراس

شکل شناسی:

تشخیص

جنس Punctodera متعلق به گروهی از نماتدها است که در آنها ماده بالغ با تخم پر می‌شود و پس از مرگ، از طریق برنزه شدن کوتیکول، به یک کیست پایدار تبدیل می‌شود. کیست‌های Punctodera با یک خلف گرد با دو پنجره شفاف (fenestrae)، یکی در اطراف فرج و دیگری در اطراف مخرج مشخص می‌شوند که از طریق آنها، لاروهای آلوده در اوایل بهار در جستجوی میزبان خود فرار می‌کنند. سه گونه در این جنس شناسایی شده‌اند: *P. punctata*، *P. matadorensis* و *P. chalcoensis*.

.

Measurements (please note that L refers to length)
(After Thorne, 1928.)
Female: L = 520 µm.
Male: L = 900-1300 µm.
Larva = 350-470 µm; oesophagus = 17-22% of body length. Two larvae in Thorne's collection (after Mulvey and Stone, 1976): stylet = 24.2, 25.8 µm; dorsal gland opening 4.5 µm behind stylet base; tail length = 63, 78 µm; hyaline part of tail = 39, 41 µm.
(After Horne, 1965.)
Female: L = (excluding neck): 330-420 (370) µm; neck = 110-150 (123) µm; width = 170-320 (236) µm; L/W = 1.22-2.05 (1.59); stylet = 20-25 (23.2) µm.
Male: L = 970-1270 (1088) µm; width = 25-32 (27) µm; a = 32-47 (40.3); stylet = 27-33 (30) µm; spicules = 28-36 (34) µm; dorsal oesophageal gland duct opening from base of stylet = 5-6 (5.5) µm.
Second-stage larva: L = 510-570 (540) µm; width = 20-24 (22) µm; stylet = 24-32 (27) µm; tail = 68-93 (80) µm; anal body-width = 13-16 (14.2) µm; hyaline tail terminus = 51-60 (54) µm; dorsal oesophageal gland duct opening from base of stylet = 4-7 (5.4) µm. These measurements of the larvae generally agree with those of Mulvey and Stone (1976), Wouts and Weischer (1977) and Wouts et al. (1986) and are somewhat larger than those of Solov'eva and Vasil'eva (1973).
Egg: L = 100-130 (118) µm; width = 40-50 (46) µm; L/W = 2-3 (2.6).
Description
(See also Webley and Lewis, 1977; Wouts, 1985.)

ماده

سفید، تخم‌مرغی، گلابی یا قمقمه شکل، در قسمت خلفی گرد. مخروط فرج وجود ندارد. دیسک لبی مستطیلی تا مستطیلی، در بالا برجسته و احاطه شده توسط صفحه دایره‌ای که از بقیه بدن جدا شده و از به هم پیوستن لب‌ها تشکیل شده است. استایلت به خوبی توسعه یافته است. شکاف فرج به طول ٤ میکرومتر، احاطه شده توسط ناحیه زیر دایره‌ای فاقد نشانه‌های طبیعی کوتیکول؛ مخرج شکافی به طول کمتر از ٤ میکرومتر، احاطه شده توسط نشانه‌های متحدالمرکز کوتیکول. دو تخمدان. ماده‌ها و کیست‌های جوان احاطه شده توسط لایه زیر کریستالی. در ماده‌های مسن‌تر و کیست‌ها، زیرپوست اطراف فرج و مخرج از هم می‌پاشد و منافذ شفافی با اندازه تقریباً مساوی بلافاصله در اطراف این منافذ تشکیل می‌دهد، مخرج تا حدودی در قسمت شکمی در منافذ آن قرار دارد. فاصله بین منافذ تقریباً ۱.۵ برابر قطر منافذ فرج است، به ندرت کوچکتر از قطر منافذ.

پس از مرگ، کوتیکول ماده به کیست پایدار تبدیل می‌شود. کوتیکول ماده و دیواره کیست با الگوی توری مانند، حلقه‌ها و برآمدگی‌ها یا خطوط، که گاهی اوقات با سوراخ‌هایی از هم فاصله دارند، همه این پیکربندی‌ها گاهی اوقات روی یک کیست وجود دارند، معمولاً با الگوی زیرسطحی خطوط نامنظم نقطه‌گذاری. پل زیرین و تاول وجود ندارد. کیست‌ها حاوی حداکثر ۲۵۰ تخم هستند.

برخلاف گونه‌های Heterodera، Punctodera یک لایه چهارم مشخص در کوتیکول ماده دارد که به نظر می‌رسد نشان دهنده رابطه نزدیک‌تر Punctodera با Globodera نسبت به Heterodera است.

نر

باریک، از یک لارو متورم مرحله چهارم در اثر دگردیسی ایجاد می‌شود، سر با ۵-۷ حلقه جابجا شده است، کلاهک لب تقریباً کروی است، لب‌های زیر میانی کاملاً به یکدیگر جوش خورده‌اند، در بیشتر افراد نیز با لب‌های جانبی جوش خورده و حلقه‌ای پیوسته در اطراف کلاهک لب تشکیل می‌دهند. در جلوی پایه استایلت، بدن به صورت مخروطی باریک می‌شود. میدان جانبی با چهار شیار طولی که سه نوار طولی را مشخص می‌کند. میدان جانبی در نزدیکی انتهای دم محو می‌شود یا با ادغام با خطوط روی نوک دم در اطراف انتهای دم ادامه می‌یابد و معمولاً به تعداد زیادی برآمدگی ظریف تبدیل می‌شود که در اطراف انتهای دم که دو میدان را به هم متصل می‌کند، ادامه می‌یابند (عثمان و همکاران، ۱۹۸۸). فاسمید مشاهده نمی‌شود. دم کاملاً گرد، در نمای انتهایی مثلثی. استایلت قوی، برآمدگی‌های پایه به خوبی توسعه یافته، به جلو بیرون زده. اسپیکول‌ها جفت، در قسمت دیستال باریک می‌شوند، در قسمت شکمی خمیده با نوک‌های کند. گوبرناکولوم منفرد.

لارو سن دوم

کرمی شکل، به تدریج از جلو به سمت نقطه مقابل پایه استایلت باریک می‌شود، قسمت قدامی مخروطی محدب‌تر و باریک‌تر می‌شود تا ناحیه لب به طور مشخص جدا شود. دم مخروطی کشیده، نوک‌تیز، با قسمت شفاف قابل مشاهده. ناحیه لب با چهار حلقه، دیسک لبی بیضی شکل، لب‌های جانبی ممکن است تا حدی با دیسک لبی ترکیب شده باشند، لب‌های میانی مجاور با یکدیگر ترکیب شده و تا حدی با دیسک لبی ترکیب شده‌اند. حلقه‌های بدن مشخص، کوتیکول هفت یا هشت حلقه اول تا حدودی ضخیم شده است. میدان جانبی با چهار شیار، سه نوار طولی تشکیل می‌دهد، نوار میانی صاف است و حدود ۱۲ تا ۲۰ حلقه از انتهای دم خاتمه می‌یابد، سایر نوارها به طور ضعیفی جدا شده‌اند. فاسمیدها حدود پنج تا هفت حلقه را در جلو تا انتهای میدان جانبی باز می‌کنند. اسکلت سر و استایلت به خوبی توسعه یافته‌اند. برآمدگی‌های استایلت به جلو بیرون زده‌اند. پیاز میانی مری به خوبی توسعه یافته، بیضوی، تقریباً نصف عرض بدن در آن نقطه. حلقه عصبی درست پشت حباب، مشاهده آن دشوار است. یک حلقه همیزونید در جلوی منفذ دفعی قرار دارد. راست روده و مخرج برجسته نیستند.

بر اساس ویژگی‌های لاروها، ووتس و همکاران (۱۹۸۶) دو ریخت‌ریختی را در بین جمعیت‌های اروپای قاره‌ای تشخیص دادند. قبل از اینکه بتوان این جمعیت‌ها را به عنوان گونه‌های مختلف در نظر گرفت، ویژگی‌های بیشتری برای تشخیص این جمعیت‌ها لازم است.

تخم

بیضی شکل تا کلیوی شکل

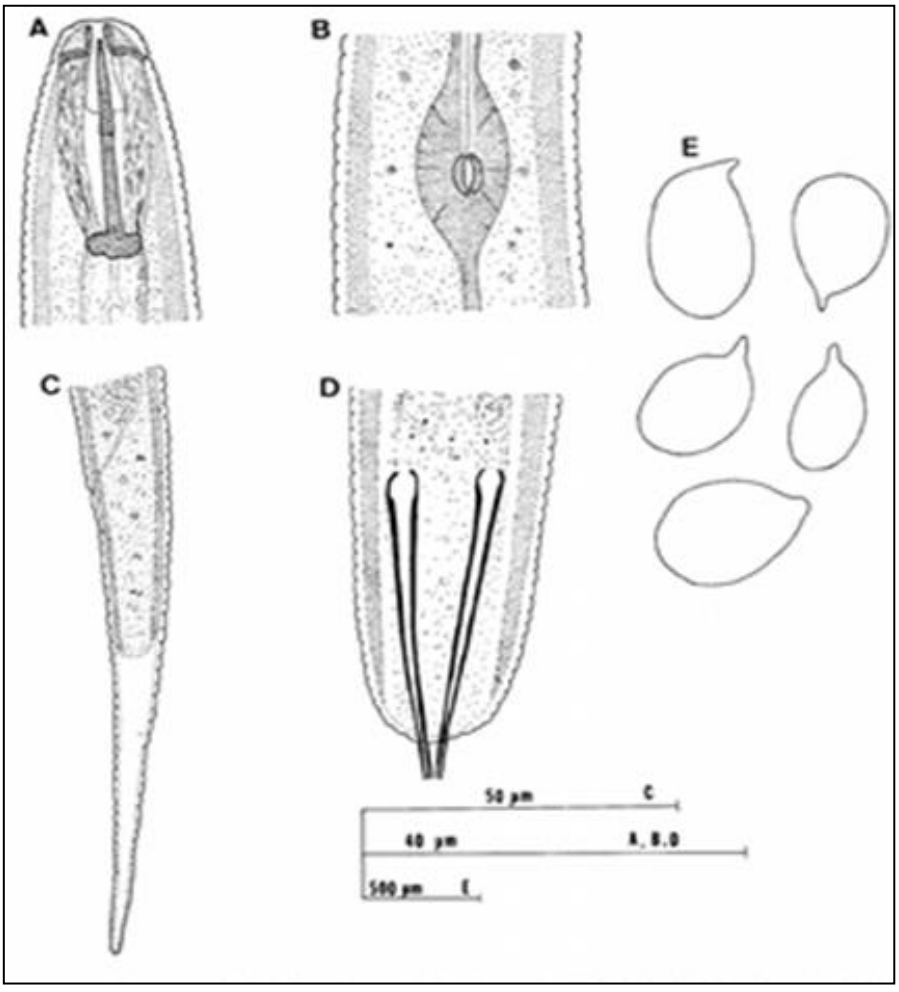


Fig. 1 - *Punctodera punctata*: A, head end of second-stage juvenile; B, median oesophageal bulb of male; C, tail of second-stage juvenile; D, tail end of male (frontal view); E, cysts.

Punctodera punctata
cyst 63X

زیست شناسی و اکولوژی:

چرخه زندگی

لاروهای عفونی، که توسط ترشحات ریشه تحریک می‌شوند، در کیست‌های زمستان‌گذران، در بهار با افزایش دما از تخم بیرون می‌آیند. در مدت کوتاهی معمولاً 10 روز تا 2 هفته، کیست را ترک می‌کنند تا میزبان را آلوده کنند. تولید مواد آلوده در شرایط آزمایشگاهی دشوار بوده است. بنابراین، رشد در میزبان فقط در ریشه‌های آلوده طبیعی مشاهده شده است (Thorne, 1928; Horne, 1965). از این مشاهدات مشخص است که P. punctata به همان روشی که سایر نماتدهای کیست‌ساز رشد می‌کنند، رشد می‌کند.

لارو عفونی در نزدیکی یک نقطه رشد فعال در ریشه نفوذ می‌کند و کم و بیش خود را با استوانه مرکزی هم‌تراز می‌کند. به زودی شروع به تغذیه از سلول‌های پارانشیمی استوانه عروقی می‌کند و باعث بزرگ شدن سلول‌ها می‌شود. سلول‌های هیپرتروفی شده مجاور با هم ادغام می‌شوند، منافذ پلاسمودسماتا بین آنها بزرگ می‌شود و دیواره‌های سلولی حل می‌شوند و یک سلول انتقال چند هسته‌ای تشکیل می‌دهند که به عنوان سینسیتیوم نیز شناخته می‌شود. تغذیه شامل آزاد شدن فعال شیره‌های گوارشی از غده پشتی مری به داخل لومن سلول گیاهی است. این شیره‌ها پس از خروج از استایلت، یک "لوله" کوچک تشکیل می‌دهند که پروتوپلاسم ممکن است قبل از جذب مکرر توسط نماتد، برای هضم در آن فیلتر شود. پس از تغذیه، لارو به زودی شروع به متورم شدن می‌کند، اگرچه بافت‌های ریشه اطراف آن متورم نمی‌شوند. نماتد در نهایت از بافت‌ها جدا می‌شود اما در اطراف سر خود (در نقطه ورود) متصل می‌ماند. فرآیند جدا شدن از ریشه ممکن است توسط موادی که از طریق کوتیکول نماتد در حال رشد ترشح می‌شوند، تسهیل شود. فعالیت میکروبی روی این مواد ممکن است باعث ایجاد لایه زیرکریستالی شود که در این گروه از نماتدها، نماتدهای بالغ را احاطه می‌کند.

این نماتد از طریق پوست‌اندازی به بلوغ می‌رسد. ماده‌ها پس از هر پوست‌اندازی به طور قابل توجهی از نظر عرض افزایش می‌یابند و هنگام بلوغ (پس از سه پوست‌اندازی) تقریباً کروی می‌شوند. نرها باریک هستند: آنها با دگردیسی در پوست چهارم لاروی رشد می‌کنند (هر نر با تا خوردن‌های متعدد در پوست خود جا می‌گیرد). در مراتع اروپا، اولین نرها در اواخر ژوئن، تقریباً زمانی که ماده‌ها آخرین پوست‌اندازی خود را انجام می‌دهند، ظاهر می‌شوند. نرها و ماده‌ها در ماه ژوئیه فراوان هستند. عدم تولید فرزندان از تلقیح تکی لاروهای جوان و فراوانی نرها در مزرعه، رادیس و همکاران (1985) را به این نتیجه رساند که *P. punctata* احتمالاً از طریق آمفی‌میکسیس [تولید مثل جنسی] تولید مثل می‌کند. نرها تغذیه نمی‌کنند. ماده‌ها ماتریکس ژلاتینی یا کیسه تخم تشکیل نمی‌دهند و تخم نمی‌گذارند.

تخم‌ها در بدن ماده جمع می‌شوند: وقتی که او به دلایل خارجی می‌میرد یا وقتی که کاملاً پر از تخم است، کوتیکول او از طریق فرآیند دباغی به کیست تبدیل می‌شود. هر کیست یک جسم پایدار به رنگ زرد تیره یا قهوه‌ای است که از تخم‌های داخل در برابر یخبندان‌های شدید زمستانی و خشک شدن محافظت می‌کند. تا زمانی که ماده‌ها به بلوغ می‌رسند، اولین تخم‌ها جنین‌دار شده‌اند. حدود یک ماه پس از تشکیل کیست، اکثر تخم‌ها جنین‌دار شده‌اند، لاروهای توسعه‌یافته یک بار پوست‌اندازی کرده‌اند و لاروهای عفونی توسعه یافته‌اند و آماده واکنش به محرک‌های مناسب در بهار بعدی هستند (بنابراین دور دیگری از چرخه زندگی آغاز می‌شود). رادیس و همکاران (1985) مشاهده کردند که تخم‌های یک جمعیت نیوجرسی

از یک مرحله استراحت عبور می‌کنند و تا بعد از دسامبر از تخم بیرون نمی‌آیند، کـه نشـان می‌دهـد هـر سـال یـک نسـل رخ می‌دهد.

در اروپا، جمعیت‌های زیادی از نماتد *P. punctata* با علفزارهای دائمی در خاک‌های شنی مرطوب امـا بـا زهکشـی آزاد و چمن‌های آبیاری شده منظم مرتبط هستند. دشواری‌های نگهداری کشـت‌ها در آزمایشـگاه نشـان می‌دهـد کـه ایـن نماتـد بـه خشکسالی بسیار حساس است (Webley and Lewis, 1977). این واقعیت که این نماتـد عمـدتاً بـا علفزارهـای دائمـی مرتبط است و کشت و عدم وجود میزبان به زودی آن را از خاک حذف می‌کند، به نظر می‌رسد نشان می‌دهد که به طور کلـی به اختلالات خارجی بسیار حساس است. این امر ممکن است مانع از گسترش آن به نیمکـره جنـوبی شـده باشـد، جـایی کـه نماتدهای کیستی سـیب‌زمینی (*Globodera rostochiensis* و *G. pallida*)، چغندرقنـد (*Heterodera schachtii*)، شبدر (*H. trifolii*) و جو دوسر (*H. avenae*) با وفاداری میزبان‌های خود را دنبال کرده‌انـد. آزمایش‌هـای تفـریخ لارو در آب و در ریشه‌های میزبان آن، *Poa annua*، نتایج منفـی نشـان داد (Horne, 1965)، کـه نشـان می‌دهـد ظهـور همزمـان لاروهای عفونی در بهار ممکن است توسط دما تعیین شود، احتمالاً در ترکیب با یک دوره پیش‌شرط‌بندی سرما، همانطور کـه برای *G. rostochiensis* و *H. avenae* گزارش شده است (Den Ouden, 1960). در غیاب میزبان، این مکانیسم مضر است، زیرا مرگ و میر لاروهای تفریخ شده، آزاد در خاک، حدود 50٪ در هفته است (Seinhorst, 1985).

پراکندگی

به دلیل نیاز به رطوبت و ترجیح نماتد بـرای میزبان‌هـایی کـه در نزدیکـی آبراه‌هـا رشـد می‌کننـد، پراکنـدگی طـولانی مـدت *P. punctata* احتمالاً عمدتاً از طریق سیلاب‌های زمستانی صورت می‌گیرد. رادیس و همکاران (۱۹۸٤) حدس می‌زننـد کـه پراکندگی طولانی مدت ممکن است از طریق مدفوع غازهای کانادایی رخ دهد. چنین پراکندگی و پراکندگی از طریـق بـاد یـا بذر، عموماً بسیار محدود در نظر گرفته می‌شود.

علائم خسارت:

علائم ناشی از نماتدهای کیست‌ساز معمولاً شامل افزایش حساسیت به تنش آبی است. با این حال، *P. punctata* عمدتاً در مناطقی که آب در طول رشد آن فراوان است، غالب است، به طوری که میزبان در معرض تنش آبی قرار نمی‌گیرد و بدون علائم باقی می‌ماند. بهترین اثبات وجود این نماتد، استخراج کیست‌ها از نمونه خاک/ریشه با استفاده از روش الک/شناورسازی است.

علائم بر اساس قسمت آسیب‌دیده گیاه

ریشه‌ها: کیست‌ها روی سطح ریشه

علائم مشخص آلودگی به نماتد سیستی گراس

راههای انتقال و انتشار:

بخش‌هایی از گیاهان که در تجارت/حمل و نقل مستعد حمل آفت هستند

- پیازها/غده‌ها/بنه‌ها/ریزوم‌ها: جوانه‌ها، بالغ‌ها، اسکلروت‌ها؛ به صورت داخلی منتقل می‌شوند؛ به صورت خارجی منتقل می‌شوند؛ زیر میکروسکوپ نوری قابل مشاهده هستند.

- محیط کشت گیاهان همراه: جوانه‌ها، بالغ‌ها، اسکلروت‌ها؛ به صورت داخلی منتقل می‌شوند؛ به صورت خارجی منتقل می‌شوند؛ زیر میکروسکوپ نوری قابل مشاهده هستند.

- نهال‌ها/گیاهان ریزازدیادی: جوانه‌ها، بالغ‌ها، اسکلروت‌ها؛ به صورت داخلی منتقل می‌شوند؛ به صورت خارجی منتقل می‌شوند؛ زیر میکروسکوپ نوری قابل مشاهده هستند.

ریشه‌ها: جوانه‌ها، بالغ‌ها، اسکلروت‌ها؛ به صورت داخلی منتقل می‌شوند؛ به صورت خارجی منتقل می‌شوند؛ زیر میکروسکوپ نوری قابل مشاهده هستند.

قسمت‌هایی از گیاه که مشخص نیست در تجارت/حمل و نقل، آفت را حمل می‌کنند

- پوست درخت

- میوه‌ها (شامل غلاف‌ها)

- گل‌ها/گل‌آذین‌ها/مخروط‌ها/کاسه گل

- برگ‌ها

- ساقه‌ها (بالای زمین)/شاخه‌ها/تنه‌ها/شاخه‌ها

- دانه‌های واقعی (شامل دانه)

- چوب.

مسیرهای حمل و نقل برای جابجایی در مسافت‌های طولانی

- ظروف و بسته‌بندی: با گیاهان میزبان.

- خاک، شن، آب و غیره.

- مسافران و چمدان: حمل گیاهان میزبان...

اقدامات قرنطینه ای:

این یک آفت قرنطینه‌ای در همه کشورها،از آنجا که ممکن است نماتد مذکور به همراه محموله های میزبان وارداتی از جمله غدد بذری سیب زمینی و پیاز گلهای زینتی واردکشور شود ،لازم است محموله های وارداتی از کشورهای آلوده به دقت بررسی و هر ساله مناطق کاشت گیاهان میزبان جهت شناسائی این نماتد مورد بررسی و ردیابی قرار گیرند.

P. punctata در زیستگاه فعلی خود آفتی ناچیز است. حتی ممکن است قادر به گسترش به مناطق و کشورهایی که هنوز به آنها حمله نکرده است، نباشد. هورن (1965) اظهار داشته است که ممکن است سویه ای خطرناک تر از طریق انتخاب بیولوژیکی ایجاد شود یا شرایطی وجود داشته باشد که به افزایش سریع جمعیت کمک کند: به عنوان مثال، اگر یک گونه گیاهی بومی محلی بسیار حساس باشد. در جایی که *P. punctata* وجود ندارد، بنابراین عاقلانه است که آن را به عنوان یک آفت قرنطینه ای در نظر بگیریم.

P. punctata علائم مشخصی روی میزبانان خود (Poaceae) ایجاد نمی کند: فقط با وجود لاروها و کیست ها در خاک قابل تشخیص است. Poaceae اغلب به صورت بذر بین کشورها جابجا می شوند. با این حال، رویه های تمیز کردن فعلی مانع از توزیع این نماتد از طریق بذر می شود. بنابراین وسیله اصلی حمل و نقل نماتد برای توزیع در مسافت های طولانی، خاک متصل به گیاهان غیر میزبان است.

روشهای ردیابی و بازرسی:

P. punctata علائم مشخصی روی میزبان‌های خود (Poaceae) ایجاد نمی‌کند: فقط با حضور لاروها و کیست‌ها در خاک قابل تشخیص است. Poaceae معمولاً به صورت بذر بین کشورها جابجا می‌شوند. با این حال، روش‌های فعلی تمیز کردن مانع از توزیع این نماتد از طریق بذر می‌شود. بنابراین، وسیله اصلی انتقال نماتد برای توزیع در مسافت‌های طولانی، خاک متصل به گیاهان غیرمیزبان است. ساده‌ترین راه تشخیص نماتد در چنین خاکی، خشک کردن خاک در هوا و شناور کردن کیست‌ها در آب با استفاده از روش‌های معمول استخراج نماتد یا با روشی برای تغلیظ نمونه تازه با شستشو، رسوب ذرات سنگین ناخواسته، تخلیه، الک کردن، شناورسازی در محلول‌هایی با چگالی بالاتر از نماتدها و الک کردن است.

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 معمولا 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 کاملا 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 می‌نمایید. 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 خـارج نمـوده 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 برسـد و حل شود).

مواد ته نشست و شربت قند در لوله‌ها را مجددا به صورت سوسپانسیون در می‌آورند. در ادامه لوله‌ها را در دستگاه سـانتریفوژ قرار داده و به مدت یک دقیقه در همان سرعت چرخانیده تا نسوج و پودر کائولین ته نشـین شـده و نماتـدها در شـربت قنـد معلق بمانند. پس از توقف سانتریفوژ، محتویات لوله‌ها را روی الک 400 مش ریخته و بـا آب آن را مـی‌شـویند و نماتـدهای 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

منابع :

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

https://plantwiseplusknowledgebank.org/doi/full/10.1079/pwkb.species.45937
http://nemaplex.ucdavis.edu/images/G109s13.jpg
https://www.researchgate.net/publication/233784533_New_record_of_Punctodera_punctata_from_Spain
http://nemaplex.ucdavis.edu/Taxadata/G109s2.aspx