Journal of Natural Environment

Online ISSN: 2423-7817

University of Tehran Press

Homepage: https://jne.ut.ac.ir/

Evaluation of genetic diversity in earthworms for agricultural fields and pastures of northern Zagros

Shadi Karimi Fard[1] | Faraham Ahmadzadeh[✉2] | Fateme Aghamir[✉3]

1. Department of Biodiversity, Institute of Environmental Sciences, Shahid Beheshti University, Tehran, Iran. E-mail: shadi.karimifard@gmail.com
2. Corresponding Author, Department of Biodiversity, Institute of Environmental Sciences, Shahid Beheshti University, Tehran, Iran. E-mail: f_ahmadzade@sbu.ac.ir
3. Corresponding Author, Department of Agroecology, Medicinal Plants and Drugs Research Institute Shahid Beheshti University, Tehran, Iran. E-mail: f.aghamir@sbu.ac.ir

Article Info

Article type:

Research Article

Article history:

Received 13 March 2023

Received in revised form 27 June 2023

Accepted 11 July 2023

Published online 22 July 2024

Keywords:

Barcoding,

Biodiversity,

Land use,

Soil Oligocheata,

Operational Taxonomic Units.

ABSTRACT

The largest part of the biodiversity of terrestrial ecosystems is in pastures and agricultural lands. In terms of biological importance, the Zagros mountain range has the richest and most diverse biodiversity, which faces the dangers of land use change and invasive species. Earthworms, soil ecosystem engineers, have been of great interest in soil physicochemical processes and evolutionary studies. Recent studies indicate the adverse effect of human activities and land use change on the diversity of earthworms. Since the identification of earthworms, using morphological methods is ambiguous; therefore, we need to use genetic methods and molecular markers to separate worms. In this study, we identified taxonomic functional units (OTUs) in earthworms using morphological information and molecular marker COI. Then, we have investigated the effect of agricultural uses on the genetic diversity of earthworms in Central Zagros, Borujerd County using multifactorial statistical analysis. We separated into 13 OTUs belonging to seven genera based on the results of the genealogical tree. The results of the comparison of wheat, alfalfa, sugar beet and clover pastures and farmlands showed that the OTUs of the farmlands all belong to the Lumbricidae family and the OTUs of the pastures, in addition to this family, were in the Megascolecida and Hormogastridae families. In total, we observed four genera of *Helodrilus*, *Aporrectodea*, *Bimastos* and *Allolobophora* in agricultural lands and six genera of *Metaphire*, *Aporrectodea*, *Bimastos*, *Esenia*, *Allolobophora* and *Hormogaster* in pastures. The results of the ranking analysis of the multifactorial analysis method in land use groups, soil physicochemical characteristics and indicators of abundance and biodiversity of earthworm OTUs with nine factors in 36 variables showed that OTUs C, H and I, all of Aporrectodea rosea species, are the most effective based on multi-factorial analysis in abundance and biodiversity. The biodiversity efficiency index of earthworms of grassland ecosystems was higher than agricultural ecosystems in all cases. Compared to other agricultural ecosystems (wheat, sugar beet and clover), alfalfa cultivation had the highest efficiency index in earthworm biodiversity and the lowest efficiency index was in wheat cultivation. Sugar beet and alfalfa croplands had more OTU diversity compared to clover and wheat croplands. The selection of alfalfa cultivation in crop rotation will increase the biodiversity of earthworms and the stability of agricultural ecosystems. Considering the importance of earthworms in providing ecosystem services and soil quality, it is necessary to conduct more research on the effect of common agricultural ecosystems on the biodiversity of earthworms.

Cite this article: Karimi Fard, S., Ahmadzadeh, F., & Aghamir, F. (2024). Evaluation of genetic diversity in earthworms for agricultural fields and pastures of northern Zagros. *Journal of Natural Environment*, 77 (Special Issue), 15-31. DOI: http//doi.org/10.22059/jne.2023.356720.2537

© The Author(s).
Publisher: University of Tehran Press.
DOI: http//doi.org/10.22059/jne.2023.356720.2537

محیط زیست طبیعی
شاپای الکترونیکی: ۷۸۱۷-۲۴۲۳
Homepage: https://jne.ut.ac.ir/
انتشارات دانشگاه تهران

ارزیابی تنوع ژنتیکی کرم‌های خاکی در زمین‌های کشاورزی و مراتع زاگرس شمالی

شادی کریمی‌فرد[۱] | فراهم احمدزاده[۲]✉ | فاطمه آقامیر[۳]✉

۱. گروه تنوع زیستی، پژوهشکدهٔ علوم محیطی، دانشگاه شهید بهشتی، تهران، ایران. رایانامه: shadi.karimifard@gmail.com
۲. نویسنده مسئول، گروه تنوع زیستی، پژوهشکدهٔ علوم محیطی، دانشگاه شهید بهشتی، تهران، ایران. رایانامه: f_ahmadzade@sbu.ac.ir
۳. نویسنده مسئول، گروه اگرواکولوژی، پژوهشکدهٔ گیاهان و مواد اولیهٔ دارویی، دانشگاه شهید بهشتی، تهران، ایران. رایانامه: f.aghamir@sbu.ac.ir

اطلاعات مقاله

نوع مقاله: مقالهٔ پژوهشی

تاریخ دریافت: ۱۴۰۱/۱۲/۲۲
تاریخ بازنگری: ۱۴۰۲/۰۴/۰۶
تاریخ پذیرش: ۱۴۰۲/۰۴/۲۰
تاریخ انتشار: ۱۴۰۳/۰۵/۰۱

کلیدواژه‌ها:
بارکدگذاری، تنوع زیستی، کاربری زمین، کم تاران خاکزی، واحدهای عملکردی تاکسونومیک.

چکیده

بیشترین بخش تنوع زیستی بوم‌سازگان‌های خشکی، در مراتع و زمین‌های کشاورزی است. رشته کوه زاگرس به‌لحاظ اهمیت زیست‌شناختی از غنی‌ترین و متنوع‌ترین تنوع زیستی برخوردار است که با مخاطرات تغییر کاربری اراضی و گونه‌های مهاجم مواجه می‌باشد. کرم‌های خاکی، مهندسان اکوسیستم خاک در فرآیندهای فیزیکوشیمیایی خاک و مطالعات تکاملی بسیار مورد توجه قرار گرفته‌اند. پژوهش‌های اخیر حاکی از اثر نامطلوب فعالیت‌های انسانی و تغییر کاربری اراضی بر تنوع کرم‌های خاکی است. از آنجا که شناسایی کرم‌های خاکی با استفاده از روش‌های ریخت‌شناسی دارای ابهاماتی است؛ براین اساس برای تفکیک کرم‌ها نیازمند بکارگیری راهکارهای ژنتیکی و استفاده از نشانگرهای مولکولی هستیم. در این پژوهش با استفاده از اطلاعات ریخت‌شناسی و نشانگر مولکولی COI، واحدهای عملکردی تاکسونومیک (OTU ها)[۱] در کرم‌های خاکی شناسایی شدند. سپس با استفاده ازروش تجزیه و تحلیل آماری چندفاکتوری تأثیر کاربری‌های زراعی بر تنوع ژنتیکی کرم‌های خاکی در زاگرس مرکزی، شهرستان بروجرد مورد بررسی قرار گرفت. براساس نتایج درخت تبارشناختی، نمونه‌های به‌دست آمده از این پژوهش به ۱۳ OTU متعلق به هفت جنس تفکیک شدند. نتایج مقایسهٔ مراتع و زمین‌های زراعی گندم، یونجه، چغندرقند و شبدر نشان داد که OTUهای زمین‌های زراعی، همگی متعلق به خانوادهٔ Lumbricidae و OTU های مراتع علاوه بر این خانواده، در خانواده‌های Megascolecidae و Hormogastridae قرار داشت. در مجموع، چهار جنس *Helodrilus*، *Aporrectodea*، *Bimastos* و *Allolobophora* در زمین‌های کشاورزی و شش جنس *Metaphire*، *Aporrectodea*، *Bimastos*، *Esenia*، *Allolobophora* و *Hormogaster* در مراتع مشاهده گردید. نتایج تجزیه و تحلیل رتبه‌بندی روش تجزیه و تحلیل چندفاکتوری در گروه‌های کاربری زمین، ویژگی‌های فیزیکوشیمیایی خاک و شاخص‌های فراوانی و تنوع زیستی OTUهای کرم‌های خاکی با نه فاکتور در ۳۶ متغیر نشان داد که OTU های C، H و I همگی از گونهٔ *Aporrectodea rosea* بیشترین کارآیی براساس تجزیه و تحلیل چند فاکتوری را در فراوانی و تنوع زیستی داشته است. شاخص کارآیی تنوع زیستی کرم‌های خاکی بوم‌سازگان مراتع در تمامی موارد بیشتر از سیستم‌های کشاورزی بوده است. کشت یونجه در مقایسه با سایر بوم‌سازگان‌های زراعی (گندم، چغندرقند و شبدر) بیش‌ترین شاخص کارآیی در تنوع زیستی کرم‌های خاکی را داشته است و کمترین شاخص کارآیی در کشت گندم بوده است. زمین‌های زراعی چغندرقند و یونجه تنوع OTU بیشتری در مقایسه با زمین‌های زراعی شبدر و گندم داشته است. گزینش کشت یونجه در تناوب زراعی سبب تنوع زیستی کرم‌های خاکی و پایداری بوم‌نظام‌های کشاورزی خواهد شد. با توجه به اهمیت کرم‌های خاکی در ارائهٔ خدمات اکوسیستم و کیفیت خاک، ضروری است که پژوهش‌های بیشتری در زمینهٔ اثر بوم‌نظام‌های زراعی رایج بر تنوع زیستی کرم‌های خاکی صورت گیرد.

استناد: کریمی‌فرد، شادی؛ احمدزاده، فراهم؛ و آقامیر، فاطمه (۱۴۰۳). ارزیابی تنوع ژنتیکی کرم‌های خاکی در زمین‌های کشاورزی و مراتع زاگرس شمالی. *محیط زیست طبیعی*، ۷۷ (ویژه نامه)، ۳۱-۱۵.
DOI: http//doi.org/10.22059/jne.2023.356720.2537

ناشر: مؤسسه انتشارات دانشگاه تهران.
© نویسندگان.

[1] Operational Taxonomic Unit (OTU)

مقدمه

تنوع زیستی خاک عامل اصلی پایداری اکوسیتم‌های خشکی و بسیار پیچیده است (Nielsen *et al*., 2015). امروزه تنوع زیستی، در مقیاس جهانی به سبب فعالیت‌های انسانی مانند، تغییر کاربری اراضی و تهاجم گونه‌ها در معرض تهدید می‌باشد (Sala *et al*., 2000; Trakhtenbrot *et al*., 2005). زیست‌بوم خاک، شامل مجموعهٔ متنوع جانداران از جمله باکتری‌ها و قارچ‌ها تا مهندسان اکوسیستم با اندازهٔ بزرگتر از جمله کرم‌های خاکی و مورچه‌ها می‌باشد (Lavelle *et al*., 2006). کرم‌های خاکی، بزرگترین بی‌مهرگان خاک هستند که در مقیاس وسیع قدرت تحرک اندک داشته و در مدت زمان طولانی در یک منطقه حضور دارند (Fernández *et al*., 2011, 2013; Novo *et al*., 2009; Shekhovtsov *et al*., 2015; Winding *et al*., 1997). کرم‌های خاکی با تشکیل ساختمان خاک، پویایی کربن و چرخه‌های زیستی–شیمیایی نقش مهم در بوم‌سامان‌های خاک دارند (Braga *et al*., 2016; Thakuria *et al*., 2010; Groffman *et al*., 2015). بیشترین اثر کرم‌های خاکی بر اکوسیستم‌ها از طریق سیستم تغذیه، گوارش و خاک‌ورزی است. اکوسیستم‌های پایدار برای تجزیهٔ مواد آلی به کرم‌های خاکی وابسته می‌باشند (Hendrix and Bohlen, 2002). تنوع زیستی خاک نسبت به هرگونه به‌هم ریختگی حساس است؛ زیرا خاک محیط زندگی و منشاء تمامی منابع مورد نیاز جانداران می‌باشد (Lavelle *et al*., 2006). تاثیر کرم‌های خاکی با تغییر محیط خاک، توزیع فاصلهٔ میکروارگانیسم‌ها، تحرک جانداران و ترکیب جوامع گیاهی بیشتر آشکار می‌شود (Orgiazzi and Panagos, 2018). ویژگی‌های ریخت‌شناسی کرم‌های خاکی به شرایط محیطی و مواد آلی در رژیم غذایی آن‌ها بسیار وابسته است (Curry and Schmidt, 2007). با جایگزین زیست‌بوم‌های طبیعی مانند مراتع و جنگل‌ها به زیست‌بوم‌های دست‌کاشت مثل زمین زراعی، تنوع زیستی کرم‌های خاکی تغییر می‌یابد. به‌هم ریختگی خاک در دراز مدت همراه با تغییر پوشش گیاهی به‌شدت بر ترکیب جامعه کرم خاکی اثر دارد (Callaham *et al*., 2006)؛ به‌طوری که، این تغییرات از لحاظ طبقه‌بندی و عملکردی قابل بررسی می‌باشد (Fragoso *et al*., 1997).

بررسی تأثیر سه سامانهٔ کاربری زمین (ذرت دائمی، تناوب مرتع و ذرت و مرتع دائمی) در فرانسه نشان داد که فراوانی کرم خاکی با افزایش میزان مدیریت زمین (کشت ذرت در مقابل مرتع) کاهش یافته است (Pérès *et al*., 2010). گونه‌های مهم کرم‌های خاکی در طیف وسیع تغییرات پیوستهٔ آیش، بی‌خاک‌ورزی و مرتع بر به نوع و ویژگی‌های خاک، وابسته می‌باشند. همچنین فراوانی و ترکیب گروه‌های عملکرد کرم خاکی با نفوذپذیری آب افزایش یافته که به رژیم خاک‌ورزی و ویژگی‌های زیستگاه وابسته می‌باشد (Spurgeon *et al*., 2013).

ارزیابی غنای گونه‌های کرم خاکی در برزیل در پنج سامانهٔ کاربری اراضی جنگل بومی، درختان اکالیپتوس، مراتع، کشت و دام یکپارچه و سامانهٔ بی‌خاکورزی نشان داد که غنای گونه‌ای سامانهٔ کشت به‌دلیل وجود گونه‌های مهاجم، بیشتر است؛ این در حالی است که فعالیت انسانی غنای گونه را کاهش داده است. غنای گونه‌های بومی در سامانهٔ کشت مرتع و بی‌خاک‌ورزی بیشتر و در اکوسیستم‌های دست‌خورده کمتر است. نتایج نشان داد که غنای گونه‌های کرم خاکی باید در سطوح منطقه‌ای صورت گیرد (Bartz *et al*., 2014).

تنوع کرم‌های خاکی در سامانهٔ جنگل دست‌کاشت با درختان دائمی، کشت مخلوط و تک‌کشتی یک سالانه در اندونزی نشان داد که ۱۸ گونه منشاء بومی ندارند. مداخلات انسانی در جنگل‌ها و تغییر کاربری اراضی به مزارع، سبب افزایش آب در خاک، دما، مقادیر فسفر کل و کاهش کربن آلی شده؛ درنتیجه محیط زندگی کرم‌های خاکی را تغییر داده است. پیش‌بینی شاخص تنوع شانون کرم خاکی از جنگل تا مزارع مخلوط و تک‌کشتی یک ساله، با روند کاهشی همراه بوده است (Darmawan *et al*., 2017).

توزیع و فراوانی نسبی کرم‌های خاکی در الگوهای مختلف کاربری زمین و تأثیر آن‌ها بر خواص فیزیکوشیمیایی خاک در اکوسیستم جنوب هند (اودیشا جنوبی) مورد بررسی قرار گرفته است. رابطهٔ میان پارامترهای فیزیکوشیمیایی خاک در سه نوع کاربری زمین و تراکم کرم خاکی با تجزیه و تحلیل آماری مؤلفه‌های اصلی برای توصیف تأثیر خواص مختلف خاک بر توزیع جمعیت کرم خاکی در سه زیستگاه مختلف ارزیابی گردید. در مجموع ده گونهٔ کرم خاکی متعلق به پنج خانواده شناسایی شد. تراکم کرم خاکی با کربن آلی خاک، نیتروژن کل، فسفر و ظرفیت نگهداری آب در سه کاربری، به‌ویژه جنگل همبستگی داشته است. مقادیر فراوانی کرم‌های

خاکی به‌ترتیب در جنگل، مرتع دارای بقایای آلی بیشتر بوده و در زمین‌های کشاورزی از همه کمتر بوده است (Sankar and Patnaik, 2018).

فراوانی کرم‌های خاکی در سه کاربری زمین (مرتع، حاشیه مزارع و زمین‌های کشاورزی) در دو مزرعهٔ انگلستان، با سیلاب فصلی و بدون سیلاب مورد بررسی قرار گرفته است. فراوانی کل زیست‌تودهٔ کرم‌های خاکی در خاک‌های زراعی و مراتع در مناطق سیلابی به‌طور قابل توجه کمتر بوده است. فراوانی کرم‌های خاکی در خاک‌های غرقابی حاشیهٔ مزارع به‌طور قابل توجه بیشتر بوده است، که احتمالاً به‌دلیل مقادیر بیشتر مواد آلی و تراکم کمتر خاک است. یافته‌های این مطالعه نشان داد که جمعیت کرم‌های خاکی که قبلاً تحت تأثیر فعالیت‌های زراعی قرار گرفته، بیشتر از مراتع مستعد سیل می‌باشد؛ یافته‌های پژوهش بیانگر آن است که جمعیت کرم‌های خاکی مزارع با افزایش خطر وقوع سیل در معرض خطر قرار دارد (Kiss *et al*., 2021).

شناسایی کرم‌های خاکی به‌دلیل ساختار سادهٔ بدن آن‌ها از لحاظ صفات ریخت‌شناسی مشکل است (Novo *et al*., 2010). شناسایی کرم‌های خاکی به‌دلیل نبود ویژگی‌های قابل تشخیص ثابت، به تخصص کافی در زمینهٔ طبقه‌بندی نیاز دارد (Decaëns *et al*., 2013). در بسیاری از مطالعات، تنوع بسیار در کرم‌های خاکی نسبت به سایر بی‌مهرگان دیده شده است. در برخی موارد، گونه‌های پنهانی در درون گونه‌های دیگر یافت می‌شوند؛ درنتیجه، تعداد واقعی گونه‌های کرم‌های خاکی بسیار بیشتر از آن است که با صفات ریخت‌شناسی قابل شناسایی باشد (Shekhovtsov *et al*., 2013). ابزار مولکولی و تجزیه و تحلیل‌های ژنتیکی با تمایز و پراکندگی گونه‌ها با ایجاد پایگاه بنیادی برای طبقه‌بندی ریخت‌شناسی راه‌گشا می‌باشند. مطالعات تبارشناختی DNA میتوکندری (mtDNA) به‌طور گسترده در جانوران در تمایز توالی‌های همولوگ و تفاوت بین گونه‌ای مورد استفاده قرار گرفته است (Huang *et al*., 2007). منتقدان روش بارکد DNA بر این باورند که نادیده گرفتن شناسایی صفات ریخت‌شناسی و تنها تکیه بر ژن میتوکندری گمراه کننده می‌باشد (Huang *et al*., 2007). ریخت‌شناسان، با روش بارکد DNA، در مناطق ژنی کوتاه و استاندارد، فرصت گسترش و کشف قلمروهای جدیدی از تنوع زیستی در سطح جهانی را یافته‌اند (Hebert and Gregory, 2005)؛ مزیت مهم روش بارکد DNA، قابل آزمایش و قابل تکرار بودن آن است؛ علاوه بر این برای شناسایی گسترده در بیشتر موارد سریع‌تر و آسان‌تر از روش‌های ریخت‌شناسی است. ژن میتوکندریایی سیتوکروم اکسیداز[۲] زیر واحد یک برای انجام بارکد DNA در جانداران مهره‌دار و بی‌مهره بسیار مناسب است (Ward *et al*., 2008). بارکد DNA و استفاده از نشانگر ژنتیکی استاندارد برای شناسایی گونه‌ها در پژوهش‌های تنوع زیستی طیف وسیعی از بوم‌سامان استفاده شده (Hebert *et al*., 2004) و پتانسیل این رویکرد برای شناسایی جانوران خاک بسیار زیاد است (Decaëns *et al*., 2013).

پیشینهٔ مطالعات منسجم بر کرم‌های خاکی در ایران، اندک و بیشتر براساس صفات ریخت‌شناسی بوده (Latif and Malek, 2008; Ezzat Panah, 2008; Farhadi, 2011; Hosseini and Malek, 2014; Nadi Moghadam, 2015) و تنها چند مورد به شناسایی گونه‌ها براساس روش‌های مولکولی پرداخته است (Zarik Mubaraki, 2009; Mirmansaf, 2012; Latif *et al*., 2017; Bozorgi *et al*., 2018; Sanchooli *et al*., 2019). در مناطق مختلف ایران، ۱۳ جنس و ۲۸ گونه کرم خاکی متعلق به خانواده‌های Lumbricidae، Megascolecidae و Acanthodrilidae ثبت شده است (Farhadi *et al*., 2013; Latif *et al*., 2017; Bozorgi *et al*., 2019).

تعداد گونه‌های کرم خاکی در مراتع شاخص خوبی برای ارزیابی تنوع طبقه‌بندی، عملکرد بالا و کاهش نهاده‌ها می‌باشد (Nicod *et al*., 2019). مراتع محیط مناسب‌تری به‌دلیل پایداری بالا به‌لحاظ شرایط محیطی، فقدان دخالت‌های انسانی و عدم خاک‌ورزی، برای تنوع زیستی خاک فراهم می‌کنند. درک الگوی بوم‌نظام‌های زراعی و ویژگی‌های فیزیکوشیمیایی خاک بر تنوع جوامع کرم‌های خاکی ایران، بسیار محدود بوده است. هدف این پژوهش، بررسی تأثیر کاربری، کشت محصولات مختلف کشاورزی و ویژگی‌های فیزیکوشیمیایی خاک بر تنوع کرم‌های خاکی و روابط جوامع کرم‌های خاکی با استفاده از روش بارکد DNA در مراتع زاگرس شمالی است.

[2] COI

روش‌شناسی پژوهش

منطقهٔ مطالعاتی: کمربند زاگرس در ایران و در لبهٔ صفحهٔ عربستان واقع شده که از شمال غربی تا جنوب شرقی به طول ۱۲۰۰ کیلومتر امتداد دارد. ارتفاع این رشته‌کوه وسیع از ۲۰۰۰ متر تا بیش از ۴۰۰۰ متر در قله‌های کوهستانی است. رشته‌کوه زاگرس در سراسر مسیر بادهای غربی واقع شده و میزان رطوبت این بادها را کاهش می‌دهد. رشته کوه زاگرس نقش مهم در تنوع زیستی کشور و آب و هوا دارد (Prudhomme and Reed, 1998).

این پژوهش در زمین‌های زراعی و مراتع نمونه‌برداری اطراف شهرستان بروجرد، و زاگرس مرکزی انجام شد (شکل ۱). زمین‌های زراعی با کشت محصولات چغندر قند، یونجه، شبدر و گندم به‌عنوان منطقهٔ هدف و شش مرتع کولیدر، گندل گیلان، زواریان، ونایی، دوران دره و زرشکه به‌عنوان شاهد در نظر گرفته شد. برای انجام نمونه‌برداری مکانیکی در هر زمین ۵ عدد کوادرات، با ابعاد ۴۰ در ۴۰ سانتی‌متر استفاده شد و زمین به عمق ۳۰ تا ۴۰ سانتی‌متر حفر شد (Stojanović and Karaman, 2006). کوادرات‌ها در هر زمین به‌طور تصادفی انتخاب شدند موقعیت طول و عرض جغرافیایی تمامی ایستگاه‌های نمونه‌برداری با استفاده از GPS در محل ثبت گردید (جدول ۱).

براساس ایستگاه هواشناسی، منطقهٔ دارای آب و هوای نیمه‌مرطوب با تابستان گرم و زمستان نسبتاً سرد است. میانگین بیشترین دمای سالیانه ۲۱/۹ و کمترین دمای سالیانه ۸/۲ درجهٔ سانتی‌گراد است. بارش سالیانه در این منطقه ۴۵۶/۲ میلی‌متر است. طول دورهٔ خشکی ۱۵۴ روز، شروع آن از اوایل خردادماه و پایان در اوایل آبان ماه می‌باشد.

نمونه‌برداری: به‌منظور شناسایی تنوع زیستی و انجام تجزیه و تحلیل شیمیایی خاک، از هر کوادرات، نمونه‌برداری خاک و کرم خاکی صورت گرفت. بدین‌صورت‌که نمونه‌برداری در هر زمین با استفاده از ۵ عدد کوادرات (به‌صورت تصادفی)، با ابعاد ۴۰ × ۴۰ سانتی‌متر با عمق ۴۰–۳۰ سانتی‌متر (Stojanović and Karaman, 2006) انجام شد. براین اساس، کرم‌های خاکی بالغ به‌وسیلهٔ پنس از هر کوادرات جمع‌آوری و در ظرف آب قرار گرفتند. سپس به‌منظور انجام مطالعات ژنتیکی نمونه‌ها در الکل ۹۶ درصد ثابت و در دمای ۲۰– درجهٔ سانتی‌گراد نگه‌داری شدند. در این پژوهش، در مجموع ۱۰۵ نمونه جمع‌آوری شد.

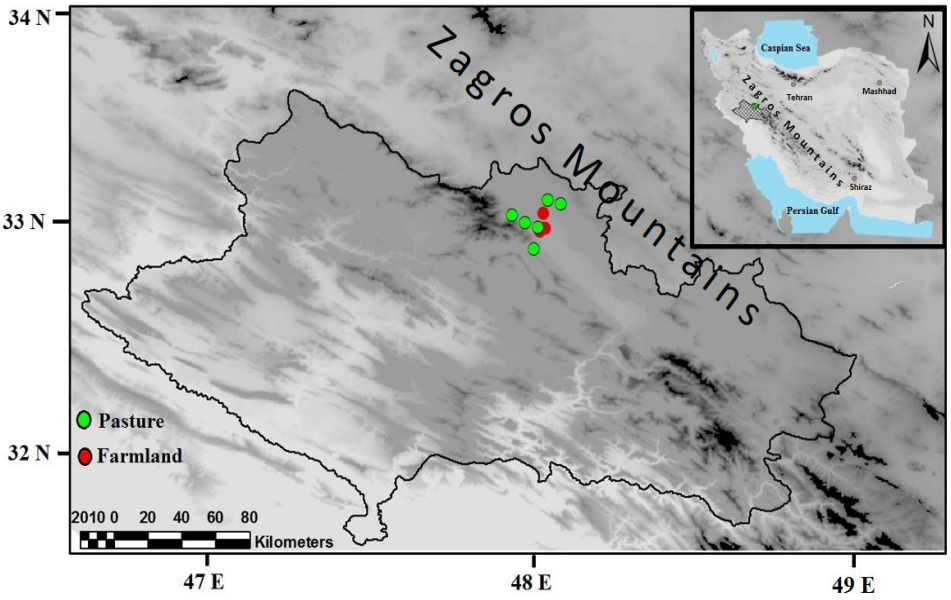
ریخت‌شناسی: شناسایی و گروه‌بندی اولیهٔ کرم‌های خاکی جمع‌آوری شده براساس صفات آناتومیک از جمله محل قرارگیری منافذ اسپرماتکا، شکل پیش دهان، شکل و محل قرارگیری کمربند جنسی، آرایش تارچه‌ها، محل قرارگیری توبرکول‌ها و منافذ جنسی نر و کلیدهای شناسایی معتبر با لوپ چشمی با بزرگنمایی ۵، انجام شد (Blakemore, 2006; Reynolds, 2018). سپس با توجه به دسته‌بندی‌ها براساس صفات ظاهری هریک از افراد به گروه مشابه خود منتصب شدند که با قطعیت شامل سه خانوادهٔ لومبریسیده، مگاسولسیده و هورموگستریده بودند.

شناسایی تنوع ژنتیکی: برای اطمینان از صحت نتایج به‌دست آمده از شناسایی ریخت‌شناسی هرگروه، نمونه‌ها برای انجام آنالیزهای ژنتیکی و فرآیند بارکد DNA انتخاب شدند. استخراج DNA با از روش استاندارد نمکی (Sambrook and Russell, 2001) از بافت انتهای بدن نمونه‌ها انجام شد. با فرآیند واکنش زنجیره‌ای پلیمراز (PCR) برای قطعه ژن COI انجام شد. فرآیند PCR با شرایط ۹۴ (۳۰ ثانیه)، ۴۷ (۴۰ ثانیه) و ۷۲ (۶۰ ثانیه) طی ۳۵ سیکل، انجام شد. برای انجام این فرآیند از آغازگرهای ابتدایی LCO1490 و انتهایی HCO2198 استفاده گردید (Folmer *et al*., 1994). سپس محصولات PCR با باند مناسب برای تعیین توالی به شرکت نیاژن نور ارسال شدند (Niagenenoor, Iran). توالی‌ها با نرم‌افزار Geneious Prime V.2021.1.1 ویرایش شد. برای بررسی تنوع کرم‌های خاکی مورد مطالعه، توالی‌های ویرایش شده در سایت مرکز ملی اطلاعات زیست‌فناوری (NCBI)[3] بلاست (Blast[4]) شدند. الگوریتم بلاست براساس چیدمان توالی‌های زیستی DNA، با توالی معتبر از پایگاه داده مقایسه شدند. هم‌ردیف‌سازی توالی‌ها با استفاده از الگوریتم MAFFT و به‌صورت آنلاین انجام شد (https://mafft.cbrc.jp/). فاصلهٔ ژنتیکی بین گونه‌ها با استفاده از نرم‌افزار Mega V.X، برای تعیین دقیق‌تر OTUها محاسبه شد (Arslan *et al*., 2018).

[3]National Center for Biotechnology Information
[4]Basic Local Alignment Search Tool

جدول ۱- ویژگی‌های زیستگاه و تنوع شناسایی شده در کرم‌های خاکی

زیستگاه نمونه برداری	خانواده	نام علمی	دودمان
زراعی-گندم	Lumbricidae	*Helodrilus* sp.	A
زراعی-گندم	Lumbricidae	*Helodrilus* sp.	A
مرتع، روستای زواریان	Megascolecidae	*Metaphire* sp.	B
زراعی-یونجه	Lumbricidae	*Aporrectodea rosea*	C
زراعی-یونجه	Lumbricidae	*Aporrectodea rosea*	C
مرتع، روستای زرشکه	Lumbricidae	*Aporrectodea rosea*	D
زراعی-شبدر	Lumbricidae	*Aporrectodea caliginosa*	E
زراعی-چغندر قند	Lumbricidae	*Aporrectodea caliginosa*	E
زراعی-شبدر	Lumbricidae	*Aporrectodea caliginosa*	E
مرتع-روستای گندل گیلان	Lumbricidae	*Aporrectodea caliginosa*	E
زراعی-شبدر	Lumbricidae	*Aporrectodea caliginosa*	E
زراعی-چغندر قند	Lumbricidae	*Aporrectodea caliginosa*	E
مرتع-روستای گندل گیلان	Lumbricidae	*Aporrectodea caliginosa*	E
مرتع-روستای دوران دره	Lumbricidae	*Aporrectodea caliginosa*	E
زراعی-شبدر	Lumbricidae	*Aporrectodea caliginosa*	E
زراعی-چغندر قند	Lumbricidae	*Aporrectodea caliginosa*	E
	Lumbricidae	*Aporrectodea caliginosa*	E
زراعی-شبدر	Lumbricidae	*Aporrectodea caliginosa*	E
مرتع-روستای دوران	Lumbricidae	*Bimastos* sp.	F
مرتع-روستای دوران	Lumbricidae	*Bimastos* sp.	F
زراعی-چغندر قند	Lumbricidae	*Bimastos* sp	G
بروجرد-زراعی-یونجه	Lumbricidae	*Aporrectodea rosea*	H
بروجرد-زراعی-یونجه	Lumbricidae	*Aporrectodea rosea*	I
بروجرد-زراعی-یونجه	Lumbricidae	*Aporrectodea rosea*	I
مرتع، روستای زواریان	Lumbricidae	*Esenia nordenskioldi*	J
مرتع، روستای کولیدر	Lumbricidae	*Aporrectodea trapezoides*	K
مرتع، روستای کولیدر	Lumbricidae	*Aporrectodea trapezoides*	K
زراعی-چغندر قند	Lumbricidae	*Aporrectodea trapezoides*	K
بروجرد-زراعی-گندم	Lumbricidae	*Allolobophora* sp.	L
مرتع، روستای ونایی	Lumbricidae	*Allolobophora* sp.	L
مرتع، روستای ونایی	Lumbricidae	*Allolobophora* sp.	L
مرتع-روستای گندل گیلان	Lumbricidae	*Allolobophora* sp.	L
مرتع-روستای گندل گیلان	Lumbricidae	*Allolobophora* sp.	L
مرتع، روستای زرشکه	Hormogastridae	*Hormogaster* sp.	M
مرتع، روستای ونایی	Hormogastridae	*Hormogaster* sp.	M
مرتع، روستای ونایی	Hormogastridae	*Hormogaster* sp.	M
مرتع، روستای ونایی	Hormogastridae	*Hormogaster* sp.	M
مرتع-روستای دوران	Hormogastridae	*Hormogaster* sp.	M



شکل ۱- نقشهٔ منطقهٔ نمونه‌برداری از زمین‌های زراعی چغندرقند، یونجه، گندم و شبدر (در مجموع ٤٤ نمونه) و شش مراتع (در مجموع ٦٤ نمونه) در زاگرس مرکزی براساس سامانهٔ اطلاعات جغرافیایی (Arc GIS)

با استفاده از نرم‌افزارهای MrModeltest2 (Nylander, 2004) و بهترین مدل تکاملی برای تفسیر داده‌ها انتخاب شد. درخت‌های بیشینهٔ درست نمایی[5] (ML) با استفاده از نرم‌افزارهای IQtree (Nguyen *et al*., 2015) و درخت بیزین با نرم‌افزار Mrbayes V.2.3.7 (Huelsenbeck and Ronquist, 2001) ترسیم شد. این آنالیز برای x.۱۰۶ نسل انجام شد. یک درخت در هر ۱۰۰ نسل ذخیره شد و ۱۰ درصد تمام درخت‌های اولیه قبل از رسیدن به Stationarity حذف شد.

غنای گونه‌ها: برای ارزیابی تنوع زیستی (تعداد گونه‌ها در جامعه) (Chiu *et al*., 2014) غنای گونه‌ها با شاخص‌های شانون ویر (رابطهٔ ۱) محاسبه گردید (Spellerberg *et al*., 2003). در این رابطه H' شاخص شانون وینر، pi فراوانی نسبی هر گونه و S تعداد گونه‌ها می‌باشد.

رابطهٔ ۱ $$H' = -\sum_{i-1}^{S} pi\, In\, p$$

برای اطمینان از حداقل نابودی تنوع ژنتیکی در هر واحد افزایش ژنتیکی از شاخص ژنتیکی سیمپسون استفاده گردید (Magnussen and Boyle, 1995). در رابطهٔ ۲ D شاخص تنوع سیمپسون، N تعداد کل افراد گونه، و n تعداد افراد هر گونه می‌باشد.

رابطهٔ ۲ $$D = \frac{\Sigma n\,(n-1)}{N\,(N-1)}$$

تجزیه و تحلیل فیزیکوشیمیایی خاک: خاک‌های نمونه‌برداری از هر کوادرات در هوا خشک شد، به‌طور کاملاً جداگانه کوبیده و از الک ۲ میلی‌متر عبور داده شد. سپس ویژگی‌های فیزیکی و شیمیایی خاک شامل بافت خاک هیدرومتری، استفاده از پلی‌فسفات سدیم (Zhi-ming et al., 2012)، اسیدیته با استفاده از pH متر (Haluschak, 2006)، کربن آلی روش والکی بلک (Black and Walkey, 1934)، نیتروژن کل با روش کجلدال (Santiba *et al*., 2007) و فسفر، کلسیم، منیزیم، پتاسیم و آلومینیوم با با روش ICP[6] اندازه‌گیری گردید.

تجزیه و تحلیل آماری چندفاکتوری[7]: برای بررسی روابط میان متغیرها، از روش تجزیه و تحلیل چند فاکتوری MFA استفاده شد. این روش آماری، یک تکنیک چند متغیره در آمار است که روابط بین چندین مجموعه از متغیرهای کمی و کیفی را ارزیابی می‌کند. به‌عبارت دیگر، امکان تجزیه و تحلیل و تجسم فضای دو یا سه بعدی جداول با چندین گروه متغیر و ماهیت‌های

[5]Maximum likelihood
[6]Inductively Coupled Plasma
[7]Multiple Factor Analysis

متفاوت را فراهم می‌آورد (Escofier and Pagès, 1994). این تحلیل آماری، ترکیبی از تجزیه و تحلیل داده‌های کمی (PCA[۸])، تجزیه و تحلیل داده‌های کیفی (MCA[۹]) و تجزیه و تحلیل فراوانی (CA[۱۰]) می‌باشد (Visbal-Cadavid *et al*., 2020).

در این پژوهش، جداول مشاهدات با توجه به حساسیت تحلیل آماری MFA، نرمال شدند و با استفاده از افزونهٔ آماری نرم‌افزار XLSTAT Sensory and Premium -R 2020 در زبانهٔ Excel تجزیه و تحلیل آماری MFA صورت گرفت. سپس، براساس مقایسهٔ نتایج تجزیه و تحلیل MFA، شاخص‌های کارآیی برای ارزیابی گروه‌های متغیرها ایجاد شد. شاخص‌های کارآیی (I_{MFA}[۱۱]) تمام فاکتورها، مهم‌ترین مقدار داده‌ها را در نظر می‌گیرد و ترکیبی خطی از مجموع فاکتورها است که به هر فاکتور وزنی برابر با اهمیت توصیف آن می‌دهد، یعنی وزن هر فاکتور برابر با سهم درصد واریانس کل آن فاکتور می‌باشد. مقادیر نمرات فاکتورها با استفاده از تجزیه و تحلیل MFA، با توجه به بالا یا پایین بودن از مقدار میانگین داده‌ها، به‌ترتیب به مقادیر مثبت و منفی براساس تابع نمایی (Calsamiglia, 1990) تبدیل شد:

$$f(F_i)=\begin{cases} 1+\dfrac{k-1}{2}e^{F_i}\ Si & F_i<0, \\ k-\dfrac{k-1}{2}e^{-F_i}\ in & another\ way \end{cases}$$

رابطهٔ ۳

که در این رابطه پارامتر k درجهٔ پیشرفت تغییر و مقدار دامنهٔ مقادیر فاکتورها را بیان می‌کند. از این‌رو، اگر k=100 باشد، مقادیر وزن‌دهی در محدودهٔ ۱۰۰ خواهد بود. توزین فاکتورها براساس واریانس فاکتورها محاسبه و شاخص کارایی (I_{MFA}) تمامی متغیرها شامل کاربری زمین (مرتع، زمین زراعی)، نوع کشت (گندم، یونجه، چغندرقند و شبدر)، ویژگی‌های فیزیکوشمیایی خاک (اسیدیته، نیتروژن، پتاسیم، سدیم، آلومینیوم، فسفر، منیزیم، کلسیم، کربن آلی، سیلت، شن و رس) و فراوانی و شاخص‌های تنوع زیستی (غنا، فراوانی، شاخص تنوع شانون وینر و شاخص تنوع سیمپسون) از طریق رابطهٔ ۲ محاسبه، بررسی و طبقه‌بندی گردید:

رابطهٔ ۴

$$I_{AFM}=\sum_{i=1}^{p} f(F_i)\times\frac{Variance\quad Explained\quad per\quad F_i}{Total\quad Variance}$$

یافته‌های پژوهش

ریخت‌شناسی: در این پژوهش براساس ویژگی‌های ظاهری اصلی از جمله محل قرارگیری منافذ اسپرماتکال، کمربند جنسی، شکل پیش‌دهان، آرایش تارچه‌ها، منافذ جنسی نر و توبرکول مورد بررسی قرار گرفتند. ویژگی‌های ظاهری اصلی با کلیدهای شناسایی ایران مطابقت داشتند و نمونه‌های مورد بررسی به گروه‌های مختلف دسته‌بندی شدند. سپس برای اطمینان از نتایج به دست آمده از بخش گروه‌بندی ظاهری، تنوع ژنتیکی و بارکد DNA برای تعداد ۳۸ فرد از ۱۰۵ فرد مورد بررسی انجام شد. پس از آن، با توجه به دسته‌بندی‌ها براساس صفات ظاهری تمامی ۶۷ فرد باقیمانده به گروه‌های با ویژگی‌های ظاهری مشابه خود منتسب شدند که در مجموع در سه خانوادهٔ Lumbricidae، Megascolecidae و Hormogastridae قرار گرفتند (جدول ۲).

بررسی ملکولی: براساس نتایج بلاست (۳۸ توالی)، بیشتر نمونه‌ها تا سطح جنس شناسایی شدند. براساس نتایج بلاست، توالی‌های حاصل از این مطالعه در سه خانوادهٔ Lumbricidae، Megascolecidae و Hormogastridae و هفت جنس طبقه‌بندی شد. از مجموع ۳۸ فرد مورد بررسی، ۱۹ فرد در زمین‌های کشاورزی و ۱۹ فرد در مراتع بوده است. در مجموع براساس نتایج درخت تبارشناختی (شکل ۲) و فاصلهٔ ژنتیکی (جدول ۳)، ۱۳ OTU در زاگرس شمالی شناسایی شده است.

[8]Principal Component Analysis

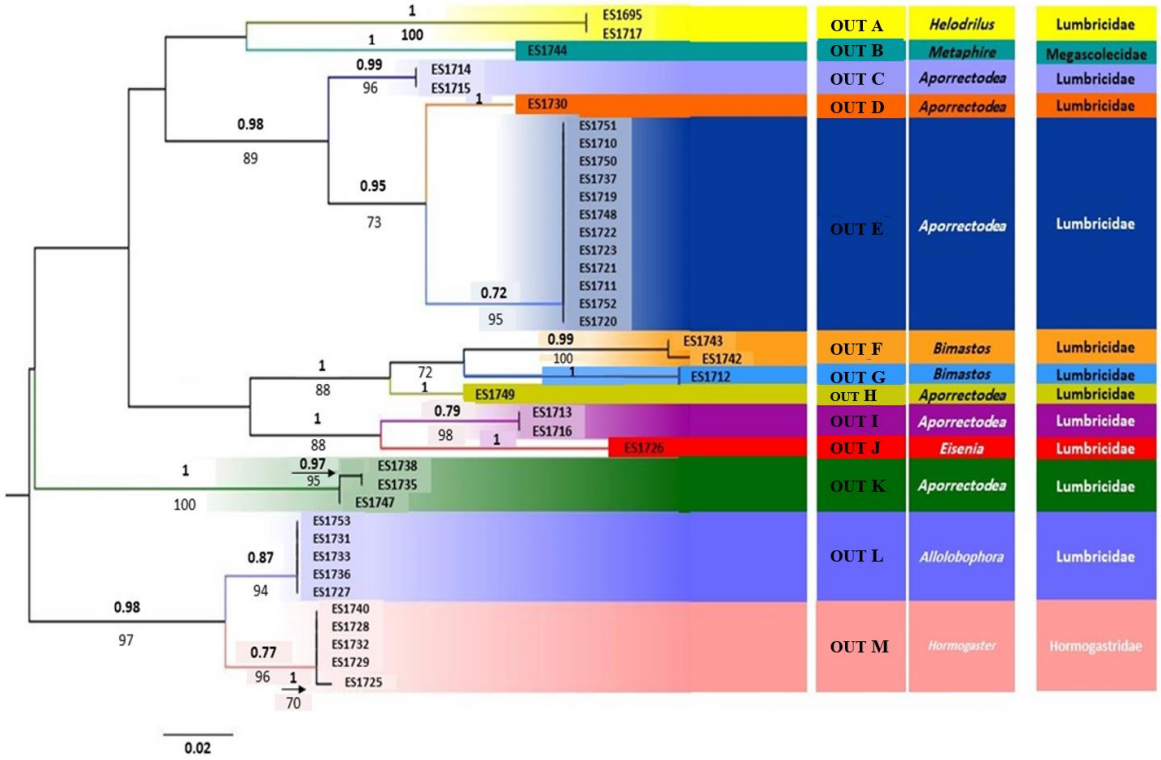
[9]Multiple Correspondence Analysis

[10]Correspondence Analysis

[11]Index Multiple Factor Analysis

جدول ۲- صفات ظاهری در شناسایی خانواده‌های کم‌تاران‌ها

خانواده	صفات ظاهری
لومبریسیده	➢ آرایش تارچه‌ها به‌صورت ردیف‌های دور یا نزدیک به هم است. ➢ منافذ جنسی نر معمولاً روی بندهای ۱۵-۱۳ قرار دارند. ➢ منافذ اسپرماتکال[۱۲] در شیار بین بندهای ۱۲-۹ قرار می‌گیرد. ➢ کمربند جنسی معمولاً روی بندهای ۳۵-۲۵ دیده می‌شود.
مگاسکولسیده	➢ در هر بند بدن دارای تارچه‌ی فراوان و مدور است. ➢ منافذ جنسی نر روی بند ۱۸ بدن قرار دارد. ➢ منافذ اسپرماتکال در شیارهای بین بندهای ۷، ۸ و ۹ قرار می‌گیرد
هورموگستریده	➢ آرایش تارچه‌ها در این خانواده به‌صورت ردیف‌های بسیار نزدیک است. ➢ منافذ جنسی نر روی بند شماره ۱۵ قرار دارد. ➢ منافذ اسپرماتکال در شیارهای بین بندهای ۱۰، ۱۱ و ۱۲ مشاهده می‌شود.



شکل ۲- درخت بیشینهٔ احتمال با استفاده از ژن میتوکندریایی سیتوکروم اکسیداز-زیر واحد یک (COI). ریشهٔ درخت گونهٔ *Drawida fenqihuensis* است. احتمال پسین بیشتر از ۰/۷ (بیزین در بالای شاخه‌ها)، و بوت‌استرپ بیشتر از ۷۰ درصد (بیشینهٔ درست‌نمایی در پایین شاخه‌ها) نشان داده شده است.

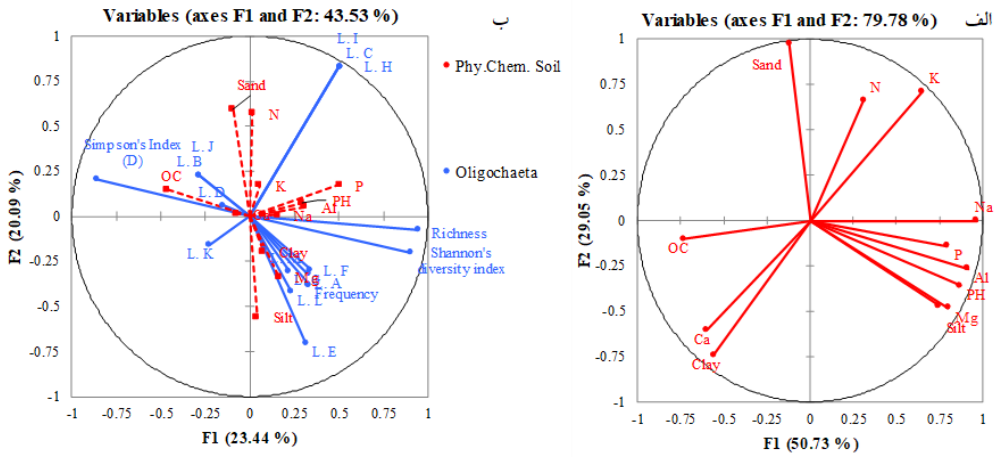
به‌طورکلی ۱۰۵ کرم خاکی نمونه‌برداری در شش جنس از سه خانوادهٔ Lumbricidae، Megascolecidae و Hormogastridae قرار گرفت. در زمین‌های زراعی چهار جنس *Helodrilus* (1845)، *Aporrectodea* (1826)، *Bimastos* (1874) و *Allolobophora* (1826) که همگی متعلق به خانوادهٔ Lumbricidae هستند و در مراتع شش جنس *Metaphire* (1868)، *Aporrectodea*، *Bimastos*، *Esenia* (1956)، *Allolobophora* و *Hormogaster* (1887) که علاوه بر خانوادهٔ Lumbricidae در خانواده‌های Megascolecidae و Hormogastridae ثبت شد. با توجه به تعداد خانواده‌ها و جنس‌ها در زمین‌های زراعی و مراتع، تنوع در مراتع بیشتر از زمین‌های زراعی است. شایان ذکر است که هشت OTU در هر دو کاربری (زمین‌های زراعی و مراتع) مشاهده شد.

[12]Spermatocele

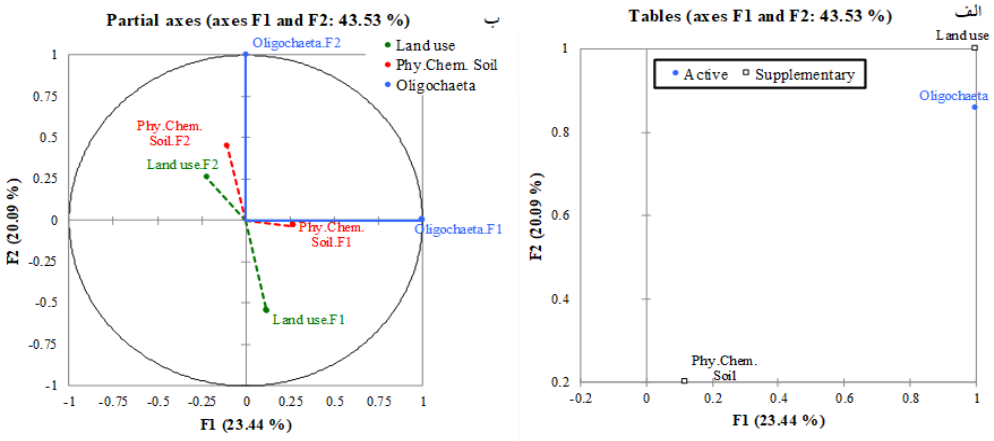
جدول ۳- فاصله ژنتیکی بین گونه‌ها براساس ژن COI

Lineage	۱	۲	۳	۴	۵	۶	۷	۸	۹	۱۰	۱۱	۱۲
OTU A												
OTU B	۰/۱۵۲											
OTU C	۰/۱۵۸	۰/۱۵۲										
OTU D	۰/۱۳۹	۰/۱۷۸	۰/۰۷۲									
OTU E	۰/۱۲۵	۰/۱۴۵	۰/۰۸۶	۰/۰۵۹								
OTU F	۰/۱۹۲	۰/۱۸۹	۰/۱۸۲	۰/۱۹۶	۰/۱۸۲							
OTU G	۰/۱۸۶	۰/۱۶۶	۰/۱۶۰	۰/۱۵۳	۰/۱۳۳	۰/۱۱۳						
OTU H	۰/۱۵۲	۰/۱۵۲	۰/۱۳۹	۰/۱۶۵	۰/۱۶۵	۰/۰۹۶	۰/۱۰۰					
OTU I	۰/۱۵۸	۰/۱۷۲	۰/۱۴۵	۰/۱۳۲	۰/۱۴۵	۰/۱۵۶	۰/۱۲۶	۰/۱۱۲				
OTU J	۰/۱۵۸	۰/۱۵۸	۰/۱۴۵	۰/۱۶۵	۰/۱۵۸	۰/۱۴۹	۰/۱۶۰	۰/۱۵۲	۰/۰۹۹			
OTU K	۰/۱۵۶	۰/۱۴۳	۰/۱۵۶	۰/۱۵۶	۰/۱۳۰	۰/۱۷۰	۰/۱۷۱	۰/۱۷۰	۰/۱۶۳	۰/۱۴۳		
OTU L	۰/۱۷۲	۰/۱۷۲	۰/۱۲۵	۰/۱۴۵	۰/۱۳۹	۰/۱۵۶	۰/۱۶۶	۰/۱۴۵	۰/۱۵۸	۰/۱۷۲	۰/۱۳۶	
OTU M	۰/۱۶۶	۰/۱۷۳	۰/۱۱۳	۰/۱۴۰	۰/۱۴۰	۰/۱۷۷	۰/۱۷۴	۰/۱۴۰	۰/۱۶۰	۰/۱۷۳	۰/۱۵۸	۰/۰۴۷

تجزیه و تحلیل چندفاکتوری: جداول کاربری زمین، ویژگی‌های فیزیکوشیمیایی خاک و شاخص‌های تنوع و فراوانی کم‌تاران‌ها، در مجموع ۳۶ متغیر با نه فاکتور (ابعاد) (شکل ۳) توصیف گردید. شکل ۴ نمودار محورهای جزئی مؤلفه‌های اصلی (فاکتور اول و دوم) را در تحلیل چندفاکتوری و رابطهٔ بین اجزای اصلی روش تحلیل PCA هر گروه را به‌صورت جدا از هم بیان می‌کند. همان‌طور که مشاهده می‌شود که اولین و دومین فاکتور (F_1 و F_2) با اولین مؤلفی اصلی گروه OTUهای کم‌تاران‌ها و کاربری زمین ارتباط تنگاتنگ دارد.



شکل ۳- همبستگی میان متغیرها و فاکتورهای اول و دوم به تفکیک در متغیرهای الف) گروه‌های فیزیکوشیمیایی خاک و ب) ویژگی‌های با خاک خاک‌زی کم‌تاران براساس تجزیه و تحلیل چندفاکتوری OTU



شکل٤- محورهای جزئی گروه‌های کم‌تاران خاک‌زی، کاربری زمین و ویژگی‌های فیزیکوشیمیایی خاک الف) در مجموع و ب) به تفکیک فاکتورهای اول و دوم براساس تجزیه و تحلیل چندفاکتوری OTU

شاخص ترکیبی کارآیی مقایسهٔ گروه‌ها (I_{MFA}) با استفاده از امتیازات فاکتورها برای گروه‌های کاربری زمین، ویژگی‌های فیزیکوشیمیایی خاک، فراوانی و تنوع زیستی OTUهای کم‌تاران خاک‌زی با نه فاکتور مطابق با روش پیشنهادی (رابطه‌های ۳ و ۴) محاسبه شد و رتبه‌بندی و تخصیص ابعاد (I_{MFA})، از طریق مجموع وزن‌دهی نمرات (Fi) f با وزن‌دهی نسبت واریانس برای هر بعد برآورد گردید. نتایج نشان داد که مراتع دوران دره و گندل گیلان دارای بیشترین شاخص کارایی در تنوع و غنا و فراوانی کم‌تاران بوده است. در گروه کاربری زمین، متغیر بوم‌سازگان یونجه در مقایسه با سایر بوم‌سازگان‌های زراعی دیگر (گندم، چغندرقند و شبدر) بیش‌ترین شاخص کارآیی را داشته است و کمترین شاخص کارآیی در ارزیابی کاربری زمین، سامانهٔ زراعی گندم بوده است. همچنین زمین‌های زراعی با کشت چغندرقند و یونجه تنوع OTU بیشتری در مقایسه با کشت شبدر و گندم داشته است. در میان OTUهای کم‌تاران، گونه‌های C، H و I بیشترین کارآیی را در فراوانی و تنوع زیستی داشته‌اند که فقط در بوم‌سازگان زراعی یونجه مشاهده شده است. خصوصیات خاک دارای بیشترین اثر بر تنوع و فراوانی کم‌تاران‌ها، به‌ترتیب پتاسیم، سدیم و نیتروژن بوده است.

جدول ٤- رتبه‌بندی شاخص‌های کارآیی I_{FAM} براساس روش تجزیه و تحلیل چندفاکتوری

کاربری زمین	I_{MFA}	ویژگی‌های فیزیکوشیمیایی خاک	I_{MFA}	فراوانی و شاخص‌های تنوع زیستی	I_{MFA}
مرتع گندل گیلان	۷۱/۳۵	K	۹۱/۴۳	غنا	۵۵/۷۲
مرتع دوران دره	۶۶/۹۰	N	۸۹/۳۷	فراوانی	۵۳/۱۸
مرتع ونایی	۵۴/۲۰	Na	۸۹/۳۶	شاخص تنوع شانون وینر	۵۱/۴۲
مرتع کولیدر	۵۰/۰۹	Al	۸۴/۶	شاخص تنوع سیمپسون	۴۰/۹۸
مرتع زواریان	۴۸/۹۹	P	۸۴/۶۲	Lineage C	۷۰/۳۸
زراعی یونجه	۴۸/۴۴	pH	۸۲/۶۵	Lineage H	۶۷/۲۴
زراعی چغندرقند	۴۷/۸۲	Silt	۷۷/۰۵	Lineage I	۶۷/۲۴
مرتع زرشکه	۴۶/۹۵	Sand	۷۶/۲۱	Lineage A	۵۱/۸۷
زراعی شبدر	۴۲/۷۸	Mg	۷۱/۲۲	Lineage E	۵۰/۵۵
زراعی گندم	۴۱/۹	OC	۵۱/۲۸	Lineage G	۴۵/۹۷
		Ca	۴۶/۲۵	Lineage B	۴۵/۶۷
		Clay	۴۳/۰۲	Lineage J	۴۴/۹۲
				Lineage L	۴۳/۸۷
				Lineage F	۴۲/۱۰
				Lineage K	۴۰/۸۴
				Lineage M	۲۷/۸۱
				Lineage D	۳۱/۶۲

بحث و نتیجه‌گیری

در پژوهش حاضر، امتیاز شاخص‌های کارایی در روش تجزیه و تحلیل چندفاکتوری، در کاربری مراتع بیش از زمین‌های زراعی است؛ مرتع گندل گیلان و دوران دره از سایر مراتع، غنای بیشتری دارد. کم‌تاران در مراتع به لحاظ تنوع OTU و تعداد خانواده، از زمین‌های زراعی غنای بیشتری دارند، این درحالی است که تعداد OTUها در هر دو کاربری (زراعی و مراتع) برابر می‌باشد، ولی تفاوت OTUها، نشان از تغییر ترکیب جوامع کرم‌های خاکی می‌باشد؛ از طرفی، بر اساس شاخص کارایی ویژگی‌های فیزیکوشیمیایی خاک (جدول ۴) بیش از کاربری زمین، بر کم‌تاران اثر داشته است.

درک اقدامات کشاورزی از مهمترین عوامل نابودی تنوع زیستی گونه‌ها، بسیار پیچیده است (Foley *et al*., 2011; Dudley and Alexander, 2017) (). در این پژوهش، OTUهای C، H و I از گونهٔ *A. rosea* و *A. Caliginosa* بیشترین شاخص کارآیی براساس تجزیه و تحلیل چندفاکتوری کرم‌های خاکی را داشته است. این گونه‌ها، در برابر عوامل محدودکنندهٔ اکولوژی از جمله آشفتگی خاک، خاک‌ورزی و کشاورزی پرنهاده تاب‌آوری دارند (Ivask *et al*., 2007). OTU E از گونهٔ *A. caliginosa*

به‌دلیل فراوانی زیاد در اکثر زمین‌های زراعی، به‌عنوان گونهٔ شاخص در مقادیر نهاده‌های کشاورزی از جمله آفت‌کش و سموم در زمین‌های زراعی مورد توجه قرار گرفته است (Bart *et al*., 2018). در تحقیق حاضر، این گونه در تمامی زمین‌های زراعی مشاهده شد، حتی تنها OTUدر کشت شبدر، OTU E می‌باشد.

OTU F، منتسب به جنس *Bimastos* در مرتع دوران دره مشاهده گردید. جنس *Bimastos* به‌طور خاص گونهٔ *Bimastos rubidus* در زیستگاه‌های مراتع، دشت‌های سیلابی، در محیط مرطوب بوده‌اند. براساس پراکندگی شناسنامه اقلیمی زاگرس مرکزی، مرتع دوران دره، میزان بارندگی و رطوبت خاک بیشتری دارد (Mcalpine *et al*., 2020). OTU G، منتسب به جنس *Bimastos* در زمین زراعی با کشت چغندرقند مشاهده شده است. از آنجا که زمین زراعی با کشت چغندرقند به‌صورت منظم آبیاری می‌شود و در تمامی فصول سال به‌جز تابستان دارای رطوبت است، تداوم وجود این گونه در زمین‌های چغندرقند به‌دلیل رطوبت زیاد در این مناطق می‌باشد. OTU M، نمایندهٔ جنس *Hormogaster* در مرتع زرشکه و ونایی مشاهد شده که تا به امروز در ایران گزارش نشده است. این جنس در تنوع کم، معمولاً در آب و هوای مرطوب حضور دارد و البته در طیف وسیعی از زیستگاه‌ها زندگی می‌کند (Marchán *et al*., 2018).

OTU J که نمایندهٔ گونهٔ *Esenia nordenskioldi*، تنها در مرتع زواریان مشاهده شده و گستردگی جغرافیایی بالایی دارد (Bessolitsyna, 2012). در طول زمستان و در اعماق نسبتاً کم می‌تواند زنده بماند و عامل اصلی محدودکننده، pH کمتر از ۴/۵ است (Berman and Meshcheryakova, 2013). فراوانی گونهٔ *Allolobophora chlorotica* نمایندهٔ OTU L در مرتع نسبت به زمین‌های زراعی بیشتر بوده است که نتایج پژوهش حاضر موکد این مطلب است (Miller *et al*., 2017).

OTU B، منتسب به جنس *Metaphire* و متعلق به خانوادهٔ Megascolecidae تنها در مرتع زواریان مشاهده شد. این گونهٔ مهاجم (Marichal *et al*., 2010)، قادر به تغذیه و توسعه در محیط‌های با بقایای گیاهی اندک، خاک فقیر از کربن و مواد غذایی، معمولاً پس از آتش‌سوزی جنگل‌ها نسبت به سایر گونه‌های دیگر فراوان‌تر است. شایان ذکر است که در مرتع زواریان معمولاً برای آماده‌سازی زمین و کاشت محصول جدید، زمین‌های زراعی را آتش می‌زنند. به‌علاوه، گاهی مراتع این روستا، در اثر خشکی و دمای بالای هوا، دچار آتش‌سوزی می‌شوند.

OTU A از جنس *Helodrilus*، تنها در زمین زراعی گندم مشاهده شد. براساس نتایج پژوهش‌گران، ۱۲ گونه از این جنس در معرض خطر انقراض قرار گرفته و فراوانی و پراکندگی این جنس بسیار محدود است (Stojanović and Karaman, 2006). اثر کرم خاکی بر افزایش غلظت عناصر غذایی خاک به اثبات رسیده است. اثر کم‌تاران بر افزایش K^+ قابل تبادل در خاک، در مقایسه با سایر کاتیون‌ها Ca^{2+}، Mg^{2+} و Na^+ بیشتر است (Basker *et al*., 1993). در پژوهشی، تجزیه و تحلیل فیزیکی وشیمیایی خاک برای شاخص‌های pH، نیتروژن کل، فسفر و پتاسیم انجام و تأثیر آن‌ها بر روی کرم‌های خاکی بررسی شد. براساس روش تجریه و تحلیل ضرائب همبستگی جزئی پتاسیم خاک، بیشترین اثر را بر کاهش تعداد کرم‌های خاکی داشته است (Iordache *et al*., 2011). براساس تجزیه و تحلیل شاخص کارایی I_{MFA} جدول ۴، پس از پتاسیم در کاتیون‌های تبادلی، Na^+ بیشترین تأثیر را در رابطه با کم‌تاران داشته است. در پژوهش حاضر، مقادیر Na^+ در کشت شبدر و چغندرقند، به‌طور احتمال سبب کاهش تنوع جنس کم‌تاران شده است. در تأیید مطلب می‌توان بیان داشت که در پژوهشی، آبیاری پساب در شالیزار برنج نشان داد که ۲۲ درصد تراکم جمعیت کرم خاکی کاهش یافته است. علاوه بر تأثیر سوء میزان pH، سیلس، مواد آلی و پلی فنول‌ها در پساب، مقدار زیاد سدیم در آب آبیاری سبب کاهش زیست‌توده و اثر منفی بر پویایی جمعیت کرم‌های خاکی شده است (Pradhan and Sahu, 2011). سایر پژوهشگران نیز اثر سمیت سدیم در کاهش وزن کم‌تاران را تأکید می‌کنند و غلظت مؤثر باقیمانده برای مهار ۵۰ درصد کرم‌های نابالغ ۲۰/۹۱ مگاگرم سدیم در هکتار گزارش شده است (Machado *et al*., 2018). شایان ذکر است که میان کم‌تاران با تثبیت زیستی نیتروژن در خاک رابطهٔ معنی‌داری وجود دارد (Van Vliet *et al*., 2004). نیتروژن خاک (جدول ۴) پس از پتاسیم و سدیم بیشترین اثر را بر فراوانی و تنوع کم‌تاران داشته است. شایان ذکر است که این نتیجه با سایر نتایج پژوهشگران هم‌خوانی داشته است (Baturina, 2012). بیشترین مقدار نیتروژن در کشت یونجه دارای تنوع کم‌تاران بیشتر مشاهده شد.

به‌طور کلی، براساس نتایج بررسی ملکولی، در مراتع، سه خانوادهٔ Lumbricidae، Megascolecidae و Hormogastridae و در زمین‌های زراعی تنها یک خانوادهٔ Lumbricidae مشاهده گردید. در زمین‌های زراعی چهار جنس *Helodrilus*، *Aporrectodea*، *Bimastos* و *Allolobophora* و در مراتع شش جنس *Metaphire*، *Aporrectodea*، *Bimastos*، *Esenia*، *Allolobophora* و *Hormogaster* مشاهده گردید. OTUهای C، H و I با بیشترین شاخص کارآیی تنوع زیستی همگی از گونهٔ *Aporrectodea rosea* هستند. در مراتع خانوادهٔ Lumbricidae در جنس *Aporrectodea* و گونه‌های *Esenia* (OTU J)، *Allolobophora* (OTU L) و *Bimastos* (OTU F) مشاهده گردید. OTU L نمایندهٔ جنس *Allolobophora* علاوه بر مراتع، در زمین زراعی با کشت گندم مشاهده شد. خانوادهٔ *Lumbricidae* به‌دلیل دارا بودن ویژگی‌های سازگاری با محیط در مدت زمان کوتاه و قدرت پراکنش بالا به راحتی در مناطق جدید از جمله مزارع، ساکن و جایگزین گونه‌های بومی می‌شوند (Lee, 1985). در این پژوهش، کاربری کشاورزی، در مراتع زاگرس شمالی سبب پراکنش و تهاجم خانوادهٔ Lumbricidae شده است. به‌نظر می‌رسد که تعدادی از OTUها به‌ویژه خانواده‌ها به‌دلیل تغییر کاربری مرتع به زراعی دچار دگرگونی شده و تنها یک خانواده در مزرعه غالب و پایدار باقی‌مانده است. به‌بیان دیگر مداخلات انسانی سبب کاهش جانداران بزرگ جثهٔ خاک به‌ویژه کرم‌های خاکی شده است (Rosa *et al*., 2015). دلیل این امر استفاده از کودهای شیمیایی و سموم دفع آفات در مزارع کشاورزی در نابودی کرم‌های خاکی و کاهش فعالیت‌های آنها می‌باشد (Singh *et al*., 2016). در زمین‌های زراعی، کشت یونجه در مقایسه با سایر کشت‌های گندم، چغندرقند و شبدر بیش‌ترین شاخص کارآیی کرم خاکی را داشته است. زمین‌های زراعی چغندرقند و یونجه تنوع OTU بیشتری در مقایسه با زمین‌های زراعی شبدر و گندم داشته است. یونجه در آیش زمین و برای سالیان متمادی کشت و سبب محیط پایدار برای جوامع زیستی و تنوع موجودات زنده شده است. OTUهای C، H و I همگی جز گونهٔ *Aporrectodea rosea*بیشترین کارآیی را در فراوانی و تنوع زیستی داشته‌اند که فقط در زمین زراعی با کشت یونجه مشاهده شده است. به‌نظر می‌رسد که یونجه با تثبیت نیتروژن نیاز به کود شیمیایی نیتروژن را کاهش می‌دهد و به‌دلیل ریشه‌های عمیق‌تر نسبت به سایر محصولات زراعی موجب حفاظت بیشتر خاک در برابر فرسایش می‌شود (Kwak, 2018). در پژوهش حاضر، کمترین شاخص کارآیی ارزیابی در کاربری زمین سامانهٔ زراعی، گندم است. کاشت مداوم گندم براساس خاک‌ورزی رایج، کمترین میزان پایداری در تنوع زیستی را در کاربری اراضی داشته است (Papini *et al*., 2011). از آنجا که سهم کرم‌های خاکی در ارائهٔ خدمات اکوسیستمی و کیفیت خاک شناخته شده است (Schon and Dominati, 2020) ضروری است که پژوهش‌های بیشتری در راستای تأثیر بوم‌نظام‌های زراعی رایج بر تنوع زیستی کرم‌های خاکی صورت گیرد. گزینش بهترین اقدامات در بوم‌نظام‌های زراعی در جهت تحقق پایداری اکولوژی یک فرآیند بسیار پیچیده است؛ شناخت و درک فاکتورها و شاخص‌های مورد نیاز در ارزیابی گزینهٔ مناسب در راستای افزایش کیفیت و تنوع زیستی خاک ضروری است.

References

Arslan, N., Timm, T., Rojo, V., Vizcaíno, A., Schmelz, R.M., 2018, A new species of *Enchytraeus* (Enchytraeidae, oligochaeta) from the profundal of Lake Van, the world's largest Soda Lake (Turkey, East Anatolia). Zootaxa 4382(2), 367-380.

Bart, S., Amossé, J., Lowe, C.N., Mougin, C., Péry, A.R.R., Pelosi, C., 2018. Aporrectodea caliginosa, a relevant earthworm species for a posteriori pesticide risk assessment: current knowledge and recommendations for culture and experimental design. Environmental Science and Pollution Research 25(34), 33867-33881.

Bartz, C., Luise, M., Gardner, G., Gonc, M., Klauberg, O., Wooster, S., Decaëns, T., Baretta, D., 2014. Earthworm richness in land-use systems in Santa Catarina, Brazil. Applied Soil Ecology 83, 59-70.

Basker, A., Macgregor, A.N., Kirkman, J.H., 1993. Exchangeable potassium and other cations in non-ingested soil and casts of two species of pasture earthworms. Soil Biology and Biochemistry 25(12), 1673-1677.

Baturina, M., 2012. Distribution and diversity of aquatic Oligochaeta in small streams of the middle taiga. Turkish Journal of Zoology 36(1), 75-84.

Berman, D. I., Meshcheryakova, E. N., 2013. Ranges and cold hardiness of two earthworm subspecies (*Eisenia nordenskioldi*, Lumbricidae, Oligochaeta). Biology Bulletin 40(9), 719-727.

Bessolitsyna, E.P., 2012. Ecological and geographic distribution patterns of earthworms (Oligochaeta, Lumbricidae) in landscapes of southern middle Siberia. Russian Journal of Ecology 43(1), 82-85.

Blakemore R.J., 2006. A Series of Searchable Texts on Earthworm Biodiversity, Ecology and Systematics from Various Regions of the World**.** In: Kaneko N, Ito MT (Eds) COE Soil Ecology Research Group, Yokohama National University, Japan. CD-ROM compliant with ICZN (1999: Article 8) for official publication.

Bozorgi, F., Seiedy, M., Malek, M., Aira, M., Pérez-Losada, M., Domínguez, J., 2019. Multigene phylogeny reveals a new Iranian earthworm genus (Lumbricidae: Philomontanus) with three new species. PLoS ONE 14(1), 1-16.

Bozorgi, f., Sidi, M., Malek, M., 2018. Earthworms of North Zagros and investigation of genetic diversity of *Dendrobaena byblica* (Rosa, 1893) species complex. PhD thesis in the field of animal biosystematics. University of Tehran. (In Persian)

Braga, L.P.P., Yoshiura, C.A., Borges, C. D., Horn, M.A., Brown, G.G., Drake, H.L., Tsai, S. M., 2016. Disentangling the influence of earthworms in sugarcane rhizosphere. Scientific Reports 6, 1-13.

Callaham, M.A., Richter, D.D., Coleman, D.C., Hofmockel, M., 2006. Long-term land-use effects on soil invertebrate communities in Stouhern Piedmont soils, USA. European Journal of Soil Biology 42(SUPPL. 1).

Calsamiglia, X., 1990. The financing of the autonomous communities and the principle of solidarity. De Economía Pública.

Chiu, C., Wang, Y., Walther, B. A., Chao, A., 2014. An Improved Nonparametric Lower Bound of Species Richness via a Modified Good–Turing Frequency Formula. September, pp. 671-682.

Curry, J. P., Schmidt, O., 2007. The feeding ecology of earthworms - A review. Pedobiologia 50(6), 463-477.

Darmawan, A., Atmowidi, T., Manalu, W., Bambang Suryobroto., 2017. Land-use change on Mount Gede, Indonesia, reduced native earthworm populations and diversity. Australian Journal of Zoology 65(4), 217–225.

Decaëns, T., Porco, D., Rougerie, R., Brown, G.G., James, S.W., 2013. Potential of DNA barcoding for earthworm research in taxonomy and ecology. Applied Soil Ecology 65, 35-42.

Delgado-Baquerizo, M., Powell, J. R., Hamonts, K., Reith, F., Mele, P., Brown, M. V., Dennis, P.G., Ferrari, B.C., Fitzgerald, A., Young, A., Singh, B.K., Bissett, A., 2017. Circular linkages between soil biodiversity, fertility and plant productivity are limited to topsoil at the continental scale. New Phytologist 215(3), 1186-1196.

Dudley, N., Alexander, S., 2017. Agriculture and biodiversity: a review Agriculture and biodiversity : a review. Biodiversity 8386, 1-5.

Escofier, B., Pagès, J., 1994. Multiple factor analysis (AFMULT package). Computational Statistics and Data Analysis 18(1), 121-140.

EzzatPanah, S., 2008. Taxonomy and biogeography of earthworms of the Chalous watershed and validity of Tarichei model. Master's thesis in Animal Sciences - Animal Biosystematics, Tehran University. (In Persian)

Farhadi, Z., 2011. Identification of earthworms in Kohkiloye and Boyer Ahmad provinces and intraspecies genetic variations of some populations of *Eiseniella tetraedra* species. Master's thesis in Animal Sciences - Animal Biosystematics, Tehran University. (In Persian)

Farhadi, Z., Malek, M., Elahi, E., 2013. Review of the earthworm fauna of Iran with emphasis on Kohgiluyeh and Boyer-Ahmad Province. Zootaxa 3670(4), 440-448.

Fernández, R., Almodóvar, A., Novo, M., Gutiérrez, M., Díaz Cosín, D. J., 2011. A vagrant clone in a peregrine species: Phylogeography, high clonal diversity and geographical distribution in the earthworm *Aporrectodea trapezoides* (Dugès, 1828). Soil Biology and Biochemistry 43(10), 2085-2093.

Fernández, R., Almodóvar, A., Novo, M., Gutiérrez, M., Díaz Cosín, D. J., 2013. Earthworms, good indicators for palaeogeographical studies? Testing the genetic structure and demographic history in the peregrine earthworm *Aporrectodea trapezoides* (Dugès, 1828) in southern Europe. Soil Biology and Biochemistry 58, 127-135.

Foley, J.A., Ramankutty, N., Brauman, K.A., Cassidy, E.S., Gerber, J.S., Johnston, M., Mueller, N.D., O'Connell, C., Ray, D.K., West, P.C., Balzer, C., Bennett, E.M., Carpenter, S.R., Hill, J., Monfreda, C., Polasky, S., Rockström, J., Sheehan, J., Siebert, S., Tilman, D. and Zaks, D.P.M., 2011 Solutions for a Cultivated Planet. Nature 478, 337-342.

Fragoso, C., Brown, G.G., Patrón, J.C., Blanchart, E., Lavelle, P., Pashanasi, B., Senapati, B., Kumar, T., 1997. Agricultural intensification, soil biodiversity and agroecosystem function in the tropics: The role of earthworms. Applied Soil Ecology 6(1), 17-35.

Groffman, P.M., Fahey, T.J., Fisk, M.C., Yavitt, J.B., Sherman, R.E., Bohlen, P.J., Maerz, J.C., 2015. Earthworms increase soil microbial biomass carrying capacity and nitrogen retention in northern hardwood forests. Soil Biology and Biochemistry, 87, 51–58.

Haluschak P., 2006. Laboratory Methods of Soil Analysis Canada-Manitoba Soil Survey, April 2006

Hebert, P.D.N., Gregory, T. R., 2005. The promise of DNA barcoding for taxonomy. Systematic Biology 54(5), 852–859.

Hebert, P.D.N., Gregory, T.R., 2005. The promise of DNA barcoding for taxonomy. In Systematic Biology. Oxford Academic 54(5), 852-859.

Hebert, P.D.N., Penton, E.H., Burns, J.M., Janzen, D.H., Hallwachs, W., 2004. Ten species in one: DNA barcoding reveals cryptic species in the neotropical skipper butterfly Astraptes fulgerator. Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America 101(41), 14812-14817.

Hendrix, P. F., Bohlen, P. J., 2002. Exotic earthworm invasions in North America: Ecological and policy implications. BioScience 52(9), 801-811.

Hosseini, A., Malek, M., 2014. Taxonomy and biodiversity of earthworms of Chaharmahal and Bakhtiari province. Master's thesis in the field of animal sciences-animal biosystematics. University of Tehran. (In Persian)

Huang, J., Xu, Q., Sun, Z. J., Tang, G. L., Su, Z. Y., 2007. Identifying earthworms through DNA barcodes. Pedobiologia 51(4), 301-309.

Iordache, M., Gaica, I., Borza, I., 2011. Influence of The Management System of Soil and Plant Culture on Earthworms (Oligochaeta: Lumbricidae) in Conditions of Banat Plain. Research Journal of Agricultural Science 43(3), 374-384.

Ivask, M., Kuu, A., Sizov, E., 2007. Abundance of earthworm species in Estonian arable soils. European Journal of Soil Biology 43(SUPPL. 1), 39–42.

Kiss, T.B.W., Chen, X., Ponting, J., Sizmur, T., Hodson, M.E., 2021. Science of the Total Environment Dual stresses of flooding and agricultural land use reduce earthworm populations more than the individual stressors. Science of the Total Environment 754, 142102.

Kwak, S. S., 2018. Agroforestry Biotechnology for Sustainable Agriculture on Marginal Lands. 3(1), 51-53.

Latif, R., Malek, M., 2008. Studying the taxonomy and biogeography of earthworms in the watershed of Haraz and Jajroud rivers and using earthworms as biomarkers. Master's thesis in the field of animal sciences - animal biosystematics. University - Tehran. (In Persian)

Latif, R., Malek, M., Csuzdi, C., 2017. New earthworm records from the Central Zagros Mountain, Iran with description of a new species. North-Western Journal of Zoology 13(2), 326–336.

Latif, R., Malek, M., Sari, A., Mirshamsi Kakhki, F., 2017. Earthworms of Central Zagros and study of genetic diversity of *Esenia fetida* (Savigny, 1826). PhD thesis in the field of animal biosystematics. University of Tehran. (In Persian)

Lavelle, P., Decaëns, T., Aubert, M., Barot, S., Blouin, M., Bureau, F., Margerie, P., Mora, P., Rossi, J. P. 2006. Soil invertebrates and ecosystem services. European Journal of Soil Biology 42(SUPPL. 1).

Machado, H.M., Moura, N., Sobrinho, A., Elizabeth, M., Correia, F., Osvaldo, M., Magalhães, L., Sotuo, E., Lima, A., 2018. Toxicity of Drilling Waste from Oil Wells on Oligochaeta 25(4), 1–8.

Magnussen, S., Boyle, T.J.B., 1995. Estimating sample size for inference about the Shannon-Weaver and the Simpson indices of species diversity. Forest Ecology and Managemen 7, 35(9), 14.

Marchán, D. F., Fernández, R., Sosa, I. De, Sánchez, N., Cosín, D.J.D., Novo, M., 2018. Integrative systematic revision of a Mediterranean earthworm family : Hormogastridae (Annelida, Oligochaeta). *CSIRO*, Invertebrate Systematics pp. 652-671.

Marichal, R., Martinez, A. F., Praxedes, C., Ruiz, D., Carvajal, A. F., Oszwald, J., del Pilar Hurtado, M., Brown, G.G., Grimaldi, M., Desjardins, T., Sarrazin, M., Decaëns, T., Velasquez, E., Lavelle, P., 2010. Invasion of Pontoscolex corethrurus (Glossoscolecidae, Oligochaeta) in landscapes of the Amazonian deforestation arc. Applied Soil Ecology 46(3), 443-449.

Mcalpine, D.F., Sullivan, S.A., Mcalpine, F.J.T., Lewis, J.H., Reynolds, J.W., 2020. Earthworms (Lumbricidae and Sparganophilidae) of the grand lake protected natural area, New Brunswick, Canada. 25(6).

Mirmansaf, H., 2012. Taxonomy of earthworms of Tehran province and the role of some of them as biological indicators and investigation of the life cycle of *Eisenia fetida* species in laboratory conditions. Master's thesis, Tehran University. (In Persian)

Nadi Moghadam, N., 2015. Earthworms of the watershed of Varenge River, Taleghan and Shurroud in Tehran province and the study of the life cycle of *Eisenia fetida*. Biology - animal sciences - animal biosystematics master's thesis Tehran University. (Savigny, 1826). (In Persian)

Nguyen, L.-T., Schmidt, H.A., Von Haeseler, A., Minh, B.Q., 2015. IQ-TREE: a fast and effective stochastic algorithm for estimating maximum-likelihood phylogenies. Molecular Biology and Evolution 32(1), 268-274.

Nicod, C., Leys, B., Ferrez, Y., Manneville, V., Mouly, A., Greffier, B., Hennequin, C., Bouton, Y., Prévost-Bouré, N.C., Gillet, F., 2019. Towards the assessment of biodiversity and management practices in mountain pastures using diagnostic species? Ecological Indicators, 107(, 105584.

Nielsen, U. N., Wall, D. H., Six, J., 2015. Soil Biodiversity and the Environment. Annual Review of Environment and Resources 40, 63-90.

Novo, M., Almodóvar, A., Díaz-Cosín, D.J., 2009. High genetic divergence of hormogastrid earthworms (Annelida, Oligochaeta) in the central Iberian Peninsula: Evolutionary and demographic implications. Zoologica Scripta 38(5), 537–552.

Novo, M., Almodóvar, A., Fernández, R., Trigo, D., Díaz Cosín, D.J., 2010. Cryptic speciation of hormogastrid earthworms revealed by mitochondrial and nuclear data. Molecular Phylogenetics and Evolution 56(1), 507–512.

Nylander, J.A.A., 2004. MrModeltest Version 2. Program Distributed by the Author. Evolutionary Biology Centre, Uppsala University, Uppsala.

Orgiazzi, A., Panagos, P., 2018. Soil biodiversity and soil erosion: It is time to get married: Adding an earthworm factor to soil erosion modelling. Global Ecology and Biogeography 27(10), 1155-1167.

Papini, R., Valboa, G., Favilli, F., Abate, G. L., 2011. Agriculture , Ecosystems and Environment Influence of land use on organic carbon pool and chemical properties of Vertic Cambisols in central and southern Italy. Agriculture, Ecosystems and Environment 140(1–2), 68-79.

Pérès, G., Bellido, A., Curmi, P., Marmonier, P., Cluzeau D., 2010. Relationships between earthworm communities and burrow numbers under different land use systems. Pedobiologia 54(1), 37-44.

Popa, O.P., Murariu, D., Popa, L.O., 2006. Comparison of four DNA extraction methods from invasive freshwater bivalve species (Mollusca, Bivalvia) in Romanian fauna invasive freshwater bivalve species mollusca : Travaux Du Muséum National d'Histoire Naturelle "Grigore Antipa"Antipa", 527-536.

Pradhan, A., Sahu, S.K., 2011. Effect of Rice Mill Waste Water on Population, Biomass, Rate of Reproduction and Secondary Production of Drawida willsi (Oligochaeta) in Rice Field Agroecosystem Effect of Rice Mill Waste Water on Population, Biomass, Rate of Reproduction and Second. March. IJRRAS

Prendergast-Miller, M.T., Jones, D., Hodson, M.E., 2017. Temporal variation in earthworm abundance and diversity along hedgerow-to-field transects in contrasting agricultural land uses. 19th EGU General Assembly, EGU2017.

Prudhomme, C., Reed, D.W., 1998. Relationship Between Extreme Daily Precipitation and Topography in a Mountainous Region : A Case Studt In Scotland. International Journal of Climatology 18, 1439-1453.

Reynolds, J.W., 2018. Preliminary Key to Turkish Megadriles (Annelida, Clitellata, Oligochaeta), Based on External Characters, Insofar as Possible. John Warren Reynolds 1 and Ý brahim Mete Mý sýrlýo ðlu 2 1. 23(11).

Rosa, M. G. da, Filho, O.K., Bartz, M. L.C., Mafra, Á.L., Sousa, J.P.F.A. de, Baretta, D., 2015. Divisão 2 - Processos e propriedades do solo Macrofauna Edáfica e Atributos Físicos e Químicos em Sistemas de Uso do Solo no Planalto Catarinense.

Rougerie, R., Decaëns, T., Deharveng, L., Porco, D., James, S. W., Chang, C. H., Richard, B., Potapov, M., Suhardjono, Y., Hebert, P.D.N., 2009. DNA barcodes for soil animal taxonomy. Pesquisa Agropecuaria Brasileira 44(8), 789-802.

Sala, O.E., Chapin, F.S., Armesto, J.J., Berlow, E., Bloomfield, J., Dirzo, R., Huber-Sanwald, E., Huenneke, L. F., Jackson, R. B., Kinzig, A., Leemans, R., Lodge, D. M., Mooney, H.A., Oesterheld, M., Poff, N.L.R., Sykes, M.T., Walker, B.H., Walker, M., Wall, D.H., 2000. Global biodiversity scenarios for the year 2100. Science, 287(5459), 1770-1774.

Sanchooli, N., Roohi Aminjan, A., Latif, R., Sarabandi, V., Riki, A., 2019. Earthworms from northern parts of Sistan and Balouchestan Province, Iran (Oligochaeta , Lumbricidae). Iranian Journal of Animal Biossystematics 15(2), 147-156.

Sankar, A.S., Patnaik, A., 2018. Impact of soil physico-chemical properties on distribution of earthworm populations across different land use patterns in southern India. The Journal of Basic and Applied Zoology 79, 1-18

Santiba, C., Ginocchio, R., Varnero, T., 2007. Evaluation of nitrate leaching from mine tailings amended with biosolids under Mediterranean type climate conditions. Soil Biology and Biochemistry 39(3), 1333-1340.

Schon N.L., Dominati E.J., 2020. Valuing earthworm contribution to ecosystem services delivery, Ecosystem Services, Volume 43, 101092, ISSN 2212-0416,

Sharma, A., Sonah, H., Deshmukh, R. K., Gupta, N.K., Singh, N.K., Sharma, T.R., 2011. Analysis of genetic diversity in earthworms using DNA markers. Zoological Science 28(1), 25-31.

Shekhovtsov, S.V., Berman, D.I., Peltek, S.E., 2015. Phylogeography of the earthworm *Eisenia nordenskioldi nordenskioldi* (Lumbricidae, Oligochaeta) in northeastern Eurasia. Doklady Biological Sciences 461(1), 85-88.

Shekhovtsov, S.V., Golovanova, E.V., Peltek, S.E., 2013. Cryptic diversity within the Nordenskiold's earthworm, *Eisenia nordenskioldi* subsp. Nordenskioldi (Lumbricidae, Annelida). European Journal of Soil Biology 58, 13-18.

Singh, S., Singh, J., Pal, A., 2016. Earthworm as ecological engineers to change the physico-chemical properties of soil : Soil vs vermicast. Ecological Engineering 90, 1–5.

Spellerberg, I. F., Ecology, G., Article, O., Zealand, N., 2003. Ecological sounding a tribute to Claude Shannon (1916–2001) and a plea for more rigorous use of species richness, species diversity and the' Shannon–Wiener' Index Simpson diversity and the Shannon – Wiener index as special cases of a generalized. Ecography 12, 177-179.

Spurgeon, D.J., Keith, A.M., Schmidt, O., Lammertsma, D.R., Faber, J.H., 2013. Land-use and land-management change: relationships with earthworm and fungi communities and soil structural properties. BMC Ecology.

Stojanović, M., Karaman, S., 2006. Threat status and distribution of the earthworm genus *Helodrilus Hoffmeister*, 1845; sensu Zicsi 1985, on the Balkans and the neighboring regions. Biodiversity and Conservation 15(14), 4601-4617.

Stojanović, M., Karaman, S., 2006. Threat status and distribution of the earthworm genus Helodrilus Hoffmeister, 1845; sensu Zicsi 1985, on the Balkans and the neighboring regions. Biodiversity and Conservation 15(14), 4601-4617.

Thakuria, D., Schmidt, O., Finan, D., Egan, D., Doohan, F.M., 2010. Gut wall bacteria of earthworms: A natural selection process. International Society for Microbial Ecology *4*(3), 357–366.

Trakhtenbrot, A., Nathan, R., Perry, G., Richardson, D. M., 2005. The importance of long-distance dispersal in biodiversity conservation. Diversity and Distributions 11(2), 173-181.

Visbal-Cadavid, D., Martínez-Gómez, M., Escorcia-Caballero, R., 2020. Exploring university performance through multiple factor analysis: A case study. Sustainability (Switzerland), 12(3), 1-24.

Walkey, B., 1934. An examination of the Degtjareff method for determining soil organic matter, and a proposed modification of the chromic acid titration method.

Ward, R.D., Holmes, B.H., O'Hara, T.D., 2008. DNA barcoding discriminates echinoderm species. Molecular Ecology Resources 8(6), 1202-1211.

Winding, A., Rønn, R., Hendriksen, N. B., 1997. Bacteria and protozoa in soil microhabitats as affected by earthworms. Biology and Fertility of Soils 24(2), 133-140.

Zarik Mubaraki, F., 2009. Study of earthworms in Ardabil, East Azerbaijan and West Azerbaijan and molecular investigation of some *Dendrobaena byblica* populations. Master's thesis in Animal Sciences - Animal Biosystematics, Tehran University. (In Persian)

Zhi-ming, Q. I., Shao-yuan, F., Helmers, M.J., 2012. Modeling Cadmium Transport in Neutral and Alkaline Soil Columns at Various Depths 1. Pedosphere. An International Journal 22(3), 273-282.