دانش بیماری‌شناسی گیاهی
سال ششم، جلد ۱، پاییز و زمستان ۱۳۹۵
Plant Pathology Science
Vol. 6(1), 2017

Review of New Approaches in Nematodes Taxonomy

MOHAMMAD ABDOLLAHI✉ & EHSAN FATEMI
Professor and MSc. Student of Nematology, Department of Plant Protection,
Yasouj University, Yasouj, Iran (✉Corresponding author: abdollahi@yu.ac.ir)

Received: 05.07.2016 Accepted: 04.01.2017

Abdollahi M. & Fatemi E. 2017. Review of new approaches in nematodes taxonomy. *Plant Pathology Science* 6(1): 1-11.

Abstract: Use of advanced methods in nematode taxonomy and biodiversity is growing rapidly. Because the morphological and morphometric characterstics of nematodes are not enough for accurate nematode identification, the modern techniques were estsblished to terminate the taxonomic challenging. According to the progress achieved, some new approaches such as molecular studies have enhanced the nematode diagnosis. Numbers of molecular techniques like RAPD, RFLP, AFLP, ISSR and SCAR have been established to give confirmation to traditional detection, especially for identification of undescribed species. In this review, every one of each new technique is discussed.

Key words: Biodiversity, Morphologic, Molecular taxonomy

مروری بر رویکردهای نوین در آرایه‌بندی نماتدها

محمد عبداللهی ✉ و احسان فاطمی
استاد و دانشجوی کارشناسی ارشد نماتدشناسی، گروه گیاه‌پزشکی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه یاسوج

دریافت: ۱۳۹۵/۰۴/۱۵ پذیرش: ۱۳۹۵/۱۰/۱۵

عبدالهی م. فاطمی ا. ۱۳۹۵. مروری بر رویکردهای نوین در آرایه‌بندی نماتدها. *دانش بیماری‌شناسی گیاهی* ۶(۱): ۱۱-۱.

چکیده: کاربرد روش‌های پیشرفته در آرایه‌بندی و تنوع زیستی نماتدها به‌سرعت گسترش یافته‌اند. با توجه به اینکه مشخصات ریخت‌شناسی و ریخت‌سنجی نماتدها برای تشخیص دقیق آن‌ها کافی نیست، روش‌های جدیدی برای خاتمه دادن به موارد بحث‌برانگیز ایجاد شده‌اند. با پیشرفت‌هایی که اخیراً حاصل‌شده، رویکردهای جدیدی چون روش‌های مولکولی تشخیص نماتدها را تسریع کرده‌اند. روش‌های مولکولی مختلف مثل RAPD، RFLP، AFLP، ISSR و SCAR به‌منظور تأیید تشخیص‌های سنتی، به‌ویژه برای گونه‌های توصیف نشده، ایجاد شده‌اند. در این مقاله مروری، هر یک از این روش‌ها بحث شده‌اند.

واژه‌های کلیدی: تنوع زیستی، ریخت‌سنجی، آرایه‌بندی مولکولی

✉مسئول مکاتبه: abdollahi@yu.ac.ir

[Downloaded from yujs.yu.ac.ir on 2026-06-13]
[DOR: 20.1001.1.22519270.1395.6.1.6.9]

مقدمه

نماتدها جاندارانی پرسلولی متنوعی هستند که تعداد کل گونه‌های آن‌ها بالغ بر یک میلیون تخمین زده می‌شود (Lambshead 2004). مک‌کارتر (McCarter 2009)، خسارت واردشده به محصولات کشاورزی توسط نماتدها در سال ۲۰۰۱ را حدود ۱۱۸ میلیارد دلار تخمین زده است که حدود نیمی از این مبلغ مربوط به خسارت وارده دو محصول برنج و ذرت بوده است. با این وجود، مطالعات زیادی روی نماتدها صورت نگرفته است. تعداد ۲۶۰۰ گونه از نماتدها (کمتر از ۳٪ کل گونه‌های تخمین زده) توصیف شده‌اند (Hugot *et al.* 2001, Hallan 2007). در این مقاله روش‌های جدیدی که برای تشخیص و شناسایی نماتدها به کار گرفته می‌شود، مرور می‌گردد.

۱-اهمیت آرایه‌بندی

شناسایی نقش اساسی و زیربنایی در فهم نقش زیست‌بوم‌شناسی هر موجود زنده دارد (Kotliar 2000). هیوگات (Hugot 2002)، بر نیاز به روش‌های شناسایی دقیق و صحیح تأکید کرده و اعلام کرده که نیاز کنونی آرایه‌بندی نماتدها، پر کردن فاصله‌ی بسیار زیاد بین تعداد گونه‌های تخمینی نماتدها و تعداد گونه‌های نماتدهای شناسایی شده است. به دلیل اهمیت اقتصادی نماتدهای انگل گیاهی در کشاورزی و اهمیت نماتدهای انگل جانوری در بهداشت، شناسایی نماتدها در این دو مورد پیشرفت قابل توجهی داشته‌اند و به همین دلیل گونه‌های نماتدی مؤثر در کشاورزی و بهداشت بیشتر از گونه‌های آزادزی در سطح گونه و زیرگونه آرایه‌بندی شده‌اند (Abebe *et al.* 2011). بر اساس آرایه‌بندی قدیمی و مصنوعی، گونه‌های انگل جانوری از بقیه‌ی گروه‌های نماتدها جدا شده‌اند، بنابراین برای رعایت اختصار در این مقاله فقط گونه‌های آزادزی و گونه‌های انگل گیاهی در نظر گرفته شده است.

۲-روش‌های جدید مطالعه تنوع زیستی نماتدها

دانش نماتدشناسی در حال تغییر رویکرد از آرایه‌بندی ریخت‌شناسی به سمت استفاده از تلفیق ریخت‌شناسی و روش‌های مولکولی است (Powers *et al.* 1997, Powers 2004) . تنوع زیستی مبتنی بر ریخت‌شناسی همیشه متناظر با تنوع زیستی مبتنی بر ژنتیک و بالعکس نیست. درک اهمیت این مشکل باعث

[Downloaded from yujs.yu.ac.ir on 2026-06-13]
[DOR: 20.1001.1.22519270.1395.6.1.6.9]

شد که محققین استفاده از فنآوری‌های موجود برای مستندسازی و تبادل یافته ها ریخت‌شناسی، به طریقی کامل و سریع را مدنظر قرار دهند (De Ley & Bert 2002). عکس‌برداری چند کانونی دیجیتال (DMI) به کمک تبادل یافته ها ریخت‌شناسی آمده است (Eyualem *et al*. 2004). در هم آمیختن فنآوری ثبت یافته‌ها و اینترنت، دسترسی خوبی به یافته‌های ریخت‌شناسی برای همه در جهان ایجاد کرده است (Eyualem *et al*. 2006). استفاده از تصویربرداری ویدیویی باعث شده که مدارک و شواهد به فرم مجموعه هایی به موزه‌ها فرستاده و باعث تقویت ذخایر یافته های شوند (De Ley & Bert 2002). تصویربرداری از نمونه‌های شاهد برای ارتباط دادن آرایه بندی نماتدهای شناخته شده با گونه هایی که در آینده کشف خواهند شد، ضرورت دارد. تلاش‌های مستمر برای گردآوری این تصاویر در کلیدهای برخط و قابل‌دسترس باعث فراهم شدن زمینه‌های جدید در دانش آرایه‌بندی نماتدها و تبادل یافته‌ها ریخت‌شناسی خواهد شد (Eyualem *et al*. 2004).

۳-روش‌های مولکولی شناسایی نماتدها

روش شناسایی با استفاده از ریخت‌شناسی سال‌ها بود که به گستردگی برای شناسایی نماتدها بکار می‌رفت. با افزایش دانش در زمینه‌ی نماتدهای مهم در کشاورزی، مشخص شد که ریخت‌شناسی به‌تنهایی قادر به ارایه‌ی تصویر کاملی از تفاوت‌های بیماریزایی مشاهده شده بین جمعیت‌هایی که از نظر مشخصه‌های ریخت‌شناسی در یک گونه قرار داده شده‌اند، نمی‌باشد. درنتیجه، محققین در پی یافتن روش‌هایی بودند که بهتر بتواند رفتارهای بیماریزایی بین جمعیت‌های درون گونه‌ای نماتدها را پیش‌بینی کند. به این منظور، روش‌های مولکولی ابداع شده‌اند که قادرند نماتدها را از نظر کمی و کیفی در سطح گونه و پایین‌تر از گونه شناسایی کنند. روش‌هایی مانند تحلیل الگویی آیزوزایم‌ها، تحلیل چندشکلی در طول قطعات محدود (RFLP)، تکثیر تصادفی ماده وراثتی با استفاده از آغازگرهای تصادفی (RAPD)، واکنش زنجیره‌ای پلیمراز (PCR)، Real-time PCR (qPCR) و ناحیه‌های rDNA همگی با موفقیت برای شناسایی کیفی و کمی چندین نماتد مهم آفت کشاورزی به کار رفته‌اند. این روش‌ها هر یک مزایا و محدودیت‌هایی داشته‌اند (جدول ۱). از بین این روش‌ها، توالی‌های DNA ژن، واسرشت‌سازی شیبی ژل الکتروفورز (DGGE) و روش جدیدتر Pyrosequencing (تعیین توالی DNA بر اساس توالی‌های سنتزی)، سه روشی هستند که برای

[Downloaded from yujs.yu.ac.ir on 2026-06-13]
[DOR: 20.1001.1.22519270.1395.6.1.6.9]

جدول ۱- محدودیت‌ها و کاربردهای روش‌های مولکولی در شناسایی نماتدها

روش	موارد کاربرد	محدودیت	مثال از کاربرد
Allozymes	- اولین روش بیوشیمیایی در طبقه‌بندی نماتدها - داده‌های قابل‌مقایسه بین ایزوله‌های جغرافیایی فراهم می‌کند.	- اساس ژنتیکی تأیید نشده - نمی‌توان از آن برای مطالعه بر روی یک نماتد استفاده کرد - مختص مرحله‌ی خاصی از زندگی نماتد - فاقد اطلاعات برای مشخصه‌های خاصی از نماتد - نیاز به پروتئین‌های غیرواسرشت شده	- جنس‌های نماتدی مشخص‌شده با استفاده از این روش شامل: *Pratylenchus Heterodera Meloidogyne* Esbenshade &) *Aphelenchus* و *Ditylenchus* (Triantaphyllou 1990, Navas *et al.* 2001).
چندشکلی در طول قطعات محدود (RFLP)	- مناسب برای افتراق گونه‌های مرتبط و نزدیک بر اساس حضور/ عدم حضور گروهی از قطعات محدودکننده	- همسانی بین مشخصه‌ها وجود ندارد - نیاز به مقدار زیادی از محصولات PCR برای استفاده از آنزیم‌های مختلف محدودکننده	- تشخیص گونه‌ها و یا جمعیت‌های یک گونه (Curran *et al.* 1985, 1986, Powers *et al.* 1986, Castagnone-Sereno *et al.* 1991, 1993, Garate *et al.* 1991, Cenis *et al.* 1992, Piotte *et al.* 1992, Xue *et al.* 1992, Fargette *et al.* 1996).
چندشکلی در طول قطعات تقویت‌شده (AFLP)	- مناسب برای ارزیابی تنوع درون‌گونه‌ای	- مراحل طولانی	- تشخیص گونه‌ها در گروه *Heterodera avenae* group (Subbotin *et al.* 1999). بررسی مولکولی گونه‌های *Pratylenchus* (Waeyenberge *et al.* 2000) و مطالعه‌ی تنوع درون‌گونه‌ای در *Radopholus similes* (Elbadri *et al.* 2002).
تکثیر تصادفی ماده وراثتی با استفاده از آغازگرهای تصادفی (RAPD)	- این روش برخلاف روش AFLP به مرحله‌ی محدودسازی نیازی ندارد. - ساده و سریع	- نامناسب برای تمام موجودات زنده و فاقد تکراریذیری - حساس به تغییرات در غلظت پرایمر و DNA	- تشخیص *G. pallida* ،*Globodera rostochiensis* *M. Meloidogyne incognita* Fullaondo *et al.* 1999,) *M. arenaria* و *Javanica* (Zijlstra *et al.* 2000).
Real-time PCR	- تشخیص کیفی و کمی گونه‌ها - سریع و دقیق	- نیازمند پرایمر گونه‌های خاص - تشخیص گونه‌های متعدد نیاز به بهینه‌سازی زمانبری دارد	- تشخیص نماتد سیستی سیب‌زمینی (*G. pallida*) و نماتد سیستی چغندرقند (*Heterodera schachtii*) مقداری از *Meloidogyne* spp. از گوجه‌فرنگی، *Pratylenchus negiectus* و *Pratylenchus thornei* Madani *et al.*) تشخیص *Bursaphelenchus xylophilus* (2005, Stirling *et al.* 2004, Hollaway *et al.* 2004).
Multiplex PCR	- تشخیص بیش از یک گونه در یک زمان - مقرون به‌صرفه - سریع	- شامل بهینه‌سازی غلظت منرف، تنوع در پرایمر در دماهای مختلف annealing، تعاملات پرایمر و تکثیر محصولات غیراختصاصی - نیازمند پرایمر گونه‌های خاص	- شناسایی *Globodera pallida* و *G. rostochiensis* (Fullaondo *et al.* 1999)، *Pratylenchus penetrans* و *P. Meloidogyne* (Setterquist *et al.* 1996) *scribneri* *P.* (Petersen *et al.* 1997) *M. fallax* و *chitwoodi* (Uehara *et al.* 1998) *P. loosi* و *coffeae*).
(تعیین توالی DNA) **DNA sequencing**	- ترجیح داده می‌شود نسبت به روش‌های ذکرشده در بالا که در این روش عواملی الگوها را تحت تأثیر قرار می‌دهد (به‌عنوان مثال، تنوع در پرایمر و غلظت DNA، کیفیت DNA الگو، ژل الکتروفورز و نوع DNA پلیمراز می‌تواند کنترل شود) و نیز مرحله‌ی توالی‌یابی می‌تواند بهینه شود. - سریع و دقیق	- پیدا کردن یک ژن ایده‌آل برای تمام گروه‌های نماتدی، که هم در زمینه‌ی شناسایی تاکسونومی و هم در زمینه‌ی استنباط فیلوژنتیک کار کند، دشوار می‌باشد. - انتخاب نشانگر مولکولی هنوز یک مسئله‌ی حل نشده است.	به‌طور گسترده‌ای در سال‌های اخیر استفاده می‌شود؛ در گروه‌های مختلف از جمله خانواده‌ی Hoplolaimidae (Subbotin *et al.* 2007)، راسته‌ی Tylenchida (Subbotin *et al.* 2006)، زیر راسته‌ی Criconematina (Subbotin *et al.* 2006)، زیر راسته‌ی Cephalobina (Nadler *et al.* 2006)، (Al-Banna *et al.* 1997) *Pratylenchus*، (2003) *Steinernema*، (De Ley *et al.* 1999) *Acrobeloides*، (Stock *et al.* 2001) *Meloidogyne*، (Castillo *et al.* 2003)، *Longidorus* (Mekete *et al.* 2009).
واسرشت‌سازی شیبی ژل الکتروفورز (DGGE)	- روش آسان و ساده برای تجزیه و تحلیل جمعیت‌های نماتد - مورداستفاده برای افتراق گونه‌های متعدد	- استخراج DNA برای روش DGGE مشکل است.	- تجزیه و تحلیل جمعیت‌ها در اکوسیستم‌های مختلف (Foucher *et al.* 2004, Griffiths *et al.* 2006, Shi-Bin *et al.* 2008, Waite *et al.* 2003, Foucher *et al.* 2004).

[Downloaded from yujs.yu.ac.ir on 2026-06-13]
[DOR: 20.1001.1.22519270.1395.6.1.6.9]

مطالعه‌های تنوع زیستی نماتدهای آزادزی به کار رفته‌اند. در مورد محدودیت‌های استفاده از توالی‌های DNA برای تشخیص گونه‌ها گزارش کاملی ارائه شده است(Lee 2004). البته به نظر می‌آید که در این گزارش تفاوت بین دو رویکرد متفاوت در استفاده از توالی‌های DNA برای ثبت تنوع زیستی نماتدها به خوبی شرح داده نشده است . اولین رویکرد، تلاش می‌کند ژن‌هایی را بیابد که امید می‌رود بتوان از آن‌ها، برای پیش‌بینی تشخیص یا وجود گونه‌ها استفاده بشود (Hebert *et al.* 2003, Fre´zal & Leblois 2008). اما رویکرد دوم تلاش می‌کند که داده‌های به دست آمده به روش مولکولی را در راستای آرایه‌بندی سنتی گونه به کار ببرد. رویکرد دوم در تلاش است که تنوع زیستی را در سطح مولکولی و به روش عملیاتی ثبت کند و به‌وضوح بیان می‌کند که عناصر ثبت‌شده از تنوع زیستی لزوماً نباید انعکاس‌دهنده‌ی آن چیزی که به‌طور معمول به‌عنوان گونه در نظر می‌گیریم، باشد. تلاش برای مطابقت دادن توالی‌های DNA با تعریف کنونی گونه‌ها، از این مزیت برخوردار است که از نظر زیست‌شناسی معنی‌دار است و بنابراین اثر آن این است که نه‌تنها به ثبت تنوع زیستی می‌پردازد، بلکه عملی‌تر است و مشکلات ناشی از روش‌های سنتی را هم ندارد. این واقعیت که تبادل ژنتیکی در بین افراد کماکان نیروی محرکه‌ی نگهداری گونه‌ها به شکل جمعیت‌های مجزا می‌باشد، اعتبار بیشتری به روش‌های مولکولی می‌بخشد(Blaxter 2003 & 2004, Blaxter & Floyd 2003, Floyd *et al.* 2002). پژوهشی نشان داده که یک ژن به‌تنهایی می‌تواند مرزهای یک گونه را در بعضی نماتدها تعیین کند (Eyualem & Blaxter 2003)، اما برای بسیاری از جانوران تعداد بیشتری ژن برای تعیین و تشخیص محدوده‌ی آرایه‌ها نیاز است (Fre´zal & Leblois 2008).

۴-اهمیت مطالعه‌های ریخت‌شناسی

برخی مطالعه‌های تنوع زیستی با این هدف است، که کلاً یافته‌های ریخت‌شناسی را کنار بگذارند وتنها از روش‌های مولکولی برای تعیین حدود و شناسایی آرایه‌های جانداران استفاده کنند (Edgcomb *et al.* 2002, Floyd *et al.* 2002, López-Garcia *et al.* 2003). البته سطح فعلی یافته‌های جمع‌آوری‌شده از توالی‌های DNA نماتدها برای مشخص کردن حدود یک گونه کافی نیستند، اما قابلیت منحصربه فرد تکرارپذیری آن‌ها کمک می‌کند که از تکرار توصیف‌های یک گونه جلوگیری شود (Tautz *et al.* 2002). به‌رغم مزیت‌های آشکار روش مولکولی حرکت‌های عجولانه برای کنارگزاردن کلی یافته‌های ریخت‌شناسی، غیرمعتبر

[Downloaded from yujs.yu.ac.ir on 2026-06-13]
[DOR: 20.1001.1.22519270.1395.6.1.6.9]

می‌باشند. یافته‌های جمع‌آوری‌شده از روش‌های مولکولی بهترین ابزارهای کمکی برای تعیین حدود و شناسایی آرایه‌های نماتدها هستند (Mallet & Willmott 2003).

نتیجه‌گیری و پیشنهاد

پیشرفت‌های اخیر علم نماتدشناسی در آینده به نحو گریزناپذیر و فزاینده‌ای بر اساس روش‌های مولکولی است. دقیق و سریع بودن روش‌های مولکولی به نفع نماتدشناسی است. همان‌گونه که استفاده از این روش‌ها، باعث تشویق به ورود این گروه متنوع از حیوانات به جرگه‌ی مطالعات تنوع زیستی و زیست‌محیطی خواهد شد. این یک قدم بزرگ در راستای دست‌یابی به درک بهتر از زیست‌شناسی و زیست بوم‌شناسی نماتدها خواهد بود. بنابراین، روش‌های مولکولی به ما کمک خواهند کرد که به اهدافمان یعنی ثبت و درک بهتر تنوع زیستی نماتدها، دست پیدا کنیم. به هر تقدیر، به‌رغم برخی دشواری‌ها در زمینه‌ی استفاده از ریخت‌شناسی در آرایه‌بندی برخی از نماتدها، در حال حاضر، حجم عظیمی از یافته‌ها در زمینه‌ی ریخت‌شناسی نماتدها در اختیار است، در نتیجه برقراری پیوند بین داده‌های ریخت‌شناسی و یافته‌های مولکولی پیشنهاد می‌شود.

منابع References

1. Abebe E., Mekete T. & Thomas W. K. 2011. A critique of current methods in nematode taxonomy. *African Journal of Biotechnology* 10:312-323.
2. Adams B. 1998. Species concepts and the evolutionary paradigm in modern nematology. *Journal of Nematology* 30:1-21.
3. Adams B. 2002. The species delimitation uncertainty principle. *Journal of Nematology* 33:153-160.
4. Al-Banna L., Williamson V. & Gardner S. L. 1997. Phylogenetic analysis of nematodes of the genus *Pratylenchus* using nuclear 26S rDNA. *Molecular Phylogenet* 7:94-102.
5. Blaxter M. 2003. Molecular systematics: counting angels with DNA. *Nature* 421:122-124.
6. Blaxter M. 2004. The promise of DNA taxonomy. *Philosophical Transactions of the Royal Society B* 359:669-679.
7. Blaxter M. & Floyd R. 2003. Molecular taxonomics for biodiversity surveys: already a reality. *Trends in Ecology* 18:268-269.

[Downloaded from yujs.yu.ac.ir on 2026-06-13]
[DOR: 20.1001.1.22519270.1395.6.1.6.9]

8. Castagnone-Sereno P., Piotte C., Abad P., Bongiovanni M. & Dalmasso A. 1991. Isolation of a repeated DNA probe showing polymorphism among *Meloidogyne incognita* populations. *Journal of Nematology* 23:316-320.
9. Castagnone-Sereno P., Piotte C., Uijthof J., Abad P., Wajnberg E., Vanlerberghe-Masutti F., Bongiovanni M. & Dalmasso A. 1993. Phylogenetic relationships between amphimictic and parthenogenetic nematodes of the genus *Meloidogyne* as inferred from repetitive DNA analysis. *Heredity* 70:195-204.
10. Castillo P., Vovlas N., Subbotin S. & Troccoli A. 2003. A new root-knot nematode: *Meloidogyne baetica* n. sp. (*Nematoda: Heteroderidae*) parasitizing wild olive in Southern Spain. *Phytopathology* 93:1093-1102.
11. Cenis, J., Opperman, C. & Triantaphyllou, A. 1992. Cytogenetic, enzymatic and restriction fragment length polymorphism variation of *Meloidogyne* spp. from Spain. *Phytopathology* 82:527-531.
12. Cook A., Bhadury P., Debenham N., Meldal B., Blaxter M., Smerdon G., Austen M., Lambshead P. & Rogers A. 2005. Denaturing gradient gel electrophoresis (DGGE) as a tool for identification of marine nematodes. *Marine Ecology Progress Series* 291:103-113.
13. Curran J., Baillie D. & Webster J. 1985. Use of genomic DNA restriction fragment length differences to identify nematode species. *Parasitology* 90:137-144.
14. Curran J., McClure M. & Webster J. 1986. Genotypic differentiation of *Meloidogyne* populations by detection of restriction fragment length difference in total DNA. *Journal of Nematology* 18:83-86.
15. De Ley P. & Bert W. 2002. Video capture and editing as a tool for the storage, distribution, and illustration of morphological characters of nematodes. *Journal of Nematology* 34:296-302.
16. Edgcomb V., Kysela D., Teske A., De Vera G. & Sogin M. 2002. Benthic eukaryotic diversity in the Guaymas Basin hydrothermal vent environment. *Proceedings of the National Academy of Sciences USA* 99:7658-7662.
17. Elbadri G., De Ley P., Waeyenberge L., Verstraete A., Moens M. & Vanfleteren J. 2002. Intraspecific variation in *Radopholus similis* isolates assessed with restriction fragment length polymorphism and DNA sequencing of the internal transcribed spacer region of the ribosomal RNA cistron. *Parasitology* 32:199-205.
18. Esbenshade P. & Triantaphyllou A. 1990. Isozyme phenotypes for the identification of *Meloidogyne* species. *Journal of Nematology* 22:10-15.

[Downloaded from yujs.yu.ac.ir on 2026-06-13]
[DOR: 20.1001.1.22519270.1395.6.1.6.9]

19. Eyualem A. & Blaxter M. 2003. Comparison of biological, molecular and morphological methods of species identification in a set of cultured *Panagrolaimus* isolates. *Journal of Nematology* 35:119-128.
20. Eyualem A., Baldwin J., Adams B., Hope D., Gardner S., Huettel R., Mullin P., Powers T., Sharma J., Ye W. & Thomas W. 2006. A position paper on the electronic publication of nematode taxonomic manuscripts. *Journal of Nematology* 38:305-311.
21. Eyualem A., Grizzle R., Hope D. & Thomas W. 2004. Nematode diversity in the Gulf of Maine, USA, and a web-accessible relational database. *Journal of the Marine Biological Association of the UK* 84:1159-1167.
22. Fargette M., Phillips M., Blok V., Waugh R. & Trudgill D. 1996. An RFLP study of relationships between species, populations, and resistancebreaking lines of tropical species of *Meloidogyne*. *Fundamental and Applied Nematology* 19:193-200.
23. Ferguson J. 2002. On the use of genetic divergence for identifying species. *Biological Journal of the Linnean Society* 75:509-516.
24. Floyd R., Eyualem A., Papert A. & Blaxter M. 2002. Molecular barcodes for soil nematode identification. *Molecular Ecology* 11:839-850.
25. Foucher A., Bongers T., Noble L. & Wilson M. 2004. Assessment of nematode biodiversity using DGGE of 18S rDNA following extraction of nematodes from soil. *Soil Biology and Biochemistry* 36:2027-2032.
26. Fre´zal L. & Leblois L. 2008. Four years of DNA barcoding: Current advances and prospects. *Infection, Genetics and Evolution* 8:727-736
27. Fullaondo A., Barrena E., Viribay M., Barrena I., Salazar A. & Ritter E. 1999. Identification of potato cyst nematode species *Globodera rostochiensis* and *G. pallida* by PCR using species specific primer combinations. *Nematology* 1:157-163.
28. Garate T., Robinson M., Chacon M. & Park-House R. 1991. Characterization of species and races of the genus *Meloidogyne* by restriction enzyme analysis. *Journal of Nematology* 23:414-420.
29. Griffiths B., Donn S., Neilson R. & Dniell T. 2006. Molecular sequencing and morphological analysis of a nematode community. *Applied Soil Ecology* 32:325-337.
30. Hallan J. 2007. Synopsis of the Described Nematoda of the World. *Texas A & M Univ., College Station, TX. Online, http://insects. tamu. edu/research/collection/hallan/ Nematoda/Family/0Nematodalndex0. htm.[Accessed on 5-X-2013]*.
31. Hebert P., Ratnasingham S. & DeWard J. 2003. Barcoding animal life: cytochrome *c* oxidase subunit 1 divergences among closely related species. *Proceedings of the Royal Society of London.* 270: S96-S99.

[Downloaded from yujs.yu.ac.ir on 2026-06-13]
[DOR: 20.1001.1.22519270.1395.6.1.6.9]

32. Hollaway G., Ophel-Keller K., Taylor S., Burns R. & McKay A. 2004. Effect of soil water content, sampling method and sample storage on the quantification of root lesion nematode (*Pratylenchus* spp.) by different methods. *Australasian Plant Pathology* 32:73-79.

33. Hugot J. 2002. Proposal for a network devoted to the study of nematology and helmithology. *Nematology* 4:563-565.

34. Hugot J., Baujard P. & Morand S. 2001. Biodiversity in helminths and nematodes as a field study: an overview. *Nematology* 3:199-208.

35. Kotliar N. 2000. Application of the new keystone-species concept to prairie dogs: how well does it work? *Conservation Biology* 14:1715-1721.

36. Lambshead P. J. D. 2004. Marine nematode biodiversity. pp.436-467. *In*: Z.X. Chen S.Y. Chen & D.W. Dickson (ed.). Nematology, Advances and Perspectives ACSE-TUP Book Series.

37. Lee M. 2004. The molecularisation of taxonomy. *Invertebrate Systematics* 18:1- 6.

38. López-Garcia P., Philippe H., Gail F. & Moreira D. 2003. Autochthonous eukaryotic diversity in hydrothermal sediment and experimental microcolonizers at the Mid-Atlantic Ridge. *Proceedings of the National Academy of Sciences* 100:697-702.

39. Madani M., Subbotin S. & Moens M. 2005. Quantitative detection of the potato cyst nematode, *Globodera pallida*, and the beet cyst nematode, *Heterodera schachtii*, using Real-Time PCR with SYBR green I dye. *Molecular and Cellular Probes* 19:81-86.

40. Mallet J. & Willmott K. 2003. Taxonomy: renaissance or Tower of Babel. *Trends in Ecology and Evolution* 18:57-59.

41. McCarter J. 2009. Molecular Approaches Toward Resistance to Plant-Parasitic Nematodes. pp. 239-267. *In*: Cell Biology of Plant Nematode Parasitism. Springer Berlin Heidelberg.

42. Mekete T., Grey M. & Niblack T. 2009. Distribution, morphological description, and molecular characterization of *Xiphinema and Longidorous* spp. associated with plants (*Miscanthus* spp. And *Panicum virgatum*) used for biofuels. *GCB Bioenergy* 1:257-266.

43. Nadler S., De Ley P., Mundo-Ocampo M., Smythe A., Stock S., Bumbarger D., Adams B., De Ley I., Holovachov O. & Baldwin J. 2006. Phylogeny of Cephalobina (Nematoda): Molecular evidence for recurrent evolution of problem and incongruence with traditional classifications. *Molecular Phylogenetics and Evolution* 40:696-711.

44. Navas A., Castagnone-Sereno P., Blazquez J. & Esperrago G. 2001. Genetic structure and diversity within local populations of *Meloidogyne* (Nematoda: *Meloidogynidae*). *Nematology* 3:243-253.

[Downloaded from yujs.yu.ac.ir on 2026-06-13]
[DOR: 20.1001.1.22519270.1395.6.1.6.9]

45. Petersen D., Zijlstra C., Wishart J., Blok V. & Vrain T. 1997. Specific probes efficiently distinguish root-knot nematode species using signature sequence in the ribosomal intergenetic spacer. *Fundamental and Applied Nematology* 20:619-626.

46. Piotte C., Castagnone-Sereno P., Uijthof J., Abad P., Bongiovanni M. & Dalmasso A. 1992. Molecular characterization of species and populations of *Meloidogyne* from various geographic origins with repeated-DNA homologous probes. *Fundamental and Applied Nematology* 15:271- 276.

47. Powers T. 2004. Nematode molecular diagnostics: From Bands to Barcodes. *Annual Review of Phytopathology* 42:367-383.

48. Powers T., Platzer E. & Hyman B. 1986. Species-specific restriction site polymorphism in root-knot nematode mitochondrial DNA. *Journal of Nematology* 18:288-293.

49. Powers T., Todd T., Burnell A., Murray P., Fleming C., Szalanski A., Adams B. & Harris T. I997. The rDNA internal transcribed spacer region as a taxonomic marker for nematodes. *Journal of Nematology* 29:441-450.

50. Setterquist R., Smith G., Jones R. & Fox G. 1996. Diagnostic probes targeting the major sperm protein gene that may be useful in the molecular identification of nematodes. *Journal of Nematology* 28:414-421.

51. Shi-Bin W., Liang L., Ju W., Yong J. & Si-Wei J. 2008. PCR-DGGE analysis of nematode diversity in Cu-contaminated soil. *Pedosphere* 18:621- 627.

52. Stirling G., Griffin D., Ophel-Keller K., McKay A., Hartley D., Curran J., Stirling A., Monsour C., Winch J. & Hardie B. 2004. Combining an initial risk assessment process with DNA assays to improve prediction of soil borne diseases caused by root-knot nematode (*Meloidogyne* spp.) and *Fusarium oxysporum* f.sp. *lycopersici* in the Queensland tomato industry. Australas. *Plant Pathology* 33:285-293.

53. Stock S., Campbell J. & Nadler S. 2001. Phylogeny of *Steinernema* Travassos, 1927 (Cephalobina: Steinernematidae) inferred from ribosomal DNA sequences and morphological characters. *Journal of Parasitology* 87:877-889.

54. Subbotin S., Halford P. & Perry R. 1999. Identification of populations of potato cyst nematodes from Russia using protein electrophoresis, rDNA-RFLP and RAPDS. *Russian Journal of Nematology* 7:57-63.

55. Subbotin S., Sturhan D., Chizhov V., Vovlas N. & Baldwin J. 2006. Phylogenetic analysis of Tylenchida Thorne, 1949 as inferred from D2 and D3 expansion fragments of the 28S rRNA gene sequences. *Nematology* 8:455-474.

56. Subbotin S., Sturhan D., Vovlas N., Castillo P., Tanyi T., Moens M. & Baldwin J. 2007. Application of the secondary structure model of rRNA for phylogeny: D2-D3 expansion

[Downloaded from yujs.yu.ac.ir on 2026-06-13]
[DOR: 20.1001.1.22519270.1395.6.1.6.9]

segments of the LSU gene of plantparasitic nematodes from the family *Hoplolaimidae* Filipjev, 1934. *Molecular Phylogenetics and Evolution* 43:881-890.

57. Tautz D., Arctander P., Minelli A., Thomas R. & Vogler A. 2002. DNA points the way ahead in taxonomy. *Nature* 418: 479-479.
58. Uehara T., Mizukubo T., Kushida A. & Momota Y. 1998. Identification of *Pratylenchus coffeae* and *P. loosi* using specific primers for PCR amplification of ribosomal DNA. *Nematologica* 44:357-368.
59. Waeyenberge L., Ryss A., Moens M., Pinochet J. & Vrain T. 2000. Molecular characterization of 18 Pratylenchus species using rDNA Restriction Fragment Length Polymorphism. *Nematology* 2:135-142.
60. Waite I., O'Donnell A., Harrison A., Davies J., Colvan S., Ekschmitt K., Dogan H., Wolters V., Bongers T., Bongers M., Bakonyi G., Nagy P., Papatheodorou E., Stamou G. & Bostrom S. 2003. Design and evaluation of nematode 18S rDNA primers for PCR and denaturing gradient gel electrophoresis (DGGE) of soil community DNA. *Soil Biology and Biochemistry* 35:165-173.
61. Xue B., Baillie D., Beckenbach K. & Webster J. 1992. DNA hybridization probes for studying the affinities of three *Meloidogyne* populations. *Fundamental and Applied Journal of Nematology* 15:35-41.
62. Zijlstra C., Donkers-Venne D. & Fargette M. 2000. Identification of *Meloidogyne incognita, M. javanica* and *M. arenaria* using sequence characterized amplified region (SCAR) based PCR assays. *Nematology* 2:847-853.

[Downloaded from yujs.yu.ac.ir on 2026-06-13]
[DOR: 20.1001.1.22519270.1395.6.1.6.9]