Iranian Journal of Plant Protection Science
Vol 53, No 1, Spring and Summer 2022 (1-9)
DOI: 10.22059/IJPPS.2022.330275.1006980

دانش گیاهپزشکی ایران
دورۀ ۵۳، شمارۀ ۱، بهار و تابستان ۱۴۰۱ (ص۹-۱) مقاله پژوهشی

بررسی بیماری‌زایی قارچ عامل پیچیدگی سنبله (*Dilophospora alopecuri*) در تعامل با نماتود گال دانه گندم (*Anguina tritici*)

حسن ملکی زیارتی۱، ولی الله بابایی زاد۲*، محمد علی تاجیک قنبری۳، رامین حیدری۴ و محمد علی آقاجانی۵
۱.دانشجوی دکتری قارچ شناسی و بیماریهای گیاهی دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی ساری
۲.دانشیار گروه گیاهپزشکی دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی ساری
۳. دانشیار گروه گیاهپزشکی دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی ساری
۴. دانشیار گروه گیاهپزشکی دانشگاه تهران، پردیس کشاورزی و منابع طبیعی ، تهران، ایران
۵. دانشیار بخش گیاهپزشکی مرکز تحقیقات کشاورزی و منابع طبیعی استان گلستان
(تاریخ دریافت: ۱۴۰۰/۰۷/۰۸- تاریخ پذیرش:۱۴۰۰/۱۰/۲۹)

چکیده

بیماری پیچیدگی سنبله، با عامل قارچی *Dilophospora alopecuri*، ازجمله بیماری‌هایی است که در استان گلستان به همراه نماتود گال دانه گندم (*Anguina tritici*) مشاهده می‌شود. به‌منظور بررسی بیماری‌زایی قارچ، آزمایشی در دو حالت مایه‌زنی قارچ مذکور به میزبان به تنهایی، در حضور نماتود و نماتود به تنهایی بر روی ۴ رقم گندم احسان، کوهدشت، مروارید و لاین شماره ۱۷ در شرایط گلخانه صورت گرفت. معیارهایی شامل درصد کاهش وزن خشک بوته آلوده، درصد کاهش ارتفاع بوته، تعداد بوته آلوده به قارچ، تعداد سنبله آلوده به قارچ، تعداد بوته آلوده به نماتود، وزن کل گال‌های نماتود، تعداد گال نماتود و متوسط وزن گال در هر بوته در ارقام مورد آزمون مورد بررسی قرار گرفت. تجزیه و تحلیل داده‌ها با استفاده از نرم‌افزار **SAS** و مقایسه میانگین تیمارها با آزمون **LSD** انجام گرفت. نتایج تجزیه واریانس نشان داد که اثر متقابل بین قارچ و ارقام گندم و تاثیر قارچ عامل بیماری بر روی شاخص‌های اندازه گیری شده در ارقام گندم معنی دار است. همچنین جدایه‌های قارچ استان به تنهایی قادر به آلودگی بونه‌ها نبودند. نتایج نشان داد که قارچ فقط در حضور نماتود گال دانه گندم قادر به ایجاد بیماری روی گندم است و وجود نماتود جهت بیماریزایی و انتشار قارچ در سنبله گندم ضروری است.

واژه‌های کلیدی: اثر متقابل، گلخانه، ارقام گندم، شاخص، استان گلستان.

Investigation on pathogenicity of *Dilophospora alopecuri*, cause of twist disease of wheat, in interaction with seed gall nematode (*Anguina tritici*)

Hassan Malekiziarati[1], Valiollah Babaeizad[2*], Mohammad Ali Tajiek Ghanbari[3], Ramin Heidari[4] and Mohammad Ali Aghajani[5]
1. PHD Student mycology and plant pathology, Sari Agricultural Sciences and Natural Resources University, Sari,Iran
2. Associate Professor, Department of plant protection, Sari Agricultural Sciences and Natural Resources University, Sari, Iran
3. Associate Professor, Department of plant protection,Sari Agricultural Sciences and Natural Resources University, Sari, Iran
4. Associate Professor, Department of plant protection,Sari Agricultural Sciences and Natural Resources University, of Tehran, Iran
5. Associate Professor, Department of Plant Protection, Agricultural and Natural Resources Research Center of Golestan Province, Gorgan, Iran
(Received: Oct, 29, 2021 - Accepted: Jun, 19, 2022)

ABSTRACT

Twist disease of wheat caused by *Dilophospora alopecuri* is one of the diseases that is observed along with wheat seed gall nematode (*Anguina tritici)* in Golestan province. In order to investigate the pathogenicity of the fungus, an experiment was performed in two cases including inoculation of the fungus alone, *D. alopecuri* and the nematode together and nematode alone on 4 cultivars of wheat known as Ehsan, Kouhdasht, Morvarid and Line 17 under greenhouse condition. Traits such as decrease of dry weight of infected plant, decrease of plant height, number of fungus-infected plants, number of spike infected by the fungus, number of nematode-infected plants, total weight of nematode galls, number of nematode galls and average galls weight per plant were measured in different cultivars. The analysis was performed using SAS software, and the comparison of the means was achieved by the LSD test. The results of analysis of variance showed that the interaction between *D. alopecuri* and wheat cultivars and the effect of the fungus on the measured indices in wheat cultivars was significant. The results showed that *D. alopecuri* can cause disease on wheat only in the presence of *A. tritici* and the presence of nematode is necessary for fungal pathogenicity and its distribution in the wheat spike.

Key words: Interaction, greenhouse, indice, wheat cultivar, Golestan province.

* Corresponding author E-mail: babaeizad@yahoo.com

مقدمه

قارچ *Dilophospora alopecuri* (Fr.) Fr 1849 به عنوان عامل بیماری پیچیدگی[1] سنبله گندم شناخته شده است. این بیماری در بسیاری از کشورها ازجمله ایالات متحده آمریکا، کانادا، بخش‌هایی از اروپا، استرالیا و بسیاری از کشورهای آسیایی ازجمله پاکستان، هندوستان، عراق و ایران مشاهده شده است. در اروپا بیماری پیچیدگی سنبله در برخی سال‌ها خسارت قابل‌توجهی به گندم و خانواده گرامینه وارد می‌کند. در استرالیا بیماری به همراه باکتری سمیت چاودار وحشی(ARGT)[2] و نماتود گندم *Anguina* spp. سبب مسمومیت دام‌ها می‌گردد (Mc kay *et al.*, 1981; Riley *et al.*, 1998). این بیماری اولین بار در ایران از روی میزبان‌های مختلف به همراه نماتود گندم و باکتری خوشه صمغی گزارش شد (Bamdadian, 1973). این بیماری تابحال در استان‌های سیستان و بلوچستان، خراسان، خوزستان، ایلام، فارس و گلستان مشاهده شده است. در استان گلستان بیماری به همراه نماتود گال دانه گندم سبب خسارت به مزارع گندم می‌گردد. خصوصیات بیماریزایی این قارچ تاکنون بطور مبسوط مطالعه نشده است. این قارچ تولید پیکنیدیوم نموده که در داخل آن‌ها اسپورهایی با زوائد چنگک مانند[3] وجود دارند که به بدن لارو سن دوم نماتود گندم می‌چسبند و توسط نماتود به قسمت‌های بالایی گیاه ازجمله برگ و سنبله انتقال می‌یابند و بیماری را ایجاد می‌کنند (Riley *et al.*, 1998; Riley and McKay, 1990). این بیماری در پاکستان نیز گزارش و به عنوان بیماری بذر زاد معرفی گردید (Asad *et al.*, 2007). بیماری اولین بار از روی گیاه جو در عراق گزارش شد(Lib and Nimer,1989). جدایه‌های قارچ *D. alopecuri* در برخی از کشورها ازجمله استرالیا در تعامل با گونه‌های نماتود گال گندم و بیماری سمیت چاودار وحشی ناشی از باکتری *Rathayibacter toxicus* بوده و به عنوان آنتاگونیست عمل نموده و در کاهش جمعیت نماتود گال گندم و باکتری مؤثر است (Macek *et al.*, 1981: Sahebani *et al.*, 2005). در مدیریت بیماری سمیت چاودار وحشی در استرالیا قارچ *D. alopecuri* در حالت‌های مختلف مثل کشت روی گندم استریل شده، سوسپانسیون اسپور در غلظت‌ها و مراحل رشدی مختلف روی ارقام گندم مایه‌زنی شد و میزان بیماری مسمومیت ناشی از چاودار وحشی و تاثیر فعالیت آنتاگونیستی قارچ بررسی شد (Barbetii and Riley, 2006). در بررسی تعامل نماتود گالزای گندم و باکتری عامل خوشه صمغی *R. tritici* بیماری خوشه صمغی بدون حضور نماتود به وجود نخواهد آمد و باکتری هم به تنهایی قادر به نفوذ مستقیم، و یا از راه زخم نبوده است (Sahebani *et al.*, 2005). بیماری‌زایی قارچ دیلوفوسپورا روی غلات، وابستگی زیادی به نماتود گال دانه گندم دارد و نماتود *A. tritici* ناقل کنیدی‌های قارچ بوده و آن‌ها را به برگ‌های بالایی و سنبله انتقال می‌دهد (Macek *et al.*, 1981; Bamdadian,1973; Chen *et al.*, 2004). در اروپا قارچ *D. alopecuri* به‌طور معنی‌داری سبب خسارت اقتصادی به گندمیان می‌شود و ناقل آن نماتود *A. tritici* است (Riley *et al.*,1998). در مورد بیماری‌زایی نماتود به‌تنهایی در بلغارستان مطالعات زیادی انجام شد و صفاتی نظیر طول ساقه، ریشه، برگ و تعداد گال نماتود در گیاه و تعداد لارو سن دوم در دانه ارقام مختلف گندم مورد ارزیابی قرار گرفت (Mohamedova and Pipeerkova, 2013). روش‌های مختلفی در مایه‌زنی نماتود گال گندم بر روی ارقام در شرایط مزرعه مورد بررسی قرارگرفت(Khan *et al.*, 1996). حساسیت و مقاومت ارقام گندم و جو به قارچ عامل بیماری در میزان وقوع و شدت بیماری مؤثر است. مقاومت برخی از ارقام جو به بیماری پیچیدگی سنبله در عراق نیز گزارش‌شده است(Lib *et al.*, 1989). در آزمایشی از ۱۵ رقم گندم جهت بررسی مقاومت و حساسیت به بیماری پیچیدگی سنبله، رقم Mexipak بیشترین حساسیت، در حالیکه ارقام Abu-Gharib 1 و Jerardo -574 , Saberbeg, Aras, Mexicali, Storck بیشترین مقاومت را به بیماری نشان دادند (Ldawi *et*

1 Twist disease
2 Annual RayGrrass Toxicity
3 Appendage

(*al*.,1988. همچنین در بررسی میزان حساسیت ۸ رقم گندم در یوگسلاوی نشان داده شد ارقام jugoslavijaو Macvanka دارای مقاومت و ارقام lonja و NS rana حساسیت شدید داشتند(Macek *et al*., 1988). هدف از انجام این پژوهش بررسی بیماری‌زایی قارچ عامل بیماری پیچیدگی سنبله در تعامل با نماتود گال دانه بر روی ارقام گندم آبی و دیم استان گلستان در شرایط گلخانه‌ای می‌باشد که برای اولین بار در کشور انجام می‌شود.

مواد و روش‌ها

تهیه زاد مایه قارچ

در اردیبهشت ماه سال زراعی ۹۸-۱۳۹۷ جداسازی قارچ عامل بیماری پیچیدگی خوشه و سنبله از نمونه های انتخاب شده مزارع مشکوک به آلودگی در استان گلستان انجام شد. پس از کشت و جداسازی جدایه‌ها بر روی محیط کشت سیب‌زمینی دکستروز آگار[4]، شناسایی ریخت‌شناسی (اندازه‌گیری صفات مرفولوژیک از قبیل کنیدی و پیکنیدیوم و زائده اسپور در قارچ عامل بیماری) و مولکولی (نتایج در اینجا ارایه نشده است) با استخراج DNA و با استفاده از جفت آغازگر ITS4 ,5 انجام شد. جدایه‌های قارچ عامل بیماری تأیید و در پایگاه بانک ژنNCBI با شماره دسترسی‌های توالی MW291561, MW291507, MW303518, MW303517, MW302360, MW303438 ثبت و برای آزمایشات مورد استفاده قرار گرفتند. جهت تهیه زاد مایه، قارچ بر روی محیط کشت PDA کشت و تکثیر شد و سپس به‌وسیله لام هموسایتومتر اینوکلوم $۱/۷۵\times۱۰^{۶}$ در میلی‌لیتر شمارش و زادمایه مورد نظر تهیه گردید (Barbetii and Riley, 2006).

تهیه زاد مایه نماتود

تعدادی گال نماتودی جداسازی شده از مزارع آلوده استان گلستان پس از ضدعفونی سطحی با محلول ماده سفیدکننده تجارتی با یک درصد ماده موثره به مدت ۲ دقیقه و شستشو در آب مقطر استریل به مدت ۲۴ ساعت در آب مقطر استریل قرار داده شدند. در این مدت درصد زیادی ازلاروها خارج و با متلاشی کردن گال‌ها با پنس لاروها از گال خارج شده و به بوته‌ها مایه‌زنی شدند(Sahebani *et al*., 2005) .

تهیه ارقام گندم

بذر ارقام گندم آبی شامل احسان، مروارید و ارقام دیم کوهدشت و لاین شماره ۱۷ گواهی‌شده، از بخش اصلاح بذر و نهال مرکز تحقیقات کشاورزی و منابع طبیعی استان گلستان تهیه و جهت آزمون‌های اثبات بیماری‌زایی مورد استفاده قرار گرفتند.

آزمایش بررسی بیماری‌زایی قارچ عامل پیچیدگی سنبله(*D. alopecuri*) در تعامل با نماتود گال دانه گندم در شرایط گلخانه

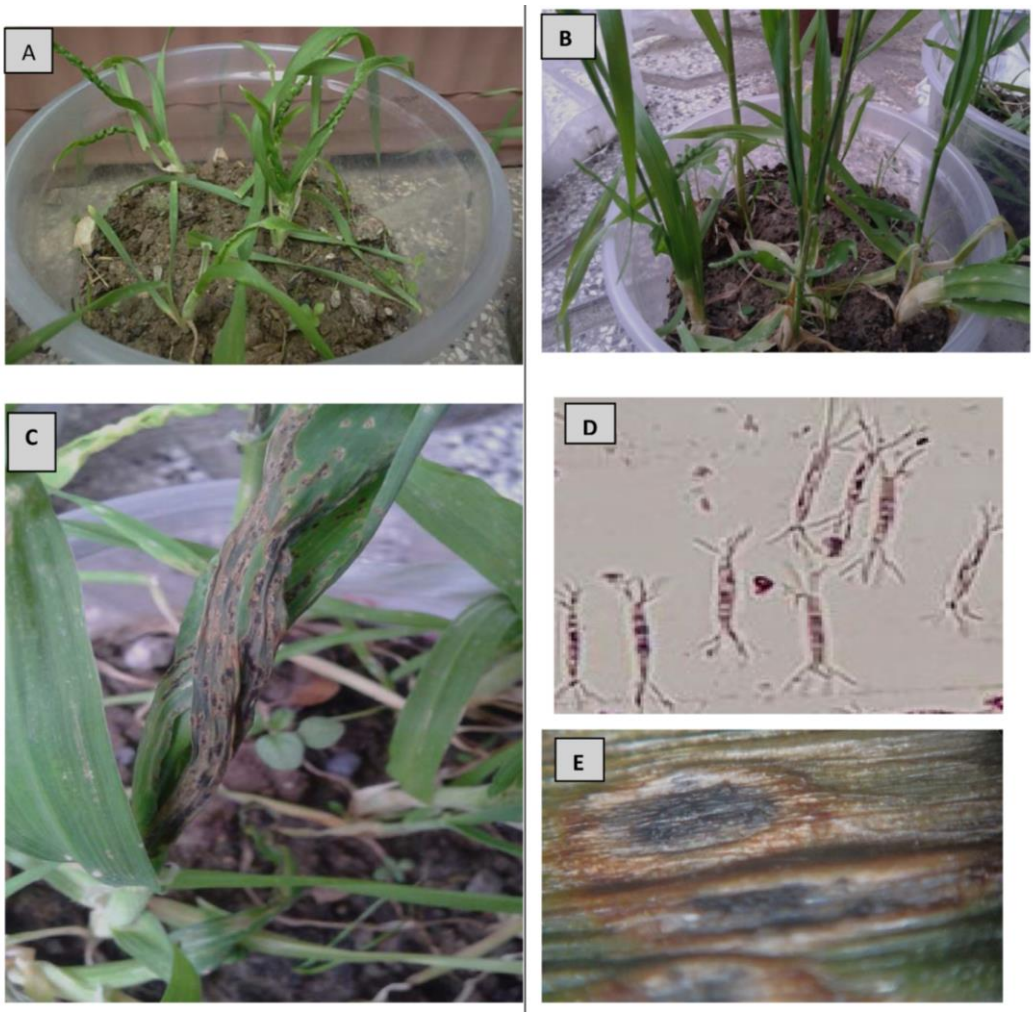
در آذرماه سال ۱۳۹۸ ارقام متداول گندم در گلخانه بیماری‌های غلات مرکز تحقیقات کشاورزی استان گلستان کاشته شدند. در هر گلدان یک بارمصرف با حجم ۳ کیلوگرم، مخلوط خاک استریل و هوموس با نسبت ۲ به ۱ ریخته و بذور هر رقم به تعداد ۴عدد و در ۴ تکرار کشت شد. جهت بررسی بیماریزایی، آزمایشی در دو حالت طراحی گردید.

۱- بررسی بیماریزایی درحالتی که قارچ *D. alopecuri* به تنهایی به گیاه مایه‌زنی شدند. بدین منظور اسپور قارچ با غلظت $۱/۷۵\times۱۰^{۶}$ در میلی‌لیتر استفاده شد (Barbetii and Riley, 2006). آلوده سازی در دو مرحله یکی با ایجاد خراش بر روی برگها در مرحله گیاهچه و دیگری از طریق تزریق توسط سرنگ در مرحله گلدهی به ارقام گندم صورت گرفت. گیاهان شاهد فقط با آب مقطر استریل مایه‌زنی شدند.

۲- بررسی بیماریزایی درحالتی که قارچ و نماتود همزمان یه گیاه مایه‌زنی شدند و اسپورهای قارچ با غلظت‌های $۱/۷۵\times۱۰^{۶}$ در میلی‌لیتر (Barbetii and Riley, 2006) و نماتود با غلظت ۲۰۰۰۰ لارو سن دوم به ازای هر بوته به روش (Khan *et al*., 1996) تهیه و مخلوط گردیدند. سوسپانسیون حاوی قارچ و نماتود

4 Potato Dextrose Agar

به مدت ۳ ساعت در دمای ۲۳ درجه سلسیوس قرار داده شد تا امکان چسبیدن کنیدی های قارچ به لارو سن دوم نماتود فراهم شود و سپس در اطراف بذور کشت شده با سرنگ مایه‌زنی شد. در تیمارهای نماتود به‌تنهایی نیز جمعیت ۲۰۰۰۰ لارو تهیه و در اطراف بذر با سرنگ مایه‌زنی شدند. مراحل داشت از قبیل آبیاری بوته‌ها و غیره انجام گردید. تیمارها در دمای گلخانه ۱۸ تا ۲۰ درجه سلسیوس و رطوبت نسبی ۶۰٪ و ۱۶ساعت روشنایی و ۸ ساعت تاریکی نگهداری شدند. پس از ۸۰ روز در مرحله پنجه‌زنی بوته‌ها، علائم بیماری به صورت پیچیدگی برگها و لکه برگی قارچی روی آنها ظاهر شدند (شکل۱).



شکل ۱. آلودگی رقم مروارید به نماتود گال دانه گندم در شرایط گلخانه (A) ظهور اولین لکه‌های ناشی از آلودگی قارچ *D. alopecuri* بر روی بوته‌ها (B) آلودگی شدید آلودگی قارچی به همراه نماتود در رقم مروارید (C) لکه‌های قارچی و تشکیل اندام پیکنیدیوم و کنیدیوم قارچ عامل بیماری (E وD)

Figure1. Infection of Morvarid cultivar with seed gall nematode in greenhouse condition (A); appearance of the first leaf spots of *D. alopecuri* on plant (B); severe disease in Morvarid cultivar (C); leaf spot, pycnidium and conidia of *D. alopecuri* (D)

شاخص‌هایی از قبیل درصد کاهش وزن خشک بوته‌های آلوده به شاهد، درصد کاهش ارتفاع بوته‌های آلوده به بیماری به شاهد، تعداد خوشه آلوده به قارچ، تعداد بوته آلوده به قارچ، تعداد بوته آلوده به نماتود، میانگین وزن کل گال نماتود برحسب میلی‌گرم و تعداد گال نماتود و متوسط وزن گال نماتود در ارقام

مختلف اندازه‌گیری و ثبت شدند. آزمایش‌ها به‌صورت فاکتوریل در قالب طرح کاملاً تصادفی با عامل بیماری در ۳ سطح (شاهد، نماتود به‌تنهایی و قارچ + نماتود بطور همزمان) و عامل رقم در ۴ سطح (احسان، مروارید، کوهدشت و لاین ۱۷) در ۴ تکرار انجام شدند. داده‌ها با استفاده از نرم‌افزار آماری SAS 9.1 (SAS Institute, 2003) تجزیه واریانس گردیدند. اختلاف بین میانگین‌ها با استفاده از آزمون LSD و در سطح احتمال یک درصد مقایسه شدند و برای رسم نمودارها از نرم‌افزار Microsoft Excel 2010 استفاده گردید.

نتایج

قارچ استفاده شده در این تحقیق پس از جداسازی از بوته‌های آلوده و کشت آن‌ها بر روی محیط کشت PDA با استفاده از مشخصات ریخت‌شناسی بر مبنای کلید واکر و ساتون ۱۹۷۴ (Walker and Sutton,1974) و شناسایی مولکولی (Vu *et al*, 2019) به‌عنوان جنس *Dilophospora* و گونه *D. alopecuri* تشخیص داده شد. نماتود گال گندم جداسازی شده هم از برگ‌های دفرمه شده و گال‌های سبز تیره، نماتود نر و ماده بالغ بر اساس خصوصیات ریخت‌شناسی و مورفومتریک *Anguina tritici* تشخیص داده شد (Sahebani *et al*., 2005). بیماری‌زایی بر روی ارقام مختلف مشاهده شد و سپس عامل بیماری از آن‌ها جداسازی گردید. علائم بیماری بیشتر به‌صورت کوتولگی بوته‌ها، پیچش سنبله، دفرمه شدن برگ‌ها، تشکیل اندام بارده قارچ و تشکیل گال‌ها توسط نماتود بود. در اثر آلودگی بسیاری از قسمت‌های گیاه گندم ازجمله برگ‌ها و سنبله‌ها تحت تأثیر بیماری قرار می‌گیرند. بیماری به همراه نماتود گال گندم سبب پیچیدگی و دفرمه شدن برگ‌ها و سنبله های گندم شده و در اثر شدت یافتن بیماری پیکنیدیوم روی ساقه و برگ‌ها و سنبله تولید گردید (شکل ۱). نتایج مایه‌زنی قارچ به تنهایی نشان داد که جدایه‌های قارچ در استان گلستان بدون حضور نماتود قادر به ایجاد بیماری نمی‌باشند. مطالعات کمی در زمینه شناسایی ریخت‌شناسی و مولکولی و بیماری‌زایی این قارچ در کشور صورت گرفته است و به دلیل اهمیت موضوع در این پژوهش جنبه‌های بیماری‌زایی قارچ مورد بررسی قرارگرفته است. نتایج تجزیه واریانس اثر متقابل بیماری (نماتود، قارچ و نماتود به‌صورت همزمان) و ارقام گندم (احسان، مروارید، کوهدشت و لاین شماره۱۷) در بررسی بیماری‌زایی نشان داد که بین شاخص‌هایی شامل وزن خشک بوته‌ها و متوسط وزن گال نماتود در سطح احتمال ۵ درصد و شاخص‌هایی نظیر ارتفاع بوته، تعداد بوته‌های آلوده به قارچ، تعداد بوته‌های آلوده به نماتود، تعداد سنبله‌های آلوده به قارچ در سطح احتمال ۱ درصد اختلاف معنی‌دار وجود داشت. اثر متقابل در مورد شاخص تعداد گال نماتودی غیر معنی‌دار بود ولی در تیمار بیماری در سطح احتمال ۱ درصد معنی‌دار بود (جدول ۱).

جدول ۱. تجزیه واریانس صفات مورد بررسی در بیماری‌زایی قارچ پیچیدگی سنبله *D. alopecuri* در تعامل با نماتود گندم *A. tritici*

Table1. Analysis of studied traits of pathogenicity of *D. alopecuri* in interaction with *A. tritici*

Source of variation	Df	Means of square						
		Reduction of plant dry weight (%)	Reduction of plant height (%)	Number of infected plants by fungus	Number of infected plants by nematode	Number of infected spikes by fungus	Weight of nematode galls (mg)	Number of nematode galls
cultivar	3	149.88*	60.82**	0.44**	1.77**	0.55**	2590.02**	8.4ns
inoculation	2	24379.93**	7417.72**	65.33**	65.33**	8.33**	51618.3**	1847.52**
Cultivar* inoculation	6	271.85*	25.06**	0.44**	0.44**	0.55**	959.14*	12.65ns
36	Error	166.59	12.34	0	0	0.055	401.85	9.14
Total	47							

ns: غیر معنی‌دار * : معنی‌دار در سطح احتمال ۵ درصد **: معنی‌دار در سطح احتمال ۱ درصد

Ns: non- significance difference; * significant difference % 5; ** significant difference % 1

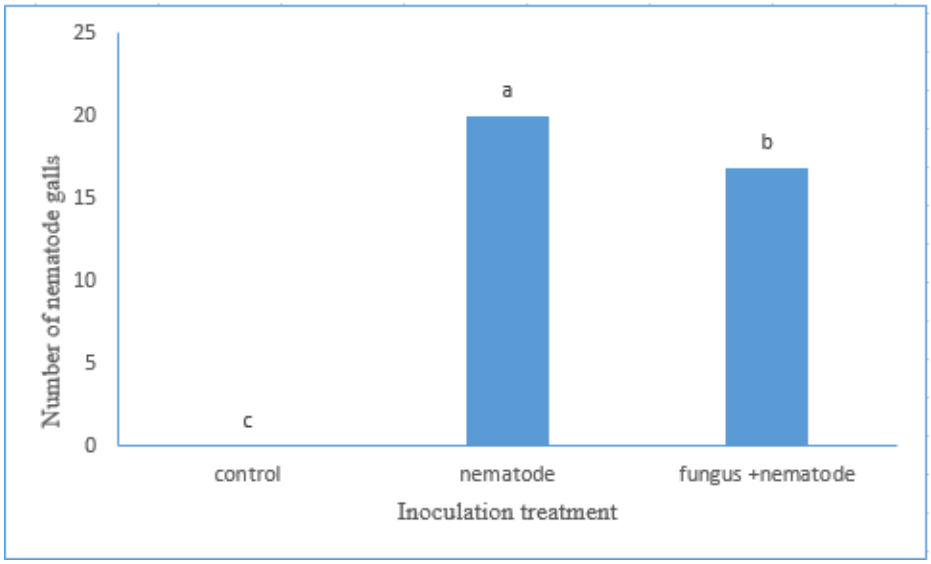
نتایج مقایسه میانگین شاخص‌های مورد بررسی نشان داد که در تیمار بوته‌ها با مایه‌زنی قارچ و نماتود هم‌زمان تفاوت معنی‌داری بین ارقام موردمطالعه مشاهده می‌شود. نتایج آزمایشات گلخانه‌ای نشان داد که قارچ در حضور نماتود قادر به ایجاد بیماری است و شاخص‌هایی از جمله وزن خشک بوته‌ها، تعداد بوته آلوده به قارچ و تعداد بوته آلوده به نماتود در ارقام مختلف اختلاف معنی‌دار داشته و در رقم احسان نسبت به ارقام دیگر تفاوت معنی‌دار مشاهده می‌شود. نتایج مقایسه میانگین درصد کاهش وزن خشک بوته‌ها نشان داد که بیشترین میزان در ارقام گندم احسان، مروارید، کوهدشت و لاین شماره ۱۷ اختصاص داشتند و از ۵۱ تا ۷۷ درصد نسبت به تیمار شاهد اندازه گیری گردید و قارچ عامل بیماری و نماتود تأثیر معنی‌داری بر وزن خشک بوته‌ها با ایجاد علائمی نظیر کوتولگی و پیچیدگی و دفرمه شدن برگ‌ها داشتند و مقدار وزن خشک بوته‌ها کاهش نشان داد. ارتفاع بوته‌ها نیز تحت تأثیر قارچ و نماتود بود، بطوریکه میانگین درصد کاهش ارتفاع بوته‌های آلوده به قارچ و نماتود بین ۳۱ تا ۴۱ درصد نسبت به شاهد اندازه‌گیری شد و نشان‌دهنده این است که یکی از علائم بیماری کوتولگی بوته‌ها، کلروز و پیچش برگ‌ها بوده و صفاتی نظیر ارتفاع بوته‌ها و وزن خشک را تحت تأثیر قرار می‌دهد. نتایج مقایسه میانگین تعداد بوته آلوده به قارچ و تعداد سنبله آلوده به قارچ نشان داد که بین تیمارها اختلاف معنی‌دار وجود دارد و در ارقام گندم احسان و مروارید با میانگین ۴ بوته در مقایسه با دو رقم کوهدشت و لاین شماره ۱۷ میزان آلودگی بوته‌ها و تعداد بوته آلوده به قارچ و تعداد خوشه آلوده به قارچ پیچیدگی سنبله بیشتر بوده و نشان‌دهنده آن است که ارقام احسان و مروارید نسبت به دو رقم دیگر حساسیت بیشتری به قارچ و نماتود دارند و آلودگی سریع‌تر گسترش می‌یابد. نتایج مقایسه میانگین تعداد بوته آلوده به نماتود نیز نشان داد که رقم احسان و مروارید با میانگین تعداد ۴ بوته نسبت به سایر ارقام، آلوده به نماتود گال گندم شدند و علائم نماتودی در آن‌ها شدید بود. نتایج مقایسه میانگین متوسط وزن کل گال نماتودی نشان داد که بیشترین میانگین وزن گال نماتودی در رقم احسان با مقدار ۱۳۷/۵ میلی‌گرم نسبت به سایر ارقام معنی‌دار بوده است و از این لحاظ نیز رقم احسان حساس به نماتود بود و رقم مروارید در جایگاه بعدی قرار گرفت (جدول ۲). اما اثر متقابل شاخص متوسط تعداد گال نماتود غیر معنی‌دار بوده و فقط در تیمار مایه‌زنی در سطح احتمال ۱ درصد معنی‌دار شد (شکل ۲).

جدول ۲. مقایسه میانگین شاخص‌های مورد بررسی در بیماری‌زایی قارچ پیچیدگی سنبله *D. alopecuri* در تعامل با نماتود گندم *A. tritici* (حروف مشابه در هر ستون، تفاوت معنی‌دار با یکدیگر ندارند)

Table2. Mean comparison of characteristics of pathogenicity of *D. alopecuri* in interaction with *A. tritici* (The same letters in each column have not significant difference)

Wheat cultivar	treatment	Reduction of plant dry weight (%)	Reduction of plant height (%)	Number of infected plants by fungus	Number of infected plants by nematode	Number of infected spikes by fungus	Weight of nematode galls (mg)	of Number nematode galls
Ehsan	C	0^{d}	0^{d}	0^{c}	0^{c}	0^{e}	0^{e}	0^{d}
	N	51.25^{c}	41.77^{a}	0^{c}	4^{a}	0^{e}	137.5^{a}	18.25^{ab}
	FN	70.3^{ab}	37.72^{ab}	4^{a}	4^{a}	2^{a}	117.25^{ab}	17.25^{abc}
Morvarid	C	0^{d}	0^{d}	0^{c}	0^{c}	0^{e}	0^{e}	0^{d}
	N	77.15^{a}	36.15^{bc}	0^{c}	4^{a}	0^{e}	103^{bc}	21.5^{a}
	FN	66.12^{abc}	35.35^{bc}	4^{a}	4^{a}	1.5^{b}	93.25^{bc}	13.5^{c}
Kouhdasht	C	0^{d}	0^{d}	0^{c}	0^{c}	0^{e}	0^{e}	0^{d}
	N	75.85^{ab}	39.35^{ab}	0^{c}	3^{b}	0^{e}	95^{bc}	21^{ab}
	FN	67.92^{abc}	41.45^{a}	3^{b}	3^{b}	1^{c}	56.25^{d}	19.5^{ab}
Line17	C	0^{d}	0^{d}	0^{c}	0^{c}	0^{e}	0^{e}	0^{d}
	N	58.62^{bc}	31.85^{c}	0^{c}	3^{b}	0^{e}	86.75^{c}	19.25^{ab}
	FN	73.07^{ab}	34.7^{bc}	3^{b}	3^{b}	0.5^{d}	89.75^{bc}	17^{bc}

C: Control (healthy plants), N: nematode alone, F+N; inoculation with fungus and nematode simultaneously



شکل ۲. مقایسه میانگین تعدادگال نماتود در مایه‌زنی ارقام گندم با قارچ عامل پیچیدگی سنبله و نماتود گال گندم

Figure2. Average means of nematode galls in wheat cultivar treated by *Dilophospora alopecuri* and *Anguina tritici*

بحث

نتایج به دست آمده از این پژوهش نشان داد که جدایه‌های قارچ عامل بیماری پیچیدگی سنبله گندم (*D. alopecuri*)فقط در حضور نماتود گال گندم قادر است در گیاه ایجاد آلودگی نماید. نمونه‌برداری از بوته‌های بیمار در بیشتر نقاط استان گلستان از غرب یعنی شهرستان بندر ترکمن تا شرق شهرستان مراوه‌تپه نشان داد که همه‌ی نمونه‌های قارچ به همراه علائم پیچیدگی نماتود می‌باشند و علائم آلودگی به‌صورت کوتولگی بوته‌ها، پیچش سنبله، دفرمه شدن برگ‌ها، تشکیل اندام بارده قارچ و گال‌های نماتود است. این علائم در همه بررسی های گذشته مرتبط با این بیماری نیز ذکر شده است (Macek *et al*., 1981; Bamdadian,1973; Chen *et al*., 2004; Asad *et al*. 2007). در اثر آلودگی، بسیاری از قسمت‌های گیاه گندم از جمله برگ‌ها و سنبله‌ها تحت تأثیر قرار می‌گیرند و در ادامه‌ی پیشرفت بیماری، پیکنیدیوم‌های قارچ بیمارگر روی ساقه، برگ‌ها و سنبله تولید می‌گردد. بعد از مایه‌زنی قارچ و نماتود در دو حالت مختلف روی ارقام متداول گندم استان گلستان در گلخانه، نتایج مقایسه میانگین اکثر شاخص‌ها نشان دادند که رقم احسان حساسیت بیشتری به قارچ و نماتود گال گندم دارد و نماتود توانسته به‌خوبی گیاه را آلوده نموده و بالطبع بیماری قارچی را نیز گسترش داده است که این پدیده با نتایج سایر پژوهش‌ها مطابقت دارد (Ldawi *et al*., 1988; Macek *et al*., 1988).

رقم مروارید در رتبه بعدی از لحاظ حساسیت قرار گرفت. تعداد سنبله آلوده به قارچ در رقم احسان و مروارید بیشترین بود که این مساله، حساسیت ارقام را در برابر آلودگی قارچ و نماتود نشان می‌دهد. تعداد گال نماتود گندم (شکل ۲) و متوسط وزن کل گال‌های نماتود نیز در رقم احسان در دو حالت مایه‌زنی با قارچ و نماتود همزمان و نماتود به‌تنهایی نسبت به سایر ارقام بیشترین بود (جدول۲) که با نتایج سایر پژوهش‌ها مشابهت دارد (Mohamedova and Pipeerkova,2013; Barbetii and Riley, 2006; Yan and Riley, 2003). نتایج مقایسه میانگین تعداد گال نماتد در ارقام گندم مایه‌زنی شده در تیمار قارچ و نماتد همزمان اثر معنی دار نسبت به مایه‌زنی نماتد تنهایی به بوته‌ها داشت (شکل ۲) و باعث شده تعداد گال کمتر تشکیل شود که این امر ناشی از کلونیزه شدن سنبله گندم توسط قارچ می باشد. این نتیجه با تحقیقات سایر محققین که این مورد را به اثر آنتاگونیستی قارچ *D. alopecuri* بر علیه نماتود نسبت دادند، مشابهت دارد (Riley *et al*.,1998). در بررسی

تعامل نماتود گالزای گندم و باکتری خوشه صمغی، صفاتی نظیر تعداد گال نماتود، درصد آلودگی باکتری با میزان جمعیت نماتود و مراحل رشد گیاه مورد بررسی قرار گرفت (Sahebani *et al*., 2005). فعالیت آنتاگونیستی قارچ *D. alopecuri* در تعامل با نماتود گندم و باکتری عامل سمیت چاودار وحشی در استرالیا مورد بررسی قرارگرفت (Mc kay *et al*.,1981; Riley *et al*.,1998). در تحقیقی، درصد فراوانی قارچ روی گیاهان آلوده به نماتود یادداشت‌برداری شد و گال‌های نماتود در ۲۸ هفته پس از مایه‌زنی شمارش شدند. بر اساس نتایج درصد گیاهان آلوده به قارچ در هفته‌های پانزدهم و هفدهم به ترتیب ۸۸ و ۶۸ درصد اندازه‌گیری شد (Riley *et al*.,1998). همچنین با استفاده از قارچ *D. alopecuri* در مزرعه، درصد سنبله‌های دارای پیچیدگی، تعداد گال نماتود و تعداد گال باکتری*R. toxicus* در تیمارهای مختلف در دو سال زراعی تعیین شد. نتایج نشان داد که تیمار باکتری با زادمایه‌های قارچ به‌جز هفته هشتم، اثر معنی‌داری در کلونیزه کردن گال نماتود و باکتری داشته است (Barbetii and Riley, 2006). در ارتباط بین دو عامل قارچ و نماتود فاکتورهای محیطی ازجمله میزان رطوبت در توازن بیماری مؤثر است. اثر دوره تخمیر، میزان رطوبت در تعامل آنتاگونیستی بین قارچ *D. alopecuri* و باکتری عامل سمیت چاودار وحشی نیز در تحقیقی بررسی شد(Yan and Riley, 2003) .

مطالعات اندکی در زمینه تعامل سه عامل بیماری یعنی قارچ *D. alopecuri* ، نماتود گندم و باکتری خوشه صمغی (گونه *R. iranicus* و *R. tritici*) در ایران صورت گرفته و تنها یک گزارش از بامدادیان (۱۹۷۳) موجود است که نیاز به تحقیقات بیشتری است.

نتیجه‌گیری کلی

نتایج حاصل از این پژوهش نشان داد که تمامی ارقام گندم مورد بررسی استان گلستان توسط قارچ عامل پیچیدگی سنبله آلوده می شوند. قارچ عامل بیماری در استان گلستان فقط در حضور نماتود گال دانه گندم در مزرعه و گلخانه قادر به آلودگی ارقام مختلف گندم بود. نماتود گال گندم نقش مهمی در انتقال و انتشار بیماری در سنبله گندم دارد. ارقام احسان و مروارید با بررسی شاخص‌ها، حساس‌ترین ارقام به بیماری در استان گلستان تعیین شدند. جهت کنترل بیماری و تعیین مقاومت ارقام به بیماری نیاز به آزمایشات بیشتری در گلخانه و مزرعه می‌باشد.

سپاسگزاری

بدین‌وسیله از حمایت‌ها و تأمین امکانات مرکز تحقیقات و آموزش کشاورزی و منابع طبیعی استان گلستان در مراحل انجام این پژوهش، تشکر و قدردانی می‌شود.

REFERENCES

1. Asad, S. A., Sultan, S., Iftikhar, A., Mumir, I. A. & Ayub, N. (2007). First report of *Dilophospora* leaf spot (Twist) disease of wheat in Pakistan. *Pakistan Journal of Botany*, 39 (4), 1387-1389.
2. Bamdadian, A. (1973). The importance and situation of wheat diseases in Iran. *Iranian Journal of Plant Pathology*, 9, 57-63. (In Farsi)
3. Barbetti, M. J. & Riley, I. T. (2006). Field application of *Dilophospora alopecuri* to manage annual rye grass toxicity caused by *Rathayibacter toxicus*. *Plant Disease*, 90, 229-232.
4. Chen, Z. X., Chen, S. Y. & Dickson, D. W. (2004). *Nematode morphology, physiology and ecology*. University of Florida. CABI Publishing, 636 pp.
5. Khan, M. R. & Athar, M. (1996). Response of wheat cultivars to different inoculum levels on *Anguina tritici*. *Nematologia meditrranea*, 24: 269- 272.
6. Ldawi, A. B., Jawad, A., Shally, R., Darweash, A. K, Lib, A., Nimer S. M. & Ffy, A. S. (1988). A preliminary study on the role of the fungus *Dilophospora alopecuri* and the nematode *Anguina tritici* in the development of the twist of cereals disease in Iraq. *Arab Journal plant protection*, 6, 7-12.
7. Al-Taae, A. K., Altalyb, N. Y. & Nimer, S. M. (1989). New record of barley leaf and spike twist disease caused by *Dilophospora alopecuri* (Fr.) in Iraq. *Arab Journal plant protection*, 7(1), 67-68. (In Arabic).
8. Macek, J. & Koncan, D. (1988). Artificial inoculation of wheat *Triticum aestivum* with *Dilophospora alopecuri* and the sensitivity resistance of some wheat cultivars. *Zastia Bilja*, 39(2), 211-216.

9. Mc Kay, A. C., Fisher, J. M. & Dube, J. (1981). Ecological fields studies on *Anguina funesta* the vector in annual ryegrass toxicity. *Australian Journal Agriculture Research*, 32, 917-926.
10. Mohamedova, M. & Pipeerkova, N. (2013). Seed gall nematode *Anguina tritici* in Bulgaria; Nematode impact on wheat growth and grain yield. *AgroLife Scientific Journal*, 2 (2), 15-19.
11. Riley, I. & McKay, A. (1990). Specificity of the adhesion of some plant pathogenic micro-organisms to the cuticle of nematodes in the genus *Anguina* (Nematoda: Anguinidae). *Nematologica*, 36(1), 90-103.
12. Riley, I. T., Reardon, T. B. & Bertozzi, T. (1998). Allozyme analysis of Australian isolates of *Dilophospora alopecuri*. *Mycological Research*, 102(3), 301-307.
13. Sahebani, N., Kheiri, A., Rahimian, H. & Sharifi Tehrani, A. (2007). Effect of *Rathayibacter tritici* on Movement of *Anguina tritici* Larvae and Nematode Function as Vector of Ear Rot Bacterium. *Journal of Science and Technology of Agriculture and Natural Resources*, 10(4), 357-364. (In Farsi).
14. Vu, D., Groenewald, M., de Viies, M., Gehrmann, T., Stielow, B., Eberhardet, U., AL-Hatmi, A., Groenewald, J. Z., Cardinali, G., Houbraken, J., Boekhou, T., Crous, P. W, Robert, V. & Verkley, G. J. M. (2019). Large-scale generation and analysis of filamentous fungal DNA barcodes boosts coverage for kingdom fungi and reveals thresholds for fungal species and higher taxon delimitation. *Studies in Mycology*, 92, 1–20.
15. Walker, J. & Sutton, B. C. (1974). *Dilophia* Sacc. And *Dilophospora* Desm. *Transactions of the British Mycological Society*, 62(2), 231-241.
16. Yan, G. & Riley, I. T. (2003). Fermentation period, moisture content, and substrate effects on inoculum effectiveness of *Dilophospora alopecuri*: a biocontrol agent of annual ryegrass toxicity. *Biological Control*, 26, 174–179.

هیچ‌گونه تعارض منافع توسط نویسندگان وجود ندارد.