Iranian Plant Protection Research
https://jpp.um.ac.ir

Research Article
Vol. 40, No. 3, 2026, p. 705-722

Morphological and Molecular Study of Four Species of the Genus *Xiphinema* Cobb, 1913 (Nematoda: Longidoridae) and the Possibility of Sexual Reproduction in *X. index* Thorne & Allen 1950

Arezoo Naghavi[1*], Gholamreza Niknam[2]
1- Department of Plant Protection, Faculty of Agriculture, Lorestan University, Khorramabad, Iran
2- Department of Plant Protection, Faculty of Agriculture, University of Tabriz, Tabriz, Iran
(*- Corresponding author's Email: Naghavi.a@lu.ac.ir)

Received: 24-04-2026
Revised: 01-08-2026
Accepted: 08-09-2026
Available Online: 22-06-2026

How to cite this article:
Naghavi, A., & Niknam, Gh. (2026). Morphological and molecular study of four species of the genus *Xiphinema* Cobb, 1913 (Nematoda: Longidoridae) and the possibility of sexual reproduction in *X. index* Thorne & Allen 1950. *Iranian Plant Protection Research, 40*(3), 705-722. (In Persian). https://doi.org/10.22067/JPP.2026.98359.1282

Introduction

The genus *Xiphinema* Cobb, 1913 belongs to the family Longidoridae Thorne, 1935 and is a highly diversified and widespread nematode taxon. *Xiphinema* non-*americanum* group comprises more than 208 known species that damage a wide range of wild and cultivated plants. For pragmatic diagnostics, *Xiphinema* non-*americanum* group has been divided into eight morphospecies groups (Loof & Luc, 1990). So far, 38 species of the genus *Xiphinema* have been reported from Iran amongst them, 19 species have been reported from East Azarbaijan province (Pedram, 2007; Vazifeh, 2017; Naghavi, 2018; Jabbari et al., 2019). In a recent survey on the genus *Xiphinema* in East Azarbaijan province, northwestern Iran, four known species were found from the rhizosphere of several fruit trees. The identified species are presented in this study.

Materials and Methods

Around 200 soil samples were collected 50 cm from the rhizosphere of orchards in East Azarbaijan provinc during the 2023-2024 spring season. Nematodes were extracted from 250 cm^3 of soil. Specimens for light microscopic studies were killed, fixed and transferred to dehydrated glycerin according to De Grisse's (1969) method. The nematodes were examined by a light CX31 microscope equipped with a Dino-Eye Eyepiece Camera, and photographs were taken by a DP50 digital camera system connected to the Olympus BX41 microscope. DNA of the nematodes were extracted from single individuals, and PCR assays were conducted as described by Archidona-Yuste et al. (2016). The LSU rDNA D2-D3 segments were amplified using the forward primer D2A and reverse primer D3B. The ITS1 region was amplified with the forward primer 18S and reverse primer rDNA1.58S in accordance with Archidona-Yuste et al. (2016). PCR products were purified and sequenced and the recently obtained sequences were deposited in GenBank database under accession numbers MK957241, MK957235, MK957238, MK909918 (*X. aceri*), MK957234, MK957239, MK909917 (*X. vuittenezi*), MK957233, MK957236 and MK920408 (*X. index*) and MK957243 (*X. castilloi*). For phylogenetic relationship reconstruction, LSU rDNA D2-D3 and ITS1 sequences from GenBank and newly obtained sequences were aligned using MEGA6. Phylogenetic analysis was performed based on Bayesian inference using

Authors retain the copyright. This is an open access article distributed under Creative Commons Attribution 4.0 International License (CC BY 4.0)

https://doi.org/10.22067/JPP.2026.98359.1282

MrBayes 3.1.2. The best-fitted model of DNA evolution was obtained using the MrModel test 2.3. The resulting trees were visualized using FigTree v1.4.3.

Results and Discussion

As a result of this study, four known species of the genus *Xiphinema* (*Xiphinema aceri*, *X. castilloi*, *X. index* and *X. vuittenezi*) were identified. Morphological and morphometric characters of *X. aceri* in this study were in agreement with those of the type and previously reported Iranian population of the species. Three sequences (MK957241, MK957238 and MK957235) of LSU rDNA D2-D3 gene and one sequence (MK909918) of the ITS region were obtained from the three different populations of *X. aceri*. In pairwise distance analysis, the three sequences showed 100% identity. In general, the morphology of *X. castilloi*, in the present study, is similar to that of the type population except in having slightly longer spicules (62.5-65.5 *vs* 48-60 µm), rather longer odontostyle in first stage juveniles (58-59.5 *vs* 53 µm), guiding ring distance from anterior end in first and second stage juveniles (51-53 *vs* 45 µm) and (64.5-59 *vs* 57-55 µm), respectively. Molecular analyses also confirmed the species identity. Morphological and morphometric characters of the Iranian populations of *X. index* agree with those of the original description and other descriptions of the species. The presence of sperm in the reproductive tract of some females of *X. index* in this study proves that males are functional and that copulation can occur. *Xiphinema vuittenezi* has scattered crystalloids in the uterus, which are sometimes hardly visible in mounted specimens in glycerin. Two sequences (MK957239, MK957234) of LSU rDNA D2-D3 expansion segments were obtained from two females of this species. These sequences had 99% identity.

Conclusion

In this study, four species, *X. aceri*, *X. castilloi*, *X. index*, and *X. vuittenezi*, were identified based on their morphometric, morphological, and molecular characteristics. Among these species, *X. index* was the most dominant. The presence of sperm in the genital tract of female *X. index* specimens suggests that sexual reproduction may occur in this species.

Keywords: Biodiversity, ITS, Morphometry, 28S rDNA

پژوهش‌های حفاظت گیاهان ایران
https://jpp.um.ac.ir

مقاله پژوهشی
جلد ۴۰ شماره ۳، پاییز ۱۴۰۵، ص. ۷۲۲-۷۰۵

مطالعه ریخت‌شناختی و مولکولی چهار گونه از جنس *Xiphinema* Cobb, 1913 (Nematoda: Longidoridae) از استان آذربایجان شرقی و گزارش احتمال وجود تولیدمثل جنسی در گونه *X. index* Thorne & Allen 1950

آرزو نقوی[1*]- غلامرضا نیکنام[2]

تاریخ دریافت: ۱۴۰۵/۰۲/۰۵
تاریخ پذیرش: ۱۴۰۵/۰۶/۱۷

چکیده

خانواده Longidoridae متعلق به راسته Dorylaimida یکی از مهم‌ترین گروه‌های نماتدهای انگل گیاهی است. جنس *Xiphinema* با داشتن بیش از ۲۰۸ گونه در گروه غیرآمریکانوم یکی از پرتعدادترین جنس‌های راسته Dorylaimida و با پراکنش جهانی است. در بررسی حاضر، تنوع زیستی نماتدهای این خانواده با جمع‌آوری بیش از ۲۰۰ نمونه خاک از فراریشه درختان میوه استان آذربایجان شرقی ارزیابی گردید. نماتدها بعد از جداسازی، تثبیت و به گلیسرین خالص انتقال یافتند. شناسایی گونه‌ها براساس ویژگی‌های ریخت‌شناختی، ریخت‌سنجی و مولکولی انجام شد و چهار گونه *Xiphinema aceri*، *X. castilloi*، *X. index* و *X. vuittenezi* تشخیص داده شد. در مطالعه مولکولی، قطعه D2-D3 از ناحیه LSU rDNA و نواحی ITS تکثیر و تعیین توالی گردید و توالی‌های حاصل در بازسازی روابط فیلوژنی به کار رفت. در مجموع، تعداد ۱۱ توالی نوکلئوتیدی از این گونه‌ها در بانک ژن به ثبت رسید. در جمعیت‌های مناطق مختلف گونه *X. index*، در تعدادی از افراد ماده در قسمت‌های مختلف لوله تولیدمثلی، اسپرم دیده شد. وجود اسپرم در اطراف شکاف تناسلی و نقاط مختلف رحم، نشان‌دهنده ورود احتمالی اسپرم‌ها از بیرون به درون بدن ماده است، به‌طوری که شکل اسپرم‌های موجود در داخل بدن افراد ماده مشابه اسپرم‌های موجود در بدن افراد نر بود. نتایج تحقیق جاری شاهدی دیگر بر این نظر است که برخی جمعیت‌های گونه *X. index* قادر به تولیدمثل جنسی‌اند.

واژه‌های کلیدی: تنوع زیستی، ریخت‌سنجی، ITS، 28S rDNA

مقدمه

گونه‌های جنس *Xiphinema* Cobb, 1913 بسیار متعدد و متنوع بوده و از پراکنش وسیعی در سطح جهانی برخوردار هستند. به‌دلیل اهمیت اقتصادی آن‌ها در کشاورزی و توانایی آن‌ها در انتقال برخی ویروس‌های بیماری‌زای گیاهی، شناسایی گونه‌های رایج این جنس در مناطق طبیعی و کشاورزی اهمیت دارد. از دید اهمیت خسارت اقتصادی، گونه *Xiphinema index* در بین ۱۰ نماتد مهم انگل گیاهی قرار می‌گیرد (Jones et al., 2013). تاکنون ۳۸ گونه از این جنس از ایران گزارش شده است (Vazifeh et al., 2019; Jahanshahi Afshar et al., 2019, Fouladvand et al., 2019; Mobasseri et al., 2019; Bazgir et al., 2020; Fadakar et al., 2021; Naghavi et al., 2022). از بین این تعداد، ۱۹گونه از استان آذربایجان شرقی معرفی شده است که از میان آن‌ها نیز گونه *X. index* (Thorne & Allen, 1950) بیشترین پراکنش را به خود اختصاص می‌دهد (Pedram, 2007; Vazifeh, 2017; Naghavi, 2018; Jabbari et al., 2019). در این مطالعه، چهار گونه از جنس *Xiphinema* که از فراریشه درختان میوه استان آذربایجان شرقی جداسازی شده بودند، براساس صفات ریخت‌شناختی و داده‌های ریخت‌سنجی و مولکولی مورد بررسی قرار گرفتند.

۱- گروه گیاه‌پزشکی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه لرستان، خرم‌آباد، ایران
۲- گروه گیاه‌پزشکی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه تبریز، تبریز، ایران
(*- نویسنده مسئول: Email: Naghavi.a@lu.ac.ir)
https://doi.org/10.22067/JPP.2026.98359.1282

مواد و روش‌ها

نمونه‌برداری و جداسازی نماتدها

در سال‌های ۱۴۰۲ تا ۱۴۰۳ تعداد ۲۰۰ نمونه خاک از عمق صفر تا ۵۰ سانتی‌متری باغات درختان میوه استان آذربایجان شرقی جمع‌آوری گردید. از ۲۵۰ گرم خاک برای جداسازی نماتدها به‌روش تغییریافته براون و باگ (Brown & Boag, 1988) استفاده شد. نماتدها پس از کشته شدن و تثبیت مطابق روش دگریس (De Grisse, 1969) به گلیسرین خالص انتقال یافتند. صفات ریخت-شاختی و ریخت‌سنجی جمعیت‌ها با استفاده از دوربین دیجیتال (Dino-Eye Eyepiece Camera) متصل به میکروسکوپ نوری المپیوس CX31 مورد بررسی قرار گرفتند. ملاحظه دقیق‌تر ضمائم رحمی با مطالعه اسلاید موقت افراد زنده انجام شد. برای این منظور، افراد زنده در یک قطره آب بر روی لام قرار داده شده و پس از گذاشتن لامل برای بی‌حرکت کردن نماتد ماده، از حرارت دادن لام بر روی چراغ الکلی استفاده گردید. اطلاعات ارائه‌شده در جدول داده‌ها، برای گونه *X. aceri* براساس اندازه‌های به‌دست‌آمده از سه جمعیت و در گونه‌های دیگر، متعلق به جمعیت منتخب از هر گونه بوده است.

جهت عکس‌برداری از دوربین دیجیتال DP50 متصل به میکروسکوپ نوری Olympus BX41 و برای تهیه فتوپلیت از نرم-افزار کورل نسخه ۱۲ (Corel DRAW® software version 12) استفاده گردید.

استخراج DNA و واکنش زنجیره‌ای پلیمراز

استخراج DNA مطابق روش آرشیدونا-یاست و همکاران (Archidona-Yuste et al., 2016) و از تک فرد نماتد صورت گرفت. برای تکثیر ناحیه ژنی LSU D2-D3 rDNA از آغازگر مستقیم D2A (5′-ACAAGTACCGTGAGGGAAAGT-3′) و آغازگر معکوس D3B (5′-TCGGAAGGAACCAGCTACTA-3′) (Nunn, 1992) و برای تکثیر ناحیه ژنی ITS از آغازگر مستقیم 18S (5′-TTGATTACGTCCCTGCCCTTT-3′) (Vrain et al., 1992) و آغازگر معکوس rDNA1.58S (5′-ACGAGCCGAGTGATCCACCG-3′) (Cherry et al., 1997) استفاده گردید. برای انجام PCR، واسرشت‌سازی اولیه در دمای ۹۴ درجه سلسیوس به مدت دو دقیقه، واسرشت‌سازی در دمای ۹۴ درجه سلسیوس به مدت ۳۰ ثانیه، اتصال آغازگرها در دمای ۶۰ درجه سلسیوس و به مدت ۴۵ ثانیه و گسترش در دمای ۷۲ درجه سلسیوس به مدت ۳۰ ثانیه به تعداد ۳۵ چرخه انجام شد و در نهایت گسترش نهایی در دمای ۷۲ درجه سلسیوس به مدت پنج دقیقه صورت گرفت (Archidona-Yuste et al., 2016). جهت توالی‌یابی، محصول PCR به شرکت بیونیر (Bioneer Corporation) کشور کره جنوبی ارسال گردید. توالی‌های به‌دست‌آمده با کدهای دسترسی MK957243 (ناحیه D3–D2) برای گونه *X. castilloi* Roshan-Bakhsh Pourjam, Pedram, Robbins & Decramer, 2014، MK957241، MK957238، MK957235 (ناحیه D2-D3) و MK909918 (ناحیه ITS) برای گونه *X. aceri* Chizhov, Tujev &Turkina 1986، MK957233، MK957236 (ناحیه D2-D3) و MK920408 (ناحیه ITS) برای گونه *X. index* و MK957234، MK957239 (ناحیه D2-D3) و MK909917 (ناحیه ITS) برای گونه *X. vuittenezi* در بانک ژن به ثبت رسید.

بازسازی روابط خویشاوندی

ابتدا توالی‌های لازم برای رسم درخت فیلوژنی از NCBI به دست آمد. زیرهم‌چینی توالی‌ها با استفاده از نرم‌افزار MUSCLE تعبیه‌شده در نرم‌افزار MEGA6 (Tamura et al., 2013) انجام گردید. سپس بازسازی روابط فیلوژنی به‌روش بیس (Bayes) با استفاده از بهترین مدل تکاملی (GTR+G+I) با کمک نرم‌افزار MrModeltest 2.3 (Nylander, 2004) صورت گرفت. مشاهده درخت فیلوژنی با استفاده از نرم‌افزار FigTree v1.4.3 انجام شد.

نتایج و بحث

جمعیت‌های استان آذربایجان شرقی *Xiphinema aceri* Chizhov, Tiev & Turkina, 1986

این گونه توسط شیژوف و همکاران (Chizhov et al., 1986)، از فراریشه افرا در روسیه توصیف شد. در این بررسی نیز از فراریشه گیاهان مختلف در مناطق شللو (N 37°55′35.7″, E 45°56′50.3″)، سردرود (N 37°01′32.2″, E 45°07′16.6″) و کردلر (N 37°58′04.1″, E 46°00′06.3″) در استان آذربایجان شرقی جداسازی و شناسایی گردید. در ایران، این گونه اولین‌بار از فراریشه بوته‌های رز جداسازی شده است (Pedram et al., 2009a) سپس توسط پدرام و همکاران (Pedram et al., 2009b) توالی نواحی ژنی 18S rDNA و ITS برای این گونه در بانک ژن به ثبت رسید. کدهای الفبایی-عددی (alph-numerical) براساس کلید شناسایی چندگانه گونه‌های گروه غیرامریکانوم *Xiphinema* ارائه‌شده توسط لوف و لوک (Loof & Luc, 1990) برای این سه جمعیت عبارت‌اند از: A4، B3، C6a، D56، E56، F34، G23، H2، I23، J5، K23 و l2. جمعیت‌های مورد مطالعه با استفاده از کلیدها و منابع ارائه‌شده توسط لوف و لوک (Loof & Luc, 1990)، روکا و لامبرتی (Roca & Lamberti, 1988)، شیژوف و همکاران (Chizhov et

al., 1986)، آریاس و همکاران (Arias et al., 2005)، گوتیرز-گوتیرز و همکاران (Gutiérrez-Gutiérrez et al., 2010, 2013) به‌عنوان گونه *Xiphinema aceri* تشخیص داده شدند (جدول ۱، شکل ۱). این سه جمعیت از فرا ریشه گیاهان زردآلو(*Prunus armeniaca* L)، بادام (*Prunus dulcis* (Mill.) D.A.Webb) و گردو (*Juglans regia* L.) جداسازی شده‌اند و در مقایسه با ویژگی های ذکرشده برای گونه در منبع اصلی (Chizhov et al., 1986)، مطابقت کامل دارند. همچنین در مقایسه با جمعیت ایرانی جمع‌آوری-شده از استان آذربایجان شرقی و تهران توسط پدرام (Pedram, 2014) مشابهت کامل نشان دادند.

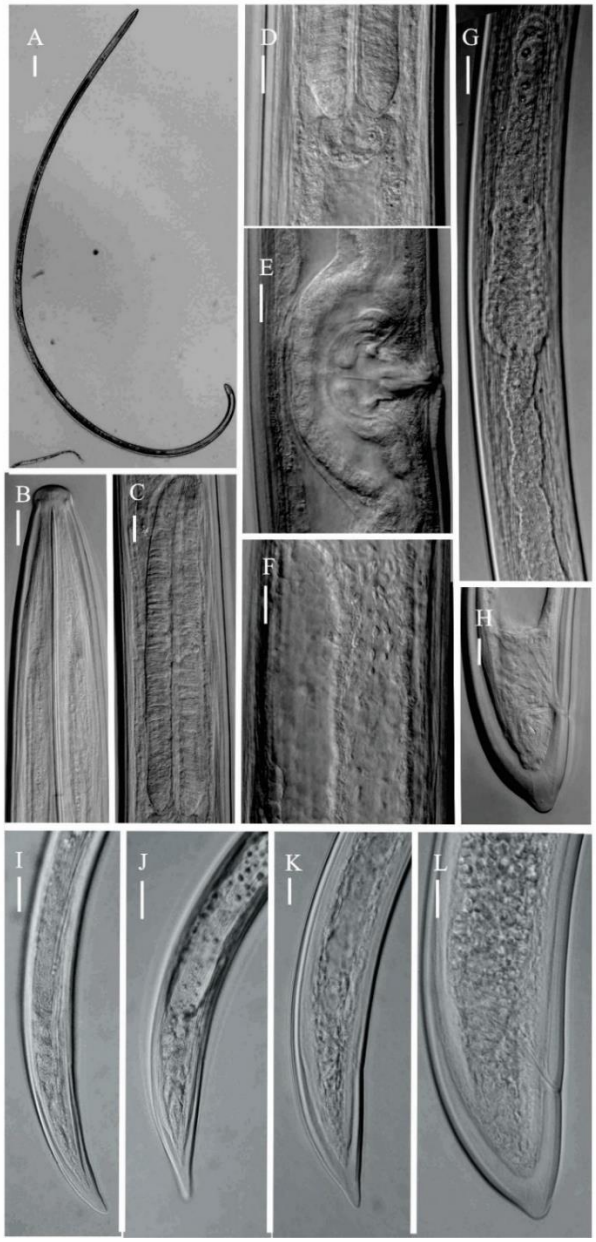
مطالعه مولکولی

برای این گونه از ناحیه ژنی LSU rDNA D2-D3 سه توالی با کدهای دسترسی MK957241، MK957238 و MK957235 به‌ترتیب از جمعیت‌های سردرود، شللو وکردلر برای اولین‌بار به ثبت رسید. مقایسه دوتایی آن‌ها تفاوت نوکلئوتیدی نشان نداد و این توالی-ها با بالاترین احتمال پسین در درخت تبارزایی بازسازی‌شده (شکل ۲) در یک کلاد قرار گرفتند. رابطه فیلوژنی این توالی‌ها با سایر توالی-های مرتبط در شکل ۲ دیده می‌شود. در درخت رسم‌شده با استفاده از توالی‌های ناحیه LSU rDNA D2-D3، توالی این گونه با توالی گونه *X. granatum* (JQ240273) نزدیک‌ترین رابطه تبارزایی را داشته و رابطه خویشاوندی آن‌ها با استناد به اطلاعات موجود، با احتمال پسین ۱ حمایت شده است. مقایسه دوتایی توالی این دو گونه، اختلاف نوکلئوتیدی ۱۹ جفت باز را نشان می دهد و فاقد گپ هستند.

جدول ۱- داده‌های ریخت‌سنجی سه جمعیت از Xiphinema aceri Chizhov, Tiev & Turkina, 1986 از استان آذربایجان شرقی: اندازه‌ها برحسب میکرومتر هستند (L برحسب میلی‌متر) و به‌صورت میانگین ± انحراف معیار (بازه حداقل و حداکثر) ارائه شده‌اند

Table 1- Morphometric data of three populations of *Xiphinema aceri* Chizhov, Tiev & Turkina, 1986 from East Azarbaijan province: All measurements are in µm (except L in mm) and in the form mean ± SD (range)

Populations / Characters	J1	J2	J3	J4	Sardrud Females	Shellalu Females	Kordlar Females
n	1	3	3	4	6	3	3
L	0.9	1.2	(1.6-1.8) 1.7 ± 0.01	(2.6-2.9) 2.7 ± 0.01	(3.2-3.9) 3.4 ± 0.2	(3.3-3.6) 3.4 ± 0.1	(3.3-3.4) 3.3 ± 0.04
a	54.5	(55.0-58.5) 57.0 ± 1.1	(53.5-63.0) 59.0 ± 1.8	(69-76) 72.3 ± 0.5	(60-79) 67.3 ± 2.2	(65.5-78.0) 71.7 ± 5.6	(62-64) 62.6 ± 1.1
b	3.6	(4.0-4.5) 4.2 ± 0.1	(3.0-4.5) 4.2 ± 1.0	(6.0-6.5) 6.2 ± 0.8	(6.5-7.5) 7.2 ± 0.1	(8-9) 8.4 ± 0.5	(8. 0-8.5) 8.1 ± 0.3
c	19.5	26.0	(34.5-37.5) 36.0 ± 0.4	(61.5-75.0) 69.0 ± 1.8	(91-102) 93.2 ± 2.3	(78-101) 92.0 ± 12	(87-88) 87.5 ± 0.4
c´	3.7	3.0	2.0	(1.2-1.3) 1.25 ± 0.01	0.9-1.1 1.0 ± 0.01	0.94-1.2 1.0 ± 0.13	1.0
V	-	-	-	-	(47-50) 49.0 ± 0.1	(47-58) 52.3 ± 5.5	(48-55) 50.3 ± 3.5
Odontostyle	52.5	65.5	(86.0-87.5) 87.0 ± 0.05	(103-123) 113.0 ± 3.3	(117.0-134.5) 128.5 ± 1.2	(125-128) 126.0 ± 1.7	(128-129) 128.5 ± 0.9
Odontophore	36.0	47.0	(54.5-57.5) 56.0 ± 1.5	(62.5-67.0) 64.0 ± 0.2	(70.5-74.0) 73.0 ± 0.6	(70-75) 71.7 ± 2.8	(70.5-75.0) 73.4 ± 2.7
Replacement odontostyle	65.0	(92.0-92.5) 92.2 ± 0.1	(110-114) 112.5 ± 1.2	(125-133) 129.5 ± 1.2	-	-	-
Oral aperture to guiding ring	43.5	(56-57) 56.5 ± 0.1	(74.5-75.0) 74.8 ± 0.05	(90.5-98.5) 95.5 ± 0.8	(114-128) 120.2 ± 1.7	(93-114) 104.0 ± 10.5	(114-118) 117.0 ± 2.7
Neck length	250	(281-303) 292.0 ± 3.5	(353-390) 377.0 ± 3.8	(425-478) 447.0 ± 10.7	(444.5-635.0) 486.6 ± 20.9	(381-422) 408.3 ± 23.6	(391-425) 412.5 ± 18.7
Body diam. at neck base	16.5	(20.5-22.0) 21.2 ± 0.5	(25.0-29.5) 27.5 ± 0.1	(36.0-37.5) 37.0 ± 0.06	(42.5-46.0) 44.7 ± 0.5	(43.5-47.0) 45.0 ± 1.5	(46.5-50.0) 48.9 ± 0.9
Body diam. at mide body	17.0	(21.0-22.5) 21.7 ± 0.5	(28-31) 29.6 ± 0.1	(36.0-40.5) 38.5 ± 0.3	(49.0-56.5) 51.8 ± 0.7	(47.0-51.5) 48.6 ± 2.5	(53-55) 54.0 ± 0.9
Body diam. at anus	12.5	15.5	(22.5-23.5) 23.0 ± 0.05	(31-33) 31.6 ± 0.1	(34.5-37.5) 36.0 ± 1.2	(35-36) 35.3 ± 0.57	(35-37) 36.5 ± 0.3
Tail length	47.0	(45.5-47.0) 46.2 ± 0.2	(48-50) 48.5 ± 0.1	(39-44) 40.6 ± 2.8	(33-39) 37.5 ± 1.5	(33.0-43.5) 37.8 ± 5.3	(38-39) 38.5 ± 0.5



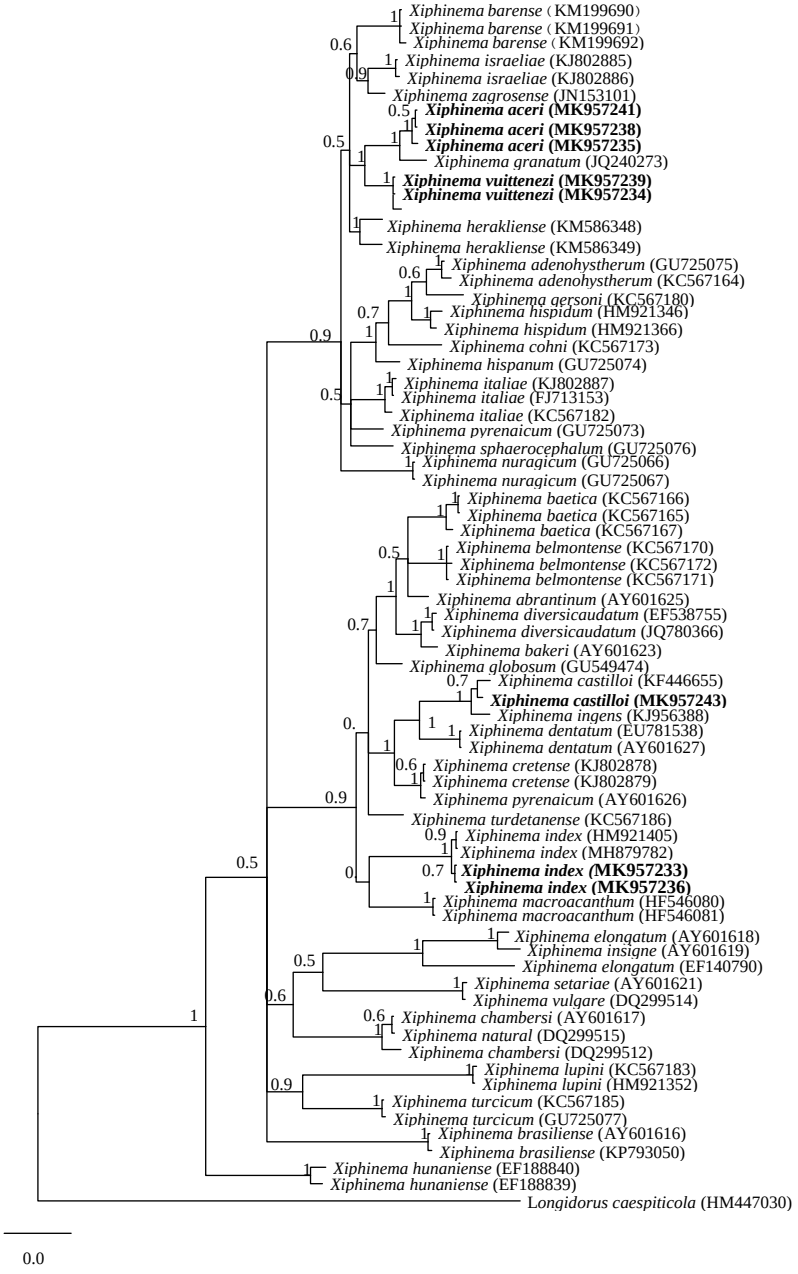
شکل ۱- تصاویر میکروسکوپ نوری جمعیت شللو از استان آذربایجان شرقی گونه *Xiphinema aceri* Chizhov, Tiev & Turkina, 1986

Figure 1- Light microscope images of the Shellalu population of the species *Xiphinema aceri* Chizhov, Tiev & Turkina, 1986 from East Azarbaijan province

A: نمای کلی بدن ماده، B: بخش جلویی بدن، C: بخش فراخ مری، D: کاردیا، E: واژن و شکاف تناسلی، F: ضمائم خارمانند (کریستال) در رحم، G: لوله جنسی جلویی، H: دم ماده، I-L: دم به‌ترتیب در مراحل لاروی سن یک تا چهار. خطوط مقیاس در B-L: ۱۰ میکرومتر و در A: ۱۰۰ میکرومتر.

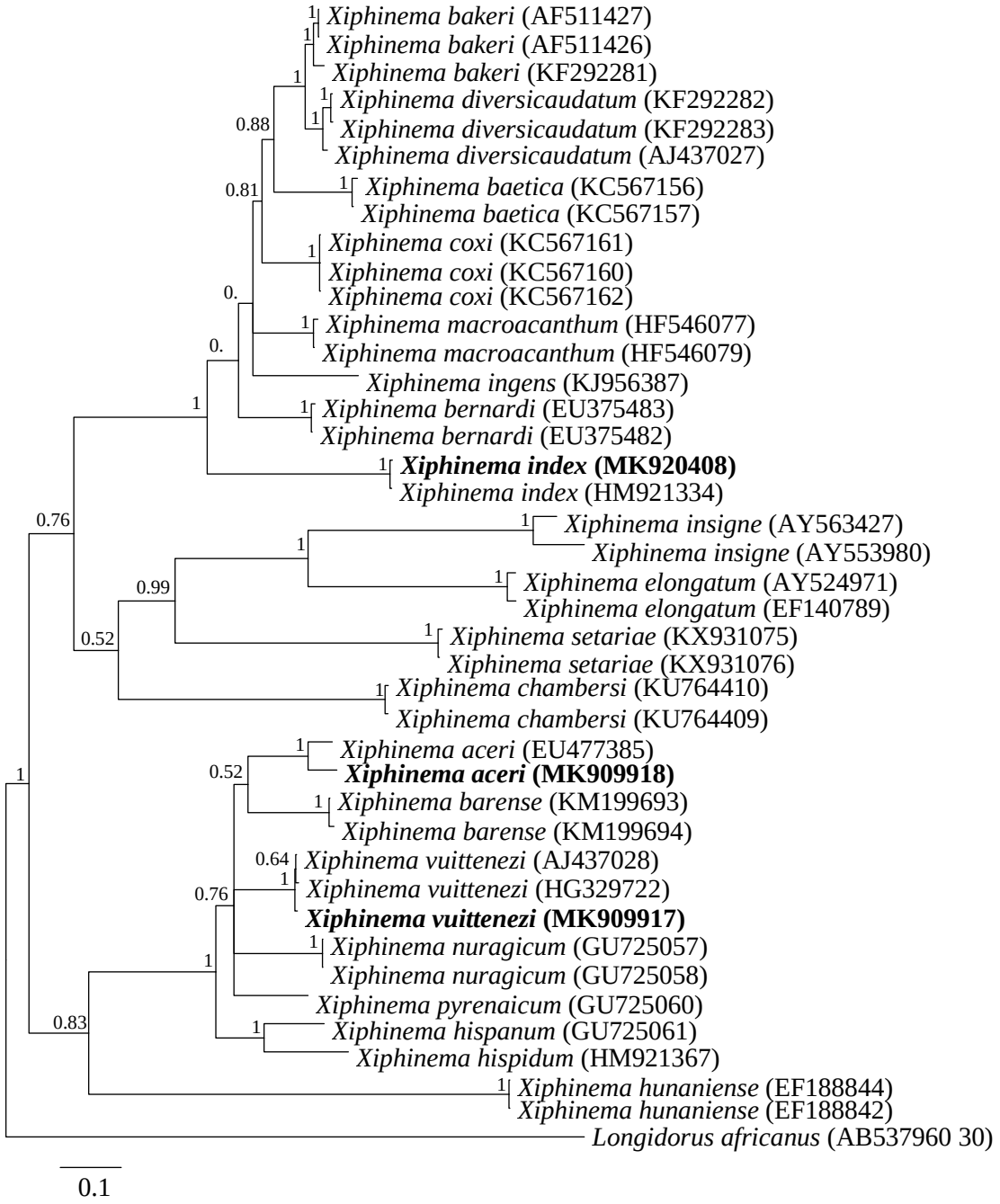
A: female entire body, B: anterior body region, C: expanded part of pharynx, D: cardia, E: vagina and vulva, F: uterine differentiation spines (crystalloids), G: anterior genital branch, H: female tail, I-L: tail of juveniles from J1-J4, respectively. Scale bars: B-L: 10 µm, A: 100 µm.

همچنین برای ناحیه ژنی ITS، یک توالی (MK909918) از جمعیت شللو به ثبت رسید که با توالی دیگر این گونه (EU477385) با بالاترین احتمال پسین در یک کلاد قرار داشتند، درحالی‌که ۷۴ اختلاف نوکلئوتیدی بین آن‌ها وجود داشت (شکل ۳)؛ مشابه این تعداد اختلاف نوکلئوتیدی در ناحیه ITS جمعیت‌های برخی گونه‌های دیگر نظیر *X. georgianum* (DQ299527 و DQ299526) با اختلاف ۵۰ نوکلئوتید و *X. santos* (JQ990048 و JQ990047) با اختلاف ۴۵ نوکلئوتید نیز وجود داشت (Archidona-Yuste et al., 2016).



شکل ۲- درخت فیلوژنی بیس (Bayes) بازسازی‌شده با استفاده از مدل تکاملی GTR + I + G با استفاده از توالی‌های ناحیه 28S rDNA D2–D3 چهار گونه به‌دست‌آمده متعلق به جنس Xiphinema در این مطالعه. احتمال پسین بیش از ۵۰ درصد برای کلادها ارائه شده است. توالی‌های به‌دست‌آمده در این مطالعه پررنگ نشان داده شده‌اند

Figure 2- Bayesian tree reconstructed under the GTR+I+G model from LSU rDNA D2–D3 expansion domains of four known species of the genus *Xiphinema* recovered herein. Posterior probabilities more than 50% are given for appropriate clades. The new sequences obtained in the present study are shown in bold



شکل ۳- درخت فیلوژنی بیس (Bayes) بازسازی‌شده با استفاده از مدل تکاملی GTR + I + G از ناحیه ITS1 از سه گونه متعلق به جنس *Xiphinema* به‌دست‌آمده در این مطالعه. احتمال پسین بیش از ۵۰ درصد برای کلادها ارائه شده است. توالی‌های به‌دست‌آمده در این مطالعه پررنگ نشان داده شده‌اند

Figure 3- Bayesian tree inferred under the GTR+I+G model from ITS1 sequences of three known species of the genus *Xiphinema* recovered herein. Posterior probabilities more than 50% are given for appropriate clades. The new sequences obtained in the present study are shown in bold

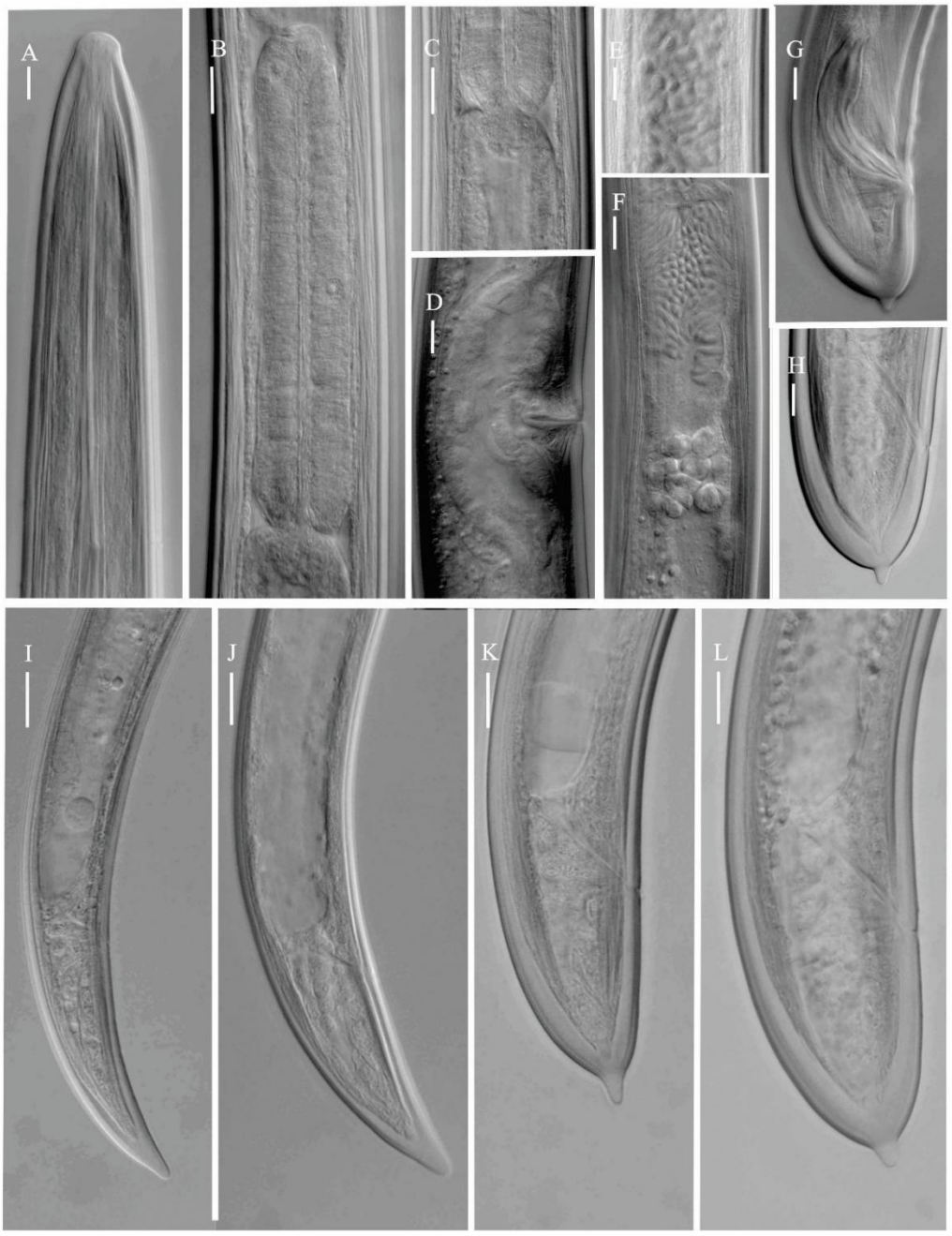
جمعیت استان آذربایجان شرقی *Xiphinema castilloi* Roshan-Bakhsh, Pourjam, Pedram, Robbins & Decraemer, 2014

مقایسه جمعیت به‌دست‌آمده با تمام گونه‌ها و با مراجعه به روشن-بخش و همکاران (Roshan-Bakhsh et al., 2014) به‌عنوان گونه *Xiphinema castillo* تشخیص داده شد. کدهای الفبایی-عددی جمعیت مورد مطالعه براساس کلید شناسایی چندشاخه گونه‌های گروه غیرامریکانوم *Xiphinema* ارائه‌شده توسط لوف و لوک (۱۹۹۰) عبارت‌اند از: A4، B2، C5a، D5، E56، F45، G3، H2، I3، J4، K2 و L2. از لحاظ ویژگی‌های ریخت‌سنجی و ریخت‌شناختی، این جمعیت با جمعیت توصیف‌شده توسط روشن‌بخش و همکاران (Roshan-Bakhsh et al., 2014) مشابهت داشته و تفاوت‌های جزئی در طول آلت نرینه (۶۲/۵ تا ۶۵/۵ در برابر ۴۸ تا ۶۰ میکرومتر)، طول ادونتواستایل لارو سن یک (۵۸ تا ۵۹/۵ در برابر ۵۳ میکرومتر) و موقعیت حلقه هادی در لارو سن یک (۵۱ تا ۵۳ در برابر ۴۵ میکرومتر) و لارو سن دو (۵۹/۵ تا ۶۴/۵ در برابر ۵۷ تا ۵۵ میکرومتر) مشاهده گردید (شکل ۴، جدول ۲). این گونه اولین‌بار توسط روشن‌بخش و همکاران (Roshan-Bakhsh et al., 2014) از شهرستان رشت و فراریشه درخت زبان گنجشک (*Fraxinus excelsior* L) جداسازی و گزارش گردید. در این مطالعه نیز جمعیت مربوط به این گونه از فراریشه درخت بادام در شهرستان ایلخچی (N 37°55´37.5´´, E 45°51´59.1´´) در استان آذربایجان شرقی جمع‌آوری و تشخیص داده شد.

جدول ۲- داده‌های ریخت‌سنجی Xiphinema castilloi Roshan-Bakhsh, Pourjam, Pedram, Robbins & Decraemer, 2014 از استان آذربایجان شرقی: اندازه‌ها برحسب میکرومتر هستند (L برحسب میلی‌متر) و به‌صورت میانگین ± انحراف معیار (بازه حداقل و حداکثر) ارائه شده‌اند

Table 2- Morphometric data of *Xiphinema castilloi* Roshan-Bakhsh Pourjam, Pedram, Robbins & Decraemer, 2014 from East Azarbaijan province: All measurements are in µm (except L in mm) and in the form mean ± SD (range)

Characters	J1	J2	J3	J4	Females	Males
n	3	3	3	6	4	4
L	(1.1-1.2) 1.1 ± 0.07	(1.5-1.7) 1.6 ± 0.1	(2.1-2.3) 2.2 ± 0.06	(3.1-3.4) 3.3 ± 0.01	(4.0-4.8) 4.4 ± 0.05	(4.3-4.6) 4.5 ± 0.04
a	(52.0-60.5) 57.5 ± 0.6	(63.5-65.0) 64.2 ± 0.2	(74.5-79.5) 77.0 ± 1.1	(67.5-80.5) 74.0 ± 1.3	(84.0-86.5) 85.4 ± 0.5	(90-100) 93.3 ± 2.7
b	(3.0-4.5) 3.8 ± 0.4	(2.5-3.5) 3.1 ± 0.1	(5.5-6.0) 5.8 ± 0.1	(7.0-7.5) 7 ± 0.1	(7.5-8.5) 8.0 ± 0.1	(8.5-9.5) 8.8 ± 0.1
c	(23.5-24.5) 23.7 ± 0.08	(31.5-33.5) 32.6 ± 0.2	(46-51) 48.0 ± 1.8	(62.0-78.5) 71 ± 1.8	(84.0-111.5) 96.9 ± 2.8	(91.5-97.5) 94.8 ± 0.2
c´	(3.0-3.5) 3.2 ± 0.1	(2.5-2.6) 2.5 ± 0.1	(1.5-2.0) 1.72 ± 0.01	(1.1-1.6) 1.3 ± 0.1	1.0	(1.1-1.2) 1.13 ± 0.05
V	-	-	-	-	(46-51) 48.2 ± 2.0	-
Odontostyle	(58.0-59.5) 58.8 ± 0.1	(64.5-70.0) 67.0 ± 3.0	(86.0-90.5) 88.5 ± 0.5	(101.5-112.5) 109.5 ± 2.7	(120.5-154.0) 132.5 ± 6.2	(126-134) 130.0 ± 1.9
Odontophore	(39.0-42.5) 40.5 ± 0.2	(45.5-47.0) 46.0 ± 1.0	(53-58) 55.5 ± 0.2	(62.5-68.5) 65.0 ± 0.1	(70.5-78.0) 74.2 ± 0.2	(73.5-78.0) 74.5 ± 0.3
Replacement odontostyle	(71-75) 72.5 ± 2.0	(84.5-85.5) 85.0 ± 0.5	(106.5-111.0) 109.0 ± 0.5	(126.0-137.5) 131.5 ± 0.3	-	--
Oral aperture to guiding ring	(51-53) 52.0 ± 1.0	(59.5-64.5) 62.0 ± 0.9	(79.5-84.5) 82.2 ± 1.2	(86-110) 102.0 ± 3.7	(119-122) 120.7 ± 0.5	(122-131) 125.0 ± 2.3
Neck length	(200-272) 247 ± 20	(317-322) 320 ± 1.2	(365.5-394.0) 378 ± 4.5	(443.5-468.5) 458.0 ± 1.5	(480-666) 547 ± 50	(500-524) 510 ± 5.3
Body diam. at neck base	(20-21) 20.5 ± 0.01	(24.5-25.0) 24.7 ± 0.1	28	(37.5-43.0) 39.5 ± 0.5	(37.5-44.0) 40.6 ± 1.6	(39-43) 40.8 ± 2.0
Body diam. at mid body	(20.0-22.5) 20.5 ± 0.5	(24.5-27.0) 25.7 ± 0.8	(28-31) 29.0 ± 0.7	(36-500) 44.5 ± 2.5	(46.5-56.5) 51.5 ± 1.3	(46.5-50.0) 48.5 ± 1.5
Body diam. at anus	(14.5-15.5) 15.0 ± 0.1	(19-20) 19.5 ± 0.2	(25.0-26.5) 25.5 ± 0.1	(33.0-40.5) 36.0 ± 1.5	(35-47) 42.3 ± 2.5	(37.5-40.0) 38.8 ± 0.2
Tail length	(49-51) 50.0 ± 1.0	(50.0-50.5) 50.2 ± 0.2	(44-50) 47.0 ± 0.8	(44-50) 46.0 ± 0.7	(36.5-47.0) 43.0 ± 1.6	(45.0-51.5) 47.7 ± 1.2
Spicules	-	-	-	-	-	(62.5-65.5) 63.7 ± 0.6



شکل ٤- تصاویر میکروسکوپ نوری جمعیت ایلخچی از استان آذربایجان شرقی گونه *Xiphinema castilloi* Roshan-Bakhsh, Pourjam, Pedram, Robbins & Decraemer, 2014

Figure 4- Light microscope images of the Ilkhchi population of the species *Xiphinema castilloi* Roshan-Bakhsh, Pourjam, Pedram, Robbins & Decraemer, 2014 from East Azarbaijan province

A: بخش جلویی بدن ماده، B: بخش فراخ مری، C: کاردیا، D: واژن و شکاف تناسلی، E: تجمع اسپرم‌ها در لوله جنسی ماده، F: اندام‌های Z کاذب، G: بخش انتهایی بدن نر، H: دم ماده، I-L: دم مراحل لاروی سن یک تا چهار، به‌ترتیب. خطوط مقیاس در A-L: ۱۰ میکرومتر).

A: female anterior body region; B: expanded part of pharynx, C: cardia, D: vagina and vulva, E: accumulation of sperm in female genital branch, F: pseudo-Z-organs; G: male posterior body region, H: female posterior body region, I-L: tail of juveniles from J1-J4, respectively. Scale bars: A-L: 10 µm,

مطالعه مولکولی

در مطالعه مولکولی، یک توالی نوکلئوتیدی (MK957243) از ناحیه LSU D2-D3 rDNA برای این جمعیت به دست آمد. از مقایسه دوتایی این توالی با توالی جمعیت اصلی موجود در بانک ژن (KF446655) مشخص شد که این دو توالی به تعداد هشت نوکلئوتید با هم تفاوت دارند. دو توالی ذکرشده، در درخت تبارزایی (شکل ۲) در یک کلاد قرار دارند. در بین جمعیت‌های برخی گونه‌های دیگر هم، چنین اختلاف نوکلئوتیدی مشاهده می‌شود مثلاً اختلاف نوکلئوتیدی دو جمعیت از *X. setariae* (MF510428 و MF510429) و دو جمعیت از *X. hunariense* (EF188841 و EF188839) به‌ترتیب شش و هفت نوکلئوتید است (Ghaemi et al., 2012; Ruihang et al., 2018).

جمعیت‌های استان آذربایجان شرقی *Xiphinema index* Thorne & Allen, 1950

جمعیت‌های به‌دست‌آمده در این مطالعه با استفاده از کلیدها و منابع ارائه‌شده توسط هینز و کومنس (Heyns & Coomans, 1983)، لوف و لوک (Loof & Luc, 1990)، بارسی و لامبرتی (Barsi & Lamberti, 2000)، تزورتزاکاکیس و همکاران (Tzortzakakis et al., 2001) و گوتیرز-گوتیرز و همکاران (Gutiérrez-Gutiérrez et al., 2011) شناسایی شدند و ویژگی‌های آن‌ها در مقایسه با ویژگی‌های ذکرشده در برخی منابع (Thorne & Alen, 1950; Mojtahedi et al., 1980) مطابقت نشان داد. کدهای الفبایی-عددی جمعیت‌های مورد مطالعه براساس کلید شناسایی چندگانه گونه‌های گروه غیرامریکانوم جنس *Xiphinema* ارائه‌شده توسط لوف و لوک (Loof & Luc, 1990) عبارتند از: A4، B4، C5a6a، D56، E34، F34، G23، H2، I3، J4، k2 و L2. این گونه اولین‌بار توسط تورن و آلن (Thorne & Alen, 1950) از فراریشه درخت انجیر (*Ficus carica*) از آمریکا گزارش شد و در ایران نیز اولین‌بار توسط مجتهدی و همکاران (Mojtahedi et al., 1980) از زمین‌های کشاورزی و جنگل‌های طبیعی شناسایی و گزارش گردید. این گونه در بررسی کنونی در میان سایر گونه‌های جنس *Xiphinema* از پراکنش بالایی برخوردار بوده، از مناطق شللو (N 37°55′36.4″, E 45°56′51.1″)، ینگجه (N 37°43′10.4″, E 46° 01′45.3″)، خسروشاه (N 37°57′18.4″, E 46°03′35″)، کردلر (N 37°57′31.7″, E 46°00′31.8″)، اسکو (N 37°55′10.6″, E 46°06′02.8″)، فیروزسالار (N 37°47′39.4″, E 45°56′06.7″)، گوگان (N 37°47′42.7″, E 45°57′34.9″)، دستجرد (N 37°45′13.0″, E 45°52′45.5″)، گواهیر (N 37°42′56.1″, E 46°02′45.5″)، گمیچی (N 37°46′02.0″, E 45°29′49.0″)، سرای (N 37°51′13.0″, E 45°32′58.0″)، جراغیل (N 37°44′03.1″, E 46°07′09.4″)، ینگجه (N 37°44′04.3″, E 46°00′02.3″) و بایرام (N 37°56′10.9″, E 46°04′32.1″) و از میزبان‌های گردو، سنجد (*Elaeagnus angustifolia* L)، بادام، انگور (*Vitis vinifera L*)، زردآلو، سپیدار (*Populus alba* L)، گلابی (*Pyrus communed* L)، آلو (*Prunus domestica* L) و سرو (*Cupressus sempervirens* L) جمع‌آوری و مورد شناسایی قرار گرفت.

در جمعیت‌های برخی مناطق (از جمله شللو، خسروشاه و کردلر) در قسمت‌های مختلف لوله تولیدمثلی افراد ماده اسپرم دیده شد. وجود اسپرم در اطراف شکاف تناسلی در داخل بدن و نقاط مختلف رحم، نشان‌دهنده ورود احتمالی اسپرم‌ها از بیرون به درون بدن ماده است. مطالعه انجام‌شده توسط میکروسکوپ نوری نشان داد که شکل اسپرم‌های بدن ماده مشابه اسپرم‌های موجود در بدن افراد نر است. لوک و کوهن (Luc & Cohn, 1982)، وجود اسپرماتوزوئیدهای غیرمجتمع در تعداد بسیار کمی از افراد ماده در گونه *X. index* را دلیل تولیدمثل به‌روش جنسی دانسته‌اند، ولی به شرح ویژگی‌های افراد نر در جمعیت‌هایی با ماده‌های دارای اسپرم در لوله جنسی پرداخته نشده و یا به وجود اسپرم در بدن نر اشاره نکرده‌اند. درحالی‌که در این مطالعه، تجمعی از اسپرم‌ها در داخل لوله تناسلی در افراد ماده مشاهده شد (شکل‌های ۵ و ۶، جدول ۳). همچنین گوتیرز-گوتیرز و همکاران (Gutiérrez-Gutiérrez et al., 2011)، کمیاب بودن افراد نر را دلیلی بر تولیدمثل به طریق بکرزایی در این گونه دانسته‌اند. در مطالعه انجام‌شده توسط وظیفه و همکاران (Vavifeh et al., 2019)، افراد نر مشاهده نشد، درحالی‌که در برخی افراد ماده تعدادی اسپرم در قسمت تخم‌انداز (ovejector) و *pars dilatata uterus* مجرای عبور تخمک ملاحظه گردید. در مقایسه ویژگی‌های جمعیت مورد مطالعه در این پژوهش از منطقه شللو با این جمعیت، تفاوت جزئی در شاخص V (۳۸ تا ۴۲ در برابر ۳۶ تا ۳۸) و طول دم (۳۱ تا ۳۹ در برابر ۳۶ تا ۴۱ میکرومتر) ملاحظه گردید. در *X. index* تولیدمثل به‌روش بکرزایی معمول بوده و در این روش یک لارو منفرد قادر به تولید یک جمعیت است (Dalmasso & Younes, 1969). تولیدمثل جنسی نیز در این گونه اگرچه یک پدیده نادر است، ولی مشاهده شده است (Villate et al., 2010). این نوع تولیدمثل سبب افزایش تنوع ژنتیکی از طریق نوترکیبی جنسی می‌گردد (Van Zyl et al., 2016)، همچنین باعث افزایش سرعت سازگاری با محیط و شرایط جدید می‌شود (Thomas *et al*., 2012).

مطالعه مولکولی

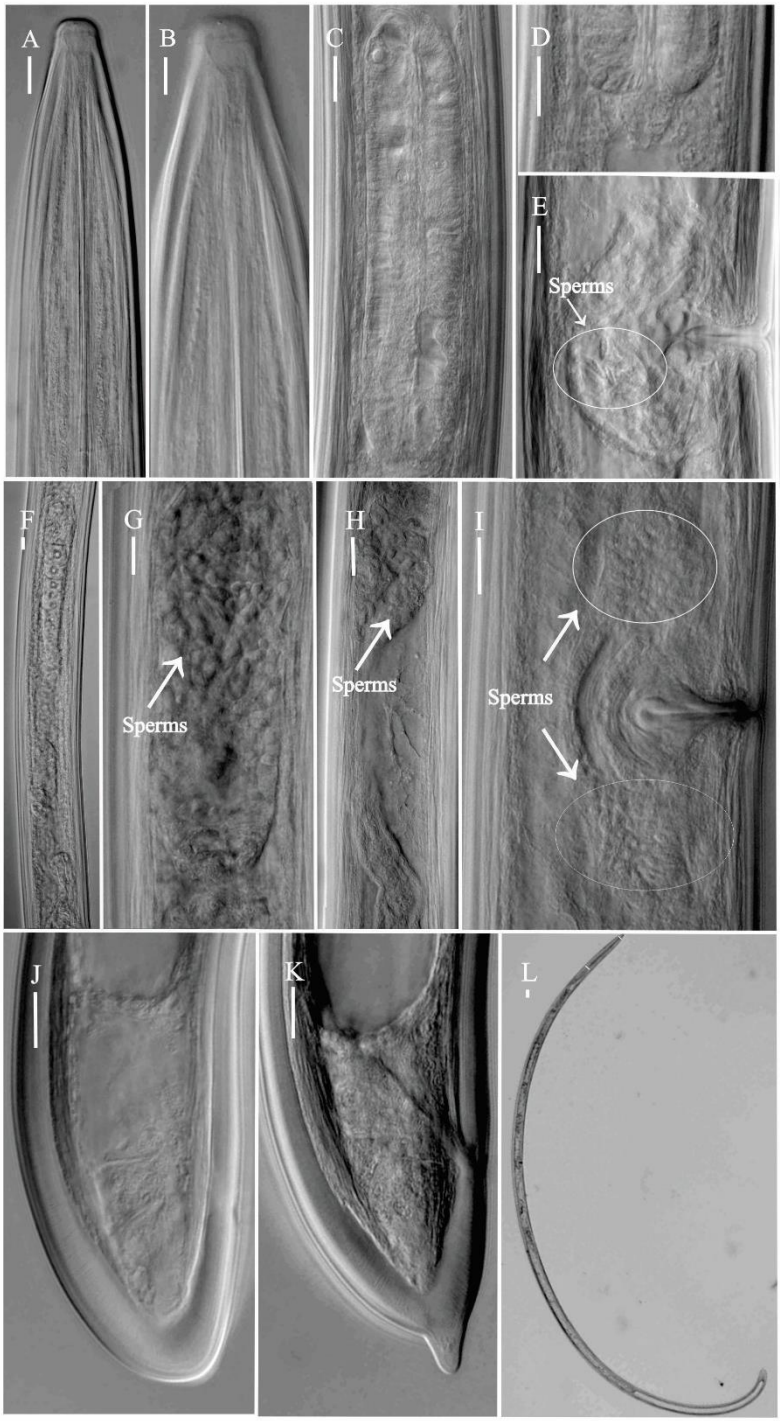
توالی‌های نوکلئوتیدی با کدهای دسترسی MK957233 و

MK957236(جمعیت‌های خسروشاه و شللو) برای ناحیه ژنی D2-D3 و کد MK920408 متعلق به ناحیه ITS1 جمعیت شللو برای افراد ماده با لوله جنسی حاوی اسپرم به دست آمد. دو توالی D2-D3 فاقد اختلاف نوکلئوتیدی با یکدیگر هستند و با سایر توالی‌های ناحیه D2-D3این گونه در بانک ژن اختلاف چهار نوکلئوتیدی نشان دادند. توالی جدید ناحیه ITS1 در مقایسه با توالی‌های موجود در بانک ژن، تعداد هفت جفت باز (۹۹ درصد همسانی) داشتند. مقایسه دوتایی دو توالی موجود در بانک ژن از گونه *X. elongatum* (KF430803 و KF430802) نیز نتیجه مشابهی داشته و تفاوت شش نوکلئوتید را نشان داد (Ruihang et al., 2018).

جدول ۳- داده‌های ریخت‌سنجی به‌ترتیب جمعیت شللو و سردرود برای Xiphinema index Thorne & Allen, 1950 و Xiphinema vuittenezi Luc, Lima, Weischer & Flegg, 1964 از استان آذربایجان شرقی: اندازه‌ها برحسب میکرومتر هستند (L برحسب میلی‌متر) و به‌صورت میانگین ± انحراف معیار (بازه حداقل و حداکثر) ارائه شده‌اند

Table 3- Morphometric data for populations of Shellalu and Sardrud, respectively, for *Xiphinema index* Thorne & Allen, 1950 and *Xiphinema vuittenezi* Luc, Lima, Weischer & Flegg, 1964, 1964 from East Azarbaijan province. All measurements are in µm (except L in mm) and in the form mean ± SD

Characters	Xiphinema index		Xiphinema vuittenezi	
	Female	Male	Female	Male
	n= 6	n= 6	n= 6	n= 3
L	2.8–3.1 3 ± 0.01	2.8–3 2.9 ± 0.05	3.0–3.6 3.3 ± 0.2	3.1–2.9 3.1 ± 0.1
a	56.5–62.0 59.5 ± 0.2	55.5–60.0 57.4 ± 0.3	51.5–56.0 53.3 ± 1.2	55–50 52 ± 0.2
b	6.5–7.0 6.7 ± 0. 1	6.0–8.5 7.7 ± 0.3	6.5–7.5 6.9 ± 0.4	7.0–6.5 6.7 ± 0.1
c	74–98 84.8 ± 1.6	63.5–73.0 67 ± 2.3	74.5–100.0 83 ± 2.5	84.0–78.5 80.5 ± 0.5
c´	0.9–1.0 0.95 ± 0.01	0.9–1.0 0.9 ± 0.01	0.8–1.0 0.9 ± 0.02	0.7- 1.0 0.8 ± 0.1
V	38–42 38.4 ± 0.1	–	46–49 47.5 ± 0.1	–
Odontostyle	120–132 126.8 ± 0.2	121–134 128.5 ± 2.4	112–130 121.5 ± 1.6	118–125 120 ± 2.8
Odontophore	72–84 74.6 ± 2.4	60–72 68 ± 2.8	75–78 76.5 ± 0.8	74 -76 75 ± 1.3
Guiding ring from ant. end	115–134 125.5 ± 1.6	100–115 109 ± 2.9	115–122 118 ± 1.7	113 – 117 115 ± 1.2
Neck length	444–476 456 ± 2.2	349–462 391 ± 22	456–507 475 ± 21	420–460 440 ± 15.6
Pharyngeal expansion	112–125 117.7 ± 1.8	109–117 113.5 ± 0.7	112–131 123±2.6	110–122 118 ± 2.1
Body diam. at neck base	37.2–47 43.7 ± 1.8	45–47 46.7 ± 0.01	50–59 55 ± 1.3	45– 51 48 ± 2.6
Body diam.at mid body	47.0–56.5 52 ± 1.2	45.5–54.5 52 ± 0.8	59.0–65.5 61.5 ± 1.2	57–59 58 ±1.2
Body diam.at anus	34.5–39.0 37.2 ± 2	43–44 43.5 ± 0.6	39.0–42.5 41 ± 0.2	35–37 36.0 ± 0.4
Tail length	31.5–39.0 36.5 ± 1.8	41–47.5 43.5 ± 1.3	34–42 39.5 ± 0.9	36–38 37.3 ± 0.2
Spicules	–	62.5–67.0 65 ± 0.6	–	56–59 57 ± 1.1

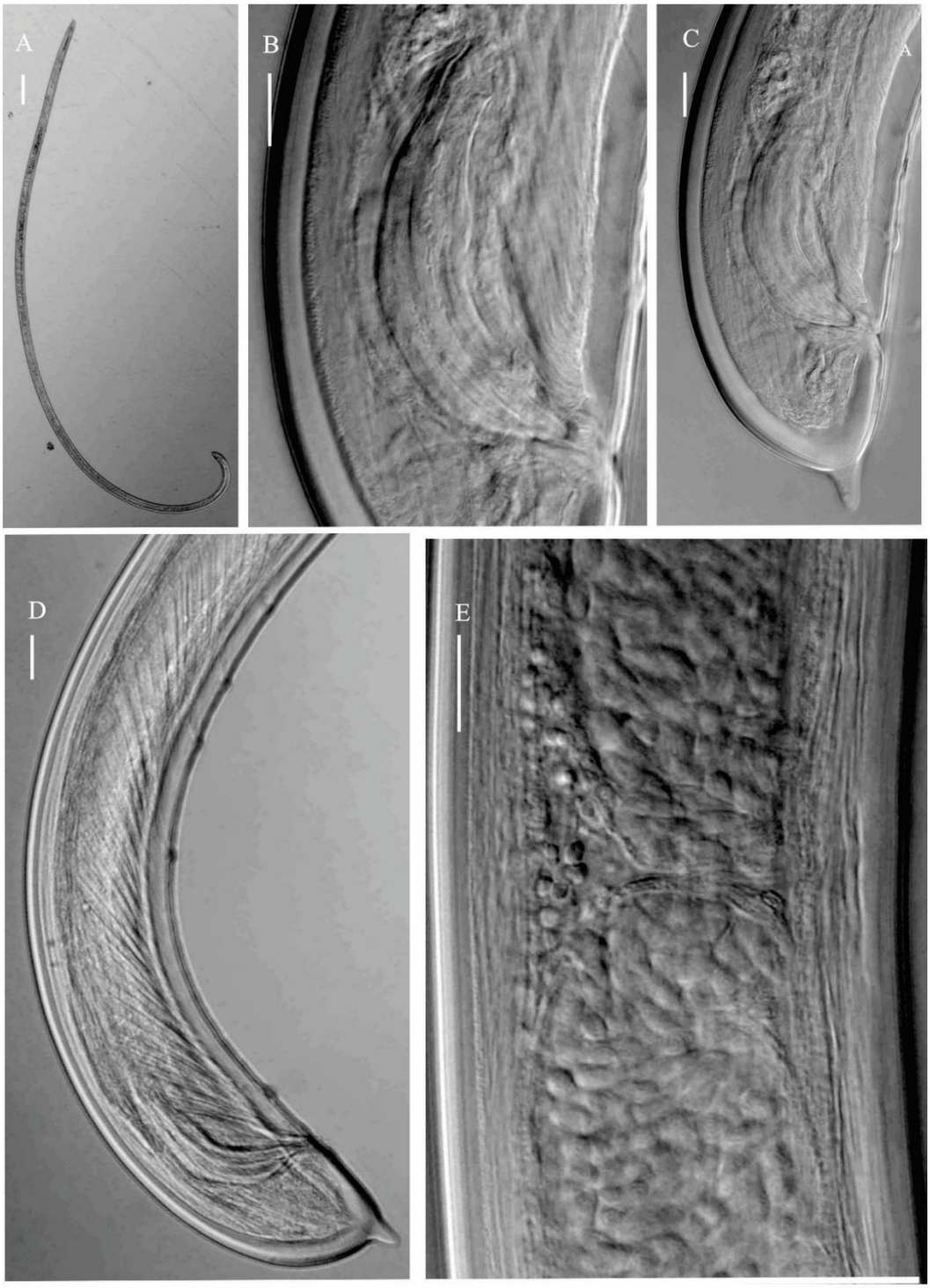


شکل ۵- تصاویر میکروسکوپ نوری جمعیت شللو گونه Xiphinema index Thorne & Allen, 1950 از استان آذربایجان شرقی

Figure 5- Light microscope images of the Shellalu population of the species *Xiphinema index* Thorne & Allen, 1950 from East Azarbaijan province

A و B: بخش جلویی بدن ماده، C: بخش فراخ مری، D: کاردیا، E: واژن و تجمع اسپرم، F: لوله جنسی جلویی، G-I: تجمع اسپرم‌ها در لوله جنسی، J و K: بخش انتهایی بدن، L: نمای کلی بدن ماده. خطوط مقیاس در A-K: ۱۰ میکرومتر و در L: ۶۲ میکرومتر.

A & B: female anterior body region, C: expanded part of pharynx, D: cardia, E: vagina and sperm accumulation in ovejector, F: female anterior genital branch, G-I: accumulation of sperm in female genital branch, J & K: posterior body region, L: female entire body. Scale bars: A-K: 10 µm, L: 100 µm.

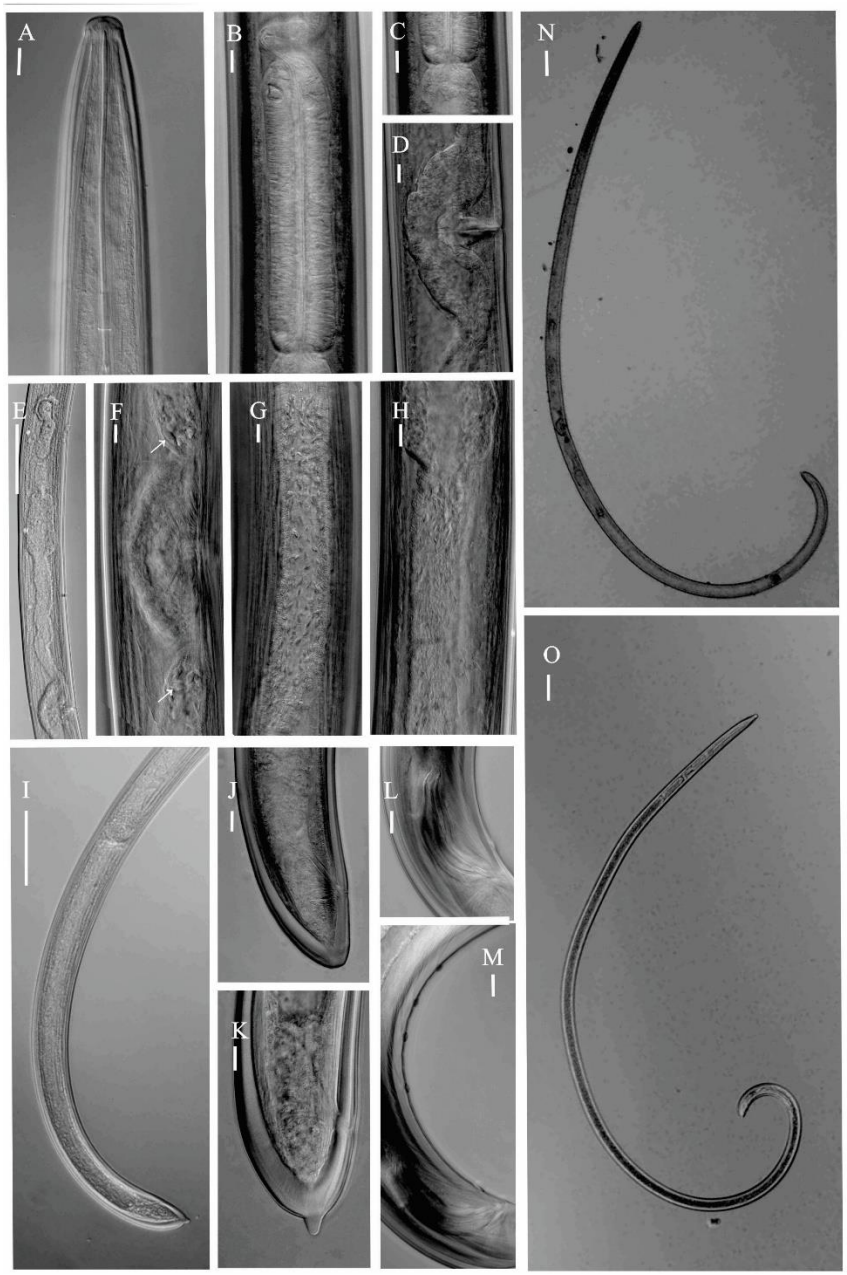


شکل ٦- تصاویر میکروسکوپ نوری جمعیت شللو گونه Xiphinema index Thorne & Allen, 1950 از استان آذربایجان شرقی

Figure 6- Light microscope images of the Shellalu population of East Azarbaijan province of the species *Xiphinema index* Thorne & Allen, 1950

نمای کلی بدن نر، B-D: آلت نرینه و بخش انتهای بدن نر، E: تجمع اسپرم در لوله جنسی نر. خطوط مقیاس در B-E: ۱۰ میکرومتر و در A: ۱۰۰ میکرومتر

A: male entire body, B-D: spicules and male posterior body region, E: accumulation of sperm in male genital branch. Scale bars: B-E: 10 µm, A: 100 µm.



شکل ۷- تصاویر میکروسکوپ نوری جمعیت سردرود گونه *Xiphinema vuittenezi* Luc, Lima, Weischer & Flegg,1964 از استان آذربایجان شرقی

Figure 7- Light microscope images of the Sardrud population of East Azarbaijan province population of the species *Xiphinema vuittenezi* Luc, Lima, Weischer & Flegg, 1964

A: بخش جلویی بدن ماده، B: بخش فراخ مری،C: کاردیا، D: واژن و شکاف تناسلی، E: لوله‌های جنسی ماده، F: ضمائم کریستالی ابتدای لوله تولیدمثلی، G و H: کریستال‌ها در بخش لوله‌ای رحم، I-K: بخش انتهایی بدن ماده، L: آلت نرینه، M: پاپیل‌های جنسی در نر، N: نمای کلی بدن ماده، O: نمای کلی بدن نر. مقیاس در A-D، F- H و J-M: ۱۰ میکرومتر و در E، I، N و O: ۱۰۰ میکرومتر).

A: female anterior body region, B: expanded part of pharynx, C: cardia, D: vagina and vulva, E: female genital branches, F: crystalloids at beginning of genital branches, G & H: crystalloids in tubular part of uterus, I-K: female posterior end, L: spicule, M: Male supplements, N: female entire body, O: male entire body. Scale bars: A-D, F-H and J-M: 10 µm, E, I, N and O: 100 µm.

جمعیت‌های استان آذربایجان شرقی *Xiphinema vuittenezi* Luc, Lima, Weischer & Flegg, 1964

این جمعیت با استفاده از کلیدها و منابع ارائه‌شده توسط شیژوف و همکاران (Chizhov et al., 1986)، روکا و لامبرتی (Roca & Lamberti, 1988)، لوف و لوک (Loof & Luc, 1990) و بارسی و لامبرتی (Barsi & Lamberti, 2000) به‌عنوان گونه *X. vuittenezi* تشخیص داده شد. ویژگی‌های این جمعیت در مقایسه با ویژگی‌های ذکرشده در منابع کاملاً مطابقت دارد. کلدهای الفبایی-عددی جمعیت‌های مورد مطالعه براساس کلید شناسایی چندگانه گونه‌های گروه غیرامریکانوم جنس *Xiphinema* ارائه‌شده توسط لوف و لوک (Loof & Luc, 1990) عبارت‌اند از: A4، B3، C5a6، D56، E56، F34، G23، H2، I3، J?، K? و L2.

یکی از ویژگی‌های این گونه وجود کریستال‌ها (تزئینات خارمانند) پراکنده در سراسر بخش لوله‌ای رحم است که در ابتدا و انتهای این بخش متراکم‌تر هستند. در این مطالعه نیز اجسام کریستالی در ابتدا و گاهی در هر دو انتهای لوله رحم مشاهده گردید (شکل ۷، جدول ۳). این گونه اولین‌بار توسط لوک و همکاران (Luc et al., 1964)، از فراریشه انگور، چغندرقند (*Beta vulgaris* L)، بلوط (*Quercus brantii* Lindl)، زردآلو، انگورفرنگی (*Ribes rubrum* L)، کاج (*Pinus pinea* L) و سیب (*Malus domestica* (Suckow) Borkh) و از کشورهای فرانسه، پرتغال، آلمان و انگلستان گزارش شد. در این بررسی، این گونه از مناطق شللو (N 37°55′36.1″, E 45°56′54.0″)، سردرود (N 37°01′32.5″, E 46°07′18.0″)، ینجی‌کند (N 37°59′54.8″, E 46°55′19.5″)، اسکو (N 37°02′23.7″, E 46°06′01.5″)، کجاآباد (N 37°55′11.9″, E 46°08′00.0″)، شیخ حسن (N 37°01′32.6″, E 46°06′23.2″)، باران‌لو (N 37°59′23.9″, E 46°02′41.4″)، خاص‌لو (N 37°56′21.1″, E 45°56′46.9″)، ایلخچی (N 37°55′16.2″, E 45°57′35.9″)، باغ مرکز تحقیقات باغبانی جهاد کشاورزی استان آذربایجان شرقی (N 37°55′33.5″, E 45°57′22.5″) و دیزج (N 37°56′24.9″, E 46°03′24.0″) و از فراریشه میزبان‌های بادام، پسته (*Pistacia vera* L)، سنجد، سیب، آلو، زردآلو، سنجد، انگور، چنار (*Platanus orientalis* L)، هلو (*Prunus persica* (L.) Batsch)، گردو، سنجد، سیب، سرو و سپیدار جداسازی و شناسایی شد.

مطالعه مولکولی

در این مطالعه، دو فرد ماده از دو جمعیت با کریستال‌های واضح و ناواضح در بخش لوله‌ای رحم مورد بررسی قرار گرفت. توالی MK957239 مربوط به افراد با لوله جنسی با اجسام کریستالی ناواضح در نمونه‌های تثبیت‌شده و توالی MK957234 مربوط به ناحیه D2-D3 و توالی MK309917 مربوط به ناحیه ITS مربوط به جمعیت اخیر در بانک ژن به ثبت رسیدند.

مقایسه دوتایی دو توالی MK957239 و MK957234 تفاوتی نشان نداد و آن‌ها کاملاً همسان بودند. همچنین توالی MK309917 در مقایسه با توالی‌های این گونه در بانک ژن، با هفت نوکلئوتید اختلاف، ۹۹ درصد همسانی داشت و این دو توالی در درخت تبارزایی با بالاترین احتمال در یک کلاد قرار گرفتند (شکل ۳). مقایسه توالی‌های گونه *X. hunaniense* (EF188841 و EF188839) که قبلاً در بانک ژن به ثبت رسیده‌اند نیز نتیجه مشابه و اختلاف به تعداد هفت نوکلئوتید را نشان داد (Ruihang et al., 2018).

نتیجه‌گیری

در این مطالعه با استفاده از ویژگی‌های ریخت‌سنجی، ریخت‌شناختی و مولکولی، چهار گونه *X. aceri*، *X. castilloi*، *X. index* و *X. vuittenezi* شناسایی شده، ماهیت آن‌ها تأیید گردید. در این بین، *X. index* گونه غالب بود و در این مطالعه مجدداً امکان تولیدمثل جنسی در گونه *X. index* با توجه به داده‌های ریخت‌شناختی و مولکولی مشاهده شد. همچنین نشان داده شد که در گونه *X. vuittenezi* دو فرد ماده از دو جمعیت با کریستال‌های واضح و ناواضح پس از تثبیت نمونه‌ها، در بخش لوله‌ای رحم تفاوتی از لحاظ ویژگی‌های مولکولی و سایر مشخصات ریخت‌شناختی و ریخت‌سنجی نداشتند و ماهیت آن‌ها یکسان بود.

References

1. Archidona-Yuste, A., Navas-Cortés, J. A., Cantalapiedra-Navarrete, C., Palomares-Rius, J. E., & Castillo, P. (2016). Cryptic diversity and species delimitation in the *Xiphinema americanum*-group complex (Nematoda: Longidoridae) as inferred from morphometric and molecular markers. *Zoological Journal of the Linnean Society, 176*, 231-265. https://doi.org/10.1111/zoj.12316
2. Arias, M., Escuer, M., Arcos, S. C., & Bello, A. (2005). Distribution of *Xiphinema pyrenaicum* Dalmasso, 1969 with notes on *X. aceri* Chizhov, Tiev & Turkina, 1986 (Nematoda: Longidoridae). *Nematology*, *7*(1), 45-51. https://doi.org /10.1163/1568541054192144

3. Barsi, L., & Lamberti, F. (2000). Morphometric variation and juvenile stages of *Xiphinema vuittenezi* (Nematoda: Dorylaimida) in Serbia. *Nematologia Mediterranea, 28*, 3-12.
4. Bazgir, E., Naghavi, A., & Zolfaghari, Z. (2020). Three species of *Xiphinema americanum*-group complex (Nematoda: Longidoridae), from Lorestan province, Iran. *Helminthologia, 57*(4), 394-401. https://doi.org/10.2478/helm-2020-0036
5. Brown, D. J. F., & Boag, B. (1988). An examination of methods used to extract virus-vector nematodes (Nematoda: Longidoridae and Trichodoridae) from soil samples. *Nematologia Mediterranea, 16*, 93-99.
6. Cherry, T., Szalanski, A. L., Todd, T. C., & Powers, T. O. (1997). The internal transcribed spacer region of *Belonolaimus* (Nemata: Belonolaimidae). *Journal of Nematology, 29*, 23–29.
7. Chizhov, V. N., Tiev, R. A., & Turkina, A. Y. (1986). Two new nematode species of the genus *Xiphinema* (Nematoda, Longidoridae) from northern Caucasus. *Zoologicheskii Zhurnal, 65*, 932-935.
8. Dalmasso, A., & Younes, T. (1969). Ovogenese et embryogenese chez *Xiphinema index* (Nematoda: Dorylaimida). *Annales de Zoologie et Ecologie Animale, 1*, 265–279.
9. De Grisse, A. T. (1969). Redescription ou modification de quelqutes techniques utilissisedans L; etude des Nematode phytoparasutaires. *Meded, Rijksfaculteti der Landbouveten, Gent, 34*, 351-369.
10. Fadakar, S., Pourjam, E., Barsi, L., & Pedram, M. (2021). A new species of the genus *Xiphinema* Cobb 1913 (Nematoda: Longidoridae) from north and northwest Iran. *European Journal of Plant Pathology, 160*, 557-574. https://doi.org /10.1007/s10658-021-02264-1
11. Fouladvand, Z. M., Pourjam, E., Castillo, P., & Pedram, M. (2019). Genetic diversity, and description of a new dagger nematode, *Xiphinema afratakhtehnsis* sp. nov., (Dorylaimida: Longidoridae) in natural forests of southeastern Gorgan, northern Iran. *Plos One, 14*(5), e0214147. https://doi.org /10.1371/journal.pone.0214147
12. Ghaemi, R., Pourjam, E., Pedram, M., Robbins, R. T., Ye, W., & Decraemer, W. (2012). Morphological and molecular characterisation of *Xiphinema zagrosense* sp. n.(Dorylaimida: Longidoridae) from the Zagros Mountains, Iran. *Nematology, 14*(4), 445-455. https://doi.org /10.1163/156854111X612171
13. Gutiérrez-Gutiérrez, C., Palomares Rius, J. E., Cantalapiedra-Navarrete, C., Landa, B. B. & Castillo, P. (2011). Prevalence, polyphasic identification, and molecular phylogeny of dagger and needle nematodes infesting vineyards in southern Spain. *European Journal of Plant Pathology, 129*(3), 427-453. https://doi.org/10.1007/s10658-010-9705-y
14. Gutiérrez-Gutiérrez, C., Cantalapiedra-Navarrete, C., Montes-Borrego, M., Palomares-Rius, J. E., & Castillo, P. (2013). Molecular phylogeny of the nematode genus *Longidorus* (Nematoda: Longidoridae) with description of three new species. *Zoological Journal of the Linnean Society, 167*(4), 473-500. https://doi.org/10.1111/zoj.12019
15. Heyns, J., & Coomans, A. (1983). Three *Xiphinema* species from Papua New Guinea and the Solomon Islands (Nematoda: Longidoridae). *Nematologica, 29*(1), 1-10. https://doi.org/10.1163/187529283x00131
16. Jabbari, H., Niknam, G., Fallahi, A., Zahedi, E., & Nikdel, M. (2019). Report of six dorylaim nematodes from Arasbaran forests. *Journal of Plant Protection, 33*(2), 143-157. (In Persian). https://doi.org/10.22067/jpp.v33i2.76301
17. Jahanshahi Afshar, F., Shahryari, F., Gharibzadeh, F., Pourjam, E., & Pedram, M. (2019). Description of *Xiphinema azarbaijanense* n. sp. (Nematoda; Longidoridae) from West Azarbaijan province, northwestern Iran. *European Journal of Plant Pathology, 155*(2), 417-434. https://doi.org/10.1007/s10658-019-01776-1
18. Jones, J. T., Haegeman, A., Danchin, E. G., Gaur, H. S., Helder, J., Jones, M. G., Kikuchi, T., Manzanilla-López, R., Palomares-Rius, J. E., Wesemael, W. M., & Perry, R. N. (2013). Top 10 plant-parasitic nematodes in molecular plant pathology. *Molecular Plant Pathology, 14*(9), 946-961. https://doi.org/10.1111/mpp.12057
19. Loof, P. A. A., & Luc, M. (1990). A revised polytomous key for the identification of species of the genus *Xiphinema* Cobb, 1913 (Nematoda: Longidoridae) with exclusion of the *X. americanum*-group. *Systematic Parasitology, 16*, 36-66. https://doi.org/10.1007/BF00009717
20. Luc, M., & Cohn, E. (1982). The male of *Xiphinema index* Thorne & Allen, 1950 (Nematoda: Longidoridae). *Revue de Nématologie, 5*(2), 211–215.
21. Luc, M., Lima, M. B., Weischer, B., & Flegg, J. J. M. (1964). *Xiphinema vuittenezi* n. sp. (Nematoda: Dorylaimidae). *Nematologica, 10*(1), 151-163.
22. Mobasseri, M., Hutchinson, M. C., Afshar, F. J., & Pedram, M. (2019). New evidence of nematode-endosymbiont bacteria coevolution based on one new and one known dagger nematode species of *Xiphinema americanum*-group (Nematoda, Longidoridae). *Plos One. 14*(6), e0217506. https://doi.org/10.1371/journal.pone.0217506
23. Mojtahedi, H., Sturhan, D., Akhiani, A., & Barooti, S. (1980). *Xiphinema* species in Iranian vineyards. *Nematologia Mediterranea, 8*, 165-170.
24. Naghavi, A. (2018). Species diversity of Longidoridae Thorne, 1935 and Aporcelaimidae Heyns, 1965 in soils of western region of East Azarbaijan province based on morphological and molecular characteristics. Ph.D. Dissertation in Plant Pathology, University of Tabriz, Tabriz, Iran, 271 pp. (In Persian)
25. Naghavi, A., Niknam, G., & Vazifeh, N. (2022). A new species of *Xiphinema americanum* group (Nematoda: Longidoridae) from Iran, with additional data on three known species. *Systematic Parasitology, 99*, 545-555.

https://doi.org/10.1007/s11230-022-10044-6
26. Nunn, G. B. (1992). Nematode molecular evolution. Ph.D. Dissertation, University of Nottingham, Nottingham, UK.
27. Nylander, J. A. A. (2004). MrModeltest v2. Program distributed by the author. Uppsala University, Sweden, Evolutionary Biology Centre.
28. Pedram, M. (2007). Study on the biodiversity of species of two genera *Longidorus* Mikoletzky, 1922 and *Xiphinema* Cobb, 1913 in eastern Azarbaijan. M. Sc. Thesis in Plant Pathology, University of Tabriz, Tabriz, Iran, 122 pp. (In Persian)
29. Pedram, M., Niknam, G., Robins, R. T., Ye, W., & Karegar, A. (2009a). New report of five *Xiphinema* Cobb, 1913 species in Iran based on morphological and molecular characters. Proceedings of 18th Iranian Plant Protection Congress, Volume II, Plant Disease, (p. 588). Hamedan, Iran. (In Persian)
30. Pedram, M., Niknam, G., Robins, R. T., Ye, W., & Karegar, A. (2009b). *Xiphinema iranicum* n. sp. (Nematoda: Longidoridae) from north-western Iran. *Nematology*, *11*(1), 11-21. https://doi.org /10.1163/156854108X398363
31. Pedram, M. (2014). Taxonomic study of two nematode families, Nordiidae and Longidoridae in northern Iran. Ph.D. Dissertation in Plant Pathology, University of Tarbiat Modares, Tehran, Iran, 314 pp. (In Persian)
32. Roca, F., & Lamberti, F. (1988). *Xiphinema aequum* sp. n. (Nematoda: Dorylaimida) from Italy, with description of the male of *Longidorus eridanicus*. *Nematologia Mediterranea*, *16*(1), 87-91.
33. Roshan-Bakhsh, A., Pourjam, E., Pedram, M., Robbins, R. T., & Decraemer, W. (2014). Description of *Xiphinema castilloi* sp n. (Dorylaimida: Longidoridae) from Iran and its phylogenetic relationships. *Nematology*, *16*(3), 359-368. https://doi.org /10.1163/15685411-00002770
34. Ruihang, C. A. I., Maria, M., Barsalote, E. M., Subbotin, S. A., & Zheng, J. (2018). Description of *Xiphinema hangzhouense* sp. n. (Nematoda: Longidoridae) from the rhizosphere of Magnolia grandiflora in Hangzhou, Zhejiang province, China. *Nematology*, *20*, 67-80. https://doi.org/10.1163/15685411-00003125
35. Tamura, K., Stecher, G., Peterson, D., Filipski, A., & Kumar, S. (2013). MEGA6: Molecular evolutionary genetics analysis version 6.0. *Molecular Biology and Evolution, 30:* 2725-2729. https://doi.org/10.1093/molbev/mst197
36. Thomas, C. G., Woodruff, G. C., & Haag E. S. (2012). Causes and consequences of the evolution of reproductive mode in *Caenorhabditis* nematodes. *Tends in Genetics*, *28*(5), 213–20. https://doi.org/10.1016/j.tig.2012.02.007
37. Thorne, G., & Allen, W. (1950). *Paratylenchus hamatus* n. sp. and *Xiphinema index* n. sp., two nematodes associated with fig roots, with a note on *Paratylenchus anceps* Cobb. *Helminthological Society of Washington*, *17*, 27–35.
38. Tzortzakakis, E. A., Peneva, V., Terzakis, M., Neilson, R., & Brown, D. J. F. (2001). *Longidorus cretensis* n. sp. (Nematoda: Longidoridae) from a vineyard infected with a foliar yellow mosaic on Crete, Greece. *Systematic Parasitology*, *48*(2), 131-139. https://doi.org/10.1023/A:1006436718672
39. Van Zyl, S., Vivier, M., & Walker, M. (2016). *Xiphinema index* and its relationship to grapevines: A review. *South African Journal of Enology and Viticulture*, *33*, 21–32. https://doi.org/10.21548/33-1-1302
40. Vazifeh, N. (2017). Identification of nematode fauna in soils of Roodghat area of Sufiyan, East Azarbaijan province, Iran. M. Sc. Thesis in Plant Pathology, University of Tabriz, Tabriz, Iran, 226 pp. (In Persian)
41. Vazifeh, N., Niknam, G., Jabbari, J., & Naghavi, A. (2019). Description of a new dagger nematode, *Xiphinema barooghii* n. sp. (Nematoda: Longidoridae) and additional data on the three known species of the genus from northwest of Iran. *Journal of Nematology*, *51*, 1-17. https://doi.org/10.21307/jofnem-2019-007
42. Villate, L., Esmenjaud, D., Van Helden, M., Stoeckel, S., & Plantard, O. (2010). Genetic signature of amphimixis allows for the detection and fine scale localization of sexual reproduction events in a mainly parthenogenetic nematode. *Molecular Ecology*, *19*(5), 856–873. https://doi.org/10.1111/j.1365-294X.2009.04511.x
43. Vrain, T. C., Wakarchuk, D. A., Levesque, A. C., & Hamilton, R. I. (1992). Intraspecific rDNA restriction fragment length polymorphism in the *Xiphinema americanum* group. *Fundamental and Applied Nematology, 15*, 563–573.