بسم الله الرحمن الرحيم

دانشگاه صنعتی اصفهان

دانشکده کشاورزی

ردیابی ژنهای مؤثر در تولید تریکوتسین در گونه‌های فوزاریوم جداشده از خوشه‌های گندم آلوده به بلایت فوزاریومی

پایان‌نامه کارشناسی ارشد بیماری شناسی گیاهی

محبوبه هراتیان

استاد راهنما

دکتر بهرام شریف نبی

۱۳۸۴

دانشگاه صنعتی اصفهان
دانشکده کشاورزی

پایان‌نامه کارشناسی ارشد رشته بیماری شناسی گیاهی خانم محبوبه هراتیان

تحت عنوان

ردیابی ژنهای مؤثر در تولید تریکوتسین در گونه‌های فوزاریوم جداشده از خوشه‌های گندم آلوده به بلایت فوزاریومی

در تاریخ ۱۳۸۴/۱۲/۳ توسط کمیته تخصصی زیر مورد بررسی و تصویب نهایی قرار گرفت.

۱- استاد راهنمای پایان‌نامه	دکتر بهرام شریف نبی
۳- استاد مشاور پایان‌نامه	دکترعزیزالله علیزاده
۴- استاد داور	دکتر مسعود بهار
۵- استاد داور	دکتر ناصر صفایی
سرپرست تحصیلات تکمیلی دانشکده	دکتر بهرام شریف‌نبی

کلیه حقوق مادی مترتب بر نتایج مطالعات، ابتکارات و نوآوریهای ناشی از تحقیق موضوع این پایان‌نامه متعلق به دانشگاه صنعتی اصفهان است.

بخشی از هزینه اجرای این تحقیق از سوی سازمان تحقیقات، آموزش و ترویج کشاورزی تأمین و پرداخت گردیده است که بدین وسیله تشکر و قدردانی می‌گردد.

فهرست مطالب

عنوان **صفحه**

فهرست مطالب.....نه
فهرست جداول.....سیزده
فهرست اشکال.....چهارده
چکیده ۱
فصل اول: مقدمه و بررسی منابع ۲
۱ -۱- کلیاتی در مورد گندم ۲
۱-۱-۱- تاریخچه ۲
۱-۱-۲- اهمیت ۳
۱-۱-۳- سطح زیر کشت و مقدار تولیدگندم جهان..... ۳
۱-۱-۴- سطح زیر کشت و مقدار تولیدگندم در ایران ۳
۱-۱-۵- ارزش و اهمیت غذایی گندم..... ٤
۱-۲- بیماریهای مهم گندم ۴
۱-۲-۱- بیماریهای مهم قارچی ٤
۱-۲-۱—الف- بیماریهای قارچی خوشه و دانه گندم ٤
۱-۲-۱-ب- بیماریهای قارچی بوته گندم ٥
۱-۲-۱-ج- بیماریهای قارچی شاخ و برگ گندم..... ٥
۱-۲-۱-د- بیماریهای قارچی ریشه و ساقه گندم ٥
۱-۲-۲- بیماریهای باکتریایی گندم..... ٥
۱-۲-۳- بیماریهای نماتدی گندم ٥
۱-۲-۴- بیماریهای ویروسی گندم ٥
۱-۳- بیماری فوزاریوز سنبله گندم ۶
۱-۳-۱- اپیدمی بیماری ٦
۱-۳-۲- اهمیت اقتصادی ٦
۱-۳-۳- عوامل بیمارگر مرتبط و توزیع جغرافیایی..... ۷
۱-۳-۳-الف- بیمارگر *F. graminearum* ۸
۱-۳-۳- ب- دامنه میزبانی ۹
۱-۳-۳-ج- معرفی گونه ۹
۱-۳-۴- علائم بیماری ۱۰
۱-۳-۵- منابع مایه تلقیح و انتشار..... ۱۱
۱-۳-۶- مراحل ایجاد آلودگی در سنبله‌های گندم ۱۲
۱-۴ گونه‌های فوزاریوم تولیدکننده توکسین..... ۱۳

۱-۵- تریکوتسین‌ها ۱۵
۱-۵-۱- شیمی تریکوتسین‌ها ۱۶
۱-۵-۲- مکانیسم‌های بیولوژیکی تولید تریکوتسین ۱۸
۱-۵-۳- مسیر تولید تریکوتسین در *F. graminearum* ۲۰
۱-۶- لوکوس‌های ژنی مؤثر در تولید تریکوتسین ۲۲
۱-۶-۱- کلاستر ۱۲ ژنی ۲۲
۱-۶-۱- الف- ژن *Tri5* ۲۲
۱-۶-۱-ب- ژن *Tri6* ۲۳
۱-۶-۱- ج- ژن *Tri10* ۲۵
۱-۶-۱- د -ژن *Tri3* ۲۵
۱-۶-۱- ه -ژن *Tri11* ۲۶
۱-۶-۱- و- ژن *Tri8* ۲۶
۱-۶-۱- ز -ژن *Tri15* ۲۷
۱-۶-۱- ح- ژن *Tri13* ۲۸
۱-۶-۲- لوکوس *Tri101* ۲۹
۱-۶-۳- کلاستر دو ژنی ۳۰
۱-۶-۳- الف- ژن *Tri16* ۳۲
۱-۶-۳- ب- ژن *Tri1* ۳۳
۱-۷- تعیین حدود کلاستر ژنی تولید تریکوتسین ۳۴
۱-۸- گروه شیمیایی جدایه‌های تولیدکننده تریکوتسین ۳۵
۱-۸-۱ ساختارکلاسترهای ژنی تولید تریکوتسین در گروه شیمیایی DON و NIV ۳۸
۱-۸-۲- مرتب کردن *Tri7 ORF* در دو گروه شیمیایی NIV و DON در *F. sporotrichioides* ۴۰
۱-۹- تأثیر تریکوتسین‌ها در انسان و دام ۴۲
۱-۹-۱- مکانیسم اثر تریکوتسین ها در دستگاه گوارش ۴۲
۱-۹-۲- مکانیسم اثر تریکوتسین‌ها در سیستم ایمنی ۴۳
۱-۹-۳- مکانیسم اثر تریکوتسین‌ها در سلول گیاهی ۴۳
۱-۱۰- ارزیابی کمیت تریکوتسین‌ها ۴۴
۱-۱۰-۱- استخراج ۴۴
۱-۱۰-۲- تصفیه ۴۴
۱-۱۰-۲-الف- تفکیک مایع مایع ۴۴
۱-۱۰-۲- ب- ستون کروماتوگرافی ۴۴
۱-۱۱- روشهای ارزیابی و غربال تریکوتسین‌ها ۴۵
۱-۱۲- کنترل بیماری فوزاریوز سنبله گندم ۴۶
۱-۱۲-۱- مقاومت ۴۶

۱-۱۲-۲- استفاده از قارچکشها ٤٨
۱-۱۲-۳- اهداف پژوهش ٤٩
فصل دوم: مواد و روشها ۵۰
۲-۱- جمع‌آوری نمونه ۵۰
۲-۲- جداسازی قارچ فوزاریوم از خوشه‌های آلوده ۵۰
۲-۳- محیط‌های کشت مورد استفاده ۵۴
۲-۳-۱- محیط‌های کشت جامد استفاده شده ٥٤
۲-۳-۲- محیط کشت مایع استفاده شده ٥٥
۲-۴- خالص سازی جدایه‌ها ۵۵
۲-۵- مشاهدات مورفولوژیکی ۵۵
۲-۶- تولید انبوه میسلیوم ۵۵
۲-۷- نگهداری جدایه‌ها ۵۶
۲-۸- استخراج DNA ژنومی ۵۶
۲-۸-۱- استخراج DNA به روش موری و تامپسون ٥٦
۲-۹- تعیین کمیت و کیفیت DNA ۵۸
۲-۹-۱- روش اسپکتروفتومتری ٥٨
۲-۹-۲- الکتروفورز ژل آگارز ٥٩
۲-۱۰- انجام واکنشهای PCR ۵۹
۲-۱۱- مواد لازم برای انجام واکنش PCR ۶۰
۲-۱۱-۱- آغازگرها ٦٠
۲-۱۱-۲- مخلوط نوکلئوتیدی (dNTP) ٦١
۲-۱۱-۳- کلرید منیزیم ($MgCl_2$) ٦١
۲-۱۱-۴- بافر PCR (۱۰x) ٦٢
۲-۱۱-۵- کلرید پتاسیم(KCl) ٦٢
۲-۱۱-۶- آنزیم *Taq* DNA Polymerase ٦٢
۲-۱۲- تنظیم شرایط برای واکنشهای PCR ۶۲
۲-۱۳- الکتروفورز محصول PCR ۶۸
۲-۱۴- ارزیابی تولید توکسین ۶۸
۲-۱۵- استخراج توکسین ۶۹
۲-۱۶- کروماتوگرافی به روش TLC ۷۰
۲-۱۷- ارزیابی کیفی تریکوتسین موجود در عصاره با استفاده از HPLC ۷۰
فصل سوم: نتایج و بحث ۷۱
۳-۱- جداسازی فوزاریوم ۷۱
۳-۲- محیط های کشت جامد مورد استفاده ۷۱

۳-۲-۱- محیط کشت PDA ۷۱
۳-۲-۲- محیط کشت آب آگار ۷٤
۳-۲-۳- محیط کشت برگ میخک آگار ۷٤
۳-۳- خالص‌سازی قارچ..... ۷۴
۳-۴- مشاهدات مورفولوژیکی ۷۴
۳-۴-۱- مورفولوژی پرگنه روی محیط کشت PDA ۷۵
۳-۴-۲- تشکیل کنیدیوم..... ۷۷
۳-۴-۳- سلولهای مولد کنیدیوم ۷۷
۳-۴-۴- مشخصات کنیدیوم..... ۷۸
الف- ماکروکنیدیوم..... ۷۸
ب-میکروکنیدیوم ۷۸
۳-۴-۵- تشکیل کلامیدوسپور ۷۹
۳-۴-۶ تشخیص گونه جدایه‌های خالص شده ۷۹
۳-۵- استخراج DNA ژنومی..... ۸۰
۳-۶- بهینه سازی روش PCR..... ۸۰
۳-۷- شناسایی تکمیلی جدایه های مورد بررسی با استفاده از PCR توسط جفت آغازگر ویژه گونه *F.graminearum* UBC85F410, UBC854 R410..... ۸۱
۳-۸ بررسی توانایی تولید تریکوتسین درجدایه‌های *F.graminearum* با استفاده از PCR..... ۸۳
۳-۸-۱- ردیابی ژن *Tri5* توسط جفت آغازگر HATri/F, HATri/H..... ۸۳
۳-۸-۲- ردیابی ژن *Tri6* ؛ عامل رونویسی با استفاده از جفت آغازگر T6E , T6P..... ۸۵
۳-۹- تعیین گروه شیمیایی جدایه‌های *F.graminearum* با استفاده از آغازگرهای Tri13DONR, Tri13F, Tri13NIVF, Tri13R..... ۸۸
۳-۱۰- استخراج تریکوتسین ۹۷
۳-۱۱- ارزیابی امکان تولید تریکوتسین با استفاده از روشهای TLC و HPLC..... ۹۷
فصل چهارم: نتیجه‌گیری کلی و پیشنهادها..... ۱۰۸
۴-۱- جمع‌بندی کلی نتایج..... ۱۰۸
۴-۲- پیشنهادها ۱۱۰
پیوست ۱۱۲
منابع ۱۱۵
چکیده انگلیسی..... ۱۲۷

فهرست جداول

عنوان **صفحه**

جدول ۱-۱- میکوتوکسین‌های تولید شده بوسیله گونه‌های مختلف فوزاریوم ۱۴

جدول ۲-۱- مشخصات جدایه‌های مورد بررسی در این تحقیق..... ۵۱

جدول۲-۲- مشخصات جدایه‌های مورد استفاده موجود درگروه بیماری شناسی دانشکده کشاورزی دانشگاه تربیت مدرس ۵۳

جدول ۲-۳- نام و توالی آغازگرهای مورد استفاده دراین تحقیق ۶۱

جدول ۲-۴- مواد لازم و مقدار آن برای تهیه محلول پایه جفت آغازگر ویژه گونه UBC85F410 و UBC85R410..... ۶۳

جدول ۲-۵- زمان و دمای لازم برای مراحل مختلف PCR برای جفت آغازگر ویژه گونه UBC85F410 و UBC85R410 ..... ۶۳

جدول ۲-۶- مواد لازم و مقدارهر یک از آنها برای تهیه محلول پایه جفت آغازگر T6-E و T6-P..... ۶۴

جدول ۲-۷- زمان و دمای لازم برای مراحل مختلف PCR برای جفت آغازگر T6-E و T6-P..... ۶۴

جدول ۲-۸- مواد لازم و مقدار آن برای تهیه محلول پایه جفت آغازگر HATri/F و HATri/R..... ۶۵

جدول ۲-۹- زمان و دمای لازم برای مراحل مختلف PCR برای جفت آغازگر HATri/F و HATri/R..... ۶۵

جدول ۲-۱۰- مواد لازم و مقدار آن برای تهیه محلول پایه جفت آغازگر Tri13NIVF و Tri13R..... ۶۶

جدول ۲-۱۱- زمان و دمای لازم برای مراحل مختلف PCR برای جفت آغازگر Tri13NIVF و Tri13R..... ۶۶

جدول ۲-۱۲- مواد لازم و مقدار آن برای تهیه محلول پایه آغازگرهای Tri13F, Tri13R و Tri13DONR..... ۶۷

جدول ۲-۱۳- زمان و دمای لازم برای مراحل مختلف PCR برای جفت آغازگر Tri13F و Tri13R..... ۶۷

جدول ۲-۱۴- زمان و دمای لازم برای مراحل مختلف PCR برای جفت آغازگر Tri13DONR و Tri13F..... ۶۸

جدول ۳-۱- مشخصات پرگنه جدایه‌های *F. graminearum* مورد بررسی در این تحقیق ۷۵

جدول ۳-۲- شرایط PCR بهینه شده برای برخی جدایه‌های *F. graminearum* مورد بررسی در این تحقیق ۸۶

جدول ۳-۳- زمان ماندگاری ثبت شده برای هر یک از جدایه‌های *F. graminearum* مورد بررسی در HPLC..... ۹۹

جدول ۳-۴- نتایج بررسی گروه شیمیایی جدایه‌های *F. graminearum* با استفاده از جفت آغازگرهای طراحی شده بر اساس *Tri13*..... ۱۰۰

جدول۳-۵- نتایج بررسی گروه شیمیایی جدایه‌های موجود در گروه بیماری شناسی دانشکده کشاورزی دانشگاه تربیت مدرس ۱۰۲

فهرست اشکال

عنوان **صفحه**

شکل ۱-۱- نقشه لوکوس *MAT* نشان دهنده اینترون ، اگزون و نواحی بین ژنی ۱۰
شکل ۱-۲- مشخصات مرفولوژیک هر گونه داخل گروه دندروگرمی فوزاریوم تولید کننده تریکوتسین نوع B ۱۱
شکل ۱-۳- چرخه زندگی قارچ فوزاریوم در ارتباط با میزبانهای تناوبی گندم و ذرت ۱۳
شکل ۱-۴- ساختار پایه تریکوتسین‌ها ۱۵
شکل ۱-۵- ساختمان شیمیایی تریکوتسین‌های گروه A، T-2 توکسین و HT-2 توکسین ۱۶
شکل ۱-۶- ساختمان شمیمیایی تریکوتسین‌های گروه B ۱۷
شکل ۱-۷- مسیر بیوشیمیایی و ژنتیکی تولید تریکوتسین درگونه‌های مختلف فوزاریوم ۲۰
شکل ۱-۸- مسیر تولید تریکوتسین در *F. graminearum* ۲۲
شکل ۱-۹- قطعات تکثیرشده به وسیله جفت آغازگر عمومی ژن *Tri13* توسط چندلر و همکاران (۲۰۰۳) ۲۹
شکل ۱-۱۰- مسیر متابولیتی پیشنهاد شده برای تولید تریکوتسین‌های گروه A ۳۳
شکل ۱-۱۱- مسیر بیوشیمیایی تولید تریکوتسین در فوزاریوم و تغییرات C-۴ ..... ۳۷
شکل ۱-۱۲– نمایش نموداری ژنهای *Tri7*(A) و *Tri13* (B) ۳۸
شکل ۱-۱۳– ساختار کلاسترهای ژنی در گروه شیمیایی NIV و DON ۳۹
شکل ۱-۱۴- نمایش نموداری قطعات تکثیر شده در ردیابی عمومی *Tri7* و *MinusTri7*) ۴۱
شکل ۳-۱- نمونه سنبله گندم آلوده به بلایت فوزاریومی ۷۲
شکل ۳-۲- بذر گندم آلوده به بلایت فوزاریومی، بذر گندم سالم ۷۲
شکل ۳-۳- نحوه خروج قارچ از نمونه بذر آلوده به بلایت فوزاریومی ۷۳
شکل ۳-۴- سلولهای مولد کنیدیوم،مونوفیالیدی در جدایه Fg68، جدایه FgT11 ..... ۷۸
شکل ۳-۵- ماکروکنیدیوم تولید شده در جدایه Fg68، ماکروکنیدیوم تولیدشده در جدایه FgSh10 ..... ۷۹
شکل ۳-۶- کلامیدوسپور تولید شده روی ریسه در جدایه‌های FgM7، FgT7 ..... ۷۹
شکل ۳-۷- الکتروفورز DNA استخراج شده به روش موری و تامپسون همراه با نشانگر III (M) ۸۰
شکل ۳-۸- الگوی باندی ۳۲۳ جفت بازی بر اساس PCR با استفاده از جفت آغازگر UBC85F410, UBC85R410 (جفت آغازگر اختصاصی *F. graminearum*) ۸۲
شکل ۳-۹- الگوی باندی ۳۲۳ جفت بازی بر اساس PCR با استفاده از جفت آغازگر UBC85F410, UBC85R410 (جفت آغازگر اختصاصی *F. graminearum*) ۸۲
شکل ۳-۱۰- الگوی باندی ۳۲۳ جفت بازی بر اساس PCR با استفاده از جفت آغازگر UBC85F410, UBC85R410 (جفت آغازگر اختصاصی *F. graminearum*) ۸۳
شکل ۳-۱۱- الگوی باندی ۲۶۰ جفت بازی بر اساس PCR با استفاده از جفت آغازگر HATri/F, HATri/R (نشانگر حضور ژن *Tri5*، اولین ژن مسئول در تولید تریکوتسین) ۸۵

شکل ۳-۱۲- الگوی باندی۸۷۱ جفت بازی بر اساس PCR با جفت آغازگرT6-E, T6-P (نشانگر حضور ژن *Tri6*، فاکتور رونویسی در مسیر تولید تریکوتسین). ۸۸
شکل ۳-۱۳- الگوی باندی۷۹۹ و ۱۰۷۵ جفت بازی بر اساس PCR با جفت آغازگر Tri13F, Tri13R (به ترتیب نشانگر گروه شیمیایی DON، NIV) ۹۰
شکل ۳-۱۴- الگوی باندی۷۹۹ و ۱۰۷۵ جفت بازی بر اساس PCR با جفت آغازگرTri13F, Tri13R به ترتیب نشانگر گروه شیمیایی DON، NIV). ۹۰
شکل ۳-۱۵ الگوی باندی۳۱۲ جفت بازی بر اساس PCR با جفت آغازگر Tri13NIVF, Tri13R (نشانگرگروه شیمیاییNIV) ۹۱
شکل ۳-۱۶- الگوی باندی۲۸۲ جفت بازی بر اساس PCR با جفت آغازگر Tri13F, Tri13DONR (نشانگر گروه شیمیایی DON) ۹۱
شکل ۳-۱۷- کروماتوگرافی لایه نازک (TLC) مربوط به جدایه های*F. graminearum* ۹۸
شکل ۳-۱۸- کروماتوگرام HPLC مربوط به DON استاندارد ۱۰۴
شکل ۳-۱۹- کروماتوگرام HPLC مربوط به NIV استاندارد ۱۰۴
شکل ۳-۲۰- کروماتوگرام HPLC مربوط به جدایه FgM9 ۱۰۵
شکل ۳- ۲۱- کروماتوگرام HPLC مربوط به جدایه Fg170 ۱۰۵
شکل ۳- ۲۲- کروماتوگرام HPLC مربوط به جدایهFgSh1 ۱۰۶
شکل ۳- ۲۳- کروماتوگرام HPLC مربوط به جدایهFgSh10 ۱۰۶
شکل ۳- ۲۴- کروماتوگرام HPLC مربوط به جدایهFgSh11 ۱۰۷
شکل ۳- ۲۵- کروماتوگرام HPLC مربوط به جدایه Fg49 ۱۰۷

چکیده

فوزاریوز سنبله گندم (FHB) یکی از بیماری‌های مهم قارچی گندم در مناطق مرطوب و نیمه مرطوب جهان می‌باشد. این بیماری باعث کاهش کمی محصول از طریق عقیمی گلچه و تشکیل دانه‌های چروکیده با کاهش وزن می‌گردد. در ایران فوزاریوز سنبله گندم از استان‌های مازندران، گلستان، فارس، هرمزگان و مغان گزارش شده است و اهمیت اقتصادی این بیماری به دلیل آلودگی دانه های چروکیده به میکوتوکسین‌هایی مانند داکسی نیوالنل (DON) و نیوالنل (NIV)افزایش یافته است. عامل این بیماری متعلق به بخش Discolor و جنس فوزاریوم بوده و بیمارگر *F. graminearum* به عنوان گونه غالب گزارش شده است. جدایه‌های *F. graminearum* مجموعه ای از تریکوتسین‌ها شامل DON، NIV، فوزارنون X و میکوتوکسین استروژنیک زرالنون را تولید می‌کنند. تریکوتسین‌ها در بیماریزایی *F.graminearum* در گیاهان مؤثرند و همچنین با جلوگیری از سنتز پروتئین در سلولهای یوکاریوتیکی برای سلامتی انسان و حیوان مضر می‌باشند. لذا پژوهش برای توسعه یک روش ساده و حساس برای ردیابی تریکوتسین‌ها به منظور کاهش خسارت اقتصادی FHB لازم و ضروری به نظر می رسد. در این تحقیق ۳۹ جدایه *F.graminearum* از مزارع مختلف مازندران و ۱۸ جدایه *F.graminearum* موجود در بخش بیماری شناسی دانشکده کشاورزی دانشگاه تربیت مدرس با استفاده از روش‌های کلاسیک به عنوان گونه *F. graminearum* شناسایی شدند. گونه تشخیص داده شده تمام جدایه‌ها با استفاده از روش PCR و آغازگرهای اختصاصی گونه تأیید گردید. برای بررسی توانایی ژنتیکی تولید تریکوتسین در این جدایه‌ها ژنهای *Tri5* (به عنوان اولین ژن مؤثر در تولید تریکوتسین) و *Tri6* (به عنوان عامل رونویسی) با استفاده از روش PCR و آغازگرهای اختصاصی ردیابی شدند. نتایج واکنش‌های PCR نشان داد که توانایی ژنتیکی تولید تریکوتسین در ۵۷ جدایه آزمایش شده وجود دارد. سپس بیان این ژن‌ها و تولید تریکوتسین در شش جدایه بوسیله روش‌های کروماتوگرافی TLC و HPLC مورد ارزیابی قرار گرفت. در ادامه تحقیق، تعیین گروه شیمیایی جدایه‌ها از نظر نوع تریکوتسین بر اساس ارزیابی ژن *Tri13* انجام شد. از ۵۷ جدایه آزمایش شده ۴۶ جدایه به گروه شیمیایی NIV و ۱۰ جدایه به گروه شیمیایی DON تعلق داشتند و جدایه FgSh10 متعلق به هر دو گروه بود. بر اساس نتایج بدست آمده از این تحقیق اغلب جدایه‌های ایرانی *F. graminearum* در گروه شیمیایی NIV بر اساس PCR قرار گرفتند و همچنین نشان داده شد که در جدایه‌های ایرانی نیز توانایی تولید DON وجود دارد، لیکن در بررسی نوع تریکوتسین تولیدی در جدایه FgSh10 با استفاده از TLC و HPLC فقط تریکوتسین نوع NIV تأیید گردید. به نظر می‌رسد که تنوع ژنتیکی بین جدایه‌ها با منطقه جغرافیایی و ژنوتیپ رقم گندم ارتباط داشته باشد. این پژوهش اولین گزارش از ردیابی گروه شیمیایی DON و NIV/DON در جدایه‌های ایرانی *F.graminearum* بر اساس استفاده از تکنیک PCR می‌باشد.

فصل اول
مقدمه و بررسی منابع

۱ -۱- کلیاتی در مورد گندم

۱-۱-۱- تاریخچه

گندم متعلق به سلسله‌گیاهان (Planta)، رده Angiospermae، زیررده Monocotylendoneae (تک لپه) و بالا سلسله موجودات واجد هسته حقیقی (Eukaryota)می‌باشد [۱]. گندم احتمالاً یکی از اولین گیاهانی است که بوسیله انسان کاشته شده است و مهمترین گیاه زراعی به شمار می آید، زیرا کشت آن از همه گیاهان ساده تر و دارای سازگاری وسیعی در مناطق مختلف با شرایط آب و هوایی متفاوت می‌باشد و از طرف دیگر غذای اولیه و اصلی اغلب مردم جهان را تشکیل می‌دهد. کشت این گیاه ۱۲ تا ۱۷ هزار سال قبل از میلاد در خاورمیانه قدمت دارد و حدود ۱۰ تا ۱۵ هزار سال قبل از میلاد نیز در آسیا وجود داشته است، اما مشخص نیست که دقیقاً چه موقع و توسط چه کسی شناخته شده است. مرکز اصلی گندم‌های اولیه شامل *Tritictum monococcum* و *T. dicoccum* سوریه و فلسطین می باشد که از این دو منطقه به مصر و بین النهرین و سپس به ایران آمد و از طریق ایران به هندوستان، ترکستان، چین، روسیه و سرانجام به اروپا برده شد و از طریق اروپا به سایر نقاط جهان انتقال یافت [۳].

۱-۱-۲- اهمیت

گندم گیاهی است که به مقدار زیاد و در سطوح وسیعی از زمینهای کشاورزی دنیا و حتی در نواحی خشک کشت می‌گردد. اهمیت اقتصادی گندم چه از نظر تغذیه و چه از نظر میزان تولید در دنیا بیش از سایر محصولات کشاورزی می‌باشد و حتی در مناطقی که به علت متغیر بودن شرایط اقلیمی و یا خشکی محیط، امکان تولیدگیاه دیگری نباشد، می توان گندم تولید نمود. تولید گندم جهان در دنیا در درجه اول برای تغذیه انسان و در درجه دوم برای تغذیه پرندگان و حیوانات و مصارف صنعتی می باشد. گندم از نظر تولید و سطح زیر کشت مهمترین محصول کشاورزی ایران است و از نظر اقتصادی و تأمین غذای اصلی از اهمیت بسیاری برخوردار می باشد. بالا بردن عملکرد محصول تابع عوامل خاصی است که مهمتر از همه انتخاب و کشت بذر اصلاح شده پر محصول می باشد که باید در کنار آن عوامل دیگر زراعی و مبارزه با آفات وبیماریها نیز در نظر گرفته شود[۳].

۱-۱-۳- سطح زیر کشت و مقدار تولید گندم جهان

سطح زیر کشت گندم در جهان حدود ۳۱ درصد و در آسیا حدود ۳۴ درصد از کل محصولات زراعی را شامل شده است. از کل گندم تولیدی جهان، حدود ۷۵ درصد آن برای تهیه نان به مصرف رسیده، ۱۵ درصد مصارف صنعتی و ۱۰ درصد به عنوان بذر برای کاشت مورد استفاده قرار می گیرد[۳]. طبق گزارش سازمان جهانی خواربار و کشاورزی [۱]، سطح زیر کشت گندم جهان در سال ۲۰۰۴، ۲۱۵۷۶۵۰۴۴ هکتار، مقدار تولید آن ۶۲۷۱۳۰۵۸۴ کیلوگرم و میزان متوسط عملکرد آن ۲۹۰۶/۵ کیلوگرم در هکتار می باشد[۱۴۶].

۱-۱-۴- سطح زیر کشت و مقدار تولیدگندم در ایران

کشور ایران بین ۲۵ تا ۴۰ درجه عرض شمالی و ۴۴ درجه طول شرقی واقع شده و حدود ۱۶ میلیون هکتار وسعت دارد. طبق گزارش سازمان جهانی خواربار و کشاورزی، سطح زیر کشت گندم در سال ۲۰۰۴، ۶ میلیون و ۷۵۰ هزار هکتار، مقدار تولید۱۴ میلیون تن و میزان متوسط عملکرد آن۲۰۷۱ کیلوگرم در هکتار می‌باشد[۱۴۶].

۱- Food & Agriculture Organisation

۱-۱-۵- ارزش و اهمیت غذایی گندم

گندم از قدیمی‌ترین و پرمصرف‌ترین گیاهان زراعی جهان می‌باشد، بطوریکه از سالیان بسیار دور قبل از آنکه بشر به موارد مصرف سایر گیاهان در تغذیه پی ببرد، مهمترین منبع غذایی بوده است. اهمیت گندم مربوط به خواص فیزیکی و شیمیایی موادی است که دانه آن را تشکیل می‌دهند. وجود خاصیت فیزیکی و شیمیایی گلوتن موجود در دانه گندم باعث تخمیر و یا به اصطلاح ور آمدن خمیر حاصل از آرد آن می‌شود و در چنین حالتی می توان انواع نان و بیسکویت، شیرینی و غذاهای مختلف را با آن تهیه نمود. ترکیب گلوتن در گندم‌های مختلف احتمالاً متفاوت و بطورکلی گلوتن گندم دارای ۸۵ درصد پروتئین، ۸/۳ درصد چربی، شش درصد نشاسته و هفت درصد خاکستر می باشد. دانه گندم علاوه بر تأمین خوراک اصلی انسان، به مصرف خوراک پرندگان و برخی از حیوانات نیز می رسد. ساقه و کاه آن نیز برای تهیه بستر دامها و همچنین درصنعت کاغذسازی و تقویت زمینهای زراعی استفاده می‌گردد. ارزش نانوایی گندم یکی از مهمترین خواص مشخص کننده کمیت وکیفیت آرد حاصل از دانه گندم می‌باشد و بستگی به مقدار گلوتن موجود در دانه دارد که مخلوطی از مواد پروتئینی است. مهمترین عواملی که سبب تغییر ارزش نانوایی گندم می‌گردند شامل واریته، آب وهوا، خاک، نوع، مقدار و زمان مصرف مواد تقویت کننده، تناوب زراعی، زمان کاشت(بهاره یا پائیزه بودن)، علفهای هرز، آفات و بیماریها، چگونگی نگهداری و مدت نگهداری در انبار می باشند[۳].

۱-۲- بیماریهای مهم گندم

۱-۲-۱- بیماریهای مهم قارچی

۱-۲-۱- الف- بیماریهای قارچی خوشه و دانه گندم

ایجاد آلودگی قارچها روی گندم از طریق زخمها، منافذ طبیعی یا ریشه با ترشح آنزیم یا مستقیماً از راه روزنه ها صورت می گیرد و علائمی مانند تغییر شکل، لکه، زخم، زنگ، سیاهک یا سفیدک ایجاد می شود. مهمترین بیماریهای ایجاد شده عبارتند از :

- انواع سیاهک[۱]ها شامل سیاهک پنهان (معمولی) گندم، سیاهک پاکوتاه گندم و سیاهک آشکارگندم

- بلایت یا اسکب فوزاریومی خوشه[۲]

۱- Smut

۲- *Fusarium* Head Blight (Scab)

- ارگوت یا ناخنک [۱]

۱-۲-۱-ب- بیماریهای قارچی بوته گندم

انواع زنگ‌ها شامل زنگ[۲] ساقه، زنگ برگ و زنگ نواری

۱-۲-۱-ج- بیماریهای قارچی شاخ و برگ گندم

- سیاهک برگی گندم [۳]
- سفیدک سطحی گندم [٤]
- سفیدک داخلی گندم [٥]
- سپتوریوز یا لکه سفید برگ [٦]
- لکه برگی یا پیچیدگی و سیاه شدن خوشه و برگ گندم [۷]
- لکه برگی زرد یا لکه خرمایی [۸]

۱-۲-۱-د- بیماریهای قارچی ریشه و ساقه گندم

- پوسیدگی طوقه یا لکه چشمی [۹]
- پاخوره یا پاسوزه [۱۰]

۱-۲-۲- بیماریهای باکتریایی گندم

- خوشه صمغی [۱۱]
- سوختگی باکتریایی برگ گندم [۱۲]

۱-۲-۳- بیماریهای نماتدی گندم

- نماتد سیست غلات [۱۳]
- نماتد مولد غده ریشه [۱۴]
- نماتد گال بذر [۱۵]

۱-۲-۴- بیماریهای ویروسی گندم

- موزائیک خطی جو [۱۶]
- کوتولگی زرد جو [۱۷] [۱].

۱- Ergot
۲- Rust
۳- Flag smut
٤- Powdery mildew
٥- Downy mildew
٦- *Septoria* leaf spot
۷- Twist disease
۸- Tan spot
۹- Eye spot
۱۰- Take all
۱۱- Yellow slime
۱۲- Bacterial leaf blight
۱۳- Cereal cyst nematode
۱۴- Root knot nematode
۱٥- Seed gall nematode
۱٦- Barley stripe mosaic virus
۱۷- Barley yellow dwarf virus

۱-۳- بیماری فوزاریوز سنبله گندم

۱-۳-۱- اپیدمی بیماری

فوزاریوز سنبله گندم یا اسکب به عنوان بیماری مهم گندم در مناطق مرطوب و نیمه مرطوب جهان [۶۵] به ویژه زمانی که مرحله گلدهی [۱۰۹] و تکامل دانه با بارندگی و یا رطوبت نسبی بالا همراه باشد، به شمار می رود[۱۲و۱۳] .آرتور[۱] وقوع اپیدمی این بیماری را در سال ۱۸۹۰ از ایندیانا[۲] در آمریکا گزارش کرد. اپیدمی نسبتاً گسترده بیماری از سال ۱۹۲۷ تا ۱۹۸۰ تقریباً هر نه سال یکبار از جنوب غربی انتاریو در کانادا گزارش شده است[۱۳]. در سال ۱۹۹۳ نیز این بیماری در نواحی مربوط به کاشت گندم بهاره در شمال ایالت متحده و استان مانیتوبا در کانادا شدید بوده است. در جمهوری خلق چین اسکب یکی از مهمترین عوامل کاهش عملکرد گندم شناخته شده است. در آرژانتین اپیدمی‌های شدیدی از بیماری در سالهای ۱۹۵۰،۱۹۶۷،۱۹۷۷ و ۱۹۸۵ روی داده است. لهستان، هلند، انگلستان، چکسلواکی، روسیه، اتریش، آفریقای جنوبی، برزیل، اروگوئه و مکزیک نیز برخی از کشورهایی هستند که بیماری از آنها گزارش شده است. این بیماری از سالها پیش بطور پراکنده در ایران وجود داشته است و یکی از بیماریهای مهم گندم در مازندران گرگان و گنبد و مغان به شمار می رود [۱۳]. در چند سال اخیر به علت وجود مایه تلقیح بیماری[۳]، کشت ارقام حساس مانند فلات، تجن و شرایط مساعد جوی در مناطق گرگان، گنبد، مازندران و مغان خسارت ناشی از این بیماری بسیار چشمگیر بوده است [۱۱ و ۱۳].

۱-۳-۲- اهمیت اقتصادی

اسکب گندم می‌تواند به مقدار زیادی عملکرد و کیفیت دانه را کاهش دهد[۱۳ و ۱۱۵]. این بیماری از طریق کاهش قدرت جوانه زنی بذر و ایجاد بلایت گیاهچه و طوقه ضعیف سبب خسارت غیر مستقیم می شود [۱۳ و ۲۰]. بیماری به دلیل میکوتوکسین‌های تولید شده توسط قارچهای عامل، خسارت دیگری نیز سبب می‌شود و آرد حاصل از بذور آلوده برای تغذیه مناسب نخواهد بود[۱۳ ، ۲۰و ۱۱۵].

بولگاریا[۴] و ملادنوا[۵] (۱۹۷۴) کاهش پروتئین دانه، گلوتن و کیفیت پودری را در ارتباط با این بیماری گزارش کردند. تخریب گرانولهای نشاسته و تأثیر در کیفیت دانه توسط بیچل[۶] و همکاران (۱۹۸۲) گزارش شده است [۲۰و ۱۱۵]. بر اساس گزارش ونگ[۷] و همکاران (۱۹۸۹) از چین در سالهای اپیدمی

۱-Arthur
۲- Indiana
۳- Inoculum
۴- Bulgaria
۵- Mladenova
۶-Bechtel
۷- Wang

بیماری آلودگی سنبله ۵۰ تا ۱۰۰ درصد و میزان کاهش محصول ۲۰تا ۴۰ درصد برآورد شده است. آلودگی در بیش از هفت میلیون هکتار از مزارع گندم پراکندگی داشته و خسارت یک میلیون تن تخمین زده شده است. در ایالتهای مشرف به اقیانوس اطلس میزان کاهش محصول درگندمهای بهاره در سال ۱۹۸۰ بین ۳۰ تا ۷۰ درصد گزارش شده است. در شرق مازندران متوسط درصد آلودگی سنبله برای ارقام تجارتی فلات، گلستان و خزر به ترتیب ۷۶، ۶۱ و ۲۸ برآورد شده است[۱۲].

۱-۳-۳- عوامل بیمارگر مرتبط و توزیع جغرافیایی

تاکنون گونه‌های زیادی از جنس فوزاریوم به عنوان عامل فوزاریوز سنبله گندم معرفی شده اند[۱۲] که در بعضی منابع ۱۸ گونه و در برخی تا ۲۱ گونه به عنوان عامل بیماری گزارش شده است. [۱۱ و ۱۳]. FHB اولین بار توسط اسمیت [۱] (۱۸۸۴) از انگلیس گزارش شد و عامل بیماری *Fusisporium culmorum* تشخیص داده شد. چستر[۲] (۱۸۹۰)، آرتور(۱۸۹۱)،جانسون[۳] و همکاران (۱۹۲۰)،ماکینز[۴] وفوگلمن[۵] (۱۹۲۳)، کوهلر[۶] و همکاران (۱۹۲۴) شیوع بیماری را به طور غالب به وسیله *Fusarium graminearum* در محصولات گندم آمریکا گزارش کردند[۱۱۵]. از بین گونه های بیمارگر *F. graminearum , F. culmorum , F. avenaceum* و *Microdochium nivale* از اهمیت ویژه ای برخوردارند [۱۰ و ۱۱۵]. در نواحی گرم تر جهان شامل استرالیا، اروپای مرکزی و کانادا *F. graminearum* به عنوان گونه غالب، ولی در نواحی ساحلی سردتر اروپای شمال غربی *F. poae* ، *F. culmorum , M. nivale* اهمیت بیشتری دارند [۱۱۵]. گونه *F. graminearum* اولین بار بوسیله ارشاد (۱۳۵۶) از دشت ناز ساری گزارش گردید و گلزار (۱۳۶۸) ضمن بررسی بیماری فوزاریوز سنبله و نحوه انتقال آن بوسیله بذر، گونه مزبور را به عنوان گونه غالب در استان مازندران گزارش نمود. زمانی زاده و فروتن (۱۳۷۱) و گلزار(۱۳۷۲) دو گونه *F. graminearum* و *F. culmorum* را از استان مازندران گزارش کردند. علاوه بر آن گونه های *F. acuminatum, F. moniliforme, F. equiseti, F. semitectum ,F. prolifratum* از سنبله گندم جدا و معرفی شده اند [۵ و ۱۱۵]. زمانی زاده و خرسندی (۱۳۷۴) در بررسی دانه های گندم جمع آوری شده از استان مازندران

۱- Smith
۲- Chester
۳- Johnson
۴- Macinnes
۵- Fogelman
۶- Koeiler

گونه های *F.subglutinase , F. equiseti, F. crookwellense, F accuminatum, F. proliferatum* *F graminearum* را گزارش نموده اند[۵]. زارع و ارشاد (۱۳۷۶) گونه های *F. graminearum*، *F. culmorum, F. compactum, F. prolifratum* و *F.lateritium* را از خوشه گندم جداسازی کردند[۴]. اما به ا ستثنای دو گونه *F. graminearum* و *F. culmorum* بیماریزایی سایر گونه ها روی خوشه گندم در ایران گزارش نگردیده است. [۱۰]. پروفیل گونه‌ها به چندین عامل مانند شرایط آب و هوایی، باران و دما در مزرعه در مرحله گلدهی، عوامل کشاورزی شامل خاک، نیتروژن، قارچ کشها، تناوب زراعی و ژنوتیپ گروه میزبان بستگی دارد[۲۵].

۱-۳-۳-الف- بیمارگر *F. graminearum*

جنس *Gibberella* اولین بار با عنوان *Sphaeria pulicaris* در *Systema Mycologicum* توسط فریز[۱]، گیاهشناس سوئدی (۱۸۲۲) شرح داده شد. نام *Gibberella* از شکل محدب یا برآمده پریتسیوم گرفته شده است. *G. zeae* اولین بار (۱۸۲۲) توسط شوئینتز [۲] قارچ شناس آمریکایی توصیف شد[۴۲]. اغلب گزارش ها از بیماری FHB مرتبط با پنج گونه *F. culmorum*، *F. avenaceum* (*G. avenacea*) ، *F. graminearum* (*G. zeae* قبلاً با عنوان *G. saubinetii*)، *F. poae* و *M. nivale* (فرم جنسی *Monographella nivalis*) می باشد[۴۸]. *F. graminearum* به عنوان عامل اصلی FHB در مناطق گرمتر جهان مطرح بوده و مرحله جنسی آن (*G. zeae*) یک آسکومیست هموتال است.

تاکسونومی این بیمارگر بر اساس مرحله جنسی به شرح زیر می باشد[۶]:

فوق سلسله : *Eukaryota*

سلسله : *Fungi*

شاخه : *Ascomycota*

رده : *Pyrenomycetes*

راسته : *Hypocreales*

خانواده : *Nectriaceae*

جنس : *Gibberella*

گونه : *G. zeae* [۶]

۱- Fries
۲- Schweinitz