پژوهش های کاربردی در خشک میوه ها
Journal Of Applied Researches In NUTS

نماتدهای انگل گیاهی مرتبط با درختان بادام در شهرستان سیرجان

مهدیه رستمی[1,*]، فرحناز جهانشاهی افشار[2]

تاریخ دریافت: ۰۵ آذر ماه ۱۴۰۳ تاریخ پذیرش : ۲۹ بهمن ماه ۱۴۰۳

[1]استادیار گروه بیماری شناسی گیاهی، واحد رفسنجان، دانشگاه آزاد اسلامی، رفسنجان، ایران.

[2]استادیار پژوهشی، بخش تحقیقات جانورشناسی کشاورزی، مؤسسه تحقیقات گیاه‌پزشکی کشور، سازمان تحقیقات، آموزش و ترویج کشاورزی، وزارت جهاد کشاورزی، تهران، ایران.

[*]نویسنده مسئول:

MahdiehRostami@iau.ac.ir

چکیده

بادام به‌عنوان یکی از خشک‌میوه‌های مغذی و مفید برای سلامت انسان، از اهمیت اقتصادی بالایی در کشاورزی برخوردار است. نماتدهای انگل گیاهی به صورت مستقیم و غیرمستقیم یکی از عوامل کاهش عملکرد محصولات کشاورزی به‌خصوص درختان میوه در دنیا هستند. در این مطالعه‌ی پژوهشی، طی بررسی باغات بادام در شهرستان سیرجان، به‌منظور شناسایی نماتدهای بیماریزا، تعدادی نمونه خاک و ریشه از اطراف ریشه درختان بادام از مناطق مختلف شهرستان جمع‌آوری گردید. نماتدها به دو روش سینی و الک-سانتریفیوژ استخراج شده و پس از تثبیت به گلیسرین خالص منتقل شدند. پس از تهیه اسلایدهای دائم، نمونه‌ها با میکروسکوپ نوری و با مراجعه به منابع معتبر، مطالعه و در سطح گونه مورد شناسایی قرار گرفتند. در مجموع چهار گونه نماتد انگل گیاهی از جمله: *Criconema mutabile*، *Pratylenchus thornei*، *Zygotylenchus guevarai* و *Longi-dorus africanus* از نمونه‌های خاک مورد مطالعه، جداسازی و شناسایی شد. نماتدهای مهم انگل گیاهی از قبیل نماتد سوزنی (*Longidorus*)، نماتدهای زخم (*Pratylenchus* و *Zygotylenchus*) و نماتد حلقه‌ای (*Criconema*) از جمله نماتدهای خسارت‌زا از مناطق مختلف کشاورزی گزارش شده اند که با توجه به اهمیت کشاورزی در منطقه، نیاز به پایش جمعیت آنها در باغات مورد مطالعه وجود دارد. از بین گونه های فوق، گونه *Z. guevarai* مورد شناسایی تکمیلی مولکولی نیز قرار گرفت. شناسایی مولکولی این گونه بر اساس توالی ناحیه D2-D3 ژن رمزگردان ناحیه 28S rDNA انجام شد. با توالییابی این ناحیه و همردیفسازی آن با توالیهای ثبت شده از *Z. guevarai* در بانک ژن (NCBI) مشخص شد که توالی ژنوم این گونه از منطقه امیرآباد سیرجان، با توالیهای گزارش شده از سایر مناطق دنیا ۱۰۰ درصد همسانی دارد.

واژگان کلیدی: امیرآباد، خشکمیوه، شناسایی مولکولی، نماتدهای زخم، نماتدهای سوزنی و حلقهای.

پژوهش های کاربردی در خشک میوه ها
Journal Of Applied Researches In NUTS

Plant-parasitic nematodes associated with almond trees in Sirjan city

Mahdieh Rostami[1,*], Farahnaz Jahanshahi Afshar[2]

[1]Assistant Professor, Department of Plant Pathology, Rafsanjan Branch, Islamic Azad University, Rafsanjan, Iran.

[2]Research Assistant Professor, Agricultural Zoology Research Department, Iranian Research Institute of Plant Protection, Agricultural Research, Education and Extension Organization, Ministry of Agriculture-Jahad, Tehran, Iran.

[*]Corresponding author:

MahdiehRostami@iau.ac.ir

Abstract

One of the nutritious and beneficial nuts for human health is almond, which has high economic importance in agriculture. Plant-parasitic nematodes (PPNs) are directly and indirectly one of the major causes in reducing the yield of agricultural products, especially fruit trees in the world. In this study, in order to investigate the infection of almond orchards to parasitic nematodes in Sirjan city, some soil samples were collected from rhizosphere of almond trees from different regions in this city. The nematodes were extracted from the soil samples using two methods, centrifugal flotation-sieving and tray technique, fixed and transferred to the anhydrous glycerin. After preparing permanent slides, the nematodes were studied using a light microscopy and species identification was performed according to morphological and morphometric characteristics data in relevant valid references. In total, four important PPNs species were identified as bellow: *Criconema mutabile*, *Pratylenchus thornei*, *Zygotylenchus guevarai* and *Longidorus africanus*. Due to the importance of agriculture in the region, occurrence of important PPNs such as needle nematode (*Longidorus*), root lesion nematodes (*Pratylenchus* and *Zygotylenchus*) and ring nematode (*Criconema*), it is necessary to monitor their population density in the studied gardens. In addition, the identified species belong to the most important genera of the plant-parasitic nematodes which indicates the possibility of their damage and requires appropriate control proceedings to prevent its further spread. Among the identified species, in order to confirm the traditional identification of *Z. guevarai,* this species was molecularly studied using D2-D3 extension fragments of 28S rDNA. The obtained sequence of the species (recovered from a soil sample in Amirabad, Sirjan city) was 100% identical to the sequences of the other populations of *Z. guevarai* in the GenBank database.

Keywords: Amirabad, Root lesion nematodes, Molecular identification, Needle and ring nematodes, Nuts

مقدمه

بادام با نام علمی (Mill) *Prunus dulcis*.)، متعلق به خانوادهی گلسرخیان، رشد مطلوبی در کشورهای مدیترانه ای دارد. هرچند که درخت بادام به دلیل توانایی تحمل شرایط آب و هوایی گرم و خشک، با رشد در زمین‌های آهکی و فقیر نیز سازگاری دارد. بادام منبع غنی از پروتئین، کربوهیدراتها، آنتیاکسیدانها و لیپیدها بوده و همچنین حاوی فلاونوئیدها، ویتامین E، ریبوفلاوین، اسیدهای آمینه و مواد معدنی مانند منگنز، منیزیم، مس و فسفر است. به‌طورکلی، بادام یکی از خشکبار غنی از مواد مغذی و خوشمزه برای هر رژیم غذایی است (Alghamdi and Alsabehi, 2024). با وجود مواد مغذی مختلف مصرف روزانه این آجیل در درمان بیماریهای قلبی عروقی موثر است. از این‌رو بادام، نوعی آجیل درختی مهم در ایران محسوب می‌شود (Torki-Harchegani et al., 2015) و ارزش اقتصادی آن در جهان به میلیاردها دلار میرسد (Nur Tan et al., 2018). ایران به‌عنوان زیستگاه بادام‌های وحشی یکی از مهم‌ترین کشورهای تولیدکننده بادام می‌باشد (Tehranifar et al., 1998). همچنین بادام یکی از محصولات مهم باغی در استان کرمان میباشد. طبق آمار جهاد کشاورزی در سال ۱۴۰۳، سطح زیر کشت بادام استان کرمان ۱۱۷۲۶ هکتار و تولید ۹۴۳۹ تن می‌باشد. شهرستان سیرجان یکی از قطب‌های تولید این محصول در استان با سطح زیر کشت ۳۲۴۹ هکتار و میزان تولید ۲۱۹۰ تن بادام میباشد. بنابراین با توجه به اهمیت اقتصادی و مزایای گونه درختی بادام، مطالعه عوامل محدود کننده‌ی رشد آن جهت لحاظ کردن در برنامه‌های مدیریتی ضروری به‌نظر می‌رسد. اهمیت نماتدها به‌دلیل خسارت مستقیم به محصولات کشاورزی، همچنین ایجاد زمینه مساعد برای حمله سایر عوامل بیمارگر گیاهی و نقش مهم تعدادی از آنها در انتقال بعضی از عوامل بیمارگر در گیاهان (خسارت غیرمستقیم) است. خسارت ناشی از جمعیت کم نماتدها به‌طور معمول ناچیز است، اما جمعیت‌های زیاد آنها صدمه شدیدی به گیاهان وارد کرده و موجب کاهش محصول و عملکرد گیاه میزبان می‌شود. به‌علاوه، برخی از نماتدها مقاومت گیاه را در برابر بیماری‌های قارچی و باکتریایی کاهش داده و خسارت ترکیبی ثانویه و بیشتری ایجاد می‌کنند. تعدادی از نماتدها نیز ناقل ویروس‌های بیماری‌زای گیاهان هستند. میانگین کل میزان خسارت سالانه نماتدهای انگل گیاهی (کاهش میزان محصول و هزینههای مربوط به کنترل آنها) به محصولات مهم و اقتصادی کشاورزی در بعضی منابع بسیار سنگین گزارش شده است. برآوردها از چندین منابع مستقل نشان می‌دهد، کاهش میزان تولید جهانی محصولات کشاورزی ناشی از خسارت نماتدها حدود ۱۲ درصد است این بدان معنی است که این خسارت تنها در استرالیا به ۴۰۰ میلیون دلار در سال برسد (Stirling et al., 2002). از مهم‌ترین نماتدهای انگل گیاهی دارای اهمیت اقتصادی که از باغستانهای میوه سراسر دنیا شناسایی و گزارش شده اند میتوان به: نماتدهای زخم ریشه با نام علمی *Pratylenchus* spp.، نماتد خنجری با نام علمی *Xiphinema* spp.، نماتد حلقه ای با نام علمی*Mesocriconema* spp.، نماتد ریشه گرهی با نام علمی *Meloidogyne* spp. و نماتد سنجاقی با نام علمی *Paratylenchus* spp. اشاره کرد (Mckenry and Kretsch, 1987). در ایران مطالعات معدودی در زمینه بررسی نماتدهای بادام و سایر درختان باغی انجام شده است. کارگر بیده در سال ۱۳۶۸، تعداد ۲۴ گونه نماتد از ۱۶ جنس مختلف راسته Tylenchida را از روی درختان انار، بادام و پسته در استان یزد شناسایی کرد که یک جنس و چهار گونه برای اولین‌بار از ایران گزارش می‌شد (Kargar-Bideh, 1989). همچنین احمدیان یزدی و همکاران در سال ۱۳۸۱، نماتد گالزای برگ بادام را از جنوب استان خراسان برای اولین‌بار از ایران گزارش نمودند (Ahmadian Yazdi et al., 2002). صحرا نشین و فدایی تهرانی، بیماریزایی و خسارت نماتد مولد گره ریشه را روی چند ترکیب پایه و پیوندک بادام مطالعه کردند. در این مطالعه مشخص شد، از بین چهار نوع پایه GN15،GF677، هیبرید محلی هلو × بادام شورابی۱ و هیبرید محلی هلو × بادام شورابی ۲ و ارقام سفید و مامایی، تحمل GN15 و هیبریدهای بادام × هلو به نماتد ریشه‌گرهی، بیشتر از سایر پایه‌های مورد بررسی بود (Sahraneshin Samani and Fadaei Tehrani, 2015). طی بررسی که در سال 1401 توسط امینی سرتشنیزی روی درختان بادام استان چهار محال و بختیاری انجام شد در مجموع هفت گونه از پنج خانواده نماتد انگل گیاهی شامل *Helicotylenchus pseudorobustus*، *H. cylindricauda*، *Boleodorus thylactus*، *Merlinius brevidens Filenchus digonicus*، *Pratylenchus, thornei*، *Scutylenchus rugosus* از خاک و ریشه نمونه‌های جمع آوری شده استخراج و شناسایی گردید (Aminisarteshnizi, 2022). شهر سیرجان در جنوب غربی استان کرمان واقع شده و مرکز شهرستان سیرجان است. این شهر نسبت به شهرهای نیمه کویری دیگر ایران هوایی معتدل‌تر و ملایم‌تر دارد. بر اساس آمارنامه جهاد کشاورزی ۱۴۰۳، بیش از ۳۰ درصد سطح زیر کشت بادام استان کرمان در شهرستان سیرجان قرار دارد. نماتدهای انگل گیاهی از جمله مهمترین عوامل خسارت‌زا در درختان باغی محسوب میشوند و به تنهایی یا به واسطه برهمکنش با سایر عوامل بیماری‌زا و فیزیولوژیکی باعث زوال و کاهش طول عمر درختان می شوند. پایش نماتدهای انگل گیاهی چنانچه دیر از موعد انجام شود، موجب طغیان نماتدهای انگل گیاهی شده و کنترل آنها را با چالش‌های جدی مواجه خواهد نمود. لذا در این مطالعه تلاش شده است گونه‌های مهم انگل گیاهی در باغات بادام منطقه مورد شناسایی قرار گیرند و نقاط وقوع آنها مشخص شود تا بتوان اقدامات کنترلی آتی را بر اساس این مطالعه برنامه ریزی و مدیریت نمود.

مواد و روش ها

تعداد ۴۰ نمونه از خاک و ریشه درختان بادام شهرستان سیرجان جمع‌آوری شد. هر نمونه متشکل از حدود دو کیلوگرم خاک از اطراف ریشه‌های فعال درختان بادام بود. نمونه‌ها در دو نایلون پلاستیکی ریخته شده و پس از یاداشت برداری مشخصات مربوطه، به آزمایشگاه منتقل و تا زمان استخراج نماتدها، در محیط خنک نگهداری شدند. برای استخراج نماتدها از خاک از دو روش سینی Whitehead and Hemming,) 1965) و روش الک-سانتریفیوژ (Jenkins, 1964) استفاده گردید. برای کشتن، تثبیت و انتقال نماتدها به گلسیرین از روش تکمیل شده سین هورست توسط دگریس استفاده شد(De Grisse,1969) . طبقه‌بندی پذیرفته شده توسط دکرامر و هانت (Decramer and Hunt, 1996) که بر اساس قالب گروه‌بندی مولکولی دی لی و بلکستر (De LeyandBlaxter , 2002) نیز استوار است، در این مطالعه مورد استفاده قرار گرفته است. گونه *Zygotylenchus guevarai* به‌دست آمده در این تحقیق مورد شناسایی مولکولی نیز قرار گرفت. برای این منظور پرایمرهای

D_2A (فـوروارد) بـا توالـی 5′-ACAAGTACCGTGAGGGAAAGT-3 و D_3B (ریـورس) بـا توالـی 5′- TGCGAAGGAACCAGCTAC-3′ (TA Nunn, 1992)) مـورد اسـتفاده قـرار گرفتنـد. واکنـشPCR بـا اسـتفاده از محلـول مسـتر میکـس ۲X معـروف بـه مسـتر میکـس بنفـش شـرکت Amplicon (دانمـارک) بـا حجـم ۳۰ میکرولیتـر (۱۵ میکرولیتـر مسـتر میکـس، ۱ میکرولیتـر از هـر پرایمـر، ۳ میکرولیتـر لاشـه بـدن نماتـد کـه در بافـر TE لـه شـده اسـت و ۱۰ میکرولیتـر آب مقطـر) بـه ازای هـر نمونـه انجـام گرفـت. برنامـه دمایـی ایـن واکنـش بـه قـرار روبروسـت: واسرشـته سـازی اولیـه: پنـج دقیقـه در دمـای ۹۵ درجـه، واسرشـت سـازی دوم: ۳۰ ثانیـه در دمـای ۹۴ درجـه، اتصـال: ۴۰ ثانیـه در دمـای ۵۴ درجـه، تکثیـر: ۸۰ ثانیـه در دمـای ۷۲ درجـه و تکثیـر نهایـی ۱۰ دقیقـه در ۷۲ درجـه. پـس از اتمـام واکنـش ، ۲ میکرولیتـر از محصـول بـا ولتـاژ ۹۰ ولـت در بافـر TAE ،X1 بـر روی ژل آگارز ۱/۲ درصـد حـاوی Green viewer بـه مـدت ۲۰ دقیقـه همـراه بـا Mid-range ladder، الکتروفـورز گردیـد. در نهایـت بـه منظـور رویـت بانـد مـورد نظـر از اشـعه UV اسـتفاده گردیـد. پـس از اطمینـان از غلظـت DNA تکثیـر شـده و عـدم وجـود باندهـای غیـر اختصاصـی، باقی‌مانـده محصـول واکنـش بـه شـرکت Bioneer کشـور کـره جنوبـی جهـت توالی‌یابـی ارسـال گردیـد. پـس از دریافـت توالـی، پیـک هـای دریافتـی در برنامـه Chromas بررسـی شـدند و توالـی هـای کـم کیفیـت ابتدایـی و انتهایـی حـذف شـدند. تاییـد ایـن توالـی بـا آزمـون جسـتجوی بلسـت در پایـگاه جهانـی NCBI انجـام شـد.

نتایج و بحث

گونه‌هـای انـگل گیاهـی و یـا مرتبـط بـا گیاهـان به‌دسـت آمـده در ایـن مطالعـه متعلـق بـه راسـته Rhabditida و Dorylaimida بودنـد. از راسـته Rhabditida، گونه‌هـای شناسـایی شـده بـه بالاخانواده‌هـای Criconematoidea (جنـس *Criconema*)، Tylenchoidea (جنس‌هـای *Zygoty-lenchus, Pratylenchus*) تعلـق داشـتند. از راسـته Dorylaimida گونـه انـگل گیاهـی متعلـق بـه خانـواده Longidoridae (جنـس *Longidorus*) بـود کـه مشـخصات ریختشناسـی و ریخت-سـنجی آنهـا در زیـر ارائـه می‌شـود.

۱-گونه‌ی *Criconema mutabile* (Taylor, 1936) Raski & Luc, 1985

مشـخصات مـاده: حلقههـای بـدن بـه تعـداد ۸۹ تـا ۱۲۰ عـدد، بـا حاشـیه صـاف، متمایـل بـه سـمت عقـب بـدن و بـدون فرورفتگیهـای قوسـی در حاشـیهحلقهها میباشـد. سـر تـک حلقهـای، گـرد، غیرمتمایـل بـه سـمت عقـب بـدن اسـت. اسـتایلت کوتـاه بـه طـول حداکثـر ۵۸ میکرومتـر اسـت. گنـاد مشـتمل از یـک لولـه تناسـلی و بـدون کیسـه عقبـی رحـم، لبـه بالائـی شـکاف تناسـلی بـر روی لبـه پائینـی آن امتـداد نیافتـه اسـت. دم کـم و بیـش گـرد و دارای دو حلقـه انتهائـی کوچکتـر میباشـد (جـدول ۱ و شـکل ۱).

نر: یافت نشد.

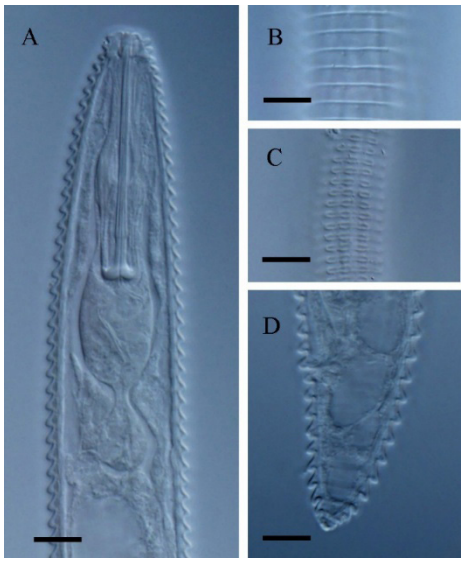
لارو: لارو با داشتن فلسهایی بر روی پوست مشخص میشود.

بحـث: بـا اسـتفاده از کلیـد شناسـایی ارائـه شـده توسـط گـرارت (Geraert, 2010) ایـن گونـه شناسـایی شـد. گونـه مـورد مطالعـه در مقایسـه بـا گونـه مشـابه بـه نـام *Criconema polynesianum* دارای RV کمتـر (۱۰-۱۲ در مقابـل ۱۱-۱۹ اسـت) و در مقایسـه بـا گونـه مشـابه *C. ananas* دارای شـکل ناحیـه سـر متفـاوت (سـر در گونـه *C. ananas* در جلـو تخـت اسـت) و R بیشـتر (۱۱۱-۱۱۵ در مقابـل ۹۶-۱۰۴) اسـت. گونـه *C. californicum* دیگـر گونـه مشـابه دیگـر دارای قسـمت آویـز در لـب جلویـی فـرج و دم مخروطـی بـا نـوک تیـز اسـت. گونـه مذکـور اولیـن بـار از خـاک اطـراف ریشـه گیـاه گل جعفـری آفریقـائی در آمریـکا جمعـآوری و شـرح داده شـده اسـت (Taylor, 1936). در ایـران نیـز اولیـن بـار از خـاک اطـراف ریشـه چمـن و نخـل زینتـی از تهـران گـزارش گردیـد (Barooti, 1981) و در ایـن مطالعـه نیـز از خـاک اطـراف ریشـه بـادام در منطقـه امیرآبـاد گـزارش میگـردد (جـدول ۱).

جـدول ۱. دادههـای ریختسـنجی افـراد مـاده گونـه *Criconema mutabile* جمعـآوری شـده از منطقـه امیـر آبـاد. اندازههـا بـر حسـب میکرومتـر و تمـام داده هـا بـه شـکل mean±sd (range)

n	7
l	(350-390) 20 ± 376.3
a	(11-13) 1.2 ± 12.9
b	(3.8-4.5) 0.4 ± 4.1
c	(18.0-28.8) 5.4 ± 23.1
v	(91.6-92.7) 0.6 ± 92.2
r	(111-115) 2.1 ± 112.7
RSt	(15-17) 0.6 ± 16.3
Rph	(26-31) 2.6 ± 28
Rex	(29-30) 1.0 ± 28.7

RV	(10-12) 1.2 ± 11.3
Ran	(7-8) 0.6 ± 7.7
RVan	(1-4) 1.5 ± 2.7
Stylet length	(46-51) 2.9 ± 49.3
Conus length	(38-42) 2.1 ± 40.3
m	(80.4-82.6) 1.2 ± 81.8
First body annulus width	(10-11) 0.6 ± 10.7
Second body annulus width	12
MB	(66.0-71.9) 3.1 ± 69.3
Pharynx length	(89-97) 4 ± 93.3
Excretory pore	(91-98) 4 ± 95.7
.Max. body diam	(28-32) 2.3 ± 29.3
Tail length	(14-21) 3.8 ± 18



شکل۱. تصاویر میکروسکوپ نوری افراد ماده و لارو گونه *Criconema mutabile* جمعآوری شده از منطقه اسلام آباد. A: بخش جلویی بدن ماده، B: دید سطحی حلقههای بدن، C: سطح کوتیکول لارو، D: دم ماده (همه خطوط مقیاس برابر با ۱۰ میکرومتر).

۲-گونه *Pratylenchus thornei* Sher and Allen, 1953

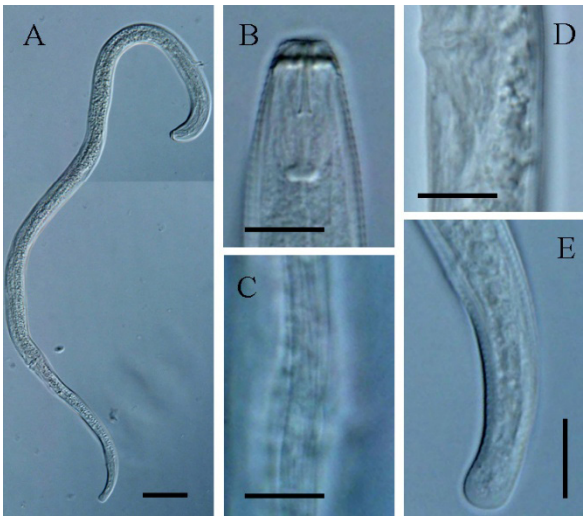
مشخصات ماده: سر پهن، هم‌تراز با بدن و دارای سه حلقه. استایلت رشدیافته با گرههای مشخص کروی. حباب میانی رشد یافته و عضلانی. سطوح جانبی دارای چهار شیار طولی با حاشیه‌ی مضرس ضعیف، که گاه در وسط، بر روی باند وسطی خطوط اضافی بریده بریده نیز دیده میشود. سیستم تناسلی متشکل از یک لوله، کیسه ذخیره اسپرم نامشخص و خالی از اسپرم، طول کیسه عقبی رحم برابر با عرض بدن در ناحیه فرج، دم در مادهها نیمه استوانهای با انتهای گرد و صاف (بدون حلقه)، (جدول۲ و شکل ۲).

نر: یافت نشد.

بحث: جمعیت مورد مطالعه از گونه *P. thornei* در مقایسه با گونه مشابه به نام *P. delatteri* دارای دم با انتهای گرد است در حالی که انتهای دم در گونه نام برده مخروطی است. در مقایسه با یکی از شبیه ترین گونه ها به نام *P. agilis* دارای سه حلقه در سر (در مقابل دو حلقه) است. در مقایسه با گونه *P. subranjani* داری نوک دم صاف (در مقابل شیاردار) است و در مقایسه با گونه *P. sensillatus* دارای کیسه عقب رحم کوتاه تر می باشد. این گونه برای اولین بار از روی یک نوع چمن در کالیفرنیا معرفی شده است (Barooti, 1981). در ایران از مزارع گندم، چغندرقند، بادامزمینی، گوجه فرنگی، سویا، لوبیا، سیبزمینی و آفتابگردان در کرج و مزارع چای رشت گزارش شده است (Kheiri, 1972). جداسازی این گونه (*P. thornei*) در خاک اطراف ریشه بادام مشابه گزارش امینی سرتشنیزی از باغات بادام کراجی و تشنیز در استان چهار محال و بختیاری ایران است. است. در مطالعه ی مزبور گونه های انگل گیاهی شامل: *H. digonicus*، *Scutylenchus rugosus* *Merlinius brevidens Boleodorus thylactus*، *P. thornei*،*pseudorobustus* از باغات بادام جداسازی شده است. (Aminisartesh-nizi, 2022) در این تحقیق *P. thornei* از اطراف ریشه بادام در منطقه نجف شهر شناسایی شد (جدول ۲).

جدول ۲. داده‌های ریخت سنجی افراد ماده گونه *Pratylenchus thornei* جمع آوری شده از منطقه نجف شهر سیرجان. اندازه ها بر حسب میکرومتر و تمام داده ها به شکل (mean±sd (range

n	5
L	(579-784) 661±77
a	(35-41)38±3
c	(19.5-24.0) 21.7±2.0
‘c	(2.5-3.3) 3.0±0.3
V	(17.7-75.8) 74.0±1.5
Head height	(2.0-2.5) 2.1±0.2
Head width at base	(7.5-9.0) 8.0±0.5
Stylet	(15-17) 15.5±0.8
Conus	(7-8) 7.4±0.4
Median bulb from ant end	(54-60) 57.0±2.5
Excretory pore	(81-95) 89±6
Pharynx	
Overlap	
Anterior end to vulva	(415-585) 491±63
Body Width	(14-19) 17.3±2.0
Body width at anus	(9-11) 10.3±1.0
PUS	(11-16) 13.3±2.0
Tail	(28-33) 30.5±2.0
Vulva to anus	(128-149) 134±9



شـکل ۲. داده هـای ریخـت سـنجی افـراد مـاده گونـه *Pratylenchus thornei* جمـع آوری شـده از منطقـه نجـف شـهر سـیرجان. A: شـکل عمومـی بـدن، B: انتهـای جلویـی بـدن، C: باندجانبـی، نشـان دهنـده چهـار بانـد اصلـی و خطـوط منقطـع بـر روی بانـد وسـط، D: فـرج و واژن، E: دم. (خطـوط مقیـاس: A برابـر بـا ۲۰ میکرومتـر، سـایر خطـوط مقیـاس برابـر بـا ۱۰ میکرومتـر)

۳- گونه *Zygotylenchus guevarai* Tobar Jimenez, 1963) Braun and Loof, 1966)

مشخصات ماده: از مشخصات مهم این گونه داشتن سر هم‌تراز با بدن، به شکل مخروط ناقص با چهار حلقه، استایلت قوی با گره‌های گرد و کروی، کیسه ذخیره اسپرم کروی، درشت، در امتداد محور تخمدان وحاوی اسپرم، دم نیمه استوانه‌ای با انتهای گرد و صاف و دارای کمی ضخامت کوتیکولی می‌باشد. جنس نر در این جمعیت بدست نیامد (شکل۳ و جدول ۳) .

نر: یافت نشد.

همچنین، به دنبال شناسایی های مورفولوژیکی و ریخت سنجی، شناسایی مولکولی این گونه بر اساس توالی ناحیه D_2-D_3 ژن رمزگردان ناحیه 28S rDNA انجام شد که توالی آن در زیر ارائه شده است. نتیجه جستجوی بلست (Blast Search) برای این توالی نشان داد این توالی با سه توالی دیگر برای همان گونه از نقاط مختلف جهان (JX261956.1, JQ917439.1, FJ717823.1) دارای ۱۰۰ درصد همپوشانی و یکسانی (identity) است. توالی ناحیه D_2-D_3 برای گونه *Z. guevarai* جمع‌آوری شده از از اطراف ریشه بادام در منطقه امیر آباد در جدول ۴ آمده است.

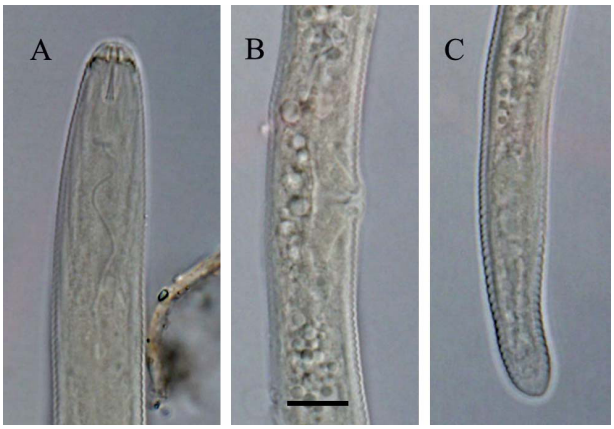
بحث: در مقایسه با دوگونه *Z. natalensis* و *Z. taomasinae*، گونه *Z. guevarai* دارای دم با انتهای پهن (subcylindrical) است. در دوگونه دیگر، دم مخروطی و در انتها باریک است. این گونه از خاک اطراف ریشه *Cupressus sympervirens* در اسپانیا شناسایی شده است در ایران برای اولین‌بار از خاک اطراف ریشه چغندرقند و گندم در کرج و یونجه از اصفهان گزارش شد(Loof et al., 1990) . در این تحقیق از خاک اطراف ریشه بادام در منطقه امیر آباد شناسایی گردید (جدول 3).

جدول ۳. داده های ریخت سنجی افراد ماده گونه*Zygotylenchus guevarai* بدست آمده از منطقه امیر آباد. اندازه ها بر حسب میکرومتر و تمام داده ها به شکل mean±sd (range)

n	4
L	(528-742) 65 ± 622
a	(23-28) 2.5 ± 25
b	(4.9-6.7) 0.4 ± 5.5
‘b	(3.7-4.7) 0.3 ± 3.9
c	(15.5-21.0) 2.0 ± 18.1
‘c	(2.0-2.5) 0.1 ± 2.3
V or T	(62-64) 2 ± 62
Stylet	(16.0-17.3) 0.7 ± 17
MB	(62-68) 4 ± 64
Secretory-excretory pore	(93-110) 7.0 ± 97.5
Pharynx	(100-120) 6 ± 110
Overlapping	(35-53) 5 ± 43
Head-vulva	(333-450) 44 ± 389
V-a	(187-232) 22 ± 200
Tail	(30-49) 4.0 ± 36
Tail Annuli	(18-21) 2.0 ± 20

جدول ۴: توالی ناحیه D_2-D_3 گونه *Zygotylenchus guevarai*

CTTGCTGGTACCCGGACCGGTGGCATTGCTGTTCATTCTGGGTGTTCCCCCCATTGTGGGCATGGTTTTCGG-
GCTCGGGTGGGTGCCGAGCCGGTTGTCGGCGGCGGTCGCATGCGACACGTGCTGTGCCGTCGGTTCGGTCCTG-
CAAGAGCTCACTGTGCTCATTCTCGGTGTAAAAGCTGGTCATCTATCCGACCCGTCTTGAAACACGGACCAAG-
GAGTTTATCGTATGCGCGAGTCATTGGGCGTTCAAAACCCAAAGGCGCAATGAAAGTGAAGGTATCCGTACGGAG-
CCGACGTGCGATCTCGGACACTGCGGTGCACGAGCGCAGCATGGCCCCATTCTGACTGCTTGCAGTGGGGTGGCG-
GAAGAGCGTATGCGATGAGACCCGAAAGATGGTGAACTATTCCTGAGCAGGATG



شکل ۳. تصاویر میکروسکوپ نوری افراد ماده گونه *Zygotylenchus guevarai* بدست آمده از منطقه امیر آباد. A: بخش جلویی بدن، B: فرج و ابتدای دو رحم، C: دم. (خط مقیاس برای همه تصاویر مساوی ۱۰ میکرومتر)

۴- گونه *Longidorus africanus* Merny, 1966

نتایج:

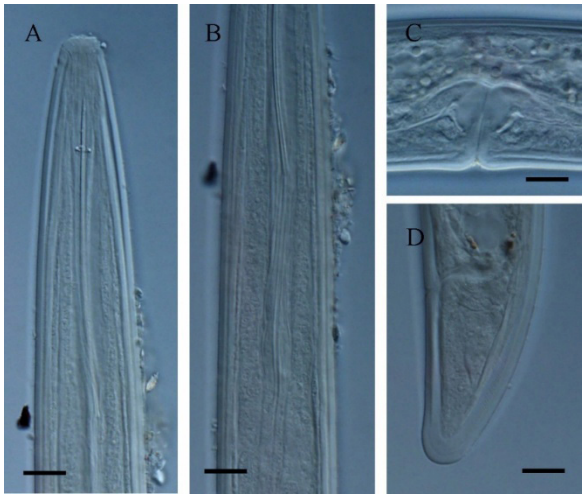
مشخصات ماده: بدن استوانهای، بعد از تثبیت به سمت شکم خمیده، به شکل C. کوتیکول دارای دو لایه، ضخامت آن در وسط بدن حدود ۲ میکرومتر و در ناحیه پشت دم ۵ تا ۶ میکرومتر. ناحیه لب گرد و پهن و با یک فشردگی خیلی کم از بدن متمایز می شود. عرض آن ۱۰ تا ۱۱ میکرومتر. آمفیدها کیسهای شکل، با خروجی ناواضح. حلقه هادی تک، نزدیک انتهای سر. حلقه عصبی در فاصله ۲۸ تا ۳۷ میکرومتر از انتهای ادونتوفور اطراف قسمت باریک ابتدای مری را احاطه میکند. مری تیپ دوریلیم، متشکل از بخش باریک جلویی و بخش پهن عقبی. حباب انتهایی تقریبا ۱۰۰ میکرومتر طول دارد. هسته غده پشتی مری کوچکتر از دو هسته دیگر غدد مریایی، با فاصله از انتهای جلویی حباب قرار گرفته است. سیستم تناسلی متشکل از دو لوله هم اندازه، واژن عمود بر محور طولی بدن، فرج به شکل شکاف عرضی. دم مخروطی شکل با انتهای گرد، در پشت محدب و در شکم صاف یا بطور بسیار ملایم، مقعر است (جدول۵ و شکل۴) .

نر: یافت نشد.

بحث: جمعیت ایرانی این گونه بسیار مشابه گونه *Longidorus conicaudoides* است. اما دم در گونه *L. conicaudoides* در هر دو طرف محدب است و به عبارت دیگر، دم مخروط متقارن است. در گونه *L. africanus* همانطور که در شکل 5D آمده است، دم در پشت محدب است و در سمت شکم صاف است. در مقایسه با دو گونه مشابه دیگر به نام های *L. belloi* و *L. longicaudatus* دارای دم مخروطی در مقابل دم کوتاه و گرد در مقایسه با گونه *L. belloi* و دم کوتاه تر و چاق تر (مخروط کوتاه) در مقابل دم مخروطی کشیده در مقایسه با *L. longicaudatus* است. این گونه متاسفانه در باغات پسته استان کرمان شیوع دارد (Namjoo, 2011). در این مطالعه، یک جمعیت از این گونه از منطقه ترمینال نودین در ارتباط با درختان بادام و از خاک رسی استخراج و شناسایی شد (جدول ۵).

جدول ۵. داده های ریخت سنجی افراد ماده گونه *Longidorus africanus* بدست آمده از منطقه ترمینال نودین. اندازه ها بر حسب میکرومتر و تمام داده ها به شکل mean±sd (range)

n	6
(L (mm	(3.0-4.3) 3.5±0.4
a	(76-102) 88.4±7
b	(8.7-12) 10.2±1
c	(68.7-97.3) 82.3±8
´c	(1.4-1.8) 1.6±0.1
V	(47-50) 48±1
Width of lip region	(9-12) 10±1
Pharynx	(315-367) 344±18
Odontostyle	(74-79) 76.5±1.5
Odontophore	(46-53) 50.5±2
Anterior end to guiding ring	(25-28) 26.5±1.2
Body width at guiding ring level	(16-18) 17.5±0.6
Body width at mid body	(35-53) 40.5±4.6
Body width at anus	(23-31) 26.5±2.3
Tail	(38-48) 43±2.5
Body width at base of terminal bulb	(28-38) 32±3



شـکل۴. تصاویـر میکروسـکوپ نـوری افـراد مـاده گونـه *Longidorus africanus* بدسـت آمـده از منطقـه ترمینـال نودیـن. A: انتهـای جلویـی بـدن، B: انتهـای ادونتـو اسـتایلت و ادونتوفـور، C: واژن، D: دم. (خطـوط مقیـاس برابـر بـا ۱۰ میکرومتـر)

منابع

1. Ahmadian Yazdi, A., Baruti, Sh. and Khairy, A. 2002. Almond leaf gall nematode report from southern Khorasan province, In: Proceedings of the 15th Iranian Plant Protection Congress, septamber, Karaj. Agricultural Research, Education and Extension Organization: 606 p.
2. Alghamdi, A.A. and Alsabehi, R.M. 2024. Almond (*Prunus dulcis*): Comprehensive overview of cultivars, requirements and field Management. Journal of King Abdulaziz University: Meteorology, Environment and Arid Land Agriculture Sciences, 33 (1): 63.
3. Aminisarteshnizi, M. 2022. Plant-parasitic nematodes associated with almond (*Prunus dulcis* Mill.) orchards. Tropical Agriculture, 99 (2): 6.
4. Ansari, S., Charegani, H., Ghaderi, R., and Abdoli, M. 2018. Concurrent Occurrence of *Zygotylenchus guevarai* and *Fusarium oxysporum* in Lovage Medicinal Plant Root and Rhizosphere and Control of the Nematode by Cadusafos Nematicide in Boyer-Ahmad County. Journal of Applied Research in Plant Protection, 7 (2): 53-63. (In Persian)
5. Barooti, S.H. 1981. Record of two species of nematodes from Iran. Entomologie et Phytopathologie Appliquées, 49 (9): 27-30, 103-106.
6. De Grisse, A. T. 1969. Redescription ou modifications de quelques techniques utilisées dans l'étude des nématodes phytoparasitaires. Mededlingen Rijksfaculteit der and bouwwetenschappen Gent, 34: 351-369.
7. De Ley, P. and Blaxter, M.L. 2002. Systematic position and phylogeny. In: Lee, D.L. (ed.) The Biology of Nematodes. Taylor and Francis, London: p. 1–30.
8. Decramer, W. and Hunt, D.J. 2006. Structure and classification. In: Perry, R.N. and Moens, M. (Eds.). Plant Nematology. Biddles Ltd, King's Lynn, CABI Publishing. p. 3-32.
9. Geraert, E. 2010. The Criconematidae of the World: Identification of the Family Criconematidae (Nematoda). Academic press, Belgium: 615 p.
10. Jenkins, W.R. 1964. A rapid centrifugal-flotation technique for separating nematodes from soil. Plant Disease Reporter, 48(9): 692.
11. Kargar-Bideh, A. 1989. Investigation of the harmful nematode fauna of fruit trees (pomegranate, pistachio and almond) in Yazd province. M.Sc. thesis in plant pathology, Faculty of Agriculture, Tarbiat Modares University, Tehran. 184 P. (In Persian)
12. Kheiri, A. 1972. Plant parasitic nematodes (Tylenchida) from Iran. Biologisch jaarboek Dodonaea, 40: 224-239.
13. Loof, P.A., Barooti, S. and Kheiri, A. 1990. Predatory nematodes (Mononchina) from Iran. Applied Entomology and Phytopathology, 57:27-36.
14. Mckenry, M.V. and Kretsch, J. 1987. Survey of nematodes associated with Almond production in California. Plant Disease, 71(1):71-73.
15. Namjoo, S., Tehrani, A.A.F. and Olia, M. 2011. A study on distribution of the longidoridae family in pistachio orchards of Kerman province, Iran. Plant Disease, 47(1):83-92. (In Persian)
16. Nunn, G.B. 1992. Nematode molecular evolution. An investigation of evolutionary patterns among nematodes based on DNA sequences. Nottingham: University of Nottingham.
17. Nur Tan, A., Ocal, L., Ozturk, and Elekcioglu, I.H. 2018. "Plant Parasitic Nematodes Associated with Almond (*Prunus dolcis* Mill.) and Walnut (*Juglans regia* L.) Orchards in Adiyaman Province."Turkey. International Journal of Biological Macromolecules, 3(6): 295–300.
18. Sahraneshin Samani, S., and Fadaei Tehrani, A.A. 2015. Investigating the pathogenicity and loss of root knot nematode (*Meloidogyne javanica*) on several stocks and scion composition of almond. Plant Protection (Scientific Journal of Agriculture), 38(1): 25-36. (In Persian)
19. Stirling, G., Nicol, J. and Reay, F.2002 . Advisory Services for Nematode Pests-Operational Guidelines. Biological Crops Protection. Pty. Td. RIRDC publication, Australia:119 p.
20. Taylor, A.L. 1936. The genera and species of the Criconematinae, a sub-family of the Anguillulinidae (Nematoda). Transactions of the American Microscopical Society, 55~~(4)~~: 391-421.
21. Tehranifar, A., Kafi, M. and Adly, M. 1998. Almond cultivation: botany, rootstock and graft selection, agricultural practices, pests and diseases, processing and grading. Jihad Daneshgahi, Mashhad Branch. Iran. 31 P. (In Persian)
22. Tobar Jiménez, A. 1963. *Pratylenchoides guevarai* n. sp., nuevo nematode Tylénchido, relacionado con el ciprés (*Cupressus sempervirens* L.). Revista Ibérica de Parasitología, 23: 27–36.
23. Whitehead, A.G. and Hemming, J.R. 1965. A comparison of some quantitative methods of extracting small vermiform nematodes from soil. Annals of Applied Biology, 55: 25-38.