# ارزیابی کارایی ژن‌های مقاومت به بیماری سپتوریوز برگی (Mycosphaerella graminicola) ارقام افتراقی گندم نان نسبت به جدایه‌های بومی استان ایلام و خوزستان

فاطمه ذاکرصالحی[۱]، زهرا طهماسبی[۱*]، دکتر آرش فاضلی[۱]، محمود طبیب غفاری[۲]، خشنود نورالهی[۳]

۱-گروه زراعت و اصلاح نباتات، دانشکده کشاورزی، دانشگاه ایلام

۲- مرکز تحقیقات و آموزش کشاورزی و منابع طبیعی صفی آباد دزفول. بخش تحقیقات علوم زراعی و باغی

۳- گروه گیاهپزشکی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه ایلام

*ایمیل نویسنده مسئول: z.tahmasebi@ilam.ac.ir

تاریخ دریافت: ۱۴۰۲/۰۹/۰۳ تاریخ پذیرش:۱۴۰۲/۱۰/۰۹

**چکیده**

**بیماری سپتوریوز برگی گندم**(Mycosphaerella graminicola) **یکی از مخرب‌ترین بیماری‌های گندم در دنیا به شمار می‌رود. افزایش تعداد تک سرشت‌های مقاومت به بیماری سپتوریوز برگی به اولویتی مهم در برنامه‌های ملی و بین المللی به نژادی گندم تبدیل شده است. در این بررسی ۳۱ ارقام افتراقی حامل ژن‌های مقاومت به سپتوریوز برگی گندم (دارای ژن مقاومت** Stb**) و حساس (بدون ژن مقاومت** Stb **) به سپتوریوز برگی گندم بوسیله ٤ جدایه جمع آوری شده از مناطق مختلف آلوده استان خوزستان و ایلام در شرایط گلخانه‌ای و در مرحله گیاهچه مورد ارزیابی قرار گرفتند. دو زمان برای اندازه‌گیری و قرائت بیماری در نظر گرفته شد که یکی ۲۱ روز و دیگری ۲۸ روز پس از اسپورپاشی بودند. در این دو تاریخ درصد بیماری لاین‌ها در واکنش به ایزوله‌ها بررسی و یادداشت گردید. اندازه‌گیری مقدار بیماری روی برگ‌های اول گیاه و به صورت اندازه‌گیری درصد سطح پیکنیدیومی برگ بوسیله چشم انجام شد. نتایج نشان داد که بین جدایه‌های قارچ و نیز اثر متقابل بین ارقام و جدایه‌ها از نظر درصد بیماری اختلاف معنی‌داری وجود دارد. از نتایج به دست آمده در تحقیق حاضر می‌توان نتیجه گرفت که رقم** Tadinia **حساس‌ترین رقم و ارقام** K/MKM٤١ **و** K/MKM٧٣ **مقاوم‌ترین رقم‌ها بین ارقام گندم افتراقی مورد بررسی بودند.**

**کلمات کلیدی: " به‌نژادی گیاهان"،" سطح پیکنیدیومی"،"گلخانه".**

## ۱- مقدمه

**گندم** (Triticum aestivum L) **غذای اصلی مردم بسیاری از کشورهاست، به طوری که بیش از ۲۰ درصد کالری مورد نیاز جمعیت جهان را تامین می‌کند و به مقدار زیاد و در مساحت وسیعی کشت می‌شود. گندم نان بیشترین تجارت را در مقایسه با سایر محصولات دارد.** (Pagesse et al., ۲۰۰۱)**.هدف اصلاحی نهایی در هر برنامه اصلاحی افزایش عملکرد می‌باشد. که این برنامه با حفظ گیاه در مقابل تنش‌های غیر زیستی (گرما،سرما، خشکی و شوری) و زیستی (حشرات، باکتری‌ها، ویروس‌ها و قارچ‌ها)، که باعث کاهش ۲۵٪ عملکرد می‌شوند تحقق می یابد** (Gill et al., ۲۰۰٤ ) **. بیماری سپتوریوز برگی گندم نخستین بار در سال ۱۸٤۲ در اروپا گزارش گردید**(Desmazieres ۱۸٤۲; Sprague ۱۹۳۸)**. عامل این بیماری یک قارچ آسکومیست هتروتال دو قطبی** Mycosphaerella graminicola ( Fuckel) J.Schrot **می‌باشدکه چرخه جنسی آن در طول فصل زراعی، با توجه به شرایط محیطی مساعد، تکرار می‌شود (الهام محمودی و همکاران، ۱۳۹٤) و از سال ۱۸۹٤ مشاهده و گزارش گردیده است، هرچند ارتباط بین بیماری سپتوریوز برگی و این قارچ پس از حدود ۸۰ سال روشن گردید** (Sanderson ۱۹۷۲)**. این بیماری که یکی از مخرب‌ترین بیماری‌های گندم در دنیا به شمار می‌رود، خسارت جهانی آن در سال‌های طغیان بالغ بر ۳۰ تا ۵۳ درصد است (محمودی و همکاران، ۱۳۹٤).نتیجه به‌نژادی برای مقاومت به سپتوریوز برگی به عنوان یک راهبرد سازگار با محیط زیست و همچنین دارای برتری اقتصادی برای کشاورزان (با توجه به هزینه مصرف قارچ کش)، در دو دهه اخیر اهمیت چشمگیری یافته است (** Jorgensen **۲۰۰۸;** Verreet et al. **۲۰۰۰) . اولین مطالعه ژنتیک مقاومت گندم به بیماری سپتوریوز برگی در سال ۱۹۵۷ انجام شد**(Narvaez and Caldwell, ۱۹۵۷) **و متعاقب**

آن چهار ژن مقاومت Stb۱,Stb۲, Stb۳, Stb٤ در گندم نان شناسائی و معرفی گردید. توسعه روش‌های تهیه نقشه‌های پیوستگی, تجزیه کمی منجر به تعیین محل ژن-های فوق الذکر و شناسائی نشانگرهای مولکولی پیوسته به آنها گردید. در دهه اخیر ١٤ تک سرشت جدید شناسائی و جمعا تعداد آنها در گندم نان به ۱۸ عدد افزایش یافته است که در این میان کشف رابطه ژن با ژن در برهمکنش این قارچ و گندم با شناسائی Stb٦ همزمان گردید (Brading et al. ۲۰۰۲). مقایسه تعداد ژن‌های شناساتی شده برای مقاومت به سپتوریوز برگی در مقایسه با ژن گزارش شده برای مقاومت به زنگ زرد زنگ قهوه ای، زنگ سیاه و سفیدک پودری به طور چشمگیری ناچیز به نظر می‌رسد. بنابراین افزایش تعداد تک سرشت‌های مقاومت به بیماری سپتوریوز برگی به اولویتی مهم در برنامه‌های ملی و بین المللی به نژادی گندم تبدیل شده است. بنابراین در این بررسی ارقام افتراقی حامل ژن‌های مقاومت به سپتوریوز برگی گندم بوسیله ٤ جدایه جمع-آوری شده از مناطق مختلف آلوده استان خوزستان و ایلام در شرایط گلخانه‌ای و در مرحله گیاهچه مورد ارزیابی قرار گرفتند.

**۲-روش انجام تحقیق**

در این تحقیق ۳۱ رقم افتراقی گندم حامل ژن‌های مقاومت به سپتوریوز برگی گندم (دارای ژن مقاومت Stb) و حساس (بدون ژن مقاومت Stb ) به بیماری سپتوریوز برگی که در مرکز تحقیقات صفی آباد دزفول موجود بود (جدول ۱)، بوسیله ٤ جدایه جمع آوری شده از مناطق مختلف آلوده استان خوزستان و ایلام آلوده و از لحاظ مقاومت به بیماری مورد ارزیابی قرار گرفتند. در بین ارقام مورد بررسی سه رقم به نام های Taichung۲۹ ، Obelisk و Darab ۲ به عنوان شاهد حساس در نظر گرفته شدند. آزمایش به صورت طرح فاکتوریل در قالب بلوک‌های کامل تصادفی و در سه تکرار اجرا شد. که عامل‌ها شامل جدایه های قارچ و ارقام افتراقی گندم بودند. این تحقیق در مرکز تحقیقات کشاورزی دزفول به انجام رسید. بذرهای این ۳۱ رقم در گلدان‌های کوچک که حاوی خاک سند پیت بود، کشت شدند. مراقبت های لازم از جهت آبیاری، نور و رطوبت تا رشد گیاهان و رسیدن آنها به مرحله دو برگی و سپس آلوده‌سازی انجام گرفت. تا روز چهاردهم گندم ها در گلخانه در دمای ۲۲ تا ۲٦ درجه و رطوبت حدود ۸۰٪ نگهداری شدند. در این مدت آبیاری هر دو روز یکبار انجام شد و درکف سینی‌ها بین ۲ تا ٤ سانتی متر آب ریخته می‌شد. سه ایزوله با شماره‌های ٤ ،۱۳ و ١٦، از چند مزرعه از شهر سردشت از توابع دزفول و شهرستان شوشتر جمع آوری گردید و یک ایزوله از ایلام (۵) بود. نام و موقعیت جغرافیایی ایزوله‌ها در جدول ۲ آورده شده است. جدا سازی سویه‌های قارچ به روش تک پیکنید (Kema and Annon ۱۹۹۱) از برگ‌های آلوده انجام و هر یک جدایه در یک پتری مجزای حاوی محیط کشت PDA نگه‌داری شدند. اسپور هر جدایه سپس در محیط کشت مایع به نسبت ۱:۳ یس و گلوکز در دمای ۱۵ درجه سانتی‌گراد و ۱۸۰ دور در دقیقه تکثیر شده و با غلظت $۱۰^{۷}$ (۱۰۰۰۰۰۰۰) اسپور در میلی لیتر روی ارقام افتراقی پاشیده شد. به هدف ایجاد شرایط مطلوب برای نفوذ قارچ در بافت گیاهی به مدت ٤۸ ساعت شرایط رطوبت حد اکثر با استفاده از پوشش پلاستیکی فراهم گردید. ۱۰ روز پس از تلقیح برگ اول حفظ و برگ‌های بالائی حذف گردید. اولین علائم بیماری در رقم داراب ۲ که شاهد حساس بود، دیده شد. علایم ابتدا به صورت لکه‌های زرد رنگ بر روی برگ‌ها ظاهر گردید که این لکه‌ها بسته به میزان حساسیت رقم به تدریج گسترش یافتند و بافت برگ ها در محل لکه‌ها خشک و قهوه ای شدند. دو زمان برای اندازه‌گیری و قرائت بیماری در نظر گرفته شد که یکی ۲۱ روز پس از اسپور پاشی و دیگری ۲۸ روز پس از اسپور پاشی بودند. در این دو تاریخ درصد بیماری لاین-ها در واکنش به ایزوله‌ها بررسی و یادداشت گردید. اندازه‌گیری مقدار بیماری روی برگ‌های اول گیاه و به صورت اندازه‌گیری درصد سطح پیکنیدیومی برگ بوسیله چشم انجام شد.محاسبات آماری شامل تجزیه واریانس و مقایسه میانگین داده‌ها با استفاده از آزمون LSD و توسط نرم افزار SAS ۹,۲ انجام شد. لازم به ذکر قبل از انجام تجزیه واریانس مفروضات تجزیه واریانس توسط برنامه MINITAB ١٦ مورد آزمون قرار گرفت و ضمن حذف داده های پرت از تبدیل جذری جهت نرمال سازی داده استفاده گردید. جهت ترسیم نمودارها نیز به کمک نرم افزار EXCEL ۲۰۱۰ انجام گردید

جدول ۱-مشخصات ارقام مورد بررسی در این تحقیق

| ردیف | رقم | ردیف | رقم |
|---|---|---|---|
| ۱ | Bulgaria | ۱۷ | A/B-۰۱۰۱۵,۳HD-۱۲۰ |
| ۲ | veranopolis | ۱۸ | A/B-۰۱۰۱۵,۳HD-۱ |
| ۳ | Israel ٤,۳ | ۱۹ | A/B-۰۱۰۱۵,۳HD-۱۳ |
| ٤ | Tadiana | ۲۰ | A/B-۰۱۰۱۵,۳HD-۱٤۹ |
| ٥ | Cs/synthetic (٦x) ۷D | ۲۱ | A/B-۰۱۰۱۵,۳HD-۱۲٦ |
| ٦ | Shafir | ۲۲ | A/B-۰۱۰۱۵,۳HD-۱۲۸ |
| ۷ | Estanzuela Federal | ۲۳ | K/M۳-KM۲۰ |
| ۸ | Estanzuela Federal | ۲٤ | K/M۳-KM۷ |
| ۹ | Courtot | ۲٥ | K/M۳-KM٤۱ |
| ۱۰ | TE ۹۱۱۱ | ۲٦ | K/M۳-KM۷۳ |
| ۱۱ | Salamouni | ۲۷ | KK ٤٥۰۰ |
| ۱۲ | Arina | ۲۸ | Riband |
| ۱۳ | M۳ (synthetic) | ۲۹ | Taichung ۲۹ |
| ۱٤ | A/B-۰۱۰۱۵,۳HD-۱٦٦ | ۳۰ | Obelisk |
| ۱٥ | A/B-۰۱۰۱۵,۳HD-۱۲٤ | ۳۱ | Darab۲ |
| ۱٦ | A/B-۰۱۰۱۵,۳HD-۱۳۱ | | |

جدول ۲- مشخصات ایزوله های قارچ عامل سپتوریوز استفاده شده در این تحقیق

| نام ایزوله | محل جمع آوری | موقعیت جغرافیایی |
|---|---|---|
| ۱٦ | شهر سردشت از توابع دزفول | N= ۳۲°, ۲۹/۳٤٥<br>E= ٤۳ , ٤٤/۸۲٤ |
| ٤ | شهر سردشت از توابع دزفول | N= ۳۲ , ۲۹/٥۲۲<br>E= ٤۸ , ٤٥/۳۷۱' |
| ۱۳ | شهرستان شوشتر | N= ۳۲<br>E= ٤۸ |
| ٥ | شهرستان ایلام | |

**۳-نتایج**

**نتایج حاصل از تجزیه واریانس درصد بیماری جدایه ها بر روی ارقام گندم در دو تاریخ قرائت نشان داد که بین ارقام گندم و همچنین بین جدایه‌های قارچ از نظر درصد بیماری در سطح احتمال ۱٪ اختلاف معنی‌داری وجود دارد. اثر متقابل بین ارقام و جدایه‌ها نیز در سطح احتمال ۱٪ معنی دار است (جدول ۳).**

جدول ۳- تجزیه واریانس درصد پوشش پیکنیدیومی سطح برگ ۳۱ رقم گندم در ۲ تاریخ قرائت

| منابع تغییرات | درجه آزادی | میانگین مربعات درصد بیماری | |
|---|---|---|---|
| | | ۲۱ روز پس از اسپور پاشی | ۲۸ روز پس از اسپور پاشی |
| رقم | ۳۰ | ۰/۰۱٦** | ۰/۰٤۸** |
| جدایه(تیمار) | ۳ | ۲/۳۲۷** | ۳/۰٦۷** |
| جدایه * رقم | ۹۰ | ۰/۰۱٥** | ۰/۰۲۳** |
| خطا | ۲٤۸ | ۰/۰۰۲ | ۰/۰۰۱ |
| ضریب تغییرات | - | ۲۷/۷۱ | ۱٦/۹ |

**: معنی دار در سطح یک درصد

**مقایسه میانگین هر ٤ ایزوله در اولین تاریخ قرائت نشان داد که ایزوله ۱٦ بیشترین بیماری زایی و سه ایزوله دیگر بیماری زایی ایجاد نکردند (٤). مقایسه میانگین ٤ ایزوله در دومین تاریخ با کمی تغییرات نشان داد، که همچنان ایزوله ۱٦ بیشترین بیماریزایی را داشته و ایزوله ٤ با درصد کمی بیماری زایی به عنوان دومین ایزوله بیماریزا در نظر گرفته شد. بیماری زایی ایزوله ۱۳ تقریبا صفر درصد بود که این ایزوله را با ایزوله ٥ در گروه ایزوله های غیر بیماری زا قرار دادیم (جدول٤).مقایسه میانگین ارقام در ۲۱ روز پس از اسپور پاشی نشان می‌دهد که ارقام از نظر میزان پوشش پیکنیدیومی برگ با هم اختلاف معنی دار دارند که این اختلاف آن ها را در گروه های مختلف قرار داده است. بجز ارقام Taichung، Obelisk و Darab۲ که به عنوان شاهد حساس در نظر گرفته شده بودند، بررسی مقایسه میانگین ها نشان داد، که رقم Tadinia حساس ترین رقم و رقم K/MKM٤۱ و K/MKm۷۳ مقاوم ترین ارقام از**

نظر پوشش پیکنیدیومی سطح برگ و شدت آلودگی بودند (جدول ۵).مقایسه میانگین میزان ابتلا به بیماری ارقام در ۲۸ روز پس از اسپور پاشی نشان می دهد که ارقام از نظر میزان پوشش پیکنیدیومی برگ آن‌ها را در گروه‌های مختلف قرار داده است. بجز ارقام Taichung، Obelisk و Darab۲ که به عنوان شاهد حساس در نظر گرفته شده بودند، بررسی مقایسه میانگین‌ها نشان داد که رقم Tadinia حساس‌ترین رقم و رقم K/MKM۴۱ و K/MKM۷۳ مقاوم‌ترین ارقام از نظر پوشش پیکنیدیومی سطح برگ و شدت آلودگی بودند ( جدول ۵). رقم گندم tadinia تنها دارای ژن غالب Stb۴ برای مقاومت در برابر بیماری سپتوریوز را دارد. این ژن از سال ۱۹۷۵ در کالیفرنیا برای کنترل بیماری، مفید واقع شده است. این ژن‌ها در برنامه‌های اصلاحی می تواند به شدت با در دسترس بودن ماکروملکول‌های مرتبط افزایش یابد. توسعه چنین نشانگرهایی توسط انتخاب به کمک ترکیب ژن مطلوب به این ژن در برنامه‌های اصلاحی گندم است.(Adhikari et al., ۲۰۰۴)از نتایج به دست آمده از هر دو جدول در تحقیق حاضر میتوان نتیجه گرفت که رقم Tadiniaحساس‌ترین رقم و ارقام K/MKM۴۱ و K/MKM۷۳ مقاوم‌ترین رقم‌ها بین این ارقام گندم افتراقی هستند. در مرکز بین المللی ذرت و گندم مکزیک، ژرم پلاسم مشتق شده (KK) k۴۵۰۰ ، یکی از اولین گونه‌ها به عنوان منبعی از مقاومت در برابر Stb در سال ۱۹۷۰شناسایی شد و در برنامه‌های اصلاحی این مرکز مورد استفاده قرار گرفت. در مطالعه چند نهال و برگ گندم مشخص شد که رقم KK به بسیاری از ایزوله‌های بیماری سپتوریوز مقاوم است اما مستعد مبتلا کردن دیگر ارقام به این بیماری است و مقاومت KK به Stb را میتوان بوسیله ۷ ژن کنترل کرد. (Chartrain et al., ۲۰۰۵). با توجه به مطالب بالا که مقاومت رقم KK را نشان می دهد، در تحقیق حاضر این رقم تا حدودی بیمار شده و در رده ارقام نیمه مقاوم در مقابل ایزوله ۱۶، قرار گرفته است.در تحقیقی به منظور معرفی ژن‌های مقاومت ، ۲۶ رقم افتراقی گندم ، در مرحله‌ی گیاهچه‌ای در گلخانه با ۵ جدایه‌ی خالص سازی شده‌ی این قارچ که در سال‌های ۱۳۹۲ و ۱۳۹۳ از مزارع استان خوزستان جمع آوری شده بودند، مایه زنی شده و واکنش ارقام ۲۱ روز پس از مایه زنی براساس روش کما و همکاران (Kema et al., ۱۹۹۶) به

جدول ٤-مقایسه میانگین درصد پوشش پیکنیدیومی ایزوله ها در ۲۱ و ۲۸ روز پس از اسپور پاشی

| ایزوله | ۲۱ روز پس از اسپور پاشی | ۲۸ روز پس از اسپور پاشی |
|---|---|---|
| ۱۶ | ۰/۱۹۰a | ۰/۲٤٥a |
| ٤ | ۰/۰۰۰b | ۰/۰۳۱b |
| ۱۳ | ۰/۰۰۰b | ۰/۰۰۹c |
| ٥ | ۰/۰۰۰b | ۰/۰۰۰c |

در هر ستون اعداد با حداقل یک حرف مشترک تفاوت معنی دار در سطح احتمال ۵٪ با یکدیگر ندارند.

صورت تخمین درصد سطح نکروز کل برگ و درصد سطح نکروز حاوی پیکنید ارزیابی گردید. نتایج تجزیه‌ی خوشه ای واکنش ارقام افتراقی گندم نشان داد که تنها ۱۳ رقم نسبت به جدایه‌ها مقاوم هستند. ارقام M۳ حامل ژنهای مقاومت Stb۱۶&۱۷ و Arina حامل۱۵& Stb۶، Riband حامل۱۵Stb و Stb۶, ۷ و TE۹۱۱۱ حامل ژن Stb۱۱ به ترتیب نسبت به بیشتر جدایه‌ها از خود مقاومت نشان دادند. بر این اساس ژن‌های Stb۱۶, ۱۷, ۱۱ ,۱۵به عنوان ژن‌های مقاومت موثر برای برنامه‌های به‌نژادی گندم با هدف تولید ارقام مقاوم معرفی می‌گردند . کمترین مقاومت موثر مربوط به ژن‌های مقاومت ۱۳،۱٤،٦ STB بود و سایر ژنها درجات مختلفی از میزان اثربخشی را در مقابل جدایه‌ها نشان دادند .ارقام Shafir و Flame که دارای ژن مقاومت غیرموثر Stb٦ می‌باشند، واکنش متفاوتی را در برابر جدایه‌ها نشان دادند و پیش بینی می شود که بروز مقاومت در رقم Flame ناشی از وجود ژن یا ژن‌های مقاومت دیگری غیر از Stb٦ باشد. تحقیق بالا مشابه تحقیقی است که انجام گرفته است.

نتایجی که از تحقیق بالا بدست آمده متفاوت با نتایجی است که در اینجا بدست آمده است. رقم Riband با اینکه دارای دو ژن مقاومت است، ولی در تحقیق حاضر در رده ارقام نیمه حساس قرار گرفته است در حالی که در تحقیقی که در بالا آورده شده به عنوان یک رقم مقاوم شناخته شده است. رقم TE۹۱۱۱ نیز دارای یک ژن مقاومت می‌باشد که طبق تحقیقات حاضر نیز در رده ارقام نیمه مقاوم قرار گرفته است ولی در تحقیق بالا مقاوم به بیماری شناخته شده است. رقم M۳ نیز طبق نتایج تحقیق حاضر نیمه مقاوم است ولی در تحقیق بالا به عنوان مقاوم شناخته شده است.

جدول ۵- مقایسه میانگین درصد پوشش پیکنیدیومی ۳۱ رقم گندم ۲۱ و ۲۸ روز پس از اسپور پاشی

| رقم | ۲۱ روز پس از اسپور پاشی | ۲۸ روز پس از اسپور پاشی |
|---|---|---|
| ۱ | ۰/۰۵۲def | ۰/۰۶۳ghij |
| ۲ | ۰/۰۵۸cdefg | ۰/۰۶۵fghij |
| ۳ | ۰/۰۶۷abcde | ۰/۰۹٤cdef |
| ٤ | ۰/۱۰۵abc | ۰/۰۳۱klm |
| ۵ | ۰/۰۱۳ghi | ۰/۰۶۵fghij |
| ٦ | ۰/۰٤۵defghi | ۰/۰۵۵hijk |
| ۷ | ۰/۰٤۱defghi | ۰/۰۷۱efghi |
| ۸ | ۰/۰۲۰efghi | ۰/۰۳۱klm |
| ۹ | ۰/۰۵۰defg | ۰/۰۹۰cdefg |
| ۱۰ | ۰/۰٦۲bcdef | ۰/۰۹۹cde |
| ۱۱ | ۰/۰۵۰defg | ۰/۰۷۰efghij |
| ۱۲ | ۰/۰۵۱defg | ۰/۱۰۱cd |
| ۱۳ | ۰/۰۳۵defghi | ۰/۰٦۸fghij |
| ۱٤ | ۰/۰٤۳defghi | ۰/۰۷٦defghi |
| ۱۵ | ۰/۰۵۰defg | ۰/۰۸۵cdefg |
| ۱٦ | ۰/۰٤۸defgh | ۰/۰۷۰efghi |
| ۱۷ | ۰/۰۲۰efghi | ۰/۰۵۰ijkl |
| ۱۸ | ۰/۰٤۲defghi | ۰/۰۸۷cdefg |
| ۱۹ | ۰/۰۵٦defg | ۰/۰۸۹cdefg |
| ۲۰ | ۰/۰۲۲efghi | ۰/۰۸۰cde |
| ۲۱ | ۰/۰٤۵defghi | ۰/۰٦۷fghij |
| ۲۲ | ۰/۰۳۱defghi | ۰/۰٤۰jklm |
| ۲۳ | ۰/۰۱۹fghi | ۰/۰۲۳lm |
| ۲٤ | ۰/۰۰۱hi | ۰/۰۱۷lmn |
| ۲۵ | ۰/۰۰۰i | ۰/۰۰۰n |
| ۲٦ | ۰/۰۰۰i | ۰/۰۰۰n |
| ۲۷ | ۰/۰٤٤defghi | ۰/۰۵۲hijkl |
| ۲۸ | ۰/۰۷۵abcd | ۰/۱۱۵c |
| ۲۹ | ۰/۱۱۳a | ۰/۱۸۸a |
| ۳۰ | ۰/۱۰٦ab | ۰/۱۸٤a |
| ۳۱ | ۰/۱۰۷ab | ۰/۱۵۱b |

در هر ستون اعداد با حداقل یک حرف مشترک تفاوت معنی دار در سطح احتمال ۵٪ با یکدیگر ندارند.

## ٤- نتیجه‌گیری

ارزیابی میزان مقاومت ارقام و لاین‌های گندم نسبت به بیماری سپتوریوز برگی در ایران غالباً با استفاده از مخلوط جدایه‌های قارچ عامل بیماری و یا در شرایط آلودگی طبیعی انجام گرفته است .این امر نه تنها امکان درک صحیح از میزان پرآزاری و ناپرآزاری جدایه‌های ایرانی را فراهم نمی‌کند بلکه امکان استنتاج مناسبی از وجود و یا عدم وجود مقاومت اختصاصی در ارقام و لاین‌های گندم را بامشکل مواجه می‌کند. نتایج جداول تجزیه واریانس واکنش درصد پوشش پیکنیدی ارقام نسبت به ایزوله های سپتوریوز برگی گندم در هر دو آزمایش حاکی از وجود اختلاف بین ایزوله ها و واکنش ارقام نسبت به ایزوله ها بود که این موضوع می‌تواند ناشی از وجود الگوی بیماریزایی متفاوت ایزوله ها باشد و یا به دلیل تفاوت ژنتیکی ارقام میزبان این بیماری باشد.

ایزوله ١٦ مربوط به شهرستان شوشتر می باشد، که بر روی ۳۱ رقم افتراقی در دزفول و در تحقیق پیش رو، بیماریزایی شدیدی داشته است. نتایج این پژوهش، وجود مقاومت اختصاصی در ارقام گندم مورد بررسی و تخصص یافتگی فیزیولوژیکی در ایزوله منطقه شوشتر را نشان داد.

## ۵-منابع

- محمودی، ا.، آق ملاییفاکیا،ش و نصراله نژاد، س.، ١٣٩٤. واکنش تعدادی از ژنوتیپ های امیدبخش گندم نان به قارچ عامل لکه برگی سپتوریایی، نشریه پژوهش های تولید گیاهی، شماره۳، ص ۳۲۹-۳۳۵.

- Adhikari, T.B., et al. ۲۰۰٤. Microsatellite markers linked to the Stb۲ and Stb۳ genes for resistance to septoria tritici blotch in wheat, Crop Science, Vol. ٤٤, P.۱٤۰۳-۱٤۱۱.
- Brading, P.A., et al. **۲۰۰۲.** A geneforgene relationship between wheat and Mycosphaerella graminicola, the Septoria tritici blotch pathogen, Phytopathology, Vol. ۹۲, P. ٤۳۹٤٤٥.
- Chartrain, L., et al. (۲۰۰٥). Presence of the Stb٦ gene for resistance to septoria tritici blotch (Mycosphaerella graminicola) in cultivars used in wheatbreeding programmes worldwide. Plant Pathol Vol. ٥٤, P. ۱۳٤–٤۳.
- Desmazieres, J. ۱۸٤۲. Neuvieme notice sur quelques plantes cryptogames, Ann des Sci Nat, Bot Ser, Vol. ۲,P. ۹۱۱۱۸.
- Gill, BS., et al. **۲۰۰٤.**A workshop report on wheat genome sequencing: international genome research on wheat consortium. Genetics, Vol. ۱٦۸,P. ۱۰۸۷ ۱۰۹٦.
- Jorgensen, L.N.۲۰۰۸. Resistance situation with fungicides in cereals, ZemdirbysteAgriculture, Vol. **۹٥, P. ۳۷۳۳۷۸.**
- Kema, G., Annone, J .۱۹۹۱. In vitro production of pycnidia by Septoria tritici, European Journal of Plant Pathology, Vol. **۹۷, P. ٦٥۷۲.**
- Kema, G.H.J., et al. **۱۹۹٦.** Histology of the pathogenesis of Mycosphaerella graminicola in wheat, Phytopathology, Vol. **۸٦, P. ۷۷۷۷۸٦.**
- Narvaez, I., Caldwell, R. ۱۹٥۷. Inheritance of resistance to leaf blotch of wheat caused by Septoria tritici, Phytopathology, Vol. **٤۷, P. ٥۲۹–٥۳۰.**
- Pagesse, P .۲۰۰۱. Wheat: its genetic diversity, history and prospects. In: The world wheat book: A history of wheat breeding. Bonjean, A.P. and W.J. Angus (eds). Lavoisier Publishing, Paris, P. ۱۱۳۱-۱۱۸٤.
- Sanderson, F.۱۹۷۲. A Mycosphaerella species as the ascogenous state of Septoria tritici Rob. and Desm, New Zealand Journal of Botany, Vol.**۱۰, P. ۷۰۷–۷۱۰.**
- Verreet, J., et al. **۲۰۰۰.** Regional monitoring for disease prediction and optimization of plant protection measures: the IPM wheat model, Plant Disease, Vol. **۸٤,P. ۸۱٦۸۲٦.**

# Performance evaluation of some septoria leaf disease resistance genes differential wheat varieties to Ilam and Khuzestan native isolates

**Fatemeh Zaker salehi[۱]; Zahra. Tahmasebi[۲]; Arash Fazeli[۲]; Mahmoud Tabibghaffuri[۳]; Khoshnoud Nourollahi[٤]**

[۱] MSc., Department of Agronomy and plant breeding, Agricultural College, Ilam University , Ilam, Iran.

[۲] Associate Professor, Department of Agronomy and plant breeding, Agricultural College, Ilam University , Ilam, Iran.

[۳] Research Associate, Field and Horticultural Crops Reseach Unit, Agricultural and Natural Resources Research and Education Center of Safi Abad Dezful, Agricultural Research, Education and Extension Organization, Iran.

[٤] Department of plant Protection, Agricultural College, Ilam University, Ilam, Iran.

**Abstract**

**Introduction**

Wheat (Triticum aestivum L) is the main food of the people of many countries, so that it supplies more than ۲۰٪ of the calories needed by the world's population, and it is cultivated in large quantities and in a large area. Bread wheat has the most trade compared to other crops.

Wheat leaf septoriosis was first reported in Europe in ۱۸٤۲. The cause of this disease is a bipolar heterothallic ascomycete fungus, Mycosphaerella graminicola (Fuckel) J. Schrot, whose sexual cycle repeats itself during the cropping season, according to favorable environmental conditions, and since ۱۸۹٤, it has been observed and has been reported, although the relationship between foliar septoria and this fungus was clarified after about ۸۰ years. This disease, which is considered one of the most destructive diseases of wheat in the world, its global damage in flood years is ۳۰-۵۳٪.

The ultimate corrective goal in any corrective program is to increase performance. This program is realized by protecting the plant against non-biotic (heat, cold, drought and salinity) and biotic (insects, bacteria, viruses and fungi) stresses, which cause a ۲۵٪ reduction in yield.Breeding for resistance to foliar septuria as an environmentally friendly strategy and having an economic advantage for farmers (considering the cost of fungicide use) has gained significant importance in the last two decades.The first genetic study of wheat resistance to foliar satori disease was done in ۱۹۵۷ (Narvaez and Caldwell, ۱۹۵۷) and subsequently four resistance genes Stb۱, Stb۲, Stb۳, Stb٤ were identified and introduced in bread wheat. In the last decade, ۱٤ new monotypes have been identified and their total number has increased to ۱۸ in bread wheat, among which the discovery of the gene-to-gene relationship in the interaction between this fungus and wheat coincided with the identification of Stb٦ (Brading et al. ۲۰۰۲). The comparison of the number of genes identified for resistance to foliar Seteria compared to the genes reported for other diseases seems remarkably insignificant. Therefore, increasing the number of monotypes resistant to foliar Seteria disease has become an important priority in national and international wheat breeding programs. Therefore, in this study, differential cultivars carrying genes for resistance to wheat foliar Seteria were evaluated by four isolates collected from different infected areas of Khuzestan and Ilam at the seedling stage.

**Methodology**

In this research, ۳۱ different varieties of wheat carrying the genes of resistance to foliar septoriosis of wheat (with Stb resistance gene) and sensitive (without Stb resistance gene) to foliar septoriosis disease, which were available in Safi Abad Dezful Research Center, were collected by ٤ isolates. They were infected from different infected areas of Khuzestan and Ilam province and were evaluated in terms of disease resistance. Among the investigated cultivars, three cultivars named Taichung۲۹, Obelisk and Darab ۲ were considered as sensitive controls. The experiment was carried out as a factorial design in the form of randomized complete blocks and in three replications. The agents included mushroom isolates and differential wheat cultivars. This research was done in Dezful Agricultural Research Center. The seeds of these ۳۱ cultivars were planted in small pots containing sand-peat soil. Necessary care was taken in terms of irrigation, light and humidity until the plants grow and reach the two-leaf stage and then contamination. During this period, watering was done every two days and between ۲ and ٤ cm of water was poured on the bottom of the trays.

Three isolates with numbers ٤, ١٣ and ١٦ were collected from several farms in Sardasht city, Dezful and Shushtar counties, and one isolate was from Ilam (٥). The name and geographic location of the isolates are given in Table ٢. Isolation of fungal strains was done by single-pick method (Kema and Annon ١٩٩١) from infected leaves and each isolate was kept in a separate Petri dish containing PDA culture medium. Spores of each isolate were then propagated in a liquid culture medium with a ratio of ١:٣ Ys and glucose at a temperature of ١٥ degrees Celsius and ١٨٠ rpm and sprayed with a concentration of ١٠٧ (١٠,٠٠٠,٠٠٠) spores per ml on the differential cultivars. In order to create favorable conditions for the penetration of fungi in the plant tissue for ٤٨ hours, maximum humidity conditions were provided using plastic cover. ١٠ days after inoculation, the first leaf was preserved and the upper leaves were removed.The first symptoms of the disease were seen in the cultivar Darab ٢, which was a sensitive control. The symptoms first appeared in the form of yellow spots on the leaves, which gradually spread depending on the sensitivity of the variety, and the texture of the leaves became dry and brown at the spots. Two times were considered for disease measurement and reading, one was ٢١ days after sporulation and the other was ٢٨ days after sporulation. On these two dates, the disease percentage of the lines in response to the isolates was checked and recorded. The amount of disease was measured on the first leaves of the plant by measuring the percentage of pycnidium leaf surface by eye.

Statistical calculations including analysis of variance and comparison of mean data were performed using LSD test and by SAS ٩,٢ software. It should be mentioned that before performing the analysis of variance, the assumptions of analysis of variance were tested by MINITAB ١٦ program and while removing outlier data, radical transformation was used to normalize the data. To draw the graphs, it was done with the help of EXCEL ٢٠١٠ software.

**Conclusion**

The evaluation of the resistance level of wheat cultivars and lines to the foliar septoriosis disease in Iran has often been done using a mixture of isolates of the disease-causing fungus or under natural pollution conditions. This is not the only possibility. It does not provide a correct understanding of the level of annoyance and non-intrusiveness of Iranian separatists. Rather, it faces the problem of making an appropriate conclusion about the existence or non-existence of specific resistance in wheat numbers and lines. The results of the variance analysis tables of the response of the percentage of the peaked coverage of the numbers in relation to the wheat leaf septoriosis isolates in both experiments indicate the existence.

**Keywords**

"Greenhouse; Plant Breeding; Pycnidium Surface.