مجله به‌نژادی نهال و بذر
جلد ۱-۳۰، شماره ۳، سال ۱۳۹۳

اثربخشی ژن‌های مقاومت به لکه‌برگی سپتوریایی گندم (*Stb*) در برابر جدایه‌های *Mycosphaerella graminicola* استان فارس

Effectiveness of Septoria tritici Blotch (*Stb*) Resistance Genes to *Mycosphaerella graminicola* Isolates Collected from Fars Province

فاطمه طاهرمازندرانی[۱]، رحیم مهرابی[۲] و مژده ملکی[۳]

۱ و ۳- به ترتیب دانشجوی سابق کارشناسی ارشد و استادیار، دانشگاه آزاد اسلامی، واحد ورامین- پیشوا، دانشکده کشاورزی، گروه بیماری‌شناسی گیاهی، ورامین
۲- استادیار، موسسه تحقیقات اصلاح و تهیه نهال و بذر، کرج

تاریخ دریافت: ۱۳۹۲/۱۲/۲۳ تاریخ پذیرش: ۱۳۹۳/۵/۱۶

چکیده

طاهرمازندرانی، ف؛ مهرابی، ر. و ملکی، م.۱۳۹۳. اثربخشی ژن‌های مقاومت به لکه‌برگی سپتوریایی گندم (*Stb*) در برابر جدایه‌های *Mycosphaerella graminicola* استان فارس. **مجله به‌نژادی نهال و بذر ۱-۳۰: ۶۸۲ - ۶۶۹.**

بیماری لکه‌برگی سپتوریایی گندم که توسط *Mycosphaerella graminicola* با فرم غیر جنسی *Zymoseptoria tritici* ایجاد می‌شود به عنوان یکی از بیماری‌های مهم و خسارت‌زای گندم در جهان و ایران مطرح است. به منظور بررسی الگوی پرآزاری جدایه‌های استان فارس روی ارقام افتراقی حاوی ژن‌های مقاومت، آزمون بیماریزایی نسبت به هفت جدایه از این استان در شرایط کنترل شده در سال ۱۳۹۲ در موسسه تحقیقات اصلاح و تهیه نهال و بذر کرج با استفاده از روش رتبه‌دهی ۵-۰ انجام شد. از مجموع ۱۲۶ برهمکنش جدایه- رقم، ۴۱ برهمکنش مقاومت و ۸۵ برهمکنش حساسیت مشاهده شد. نتایج نشان داد که به جز جدایه‌های RM186 و RM177 با الگوی بیماریزایی یکسان، بقیه جدایه‌ها الگوی بیماریزایی متفاوتی داشتند که دال بر وجود تنوع ژنتیکی این جدایه‌ها نیز بود. جدایه‌های RM9، RM175 و RM179 کم پرآزارترین جدایه‌ها بودند که روی ۹ رقم از ۱۸ رقم افتراقی بیماریزا بودند. جدایه‌های RM28 و RM59 از ۱۸ رقم افتراقی، روی ۱۶ رقم بیماریزا بوده و پرآزارترین جدایه‌ها بودند. نتایج نشان داد که از میان ژن‌های مقاومت، تنها ژن‌های *Stb16/Stb17* موجود در رقم M3 نسبت به تمام جدایه‌های فارس موثر بودند. ژن‌های *Stb5*، *Stb6*، *Stb7* و *Stb8* مقاومت موثری علیه جدایه‌های فارس نداشتند. این نتایج می‌تواند در برنامه‌های به‌نژادی گندم برای مقاومت به بیماری لکه‌برگی سپتوریایی در استان فارس مورد استفاده قرار گیرد.

واژه‌های کلیدی: لکه برگی سپتوریایی، ارقام افتراقی، *Mycosphaerella gramincicola*، پرآزاری.

نویسنده مسئول: rahim.mehrabi@gmail.com تلفن: ۰۲۶۳۶۷۰۲۹۸۱

Archive of SID
www.SID.ir

مقدمه

عامل بیماری لکه‌برگی سپتوریایی قارچ *Mycosphaerella graminicola* است که یک قارچ آسکومیست متعلق به راسته کاپنودیال (Capnodiales) بوده و در تمام طول فصل رویشی به صورت جنسی و غیر جنسی تولید مثل می‌کند (Kema *et al.*, 1996). این بیماری اولین بار در سال ۱۸۴۲ از فرانسه (Desmazieres, 1842) و در ایران توسط پتراک و اسفندیاری گزارش شد (Petrak and Esfandiari, 1941). سپتوریای برگی گندم یکی از مهم‌ترین بیماری‌های گندم است و در اروپا در درجه اول اهمیت قرار دارد که خسارت قابل توجهی به محصول وارد می‌آورد (Thomas *et al.*, 1989). بیماری لکه‌برگی سپتوریایی در سال ۱۳۷۵ در خوزستان و اغلب نقاط کشور به صورت همه‌گیر ظاهر شد و نتایج نشان داد که بسته به رقم، مرحله آلودگی و شدت آن، می‌تواند باعث کاهش محصول به میزان ۶/۹۹ الی ۳۸/۲۰ درصد شود و بیشترین میزان خسارت در ارقام حساس مربوط به دو جزء وزن هزاردانه و تعداد دانه در سنبله است (Dadrezaei *et al.*, 2003). در اثر این بیماری میزان دانه‌بندی کاهش می‌یابد، پر شدن دانه‌ها مختل می‌شود و دانه‌های چروکیده هنگام برداشت همراه کاه از بین می‌روند (Dadrezaei *et al.*, 2003). استفاده از ارقام پاکوتاه و پرمحصول در چند سال اخیر در ایران و بسیاری از کشورهای دیگر باعث گسترش این بیماری شده است. این بیماری در نقاط مختلف کشور دیده می‌شود، لیکن کانون‌های اصلی آلودگی در استان‌های گلستان، و خوزستان قرار دارند. گسترش لکه‌برگی سپتوریایی با توسعه کشت ارقام پاکوتاه مقاوم به زنگ و همچنین با افزایش مصرف کودهای نیتروژن افزایش یافته و خسارت بیماری در صورتی که آلودگی قبل از ظهور سنبله رخ دهد، به مراتب شدیدتر خواهد بود (Simon *et al.*, 2003). رطوبت حاصل از باران، شبنم و مه در مزرعه عواملی هستند که موجب تحریک به آزاد شدن آسکوسپورها و پیکنیدیوسپورها از گیاه زراعی آلوده می‌شوند (Eyal and Levy, 1987). وجود پیکنیدیسپورهای در متن نکروز شده برگ آلوده قابل اطمینان‌ترین صفت برای شناسایی این لکه‌برگی از سایر لکه‌برگی‌هاست. مطالعات تغییر پذیری ژنتیکی بیماری نشان داده در کشورهایی مثل انگلستان که فرم جنسی قارچ که همان آسکوسپورهای هوازاد هستند منبع اصلی زادمایه اولیه بوده و همچنین اسپورهای غیرجنسی منبع اصلی زادمایه برای آلودگی ثانویه در طی فصل رشد هستند (Shaw and Royle, 1993). اهمیت این بیماری از دهۀ ۷۰ میلادی روبه افزایش گذاشته است که علت آن احتمالاً گسترش ارقام مقاوم به بیماری‌های زنگ و نیز گسترش زراعت بدون شخم بود که موجب حفظ فرم زمستانگذران بسیاری از قارچ‌ها و از جمله قارچ *M. graminicola* می‌شود

Archive of SID

www.SID.ir

(Forrer and Zadoks, 1983). از علل دیگر گسترش این بیماری می‌توان به متداول شدن و استفادهٔ گسترده از ارقام نیمه کوتاه، زودرس و حساس مکزیکی به جای ارقام محلی و بومی گندم (Eyal and Ziv, 1974) و تغییر در عملیات زراعی مانند کشت متراکم گندم و استفاده از کود فراوان اشاره کرد (Eyal and Ziv, 1974). اکثر ارقام پر محصول به این بیماری حساس هستند (Brown *et al.*, 2001). از ۴۰ سال پیش تاکنون این بیماری شدیدتر شده و تقریباً در تمام مناطق گندم‌کاری در جهان اهمیت اقتصادی پیدا کرده است.

با توجه به استراتژیک بودن محصول و سیاست حفظ خودکفایی گندم، نیاز به استفاده از راهکارهای صحیح و اصولی برای کنترل و مدیریت این بیماری خسارت‌زا احساس می‌شود. استفاده از سموم شیمیایی در بعضی از کشورها برای کنترل این بیماری اجتناب‌ناپذیر بوده اما این روش کنترل، علاوه بر افزایش قابل ملاحظه هزینه تولید، اثر نامطلوبی بر محیط زیست داشته و همچنین باعث تهدید سلامتی انسان می‌شود (Ghaneie *et al.*, 2012). در بین تمام راه‌های مختلفی که برای کنترل این بیماری و کاهش خسارت آن به‌کار رفته است، استفاده از ارقام مقاوم به عنوان مطمئن‌ترین و اقتصادی‌ترین روش مبارزه با بیماری است (Abrinbana *et al.*, 2012). به منظور انتخاب ارقام مقاوم به بیماری، آگاهی از میزان پرآزاری جمعیت‌های قارچ عامل بیماری روی ژن‌های مقاومت شناخته شده ضروری است. در این تحقیق سعی شده تا با به کارگیری ارقام افتراقی میزان موثر بودن یا نبودن ژن‌های مقاومت به جدایه‌های سپتوریای برگی استان فارس بررسی شود تا بتوان از آن‌ها در برنامه‌های به‌نژادی این منطقه از کشور استفاده کرد.

مواد و روش‌ها

جمع‌آوری و خالص‌سازی جدایه‌ها

به منظور جداسازی قارچ عامل سپتوریای برگی گندم در سال ۱۳۹۱، ضمن سفر به مناطق مورد کشت و آلوده استان فارس، مزارع گندم مورد بازدید قرار گرفته و برگ‌های دارای علائم سپتوریای برگی جمع‌آوری و سپس به بخش تحقیقات غلات در موسسه تحقیقات اصلاح و تهیه نهال و بذر کرج منتقل شدند. برگ‌های آلوده را ابتدا خشک کرده و در مواقع لزوم قارچ عامل بیماری از آن‌ها جداسازی شد. برای جداسازی قارچ ابتدا قطعه‌ای از برگ آلوده نمونه به طور جداگانه به وسیله هیپوکلریت سدیم ۲٪ ضد عفونی سطحی شده، سپس قطعات مزبور روی لام‌های تمیز چسبانده شده و در تشتک‌های پتری دارای کاغذ صافی مرطوب قرار داده شدند. تشتک‌های پتری به مدت ۲۴ ساعت در دمای ۲۰ درجه سانتی‌گراد قرارگرفته و اووزهای (Ooz) خارج شده از دهانه پیکنیدها در زیر بینوکولر با سوزن استریل نازک به محیط کشت PDA حاوی ۱۰۰µg/ml

www.SID.ir

استرپتومایسین منتقل شدند. تشتک‌ها سپس به مدت یک هفته در دمای ۲۰ درجه سانتی‌گراد نگهداری شده و کلونی‌های رشد کرده روی محیط کشت PDA منتقل و سپس خالص‌سازی نمونه‌ها با استفاده از روش تک اسپور از طریق خط‌کشی لوپ آزمایشگاهی آغشته به سوسپانسیون اسپور روی محیط کشت PDA انجام شد. کشت خالص قارچ مجدداً به محیط کشت PDA جهت تکثیر منتقل شدند. برای نگهداری بلند مدت از این کلونی‌ها، اسپورهای مخمر مانند آن‌ها جمع‌آوری و به تیوب‌های اپندورف منتقل و در نهایت در دمای ۸۰- درجه سانتی‌گراد قرار داده تا برای کشت مجدد در زمان مورد نیاز مورد استفاده قرار گیرند.

تهیه محیط کشت و زادمایه

برای تهیه محیط کشت Yeast Glucose Medium (YGM) جهت کشت جدایه‌ها، ۸ گرم عصاره مخمر و ۲۰ گرم گلوکوز در یک لیتر آب مقطر حل و در اتوکلاو استریل شد. برای تهیه زادمایه، محیط کشت مزبور به‌وسیله قطعاتی از کلنی رشد کرده روی محیط کشت PDA آلوده شد و به مدت پنج روز در روی شیکر در دمای ۱۷ درجه سانتی‌گراد قرار گرفت. بعد از رشد اسپورهای مخمر مانند جدایه‌ها، محیط کشت حاوی اسپور درون فالکون‌های 50ml ریخته شده و به مدت ۵ دقیقه در ۴۵۰۰ دور در دقیقه سانتریفیوژ شدند. مایع رویی دور ریخته شد و اسپورهای ته نشین شده به منظور انجام عملیات مایه‌زنی در آب مقطر استریل حل شده و در نهایت غلظت آن به میزان ۱×۱۰^{۷} اسپور بر میلی‌لیتر تنظیم شد. برای کاهش کشش سطحی و در نتیجه افزایش سطح تماس سوسپانسیون اسپور با برگ از Tween 20 به میزان ۰/۱۵٪ حجم سوسپانسیون اسپور استفاده شد.

مایه‌زنی و ارزیابی واکنش ارقام افتراقی گندم نسبت به جدایه‌ها

مواد گیاهی در این تحقیق شامل ۱۸ رقم افتراقی گندم دریافتی از دانشگاه واخنینگن هلند و دو رقم شاهد حساس بود که با سه تکرار در برابر هفت جدایه ارزیابی شدند. کاشت بذرهای گندم به تعداد ۱۰-۷ بذر درون گلدان‌های پلاستیکی حاوی مخلوط پیت ماس و خاک به نسبت ۱:۱ انجام شد و سپس گلدان‌ها به مقدار مورد نیاز آبیاری شده و در گلخانه با دمای ۲±۲۰ درجه سانتی‌گراد قرار داده شدند. در نهایت گیاهچه‌های ده روزه گندم در مرحله یک برگی با استفاده از اسپورپاش دستی با سوسپانسیون اسپور مایه‌زنی شدند. گیاهچه‌ها به مدت ۴۸ ساعت در شرایط رطوبتی اشباع قرار گرفتند و درنهایت در زیر سرپوش‌های پلی‌اتیلنی شفاف در دمای ۲±۲۰ درجه سانتی‌گراد نگهداری شدند.

برای ارزیابی واکنش ارقام افتراقی گندم نسبت به جدایه‌ها، ۲۱ روز پس از مایه‌زنی، از روش رتبه‌دهی ۵-۰ استفاده شد

Archive of SID

www.SID.ir

(Adhikari *et al.*, 2003). در این روش تراکم پیکنید (P%) تشکیل شده روی لکه‌های نکروز شده به عنوان پارامتر اصلی ارزیابی مد نظر قرار گرفته می‌شود که به شرح زیر است.

(۰): بدون تشکیل پیکنید؛ (۱): پیکنید کم در تعداد بسیار کمی از لکه‌ها (P≤5%)؛ (۲): تراکم پایین پیکنید در اکثر یا بیشتر لکه‌ها که به صورت غیریکنواختی پخش شده (5%<P≤10%)؛ (۳): توسعه متوسط پیکنید روی بیشتر لکه‌ها (10%<P≤20%)؛ (۴): تراکم بالای پیکنید که روی اکثر لکه‌ها توسعه یافته است (20%<P≤50%)؛ (۵): حداکثر تراکم پیکنیدی (P>50%). در این روش رتبه‌های ۱-۰ واکنش مقاومت و سایر رتبه‌ها واکنش حساسیت در نظر گرفته می‌شوند.

نتایج و بحث

در این تحقیق هفت جدایه از نمونه‌های برگی گندم نان جمع‌آوری شده از هفت مزرعه مختلف استان فارس جداسازی، خالص‌سازی و مورد استفاده قرار گرفت (جدول ۱). آزمون بیماریزایی مانند آن‌چه که برای بقیه ژنوتیپ‌ها در قسمت مواد و روش‌ها ارایه شد، روی رقم حساس Obelisk با استفاده از مایه‌زنی گیاهچه‌های ده روزه قارچ با سوسپانسیون هر جدایه به غلظت ۱×۱۰^{۷} انجام شد. نتایج نشان داد که تمامی جدایه‌ها قادر بودند علائم تیپیک بیماری را ایجاد کنند. علائم بیماری عموماً پس از ۱۲-۱۰ روز با بروز علائم زردی شروع شده و با پیشرفت بیماری، لکه‌های زرد رنگ تبدیل به لکه‌های نکروزه شده و پس از حدود ۱۵ روز پیکنیدهای قارچ عامل بیماری در متن لکه‌های نکروز شده مشاهده شد و در نهایت پس از ۲۱ روز نکروز سراسری همراه با تولید پیکنید فراوان مشاهده شد. پس از انجام آزمون بیماریزایی، واکنش ارقام افتراقی (جدول ۲) حاوی ژن‌های مقاومت نسبت به هرکدام از جدایه‌ها مورد بررسی قرار گرفت. از مجموع ۱۲۶ برهمکنش جدایه‌های سپتوریای برگی روی ارقام افتراقی (بدون محاسبه شاهد حساس)، ۴۱ مورد برهمکنش مقاومت و ۸۵ مورد برهمکنش حساسیت مشاهده شد (جدول ۳).

همان‌گونه که در جدول ۳ مشاهده می‌شود، به طور کلی نتایج نشان داد که به جز جدایه‌های RM186 و RM177 که الگوی بیماریزایی یکسانی داشتند، الگوی بیماریزایی بقیه جدایه‌های متفاوت بود که دال بر وجود تفاوت ژنتیکی این جدایه‌ها نیز بود. از میان جدایه‌های مورد بررسی، جدایه‌های RM9، RM175 و RM179 کم‌پرآزارترین جدایه‌ها بودند که روی ۹ رقم از ۱۸ رقم افتراقی (بدون محاسبه شاهد حساس) بیماریزا بودند (شکل ۱). جدایه‌های RM28 و RM59 از ۱۸ رقم افتراقی روی ۱۶ رقم بیماریزایی داشتند و بنابراین پرآزارترین جدایه‌ها بودند (شکل ۱). جدایه RM28 روی ارقام M3 و Arina فاقد پرآزاری بود و جدایه RM59 روی ارقام M3 و Riband

www.SID.ir

جدول ۱- جدایه‌های قارچ *Mycosphaerella graminicola* و محل جمع‌آوری آن‌ها از استان فارس
Table 1. *Mycosphaerella graminicola* isolates and their collecting areas from Fars province

شماره No.	کد جدایه Isolate code	شهر Town
1	RM179	Sarvestan
2	RM175	Sarvestan
3	RM186	Sarvestan
4	RM177	Sarvestan
5	RM59	Sarvestan
6	RM28	Marvdasht
7	RM9	Marvdasht

جدول ۲- ارقام افتراقی گندم حاوی ژن‌های مقاومت *Stb*
Table 2. Differential wheat cultivars containing *Stb* resistance genes

شماره No.	رقم Genotype	منشاء Origin	ژن‌های مقاومت *Stb* *Stb* resistance genes
1	Oasis	USA	*Stb1 + Stb6*
2	Veranopolis	Brazil	*Stb2 + Stb6*
3	Is. 493	Israel	*Stb3 + Stb6*
4	Tadinia	USA	*Stb4 + Stb6*
5	Cs Synthetic	China/USA	*Stb5 + Stb6*
6	Bulgaria 88	Bulgaria	*Stb1 + Stb6*
7	Flame	England	*Stb6*
8	Shafir	Israel	*Stb6*
9	Estanzuela Federal	Uruguay	*Stb7*
10	M6 Synthetic	USA	*Stb8*
11	Courtot	France	*Stb9*
12	TE9111	Portugal	*Stb11 + Stb6 + Stb7*
13	Salamouni	Canada	*Stb13 + Stb14*
14	Arina	Switzerland	*Stb15 + Stb6*
15	Riband	England	*Stb15 + Stb6*
16	M3	USA	*Stb16 + Stb17*
17	Balance	France	*Stb18*
18	Kavkaz-K4500	CIMMYT	*Stb10 + Stb12 + Stb6 + Stb7*
19	Obelisk	Netherlands	Susceptible control
20	Taichung 29	Japan	Susceptible control

پر آزاری نداشت (جدول ۳). تمامی جدایه‌ها علاوه بر شاهدهای حساس (Obelisk و Taichung 29) روی ارقام Cs Synthetic، Shafir، Estenzuela Federal و M6 Synthetic پرآزاری داشتند. هیچ‌کدام از جدایه‌های مورد بررسی روی رقم M3 پرآزاری

Archive of SID

www.SID.ir

جدول ۳- واکنش ارقام افتراقی گندم حاوی ژن‌های مقاومت *Stb* نسبت به جدایه‌های قارچ *Mycosphaerella graminicola* جمع‌آوری شده از استان فارس

Table 3. Rresponse of differential wheat cultivars possessing *Stb* resistance genes to *Mycosphaerella graminicola* isolates collected from Fars province

ارقام افتراقی* Differential Cultivars*	جدایه‌ها Isolates														تعداد واکنش مقاومت No. of resistance reaction
	RM179		RM175		RM186		RM177		RM59		RM28		RM9		
	P	A	P	A	P	A	P	A	P	A	P	A	P	A	
1	4	1	0	0	15	3	14	3	23	4	23	4	27	4	2
2	17	3	6	2	17	3	32	4	32	4	68	5	0	0	1
3	12	3	7	2	6	2	17	3	28	4	73	5	0	0	1
4	4	1	0	0	0	0	0	0	30	4	73	5	4	1	5
5	13	3	6	2	13	3	17	3	28	4	78	5	35	4	0
6	18	3	6	2	13	3	12	3	32	4	78	5	4	1	1
7	18	3	17	3	33	4	23	4	27	4	78	5	0	0	1
8	13	3	18	3	48	4	22	4	33	4	82	5	38	4	0
9	23	4	12	3	32	4	42	4	50	4	83	5	43	4	0
10	23	4	6	2	12	3	6	2	78	5	87	5	18	3	0
11	4	1	0	0	9	2	6	2	17	3	45	4	15	3	2
12	4	1	0	0	42	4	37	4	8	2	22	4	0	0	3
13	18	3	0	0	6	2	17	3	12	3	58	5	13	3	1
14	0	0	0	0	0	0	0	0	6	2	0	0	0	0	6
15	0	0	0	0	0	0	0	0	4	1	18	3	3	1	6
16	0	0	0	0	0	0	0	0	3	1	0	0	4	1	7
17	4	1	6	2	6	2	12	3	18	3	78	5	6	2	1
18	0	0	0	0	4	1	0	0	28	4	8	2	6	2	4
19	73	5	55	5	83	5	82	5	58	5	78	5	12	3	0
20	43	4	45	4	65	5	72	5	82	5	82	5	75	5	0
تعداد واکنش ناپرآزاری Total No. avirulence		9		9		5		5		2		2		9	

P: میانگین درصد سطح برگ حاوی لکه‌های نکروز پوشیده شده با پیکنید.

A: رتبه کسب شده برای واکنش ارقام افتراقی گندم نسبت به جدایه‌ها با استفاده از روش رتبه‌دهی ۵-۰ (Adhikari *et al*., 2003).

*: برای نام ارقام افتراقی و ژن‌های مقاومت آن‌ها به جدول ۲ مراجعه شود.

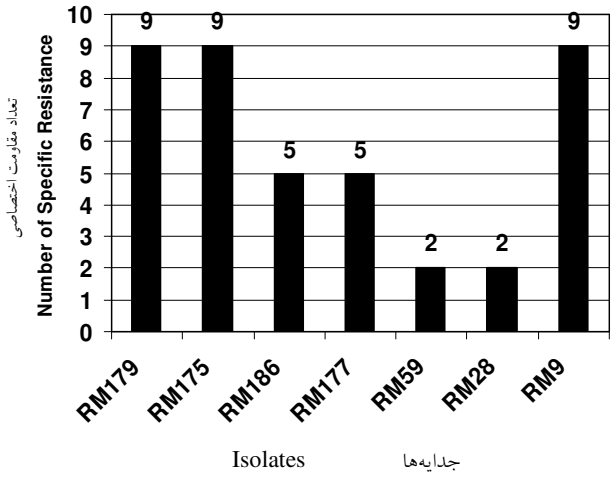
P: The mean percentage of leaf area covered by necrotic lesions bearing pycnidia.
A: The reaction of differential cultivars to isolates using 0-5 scaling system (Adhikari *et al.,* 2003).
*: Refer to Table 2 for name of differential cultivars and their resistance genes

نداشت (جدول ۳).

تعداد واکنش مقاومت اختصاصی شناسایی شده هر رقم نسبت به هفت جدایه مورد بررسی در شکل ۲ نشان داده شده است. به طور کلی از میان ۱۸ رقم افتراقی ۱۲ رقم حاوی ژن *Stb6* نیز هستند (جدول ۲)، اما از آن‌جا که ژن *Stb6* موجود در رقم افتراقی Shafir مقاومت موثری نسبت به هیچ‌کدام از جدایه‌ها نشان نداد، مقاومت اختصاصی احراز شده در این ۱۲ رقم (به شرط وجود) نمی‌تواند حاصل از ژن *Stb6* باشد. رقم Oasis حاوی ژن *Stb1* است که اولین ژن مقاومت شناسایی شده به بیماری لکه‌برگی سپتوریایی بوده و در آمریکای مرکزی بیشترین پایداری را نشان داده است (Adhikari *et al.*, 2004b). این رقم در مقابل دو جدایه واکنش مقاومت نشان داد و در برابر

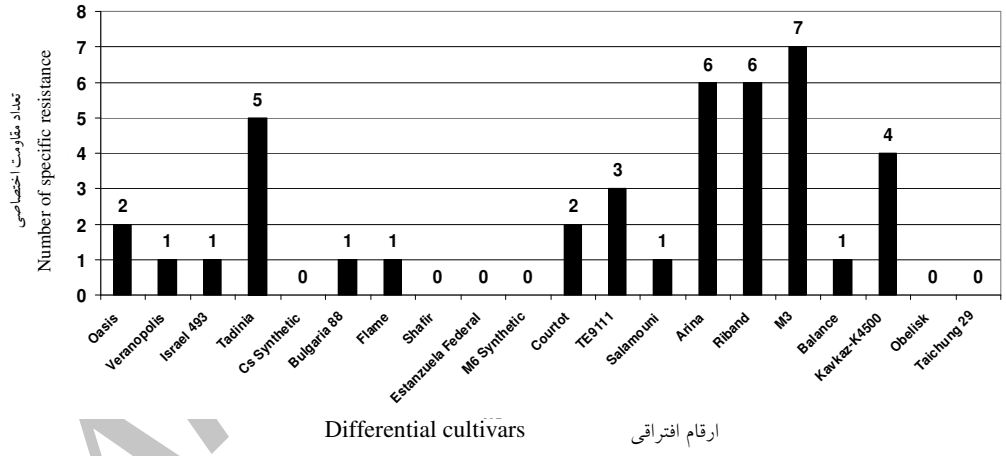
Archive of SID

www.SID.ir



شکل ۱- تعداد مقاومت اختصاصی ۱۸ رقم افتراقی گندم نسبت به هرکدام از جدایه‌های *Mycosphaerella graminicola* جمع‌آوری شده از استان فارس

Fig. 1. The total number of specific resistances of 18 wheat differential cultivars to each isolate of *Mycosphaerella graminicola* collected from Fars province



شکل ۲- تعداد مقاومت اختصاصی هر یک از ارقام افتراقی گندم نسبت به هفت جدایه قارچ *Mycosphaerella graminicola* جمع‌آوری شده از استان فارس

Fig. 2. The number of specific resistance of each wheat differential cultivar to seven isolates of *Mycosphaerella graminicola* collected from Fars province

سایر جدایه‌ها واکنش حساسیت داشت (شکل ۲). رقم Veranopolis به‌عنوان یکی از منابع مهم مقاومت شناخته شده است که تاکنون دو ژن *Stb2* و *Stb6* در آن شناسایی شده و در آزمایش‌های مزرعه‌ای نیز جزو مقاوم‌ترین ارقام به‌شمار می‌رود (Chartrain *et al.*, 2004؛ Kema *et al.*, 2000؛ Czembor *et al.*, 2011). ارقام Vernapolis و Is. 493 که به ترتیب حاوی

www.SID.ir

ژن‌های *Stb2* و *Stb3* هستند تنها به جدایه RM9 مقاوم بوده و نسبت به شش جدایه دیگر واکنش حساسیت نشان دادند (شکل ۲).

ژن *Stb4* یکی از ژن‌های مقاومتی است که در رقم Tadinia مورد شناسایی قرار گرفته است (Adhikari *et al.*, 2004a). ژن *Stb4* بیش از ۱۴ سال در ایالت کالیفرنیا آمریکا مؤثر بوده است، ولی در سال‌های اخیر بی تأثیر شده است. نتایج آزمایش‌های پرآزاری نشان داد که این رقم در برابر جدایه‌های استان فارس مقاومت مناسبی داشته و نسبت به پنج جدایه از هفت جدایه مقاومت نشان داد (شکل ۲).

ارقام Synthetic Cs، Shafir، Estenzuela Federal و Synthetic M6 به ترتیب حاوی ژن‌های *Stb5*، *Stb6*، *Stb7* و *Stb8* هستند (جدول ۲). نتایج نشان داد که هیچ‌کدام از ژن‌های مذکور مقاومت موثری در برابر جدایه‌های استان فارس نداشته و بنابراین استفاده از این ارقام در برنامه‌های به‌نژادی توصیه نمی‌شود. ژن مقاومت *Stb9* در رقم بهاره Courtot شناسایی و مکان‌یابی شده است (Chartrain *et al.*, 2009). نتایج آزمایش‌های پرآزاری نشان داد که رقم Courtot تنها نسبت به دو جدایه مقاومت نشان داده و به بقیه جدایه‌ها حساس بود. رقم TE9111 یکی از منابع مقاومت به *M. graminicola* است که ترکیبی از مقاومت‌های اختصاصی جدایه و غیر اختصاصی در آن دیده می‌شود و ژن *Stb11* در آن شناسایی شده است (Chartrain *et al.*, 2005b). این رقم به سه جدایه مقاوم بود (شکل ۲). رقم Salamouni حاوی دو ژن مقاومت *Stb13* و *Stb14* به بیماری سپتوریای برگی گندم است (Tabib Ghaffary *et al.*, 2012). به نظر می‌رسد ژن‌های مذکور نمی‌توانند مقاومت موثری علیه جدایه‌های استان فارس داشته باشند و این رقم تنها در برابر یک جدایه مقاومت نشان داد. در میان ارقام افتراقی رقم سویسی Arina و رقم Riband به عنوان یکی دیگر از منابع مقاومت به بیماری سپتوریای برگی بوده، که حاوی ژن مقاومت *Stb15* روی کروموزوم 6AS هستند (Arraiano *et al.*, 2007). نتایج نشان داد که این دو رقم نسبت به اکثر جدایه‌ها مقاوم بوده و تنها در برابر یک جدایه واکنش حساسیت مشاهده شد (شکل ۲)، بنابراین ژن *Stb15* می‌تواند به عنوان یک ژن موثر علیه سپتوریای برگی در برنامه‌های اصلاح برای مقاومت به این بیماری مورد استفاده قرار گیرد. جالب آن‌که رقم M3 که دارای دو ژن مقاومت *Stb16* و *Stb17* است، نسبت به تمامی جدایه‌ها کاملاً مقاوم بود و هیچ‌گونه حساسیتی نشان نداد (شکل ۲). ژن *Stb17* اولین ژن مقاومت به سپتوریای برگی است که فقط در مرحله گیاه بالغ شناسایی شده است (Tabib Ghaffary *et al.*, 2012)، بنابراین ژن‌های مذکور علیه جدایه‌های مورد بررسی مؤثر بوده و می‌توان از آن‌ها در برنامه‌های به‌نژادی علیه این بیماری در ایران استفاده

Archive of SID

www.SID.ir

کـرد. نتـایج آزمـایش‌هـای پـرآزاری نـشان داد کـــه رقـــم Balance حـــاوی ژن *Stb18* (Tabib Ghaffari *et al.*, 2011) تنها نسبت بـه جدایـه RM179 مقاومـت نـشان داد و بـه بقیـه جدایـه‌هـا حـساس بـود، بنـابراین ژن *Stb18* مقاومت موثری در برابر جدایه‌های استان فـارس نداشـته و اسـتفاده از ایـن رقـم در برنامـه‌هـای به‌نژادی توصیه نمی‌شود.

بـر اسـاس تحقیقـات انجـام شـده در منـاطق مختلف دنیا گزارش شده است که ژن‌هـای *Stb* در برابـر حملـه بیمـارگر لکـه‌برگـی سـپتوریایی آسـیب پـذیر هـستند (Cowger *et al.*, 2000). داده‌های حاصل از این تحقیق، نتـایج تحقیقـات ابرین‌بنا و همکاران (Abrinbana *et al.*, 2012) را تا حد زیادی تایید می‌کند. این محققین نـشان دادند که اکثر جدایه‌هـای *M. graminicola* در برابر اغلب ارقام افتراقـی پـرآزار هـستند، و ایـن نـشان مـی‌دهـد اکثـر ژن‌هـای *Stb* در برابـر جدایـه‌هـای ایرانـی ژن‌هـای مقاومـت مـؤثری نیـستند. آن‌هـا همچنـین بیـان کردنـد سـه رقـم Courtot، Shafir و Estanzuela Federal در مقابـل همـه جدایـه‌هـای مـورد مطالعـه حـساس بودند. در مقابـل سـه ژنوتیـپ Arina، Flame و TE 9111 بـه عنـوان مقـاوم‌تـرین ارقـام افتراقـی شناخته شدند. مشابه تحقیق حاضر، این محققـین مشخص کردند که از میان ژن‌های *Stb1-Stb15* ژن *Stb15* موجـــود در رقـــم Arina یکـــی از مؤثرترین ژن‌های مقاومت شناخته شده در برابـر جدایـه‌هـای مـورد بررسـی بـوده اسـت. زمبـر و همکـاران (Czembor *et al.*, 2011) الگـوی بیماریزایی ۲۳ جدایه قـارچ سـپتوریای برگـی را روی تعـدادی از ارقـام افتراقـی بررسـی کردنـد. مطالعـات ایـن محققـین نـشان داد کـه جدایـه IPO86036 پرآزارتـرین جدایـه بـود و ارقـام Cs/Synthetic، Vernapolis و Arina کـه بـه ترتیـب حـاوی ژن‌هـای *Stb5*، *Stb2* و *Stb15* هـستند مقـاوم‌تـرین ارقـام در برابـر جدایـه‌هـای اروپایی این بیمـارگر بودنـد. مقایـسه نتـایج ایـن تحقیقات بـا تحقیـق حاضـر نـشان مـی‌دهـد کـه برخـی از ژن‌هـای مقاومـت ماننـد *Stb2* و *Stb5* گرچه در برابر جدایه‌های اروپایی موثر بوده امـا در برابر جدایه‌هـای اسـتان فـارس مـوثر نبـوده و نبایستی از این ژن‌ها در برنامه‌هـای بـه‌نـژادی در این منطقه استفاده شـود. در هـر صـورت برخـی ژن‌ها نظیر *Stb15* مقاومت موثری به جدایه‌هـای اروپـــایی و ایرانـــی القـــاء کـــرده و بنـــابراین مـی‌توانـد در هـر دو منطقـه مـورد اسـتفاده قـرار گیـرد. در تحقیقـی دیگـر مـوثر بـودن ژن‌هـای مقاومـــت *Stb* علیـــه ۱۹ جدایـــه ایرانـــی قـــارچ سـپتوریای برگـی مـورد بررسـی قـرار گرفـت (Hosseinnezhad *et al.*, 2014). نتـایج نـشان داد کـه تمـامی جدایـه‌هـا روی ژن‌هـای *Stb2*، *Stb5*، *Stb6*، *Stb7* و *Stb13/Stb14* بیمـاریزایی داشـته در حـالی کـه رقـم M3 حـاوی ژن‌هـای *Stb16/Stb17* نسبت به تمامی جدایـه‌هـا مقـاوم بود. نتـایج تحقیـق حاضـر نـشان داد کـه بـه جـز ژن‌های *Stb2* و *Stb13/Stb14* که هر کدام تنها به یک جدایه مقاومت نـشان دادنـد، بقیـه ژن‌هـا

Archive of SID

www.SID.ir

هیچ‌گونه مقاومت موثری علیه جدایه‌های استان فارس نداشته و بنابراین، داده‌های حاصل از این تحقیق در مجموع نتایج حسین‌نژاد و همکاران (۲۰۱۴) را تا حد زیادی تایید می‌کند. رقم Kavkaz-K4500 یکی از منابع شناخته شده مقاومت به سپتوریای برگی به‌شمار می‌رود و نشان داده شده که مقاومت بالای مزرعه‌ای آن به‌دلیل وجود چندین ژن *Stb* از جمله *Stb6*، *Stb7*، *Stb10* و *Stb12* است (Chartrain *et al.*, 2005a؛ Arraiano *et al.*, 2001). نتایج تحقیق حاضر نیز نشان داد که این رقم از میان هفت جدایه به چهار جدایه مقاوم بوده و نسبت به دو جدایه با کسب رتبه ۲ با پوشش پیکنیدی کم (میانگین ۶٪) نیز تحمل مناسبی نشان داد. در مجموع نتایج تحقیق حاضر نشان داد جدایه‌های استان فارس روی اکثر ژن‌های مقاومت به سپتوریای برگی بیماریزایی داشته و تنها تعداد معدودی از ژن‌ها می‌توانند مقاومت موثری علیه جدایه‌های استان فارس القاء کنند. از میان ارقام افتراقی به نظر می‌رسد به ترتیب ارقام M3، Arina، Riband، Tadinia و Kavkaz-K4500 بیشترین مقاومت را نسبت به این جدایه‌ها داشته و بنابراین استفاده از این ارقام در برنامه‌های به‌نژادی اصلاح برای مقاومت به این بیماری در این منطقه توصیه می‌شود.

References

Abrinbana, M., Mozafari, J., Shamsbakhsh, M., and Mehrabi, R. 2012. Resistance spectra of wheat genotypes and virulence patterns of *Mycosphaerella graminicola* isolates in Iran. Euphytica 186: 75-90.

Adhikari, T. B., Anderson, J. M., and Goodwin, S. B. 2003. Identification and molecular mapping of a gene in wheat conferring resistance to *Mycosphaerella graminicola*. Phytopathology 93: 1158-1164.

Adhikari, T. B., Cavaletto, J. R., Dubcovsky, J., Gieco, J. O., Schlatter, A. R., and Goodwin, S. B. 2004a. Molecular mapping of the *Stb4* gene for resistance to septoria tritici blotch in wheat. Phytopathology 94: 1198-1206.

Adhikari, T. B., Yang, X., Cavaletto, J. R., Hu, X., Buechley, G., Ohm, H. W., Shaner, G., and Goodwin, S. B. 2004b. Molecular mapping of *Stb1*, a potentially durable gene for resistance to septoria tritici blotch in wheat. Theoritical and Applied Genetics 109: 944-953.

Arraiano, L. S., Brading, P. A., and Brown, J. K. M. 2001. A detached seedling leaf technique to study resistance to *Mycosphaerella graminicola* (anamorph *Septoria*

Archive of SID
www.SID.ir

tritici) in wheat. Plant Pathology 50: 339-346.

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 of *Mycosphaerella graminicola*. Plant Pathology 56: 73-78.

Brown, J. K. M., Kema, G. H. J., Forrer, H. R., Verstappen, E. C. P., Arraiano, L. S., Brading, P. A., Foster, E. M., Fried, P. M., and Jenny, E. 2001. Resistance of wheat cultivars and breeding lines to septoria tritici blotch caused by isolates of *Mycosphaerella graminicola* in field trials. Plant Pathology 50: 325-338.

Chartrain, L., Berry, S. T., and Brown, J. K. M. 2005a. Resistance of wheat line Kavkaz-K4500 L.6.A.4 to septoria tritici blotch controlled by isolate-specific resistance genes. Phytopathology 95:664-671.

Chartrain, L., Brading, P. A., Makepeace, J. C., and Brown, J. K. M. 2004. Sources of resistance to septoria tritici blotch and implications for wheat breeding. Plant Pathology 53: 454–460.

Chartrain, L., Joaquim, P., Berry, S. T., Arraiano, L. S., Azanza, F., and Brown, J. K. M. 2005b. Genetics of resistance to septoria tritici blotch in the Portuguese wheat breeding line TE 9111. Theoritical and Applied Genetics 110: 1138-1144.

Chartrain, L., Sourille, P., Bernard, M., and Brown, J. K. M. 2009. Identification and location of *Stb9*, a gene for resistance to septoria tritici blotch in wheat cultivars Courtot and Tonic. Plant Pathology 58: 547-555.

Cowger, C., Hoffer, M. J. L., and Mundt, C. C. 2000. Specific adaptation by *Mycosphaerella graminicola* to a resistant wheat cultivar. Plant Pathology 49: 445-451.

Czembor, P. C., Radecka-Janusik, M., and Mańkowski, D. 2011. Virulence spectrum of *Mycosphaerella graminicola* isolates on wheat genotypes carrying known resistance genes to septoria tritici blotch. Journal of Phytopathology 159: 146-154.

Desmaziéres, J. B. 1842. Neuviéme notice sur quelques plantes cryptogames. Annales des Sciences Naturelles 17: 91–118.

Dadrezaei, S. T., Minasian, V., Torabi, M., and Lotf Ali Ayeneh, 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).

Archive of SID

www.SID.ir

Eyal, Z., and Levy, E. 1987. Variations in pathogenicity patterns of *Mycosphaerella graminicola* within *Triticum* spp. in Israel. Euphytica 36:237-250.

Eyal, Z., and Ziv, O. 1974. The relationship between epidemics of septoria tritici leaf blotch and yield losses in spring wheat. Phytopathology 64: 1385-1389.

Forrer, H. R., and Zadoks, J. C. 1983. Yield reduction in wheat in relation to leaf necrosis caused by *Septoria tritici*. Netherlands Journal of Plant Pathology 89: 87-98.

Ghaneie, A., Mehrabi, R., Safaie, N., Abrinbana, M., Saidi, A., and Aghaee, M. 2012. Genetic variation for resistance to septoria tritici blotch in Iranian tetraploid wheat landraces. European Journal of Plant Pathology 132: 191-202.

Hosseinnezhad, A., Khodarahmi, M., Rezaee, S., Mehrabi, R., and Roohparvar, R. 2014. Effectiveness determination of wheat genotypes and *Stb* resistance genes against Iranian *Mycosphaerella graminicola* isolates. Archives of Phytopathology and Plant Protection DOI:10.1080/03235408.2013.868696.

Kema, G. H. J., Annone, J. G., Sayoud, R., van Silfhout, C. H., van Ginkel, M., and De Bree, J. 1996. Genetic variation for virulence and resistance in the wheat-*Mycosphaerella graminicola* pathosystem: I. Interactions between pathogen isolates and host cultivars. Phytopathology 86: 200-212.

Kema, G. H. J., Verstappen, E. C. P., and Waalwijk, C. 2000. Avirulence in the wheat septoria tritici leaf blotch fungus *Mycosphaerella graminicola* is controlled by a single locus. Molecular Plant-Microbe Interactions 13: 1375-1379.

Petrak, F., and Esfandiari, E. 1941. Beiträge zur Kenntnis der iranischen pilzflora. Annales Mycologici 39: 204-228.

Shaw, M. W., and Royle, D. J. 1993. Factors determining the severity of epidemics of *Mycosphaerella graminicola* (*Septoria tritici*) on winter wheat in the UK. Plant Pathology 42: 882-899.

Simon, M. R., Cordo, C. A., Perello, A. E., and Struik, P. C. 2003. Influence of nitrogen supply on the susceptibility of wheat to *Septoria tritici*. Journal of Phytopathology 151: 283-289.

Tabib Ghaffary, S. M., Faris, J. D., Friesen, T. L., Visser, R. G., van der Lee, T. A., Robert, O., and Kema, G. H. 2012. New broad-spectrum resistance to septoria tritici blotch derived from synthetic hexaploid wheat. Theoritical and Applied

Archive of SID

www.SID.ir

Genetics 124: 125-142.

Tabib Ghaffary, S. M., Robert, O., Laurent, V., Lonnet, P., Margale, E., van der Lee, T. A. J., Visser, R. G. F., and Kema, G. H. J. 2011. Genetic analysis of resistance to septoria tritici blotch in the French winter wheat cultivars Balance and Apache. Theoretical and Applied Genetics 123: 741-754.

Thomas, M. R., Cook, R. J., and King, J. E. 1989. Factors affecting development of *Septoria tritici* in winter wheat and its effect on yield. Plant Pathology 38: 246-257.

Archive of SID

www.SID.ir