مجله دانش گیاه‌پزشکی ایران
دوره ۴۴، شماره ۲، ۱۳۹۲ (۲۷۲-۲۶۳)

نخستین گزارش *Stictospora* sp. (Apicomplexa: Eugregarinida: Actinocephalidae) و بیمارگری آن روی لارو کرم سفید ریشهٔ *Polyphylla adspersa* از ایران

جمیله الوندی[۱]، جواد کریمی[۲*] و جرزی جی لیپا[۳]
۱، ۲، دانشجوی کارشناسی ارشد و دانشیار، گروه گیاه‌پزشکی دانشگاه فردوسی مشهد
۳، استاد، گروه کنترل بیولوژیک و قرنطینهٔ مؤسسهٔ گیاه‌پزشکی پوزنان، لهستان
(تاریخ دریافت: ۹۲/۸/۲۱ - تاریخ تصویب: ۹۲/۱۲/۱۲)

چکیده

تک‌سلولی‌های Eugregarinida انگل داخلی رودهٔ تعداد کثیری از بی‌مهرگان‌اند که به شاخهٔ Apicomplexa تعلق دارند. افراد این راسته به سبب داشتن تروفوزوئیت‌های بزرگ، نداشتن شباهت مرفولوژیک و رفتاری بین دو مرحلهٔ تروفوزوئیت و اسپوروزوئیت، دارا بودن حداقل بیماری‌زایی در میزبان و نیز استقرار هسته در قسمت دئوتومریت خود شناخته می‌شوند. به‌منظور مطالعهٔ این گروه انگل حشرات، جمعیت‌هایی از سنین دوم و سوم لاروی کرم سفید ریشه (*Polyphylla adspersa* (Col., Melolonthidae) در شهریور ماه ۱۳۹۰ از پارک‌ها و فضای سبز شهر مشهد جمع‌آوری شد و دستگاه گوارش صدوپنج لارو برای ردیابی آلودگی احتمالی به تک‌سلولی بررسی شد. طی این تحقیق، افراد انگل متعلق به زیرراستهٔ Septatorina در قسمت جلویی و میانی رودهٔ لاروهای سن دوم مشاهده شدند. در بررسی انجام گرفته، مراحل مختلف سیکل زندگی تک‌سلولی *Stictospora* sp. به استثنای اووسیست و گامتوسیست مشاهده گردید. پارامترهای مرفومتریک تروفوزوئیت بالغ و گامونت (شامل Primite و Satellite) بر اساس روش Clopton et al. (2006) با کمی تغییر اندازه‌گیری شد. مطالعهٔ انجام گرفته نشان داد تروفوزوئیت به طول ۲۱۷۶ میکرومتر (۹۲/۰۶±۲۸۰۰-۱۱۰۰) شامل سه بخش اپی‌مریت، پروتومریت و دئوتومریت است و گامونت‌ها بر اساس محل قرارگیری هسته در قسمت دئوتومریت از یکدیگر متمایز می‌شوند و در لقاح نوع سیزیگای (syzygy) شرکت می‌کنند. انگل نام‌برده در صورت قرارگیری آفت در شرایط تنش، با تخریب بخش‌های جلویی دستگاه گوارش سبب مرگ میزبان می‌شد. تأثیر این تک‌سلولی هنگامی که با فعالیت گونه‌ای نماتود Oxyurida همراه می‌شد، تشدید می‌گردید. نماتود مذکور گونه‌ای منسوب به جنس *Cephalobellus* و از خانوادهٔ Thelastomatidae است که جنسی جدید از نماتودهای مرتبط با حشرات ایران است. تأثیر لکه‌ای و موضعی تک‌سلولی در نوسانات انبوهی جمعیت لارو آفت از طریق افزایش حساسیت لاروها و بروز آلودگی مزمن می‌تواند شایان توجه باشد. پژوهش حاضر اولین گزارش جهانی آلودگی طبیعی لاروهای کرم سفید ریشه *P.adspersa* به انگل مذکور است و دربردارندهٔ نخستین گزارش جنس *Stictospora* از ایران است.

واژه‌های کلیدی: آلودگی مزمن، بیماری‌شناسی حشرات، کرم سفید ریشه، Oxyurida، Septatorina

مقدمه

تک‌سلولی‌های Eugregarinida انگل اجباری بی‌مهرگان از جملهٔ حشرات‌اند که به شاخهٔ Apicomplexa تعلق دارند. افراد این راسته تک‌میزبانه بوده و در دستگاه گوارش، بافت چربی، لوله‌های مالپیگی و همولنف میزبان ساکن‌اند (Rueckert & Leander, 2008). میزان بیماری‌زایی افراد این راسته به علت فقدان مرحلهٔ غیرجنسی (Merogony) در چرخهٔ زندگی خود با تعداد

* نویسنده مسئول: جواد کریمی تلفن: ۰۹۱۱۷۰۰۸۱۷ E-mail: jkb@um.ac.ir

اووسیست بلعیده شده توسط میزبان متناسب است (Vega & Kaya, 2012). اووسیست متعاقب بلع در داخل بدن میزبان به اسپوروزوئیت و پس از رسیدن به دستگاه گوارش، به تروفوزوئیت جوان تبدیل می‌گردد. با جدا شدن اپی‌مریت از سلول‌های پوششی روده، تروفوزوئیت بالغ در فضای روده، معلق می‌شود و به گامونت تغییر شکل پیدا می‌کند. گامونت‌های Primite و Satellite توسط لقاح از نوع سیزیگای به یکدیگر متصل شده و با محصور شدن توسط دیواره‌ای به گامتوسیست تبدیل می‌شوند. درنهایت، همراه مدفوع میزبان به محیط بیرون انتقال می‌یابند و اووسیست مجدداً شکل می‌گیرد (Undeen & Vavra, 1997). افراد راستهٔ ذکر شده بر اساس تمایزات ساختاری و اختلاف در نحوهٔ اتصال به سلول‌های پوششی میزبان در دو زیرراستهٔ Septatorina و Aseptatorina قرار می‌گیرند. زیرراستهٔ Septatorina متشکل از ۱۵۶جنس است، که حدود ۱۱۶۶ گونه از آن مشتق می‌گردد (Clopton, 2002). از این بین تنها دو جنس *Euspora* و *Stictospora* از لاروهای Scarabaeid گزارش شده است (Hays *et al*. 2004).

تک‌سلولی انگل حشرات با در اختیار گرفتن مواد غذایی میزبان، آسیب به سلول‌های پوششی و اشغال فضای بدن میزبان، آلودگی مزمن را در میزبان ایجاد می‌کند؛ لذا سبب کاهش طول عمر و قدرت باروری حشرهٔ آلوده می‌گردد. در صورت قرار گرفتن حشرهٔ میزبان در فضاهای تقریباً اشباع از اووسیست، اووسیست‌های بلعیده شده با انسداد روده، به مرگ میزبان منجر می‌گردند. ازاین‌رو، این گروه نیز همانند دیگر گروه‌های بیمارگر حشرات می‌توانند به عنوان عامل کنترل بیولوژیک طبیعی مورد توجه باشند (Vega & Kaya, 2012). با وجود پراکندگی وسیع گرگارین در بین جمعیت‌های حشرات، مطالعات اندکی در زمینهٔ شناسایی، بیولوژی، تنوع زیستی و نحوهٔ اثر این گروه بر دینامیسم جمعیت‌های میزبان صورت گرفته است. آخرین گزارش دربارهٔ گسترهٔ آلودگی بی‌مهرگان به گرگارین‌ها مربوط به Clopton (2002) است که تعداد گونه‌های آلودهٔ بی‌مهرگان را ۳۱۲۴ گونه ذکر کرده است. در این بین، کمتر از ۰/۳۲ درصد آلودگی به گونه‌های یوگرگارین در ردهٔ حشرات گزارش شده است (Levine, 1988). این مطالعه با هدف شناسایی این گروه بیمارگر در جمعیت‌هایی از کرم سفید ریشه *Polyphylla adspersa* آلوده به تک‌سلولی صورت گرفت. لاروهای کرم سفید ریشه *P.adspersa* از مهم‌ترین آفات کشاورزی و فضای سبز در خراسان بزرگ‌اند. با توجه به ناکارآمدی کنترل شیمیایی، خاص بودن زیست‌شناسی و زیستگاه آفت مذکور، استفاده از عوامل بیوکنترل، مانند بیمارگرها و انگل‌ها در کنترل جمعیت حشرهٔ آفت، راهکاری اجتناب‌ناپذیر است. مقالهٔ حاضر، حاصل مطالعه‌ای است که طی سال‌های ۱۳۸۹ تا ۱۳۹۱ به‌منظور شناخت عوامل بیمارگر کرم سفید ریشه *P.adspersa* در مشهد انجام گرفت. طی این تحقیق، آلودگی لاروهای کرم سفید ریشه به گونه‌ای تک‌سلولی دیواره‌دار مشاهده گردید. معرفی، تعیین مشخصات، سیکل زندگی این تک‌سلولی و رفتارشناسی لاروهای آلوده به این عامل، از جمله اهداف این بررسی است. در توصیف علائم‌شناسی بیمارگر، به نماتودی از خانوادهٔ Thelastomatidae منسوب به جنس *Cephalobellus* اشاره می‌شود که نخستین گزارش این جنس نماتود مرتبط با حشرات از ایران است.

مواد و روش‌ها

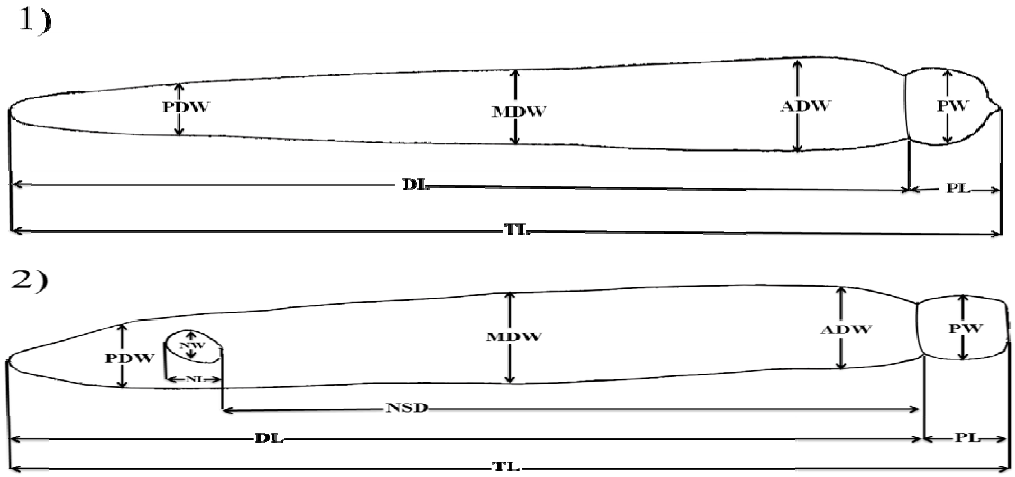
جمع‌آوری نمونه، تشریح و جداسازی تک‌سلولی

جمعیت‌هایی از لاروهای سنین دوم و سوم کرم سفید ریشه *Polyphylla adspersa* (Col., Melolonthidae) در سال‌های ۱۳۸۹ تا ۱۳۹۱ از پارک‌ها و فضای سبز شهرستان مشهد جمع‌آوری و به آزمایشگاه کنترل بیولوژیک و پاتولوژی حشرات دانشگاه فردوسی مشهد منتقل شدند. نگهداری لاروها تا زمان شروع آزمایش‌ها در ظروف استوانه‌ای دردار به ابعاد ۱۰×۱۰ سانتی‌متر حاوی خاک و خاک‌برگ صورت پذیرفت. لاروها با قطعات سیب‌زمینی و به‌صورت هفتگی تغذیه شدند. دستگاه گوارش صدوپنج لارو به‌منظور ردیابی آلودگی احتمالی به تک‌سلولی بررسی شد. بدین صورت که لاروها در زیر استریومیکروسکوپ تشریح شدند و دستگاه گوارش آنها به محلول سالین منتقل گردید. در صورت مشاهدهٔ آلودگی، جداسازی مراحل و اشکال رشدی مختلف تک‌سلولی به دو صورت انجام پذیرفت.

تروفوزوئیت‌های جوان همراه محتویات موجود در رودهٔ میانی میزبان به‌وسیلهٔ میکروسمپلر برداشته شدند و به‌منظور خالص‌سازی، چندین بار نمونه‌ها با آب مقطر استریل شست‌وشو داده شدند و سپس روی لام انتقال یافتند. تروفوزوئیت‌های بالغ نیز به‌طور مستقیم از رودهٔ میانی میزبان توسط سوزن برداشته شد و به یک قطرهٔ آب مقطر یا گلیسرین قرار داده شده روی لام، اضافه شدند (Clopton & Hays, 2006). برخی از آنها توسط متانول و به مدت پنج دقیقه تثبیت شدند و پس از خشک شدن در دمای اتاق، گسترهٔ حاوی افراد تک‌سلولی با محلول رنگی گیمسا پوشانیده شد. بعد از گذشت بیست دقیقه، اسلایدها با آب مقطر شسته و در دمای اتاق خشک شدند. نمونه‌های رنگ‌آمیزی شده با استفاده از میکروسکوپ نوری با بزرگ‌نمایی ۴ و ۱۰ مشاهده شدند (Yaman *et al*, 2011). تهیهٔ تصاویر با میکروسکوپ فاز کنتراست (Olympus DP-70) انجام گرفت.

بررسی مورفومتریک و مورفولوژیک

مشخصات مورفومتریک توصیف شده در اشکال ۱ و ۲ در بیست‌وپنج تروفوزوئیت بالغ و ده گامونت نابالغ با میکروسکوپ Olympus DP-72 با مقیاس ۴ و ۱۰ اندازه‌گیری شد (Clopton & Hays, 2006). پارامترهای اندازه‌گیری شده در تروفوزوئیت بالغ عبارت بود از: طول پروتومریت (PL)، عرض پروتومریت (PW)، طول دئوتومریت (DL)، عرض قسمت جلویی دئوتومریت (ADW)، عرض قسمت میانی دئوتومریت (MDW)، عرض قسمت انتهایی دئوتومریت (PDW)، طول کل (TL)، نسبت طول کل به طول پروتومریت (TL/PL)، نسبت طول دئوتومریت به طول پروتومریت (DL/PL)، نسبت طول کل به طول دئوتومریت (TL/DL)، نسبت طول پروتومریت به عرض پروتومریت (PL/PW) و نسبت طول دئوتومریت به عرض قسمت جلویی دئوتومریت (DL/ADW). در گامونت‌ها علاوه بر خصوصیات مورفومتریک ذکر شده، طول هسته (NL)، عرض هسته (NW)، فاصلهٔ لبهٔ جلویی هسته با دیوارهٔ پروتومریت - دئوتومریت (NSD)، نسبت طول هسته به عرض آن (NL/NW)، نسبت فاصلهٔ لبهٔ جلویی هسته با دیوارهٔ پروتومریت - دئوتومریت به طول هسته (NSD/NL)، و نیز نسبت طول دئوتومریت به فاصلهٔ لبهٔ جلویی هسته با دیوارهٔ پروتومریت - دئوتومریت (DL/NSD) اندازه‌گیری شد. همچنین طول و عرض Primite و Satelliteشرکت‌یافته در لقاح و طول پیوند برقرار شده اندازه‌گیری شد. مقادیر ارائه شده بر اساس میکرومتر است. واژه‌شناسی (Terminology) به‌کاررفته در این توصیف، بر مبنای (Clopton & Hays, 2006) بود.

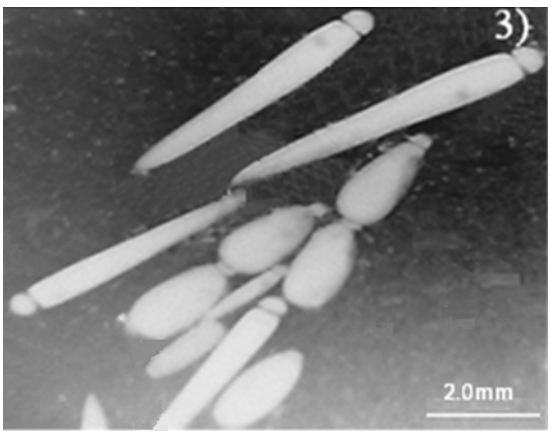


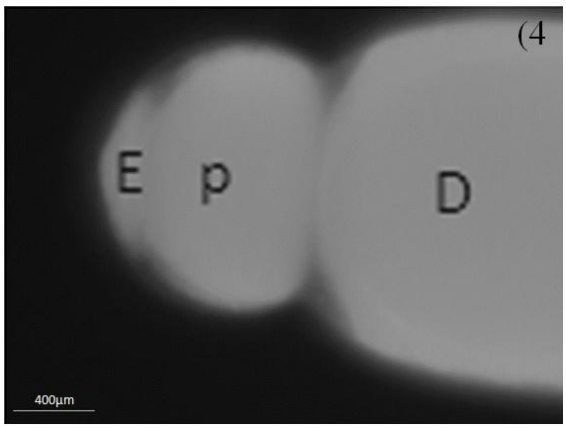
شکل‌های ۱ و ۲. دیاگرام مشخصات مورفومتریک در تک‌سلولی. ۱. تروفوزوئیت ۲. گامونت Primite، TL: طول کل، PL: طول پروتومریت، DL: طول دئوتومریت، PW: عرض پروتومریت، ADW: عرض قسمت جلویی دئوتومریت، MDW: عرض قسمت میانی دئوتومریت، PDW: عرض قسمت انتهایی دئوتومریت، NL: طول هسته، NW: عرض هسته، NS: فاصلهٔ لبهٔ جلویی هسته با دیوارهٔ پروتومریت – دئوتومریت.

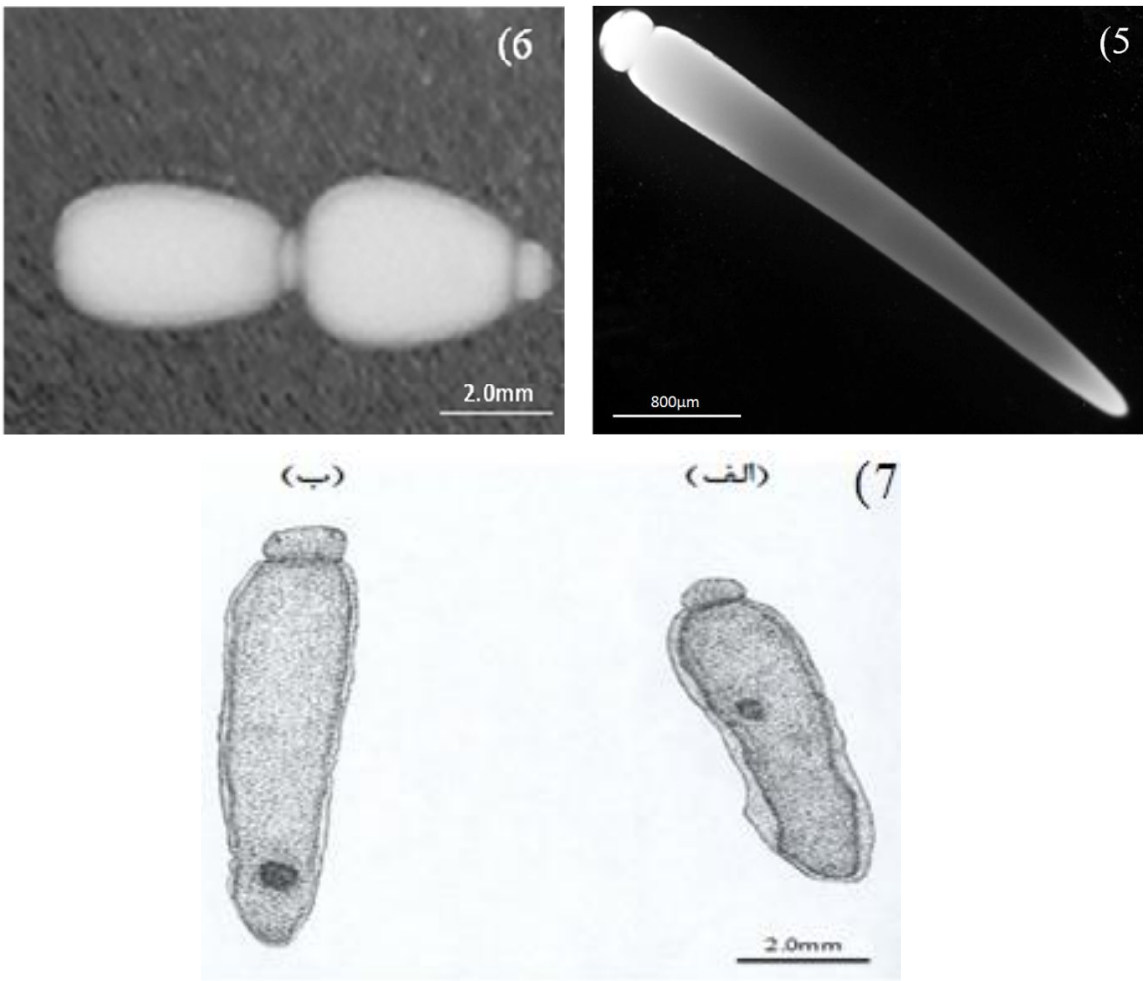
نتایج

شکل‌شناسی تک‌سلولی

میزبان تک‌سلولی‌های خانوادهٔ Actinocephalidae، افراد متعلق به شاخه‌های بندپایان و طناب‌داران‌اند (Clopton, 2002). اپی‌مریت در افراد خانوادهٔ ذکر شده متقارن بوده و می‌تواند دارای زوائد یا بدون زوائد باشد. گامونت‌های منفرد با تأخیر در آمیزش از نوع سیزیگای شرکت می‌کنند. گامتوسیست، فاقد لوله اسپور (sporoduct) بوده و اووسیست با از هم گسستن سادهٔ گامتوسیست شکل می‌گیرد (Clopton, 2002). تک‌سلولی مورد مطالعه به سبب وجود گامونت‌های منفرد و داشتن اپی‌مریت پیچیده و متقارن، در مرحلهٔ تروفوزوئیت در این خانواده جای گرفت. مراحل مختلف از چرخهٔ زندگی تک‌سلولی بیمارگر شامل تروفوزوئیت، گامونت و سیزیگای در رودهٔ میانی لاروهای سن دوم کرم سفید ریشه *P.adspersa* مشاهده گردید (شکل ۳). تروفوزوئیت‌ها دارای دو بخش پروتومریت و دئوتومریت بودند که توسط دیواره‌ای از یکدیگر مجزا می‌شدند. در قسمت جلویی پروتومریت - بخش ابتدایی بدن تک‌سلولی - اپی‌مریت قرار دارد که عامل اتصال به سلول‌های پوششی میزبان است، و تک‌سلولی توسط آن مواد غذایی مورد نیاز خود را از بدن میزبان دریافت می‌کند (شکل ۴). در انتهای بخش دوم بدن که دئوتومریت نامیده می‌شود، هسته واقع است. شکل تروفوزوئیت بر اساس مرحلهٔ رشدی آن از مدور تا استوانه‌ای متغیر است. تروفوزوئیت بالغ دارای پروتومریت تقریباً مدور است. شکل دئوتومریت استوانه‌ای بوده که به‌تدریج از قطر آن کاسته می‌شود؛ لذا قسمت انتهایی دئوتومریت دارای عرض کمتری نسبت به قسمت ابتدایی آن است (شکل ۵). مرحلهٔ جنسی تک‌سلولی با لقاح گامونت‌های Primite و Satellite در فضای روده آغاز می‌شود. آمیزش سیزیگای در تک‌سلولی با اتصال اپی‌مریت Satellite به قسمت انتهایی دئوتومریت Primite شکل می‌گیرد. در این نوع پیوند، هر دو بخش پروتومریت و دئوتومریت بین دو گامونت جفت شده مشهود است (شکل ۶). گامونت‌های Primite و Satellite علاوه بر اختلاف در اندازه، در محل قرارگیری هسته در دئوتومریت نیز با یکدیگر متفاوت‌اند. پروتومریت در گامونت‌های Satellite کوچک‌تر است (PL:169.33±27.12) و با قطری کمتر (PW:255.33±42.88) از پروتومریت در گامونت‌های Primite (PL:274.4±14.94;PW: 331.2±21.41) متمایز است. همچنین دئوتومریت در آنها کوچک‌تر (DL:2666.67±497.77) و قطورتر (471±58.48 :ADW) از گامونت‌های Primite (DL:2700±188.41; ADW: 470.4±26.33) است و هسته در ابتدای دئوتومریت آنها مشاهده می‌شود (شکل ۷). شکل هر دو گامونت در مرحلهٔ آمیزش استوانه‌ای است و انتهای بدن تا حدودی مدور است. مقایسهٔ مشخصات مورفولوژیک و داده‌های مورفومتریک مراحل چندگانهٔ چرخهٔ زندگی تک‌سلولی با توصیف‌ها و شاخص‌های ذکر شده برای گونه‌های خانوادهٔ Actinocephalidae، مؤید تعلق نمونهٔ تحت نظر به جنس *Stictospora* بود. مهم‌ترین مشخصات منطبق، صفات مورفولوژیک مشابه در مرحلهٔ گامونت و نیز داشتن زائده‌ای کوچک به شکل گردن در بخش اپی‌مریت تروفوزوئیت بود.







شکل‌های ۳ تا ۶. مراحل مختلف چرخهٔ زندگی تک‌سلولی *Stictospora* sp.: ۳. مراحل تروفوزوئیت، گامونت و سیزیگای؛ ۴. بخش جلویی بدن گامونت شامل اپی‌مریت (E)، پروتومریت (P) و دئوتومریت (D)؛ ۵. مرحلهٔ تروفوزوئیت؛ ۶. مرحلهٔ سیزیگای؛ ۷. گامونت Satellite (الف) و گامونت Primite (ب).

ویژگی‌های مورفومتریک تک‌سلولی

نتایج تعیین مشخصات مورفومتریک ۲۵ تروفوزوئیت بالغ و ۲۰ گامونت نابالغ در جدول‌های ۱ و ۲ ارائه شده است. گامونت‌های Primite و Satellite شرکت‌یافته در لقاح به‌ترتیب ۸۳۲ و ۸۳۶ میکرومتر طول داشتند و طول پیوند تشکیل‌یافته در حدود ۱۶۷۰ میکرومتر برآورد شد. تأیید هویت تک‌سلولی توسط Richard E. Clopton از Peru State College ایالات متحده انجام گرفت. اسلایدهای میکروسکوپی تهیه شده از مراحل مختلف رشدی تک‌سلولی در مجموعهٔ عوامل بیمارگر حشرات، گروه گیاه‌پزشکی دانشگاه فردوسی مشهد نگهداری می‌شوند.

جدول۱. مشخصات مورفومتریک تعیین شده در ۲۵ تروفوزوئیت بالغ (اندازه به µm)

مشخصات مورفومتریک	TL	PL	DL	PW	ADW	MDW	PDW	TL/PL	DL/PL	TL/DL	PL/PW	DL/ADW
تروفوزوئیت بالغ	2176± 90.07	218.16± 10.56	1981.60± 86.54	239.39± 14.08	308.36± 19.45	263.28± 16.62	208.60± 15.48	10.35± 0.57	9.45± 0.56	1.10	0.94± 0.02	7.02±0.5

جدول۲. مشخصات مورفومتریک در گامونت‌های نابالغ Primite و Satellite (اندازه به µm)

مشخصات مورفومتریک	گامونت نابالغ Primite (n=10)	گامونت نابالغ Satellite (n=10)	مشخصات مورفومتریک	گامونت نابالغ Primite (n=10)	گامونت نابالغ Satellite (n=10)
TL	2980±196.72	2833.33±466.67	NSD	2120±147.31	361.67±106.30
PL	274.4±14.94	169.33±27.12	TL/PL	10.86±0.37	3.99±3.94
DL	2700±188.41	2666.67±497.77	DL/PL	9.85±0.41	17.59±6.34
PW	331.2±21.41	255.33±42.88	TL/DL	1.10±0.01	1.00±0.05
ADW	470.4±26.33	471±58.48	PL/PW	0.83±0.04	1.30±0.28
MDW	401.2±27.80	349.33±38.95	DL/ADW	5.71±0.14	5.61±0.53
PDW	256±17.22	257.67±36.25	NL/NW	1.19±0.02	1.15±0.12
NL	196±14.31	180.33±14.85	NSD/NL	11.07±0.72	1.95±0.49
NW	165.2±14.14	162.67±27.23	DL/NSD	1.27±0.04	8.43±1.94

اووسیست‌های متعلق به تک‌سلولی یوگرگارین در حفرهٔ عمومی و در بخش انتهایی بدن جمعیتی از لاروهای سنین اول کرم سفید ریشه *P.adspersa* مشاهده گردید.

بحث

ردهٔ Gregarini یکی از بزرگ‌ترین گروه‌های بیمارگر حشرات و دیگر بی‌مهرگان است که با داشتن ۱۴۵۰ جنس در سه راستهٔ Archigregarinida، Eugregarinida و Neogregarinida طبقه‌بندی می‌شود (Tanada & Kaya, 1993). میزبان این گروه علاوه بر بندبایان، دیگر گروه‌های بی‌مهرگان، نرم‌تنان، خارپوستان و طناب‌داران ابتدایی‌اند (Omoto, 2003). فعالیت این رده در اغلب بندپایان منجر به بروز عفونت‌های شدید می‌گردد (Vega & Kaya, 2012). از بین سه راستهٔ اشاره شده، راستهٔ Eugregarinida به سبب نداشتن مرحلهٔ غیرجنسی در چرخهٔ زندگی، دارابودن حداقل بیماری‌زایی در میزبان، نبود شباهت مرفولوژیک و رفتاری بین دو مرحلهٔ تروفوزوئیت و اسپوروزوئیت و نیز استقرار هسته در قسمت دئوتومریت خود، از دو راستهٔ دیگر متمایز می‌شود. گزارش‌های متعددی دربارهٔ آلودگی لاروهای اسکارابئید، به‌ویژه سوسک ژاپنی *Popillia japonica* به یوگرگارین در شمال آمریکا بیان شده است (Regniere & Brooks, 1978; Hanula & Andreadis, 1988; Berberet & Helms, 1969; Poprawski & Yule, 1992; Cappaert & Smitley, 2002). تا سال ۱۹۹۸ از ۲۷۷۰۰۰ گونهٔ سخت‌بال‌پوش شناسایی شده، در ۸۵۰ گونه آلودگی به تک‌سلولی مشاهده شده بود (Clopton, 2002). این درحالی است که گونه‌های راستهٔ سخت‌بال‌پوشان بیشترین درصد آلودگی را در میان حشرات آفت که به عنوان میزبان‌های اصلی این گروه بیمارگر مطرح هستند به خود اختصاص داده‌اند (Vega & Kaya, 2012). در زمینهٔ شناسایی مورفولوژیک و مورفومتریک این گروه بیمارگر می‌توان به بررسی Clopton (2004) اشاره کرد که نام‌گذاری استاندارد و مشخصات قابل‌اندازه‌گیری را به‌صورت ۲۷۸ شکل طراحی شده و در قالب ۲۳ مجموعه شکل برای توصیف مورفولوژیک اعضای گروه گرگارین مشخص کرده است. در این مطالعه، تک‌سلولی *Stictospora* sp بر اساس خصوصیات مورفولوژیک و مورفومتریک دو مرحله از چرخهٔ زندگی بیمارگر در خانوادهٔ Actinocephalidae قرار گرفت. این خانواده دارای ۳ زیرخانواده، ۶۱ جنس و ۲۸۳ گونه است. با وجود معرفی گونه‌های این خانواده از رده‌های حشرات و صدپایان، بسیاری از گونه‌های آن از شاخه‌های Chaetognatha و Chordata گزارش شده است (Clopton, 2002). از دیگر گونه‌های این جنس می‌توان به *Stictospora villaini* اشاره کرد که انگل رودهٔ لاروهای سوسک ژاپنی *P. japonica* است و بر اساس خصوصیات مورفومتریک اووسیست و تروفوزوئیت از میشیگان توصیف شده است (Hays *et al*, 2004). عدم مشاهدهٔ مراحل گامتوسیست و اووسیست در مطالعات انجام گرفته روی گونه‌های *Stictospora anomalae Stictospora kabutomusi* و *Stictospora kurdistana* نیز ذکر شده است. Regniere & Brooks (1978) گونه‌ای دیگر از جنس *Stictospora* را از لاروهای سوسک ژاپنی *P. japonica* در شرق کارولینای شمالی جداسازی و معرفی کردند که با نمونهٔ

توصیف شده در مطالعهٔ جاری تفاوت چشمگیری داشت. تروفوزوئیت نمونهٔ معرفی شده توسط دو محقق اخیر در طول (TL: 420.0±46.4 µm) و عرض (W: 55.4± 4.8 µm)کوچک‌تر از تروفوزوئیت تک‌سلولی *Stictospora* sp. ایران است. به‌طور کلی، اختلاف طول تروفوزوئیت *Stictospora* sp با بزرگ‌ترین تروفوزوئیت شناسایی شده در گونهٔ *Stictospora cotelytrae* در حدود ۴۶۷ میکرومتر برآورد گردید. نمونهٔ تک‌سلولی بررسی جاری تفاوت‌های مورفولوژیک و مورفومتریک چشمگیری با دیگر گونه‌های شناسایی شدهٔ این جنس داشت (جدول ۳). تک‌سلولی تحت بررسی در مقایسه با همهٔ گونه‌های جنس *Stictospora* که از سال ۱۹۵۳ تا ۲۰۰۴ توصیف شده‌اند، تمایز فاحشی در همهٔ شاخص‌های مورفومتریک دارد. بزرگ‌ترین گونهٔ توصیف شدهٔ این جنس، *Stictospora cotelytrae* است که Allison در سال ۱۹۶۹ آن را توصیف کرده است. نظر به اهمیت موضوع، مطالعات دقیق‌تر با رویکردی مبتنی بر تحلیل روابط بین این نمونه و دیگر گونه‌ها از تاکساهای دیگر با استناد به توالی DNA ناحیهٔ ژنی 18S (SSU) در دست اجرا است، تا ابهامات محدود دربارهٔ معرفی گونه‌ای جدید با نام احتمالی *Stictospora iraniensis* sp nov مرتفع شود (مکاتبات شخصی با Richard E. Clopton و Andrea Valigurova).

جدول ۳. ویژگی‌های مورفومتریک تعیین شده در گونه‌های جنس *Stictospora*

گونه	طول کل (Min, Mean, Max)	LP/LD	منبع
Stictospora villani	144.7-392.4-691.6	0.19	Hays (2004)
Stictospora cotelytrae	263.0-1,035.0-1,700.0	0.13	Allison (1969)
Stictospora coelocystis	478.0-845.0-1,175.0	0.87	Obata (1953)
Stictospora kurdistana	500.0-550.0-600.0	0.12	Theodorides (1955)
Stictospora provincialis	1,075.0-1,385.0-1,688.0	0.19	Geus (1969)
Stictospora anomalae	940.0-1,168.0-1,430.0	0.08	Hoshide (1952)
Stictospora kabutomusi	892.0-1,153.0-1,560	0.12	Hoshide (1952)

بیماری‌زایی یوگرگارین با توجه به داشتن ارتباط مستقیم با میزان اووسیستی که میزبان طی تغذیه دریافت می‌کند، دارای آثار مزمن روی میزبان خود است (Undeen & Vavra, 1997). مشاهدات بالینی روشن کرد تک‌سلولی تحت بررسی در لاروهای میزبان بیماری مزمن ایجاد می‌کند؛ به‌طوری که لاروهای آلوده نسبت به لاروهای سالم جثهٔ کوچک‌تر، وزن کمتر و تحرک کمتری داشتند و در صورت بروز شرایط تنش، از جمله کاهش رطوبت و نقصان منبع غذایی، سبب مرگ لاروهای آلوده می‌شدند. این موضوع در لاروهایی که علاوه بر داشتن آلودگی به تک‌سلولی میزبان، گونه‌ایی نماتود Oxyurid بودند، تشدید می‌شد. نماتود مورد اشاره از جنس *Cephalobellus* و خانوادهٔ Thelastomatidae بود که در اتاقک تخمیر لاروهای کرم سفید ریشه *P.adspersa* جای داشتند. قبل از این نیز در گونه‌های دیگری از این خانواده، از جمله گونهٔ *Hammerschmidtiella diesingi* و گونهٔ *Cranifera cranifera* به این موضوع اشاره شده است (Carreno & Tuhela, 2011). اثر توأمان این نماتود پارازیت با تک‌سلولی مشروح سبب مرگ لاروهای آلوده می‌شد. نماتود معرفی شده از جنس *Cephalobellus* تاکنون از راسته‌هایی از حشرات چون راست‌بالان، سخت‌بال‌پوشان، دوبالان و سوسری‌ها معرفی شده است، ولی تاکنون در جنس *Polyphylla* مشاهده نشده بود. بدین ترتیب، جنس *Polyphylla* به عنوان میزبان جدید نماتودهای جنس *Cephalobellus* معرفی می‌شود. مضاف بر این، مشاهدهٔ ارتباط پارازیتیسم نماتود جنس مذکور بر اساس منابع موجود نشان می‌دهد که جنس *Cephalobellus* تاکنون از ایران گزارش نشده است. بنابراین، دیگر یافتهٔ تحقیق جاری معرفی جنسی جدید از نماتودهای مرتبط با حشرات برای کشور است. بیشتر محققان یوگرگارین را به عنوان هم‌زیست حشرات معرفی می‌کنند که رابطهٔ آن با حشرات در طیفی از انگلی، هم‌سفرگی و هم‌یاری در نوسان است و بسته به شرایط محیط، نوع این ارتباط

متغیر است (Hays et al, 2004). بااین‌حال، به استثنای موارد نادر، نظیر گرگارین *Schneideria schneiderae* که در لوله‌های کور لاروهای مگس Sciarid مستقر است و رابطهٔ هم‌سفرگی با میزبان خود دارد، در بیشتر موارد یوگرگارین سبب کاهش بقا، کاهش اندازهٔ بدن، تورم شکم، کندشدن تحرک، افزایش حساسیت به بیماری‌ها، اختلال در روابط جنسی در حشرات راسته‌های دوبالان، سخت‌بال‌پوشان، سوسری‌ها و راست‌بالان می‌گردد. این عوارض در صورت دسترسی نداشتن حشرهٔ میزبان به منابع غذایی تشدید می‌شود و موجب مرگ میزبان می‌گردد (Vega & Kaya, 2012). مطالعهٔ انجام گرفته توسط Sienkiewicz & Lipa (2009) با هدف برآورد میزان شیوع یوگرگارین در جمعیت‌های سوسک‌های Carabidae نشان داد یوگرگارین‌ها با اثر بر فراوانی جوامع سوسک‌های مذکور در زیستگاه‌های جنگلی جمعیت این آفت را تحت کنترل دارد. با وجود گسترش جهانی یوگرگارین در بین کرم‌های سفید ریشه، تأثیر و نقش آن در پویایی و پراکنش جمعیت این میزبان مشخص نشده است. از جمله مطالعات اکولوژیک انجام گرفته در زمینهٔ تعیین دامنهٔ انتشار یوگرگارین در لاروهای Scarabaied به‌ویژه سوسک ژاپنی می‌توان به بررسی‌های صورت‌گرفته در کارولینای شمالی، کانکتیکات و میشیگان اشاره کرد (Hays et al, 2004).

Regniere & Brooks (1978) با بررسی ۲۰ مکان در کارولینای شمالی، میزان انتشار گرگارین را در جمعیت‌های سوسک ژاپنی ۲/۳ تا ۱۰۰ درصد گزارش کردند.Hanula & Andreadis (1988) تراکم بیمارگر را در منطقهٔ کانکتیکات ۵۵ تا ۹۶ درصد برآورد کردند. Cappaert & Smitley (2002) انتشار بیمارگر را در ۳۵ ناحیهٔ میشیگان در حدود ۳۳٪ تخمین زدند. در این مطالعه، با نمونه‌برداری از ۱۵ منطقهٔ شهر مشهد، مشاهده گردید که میزان شیوع این بیمارگر در مناطق مختلف جغرافیایی که از هم فاصله داشتند، کم است ولی در جمعیت‌هایی که آلودگی مشاهده گردید، شدت آلودگی (Prevalence rate) در سطحی بالا قرار داشت. این موضوع مبین پراکنش موضعی (Sporadic) تک‌سلولی است که دربارهٔ این گروه بیمارگر رایج است (Vega & Kaya, 2012). مطالعهٔ پویایی جمعیت‌های یوگرگارین نشان داده است که میزان پایداری این گروه در بیرون بدن میزبان و استقرار آن در بدن میزبان شرایط متغیر و متفاوتی دارد و هنوز جنبه‌های بسیار محدودی از این پویایی بررسی نشده است (Sienkiewicz & Lipa, 2008).

Cappaert & Smitley (2002) گزارش کردند که اختلاف چشمگیری بین دو جمعیت استقراریافته و نوظهور سوسک ژاپنی آلوده به *Stictospora villaini* وجود دارد. بدین ترتیب که در جمعیت‌هایی از سوسک ژاپنی آلوده به *S. villaini* که بیش از بیست سال از استقرار آنها گذشته بود، میزان شیوع این بیمارگر ۵۳/۶ درصد بوده است. درحالی‌که در جمعیت‌های تازه استقراریافتهٔ سوسک‌ها که کمتر از ده سال از ورود آنها می‌گذشت، نرخ آلودگی تنها ۳۸/۸ درصد بوده است. این مشاهدات نشان می‌دهد که اگرچه سوسک ژاپنی سبب انتشار این بیمارگر به مناطق جدید شده است، شیوع آلودگی گرگارین در جمعیت‌های نوظهور در درازمدت افزایش می‌یابد. مطالعات همه‌گیرشناسی (Epidemiology) این راسته در بین حشرات محدود است و عمدهٔ بررسی‌ها در سخت‌بال‌پوشان، راست‌بالان، باستان‌بالان، دوبالان و سوسری‌ها انجام گرفته است. بررسی‌های مذکور نیز عمدتاً در راستای معرفی و شناسایی گونه‌ها بوده است. درحالی‌که دربارهٔ سازوکار تأثیر دقیق افراد این راسته و نقش احتمالی آنها در نوسانات انبوهی جمعیت حشرات میزبان اطلاعات زیادی در دست نیست. مشاهدات Foerster (1939) نشان داد راستهٔ خرطوم‌مفصلی‌ها توسط یوگرگارین آلوده نمی‌شوند. این موضوع برای گونه‌های دیگر حشرات که روی اندام هوایی میزبان گیاهی فعالیت دارند نیز صادق است. اووسیست بیمارگر در این زیستگاه‌ها قدرت زنده‌مانی ندارد. از طرفی آلودگی به یوگرگارین در حشرات خاک‌زی، به‌ویژه حشرات مدفوع‌خوار شایع است؛ چرا که اووسیست بیمارگر همراه مدفوع میزبان وارد محیط خاک می‌شود (Sienkiewicz & Lipa, 2009). دورهٔ لاروی کرم سفید ریشه *P.adspersa* مرحلهٔ خسارت‌زا در سیکل زندگی حشره در خاک، دو تا سه سال به‌طول می‌انجام، ازاین‌رو، طی این مدت در تماس مستقیم با این عوامل بیمارگر قرار می‌گیرد. با توجه به

اهمیت استفاده از عوامل میکروبی بومی، به علت داشتن عملکرد اختصاصی آنها علیه حشرهٔ آفت، شناسایی عوامل طبیعی در کنش با آفت مذکور می‌تواند مفید واقع شود.

سپاسگزاری

از معاونت پژوهشی دانشگاه فردوسی مشهد به دلیل تأمین اعتبار طرح پژوهشی به شمارهٔ ۲۷۹۵۱ قدردانی می‌شود. از دکتر Richard E. Clopton در Peru State College ایالات متحده به خاطر تأیید هویت تک‌سلولی و از Andrea Valigurova از دانشگاه Masaryk تشکر می‌گردد. نگارندگان از سرکار خانم مهندس جعفریان و دیگر کارکنان ادارهٔ فضای سبز شهرداری مشهد به دلیل کمک در نمونه‌برداری‌های انجام گرفته کمال تشکر و قدردانی را دارند.

REFERENCES

1. Allison, F. R. (1969). Study of the eugregarines of the grass-grub larvae of *Costelytra zealandica* (white), Melolonthinae, with a description of three new species. *Journal of Parasitology*, 59, 663–682.
2. Berberet, R. C. & Helms, T. J. (1969). Two Eugregarina, *Gregarina* sp. and *Actinocephalus* sp., associated with the scarab *Phyllophaga anxia*, as observed in histological sections. *Journal of Invertebrate Pathology*, 14, 395–401.
3. Cappaert, D. L. & Smitley, D. R. (2002). Parasitoids and pathogens of Japanese beetle (Coleoptera: Scarabaeidae) in southern Michigan. *Environmental Entomology*, 31, 573–580.
4. Carreno, R. A. & Tuhela, L. (2011). Thelastomatid Nematodes (Oxyurida: Thelastomatoidea) from the Peppered Cockroach, *Archimandrita tesselata* (Insecta: blattaria) in Costa Rica. *Comparative parasitology*, 78(1), 39–55.
5. 5. Clopton, R. E. (2002). The Gregarines: A generic level review. *Illustrated Guide to the Protozoa, Second Edition*, 205–288.
6. Clopton, R. E. (2004). Standard nomenclature and metrics of plane shapes for use in gregarine taxonomy. *Comparative Parasitology*, 76(2), 167–190.
7. Clopton, R. E. & Hays, J. (2006). Revision of the genus *Protomagalhaensia* and description of *Protomagalhaensia wolfi* n. comb. (Apicomplexa: Eugregarinida: Hirmocystidae) and *Leidyana haasi* n. comb.(Apicomplexa: Eugregarinida: Leidyanidae) parasitizing the Lobster Cockroach, *Nauphoeta cinerea* (Dictyoptera**:** Blaberidae). *Comparative Parasitology*, 73(2), 137–156.
8. Foerster, H. (1939). Gregarinen in Schlesischen Insekten. *Zeitschrift für Parasitenkunde*, 10, 157–209.
9. Hays, J., Clopton, R. E., Cappaert, D. L. & Smitley, D. R. (2004). Revision of the genus *Stictospora* and description of *Stictospora villani*, n. sp. (Apicomplexa:Eugregarinida: Actinocephalidae) from larvae of the Japanese beetle, *Popillia japonica* (Coleoptera: Scarabaeidae), in Michigan. *Journal of Parasitology*, 90(6), 1450–1456.
10. Hoshide, H. (1952). Studies on the gregarines from the Coleoptera in Japan. *Yamaguchi Journal of Science*, 2, 93–106.
11. Hanula, J. L. & Andreadis, T. G. (1988). Parasitic microorganisms of Japanese beetle (Coleoptera: Scarabaeidae) and associated scarab larvae in Connecticut soils. *Environmental Entomology*, 14, 709–714.
12. Levine, N. D. (1988). The Protozoan Phylum Apicomplexa. I & II. CRC Press, Boca Raton, Florida, 154p.
13. Obata, K. (1953). Reports on some gregarines from Japanese insects. *Journal of the Faculty of Science, Hiroshima University*. 14, 1–34.
14. Omoto, C. K. & Cartwright, C. D. (2003). Investigating the diversity of parasitic protozoa using gregarine parasites of invertebrates, *24th Workshop/Conference of the Association for Biology Laboratory Education* (ABLE), 77–85.
15. Poprawski, T. J. & Yule, W. N. (1992). *Actinocephalus* sp., a protozoan (Eugregarinida: Actinocephalidae) associated with June beetles, *Phyllophaga Harris* (Coleoptera: Scarabaeidae). *The Canadian Entomologist*, 124, 391–396.
16. Regnier, J. & Brooks. (1978). Entomogenous microorganisms associated with the Japanese beetle, *Popillia japonica*, in Eastern North Carolina. *Journal of invertebrate pathology*, 32, 226–228.
17. Rueckert, S. & Leander, B. S. (2008). Morphology and phylogenetic position of two novel marine gregarines (Apicomplexa, Eugregarinorida) from the intestines of Northeastern Pacific ascidians. *Zoological Scripta*, 37, 637–645.

18. Sienkiewicz, P., Lipa, J. J. (2008). *Gregarina Vizri* Lipa, 1968 (Apicomplexa: Eugregarinida) Recorded in Poland an Expansive Plant Pest the Cereal Ground Beetle *Zabrus tenebrioides* (Goeze) (Coleoptera: Carabidae). *Journal of Plant Protection*, 48 (2), 189–193.
19. Sienkiewicz, P., Lipa, J. J. (2009). Prevalence of eugregarines (Apicomplexa: Eugregarinida) parasitizing in ground beetles (Coleoptera, Carabidae) in various habitats. *Polish Journal of Entomology*, 78 (4), 351–368.
20. Tanada, Y. & Kaya , H. K. (1993). *Insect pathology*. Academic press, 665p.
21. Theodorides. S, J. (1955). Contribution a letude des parasites et phoretiques de coleopteres terrestres. Vie et Milieu, *Bulletin de Laboratoire ARAGO*, 4, 1–310.
22. Undeen, A. H. & Vavra, J. (1997). Research methods for entomopathogenic protozoa. In: Lacey, L. (Eds.). *Manual of techniques in insect pathology*. Biological Techniques Series, Academic Press, London, 117–151.
23. Vega, F. E. & Kaya, H. K. (2012). *Insect pathology* (2nd. Edition), Academic press, 490 p.
24. Yaman, M., Tosun, O., Lipa, J. J. & Aslan,I. (2011). First records of a gregarine pathogen and a mermithid parasite from *Chrysolina fastuosa* (Scopoli, 1763) (Coleoptera: Chrysomelidae). *North Western Journal of Zoology*, 7(1), 105–112.