مجله به‌نژادی نهال و بذر
جلد ۱-۳۳، شماره ۲، سال ۱۳۹۶

ارزیابی فنوتیپی و مولکولی تعدادی از لاین‌های پیشرفته و امیدبخش گندم نان نسبت به قارچ *Pyrenophora tritici-repentis* عامل بیماری لکه خرمایی

Phenotypic and Molecular Evaluation of some Advanced and Elite Bread Wheat Lines to *Pyrenophora tritici-repentis*, the Causal Agent of Tan Spot Disease

رحیم مهرابی[۱]، محسن سرهنگی[۲] و الهام الاحسنی[۲]

۱ و ۲- به ترتیب دانشیار و کارشناس آزمایشگاه، مؤسسه تحقیقات اصلاح و تهیه نهال و بذر، سازمان تحقیقات، آموزش و ترویج کشاورزی، کرج، ایران

تاریخ دریافت: ۱۳۹۵/۱۱/۲۰ تاریخ پذیرش: ۱۳۹۶/۵/۵

چکیده

مهرابی، ر.، سرهنگی، م. و الاحسنی، ا. ۱۳۹۶. ارزیابی فنوتیپی و مولکولی تعدادی از لاین‌های پیشرفته و امیدبخش گندم نان نسبت به قارچ *Pyrenophora tritici-repentis* عامل بیماری لکه خرمایی. مجله به‌نژادی نهال و بذر ۱-۳۳: ۲۸۲- ۲۶۵.

در این تحقیق مقاومت هشتاد لاین پیشرفته و امیدبخش گندم نان اقلیم گرم و مرطوب شمال کشور نسبت به جدایه P8 (نژاد ۸) قارچ *P. tritici-repentis* عامل بیماری لکه‌خرمایی، در گلخانه مورد بررسی قرار گرفت. لاین‌های گندم در سه تکرار در مرحله دوبرگی گیاهچه‌ای با استفاده از کنیدی‌های قارچ مایه‌زنی شدند. از رقم Grandian به عنوان شاهد حساس و رقم BR34 به عنوان شاهد مقاوم استفاده شد. نتایج ارزیابی‌ها نشان داد که از میان بیست لاین امیدبخش سال ۱۳۹۱ تنها لاین ER-N-91-15 و از میان بیست لاین امیدبخش سال ۱۳۹۲ تنها چهار لاین ER-N-92-5، ER-N-92-9، ER-N-92-12 و ER-N-92-20 نسبت به جدایه P8 مقاوم بودند. ارزیابی لاین‌های پیشرفته سال ۱۳۹۲ نیز بیانگر این بود که در بین چهل لاین تنها لاین AR-N-92-39 نسبت به جدایه P8 مقاوم بوده و بقیه لاین‌ها واکنش‌های متفاوتی از نیمه حساس، حساس تا خیلی حساس نشان دادند. واکنش لاین‌های گندم نسبت به تزریق ToxA همراه با غربالگری مولکولی لاین‌ها برای وجود یا عدم وجود ژن حساسیت (*Tsn1*) نیز بررسی شد. در مجموع حساسیت نوزده لاین نسبت به تزریق ToxA محرز شد. غربالگری با استفاده از پرایمرهای اختصاصی این ژن نشان داد که نکروز حاصل بعد از تزریق ToxA به طور کامل با وجود ژن *Tsn1* ارتباط داشت. در مجموع، نتایج به دست آمده از این آزمایش‌ها نشان داد که بیشتر ارقام و لاین‌های گندم مورد بررسی نسبت به این بیماری حساس بودند که این موضوع می‌تواند به دلیل عدم غربالگری نسبت به این بیماری در طول برنامه‌های به‌نژادی گندم باشد.

واژه‌های کلیدی: گندم، بیماری لکه خرمائی، *Pyrenophora tritici-repentis*، ارزیابی مقاومت، توکسین ToxA، ژن *Tsn*1.

نویسنده مسئول: rahim.mehrabi@gmail.com تلفن: ۰۹۱۳۴۴۳۳۰۳۲

آدرس جدید نویسنده مسئول: گروه بیوتکنولوژی، دانشکده مهندسی کشاورزی، دانشگاه صنعتی اصفهان، اصفهان

Archive of SID
www.SID.ir

مقدمه

گندم مهم‌ترین گیاه زراعی دنیا و یکی از منابع مهم تغذیه انسان است. بر اساس آخرین گزارش فائو (سازمان جهانی خواروبار کشاورزی) در سال ۲۰۱۵ از ۷۳۳ میلیون تن گندم تولید شده در جهان، ایران با ۱۱/۵ میلیون تن رتبه سیزدهم را داشت (Anonymous, 2016). امکان افزایش تولید گندم از طریق افزایش سطح زیر کشت به دلیل محدودیتی که در آب و خاک زراعی وجود دارد کم است، بنابراین بیشترین تمرکز به‌نژادگران روی افزایش عملکرد در واحد سطح و اصلاح کیفیت آن است (Eyal and Levy, 1987). تنش‌های زیستی از عوامل مهم محدودکننده رشد گندم هستند. از جمله تنش‌های زیستی عوامل بیماری‌زای قارچی هستند که نقش مهمی در کاهش تولید گندم دارند. بیماری لکه‌خرمایی ناشی از قارچ *Pyrenophora tritici-repentis* از جمله این بیماری‌ها است که در سال‌های اخیر آلودگی‌های شدید و خسارت‌های زیادی به محصول گندم در کشورهای مبتلا به این بیماری ایجاد کرده است. این بیماری در مناطق خنک و مرطوب و در مزرعی که ارقام حساس کشت می‌شوند شایع است. در سال‌های اخیر بیماری لکه‌خرمایی با شدت بالا و به صورت همه‌گیر در بسیاری از مزارع گندم شمال به خصوص در استان‌های ساحلی دریای مازندران کشور مشاهده شده است (Mehrabi *et al*., 2015).

این بیماری در سال ۱۹۸۶ از آسیای مرکزی گزارش و به سرعت به عنوان یکی از مهم‌ترین بیماری‌های گندم مطرح شد (Postnifova and Khashanova, 1998). بیماری لکه‌خرمایی در کشورهای شمالی ایران از جمله آذربایجان، ترکمنستان، قزاقستان، قرقیزستان، ازبکستان و تاجیکستان گسترش دارد و خسارت آن قابل توجه است (Duveiller *et al.,* 2005). گستردگی این بیماری در استرالیا، آسیا (ژاپن، هند، نپال)، آفریقا (اوگاندا، کنیا، تانزانیا، اتیوپی)، اروپا (بریتانیا، آلمان، چک و اسلواکی، سوئد، قبرس)، آمریکای جنوبی (بولیوی) و آمریکای شمالی (کانادا، ایالات متحده آمریکا) دیده شده و باعث کاهش چشمگیر محصول از طریق کاهش فتوسنتز و در نتیجه کاهش تعداد سنبله و سنبلچه، کم شدن وزن دانه و چروکیدگی دانه می‌شود (De Wolf *et al.,* 1998؛ Shabeer and Bockus, 1988). به طور متوسط این بیماری باعث کاهش ۵ تا ۱۰ درصدی محصول می‌شود اما در شرایط مناسب برای همه‌گیری بیماری، کاهش محصول تا ۵۰٪ نیز گزارش شده است (Shabeer and Bockus, 1988؛ Rees *et al.,* 1988). بیماری لکه‌خرمایی در آمریکای جنوبی به عنوان سریع‌ترین بیماری در حال گسترش مطرح است و خسارت‌های قابل توجهی در آرژانتین، برزیل و پاراگوئه به محصول گندم وارد کرده است

Archive of SID

www.SID.ir

(Ciuffetti and Tuori, 1999).

قارچ عامل بیماری هم از طریق جنسی و هم از طریق غیر جنسی تکثیر پیدا می‌کند و یک بیمارگر نیمه بیوتروف بوده اما به عنوان یک بیمارگر نکروتروف نیز شناخته شده است که می‌تواند روی بقایای مرده گیاهی در فاز غیر انگلی بقا پیدا کند (Singh *et al.*, 2006). این بیماری از طریق بذر نیز منتقل می‌شود و در هر مرحله رشدی می‌تواند گیاه را آلوده کند. تیپ لکه‌ها و علائم، از سوختگی‌های خرمایی‌شکل با مرکز قهوه‌ای تیره بدون هاله زرد رنگ تا سوختگی‌های خرمایی احاطه شده با هاله زرد رنگ می‌تواند متفاوت باشد (De Wolf *et al.*,1998؛ Lamari and Bernier, 1989b). علائم مقاومت به این بیماری به صورت لکه‌های قهوه‌ای تیره و کوچک بوده که از نظر اندازه رشد نمی‌کنند درحالی که حساسیت باعث ایجاد لکه‌های قهوه‌ای تیره که به تدریج رشد کرده و یا باعث ایجاد لکه‌های زرد سراسری که گاهاً تمام برگ را فرا می‌گیرد، می‌شود (Lamari and Bernier, 1989a). در حال حاضر هشت نژاد برای عامل بیماری شناسایی شده است که بر اساس واکنش آن‌ها روی مجموعه‌ای از ارقام افتراقی شناسایی می‌شوند (Strelkov and Lamari, 2003). قارچ عامل بیماری قادر به تولید توکسین‌های اختصاصی و غیراختصاصی است که در ارتباط با تولید کلروز و نکروز در ارقام حساس هستند. تاکنون سه توکسین ToxA، ToxB و ToxC شناسایی شده است (Lamari *et al.*, 1998؛ Lamari and Bernier, 1991) که توسط این قارچ تولید می‌شوند (Lamari et al., 1998؛ Lamari et al., 1995)، توکسین اختصاصی ToxA توسط نژادهای ۱، ۲، ۷ و ۸ تولید می‌شود و یک توکسین پروتئینی با وزن ۲۱۳ کیلودالتون بوده و می‌تواند در ارقام حاوی ژن حساسیت *Tsn1* ایجاد نکروز کند (Lamari and Strelkov 2010؛ Ciuffetti and Tuori, 1999). اکثر ارقام پر محصول گندم به این بیماری حساس هستند و استفاده از ارقام مقاوم اصلی‌ترین روش کنترل این بیماری است، بنابراین شناسایی منابع مقاومت به این بیماری یکی از اهداف اساسی به‌نژادگران است. تحقیق حاضر به منظور شناسائی منابع مقاومت در برابر این بیماری برگی مهم و کمتر شناخته شده در گندم، جهت استفاده در برنامه ملی به‌نژادی گندم انجام شد.

مواد و روش‌ها

جداسازی عامل بیماری

در این تحقیق نمونه‌های برگی از یک مزرعه آلوده به بیماری لکه‌خرمایی در منطقه خلیل شهر استان مازندران با طول جغرافیایی ۵۳/۶۱۸۸۸۸۹ و عرض جغرافیایی ۳۶/۷۰۱۹۴۴۴۴ جمع‌آوری و قارچ عامل بیماری مورد جداسازی و استفاده قرار گرفت. برای

Archive of SID

www.SID.ir

جداسازی قارچ، ابتدا قطعه‌ای از برگ دارای علائم بیماری به وسیله هیپوکلریت سدیم ۱٪ به مدت ۳-۲ دقیقه ضد عفونی سطحی شد و پس از شستشوی سطحی روی محیط کشت آب- آگار قرار گرفت تا قارچ عامل بیماری اسپورزایی کند. اسپورهای تولید شده از سطح برگ جمع‌آوری و خالص‌سازی قارچ با استفاده از روش تک اسپور انجام شد (Rajabpoor *et al.*, 2014).

تهیه زادمایه قارچ

تهیه زادمایه‌ی قارچ براساس روش پیشنهادی لاماری و برنیر (Lamari and Brinier, 1989a) انجام شد. بدین منظور پلاگ‌های میسلیومی جدایه قارچ روی محیط کشت سیب‌زمینی- دکستروز- آگار حاوی عصاره‌ی هشت سبزی (PDA-V8) در تشتک‌های پتری قرار گرفت. محیط کشت‌ها به مدت شش روز در دمای ۲۲ درجه سانتی‌گراد در شرایط تاریکی قرار گرفتند. سپس در زیر هود، آب استریل روی پرگنه قارچی اضافه شد تا میسلیوم ها کاملاً پوشانده شوند. آب اضافه دور ریخته شد و پرگنه‌های قارچ برای القای تولید اسپور به مدت ۲۴ ساعت در شرایط روشنایی قرار گرفتند. تشتک‌های پتری سپس به مدت ۲۴ ساعت در تاریکی و در دمای ۱۶ درجه سانتی‌گراد قرار گرفته تا کنیدی‌ها تولید شوند. بعد از این مرحله با افزودن مقداری آب مقطر استریل به محیط کشت‌ها و خراش دادن سطح محیط آن‌ها به وسیله یک برس نرم، اسپورها در سطح آب معلق شده و سپس درون ارلن ریخته شدند. با استفاده از یک لام گلبول‌شمار تراکم اسپورها به میزان 10^3 اسپور در میلی‌لیتر تنظیم شد و سپس ۲ تا ۳ قطره توئین ۲۰ به هر لیتر سوسپانسیون قارچ اضافه شد تا برای مایه‌زنی استفاده شود.

مواد گیاهی مورد آزمایش

در این تحقیق برای تعیین نژاد قارچ عامل بیماری، دوازده رقم افتراقی گندم مورد استفاده قرار گرفت. برای ارزیابی مقاومت، مواد گیاهی مورد آزمایش شامل ۱۸ لاین امیدبخش گندم سال ۱۳۹۱، ۱۸ لاین امیدبخش گندم سال ۱۳۹۲ و ۳۸ لاین پیشرفته گندم سال ۱۳۹۲ همگی مربوط به اقلیم گرم و مرطوب شمال کشور موجود در بخش تحقیقات غلات موسسه تحقیقات اصلاح و تهیه نهال و بذر مورد استفاده قرار گرفتند. برای اطمینان از همنواختی نتایج آزمایش‌ها در هر دسته از لاین‌های امیدبخش و پیشرفته دو رقم تجاری مروارید و گنبد نیز استفاده شد.

تعیین نژاد جدایه قارچ

بذر لاین‌های گندم (در سه تکرار) درون گلدان‌های پلاستیکی حاوی مخلوط پیت‌ماس و خاک (به نسبت ۱:۱) کاشته و در طول آزمایش به میزان مورد نیاز آبیاری شدند. گیاهچه‌های ده

Archive of SID

www.SID.ir

روزه گندم با استفاده از زادمایه قارچ به صورت اسپری کردن مایه‌زنی شدند و برای استقرار بیماری به مدت ۲۴ ساعت در شرایط رطوبتی اشباع قرار گرفتند. دمای مورد استفاده در گلخانه در طول آزمایش ۲±۲۰ درجه سانتی‌گراد تنظیم شد و در نهایت هفت روز بعد از مایه‌زنی ارزیابی واکنش گیاهچه‌ها به بیماری به روش لاماری (Lamari and Brinier, 1989a) بر اساس روش نمره‌دهی ۱ تا ۵ انجام شد.

تولید توکسین

ژن تولید کننده توکسین ToxA قبلاً همسانه‌سازی شده و سازه مذکور برای تولید پروتئین به مخمر *Pichia pastoris* کلون شده است (Mehrabi *et al.*, 2015). برای تولید توکسین ToxA از روش مهرابی و همکاران (Mehrabi *et al.*, 2015) استفاده شد. به طور خلاصه محیط کشت YPD حاوی عصاره‌ی مخمر (۱۰ گرم در لیتر)، پپتون (۲۰ گرم در لیتر) و دکستروز (۲۰ گرم در لیتر) به وسیله مخمر *P. pastoris* حاوی سازه ToxA مایه‌زنی شد و به مدت چهار روز روی شیکر انکوباتور با دمای ۳۰ درجه سانتی‌گراد در ۱۲۰ دور در دقیقه قرار داده شد. پس از آن محیط کشت سانتریفیوژ شد و مایع رویی که حاوی توکسین تولید شده توسط مخمر بود برای تزریق گیاهان مورد استفاده قرار گرفت.

ارزیابی واکنش لاین‌های گندم با استفاده از روش تزریق توکسین ToxA

لاین‌های گندم در گلخانه کاشته شدند و برگ دوم گیاهچه‌های ده روزه با تزریق توکسین ToxA مورد ارزیابی قرار گرفتند. تزریق به وسیله سرنگ انجام و آن قسمت از برگ که پس از تزریق و وارد شدن توکسین دچار آبگزیدگی شد، به وسیله ماژیک مشخص و بعد از ۷۲ ساعت مورد ارزیابی قرار گرفت. لاین‌هائی که بعد از تزریق ToxA علائم نکروز دادند حاوی ژن حساسیت *Tsn1* بوده و به عنوان لاین حساس به ToxA شناخته شدند و لاین‌هائی که با تزریق ToxA نکروز تولید نکرده بودند به عنوان لاین مقاوم نسبت به جدایه‌های تولید کننده ToxA ارزیابی شدند. لازم به ذکر است که آزمایش ارزیابی با توکسین سه بار تکرار شد و برای اطمینان از این که علائم ایجاد شده فقط در اثر تزریق توکسین بود، تیمارهای شاهدی با تزریق محیط کشت YPD و همچنین با آب مقطر استریل نیز در نظر گرفته شد.

ارزیابی مولکولی

برای استخراج DNA ابتدا لاین‌های گندم مدنظر در گلخانه کاشته شد و استخراج DNA به روش CTAB انجام شد (Saghai Maroof *et al.*, 1984). کیفیت DNA استخراج شده از نظر خصوصیات کمی و کیفی توسط الکتروفورز روی ژل آگارز ۱٪ و

Archive of SID

www.SID.ir

روش اسپکتروفتومتری مورد بررسی قرار گرفت. توالی ژن حساسیت *Tsn1* قبلاً منتشر شده (Faris *et al.*, 2010) و بنابراین در این تحقیق برای شناسائی لاین‌های حاوی ژن حساسیت (*Tsn1*) با استفاده از آزمون PCR و آغازگر اختصاصی جلوبر با توالی 5′-CTATTCGTAATCGTGCCTTCCG-3′ و معکوس با توالی 5′-CCTTCTCTCTCACCGCTATCTCATC-3′ نسبت به وجود یا عدم وجود این ژن در ژنوتیپ‌های گیاهی اقدام شد. همچنین برای اطمینان از کیفیت و کمیت DNA و واکنش PCR از آغازگرهای ژن 18S ریبوزومی با توالی 5′-GTGACGGGTGACGGAGAATT-3′ و 5′-GACACTAATGCGCCCGGTAT-3′ به عنوان کنترل مثبت استفاده شد (Faris *et al.*, 2010). واکنش زنجیره‌ای پلیمراز در حجم ۲۰ میکرولیتر با استفاده از بافر PCR (۱x)، آغازگرهای اختصاصی هرکدام به میزان ۳/. میکرومولار، یک واحد آنزیم تگ پلیمراز، dNTPs به میزان ۲/. میکرومولار، $MgCl_2$ به میزان ۲/۵ میلی‌مولار و DNA به میزان ۴۰ نانوگرم برای هر واکنش انجام شد. برنامه حرارتی برای واکنش PCR به صورت یک چرخه واسرشت‌سازی اولیه در دمای ۹۴ درجه سانتی‌گراد به مدت ۳ دقیقه و ۳۵ چرخه شامل مراحل واسرشت سازی در دمای۹۴ درجه سانتی‌گراد به مدت ۴۵ ثانیه، اتصال در دمای ۵۵ درجه سانتی‌گراد به مدت ۴۵ ثانیه و بسط در دمای ۷۲ درجه سانتی‌گراد به مدت ۴۵ ثانیه و در خاتمه یک چرخه بسط نهایی در دمای ۷۲ درجه سلسیوس به مدت پنج دقیقه انجام شد (Faris *et al.*, 2010). محصولات PCR پس از الکتروفورز روی ژل آگارز ۱٪ با استفاده از محلول اتیدیوم بروماید رنگ‌آمیزی شده و با اشعه UV در دستگاه ژل داکیومنت (UV-ITech) عکس‌برداری شدند. ارزیابی کیفیت مناسب DNA و موفقیت واکنش زنجیره‌ای پلیمراز با استفاده از آغازگرهای 18S که قادر به تکثیر باندی به اندازه ۱۵۱ bp بودند انجام شد. وجود ژن حساسیت *Tsn1* در ژنوتیپ‌های گندم با تکثیر باند به اندازه ۳۸۰ bp ثبت شد.

نتایج و بحث

جدایه قارچی جداشده از مزرعه آلوده به بیماری لکه‌خرمایی (جدایه P8) با استفاده از کلید معتبر (Sivansean, 1987) شناسایی شد. مشخصات مشاهده شده با گونه *P. tritici-repentis* و کلید توصیف شده توسط سیوانسان (Sivansean, 1987) مطابقت کامل داشت. آزمون بیماریزایی با استفاده از مایه‌زنی در مرحله گیاهچه‌ای نشان داد که جدایه قارچی عامل بیماری لکه‌خرمایی قادر به ایجاد علائم بیماری شامل کلروز و نکروز روی رقم atepwa به عنوان رقم حساس استاندارد بود. علائم بیماری لکه خرمایی ۴۸ ساعت بعد از

Archive of SID

www.SID.ir

مایه‌زنی به صورت نقطه‌های ریز رنگ‌پریده ظاهر شدند و هفت روز بعد از مایه‌زنی به حداکثر پیشرفت خود رسیدند و به صورت لکه‌های کامل نکروز همراه با کلروز و سوختگی کامل درآمدند.

شناسایی نژاد قارچ جدایه P8 عامل بیماری لکه خرمایی بر اساس واکنش آن (جدول ۱) روی ارقام افتراقی انجام شد (Lamari *et al.*, 2003). جدایه مذکور باعث ایجاد نکروز روی ارقام Glenlea، BG261، ND495 و Coulter شد، در حالی که روی ارقام 6B365 و 6B662 واکنش حساسیت از تیپ کلروز ایجاد کرد (جدول ۲). همچنین ارقام BR34، Erik، Salamouni و 4B160 واکنش مقاومت نشان دادند. رقم حساس Katepwa نیز با ایجاد کلروز و نکروز واکنش حساسیت بروز داد. بر اساس نتایج به دست آمده از واکنش ارقام افتراقی نسبت به جدایه P8 (جدول ۲)، این جدایه به عنوان نژاد ۸ شناسایی شد.

نتایج ارزیابی مقاومت لاین‌های گندم نشان داد اکثر لاین‌های مورد استفاده در این تحقیق حساس بودند. بر اساس روش ارائه شده توسط سینگ و همکاران (Singh *et al.*, 2006) ارقامی که نمره ۳، ۴ و ۵ را کسب کنند در گروه ارقام حساس و ارقامی که نمره ۱ و ۲ را کسب کنند در گروه ارقام مقاوم قرار می‌گیرند. دو رقم تجاری مروارید و گنبد که بیشترین سطح کشت اقلیم شمال کشور را به خود اختصاص داده‌اند، در تمامی دسته لاین‌های گندم مربوط به امیدبخش سال ۱۳۹۱، امیدبخش سال ۱۳۹۲ و پیشرفته سال ۱۳۹۲ نسبت به نژاد ۸ (جدایه P8) واکنش یکسانی داشتند که بیانگر تکرارپذیری بالای آزمایش‌ها بود. رقم مروارید نسبت به جدایه‌ی قارچ واکنش حساسیت از نوع کلروز داشت در حالی که رقم گنبد واکنش حساسیت از نوع نکروز بروز داد. ارزیابی لاین‌های گندم مربوط به امیدبخش سال ۱۳۹۱ (ER-N-91) نشان داد که از میان ۱۸ لاین، تنها لاین امیدبخش ER-N-91-15 نسبت به نژاد ۸ قارچ مقاوم بود و بقیه لاین‌ها واکنش‌های متفاوتی از نیمه‌حساس، حساس تا خیلی حساس نشان دادند (جدول ۳). نتایج ارزیابی لاین‌های گندم مربوط به امیدبخش سال ۱۳۹۲ (ER-N-92) نیز نشان داد که از میان ۱۸ لاین، چهار لاین امید بخش ER-N-92-5، ER-N-92-9، ER-N-92-12 و ER-N-92-20 نسبت به جدایه P8 مقاوم بودند و بقیه لاین‌ها واکنش‌های متفاوتی از نیمه‌حساس، حساس تا خیلی حساس نشان دادند (جدول ۴). نتایج ارزیابی لاین‌های گندم مربوط به لاین‌های پیشرفته سال ۱۳۹۲ (AR-N-92) نشان داد که از میان ۳۸ لاین تنها لاین پیشرفته AR-N-92-39 نسبت به جدایه P8 مقاوم بود و بقیه لاین‌ها واکنش‌های متفاوتی از نیمه حساس، حساس تا خیلی حساس نشان دادند (جدول ۵). به طور کلی اکثر بیشتر لاین‌های گندم مورد آزمایش نسبت به جدایه P8 قارچ عامل بیماری

Archive of SID

www.SID.ir

جدول ۱- ارزیابی واکنش گیاهچه‌های گندم نسبت به بیماری لکه‌خرمایی گندم بر اساس روش نمره‌دهی ۱ تا ۵ (Lamari and Brinier, 1989a)

Table 1. Evaluation of seedling responses to tan spot disease of wheat based on 1-5 scaling method (Lamari and Brinier, 1989)

نمره واکنش Response No.	نوع واکنش Response type	علائم Symptoms نکروز (N) Necrosis (N)	 کلروز (C) Chlrosos (C)	 نکروز و کلروز (NC) Necrosis and chlorosis
1	مقاوم Resistant (R)	نقاط سیاه کوچک Small block dots	بدون کلروز No chlorosis	نقاط سیاه کوچک، بدون کلروز Small black dots, no chlorosis
2	نیمه مقاوم Moderately Resistant (MR)	لکه‌های کوچک نکروتیک Small necrotic lesions	کلروز بسیار کم Very small chlorosis	لکه‌های کوچک نکروتیک با هاله کلروز کم Small necrotic lesions, small chlorosis surrounding
3	نیمه حساس Moderately Susceptible (MS)	لکه‌های متوسط نکروتیک Medium necrotic lesions	لکه‌های کلروز متوسط Medium chlorotic lesions	لکه‌های متوسط نکروتیک با هاله کلروز متوسط Medium necrotic lesions, medium chlorosis surrounding
4	حساس Susceptible	لکه‌های نسبتاً بزرگ نکروتیک Some large necrotic lesions	لکه‌های کلروتیک نسبتاً بزرگ Some large chlorotic lesions	لکه‌های نسبتاً بزرگ نکروتیک با هاله نسبتاً بزرگ کلروز Some large necrotic lesions, some large chlorosis surrounding
5	خیلی حساس Very Susceptible	لکه‌های بزرگ نکروتیک Large necrotic lesions	کله‌های کلروتیک بزرگ Large chlorotic lesions	لکه‌های بزرگ نکروتیک با هاله بزرگ کلروز Large necrotic lesions, large chlorosis surrounding

Archive of SID

www.SID.ir

جدول ۲- واکنش ارقام افتراقی گندم نسبت به جدایه P8 قارچ عامل بیماری لکه‌خرمایی و واکنش آن‌ها نسبت به تزریق توکسین ToxA و غربالگری PCR

Table 2. Response of wheat differential cultivars to P8 isolate of tan spot fungus and their responses to ToxA infiltration and PCR screening

		Score		Reaction		PCR	
No.	Differential wheat cultivars	N	C	S/R	ToxA	18S	Tsn1
2	6B365	1.0	4.7	S (C)	-	+	-
3	Glenlea	5.0	1.3	S (N)	+	+	+
4	BR34	1.0	1.0	R	-	+	-
5	BG261	5.0	1.3	S (N)	+	+	+
6	Erik	1.0	1.0	R	-	+	-
7	6B662	1.7	3.0	S (C)	-	+	-
8	Katepwa	5.0	5.0	S (NC)	+	+	+
9	Salamouni	1.0	1.0	R	-	+	-
10	ND495	5.0	2.7	S (N)	+	+	+
11	4B160	1.0	1.0	R	-	+	-
12	Coulter	4.0	1.3	S (N)	+	+	+

لکه‌خرمایی در مرحله گیاهچه‌ای حساس بودند. به هرحال از میان لاین‌های مورد بررسی در اقلیم شمال با توجه به سایر خصوصیات از جمله صفات زراعی، کیفیت و عملکرد سه لاین شماره ۸، ۹ و ۱۷ از سری ER-N-91 و چهار لاین شماره ۹، ۱۰، ۱۲ و ۱۹ از سری ER-N-92 انتخاب و در آزمایش‌های خزانه بیماری‌ها وارد شدند.

اهمیت روزافزون بیماری لکه‌خرمائی گندم به‌نژادگران را برآن داشته تا تلاش بیشتری در زمینه ارزیابی مقاومت به بیماری انجام دهند. مشابه با نتایج به دست آمده در این تحقیق، نتایج محققین دیگر نیز نشان داده که درصد کمی از ژنوتیپ‌های گندم نسبت به این بیماری مقاوم هستند. چو و همکاران (Chu *et al.*, 2008) ۶۸۸ توده گندم تتراپلوییید را نسبت به این بیماری ارزیابی کردند که از میان آن‌ها تنها ۲۵ توده مقاوم نسبت به لکه‌خرمایی بودند. مقاومت به این بیماری در لاین‌های امید بخش آمریکای شمالی نیز بسیار پایین بود. در آمریکای شمالی ۱۲۶ لاین امیدبخش گندم نسبت به سه نژاد قارچ عامل بیماری مورد ارزیابی قرار گرفت که تنها چهار لاین نسبت به تمامی نژادها مقاوم بودند (Singh *et al.*, 2006). پنجاه رقم گندم نان نسبت به نژاد ۱ و نژاد ۵ قارچ عامل بیماری مورد ارزیابی قرار گرفت که نتایج نشان داد به ترتیب ۷۶ و ۸۴ درصد از ارقام به این دو نژاد حساس بودند (Tadesse *et al.*, 2006a,b). این نتایج با نتایج به‌دست آمده در این تحقیق همخوانی داشته و در مجموع بیانگر حساسیت بالای اکثر ارقام و لاین‌های گندم به این بیماری بود (Singh *et al.*, 2008a,b). خویشاوندان وحشی گندم و گندم‌های سینتیک به طور کلی

Archive of SID

www.SID.ir

جدول ۳- ارزیابی مقاومت لاین‌های امید بخش گندم اقلیم شمال کشور (سال ۱۳۹۱) نسبت به جدایه P8 قارچ عامل بیماری لکه‌خرمایی و واکنش آن‌ها نسبت به تزریق توکسین ToxA و غربالگری PCR

Table 3. Evaluation of resistance of wheat elite lines (year 2010) to P8 isolate of tan spot fungus and their responses to ToxA infiltration and PCR screening

Genotype no.	Pedigree	Score		Reaction		PCR	
		N	C	S/R	ToxA	18S	Tsn1
1	Morvarid (Commerical cultivar)	1.0	3.0	S (C)	-	+	-
2	Gonbad (Commerical cultivar)	5.0	1.3	S (N)	+	+	+
3	CHAMRAN/ZAGROS	3.7	1.0	S (N)	+	+	+
4	CHAMRAN/PASTOR	1.0	4.0	S (C)	-	+	-
5	ZAGROS/ARVAND//CATBIRD/3/SHIROODI	2.7	2.7	S (NC)	-	+	-
6	PFAU/SHANGHAI#3/3/NAI60/HN//SY/4/SHIROODI/5/…	4.0	3.7	S (NC)	-	+	-
7	KAUZ/CMH77.308//BAU/3/SHANGHAI8E249/4/CATBIRD/5/…	2.3	1.3	S (N)	-	+	-
8	PFAU/MILAN/5/CHEN/AEGILOPSSQUARROSA(TAUS)//…	3.7	3.7	S (NC)	-	+	-
9	PFAU/MILAN/3/SKAUZ/KS94U215//SKAUZ	1.0	3.0	S (C)	-	+	-
10	TILHI/5/PF74354//LD/ALD/4/2*BR12*2/3/JUP//…	5.0	5.0	S (NC)	+	+	+
11	WHEAR/CHAPIO/3/C80.1/3*BATAVIA//2*WBLL1	3.7	3.7	S (NC)	-	+	-
12	CNDO/R143//ENTE/MEXI_2/3/…	2.3	2.7	S (NC)	-	+	-
13	PGO/SERI//BAU/3/DUCULA	2.3	5.0	S (NC)	-	+	-
14	PF74354//LD/ALD/4/2*BR12*2/3/JUP//PAR214*6/…	5.0	1.0	S (N)	+	+	+
15	NANJING2149/KAUZ/4/JUP/ALD"S"//KIT"S"/3/…	1.0	2.0	R	-	+	-
16	SABUF/7/ALTAR84/AE.SQUARROSA(224)//YACO/6/…	4.0	2.0	S (N)	-	+	-
17	MILAN/S87230//BABAX	1.0	2.3	S (C)	-	+	-
18	MILAN/ATTILA//ATTILA-4Y	3.0	2.0	S (N)	-	+	-
19	CAL/NH//H567.71/3/SERI/4/CAL/NH//H567.71/5/…	2.7	4.0	S (NC)	-	+	-
20	BABAX/LR42//BABAX*2/3/VIVITSI	1.7	5.0	S (C)	-	+	-

مقاومت مناسبی به تمامی بیماری‌ها نشان می‌دهند. نتایج تحقیقات در مورد این بیماری نیز مقاومت بالا در خویشاوندان وحشی گندم و گندم‌های سینتتیک را در مقایسه با گندم‌های نان نشان داده است. از میان ۵۹ نمونه *Aegilops tauschii* و ۳۹ نمونه گندم سینتتیک به ترتیب ۲۷ و ۲۰ نمونه به بیماری لکه‌خرمایی مقاوم بودند (Siedler *et al.*, 1994). در ارزیابی ۱۲۰ رقم سینتتیک بیش از نیمی از آن‌ها به این بیماری مقاوم بودند درحالی که اکثر ارقام تتراپلوئید مورد مطالعه به این بیماری حساس حساسیت نشان دادند (Xu *et al.*, 2004). این

Archive of SID

www.SID.ir

جدول ۴- ارزیابی مقاومت لاین‌های امیدبخش گندم سال ۱۳۹۲ نسبت به جدایه P8 قارچ عامل بیماری لکه‌خرمایی و واکنش آن‌ها نسبت به تزریق توکسین ToxA و غربالگری PCR

Table 4. Evaluation of resistance of wheat elite lines (year 2013) to P8 isolate of tan spot fungus and their responses to ToxA infiltration and PCR screening

Genotype no.	Pedigree	Score		Reaction		PCR	
		N	C	S/R	ToxA	18S	Tsn1
1	Morvarid (Commerical cultivar)	2.0	3.7	S (C)	-	+	-
2	Gonbad (Commerical cultivar)	4.7	1.0	S (N)	+	+	+
3	SHIROODI/6/LUAN/4/V763.23/3/V879.C8//PVN/5/…	3.0	1.0	S (N)	-	+	-
4	CHAMRAN/6/LUAN/4/V763.23/3/V879.C8//PVN/5/P..	1.0	3.0	S (C)	-	+	-
5	ATRAK//ATTILA/3*BCN/3/MILAN/SHA7	2.0	2.0	R	-	+	-
6	ATTILA*2/PBW65/6/PVN//CAR422/ANA/5/BOW/CRO..	2.3	2.0	S (N)	-	+	-
7	SHA7/VEE#5/5/VEE#8//JUP/BJY/3/F3.71/TRM/4/2*WEAVER/6/SKA.	2.3	1.3	S (N)	-	+	-
8	QUAIU	1.7	3.0	S (C)	-	+	-
9	VOROBEY	1.7	1.0	R	-	+	-
10	KLCQ/ER2000//WBLL1	1.0	2.7	S (C)	-	+	-
11	PRL/VEE#6//CLMS/3/METSO/4/WBLL1	1.7	2.7	S (C)	-	+	-
12	SHA3/CBRD//PRL/2*PASTOR	1.7	2.0	R	-	+	-
13	CHEN/AEGILOPSSQUARROSA(TAUS)//BCN/3/BA..	2.0	3.0	S (C)	-	+	-
14	CROC_1/AE.SQUARROSA(205)//KAUZ/3/ATTILA/4/BOW/..	1.7	3.0	S (C)	-	+	-
15	PBW343*2/KUKUNA/3/PASTOR//CHIL/PRL/4/PBW3..	3.0	3.0	S (NC)	-	+	-
16	BERKUT//PBW343*2/KUKUNA	1.0	3.0	S (C)	-	+	-
17	CROC_1/AE.SQUARROSA(205)//KAUZ/3/ATTILA/4/BOW/PRL//BU..	1.7	3.0	S (C)	-	+	-
18	PASTOR/KAUZ/6/CNDO/R143//ENTE/MEXI_2/3/AEGILOPSSQUA.	4.3	1.0	S (N)	+	+	+
19	PBW343/TONI//TROST/3/SOVA	5.0	2.0	S (N)	+	+	+
20	NG8201/KAUZ/4/SHA7//PRL/VEE#6/3/FASAN/5/MILAN/KAUZ/6/A..	1.0	2.0	R	-	+	-

نتایج نشان می‌دهد که ژرم‌پلاسم خویشاوندان وحشی گندم و گندم‌های سینتتیک می‌توانند به عنوان منابع مقاومت به این بیماری در برنامه‌های به‌نژادی مورد استفاده قرار گیرند تا با انتقال ژن‌های مقاومت به لکه‌خرمایی موجود در آن‌ها به ارقام تجاری بتوان گام‌های مؤثرتری در کنترل این بیماری برداشت.

به‌طور کلی برای شیوع هر بیماری، سه عامل شرایط آب و هوایی مناسب، میزبان حساس و

Archive of SID

www.SID.ir

جدول ۵- ارزیابی مقاومت لاین‌های پیشرفته گندم سال ۱۳۹۲ نسبت به جدایه P8 قارچ عامل بیماری لکه‌خرمایی و واکنش آن‌ها نسبت به تزریق توکسین ToxA و غربالگری PCR

Table 5. Evaluation of resistance of wheat advanced lines (year 2013) to P8 isolate of tan spot fungus and their responses to ToxA infiltration and PCR screening

Genotype no.	Pedigree	Score		Reaction		PCR	
		N	C	S/R	ToxA	18S	Tsn1
1	Morvarid (Commerical cultivar)	2.0	3.0	S (C)	-	+	-
2	Gonbad (Commerical cultivar)	5.0	2.0	S (N)	+	+	+
3	PBW343*2/KUKUNA*2//FRTL/PIFED	4.0	4.0	S (NC)	-	+	-
4	PBW343*2/KUKUNA*2//FRTL/PIFED	1.7	4.0	S (C)	-	+	-
5	UP2338*2/KKTS*2//YANAC	1.7	3.0	S (C)	-	+	-
6	UP2338*2/KKTS*2//YANAC	3.3	3.7	S (NC)	-	+	-
7	ATTILA*2/PBW65*2/4/BOW/NKT//CBRD/3/CBRD	4.0	4.0	S (NC)	+	+	+
8	WBLL1*2/BRAMBLING/5/BABAX/LR42…	2.3	4.0	S (NC)	-	+	-
9	PFAU/SERI.1B//AMAD/3/WAXWING/4/…	2.3	4.0	S (NC)	-	+	-
10	FRET2*2/4/SNI/TRAP#1/3/KAUZ*2/TRAP//KAUZ/..	5.0	5.0	S (NC)	+	+	+
11	KAUZ//ALTAR84/AOS/3/MILAN/KAUZ/4/HUITES/7..	4.0	4.0	S (NC)	+	+	+
12	CAL/NH//H567.71/3/SERI/4/CAL/NH//H567.71/5…	3.0	1.0	S (N)	-	+	-
13	FRET2*2/4/SNI/TRAP#1/3/KAUZ*2/TRAP//KAUZ/..	2.7	5.0	S (NC)	-	+	-
14	PBW343*2/KUKUNA//SRTU/3/PBW343*2/KHVAKI	3.3	3.0	S (NC)	-	+	-
15	PBW343*2/KUKUNA//SRTU/3/PBW343*2/KHVAKI	2.0	3.0	S (C)	-	+	-
16	PBW343*2/KHVAKI//PARUS/3/PBW343/PASTOR	2.3	3.7	S (NC)	-	+	-
17	ATTILA*2/PBW65/6/PVN//CAR422/ANA/5/BOW/..	1.0	4.0	S (C)	-	+	-
18	CHAPIO/3/BORL95/2*EXCALIBUR//EXCALIBUR	1.3	4.0	S (C)	-	+	-
19	ATTILA*2/PBW65//TNMU	1.0	2.3	S (C)	-	+	-
20	ATTILA*2/PBW65//TNMU	1.7	3.3	S (C)	-	+	-
21	KANZ*4/KS85-8-4//KUKUNA/3/KANZ	1.7	3.3	S (C)	-	+	-
22	KANZ*4/KS85-8-4//KUKUNA/3/KANZ	1.0	4.0	S (C)	-	+	-
23	ATTILA*2/PBW65//TNMU	1.3	4.0	S (C)	-	+	-
24	ATTILA*2/PBW65//TNMU	3.7	3.7	S (NC)	-	+	-
25	WBLL1/KUKUNA//TACUPETOF2001/3/UP2338*2/VIVITSI	1.0	4.3	S (C)	-	+	-
26	WBLL1/KUKUNA//TACUPETOF2001/3/UP2338*2/VIVITSI	2.0	4.0	S (C)	-	+	-
27	WBLL1/KUKUNA//TACUPETOF2001/3/UP2338*2/VIVITSI	2.0	4.0	S (C)	-	+	-
28	CAL/NH//H567.71/3/SERI/4/CAL/NH//H567.71/5/2…	2.7	2.0	S (N)	-	+	-
29	TRCH*2/7/TNMU/6/CEP80111/CEP81165/5/IAC5/4/...	4.0	4.0	S (NC)	+	+	+
30	ATTILA*2/PBW65//KACHU	3.0	3.0	S (NC)	-	+	-
31	WBLL1*2/4/YACO/PBW65/3/KAUZ*2/TRAP//…	1.3	3.0	S (C)	-	+	-
32	KACHU/3/PRINIA/PASTOR//HUITES	1.7	4.0	S (C)	-	+	-
33	WBLL1*2/VIVITSI/5/TRAP#1/BOW/3/VEE/PJN/…	4.3	1.0	S (N)	+	+	+
34	KACHU/SAUAL	1.0	3.0	S (C)	-	+	-
35	SAUAL/3/MILAN/S87230//BAV92	3.0	3.3	S (NC)	-	+	-
36	SAUAL/3/MILAN/S87230//BAV92	3.0	3.0	S (NC)	-	+	-
37	SAUAL/3/MILAN/S87230//BAV92	1.7	3.7	S (C)	-	+	-
38	FRET2/KUKUNA//FRET2/3/PASTOR//HXL7573...	1.3	3.3	S (C)	-	+	-
39	FRET2/KUKUNA//FRET2/3/PASTOR//HXL7573..	1.0	2.0	R	-	+	-
40	PBW343*2/KUKUNA*2//KITE	1.0	3.0	S (C)	-	+	-

وجود عامل بیماری ضروری است. در زمینه شیوع روزافزون بیماری لکه‌خرمایی در شمال ایران می‌توان چند دلیلی عمده را ذکر کرد. اقلیم شمال کشور از جمله اقلیم‌های با بارندگی سالانه زیاد و رطوبت نسبی بالاست که در طول فصل رشد گندم همراه با دمای هوا معتدل، شرایط مناسب گسترش بیماری را فراهم می‌کند. عامل میزبان حساس نیز فراهم بوده و

Archive of SID

www.SID.ir

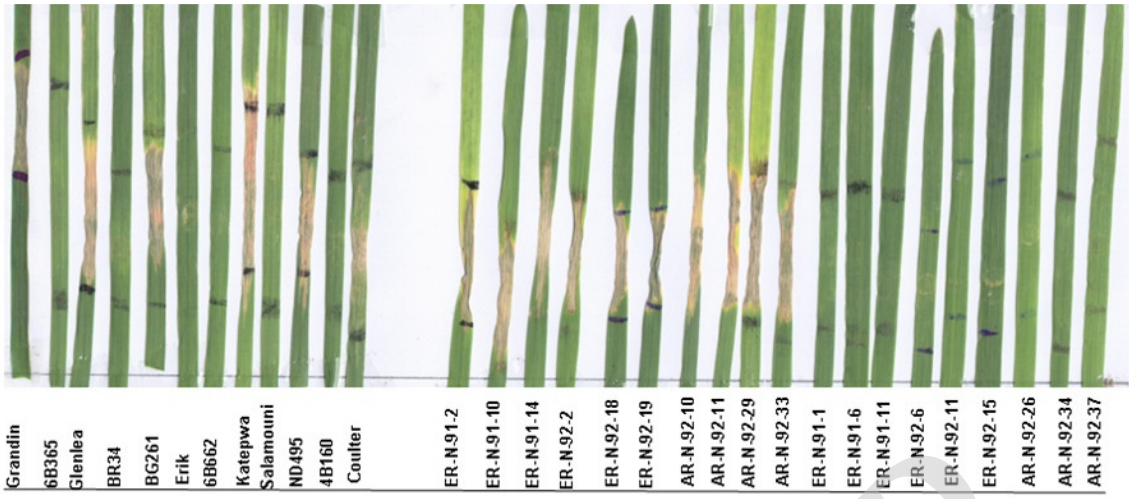
حساسیت بالای ارقام مورد کشت به گسترش بیماری کمک کرده است. در سال‌های گذشته به دلیل عدم توجه به این بیماری و در نتیجه عدم غربالگری ژرم‌پلاسم گندم نسبت به این بیماری در برنامه‌های به‌نژادی گندم در ایران، ارقامی گسترش پیدا کرده‌اند که به این بیماری حساس هستند. از جمله این ارقام می‌توان از ارقام گنبد و مروارید را نام برد که در سطح وسیعی از مزارع شمال کشت می‌شوند.

ژنتیک حساسیت به نژادهای قارچی تولید کننده ToxA با بررسی تلاقی‌های حاصل از ارقام حساس و مقاوم مورد بررسی قرار گرفت (Sykes and Bernier 1991؛ Lamari and Bernier 1989a,b). نتایج نشان داد که یک ژن غالب در گیاه مسئول ایجاد نکروز است. متعاقباً بر اساس تحقیقات اندرسون و همکاران (Anderson *et al.*, 1999) ژن عامل ایجاد حساسیت *Tsn1* نام گرفت. این ژن بر روی کروموزوم 5BL قرار دارد و حساسیت به توکسین ToxA را کنترل می‌کند. این ژن نهایتاً کلون شد و توالی آن نشان داد که یک ژن از دسته ژن‌های NBS-LRR است (Faris *et al.*, 2010).

آزمایش‌های ارزیابی مقاومت به توکسین ToxA در این تحقیق نشان داد که در کنار رقم گنبد، ده لاین گندم و پنج رقم افتراقی نسبت به تزریق ToxA حساس بوده و نکروز ایجاد کردند (شکل ۱). آزمایش‌های مولکولی نیز نشان داد که آغازگرهای 18S در همه لاین‌ها و ارقام مورد بررسی قادر به تکثیر باند به اندازه bp ۱۵۱ بود که نشان دهنده کیفیت مناسب DNA در آزمایش‌های واکنش زنجیره‌ای پلیمراز است (شکل ۲). همچنین آزمون PCR نشان داد که ده لاین گندم و پنج رقم افتراقی قادر به تکثیر باند به اندازه bp ۳۸۰ بودند که بیانگر وجود ژن حساسیت *Tsn1* در آن‌ها است (شکل ۲). تمام ژنوتیپ‌هایی که در آزمون تزریق توکسین نکروز ایجاد کردند، در آزمایش‌های واکنش زنجیره‌ای پلیمراز نیز باند به اندازه bp ۳۸۰ را تکثیر کردند. این نتایج نشان داد که آزمون مولکولی تاییدی بر صحت آزمایش‌های تزریق توکسین بود، به همین نحو، عدم تکثیر ژن *Tsn1* در آزمون مولکولی تنها در لاین‌ها و ارقام مقاوم به تزریق توکسین مشاهده شد. نکته‌ی قابل توجه همبستگی کامل نتایج آزمون حضور ژن حساسیت *Tsn1* با نتایج حاصل از تزریق توکسین ToxA بود، بنابراین هر کدام از این روش‌های مولکولی می‌توانند به تنهایی و یا در کنار یک‌دیگر به عنوان یک روش غربالگری سریع و قابل اطمینان برای شناسایی ارقام و ژنوتیپ‌های حساس مورد استفاده قرار گیرند. همچنین این نکته قابل ذکر است که برخی تفاوت‌ها در نتایج آزمایش‌های تزریق ToxA با نتایج آزمایش‌های ارزیابی بیماری می‌تواند ناشی از وجود توکسین یا توکسین‌های اختصاصی و یا غیر اختصاصی ناشناخته‌ای باشد که توسط عامل بیماری تولید می‌شوند.

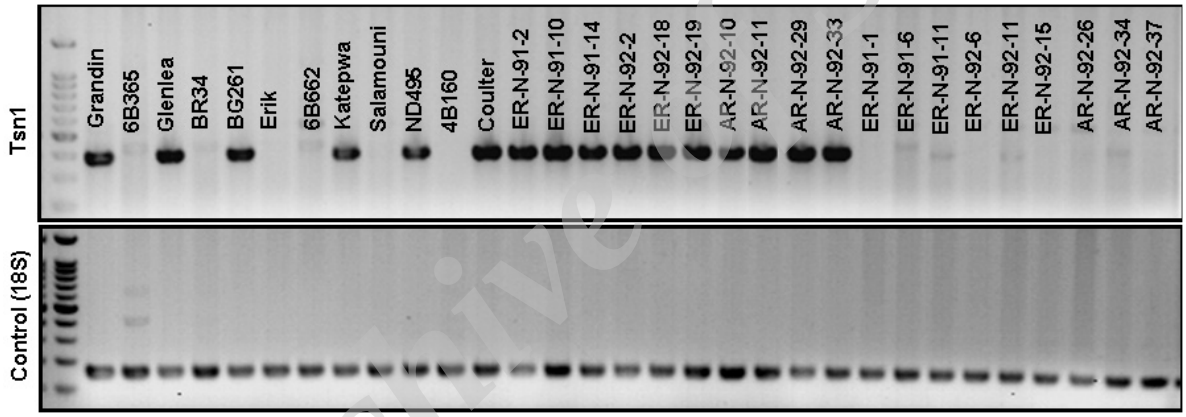
Archive of SID

www.SID.ir



شکل ۱- واکنش ارقام افتراقی و تعدادی از لاین‌های پیشرفته و امیدبخش گندم پس از تزریق ToxA

Fig. 1. The responses of differentials and some advanced and elite wheat lines after ToxA infiltration



شکل ۲- نتایج ارزیابی مولکولی حضور و یا عدم حضور ژن حساسیت *Tsn1* در ارقام افتراقی و تعدادی از لاین‌های پیشرفته و امیدبخش گندم (تصویر بالایی). باندهای ردیف پایین مربوط به ژن 18S بوده که به عنوان کنترل مثبت واکنش PCR هستند.

Fig. 2. The results of molecular evaluation of presence or absence of *Tsn1* susceptibility gene in differential lines and some advanced and elite wheat lines (top panel). The bottom panel represents 18S gene amplification as positive control in PCR screening.

برای کنترل بیماری لکه‌خرمائی در ایران همانند سایر بیماری‌ها ارزیابی منابع ژنتیکی نسبت به بیماری امری ضروری است. این کار در سال‌های گذشته برای بیماری‌های مهمی مانند زنگ‌ها انجام شده است اما برای بیماری لکه‌خرمایی مورد غفلت قرار گرفته است. عدم توجه به بیماری موجب گسترش کشت ارقام حساس در اقلیم شمال کشور شده و از آن‌جا که شرایط آب و هوایی برای ظهور و توسعه این بیماری در اقلیم شمال فراهم است، موجب

Archive of SID

www.SID.ir

شیوع این بیماری گشته است، بنابراین مهم‌ترین راهکار برای جلوگیری از شیوع بیشتر بیماری، غربالگری و ارزیابی مواد به‌نژادی اقلیم شمال نسبت به این بیماری است تا در نهایت ارقام جدید از سطح مقاومت مطلوبی نسبت به این بیماری برخوردار باشند.

References

Anderson, J. A., Effertz, R. J., Faris, I. D., Franel, L. J., Meinhardt, S. W., and Gill, B. S. 1999. Genetic analysis of sensitivity to *Pyrenophora tritici- repentis* necrosis-inducing toxin in durum and common wheat. Phytopathology 89: 293-297.

Anonymous 2016. Food Outlook: Biannual Report on Global Food Markets. Food and Agriculture Organization of the United Nations (FAO), Rome, Italy. 135 pp.

Chu, C. G., Friesen, T. L., Faris, J. D., and Xu, S. S. 2008. Evaluation of seedling resistance to tan spot and *Stagonospora nodorum* blotch in tetraploid wheat. Crop Science 48: 1107-1116.

Ciuffetti, L. M., and Tuori, R. P. 1999. Advances in the characterization of the *Pyrenophora tritici-repentis*-wheat interaction. Phytopathology 89: 444-449.

De Wolf, E. D., Effertz, R. J., Ali, S., and Francl, L. J. 1998. Vistas of tan spot research. Canadian Journal of Plant Pathology 20: 349-370.

Duveiller, E., Kandel, Y. R., Sharma, R. C., and Shrestha, S. M. 2005. Epidemiology of foliar blights (spot blotch and tan spot) of wheat in the plains bordering the Himalayas. Phytopathology 95: 48-256.

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

Faris, J. D., Zhang, H. Lu., Reddy, S., Cloutier, J. P., Fellers, S. W., Meinhardt, J. B., Rasmussen, S. S., Xu, R. P., Oliver, K. J., and Friesen, T. L. 2010. A unique wheat disease resistance-like gene governs effector-triggered susceptibility to nectotrophic pathogens. Proceedings of the National Academy of Sciences, USA 107: 13544-13549.

Lamari, L., and Bernier, C. C. 1989a. Virulence of isolates of *Pyrenophora tritici-repentis* on 11 wheat cultivars and cytology of differential host reactions. Canadian Journal of Plant Pathology 11: 284-290.

Lamari, L., and Bernier, C. C. 1989b. Evaluation of wheat reaction to tan spot (*Pyrenophora tritici-repentis*) based on lesion type. Canadian Journal of Plant

Archive of SID

www.SID.ir

Pathology 11:49-56.

Lamari, L., and Bernier, C. C. 1991. Genetics of tan necrosis and extensive chlorosis in tan spot of wheat caused by *Pyrenophora tritici-repentis*. Phytopathology 81: 1092-1095.

Lamari, L., and Strelkov, S. E. 2010. The wheat/*Pyrenophora tritici-repentis* interaction: progress towards an understanding of tan spot disease. Canadian Journal of Plant Pathology 32: 4-10.

Lamari, L., Bernier, C. C., and Smith, R. B. 1991. Wheat genotypes that develop both tan necrosis and extensive chlorosis in response to isolates of *Pyrenophora tritici-repentis*. Plant Disease 75: 121-2.

Lamari, L., Gilbert, J., and Tekauz, A. 1998. Race differentiation in *Pyrenophora tritici-repentis* and survey of physiologic variation in western Canada. Canadian Journal of Plant Pathology 20: 396-400.

Lamari, L., Sayoud, R., Boulif, M., and Bernier, C. C. 1995. Identification of a new race in *Pyrenophora tritici-repentis*: implications for the current pathotype classification system. Canadian Journal of Plant Pathology 17: 312-318.

Lamari, L., Strelkov, S. E., Yahyaoui, A., Orabi, J., and Smith, R. B. 2003. The identification of two new races of *Pyrenophora tritici-repentis* from the host center of diversity confirms a one-to-one relationship in tan spot of wheat. Phytopathology 93: 391-396.

Mehrabi, R., Karami, N., and Torabi, M. 2015. The presence of the susceptibility gene *Tsn1*, in some wheat lines and their reactions to ToxA infiltration produced by *Pyrenophora tritici-repentis*. Iranian Journal of Plant Protection Science 49: 87-94.

Postnifova, E. N., and Khashanova, B. A. 1998. Tan spot in central Asia. pp. 107-113. In: Duveiller, E., Dubin, H. J., Reeves, J. Y., and McNab, A. (eds.) Helminthosporium Blights of Wheat: Spot Blotch and Tan spot. CIMMYT, Mexico, D. F. Mexico.

Rajabpour, M., Mehrabi, R., Torabi, M., and Ebrahimi, A. 2014. Distribution and frequency to toxin producing genes (ToxA and ToxB) in populations of *Pyrenophora tritici-repentis*, the causal agent of wheat tan spot in north of Iran. Seed and Plant Improvement Journal 30-1: 73-83 (in Persian).

Rees, R. G., Platz, G. J., and Mayer, R. J. 1988. Susceptibility of Australian wheats to *Pyrenophora tritici-repentis*. Journal of Agricultural Research 39: 141-51.

Archive of SID

www.SID.ir

Saghai-Maroof, M. A., Soliman, K. M., Jorgensen, R. A., and Allard, R. W. 1984. Ribosomal DNA sepacer-length polymorphism in barley: Mendelian inheritance, chromosomal location, and population dynamics. Proceedings of the National Academy of Science, USA. 81: 8014-8019.

Shabeer, A., and Bockus, W. W. 1988. Tan spot effects on yield and yield components relative to growth stage in winter wheat. Plant Disease 72: 599-602.

Siedler, H., Obst, A., Hsam, S. L. K., and Zeller, F. J. 1994. Evaluation for resistance to *Pyrenophora tritici-repentis* in *Aegilops tauschii* Coss. And synthetic hexaploid wheat amphiploids. Genetic Resources and Crop Evaluation 41: 27-34.

Singh, P. K., and Hughes, G. R. 2006. Genetic similarity among isolates of *Pyrenophora tritici-repentis*, causal agent of tan spot of wheat. Phytopathology 154: 178-184.

Singh, P. K., Mergoum, M., Ali, S., Adhikari, T. B., and Hughes, G. R. 2008a. Genetic analysis of resistance to *Pyrenophora tritici-repentis* races 1 and 5 in tetraploid and hexaploid wheat. Phytopathology 98: 702-708.

Singh, P. K., Mergoum, M., Ali, S., Adhikari, T. B., Elias, E. M., Anderson, J. A., Glover, K. D., and Berzonsky, W. A. 2006. Evaluation of elite wheat germplasm for resistance to tan spot. Plant Disease 90: 1320-1325.

Singh, P. K., Mergoum, M., Ghavami, F., Ali, S., Adhikari, T. B., and Kianian, S. F. 2008b. Genetic analysis and mapping of tan spot resistance genes using DArT markers. Phytopathology 98: S147.

Sivanesan, A. 1987. Graminicolous species of Bipolaris Curvularia, Drechslera, Exserohilum and their teleomorphs. CAB International Mycological Institute, Mycological paper 158: 261 pp.

Strelkov, S. E., and Lamari, L. 2003. Host-parasite interaction in tan spot (Pyrenophora *tritici-repentis*) of wheat. Canadian Journal of Plant Pathology 25: 339-349.

Sykes, E. E., and Bernier, C. C. 1991. Qualitative inheritance of tan spot resistance in hexaploid, tetraploid, and diploid wheat. Canadian Journal of Plant Pathology 13: 38-44.

Tadesse, W., Hsam, S. L. K., Wenzel, G., and Zeller, F. J. 2006a. Identification and monosomic analysis of tan spot resistance genes in synthetic wheat lines (*Triticum turgidum* L. × *Aegilops tauschii* Coss.). Crop Science 46: 1212–1217.

Tadesse, W., Hsam, S. L. K., and Zeller, F. J. 2006b. Evaluation of common wheat

Archive of SID

www.SID.ir

cultivars for tan spot resistance and chromosomal location of a resistance gene in the cultivar Salamouni. Plant Breeding 125: 318-322.

Xu, S. S., Friesen, T. L., and Mujeeb-Kazi, A. 2004. Seedling resistance to tan spot and *Stagonospora nodorum* blotch in synthetic hexaploid wheats. Crop Science 44: 2238-2245.

Archive of SID

www.SID.ir