مجله به‌نژادی نهال و بذر
جلد ۱-۲۸، شماره ۱، سال ۱۳۹۱

واکنش ژنوتیپ های پیشرفته گندم نان به قارچ *Mycosphaerella graminicola* عامل لکه برگی سپتوریائی در شرایط گلخانه و مزرعه

Reaction of Bread Wheat Advanced Genotypes to *Mycosphaerella graminicola* the Causal Agent of Septoria tritici Leaf Blotch in Greenhouse and Field Conditions

شعبان کیا[۱] و حبیب‌الله سوقی[۲]

۱ و ۲- مربی، مرکز تحقیقات کشاورزی و منابع طبیعی گلستان، گرگان

تاریخ دریافت: ۱۳۹۰/۲/۱۲ **تاریخ پذیرش: ۱۳۹۰/۷/۲۱**

چکیده

کیا، ش.، و سوقی، ح. ۱۳۹۱. واکنش ژنوتیپ های پیشرفته گندم نان به قارچ *Mycosphaerella graminicola* عامل لکه برگی سپتوریائی در شرایط گلخانه و مزرعه. **مجله به‌نژادی نهال و بذر ۱-۲۸:** ۱۴۷ - ۱۳۳.

به منظور بررسی واکنش تعدادی از ژنوتیپ‌های پیشرفته گندم نان به بیماری لکه‌برگی سپتوریایی، ۳۳ ژنوتیپ به همراه رقم حساس تجن به عنوان شاهد در شرایط گلخانه و مزرعه در سال زراعی۸۹-۱۳۸۸ مورد ارزیابی قرار گرفتند. در گلخانه، گیاهچه‌ها در مرحله دو برگی با سوسپانسیون اسپور قارچ عامل بیماری مایه‌زنی و در زیر پوشش پلاستیکی شفاف با رطوبت نسبی اشباع و دمای ۲۰ درجه سانتی‌گراد قرار داده شدند. در مزرعه، ژنوتیپ‌ها زیر سیستم آبیاری مه‌پاش با استفاده از سوسپانسیون اسپور در چند مرحله آلوده‌سازی شدند. واکنش ژنوتیپ‌ها بر اساس میزان سطح نکروز برگ، پوشش پیکنید و محاسبه سطح زیر منحنی پیشرفت بیماری (AUDPC) ارزیابی شدند. در گلخانه ژنوتیپ‌ها از نظر میزان سطح نکروز برگ و پوشش پیکنید به ترتیب در سطح احتمال ۱٪ و ۵٪ با هم اختلاف معنی‌دار داشتند. لاین‌های N-87-18 و KST10 به ترتیب بیشترین و کمترین سطح نکروز برگ را داشتند. لاین N-87-17 بیشترین و لاین KST10 کمترین مقدار AUDPC را داشتند. در مزرعه ژنوتیپ‌ها از نظر میزان سطح نکروز برگ در سطح احتمال ۱٪ با هم اختلاف معنی‌دار داشتند. لاین‌های N-80-19 و N-85-10 به ترتیب بیشترین و کمترین سطح نکروز برگ را داشتند. لاین KST9 بیشترین و لاین N-85-10 کمترین مقدار AUDPC را داشتند.

واژه‌های کلیدی: گندم،لاین‌های پیشرفته، مقاومت ، نکروز برگ، پوشش پیکنید، *Septoria tritici* .

نویسنده مسئول: shabankia@gmail.com تلفن: ۳۳۵۰۰۶۳-۰۱۷۱

Archive of SID
www.SID.ir

مقدمه

بیماری لکه‌برگی سپتوریایی گندم (Septoria leaf blotch) با عامل *Mycosphaerella graminicola* (Fuckel) (Anamorph: *Septoria tritici*) J. Schroeter در حال حاضر از مهم‌ترین بیماری‌های برگی گندم در جهان به شمار می‌رود (Goodwin *et al.*, 2003). در اثر آلودگی، میزان دانه بندی کاهش یافته، پرشدن دانه‌ها ضعیف شده و دانه‌های چروکیده هنگام برداشت از بین می‌روند (Wise, 1991). میزان کاهش محصول ناشی از این بیماری ۴۰ – ۳۰ درصد گزارش شده است (Palmer and Skinner, 2002). استفاده از ارقام مقاوم، مؤثرترین، اقتصادی‌ترین وسالم‌ترین روش از نظر زیست محیطی برای کنترل این بیماری به شمار می‌رود. به همین دلیل دستیابی به منابع مقاومت و استفاده آن در برنامه‌های به نژادی از اولویت زیادی برخوردار است (Gilchrist *et al.*, 1999).

در مرکز بین‌المللی اصلاح گندم و ذرت (CIMMYT)، برای اصلاح و تولید ارقام گندم مقاوم به لکه‌برگی سپتوریایی از منابع ژنی مختلف شامل گندم‌هایی از برزیل، آرژانتین، گندم‌های زمستانه، گندم‌های چینی و گندم‌های سینتتیک استفاده می‌کنند. ژن مقاومت به این بیماری از گندم‌های زمستانه مانند Kavkaz، Bezostaya 1 و Aurora به ارقام نیمه پاکوتاه با خصوصیات زراعی مناسب منتقل شده است. در این مرکز حدود ۷۰۰۰ ژنوتیپ گندم طی سال‌های ۹۳-۱۹۸۹ در شرایط مزرعه‌ای در دو ناحیه از مکزیک نسبت به لکه‌برگی سپتوریایی مورد ارزیابی قرار گرفتند که در نتیجه ۳۱ لاین از خزانه سپتوریا و ۲۴ لاین جدید به عنوان منابع مقاومت به این بیماری شناسایی شدند (Van Ginkel and Rajaram, 1999).

در کشورهای هلند، سوئیس و انگلستان مقاومت ۷۱ رقم و لاین گندم نان نسبت به شش جدایه *M. graminicola* در شرایط مزرعه مورد بررسی قرار گرفت که در نتیجه لاین‌هایی از اروپا (به خصوص سوئیس) و آمریکای لاتین مقاومت خوبی داشتند و ۲۷ رقم از منابع مختلف به جدایه IPO323 مقاوم بودند (Brown *et al.*, 1999). برادینگ و همکاران (Brading *et al.*, 2002) با بررسی مقاومت اختصاصی چند رقم گندم حساس و مقاوم و ژن‌های کنترل‌کننده مقاومت آن‌ها در مقابل جدایه‌های عامل بیماری لکه‌برگی سپتوریایی، رابطه ژن برای ژن را بین مقاومت اختصاصی گندم و بیماریزایی *M. graminicola* مورد تأکید قرار دادند. در ترکیه واکنش ۱۲ رقم گندم نسبت به زنگ نواری و لکه برگی سپتوریایی مورد بررسی قرار گرفت که در نتیجه ارقام Ege 88 و Seri 82 نسبت به لکه برگی سپتوریایی حساس بوده ولی ارقام Orso و Diarbakir 81 مقاوم بودند (Kurt, 2002). ارقام Kavkaz K4500، Vernapolis، Catbird و TE9111 از منابع عمده مقاومت به لکه‌برگی سپتوریایی در برنامه‌های جهانی

Archive of SID

www.SID.ir

اصلاح گندم به شمار می‌روند. همچنین ارقام Arina، Milan و Senat دارای سطوح بالایی از مقاومت نیمه کامل نسبت به اغلب جدایه‌های عامل بیماری هستند (Cartrain *et al*., 2004).

در سال‌های اخیر ۱۲ ژن بزرگ اثر (Major gene) برای مقاومت به *M. graminicola* به نام‌های *Stb*1 تا *Stb*12 شناسایی شده‌اند. درسال ۲۰۰۷ نیز یک ژن مقاومت دیگر به نام *Stb*15 در رقم Arina بر روی کروموزوم 6AS شناسایی شد (Arraiano *et al*., 2007).آرایانو و براون (Arraiano and Brown, 2007) با بررسی ۲۲۶ ژنوتیپ گندم در هشت مکان در طول سه سال با یک جدایه قارچ *S. tritici* و با استفاده از ۱۲۱ نشانگر ریز ماهواره (Microsatelite) دریافتند که دو ژن مقاومت ویژه در ژنوتیپ‌های گندم وجود دارد که باعث کاهش میزان آلودگی به سپتوریا می‌شود. در یک مطالعه ارزیابی مقاومت ژنوتیپ‌های گندم در شرایط گلخانه و مزرعه نسبت به *Septoria tritici* در مراحل مختلف رشد، ارقام Elite Lepeuple، Maris Dove، Maris Ensign، Chalk و Tommy مقاومت بالایی داشته و ارقام Sprite Rothwell، Sovereign، Cardinal، Maris Ranger و Maris Templar حساسیت بالایی نشان دادند (Brokenshire, 2008).

بیماری لکه‌برگی سپتوریایی گندم در مناطق مختلف ایران به خصوص استان‌های گلستان، خوزستان، کرمانشاه و اردبیل وجود دارد (Torabi, 1980). میزان خسارت این بیماری درخوزستان با توجه به نوع رقم، مرحله آلودگی و شدت آن ۶/۹۹ تا ۳۸/۲۰ درصد گزارش شده است (Dadrezaei *et al*., 2003). در استان گلستان نیز میزان خسارت این بیماری در ارقام مختلف و در مراحل مختلف آلودگی ۹/۱۷ تا ۲۸/۹۵ درصد برآورد شده است (Kia and Torabi, 2008). درآزمایش واکنش ۲۶ رقم و لاین گندم نان و دوروم نسبت به لکه برگی سپتوریایی در شرایط گلخانه، متوسط میزان آلودگی در برگ‌های اول و دوم ارقام و لاین‌های گندم نان و دوروم مورد بررسی کمتر از ۳ و در رقم شاهد (داراب) بیشتر از ۷ (در مقیاس ۹-۰) بود (Azimi, 1997). در ارزیابی واکنش ۲۳ رقم تجاری و امیدبخش گندم نسبت به بیماری‌های لکه برگی سپتوریایی، زنگ زرد و پوسیدگی معمولی ریشه و طوقه در استان فارس در سال‌های ۸۲-۱۳۸۰ ، لاین M-78-6 نسبت به لکه‌برگی سپتوریایی واکنش نیمه حساس و سایر ژنوتیپ‌ها واکنش‌های حساس و بسیار حساس داشتند (Mansoori and Rajaei, 2006).

با توجه به این‌که مؤثرترین، اقتصادی‌ترین و سالم‌ترین روش کنترل بیماری لکه‌برگی سپتوریایی گندم استفاده از ارقام مقاوم است، ارزیابی نوع واکنش ژنوتیپ‌های گندم در مقابل عامل بیماری هم در مرحله گیاهچه‌ای و در مرحله گیاه کامل قبل از به‌کارگیری آن‌ها در مناطق آلوده امری ضروریست. این پژوهش در

www.SID.ir

جهت ارزیابی نوع واکنش (حساسیت یا مقاومت) ژنوتیپ‌های پیشرفته گندم نسبت به این بیماری در مراحل گیاهچه‌ای (شرایط گلخانه) و گیاه کامل (شرایط مزرعه) در مرکز تحقیقات کشاورزی گلستان انجام شد تا از آن در راستای اصلاح و به‌کارگیری ارقام مقاوم گندم با خصوصیات زراعی مناسب و مطلوب استفاده شود.

مواد و روش‌ها

جداسازی، خالص‌سازی و تهیه زادمایه قارچ عامل بیماری

در بهار سال ۱۳۸۸برگ‌های گندم آلوده به لکه برگی سپتوریایی از مزارع گندم جمع‌آوری و به آزمایشگاه منتقل و با استفاده از روش مستقیم ایال و همکاران (Eyal *et al.*, 1987) جداسازی قارچ انجام شد. ابتدا تکه‌های برگ آلوده دارای پکنید روی لام شیشه‌ای با نوار چسب چسبانده و لام‌ها درون تشتک پتری محتوی کاغذ صافی استریل خیس شده با آب مقطر استریل قرار داده و داخل انکوباتور با دمای ۲۴ درجه سانتی‌گراد به مدت ۲۴ ساعت نگه‌داری شدند. با استفاده از یک سوزن استریل مناسب، فتیله (اوز) خارج شده از دهانه پکنیدها برداشته و به محیط کشت سیب‌زمینی، دکستروز، آگار (PDA) حاوی آنتی‌بیوتیک کلرامفنیکل منتقل و داخل انکوباتور با دمای ۲۰ درجه سانتی‌گراد قرار داده شدند. پس از ۵-۳ روز، کلنی‌های کوچک سفید صورتی رنگ ظاهر شد که به محیط PDA منتقل و داخل انکوباتور با دمای ۲۰ درجه سانتی‌گراد قرار داده شدند تا کلنی‌های خالص قارچ رشد یابند.

برای تهیه زادمایه (اینوکولوم) جهت مایع‌زنی ژنوتیپ‌ها از محیط کشت مایع عصاره مخمر، عصاره مالت، سوکروز (YMS) استفاده شد. پس از تهیه محیط کشت، تکه‌هایی از کلنی خالص قارچ به قطر ۲- ۱ سانتی‌متر از سطح محیط کشت جامد تهیه و به درون ارلن‌های محتوی محیط کشت مایع منتقل و داخل شیکر انکوباتور با سرعت ۱۲۰ دور در دقیقه و در دمای حدود ۲۰ درجه سانتی‌گراد قرار گرفتند. پس از مدت ۱۰- ۷ روز، سوسپانسیون اسپور داخل ارلن‌ها از پارچه ململ دو لایه عبور داده تا صاف شود. سپس تعداد اسپورها در هر میلی‌لیتر با استفاده از لام هموسیتومتر (گلبول‌شمار) شمارش و غلظت آن به تعداد 10^7 اسپور در هر میلی‌لیتر تنظیم شد.

ارزیابی واکنش ژنوتیپ‌ها در شرایط گلخانه

در پاییز سال ۱۳۸۸ ، تعداد ۳۳ ژنوتیپ گندم شامل ۳ رقم تجارتی، ۲۰ لاین امیدبخش اقلیم شمال و ۱۰ لاین از خزانه سپتوریا از مرکز بین‌المللی تحقیقات کشاورزی در مناطق خشک (ICARDA) به اضافه رقم حساس تجن به عنوان شاهد در قالب طرح کاملاً تصادفی و در سه تکرار در گلخانه بیماری‌های غلات گرگان نسبت به بیماری لکه‌برگی سپتوریایی مورد ارزیابی قرار گرفتند. برای هر ژنوتیپ ده عدد

Archive of SID

www.SID.ir

بذر در گلدان پلاستیکی به قطر ۱۵ سانتی‌متر حاوی مخلوط خاک مزرعه، خاک برگ و ماسه به نسبت ۱:۱:۱کاشته شدند. گیاهچه‌ها در مرحله دو برگی با سوسپانسیون اسپور قارچ عامل بیماری با غلظت $۱۰^{۷}$ اسپور در میلی‌لیتر و با استفاده از آب فشان دستی مایه‌زنی شدند. گیاهچه‌های مایه‌زنی شده در زیر پوشش پلاستیکی شفاف با رطوبت نسبی اشباع و دمای ۲۰ درجه سانتیگراد داخل گلخانه قرار داده شدند. یادداشت‌برداری از بیماری روی گیاهچه‌ها سه هفته پس از مایه‌زنی، چهار بار و به فاصله چهار روز از یک‌دیگر بر اساس درصد سطح نکروز برگ و پوشش پیکنید روی برگ‌های اول و دوم و واکنش آن‌ها در مقیاس ۹- ۰ بر اساس روش ژانگ و همکاران (Zhang *et al.*, 2001) انجام شد. بر این اساس ژنوتیپ‌ها به صورت R یا مقاوم (میانگین مقیاس بیماری۳-۱)، MR یا نیمه مقاوم (میانگین مقیاس بیماری ۴/۵-۳/۱)، MS یا نیمه حساس (میانگین مقیاس بیماری۶/۵-۴/۶)، S یا حساس (میانگین مقیاس بیماری ۸-۶/۶) و VS یا بسیار حساس (میانگین مقیاس بیماری ۹-۸/۱) گروه‌بندی شدند.

ارزیابی واکنش ژنوتیپ‌ها در شرایط مزرعه

در سال زراعی ۸۹-۱۳۸۸، گندم به کار رفته در آزمایش گلخانه‌ای، در قالب طرح بلوک‌های کامل تصادفی و در سه تکرار زیر سیستم آبیاری مه‌پاش در مزرعه ایستگاه تحقیقات کشاورزی گرگان نسبت به بیماری لکه‌برگی سپتوریایی ارزیابی شدند. هر ژنوتیپ در دو خط یک متری و به فاصله ۳۰ سانتی‌متر از یک‌دیگر کاشته شدند. آلوده‌سازی مصنوعی ژنوتیپ‌ها درمرحله پنجه‌زنی با پخش کردن برگ‌های آلوده چمع‌آوری شده از مزراع آلوده سال قبل و در مراحل تشکیل ساقه و ظهور برگ پرچم با اسپورپاشی سوسپانسیون اسپور انجام شد. یادداشت‌برداری از بیماری چهار بار و به فاصله شش روز از یک‌دیگر بر اساس درصد سطح نکروز برگ و درصد پوشش پیکنید و واکنش آنها با روش ساری و پرسکات (Saari and Prescott, 1975) تغییر یافته توسط ایال و همکاران (Eyal *et al.*, 1987) و در مقیاس 99-00 انجام شد. رقم اول (سمت چپ) بیان‌کننده ارتفاع نسبی بیماری یا پیشرفت آن از برگ‌های پایین به طرف سنبله و رقم دوم (سمت راست) بیان‌کننده میزان شدت بیماری (سطح نکروز برگ حاوی پیکنید) است. بر این اساس ژنوتیپ‌ها به صورت O یا مصون (میانگین مقیاس بیماری ۰)، R یا مقاوم (میانگین مقیاس بیماری ۳۰-۱۱)، MR یا نیمه مقاوم (میانگین مقیاس بیماری ۴۵-۳۱)، MS یا نیمه حساس (میانگین مقیاس بیماری ۶۵-۴۶)، S یا حساس (میانگین مقیاس بیماری ۸۵-۶۶) و VS یا بسیار حساس (میانگین مقیاس بیماری ۹۹-۸۶) قرار گرفتند. داده‌های به دست آمده پس از تبدیل توسط $Arcsinx^{1/2}$ +0.5، با استفاده از نرم‌افزار SPSS مورد تجزیه آماری قرار گرفته و سپس میانگین‌ها با آزمون چند

www.SID.ir

دامنه‌ای دانکن مقایسه شدند.

سطح زیر منحنی پیشرفت بیماری (Area Under the Disease Progress Curve: AUDPC) با استفاده از فرمول زیر برای صفات سطح نکروز برگ و پوشش پیکنید در شرایط گلخانه و مزرعه محاسبه شد (Moldovan *et al.*, 2005):

$$AUDPC = \sum_{i}^{n-1}[(y_i + y_i + 1)/2](t_i + t_i)$$

که در آن n تعداد دفعات یادداشت‌برداری، y مقدار بیماری و t زمان (روز) پس از یادداشت‌برداری هستند. گروه‌بندی ژنوتیپ‌ها (تجزیه خوشه‌ای) در شرایط گلخانه و مزرعه با توجه به واکنش آن‌ها به *S. tritici* و شاخص‌های سطح نکروز برگ و پوشش پیکنید با روش وارد (Ward Method) و مجذور فاصله اقلیدسی با استفاده از نرم‌افزار SPSS انجام شد.

نتایج و بحث

تجزیه واریانس صفات مورد بررسی در شرایط گلخانه (مرحله گیاهچه‌ای) نشان داد که تمام ژنوتیپ‌ها از نظر درصد سطح نکروز برگ و پوشش پیکنید به ترتیب در سطح احتمال ۱٪ و ۵٪ با هم اختلاف معنی‌دار داشتند که بیانگر تفاوت ژنتیکی بین ژنوتیپ‌ها از نظر حساسیت و مقاومت به بیماری است (جدول ۱). مقایسه میانگین سطح نکروز برگ در ژنوتیپ‌های مورد بررسی، آن‌ها را در گروه‌های مختلف قرار داد (جدول ۲). سطح نکروز برگ در رقم حساس تجن ۸۳ درصد بود. لاین N-87-18 با ۷۷٪ سطح نکروز برگ، بیشترین شدت آلودگی را داشت و در نتیجه حساس‌ترین لاین بعد از شاهد بود. لاین‌های N-86-6 و N-86-10 با ۷۰٪ سطح نکروز برگ در رتبه‌های بعدی از نظر شدت آلودگی و حساسیت قرار داشتند. لاین KST10 با ۲۳٪ سطح نکروز برگ، کمترین شدت آلودگی و در نتیجه بالاترین مقاومت را داشت و لاین KST5 با ۳۷٪ سطح نکروز برگ در رتبه بعدی از نظر مقاومت قرار گرفت. بنابراین لاین‌های N-87-18 و KST10 به ترتیب حساس‌ترین و مقاوم‌ترین ژنوتیپ‌ها از نظر سطح نکروز برگ بودند. از نظر سطح زیر منحنی پیشرفت بیماری (AUDPC) برای سطح نکروز برگ، لاین N-87-17 با ۵۸۰ ، بیشترین مقدار را داشت و لاین‌های N-86-11، N-86-15 و N-87-18 با ۵۴۰ در رتبه‌های بعدی قرار گرفتند. لاین KST10 با ۱۶۰، کمترین مقدار AUDPC را داشت و پس از آن لاین KST14 با ۲۸۰ قرار گرفت (جدول ۲).

مقایسه میانگین پوشش پیکنید در ژنوتیپ‌های مورد بررسی نشان داد که لاین N-80-19 با ۳۳٪ پوشش پیکنید بیشترین مقدار را داشته و در نتیجه حساس‌ترین لاین بود. لاین‌های N-87-17، N-86-6 و N-86-18 با ۲۷٪ پوشش پیکنید در رده‌های بعدی از نظر حساسیت قرار داشتند. لاین‌های KST5

www.SID.ir

جدول۱ - تجزیه واریانس درصد سطح نکروز برگ و پوشش پیکنید در ژنوتیپ های گندم در گلخانه
Table 1. Analysis of variance for leaf necrosis area and pynidial coverage (%) on wheat genotypes in greenhouse

			میانگین مربعات MS	
		درجه آزادی	سطح نکروز	پوشش پیکنید
S.O.V.	منابع تغییرات	df.	Necrose	Pycnidial coverage
Cultivar	رقم	33	0.029**	0.023*
Error	خطا	68	0.003	0.012
C.V%			4.530	12.090

* و **: به ترتیب معنی‌دار در سطح احتمال ۵٪ و ۱٪

* and **: Significant at 5% and 1% probability levels, respectively.

و KST14 با ۷٪ پوشش پیکنید کمترین مقدار و در نتیجه بالاترین مقاومت را داشتند. لاین‌های N-87-4 و KST10 با ۱۰٪ پوشش پیکنید در رده‌های بعدی از نظر مقاومت قرار گرفتند. بنابراین لاین N-80-19 حساس‌ترین و لاین‌های KST5 و KST14 مقاوم‌ترین ژنوتیپ‌ها از نظر میزان پوشش پیکنید بودند (جدول ۲). از نظر سطح زیر منحنی پیشرفت بیماری (AUDPC) برای پوشش پیکنید، لاین N-80-19 با ۳۲۰ بیشترین مقدار را داشت و لاین N-87-17 با ۳۰۰ در رتبه بعدی قرار گرفت. لاین KST10 با ۶۰ دارای کمترین مقدار AUDPC بود و پس از آن رقم مروارید و لاین N-87-5 با ۸۰ قرار داشتند (جدول ۲).

تجزیه خوشه‌ای ژنوتیپ‌ها بر اساس سطح نکروز برگ و پوشش پیکنید در شرایط گلخانه، آن‌ها را در دو گروه اصلی قرار داد (شکل ۱). گروه اصلی اول به دو زیر گروه تقسیم شد که زیر گروه اول شامل ژنوتیپ‌های شماره ۲۷، ۳۳، ۳۴ و ۳۱ با واکنش نیمه مقاوم بودند. ژنوتیپ شماره ۳۰ با واکنش مقاوم در زیر گروه دوم قرار گرفت. گروه اصلی دوم نیز به دو زیر گروه تقسیم شد که ژنوتیپ‌های شماره ۱۱، ۲۴، ۳، ۲۲، ۵، ۹ و ۲۳ با واکنش نیمه حساس تا حساس و ژنوتیپ شماره ۱ (رقم حساس تجن) با واکنش بسیار حساس در زیر گروه اول قرار گرفتند (شکل ۱). در زیر گروه دوم ژنوتیپ‌های شماره ۱۸، ۲۱، ۸، ۱۳، ۲۶، ۱۵، ۲۰ و ۱۰ با واکنش نیمه حساس تا حساس و ژنوتیپ‌های شماره ۶، ۱۹، ۴، ۲۸، ۲، ۱۶، ۲۹، ۱۷، ۳۲، ۷، ۱۲، ۱۴ و ۲۵ با واکنش نیمه مقاوم تا نیمه حساس قرار گرفتند.

تجزیه واریانس صفات مورد بررسی در شرایط مزرعه (مرحله گیاه کامل) نشان داد که تمام ژنوتیپ‌ها از نظر میزان سطح نکروز برگ همراه با پیکنید در سطح احتمال ۱٪ با هم اختلاف معنی‌دار داشتند که بیانگر تفاوت‌های ژنتیکی بین ژنوتیپ‌ها از نظر حساسیت و مقاومت به بیماری است (جدول ۳). مقایسه میانگین سطح نکروز برگ در ژنوتیپ‌های مورد

Archive of SID

www.SID.ir

جدول ۲- مقایسه میانگین درسد سطح نکروز برگ، پوشش پیکنید و AUDPC در ژنوتیپ های گندم در شرایط گلخانه و مزرعه

Table 2. Mean comparison of leaf necrosis area and pynidial coverage (%) and AUDPC on wheat genotypes in greenhouse and field

شماره ژنوتیپ	ژنوتیپ	درصد سطح نکروز برگ	گلخانه Greenhouse			مزرعه Field			
			درصد سطح نکروز برگ		واکنش	درصد سطح نکروز برگ		واکنش
Genotype No.	Genotype	Leaf necrosis area (%)	AUDPC (Necrose)	Pycnidial coverage (%)	AUDPC (Pycnid)	Reaction	Leaf necrosis area (%)	AUDPC (Necrose)	Reaction
1	Tajan	83a	580	33a	300	VS	79a	1110	S
2	Arta	53cdefgh	400	23abc	160	MS	60abcd	690	MS
3	Moghan3	63bcde	420	23abc	180	MS	73ab	1002	S
4	Morvarid	50defgh	320	17abcd	80	MS	62abcd	834	MS
5	N-80-19	60bcdef	400	33a	320	MS	77a	960	S
6	N-85-5	53cdefgh	340	17abcd	160	MS	74a	972	S
7	N-85-10	60bcdef	380	20abcd	120	MS	0h	0	O
8	N-85-14	67bcd	460	17abcd	220	S	60abcd	660	MS
9	N-86-3	67bcd	420	23abc	180	S	39abcde	369	MR
10	N-86-4	60bcdef	440	23abc	220	MS	67abc	885	S
11	N-86-6	70abc	500	27ab	260	S	75a	1044	S
12	N-86-8	57cdefgh	400	17abcd	160	MS	47abcde	540	MS
13	N-86-10	70abc	500	20abcd	140	S	27cdef	261	R
14	N-86-11	60bcdef	540	13abcd	120	MS	09fgh	99	R
15	N-86-15	67bcd	540	20abcd	180	S	34abcdef	336	MR
16	N-86-18	53cdefgh	520	27ab	260	MS	23efg	297	R
17	N-87-3	53cdefgh	400	17abcd	160	MS	68abc	834	S
18	N-87-4	60bcdef	420	10cd	60	MS	67abc	735	S
19	N-87-5	47efgh	340	20abc	80	MS	55abcd	561	MS
20	N-87-6	67bcd	480	20abcd	120	S	69abc	903	S
21	N-87-7	63bcde	440	13abcd	140	MS	41abcde	432	MR
22	N-87-14	60bcdef	420	20abcd	220	MS	55abcd	480	MS
23	N-87-17	67bcd	580	27ab	300	S	28bcdef	258	R
24	N-87-18	77ab	540	23abc	180	S	68abc	756	S
25	KST1	63bcde	400	17abcd	80	MS	75a	1065	S
26	KST4	60bcdef	380	20abcd	160	MS	68abc	873	S
27	KST5	37h	340	07d	100	MR	21defg	249	R
28	KST6	43fgh	300	20abc	160	MR	05gh	63	R
29	KST9	53cdefgh	400	20abcd	240	MS	75a	1068	S
30	KST10	23i	160	10bcd	60	R	08fgh	48	R
31	KST11	47efgh	300	17abcd	120	MR	23efg	225	R
32	KST12	53cdefgh	400	17abcd	220	MS	54abcd	648	MS
33	KST14	40gh	280	07d	100	MR	29defg	333	R
34	KST16	40gh	380	13bcd	160	MR	69abcd	720	S

میانگین ها با حروف مشابه در هر ستون براساس آزمون چند دامنه ای دانکن در سطح احتمال ۵٪ اختلاف معنی داری ندارند.

Means followed by similar letters in each column are not significantly different at 5% level of probability with duncan's multiple range test.

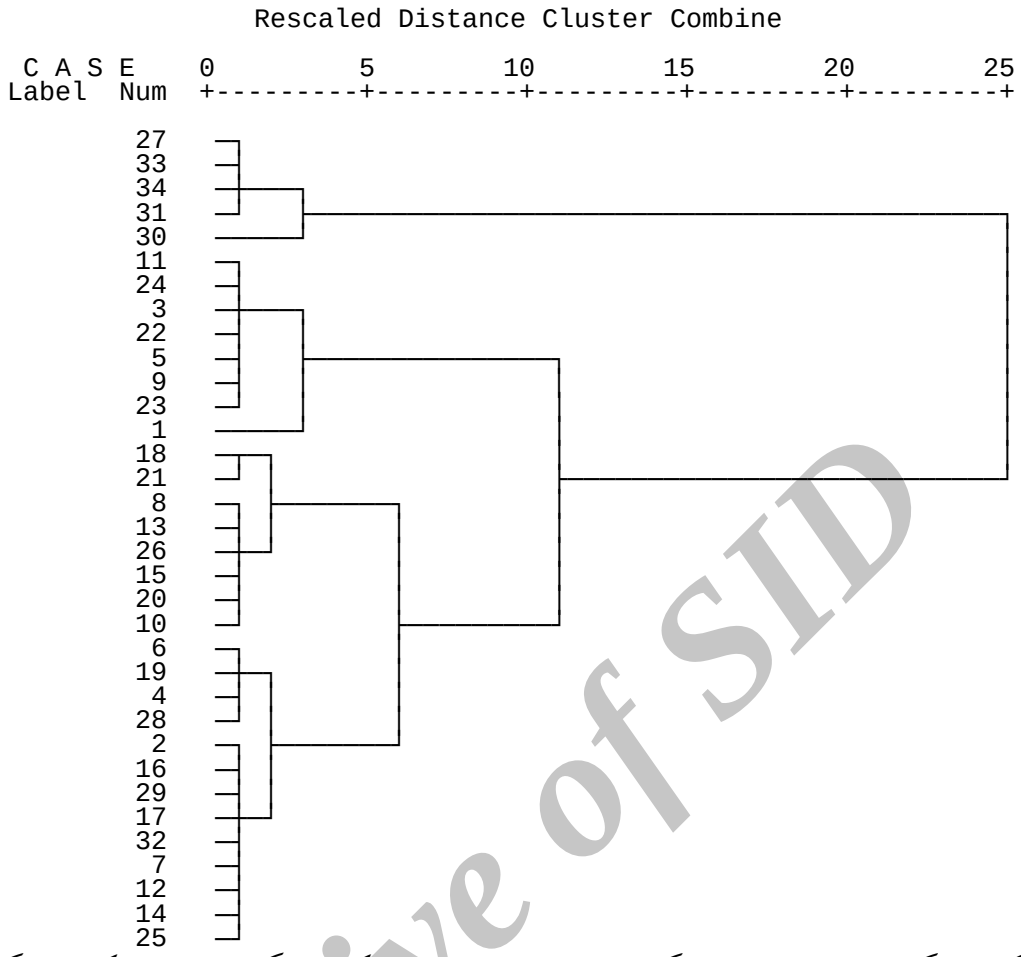
O: Immune مصون ; R: Resistance مقاوم ; MR: Moderately Resistance نیمه مقاوم ; MS: Moderately Susceptible نیمه حساس ;

S: Susceptible حساس ; VS: Very Susceptible بسیارحساس

بررسی براساس آزمون چند دامنه‌ای دانکن، آن‌ها را در گروه‌های مختلف قرار داد (جدول ۲). بر این اساس لاین N-80-19 با ۷۷٪ سطح نکروز برگ بیشترین شدت آلودگی را داشته و در نتیجه حساس‌ترین لاین بود. لاین‌های N-86-6 و KST1 با ۷۵٪ سطح نکروز برگ در رتبه‌های بعدی از نظر شدت آلودگی و حساسیت قرار گرفتند. لاین N-85-10 بدون

Archive of SID

www.SID.ir



شکل ۱- گروه‌بندی ژنوتیپ‌های گندم بر اساس درصد سطح نکروز برگ و پوشش پیکنید در گلخانه

Fig. 1. Grouping of wheat genotypes based on leaf necrosis area and pycnidial coverage (%) in greenhouse

For genotypes name see Table 2. برای نام ژنوتیپ‌ها به جدول ۲ مراجعه شود.

جدول ۳– تجزیه واریانس درصد سطح نکروز برگ همراه با پیکنید در ژنوتیپ‌های گندم در شرایط مزرعه

Table 3. Analysis of variance for leaf necrose area with pynidia on wheat genotypes in field

			میانگین مربعات MS
		درجه آزادی	سطح نکروز
S.O.V.	منابع تغییرات	df.	Necrose area
Replication	تکرار	2	0.038
Cultivar	رقم	33	0.202**
Error	خطا	66	0.022
C.V%			12.71

** : معنی دار در سطح احتمال ۱٪.

* : Significant at 1% probability level.

Archive of SID

www.SID.ir

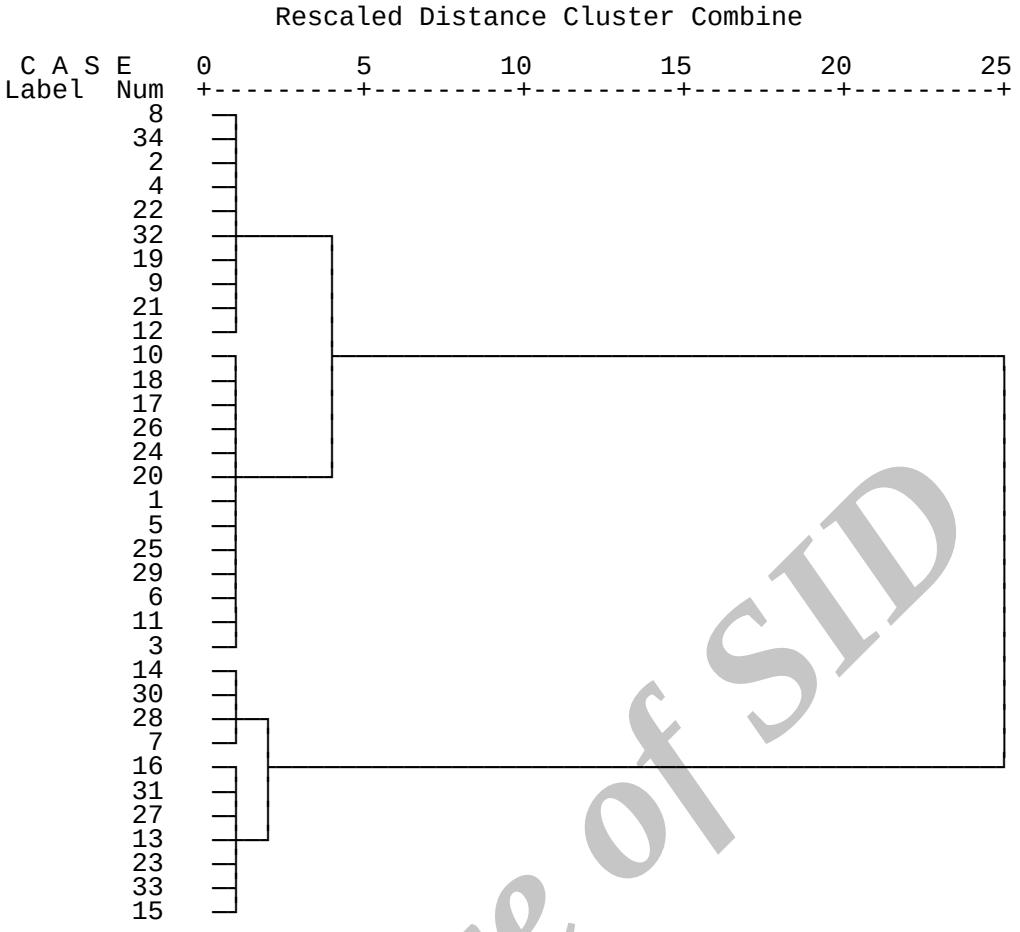
آلودگی و عدم سطح نکروز برگ بالاترین مقاومت را داشت و لاین KST6 با ۵٪ سطح نکروز در رتبه بعدی از نظر مقاومت قرار گرفت. بنابراین لاین‌های N-80-19 و N-85-10 به ترتیب حساس‌ترین و مقاوم‌ترین ژنوتیپ‌ها از نظر سطح نکروز برگ و شدت آلودگی بودند. از نظر سطح زیر منحنی پیشرفت بیماری (AUDPC)، لاین KST9 با ۱۰۶۸، بیشترین مقدار را داشته و لاین KST1 با ۱۰۶۵ در رتبه بعدی قرار گرفت. کمترین مقدار سطح زیر منحنی پیشرفت بیماری مربوط به لاین N-85-10 (با مقدار صفر) بود و لاین KST10 با ۴۸ در رده بعدی قرار گرفت (جدول ۲).

تجزیه خوشه‌ای ژنوتیپ‌ها در شرایط مزرعه، آن‌ها را در دو گروه قرار داد (شکل ۲). گروه اول به دو زیر گروه تقسیم شد که در زیر گروه اول ژنوتیپ‌های شماره ۸، ۳۴، ۲، ۴، ۲۲، ۳۲، ۱۹، ۹، ۲۱ و ۱۲ با واکنش نیمه حساس تا نیمه مقاوم و در زیر گروه دوم ژنوتیپ‌های شماره ۱۰، ۱۸، ۱۷، ۲۶، ۲۴، ۲۰، ۱، ۵، ۲۵، ۲۹، ۶، ۱۱ و ۳ با واکنش حساس بودند. گروه اصلی دوم نیز به دو زیر گروه تقسیم شد که ژنوتیپ‌های شماره ۱۴، ۳۰، ۲۸ و ۷ با واکنش مقاوم تا مصون در زیر گروه اول و ژنوتیپ‌های شماره ۱۶، ۳۱، ۲۷، ۱۳، ۲۳، ۳۳ و ۱۵ با واکنش مقاوم تا نیمه مقاوم در زیر گروه دوم قرار گرفتند.

مقایسه واکنش ژنوتیپ‌های مورد بررسی در مرحله گیاهچه‌ای و گیاه کامل نشان داد که نوع واکنش میزبان نسبت به عامل بیماری در دو مرحله رشدی فوق در بعضی از ژنوتیپ‌ها متفاوت بوده است، به طوری‌که ژنوتیپ‌هایی که در مرحله گیاهچه‌ای آلودگی پایینی داشتند و نوع واکنش آن‌ها مقاوم یا نیمه مقاوم بود در مرحله گیاه کامل میزان آلودگی روی آن‌ها شدید بوده و بنابراین نوع واکنش آن‌ها حساس تا نیمه حساس بود. درحالی که ژنوتیپ‌هایی که در مرحله گیاهچه‌ای آلودگی بالایی داشتند و نوع واکنش آن‌ها حساس یا نیمه حساس بود در مرحله گیاه کامل میزان بیماری روی آن‌ها بسیار کم بوده و واکنش مقاوم تا نیمه مقاوم از خود نشان دادند. نتایج به دست آمده با نتایج گزارش شده توسط کما و ون سیلفهوت (Kema and Van Silfhout, 1997) مطابقت دارد. آن‌ها هیچ رابطه‌ای بین مقاومت در مراحل گیاهچه‌ای و گیاه کامل در ۲۲ رقم گندم که با ۱۴ جدایه *Septoria tritici* آلوده‌سازی شدند، پیدا نکردند. این موضوع می‌تواند بیانگر وجود ژن‌های مقاومت خاص در مراحل مختلف رشدی گندم باشد که در دیگر پاتوسیستم‌های گندم نیز گزارش شده است. بعضی بررسی‌ها نشان داده که گروهی از ژنوتیپ‌های نتاج (فرزندان) که در مرحله گیاهچه‌ای آلوده‌سازی شدند، حساس بودند و لی موقعی که در مراحل پنجه‌زنی و برگ پرچم آلوده‌ساز ی شدند مقاومت نشان داده و هیچ‌گونه پوشش پیکنیدی روی آن‌ها مشاهده نشد (Gieco *et al.*, 2004). وجود لکه‌های فاقد اندام‌های باردهی قارچ در گیاهان بالغ به عنوان یک فنوتیپی از

Archive of SID

www.SID.ir



شکل ۲- گروه‌بندی ژنوتیپ‌های گندم بر اساس سطح نکروز برگ در شرایط مزرعه
Fig. 2. Grouping of wheat genotypes based on leaf necrosis area in field
For genotypes name see Table 2. برای نام ژنوتیپ‌ها به جدول ۲ مراجعه شود.

مقاومت نسبی شناخته شده و در پاتوسیستم گندم × *Septoria tritici* توسط سیمون و کوردو (Simon and Cordo, 1998) گزارش شده است. ترابی و نظری (Torabi and Nazari, 1998) نشان دادند که بعضی از ارقام گندم دارای مقاومت گیاهچه‌ای به پاتوتیپ‌های زنگ زرد بوده و بعضی از ارقام در مرحله بلوغ دارای مقاومت بودند. بعضی از ارقام مانند M-70-4 و MV17 هم در مرحله گیاهچه‌ای و هم در مرحله گیاه کامل به همه پاتوتیپ‌ها مقاومت نشان دادند. منزه و همکاران (Monazzah *et al.*, 2009) در ارزیابی مقاومت تعدادی از لاین‌های امیدبخش گندم نسبت به پاتوتیپ‌هایی از قارچ عامل بیماری سفیدک پودری در مرحله گیاهچه‌ای و گیاه کامل در یافتند که این لاین‌ها در مرحله گیاهچه‌ای در گلخانه حساسیت نشان دادند، در حالی که در مرحله گیاه کامل در مزرعه مقاومت داشتند.

در یک بررسی، برگ‌های گیاهچه‌ای، برگ

Archive of SID
www.SID.ir

های پرچم و سنبله ژنوتیپ‌های گندم در شرایط گلخانه و مزرعه نسبت به *Septoria tritici* با استفاده از پارامترهای دوره نهفتگی، دوره کمون، میزان آلودگی، میزان اسپورزایی و وزن هزار دانه مورد ارزیابی قرار گرفتند که در نتیجه رابطه معنی‌داری بین واکنش اندام‌های مختلف گیاه و همچنین بین آزمایش‌های مزرعه و گلخانه وجود داشت و ارقام گندم هم دامنه وسیعی از واکنش‌ها را نسبت به بیماری نشان دادند(Brokenshire, 2008). نتایج نشان می‌دهد که برهمکنش بین مقاومت گندم به *Septoria tritici* و مراحل فنولوژیکی بستگی به ژنوتیپ دارد. با وجود برهمکنش قوی بین ژنوتیپ و مراحل فنولوژیکی، انتخاب ژنوتیپ‌ها براساس ارزیابی مقاومت به بیماری فقط در یک مرحله رشدی می‌تواند منجر به حذف بسیاری از ژنوتیپ‌ها شود که ممکن است در مراحل دیگر رشدی دارای ژن‌های مقاومت مطلوب باشند. بنابراین ارزیابی مقاومت به بیماری بایستی حداقل در دو مرحله فنولوژیکی مختلف جهت انتخاب ژنوتیپ‌ها انجام شود (Gieco *et al.*, 2004).

در این بررسی بروز واکنش حساسیت در مرحله گیاهچه‌ای و مقاومت در مرحله گیاه کامل نشان‌دهنده وجود مقاومت گیاه کامل (Adult plant resistance) در بعضی از ژنوتیپ‌ها است. این نوع مقاومت در ژنوتیپ‌هایی که فاقد ژن‌های مقاومت وابسته به نژاد (Race specific) هستند دیده می شود. این نوع ژنوتیپ‌ها با داشتن چندین ژن کوچک اثر (Minor gene) ولی به صورت ترکیبی از ژن‌های فرعی می‌توانند مقاومت نسبی مطلوبی داشته باشند. این نوع مقاومت باعث کاهش سرعت تکثیر عامل بیماری، کاهش مقدار بیماری در انتهای فصل، کاهش رشد بیمارگر و کاهش توسعه همه‌گیری بیماری می‌شود. همچنین نقش مهمی در محدود کردن تنوع نژادی در عامل بیماریزا داشته و از مقاومت وابسته به نژاد پایدارتر است (Das and Griffey, 1995). کاشت ارقام گندم دارای یک ژن مقاومت باعث ایجاد فشار انتخاب در جمعیت بیمارگر در جهت بیماریزایی بیشتر و در نتیجه کاهش پایداری مقاومت ارقام می‌شود. در حالی که استفاده از ارقام دارای چند ژن مقاومت و یا ارقام با مقاومت نسبی و مقاومت در مرحله گیاه کامل، همه‌گیری را کاهش داده و در نتیجه باعث کاهش میزان بیماری و میزان خسارت محصول می‌شود (Knott, 1998).

با توجه به گسترش این بیماری در سال‌های اخیر در مناطق مرطوب و گندم خیز کشور، علاوه بر بررسی مداوم تغییرات ژنتیکی در جمعیت قارچ عامل بیماری در مناطق مذکور، باید برنامه‌ریزی مناسبی برای دستیابی به منابع ژنتیکی با ژن‌های مقاومت نسبی و یا مقاومت گیاه کامل جهت کنترل این بیماری و کاهش خسارت ناشی از آن انجام شود. بنابراین در برنامه‌های به‌نژادی ارقام گندم، ارزیابی واکنش

www.SID.ir

ژنوتیپ‌های گندم نسبت به پاتوتیپ‌های مختلف عامل بیماری جهت شناسایی منابع مقاومت به بیماری و انتقال ژن‌های مقاومت، امری ضروریست و باید به طور مداوم انجام شود.

References

Arraiano, L. S., and Brown, J. K. M. 2007. Genetic analysis of septoria tritici blotch to improve resistance in European wheat breeding programs. Wheat Production in Stressed Environment 12: 109-112.

Arraiano, L. S., Chartrain, L., Bossolini, E., Slatter, H. N., Keller, B., and Brown, J. K. M. 2007. A gene in European wheat cultivars for resistance to an African isolate to *Mycosphaerella graminicola.* Plant Pathology 56: 73-78.

Azimi, H. 1997. Study on the pathogenicity in different isolates of *Septoria tritici* , the causal agent of wheat septoriosis in Iran. MSc. Thesis, Islamic Azad University, Science and Research Branch. Tehran, Iran. 132 pp.(in Persian).

Brading, P. A., Verstappen, E. C. P., Kema, G. H. J., and Brown, J. K. M. 2002. A gene- for- gene relationship between wheat and *Mycosphaerella graminicola*, the septoria tritici blotch pathogen. Phytopathology 92: 439-445.

Brokenshire, T. 2008. The reaction of wheat genotypes to *Septoria tritici*. Annals of Applied Biology 82: 415-423.

Brown, J. K. M., Kema, G. H. J., Forrer, H. R., Verstappen, E. C. P., Arraiano, L. S., Brading, P. A., Foster, E. M., Hecker, A., and Jenny, E. 1999. Field resistance of wheat to septoria tritici leaf blotch and interactions with *Mycosphaerella graminicola* isolates. pp.148-149. In: Van Ginkel, M., McNab, A., and Krupinsky, j.(eds.), Septoria and Stagonospora Diseases of Cereals. A Compilation of Global Research. CIMMYT, Mexico, D. F., Mexico

Chartrain, L., Brading, P. A., Makepeace, J. C., and Brown, J. K. M. 2004. Source of resistance to septoria leaf blotch and implication for wheat breeding. Plant Pathology 53: 454-460.

Dadrezaei, S. T., Minasian, V., Torabi, M., and Lotfali Aeineh, G. 2003. Effect of *Septoria tritici* infections at different growth stages on yield and yield components of three wheat cultivars. Seed and Plant 19: 101-116 (in Persian).

Das, M. K., and Griffy, C. A. 1995. Gene action for adult-plant resistance to powdery

Archive of SID

www.SID.ir

mildew in wheat. Genome 38: 277-282.

Eyal, Z., Scharen, A. L., Prescott, J. M., and Van Ginkel, M. 1987. The Septoria Disease of Wheat. Concepts and Methods of Disease Management. CIMMYT, Mexico, D. F., Mexico. 52 pp.

Gieco, J. O., Dubcovsky, J., and Camargo, L. E. A. 2004. Interaction between resistance to *Septoria tritici* and phonological stages in wheat. Sci. Agric. (Piraccaba, Braz.) 61: 422-426.

Gilchrist, L., Gomez, B., Gonzalez, R., Fuentes, S., Mujeeb- Kazi, A., Pfeiffer, W., Rajaram, S., Rodriguez, R., Skovmand, B., van Ginkel, M., and Valezquez, C. 1999. *Septoria tritici* resistace sources and breeding progress at CIMMYT, 1970-99. pp. 134-139. In: Van Ginkel, M., McNab, A., and Krupinsky, J.(eds.), Septoria and Stagospora Diseases of Cereals. A Compilation of Global Research. CIMMYT, Mexico, D. F., Mexico.

Goodwin, S. B., McDonald, B. A., and Kema, G. H. J. 2003. The Mycosphaerella sequencing initiative. pp.149-151. In: Kema, G. H. J., van Ginkel, M., Harrabi, M.(eds.). Global Insights into the Septoria and Stagonospora Diseases of Cereals: Proceedings of the Sixth International Symposium on Septoria and Stagonospora Diseases of Cereals, Tunis, Tunisia.

Kema, G. H. J., and van Silfhout, C. H. 1997. Genetic variation for virulence and resistance in the wheat- *Mycosphaerella graminicola* pathosystem III. Comparative seedling and adult plant experiments. Phytopathology 87: 266-272.

Kia, S., and Torabi, M. 2008. Effects of infection with septoria leaf blotch (*Septoria tritici* Rob. Ex. Desm.) at different growth stages on yield and yield components of wheat cultivars in Gorgan. Seed and Plant 24(2):237-250(in Persian).

Knott, D. R. 1998. Using polygenic resistance to breed for stem rust resistance in wheat. pp. 39-47. In: Simmonds, N. W., and Rajaram, S. (eds.), Breeding Strtegics for Resistance to Rusts of Wheat. CIMMYT, Mexico, D.F. Mexico.

Kurt, S. 2002. Screening of wheat cultivars for resistance to stripe rust and leaf blotch in Turkey. Crop Protection 21: 495-500.

Mansoori, B., and Rajaei, S. 2006. Reaction of some wheat advanced lines and commercial cultivars to common fungal diseases in Fars province. Seed and Plant 22(4):455-472 (in Persian).

Archive of SID

www.SID.ir

Moldovan, V., Moldovan, M., and Kadar, R. 2005. Assesment of winter wheat cultivars for resistance to fusarium heat blight. Annual Wheat Newletter 51: 97-98.

Monazzah, M., Torabi, M., Rezaei, S., Razavi, M., and Dehghan, M. A. 2009. Evaluation of resistance of som wheat advanced lines to pathotypes of wheat powdery mildew at seedling and adult plant stages. Seed and Plant 25(1):33-49(in Persian).

Palmer, C. L., and Skinner, W. 2002. *Mycosphaerella graminicola* : latent infection, crop devastation and genomics. Molecular Plant Pathology 3: 63-70.

Saari, E. E., and Prescott, J. M. 1975. A scale for apprasing the foliar intensity of wheat disease. Plant Disease Reporter 59: 377-380.

Simon, M. R., and Cordo, C. A. 1998. Diallel analysis of four resistance components to *Septoria tritici* in six croses of wheat(*Triticum aestivum*). Plant Breeding 117: 123-126.

Torabi, M. 1980. Causal organism of wheat septoriose and its distribution in Iran. Iranian Journal of Plant Pathology 16(1-4): 7-16(in Persian).

Torabi, M., and Nazari, K. 1998. Seedling and adult plant resistance to yellow rust in Iranian bread wheat. Euphytica 100: 51-54.

Van Ginkel, M., and Rajaram, S. 1999. Breeding for resistance to the septoria/ stagonospora blights of wheat. pp:117-126. In: Van Ginkel, M., McNab, A., and Krupinsky, J. (eds.), Septoria and Stagonospora Diseases of Cereals: A Compilation of Global Research . CIMMYT, Mexico, D.F., Mexicio

Wiese, M. V. 1991. Compendium of Wheat Diseases . 2nd ed. APS Press, Minnesota, USA. 112pp.

Zhang, H., Haley, S. D., and Jin, Y. 2001. Inheritance of septoria tritici blotch resistance in winter wheat. Crop Science 41: 323-326.

Archive of SID

www.SID.ir