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

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

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

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

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

[۴] استادیار، دانشکده کشاورزی دانشگاه تبریز.

*نویسنده مسئول: S_fallahi @tabrizu.ac.ir

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

**چکیده**

به منظور کنترل بیماری لکه‌برگی سپتوریایی گندم با استفاده از ارقام مقاوم، اطلاعات اولیه از پاتوتیپ‌های پاتوژن و بیماریزایی آن‌ها مورد نیاز می‌باشد. در تحقیق حاضر ۲۳ جدایه از مناطق مختلف کشور در شرایط گلخانه‌ای بر روی گیاهچه‌های ۱۹ رقم افتراقی گندم مایه‌زنی شده و پاتوتیپ‌های قارچ تعیین گردیدند. نتایج به دست آمده نشان داد که بین جدایه‌ها و واکنش ارقام در سطح احتمال یک درصد اختلاف معنی داری وجود دارد و معنی دار نبودن اثر متقابل جدایه و رقم نشان می دهد که جدایه‌ها از نظر قدرت تهاجمی و ارقام از نظر مقاومت غیروابسته به نژاد روند یکسانی نشان می‌دهند. هیچ یک از جدایه‌ها بر روی رقم TE 9111 که حامل ژن‌های مقاومت *Stb6*، *Stb7* و *Stb11* می‌باشد، بیماری‌زایی نداشتند. از آنجا که بیماری‌زایی بر روی سایر ارقام حامل ژن‌های *Stb6* و *Stb7* توسط جدایه‌های مختلف مشاهده شد، لذا مقاومت رقم TE 9111 نسبت به جدایه‌های مزبور را می‌توان به وجود ژن مقاومت *Stb11* نسبت داد. بیشترین شدت بیماری جدایه‌ها بر روی رقم بولانی (رقم حساس عمومی به بیماری) و در درجه‌های بعدی بر روی ارقام Taichung 29 (رقم حساس بین‌المللی به جدایه‌ی IPO323) با فراوانی ٦٩ درصد و Estanzuela Federal (حامل ژن مقاومت *Stb7*) با فراوانی ٦٦ درصد، و کمترین فراوانی بر روی ارقام TE9111 (حامل ژن‌های *Stb4* و *Stb6*) وOasis و Sulivan (حامل ژن*Stb1* ) به ترتیب به میزان چهار، نه و ۱۱درصد مشاهده شد. شدت بیماری جدایه‌های قارچ بر روی سایر ارقام گندم مورد مطالعه که حامل ژن‌های مقاومت مختلفی بودند، بین ١٦ تا ٥٩ درصد متغیر بود. در این مطالعه ۱۸ پاتوتیپ *M. graminicola* شناسایی شد که نشان‌دهنده تنوع بالای پاتوتیپ های قارچ در ایران می‌باشد.

**واژه های کلیدی:** گندم، ژن‌های Stb، لکه‌برگی سپتوریایی، *Mycosphaerella graminicola*، *Septoria tritici*، *Zymoseptoria tritici*.

**مقدمه**

تاکنون بیماری‌های متعددی بر روی گندم از سراسر دنیا گزارش شده‌اند که یکی از این بیماری‌ها، لکه‌برگی سپتوریایی یا سپتوریوز برگی ( Septoria leaf blotch or *Septoria tritici* blotch: STB) گندم می‌باشد. گسترش این بیماری با توسعه کشت ارقام پا کوتاه و مقاوم به زنگ مرکز سیمیت[۱] که دارای پتانسیل کودپذیری بالا و تولید شاخ و برگ متراکم می‌باشند، افزایش یافته است (ایال و همکاران ۱۹۷۳، کینگ و

[۱] CIMMYT

همکاران ۱۹۸۳). در ایران قارچ عامل این بیماری اولین بار توسط پتراک و اسفندیاری (۱۹۴۱) با نام *Septoria graminum* Desm. از شمال کشور گزارش شد و سپس شریف و ارشاد در سال ۱۳٤٥ وجود آن را از سایر مناطق گندم خیز گزارش کردند (شریف و ارشاد ۱۹٦٦). هر چند از میزان دقیق خسارت این بیماری در کشور اطلاعی در دست نیست، لیکن گزارش‌هایی مبنی بر خسارت شدید آن در مناطق مختلف انتشار یافته است (داد رضایی ۱۳۷۸). این بیماری از سال ۱۳٤٤ با آغاز کاشت ارقام سیمیت در کشور گسترش یافته و گزارش‌های متعددی از وقوع آن در مناطق مختلف بویژه استان‌های گلستان، خوزستان، مازندران، فارس، ایلام، مرکزی، آذربایجان شرقی، اردبیل، کرمانشاه، کرمان و سیستان و بلوچستان منتشر گردید (ترابی ۱۳۵۹، عظیمی ۱۳۷۷). این بیماری در سال ۱۳۷۸ در سطحی حدود ۱٤۰ هکتار از مزارع آق‌قلا (گرگان) با شیوع ۱۰۰٪ و در اسفند ۱۳۷۹ در مهران (استان ایلام) به صورت اپیدمی بسیار شدید ظاهر شد. بروز اپیدمی این بیماری در سال زراعی ۸۲-۱۳۸۱ در استان گلستان بویژه منطقه گنبد بر روی رقم تجن سبب انجام سمپاشی‌های گسترده در سطحی حدود ٤۰ هزار هکتار گردید. اهمیت سپتوریوز برگی گندم در ایران همچون سایر نقاط جهان به دنبال بروز اپیدمی‌های شدید اخیر رو به افزایش گذاشته است. سالادوئی (۱۹۸۷)، تعداد ۱۹جدایه قارچ را با استفاده از هفت رقم افتراقی گندم در قالب سه نژاد مشخص معرفی کرد. در پژوهش دیگری تغییرات بیماری‌زایی ۱۰ جدایه با ارزیابی عکس‌العمل ۱۷ رقم افتراقی به صورت درصد سطح کل نکروتیک برگ و درصد سطح نکروتیک برگ حاوی پیکنید بررسی گردید. نتایج حاصل نشان داد که درصد سطح نکروتیک حاوی پیکنید شاخص دقیق‌تری برای شناسایی عکس‌العمل ارقام می‌باشد. با استفاده از این شاخص عکس‌العمل ارقام نسبت به جدایه‌های مزبور متفاوت بود (پرلو و همکاران ۱۹۹۱). مطالعه بیماری‌زایی ۱۹ جدایه و عوامل مقاومت به قارچ عامل سپتوریوز برگی گندم با استفاده از ۱۵ رقم گندم و چهار رقم تریتیکاله به عنوان شاهد در مرحله برگ اول در شرایط گلخانه‌ای و اتاقک رشد ثابت نمود که بین جدایه‌های مناطق مختلف جغرافیایی از نظر خصوصیات بیماری‌زایی اختلاف معنی دار وجود دارد. این مطالعات نشان دادند که شرایط محیطی بیماری‌زایی عامل بیماری را تحت تأثیر قرار می‌دهند، ولی در واکنش میزبان نسبت به بیماری مؤثر نمی‌باشند (آرسنیوک و همکاران ۱۹۹۳). گریگر (۲۰۰۱) با بررسی نمونه‌های جمع‌آوری شده از استان مانیتوبای کانادا دو پاتوتیپ مختلف را شناسایی نمود. کما و همکاران (۱۹۹٦) با بررسی بیماری‌زایی ۷۸ جدایه قارچ عامل بیماری از ۱٦ کشور بر روی ۲۲ رقم افتراقی در مرحله گیاهچه‌ای و گیاه کامل تفاوت معنی‌داری را در هر دو مرحله از نظر بیماری‌زایی جدایه‌ها گزارش نمودند.

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

العاده آسکوسپورها در اپیدمی بیماری لکه‌برگی سپتوریایی گندم می‌باشد (کما و همکاران ۱۹۹٦).

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

وجود تخصص یافتگی فیزیولوژیکی در *M.graminicola* (ایال و همکاران ۱۹۷۳) و رابطه ژن برای ژن در این پاتوسیستم (برادینگ و همکاران ۲۰۰۲ ) سال‌ها پیش به اثبات رسید و تعداد ۱۸ ژن مقاومت (Stb1-Stb18) به بیماری سپتوریای برگی در ژنوتیپ های مختلف گندم مکان یابی شد (برادینگ و همکاران ۲۰۰۲، مک کارتنی و همکاران ۲۰۰۳، آدیکایی و همکاران a و b ۲۰۰٤ ، آریانو و همکاران ۲۰۰۷، طبیب غفاری و همکاران ۲۰۱۱ و ۲۰۱۲).

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

## مواد و روش‌ها

نمونه‌های برگی آلوده از کانون‌های مختلف آلودگی در کشور جمع‌آوری شده و در داخل پاکت‌های کاغذی با قید کلیه مشخصات لازم به واحد تحقیقات بیماری‌های غلات بخش تحقیقات غلات (مؤسسه تحقیقات اصلاح و تهیه نهال و بذر، کرج) منتقل شدند. جداسازی قارچ از پیکنیدهای روی لکه‌های نکروتیک برگی و خالص‌سازی بر روی محیط کشت PDA انجام شد. جهت تکثیر جدایه‌ها از محیط کشت مایع YSM (۱۰ گرم عصاره مخمر+ ۱۰ گرم ساکارز در یک لیتر آب مقطر) و به منظور تهیه مایه تلقیح مورد نیاز در گلخانه از روش روح‌پرور و همکاران (۲۰۰۸) استفاده شد. گیاهچه‌ها در مرحله تک برگی با سوسپانسیون اسپور در محلول ۰/۱۵٪ از Tween 20 با غلظت $10^7$ اسپور در میلی‌لیتر مایه‌زنی شده و پس از ٤۸ ساعت نگه‌داری در تاریکی به گلخانه با دمای ۲۰-۱۸ درجه سانتی‌گراد و دوره نوری ۱٦ساعت روشنایی و هشت ساعت تاریکی منتقل گردیدند. جهت تعیین پاتوتیپ جدایه‌ها از ارقام افتراقی لکه‌برگی سپتوریایی که هر کدام حامل بیش از یک ژن

[۱] Gene flow
[۲] Selection pressure

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

ارقام تجاری داخلی تجن و داراب۲ به ترتیب به عنوان شاهدهای حساس در اقلیم گرم و مرطوب شمال و اقلیم گرم و خشک جنوب، و آرتا به عنوان رقمی که در آزمایشات مشاهده‌ای نگارنده نسبت به بسیاری از جدایه‌های قارچ عامل سپتوریوز برگی مقاومت نشان داده و رقم بولانی از آن جهت که رقم داخلی شناخته شده به عنوان شاهد حساس به زنگ محسوب می‌شود، در این مجموعه گنجانده شده‌اند. نظر به اینکه مقدار بذور دریافت شده از هلند برای انجام آزمایشات کافی نبود، نسبت به تکثیر آن‌ها در گلخانه و مزرعه اقدام گردید. واکنش ژنوتیپ‌های مایه‌زنی شده با ۲۳ جدایه منتخب قارچ عامل بیماری، ۲۱ روز پس از مایه‌زنی به صورت درصد کل سطح نکروتیک برگ و درصد سطح نکروتیک برگ حاوی پیکنید تعیین گردید. تجزیه واریانس با استفاده از نرم افزار SPSS انجام شد و میانگین ها به روش آزمون چند دامنه‌ای دانکن مورد مقایسه قرار گرفتند. گروه بندی جدایه‌ها نیز بر اساس میانگین درصد پوشش پیکنیدیومی سطح برگ ها، به وسیله تجزیه خوشه ای به روش UPGMA انجام شده (مدینی و همزه ۲۰۰۸) و پاتوتیپ‌های قارچ *M. graminicola* تعیین گردیدند.

طرح آزمایشی مورد استفاده در این مطالعه، فاکتوریل در قالب طرح بلوک‌های کامل تصادفی بود. آزمون نرمال بودن داده های آماری (شامل سطح نکروز و پوشش پیکنید برگ) انجام شده و پس از اطمینان از نرمال بودن داده ها، داده ها با استفاده از نرم افزار SPSS به صورت یک آزمایش فاکتوریل با دو فاکتور جدایه و ارقام گندم (جدول ۱) در قالب طرح بلوک های کامل تصادفی مورد تجزیه و تحلیل قرار گرفت.

## نتایج و بحث

نتیجه تجزیه واریانس (جدول ۲) دو صفت سطح نکروز و پوشش پیکنید نشان داد که اختلاف معنی دار بین جدایه‌ها و واکنش ارقام در سطح احتمال یک درصد وجود دارد. این امر می‌تواند ناشی از وجود الگوی بیماری‌زایی متفاوت جدایه‌ها و همچنین تفاوت ژنتیکی ارقام میزبان این بیماری باشد. معنی دار نبودن اثر متقابل جدایه و رقم نشان می‌دهد که جدایه‌ها از نظر قدرت تهاجمی[۲] و ارقام از نظر مقاومت غیراختصاصی نژاد[۳] روند یکسانی نشان می‌دهند که با نتایج فان‌خینکل و شارن (۱۹۸۸) که ۳٤ جدایه از قارچ عامل بیماری را بر روی ۱۳ رقم گندم دوروم و یک رقم گندم نان بررسی کردند، منطبق است.

بر اساس نتایج به دست آمده از تجزیه خوشه‌ای جدایه ها به روش UPGMA و فاصله اقلیدسی بر اساس واکنش درصد پوشش پیکنیدیومی برای تمام ارقام، جدایه ۸۸۰۰۳ با ۸۸۰۰٤ ، ۸۷۰۲۷ با ۸۷۰۲۸ ، ۸٦۰۱۵ با ۸٦۰۷۰ و سه جدایه ۸۷۰۰۱ ، ۸۷۰٤۹ و ۸۷۰۵۲ در یک گروه قرار گرفتند (شکل ۱). بقیه جدایه‌ها با داشتن الگوی بیماری‌زایی متنوع بر روی ارقام افتراقی، واکنش های مختلفی را نشان داده و به عنوان پاتوتیپ‌های مختلف شناسایی گردیدند.

بر این اساس ۲۳ جدایه مایه‌زنی شده بر روی ۱۹ ژنوتیپ افتراقی گندم به ۱۸پاتوتیپ مختلف تقسیم شدند. این نتایج، با یافته‌های ایال وهمکاران (۱۹۷۳) که برای اولین بار به وجود اختلاف بیماری‌زایی در جدایه‌های *M. graminicola* اشاره کرده و با بررسی بیماری‌زایی ۹۷ جدایه بر روی ۳۵ ژنوتیپ گندم و تریتیکاله به وجود

[۱] *Septoria tritici blotch*

[۲] Aggressiveness

[۳] Race non-specific

جدول۱- ژنوتیپ‌های گندم مورد استفاده برای تعیین پاتوتیپ.

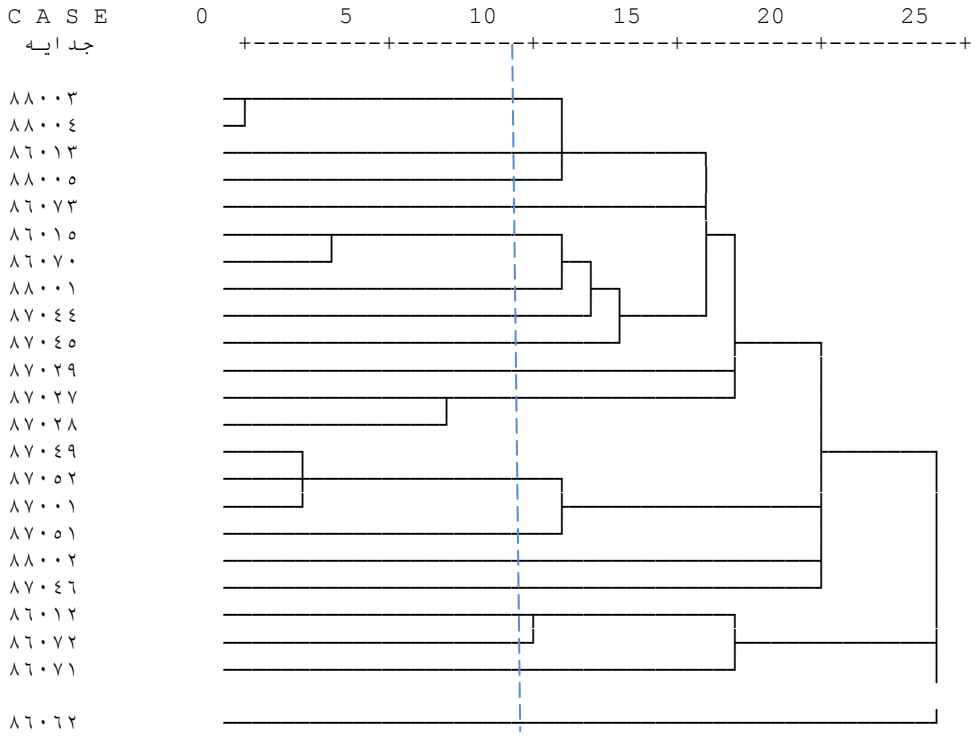
| ردیف | ژنوتیپ گندم | ژن مقاومت |
|---|---|---|
| ۱ | Oasis | *Stb1* |
| ۲ | Sulivan | *Stb1* |
| ۳ | Bulgaria 88 | *Stb1*, *Stb6* |
| ٤ | Veranopolis | *Stb2*, *Stb6* |
| ٥ | Israel 493 | *Stb3*, *Stb6* |
| ٦ | Tadinia | *Stb4*, *Stb6* |
| ۷ | Cs Synthetic(6x) 7D | *Stb5* |
| ۸ | Shafir | *Stb6* |
| ۹ | Estanzuela Federal | *Stb7* |
| ۱۰ | M6 Synth (W7984) | *Stb8* |
| ۱۱ | Courtot | *Stb9* |
| ۱۲ | Kavkaz-k 4500 | *Stb6*, *Stb7*, *Stb10*, *Stb12* |
| ۱۳ | TE 9111 | *Stb6*, *Stb7*, *Stb11* |
| ۱٤ | Obelisk | International control, susceptible to the standard isolate IPO323 |
| ۱٥ | Taichung 29 | International control, susceptible to the standard isolate IPO323 |
| ۱٦ | Tajan | Local susceptible control in Gorgan |
| ۱۷ | Darab 2 | Local susceptible control in Dezful |
| ۱۸ | Arta | Domestic control |
| ۱۹ | Boolani | General susceptible control |

ژن‌های اختصاصی بیماری‌زایی بر روی برخی از ژنوتیپ‌ها پی برده اند (ایال و همکاران ۱۹۸۵) همخوانی دارد. رضوی و هوگز (۲۰۰۳) نشان دادند که از نظر بیماری‌زایی و قدرت تهاجمی بین ۹۰ جدایه جمع‌آوری شده از یک مزرعه اختلاف معنی‌داری وجود دارد. برای درک بیماری‌زایی و مقاومت در پاتوسیستم *M. graminicola* و گندم بایستی در نظر داشت که ارقام گندم به طور پیوسته در معرض جمعیت‌های کاملاً متنوع عامل بیماری می‌باشند و فراوانی جدایه‌های عامل بیماری با بیماری‌زایی مشخص که توانایی سازگاری و استقرار بر روی ارقام مختلف گندم را دارند، بتدریج در حال افزایش می باشد. بررسی اختلافات بیماری‌زایی ٥٦ جدایه قارچ *M. graminicola* جمع‌آوری شده از هفت استان کشور نشان داد که بین جدایه‌ها از نظر قدرت تهاجمی تفاوت معنی‌داری وجود دارد (بشیری و همکاران ۱۳۸۵).

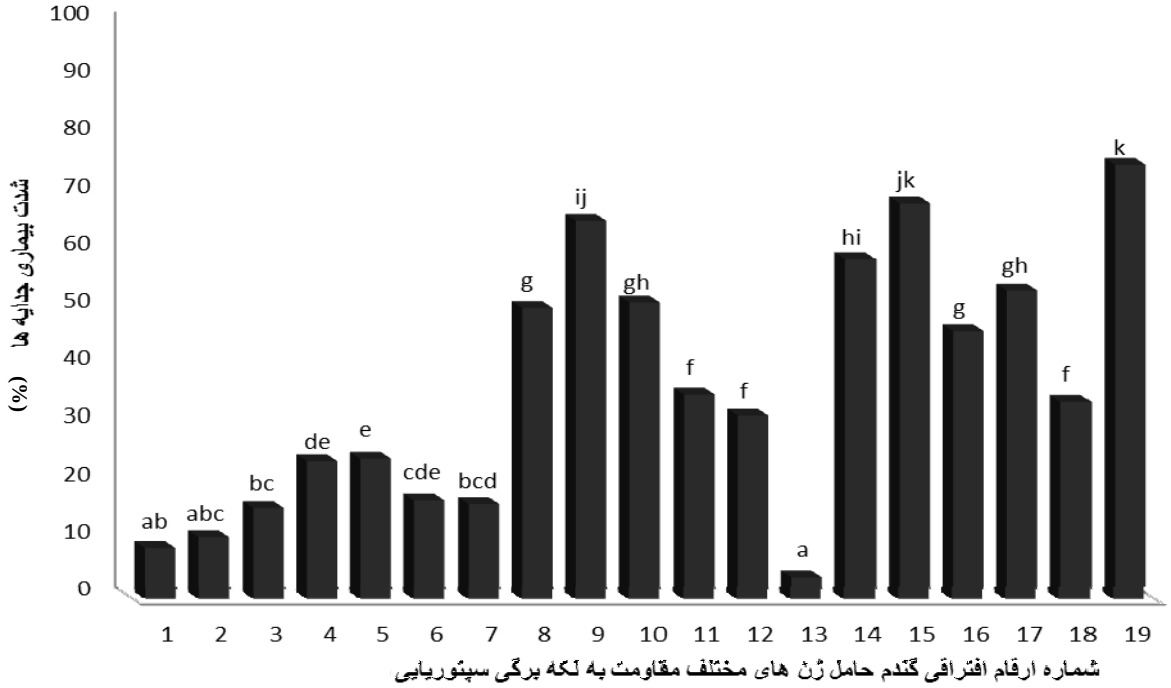
**جدول ۲- تجزیه واریانس صفات سطح نکروز (N) و درصد پوشش پیکنید (P) در رابطه با واکنش ارقام افتراقی نسبت به جدایه‌های لکه برگی سپتوریایی گندم.**

| | | میانگین مربعات (MS) | |
|---|---|---|---|
| منابع تغییرات | درجه آزادی | سطح نکروز | پوشش پیکنید |
| رقم | ۱۸ | ۲۸۳٤٤/۹۵۷** | ۳۸۲۳۸/۹۷۲** |
| جدایه | ۲۲ | ۱۲۹۵۲/۰۰۷** | ۱۳٤٤٤/٤۹۸** |
| جدایه * رقم | ۳۹۱ | ۱۵۱۳/۳۷۲ | ۱۲۳۳/۸۵۰ |
| خطا | ۱۱۷۱ | ۵٦۲/٤۲۰ | ۵٦٤/٦۷۲ |

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




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




**شکل۲- میانگین شدت بیماری (درصد) جدایه‌های *M. graminicola* بر روی ارقام افتراقی گندم حامل ژن‌های مقاومت به بیماری لکه‌برگی سپتوریایی (مقایسه میانگین به روش دانکن در سطح احتمال پنج درصد).**

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

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

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

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

[۱] Aggressiveness
[۲] Race non-specific
[۳] Virulence

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

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

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

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

**سپاس‌گزاری**

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

**منابع**

بشیری الف، ترابی م و رضایی س ط، ۱۳۸۵. بررسی اختلافات بیماری‌زایی در میان جدایه‌های قارچ عامل بیماری سپتوریوز برگ گندم در ایران. صفحه ۸. خلاصه مقالات هفدهمین کنگره گیاه پزشکی ایران، دانشگاه تهران.

ترابی م، ۱۳۵۹. عامل سپتوریوز گندم وگسترش آن در ایران. مجله بیماری‌های‌گیاهی، جلد ۱٦، صفحه‌های ۷ تا ۱٤.

دادرضائی س ط، ۱۳۷۸. مطالعه بیماری سپتوریوز گندم و ارزیابی مقاومت ارقام در استان خوزستان. پایان‌نامه کارشناسی ارشد بیماری شناسی گیاهی، دانشکده کشاورزی دانشگاه شهید چمران اهواز.

عظیمی ح، ۱۳۷۷. بررسی اختلاف بیماری‌زایی در جدایه‌های شبه‌گونه عامل بیماری سپتوریوزبرگ گندم در ایران. پایان-نامه کارشناسی ارشد بیماری شناسی گیاهی، دانشکده کشاورزی دانشگاه آزاد اسلامی، واحد علوم و تحقیقات تهران.

روح پرور ر، کیا ش و دالوند م، ۱۳۸۷. شناسایی منابع مقاومت ژنوتیپ‌های گندم در آزمایش‌های مقایسه عملکرد مقدماتی، پیشرفته و امیدبخش هم اقلیم (PRWYT, ARWYT& ERWYT-86) نسبت به بیماری سپتوریوز برگی. صفحه‌های ۱۰۹ تا ۱٤۲. گزارش سالیانه بیماری‌های غلات. بخش تحقیقات غلات مؤسسه تحقیقات اصلاح و تهیه نهال و بذر، کرج.

روح پرور ر، کیا ش و دالوند م، ۱۳۸۸. شناسایی منابع مقاومت در لاین‌های گندم مربوط به آزمایش‌های یکنواخت مقایسه عملکرد مقدماتی، پیشرفته و امیدبخش هم اقلیم (PRWYT, ARWYT& ERWYT) نسبت به بیماری لکه‌برگی سپتوریایی. گزارش نهایی پروژه تحقیقاتی سازمان تحقیقات، آموزش و ترویج کشاورزی. شماره ثبت ۸۸/۱۵۳۲، تهران. ۳۳ صفحه.

روح پرور ر، کیا ش و دالوند م، ۱۳۸۹ الف. بررسی واکنش ژنوتیپ‌های امیدبخش گندم در آزمایش‌های یکنواخت مقایسه عملکرد هم اقلیم نسبت به لکه‌برگی سپتوریایی. صفحه‌های ۱۲۱ تا ۱۲۸. گزارش سالیانه بیماری‌های غلات. بخش تحقیقات غلات مؤسسه تحقیقات اصلاح و تهیه نهال و بذر، کرج.

روح پرور ر، کیا ش و دالوند م، ۱۳۸۹ ب. شناسایی منابع مقاومت در بین ژنوتیپ‌های گندم مربوط به آزمایش‌های یکنواخت مقایسه عملکرد مقدماتی و پیشرفته هم اقلیم نسبت به لکه‌برگی سپتوریایی. صفحه‌های ۱۲۹ تا ۱٥٤. گزارش سالیانه بیماری‌های غلات. بخش تحقیقات غلات مؤسسه تحقیقات اصلاح و تهیه نهال و بذر، کرج.

Adhikari TB, Cavaletto JR, Dubcovsky J, Gieco JO, Schlatter AR and Goodwin SB, 2004a. Molecular mappping of the *Stb4* gene for resistance to *Septoria tritici* blotch in wheat. Phytopathology 94: 1198-1206.

Adhikari TB, Wallwork H and Goodwin SB, 2004b. Microsatellite markers linked to the *Stb2* and *Stb3* genes for resistance to *Septoria tritici* blotch in wheat. Crop Science 44: 1403-1411.

Arabi MIE and Jawhar M, 2002. Grain yield, kernel weight and *Septoria tritici* blotch responses of wheat to potassium and nitrogen fertilization. Cereal Research Communications 30: 141-147.

Arraiano LS, Chartrain L, Bossolini E, Slatter H N, Keller B and Brown JKM, 2007. A gene in European wheat cultivars for resistance to an African isolate of *Mycosphaerella graminicola*. Plant Pathology 56: 73-78.

Arseniuk E, Fried PM, Scharen AL and Czembor JH, 1993. Pathogenicity and resistance patterns in Triticosecale-Septoria spp. and *Triticum aestivum* I. -Septoria spp. systems. Current Plant Science and Biotechnology in Agriculture; Durability of disease resistance (Kluwer Academic Publishers)

Brading PA, Verstappen ECP, Kema GHJ and Brown JKM, 2002. A gene-for-gene relationship between wheat and *Mycosphaerella graminicola*, the *Septoria tritici* blotch pathogen. Phytopathology 92: 439-445.

Eyal Z, Amiri Z and Wahl L, 1973. Physiologic specialization of *Septoria tritici*. Phytopathology 63: 1087-1091.

Eyal Z, Scharen AL, Huffiman MD and Prescott JM, 1985. Global insights in to virulence frequencies of *Mycosphaerella graminicola*. Phytopathology 75: 1456-1462.

Grieger AP, 2001. Host-pathogen interactions in the wheat *Mycosphaerella graminicola* pathosystem, University of Manitoba.Winnipeg, Manitoba, Canada.

Kema GHJ, Verstappen ECP, Todorova M and Waalwikj C, 1996. Successful crosses and molecular tetrad and progeny analysis demonstrate heterothalism in *Mycosphaerella graminicola*. Current Genetics 30: 251-258.

King JE, Cook RJ and Melville SC, 1983. A review of Septoria disease of wheat and barely. Annals of Applied Biology 103: 315-373.

McCartney CA, Brule-Babel AL, Lamari L and Somers DJ, 2003. Chromosomal location of a race-specific resistance gene to *Mycosphaerella graminicola* in the spring wheat ST6. Theoretical and Applied Genetics 107: 1181-1186.

McDonald B, Pettway R, Chen R, Boeger J and Martinez J, 1995. The population genetics of *Septoria tritici* (teleomorph *Mycosphaerella graminicola*). Canadian Journal of Botany 73: 292-301.

Medini M and Hamza, S, 2008. Pathotype and molecular characterization of *Mycosphaerella graminicola* isolates collected from Tunisia, Algeria and Canada. Plant Pathology 90: 65-73.

Perello AE, Cordo CA, Arriagna HO and Alippi HE, 1991. Variation in virulence of *Septoria tritici* Rob. Ex. Desm. isolates on wheat. Plant Pathology 11: 571-579.

Petrak F and Esfandiari E, 1941. Contributions to the knowledge of the Iranian fungus flora. Annual of the Britain Mycology 39: 204-228.

Razavi M and Hughes GR, 2003. Pathogenic and molecular variability in a population of *Mycosphaerella graminicola*, cause of Septoria leaf blotch of wheat. Ph. D. thesis, University of Saskatchewan, Saskatoon, Canada.

Roohparvar R, Mehrabi R, Van Nistelrooy JGM, Zwiers LH and De Waard MA, 2008. The drug transporter MgMfs1 can modulate sensitivity of field strains of the fungal wheat pathogen *Mycosphaerella graminicola* to the strobilurin fungicide trifloxystrobin. Pest Managment Science 64: 685-693.

Royle DJ, Parker SR, Lovell DJ and Hunter T, 1995. Interpreting trends and risks for better control of Septoria in winter wheat. Pp. 105-115. In: Hewitt, H.G., D. Tyson, D.W. Hollomon, J.M. Smith, W.P. Davies, and K.R. Dixon (eds). A vital role for fungicides in cereal production. Oxford, UK: Bios Scientific Publisher Ltd.

Saadaoui EM, 1987. Physiologic specialization of *Septoria tritici* in Morocco. Plant Disease 71: 153-155.

Sanina AA and Antisiferova IV, 1991. Determination of the pathogenic properties of *Septoria nodorum* and *Septoria tritici* isolates on wheat. Mycologia Phytopathologia 25: 155-160.

Scharif G and Ershad D, 1966. A list of fungi on cultivated plants, shrubs and trees of Iran. Ministry of Agriculture, Plant Pests and diseases Research Institute, Evin, Tehran.

Tabib Ghaffary SM, Faris JD, Friesen TL, Visser RGF, van der Lee TAJ, Robert O and Kema GHJ, 2012. New broad-spectrum resistance to *Septoria tritici* blotch derived from synthetic hexaploid wheat. Theoretical and Applied Genetics 124: 125–142.

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

Van Ginkel M and Scharen AL, 1988. Host-pathogen relationships of wheat and *Septoria tritici*. Phytopathology 78: 762-766.

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

**S Fallahi-Motlagh[1*], R Roohparvar[2], HR Zamanizadeh[3] and A Bandehhagh[4]**

[1]Former M.Sc. Student, Dept. of Plant Pathology, Science and Research Branch, Islamic Azad University, Tehran, Iran
[2]Assistant Professor, Seed and Plant Improvement Institute (SPII), Dept. of Cereal Research, Cereal Pathology Unit, Tehran, Iran
[3]Associate Professor, Dept. of Plant Pathology, Science and Research Branch, Islamic Azad University, Tehran, Iran
[4]Assistant Professor, Dept. of Plant Breeding and Biotechnology. University of Tabriz, Tabriz, Iran
[*]Corresponding author: S_fallahi@tabrizu.ac.ir

Received: 13 Jun 2013 Accepted: 7 Apr 2014

**Abstract**

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

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