

تعیین پاتوتیپ‌های قارچ عامل لکه‌برگی سپتوریایی گندم (*Mycosphaerella graminicola*) در ایران

سمیه فلاحی مطلق^۱، رامین روح پرور^۲، حمیدرضا زمانی زاده^۳ و علی بنده حق^۴

^۱ دانشجوی سابق کارشناسی ارشد بیماری‌شناسی گیاهی، دانشگاه آزاد اسلامی، واحد علوم و تحقیقات، تهران.

^۲ استادیار، مؤسسه تحقیقات اصلاح و تهیه نهال و بذر، کرج.

^۳ دانشیار، دانشگاه آزاد اسلامی، واحد علوم و تحقیقات، تهران.

^۴ استادیار، دانشکده کشاورزی دانشگاه تبریز.

* نویسنده مسئول: S_fallahi@tabrizu.ac.ir

تاریخ دریافت: ۹۲/۰۳/۰۴ تاریخ پذیرش: ۹۳/۰۱/۱۸

چکیده

به منظور کنترل بیماری لکه‌برگی سپتوریایی گندم با استفاده از ارقام مقاوم، اطلاعات اولیه از پاتوتیپ‌های پاتوژن و بیماری‌زایی آن‌ها مورد نیاز می‌باشد. در تحقیق حاضر ۲۳ جدایه از مناطق مختلف کشور در شرایط گلخانه‌ای بر روی گیاهچه‌های ۱۹ رقم افتراقی گندم مایه‌زنی شده و پاتوتیپ‌های قارچ تعیین گردیدند. نتایج به دست آمده نشان داد که بین جدایه‌ها و واکنش ارقام در سطح احتمال یک درصد اختلاف معنی داری وجود دارد و معنی دار نبودن اثر متقابل جدایه و رقم نشان می‌دهد که جدایه‌ها از نظر قدرت تهاجمی و ارقام از نظر مقاومت غیروابسته به نژاد روند یکسانی نشان می‌دهند. هیچ یک از جدایه‌ها بر روی رقم TE 9111 که حامل ژن‌های مقاومت *Stb6*، *Stb7* و *Stb11* می‌باشد، بیماری‌زایی نداشتند. از آنجا که بیماری‌زایی بر روی سایر ارقام حامل ژن‌های *Stb6* و *Stb7* توسط جدایه‌های مختلف مشاهده شد، لذا مقاومت رقم TE 9111 نسبت به جدایه‌های مزبور را می‌توان به وجود ژن مقاومت *Stb11* نسبت داد. بیشترین شدت بیماری جدایه‌ها بر روی رقم بولانی (رقم حساس عمومی به بیماری) و در درجه‌های بعدی بر روی ارقام Taichung 29 (رقم حساس بین‌المللی به جدایه‌ی IPO323) با فراوانی ۶۹ درصد و Estanzuela Federal (حامل ژن مقاومت *Stb7*) با فراوانی ۶۶ درصد، و کمترین فراوانی بر روی ارقام TE9111 (حامل ژن‌های *Stb4* و *Stb6*) و Oasis و Sullivan (حامل ژن *Stb1*) به ترتیب به میزان چهار، نه و ۱۱ درصد مشاهده شد. شدت بیماری جدایه‌های قارچ بر روی سایر ارقام گندم مورد مطالعه که حامل ژن‌های مقاومت مختلفی بودند، بین ۱۶ تا ۵۹ درصد متغیر بود. در این مطالعه ۱۸ پاتوتیپ *M. graminicola* شناسایی شد که نشان‌دهنده تنوع بالای پاتوتیپ‌های قارچ در ایران می‌باشد.

واژه‌های کلیدی: گندم، ژن‌های *Stb*، لکه‌برگی سپتوریایی، *Septoria tritici* *Mycosphaerella graminicola*

Zymoseptoria tritici

مقدمه

گسترش این بیماری با توسعه کشت ارقام پنا کوتاه و مقاوم به زنگ مرکز سیمیت^۱ که دارای پتانسیل کودپذیری بالا و تولید شاخ و برگ متراکم می‌باشند، افزایش یافته است (ایال و همکاران ۱۹۷۳، کینگ و

تاکنون بیماری‌های متعددی بر روی گندم از سراسر دنیا گزارش شده‌اند که یکی از این بیماری‌ها، لکه‌برگی سپتوریایی یا سپتوریوز برگ (Septoria leaf blotch) (or Septoria tritici blotch: STB) گندم می‌باشد.

برگی گندم با استفاده از ۱۵ رقم گندم و چهار رقم تریتیکاله به عنوان شاهد در مرحله برگ اول در شرایط گلخانه‌ای و اتاقک رشد ثابت نمود که بین جدایه‌های مناطق مختلف جغرافیایی از نظر خصوصیات بیماری‌زایی اختلاف معنی دار وجود دارد. این مطالعات نشان دادند که شرایط محیطی بیماری‌زایی عامل بیماری را تحت تأثیر قرار می‌دهند، ولی در واکنش میزبان نسبت به بیماری مؤثر نمی‌باشند (آرسنیوک و همکاران ۱۹۹۳). گریگر (۲۰۰۱) با بررسی نمونه‌های جمع‌آوری شده از استان مانتیوبای کانادا دو پاتوتیپ مختلف را شناسایی نمود. کما و همکاران (۱۹۹۶) با بررسی بیماری‌زایی ۷۸ جدایه قارچ عامل بیماری از ۱۶ کشور بر روی ۲۲ رقم افتراقی در مرحله گیاهچه‌ای و گیاه کامل تفاوت معنی‌داری را در هر دو مرحله از نظر بیماری‌زایی جدایه‌ها گزارش نمودند.

این پژوهشگران همچنین بیماری‌زایی جدایه‌های جمع‌آوری شده از روی گندم نان و دوروم ۱۳ کشور را در مرحله گیاهچه‌ای در قالب دو آزمایش بررسی کردند. در آزمایش اول ۵۰ جدایه جمع‌آوری شده از گندم نان بر روی مجموعه‌ای از ۱۹ رقم گندم نان، چهار رقم گندم دوروم و یک رقم تریتیکاله و در آزمایش دوم ۱۵ جدایه از گندم دوروم بر روی ۱۷ رقم گندم دوروم، چهار رقم گندم نان، و یک رقم تریتیکاله و یک زیرگونه *Triticum turgidum* sub.sp. *dicocoides* مایه‌زنی شده و برای مطالعه واکنش ارقام در برابر عامل بیماری درصد سطح کل نکروتیک برگ و درصد سطح نکروتیک برگ حاوی پیکنید اندازه‌گیری، و تغییرات ژنتیکی در بیماری‌زایی عامل بیماری و مقاومت ارقام میزبان با تجزیه کواریانس بررسی شد. این پژوهش نشان داد که بین جدایه‌های جمع‌آوری شده از روی گندم نان با جدایه‌های جمع‌آوری شده از روی گندم دوروم اختلاف معنی‌داری وجود دارد. همچنین وجود تغییرات ژنتیکی زیاد در بین جدایه‌های *M. graminicola* نشان دهنده اهمیت فوق

همکاران ۱۹۸۳). در ایران قارچ عامل این بیماری اولین بار توسط پتراک و اسفندیاری (۱۹۴۱) با نام *Septoria graminum* Desm. از شمال کشور گزارش شد و سپس شریف و ارشاد در سال ۱۳۴۵ وجود آن را از سایر مناطق گندم خیز گزارش کردند (شریف و ارشاد ۱۹۶۶). هر چند از میزان دقیق خسارت این بیماری در کشور اطلاعی در دست نیست، لیکن گزارش‌هایی مبنی بر خسارت شدید آن در مناطق مختلف انتشار یافته است (داد رضایی ۱۳۷۸). این بیماری از سال ۱۳۴۴ با آغاز کاشت ارقام سیبیت در کشور گسترش یافته و گزارش‌های متعددی از وقوع آن در مناطق مختلف بویژه استان‌های گلستان، خوزستان، مازندران، فارس، ایلام، مرکزی، آذربایجان شرقی، اردبیل، کرمانشاه، کرمان و سیستان و بلوچستان منتشر گردید (ترابی ۱۳۵۹، عظیمی ۱۳۷۷). این بیماری در سال ۱۳۷۸ در سطحی حدود ۱۴۰ هکتار از مزارع آق‌قلا (گرگان) با شیوع ۱۰۰٪ و در اسفند ۱۳۷۹ در مهران (استان ایلام) به صورت اپیدمی بسیار شدید ظاهر شد. بروز اپیدمی این بیماری در سال زراعی ۸۲-۱۳۸۱ در استان گلستان بویژه منطقه گنبد بر روی رقم تجن سبب انجام سمپاشی‌های گسترده در سطحی حدود ۴۰ هزار هکتار گردید. اهمیت سپتوریوز برگی گندم در ایران همچون سایر نقاط جهان به دنبال بروز اپیدمی‌های شدید اخیر رو به افزایش گذاشته است. سالدوئی (۱۹۸۷)، تعداد ۱۹ جدایه قارچ را با استفاده از هفت رقم افتراقی گندم در قالب سه نژاد مشخص معرفی کرد. در پژوهش دیگری تغییرات بیماری‌زایی ۱۰ جدایه با ارزیابی عکس‌العمل ۱۷ رقم افتراقی به صورت درصد سطح کل نکروتیک برگ و درصد سطح نکروتیک برگ حاوی پیکنید بررسی گردید. نتایج حاصل نشان داد که درصد سطح نکروتیک حاوی پیکنید شاخص دقیق‌تری برای شناسایی عکس‌العمل ارقام می‌باشد. با استفاده از این شاخص عکس‌العمل ارقام نسبت به جدایه‌های مزبور متفاوت بود (پرلو و همکاران ۱۹۹۱). مطالعه بیماری‌زایی ۱۹ جدایه و عوامل مقاومت به قارچ عامل سپتوریوز

a و b ۲۰۰۴، آریانو و همکاران ۲۰۰۷، طیب غفاری و همکاران ۲۰۱۱ و ۲۰۱۲).

از آنجا که تحقیقات مربوط به این بیماری در کشور تنها به بررسی‌های موردی در زمینه عامل بیماری، تنوع بیماری‌زایی و ارزیابی‌های محدود مزرعه‌ای (روح‌پرور و همکاران ۱۳۸۷؛ ۱۳۸۸؛ ۱۳۸۹ الف؛ ۱۳۸۹ ب). خلاصه شده، لازم است در راستای اهداف و برنامه‌های به نژادی گندم کشور پاتوتیپ‌های جمعیت‌های فعال قارچ عامل بیماری در مناطق مختلف با استفاده از جدیدترین مجموعه ارقام افتراقی دنیا و با در نظر گرفتن کلیه ژن‌های مقاومت شناسایی شده گندم نسبت به این بیماری بررسی شوند.

مواد و روش‌ها

نمونه‌های برگی آلوده از کانون‌های مختلف آلودگی در کشور جمع‌آوری شده و در داخل پاکت‌های کاغذی با قید کلیه مشخصات لازم به واحد تحقیقات بیماری‌های غلات بخش تحقیقات غلات (مؤسسه تحقیقات اصلاح و تهیه نهال و بذر، کرج) منتقل شدند. جداسازی قارچ از پیکنیده‌های روی لکه‌های نکروتیک برگی و خالص‌سازی بر روی محیط کشت PDA انجام شد. جهت تکثیر جدایه‌ها از محیط کشت مایع YSM (۱۰ گرم عصاره مخمر + ۱۰ گرم ساکارز در یک لیتر آب مقطر) و به منظور تهیه مایه تلقیح مورد نیاز در گلخانه از روش روح‌پرور و همکاران (۲۰۰۸) استفاده شد. گیاهچه‌ها در مرحله تک برگی با سوسپانسیون اسپور در محلول ۱۰٪ از Tween 20 با غلظت 10^7 اسپور در میلی‌لیتر مایه‌زنی شده و پس از ۴۸ ساعت نگهداری در تاریکی به گلخانه با دمای ۲۰-۱۸ درجه سانتی‌گراد و دوره نوری ۱۶ ساعت روشنایی و هشت ساعت تاریکی منتقل گردیدند. جهت تعیین پاتوتیپ جدایه‌ها از ارقام افتراقی لکه‌برگی سپتوریایی که هر کدام حامل بیش از یک ژن

العاده آسکوسپورها در اپیدمی بیماری لکه‌برگی سپتوریایی گندم می‌باشد (کما و همکاران ۱۹۹۶).

مراحل مختلف تولید مثل جنسی قارچ *M. graminicola* می‌تواند در مدت پنج هفته کامل شود (رویل و همکاران ۱۹۹۵) و از این رو سبب ایجاد تنوع ژنتیکی بالا در جمعیت‌های طبیعی عامل بیماری می‌گردد. همچنین به علت وجود جریان‌های ژنی^۱ بین جمعیت‌های مختلف عامل بیماری (از نظر جغرافیایی)، سطح و توزیع تغییرات ژنتیکی در جمعیت‌های جهانی عامل بیماری بالا می‌باشد (مک دونالد و همکاران ۱۹۹۵). جمعیت‌های بشدت متنوع این عامل بیماری می‌توانند به آسانی با فشارهای انتخاب^۲ ناشی از تغییر شرایط مانند استفاده از ارقام جدید (مقاوم) گندم سازگار شده و از این طریق منجر به بی‌اثر شدن ژن‌های مقاومت و شکسته شدن مقاومت ارقام شوند. بنابراین لازم است تا از یک سو تنوع و تغییرات ژنتیکی و پتانسیل چنین تغییراتی در جمعیت‌های عامل بیماری، و از سوی دیگر تعامل عامل بیماری-میزبان و اساس ژنتیکی مقاومت میزبان نسبت به بیماری جهت استفاده در روند انتخاب ارقام مقاوم با در نظر گرفتن پایداری مقاومت آن‌ها مورد بررسی قرار گیرد. بر حسب قرارداد ژن‌های مقاومت گندم نسبت به بیماری لکه‌برگی سپتوریایی (*Septoria tritici blotch*) با علامت *Stb*، به انضمام یک شماره اختصاصی مشخص می‌شوند.

وجود تخصص یافتگی فیزیولوژیکی در *M. graminicola* (ایال و همکاران ۱۹۷۳) و رابطه ژن برای ژن در این پاتوسیستم (برادینگ و همکاران ۲۰۰۲) (سال‌ها پیش به اثبات رسید و تعداد ۱۸ ژن مقاومت (*Stb1-Stb18*) به بیماری سپتوریایی برگی در ژنوتیپ‌های مختلف گندم مکان یابی شد (برادینگ و همکاران ۲۰۰۲، مک کارتنی و همکاران ۲۰۰۳، آدیقای و همکاران

^۱ Gene flow

^۲ Selection pressure

فاکتور جدایه و ارقام گندم (جدول ۱) در قالب طرح بلوک های کامل تصادفی مورد تجزیه و تحلیل قرار گرفت.

نتایج و بحث

نتیجه تجزیه واریانس (جدول ۲) دو صفت سطح نكروز و پوشش پیکنید نشان داد که اختلاف معنی دار بین جدایه ها و واکنش ارقام در سطح احتمال یک درصد وجود دارد. این امر می تواند ناشی از وجود الگوی بیماری زایی متفاوت جدایه ها و همچنین تفاوت ژنتیکی ارقام میزبان این بیماری باشد. معنی دار نبودن اثر متقابل جدایه و رقم نشان می دهد که جدایه ها از نظر قدرت تهاجمی^۲ و ارقام از نظر مقاومت غیراختصاصی نژاد^۳ روند یکسانی نشان می دهند که با نتایج فان خینکل و شارن (۱۹۸۸) که ۳۴ جدایه از قارچ عامل بیماری را بر روی ۱۳ رقم گندم دوروم و یک رقم گندم نان بررسی کردند، منطبق است.

بر اساس نتایج به دست آمده از تجزیه خوشه ای جدایه ها به روش UPGMA و فاصله اقلیدسی بر اساس واکنش درصد پوشش پیکنیدیومی برای تمام ارقام، جدایه ۸۸۰۰۳ با ۸۸۰۰۴، ۸۷۰۲۷ با ۸۷۰۲۸، ۸۶۰۱۵ با ۸۶۰۷۰ و سه جدایه ۸۷۰۰۱، ۸۷۰۴۹ و ۸۷۰۵۲ در یک گروه قرار گرفتند (شکل ۱). بقیه جدایه ها با داشتن الگوی بیماری زایی متنوع بر روی ارقام افتراقی، واکنش های مختلفی را نشان دادند و به عنوان پاتوتیپ های مختلف شناسایی گردیدند.

بر این اساس ۲۳ جدایه مایه زنی شده بر روی ۱۹ ژنوتیپ افتراقی گندم به ۱۸ پاتوتیپ مختلف تقسیم شدند. این نتایج، با یافته های ایال و همکاران (۱۹۷۳) که برای اولین بار به وجود اختلاف بیماری زایی در جدایه های *M. graminicola* اشاره کرده و با بررسی بیماری زایی ۹۷ جدایه بر روی ۳۵ ژنوتیپ گندم و تربیتیکاله به وجود

شناخته شده مقاومت به این بیماری^۱ (*Stb*) می باشند، استفاده شد. بدین منظور تعداد ۱۹ ژنوتیپ گندم شامل ارقام افتراقی و شاهد بین المللی دریافتی از هلند (مرکز تحقیقات بین المللی گیاهی، دانشگاه واگنینگن، هلند) و ارقام شاهد داخلی مورد استفاده قرار گرفتند (جدول ۱).

ارقام تجاری داخلی تجن و داراب^۲ به ترتیب به عنوان شاهد های حساس در اقلیم گرم و مرطوب شمال و اقلیم گرم و خشک جنوب، و آرتا به عنوان رقمی که در آزمایشات مشاهده ای نگارنده نسبت به بسیاری از جدایه های قارچ عامل سپتوریوز برگ مقاومت نشان داده و رقم بولانی از آن جهت که رقم داخلی شناخته شده به عنوان شاهد حساس به زنگ محسوب می شود، در این مجموعه گنجانده شده اند. نظر به اینکه مقدار بذور دریافت شده از هلند برای انجام آزمایشات کافی نبود، نسبت به تکثیر آن ها در گلخانه و مزرعه اقدام گردید. واکنش ژنوتیپ های مایه زنی شده با ۲۳ جدایه منتخب قارچ عامل بیماری، ۲۱ روز پس از مایه زنی به صورت درصد کل سطح نکروتیک برگ و درصد سطح نکروتیک برگ حاوی پیکنید تعیین گردید. تجزیه واریانس با استفاده از نرم افزار SPSS انجام شد و میانگین ها به روش آزمون چند دامنه ای دانکن مورد مقایسه قرار گرفتند. گروه بندی جدایه ها نیز بر اساس میانگین درصد پوشش پیکنیدیومی سطح برگ ها، به وسیله تجزیه خوشه ای به روش UPGMA انجام شده (مدینی و همزه ۲۰۰۸) و پاتوتیپ های قارچ *M. graminicola* تعیین گردیدند.

طرح آزمایشی مورد استفاده در این مطالعه، فاکتوریل در قالب طرح بلوک های کامل تصادفی بود. آزمون نرمال بودن داده های آماری (شامل سطح نكروز و پوشش پیکنید برگ) انجام شده و پس از اطمینان از نرمال بودن داده ها، داده ها با استفاده از نرم افزار SPSS به صورت یک آزمایش فاکتوریل با دو

^۲Aggressiveness

^۳Race non-specific

^۱*Septoria tritici blotch*

جدول ۱- ژنوتیپ‌های گندم مورد استفاده برای تعیین پاتوتیپ.

ژن مقاومت	ژنوتیپ گندم	ردیف
<i>Stb1</i>	Oasis	۱
<i>Stb1</i>	Sullivan	۲
<i>Stb1, Stb6</i>	Bulgaria 88	۳
<i>Stb2, Stb6</i>	Veranopolis	۴
<i>Stb3, Stb6</i>	Israel 493	۵
<i>Stb4, Stb6</i>	Tadinia	۶
<i>Stb5</i>	Cs Synthetic(6x) 7D	۷
<i>Stb6</i>	Shafir	۸
<i>Stb7</i>	Estanzuela Federal	۹
<i>Stb8</i>	M6 Synth (W7984)	۱۰
<i>Stb9</i>	Courtot	۱۱
<i>Stb6, Stb7, Stb10, Stb12</i>	Kavkaz-k 4500	۱۲
<i>Stb6, Stb7, Stb11</i>	TE 9111	۱۳
International control, susceptible to the standard isolate IPO323	Obelisk	۱۴
International control, susceptible to the standard isolate IPO323	Taichung 29	۱۵
Local susceptible control in Gorgan	Tajan	۱۶
Local susceptible control in Dezful	Darab 2	۱۷
Domestic control	Arta	۱۸
General susceptible control	Boolani	۱۹

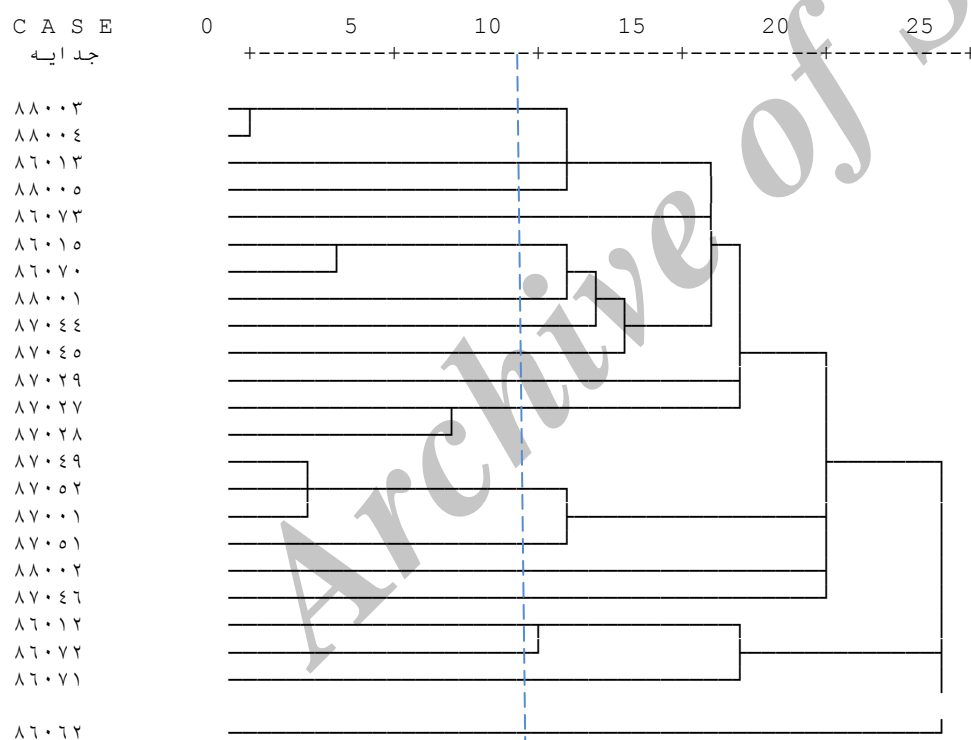
کاملاً متنوع عامل بیماری می‌باشند و فراوانی جدایه‌های عامل بیماری با بیماری‌زایی مشخص که توانایی سازگاری و استقرار بر روی ارقام مختلف گندم را دارند، بتدریج در حال افزایش می‌باشد. بررسی اختلافات بیماری‌زایی ۵۶ جدایه قارچ *M. graminicola* جمع‌آوری شده از هفت استان کشور نشان داد که بین جدایه‌ها از نظر قدرت تهاجمی تفاوت معنی‌داری وجود دارد (بشیری و همکاران ۱۳۸۵).

ژن‌های اختصاصی بیماری‌زایی بر روی برخی از ژنوتیپ‌ها پی برده اند (ایال و همکاران ۱۹۸۵) همخوانی دارد. رضوی و هوگز (۲۰۰۳) نشان دادند که از نظر بیماری‌زایی و قدرت تهاجمی بین ۹۰ جدایه جمع‌آوری شده از یک مزرعه اختلاف معنی‌داری وجود دارد. برای درک بیماری‌زایی و مقاومت در پاتوسیستم *M. graminicola* و گندم بایستی در نظر داشت که ارقام گندم به طور پیوسته در معرض جمعیت‌های

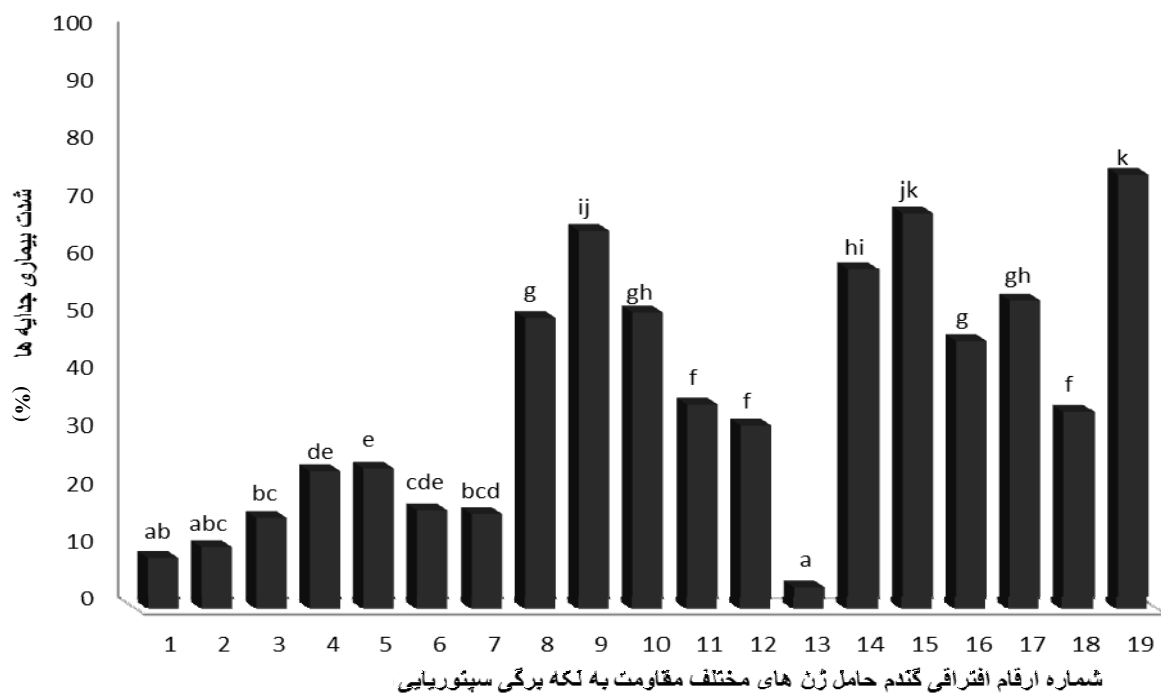
جدول ۲- تجزیه واریانس صفات سطح نکرز (N) و درصد پوشش پیکنید (P) در رابطه با واکنش ارقام افتراقی نسبت به جدایه‌های لکه برگی سپتوریایی گندم.

		میانگین مربعات (MS)	
منابع تغییرات	درجه آزادی	سطح نکرز	پوشش پیکنید
رقم	۱۸	**۲۸۳۴۴/۹۵۷	**۳۸۲۳۸/۹۷۲
جدایه	۲۲	**۱۲۹۵۲/۰۰۷	**۱۳۴۴۴/۴۹۸
جدایه * رقم	۳۹۱	۱۵۱۳/۳۷۲	۱۲۳۳/۸۵۰
خطا	۱۱۷۱	۵۶۲/۴۲۰	۵۶۴/۶۷۲

** عبارت است از معنی دار در سطح احتمال یک درصد.



شکل ۱- دندروگرام حاصل از تجزیه خوشه‌ای جدایه‌های *M. graminicola* بر اساس درصد پوشش پیکنیدی در ارقام افتراقی گندم.



شکل ۲- میانگین شدت بیماری (درصد) جدایه‌های *M. graminicola* بر روی ارقام افتراقی گندم حامل ژن‌های مقاومت به بیماری لکه‌برگی سپتوریایی (مقایسه میانگین به روش دانکن در سطح احتمال پنج درصد).

شرایط کنترل شده اتافک رشد نشان داد که شدت بیماری می‌تواند به عنوان معیار مناسبی در ارزیابی جدایه‌ها در مرحله گیاهچه‌ای، و شدت اسپورزایی و کاهش محصول برای بررسی بیماری‌زایی جدایه‌ها در مرحله گیاه کامل مورد استفاده قرار گیرد (سانینا و آنتیسی فروا ۱۹۹۱). بر این اساس شدت بیماری جدایه‌های قارچ *M. graminicola* بر روی ارقام افتراقی گندم در شکل ۲ نشان داده شده است.

بیشترین شدت بیماری جدایه‌ها بر روی رقم بولانی (رقم عمومی حساس به بیماری) و در درجه‌های بعدی بر روی ارقام Taichung 29 (رقم بین‌المللی حساس به جدایه IPO323) با فراوانی ۶۹ درصد و Estanzuela Federal (حامل ژن مقاومت *Stb7*) با فراوانی ۶۶ درصد، و کمترین فراوانی بر روی ارقام TE9111 (حامل ژن‌های *Stb4* و *Stb6*) و Oasis و Sullivan (حامل ژن *Stb1*) به ترتیب به میزان چهار، نه و ۱۱ درصد مشاهده شد. شدت بیماری جدایه‌های قارچ بر روی سایر ارقام گندم مورد مطالعه که

سه جدایه ۸۷۰۰۱، ۸۷۰۴۹ و ۸۷۰۵۲ با عدم ایجاد بیماری بر روی رقم TE 9111 و ایجاد بیماری بر روی سایر ارقام افتراقی، الگوی بیماری‌زایی^۱ مشابهی نشان دادند.

هیچ یک از جدایه‌ها بر روی رقم TE 9111 که حامل ژن‌های مقاومت *Stb6*، *Stb7* و *Stb11* می‌باشد، بیماری‌زایی نداشتند. از آنجا که بیماری‌زایی بر روی سایر ارقام حامل ژن‌های *Stb6* و *Stb7* توسط جدایه‌های مختلف مشاهده شد، لذا مقاومت رقم TE 9111 نسبت به جدایه‌های مزبور را می‌توان به وجود ژن مقاومت *Stb11* نسبت داد.

نتایج حاصل از بررسی ویژگی‌های بیماری‌زایی جدایه‌های روسی *M. graminicola* با استفاده از ارقام افتراقی گندم در مراحل گیاهچه‌ای و گیاه کامل در

^۱ Aggressiveness
^۲ Race non-specific
^۳ Virulence

سپاس‌گزاری

مراحل مختلف این پژوهش در آزمایشگاه‌ها و گلخانه-های واحد تحقیقات بیماری‌های غلات بخش تحقیقات غلات (مؤسسه تحقیقات اصلاح و تهیه نهال و بذر، کرج) و مزارع آزمایشی ایستگاه تحقیقات کشاورزی عراقی- محله (مرکز تحقیقات کشاورزی و منابع طبیعی استان گلستان، گرگان) به انجام رسیده و هزینه‌های مربوطه از محل اعتبارات پروژه تحقیقاتی ملی سازمان تحقیقات، آموزش و ترویج کشاورزی به شماره ۸۷۱۰۰-۸۳۰۳-آموزش و ترویج کشاورزی به شماره ۱۴-۰۳-۰۳ تأمین گردیده است که جای بسی تشکر و سپاس‌گزاری دارد.

حامل ژن‌های مقاومت مختلفی بودند، بین ۱۶ تا ۵۹ درصد متغیر بود.

با توجه به روش‌های مختلف مدیریت لکه‌برگی سپتوریایی گندم، تولید و کاشت ارقام مقاوم مؤثرترین، اقتصادی‌ترین و از نظر زیست‌محیطی سالم‌ترین روش کنترل بیماری و جلوگیری از بروز اپیدمی می‌باشد. برای تهیه ارقام مقاوم لازم است اطلاعات کافی در مورد ژن‌ها و یا فاکتورهای بیماری‌زایی در جمعیت‌های عامل بیماری موجود در هر منطقه و ژن‌ها و یا فاکتورهای مقاومت مؤثر متقابل آن‌ها در میزبان‌های مورد کشت در آن مناطق در دسترس باشد تا بتوان در برنامه‌های تولید ارقام مقاوم برنامه‌ریزی دقیق‌تری برای استفاده از منابع مقاومت و انتقال ژن‌های مقاومت به ارقام پر محصول انجام داد. بدین منظور استراتژی‌هایی به شرح ذیل بایستی مورد توجه باشند:

الف) استفاده از ژن‌های مقاومتی که در کل کشور و یا در کانون‌های آلودگی برای آن‌ها بیماری‌زایی مشاهده نشده و یا فراوانی بیماری‌زایی برای آن‌ها در حدی است که به نظر می‌رسد مقاومت ناشی از این ژن‌ها تا چند سال پایدار باشد.

ب) توجه به مقاومت‌های چند ژنی و پایدار، که اولین گام در این راستا شناسایی و تعیین بیماری‌زایی عامل بیماری با تعیین پاتوتیپ می‌باشد. شناخت دقیق عامل بیماری و تعیین پاتوتیپ‌های آن از اساسی‌ترین مؤلفه‌ها در تدوین استراتژی‌های مؤثر کنترل بیماری‌های گیاهی به شمار می‌روند، با این وجود تاکنون تحقیقات برنامه‌ریزی شده، هدفمند و مستمر در زمینه عامل بیماری لکه‌برگی سپتوریایی (*M. graminicola*) در کشور به انجام نرسیده و پژوهش‌های مختلف اغلب به مطالعات موردی و مقطعی محدود بوده است. تعیین پاتوتیپ‌های *M. graminicola* در این تحقیق نشان داد که بیماری‌زایی عامل بیماری در نقاط مختلف کشور متفاوت بوده و برای اکثر ژن‌های مقاومت بیماری‌زایی مشاهده می‌شود.

منابع

- بشیری الف، ترابی م و رضایی س ط، ۱۳۸۵. بررسی اختلافات بیماری‌زایی در میان جدایه‌های قارچ عامل بیماری سپتوریوز برگ گندم در ایران. صفحه ۸. خلاصه مقالات هفدهمین کنگره گیاه پزشکی ایران، دانشگاه تهران.
- ترابی م، ۱۳۵۹. عامل سپتوریوز گندم و گسترش آن در ایران. مجله بیماری‌های گیاهی، جلد ۱۶، صفحه‌های ۷ تا ۱۴.
- دادرضائی س ط، ۱۳۷۸. مطالعه بیماری سپتوریوز گندم و ارزیابی مقاومت ارقام در استان خوزستان. پایان‌نامه کارشناسی ارشد بیماری شناسی گیاهی، دانشکده کشاورزی دانشگاه شهید چمران اهواز.
- عظیمی ح، ۱۳۷۷. بررسی اختلاف بیماری‌زایی در جدایه‌های شبه‌گونه عامل بیماری سپتوریوز برگ گندم در ایران. پایان‌نامه کارشناسی ارشد بیماری شناسی گیاهی، دانشکده کشاورزی دانشگاه آزاد اسلامی، واحد علوم و تحقیقات تهران.
- روح پرور ر، کیا ش و دالوند م، ۱۳۸۷. شناسایی منابع مقاومت ژنوتیپ‌های گندم در آزمایش‌های مقایسه عملکرد مقدماتی، پیشرفته و امیدبخش هم اقلیم (PRWYT, ARWYT & ERWYT-86) نسبت به بیماری سپتوریوز برگ. صفحه‌های ۱۰۹ تا ۱۴۲. گزارش سالیانه بیماری‌های غلات. بخش تحقیقات غلات مؤسسه تحقیقات اصلاح و تهیه نهال و بذر، کرج.
- روح پرور ر، کیا ش و دالوند م، ۱۳۸۸. شناسایی منابع مقاومت در لاین‌های گندم مربوط به آزمایش‌های یکنواخت مقایسه عملکرد مقدماتی، پیشرفته و امیدبخش هم اقلیم (PRWYT, ARWYT & ERWYT) نسبت به بیماری لکه‌برگی سپتوریایی. گزارش نهایی پروژه تحقیقاتی سازمان تحقیقات، آموزش و ترویج کشاورزی. شماره ثبت ۸۸/۱۵۳۲، تهران. ۳۳ صفحه.
- روح پرور ر، کیا ش و دالوند م، ۱۳۸۹ الف. بررسی واکنش ژنوتیپ‌های امیدبخش گندم در آزمایش‌های یکنواخت مقایسه عملکرد هم اقلیم نسبت به لکه‌برگی سپتوریایی. صفحه‌های ۱۲۱ تا ۱۲۸. گزارش سالیانه بیماری‌های غلات. بخش تحقیقات غلات مؤسسه تحقیقات اصلاح و تهیه نهال و بذر، کرج.
- روح پرور ر، کیا ش و دالوند م، ۱۳۸۹ ب. شناسایی منابع مقاومت در بین ژنوتیپ‌های گندم مربوط به آزمایش‌های یکنواخت مقایسه عملکرد مقدماتی و پیشرفته هم اقلیم نسبت به لکه‌برگی سپتوریایی. صفحه‌های ۱۲۹ تا ۱۵۴. گزارش سالیانه بیماری‌های غلات. بخش تحقیقات غلات مؤسسه تحقیقات اصلاح و تهیه نهال و بذر، کرج.
- Adhikari TB, Cavaletto JR, Dubcovsky J, Gieco JO, Schlatter AR and Goodwin SB, 2004a. Molecular mapping of the *Stb4* gene for resistance to *Septoria tritici* blotch in wheat. *Phytopathology* 94: 1198-1206.
- Adhikari TB, Wallwork H and Goodwin SB, 2004b. Microsatellite markers linked to the *Stb2* and *Stb3* genes for resistance to *Septoria tritici* blotch in wheat. *Crop Science* 44: 1403-1411.
- Arabi MIE and Jawhar M, 2002. Grain yield, kernel weight and *Septoria tritici* blotch responses of wheat to potassium and nitrogen fertilization. *Cereal Research Communications* 30: 141-147.
- Arraiano LS, Chartrain L, Bossolini E, Slatter H N, Keller B and Brown JKM, 2007. A gene in European wheat cultivars for resistance to an African isolate of *Mycosphaerella graminicola*. *Plant Pathology* 56: 73-78.

- Arseniuk E, Fried PM, Scharen AL and Czembor JH, 1993. Pathogenicity and resistance patterns in *Triticosecale*-*Septoria* spp. and *Triticum aestivum* L. -*Septoria* spp. systems. Current Plant Science and Biotechnology in Agriculture; Durability of disease resistance (Kluwer Academic Publishers)
- Brading PA, Verstappen ECP, Kema GHJ and Brown JKM, 2002. A gene-for-gene relationship between wheat and *Mycosphaerella graminicola*, the *Septoria tritici* blotch pathogen. *Phytopathology* 92: 439-445.
- Eyal Z, Amiri Z and Wahl L, 1973. Physiologic specialization of *Septoria tritici*. *Phytopathology* 63: 1087-1091.
- Eyal Z, Scharen AL, Huffiman MD and Prescott JM, 1985. Global insights in to virulence frequencies of *Mycosphaerella graminicola*. *Phytopathology* 75: 1456-1462.
- Grieger AP, 2001. Host-pathogen interactions in the wheat *Mycosphaerella graminicola* pathosystem, University of Manitoba. Winnipeg, Manitoba, Canada.
- Kema GHJ, Verstappen ECP, Todorova M and Waalwijk C, 1996. Successful crosses and molecular tetrad and progeny analysis demonstrate heterothalms in *Mycosphaerella graminicola*. *Current Genetics* 30: 251-258.
- King JE, Cook RJ and Melville SC, 1983. A review of *Septoria* disease of wheat and barely. *Annals of Applied Biology* 103: 315-373.
- McCartney CA, Brule-Babel AL, Lamari L and Somers DJ, 2003. Chromosomal location of a race-specific resistance gene to *Mycosphaerella graminicola* in the spring wheat ST6. *Theoretical and Applied Genetics* 107: 1181-1186.
- McDonald B, Pettway R, Chen R, Boeger J and Martinez J, 1995. The population genetics of *Septoria tritici* (teleomorph *Mycosphaerella graminicola*). *Canadian Journal of Botany* 73: 292-301.
- Medini M and Hamza, S, 2008. Pathotype and molecular characterization of *Mycosphaerella graminicola* isolates collected from Tunisia, Algeria and Canada. *Plant Pathology* 90: 65-73.
- Perello AE, Cordo CA, Arriagna HO and Alippi HE, 1991. Variation in virulence of *Septoria tritici* Rob. Ex. Desm. isolates on wheat. *Plant Pathology* 11: 571-579.
- Petrak F and Esfandiari E, 1941. Contributions to the knowledge of the Iranian fungus flora. *Annual of the Britain Mycology* 39: 204-228.
- Razavi M and Hughes GR, 2003. Pathogenic and molecular variability in a population of *Mycosphaerella graminicola*, cause of *Septoria* leaf blotch of wheat. Ph. D. thesis, University of Saskatchewan, Saskatoon, Canada.
- Roohparvar R, Mehrabi R, Van Nistelrooy JGM, Zwiers LH and De Waard MA, 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.
- Royle DJ, Parker SR, Lovell DJ and Hunter T, 1995. Interpreting trends and risks for better control of *Septoria* in winter wheat. Pp. 105-115. In: Hewitt, H.G., D. Tyson, D.W. Hollomon, J.M. Smith, W.P. Davies, and K.R. Dixon (eds). A vital role for fungicides in cereal production. Oxford, UK: Bios Scientific Publisher Ltd.
- Saadaoui EM, 1987. Physiologic specialization of *Septoria tritici* in Morocco. *Plant Disease* 71: 153-155.
- Sanina AA and Antisferova IV, 1991. Determination of the pathogenic properties of *Septoria nodorum* and *Septoria tritici* isolates on wheat. *Mycologia Phytopathologia* 25: 155-160.
- Scharif G and Ershad D, 1966. A list of fungi on cultivated plants, shrubs and trees of Iran. Ministry of Agriculture, Plant Pests and diseases Research Institute, Evin, Tehran.

- Tabib Ghaffary SM, Faris JD, Friesen TL, Visser RGF, van der Lee TAJ, Robert O and Kema GHJ, 2012. New broad-spectrum resistance to *Septoria tritici* blotch derived from synthetic hexaploid wheat. *Theoretical and Applied Genetics* 124: 125–142.
- Tabib Ghaffary SM, Robert O, Laurent V, Lonnet P, Margale' E, van der Lee TAJ, Visser RGF and Kema GHJ, 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.
- Van Ginkel M and Scharen AL, 1988. Host-pathogen relationships of wheat and *Septoria tritici*. *Phytopathology* 78: 762-766.

Archive of SID

Pathotype Determination of the *Mycosphaerella graminicola* Cause of Septoria Leaf Blotch of Wheat in Iran

S Fallahi-Motlagh^{1*}, R Roohparvar², HR Zamanizadeh³ and A Bandehhagh⁴

¹Former M.Sc. Student, Dept. of Plant Pathology, Science and Research Branch, Islamic Azad University, Tehran, Iran

²Assistant Professor, Seed and Plant Improvement Institute (SPII), Dept. of Cereal Research, Cereal Pathology Unit, Tehran, Iran

³Associate Professor, Dept. of Plant Pathology, Science and Research Branch, Islamic Azad University, Tehran, Iran

⁴Assistant Professor, Dept. of Plant Breeding and Biotechnology, University of Tabriz, Tabriz, Iran

*Corresponding author: S_fallahi@tabrizu.ac.ir

Received: 13 Jun 2013

Accepted: 7 Apr 2014

Abstract

Nevertheless, Septoria leaf blotch disease management relies mainly on successful strategies of breeding for resistance which depends on primary data of pathotype of the pathogen population and their virulence in infected areas. In this research, 23 strains were individually inoculated on 19 differential wheat cultivars in seedling stage under greenhouse condition and pathotype determined. Results showed that differences due to cultivars and isolates were highly significant at 1% levels. The cultivar x isolate interaction component was relatively very small and not significant that showed isolates would thus not vary in aggressiveness and cultivars in race- nonspecific resistance. None of the isolates had virulence on cultivar TE 9111 carrying *Stb6*, *Stb7* and *Stb11*. Since the virulence was observed on some cultivars carrying *Stb6* and/or *Stb7* by specific isolates, then the resistance of TE 9111 can be attributed to *Stb11*. Maximum and minimum frequency of virulence were observed on Boolani (general susceptible control), Taichung 29 (international control, susceptible to the standard isolate IPO323) by 69% and Estanzuela Federal (carrying *Stb7*) by 66%, and on TE9111 (carrying *Stb4* and *Stb6*) by 4% and Oasis and Sullivan (carrying *Stb1*) by 9% and 11% respectively. Virulence frequency of isolates on other wheat cultivars carrying different *Stb* genes was varied between 16 to 59%. Three isolates proved to be one pathotype by showing the same virulence pattern on *Stb* genes, whereas other isolates showed different virulence patterns on wheat differential cultivars. This study identified 18 *M. graminicola* pathotypes which shows a high genetic diversity among the Iranian pathogen populations.

Keywords: Wheat, *Stb* genes, Septoria leaf blotch, *Mycosphaerella graminicola*, *Septoria tritici*, *Zymoseptoria tritici*.