Archive of SID

بیماریهای گیاهی، جلد ٤١، ١٣٨٤

پایداری و تعیین دامنه میزبانی *Mycosphaerella graminicola* عامل سپتوریوزبرگی گندم*

Survival and host range of *Mycosphaerella graminicola* ,the causal agent of Septoria leaf blotch of wheat

معصومه حقدل، ضیاءالدین بنی‌هاشمی**

بخش گیاهپزشکی، دانشکده کشاورزی دانشگاه شیراز

دریافت ١٣٨٣/٩/١٦ پذیرش ٨٤/٤/٢٩

چکیده

پایداری *Mycosphaerella graminicola* عامل سپتوریوز گندم در شرایط طبیعی و در شرایط آزمایشگاه مورد بررسی قرار گرفت. برگهای آلوده گندم حاوی پیکنیدیوم عامل بیماری در اعماق مختلف خاک (٠-١٠-٢٠-٣٠ و ٤٠ سانتی‌متری) در مزرعه قرار داده شدند. پیکنیدیوسپورها در سطح خاک قدرت جوانه‌زنی خود را بعد از گذشت ٨ ماه کاملاً از دست دادند ولی در اعماق مختلف خاک با کلونیزه شدن برگ‌ها توسط قارچ‌های پوده‌زی پیکنیدیوم‌ها در کمتر از دو ماه از بین رفتند. در دمای ٥ °C-٤ در شرایط کنترل شده آزمایشگاه بعد از ٢٥ ماه قدرت جوانه‌زنی اسپورهای قارچ به ١٨ تا ٢٠ درصد رسید. جهت تشکیل فرم جنسی در شرایط طبیعی، بوته‌های گندم آلوده به سپتوریوز بعد از برداشت در هوای آزاد قرار

* بخشی از پایان‌نامه کارشناسی ارشد نگارنده اول ارایه شده به دانشگاه شیراز

** مسئول مکاتبه

www.SID.ir

Archive of SID

داده شد. مشخصات مورفولوژیکی فرم جنسی تولید شده با مشخصات *Mycosphaerella graminicola* گزارش شده توسط محققین دیگر مطابقت داشت ولی به علت عدم تندش آسکوسپورها اثبات بیماریزایی میسر نگردید. تلاش برای تشکیل فرم جنسی در شرایط آزمایشگاهی موفقیت‌آمیز نبود. از بذرهای جمع‌آوری شده مزارع گندم آلوده به سپتوریوز، قارچ عامل بیماری به‌ندرت جداسازی گردید. جهت تعیین دامنه میزبانی و نقش علف‌های‌هرز در پایداری عامل سپتوریوز گندم، در شرایط گلخانه گیاهانی چون *Avena fatua*، *Digitaria lunguinalis* ، *Bromus sterlis*، *Agropyron repens*، *Aegilopes crassa*، *A. ludviciana* ، *Poa annua* ، *Phalaris minor*، *Lolium rigidum*، *H. spantaneum* ، *Hordeum murinum*، *Secale cereale* ، *Setaria viridis*، جو زراعی رقم ریحانه و ذرت رقم Sc704 که تعدادی از آنها علف‌های‌هرز گرامینه مزارع گندم می‌باشند با جدایه‌های سپتوریوز گندم (10^7 اسپور در میلی‌لیتر) مایه‌زنی گردیدند. چهل روز بعد از مایه‌زنی، در برگ‌های خشک و پیر دو گیاه *L.rigidum* و *S. cereale* پیکنیدیوم‌های قهوه‌ای و ریز مشاهده گردید که روی گیاه گندم بیماریزا بودند و *L.rigidum* به‌عنوان میزبان جدید برای ایران گزارش می‌گردد. در شرایط مزرعه بر روی هیچ یک از علف‌های‌هرز بررسی شده علائم سپتوریوز مشاهده نگردید.

واژهای کلیدی: *Septoria tritici*، گندم، دامنه میزبانی، پایداری

مقدمه

جنس *Septoria* دارای بیش از ۲۰۰۰ گونه می‌باشد. برخی گونه‌ها بر روی غلات و گیاهان زراعی لکه برگی ایجاد می‌کنند که مهمترین گونه از نظراقتصادی *Septoria tritici* Rob. Ex Desm. در روی spp. *Triticum* می‌باشد (Cunfer & Ueng 1999, Eyal *et al*. 1987).

منبع اولیه آلودگی *S. tritici* در مناطق مختلف، کاه وکلش گندم حاوی پیکنیدیوم و پیکنیدیوسپورها گزارش شده است (Wenham 1959, Sanderson & Hampton 1978). در گزارشهای محققین، زنده بودن پیکنیدیوسپورهای موجود در سطح کاه وکلش های گندم از ۳ تا ۱۸ ماه تخمین زده شده است (Brokenshire 1975c, Hilu & Bever 1957, Wenham 1959,

www.SID.ir

Archive of SID

Weber 1922). نوع رقم گندم، کاه و کلش مربوط به آن و شرایط محیطی که در آن پیکنیدیوم به‌وجود آمده و پایدارمانده است، در اسپورزایی و طول دوره آزاد سازی اسپورها تاثیر دارد (Brokenshire 1975c). آلودگی سنبله‌های گندم به *S. tritici* اولین بار در هند مشاهده گردید و بروکن شایر در تحقیقات خود با مایه‌زنی گندم در مرحله قبل از گلدهی، توانست سنبله‌ها را به *S. tritici* آلوده کند. او متوجه شد که بیمارگر زیر پوشش دانه‌ها قرار دارد، اما نتوانست با کاشت دانه *T.dicoccum* آلوده به *S. tritici* گیاهچه‌های آلوده به دست آورد و نتیجه‌گیری کرد که علیرغم وجود قارچ در دانه‌های گندم ممکن است شرایط محیطی برای انتقال موفقیت‌آمیز این بیمارگر اثر مهمی داشته باشد (Brokenshire 1975b). انتشار و انتقال موفق *Stagonospora nodorum* (Berk) Cast. and Germ. توسط بذرهای آلوده گندم در بسیاری از مناطق دنیا، نیز وابسته به دوره بارندگی در طول فصل زراعی است (Millus & Chakley 1997, Holmes & Colhoun 1974). میزبان‌های ثانوی در صورتی که توانایی اسپورزایی بالایی را داشته و قادر به ایجاد آلودگی در گندم باشند در همه‌گیرشناسی *S. tritici* نقش مهمی را بازی می‌کنند و می‌توانند به عنوان یک منبع اولیه از مایه قارچ برای فصل بعد، به خصوص در هنگامی که گندم در تناوب با محصولات دیگر کاشت می‌شود، عمل کنند (Eyal 1999, Williams & Jones 1973). میزبان‌های متفاوتی از گراس‌ها برای *S. tritici* گزارش شده است. این میزبان‌ها شامل *Agropyron* spp., *Agrostis* spp. ، *Bromus* spp. ، *Brachypodium* spp. ، *Dactylis* spp. ، *Festuca* spp. ، *Glyceria* spp. ، *Hordeum* spp. ، *Poa* spp. ، *Secale cereale* L. و *Triticum* spp. می‌باشد (Eyal 1999). این در حالی است که *هیلو و بور* (Hilu & Bever 1957) و *ون‌هام* (Wenham 1959) تعداد زیادی از گونه‌های گرامینه را با *S. tritici* مایه‌زنی کردند اما هیچ آلودگی به دست نیاورده و گزارش دادند که *S. tritici* به صورت اختصاصی بر روی گونه‌های *Triticum* و رقم‌های آن ایجاد آلودگی می‌کند. *وبر* (Weber 1922) در مایه‌زنی تقاطعی جدایه‌هایی از گندم، چاودار و *Poa pratensis* L. توانست بر روی ده گونه یا زیر گونه از *Secale cereale*, *Poa pratensis* و *Triticum* ایجاد آلودگی کند. *ویلیامز و جونز* (Williams & Jones 1973) در آزمایش‌های خود به این نتیجه رسیدند که شرایط محیطی قبل و بعد از مایه‌زنی در عکس‌العمل گراس‌ها نسبت به بیمارگر

www.SID.ir

Archive of SID

تاثیر دارد.

در ایران گسترش سپتوریوز گندم از سال ۱۳٤٤ به بعد با کشت ارقام مکزیکی افزایش یافت. گزارش‌های متعددی در رابطه با بیماری در مناطق مختلف و با شدت‌های متفاوت وجود دارد. ترابی با نمونه‌گیری از مزارع گندم استان‌های خوزستان، گرگان، مازندران، آذربایجان‌شرقی، کرمانشاه، مغان، خراسان، فارس، کرمان، سیستان وبلوچستان و مرکزی در زمستان و بهار و بررسی آنها، عامل سپتوریوز گندم در مناطق مختلف ایران را *Septoria tritici* معرفی کرد و نتوانست گونه‌ای دیگر از جنس *Septoria* در گندم پیدا کند (Torabi 1980). این در حالی است که *ابراهیمی و میناسیان* *Septoria nodorum* (Ebrahimi & Minassian 1973) را از روی سنبله‌ها و گره‌های ساقه گندم در استان خوزستان گزارش دادند و *آقاجانی* و همکاران در سال ۱۳۸۱ پیکنیدیوم‌ها و پریتیسیوم‌های *Stagonospora nodorum* را از مزارع گندم استان گلستان جداسازی کردند (Aghajani *et al*. 2002).

تحقیق حاضرنتایج بررسی‌هایی است که جهت شناسایی دامنه میزبانی *S. tritici* در شرایط گلخانه، نحوه پایداری وتشکیل فرم جنسی در شرایط مزرعه و آزمایشگاهی، در استان فارس صورت گرفته است وخلاصه‌ای از آن قبلاً ارائه گردیده است (Haghdel & Banihashemi 2002).

روش بررسی

پایداری قارچ عامل بیماری

شرایط مزرعه: برگ‌های آلوده گندم با علائم شدید آلودگی که دارای پیکنیدیوم‌های قارچ عامل بیماری بودند در سطح و اعماق مختلف (۱۰-۲۰-۳۰ و ٤۰ سانتی‌متری) خاک مزرعه قرار داده شدند. برگ‌های آلوده در سطح خاک با شبکه توری محصور گردیدند، تا از پخش آنها توسط عوامل طبیعی جلوگیری شود. بعد از انتقال ماهیانه نمونه‌ها به آزمایشگاه، برگ‌ها بر روی لام شیشه‌ای دریک تشتک پتری حاوی کاغذ صافی مرطوب و سترون قرار داده شدند. برای جلوگیری از آلودگی‌های جانبی و حفظ رطوبت، تشتک‌ها درون ظرف سترون گذاشته و در

www.SID.ir

Archive of SID

انکوباتور ۲۵ºC نگهداری شدند. بعد از تراوش پیکنیدیوم‌ها، با انتقال فتیله‌ها به لوله‌های حاوی آب مقطر سترون، سوسپانسیون $۱۰^{۷}$ اسپور درمیلی‌لیتر تهیه شد. بعد از ریختن سوسپانسیون اسپور روی تشتک‌های حاوی محیط آب آگار ۲٪ ، تشتک‌ها در تاریکی و دمای ۲۵ ºC قرارگرفتند. بعد از ۲٤ ساعت با شمارش صد اسپور، درصد جوانه‌زنی تعیین و سپس آزمون بیماریزایی بر روی گندم انجام گردید.

شرایط آزمایشگاهی: برگ‌های آلوده گندم با علائم شدید آلودگی که دارای پیکنیدیوم‌های قارچ عامل بیماری بودند در دمای C ° ٤ قرار داده شدند. سپس به صورت ماهیانه درصد زنده ماندن پیکنیدیوسپورها و آزمون بیماریزایی ما نند روش فوق انجام گرفت.

بررسی امکان انتقال عامل بیماری با بذر

روش شستن بذر: از مزارع آلوده به سپتوریوز گندم و گیاهان آلوده در گلخانه، یک گرم بذر (دارای پیکنیدیوم و بدون پیکنیدیوم) جمع‌آوری شده و با دو روش ضدعفونی در هیپوکلریت‌سدیم ۰/۰۵ درصد و بدون ضدعفونی به‌صورت جداگانه، با ۸ تا ۱۰ میلی‌لیتر آب مقطر سترون، همراه با مقدار کمی مواد پاک‌کننده در درون فلاسک ریخته شده و بر روی دستگاه لرزا (Shaker) به مدت ۳۰ دقیقه قرارداده شد. سوسپانسیونی که در این روش به دست آمد بر روی محیط‌کشت سیب‌زمینی – دکستروز – آگار(PDA) و عصاره مخمر – مالت – آگار (YMA) مخطط شد تا در صورت وجود پرگنه‌های قارچ با مقایسه آن با کشت‌های اصلی *Septoria* از وجود عامل بیماری بر روی بذرها اطمینان حاصل گردد.

روش کشت مستقیم بذور در محیط کشت: در این روش بذرهای تهیه شده از مزارع آلوده و گیاهان آلوده گلخانه (دارای پیکنیدیوم و بدون پیکنیدیوم) با و بدون ضدعفونی سطحی، مستقیماً بر روی تشتک‌های پتری حاوی PDA و YMA گذاشته شده تا در صورت رشد پرگنه‌های قارچ اطراف بذرها با کشت‌های اصلی قارچ سپتوریا مقایسه گردند.

روش کشت مستقیم بذور در خاک: بذرهای گندم تهیه شده مانند روش قبل درون گلدان‌های سترون با خاک سترون کشت گردیده و در شرایط مرطوب و با دمای C ° ۳ ±۲۱ قرار گرفتند. در این آزمایش بعد از سبز شدن بذور گندم، گیاهچه‌ها با دستگاه مه‌پاش مرطوب نگه داشته شدند و تا ۳۰ روز بعد از سبز شدن بذرها، گیاهچه‌ها از لحاظ علائم بیماری مورد بررسی قرار گرفتند.

www.SID.ir

Archive of SID

روش کشت مستقیم بذور درآب- آگـار: بذرهای گندم تهیه شده مانند روش قبل، داخـل لولـه‌هـای آزمایش حاوی ۱۵-۱۰ میلی‌لیتر آب آگار ۲٪ کشت داده شدند. در هر لوله یک بذر گذاشـته و در انکوباتور با دمـای C ۲۰° و در تـاریکی بـه مـدت ۲٤ سـاعت نگهـداری شـدند. بعـد از جوانه‌زنی بذرها، لوله‌ها به ژرمیناتور (محفظهٔ رشد) بـا دمـای C °۱±۱۸ ، رطوبـت نسـبی ٦٥ درصد و تناوب نوری ۱۲ ساعت تاریکی و۱۲ ساعت روشنایی انتقال یافته و بعد از ۲۱ تـا ۳۰ روز مورد مطالعه قرار گرفتند.

بررسی تشکیل فرم جنسی *Mycosphaerella graminicola*

در شرایط طبیعی کمی قبل از برداشت گندم، گیاهان بـا علائـم شـدید آلـودگی کـه دارای پیکنیدیوم های قارچ عامل بیماری بودند همراه با ریشه از خاک بیرون آورده شدند و در هـوا خشک گردیدند. سپس بوته‌های گندم موجود درکیسه‌های توری (بـرای جلـوگیری از پخـش بافت‌های آلوده توسط باد و عوامل طبیعی) بوسیله سیم در دو منطقه باجگاه در هوای آزاد، بـه صورت عمودی قرار گرفتند. نمونه‌هایی از برگ پرچم، برگ‌های پایینی و غلاف برای مشاهده اندام‌های جنسی قارچ (آسک و آسکوسپورها) مورد بررسی قرار گرفتند (Scott *et al.* 1988).

در شرایط آزمایشگاه، بوته‌های گندم آلوده در کیسه‌های توری در دمای C ° ٤ و دمای اتاق نگهداری گردیدند، نمونه‌هایی از برگ‌های پرچم، برگ‌های پایینی و غـلاف‌هـا جهـت تولیـد اندام‌های جنسی قارچ (آسک و آسکوسپورها) مورد بررسی قرار گرفتند.

در سطح مزرعه، در هنگام بازدید از مزارع گندم آلـوده بـه سـپتوریوز در منـاطق مختلـف استان فارس، کاه و کلش‌های باقیمانده از سال‌های قبل در سطح مزارع جمع‌آوری و از لحـاظ مشاهده اندام‌های جنسی قارچ (آسک و آسکوسپورها) مورد بررسی قرار گرفت.

تعیین دامنه میزبانی *Septoria tritici*

شرایط مزرعه: در این روش، هنگام بازدید از مزارع آلوده گندم در مناطق مختلف استان فـارس، علف‌های‌هرز گرامینه موجود، از لحاظ علائم سپتوریوز مورد بررسی قرار گرفتند و از گیاهان مشکوک نمونه‌برداری به‌عمل آمده و جهت مطالعه به آزمایشگاه انتقال یافتند.

شرایط گلخانه: در این بررسی تعدادی از گیاهان زراعی و علف‌های هرز گرامینـه مـزارع گنـدم (جدول- ۱) با *S. tritici* مایه‌زنی گردیدند. هر کدام از گیاهـان در سـه تکـرار در گلـدان‌هـای

www.SID.ir

Archive of SID

پلاستیکی با خاک مناسب (خاک بکر+خاک بـرگ بـه نسـبت ۱:۲) و زهکـش مناسـب تحـت شرایط گلخانه‌ای کشت گردیدند. بذرهای علف‌هرز که جهت جوانه‌زنی به مـدت ٤٨ سـاعت در دمای ٤ °C قرار داده شده بودند، در سطح خاک گلدان‌ها که قبلاً خیس شده بودند به آرامی قرار گرفته و بر روی آنها خاک نرم الک شده ریخته شد. آبیاری گلدان‌ها تا قبل از سبز شـدن بذرها از طریق ظروف زیر گلدان انجام گرفت. مایه‌زنی گیاهان مذکور با سوسپانسیونی شـامل 10^{7} اسپور در میلی‌لیتر انجام گرفت. بعد از مایه‌زنی، گیاهان به مدت ۹٦ ساعت در محفظه‌های پلاستیکی که در آن دستگاه مه‌پاش، رطوبت بالای ۸۰ درصد را تامین می‌کـرد، قـرار گرفتـه و سپس به گلخانه انتقال یافتند. میزان دما در محفظه مرطوب و گلخانه ۳ ± ۲۱ °C بود. گیاهان مذکور از لحاظ ایجاد علائم بیماری بطور مرتب مورد بررسی قرار گرفتند.

جدول ۱- علف‌های هرز و گیاهان زراعی مورد استفاده درتعیین دامنه میزبانی *Septoria tritici*

Table1. Weeds and field crops used for host range of *Septoria tritici*

Scientific name	اسامی فارسی
Aegilopes crassa Boiss.	چمن بز
Agropyron repens (L.)Beauv.*	بید گیاه
Alopecurus myosuroides Huds.	دم روباهی کشیده
Avena fatua L.	یولاف وحشی
Avena ludviciana Dur.	جو دو سر
Bromus sterilis L.	گیامستک(لاش)
Cynodon dactylon(L.)Pers.	مرغ
Digitaria sanguinalis(L.)Scop.	پنجه مرغی
Festuca sp.**	فستوک
Hordeum vulgare L. **	جو زراعی

www.SID.ir

Archive of SID

Table 1. (contined) جدول ۱- (ادامه)

Hordeum murinum L.	جو موشی
Hordeum spontaneum C.Koch.	جو دره
Lolium rigidum Gaud.	چچم
Phalaris minor Retz.	خونی واش
Poa annua L.	چمن یکساله
Secale cereale L.	چاودار
*Setaria viridis (*L) Beauv.	ارزن وحشی
Zea mays L.**	ذرت

* خراش‌دهی همراه با سرمادهی *.Stratification and Scarification

** بدون تیمار قبل از جوانه‌زنی ** No seed treatment before germination

شرایط کنترل شده آزمایشگاهی: در این بررسی گونه‌هایی چون چمن یکساله، جو موش، چاودار، چچم، گیامستک، دم روباهی کشیده، بیدگیاه و فستوک (*Festuca* sp.) با روش قبلی در گلدان کشت گردیدند. بعد از رشد گیاهان قطعات برگی ۳ تا ٤ میلی‌متری از گیاهچه‌های ۱۰ تا ۱۵ روزه جدا شده و در شرایط سترون در تشتک‌های پتری حاوی آب آگار ۲٪ همراه با ppm ۵۰ بنزیمیدازول و ppm ۲۵۰ کلرامفنیکل در دو تکرار قرار داده شدند. قطعات برگ توسط قلم مو با سوسپانسیون اسپور مایه‌زنی گردیدند. تشتک‌های پتری حاوی قطعات برگ مایه زنی شده به دستگاه ژرمیناتور (محفظه‌رشد) با دمای C ° ۲۵ ، رطوبت نسبی ٦۳ درصد و تناوب نوری ۱۲ ساعت روشنایی انتقال یافته و بطور مرتب از لحاظ ایجاد علائم بیماری مورد بررسی قرار گرفتند.

نتیجه

پایداری قارچ عامل بیماری

پیکنیدیوسپورهای بافت‌های آلوده در ابتدای آزمایش قدرت جوانه زنی ۹۶/۱٦-۹۰/۵۸

www.SID.ir

Archive of SID

درصد در سطح خاک داشتند. در بررسی ماهیانه از وضعیت قارچ مشخص گردید که اسپورها بعد از گذشت ٦ ماه در سطح خاک قدرت جوانه‌زنی خود را تا حدود ٤ تا ٨ درصد حفظ کرده (جدول -٢) و در آزمون‌های بیماریزایی قدرت ایجاد بیماری و تولید پیکنیدیوم را روی گیاه زنده در شرایط مساعد دارند. بعد از این مدت اکثر پیکنیدیوم‌ها خالی شده و تعداد زیادی از اسپورها نیز محتویات سلولی خود را از دست داده بودند. بعد از گذشت ٨ ماه از شروع آزمایش اسپورهای موجود در پیکنیدیوم‌ها قدرت جوانه‌زنی را حتی روی محیط آب - آگار ٢ درصد حاوی قند نیزکاملاً از دست دادند.

جدول ٢- در صد جوانه‌زنی پیکنیدیوسپورهای *Septoria tritici* در سطح خاک

Table 2. The percentage germination of pycnidiospores of *Septoria tritici* on soil urface

منابع برگهای آلوده Sources of infected leaves	مدت نگهداری در سطح خاک Months incubated on soil surface								
	0	1	2	3	4	5	6	7	8
کازرون Kazeron	96.16	82.94	68.91	45.69	29.11	11.51	4.96	1.1	0
ممسنی Mamasani	93.78	86.54	70.34	51.49	32.33	21.15	8.28	4.64	0.24
داراب Darab	92.87	79.99	68.47	49.22	30.45	19.88	7.13	3.44	0
فیروز آباد Firooz Abad	90.58	77.61	67.89	48.63	36.54	15.97	6.98	0	0

پیکنیدیوم‌های موجود روی بافت‌های آلوده که در اعماق مختلف خاک (١٠، ٢٠، ٣٠ و ٤٠ سانتیمتری) مدفون شده بودند. بعد از ١ تا ٢ ماه اکثراً خالی شده و تعداد کمی اسپور نیز که در پیکنیدیوم‌ها وجود داشت قدرت جوانه‌زنی حتی در روی محیط آب آگار حاوی قند را نیز نداشتند نتایج حاصله نشان داد که قارچ عامل بیماری نمی‌تواند در هیچ یک از عمق‌های خاک دوام بیاورد و در اغلب موارد به وسیله قارچ‌های ساپروفیت داخل خاک کلونیزه می‌شود.

www.SID.ir

Archive of SID

دوام قارچ عامل بیماری در شرایط آزمایشگاهی در دمای C °٥-٤ و رطوبت معمولی نشان داد که قدرت جوانه‌زنی اسپورهای قارچ بعد از ٢٥ ماه به ١٨ تا ٢٠ درصد می‌رسد (جدول -٣) و در آزمون‌های بیماریزایی قدرت ایجاد بیماری و تولید پیکنیدیوم را در روی گیاه زنده در شرایط مساعد و مطلوب دارا می‌باشد.

جدول ٣- درصد جوانه زنی پیکنیدیوسپورهای *Septoria tritici* در شرایط آزمایشگاهی در ماه‌های مختلف

Table 3.The percentage germination of pycnidiospores of *Septoria tritici* under laboratory conditions after certain period

مدت نگهداری (ماه) دمای ٤° C Months incubated at 4 ° C	منبع برگهای آلوده Sources of infected leaves			
	کازرون Kazeron	ممسنی Mamasani	داراب Darab	فیروز آباد Firooz Abad
1	98.22	96.12	98.44	97.59
3	89.49	90.25	89.35	90.71
5	82.91	84.13	81.57	83.24
7	76.45	74.59	74.66	75.51
9	65.81	69.33	67.68	66.58
11	59.67	62.38	60.28	58.98
13	55.48	55.74	54.66	53.65
15	51.67	49.87	48.93	46.73
17	46.78	42.95	41.37	40.97
19	37.99	36.47	36.11	35.41
21	28.94	27.81	28.23	27.55
23	22.4	21.99	23.78	20.98
25	19.45	18.98	20.16	19.21

امکان انتقال عامل بیماری با بذر

تنها در روش کشت مستقیم بذرها برروی محیط کشت، از بذرهای ضدعفونی شده و آلوده به پیکنیدیوم در شرایط گلخانه، قارچ *S. tritici* جداسازی گردید. در سایر روش‌ها جداسازی

www.SID.ir

Archive of SID

قارچ میسر نگردید.

تشکیل فرم جنسی *Mycosphaerella graminicola*

روی غلاف‌ها، گره‌ها و برگ‌های پایینی گیاهان آلوده به سپتوریوز که در شرایط طبیعی و در نزدیکی سطح زمین قرار داشتند، آسکوکارپ‌های قهوه‌ای تا سیاه ریز و اکثراً گرد که در بافت میزبان فرو رفته بودند مشاهده گردید (شکل۱). در بعضی موارد در درون آسکوکارپ‌ها تعداد زیادی آسک دو جداره به شکل گلابی وارونه مشاهده شد. درون هر آسک ۸ آسکوسپور شفاف و دو سلولی که یک سلول آن بلندتر و پهن تر از سلول دیگر بود، وجود داشت (شکل ۱). مشخصات آسک، آسکوسپورها و آسکوکارپ جمع آوری شده در جدول (٤) آمده است. به منظور تندش آسکوسپور با تهیه سوسپانسیون و تکان دادن شدید آن سعی گردید که آسکوسپورها از درون آسک‌ها خارج شوند. سوسپانسیون حاوی آسکوسپورها را در روی محیط‌های مختلف مانند آب آگار۲ درصد با قند (۲درصد) و بدون قند، YMA، PDA و عصاره هشت سبزی – آگار V8 ریخته و بعد از اطمینان از وجود آسکوسپورها در دمای ۱۵، ۲۰ و ۲۵ °C نگهداری گردیدند. بعد از گذشت یک هفته هیچکدام از آسکوسپورها جوانه نزدند. با انتقال مستقیم پسودوتیشیوم‌های حاوی آسک و آسکوسپورها به محیط PDA، YMA و WA دو درصد (با قند و بدون قند) هیچ پرگنه کرم رنگ لزج مانندی (Scott *et al.* 1988) که نشان دهنده جوانه‌زنی آسکوسپورها باشد، مشاهده نگردید. در بازرسی برگ‌های پرچم، برگهای پایینی و غلاف، نمونه های گندم آلوده نگهداری شده در شرایط آزمایشگاهی هیچ آسکوکارپی مشاهده نگردید.

در بازدید از مزارع گندم آلوده به *Septoria* در مناطق مختلف استان فارس، در چندین نمونه از کاه و کلش‌های جمع‌آوری شده از منطقه مبارک آباد فیروزآباد در اسفند ماه، آسکوکارپ‌های ریز و فرورفته در بافت که حاوی آسک‌های گلابی شکل وارونه و دو جداره بودند مشاهده گردید. درون هر آسک، ۸ آسکوسپور شفاف دو سلولی که یکی از آنها پهن‌تر و بزرگتر از دیگری بود مشاهده گردید. جهت جوانه‌زنی و اثبات بیماریزایی آسکوسپورها روش‌هایی که در شرایط طبیعی ذکر شد انجام گرفت، اما در این مورد نیز تلاش جهت جوانه‌زنی آسکوسپورها و اثبات بیماریزایی آنها موفقیت‌آمیز نبود.

www.SID.ir

Archive of SID

تعیین دامنه میزبانی احتمالی *Septoria tritici*

در هیچ‌یک از علف‌های‌هرز بررسی شده در مزارع آلوده گندم و مزارع مجاور، علائم سپتوریوز شامل لکه‌های مرده (نکروتیک) و پیکنیدیوم‌های موجود در آنها مشاهده نگردید. همچنین از گیاهانی که دارای لکه‌های سبز و قهوه‌ای بودند بعد از ضدعفونی سطحی با هیپوکلریت سدیم ۰۵/. درصد وکشت آنها روی محیط PDA و YMA ، قارچ *Septoria* جداسازی نگردید.

در شرایط گلخانه از بین گیاهان زراعی و علف‌های‌هرزی که برای مطالعات دامنه میزبانی عامل سپتوریوز مورد استفاده قرار گرفتند بعد از ٤٠ تا ٤٥ روز پیکنیدیوم‌های قهوه‌ای تا سیاه بر روی برگ‌های پیر و خشک دو گیاه *Lolium rigidum* و *Secale cereale* مشاهده گردید (شکل ۱). در شرایط کنترل شده آزمایشگاهی بعد از گذشت ۳۵ روز که برگ‌ها خشک شدند هیچ پیکنیدیومی مشاهده نگردید (جدول-۵).

جدول ٤- مقایسه مشخصات مورفولوژیکی مرحله جنسی *Septoria tritici* در این تحقیق با سایر گزارشها

Table 4. Comparasion of morphological characterestics of sexual stage of *Septoria tritici* in the present study and by others

منبع Reference	Diameter (µm)		
	آسکوکارپ Ascocarp	آسک Ascus	آسکوسپور Ascospore
Bajgah field	98-172.5×92.5-150	45-77.5 × 12.5-17.5	15-22.5× 2.5-5
Firoozabad	95-150.5× 82.3-150	47.5-75× 12.5-15	17.5-22.5× 3.75-5
Dadrezaie, 1999	98-124× 70.8-91	37-47× 5.4-6.8	7.7-8.4× 1.8-2.1
Sanderson, 1972	76-80× 77-100	34-41× 11-13	10-15× 2.5-3
Brown *et al.,* 1978	68-114× 92-130	30-40× 11.5-14	9-16× 2.5-3
Sivanesan, 1990	80-150	30-40×11-44	9-16× 2.5-4.5

www.SID.ir

Archive of SID

Table 4. (contined) جدول ٤- (ادامه)

Scott *et al.,* 1988	90-140	–	30-55× 10-20	10-18 × 3-4.5
Vereet *et al.,* 1990	90-140		30-45×10-15	10-17× 3-4
Garcia & Marshall, 1992			-	11.7-18.5× 2.9-5.2
Halama, 1996	90-112		32-36× 10-14	14-18× 4-5

جدول ٥- مشخصات مورفولوژیکی پیکنیدیوم و پیکنیدیوسپور *Septoria tritici* جدا شده از علف‌های‌هرز مایه‌زنی شده

Table 5. Morphological characteristics of *Septoria tritici* isolated from inoculated weeds

Plant	پیکنیدیوسپور Pycnidiospore (µm)	تعداد دیواره عرضی Number of septum	پیکنیدیوم Pycnidium (µm)
Lolium rigidum	34.5 × 2.03 (22.5-47.5 × 1.25-2.5)	2-4	126.25×120 (67.5-187.5 × 62.5-175)
Secale cereale	31.83 × 2.24 (22.5-42.5×1.87-2.5)	1-3	118.33 × 100.4 (67.5-172.5×65-137.5)

بحث

کاه و کلش گندم آلوده حاوی پیکنیدیوم به‌عنوان مایه اولیه برای ایجاد بیماری توسط *S. tritici* گزارش شده است (Eyal *et al*. 1987, Sanderson & Hampton 1978, Wenham 1959). نتایج بدست آمده از بررسی پایداری *S. tritici* در سطح خاک نشان داد که قدرت جوانه‌زنی پیکنیدیوسپورها بعد از ٦ ماه به ٤ تا٨ درصد کاهش می‌یابد و بعد از گذشت ٨ ماه کاملاً قدرت جوانه‌زنی خود را از دست می‌دهند. با توجه به اینکه شرایط محیطی مخصوصاً دما و رطوبت نه تنها در تشکیل پیکنیدیوم مؤثر هستند، بلکه در دوره فعالیت و زنده بودن اسپورها نیز دارای اهمیت و تاثیر می‌باشند، بنابراین آب و هوای مرطوب و خاک حاصلخیز به‌طور کلی

www.SID.ir

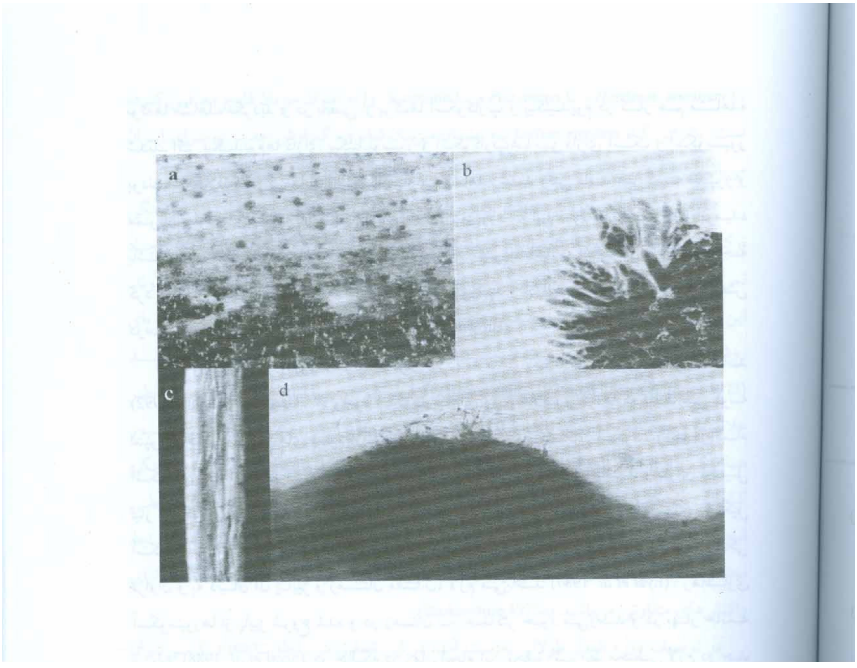
Archive of SID

باعث تجزیه سریع‌تر کاه و کلش به دنبال آن پیکنیدیوم‌ها می‌شود. در شرایطی که بارندگی زیادی در اوایل پاییز وجود داشته باشد، سرعت رهاسازی اسپورها نیز بیشتر و در نتیجه آلودگی در گندم‌های زودکاشت پاییزه افزایش می‌یابد. می‌توان از موارد فوق برای توجیه تفاوت نتایج بدست آمده در این تحقیق با نتایج آزمایش *ترابی* (Torabi 1979)، *ون‌هام* (Wenham 1959)، *هیلو و بور* (Hilu & Bever 1957)، *وبر* (Weber 1922) و *اسکات* و همکاران (Scott *et al*. 1988) استفاده کرد. نتایج بدست آمده از دفن برگ‌های آلوده در عمق‌های مختلف خاک نشان داد که اکثر پیکنیدیوم‌ها بعد از گذشت ۲ ماه در روی بافت‌های آلوده خالی شده و تعداد کمی اسپور نیز که در پیکنیدیوم‌ها وجود داشتند، قدرت جوانه‌زنی خود را حتی در روی محیط آب آگار حاوی قند از دست دادند. این نتایج نشان داد که *S. tritici* نمی‌تواند در هیچ یک از عمق‌های خاک دوام بیاورد و در اغلب موارد بوسیله قارچ‌های پوده‌زی داخل خاک کلونیزه شده و با پوسیده شدن برگ‌ها، پیکنیدیوم‌ها نیز از بین می‌روند. در مورد دوام قارچ در شرایط آزمایشگاهی بایستی گفت که نتایج بدست آمده با تحقیقات (Torabi 1979) *هیلو و بور* (Hilu & Bever 1957) و *شیپتون* و همکاران (Shipton *et al*. 1971) در دامنه دمایی مشابه تقریباً مطابقت دارد. از بذرهایی که بر روی آنها اندام پیکنیدیوم مانند و سیاه رنگ مشاهده گردید، تنها در یک مورد پرگنه از *S. tritici* جدا شد. روش‌های دیگر جداسازی نیز با عدم موفقیت همراه بود. هماهنگی نتایج تحقیق حاضر با مطالعات *بروکن شایر* (Brokenshire 1975b) نشان می‌دهد که عوامل مختلفی مانند شرایط محیطی مناسب، بیماریزایی جدایه‌های قارچ و رقم میزبان می‌تواند در توسعه قارچ در سنبله گندم و بذرهای آن تاثیر داشته باشد و برای اینکه بذر نیز به‌عنوان یک عامل انتقال بیماری محسوب گردد شرایط و عوامل فوق بی‌تاثیر نخواهد بود.

مشخصات مورفولوژیکی جدایه‌های بدست آمده از باجگاه و فیروزآباد، با مشخصات مورفولوژیکی *M. graminicola* توصیف شده توسط *سیوان‌سن* (Sivanesan 1990) و سایر محققین (جدول-٤) تقریباً هماهنگی داشت، اما در مجموع دارای ابعاد بزرگتری بودند. به علت عدم تندش آسکوسپورها امکان اثبات بیماریزایی این قارچ با آسکوسپور میسر نگردید. آسکوکارپ بیشتر منحصر به غلاف، گره‌ها و برگ‌های پایینی گیاه بود و در قسمت‌های بالایی

www.SID.ir

Archive of SID



شـــکل ۱– a) پیکنیـــدیوم وآســـکوکـــارپ *Mycosphaerella graminicola* در روی بـــرگ گنـــدم.

b) آسک و آسکوسپورهای جدا شده *Mycosphaerella graminicola* از برگ گنـدم (400 x)

c. پیکنیـدیوم‌هـای *Septoria tritici* در روی بـرگ مایـه زنـی شـده *Lolium rigidium* d)

پیکنیدیوسپورهای *Septoria tritici* جدا شده از برگ *Lolium rigidium* (400 x).

Fig. 1. a) Pycnidium and Ascocarp on wheat leaf. b) Isolated asci and ascospores of *Mycosphaerella graminicola* on wheat leaf (400 x). c) Pycnidia of *Septoria tritici* on inoculated leaf of *Lolium rigidium*. d) pycnidiospores of *Septoria tritici* isolated from *Lolium rigidium* leaf (400x).

www.SID.ir

Archive of SID

بوته‌ها مشاهده نگردید و در بعضی از برگ‌ها آسکوکارپ و پیکنیدیوم در کنار هم مشاهده شدند. اکثر پیکنیدیوم‌ها دارای پیکنیدیوسپور و آسکوکارپ‌ها نیز دارای آسک و آسکوسپور بودند. در غلاف‌ها و گره‌ها نیز آسکوکارپ‌هایی مشاهده شدند ولی فاقد هر گونه اسپور و مملو از سلول‌های پسودوپارانشیمی بودند. احتمال می‌رود که این نمونه‌ها به بلوغ کامل نرسیده باشند. در صورتی که این قارچ متعلق به فرم جنسی سپتوریا باشد به این نکته می‌توان توجه کرد که قرار گرفتن آسکوسپورها در معرض نور خورشید زیاد آنهم در یکروز باعث کاهش درصد زنده ماندن اسپورها شده است (Brown *et al.* 1978).

در صورتی که اگر اسپورها در سایه قرار گیرند به مدت یک تا دو هفته زنده خواهند ماند (Garcia & Marshall 1992). اما وجود آسکوکارپ‌های روی غلاف و گره‌ها که فاقد هر گونه اسپور و مملو از سلول‌های پسودپارانشیمی بودند و حتی عدم تشکیل آسکوسپورها در تمام آسک‌های یک آسکوکارپ، احتمال اینکه نمونه‌ها به بلوغ کامل نرسیده باشند و برای تکمیل نیاز به یک دوره مساعد دیگر داشته باشند منطقی‌تر به نظر می‌رسد. چرا که برای تشکیل آسکوکارپ *Mycosphaerella graminicola* شرایط مناسب (تابستان با دمای معتدل و بارندگی فراوان و به دنبال آن پاییز و زمستان معتدل) لازم می‌باشد (Eyal *et al.* 1987) . رهاسازی آسکوسپورها از پاییز شروع شده و در زمستان به حداکثر خود می‌رسد و در بهار خاتمه می‌یابد (Scott *et al.* 1988). در حالیکه در زمان انجام این تحقیق شرایط محیطی لازم در حد بهینه وجود نداشت و اولین آسکوسپورها در فروردین ماه در غلاف‌ها مشاهده گردیدند. بنابراین احتمال عدم بلوغ آسکوسپورها و نیاز به یک دوره مساعد محیطی برای بلوغ آسکوسپورها در فصل زراعی آینده احتمال بیشتر دارد.

براساس نتایج به دست آمده از تحقیق فوق تنها دو علف‌هرز *Lolium rigidum* Gaud. و *Secale cereale* به عنوان میزبان ثانوی برای این قارچ شناسایی گردیدند. نتایج این تحقیق در رابطه با گیاه *S. cereale* با نتایج به دست آمده از تحقیقات *هیلو و بور* (Hilu & Bever 1957) هماهنگی ندارد اما با نتایج *وبر* (Weber 1922) و (Torabi 1979) مطابقت دارد. آلودگی *L. rigidum* با نتایج تحقیقات *ویلیامز و جونز* (Williams & Jones 1973) روی دو گونه دیگر از *Lolium* هماهنگی ندارد. با توجه به اینکه *ترابی* (Torabi 1979) در تحقیقات خود سه گیاه

www.SID.ir

Archive of SID

Hordeum murinum L. ، *Poa annua* L. و *S. cereale* L. را به عنوان میزبان قارچ معرفی کرده است. بنابراین گیاه *Lolium rigidum* به عنوان میزبان ثانوی، گزارش جدیدی برای ایران می‌باشد.

عمومی‌ترین علائم آلودگی *S. tritici* بر روی گراس‌ها و علف‌های‌هرز به صورت سوختگی نوک برگ‌ها همراه با تولید پیکنیدیوم می‌باشد. علائم مشخص بر روی برگ‌های سبز ایجاد نمی‌شوند و پیکنیدیوم‌ها بر روی برگ‌های پیردر زمان طولانی بعد از مایه‌زنی ایجاد می‌شوند. این پیکنیدیوم‌ها در مقایسه با پیکنیدیوم‌های برگ گندم دارای اندازه کوچکتر و به رنگ قهوه‌ای روشن می‌باشند و پیکنیدیوسپورهای کوتاه‌تری تولید می‌کنند (Brokenshire 1975a, Williams & Jones 1973). گزارش موجود با نتایج این تحقیق از نظر علائم به وجود آمده بر روی برگ گیاه و خصوصیات مورفولوژیکی پیکنیدیوم و پیکنیدیوسپور هماهنگی دارد. عدم آلودگی دو گیاه فوق در شرایط کنترل شده آزمایشگاهی و یا عدم آلودگی گیاهان دیگر که قبلاً به عنوان میزبان ثانوی شناسایی شده‌اند، نشان می‌دهد که شرایط محیطی قبل و بعد از مایه‌زنی در عکس‌العمل گراس‌ها نسبت به بیمارگر تأثیر دارد و علاوه بر شرایط محیطی، گونه‌های یک جنس گیاهی و حتی رقم‌های یک گونه گیاهی در مقابل *S. tritici* دارای واکنش‌های متفاوتی می‌باشند (Brokenshire 1975a).

در توصیف دوره کمون طولانی به‌دست آمده در این تحقیق در رابطه با *S. tritici* می‌توان گفت احتمالاً در بیشتر مواقع شرایط محیطی که برای نفوذ و هجوم قارچ به گیاه لازم است با شرایط محیطی رشد گونه گیاهی موردنظر متفاوت می‌باشد و عدم مطابقت فاکتور های لازم برای ایجاد بیماری بعد از مایه‌زنی، باعث طولانی شدن دورهٔ کمون این بیماری می‌شود.

سپاسگزاری

نویسندگان از کمیته پژوهشی دانشکده کشاورزی و شورای پژوهشی دانشگاه شیراز به خاطر حمایت علمی و مالی طرح مصوب ۶۷۵-۱۳۲۰-AG-۷۹ تشکر می نماید.

www.SID.ir

Archive of SID

منابع

جهت ملاحظه به صفحات (244-241) متن انگلیسی مراجعه شود.

آدرس نویسندگان: معصومه حقدل، مؤسسه تحقیقات پسته کشور، صندوق پستی ۴۳۵-۷۷۱۷۵
رفسنجان، دکتر ضیاءالدین بنی‌هاشمی، بخش گیاهپزشکی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه شیراز

www.SID.ir