Archive of SID

آفات و بیماری‌های گیاهی
جلد ۸۶، شماره ۲، اسفند ۱۳۹۷

بررسی پراکنش سپتوریوز برگی گندم و ارزیابی مقاومت ارقام نسبت به آن در استان گلستان

جواد اشرفی[۱]، کامران رهنما[۲]✉، ولی الله بابایی‌زاد[۳]، سیده ساناز رمضان پور[۲] و کریستوف کیل[۴]

۱ و ۲- دانشجوی دکتری و دانشیاران بخش گیاه‌پزشکی و بخش بیوتکنولوژی و اصلاح نباتات، دانشکده تولید گیاهی دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی گرگان، گلستان، ایران؛ ۳- دانشیار گروه گیاه‌پزشکی، دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی ساری، ساری، ایران؛ ۴- استاد بخش میکروبیولوژی، دانشگاه لوزان، لوزان، سوئیس

(تاریخ دریافت: اردیبهشت ۱۳۹۷؛ تاریخ پذیرش: بهمن ۱۳۹۷)

چکیده

در این تحقیق میزان پراکنش و ارتباط فیزیولوژی عامل بیماری با محل‌های حضور آن و ارزیابی ارقام مقاوم بررسی و عامل بیماری *Zymoseptoria tritici* شناسایی گردید. نقشه پراکنش بیماری با استفاده از نرم‌افزار ArcGIS 10.2 تهیه شد. ۲۶ رقم زراعی در گلخانه ارزیابی گردید. براساس نتایج، جدایه نوکنده بیشترین و جدایه رامیان دارای کمترین میزان رشد و جدایه‌ها در دمای ۱۵ درجه سلسیوس بیشترین و در دمای ۱۰ درجه سلسیوس کمترین رشد را داشتند. بیماری در ۸ شهرستان ردیابی و شهرستان‌های رامیان و کردکوی به عنوان کانون بیماری مشخص گردیدند. از ارقام بررسی شده ۴ رقم فلات، مهرگان، قابوس و روشن مقاوم، ۱۴ رقم شیرودی، مروارید، مغان، کوهدشت، گاسپار، آفتاب، شهریار، گنبد، الموت، افلاک، زرین، کرج-۱، توس و آذر-۲ نیمه مقاوم و ۷ رقم کریم، دز، خزر-۱، استار، هامون، افق، ارم و تجن حساس ارزیابی شدند. جدایه رامیان دارای بیشترین شدت بیماری‌زایی بود. با توجه به پراکنش وسیع، شرایط مساعد و مشخص شدن کانون‌های بیماری، می‌توان با پایش به‌موقع بیماری، نسبت به انجام اقدامات پیش آگاهی و کنترلی اطلاع رسانی نمود. همچنین با ارزیابی متناوب ژنوتیپ‌های گندم، نسبت به معرفی ارقام مقاوم و کاهش بیماری در آینده اقدام نمود.

واژه‌های کلیدی: واکنش ارقام، ITS rDNA، شدت بیماری‌زایی، پوشش پیکنیدیومی

Investigating the mode distribution of Septoria leaf blotch and evaluating the resistance of wheat cultivars in Golestan province

J. ASHRAFI[1], K. .RAHNAMA✉[2], V. BABAEIZAD[3], S. S. RAMEZANPOUR[2], C. KEEL[4]

1 and 2- Ph.D. student, Associate professors of plant protection department and department of biotechnology faculty of plant production, Gorgan University of Agricultural Sciences and Natural Resources, Golestan, Iran; 3- Associate Prof., Sari Agricultural Sciences and Natural Resources University, Sari, Iran; 4- Professor, Department of Fundamental Microbiology, University of Lausanne, Lausanne, Switzerland

Abstract

In this research, examination of the disease distribution, the physiological relationship between disease agents and its sites and evaluation of cultivars resistance were investigated. The disease agent identified as *Zymoseptoria tritici*. Distribution map prepared by ArcGIS v.10.2 software. The isolates growth tested in different temperature and its relation to their region climatic conditions evaluated. 26 cultivars evaluated in the greenhouse, evaluated. As a result, isolate growth average had correlation with region climatic conditions. In terms of growth, the Nokandeh isolate was the most and the Ramian isolate was lowest. The highest isolates growth was at 15°C and the lowest growth rates were at 10°C. The disease was detected in 8 counties. Ramian and Kurdkoy were identified as the disease contaminated sites. Among the examined cultivars, 4 cultivars such as Falat, Mehrgan, Ghabos, and Roshan were resistant, 14 cultivars such as Shirodi, Morvarid, Moghan, Koohdasht, Gaspar, Aftab, Shahryar, Gonbad, Alamoot, Aflak, Zarin, Karaj-1, Tous, and Azar-2 were moderately resistant and 7 cultivars such as Karim, Dez, Khazar-1, Star, Hamoon, Ofogh, Eram and Tajan were evaluated as susceptible. Rumian isolate had the highest disease severity. Due to the wide distribution of STB, the existence of favorable conditions and identification of disease region center, it is possible to monitor the appearance of infection at February and March and make a broadcast of the disease prevalence. Also, by evaluating of wheat genotypes, introducing and planting the resistant cultivars, it could reduce the disease in the future.

Key word: Cultivars reactions, disease severity, ITS rDNA, Pycnidium coverage

✉ **Corresponding author: Kamranrahnama1995@gmail.com**

www.SID.ir

Archive of SID

مقدمه

گیاه گندم با بیش از ۲۰ درصد پروتئین و کربوهیدارت، تأمین کالری مورد نیاز انسان را در رژیم غذایی عهده‌دار می‌باشد (Kole & Timothy 2008). این گیاه به‌عنوان یکی از محصولات با اهمیت در تمام دنیا و از جمله ایران نیز مطرح بوده و نیاز به تقاضای جهانی برای آن رو به افزایش است (Kia *et al.,* 2017a). از سوی دیگر، تداوم کشت و افزایش میزان تولید جهت تأمین نیاز غذایی مردم دنیا از اهمیت زیادی برخوردار است(Mohammad Doust Chamanabad *et al.,* 2010). بیماری سپتوریوز برگی یکی از بیماری‌های مهم در مناطق معتدله کشت گندم می‌باشد (Fones and Gurr. 2015). این بیماری در بیشتر مناطق گندم‌کاری دنیا با توجه به تغییرات آب و هوایی گسترش پیدا نموده است (Goodwin *et al.,* 2003; Mohammad beygi *et al.,* 2016) عامل این بیماری قارچ *Mycosphaerella graminicola* با فرم غیرجنسی *Septoria tritici* می‌باشد، که در شرایط محیطی مساعد، چرخه جنسی آن در طول فصل زراعی تکرار می‌شود (O'Driscoll *et al.,* 2014; McDonald and Mundt, 2016). کوادولینگ و همکاران (Quaedvlieg, 2011) با بررسی جدایه‌های قارچ عامل سپتوریوز برگی گندم گونه *Triticum aestivum* از ۱۷ کشور مختلف، ژن‌های LSU، ACT، CAL، ITS، TUB و RPB2 را مورد بررسی قرار داده و با توجه به نتایج به‌دست آمده و نحوه رشد منحصر به فرد مخمری این گونه، عامل ایجاد کننده بیماری در گندم نان را *Zymoseptoria tritici* (Desm.) Quaedvlieg & Crous, *comb. nov.* نام‌گذاری کردند. این عامل بیماری‌زا یک قارچ آسکومیست هتروتال دو قطبی بوده و در تمام طول فصل رویشی گیاه به صورت جنسی و غیرجنسی تولید مثل می‌کند (Mohammad beygi *et al.,* 2016).

قارچ *Z. tritici* دارای دو شکل است. فرم شبه مخمری با کنیدی‌زایی به روش جوانه‌زنی و شکل ریسه‌ای که به گیاه میزبان حمله می‌کند (O'Driscoll *et al.,* 2014; Sanchez-Vallet *et al.,* 2015). این قارچ اپرسوریوم یا چنگک تشکیل نمی‌دهد و از راه روزنه بدون ساختار متمایز آلوده کننده به برگ‌های گندم نفوذ می‌کند (Quaedvlieg *et al.,* 2011; Kia *et al.,* 2017a). قارچ *Z. tritici* یک بیمارگر نیمه بیوتروف است. فاز بیوتروفی آن ۱۰ روز و به دنبال آن تغییر حالت سریع به نکروتروفی مشاهده می‌شود. در نتیجه، علائم بیماری به صورت کلروز نامنظم با لکه‌های نکروز حامل اندام‌های باروری جنسی و غیر جنسی دیده می‌شود (Suffert *et al.*, 2011; Croll *et al.*, 2015). مناسب‌ترین شرایط برای گسترش و وقوع این بیماری، رطوبت بالاتر از ۷۰ درصد و دمای ۲۲-۲۰ درجه سلسیوس می‌باشد (Wenham, 1959; Sanderson, 1972).

این بیماری برای اولین‌بار توسط (Desmaziers, 1842) از کشور فرانسه و سپس از دیگر مناطق جهان گزارش شد (Shearer and Wilcoxson, 1978; Mohammad beygi *et al.,* 2016). میزان کاهش محصول در اثر این بیماری ۴۰-۳۰ درصد (Palmer & Skinner, 2002; Kia *et al.,* 2017b) و در برخی موارد تا بیش از ۵۰ درصد (Eyal *et al.*, 1987; Palmer *et al.,* 2002; Simon *et al*., 2012; Fones and Gurr, 2015) نیز گزارش شده است. به طور کلی میزان خسارت این بیماری طی سال‌های گذشته در استان گلستان ٤٤ درصد کاهش محصول در ارقام مختلف کشت شده در این استان برآورد گردیده است (Kia and Torabi, 2008).

نظر به تغییرات شرایط آب و هوایی بیماری سپتوریوز برگی در دهه‌های اخیر اهمیت و گسترش زیادی در اکثر مناطق گندم‌کاری دنیا پیدا کرده است (Kia *et al.,* 2017b). علت این امر را کاشت ارقام اصلاح شده زودرس و نیمه پا کوتاه معرفی شده به‌وسیله مرکز بین‌المللی غلات در موسسه بین المللی سیمیت[۱] کشور مکزیک ذکر نموده‌اند. این ارقام به علت عملکرد نسبتاً خوب و مقاومت به برخی بیماری‌ها مانند زنگ‌ها، امروزه در سطح وسیعی کشت می‌شوند (Davari *et al.,* 2012). ایران در تقسیم‌بندی جهانی برنامه‌های اصلاح گندم سیمیت از مناطق مهم برای بیماری سپتوریوز

۱- Cimmyt

www.SID.ir

Archive of SID

شناخته شده است (Jorge *et al.*, 2004). همانند دیگر بیماری‌های هوا زاد، برخی محققین کشت ارقام مقاوم را به‌عنوان بهترین و مقرون به صرفه‌ترین (Eyal *et al.*, 1987; Eyal 1999; Davari *et al.*, 2012; Brown *et al.*, 2015) و سالم‌ترین روش از نظر زیست محیطی (Gilchrist *et al.*, 1999; Kia *et al.*, 2017a) برای کنترل این بیماری معرفی نموده‌اند.

در رابطه با نحوه ارتباط بین قارچ عامل بیماری سپتوریوز برگی *M. graminicola* و میزبان آن گندم، تخصص یافتگی فیزیولوژیکی (Brading *et al.*, 2002) و وجود رابطه ژن برای ژن به اثبات رسیده است (Davari *et al.*, 2012). در ایران غالباً ارزیابی مقاومت ارقام گندم نسبت به این بیماری توسط چند جدایه از قارچ عامل بیماری در مزرعه صورت می‌گیرد (Torabi *et al.*, 2002; Dadrezaie & Eslahi 2004; Khelghatibana *et al.*, 2004; Naroee *et al.*, 2006; Kia *et al.*, 2006; Mehrabi 2002) در شرایط کنترل شده گلخانه، بررسی‌هایی در مورد پرآزاری جدایه‌های عامل بیماری و وجود مقاومت اختصاصی رقم جدایه صورت گرفته است (Komijani *et al.*, 2008; Mohammad-beygi *et al.*, 2014). وجود اطلاعات در این رابطه برای طرح‌ریزی برنامه‌های مدیریتی و ایجاد یک برنامه مدون جهت اصلاح و کنترل ژنتیکی ارقام نسبت به این بیماری بسیار ضروری می‌باشد. بررسی مقاومت به سپتوریوز برگی در گندم نشان داده است که، مقاومت در مرحله گیاهچه‌ای با مقاومت در مرحله گیاه بالغ غالباً همبستگی داشته و تأثیرات مقاومت در مراحل مختلف رشد گیاه متفاوت نمی‌باشد (Kia *et al.*, 2008; Mohammad beygi *et al.*, 2016). براساس روش ژانگ و همکاران (Zhang *et al.*, 2001)، پس از گذشت مدت زمان ۲۱ روز از مایه‌زنی ارقام با سوسپانسیون قارچ عامل بیماری، براساس درصد میزان پاسخ میزبان نسبت به بیماری، ژنوتیپ‌های گندم بر اساس ژن‌های STB[۲] به ٤ گروه تقسیم می‌گردند. در این پژوهش با توجه به سطح زیر کشت نسبتاً وسیع گندم و اهمیت و گسترش این بیماری در استان گلستان، سعی در شناسایی فنوتیپی و مولکولی جدایه‌های به‌دست آمده از مناطق مختلف استان و بررسی فیزیولوژیکی جدایه‌ها گردید. میزان پراکنش این بیماری و شناسایی کانون‌های آلوده و ارتباط عامل بیماری با میزان دما و رطوبت آن مناطق بررسی شد. هم‌چنین وجود اختلاف بین شدت پر آزاری جدایه‌های قارچ *Z. tritici* و میزان مقاومت ارقام مختلف گندم نسبت به آن‌ها مورد مطالعه قرارگرفت.

مواد و روش

نمونه برداری و بررسی میزان پراکنش بیماری

در طول ماه‌های فروردین و اردیبهشت ۱۳۹۵ اقدام به بازدید و نمونه‌برداری از مزارع شهرستان‌های مختلف استان گلستان گردید. جهت بررسی میزان پراکنش بیماری، از هر شهرستان ۵ منطقه و از هر منطقه ۳ مزرعه انتخاب و در هر مزرعه با حرکت زیگزاگ و با استفاده از کادر به مساحت ۱ متر مربع، در هر مزرعه ۱۰ کادر به‌صورت تصادفی انتخاب گردید. درصد گیاهان آلوده موجود در هر کادر نسبت‌به گیاهان سالم محاسبه و سپس میانگین درصد آلودگی در هر مزرعه و منطقه محاسبه گردید. سپس با استفاده از این اطلاعات، شدت آلودگی در سطح شهرستان و استان محاسبه گردید. پس از مشاهده علائم مشکوک به بیماری سپتوریوز برگی گندم در هر کادر، نمونه‌ها با انتساب تاریخ و مختصات محل نمونه‌برداری در پاکت‌های کاغذی قرار داده شده و به آزمایشگاه انتقال و در یخچال نگه‌داری شدند.

جداسازی، خالص‌سازی و نگه‌داری جدایه‌ها

پس از بررسی نمونه‌ها با استریو میکروسکوپ[۳] و مشاهده پیکنیدیوم‌ها بر روی برگ‌ها، با استفاده از روش مستقیم ایال و همکاران (Eyal *et al.*, 1987) جداسازی و خالص‌سازی قارچ عامل بیماری انجام شد. بدین‌صورت که، قسمت‌های دارای علائم در شرایط سترون با استفاده از

۲- Septoria Tritici Blotch

۳- Stereo Microscope

www.SID.ir

Archive of SID

هیپوکلریت سدیم ۰/۵ درصد به مدت یک دقیقه و ۳ بار شستشو به مدت ۱، ۳ و ۵ دقیقه ضدعفونی سطحی و با استفاده از کاغذ صافی سترون خشک گردید. قطعات برگ با استفاده از نوار چسب بر روی لام تمیز قرار داده شد و به‌داخل ظروف پتری حاوی کاغذ صافی سترون منتقل، رطوبت آن‌ها تأمین و در دمای ۲۰ نگه‌داری درجه سلسیوس گردید. پس از مدت ۲٤-٦ ساعت با استفاده از استریو میکروسکوپ و سوزن نازک تمیز اسپورها به ظروف حاوی محیط کشت سیب‌زمینی دکستروز آگار منتقل و در دمای ۲۱ درجه سلسیوس نگه‌داری شدند. پس از مدت ۷۲ ساعت از کشت‌ها بازدید و با استفاده از تماس مختصر لوپ سیمی تمیز با کلنی مورد نظر، اقدام به خالص‌سازی و کشت مخطط بر روی محیط کشت فوق گردید (Eyal *et al.*, 1987).

مختصات جغرافیایی محل جمع‌آوری نمونه‌هایی که عامل بیماری از آن مناطق جدا و خالص‌سازی گردید، با استفاده از نرم افزار ArcGIS 10.2 بر روی نقشه منتقل و نقشه پراکنش بیماری تهیه گردید.

شناسایی ریخت شناسایی قارچ عامل بیماری

پس از کشت و خالص‌سازی قارچ عامل بیماری، با توجه به‌مشخصات فنوتیپی لکه‌های ایجاد شده توسط قارچ عامل بیماری و مشاهده پیکنیدهای ایجاد شده و اسپورهای آن و نحوه رشد مخمری قارچ بر روی محیط کشت مصنوعی سیب‌زمینی، دکستروز، آگار، زاپک آگار و محیط غذایی یولاف آگار (Sivanesan, 1990) و مشخصات اسپورهای مخمری با استفاده از کلیدهای معمول قارچ شناسی (Wenham, 1959; Sanderson, 1976; Minasian *et al.*, 1989; Quaedvlieg *et al.*, 2011)، شناسایی گردید.

شناسایی مولکولی

به‌منظور تأیید مولکولی جدایه‌های شناسایی شده با خصوصیات ریخت‌شناسی، از ۵ جدایه *Z. tritici* مورد استفاده در این پژوهش استخراج DNA با استفاده از روش موری و تامپسون (Murray & Thompson, 1980) انجام گرفت.

پس از استخراج DNA، منطقه ITS-rDNA، با استفاده از جفت پرایمر ITS4 (TCCTCCGCTTATTGATATGC) و ITS5 (ACCCGCTGAACTTAAGC)، با برنامه PCR شامل ۵ دقیقه در ۹۴ درجه سلسیوس و به دنبال آن ۳۰ چرخه در شرایط ۳۰ ثانیه در ۹۴ درجه سلسیوس، ۲۰ ثانیه در ۵۸ درجه سلسیوس، ٤٥ ثانیه در ۷۲ درجه سلسیوس، ۱۰ دقیقه در ۷۲ درجه سلسیوس و ۳۰ ثانیه در ۴ درجه سلسیوس و با استفاده از دستگاه ترموسایکلر (PCR)[٤] مدل Corbet Research CG1-96 تکثیر گردید. کیفیت محصول به دست آمده با استفاده از ژل آگارز یک درصد بررسی شد. پس از تعیین توالی محصول PCR، کیفیت پیک‌های به‌دست آمده توالی با استفاده از نرم‌افزار Chromas 2.6.4 بررسی گردید. برای اطمینان از صحت توالی‌های به‌دست آمده از هر جدایه، توالی‌ها با استفاده از ابزار جستجوی Blast، با توالی‌های موجود در بانک ژن مقایسه شد. توالی مورد نظر به پایگاه NCBI[٥] ارسال و در بانک ژن پایگاه ثبت گردید.

بررسی نحوه رشد جدایه‌های *Z. tritici* در دماهای متفاوت

جهت بررسی تفاوت میزان رشد ۵ جدایه انتخاب شده *Z. tritici* مورد استفاده در این پژوهش در دماهای مختلف و ارزیابی ارتباط میزان رشد جدایه‌ها در این دماها با شرایط آب و هوایی محل‌های پراکنش بیماری (جدول ۱)، اقدام به انجام این آزمایش گردید. ابتدا از ۵ جدایه *Z. tritici* سوسپانسیون با غلظت ۲×۱۰^{۵} اسپور در لیتر به‌وسیله لام گلبول شمار[٦] و دستگاه اسپکتروفتومتر[۷] در طول موج ۶۰۰ نانومتر و جذب ۰/۶ تهیه گردید. به این‌ترتیب که، سلول‌های مخمری از کشت مایع ۵-۴ روزه با استفاده از سانتریفیوژ به‌مدت ۱۵ دقیقه در ۱۰۰۰g جدا و در محلول ۰/۱۵ مولار نمک شستشو شدند. سپس با استفاده از آب مقطر سترون از آن‌ها سوسپانسیون تهیه و تعیین غلظت گردید (Sharifi Tehrani *et al.*, 2011). مقدار

٤- Polymerase Chain Reaction
٥- National Center for Biotechnology Information
٦- Hemocytometer
۷- Spectrophotometer

www.SID.ir

Archive of SID

۱۰µl از سوسپانسون هر جدایه و در سه تکرار، به‌وسیله سمپلر (Sampler) و با کمک میله شیشه‌ای L شکل روی سطح ظروف پتری حاوی محیط کشت PDA منتقل و پخش گردید. هرکدام از جدایه‌ها در دماهای ۵، ۱۰، ۱۵، ۲۰، ۲۵، ۳۰ و ۳۵ درجه سلسیوس به مدت ۷۲ ساعت نگه‌داری شدند. سپس تعداد کلنی‌های ظاهر شده در سطح محیط کشت با استفاده از استریو میکروسکوپ شمارش گردید (Eyal *et al.*, 1987).

جدول۱- آمار میانگین دما، رطوبت نسبی و بارندگی ۳ ماه اسفند، فروردین و اردیبهشت ایستگاه‌های سینوپتیک مناطق مورد مطالعه.

Table 2. The temperature, humidity and precipitation average of February, March and April of studied areas synoptic stations.

Synoptic Stations	Temperature			Humidity %			Precipitation Average (mm)
	Least Average	Most Average	Average	Least Average	Most Average	Average	
Hashem Abad Gorgan	10.23	21.1	15.6	65	93	79	55.46
Gorgan Airport	9.8	21.13	15.46	61.6	98	79.8	60.8
Bandar Gaz	11.66	20.73	16.16	61.66	94	77.83	86.1
Ali Abad	10.8	21.3	18.29	60	94.3	77.16	92.16
Gonbad	10.5	22.93	16.71	57	96.33	77.66	48.33
Kalaleh	9.9	22.63	16.26	57.33	95.66	76.49	69.7
Minoodasht	12.1	21.3	16.71	55.66	84	69.83	98.9

ارزیابی مقاومت ارقام مختلف گندم در برابر *Z. tritici* در شرایط گلخانه

جهت بررسی مقاومت ارقام نسبت به جدایه‌های *Z. tritici* از ۲۶ رقم گندم (جدول ۵) استفاده گردید. تعداد ۱۱ رقم شامل ارقام شیرودی، فلات، مروارید، مغان، مهرگان، کوهدشت، کریم، قابوس، آفتاب، گنبد و رقم حساس تجن به‌عنوان رقم شاهد، از مرکز آموزش و تحقیقات کشاورزی و منابع طبیعی گرگان و تعداد ۱۵ رقم شامل ارقام گاسپار، شهریار، روشن، دز، الموت، افلاک، خزر-۱، زرین، استار، هامون، کرج-۱، توس، آذر-۲، افق و ارم از گروه اصلاح نباتات دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی گرگان تهیه گردید.

برای تهیه زادمایه قارچ *Z. tritici*، فلاسک‌های ۲۵۰ میلی‌لیتری محتوی محیط کشت مایع حاوی عصاره مخمر، عصاره مالت و ساکارز هرکدام به نسبت ۱۰ گرم در ۱۰۰۰ میلی‌لیتر آب مقطر با اسپورهای کشت ۷۲ ساعته قارچ، که روی محیط جامد سیب زمینی دکستروز آگار تشکیل شد، مایه‌زنی شدند. سپس فلاسک‌ها به شیکر انکوباتور منتقل و به مدت ٤ تا ٥ روز در دمای ۲۱ درجه سلسیوس با سرعت ۱۰۰ دور در دقیقه نگه‌داری شدند. تعداد اسپور در هر میلی‌لیتر از این سوسپانسیون به کمک لام گلبول شمار شمارش شده و به غلظت ۱×۱۰^{۷} در هر میلی‌لیتر تنظیم گردید. مایه تلقیح بر روی گیاهچه‌های دو هفته‌ای ارقام گندم که در گلدان‌های سترون کشت شده و دارای دو برگ کامل بودند مایه‌زنی شد. گلدان‌ها در شرایط رطوبت اشباع و در دمای ۱±۲۱ درجه سلسیوس به‌مدت ۷۲ ساعت نگه‌داری شدند. سپس گلدان‌های مایه‌زنی شده به مدت ۱۸ روز دیگر علاوه بر مدت زمان قبل، در دمای ۱±۲۱ درجه سلسیوس و در شرایط رطوبتی بالاتر از ۷۰ درصد نگه‌داری گردیدند (Zhang *et al.*, 2001; Kia *et al.*, 2017a).

یادداشت برداری در ۳ مرحله و هر مرحله به‌فاصله یک هفته از زمان تلقیح انجام شد. جهت محاسبه میزان شدت بیماری‌زایی توسط ۵ جدایه *Z. tritici* درصد پوشش پیکنیدیومی سطح برگ محاسبه شد (Brading *et al.*, 2002; Chartrain *et al.*, 2004). برای محاسبه مقدار مقاومت ارقام گندم نیز از روش مقیاس نمره دهی ۱-۹ ژانگ و همکاران (Zhang *et al.*, 2001) استفاده گردید. براساس این روش پس

www.SID.ir

Archive of SID

از مدت ۲۱ روز از زمان مایه‌زنی ارقام، بر اساس نوع پاسخ میزبان نسبت به بیماری و برحسب مقدار کلروز و نکروز بافت و تراکم پیکنید، ژنوتیپ‌های گندم مورد ارزیابی قرار گرفتند. در این رابطه ژنوتیپ‌ها بر اساس ژن‌های STB به ٤ گروه تقسیم می‌گردند. در این تقسیم‌بندی چنانچه میانگین بیماری ٤/٩-١ برآورد گردد، مقاوم (R)، میانگین بیماری ٦/٩-٥، نیمه مقاوم (MR)، میانگین بیماری ٧/٩-٧، نیمه حساس (MS) و میانگین بیماری ٩-٨ حساس (S) ارزیابی می‌گردد (Zhang *et al.*, 2001).

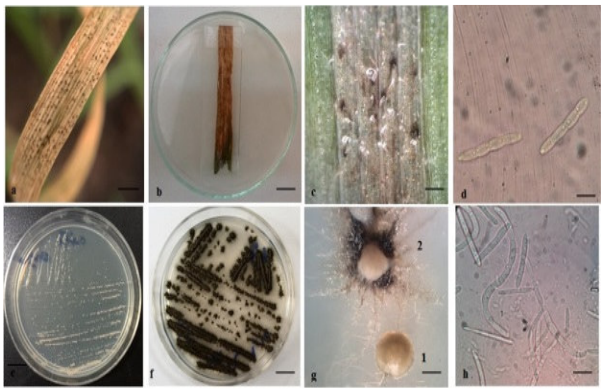
در این پژوهش جهت بررسی میزان رشد ٥ جدایه *Z. tritici* در دماهای مختلف و هم‌چنین مقایسه میزان مقاومت ارقام گندم در شرایط گلخانه از آزمایش فاکتوریل در قالب طرح پایه کاملاً تصادفی و با ٣ تکرار استفاده گردید. تجزیه واریانس و مقایسه میانگین‌ها به روش آزمون چند دامنه‌ای دانکن با استفاده از نرم افزار IBM SPSS Statistics 19 انجام گرفت. در این قسمت، صفر درصد آلودگی و میانگین‌هایی که اختلاف معنی‌داری با صفر درصد آلودگی نداشتند، به‌عنوان برهمکنش مقاوم در نظر گرفته شدند. گروه‌بندی ارقام گندم نیز براساس میانگین درصد پوشش پیکنیدیومی سطح برگ‌ها به‌وسیله تجزیه خوشه‌ای به روش Ward انجام شد.

نتایج

شناسایی جدایه‌ها بر اساس خصوصیات فنوتیپی

براساس مشخصات ریخت شناسی، قارچ *Zymoseptoria tritici* (Desm.) Quaedvlieg & Crous, *comb. nov.* شناسایی گردید. بدین‌ترتیب که، پس از بررسی نمونه‌های برگی به‌دست آمده از مزارع استان گلستان، لکه‌های کاهی رنگ با علائم نکروز در وسط و کلروز در اطراف لکه، در بین رگ برگ‌ها و در هر دو طرف برگ دیده شد. پیکنیدیوم‌های صاف، بیضی شکل، سیاه‌رنگ با دیواره ضخیم به‌قطر ١٦٠µm-٥٠ در متن لکه‌ها مشاهده گردید. پیکنیدیوسپورها نخی شکل، خمیده، شفاف، در انتها گرد، دارای حداقل ٣ دیواره و به طول ٦٠ µm-٢٠ و عرض ٢-١/٥ µm بودند. اسپور بر روی محیط کشت PDA دارای رشد مخمری و دارای قدرت جوانه‌زنی در یک یا چند نقطه بود. کلنی‌ها به رنگ سفید تا کرم و پس از ٩٦ ساعت به رنگ قهوه‌ای تیره تا سیاه تغییر رنگ داد. (شکل ١ a-h) (Wenham, 1959; Sanderson, 1976; Minasian *et al.*, 1989; Halama, 1996; Quaedvlieg *et al.*, 2011; Verkley *et al.*, 2013).

پس از خالص‌سازی و شناسایی مورفولوژیکی جدایه‌های به‌دست آمده جهت ادامه این پژوهش، با توجه به تفاوت اقلیمی مناطق مختلف استان از نظر دما و رطوبت، پنج جدایه از مناطق مختلف استان با پراکنش مناسب انتخاب گردید. این جدایه‌ها شامل نوکنده، ایستگاه (ایستگاه تحقیقاتی مرکز تحقیقات کشاورزی و منابع طبیعی گرگان)، شموشک، رامیان و توران بودند (شکل ٣).

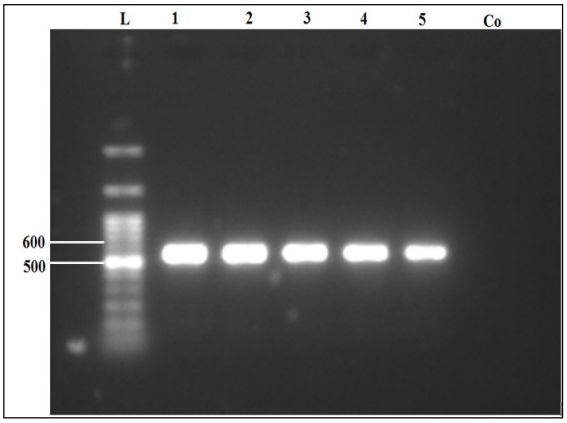


شکل ١- a- پیکنیدهای تشکیل شده روی برگ (مقیاس = ١٠ میلی‌متر) b - برگ قرار گرفته در محیط مرطوب (مقیاس = ١٠ میلی‌متر) c- فتیله خارج شده از دهانه پیکنید (مقیاس = ٠/٣ میلی‌متر) d- اسپور (مقیاس = ١٠ میکرو متر) e- کشت ٧٢ ساعته روی محیط کشت PDA (مقیاس = ٨ میلی‌متر) f-کشت ٧ روزه روی محیط کشت PDA (مقیاس = ٨ میلی‌متر) g-١- کلنی جوان سفید ٢- کلنی در حال تغیر رنگ (مقیاس = ٠/٤ میلی‌متر) h- سلول‌های مخمری در حال جوانه‌زنی (مقیاس = ١٥ میکرو متر).

Fig 1. a= Pycnidium on leaves (Bar=10mm) b= Leaves in humid condition (Bar=10mm) c= Spore ooze (Bar=0.3mm) d= Spore (Bar=10µm) e= 72 hr culture on PDA (Bar=8mm) f= 7 days culture on PDA (Bar=8mm) g= 1- Young white colony 2- Colony color changing (Bar=0.4mm) h= Yeast cells budding (Bar=15µm).

www.SID.ir

Archive of SID



شکل ۲- نقوش الکتروفورزی محصول PCR با آغازگر ITS 4,5 در ژل آگارز یک درصد، L- نشانگر (100bp Plus)، ۱- نوکنده، ۲- ایستگاه، ۳- رامیان، ۴- توران، ۵- شموشک، Co- شاهد.

Fig. 2. Electrophoresis of PCR product by ITS 4.5 primer on 1% agarose gel, L-Ladder (100bp Plus), 1- Nokandeh, 2- Istgah, 3- Ramian, 4- Toran, 5- Shamoshak, Co- Control.

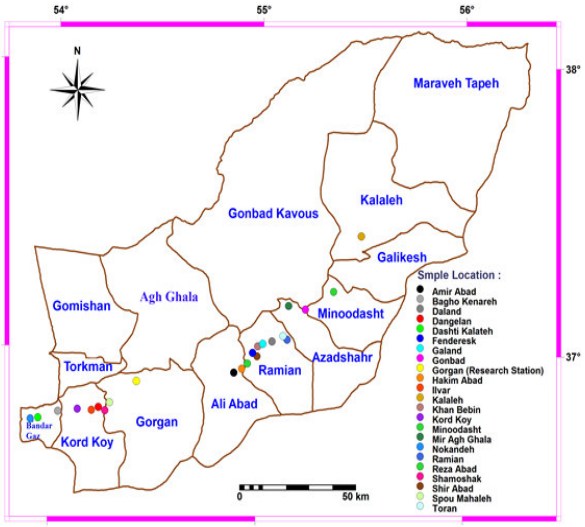
شناسایی مولکولی

جهت تأیید شناسایی گونه که براساس خصوصیات مورفولوژیکی به‌عنوان *Z. tritici* تشخیص داده شده بودند، از ناحیه ITS-rDNA استفاده گردید. توالی‌های مربوط به جدایه‌های رامیان، نوکنده، ایستگاه، توران و شموشک به‌ترتیب با شماره‌های MG969552، MK045713، MK045714، MK045715، MK045716 در بانک ژن (NCBI) ثبت شد.

پراکنش و شدت بیماری سپتوریوز گندم در استان گلستان

براساس بررسی‌های انجام شده، علائم بیماری در شهرستان‌های کلاله، مینودشت، آزادشهر، رامیان، علی آباد، گرگان، کردکوی و بندرگز مشاهده گردید. میانگین شدت آلودگی این شهرستان‌ها به‌ترتیب ۹، ۱۶، ۱۱، ۵۳، ۱۷، ۲۴، ۳۲ و ۲۱ درصد برآورد گردید. میانگین شدت آلودگی استان نیز ۱۳/۰۷ درصد برآورد گردید.

از نمونه‌های به‌دست آمده از مناطق مختلف، عامل بیماری از ۲۳ منطقه از استان شامل نوکنده، کردکوی، دنگلان، باغوکناره، اسپومحله، شموشک، ایلوار، گرگان (ایستگاه تحقیقاتی مرکز تحقیقات کشاورزی و منابع طبیعی گرگان)، خان‌ببین، گنبد، شیرآباد، کلاله، دلند، مینودشت، فندرسک، رامیان، توران، دشتی‌کلاته، امیرآباد، رضاآباد، گلند، حکیم‌آباد و میرآق‌قلا جداسازی گردید (شکل ۳). اما، از نمونه‌های برگی سایر مناطق، قارچ عامل بیماری جداسازی نگردید. بیشترین فراوانی جدایه‌های خالص سازی شده با توجه به شکل شماره ۳، در شهرستان رامیان بوده است.



شکل ۳- نقشه پراکنش جدایه‌های قارچ *Zymoseptoria tritici* در سطح استان گلستان.

Fig. 3. Distribution map of *Zymoseptoria tritici* isolates in Golestan province

تفاوت میزان رشد جدایه‌های *Z. tritici* در دماهای مختلف

به‌طور کلی با توجه به جدول شماره ۲، بین میزان رشد ۵ جدایه *Z. tritici*، دماهای مختلف و اثر متقابل دما و جدایه از نظر آماری در سطح یک درصد اختلاف معنی‌دار وجود داشت. با توجه به شکل‌های ۴ و ۵، میزان رشد در دمای ۱۵ درجه سلسیوس بیشتر از دیگر دماها و هیچ کدام از جدایه‌های *Z. tritici* در دماهای ۵ درجه سلسیوس و ۳۵ درجه سلسیوس رشد و کلنی‌زایی ننمودند. رشد جدایه‌ها از ۱۰ درجه سلسیوس شروع گردید و جدایه‌های نوکنده و ایستگاه در این دما رشد نمودند. در بررسی میکروسکوپی که از

www.SID.ir

Archive of SID

سلول‌های مخمری قارچ *Z. tritici* درون بافت محیط کشت صورت گرفت، سایر جدایه‌ها در این دما جوانه‌زنی خود را شروع نموده بودند، اما قادر به تکثیر به‌صورت انبوه و ایجاد کلنی حتی پس از گذشت ۷ روز نیز نبودند. در دمای ۱۵ درجه سلسیوس جدایه‌های نوکنده و شموشک که محل جداسازی آن‌ها دارای دمای کمتر نسبت به محل جداسازی دیگر جدایه‌ها است (جدول ۱)، به بالاترین سطح میزان رشد خود رسیدند. با افزایش دما، میزان رشد جدایه شموشک سیر نزولی نشان داد. جدایه نوکنده نیز با افزایش دما مقدار رشدش به‌طور کلی کاهش نشان داد، اما نمودار آن یکنواخت نبود. جدایه توران که محل جداسازی آن از محل جداسازی دیگر جدایه‌ها دارای میانگین دمای بالاتر می‌باشد (جدول ۱)، از ۱۵ درجه سلسیوس رشد آن شروع و با افزایش دما میزان رشد آن افزایش یافت. این جدایه در دمای ۲۵ درجه سلسیوس به حداکثر میزان رشد خود رسید. جدایه‌های رامیان و ایستگاه که مربوط به مناطق نسبتاً معتدل هستند، در دماهای مختلف نمودار رشدی متغیری را از خود نشان دادند. اما بیشترین میزان رشد آن‌ها به‌ترتیب در دماهای ۱۵ درجه سلسیوس و ۲۰ درجه سلسیوس بود (شکل ۴). با توجه به شکل‌های شماره ۳ و ۴ و جدول ۱ به‌نظر می‌رسد که شرایط اقلیمی منطقه جداسازی جدایه‌ها با الگوی رفتار رشد آن‌ها در دماهای متفاوت شباهت دارد.

از نظر میزان رشد و میانگین تعداد کلنی ایجاد شده توسط ۵ جدایه *Z. tritici*، با توجه به شکل شماره b–۵ و جدول ۲ جدایه‌های مورد بررسی از نظر آماری در سطح یک درصد دارای اختلاف معنی‌دار بودند. با توجه به‌نتایج گروه‌بندی انجام شده به‌وسیله آزمون دانکن، جدایه‌ها در ۳ گروه مختلف قرارگرفتند. جدایه نوکنده بیشترین توان رشد و کلنی زایی را روی محیط کشت مصنوعی PDA دارا بود، اما از نظر آماری با جدایه توران در یک گروه (a) قرارگرفت. جدایه‌های ایستگاه و شموشک نیز در گروه دوم (b) قرار گرفتند. جدایه رامیان از نظر میزان رشد از بقیه کمتر و در گروه سوم (c) قرار گرفت. بین میانگین رشد در دماهای مختلف نیز از نظر آماری در سطح یک درصد اختلاف وجود داشت (جدول ۲)، (شکل ۵–a). به‌طور کلی با توجه به‌نتایج به دست آمده از آزمون دانکن، ۷ دمای بررسی شده در چهار گروه متفاوت قرارگرفتند. میانگین رشد ۵ جدایه مورد بررسی، از دمای ۱۰ درجه سلسیوس شروع و در دمای ۱۵ درجه سلسیوس به اوج خود رسیده است. رشد با افزایش دما کاهش و سیر نزولی نشان داده و در دمای ۳۵ درجه سلسیوس متوقف گردید است. بیشترین میزان کلنی در دمای ۱۵ درجه سلسیوس تشکیل شد و در نتیجه، این دما در گروه اول (a) قرارگرفت. دماهای ۲۰ درجه سلسیوس و ۲۵ درجه سلسیوس در گروه دوم (b) و دمای ۳۰ درجه سلسیوس در گروه سوم (c) قرار گرفت. در دمای ۱۰ درجه سلسیوس هر چند که جدایه‌های نوکنده و ایستگاه در این دما رشد نمودند، اما رشد آن‌ها بسیار کم و با دماهای ۵ درجه سلسیوس و ۳۵ درجه سلسیوس که هیچ‌کدام از ۵ جدایه قادر به رشد در این دو دما نبودند، از نظر آماری در یک گروه (d) قرارگرفت (شکل ۵–a).

با توجه به شکل‌های ۴ و ۵ و مطالب گفته شده، به‌نظر می‌رسد که مناسب‌ترین دما برای رشد جدایه‌های قارچ *Z. tritici* در استان گلستان بسته به منطقه جداسازی آن‌ها دمای ۲۰–۱۵ درجه سلسیوس می‌باشد.

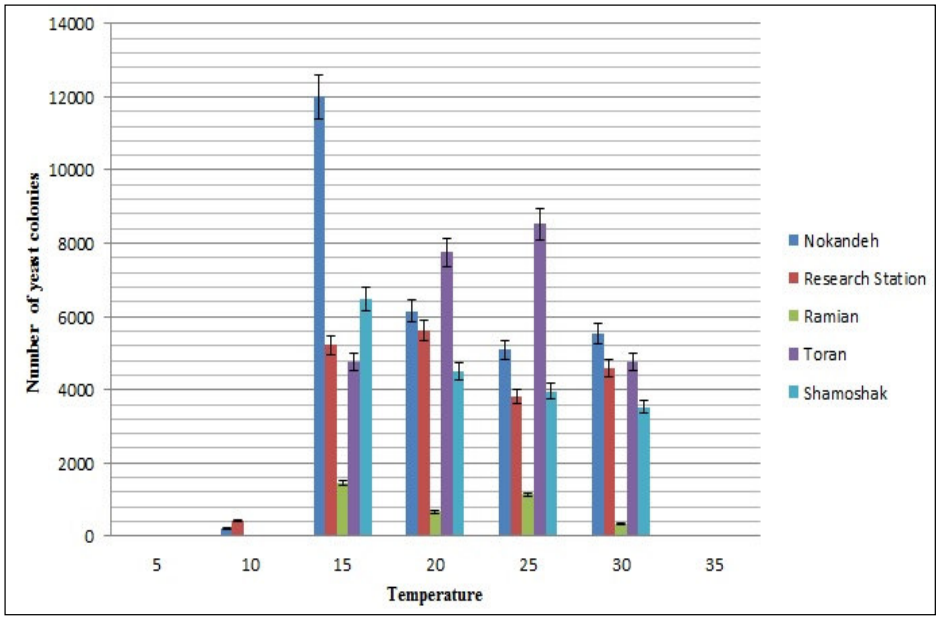
بررسی مقاومت ارقام مختلف گندم به قارچ *Z. tritici* در شرایط گلخانه

روز سوم پس از مایه‌زنی، در برخی از ارقام مانند فلات، مهرگان، قابوس و روشن که دارای مقاومت نسبت به قارچ *Z. tritici* بودند، علائم بیماری به صورت لکه‌های کلروز بسیار ریز دیده شد. پس از مدت زمان ۷–۵ روز از زمان مایه‌زنی، لکه‌ها تیره‌تر گردیده و به رنگ قهوه‌ای تغییر رنگ دادند. این علائم نشان دهنده وجود مقاومت کامل نسبت به قارچ عامل بیماری می‌باشد (Suffert *et al.*, 2011; Davari *et al.,* 2012; Croll *et al.*, 2015). اما به‌طور کلی در ارقام نیمه مقاوم و بالاخص در ارقام حساس (جدول ٦)، علائم بیماری در حدود ۱۲–۱۰ روز پس از مایه‌زنی مشاهده گردید. در این ارقام، ابتدا بر روی برگ لکه‌های

www.SID.ir

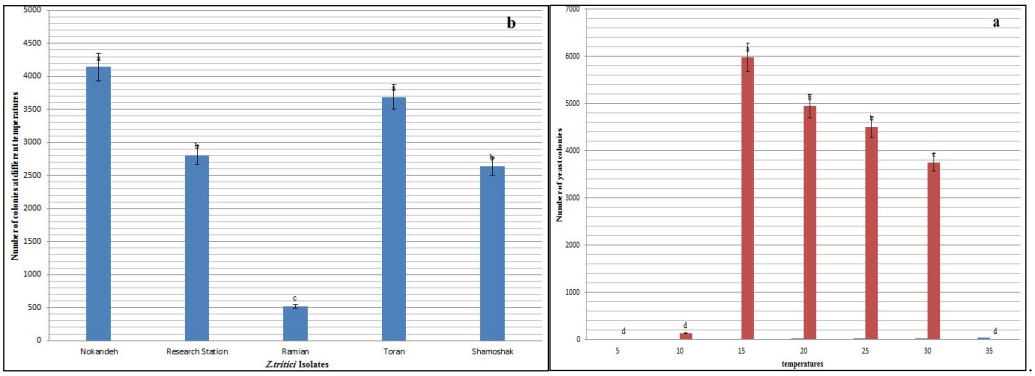
Archive of SID

زرد رنگ مشاهده شد، که این لکه‌ها بسته به میزان حساسیت رقم گسترش یافت. در ارقام خیلی حساس مانند ارقام تجن، ارم، افق، هامون، دز، خزر-۱ و کریم، به تدریج لکه‌ها قهوه‌ای رنگ شده و پس از پیوستن این لکه‌ها به همدیگر، سطح برگ خشک و علائم بافت مردگی ظاهر شد. پس از گذشت ۱۷ روز از زمان مایه‌زنی، پیکنیدیوم‌های قارچ عامل بیماری به صورت نقاط ریز سیاه‌رنگ بر روی لکه‌های نکروزه مشاهده شد (شکل ۱-a). پس از ۲۱ روز از زمان مایه‌زنی یادداشت برداری نهایی ارقام انجام گرفت (Zhang *et al.*, 2001).



شکل ۴- میانگین نحوه رشد ۵ جدایه *Zymoseptoria tritici* در دماهای مختلف.

Fig. 4. Growth average style of 5 *Zymoseptoria tritici* isolates at different temperatures.



شکل ۵- a- میزان تأثیر دما در رشد ۵ جدایه *Zymoseptoria tritici* b- میزان رشد ۵ جدایه *Zymoseptoria tritici* مورد استفاده در این پژوهش، مقایسه میانگین براساس آزمون دانکن (P= 0.05).

Fig. 5. a- Effect of different temperature on 5 *Zymoseptoria tritici* isolates growth, b- The amount of 5 *Zymoseptoria tritici* isolates growth, used in this research, by Duncan's test (P= 0.05)

www.SID.ir

Archive of SID

نتایج حاصل از تجزیه واریانس داده‌ها، نشان داد که میزان مقاومت ارقام گندم و شدت بیماری‌زایی ۵ جدایه قارچ *Z. tritici* به‌طور جداگانه در سطح احتمال ۱ درصد دارای اختلاف معنی‌دار بودند (جدول۳ و۴). هم‌چنین معلوم گردید که برهمکنش میان ارقام گندم و ۵ جدایه *Z. tritici* نیز در سطح احتمال ۱ درصد معنی‌دار بوده و برهمکنش اختصاصی میان جدایه‌های مورد بررسی و ارقام گندم وجود دارد. با انجام مقایسه میانگین پوشش پیکنیدیومی سطح برگ با آزمون دانکن (P=0.05)، میانگین‌های برهمکنش رقم و جدایه در گروه‌های مختلف قرار گرفتند. براساس نتایج گروه‌بندی مقایسه میانگین‌ها، ۳۷ حالت مقاومت اختصاصی رقم نسبت به‌جدایه، در برهمکنش بین ۵ جدایه *Z. tritici* و ارقام گندم شناسایی گردید. ارقام فلات، مهرگان، گاسپار و قابوس با مقاومت در برابر چهار جدایه *Z. tritici* مقاوم‌ترین ارقام، از نظر مقاومت اختصاصی در برهمکنش متقابل بین رقم و جدایه بودند. پس از آن ارقام مروارید و روشن با مقاومت در برابر ۳ جدایه از ۵ جدایه *Z. tritici* در یک گروه قرارگرفتند. براساس روش نمره‌دهی ژانگ و همکاران (Zhang *et al.*, 2001)، چهار رقم قابوس، مهرگان، فلات و روشن به‌ترتیب به‌عنوان مقاوم‌ترین ارقام انتخاب شدند (جدول ٦). در هر دو روش، رقم قابوس با کمترین درصد پوشش کلروز، نکروز و پیکنید سطح برگ به‌عنوان مقاوم‌ترین رقم از بین ٢٦ رقم بررسی شده در این پژوهش تعیین گردید.

در روش برهمکنش بین ۵ جدایه *Z. tritici* و ارقام گندم و هم‌چنین در روش نمره دهی ژانگ و همکاران (Zhang *et al.*, 2001)، رقم تجن به‌عنوان حساس‌ترین رقم از میان ٢٦ رقم انتخاب گردید. این رقم با ٦٦/٦٧ درصد پوشش پیکنیدیومی سطح برگ و با نمره ۷/۸ در روش نمره دهی ژانگ و همکاران (Zhang *et al.*, 2001)، بیشترین درجه حساسیت نسبت به قارچ *Z. tritici* را از خود نشان داد. بر اساس روش برهمکنش بین ۵ جدایه *Z. tritici* و ارقام گندم، ارقام شیرودی، کریم، افلاک، خزر-۱ و آذر-۲ با حساسیت در برابر ٤ جدایه قارچ *Z. tritici* به عنوان ارقام خیلی حساس انتخاب شدند. ارقام آفتاب، گنبد، دز، الموت، زرین، استار و افق با حساسیت در برابر ۳ جدایه قارچ *Z. tritici* دارای حساسیت کمتر نسبت به گروه قبل بودند.

به‌طور کلی براساس روش نمره دهی ژانگ و همکاران (Zhang *et al.*, 2001)، همان‌طور که در جدول ٦ نیز آمده است، از ٢٦ رقم مورد بررسی ٤ رقم مقاوم، ١٤ رقم نیمه مقاوم و ٨ رقم حساس ارزیابی گردیدند.

جدول ۲- تجزیه واریانس میانگین رشد ۵ جدایه *Zymoseptoria tritici* در دماهای مختلف.

Table 1. Analysis of variance of 5 *Zymoseptoria tritici* isolates growth average in different temperatures.

Source of Variable	df	Sum of Squares	Mean of Squares	Signification
Isolate	4	1.641	4.102	P<0.0001
Temperature	6	6.199	1.033	P<0.0001
Temperature×Isolate	24	2.339	9747329.2317	P<0.0001
Error	70	4.8575	693935.6285	
CV			13.9638	

جدول۳- تجزیه واریانس میزان مقاومت ارقام گندم به ۵ جدایه *Zymoseptoria tritici* بر اساس روش نمره دهی (۹-۱)، (Zhang *et al.*, 2001).

Table 3- Analysis of variance of wheat cultivars resistance to 5 *Zymoseptoria tritici* isolates based on the 1-9 scaled (Zhang *et al.*, 2001).

Source of Variable	df	Sum of Squares	Mean of Squares	Signification
Isolate	4	255.964	63.991	P<0.0001
Temperature	25	497.9	19.916	P<0.0001
Temperature×Isolate	100	405.369	4.053	P<0.0001
Error	260	218.666	0.841	
CV			14.556	

www.SID.ir

Archive of SID

جدول٤- تجزیه واریانس میانگین درصد پوشش پیکنیدیومی سطح برگ در ارقام گندم.

Table 4. Analysis of variance of wheat cultivars leaf pycnidium coverage mean.

Source of Variable	df	Sum of Squares	Mean of Squares	Signification
Isolate	4	14681.810	3670.453	P<0.0001
Temperature	25	61711.756	2468.470	P<0.0001
Temperature×Isolate	100	47957.923	479.579	P<0.0001
Error	260	30439.333	111.074	
CV			16.75	

جدول ۵- میانگین درصد پوشش پیکنیدیومی سطح برگ ارقام گندم توسط ۵ جدایه *Zymoseptoria tritici* در این مطالعه.

Table 5. The percentage of wheat cultivars leaf pycnidium coverage mean by 5 *Zymoseptoria tritici* isolates in this study.

Cultivars No. / Isolate		Nokandeh	Research Station	Ramian	Toran	Shamoshak	Average
1	Shiroodi	48.33 ab	48.33 a-d	45 b-e	45 ab	35 c-h	43.33
2	Falat	23.33 b-g	13.33 g-i	18.33 hi	23.33 c-f	0 i	15.66
3	Morvarid	13.33 d-g	5 hi	38.33 b-g	43.33 ab	23.33 g-i	24.66
4	Moghan	3.33 g	41.67 b-f	35 c-h	15.e-h	18.33 hi	22.66
5	Mehrgan	13.33 d-g	16.67 gh	15 ij	16.67 d-h	26.67 f-h	17.66
6	Koohdasht	15 d-g	56.67 ab	43.33 b-e	13.33 e-h	20 hi	29.66
7	Gaspar	11.67 e-g	1.67 hi	21.67 g-i	0 h	28.33 e-h	12.66
8	Karim	53.33 a	53.33 a-c	55 ab	40 a-c	53.33 a-d	50.99
9	Ghaboos	0 g	0 i	0j	21.67 c-f	0 i	4.33
10	Aftab	33.33 a-e	56.67 ab	45 b-e	28.33 b-e	36.67 b-h	40
11	Shahryar	6.67 f-g	48.33 a-d	26.67 e-i	8.33 f-h	51.67 a-e	28.33
12	Gonbad	51.67 a	28.33 e-g	46.67 b-d	36.67 a-c	45 a-g	41.66
13	Roshan	0 g	33.33 df	33.33 d-h	3.33 gh	20 hi	17.99
14	Dez	38.33 a-d	36.67 d-f	43.33 b-e	40 a-c	61.67 a	44
15	Alamot	18.33 c-g	41.67 b-f	45 b-e	18.33 d-g	60 ab	36.66
16	Aflak	20 c-g	41.67 b-f	48.33 a-d	48.33 a	63.33 a	44.33
17	Khazar-1	36.67 a-e	58.33 a	41.67 b-f	48.33 a	63.33 a	49.66
18	Zarin	4 g	41.67 b-f	53.33 a-c	33.33 a-d	61.67 ab	38.8
19	Star	13.33 d-g	35 d-f	41.67 b-f	40 a-c	56.67 a-b	37.33
20	Hamoon	36.33 a-d	26.67 fg	46.67 b-d	26.67 b-e	48.33 a-f	37.33
21	Karaj-1	41.67 ac	38.33 c-f	56.67 ab	0 h	31.67 d-h	33.66
22	Tous	31.67 a-f	41.67 b-f	23.33 f-i	43.33 ab	20 hi	32
23	Azar-2	43.33 a-c	43.33 a-e	55 ab	8.33 f-h	53.33 a-d	40.66
24	Ofogh	43.33 a-c	53.33 a-c	53.33 a-c	36.67 a-c	51.67 a-e	47.66
25	Eram	23.33 b-g	40 c-f	51.67 a-d	13.33 e-h	25 f-h	30.66
26	Tajan	56.67 a	43.33 a-e	66.67 a	40 a-c	65 a	54.33
Average		26.24	36.34	38.4	26.6	39.23	

جدول ۶- واکنش و میزان مقاومت ارقام گندم نسبت به ۵ جدایه *Zymoseptoria tritici* براساس روش مقیاس نمره‌دهی (۱–۹) ژانگ و همکاران (۲۰۰۱).

Table 6. The response and resistance of wheat cultivars to 5 *Zymoseptoria tritici* isolates, based on the 1-9 scale method (Zhang *et al.,* 2001).

Cultivar	Resistance Average	Reaction	Cultivar	Resistance Average	Reaction	Cultivar	Resistance Average	Reaction
Shiroodi	6.9	MR	Aftab	5.8	MR	Star	7.2	MS
Falat	4.9	R	Shahryar	5.3	MR	Hamoon	7	MS
Morvarid	5.2	MR	Gonbad	6.3	MR	Karaj-1	5	MR
Moghan	6.1	MR	Roshan	4.9	R	Tous	6.9	MR
Mehrgan	4.4	R	Dez	7.6	MS	Azar-2	6.7	MR
Koohdasht	5.6	MR	Alamot	6.4	MR	Ofogh	7	MS
Gaspar	5.6	MR	Aflak	6.8	MR	Eram	7.4	MS
Karim	7.3	MS	Khazar-1	7.7	MS	Tajan	7.8	MS
Ghabos	2.7	R	Zarin	6.1	MR			

*-میانگین برهمکنش‌های رقم-جدایه دارای حروف مشترک در هر ستون، بر اساس آزمون دانکن در سطح ۱ درصد تفاوت معنی‌دار ندارند. در هر ستون، میانگین‌های صفر درصد و میانگین‌هایی که حروف مشترک با صفر درصد آلودگی دارند، به‌عنوان مقاومت اختصاصی جدایه در نظرگرفته شده‌اند.

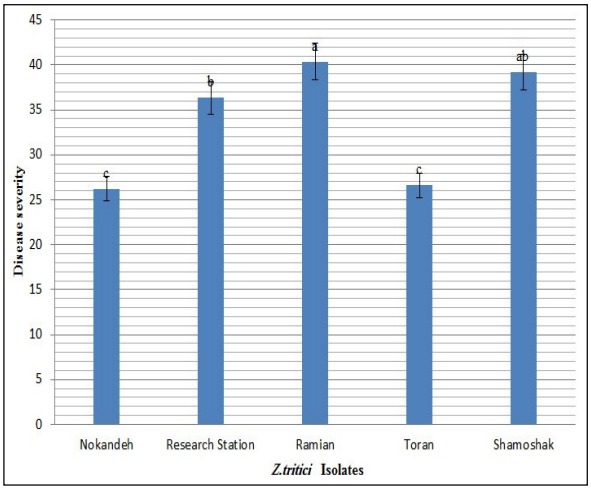
*- Average interactions of the cultivar-isolate have common alphanumeric characters in each column, According to the Duncan test, there is no significant difference in the level of 1%. In each column, Averages of 0 percent and the meanings of the alphabets with zero percent contamination, They are considered as distinct resistance of the isolate.

www.SID.ir

Archive of SID

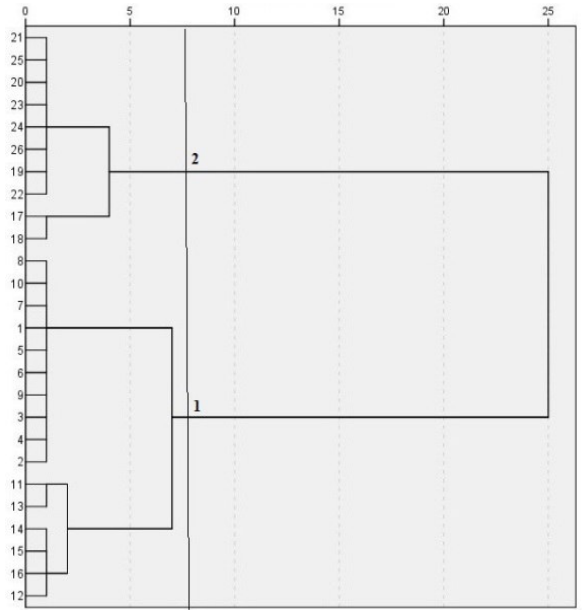
در رابطه با میزان شدت بیماری‌زایی ۵ جدایه *Z. tritici* مورد بررسی بر روی ارقام گندم، نتایج حاصل از تجزیه واریانس داده‌ها نشان داد که شدت بیماری‌زایی جدایه‌ها در سطح احتمال ۱ درصد دارای اختلاف معنی‌دار می‌باشد. براساس مقایسه میانگین انجام شده با آزمون دانکن (P=0.05)، میانگین‌های پنج جدایه قارچ *Z. tritici* در ۳ گروه مختلف قرار گرفتند (شکل ۶). جدایه رامیان با میانگین شدت بیماری‌زایی ۳۸/۹۱ درصد، دارای بیشترین پر آزاری و در گروه اول (a) قرار گرفت. میانگین شدت بیماری‌زایی جدایه شموشک نیز از نظر آماری دارای اختلاف غیر معنی‌دار با میانگین جدایه رامیان بود و هر دو جدایه در یک گروه قرار گرفتند. پس از جدایه‌های رامیان و شموشک، میانگین شدت بیماری‌زایی جدایه ایستگاه در گروه دوم (b) و جدایه‌های توران و نوکنده دارای میانگین شدت بیماری‌زایی کمتر از سایر جدایه‌ها بودند و در گروه سوم (c) قرار گرفتند. از نظر برهمکنش اختصاصی جدایه و رقم، جدایه رامیان با ایجاد بیماری شدید بر روی ۱۷ رقم گندم از ۲۶ رقم، پرآزارترین جدایه و جدایه نوکنده با ایجاد بیماری شدید بر روی ٦ رقم گندم از ۲٦ رقم، دارای کمترین پر آزاری بود.

نتایج تجزیه خوشه‌ای ۲۶ رقم مورد بررسی گندم که براساس میانگین درصد پوشش پیکنیدیوم‌های سطح برگ‌ها انجام شد نشان داد که، ارقام براساس واکنش به ۵ جدایه *Z. tritici* در دو خوشه مجزا قرار می‌گیرند (شکل ۷). در خوشه یک، تعداد ۱۶ رقم قرارگرفت. این ارقام شامل ارقام مقاوم و نیمه مقاوم می‌باشند. این ارقام مقاومت به ۴-۱ جدایه از ۵ جدایه *Z. tritici* را نشان دادند. میانگین آلودگی این ارقام از ۱۸/۳۳-۰ درصد متغیر بود. خوشه دو شامل رقم حساس تجن و ۹ رقم دیگر بود. این ارقام نسبت به ۴-۱ جدایه از ۵ جدایه *Z. tritici* حساسیت شدید نشان دادند. میانگین آلودگی ارقام منتخب در خوشه دو از ۴۰ تا ۶۶/۶۷ درصد متغیر بود (شکل ۷ و جدول ۶).



شکل ۶- شدت بیماری‌زایی ۵ جدایه *Zymoseptoria tritici* بر روی ارقام گندم با استفاده از آزمون چند دامنه‌ای دانکن.

Fig. 6. Disease severity of 5 *Zymoseptoria tritici* isolates on wheat cultivars by Duncan's test.



شکل ۷- دندروگرام حاصل از تجزیه خوشه‌ای ۲۶ رقم گندم، براساس درصد پوشش پیکنیدیومی سطح برگ به‌روش وارد و فاصله اقلیدسی.

Fig. 7. The cluster analysis dendrogram of 26 wheat cultivars, based on leaf pycnidium coverage by Euclidean distance method.

www.SID.ir

Archive of SID

بحث

با توجه به افزایش اهمیت و خسارت بیماری سپتوریای برگی گندم در چند دهه اخیر، که از دلایل آن افزایش سیستم تک کشتی و کشت ارقام حساس می‌باشد (Mehrabi, 2002; Torabi *et al.,* 2002; Dadrezaie & Eslahi 2004; Kia *et al.,* 2006; Mohammad beygi *et al.,* 2014)، استفاده از ارقام مقاوم مورد توجه بیشتر محققین قرارگرفته است. به‌طور کلی استفاده از ارقام مقاوم نه تنها از نظر اقتصادی مقرون به‌صرفه است، بلکه نیاز به‌مصرف سموم شیمیایی و پیامدهای زیست محیطی را نیز کاهش می‌دهد (Kia *et al.,* 2017a,b; Mohammad beygi *et al.,* 2016). باتوجه به تولید نژادهای جدید عامل بیمارگر و افزایش احتمالی پرآزاری و تطابق و سازگاری محیطی بیشتر آن، نیاز به پایش سطح گسترش و وجود آن در مناطق جدید بیشتر احساس می‌گردد. با توجه به پژوهش‌های انجام شده در ایران (Haghdel & Banihashemi, 2003; Khelghatibana *et al.,* 2004; Kia *et al.,* 2006, 2008; Mohammad beygi *et al.,* 2016)، تعداد ارقام مقاوم شناسایی شده بسیار کم می‌باشد. از طرفی سطح همه‌گیری این بیماری و بروز آن در نقاط مختلف کشور، نشان از حساسیت بالای ارقام گندم می‌دهد (Davari *et al.,* 2012). بنابراین انتخاب ارقام مقاوم یک امر ضروری به‌نظر می‌رسد (Kia *et al.,* 2017a). با بررسی و یافتن ژنوتیپ‌های مقاوم و یا متحمل به بیماری، می‌توان با انجام تلاقی آن‌ها با ارقام پر محصول به ارقامی با صفات زراعی مناسب و دارای مقاومت به‌بیماری دست یافت (Van Ginkel *et al.,* 1993; Kia *et al.* 2017a). با کشت این گونه ارقام دورنمای کاهش تراکم زاد مایه عامل بیمارگر و همه‌گیری بیماری در سال‌های آینده در ذهن متبادر می‌گردد. نیل به این مقصود با مطالعه دقیق نحوه پراکنش بیماری در مناطق مختلف با شرایط آب و هوایی متفاوت، شناسایی دقیق عامل بیماری و مطالعه رفتار و برهمکنش آن با میزبان امکان‌پذیر خواهد بود. شناسایی دقیق مکان‌های آلوده جهت مطالعات آتی با استفاده از سامانه‌های ماهواره‌ای و سنجش از دور و نیز شناسایی دقیق عامل بیمارگر با بهره‌گیری از روش‌های نوین مولکولی امروزه قابل انجام گردیده است (Quaedvlieg *et al.,* 2011).

در این پژوهش، مکان‌های دقیق آلودگی مناطق مورد مطالعه شناسایی و ۵ جدایه از مناطقی با شرایط آب و هوایی مختلف انتخاب شد. جدایه‌های مورد بررسی در این پژوهش، در شرایط کنترل شده گلخانه بر روی ارقام نوین و نیز ارقامی نسبتاً قدیمی‌تر (ارقامی که امروزه کمتر کشت می‌گردند، مانند شیرودی، فلات، مغان، گاسپار، خزر-۱، کرج-۱ و توس) جهت یافتن ژنوتیپ‌های دارای ژن مقاومت مورد مطالعه قرارگرفت (شکل ۳). Wenham (1959) و Sanderson (1972)، آب و هوای معتدل با دمای ۲۰ درجه سلسیوس را برای گسترش و بیماری‌زایی قارچ *Z. tritici* مناسب دانسته‌اند. باتوجه به شکل a-۵، در مورد ۵ جدایه *Z. tritici* بیشترین میانگین رشد و کلنی‌زایی این جدایه‌ها در دمای ۱۵ بوده است. دمای ۱۵ درجه سلسیوس از نظر گروه‌بندی انجام گرفته با آزمون دانکن (P=0.05)، در گروه اول (a) قرار دارد. در صورتی که دو دمای ۲۰ درجه سلسیوس و ۲۵ درجه سلسیوس هر دو در گروه دوم (b) قرار داشته و میزان رشد و کلنی‌زایی ۵ جدایه *Z. tritici* در این دو دما کمتر از دمای ۱۵ درجه سلسیوس می‌باشد و می‌توان چنین استنباط نمود که در نتایج این بخش با نتایج Wenham (1959) و Sanderson (1972)، اختلاف وجود دارد.

نتایج این تحقیق نشان داد که قارچ *Z. tritici* در بیشتر شهرستان‌های استان گلستان حضور دارد. این بیماری از نواحی غربی شهرستان کردکوی در غرب استان با آب و هوایی معتدل و نسبتاً سرد، تا نواحی شرقی شهرستان گنبد کاوس و کلاله در شرق استان با آب و هوای معتدل گرم مشاهده گردید. با توجه به جدول ۱، کمترین میانگین حداقل در استان ۹/۸ درجه سلسیوس و بیشترین میانگین حداکثر ۲۲/۹۳ درج سلسیوس می‌باشد. وجود این شرایط دمایی در استان و توانایی رشد ۵ جدایه *Z. tritici* از دمای ۱۰ تا ۳۰ درجه سلسیوس (شکل ۴)، تطبیق عامل بیماری با شرایط

www.SID.ir

Archive of SID

محیطی استان را در ذهن تداعی می‌کند. با توجه به درصد خسارت بیماری در استان که تا حدود ۴۴ درصد گزارش شده است، (Kia *et al.,* 2006) و سطح گسترش کنونی این بیماری (شکل ۳) و حساسیت ارقام (Haghdel & Banihashemi, 2003; Khelghatibana *et al.,* 2004; Kia *et al.,* 2006, 2008; Mohammad beygi *et al.,* 2016)، احتمال خسارت بیشتر و شیوع اپیدمی بیماری با به وقوع پیوستن شرایط دمایی و رطوبتی مناسب ممکن خواهد بود. میزان درصد آلودگی و یا شدت بیماری محاسبه شده در این پژوهش در استان ۱۳/۰۷ درصد و بیشترین میزان حضور بیماری در شهرستان کردکوی با ۳۲ درصد بود، که با نتایج (Kia *et al.,* 2006)، اختلاف داشته و نشان دهنده کاهش بیماری می‌باشد.

همان‌طور که در قسمت نتایج نیز ذکر گردید و در شکل ۳ نیز قابل مشاهده می‌باشد، تراکم بیماری در شهرستان رامیان و حد فاصل شهرستان گرگان و کردکوی بیشتر از مناطق دیگر استان است. باتوجه به جدول ۱، این مناطق دارای میانگین دمای حدوداً ۱۶ درجه سلسیوس، بارندگی حدوداً ۶۵ میلی‌متر و رطوبت نسبی حدوداً ۷۷ درصد در میانگین ۳ ماه اسفند، فروردین و اردیبهشت ۹۵ می‌باشند. لازم به ذکر است که با توجه به وجود دما و رطوبت مناسب، (جدول ۱) این سه ماه مناسب‌ترین زمان برای ایجاد بیماری در استان گلستان است. هر دو منطقه نام برده شده، نزدیک به دامنه کوه بوده و دارای اقلیم مناسب و شرایط بهینه برای ایجاد بیماری می‌باشند. با این تفاسیر می‌توان گفت که، این دو منطقه با توجه به‌نتایج این پژوهش، از مناطق و کانون‌های اصلی ایجاد بیماری می‌باشند.

هم‌چنین نتایج آزمون واکنش دمایی ۵ جدایه *Z. tritici* نشان داد که، در بین مناطق نمونه برداری و جدایه‌ها از نظر واکنش به دما و میزان رشد ارتباط وجود دارد (جدول ۱ و شکل ۴ و ۵). به‌عنوان مثال محل جداسازی جدایه ایستگاه بسیار نزدیک به ایستگاه هواشناسی واقع در فرودگاه گرگان می‌باشد. میانگین دمای حداقل در این ایستگاه هواشناسی ۹/۸ درجه سلسیوس بوده است (جدول ۱). در رابطه با شروع رشد جدایه ایستگاه در شرایط آزمایشگاهی در دمای ۱۰ درجه سلسیوس (شکل ۴) و میزان دمای محل جداسازی آن تطابق وجود دارد. با توجه به جدول ۱ و شکل شماره ۴ مشخص می‌گردد که، دمای بهینه رشد جدایه‌ها با دمای منطقه سازگاری یافته است و مقدار رشد جدایه‌ها بر روی محیط کشت مصنوعی تحت تأثیر افزایش و کاهش دما قرارگرفت. جدایه‌های مناطق معتدل‌تر نیز در هر دو شرایط دمایی دارای نوسان رشد بوده‌اند (شکل ۴). به‌نظر می‌رسد که بین میزان رشد ۵ جدایه *Z. tritici* بر روی محیط کشت، با شدت بیماری‌زایی آن‌ها بر روی میزبان طبیعی رابطه عکس وجود دارد. جدایه رامیان با کمترین میزان رشد در سطح محیط کشت، بیشترین میزان بیماری را روی ارقام مورد آزمایش در گلخانه ایجاد کرد.

(O'Driscoll *et all.,* 2014; Sanchez-Vallet *et all.,* 2015; Kia *et al.,* 2017a)، وجود فرم شبه مخمری قارچ عامل بیماری را در شیوه بیماری‌زایی با اهمیت دانسته و افزایش میزان بیماری و سطح پوشش پیکنید را به فاز نکروتروفی قارچ نسبت داده‌اند. بررسی‌های انجام شده در مورد نحوه رشد ۵ جدایه *Z. tritici* در شرایط آزمایشگاهی نشان داد که، جدایه رامیان دارای مقدار کلنی‌زایی کمتر از بقیه جدایه‌ها بوده و بیشتر از بقیه جدایه‌ها در فاز مخمری باقی ماند. اما ۴ جدایه دیگر *Z. tritici* سریع‌تر از جدایه رامیان از فاز مخمری خارج شده و کلنی‌های آن‌ها شروع به تغییر رنگ، از سفید مایل به کرم به تیره و پس از آن تشکیل کلنی‌های پیکنید مانند سیاه رنگ نمودند (شکل ۱-f). به‌طور کلی کلنی‌های جدایه رامیان مدت ۳ روز بیشتر از کلنی‌های دیگر جدایه‌های *Z. tritici* به‌رنگ سفید مایل به کرم و در حالت مخمری باقی ماندند (شکل ۱-e). جالب آن‌که، جدایه نوکنده که دارای میزان رشد بیشتر از بقیه جدایه‌ها بر روی محیط کشت مصنوعی بود (شکل ۴ و ۵-b)، اما با توجه به شکل ۶، دارای میانگین شدت بیماری‌زایی کمتر از سایر جدایه‌ها بر روی میزبان طبیعی گندم بود و با گروه‌بندی انجام گرفته با آزمون دانکن

www.SID.ir

Archive of SID

(P=0.05) در گروه سوم (c) قرارگرفت. در مورد سایر جدایه‌های *Z. tritici* نیز همان‌طور که در شکل‌های ۴ و b–۵ دیده می‌شود، رابطه بین میزان رشد بر روی محیط کشت مصنوعی و شدت بیماری‌زایی بر روی میزبان طبیعی گندم مشابه دو جدایه نوکنده و رامیان بوده است.

باتوجه به بررسی‌های انجام گرفته، این بیماری در مناطق مختلف جغرافیایی استان حضور دارد. بیماری در دامنه شمالی رشته کوه البرز با زمستان سرد مانند منطقه شموشک در شهرستان کردکوی، در مناطق گرم‌تر و با میانگین بارش کمتر مانند علی‌آباد و شمال شهرستان گنبد و هم‌چنین در مناطق مرکزی مانند شهرستان گرگان دیده شد. بنابراین در پژوهش‌های آینده، تعیین محدوده دقیق آلودگی و نحوه گسترش عامل بیماری در سطح استان با استفاده از سامانه GIS لازم خواهد بود. هم‌چنین توصیه می‌شود که، پایش بیماری در ۳ ماه اسفند، فروردین و اردیبهشت در مناطق کانون آلودگی جهت پیش آگاهی بروز آن صورت گیرد. ارزیابی دوره‌ای ارقام مورد کشت کنونی و نیز معرفی ارقام مقاوم جدید به واحدهای اصلاح نباتات ضروری می‌باشد.

سپاسگزاری

بدین‌وسیله از زحمات و همکاری‌های ارزنده آقایان دکتر شعبان کیا عضو هیات علمی مرکز تحقیقات کشاورزی و منابع طبیعی گرگان و دکتر خلیل زینلی‌نژاد عضو هیات علمی گروه بیوتکنولوژی و اصلاح نباتات دانشکده تولید گیاهی دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی گرگان تشکر و قدردانی می‌گردد.

References

DAVARI, M. ABRIN BANA, M. ASGHARI ZAKARIA, R. and ARZANLO, M. 2012. Evaluation of resistance of wheat cultivars to *Mycosphaerella graminicola* isolates in Moghan at seedling stage in greenhouse conditions. Iranian Journal of Plant Protection Science, 43: 379-389.

DESMAZIERES, J. B. H. J. 1842. Neuvieme notice sur quelques plants Cryptogames. Ann. Sci. Nat. II, 16: 91:118.

EYAL, Z. SCHAREN, A. L. PRESCOTT, J. M. and VAN GINKEL, M. 1987. The *septoria* diseases of wheat: concepts and methods of disease management. Mexico, D. F.: CIMMYT. 46 pp.

EYAL, Z. 1999. The *Septoria tritici* and *Stagonospora nodorum* blotch diseases of wheat. European Journal of Plant Pathology, 105:629-641.

FONES, H. GURR, S. 2015. The impact of Septoria tritici blotch disease on wheat: An EU perspective. *Fungal Genet Biol*, 79: 3–7.

GILCHRIST, L. GOMEZ, B. GONZALEZ, R. FUENTES, S. MUJEEB- KAZI, A. PFEIFFER, W. RAJARAM, S. RODRIGUEZ, R. SKOVMAND, B. VAN GINKEL, M. and VALEZQUEZ, C. 1999. *Septoria tritici*

BRADING, P. A. VERSTAPPEN E. C. P. KEMA, G. H. J. and BROWN, J. K. M. 2002. A gene-for-gene relationship between wheat and *Mycosphaerella graminicola*, the septoria tritici blotch pathogen. Phytopathology, 92: 439-445.

BROWN, J. K. M. CHARTRAIN, L. LASSERRE-ZUBER, P. and SAINTENAC, C. 2015. Genetics of resistance to *Zymoseptoria tritici* and applications to wheat breeding. *Fungal Genet Biol* 79: 33–41.

CHARTRAIN, L. BRADING, P. A. MAKEPEACE, J. C. and BROWN, J. K. M, 2004. Sources of resistance to *Septoria tritici* blotch and implications for wheat breeding. Plant Pathology, 53: 454 – 460.

CROLL, D. LENDENMANN, M. H. STEWART, E. and MCDONALD, B. A. 2015. The impact of recombination hotspots on genome evolution of a fungal plant pathogen. *Genetics,* 201: 1213–1228.

DADREZAIE, S. T. and ESLAHI, R. 2004. Evaluation of resistance in some wheat cultivars and advanced lines to leaf Rust and Septoria Leaf Blotch in Khuzestan province p. 10.

www.SID.ir

Archive of SID

resistace sources and breeding progress at CIMMYT, 1970-99. pp. 134-139. In: Van Ginkel, M. McNab, A. and Krupinsky, J.(eds.), Septoria and Stagospora Diseases of Cereals. A Compilation of Global Research. CIMMYT, Mexico, D. F., Mexico.

GOODWIN, S. B. MCDONALD, B. A. and KEMA, G. H. J. 2003. The Mycosphaerella sequencing initiative. pp.149-151. In: Kema, G. H. J. van Ginkel, M. Harrabi, M.(eds.). Global Insights into the Septoria and Stagonospora Diseases of Cereals: Proceedings of the Sixth International Symposium on *Septoria* and *Stagonospora* Diseases of Cereals, Tunis, Tunisia.

HALAMA P. 1996. The occurrence of Mycosphaerella graminicola, teleomorph of Septoria tritici in France. Plant Pathology, 45: 135–138.

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

JORGE, O. G. JORGE, D. and LUIS, E. A. C. 2004. Aggressiveness and physiological specialization of *Septoria tritici* Rob. isolates. Sci. Agric. Piracicaba, Braz, 61: 414-421.

KHELGHATIBANA, F. and DADREZAIE, S. T. 2004. Evaluation of synthetic hexaploid wheat lines for resistance to *Septoria tritici* in field. Proceedings of the 16th Iranian Plant Protection Congress, Tabriz p. 12.

KNOTT, E. A. and MUNDT, C. C. 1989. Latent period and infection efficiency of *Puccinia recondita f.sp. tritici* populations isolated from different wheat cultivars. Phytopathology, 81: 435-439.

KOMIJANI, S. RAZAVI, M. AMINIAN, H. and ETEBARIAN, H. R. 2008. Study on mating types of *Mycosphaerella graminicola* causative agent of septoria leaf blotch of wheat using molecular markers and its importance in Iran. Journal of Applied Entomology and Phytopathology, 2:1-14.

KOLE, C. and TIMOTHY, C. 2008. Compendium of transgenic crop plants. Transgenic cereals and forage grasses. Wiley-Blackwell Publishing Ltd. ISBN. 978-1405-169240.

KIA, SH. TORABI, M. and NAZARI, K. 2006. Evaluation of resistance to Septoria Leaf Blotch in wheat lines and cultivars. Proceedings of the 17th Iranian Plant Protection Congress, Karaj p. 3.

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

KIA, SH. RAHNAMA, K. SOLTANLOO, H. BABAEIZAD, V. AGHAJANI, M.A. 2017a. Effectiveness of Resistance Genes to *Septoria tritici* Blotch (*Stb*) in Differential Cultivares of Wheat against *Zymoseptoria tritici* Isolates. Journal of Applied Rsearches in Plant Protection, 6:109-123.

KIA, SH. RAHNAMA, K. SOLTANLOO, H. BABAEIZAD, V. AGHAJANI, M. A. 2017b. Identification of Resistance Sources to *Septoria tritici* Blotch with Causal Agent *Zymoseptoria tritici* in Bread Wheat Genotypes. Journal of Agricultural Biotechnology, 10:51-67.

MCDONALD, B.A. MUNDT, C.C. 2016. How knowledge of pathogen population biology informs management of Septoria tritici blotch. *Phytopathology*, 106: 948–955.

MEHRABI, R. 2002. Evaluation of tetraploid wheat accessions of *Triticum turgidum* to septoria leaf blotch (*Mycosphaerella graminicola*) disease. Proceedings of the 15th Iranian Plant ProtectionCongress, Kermanshah p. 26.

MINASIAN, V. and ALIZADEH, A. 1989. Imprefect Fungi. Shahid Chamran University press, p.457 (in Persian).

Mohammad Doust Chamanabad, H. Nouri Ghanbalati, G. Asghari, A. and Nouri Ghanbalati, A. L. 2010. Wheat from Production to Consumption. Jihad-e-Daneshgahi of Ardebil Publications, Ardebil, Iran (in Persian).

MOHAMMAD BEYGI, A. ROOHPARVAR, R. and TORABI, M. 2014. Resistance sources in selected

www.SID.ir

Archive of SID

wheat genotypes to septoria leaf blotch disease. Seed and Plant Improvement Journal, 3: 605-621.

MOHAMMAD BEYGI, A. ROOHPARVAR, R. and TORABI, M. 2016. Genetic variation of virulence in Iranian isolates of *Mycosphaerella graminicola* using wheat differential cultivars. Journal of Applied Entomology and phytopathology, 84: 43-54.

MURRAY, M. and THOMPSON, W.F. 1980. Rapid isolation of high molecular weight plant DNA. Nucleic Acids Research, 8: 4321-4325.

NAROEE, P. MOZAFARI, J. ZAMANIZADE, H. and KHELGHATIBANA, F. 2006. Evaluation of Iranian tetraploid wheat landraces for resistance to septoria leaf blotch disease. Proceedings of the 17th Iranian Plant Protection Congress, Karaj p. 2.

O'DRISCOLL, A. KILDEA, S. DOOHAN, F. SPINK, J. and MULLINS, E. 2014. The wheat–Septoria conflict: a new front opening up? *Trends Plant Sci*, 19: 602–610.

PALMER, C. L. and SKINNER, W. 2002. *Mycosphaerella graminicola*: latent infection, crop devastation and genomics. Molecular Plant Pathology, 3: 63-70.

QUAEDVLIEG, W. KEMA, G. H. J. GROENEWALD, J. Z. VERKLEY, G. J. M. SEIFBARGHI, S. RAZAVI, M. MIRZADI GOHARI, A. MEHRABI, R. and CROUS, P. W. 2011. *Zymoseptoria* gen. nov.: a new genus to accommodate *Septoria*-like species occurring on graminicolous hosts. Persoonia, 26: 57–69.

SANCHEZ-VALLET, A. MCDONALD, M. C. SOLOMON, P. S. MCDONALD, B. A. 2015. Is *Zymoseptoria tritici* a hemibiotroph? *Fungal Genet Biol*, 79: 29–32.

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

SANDERSON, F. R. 1976. *Mycosphaerella graminicola* (Fuckel) Sanderson comb. nov., the ascogenous state of *Septoria tritici* Rob. apud Desm. New Zealand Journal of Botany, 14: 359-60.

SHARIFI TEHRANI, A. FARZANEH, M. AFSHARI, F. BEHBODI, K. KELENFEV JER, A. PECHI TAR, M. KEEL, C. MASCHER, F. 2011. Investigation of *Pseudomonas fluorescens* CHA0 mcherry on root colonization of wheat cultivars and induction resistance against brown wheat rust. Iranian Journal of Plant Protection Science, 42: 85-94.

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

SIMON, M.R. CORDO, C.A. CASTILLO, N. S. STRUIK, P.C. and BORNER, A. 2012. Population structure of Mycosphaerella graminicola and location of genes for resistance to the pathogen: recent advances in Argentina. International Journal of A gronomy, 2012: 1-7.

SIVANESAN, A. 1990. *Mycosphaerella graminicola*. CMI Descriptions of Pathogenic Fungi and Bacteria, 986: 1-2.

SUFFERT, F. SACHE, I. LANNOU, C. 2011. Early stages of septoria tritici blotch epidemics of winter wheat: build-up, overseasoning, and release of primary inoculum. *Plant Pathol*, 60: 166–177.

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

TORABI, M. POURALIBABA, H. R. DEHGHAN, M. A. and DADREZAI, S. T. 2002. Evaluation of resistance of advanced dryland wheat lines at seedling and adult stages against septoria leaf blotch in different parts of Iran. Proceedings of the 15th Iranian Plant Protection Congress, Kermanshah p. 6.

VAN GINKEL, M. and RAGARAM, S. 1993. Breeding for durable resistance in wheat an international perspective. In Jacobs Th. Parlevliet J.E. (Eds.). Durability in disease resistance. Kluwer Academic Publisher, Durdrecht Boston London, PP 259-272.

VERKLEY, G. J. M. QUAEDVLIEG, W. SHIN H.-D. and CROUS, P.W. 2013. A new approach to species delimitation in Septoria. Studies in Mycology, 75: 213–305.

WENHAM, H. T. 1959. Studies on septaria leaf blotch disease of wheat (*Triticum aestivum* L.) caused by *Septoria tritici* Desm., New Zealand .Journal of Agricultural Research, 2: 208-213.

www.SID.ir

Archive of SID

ZHANG, H. HALEY, S. D., and JIN, Y. 2001. Inheritance of septoria tritici blotch resistance in winter wheat. Crop Science, 41: 323-326.

www.SID.ir