

اعتمدت لجنة المعايير بالنيابة عن هيئة تدابير الصحة النباتية بروتوكول التشخيص هذا في يناير/كانون الثاني 2016.

هذا الملحق جزء مُلزم من المعيار الدولي لتدابير الصحة النباتية رقم 27.

-المعيار الدولي لتدابير الصحة النباتية رقم 27 بروتوكولات تشخيص الآفات الخاضعة للوائح

بروتوكول التشخيص 11: *Xiphinema americanum sensu lato*

اعتمد في 2016؛ نُشر في 2018

المحتويات

1- معلومات حول الآفة.....	2
2- معلومات تصنيفية.....	3
3- الكشف.....	3
4- تحديد الهوية.....	4
1-4 إعداد المواد.....	4
1-1-4 المستحضرات المجهرية المؤقتة.....	5
2-1-4 المستحضرات المجهرية الدائمة.....	6
2-4 تعريف جنس <i>Xiphinema</i>	7
3-4 تحديد هوية <i>Xiphinema americanum sensu lato</i>	7
4-4 تحديد هوية الأنواع ضمن <i>Xiphinema americanum sensu lato</i>	8
1-4-4 رموز مفتاح التصنيف المتعدد.....	9
2-4-4 رمز المفتاح المتعدد للأنواع المرعية.....	11
3-4-4 مفتاح ثنائي لتعريف أنواع الـ <i>Xiphinema americanum</i> بدون بكتيريا ثلثولية مندمجة في الغشاء الطلائى لخلايا جدار المبيض. (رمز المفتاح المتعدد A1)	14
5- السجلات.....	15
6- جهات الاتصال للحصول على معلومات إضافية.....	15
7- شكر وتقدير.....	16
8- المراجع.....	16
9- الأشكال.....	19

1- معلومات حول الآفة

تعتبر مجموعة الديدان الخيطية الممرضة للنباتات (*Xiphinema americanum sensu lato* (s.l.) على أنها تضم 56 نوعاً ذات أسماء محددة (T. Prior، إبلاغ شخصي، 2014). ويصعب تمييز خصائص معظم أعضاء هذه المجموعة سواء أمن الناحية المورفولوجية أم البيوكيميائية. وإذا تبين أن بعض الأنواع المفترضة منها تنقل طائفة من الفيروسات ذات التداعيات الهامة على المستوى الاقتصادي، فإن البلدان التي لم تسجل أي وجود لأنواع من هذه المجموعة، قد أدرجتها بأكملها على قوائم الحجر الزراعي لديها. إلا أن ضغوطاً قد مورست في أوساط الشركاء التجاريين لحض الباحثين على توفير المزيد من التوضيحات بشأن تحديد تلك الأنواع سعياً إلى تخفيف القيود المفروضة على التجارة.

واستهلت البحوث الرامية إلى تحديد هوية *X. americanum* في عام 1979 عندما درس Bleve-Zacheo و Lamberti أعداداً لها من مناطق جغرافية متفاوتة، فاستنتجا وجود 25 نوعاً مختلفاً، منها 15 نوعاً جديداً. ونتيجة لذلك، نشأت ضرورة إجراء دراسات جديدة واختبارات قياسية لانتقال الفيروسات، من أجل التأكد من هوية تلك الأنواع التي تنقل الفيروسات (Trudgill et al., 1983). وعلى الرغم من صدور العديد من الدراسات المورفولوجية والجزئية حول *X. americanum* s.l. فإن النقاش حول تصنيف الأنواع ضمن المجموعة لا يزال دائراً (Coomans et al., 2001). ويقدم بروتوكول التشخيص هذا نهجاً مدروساً لتحديد آفة *X. americanum* s.l. بالإضافة إلى معلومات عنها.

وتنتشر النيماتودا (الديدان الخيطية) المنتمية إلى مجموعة *X. americanum* s.l. في أفريقيا وعلى نطاق واسع في آسيا، وفي أمريكا الوسطى والجنوبية وأوروبا وأمريكا الشمالية، أما وجودها فنادر في أستراليا وأوسيانيا (Hockland and Prior, 2009)؛ المركز الدولي للزراعة والعلوم البيولوجية، 2013). ولهذه الأنواع مجموعة واسعة جداً من العوائل التي تتكون من النباتات العشبية والخشبية على حد سواء، على مستوى الزراعة والبستنة والغابات. وهي توجد، كطفيليات خارجية حرة، في التربة أو في أوساط نمو العوائل، ويمكن لبعض أنواعها الصمود خلال الفترات الجافة والبقاء على قيد الحياة لسنوات في التربة، حتى في غياب أية نباتات عائل. وعلى ذلك، يمكن لهذه الأنواع أن تنتقل مع حركة التبادلات التجارية داخل التربة المرتبطة بالنباتات المعدة للزراعة والمنتجات النباتية (مثل درنات البطاطا الملوثة بالتربة)، والتربة السائبة، وأية سلع أساسية أخرى ملوثة بالتربة. ومن غير المرجح أن تشكل النباتات ذات الجذور العارية والخالية من التربة طريقاً لدخول هذه الأنواع. وعندما يتم أخذ عينات من شحنات نباتات الزينة بحثاً عن النيماتودا المتطفلة على النباتات، فلا بد من تحليل وسط النمو في منطقة انتشار جذور النبتة، والبحث عن أدلة على احتمال إعادة النبتة إلى أصيصها قبل التصدير.

وفي حال غياب الإصابة بالفيروس، فإن الأجزاء الهوائية من النباتات التي تنمو في تربة ملوثة بـ *X. americanum* s.l. لا تظهر أي أعراض ما لم يكن مستوى أعدادها عالياً، حين تظهر تورّمات على أطراف الجذور، وأعراض نموذجية لتضرر الجذور (كترجع حيوية النبتة أو علامات مماثلة لتلك التي تظهر عندما تعاني النبتة قلة المياه). ويبدو أن الأضرار المباشرة الناجمة عن *X. americanum sensu stricto* (s.s.) في الولايات المتحدة، هامة اقتصادياً في العديد من الولايات (المركز الدولي للزراعة والعلوم البيولوجية، 2013)، إلا أن أهمية المجموعة ككل تعزى إلى قدرة بعض أنواعها على نقل نيبوفيروسات (فيروسات متعددة الأسطح) ذات تأثيرات هامة اقتصادياً.

وأفاد Brown et al. (1994) أن كلاً من *X. americanum s.s.* و *X. californicum* و *X. rivesi* تنتقل فيروس تقشر أوراق الكرز (شيرافيروس) *Cherry rasp leaf virus (CRLV)*، وفيروس التبقع الحلقي للتبغ (نيبوفيروس) *ringspot virus (TRSV)* وفيروس التبقع الحلقي للطمطم (نيبوفيروس) *Tomato ringspot virus (ToRSV)* (Nepovirus)، ولاحظوا النطاق الواسع لقدرات نقل الفيروسات لدى هذه الأعداد الأمريكية الشمالية مقارنة بالخصوصية المحدودة نسبياً للانتقال التي تتسم بها النيبوفيروسات الأوروبية المحلية والأنواع الناقلة لها. وتبين أن *X. Bricolense* تنتقل فقط سلالاتي ToRSV القابلتين لتمييزهما بالاختبار المصلي، لكنها فعالة في نقل سلالة تتسبب بتقشر سوق الدراق أكثر من نقلها لسلالة الفيروس التي تصيب الخوخ. وقد أفيد أن كلاً من *X. tarjanense* و *X. intermedium* تنتقلان TRSV و ToRS و *Inaequale.X* تنتقل ToRSV (Verma et al، 2003).

وقد أدرج كل من CRLV وفيروس الفسيفساء الوردية للدراق (نيبوفيروس) *Peach rosette mosaic virus (PRMV)* و TRSV و ToRSV في قائمة الآفات الخاضعة للوائح مراقبة الصحة النباتية بحسب توصيات منظمة وقاية النباتات في أوروبا والبحر المتوسط. وحتى وقت قريب، لم يكن هناك ما يدل على أن الأعداد الأوروبية من *X. americanum s.l.* تنتقل هذه الفيروسات الحجرية الأوروبية، بيد أن في عام 2007 أفاد Širca and colleagues عن انتقال TRSV و ToRSV إلى نباتات مستخدمة كطعم بواسطة أعداد لـ *X. Rivesi* من سلوفينيا بدون ارتباطات معروفة بأية شحنات مستوردة. كما وقام Auger et al (2009) بتسجيل أعداد لـ *X. Rivesi* من شيلي باعتبارها ناقلات لـ ToRSV إلى الخيار. ومع أنه لم يثبت أن *X. americanum s.l.* الجنوب أفريقي ينقل هذه الفيروسات، فقد أبلغ عن فيروسات CRLV و *Arabis mosaic virus (ArMV)* وفيروس الأوراق المروحية للكرمة *Grapevine fanleaf virus (GFLV)* كافة في جنوب أفريقيا (A. Swart، إبلاغ شخصي، 2014).

2- معلومات تصنيفية

الاسم:	<i>Xiphinema americanum (sensu lato)</i>
الفصيلة:	<i>Xiphinema americanum (sensu stricto)</i> Cobb, 1913
المرادفات:	<i>Tylencholaimus americanus</i> (Cobb, 1913) Micoletzky, 1922 (of <i>X. americanum sensu stricto</i>)
الوضع التصنيفي:	Nematoda, Adenophorea, Dorylaimida, Longidoridae, Xiphinematinae (تبعاً لـ Coomans et al، 2001)
الأسماء الشائعة:	النيماطودا الخنجرية الأمريكية، نيماطودا التبقع الحلقي للتبغ. ترد أسماء أخرى شائعة بلغات مختلفة في موسوعة Crop Protection Compendium للمركز الدولي للزراعة والعلوم البيولوجية (المركز الدولي للزراعة والعلوم البيولوجية، 2013).

3- الكشف

يمكن الكشف عن فصيلة *Xiphinema spp.* كما هي الحال وغالبية النيماطودا الخارجية المتطفلة على النباتات، بواسطة استخراجها من التربة أو من وسط النمو. ويمكن استخدام تقنيات استخراج النيماطودا، مثل تقنية Cobb التي عدّلها Flegg (1967، Flegg) أو Oostenbrink (1960) أو يمكن الاستعانة بطرق التنقية الأخرى المناسبة من أجل استخراج النيماطودا من نوع Longidorid. ويمكن أيضاً لطيفليات داخلية مهاجرة أن توجد أيضاً في بقايا

التربة الملاصقة لجذور النباتات والأبصال والدرنات. وبالتالي يمكن العثور على *Xiphinema* spp. عقب معالجة المواد النباتية بواسطة طرائق مثل إجراءات Baermann المعدلة (EPPO, 2013a).

بغية استخراج نيماتودا Longidorid من التربة باستخدام تقنية Cobb التي عدلها Flegg، يمكن اتباع المنهجية التالية: يملأ إناء كبير سعة لتر واحد بـ 250 ملل من الماء وتضاف عينة تربة (حوالي 200 ملل) إلى الماء فتتقع من حوالي 30 دقيقة (للتربة المزيجية) إلى 60 دقيقة (للتربة الطينية)؛ يحرك المزيج المعلق مرتين أو ثلاث مرات خلال فترة النقع. يوضع منخل ذو فتحات مقاسها 2 ملم على دلو من البلاستيك سعة 5 لترات فيغسل مزيج التربة المعلق من خلال المنخل على الدلو. ينزع المنخل ويملأ الدلو بالماء، ثم يخضّ المحلول بواسطة التحريك. وبعد فترة من الترسيب تدوم 25 ثانية، يصب المزيج المعلق الطافي عبر ثلاثة مناخل يبلغ مقاس فتحاتها 150 ميكرونًا، ما يضمن بقاء الرواسب داخل الدلو. تغسل الرواسب المتبقية على المناخل برفق بواسطة دفق مائي طفيف القوة (كالدفق المناسب من قنينة الغسل) في أناء نظيف سعة 1 لتر. ويملأ الدلو الذي يحتوي بقايا التربة بالماء من جديد، فيحرك بالكامل حركة دوامية. وبعد 15 ثانية من الترسيب، يصفى الجزء الطافي عبر مجموعة المناخل الثلاثة نفسها البالغ قياس فتحتها 150 ميكرونًا (ما يضمن هنا أيضاً بقاء الرواسب داخل الدلو) وتضاف البقايا إلى تلك التي تم جمعها سابقاً. تصب محتويات الإناء سعة 1 لتر كاملة على منخل مقاس فتحاته 90 ميكرونًا (مع بلوغ الحد الأقصى لسماكة طبقة التربة حوالي 2 إلى 3 ملم)، ويوضع المنخل على قمع زجاجي بحجم مناسب ومدعوم. يضاف الماء من الجانب إلى أن يبدأ قعر المنخل بملامسة الماء. يتم جمع النيماتودا بعد فترة تتراوح من 24 إلى 72 ساعة في أناء زجاجي عن طريق فتح الزنبرك أو الملقط اللولبي على جذع القمع، فتجري معاينة النيماتودا تحت مجهر التشريح.

يمكن الاطلاع على وصف تفصيلي لمعدات وإجراءات الاستخراج في معيار منظمة وقاية النباتات في أوروبا والبحر المتوسط بشأن استخراج النيماتودا (EPPO, 2013a).

4- تحديد الهوية

لا توجد في الوقت الراهن أي بروتوكولات مناسبة تخص التفاعل المتسلسل للبوليميراز من أجل تحديد *X. americanum* s.l. أو من أجل تحديد الأنواع المعروفة بنقلها للفيروسات. ولذا تبقى ضرورة الاعتماد على تحديد هويتها من خلال صفاتها المورفولوجية. وثمة شح كبير في المواد المرجعية للعديد من أنواع *X. americanum* s.l. وينبغي استشارة جهات الاتصال المذكورة في القسم 6 من أجل المساعدة على تحديد هويتها.

1-4 إعداد المواد

كما هي الحال مع الأنواع الأخرى من النيماتودا المتطفلة على النبات، ينبغي تنفيذ المعاينة المورفولوجية على أكبر عدد ممكن من عينات النباتات البالغة. وهناك العديد من الطرق التي تم نشرها لتنشيط عينات النيماتودا ومعالجتها بقصد دراستها، وهي قد لخصت مؤخراً في (Manzanilla-López and Marbán-Mendoza 2012) وينصح بمعاينة النيماتودا المعالجة ضمن الغليسيرين الخالي من الماء إذ أن صفات تصنيفية هامة قد لا تظهر في حال لم تكن العينات منقاة بما فيه الكفاية.

ويمكن تحضير شرائح مجهرية مؤقتة بشكل سريع للمعاينة الفورية إلا أن تلك الشرائح قد لا تبقى صالحة للاستعمال إلا لبضعة أسابيع فقط.

وينبغي، إذا أمكن، إعداد شرائح دائمة لاستخدامها كمرجع في المستقبل وإيداعها في المجموعات المرجعية للنيماطودا. وقد تم وصف طرق إعداد شريحة مُحَمَّلة دائمة للنيماطودا بالتفصيل في دراسات أخرى (Seinhorst، 1962 و Hooper، 1986). ترد طريقة التبخر البطيء التي وصفها Hooper (1986) في القسم 4-1-2.

في بروتوكول التشخيص هذا جرى وصف الطرق (بما فيها الإشارة إلى الأسماء التجارية) بحسب ما هي منشورة، إذ أنها تحدد المستوى الأصلي للحساسية أو التخصص و/أو قابلية النسخ الذي تم بلوغه. إن استخدام أسماء الكواشف أو المواد الكيميائية أو التجهيزات في بروتوكولات التشخيص هذه لا ينطوي على تأييدها من أجل استثناء أخرى قد تكون مناسبة هي أيضاً. ويجوز تعديل الإجراءات المخبرية الواردة في البروتوكولات لكي تتواءم مع معايير المختبرات الفردية، شريطة المصادقة عليها بالشكل المناسب.

1-1-4 المستحضرات المجهرية المؤقتة

ضع قطرة صغيرة من الماء على شريحة زجاجية ذات تجاويف، بما يكفي لملء التجويف. أنقل عينات النيماطودا إلى الماء وضع الشريحة على لوح للتسخين مضبوط على درجة حرارة 65 درجة مئوية. ومن الأهمية بمكان أن تكون درجة الحرارة كافية فقط لقتل النيماطودا إذ أن التسخين لفترة طويلة سيؤدي إلى تشويه العينات وفسادها. وتعتبر المدة المتزاوجة من 10 إلى 15 ثانية على لوح التسخين كافية بالنسبة إلى معظم الأنواع، ولكن يجب معاينة الشريحة بين الفينة والفينة لرصد التقدم الحاصل ومن ثم إبعادها عن مصدر الحرارة فقط لدى توقف حركة النيماطودا كافة.

اختر شريحة زجاجية، وتأكد من خلّوها من الغبار وضعها بجانب منصة المجهر. ضع قطرة صغيرة من ثلاثي إيثانول أمين قوة واحد ومن مُثَبِّت الفورمالين (TAF) (7 ملل من الفورمالين (40 في المائة من الفورمالدهيد)، 2 ملل من ثلاثي إيثانول أمين، 91 ملل من الماء المقطر) أو مُثَبِّت آخر مناسب، في وسط الشريحة وضع كمية مناسبة من شرائح شمع البارافين حول القطرة (سيساعد الشمع في دعم الساترة وتثبيت التصاقها بالشريحة). أنقل النيماطودا من الشريحة ذات التجاويف إلى المُثَبِّت (TAF) وتأكد من وضعيتها تحت السطح المحدّب في وسط القطرة من دون أي تداخل فيما بينها. أما عدد العينات التي يمكن للشريحة الواحدة أن تتسع لها فيختلف باختلاف حجم النيماطودا.

نظّف بعناية ساترة من الحجم المناسب بمنديل تنظيف العدسات. ثم أنزلها برفق على الشمع المبشور إلى أن تلامس قطرة المثبت (TAF). ضَع الشريحة على لوح التسخين واطركها عليه حتى يبدأ الشمع بالذوبان، فربّت عندها برفق على الشريحة لإزالة الهواء الذي يمكن أن يكون احتبس تحت الساترة. أبعداها عن مصدر الحرارة وابدأ بمعاينتها.

يجب أن تكون هناك منطقة واضحة من المثبت (TAF) المحتوي على النيماطودا في الوسط، مع حلقة مكتملة من الشمع لختم الشريحة.

في حال كُسر الختم أو غمر الشمع النيماطودا، عليك تسخين الشريحة ثانية، ورفع الساترة بعناية، وانتشال النيماطودا وتحميلها مرة أخرى على شريحة جديدة. وإذا ما انتشر الشمع خارج حدود الساترة، قم بإزالته باستخدام شفرة رفيعة.

اختتم الساترة بطوق من طلاء الأظافر الشفاف. وعندما يجف الطلاء، تصبح العينات جاهزة للدراسة.

2-1-4 المستحضرات المجهرية الدائمة

ضع قطرة صغيرة من الماء على شريحة زجاجية ذات تجاويف، بما يكفي لملء التجويف. أنقل عيّات النيماتودا إلى الماء وضع الشريحة على لوح للتسخين ضبط على درجة حرارة 65 درجة مئوية. ومن الأهمية بمكان أن يكون التسخين كافياً فقط لقتل النيماتودا، إذ سيؤدي التسخين لفترة طويلة إلى تشويه العينات وفسادها. وعملياً، تعتبر المدة المتراوحة من 10 إلى 15 ثانية على لوح التسخين كافية بالنسبة إلى معظم الأنواع، ولكن يجب معاينة الشريحة بين الفينة والفينة لرصد التقدم الحاصل ومن ثم إبعادها عن مصدر الحرارة فقط لدى توقف حركة النيماتودا كافة.

أنقل النيماتودا إلى طبق الأجنة embryo dish أو زجاجة ساعة مناسبة لهذه الغاية وممتلئة حتى نصفها بالمثبت (TAF) قوة واحد (انظر القسم 1-1-4 للاطلاع على التركيبة)، فغطها واتركها لتثبت لمدة لا تقل عن أسبوع واحد.

أنقل العينات إلى زجاجة ساعة تحتوي محلول الغليسرين بنسبة 3 في المائة مع كمية ضئيلة من المثبت (TAF). تأكد من أن المحلول يغطي النيماتودا بالكامل. ضع ساترة على زجاجة الساعة واتركها طيلة الليل.

حرك الساترة قليلاً لإحداث مسرب صغير يسمح بالتبخّر، واترك زجاجة الساعة داخل حاضنة (على درجة حرارة 40 درجة مئوية تقريباً) إلى أن يتبخّر كل الماء (تستغرق هذه العملية أسبوعاً واحداً على الأقل). وفي الوقت نفسه، أترك إناء صغيراً من الغليسرين في الحاضنة لضمان خلو الغليسرين تماماً من الماء.

وباستخدام حقنة أو قطارة، ضع قطرة صغيرة من الغليسرين الخالي من الماء على مركز شريحة زجاجية وانقل النيماتودا إليها مرتباً إياها في الوسط.

اختر بعناية ثلاث دعائم للساترة، من قبيل الخرزات الزجاجية على أن يكون مقاس قطرهما مماثلاً لقطر النيماتودا، وضعها على مسافات متساوية فيما بينها على هامش قطرة الغليسرين، بحيث تشكل دعماً سوياً.

ضع كمية قليلة من شمع البارافين المبشور على مسافات منتظمة حول محيط قطرة الغليسرين.

سخّن ساترة على لوح التسخين لبضع ثوان. ثم نظّف الساترة بمنديل تنظيف العدسات برفق وانزلها بلطف على الشمع، بحيث يتم التلامس فقط بين الساترة والغليسرين.

ضع الشريحة على لوح التسخين لبضع ثواني. وما أن يبدأ الشمع بالذوبان وحين تطرد أية فقاعات هوائية جراء استقرار الساترة عليه، أبعد الشريحة عن مصدر الحرارة ودع الشمع حتى يصبح صلباً.

وعندما يصبح الشمع صلباً تماماً، أزل أية كميات زائدة منه حول الساترة باستخدام مشرط.

اختم الساترة بطوق من مادة مانعة للتسرب مثل الغليسيل أو طلاء الأظافر الشفاف. دَوِّن معطيات التعريف على الشريحة بقلم غير قابل للمحو، أو ثبت بطاقة توسيم عليها. اذكر التصنيف وتاريخ تحضير الشريحة والعائل والمكان ورقم العينة (إن وجد) وطريقة الحفظ المستخدمة.

2-4 تعريف جنس *Xiphinema*

يمكن الاطلاع على المصطلحات الواردة في الأقسام التالية ضمن بروتوكولات التشخيص لمنظمة وقاية النباتات في أوروبا والبحر المتوسط الخاصة بالآفات الخاضعة للوائح: *Pictorial glossary of morphological terms in nematology* (مسرد مُصَوِّر للمصطلحات المورفولوجية للنيماتودا) (EPPO, 2013b).

ووصفت عملية تشخيص جنس النيماتودا *Xiphinema* من قبل Coomans et al (2001). ووفقاً لـ (Cobb، 2013) فإن جنس *Xiphinema* هو من بين أكبر الأجناس في عائلة Longidoridae التي هي من طفيليات الجذور الخارجية المهاجرة. وباختصار، يمتاز أعضاء جنس *Xiphinema* بما يلي: جسم يتراوح طوله من 1.2 إلى 7.3 ملم ذي شكل مستقيم أو لولبي؛ ومنطقة شفوية تتفاوت بين شكل شبيه بالعقدة المنحرفة عن الوسط وبين اتساقها مع بقية الجسم، من أسفل إلى أعلى؛ وفتحة أمفيديية على شكل شق؛ ومروود يتألف من رمح سنّي شبيه بالإبرة شديد التصلب ذي قاعدة متشعبة، وحامل سن متصلب الكفاف؛ ونواة ظهرية للغدة البلعومية مستديرة الشكل وأكبر حجماً من الغدد الموجودة تحت مستوى البطن في جوار الفتحة؛ وبتنوع الجهاز التناسلي للإناث الذي يكون عادة ثنائي المبايض ومزدوج الرحم؛ ويتفاوت شكل الذيل من خيطي طويل إلى قصير مع طرف مستدير للذيل. وتكون الذبول عادة متماثلة الشكل في كلا الجنسين.

3-4 تحديد هوية *Xiphinema americanum sensu lato*

قام Loof and Luc (1990) بتحديد السمات المميزة لـ *X. americanum s.l.*، لكن هذه الخصائص قد عُدّت قليلاً من قبل Lamberti et al. (2000) و Coomans et al. (2001). وتميّز المجموعة التالية من الصفات نيماتودا *X. americanum s.l.* عن الأنواع الأخرى لـ *Xiphinema*؛ بيد أن الخصائص المشار إليها بعلامة النجمة (*) قلماً تظهر في الأنواع التي تعد جزءاً من مجموعة *X. pachydermum* على أساس المورفولوجيا (وصفت هذه المجموعة بمزيد من التفصيل وفقاً لقائمة الخصائص):

- طول الجسم من قصير إلى متوسط (يتراوح الطول من 1.2 إلى 3.0 ملم)
- هيئة الجسم تتراوح بين شكل حرف C مفتوح تقريباً إلى شكل حلزوني لدى ارتخائها بواسطة الحرارة (الشكل 1 (أ))
- منطقة الشفة قلماً تكون متواصلة الشكل، وعادة ما تتسم بانخساف طفيف أو انقباض عميق (الشكل 1 (ب))
- الحلقة المرشدة أكثر ميلاً إلى أن تقع في الجزء الأمامي أما الجزء المطوي من الغمد المرشد فأقصر منه في بقية أنواع نيماتودا *Xiphinema* الأخرى (الشكل 1 (ب))
- رمح سنّي متين نادراً ما يتجاوز طوله 150 ميكرون
- البصيلة البلعومية عادة ما تكون مزودة بصفائح سمكية معززة لجدار التجويف (الشكل 1 (ج))؛ البصيلة غير منحرفة عن منتصف الجزء النحيل الذي يميل إلى أن يكون عريضاً

- النوى في البصيلة البلعومية: كثيراً ما تكون النوى الظهرية واقعة بعد الفتحة الظهرية كما أن النواة تحت البطن واقعة نحو الخلف أكثر منها لدى بقية الأنواع الأخرى لنيماتودا *Xiphinema*
- الموقع النسبي للفرج يكون لدى منتصف الجسم تقريباً أو ما بعده (74-65%)
- تفرعات الأعضاء التناسلية عند الإناث مكتملة النمو على حدٍ سواء ولكنها قصيرة عموماً (الشكل 1 د)؛ الرحم قصير أو قصير جداً بدون حلقة انقباضية Z (الحلقة بين الرحم والقابلة المنوية) أو أشواك، وعادة مع يتميز بعضلات دائرية عاصرة غير مكتملة النمو*
- مبايض مدمجة تضم خلايا جرثومية قليلة ومحصورة ترتبط عادة بجراثيم ثلولية تتعايش في باطنها (الشكلان 1 هـ و 2 د و 5 هـ) *
- الذيل قصير وقمعي الشكل ويتفاوت بين مستدير إلى إصبعي الطرف نوعاً ما، ونادراً ما يكون عريض الاستدارة؛ نهاية الذيل عموماً مستدقة أو مستديرة
- الذكور نادرة، والإناث خالية من الحيوانات المنوية *
- لدى الذكور عادة من 5 إلى 11 إضافة عند وسط البطن، يقع أبعداً في القسم الخلفي بالقرب من أزواج الحليمات قبل فتحة المجمع (الحليمات الشرجية) منه لدى بقية الأنواع الأخرى لنيماتودا *Xiphinema* (مثلاً ضمن نطاق شوكة السفاد) (الشكل 1 و) *
- ثلاثة أو أربعة أطوار يرقية.

يمكن الاطلاع على مزيد من الأوصاف والملاحظات المصلة عن البكتيريا الثلولية الموجودة في مبايض نيماتودا *Xiphinema* في (2000) *Coomans et al.* و *Vandekerckhove et al.* (2000).

وقد حدد Lamberti and Ciancio (1993) مجموعات فرعية لخمس أنواع على أساس التحليل العنقودي الهرمي للقياسات الظاهرية (المورفومترية)، ومن بينها مجموعة *X. pachtaicum*، التي تضمنت *X. pachydermum*. وإن *X. pachydermum* وما يتصل بها من أنواع (ومعظمها برتغالية) تختلف عن *X. americanum s.l.* حيث تملك الإناث مبايض بدون البكتيريا التكافلية المرتبطة بها (إلا في *X. mesostilum*، حيث تتموضع هذه البكتيريا في مسارات متوازية في جدار المبيض)، وعضلة عاصرة مكتملة ورحماً طويلاً، وحيث أن وجود الذكور أكثر شيوعاً منه لدى معظم الأنواع (Luc et al.، 1998؛ Coomans et al.، 2001؛ Decraemer and Geraert، 2013). وباعتماد فقط على الصفات المورفولوجية، تضم مجموعة *X. pachydermum* الأنواع التالية: *X. brevisicum* و *X. duriense* و *X. exile* و *X. Lafoense* و *X. Longistilum* و *X. Mesostilum* و *X. Microstilum* و *X. Opisthohysterum* و *X. Pachydermum* و *X. Parapachydermum* و *X. Paratenuiculis*. وتبعاً لاختبار جزئي نُقذ حديثاً (He et al.، 2005؛ Gutiérrez-Gutiérrez et al.، 2012)، فإن علاقات الترابط النسلي على أساس مقارنة تسلسل D3-D2 وعلى مناطق ITS1 تدعم بشكل جزئي الفرضية القائلة إن المجموعة الفرعية لـ *X. Pachydermum* لا تنتمي إلى الـ *X. americanum s.l.*؛ ومع ذلك، فإن المجموعة لا تتكتل بشكل منفصل وتشمل أنواعاً أخرى مثل *X. pachtaicum*. ونتيجة لذلك، فإن العلاقات ضمن المجموعة الفرعية هذه ومع أنواع أخرى من الـ *X. americanum s.l.* تبقى غير واضحة ويجب توفير تسلسلات إضافية لإجراء تحليل أكبر، ما قد يسمح ببناء ترابط نسلي أكثر اكتمالاً ودقة في هذه المجموعة.

4-4 تحديد هوية الأنواع ضمن *Xiphinema americanum sensu lato*

يعتبر تحديد الهوية حتى مستوى الأنواع ضمن الـ *X. americanum s.l.* ذا أهمية خاصة بالنسبة إلى لوائح الصحة النباتية، لا بسبب خطر هذه النيماتودا كونها ناقلات للفيروسات، وإنما لأن الأمر يطرح إشكاليات نتيجة للتشابه المورفولوجي العام بين الأنواع المفترضة، والعدد

الكبير من الأنواع المفترضة (56 حالياً)، وضعف المعطيات حول الاختلافات المذكورة بين العديد من الأنواع، وعدم توفر بيانات عن تنوع الصفات المورفولوجية والقياسات المظهرية (المورفومترية) ضمن النوع، والرسوم التوضيحية الغير كافية لوصف الكثير من الأعداد.

أما عدد الأنواع المفترضة التي تندرج ضمن هذه المجموعة فدائماً قيد المراجعة. وقد اعتمد في هذه الوثيقة وجود 56 نوعاً. وترى بعض السلطات أن هناك أنواع عدة (*X. diffusum* و *X. incognitum* و *X. parvum* و *X. Pseudoguirani* و *X. sheri* و *X. brevicolle*) تعد مرادفات لـ *X. americanum s.l.* (Coomans et al., 2001). ولا يوجد حتى الآن، أي اختبارات جزيئية موثوقة للتمييز بين أفراد الـ *X. americanum s.l.* يمكن أن يُوصى بها.

أنتج Lamberti and Carone أول مفتاح ثنائي لتحديد هوية الأنواع ضمن *X. americanum s.l.* في عام 1991. وقدم (Lamberti et al. 2000) سلسلة من المفاتيح المتعددة الإقليمية إلى جانب مفتاح متعدد فيما خص الأنواع الموجودة في جميع أنحاء العالم. قدمت هذه المفاتيح أول محاولة شاملة لحل المشاكل الخاصة بتصنيف أنواع الـ *X. americanum s.l.* ويعتبر المفتاح المتعدد أكثر فائدة عندما تصعب مراقبة أو قياس بعض الصفات. وذكر (Luc and Baujard، 2001) أن مفاتيح ثنائية التعريف يمكن أن تستخدم لتكامل مفتاحاً متعددًا والتي فيها أنواع عدة تنقسم الرمز نفسه لصفة أو عدة صفات. وأعطيت الأولوية، في كل من المفاتيح الثنائية والمتعددة التعريف، إلى الصفات المورفولوجية الكمية للحد من التقسيم غير الموضوعي للصفات النوعية. وأنجز Lamberti et al. (2000) قائمة بالسلطات المعنية بالأنواع وذكر طول الرمح السني، وبدت كلا النسبتين *c* و *v*٪ أكثر موثوقية لدراسة العلاقات ضمن الأعداد نفسها وفيما بينها. وعندما استخدمت النسبتان *c* و *v*٪ كخاصتي تمييز أساسيتين، تشكلت مجموعات صغيرة نسبياً من الأنواع، يمكن أن يتم من خلالها تحديد الأنواع الفردية باستخدام خاصيات أقل أهمية مثل طول الجسم، والنسبة *a* وطول الذيل وأيضاً استخدام صفات موضوعية مثل منطقة الشفة وشكل الذيل. وعلى الرغم من أن Lamberti اعتبر أن النسبة *c* موثوقة لتحديد الهوية، فقد وجد مؤلفون آخرون (مثل (Griesbach and Maggenti، 1990) أن أهميتها محدودة. وقد جرى تنقيح المفتاح متعدد الأفرع (الجدول من 1 إلى 4) من قبل (Lamberti et al.، 2004) مع الخصائص التي حددها المؤلف، ولكن للأسف مع قليل من التعاريف أو الرسومات. وقد طرأ التباس حول تعريف منطقة الشفة وشكل الذيل فضلاً عن التقسيم الاعتباطي لبيانات القياسات المظهرية (المورفومترية)، ومن هنا فإن الصفات المورفولوجية الحالية المستخدمة لوصف الأنواع هي قيد المراجعة (T. Prior و S. Hockland، 2014).

ويشمل المفتاح المعدل الوارد في بروتوكول التشخيص هذا كل الأنواع المفترضة التي تم وصفها حتى الآن، مع تحديث بيانات القياسات المظهرية (المورفومترية) وإعادة تعريف منطقة الشفة وشكل الذيل. والمفتاح مفيد في التحديد المؤقت للأنواع التي يمكن بعد ذلك التحقق منها بالاستعانة بالوصف الأصلي لها وفي النهاية عبر الاستعانة بخبير.

وقد تم حذف النوعين *X. neoamericanum* و *X. Sharmai*، من المفتاح، وذلك بسبب رداءة جودة أوصافهما الأصلية، ولأنه لم يتم تصنيف أي منهما من غير لبس بعد نشر وصفهما الأصلي، كما أن أهميتهما محدودة فيما يخص لوائح الصحة النباتية.

4-1 رموز مفتاح التصنيف المتعدد

(وفق Yeates et al.، 1997 و Coomans et al.، 2001 و Lamberti et al.، 2004 و Gozel et al.، 2006 و Barsi and De Luca، 2008 و Gutiérrez-Gutiérrez et al.، 2012).

إن مفتاح التصنيف المتعدد كما هو موضح في القسم 4-4-2 يستعين بالصفات التالية مع قيم ممكنة مختلفة (مرمّزاً من 1-6) لوصف النيما تودا قيد الدراسة.

الصفات المستخدمة في المفتاح المتعدد ورموزها

ألف 1 إناث بدون وجود بكتيريا ثلولية في المبيض، أو إذا كانت موجودة، فهي مصطفة في مسارات متوازية في جدار المبيض (الشكل 2 (أ) (ب) (الجدول 1 ومفتاح ثنائي التعريف (القسم 4-4-3))

2 إناث مع وجود بكتيريا ثلولية في المبيض، ومندمجة في الغشاء الطلائي لخلايا جدار المبيض عند القمة، في منطقة التكاثر وفي الجزء الأعلى منها والتي غالباً ما تضغط على البويضات الأولية النامية (الشكل 2 (ج) - (هـ) (الجدول 2 إلى 4).

باء 1 منطقة شفة موسعة بشكل كبير أو مفصولة جراء انقباض عميق (الشكل 2 (ل) ((ن))

2 تحدد منطقة الشفة بانخفاض ضعيف أو انقباض سطحي وتظهر متسقة مع بقية الجسم (الشكل 2 (س) - (ف))

جيم 1 ذيل محدب - مخروطي الظهر (مخروطي الشكل في نوعين)، نهاية الذيل حادة إلى شبه مصبغة الشكل تقريباً (الشكل 2 (ص) - (ر))

2 ذيل محدب - مخروطي الظهر، مستقيم من الناحية البطنية ونهاية الذيل مستديرة. (الشكل 2 (ش) - (ت))

3 الذيل محدب - مخروطي بشكل عريض، نهاية الذيل تستدق إلى شكل مستدير عموماً مع انحناء بارز في كفاف الظهر (الشكل 2 (ث))

دال 1 طول الرمح السني ≥ 70 ميكرون

2 طول الرمح السني من 71 إلى 80 ميكرون

3 طول الرمح السني من 81 إلى 90 ميكرون

4 طول الرمح السني من 91 إلى 100 ميكرون

5 طول الرمح السني من 101 إلى 120 ميكرون

6 طول الرمح السني < 120 ميكرون

هاء 1 الفرج (V) $\geq 50\%$

2 الفرج من 51 إلى 54%

3 الفرج من 55 إلى 58%

4 الفرج $< 58\%$

واو 1 قيمة النسبة c' (معرفة على أنها طول الذيل / عرض الجسم عند فتحة الشرج) ≥ 1.0

- 2 قيمة النسبة c' من 1.1 إلى 1.4
- 3 قيمة النسبة c' من 1.5 إلى 1.8
- 4 قيمة النسبة $c' < 1.8$
- زاي 1 قيمة النسبة c (معرفة على أنها طول الجسم / طول الذيل) > 60
- 2 قيمة النسبة c من 60 إلى 80
- 3 قيمة النسبة $c < 80$
- حاء 1 طول الجسم > 1.5 ملم
- 2 طول الجسم من 1.5 إلى 2.0 ملم
- 3 طول الجسم < 2.0 ملم
- طاء 1 قيمة النسبة a (معرفة على أنها طول الجسم / أكبر قطر للجسم) > 60
- 2 قيمة النسبة a من 61 إلى 80 نسبة
- 3 قيمة النسبة $a < 80$
- ياء 1 طول الذيل > 27 ميكرون
- 2 طول الذيل من 27 إلى 32 ميكرون
- 3 طول الذيل < 32 ميكرون

2-4-4 رمز المفتاح المتعدد للأنواع المرعية

جدول 1- أنواع نيماتودا *Xiphinema americanum* الخالية من البكتيريا التولوية المندمجة في الغشاء الطلائى لخلايا جدار المبيض

رمز التصنيف										الأنواع
ي	ط	ح	ز	و	هـ	د	ج	ب	أ	
2	23	3	12	4	23	1	1	1	1	<i>exile</i>
2	23	23	12	4	234	1	1	1	1	<i>brevisicum</i>
12	23	123	12	34	34	12	1	1	1	<i>duriense</i>
2	23	3	23	34	34	12	1	1	1	<i>microstilum</i>
12	12	12	12	234	4	12	1	1	1	<i>opisthohysterum</i>
123	12	123	12	34	34	123	1	1	1	<i>parapachydermum</i>
12	123	23	23	23	234	23	1	1	1	<i>pachydermum</i>
123	12	23	12	123	34	23	1	1	1	<i>paratenuicutis</i>
12	3	3	23	23	234	34	1	1	1	<i>mesostilum</i>
2	23	3	23	23	23	5	1	1	1	<i>longistilum</i>
12	3	3	3	2	12	23	2	1	1	<i>lafoense</i>

تتسم الأنواع المدرجة في هذه القائمة برحم طويل نسبياً وقنوات مبايض متباينة بشكل واضح مع عضلات دائرية عاصرة متطورة غير مندمجة في أجسام الخلايا المحيطة ومبايض متراصة بدون وجود البكتيريا التكافلية (انظر (1992) Jairajpuri and Ahmad و (2001) Coomans *et al.* لأوصاف الجهاز التناسلي عند الإناث). الذكور شائعة في غالبية الأنواع المدرجة هنا.

يرد مفتاح تصنيف ثنائي آخر لهذه الأنواع الـ 11 بعد الجدول 4.

جدول 2- أنواع نيماتودا *Xiphinema americanum* مع بكتيريا ثلولوية مندمجة في الغشاء الطلائي لخلايا جدار المبيض: منطقة الشفة موسعة بصورة كبيرة أو مفصولة بانقباض عميق؛ والذيل محدب – مخروطي عند ظهره مع نهاية يتراوح شكلها بين حاد وشبه مصبّع تقريباً

الأنواع	رمز التصنيف									
	أ	ب	ج	د	هـ	و	ز	ح	ط	ي
<i>lambertii</i>	2	1	1	1	12	34	1	1	1	م.ن.
<i>simile</i> [†]	2	1	1	12	1234	1234	123	23	123	123
<i>parasimile</i> [†]	2	1	1	12	1234	34	12	23	12	123
<i>pachtaicum</i> [‡]	2	1	1	12345	234	1234	123	123	123	123
<i>kosaigudense</i>	2	1	1	2	1	م.ن.	1	1	1	م.ن.
<i>citricolum</i>	2	1	1	23	123	34	12	12	1	23
<i>pacificum</i>	2	1	1	23	23	34	12	23	12	3
<i>tarjanense</i>	2	1	1	234	123	23	12	12	1	123
<i>floridae</i> [¶]	2	1	1	2345	12	12	12	123	1	123
<i>californicum</i>	2	1	1	2345	123	234	123	23	12	123
<i>neolongatum</i> [§]	2	1	1	4	23	23	1	12	1	م.ن.
<i>fortuitum</i>	2	1	1	45	123	34	23	3	23	23
<i>madeirense</i>	2	1	1	45	234	34	12	23	123	23
<i>georgianum</i> [¶]	2	1	1	456	123	234	12	23	12	123
<i>incertum</i> [*]	2	12	2	34	23	23	23	23	12	123

(م.ن.): معلومات ناقصة

[†] لمزيد من التفاصيل حول مقارنة هذه الأنواع، انظر Barsi and Lamberti (2004) و Barsi and De Luca (2008) و Lazarova *et al.* (2008).
[‡] *X. pachtaicum* لديها رحم طويل نسبياً بالمقارنة مع رحم الأنواع الأخرى المدرجة في هذا الجدول.
[¶] شكل ذيل هذين النوعين مخروطي عادة أكثر منه محدباً-مخروطي عند الظهر (الشكل 2 (ر)).
[§] يعتبر من قبل (Luc *et al.* 1984)، أنه مرادف صغير لـ *X. pachtaicum*.
^{*} منطقة الشفة الموسعة أقل بروزاً في بعض العينات (Gutiérrez-Gutiérrez *et al.* 2012). وقد تم التساؤل عن مدى صلاحية *X. incertum* من قبل (Barsi and Lamberti 2002).

جدول 3- أنواع نيماتودا *Xiphinema americanum* مع بكتيريا ثلولية مدمجة في الغشاء الطلائي لخلايا جدار المبيض؛ منطقة الشفة محددة بانخفاض ضعيف أو انقباض سطحي وتبدو متسقة مع بقية الجسم. والذيل محدب ظهرياً - مخروطي مع نهاية حادة قليلاً من الناحية البطنية مصبغ الشكل

الأنواع	رمز التصنيف									
	أ	ب	ج	د	هـ	و	ز	ح	ط	ي
<i>pakistanense</i>	2	2	1	1	12	2	1	12	1	123
<i>minor</i>	2	2	1	12	12	3	1	12	1	123
<i>intermedium</i>	2	2	1	12	123	23	1	12	1	32
<i>americanum</i>	2	2	1	123	123	234	1	123	12	123
<i>tenuicutis</i>	2	2	1	2	12	23	12	2	1	123
<i>santos</i>	2	2	1	23	123	1234	12	123	1	123
<i>bricolense</i>	2	2	1	234	12	234	12	23	123	23
<i>peruvianum</i>	2	2	1	234	123	23	12	123	1	123
<i>laevistriatum</i>	2	2	1	234	123	234	12	12	1	123
<i>oxycaudatum</i>	2	2	1	234	123	234	12	123	12	123
<i>franci</i>	2	2	1	34	23	23	1	12	1	123
<i>inaequale</i>	2	2	1	345	12	23	12	23	1	23
<i>rivesi</i>	2	2	12	2345	123	1234	12	123	1	123

جدول 4- أنواع من الـ *Xiphinema americanum* مع البكتيريا الثلولية المدمجة في الغشاء الطلائي لخلايا جدار المبيض. تُحدّد المنطقة الشفوية بانخفاض ضعيف أو انقباض سطحي، وتبدو متسقة مع بقية الجسم. والذيل محدب - مخروطي ظهرياً ومستقيم من الناحية البطنية، مع نهاية مستديرة أو محدب - مخروطي عامة فيستدق إلى نهاية مستديرة عريضة مع انحناء رئيسي عند كفاف الظهر

الأنواع	رمز التصنيف									
	أ	ب	ج	د	هـ	و	ز	ح	ط	ي
<i>rivesi</i>	2	2	12	2345	123	1234	12	123	1	123
<i>occiduum</i>	2	2	2	1234	123	23	12	23	12	23
<i>thornei</i>	2	2	2	23	12	23	123	23	1	213
<i>diffusum</i>	2	2	2	234	123	12	123	123	1	123
<i>taylori</i>	2	2	2	234	123	12	23	23	1	123
<i>incognitum</i>	2	2	2	34	123	12	123	123	1	123
<i>utahense</i>	2	2	2	34	123	12	12	23	12	123
<i>parvum</i>	2	2	2	34	23	12	12	12	1	12
<i>brevicolle</i>	2	2	2	345	123	12	123	123	1	123
<i>paramanovi</i>	2	2	2	3456	123	2	12	23	1	3
<i>luci</i>	2	2	2	4	12	12	123	2	1	12
<i>sheri</i>	2	2	2	45	23	1	12	2	1	1
<i>parabrevicolle</i>	2	2	2	45	23	1	23	23	1	12
<i>pseudoguirani</i>	2	2	2	45	234	1	3	23	1	12
<i>himalayense</i>	2	2	2	5	2	12	3	3	1	2

رمز التصنيف										الأنواع
أ	ب	ج	د	هـ	و	ز	ح	ط	ي	
2	2	2	56	23	12	123	3	12	23	waimungui
2	2	23	56	23	1	23	23	1	12	silvaticum
2	2	3	6	23	1	3	3	1	12	bacaniboia

ويتم حالياً إعداد استعراض للصفات المورفولوجية والجزيئية لـ *Xiphinema americanum* والأنواع ذات الصلة (S.S. Lazarova، إبلاغ شخصي، 2014)

3-4-4 مفتاح ثنائي لتعريف أنواع الـ *Xiphinema americanum* بدون بكتيريا ثلولية مدمجة في الغشاء الطلاني لخلايا جدار المبيض. (رمز المفتاح المتعدد A1)

بسبب التداخل شبه المتواصل للخصائص المظهرية بين الأنواع، استخدمت الميزات المورفولوجية بقدر ما هو ممكن. ومع ذلك، لا يمكن تجنب استخدام خصائص الذكور.

1- إناث ناضجة مع وجود حيوانات منوية في الرحم أو قناة المبيض، طول الجسم من 1.4 إلى 4.4 ملم، والذكور شائعة

2- إناث ناضجة بدون وجود حيوانات منوية في الرحم أو قناة المبيض، طول الجسم من 1.3 إلى 2.1 ملم والذكور غائبة أو نادرة الوجود

2- الرمح السني للأنثى من 54 إلى 72 ميكروناً، والحلقة المرشدة من 49 إلى 51 ميكروناً من فتحة الفم *X. opisthohysterum*

- الرمح السني للأنثى من 68 إلى 47 ميكروناً، الحلقة المرشدة من 53 إلى 60 ميكروناً من فتحة الفم. *X. duriense*

3- ملحقات بطنية في النهاية الخلفية عند الذكور واضحة في مستوى رأس شوكة السفاد (< 25 ميكروناً) (الشكل 2 (و) و(ر))

- ملحقات بطنية في النهاية الخلفية عند الذكور في مستوى أو بالقرب من رأس شوكة السفاد (> 20 ميكروناً) (الشكل 1 (و) و 2(ر))

4- ذيل الأنثى محدب مخروطي ظهرياً، مع نهاية مدورة (الشكل 2 (ط)) *X. lafoense*

- ذيل الأنثى محدب مخروطي ظهرياً، مع نهاية حادة إلى شبه مصبغة (الشكل 2 (ي))

5- ذكور مع ثلاثة ملحقات بطنية تقع قبيل فتحة المجمع *X. exile*

- ذكور مع أربعة إلى خمسة ملحقات بطنية تقع قبيل فتحة المجمع *X. brevisicum*

6- وجود بكتيريا ثلولية مصطفة في مسارات متوازية في جدار المبيض *X. mesostilum*

- لا وجود لبكتيريا ثلولية في جدار المبيض

7- أنثى مع رمح سني < 100 ميكرون *X. longistilum*

أنثى مع رمح سني > 100 ميكرون

8- أرحام قصيرة نسبياً (من 45 إلى 56 ميكروناً) *X. parapachydermum*

- 9 - أرحام أطول (≤ 75 ميكرونًا)
 9- الشوكة ذات رؤيس بسيط لا تتمايز عن الصفيحة، وتتسم الصفيحة باتساع محدود عند البطن (الشكل 2 (ك-أ)) *X. pachydermum*
 - الشوكة ذات رؤيس يكاد يشبه الرأس ، تمايز على الطرف الظهري، وتتسم الصفيحة بتوسع بطني تدريجي (الشكل 2 (ك-ب)) *X. Microstilum*
 - الشوكة ذات رؤيس مستطيل، تمايز طفيف على الطرف الظهري، وتتسم الصفيحة بتوسع بطني بارز (الشكل 2 (ك-ج)) *X. paratenuicutis*

5- السجلات

يجب الاحتفاظ بالسجلات والبراهين بالطريقة الموصوفة في القسم 2-5 من المعيار الدولي رقم 27 (بروتوكولات تشخيص الآفات الخاضعة للوائح).

وفي الحالات التي قد تتأثر فيها أطراف متعاقدة أخرى بنتائج التشخيص، لا سيما في حالات عدم الامتثال، ينبغي الاحتفاظ بالمواد السجلات والأدلة والتجهيزات الإضافية التالية لسنة واحدة على الأقل على نحو يضمن الاقتفاء:

العينات المحفوظة أو المُحمَلة على شريحة، والصور الفوتوغرافية للهيكالية التصنيفية المميزة.

وبخصوص البراهين المورفولوجية ينبغي للخصائص الهامة، على النحو الذي ترد فيه في مفاتيح التشخيص، أن ترسم أو تصور طالما تكون المواد متاحة وينبغي أن تتضمن القياسات ذات الصلة.

وقد تكون الصور المجهرية الجيدة (أو أشرطة الفيديو المصورة للمسح) للسمات المورفولوجية الرئيسية، مهمة من حيث حفظ السجلات.

6- جهات الاتصال للحصول على معلومات إضافية

يمكن الحصول على معلومات إضافية بشأن هذا البروتوكول على العناوين التالية:

Nematology Unit, The Food and Environment Research Agency Science (Fera), Sand Hutton, York YO1 1LZ, United Kingdom (Thomas Prior; e-mail: 15system.prior@fera.co.uk; tel.: +44 1904 462206).

Nematology Unit, The Food and Environment Research Agency, Sand Hutton, York YO1 1LZ, United Kingdom (Sue Hockland; e-mail: sue.hockland@plantparasiticismatodes.com).

Nematology Unit, Biosystematics Division, Agricultural Research Council – Plant Protection Research Institute (ARC-PPRI), Private Bag X134, Queens wood, 0121 South Africa (Antoinette Swart; e-mail: SwartA@arc.agric.za).

Agricultural Institute of Slovenia, Hacquetova ulica 17, 1000 Ljubljana, Slovenia (Sasa Širca; e-mail: sasa.sirca@kis.si).

Laboratorio de Nematología, INTA-Estación Experimental de Balcarce, Casilla de Correo 276, 7620 Balcarce, Argentina (Eliseo Jorge Chaves; e-mail: eliseo_chaves@yahoo.com.ar).

يمكن التقدم بطلب لتنقيح بروتوكول تشخيص من قبل المنظمات القطرية لوقاية النباتات أو المنظمات الإقليمية لوقاية النباتات أو الأجهزة الفرعية لهيئة تدابير الصحة النباتية من خلال أمانة الاتفاقية الدولية لوقاية النباتات (ippc@fao.org) التي تحليه بدورها إلى الفريق التقني المعني ببروتوكولات التشخيص.

7- شكر وتقدير

حرر المسودة الأولى لهذا البروتوكول كل من Sue Hockland و Thomas Prior (وحدة علم الممسودات، وكالة بحوث الأغذية والبيئة، المملكة المتحدة) (انظر القسم السابق) و Antoinette Swart (وحدة علم الممسودات، قسم التصنيفات الحيوية، مجلس البحوث الزراعية، جنوب أفريقيا)، (انظر القسم السابق)، و Eliseo Jorge Chaves (مختبر الممسودات، المركز الاختباري في بالكارسي، الأرجنتين) (انظر القسم السابق) و Sasa Širca (المعهد الزراعي لسلوفينيا، سلوفينيا) (انظر القسم السابق)).

8- المراجع

يشير هذا الملحق إلى المعايير الدولية لتدابير الصحة النباتية. والمعايير الدولية متاحة على البوابة الدولية للصحة النباتية على العنوان: <https://www.ippc.int/core-activities/standards-setting/ispms>

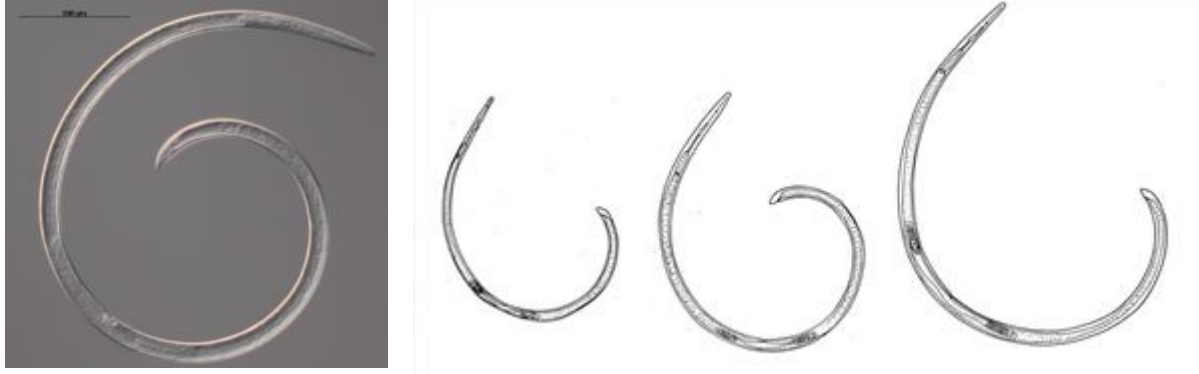
- Auger, J., Leal, G., Magunacelaya, J.C. & Esterio, M. 2009. *Xiphinema rivesi* from Chile transmits Tomato ringspot virus to cucumber. *Plant Disease*, 93: 971.
- Barsi, L. & De Luca, F. 2008. Morphological and molecular characterisation of two putative *Xiphinema americanum*-group species, *X. Parasimile* and *X. Simile* (Nematoda: Dorylaimida) from Serbia. *Nematology*, 10: 15–25.
- Barsi, L. & Lamberti, F. 2002. Morphometrics of three putative species of the *Xiphinema americanum* group (Nematoda: Dorylaimida) from the territory of the former Yugoslavia. *Nematologica Mediterranea*, 30: 59–72.
- Barsi, L. & Lamberti, F. 2004. *Xiphinema parasimile* sp. N. From Serbia and *X. Simile*, first record from Bosnia and Herzegovina (Nematoda, Dorylaimida). *Nematologica Mediterranea*, 32: 101–109.
- Brown, D.J.F., Halbrecht, J.M., Jones, A.T., Vrain, T.C. & Robbins, R.T. 1994. Transmission of three North American nepoviruses by populations of four distinct species of the *Xiphinema americanum* group. *Phytopathology*, 84: 646.
- CABI. 2013. Datasheets for plant-parasitic nematodes: *Xiphinema americanum*. CABI Crop Protection Compendium. Wallingford, UK, CABI. Available at <http://www.cabi.org/cpc/> (last accessed 26 August 2014).
- Cobb, N.A. 1913. New nematode genera found inhabiting freshwater and non-brackish soils. *Journal of the Washington Academy of Sciences*, 3: 432–444.
- Coomans, A., Huys, R., Heyns, J. & Luc, M. 2001. Character analysis, phylogeny and biogeography of the genus *Xiphinema* Cobb, 1913 (Nematoda: Longidoridae). Tervuren, Belgium, Musée Royal de L'Afrique Centrale. *Annales Sciences Zoologiques*, 287 : 1–239.
- Coomans, A., Vandekerckhove, T.T. & Claeys, M. 2000. Transovarial transmission of symbionts in *Xiphinema Brevicollum* (Nematoda: Longidoridae). *Nematology*, 2: 443–449.
- Decraemer, W. & Geraert, E. 2013. Ectoparasitic nematodes. In R.N. Perry & M. Moens, eds. *Plant nematology*, 2nd edn, pp. 199–202. Wallingford, UK, CABI. 542 pp.

- EPPO** (European and Mediterranean Plant Protection Organization). 2013a. Nematode extraction. Diagnostics PM 7/119 (1). *EPPO Bulletin*, 43: 471–495.
- EPPO** (European and Mediterranean Plant Protection Organization). 2013b. *Diagnostic protocols for regulated pests: Pictorial glossary of morphological terms in nematology*. EPPO Technical Document No.1056 (rev. 4). Paris, EPPO. 21 pp. Available at http://www.eppo.int/QUARANTINE/diag_activities/EPPO_TD_1056_Glossary.pdf/.
- Flegg, J.J.M.** 1967. Extraction of *Xiphinema* and *Longidorus* species from soil by a modification of Cobb's decanting and sieving technique. *Annals of Applied Biology*, 60: 429–437.
- Gozel, U., Lamberti, F., Duncan, L., Agostinelli, A., Rosso, L., Nguyen, K. & Adams, B.J.** 2006. Molecular and morphological consilience in the characterisation and delimitation of five nematode species from Florida belonging to the *Xiphinema americanum*-group. *Nematology*, 8: 521–532.
- Griesbach, J.A. & Maggenti, A.R.** 1990. The morphometrics of *Xiphinema americanum sensu lato* in California. *Revue de Nématologie*, 13 : 93–103.
- Gutiérrez-Gutiérrez, C., Cantalapiedra-Navarrete, C., Decraemer, W., Vovlas, N., Prior, T., Palomares Rius, J.E. & Castillo, P.** 2012. Phylogeny, diversity, and species delimitation in some species of the *Xiphinema americanum*-group complex (Nematoda: Longidoridae), as inferred from nuclear and mitochondrial DNA sequences and morphology. *European Journal of Plant Pathology*, 134: 561–597.
- He, Y., Subbotin, S., Rubtsova, T., Lamberti, F., Brown, D.J.F. & Moens, M.** 2005. A molecular phylogenetic approach to Longidoridae (Nematoda: Dorylaimida). *Nematology*, 7: 111–124.
- Hockland, S. & Prior, T.** 2009. *Xiphinema americanum sensu lato*. PM 7/95 (1). *EPPO Bulletin*, 39: 382–392.
- Jairajpuri, M.S. & Ahmad, W.** 1992. *Dorylaimida: Free-living, predaceous and plant-parasitic nematodes*. Leiden, Netherlands, E.J. Brill and New Delhi, Oxford & IBH. 458 pp.
- Lamberti, F. & Bleve-Zacheo, T.** 1979. Studies on *Xiphinema americanum sensu lato* with descriptions of fifteen new species (Nematoda, Longidoridae). *Nematologia Mediterranea*, 7: 51–106.
- Lamberti, F. & Carone, M.** 1991. A dichotomous key for the identification of species of *Xiphinema* (Nematoda: Dorylaimida) within the *X. Americanum* group. *Nematologica Mediterranea*, 19: 341–348.
- Lamberti, F. & Ciancio, A.** 1993. Diversity of *Xiphinema americanum*-group species and hierarchical cluster analysis of morphometrics. *Journal of Nematology*, 25: 332–343.
- Lamberti, F., Ciancio, A., Agostinelli, A. & Coiro, M.I.** 1991. Relationship between *Xiphinema brevicolle* and *X. Diffusum* with a redescription of *X. Brevicolle* and descriptions of three new species of *Xiphinema* (Nematoda: Dorylaimida). *Nematologia Mediterranea*, 19: 311–326.
- Lamberti, F., Hockland, S., Agostinelli, A., Moens, M. & Brown, D.J.F.** 2004. The *Xiphinema americanum* group. 3. Keys to species identification. *Nematologia Mediterranea*, 32: 53–56.
- Lamberti, F., Molinari, S., Moens, M., Taylor, C.E. & Brown, D.J.F.** 2000. The *Xiphinema americanum* group. 1. Putative species, their geographical occurrence and distribution and regional polytomous identification keys for the group. *Russian Journal of Nematology*, 8: 65–84.
- Lazarova, S.S., De Luca, F. & Peneva, V.K.** 2008. On two closely related species of *Xiphinema americanum*-group: *X. Similie* Lamberti, Choleva et Agostinelli, 1983 and *X. Parasimile* Barsi et Lamberti, 2004 (Longidoridae), with a description of the male of *X. Parasimile*. *ZooKeys*, 3: 29–50.
- 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: 35–66.

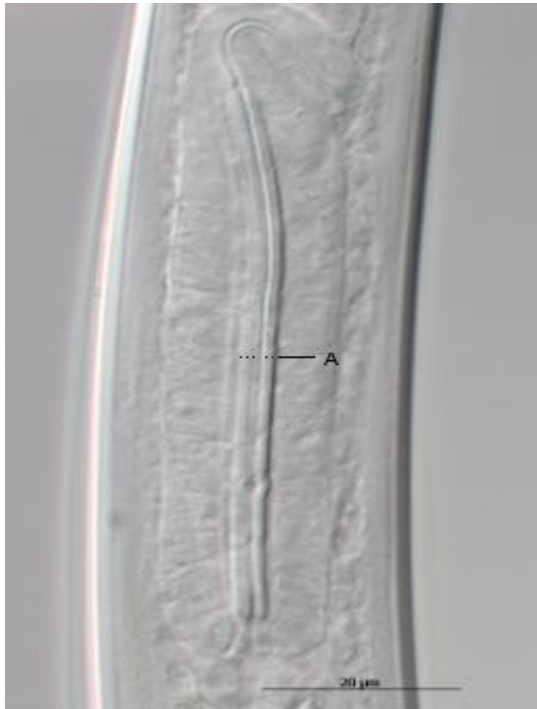
- Luc, M. & Baujard, P.** 2001. On specific determination within the *Xiphinema americanum* group (Nematoda: Longidoridae). *Nematology*, 3: 727–728.
- Luc, M., Coomans, A., Loof, P.A.A. & Baujard, P.** 1998. The *Xiphinema americanum* group (Nematode: Longidoridae). 2. Observations on *Xiphinema brevicolle* Lordello & da Costa, 1961 and comments on the group. *Fundamental and Applied Nematology*, 21: 475–490.
- Luc, M., Loof, P.A.A. & Brown, D.J.F.** 1984. On the 18systematic of eleven *Xiphinema* species (Nematoda: Longidoridae) described from India. *Revue de Nématologie*, 7 : 399–405.
- Manzanilla-López, R.H. & Marbán-Mendoza, N., eds.** 2012. *Practical plant nematology*. Mexico City, Biblioteca Básica de Agricultura, Grupo Mundi-Prensa. 883 pp.
- Oostenbrink, M.** 1960. Estimating nematode populations by some selected methods. In J.N. Sasser & W.R. Jenkins, eds. *Nematology*, pp. 85–102. Chapel Hill, NC, The University of North Carolina Press. 480 pp.
- Širca, S., Geric Stare, B., Mavrič Plešco, I., Viršček Marn, M., Urek, G. & Javornik, B.** 2007. *Xiphinema rivesi* from Slov[e]nia transmit *Tobacco ringspot virus* and *Tomato ringspot virus* to cucumber bait plants. *Plant Disease*, 91(6): 770.
- Trudgill, D.L., Brown, D.J.F. & McNamara, D.G.** 1983. Methods and criteria for assessing the transmission of plant viruses by longidorid nematodes. *Revue de Nématologie*, 6: 133–141.
- Vandekerckhove, T.T., Coomans, A., Cornelis, K., Baert, P. & Gillis, M.** 2002. Use of the *Verrucomicrobia*-specific probe EUB338-III and fluorescent in situ hybridization for detection of “*Candidatus xiphinematobacter*” cells in nematode hosts. *Applied and Environmental Microbiology*, 68: 3121–3125.
- Vandekerckhove, T.T., Willems, A., Gillis, M. & Coomans, A.** 2000. Occurrence of novel verrucomicrobial species, endosymbiotic and associated with parthenogenesis in *Xiphinema americanum*-group species (Nematoda, Longidoridae). *International Journal of Systemic and Evolutionary Microbiology*, 50: 2197–2205.
- Verma, A.K., Khan, M.L. & Handa, A.** 2003. Transmission of tomato ringspot virus by *Xiphinema inaequale* (Khan and Ahmed, 1975) Bajaj and Jairajpuri 1979, associated with *Gladiolus* in Himachal Pradesh. *Pest Management and Economic Zoology*, 11: 189–192.
- Yeates, G.W., Boag, B. & Brown, D.J.F.** 1997. Two new species of Longidoridae (Nematoda) from New Zealand forests. *Systematic Parasitology*, 39: 33–43.

9- الأشكال

الشكل 1- الخصائص المورفولوجية لتشخيص *Xiphinema americanum sensu lato (s.l.)*. الصور مقدمة The Food and Environment Research Agency، حقوق النشر للتاج الملكي باستثناء الرسم 1 (أ) المنسوخ عن Lambert et al. (1991) من مقدمة Nematologia Mediterranea



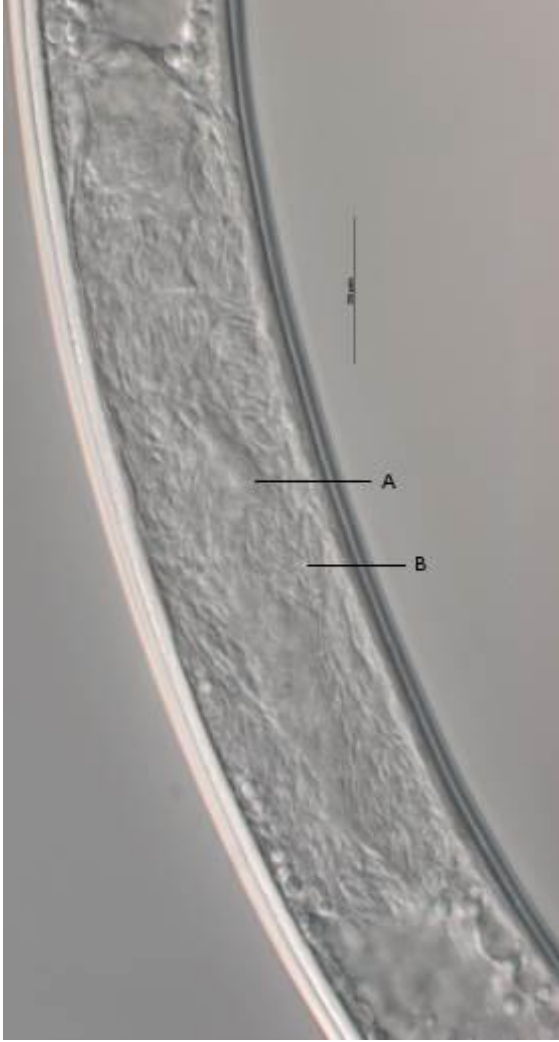
1 (أ) قوام جسم *X. americanum s.l.* (من اليسار إلى اليمين): *X. parvum* و *X. pachtaicum* و *X. Taylori* و *X. Pseudoguirani*.



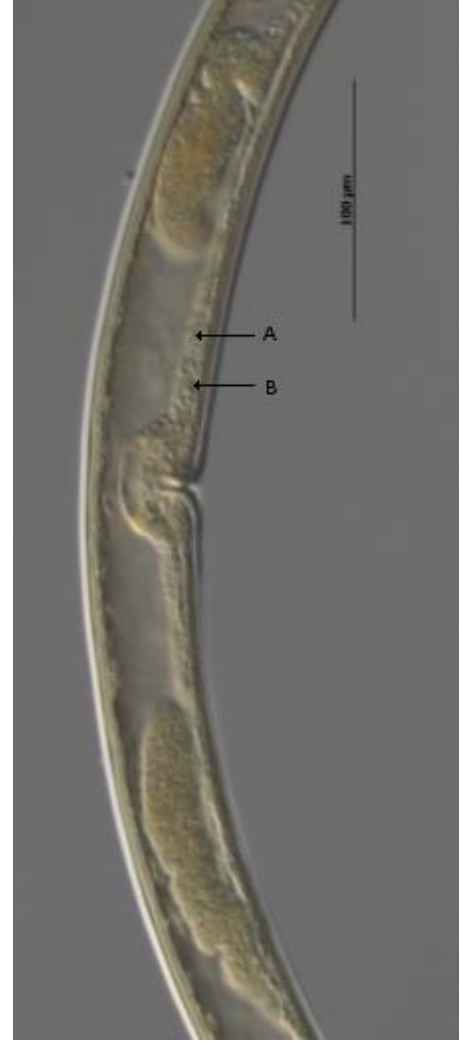
1 (ج) - *X. peruvianum*، منطقة البلعوم. تظهر في بصيلة البلعوم صفائح معززة لجدار التجويف (A).



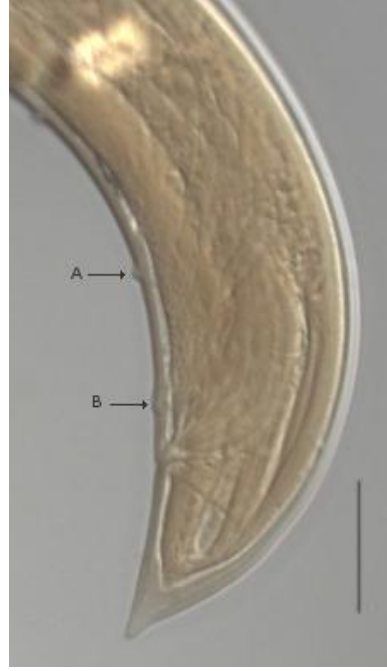
1 (ب) - *X. pachtaicum*، الجزء الأمامي. المنطقة الشفوية محددة من خلال انقباض (A) والوضع النسبي للحلقة الموجهة (B) والجزء الأمامي من غمد التوجيه (C).



1(هـ) - *X. incognitum*. مبايض مدمجة تضم عدداً قليلاً من الخلايا الجرثومية الضيقة (A)، وترتبط عادة بتعايش داخلي لبكتريا جراثيم ثلولية (B).



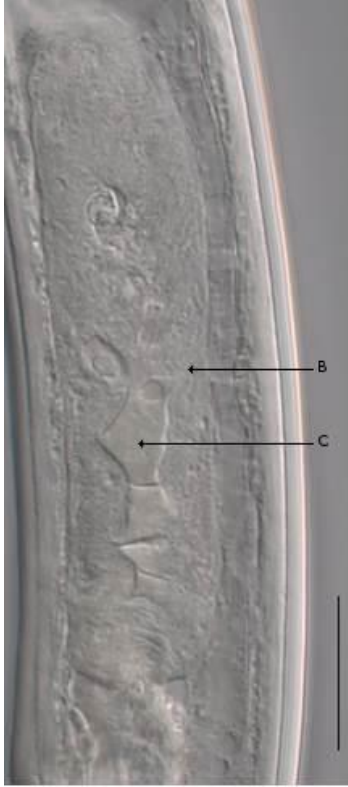
1(د) - *X. citricolum*، منطقة الفرع. فروع الأعضاء التناسلية للإناث مكتملة النمو على حدٍ سواء ولكنها قصيرة نسبياً. الرحم بدون حلقة انقباضية Z أو أشواك (A)، وتكون لديه عادة عضلات عاصرة غير مكتملة النمو (B).



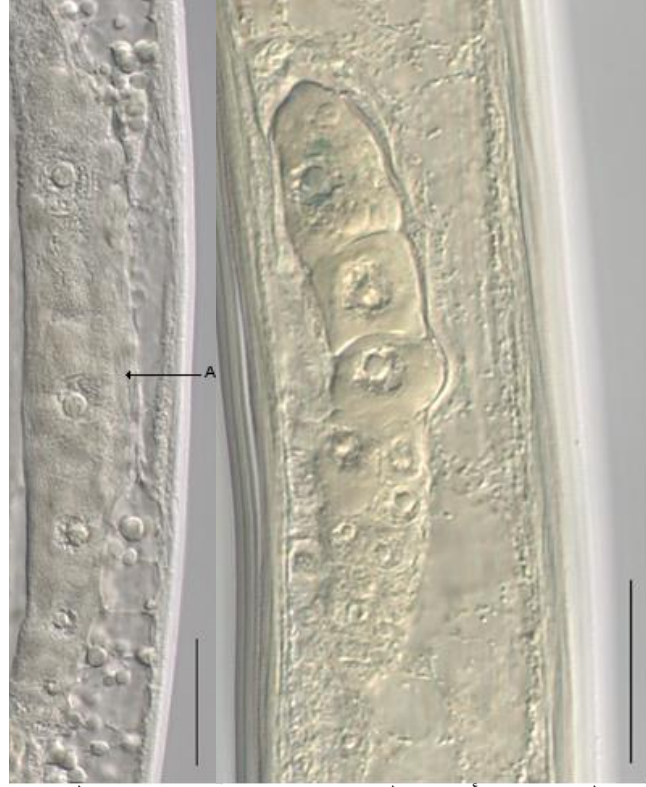
1(9) - *X. pachtaicum* ذكر (النمط الخيفي *X. mediterraneum*). منطقة شوكة السفاد والإضافات الخلفية لمنطقة وسط البطن يقع أبعداها في الخلف (A) قريباً من الحليمات التي تسبق الشرج (الحليمات الشرجية (B)) (ضمن نطاق الشوكة) (مقياس الصورة: 20 ميكرونًا).

الشكل 2- الخصائص المورفولوجية لتشخيص *Xiphinema americanum sensu lato* (s.l.) تستخدم مع مفاتيح التحديد.

الصور مقدمة The Food and Environment Research Agency، حقوق النشر للناسج الملكي باستثناء الرسوم 2(هـ) المقتبس عن Vandekerckhove et al. (2002) مقدمة Applied and Environmental Microbiology و2(ك)، المقتبس عن Gutiérrez-Gutiérrez et al (2012)، مقدمة European Journal of Plant Pathology.

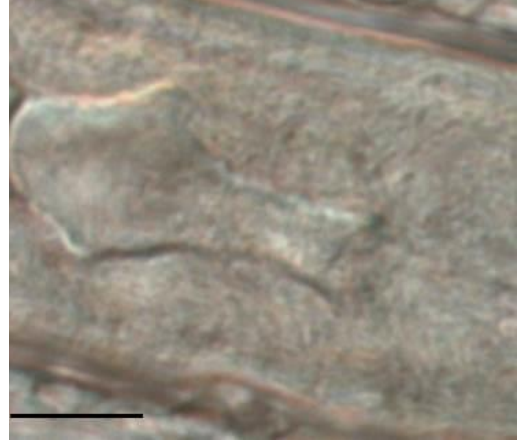
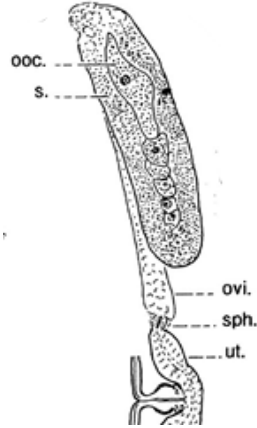


2(ج) المبيض الأمامي
بـ *X. incognitum* مع وجود
بكتيريا ثلولوية (B) تضغط
الخلايا البويضات قيد النمو (C)
(مقياس الصورة: 20 ميكرونًا).



2(ب) المبيض
الأمامي
لـ *X. mesostilum* مع
بكتيريا ثلولوية
مصطفة في
جذيلات متوازية
(A) (مقياس
الصورة: 20
ميكرونًا).

2(أ) - المبيض الأمامي لـ *X. longistilum*
بدون وجود بكتيريا ثلولوية (مقياس
الصورة: 20 ميكرونًا).



2(هـ)- الفرع الأمامي للجهاز التناسلي لأنثى *X. americanum s.l.* ooc. خلية بويضية، ovi. قناة المبيض، S، بكتيريا متكافلة؛ sph. عضلة عاصرة؛ ut. رحم

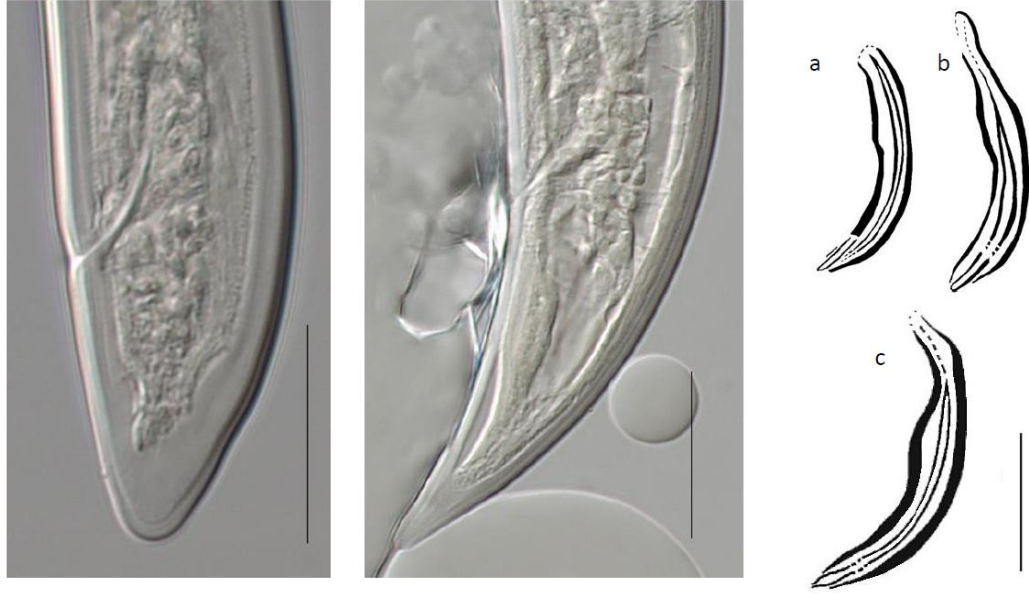
2(د)- جزء من المبيض الخلفي *X. incognitum*، مع وجود بكتيريا ثلولية تضغط الخلايا البويضية قيد النمو (مقياس الصورة: 10 ميكرونات).



2(و)- *X. lafoense*، ذكر، القسم الخلفي. منطقة شوكة السفاد والإضافات في القسم الخلفي لمنطقة وسط البطن، تقع أبعداً في الخلف (A) بعيداً عن الحليمات ما قبل الشرج (الحليمات الشرجية (ب)) ليست واقعة ضمن نطاق شوكة السفاد (مقياس الصورة: 20 ميكرونات).

2(ز)- *X. Exile*، ذكر، القسم الخلفي (مقياس الصورة: 20 ميكرونات).

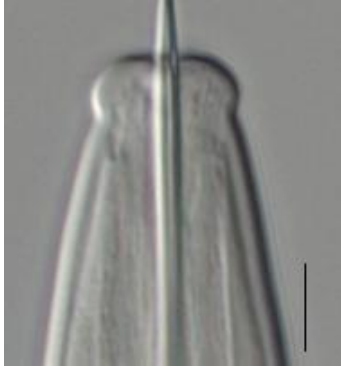
2(ح)- *X. longistilum*، ذكر، القسم الخلفي (مقياس الصورة: 20 ميكرونات).



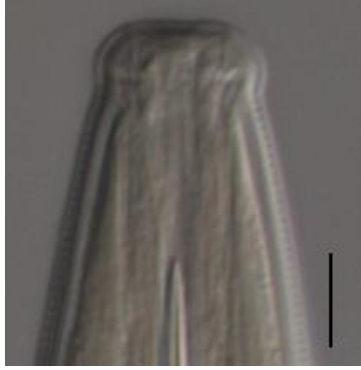
2(ط) - *X. lafoense*، أنثى،
الذيل (مقياس الصورة: 20
ميكرونًا)

2(ي) - *X. exile*، أنثى، الذيل
(مقياس الصورة: 20
ميكرونًا).

2(ك) - *X. pachydermum* (a) -
شوكة السفاد؛ *X. microstilum* (b) -
شوكة السفاد، (c) -
X. paratenuicuttis، شوكة السفاد
(مقياس الصورة: 15 ميكرونًا).



2(ن) - *X. pachtaicum*، منطقة الشفة (نمط مجاور) (مقياس الصورة: 5 ميكرونات).



2(م) - *X. citricolum*، منطقة الشفة (نمط مجاور) (مقياس الصورة: 5 ميكرونات).



2(ل) - *X. californicum*، منطقة الشفة (نمط مجاور) (مقياس الصورة: 5 ميكرونات).



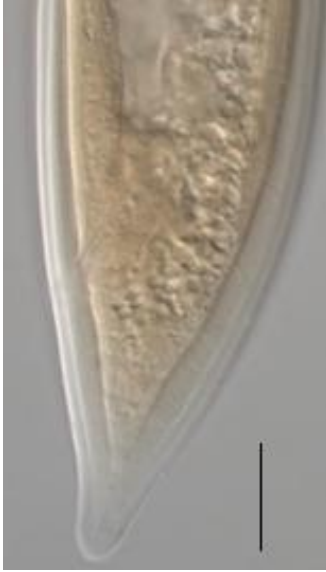
2(س) - *X. diffusum*، منطقة الشفة (نمط مجاور) (مقياس الصورة: 5 ميكرونات).



2(ع) - *X. bricolense*، منطقة الشفة (نمط مجاور) (مقياس الصورة: 5 ميكرونات).



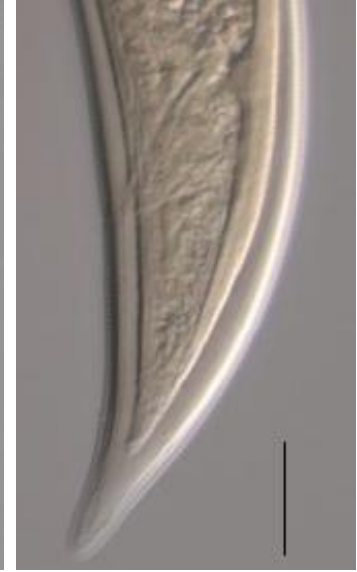
2(ف) - *X. santos*، منطقة الشفة (نمط مجاور) (مقياس الصورة: 5 ميكرونات).



2(ر) - *X. floridae*، القسم الخلفي
(نمط مجاور) (مقياس الصورة: 10
ميكرونات).



2(ق) - *X. santos*، القسم الخلفي
(نمط مجاور) (مقياس
الصورة: 10 ميكرونات).



2(ص) - *X. citricolu*، القسم
الخلفي (مقياس الصورة:
10 ميكرونات).



2(ث) - *X. bacaniboia*، القسم
الخلفي (نمط مجاور) (مقياس
الصورة: 10 ميكرونات).



2(ت) - *X. silvaticum*، القسم
الخلفي (نمط مجاور) (مقياس
الصورة: 10 ميكرونات).



2(ش) - *X. utahense*، القسم
الخلفي (نمط مجاور)
(مقياس الصورة: 10
ميكرونات).

مراحل النشر

لا تعتبر هذه الفقرة جزءاً رسمياً من المعيار

11-2004 قدمت لجنة المعايير الموضوع الأساسي: *Xiphinema*

americanum (2004-025).

12-2005 تقديم المسودة الأولى للفريق الفني المعني ببروتوكولات التشخيص.

04-2006 أضافت الدورة الأولى لهيئة تدابير الصحة النباتية

موضوع برنامج عمل: النيماتودا (2006-008)

02-2014 مشاوره الخبراء.

10-2014 موافقة لجنة المعايير من أجل مشاوره الأعضاء

(2014_eSC_Nov_14).

02-2015 مشاوره الأعضاء.

10-2015 موافقة الفريق الفني المعني ببروتوكولات التشخيص على

عرض بروتوكول التشخيص على لجنة المعايير لاعتماده

(eTPDP_Oct_01).

11-2015 وافقت لجنة المعايير على فترة الإخطار لبروتوكول

التشخيص (2015_eSC_Nov_11).

01-2016 اعتمدت لجنة المعايير بروتوكول التشخيص بالنيابة عن

هيئة تدابير الصحة النباتية (مع عدم ورود اعتراضات

رسمية).

المعيار الدولي رقم 27. الملحق 11. *Xiphinema americanum*

(2016). روما، الاتفاقية الدولية لوقاية النباتات، منظمة الأغذية

والزراعة.

تاريخ آخر تحديث لمراحل النشر 04-2016

04-2017 أخذت هيئة تدابير الصحة النباتية، في دورتها (12)،

علماء بالتعديلات التحريرية المقترحة من قبل مجموعة مراجعة

اللغة العربية.

01-2018 راجعت خدمات الترجمة التابعة لمجموعة مراجعة اللغة

الخاصة باللغة العربية بروتوكول التشخيص هذا وقامت أمانة

الاتفاقية الدولية لوقاية النبات بدمج التعديلات وفقاً لذلك.

04-2018: الدورة الثالثة عشر لهيئة تدابير الصحة النباتية (CPM-13) في

2018 أحيطت علماً بأن مجموعة مراجعة اللغات راجعت هذا الملحق.

آخر تحديث لتاريخ المطبوع: 12-2018