Archive of SID

مجله به‌نژادی نهال و بذر
جلد ۱-۳۱، شماره ۲، سال ۱۳۹۴

تنوع بیماری‌زایی در جدایه‌های قارچ *Mycosphaerella graminicola* عامل بیماری لکه برگی سپتوریائی گندم روی ارقام افتراقی

Pathogenicity Variation in Isolates of *Mycosphaerella graminicola* the Septoria tritici Blotch Pathogen on Differential Cultivars

علی محمد بیگی[۱]، رامین روح‌پرور[۲] و محمد ترابی[۳]

۱ و ۳- به ترتیب دانشجوی سابق کارشناسی ارشد و استاد، 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: ۱۳۹۳/۵/۵ تاریخ پذیرش: ۱۳۹۳/۱۱/۱۶

چکیده

محمدبیگی، ع.، روح‌پرور، ر. و ترابی، م. ۱۳۹۴. تنوع بیماری‌زایی در جدایه‌های قارچ *Mycosphaerella graminicola* عامل بیماری لکه برگی سپتوریائی گندم روی ارقام افتراقی. **مجله به‌نژادی نهال و بذر ۱-۳۱:** ۲۹۲ - ۲۷۹.

در این تحقیق واکنش گیاهچه‌ای ۲۱ رقم افتراقی گندم حاوی ژن‌های مقاومت *Stb* و چهار رقم شاهد نسبت به سیزده جدایه قارچ *M. graminicola* که در سال‌های ۱۳۹۰، ۱۳۹۱ و ۱۳۹۲ از مزارع آلوده استان‌های گلستان، خوزستان و ایلام جداسازی شده بودند، در شرایط گلخانه‌ای در قالب طرح کاملاً تصادفی مورد بررسی قرار گرفت. تجزیه واریانس‌درصد نکروز و درصد پوشش پیکنید سطح برگ نشان داد که جدایه‌ها در سطح احتمال یک درصد با یک‌دیگر اختلاف معنی‌دار داشتند. اثر رقم × جدایه نیز در سطح احتمال یک درصد معنی‌دار بود که بیانگر وجود برهمکنش اختصاصی بین ارقام و جدایه‌های مورد مطالعه بود. نتایج تجزیه خوشه‌ای ارقام افتراقی گندم بر اساس درصد نکروز برگ و درصد پوشش پیکنید سطح برگ نشان داد که ارقام (*Stb15*) Riband و (*Stb6*) Shafir به ترتیب مقاوم‌ترین و حساس‌ترین (بعد از شاهد) ارقام نسبت به تمام جدایه‌ها بودند. جدایه‌های مورد بررسی، الگوی پرآزاری متفاوتی روی ارقام افتراقی داشتند. جدایه SPII91005 از گرگان با ایجاد ۴۲درصد سطح نکروز و ۴۱درصد پوشش پیکنید روی ارقام افتراقی بالاترین و جدایه SPII91004 از سردشت با ایجاد ۱۹درصد سطح نکروز و پوشش پیکنید پایین‌ترین شدت بیماری‌زایی را داشتند. نتایج این تحقیق تنوع بالائی از نظر بیماریزائی در جدایه‌های قارچ عامل بیماری را نشان داد که می‌تواند در اثر وجود فاکتورهای بیماریزائی مختلف در این جدایه‌ها باشد.

واژه‌های کلیدی: لکه برگی سپتوریائی گندم، *Septoria tritici*، پوشش پیکنید، سطح نکروز برگ، پرآزاری.

نویسنده مسئول: alibeygi22m@yahoo.com تلفـــن: ۰۹۱۸۳۴۵۳۵۳۸

www.SID.ir

Archive of SID

مقدمه

بیماری لکه‌برگی سپتوریایی یکی از مهم‌ترین بیماری‌های برگی گندم به شمار می‌رود و از بیشتر نقاط گندم‌خیز دنیا گزارش شده است (Eyal *et al.*, 1987). عامل بیماری قارچ *Mycosphaerella graminicola* با فرم غیرجنسی *Septoria tritici* است. که در شرایط محیطی مساعد، چرخه‌ی غیرجنسی آن در طول فصل زراعی تکرار می‌شود (Kema *et al.*, 1996b). بر اساس مطالعات فیلوژنتیکی اخیر نام Zymoseptoria برای عامل بیماری پیشنهاد شده است (Quaedvlieg *et al.*, 2011). 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 (Eyal, 1999). قارچ عامل بیماری در شرایط محیطی مساعد اپیدمی‌های شدیدی را روی ارقام حساس ایجاد می‌کند و کیفیت و کمیت محصول را به میزان قابل توجهی کاهش می‌دهد، به طوری که در مواردی خسارت آن به بیش از ۵۰ درصد نیز می‌رسد (Eyal *et al.*, 1987). لکه‌برگی سپتوریایی گندم اولین بار در سال ۱۸۴۲ توسط Desmaziersاز فرانسه و سپس از سایر نقاط جهان شامل اروپا، آفریقا، آسیا، آمریکای شمالی، مرکزی و جنوبی و استرالیا گزارش شد (Shearer and Wilcoxson, 1978). فرم جنسی این قارچ (*M. graminicola*) اولین بار توسط ساندرسون (Sanderson, 1972) در نیوزلند شناسایی و سپس از استرالیا، برزیل، هلند، انگلیس، آمریکا (Eyal *et al.*, 1987) و کانادا (Hoorne *et al.*, 2002) گزارش شد. این بیماری در ایران برای اولین بار در سال ۱۳۲۰ توسط پتراک و اسفندیاری گزارش شد (Torabi, 1979). در ایران این بیماری با آغاز کشت ارقام گندم اصلاح شده نیمه پاکوتاه با منشا سیمیت (CIMMYT) به تدریج اهمیت و گسترش زیادی پیدا کرده و گزارش‌هایی مبنی بر بروز اپیدمی‌های بیماری در برخی استان‌ها از جمله گلستان، خوزستان و فارس منتشر شده است (Rajaie *et al.*, 2004؛ Khelghatibana and Dadrezaie, 2004؛ Kia and Torabi, 2008). وجود تخصص یافتگی فیزیولوژیکی در برهمکنش گندم *M. graminicola* و رابطه ژن-برای -ژن در این پاتوسیستم (Brading *et al.*, 2002) به اثبات رسیده و تاکنون ۱۸ ژن مقاومت (*Stb1-Stb18*) به بیماری لکه‌برگی سپتوریایی در ژنوتیپ‌های مختلف گندم مکان‌یابی شده است (Arraiano *et al.*, 2007؛ Tabib Ghaffari *et al.*, 2012؛ Chartrain *et al.*, 2004). در ایران ارزیابی مقاومت ارقام و لاین‌های گندم نسبت به این بیماری اغلب با استفاده از مخلوط جدایه‌های عامل بیماری انجام شده است

www.SID.ir

Archive of SID

Khelghatibana *et al.*, 2004؛ Torabi *et al.*, 2002؛ Mehrabi, 2002). چنانچه از تک جدایه‌ها برای ارزیابی مقاومت ارقام استفاده نشود پرآزاری قارچ، وجود مقاومت اختصاصی جدایه و نحوه مقاومت ژنوتیپ‌ها مشخص نمی‌شود. حقدل و بنی‌هاشمی (Haghdel and Banihashemi, 2003) و موجرلو و همکاران (Mojerlou *et al.*, 2007) تک جدایه‌های عامل بیماری را مورد استفاده قرار دادند، ولی مقاومت اختصاصی جدایه شناسایی و گزارش نشد. برای بررسی کنترل ژنتیکی مقاومت و استفاده از ژنوتیپ‌های مقاوم در برنامه‌های مدیریت بیماری و برنامه‌های به‌نژادی گندم لازم است تا اطلاعات دقیق در مورد پرآزاری بیمارگر و نیز مقاومت اختصاصی میزبان در برابر جدایه‌های قارچ جمع‌آوری شود.

با توجه به پتانسیل بالای چرخه‌ی تولید مثل جنسی قارچ *M. graminicola* در ایجاد تغییرات ژنتیکی در این بیمارگر، بررسی تنوع ژنتیکی جمعیت‌های قارچ عامل بیماری و شناسایی بیماری‌زایی ناشی از جدایه‌های موجود در نقاط مختلف کشور به ویژه کانون‌های آلودگی با هدف کنترل بیماری و کاهش خسارت ناشی از آن امری ضروری به شمار می‌رود. در تحقیق حاضر بیماری‌زائی سیزده جدایه قارچ *M. graminicola* روی گیاهچه‌های ۲۱ رقم افتراقی که هر کدام دارای یک یا چند ژن مقاومت به لکه‌برگی سپتوریایی هستند، در گلخانه واحد بیماری‌های بخش تحقیقات غلات (موسسه تحقیقات اصلاح و تهیه نهال و بذر، کرج) مورد بررسی قرار گرفت.

مواد و روش‌ها

جمع‌آوری نمونه‌های گیاهی آلوده

در سال‌های ۱۳۹۰، ۱۳۹۱ و ۱۳۹۲ از مناطق آلوده کشت گندم در کشور بازدید به عمل آمد. نمونه‌های گیاهی از مزارع مختلف به صورت برگ‌های آلوده جمع‌آوری شده و پس از خشک کردن در داخل پاکت‌های کاغذی (با قید مشخصات مختلف نمونه‌برداری بر روی پاکت‌ها) به آزمایشگاه منتقل شدند.

جداسازی قارچ عامل بیماری

نمونه‌های گیاهی دارای علایم بیماری لکه‌برگی سپتوریایی زیر بینوکولر شناسایی شدند. از برگ‌های آلوده قطعاتی به طول ۲-۱ سانتی‌متر حاوی پیکنید بریده شد، ابتدا با الکل ۷۰ درصد به مدت ۲۰-۱۰ ثانیه ضدعفونی سطحی و سپس در سه مرحله با استفاده از آب مقطر استریل شستشو و در زیر هود بیولوژیک روی کاغذ صافی خشک شدند. این قطعات به صورت جداگانه روی لام چسبانده شد و به داخل تشتک‌های پتری حاوی کاغذ صافی مرطوب شده با آب مقطر استریل منتقل و در دمای ۲۰-۱۸ درجه سانتی‌گراد به مدت ۲۴-۱۶ ساعت (اگر نمونه برگی تازه باشد،

www.SID.ir

Archive of SID

خروج اووز از چند ساعت بعد آغاز می‌شود) نگه‌داری شدند. پیکنیدیوسپورهای درون پیکنید با جذب رطوبت به صورت تراوه (Ooze) فتیله‌ای از دهانه پیکنید خارج می‌شوند. در زیر هود استریل و با استفاده از بینوکلر اوز خارج شده از دهانه هر پیکنید به طور جداگانه توسط سوزن استریل برداشته شده و در ظروف پتری روی محیط کشت PDA (عصاره‌ی ۲۵۰ گرم سیب‌زمینی +۲۰ گرم دکستروز + ۲۰ گرم آگار در یک لیتر آب مقطر) حاوی آنتی بیوتیک استرپتومایسین سولفات (۵۰ میکروگرم در میلی‌لیتر) منتقل و در شرایط فوق نگه‌داری شدند.

خالص‌سازی قارچ عامل بیماری

پس از ۴- ۳ روز در حالتی که قارچ عامل بیماری به صورت مخمر- مانند رشد کرد و هنوز وارد فاز رشدی میسلیومی نشده بود، مقداری از کلونی رشد کرده قارچ به کمک لوپ برداشته شده و روی محیط کشت PDA به صورت مخطط کشت داده و به مدت ۶- ۵ روز در دمای ۱۸درجه سانتی‌گراد نگه‌داری شد. برای اطمینان از خالص‌سازی این عمل تکرار شد. کلونی خالصی از قارچ به محیط کشت مایع YS (عصاره مخمر و سوکروز هر کدام به غلظت ۱۰ گرم در لیتر) حاوی آنتی‌بیوتیک سولفات استرپتومایسین سولفات با غلظت ۵۰ میکروگرم در میلی‌لیتر منتقل و به مدت ۵-۳ روز در تاریکی و دمای ۱۸ درجه سانتی‌گراد روی شیکرانکوباتور با سرعت ۱۴۰ دور در دقیقه نگهداری شد. حدود ۶۰۰ میکرولیتر از سوسپانسیون حاصل روی PDA پخش شده، پس از ۴-۳ روز که سطح تشتک پتری از سلول‌های مخمر- مانند قارچ پوشیده شد و قبل از ورود قارچ به فاز میسلیومی به کمک لوپ استریل سلول‌های خالص‌سازی شده جدایه به طریق جارو کردن جمع‌آوری و در داخل لوله‌های اپندورف ۱/۵ میلی‌لیتری در کلکسیون مربوطه در دمای ۲۰- درجه سانتی‌گراد نگه‌داری شدند تا در آزمایش‌های ارزیابی مورد استفاده قرار گیرند.

بررسی بیماری‌زایی جدایه‌ها با استفاده از ارقام افتراقی در گلخانه

در این تحقیق بیماری‌زایی جدایه‌های قارچ *M. graminicola* با استفاده از ۲۱ رقم افتراقی گندم و چهار رقم شاهد حساس به بیماری لکه‌برگی سپتوریایی (ارقام تجن، بولانی، داراب ۲ و موروکو) در قالب طرح کاملاً تصادفی در سه تکرار در گلخانه‌های بخش تحقیقات غلات، موسسه تحقیقات اصلاح و تهیه نهال و بذر (کرج) بر اساس روش روح‌پرور و همکاران (Roohparvar *et al.*, 2008) مورد بررسی قرار گرفت. زادمایه جدایه‌ها به روش ذکر شده در بند بالا تهیه شد. تعداد ده بذر از هر رقم گندم در گلدان‌هایی به قطر ۱۰ سانتی‌متر حاوی مخلوط خاک مزرعه و پیت‌ماس به نسبت ۱ : ۱ کاشته شدند و مایه‌زنی گیاهچه‌ها در مرحله یک

www.SID.ir

Archive of SID

برگی (حدود ۹ روز پس از کاشت به طوری که برگ اول کاملاً باز و برگ دوم ظاهر گردیده شده بود) به صورت جداگانه با سوسپانسیون اسپور قارچ با غلظت 10^7 اسپور در میلی‌لیتر به کمک مه‌پاش تا جاری شدن سوسپانسیون اسپور از سطح برگ‌ها انجام شد. گیاهچه‌های مایه‌زنی شده به مدت ۲۴ ساعت در تاریکی، دمای ۱۸ درجه و رطوبت نسبی اشباع (بالاتر از ۸۵٪) نگهداری و سپس به گلخانه با شرایط دوره نوری ۱۶ ساعت روشنایی با شدت ۱۲۰۰۰ لوکس و ۸ ساعت تاریکی و دما و رطوبت فوق منتقل شدند. ارزیابی واکنش گیاهچه‌ها ۲۱ روز پس از مایه‌زنی به صورت اندازه‌گیری درصد سطح نکروتیک برگ و درصد پوشش پیکنید (Kema *et al.*, 1996a,b) و سپس با استفاده از مقیاس مک‌کارتنی و همکاران (McCartney *et al.*, 2002) انجام شد و در نهایت ارقام در گروه‌های مصون (I) : عدد ۰، بدون علایم بیماری؛ بسیار مقاوم (HR) : ۱، غالباً با لکه‌های فوق‌حساسیت؛ مقاوم (R) : ۲، با لکه‌های کوچک نکروز و کلروز، زیر ۵ درصد پیکنید؛ نیمه مقاوم (MR) : ۳، ۱۰-۵ درصد پیکنید؛ حساس (S) : ۴، ۵۰-۱۱ درصد پیکنید؛ بسیار حساس (HS) : ۵، ۱۰۰-۵۱ درصد پیکنید دسته‌بندی شدند.

تجزیه واریانس داده‌های حاصل از اندازه‌گیری درصد پوشش پیکنید (PC) و سطح نکروزه (NL) برگ‌ها پس از استاندارد کردن با استفاده از نرم‌افزار SPSS و Excel انجام شد. گروه‌بندی جدایه‌ها و ارقام گندم بر اساس میانگین درصد پوشش پیکنیدی، و درصد نکروز سطح برگ با استفاده از تجزیه خوشه‌ای به روش Ward انجام شد.

نتایج و بحث

نام ارقام افتراقی گندم و ژن‌های مقاومت Stb موجود در آن‌ها در جدول ۱ نشان داده شده است.

تجزیه واریانس داده‌های حاصل از اندازه‌گیری درصد پوشش پیکنیدی (PC) و سطح نکروزه (NL) برگ‌ها در جدول ۲ نشان داد که بین جدایه‌ها و درصد پیکنید و نکروز در سطح احتمال ۱٪ اختلاف معنی‌داری وجود داشت و هر دو صفت ارزیابی بیماری (NL و PC) از این نظر کارایی کافی داشته و توانستند اختلاف بیماری‌زایی بین جدایه‌ها را نشان دهند. مقایسه میانگین‌های این دو صفت در جدایه‌های *M. graminicola* روی ارقام افتراقی گندم نشان داد که جدایه‌ها با هم‌دیگر اختلاف داشتند و هیچ‌کدام از آن‌ها روی همه ارقام بیماری‌زا یا غیر بیماری‌زا نبوده و الگوی بیماری‌زایی متفاوتی روی ارقام نشان دادند (جدول ۳).

تجزیه‌ی کلاستر جدایه‌ها بر اساس پوشش پیکنیدی روی ارقام افتراقی جدایه‌ها را به چهار گروه دسته‌بندی کرد (شکل ۱). در گروه اول جدایه‌های SPII92002 و SPII92006 از ایلام و جدایه‌ی SPII91004 از سردشت خوزستان

www.SID.ir

Archive of SID

جدول ۱- نام ارقام افتراقی گندم و ژن‌های مقاومت *Stb* موجود در آن‌ها

Table 1. Name of differential cultivars of wheat and their resistance genes (*Stb*)

ردیف No.	رقم Cultivar	ژن‌های مقاومت Resistance genes	ردیف No.	رقم Cultivar	ژن‌های مقاومت Resistance genes
1	Oasis	*Stb1*	14	TE 9111	*Stb6*, *Stb7* and *Stb11*
2	Sulivan	*Stb1*	15	Obelisk	Susceptible check
3	Bulgaria 88	*Stb1* and *Stb6*	16	Taichung 29	Susceptible check
4	Veranopolis	*Stb2* and *Stb6*	17	Salamouni	*Stb13* and *Stb14*
5	Israel 493	*Stb3* and *Stb6*	18	Arina	*Stb6* and *Stb15*
6	Tadinia	*Stb4* and *Stb6*	19	Riband	*Stb15* or another
7	Cs synthetic (6X) 7D	*Stb5*	20	M3	*Stb16* and *Stb17*
8	Flame	*Stb6*	21	Balance	*Stb6* and *Stb18*
9	Shafir	*Stb6*	22	Tajan	Susceptible check
10	Estanzuela Federal	*Stb7*	23	Darab2	Susceptible check
11	M6 synth (W7984)	*Stb8*	24	Boolani	Susceptible check
12	Courtot	*Stb9*	25	Moroco	Susceptible check
13	Kavkaz-K4500	*Stb6, Stb7, Stb10 and Stb12*			

جدول ۲- تجزیه واریانس درصد نکروزه برگ و پوشش پیکنید ایجاد شده توسط جدایه‌های مختلف قارچ *Mycosphaerella graminicola* روی ارقام افتراقی گندم

Table 2. Analysis of variance for percentage leaf necrosis area and pycnidial coverage induced by different isolates of *Mycosphaerella graminicola* on wheat differential cultivars

			میانگین مربعات MS	
S.O.V.	منابع تغییرات	درجه آزادی df.	نکروز برگ Leaf necrosis	پوشش پیکنید Pycnidial coverage
Cultivar	رقم	24	11227.26**	13415.88**
Isolate	جدایه	12	3267.82**	2146.15**
Cultivar × Isolate	جدایه × رقم	288	248.26**	320.83**
Error	خطا	325	46.34	46.42
CV %	درصد ضریب تغییرات		14.65	18.26

**: Significant at 1% probability level.

**: معنی‌دار در سطح احتمال ۱٪.

قرار گرفتند. گروه دوم شامل جدایه‌های SPII91003 از سردشت و جدایه‌های SPII91001 و SPII91002 از دزفول بودند. در گروه سوم جدایه‌های SPII92004 از ایلام و SPII90014 و SPII90018 از ایذه در یک زیر گروه و جدایه‌های SPII92001، SPII92003 و SPII92005 از ایلام در زیر گروه بعدی قرار گرفتند. جدایه SPII91005 از گرگان به تنهایی گروه چهارم را به خود اختصاص داد. بر اساس این نتایج جدایه‌های SPII91005 (گرگان) و SPII91004 (سردشت) با میانگین پوشش پیکنیدی ۴۲/۱ و ۱۹/۸ درصد روی ارقام افتراقی به ترتیب بیشترین و کمترین بیماری‌زایی را داشتند (شکل ۲).

تجزیه کلاستر جدایه‌ها بر اساس سطح نکروزه برگ پنج گروه را مشخص کرد

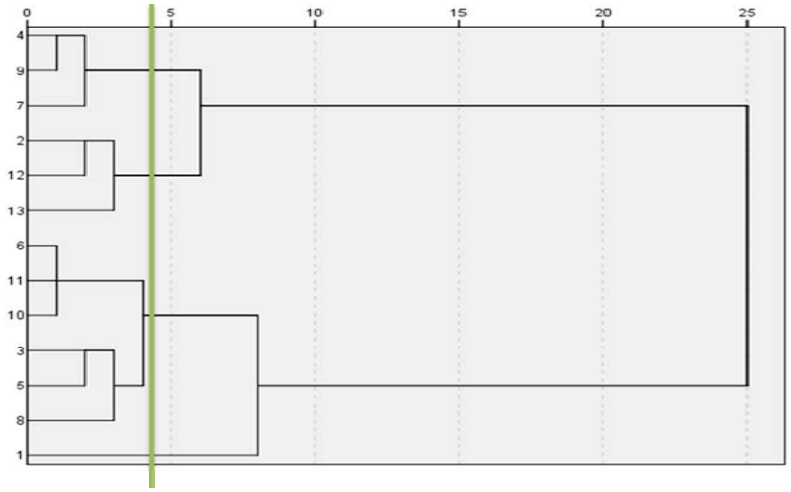
www.SID.ir

Archive of SID

جدول ۳- مقایسه میانگین درصد نکروز برگ و درصد پوشش پیکنید ایجاد شده توسط جدایه‌های مختلف قارچ *Mycosphaerella graminicola* روی ارقام افتراقی گندم

Table 3. Mean comparison of percentage leaf necrosis area and pynidiol coverage induced by different isolates of *Mycosphaerella graminicola* on wheat differential cultivars

شماره جدایه Isolate No.	کد جدایه Isolate code	محل جمع‌آوری Location		میانگین درصد پوشش پیکنید Pycnidial coverage (%)	میانگین درصد نکروز برگ Leaf necrosis area (%)
1	SPII91005	Gorgan	گرگان	42.1	60.6
2	SPII91003	Sardasht	سردشت	30.4	50.8
3	SPII92001	Abdanan (Ilam)	ایلام (آبدانان)	35.4	49.4
4	SPII92002	Abdanan (Ilam)	ایلام (آبدانان)	24.8	36.7
5	SPII92003	Ilam	ایلام	36.0	51.6
6	SPII92004	Ilam	ایلام	37.3	50.1
7	SPII91004	Sardasht	سردشت	19.8	31.4
8	SPII92005	Abdanan (Ilam)	ایلام (آبدانان)	33.1	45.7
9	SPII92006	Ilam (Sarabbagh)	ایلام (سرابباغ)	25.0	37.4
10	SPII90014	Eizeh	ایذه	40.1	54.6
11	SPII90018	Eizeh	ایذه	38.5	50.2
12	SPII91001	Dezful	دزفول	30.8	45.3
13	SPII91002	Dezful	دزفول	27.4	40.9



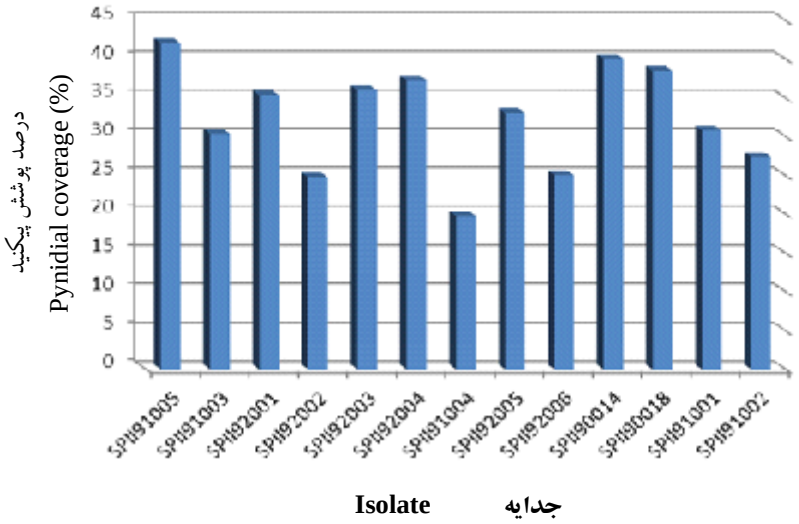
شکل ۱- گروه‌بندی جدایه‌های قارچ *Mycosphaerella graminicola* بر اساس درصد پوشش پیکنید به روش Ward

Fig. 1. Grouping of isolates of *Mycosphaerella graminicola* based on pycnidial coverage percentage using Ward ُs method

برای نام جدایه‌ها به جدول ۳ مراجعه شود. For isolate name see Table 3.

www.SID.ir

Archive of SID



شکل ۲- مقایسه میانگین درصد پوشش پیکنید ایجاد شده توسط جدایه‌های مختلف *Mycosphaerella graminicola* بر روی ارقام افتراقی گندم

Fig. 2. Comparison of mean percentage of pycnidial coverage induced by different isolates of *Mycosphaerella graminicola* on wheat different cultivars

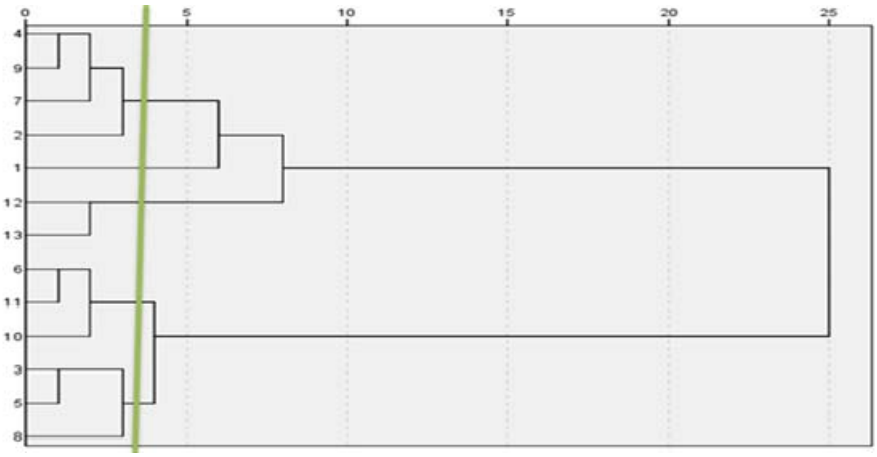
(شکل ۳). گروه اول چهار جدایه شامل جدایه‌های SPII92002 و SPII92006 از ایلام و SPII91003 ، SPII91004 از سردشت و گروه دوم جدایه SPII91005 از گرگان را شامل می‌شد. در گروه سوم جدایه‌های SPII91001 و SPII91002 از دزفول قرار گرفتند. در گروه چهارم جدایه‌های SPII92004 از ایلام و SPII90014 و SPII90018 از ایذه جای گرفتند. گروه پنجم جدایه‌های SPII92001، SPII92003 و SPII92005 از ایلام را شامل می‌شد. بر اساس نتایج حاصل ازتجزیه کلاستر جدایه‌های SPII91005 و SPII91004 با میانگین سطح نکروزه برگ ۶۰/۶و ۳۱/۴در صد به ترتیب بیشترین وکمترین شدت بیماریزائی را روی ارقام افتراقی نشان دادند (شکل ۴).

با توجه به این‌که برای بررسی شدت بیماری لکه‌برگی سپتوریایی در مرحله گیاهچه‌ای دو صفت درصد سطح نکروزه و سطح پوشش پیکنیدی برگ مورد ارزیابی قرار گرفتند، نتایج تلفیقی تجزیه‌های کلاستر جدایه‌ها نشان داد که در بین همه جدایه‌های مورد بررسی جدایه‌های SPII91005 (گرگان) و SPII91004 (سردشت) به ترتیب با ایجاد بیشترین و کمترین پوشش پیکنیدی و سطح نکروزه برگ بیشترین و کمترین شدت بیماری‌زائی را بر روی ارقام داشتند.

نتایج تجزیه کلاستر ارقام افتراقی گندم بر

www.SID.ir

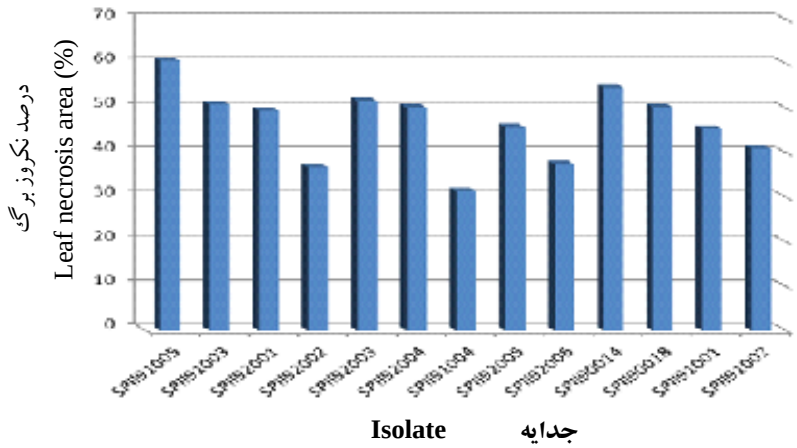
Archive of SID



شکل ۳- گروه‌بندی جدایه‌های قارچ *Mycosphaerella graminicola* بر اساس درصد سطح نکروزه برگ به روش Ward

Fig. 3. Grouping of isolates of *Mycosphaerella graminicola* based on leaf necrosis area percentage using Ward ُs method

برای نام جدایه‌ها به جدول ۳ مراجعه شود. For isolate name see Table 3.



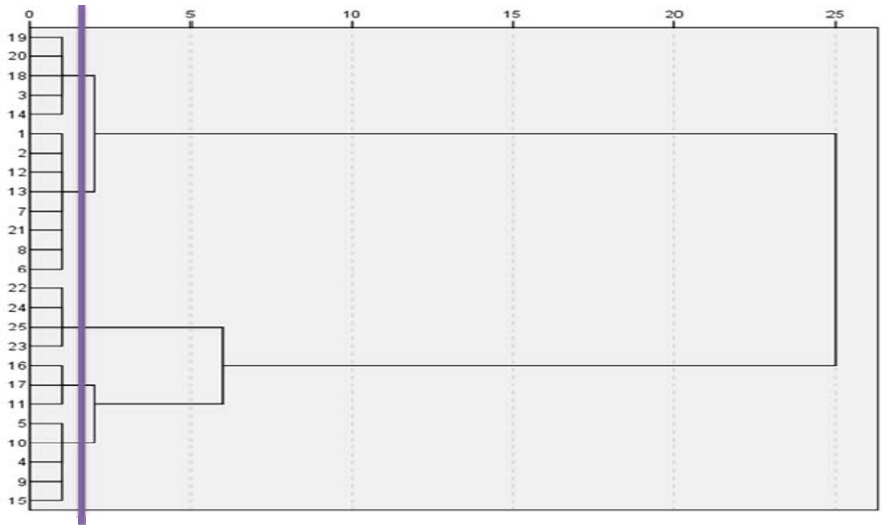
شکل ۴- مقایسه میانگین درصد نکروز برگ ایجاد شده توسط جدایه‌های مختف قارچ *Mycosphaerella graminicola* روی ارقام افتراقی گندم

Fig 4. Comparison of mean percentage of leaf necrosis area induced by different isolates of *Mycosphaerella graminicola* on wheat differential cultivars

اساس درصد پوشش پیکنیدی سطح برگ‌ها نشان داد که ارقام از نظر واکنش به جدایه‌ها در پنج گروه مجزا قرار گرفتند (شکل ۵). ارقام ریبند (Riband) و شفیر (Shafir) به ترتیب مقاوم‌ترین و حساس‌ترین ارقام (بعد از شاهد حساس) نسبت به تمام جدایه‌ها بودند.

www.SID.ir

Archive of SID



شکل ۵- تجزیه خوشه‌ای ارقام افتراقی گندم بر اساس درصد پوشش پیکنید و نکروز برگ ایجاد شده توسط جدایه‌های مختلف قارچ *Mycosphaerella graminicola*

Fig. 5. Cluster analysis of wheat differential cultivars based on percentage of leaf necrosis area and pycnidial coverage induced by different isolates of *Mycosphaerella graminicola* using Ward ́s method

برای نام ارقام به جدول ۱ مراجعه شود. For Name of cultivars see Table 3.

بیماری لکه‌برگی سپتوریایی یکی از بیماری‌های مهم گندم در ایران است. انتشار جهانی و اهمیت این بیماری با ورود ژنوتیپ‌های گندم مقاوم به زنگ که بیشتر آن‌ها به لکه‌برگی سپتوریایی حساس بودند، روز به روز افزایش یافت. استفاده از سموم شیمیایی برای کنترل این بیماری در برخی از کشورها اجتناب ناپذیر بوده، اما این روش کنترل علاوه بر افزایش قابل ملاحظه هزینه تولید، اثر نامطلوبی بر محیط زیست و سلامت انسان دارد. بهترین و موثرترین روش کنترل لکه‌برگی استفاده از ارقام مقاوم است. معرفی و اصلاح ارقام مقاوم به این بیماری، مستلزم مطالعه بیماری‌زایی قارچ عامل بیماری در مناطق مختلف کشور، ارزیابی مقاومت ژنوتیپ‌های مختلف گندم در برابر جدایه‌های مناطق آلوده، شناسایی ژنوتیپ‌های مقاوم و بررسی ژنتیک مقاومت میزبان است. تحقیق حاضر در راستای بررسی بیماری‌زایی جدایه‌های قارچ عامل بیماری و شناسایی بیماری‌زاترین جدایه‌ها برای استفاده در آزمایش‌های ارزیابی مقاومت ژنوتیپ‌های گندم با هدف استفاده از اطلاعات به دست آمده در برنامه‌های به‌نژادی گندم کشور به مورد اجرا گذاشته شد. این پژوهش ضمن اثبات وجود تنوع بیماری‌زایی در جدایه‌های مورد بررسی، وجود مقاومت اختصاصی در ارقام گندم و تخصص یافتگی فیزیولوژیکی در جدایه‌های مناطق مختلف را نشان داد که با یافته‌های سایر تحقیقات (Eyal *et al.*, 1987؛ Kema *et al.*, 1996a؛ Grieger *et al.*, 2005)

www.SID.ir

Archive of SID

مطابقت دارد. برادینگ و همکاران (Brading *et al.*, 2002) با بررسی واکنش چند رقم گندم حساس و مقاوم نسبت به جدایه‌های عامل بیماری، رابطه ژن برای ژن را در مقاومت اختصاصی گندم و بیماری‌زایی *M. graminicola* مورد تایید قرار دادند. تنوع ژنتیکی و بیماری‌زایی این قارچ در کشور می‌تواند به دلیل وقوع تولید مثل جنسی فعال آن در مناطق مختلف باشد. با این که مقیاس‌بندی بیماری به عنوان یکی از روش‌های ارزیابی بیماری سپتوریای برگی گندم مورد استفاده قرار گرفته است (Rosielle, 1972؛ Grieger *et al.*, 2005؛ Mergoum *et al.*, 2007) ولی تظاهر مقاومت تک ژنی یا عمودی به این بیماری همیشه به صورت قاطع و کیفی نبوده و در مواردی این نوع مقاومت به صورت کمی بروز می‌کند (Kema, 2012). به همین دلیل بهتر است ارزیابی این بیماری به صورت کمی با محاسبه درصد پوشش پیکنیدی سطح برگ و استفاده از روش‌های آماری انجام شود (Brown *et al.*, 2001؛ Chartrain *et al.*, 2004a). در این بیماری سطوح آلودگی به صورت پیوسته بوده و دامنه آن از مصون کامل (فاقد پوشش پیکنیدی) تا حساسیت کامل با آلودگی ۱۰۰ درصد سطح برگ دیده می‌شود که بروز علایم بسته به جدایه‌های قارچ و ژنوتیپ‌های گندم مورد بررسی متفاوت است (Eyal, 1999؛ Chartrain *et al.*, 2004a). در این تحقیق درصد پوشش پیکنید سطح برگ و درصد نکروز برگ به عنوان معیاری برای ارزیابی بیماری در نظر گرفته شد. با توجه به اهمیت و شیوع این بیماری در مناطق مهم گندم‌خیز کشور به ویژه در استان‌های گلستان، خوزستان و دشت مغان، لازم است تغییرات ژنتیکی جمعیت‌های قارچ عامل بیماری به طور مداوم در مناطق مذکور مورد بررسی قرارگرفته و برنامه‌ریزی مناسبی برای دستیابی به منابع ژنتیکی مقاومت دارای ژن‌های مقاومت موثر در برابر این بیماری انجام شود. باتوجه به تنوع بیماری‌زایی جدایه‌های قارچ *M. graminicola* در مناطق مختلف کشور و تغییرات ژنتیکی ایجاد شده در جمعیت‌های این بیمارگر در سال‌های مختلف، توصیه می‌شود که در برنامه‌های به‌نژادی گندم، ضمن مطالعه بیماری‌زایی جدایه‌ها جهت ارزیابی هرگونه ژنوتیپ گندم نسبت به این بیماری با استفاده از جدایه‌های پرآزار و بر اساس جدایه هر منطقه انجام شود. در این بررسی هیچ‌کدام از جدایه‌ها روی ژن‌های *Stb*17, *Stb*16 و *Stb*15 بیماری‌زا نبودند. این ژن‌ها می‌توانند به عنوان ژن‌های موثر در مقاومت، برای تهیه ارقام مقاوم به بیماری لکه‌برگی سپتوریایی در برنامه‌های به‌نژادی مورد استفاده قرار گیرند.

www.SID.ir

Archive of SID

References

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.

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.

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 *Mycosphaerella graminicola* in field trials. Plant Pathology 50: 325-338.

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.

Eyal, Z. 1999. The septoria tritici and stagonospora nodorum blotch diseases of wheat European Jounal of Plant Pathology 105: 620-641.

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.

Grieger, A., Lamari, L., and Brule-Babel, A. 2005. Physiologic variation in *Mycosphaerella graminicola* from western Canada. Canadian Journal of Plant Pathology 27: 71-77.

Haghdel, M., and Banihashemi, Z. 2003. Reaction of wheat cultivars to isolates of *Septoria tritici* under greenhouse and controlled chamber conditions. Iranian Journal of Plant Pathology 39: 175-187 (in Persian).

Hoorne, C., Lamari, J., Gilbert, J., and Balance, G. M. 2002. Firstreport of *Mycosphaerella graminicola*, the sexual state of *Septoria tritici* in Manitoba Canada. Plant Pathology 24: 445-449.

Kema, G .H. J. 2012. New broad-spectrum resistance to septoria tritici blotch derived from synthetic hexaploid wheat. Theoretical and Applied Genetics 124: 125-142.

Kema, G. H. J., Juan, G., Annone, R. S., van Silfhout, C., van Ginkel, M., and de Bree, J. 199a. Genetic variation for virulence and resistance in the wheat

www.SID.ir

Archive of SID

Mycophaerella graminicold pathosystem. I. Interractions between isolates and host cultivars. Pythopathology 86: 200-212.

Kema, G. H. J., Verstappen, E. C. P., Todorova, M., and Waalwijk, C. 1996b. Successful crosses and molecular tetrad and progeny analyses demonstrate heterothallism in *Mycosphaerella graminicola* . Current Genetics 30: 251-258.

Khelghatibana, F., and Dadrezaie, S. T. 2004. Evaluation of synthetic hexaploid wheat lines for resistance to *Septoria tritici* in field. Proceedings of the 16th Iranian Plant Protection Congress, Tabriz, Iran. Page 12 (in Persian).

Khelghatibana, F., Dadrezaie, S. T., Dehghan, M. A., Nazari, K., and Torabi, M. 2004. Responses of eleven commercial wheat cultivar to *Septoria tritici* in field. Proceedings of the 16th Iranian Plant Protection Congress, Tabriz, Iran. Page 11 (in Persian).

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

McCartney, C. A., Brûlé-Babel, A. L., and Lamari, L. 2002. Inheritance of race specific resistance to *Mycosphaerella graminicola* in wheat Phytopathology 92: 138-144.

Mehrabi, R. 2002. Evaluation of tetraploid wheat accessions of *Triticum turgidum* to septoria leaf blotch *(Mycosphaerella graminicola*) disease. Proceedings of the 15th Iranian Plant Protection Congress, Kermanshah, Iran. Page 26 (in Persian).

Mergoum, M., Singh, P. K., Ali, S., Elias, E. M., Anderson, J. A., Glover, K. D., and Adhikari, T. B. 2007. Reaction of elite wheat genotypes from northern Great Plains to septoria diseases. Plant Disease 91: 1310-1315.

Mojerlou, S., Safaie, N., Alizadeh, A., and Khelghatibana, F. 2007. Interaction of *Septoria tritici* isolates with different wheat cultivars and lines in greenhouse conditions. Proceedings of the 2nd National Cellular and Molecular Congress, Kerman, Iran. pp. 418-420 26 (in Persian).

Quaedvlieg, W., Kema, G. H. J., Groenewald, J. Z., Verkley, S., Seifbarghi, G. J. M. Razavi, M., Mirzadi Gohari, A., Mehrabi, R., and Crous, P. W. 2011. Zymoseptoria gen. nov.: a new genus to accommodate Septoria-like species occurring on graminicolous hosts. Persoonia 98: 57-69.

www.SID.ir

Archive of SID

Rajaie, S., Dabbagh, G., and Noorollahi, K. 2004. Study on the effect of some systemic fungicides against septoria leaf blotch of wheat. Proceedings of the 16th Iranian Plant Protection Congress, Tabriz, Iran. Page 15 26 (in Persian).

Roohparvar, R., Mehrabi, R., Van Nistelrooy, J. G. M., Zwiers, L. H., and De Waard, M. A. 2008. The drug transporter MgMfs1 can modulate sensitivity of field strains of the fungal wheat pathogen *Mycosphaerella graminicola* to the strobilurin fungicide trifloxystrobin. Pest Management Science 64: 685-693.

Rosielle, A. A. 1972. Sources of resistance in wheat to speckled leaf blotch caused by *Septoria tritici*. Euphytica 21: 152-161.

Sanderson, F. R. 1972. A Mycosphaerlla species as the ascogenous state of *Septoria tritici* Rob. Ex. Desm. New Zealand Journal of Botany 10: 707-709.

Shearer, B. L., and Wilcoxson, R. D. 1978. Variation in the size of macropycnidiospores and pycnidia of *Septoria tritici* on wheat. Botany 56: 742-746.

Tabib Gaffari, S. M., Faris, J. D., Friesen, T. L., Visser, R. G., van der Lee, T. A., Robert, O., and Kema, G. H. J. 2012. New board spectrum resistance to *Septoria tritici* blotch derived from synthetic wheat. Theoretical and Applied genetics 124: 125-142.

Torabi, M., Pouralibaba, H. R., Dehghan, M. A., and Dadrezai, S. T. 2002. Evaluation of resistance of advanced dryland wheat lines at seedling and adult stages against septoria leaf blotch in different parts of Iran. Proceedings of the 15th Iranian Plant Protection Congress, Kermanshah, Iran. Page 6 (in Persian).

Torabi, M. 1979. Causal organism of wheat septoriose and its distribution in Iran. Iranian Journal of Plant Pathology 16: 7-16 (in Persian).

www.SID.ir