



Research Article

Morphological and molecular characteristics of two species of *Psilenchus* (Nematoda: *Psilenchidae*) from the Taf region of Lorestan province, Iran

Arezoo Naghavi^{✉1}, Farahnaz Jahanshahi Afshar², Eidi Bazgir¹, Zahra Mirzaeipour¹

1. Department of Plant Protection, Faculty of Agriculture, Lorestan University, Khorramabad, Iran

2. Iranian Research Institute of Plant Protection, Agricultural Research, Education and Extension Organization (AREEO), Tehran, Iran

Abstract

The species of the genus *Psilenchus* are weak parasites of plants and mosses that feed on hairy roots and epidermal cells of root. Previously, the members of the genus were placed in the family *Tylenchidae* because of having weak stylet and elongate tail, but because of the didelphys uterus and the presence of phasmid on the tail, they were more similar to the members of the supper family Dolichodoroidea, so “*Psilenchidae*”, as a new family with two subfamilies *Antarctenchinae* (Stylet knobbed and vulva with lateral membranes and epiptygma) and *Psilenchinae* (Stylet not knobbed and vulva without lateral membranes and epiptygma) was established. The genus *Psilenchus* currently has 21 valid species (only four species have been sequenced), of which 10 species have been recorded from Iran. About 100 samples were collected from the rhizosphere of fruit and forest trees in Taf region of Khoramabad county in 2022 and 2023. The nematodes were extracted using tray method and after fixation, permanent slides were prepared. The morphological and morphometric characteristics of the samples were examined, then a molecular study was performed using the D2-D3 28S rDNA marker. Two species, *Psilenchus curcumerus* and *P. vinciguerrae*, were identified with one and two sequences, respectively. This is the first report of these two species from the region. These two species were confirmed based on morphometric and morphological characteristics and phylogeny studies.

Keywords: D2-D328S- rDNA, Phylogeny, *Psilenchus curcumerus*, *Psilenchus vinciguerrae*

مقاله پژوهشی

***Psilenchus* (Nematoda: *Psilenchidae*) دو گونه و مولکولی و ریختی و مورفولوژی**

از منطقه تاف استان لرستان، ایران

آرزو نقوی^{✉۱}، فرحناز جهانشاهی افشار^۲، عیدی بازگیر^۱، زهرا میرزایی پور^۱

۱. گروه گیاه پزشکی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه لرستان، خرم‌آباد، ایران

۲. بخش تحقیقات جانورشناسی کشاورزی، مؤسسه تحقیقات گیاهپزشکی کشور، سازمان تحقیقات، آموزش و ترویج کشاورزی، تهران، ایران

چکیده

نماتدهای جنس *Psilenchus* انگل ضعیف گیاهان و خزها هستند که از ریشه‌های مویین و سلول‌های اپیدرمی ریشه تغذیه می‌کنند. قبلاً اعضای این جنس به دلیل داشتن استایلت ظریف و دم بلند در تیره *Tylenchidae* قرار داشتند. به دلیل شباهت بیشتر اعضای از تیره تیلنکیده (با دو لوله جنسی و داشتن

✉Corresponding author: Naghavi.a@lu.ac.ir, Received: 2024.09.22, Revised: 2024.12.15, Accepted: 2024.12.24

فاسمید در دم) به اعضای بالاتیره *Dolichodoroidea*، پیشنهاد گردید این اعضا در یک تیره جداگانه به نام *Psilenchidae* با دو زیر تیره *Antarctenchinae* (استایلت دارای گره، فرج دارای پرده‌های جانبی و اپی‌پتیگما) و *Psilenchinae* (فاقد سه مشخصه ذکر شده) قرار داده شوند. این جنس در حال حاضر دارای ۲۱ گونه معتبر بوده (فقط چهار گونه دارای توالی نوکلئوتیدی) که ۱۰ گونه از ایران گزارش شده است. طی سال‌های ۱۴۰۱ و ۱۴۰۲ تعداد ۱۰۰ نمونه از خاک فراریشه درختان میوه و جنگلی منطقه تاف شهرستان خرم‌آباد جمع‌آوری گردید و پس از جداسازی و استخراج نماتدها با روش سینی، اسلاید میکروسکوپی تهیه شد. در ابتدا بررسی ویژگی‌های ریخت‌شناختی و ریخت‌سنجی نمونه‌ها صورت گرفت؛ سپس مطالعه مولکولی با استفاده از پرایمر ناحیه ژنی D2-D3 28S-rDNA نیز انجام شد. دو گونه *Psilenchus curcumerus* و *P. vinciguerrae* به ترتیب یک و دو توالی از ناحیه فوق‌الذکر شناسایی شدند. این اولین گزارش از وجود این دو گونه در منطقه می‌باشد. مقایسه ویژگی‌های ریخت‌سنجی و ریخت‌شناسی این دو گونه با منابع معتبر، ماهیت هر دو گونه را تایید نمود. همچنین در مطالعه مولکولی ماهیت این دو گونه با استناد به توالی‌هایی موجود در بانک ژن، مورد تایید قرار گرفت.

واژگان کلیدی: *Psilenchus vinciguerrae*, *Psilenchus curcumerus*, D2-D3 28S-rDNA

Introduction

مقدمه

نماتدهای جنس *Psilenchus* انگل گیاهی ضعیفی هستند که از سلول‌های اپیدرم ریشه‌های موبین تغذیه می‌کنند (Siddiqi 2000). این جنس به دلیل داشتن برخی صفات از جمله دو لوله جنسی از tylenchid های اجدادی محسوب می‌گردد. علاوه بر این، دارای صفات ابتدایی دیگر از جمله شکاف بزرگ آمفید پشت ناحیه لبی، استایلت ظریف و فاسمید می‌باشد. این جنس از لحاظ داشتن استایلت ظریف و دم بلند شبیه دیگر اعضای تیره Tylenchidae است ولی با داشتن دو لوله جنسی و فاسمید در دم از آنها متمایز می‌گردد (Luc et al. 1987, Chizhov & Berezina 1988, Ryss 1993). دی من (de Man 1921) جنس *Psilenchus* را برای گروهی از tylenchid های دارای دو لوله جنسی ایجاد نمود و *P. hilarulus* را در آن جای داد. تورن (Thorne 1949) گونه دیگری به آن افزود همچنین گونه‌های دیگری با یک لوله جنسی که امروزه در *Basiria* و *Neopsilenchus* هستند در این جنس جای گرفتند. جی راجپوری (Jairajpuri 1966) این جنس را به گونه‌های دارای دو لوله جنسی، محدود نمود. خیری (Kheiri 1970) برای گونه‌های آن یک کلید تهیه نمود. پس از آن برزسکی یک کلید شناسایی جدولی برای آن ایجاد نمود (Brzeski 1989). این جنس متعلق به تیره *Psilenchidae* با دو زیر تیره *Antarctenchinae* (استایلت دارای گره، فرج دارای پرده-های جانبی و اپی‌پتیگما) و *Psilenchinae* (فاقد سه مشخصه ذکر شده) است (Siddiqi 2000). هر چند که گرارت تیره *Psilenchidae* را نپذیرفته است و جنس‌های دو گناده را در تیره تیلنکیده قرار داده است (Geraert 2008) ولی مطالعات مولکولی با استفاده از نشانگرهای SSU و LSU ماهیت مستقل تیره *Psilenchidae* را تایید می‌کنند (Amiri Bonab et al. 2021). این جنس در حال حاضر دارای ۲۱ گونه معتبر بوده (Geraert 2008) که تاکنون ۱۰ گونه آن از ایران گزارش شده است (Ghaderi et al. 2018, Jumaah & Azimi 2024).

این مطالعه با هدف شناسایی نماتدهای آزاد و انگل گیاهی در منطقه تاف شهرستان خرم‌آباد، با پوشش درختان جنگلی مثل بلوط، زالزالک و گلابی وحشی، درختان میوه مانند گردو، زردآلو، سیب، ازگیل و گلابی انجام شد. در این بررسی به شناسایی دقیق گونه‌های جنس *Psilenchus* پرداخته شد و دو گونه آن از لحاظ ریخت‌شناختی و مولکولی مورد بررسی قرار گرفت.

Materials and Methods

مواد و روش‌ها

طی سال‌های ۱۴۰۱ و ۱۴۰۲ تعداد ۱۰۰ نمونه از خاک فراریشه درختان جنگلی و غیر جنگلی منطقه تاف شهرستان خرم‌آباد، جمع‌آوری گردید و به آزمایشگاه منتقل و تا زمان استخراج در دمای ۴ درجه سلسیوس نگهداری گردید. پس از استخراج نماتدها با استفاده از روش برون و باگ (Brown & Boag 1988) و نقوی و همکاران (Naghavi et al. 2024)، تثبیت و انتقال آن‌ها به گلیسرین انجام گرفت (De Grisse 1969) و اسلایدهای دائمی تهیه شد. برای بررسی ویژگی‌های ریخت‌سنجی و ریخت‌شناختی نماتدها از میکروسکوپ نوری Olympus CX31 متصل به Dino-Eye Eyepiece Camera استفاده شد. سپس تشخیص و شناسایی گونه‌ها با استفاده از منابع معتبر صورت گرفت (Erum et al. 202 , Geraert 2008).

جهت مطالعه مولکولی، استخراج DNA از نماتدهای زنده انجام شد (Archidona-Yuste et al. 2016) و احتشام و همکاران (Ehtesham et al. 2024). تکثیر ناحیه ژنی D2-D3 28S rDNA با استفاده از پرایمر رفت D2 و برگشت D3 (Nunn 1992) بود. سپس ماده ژنتیکی تهیه شده جهت خالص‌سازی و توالی‌یابی به شرکت bioneer کره جنوبی ارسال شد. توالی‌های لازم برای رسم درخت تبارزایی با استفاده از BLAST (Basic Local Alignment Search Tool) در NCBI بدست آمد. ویرایش توالی‌های به دست آمده این مطالعه با استفاده از نرم افزار بایوایت (BioEdit 7.2) انجام و هم ردیف‌سازی توالی‌های به دست آمده در این مطالعه و توالی‌های بانک ژن با استفاده از نرم افزار (Tamura et al. 2013) MEGA6 صورت گرفت (Naghavi et al. 2023). برای رسم درخت بهترین مدل تکاملی با استفاده از نرم افزار Mr Modeltest 2.3 تعیین شد (Nylander 2004). سپس تبارنما با استفاده از Mr Bayes 3.1.2 رسم و مشاهده آن توسط نرم افزار FigTree v1.4.3 امکان پذیر گردید و احتمال پسین بیش از ۵۰ درصد بر روی شاخه‌ها نشان داده شد (Ronquist & Huelsenbeck 2003).

Results and Discussion

یافته‌ها و بحث

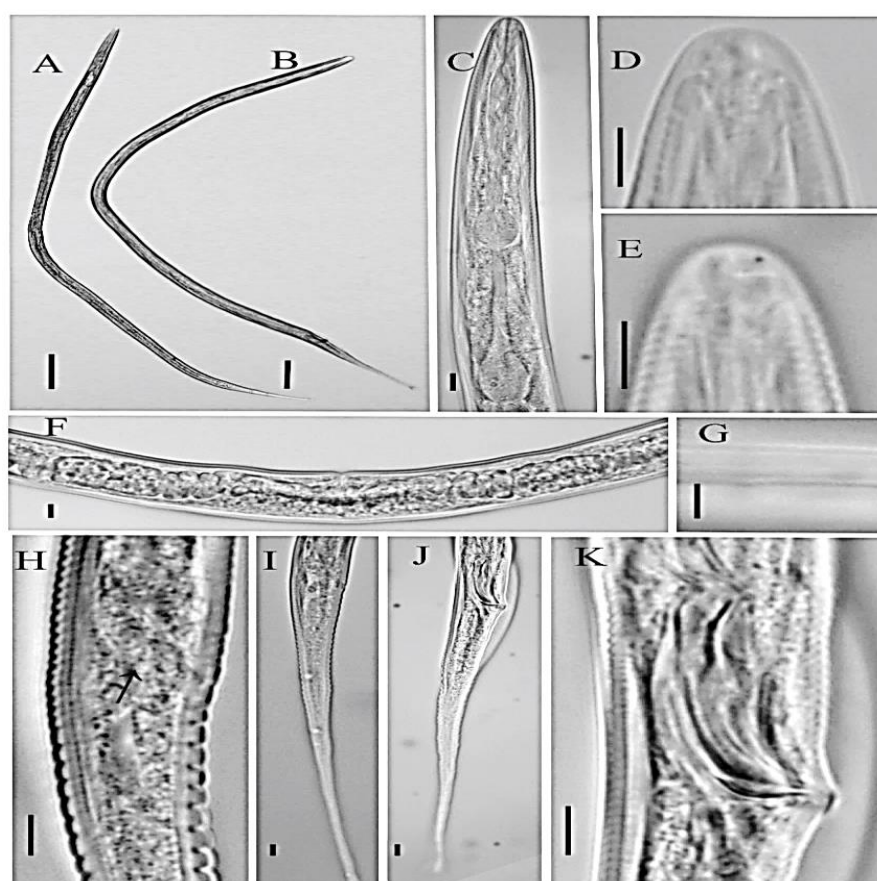
در این مطالعه دو گونه *Psilenchus cucumerus* و *P. vinciguerrae* از زیر تیره *Psilenchinae* شناسایی شد که به شرح مختصر آنها پرداخته می‌شود.

1. *Psilenchus cucumerus* Rahaman, Ahmad & Jairajpuri, 1994

ماده: معمولاً دارای بدنی مستقیم و پس از تثبیت شدن دارای خمیدگی به سمت شکمی است. کوتیکول دارای شیارهای عرضی ظریف، باند جانبی دارای چهار شیار طولی با شیارهای خارجی چین‌دار، باندهای خارجی باریک‌تر از باند میانی، به عرض شش میکرومتر، ۲۸ تا ۳۵٪ عرض بدن، از زیر پایه استایلت منشاء

گرفته و تا یک سوم انتهایی ادامه دارد. ناحیه لبی گرد، صاف و فاقد شیار عرضی، در محل اتصال به بدن فاقد فرورفتگی، به ارتفاع ۳-۴ و عرض ۶-۷ میکرومتر است. شکاف دهانه آمفید اریب و در ناحیه پشت لب‌ها قرار دارند. حباب میانی مری تخم مرغی شکل و ماهیچه‌ای است. استایلت ظریف و فاقد گره می‌باشد. منفذ دفعی-ترش‌حی در ناحیه ایسموس قرار دارد. شکاف تناسلی عرضی، واژن تقریباً نصف عرض بدن در ناحیه شکاف تناسلی، کیسه ذخیره اسپرم مستطیلی شکل و پر از اسپرم می‌باشد. روده در محل اتصال به رکتوم دارای ساختار کیسه پس مخرجی است. دم بلند، نخ‌شکل، دارای باریک‌شدگی یکنواخت با انتهای گریزشی شکل می‌باشد (شکل ۱، جدول ۱).

نر: مشخصات کلی شبیه افراد ماده، آلت تناسلی نرینه دارای خمیدگی به سمت شکمی، گوبرناکولوم هلالی شکل و پرده بوسا با حاشیه کنگره‌دار ظریف است. (شکل ۱، جدول ۱).



شکل ۱. تصاویر میکروسکوپ نوری جمعیت ایرانی *Psilenchus curcumerus* Rahaman, Ahmad & Jairajpuri, 1994، ماده (A, C-I) و نر (B, J&K). A&B: نمای کلی بدن ماده و نر، C: ابتدای بدن تا انتهای مری، D & E: ناحیه سفالیک (شکاف آمفید در E)، F: شکاف تناسلی و بخش ابتدایی لوله‌های جنسی، G: شیارهای جانبی، H: کیسه پس رکتومی، I & J: انتهای بدن نماد ماده و نر، K: نمایی از اسپیکول و گوبرناکولوم. (خطوط مقیاس: A&B = ۵۰ میکرومتر، C-K = ۵ میکرومتر).

Figure 1. Light micrographs of Iranian population of *Psilenchus curcumerus* Rahaman, Ahmad & Jairajpuri, 1994, female (A, C-I) and male (B, J&K). A&B: Female and male body, C: Anterior end to pharynx end, D & E: Cephalic region (Amphid aperture in E), F: Vulva and initial part of the gonads, G: Lateral field, H: Post-anal intestinal sac, I&J: Posterior end of female and male, K: Spicule and gubernaculum. (Scale bars: A&B = 50, C-k = 5 μ m).

جدول ۱. داده‌های ریخت‌سنجی جمعیت ایرانی گونه *Psilenchus curcumerus* Rahaman, Ahmad & Jairajpuri, 1994. اندازه‌ها بر حسب میکرومتر (به جز طول بدن بر حسب میلی‌متر و تمام داده‌ها به شکل میانگین (مینیمم-ماکزیمم).

Table 1. Morphometrics of Iranian population of *Psilenchus curcumerus* Rahaman, Ahmad & Jairajpuri, 1994. All measurements in μm (except L in mm) and in the format: mean (range).

Characters	Taf population		Iranian populations (Azimi et al. 2016, Panahandeh et al. 2014)		Type population (Rahaman et al. 1994)	
	Females	Male	Females	Males	Females	Males
n	8	1	29	9	9	6
L	0.93 (0.77-1.09)	0.78	0.82-1.17	0.64-0.84	0.83-1.04	0.81-0.87
a	48.9 (45.6-52.0)	49.2	40.2-52.5	36.7-52.9	47.7-55.3	49.5-60.0
b	6.9 (5.9-7.9)	5.7	6.3-8.5	4.8-7.5	6.5-7.7	6.0-6.9
c	7.1 (6.1-8.2)	6.7	6.6-8.0	5.6-6.7	6.0-6.9	5.0-5.7
c'	11.1 (9.3-12.7)	8.4	7.7-10.4	8.0-12.2	10.2-12.0	10.0-12.5
V	48.1 (47.3-48.5)	-	44-50	-	46-48	-
Stylet	12.1 (11-13)	12	12-14.6	12.5-14.0	12.0-13.5	12.0-13.5
m	33.4 (30.8-41.7)	29.6	23-50	32.0-43.7	-	-
DGO	2.9 (2.0-3.5)	4	5.3-7.2	3.5-6.0	1.5-3.0	-
MB	55.9(55.6-56.2)	56	54.8-59.1	52-59	54-58	-
S-E pore	110.5 (110.4-112)	105	102-128	86.0-105.5	90-108	92-113
Pharynx	134.6 (126.1-145)	139	140-152	108-140	120-144	120-140
BW	19 (17.1-21)	16	18.8-26.4	13.0-19.5	-	-
ABW	12 (10-14)	14	-	11.0-16.3	-	-
Tail length	131 (121-140)	118	116-162	112-133	125-150	150-170
Tail/V-a	0.4 (0.3-0.4)	-	0.3-0.4	-	0.37-0.42	-
A-phas./ABW	2.3 (2.0-2.8)	-	-	-	2.0-2.5	-
Spicules	-	23	-	20.0-24.5	-	27-30
Gubernaculum	-	7	-	4.7-8.5	-	10.5-12.0

بحث: مشخصات ریخت‌شناسی و ریخت‌سنجی جمعیت ماده مورد بحث با جمعیت ماده تیپ مطابقت دارد. تفاوت‌هایی در طول آلت نرینه (۲۰/۵-۲۴/۵ در برابر ۲۷-۳۰ میکرومتر) و گوبرناکلوم (۴/۷-۸/۵ در برابر ۱۰/۵-۱۲/۰ میکرومتر) نرهای جمعیت‌های ایرانی با نرهای جمعیت تیپ مشاهده می‌شود (Rahaman et al. 1994, Geraert 2008). جمعیت مورد مطالعه با دو جمعیت ایرانی تطابق دارد (جدول ۱) (Azimi et al. 2016, Panahandeh et al. 2014).

در مطالعه مولکولی مقایسه دوتایی این توالی با دو توالی دیگر از این گونه در بانک ژن (KT213562 و KT213563) نشان داد که با تشابه ۹۹/۹۸٪ یک نوکلئوتید با آنها تفاوت دارد. در تبارنمای رسم شده ملاحظه می‌گردد که توالی مذکور و نه توالی *P. hilarulus*، دو توالی از *P. vinciguerrae* و دو توالی از *P. curcumerus* در یک کلاسد هستند (شکل ۳). مقایسه دوتایی توالی حاصل از مطالعه مولکولی فوق با این توالی‌ها صورت گرفته و تفاوت جزئی در بین آنها ملاحظه گردید (جدول ۲). احتمال دارد که پرایمر ناحیه ژنی D2-D3 28S rDNA نشانگر مناسبی برای تفکیک این گونه‌ها نباشد و یا اینکه سه گونه مذکور با یکدیگر مترادف باشند.

جدول ۲. اختلاف نوکلئوتیدی حاصل از مقایسه دوتایی توالی جمعیت ایرانی گونه *Psilenchus curcumerus* با توالی‌های نزدیک به آن در تبار نما.

Table 2. Nucleotide difference resulting from the pairwise comparison of Iranian population sequence of *Psilenchus curcumerus* with other sequences close to it in fig tree

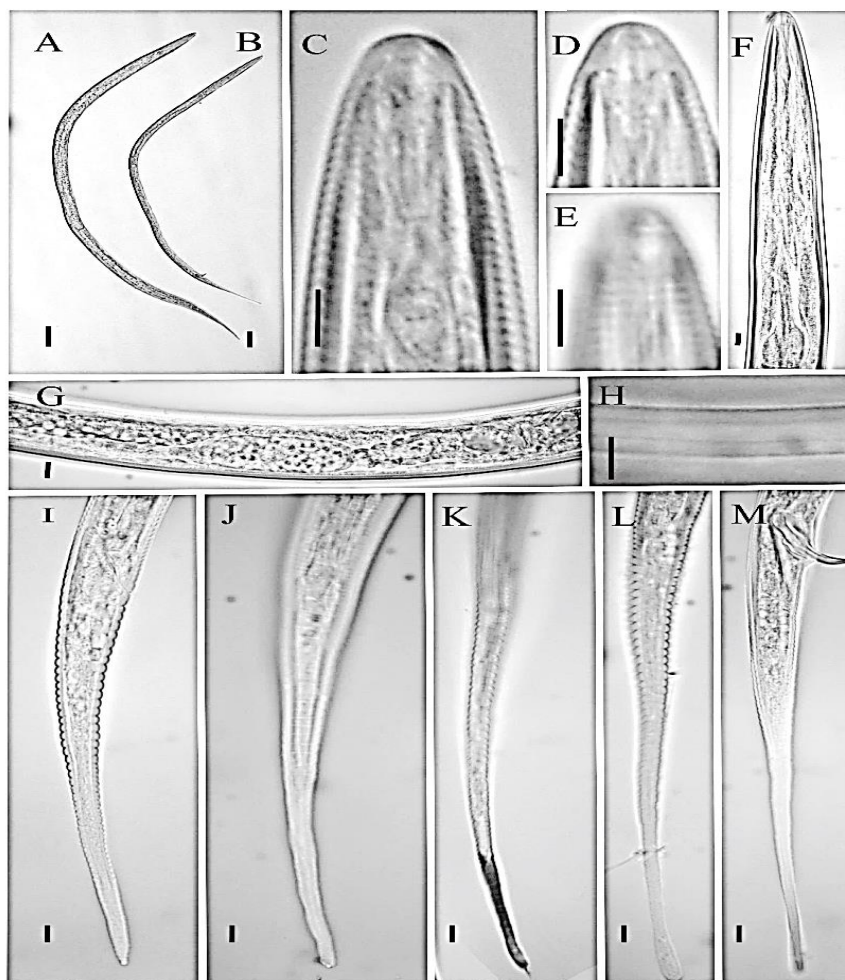
Species	Sequences	Nucleotide differences
<i>Psilenchus hilarus</i>	KX789721	0
<i>Psilenchus hilarulus</i>	MN741148	6
<i>Psilenchus hilarulus</i>	PP478808	0
<i>Psilenchus hilarulus</i>	PP478816	2
<i>Psilenchus hilarulus</i>	MW716283	1
<i>Psilenchus hilarulus</i>	MW716284	1
<i>Psilenchus hilarulus</i>	MW716285	1
<i>Psilenchus hilarulus</i>	PP478814	4
<i>Psilenchus hilarulus</i>	MK639384	2
<i>Psilenchus vinciguerrae</i>	KX789725	4
<i>Psilenchus vinciguerrae</i>	KX789726	2
<i>Psilenchus curcumerus</i>	KT213563	1
<i>Psilenchus curcumerus</i>	KT213562	1
<i>Psilenchus</i> sp.	DQ328716	8
<i>Psilenchus</i> sp.	KX789724	1

2. *Psilenchus vinciguerrae* Brzeski, 1991

ماده: نماتدهایی کوچک با بدن ظریف، پس از تثبیت به صورت C شکل قرار می‌گیرند. شیارهای عرضی کوتیکول نامشخص، دارای چهار شیار جانبی، دو شیار بیرونی واضح‌تر دیده می‌شوند. سر دوزنقه‌ای شکل به عرض ۶-۷ میکرومتر و طول ۳/۲-۴/۰ میکرومتر. شکاف آمفید V شکل و پشت ناحیه لبی قرار دارد. استایلت ظریف، فاقد تورم انتهایی و بخش مخروطی کوتاه است. منفذ دفعی-ترشعی عقب‌تر از ایسموس قرار دارد. دیرید هم سطح منفذ دفعی-ترشعی و فاقد کیسه پس مخرجی می‌باشد. لبه شکاف تناسلی فاقد بیرون زدگی، واژن نصف عرض بدن در آن قسمت، کیسه ذخیره اسپرم پر از اسپرم‌های گرد و در امتداد لوله جنسی قرار دارد. دم ظریف به اشکال مختلف دیده می‌شود.

نر: بدن شبیه افراد ماده ولی دارای بدن کوتاه‌تر است. سر باریک‌تر و بلندتر و حباب میانی مری حالت دوکی شکل است. آلت نرینه خمیده و داسی شکل، گوبرناکلوم به صورت یک صفحه قوس دار، پرده بورسا به طول ۳۸/۳ میکرومتر، ۲/۸ برابر عرض بدن در ناحیه منفذ دفعی تناسلی (شکل ۲، جدول ۳).

بحث: این گونه اولین بار توسط برزسکی (Brzeski 1991) از ایتالیا گزارش شد. در ایران ابتدا توسط عتیقی و همکاران (Atighi et al. 2010) از خراسان شمالی و مکرّم حصار و همکاران (Mokaram Hesar et al. 2010) از خراسان رضوی و سپس حسینوند و همکاران (Husseinvand et al. 2016) از خوزستان گزارش شده است ولی هیچکدام از این گزارش‌ها به صورت مشروح نمی‌باشند. در این بررسی این جمعیت از فراریشه درخت بلوط در منطقه تاف جداسازی شده است. مقایسه ویژگی‌های ریخت‌سنجی و ریخت‌شناختی این جمعیت با توصیف اصلی و توصیف ارائه شده توسط حسین و همکاران (Hussain et al. 2023) تفاوتی نشان نداد.



شکل ۲. تصاویر میکروسکوپ نوری جمعیت ایرانی *Psilenchus vinciguerrae* Brzeski, 1991، ماده (A, C-L) و نر (B&M). A & B: نمای کلی بدن، C: ابتدای بدن تا انتهای مری، D-F: ناحیه سفالیک (آمفید V شکل در F)، G: لوله جنسی عقبی، H: شیارهای جانبی، I-L: شکل‌های مختلف انتهای دم، M: نمایی از اسپیکول و گوبرناکولوم. (خطوط مقیاس: A & B = ۵۰ میکرومتر، C-M = ۵ میکرومتر).

Figure 2. Light micrographs of Iranian population of *Psilenchus vinciguerrae* Brzeski, 1991, female (A, C-L) and male (B&M). A & B: The whole body, C: Anterior end to pharynx end. D-F: Cephalic region (V shape amphid in F), G: Posterior genital branch, H: Lateral field, I-L: Variation of tail tips, N&O: Tail (spicule and gubernaculum). (Scale bars: A&B = 50, C-M = 5 μ m)

در مطالعه مولکولی دو توالی برای این جمعیت به دست آمد که یک توالی مربوط به افرادی با دم با انتهای گرد و غیر گریزی شکل و توالی دیگر مربوط به افراد ماده‌ای با دم گریزی شکل است. در مقایسه دوتایی این دو توالی با یکدیگر اختلاف نوکلئوتیدی ملاحظه نشد. این نتیجه تاییدی بر وجود تنوع شکل دم در این گونه است. تا کنون دو توالی KX789726 و KX789725 در بانک ژن برای این گونه وجود دارد. دو توالی حاصل از این مطالعه در مقایسه با توالی KX789726 فاقد تفاوت نوکلئوتیدی درحالیکه با توالی KX789725 با اختلاف دو نوکلئوتید دارای ۹۹/۶۷٪ شباهت هستند و در تبارنما در کنار یکدیگر و در یک کلاذ قرار دارند (شکل ۳). بنابراین ماهیت این گونه توسط مطالعه مولکولی به تایید می‌رسد.

جدول ۳. داده‌های ریخت‌سنجی جمعیت ایرانی گونه *Psilenchus vinciguerrae* Brzeski, 1991. اندازه‌ها بر حسب میکرومتر (به جز طول بدن بر حسب میلی‌متر) و تمام داده‌ها به شکل میانگین (مینیمم-ماکزیمم).

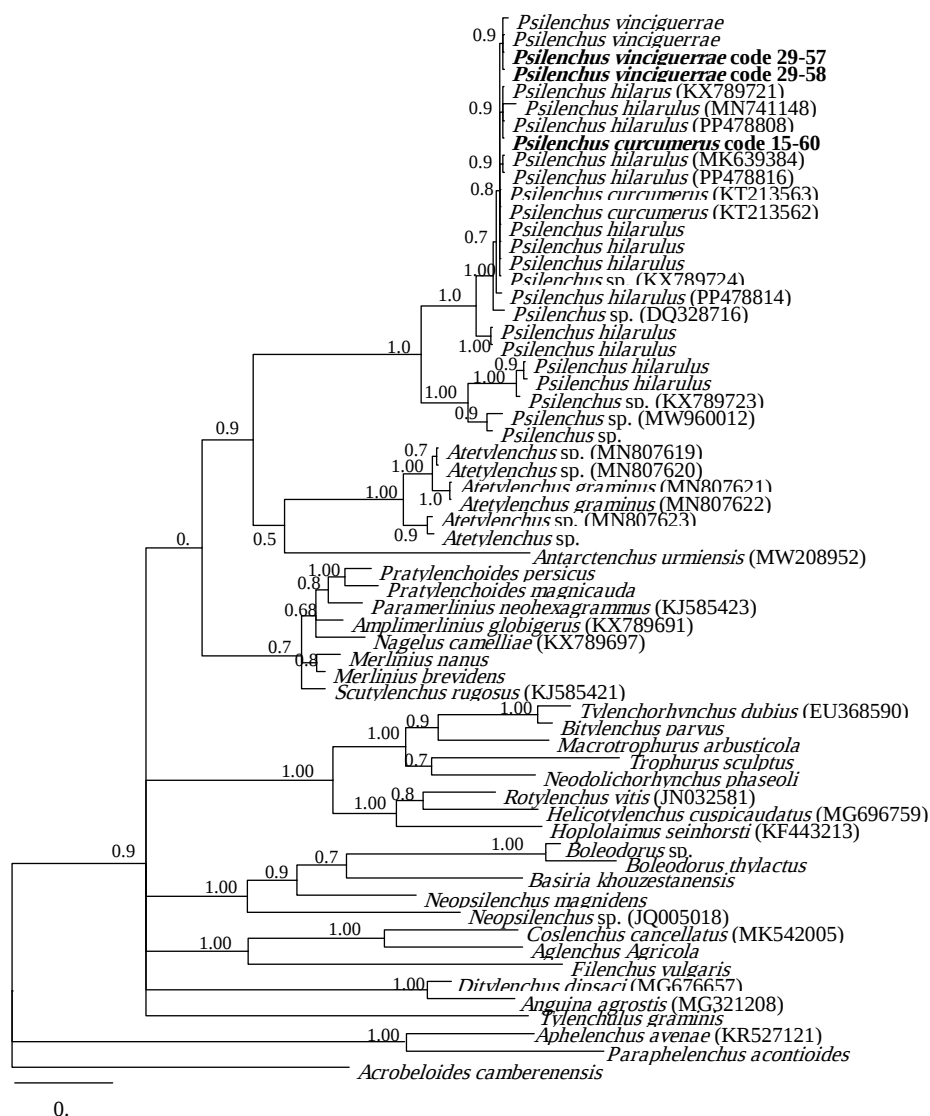
Table 3. Morphometrics of Iranian population of *Psilenchus vinciguerrae* Brzeski, 1991. All measurements in μm (except L in mm) and in the format: mean (range).

Character	Taf population		Brzeski 1991		Hussain et al. 2023	
	Female	Male	Female	Male	Female	Male
n	6	1	18	9	5	5
L	0.89 (0.77-1.01)	0.73	0.7-1.0	0.66-0.78	0.69-0.98	0.69-0.88
a	47.8 (38.8-51.9)	52.6	37-43	36-45	46-6-51.6	39.1-46.2
b	6.7 (5.5-7.4)	6.3	5.8-7.9	5.6-6.4	6.0-7.5	5.7-6.5
c	8.0 (6.6-9.2)	6.1	4.9-8.4	5.1-6.1	7.9-8.7	6.5-8.0
c'	9.1 (7.5-11.7)	8.4	7.0-14.1	7.7-11.1	7.4-10.6	7.8-10.8
V	50.4 (47.8-52.3)	-	45-53	-	-	-
Stylet	11.6 (10.0-13.2)	11	10-13	10-11	11-14	12-14
m	33.8 (29.2-36.9)	33.3	-	-	-	-
DGO	6.6 (4-9)	8	5-12	8-11	-	-
MB	54.9(51.4-57.0)	56.4	50-56	51-56	-	-
Excretory pore	104.9 (100.0-110.0)	105	95-111	93-103	86-104	79-109
Pharynx	133.7 (120.5.1-144.0)	133	117-134	109-124	116-148	-
Lip region-vulva	451.5 (399.0-501.0)	-	349-454	-	-	-
Body diam.	18.8 (17.3-20.0)	16	-	-	18-20	15-21
Anal body diam.	12.4 (11.0-14.0)	13	-	-	10-15	-
Tail length	112.4 (91.0-136.0)	120	90-204	111-154	122-188	-
Spicules	-	21	-	18-22	-	16-20
Gubernaculum	-	8	-	6-9	-	6-7

Conclusion

نتیجه‌گیری

نتایج مولکولی با نتایج ریخت‌شناختی و ریخت‌سنجی انطباق دارد و ماهیت گونه‌های مورد شناسایی را تایید می‌کند. از طرف دیگر وجود جمعیت‌های متعدد سه گونه *P. curcumerus*، *P. vinciguerrae* و *P. hilarulus* در یک کلاد و مقایسه دوتایی این توالی‌ها با یکدیگر نشان می‌دهد که از لحاظ مولکولی نمی‌توان تفاوتی در بین آنها قائل شد. ویژگی ریخت‌شناختی متمایز کننده گونه *P. vinciguerrae* از سایر گونه‌ها با توجه به کلید ارائه شده توسط گرات (Geraert 2008) تنوع شکل دم است در حالیکه با استناد به این مطالعه و مطالعات قبلی مولکولی و وضعیت توالی‌ها این فاکتور فاقد قدرت تفکیک‌کنندگی این گونه از گونه‌های *P. curcumerus* و *P. hilarulus* است. همچنین قرار گرفتن *P. curcumerus* با *P. hilarulus* در یک کلاد در حالیکه دارای اختلاف نوکلئوتیدی بسیار پایینی هستند نشان می‌دهد که داشتن و یا فقدان کیسه پس مخرجی که مهمترین فاکتور تفکیک‌کننده این دو گونه از یکدیگر است نیز نمی‌تواند از اعتبار بالایی در تفکیک این گونه‌ها از یکدیگر برخوردار باشد.



شکل ۳. درخت فیلوژنی بیس (Bayes) استنباط شده با استفاده از مدل تکاملی GTR + I + G از ناحیه D2-D3 ژن 28S در rDNA *Psilenchus vinciguerrae* و *P. curcumerus*. احتمال پسین بیش از ۵۰ درصد برای کلادها ارائه شده است. توالی اخیرا بدست آمده با فونت بولد نوشته شده است.

Figure 3. Bayesian tree inferred under the GTR + I + G model from 28S rDNA D2–D3 expansion domains of *Psilenchus vinciguerrae* and *P. curcumerus*. Probabilities

References

1. Archidona-Yuste A, Navas-Cortés JA, Cantalapiedra-Navarrete C, Palomares-Rius JE, 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.
2. Amiri Bonab M, Abolafia J, Pedram M (2021) An interesting rare tylenchid species, *Antarctenchus urmiensis* n. sp. (Tylenchomorpha; Psilenchidae) from Urmia Lake islands, northwest Iran, with a discussion on the taxonomy of related genera. Journal of Nematology 53:1-14.
3. Atighi MR, Okhovvat M, Pourjam E (2010) Some species of genus *Coslenchus* from northern Khorasan. Proceeding of 19th Iranian plant protection congress. Volume II, Plant Disease. Tehran, Iran.

منابع

4. Azimi S, Mahdikhani-Moghadam E, Rouhani H, Rajabi Memari H (2016) Morphological, morpho-metric and molecular characterization of *Merlinius microdorus* (Geraert, 1966) Siddiqi, 1970, *Scutylenchus rugosus* (Siddiqi, 1963) Siddiqi, 1979 (Merliniidae), and *Psilenchus curcumerus* Rahaman, Ahmad and Jairajpuri, 1994 (Psilenchidae) and approaches to phylogenetic relationships. Redia:Journal of Zoology/Giornale di Zoologia 99:9-18.
5. Brown DJF, Boag B (1988) An examination of methods used to extract virus vector nematodes (Nematoda: Longidoridae and Trichodoridae) from soil samples. Nematologia Mediterranea 16:93-99.
6. Brzeski MW (1989) Notes on the genus *Psilenchus* de Man, 1921, with description of *P. klingleri* sp. n. (Nematoda, Tylenchidae. Annales Zoologici 43:51-69.
7. Brzeski MW (1991) *Psilenchus vinciguerrae* sp. n. (Nematoda: Tylenchidae). Nematologica 37:1-7.
8. De Grisse AT (1969) Redescription ou modifications de quelques techniques utilisées dans l'étude des nématodes phytoparasitaires. Mededlingen Rijksfaculteit der Landbouwwetenschappen Gent 34:351-369.
9. Ehtesham NP, Azizi D, Atighi MR, Afshar FJ, Valizadeh A, Pedram M (2024) New data on predatory dorylaimids (Nematoda: Dorylaimida) from Iran. Russian Journal of Nematology 32(1): 7-14.
10. Erum YI, Sagir H, Nasira K, Shahina F(2020) Compendium of the Genus *Psilenchus* de Man, 1921 (Tylenchida: Psilenchidae). Pakistan Journal of Nematology 38(2): 124-129.
11. Geraert E (2008) The Tylenchidae of the world: Identification of the family Tylenchidae (Nematoda: Tylenchida). Academia Press Gent, Belgium 540 Pp.
12. Ghaderi R, Kashi L, Karegar A (2018) Plant-Parasitic Nematodes in Iran. Marja-e Elm and Iranian Society of Nematology Press.
13. Hussain S, Khan Sw, Abbas Q, Razaq A, Iqbal E, Kazi N (2023) Description of *Hemicycliophora pyri* n. sp., with observations on *Psilenchus vincigurrae* Brzeski, 1991 and *Ditylenchus equilis* Heyns, 1964 (Nematoda: Tylenchida) from Gilgit-Baltistan, Pakistan. Pakistan Journal of Zoology 1975-1979.
14. Husseinvand M, Abdollahi M, Karegar A (2016) Description of *Aglenchus Microstylus* n. sp. (Nematoda, Tylenchidae) from Iran with a modified key to the species of the genus. Nematropica 46:38-44.
15. Jumaah AM, Azimi S (2024) First morphological and molecular characterization of *Psilenchus hilarulus* de Man, 1921 (Nematoda: Psilenchidae) from Iraq. Plant Protection (Scientific Journal of Agriculture). 46(4): 57-69.
16. Mokaram Hesar A, Mahdikhani Moghadam E, José Pereira T, Mundo Ocampo M, Baldwin J (2010) Populations of *Psilenchus* spp. (Nematoda) from Iran and the description of a new species of the genus. Proceeding of 19th Iranian plant protection congress. Volume II, Plant Disease. Tehran, Iran. (In persian)
17. Naghavi A, Niknam G, Vazifeh N, Mirzaeipour Z (2023) 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.
18. Naghavi A, Niknam G, Vazifeh N, Mirzaeipour Z (2024) New report of three species of Dorylaimellinae Jarajpuri, 1964 (Nematoda, Belondiroidea) from Iran. Plant Protection (Scientific Journal of Agriculture). 47(1): 33-43.
19. Nunn GB (1992) Nematode molecular evolution. (Ph.D. Thesis, University of Nottingham, Nottingham, UK).

20. Nylander JAA (2004) MrModeltest v2. Program distributed by the author. Uppsala University, Sweden, Evolutionary Biology Centre. <http://people.scs.fsu.edu/nylander/mrmodeltest2/mrmodeltest2.html>.
21. Panahandeh, Y, Pourjam E, Pedram M (2014) Four new tylenchids (Tylenchina: Nematoda) for nematode fauna of Iran. *Journal of Agricultural Science and Technology* 16:461-477
22. Rahaman PF, Ahmad I, Jairajpuri MS (1994) One new and two known species of the family Tylenchidae. *Indian Journal of Nematology* 24:62-68.
23. Ronquist F, Huelsenbeck JP (2003) MRBAYES: Bayesian inference of phylogenetic trees under mixed models. *Bioinformatics* 19:1572-1574.
24. Siddiqi MR (2000) Tylenchida: parasites of plants and insects. CABI Publishing, Wallingford, UK 833 Pp.
25. 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.