

پراکنش نماتود سیستی غلات، *Heterodera filipjevi*، در مزارع گندم استان اصفهان بر اساس درونیایی و ارتباط فاکتورهای آب و هوایی با تراکم جمعیت آن*

هادی کریمی‌پور فرد^۱، ابراهیم پورجم^{۱*}، زهرا تنها معافی^۳ و ناصر صفایی^۱

(تاریخ دریافت: ۱۳۹۴/۱۱/۶؛ تاریخ پذیرش: ۱۳۹۵/۵/۷)

چکیده

این تحقیق به منظور شناسایی، تعیین درصد آلودگی، تراکم جمعیت و ترسیم نقشه پراکنش نماتود سیستی غلات بر اساس درونیایی با سامانه اطلاعات جغرافیایی (GIS)، همچنین بررسی ارتباط عوامل آب و هوایی با تراکم جمعیت و پراکنش گونه غالب در مزارع گندم استان اصفهان انجام شده است. مجموعاً ۲۸۰ نمونه خاک و ریشه از ۱۴۰ مزرعه گندم شهرستان‌های استان طی سال‌های ۱۳۹۱-۱۳۹۳ به صورت تصادفی جمع‌آوری گردید. سیستم‌ها از نمونه‌های خاک استخراج و تعداد سیستم‌ها و تخم و لارو سن دوم درون هر نمونه شمارش گردید. شناسایی گونه بر اساس مطالعات ریخت‌شناسی و ریخت‌سنجی و همچنین مشخصات مولکولی انجام شد. با بهره‌گیری از تکنیک درونیایی با استفاده از نرم‌افزار Arc GIS نقشه پیوسته تراکم جمعیت تخم و لارو سن دوم و برآیند جهت پیشرفت بیماری برای استان تعیین شد. جهت و میزان همبستگی جمعیت تخم و لارو سن دوم با برخی عوامل آب و هوایی و ارتفاع از سطح دریا پس از تهیه نقشه‌های پیوسته آنها در محیط GIS با استفاده از ضریب همبستگی پیرسون تعیین گردید. نتایج این تحقیق نشان داد تنها گونه *Heterodera filipjevi* از نماتودهای سیستی غلات در استان اصفهان انتشار دارد و از مجموع ۱۴۰ نمونه خاک ۵۶/۴ درصد آنها با میانگین جمعیت ۶/۰۲ تخم و لارو سن دوم در گرم خاک به این گونه آلوده بودند. بر اساس درونیایی بیشترین میانگین تراکم جمعیت به ترتیب مربوط به شهرستان‌های اردستان، نطنز، کاشان، آران و بیدگل، مبارکه، نائین و اصفهان بود. میزان تراکم جمعیت این نماتود با میانگین دما همبستگی مستقیم و با میانگین بارش، درصد رطوبت نسبی و همچنین ارتفاع همبستگی معکوس نشان داد.

کلیدواژه: شناسایی، نماتود انگل گیاهی، GIS

* بخشی از رساله دکتری نگارنده اول، ارائه شده به دانشکده کشاورزی دانشگاه تربیت مدرس

** مسئول مکاتبات، پست الکترونیکی: pourjame@modares.ac.ir

۱- به ترتیب دانشجوی دکتری، استاد و دانشیار بیماری‌شناسی گیاهی، گروه بیماری‌شناسی گیاهی، دانشکده کشاورزی دانشگاه تربیت مدرس

۲- بخش تحقیقات گیاه‌پزشکی، مرکز تحقیقات و آموزش کشاورزی و منابع طبیعی کهگیلویه و بویر احمد، سازمان تحقیقات، آموزش و ترویج کشاورزی، یاسوج، ایران

۳- استاد پژوهش، مؤسسه تحقیقات گیاه‌پزشکی کشور، سازمان تحقیقات، آموزش و ترویج کشاورزی، تهران، ایران

Distribution of cereal cyst nematode, *Heterodera filipjevi*, in wheat fields of Isfahan province based on interpolation and relationship of climatic factors with its population densities*

H. Karimipour Fard^{1,2}, E. Pourjam^{1**}, Z. Tanha Maafi³, and N. Safaie¹

(Received: 26.1.2016; Accepted: 28.7.2016)

Abstract

This study was conducted to identify cereal cyst nematodes (CCNs), distribution and disease incidence, population density and preparing map of distribution based on interpolation using geographic information system (GIS), as well as determination of relationship between climatic factors with population density of dominant species. Totally 280 soil and root samples were randomly collected from 140 wheat fields of Isfahan province during 2012-2014. The soil samples were processed for cyst extraction and number of cysts, second stage juveniles (J2) and eggs inside each sample were counted. Species was identified based on morphological and morphometric features and molecular characters. Analysis was performed by Arc GIS software using interpolation technique for determination of raster maps of population density of J2, eggs and direction of disease progression. After preparing the raster maps, direction and the correlation of J2 and eggs populations with some climatic factors and altitude determined by GIS using Pearson's correlation coefficient. *Heterodera filipjevi* was the only species of cereal cyst nematodes found in Isfahan province, and 56.4% of soil samples were contained *H. filipjevi* with an average population of 6.02 eggs and J2/g of soil. Based on interpolation of population density, Ardestan, Natanz, Kashan, Aran va Bidgol, Mobarekeh, Naein and Isfahan districts had the most mean population density of *H. filipjevi*, respectively. Population density of the nematode showed direct correlation with the long term mean of temperature and inverse correlation with the long term mean of precipitation, relative humidity percent and altitude.

Keywords: GIS, identification, plant-parasitic nematode

* Part of Ph.D. Thesis of The First Author, Submitted to Faculty of Agriculture, Tarbiat Modares University, Tehran, Iran.

** Corresponding author's E-mail: pourjame@modares.ac.ir

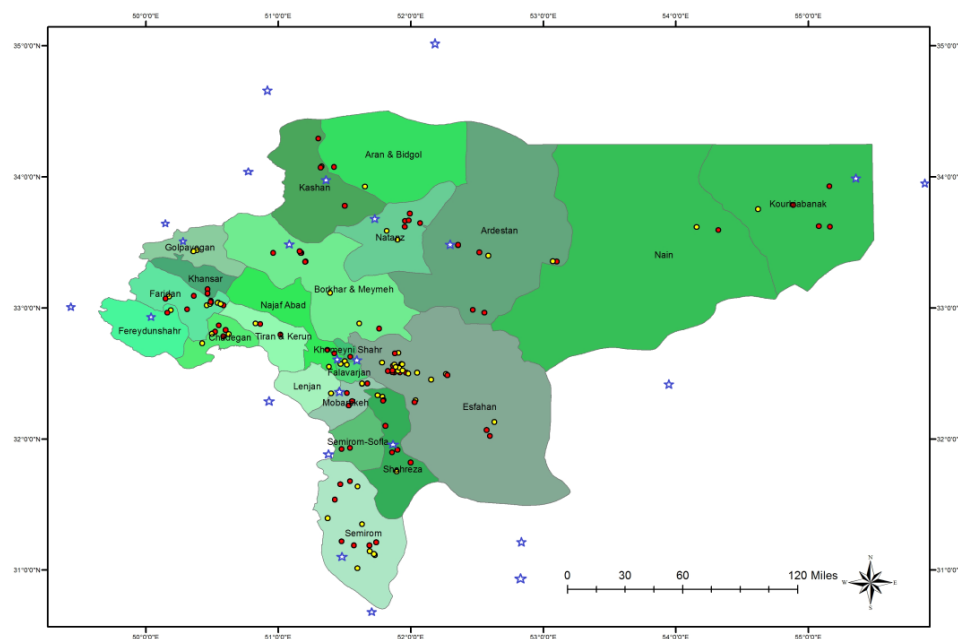
1. Ph.D. student, Professor and Associate Professor of Plant Pathology, respectively, Plant Pathology Department, Faculty of Agriculture, Tarbiat Modares University, Tehran, Iran
2. Plant Protection Research Department, Kohgiluyeh and Boyerahmad Agricultural and Natural Resources Research and Education Center, AREEO, Yasouj, Iran
3. Research professor, Iranian Research Institute of Plant Protection, Agricultural Research, Education and Extension Organization (AREEO), Tehran, Iran

مقدمه

خاورمیانه نشان‌دهنده گسترش زیاد آن در این مناطق است (Smiley & Nicol 2009). چهار گونه از نماتودهای سیستمی غلات شامل *H. filipjevi*, *H. avenae*, *H. latipons* و *H. hordecalis* از ایران گزارش گردیده که از بین آنها دو گونه اول شایع‌ترین گونه در مزارع غلات ایران بوده‌اند (Tanha Maafi et al. 2007). در سایر مطالعات صورت گرفته در ایران از جمله استان مرکزی (Hajihassani et al. 2008)، استان‌های همدان، کرمانشاه، مرکزی، آذربایجان شرقی، آذربایجان غربی، کردستان، خراسان و گلستان (Tanha Maafi et al. 2009) و استان خوزستان (Ahmadi & Tanha Maafi 2014) نیز گونه *H. filipjevi* گزارش گردیده است. نتیجه کلیه تحقیقات صورت گرفته در این زمینه نشان‌دهنده غالبیت گونه *H. filipjevi* در اکثر مناطق کشت غلات می‌باشد (Tanha Maafi et al. 2010). در صورتی که پراکندگی گونه *H. avenae* به مناطق غربی و جنوب غرب ایران محدود می‌گردد (Tanha Maafi et al. 2010, 2012). در استان اصفهان نماتودهای گروه *H. avenae* برای اولین بار توسط طلاچی (Talachian et al. 1976) گزارش گردید. در بررسی‌هایی که پیرامون شناسایی نماتودهای سیستمی غلات در استان اصفهان صورت پذیرفته، گونه *H. filipjevi* از مزارع گندم و جو این استان گزارش گردیده است (Damad zadeh & Ansaripour 2001).

داده‌های پیوسته به دلیل پیوستگی که دارند قابل اندازه‌گیری در تمام سطوح نیستند و به طور نمونه‌ای برداشت می‌شوند. برآورد میزان متغیر پیوسته را در مناطق نمونه‌برداری نشده در داخل ناحیه‌ای که مشاهدات نقطه‌ای پراکنده شده‌اند درونیابی (Interpolation) می‌گویند. درونیابی تغییرات فضایی متغیری پیوسته را نشان می‌دهد. به عبارت دیگر درونیابی روش برآورد ارزش پدیده‌ها در

هر چند بیماری‌های برگ گندم از جمله زنگ‌ها برای مدت‌های طولانی به عنوان مهم‌ترین عوامل کاهش‌دهنده محصول گندم مطرح بودند اما کمتر به عوامل بیماری‌زای خاک‌زاد توجه گردیده است. نماتودهای سیستمی غلات (cereal cyst nematodes, CCNs) یکی از عوامل زنده تهدیدکننده تولید گندم در جهان مخصوصاً در شرایط دیم و تنش‌های ناشی از خشکی و خشک‌سالی به شمار می‌آیند (Braun et al. 2009). گروه *Heterodera avenae* شامل ۱۲ گونه معتبر و چند گونه توصیف نشده است که باعث آلودگی در غلات و علف‌های هرز خانواده Poaceae می‌گردند (Rivoal & Cook 1993, Smiley & Nicol 2009). مهم‌ترین گونه‌های نماتودهای سیستمی غلات شامل *H. filipjevi* و *H. avenae* Wollenweber, 1924 و *H. latipons* Franklin و (Madzidov) Steler, 1984 می‌باشد (Rivoal & Cook 1993). شایع‌ترین گونه گزارش شده از گروه نماتودهای سیستمی غلات گونه *H. avenae* است که از کشورهای اروپایی (Rivoal & Cook 1993)، استرالیا (Brown 1984)، هند (Khan et al. 1990)، شمال آمریکا (Miller 1986)، کشورهای شمال آفریقا و غرب آسیا شامل مراکش، تونس، پاکستان و لیبی گزارش شده است (Sikora 1988, Al-yahya et al. 1998). اخیراً پراکنش و خسارت گونه *H. filipjevi* وسیع‌تر و بیشتر از آنچه قبلاً تعیین گردیده بود، برآورده شده است؛ به طوری که میانگین خسارت این گونه در محصول گندم در ترکیه ۴۰٪ تعیین گردیده است (Rivoal & Nicol 2009). گزارش این گونه از شمال آمریکا و همچنین گزارش‌های اخیر آن از شمال اروپا و اقلیم‌های مدیترانه‌ای مناطق مرکزی و شرق آسیا و همچنین



شکل ۱. نقاط نمونه برداری شده در استان اصفهان (نقاط قرمز دارای آلودگی و نقاط زرد فاقد آلودگی به *Heterodera filipjevi*) و موقعیت مکانی ایستگاه‌های هواشناسی مورد مطالعه (ستاره‌های آبی رنگ).

Fig 1. Sample locations in Isfahan province (Red and yellow dots are infested and not infested to *Heterodera filipjevi*, respectively), and position of the studied meteorological stations (Blue stars).

۱۴۰ مزرعه گندم در شهرستان‌های مختلف استان اصفهان (شکل ۱) طی سال‌های ۱۳۹۱-۱۳۹۳ در زمان پر شدن دانه‌ها تا زمان برداشت جمع‌آوری گردید. نمونه‌برداری به صورت تصادفی از مزارع مذکور صورت پذیرفت و تعداد نمونه‌های جمع‌آوری شده از هر شهرستان بر مبنای سطح زیر کشت گندم شهرستان متفاوت بود (جدول ۱، Anonymous 2013).

از هر مزرعه تقریباً به وسعت یک هکتار ۱۰ زیرنمونه با حرکت به صورت زیگزاگ برداشت شد. نمونه‌ها با هم مخلوط و به عنوان یک نمونه کلی در نظر گرفته شد. در هنگام نمونه‌برداری مختصات جغرافیایی هر نمونه، شامل طول و عرض جغرافیایی و ارتفاع از سطح دریا، با دستگاه GPS ثبت گردید. ۲۰۰ گرم از خاک هر نمونه در دمای اتاق خشک و با استفاده از روش فیف فنویک (Fenwick 1940) سیستم‌ها استخراج و پس از شمارش تعداد

مکان‌های نمونه‌برداری نشده با استفاده از مقادیر معلوم در نقاط همسایه است. خروجی درونیابی می‌تواند به عنوان یک نقشه یا لایه در تحلیل GIS مورد استفاده قرار گیرد (Ghahroudi Tali et al. 2015).

هدف از انجام این تحقیق تعیین گونه غالب نماتودهای سیستی غلات و درصد آلودگی مزارع گندم استان اصفهان، همچنین تعیین تراکم جمعیت، نقشه آلودگی به تفکیک شهرستان در شرایط عادی و بر اساس درونیابی با سامانه اطلاعات جغرافیایی (GIS) و همچنین بررسی ارتباط عوامل آب و هوایی با تراکم جمعیت و پراکنش گونه غالب در استان اصفهان بود.

مواد و روش‌های بررسی

نمونه‌برداری و استخراج نماتود از خاک

مجموعاً ۲۸۰ نمونه خاک و ریشه (به نسبت مساوی) از

جدول ۱. سطح زیر کشت گندم در استان اصفهان طی سال‌های ۱۳۸۹-۱۳۹۱ و تعداد نمونه‌های خاک جمع‌آوری شده از هر شهرستان.

Table 1. Wheat area in Isfahan province during 2010-2012 and number of collected soil samples from each district.

District	Area (ha)		No. of soil samples
	2010-2011	2011-2012	
Aran va Bidgol	1,500	1,400	2
Ardestan	3,900	3,500	9
Borkhar va Meymeh	9,500	10,230	9
Chadegan	6,931	7,700	9
Falavarjan	1,400	1,700	3
Fereydan	9,400	8,200	14
Fereydounshahr	4,200	3,900	2
Golpayegan	3,700	3,300	2
Isfahan	14,595	28,000	28
Kashan	1,400	1,200	5
Khansar	952	900	3
Khomeynishahr	500	500	1
Khour va Biabanak	175	250	5
Lenjan	600	500	1
Mobarakeh	1,438	2,000	6
Naein	307	375	2
Najafabad	837	800	3
Natanz	1,494	1,250	7
Semirom	8,900	11,300	15
Semirom sofla	2,000	1,800	2
Shahreza	4,600	3,800	9
Tiran va Karvan	1,825	1,800	3

سیست‌های هر نمونه سیست‌ها با سیست خردکن، شکسته شدند و جمعیت تخم و لارو سن دوم هر نمونه با اسلاید شمارش برای ۲۰۰ گرم خاک تعیین گردید. هم‌زمان با نمونه‌برداری از خاک ۱۰ ریشه گیاه گندم نیز برداشت و جهت مشاهده ماده‌های بالغ با استفاده از استریومیکروسکوپ مورد بررسی قرار گرفتند.

شناسایی و تعیین تراکم جمعیت

جهت شناسایی نماتودهای سیستی جمع‌آوری شده، از هر نمونه حاوی سیست، مخروط انتهایی سه سیست برش داده شد و پس از قرار دادن آنها در گلیسرین ژل، مطالعات ریخت‌شناسی و ریخت‌سنجی روی آنها صورت پذیرفت. لاروهای سن دوم مربوط به هر سیست نیز جداگانه تثبیت و پس از انتقال به گلیسرین خالص از آنها اسلایدهای

میکروسکوپی دائمی تهیه گردید (De Grisse 1969). شناسایی گونه‌ها بر مبنای مشخصات ریخت‌شناسی و ریخت‌سنجی (Wouts & Baldwin 1998, Handoo 2002) و همچنین مشخصات مولکولی (Subbotin *et al.* 2000) صورت پذیرفت.

جهت استخراج DNA، یک عدد سیست از هرگونه در ۸ میکرولیتر آب دو بار تقطیر خرد و سپس به تیوب‌های حاوی ۱۲ میکرولیتر بافر worm lysis، 500 mM KCL، 100m M Tris- HCL pH = 8، 15 mM mgcl2، 10mm Dithiotreitol، 4.5% Tween 20 انتقال داده شده و سپس همگن شدند. ژن ITS rRNA با استفاده از آغازگرهای Joyce *et al.* (Reverse AB28 و Forward TW81) (1994) تکثیر و محصول PCR با کیت استخراج QIA quick GEL (Qiagen) خالص‌سازی شدند. با استفاده از

روش برش آنزیمی محصول ITS تکثیر شده توسط آنزیم‌های برشی، برش داده شدند. برای این منظور ۳ تا ۶ میکرولیتر از محصول PCR به وسیله آنزیم‌های *HinfI*، *RsaI* و *PstI* بر مبنای دستورالعمل برش داده شدند. جداسازی قطعات DNA برش داده شده بر روی ژل آگارز در بافر 1.5%TAE صورت گرفت و با اتیدیوم بروماید رنگ‌آمیزی و با استفاده از gel documentation مرئی و تصویربرداری گردید.

تراکم جمعیت نماتود سیستی غلات شامل تعداد سیست و تعداد تخم و لارو سن دوم داخل سیست در همه نمونه‌های جمع‌آوری شده تعیین گردید (Abido et al. 2005). تراکم جمعیت نماتودهای سیستی غلات بر مبنای الگوی ارائه شده توسط احمدی و تنها معافی (Ahmadi & Tanha Maafi 2014) دسته‌بندی و ارزشیابی گردید. بر این اساس صفر برای عدم آلودگی، آلودگی کم برای میانگین جمعیت کمتر از ۴۰۰، آلودگی متوسط برای جمعیت ۴۰۱-۱۰۰۰، آلودگی بالا ۱۰۰۱-۲۰۰۰ و برای آلودگی خیلی بالا جمعیت تخم و لارو بیش از ۲۰۰۱ در ۲۰۰ گرم خاک، در نظر گرفته شد. میانگین تراکم جمعیت برای شهرستان‌های استان محاسبه و بر اساس الگوی مذکور دسته‌بندی و نقشه پراکندگی و میزان آلودگی نماتود سیستی غلات با استفاده از نرم‌افزار Arc GIS version 9.3 ترسیم گردید.

درون‌یابی آلودگی و تراکم جمعیت براساس سامانه GIS

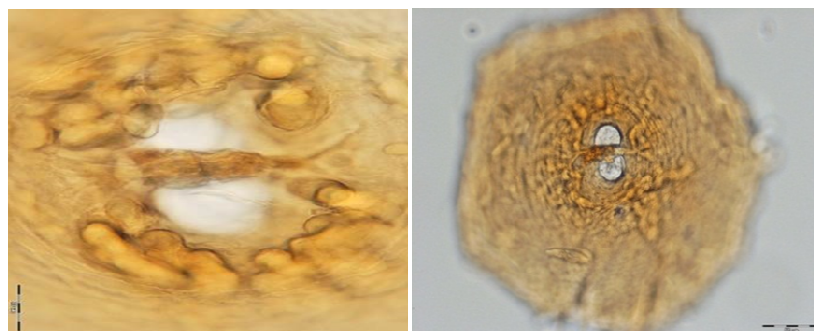
در این مطالعه با استفاده از نقاط معلوم نمونه‌برداری شده که پراکنش نامنظم دارند و با بهره‌گیری از تکنیک درون‌یابی، تغییرات فضایی پیوسته نقاط نامعلوم و نمونه‌برداری نشده با استفاده از نرم‌افزار Arc GIS 9 نمایش داده شد (شکل ۵).

با توجه به اینکه واریانس تعداد تخم و لاروهای سن

دوم شمارش شده بسیار زیاد بود، لذا با استفاده از روش Inverse Distance Weighted (IDW) عملیات درون‌یابی به انجام رسید و نقشه پیوسته تعداد تخم و لارو و نقشه برآیند جهت پیشرفت بیماری برای کل استان به دست آمد. در روش IDW از فاصله به عنوان وزن متغیر معلوم در پیش‌بینی نقاط اندازه‌گیری نشده استفاده می‌شود زیرا نقش متغیر پیوسته در تأثیرگذاری، با فاصله از مکان نقطه مجهول کاهش می‌یابد. بنابراین هرچه فاصله داده معلوم از نقطه مجهول افزایش می‌یابد، وزن‌ها براساس فاصله کاهش می‌یابد. درون‌یابی در این شیوه به این صورت برآورد می‌شود که محدوده مورد نظر تبدیل به ماتریسی با سلول‌های هم‌اندازه می‌شود. مختصات مکانی این ماتریس روشن است و دارای واحد اندازه‌گیری می‌باشد (Ghahroudi Tali et al. 2015). در این شبکه مقدار متغیر در سلول‌هایی معلوم یا به عبارتی اندازه‌گیری شده است و در سایر سلول‌ها این میزان نامعلوم است. سلول‌هایی که ارزش آن نامعلوم است با استفاده از سلول‌های اطراف در یک شعاع مشخص با استفاده از نرم‌افزار Arc GIS برآورد شدند.

تعیین جهت و میزان همبستگی جمعیت تخم و لارو سن دوم با برخی فاکتورهای هواشناسی

برای بررسی نوع ارتباط بین تعداد تخم و لارو با برخی عوامل آب و هوایی و ارتفاع از سطح دریا، بعد از استخراج داده‌های هواشناسی ایستگاه‌های موجود در استان اصفهان و برخی ایستگاه‌های اطراف استان (شکل ۱). برای فاکتورهای میانگین دمای سالیانه، میانگین بارندگی سالیانه و میانگین درصد رطوبت نسبی سالیانه نیز نقشه‌های پیوسته تهیه گردید. همچنین به منظور بررسی ارتباط بین تعداد تخم و لارو سن دوم با ارتفاع از سطح دریا از مدل رقومی ارتفاع (Digital Elevation Model) بهره‌گیری شد.



شکل ۲. مخروط انتهایی *Heterodera filipjevi*: پنجره خروجی لارو (سمت راست) و ماهیچه‌های نگهدارنده واژن (سمت چپ).

Fig 2. Vulval cone region of *Heterodera filipjevi*: Fenestration (right) and underbridge (left).

و برجستگی‌های تاول مانند (Bullae) به تعداد زیاد در مخروط انتهایی سیست پراکنده شده‌اند (شکل ۲). کلیه مشخصات ریخت‌شناسی مذکور و همچنین مشخصات ریخت‌سنجی با مشخصات ارائه شده برای گونه *H. filipjevi* (مطابقت داشت Handoo 2002, Tanha Maafi et al. 2007). گونه *H. avenae* نزدیک‌ترین گونه به *H. filipjevi* است که به علت فقدان باندهای ماهیچه‌ای نگهدارنده واژن و تعداد بیشتر برجستگی‌های تاول مانند در مخروط انتهایی بدن، این گونه از گونه *H. filipjevi* متمایز می‌گردد (Subbotin et al. 2003, Tanha Maafi et al. 2007).

تکثیر نواحی ITS- rDNA تولید یک قطعه به اندازه تقریباً ۱۱۰۰ جفت باز نمود. برش آنزیمی با آنزیم *Hinf I* دو قطعه ۸۰۰ جفت بازی و کمی بیش‌تر از ۲۰۰ جفت باز، با آنزیم *PstI* سه قطعه ۷۰۰، کمی بیش از ۲۰۰ و ۱۰۰ جفت باز و آنزیم *RsaI* دو قطعه ۷۰۰ و کمی بیش از ۳۰۰ جفت باز تولید نمود (شکل ۳) که با مشخصات ارائه شده برای گونه *H. filipjevi* (مطابقت داشت Subbotin et al. 2003, Tanha Maafi et al. 2003). بر اساس نتایج به دست آمده، نماتود سیستی در استان اصفهان *H. filipjevi* تشخیص داده شد. در مطالعات قبلی *H. filipjevi* به عنوان تنها گونه نماتود سیستی غلات در استان اصفهان گزارش

سیس در محیط GIS با استفاده از ضریب همبستگی پیرسون (فرمول زیر) جهت و میزان همبستگی مشخص گردید.

$$r = \frac{\sum_{i=1}^n (x_i - \bar{x})(y_i - \bar{y})}{\sqrt{\sum_{i=1}^n (x_i - \bar{x})^2} \sqrt{\sum_{i=1}^n (y_i - \bar{y})^2}}$$

در این فرمول r ضریب همبستگی بین متغیرهای x و y است. x_i میزان جمعیت تخم و لارو سن دوم نماتود در هر نمونه، $\bar{x}$ میانگین جمعیت تخم و لارو سن دوم نماتود، y_i مقادیر هر کدام از عوامل آب و هوایی و ارتفاع از سطح دریا است که همبستگی هر کدام به طور جداگانه با متغیر x بررسی شده است. $\bar{y}$ میانگین مقادیر متغیرهای هواشناسی و ارتفاع از سطح دریا می‌باشد.

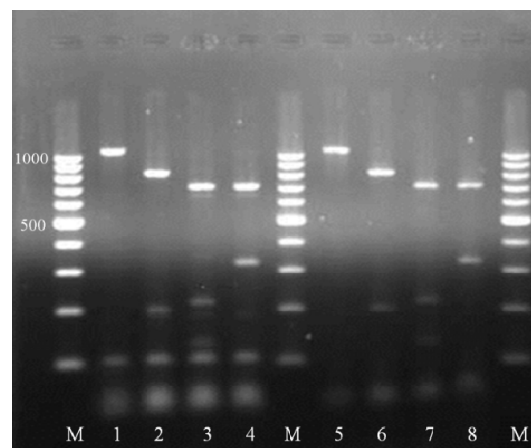
نتایج و بحث

سیست‌های جمع‌آوری شده از نقاط مختلف استان اصفهان به رنگ قهوه‌ای روشن تا قهوه‌ای تیره، کروی تا لیمویی شکل با مخروط انتهایی کوچک بودند. در مشاهدات میکروسکوپی مخروط انتهایی سیست، دریچه‌های خروجی لارو به صورت نیم‌دایره و جفت (Bifenestrate)، باندهای ماهیچه‌ای نگهدارنده واژن (Underbridge) به موازات پل فرج (vulval bridge) با انتهای دندان‌های شکل به دیواره‌های سیست اتصال یافته‌اند

و کمترین آلودگی مربوط به شهرستان برخوار و میمه با ۸ تخم و لارو در ۲۰۰ گرم خاک بود. تعداد سیست‌های استخراج شده در نمونه‌های آلوده بین ۱ تا ۲۷۰ سیست به ترتیب در مناطق میمه و زواره متغیر بود و میانگین تعداد سیست در نمونه‌های آلوده به نماتود ۱۷/۹ برآورد گردید. از لحاظ میانگین جمعیت تخم و لارو سن دوم در نمونه‌های آلوده هر شهرستان به ترتیب شهرستان‌های اردستان و نطنز با میانگین جمعیت به ترتیب ۶۳۹۲ و ۳۲۹۱ شهرستان‌های دارای آلودگی شدید و شهرستان‌های مبارکه و نائین به ترتیب با میانگین ۱۰۳۳/۶ و ۱۴۹۱ شهرستان‌های دارای آلودگی بالا به این نماتود بودند. کمترین میانگین جمعیت و آلودگی مربوط به شهرستان‌های فریدون شهر و چادگان با میانگین به ترتیب ۳۰ و ۷۳/۴ بود و نمونه‌های جمع‌آوری شده از شهرستان‌های فلاورجان، لنجان و گلپایگان فاقد آلودگی به نماتود سیستی غلات بودند (شکل ۴). لازم به ذکر است در اوایل خورشده‌دهی، علاوه بر گندم، آلودگی به *H. filipjevi* به صورت نماتودهای بالغ شیری رنگ بر روی ریشه‌های جو و علف‌های هرز یولاف وحشی *Avena ludoviciana* و فالاریس یا علف قناری *Phalaris minor* نیز در نقاط مختلف استان مشاهده گردید.

تحقیقات مشابه پیرامون وقوع نماتود سیستی غلات در استان خوزستان نشان داد نماتودهای سیستی غلات به طور وسیعی در این استان پراکنده هستند و دو گونه *H. avenae* تیپ B و *H. filipjevi* با میانگین ۳۹۵ تخم و لارو سن دوم در ۱۰۰ گرم خاک، در ۳۷ درصد نمونه‌های جمع‌آوری شده از مزارع گندم استان مذکور پراکنده شده‌اند (Ahmadi & Tanha Maafi 2014).

نتایج این تحقیق نشان داد که *H. filipjevi* دارای پراکنندگی بالایی در مزارع گندم استان اصفهان می‌باشد و



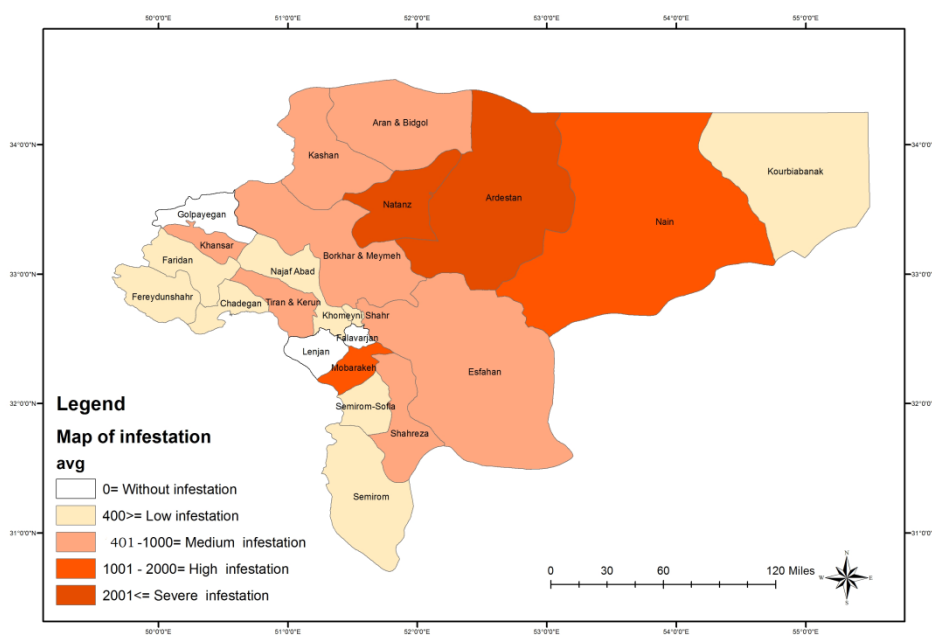
شکل ۳. الگوی بانندی حاصل از الکتروفورز نواحی ITS- rDNA و هضم آنزیمی. M: بیانگر نشانگر اندازه (۱۰۰ جفت باز)، ۱: محصول هضم نشده PCR، ۲: *HinfI*، ۳: *PstI*، ۴: *RsaI*.

Fig 3. rDNA-RFLP of *Heterodera filipjevi*. M: DNA ladder (100bp), 1: Unrestricted PCR product, 2: *HinfI*, 3: *PstI*, 4: *RsaI*.

شده است (Jamali et al. 2005, Damadzadeh & Ansaripour 2001, Tanha Maafi et al. 2007). تنها معافی و همکاران *H. filipjevi* را گونه غالب نماتود سیستی غلات در بیشتر مناطق کشت غلات کشور گزارش کرده‌اند. پراکنندگی گونه *H. avenae* محدود به مناطق غرب و جنوب غربی ایران است (Tanha Maafi et al. 2010, 2012).

تعیین تراکم جمعیت و نقشه‌های پراکنش نماتود سیستی غلات *H. filipjevi* در استان اصفهان

از مجموع ۱۴۰ مزرعه گندم نمونه‌برداری شده استان اصفهان، نمونه‌های خاک ۷۹ مزرعه آلوده به سیست *H. filipjevi* بودند. بدین ترتیب ۵۶/۴٪ نمونه‌های جمع‌آوری شده از استان اصفهان با میانگین جمعیت ۱۲۰۳/۸ تخم و لارو سن دوم در ۲۰۰ گرم (۶/۰۲ در گرم) خاک به نماتود مذکور آلوده بودند. بیشترین آلودگی مربوط به منطقه زواره شهرستان اردستان با جمعیت ۲۹۷۰۰ تخم و لارو سن دوم



شکل ۴. نقشه آلودگی بر اساس میانگین تراکم جمعیت نماتود *Heterodera filipjevi* استان اصفهان.

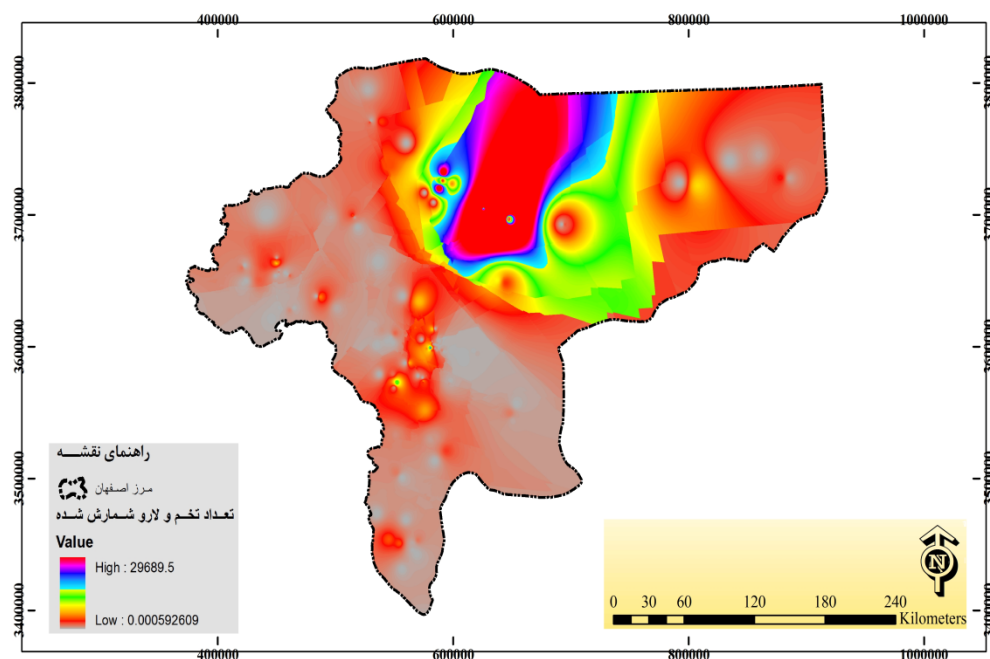
Fig 4. GIS map of population density mean of *Heterodera filipjevi*, in wheat fields of Isfahan province.

را به محصول گندم وارد سازد. به طوری که همان گونه که ذکر گردید دو شهرستان اردستان با میانگین جمعیت ۶۳۹۲ تخم و لارو در ۲۰۰ گرم خاک (معادل ۳۲ تخم و لارو در گرم خاک) و نطنز با میانگین جمعیت ۳۲۹۱ تخم و لارو در ۲۰۰ گرم خاک (معادل ۱۶/۵ تخم و لارو در گرم خاک) از شهرستان‌های با آلودگی بالا در بخش‌های شمالی و شرقی استان اصفهان تعیین شدند و این در حالی است که بررسی‌های انجام شده در استان اصفهان، کاهش عملکرد ارقام مختلف گندم ناشی از *H. filipjevi* در شرایط تنش خشکی با میانگین جمعیت اولیه ۲۲/۴ تخم و لارو سن دوم در گرم خاک، ۲۳/۷ الی ۲۸/۲ درصد برآورد شده است (Karimipour Fard et al. 2015).

درون‌یابی آلودگی و تراکم جمعیت براساس سامانه اطلاعات جغرافیایی (GIS)

با استفاده از درون‌یابی، آلودگی و تراکم جمعیت در مکان‌های نمونه‌برداری نشده با استفاده از مقادیر معلوم در

میزان تراکم جمعیت آن در شهرستان‌ها و مناطق شمال و شرق استان اصفهان بیشتر است. مطالعات صورت گرفته پیرامون خسارت و کاهش عملکرد دانه گندم بر اثر *H. filipjevi* در شرایط مزرعه در استان اصفهان با میانگین جمعیت اولیه ۲۲/۴ تخم و لارو سن دوم در گرم خاک، نشان داده است که در ارقام مختلف گندم میزان کاهش عملکرد دانه در شرایط آبیاری معمولی بین ۱۹/۵ الی ۲۲/۸ درصد می‌باشد (Karimipour Fard et al. 2015). این نتایج اهمیت خسارت‌زایی این گونه از نماتود سیستمی غلات را در مزارع گندم نشان می‌دهد. با توجه به نتایج تحقیق حاضر مبنی بر پراکندگی وسیع نماتود سیستمی غلات در مزارع گندم استان اصفهان و تراکم جمعیت بالاتر نماتود در مناطق شمالی و شرقی استان که جزء مناطق کم بارش است، به نظر می‌رسد خسارت ناشی از این نماتود در محصول گندم به خصوص در مناطق شمالی و شرقی به دلیل جمعیت بالای نماتود و تنش خشکی ناشی از خشک‌سالی در مزارع مذکور، بالا و خسارت قابل توجهی

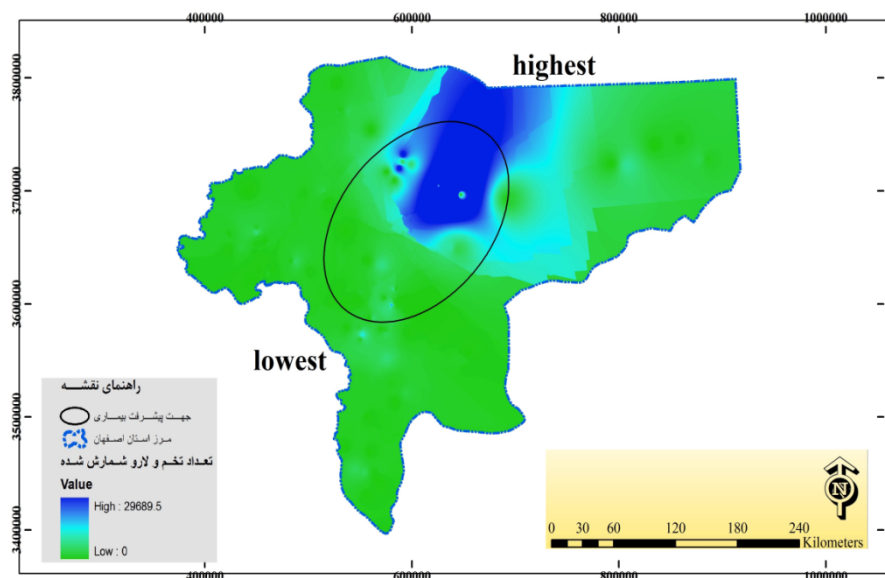


شکل ۵. نقشه پهنه‌بندی تراکم جمعیت *Heterodera filipjevi* در استان اصفهان

Fig 5. Interpolate map of population density of *Heterodera filipjevi* in Isfahan province.

شهرستان اردستان، نطنز و گلپایگان استان اصفهان در بهار ۱۳۹۵ صورت پذیرفت، مشخص گردید که از بین ۱۶ نمونه خاک نمونه‌برداری شده که از نقاط نمونه‌برداری نشده شهرستان‌های اردستان و نطنز در مرحله قبل، بودند و در محدوده پیش‌بینی شده با جمعیت بالا از طریق درون‌یابی بودند، ۱۴ نمونه خاک با میانگین جمعیت ۵۷۳۹/۵ تخم و لارو سن دوم در ۲۰۰ گرم خاک، آلوده به *H. filipjevi* بودند. همچنین از بین پنج نمونه خاک نمونه‌برداری شده که از محدوده‌های پیش‌بینی شده دارای آلودگی به *H. filipjevi* با جمعیت کم از طریق درون‌یابی در شهرستان گلپایگان بودند، سه نمونه دارای آلودگی به *H. filipjevi* با میانگین جمعیت ۵۷۶ تخم و لارو سن دوم در ۲۰۰ گرم خاک، بودند. در نمونه‌برداری‌های قبلی مربوط به این تحقیق که در سال ۱۳۹۳ از شهرستان گلپایگان صورت گرفته بود، هیچکدام از نمونه‌ها آلودگی

نقاط همسایه، برآورد و نقشه پهنه‌بندی تعداد تخم و لارو سن دوم ترسیم گردید (شکل ۵). همان گونه که در نقشه مربوط به درون‌یابی ملاحظه می‌گردد بیشترین آلودگی مربوط به شهرستان‌های اردستان، نطنز، کاشان، آران و بیدگل و سپس مبارکه و نائین و اصفهان است. جهت گسترش آلودگی ناشی از *H. filipjevi* بر اساس نقشه برآیند کلی از سمت شمال شرقی به سمت جنوب غربی استان اصفهان می‌باشد (شکل ۶). همان گونه که در نقشه‌های مذکور ملاحظه می‌گردد شهرستان‌هایی که قبل از انجام عملیات درون‌یابی فاقد آلودگی به نماتود مذکور بودند با استفاده از درون‌یابی و برآورد آلودگی در نقاط نمونه‌برداری نشده با استفاده از نقاط نمونه‌برداری شده همسایه، دارای آلودگی به نماتود مذکور می‌باشند. در نمونه‌برداری‌های تکمیلی که جهت راستی‌آزمایی نتایج پیش‌بینی جمعیت از طریق درون‌یابی از مزارع گندم در سه



شکل ۶. نقشه برآیند کلی و جهت پیشرفت *Heterodera filipjevi* در استان اصفهان

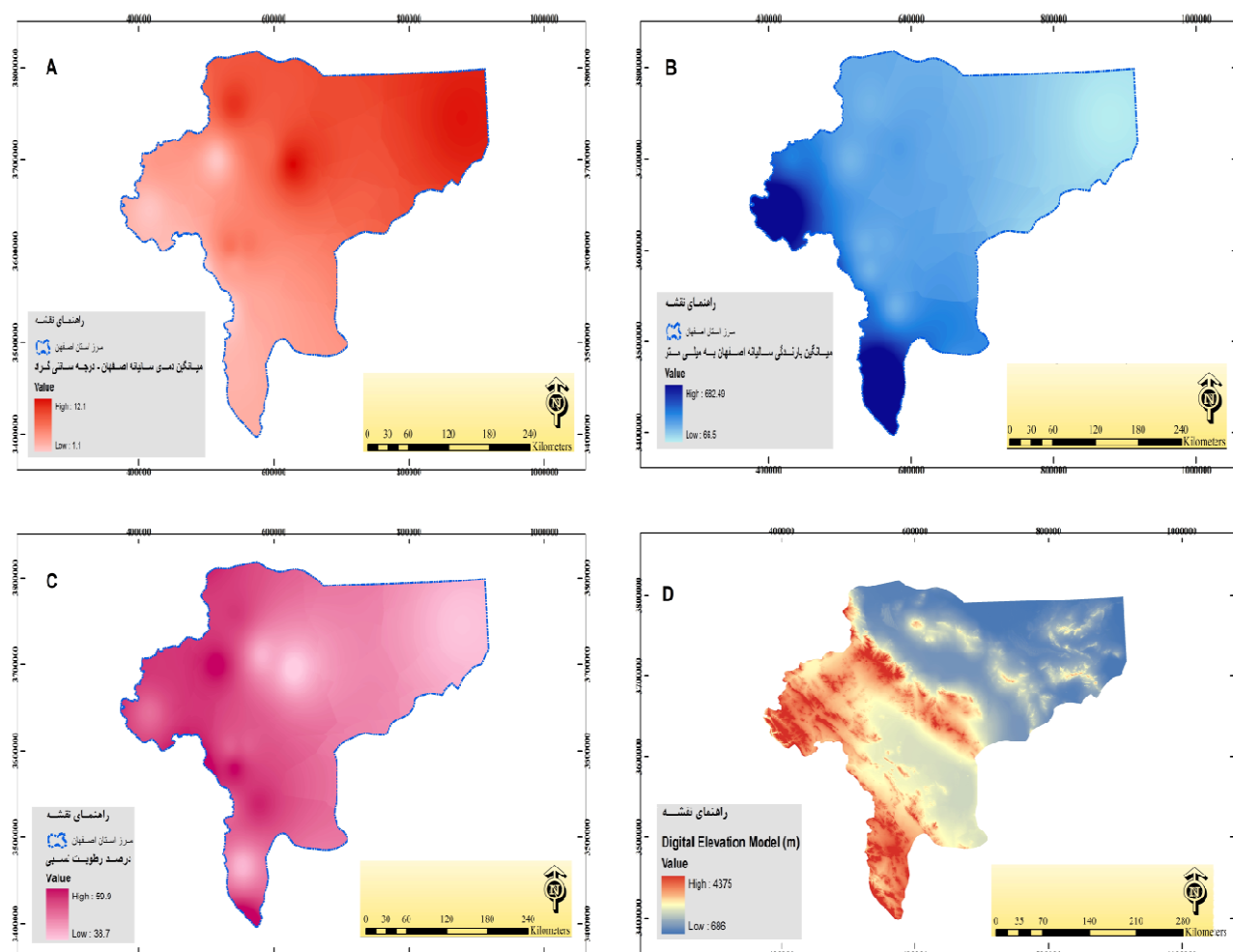
Fig 6. Map of direction of *Heterodera filipjevi* progression in Isfahan province.

ارتفاع از سطح دریا، پس از استخراج داده‌های هواشناسی برای فاکتورهای میانگین دمای سالیانه، میانگین بارندگی و رطوبت نسبی سالیانه نیز نقشه‌های پیوسته تهیه گردید. نقشه پهنه‌بندی میانگین بلند مدت دمای سالیانه استان اصفهان (شکل ۷A) نشان می‌دهد که میانگین دمای سالیانه در نقاط مختلف استان از ۱۲/۱ که شامل شهرستان‌ها و مناطق بخش‌های شرقی و شمال شرقی استان می‌باشد تا حداقل میانگین دما ۱/۱ که شامل مناطق و شهرستان‌های غربی و جنوب غربی است، متغیر می‌باشد. نقشه پهنه‌بندی میانگین بلند مدت بارندگی سالیانه نشان‌دهنده بیشترین بارش‌ها در شهرستان‌های فریدن، فریدون شهر، چادگان و سمیرم می‌باشد و کمترین بارش‌ها مربوط به شهرستان‌های شمال شرقی و شمالی استان می‌باشد (شکل ۷B). نقشه پهنه‌بندی درصد رطوبت نسبی بلند مدت نیز الگویی تقریباً مشابه با میانگین بارندگی سالیانه دارد (شکل ۷C). چنانچه نقشه‌های پهنه‌بندی تراکم جمعیت تخم و لارو سن دوم را با نقشه‌ی پهنه‌بندی میانگین بلند مدت دما، بارندگی،

به *H. filipjevi* نداشتند (شکل ۴). این در حالی است که همان‌گونه که در شکل ۵ ملاحظه می‌گردد، وجود آلودگی به این نماتود هرچند با جمعیت کم در این شهرستان پیش‌بینی شده است. در مطالعات قبلی انجام شده در استان اصفهان (Damadzadeh & Ansaripour 2001, Jamali et al. 2005) نیز گونه *H. filipjevi* از مزارع گندم شهرستان گلپایگان گزارش گردیده است. نتایج حاصل از راستی‌آزمایی مبنی بر وجود آلودگی به *H. filipjevi* در شهرستان گلپایگان و وجود آلودگی بالا به این نماتود در شهرستان‌های اردستان و نطنز، پیش‌بینی آلودگی به *H. filipjevi* از طریق درون‌یابی را در سه شهرستان مذکور تایید می‌کند.

جهت و میزان همبستگی جمعیت تخم و لارو با برخی عوامل آب و هوایی

همان‌گونه که اشاره کردید جهت بررسی نوع ارتباط بین جمعیت تخم و لارو سن دوم با عوامل آب و هوایی و



شکل ۷. نقشه‌های پهنه‌بندی عوامل آب و هوایی و ارتفاع در استان اصفهان: A: میانگین دمای سالانه، B: میانگین بارندگی سالانه، C: میانگین درصد رطوبت نسبی، D: مدل ارتفاعی.

Fig 7. Interpolate maps of climatic factors and altitude in Isfahan province A: Annual mean of temperature, B: Annual mean of precipitation, C: Annual mean of relative humidity percent, D: Elevation model.

بارندگی سالانه و درصد رطوبت نسبی و ارتفاع از سطح دریا را دارند، کمترین تراکم جمعیت نماتود را به خود اختصاص داده‌اند.

لازم به ذکر است که هر چند در این مطالعه تعیین ارتباط بافت خاک با تراکم جمعیت نماتود میسر نگردید اما به طور کلی مناطق شمالی و شرقی استان اصفهان از مناطق کویری بوده و بافت خاک در این مناطق غالباً سبک و ماسه‌ای می‌باشد. تعیین جهت و میزان همبستگی تراکم جمعیت نماتود سیستمی *H. filipjevi* با عوامل آب و هوایی

درصد رطوبت نسبی و همچنین نقشه مدل ارتفاعی استان اصفهان (شکل ۷D) مورد بررسی و مقایسه قرار گیرد، مشخص می‌گردد که شهرستان‌های شمال شرق و شرق استان اصفهان که بیشترین میانگین تراکم جمعیت نماتود را داشته‌اند، میانگین دمای بالاتر، میانگین بارندگی سالانه و درصد رطوبت نسبی کمتر و همچنین ارتفاع کمتری دارند و شهرستان‌های غرب و جنوب غربی استان اصفهان شامل شهرستان‌های فریدن، فریدون شهر، گلپایگان، خوانسار، چادگان و سمیرم که کمترین میانگین دما و بیشترین میزان

جدول ۲. میزان همبستگی تعداد تخم و لارو سن دوم *Heterodera filipjevi* در ۲۰۰ گرم خاک با عوامل آب و هوایی و ارتفاع بر اساس ضریب همبستگی پیرسون.

Table 2. Correlation of No. of the second stage juveniles (J2) and eggs of *Heterodera filipjevi* with climatic factors and altitude based on Pearson's correlation coefficient.

	Temperature (°C)	Precipitation (mm)	Relative humidity (%)	Altitude (m)
No. of J2 and eggs/200 g soil	0.43	-0.2	-0.4	-0.32
Significance	0.69	0.32	0.58	0.47

تقویت نتایج به دست آمده کمک بیشتری نماید. همان گونه که در جدول ۲ ملاحظه می‌گردد، فاکتورهای دما با تعداد تخم و لارو نماتود سیستمی همبستگی مستقیم دارد و در مناطق گرم‌تر استان تراکم جمعیت نماتود بیشتر است. فاکتورهای بارندگی، رطوبت نسبی و ارتفاع از سطح دریا با تعداد تخم و لارو سن دوم نماتود همبستگی معکوس دارد و در مناطقی از استان اصفهان که میانگین بارندگی سالیانه بیشتر، درصد رطوبت نسبی بیشتر و ارتفاع بیشتری از سطح دریا دارند، نماتود سیستمی غلات *H. filipjevi* جمعیت کمتری دارد. در مطالعه حاضر سعی گردید به عنوان یک بررسی مقدماتی، جنبه‌هایی از ارتباطات عوامل آب و هوایی و تراکم جمعیت *H. filipjevi* در استان اصفهان مشخص گردد. بدیهی است مطالعه پیرامون تغییرات جمعیت و تراکم جمعیت نماتود مذکور به عنوان یک عامل بیماری‌زای خاکزاد به عوامل متعددی از جمله سابقه کشت، سیستم کشت، رقم و نوع خاک ارتباط دارد که تحقیقات تکمیلی و جامع پیرامون عوامل تاثیرگذار بر جمعیت این نماتود را می‌طلبد.

و ارتفاع با استفاده از ضریب همبستگی پیرسون در محیط GIS موید این ارتباطات است (جدول ۲). در ارتباط با تاثیر شرایط محیطی و جغرافیایی، از قبیل دما، رطوبت نسبی و همچنین ارتفاع، روی *H. filipjevi* اطلاعاتی در دست نیست. همچنین تحقیقاتی در ارتباط با تعداد و نوع پاتوتیپ نماتود سیستمی غلات گونه *H. filipjevi* در ایران انجام نشده است. ولی گونه *H. avenae* که از نظر مرفولوژی و مرفومتری بسیار نزدیک به گونه *H. filipjevi* است، از تعدادی نژادهای میزبانی و پاتوتیپ‌های تشکیل شده است که در بسیاری از کشورهای دنیا در مناطق گرمسیری، نیمه‌گرمسیری و نواحی معتدله دنیا یافت می‌شود. به نظر می‌رسد این گونه به بسیاری از شرایط محیطی تطابق یافته باشد. در همین گونه جمعیت‌های وجود دارند که به نظر می‌رسد بر شرایط خشکی فائق آمده‌اند، بر خلاف جمعیت‌های مناطق معتدله، جمعیت‌های در شمال هندوستان وجود دارند که می‌توانند با خشکی و درجات حرارت ۳۰ درجه سلسیوس مقابله کنند (Evans & Rowe 1998). بنابراین چنانچه زوایای بیشتری از بیواکولوژی گونه *H. filipjevi* روشن شود، می‌تواند به

منابع

- Ahmadi A. R. and Tanha Maafi Z. 2014. Incidence of cereal cyst nematodes (*Heterodera avenae* type B and *H. filipjevi*) in southwestern Iran. *Journal of Crop Protection* 3(1): 75-88.
- Abidou H., El-Ahmed A., Nicol J. M., Bolat N., Rivoal R. and Yahyaoui A. 2005. Occurrence and distribution of

- species of the *Heterodera avenae* group in Syria and Turkey. *Nematologia Mediterranea* 33: 195-201.
- Al-Yahya F. A., Alderfasi A. A., Al-Hazmi A. S., Ibrahim A. A. M. and Abdul-Razig A. T. 1998. Effect of the cereal cyst nematode on growth and physiological aspects of wheat under field conditions, *Pakistan Journal of Nematology* 16: 55-62.
- Anonymous. 2013. [online available] <http://www.agri-es.ir/Default.aspx?tabid=1927>.
- Braun H. S., Burak M. and Yahyaoui A. 2009. Foreword, pp. III-IV. In: I. T. Riley, J. M. Nicol, A. A. Dababat. (Eds). *Cereal Cyst Nematodes: Status, Research And Outlook*. Cimmyt: Ankara, Turkey.
- Brown R. H. 1984. The ecology and control of cereal cyst nematode (*Heterodera avenae*) in Southern Australia. *Journal of Nematology* 16: 216-222.
- Damadzadeh M. and Ansari-pour B. 2001. Identification and distribution of *Heterodera filipjevi* in the Esfahan province of Iran. *Russian Journal of Nematology* 9: 57-58.
- De Grisse A. 1969. Redescription ou modifications de quelques techniques utilisées dans l'étude des nématodes phytoparasitaires. *Mededelingen Rijksfaculteit der Landbouwwetenschappen*. Gent 34: 351-369.
- Evans K. and Rowe J. A. 1998. Distribution and economic importance, pp. 1-30. In: S. B. Sharma, (Ed.). *The cyst nematodes*. Dordrecht, The Netherlands, Kluwer Academic Publishers.
- Fenwick D. W. 1940. Methods for the recovery and counting of cysts of *Heterodera schachtii* from soil. *Journal of Helminthology* 18: 155-172.
- Ghahroudi Tali M., Babaei Fini O. and Ataei H. 2015. Introduction to geographic information systems. Payame Noor University Publications. 234 p.
- Hajihassani M., Hajihassani A. and Ghalandar M. 2008. Study on distribution and population density of cereal cyst nematodes (*Herodera* spp.) in rain-fed and irrigated wheat fields of Markazy province. *Journal of New Findings in Agriculture* 2 (4): 366-374. (In persian with English Summary).
- Handoo Z. A. 2002. A key and compendium to species of *Heterodera avenae* group (Nematoda: Heteroderidae). *Journal of Nematology* 34: 250-262.
- Jamali S., Pourjam E., Kheiri A. and Damadzadeh M. 2005. Tylenchs (Nematoda: Tylenchida) from wheat fields in Isfahan province. *Journal of Agricultural Science and Natural Resources* 12(1): 115-125, (in Persian with English Summary).
- Joyce S. A., Reid A., Driver F. and Curran J. 1994. Application of polymerase chain reaction (PCR) methods to identification of entomopathogenic nematodes, pp. 178-187. In: A. M. Burnell, R. U.Ehlers, and J. P. Masson, (Eds.). *Cost 812 Biotechnology: Genetics of entomopathogenic nematode-bacterium complexes*. Proceedings of symposium and workshop, St. Patrick's college, Maynooth, Co. Kildare, Ireland, Luxembourg, European. Commission, DG XII.
- Karimipour Fard H., Pourjam E. and Tanha Maafi Z. 2015. Assessment of grain yield reduction caused by *Heterodera filipjevi* in wheat cultivars under normal irrigation and drought stress in natural field conditions, pp. 115-120. In: A. A. Dababat, H. Muminjanov and R.W. Smiley (Eds). *Nematodes of small grain cereals: Current status and research*. CIMMYT. Ankara, Turkey.
- Khan R. M., Agarwal V. and Mathur B. N. 1990. Chemical control of simultaneous cereal cyst nematode and termite infestations in wheat in Rajasthan, India, *RACHIS (ICARDA) Barley and Wheat Newsletter* 9: 9-11.
- Miller L. I. 1986. Economic importance of cyst nematodes in North America. pp. 373- 385. In: F. Lamberti and C.E. Taylor (eds.). *Cyst nematodes*. Plenum Press, U.K.
- Rivoal R. and Cook R. 1993. Nematodes pests of cereals, pp. 259-304. In: K. Evans, D. L. Trudgill and J. M. Webster (Eds.). *Plant parasitic nematodes in temperate agriculture*, CAB International, UK.
- Rivoal R. and Nicol J. M. 2009. Past research on the cereal cyst nematode complex and future needs. pp 3-9. In: I. T. Riley, J. M. Nicol, A. A. Dababat. (Eds). *Cereal Cyst Nematodes: Status, Research and Outlook*. CIMMYT. Ankara, Turkey.
- Sikora R. A. 1988. Plant parasitic nematodes of wheat and barley in temperate and semiarid regions a comparative analysis, pp. 46-68. In: M. C. Saxena, R. A. Sikora and J. P. Srivastava (Eds.) *Nematodes parasitic to cereals and legumes in temperate semiarid regions*, workshop proceedings, 1-5 March 1987, Larnaca, Cyprus, ICARDA, Aleppo, Syria.
- Smiley R. W. and Nicol J. M. 2009. Nematodes which challenge global wheat production, pp. 171-187. In: B. F. Carver (Ed.) *Wheat: Science and trade*. Wiley-Blackwell, USA.

- Subbotin S. A., Waeyenberg, L., and Moens, M. 2000. Identification of cyst forming nematodes of the genus *Heterodera* (Nematoda: Heteroderidae) based on the ribosomal DNA RFLP. *Nematology* 2: 153-164.
- Subbotin S. A., Sturhan D., Rumpfenhorst H. J. and Moens M. 2003. Molecular and morphological characterisation of the *Heterodera avenae* species complex (Tylenchida: Heteroderidae), *Nematology* 5: 515-538.
- Talatchian P., Akhiani A., Grayeli Z., Shah-Mohammadi M. and Teimouri F. 1976. Survey on cyst forming nematodes in Iran in 1975 and their importance. *Iranian Journal of Plant Pathology* 12: 42-43. (In persian with English Summary).
- Tanha Maafi Z., Subbotin S. A. and Moens M. 2003. Molecular identification of cyst-forming nematodes (Heteroderidae) from Iran and a phylogeny based on ITS-rDNA sequences. *Nematology* 5: 99-111.
- Tanha Maafi Z., Sturhan D., Kheiri A. and Geraert E. 2007. Species of the *Heterodera avenae* group (Nematoda: Heteroderidae) from Iran. *Russian Journal of Nematology* 15(1): 49-58.
- Tanha Maafi Z., Nicol J. M., Kazemi H., Ebrahimi N., Gitty M., Ghalandar M., Mohamadi Pour M. and Khoshkhbar Zh. 2009. Cereal cyst nematodes, root rot pathogens and root lesion nematodes affecting cereal production in Iran, pp. 51-55. In: In: I. T. Riley, J. M. Nicol, A. A. Dababat. (Eds). *Cereal Cyst Nematodes: Status, Research and Outlook*. CIMMYT. Ankara, Turkey.
- Tanha Maafi Z., Ahmadi A. R., Hajihasani A., Karimipour Fard H. and Nicol J. M. 2010. Current progress on cereal cyst nematodes (*Heterodera filipjevi*, *H. avenae* type B and *H. latipons*) of importance on wheat in Iran 30th International Symposium of the European Society of Nematologists, Vienna, Austria, 19-23 September, p. 226.
- Tanha Maafi Z., Ahmadi A. R., Hajihasani A., Karimipour Fard H., Dababat A and Nicol J. M. 2012. Research status and perspective of cereal cyst nematode, (*Heterodera* spp.) research on wheat in Iran. 31th International Symposium of the European Society of Nematologists, Adana, Turkey, 23-27 September: pp. 299-300.
- Wouts W. M. and Baldwin J. G. 1998. Taxonomy and identification, in the cyst nematodes, pp. 83-122. In: S. B. Sharma (Ed.). *Cyst nematodes*. Kluwer Academic Publishers. The Netherlands.

