

## شناسایی نژادهای فیزیولوژیک عامل بیماری سفیدک کرکی آفتابگردان (*Plasmopara halstedii*) و واکنش ژنتیپ‌های میزان 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 ژنتیپ‌های میزان به آن نژادها در شرایط کنترل شده. مجله بهنژادی نهال و بذر ۱-۳۱: ۴۵۹-۴۷۶.

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 ژنتیپ آفتابگردان شامل هیبریدهای جدید، لاین‌های برگشت دهنده باروری و نرعمیم سیتوپلاسمی، تک بوته‌های انتخابی و جوامع انتخابی ارقام آزاد گرددۀ افshan در مقابل نژاد شناسایی شده در شرایط آزمایشگاهی و گلخانه‌ای مورد ارزیابی قرار گرفتند. میزان آلدگی بوته‌ها پانزده روز پس از مایه‌زنی و بر اساس صفات ظاهری بیماری شامل مرگ گیاهچه، اسپورزاوی روی کوتیلدون‌ها، اسپورزاوی 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 ژنتیپ به عنوان شاخص شدت بیماری برای هر کدام امتیازی منظور و میانگین مجموع امتیازات هر ژنتیپ به عنوان شاخص شدت بیماری (Disease Severity Index: DSI) برای تعیین واکنش لاین‌های آفتابگردان استفاده شد. بر اساس نتایج به دست آمده ۶۴ ژنتیپ به عنوان مقاوم ( $DSI < 20$ ), و بقیه به عنوان نیمه مقاوم، نیمه حساس، حساس و خیلی حساس ارزیابی شدند.

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

#### مقدمه

مقاومت یا حساسیت به عامل بیماری بیش از ۹ نژاد بیماریزای قارچ *P. halstedii* آمریکای شمالی، اروپا و نواحی دیگر شناسایی شده است. مطالعات انجام شده نشان داده که برخی از زن‌های 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؛ Rahmanpour و همکاران (Rahmanpour, 2004a؛ Rahmanpour *et al.*, 2000b لاین‌های افتراقی موجود اقدام به شناسایی نژاد غالب بیماریزا در 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 (Kolte, 1974؛ Sackston, 1985؛ Montes and Sackston, 1974). این محققان تا مدتی از اسپورهای جنسی قارچ (اُوسپور) در بستر خاک برای

آفتابگردان (*Helianthus annus* L.) یکی از پنج گیاه یک ساله روغنی اصلی در دنیا است. سفیدک کرکی با عامل بیمارگر *Plasmopara halstedii* 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 پراکندگی منطقه‌ای آن‌ها در امر تحقیقات اصلاح و تهیۀ 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 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 زن‌های بیماریزا به وجود آیند (Shindrova, 2005) (Rahmanpour *et al.*, 2000a با استفاده از لاین‌های افتراقی استاندارد و سیستم واکنش

اسپورزایی در نظر گرفته و بر اساس عالیم مشاهده شده بیماری، بوتهای 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) 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 اسپورهای زمستان‌گذران قارچ عامل بیماری در گلدانها پر شده و سپس بذر رقم حساس رکورد به مقدار فراوان در آن‌ها کاشته شد.

آلوده‌سازی گیاه میزان استفاده می‌کردند (Rahmani and Majidieh-Ghassemi, 1975) (Sharif, 1971) و پس از آن روش آلووده‌سازی (Whole Seedling Immersion) WSI مصنوعی (Viranyi, 1977) معرفی شد (Viranyi, 1977). این روش بر غوطه‌ورسازی گیاهچه‌های آفتابگردان درون سوسپانسیون زئوسپورانژیوم 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 هیریدهای 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 عالیم، 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 آلووده 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

| کد Code                   | رقم میزان Host cultivar | محل جمع آوری Collection site | منطقه           | استان Area           | استان Province |
|---------------------------|-------------------------|------------------------------|-----------------|----------------------|----------------|
| 13891,<br>13892,<br>13893 | رکورد Record            | گلیداغ Golidagh              | گلیداغ Golidagh | گلستان Golidagh      | Golestan       |
| 10871                     | رکورد Record            | مرکز مرکز                    | محدوده تحقیقات  | اراک Arak            | Markazi        |
| 3881,<br>3882,<br>3883    | آجیلی Confectionary     | شرق شهرستان ارومیه           | زارع ارومیه     | آذربایجان غربی Urmia | West Azarbayan |

این سوسپانسیون‌ها فروبرده شدند. در نهایت گیاهچه‌ها به داخل ژرمیناتور یا انکوباتور با دمای  $15\pm 1$  درجه سانتی گراد و تاریکی به مدت حداقل سه ساعت انتقال یافته‌اند تا مایه‌زنی (Inoculation) انجام شود. گیاهچه‌های مایه‌زنی شده درون گلدان‌های حاوی خاک پاستوریزه کاشته شدند. بدین ترتیب نمونه‌های (جدایه) قارچ جمع آوری 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 (Tourville 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 ۱۵-۱۷ درجه سانتی گراد به مدت یک ماه نگهدارشته شده و رطوبت آزاد اطراف ریشه‌ها در این مدت تامین شد. اولین گیاهچه آلووده از هر نمونه خاک به عنوان جدایه عامل بیماری برای مطالعات بعدی مورد استفاده قرار گرفت. به منظور تکثیر جدایه‌های احیا شده، برگ گیاهچه‌های آلووده جدا شد و پس از شستشو روی کاغذ صافی مرطوب درون تشک پتری قرار داده شدند. با قرار دادن تشک‌های در دمای  $15\pm 1$  درجه سانتی گراد و تاریکی ۲۴ ساعته، نمونه‌های برگی تحریک به اسپورزایی شدند. سوسپانسیون اسپورهای تولیدی (زئوسپوراژها) با آب مقطر سترون تهیه و بلا فاصله گیاهچه‌های ۲-۳ روزه رقم رکورد بر اساس روش آلووده‌سازی موسم به آغشتن کامل گیاهچه آلووده (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 درصد به محلول نهایی اضافه شد (Rahmanpour *et al.*, 2000a). گیاهچه‌های سه روزه آفتابگردان درون این سوسپانسیون غوطه‌ور شده و به مدت سه ساعت در ژرمنیاتور با دمای  $15\pm 1$  درجه سانتی‌گراد و در تاریکی برای مایه‌زنی نگهداری 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 واتی که ۱۰-۱۴ 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; Rahmanpour *et al.*, 2000b). ارقام افتراقی مورد استفاده در آزمایش‌های شناسایی نژادهای فیزیولوژیک، دارای ژن‌های مقاومت (Pl) 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 (Tourville de Labrouhe *et al.*, 2000). در این روش تعیین نژاد، به واکنش حساسیت

## جدول ۲- لاین های افتراقی آفتابگردن 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<br>Specified name | نام اصلی<br>Main name | منشاء مقاومت<br>Resistance source | شجره<br>Pedigree                  | تهیه کننده<br>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 آفتابگردن

(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   |              |
|                   | 1+0+0=1 |     |     | 0+0+0=0 |     |     | 0+0+0=0 |     |     | 100          |
| Red River race    | S       | S   | R   | R       | R   | R   | R       | R   | R   |              |
|                   | 1+2+0=3 |     |     | 0+0+0=0 |     |     | 0+0+0=0 |     |     | 300          |
| Race ?xyz?        | S       | S   | S   | S       | R   | S   | R       | S   | R   |              |
|                   | 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 به منظور ارزیابی ارقام و لاین‌های آفتابگردن 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<br>Differential line | Former nomenclature      |   |   |   |   |   |   |   |   |    |    | نامگذاری قدیمی نژادها |   |   |   |
|-----------------------------------|--------------------------|---|---|---|---|---|---|---|---|----|----|-----------------------|---|---|---|
|                                   | نام آمریکائی<br>American |   |   |   |   |   |   |   |   |    |    | نام فرانسوی<br>French |   |   |   |
|                                   | 1                        | 2 | 3 | 4 | 5 | 6 | 7 | 8 | 9 | 10 | 11 | A                     | B | C | D |
| <b>گروه اول</b>                   |                          |   |   |   |   |   |   |   |   |    |    |                       |   |   |   |
| <b>Group 1</b>                    |                          |   |   |   |   |   |   |   |   |    |    |                       |   |   |   |
| 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 |
| <b>گروه دوم</b>                   |                          |   |   |   |   |   |   |   |   |    |    |                       |   |   |   |
| <b>Group 2</b>                    |                          |   |   |   |   |   |   |   |   |    |    |                       |   |   |   |
| 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 |
| <b>گروه سوم</b>                   |                          |   |   |   |   |   |   |   |   |    |    |                       |   |   |   |
| <b>Group 3</b>                    |                          |   |   |   |   |   |   |   |   |    |    |                       |   |   |   |
| 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 |
| نامگذاری جدید عددی                |                          |   |   |   |   |   |   |   |   |    |    |                       |   |   |   |
| D-7                               | 1                        | 3 | 7 | 7 | 7 | 3 | 3 | 7 | 3 | 7  | 7  | 7                     | 7 | 7 | 3 |
| D-8                               | 0                        | 0 | 0 | 3 | 7 | 1 | 3 | 1 | 3 | 0  | 1  | 1                     | 0 | 0 | 0 |
| D-9                               | 0                        | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0  | 0  | 0                     | 0 | 0 | 0 |
| New nomenclature                  | 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 نامیده (Disease Severity Index: D.S.I.) شد که بین صفر تا ۱۰۰ تغییر می‌کند. گروه‌بندی مواد ژنتیکی آفتابگردان از نظر حساسیت

بررسی و یادداشت برداری شد (Rahmanpour *et al.*, 2004). برای استفاده از نقش این علایم و صفات ماکروسکوپیک آلدگی، که نشانگر شدت واکنش میزان می‌باشد، عمل امتیازدهی آن‌ها انجام شد و بر اساس اهمیت در تظاهرات آلدگی، صفات کیفی مذبور به صفات کمی تبدیل شدند (جدول ۵).

جدول ۵- علایم 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                             | علایم آلودگی                    | امتیاز Score |
|--------------------------------------|---------------------------------|--------------|
| Damping off                          | مرگ گیاهچه                      | 100          |
| Limited sporulation on cotyledons    | اسپورزایی محدود روی کوتیلدون ها | 10           |
| Sporulation on cotyledons and leaves | اسپورزایی روی کوتیلدون و برگ ها | 60           |
| Stunt                                | کوتولگی                         | 20           |
| Chlorosis/mosaic                     | کلروز یا موزاییک                | 10           |
| Deformation                          | بدشکلی                          | 10           |

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

جدول ۶- گروه‌بندی واکنش‌های آفتابگردان براساس 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  |

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

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 عالیم 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 عالیم سیستمیک بیماری، ژنوتیپ‌های مقاوم فاقد آن‌ها بوده و در مقابل لاین‌های حساس به خوبی تمامی عالیم 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

## نتایج و بحث

تبیین نژادهای فیزیولوژیک قارچ عامل بیماری در بین ارقام افتراقی مایه‌زنی شده با جدایه‌های جمع آوری 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 هم دیگر 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 شناسائی 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 عالیم بیماری سفیدک کرکی مطابقت آن با گروه‌های واکنش (جدول ۶)، واکنش مواد ژنتیکی آفتابگردان ارزیابی شد. نتایج به دست آمده حاکی از آن بود که تمامی هفت هیرید ایرانی مقاوم بودند و بوته آلوده در کل بوته‌های مایه‌زنی شده در آن ها مشاهده نشد. همچنین عالیمی مانند کوتولگی و موزائیک که از صفات بارز آلودگی سیستمیک به بیماری به شمار می‌آیند در تیمارهای مایه‌زنی شده وجود نداشت، بنابراین مقاومت این هیریدها در مقایسه با

جدول ۷- واکنش لاین های افتراقی آفتابگردان در مقابل جدایه های قارچ *Plasmopara halstedii* عامل بیمارگر سفید ک کر کی جمع آوری 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 | <b>Race 100</b> | Isolates |       |       |       |       |       |       |
|------------------------------------|--------------------|-----------------|----------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|
|                                    |                    |                 | 3881     | 3882  | 3883  | 10871 | 13891 | 13892 | 13893 |
| D-1                                | HA-304             | <b>S (1)</b>    | S (1)    | S (1) | S (1) | S (1) | S (1) | S (1) | S (1) |
| D-2                                | Rha-265            | <b>R (0)</b>    | R (0)    | R (0) | R (0) | R (0) | R (0) | R (0) | R (0) |
| D-3                                | Rha-274            | <b>R (0)</b>    | R (0)    | R (0) | R (0) | R (0) | R (0) | R (0) | R (0) |
| D-4                                | PMI3               | <b>R (0)</b>    | R (0)    | R (0) | R (0) | R (0) | R (0) | R (0) | R (0) |
| D-5                                | PM-17              | <b>R (0)</b>    | R (0)    | R (0) | R (0) | R (0) | R (0) | R (0) | R (0) |
| D-6                                | 803-1              | <b>R (0)</b>    | R (0)    | R (0) | R (0) | R (0) | R (0) | R (0) | R (0) |
| D-7                                | HAR-4              | <b>R (0)</b>    | R (0)    | R (0) | R (0) | R (0) | R (0) | R (0) | R (0) |
| D-8                                | QHP1               | <b>R (0)</b>    | R (0)    | R (0) | R (0) | R (0) | R (0) | R (0) | R (0) |
| D-9                                | HA-335             | <b>R (0)</b>    | R (0)    | R (0) | R (0) | R (0) | R (0) | R (0) | R (0) |
| Race identified (triple code/name) |                    | <b>100</b>      | 100      | 100   | 100   | 100   | 100   | 100   | 100   |

**جدول ۸- هیریدهای 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                   | هیرید   | واکنش<br>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 ( $0 < \text{DSI} < 20$ )

**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 ( $0 < \text{DSI} < 20$ ); MR: Moderate Resistant ( $20 < \text{DSI} < 30$ )

KC20-, S1Re85Es, Arm-Mo-K18-85  
و 85Es85 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  
*(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 ( $0 < \text{DSI} < 20$ ); S: Susceptible ( $50 < \text{DSI} < 95$ ); HS: Highly Susceptible ( $95 < \text{DSI} < 100$ ).

جدول ۱۱- تک بوته‌های انتخابی رقم مستر آفتابگردان و واکنش آن‌ها در مقابل نژاد ۱۰۰ سفیدک کرکی  
*(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 ( $0 < \text{DSI} < 20$ ).

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 شناسائی 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

نیمه مقاوم بوده و دو جامعه (Progress) Zabol-85-OP2 و Zabol-85-OP1 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 افغان آفتابگردان و واکنش آنها در مقابل نژاد ۱۰۰ سفید ک 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 افغان پرو گرس MR        |
| Arm-Mo-K17-85 | New self-population of open pollinated Armavirski cultivar | جامعه جدید سلف شده رقم آزاد گرده افغان آرماویرسکی S |
| Arm-Mo-K18-85 | New self-population of open pollinated Armavirski cultivar | جامعه جدید سلف شده رقم آزاد گرده افغان آرماویرسکی S |
| S1Re85Es      | Self-population of open pollinated Record cultivar         | جامعه سلف شده رقم آزاد گرده افغان رکورد S           |
| KC20-85Es85   | New population of open pollinated Record cultivar          | جامعه جدید رقم آزاد گرده افغان رکورد S              |
| Zabol-85-OP1  | New population of open pollinated Leader cultivar          | جامعه جدید رقم آزاد گرده افغان لیدر R               |
| Zabol-85-OP2  | New population of open pollinated Leader cultivar          | جامعه جدید رقم آزاد گرده افغان لیدر MR              |
| 84-22         | Self-population of open pollinated Leader cultivar         | جامعه سلف شده با منشا ایکاردايی 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 بوتهای 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، بزرگ و قاسم معرفی شده‌اند. با توجه به این که لاین برگشت RF81-75 دهنده باروری هیبرید فرخ (جدول ۸) و لاین نر عقیم سیتوپلاسمی آن (جدول ۶) و لاین AF81-196 (جدول ۹) در آزمایش‌های جداگانه‌ای مقاومت کامل در مقابل بیماری از خود نشان دادند، استنباط منشاً 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 نر عقیم سیتوپلاسمی حساسیت بالایی در مقابل بیماری داشته‌اند (جدول ۹).

تعداد محدودی از لاین‌های رستر ر 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———ودن ژن مقاومت *pll* (Kulkarni *et al.*, 2009) 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 افراقی مورد استفاده قرار گرفته است، در مقابل جدایه‌ها مقاوم بود. بنابراین در تایید نتایج شاپوران و همکاران (Shapouran *et al.*, 2012) با حساسیت لاین HA-304 عاری از ژن مقاومت یعنی (RHA-265) (یا (جدول ۶) و مقاومت لاین‌های RHA-266 (RHA-274) و RHA-266) 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 بزرگ، و هیبرید‌ها یا ارقام مقاوم خارجی به جای ارقام حساسی مانند رکورد و آرمایرسکی، 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 دورگ‌ها می‌تواند با اطمینان در تولید هیبرید های مقاوم مورد استفاده قرار گیرد. چنان‌که 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 ۲۰۳-۰۳-۸۸۰۷۷ موسسه تحقیقات اصلاح و تهیه نهال و بذر است.

کوتیلدون و برگ‌های واقعی به صورت پایدار وجود داشته و ملاک حساسیت میزان 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 ارزیابی‌های 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 روح احتمال پیشافت 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-Azerbaijan, 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., Penuaud, 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