دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی ساری
پژوهشنامه اصلاح گیاهان زراعی

ارزیابی مقاومت تعدادی از ژنوتیپ‌های گندم بومی ایران به نماتد سیستی گندم

ناصر پنچه که[۱]، نجمه غزلباش[۲]، زهرا تنها معافی[۳]، سید کاظم صباغ[۴] و محسن اسماعیل‌زاده مقدم[۵]

۱- دانشیار دانشگاه زابل، دانشکده کشاورزی (نویسنده مسوول: naserpanjehke@gmail.com)
۲- دانشجوی دکتری دانشگاه زابل
۳- دانشیار موسسه تحقیقات گیاهپزشکی کشور، تهران، موسسه تحقیقات گیاهپزشکی کشور
۴- دانشیار پردیس علوم دانشگاهی یزد، پردیس علوم دانشگاهی یزد، گروه زیست‌شناسی
۵- دانشیار مؤسسه تحقیقات اصلاح و تهیه نهال و بذر، سازمان تحقیقات، آموزش و ترویج کشاورزی، تهران

تاریخ دریافت: ۱۳۹۷/۱۱/۸ تاریخ پذیرش: ۱۳۹۸/۴/۱۹
صفحه: ۴۱ تا ۴۸

Downloaded from jcb.sanru.ac.ir at 6:43 +0430 on Saturday July 4th 2020

چکیده

نماتدهای سیستی غلات یکی از مهم‌ترین عوامل بیمارگر غلات در جهان و ایران هستند. در این میان گونه *Heterodera filipjevi* دارای پراکنش گسترده‌ای در مزارع غلات کشور است. استفاده از ارقام مقاوم یکی از مناسب‌ترین روش‌های کنترل این بیمارگر به‌علت مقرون به صرفه بودن و عدم خسارت به محیط زیست شناخته شده است. در این تحقیق مقاومت نسبی ۱۳ ژنوتیپ گندم بومی کشور و هفت رقم رایج گندم نسبت به *H. filipjevi* در گلخانه در قالب طرح کاملاً تصادفی با چهار تکرار بررسی شد. با توجه به ضرورت تشخیص نماتد سیستی مورد استفاده در این بررسی، نمونه جمع‌آوری شده با استفاده از روش‌های کلاسیک و مولکولی شناسایی شد. بر اساس مشخصات ریخت‌شناسی و ریخت‌سنجی سیست‌ها و لارو سن دوم و هم‌چنین تکثیر ناحیه ITS-rDNA و برش آنزیمی ناحیه تکثیر شده گونه نماتد *H. filipjevi* تشخیص داده شد. تجزیه واریانس داده‌های جمعیت سیست و ماده بالغ نشان داد که اثر مجموع جمعیت سیست و ماده بالغ بر رقم‌های مورد بررسی در سطح یک درصد، تفاوت معنی‌دار آماری وجود دارد. بر اساس شمارش سیست و ماده بالغ، رقم بزوستایا و رقم کاتا، به‌ترتیب بیشترین و کمترین میانگین مجموع سیست‌های موجود در خاک و ماده‌های بالغ روی ریشه را به‌خود اختصاص دادند. از رقم‌ها و لاین‌های بررسی شده در این پژوهش، رقم بزوستایا در گروه حساس و رقم کاتا و همچنین لاین‌های شماره ۸٤ و ۸۵ در گروه مقاوم قرار گرفتند و سایر ارقام و لاین‌های مورد بررسی به‌عنوان نسبتا مقاوم گروه‌بندی شدند.

واژه‌های کلیدی: آلودگی، *Heterodera filipjevi*، بیماری، شناسایی

مقدمه

غلات مهم‌ترین منابع غذایی در جهان هستند. در سال زراعی ۹۵-۱۳۹۴ سطح محصولات زراعی ۱۱۷۷ میلیون هکتار بوده که سطح مربوط به غلات ۷۱/۷۵ درصد بوده است که بیشترین سطح مربوط به گندم ۵۰/۳۹ درصد و جو ۱۴/۹۵ بوده است و تقریباً ۸۳ میلیون تن از انواع محصولات زراعی تولید شده است که غلات ۲۷ درصد بوده و بیشترین تولید مربوط به گندم با ۱۷/۵۸ درصد گزارش شده است (۱).

گندم با تامین بیش از ۴۰ درصد کالری و ۵۰ درصد پروتئین مورد نیاز، در جیره غذایی جامعه ایرانی از اهمیت بسزایی برخوردار (۲۷) و منبع اصلی کالری و پروتئین برای بخش بزرگی از جمعیت دنیا محسوب می‌شود (۹).

نماتدهای سیستی غلات (CCNs) یکی از مهم‌ترین عوامل بیماری‌زای غلات در جهان هستند. آسیب ناشی از این نماتدها به تنهایی و به همراه بیمارگرهای خاکزی منجر به خسارت فراوان، به خصوص در مناطقی که تحت تنش‌های مختلف محیطی هستند، می‌شود (۷). سه گونه از نماتدهای سیستی غلات شامل *H. Avenae* (Wollenweber), 1924, *H. filipjevi* (Madzhidov) Steler, 1984 و Franklin, *H. latipons* 1968 در گندم و جو از اهمیت اقتصادی بیشتری برخوردارند (۲۴،۱۹). *H. filipjevi* تاکنون از ایران (۳۲)، ترکیه (۲۶) و چندین کشور اروپایی (۳۳،۲۵،۴،۱۲) گزارش شده است.

در ایران هر سه گونه نماتدهای سیستی مذکور در مزارع غلات کشور جداسازی و شناسایی شده‌اند که *H. filipjevi* گونه غالب در اکثر مناطق کشور است (۱۵). تنها معافی و همکاران تراکم هر سه گونه را در ۳۴٪ از نمونه‌های خاک جمع‌آوری شده (از ۱۸ تا ۵۰ درصد) در غرب، شمال و مرکز ایران، جایی که تراکم جمعیت نماتدها در برخی از حوزه‌ها بیشتر از ۵۰ سیست در ۳۰۰ گرم خاک بود، را گزارش کردند (۱۶). در استان کهکیلویه و بویراحمد گونه *H. filipjevi* در ۶۵ درصد از مزارع گندم و جو (۲)، در استان اصفهان در ۵۱.۷ درصد مزارع گندم با میانگین ۱۵ سیست در ۲۰۰ گرم خاک (۱۳) و در استان مرکزی در ۴۰٪ از مزارع گندم و جو مورد بررسی با تراکم جمعیت ۱ تا ۴۰ سیست در هر ۳۰۰ گرم خاک (۱۰) گزارش شده است *H. filipjevi* گونه مهمی از لحاظ اقتصادی در غلات است و خسارت ۴۲ درصدی آن در مزارع گندم زمستانه ترکیه گزارش شده است (۲۰).

جهت کاهش خسارت نماتدهای پارازیت غلات تلفیقی از روش‌های زراعی، شیمیایی و بیولوژیکی استفاده (۲۳،۳۰،۱۹). یکی از موفق‌ترین روش‌های کنترل نماتدهای سیستی، شناسایی و تولید ژرم پلاسم‌های مقاوم گندم بوده که قادر است جمعیت نماتد را تا زیر آستانه خسارت اقتصادی کاهش دهد (۲۱،۵). استفاده از ارقام مقاوم یکی از مناسب‌ترین روش‌های کنترل این بیمارگر به‌علت مقرون به صرفه بودن و عدم خسارت به محیط زیست شناخته شده است (۷). توسعه

Downloaded from jcb.sanru.ac.ir at 6:43 +0430 on Saturday July 4th 2020

ارقام با مقاومت ژنتیکی و ارقام متحمل برای چندین دهه در سراسر جهان مورد حمایت قرار گرفته است (۳۱). استفاده از ارقام مقاوم جهت کنترل نماتد سیستی غلات اولین بار در استرالیا مورد توجه قرار گرفت (۱۸). اولین منبع مقاومت در گندم در رقم لوروس در دانمارک گزارش شد (۲۲). در ایران کریمی‌پور و همکاران (۱۴) در ارزیابی مقاومت ژنوتیپ‌های گندم به نماتد سیست غلات *H. filipjevi*، سه ژنوتیپ بک کراس روشن، پیشتاز و پیشگام را به‌عنوان ژنوتیپ‌های بسیار حساس، ژنوتیپ‌های مهدوی، بم، دنا، بهار، سیوند، افق، ارگ را در گروه ژنوتیپ‌های حساس، ژنوتیپ‌های روشن، الوند، پارسی، ۹۵-۹۳- ES و مرودشت را به‌عنوان ژنوتیپ‌های نسبتاً حساس و ژنوتیپ‌های سیروان، ۹-۹۰- M و ۷-۹۰- M را در گروه ژنوتیپ‌های نسبتاً مقاوم MR قرار دادند. ارقام گندم با هر دو خصوصیت مقاوم و متحمل برای عملکرد مطلوب ضروری است. هشت ژن مقاومت به نماتود سیستی غلات در گندم‌های هگزاپلوئید شناسایی شده است (۱۷). از آنجایی که ایران یکی از مناطق مبدأ غلات است، این امکان وجود دارد که برخی از نژادهای بومی، حامل ژن‌های مقاومت باشند.

با توجه به گزارش این گروه از نماتدها در ایران و اهمیت آن‌ها روی گندم و جو، این تحقیق با هدف ارزیابی تعدادی از ارقام گندم تجاری و ژنوتیپ‌های گندم بومی نسبت به نماتد سیستی غلات *H. filipjevi* انجام شد.

مواد و روش‌ها

تهیه نماتد

نمونه‌برداری از خاک یک مزرعه گندم آلوده به *H. filipjevi* واقع در استان همدان پس از برداشت گندم صورت گرفت. نمونه خاک از عمق ۲۰-۳۰ سانتی‌متری جمع‌آوری شد. نماتدهای سیستی با استفاده از دستگاه فنویک و الک‌ها مطابق روش فنویک (۸) از خاک استخراج شدند. سیست‌های جمع‌آوری شده با هیپو کلریت سدیم ۰/۵ درصد به‌مدت ۱۰ دقیقه ضدعفونی سطحی شدند و سپس پنج بار در آب مقطر استریل شسته شدند. بعد از انتقال به آب مقطر استریل در دمای ۴ درجه سانتی‌گراد نگهداری شدند. سپس بعد از دو ماه به دمای ۵ درجه در انکوباتور جهت تفریخ بیشتر منتقل گردیدند. از لاروهای تفریخ شده در آزمایش ارزیابی ارقام استفاده گردید.

شناسایی نماتد

پس از جداسازی سیست‌ها، تعداد ده سیست از ده نمونه ۱۰۰ گرمی حاصل از استخراج خاک، برای شناسایی انتخاب شد. به‌منظور شناسایی از مخروط انتهایی سیست برش تهیه شد و به گلیسرین ژل منتقل گردید. هم‌چنین از تعدادی از لاروهای همین نمونه‌ها پس از کشتن، تثبیت و انتقال به گلیسیرین، اسلایدهای دایمی تهیه شد. بر اساس مشخصات ریخت‌شناسی و ریخت‌سنجی مخروط انتهایی و لاروهای سن دوم شناسایی انجام شد (۳،۱۱). شناسایی مولکولی نماتد سیستی با روش مولکولی و استخراج DNA از سه تا پنج سیست و انجام واکنش زنجیره‌ای پلی مراز و استفاده از آنزیم‌های برشی برای تفکیک گونه‌های نزدیک به‌هم صورت گرفت (۳۶).

کاشت گیاه و اعمال تیمارها

آزمایش گلخانه‌ای، در قالب طرح کاملاً تصادفی با بیست تیمار و ۴ تکرار انجام گرفت. در این بررسی تعداد سیزده ژنوتیپ گندم بومی ایران که از کلکسیون موسسه تحقیقات اصلاح و تهیه نهال و بذر فراهم شده بود و هفت رقم تجاری گندم مورد ارزیابی قرار گرفت (جدول ۱).

بذور آزمایشی با محلول هیپوکلریت سدیم ۰/۵ درصد به‌مدت ۵ دقیقه ضدعفونی شدند و پس از ۶ بار شستشو با آب مقطر استریل به ظروف پتری استریل حاوی کاغذ صافی منتقل و جهت جوانه‌زنی به‌مدت ۴۸ ساعت در درجه حرارت ۲۵ درجه سانتی‌گراد نگهداری شدند. از بذور جوانه‌زده یک اندازه جهت کاشت استفاده گردید.

برای کاشت از لوله‌های پلاستیکی استاندارد با ارتفاع ۱۶ سانتیمتر و قطر ۲/۵ سانتیمتر که توسط یک صفحه مشبک در داخل سینی قرار می‌گرفتند استفاده شد. گلدان‌ها با خاک پاستوریزه با ترکیبی از خاک، کود حیوانی و ماسه با نسبت ۷۰:۲۹:۱ پر شده و در هر گلدان یک بذر گندم جوانه‌دار شده کشت شد. سه روز بعد از کاشت تعداد ۵۰۰ لارو سن دو نزدیک ریشه اضافه گردید. گلدان‌های لوله‌ای در اتاق حرارت ثابت با دمای۳ ± ۲۲ و رطوبت نسبی ۷۰ درصد به‌مدت نه هفته نگهداری شدند. تیمار شاهد فقط با آب مایه‌زنی شد. گیاهان ۹ هفته پس از کاشت، برداشت شده و سیست‌های تشکیل‌شده روی ریشه و خاک استخراج و شمارش شد (۶).

۹ هفته پس از تلقیح، گیاهان برداشت شده و ریشه‌ها به آرامی تحت جریان ملایم آب جهت جداسازی ماده‌های شیری و سیست‌های قهوه‌ای متصل به ریشه قرار گرفتند. خاک کمی مرطوب لوله‌ها در سطل ریخته شد، به‌مدت ۱۰ ثانیه به هم زده و به خوبی مخلوط شد و برای حدود ۳۰ ثانیه صبر کرده و سپس محتویات رویی سطل از الک ۸۵۰ و سپس ۲۵۰ میکرومتر عبور داده شد. این فرآیند ۳ بار تکرار شد تا اطمینان حاصل شود که حداکثر ماده‌های شیری و سیست‌های قهوه‌ای استخراج شده است. محتویات روی الک ۲۵۰ میکرومتر در داخل بشری جمع‌آوری شد. سپس نماتدهای استخراج شده توسط استریومیکروسکوپ شمارش شدند (۵).

آنالیز داده‌ها

داده‌ها با استفاده از نرم‌افزار MSTATC تجزیه شد و میانگین‌ها با استفاده از آزمون حداقل اختلاف معنی‌داری (LSD) مقایسه و بر اساس میانگین تعداد ماده‌های جوان و شیری و سیست‌های تشکیل شده روی ریشه‌های هر ژنوتیپ به‌همراه رقم حساس و مقاوم بر مبنای گروه‌بندی ارائه شده توسط شارما و همکاران (۲۹) به‌صورت زیر درجه‌بندی شدند: ژنوتیپ مقاوم: (M) تا ۴ سیست در گیاه، ژنوتیپ نیمه‌مقاوم (MR): ۴ تا ۹ سیست در گیاه، ژنوتیپ حساس (S): (۱۰ تا ۲۰ سیست، ژنوتیپ فوق حساس (HS): بیشتر از ۲۰.

Downloaded from jcb.sanru.ac.ir at 6:43 +0430 on Saturday July 4th 2020

نتایج و بحث

گونه نماتد سیست غلات

مشخصات ریخت‌شناسی و ریخت‌سنجی سیست و لارو سن دوم سیست‌های جمع‌آوری شده از مزرعه آلوده در استان همدان آلودگی به نماتد سیستی غلات را در این مزرعه تایید کرد. این مشخصات با ویژگی‌هایی که برای گونه *Heterodera filipjevi* (Madzhidove, 1981) Stelter, 1984 توصیف شده بود، مطابقت نشان داد.

مشخصات سیست: سیست‌ها به رنگ قهوه‌ای روشن تا تیره، لیمویی شکل بعضاً کروی، دارای مخروط کوتاه در انتها. آرایش پنجره‌ها به‌صورت دو نیم‌دایره، پل شکاف تناسلی باریک، باندهای کوتیکولی دارای رشد ظریف تا متوسط، معمولاً در انتها دو شاخه‌ای. شکاف تناسلی کوتاه، بوله‌ها به تعداد کم تا زیاد به اشکال مختلف درست زیر شکاف تناسلی پراکنده‌اند.

لارو سن دوم: کرمی شکل که بعد از تثبیت به‌طرف شکم خم می‌شود. سر گرد، کوتاه، دارای دو حلقه و یک دیسک لبی، سر نسبت به بقیه بدن فرورفته. استایلت قوی، گره‌های استایلت بزرگ، متمایل به طرف جلو و کمی مقعر، محل ریزش غده پشتی مری ۴-۵ میکرومتر زیر استایلت. حباب میانی مری گرد تا کمی کشیده، غده‌های مری از سمت شکمی روی روده می‌افتند. منفذ دفعی-ترشحی بلافاصله بعد از همیزونید، همیزونید به طول دو شیار عرضی، کوتیکول این ناحیه کمی متورم. سطح جانبی دارای چهار شیار طولی، فاسمیدها بزرگ، ۲-۳ حلقه پایین‌تر از مخرج. دم به تدریج باریک شده و به انتهای گرد ختم می‌شود.

مشخصات ریخت‌شناسی و ریخت‌سنجی مذکور با مشخصات ارائه شده برای گونه *H. filipjevi* مطابقت داشت (۱۵،۱۱).

شناسایی کلاسیک *H. filipjevi*، با استفاده از روش مولکولی بکار گرفته شده شامل تکثیر ناحیه ITS-rDNA و برش آنزیمی ناحیه تکثیر شده تایید شد. استفاده از مارکر مولکولی rRNA-RFLP تایید گونه *H. filipjevi* را امکان‌پذیر کرد و آن‌را از گونه *H. avenae* که از نظر مورفولوژی و مورفومتری خیلی به گونه *H. filipjevi* نزدیک است از هم تفکیک کرد. تکثیر نواحی ITS آر ان ای ریبوزومی توسط واکنش زنجیره‌ای PCR یک قطعه به‌میزان تقریبی ۱۰۰۰ جفت باز را برای گونه *H. filipjevi* ایجاد کرد که نتیجه برش آن با آنزیم برشی Hinf I دو قطعه ۸۰۰ و حدود ۲۰۰ جفت باز، با آنزیم PstI سه قطعه با طول به‌ترتیب ۷۰۰، حدود از ۲۰۰ و ۱۰۰ جفت باز و با آنزیم RsaI دو قطعه ۷۰۰ و حدود ۳۰۰ جفت باز را موجب شد که با نتایج کارهای انجام شده مطابقت داشت (۳۶،۳۵،۳۴)

جدول ۱- مشخصات ژنوتیپ‌های گندم دریافتی از کلکسیون مؤسسه تحقیقات اصلاح و تهیه نهال و بذر مورد بررسی در این مطالعه

Table 1. The characteristics of wheat genotypes collected from the collection of the Seed and Plant Improvement Institute in this study

شماره ژنوتیپ در کلکسیون	محل جمع آوری	جنس/گونه	عادت رشدی
۸۲	توده از تبریز	*Triticum vulgare*	زمستانه
۸۳	توده از تبریز	*T.vulgare*	زمستانه
۸۴	توده از تبریز	*T.vulgare*	زمستانه
۸۵	توده از تبریز	*T.vulgare*	زمستانه
۸۶	توده از تبریز	*T.vulgare*	زمستانه
۸۷	توده از تبریز	*T.vulgare*	زمستانه
۸۸	توده از تبریز	*T.vulgare*	زمستانه
۸۹	توده از تبریز	*T.vulgare*	زمستانه
۹۰	توده از تبریز	*T.vulgare*	بینابین
۹۱	توده از تبریز	*T.vulgare*	زمستانه
۹۲	توده از تبریز	*T.vulgare*	زمستانه
۹۳	توده از تبریز	*T.vulgare*	بینابین
۹۴	توده از تبریز	*T.vulgare*	زمستانه
۹۵	توده از تبریز	*T.vulgare*	زمستانه
۹۶	توده از تبریز	*T.vulgare*	زمستانه

Downloaded from jcb.sanru.ac.ir at 6:43 +0430 on Saturday July 4th 2020

جدول ۲- مشخصات ریخت سنجی ناحیه مخروط انتهایی سیست در نماتد سیستی غلات *Heterodera filipjevi* (اندازه‌های به میکرومتر، میانگین ± انحراف معیار (حداقل- حداکثر اندازه)

Table 2. Morphometric characters of vulval cone area of *Heterodera filipjevi* (measurements in µm, mean ± SD (min-max)

Character	Vulval plate	Madzhidov, 1981
n	6	25
Fenestral length	49 ± 4.6 (43 - 45)	51.5 (41-64)
Semifenestral lenght	20.7 ± 2.9 (18 – 26)	
Semifenestral width	25 ± 2.4 (22 – 28)	27.5 (21-33)
Vulval slit length	10.12 ± 3 (8 – 14)	7.7 (6.3-9.4)
Vulval bridge width	7.7 ± 1.6 (6 – 10)	
Underbridge length	82 ± 5.4 (75 – 88)	82 (82-108)

جدول ۳- مشخصات ریخت‌سنجی لارو سن دوم نماتد سیستی غلات *Heterodera filipjevi* (اندازه‌های به میکرومتر، میانگین ± انحراف معیار (حداقل اندازه – حداکثر اندازه)

Table 3. Morphometric characters of second stage juveniles of *Heterodera filipjevi* (measurements in µm, mean ± SD (min-max

مشخصات Character	لارو سن دوم Second stage juvenile
n	10
L (Body Length)	514 ± 32 (452-562)
a (L/Maximum Body Width)	26 ± 1.7 (23.8-29.37)
c (L/tail length)	9.10 ± 0.59 (7.93-10.15)
c' (tail length/body width at anus)	4 ± 0.42 (3.67-5)
Stylet length	24.9 ± 1.2 (23-26)
Lip region height	4
Lip region width	8.5 ± 0.53 (8-9)
D.G.O. (Dorsal Oesophageal Gland Orifice)	6.2±0.8 (5-7)
Anterior to exp	106 ± 8 (95-123)
Median bulb length	72 ± 7 (62-87)
Body Width	19.7 ± 0.5 (19-20)
Body Width at anus	14 ± 1.15 (12-15)
Hyaline part	36.3 ± 3.27 (30-43)
Tail length	56.5 ± 2.84 (50-60)
Hyaline / Stylet	1.46 ± 0.16 (1.15-1.72)
L/ Median bulb length	7.19 ± 0.77 (5.95-8.15)

عکس‌العمل ارقام رایج گندم و برخی ژنوتیپ‌های گندم به نماتد *Heterodera filipjevi*

نتایج تجزیه آماری نشان‌داد، ۲۰ ژنوتیپ گندم نان و ارقام بومی که در این آزمایش مورد بررسی قرار گرفتند از لحاظ مجموع جمعیت سیست و ماده بالغ نسبت به رقم حساس در سطح یک درصد تفاوت معنی‌دار داشتند.

همان‌گونه که در جدول ۵ ملاحظه می‌گردد، رقم بزوستایا و رقم کاتا، به‌ترتیب بیشترین و کمترین میانگین مجموع سیست‌های موجود در خاک و ماده‌های بالغ روی ریشه را به‌خود اختصاص دادند.

در رابطه با بررسی عکس‌العمل ارقام نسبت *H.filipjevi* در ایران، گزارش مدونی موجود نیست. اما گزارش‌های اخیر نشان می‌دهد تعدادی از ژرم‌پلاسم‌های مربوط به ایران در قالب مطالعه‌ای که توسط دبابات و همکاران (۶) پیرامون ارزیابی مقاومت به *H. filipjevi* (جمعیت Haymana ترکیه) تحت شرایط کنترل شده با استفاده از ژرم‌پلاسم‌هایی از کشورهای مختلف، مورد ارزیابی قرار گرفته‌اند. در این مطالعه که ۷۱۹ واریته و لاین‌های اصلاحی گندم زمستانه مربوط به طیف وسیعی از مناطق جغرافیایی مختلف از چند کشور دنیا شامل کشورهایی از اروپا، آسیای مرکزی و از جمله ایران و هم‌چنین منابع مربوط به برنامه بین‌المللی بهبود گندم زمستانه، مورد ارزیابی قرار گرفته، ۱۴ ژنوتیپ (۱۵/۸ درصد) مقاوم و ۹۰ ژنوتیپ (۱۲/۵ درصد) با واکنش نسبتاً مقاوم شناسایی شده‌اند. در این مطالعه بیشترین فراوانی ژنوتیپ‌های مقاوم در ژرم‌پلاسم‌های کشورهای به‌ترتیب بلغارستان (۵۹/۳ درصد)، روسیه (۴۸/۵ درصد) و آفریقای جنوبی (۴۴/۹ درصد) شناسایی گردید. در این مطالعات از بین ژرم‌پلاسم‌های ایران (مجموعاً ۳۹ ژرم پلاسم)، ۱۲ مورد(۲۴/۵ درصد) در گروه بسیار مقاوم، ۱۱ مورد (۲۲/۴ درصد) مقاوم و ۶ مورد (۱۲/۲درصد) در گروه با حساسیت بالا به *H. filipjevi* گزارش گردیده‌اند.

در مطالعه‌ای پیرامون بررسی فرایند مقاومت چهار رقم نسبتاً مقاوم شامل Katea، Sonmez، Milan، Silverstar

Downloaded from jcb.sanru.ac.ir at 6:43 +0430 on Saturday July 4th 2020

در مقایسه با رقم شاهد حساس Bezostaya، به جدایه‌ی ترکیه‌ای (TK1) گونه *H. filipjevi* مشخص شد که در تمامی ارقام نسبتاً مقاوم، یک واکنش ناسازگار (Incompatibility reaction) وجود دارد که این واکنش به‌صورت سطح پایین نفوذ لاروهای سن دوم در هفته دوم را با تاخیر مواجه کرده و تکمیل آن‌ها در طول چهار هفته نسبت به رقم حساس بزوستایا کمتر بوده، به‌طوری که بعد از هفته چهارم در ریشه ارقام نسبتاً مقاوم پس از رنگ‌آمیزی، فقط لاروهای سن سوم مشاهده گردید، در حالی‌که در رقم حساس بزوستایا نماتد بالغ بعد از سه هفته در ریشه مشاهده شد (۲۸).

بنابراین با توجه به نتایج این تحقیقات و همچنین با توجه به اینکه ۱۸ ژنوتیپ از ۲۰ ژنوتیپ بررسی شده در تحقیق حاضر به‌عنوان ژنوتیپ‌های نسبتاً مقاوم شناسایی شده‌اند، انجام تحقیقات تکمیلی در زمینه شناسایی ژنوتیپ‌های مقاوم و نسبتاً مقاوم با ارزیابی جامع ارقام و لاین‌های موجود در کشور در مقابل *H. filipjevi* می‌تواند به کنترل این نماتد در مناطق آلوده بیانجامد.

منابع موثری از مقاومت به نماتدهای سیستی غلات در غلات شناسایی شده‌اند، اما تاثیرپذیری و قابلیت استفاده از آن‌ها به چگونگی تعامل بین مقاومت ژنوتیپ و پاتوتیپ هر منطقه وابسته است (۶). بنابراین در برنامه ارزیابی ژنوتیپ‌های گندم کشور ارزیابی مقاومت در مقابل جمعیت‌های مختلف *H. filipjevi* می‌بایست مد نظر قرار گیرد.

جدول ۴- تجزیه واریانس عکس‌العمل ژنوتیپ‌های مختلف گندم به *Heterodera filipjevi* در شرایط گلخانه

Table 4. Analysis of variance of reaction of different wheat genotypes to *Heterodera filipjevi* in greenhouse conditions

منابع تغییر SV	درجه آزادی DF	جمع مربعات SS	میانگین مربعات MS
ژنوتیپ های گندمWheat genotypes	۲۳	۸۴۰/۳۳۳	**۳۶/۵۳۶
خطاError	۷۲	۵۴۹	۷/۶۲۵
کلTotal	۹۵	۱۳۸۹/۳۳۳	
ضریب تغییرات (٪)CV	۴۰/۴۱		

**: معنی‌دار در سطح یک درصد

جدول ۵- مقایسه میانگین تعداد سیست و ماده بالغ *Hetrodera filipjevi* در ژنوتیپ‌های مختلف گندم و گروه‌بندی آنها براساس واکنش به *Heterodera filipjevi* در شرایط گلخانه

Table 5. Comparison of mean number of cysts and adult females of *Hetrodera filipjevi* in different wheat genotypes and grouping of gentotypes based their reaction to *Heterodera filipjevi* in greenhouse conditions

نام رقم و ژنوتیپ Genotype name	میانگین تعداد سیست و ماده بالغ Average number of cysts and mature female	درجه‌بندی ژنوتیپ‌ها از لحاظ مقاومت یا حساسیت Grading of genotypes in terms of resistance or sensitivity
بزوستایا	18/75 A	(S)
سونمز	4/75 BCD	(MR)
کاتا	3 CD	(R)
چمران	5 BCD	(MR)
افلاک	5/25 BCD	(MR)
سیروان	6/25 BCD	(MR)
سرداری	8/25 B	(MR)
بهاران	7/25 BCD	(MR)
حیدری	8/5 B	(MR)
Col. No. 82	7 BCD	(MR)
Col. No. 83	6 BCD	(MR)
Col. No. 84	2/75 D	(R)
Col. No. 85	4 BCD	(MR)
Col. No. 86	6/75 BCD	(MR)
Col. No. 87	8 BC	(MR)
Col. No. 88	5 BCD	(MR)
Col. No. 89	6/5 BCD	(MR)
Col. No. 90	6/25 BCD	(MR)
Col. No. 91	6/25 BCD	(MR)
Col. No. 92	7 BCD	(MR)
Col. No. 93	8/25 B	(MR)
Col. No. 94	9 B	(MR)
Col. No. 95	7/25 BCD	(MR)
Col. No. 96	7 BCD	(MR)
LSD (a= 0.01)		

هر عدد میانگین چهار تکرار است. اعداد دارای حروف مشترک اختلاف معنی‌داری در سطح یک درصد ندارند. S: حساس، MR: نسبتاً مقاوم، R: مقاوم

Downloaded from jcb.sanru.ac.ir at 6:43 +0430 on Saturday July 4th 2020

منابع

1. Anonymous. 2016. Agricultural statistics yearbook. Ministry of Jihad-E-Agriculture, Statistical and Information Technology Unit, Tehran, 403 pp.
2. Abdollahi, M. 2008. Morphology and morphometrics of Heterodera filipjevi (Madzhidov, 1981) steller, 1984 from Kohgiluyeh and Boyer-Ahmad province, Iran. Pakistan Journal of Biological Sciences, 11(14): 1864.
3. Baldwin, J.G. and M.A.N.U.E.L. Mundo-Ocampo. 1991. Heteroderinae, cyst-and non-cyst-forming nematodes. Manual of agricultural nematology. New York: Marcel Dekker, 275-362.
4. Bekal, S., J.P. Gauthier and R. Rivoal. 1997. Genetic diversity among a complex of cereal cyst nematodes inferred from RFLP analysis of the ribosomal internal transcribed spacer region. Genome, 40(4): 479-486.
5. Dababat, A.A., S.R. Pariyar, J.M. Nicol and E. Duveiller. 2011. Cereal cyst nematodes: An unnoticed threat to global cereal production.
6. Dababat, A.A., G.E. Orakci, H. Toktay, M. Imren, B. Akin, H.J. Braun, S. Dreisigacker, I.H. Elekcioglu and A.I. Morgunov. 2014. Resistance of winter wheat to Heterodera filipjevi in Turkey. Turkish Journal of Agriculture and Forestry, 38(2): 180-186.
7. Dababat, A.A., M. Imren, G. Erginbas-Orakci, S. Ashrafi, E. Yavuzaslanoglu, H. Toktay, S.R. Pariyar, H.I. Elekcioglu, A. Morgounov and T. Mekete. 2015. The importance and management strategies of cereal cyst nematodes. Heterodera spp., in Turkey. Euphytica, 202(2): 173-188.
8. Fenwick, D.W. 1940. Methods for the recovery and counting of cysts of Heterodera schachtii from soil. Journal of helminthology, 18(4): 155-172.
9. Goli, A., I. Jorjani, H. Sabouri and H.A. Fallahi. 2019. Assessment of Genetic Diversity of Facultative wheat Genotypes Belong to North of IRAN using ISSR Markers. Journal of Crop Breeding, 8: 165-74 (In Persian).
10. Hajihassani, A., Z.T.M.A. Ahmadi and M. Taji. 2011. Survey and biology of cereal cyst nematode, Heterodera latipons, in rain-fed wheat in Markazi Province, Iran. International Journal of Agriculture and Biology, 13(4).
11. Handoo, Z.A. 2002. A key and compendium to species of the Heterodera avenae group (Nematoda: Heteroderidae). Journal of Nematology, 34(3): 250.
12. Holgado, R., S. Andersson, J.A. Rowe and C. Magnusson. 2004. First record of Heterodera filipjevi in Norway. Nematologia Mediterranea, 32(2).
13. Karimipour Fard, H. and Z. Tanha Maafi. 2010. Three years studies on distribution and population density of Heterodera filipjevi in cereal fields of Isfahan province, Iran. In Proceedings of 30th International Symposium of the European Society of Nematologists.
14. Karimipour Fard, H. 2017. Distribution and Population Density of Cereal Cyst Nematodes in Wheat Fields of Isfahan and Chahar Mahal Va Bakhtiari Provinces, Determination the Yield Loss and Assessment of some Cultivars Reaction to Dominant Species. Ph.D thesis, Department of Plant Pathology Faculty of Agriculture, Tarbiat Modares University, 236 pp (In Persian).
15. Maafi, Z.T., D. Sturhan, A. Kheiri and E. Geraert. 2007. Species of the Heterodera avenae group (Nematoda: Heteroderidae) from Iran. Russian Journal of Nematology, 15(1): 49-58.
16. Maafi, Z.T., J. Nicol, H. Kazemi, N. Ebrahimi, M. Gitty, M. Ghalandar, M. Pour, Z. Khoshkhabar, I. Riley and A. Dababat. 2009. Cereal cyst nematodes, root rot pathogens and root lesion nematodes affecting cereal production in Iran. Cereal cyst nematodes: Status, research and outlook'.(Eds IT Riley, JM Nicol, AA Dababat): 51-55.
17. McIntosh, R.A., K.M. Devos, J. Dubcovsky and W.J. Rogers. 2001. Catalog of gene symbols for wheat: Supplement, 14 pp.
18. Millikan, C.R. 1938. Eelworm (Heterodera schachtii Schmidt) disease of cereals. Journal of the Department of Agriculture, Victoria, 36: 452.
19. Nicol, J.M. and R. Rivoal. 2008. Global knowledge and its application for the integrated control and management of nematodes on wheat. In Integrated management and biocontrol of vegetable and grain crops nematodes. Springer, Dordrecht, 251-294.
20. Nicol, J.M., N. Bolat, E. Sahin, A. Tulek, A.F. Yildirim, A. Yorgancilar, A. Kaplan and H.J. Braun. 2006. The cereal cyst nematode is causing economic damage on rainfed wheat production systems of Turkey. In Phytopathology. 3340 Pilot Knob Road, St Paul, MN 55121 USA: Amer Phytopathological Soc, 96 (6).
21. Nıcol, J.M., F.O. gbonnaya, A.K. Singh, S.P. Bishnoi, R.S. Kanwar, H. Li, S. Chen, D. Peng, N. Bolat, E. Şahİn and I.H. Elekçioğlu. 2009. Current global knowledge of the usability of cereal cyst nematode resistant bread wheat germplasm through international germplasm exchange and evaluation. In: Cereal cyst nematodes: status, research and outlook. Proceedings of the First Workshop of the International Cereal Cyst Nematode Initiative, Antalya, Turkey, 21-23 October 2009. International Maize and Wheat Improvement Centre (CIMMYT), 149-153.
22. Nielsen, C.H. 1966. Untersuchungen über die Vererbung der Resistenz gegen den Getreidenematoden (Heterodera avenae) beim Weizen. Nematologica, 12(4): 575-578.

Downloaded from jcb.sanru.ac.ir at 6:43 +0430 on Saturday July 4th 2020

23. Riley, I.T., J.M. Nicole and A.A. Dababat. 2009. Cereal cyst nematodes: Status, Research and Outlook. CIMMYT .Ankara, Turkey.
24. Rivoal, R. and R. Cook. 1993. Nematode pests of cereals. In: Evans, K., D.L. Trudgill and J.M. Webster (Eds). Plant parasitic nematodes in temperate agriculture. Wallingford. CABI Publishing, UK, 259-303.
25. Rivoal, R., S. Valette, S. Bekal, J.P. Gauthier and A. Yahyaoui. 2003. Genetic and phenotypic diversity in the graminaceous cyst nematode complex, inferred from PCR-RFLP of ribosomal DNA and morphometric analysis. European Journal of Plant Pathology, 109(3): 227-241.
26. Rumpenhorst, H.J., I.H. Elekçioglu, D. Sturhan, G. Öztürk and S. Enneli. 1996. The cereal cyst nematode Heterodera filipjevi (Madzhidov) in Turkey. Nematologia mediterranea, 24(1): 135-138.
27. Saberi, M., E. Arazmjoo and A. Amini. 2016. Assessment of Diversity and Identifying of ffective Traits on Grain Yield of bread wheat Promised Lines under Salt Stress Conditions. Journal of Crop Breeding, 8: 31-40 (In Persian).
28. Sağlam, H.D., S. Çobanoğlu, W. Wesemael, J.M. Nıcol, N. Viaene and A.A. Dababat. 2009. Preliminary investigation of resistance in winter wheat to Heterodera filipjevi under controlled conditions. In Cereal cyst nematodes: status, research and outlook. Proceedings of the First Workshop of the International Cereal Cyst Nematode Initiative, Antalya, Turkey, 21-23 October 2009. International Maize and Wheat Improvement Centre (CIMMYT), 172-176.
29. Sharma, M., M. Saini, G. Prakash, G. Nupur, K.S. Arun, S. Rajan, T. Vinod and S. Indu. 2013. Tracking of cereal cyst nematode resistance genes in wheat using diagnostic markers. Journal of Wheat Research, 5(1).
30. Singh, A.K., A.K. Sharma and S. Jag. 2009. Heterodera avenae and its management on wheat in India. In Cereal cyst nematodes: status, research and outlook. Proceedings of the First Workshop of the International Cereal Cyst Nematode Initiative, Antalya, Turkey, 21-23 October 2009. International Maize and Wheat Improvement Centre (CIMMYT), 17-22.
31. Smiley, R.W., J.M. Marshall, J.A. Gourlie, T.C. Paulitz, S.L. Kandel, M.O. Pumphrey, K. Garland-Campbell, G. Yan, M.D. Anderson, M.D. Flowers and C.A. Jackson. 2013. Spring wheat tolerance and resistance to Heterodera avenae in the Pacific Northwest. Plant disease, 97(5): 590-600.
32. Sturhan, D.I.E.T.E.R. 1996. Occurrence of Heterodera filipjevi (Madzhidov, 1981) Stelter, 1984 in Iran. Pakistan Journal of Nematology, 14(2): 89-93.
33. Subbotin, S.A., H.J. Rumpenhorst and D. Sturhan. 1996. Morphological and electrophoretic studies on populations of the Heterodera avenae complex from the former USSR. Russian Journal of Nematology, 4(1): 29-38.
34. Subbotin, S. A., L. Waeyenberge, I. A. Molokanova and M. Moens. 1999. Identification of Heterodera avenae group species by morphometrics and rDNA-RFLP. Nematology, 1: 195-207.
35. Subbotin, S.A., L. Waeyenberge and M. Moens. 2000. Identification of cyst forming nematodes of the genus Heterodera (Nematoda: Heteroderidae) based on the ribosomal DNA-RFLP. Nematology, 2: 153-164.
36. Tanha Maafi, Z. 2002. Morphological and molecular identification of cyst-forming nematodes from Iran . Ph.D Thesis, Department of Biology, Faculty of Sciences, University of Gent, Belgium.
37. Tanha Maafi, Z.T., S.A. Subbotin and M. Moens. 2003. Molecular identification of cyst-forming nematodes (Heteroderidae) from Iran and a phylogeny based on ITS-rDNA sequences. Nematology, 5(1): 99-111.

Evaluation of the Resistance of Some Indigenous Wheat Genotypes to Cereal Cyst Nematode, *Heterodera Filipjevi*

Naser Panjeke[1], Najmeh Ghazalbash[2], Zahra Tanhamaafi[3], Seyed Kazem Sabbagh[4] and Mohsen Esmaeilzadeh Moghaddam[5]

1- Associate Professor University of Zabol, Department of Plant Protection, Faculty of Agriculture
(Corresponding author: naserpanjehke@gmail.com)
2- Ph.D. Student University of Zabol
3- Associate Professor Iranian Research Institute of Plant Protection, Agricultural Research, Education and Extension Organization (AREEO), Tehran, Iran
4- Associate Professor Department of Biology, Campous of Sciences, Yazd University
5- Associate Professor Seed and Plant Improvement Institute, Agricultural Research, Education and Extension Organization (AREEO), Tehran, Iran
Received: January 28, 2019 Accepted: July 10, 2019

Abstract

Cereal cyst nematode (CCN) is one of the most deleterious pathogens of cereal crops worldwide including Iran. The species *Heterodera filipjevi* is widely distributed in the fields of wheat. Growing the resistant cultivars is a suitable environmental friendly and cost-saving procedure for nematode control. In current research, the resistance of 13 indigenous wheat genotypes and seven common cultivars of bread wheat to *H. filipjevi* were investigated in a completely randomized design with four replicates, under greenhouse conditions. Regarding to identification of the cyst nematode used in this study, the collected specimen was diagnosed through classical and molecular methods. Based on morphological and morphometric characters of cyst and second stage juvenile, amplification of rDNA-ITS regions and restriction fragment length polymorphism (RFLP), the studied cereal cyst nematode was identified as *H. filipjevi*. According to the analysis of variance, the effect of total numbers of cysts and females on the cultivars was significant at 1% level. The cultivars of Bezostaya and Katae, showed the highest and lowest mean total population in soil and root, respectively. Bezostaya showed susceptible reaction, katae, Lines 84 and 85 were grouped as resistant whilst, the other cultivars and lines showed moderately resistance reactions.

Keywords: Infection, *Heterodera filipjevi*, Disease, Identification

Downloaded from jcb.sanru.ac.ir at 6:43 +0430 on Saturday July 4th 2020