

شناسایی نژادهای فیزیولوژیک عامل بیماری سفیدک کرکی آفتابگردان (*Plasmopara halstedii*) و واکنش ژنوتیپ‌های میزبان به آن نژادها در شرایط کنترل شده

Identification of Sunflower Downy Mildew (*Plasmopara halstedii*) Physiological Races and Reaction of the Host Genotypes to the Races Under Controlled Conditions

سیامک رحمانپور

استادیار، مؤسسه تحقیقات اصلاح و تهیه نهال و بذر، کرج

تاریخ دریافت: ۱۳۹۳/۱۲/۱۵ تاریخ پذیرش: ۱۳۹۴/۵/۸

چکیده

رحمانپور، س. ۱۳۹۴. شناسایی نژادهای فیزیولوژیک عامل بیماری سفیدک کرکی آفتابگردان (*Plasmopara halstedii*) و واکنش ژنوتیپ‌های میزبان به آن نژادها در شرایط کنترل شده. مجله به‌نژادی نهال و بذر ۱-۳۱: ۴۷۶-۴۵۹.

به منظور شناسایی نژادهای فیزیولوژیک عامل بیماری سفیدک کرکی آفتابگردان در ایران، نمونه‌های قارچ عامل بیماری جمع‌آوری و پس از احیا روی رقم حساس رکورد تکثیر شدند. به منظور تعیین نژادهای فیزیولوژیک قارچ عامل بیماری جدایه‌های نماینده مناطق روی ارقام افتراقی استاندارد مایه‌زنی شدند. با توجه به یکسان بودن بیماری‌زایی جدایه‌های آزمایش شده و شناسایی نژاد ۱۰۰ برای آن‌ها، تعداد ۷۷ ژنوتیپ آفتابگردان شامل هیبریدهای جدید، لاین‌های برگشت دهنده باروری و نرعیق سیتوبلاسمی، تک بوته‌های انتخابی و جوامع انتخابی ارقام آزاد گرده‌افشان در مقابل نژاد شناسایی شده در شرایط آزمایشگاهی و گلخانه‌ای مورد ارزیابی قرار گرفتند. میزان آلودگی بوته‌ها پانزده روز پس از مایه‌زنی و بر اساس صفات ظاهری بیماری شامل مرگ گیاهچه، اسپورزایی روی کوتیلدون‌ها، اسپورزایی در کوتیلدون و برگ‌های اصلی، کوتولگی، موزائیک، رنگ پریدگی و بد شکلی ارزیابی شد. با توجه به اهمیت این علائم و نقش آن‌ها در شدت بیماری برای هر کدام امتیازی منظور و میانگین مجموع امتیازات هر ژنوتیپ به عنوان شاخص شدت بیماری (Disease Severity Index: DSI) برای تعیین واکنش لاین‌های آفتابگردان استفاده شد. بر اساس نتایج به دست آمده ۶۴ ژنوتیپ به عنوان مقاوم ($DSI > 0$)، و بقیه به عنوان نیمه مقاوم، نیمه حساس، حساس و خیلی حساس ارزیابی شدند.

واژه‌های کلیدی: آفتابگردان، *Plasmopara halstedii*، شاخص شدت بیماری، مقاومت.

مقدمه

آفتابگردان (*Helianthus annuus* L.) یکی از پنج گیاه یک ساله روغنی اصلی در دنیا است. سفیدک کرکی با عامل بیماری *Plasmopara halstedii* از جمله بیماری‌هایی به شمار می‌آید که در صورت فراهم بودن شرایط محیطی مناسب، خسارت زیادی به محصول وارد می‌کند، به گونه‌ای که صدمات آن در چنین شرایطی در برخی مناطق کشت آفتابگردان در کشورمان به بیش از ۵۰ درصد بوته‌های کشت شده می‌رسد (Rahmanpour, 2004a)؛ (Rahmanpour et al., 2000a,b).

وجود نژادهای فیزیولوژیک و پراکنندگی منطقه‌ای آن‌ها در امر تحقیقات اصلاح و تهیه ارقام مقاوم به بیماری، از اهمیت ویژه‌ای برخوردار است. چرا که توسعه کشت این ارقام در مقیاسی گسترده، بدون در نظر گرفتن حضور و نحوه پراکنش نژادها و یا حتی بروز اشتباه در این زمینه با شکست روبرو خواهد شد (Alizadeh and Rahmanpour, 2005)؛ (Rahmanpour et al., 2000a). از آنجایی که قارچ عامل بیماری سفیدک کرکی آفتابگردان چرخه زندگی خود را همه ساله کامل می‌کند بدین سبب ممکن است، نژادهای بیماریزای جدیدی در اثر موتاسیون و نوترکیبی ژن‌های بیماریزابه وجود آیند (Shindrova, 2005)؛ (Rahmanpour et al., 2000a). با استفاده از لاین‌های افتراقی استاندارد و سیستم واکنش

مقاومت یا حساسیت به عامل بیماری بیش از ۹ نژاد بیماریزای قارچ *P. halstedii* در آمریکای شمالی، اروپا و نواحی دیگر شناسایی شده است. مطالعات انجام شده نشان داده که برخی از ژن‌های مقاومت به چند نژاد فیزیولوژیک عامل بیماری مقاومت دارند. همین امر و تعدد و تفاوت نژادهای شناخته شده پژوهشگران را بر آن داشت تا از یک سیستم جامع نامگذاری عددی استفاده کنند (Tourvieille de Labrouhe et al., 2000). رحمانپور و همکاران (Rahmanpour, 2004a)؛ (Rahmanpour et al., 2000b) با استفاده از لاین‌های افتراقی موجود اقدام به شناسایی نژاد غالب بیماریزای ایران کردند. شاپوران و همکاران (Shapouran et al., 2012) نیز با استفاده از لاین‌های افتراقی جدید و کاربرد سیستم نامگذاری عددی نژاد ۱۰۰ را برای جدایه‌های عامل بیماری در منطقه ارومیه معرفی کردند.

مقاومت به بیماری سفیدک کرکی آفتابگردان برای اولین بار، از کانادا در سال ۱۹۶۴ میلادی گزارش شد و پس از آن پژوهشگران اروپایی و آمریکایی مقاومت آفتابگردان به این بیماری را با استفاده از روش‌های آلوده‌سازی مصنوعی، ارزیابی کردند (Sackston, 1974)؛ (Kolte, 1985)؛ (Montes and Sackston, 1974). این محققان تا مدتی از اسپوره‌های جنسی قارچ (اؤوسپور) در بستر خاک برای

اسپورزایی در نظر گرفته و بر اساس علایم مشاهده شده بیماری، بوته‌های ارقام آفتابگردان را در گروه‌های حساس تا مقاوم رده‌بندی کردند (Rahmanpour *et al.*, 2000a)؛ Viranyi and Bartha, 1981 (Rashid, 1993). با استفاده از روش مایه‌زنی غوطه‌ور کردن گیاهچه در سوسپانسیون اسپور و امتیازدهی نشانه‌های بیماری تعداد بسیاری از ژنوتیپ‌های آزمایشی آفتابگردان در شرایط گلخانه مورد ارزیابی قرار گرفتند (Rahmanpour and Khodabandeh, 2010)؛ (Rahmanpour, 2002; 2004b). شاپوران و همکاران (Shapouran *et al.*, 2013) نیز با کاربرد روش مایه‌زنی مذکور به بررسی واکنش ارقام آجیلی و روغنی آفتابگردان در مقابل بیماری اقدام کردند. تداوم روند اصلاح و معرفی منابع جدید مقاومت به بیماری سفیدک کرکی آفتابگردان با در نظر گرفتن تغییرات فیزیولوژیک عامل بیمارگر ضرورت اجرای پژوهش اخیر را به وضوح روشن می‌سازد.

مواد و روش‌ها

احیاء، تکثیر و نگهداری جدایه‌های قارچ

P. halstedii

نمونه‌های خاک جمع‌آوری شده از مناطق آلوده (جدول ۱) حاوی آسپوره‌های زمستان‌گذران قارچ عامل بیماری در گلدان‌ها پر شده و سپس بذر رقم حساس رکورد به مقدار فراوان در آن‌ها کاشته شد.

آلوده‌سازی گیاه میزبان استفاده می‌کردند (Rahmani and Majidieh-Ghassemi, 1975)؛ (Sharif, 1971) و پس از آن روش آلوده‌سازی مصنوعی (Whole Seedling Immersion) WSI معرفی شد (Viranyi, 1977). این روش بر غوطه‌ورسازی گیاهچه‌های آفتابگردان درون سوسپانسیون ژئوسپورانژیوم استوار بود. روش یاد شده برای بررسی‌های مقاومت، شناسایی نژادهای فیزیولوژیک قارچ *P. halstedii* و جنبه‌های دیگر مطالعاتی در مراکز تحقیقاتی مورد استفاده قرار گرفته است (Mouzeyar *et al.*, 1993)؛ (Gulya *et al.*, 1991a,b). در ایران نیز در دو دهه اخیر با استفاده از این روش و اعمال تغییراتی جزئی در آن واکنش صدها ژنوتیپ آفتابگردان شامل لاین‌های برگشت‌دهنده باروری، نر عقیم سیتوپلاسمی، ارقام هیبریدهای داخلی و خارجی نسبت به قارچ عامل بیماری سفیدک کرکی ارزیابی شده است (Rahmanpour and Khodabandeh, 2010).

در ارزیابی حساسیت یا مقاومت ارقام و لاین‌های آفتابگردان در مقابل بیماری، بیشتر پژوهشگران اسپورزایی روی جفت اول برگ‌ها و یا کوتیلدون‌ها را ملاک حساسیت بوته‌ها قرار داده و بوته‌های فاقد این علایم، مقاوم تلقی شده‌اند (Mouzeyar *et al.*, 1992)؛ (Gulya *et al.*, 1991a, b). پژوهشگران در مطالعات خود، نشانه‌های دیگری را علاوه بر

جدول ۱- مشخصات نمونه های خاک آلوده به جدایه های قارچ *P. halstedii* جمع آوری شده از مناطق کشت آفتابگردان

Table 1. Soil samples contaminated to *P. halstedii* collected from sunflower growing areas

Province	استان	Area	منطقه	محل جمع آوری Collection site	رقم میزبان Host cultivar	کد Code	
Golestan	گلستان	Golidagh	گلیداغ	Golidagh	Record	13891, 13892, 13893	
Markazi	مرکزی	Arak	اراک	Agri. Res. Centre	محدوده مرکز تحقیقات مزارع	Record	10871
West Azarbayjan	آذربایجان غربی	Urmia	ارومیه	Eastern fields of Urmia	شرق شهرستان ارومیه	Confectionary	آجیلی 3881, 3882, 3883

این سوسپانسیون‌ها فرورده شدند. در نهایت گیاهچه‌ها به داخل ژرمیناتور یا انکوباتور با دمای 15 ± 1 درجه سانتی‌گراد و تاریکی به مدت حداقل سه ساعت انتقال یافتند تا مایه‌زنی (Inoculation) انجام شود. گیاهچه‌های مایه‌زنی شده درون گلدان‌های حاوی خاک پاستوریزه کاشته شدند. بدین ترتیب نمونه‌های (جدایه) قارچ جمع‌آوری شده، روی رقم حساس رکورد مایه‌زنی و تکثیر شدند.

تعیین نژادهای فیزیولوژیک قارچ عامل بیماری
برای اجرای آزمایش شناسایی نژادهای فیزیولوژیک، با استفاده از ارقام افتراقی جدید، روش بین‌المللی پیشنهادی (Tourvieille de Labrouhe *et al.*, 2000) مورد استفاده قرار گرفت. در این آزمایش از جدایه‌های نماینده استان‌های آذربایجان غربی، گلستان و مرکزی

دمای گلخانه در محدوده حرارتی ۱۷-۱۵ درجه سانتی‌گراد به مدت یک ماه نگهداشته شده و رطوبت آزاد اطراف ریشه‌ها در این مدت تامین شد. اولین گیاهچه آلوده از هر نمونه خاک به عنوان جدایه عامل بیماری برای مطالعات بعدی مورد استفاده قرار گرفت. به منظور تکثیر جدایه‌های احیا شده، برگ گیاهچه‌های آلوده جدا شد و پس از شستشو روی کاغذ صافی مرطوب درون تشتک پتری قرار داده شدند. با قرار دادن تشتک‌های در دمای 15 ± 1 درجه سانتی‌گراد و تاریکی ۲۴ ساعته، نمونه‌های برگ‌گی تحریک به اسپورزایی شدند. سوسپانسیون اسپورهای تولیدی (ژئوسپورانژها) با آب مقطر سترون تهیه و بلافاصله گیاهچه‌های ۲-۳ روزه رقم رکورد بر اساس روش آلوده‌سازی موسوم به آغشتن کامل گیاهچه (Whole Seedling Immersion: WSI) درون

برای اولین لاین در هر گروه عدد یک، دومین و سومین لاین در هر گروه به ترتیب اعداد ۲ و ۴ و برای واکنش مقاومت در هر کدام از لاین‌ها عدد صفر در نظر گرفته می‌شود، بنابراین به عنوان مثال نژادهای شماره یک آمریکایی و B فرانسوی در سیستم جدید نامگذاری به ترتیب شماره‌های ۱۰۰ و ۷۰۳ هستند. کلیه آزمایش‌ها روی سری جدید ۹ تایی این ارقام انجام شد (جدول‌های ۲ تا ۴).

ارزیابی مقاومت مواد ژنتیکی آفتابگردان به

سفیدک کرکی

آزمایش‌های ارزیابی مقاومت با استفاده از روش غوطه‌ور کردن کامل گیاهچه در سوسپانسیون اسپور انجام شدند. غلظت سوسپانسیون حاصله به ۳۰ هزار زئوسپورانژیوم در هر میلی‌لیتر رسانده شد. برای سرعت بخشیدن به خروج زئوسپورها (اسپورهای حرکتی) از زئوسپورانژها، قند سوکروز به مقدار یک در صد به محلول نهایی اضافه شد (Rahmanpour et al., 2000a). گیاهچه‌های سه روزه آفتابگردان درون این سوسپانسیون غوطه‌ور شده و به مدت سه ساعت در ژرمیناتور با دمای 15 ± 1 درجه سانتی‌گراد و تاریکی برای مایه‌زنی نگهداشته شدند و در نهایت در گلخانه درون گلدان‌های حاوی خاک پاستوریزه (در هر گلدان پنج گیاهچه) کاشته شدند.

گیاهچه‌های مایه‌زنی شده و شاهد (آب مقطر سترون به عنوان مایه تلقیح) در گلدان‌های

(جدول ۱) استفاده شد. گیاهچه‌های مایه‌زنی شده در بستر مناسب درون گلدان‌های پلاستیکی حاوی مخلوط خاک و ماسه سترون با نسبت حجمی ۱ به ۱ کشت و به گلخانه منتقل شدند. نور مورد نیاز برای رشد مناسب گیاهچه‌ها، با استفاده از لامپ‌های بخار سدیم پر فشار (High-Pressure Sodium Lamps) ۲۵۰ یا ۴۰۰ وات که ۱۴-۱۰ هزار لوکس نور تولید می‌کنند، تامین شد (Rahmanpour, 2004a).

پس از دو هفته، شرایط رطوبت اشباع و تاریکی در گلخانه اعمال و ارزیابی واکنش بوته‌های ارقام افتراقی به صورت حساسیت یا مقاومت آن‌ها بررسی شد. واکنش حساسیت بر اساس کوتولگی، رنگ پریدگی و اسپورزایی روی کوتیلدون‌ها و برگ‌ها شناسایی شد. همچنین اسپورزایی متراکم روی دو سطح کوتیلدون بوته‌ها و نیز مرگ گیاهچه حاکی از حساسیت آن‌ها بود (Alizadeh and Rahmanpour, 2005). ارقام افتراقی (Rahmanpour et al., 2000b). مورد استفاده در آزمایش‌های شناسایی نژادهای فیزیولوژیک، دارای ژن‌های مقاومت (PI) مشخص شده‌ای هستند که نسبت به نژادهای مختلف شناخته شده، واکنش مشخصی از نظر مقاومت یا حساسیت نشان می‌دهند. این ارقام تاکنون در نقاط مختلف دنیا آزمایش شده و واکنش‌های متمایزی در مقابل تک تک نژادها نشان داده‌اند (Tourvieille de Labrouhe et al., 2000). در این روش تعیین نژاد، به واکنش حساسیت

جدول ۲- لاین‌های افتراقی آفتابگردان برای شناسایی نژادهای سفیدک کرکی
(Tourvieille de Labrouhe *et al.*, 2000)

Table 2. Sunflower differential lines for identification of physiological races of downy mildew (Tourvieille de Labrouhe *et al.*, 2000)

نام اختصاصی Specified name	نام اصلی Main name	منشاء مقاومت Resistance source	شجره Pedigree	تهیه کننده Provider
D-1	HA-304	Unknown	Commander	USDA (J. Miller)
D-2	Rha-265	953-102(Canada)	Peredovik/953-102	USDA (J. Miller)
D-3	Rha-274	953-88(Canada)	HA-119/HA-62	USDA (J. Miller)
D-4	PMI3	Novinka(Russia)	Selection from DM-2	INRA (F. Vear)
D-5	PM-17	? (Iran)	PI 406022	USDA (J. Miller)
D-6	803-1	<i>H. tuberosus</i> (Yugoslavia)	Crossing with <i>H. tuberosus</i>	IFVC (D. Skoric)
D-7	HAR-4	? (Argentina)	Selection from Saenz-Pena 74-I-2	USDA (J. Miller)
D-8	QHP1	Guayacan INTA(Argentina)	Selection from HAR-5 x PRS7	INRA (F. Vear)
D-9	HA-335	Wild type <i>H. annuus</i>	HA-89 x <i>H. annuus</i>	USDA (J. Miller)

جدول ۳- سیستم کدگذاری سه تایی برای تعیین نژادهای سفیدک کرکی آفتابگردان
(Tourvieille de Labrouhe *et al.*, 2000)

Table 3. Triplet coding system for defining sunflower downy mildew races (Tourvieille de Labrouhe *et al.*, 2000)

Differential line	D-1	D-2	D-3	D-4	D-5	D-6	D-7	D-8	D-9	Triplet Code
Value if S.	1	2	4	1	2	4	1	2	4	
European race	S	R	R	R	R	R	R	R	R	
Red River race	S	S	R	R	R	R	R	R	R	100
Race ?xyz?	S	S	S	S	R	S	R	S	R	300
		1+0+0=1			0+0+0=0			0+0+0=0		100
		1+2+0=3			0+0+0=0			0+0+0=0		300
		1+2+4=7			1+0+4=5			0+2+0=2		752

S: Susceptible; R: Resistant; Race "xyz"= hypothetical race

مطلوب همانند آزمایش‌های شناسایی نژاد عمل شد.

به منظور ارزیابی ارقام و لاین‌های آفتابگردان از نظر مقاومت یا حساسیت، شش صفت قابل مشاهده بیماری (جدول ۴) روی تک تک بوته‌ها (چه شاهد‌ها و چه تیمارها)

پلاستیکی به تعداد پنج بوته در هر گلدان و سه تکرار (گلدان) برای هر تیمار کاشته شدند. در همه آزمایش‌ها از رقم حساس رکورد به عنوان شاهد حساس برای نشان دادن تاثیر مناسب تیمار قارچ عامل بیماری استفاده شد و برای ایجاد شرایط رطوبت اشباع، تاریکی و حرارت

جدول ۴- نامگذاری قدیم و جدید نژادهای قارچ عامل سفیدک کرکی آفتابگردان بر اساس واکنش ارقام افتراقی (Tourvieille de Labrouhe *et al.*, 2000)

Table 4. New and former nomenclature of physiological races of sunflower downy mildew based on reaction of differential lines (Tourvieille de Labrouhe *et al.*, 2000)

لاین افتراقی Differential line	نامگذاری قدیمی نژادها														
	Former nomenclature											نام فرانسوی			
	نام آمریکائی American											French			
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	A	B	C	D
گروه اول Group 1															
D-1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1
D-2	0*	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2
D-3	0	0	4	4	4	0	0	4	0	4	4	4	4	4	0
گروه دوم Group 2															
D-4	0	0	0	1	1	1	1	1	1	0	1	1	0	0	0
D-5	0	0	0	2	2	0	2	0	2	0	0	0	0	0	0
D-6	0	0	0	0	4	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
گروه سوم Group 3															
D-7	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	1	0	1	0	0
D-8	0	0	0	0	0	0	0	0	0	2	0	0	2	0	0
D-9	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
نام گذاری جدید عددی New nomenclature	1	3	7	7	7	3	3	7	3	7	7	7	7	7	3
	0	0	0	3	7	1	3	1	3	0	1	1	0	0	0
	0	0	0	0	0	0	0	0	0	3	1	0	3	0	0

*0: Resistant

امتیازهای ذکر شده برای هر بوته یا گیاه و میانگین نمرات بوته‌ها در هر گلدان محاسبه شد. مجموع میانگین‌های این امتیازها به نام شاخص شدت بیماری (Disease Severity Index: D.S.I.) نامیده شد که بین صفر تا ۱۰۰ تغییر می‌کند. گروه‌بندی مواد ژنتیکی آفتابگردان از نظر حساسیت

بررسی و یادداشت‌برداری شد (Rahmanpour *et al.*, 2004). برای استفاده از نقش این علایم و صفات ماکروسکوپیک آلودگی، که نشانگر شدت واکنش میزبان است، عمل امتیازدهی آن‌ها انجام شد و بر اساس اهمیت در تظاهرات آلودگی، صفات کیفی مزبور به صفات کمی تبدیل شدند (جدول ۵).

جدول ۵- علائم آلودگی به بیماری سفیدک کرکی آفتابگردان و امتیازهای آن‌ها بر اساس اهمیت
(Rahmanpour *et al.*, 2000a)
Table 5. Symptoms of infection to sunflower downy mildew and their scores based on importance (Rahmanpour *et al.*, 2000a)

Symptoms	علائم آلودگی	امتیاز Score
Damping off	مرگ گیاهچه	100
Limited sporulation on cotyledons	اسپورزایی محدود روی کوتیلدون‌ها	10
Sporulation on cotyledons and leaves	اسپورزایی روی کوتیلدون و برگ‌ها	60
Stunt	کوتولگی	20
Chlorosis/mosaic	کلروز یا موزاییک	10
Deformation	بدشکلی	10

یامقاومت و یا حد ما بین آن‌ها با استناد بر میزان شاخص شدت بیماری انجام شد که براین اساس پنج گروه (جدول ۶) معرفی شده است (Rahmanpour *et al.*, 2000a).

جدول ۶- گروه‌بندی واکنش ژنوتیپ‌های آفتابگردان بر اساس شاخص شدت بیماری سفیدک کرکی
(Rahmanpour *et al.*, 2000a)
Table 6. Grouping of sunflower genotypes responses based on the disease severity index of downy mildew (Rahmanpour *et al.*, 2000a)

Response	واکنش	شاخص شدت بیماری Disease severity index (D.S.I.)
Resistant (R)	مقاوم	0-20
Moderately resistant (MR)	نیمه مقاوم	20-30
Moderately susceptible (MS)	نیمه حساس	30-50
Susceptible (S)	حساس	50-95
Highly susceptible (HS)	فوق حساس	95-100

بر این اساس در بررسی‌های مقاومت آفتابگردان به قارچ عامل بیماری سفیدک کرکی تعداد ۷۷ لاین و هیبرید با به کارگیری روش آلوده‌سازی مصنوعی فروردین کامل گیاهچه در سوسپانسیون زئوسپورانژیوم یا WSI مورد بررسی و ارزیابی قرار گرفتند.

نتایج و بحث

تعیین نژادهای فیزیولوژیک قارچ عامل بیماری

در بین ارقام افتراقی مایه‌زنی شده با جدایه‌های جمع‌آوری شده، رقم HA-304 در آزمایش‌ها نسبت به جدایه‌های نماینده حساسیت کامل نشان داد. بقیه ارقام، در مقابل آن‌ها مقاومت نشان دادند (جدول ۶). از مقایسه خصوصیات بیماری‌زایی جدایه‌های آزمایش شده با هم‌دیگر روی ارقام افتراقی، چنین نتیجه گرفته شد که جدایه‌های نماینده و مورد بررسی از نظر بیماری‌زایی مشابه یک‌دیگر بودند و فقط یک نژاد غالب در مناطق نمونه‌برداری شده شناسایی شد و این نژاد با استفاده از سیستم جدید نامگذاری نژاد ۱۰۰ بود (جدول ۷).

مقاومت مواد ژنتیکی آفتابگردان به بیماری

سفیدک کرکی

براساس شاخص شدت بیماری حاصل از مجموع امتیازهای علایم بیماری سفیدک کرکی مطابق آن با گروه‌های واکنش (جدول ۶)، واکنش مواد ژنتیکی آفتابگردان ارزیابی شد. نتایج به دست آمده حاکی از آن بود که تمامی هفت هیبرید ایرانی مقاوم بودند و بوته آلوده در کل بوته‌های مایه‌زنی شده در آن‌ها مشاهده نشد. همچنین علایمی مانند کوتولگی و موزائیک که از صفات بارز آلودگی سیستمیک به بیماری به شمار می‌آیند در تیمارهای مایه‌زنی شده وجود نداشت، بنابراین مقاومت این هیبریدها در مقایسه با

حساسیت رقم رکورد با میانگین شاخص شدت بیماری بالای ۹۵ و قرار گرفتن این شاخص برای ژنوتیپ‌های هدف در محدوده کمتر از ۵ محرز شد (جدول ۸). در میان لاین‌های رستور ارزیابی شده با روش استاندارد موجود در شرایط آزمایشگاه و گلخانه، مقاومت مطلوب با شاخص شدت بیماری صفر تا ۱۰ در اکثریت این لاین‌ها مشاهده شد (جدول ۹). لازم به ذکر است که بر اساس معیار امتیازدهی به تک تک علایم ناشی از بیماری تعدادی از این لاین‌ها اسپورزایی محدودی در قسمت کوتیلدون نشان دادند و نمره حاصله به این نشانه ۱۰ در نظر گرفته شد، بنابراین شاخص شدت بیماری کل این ژنوتیپ‌ها با توجه به محاسبه میانگین شاخص هر بوته مایه‌زنی شده کمتر از ۱۰ بود.

از میان سیزده لاین نر عقیم سیتوپلاسمی ده لاین دارای مقاومت به نژاد ۱۰۰ بیماری سفیدک کرکی تشخیص داده شدند. در بررسی واکنش‌ها و علایم سیستمیک بیماری، ژنوتیپ‌های مقاوم فاقد آن‌ها بوده و در مقابل لاین‌های حساس به خوبی تمامی علایم آلودگی را نشان دادند (جدول ۱۰). تمامی تک بوته‌های انتخابی رقم وارداتی مستر (Master) نیز با کاربرد روش غوطه‌ور کردن گیاهچه در سوسپانسیون اسپورانژ واکنش بارز مقاومت داشتند، به گونه‌ای که هیچ نشانه ظاهری از آلودگی سیستمیک و حتی اسپورزایی محدود به کوتیلدون مشاهده نشد (جدول ۱۱). جوامع سلف شده آفتابگردان که با اهداف اصلاحی

جدول ۷- واکنش لاین‌های افتراقی آفتابگردان در مقابل جدایه‌های قارچ *Plasmopara halstedii* عامل بیمارگر سفیدک کرکی جمع‌آوری شده در ایران
 Table 7. Reaction of sunflower differential lines to isolates of *Plasmopara halstedii*, the causal agent of downy mildew collected from Iran

Specified line name	Original line name	Reaction type (S/R)							
		Race 100	Isolates						
			3881	3882	3883	10871	13891	13892	13893
D-1	HA-304	S (1)	S (1)	S (1)	S (1)	S (1)	S (1)	S (1)	S (1)
D-2	Rha-265	R (0)	R (0)	R (0)	R (0)	R (0)	R (0)	R (0)	R (0)
D-3	Rha-274	R (0)	R (0)	R (0)	R (0)	R (0)	R (0)	R (0)	R (0)
D-4	PMI3	R (0)	R (0)	R (0)	R (0)	R (0)	R (0)	R (0)	R (0)
D-5	PM-17	R (0)	R (0)	R (0)	R (0)	R (0)	R (0)	R (0)	R (0)
D-6	803-1	R (0)	R (0)	R (0)	R (0)	R (0)	R (0)	R (0)	R (0)
D-7	HAR-4	R (0)	R (0)	R (0)	R (0)	R (0)	R (0)	R (0)	R (0)
D-8	QHP1	R (0)	R (0)	R (0)	R (0)	R (0)	R (0)	R (0)	R (0)
D-9	HA-335	R (0)	R (0)	R (0)	R (0)	R (0)	R (0)	R (0)	R (0)
Race identified (triple code/name)		100	100	100	100	100	100	100	100

جدول ۸- هیبریدهای ایرانی آفتابگردان و واکنش آن‌ها در مقابل نژاد ۱۰۰ سفیدک کرکی
(*Plasmopara halstedii*)
Table 8. Iranian sunflower hybrids and their reaction to race 100 of downy mildew
(*Plasmopara halstedii*)

Hybrid	هیبرید	واکنش Reaction
Farrokh (SHF81-85)	فرخ	R
Barzegar (CMS19*R1031)	برزگر	R
Ghasem (CMS1221/1*R-14)	قاسم	R
Promising (SHF81-90)	امیدبخش	R
Promising (CMS19*R-217)	امیدبخش	R
Promising (CMS51*R-864)	امیدبخش	R
Promising (CMS19*R-N-72)	امیدبخش	R

R: Resistant ($0 < DSI < 20$)

جدول ۹- لاین‌های رستورر آفتابگردان و واکنش آن‌ها در مقابل نژاد ۱۰۰ سفیدک کرکی
(*Plasmopara halstedii*)
Table 9. Sunflower restorer lines and their reaction to race 100 of downy mildew
(*Plasmopara halstedii*)

Restorer line	Reaction	Restorer line	Reaction
RF81-75/3	R	RF81-122/1/2	R
RF81-67/1/2	R	RF81-25/3	R
RF81-27/2/3	R	RF81-054/1/2	R
RF81-74/2	R	RF81-22/1	R
RF81-54/2/2	R	RF81-82	R
RF81-65/3	R	RF81-137/1	MR
RF81-106/1/2	R	RF81-95/2	R
RF81-22/1/3	R	RF81-84/2	R
RF81-150/1/3	R	RF81-53/1/3	R
RF81-131/1/3	R	RF81-154/2/3	R
RF81-1/2	MR	RF81-1/2/3	R
RF81-75	R	RF81-137/1/3	S
RF81-131/1	R	RF81-105/3	R
RF81-82/2	R	R-43/3	R
RF81-30/3	R	RF81-053/2/3	R
RF81-52/2	R	RF81-120/3	R
RF81-33/3	R	RF81-25	R
RF81-58/6	R	RF81-125/1	R
RF81-34/1/3	R	RF81-154/2	R
RF81-125/1/2	R		

R: Resistant ($0 < DSI < 20$); MR: Moderate Resistant ($20 < DSI < 30$)

KC20-، S1Re85Es، Arm-Mo-K18-85
85Es85 و 84-22 حساسیت آشکاری در مقابل
بیماری داشتند، جامعه انتخابی رقم پروگرس

انتخاب شده‌اند واکنش‌های متفاوتی در مقابل
بیماری سفیدک کرکی نژاد شماره ۱۰۰ نشان
دادند. در حالی که جوامع Arm-Mo-K17-85،

جدول ۱۰- لاین‌های نر عقیم سیتوپلاسمی آفتابگردان و واکنش آن‌ها در مقابل نژاد ۱۰۰ سفیدک کرکی آفتابگردان (*Plasmopara halstedii*)

Table 10. Sunflower CMS lines and their reaction to race 100 of downy mildew (*Plasmopara halstedii*)

CMS line	Reaction	CMS line	Reaction
AF81-74	R	AF81-166	R
AF81-98	R	AF81-196	R
AF81-150	R	AF81-84	R
AF81-180	S	AF81-136	R
AF81-248	R	AF81-178	S
AF81-78	R	AF81-222	R
AF81-112	HS		

R: Resistant ($0 < DSI < 20$); S: Susceptible ($50 < DSI < 95$); HS: Highly Susceptible ($95 < DSI < 100$).

جدول ۱۱- تک بوته‌های انتخابی رقم مستر آفتابگردان و واکنش آن‌ها در مقابل نژاد ۱۰۰ سفیدک کرکی آفتابگردان (*Plasmopara halstedii*)

Table 11. Individual plants of Master cultivar and their reaction to race 100 of downy mildew (*Plasmopara halstedii*)

Individual plants	Reaction	Genotype	Reaction
Master. 3	R	Master. 4	R
Master. 17	R	Master. 18/1	R
Master. 19/2	R	Master. 20	R
Master. 21/1	R	Master. 23	R
Master. 27	R	Master. 31	R

R: Resistant ($0 < DSI < 20$).

آلوده گسترش دارد. نژاد شناسایی شده شباهت زیادی به نژاد آمریکایی شماره یک دارد (جدول ۳)، بنابراین نژاد موجود بر اساس سیستم جدید نامگذاری ۱۰۰ شناسایی شد. گفتنی است نژاد جدید ۱۰۰ با نژاد یا نژادهای شناخته شده گزارش شده قبلی از ایران (Alizadeh and Rahmanpour, 2005) تفاوت قابل اغماضی دارد و نشانگر عدم تغییرات عمده فیزیولوژیکی در جمعیت قارچ است. به عبارت بهتر لاین‌های RHA-266 در سیستم

(Progress) نیمه مقاوم بوده و دو جامعه Zabol-85-OP1 و Zabol-85-OP2 به ترتیب واکنش مقاوم و نیمه مقاوم نشان دادند (جدول ۱۲). مقایسه بیماریزایی جدایه‌های مایه‌زنی شده روی لاین‌های افتراقی حکایت نشان‌دهنده یکسان بودن بیماریزایی تمامی جدایه‌ها روی ارقام یا لاین‌های افتراقی بود و چنین نتیجه گرفته شد که جدایه‌های بیماری سفیدک کرکی آفتابگردان همگی از یک نژاد بوده که به صورت غالب در مناطق

جدول ۱۲- جوامع آزاد گرده افشان آفتابگردان و واکنش آن‌ها در مقابل نژاد ۱۰۰ سفیدک کرکی (*Plasmopara halstedii*)
 Table 12. Selected populations of sunflower open pollinate cultivars and their reaction to race 100 of downy mildew
 (*Plasmopara halstedii*)

Genotype	Origin		Reaction
Progress	Self-population of open pollinated Progress cultivar	جامعه سلف شده رقم آزاد گرده افشان پروگرس	MR
Arm-Mo-K17-85	New self-population of open pollinated Armavirski cultivar	جامعه جدید سلف شده رقم آزاد گرده افشان آرماویرسکی	S
Arm-Mo-K18-85	New self-population of open pollinated Armavirski cultivar	جامعه جدید سلف شده رقم آزاد گرده افشان آرماویرسکی	S
S1Re85Es	Self-population of open pollinated Record cultivar	جامعه سلف شده رقم آزاد گرده افشان رکورد	S
KC20-85Es85	New population of open pollinated Record cultivar	جامعه جدید رقم آزاد گرده افشان رکورد	S
Zabol-85-OP1	New population of open pollinated Leader cultivar	جامعه جدید رقم آزاد گرده افشان لیدر	R
Zabol-85-OP2	New population of open pollinated Leader cultivar	جامعه جدید رقم آزاد گرده افشان لیدر	MR
84-22	Self-population of open pollinated Leader cultivar	جامعه سلف شده با منشأ ایکاردایی	S

R: Resistant ($0 < DSI < 20$); MR: Moderate Resistant ($20 < DSI < 30$); S: Susceptible ($50 < DSI < 95$).

جدیدی که قادر به ایجاد بیماری در این منابع مقاوم باشند را شاهد باشیم. با توجه به این موضوع، بررسی نژادهای فیزیولوژیک قارچ بایست به صورت مستمر انجام شود به خصوص در مورد بوته‌های آلوده‌ای که بین گیاهان مقاوم دیده می‌شوند. با این کار نژادهای جدید قبل از انتشار شناسائی خواهند شد و فرصت کافی برای اصلاح و تهیه ارقام و هیبریدهای مقاوم به نژادهای جدید اقدام وجود خواهد داشت.

در این راستا سه هیبرید فرخ، برزگر و قاسم معرفی شده‌اند. با توجه به این که لاین برگشت دهنده باروری هیبرید فرخ RF81-75 (جدول ۸) و لاین نرعقیم سیتوپلاسمی آن AF81-196 (جدول ۹) در آزمایش‌های جداگانه ای مقاومت کامل در مقابل بیماری از خود نشان دادند، استنباط منشا گرفتن مقاومت از طرف هر دو والد مادری و پدری هیبرید فرخ در مقابل سفیدک کرکی امری بدیهی به نظر می‌رسد. سایر هیبریدهای امیدبخش از این نظر تفاوت داشته و منبع مقاومت (جدول ۸) فقط از لاین برگشت دهنده باروری آن‌ها منتقل شده و لاین‌های نرعقیم سیتوپلاسمی حساسیت بالایی در مقابل بیماری داشته‌اند (جدول ۹).

تعداد معدودی از لاین‌های رستورر اسپورزایی ضعیف و محدود به منطقه دم کوتیلدون را پس از تحریک به اسپورزایی در شرایط رطوبت اشباع نشان دادند. این نشانه بدون همراهی دیگر نشانه‌های بیماری از قبیل موزائیک، کوتولگی و اسپورزایی متراکم در

نامگذاری قدیم (Gulya *et al.*, 1991a,b) و RHA-265 در سیستم نامگذاری جدید (Tourvieille de Labrouhe *et al.*, 2000) با دارا بودن ژن مقاومت *pl1* (Kulkarni *et al.*, 2009) در مقابل جدایه‌های سفیدک کرکی واکنش مقاومت را در هر دو دوره تعیین نژادهای فیزیولوژیک قارچ بیمارگر (*P. halstedii*) به نمایش گذاردند. همچنین لاین RHA-274 که در هر دو سری قدیم و جدید ارقام افتراقی مورد استفاده قرار گرفته است، در مقابل جدایه‌ها مقاوم بود. بنابراین در تایید نتایج شاپوران و همکاران (Shapouran *et al.*, 2012) با حساسیت لاین عاری از ژن مقاومت یعنی HA-304 (جدول ۶) و مقاومت لاین‌های RHA-265 (یا لاین RHA-266) و RHA-274 تعلق جدایه‌های قدیمی و جدید ارزیابی شده به گروه ۱۰۰ نژادی قارچ بیمارگر سفیدک کرکی محرز می‌شود.

علت این موضوع را می‌توان به استفاده از تعداد کم و محدود ارقام و هیبریدهای مقاوم به نژاد موجود نسبت داد، چرا که قارچ عامل بیماری تاکنون به صورت جدی تحت فشار ناسازگاری مقاومت میزبان قرار نگرفته است، لذا انتظار می‌رود که در سال‌های آینده با جایگزینی هیبریدهای دارای مقاومت از جمله هیبریدهای معرفی شده فرخ، قاسم و برزگر، و هیبریدها یا ارقام مقاوم خارجی به جای ارقام حساسی مانند رکورد و آرماویرسکی، ظهور نژاد یا نژادهای

مقاوم در ژرم پلاسم مورد آزمایش آفتابگردان نوید بخش موفقیت در امر اصلاح این گیاه با خصوصیات برتر از جمله مقاومت به بیماری‌های مهم آن در شرایط آب و هوایی ایران است. با توجه به وجود مقاومت در لاین‌های برگشت دهنده باروری، زمینه مناسبی برای تولید ارقام هیبرید مقاوم به بیماری سفیدک کرکی فراهم شده است. مشاهده مقاومت در هیبریدهای ایرانی (F1) نشان دهنده هموزیگوت بودن ژن مقاومت به بیماری در لاین گرده دهنده مربوط به آن تلاقی است. لاین گرده دهنده این قبیل دورگ ها می تواند با اطمینان در تولید هیبرید های مقاوم مورد استفاده قرار گیرد. چنان که وجود سه هیبرید ایرانی معرفی شده بیانگر وجود قابلیت‌های گسترده در امر تولید منابع مقاومت به این بیماری مهم در شرایط ایران و منطقه به شمار می‌رود.

سپاسگزاری

بدینوسیله از خانم مهندس پریسا همتی کارشناس واحد بیماری‌شناسی بخش تحقیقات دانه‌های روغنی که در مراحل اجرای پروژه یاری رساندند، تشکر و قدردانی را می‌شود. پژوهش اخیر بخشی از پروژه مصوب به شماره ۸۸۰۷۷-۰۳-۰۳-۲ موسسه تحقیقات اصلاح و تهیه نهال و بذر است.

کوتیلدون و برگ‌های واقعی به صورت پایدار وجود داشته و ملاک حساسیت میزبان نیست (Rahmanpour *et al.*, 2009). بنابراین مقاومت در آفتابگردان به بیماری به دو شکل عدم اسپورزایی و علایم دیگر بیماری، و یا تنها با اسپورزایی خیلی ضعیف و محدود به کوتیلدون در ارزیابی‌ها نمایان شده است. نتایج حاصل از تحقیقات رادوان و همکاران (Radwan *et al.*, 2011) نیز تاییدی بر ظهور این دو نوع مقاومت در ژنوتیپ‌های مورد بررسی بود. به عبارت بهتر بر اساس نتایج آن‌ها مقاومت در ناحیه هیپوکوتیل به صورت بوته کاملاً سالم مشاهده می‌شود. این در حالی است که مقاومت در ناحیه کوتیلدون با اسپورزایی ضعیف و محدود به کوتیلدون‌ها همراه است. بروز چنین علایمی در ناحیه هیپوکوتیل و کوتیلدون تاثیری بر روی احتمال پیشرفت سیستمیک بیماری که خسارت‌زا است نخواهد داشت.

وجود مقاومت کامل در تک بوته‌های رقم مستر بیانگر آن است که ژن یا ژن‌های مقاومت به بیماری سفیدک کرکی در ساختار ژنتیکی این رقم به صورت خالص وجود داشته دارد. لازم به یادآوری است که مقاومت این رقم در مقابل نژاد ۱۰۰ بیماری توسط محققان به اثبات رسیده است (Shapouran *et al.*, 2013).

سخن آخر اینکه وجود هیبریدها و لاین‌های

References

- Alizadeh, A., and Rahmanpour, S. 2005.** Report of a new race of *Plasmopara halstedii*, the causal agent of sunflower downy mildew from Iran. Iranian Journal of Plant Pathology 41: 19-37 (in Persian).
- Gulya, T. J., Miller, J. F., Viranyi, F., and Sackston, W. E. 1991a.** Proposed international standardized methods for race identification of *Plasmopara halstedii*. Helia 14(15): 11-20.
- Gulya, T. J., Sackston, W. E., Viranyi, F., Masirevic, S., and Rashid, K. Y. 1991b.** New races of the sunflower downy mildew pathogen (*Plasmopara halstedii*) in Europe and North and South America. Journal of Phytopathology 132: 303-311.
- Kolte, S. J. 1985.** Diseases of Annual Edible Oilseed Crops. (Vol. 3) Sunflower Safflower and Nigerseed Diseases. CRC Press, Boca Raton, Florida, USA. 175 pp.
- Kulkarni, S., Hegde, Y. R., and Kota, R. V. 2009.** Pathogenic and morphological variability of *Plasmopara halstedii*, the causal agent of downy mildew in sunflower. Helia 32: 85-90.
- Montes, F., and Sackston, W.E. 1974.** Growth of *Plasmopara* within susceptible and resistant sunflower plants. Proceedings of the 6th. International Sunflower Conference, Bucharest, Romania. 623-629 pp.
- Mouzeyar, S., Philippon, J., Vear, F., and Tourvieille, D. 1992.** Genetical studies of resistance to downy mildew (*Plasmopara helianthi* Novot.) in sunflowers. Proceedings of the 13th International Sunflower Conference, Pise, Italy. Tom II. 1162-1167 pp.
- Mouzeyar, S. Tourvieille, D., and Vear, F. 1993.** Histopathological studies of resistance of sunflower (*Helianthus annuus* L.) to downy mildew (*Plasmopara halstedii*). Journal of Phytopathology 139: 289-297.
- Radwan, O., Bouzidi, M. F., and Mouzeyar, S. 2011.** Molecular characterization of two types of resistance in sunflower to *Plasmopara halstedii*, the causal agent of downy mildew. Phytopathology 101: 970-979.
- Rahmani, Y., and Majidieh-Ghasemi, S. 1975.** Investigation on resistance of sunflower varieties and lines to downy mildew (*Plasmopara halstedii*) under laboratory and field conditions. Iranian Journal of Plant Pathology 11 (3, 4): 96-104

(in Persian).

- Rahmanpour, S. 2002.** Reaction of sunflower germplasm to causal agent of downy mildew, *Plasmopara halstedii*. Proceedings of the 7th Iranian Crop Sciences Congress, Karaj, Iran. p. 680 (in Persian).
- Rahmanpour, S. 2004a.** New sources of resistance to downy mildew, *Plasmopara halstedii*, in sunflower germplasm. Proceedings of the 16th Iranian Plant Protection Congress, Tabriz, Iran. p. 295 (in Persian).
- Rahmanpour, S. 2004b.** An investigation on physiological variation in races of sunflower rust, *Puccinia helianthi*, and downy mildew, *Plasmopara halstedii*. Proceedings of the 16th Iranian Plant Protection Congress, Tabriz, Iran. p. 300 (in Persian).
- Rahmanpour, S., and Khodabandeh, A. 2010.** Reaction of Iranian sunflower hybrid varieties to downy mildew, *Plasmopara halstedii*. Proceedings of the International Symposium "Sunflower Breeding on Resistance to Diseases". Krasnodar, Russia. pp. 103-106.
- Rahmanpour, S., Nabipour, A., and Hemmatti, P. 2009.** Stability of limited sporulation of *Plasmopara halstedii* on cotyledons of sunflower resistant lines. Proceedings of National Symposium of Oilseed Crops. Isfahan, Iran. p. 72 (in Persian).
- Rahmanpour, S., Shirani Rad, A. H., and Alizadeh, A. 2004.** Correlation of sporulation on cotyledons and leaves as the main infection characteristics of sunflower downy mildew with its other characteristics. Seed and Plant 20 (3): 329-343 (in Persian).
- Rahmanpour, S., Zad, J., and Ahmadi, M. R. 2000a.** An investigation of the resistance of sunflower varieties to downy mildew. Iranian Journal of Agricultural Sciences 31 (2): 303-310 (in Persian).
- Rahmanpour, S., Zad, J., and Hejaroud, Gh. 2000b.** Identification of physiological races of *Plasmopara halstedii*, sunflower downy mildew pathogen in Mazandaran province and Gorgan plain. Iranian Journal of Agricultural Sciences 31 (1): 85-90 (in Persian).
- Rashid, K. Y. 1993.** Incidence and virulence of *Plasmopara halstedii* on sunflower in western Canada during 1988-1991. Canadian Journal of Plant Pathology 15: 206-

210.

Sackston, W.E. 1974. Downy mildew (*Plasmopara*) of sunflowers: a policy for seed importation and plant breeding. Proceedings of the 6th International Sunflower Conference, Bucharest, Romania. 623-629 pp.

Shapouran, F., Ghoosta, Y., Hemmati, R., Rahmanpour, S., and Darvishzadeh, R. 2012. Identification of physiological races of *Plasmopara halstedii*, the causal agent of sunflower downy mildew, in Urmia. Plant Protection 35 (2): 41-52 (in Persian).

Shapouran, F., Hemmati, R., Ghoosta, Y., and Rahmanpour, S. 2013. Evaluation of sunflower cultivars and hybrids for their resistance to *Plasmopara halstedii* in West-Azərbayjan, Iran. Iranian Journal of Plant Pathology 48: 169-176 (in Persian).

Sharif, Gh. 1971. Sunflower downy mildew. Applied Entomology and Phytopathology 31:1-19 (in Persian).

Shindrova, P. 2005. New nomenclature of downy mildew races in sunflower (*Plasmopara halstedii*) in Bulgaria (race composition during 2000-2003). Helia 28: 57-64.

Tourvieille de Labrouhe, D., Gulya, T. J., Masirevic, S., Penaud, A., Rashid, K. Y., and Viranyi, F. 2000. New nomenclature of races of *Plasmopara halstedii* (sunflower downy mildew). Proceedings of the 15th International Sunflower Conference, Toulouse, France. Vol. II. pp. 61-66.

Viranyi, F. 1977. An improved method for detecting systemic infection of sunflower seedlings caused by *Plasmopara halstedii*. Acta Phytopathologica Academica Scientia Hungaricae 12: 263-267.

Viranyi, F., and Bartha, M. 1981. Evaluation of sunflowers for the degree of resistance to downy mildew. Acta Phytopathologica Academica Scientia Hungaricae 44: 619-624