

## تأثیر کاربرد سالیسیلیک اسید در القاء مقاومت گندم به بیماری سپتوریای برگی (STB) با عامل *Zymoseptoria tritici*

آزاده قانعی<sup>۱</sup>, ناصر صفائی<sup>۲\*</sup>, رحیم مهرابی<sup>۲</sup>, فروغ سنجریان<sup>۳</sup>

۱. دانشجوی دکتری و دانشیار گروه بیماری‌شناسی گیاهی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه تربیت مدرس، تهران

۲. دانشیار موسسه تحقیقات اصلاح و تهیه نهال و بذر، سازمان تحقیقات، آموزش و نویج کشاورزی، کرج

۳. استادیار پژوهشگاه ملی مهندسی ژنتیک و زیست فناوری، تهران

(تاریخ دریافت: ۱۳۹۵/۱۲/۲۱ - تاریخ تصویب: ۱۳۹۶/۳/۳۰)

### The effect of salicylic acid application on the reduction of wheat septoria leaf blotch (STB) symptoms causing by *Zymoseptoria tritici*

Azadeh Ghaneie<sup>1</sup>, Naser Safaei<sup>1\*</sup>, Rahim Mehrabi<sup>2</sup>, Forough Sanjarian<sup>3</sup>

1. Ph.D. Candidate of Plant Pathology and Associate Professor, respectively, Tarbiat Modares University, Tehran, Iran.

2. Associate Professor, Seed and Plant Improvement Institute, Agricultural Research, Education and Extension Organization (AREEO), Karaj, Iran.

3. Assistant Professor, National Institute of Genetic Engineering and Biotechnology (NIGEB), Tehran, Iran.

(Received: Mar. 12, 2017 - Accepted: Jun. 20, 2017)

#### Abstract

This study was carried out to evaluate the effect of salicylic acid on the reduction of disease severity of *septoria tritici* blotch (STB) in three tetraploid and three hexaploid wheat cultivars, under controlled conditions at seedling stage. The 10-day-old seedlings were initially treated with 0 (control), 1, 2 and 4 mM of salicylic acid with a handy sprayer. After 24 hrs, the seedlings were inoculated with fungal spore suspensions adjusted at  $10^7$  spores/ml. The disease progress was evaluated 21 days post inoculation based on visual estimation of the percentage of leaf area with necrotic lesions bearing pycnidia. The results showed that there were significant differences on the reduction of disease severity among different concentrations of applied salicylic acid as well as among cultivar/concentration interactions. In addition, the results showed that application of salicylic acid reduced disease severity of both tetraploid and hexaploid wheat cultivars and 1 mM salicylic acid was the most effective concentration on the reduction of disease severity. Although, the disease severity was significantly reduced by application of 2 and 4 mM salicylic acid, the effectiveness of these concentrations was less than application of 1 mM. Overall, these results revealed that activation of plant defense systems through application of salicylic acid could play a significant role in systemic acquired resistance against STB disease.

**Keywords:** *Zymoseptoria tritici*, salicylic acid, Septoria leaf blotch, systemic acquired resistance.

E-mail: nsafei@modares.ac.ir

#### چکیده

این تحقیق به منظور بررسی تأثیر سالیسیلیک اسید روی کاهش شدت بیماری سپتوریای برگی گندم (STB) در سه رقم تراپلوبئید و سه رقم هگزاپلوبئید، در شرایط کنترل شده در مرحله گیاهچه‌ای انجام گرفت. گیاهچه‌های ۱۰ روزه گندم ابتدا با سالیسیلیک اسید به غلط‌های صفر (شاهد)، یک، دو و چهار میلی‌مولار با مهپاش دستی تیمار شدند. پس از گذشت ۲۴ ساعت، گیاهچه‌ها با استفاده از سوسپانسیون اسپور قارچ به غلط<sup>۷</sup> اسپور بر میلی‌لیتر مایزنسی شدند. ارزیابی بیماری ۲۱ روز پس از مایزنسی بر اساس تخمین درصد سطح برگی با لکه‌های بافت مرده حاوی پوشش پیکنیدی انجام گرفت. نتایج تجزیه واریانس داده‌ها نشان داد بین سطوح مختلف سالیسیلیک اسید از نظر کاهش شدت بیماری و تأثیر متقابل غلط-رقم اختلاف معنی دار وجود دارد. به طوری که سالیسیلیک اسید در کاهش شدت بیماری در هر دو گروه ارقام تراپلوبئید و هگزاپلوبئید مؤثر بوده و تیمار یک میلی‌مولا ری بیشترین تأثیر در کاهش شدت بیماری را نشان داد. در غلط‌های دو و چهار میلی‌مولا کاهش شدت بیماری معنی دار بود اما میزان اثربخشی سالیسیلیک اسید در القاء مقاومت کمتر از غلط یک میلی‌مولا بود. در مجموع این نتایج نشان داد که فعال کردن سیستم‌های دفاعی گیاه میزبان با استفاده از سالیسیلیک اسید می‌تواند نقش قابل توجهی در القاء مقاومت اکتسابی سیستمیک علیه بیماری سپتوریای برگی در گندم باشد.

**واژه‌های کلیدی:** *Zymoseptoria tritici*, سالیسیلیک اسید، بیماری

سپتوریای برگی گندم، مقاومت اکتسابی سیستمیک.

\* نویسنده مسئول: ناصر صفائی

مناسب گزارش شده است ( Brown & Rosielle, 1980). قارچ کش‌های شیمیایی یکی از راههای مبارزه با این بیماری می‌باشند. کاربرد قارچ کش‌ها همیشه بهترین گزینه نیست، زیرا به محیط زیست آسیب می‌زند، از نظر اقتصادی مقرن به صرفه نیست و پیدایش بیماری‌های مختلف را در انسان و حیوانات به دنبال دارد و به همین دلایل فشارهای زیادی از طرف گروه‌های دوستدار طبیعت براستفاده نکردن از سومون Loughman شیمیایی اعمال می‌گردد ( Thomas, 1992). امروزه قوانین و برنامه‌های ملی و اتحادیه اروپا در خصوص کاهش مصرف سموم، موجب محدودیت کاربرد قارچ کش‌ها گردیده است ( Freier & Boller, 2009).

استفاده از ارقام مقاوم به عنوان روشی مؤثر در مدیریت بیماری سپتوریای گندم می‌باشد ( Brown et al., 2015). در ایران مطالعات متعددی روی مقاومت ارقام گندم نسبت به بیماری سپتوریای برگی انجام شده است. ارزیابی میزان مقاومت ارقام و لاین‌های گندم نسبت به بیماری سپتوریای برگی در ایران غالباً با استفاده از مخلوط جدایه‌های قارچ عامل بیماری و یا در شرایط آلودگی طبیعی انجام گرفته است و نتایج نشان داده تفاوت معنی‌داری از نظر الگوی پرآزاداری در بین جدایه‌ها وجود دارد همچنین اکثر ارقام و لاین‌ها حساس به بیماری بوده و درصد کمی از ژنتیک‌های گندم به عنوان مقاوم یا نیمه مقاوم گزارش شده‌اند ( Ghaneie et al., 2012; Tahermazandarani et al., 2014 ). همچنین در تحقیقی دیگر که بر روی برخی از ژنتیک‌های بومی انجام گرفت نشان داده شد، بین ژنتیک‌های بومی و اثر متقابل بین آن‌ها از نظر آماری تفاوت معنی‌داری وجود دارد که بیانگر وجود مقاومت اختصاصی در بین ژنتیک‌های مختلف نسبت به جدایه‌ها می‌باشد ( Makhdoumi et al., 2014 ). سیستم ایمنی گیاه ترکیبی از ایمنی راه اندازی شده به

## مقدمه

گندم نان (*Triticum aestivum*) و گندم دوروم (*Triticum durum*) مهمترین گیاهان زراعی دنیا هستند که غذای اصلی بیش از یک سوم مردم جهان را تشکیل می‌دهند. گندم گیاهی یک‌ساله، علفی، تک‌لپه‌ای و از تیره گندمیان است ( Arzani 2004 ). عامل Zymoseptoria بیماری سپتوریایی برگی گندم قارچ *Zymoseptoria tritici* ( Desm. ) Quaedvlieg and Crous Petrak & باشد. بیماری اولین بار در ایران توسط ( Esfandiari 1941 ) گزارش شد. بر اساس گزارشات، بیماری در آن زمان پراکنده‌ی محدود داشته اما با آغاز استفاده از ارقام مکزیکی این بیماری با شدت‌های متفاوت در مناطق گندم‌خیز کشور گسترش یافت ( Dadrezaei et al., 2004 ). شرایط محیطی، دمای معتدل و بارندگی در توسعه و پایداری بیماری مؤثر است ( Gilbert et al., 1998 ). داشتن اطلاعات لازم درباره مقدار، توزیع و سرعت تغییرپذیری در جمعیت بیماری برای تفسیر جریان ژنی<sup>۱</sup>؛ فشار انتخاب<sup>۲</sup> و یا تفسیر سیر تکاملی میزان و پاتوژن و در نهایت برای کنترل مؤثر بیماری ضروری می‌باشد. ساختار ژنتیکی ۲۲۱ *Z. tritici* جمع‌آوری شده از پنج استان معمده کشت گندم در ایران با تکنیک AFLP مورد ارزیابی قرار گرفته است، که تمامی پنج جمعیت مورد بررسی در این تحقیق سطح پایینی از تنوع ژنتیکی را نشان دادند. سطوح پایین جریان ژنی و تفرقه ژنتیکی بالا در میان جمعیت‌ها مشاهده شد و خوشبندی‌های متفاوت پنج گروه مجزای ژنتیکی را بر اساس نواحی نمونه‌برداری نشان داد و نتایج این تحقیق نشان داد که ساختار ژنتیکی *Z. tritici* در ایران متفاوت از مطالعات ساختار جمعیتی این بیمارگر در سایر کشورهای است ( Abrinbana et al., 2010 ). از روش‌های مبارزه با بیماری، شخم عمیق مزارع و سوزاندن کاه و کلش است که در کاهش شدت بیماری

1. Gene flow  
2. Selection pressure

(سالیسیلیک اسید و مشتقات آن) با ارزش شده است. مهمترین نقش سالیسیلیک اسید، به عنوان یک مولکول انتقال پیام در واکنش‌های ایمنی گیاهان است (Vlot *et al.*, 2009).

برخلاف حیوانات، گیاهان قادر مکانیسم ایمنی سیستمیک می‌باشند (Király *et al.*, 2013). هرچند هر سلول گیاهی توانایی درک حضور بیمارگر و راه-اندازی پاسخ‌های ایمنی را دارد. به نظر می‌رسد سالیسیلیک اسید هم در واکنش فوق حساسیت هم در مقاومت اکتسابی سیستمیک، نقش داشته باشد. سالیسیلیک اسید یک تنظیم‌کننده مهم و شناخته شده در رشد گیاهی است که با فعال کردن مسیر فنیل پروپانوئید، علاوه بر تأثیر روی رشد و نمو گیاه، نقش مهمی در القاء دفاع گیاه بر علیه استرس‌های زنده و غیر زنده از طریق مکانیسم‌های بیوشیمیایی، Raskin فیزیولوژیکی و مورفو‌لوژیکی بر عهده دارد (Raskin *et al.*, 1990). این ترکیب در آوند آبکشی گیاهان بعد از مایه‌زنی با بیمارگر و قبل از وقوع مقاومت اکتسابی وجود دارد و افزایش غلظت آن موجب القاء شدن پروتئین‌های PR می‌شود. تیمار گیاهان با سالیسیلیک اسید (مثلاً محلول پاشی) منجر به فعال شدن و بیان همان مجموعه از ژن‌های SAR می‌شود که بر اثر القاء توسط بیمارگرها القا و بیان می‌شود. تیمار سالیسیلیک اسید باعث فعال شدن محدوده وسیعی از پاسخ‌های دفاعی در گیاهان مختلف می‌شود. از طرف دیگر در شیره پرورده بسیاری گیاهانی که مورد حمله عوامل بیماری‌زا قرار گرفته‌اند میزان این هورمون به مقدار زیادی افزایش می‌یابد که این امر نشان‌دهنده نقش این ترکیب در انتقال عالیم مقاومت القایی سیستمیک است. همچنین در تعدادی از گیاهان تغییر یافته ژنتیکی که مقدار زیادی سالیسیلات هیدروکسیلاز تولید می‌کنند به دلیل این که این آنزیم سالیسیلیک اسید را به کاتکول تبدیل می‌کند قدرت مقاومت

واسطه الگوهای مولکولی مرتبط با بیمارگر PAMP (PTI) و سپس اینمی راه اندازی شده به واسطه افکتور (ETI) (Jones & Dangl, 2006) می‌باشد. تفاوت عمده بین دو مسیر مربوط به ماهیت مولکول‌های مشتق شده از بیمارگر و شدت و قدرت واکنش‌های ایمنی می‌باشد. اینمی راه اندازی شده به واسطه افکتور، مقاومت پایه‌ای در برابر عمده بیماری‌ها است که برای اصلاح مقاومت در برابر بسیاری از بیمارگرهای بیوتروف و نکروتروف مورد استفاده قرار می‌گیرد. Tsuda & Katagiri, 2010; Thomma *et al.*, ) (Jones & Dangl, 2006 2011;

شکلی از مقاومت در برابر بیماری‌هاست بدون PTI در نظر گرفتن شیوه زندگی بیمارگر. فعال سازی PTI وابسته به تشخیص الگوهای مولکولی مرتبط به بیمارگر (PAMP) است که از مولکول‌های بیمارگر به وجود آمده‌اند (Boller & Felix, 2009). به دنبال یک آلدگی موضعی، گیاهان یک طیف مقاومتی گسترده‌ای در برابر بیمارگرهای گوناگون از جمله، قارچی، باکتریایی و ویروسی نشان می‌دهند. چون این مقاومت در کل گیاه تظاهر پیدا می‌کند، این فرم از مقاومت القایی، مقاومت سیستمیک اکتسابی نامیده می‌شود. شروع مقاومت سیستمیک اکتسابی با تجمع سالیسیلیک اسید، یک طیفی از mRNA های گسترده و پروتئین‌هایی که شده از آن‌ها، همراه است (Chen *et al.*, 2009). سالیسیلیک اسید یک هورمون گیاهی است و به عنوان مهمترین فاکتور در مقاومت اکتسابی سیستمیک در برابر بیمارگرها نقش دارد (Nie, 2006). از نظر شیمیایی این ترکیب متعلق به یک گروه از ترکیبات فنولی است و دارای حلقه آروماتیک که تولید کننده یک گروه هیدروکسیلی است می‌باشد. از خیلی پیش‌تر نقش تنظیمی سالیسیلیک اسید در فرایندهای فیزیولوژیکی گیاهان نظر محققان را به خود جلب کرده و ویژگی‌های دارویی سالیسیلات‌ها

اجرا در آمد. گلدان‌های پلاستیکی، حاوی مخلوط بیت‌ماس و خاک به نسبت ۱:۱، کاشته شدند، به طوری که در هر گلدان حدود ۵-۷ بذر قرار گرفته و گلدان‌ها درون سینی‌هایی با مقدار معینی آب قرار گرفتند و سپس گلدان‌ها در شرایط اتاقک رشد در دمای ۲۰-۲۲ درجه سانتی‌گراد و ۱۶ ساعت نوری در طول شبانه روز و ۸ ساعت تاریکی قرار گرفتند.

#### تهیه زادمایه

جدایه‌ها شامل، دو جدایه از گندم‌های هگزاپلوبئید از دو مزرعه در استان خوزستان و گلستان جمع‌آوری و جداسازی شده بودند و دو جدایه از جدایه‌های بیماری‌زا روی گندم‌های تترابلوبئید که از دانشگاه واخینینگین هلند ارسال شدند (جدول ۱). خالص‌سازی جدایه‌ها با کشت تک پرگنه انجام شد. پرگنه‌های رشد کرده سپس روی محیط کشت YMDA (عصاره مخمر ۴ گرم، عصاره جو ۴ گرم، دکستروز ۵ گرم و آگار ۱۵ گرم) برده شدند. سوسپانسیون قارچ به غلظت ۱۰ میلیون اسپور بر میلی‌لیتر تهیه و سه قطره تویین ۲۰ به ازای ۱۰۰ میلی‌لیتر سوسپانسیون زادمایه اضافه شد. مایه‌زنی با استفاده از مه‌پاش دستی گیاهچه‌ها انجام شد. بعد از مایه‌زنی گیاهچه‌ها به مدت ۴۸ ساعت در شرایط رطوبتی اشباع قرار گرفته و سپس به زیر محافظه پلاستیکی منتقل و در شرایط ۱۶ ساعت نور و ۸ ساعت تاریکی نگهداری شدند. دمای گلخانه در طول روز حدود ۲۰ تا ۲۴ درجه سانتی‌گراد و در شب به‌طور میانگین ۱۸±۲ درجه سانتی‌گراد تنظیم شد (Kema et al., 1996).

#### آزمون بیماری‌زاibi جدایه‌ها

آزمون بیماری‌زاibi جدایه‌ها با استفاده از چهار جدایه Z. tritici (جدول ۱) بر روی ارقام مذکور انجام شد. ارزیابی شدت بیماری ۲۱ روز بعد از مایه‌زنی بر روی برگ اول گیاهچه‌ها براساس درصد پوشش پیکنید. انجام گردید (Kema et al., 1996).

سیتیمیک راندارند (Friedrich et al., 1995) نتایج پژوهشی در گندم نشان داد که تیمار گندم با سالیسیلیک اسید موجب افزایش سطح تقسیم سلولی درون مریستم انتهایی ریشه و گیاهچه و در نهایت افزایش رشد گیاه از طریق تجمع آب‌سیزیک اسید و ایندول‌استیک اسید در نشای گندم می‌شود. همچنین این تیمار موجب کاهش خسارت ناشی از تنفس شوری و خشکی روی رشد گیاهچه گندم شد (Sakhabutdinova et al., 2003) مورد اثر سالیسیلیک اسید در مهار بیماری فوزاریوم خوش گندم نشان داد، تأثیر سالیسیلیک اسید با افزایش غلظت آن، به‌طور مستقیم موجب مهار جوانه‌زنی کنیدی و رشد میسلیوم و کاهش تولید فیتوتوکسین داکسی‌نیوالینون می‌شود و با برانگیختن واکشن‌های دفاعی گیاه مانند بیان ژن‌های دفاعی به‌طور غیر مستقیم موجب کاهش علائم بیماری می‌شود و تأثیر بازدارندگی سالیسیلیک اسید در این پاتوسیستم نیازمند محیط اسیدی است و بیمارگ Fusarium graminearum در محیط بازی از این ماده به عنوان منبع کربن استفاده می‌کند (Qi et al., 2012). در این پژوهش، اهمیت کاربرد سالیسیلیک اسید، به عنوان یک ترکیب القاکننده سیستم دفاعی گیاه که خطرات زیست محیطی کمتری نسبت به سموم شیمیایی دارد، در کاهش شدت بیماری سپتoriaی برگ گندم در هر دو نوع گندم‌های هگزاپلوبئید و تترابلوبئید در غلظت‌های مختلف بررسی شد.

#### مواد و روش‌ها

#### شرایط رشد

مواد گیاهی در این تحقیق شامل شش رقم دنا، کرخه و شتردنان از ارقام حساس تترابلوبئید و Is. 493 و HD-126 از ارقام حساس هگزاپلوبئید Tadinia انتخاب گردیدند. پژوهش بصورت فاکتوریل در قالب طرح کاملاً تصادفی با سه تکرار در برابر چهار جدایه و نیز پیش‌تیمار با سطوح مختلف سالیسیلیک اسید، به

گندم هگزابلوئید و گندم تترابلوئید، مورد بررسی قرار گرفت. علائم بیماری ۱۰ تا ۱۲ روز بعد از مایهزنی ابتدا به صورت لکه‌های زرد رنگ در روی برگ‌ها ظاهر گردید. میزان آلدگی ۲۱ روز پس از مایهزنی به حداقل میزان خود رسید و پیکنیدیوم‌های قارچ عامل بیماری ظاهر شد و یادداشت‌برداری انجام گرفت. تجزیه واریانس صفت مورد بررسی در شرایط گلخانه (مرحله گیاهچه‌ای) برای ارقام هگزابلوئید، نشان داد جدایه‌های مورد آزمایش از نظر درصد سطح بافت مردگی برگ و پوشش پیکنیدیومی در سطح احتمال ۱٪ باهم اختلاف معنی‌دار داشتند که بیانگر تفاوت در پرازاری این جدایه‌هاست (جدول‌های ۲ و ۳)، نتایج مشابهی در مورد جدایه‌های مربوط به گندم‌های تترابلوئید از نظر شدت بروز علائم مشاهده شد مقایسه میانگین درصد پوشش پیکنید برگ در جدایه‌های مورد بررسی، آن‌ها را در گروه‌های مختلف قرار داد (شکل ۱). بیشترین شدت بیماریزابی بین جدایه‌های مربوط به گندم‌های هگزابلوئید مربوط به جدایه AG49 و روی رقم Tadina، بین جدایه‌های مربوط به گندم‌های تترابلوئید نیز جدایه IPO92042 با شدت بیماری زایی ۲/۸ درصد بر روی رقم دنا، بیشترین قدرت تهاجمی را دارا بود. نکته جالب توجه اینکه هیچ یک از جدایه‌های مربوط به گندم‌های تترابلوئید بر روی ارقام هگزابلوئید و هیچ یک از جدایه‌های مربوط به گندم‌های هگزابلوئید بر روی ارقام تترابلوئید بیماری ایجاد نکردن (شکل ۱).

براساس نتایج جدول‌های ۴ و ۵، مقایسه میانگین درصد پوشش پیکنید پس از تیمار با سالیسیلیک اسید، بین ارقام، بیانگر کاهش قابل توجه درصد پوشش پیکنیدی در سطح یک میلی مولار نسبت به سه سطح صفر، دو و چهار میلی مولار سالیسیلیک اسید بود. شدت علائم در بین ارقام افتراقی، رقم 493 از ۲۸/۳۳ درصد به ۹ درصد، در رقم Tadinia از ۶۱/۶ درصد به ۲۰ درصد و در رقم 3HD-126 از ۵۸/۳۳ درصد به ۱۸/۳ درصد کاهش یافت (شکل ۲). در میان جدایه‌ها کاهش درجه

ارزیابی بیماری در تقابل با سالیسیلیک اسید در آزمون تأثیر غلظت‌های مختلف سالیسیلیک اسید بر روی علائم و شدت بیماری در ارقام مختلف، مقایسه میانگین‌هایی شامل اثرات متقابل سطوح مختلف سالیسیلیک اسید با شش رقم متفاوت مورد بررسی قرار گرفتند. گیاهچه‌های ده روزه گندم، با سالیسیلیک اسید به غلظت‌های صفر(شاهد)، یک، دو و چهار میلی مولار، یک روز قبل از مایهزنی با سوسپانسیون عامل بیماری با اسپری دستی تیمار شدند. به منظور تهیه غلظت‌های مختلف، ابتدا محلول یک مولار سالیسیلیک اسید با شامل سه گروه بودند؛ گروه اول، گیاهچه‌هایی که فقط با آب مقطار و اتانول تیمار شدند (تیمار شاهد)، گروه دوم، گیاهچه‌هایی که فقط با جدایه‌های بیمارگ و گروه سوم گیاهچه‌هایی که تواما با جدایه و سالیسیلیک اسید (غلظت‌های صفر، ۱، ۲ و ۴ میلی مولار) تیمار شده بودند.

جدول ۱. جدایه‌های مورد استفاده به منظور ارزیابی تأثیر تیمار سالیسیلیک اسید در کاهش شدت بیماری

شماره	نام جدایه	محل جمع‌آوری	میزان
۱	ایران/هویزه	هگزابلوئید	AG49
۲	ایران/اگلستان	هگزابلوئید	AG159
۳	تونس	تترابلوئید	IPO91009
۴	الجزایر	تترابلوئید	IPO92042

### آنالیز آماری

داده‌های حاصل از این آزمون‌ها با استفاده از نرم‌افزار آماری SAS 9.0 مورد ارزیابی قرار گرفت و میانگین تیمارها با استفاده از آزمون چندامنه‌ای دانکن مقایسه شدند.

### نتایج و بحث

در این پژوهش تأثیر پیش تیمار با چهار سطح سالیسیلیک اسید بر روی شدت بروز علائم بیماری سپتوريایی برگی گندم بر روی تعدادی ارقام حساس

سطح مختلف سالیسیلیک اسید در بروز شدت علائم اختلاف معنی دار وجود دارد. در این آزمون، در سطح ۱ میلی مولار، ارقام Is. 493 و کرخه به ترتیب با ۱۰/۶۶ و ۲۰/۰۰ درصد کمترین شدت بیماری را نشان دادند (شکل های ۲ و ۳).

بیماریزایی، در جدایه AG159 بیشتر محسوس بود. در غلاظت ۲ و ۴ میلی مولار تفاوتی از نظر شدت بروز علائم مشاهده نشد و نسبت به غلاظت یک میلی مولار افزایش در شدت بروز بیماری نشان داده شد. براساس نتایج این آزمون بین ارقام مختلف هگزابلوئید و تترابلوئید و نیز بین

جدول ۲. تجزیه واریانس درصد پوشش پیکنیدیومی سطح برگ ارقام گندم هگزابلوئید نسبت به جدایه AG159

منابع تغیرات (S.O.V)	درجه آزادی (df)	مجموع مربعات (SS)	میانگین مربعات (MS)	F
جدایه قارچ	1	2052.7	1026.39	**
ارقام هگزابلوئید	2	1012.5	1012.50	**
رقم × جدایه	2	775	387.5	**
خطای آزمایش	12	336.6	30.55	
کل	17	4206.8		

\* به احتمال ۹۹ درصد ( $P \leq 0.01$ ) اختلاف معنی دار است.

C.V = ۹/۵

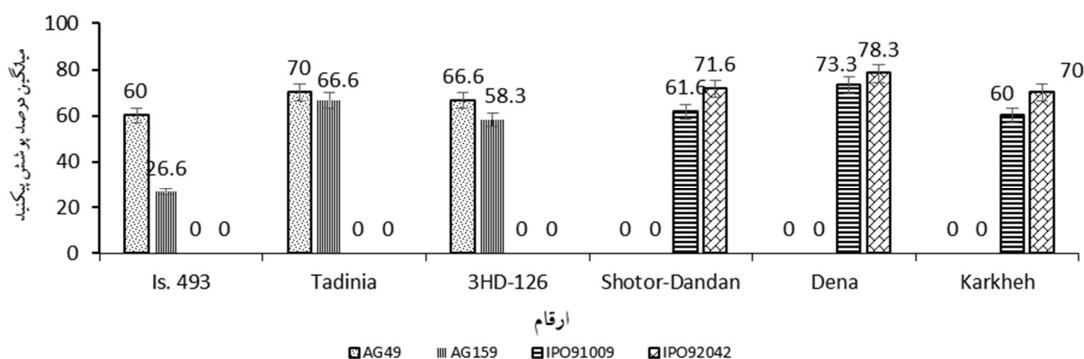
جدول ۳. تجزیه واریانس درصد پوشش پیکنیدیومی سطح برگ ارقام گندم تترابلوئید نسبت به جدایه IPO92042

منابع تغیرات (S.O.V)	درجه آزادی (df)	مجموع مربعات (SS)	میانگین مربعات (MS)	F
جدایه قارچ	1	68.05	68.05	**
ارقام تترابلوئید	2	369.4	184.72	*
رقم × جدایه	2	36.11	18.05	*
خطای آزمایش	12	550.0	550.0	
کل	17	1023.56		

\*\* به احتمال ۹۵ درصد ( $P \leq 0.05$ ) اختلاف معنی دار است.

\* به احتمال ۹۵ درصد ( $P \leq 0.05$ ) اختلاف معنی دار است.

C.V = ۹/۷۱



شکل ۱. مقایسه میانگین درصد پوشش پیکنید ناشی از جدایه های Zymoseptoria tritici بر روی ارقام حساس گندم نان و دوروم

جدول ۴. تجزیه واریانس درصد پوشش پیکنیدیومی سطح برگ ارقام گندم هگزابلوئید نسبت به جدایه AG159  
پس از تیمار با سالیسیلیک اسید

منابع تغییرات (S.O.V)	درجه آزادی (df)	مجموع مربعات (SS)	میانگین مربعات (MS)	F
ارقام هگزابلوئید	2	2640.2	1320.1	**
سطوح سالیسیلیک اسید	3	5916.3	1972.1	**
رقم × سطوح سالیسیلیک اسید	6	1008.4	168.07	*
خطای آزمایش	24	1366.0	56.91	
کل	35	4206.8		

\*\* به احتمال ۹۹ درصد ( $P \leq 0.01$ ) اختلاف معنی دار است.

\* به احتمال ۹۵ درصد ( $P \leq 0.05$ ) اختلاف معنی دار است.

C.V=۲۲/۵

جدول ۵. تجزیه واریانس درصد پوشش پیکنیدیومی سطح برگ ارقام گندم تترابلوئید نسبت به جدایه IPO92042  
پس از تیمار با سالیسیلیک اسید

منابع تغییرات (S.O.V)	درجه آزادی (df)	مجموع مربعات (SS)	میانگین مربعات (MS)	F
ارقام تترابلوئید	2	601.38	300.69	*
سطوح سالیسیلیک اسید	3	11457.63	3819.21	**
رقم × سطوح سالیسیلیک اسید	6	615.27	102.54	*
خطای آزمایش	24	2383.3	99.30	
کل	35	4206.8		

\*\* به احتمال ۹۹ درصد ( $P \leq 0.01$ ) اختلاف معنی دار است.

\* به احتمال ۹۵ درصد ( $P \leq 0.05$ ) اختلاف معنی دار است.

C.V=۲۷/۹

نشان داد در سطوح دو و چهار میلی مولار، بیماری نسبت به سطح صفر اندازی کاهش نشان داد ولی این درجه کاهش به اندازه کاهش در سطح ۱ میلی مولار برآورد نشد. این موضوع نشان می دهد سطوح بالاتر سالیسیلیک اسید، گرچه شدت بیماری در این ارقام حساس را تاحدودی کاهش داد ولی این مقدار در مقایسه با سطح یک میلی مولار کمتر بود.

گیاهان به عنوان یک استراتژی برای مقابله با بیمارگرها و انتباق با شرایط نامساعد محیط، این توانایی را دارند که در پاسخ به سیگنال های گرفته شده از سیسیتیم ایمنی، خود را به حات آماده باش درآورند. در این حالت به دلیل اینکه قبلاً در معرض این عوامل قرار گرفته اند، زمانی که مجدداً در معرض تنش های

رونده شدت بیماری در سطح یک میلی مولار به طور کلی در همه ارقام نسبت به سه سطح دیگر کاهش قابل ملاحظه ای را نشان داده و بیانگر تأثیر این ماده در القای ژن های دفاعی است به طوری که در رقم حساس دنا زمانی که از غلظت صفر سالیسیلیک اسید استفاده می شود میانگین شدت بیماری ۷۰ درصد و بعد از تیمار با غلظت یک میلی مولار بیماری به ۲۳/۳۳ درصد کاهش یافته است.

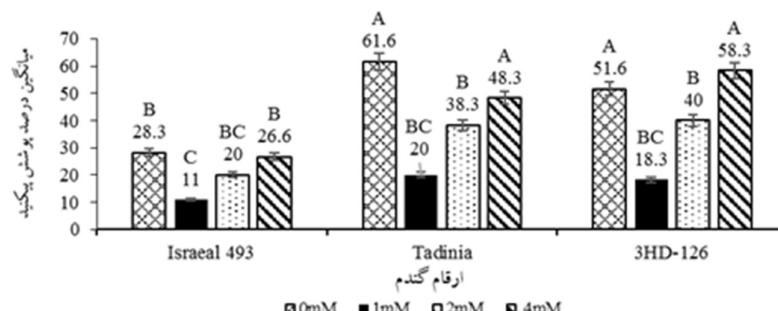
همان طور که در شکل های ۲ و ۳ مشاهده می شود کاهش شدت علائم بیماری در ارقام مورد استفاده در این تحقیق در سایر سطوح سالیسیلیک اسید نسبت به سطح صفر (نمونه شاهد) نشان دهنده مؤثر بودن پیش تیمار گیاهچه ها با سالیسیلیک اسید بود. همچنین نتایج

2009). در این پژوهش از ترکیب شیمیایی سالیسیلیک اسید در چهار سطح متفاوت به عنوان عامل القا کننده مقاومت در گیاه گندم در برابر بیماری سپتومیک برگی استفاده شد. در آزمون ارزیابی شدت بیماری در تیمار با سالیسیلیک اسید، نتایج نشان داد که مهپاشی سالیسیلیک اسید یک میلی مولار در مرحله یک برگی، موجب کاهش معنی دار تا حدود ۵۰ درصد در رقم دنا و Tadinia در مقایسه با شاهد شد. این کاهش بیماری را می‌توان به تأثیر سالیسیلیک اسید در ایجاد حالت آماده باش برای گیاه از طریق فعال شدن مسیرهای دفاعی گیاه نسبت داد. گیاهان برای کاهش اثرات سمی سالیسیلیک اسید با تغییراتی که در ساختار آن ایجاد می‌کنند، گلوکوزیلاسیون، متیلاسیون، سولوفوناسیون و اضافه کردن آمینواسید آن را به یک ترکیب غیر سمی تبدیل می‌کنند (Dempsey et al., 2011)، بنابراین احتمالاً در غلظت‌های بالاتر این ماده، گیاه توانایی غیر سمی کردن آن را نداشته و موجب سمیت در گیاه می‌شود. نتایج یک پژوهش در بررسی تأثیر کاربرد خارجی سالیسیلیک اسید در کاهش شدت بیماری رایزوکتونیایی سیب‌زمینی (*Rizoctonia solani*) نشان داد غلظت بهینه برای کاهش شدت علائم، یک میلی‌مولار است و بیشتر از آن موجب افزایش شدت علائم در سیب‌زمینی می‌شود (Hadi & Balali, 2010).

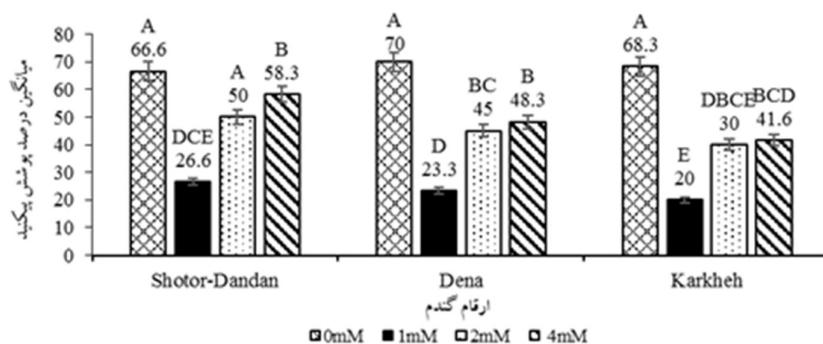
زیستی و یا غیر زیستی قرار بگیرند، با مقاومتی طولانی مدت، قوی‌تر و سریع‌تر از خود دفاع می‌کنند (Conrath et al., 2006; Pastor et al., 2013). بنابراین آماده باش به گیاهان اجازه می‌دهد تا سیستم ایمنی ذاتی خود را تقویت کنند و منجر به یک انطباق و سازگاری طولانی مدت با شرایط مساعد برای بیماری می‌شود.

سالیسیلیک اسید یک ترکیب فنولیک است که با راداندزی مقاومت اکتسابی سیستمک (SAR) به طور عمده در برابر بیمارگرهای بیوتروف و همی‌بیوتروف در *Arabidopsis* از گیاهان از جمله گندم و Görlach et al., 1996; De thaliana نقش دارد (Vos et al., 2005; Glazebrook, 2005; War Fayez & Bazaid, 2014; War et al., 2011) و می‌تواند وضعیت آماده باش را در گیاه به وجود آورد.

در ذرت سالیسیلیک اسید سبب تغییراتی در فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان در زمان حمله بیمارگر می‌شود. به طور کلی سالیسیلیک اسید از طریق جذب مواد غذایی و آب و نیز تنظیم بسته شدن منافذ روزندها بر روی رشد گیاه تأثیر قابل توجهی دارد (Hayat et



شکل ۲. مقایسه میانگین تأثیر سطوح مختلف سالیسیلیک اسید روی درصد شدت بروز پیکنید در ارقام هنگز اپلورید گندم ناشی از جدایه AG159



شکل ۳. مقایسه میانگین تأثیر سطوح مختلف سالیسیلیک اسید روی درصد شدت بروز پیکنید در ارقام تترابلوئید گندم  
ناشی از جدایه IPO92042

(Sakhabutdinova *et al.*, 2003)

همچنین، بذور نخود آغشته در محلول سالیسیلیک اسید، موجب کاهش ۶۳٪ در بیماری پژمردگی فوزاریومی شد (Sarwar *et al.*, 2010) و در درختچه‌های سیب، بنزوتیوپیازول که از مشتقات سالیسیلیک اسید است، موجب القای بیان ژن‌های پروتئین‌های مرتبط با بیماری‌ای در برابر آتشک سیب شده است (Maxson-Stein *et al.*, 2002). تجمع لکتین‌ها در گندم نیز به سالیسیلیک اسید نسبت داده می‌شود که تجمع این مواد خاصیت دور کننده آفات و خاصیت ضدقارچی دارد (Shakirova & Bezrukova, 1997).

در پژوهش Gholamnejad *et al.* (2013)، نتیجه تأثیر غلظت‌های مختلف سالیسیلیک اسید (صفرا، ۰/۰۵، ۱، دو و چهار میلی‌مولا) بر کاهش شدت بیماری به روش پاشش بر روی برگ‌های گیاه در مرحله دو برگی و تیمار بذر قبل از کشت، نشان داد، با توجه به گیاه‌سوزی در غلظت دو میلی‌مولا سالیسیلیک اسید و عدم کاهش شدت بیماری در غلظت ۰/۰۵ و تیمار شاهد، بهترین غلظت سالیسیلیک اسید در کاهش علائم، غلظت ۱ میلی‌مولا است. با توجه به مشاهدات Sarahinobar *et al.* (2015)، واکنش گیاهان گندمی که از بذور تیمار شده با سالیسیلیک اسید رویش یافته بودند بررسی نمودند و نشان دادند که این گیاهان مقاومت بیشتری در برابر بیماری بلاست گندم با عامل Fusarium

براساس نتایج Hekmati *et al.* (2014)، تأثیر سالیسیلیک اسید در مدیریت بیماری بلاست برنج، سبب افزایش بیان ژن‌های مرتبط با سازو کار دفاعی شامل *PDR5*, *PAD4*, *Thionin*, *NPRI*, *PRI1* و *PDR8* شده است. بنابراین مصرف سالیسیلیک اسید می‌تواند سبب افزایش بیان ژن‌های دفاعی و احتمالاً القای تحمل گیاه در برابر حمله پاتوژن‌ها شود. در پاتوسیستم‌های دیگر نیز تأثیر سالیسیلیک اسید مورد ارزیابی قرار گرفته است. به طور مثال میزان فعل کل در گوجه‌فرنگی زمانی که گیاه با سالیسیلیک اسید تیمار شود افزایش می‌یابد و این افزایش موجب ایجاد مقاومت *Xanthomonas vasicatoria* برعلیه بیمارگر می‌شود. اکسیداسیون فنول ترکیبات دفاعی زیادی مانند هیدروژن پراکساید، سوپراکساید و رادیکال‌های آزاد تولید می‌کند که فیزیولوژی و متابولیسم گیاه را تغییر می‌دهد و موجب فعال شدن آنزیم‌های دفاعی گیاه شده و به این ترتیب به طور مستقیم یا غیر مستقیم در برابر تنفس‌های مختلف مقاومت ایجاد می‌کند (Usha Rani & Jyorhsna, 2010). پیش تیمار گندم با سالیسیلیک اسید موجب افزایش سطح تقسیم سلولی درون مریستم انتهایی ریشه و گیاهچه و در نهایت افزایش رشد گیاه از طریق تجمع آبسیزیک اسید و ایندول استیک اسید در نشای گندم می‌شود. همچنین این تیمار موجب کاهش خسارت ناشی از تنفس شوری و خشکی روی رشد گیاهچه گندم شد

استفاده شد، بهترین غلظت پیشنهادی برای کنترل بیماری سپتوریایی برگی در هر دو نوع گندم هگزابلوئید و تترابلوئید، غلظت یک میلیمولار است. احتمالاً عدم تأثیر غلظت‌های بالاتر در کاهش بیماری مربوط به عدم توانایی گیاه در غیر سمی کردن این ترکیب و سرکوب بیان ژن‌های دفاعی می‌باشد. این یافته‌ها با نتایج کار Gholamnejad *et al.* (2010) Hadi & Balali (2013) مطابقت دارد. بنابراین اینطور نتیجه گرفته می‌شود که سالیسیلیک اسید می‌تواند گیاه را به حالت آماده باش قرار دهد از این‌رو در مواجهه با بیمارگر، سیستم ایمنی گیاه سریع‌تر و قدرت بیشتری برانگیخته می‌شود.

### سپاسگزاری

از صندوق حمایت از پژوهشگران و فناوران کشور (INsf) بخاطر حمایت مالی از این پژوهه (شماره: ۹۲۰۴۳۱۵۵) سپاسگزاری می‌گردد. از پروفسور Gert Kema به خاطر ارسال جدایه‌های مورد استفاده در این تحقیق، تشکر و قدردانی می‌گردد.

graminearum دارند و حضور این ماده موجب مهار رشد ریسه و جوانه‌زنی اسپورهای این بیمارگر شد. بر اساس نتایج این تحقیق خسارت مشاهده شده توسط *F. graminearum* و *F. pseudograminearum* در گیاهان تیمار شده با سالیسیلیک اسید کمتر از گیاهان شاهد است و شدت بیماری ۱/۵ تا دو برابر در ارقام فلاٹ و سومای تیری یافت. همچنین گیاهان تیمار شده با سالیسیلیک اسید افزایش معنی‌داری را در تولید  $H_2O_2$ ، MDA، مقدار سالیسیلیک اسید و کالوز نشان دادند. در مطالعه Zamani (2016) *et al.* بر روی تأثیر تیمار بذور گندم با چند غلظت سالیسیلیک اسید (صفراً، ۰/۷۵ و یک میلیمولار) و مقاومت گیاهچه‌ها در برابر جدایه‌های *Z. tritici*، غلظت یک میلیمولار سالیسیلیک اسید در تعدادی از ارقام مورد استفاده شامل هیرمند و مروارید تأثیر بهتری در کاهش علائم بیماری نسبت به ارقام دیگری مانند توس، پیشگام و پارسی داشت. تمامی این مطالعات تائیدکننده نتایج تحقیق حاضر است، در این مطالعه که از چهار سطح سالیسیلیک اسید

### REFERENCES

- Arzani A, (2004) Evaluation of genetic diversity and crop feathers of Durum wheat. Jurnal of Crop Production and Processing. 7: 115-127.
- Abrinbana M, Mozafari J, Shams-bakhsh M, Mehrabi R (2010) Genetic structure of *Mycosphaerella graminicola* populations in Iran. Plant Pathol. 59: 829-838.
- Boller T, Felix G (2009) A renaissance of elicitors: perception of microbe-associated molecular patterns and danger signals by pattern-recognition receptors. Annu. Rev. Plant Biol. 60: 379-406.
- Brown A, Rosielle A (1980) Prospects for control of Septoria. Journal of Agriculture 21: 8-11.
- Brown JK, Chartrain, L, Lasserre-Zuber P, Saintenac C (2015) Genetics of resistance to *Zymoseptoria tritici* and applications to wheat breeding. Fungal Genet. Biol. 79: 33-41.
- Chen Z, Zheng Z, Huang J, Lai Z, Fan B (2009) Biosynthesis of salicylic acid in plants. Plant Signal. Behav. 4: 493-496.
- Conrath U, Beckers GJ, Flors V, García-Agustín P, Jakab G, Mauch F, Newman M-A, Pieterse CM, Poinsot B, Pozo MJ (2006) Priming: getting ready for battle. Mol. Plant-Microbe In. 19: 1062-1071.
- Dempsey DMA, Vlot AC, Wildermuth MC, Klessig DF (2011) Salicylic acid biosynthesis and metabolism. The Arabidopsis Book:e0156.
- De Vos M, Van Oosten VR, Van Poecke RM, Van Pelt JA, Pozo MJ, Mueller MJ, ... Dicke M (2005). Signal signature and transcriptome changes of

- Arabidopsis during pathogen and insect attack. Mol. Plant Microbe Interact. 18: 923-937.
- Fayez KA, Bazaid SA (2014). Improving drought and salinity tolerance in barley by application of salicylic acid and potassium nitrate. J. Saudi Soci. Agricultural Sci. 13: 45-55.
- Freier B, Boller EF (2009) Integrated pest management in Europe—history, policy, achievements and implementation. In: Integrated pest management: dissemination and impact. Springer, Netherlands, pp 435-454.
- Friedrich L, Vernooij B, Gaffney T, Morse A, Ryals J (1995) Characterization of tobacco plants expressing a bacterial salicylate hydroxylase gene. Plant mol. Bio. 29: 959-968.
- Garcia C, Marshall D (1992) Observations on the ascogenous stage of *Septoria tritici* in Texas. Mycol. Res. 96: 65-70.
- Ghaneie A, Mehrabi R, Safaei N, Abrinbana M, Saidi A, Aghaee M (2012) Genetic variation for resistance to septoria tritici blotch in Iranian tetraploid wheat landraces. Eur. J. plant path. 132: 191-202.
- Gholamnejad J, Mohammadi-Goltapeh E, Sanjarian F, Safaei N, and Razavi K (2013) Study of Effect of salicylic acid on diseases symptom of *Septoria tritici* blotch (STB). Research in Plant Pathology, 2: 35-46. (in Farsi with English abstract).
- Gilbert J, Woods S, Tekauz A (1998) Relationship between environmental variables and the prevalence and isolation frequency of leaf-spotting pathogens in spring wheat. Can. J. plant pathol. 20: 158-164.
- Glazebrook J (2005) Contrasting mechanisms of defense against biotrophic and necrotrophic pathogens. Annu. Rev. Phytopathol. 43: 205-227.
- Hadi M, Balali G (2010) The effect of salicylic acid on the reduction of *Rhizoctonia solani* damage in the tubers of marfona potato cultivar. Am. Eurasian J. Agric. Environ. Sci. 7: 492-496.
- Hekmati Zh, Aalami A, Sohani MM (2014) Effect of salicylic acid on expression of some defense-related genes in rice. Iranian Genetic society 9: 363-373. (in Farsi)
- Jones JD, Dangl JL (2006) The plant immune system. Nature 444: 323-329
- Király L, Künstler A, Bacsó R, Hafez Y, Király Z (2013) Similarities and differences in plant and animal immune systems—what is inhibiting pathogens? Acta Phytopathol. Entomol. Hung. 48: 187-205.
- Kema G, Annone J, Sayoud R, Van Silfhout C, Van Ginkel M, De Bree J (1996) Genetic variation for virulence and resistance in the wheat-*Mycosphaerella graminicola* pathosystem. I: Interactions between pathogen isolates and host cultivars. Phytopathol 86: 200-212.
- Linde C, Zhan J, McDonald B (2002) Population structure of *Mycosphaerella graminicola*: from lesions to continents. Phytopathol 92: 946-955.
- Loughman R, Thomas G (1992) Fungicide and cultivar control of *Septoria* diseases of wheat. Crop Prot. 11: 349-354.
- Makhdoomi M, Mehrabi R, Arshad Y (2014) Identification of Resistance Sources to *Septoria tritici* Blotch in Iranian Wheat Landraces. Seed and Plant Improvement Journal 30: 561-572. (in Farsi)
- Maxson-Stein K, He S-Y, Hammerschmidt R, Jones AL (2002) Effect of treating apple trees with acibenzolar-S-methyl on fire blight and expression of pathogenesis-related protein genes. Plant Dis. 86: 785-790
- McDonald B, Pettway R, Chen R, Boeger J, Martinez J (1995) The population genetics of *Septoria tritici* (teleomorph *Mycosphaerella graminicola*). Can. J. Bot. 73: 292-301.
- Nie X (2006) Salicylic acid suppresses

- Potato Virus Y Isolate N: O-induced symptoms in tobacco plants. *Phytopathol.* 96: 255-263.
- Pastor V, Luna E, Mauch-Mani B, Ton J, Flors V (2013) Primed plants do not forget. *Environ. Ex. Bot.* 94: 46-56.
- Petrak F, Esfandiari E (1941) Contributions to the knowledge of the Iranian fungus flora. *Ann. Mycol.* 39: 204-228.
- Qi P-F, Johnston A, Balcerzak M, Rocheleau H, Harris LJ, Long X-Y, Wei Y-M, Zheng Y-L, Ouellet T (2012) Effect of salicylic acid on *Fusarium graminearum*, the major causal agent of fusarium head blight in wheat. *Fungal biology* 116: 413-426.
- Quaedvlieg W, Kema G, Groenewald J, Verkley G, Seifbarghi S, Razavi M, Gohari AM, Mehrabi R, Crous P (2011) *Zymoseptoria* gen. nov.: a new genus to accommodate Septoria-like species occurring on graminicolous hosts. *Persoonia-Molecular Phylogeny and Evolution of Fungi* 26: 57-69.
- Raskin I, Skubatz H, Tang W, Meeuse BJ (1990) Salicylic acid levels in thermogenic and non-thermogenic plants. *Ann. Bot-London* 66: 369-373.
- Sakhabutdinova A, Fatkhutdinova D, Bezrukova M, Shakirova F (2003) Salicylic acid prevents the damaging action of stress factors on wheat plants. *Bulg. J. Plant Physiol.* 21: 314-319.
- Sanderson F (1972) A *Mycosphaerella* species as the Ascogenous state of *Septoria tritici* Rob. and Desm. *New Zeal. J. Bot.* 10: 707-709.
- Sarabianbar, M., Jahedi, A., Safaie, N., Niknam, V., Ebrahimzadeh, H. 2015. Dual functional role of Salicylic acid against Fusarium; long lasting priming and direct immediate effect. *Intl. J. Farm. And Alli. Sci.* 4: 442-447.
- Sarwar N, Ch Z, Hayat M, Haq I (2010) Seed treatments induced systemic resistance in chickpea against fusarium wilt in wilt sick field. *Pak. J. Bot.* 42: 3323-3326.
- Shakirova F, Bezrukova M (1997) Induction of Wheat Resistance against Environmental Salinization by Indolylacetic Acid. *Biology bulletin-Russian academy of sciences c/c of izvestiia-rossiiskoi akademii nauk seriia biologycheskaia* 24: 109-112.
- Sprague R (1950) Diseases of cereals and grasses in North America. *Diseases of cereals and grasses in North America*. The Ronald Press Company, New York, pp 80-324.
- Tahermazandarani F, Mehrabi R, Maleki M (2014) Effectiveness of *Septoria tritici* Blotch (Stb) Resistance Genes to *Mycosphaerella graminicola* Isolates Collected from Fars Province. *Seed and Plant Improvement Journal* 30: 669-682. (in Farsi)
- Thomma BP, Nürnberger T, Joosten MH (2011) of PAMPs and effectors: the blurred PTI-ETI dichotomy. *The Plant Cell* 23: 4-15.
- Tsuda K, Katagiri F (2010). Comparing signaling mechanisms engaged in pattern-triggered and effector-triggered immunity. *Curr. Opin. Plant. Biol.* 13: 459-465.
- Vlot AC, Dempsey DMA, Klessig DF (2009) Salicylic acid, a multifaceted hormone to combat disease. *Ann. Rev. Phytopathol* 47: 177-206.
- Zamani E, Sanjarian F, Mohamadi-Goltapeh E, Safaei N (2016) Studying the resistance of wheat seedlings grown from treated seeds with salicylic acid against *Mycosphaerella graminicola*. *Plant Protection (Scientific Journal of Agriculture)* 39: 1-14. (in Farsi with English abstract)