



گزارش سه گونه از نماتدهای بالاخانواده *Belondiroidea* Thorne, 1939 (Nematoda: Dorylaimida) از منطقه تاف شهرستان خرم آباد، ایران

آرزو نقوی^{۱*}، غلامرضا نیکنام^۲ نصیر وظیفه^۳ و زهرا میرزایی پور^۴

۱- *نویسنده مسوول: استادیار گروه گیاه پزشکی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه لرستان، خرم آباد، ایران (naghavi.a@lu.ac.ir)

۲- استاد گروه گیاه پزشکی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه تبریز، ایران

۳- دانشجوی دکتری بیماری شناسی گیاهی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه تبریز، تبریز، ایران

۴- دانش آموخته دکتری بیماری شناسی گیاهی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه لرستان، خرم آباد، ایران

تاریخ دریافت: ۱۴۰۲/۰۸/۱۵

تاریخ پذیرش: ۱۴۰۲/۱۲/۰۹

چکیده

به منظور بررسی تنوع زیستی نماتدهای منطقه تاف شهرستان خرم آباد، در سال ۱۴۰۱، تعداد ۵۰ نمونه خاک از فراریشه درختان جنگلی جمع آوری شد. در بین گونه‌های به دست آمده، سه گونه *Metaxonchium bihariense*، *Oxydirus oxycephalus* و *Syncheilaxonchium nairi* از بالاخانواده *Belondiroidea* نیز شناسایی شدند. صفات ریخت‌سنجی، ریخت‌شناختی و همپنین ویژگی‌های مولکولی این گونه‌ها با استفاده از ژن 28S rDNA مورد بررسی قرار گرفت. گزارش گونه *O. oxycephalus* برای فون نماتدهای ایران جدید است. در این گونه افراد ماده دارای بدن استوانه‌ای شکل به طول ۱/۵ تا ۱/۸ میلی‌متر، ناحیه لبی کمی نامتقارن، به عرض ۶/۵ تا ۷ میکرومتر، ادونتواستایل دوکی، به طول ۶/۵ تا ۸ میکرومتر، مری بطری شکل به طول ۳۱۰/۷ تا ۳۵۱/۵ میکرومتر و بخش پهن به طول ۱۵۳ تا ۱۸۱ میلی‌متر، شکاف تناسلی عرضی و غیراسکلروتی، لوله جنسی عقبی توسعه یافته و لوله جلویی تحلیل رفته، دم به طول ۱۶۰ تا ۱۹۵/۵ میکرومتر، بلند و نخی، نرها شبیه افراد ماده، آلت نرینه به طول ۳۴/۰ تا ۳۵/۵ میکرومتر و دارای ۹ تا ۱۱ پاپیل جفت‌گیری. این اولین بررسی مولکولی و ثبت توالی نوکلئوتیدی برای گونه *Metaxonchium bihariense* می‌باشد.

کلیدواژه‌ها: ریخت‌سنجی، ریخت‌شناسی، فون، *28S rDNA Belondiroidea*

دبیر تخصصی: دکتر صدیقه عظیمی

Citation: Naghavi, A., Niknam, Gh., Vazifeh, N. & Mirzaeipour, Z. (2024). Report on Three Species of *Belondiroidea* Thorne, 1939 (Nematoda: Dorylaimida) from the Taf Region of Khorramabad County, Iran. *Plant Protection (Scientific Journal of Agriculture)*, 46(3), 115-125. <https://doi.org/10.22055/ppr.2024.45204.1715>.

مقدمه

جنگل‌های منطقه تاف به دلیل وسعت زیاد، از چندین اقلیم محلی تشکیل شده‌اند. این منطقه از تنوع زیستی بالایی برخوردار است و تاکنون فون نماتدهای آن مورد بررسی قرار نگرفته است. بالاخانواده Belondiroidea Thorne, 1939 در زیرراسته Dorylaimina Pearse, 1936 قرار دارد. ویژگی‌های شاخص این بالاخانواده داشتن ادونتوستایل نسبتاً کوتاه، بخش جلویی مری باریک ولی ماهیچه‌ای، بخش عقبی مری فراخ و دارای غلاف ماهیچه‌ای، مری حاوی پنج غده، و دم مشابه یا غیرمشابه در هر دو جنس نر و ماده می‌باشد. در حال حاضر این بالاخانواده دارای ۳۶ جنس است (Andrássy, 2009). جنس‌های *Metaxonchium* Cobb, 1920 و *Syncheilaxonchium* Coomans and Nair, 1975 در خانواده Belondiridae Thorne, 1939 و جنس *Oxydirus* 1939 در خانواده Jairajpuri, 1964 قرار دارند (Andrássy, 2009).

Swangeriidae برای Peña-Santiago and Abolafia, 2023 *Metaxonchium* تعداد ۳۰ گونه معتبر ذکر کرده‌اند که از ایران گونه‌های *M. bihariense* توسط (Vazifeh 2018) *M. persicum* Peña-Santiago, Niknam, et al. و Alvarez-Ortega and Jabbari, 2014 توسط Peña-Santiago et al. (2014) شناسایی و گزارش شده‌اند. بر اساس Naz and Ahmad (2012) جنس *Syncheilaxonchium* دارای ۱۲ گونه معتبر می‌باشد که فقط *S. nairi* (Altherr, 1974) Coomans & Nair, 1975 از ایران توسط Mowlavi et al. (2012) گزارش گردیده است. از جنس *Oxydirus* Thorne, 1939 با ۱۲ گونه معتبر (Ahmad and Naz 2010) نیز برای ایران تنها گونه *O. oxycephaloides* (de Man, 1921) Thome, 1939 توسط Soluki et al. (2010) به ثبت رسیده است. در این پژوهش سه گونه فوق از منطقه تاف گزارش و صفات مهم

آن‌ها ارائه می‌گردد. هم‌چنین گونه *O. oxycephalus* برای اولین بار به فون نماتدهای ایران اضافه می‌شود.

مواد و روش‌ها

نمونه‌برداری، جداسازی و عکس‌برداری

طی سال ۱۴۰۱ تعداد ۵۰ نمونه خاک از فراریشه درختان جنگلی منطقه تاف جمع‌آوری گردید. استخراج نماتدها از خاک با استفاده از روش تغییر یافته (Brown and Boag 1988) صورت گرفت. پس از تثبیت نماتدها و انتقال به گلیسرین با روش De Grisse (۱۹۶۹) اسلاید دائمی از آن‌ها تهیه گردید. ریخت‌سنجی نماتدها با استفاده از Dino-Eye Eyepiece Camera متصل به میکروسکوپ نوری Olympus CX31 و نرم‌افزار Dinocapture software 2.0 انجام گرفت. تصاویر نماتدها با استفاده از دوربین دیجیتال DP50 متصل به میکروسکوپ نوری Olympus BX41 آماده گردید.

استخراج DNA و واکنش زنجیره‌ای پلیمرز (PCR)

استخراج DNA از نماتدها و واکنش زنجیره‌ای پلیمرز مطابق روش Archidona-Yuste et al. (2016) انجام شد. به این منظور یک فرد زنده از نماتد مورد مطالعه روی یک لام سترون حاوی یک قطره بافر لیزکننده نماتد^۱ قرار داده شد و توسط یک تیغ تمیز، قطعه قطعه گردید. سوسپانسیون حاصل به لوله‌های اپندورف حاوی ۳۰ میکرولیتر بافر لیزکننده DNA (۱۶) میکرولیتر آب مقطر دی‌یونیزه، دو میکرولیتر بافر PCR ۱۰X و دو میکرولیتر پروتئیناز (K) انتقال یافت. لوله‌ها در دستگاه ترموسایکلر حداقل به مدت ۲۰ دقیقه در دمای منفی ۸۰ درجه سانتی‌گراد و پس از آن به ترتیب در ۶۵ درجه سانتی‌گراد (به مدت یک ساعت) و ۹۵ درجه سانتی‌گراد (به مدت ۱۵ دقیقه) و سرانجام ۸۵ درجه سانتی‌گراد (به مدت ۱۵ دقیقه) نگهداری شدند تا با دریافت این شوک دمایی تخریب بدن نماتد و خروج DNA تسهیل گردد. در مرحله بعد، لوله‌ها تا زمان استفاده، در دمای منفی ۲۰ درجه سانتی‌گراد نگهداری شدند.

شیارهای عرضی ظریف، ضخامت آن ۱/۵ تا ۲ میکرومتر در بخش میانی و ۵ تا ۵/۵ میکرومتر در ناحیه دم. پهنای کورد جانبی ۱/۵ تا ۶/۵ میکرومتر و یا ۱۶ تا ۱۹ درصد از عرض بدن. ناحیه لبی تا حدی نامتقارن، هم تراز بدن و لبها تلفیق شده، عرض آن ۲/۳ تا ۲/۷ برابر بلندی آن و ۱۶ تا ۱۸ درصد از عرض بدن در قاعده مری. آمفیدها جامی شکل و پهنای شکاف آن هم عرض قاعده ناحیه لبی. ادونتواستایل دو کی و هم عرض ناحیه لبی. حلقه هادی ساده، منفرد و در فاصله ۵/۵ تا ۶ میکرومتری از انتهای جلویی بدن. ادونتوفور میله‌ای و ۱/۴ تا ۱/۷ برابر طول ادونتواستایل. محل حلقه عصبی در ۳۱ تا ۳۴ درصد از ابتدای بدن. مری بطری شکل، دارای پهن شدگی تدریجی، بخش پهن مری استوانه‌ای شکل، دارای یک غلاف ظریف و باندهای ماهیچه‌ای مارپیچ، به طول ۱۵۳ تا ۱۸۱ میکرومتر و یا ۴۸ تا ۵۲ درصد از کل طول مری، هسته‌های مری نامشخص. دریچه بین مری و روده کروی با طول حدود ۲۳ تا ۲۴ درصد عرض بدن در آن ناحیه. دارای یک لوله جنسی عقبی توسعه یافته و لوله جلویی تحلیل رفته و به طول ۸۶ تا ۱۱۸/۵ میکرومتر، لوله جنسی عقبی ۲۱۱ تا ۲۶۹ میکرومتر یا ۱۲/۳ تا ۱۶/۸ درصد طول بدن، تخمدان دارای برگشتگی و به طول ۹۰ تا ۱۱۲ میکرومتر، مجرای عبور تخمک به طول ۱۱۱ تا ۱۲۶ میکرومتر، رحم یک لوله ساده به طول ۵۰ تا ۷۰ میکرومتر. شکاف تناسلی عرضی، طول واژن ۵۸ تا ۶۰ درصد عرض بدن در همان ناحیه، بخش *pars proximalis* به طول ۱۳ میکرومتر، *pars distalis* به طول سه تا چهار میکرومتر و فاقد *pars refringens*. پیش‌راست روده ۶/۷ تا ۷/۷ برابر عرض بدن در محل مخرج، راست روده به طول ۲۱ تا ۲۳ میکرومتر. دم بلند، نخی، ۷ تا ۹/۶ برابر عرض بدن در ناحیه مخرج و بخش انتهایی آن متورم.

نو: از لحاظ شکل کلی شبیه ماده، دارای دو بیضه در دو جهت مخالف، آلت نرینه از نوع *dorylaimoid*، طول آلت نرینه پنج برابر عرض آن، در سطح شکمی دارای ۹ تا ۱۱ پاپیل جفت‌گیری در خارج از محدوده آلت نرینه.

واکنش زنجیره‌ای پلیمرز با استفاده از آغازگرهای D2A (5'-ACAAGTACCGTGAGGGAAAGTTG-3') و D3B (5'-TCGGAAGGAACCAGCTACTA-3') (Nunn, 1992) از ناحیه D2-D3 ژن 28S rDNA انجام شد. توالی‌یابی محصول نهایی PCR توسط Applied Biosystems® 3730/3730xl DNA Analyzer در کره جنوبی صورت گرفت و توالی‌های به دست آمده با رس- شماره‌های OR594281، OR594282 و OR600367 در بانک ژن به ثبت رسیدند.

تجزیه و تحلیل داده‌های مولکولی

به این منظور توالی‌های متعلق به گونه‌های بالاخانواده Belondiroidea و برخی دیگر از آرایه‌های *dorylaimid*ها از NCBI گردآوری شدند. در رسم تبارنما پنج گونه *Clavicaudoides trophurus* (EF207236)، *Clavicaudoides trophurus* (EF207237)، *Clavicaudoides clavicaudatus* (EF207234)، *Aetholaimus* و *Nygolaimus brachyuris* (AY593061) *rotundicauda* (MG921241) به عنوان برون گروه در نظر گرفته شد. زیرمجموعه چینی توالی‌ها با استفاده از نرم‌افزار Muscle تعیین شده در نرم‌افزار MEGA6 (Tamura et al. 2013) انجام گرفت. برای رسم تبارنما، بهترین مدل تکاملی با استفاده از نرم‌افزار MrModeltest 2.3 و معیار Akaike information criterion (AIC) به دست آمد (Nylander, 2004). براساس این مدل رسم درخت فیلوژنی با نرم‌افزار MrBayes 3.1.2 انجام شد (2003 Ronquist and Huelsenbeck). در نهایت مشاهده تبارنما با استفاده از نرم‌افزار FigTree v1.4.3 صورت گرفت (شکل ۴).

نتایج و بحث

گونه *Oxydirus oxycephalus* (De Man, 1885) Thorne, 1939، جدول ۱، شکل ۱

ماده: بدن باریک، بعد از تثبیت دارای خمیدگی به سمت شکمی، در قسمت جلو دارای باریک‌شدگی. پوست دارای

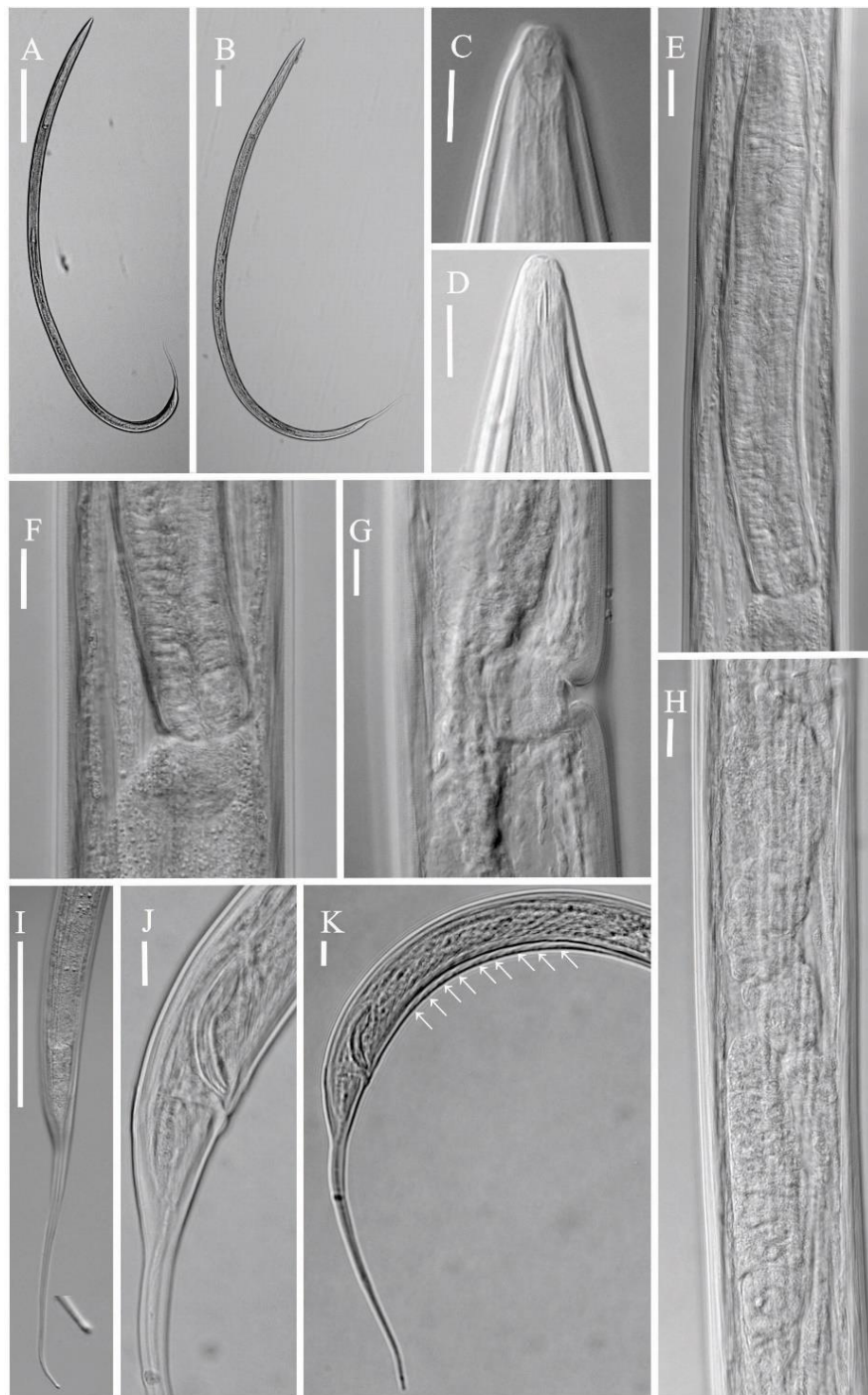
جدول ۱- داده‌های ریخت‌سنجی گونه‌های *Syncheilaxonchium nairi* (Altherr, *Metaxonchium bihariense* Popovici, 1990) و *Oxydirus oxycephalus* (De Man, 1885) Thorne, 1939 و Coomans & Nair, 1974 (اندازه‌ها بر حسب میکرومتر و L بر حسب میلی‌متر).

Table 1. The morphometric data of *Metaxonchium bihariense* Popovici, 1990, *Syncheilaxonchium nairi* (Altherr, 1974) Coomans & Nair, 1975 and *Oxydirus oxycephalus* (De Man, 1885) Thorne, 1939 (Measurements are in μm except L in mm).

Character	<i>M. bihariense</i>		<i>S. nairi</i>		<i>O. oxycephalus</i>	
	Female	Female	Male	Female	Male	
n	6	6	4	3	2	
L	2.7 ± 0.1 (2.5-3.0)	2.2 ± 0.07 (2.1-2.3)	2.2 ± 0.04 (2.2-2.3)	1.6 ± 0.09 (1.5-1.8)	1.5	
a	37.8 ± 2.7 (35.0-42.0)	40.7 ± 2.5 (37.5-43.0)	42.2 ± 1.5 (40.0-43.5)	45.8 ± 2.5 (43.0-49.0)	52.0, 55.0	
b	2.7 ± 0.2 (2.0-3.0)	3.2 ± 0.0 (3.0-3.5)	3.2 ± 0.0 (3.0-3.5)	5.1 ± 0.2 (4.8-5.3)	4.5, 5.5	
c	86.2 ± 6.2 (79.0-91.5)	107.2 ± 9.2 (101.0-120.9)	108.9 ± 6.9 (101.0-115.0)	9.0 ± 1.1 (8.1-11.3)	9.6	
V	55.1 ± 0.6 (54.3-56.1)	51.2 ± 0.9 (50.0-52.0)	-	39.2 ± 1.4 (37.0-41.0)	-	
Lip region diameter	9.2 ± 0.1 (9.0-9.5)	8.9 ± 0.4 (8.5-9.5)	8.7 ± 0.2 (8.5-9.0)	6.7 ± 0.1 (6.5-7.0)	6.5, 7.0	
Odontostyle length	11.6 ± 0.6 (11.0-12.5)	8.2 ± 1.0 (7.5-10.0)	7.9 ± 0.6 (7.5-8.5)	7.1 ± 0.3 (6.5-8.0)	7.0, 7.5	
Odontophore length	12.5 ± 0.8 (11.5-14.0)	11.8 ± 0.8 (11.0-12.0)	13.8 ± 0.3 (13.5-14.5)	10.4 ± 0.5 (9.8-11.3)	10.0, 11.0	
Neck length	1021.8 ± 36.1 (980.0-1080.0)	704.9 ± 19.4 (689-733)	680.8 ± 8.5 (676.0-691.0)	323.0 ± 15.4 (310.7-351.5)	289.0, 322.0	
Phar. expansion length	755.5 ± 32.4 (720.2-800.8)	487.5 ± 13.4 (473.0-505.0)	464.3 ± 23.2 (446.0-490.5)	163.2 ± 10.4 (153.0-181.0)	138.0, 150.0	
Body diam. at mid-body	73.4 ± 1.2 (72.0-74.5)	56.2 ± 4.7 (50.0-62.0)	53.3 ± 2.0 (51.0-55.0)	56.2 ± 4.7 (50.0-62.0)	28.0, 30.0	
Body diam. at neck base	73.8 ± 2.0 (72.0-76.5)	56.9 ± 5.0 (50.0-62.5)	54.5 ± 3.4 (51.5-58.5)	38.1 ± 2.9 (34.0-41.3)	30.0, 31.5	
Body diam. at anus	42.6 ± 3.2 (40.0-48.0)	34.9 ± 0.8 (34-36)	30.0 ± 0.5 (30.0-31.0)	20.9 ± 1.5 (19.5-23.0)	20.0, 21.0	
Ant. genital branch length	102.1 ± 18.9 (93.0-136.0)	113.5 ± 19.3 (111.0-120.0)	-	105.9 ± 11.6 (86.0-118.5)	-	
Pre-rectum length	445.5 ± 115.8 (330-580)	142.3 ± 20.2 (125.0-165.0)	-	650.2 ± 41.5 (618.0-732.0)	-	
Tail length	32.2 ± 0.9 (30.0-33.0)	21.4 ± 1.5 (19.0-23.0)	20.6 ± 1.0 (20.0-22.0)	183.7 ± 13.3 (160.0-196.5)	159.0, 162.0	
Spicules length	-	-	50.3 ± 2.7 (47.5-53.0)	-	34.0, 35.5	

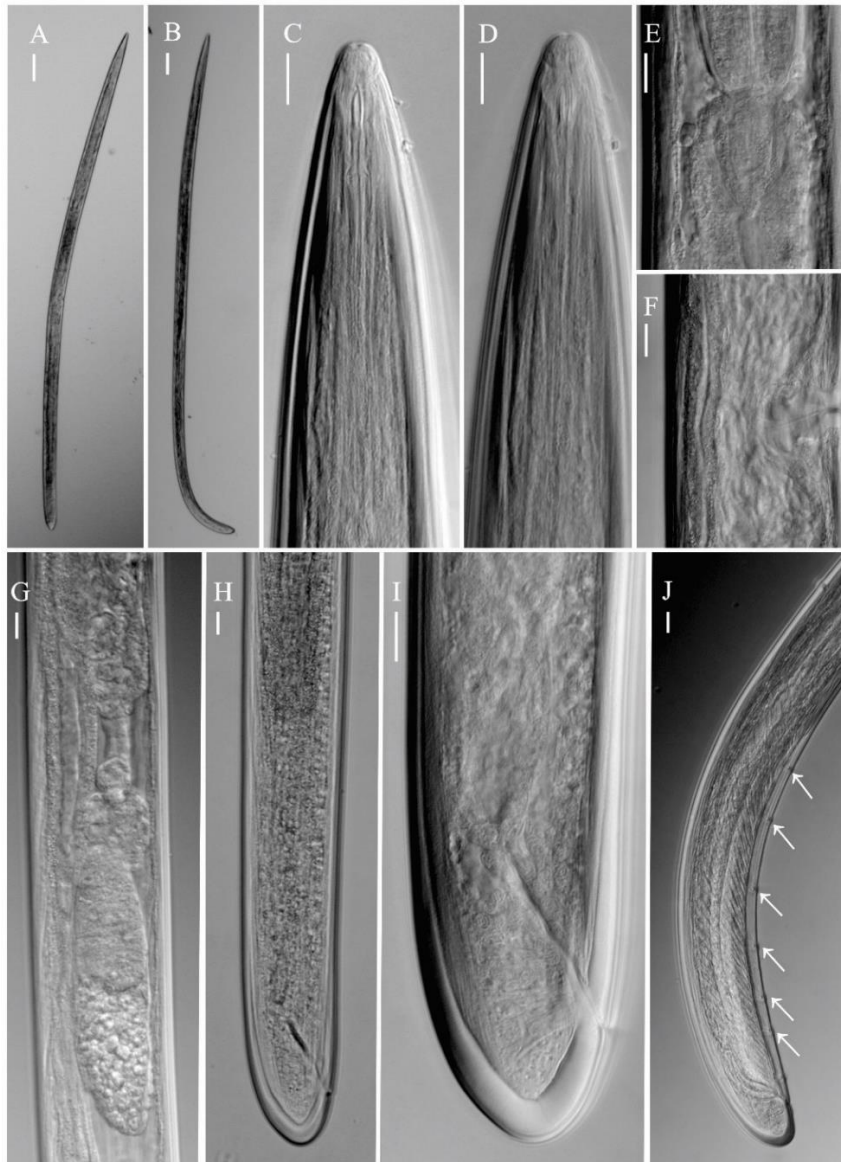
et al.، تفاوت‌هایی در طول بدن (۱/۵ تا ۱/۸ در برابر ۱/۴ میلی‌متر)، شاخص c (۸/۱ تا ۱۱/۳ در برابر ۷/۷ تا ۸/۴) و طول مری (۳۱۰/۷ تا ۳۵۱/۵ در برابر ۲۹۶ تا ۳۰۳ میکرومتر) نشان داد.

جمعیت مورد نظر با استفاده از کلید شناسایی (2010) Ahmad and Naz و Ferris et al. (1980) به عنوان *Oxydirus oxycephalus* شناسایی گردید. جمعیت فوق علی‌رغم شباهت بالا با توصیف‌های قبلی Ferris (1980)



شکل ۱- *Oxydirus oxycephalus* (De Man, 1885) Thorne, 1939: A: نمای کلی بدن نر، B: نمای کلی بدن ماده، C: آمفید، D: بخش جلویی بدن ماده، E: بخش فراخ مری، F: دریچه بین مری و روده، G: ناحیه واژن، H: لوله جنسی عقبی ماده، I: بخش انتهایی بدن ماده، J: آلت نرینه، K: بخش انتهایی بدن نر (پیکان‌ها به پاپیل‌های جفت‌گیری سطح شکمی اشاره دارند)، (مقیاس‌ها: A و B = ۲۰۰ میکرومتر، C-G، J و K = ۱۰ میکرومتر، I = ۱۰۰ میکرومتر).

Figure 1. *Oxydirus oxycephalus* (De Man, 1885) Thorne, 1939: A: Female entire body, B: Male entire body, C: Amphids, D: Female anterior body region, E: Pharyngeal expansion, F: Cardia, G: Vagina region, H: posterior genital branch, I: Female posterior end, J: Spicules, K: Male posterior end (Arrows indicate ventromedian supplements), (Scale bars: A and B= 200 μ m, C-G, J and K= 10 μ m, I= 100 μ m).



شکل ۲- *Syncheilaxonchium nairi* Altherr, 1974 (Coomans et Nair, 1975): A: نمای کلی بدن ماده، B: نمای کلی بدن نر، C: بخش جلویی بدن، D: آمفید، E: دریاچه بین مری و روده، F: ناحیه واژن، G: لوله جنسی عقبی ماده، H و I: بخش انتهایی ماده، J: بخش انتهایی نر (پیکان‌ها به پاییل‌های جفت‌گیری سطح شکمی اشاره دارند) (مقیاس‌ها: A و B = ۱۰۰ میکرومتر، C-J = ۱۰ میکرومتر).

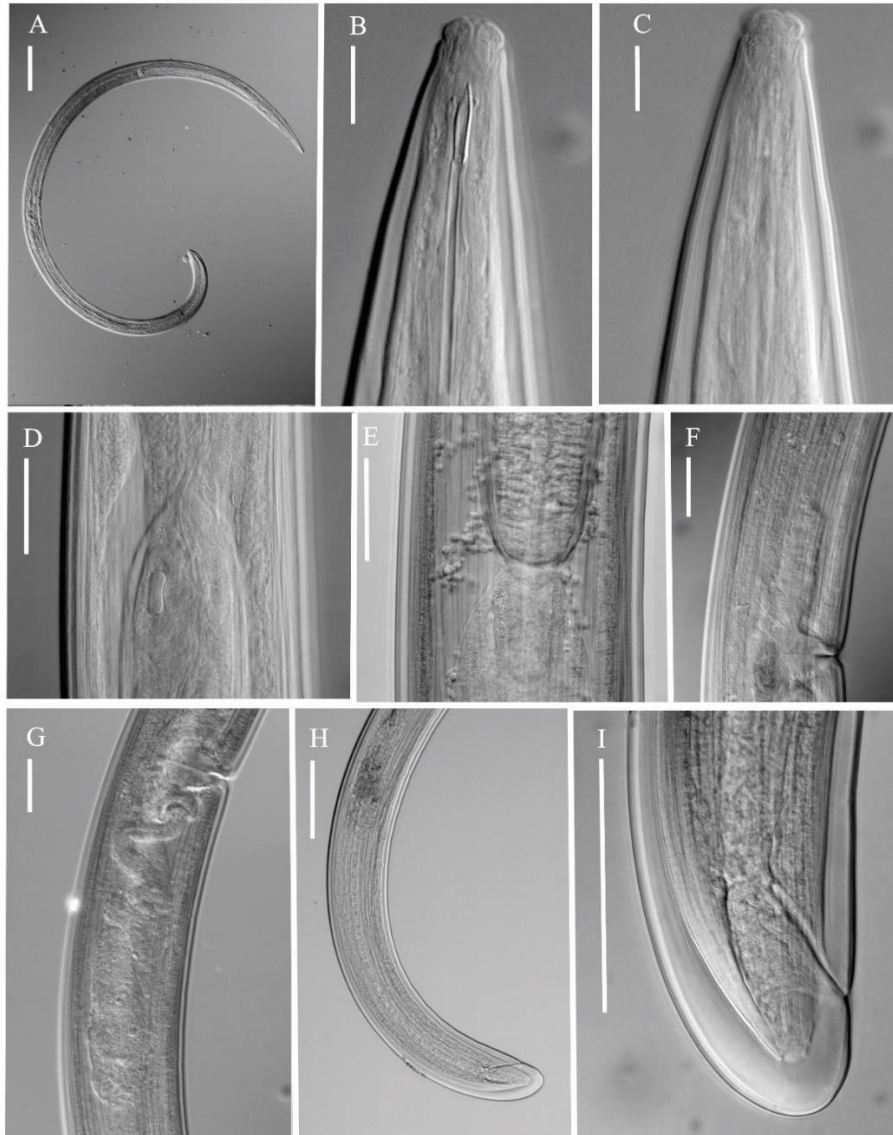
Figure 2. *Syncheilaxonchium nairi* Altherr, 1974 (Coomans et Nair, 1975): A: Female entire body, B: Male entire body, C: Anterior body region, D: Amphids, E: Cardia, F: Vagina region, G: Female posterior genital branch, H and I: Female posterior end, J: Male posterior end (Arrows indicate ventromedian supplements) (Scale bars: A and B = 100 μ m, C-J = 10 μ m).

تبارنما این جنس جدا از سایر آرایه‌های خانواده Belondiridae و در کنار *Opisthodorylaimus* (AY593010) *sylphoides* قرار می‌گیرد که نماتدهایی با دم بلند و نخعی متعلق به زیرخانواده Thornenematinae

در مطالعه مولکولی یک توالی با رس‌شمار OR594281 برای این گونه به ثبت رسید که در تبارنما با اختلاف هفت نوکلئوتید در مقایسه دوتایی، با احتمال پسین بالا (PP=۱) در کنار گونه *O. oxycephalus* (AY593012) قرار گرفت. در

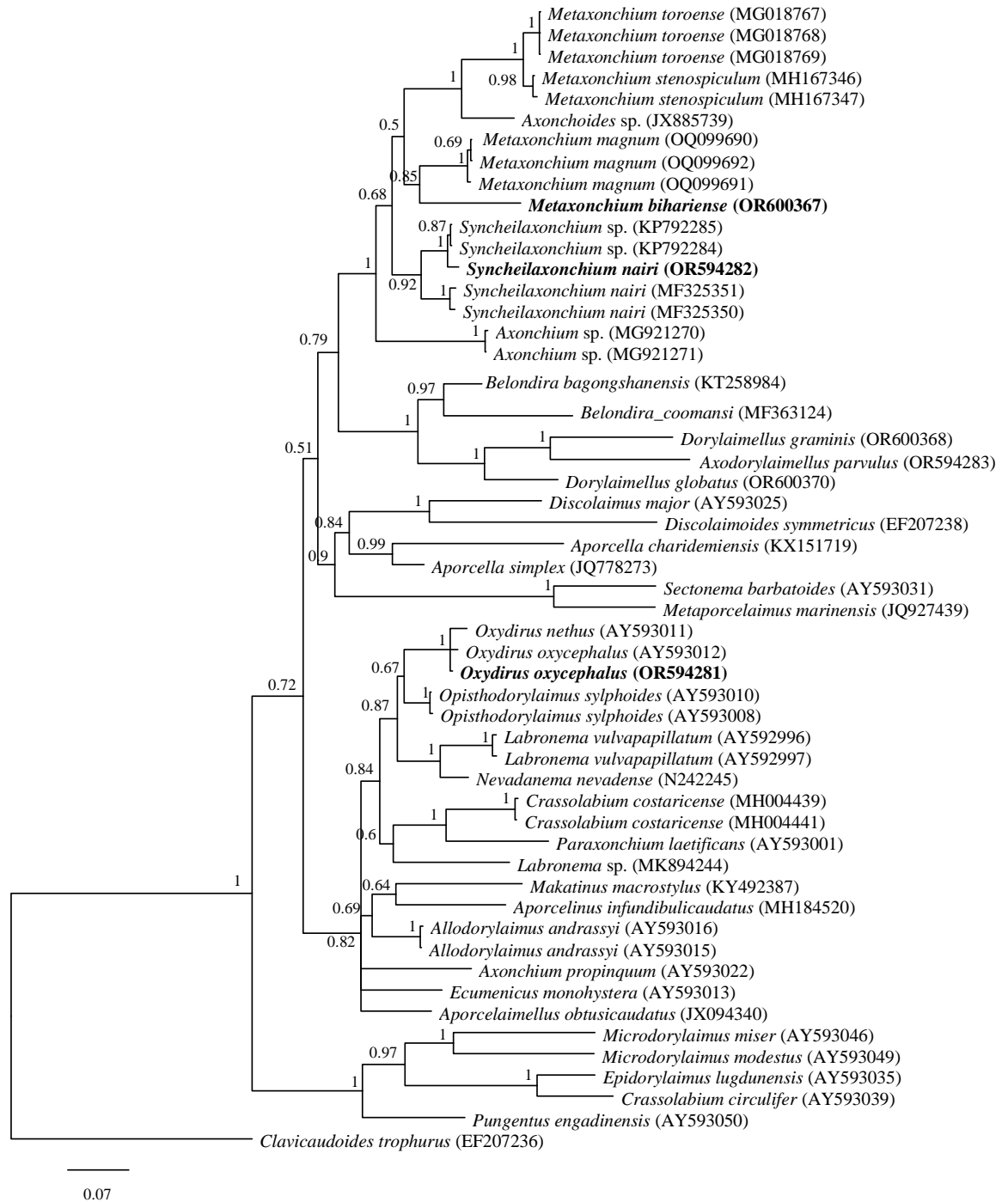
آپومورفیک است (Peña-Santiago & Abolafia, 2023). این گونه از پراکنش بالایی برخوردار است و تاکنون از آلمان، هلند، بلژیک، سوئیس، انگلستان، غنا، ایتالیا، ترکیه و هند گزارش شده است (Andrássy, 2009). گزارش قبلی از بروز این گونه در ایران به ثبت نرسیده است و این اولین گزارش از وجود گونه مذکور در کشور است.

Siddiqi, 1969 هستند. این موضوع تاییدکننده چند نیایی بودن احتمالی این بالاخانواده می‌باشد و موافق نظر Gholhasan et al., (2018) Varela-Benavides & Peña-Santiago (2018) مبنی بر چند نیایی بودن این بالاخانواده است. هم‌چنین نشان می‌دهد که صفت پوشش ماهیچه‌ای ماریچ در اطراف بخش فراخ مری یک صفت



شکل ۳- *Metaxonchium bihariense* Popovici, 1990: A: نمای کلی بدن، B: بخش جلویی بدن، C: آمفید، D: محل اتصال دو بخش مری، E: دریچه بین مری و روده، F: ناحیه واژن و کیسه جلویی رحم، G: لوله جنسی عقبی، H و I: بخش انتهایی بدن (مقیاس: A=100 میکرومتر، B و C=10 میکرومتر، D-I=30 میکرومتر).

Figure 3. *Metaxonchium bihariense* Popovici, 1990: A: Entire body, B: Anterior body region, C: Amphids, D: Junction of the two parts of the esophagus, E: Cardia, F: Vagina region and anterior uterine sac, G: Posterior genital branch, H and I: Posterior end (Scale bars: A = 100 μ m, B and C= 10, D- I = 30 μ m).



شکل ۴- درخت فیلوژنی بیس (Bayes) استنباط شده با استفاده از مدل تکاملی GTR + I + G از ناحیه D2-D3 ژن 28S rDNA از *Metaxonchium bihariense* Popovici, 1990، *Syncheilaxonchium nairi* (Altherr, 1974) Coomans & Nair, 1975 و *Oxydirus oxycephalus* (De Man, 1885) Thorne, 1939 احتمال پسین بیش از ۵۰ درصد برای کلادها ارائه شده است. توالی‌های اخیراً بدست آمده با فونت پر رنگ نوشته شده است.

Figure 4. Bayesian tree inferred under the GTR + I + G model from 28S rDNA D2–D3 expansion domains of *Metaxonchium bihariense* Popovici, 1990, *Syncheilaxonchium nairi* (Altherr, 1974) Coomans & Nair, 1975 and *Oxydirus oxycephalus* (De Man, 1885) Thorne, 1939. Probabilities of more than 50% are given for appropriate clades. The newly obtained sequences are in bold.

گونه *Metaxonchium bihariense* Popovici, 1990**جدول ۱، شکل ۳**

این جمعیت در مراجعه به کلیدهای شناسایی که توسط Kumar and Ahmad (2023)، Popovici (1990) و Ahmad and Naz (2010) ارائه شده است به عنوان *A. bihariense* تشخیص داده شد. در مقایسه ویژگی‌های اصلی با توصیف اصلی گونه توسط Popovici (1990) تفاوتی ملاحظه نشد و تنها تفاوت در طول بدن (۲/۵ تا ۳ در برابر ۲ تا ۲/۶ میلی‌متر) و طول مری (۹۸۰ تا ۱۰۸۰ در برابر ۶۰۰ تا ۷۷۵ میکرومتر) بود. (Kumar and Ahmad (2023) و Ahmad and Naz (2010) این گونه را به دلیل نداشتن *pars refringens* و فقدان ایستموس بین دو بخش باریک و فراخ مری، در جنس *Axonchium* قرار داده‌اند در حالی که دیگران (Peña- Peña-Santiago et al., 2014; Santiago and Abolafia, 2023) به دلیل وجود ضمام Z شکل در رحم، آن را در جنس *Metaxonchium* منظور نموده‌اند. در این مطالعه برای اولین بار یک توالی با رس شمار OR600367 برای آن به ثبت رسید که با سه توالی OQ099690، OQ099691 و OQ099692 متعلق به گونه *Metaxonchium magnum* با حمایت ۰/۸۵ در یک کلاد مجزا قرار می‌گیرند بنابراین با توجه به داده‌های مطالعه مولکولی و موقعیت توالی این گونه در درخت، ماهیت این گونه به عنوان *M. bihariense* تایید می‌گردد که مطابق نظر Peña-Santiago et al., 2014; و Peña-Santiago and Abolafia, 2023 است (شکل ۴).

گونه *Syncheilaxonchium nairi* Altherr, 1974**جدول ۱، شکل ۲ (Coomans and Nair, 1975)**

نماتدهایی باریک. ناحیه لب‌ها گرد، پیوسته و هم‌تراز بدن. ادونتو استایل کوتاه و دوکی شکل. بخش جلویی مری کم‌ویش ماهیچه‌ای، از بخش فراخ عقبی توسط یک فرورفتگی جدا می‌شود. غلاف ماهیچه‌ای مری غیرماریج. افراد ماده دارای یک لوله جنسی عقبی و دارای کیسه جلویی رحم، شکاف تناسلی عرضی و غیراسکلروتی. افراد نر دارای آلت نرینه از نوع dorylaimoid، معمولاً بلند. دارای شش پاییل در سطح شکمی، با فاصله از هم. دم در هر دو جنس نر و ماده مشابه، گرد. ماهیت جمعیت مورد بررسی با توجه به منابع ارائه شده توسط Naz and Ahmad (2012) و Mowlavi et al. (2012) تایید گردید و تفاوتی در ویژگی‌های ریخت‌شناختی و ریخت‌سنجی ملاحظه نشد. این گونه اولین بار توسط Altherr (1974) از آلمان گزارش گردید. در ایران نیز اولین بار توسط Mowlavi et al. (2012) در استان مازندران از فراریشه درخت چوب آهنی (Persian ironwood tree) جداسازی شده است. جمعیت حاضر در مقایسه با جمعیت مطالعه شده توسط Mowlavi et al. (2012) تفاوتی نشان نداد. در مطالعه مولکولی این گونه یک توالی با رس شمار OR594282 در بانک جهانی ژن به ثبت رسید که این توالی در تبارنمای رسم شده با دو توالی دیگر KP792284 و KP792285 از همین جنس فاقد تفاوت نوکلئوتیدی بوده و با دو توالی دیگر MF325351 و MF325350 این گونه به ترتیب با اختلاف ۸ و ۹ نوکلئوتید و با احتمال پسین ۰/۹۲ در یک کلاد قرار می‌گیرند (شکل ۴).

References

- Ahmad, W. & Naz, T. (2010). Description of a new and a known species of the genus *Oxydirus* Thorne, 1939 (Nematoda: Dorylaimida). *Nematologia Mediterranea*, 38, 91-98.
- Altherr E., 1974. Nématodes de la nappe phréatique du réseau fluvial de la Saale (Thuringe), II. *Limnologica*, 9, 81-132
- Andrássy, I. (2009). *Free-living Nematodes of Hungary (Nematoda, errantia)*. III. *Pedozoologica Hungarica*, No 5. Hungarian Natural History Museum. Budapest, Hungary, 608 pp.

Archidona-Yuste, A., Navas-Cortés, 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*, e0147689. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0147689>.

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.

Cobb, N.A. (1920). One hundred new nemas. *Contributions to the Science of Nematology*, *9*, 217-343.

Coomans, A & Nair, P. (1975). The genus *Axonchium* (Nematoda: Belondiridae) VI. A typical species, keys subgenera and conclusions. *Nematologica*, *21*, 296-332.

De Grisse, A.T. (1969). Redescription ou modification de quelques techniques utilisées dans l'étude des Nématodes phytoparasitaires. *Mémoires de la Faculté de Médecine, Rijksfacultet der Landbouwetenschappen, Gent*, *34*, 351-369.

Ferris, V. R., Goseco, C. G. & Ferris, J. M. (1980). Revisions in *Oxydirus* and *Tarjanus* n.gen. in Oxydiridae, Belondiroidea (Nematoda: Dorylaimida); and *Oxydiroides* in Prodorylaimidae, Dorylaimoidea. *Purdue University Agriculture Experimental Station Research Bulletin*, *965*, 1-29.

Gholhasan, B., Heydari, R., Miraeiz, E., Abolafia, J., & Peña-Santiago, R. (2018). Molecular and morphological characterization of *Belondira coomansi* n. sp. (Nematoda, Dorylaimida, Belondiridae) from Iran. *Journal of Helminthology*, *92*, 630–636. <https://doi.org/10.1017/S0022149X17000840>.

Kumar, S. & Ahmad, W. (2023). Six new and four known species of the genus *Axonchium* Cobb, 1920 (Nematoda: Dorylaimida: Belondiroidea) from the Western Ghats of India. *European Journal of Taxonomy*, *857*, 1-56. <https://doi.org/10.5852/ejt.2023.857.2039>

Mowlavi, G.H., Rajabi, S.H., Shokoohi, E., Mobedi, I. and Peña-Santiago, R. (2012). New data on two interesting dorylaims (Nematoda, Dorylaimida) from Iran. *Nematologia Mediterranea*, *40*, 19-24.

Naz, T. & Ahmad, W. (2012). Description of two new and five known species of the genus *Axonchium* Cobb, 1920 (Nematoda: Dorylaimida) from India with diagnostic compendia and keys to species of the genera *Axonchium* and *Syncheilaxonchium* Coomans & Nair, 1975. *Zootaxa*, *3264*(1), 1-37. <https://doi.org/10.11646/zootaxa.3264.1.1>

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

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

Peña-Santiago, R. & Abolafia, J. (2023). General morphology, taxonomy and phylogeny of the genus *Metaxonchium* Coomans & Nair, 1975 (Nematoda: Dorylaimida: Belondiridae). *Zoologischer Anzeiger*, *304*, 32-48. <https://doi.org/10.1016/j.jcz.2023.03.002>

Peña-Santiago, R., Niknam, G., Álvarez-Ortega, S., & Jabbari, H. (2014). *Metaxonchium persicum* sp. n. from Iran (Nematoda, Dorylaimida, Belondiridae), with an updated taxonomy of the genus. *Zootaxa*, *3785*, 501–517. <https://doi.org/10.11646/zootaxa.3785.4.1>.

Popovici, I. (1990). New and known nematode species (Nematoda: Dorylaimida) from Romania. *Nematologica*, 35, 438-454.

Ronquist, F. & Huelsenbeck J.P. (2003). MRBAYES: Bayesian inference of phylogenetic trees under mixed models. *Bioinformatics*, 19, 1572-1574. <https://doi.org/10.1093/bioinformatics/btg180>

Soluki, V., Ashrafi, M., Niknam, G. & Ghafarpour, F. (2010). Report of several types of free living nematodes from East and West Azarbaijan provinces. *Proceeding of 19th Iranian plant protection congress. Volume II, Plant Disease. Tehran, Iran.*

Tamura, K., Stecher, G., Peterson, D., Filipski, A. & Kumar, S. (2013). MEGA6: molecular evolutionary genetics analysis version 6.0. *Molecular Biology and Evolution*, 30, 2725-2729. <https://doi.org/10.1093/molbev/mst197>

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

Varela-Benavides, I. & Peña-Santiago, R. (2018). Two new species of the genus *Metaxonchium* Coomans & Nair, 1975 (Nematoda, Dorylaimida, Belonidiridae) from Costa Rica, with new insights in the phylogeny of the family Belonidiridae. *Zoologischer Anzeiger*, 277, 1-11. <https://doi.org/10.1016/j.jcz.2018.06.007>

Vazifeh, N., Niknam, G. & Jabbari, H. (2018). Report of five dorylaimid nematodes from East Azerbaijan province, Iran. *Iranian Journal of Plant Protection Science*, 49(2), 203-215. <https://doi.org/10.22059/ijpps.2018.257447.1006844>



© 2023 by the authors. Licensee SCU, Ahvaz, Iran. This article is an open access article distributed under the terms and conditions of the Creative Commons Attribution-Noncommercial 4.0 International (CC BY-NC 4.0 license) (<http://creativecommons.org/licenses/by-nc/4.0/>).



Report on Three Species of Belonidiroidea Thorne, 1939 (Nematoda: Dorylaimida) from the Taf Region of Khorramabad County, Iran

A. Naghavi^{1*}, Gh. Niknam², N. Vazifeh³, Z. Mirzaeipour⁴

1. ***Corresponding Author:** Assistant Professor, Department of Plant Protection, Faculty of Agriculture, University of Lorestan, Khorramabad, Iran (naghavi.a@lu.ac.ir)
2. Professor, Department of Plant Protection, Faculty of Agriculture, University of Tabriz, Tabriz, Iran
3. Ph.D. student of plant pathology, Department of Plant Protection, Faculty of Agriculture, University of Tabriz, Tabriz, Iran
4. Ph.D. Graduated of plant pathology, Department of Plant Protection, Faculty of Agriculture, University of Lorestan, Khorramabad, Iran

Received: 6 November 2023

Accepted: 28 February 2024

Abstract

Background and Objectives

The Taf region encompasses several distinct local climate zones and harbors rich biodiversity, yet its nematode fauna remains unstudied. The distinguishing characteristics of this superfamily include a relatively short odontostyle, a slender but weakly muscular anterior section of the esophagus, an enlarged basal expansion of the esophagus, which varies in length and is encased by a discernible sheath composed of spiral muscles, and a potentially similar or dissimilar tail morphology in males and females. Presently, the superfamily comprises 36 genera. To investigate the nematode biodiversity of the Taf region in Khorramabad County, 50 soil samples were collected. Among the extracted nematodes, three species belonging to Belonidiroidea—*Oxydirus oxycephalus*, *Metaxonchium bihariense*, and *Syncheilaxonchium nairi*—were identified. The morphometric, morphological, and molecular characteristics of these species were analyzed using the 28S rDNA gene region.

Materials and Methods

Soil samples were collected from the rhizosphere of forest trees in the Taf region. Nematodes were extracted utilizing a modified Brown & Boag (1988) method. Following extraction, specimens were fixed and preserved in anhydrous glycerin according to the protocol outlined by De Grisse (1969) and mounted on permanent glass slides. Species identification was conducted using a light microscope equipped with a Dino-Eye Eyepiece Camera, relying on morphological and morphometric characteristics alongside established taxonomic keys. Photomicrographs were captured using the same microscope outfitted with a DP50 digital camera. Nematode DNA was extracted from individual specimens following the protocol described by Archidona-Yuste et al. (2016). The D2-D3 segments were amplified utilizing the D2A and D3B forward and reverse

primers, respectively. Subsequently, the generated sequences were aligned with other 28S rDNA gene sequences available in GenBank using MEGA6 software. Phylogenetic analysis of the sequence datasets was conducted via Bayesian inference (BI) employing MrBayes 3.1.2 under the GTR + I + G model. The resulting tree was visualized using FigTree v1.4.3.

Results

In this study, three species from the Belonidiroidea superfamily were identified. Through morphological, morphometric, and D2-D3 expansion analysis of the 28S rDNA, these species were determined to be *Oxydirus oxycephalus*, *Metaxonchium bihariense*, and *Syncheilaxonchium nairi*. Notably, *O. oxycephalus* was found for the first time within Iran's nematode fauna. In females, *O. oxycephalus* displays a cylindroid body shape, measuring 1.5-1.8 mm in length. The lip region is slightly asymmetrical, while the spear is fusiform, measuring 6.5-8.0 μm in length. The oesophagus assumes a bottle-shaped configuration, with the basal bulb being cylindrical and encased by a prominent muscular spiral sheath. The vulva is observed as a transverse slit with non-sclerotized lips, and the posterior gonad is normal (opisthodelphic) with a reduced anterior gonad. The tail is long and filiform, typically presenting a swelling. Male specimens share a similar morphology to females, with spicules measuring 34.0-35.5 μm in length and 9-11 ventromedian supplements. The phylogenetic Bayesian consensus tree, derived from D2-D3 28S rDNA analysis, reveals that *O. oxycephalus*, along with *O. oxycephalus* (AY593012), forms a subclade with 100% posterior probability (PP) support, situated within a larger clade containing *Opisthodorylaimus sylphoides* (AY593010 and AY593008) from the Thornenematinae subfamily. The morphological and morphometric characteristics of the *S. nairi* population studied closely resemble those of the type specimens in terms of general morphology and measurements, indicating a high degree of similarity. A single D2-D3 28S rDNA gene sequence (OR594282) was obtained for *S. nairi*, which forms a highly supported (100% PP) clade with another representative of *Syncheilaxonchium* sp. (KP792285 and KP792284).

The Iranian population of *M. bihariense* closely resembles the type population, with only minor differences observed in body length and pharyngeal length. Notably, a sequence (OR600367) was obtained for the first time for this population.

Discussion

The placement of *O. oxycephalus* sequences in the phylogenetic tree, segregated from other taxa within this superfamily and grouped within the same clade (96% posterior probability), alongside *O. sylphoides* from the Thornenematinae, suggests that Belonidiroidea constitutes a polyphyletic group. Additionally, as noted by Peña-Santiago and Abolafia (2023), the presence of a spiral sheath surrounding the expanded part of the pharynx is considered an apomorphic feature.

Keywords: *Belonidiroidea*, *D2-D3 28S rDNA*, *fauna*, *morphometry*

Associate editor: S. Azimi (Ph.D.)

Citation: Naghavi, A., Niknam, Gh., Vazifeh, N. & Mirzaei-pour, Z. (2024). Report on Three Species of Belonidiroidea Thorne, 1939 (Nematoda: Dorylaimida) from the Taf Region of Khorramabad County, Iran. *Plant Protection (Scientific Journal of Agriculture)*, 46(3), 115-125. [https:// 10.22055/ppr.2024.45204.1715](https://10.22055/ppr.2024.45204.1715).