

<https://dx.doi.org/10.22034/arpp.2023.16370>

## تأثیر بیماری سوختگی فوزاریومی سنبله بر روی شاخص‌های کیفی جوانه زنی بذر گندم *Triticum aestivum*

نیما خالدی<sup>✉</sup>، لیلا زارع، شهلا هاشمی فشارکی

موسسه تحقیقات ثبت و گواهی بذر و نهال، سازمان تحقیقات، آموزش و ترویج کشاورزی، کرج، ایران. <sup>✉</sup>n\_khaledi@areeo.ac.ir

دریافت: ۱۴۰۱/۰۹/۱۳ بازنگری: ۱۴۰۱/۱۰/۱۶ پذیرش: ۱۴۰۱/۱۰/۱۶

### چکیده

بیماری سوختگی فوزاریومی سنبله یکی از مهمترین بیماری‌های قارچی غلات دانه ریز در سراسر جهان است که نه تنها عملکرد را کاهش می‌دهد، بلکه از طریق تولید زهرآبه‌های قارچی مختلف موجب کاهش کیفیت محصول می‌شود. هدف از این پژوهش، جداسازی و شناسایی عوامل بیماری سوختگی فوزاریومی سنبله و ارزیابی تأثیر آلودگی بذر با جدایه‌های مختلف *Fusarium* و تریکوتسین داکسی نیوالنول بر روی صفات مرتبط با جوانه‌زنی می‌باشد. به منظور شناسایی گونه‌های *Fusarium* عامل بیماری از بذور آلوده گندم از مزارع استان‌های زنجان، مرکزی، تهران، البرز، همدان، فارس، سیستان و بلوچستان، کرمانشاه و خوزستان براساس ضوابط انجمن بین‌المللی آزمون بذر نمونه‌برداری شد. سپس توانایی تولید تریکوتسین‌ها و حضور ژن‌های دخیل در تولید داکسی نیوالنول ردیابی و میزان تولید آن در محیط کشت برنج با روش کروماتوگرافی مایع با کارایی بالا مورد ارزیابی قرار گرفت. در مجموع، ۱۵ جدایه بر اساس ویژگی‌های ریخت‌شناختی و مولکولی متعلق به گونه‌های *F. graminearum* (۱۲ جدایه) و *F. culmorum* (۳ جدایه) شناسایی شدند. نتایج نشان داد که فقط ۴۰ درصد جدایه‌های جداسازی شده توانایی تولید تریکوتسین‌ها داشتند و میزان تولید داکسی نیوالنول در محدوده ۱۶۵۰-۳۵۰۰ میکروگرم در کیلوگرم بود. نتایج آزمون جوانه‌زنی استاندارد نشان داد که تیمار بذر با جدایه‌های مختلف *Fusarium* به‌طور قابل توجهی روی شاخص‌های بنیه و جوانه‌زنی بذر تأثیر گذاشته و موجب کاهش کیفیت بذر و سلامت گیاهچه‌ها شدند. یافته‌های این پژوهش دیدگاه‌های جدیدی را درباره تأثیر میزان داکسی نیوالنول ترشح‌شده توسط جدایه‌های *Fusarium* بر روی خصوصیات کیفی بذر و میزان پیشرفت بیماری ارائه می‌دهد.

کلمات کلیدی: بذرزاد، بیماری‌زایی، داکسی نیوالنول، سلامت بذر، قدرت تهاجم.

### Effect of Fusarium head blight disease on the quality indicators of germination of wheat *Triticum aestivum*

Nima Khaledi<sup>✉</sup>, Leila Zare, Shahla Hashemi Fesharaki

Seed and Plant Certification and Registration Research Institute, Agricultural Research, Education and Extension Organization (AREEO), Karaj, Iran. <sup>✉</sup>n\_khaledi@areeo.ac.ir

Received: 4 December 2022

Revised: 6 January 2023

Accepted: 6 January 2023

### Abstract

Fusarium head blight is one of the most important fungal diseases of small grains throughout world, which not only reduces the yield, but also causes quality losses through the production of various mycotoxins. The aim of this study was to isolate and identify the Fusarium head blight disease agents and to evaluate the effect of seeds infection by different isolates of *Fusarium* and deoxynivalenol compound on the traits related to seed germination. In order to identify wheat seed-derived *Fusarium* causing this disease from the fields of Zanzan, Markazi, Tehran, Alborz, Hamedan, Fars, Sistan and Baluchestan, Kermanshah and Khuzestan provinces were sampled according to the International Seed Testing Association (ISTA) rules. Then, the ability of trichothecene production and the presence of genes involved in deoxynivalenol trichothecene biosynthesis and the level of deoxynivalenol production on rice medium were evaluated by High-performance liquid chromatography (HPLC). A total of 15 isolates were identified based on morphological and molecular characteristics as *F. graminearum* (12 isolates) and *F. culmorum* (3 isolates). The results showed that only 40% of the isolates had ability to produce trichothecene, and the levels of deoxynivalenol production was in the range of 1650-3500  $\mu\text{g.kg}^{-1}$ . The results of the standard germination test showed that seed treatment with different isolates of *Fusarium* affected the germination and seed vigor indices and reduced the seed quality and seedling health. The findings of this research provide new perspectives on the effect of the level of deoxynivalenol secreted by *Fusarium* on the quality characteristics of seeds and the rate of disease progress.

**Keywords:** Seed-borne, Virulence, Deoxynivalenol, Seed health, Aggressiveness.

### How to cite:

Khaledi N, Zare L, Hashemi Fesharaki S, 2023. Effect of Fusarium head blight disease on the quality indicators of germination of wheat (*Triticum aestivum* L.). *Journal of Applied Research in Plant Protection* 12 (3): 303-321.

## مقدمه

مکانیسم‌های مختلفی از جمله تولید و رهاسازی آنزیم خارج سلولی و زهرآبه‌ها جهت عبور از پوسته بذر و حمله به آندوسپرم است (Ding et al. 2011). تریکوتسین‌ها از مهم‌ترین زهرآبه‌های تولیدشده توسط قارچ گونه‌های *Fusarium* در غلات می‌باشند. تریکوتسین‌ها گروه بزرگی از متابولیت‌های ثانویه سزکویی‌تریپنی قارچی هستند که به عنوان فاکتورهای بیماری‌زایی در تعاملات گندم با قارچ *Fusarium* نقش دارند (Gardiner et al. 2010). تا به امروز، بیش از ۲۰۰ نوع تریکوتسین گزارش شده است که از مهم‌ترین تریکوتسین‌ها می‌توان به داکسی نیوالنول، نیوالنول و مشتقات استیله شده آن‌ها اشاره کرد که در ارتباط با بیماری بلایت فوزاریومی خوشه گزارش شده‌اند (Van der Lee et al. 2015). میزان تولید تریکوتسین‌ها با قدرت تهاجم بیمارگر ارتباط مستقیم دارد (McCormick 2003). مطالعات بر روی جدایه‌های *F. graminearum* نشان داده است که جدایه‌های فاقد توانایی بیوسنتز داکسی نیوالنول نسبت به جدایه‌های قادر به بیوسنتز داکسی نیوالنول در گندم و جو قدرت تهاجمی کمتری دارند (Boddu et al. 2007). داکسی نیوالنول نسبت به نیوالنول خاصیت گیاه‌سوزی بیشتری دارد (Eudes et al. 2000). اما نیوالنول نسبت به داکسی نیوالنول برای انسان و دام سمی‌تر می‌باشد (Ryu et al. 1988). قارچ *F. graminearum* به عنوان گونه غالب از مزارع مختلف استان‌های اردبیل، گلستان و مازندران گزارش شده‌اند و گونه‌های مختلف قارچ *Fusarium* روی ارقام مختلف و در مناطق متفاوت، مقادیر متنوعی از داکسی نیوالنول را تولید می‌کنند (Khaledi et al. 2017; Abedi-Tizaki & Sabbagh 2013; Davari et al. 2013; Aliakbari et al. 2012). در تحقیقی، میزان سطح داکسی نیوالنول تولید شده توسط قارچ *F. graminearum* در طول مرحله رشد و توسعه بذر از ۵۰۰۰ تا ۲۵۰۰۰ میکروگرم در کیلوگرم متغیر بود (Argyris et al. 2003). قارچ‌های *F. graminearum* و *F. culmorum* به ترتیب همی بیوتروف و نکروتروف می‌باشند. قارچ *F. graminearum* معمولاً ۲۴ ساعت پس از آلودگی شروع به تولید داکسی نیوالنول نموده و میزان آن پس از ۹۶ ساعت به طور قابل توجهی افزایش می‌یابد. بنابراین تغییر از مرحله بیوتروفی به مرحله نکروتروفی با افزایش تولید داکسی نیوالنول همراه است (Walter et al. 2010). افزایش میزان ترشح داکسی نیوالنول تولید شده توسط گونه‌های *Fusarium* موجب کاهش درصد جوانه زنی، رشد و توسعه ریشه در گندم و کاهش نسبت رشد ریشه به اندام هوایی

گندم زراعی با نام علمی *Triticum aestivum* L. از نظر ارزش زراعی و تغذیه‌ای مهم‌ترین گیاه زراعی استراتژیک کشت‌شده در کشور به‌شمار می‌رود که نقش مهمی در تأمین امنیت غذایی ایفا می‌کند. طبق آمارنامه کشاورزی در سال زراعی ۹۹-۱۳۹۸ در ایران، سطح زیر کشت این محصول حدود ۶/۳ میلیون هکتار و میزان تولید آن در حدود ۱۱/۱ میلیون تن برآورد شده است (Ahmadi et al. 2021). استفاده از بذر سالم یکی از مهم‌ترین عوامل دستیابی به پتانسیل واقعی عملکرد و بهبود کیفیت محصول می‌باشد (Hassani et al. 2019). بیماری سوختگی فوزاریومی سنبله یکی از مهم‌ترین بیماری‌های قارچی غلات دانه‌ریز به‌شمار می‌رود که علاوه بر کاهش شدید عملکرد محصول، از طریق تولید زهرآبه‌ها کیفیت را نیز کاهش می‌دهد (Pasquali & Migheli 2014). این بیماری می‌تواند منجر به کاهش بیش از ۵۰ درصد عملکرد محصول شود (Parry et al. 1995). گونه‌های مختلف قارچ *Fusarium* به‌ویژه گونه‌های *F. graminearum* species complex با مرحله جنسی *Gibberella zeae* (Boutigny et al. 2014) و *F. culmorum* با مرحله جنسی ناشناخته به‌عنوان عوامل سوختگی فوزاریومی سنبله معرفی شده‌اند (Scherm et al. 2013). قارچ‌های *F. graminearum* Schwabe، *F. avenaceum* (Fr.) Sacc.، *F. culmorum* (W. G. Sm.) Sacc.، *Ustilago F. poae*

*Tilletia laevis* J.G.Kühn، *tritici* C. Bauhin (DC.)، *Bipolaris sorokiniana*، *T. caries* Tul. & C. Tul.، Shoemaker و Keissl. *Alternaria alternate* (Fr.) به‌عنوان شایع‌ترین قارچ‌های همراه بذر گندم در ایران گزارش شده است (Hassani et al. 2019; Khazaei et al. 2014; Hajihassani et al. 2012; Mobasser et al. 2012). این بیماری در ایران از استان‌های گلستان، مازندران، زنجان، اردبیل (دشت مغان)، خوزستان و فارس گزارش شده است (Sharifi et al. 2016). بذره‌های حاصل از گیاهان آلوده به بیماری سوختگی فوزاریومی سنبله اغلب سبک، چروکیده و به رنگ خاکستری تا صورتی رنگ می‌باشند. در صورت استفاده از این بذور آلوده علایمی همچون پوسیدگی بذر و ریشه، سوختگی، زردی و مرگ گیاهچه در هنگام جوانه زنی در کشت بعدی مشاهده می‌شود (Shin et al. 2014; Browne & Cooke, 2005; Argyris et al. 2003).

گونه‌های مختلف *Fusarium* عامل بیماری دارای

- آگار (PDA: Potato Dextrose Agar) و آگار مصنوعی فقیر از مواد غذایی (SNA: Synthetic Nutrient-poor Agar) منتقل شد. شناسایی بر اساس خصوصیات چون ویژگی‌های ظاهری آن‌ها مانند رنگ و نحوه رشد پرگنه، و همچنین ویژگی‌های میکروسکوپی مانند طول و عرض ۳۰ عدد ماکروکنیدیوم به طور تصادفی انتخاب و سپس اندازه و شکل ماکروکنیدیوم، وجود یا عدم وجود میکروکنیدیوم و شکل آن و وجود یا عدم وجود کلامیدوسپورها با توجه به کلیدهای شناسایی معتبر (Leslie & Summerell 2006) انجام گرفت.

شناسایی مولکولی جدایه‌های قارچی *Fusarium* و ژنوتیپ تریکوتسین‌ها

برای تأیید جدایه‌های *F. graminearum* از آغازگرهای اختصاصی Fg16R/Fg16F (Forward: 5' CTC CGG ATA ) و TGT TGC GTC AA 3' (Reverse: 5' GGT AGG TAT و CCG ACA TGG CAA 3' که تولید یک قطعه به طول ۴۰۰ جفت باز می‌کند (Nicholson *et al.* 1998) و برای *F. culmorum* از آغازگرهای اختصاصی OPT18F/OPT18R (Forward: 5' GAT GCC AGA CCA AGA CGA AG 3' و Reverse: 5' GAT GCC AGA CGC ACT AAG AT 3' که تولید یک قطعه به طول ۴۷۲ جفت باز می‌کند، استفاده شد (Schilling *et al.* 1996). برای استخراج DNA، جدایه‌های قارچی در ظروف ارلن مایر محتوی محیط کشت عصاره سیب‌زمینی دکستروز (عصاره ۲۰۰ گرم سیب‌زمینی و ۱۵ گرم دکستروز در یک لیتر آب مقطر) به مدت ۱۰ روز در داخل دستگاه انکوباتور شیکردار با دمای  $25 \pm 2$  درجه سلسیوس و با سرعت ۱۲۰ دور در دقیقه قرار داده شدند. توده میسیلیومی رشد یافته جمع‌آوری و با آب مقطر سترون شستشو و به درون میکروتیوب‌های سترون ۱/۵ میلی‌لیتری منتقل شدند (Nemati-Mondanipour *et al.* 2021). برای استخراج DNA از جدایه‌های قارچ از کیت Genomic DNA isolation kit شرکت Pishgam Biotech ایران با توجه به شیوه‌نامه شرکت سازنده استفاده شد. به منظور تعیین کمیت و کیفیت DNA استخراج شده، از دستگاه نانودراپ اسپکتروفوتومتری (NanoDrop 2000; Spectrophotometer, Thermo Scientific, Wilmington, USA) و ژل آگارز دو درصد استفاده شد. واکنش زنجیره‌ای پلیمرز شامل مرحله واسرشت سازی اولیه پنج دقیقه‌ای در دمای ۹۴ درجه سلسیوس، سپس ۳۰ چرخه در مرحله واسرشت ۳۰ ثانیه در ۹۴ درجه سلسیوس، مرحله

در گیاهچه‌های گوجه فرنگی می‌شود (Shimada & Otani 1990).

با وجود اهمیت اقتصادی بیماری سوختگی فوزاریومی سنبله و مخاطرات داکسی نیوالنول حاصل از آن در گندم، اطلاعات ما در تأثیر داکسی نیوالنول بر روی خصوصیات کیفی بذر محدود است. بنابراین، هدف از این پژوهش (الف) شناسایی و بررسی وضعیت سلامت نمونه‌های بذری جمع‌آوری شده از مزارع گندم به عوامل سوختگی فوزاریومی سنبله (ب) ارزیابی تأثیر آنها روی برخی از خصوصیات کیفی بذر، و (ج) ارزیابی ارتباط بین میزان داکسی نیوالنول ترشح شده با میزان بیماری‌زایی و قدرت تهاجم جدایه‌های قارچی می‌باشد.

## مواد و روش‌ها

### نمونه‌برداری

نمونه‌برداری براساس شیوه نامه انجمن بین المللی آزمون بذر (Anonymous 2017) در طی سال‌های زراعی ۱۴۰۰-۱۳۹۹ از مزارع گندم در استان‌های زنجان، مرکزی، تهران، البرز، همدان، فارس، سیستان و بلوچستان، کرمانشاه و خوزستان انجام و همراه ثبت مشخصات در پاکت‌های کاغذی به آزمایشگاه سلامت بذر موسسه تحقیقات ثبت و گواهی بذر و نهال منتقل شد (جدول ۲).

### جداسازی، خالص‌سازی، شناسایی ریخت‌شناختی جدایه‌های قارچی

جهت جداسازی جدایه‌های *Fusarium* از بذرهای گندم، ۱۰۰ عدد بذر از هر نمونه با محلول رقیق‌شده هیپوکلریت سدیم (حاوی یک درصد کلر فعال) به مدت یک دقیقه ضدعفونی سطحی شدند. نمونه‌های بذری سه بار با آب مقطر سترون شستشو شده و آب اضافی آنها روی کاغذ صافی سترون خشک شدند. بذرها در تشتک‌های پتری حاوی محیط کشت اختصاصی فوزاریوم، پنتاکلو نیتروبنزن پپتون-آگار (PPA: Penta chloro nitrobenzene peptone agar) حاوی ۰/۰۱ گرم در لیتر آنتی بیوتیک کلرامفنیکل کشت و در دمای  $25 \pm 1$  درجه سلسیوس و دوره نوری متناوب، ۱۲ ساعت تاریکی و ۱۲ ساعت روشنایی قرار گرفت و بدین ترتیب جدایه‌ها جداسازی شدند. جدایه‌های قارچی به دست آمده با استفاده از روش تک اسپور و یا نوک ریشه خالص شدند. جدایه‌های خالص شده برای شناسایی در سطح گونه به محیط کشت‌های برگ میخک - آگار (CLA: Carnation Leaf Agar)، سیب زمینی دکستروز

تولیدکننده تریکوتسین را دارند از آغازگرهای اختصاصی ژن هدف *Tri5* (Doohan *et al.* 1999) و همچنین برای تشخیص تولید تریکوتسین داکسی نیوالنول از آغازگرهای اختصاصی ژن-های هدف *Tri7* (Doohan *et al.* 1999)، *Tri13* (Waalwijk *et al.* 2003) و *Tri5-Tri6 intergenic* (Li *et al.* 2005) استفاده شد (جدول ۱).

جدول ۱. لیست آغازگرهای مورد استفاده برای تشخیص تولید تریکوتسین داکسی نیوالنول توسط جدایه‌های *Fusarium*

**Table 1.** List of the primers used for detection of trichothecene deoxynivalenol production by *Fusarium* isolates.

Target gene	Primer	Sequences (5'-3')	Product size (bp)	Trichothecene mycotoxin chemotypes	Reference
<i>Tri5</i>	TRI5(F) TRI5(R)	AGCGACTACAGGCTTCCCTC AAACCATCCAGTTCTCCATCT	544	Trichothecene producers	Doohan <i>et al.</i> (1999)
<i>Tri7</i>	MinusTri7F MinusTri7R	TGGATGAATGACTTGAGTTGACA AAAGCCTTCATCCACAGCC	483	Deoxynivalenol	Doohan <i>et al.</i> (1999)
<i>Tri13</i>	Tri13F Tri13R	TACGTGAAACATTGTTGGC GGTGTCCCAGGATCTGCG	234	Deoxynivalenol	Waalwijk <i>et al.</i> (2003)
<i>Tri5-Tri6 intergenic</i>	ToxP1 ToxP2	GCCGTGGGGRTAAAAGTCAAAA TGACAAGTCCGGTTCGCACTAGCA	300	Deoxynivalenol	Li <i>et al.</i> (2005)

اتصال ۳۰ ثانیه برای *F. culmorum* و *F. graminearum* به ترتیب در دمای ۵۷ درجه سلسیوس و ۵۹ درجه سلسیوس و مرحله گسترش ۶۰ ثانیه در ۷۲ درجه سلسیوس و در نهایت مرحله گسترش نهایی به مدت ۵ دقیقه در دمای ۷۲ درجه سلسیوس بود (Khaledi *et al.* 2017).  
برای تشخیص جدایه‌های *Fusarium* که توانایی

مدل Syngene Gene Flash Bio (USA) انجام شد. آنالیز کمی زهرآبه‌های تولیدشده توسط جدایه‌های *Fusarium* میزان زهرآبه تولید شده توسط جدایه‌های *Fusarium* بر اساس روش ارائه شده توسط Alvarez *et al.* (2009) اندازه-گیری شد. به‌طور خلاصه، ۲۵ گرم از بذره‌های برنج (*Oryza sativa* L.) در ظروف ارلن به حجم ۲۵۰ میلی‌لیتر قرار داده شدند. سپس ۱۰۰ میلی‌لیتر آب مقطر سترون به آن اضافه و به مدت ۶ ساعت خیس شد. پس از آن در دمای ۱۲۱ درجه سلسیوس و فشار ۱۰۰ کیلو پاسکال به مدت ۲۰ دقیقه سترون گردید. به هر ظرف پنج میلی‌لیتر از سوسپانسیون اسپور (۱۰<sup>۵</sup> اسپور در هر میلی‌لیتر) جدایه‌های قارچ اضافه شد. برای کنترل منفی فقط پنج میلی‌لیتر آب مقطر سترون اضافه گردید. هر ظرف یک‌بار در روز برای سه روز اول جهت مخلوط شدن توده‌های برنج و مایه تلقیح تکان داده شد. سپس ظرف‌ها در تاریکی کامل در دمای ۱ ± ۲۵ درجه سلسیوس به مدت ۴۰ روز نگهداری شدند. سپس نمونه‌ها آسیاب شده و به هر نمونه ۷۵ میلی‌لیتر از استونیتریل: متانول: آب (به نسبت ۶: ۶: ۸۸ (حجمی: حجمی: حجمی) اضافه و به مدت ۶۰ دقیقه با سرعت ۳۰۰ دور در دقیقه باهم مخلوط شد. مخلوط حاصل با کاغذ صافی واتمن شماره چهار صاف و مقدار پنج میلی‌لیتر از این عصاره برای تخلیص از ستون استخراج فاز جامد شامل کربن فعال: آلومینا: پشم شیشه (۰/۷: ۰/۳: ۰/۰) عبور داده شد. به منظور تبخیر حلال، عصاره حاصل به خشک کن دوار تحت خلأ

واکنش زنجیره‌ای پلی‌مراز شامل مرحله واسرشت سازی اولیه ۱۰ دقیقه‌ای در دمای ۹۴ درجه سلسیوس، سپس ۳۵ چرخه در مرحله واسرشت ۳۰ ثانیه در ۹۴ درجه سلسیوس، به ازای هر دو چرخه دمای مرحله اتصال به ترتیب به ۵۹، ۵۸، ۵۶، ۵۴، ۵۳، ۵۲ و ۵۱ درجه سلسیوس کاهش و در نهایت ۲۱ چرخه در دمای ۵۰ درجه سلسیوس و مرحله گسترش ۳۰ ثانیه در ۷۲ درجه سلسیوس بود. مرحله گسترش نهایی به مدت ۱۰ دقیقه در دمای ۷۲ درجه سلسیوس بود (Schmale *et al.* 2011).

اجزای واکنش زنجیره‌ای پلی‌مراز شامل ۱۲/۵ میکرولیتر 2X PCR Master Mix (Pishgam, Iran)، سه میکرولیتر DNA الگو با غلظت تقریبی ۵۰ نانوگرم و یک میکرولیتر از هر آغازگر با غلظت پایه ۱۰ پیکومولار که در نهایت با افزودن آب دیونیزه استریل (RNase free) به حجم نهایی ۲۵ میکرولیتر رسانده شد. واکنش زنجیره‌ای پلی‌مراز با استفاده از دستگاه ترموسایکلر مدل Biometra (آلمان) انجام شد. هر آزمایش شامل شاهد مثبت (DNA یک جدایه شناخته‌شده) و شاهد‌های منفی (یک واکنش PCR بدون DNA) بود. در نهایت محصولات واکنش زنجیره‌ای پلی‌مراز روی ژل آگارز ۲ درصد و از طریق الکتروفورز به مدت ۴۰ دقیقه با ولتاژ ۸۰ ولت عبور داده شد. ردیابی نوارهای DNA با استفاده از رنگ آمیزی با رنگ فلورسنت سایبرگرین (SYBR® Green) و سپس عکس‌برداری از ژل با استفاده از دستگاه Gel Documentation

خوشه گندم، اسپور پاشی روی سنبله‌های هر گیاه به میزان ۱۰ میلی‌لیتر از سوسپانسیون اسپور (۱۰<sup>۵</sup> اسپور در هر میلی‌لیتر) حاوی ۰/۰۵ درصد توئین ۲۰ در مرحله گلدهی انجام شد (Kubo *et al.* 2013). پس از ظهور علائم آلودگی، تعداد سنبلچه‌های آلوده شمارش شد. شدت بیماری‌زایی جدایه‌ها روی خوشه گندم بر اساس درصد آلودگی سنبله در پنج کلاس (۰ = بدون بیماری، ۱ = تا ۲۰ درصد، ۲ = ۲۰ تا ۴۰ درصد، ۳ = ۴۰ تا ۶۰ درصد، ۴ = ۶۰ تا ۸۰ درصد و ۵ = بیش از ۸۰ درصد از سنبلچه‌ها آلوده) به روش شرح داده‌شده توسط Khaledi *et al.* (2017) درجه‌بندی و شاخص بیماری‌زایی با استفاده از فرمول زیر محاسبه گردید.

$$\text{درصد شاخص بیماری} = \frac{0n_0 + 1n_1 + 2n_2 + 3n_3 + 4n_4 + 5n_5}{5N} \times 100$$

$n_0$ : تعداد گیاهچه‌ها با درجه ۰ آلودگی،  $n_1$ : تعداد گیاهچه‌ها با درجه ۱ آلودگی،  $n_2$ : تعداد گیاهچه‌ها با درجه ۲ آلودگی،  $n_3$ : تعداد گیاهچه‌ها با درجه ۳ آلودگی،  $n_4$ : تعداد گیاهچه‌ها با درجه ۴ آلودگی،  $n_5$ : تعداد گیاهچه‌ها با درجه ۵ آلودگی،  $N$ : تعداد کل گیاهچه‌ها

جهت اثبات بیماری‌زایی جدایه‌های قارچ روی قطعات برگ و توانایی جدایه‌های قارچ در ایجاد نکروز برگ در شرایط آزمایشگاهی، در مرحله ۳-۴ برگ، برگ‌های اولیه گیاه برداشت شده و به قطعات برگ ۵ سانتی‌متری تقسیم شدند. قطعات برگ در تشتک‌های پتری حاوی محیط کشت آب-آگار قرار داده شدند (Browne & Cooke 2004). در مرکز سطح رویی قطعات برگ پنج میکرولیتر از سوسپانسیون اسپور هر جدایه (۱۰<sup>۵</sup> اسپور در هر میلی‌لیتر) همراه با ۰/۰۵ درصد توئین ۲۰ قرار داده شد. قطعات برگ شاهد با آب مقطر حاوی ۰/۰۵ درصد توئین ۲۰ مایه‌زنی شدند. تشتک‌های پتری در انکوباتور در دمای  $1 \pm 25$  درجه سلسیوس و پس از مایه‌زنی حداقل به مدت ۲۴ ساعت در شرایط تاریکی و سپس در شرایط نوری ۱۲ ساعت روشنایی نگهداری شدند. پس از پنج روز، طول ضایعات نکروتیک اندازه‌گیری شد. آزمون شامل چهار تکرار برای هر جدایه بود و آزمایش دو بار تکرار شد.

میزان قدرت تهاجم جدایه‌های قارچ روی خوشه گندم و قطعات برگ با استفاده از روش شرح داده‌شده توسط Pariaud *et al.* (2009) مورد بررسی قرار گرفت. میزان قدرت تهاجم جدایه‌ها بر اساس مدت زمان پس از مایه‌زنی برای ظهور علائم بیماری تعیین شد.

در دمای ۶۰ درجه سلسیوس منتقل و در نهایت، دو میلی‌لیتر حلال فاز متحرک به عصاره خشک شده اضافه و به مدت ۳۰ ثانیه به خوبی مخلوط شد. در صورت لزوم عصاره توسط کاغذ صافی ۰/۴۵ میکرومتر صاف و عصاره‌های استخراج شده در دمای ۲۰- درجه سلسیوس نگهداری شدند. از عصاره تخلیص شده هر نمونه توسط لوپ تزریق با سرنگ مخصوص، ۲۵ میکرولیتر به دستگاه کروماتوگرافی مایع با کارایی بالا مدل Waters 717 plus Autosampler (USA) معکوس C18 UV/VIS مدل ۲۴۸۷ و ستون فاز معکوس Waters Symmetry® (۲۵۰ میلی‌متر، قطر داخلی ۴/۶ میلی‌متر با اندازه قطر ذرات ثابت پنج میکرومتر تزریق شد. فاز متحرک محلول استونیتریل: متانول: آب با سرعت جریان ۰/۵ میلی‌متر بر دقیقه در دمای اتاق و آشکارساز با طول موج ۲۲۰ نانومتر برای ردیابی داکسی نیوالنول تنظیم شد. در شرایط فوق زمان بازداری داکسی نیوالنول حدود ۸ دقیقه بود. نتایج به دست آمده و اطلاعات مربوط به سطح زیر منحنی‌های نمونه و زمان ماندگاری ثبت و میزان داکسی نیوالنول با توجه به منحنی استاندارد مشخص گردید (Aliakbari *et al.* 2012).

آزمون‌های بیماری‌زایی و سنجش قدرت تهاجم جدایه‌ها:

گندم بهاره فلات به‌عنوان رقم حساس به بیماری سوختگی فوزاریومی سنبله برای ارزیابی بیماری‌زایی جدایه‌ها استفاده شد. برای این منظور بذر رقم فلات که فاقد هر گونه آلودگی طبیعی بود از موسسه تحقیقات ثبت و گواهی بذر و نهال تهیه شد. پس از ضدعفونی سطحی، بذور به مدت پنج روز در انکوباتور روی کاغذ صافی سترون مرطوب در دمای  $1 \pm 25$  درجه سلسیوس قرار گرفتند. سپس در هر گلدان پلاستیکی (قطر ۱۵ سانتی‌متر) پنج بذر جوانه‌زده کشت و در شرایط دمایی  $3 \pm 25$  درجه سلسیوس با دوره نوری ۱۶ ساعت روشنایی و هشت ساعت تاریکی قرار گرفتند. بستر کشت مورد استفاده در این آزمایش، ترکیبی از پیت ماس، پرلیت و کوکوپیت با نسبت حجمی ۲:۱:۲ بود. مایه تلقیح جدایه‌های *Fusarium* با استفاده از روش شرح داده شده توسط Müller *et al.* (2012) تهیه شد. سوسپانسیون اسپور در غلظت ۱۰<sup>۵</sup> اسپور در هر میلی‌لیتر آب مقطر سترون حاوی ۰/۰۵ درصد توئین ۲۰ تهیه شد و برای مایه‌زنی مورد استفاده قرار گرفت. به‌منظور ارزیابی بیماری‌زایی، جدایه‌های قارچی روی خوشه گندم بر اساس روش شرح داده‌شده توسط Yoshida *et al.* (2007) و روی قطعات برگ بر اساس روش شرح داده‌شده توسط Browne & Cooke (2004) مایه‌زنی شدند. جهت اثبات بیماری‌زایی جدایه‌های قارچ روی

روش تیمار بذور

(Anonymous 2017).

جهت تیمار بذور با جدایه‌های قارچی شناسایی شده از روش شرح داده شده توسط Koch *et al.* (2020) استفاده شد. برای این منظور بذور قبل از تیمار توسط محلول رقیق شده هیپوکلریت سدیم (حاوی یک درصد کلر فعال) به مدت سه دقیقه ضدعفونی سطحی شده و سپس با آب مقطر سترون سه بار شستشو شدند. سوسپانسیون اسپور جدایه‌های قارچ *Fusarium* در غلظت  $10^5$  اسپور در میلی‌لیتر تهیه شد. به منظور بهتر چسبیدن اسپورهای قارچ به سطح بذور مقدار یک درصد کربوکسی متیل سلولز به عنوان چسباننده به سوسپانسیون اسپور قارچ اضافه شد و در نهایت از سوسپانسیون مذکور به نسبت ۵۰ میلی‌لیتر در هر ۱۰۰ عدد بذر مخلوط شده و در داخل ارلن و روی شیکر با سرعت ۱۲۸ دور در دقیقه به مدت ۱۰ دقیقه قرار گرفت. سپس، بذره‌های تیمار شده روی کاغذهای سترون قرار گرفتند و در زیر هود لامینار فلو خشک شدند. در تیمار شاهد بذور با آب مقطر سترون به همراه یک درصد کربوکسی متیل سلولز تیمار شدند (Khaledi & Zare 2022). جهت ارزیابی میزان آغشتگی اسپورها به بذور با قرار دادن تصادفی پنج عدد بذر تیمار شده از هر جدایه در ۱۰ میلی‌لیتر آب مقطر حاوی توپین ۲۰ و سپس با استفاده از روش سری رقت و شمارش روی لام هموسیتومتر به طور متوسط میزان اسپور روی سطح بذر محاسبه شد. جهت اندازه‌گیری میزان زنده‌مانی اسپورهای قارچ روی سطح بذر، ۱۰۰ میکرولیتر از سوسپانسیون را برداشته و روی محیط کشت آب-آگار در دمای  $1 \pm 25$  درجه سلسیوس قرار داده و پس از ۲۴ ساعت تعداد اسپورهای جوانه زده شمارش شدند (Harman 2008). محلول داکسی نیوانول (CAS Number: 51481-10-8) از شرکت سیگما آلدریچ (Sigma-Aldrich) خریداری و جهت ارزیابی تأثیر تریکوسین داکسی نیوانول روی شاخص‌های جوانه زنی و بنیه مورد استفاده قرار گرفتند.

آزمون جوانه‌زنی استاندارد:

برای این منظور تعداد ۴۰۰ بذر (چهار تکرار با ۱۰۰ عدد بذر) از نمونه‌های بذری تیمار شده به صورت تصادفی انتخاب و به روش حوله کاغذی کشت و به اتاقک‌های رشد تحت شرایط استاندارد در دمای  $1 \pm 20$  درجه سلسیوس و با ۱۶ ساعت روشنایی و ۸ ساعت تاریکی و رطوبت نسبی  $5 \pm 65$  درصد به مدت ۸ روز منتقل شدند. شمارش بذره‌های جوانه‌زده در هر روز به‌صورت روزانه و بر اساس خروج ریشه‌چه دو میلیمتری بود

اندازه‌گیری برخی از صفات جوانه‌زنی:

صفات مرتبط با جوانه‌زنی و رشدی شامل متوسط زمان لازم برای جوانه‌زنی (MTG: Mean times germination)، متوسط جوانه‌زنی روزانه (MDG: Mean daily germination)، سرعت جوانه‌زنی روزانه (DGS: Daily germination speed)، ضریب سرعت جوانه‌زنی (CVG: Coefficient of velocity of germination) و درصد جوانه‌زنی (GP: Germination percentage) به شرح زیر مورد ارزیابی قرار گرفت:

متوسط زمان لازم برای جوانه‌زنی

$$MTG = \frac{\sum(nd)}{\sum n} \quad \text{رابطه (۱)}$$

n: تعداد بذر جوانه زده در طی d روز، d: تعداد روزها از ابتدای جوانه زنی و  $\sum n$ : کل تعداد بذره‌های جوانه زده

متوسط جوانه‌زنی روزانه

$$MDG = \frac{FGP}{TD} \quad \text{رابطه (۲)}$$

FGP: درصد جوانه‌زنی نهایی و TD: تعداد روز تا رسیدن به حداکثر جوانه‌زنی نهایی

سرعت جوانه‌زنی روزانه

$$DGS = \frac{1}{MDG} \quad \text{رابطه (۳)}$$

ضریب سرعت جوانه‌زنی

$$CVG = \frac{G_1 + G_2 + G_3 + \dots + G_n}{(1 \times G_1) + (2 \times G_2) + (3 \times G_3) + \dots + (n \times G_n)} \quad \text{رابطه (۴)}$$

$G_1$ : تعداد بذر جوانه زده در روز نخست و  $G_n$ : تعداد بذر جوانه زده در روز n

درصد جوانه‌زنی

$$GP = \left(\frac{n}{N}\right) \times 100 \quad \text{رابطه (۵)}$$

n: تعداد کل بذره‌های جوانه زده و N: تعداد کل بذره‌های کاشته شده

در پایان آزمون جوانه‌زنی استاندارد، تعداد گیاهچه‌های عادی به‌عنوان قابلیت جوانه زنی تعیین شد. همچنین میانگین درصد گیاهچه‌های غیرعادی، میانگین ارتفاع ساقه‌چه و ریشه‌چه، میانگین وزن تر و وزن خشک اندازه‌گیری شد. وزن خشک هر گیاهچه با قرار دادن در آون به مدت ۴۸ ساعت در دمای ۷۵ درجه سلسیوس و توزین با ترازوی دقیق با دقت  $0.01 \pm$  گرم اندازه‌گیری شد. همچنین تعداد ۱۰ گیاهچه عادی به طور تصادفی از هر واحد آزمایشی انتخاب و شاخص‌های بنیه گیاهچه که شامل شاخص طولی بنیه گیاهچه

واکوی آماری داده‌های حاصل از آزمایش‌های مختلف با استفاده از نرم‌افزار SAS (version 9.4) انجام و مقایسه میانگین‌ها با آزمون حداقل تفاوت معنی‌دار سطح احتمال پنج درصد ( $P \leq 0.05$ ) مورد ارزیابی قرار گرفت. برای رسم نمودارها از نرم‌افزار Microsoft Office Excel 2013 استفاده گردید.

**نتایج**

شناسایی ریخت‌شناختی و مولکولی جدایه‌های *Fusarium* نتایج حاصل از ارزیابی آلودگی به قارچ *Fusarium* عامل بیماری سوختگی فوزاریومی سنبله در نمونه‌های بذری مزارع گندم نشان داد که در ۱۰ نمونه از ۲۹ نمونه‌ی بذری مورد بررسی، آلودگی به قارچ *Fusarium* ردیابی شده است (جدول ۲).

(SLVI: Seedling length vigor index) و شاخص وزنی بنیه گیاهچه (SWVI: Seedling weight vigor index) می‌شود با استفاده از رابطه‌های زیر محاسبه گردید (Sharafizadeh, 2017):

شاخص طولی بنیه گیاهچه

$$\text{SLVI} = \text{GR} \times (\text{SL} + \text{RL}) \quad \text{رابطه (۶)}$$

GR: درصد گیاهچه‌های عادی (قابلیت جوانه‌زنی)، SL: میانگین طول ساقه‌چه و RL: میانگین طول ریشه‌چه

شاخص وزنی بنیه گیاهچه

$$\text{SWVI} = \text{GR} \times \text{SW} \quad \text{رابطه (۷)}$$

SW: وزن خشک گیاهچه

تجزیه و تحلیل آماری داده‌ها:

**جدول ۲.** مشخصات نمونه‌های بذری گندم بر اساس رقم، محل نمونه‌برداری، نوع و میزان آلودگی به جدایه‌های *Fusarium* شناسایی شده بر اساس مشخصات ریخت‌شناختی.

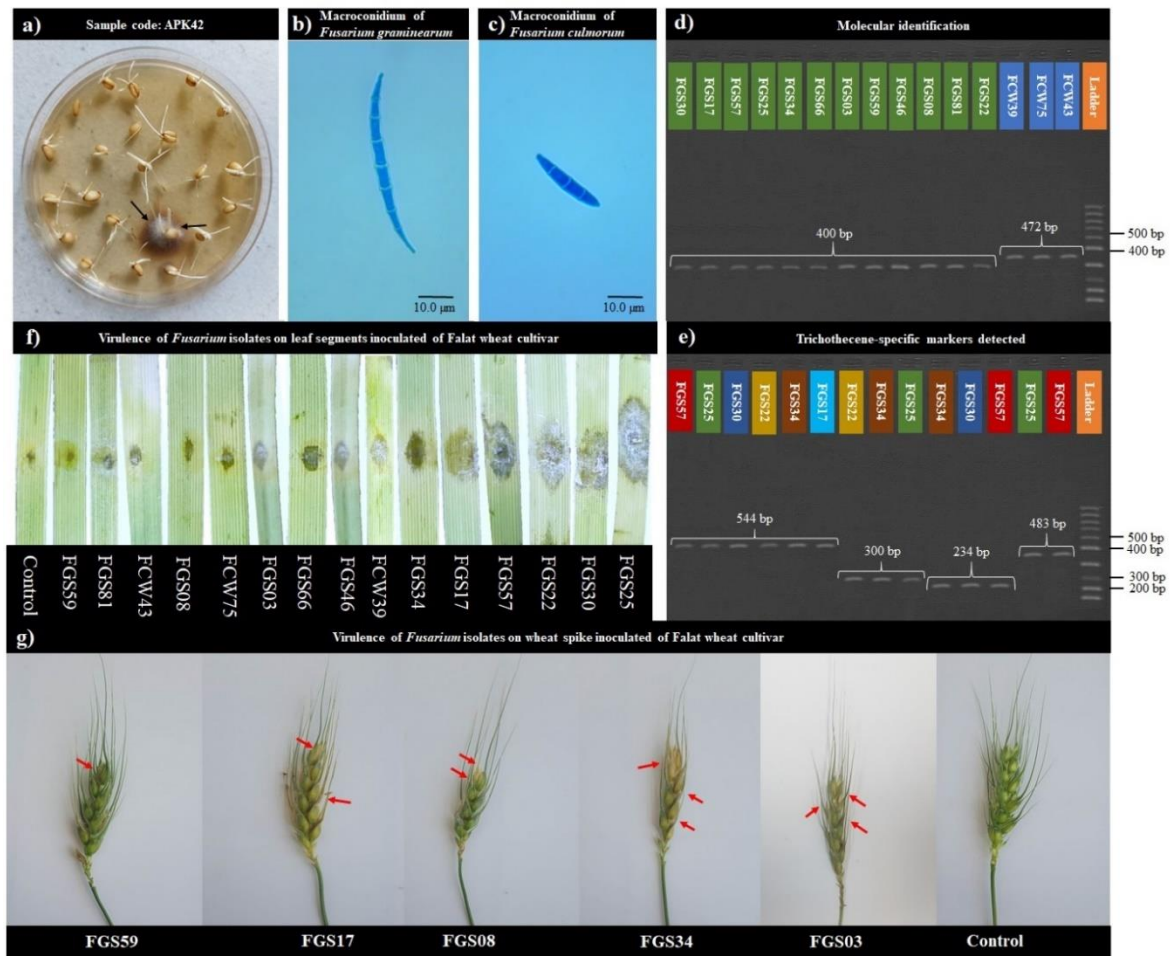
**Table 2.** Characteristics of wheat seed samples based on cultivar, sampling site, type and level of infected with *Fusarium* isolates identified based on morphological characteristics.

Sample code	Cultivar	Sample site	FG*	FC <sup>ψ</sup>	NFI <sup>§</sup>
KSK23	Setareh	Dezful	ND	ND	ND
ATW43	Torabi	Karaj	ND	ND	ND
ASS61	Sadra	Arak	ND	ND	ND
FSW33	Shabrang	Hasan Abad	2	ND	2
SOS11	Ofogh	Zabol	ND	ND	ND
TSW72	Sivand	Varamin	ND	ND	ND
HHS82	Haydari	Hamedan	1	1	2
ZOS01	Ohadi	Zanjan	ND	ND	ND
FAS31	Aran	Hasan Abad	ND	ND	ND
KKS25	Karim	Dezful	3	ND	3
KTW53	Talaei	Kermanshah	ND	ND	ND
ABS41	Baharan	Karaj	ND	ND	ND
ZHW03	Heyran	Zanjan	ND	ND	ND
KSK52	Sirvan	Kermanshah	ND	1	1
SNS12	Narin	Zabol	ND	ND	ND
KTk21	Tirgan	Shavoor	ND	ND	ND
ZBS02	Baran	Zanjan	ND	1	1
TRS71	Rakhshan	Varamin	ND	ND	ND
KSW24	Qaboos	Dezful	1	ND	1
AMS45	Mihan	Karaj	1	ND	1
KMS26	Mehregan	Dezful	2	ND	2
HHW83	Hashtrood	Hamedan	ND	ND	ND
FSF32	Sarang	Hasan Abad	ND	ND	ND
APK42	Pishgam	Karaj	1	ND	1
FSP34	Sana	Zarqan	ND	ND	ND
AZW44	Zarineh	Karaj	ND	ND	ND
KBS51	Behrang	Kermanshah	ND	ND	ND
KAS22	Aftab	Dezful	1	ND	1
AHK46	Hana	Karaj	ND	ND	ND
Total			12	3	15

\*FG: *Fusarium graminearum*, <sup>ψ</sup>FC: *F. culmorum*, <sup>§</sup>NFI = number of *Fusarium* isolates, ND: Not detected.

(۱ جدایه)، و کرمانشاه (۱ جدایه) جداسازی شدند که متعلق به جنس *Fusarium* بودند (شکل ۱ و جدول ۲).

براساس خصوصیات ریخت‌شناختی و میکروسکوپی در مجموع ۱۵ جدایه از نمونه‌های بذری استان خوزستان (۷ جدایه)، فارس (۲ جدایه)، البرز (۲ جدایه)، همدان (۲ جدایه)، زنجان



شکل ۱. جداسازی قارچ *Fusarium* spp. از نمونه بذری گندم (a)، ویژگی‌های ریخت‌شناسی ماکروکنیدیوم *Fusarium graminearum* (b) و *F. culmorum* (c)، شناسایی مولکولی جدایه‌های قارچی جداسازی‌شده از بذر (d): نوارها به ترتیب FGS30، FGS17، FGS57، FGS25، FGS34، FGS66، FGS03، FGS59، FGS46، FGS08، FGS81 و FGS22 متعلق به *F. graminearum* با آغازگر Fg16F/Fg16R؛ FCW39، FCW75 و FCW43 متعلق به *F. culmorum* با آغازگر OPT18F/OPT18R؛ (نشانهگر ۱۰۰ جفت بازی)، ردیابی ناحیه ژنی *Tri5* در جدایه‌های مختلف *Fusarium* spp. (e): باندها به ترتیب جدایه‌های FGS57، FGS25، FGS30، FGS22، FGS34 و FGS17 که نشان‌دهنده وجود ژن *Tri5* و تولیدکننده تریکوئوسین با آغازگرهای TRI5(F)/TRI5(R)؛ FGS22، FGS34 و FGS25 که نشان‌دهنده وجود ژن *Tri5-Tri6* intergenic و تولید داکسی نیوالنول با آغازگرهای ToxP1/ToxP2؛ FGS34، FGS30 و FGS57 که نشان‌دهنده وجود ژن *Tri13* و تولید داکسی نیوالنول با آغازگرهای Tri13F/Tri13R؛ FGS25 و FGS57 که نشان‌دهنده وجود ژن *Tri7* و تولید داکسی نیوالنول با آغازگرهای MinusTri7F/MinusTri7R؛ (نشانهگر ۱۰۰ جفت بازی)، بیماری‌زایی جدایه‌های مختلف *Fusarium* spp. روی قطعات برگ (f) و خوشه گندم (g): ظهور علائم بیماری ناشی از جدایه‌های FGS59، FGS81، FGS08، FGS03، FGS66، FGS34، FGS17، FGS57، FGS22، FGS30 و FGS25 متعلق به *F. graminearum* و جدایه‌های FCW39، FCW75، FCW43 متعلق به *F. culmorum* روی قطعات برگ (f)؛ ظهور علائم بیماری ناشی از جدایه‌های FGS03 و FGS34، FGS08، FGS17، FGS59 متعلق به *F. graminearum* روی خوشه گندم (g).

**Figure 1.** Isolation of fungus *Fusarium* spp. isolated from wheat seed sample (a), morphological characteristics of macroconidia of *Fusarium graminearum* (b) and *F. culmorum* (c), molecular identification of fungal isolates isolated from seed (d): the bands FGS30, FGS17, FGS57, FGS25, FGS34, FGS66, FGS03, FGS59, FGS46, FGS08, FGS81 and FGS22 belonging to *F. graminearum* with Fg16F/Fg16R primers; FCW39, FCW75 and FCW43 belonging to *F. culmorum* with OPT18F/OPT18R primers respectively; (Ladder 100 bp Fermentas), the detection of gene region of *Tri5*, *Tri5-Tri6* intergenic, *Tri7* and *Tri13* in different isolates of *Fusarium* spp. (e): the bands FGS57, FGS25, FGS30, FGS22, FGS34 and FGS17 which indicating the presence of the *Tri5* gene and trichothecene producer with TRI5(F)/TRI5(R) primers; FGS22, FGS34 and FGS25 which indicating the presence of the *Tri5-Tri6* intergenic gene and deoxynivalenol production with ToxP1/ToxP2 primers; FGS34, FGS30 and FGS57 which indicating the presence of *Tri13* gene and deoxynivalenol production with Tri13F/Tri13R primers; FGS25 and FGS57 which indicating the presence of *Tri7* gene and deoxynivalenol production with MinusTri7F/MinusTri7R primers respectively; (Ladder 100 bp Fermentas), virulence of different isolates of *Fusarium* spp. on leaf segments (f) and spike (g) of wheat: the appearance of symptoms of the disease caused by the isolates of FGS59, FGS81, FGS08, FGS03, FGS66, FGS34, FGS17, FGS57, FGS22, FGS30 and FGS25 belonging to *F. graminearum* and isolates of FCW43, FCW75, FCW39 belonging to *F. culmorum* on leaf segments (f); isolates of FGS59, FGS17, FGS08, FGS34 and FGS03 belonging to *F. graminearum* on wheat spike (g).



درصد جدایه‌های *F. culmorum* فاقد ژن *Tri5* بودند. همچنین، آغازگرهایی برای تکثیر سه ناحیه ژنومی (*Tri5-Tri6*) (*Tri5*، *Tri6*، *Tri7*، *Tri13*) که در بیوسنتز تریکوتسین نقش دارند، استفاده شدند (شکل ۱e). از آغازگر مورد استفاده برای ردیابی نواحی ژنومی *Tri5*، *Tri7*، *Tri13* و *Tri5-Tri6 intergenic* برای تشخیص تولید داکسی نیوالنول استفاده شد که به ترتیب تولید یک قطعه به طول ۴۸۳، ۳۰۰ و ۲۳۴ جفت باز می‌کند (شکل ۱e). نتایج نشان داد که شش جدایه *Fusarium* دارای ژن‌های تولیدکننده داکسی نیوالنول و ۹ جدایه فاقد توانایی تولید تریکوتسین‌ها بودند. میزان تولید تریکوتسین داکسی نیوالنول در محیط کشت برنج با روش کروماتوگرافی مایع با کارایی بالا مورد ارزیابی قرار گرفت و نتایج آن در جدول ۳ ارائه شده‌اند. سطح تولید داکسی نیوالنول در محدوده ۳۵۰۰-۱۶۵۰ میکروگرم در کیلوگرم متغیر بود.

بررسی میزان بیماری‌زایی و قدرت تهاجم جدایه‌های *Fusarium* مقایسه داده‌های به دست آمده از بررسی بیماری‌زایی جدایه‌های مختلف *Fusarium* روی خوشه و قطعات برگ گندم نشان داد که جدایه‌های گونه‌های مختلف و همچنین جدایه‌های متفاوت از یک گونه قدرت بیماری‌زایی متفاوتی دارند (جدول ۴). بر اساس نتایج به دست آمده، تفاوت معنی‌داری در شاخص بیماری در خوشه گندم و همچنین طول زخم برگ در بین نمونه‌های مورد آزمایش مشاهده شد. نتایج نشان داد که تمامی جدایه‌ها در گندم (رقم فلات) بیماری‌زا بودند. نتایج آزمون بیماری‌زایی روی خوشه گندم نشان داد که کمترین شاخص بیماری مربوط به جدایه *graminearum* FGS59 به میزان  $0/25 \pm 18/25$  درصد و بیشترین میزان آن مربوط به جدایه *graminearum* FGS25 به میزان  $0/48 \pm 53/75$  درصد بود (شکل ۱g و جدول ۴). به طور میانگین بیشترین طول زخم روی برگ گندم توسط جدایه *graminearum* FGS25 به میزان  $0/25 \pm 28/25$  میلی‌متر و کمترین طول زخم توسط جدایه‌های *graminearum* FGS59 به میزان  $0/48 \pm 6/75$  میلی‌متر ایجاد شد (شکل ۱f و جدول ۴). همچنین جدایه FCW39 در میان تمام جدایه‌های *F. culmorum* بیشترین پیشرفت بیماری را روی خوشه گندم به میزان  $0/41 \pm 30/00$  درصد و همچنین طول زخم برگ به میزان  $0/25 \pm 12/75$  میلی‌متر داشت (شکل ۱f و جدول ۴).

تشخیص گونه‌های *Fusarium* بر اساس ویژگی‌های ریخت‌شناسی و مولکولی به ترتیب با استفاده از کلیدهای شناسایی معتبر و آغازگرهای اختصاصی انجام شد که در مجموع، ۱۲ جدایه متعلق به *F. graminearum* و سه جدایه متعلق به *F. culmorum* بودند. مشخصات گونه *F. graminearum* جداسازی شده منطبق بر مشخصات ذکر شده در منابع معتبر است. ویژگی‌های مشاهده شده گونه *F. graminearum* به شرح زیر می‌باشد: رنگ پرگنه قارچ متغیر و به رنگ‌های سفید، نارنجی کمرنگ، هلوبی یا گل‌سرخ خاکستری بوده و اسپوردوکیوم‌ها به رنگ نارنجی کمرنگ تشکیل شدند. ماکروکنیدیوم‌ها نسبتاً کشیده، معمولاً دارای ۵ تا ۷ دیواره عرضی بوده که سلول انتهایی به صورت مخروطی و سلول پایه به شکل پاشنه بود (شکل ۱b). میکروکنیدیوم تشکیل نشده و کلامیدوسپور به فراوانی در هیفاها تشکیل شدند. با توجه به نتایج به دست آمده از تجزیه و تحلیل مولکولی با استفاده از آغازگرهای Fg16R/Fg16F نشان داد که ۱۲ جدایه جداسازی و شناسایی شده به روش ریخت‌شناسی از بذر گندم به عنوان *F. graminearum* مورد تأیید است (شکل ۱d). مشخصات گونه *F. culmorum* جداسازی شده منطبق بر مشخصات ذکر شده در منابع معتبر است. ویژگی‌های مشاهده شده گونه *F. culmorum* به شرح زیر می‌باشد: رنگ پرگنه قارچ از نارنجی تا گل‌سرخ تیره متغیر بوده و اسپوردوکیوم‌ها به رنگ قهوه‌ای بنفش یا قهوه‌ای تیره به فراوانی تشکیل شدند. ماکروکنیدیوم‌ها معمولاً دارای ۳ تا ۴ دیواره عرضی بوده که سلول انتهایی به صورت گرد و بی‌نوک و سلول پایه به شکل بدون پاشنه بود (شکل ۱c). میکروکنیدیوم تشکیل نشده و کلامیدوسپورها اغلب به صورت زنجیری و توده‌ای بوده و در برخی موارد به صورت جفتی و تکی تشکیل شدند. نتایج به دست آمده از تجزیه و تحلیل مولکولی با استفاده از آغازگرهای اختصاصی نشان داد که ۳ جدایه جداسازی و شناسایی شده به روش ریخت‌شناختی از بذر گندم به عنوان *F. culmorum* مورد تأیید است (شکل ۱d).

تعیین حضور ژن‌ها و میزان تولید داکسی نیوالنول توسط جدایه‌های *Fusarium* نتایج به دست آمده از ردیابی ژن *Tri5* نشان داد ۶۰ درصد جدایه‌ها فاقد ژن *Tri5* و ۴۰ درصد جدایه‌ها دارای ژن *Tri5* و توانایی تولید تریکوتسین هستند (شکل ۱e). نتایج نشان داد که به ترتیب ۲۵ درصد از جدایه‌های *F. graminearum* و ۱۰۰

جدول ۳. مشخصات جدایه‌های *Fusarium* جداسازی شده از بذر گندم بر اساس رقم، محل نمونه‌برداری و حضور ژن‌ها و میزان داکسی نیوالنول تولید شده در محیط کشت برنج.

**Table 3.** Characteristics of *Fusarium* isolates recovered from wheat seeds based on the cultivar, origin, and presence of genes and the level of deoxynivalenol production in rice cultures.

Isolate code	Cultivar	Sample site	Species-specific PCR	PCR assay results				Deoxynivalenol production <i>in vitro</i> ( $\mu\text{g}\cdot\text{kg}^{-1}$ )
				<i>Tri5</i>	<i>Tri7</i>	<i>Tri13</i>	<i>Tri5-Tri6</i> intergenic	
FGS57	Qaboos	Dezful	<i>F. graminearum</i>	+	-	+	-	2130 $\pm$ 36.05
FGS03	Aftab	Dezful	<i>F. graminearum</i>	-	-	-	-	0
FGS81	Haydari	Hamedan	<i>F. graminearum</i>	-	-	-	-	0
FGS25	Shabrang	Hasan Abad	<i>F. graminearum</i>	+	+	-	+	3500 $\pm$ 30.41
FCW39	Baran	Zanjan	<i>F. culmorum</i>	-	-	-	-	0
FGS08	Pishgam	Karaj	<i>F. graminearum</i>	-	-	-	-	0
FGS46	Shabrang	Hasan Abad	<i>F. graminearum</i>	-	-	-	-	0
FGS30	Mehregan	Dezful	<i>F. graminearum</i>	+	-	+	-	2860 $\pm$ 20.82
FCW75	Sirvan	Kermanshah	<i>F. culmorum</i>	-	-	-	-	0
FGS59	Karim	Dezful	<i>F. graminearum</i>	-	-	-	-	0
FGS34	Mehregan	Dezful	<i>F. graminearum</i>	+	-	+	+	1860 $\pm$ 43.30
FGS22	Karim	Dezful	<i>F. graminearum</i>	+	-	-	+	2370 $\pm$ 11.55
FGS66	Mihan	Karaj	<i>F. graminearum</i>	-	-	-	-	0
FCW43	Haydari	Hamedan	<i>F. culmorum</i>	-	-	-	-	0
FGS17	Karim	Dezful	<i>F. graminearum</i>	+	+	-	-	1650 $\pm$ 16.07

*Tri5*: tricothecene producers, +: Presence, -: Absence, The level of deoxynivalenol production *in vitro* are the average of three repetitions  $\pm$  standard error.

جدول ۴. بیماری‌زایی و قدرت تهاجم جدایه‌های *Fusarium graminearum* و *F. culmorum* بر روی خوشه و قطعات برگ‌گی رقم فلات گندم.

**Table 4.** Virulence and aggressiveness of *Fusarium graminearum* and *F. culmorum* isolates on spike and leaf segments inoculated of Falat wheat cultivar.

Isolate code	spike		leaf	
	Virulence (FHB index)	Aggressiveness (hpi)	Virulence (LL, mm)	Aggressiveness (hpi)
FGS57	39.50 $\pm$ 0.29 <sup>d</sup>	155 $\pm$ 0.41 <sup>d</sup>	18.50 $\pm$ 0.28 <sup>d</sup>	76 $\pm$ 0.71 <sup>i</sup>
FGS03	25.75 $\pm$ 0.25 <sup>h</sup>	183 $\pm$ 0.41 <sup>j</sup>	10.25 $\pm$ 0.48 <sup>g</sup>	91 $\pm$ 0.58 <sup>e</sup>
FGS81	19.50 $\pm$ 0.50 <sup>k</sup>	197 $\pm$ 0.41 <sup>n</sup>	7.50 $\pm$ 0.29 <sup>jk</sup>	100 $\pm$ 0.71 <sup>b</sup>
FGS25	53.75 $\pm$ 0.48 <sup>a</sup>	142 $\pm$ 0.41 <sup>a</sup>	28.25 $\pm$ 0.25 <sup>a</sup>	67 $\pm$ 0.58 <sup>k</sup>
FCW39	30.00 $\pm$ 0.41 <sup>f</sup>	172 $\pm$ 0.41 <sup>g</sup>	12.75 $\pm$ 0.25 <sup>f</sup>	84 $\pm$ 0.71 <sup>g</sup>
FGS08	22.00 $\pm$ 0.41 <sup>j</sup>	190 $\pm$ 0.58 <sup>l</sup>	8.75 $\pm$ 0.25 <sup>hi</sup>	96 $\pm$ 0.41 <sup>c</sup>
FGS46	29.50 $\pm$ 0.29 <sup>f</sup>	175 $\pm$ 0.41 <sup>h</sup>	12.50 $\pm$ 0.29 <sup>f</sup>	85 $\pm$ 0 <sup>fg</sup>
FGS30	45.50 $\pm$ 0.29 <sup>b</sup>	147 $\pm$ 0.58 <sup>b</sup>	24.50 $\pm$ 0.64 <sup>b</sup>	72 $\pm$ 0.41 <sup>j</sup>
FCW75	24.00 $\pm$ 0.41 <sup>i</sup>	187 $\pm$ 0 <sup>k</sup>	9.75 $\pm$ 0.48 <sup>gh</sup>	94 $\pm$ 0.41 <sup>d</sup>
FGS59	18.25 $\pm$ 0.25 <sup>l</sup>	200 $\pm$ 0.91 <sup>o</sup>	6.75 $\pm$ 0.48 <sup>k</sup>	105 $\pm$ 0.41 <sup>a</sup>
FGS34	36.50 $\pm$ 0.29 <sup>e</sup>	157 $\pm$ 0.58 <sup>e</sup>	16.75 $\pm$ 0.48 <sup>e</sup>	79 $\pm$ 0.41 <sup>h</sup>
FGS22	41.75 $\pm$ 0.48 <sup>c</sup>	152 $\pm$ 0.71 <sup>c</sup>	20.25 $\pm$ 0.47 <sup>c</sup>	75 $\pm$ 0.41 <sup>i</sup>
FGS66	27.75 $\pm$ 0.25 <sup>g</sup>	177 $\pm$ 0.71 <sup>i</sup>	11.75 $\pm$ 0.25 <sup>f</sup>	86 $\pm$ 0.41 <sup>f</sup>
FCW43	20.50 $\pm$ 0.29 <sup>k</sup>	194 $\pm$ 0.41 <sup>m</sup>	8.00 $\pm$ 0.41 <sup>ij</sup>	99 $\pm$ 0.41 <sup>b</sup>
FGS17	35.50 $\pm$ 0.29 <sup>e</sup>	159 $\pm$ 0.71 <sup>f</sup>	16.25 $\pm$ 0.29 <sup>e</sup>	80 $\pm$ 0 <sup>h</sup>
LSD (0.05)	1.01	1.56	1.08	1.37

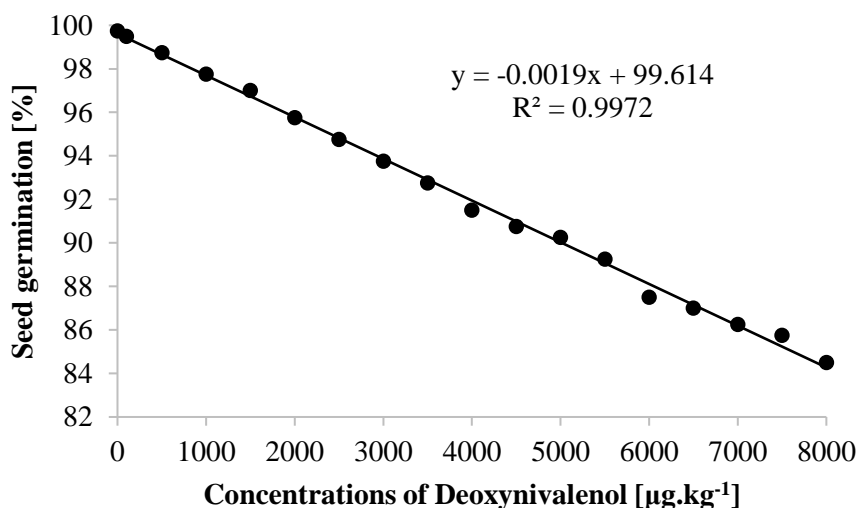
hpi: hours post inoculation, FHB index: Fusarium head blight index, LL: Lesion length. Average  $\pm$  standard error, Different letters indicate significant differences according to LSD analysis using SAS software ( $P \leq 0.05$ ), each experiment was repeated two times with similar results.

FGS25 بود که اولین علائم بیماری روی خوشه را ۱۴۲ ساعت پس از مایه‌زنی به صورت لکه‌های کوچک قهوه‌ای آب سوخته و روی قطعات برگ‌گی را ۶۷ ساعت پس از مایه‌زنی به صورت لکه‌های کوچک نکروز نشان می‌دهند. کمترین قدرت تهاجم در

قدرت تهاجم جدایه‌های *Fusarium* مورد مطالعه متفاوت است (جدول ۴). نتایج آزمون قدرت تهاجم جدایه‌های *F. graminearum* روی خوشه گندم و قطعات برگ‌گی نشان داد که بیشترین میزان قدرت تهاجم جدایه‌ها مربوط به جدایه

تأثیر غلظت‌های مختلف داکسی نیوالنول روی درصد جوانه‌زنی

نتایج حاصل از غلظت‌های مختلف داکسی نیوالنول روی درصد جوانه‌زنی گندم در شکل ۲ ارائه شده است. نتایج نشان داد که داکسی نیوالنول باعث کاهش درصد جوانه‌زنی گندم شد. با افزایش غلظت داکسی نیوالنول، درصد جوانه‌زنی بذر به طور معنی‌داری کاهش یافت. در استاندارد ملی بذر گندم، حداقل درصد جوانه‌زنی ۹۰ درصد پیشنهاد شده است که براساس نتایج ارائه شده در شکل ۲ تیمار بذر با داکسی نیوالنول در غلظت ۵۰۶۰ میکروگرم در کیلوگرم موجب کاهش جوانه‌زنی بذر گندم به میزان ۹۰ درصد می‌شود.



شکل ۲. تأثیر غلظت‌های مختلف داکسی نیوالنول روی درصد جوانه‌زنی بذر گندم رقم فلات.

**Figure 2.** Effect of different concentrations of doxynivalenol on the percentage of seed germination of Falat wheat cultivar.

قارچی *Fusarium* از ۹۲/۲۵ تا ۹۹/۲۵ درصد متغیر بود. درصد جوانه‌زنی بذر گندم تیمار شده با داکسی نیوالنول و شاهد به ترتیب ۹۰ و ۹۹/۷۵ درصد بود. تیمارهای بذر گندم با جدایه‌های *Fusarium* در مقایسه با تیمارهای شاهد سالم در برخی تیمارها تأثیر معنی‌داری روی میانگین درصد گیاهچه‌های غیرعادی تغییر شکل یافته داشته و میزان آن از ۰/۵ تا ۳/۵ درصد متغیر بود.

مقایسه با سایر جدایه‌های مربوط به جدایه FGS59 که اولین علائم بیماری روی خوشه را ۲۰۰ ساعت پس از مایه‌زنی و ۱۰۵ ساعت پس از مایه‌زنی روی قطعات برگی نشان می‌دهند (جدول ۴). همچنین بیشترین و کمترین قدرت تهاجم در میان تمام جدایه‌های *F. culmorum* روی خوشه و قطعات برگی به ترتیب مربوط به جدایه FCW39 (۱۷۲ ساعت پس از مایه‌زنی روی خوشه و ۸۴ ساعت پس از مایه‌زنی روی قطعات برگی) و FCW43 (۱۹۴ ساعت پس از مایه‌زنی روی خوشه و ۹۹ ساعت پس از مایه‌زنی روی قطعات برگی) بود. بررسی قدرت تهاجم در خوشه و قطعات برگی نشان داد که سریع‌ترین ظهور و توسعه علائم بیماری در مقایسه با سایر جدایه‌های *Fusarium* مربوط به جدایه *F. graminearum* FGS25 بود (جدول ۴).

تأثیر تیمارهای بذر گندم روی صفات مرتبط با جوانه‌زنی

بر اساس نتایج حاصل از مقایسه میانگین شاخص‌های جوانه‌زنی و بنیه در تیمارهای بذر با جدایه‌های مختلف *Fusarium* و ترکیب داکسی نیوالنول در مقایسه با تیمارهای شاهد اختلاف معنی‌داری مشاهده شد (جدول ۵). نتایج درصد جوانه‌زنی بذر گندم تیمار شده در آزمون جوانه‌زنی استاندارد نشان داد که درصد جوانه‌زنی بذر در تیمارها با جدایه‌های

**جدول ۵.** مقایسه میانگین خصوصیات کیفی بذر و صفات مرتبط با جوانه زنی در تیمارهای بذری گندم رقم فلات با جدایه‌های *Fusarium* *graminearum* و *F. culmorum* و ترکیب داکسی نیوالنول در غلظت ۵۰۶۰ میکروگرم در کیلوگرم.

**Table 5.** Means comparison of quality characteristics of seeds and traits related to germination in seed treatments of Falat wheat cultivar with *Fusarium graminearum* and *F. culmorum* isolates and deoxynivalenol compound in concentration of 5060  $\mu\text{g.kg}^{-1}$ .

Treatments	GP	AN	SL	RL	FW	DW
FGS57	95.25 <sup>kl</sup>	1.25 <sup>d</sup>	11.82 <sup>i</sup>	14.72 <sup>j</sup>	2.15 <sup>g</sup>	0.167 <sup>l</sup>
FGS03	97.75 <sup>ef</sup>	0 <sup>f</sup>	13.35 <sup>e</sup>	16.70 <sup>e</sup>	2.34 <sup>c</sup>	0.196 <sup>f</sup>
FGS81	99.00 <sup>bc</sup>	0 <sup>f</sup>	14.17 <sup>b</sup>	17.47 <sup>b</sup>	2.38 <sup>b</sup>	0.210 <sup>b</sup>
FGS25	92.50 <sup>m</sup>	3.50 <sup>b</sup>	9.57 <sup>l</sup>	12.95 <sup>m</sup>	2.02 <sup>j</sup>	0.143 <sup>o</sup>
FCW39	96.50 <sup>hi</sup>	0.50 <sup>ef</sup>	12.85 <sup>g</sup>	15.85 <sup>h</sup>	2.27 <sup>e</sup>	0.183 <sup>i</sup>
FGS08	99.50 <sup>cd</sup>	0 <sup>f</sup>	13.80 <sup>c</sup>	17.10 <sup>d</sup>	2.36 <sup>c</sup>	0.203 <sup>d</sup>
FGS46	96.75 <sup>gh</sup>	0.50 <sup>ef</sup>	12.87 <sup>g</sup>	16.15 <sup>g</sup>	2.28 <sup>e</sup>	0.186 <sup>h</sup>
FGS30	93.75 <sup>n</sup>	2.25 <sup>c</sup>	11.15 <sup>k</sup>	13.52 <sup>l</sup>	2.08 <sup>i</sup>	0.155 <sup>n</sup>
FCW75	98.25 <sup>de</sup>	0 <sup>f</sup>	13.55 <sup>d</sup>	16.82 <sup>e</sup>	2.35 <sup>c</sup>	0.200 <sup>e</sup>
FGS59	99.25 <sup>ab</sup>	0 <sup>f</sup>	14.25 <sup>ab</sup>	17.60 <sup>b</sup>	2.38 <sup>b</sup>	0.211 <sup>b</sup>
FGS34	95.75 <sup>jk</sup>	1.00 <sup>de</sup>	12.12 <sup>h</sup>	15.17 <sup>i</sup>	2.20 <sup>f</sup>	0.171 <sup>k</sup>
FGS22	94.75 <sup>l</sup>	1.50 <sup>d</sup>	11.62 <sup>j</sup>	14.55 <sup>k</sup>	2.13 <sup>h</sup>	0.162 <sup>m</sup>
FGS66	97.25 <sup>fg</sup>	0 <sup>f</sup>	13.15 <sup>f</sup>	16.42 <sup>f</sup>	2.32 <sup>d</sup>	0.192 <sup>g</sup>
FCW43	98.75 <sup>bcd</sup>	0 <sup>f</sup>	13.92 <sup>c</sup>	17.27 <sup>c</sup>	2.37 <sup>b</sup>	0.207 <sup>c</sup>
FGS17	96.00 <sup>ij</sup>	1.00 <sup>de</sup>	12.17 <sup>h</sup>	15.30 <sup>i</sup>	2.21 <sup>f</sup>	0.175 <sup>j</sup>
Control	99.75 <sup>a</sup>	0 <sup>f</sup>	14.35 <sup>a</sup>	18.00 <sup>a</sup>	2.44 <sup>a</sup>	0.214 <sup>a</sup>
CMC	99.75 <sup>a</sup>	0 <sup>f</sup>	14.35 <sup>a</sup>	17.97 <sup>a</sup>	2.43 <sup>a</sup>	0.214 <sup>a</sup>
DON	90.00 <sup>o</sup>	5.25 <sup>a</sup>	7.72 <sup>m</sup>	4.50 <sup>n</sup>	1.66 <sup>k</sup>	0.112 <sup>p</sup>
LSD (0.05)	0.95	0.67	0.15	0.13	0.015	0.001

Treatments	SWVI	SLVI	MTG	CVG	MDG	DGS
FGS57	15.7 <sup>l</sup>	2495.7 <sup>k</sup>	3.80 <sup>e</sup>	0.263 <sup>l</sup>	13.61 <sup>gh</sup>	0.0735 <sup>de</sup>
FGS03	19.2 <sup>f</sup>	2937.3 <sup>f</sup>	3.23 <sup>j</sup>	0.309 <sup>g</sup>	16.29 <sup>d</sup>	0.0614 <sup>i</sup>
FGS81	20.8 <sup>b</sup>	3133.3 <sup>b</sup>	3.05 <sup>m</sup>	0.327 <sup>d</sup>	19.80 <sup>b</sup>	0.0505 <sup>kl</sup>
FGS25	12.7 <sup>o</sup>	2004.6 <sup>n</sup>	3.98 <sup>b</sup>	0.251 <sup>n</sup>	13.21 <sup>j</sup>	0.0757 <sup>b</sup>
FCW39	17.6 <sup>i</sup>	2755.1 <sup>i</sup>	3.33 <sup>h</sup>	0.300 <sup>i</sup>	16.04 <sup>f</sup>	0.0623 <sup>g</sup>
FGS08	19.9 <sup>d</sup>	3043.6 <sup>d</sup>	3.19 <sup>k</sup>	0.315 <sup>f</sup>	16.46 <sup>c</sup>	0.0609 <sup>j</sup>
FGS46	17.9 <sup>h</sup>	2793.3 <sup>h</sup>	3.31 <sup>h</sup>	0.302 <sup>i</sup>	16.12 <sup>ef</sup>	0.0620 <sup>gh</sup>
FGS30	14.2 <sup>n</sup>	2257.8 <sup>m</sup>	3.94 <sup>c</sup>	0.254 <sup>n</sup>	13.39 <sup>i</sup>	0.0747 <sup>c</sup>
FCW75	19.7 <sup>e</sup>	2984.3 <sup>e</sup>	3.19 <sup>k</sup>	0.313 <sup>f</sup>	16.41 <sup>c</sup>	0.0608 <sup>j</sup>
FGS59	20.9 <sup>b</sup>	3161.1 <sup>b</sup>	3.02 <sup>n</sup>	0.331 <sup>c</sup>	19.85 <sup>ab</sup>	0.0504 <sup>kl</sup>
FGS34	16.2 <sup>k</sup>	2586.6 <sup>j</sup>	3.74 <sup>f</sup>	0.268 <sup>k</sup>	13.68 <sup>g</sup>	0.0731 <sup>ef</sup>
FGS22	15.1 <sup>m</sup>	2440.8 <sup>l</sup>	3.85 <sup>d</sup>	0.259 <sup>m</sup>	13.53 <sup>h</sup>	0.0739 <sup>d</sup>
FGS66	18.7 <sup>g</sup>	2876.1 <sup>g</sup>	3.26 <sup>i</sup>	0.307 <sup>h</sup>	16.21 <sup>de</sup>	0.0617 <sup>hi</sup>
FCW43	20.4 <sup>c</sup>	3080.9 <sup>c</sup>	3.09 <sup>l</sup>	0.324 <sup>e</sup>	19.75 <sup>b</sup>	0.0506 <sup>k</sup>
FGS17	16.6 <sup>j</sup>	2610.1 <sup>j</sup>	3.69 <sup>g</sup>	0.271 <sup>j</sup>	13.71 <sup>g</sup>	0.0729 <sup>f</sup>
Control	21.4 <sup>a</sup>	3226.9 <sup>a</sup>	2.86 <sup>p</sup>	0.349 <sup>a</sup>	19.95 <sup>a</sup>	0.0501 <sup>l</sup>
CMC	21.3 <sup>a</sup>	3224.4 <sup>a</sup>	2.94 <sup>o</sup>	0.339 <sup>b</sup>	19.95 <sup>a</sup>	0.0501 <sup>l</sup>
DON	9.6 <sup>p</sup>	1036.1 <sup>o</sup>	4.14 <sup>a</sup>	0.241 <sup>o</sup>	12.86 <sup>k</sup>	0.0778 <sup>a</sup>
LSD (0.05)	-	-	0.026	0.025	0.111	0.0004

Control: seed treatment uninfected, CMC: wheat seed treatment with carboxymethyl cellulose, DON: seed treatment with deoxynivalenol in concentration of 5060  $\mu\text{g.kg}^{-1}$ , GP: Germination percent, AN: the average percentage of deformed seedling, SL: average shoot length (cm), RL: average root length (cm), FW: fresh weight (g), DW: dry weight (g), SLVI: seedling length vigor index, SWVI: seedling weight vigor index, MTG: Mean times germination, CVG: Coefficient of velocity of germination, MDG: Mean daily germination, DGS: Daily germination speed. Means within a column indicated by the same letter were not significantly different according to the least significant difference (LSD) test at the level  $P \leq 0.05$ .

.FGS22، .FGS34، .FGS30، .FGS46، .FCW39، .FGS25، .FGS17 و ترکیب داکسی نیوالنول در مقایسه با تیمارهای شاهد افزایش یافت. نتایج حاصل از آزمون استاندارد جوانه‌زنی نشان داد که شاخص بنیه گیاهچه در بذور تیمار شده با جدایه‌های *Fusarium* و ترکیب داکسی نیوالنول در مقایسه با تیمارهای شاهد کاهش یافته و این کاهش در بذور تیمار شده با

بالاترین درصد گیاهچه‌های عادی مربوط به نمونه‌های .FGS81، .FGS03، .FGS08، .FCW75، .FGS59، .FGS66 و .FCW43 بود. میانگین درصد گیاهچه‌های عادی در بذور تیمار شده با داکسی نیوالنول حدود ۹۴/۷۵ درصد بود. میانگین درصد گیاهچه‌های غیرعادی تغییر شکل یافته در نمونه‌های تیمار شده با جدایه‌های .FGS57

جوانه‌زنی پرداخته شد. قارچ‌های *F. graminearum*، *F. poa* (Peck) Wollenw. و *F. culmorum avenaceum* عنوان عوامل بیماری سوختگی فوزاریومی سنبله در نمونه‌های بذری طبقات بذری گندم گزارش شده است (Hassani et al. 2019) که با مشاهدات این پژوهش مطابقت دارد. قارچ *F. graminearum* به گونه غالب *Fusarium* همراه بذر گندم گزارش شده است (Ghamari et al. 2011). در میان گونه‌های قارچی جداسازی شده، گونه *F. graminearum* با فراوانی ۸۰ درصد شایع‌ترین گونه شناسایی شده در این پژوهش است که با گزارش‌های سایر محققان که این گونه را به‌عنوان گونه غالب معرفی کردند مطابقت دارد (Hassani et al. 2019; Narmani et al. 2019; Khaledi et al. 2017; Miyanabi et al. 2014; Mobasser et al. 2013; Hajihassani et al. 2012; Davari et al. 2013). گزارش داد که ۴۲/۹ درصد از جدایه‌های جداسازی شده از بذر گندم در ایران متعلق به *F. graminearum* است که با مشاهدات این پژوهش مطابقت دارد. نتایج این پژوهش نشان داد که جدایه‌های گونه *F. culmorum* در نمونه‌های بذری جمع‌آوری شده از مزارع استان همدان، زنجان و کرمانشاه و جدایه‌های گونه *F. graminearum* در نمونه‌های بذری جمع‌آوری شده از مزارع استان خوزستان، فارس، البرز و همدان جداسازی و شناسایی شد. در مجموع از ۲۹ نمونه‌ی بذر جمع‌آوری شده از مزارع گندم، ۳۴/۵ درصد نمونه‌ها آلوده به *Fusarium* و ۶۵/۵ درصد نمونه‌های بذری فاقد آلودگی به *Fusarium* بودند (Khazaei et al. 2014). گزارش می‌دهد که میانگین میزان آلودگی نمونه بذر گندم به *Fusarium* در ایران حدود ۴۶/۵ درصد است. به‌طور کلی میانگین میزان بروز آلودگی به *Fusarium* در بذر گندم در استان‌های مورد بررسی به میزان ۰/۵۱ درصد بود که میزان بروز گونه‌های *F. graminearum* و *F. culmorum* شناسایی شده در بذرهای مورد بررسی به ترتیب به فراوانی ۰/۴ درصد و ۰/۱ درصد می‌باشد (Hassani et al. 2019). گزارش کردند که میزان بروز آلودگی بذر گندم به *F. graminearum* و *F. culmorum* به ترتیب به میزان ۳/۷۸ درصد و ۱/۱۳ درصد است. علت کاهش میزان آلودگی در نمونه‌های بذری گندم در مقایسه با بررسی‌های قبلی را می‌توان به شرایط محیطی و اقلیمی، اجتناب از کاشت بذور آلوده، تحمل نسبی رقم، دوری مزارع از کانون‌های آلودگی و تناوب زراعی نسبت داد. بهترین راه مدیریت این بیماری استفاده از ارقام مقاوم، بذر سالم و ضدعفونی بذر با قارچکش‌های شیمیایی توصیه شده است

داکسی نیوالنول نسبت به جدایه‌های *Fusarium* بیشتر بود. میزان شاخص طولی بنیه در تیمارهای بذری تیمار شده با جدایه‌های *Fusarium* از ۲۰۰۴/۶ تا ۳۱۶۱/۱ و شاخص وزنی بنیه از ۲۰/۹ تا ۱۲/۷ متغیر بود. میزان شاخص طولی و شاخص وزنی بنیه در بذور تیمار شده با داکسی نیوالنول به ترتیب ۱۰۳۶/۱ و ۹/۶ بود (جدول ۵). در میان تیمارهای بذری اختلاف معنی‌داری در شاخص‌های جوانه زنی و بنیه مورد ارزیابی مشاهده شد. میانگین طول و وزن گیاهچه در تیمارهای شاهد بیشتر از بذور تیمار شده با جدایه‌های *Fusarium* و داکسی نیوالنول بوده و میانگین طول ساقه‌چه و ریشه‌چه در تیمار داکسی نیوالنول به ترتیب ۷/۷۲ سانتی‌متر و ۴/۵۰ سانتی‌متر بود. همچنین میانگین طول ساقه‌چه در بذور تیمار شده با جدایه‌های *Fusarium* از ۹/۵۷ تا ۱۴/۲۵ سانتی‌متر و میانگین طول ریشه‌چه از ۱۲/۹۵ تا ۱۷/۶۰ سانتی‌متر متغیر بود. میانگین وزن تر گیاهچه‌های حاصل از بذور تیمار شده با جدایه‌های *Fusarium* از ۲/۰۲ تا ۲/۳۸ گرم و وزن خشک ۰/۱۴۳ تا ۰/۲۱۱ گرم متغیر بود. میانگین وزن تر و وزن خشک گیاهچه‌های حاصل از بذور تیمار شده با داکسی نیوالنول به ترتیب ۱/۶۶ گرم و ۰/۱۱۲ گرم بود (جدول ۵).

بیشترین و کمترین شاخص بنیه گیاهچه در تیمارهای بذری تیمار شده با جدایه‌های *Fusarium* به ترتیب مربوط به بذور تیمار شده با جدایه FGS25 و FGS59 بود. نتایج حاصل از مقایسه میانگین صفات مرتبط با جوانه‌زنی نشان داد که متوسط زمان لازم برای جوانه‌زنی، متوسط جوانه‌زنی روزانه، سرعت جوانه‌زنی روزانه و ضریب سرعت جوانه‌زنی در تیمارهای بذری با جدایه‌های مختلف *Fusarium* در مقایسه با تیمارهای شاهد در گروه آماری مختلف قرار گرفتند و از لحاظ آماری اختلاف معنی‌دار داشت. کمترین میزان ضریب سرعت جوانه‌زنی و متوسط جوانه‌زنی روزانه و بیشترین میزان سرعت جوانه‌زنی روزانه و متوسط زمان لازم برای جوانه‌زنی در مقایسه با سایر تیمارهای بذر مربوط به گیاهچه‌های حاصل از بذور تیمار شده با داکسی نیوالنول بود.

## بحث

در این پژوهش ضمن بررسی میزان آلودگی بذور گندم به عوامل بیماری سوختگی فوزاریومی سنبله، به ارزیابی تأثیر داکسی نیوالنول ترشح‌شده توسط جدایه‌های قارچی جداسازی شده روی میزان پیشرفت بیماری و قدرت تهاجم در خوشه و قطعات برگی و همچنین کیفیت بذر و صفات مرتبط با

(Malihipour et al. 2018).

*graminearum* بر روی خوشه و قطعات برگگی نشان داد که میزان قدرت تهاجم جدایه‌ها از  $142 \pm 0.41$  تا  $200 \pm 0.91$  ساعت پس از آلودگی روی خوشه و  $67 \pm 0.58$  تا  $99 \pm 0.41$  ساعت پس از آلودگی روی قطعات برگگی متغیر بودند. همچنین نتایج حاصل از ارزیابی قدرت تهاجم جدایه‌های *F. culmorum* بر روی خوشه و قطعات برگگی نشان داد که میزان قدرت تهاجم جدایه‌ها از  $172 \pm 0.41$  تا  $194 \pm 0.41$  ساعت پس از آلودگی روی خوشه و از  $84 \pm 0.71$  تا  $99 \pm 0.41$  ساعت پس از آلودگی روی قطعات برگگی متغیر بودند. Alvarez et al. (2011) گزارش کردند که میزان قدرت تهاجم جدایه‌های *F. graminearum* روی خوشه گندم متغیر بود که با نتایج این پژوهش مطابقت دارد. پژوهش حاضر نشان داد که میان جدایه‌های گونه‌های مختلف *Fusarium* و همچنین جدایه‌های متفاوت از یک گونه تفاوت‌هایی معنی‌داری در میزان بیماری‌زایی و قدرت تهاجم وجود دارد که این مشاهدات با گزارش سایر محققان مطابقت دارد (Purahong et al. 2012; Asran & Eraky Amal 2011; Wu et al. 2005). نتایج این پژوهش با مشاهدات سایر محققان که گزارش داده‌اند ارتباط قوی بین میزان بیماری‌زایی و قدرت تهاجم جدایه‌های *Fusarium* بر روی خوشه و قطعات برگگی گندم مشاهده شده است، مطابقت دارد (Hassani et al. 2019; Khaledi et al. 2017).

نتایج آزمون جوانه‌زنی نشان داد که تیمار بذر گندم با جدایه‌های مختلف قارچی *Fusarium* به‌طور قابل‌توجهی روی شاخص‌های بنیه و جوانه‌زنی بذر تأثیر گذاشته و موجب کاهش کیفیت به‌ویژه سلامت گیاهچه‌ها شدند. نتایج این پژوهش مشابه با نتایج گزارش‌شده توسط سایر محققان در مورد تأثیر آلودگی بذر به *Fusarium* روی شاخص‌های بنیه و جوانه‌زنی بذر گیاهان مختلف از جمله گندم (Kaur et al. 2020; Browne & Cooke 2005) و برنج (Jiang et al. 2021) مطابقت دارد. آلودگی بذر گندم به قارچ‌های بذرزاد روی قوه نامیه تأثیر گذاشته و موجب کاهش جوانه زنی می‌شود (Hussain et al. 2013). نتایج این پژوهش نشان داد که در بذور گندم تیمار شده با جدایه‌های *Fusarium* با افزایش میزان بیماری‌زایی و قدرت تهاجم قارچ *Fusarium* میزان متوسط زمان لازم برای جوانه‌زنی و سرعت جوانه‌زنی روزانه افزایش اما میزان ضریب سرعت جوانه‌زنی، متوسط جوانه‌زنی روزانه و همچنین شاخص‌های جوانه زنی و بنیه به‌طور قابل‌توجهی کاهش می‌یابد. محققان گزارش کردند که شاخص‌های بنیه و جوانه‌زنی و صفات مرتبط با جوانه زنی با افزایش آلودگی بذور به

در اولین مرحله بیوسنتز تریکوتسین، ژن *Tri5* که کدکننده تریکودین سنتاز است نقش دارد. ژن *Tri5* به عنوان نشانگر ژنی مربوط به تولید تریکوتسین مورد استفاده قرار می‌گیرد. نتایج حاصل از استفاده از آغازگرهای اختصاصی ژن *Tri5* و تجزیه و تحلیل تریکوتسین‌ها نشان داد که ۴۰ درصد جدایه‌ها دارای ژن تولیدکننده تریکوتسین و ۶۰ درصد جدایه‌ها فاقد ژن تولیدکننده تریکوتسین بودند. نتایج حاصل نشان داد که ۶۰ درصد جدایه‌های *F. graminearum* دارای ژن *Tri5* و توانایی تولید تریکوتسین بودند اما جدایه‌های *F. culmorum* فاقد ژن *Tri5* و توانایی تولید تریکوتسین‌ها بودند. نتایج به دست آمده در این پژوهش نشان داد که جدایه‌های *F. graminearum* در شرایط آزمایشگاهی تنوع گسترده‌ای در تولید داکسی نیوالنول در محدوده ۳۵۰۰-۱۶۵۰ میکروگرم در کیلوگرم داشتند که با نتایج گزارش‌شده توسط سایر محققان مطابقت دارد (Covarelli et al. 2014; Alvarez et al. 2009). سازمان غذا و دارو حداکثر غلظت داکسی نیوالنول در کلیه محصولات به‌دست آمده از گندم برای مصرف انسان به میزان ۱۰۰۰ میکروگرم در کیلوگرم و برای مصرف حیوانات مختلف از ۵۰۰ تا ۱۰۰۰ میکروگرم در کیلوگرم می‌باشد (Yazdanpanah et al. 2014).

نتایج حاصل از بررسی میزان بیماری‌زایی جدایه‌های مختلف *Fusarium* بر روی خوشه و قطعات برگگی گندم نشان داد که تمامی جدایه‌های جداسازی شده از بذور گندم، بیماری‌زا و یا کم بیماری‌زا بودند. نتایج حاصل از ارزیابی میزان پیشرفت بیماری جدایه‌های *Fusarium* بر روی خوشه رقم فلات نشان داد که میزان شاخص بیماری‌زایی جدایه‌های *F. graminearum* از  $53/75 \pm 0.48$  تا  $18/25 \pm 0.25$  درصد و جدایه‌های *F. culmorum* از  $30/00 \pm 0.41$  تا  $30/29 \pm 0.29$  درصد متغیر بودند. همچنین نتایج حاصل از ارزیابی بیماری‌زایی جدایه‌های *Fusarium* بر روی قطعات برگگی نشان داد که به‌طور میانگین طول زخم جدایه‌های *F. graminearum* از  $28/25 \pm 0.25$  تا  $6/75 \pm 0.48$  میلی‌متر و جدایه‌های *F. culmorum* از  $12/75 \pm 0.25$  تا  $8/00 \pm 0.41$  میلی‌متر متغیر بودند. Wu et al. (2005) گزارش کردند که طول ضایعات برگ که توسط جدایه‌های *Fusarium* ایجاد می‌شود به‌طور معنی‌داری با میزان شاخص بیماری‌زایی روی خوشه که توسط همان جدایه در شرایط مزرعه ایجاد می‌شود، ارتباط دارد که مشابه با یافته‌های این پژوهش می‌باشد. نتایج حاصل از ارزیابی میزان قدرت تهاجم جدایه‌های *F.*

2002). Rocha *et al.* (2005) گزارش کردند که داکسی نیوالنول موجب تأخیر در رشد و ممانعت از رشد گیاهچه می‌شود. نتایج این پژوهش نشان داد که تیمار بذر با داکسی نیوالنول در غلظت ۵۰۶۰ میکروگرم در کیلوگرم موجب کاهش ۱۰ درصدی جوانه زنی بذر، ۴۶/۲ درصدی طول ساقه‌چه و ۷۵ درصدی طول ریشه‌چه گندم شد. نتایج این پژوهش با مشاهدات سایر محققان که گزارش داده‌اند داکسی نیوالنول به ترتیب در غلظت تقریباً ۲۰۰۰ و ۱۰۰۰۰ میکروگرم در کیلوگرم منجر به مهار ۵۰ درصدی رشد ساقه و ریشه می‌شود (Shimada & Otani 1990)، مطابقت دارد. داکسی نیوالنول در غلظت ۵۰۰۰۰ میکروگرم در کیلوگرم به طور کامل از جوانه زنی بذر گندم جلوگیری می‌کند، در حالی که در غلظت ۱۰۰۰۰ تا ۲۵۰۰۰ میکروگرم در کیلوگرم رشد گیاهچه را به طور قابل توجهی کاهش می‌دهد (Bandurska *et al.* 1994).

بهبود سطح کیفیت و سلامت بذر تولیدی با مدیریت مناسب مزرعه با انجام ضدعفونی بذر با قارچکش‌های شیمیایی توصیه شده، استفاده از بذر سالم و گواهی شده، خودداری از کشت ارقام حساس و بازرسی مزارع به منظور بررسی سلامت مزرعه الزامی می‌باشد. دسترسی به بذر با کیفیت مطلوب عاملی مهم در توسعه کشاورزی پایدار است. بنابراین دقت عمل بیشتر برای تولید بذر سالم و گواهی شده توسط تولیدکننده بذر به منظور جلوگیری از گسترش بیماری‌های بذرزاد و بهبود شاخص‌های کیفی بذر الزامی می‌باشد. شناسایی گونه‌های مختلف *Fusarium* بذرزاد و همراه بذر و همچنین بررسی میزان بیماری‌زایی و تریکوتسین تولیدشده توسط آنها به‌ویژه داکسی نیوالنول می‌تواند در انتخاب راهکارهای مؤثر مدیریتی برای کاهش اثرات مخرب بیماری‌های ناشی از آنها در مزرعه و افزایش میزان تولید و کیفیت محصول مفید باشد. پژوهش حاضر دیدگاه‌های جدیدی در مورد تأثیر میزان داکسی نیوالنول ترشح‌شده توسط جدایه‌های *F. graminearum* بر روی خصوصیات کیفی بذر و میزان بیماری ارائه می‌دهد.

### سپاس‌گزاری

نگارندگان از موسسه تحقیقات ثبت و گواهی بذر و نهال برای حمایت مالی از این پژوهش با شماره پروژه ۰۰۰۳۵۶-۰۰۴-۰۸-۰۸-۲ تشکر و قدرانی می‌نمایند.

قارچ‌های بذرزاد کاهش یافته است (Hassani *et al.* 2019; Pedrozo & Little 2017) که با مشاهدات این پژوهش مطابقت دارد. نتایج این پژوهش با مشاهدات (Shilpa *et al.* 2015) مطابقت دارد. آن‌ها گزارش کردند که گونه‌های مختلف قارچ *Fusarium* با تولید زهرآبه‌های مختلف موجب کاهش جوانه زنی بذر و رشد گیاهچه می‌شوند. قارچ *Fusarium* علاوه بر ایجاد بیماری موجب تأخیر در جوانه زنی بذر و رشد گیاهچه می‌شوند (Reddy *et al.* 2009).

متابولیت‌های ثانویه تولید شده توسط قارچ *Fusarium* به‌ویژه زهرآبه به طور کامل مانع از جوانه زنی بذر گیاه انگلی علف جادوگر (*Striga hermonthica*)، کاج سیاه ژاپنی (*Pinus thunbergii*) و خردل هندی (*Brassica juncea*) می‌شود (Anteyi *et al.* 2022). تریکوتسین‌های تولید شده توسط قارچ *Fusarium* موجب کاهش طول ریشه‌چه و ساقه‌چه و همچنین درصد جوانه‌زنی ذرت خوشه‌ای می‌شود (Sugimoto *et al.*) افزایش میزان آلودگی بذر گندم به *F. graminearum* موجب افزایش میزان داکسی نیوالنول تولید شده و کاهش شاخص‌های بنیه و جوانه‌زنی می‌شود (Argyris *et al.* 2003) که با مشاهدات پژوهش حاضر مطابقت دارد. Ederli *et al.* (2021) گزارش کردند که ترکیب داکسی نیوالنول موجب کاهش درصد جوانه زنی و صفات رشدی گیاهچه‌های گندم می‌شود که با مشاهدات این پژوهش مطابقت دارد. داکسی نیوالنول موجب تأخیر در رشد گیاهچه و کاهش طول کلئوپتیل گندم می‌شود (Bruins *et al.* 1993). نتایج این پژوهش با مشاهدات (Wang *et al.* 2020) مطابقت دارد. آن‌ها گزارش کردند که داکسی نیوالنول موجب کاهش نسبی طویل شدن ریشه و میزان وزن تر گیاه (*Arabidopsis thaliana* (L.) Heynh.) می‌شود.

به طور کلی نتایج این پژوهش نشان داد که آلودگی بذر به قارچ *Fusarium* موجب کاهش کیفیت و سلامت بذر گندم و گیاهچه‌های حاصل از آن می‌شود. بررسی‌های انجام شده در این پژوهش نشان داد که ارتباط قوی بین میزان بیماری سوختگی فوزاریومی سنبله و غلظت داکسی نیوالنول تولید شده توسط جدایه‌های *F. graminearum* وجود دارد. همچنین جدایه‌هایی که سطح بالاتری از داکسی نیوالنول را تولید می‌کنند، تهاجمی‌تر از دیگر جدایه‌ها بودند. اگرچه مزارع گندم مورد بررسی در کشور از نظر میزان آلودگی به قارچ عامل بیماری سوختگی فوزاریومی سنبله در سطح قابل قبولی قرار دارند اما توجه به حفظ و حتی کاهش این میزان آلودگی جهت

## References

- Abedi-Tizaki M, Sabbagh SK, 2013. Determination of trichothecene chemotypes and analysis population structure of *Fusarium graminearum* isolates in Golestan province. *Iranian Plant Protection Research* 27: 208–214.
- Ahmadi K, Ebadzadeh HR, Hatami F, Mohammadnia-Afroz S, Esfandiarpour E, Abbasi Taleghani R, 2021. *Agricultural Statistics*. Ministry of Agriculture-Jahad.
- Aliakbari Z, Mirabolfathy M, Aminian H, Karamiasboor R, 2012. *Fusarium* species and Deoxynivalenol in maize product of Moqan region. *Applied Entomology and Phytopathology* 79: 163–180.
- Alvarez CA, Azcarate MP, Fernandez Pinto V, 2009. Toxicogenic potential of *Fusarium graminearum* sensu stricto isolates from wheat in Argentina. *International Journal of Food Microbiology* 135: 131–135.
- Alvarez CL, Somma S, Proctor RH, Stea G, Mulè G, Logrieco AF, Fernandez Pinto V, Moretti A, 2011. Genetic diversity in *Fusarium graminearum* from a major wheat-producing region of Argentina. *Toxins* 3: 1294–1309.
- Anonymous 2017. International Seed Testing Association (ISTA); International Rules for Seed Testing. Proceedings of the international seed testing association. In Bassersdorf. Switzerland: Seed Science and Technology. 333 pp.
- Anteyi WO, Klaiber I, Rasche F, 2022. Diacetoxyscirpenol, a *Fusarium* exometabolite, prevents efficiently the incidence of the parasitic weed *Striga hermonthica*. *BMC Plant Biology* 22: 84.
- Argyris J, Van Sanford DA, TeKrony D, 2003. Seed physiology, production and technology: *Fusarium graminearum* infection during wheat seed development and its effect on seed quality. *Crop Science* 43: 1782–1788.
- Asran M, Eraky Amal M, 2011. Aggressiveness of certain *Fusarium graminearum* isolates on wheat seedlings and relation with their trichothecene production. *Plant Pathology Journal* 10: 36–41.
- Bandurska H, Chelkowski J, Wisniewska H, 1994. Free proline accumulation in wheat seedlings influenced by *Fusarium culmorum* infection and the pathogen metabolite deoxynivalenol. *Acta Physiologiae Plantarum* 16: 111–116.
- Boddu J, Cho S, Muehlbauer GJ, 2007. Transcriptome analysis of trichothecene-induced gene expression in barley. *Molecular Plant-Microbe Interactions Journal* 20: 1364–1375.
- Boutigny AL, Ward T, Ballois N, Iancu G, Ioos R, 2014. Diversity of the *Fusarium graminearum* species complex on French cereals. *European Journal of Plant Pathology* 138: 133–148.
- Browne RA, Cooke BM, 2004. Development and evaluation of an in vitro detached leaf assay for pre-screening resistance to *Fusarium* head blight in wheat. *European Journal of Plant Pathology* 110: 91–102.
- Browne RA, Cooke BM, 2005. A comparative assessment of potential components of partial disease resistance to *Fusarium* head blight using a detached leaf assay of wheat, barley and oats. *European Journal of Plant Pathology* 112: 247–258.
- Bruins MBM, Karsai I, Schepers J, Snijders CHA, 1993. Phytotoxicity of deoxynivalenol to wheat tissue with regard to in vitro selection for *Fusarium* head blight resistance. *Plant Science* 94: 195–206.
- Covarelli L, Beccari G, Prodi A, Generotti S, Etruschi F, Juan C, Ferrer E, Mañes J, 2014. *Fusarium* species, chemotype characterization and trichothecene contamination of durum and soft wheat in an area of central Italy. *Journal of the Science of Food and Agriculture* 95: 540–551.
- Davari M, Wei SH, Babay-Ahari A, Arzanlou M, Waalwijk C, Van der Lee TAJ, Zare R, Gerrits van den Ende AHG, De Hoog GS, Van Diepeningen AD, 2013. Geographic differences in trichothecene chemotypes of *Fusarium graminearum* in the Northwest and North of Iran. *World Mycotoxin Journal* 6: 137–150.
- Ding L, Xu H, Yi, H, Yang L, Kong Z, Zhang L, Xue S, Jia H, Ma Z, 2011. Resistance to hemi-biotrophic *F. graminearum* infection is associated with coordinated and ordered expression of diverse defense signaling pathways. *PLoS ONE* 6: e19008.
- Doohan FM, Weston G, Rezanoor HM, Parry DW, Nicholson P, 1999. Development and use of a reverse transcription-PCR assay to study expression of *Tri5* in vitro and in planta. *Applied and*



- Environmental Microbiology* 65: 3850–3854.
- Ederli L, Beccari G, Tini F, Bergamini I, Bellezza I, Romani R, Covarelli L, 2021. Enniatin b and deoxynivalenol activity on bread wheat and on *Fusarium* species Development. *Toxins* 13: 728.
- Eudes F, Comeau A, Rioux S, Collin J, 2000. Phytotoxicity of eight mycotoxins associated with *Fusarium* in wheat head blight. *Canadian Journal of Plant Pathology* 22: 286–292.
- Gardiner SA, Boddu J, Berthiller F, Hametner C, Stupar RM, Adam G, Muehlbauer GJ, 2010. Transcriptome analysis of the barley-deoxynivalenol interaction: evidence for a role of glutathione in deoxynivalenol detoxification. *Molecular Plant-Microbe Interactions Journal* 23: 962–976.
- Ghamari M, Latifian M, Farbod M, AmirBakhtiar N, 2011. Investigating the effects of silver nano particles on fungi flora of seeds of Chamran wheat cultivar. *Plant Protection Journal* 3: 247–258.
- Hajihassani A, Hajihassani M, Khaghani S, 2012. Incidence and distribution of seed-borne fungi associated with wheat in Markazi province, Iran. *African Journal of Biotechnology* 11: 6290–6295.
- Harman GE, Björkman T, Ondik K, Shores M, 2008. Changing paradigms on the mode of action and uses of *Trichoderma* spp. for biocontrol. *Outlooks on Pest Management* 19: 24–9.
- Hassani F, Zare L, Khaledi N, 2019. Evaluation of germination and vigor indices associated with *Fusarium*-infected seeds in pre-basic seeds wheat fields. *Journal of Plant Protection Research* 59: 69–85.
- Hussain M, Ghazanfar MU, Hamid MI, Raza M, 2013. Seed borne mycoflora of some commercial wheat (*Triticum aestivum*) cultivars in Punjab, Pakistan. *International Journal of Phytopathology* 2: 97– 101.
- Jiang H, Wu N, Jin S, Ahmed T, Wang H, Li B, Wu X, Bao Y, Liu F, Zhang JZ, 2021. Identification of rice seed-derived *Fusarium* spp. and development of LAMP assay against *Fusarium Fujikuroi*. *Pathogens* 10: 1.
- Kaur N, Sehgal SK, Glover KD, Byamukama E, Ali S, 2020. Impact of *Fusarium graminearum* on seed germination and seedling blight in hard red spring wheat in South Dakota. *Journal of Plant Pathology & Microbiology* 11: 495.
- Khaledi N, Taheri P, Falahati-Rastegar M, 2017. Identification, virulence factors characterization, pathogenicity and aggressiveness analysis of *Fusarium* spp., causing wheat head blight in Iran. *European Journal of Plant Pathology* 147: 897–918.
- Khaledi N, Zare L, 2022. Effect of seed priming on germination indices and some biochemical mechanisms of cumin (*Cuminum cyminum*) against *Fusarium* wilt disease. *Journal of Applied Research in Plant Protection* 11: 81–95.
- Khazaei F, Agha Alikhani M, Zare L, Mobasser S, Ali S, Modarres Sanavy M, Mokhtassi-Bidgoli A, Hashemi-fesharaki S, 2014. Seed borne disease in formal and informal wheat (*Triticum aestivum* L.) seed production systems in three provinces of Iran. *International Journal of Biosciences* 5: 381–388.
- Koch E, Zink P, Pfeiffer T, Von Galen A, Linkies A, Drechsel J, Birr T, 2020. Artificial inoculation methods for testing microorganisms as control agents of seed- and soil-borne *Fusarium*-seedling blight of maize. *Journal of Plant Diseases and Protection* 127: 883–893.
- Kubo K, Fujita M, Kawada N, Nakajima T, Nakamura K, Maejima H, Ushiyama T, Hatta K, Matsunaka H, 2013. Minor differences in anther extrusion affect resistance to *Fusarium* head blight in wheat. *Journal of Phytopathology* 161: 308–314.
- Leslie JF, Summerell AB, 2006. *The Fusarium laboratory manual*. Ames: Blackwell Publishing Professional. 388 pp.
- Li HP, Wu AB, Zhao CS, Scholten O, Löffler H, Liao YC, 2005. Development of a generic PCR detection of deoxynivalenol- and nivalenol-chemotypes of *Fusarium graminearum*. *FEMS Microbiology Letters* 243: 505–511.
- Malihipour A, Dehgan MA, Shahbazi K, Barati A, 2018. Reaction of Iranian wheat landraces to *Fusarium* head blight (FHB) under field and greenhouse conditions. *Journal of Applied Research in Plant Protection* 6: 53–66.
- McCormick S, 2003. The role of DON in pathogenicity, *Fusarium* head blight of wheat and Barley. *The American Phytopathological Society Press* 165–183.
- Miyanabi S, Mirabolfathi M, Gayatzamahir M, 2014. Molecular Studys of *Fusarium graminearum* species group isolated of Wheat in Ardabil Province Iran.

- Agricultural Biotechnology* 5: 89–97.
- Mobasser S, Jazayeri MR, Khazaei F, Sadeghi L, 2012. Wheat seed contamination with seed-borne diseases in cold climatic zone of Iran. *International Journal of Plant Production* 6: 337–352.
- Müller MEH, Steier I, Köppen R, Siegel D, Proske M, Korn U, Koch M, 2012. Cocultivation of phytopathogenic *Fusarium* and *Alternaria* strains affects fungal growth and mycotoxin production. *Journal of Applied Microbiology* 113: 874–887.
- Narmani A, Arzanlou M, Babai-Ahari A, Masteri-Farahani H, 2019. Biological control of wheat *Fusarium* head blight using antagonistic strains of commercial and local *Trichoderma*, isolated from wheat plant rhizosphere. *Journal of Applied Research in Plant Protection* 8: 1–20.
- Nemati-Mondanipour O, Farokhinejad R, Mehrabi-Koushki, M, 2021. Identification of *Fusarium* species associated with root rot symptoms of the rapeseed in Khuzestan province. *Journal of Applied Research in Plant Protection* 10: 29–43.
- Nicholson P, Simpson DR, Weston G, Rezanoor HN, Lees AK, Parry DW, Joyce D, 1998. Detection and quantification of *Fusarium culmorum* and *Fusarium graminearum* in cereals using PCR assays. *Physiology and Molecular Biology of Plants* 53: 17–37.
- Pariaud B, Ravigné V, Halkett F, Goyeau H, Carlier J, Lannou C, 2009. Aggressiveness and its role in the adaptation of plant pathogens. *Plant Pathology* 58: 409–424. Parry DW, Jenkinson J, Mcleod I, 1995. *Fusarium* ear blight (scab) in small grain cereals - a review. *Plant Pathology* 44: 207–238.
- Pasquali M, Migheli Q, 2014. Genetic approaches to chemotype determination in type B-trichothecene producing *Fusaria*. *International Journal of Food Microbiology* 189: 164–182.
- Pedrozo R, Little CR, 2017. *Fusarium verticillioides* inoculum potential influences soybean seed quality. *European Journal of Plant Pathology* 148: 749–754.
- Purahong W, Alkadri D, Nipoti P, Pisi A, Lemmens M, Prodi A, 2012. Validation of a modified Petri-dish test to quantify aggressiveness of *Fusarium graminearum* in durum wheat. *European Journal of Plant Pathology* 132: 381–391.
- Reddy K, Abbas HK, Abel CA, Shier WT, Oliveira CAF, Raghavender CR, 2009. Mycotoxin contamination of commercially important agricultural commodities. *Toxin Reviews* 28: 154–168.
- Rocha LG, Almeida JRGS, Macedo RO, Barbosa-Filho JM, 2005. A review of natural products with antileishmanial activity. *Phytomedicine* 12: 514–535.
- Ryu JC, Ohtsubo K, Izumiyama N, Nakamura K, Tanaka T, Yamamura H, Ueno Y, 1988. The acute and chronic toxicities of nivalenol in mice. *Fundamental and Applied Toxicology* 11: 38–47.
- Scherm B, Balmas V, Spanu F, Pani G, Delogu G, Pasquali M, Migheli Q, 2013. *Fusarium culmorum*: causal agent of foot and root rot and head blight on wheat. *Molecular Plant Pathology* 14: 323–341.
- Schilling AG, Moller EM, Geiger HH, 1996. Polymerase chain reaction-based assays for species-specific detection of *F. culmorum*, *F. graminearum* and *F. avenaceum*. *Phytopathology* 86: 515–522.
- Schmale DG, Wood-Jones AK, Cowger C, Bergstrom GC, Arellano C, 2011. Trichothecene genotypes of *Gibberella zae* from winter wheat fields in the eastern USA. *Plant Pathology* 60: 909–917.
- Sharafizadeh M, 2017. Effect of salicylic acid and drought stress on germination and activity of antioxidant enzymes of barley. *Iranian Journal of Seed Science and Technology*, 6: 161–169.
- Sharifi K, Zare R, Zamanizadeh HR, Mirabolfathy M, Rezaee S, 2016. Identification of *Fusarium* species associated with *Fusarium* head blight of wheat in the North of Iran and phylogenetic analysis of the dominant species. *Rostaniha* 17: 173–187.
- Shilpa P, Koteswara Rao V, Girisham S, Madhusudhan Reddy S, 2015. Influence of different *Fusarium* species on seed germination and seedlings growth of finger millet (*Eleusine coracana* L.). *Biotechnology: An Indian Journal* 11: 81–89.
- Shimada T, Otani M, 1990. Effects of *Fusarium* mycotoxins on the growth of shoots and roots at germination in some Japanese wheat cultivars. *Cereal Research Communications* 18: 229–232.
- Shin S, Kim KH, Kang CS, Cho KM, Park CS, Okagaki R, Park JC, 2014. A simple method for the assessment of *Fusarium* head blight resistance in Korean wheat seedlings inoculated with *Fusarium*

- graminearum*. *Plant Pathology Journal* 30: 25–32.
- Sugimoto Y, Ahmed NE, Yasuda N, Inanaga S, 2002. Trichothecene inhibitors of *Striga hermonthica* germination produced by *Fusarium solani*. *Weed Science* 50: 658–661.
- Van der Lee T, Zhang H, Van Diepeningen A, Waalwijk C, 2015. Biogeography of *Fusarium graminearum* species complex and chemotypes: a review. *Food additives & contaminants. Part A, Chemistry, analysis, control, exposure & risk assessment* 32: 453–460.
- Waalwijk C, Kastelein P, De Vries I, Kerenyi Z, Van der Lee T, Hesselink, T, 2003. Major changes in *Fusarium* spp. in wheat in the Netherlands. *European Journal of Plant Pathology* 109: 743–754.
- Walter S, Nicholson P, Doohan FM, 2010. Action and reaction of host and pathogen during *Fusarium* head blight disease. *New Phytologist* 185: 54–66.
- Wang Y, Yan H, Wang Q, Zheng R, Xia K, Liu Y, 2020. Regulation of the phytotoxic response of *Arabidopsis thaliana* to the *Fusarium* mycotoxin deoxynivalenol. *Journal of Integrative Agriculture* 19: 759–767.
- Wu AB, Li HP, Zhao CS, Liao YC, 2005. Comparative pathogenicity of *Fusarium graminearum* isolates from China revealed by wheat coleoptile and floret inoculations. *Mycopathologia* 160: 75–83.
- Yazdanpanah H, Shafaati A, Foroutan SM, Zarghi A, Aboul-fathi F, Khoddam A, Shaki F, Nazaria F, 2014. Occurrence of deoxynivalenol in foods for human consumption from Tehran, Iran. *Iranian Journal of Pharmaceutical Research* 13: 87–92.
- Yoshida M, Kawada N, Nakajima T, 2007. Effect of infection timing on *Fusarium* head blight and mycotoxin accumulation in open and closed-flowering barley. *Phytopathology* 97: 1054–1062.
- Zhang H, van der Lee T, Waalwijk C, Chen W, Xu J, Xu J, Zhang Y, Feng J, 2012. Population analysis of the *Fusarium graminearum* species complex from wheat in China show a shift to more aggressive isolates. *PLoS ONE* 7: e31722.



This is an open access article under the CC BY NC license (<https://creativecommons.org/licenses/by-nc/2.0/>)