

نماتدهای انگل خانواده *Hoplolaimidae* همراه گیاهان زینتی در استان گیلان

مینا اله مرادی^۱، سالار جمالی^{۲*}، اکبر کارگرییده^۳ و سید عبدالله میرحسینی مقدم^۴

- ۱- دانشجوی سابق کارشناسی ارشد بیماری شناسی گیاهی، گروه گیاه پزشکی، دانشکده علوم کشاورزی، دانشگاه گیلان، گیلان، ایران
- ۲- نویسنده مسوول: استادیار گروه گیاه پزشکی، دانشکده علوم کشاورزی، دانشگاه گیلان، گیلان، ایران (jamali@guilan.ac.ir)
- ۳- استاد گروه گیاه پزشکی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه شیراز، شیراز، ایران
- ۴- محقق ایستگاه تحقیقات گل و گیاهان زینتی لاهیجان، لاهیجان، ایران

تاریخ دریافت: ۱۳۹۵/۰۹/۱۳

تاریخ پذیرش: ۱۳۹۶/۱۰/۱۸

چکیده

به منظور شناسایی نماتدهای انگل گیاهان زینتی استان گیلان، طی فصول تابستان و پاییز سال ۹۱-۱۳۹۰، تعداد ۱۱۵ نمونه خاک از فراریشه‌های گونه‌های مختلف گیاهان زینتی گلخانه‌ای و فضای سبز از نقاط مختلف استان جمع آوری شد. پس از استخراج، تثبیت و انتقال نماتدها به گلیسرین، پراپراسیون‌های میکروسکوپی دائمی تهیه گردید. شناسایی گونه‌ها با استفاده از میکروسکوپ نوری مجهز به لوله ترسیم و دوربین دیجیتال، بر اساس ویژگی‌های ریخت‌شناختی و ریخت‌سنجی و به کمک کلیدهای شناسایی معتبر انجام گرفت. در این بررسی، هفت گونه نماتد متعلق به خانواده *Hoplolaimidae* شامل *H. erythrinae*، *Helicotylenchus dihystra*، *H. sharafati*، *H. pseudorobustus*، *H. microlobus*، *H. exallus* و *Scutellonema brachyurus* شناسایی شد. گونه‌های *H. microlobus* و *H. sharafati* برای اولین بار از ایران گزارش می‌شوند. گونه *H. microlobus* با فقدان ناحیه مشبک روی دم، ادغام خطوط داخلی شیارهای جانبی به اندازه‌ی طول دو حلقه‌ی کوتیکولی در انتهای دم و فاسمیدی که به‌سختی دیده می‌شود، از گونه‌های نزدیک متمایز می‌گردد. ویژگی‌های قابل تفکیک *H. sharafati* از گونه‌های مشابه، کم‌تر بودن تعداد حلقه‌های سر، گوشه‌دار بودن گره‌های استایلت و شکل متفاوت دم (سطح پستی انتهای دم، تخت و در انتها دارای زائده‌ی کوتاه به طول یک حلقه‌ی کوتیکولی) به همراه انتهای خاص شیارهای جانبی (عدم ادغام شیارها و گرد شدن آن‌ها در انتهای دم) است. هم‌چنین به دلیل موجود نبودن شرح کاملی از *H. erythrinae* در ایران، این گونه نیز توصیف شده است.

کلید واژه‌ها: *Scutellonema Helicotylenchus* فراریشه، گیاهان زینتی

مقدمه

۱۳۹۳ در ایران کل سطح زیرکشت گل و گیاهان زینتی، ۶۱۹۳ هکتار بوده است که شامل ۳۹۷۱ هکتار فضای آزاد و ۲۲۲۲ هکتار مساحت گلخانه‌ای می‌باشد؛ در همین سال در سطح گلخانه میزان تولید گل شاخه بریده و درختان و درختچه‌های زینتی در استان گیلان به ترتیب ۸/۳ و ۱۸/۸ هکتار و میزان تولید در فضای باز ۴۵۸/۳۵ هکتار بوده است (Anonymous, 2014). در سال‌های اخیر استفاده از گیاهان زینتی غیربومی به

نقش گیاهان به‌ویژه درختان در پالایش و کاستن آلودگی‌های گوناگون هوا، صدا، نور و زیباسازی محیط‌زیست بسیار قابل توجه بوده است به‌طوری‌که طی دو دهه گذشته تولید تجاری انواع گیاهان زینتی و ارزش پولی آن‌ها در سرتاسر جهان به‌طور چشمگیری افزایش یافته است (Rout et al., 2006) و سطح زیر کشت آن‌ها ۱/۱ تا ۱/۸ برابر شده است (Tuca et al., 2010). در سال

گونه‌های *Helicotylenchus Meloidogyne* sp. *Aphelenchoides* sp. *Tylenchus* sp. *dihystera* و *Pratylenchus* sp. *Rotylenchulus reniformis* از روی ۱۵ گونه گیاه زیتنی و گل‌دار در سائوپائولو برزیل گزارش شده است (Gimenes et al., 2010).

Pourjam et al. (2004) گونه *Scutellonema brachyurus* را از فراریشه‌ی چندین گیاه زیتنی شامل پرنده بهشتی، کاکتوس و آلوورا از استان گلستان گزارش کردند. هم‌چنین این گونه توسط Davarian et al. (2008) از گیاهان زیتنی شمال کشور نیز گزارش شده است. ۲۱ گونه نماتد شامل *Aphelenchus avenae* *Boleodorus thylactus* *Aphelenchoides subtenuis* *D. myceliophagus* *Ditylenchus kheirii* *Irantylenchus vicinus* *Filenchus sandneri* *H. crenacauda* *Helicotylenchus crassatus* *H. pseudodigonicus* *H. digonicus* *Merlinius* *H. vulgaris* *H. pseudorobustus* *Pratylenchus* *Paratylenchus similis brevidens* *P. thornei* *P. penetrans neglectus* *Zygotylenchus* و *Tylenchorhynchus dubius* از روی ۱۰ گونه گیاه زیتنی گل‌دار در محلات گزارش شده است (Mohammad Deimi et al., 2008).

۸ گونه نماتد متعلق به خانواده Belonolaimidae شامل *A. macrurus* *Amplimerlinius globigerus* *G. hexagrammus* *Geocenamus brevidens* *Tylenchorhynchus clarus* *G. rogosus* *G. nothus* و *T. maximus* ۱۱ گونه نماتد متعلق به خانواده Hoplolaimidae شامل *Helicotylenchus canadensis* *H. minzi* *H. dihystera* *H. digonicus* *H. varicaudatus* *H. pseudorobustus* *H. serenus* *Rotylenchus dalhousiensis* *H. vulgaris* و *R. pakistanensis* از پوشش گیاهی شهرستان شاهرود و حومه گزارش شده است (Harati et al., 2010).

علت ایجاد زیبایی و تنوع افزایش یافته، اما معرفی آن‌ها به مناطق محلی، اغلب منجر به معرفی آفات و بیماری‌های جدید می‌گردد (Trencheva et al., 2010). گیاهان زیتنی نیز مانند دیگر گیاهان، پناهگاه بسیاری از انواع نماتدها بوده که برخی از آن‌ها بر اساس توانایی‌های ذاتی خود سبب ایجاد خسارت‌های سنگین اقتصادی می‌شوند (Hague, 1972). نماتدهای انگل گیاهی عامل آسیب‌های جدی روی گیاهان زیتنی محسوب شده و از زیبایی و ارزش اقتصادی آن‌ها می‌کاهند (Gimenes et al., 2010). Sasser and Frechman (1987) خسارت ۱۱/۱ درصدی به محصولات زیتنی کل دنیا ناشی از نماتدهای انگل گیاهی را گزارش کردند؛ به طوری که در آمریکا خسارت به گیاهان زیتنی ناشی از نماتدهای انگل گیاهی، سالانه ۶۰ میلیون دلار برآورد شده است (Hague, 1972). هم‌چنین به دلیل شرایط میکروکلیم در گلخانه‌ها (دما، رطوبت هوا، دمای خاک و تغذیه) گونه‌های زیان‌آور، به ویژه نماتدها در شرایط بهینه در تمام طول سال فعال می‌مانند (Tuca et al., 2010). به علاوه با افزایش تقاضا برای گیاهان زیتنی، نماتدهای انگل آن‌ها نیز به دلیل افزایش در جابجایی‌های بین‌المللی، ایالتی و شهری این گیاهان به تهدیدی برای این صنعت تبدیل شده‌اند (Mc Cuiston et al., 2007).

گونه‌های *Scutellonema Hoplolaimus galeatus* و *Helicotylenchus brachyurus* *Helicotylenchus pseudorobustus* از گیاه چنار (*Platanus occidentalis*) در جورجیا گزارش شده است (Churchill and Ruehles, 1971). گونه‌هایی مانند *Ditylenchus dipsaci*، *Criconemella curvata* *Meloidogyne arenaria* *Heterodera trifolii* *M. incognita* *M. javanica* *M. hapla* *Pratylenchus curvatus* *Macroposthonia curvata* *Rotylenchulus reniformis* *Pratylenchus dianthus* و *Tylenchus* sp. به‌عنوان نماتدهای مهم انگل همراه با میخک صد پر در جهان معرفی شده‌اند (Singh and Sharma, 1998).

برای اولین بار از ایران گزارش می‌شوند. سایر گونه‌های شناسایی شده پیش از این در مناطق مختلف ایران و از میزبان‌های متفاوت گزارش شده‌اند. در جدول ۱، گونه‌های نامبرده و میزبان‌های جدید آن‌ها به همراه مناطق نمونه‌برداری آورده شده است. هم‌چنین با توجه به اینکه شرح کاملی از گونه *H. erythrinae* در ایران وجود ندارد، این گونه نیز به همراه دو گونه جدید توصیف شده است.

۱- گونه *Helicotylenchus microlobus* Perry in Perry, Darling & Thorne, 1959 (جدول ۲، شکل ۱)

ماده: بدن کرمی شکل که پس از تثبیت شدن به شکل C بسته تا ماریچ در می‌آید. کوتیکول با حلقه‌های عرضی مشخص، به عرض حدود ۱/۵ میکرومتر در وسط بدن. سطوح جانبی دارای چهار شیار طولی به عرض ۵/۱ تا ۶/۹ میکرومتر و ۱۸/۴ تا ۲۴/۳ درصد عرض بدن. سر نیمه کروی، در امتداد بدن با پنج تا شش حلقه‌ی کوتیکولی؛ بلندی سر ۳/۶ تا ۴/۳ و عرض پایه‌ی سر ۶/۶ تا ۷/۵ میکرومتر. پایه‌ی کوتیکولی سر قوی که به اندازه‌ی دو تا سه حلقه به درون بدن کشیده شده است. استایلت قوی، اندازه‌ی قسمت مخروطی آن کم‌تر تا حدود نصف طول استایلت. گره‌های استایلت گرد به عرض ۴/۷ تا ۵/۷ میکرومتر، در قسمت جلو تخت یا دارای دندان‌های کوچک. محل ریزش غده‌ی پشتی مری از زیر گره‌های استایلت ۹/۶ تا ۱۲/۹ میکرومتر. حباب میانی بیضی شکل با درجه‌ی مشخص که ۴۲/۵ تا ۵۸/۲ درصد از عرض بدن را فرا گرفته است. حلقه‌ی عصبی به‌طور تقریبی در وسط لوله‌ی ثانویه‌ی مری و گاهی نزدیک‌تر به حباب میانی؛ فاصله‌ی آن از ابتدای سر ۸۸/۳ تا ۱۱۶/۶ میکرومتر. روزنه‌ی دفعی-ترشچی در بخش ابتدایی غده‌های مری. همیزونید یک تا سه حلقه قبل از روزنه‌ی دفعی-ترشچی به طول دو حلقه‌ی کوتیکولی. غدد مری از سطح شکمی و پشتی روی روده قرار می‌گیرند. دارای دو لوله‌ی تناسلی که در دو طرف بدن امتداد یافته است. اووسیت‌ها در یک ردیف آرایش یافته‌اند بجز در ناحیه‌ی کوتاه تقسیم. واژن به طول ۱۲/۱

نماتدهای انگل خارجی زمانی اهمیت پیدا می‌کنند که جمعیت آن‌ها به حد آستانه خسارت اقتصادی برسد. برای هر برنامه‌ی مدیریتی (خواه شیمیایی، زیستی، فیزیکی یا کشاورزی) شناسایی دقیق گونه نماتد بیشترین اهمیت را دارد. هم‌چنین شناخت میزبان‌های یک گونه و چگونگی اهمیت آن از نظر بیماری‌زایی برای رشد و عملکرد گیاه مهم است (Siddiqi, 1997). تحقیق حاضر تلاش دارد با بررسی و شناسایی نماتدهای انگل گیاهان زینتی، گامی در جهت فراهم نمودن مقدمات انجام سایر پژوهش‌ها از جمله تعیین بیماری‌زایی، خسارت، زیست‌شناسی و کنترل آن‌ها بردارد.

مواد و روش‌ها

به منظور شناسایی نماتدهای انگل گیاهان زینتی، طی فصول تابستان و پاییز سال ۹۱-۱۳۹۰، تعداد ۱۱۵ نمونه خاک از فراریشه‌ی گونه‌های مختلف گیاهان زینتی گلخانه‌ای و فضای سبز از نقاط مختلف استان گیلان جمع‌آوری و نماتدهای آن‌ها با استفاده از تلفیق روش الک و سانتریفیوژ (Jenkins, 1964) استخراج گردید. نماتدهای استخراج شده با روش تکمیل شده دگریسه به گلیسرین منتقل شدند (De Grisse, 1969). از نماتدهای به‌دست آمده، پریاراسیون‌های میکروسکوپی دائمی تهیه شد که با استفاده از میکروسکوپ نوری مجهز به دوربین دیجیتال Dino-lite digital microscope Model AM4023X مورد مطالعه قرار گرفتند. برای اندازه‌گیری ویژگی‌های ریخت‌سنجی نماتدها از نرم‌افزار DinoCapture 2.0 استفاده شد. با استفاده از ویژگی‌های ریخت‌شناسی و ریخت‌سنجی و به کمک کلیدهای معتبر مانند Krall (1990) و Anderson (1979) به تشخیص گونه‌ها اقدام گردید.

نتایج و بحث

در این پژوهش هفت گونه نماتد انگل گیاهی از خانواده Hoplolaimidae شناسایی شد که دو گونه *H. sharafati* و *Helicotylenchus microlobus*

دم در سطح پشتی به طور معمول بیش از سطح شکمی است. شیارهای کوتیکولی نزدیک به انتهای دم در سطح پشتی، به طور تقریبی هم عرض حلقه‌های قبلی روی دم. خطوط داخلی شیارهای جانبی در انتهای دم به اندازه‌ی طول دو حلقه‌ی کوتیکولی در هم ادغام می‌شوند.

تا ۱۵/۱ میکرومتر و ۴۳/۳ تا ۵۴/۵ درصد عرض بدن در ناحیه‌ی شکاف تناسلی. کیسه‌ی ذخیره‌ی اسپرم خالی از اسپرم. فاسمید دو تا چهار حلقه قبل از روزنه‌ی دفعی. دم فاقد ناحیه مشبک و دارای یک زانده‌ی انگشتی در سطح شکمی به طول بیش از دو حلقه کوتیکولی؛ سطح شکمی دم دارای ۱۲ تا ۱۷ حلقه‌ی کوتیکولی. تعداد حلقه‌های

جدول ۱- فهرست گونه‌های شناخته شده متعلق به خانواده Hoplolaimidae
Table 1. Identified species belonging to the family Hoplolaimidae

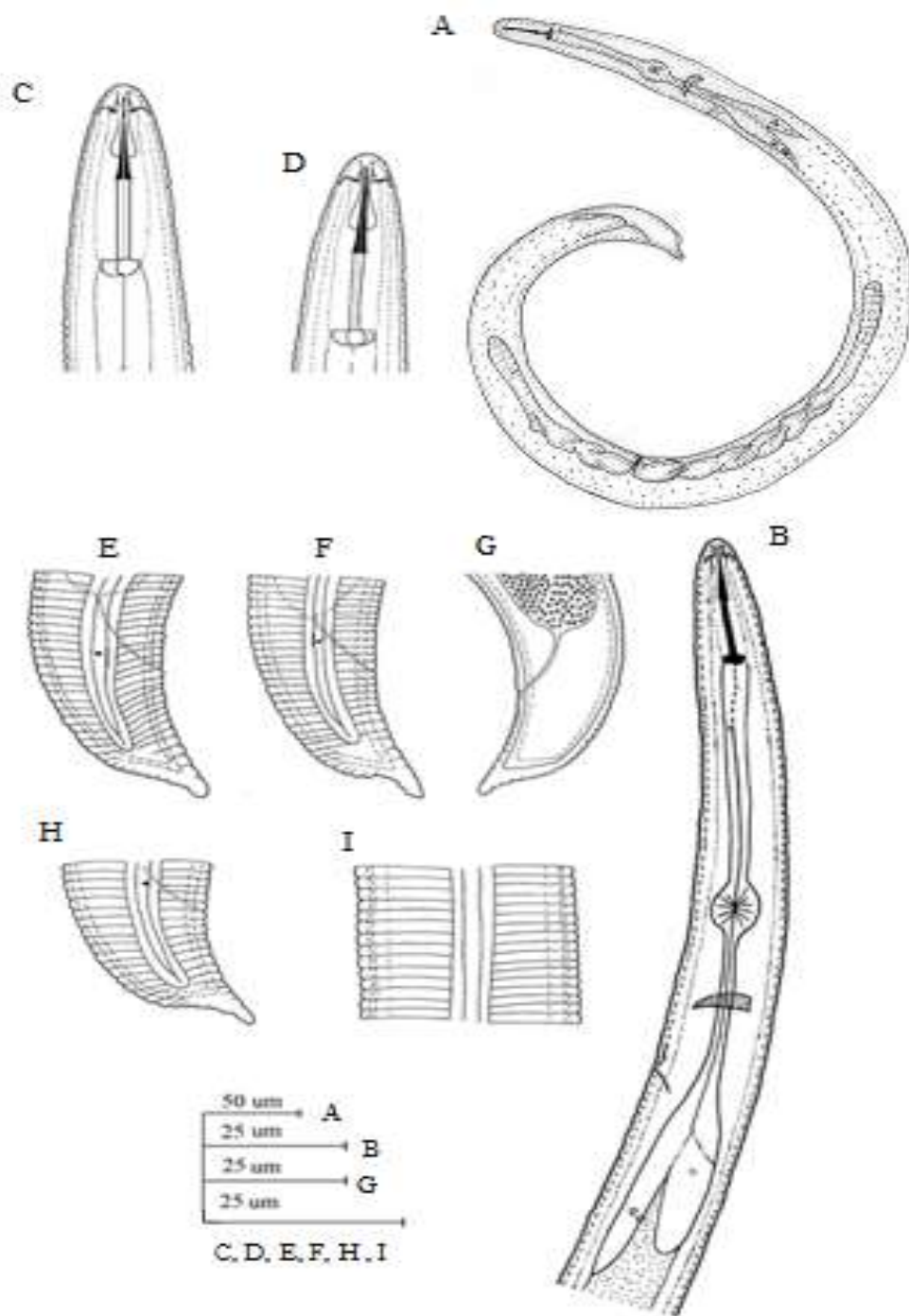
| Species | Plant host | Location |
|----------------------------------|---|------------------------|
| <i>Helicotylenchus dihystera</i> | Rose mallow (<i>Hibiscus syriacus</i>) | Lashtenesha |
| <i>H. erythrinae</i> | Drogon tree (<i>Dracaena fragrans</i>) | Lahijan |
| <i>H. exallus</i> | Chinese (<i>Hibiscus rosa-sinensis</i>) | Lahijan |
| <i>H. microlobus</i> | Creeping Juniper (<i>Juniperus Horizontalis</i>) | Rasht |
| <i>H. pseudorobustus</i> | Creeping Juniper (<i>Juniperus Horizontalis</i>), Sycamore (<i>Platanus orientalis</i>) | Rasht, Talesh |
| <i>H. sharafati</i> | Arbor vitae (<i>Thuja orientalis</i>) | Talesh |
| <i>Scutellonema brachyurus</i> | Ficus tree (<i>Ficus benjamina</i>), Crape myrtle (<i>Lagerstroemia indica</i>), Oleander (<i>Nerium oleander</i>), Wandering jew (<i>Tradescantia albiflora</i>) | Lahijan, Talesh, Rasht |

جدول ۲- ویژگی‌های ریخت‌سنجی جمعیت *Helicotylenchus microlobus* (اندازه‌ها به میکرومتر است)

Table 2. Morphometric characters of *Helicotylenchus microlobus* population (All measurements are in μm and in the form: mean \pm s. d. (range))

| Origin | Present study | Krall, 1990 | Perry, 1959 | Yan et al., 2017 |
|-----------|---------------------------|-------------|-------------|------------------|
| Character | Female | Female | Female | Female |
| n | 9 | 20 | 7 | 15 |
| L | 708 \pm 37.8(661-792) | 620-770 | 650-720 | 708.5(600-812) |
| a | 24.9 \pm 1.8(22.7-27.1) | 23-30 | 25-33 | 25(21.4-27.1) |
| b | 5.5 \pm 0.2(5.1-5.8) | 6.7-8.6 | 4.9-5.3 | 5(4.4-5.7) |
| b' | 4.3 \pm 0.2(3.9-4.7) | 5.1-5.8 | - | - |
| c | 30 \pm 2.5(26.1-33.6) | 33-45 | 30-43 | 35.4(30.2-41.7) |
| c' | 1.5 \pm 0.2(1.3-1.8) | 1-1.4 | - | 1.3(1-1.6) |
| V | 61.7 \pm 0.9(59.9-62.7) | 59-62 | 59-63 | 61.8(60-63.7) |
| St | 27.8 \pm 1.4(25.2-30.1) | 27-30 | 28-31 | 27.6(26-29) |
| m | 46.9 \pm 1.5(44.7-49.1) | 45-48 | - | - |
| o | 41.7 \pm 3.6(33.3-44.7) | 34-48 | 47-54 | - |
| B.W | 28.6 \pm 2.5(24.4-31.9) | - | - | 28.3(25-33) |
| A.B.W | 15.6 \pm 1.1(13.7-17.6) | - | - | 15.8(14-17.5) |
| Tail | 23.7 \pm 2.2(19.7-27.8) | - | - | - |

n_‍= number of nematodes, L_‍= body length, a_‍= body length/maximum body diameter, b_‍= body length/pharyngeal length, b'_‍= body length/distance from anterior end of body to posterior end of pharyngeal glands, c_‍= body length/tail length, c'_‍= tail length/body diameter at the anal aperture, V_‍= vulva distance from anterior end of body, St_‍= stylet length, m_‍= length of conical part of stylet/stylet length \times 100, o_‍= distance of dorsal pharyngeal gland opening/stylet length \times 100, B.W_‍= body with, A.B.W_‍= Anal body width, Tail_‍= tail length.



شکل ۱- *Helicotylenchus microlobus*: A-I: نماد ماده؛ A: نمای کلی بدن؛ B: سر و مری؛ C و D: سر و تغییرات گره‌های استایلت؛ E-H: تغییرات دم و موقعیت فاسمید؛ I: سطوح جانبی

Figure 1. *Helicotylenchus microlobus*. A-I: Female; A: General view; B: Oesophageal region; C & D: Head and variation of stylet Knobs; E-H: Tail variation and phasmid position; I: Lateral fields

جمعیت مورد مطالعه *H. microlobus* تشخیص داده شد. Sher (1966) پارایتپ‌های این گونه را مطالعه و آن را به عنوان مترادف *H. pseudorobustus* معرفی کرد، اما بررسی پارایتپ‌های *H. microlobus*

نر: یافت نشد. با استفاده از کلیدهای شناسایی Krall (1990) و Siddiqi (1972) و مقایسه‌ی داده‌های حاصل از بررسی نمونه‌ها با شرح ارائه شده برای این گونه (Krall, 1990)،

جانبی دارای چهار شیار طولی به عرض ۴/۲ تا ۶/۱ میکرومتر و ۱۷ تا ۲۳/۷ درصد عرض بدن در میانه‌ی بدن. سر نیمه کروی، در امتداد بدن با چهار حلقه‌ی کوتیکولی؛ بلندی سر ۳/۳ تا ۴/۱ و عرض پایه‌ی سر ۶/۶ تا ۷/۴ میکرومتر. پایه‌ی کوتیکولی سر قوی و رشد یافته که به اندازه‌ی دو تا سه حلقه به درون بدن کشیده شده است. استایلت قوی و رشد یافته، اندازه‌ی قسمت مخروطی آن نصف طول استایلت. گره‌های استایلت زاویه‌دار و در سطح جلویی، تخت؛ به عرض ۳/۹ تا ۵ میکرومتر. محل ریزش غده‌ی پشتی مری از زیر گره‌های استایلت ۱۰/۵ تا ۱۳/۳ میکرومتر. حباب میانی گرد تا بیضی شکل با درپچه‌ی مشخص که ۴۳/۸ تا ۵۲/۸ درصد از عرض بدن را فرا گرفته است. حلقه‌ی عصبی چسبیده به انتهای لوله‌ی ثانویه‌ی مری به فاصله ۸۵/۳ تا ۱۰۰/۹ از ابتدای بدن. روزنه‌ی دفعی-ترشچی در بخش جلویی غده‌های مری و قبل از محل اتصال مری و روده به فاصله‌ی ۱۰۴ تا ۱۱۸ میکرومتر از انتهای جلویی بدن. همیزونید بدون فاصله یا دو حلقه قبل از منفذ دفعی-ترشچی به طول یک تا دو حلقه‌ی کوتیکولی. غدد مری از سطح شکمی روی روده قرار می‌گیرند. دارای دو لوله‌ی تناسلی که در دو طرف بدن امتداد یافته است. اووسیت‌ها در یک ردیف آرایش یافته‌اند. واژن به طول ۹/۲ تا ۱۴ میکرومتر و ۳۹/۲ تا ۴۹/۸ درصد عرض بدن در ناحیه‌ی شکاف تناسلی. کیسه‌ی ذخیره‌ی اسپرم خالی. فاسمید مشخص و دو تا هفت حلقه قبل از منفذ دفعی. دم دارای یک زائده در سطح شکمی به طول یک تا دو حلقه‌ی کوتیکولی. سطح شکمی دم دارای ۸ تا ۱۱ حلقه‌ی کوتیکولی. خطوط داخلی شیارهای جانبی در انتهای دم در هم ادغام نشده.

نر: یافت نشد.

با استفاده از کلیدهای شناسایی Anderson (1979) و Firoza and Maqhbbool (1994) مقایسه داده‌های حاصل از بررسی نمونه‌ها با شرح اصلی ارائه شده توسط Muddassirul Mulk and Jairajpuri (1974) جمعیت مورد مطالعه *Helicotylenchus sharafati* تشخیص داده شد. ویژگی‌های متمایزکننده

توپوتیپ‌های *H. pseudorobustus* توسط Siddiqi (1972) وجود تفاوت‌های متناقض بین دو جمعیت را آشکار کرد و *H. microlobus* به‌عنوان یک گونه مستقل معرفی شد. مطالعات مولکولی اخیر انجام شده نیز متمایزکننده دو گونه مذکور می‌باشد (Subbotin et al., 2015). وجود چندین ویژگی بارز شامل نبود ناحیه مشبک روی دم، ادغام خطوط داخلی شیارهای جانبی به اندازه‌ی طول دو حلقه‌ی کوتیکولی در انتهای دم، فاسمید نامتقارن و چسبیده به خط داخلی شیارهای جانبی شکمی که به سختی دیده می‌شود، حلقه‌های درشت روی سمت شکمی دم و نبود حلقه‌های کوتیکولی باریک‌تر روی سطح پشتی دم، گونه مورد مطالعه را از *H. pseudorobustus* متمایز می‌کند (Siddiqi, 1972؛ Krall, 1990). گونه *H. dihysteroides* از گونه مورد مطالعه به دلیل نداشتن زائده‌ی دمی شکمی و وجود فاسمید آشکار و متقارن که با فاصله‌ی بیشتری قبل از منفذ دفعی قرار می‌گیرد، متمایز می‌گردد (Siddiqi, 1972). گونه مورد مطالعه نسبت به جمعیت‌های مقایسه شده در جدول ۲، طول بیشتر اما استایلت و شاخص O کوچکتری را نشان می‌دهد. هم‌چنین نسبت به شرح ارائه شده توسط Krall (1990) تعداد حلقه‌های دم در سطح شکمی گونه مورد مطالعه بیشتر است (۱۴ حلقه در مقایسه با ۱۲ تا ۱۷ حلقه).

این گونه اولین بار از روی گیاه *Poa pratensis* L. از ایالت ویسکانسین در شمال امریکای مرکزی گزارش شد (Perry et al., 1959). گونه مذکور اخیراً از روی سویا در داکوتای شمالی نیز گزارش گردیده است (Yan et al., 2017). در این پژوهش، گونه *H. microlobus* از روی سرو رونده و سرو رونده‌ی ابلق و از شهرستان رشت برای اولین بار از ایران گزارش می‌شود.

۲- گونه *Helicotylenchus sharafati* Mulk & Jairajpuri, 1975 (جدول ۳، شکل ۲)

ماده: بدن کرمی شکل که پس از تثبیت شدن به شکل C بسته یا مارپیچ در می‌آید. کوتیکول با حلقه‌های عرضی مشخص، به عرض ۱/۴ تا ۲ میکرومتر در وسط بدن. سطوح

سبب تخت بودن سطح جلویی گره‌های استایلت، گرد شدن انتهای خطوط داخلی شیارهای جانبی و بزرگ‌تر بودن شاخص V (۶۵ تا ۶۶ درصد در برابر ۵۷/۲ تا ۶۳/۱ درصد در گونه *H. sharafati*) متمایز می‌شود. ویژگی‌هایی مانند سر بدون حلقه‌های کوتیکولی، گره‌های استایلت تخت یا کمی خمیده و ادغام خطوط داخلی شیارهای جانبی به طول بیش از ۱۵ حلقه کوتیکولی بعد از منفذ دفعی و یا حتی قبل از آن، گونه *H. leiocephalus* را از گونه مورد مطالعه متمایز می‌کند. گونه *H. sharafati* به‌عنوان یکی از گونه‌های معتبر جنس *Helicotylenchus* اولین بار توسط Muddassirul Mulk and Jairajpuri (1974) از خاک اطراف ریشه‌ی نخود از ایالتی در هندوستان گزارش شد. در این پژوهش، گونه مذکور برای اولین بار در ایران، از فراریشه‌ی گیاه زینتی سرو خمره‌ای در شهرستان تالش جداسازی و گزارش می‌شود.

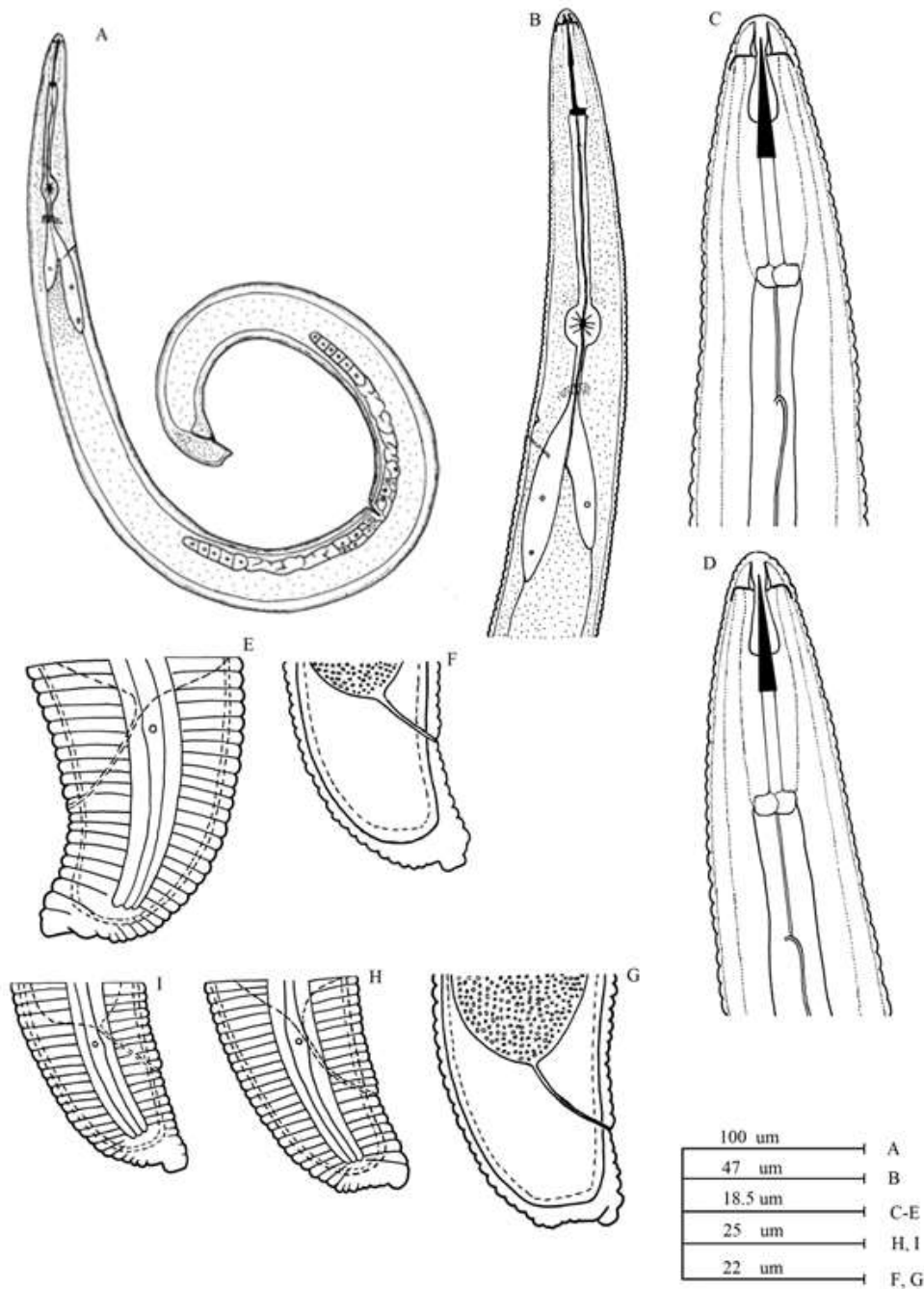
این گونه از سایر گونه‌ها کم‌تر بودن تعداد حلقه‌های لبی، زاویه‌دار بودن گره‌های استایلت و شکل متفاوت دم (سطح پستی انتهای دم، تخت و در انتها دارای زائده‌ی کوتاه به طول یک حلقه‌ی کوتیکولی) با انتهای خاص شیارهای جانبی (عدم ادغام شیارها و گرد شدن آن‌ها در انتها) است. هم‌چنین این ویژگی‌ها گونه نامبرده را از نزدیک‌ترین گونه، *H. pseudorobustus*، متفاوت می‌کند. گونه *H. sharafati* از گونه *H. dihystra* نیز به سبب زاویه‌دار بودن گره‌های استایلت، موقعیت فاسمید (دو تا هفت حلقه قبل از مخرج در گونه *H. sharafati* و در برابر شش تا ۱۵ حلقه در گونه *H. dihystra*) و شکل متفاوت دم (در گونه *H. dihystra* بخش پستی انتهای دم، گرد و در انتها فاقد زائده می‌باشد. هم‌چنین در این گونه شیارهای جانبی داخلی در انتهای دم در هم ادغام می‌شوند) و از گونه *H. atlanticus* به

جدول ۳- ویژگی‌های ریخت‌سنجی جمعیت *Helicotylenchus sharafati* (اندازه‌ها به میکرومتر است)

Table 3. Morphometric characters of *Helicotylenchus sharafati* population (All measurements are in μm and in the form: mean \pm s. d. (range))

| Origin | Present study | | Mulk & Jairajpuri, 1974 |
|--------|---------------------------|--|-------------------------|
| | Female | | Female/Paratype |
| n | 8 | | 11 |
| L | 692 \pm 42.7(629-750) | | 710-840 |
| a | 23.6 \pm 2.3(20.3-26.4) | | 27-31 |
| b | 5.7 \pm 0.3(5.3-6.1) | | 6.4-8.1 |
| b' | 4.7 \pm 0.2(4.4-5.1) | | 5.5-5.9 |
| c | 47.3 \pm 5.9(40.1-56.8) | | 40-50 |
| c' | 1 \pm 0.1(0.8-1.2) | | - |
| V | 60 \pm 1.8(57.2-63.1) | | 59-64 |
| St | 25.7 \pm 0.5(25-26.3) | | 24-25 |
| m | 48.8 \pm 1(47.5-50.7) | | 44-47 |
| o | 45.7 \pm 3.3(40.7-50.4) | | 40-50 |
| B.W | 29.6 \pm 3.8(25.1-34.6) | | - |
| A.B.W | 14.9 \pm 1.1(13.4-16.4) | | - |
| Tail | 14.8 \pm 1.6(12.2-16.9) | | - |

n= number of nematodes, L= body length, a= body length/maximum body diameter, b= body length/pharyngeal length, b'= body length/distance from anterior end of body to posterior end of pharyngeal glands, c= body length/tail length, c'= tail length/body diameter at the anal aperture, V= vulva distance from anterior end of body, St= stylet length, m= length of conical part of stylet/stylet length \times 100, o= distance of dorsal pharyngeal gland opening/stylet length \times 100, B.W= body with, A.B.W= Anal body width, Tail= tail length.



شکل ۲- *Helicotylenchus sharafati*: A-I: نماتد ماده؛ A: نمای کلی بدن؛ B: سر و مری؛ C و D: سر و تغییرات گره‌های استایلت؛ E-I: تغییرات دم و موقعیت فاسمید

Figure 2. *Helicotylenchus sharafati*. A-I: Female; A: General view; B: Head and oesophageal region; C, D: Head and variation of stylet Knobs; E-I: Tail variation and phasmid position

عرضی مشخص به عرض حدود $1/5$ تا $1/8$ میکرومتر در وسط بدن. سطوح جانبی دارای چهار شیار طولی به عرض 4 تا $5/2$ میکرومتر و $22/3$ تا $28/6$ درصد عرض بدن. سر نیم کروی، در امتداد بدن با چهار تا پنج حلقه‌ی کوتیکولی؛ بلندی سر $3/4$ تا $3/9$ و عرض پایه‌ی سر $6/3$

۳- گونه *Helicotylenchus erythrinae* (Zimmermann, 1904) Golden, 1956 (جدول ۴، شکل ۳)

ماده: بدن کرمی شکل که پس از تثبیت شدن به شکل C باز تا بسته در می‌آید. کوتیکول با حلقه‌های

عدد مری از سطح شکمی روی روده قرار می گیرند. دارای دو لوله‌ی تناسلی که در دو طرف بدن امتداد یافته است. اووسیت‌ها در یک ردیف قرار می گیرند. واژن به طول ۷/۹ تا ۱۰/۴ میکرومتر و ۴۵/۶ تا ۵۷/۸ درصد عرض بدن در ناحیه‌ی شکاف تناسلی. کیسه‌ی ذخیره‌ی اسپرم کروی و حاوی اسپرم. فاسمید سه تا چهار حلقه قبل از روزنه‌ی دفعی. انحنا‌ی دم در سطح پشتی بیش از سطح شکمی، همراه با یک زائده‌ی شکمی به طول بیش از دو حلقه‌ی کوتیکولی که به یک زائده‌ی نوک تیز مشخص منتهی می شود. دم فاقد ناحیه‌ی مشبک. سطح شکمی دم دارای ۸ تا ۱۲ حلقه‌ی کوتیکولی. شیارهای کوتیکولی بخش عقبی سطح پشتی دم به طور تقریبی هم عرض حلقه‌های قبلی روی دم. خطوط داخلی شیارهای جانبی در انتهای دم در هم ادغام نمی شوند.

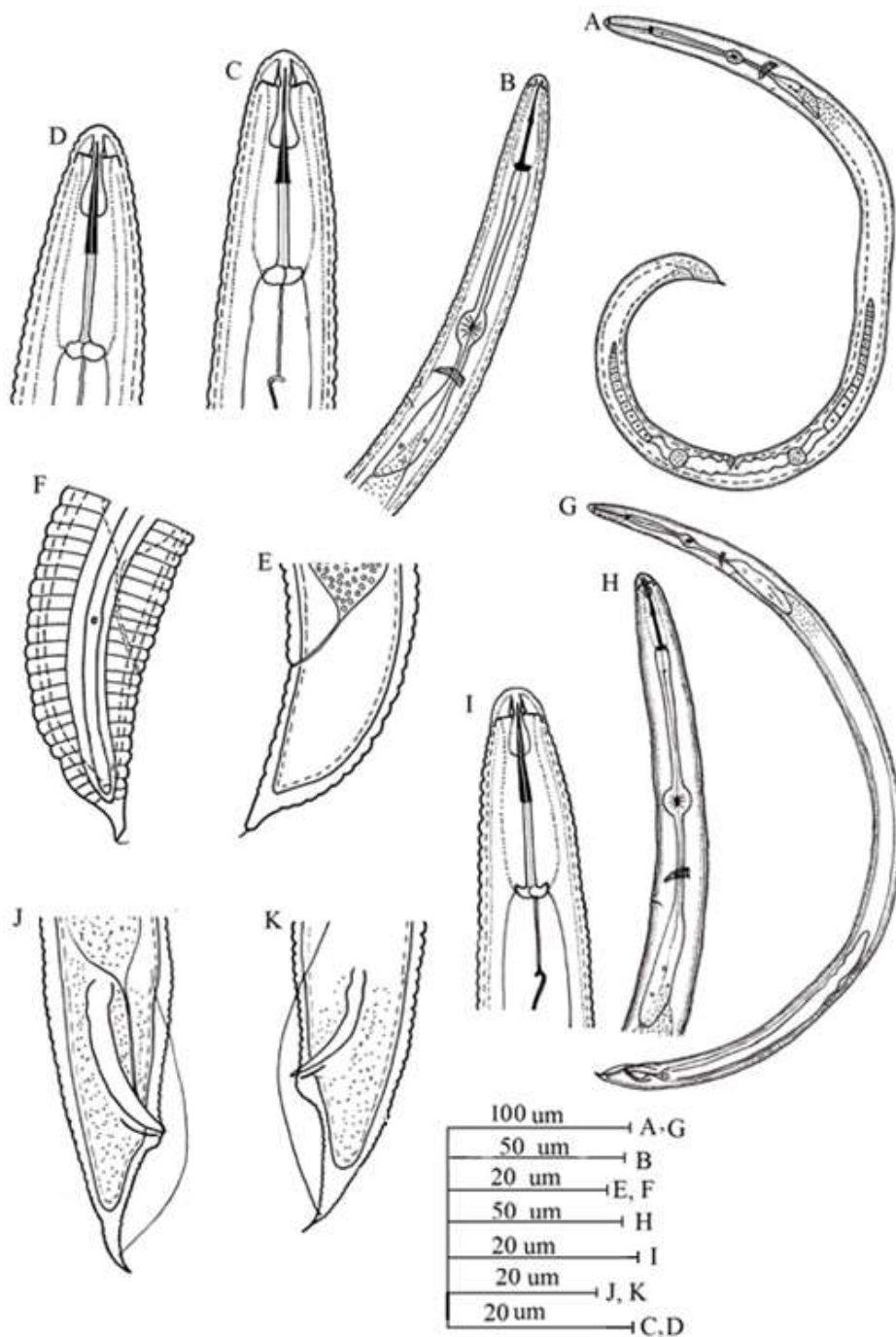
تا ۶/۶ میکرومتر. پایه‌ی کوتیکولی سر قوی که به اندازه‌ی یک تا دو حلقه به درون بدن کشیده شده است. استایلت از نظر میزان رشد و قوی بودن متوسط است و اندازه‌ی قسمت مخروطی آن نزدیک به نصف طول استایلت می باشد. گره‌های استایلت گرد، در قسمت جلو تخت یا دارای دندان‌های خیلی کوچک. محل ریزش غده‌ی پشتی مری از زیر گره‌های استایلت، کم تر از نصف طول استایلت (۷/۶ تا ۸/۱ میکرومتر). حباب میانی بیضی شکل با درجه‌ی مشخص که ۴۶/۶ تا ۵۳/۱ درصد از عرض بدن را فرا گرفته است. حلقه‌ی عصبی تقریباً در وسط لوله‌ی ثانویه مری و فاصله‌ی آن از ابتدای سر ۷۹ تا ۸۳/۴ میکرومتر. روزنه‌ی دفعی-ترشچی هم سطح ابتدای لوله‌ی ثانویه مری. همیزونید دو حلقه قبل از روزنه‌ی دفعی-ترشچی به طول یک تا دو حلقه‌ی کوتیکولی.

جدول ۴- ویژگی‌های ریخت‌سنجی جمعیت *Helicotylenchus erythrinae* (اندازه‌ها به میکرومتر است)

Table 4. Morphometric characters of *Helicotylenchus erythrinae* population (All measurements are in μm and in the form: mean \pm s. d. (range))

| Origin Character | Present study | | Sher, 1966 | |
|---------------------|---------------------------|-----------|------------|---------|
| | Female | Male | Female | Male |
| n | 8 | 2 | 4 | 4 |
| L | 522 \pm 28.4(470-560) | 443-460 | 480-610 | 430-520 |
| a | 26.6 \pm 1.8(24.1-29.3) | 29.2-32.2 | 23-26 | 25-29 |
| b | 4.8 \pm 0.4(4.3-5.5) | 4.2 | 5-5.9 | 5.1-5.6 |
| b' | 4 \pm 0.2(3.7-4.2) | 3.8-3.9 | 3.8-4.7 | 4.1-4.7 |
| c | 26 \pm 2.4(23.8-29.8) | 23.9-27 | 27-34 | 26-32 |
| c' | 1.7 \pm 0.1(1.5-1.8) | 1.7-1.9 | 1-1.6 | - |
| V | 63.7 \pm 1.1(62.1-65.4) | - | 60-65 | - |
| St | 23.9 \pm 0.5(23.3-24.8) | 20.1-20.3 | 23-26 | 21-23 |
| m | 49.1 \pm 0.7(48.2-49.7) | 50.2 | 48-50 | 48-50 |
| o | 34.8 \pm 2.6(30.9-37.9) | 36.3-38.6 | 33-44 | - |
| B.W | 19.7 \pm 1.9(17.7-23.2) | 13.8-15.7 | - | - |
| A.B.W | 11.8 \pm 0.7(11-12.9) | 9.5-10.3 | - | - |
| Tail | 20.2 \pm 1.6(18.1-23) | 16.4-19.2 | - | - |
| Spicule | - | 17.8-19.4 | - | 18-20 |
| Gub | - | 5.5-6.2 | - | 6-7 |

n= number of nematodes, L= body length, a= body length/maximum body diameter, b= body length/pharyngeal length, b'= body length/distance from anterior end of body to posterior end of pharyngeal glands, c= body length/tail length, c'= tail length/body diameter at the anal aperture, V= vulva distance from anterior end of body, St= stylet length, m= length of conical part of stylet/stylet length \times 100, o= distance of dorsal pharyngeal gland opening/stylet length \times 100, B.W= body with, A.B.W= Anal body width, Tail= tail length, Spicule= spicule length, Gub= gubernaculum length.



شکل ۳- *Helicotylenchus erythrinae*: A-F: نماتد ماده؛ A: نمای کلی بدن؛ B: مری؛ C, D: سر و استایلت، E, F: دم و موقعیت فاسمید. G-K: نماتد نر؛ G: نمای کلی بدن؛ H: مری؛ I: سر و استایلت؛ J-K: دم و اسپیکول
Figure 3. *Helicotylenchus erythrinae*. A-F: Female; A: General view; B: Oesophagus; C, D: Head and stylet; E, F: Tail and phasmid position, G-K: Male; G: General view; H: Oesophagus; I: Head and stylet; J, K: Tail and Spicule

بدن کشیده شده است. اسپیکول از سطح شکمی خمیده. گوبرنا کولوم ساده و هلالی شکل. بورسها به طول ۲۳/۳ تا ۳۳ میکرومتر که محدوده‌ی منفذ تناسلی را در بر

نر: کرمی شکل که پس از کشتن و تثبیت شدن به شکل C باز در می‌آید. سر، استایلت و ساختار مری مشابه نماتد ماده. دارای یک بیضه که به سمت ابتدای

فاسمید بعد از منفذ دفعی) متفاوت می‌شود. گونه *H. erythrinae* اولین بار از یک درخت گل‌دار به نام *Erythrina (Erythrina lithosperma* Miq.) از جاوادر کشور اندونزی گزارش شد. این گونه اولین بار توسط Golmohammadzadeh Khiaban and Barouti (2002) از روی گیاهان مختلف در سیستان و بلوچستان معرفی شده است. در این پژوهش، گونه مورد مطالعه از شهرستان لاهیجان و از روی گیاه زینتی در اسنا گزارش و برای اولین بار در ایران توصیف می‌شود.

سپاس‌گزاری

نگارندگان لازم می‌دانند از مساعدت‌های ارزنده‌ی خانم‌ها دکتر لیلا کاشی نهنجی و مهندس سیده نگین میرقاسمی صمیمانه تشکر و قدردانی نمایند.

REFERENCES

- Anderson, R.V. 1979. A supplemental key to species of *Helicotylenchus* Steiner, 1945 (Nematoda: Haplolaimidae) described since 1972 and a description of *H. oscephalus* n.sp. Canadian Journal of Zoology, 57: 337-342.
- Anonymous. 2014. Agricultural statistics. The Second volume. Office of Technology, Ministry of Agriculture. P. 80. (In Farsi).
- Churchill, R.C.Jr., and Ruehle, J.L. 1971. Occurrence, parasitism, and pathogenicity of nematodes associated with Sycamore (*Platanus occidentalis* L). Journal of Nematology, 3(2): 189-196.
- Davarian, T., Taheri, A., and Pourjam, E. 2008. *Scutellonema brachyurus* (Steiner, 1938) Andrassy, 1965 a quarantine endoparasitic nematode for medic and ornamental plants in the North of Iran. Proceeding of the 5th International Nematology Congress, Australia. P. 250. (In Farsi with English abstract).
- De grisse, A. 1969. Redescription or modification of some techniques in the study of phytoparasitic nematodes. Meded. delingen Rijks. Fak. Landbou weten Gent, 34: 351-369.
- Firoza, K., and Maqbool, M.A. 1994. A diagnostic compendium of the genus *Helicotylenchus* Steiner (Nematode: Haplolaimidae). Pakistan Journal of Nematology, 12(1): 11-50.
- Gimenes, R., Batista, G.S., Pivetta, K.F.L., Santos, J.M., Soares, P.L.M., and Martins, T.A. 2010. Occurrence of plant-parasitic nematodes in ornamental and flowering plants at Unesp/Fcav, Campus of Jaboticabal, Sao Paulo State, Brazil. Acta Horticulture, 881: 607-610.

می‌گیرد ولی تا انتهای دم کشیده نمی‌شود. با استفاده از کلیدهای شناسایی Krall (1990) و Siddiqi (1972) جمعیت مورد مطالعه Golden, 1956 *Helicotylenchus erythrinae* (Zimmermann, 1904) تشخیص داده شد. ویژگی‌های ریخت‌سنجی و ریخت‌شناسی این گونه با شرحی که برای آن داده شده است، مطابقت نشان می‌دهد (Krall, 1990؛ Sher, 1966). گونه *H. erythrinae* به سبب اندازه‌ی کوچک بدن و استایلت، وجود نماتد نر و زائده‌ی انتهای دم قابل تشخیص است. هم‌چنین گونه مورد مطالعه از گونه‌های *H. multicinctus* و *H. exallus* *H. dihyystera* به سبب داشتن زائده‌ی نوک تیز انتهای دم نماتد ماده متمایز می‌گردد. گونه *H. erythrinae* از گونه *H. thornei* نیز به علت وجود حلقه‌های کوتیکولی ناحیه سر (در مقابل سر بدون حلقه) و قرار گرفتن فاسمید قبل از منفذ دفعی (در مقابل

Golmohammadzadeh Khiaban, N., and Barouti, S. 2002. Founa of plant parasitic nematodes of Balouchestan region. Proceeding of the 15th Iran Plant Protect Congress. P. 309. (In Farsi with English abstract).

Hague, N.G.M. 1972. Nematode disease of flower bulbs, glasshouse crops and ornamentals. In: J.M. Webster (ed.), Economic Nematology. Academic Press Inc, London. pp. 409-434.

Harati, S., Eskandari, A., Tanha Maafi, Z., and Barouti, S. 2010. Identification of eleven plant parasitic nematodes belonging to the family Hoplolaimidae from vegetation of Shahrood and Suburbs. Proceeding of the 19th Iran Plant Protection Congress. P. 615. (In Farsi with English abstract).

Jenkins W.R. 1964. A rapid centrifugal-flotation technique for separating nematodes from soil. Plant Disease Report, 48: 692.

Krall, E.L. 1990. Root Parasitic Nematodes (Family: Hoplolaimidae). Paules Press, New Delhi. P. 580.

Mc Cuiston, J.L., Hudson, L.C., Subbotin, S.A., Davis, E.L., and Warfield, C.Y. 2007. Conventional and PCR detection of aphelenchoides fragariae in diverse ornamental host plant species. Journal of Nematology, 39(4): 343-355.

Mohammad Deimi, A., Chitambar, J.J., and Tanha Maafi, Z. 2008. Nematodes associated with flowering ornamental plants in Mahallat, Iran. Nematologia Mediterranea, 36: 115-123.

Muddassirul Mulk, M., and Shamim Jairajpuri, M. 1974. Nematodes of leguminous crops in India II. Five New Species of *Helicotylenchus* Steiner, 1945 (Hoplolaimidae). Indian Journal of Nematology, 4: 212-221.

Perry, V.G. 1959. A note on digonic hermaphroditism in spiral nematodes (*Helicotylenchus* spp.). Nematologica, 4: 87-88.

Perry, V.G., Darling, H.M., and Thorne, G. 1959. Anatomy, taxonomy and control of certain spiral nematodes attacking blue grass in Wisconsin. Research Bulletin, 207: 24 pp.

Pourjam, E., Taheri, A., and Davarian, T. 2004. *Scutellonema brachyurus* (Steiner, 1938) Andrassy, 1965 a quarantine parasite for ornamental plants of Golestan Province. Proceeding of the 1th Iranian Biological Sciences Congress. P. 393. (In Farsi with English abstract).

Rout, G.R., Mohapatera, A., and Mohan Jain, S. 2006. Tissue culture of ornamental pot plant: A critical review on present scenario and future prospects. Biotechnology Advances, 24: 531-560.

Sasser, J.N., and Frechman, D.W. 1987. Vistas on nematology. In J.A. Vach and D.W. Dikson (Eds.), Sos. of nematologists. Inc. Hysttsville, Maryland.

Sher, S.A. 1966. Revision of the Hoplolaiminae (Nematoda) VI *Helicotylenchus* Steiner, 1945. Nematologica, 12: 1-56.

Siddiqi, M.R. 1972. On the genus *Helicotylenchus* Steiner, 1945 (Nematoda: Tylenchida), with description of nine new species. *Nematologica*, 18: 74-91.

Siddiqi, M.R. 1997. Techniques and methodologies for nematode disease diagnosis and nematode identification. In: Plant nematode problems and their control in the Near East Region (FAO Plant Production and Protection Paper-144). FAO Plant Production and Protection Papers.

Singh, R.V., and Sharma, H.K. 1998. Nematode problems and their management in ornamental crops. In: P. C. Trivedi (ed.), *Nematode diseases in plants*. CBS Publishers and Distributors, New Delhi. pp. 168-176.

Subbotin, S.A., Vovlas N., Yeates, G.W., Hallmann, J., Kiewnick, S., Chizhov, V.N., Manzanilla-Lopez, R.H., Inserra, R.N., and Castillo, P. 2015. Morphological and molecular characterisation of *Helicotylenchus pseudorobustus* (Steiner, 1914) Golden, 1956 and related species (Tylenchida: Hoplolaimidae) with a phylogeny of the genus. *Nematology*, 17: 27-52.

Trencheva, K., Trencheva, G., Tomovo, R., and Wu, S.A. 2010. Non-indigenous scale insects on ornamental plants in Bulgaria and China: A survey. *Entomologia Hellenica*, 19: 114-123.

Tuca, O.A., Stan, C., Mitrae, I., and Stan, I. 2010. Quantification of the main harmful species attack on ornamental plants in greenhouses of the botanical garden "Alexandru Buia". Craiova. *Bulletin UASVM Horticulture*, 67: 399-402.

Yan, G.P., Plaisance, A., Huang, D., and Handoo, Z.A. 2017. First report of the spiral nematode *Helicotylenchus microlobus* infecting soybean in North Dakota. *Journal of Nematology*, 49(1): 1.

Parasitic nematodes (Family: Hoplolaimidae) associated with ornamental plants in Guilan Province

M. Allahmoradi¹, S. Jamali^{2*}, A. Karegar Bideh³ and S.A. Mirhosseini Moghadam⁴

1. Former M.Sc. student of Plant Pathology, Department of Plant Protection, Faculty of Agricultural Sciences, University of Guilan, Rasht, Iran
2. ***Corresponding Author:** Assistant Professor, Department of Plant Protection, Faculty of Agricultural Sciences, University of Guilan, Rasht, Iran (jamali@guilan.ac.ir)
3. Professor, Department of Plant Protection, Faculty of Agriculture, University of Shiraz, Shiraz, Iran
4. Researcher at Ornamental Research Station of Lahijan, Lahijan, Iran

Received: 3 December 2016

Accepted: 8 January 2018

Abstract

Background and Objectives

Ornamental plants are grown for decorative purposes in gardens and landscape design projects, as houseplants, for cut flowers and specimen display. The cultivation of these, called floriculture, forms a major branch of horticulture. Nematodes are a diverse group of wormlike animals found in a number of habitats. Plant-parasitic nematodes are recognized as one of the greatest threats to crops throughout the world. Nematodes alone or in combination with other soil microorganisms have been found to attack almost every part of the plant including roots, stems, leaves, fruits and seeds. Hoplolaimidae is a family of plant parasitic nematodes. The common name, spiral nematode, is most often applied to nematodes in the genus *Helicotylenchus*, but it is also sometimes applied to other genera in the family Hoplolaimidae. These are called spiral nematodes because their bodies tend to curl into a spiral when the nematodes are relaxed or dead. The spiral nematodes have been reported in the worlds associated with various cultivated horticultural, agronomic, ornamental, and turfgrass plants.

Materials and Methodes

In order to identify the ornamental plants parasitic nematodes in Guilan province, 115 soil samples from rhizosphere of various species of ornamental plants in greenhouse and landscaping were collected from different parts, during the summer and fall in 2011-12. After extraction, fixation and transferring nematodes to anhydrous glycerol, the nematodes were mounted on permanent microscopic slides and nematode species were identified by using light microscope, equipped with drawing tube and digital camera, based on morphological and morphometric characters using valid identification keys.

Results

In this research, 7 nematode species belonging to Hoplolaimidae family including *Helicotylenchus dihystra*, *H. erythrinae*, *H. exallus*, *H. Microlobus*, *H. Pseudorobustus*, *H. sharafati* and *Scutellonema brachyurus* were indentified. Two species, *H. pseudorobustus* and *H. sharafati* were reported for the first time from Iran.

Discussion

H. microlobus is distinguished from close species by lack of areolation on the tail, fusing of inner incisures of the lateral fields distally for about two annules and unclear phasmid. Distinguishable characters of *H. Sharafati* from close species are as below: less labial annules, angular spear knobs and differently shaped tail with characteristic endings of lateral fields. There is no measurement and description of *H. erythrinae* available in Iran so the description of this species is also illustrated.

Keywords: *Helicotylenchus*, *Scutellonema*, *Rhizosphere*, *Ornamental plants*