

شناسایی منابع جدید مقاومت به بیماری لکه برگی سپتوریایی در ژنوتیپ‌های گندم نان بهاره

معصومه خیرگو^{۱*}، ناصر پنجه که^۱ و فاختک طلیدی^۲

۱- به ترتیب دانشجوی دکتری بیماری شناسی گیاهی و دانشیار گروه گیاهپزشکی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه زابل.

۲- استادیار گروه تولیدات گیاهی، دانشگاه گنبد کاووس.

*مسئول مکاتبه mkheirgoo@gmail.com

تاریخ پذیرش: ۹۹/۳/۲۱

تاریخ دریافت: ۹۸/۲/۲۹

چکیده

استفاده از ارقام مقاوم به عنوان روشی موثر در مدیریت بیماری لکه برگی سپتوریایی گندم می‌باشد. این پژوهش به منظور شناسایی منابع جدید مقاومت به بیماری لکه برگی سپتوریایی در بین تعداد ۱۲۵ ژنوتیپ گندم انجام شد. ژنوتیپ‌های گندم در قالب طرح آگمنت و در مزرعه پژوهشی هنرستان کشاورزی علی‌آباد کنترل کشت شدند. آلودگی مصنوعی ژنوتیپ‌ها با پخش کردن برگ‌های آلوده و مایه‌زنی با سوسپانسیون اسپور قارچ بیمارگر انجام شد. یادداشت برداری از بیماری پنج نوبت و به فاصله هفت روز صورت گرفت. تجزیه کلاستر، ژنوتیپ‌ها را در چهار گروه قرار داد. ژنوتیپ‌های شماره ۵۱، ۶۸، ۷۹ (شیراز)، ۸۵، ۸۷، ۸۹، ۹۷، ۱۱۰، ۱۱۵ (نارین)، ۱۱۶، ۱۲۳ (مهرگان) و ۱۳۰ در گروه سه (مقاوم) قرار گرفتند. این گروه کمترین سطح زیر منحنی پیشرفت بیماری را داشت و به بیماری مقاومت بالایی نشان داد. فراوانی اندک ژنوتیپ‌ها در دو گروه حساس (گروه چهار) و مقاوم (گروه سه) نشان داد که این صفت توسط چند ژن با اثرات متقابل افزایشی کنترل می‌شود. بنابراین هرم بندی ژن‌ها و انتخاب در نسل‌های اولیه می‌تواند موثر باشد. از ژنوتیپ‌های مقاوم شناسایی شده در این پژوهش می‌توان در برنامه‌های اصلاحی به منظور هرمی کردن ژن‌های مقاومت به سپتوریا و یا تلاقی‌های برگشتی استفاده کرد.

واژه‌های کلیدی: تنوع ژنتیکی، مقاومت، لکه برگی سپتوریایی، گندم

مقدمه

بین می‌روند (دادرزایی و همکاران، ۱۳۸۲). مطالعات تغییرپذیری ژنتیکی بیماری نشان داده که فرم جنسی قارچ که همان آسکوسپورهای هوازاد هستند منبع اصلی اینوکوم اولیه بوده (McDonald and Martinez, 1990) و همچنین اسپورهای غیرجنسی (پیکنیدیوسپور) منبع اصلی اینوکوم برای آلودگی ثانویه در طی فصل رشد می‌باشند (Shaw and Royle, 2007). مبارزه شیمیایی با استفاده از قارچ‌کش‌ها، استفاده از ارقام مقاوم و همچنین روش‌های زراعی (تناوب زراعی و از بین بردن بقایای گیاهان آلوده) از روش‌های کنترل این بیماری به شمار می‌روند (Adhikari et al., 2007). اگر چه ارقام مقاوم به بیماری لکه برگی سپتوریایی در طول دو دهه اخیر توسعه یافته‌اند اما هنوز کنترل شیمیایی یکی از رایج‌ترین روش‌ها است (Torriani et al., 2015). استفاده گسترده از قارچ‌کش‌ها علاوه بر هزینه بالا و آلودگی‌های زیست محیطی، منجر به

بیماری لکه برگی سپتوریایی گندم یکی از خسارت‌زاترین بیماری‌های برگی گندم در مناطق معتدل و مرطوب می‌باشد (Arraiano and Brown, 2017). این بیماری به وسیله قارچ *Zymoseptoria tritici* ایجاد می‌شود (Quaedvlieg et al., 2011). خسارت ناشی از این بیماری در شرایط آب و هوایی مساعد و مدیریت نامناسب بیماری، می‌تواند به بیش از ۵۰ درصد برسد (Simón et al., 2012). در استان گلستان مقدار کاهش محصول ناشی از این بیماری با توجه به نوع رقم، مرحله آلودگی و شدت آن ۹ تا ۲۹ درصد برآورد گردید (کیا و ترابی، ۱۳۸۷). بیشترین میزان خسارت در ارقام حساس مربوط به وزن هزاردانه و تعداد دانه در سنبله است. در اثر این بیماری میزان دانه‌بندی کاهش می‌یابد، پر شدن دانه‌ها مختل می‌شود و دانه‌های چروکیده هنگام برداشت همراه کاه از

و ژن‌های *Stb7* و *Stb8* در سال ۲۰۰۳ مکان‌یابی شدند (McCartney ; Adhikari et al., 2003; Brading et al., 2002) (et al., 2003). بررسی مقاومت ۲۱۹ رقم و لاین پیشرفته با استفاده از ۴ جدایه عامل بیماری سپتوریوز برگی جمع آوری شده از مناطق مختلف استان خوزستان نشان داد که هشت رقم *M3*، *Riband*، *Arina*، آریا، شتر دندان، کرخه سایشون و چمران نسبت به هر چهار جدایه مقاوم می باشند (بیگی و همکاران، ۱۳۹۳). همچنین بررسی مقاومت ۲۳۰ رقم تجاری و لاین امید بخش گندم نسبت به قارچ عامل بیماری لکه برگی سپتوریایی در مرحله گیاهچه‌ای با استفاده از سه پاتوتیپ (۸۷۰۵۱، ۸۷۰۰۱ و ۸۸۰۵۵) نشان داد که به ترتیب ۴۹، ۲۵ و ۳۴ درصد ارقام و لاینهای مورد آزمایش نسبت به قارچ عامل بیماری مقاوم و در مرحله گیاه کامل (در گرگان) ۳۹ درصد ژنوتیپ‌ها واکنش مقاومت نشان دادند (فلاحی مطلق و همکاران، ۱۳۹۴). کیا و همکاران (۱۳۹۶) الگوی پرآزاری پنج جدایه مختلف روی ارقام افتراقی گندم حاوی ژن‌های مقاومت و اثر بخشی این ژنها در برابر جدایه‌ها را در مرحله گیاهچه‌ای و در شرایط گلخانه مورد بررسی قرار دادند. نتایج نشان داد که جدایه‌های *BK94* و *BK95* پرآزاترین جدایه بودند که روی تعداد بیشتری از ارقام افتراقی بیماریزایی داشتند و در مقابل، جدایه *BK56* کمترین پرآزاری را روی ارقام افتراقی نشان داد. ارقام *M3* و *Arina* در برابر تمام جدایه‌های مورد بررسی مقاوم بودند. ارقام *Riband*، *TE9111* و *Flame* به ترتیب در برابر چهار، سه و دو جدایه مورد بررسی مقاومت نشان دادند. بقیه ارقام افتراقی در برابر جدایه‌های مورد بررسی حساس بودند. ژنهای *Stb15*، *Stb16* و *Stb17* موثرترین ژنهای مقاومت در برابر همه‌ی جدایه‌ها بودند. این پژوهش با هدف شناسایی منابع جدید مقاومت به بیماری لکه برگی سپتوریایی در ارقام و لاین‌های گندم انجام شد.

مواد و روش‌ها

جداسازی قارچ بیمارگر و تهیه زادمایه

ظهور سویه‌های مقاوم به قارچ کش شده است (Leroux et al., 2007). اخیراً گزارش شده است که قارچ *Zymoseptoria tritici* به قارچ‌کش‌های استروبیلورین^۱ و تریازول^۲ سازگار شده است و به مهار کننده‌های سوکسینات دهیدروژناز حساسیت نشان نمی‌دهد (Torriani et al., 2015). با توجه به ناکارآمدی روش‌های زراعی در مهار مؤثر بیماری و مقاومت جدایه‌های قارچ به سموم سیستمیک، استفاده از ارقام مقاوم، اقتصادی‌ترین و سالم‌ترین روش مقابله با این بیماری می‌باشد (Berraies et al., 2013). مطالعات متعددی روی مقاومت ارقام و لاین‌های گندم نسبت به بیماری سپتوریای برگی در ایران غالباً با استفاده از مخلوط جدایه‌های قارچ عامل بیماری و یا در شرایط آلودگی طبیعی انجام گرفته است و نتایج نشان داده تفاوت معنی‌داری از نظر الگوی پرآزاری در بین جدایه‌ها وجود دارد (طاهر مازندرانی و همکاران، ۱۳۹۳). کیا و همکاران (۱۳۹۷) واکنش ۳۳ ژنوتیپ گندم نان در برابر پنج جدایه در مرحله گیاهچه‌ای بررسی کردند. ۱۱ ژنوتیپ در برابر یک یا چند جدایه مقاومت نشان دادند. سه ژنوتیپ نوگال، آرتا و *N-92-9* مقاومت بالایی به تمام جدایه‌ها داشتند. هفت ژنوتیپ در برابر یک یا چند جدایه نیمه مقاوم بودند و سایر ژنوتیپ‌ها در برابر جدایه‌های مورد بررسی حساسیت نشان دادند. شناسایی مداوم منابع جدید مقاومت به سپتوریا و استفاده از آنها در برنامه‌های به‌نژادی به دلیل تغییرات ژنتیکی زیاد در جمعیت بیمارگر ضروری است (اصلاحی و همکاران، ۱۳۹۲). در سالهای اخیر تعدادی از ژن‌های مقاومت به بیماری سپتوریای برگی (*Stb*) در بعضی از منابع مقاومت مکان‌یابی شده است و تاکنون ۱۸ ژن بر روی کروموزوم‌های گندم مکان‌یابی شده و نشانگرهای مولکولی پیوسته به آنها مورد شناسایی قرار گرفته است (Tabib Ghaffary et al., 2011). *Stb5* اولین ژن مقاومت به این بیماری است که در سال ۲۰۰۱ با استفاده از نشانگرهای *SSR* در لاین *Synthetic 6x* مکان‌یابی شد (Arriano et al., 2001). پس از آن ژن *Stb6* در سال ۲۰۰۲

¹Septoria tritici blotch

¹strobilurin

²triazol

ارلن‌ها با استفاده از پارچه توری دو لایه صاف شد و سپس با استفاده از لام گلیول شماره ۶ شمارش گردید و غلظت آن‌ها به مقدار 10^6 اسپور در هر میلی لیتر تنظیم شد. برای کاهش کشش سطحی و افزایش تماس اسپور قارچ با سطح برگ، مقدار $0/1$ درصد توپین ۲۰ به سوسپانسیون اسپور اضافه شد.

آزمایش مزرعه‌ای

تعداد ۱۳۲ ژنوتیپ گندم شامل ۶۲ رقم ایرانی و خارجی و ۷۰ لاین پیشرفته از خزانه 9STEMRRSN (*occurrence10*) مرکز بین المللی اصلاح گندم و نرت (CIMMYT) به همراه سه ژنوتیپ شاهد احسان، کریم و بولانی برای انجام پژوهش انتخاب شدند (جدول ۱). ژنوتیپ‌های گندم در ۶ بلوک ناقص به همراه ارقام شاهد بولانی، احسان و کریم در قالب طرح آگمنت در سال زراعی ۱۳۹۶-۱۳۹۷ و در هنرستان کشاورزی امام خمینی (ره) علی آباد کتول کشت شدند. ژنوتیپ حساس بولانی به عنوان شاهد حساس و گسترش دهنده بیماری در همه بلوک‌های ناقص کشت شد. رقم‌های احسان و کریم به عنوان شاهد‌های محلی استفاده شدند.

بذرها از موسسه تحقیقات کشاورزی دیم کشور و موسسه اصلاح و تهیه نهال و بذر تهیه شدند. هر ژنوتیپ در خطی به طول ۱ متر و فاصله خطوط $0/3$ متر به صورت دستی کشت شد. همچنین ژنوتیپ حساس بولانی به عنوان حاشیه در اطراف کشت شد تا به گسترش بیماری کمک نماید. آلودگی مصنوعی ژنوتیپ‌ها با پخش کردن برگ‌های آلوده و مایه زنی سوسپانسیون اسپور با دستگاه سمپاش موتوری پشتی انجام شد. یادداشت برداری از بیماری پنج نوبت و به فاصله هفت روز بر اساس درصد سطح نکروز برگ و پوشش پیکنید و با روش Saari and Prescott (1975) تغییر یافته توسط Eyal et al (1987) و در مقیاس ۰۰-۹۹ انجام شد. رقم اول (سمت چپ) بیان کننده ارتفاع نسبی بیماری و رقم دوم

برگ‌های گندم دارای نشانه‌های لکه برگ سیتوریایی از مزارع گندم آلوده استان گلستان جمع‌آوری و به آزمایشگاه منتقل شدند. سپس جداسازی و خالص‌سازی قارچ بیمارگر با استفاده از روش مستقیم (Eyal et al (1997) انجام شد. تکه‌های برگ آلوده دارای پیکنید، پس از ضدعفونی سطحی با هیپوکلریت سدیم یک درصد و سه بار شستشو با آب مقطر سترون، روی لام شیشه‌ای چسبانده شده و درون تشک پتری حاوی کاغذ صافی استریل مرطوب منتقل و داخل انکوباتور با دمای 24°C درجه سلسیوس به مدت ۱۲-۲۴ ساعت نگهداری شدند. سپس ترشحات حاوی پیکنیدیوسپورها که از دهانه‌ی پیکنیدها خارج می‌شدند با استفاده از یک سوزن سترون نازک برداشته شده و به محیط کشت سیب‌زمینی، دکستروز، آگار^۲ حاوی آنتی‌بیوتیک استرپتومایسین (۵۰ میلی گرم در لیتر) منتقل و داخل انکوباتور با دمای 20°C درجه سلسیوس به مدت ۵-۳ روز نگه‌داری شدند. پرگنه‌های رشد کرده به صورت مخطط روی محیط PDA کشت داده و سپس برای خالص‌سازی، تک پرگنه‌ها به محیط PDA جدید منتقل و در همان شرایط نگهداری شدند. در مجموع ۳ جدایه قارچ بیمارگر بر اساس وجود پیکنیدیوم های نیمه کروی با دهانه مرکزی و به رنگ قهوه ای تیره در بافت نکروتیک برگ، تشکیل کنیدیوم های شفاف و باریک سیلندری در پیکنیدیوم و رشد مخمرمانند در محیط کشت آگار مورد شناسایی قرار گرفتند (Quaedvlieg et al., 2011). اثبات بیماریزایی جدایه ها به روی رقم حساس تجن به روش Kramer et al (2011) انجام شد. از مخلوط سه جدایه برای مایه زنی ژنوتیپ ها استفاده شد.

برای تهیه زادمایه قارچ جهت مایه‌زنی ژنوتیپ‌ها، از محیط کشت مایع عصاره مخمر، عصاره مالت، ساکارز^۵ استفاده شد. قطعاتی از پرگنه رشد کرده قارچ از سطح محیط کشت PDA برداشته و به داخل ارلن‌های حاوی محیط کشت منتقل شده و داخل شیکر انکوباتور با سرعت 120 دور در دقیقه و دمای حدود 20°C درجه سلسیوس قرار گرفتند. پس از مدت هفت روز، سوسپانسیون اسپور داخل

Hemocytometer

^۲Potato Dextrose Agar (PDA)^۵Yeast Extract, Malt Extract, Sucrose (YMS)

(سمت راست) بیان کننده میزان شدت بیماری (سطح نكروز برگ حاوی پیکنید) است.

جدول ۱- نام و شجره ژنوتیپ‌های بکارگرفته شده در این آزمایش

Table 1- Name and pedigree of the genotypes used in this experiment

شجره Pedigree	ژنوتیپ Genotype	کد Code	شجره Pedigree	ژنوتیپ Genotype	کد Code
	Khazar1	34		Niknedjad	1
DANPHE/3/PBW343*2/KUKUN A//PBW343*2/KUKUNA	6122	35	KA/NAC//TRCH/4/TC870334/GUI//TE MPORALERA M 8...	6070	2
	Roshan	36		Hirmand	3
QUAIU #1/3/PBW343*2/KUKUNA//PBW34 3*2/KUKUNA	6127	37	FRET2*2/4/SNI/TRAP#1/3/KAUZ*2/TR AP#1/3/KAUZ*2/TRAP//KAUZ/5/...	6109	4
	Aftab	38		Maroun	5
PASTOR//HXL7573/2*BAU/3/S OKOLL/WBL1/4/...	6156	39	ROLF07/YANAC//TACUPETO F2001/BRAMBLING*2/5/...	6203	6
	Ghabous	40		Arta	7
PASTOR/HEILO//HEILO/3*2*PI CAFLOR#2	6041	41	WAXWING*2/KRONSTAD F2004/3/TRCH/SRTU//KACHU	6165	8
	Darya	42		Moghan3	9
GRACKLE#1/4/SOKOLL/3/PAS TOR//HXL7573/2*BAU	6088	43	PBW343*2/KUKUNA//JUCHI/3/ATTIL A*2/PBW65//...	6250	10
	Pishtaz	44		Gahar	11
ROLF07/YANAC//TACUPETO F2001/BRAMBLING/6/...	6182	45	ATTILA*2/PBW65/5/PRL/2*PASTOR/4 /CHOIX/STAR/...	6031	12
	Bam	46		Golestan	13
KS82W418/SPN/3/CHEN/AE.S Q//2*OPATA/4/FRET2/...	6230	47	SHA7//PRL/VEE#6/3/FASAN/4/HAAS8 446/2*FASAN/...	6097	14
	Kavir	48		Inia	15
YUNMAI 48/4/2*SERI.1B*2/3/KAUZ*2/BOW/ /KAUZ/...	6107	49	PASTOR/KAUZ/6/CNDO/R143//ENTE/ MEXI_2/3/...	6055	16
	ghods	50		Naz	17
MERCATO/4/FRAME//MILAN/ KAUZ/3/PASTOR/5/...	6235	51	CROC_1/AE.SQUARROSA (205)//BORL95/3/PRL/...	6152	18
	shoush	52		Zagrous	19
SERI.1B*2/3/KAUZ*2/BOW//K AUZ/5/CNO79//...	6150	53	MUNAL #1/3/TRCH/SRTU//KACHU	6158	20
BECARD/4/PBW343*2/KUKUN A//PARUS/3/PBW343*2/...	6168	54		Kouhdasht	21
	Falat	55	BABAX/LR42//BABAX*2/3/PAVON 7S3, +LR47/4/...	6153	22
FRANCOLIN #1/8/PBW343*2/KUKUNA/6/PVN// ...	6162	56		Line 17	23
	Atrak	57	DANPHE/3/ROLF07/YANAC//TACUP ETO F2001/...	6112	24
KIRITATI/2*WBL1/5/FRET2/ KUKUNA//FRET2/3/...	6202	58		LineA	25
	Pastour	59	BAJ #1/7/WAXWING/6/PVN//CAR422/ANA/5/B OW/...	6161	26
TRCH/5/BAV92//IRENA/KAUZ /3/HUITES/4/DOLL/6/...	6208	60		Dez	27
	Shiroudi	61		Albourz	28
PANDORA/PRL	6026	62	PAURAQUE#1/3/pbw343*2/kukuna//pb w343*2/...	6046	29
	Tajan	63		Karim	30
WBL1*2/BRAMBLING//SAA R/2*WAXWING/4/...	6050	64	MELON//FILIN/MILAN/3/FILIN/4/TRC H/SRTU//...	6216	31
	Mourvarid	65		Rasoul	32

NELOKI//KIRITATI/2*TRCH 6011 66 WAXWING*2/KRONSTAD 6210 33
F2004*2/8/NG8201/KAUZ/4/...

ادامه جدول ۱- نام و شجره ژنوتیپ‌های بکارگرفته شده در این آزمایش

Continue Table 1. Name and pedigree of the genotypes used in this experiment

شجره Pedigree	ژنوتیپ Genotype	کد Code	شجره Pedigree	ژنوتیپ Genotype	کد Code
	Mahdavi	100		Gonbad	67
CHONTE/KINGBIRD #1/5/WBLL1*2/VIVITSI/4/...	6149	101	CHIBA//PRLII/CM65531/3/SKAUZ/BA V92*2/4/...	6051	68
	Darab2	102		N-80-19	69
WAXWING/7/TNMU/6/CEP801 11/CEP81165/5/IAC5/4/...	6172	103	MELON//FILIN/MILAN/3/FILIN/6/YA R/...	6131	70
	Chamran2	104		Baharan	71
PICAFLOR #1/5/FRET2/KUKUNA//FRET2/3/Y ANAC/4/...	6115	105	ATTILA/3*BCN//BAV92/3/TILHI/5/BA V92/3/PRL/...	6201	72
	Neishabour	106		Sepahan	73
SUP152/3/INQLAB 91*2/TURKURU//WHEAR	6164	107	KINGBIRD #1	6003	74
	UR-92-13	108		Sivand	75
	Sistan	109	PBW343*2/KUKUNA//PBW343*2/KU KUNA/6/WBLL1*2/...	6124	76
QUAIU//KIRITATI/2*TRCH	6234	110		parsi	77
	Ofogh	111	OTUS//PRL/2*PASTOR/5/SERI.1B//KA UZ/HEVO/3/...	6169	78
ELVIRA/5/CNDO/R143//ENTE/ MEXI75/3/AE.SQ/4/...	6038	112		Shiraz	79
	Arg	113	NS- 732/HER/3/PRL/SARA//TSI/VEE#5/4/FRET 2/5/...	6071	80
MILAN/KAUZ//PRINIA/3/BAV 92/4/BAVIS	6077	114		Tiger	81
	Narin	115		Azadi	82
FRNCLN*2/BECARD	6047	116	INQALAB 91*2/KUKUNA//PFAU/WEAVER/3/...	6171	83
	Natasha	117		Marvdasht	84
TRCH/SRTU//KACHU/3/KING BIRD #1	6105	118	MON/IMU//ALD/PVN/3/BORL95/4/OA SIS/2*BORL95/...	6075	85
	Hamoun	119		Karaj1	86
ATTILA/3*BCN/3/CROC_1/AE. SQUARROSA (224)/...	6052	120	MUTUS*2/HARIL #1	6004	87
	Aflak	121		Karaj2	88
KACHU/3/WHEAR//2*PRL/2*P ASTOR	6159	122	MUNAL #1/11/CROC_1/AE.SQUARROSA (213)//PGO/...	6089	89
	Mehregan	123		Karaj3	90
PFAU/SERI.1B//AMAD/3/INQA LAB 91*2/KUKUNA/4/...	6107	124	NG8201/KAUZ/4/SHA7//PRL/VEE#6/3/ FASAN/5/...	6113	91
	Moghan2	125		Ns	92
PBW343	6001	126	KAUZ//ALTAR 84/AOS/3/MILAN/KAUZ/4/SAUAL/5/...	6179	93
	Line7	127		Bahar	94
UR-92-15	128	128	CHWINK/3/ROLF07/YANAC//TACUP ETO F2001/...	6114	95
	Line16	129		Chamran	96
CACUKE #1	6002	130	BABAX/LR42//BABAX/3/ER2000/11/C ROC_1/...	6237	97
	AR-92	131		Sirvan	98
UR-92-18	132	132	PFAU/MILAN/5/CHEN/AEGILOPS SQUARROSA (TAUS)/...	6016	99

برای درک بیماری‌زایی و مقاومت در پاتوسیستم *Z. tritici* و گندم بایستی در نظر داشت که ارقام گندم به طور پیوسته در معرض جمعیت‌های 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، به تدریج در حال افزایش می‌باشد. هدف از تجزیه خوشه‌ای شناسایی تعداد کمتری از گروه‌هاست بطوریکه افرادی که دارای شباهت بیشتری با یکدیگر هستند در یک گروه قرار گیرند (فرشادفر، ۲۰۰۶). تجزیه خوشه‌ای در این پژوهش با هدف گروه‌بندی ژنوتیپ‌های مورد مطالعه از نظر صفات مساحت زیر منحنی پیشرفت شدت بیماری (AUDPC)، سطح زیر منحنی استاندارد شده پیشرفت بیماری sAUDPC و مقدار نسبی سطح زیر منحنی پیشرفت بیماری rAUDPC انجام شد. از میان روش‌ها و الگوریتم‌های مختلف برای تجزیه خوشه‌ای، روش UPGMA بهترین دندروگرام را از نظر گرافیکی و ضریب کوفنتیک دارا بود. برای اینکه گروه‌های حاصل از برش دندروگرام دارای حداکثر شباهت در درون گروه‌ها و حداکثر تفاوت در بین گروه‌ها باشند از مقایسه واریانس درون گروه‌ها و بین گروه‌ها در حالت‌های مختلف برش دندروگرام و آماره *F* استفاده شد (جدول ۲). در حالتی که تعداد چهار خوشه از برش دندروگرام ایجاد شود، میزان آماره *F* معنی‌دار شد. نمودار روند نزول واریانس درون گروه‌ها با هدف ایجاد تعداد خوشه کمتر نیز برش دندروگرام در حالتی که چهار خوشه ایجاد کند را تایید کرد (شکل ۱). در این حالت ۸۴ درصد از واریانس کل در بین گروه‌ها و تنها ۱۶ درصد از واریانس کل در درون گروه‌ها وجود داشت.

سپس مقادیر سطح زیر منحنی پیشرفت بیماری (AUDPC) (Villegas-Fernandez et al., 2011) و سطح زیر منحنی استاندارد شده پیشرفت بیماری (sAUDPC) و مقدار نسبی سطح زیر منحنی پیشرفت بیماری (rAUDPC) به صورت زیر محاسبه شدند (Campbell and Modden., 1990).

$$AUDPC = \sum_{i=1}^n \frac{1}{2} \{(y_{i+1} + y_i)(x_{i+1} - x_i)\}$$

$$rAUDPC = \left[\frac{AUDPC \text{ (genotype)}}{AUDPC \text{ susceptible genotype}} \right]$$

$$sAUDPC = \frac{AUDPC(\text{genotype})}{T}$$

y_i شدت بیماری در زمان x_i تا x_{i+1} فاصله زمانی (روز) بین دو یادداشت برداری بیماری، n تعداد زمان‌های یادداشت برداری و T طول مدت زمان یادداشت برداری می‌باشند.

تجزیه داده‌ها

گروه‌بندی ژنوتیپ‌ها به روش متوسط فاصله بین کلاسترها (UPGMA) انجام شد. برش دندروگرام براساس مقادیر آماره *F* صورت گرفت. مقایسه میانگین گروه‌ها با آزمون دانکن انجام شد. تجزیه‌ها با استفاده از نرم افزار XLSTAT انجام شد.

نتایج و بحث

بررسی مقادیر مساحت زیر منحنی پیشرفت شدت بیماری (AUDPC) نشان داد که ژنوتیپ‌های شماره ۱۱۳ (ارگ) و ۱۱۶ به ترتیب با ۱۲۰۹/۸ و ۵۱/۸، حساس‌ترین و مقاوم‌ترین ژنوتیپ در میان ژنوتیپ‌های مورد مطالعه بودند. دامنه تغییرات این صفت برابر با ۱۱۵۸ بود که نشان از تنوع ژنتیکی بسیار بالای ژنوتیپ‌های مورد بررسی از نظر مقاومت به لکه برگی سپتوریایی می‌باشد.

جدول ۲. روند تغییر واریانس در حالت‌های مختلف برش دندروگرام برای بررسی مقاومت به بیماری لکه برگی سپتوریایی

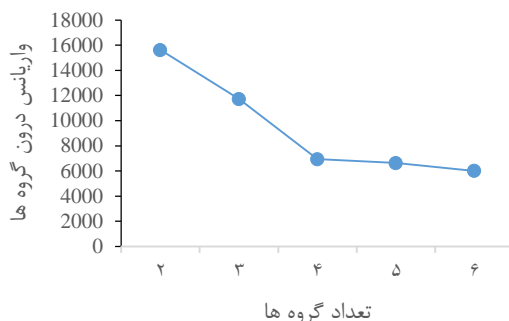
Table 2. Evolution of variances in different truncations for evaluating resistance to *Septoria tritici* blotch

Variance (واریانس) / Class (گروه)				
6	5	4	3	2
37436	36812	36506	31721	27823
Variance between class (واریانس بین گروه‌ها)				

Area Under Disease Progress Curve (AUDPC)

6010	6633	6939	11725	15622	Variance within class (واریانس درون گروه‌ها)
6.23**	5.55**	5.26**	2.7 ^{ns}	1.78 ^{ns}	F value (مقدار آماره F)

**معنی دار در سطح احتمال 1٪



شکل ۱- ارتباط بین برش دندروگرام در نقاط مختلف و واریانس درون گروه‌ها

Figure 1- The relationship between dendrogram cutting in different locations and the within-class variance.

پیشرفت بیماری برابر با ۲۱۱ به عنوان گروه مقاوم و گروه چهار با میانگین ۱۰۱۰/۵ به عنوان گروه حساس می‌باشند (جدول ۴). گروه دو نیمه مقاوم و گروه یک نیمه حساس بودند.

چهار گروه حاصل از نظر صفات AUDPC، rAUDPC و sAUDPC تفاوت معنی‌داری با هم داشتند (جدول ۳). مقایسه میانگین گروه‌ها با استفاده از آزمون دانکن نشان داد که گروه سه با میانگین میزان سطح زیر منحنی

جدول ۳- تجزیه واریانس گروه‌ها در قالب طرح کاملاً تصادفی

Table 3. analysis of variance of groups in a completely randomized design

MS (میانگین مربعات)			DF (درجه آزادی)	SOV (منبع تغییرات)
sAUDPC	rAUDPC	AUDPC		
2071.9**	11096.9**	1624371.6**	3	Treatment (تیمار یا گروه)
8.8	47.03	6883.6	131	Error (اشتباه)
14.15	14.15	14.15		CV (ضریب تغییرات)

**معنی دار در سطح احتمال 1٪

جدول ۴- مقایسه میانگین گروه‌ها با استفاده از آزمون چند دامنه‌ای دانکن

Table 4. Comparison of groups average using Duncan test

گروه ۴	گروه ۳	گروه ۲	گروه ۱	صفات
Class 4	Class 3	Class 2	Class 1	Trait
1010.5 d	211.0 a	464.6b	721.1 c	AUDPC
83.5 d	17.4 a	38.4 b	59.6 c	rAUDPC
36.1 d	7.5 a	16.6 b	25.7 c	sAUDPC

گروه ۳ به بیماری مقاومت بالایی نشان دادند (جدول ۵). از این ژنوتیپ‌ها می‌توان در برنامه‌های به‌نژادی به منظور

ژنوتیپ‌های شماره ۵۱، ۶۸، ۷۹ (شیراز)، ۸۵، ۸۷، ۸۹، ۹۷، ۱۱۰، ۱۱۵ (نارین)، ۱۱۶، ۱۲۳ (مهرگان) و ۱۳۰ واقع در

حساس باشند و فقط تعداد بسیار کمی از آن ها مقاوم هستند (مخدومی و همکاران، ۱۳۹۳ ؛ فلاحی مطلق و همکاران، ۱۳۹۴). با استفاده از تلاقی ژنوتیپ‌های حساس با ژنوتیپ‌های گروه مقاوم می‌توان جمعیت‌هایی برای مکان یابی ژن‌های مقاومت به سپتوریا ایجاد کرد (Adhikari et al., 2004). با توجه به تنوع ژنتیکی بالای مشاهده شده در مجموعه ژنوتیپ‌های مورد مطالعه در این پژوهش می‌توان از آنها در برنامه‌های مکان‌یابی ارتباطی برای شناسایی ژن‌های مقاومت به بیماری لکه برگی سپتوریایی استفاده کرد (Goudemand et al., 2013).

تولید ارقام مقاوم، هرم بندی ژن‌ها و تلاقی‌های برگشتی به منظور ایجاد مقاومت در ژنوتیپ‌های با عملکرد بالا و حساس به بیماری استفاده کرد (فارسی و باقری، ۱۳۸۲). ژنوتیپ‌های شماره ۶۳ (تجن)، ۶۶، ۷۵ (سیوند)، ۷۶، ۱۰۶ (نیشابور)، ۱۱۳ (ارگ) و ۱۲۵ (مغان ۲) که در گروه چهار قرار گرفتند حساس به بیماری بودند (جدول ۵). ژنوتیپ های حساس فاقد ژن های مقاومت و در برابر *Z. tritici* آسیب پذیر هستند و می توانند باعث بروز همه گیری بیماری لکه برگی سپتوریایی شوند. بر اساس پژوهش های انجام شده در ایران به نظر می رسد که بیشتر ژنوتیپ های گندم در کشور در برابر جدایه های *Z. tritici*

جدول ۵- گروه بندی ژنوتیپ‌های گندم از نظر مقاومت به لکه برگی سپتوریایی با استفاده از تجزیه خوشه‌ای به روش UPGMA.

Table 5. Grouping of wheat genotypes based on resistance to *Septoria tritici* blotch using cluster analysis with UPGMA method.

گروه	کد ژنوتیپ	Genotype code
1	نیمه حساس	1, 4, 5, 7, 8, 11, 15, 16, 17, 18, 20, 21, 23, 25, 26, 29, 30, 32, 33, 36, 37, 39, 46, 47, 48, 49, 54, 55, 57, 69, 70, 74, 77, 82, 86, 88, 91, 93, 94, 96, 98, 100, 101, 102, 103, 104, 105, 109, 111, 112, 117, 118, 119, 121, 122, 126, 131, 132, B, C
2	نیمه مقاوم	2, 3, 6, 9, 10, 12, 13, 14, 19, 22, 27, 28, 31, 34, 35, 38, 40, 41, 42, 43, 44, 50, 52, 53, 56, 58, 59, 60, 61, 62, 64, 65, 67, 71, 72, 73, 78, 80, 81, 83, 84, 90, 92, 95, 99, 107, 108, 114, 120, 124, 127, 128, 129
3	مقاوم	51, 68, 79, 85, 87, 89, 97, 110, 115, 116, 123, 130
4	حساس	63, 66, 75, 76, 106, 113, 125, A

(بشیری و همکاران، ۱۳۸۵). مقاومت به سپتوریوز برگی ممکن است اختصاصی (تقریباً کامل) و یا غیر اختصاصی (نیمه کامل) باشد (Eyal et al., 1987). هر چند در روند اصلاح گندم انتقال مقاومت تک ژنی به ارقام جدید ساده تر است، ولی مقاومت چند ژنی پایدارتر بوده (Eyal et al., 1999) و از این رو شناسایی و استفاده از ژن های مقاومت یکی از مهم ترین مولفه ها در روند تولید ارقام مقاوم به بیماری به شمار می رود. به منظور آگاهی از جایگاه ژنوتیپ‌های قرار گرفته در گروه سه در میان سایر ژنوتیپ‌های مورد مطالعه از روش

در زمینه ارزیابی مقاومت ارقام گندم نسبت به بیماری لکه برگی سپتوریایی مطالعات بسیاری در جهان انجام شده است. بررسی مقاومت اختصاصی ۲۴ رقم تجاری و لاین گندم نشان داد که ارقام متعددی مانند Milan، Arina و Senat دارای سطوح بالایی از مقاومت نیمه کامل نسبت به اغلب جدایه ها هستند (Chartrain et al., 2004). مطالعه اختلافات بیماری زایی ۵۶ جدایه قارچ *Z. tritici* جمع آوری شده از هفت استان کشور نشان داد که بین جدایه ها از نظر قدرت تهاجمی تفاوت معنی داری وجود دارد

رتبه بندی ژنوتیپها براساس صفات مورد مطالعه استفاده شد. در این روش ژنوتیپهای با مقدار عددی کمتر برای هر صفت دارای رتبه کمتری در میان سایر ژنوتیپها بودند. با توجه به وجود ۱۳۵ ژنوتیپ در این پژوهش به ژنوتیپی که دارای کمترین مقدار عددی برای هر صفت بود رتبه یک اختصاص یافت و ژنوتیپی که بیشترین مقدار عددی برای هر صفت را داشت رتبه ۱۳۵

اختصاص یافت. ژنوتیپ شماره ۱۱۶ در میان سایر ژنوتیپها از نظر صفات AUDPC، sAUDPC و rAUDPC مقدار عددی کمتری داشت و بنابراین رتبه یک را به خود اختصاص داد. ژنوتیپهای شماره ۱۱۶، ۸۹، ۸۵ و ۱۳۰ به ترتیب رتبههای یک تا چهار را به خود اختصاص دادند و مقاومترین ژنوتیپها بودند (جدول ۶).

جدول ۶- رتبه بندی ژنوتیپهای گروه سه از نظر صفات مورد مطالعه

Table 9. Ranking of 3th Class genotypes for the studied traits

sAUDPC	rAUDPC	AUDPC	ژنوتیپ (Genotype)
5	5	5	51
6	6	6	68
12	12	12	79
3	3	3	85
7	7	7	87
2	2	2	89
9	9	9	97
8	8	8	110
10	10	10	115
1	1	1	116
11	11	11	123
4	4	4	130

ژنوتیپهای با کمترین رتبه، کمترین مقدار عددی را برای صفات مورد مطالعه در بین ۱۳۵ ژنوتیپ دارند.

کشور می‌تواند به دلیل وقوع تولید مثل جنسی فعال آن در مناطق مختلف باشد. با این که مقیاس بندی بیماری به عنوان یکی از روشهای ارزیابی بیماری لکه برگ سیتوریایی گندم مورد استفاده قرار گرفته است (Mergoum et al., 2007; Grieger et al., 2005). ولی تظاهر مقاومت تک ژنی 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 (Chartrain et al., 2004). پژوهشگران دیگری نیز بیان کردند که مقاومت به سیتوریا توسط چند ژن کنترل می‌شود (Rosielle and Brown et al., 1979)؛ وکیلی بسطام و همکاران، (۱۳۹۴). در پژوهشی که با استفاده از لاینهای دابل هاپلوئید گندم و با هدف شناسایی QTLهای

در گروههای یک تا چهار به ترتیب تعداد ۶۱، ۵۵، ۱۲ و ۷ ژنوتیپ قرار گرفتند. گروههای سه و چهار به ترتیب گروههای مقاوم و حساس بودند و کمترین تعداد ژنوتیپها در این گروهها قرار داشتند و همچنین فراوانی افراد قرار گرفته در این گروهها تقریباً برابر بود. از طرفی گروه یک و دو از نظر صفت مقاومت به ترتیب نیمه حساس و نیمه مقاوم بودند و تعداد زیادی از ژنوتیپها در این گروهها قرار داشتند و فراوانی افراد قرار گرفته در این گروهها نیز تقریباً برابر بود. این نحوه توزیع فنوتیپی صفت در جمعیت نشان می‌دهد که این صفت توسط چند ژن با اثرات متقابل افزایشی کنترل می‌شود. 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 بیماری زایی *Z. tritici* مورد تایید قرار دادند. تنوع ژنتیکی و بیماری‌زایی این قارچ در

(مهرگان) و ۱۳۰ واقع در گروه سه به بیماری مقاومت بالایی نشان دادند و از آنها در برنامه‌های به‌نژادی به منظور انجام تلاقی‌های چندگانه و هرمی کردن ژن‌ها و یا تلاقی برگشتی می‌توان استفاده کرد. با توجه به حساسیت اغلب ارقام گندم کشور نسبت به لکه برگ سپتوریایی، ارزیابی مقاومت ژنوتیپ‌ها به منظور یافتن منابع مقاومت حامل ژن‌های مقاومت نسبی و مقاومت گیاه کامل ضروری به نظر می‌رسد. جمعیت عامل بیماری همواره در حال تغییر است و این تغییرات موجب به وجود آمدن پاتوتیپ‌های جدید می‌شود. پاتوتیپ‌های جدید قادر به زنده ماندن روی گیاه مقاوم بوده و بدون هیچ‌گونه رقابت رشد کرده، تکثیر شده، جمعیت بزرگی تولید و پس از انتشار در محیط رقم مقاوم را نابود می‌کنند، به این ترتیب مقاومت رقم گیاه میزبان شکسته می‌شود (Agrios, 1997). با توجه به تنوع ژنتیکی بالای عامل بیماریگر، بررسی کامل تری از برهمکنش گندم و *Z. tritici* با استفاده از تعداد بیشتری از جدایه‌های *Z. tritici* و مجموعه گسترده‌ای از ژنوتیپ‌های گندم ضروری می‌باشد.

کنترل کننده صفت مقاومت به بیماری لکه برگ سپتوریایی انجام شد تعداد چهار QTL بر روی کروموزوم‌های سه، یک، شش و هفت شناسایی شد. بررسی سایر مطالعات نشان داد که این QTL‌ها اثرات متقابل افزایشی هستند و بنابراین هرم بندی QTL‌ها موجب افزایش مقاومت به بیماری می‌شود (Tabib Ghaffary et al., 2011). در پژوهش‌های دیگری گزارش گردید که بخش عمده‌ای از واریانس وراثت پذیری صفت مقاومت به سپتوریا به علت اثرات افزایشی ژن‌ها بود (Zhang et al., 2001; Vakili Bastam et al., 2010). بنابراین انتخاب در نسل‌های اولیه می‌تواند مؤثر باشد. وکیلی بسطام و همکاران (۱۳۹۴) با استفاده از تجزیه دای آل گزارش کردند که اثرات افزایشی بخش عمده وراثت پذیری را بر عهده دارند. ضریب همبستگی مثبت ژن‌های غالبیت با فنوتیپ والدین نشان داد که والدین دارای سطح بالاتر صفات شدت بیماری و سطح زیر منحنی پیشرفت بیماری استاندارد تعداد آل‌های غالب کمتری دارند. نتایج تجزیه خوشه‌ای نشان داد که ژنوتیپ‌های شماره ۵۱، ۶۸، ۷۹ (شیراز)، ۸۵، ۸۷، ۸۹، ۹۷، ۱۱۰، ۱۱۵ (نارین)، ۱۱۶، ۱۲۳

منابع

- اصلاحی م ر، صفایی ن، سعیدی ع و شمس بخش م، ۱۳۹۲. استفاده از عصاره گیاهی به منظور ارزیابی مقاومت نسبی ارقام گندم نسبت به قارچ *Mycosphaerella graminicola* در شرایط درون شیشه‌ای. مجله بیوتکنولوژی کشاورزی. جلد ۵، شماره ۴. صفحه‌های ۱ تا ۱۶.
- بشیری الف، ترابی م و داد 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.
- بیگی ع م، روح پرور ر، ترابی م، ۱۳۹۳. منابع مقاومت در ژنوتیپ‌های منتخب گندم نسبت به بیماری لکه برگ سپتوریایی. مجله به‌نژادی نهال و بذر ۳۱ (۱-۳) صفحه‌های ۶۰۵-۶۲۱.
- دادرضایی س ط، میناسیان و، ترابی م و لطفعلی آینه غ، ۱۳۸۲. اثر آلودگی ناشی از *Septoria tritici* در مراحل مختلف رشد بر عملکرد و اجزا عملکرد سه رقم گندم نان. مجله به‌نژادی نهال و بذر، جلد ۱۹، شماره ۱. صفحه‌های ۱۰۱ تا ۱۱۶.
- ظاهر مازندرانی ف، مهرابی ر و ملکی م، ۱۳۹۳. اثر بخشی ژن‌های مقاومت به لکه برگ سپتوریایی گندم (Stb) در برابر جدایه‌های *Mycosphaerella graminicola* استان فارس. مجله به‌نژادی نهال و بذر. جلد ۳۰-۱، شماره ۳. صفحه‌های ۶۶۹ تا ۶۸۲.
- فارسی م و باقری ع، ۱۳۸۲. اصول اصلاح نباتات. انتشارات جهاد دانشگاهی مشهد. ۲۹۵ ص.
- فرشادفر ع، ۱۳۸۴. اصول و روش‌های آماری چند متغییره. انتشارات طاق بستان. ۷۳۴ ص.

- فلاحی مطلق س، روح پرور ر، کیا ش، زمانی زاده ح ر، ۱۳۹۴. ارزیابی مقاومت ارقام و لاین‌های گندم نسبت به بیماری لکه برگی سپتوریایی در مراحل گیاهچه‌ای و گیاه کامل. مجله به‌نژادی نهال و بذر ۳۱ (۳-۱) صفحه‌های ۵۰۹-۵۲۹.
- کیا ش و ترابی م، ۱۳۸۷. تاثیر آلودگی به سپتوریز برگ (*Septoria tritici* Rob. Ex Desm.) در مراحل مختلف رشد بر عملکرد و اجزای عملکرد ارقام گندم در گرگان. مجله به‌نژادی نهال و بذر، جلد ۲۴، شماره ۲. صفحه‌های ۲۳۷-۲۵۰.
- کیا ش، رهنما ک، سلطانلو ح و آقاجانی م ع و بابایی زاد و، ۱۳۹۶. کارآیی ژنهای مقاومت به بیماری لکه برگی سپتوریایی (STB) در ارقام افتراقی گندم در برابر جدایه‌های *Zymoseptoria tritici* پژوهش‌های کاربردی در گیاهپزشکی. جلد ۶، شماره ۳. صفحه‌های ۱۰۹ تا ۱۲۳.
- کیا ش، رهنما ک، سلطانلو ح و آقاجانی م ع و بابایی زاد و، ۱۳۹۷. شناسایی منابع مقاومت به بیماری لکه برگی سپتوریایی با عامل *Zymoseptoria tritici* در ژنوتیپ های گندم نان. مجله بیوتکنولوژی کشاورزی جلد ۱۰. شماره ۱. صفحه‌های ۶۵-۴۹.
- مخدومی م، مهربانی ر و ارشد، ی. ۱۳۹۳. شناسایی منابع مقاومت به بیماری سپتوریای برگی در گندم های بومی ایران. مجله به‌نژادی نهال و بذر، جلد ۱-۳۰. شماره ۳. صفحه‌های ۵۶۱ تا ۵۷۲.
- وکیلی بسطام ش، رمضانپور س س و سلطانلو ح، ۱۳۹۴. تجزیه ژنتیک مقاومت گندم به لکه برگی سپتوریایی (*Septoria tritici* Blotch.) به روش دی آلل. نشریه پژوهش‌های تولید گیاهی. جلد ۲۲، شماره ۲. صفحه‌های ۲۳۹-۲۴۴.
- Adhikari TB, Anderson JM and Goodwin SB, 2003. Identification and molecular mapping of a gene in wheat conferring resistance to *Mycosphaerella graminicola*. *Phytopathology* 93: 1158-1164.
- Adhikari TB, Balaji B, Breeden J and Goodwin SB, 2007. Resistance of wheat to *Mycosphaerella graminicola* involve early and late peaks of gene expression. *Physiological and Molecular Plant Pathology* 71:55-68.
- Adhikari TB, Wallwork H and Goodwin SB, 2004. Microsatellite Markers Linked to the Stb2 and Stb3 Genes for Resistance to *Septoria tritici* Blotch in Wheat. *Crop Science* 44:1403-1411.
- Agrios GN, 1997. *Plant Pathology*. 4 th edition. Academic Press. New Yourk, USA. 635 pp.
- Arraiano LS and Brown JKM, 2017. Sources of resistance and susceptibility to *Septoria tritici* blotch of wheat. *Molecular Plant Pathology* 18(2):276-292.
- Arraiano LS, Worland AJ, Ellerbrook C and Brown JKM, 2001. Chromosomal location of a gene for resistance to septoria tritici blotch (*Mycosphaerella graminicola*) in the hexaploid wheat 'Synthetic 6x'. *Theoretical and Applied Genetics* 103: 758-764.
- Berraies S, Gharbi MS, Belzile F, Yahyaoui A, Hajlaoui MR, Trifi M, Jean M and Rezgui S, 2013. High genetic diversity of *Mycosphaerella graminicola* (*Zymoseptoria tritici*) from a single wheat field in Tunisia as revealed by SSR markers. *African Journal of Biotechnology* 12(12):1344-1349.
- 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.
- Brown A and Rosielle A, 1980. Prospects for control of Septoria. *Journal of Agriculture* 21:8-11.
- Campbell CL and Modden LV, 1990. *Introduction to Plant Disease Epidemiology*. John Willey and Sons, New York, 532p.
- Chartrain L, Brading PA, Makepeace JC and Brown JKM, 2004. Sources of resistance to *Septoria tritici* blotch and implications for breeding. *Plant Pathology* 53:454-460.
- Eyal Z, Scharen AL, Prescott JM and Van Ginkel M, 1987. The *Septoria* Disease of Wheat. *Concepts and Methods of Disease Management*. Mexico, D. F. CIMMYT 52 p.
- Eyal Z, 1999. The *Septoria tritici* and *Stagonospora nodorum* blotch diseases of wheat. *European Journal of Plant Pathology* 105: 629-641.
- Goudemand E, Laurent V, Duchalais L, Tabib Ghaffary SM, Kema GHJ, Lonnet P, Margale E and Robert O, 2013. Association mapping and meta-analysis: two complementary approaches for the detection of reliable

Septoria tritici blotch quantitative resistance in bread wheat (*Triticum aestivum* L.). *Molecular Breeding* 32:563-584.

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.

Kema GHJ, 2012. New broad-spectrum resistance to *Septoria tritici* blotch derived from synthetic hexaploid wheat. *Theoretical and Applied Genetics* 124:125-142.

Kramer B, Thines E, Foster AJ, 2009. MAP kinase signalling pathway components and targets conserved between the distantly related plant pathogenic fungi *Mycosphaerella graminicola* and *Magnaporthe grisea*. *Fungal Genetics and Biology* 46(9):667-81.

Leroux P, Albertini C, Gautier A, Gredt M and Walker AS, 2007. Mutations in the CYP51 gene correlated with changes in sensitivity to sterol 14 alpha-demethylation inhibitors in field isolates of *Mycosphaerella graminicola*. *Pest Management Science* 63:688-698.

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 BA and Martinez JP, 1990. Restriction fragment length polymorphisms in *Septoria tritici* occur at a high frequency. *Current Genetics* 17:133-138.

Mergoum M, Singh PK, Ali S, Elias EM, Anderson JA, Glover KD and Adhikari TB, 2007. Reaction of elite wheat genotypes from northern Great Plains to *Septoria* diseases. *Plant Disease* 91:1310-1315.

Quaedvlieg W, Kema G, Groenewald J, Verkley G, Seifbarghi S, Razavi M, Gohari AM, Mehrabi R and Crous P, 2011. *Zymoseptoria* gen. nov: a new genus to accommodate *Septoria*- like species occurring on graminicolous hosts. *Persoonia: Molecular phylogeny and Evolution of Fungi* 26:57.

Rosielle AA and Brown AGP, 1979. Inheritance, heritability and breeding behavior of three sources of resistance to *Septoria tritici* in wheat. *Euphytica* 28:385-392.

Saari EE and Prescott JM, 1975. A scale for appraising the foliar intensity of wheat disease. *Plant Disease* 59:377-380.

Shaw MW and Royle DJ, 2007. Factors determining the severity of *Mycosphaerella graminicola* (*Septoria tritici*) on winter wheat in the UK. *Plant Pathology* 42(6):882-899.

Simón MR, Cordo CA, Castillo NS, Struik PC and Börner A, 2012. Population Structure of *Mycosphaerella graminicola* and location of genes for resistance to the pathogen: recent advances in Argentina. *International Journal of Agronomy* 2012:1-7.

Tabib Ghaffary SM, Robert O, Laurent V, Lonnet P, Margale E, van der Lee TAJ, Visser RGF, Kema GHJ, 2011. Genetic analysis of resistance to *Septoria tritici* blotch in the French winter wheat cultivars Balance and Apache. *Theor Appl Genet* 123:741-754.

Torriani SFF, Melichar JPE, Mills C, Pain N, Sierotzki H and Courbot M, 2015. *Zymoseptoria tritici*: a major threat to wheat production, integrated approaches to control. *Fungal Genetics and Biology* 79:8-12.

Vakili Bastam SH, Ramezanpour SS, Soltanloo H, Kia SH and Kalate M, 2010. Estimation of combining abilities and heterosis of *Septoria tritici* blotch resistance in wheat genotypes. *Australian Journal of Crop Science* 4(7):480-484.

Villegas-Fernandez AM, Sillero JC and Rubiales D, 2011. Screening faba bean for chocolate Spot resistance: evaluation methods and effects of age of host tissue and temperature. *European Journal of Plant Pathology* 132:443-453.

Zhang X, Haley SD and Jin Y, 2001. Inheritance of *Septoria tritici* blotch resistance in winter wheat. *Crop Science* 41:323-326.

Identification of New Sources of Resistance to *Zymoseptoria tritici* Blotch in Genotypes of Spring Bread Wheat

M Kheirgoo^{1*}, N Panjehkeh¹ and F Taliey²

¹Ph. D. Student of Plant Pathology and Associate Professor, Respectively, Department of Plant Protection, Faculty of agricultural, Zabol university.

²Assistant Professor, Department of Plant Production, Gonbad Kavous University

*Corresponding author: Mkheirgoo@gmail.com

Received: 19 May 2019

Accepted: 10 June 2020

Abstract

Use of resistant cultivars is an effective way to manage *Zymoseptoria tritici* blotch. This study was performed to identify new sources of resistance to among 135 wheat genotypes. Genotypes were cultivated in the Augment design and at the research field of Aliabad Katoul Agricultural high school. Artificial contamination of genotypes was done by spreading infected leaves and inoculating with pathogenic fungal spore suspension. The notes were taken five times, seven days apart. Cluster analysis categorized genotypes into four groups. Genotypes 51, 68, 79 (Shiraz), 85, 87, 89, 97, 110, 115 (Narin), 116, 123 (Mehregan) and 130 were classified in group three (resistant). This group had the lowest area under disease progress curve and showed high resistance to disease. Little frequency of genotypes in two susceptible (four) and resistant (three) groups showed that this trait was controlled by several genes with additive epistasis. Therefore, gene pyramiding and selection in early generations can be effective. Resistance genotypes identified in this study can be used in breeding programs for the pyramiding of resistance genes or backcross methods.

Keywords: Genetic diversity, Resistance, *Septoria tritici* blotch, Wheat