جامعة الموصل

كلية الزراعة والغابات

التشخيص المورفولوجي والجزيئي وكثافة التوزيع لجنسي النيماتودا *Meloidogyne javanica* و *Filenchus* spp. المصاحبة لأشجار الزيتون في محافظة نينوى

آمنة محمود عبد الجواد البزاز

رسالة ماجستير

وقاية النبات

بإشراف

د. فراس كاظم داؤد الجبوري

أستاذ مساعد

1446هـ 2024م

الخلاصة

أجريت هذه الدراسة في العام 2022-2023 بهدف التعرف على أجناس النيماتودا المصاحبة لأشجار الزيتون في محافظة نينوى- العراق. تم المسح الحقلي للبساتين المختارة في أكثر مناطق زراعة الزيتون شهرة في ناحيتي بعشقية والفاضلية، وسجلت نتائج البحث تطفل النيماتودا العائدة للجنسين *Filenchus* spp. و*Meloidogyne. javanica*. تمثلت اعراض تطفل الجنس *Filenchus* spp. على الجذور بضعف النمو ووجود التقرحات على الجذور المصابة، فيما كانت اعراض تطفل الجنس *M. javanica* تكون العقد الجذرية على الجذور الفرعية والجانبية الصغيرة للشجرة. أعطت نتائج الدراسة المورفولوجية والقياسات المايكرومترية للعينات المختبرة لأفراد الجنس *Filenchus* spp. وصفا لاهم صفات البالغات والتي يمكن اعتمادها في تشخيص هذا الجنس، فقد سجل طول جسم الإناث البالغة ما بين 513.4-710.8 مايكرون. في حين كان طول جسم الذكور البالغة 531.7-661.7 مايكرون. الرمح من النوع المسماري بطول 8.9-12.0 مايكرون في الإناث وذو عقد واضحة. وكان المريء من نوع التايلكندي Tylenchoid بطول 80.0-121.0 مايكرون في الإناث وبطول 118.7-129.3 مايكرون في الذكور، فيما كانت البصلة الوسطى واضحة التركيب. كيوتيكل الجسم ناعم التخطيط والحقول الجانبية تحوي أربع خطوط واضحة، الجهاز التناسلي للإناث أحادي الغدة امامي مستقيم يتألف من مبيض واحد يمتد مع البويضات في صف واحد، الذيل خيطي بطول 76.1-130.9 مايكرون في الإناث و65.1-97.7 مايكرون في الذكور، الجهاز تناسلي الذكري احادي والخصية انبوبية مستمرة، وشوكتا السفاد بطول 14.5-17.0 مايكرون.

بينت نتائج التشخيص الجزيئي للدنا المستخلص من بالغات نيماتودا الجنس *Filenchus* spp. باستعمال تفاعل البوليمريز المتسلسل PCR وزوج البادئات 988F و1912R لتضخيم الجين 18SrDNA عن قطعة الدنا بطول 971 زوج قاعدة. وعند مطابقة التسلسل النكليوتيدي لقطعة الدنا باستعمال الأداة BLAST، مع قاعدة بيانات المتاحة في NCBI لم تبدي تطابقا عاليا مع العزلات العالمية المسجلة لأنواع الجنس *Filenchus* spp. وتم تسجيل وإيداع هذا التسلسل النكليوتيدي في بنك الجينات تحت رقم الإنضمام PP109070 كعزلة عراقية ويعد هذا التسجيل الاول على أشجار الزيتون في محافظة نينوى. فيما اعطت نتائج الدراسة المورفولوجية والنمط العجاني لنيماتودا تعقد الجذور *Meloidogyne. javanica* وصفا لاهم صفات الإناث البالغة

والتي اعتمدت في تشخيص هذا الجنس فقد تميز جسم الإناث بشكله الكروي تقريباً ولونه الأبيض المائل إلى الاصفرار والكيوتكل المخطط بخطوط عرضية في معظم الجسم ويظهر العنق واضحًا متداخلاً حتى نهاية الرأس. في حين تكون النهاية الخلفية للجسم دائرية وبارزة قليلاً. الرمح من النوع المسماري واضح التركيب أسطواني مقوس قليلاً نحو المنطقة الظهرية، وذو ثلاث عقد. كتل البيض الجيلاتينية تكون ملتصقة في نهاية الخلفية لجسم الانثى. فيما تميز النمط العجاني للاناث الناضجة بوجود حقلين جانبين يقسمان النمط العجاني إلى منطقة ظهرية ومنطقة بطنية، تميز الجزء الظهري بوجود خطوط كيوتكل مستقيمة او متموجة مقوسة محيطة بنهاية الذيل الاسطواني، فيما كانت الفتحتان التناسلية والمخرج واضحتين وقريبتين من بعضهما. ودلت نتائج التشخيص الجزيئي للدنا المستخلص من الإناث البالغة باستعمال تفاعل البوليمريز المتسلسل زوج البادئات 18S-530R و 18S-CL-F3 لتضخيم الجين 18SrDNA عن تضخيم قطع الدنا بطول 513 زوج قاعدة. وعند مطابقة التسلسل النكليوتيدي لقطعة الدنا أعطت تشابها بنسبة 97% مع العزلات العالمية للجنس *Meloidogyne* وتحديدا للنوع *javanica* وتم تسجيل وإيداع التسلسل النكليوتيدي في بنك الجينات تحت رقم الإنضمام PP273501 كعزلة عراقية. ويعد هذا التسجيل الأول لهذا للنوع *M. javanica* على أشجار الزيتون في محافظة نينوى إذ لم تشر المصادر المتوفرة لدينا إلى تسجيله سابقا على الزيتون.

بينت نتائج حساب الكثافتين الأفقية والعمودية للنيماتودا المصاحبة لأشجار الزيتون ان أعلى كثافة للنيماتودا كانت عند محور الشجرة مقارنة عما هي في مساقط الأوراق. في حين كانت أعلى كثافة للنيماتودا عند العمق 0–25 سم بمعدل 1003.1 بالغة/100مل تربة تلاها العمق 26–50سم بمعدل 712.5 بالغة/100مل، فيما كانت بمعدل 112.5 بالغة/100مل عند العمق 51–75سم على التوالي. وجاءت هذه المعدلات أعلى مما هي عند مساقط الأوراق وللأعماق نفسها لتسجل 900 و618.7 و46.1 بالغة/100مل على التوالي. دلت نتائج تحليل الخواص الفيزيائية والكيميائية لتربة البساتين الممسوحة ان جميع الترب كانت ذات نسجة طينية. في حين تراوح أس الهيدروجيني pH لهذه الترب بين 6.6 – 7.5. فيما سجلت أعلى نسبة للمادة العضوية 1.759% واقلها 0.55%. في حين تراوحت الناقلية الكهربائية EC بين 1.10 و5.00 ديسيسيمنز / م.

Summary

This study was conducted during 2022-2023 to identify the genera of nematodes associated with olive trees in Nineveh Governorate - Iraq. A field survey was conducted in the selected orchards in the most famous olive growing areas in Bashiqa and Al-Fadhiliya districts. The research results recorded the parasitism of nematodes of both, *Filenchus* and *Meloidogyne* genus. The symptoms of parasitism of the genus *Filenchus* on the roots were weak growth and the presence of ulcers on the infected roots, while the formation of root knot on the main and secondary roots is the major symptoms of *Meloidogyne* parasitism. The results of the morphological and morphometric study of the examined specimens of the genus *Filenchus spp*. describe the most important characteristics of adult females that can be relied upon in the diagnosis of this species. The body length of adult females ranged from 513.4-710.8 microns and its width was 12-28 microns, and the body length ranged from 661-531 microns and the body width was 15-20 microns in males. The stylet type is stomato stylet, 8.9-11.18 microns long, with clear knobs. The esophagus is of Tylenchoid type, 80.0-121.0 microns long in females and 118-129 microns in males. The median bulb is well developed. The body cuticle is smooth in outline and the lateral fields contain four distinct lines. The female reproductive system is anteriorly straight and amphidelphic, consisting of a single ovary extending with eggs in a single row. The filamentous tail is 76-130 microns long in females and 65-97 microns long in males. The male reproductive system is monorchic, testis is a continuous tube and spicules are 14-17 microns in length. Molecular characterization of DNA extracted from adult nematodes of the genus *Filenchus spp*. using PCR and a pair of primers 988F and 1912R to amplify the 18SrDNA gene revealed a DNA fragment of 962 bp. When the nucleotide sequence of the DNA fragment was compared using the BLAST tool with a database available at NCBI, it did not show a high degree of identity with the worldwide isolates recorded for the genus *Filenchus spp*. This nucleotide sequence was registered and deposited in Gen Bank under accession number PP109070 as an Iraqi isolate. The results of the morphological and perineal pattern study of *Meloidogyne spp*. provided a description of the most important features of adult females that were used to diagnose this genus. The female body was

characterized by its almost spherical shape, yellowish-white color, and striped cotyledons with transverse stripes on most of the body. The neck is clearly visible overlapping the end of the head. The posterior end of the body is rounded and slightly protruding. The cuneiform stylet is clearly cylindrical in shape, with a slight curve towards the dorsal region, and has three knots. The gelatinous egg masses are attached to the posterior end of the female's body. The perineal pattern of mature females was characterized by the presence of two lateral fields that divide the perineal pattern into a dorsal and ventral region, and the dorsal part was characterized by the presence of straight or wavy curved lines surrounding the end of the cylindrical tail, while the valva openings and anus were clear and close to each other. Molecular characterization of the DNA extracted from adult females using PCR with primers 18S-530R and 18S-CL-F3 for the amplification of the 18SrDNA gene resulted in the amplification of DNA fragments of 494 base pairs in length. When the DNA fragment was sequenced, it showed 97% similarity to global isolates of the genus *Meloidogyne*, specifically for the species *Javanica*, and the sequence was submitted and deposited in the Gen Bank under accession number PP273501 as an Iraqi isolate. This is the first record of *M. javanica* on olive trees in Nineveh Governorate. Our sources did not indicate that it was previously recorded on olives. The results of calculating the horizontal and vertical densities of nematodes associated with olive trees showed that the highest densities of nematodes were at the axis of the tree compared to the leaf drop line. While the highest density of nematodes was found at the depth of 0-25 cm with a rate of 1003.1 adults/100 ml soil, followed by the depth of 26-50 cm with a rate of 712.5 and 112.5 at 51-75 cm, respectively. These rates were higher than those of the leaf drops line at the same depths, recording 900, 618.7 and 46.1, respectively. The results of the analysis of the physical and chemical properties of the orchard soils under study showed that all the soils were clayey. The pH of these soils ranged from 6.6 to 7.5. The highest percentage of organic matter was 1.759% and the lowest was 0.55%. The EC of the soils varied from 1.10 to 5.00.

University of Mosul
College of Agriculture and Forestry

Morphological and Molecular Diagnosis and Distribution Density of the Nematode Genera *Meloidogyne. javanica* and *Filenchus* spp. Associated with Olive Trees in Nineveh Governorate.

Amina Mahmood Abd-Aljawad Al-Bazazz

Plant Protection

Supervised by

Dr. Firas Kadhim Dawood AlJuboori

Assistant Professor

2024 A.D. **1446A.H**