

ارزیابی مقاومت برخی ارقام گندم به نژاد غالب قارچ عامل بیماری لکه‌خرمایی در استان اردبیل

مژگان قربی^۱، حسن مومنی^{۲*}، وره‌رام رشیدی^۱، علیرضا احمدزاده^۳، مهرداد یارنیا^۱

^۱ گروه زراعت و اصلاح نباتات، دانشگاه آزاد اسلامی واحد تبریز، تبریز، ایران. ^۲ بخش تحقیقات بیماری‌های گیاهی، موسسه تحقیقات گیاه‌پزشکی کشور، سازمان تحقیقات، آموزش و ترویج کشاورزی، تهران، ایران. ^۳ گروه زراعت و اصلاح نباتات دانشگاه آزاد اسلامی واحد شبستر، شبستر، ایران. hmomeni5@gmail.com

پذیرش: ۱۴۰۰/۷/۱۱

بازنگری: ۱۴۰۰/۶/۲۰

دریافت: ۱۴۰۰/۵/۲۷

چکیده

در این بررسی ۹۶ جدایه قارچ *Pyrenophora tritici-repentis* از استان اردبیل جداسازی و شناسایی شد. از این تعداد ۳۰ جدایه با توجه به نتایج داده‌های مولکولی و نیز در نظر گرفتن منطقه جغرافیایی، برای بررسی‌های تعیین نژاد در گلخانه انتخاب گردید. تنوع ژنتیکی بین سه جمعیت قارچ شامل پارس‌آباد، گرمی و بيله‌سوار استان اردبیل مشاهده شد. طی بررسی تنوع ژنی میزان جریان ژنی (Nm) برابر با ۱/۶۸۹۰ و میزان Gst برابر با ۰/۲۲۸۴ محاسبه گردید. میزان تنوع ژنتیکی برای کل جمعیت (Ht) برابر با ۰/۲۹۹۳ بود. ضمایم PhiPT برابر با ۰/۱۰ (p > ۰/۰۲۵۹) برآورد گردید. طبق نتایج آنالیز واریانس مولکولی ۷۴٪ از واریانس ژنتیکی به درون جمعیت‌ها و فقط ۲۶٪ واریانس کل به بین جمعیت‌ها مربوط بود. نژاد یک به عنوان نژاد غالب بیماری‌زا در استان اردبیل برای ارزیابی مقاومت ۴۰ رقم رایج گندم در گلخانه استفاده شد. استقرار آلودگی روی گیاهچه‌های گندم در گلخانه از طریق مایه‌زنی سوسپانسیون کنیدیوم قارچ و نیز تزریق عصاره فیلتر شده انجام گرفت. میانگین شاخص بیماری در ارقام مختلف محاسبه و مقایسه گردید. نتایج واکنش ارقام نشان داد ۹۰٪ ارقام رایج گندم نسبت به عامل بیماری در گروه حساس قرار دارند. چهار رقم مروارید، مغان ۳، احسان و دریا نیز که جمعاً ۱۰٪ ارقام مورد بررسی را شامل می‌شدند در گروه مقاوم قرار گرفتند. استفاده از این ارقام مقاوم برای مناطق مستعد شیوع بیماری توصیه می‌گردد. همچنین منابع مقاومت به‌دست آمده از این پژوهش، می‌توانند در برنامه‌های به‌نژادی نیز مورد استفاده قرار گیرند.

کلمات کلیدی: تنوع ژنتیکی، رقم، مقاومت، نژاد، *Pyrenophora tritici-repentis*

Resistance of some wheat cultivars to the main race of tan spot disease in Ardabil province

Mojgan Ghorbi¹, Hassan Momeni^{2*}, Varahram Rashidi¹, Alireza Ahmadzadeh³, Mehrdad Yarnia¹

¹Department of Agronomy and Plant Breeding, Islamic Azad University, Tabriz, Iran. ²Plant Disease Research Department, Iranian Research Institute of Plant Protection, Agricultural Research Education and Extension Organization, Tehran, Iran.

³Department of Agronomy and Plant Breeding, Islamic Azad University, Shabestar, Iran. hmomeni5@gmail.com

Received: 18 Aug 2021

Revised: 11 Sep 2021

Accepted: 3 Oct 2021

Abstract

In this study, 96 isolates of *Pyrenophora tritici-repentis* from Ardabil province were isolated and identified. According to the results of molecular data and considering the geographical area, thirty isolates were selected for race identification studies in greenhouse. Genetic diversity was detected between three fungal populations including Parsabad, Germe and Bilesavar in Ardabil province. During the study of gene diversity, the amount of gene flow (Nm) was equal to 1.6890 and the amount of Gst was equal to 0.2284. The rate of genetic diversity for the whole population (Ht) was 0.2993. PhiPT was estimated to be 0.259 (p > 0.010). According to the results of AMOVA, 74% of total variance was attributed to within populations while only 26% of that was related to between populations. Race1 of the pathogen as the main race was used in Ardabil province to evaluate the resistance of forty wheat cultivars in greenhouses. Inoculation was carried out using fungal conidial suspensions and fungal culture filtrates. The Mean Disease Index in different cultivars was calculated and compared. The results of cultivars' reaction showed that 90% of studied wheat cultivars are in the susceptible group to the pathogen. Four cultivars of Morvarid, Moghan 3, Ehsan and Darya, which together comprise 10% of the studied cultivars, were included in the resistant group. The use of these resistant cultivars is recommended for areas with a high possibility of disease outbreaks. In addition, breeders can use the sources of resistance for future breeding programs.

Keywords: Genetic diversity, Variety, Resistance, Race, *Pyrenophora tritici-repentis*

How to cite:

Ghorbi M, Momeni H, Rashidi V, Ahmadzadeh AR, Yarnia M, 2022. Resistance of some wheat cultivars to the main race of tan spot disease in Ardabil province. *Journal of Applied Research in Plant Protection* 11 (2): 1–16.

مقدمه

بیماری لکه‌خرمایی با عامل *Pyrenophora tritici-repentis* Drechs Shoemaker (Died.) یکی از مهم‌ترین بیماری‌های مهم گندم در ایران و جهان می‌باشد. علائم بیماری به صورت لکه‌های قهوه‌ای تیره کوچک تا سیاه در سطح برگ شروع می‌شوند. در ارقام مقاوم گسترش زخم اتفاق نمی‌افتد ولی در ارقام حساس زخم‌های کلروتیک و یا نکروتیک وسیع مشاهده می‌شود (Orolaza et al. 1995). در ایران این بیماری طی سال‌های اخیر از شیوع و گسترش زیادی برخوردار شده است. پراکندگی بیماری در کشور و در برخی مناطق از جمله استان گلستان به حدی است که گاهی یافتن مزارع فاقد علائم بیماری بسیار سخت است (Momeni et al. 2014; 2017). علاوه بر کاهش کیفیت بذور گندم به لحاظ عملکرد، میانگین درصد خسارت این بیماری معادل ۵ تا ۱۰ درصد می‌باشد که در شرایط همه‌گیری و ایده‌آل برای توسعه بیماری تا ۴۹ درصد هم می‌رسد (Singh et al. 2010).

طبق گروه‌بندی اولیه جدایه‌های *P. tritici-repentis* در چهار پاتوتیپ عمده قرار می‌گیرند، که این گروه‌بندی بر اساس توانایی جدایه‌ها در ایجاد نکروز یا کلروز و یا هر دو در یک سری از ارقام افتراقی شامل Lamari, Glenlea و Salamouni و 6B-365 بود (Lamari & Bernier 1989a). بعداً پاتوتیپ‌های دیگری نیز از نقاط مختلف دنیا براساس توانایی تولید نژادهای جدید بیماری‌زا گزارش گردید و جدایه‌های قارچ عامل بیماری لکه‌خرمایی در هشت نژاد گروه‌بندی شدند (Lamari et al. 2003).

مطالعات متعددی نیز در سراسر دنیا برای بررسی ژنتیک جمعیت قارچ انجام شده است. تنوع ژنتیکی جدایه‌های *P. tritici-repentis* با استفاده از نشانگرهای AFLP (Friesen et al. 2005; Moreno et al. 2008) و RAPD (Leisová et al. 2008) و SSR (Mironenko et al. 2007) مورد مطالعه قرار گرفته است.

همچنین جمعیت‌های ایرانی و کانادایی قارچ با کمک نشانگر SSR بررسی شدند. طبق نتایج بررسی اخیر جدایه‌های قارچی با توجه به نژاد در کلاسترهای مجزا قرار نگرفتند ولی از نظر جغرافیایی تا حدودی جدایه‌های ایرانی و کانادایی در کلاسترهای تفکیک شده و مجزایی قرار گرفتند (Momeni et al. 2019).

بر اساس مطالعات ژنتیکی مختلف (Singh & Hughes 2006)، مطالعات بیماری‌زایی (Singh et al. 2007) و بررسی واکنش‌های گندم نسبت به جدایه‌های مختلف قارچ، مشخص گردید که

پاتوسیستم از مدل توکسین و طبق تئوری ژن برای ژن پیروی می‌کند و ژن‌های فرضی بیماری‌زایی که هر یک از نژادهای قارچ دارند، تا حدودی مشخص شده است (Singh et al. 2010). با توجه به اینکه ارتباط مستقیم و مثبتی بین ارزیابی مقاومت در مرحله گیاهچه‌ای و گیاهان بالغ در مزرعه مشاهده شده است (Evans et al. 1992) لذا غربال گیاهچه‌های گندم با آلودگی مصنوعی در گلخانه این امکان را فراهم می‌کند که جمعیت‌های بزرگتری از گیاه برای ارزیابی مقاومت به بیماری تحت شرایط یکسان مورد بررسی قرار گیرند. به دلیل همه‌گیری‌های متعدد بیماری در مناطق مختلف گندم‌خیز دنیا از جمله ایران (Momeni et al. 2011; 2013) نیاز به ارقام مقاوم با دامنه وسیع مقاومت بیش از پیش احساس می‌گردد.

هدف اصلی این تحقیق ارزیابی مقاومت ارقام رایج گندم نسبت به نژاد غالب عامل بیماری لکه‌خرمایی گندم در استان اردبیل بود تا بتوان با معرفی ارقام متحمل یا مقاوم برای مدیریت غیرشیمیایی بیماری اقدام نمود. همچنین نتایج حاصل از این پژوهش در آینده به‌نژادگران را در تولید ارقام مقاوم یاری خواهد نمود.

مواد و روش‌ها

جمع‌آوری و جداسازی جدایه‌های قارچ *P. tritici-repentis*

پس از بررسی مناطق گندم‌کاری استان اردبیل نمونه‌های مشکوک به آلودگی عمدتاً از مناطق شمالی استان شامل گرمی، بيله‌سوار و پارس‌آباد مغان (شامل مناطق اصلاندوز، تازه‌کند و پارس‌آباد) به دست آمد. در هر مزرعه تعداد کافی برگ با علائم مشکوک به بیماری و فاصله هر برگ تا برگ دیگر حداقل یک متر انتخاب شد (Momeni et al. 2014). برای جداسازی بیمارگر، حدوداً سه تا چهار قطعه برگ دارای علائم بیماری، پس از ضدعفونی با هیپوکلریت سدیم رقیق شده ۰/۶٪ به تشتک‌های پتری محتوی آب - آگار ۱/۵٪ منتقل شدند، به‌طوریکه سطح رویی برگ به سمت بالا و سطح زیرین برگ کاملاً با آب - آگار در تماس بود. تشتک‌ها به مدت ۴۸ ساعت زیر نور مداوم در دمای اتاق (۲۴-۲۲) و سپس به مدت ۲۴ ساعت در دمای ۱۶°C-۱۵°C در تاریکی قرار گرفتند. پس از این مدت چنانچه تولید کنیدیوم در سطح برگ رضایت بخش بود با کمک یک سوزن تشریح تک کنیدیوم‌ها به محیط V8 / PDA (محیط سیب زمینی-دکستروز-آگار حاوی عصاره هشت گیاه) منتقل گردید. تشتک‌ها به مدت پنج

BOX-AIR(5'-GTA CGG CAA GGC GAC GCT GAC G-ERIC2: 5'-AAG TAA GTG ACT GGG GTG) ERIC و 3') ERIC1: 5'-ATG TAA GCT CCT GGG GAT AGC G-3' (TCA C-3) انجام شد. جدول ۱ و ۲ به ترتیب مواد مورد استفاده در واکنش‌های PCR و چرخه‌های دمایی مربوطه را نشان می‌دهد (جدول ۱ و ۲).

تا هفت روز در تاریکی و دمای 25°C درجه قرار گرفتند (Lamari & Bernier 1989b). شناسایی گونه قارچ با استناد به منابع معتبر انجام گرفت (Ellis 1977; Sivanesan 1987; Alcorn 1988).

استخراج DNA و انجام واکنش PCR

استخراج DNA از جدایه‌های قارچ طبق روش (Möller et al. 1992) صورت گرفت. واکنش‌های rep-PCR با کمک پرایمرهای

جدول ۱. مواد مورد استفاده برای انجام واکنش‌های PCR در حجم ۲۵ میکرولیتر.

Table 1. Reagents used for PCR reactions in a volume of 25 microliters.

Reagent	Final Concentration
Fungal DNA	30 ng
PCR Buffer	1X
dNTPs	0.1 mM of each
Tag DNA Polymerase	1 U
MgCl ₂	1.5 mM
Primer	10 pmol of BOX-AIR and 5 pmol of ERIC1 and ERIC2 in each reaction

جدول ۲. مشخصات چرخه‌های PCR برای تکثیر جدایه‌های قارچ *Pyrenophora tritici-repentis*.

Table 2. The PCR cycling profile for amplification of *Pyrenophora tritici-repentis* isolates.

No. of Cycles	Step	(Temperature $^{\circ}\text{C}$)	Time (Minutes)
1	Initial denaturation	95	2
	Denaturation	94	1
35	Annealing	36	1
	Extending	72	3
1	Final extending	72	10

AP / (WP + AP) محاسبه گردید. در فرمول، AP میزان تنوع بین جمعیت‌ها و WP میزان تنوع درون جمعیت‌ها می‌باشد.

تجزیه خوشه‌ای داده‌ها با کمک نرم افزار NTSYSpc-2.02e بر اساس الگوریتم UPGMA انجام شد. با توجه به دندروگرام حاصل و در نظر گرفتن مناطق مختلف ۳۰ جدایه برای ارزیابی تعیین نژاد استفاده شد.

تولید مایه تلقیح از جدایه‌های منتخب

محیط‌های V8/PDA به صورت مجزا با بلوک‌های میسلیومی هر یک از جدایه‌های قارچی مایه‌زنی شده و به مدت پنج روز در تاریکی و دمای 25°C درجه سانتی‌گراد قرار گرفت. زمانیکه حلقه میسلیومی تا نزدیک ۱/۵-۱ سانتی‌متری لبه تشک پتری رسید، میسلیوم با کمک یک اسپاتول که در آب مقطر استریل فرو برده شده به سمت محیط پخش گردید. تشک‌ها ابتدا به مدت ۱۲

تنوع ژنتیکی جدایه‌های قارچی و انتخاب جدایه‌های نماینده برای تعیین نژاد

تنوع ژنتیکی درون هر جمعیت و برای کل جدایه‌های مورد بررسی و فاصله ژنتیکی بین جمعیت‌ها و درون جمعیت‌ها با استفاده از POPGENE Version 1.31 تعیین گردید. تنوع ژنتیکی از طریق معادله $H = (1 - \sum p_i^2)$ محاسبه گردید، که در آن i فراوانی آلل i در هر لوکوس است (Nei 1973). بر اساس فاصله ژنتیکی نئی (Ds) و الگوریتم UPGMA دندروگرام بین جمعیت‌های مختلف با کمک نرم افزار TREEVIEW v.1.6.6 (Page 2007) رسم گردید.

توزیع تنوع ژنتیکی با محاسبه AMOVA (Analysis of Molecular Variance) توسط نرم افزار GenAlEx6.1 به دست آمد (Peakall & Smouse 2006). PhiPT به عنوان شاخصی برای واریانس مولکولی که نشان دهنده ارتباط بین افراد درون یک جمعیت نسبت به کل جمعیت است، از طریق فرمول $\Phi_{\text{IPT}} =$

ارزیابی مقاومت ارقام گندم در گلخانه

ارزیابی مقاومت ارقام در موسسه تحقیقات گیاهپزشکی کشور، بخش تحقیقات بیماری‌های گیاهی انجام شد. ارزیابی مقاومت ارقام با کمک سوسپانسیون کنیدیوم‌های قارچ و نیز عصاره فیلترشده حاوی میکوتوکسین قارچ انجام شد. بدین منظور از نژاد غالب قارچ در منطقه استفاده گردید. ۴۰ رقم گندم مورد استفاده (جدول ۵) در این تحقیق از موسسه تحقیقات اصلاح و تهیه نهال و بذر (بخش تحقیقات غلات) تهیه گردید. ارتباط مستقیم و مثبتی بین ارزیابی مقاومت در مرحله گیاهچه‌ای و گیاهان بالغ وجود دارد بنابراین ارزیابی در مرحله گیاهچه‌ای بیانگر وضعیت واقعی مقاومت گیاه است. ارقام و لاین‌های شاهد در این بررسی شامل Glenlea (حساس به نکروز)، Salamouni (مقاوم) و 6B365 (حساس به کلروز) بود. به منظور ارزیابی مقاومت ارقام بذور گندم در داخل گلدان‌های پلاستیکی به قطر ۱۰ سانتی‌متر کاشته شد. داخل هر گلدان ۱۰ عدد بذر و برای هر رقم سه گلدان در ارزیابی به هر نژاد در نظر گرفته شد. آزمایش در قالب طرح کاملاً تصادفی با سه تکرار (سه گلدان) صورت گرفت.

در مورد استفاده از کنیدیوم قارچ، گیاهچه‌های دو الی سه هفته‌ای گندم با سوسپانسیون به غلظت 4×10^3 کنیدیوم در میلی‌لیتر مایه‌زنی شدند. ارزیابی علایم طبق روش Lamari & Brenier (1989a) انجام شد و واکنش گیاهان از یک تا پنج درجه-بندی شد (جدول ۳). جهت حصول اطمینان از نتایج، آزمایشات ارزیابی مقاومت ارقام در گلخانه سه مرتبه تکرار شد.

ساعت زیر نور NUV (near UV) و دمای $20-22^\circ\text{C}$ درجه سانتی‌گراد و سپس به مدت ۱۶ ساعت در تاریکی و دمای 16°C قرار گرفتند. پس از این مدت مقدار فراوانی کنیدیوم قارچ تولید شد که قابل شستشو و جمع‌آوری برای تامین مایه تلقیح بود (Momeni et al. 2013).

تعیین نژادهای قارچ *P. tritici-repentis*

به منظور تعیین نژاد ۳۰ جدایه منتخب قارچ *P. tritici-repentis* از ارقام و لاین‌های افتراقی گندم شامل Glenlea، Salamouni، 6B662 و 6B365 (تهیه شده از دانشگاه آلبرتای کانادا و مرکز تحقیقات گندم و ذرت در سیمیت مکزیک) استفاده گردید. آزمایش تعیین نژاد در موسسه تحقیقات گیاهپزشکی کشور، بخش تحقیقات بیماری‌های گیاهی انجام شد. طبق روش Lamari & Brenier (1989b) گیاهچه‌های ۲-۳ هفته‌ای گندم با سوسپانسیون به غلظت 4×10^3 کنیدیوم در میلی‌لیتر مایه‌زنی شدند. رقم حساس به نکروز (Glenlea) و لاین حساس به کلروز (6B365) و نیز رقم مقاوم Salamouni استفاده شد. گیاهچه‌های مایه‌زنی شده به مدت ۴۸ ساعت با پلاستیک سیاه پوشانده شدند و سپس در شرایط متناوب نوری با ۱۶ ساعت روشنایی نگهداری شدند. برگ‌های آلوده شش روز پس از مایه‌زنی برداشت شدند و از نظر علایم آلودگی مورد بررسی قرار گرفتند. واکنش ارقام از نظر ظهور علایم بیماری شامل نکروز و کلروز تعیین شد (Lamari et al. 2003).

جدول ۳. سیستم رتبه بندی بر اساس نوع لکه روی برگ‌های گندم برای تشخیص واکنش‌های میزبان به *Pyrenophora tritici-repentis*.

Table 3. Rating system based on lesion type on wheat leaves to categorize host reactions to *Pyrenophora tritici-repentis*.

Scale	Reaction
1*	Small dark brown to black spots without any surrounding chlorosis or tan necrosis: R (Resistant)
2	Small dark brown to black spots with very little chlorosis or tan necrosis: MR (Moderately Resistant)
3	Small dark brown to black spots completely surrounded by a distinct chlorotic or tan necrotic ring; lesions generally not coalescing: MS (Moderately Susceptible)
4	Small dark brown or black spots completely surrounded with chlorotic or tan necrotic zones; some of the lesions coalescing: S (Susceptible)
5	The dark brown or black centers may or may not be distinguishable; most lesions consist of coalescing chlorotic or tan necrotic zones: VS (Very Susceptible)

*: 1- 2 considered as resistance and 3-5 considered as susceptible.

میانگین شاخص بیماری برای هر رقم محاسبه و مقایسه میانگین‌ها انجام شد.

شاخص بیماری (Disease Index) نیز برای ارقام مختلف بررسی شد. شاخص بیماری برای هر رقم از فرمول زیر محاسبه شد و سپس

روی محیط V8/PDA داشتند. ۱۲ جدایه از گرمی و ۸ جدایه از بیل‌سوار کنیدی‌زایی ضعیفی داشتند. پرگنه‌های هفت روزه قارچ در محیط V8/PDA به رنگ خاکستری تیره بودند. پس از تیمار نوری و دمایی جدایه‌ها در حاشیه تشتک پتری یک حلقه سیاه‌رنگ از کنیدیوم‌ها و کنیدیوفورهای قارچ تولید شد (شکل ۱). کنیدیوفورها در پایه متورم به رنگ زرد تا قهوه‌ای با ابعاد ۳۰۰-۱۰۰ × ۷-۸ میکرومتر، کنیدیوم‌ها دارای ۷-۵ دیواره عرضی و به ابعاد ۲۰۰-۱۰۰ × ۱۴-۱۸ میکرومتر با سلول پایه مخروطی بودند (شکل ۱). از بین ۷۶ جدایه قارچ و طبق دندروگرام به‌دست آمده با در نظر گرفتن منطقه جغرافیایی، ۳۰ جدایه برای ارزیابی تعیین نژاد در گلخانه مورد استفاده قرار گرفت.

تعیین تنوع ژنتیکی جدایه‌های قارچ *Pyrenophora tritici-repentis*

بر اساس داده‌های ترکیبی به‌دست آمده از دو پرایمر مورد استفاده در واکنش‌های rep-PCR شامل BOX-AIR و ERIC تنوع ژنتیکی بین سه جمعیت قارچ شامل پارس‌آباد، گرمی و بیل‌سوار استان اردبیل ارزیابی گردید. بر اساس آنالیز شاخص نی و بررسی تنوع ژنی میزان جریان ژنی (Nm) برابر با ۱/۶۸۹۰ و میزان Gst برابر با ۰/۲۲۸۴ محاسبه گردید. میزان تنوع ژنتیکی برای کل جمعیت (Ht) برابر با ۰/۲۹۹۳ بود (جدول ۴).

در دندروگرام به‌دست آمده بر اساس فاصله ژنتیکی و با استفاده از الگوریتم UPGMA (شکل ۲)، جمعیت‌های سه منطقه به‌صورت مجزا در سه گروه قرار گرفتند. هرچند جمعیت مناطق پارس‌آباد و گرمی نسبت به جمعیت بیل‌سوار قرابت بیشتری داشتند. فاصله ژنتیکی بین جمعیت بیل‌سوار با جمعیت‌های پارس‌آباد و گرمی به ترتیب ۰/۲۳۷۷ و ۰/۱۰۸۸ و فاصله بین جمعیت‌های گرمی و پارس‌آباد برابر ۰/۰۹۳۱ بود.

Diseae Index

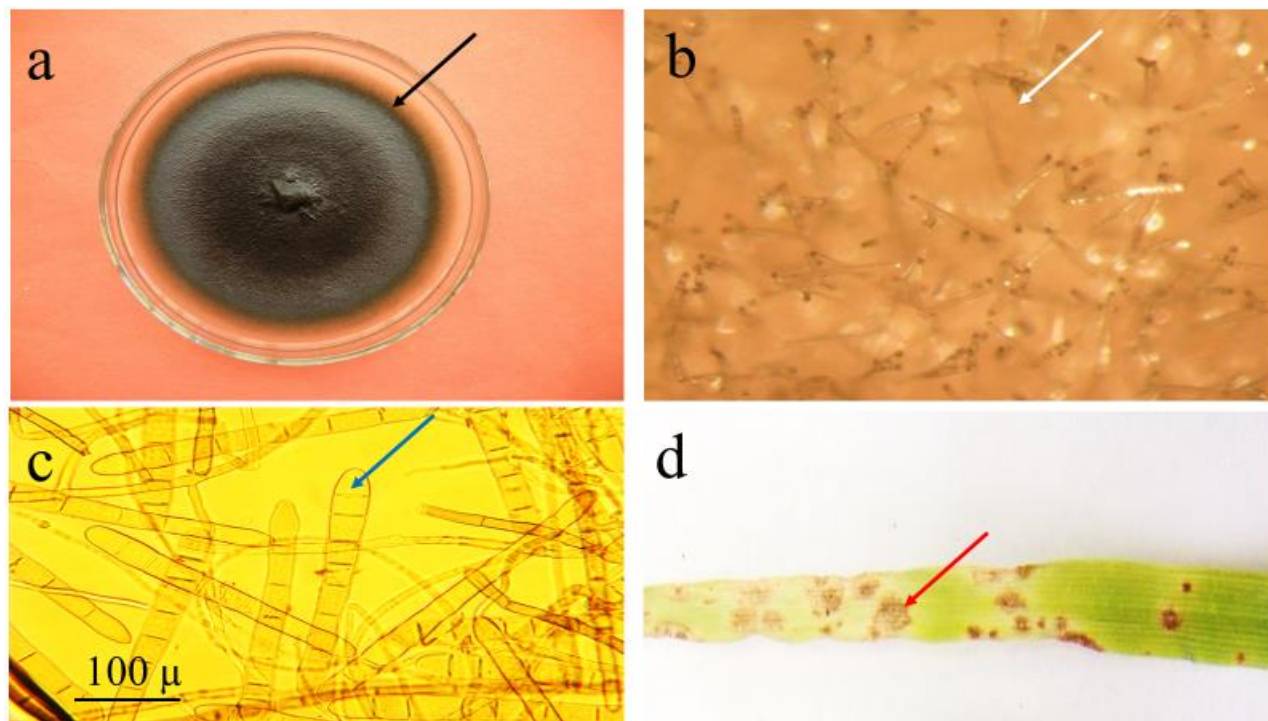
$$= \frac{\sum \frac{\text{No. of plants in specific scale} \times \text{disease scale}}{\text{Total No. of plants} \times \text{highest scale}}}{\times 100}$$

علاوه بر استفاده از سوسپانسیون کنیدیومی قارچ‌ها، ایجاد آلودگی مصنوعی روی گیاهچه‌های گندم با کمک تزریق عصاره فیلتر شده قارچ طبق روش Orolaza et al. (1995) صورت گرفت. از میسیلیوم قارچ که روی محیط V8/PDA رشد کرده بود پنج پلاگ نیم سانتی‌متری به فلاسک‌های محتوی محیط مایع تغییر یافته فرایز (Modified Fries medium) منتقل شد و سپس در دمای ۲۰°C بدون تکان دادن در نور مداوم قرار داده شد و پس از ۲۱ روز از کاغذ واتمن شماره دو عبور داده شد. ۲۵ میکرولیتر عصاره فیلتر شده قارچ توسط سرنگ یک میلی‌متری بدون سوزن به برگ‌های گندم تزریق گردید. اطراف محل تزریق عصاره قارچ علامت‌گذاری گردید. گلدان‌های شاهد حاوی گیاهچه‌های گندم با محیط مایع فرایز عاری از قارچ تزریق گردید. ارزیابی اولیه بعد از ۴۸ ساعت انجام گرفت. ظهور نکروز یا کلروز در محل تزریق و یا عدم بروز علائم بیانگر حساسیت یا مقاومت به عصاره قارچ است. آزمایش با سه تکرار انجام شد.

نتایج

جمع‌آوری جدایه‌های *Pyrenophora tritici-repentis*

نمونه‌های مشکوک به بیماری لکه‌خرمایی برگ گندم که از مناطق مختلف استان اردبیل نمونه‌برداری شده بود مورد بررسی قرار گرفت که در نهایت ۹۶ جدایه خالص قارچی به‌دست آمد، از این تعداد ۱۵ جدایه از پارس‌آباد مغان، ۴۲ جدایه از گرمی و ۳۹ جدایه از بیل‌سوار جداسازی گردید. ۷۶ جدایه کنیدیوم‌زایی فراوانی



شکل ۱. مشخصات بیمارگر عامل بیماری لکه خرمایی گندم **a**. تشکیل یک نوار سبز زیتونی در حاشیه تشتک پتری مملو از کنیدیورها و کنیدیومهای *Pyrenophora tritici-repentis*، **b**. کنیدیورها و کنیدیوم زیر بینوکولر، **c**. کنیدیوم، **d**. علائم بیماری روی برگ گندم به صورت لکه‌های نکروتیک.

Figure 1. Characteristics of the wheat tan spot pathogen **a**. Formation of an olive-green strip on the margin of petri dish filled with conidiophores and conidia of *Pyrenophora tritici-repentis*, **b**. Conidiophores and conidia under binocular, **c**. Conidia, **d**. Disease symptoms on wheat leaf as necrotic spots.

جدول ۴. تنوع ژنی برای لوکوس‌ها در سه جمعیت قارچ *Pyrenophora tritici-repentis* متعلق به پارس‌آباد، گرمی و بيله‌سوار استان اردبیل.

Table 4. Gene diversity for loci in three populations of *Pyrenophora tritici-repentis* including Parsabad, Germe and Bilesavar in Ardabil province.

Population	NA*	H*	I*	number of polymorphic loci	percentage of polymorphic loci
Parsabad	1.7279 (0.4529) **	0.2097 (0.1714)	0.3280 (0.2452)	56	71.79
Germe	1.9103 (0.2877)	0.2427 (0.1600)	0.3835 (0.2119)	71	91.03
Bilesavar	1.9615 (0.1936)	0.2463 (0.1294)	0.3974 (0.1677)	75	96.15
Multi-Populations Descriptive Statistics	2.0000 (0.0000)	0.2993 (0.1349)	0.4648 (0.5808)	78	100.00

* NA: Mean of observed number of alleles, H: Mean of Nei's (1973) gene diversity, I = Mean of Shannon's Information index

** : Numbers in parenthesis are standard deviations (SD).



شکل ۲. دندروگرام حاصل از بررسی فاصله ژنتیکی بر اساس روش UPGMA در بین سه جمعیت قارچ *Pyrenophora tritici-repentis* متعلق به پارس‌آباد، گرمی و بيله‌سوار استان اردبیل.

Figure 2. Dendrogram based on analysis of genetic distance using UPGMA method among three populations of *Pyrenophora tritici-repentis* including Parsabad, Germi and Bilesavar from Ardabil province.

جدول ۵. آنالیز واریانس مولکولی (AMOVA) بین سه جمعیت قارچ *Pyrenophora tritici-repentis* متعلق به پارس‌آباد، گرمی و بيله‌سوار استان اردبیل.

Table 5. Analysis of molecular variance (AMOVA) among three populations of *Pyrenophora tritici-repentis* including Parsabad, Germi and Bilesavar from Ardabil province.

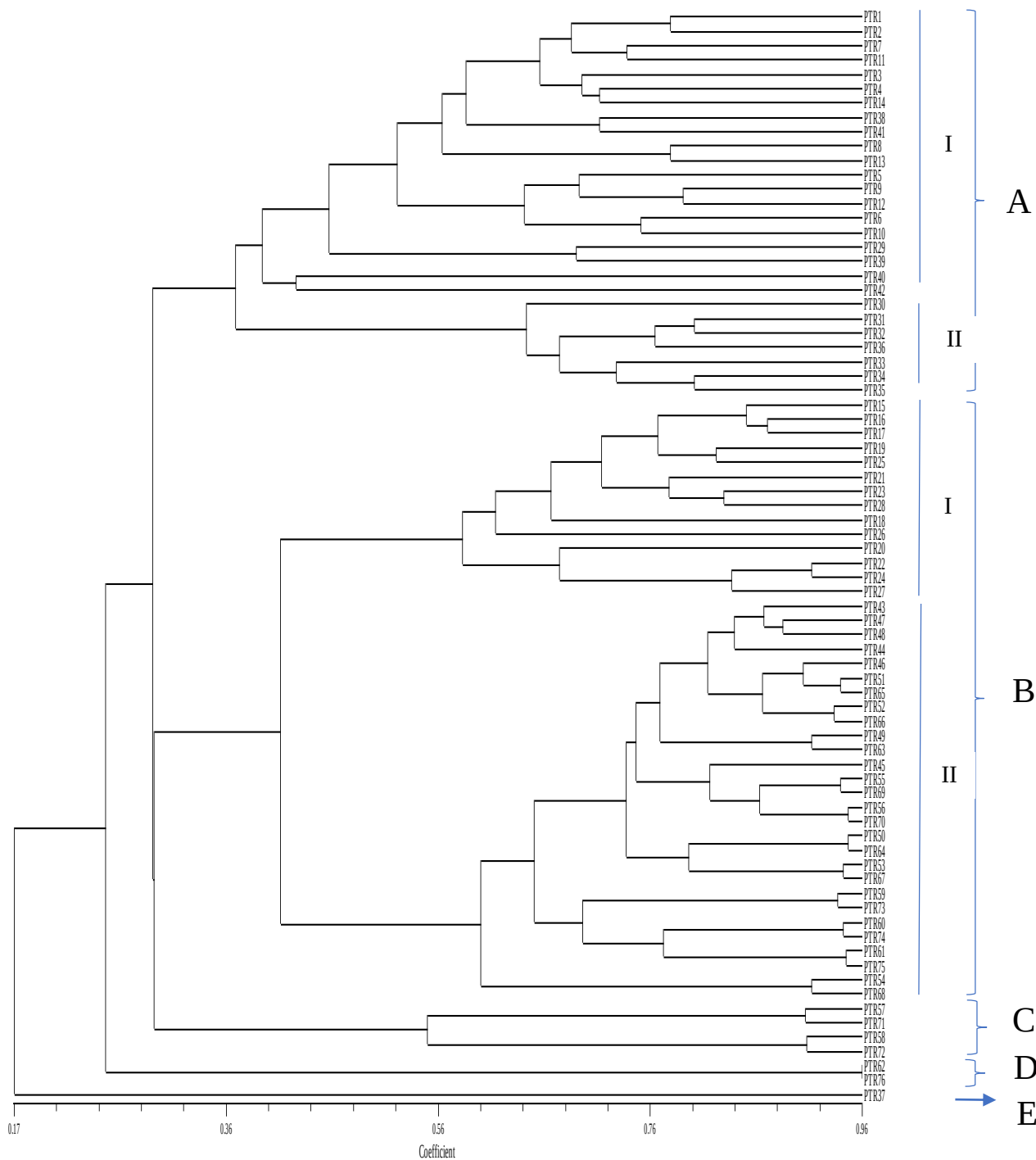
Source	df	SS	MS	Est. Var.	Variation (%)
Among Pops	2	182.709	91.355	3.366	26%
Within Pops	73	704.317	9.648	9.648	74%
Total	75	887.026		13.014	100%

*: P value=0.001 and number of permutations is 999.

نتایج تجزیه واریانس مولکولی بین جمعیت‌های مورد بررسی در جدول ۵ مشاهده می‌شود. بر اساس نتایج این تحقیق میزان شاخص PhiPT برابر با $p > 0.01$ (۰/۲۵۹) گردید و ۷۴٪ از واریانس ژنتیکی به درون جمعیت‌ها و فقط ۲۶٪ واریانس کل به بین جمعیت‌ها مربوط بود. نتایج آنالیز واریانس مولکولی تفاوت معنی‌داری را در بین سه جمعیت مورد بررسی از قارچ *P. tritici-repentis* را نشان داد.

نتایج تجزیه خوشه‌ای

بر اساس تجزیه خوشه‌ای جدایه‌ها سه کلاستر اصلی (A)، B و C، یک کلاستر دو عضوی D (PTR 76 و PTR 62) و یک تک عضوی E (PTR 37) حاصل شد (شکل ۳).



شکل ۳. دندروگرام ترسیم شده بر اساس روش UPGMA در بین جدایه‌های سه جمعیت قارچ *Pyrenophora tritici-repentis* متعلق به مناطق پارس‌آباد، گرمی و بیله‌سوار استان اردبیل.

Figure 3. Dendrogram based on UPGMA method among the isolates of three populations of *Pyrenophora tritici-repentis* including Parsabad, Germe and Bilesavar regions of Ardabil province.

(PTR46 و PTR45، PTR44، PTR43، PTR42، PTR37، PTR35 و ۱۱ جدایه متعلق به بیل‌سوار (شامل PTR57، PTR51، PTR49، PTR72، PTR71، PTR70، PTR66، PTR64، PTR62، PTR58 و PTR76) برای آزمون تعیین نژاد انتخاب شدند. نتایج نشان داد که تمام جدایه‌ها روی رقم Glenlea و لاین 6B365 سبب بروز واکنش حساسیت شدند که به ترتیب به صورت نکروز و کلروز بروز پیدا کرد. واکنش لاین 6B662 و Salamouni نیز هنگام مایه‌زنی با ۳۰ جدایه منتخب به صورت مقاومت بود. با توجه به این واکنش‌ها مشخص گردید که جدایه‌های مورد ارزیابی در مرحله تعیین نژاد، همگی متعلق به نژاد یک هستند.

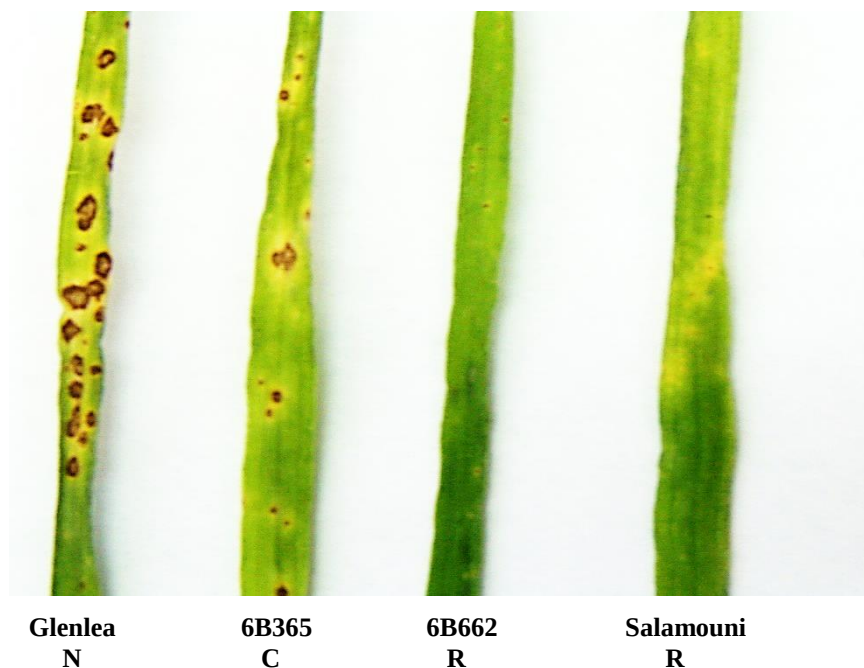
نکروز شدید روی رقم Glenlea شایع‌ترین واکنش مشاهده شده بود که نشان دهنده تولید توکسین A توسط جدایه‌های ایجاد کننده این علائم بود (شکل ۴). توکسین C روی لاین 6B365 تولید علائم کلروز کرد. ظهور مقاومت روی لاین 6B662 به دلیل عدم تولید توکسین B در جدایه‌های مورد بررسی بود. هیچکدام از جدایه‌های مورد بررسی در این تحقیق روی رقم Salamouni بیماری‌زا نبودند.

کلاستر A با دو زیر کلاستر AI و AII دارای جدایه‌هایی از دو منطقه پارس‌آباد و گرمی بود. کلاستر B با دو گروه عمده BI و BII دارای جدایه‌هایی از دو منطقه گرمی و بیل‌سوار به همراه یک جدایه (PTR15) از منطقه پارس‌آباد بود. هر چهار جدایه کلاستر C متعلق به منطقه بیل‌سوار بودند. در کلاستر به دست آمده با استثنای، جدایه‌های متعلق به مناطق مختلف کنار هم قرار گرفتند.

جدایه‌های PTR62 و PTR76 بیشترین شباهت ژنتیکی را نشان دادند (۹۶٪). بنابراین به تعداد جدایه‌ها، ژنوتیپ منحصر به فرد در بین جدایه‌های مورد بررسی در این تحقیق وجود داشت و این نشان دهنده تنوع قابل ملاحظه در میان جدایه‌های مورد مطالعه است.

آزمون تعیین نژاد جدایه‌های بیمارگر

با توجه به قرار گرفتن جدایه‌های قارچی در کلاسترهای مختلف و با عنایت به مناطق جداسازی جدایه‌های قارچی جمعا ۳۰ جدایه شامل هفت جدایه متعلق به پارس‌آباد (شامل PTR3، PTR1، PTR6، PTR9، PTR10، PTR11 و PTR15) ۱۲ جدایه متعلق به گرمی (شامل PTR16، PTR25، PTR27، PTR31، PTR34،



شکل ۴. واکنش ارقام Glenlea و Salamouni و لاین‌های 6B662 و 6B365 در برابر جدایه PTR15 از قارچ *Pyrenophora tritici-repentis* (N: نکروز، R: مقاومت، C: کلروز).

Figure 4. Reaction of Glenlea and Salamouni cultivars and lines 6B662 and 6B365 against the isolate PTR15 of the pathogen *Pyrenophora tritici-repentis* (N: necrosis, R: resistance, C: chlorosis).

ارزیابی مقاومت ارقام گندم در گلخانه

جدایه PTR 15 دارای قدرت بیماری‌زایی و کنیدیوم‌زایی بالایی بود و بنابراین برای ارزیابی مقاومت ارقام نسبت به بیماری انتخاب شد. ۷۲ ساعت پس از مایه‌زنی سوسپانسیون کنیدیوم قارچ، علایم بیماری ظاهر گردید ولی ارزیابی نهایی واکنش ارقام نسبت به جدایه قارچ *P. tritici-repentis* به صورت نکروز، کلروز و مقاومت، شش روز پس از مایه‌زنی انجام شد. نتایج ارزیابی واکنش ارقام نسبت به عامل بیماری در جدول ۵ درج شده است.

نکروز روی رقم Glenlea به عنوان شاهد حساس مشاهده شد که نشان‌دهنده تولید توکسین A توسط جدایه قارچ بود. ضمناً بروز کلروز روی لاین 6B365 به عنوان شاهد حساس به کلروز مشاهده گردید. جدایه قارچ مورد بررسی در این تحقیق روی رقم Salamouni به عنوان شاهد مقاوم، بیماری‌زا نبود. سایر ارقام نسبت

به سوسپانسیون کنیدیوم قارچ واکنش‌های متفاوتی از جمله مقاوم، نیمه مقاوم، نیمه حساس، حساس و خیلی حساس نشان دادند (شکل ۵). علاوه بر استفاده از سوسپانسیون کنیدیومی قارچ ارزیابی مقاومت ارقام در گلخانه پس از مایه‌زنی با عصاره فیلتر شده قارچ نیز صورت گرفت. ۴۸ ساعت پس از تزریق عصاره فیلتر شده قارچ به برگ‌های گندم علایم اولیه بیماری بروز کرد. ارزیابی نهایی واکنش برگ‌های گندم به عصاره فیلتر شده قارچ در روز چهارم پس از مایه‌زنی انجام شد. ارقام واکنش‌های متفاوتی نسبت به عصاره قارچ نشان دادند که با واکنش آنها نسبت به استفاده از سوسپانسیون کنیدیوم قارچ مطابقت داشت. استفاده از عصاره فیلتر شده قارچ به عنوان یک آزمون تکمیلی برای ارزیابی مقاومت ارقام مورد استفاده قرار گرفت و با عنایت به انطباق نتایج این دو، از ذکر مجدد داده‌ها در این قسمت خودداری شده است.



شکل ۵. واکنش ارقام گندم نسبت به سوسپانسیون کنیدیوم قارچ *Pyrenophora tritici-repentis* شش روز پس از مایه‌زنی در گلخانه (ارقام از راست به چپ: Moghan3 (مقاوم)، Darya (نیمه مقاوم)، Atrak (نیمه حساس)، Chamran (حساس)).

Figure 5. Reaction of wheat cultivars to *Pyrenophora tritici-repentis* conidial suspension six days after inoculation in the greenhouse (cultivars from right to left: Moghan3 (Resistant), Darya (Moderately Resistant), Atrak (Moderately Susceptible), Chamran (Susceptible))



شکل ۶. واکنش ارقام گندم نسبت به عصاره فیلتر شده قارچ *Pyrenophora tritici-repentis*، ۴۸ ساعت پس از تزریق در گلخانه. اطراف محل تزریق علامت‌گذاری شده است (ارقام از راست به چپ: Salamouni: شاهد مقاوم، مغان ۳: مقاوم، Glenlea: شاهد حساس، Chamran: حساس).

Figure 6. Reaction of wheat cultivars to the culture filtrate of *Pyrenophora tritici-repentis*, 48 hours after infiltration in the greenhouse. The injection site is marked (cultivars from right to left: Salamouni: resistant control, Moghan 3: resistant, Glenlea: Susceptible control, Chamran: sensitive).

جدول ۶. مقاومت ارقام گندم نسبت به قارچ *Pyrenophora tritici-repentis*.

Table 6. Wheat cultivar resistance to *Pyrenophora tritici-repentis*.

No	Cultivar	Type	Pedigree	Score / Reaction	Mean Disease Index (DI) (%)
1	Shoosh	SW [®]	STORK/3-CBRD X DICOCOIDEOS	4.2 S	84 efg
2	Falat	SW	(Kvz/Buho's'//Kal Bb) Seri82	3.3 MS	65.3 jkl
3	Star	SW	-	3.7 MS	74.7 hi
4	Setareh	SW	Dez/SW89 1882	3.3 MS	66 jkl
5	Chamran	SW	(YO -M3-YO-MO-Y05-63858MC),alittA	4.5 S	89.3 cde
6	Chamran 2	SW	50y//Attila/Bacanora Attila	3.4 MS	68.7 ijk
7	khalil	SW	Bow's"/Vee's'//1-60-3/3/Cocoraque 75/4/Chamran	4.2 S	84 efg
8	Darab 2	SW	Maya"S"/Nac	4 S	79.3 hg
9	Dez	SW	Opata//Kauz/2*Kauz	3.4 MS	68.7 ijk
10	Sarang	SW	PRL/2*PASTOR/4/CHOIX/STAR/3/HE1/3*CNO79//2*SERI	4.7 S	94.7 abc
11	Barat	SW	PASTOR/2*S	3.6 MS	71.3 ij
12	Mehregan	SW	ROTSAP*2/3/NCB*4//ZUAKS /SISAO	5 VS	100 a

ادامه جدول ۶

13	Atrak	SW	s"zuaK "	3.3 MS	66.7 jkl
14	Mahdavi	Facultative	Mus/4/Tota63 /Wt*/Nar59/3/Mt48/5/Ti/Pch	4 S	83.3 efg
15	Talaei	SW	PASTOR//SITE/MO/3/CHEN/AEGILOPS SQUARROSA (TAUS)//BCN/4/WBLL1	3.3 MS	65.3 jkl
16	Parsi	SW	Darab*2/"Dove"s"/Buc"s	4.3 S	86.7 defg
17	Torabi	SW	CHEN/AEGILOPS SQUARROSA(TAUS)//BCN/3/BAV92/4/BERKUT	3.5 MS	70 ij
18	Arta	SW	CIMMYT	4.1 S	81.3 fgh
19	Niknejad	SW	Crow/"S/71-F134 "	4 S	80 hg
20	Meraj	SW	PFAU/MILAN/3/SKAUZ/KS94U215//SKAUZ	4.4 S	88.7 cdef
21	Kalateh	SW	MILAN/S87230//BABAX	4.3 S	85.3 efg
22	Tajan	SW	"Bow"s"/Nkt"s	4.2 S	84 efg
23	Marvdasht	SW	Bloudan//Azadi/HD2172	4.8 S	96.7 ab
24	Tirgan	SW	PFAU/MILAN/5/CHEN/AEGILOPS SQUARROSA (TAUS)//BCN/3/VEE#7/BOW/4/PASTOR	3.3 MS	66 jkl
25	Bahar	SW	ICARDA	4.6 S	92.7 bcd
26	Morvarid	SW	Milan/Shaf	2.1 MR	42 n
27	Sirvan	SW	PASTOR*2/PRL	4.3 S	86.7 defg
28	Moghan 3	SW	opata/ 5/Picus/4/Pvn //c8.V879/V763.23/3/Luan (SABUF/7/ALTAR84/AE.SQUARROSA (224) //YACO/6/CROC_1/AE.SQUARROSA (205)/5/BR12*3/4/IAS55*4/CI14123/3/IAS55*4/EG, AUS//IAS55*4/ALD)	1.8 R	35.3 o
29	Ehsan	SW	SHARP/3/PRL/SARA//TSI/VEE#5/5/VEE/LIRA//BOW/3/BCN /4/KAUZ	2.6 MR	51.3 m
30	Rakhshan	SW	SHARP/3/PRL/SARA//TSI/VEE#5/5/VEE/LIRA//BOW/3/BCN /4/KAUZ	3.1 MS	62 kl
31	Ghods	Facultative	Omid//Kal/Bb/6/Ptr/3/Fn//2*K54/Nor10/4/Wt/5/Rsh	4.3 S	82.7 efg
32	Darya	SW	SHA4/CHILCM91099-25Y-OM-3N-1Y-OYZ-O10M-OY-3M-O10	2.1 MR	41.3 no
33	Azadi	SW	Mexp *(15409-32-1*4820)	3.2 MS	62.7 kl
34	Baharan	SW	WS-89-7 (CIMMYT)	3.1 MS	61.3 l
35	Shiroodi	SW	(ZPO-YO-M8-YO-MO -Y4-63858MC),alittA	3 MS	60.7 l
36	Pishtaz	SW	Alvand//Aldan/Ias58	4 S	80.7 hg
37	Shiraz	SW	Azd/3/"Ald"s"/Gv/D630	4.3 S	85.3 efg
38	Gonbad	SW	ATRAK/WANG-SHUI-BAI	3 MS	60.7 l
39	Sepahan	SW	3*Au/Y50E/Kal/3/Kal/Bb/Kal/4/1347/L2453/5/Azd	4.2 S	83.3 efg
40	Sivand	SW	"Azd kauz"s	4.1 S	82 efg

©SW: Spring Wheat.

بحث

ارزیابی‌های تعیین نژاد نشان داد که فقط نژاد یک در استان اردبیل وجود دارد. در ادامه برای ارزیابی‌های مربوط به واکنش ارقام که هدف اصلی این تحقیق بود از جدایه PTR15 که کنیدی‌زایی بسیار خوبی داشت استفاده گردید. طبق نتایج حاصل از این تحقیق عمده ارقام گندم کشور نسبت به عامل بیماری لکه‌خرمایی برگ گندم حساس هستند. خوشبختانه در تحقیق حاضر تعدادی از ارقام از جمله مروارید، مغان ۳، احسان و دریا در گروه مقاوم و نیمه‌مقاوم قرار گرفتند که ۱۰٪

در بررسی‌های صورت گرفته در این تحقیق ۹۶ جدایه قارچ *P. tritici-repentis* از مزارع آلوده استان اردبیل به‌دست آمد که از این تعداد ۷۶ جدایه کنیدیوم‌زایی خوبی داشتند و در ادامه استفاده شدند. با کمک نشانگر مولکولی rep-PCR و با کمک پرایمرهای BOX-AIR و ERIC تنوع ژنتیکی بین جدایه‌ها به‌دست آمد و در نهایت با عنایت به دندروگرام حاصل و نیز در نظر گرفتن منطقه جغرافیایی ۳۰ جدایه برای مرحله تعیین نژاد انتخاب شد.

تحقیق (Andersen et al. 2021) مشخص گردید هشت ساعت پس از آلودگی گیاه توسط توکسین A قارچ *P. tritici-repentis*، توالی RNA مرتبط با این توکسین به دست آمد. در ارقام مقاوم ژن‌های مرتبط با مقاومت بیان می‌شوند که در ارقام حساس این بیان اتفاق نمی‌افتد یا به میزان اندکی بیان صورت می‌گیرد. بنابراین پاسخ ارقام مقاوم و حساس گندم در بیان ژن‌های کد کننده کیتینازها، کینازها و پرمیازها متفاوت است (Andersen et al. 2021).

دلیل حساسیت عمده ارقام گندم کشور به بیماری لکه‌خرمایی این است که اغلب ارقام کشت شده به‌خصوص در مزارع گندم شمال کشور بومی نبوده بلکه جزو ارقامی هستند که غالباً توسط موسسات تحقیقاتی بین‌المللی و به‌خصوص سیمیت ارائه می‌شود. عمده این ارقام حساسیت بالایی به بیماری لکه‌خرمایی گندم دارند به نحوی که در سال‌های اخیر یافتن مزرعه گندم فاقد علائم بیماری به-خصوص در استان گلستان مشکل بوده است (Momeni et al. 2014).

شیوع اخیر بیماری در مناطق شمال غرب کشور می‌تواند مرتبط با حذف یا کاهش سطح زیر کشت برخی ارقام بومی مقاوم در گذشته باشد. به نظر می‌رسد حفظ ارقام محلی (Land races) و وحشی می‌تواند به عنوان یک گنجینه ژنتیکی با تنوع بالا در برابر بسیاری از بیماری‌ها از جمله عامل نکروتروف بیماری لکه‌خرمایی، مقاومت قابل قبولی از خود نشان دهد. Lamari & Berenier (1989b) نیز در بررسی‌های خود دریافتند که گونه‌های وحشی گندم عموماً مقاومت بیشتری نسبت به گونه‌های زراعی تترا و هگزاپلوئید از خود نشان دادند. یکنواختی ژنتیکی در ارقام که عمدتاً با هدف افزایش میزان عملکرد همواره توسط موسسات بین‌المللی پیشرو مطرح بوده، می‌تواند در صورتیکه ملاحظات ساختار جمعیتی بیمارگر محلی را لحاظ نکنند، موجب اپیدمی‌های متعدد گردد.

استفاده از ارقام مقاوم مهمترین و موثرترین استراتژی مدیریت بیماری است و در خصوص این بیماری مروارید، مغان ۳، احسان و دریا که در گروه مقاوم و نیمه‌مقاوم قرار گرفتند به عنوان ارقام مناسب در مناطق با شیوع بالای آلودگی توصیه می‌گردد.

تمامی جدایه‌های به‌دست آمده از استان اردبیل متعلق به نژاد یک بودند که این به دلیل واکنش ارقام افتراقی در برابر بیماری‌زایی جدایه‌ها حاصل شد. واکنش مقاومت در رقم Salamouni و لاین 6B662 و بروز علائم نکروز و کلروز به ترتیب در رقم Glenlea و لاین 6B365 مبین این موضوع بود. (Momeni et al. 2014) نیز در

کل ارقام مورد بررسی بودند. سایر ارقام (۳۶ رقم) در گروه حساس، نیمه‌حساس و خیلی‌حساس قرار گرفتند که شامل ۹۰٪ کل ارقام مورد بررسی بودند. مشابه نتایج حاصل از این تحقیق Mehrabi et al. (2017) نیز مقاومت ۸۴ لاین امید بخش را نسبت به نژاد هشت قارچ *P. tritici-repentis* در کشور مورد بررسی قرار دادند و نتایج بیانگر حساسیت عمده لاین‌ها نسبت به این نژاد و نیز توکسین A تولید شده توسط نژاد یک بود که نشان می‌دهد این بیماری در غربالگری ارقام گندم کشور در گذشته زیاد مورد توجه نبوده است. در تحقیق دیگری (Mehrabi et al. 2015) از تزریق توکسین A به برگ‌های گندم به عنوان یک غربال اولیه در ارزیابی مقاومت ۲۰ لاین استفاده کرد که نهایتاً ۹ لاین حساسیت نشان دادند. مشابه یافته این تحقیق در بسیاری از نقاط دنیا نیز اغلب ژرم‌پلاسماهای مورد بررسی واکنش حساسیت از خود نشان داده‌اند. طبق ارزیابی‌های صورت گرفته توسط (Kokhmetova et al. 2021) روی ارقام و لاین‌های کشور قزاقستان، روسیه، سیمیت (CIMMYT) و ایکاردا (ICARDA) ۷۲/۶٪ از آنها نسبت به نژاد یک عامل بیماری حساسیت نشان دادند. در سایر مطالعات صورت گرفته نیز نتایج مشابهی مبنی بر حساس بودن اغلب ژرم‌پلاسماهای مورد بررسی به دست آمده است (Liu et al 2015; Halder et al 2019). Lamari & Berenier (1989b) با بررسی تعداد ۶۹۵ ژرم‌پلاسما گندم در برابر قارچ *P. tritici-repentis* موارد معدودی از مقاومت در تمامی سطوح پلوئیدی گندم پیدا کردند. مشابه یافته این تحقیق، از ۱۴۰۰ ژرم‌پلاسما گندم نان که توسط (Reez & Plate 1990) مورد بررسی قرار گرفتند، عمدتاً واکنش حساسیت نشان دادند.

نژاد یک عامل بیماری از گسترش بیشتری نسبت به سایر نژادها برخوردار است و در پهنه وسیعی از دنیا گسترش دارد. این نژاد نسبت به سایر نژادهای قارچ از قدرت تهاجمی بالاتری برخوردار است (Abdullah et al. 2017). در تحقیق حاضر نژاد یک به عنوان تنها نژاد غالب در استان اردبیل شناسایی شد.

در خصوص اساس مولکولی مقاومت به این قارچ مطالعات متعددی صورت گرفته است. طبق بررسی‌های (Kokhmetova et al. 2021) وجود آلل‌های مقاومت روی کروموزوم‌های 3AL، 3AS، 3BS و 6AL علاوه بر ژن‌های *tsc2* و *tsn1* در گندم اثبات شده است. بنابراین مقاومت به بیماری هم مرتبط با ژن‌های غیرحساس به توکسین قارچ با اثرات اصلی است و هم مرتبط با ژن‌های غیراختصاصی نژاد است که دارای اثرات فرعی و جزئی است. در

غربی ایران باشد چراکه بر طبق ارزیابی‌ها و تحقیقات Lamari et al. (2005) نژادهای یک، دو، پنج، هفت و هشت در آذربایجان و نژادهای سه، پنج، هفت و هشت در سوریه وجود و گسترش دارند. نتایج بدست آمده در این تحقیق با اکثر مطالعات انجام شده در منطقه شمال آمریکا و غرب کانادا مطابقت دارد که دلالت بر شیوع نژادهای محدود و عمدتاً دو نژاد ۱ و ۲ می‌باشند. در این مناطق هم عمدتاً از ارقام اصلاح شده و پیشرفته استفاده می‌شود که ژرم پلاسما آنها از تنوع کافی برخوردار نیست تا بتواند در برابر بیمارگر مقاومت کند و آن را وادار به تغییر و در طول زمان ایجاد نژادهای جدید کند (Friesen et al. 2005).

تغییر نحوه کشت و کار از مدل سنتی و استفاده از شخم و از بین بردن بقایا به کشاورزی حفاظتی موجب گسترش بیماری می‌شود و در مناطقی علت توسعه بیماری به این موضوع نسبت داده می‌شود. البته مزایای کشاورزی حفاظتی بر کسی پوشیده نیست زیرا مانع از فرسایش و هدر رفت آب می‌شود ولی لازم است تمهیدات لازم در زمینه مدیریت بیماری نیز صورت گیرد. از جمله اینکه در مناطق آلوده ارقام مقاوم معرفی شده و تناوب گیاهی مناسب هم استفاده شود. ضمناً در صورت لزوم می‌توان از قارچکش‌های مناسب در مناطق شیوع بیماری استفاده کرد. بهداشت مزرعه و حذف علف‌های هرز میزبان کمک زیادی به کاهش توسعه و ماندگاری عامل بیماری می‌کند.

سپاسگزاری

از موسسه تحقیقات گیاهپزشکی کشور و نیز دانشگاه آزاد اسلامی واحد تبریز به دلیل پشتیبانی مالی این تحقیق سپاسگزاری می‌شود.

References

- Abdullah S, Sehgal SK, Jin Y, Turnipseed B, Ali S, 2017. Insights into tan spot and stem rust resistance and susceptibility by studying the pre green revolution global collection of wheat. *Plant Pathology Journal* 33: 125-132.
- Aboukhaddour R, Cloutier S, Lamari L, Strelkov SE, 2011. Simple sequence repeats and diversity of globally distributed populations of *Pyrenophora tritici-repentis*. *Canadian Journal of Plant Pathology* 33: 389-399.

بررسی‌های خود در دو استان شمالی نژاد غالب منطقه را نژاد یک معرفی کردند که شامل ۹۰٪ جدایه‌های مورد بررسی بود. محدودیت نژادی در این منطقه چند دلیل عمده می‌تواند داشته باشد. عدم وجود زمان لازم برای تفرق و یکنواخت بودن ژرم‌پلاسماهای گندم در این منطقه را می‌توان به عنوان دلایل آن برشمرد.

یکی از عوامل تفرق و تنوع ژنتیکی منشأ جغرافیایی متفاوت می‌باشد. به نظر می‌رسد با توجه به تفرق اندک نژاد بیماری در منطقه منشأ این آلودگی داخلی باشد. در کشور آذربایجان که همسایه استان اردبیل است، بیماری لکه‌خرمایی در گندم‌کاری‌های این کشور نیز وجود دارد (Aboukhaddour et al. 2011) و آلودگی از این جهت می‌تواند منشأ خارجی هم داشته باشد. جدایی جغرافیایی می‌تواند موجب تفاوت ژنتیکی جدایه‌ها باشد مانند آنچه که در بررسی‌های Momeni et al. (2019) به‌دست آمده است که جدایه‌های ایرانی قارچ و جدایه‌های کانادایی با کمک مارکر مولکولی SSR در دو گروه نسبتاً مجزا گرفته‌اند ولی در خصوص کشور آذربایجان نزدیکی و مجاورت آن با ایران و استان اردبیل نمی‌توان جدایی جغرافیایی را در این خصوص به عنوان عامل تفرق احتمالی مورد نظر قرار داد.

طبق بررسی‌های Aboukhaddour et al. (2011) برآوردهای ژنتیک جمعیت با مارکرهای مولکولی جدایه‌های کشور سوریه و آذربایجان در کلاسترهای جداگانه‌ای قرار گرفته‌اند که نشان می‌دهد جریان ژنی که از طریق جریان کنیدیوم‌های قارچ بین دو منطقه زیاد بالا نبوده و همچنان به عنوان جمعیت‌های مجزایی تلقی می‌گردند. البته به نظر می‌رسد تنوع نژادها در دو کشور مجاور آذربایجان و سوریه بسیار بالاتر و بیشتر از مناطق شمال و شمال

Alcorn JL, 1988. The taxonomy of *Helminthosporium* species. *Annual Review of Phytopathology* 26: 37-56.

Andersen EJ, Nepal MP, Ali S, 2021. Necrotrophic fungus *Pyrenophora tritici-repentis* triggers expression of multiple resistance components in resistant and susceptible wheat cultivars. *Plant Pathology Journal* 37: 99-114.

Ellis MB, 1977. *Dematiaceous Hyphomycetes*. Commonwealth Mycological Institute. Kew, Surrey, England. 608 pp.

- Evans CK, Hunger RM, Caver BF, 1992. Assessment of wheat genotypes in the 1992 southern regional performance nursery and genetic stocks carrying the IB/IR translocation for reaction to tan spot. In: Franche LJ, Krupeinsky JM, McMullen MP (eds). *Advances in Tan Spot Research*. North Dakota Agric. Exp. Station. Fargo, USA. Pp 33-38.
- Friesen TL, Ali S, Klein KK, Rasmussen JB, 2005. Population genetic analysis of a global collection of *Pyrenophora tritici-repentis*, causal agent of tan spot of wheat. *Phytopathology* 95: 1144-1150.
- Halder J, Zhang J, Ali S, Jagdeep SS, Harsimardeep SG, et al., 2019. Mining and genomic characterization of resistance to tan spot, *Stagonospora nodorum* blotch (SNB), and *Fusarium* head blight in Watkins core collection of wheat landraces. *BMC Plant Biology* 19: 480.
- Kokhmetova A, Sehgal D, Ali S, Atishova M, Kumarbayeva M, et al., 2021. Genome-wide association study of tan spot resistance in a hexaploid wheat collection from Kazakhstan. *Frontiers in Genetics* 11:581214.
- Lamari L, Bernier CC, 1989a. Virulence of isolates of *Pyrenophora tritici-repentis* on 11 wheat cultivars and cytology of differential host reactions. *Canadian Journal of Plant Pathology* 11: 284-290.
- Lamari L, Bernier CC, 1989b. Evaluation of wheat lines and cultivars to tan spot [*Pyrenophora tritici-repentis*] based on lesion type. *Canadian Journal of Plant Pathology* 11: 49-56.
- Lamari L, Strelkov SE, Yahyaoui A, Orabi J, Smith RB, 2003. The identification of two new races of *Pyrenophora tritici-repentis* from the host center of diversity confirms a one to one relationship in tan spot of wheat. *Phytopathology* 93: 391-396.
- Lamari L, Strelkov SE, Yahyaoui A, Amedov M, Saidov M, et al., 2005. Virulence of *Pyrenophora tritici-repentis* in the countries of the Silk Road. *Canadian Journal of Plant Pathology* 27: 383-388.
- Leisová L, Hanzalová A, Kucera L, 2008. Genetic diversity of *Pyrenophora tritici-repentis* isolates as revealed by AFLP. *Journal of Plant Pathology* 90: 233-245.
- Liu Z, El-Basyoni I, Kariyawasam G, Zhang G, Fritz A, et al., 2015. Evaluation and association mapping of resistance to tan spot and *Stagonospora nodorum* blotch in adapted winter wheat germplasm. *Plant Disease* 99: 1333-1341.
- Mehrabi R, Karami N, Torabi, M. 2015. The presence of the susceptibility gene *Tsn1*, in some wheat lines and their reactions to ToxA infiltration produced by *Pyrenophora tritici-repentis*. *Iranian Journal of Plant Protection Science* 49: 87-94 (In Persian with English abstract).
- Mehrabi R, Sarhangi M, Alahasan E. 2017. Phenotypic and Molecular Evaluation of some Advanced and Elite Bread Wheat Lines to *Pyrenophora tritici-repentis*, the Causal Agent of Tan Spot Disease. *Seed and Plant Improvement Journal*. 1-33: 265-282 (In Persian with English abstract).
- Mironenko N, Timopheeva E, Mikhailova L, Kopahnke D, et al., 2007. Intraspecific genetic diversity of *Pyrenophora tritici-repentis* (Died.) Drechs. (*Drechslera tritici-repentis* [Died.] Shoem.) detected by random amplified polymorphic DNA assays. *Archives of Phytopathology and Plant Protection* 40: 431-440.
- Möller EM, Bahnweg G, Sandermann H, Geiger HH, 1992. A simple and efficient protocol for isolation of high molecular weight DNA from filamentous fungi, fruit bodies, and infected plant tissues. *Nucleic Acids Research* 20: 6115-6116.
- Momeni H, Aboukhaddour R, Javan-Nikkhah M, Razavi M, Naghavi MR, et al., 2014. Race identification of *Pyrenophora tritici-repentis* in Iran. *Journal of Plant Pathology* 96: 287-294.
- Momeni H, Akhavan A, Aboukhaddour R, Javan-Nikkhah M, et al., 2019. Simple sequence repeat marker analysis reveals grouping of *Pyrenophora tritici-repentis* isolates based on geographic origin. *Canadian Journal of Plant Pathology* 41:2, 218-227.
- Momeni H, Javan-Nikkhah M, Razavi M, Naghavi MR, 2011. First report of the sexual stage of *Pyrenophora tritici-repentis* in Iran. *Iranian Journal of Plant Pathology* 47: 475-476 (In Persian with English abstract).
- Momeni H, Javan-Nikkhah M, Razavi M, Naghavi MR, 2013. Study of the population genetic structure and Telemorph production of *Pyrenophora tritici-repentis* the causal agent of wheat tan spot in north of Iran. *Iranian Journal of Plant Protection Science* 44: 27-39 (In Persian with English abstract).
- Moreno MV, Stenglein SA, Balatti PA, Perello AE, 2008. Pathogenic and molecular variability among isolates of *Pyrenophora tritici-repentis*, causal agent of tan spot of wheat in Argentina. *European Journal of Plant Pathology* 122: 239-252.

- Nei M, 1973. Analysis of gene diversity in subdivided populations. *Proceeding of National Academy of Sciences* 70: 3321–3323.
- Orolaza NP, Lamari L, Balance GM, 1995. Evidence of a host specific chlorosis toxin from *Pyrenophora tritici-repentis*, the causal agent of tan spot of wheat. *Phytopathology* 85:1282–1287.
- Page RDM, 2007. TreeView: an application to display phylogenetic tree on personal computers. *Computer Application in Biosciences* 12: 357–358.
- Peakall R, Smouse PE, 2006. GENALEX 6: genetic analysis in Excel. population genetic software for teaching and research. *Molecular Ecology Notes* 6: 288–295.
- Reez RG, Platz GJ, 1990. Sources of resistance to *Pyrenophora tritici-repentis* in bread wheats. *Euphytica* 45: 59–69.
- Singh PK, Hughes GR, 2006. Genetic similarity among isolates of *Pyrenophora tritici-repentis*, causal agent of tan spot of Wheat. *Journal of Phytopathology* 154:178–184.
- Singh PK, Mergoum M, Hughes GR, 2007. Variation in virulence in the Saskatchewan population of *Pyrenophora tritici-repentis* from 2000 to 2002. *Canadian Journal of Plant Pathology* 29: 166–171.
- Singh PK, Singh RP, Duveiller E, Mergoum M, Adhikari TB, *et al.*, 2010. Genetics of wheat–*Pyrenophora tritici-repentis* interactions. *Euphytica*, 171: 1–13.
- Sivanesan A, 1987. Graminicolous species of *Bipolaris*, *Curvularia*, *Drechslera*, *Exserohilum* and their teleomorphs. C. A. B International Mycological Institute, *Mycological Papers*, No. 158.



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