The University of Tehran Press

Iranian Journal of Plant Protection Science

Online ISNN: 2008-4781

Homepage: http://ijpps.ut.ac.ir/

Report of five free-living nematodes based on morphological, morphometrical, and molecular characters from forests of Khorramabad -Lorestan, Iran

Arezoo Naghavi[1]✉ Gholamreza Niknam[2] Nasir Vazifeh[3]

1. Corresponding Author, Department of Plant Protection, Faculty of Agriculture, Lorestan University, Khorramabad, Iran. E-mail: Naghavi.a@lu.ac.ir
2. Department of Plant Protection, Faculty of Agriculture, University of Tabriz, Tabriz, Iran. E-mail: g_niknam@tabrizu.ac.ir
3. Department of Plant Protection, Faculty of Agriculture, University of Tabriz, Tabriz, Iran. E-mail: Nasir.vazife@gmail.com

Article Info

Article type:

Research Article

Article history:

Received: 8 April 2025

Revised: 3 August 2025

Accepted: 6 August 2025

Published online: Atumn and Winter 2024

Keywords:

Aquatides,

fauna,

forest area, Lorestan,

morphology,

28S rDNA.

ABSTRACT

The forest area of Khorramabad County, Lorestan Province, Iran, is estimated to have high biodiversity. In the present study, conducted from 2021 to 2022, the free-living nematode fauna in this region was studied. Approximately 120 soil samples were collected from the rhizosphere of forest trees, and the nematodes were extracted using standard nematological methods. Among the extracted nematodes, *Aquatides christicki*, *Clavicaudoides clavicaudatus*, and *Paravulvus hartingii* from the family Nygolaimidae, and *Pungentus engadinensis* and *P. sufiyanensis* belonging to the family Nordiidae were identified. In this contribution, the morphological, morphometric, and molecular characteristics (D2-D3 28S rDNA) of the species are presented. *Aquatides christicki* is a new report for the nematode fauna of Iran, and its molecular identity is registered for the first time. Females are slender, 1.45 to 1.99 mm long, lip region asymmetrical with a slight ventral incline, mural tooth linear, 19.0-21.5 µm long, basal expanded part of pharynx 158-230 µm long, with three ovoid cardia glands, female reproductive system didelphic-amphidelphic, tail short and rounded, dorsally convex conoid, 22-26 µm long. Three nucleotide sequences obtained in this study for the species of *A. christicki*, *C. clavicaudatus*, and *P. hartingii*, along with other known sequences of the family Nygolaimidae, formed a single clade separated from other families of the order Dorylaimida with maximum posterior probability (BPP=1). Also, the sequences obtained for *Pungentus engadinensis*, along with the sequences of the species in the GenBank, were placed in the same clade.

Cite this article: Naghavi, A., Niknam, G. R. & Vazifeh, N. (2024). Report of five free-living nematodes based on morphological, morphometrical, and molecular characters from forests of Khorramabad -Lorestan, Iran. *Iranian Journal of Plant Protection Science*, 55 (2), 255-273. DOI: https://doi.org/10.22059/ijpps.2025.392923.1007076

© The Author(s).

Publisher: The University of Tehran Press.

DOI: https://doi.org/10.22059/ijpps.2025.392923.1007076

Extended Abstract

Introduction

Free-living nematodes are one of the most diverse and abundant groups of invertebrates that are present in a variety of habitats. Among the phylum nematodes, the order of Dorylaimida, with more than 2500 valid species and 250 genera, is known as one of the most important taxa of nematodes (Jairajpuri & Ahmad, 1992).

The suborder Nygolaimina Ahmad & Jairajpuri, 1979, includes a group of free-living nematodes in the order Dorylaimida Pearse, 1942, which has a single superfamily, Nygolaimoidea Thorne, 1935, and three families, Nygolaimidae Thorne, 1935, Aetholaimidae Jairajpuri, 1965, and Nygellidae Andrássy, 1958. In the present study, one species from each of the three genera *Aquatides* Heyns, 1968, *Clavicaudoides* Heyns, 1968, and *Paravulvus* Heyns, 1968, belonging to the family Nygolaimidae and two genera from the subfamily Pungentinae of the family Nordiidae (Jairajpuri & Siddiqi, 1964) were identified and introduced.

Materials and Methods

During 2021 and 2022, about 120 soil samples were collected from the rhizosphere of oak trees and other forest trees in southeastern Khorramabad, Lorestan province, Iran. The nematodes were extracted using the modified Brown & Boag (1988) method, killed, fixed, and transferred to anhydrous glycerol by De Grisse's (1969) technique and mounted on permanent glass slides. The species were identified under a light microscope equipped with Dino-Eye Eyepiece Camera based on the morphological and morphometric characteristics and valid identification keys. Photographs were taken with an Olympus BX41 light microscope equipped with a DP50 digital camera. Photoplates were made using CorelDRAW® software version 12. For molecular study, nematodes' DNA was extracted from three to four individuals, and PCR assays were conducted as described by Archidona-Yuste *et al*. (2016). The D2-D3 segments were amplified using the forward D2A and reverse D3B primers (Nunn, 1992). PCR cycle conditions were as follows: denaturation at 94°C for 2 min, 35 cycles of denaturation at 94°C for 30 s, annealing of primers at 55°C for 45 s, and extension at 72°C for 3 min, followed by a final elongation step at 72°C for 10 min. PCR products were purified for sequencing in both directions by D2-D3 primers and sequenced by the Applied Biosystems® 3730/3730xl DNA Analyzer in South Korea. The obtained sequences were deposited in the GenBank database under accession numbers PP971542 https://www.ncbi.nlm.nih.gov/nuccore/PP971540, PP971539, PP971538, and PQ576734 for *A. christicki*, *C. clavicaudatus*, *P. hartingii* and *P. sufiyanensis*, respectively, and PQ576735, PQ576745 for *P. engadinensis*. The Basic Local Alignment Search Tool (BLAST) homology search program was used to compare the newly generated sequences with other available sequences in the GenBank database. The sequences were aligned using MEGA6 software, and phylogenetic analysis of the sequences was performed using MrBayes 3.1.2. BI analysis under the general time-reversible model with invariable sites and a gamma-shaped distribution (GTR + I + G) model for the 28S rDNA gene was done. The tree was visualized using Fig Tree v.1.4.2

Results and Discussion

In this study, three species belonging to Nygolaimidae, namely *Aquatides christicki*, *Clavicaudoides clavicaudatus*, and *Pravulvus hartingii*, were identified, of which *A. christicki* is the first record for Iran's nematode fauna. This species is characterized by having a cylindrical body, 1.45-1.99 mm long, tapering gradually toward anterior end, lip region asymmetrical, with a slight ventral incline, amphidial fovea cup-shaped, aperture slit-like, 8.5 to 9.5 µm wide, or 42 to 44% of lip region wide, guiding ring simple and single, at a distance of 9.5 to 10.5 µm from anterior end, mural tooth linear, 19.0-21.5 µm long, 0.9 to one times of lip region wide, odontophore, 31-38 µm long or 1.6 to 1.7 times of tooth length, basal expanded part of pharynx 158-230 µm long and occupying about 49 to 52% of the pharynx length, nerve ring surrounding the anterior slender part of the pharynx at 130 to 175 µm from anterior end of body, three cardia glands ovoid, vulva a transverse slit, female reproductive system didelphic-amphidelphic, tail short and rounded, dorsally convex conoid. No significant difference was found between the identified species and the original description. This species was first reported from India by Ahmad & Jairajpuri, 1982. The current study is the second report after the original description. The sequence of *A. christicki* was deposited for the first time in NCBI. Furthermore, in this study, *Pungentus engadinensis* and *P. sufiyanensis*, from the Nordiidae family, were also identified. The characteristics of these two species did not show any differences compared to the original description. Three nucleotide sequences obtained in this study for the species of *A. christicki*, *C. clavicaudatus*, and *P. hartingii*, along with other known sequences of the family Nygolaimidae, formed a single clade separated from other families of the order Dorylaimida with maximum posterior probability (BPP=1). Also, the sequences obtained for *P. engadinensis*, along with the sequences of the species in the GenBank, were placed in the same clade.

نشریه دانش گیاهپزشکی ایران، دوره ۵۵، شماره ۲

انتشارات دانشگاه تهران

شاپا الکترونیکی: ۷۸۶۸-۲۴۲۳

Homepage: http://ijpps.ut.ac.ir/

گزارش پنج گونه نماتد آزادزی بر اساس صفات ریخت‌شناختی، ریخت سنجی و مولکولی از جنگل‌های خرم آباد– لرستان، –ایران

آرزو نقوی[۱]✉ | غلام رضا نیکنام[۲] | نصیر وظیفه[۳]

۱. نویسنده مسئول، گروه گیاه‌پزشکی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه لرستان، خرم‌آباد، ایران. رایانامه: Naghavi.a@lu.ac.ir

۲. گروه گیاه پزشکی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه تبریز، تبریز، ایران. رایانامه: g_Niknam@tabrizu.ac.ir

۳. گروه گیاه پزشکی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه تبریز، تبریز، ایران. رایانامه: Nasir.vazife@gmail.com

اطلاعات مقاله

نوع مقاله:
مقالهٔ پژوهشی

تاریخ دریافت: ۱۴۰۴/۰۱/۱۹
تاریخ بازنگری: ۱۴۰۴/۰۵/۱۲
تاریخ پذیرش: ۱۴۰۴/۰۵/۱۵
تاریخ انتشار: پاییز و زمستان ۱۴۰۳

کلیدواژه‌ها:
فون، ریخت شناختی، لرستان، منطقه جنگلی، Aquatides ، S rDNA. ۲۸

چکیده

تخمین زده می‌شود که منطقه جنگلی شهرستان خرم آباد لرستان از تنوع زیستی بالایی برخوردار باشد که در بررسی حاضر در سال‌های ۱۴۰۰ تا ۱۴۰۱ فون نماتدهای آزادزی این منطقه مورد مطالعه قرار گرفته است. تعداد ۱۲۰ نمونه خاک از فراریشه درختان جنگلی جمع آوری و نماتدها با روش‌های معمول نماتدشناسی استخراج گردیدند. در میان نماتدهای استخراج شده *Aquatides christicki*، *Clavicaudoides clavicaudatus* و *Paravulvus hartingii* از خانواده Nygolaimidae و *Pungentus engadinensis* و *P. sufiyanensis* متعلق به خانواده Nordiidae نیز از این منطقه شناسایی شدند. ویژگی‌های ریخت‌شناختی، ریخت‌سنجی و مولکولی (D2-D3, 28S rDNA) این گونه‌ها ارائه شده است. گونه *A. christicki* گزارش جدید برای فون نماتدهای ایران است و شناسایی مولکولی آن برای اولین‌بار انجام شده است. ماده‌های این گونه دارای بدنی استوانه‌ای‌شکل به‌طول ۱/۴۵ تا ۱/۹۹ میلی‌متر، ناحیه لبی نامتقارن با شیب اندکی به سمت شکمی، دندان به‌صورت خطی، به طول ۱۹/۰ تا ۲۱/۵ میکرومتر ، بخش فراخ مری ۱۵۸ تا ۲۳۰ میکرومتر، سه ساختار غده تخم‌مرغی کاردیا، ماده‌ها دارای دو لوله جنسی متقابل، دم کوتاه و گرد و با بخش پشتی محدب و به‌طول ۲۲ تا ۲۶ میکرومتر هستند. سه توالی نوکلئوتیدی به دست آمده در این مطالعه برای گونه‌های *A. christicki*، *C. clavicaudatus* و *P. hartingii* به‌همراه سایر توالی‌های شناخته شده خانواده Nygolaimidae با احتمال پسین حداکثر (BPP = 1) در کلادی مجزا از سایر خانواده‌های راسته Dorylaimida قرار گرفتند. همچنین توالی‌های به‌دست آمده برای گونه *P. engadinensis*، همراه با توالی‌های این گونه در بانک ژن، در یک کلاد قرار گرفتند.

استناد: نقوی، آرزو؛ نیکنام، غلام رضا و وظیفه، نصیر (۱۴۰۳). گزارش پنج گونه نماتد آزادزی بر اساس صفات ریخت‌شناختی، ریخت سنجی و مولکولی از جنگل‌های خرم آباد– لرستان، ایران. *نشریه دانش گیاهپزشکی ایران*، ۵۵ (۲)، ۲۷۳-۲۵۵. DOI: https://doi.org/10.22059/ijpps.2025.392923.1007076

ناشر: مؤسسه انتشارات دانشگاه تهران.

© نویسندگان.

DOI: https://doi.org/10.22059/ijpps.2025.392923.1007076

مقدمه

خاک زیستگاه اصلی برای همه گروه‌های نماتدها است که در بین آنها نماتدهای انگل گیاهی به دلیل اهمیت اقتصادی و خسارت به تولیدات کشاورزی، نسبت به سایر نماتدها بیشتر مورد توجه قرار گرفته و اطلاعات بیشتری در مورد آنها وجود دارد. درحالی‌که اکثر نماتدهای خاک در این گروه قرار نداشته و جزء نماتدهای غیرانگل گیاهی، آزادزی و همه چیزخوار هستند. نماتدهای آزادزی در انواع روابط بین میکروارگانیسم ها دخیل بوده، در تجزیه مواد آلی حائز اهمیت هستند (Bohra, 2011). این نماتدها به واسطه فراوانی و تنوع بالا به عنوان اجزای دخیل در چرخه‌های غذایی و انرژی و نیز شاخص عملکرد و ارزیابی سلامت اکوسیستم مورد بررسی و استفاده قرار گرفته‌اند. اعضای راسته Dorylaimida Pearse, 1942 یکی از متنوع‌ترین و پر تعدادترین نماتدهای خشکی زی بوده و به عنوان یکی از اجداد تکاملی در نماتدها مطرح هستند (Mullin, 2004). راسته Dorylaimida با بیش از ۳۳۸۵ گونه معتبر و بیش از ۳۲۹ جنس یکی از مهم‌ترین آرایه‌ها در شاخه نماتدها محسوب می‌شود که تنها یکی از خانواده‌های آن به نام Longidoridae جزو انگل های مهم گیاهی هستند. این راسته شامل دو زیرراسته Nygolaimina Ahmad & Jairajpuri, 1979 و Dorylaimina Pearse, 1936 است (Andrássy, 2009). زیر راسته Nygolaimina با داشتن دندان غیرمحوری (mural tooth) نشات گرفته از دیواره کنارشکمی حفره دهانی، حفره دهانی نسبتا اسکلروتیزه، کاردیا با سه ساختار غده ای کاملاً رشد یافته، دم مشابه در دو جنس نر و ماده و وضعیت قرار گیری هسته‌های مری نسبت به زیرراسته دیگر متمایز می گردد. این زیرراسته دارای یک بالاخانواده Nygolaimoidea Thorne, 1935 و سه خانواده Nygolaimidae Thorne, 1935، Aetholaimidae Jairajpuri, 1965 و Nygellidae Andrássy, 1958 می‌باشد. نمونه های مورد بررسی در این مطالعه متعلق به خانواده Nygolaimidae بوده که دارای سه زیرخانواده Nygolaiminae Thorne, 1935، Paravulvinae Ahmad & Jairajpuri, 1968 و Nygolaimellinae Clark, 1961 است (Andrássy, 2009). در بررسی حاضر از هر یک از سه جنس *Aquatides* (دارای ۱۳ گونه معتبر (Andrássy 2009))، *Clavicaudoides* (۱۱ گونه معتبر (Andrássy, 2009)) و *Paravulvus* (با ۱۶ گونه معتبر (Gilarte *et al*., 2013)) یک گونه از منطقه جنگلی شهرستان خرم آباد جداسازی گردید. دو گونه اول در زیرخانواده Nygolaiminae و گونه سوم در زیرخانواده Paravulvinae قرار دارند.

خانواده Nordidae Jairajpuri & Siddiqi, 1964 با سه زیرخانواده Oriverutinae ،Pungentinae Siddiqi, 1964 Andrássy, 2009 و Nordiinae Jairajpuri & Siddiqi, 1964 گروه دیگری از نماتدهای آزادزی است که با داشتن ادونتواستایل بلند و استوانه‌ای شکل، دهانه ادونتواستایل کوچک، ادونتوفور با انتهای متورم و مشابهت شکل دم در دو جنس نر و ماده متمایز می‌گردد که در اینجا دو گونه از زیرخانواده Pungentinae مورد مطالعه قرار گرفت. منطقه جنگلی شهرستان خرم آباد واقع در استان لرستان وسیع بوده و از تنوع زیستی بالایی برخوردار است. هدف از مطالعه حاضر بررسی تنوع زیستی برخی نماتدهای آزادزی در محیط خاک فراریشه پوشش گیاهی این منطقه بود.

پیشینه پژوهش

در ایران مطالعات اندکی برای شناسایی نماتدهای خانواده Nygolaimidae انجام شده و تاکنون تنها ۱۰ گونه از این آرایه شامل *P. microdontus* Olia, Ahmad, *Paravulvus iranicus* Olia, Ahmad, Choudhary & Jairajpuri, 2004، Choudhary & Jairajpuri, 2004، *Clavicuadoides clavicaudatus* (Altherr, 1953) Heyns, 1968، *N. europaeus* Heyns, *Nygolaimus shahrekordiensis* Olia, Ahmad, Choudhary & Jairajpuri, 2004 1968 و *N. paratenuis* Thorne, 1974، *Aquatides aquaticus* (Thorne, 1930) Heyns, 1968، *A. christei* Thorne 1974 (Heyns, 1968)، *Laevides timmi* (Heyns, 1968) Ahmad & Jairajpuri, 1982 و *L. laevis*

Thorne, 1974 (Thorne, 1939) از ایران گزارش یا توصیف شده است(Olia *et al*., 2004، Niknam *et al*., 2010a ، Niknam *et al*., 2010b و Vazifeh *et al*., 2018).

جنس *Pungentus* Thorne & Swanger, 1936 متعلق به خانواده Nordiidae Jairajpuri & Siddiqi, 1964 و زیرخانواده Pungentinae نیز بر اساس اطلاعات موجود، با چهار گونه *Pungentus azarbaijanensis* Heydari, Gharibzadeh, Pourjam, & Pedram, 2019، *P. engadinensis* (Altherr, 1950) Altherr, 1952، *P. silvestris* (de Man, 1912) Coomans & Geraert, 1962 و *P. sufiyanensis* Vazifeh, Niknam, Jabbari & Pena-Santiago, 2020 در ایران پراکنش دارد (Vazifeh *et al*., 2020; Solouki *et al*., 2010).

روش شناسایی پژوهش

نمونه‌برداری، جداسازی نماتدها از خاک و بررسی ویژگی‌های ریخت‌شناختی و ریخت‌سنجی

طی سال‌های ۱۴۰۰ و ۱۴۰۱، تعداد ۱۲۰ نمونه از فراریشه درختان بلوط و سایر درختان جنگلی مثل زالزالک و گلابی وحشی در جنوب‌شرق خرم‌آباد به صورت تصادفی جمع‌آوری گردید. پس از حذف لایه سطحی، نمونه‌برداری تا عمق ۳۰ سانتی‌متری خاک انجام گرفت. پس از ثبت نام منطقه و مشخصات جغرافیایی هر محل، نام گیاه میزبان، نمونه‌ها در داخل کیسه‌های پلاستیکی به آزمایشگاه نماتدشناسی منتقل و در دمای چهار درجه سلسیوس در یخچال نگهداری گردید. جداسازی نماتدها از خاک با روش تغییریافته سینی (Brown & Boag, 1998) انجام گرفت در این روش ۲۵۰ گرم از خاک را در یک تشت پلاستیکی به حالت سوسپانسیون در آورده و کمی پس از ته نشینی ذرات درشت از الک‌های ۶۰ و سپس ۴۰۰ مش عبور داده شد و محتویات الک ۴۰۰ مش در یک بشر جمع‌آوری و سپس بر روی سینی انتقال یافت. شستشوی هر خاک ۳ بار انجام گرفت. پس از تثبیت نماتدها با روش دگریس (De Grisse, 1969) و تهیه اسلایدهای میکروسکوپی، بررسی آن‌ها با استفاده از Dino-Eye Eyepiece Camera متصل به میکروسکوپ نوری Olympus CX31 صورت گرفت. جهت عکس‌برداری از دوربین دیجیتال DP50 متصل به میکروسکوپ نوری Olympus BX41 استفاده گردید. هم‌چنین جهت تهیه فتوپلیت از نرم افزار کورل نسخه ۱۲ (Corel DRAW® software version 12) استفاده شد.

استخراج DNA و واکنش زنجیره‌ای پلی‌مراز (PCR)

برای استخراج DNA، یک فرد زنده از جمعیت مورد نظر توسط سوزن ظریف در یک قطره آب مقطر استریل قرار داده شد و پس از بررسی ویژگی‌های ریخت‌شناختی با استفاده از میکروسکوپ نوری و اطمینان از انتخاب صحیح نمونه، نماتد با کمک تیغ برش استریل قطعه قطعه شده و توسط سمپلر به میکروتیوب حاوی ۳۰ میکرولیتر بافر استخراج (بافر لیزکننده نماتد، حاوی ۱۶ میکرولیتر آب مقطر دی‌یونیزه، دو میکرولیتر بافر PCR ۱۰X و دو میکرولیتر پروتئیناز K) انتقال داده شد. در دستگاه ترمو سایکلر با استفاده از شوک حرارتی (بیست دقیقه در دمای ۸۰- درجه سلسیوس) به ترتیب با تیمار در ۶۵ درجه سلسیوس (به مدت یک ساعت) و ۹۵ درجه سلسیوس (به مدت ۱۵ دقیقه) و سرانجام ۸۵ درجه سلسیوس (به مدت ۱۵ دقیقه) استخراج DNA انجام شد. لوله‌های حاوی DNA استخراج شده تا زمان استفاده در فریزر و دمای منفی ۲۰ درجه سلسیوس نگهداری شدند (Archidona-Yuste *et al*., 2016). برای تکثیر ناحیه ژنی موردنظر (LSU D2D3 28S rDNA) از آغازگر مستقیم D2A (5′-ACAAGTACCGTGAGGGAAAGT-3′) و آغازگر معکوس D3B (5′-TCGGAAGGAACCAGCTACTA-3′) (Nunn, 1992) استفاده گردید. هر لوله واکنش PCR در حجم ۳۰ میکرولیتر حاوی ترکیب مخلوط بهینه واکنش زنجیره پلیمراز برند Amplicon از کشور دانمارک به حجم ۱۵ میکرولیتر، DNA به میزان ۳ میکرولیتر، جفت آغازگر رفت و برگشت از هرکدام یک میکرولیتر و آب دو بار تقطیر به حجم ۱۰ میکرولیتر بود. برای انجام

PCR، واسرشت سازی اولیه در دمای ۹۴ درجه سلسیوس به‌مدت دو دقیقه، ۳۵ چرخه، با دمای۹۴ درجه سلسیوس به‌مدت ۳۰ ثانیه، اتصال آغازگرها در دمای ۶۰ درجه سلسیوس به مدت ۴۵ ثانیه و گسترش در دمای ۷۲ درجه سلسیوس به‌مدت ۳۰ ثانیه برای هر چرخه انجام شد و در نهایت گسترش نهایی در دمای ۷۲ درجه سلسیوس به‌مدت ۵ دقیقه صورت گرفت. محصول PCRبا طول قطعه حدود ۷۰۰ جفت باز (طول قطعه با استفاده از *Plus Ladder 100bp* تعیین گردید) جهت توالی‌یابی توسط دستگاه Analyzer Applied Biosystems® 3730/3730xl DNA به کشور کره جنوبی ارسال گردید. هم‌چنین خالص سازی محصول PCR توسط شرکت مزبور انجام گردید. توالی‌های به‌دست آمده با کدهای دسترسی PP971542 ، PP971539، PP971538، PQ576735 و PQ576745 در NCBI به ثبت رسیدند.

تجزیه و تحلیل روابط تبارزایی

ابتدا توالی‌های لازم برای رسم درخت تبارزایی با استناد به منابع معتبر (Sun *et al*., 2023) از NCBI به‌دست آمد. زیرهم‌چینی توالی‌های به‌دست آمده در این مطالعه و توالی‌های بانک ژن با استفاده از نرم‌افزار MUSCLE تعبیه شده در نرم افزار MEGA 6 (Tamura *et al*., 2013) انجام شد. سپس، برای تجزیه و تحلیل روابط فیلوژنی به روش بایژین (Bayesian)، بهترین مدل تکاملی (GTR+G+I) با کمک نرم‌افزار Mr Modeltest 2.3 (Nylander, 2004) تعیین گردید. در مرحله بعد، از نرم‌افزار MrBayes 3.1.2 (Ronquist & Huelsenbeck, 2003) برای رسم درخت تبارزایی استفاده شد. درخت تبارزایی با استفاده از نرم‌افزار FigTree v1.4.3 رویت گردید و احتمال پسین بیش از ۵۰ درصد بر روی شاخه‌ها نشان داده شد.

نتایج و بحث

گونه ***Aquatides christicki*** **Ahmad & Jairajpuri 1982**

شکل ۱، جدول ۱

ماده: بدن استوانه‌ای‌شکل، بدن پس از تثبیت دارای خمیدگی به سمت شکمی. پوست دولایه و دارای شیارهای عرضی ظریف، به ضخامت دو تا سه میکرومتر در وسط بدن و ۴/۵ تا ۵ میکرومتر در ناحیه دم. کورد جانبی به عرض ۱۷/۵ تا ۱۸ میکرومتر یا ۳۲ تا ۳۴ درصد عرض بدن در ناحیه وسط بدن و فاقد هر نوع تمایزیافتگی. سر تخت، در محل اتصال به بدن دارای اندکی فرورفتگی، ناحیه لبی نامتقارن و سمت پشتی کمی بلندتر از سمت شکمی. آمفید فنجانی‌شکل، عرض دهانه آن هشت تا ۹/۵ میکرومتر یا ۴۲ تا ۴۴ درصد عرض سر و شکاف آمفید واقع در ابتدای بدن. حلقه هادی منفرد، در فاصله ۹ تا ۱۰ میکرومتری از ابتدای بدن. دندان خطی و طول آن هم‌اندازه عرض سر. ادونتوفور یک و نیم تا دو برابر طول دندان. قسمت ابتدایی مری دارای ساختار ماهیچه‌ای ضعیف و بخش فراخ ۴۹ تا ۵۲ درصد طول کل مری. حلقه عصبی بخش ابتدایی مری را احاطه کرده و واقع در فاصله ۱۳۰ تا ۱۷۵ میکرومتر از ابتدای بدن. دریچه بین مری و روده گرد، به‌طول ۱۱ تا ۱۱/۵ میکرومتر و احاطه شده با سه غده تخممرغی‌شکل با اندازه ۸/۵ تا ۹/۵ × ۵ تا ۶ میکرومتر. شکاف تناسلی عرضی، واژن غیراسکلروتی، به‌طول ۲۲ تا ۲۶ میکرومتر یا ۴۴ تا ۵۱ درصد عرض بدن در آن ناحیه، فاقد *pars distalis vaginae*، دارای *pars vaginae proximalis* به‌حالت سیگموئید و احاطه‌شده توسط بافت ماهیچه‌ای ضعیف به‌طول ۱۳/۵ تا ۱۴/۵ میکرومتر. دارای دو لوله جنسی خوب رشد یافته متقابل، لوله جنسی جلویی به‌طول ۱۶۹ تا ۲۳۱ و عقبی ۱۸۶ تا ۲۷۷ میکرومتر، تخمدان دارای برگشتگی که به ناحیه اسفنکتر بین مجرای عبور تخمک و رحم نمی‌رسد، طول آن ۵۱/۵ تا ۶۳/۵ میکرومتر و ۱/۱ تا ۱/۳ برابر عرض بدن در آن ناحیه، مجرای عبور تخمک به‌طول ۵۳ تا ۵۸ میکرومتر و برابر با ۱/۱ تا ۱/۳ برابر عرض بدن در آن ناحیه، دارای اسفنکتر مشخص بین مجرای عبور تخمک و رحم، رحم لوله‌ایشکل ساده و به‌طول ۴۲ تا ۵۴ میکرومتر. پیش راست‌روده به‌طول ۱/۱ تا ۱/۳ برابر و راست‌روده به‌طول ۰/۷ تا ۰/۹ برابر عرض بدن در ناحیه مخرج. دم کوتاه، گرد تا مخروطی و دارای دو منفذ دمی.

نر: یافت نشد.

نمونه مورد بررسی پس از بررسی مشخصات به‌عنوان *Aquatides christicki* شناسایی گردید و در مقایسه با توصیف اصلی تفاوتی ملاحظه نشد (Andrássy, 2009 و Ahmad & Jairajpuri, 1982). این گونه اولین‌بار توسط احمد و جیراجپوری (Ahmad & Jairajpuri, 1982) از کشور هندوستان گزارش شده است. این دومین گزارش بعد از شرح اصلی است. جمعیت حاضر از جنوب شرق شهرستان خرم‌آباد از فراریشه درخت بلوط و از منطقه سالی بزرگ با مختصات جغرافیایی (N 33°21′03.2″, E 48°24′51.1″) جمع‌آوری و تشخیص داده شد و برای اولین‌بار از ایران گزارش می شود.

گونه *Paravulvus hartingii* (de Man 1880) Thorne, 1974

شکل ۲، جدول ۱

این گونه دارای گسترش جهانی است و تا کنون از اروپا (هلند، سوئیس، آلمان، انگلستان، استرالیا، جمهوری چک، رومانی، بلغارستان، اسپانیا، ایتالیا و روسیه)، شمال آمریکا (کانادا، کاستاریکا، ایالت متحده آمریکا)، آفریقای جنوبی و بلغارستان گزارش شده است (Lazarova *et al*., 2002 و Andrássy, 2009). جمعیت مورد بررسی با توجه به منابع ارائه‌شده توسط Lazarova *et al*., 2002 و Andrássy, 2009 به عنوان *P. hartingii* تایید گردید. جمعیت حاضر در مقایسه با جمعیت گزارش شده توسط آندراسی (Andrássy, 2009) اختلافی نداشت در حالی‌که در مقایسه با جمعیت مطالعه شده توسط لازاروا و همکاران (Lazarova *et al*.,2002) در شاخص *a* کمتر (۳۲ تا ۳۸ در برابر ۴۱/۹ تا ۴۸/۱)، شاخص *c* اندکی کمتر (۲۷/۲ تا ۳۰/۸ در برابر۳۰ تا ۳۳/۹) و فاصله حلقه هادی تا ابتدای بدن (۶ تا ۶/۷ در برابر ۱۱/۷ تا ۱۲/۴ میکرومتر) تفاوت نشان داد. این گونه قبلا از نقاط مختلف ایران (Jabbari *et al*., 2019) گزارش شده است. این جمعیت در مقایسه با جمعیت گزارش شده از منطقه خراسانه شهرستان بوکان (Pachide *et al*., 2014) تفاوتی نشان نداد. جمعیت مورد بحث از فراریشه درخت بلوط در منطقه تاف از جنوب شرق شهرستان خرم‌آباد با مختصات جغرافیایی ″33°17′44.6, E 48°22′50.1 جداسازی و مورد شناسایی قرار گرفت.

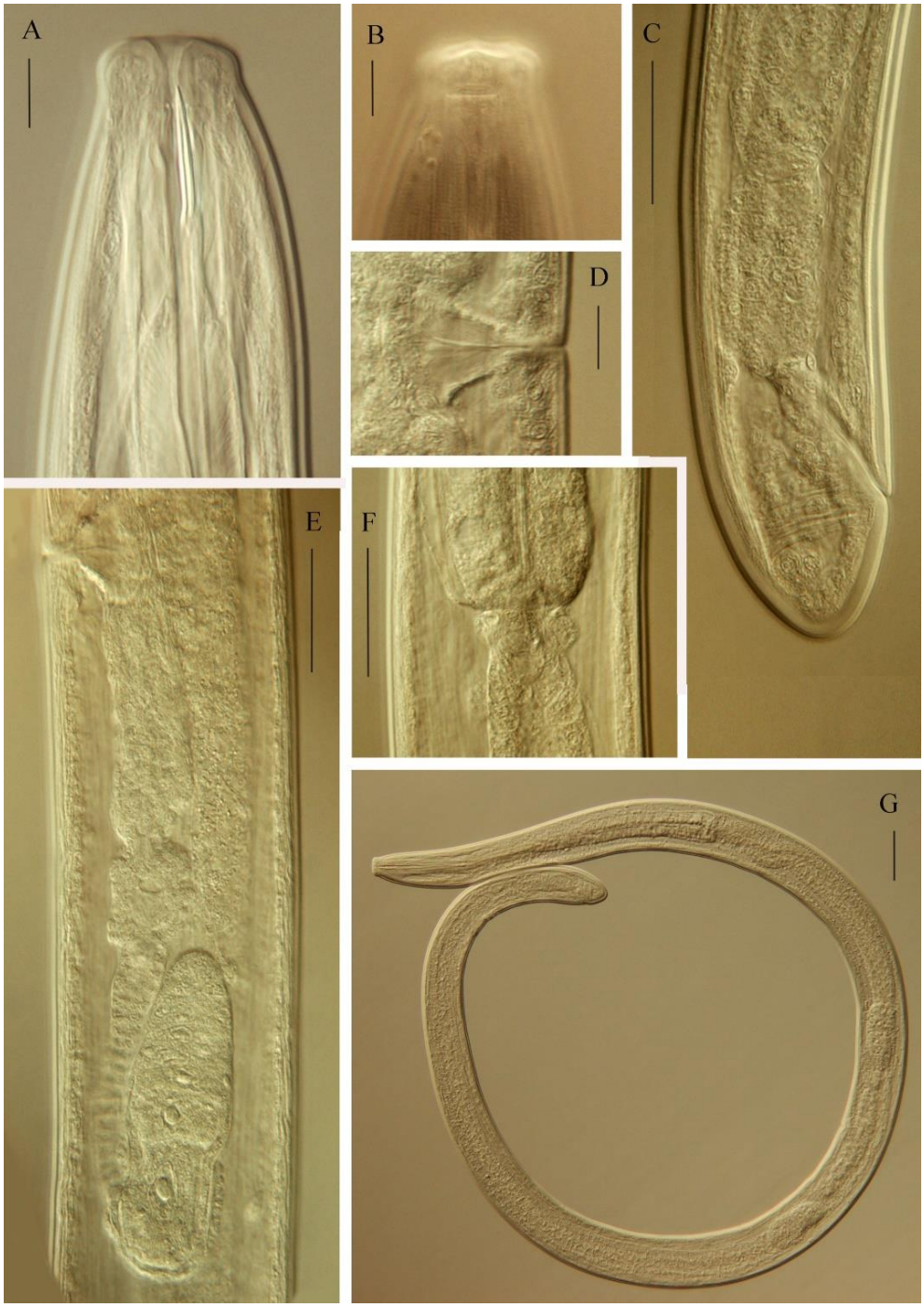
گونه *Clavicaudoides clavicaudatus* (Altherr, 1953) Heyns, 1968

شکل ۲، جدول ۱

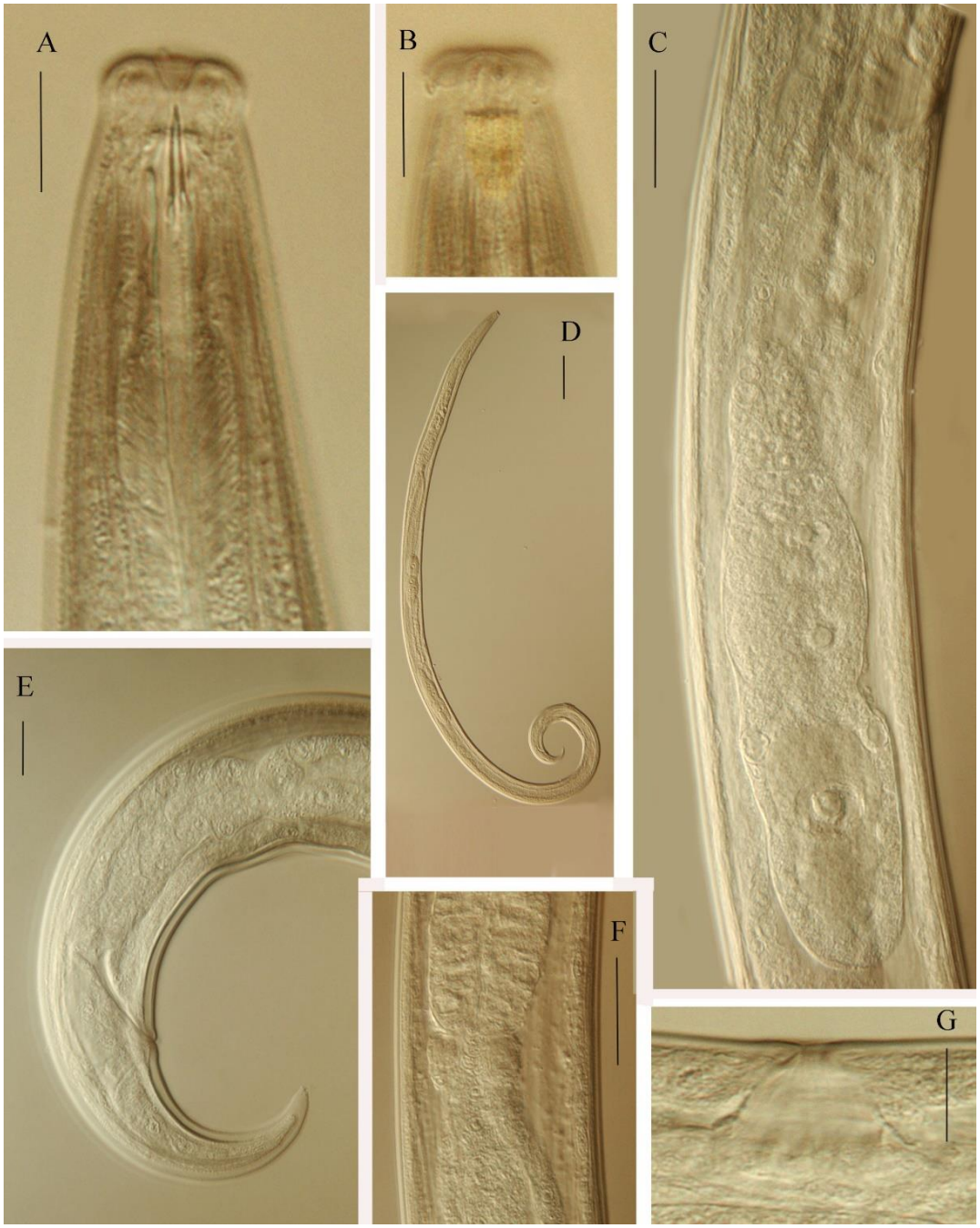
تا به حال این گونه از سوئیس، غرب اروپا، آمریکا، هند، مولداوی و قطب شمال گزارش شده است (Olia *et al*., 2004, Holovachov, 2014, Sharma, 2011, Poiras, 2012) و در ایران نیز اولین‌بار توسط اولیا و همکاران (Olia *et al*., 2004) از فراریشه یک گیاه علوفه‌ای ناشناخته از چهار محال و بختیاری گزارش شد. جمعیت تحت بررسی از لحاظ ویژگی‌های ریخت‌شناختی و ریخت سنجی تفاوتی با سایر جمعیت‌های گزارش شده از جمله گزارش‌های انگلستان، غرب اروپا (هلند، بلژیک و آلمان) و آمریکا (Heyns, 1968) و آندراسی (Andrássy, 2009) نشان نداد. هم‌چنین در مقایسه با جمعیت ایرانی (Olia *et al*., 2004) تنها در شاخص *c* کمی بیشتر (۵۳ تا ۶۱ در برابر ۴۷ تا ۵۱) و شاخص *c´* اندکی کمتر (۱/۵ تا ۱/۷ در برابر ۱/۷ تا ۱/۹) تفاوت جزئی بروز داد. جمعیت به‌دست آمده در این مطالعه از منطقه چوب تراش با مختصات جغرافیایی ″N 33°19′48, E 48°25′13 واقع در جنوب شرق شهرستان خرم‌آباد و از فراریشه درخت بلوط جداسازی و شناسایی شده است.

جدول ۱. داده‌های ریخت‌سنجی جمعیت‌های ایرانی گونه‌های *Aquatides christicki* Ahmad & Jairajpuri 1982، *Clavicaudoides clavicaudatus* (Altherr, 1953) Heyns, 1968، *Paravulvus hartingii* (De Man, 1880) Thorne, 1974، *Pungentus engadinensis* (Altherr, 1950) Altherr, 1952 و *Pungentus sufiyanensis* Vazifeh, Niknam, Jabbari & Peña-Santiago 2020. اندازه‌ها برحسب میکرومتر (طول بر حسب میلی‌متر) و mean±SD (range).

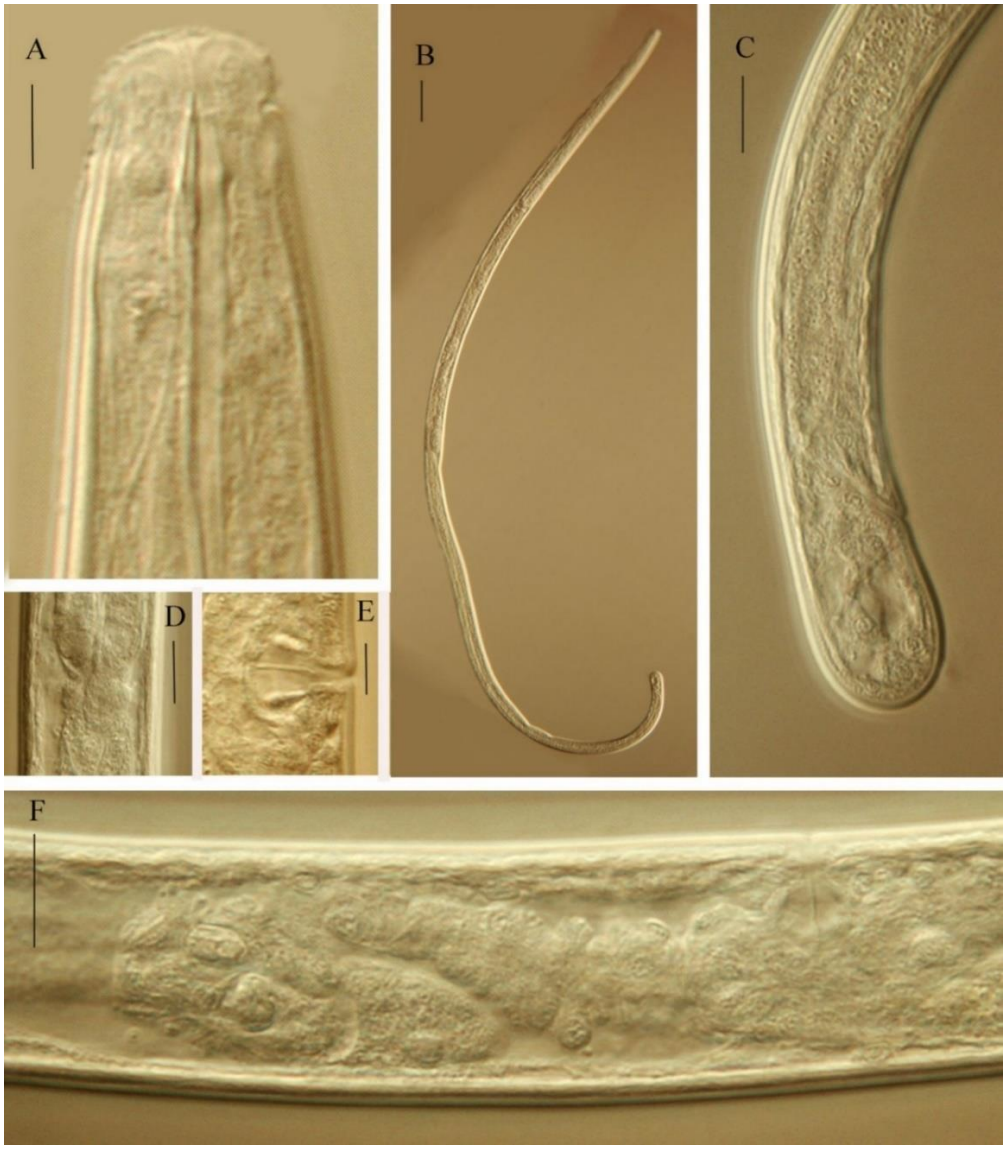
Character	*A. christicki*	*C. clavicaudatus*	*P. hartingii*	*P. engadinensis*	*P. sufiyanensis*
	Female	Female	Female	Female	Female
n	5	6	5	6	6
L	1.72 ± 0.2 (1.45-1.99)	1.29 ± 0.03 (1.25-1.33)	1.40 ± 0.06 (1.33-1.45)	0.98 ± 0.01 (0.88-1.20)	1.39 ± 0.01 (1.25-1.52)
a	33.8 ± 1.0 (31.4-35.6)	57 ± 3 (53-60)	35.2 ± 2.9 (32.0-38.0)	38.0 ± 1.5 (36.5-45.6)	44.0 ± 3.2 (41.5-48.5)
b	4.0 ± 0.4 (3.4-4.5)	4.5 ± 0.1 (4.3-4.7)	4.6 ± 0.1 (4.5-4.7)	3.9 ± 0.2 (3.7-4.2)	4.1 ± 0.2 (3.9 -4.3)
c	70.2 ± 8.7 (59.6-78.2)	56 ± 3 (53-61)	28.6 ± 1.5 (27.2-30.8)	58 ± 2.5 (55.5-60.5)	73.5 ±3.8 (69.5-82.5)
c′	(0.92 ± 0.08) 0.8-1.1	(1.6 ± 0.1) 1.5-1.8	(2.6 ± 0.1) 2.4-2.8	(0.9 ± 0.06) 0.7-1.1	0.8 ± 0.02 0.7-1.0
V	46 ± 1 (45-47)	42.5 ± 0.5 (42-43)	44.2 ± 2.1 (41.7-46.7)	49.0 ± 2.5 (46.5-53.0)	49.5 ± 0.2 (48-51)
Lip region diameter	19.7 ± 0.9 (19.0-21.0)	9.5 ± 0.3 (9-10)	11.7 ± 0.2 (11.5-12.0)	9 ± 08 (8-10)	8.2 ± 1.1 (7.5-9.5)
Odontostyle length	19.7 ± 1.1 (19.0-21.5)	7.6 ± 0.5 (7.0-9.0)	9.5 ± 0.2 (9.0-9.8)	15.5 ± 1.4 (14.5-17.5)	19.2 ± 0.5 (18.5-20.5)
Odontophore length	33.5 ± 2.6 (31-38)	16 ± 0.5 (15-17)	19.8 ± 0.2 (19.5-20.0)	14.5 ± 0.9 (13.5-18.0)	16.2 ± 0.5 (15.5-17.5)
Neck length	421 ± 12 (384-442)	287 ± 5 (279-294)	302 ± 10 (281-315)	248 ±10.2 (207-261)	320 ± 5.8 (310 - 345)
Phar. expansion length	204 ± 33 (159-230)	129 ± 6 (125-140)	151.5 ± 2.2 (148-156)	78 ± 12.5 (60-100)	141.5± 9.2 (138-150)
Body diam. at mid-body	51 ± 7 (42.0-58.0)	22.7 ± 0.5 (22-24)	39.9 ± 2.1 (37.5-41.7)	23 ± 1.8 (21.8-25.0)	30.5 ± 1.5 (28-31)
Body diam. at neck base	48.5 ± 5.3 (41.5-54.5)	22.5 ± 0.5 (21-23)	37.3 ± 1.1 (36-39)	21.5 ± 09 (20.5-24)	29.0 ± 2.5 (27.5-30.5)
Body diam. at anus	30 ± 2 (26-32)	14.2 ± 0.4 (13.5-14.5)	18.5 ± 0.3 (18-19)	17.2 ± 0.3 (16.5-18.5)	21.5 ± 1.5 (20-22)
Pre-rectum length	37.5 ± 4.2 (33-44)	53 ± 3 (47-58)	47.4 ± 5.2 (40.2-54.5)	56 ± 3.5 (48 - 60)	79 ± 7 (60- 86)
Tail length	25 ± 3 (20.5-29.0)	23.2 ± 0.9 (20.7-24.7)	49 ± 3.8 (46.0-53.5)	18 ± 1.5 (15.5-20.0)	19.5 ± 1.5 (17-22)



شکل ۱. گونه *Aquatides christicki* Ahmad & Jairajpuri 1982. A: بخش جلویی بدن، B: شکاف دهانه آمفید، C: بخش انتهایی بدن، D: واژن، E: لوله تولیدمثلی عقبی، F: محل اتصال مری به روده و ساختار غده‌ای کاردیا، G: نمای کلی بدن ماده. (مقیاس‌ها: A، B و D= ۱۰ میکرومتر؛ C، E و F = ۲۵ میکرومتر؛ G= ۵۰ میکرومتر).



شکل ۲. گونه Paravulvus hartingii (de Man 1880) Thorne, 1974. A: بخش جلویی بدن ، B: شکاف دهانه آمفید ، C: لوله تولیدمثلی عقبی، D: نمای کلی بدن ماده، E: بخش انتهایی بدن، F: محل اتصال مری به روده، G: واژن. (مقیاس‌ها: A، B و G= ۱۰ میکرومتر؛ C و F= ۲۰ میکرومتر؛ D= ۸۰ میکرومتر؛ E= ۲۵ میکرومتر).



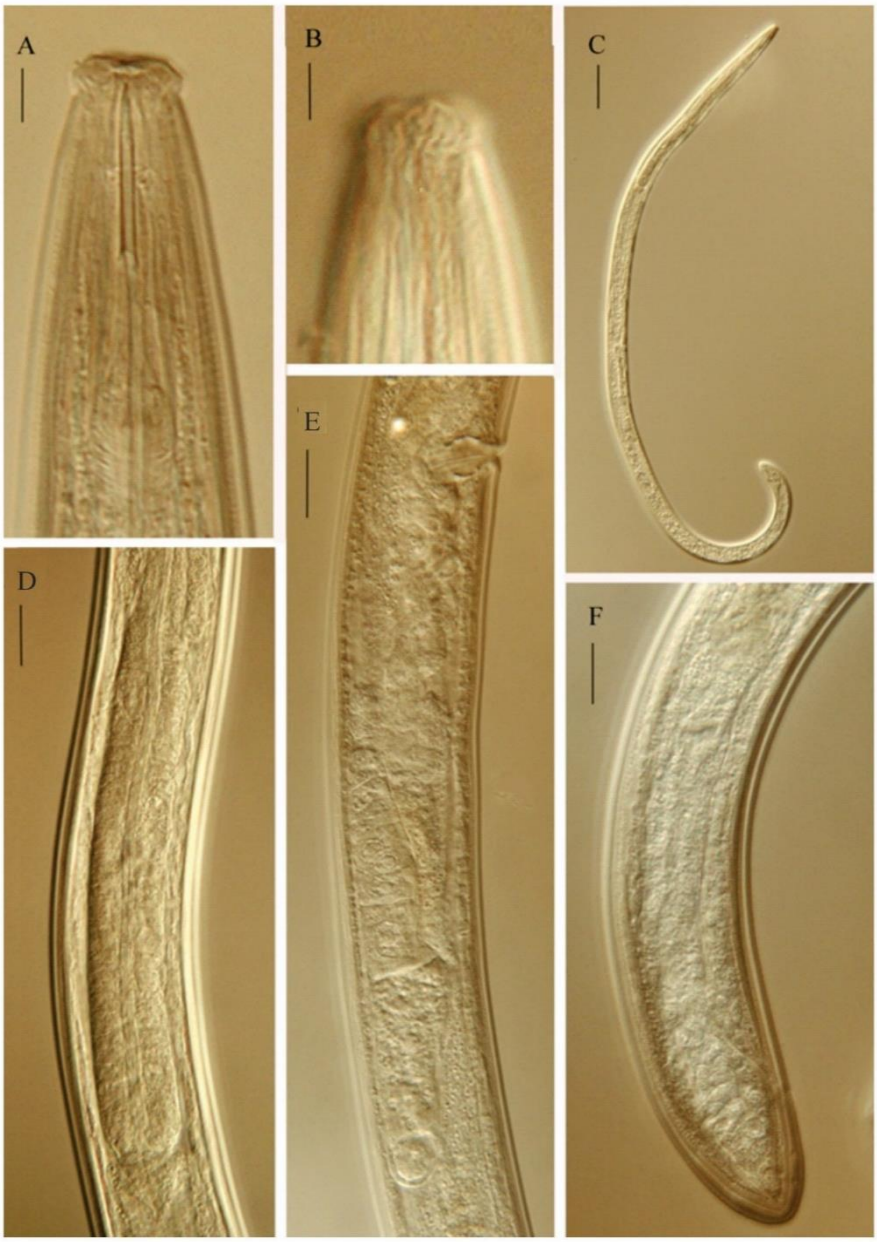
شکل ۳. گونه Clavicaudoides clavicaudatus (Altherr, 1953) Heyns, 1968. A: بخش جلویی بدن، B: نمای کلی بدن ماده، C: بخش انتهایی بدن، D: محل اتصال مری به روده، E: واژن، F: لوله تولیدمثلی عقبی. (مقیاس‌ها: A و E= ۵ میکرومتر؛ B= ۵۰ میکرومتر؛ C، D و F= ۱۰ میکرومتر).

گونه *Pungentus engadinensis* (Altherr, 1950) Altherr, 1952

شکل ۴، جدول ۱

برای شناسایی جمعیت مورد نظر از منابع ارائه‌شده توسط آلتر (Altherr, 1950)، حیدری و همکاران (Heydari *et al*., 2019) و وظیفه و همکاران (Vazifeh *et al*., 2020) استفاده شد و پس از تطبیق داده‌های ریخت‌سنجی و مشخصات ریخت‌شناختی با کلید و منابع فوق، گونه مورد نظر به عنوان *Pungentus engadinensis* شناسایی شد. جمعیت مورد بررسی از نظر ریخت‌شناختی و ریخت‌سنجی با توصیف‌های قبلی کاملاً شباهت داشت و اختلافی مشاهده نگردید. این گونه برای نخستین بار توسط آلتر (Altherr, 1950) از کشور سوئیس توصیف شد که بعد از آن از نقاط مختلف جهان گزارش شده است

(Andrássy, 2009). از ایران نیز برای اولین بار توسط حیدری و همکاران (Heydari *et al*., 2019) گزارش گردیده است. در این تحقیق نیز از منطقه تاف واقع در جنوب‌شرق شهرستان خرم‌آباد با مختصات جغرافیایی N 33°25′10.6″, E 48°22′27.1″ از فراریشه درخت بلوط جمع‌آوری و مورد شناسایی قرار گرفت.



شکل ۴. گونه *Pungentus engadinensis* (Altherr, 1950) Altherr, 1952. A و B: بخش جلویی بدن، C: نمای کلی بدن، D: سامانه جنسی، E: بخش فراخ مری، F: بخش انتهایی بدن. (مقیاس‌ها: A و B= ۵ میکرومتر؛ C= ۵۰ میکرومتر؛ D تا F= ۱۰ میکرومتر).

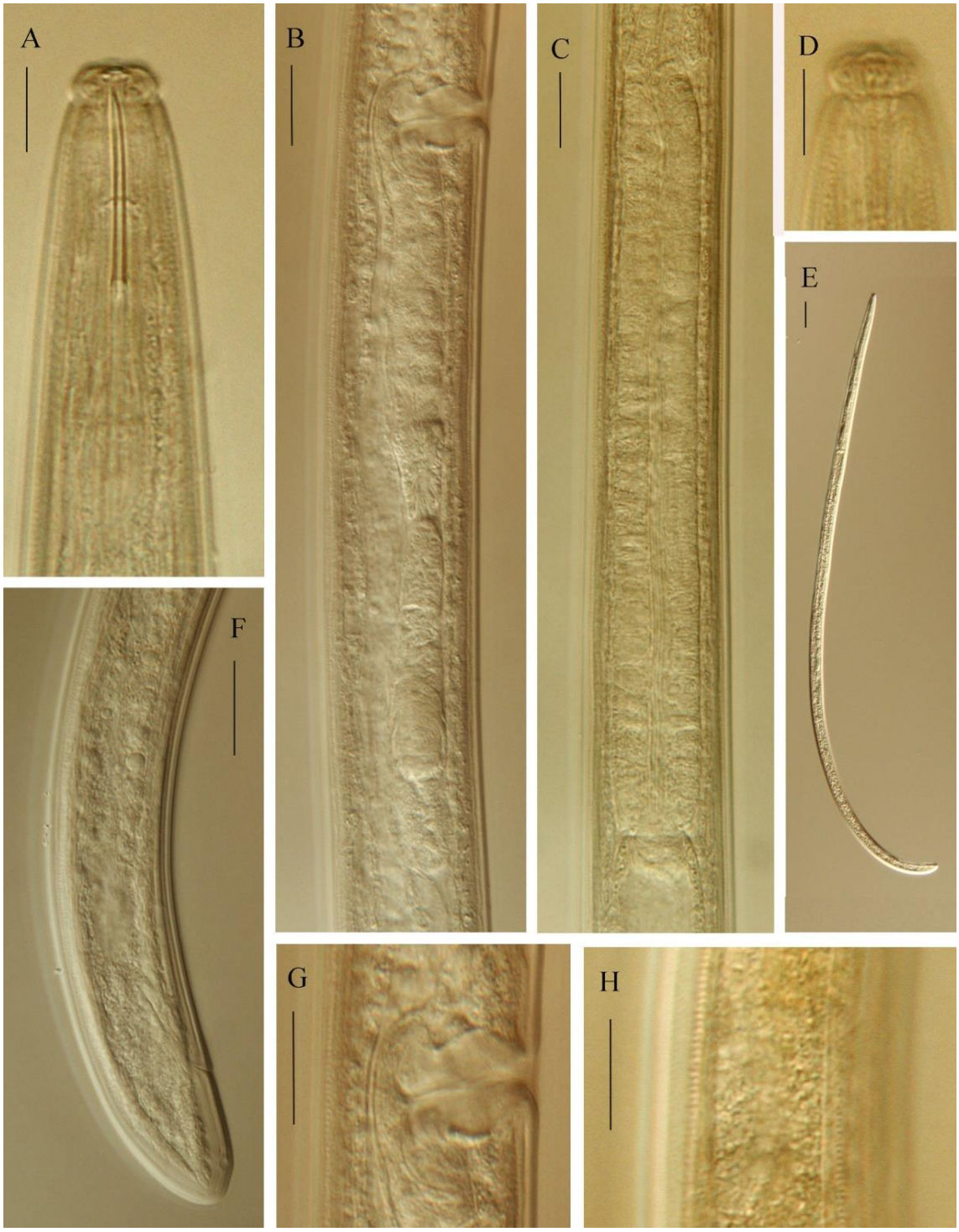
گونه *Pungentus sufiyanensis* Vazifeh, Niknam, Jabbari & Peña-Santiago, 2020

شکل ۵، جدول ۱

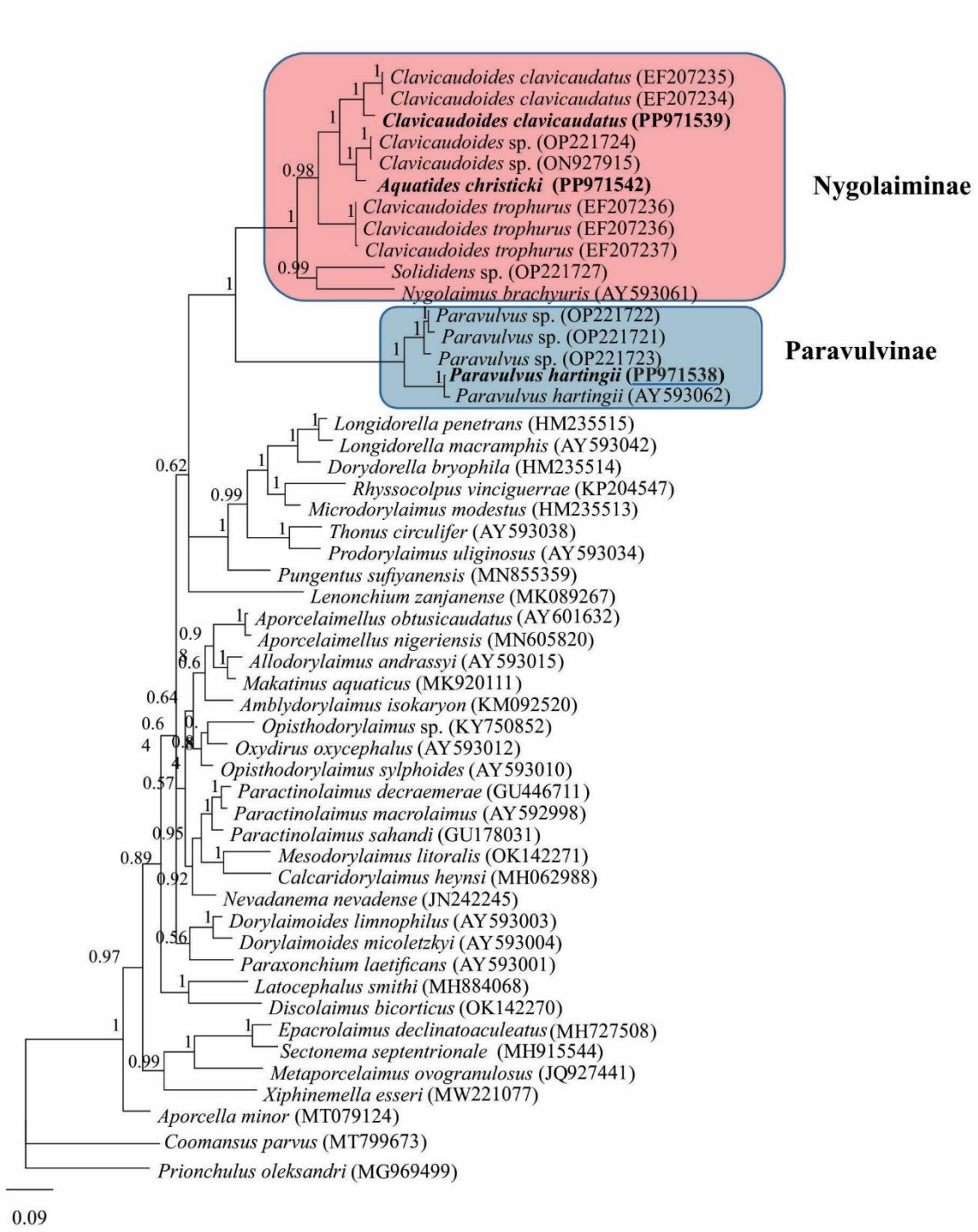
از کلید ارائه‌شده توسط وظیفه و همکاران (Vazifeh *et al.*, 2020) برای شناسایی جمعیت مذکور استفاده شد. پس از بررسی مشخصات و داده‌های مربوط، جمعیت مورد مطالعه به عنوان *P. sufiyanensis* شناسایی شد. پس از تطبیق مشخصات ریخت‌شناختی و داده‌های ریخت‌سنجی جمعیت مورد بررسی با توصیف اصلی گونه، اختلاف قابل توجهی مشاهده نشد. این گونه اولین‌بار توسط وظیفه و همکاران (Vazifeh *et al.*, 2020) از خاک‌های استان آذربایجان شرقی و استان کردستان جمع‌آوری و توصیف شد. در این پژوهش نیز از خاک فراریشه درخت بلوط با مختصات جغرافیایی ″N 33°20′54.2 ,E 48°25′16.3 واقع در منطقه چوب‌تراش در جنوب‌شرق خرم‌آباد جمع‌آوری و تشخیص داده شد.

تجزیه و تحلیل مولکولی

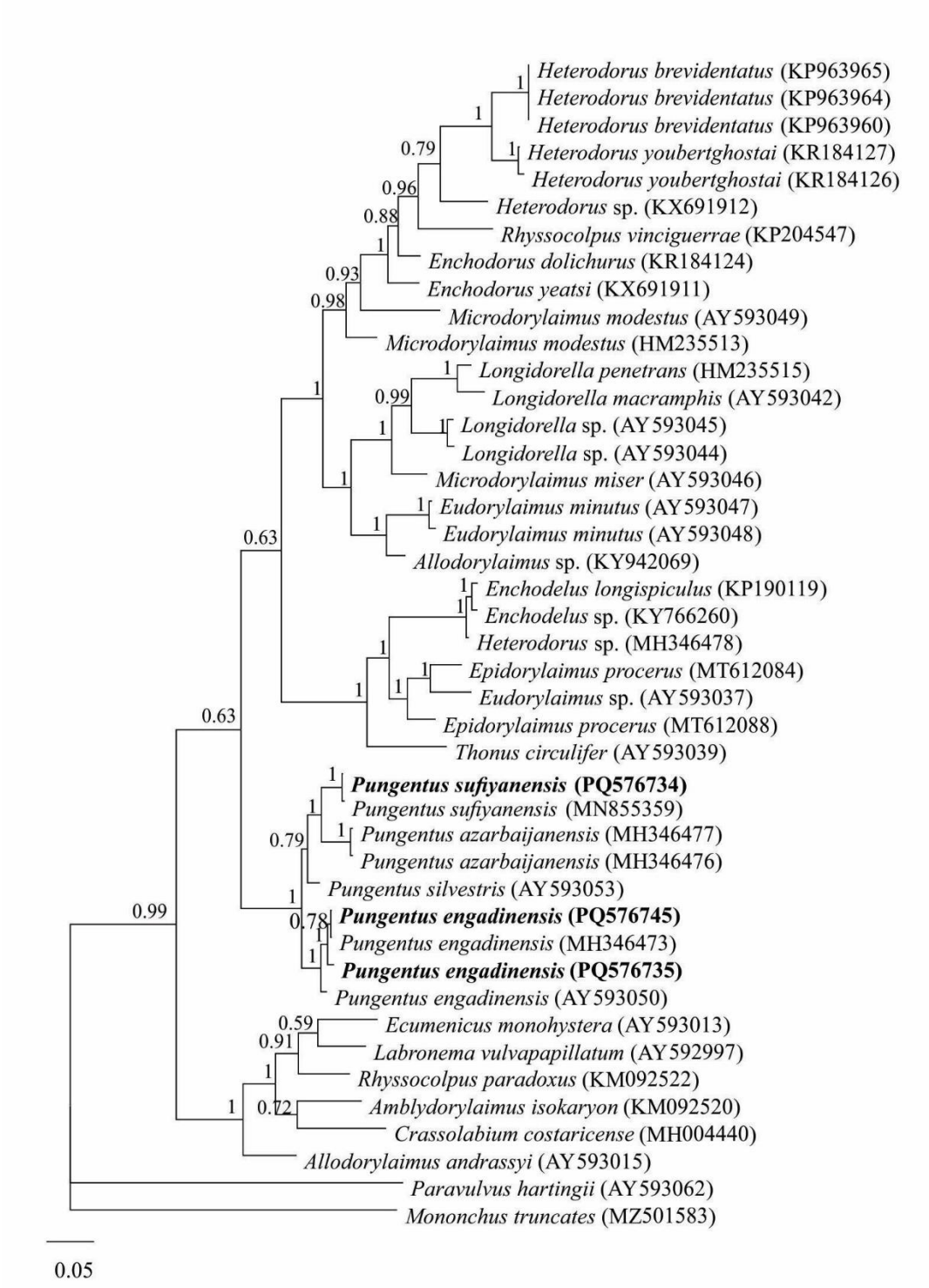
در این مطالعه سه توالی نوکلئوتیدی با کدهای دسترسی PP971542، PP971539 و PP971538 به‌ترتیب برای گونه‌های *Aquatides christicki*، *Clavicaudoides clavicaudatus* و *Paravulvus hartingii* در بانک ژن به ثبت رسید. این توالی‌ها به‌همراه سایر توالی‌های خانواده Nygolaimidae با احتمال پسین حداکثر (BPP=1) در کلادی مجزا از سایر خانواده‌های راسته Dorylaimida قرار می گیرند. در بین آنها، توالی PP971539 متعلق به گونه *C. clavicaudatus* با دو توالی EF207235 و EF207234 از همین گونه که قبلا در بانک ژن ثبت شده است، با احتمال پسین حداکثر (BPP=1) در یک کلاد قرار می گیرند. هم‌چنین گونه (PP971538) *P. hartingii* و توالی دیگر مربوط به گزارش قبلی این گونه (AY593062) با احتمال پسین حداکثر در کنار هم قرار گرفته و به همراه سایر توالی‌های این جنس از زیرخانواده Paravulvinae در کلادی مجزا از زیرخانواده Nygolaiminae جای می گیرند (شکل ۶). در درخت فیلوژنی ترسیم شده برای توالی‌های به‌دست آمده برای گونه *P. engadinensis*، توالی های جدید با کدهای دسترسی PQ576735 و PQ576745 همراه با توالی‌های متعلق به این گونه که در بانک ژن موجود هستند (MH346473 و AY593050)، یک کلاد مشترک تشکیل می دهند. دو توالی جدید به‌دست آمده اختلاف نوکلئوتیدی نداشته و در مقایسه با دو توالی موجود در بانک ژن، به‌ترتیب یک و هشت نوکلئوتید اختلاف نشان می دهند. در این پژوهش یک توالی نوکلئوتیدی با کد دسترسی PQ576734 برای گونه *P. sufiyanensis* به ثبت رسیده است که با توالی MN855359 موجود در بانک ژن در یک کلاد مشترک با احتمال پسین حداکثر (BPP=1) قرار می گیرد. در مقایسه دوتایی اختلافی بین دو توالی متعلق به این گونه مشاهده نگردید (شکل ۷).



شکل ۵. گونه *Pungentus sufiyanensis* Vazifeh, Niknam, Jabbari & Peña-Santiago 2020. A: بخش جلویی بدن، و D: شکاف دهانه آمفید، B: سامانه تولیدمثلی، C: بخش فراخ مری، E: نمای کلی بدن، F: بخش انتهایی بدن، G: واژن، H: کورد جانبی. (مقیاس‌ها: A و D= ۸ میکرومتر؛ B، C و F تا H= ۱۵ میکرومتر؛ E= ۶۰ میکرومتر).



شکل٦. درخت تبارزایی ترسیم شده به روش بایژین با استفاده از مدل تکاملی GTR+I+G از ناحیه D2-D3 ژن 28S rDNA گونه‌های ایرانی *Aquatides christicki* Ahmad & Jairajpuri, 1982 *Clavicaudoides clavicaudatus* (Altherr, 1953) Heyns, 1968 و *Paravulvus hartingii* (De Man, 1880) Thorne, 1974 . توالی‌های اخیرا به‌دست آمده از ایران با فونت پررنگ نوشته شده است. اعداد پشت هر شاخه احتمال پسین است. برون گروه (out group) دو گونه *Coomansus parvus* (MT799673) و *Prionchulus oleksandri* (MG969499) است.



شکل ۷. درخت تبارزایی ترسیم شده به روش بایژین با استفاده از مدل تکاملی GTR+I+G از ناحیه D2-D3 ژن 28S rDNA گونه‌های ایرانی *Pungentus engadinensis* (Altherr, 1950) Altherr, 1952 و *Pungentus sufiyanensis* Vazifeh, Niknam, Jabbari & Peña-Santiago 2020. توالی‌های اخیرا به‌دست آمده با فونت پررنگ نوشته شده است. اعداد پشت هر شاخه احتمال پسین است. برون گروه (out group) دو گونه *Paravulvus hartingii* (AY593062) و *Mononchus trancatus* (MZ501583) است.

بحث

راسته Dorylaimida شامل دو زیرراسته Nygolaimina و Dorylaimina است که زیرراسته Nygolaimina به دلیل داشتن ساختارهای ریخت شناختی دندان غیر محوری (mural tooth)، حفره دهانی نسبتا اسکلروتیزه، سه ساختار غده ای کاردیا، دم مشابه در دو جنس نر و ماده و وضعیت قرار گیری هسته‌های مری نسبت به زیرراسته دیگر متمایز می گردد. گونه‌های این زیرراسته اغلب شکارگر هستند. در این تحقیق نتایج مطالعه مولکولی نشان داد که گونه‌های این زیرراسته با بالاترین احتمال پسین (BPP=1) در کلادی مجزا از زیرراسته Dorylaimina قرار گرفته و به این ترتیب نتایج مطالعه مولکولی تایید کننده یافته‌های مطالعاتی است که بر پایه ویژگی‌های ریخت‌شناختی می‌باشد. در درخت فیلوژنی رسم شده در این مطالعه، توالی PP971539 متعلق به گونه *C. clavicaudatus* با دو توالی این گونه که قبلا در بانک ژن ثبت شده است در یک کلاد هستند و گونه (PP971538) *P. hartingii* و توالی دیگر این گونه (AY593062) به همراه سایر توالی‌های این جنس از زیرخانواده Paravulvinae در کلادی مجزا از زیرخانواده Nygolaiminae جای گرفتند که این نتایج با نتایج مطالعات سایر محققین روی برخی گونه‌های این زیرراسته با استفاده از توالی ناحیه ژنی 28S rDNA D2D3 و 18S rRNA مطابقت دارد (Sun *et al*., 2023) ولی باید به این نکته توجه داشت که در این زیرراسته بیش از ۱۱۹ گونه شناسایی شده است (Andrássy, 2009) که تنها توالی ناحیه 28S rDNA برای پنج گونه و توالی ناحیه 18S rRNA برای ۹ گونه در بانک ژن به ثبت رسیده است (Sun *et al*., 2023) بنابراین احتمال دارد با اضافه شدن توالی سایر گونه‌ها آرایش و روابط فیلوژنتیکی آرایه‌های این زیرراسته در درخت فیلوژنی نیز دستخوش تغییر گردد.

منابع

پاچیده، امیر(۱۳۹۲). شناسایی فون نماتدهای خاک های منطقه خراسانه بوکان، استان آذربایجان غربی. پایانامه کارشناسی ارشد بیماری شناسی گیاهی. دانشکده کشاورزی، دانشگاه تبریز. ۲۳۷ صفحه.

جباری، حبیبه؛ نیکنام، غلام رضا؛ فلاحی، امین؛ زاهدی اصل، ابراهیم و نیکدل، مصطفی (۱۳۹۷). گزارش شش نماتد dorylaim از جنگل‌های ارسباران–ایران. پژوهش‌های حفاظت گیاهان ایران، ۳۳(۲)، ۱۴۳–۱۵۷.

سلوکی، وحیده؛ اشرفی، مریم؛ نیکنام، غلام رضا و غفارپور، رحیمه (۱۳۸۹). گزارش چند گونه نماتد آزادزی از استان‌های آذربایجان شرقی و غربی. نوزدهمین کنگره گیاه‌پزشکی ایران. موسسه تحقیقات گیاه‌پزشکی کشور، تهران، ایران.

نیکنام، غلام رضا؛ اشرفی، مریم؛ نادریان، رستم و جباری، حبیبه (۱۳۸۹). گزارش سه گونه از خانواده‌ی Nygolaimidae از خاک‌های شمال‌غرب ایران. نوزدهمین کنگره گیاه‌پزشکی ایران. موسسه تحقیقات گیاه‌پزشکی کشور، تهران، ایران.

نیکنام، غلام رضا؛ مصلحی، شلاله؛ وینسیگورا، ماریا ترزا و نیکدل، مصطفی (۱۳۸۹). گزارش چندین گونه نماتد آزادزی از جنگل‌های ارسباران. نوزدهمین کنگره گیاه‌پزشکی ایران. موسسه تحقیقات گیاه‌پزشکی کشور، تهران، ایران.

وظیفه، نصیر و جباری، حبیبه (۱۳۹۶). گزارش پنج نماتد dorylaimid از استان آذربایجان شرقی، ایران. نشریه دانش گیاه‌پزشکی ایران، ۴۹ (۲)، ۲۱۵–۲۰۳.

RERERENCES

Ahmad, M. & Jairajpuri, M. S. (1979). Nygolaimina of India. *Proceedings of the Second National Congress of Parasitology Varanasi*, India, P. 29.

Ahmad, M. & Jairajpuri, M. S. (1982). Nygolaimina of India. *Records of the Zoological Survey of India, Occasional paper*, No. 34, The Director (ed), Zoological Survey of India, Kolkata, 1–70.

Altherr, E. (1950). De quelques nematodes des garides valaisannes. *Extrait du Bulletin de la "Murithienne", 67* (1950), 90-103.

Altherr, E. (1952). Les nematodes du Parc National Suisse. 2. *Ergebnisse der wissenschaftlichen Untersuchung des schweizerischen National parks, 3* (26), 315-356.

Altherr, E. (1953). Némadodes du sol du Jura vaudois et français. *Bulletin de la Société Vaudoise des Siences Naturalles*, *66*(284), 429-459.

Archidona-Yuste, A., Navas-Cort´es, J. A., Cantalapiedra-Navarrete, C., Palomares-Rius, J. E. & Castillo, P. (2016). Unravelling the biodiversity and molecular phylogeny of needle nematodes of the genus *Longidorus* (Nematoda: Longidoridae) in olive and a description of six new species. *PLoS One, 11* (1), 1-53.

Andrássy, I. (1958). Erd u Susswassernematoden aus Bulgarien. *Acta Zoologica Budapest*, *4*, 1-88.

Andrássy, I. (2009). Free-living nematodes of Hungary, (Nematoda errantia). Vol. III. Pedozoologica Hungarica. No.5. Budapest, 608 pp.

Bohra, P. (2011). Pictorial handbook on plant and soil nematodes of Rajasthan. Zoological Survey of India, Kolkata, 275 pp.

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*(1), 93-99.

Clark, W. C. (1961): A revised classification of the order Enoplida (Nematoda). *New Zealand Journal of Science*, *4*, 123-150.

Coomans, A. & Geraert, E. (1962). Some species of Dorylaimoidea found in Belgium. II. Monodelphic Dorylaimina. *Nematologica*, *8*, 233-241.

De Grisse, A. T. (1969). Redescription ou modification de quelqutes techniques utilissisedans L; etude des Nematode phytoparasutaires. *Meded, Rijksfacultetider Landbouveten, Gent*, *34*: 351-369.

De Man, J. G. (1880). Die einheimischen, frei in der reinenErde und imsüssen Wasser lebenden Nematoden. *Tijddschrift Nederlandsche dierkundige Vereeniging*, *5*, 1-104.

De Man, J. G. (1912). Nouvelles recherches sur les nematodes libres terricoles de la Hollande. *Capita Zoologica*, *1*, 3-62.

Gilarte, P. Carreira, J. A & Pena-Santiago, R. (2013). Description of *Paravulvus moroccanus* sp. n. (Nematoda, Dorylaimida, Nygolaimidae) from the High Atlas Mountains, Morocco, with notes on the taxonomy of the genus. *Zootaxa*, *373*(45), 545-558.

Heyns, J. (1968). A monographic study of the nematode families Nygolaimidae and Nygolaimellidae. *Entomology Memoirs. Department of Agriculture and Forestry, Union of South Africa*, *19*,1-144.

Heydari, F., Gharibzadeh, F., Pourjam, E. & Pedram, M. (2019). New and known species of the genus *Pungentus* Thorne & Swanger, 1936 (Dorylaimida, Nordiidae) from Iran. *Journal of Helminthology*, 1-9. DOI: 10.1017/S0022149X18001232

Holovachov, O. (2014). Nematodes from terrestrial and freshwater habitats in the Arctic. *Biodiversity Data Journal*, 2: e1165.

Jabbari, H., Niknam, G., Fallahi, A., Zahedi Asl, E. & Nikdel, M. (2019). Report of six dorylaim nematodes from Arasbaran Forests- Iran. *Iranian Plant Protection Research*, *33*(2), 143-157. (In Persian with English abstract)

Jairajpuri, M. S. (1965). Three new species of Dorylaimoidea (Nematoda) from India. *Proceedings of the Helminthological Society of Washington, 32*, 78-81.

Jairajpuri, M. S. & Ahmad, W. (1992). Dorylaimida: free-living, predaceous and plant-parasitic nematodes. Brill. Leiden, 458 pp.

Lazarova, S., Peneva, V. & Loof, P. A. A. (2002). *Paravulvus rhodopensis* sp. n. (Nematoda: Nygolaimidae) and three known species from Bulgaria, with notes on the taxonomy of the genus. *Nematology*, *4*, 502-520.

Mullin, P. G. (2004). Toward a phylogeny for Dorylaimida (Nematoda): Systematic studies in the subclass Dorylaimia. Ph.D. Thesis.

Niknam, G., Ashrafi, M. & Naderiyan, R. (2010). Three nygolaimid species from soils of northwest Iran. *Proceeding of 19th Iranian Plant Protection Congress.* 31 July-3 August. Vol II. Iranian Research Institute of Plant Protection. Tehran. P. 612. (In Persian)

Niknam, G., Jabbari, H., Moslehi, Sh., Vinciguerra, M. T. & Nikdel, M. (2010). Some free living nematodes from Arasbaran forests. *Proceeding of 19th Iranian Plant Protection Congress.* 31 July-3 August. Vol II. Iranian Research Institute of Plant Protection. Tehran. P. 657. (In Persian)

Nunn, G. B. (1992). Nematode molecular evolution. Ph.D. Thesis, University of Nottingham, Nottingham, UK.

Nylander J. A. A. (2004). Mr Modeltest v2. Program distributed by the author. Uppsala University, Sweden, Evolutionary Biology Centre. http:// people.scs.fsu.edu/nylander/mrmodeltest2/ mrmodeltest2.html.

Olia, M., Ahmad, W., Choudhary, M. & Jairajpuri, M. S. (2004). Studies on nematodes of the suborder

Nygolaimina (Dorylaimida) from Iran with descriptions of three new species. *International Journal of Nematology*, *14*, 91-98.

Pachide, A. (2014). Identification of nematode fauna in soils of Khorasaneh area of Buokan, West Azarbaijan province. Master's thesis in Plant Pathology. Faculty of Agriculture, University of Tabriz. 237 pp.

Pearse, A. S. (1942). Introduction to parasitology. Bailliere, Tindall & Cox, London 357 pp.

Poiras, L. (2012). Species diversity and distribution of free-living and plant parasitic nematodes from order Dorylaimida (Nematoda) in different habitats of the Republic of Moldova. *Oltenia-studii si comunicari stiintele naturii*, *28*(2),.35-42.

Ronquist, F. & Huelsenbeck, J. P. (2003). MRBAYES: Bayesian inference of phylogenetic trees under mixed models. *Bioinformatics*, *19*, 1572-1574.

Sharma, V. (2011). Diversity of terrestrial nematodes in Uttarakhand. Journal of Experimental Zoology, India, *14*, 575-582.

Sun, S., Zeng, Q. L., Qing, X., Li, H. & Álvarez-Ortega, S. (2023). Description of *Paravulvus zhongshanensis* sp. nov. (Dorylaimida: Nygolaimidae) from Nanjing, China. *Journal of Helminthology*, *97*, 1-9.

Solouki, V., Ashrafi, M., Niknam, G & Ghafarpoor, R. (2010). Some free-living nematodes from East Azarbaijan and West Azarbaijan provinces. *Proceeding* of *19th Iranian Plant Protection Congress.* 31 July-3 August. Volume II, Plant Diseases, Plant Pests and Diseases Research Institute, Teheran. P. 581 (In Persian).

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.

Thorne, G. (1930). Predaceous nemas of the genus *Nygolaimus* and a new genus, *Sectonema*. *Journal of Agricultural Research*, *41*, 445-466.

Thorne, G. (1935). Notes on free-living and plant-parasitic nematodes. i. Proceedings of the Helminthological Society of Washington, *2*, 46-47.

Thorne, G. (1939). A monograph of the nematodes of the superfamily Dorylaimoidea. *Capita Zoologica*, *8*, 1-261.

Thorne, G. (1974). Nematodes of the Northern Great Plains. Part II. Dorylaimoidea in part (Nemata: Adenophorea), 41, 120 pp.

Thorne, G. & Swanger, H. H. (1936). A monograph of the nematode genera *Dorylaimus* Dujardin, *Aporcelaimus* n. g., *Dorylaimoides* n. g. and *Pungentus* n. g. *Capita Zoologica*, *6*, 1-223.

Vazifeh, N., Niknam, G. & Jabbari, H. (2018). Report of five dorylaimid nematodes from East Azarbaijan province, Iran. *Iranian Journal of Plant Protection Science*, *49*(2), 203-215. (In Persian with English abstract).

Vazifeh, N., Niknam, G., Jabbari, H. & Peña-Santiago, R. (2020). Morphological and molecular characterisation of *Pungentus sufiyanensis* n. sp. and additional data on *P. engadinensis* (Altherr, 1950) Altherr, 1952 (Dorylaimida: Nordiidae) from northwest of Iran. *Journal of Nematology*, *52*, 1-12. DOI: 10.21307/jofnem-2020-030