Archive of SID

آفات و بیماری‌های گیاهی
جلد ۷۰، شماره ۲، اسفند ۱۳۸۱

ژنتیک بیماری‌زایی و تغییرات ویرولانس جدایه‌هایی از *Blumeria graminis* f. sp. *tritici* در سیستان و بررسی واکنش ارقامی از گندم نسبت به آن

Genetics of pathogenicity and variations in virulence in *Blumeria graminis* f. sp. *tritici* isolates in Sistan and reactions of wheat cultivars to powdery mildew

محمد سالاری، سید محمود اخوت، عباس شریفی تهرانی، قربانعلی حجارود، سید جواد زاد و مجتبی محمدی

گروه گیاه‌پزشکی دانشکده کشاورزی، دانشگاه تهران، کرج، ایران

(تاریخ دریافت: مرداد ۱۳۸۱، تاریخ پذیرش: اسفند ۱۳۸۱)

چکیده

نتایج این تحقیق از مجموع ٤٩ جدایه بررسی شده قارچ *Blumeria graminis* f.sp. *tritici* در سیستان، وجود نژادهای ٦٦، ٢٧، ١١، ٣١، ٥٠، ١٤، ٢٨، ٥٨، ٢١، ٥، ١٩، ٣٢، ٢٤، ٨٤، ٥٣، ٧٣ و ٤٤ را نشان داد. این نژادها برای سیستان و ایران جدید بوده و برای اولین بار گزارش می‌شوند. نژادهای ١١، ٥٣ و ٧٣ با در برگرفتن ٤٠ درصد از کل جدایه‌ها، نژادهای غالب مزارع سیستان بودند. هر یک از نژادها بر روی ژنوتیپ‌ها، بیماری‌زایی و پرآزاری متفاوتی داشتند. بطورکلی حداکثر ویرولانس و بیماری‌زائی اغلب نژادها روی ژنوتیپ pm3 و برابر ٦٤/٧ درصد بود. نتایج حاصله بیانگر عدم وجود ویرولانس جدایه‌ها روی ژنوتیپ pm4b بوده است. در مجموع حداکثر پرآزاری مربوط به نژاد ٥٣ و برابر ٨٥ درصد بود. نتایج بدست آمده از عکس‌العمل ٨ لاین بین‌المللی و ١٢ رقم تجارتی ایرانی و بومی در مقابل جدایه‌ها در گلخانه، نشان داد که لاین Carsten V. و رقم سرخ تخم به ترتیب به

www.SID.ir

Archive of SID

میزان ۹٤ و ۹٤/۱ درصد، حداکثر سازگاری را در مقابل جدایه‌ها بروز دادند. در حالیکه لاین‌های Weihenst. M1، Chul، Axminster و Halle 13471 و ارقام هیرمند، پاستور و چمران در مقابل اغلب جدایه‌ها ناسازگار بودند. لاین Weihenst. M1 و رقم هیرمند به جدایه‌های قارچ عامل بیماری، حداکثر ناسازگاری را از خود نشان دادند. عکس العمل مزرعه‌ای این ژنوتیپ‌ها در برابر نژاد ۵۳ نیز مؤید تحقیقات گلخانه‌ای است، بطوریکه نتایج حاصل از تجزیه واریانس و آزمون مقایسه میانگین‌ها در مزرعه در سطح یک درصد دارای اختلاف معنی‌داری بوده و رقم سرخ تخم و هیرمند به ترتیب در گروه A و L قرار گرفته و حساسترین و مقاومترین ارقام در مقابل نژاد فوق بودند.

واژه‌های کلیدی: سفیدک سطحی، گندم، ژنتیک بیماری‌زایی، مقاومت، سیستان

مقدمه

قارچ *Blumeria graminis* (DC. Ex Merat) Speer f. sp. *tritici* Marchal یک آسکومیست هاپلوئید، بیوتروفیک، هتروتالیک و از راسته Erysiphales بوده که بر اساس نظر خدابرست (Khodaparast, 2002) تنها عامل بیماری سفیدک سطحی گندم می‌باشد که با نظرات براون (Braun, 1987) و هان لاین (Hanlin, 1990) مطابقت دارد. قارچ سفیدک سطحی یک بیمارگر مهم در جهان و در مناطق تحت کشت گندم (*Triticum aestivum*) در مزارع ایران (Ershad, 1995) و از جمله سیستان می‌باشد که هر ساله خسارت زیادی به محصول گندم از حیث کمی و کیفی وارد می‌نماید (Salari *et al.*, 2000). بیماری سفیدک سطحی در برخی از مزارع کشورهای اروپائی خسارت سنگینی به بار آورده است و به عنوان یک معضل باقی مانده است (Spencer, 1978). خسارت بیماری در ایالات متحده آمریکا، انگلستان و بخش‌هائی از اروپا به ترتیب ۲۵، ۱٤ و بیش از ۳۰ درصد بوده، به طوریکه کاهش میزان عملکرد در واحد سطح تا ٤۰ درصد گزارش شده است (Cook and Weseth, 1990). در سال ۱۳۷۳ حدود ۸۵ درصد از مزارع گندم در استان مازندران با وجود شرایط محیطی مناسب، دارای آلودگی شدیدی بوده است (Yazdani, 1994). دامادزاده و همکاران (Damadzadeh *et al.*, 1991) میانگین آلودگی مزارع گندم در اصفهان را در سال‌های ۱۳٦۹-۱۳٦۷ حدود ۸/٤ درصد گزارش نموده‌اند. در کشور مجارستان در سال‌های 1971 تا 1999 فقط ۱۱ نژاد شناسائی شده از میان ۷۸

www.SID.ir

Archive of SID

نژاد بیماری‌زائی خود را بیش از ۱۵ سال حفظ کرده و تعداد زیادی از جدایه‌ها، روی اکثر ژن‌های مقاوم بیماری‌زا بوده اند. مقاومت کامل توسط لاین‌های TP 31512، Halle 13471 و Normandie به ترتیب به وسیله ژن‌های pm4b ، pm2 و pm9 و pm1/pm2 در مقابل نژادها ایجاد شده بود (Szunics *et al.*, 2001). برای طولانی کردن اثر ژن‌های مقاوم چندین استراتژی برای تنوع ژنتیکی پیشنهاد شده است (Browning and Frey, 1969; Marshall, 1977). یکی از روش‌ها استفاده از مولتی لاین‌ها می‌باشد، که مخلوطی از لاین‌هایی با ژن‌های مقاومت شناخته شدهٔ مختلف ارقام گندم و حامل ژن‌های مقاومت به سفیدک سطحی که پس از اینکه چند سالی مورد استفاده زراعی قرار گیرند، به علت انتشار نژادهای ویرولانس قارچ عامل بیماری، مقاومت آنها شکسته می‌شود، به طوریکه تغییرات ژن‌های بیماری‌زا در یک جمعیت بیمارگر اثر ژن‌های مقاوم را در یک دوره زمانی کاهش می‌دهد. در نتیجه لازم است، ضمن شناسائی طیف نژادی قارچ عامل بیماری نیز روند تغییرات ژنتیکی جمعیت بیمارگر و منابع مقاومت را به طور مداوم مدنظر قرار داده تا بتوان مقاومت میزبان غالب منطقه را حفظ و پایدار نمود. هدف از این تحقیق بررسی ژنتیک بیماری‌زائی جدایه‌ها، تغییرات ویرولانس عامل بیماری و عکس‌العمل لاین‌ها و ارقام افتراقی و تجارتی و برخی توده‌های بومی گندم تحت کشت در سیستان به منظور شناسائی ژنوتیپ غالب بیماری‌زا و منابع مقاومت و توصیه استراتژی و الگوی احتمالی کنترل بیماری بوده است.

روش بررسی

۱- ژنتیک بیماری‌زایی و تغییرات ویرولانس قارچ *B. graminis* f. sp. *Tritici*

به منظور بررسی تنوع ژنتیک بیماری‌زائی و ویرولانس جدایه‌ها و همچنین جستجوی منابع مقاومت ارقام نسبت به سفیدک سطحی در گندم‌های تحت کشت سیستان، تعداد ٤٩ جدایه مورد بررسی قرار گرفت. برای اجرای این پژوهش از روش توزا (Tosa, 1989)، مینز و دیتز (Mains and Dietz, 1930) استفاده شد. جهت ارزیابی در سال‌های ۱۳۷۶-۱۳۸۰ نمونه‌های گندم آلوده به سفیدک سطحی از مزارع مناطق مختلف سیستان جمع‌آوری و با مشخصات کامل از جمله تاریخ جمع‌آوری، محل جمع‌آوری و نوع رقم گندم به گلخانه انتقال داده شدند و بر روی رقم حساس شعله به روش تک کلنی (Single pustule) و

www.SID.ir

Archive of SID

تک اسپور (Single spore) ابتدا تکثیر و سپس کلیه جدایه‌ها مطابق روش توزا و همکاران (Tosa *et al.*, 1990) و شارما و سینگ(Sharma and Singh, 1990) خالص و تعداد ۱۷ نژاد مختلف از قارچ *B. graminis* f. sp. *tritici* با استفاده از ارقام استاندارد به روش بین‌المللی تشخیص داده شدند (جدول ۱). سپس نژادهای منفرد شناسایی شده جهت تعیین ویرولانس (Virulence) روی گیاهان میزبان منتخب، شامل هشت لاین ایزوژنیک افتراقی بین المللی دریافت شده از کشور ژاپن، حاوی ژن‌های مقاومت شناخته شده و ۱۲ رقم تجارتی رایج ایرانی و توده‌های بومی گندم تحت کشت منطقه سیستان آزمایش گردید (جدول ۱ و ۲). بدین منظور لاین‌های افتراقی و ارقام مختلف گندم در ۵ گلدان متوسط حاوی خاک مزرعه، ماسه و خاک برگ به نسبت۳:۲:۱ پاستوریزه شده و در هر گلدان ۱۵ بذر عفونی شده با هیپوکلریت سدیم یک درصد به مدت یک دقیقه و پس از شستشو با آب مقطر استریل کاشته شدند. حدود ۱۰-۷ روز بعد، پس از رشد کافی برگ اول گیاهچه‌ها و ظهور برگ دوم در هر گلدان ۵ بوته که از نظر رشدی یکسان بودند نیز حفظ و بقیه حذف گردیدند. گیاهچه‌ها را جهت مایه زنی به داخل دستگاه لامین‌ایرفلو (Lamin air flow) ضدعفونی شده با الکل منتقل کرده و با اسپور یک جدایه مخلوط شده با پودر تالک به نسبت ۲۵۰-۲۰۰ اسپور در سانتی‌متر مربع توسط گردپاش مینیاتوری ساده روی برگ‌ها به طور یکسان و یکنواخت و به طور مصنوعی از نژادهای حاصله مایه زنی گردید. مایه زنی در ساعت آخر روز انجام شد. آنگاه گلدان‌ها به گلخانه با دمای ۲ ± ۲۰ درجه سانتی‌گراد و رطوبت نسبی ۵ ± ۸۰ درصد و ۱۶ ساعت روشنایی طبیعی و مصنوعی با شدت نور ۱۶۰۰۰-۱۴۰۰۰ لوکس و ۸ ساعت تاریکی به زیر قاب‌های چوبی به ابعاد ۶۰×۴۰×۴۰ سانتی‌متر که دو سمت آنها با پارچه سفید ململ ریز بافت و سه سمت دیگر آن با نایلون شفاف پوشانده شده بود، نیز منتقل گردید. ده بوته بعنوان ۱۰ تکرار در نظر گرفته شد. صفت مورد بررسی میانگین تیپ آلودگی بود. واکنش لاین‌های افتراقی و ارقام تجارتی و بومی گندم نسبت به هر یک از نژادهای سفیدک سطحی ۱۲ روز بعد از مایه‌زنی بر اساس مقیاس ۴-۰ مطابق الگوی میینز و دایتز (Mains and Dietz, 1930) و توزا (Tosa, 1989) به صورت زیر یادداشت برداری شد:

۰ : فاقد هر گونه آلودگی ولی گاه دارای کلروز و یا نکروز

۱ : رشد میسلیوم به مقدار بسیار کم و فاقد اسپورزایی ولی گاه دارای کلروز و یا نکروز

www.SID.ir

Archive of SID

۲ : رشد میسلیوم و اسپورزایی کم و گاه دارای کلروز و یا نکروز

۳: رشد میسلیوم و اسپورزائی متوسط و گاه دارای کلروز و یا نکروز

٤: رشد میسلیوم و اسپورزائی فراوان و بدون کلروز و یا نکروز

جهت تأیید تیپ آلودگی چهار روز بعد از اولین بار نیز یادداشت برداری تکرار گردید. بدین ترتیب که قدرت بیماری‌زائی (Pathogenicity) جدایه‌های عامل بیماری سفیدک سطحی گندم به دو دسته جدایه پرآزار (Virulence) و غیر بیماری‌زا یا بی‌آزار (Avirulence) گروه‌بندی شدند. به طوریکه بر اساس روش فوق تیپ آلودگی ٤ بعنوان نژاد پرآزار یا بیماری‌زا و تیپ آلودگی سه و زیر آن به عنوان نژاد غیر بیماری‌زا یا بی‌آزار (Avirulence) در نظر گرفته شد. بدین صورت شدت بیماری‌زایی نژادهای بیمارگر (Virulence) در جدایه‌های مختلف نیز متفاوت بدست آمد.

۲- تعیین مقاومت لاین‌ها و ارقامی از گندم به سفیدک سطحی

به منظور بررسی عکس‌العمل ارقام در مزرعه بذور تعداد ۲۰ رقم و لاین، هر کدام در دو خط یک متری در قالب طرح بلوک‌های کامل تصادفی با سه تکرار کشت گردیدند (جدول ۲). در حاشیه ارقام و لاین‌ها از مخلوط بذور ارقام حساس همچون شعله و سرخ تخم، جهت توسعه آلودگی (Sparcader) استفاده شد. برای تهیه مایه تلقیح مطابق روش گلخانه ابتدا اسپور جدایه ۵۳ خالص و سپس تکثیر گردید. مایه زنی به میزان ۲۵۰-۲۰۰ اسپور در سانتی‌مترمربع، توسط گردپاش دستی (Duster) در دو زمان کامل شدن برگ اول و ظهور برگ دوم گیاهچه و مرحله دوم قبل از تورم خوشه در ساعات آخر روز صورت گرفت. یادداشت برداری در دو نوبت بر اساس روش ساری و پرسکات (Sarri and Prescott, 1975) تغییریافته توسط ایال و همکاران (Eyal *et al.*, 1987) با مقیاس دو شماره‌ای ۹۹-۰۰ ، که رقم اول (دهگان) بیان کننده ارتفاع نسبی بیماری یا پیشرفت آن از برگ‌های پایین به طرف خوشه است و رقم دوم (یکان) آن میزان شدت و درصد افقی بیماری (صفر تا ۱۰۰ درصد) می‌باشد، انجام شد. در طول فصل زراعی جهت مطالعه ورود احتمالی سایر نژادها به محض ظهور علائم و نشانه‌های بیماری، شناسائی سه بار صورت گرفت که نژاد ۵۳ مجدداً تشخیص داده شد. صفت مورد مطالعه میانگین تیپ، شدت و درصد آلودگی تیمارها در هر تکرار در مزرعه بود. اعداد با

www.SID.ir

Archive of SID

فرمول $\sqrt{X + 0/5}$ نرمال شدند و پس از تجزیه واریانس، میانگین‌ها با آزمون چند دامنه‌ای دانکن مقایسه و گروه‌بندی گردیدند.

نتیجه

۱- ژنتیک بیماری‌زایی و تغییرات ویرولانس قارچ *B. graminis* f. sp. *tritici*

۱-۱- ژنتیک بیماری‌زایی قارچ *B. graminis* f. sp. *tritici*

تعداد ۱۷ نژاد، شامل ٦٦،۲۷،۱۱،۳۱،۵۰،۱٤،۵۸،۲۸،۲۱،۵،۱۹،۳۲،۲٤،۸٤، ۵۳،۷۳ و ٤٤ از مجموع ٤۹ جدایه طبق روش توزا و همکاران (Tosa *et al.*, 1990) شارما و سینگ (Sharma and Singh, 1990) مطابق الگوهای بین المللی با استفاده از ارقام استاندارد و جداول تعیین نژاد، شناسائی و تشخیص داده شدند. این نژادها برای اولین بار از سیستان گزارش و برای سیستان و ایران جدید می‌باشند. نژادهای ۱۱، ۵۳ و ۷۳ با در برگرفتن ٤۰ درصد از کل جدایه‌های آزمایش شده، نژادهای غالب و مابقی جدایه‌ها (٦۰٪) متعلق به سایر نژادها درجمعیت بیمارگر در مزارع مختلف سیستان بوده است. بدین ترتیب نتایج آزمایش نشان داد که نژاد ٦٦ به ترتیب برای ژنوتیپ‌های pm2, pm3 و pm5 ، نژاد ۲۷ برای ژنوتیپ‌های pm1، pm5 و pm3 ، نژاد ۱۱ برای ژنوتیپ‌های pm2, pm2+*Mld* و pm3، نژاد ۳۱ برای ژنوتیپ‌های pm3 و pm2، نژاد ۵۰ برای ژنوتیپ‌های pm3 وpm5 ، نژاد ۱٤ برای ژنوتیپ pm3b، نژاد ۲۸ برای ژنوتیپ‌های pm2 و pm5 ، نژاد ۵۸ برای ژنوتیپ‌های pm3 و pm5 ، نژاد ۲۱ برای ژنوتیپ‌های pm3b و pm2 ، نژاد ۵ برای ژنوتیپ pm2، نژاد ۳۲ برای ژنوتیپ‌های pm3b و pm3، نژاد ۲٤ برای ژنوتیپ‌های pm2+*Mld* و pm2 ، نژاد ۸٤ برای ژنوتیپ‌های pm2+*Mld* و pm3، نژاد ۵۳ برای ژنوتیپ‌های pm3, pm2 ،pm1 و pm5، نژاد ۷۳ برای ژنوتیپ‌های pm1,pm2+*Mld* و pm3 و نژاد ٤٤ برای ژنوتیپ‌های pm5,pm3b و pm3 پرآزاری و یا دارای ویرولانس (Virulence) ارزیابی شدند (جدول ۱). حداکثر فراوانی بیماری‌زائی نژادها بر روی ژنوتیپ pm3 و برابر ٦٤/۷ درصد بوده است. نتایج بررسی‌های حاصله در این مرحله بیانگر آن می‌باشد که همه نژادهای شناسائی شده عامل بیماری سفیدک سطحی برای ژنوتیپ pm4b بدون ویرولانس هستند.

www.SID.ir

Archive of SID

۱-۲- تغییرات ویرولانس نژادهای قارچ سفیدک سطحی

تغییرات ژنتیکی پرآزاری (Virulence) هر یک از جدایه‌ها به طور جداگانه و برای هر یک از ژنوتیپ‌ها و در مجموع، متفاوت بود. در کل فراوانی پرآزاری نژادها برای ۲۰ ژنوتیپ بررسی شده به ترتیب برابر ۵۵، ۴۰، ۷۵، ۵۵، ۱۵، ۲۵، ۵۰، ۴۰، ۳۰، ۴۰، ۴۵، ۵۵، ۴۰، ۴۵، ۸۵، ۵۰ و ۶۰ درصد بوده که حداکثر پرآزاری مربوط به نژاد ۵۳ و برابر ۸۵ درصد بوده است. بنابراین پرآزارترین جدایه قارچ عامل بیماری سفیدک سطحی، نژاد ۵۳ بوده که روی اکثر ژنوتیپ‌های موجود در سیستان ویرولانس و پرآزاری داشته است (جدول ۱). در این ارتباط در کشور چین، مطالعاتی روی یازده جدایه از قارچ عامل بیماری سفیدک سطحی شده است، به طوریکه نتایج این پژوهش نشان داد که درجه و شدت پرآزاری بر روی ژن‌های pm3، pm3b و pm8 در ارقام و لاین‌های استاندارد متفاوت می‌باشد، ولی بر روی اغلب ژنوتیپ‌ها، بیماری‌زائی داشته‌اند (Huang *et al.*, 1997).

نیوهنر و لس (Niewoehner and Leath,1998) از بررسی مجموع ۵۲۰ ایزوله جمع‌آوری شده از ۱۷ منطقه از نواحی شرقی ایالات متحده آمریکا در سال ۱۹۹۰ از پرآزاری ایزوله‌ها بر روی ژنوتیپ‌های pm3a در شمال و بیماری‌زائی بر روی ژنوتیپ‌های pm1، pm4b و pm17، در سایر مناطق آمریکا و مقاومت ژنوتیپ‌های pm12 و pm16 در جنوب آمریکا گزارش کرده‌اند.

۲-تعیین مقاومت لاین‌ها و ارقامی از گندم به سفیدک سطحی

۲-۱- تعیین مقاومت لاین‌ها و ارقامی از گندم به سفیدک سطحی در گلخانه

نتایج بدست آمده از عکس‌العمل هشت لاین بین‌المللی و ۱۲ رقم تجارتی ایرانی و برخی توده‌های بومی تحت کشت منطقه سیستان در مقابل ۱۷ جدایه نشان داد که شش رقم و لاین Carsten V. ،Salzmunde 14/44، بولانی، شعله، روشن و سرخ تخم در مقابل جدایه‌های جمع‌آوری شده سازگار(Compatibility) بودند. این موضوع نشان می‌دهد که غالب جدایه‌های سیستانی با ژنوتیپ‌های فوق سازگار بوده و طبق تئوری ژن برای ژن، ژن غیر بیماری‌زایی (avr) مقابل هریک از ژن‌های مقاومت فوق در این جدایه‌ها فعال نیست و یا احتمالاً اصلاً وجود ندارد. بنابراین واکنش سازگار بین لاین‌ها و ارقام فوق و نژادها برقرار می‌شود، به

www.SID.ir

Archive of SID

جدول ۱، فرم‌های بیماری‌زای نژادهای سفیدک و واکنش ارقام و لاین‌هایی از گندم به بیماری در مرحله گیاهچه

Table 1. Pathogenic races of powdery mildew and reaction of some wheat varieties to the disease at seedling stage.

رقم و لاین Varieties and line	ژن مقاومت Resistance gene	واکنش ارقام نسبت به نژادها Reaction of varieties to the races																	فراوانی بیماریزائی نژادها و سازگاری ارقام (درصد) Percentage of frequencies of virulence of races and varieties compatibility (%)
		۶۶	27	11	31	50	14	28	58	21	۰	19	42	24	84	۷۸	73	44	
Salzmode14/44	Pm3	V	V	V	V	V	A	A	V	A	A	A	V	A	V	V	V	V	64.7
Olka	Pm2	V	A	V	V	A	A	V	A	V	V	A	A	V	A	V	A	A	47
Axminster	Pm1	A	V	A	A	A	A	A	A	A	A	A	A	A	A	V	V	A	17.6
Halle 13471	Pm2+Mld	A	A	V	A	A	A	A	A	A	A	A	A	V	V	A	V	A	23.5
Weihenst.M1	Pm4b	A	A	A	A	A	A	A	A	A	A	A	A	A	A	A	A	A	0.0
Hope	Pm5	V	V	A	A	V	A	V	V	A	A	V	A	A	A	V	A	V	47
Chul	Pm3b	A	A	A	A	A	V	A	A	V	A	V	V	A	A	A	A	V	29.4
Carsten V.	-	V	V	V	V	A	V	V	V	V	V	V	V	V	V	V	V	V	94
Chamran	-	A	A	V	A	A	A	A	A	A	A	A	A	A	A	V	A	V	17.6
Sorkhtokhm	-	V	V	V	V	A	V	V	V	V	V	V	V	V	V	V	V	V	94.1
Carssfddat	-	V	A	V	V	A	A	V	A	A	V	A	V	A	V	V	A	A	47
Pastor	-	A	A	V	A	A	A	A	A	A	A	V	A	A	A	V	A	V	23.5
Bolani	-	V	V	V	V	A	A	V	V	V	V	V	V	V	V	V	V	V	88.2
Hirmand	-	A	A	V	A	A	A	A	A	A	A	A	A	A	A	V	A	A	11.7
Roshan	-	V	V	V	V	V	A	A	V	V	A	A	V	V	V	V	V	V	76.4
Tabasi	-	V	A	V	V	A	A	V	V	A	A	A	V	A	V	V	A	A	47
Sholeh	-	V	V	V	V	A	A	V	V	A	V	V	V	V	V	V	V	V	82.3
Kavir	-	V	A	V	V	A	A	V	A	A	V	A	V	V	A	V	V	V	58.8
Atrak	-	A	A	V	A	A	V	V	A	A	V	V	V	A	A	V	V	V	52.9
Bayat	-	A	A	A	V	A	V	A	A	A	V	V	A	A	A	V	A	A	29.4
		۷۵	40	75	55	15	25	50	40	30	40	45	55	40	45	85	50	60	درصد فراوانی بیماریزائی نژادها Frequency of race virulence (%)

1- Races نژادها

2- Virulence بیماری‌زا (پرآزار)

3- Avirulence غیر بیماری‌زا (بی‌آزار)

www.SID.ir

Archive of SID

طوریکه میزان سازگاری این ارقام به ترتیب برابر ٦٧/٧، ٩٤، ٨٨/٢، ٨٢/٣، ٧٦/٤ و ٩٤/١ درصد بودند. این بررسی نشان داد که در بین ارقام استاندارد بین‌المللی لاین .Carsten V بیشترین سازگاری را در مقابل تمام جدایه‌ها داشت و در میان ارقام ایرانی بومی، رقم سرخ تخم به میزان ٩٤/١ درصد حداکثر سازگاری را در مقابل تمام جدایه‌های قارچ عامل بیماری سفیدک سطحی جمع‌آوری شده از مزارع گندم در مناطق مختلف سیستان بروز داد (جدول١). در صورتیکه لاین Weihenst.M1 در مقابل کلیه جدایه‌ها مقاوم بوده و ارقام و لاین‌های هیرمند، پاستور، چمران، Chul، Axminster و Halle 13471 در مقابل غالب جدایه‌های قارچ عامل بیماری ناسازگار بودند. این تحقیق نشان داد که اغلب جدایه‌ها در مقابل ژن‌های فوق ناسازگار هستند و فاقد ژن‌های بیماری‌زا برای غلبه بر ژن‌های مقاومت مزبور بوده و یا ژن‌های avr مقابل هر یک از ژن‌های مقاومت فوق در ایزوله‌ها و جدایه‌های شناسائی شده فعال می‌باشد. عکس‌العمل ارقام فوق در مقابل جدایه به ترتیب برابر ١١/٧، ٢٣/٥، ١٧/٦، ٢٩/٤، ١٧/٦ و ٢٣/٥ درصد بود (جدول١). لس و هن(Leath and Heun, 1990) از وجود ژنوتیپ‌های مقاوم pm3a ،pm5 و pm6 در ٢٢ رقم گندم زمستانه قرمز نسبت به ٢٧ جدایه سفیدک در آمریکا گزارش کرده‌اند. زیا و همکاران (Xia *et al.*, 1995) درچین از عکس العمل ٢٦ رقم و لاین اصلاح شده گندم نسبت به ١١ ایزوله از قارچ سفیدک گزارش کردندکه ٧ رقم حساس، هشت رقم دارای ژن مقاومت pm2 همراه با ژن‌های pm4a و pm3 ، ٥ رقم دارای ژنوتیپ مقاوم pm4b توأم با ژن pm6 ، چهار رقم دارای ژن‌های مقاومت pm5 ، pm6 و pm8 و دو رقم دیگر واجد ژن مقاومت pm21 بوده که به اکثر جدایه‌های آزمایش شده، واکنش مقاومت نشان دادند. همچنین نتایج آزمایش نشان می‌دهد، فنوتیپ‌های بیماری‌زائی (Virulence phenotype که دامنه آن بسته به نوع رقم از صفر (٠/٠٠) تا حدود یک (١/٠٠) متغیر می‌باشد و از مجموع تعداد واکنش‌های سازگار بخش بر کل جدایه‌های آزمایش شده روی یک رقم معین بدست آمده نیز متفاوت است. بنابراین صفر بیانگر آن خواهد بود که یک رقم معین در مقابل تمام جدایه‌ها مقاوم و یک نشان‌دهنده این است که در مقابل تمام جدایه‌ها حساس است. به عبارت دیگر باتوجه به نتایج آزمایش، در بین ارقام استاندارد بین المللی، لاین Weihenst. M1 و در میان ارقام ایرانی، رقم هیرمند به جدایه‌های قارچ عامل بیماری حداکثر ناسازگاری را از خودنشان دادند. در واقع با توجه به تشابه عکس‌العمل رقم ایرانی هیرمند و لاین افتراقی Weihenst. M1 به احتمال قریب

www.SID.ir

Archive of SID

به یقین، ژنوتیپ دو رقم کم و بیش مشابه بوده و احتمالاً رقم هیرمند دارای ژن مقاومت pm4b می‌باشد. درحالیکه در بین ارقام استاندارد بین المللی لاین .Carsten V و در میان ارقام ایرانی و بومی تحت کشت منطقه، رقم سرخ تخم به کل جدایه‌ها قارچ عامل بیماری حداکثر ناسازگاری را از خودنشان دادند (جدول ۱).

۲-۲- تعیین مقاومت لاین‌ها و ارقامی از گندم به سفیدک سطحی در مزرعه

همانگونه که از نتایج ارزیابی در مزرعه پیداست، نژاد ۵۳ بر روی ژن‌های مقاومتpm5 و pm3 پرآزاری داشته و عکس‌العمل لاین‌هایUlka و Salzmunde14/44 نسبتاً حساس بوده است، در صورتیکه بر روی ژنوتیپ‌های ارقام ایرانی سرخ تخم، کراس فلات، بولانی، روشن، طبسی، شعله ، کویر و اترک نیز پرآزار که رقم سرخ تخم بسیار حساس بوده است. در حالیکه لاین‌های Chul , Weihenst.M1 , Halle 13471 ، Axminster و Ulka و در بین ارقام ایرانی پاستور، هیرمند و بیات به نژاد شماره ۵۳ مقاومت نشان دادند که مقاومترین لاین‌ها و ارقام به ترتیب Weihenst. M1 و هیرمند می‌باشند (جدول ۲). اما با وجود ویرولانس نژاد فوق و بالقوه بودن بیماری‌زائی آن، بیم بالفعل شدن بیمارگر در مزارع سیستان می‌رود که این مهم بایستی در برنامه‌های اصلاحی و مدیریت کنترل بیماری گنجانده شود. در جدول ۲ تیپ‌های آلودگی صفر تا ٤،۳ تا ٦و ۷ تا ۹ نسبت به نژاد ۵۳ ارائه شده که بر اساس تعریف، فنوتیپ‌های حاصل از تیپ‌های آلودگی فوق‌الذکر به ترتیب عبارت از مقاومت کامل (Complete resistance) ، مقاومت ناقص (Incomplete resistance) و حساسیت کامل (Susceptiptibility) می‌باشد. مقاومت و حساسیت کامل در اثر وجود یا عدم وجود ژن‌های اصلی(Major genes) و مقاومت ناقص در اثر ژن‌های فرعی (Minor genes) به وجود می‌آید. با توجه به تیپ‌های آلودگی و توان بیماری‌زائی نژاد ۵۳ مشاهده می‌شود که فراوانی مقاومت و حساسیت کامل به ترتیب افزایش و کاهش می‌یابد و این موضوع نشان دهنده وجود تنوع ژنتیکی از نظر مقاومت در میان لاین‌ها و ارقام بوده و بر نقش زیاد مشارکت ژن‌هایی با اثرات کوچک و بزرگ دلالت می‌کند. از نکات قابل توجه، مقاومت کامل لاین‌های استاندارد Halle 13471, Weihenst. M1 و Chul بوده که نشان دهنده وجود حداقل یک ژن اصلی مقاومت گیاهچه‌ای است که در صورت مطلوب بودن نوع مقاومت آن می‌تواند به عنوان منابع مقاومت

www.SID.ir

Archive of SID

جدول ۲، عکس العمل لاین‌ها و ارقامی از گندم به نژاد ۵۳ قارچ *B. graminis f. sp. tritici* درمزرعه

Table 2, Reaction of some varieties and lines of wheat to the race 53 of *B. graminis f. sp. tritici* fungus in the field

ارقام و لاین‌های نمونه Representative lines and varieties	میانگین های تیپ آلودگی Means of infection type	میانگین های شدت آلودگی Means of severity infection (%)	میانگین‌های واکنش بیماری با مقیاس ۰۰-۹۹ Means of disaease reaction (00-99)	کل واکنش مقاومت یا حساسیت Total Resistance or Susceptibility reaction
Salzmunde 14/44	6	2	62	MS
Ulka	4	1	41	Mr
Axminter	2	8	28	R
Halle 13471	3	5	35	R
Weihenst. M1	0	0	0	R
Hope	5	3	53	MS
Chul	3	4	34	R
Carsten V.	9	2	92	S
Chamran	2	6	26	R
Sorkhthohm	9	7	97	VS
Crass falat	5	8	58	MS
Pastor	3	7	37	R
Bolani	9	3	93	VS
Hirmand	1	0	10	R
Roshan	7	5	75	S
Tabasi	6	2	62	MS
Sholeh	8	6	86	S
Kavir	6	9	69	MS
Atrak	6	5	65	MS
Bayat	3	6	36	R

MS: Modearatley susceptible نسبتاً حساس

MR: Moderatley resistant نسبتاً مقاوم

R: Resistant مقاوم

S: Susceptible حساس

VS: Very susceptible بسیار حساس

www.SID.ir

Archive of SID

جدول ۳، مقایسه میانگین‌های آلودگی لاین‌ها و ارقام گندم به نژاد ۵۳ در مزرعه بـا اسـتفاده از آزمون چند دامنه‌ای دانکن

Table 4. Comparison of means infection of varieties and lines of wheat to race 53 in the filed with according to [1]DMRT.

ردیف No.	لاین یا رقم Line or Cultivar	گروه‌بندی تیمارها Tretments groupings		ردیف No.	لاین یا رقم Line or cultivar	گروه‌بندی تیمارها Treatments groupings	
1	Salsmunde 14/44	7.90	F	11	Crass falat	7.64	G
2	Ulka	6.44	I	12	Pastor	6.12	J
3	Axminster	5.33	K	13	Bolani	9.66	B
4	Halle 13471	5.95	J	14	Hirmand	3.24	L
5	Weihenst. M1	0.70	M	15	Roshan	8.68	D
6	Hope	7.31	H	16	Tabasi	7.90	F
7	Chul	5.95	J	17	Sholeh	9.30	C
8	Cartean	9.61	B	18	Kavir	8.33	F
9	Chamran	5.14	K	19	Atrak	8.09	F
10	Sorkhtokhm	9.87	A	20	Bayat	6.03	J

بر اساس آزمون چند دامنه‌ای دانکن، در هر ستون مربوط به هـر تیمـار، میانگین‌هـایی کـه دارای یـک حـرف مشـترک هستند از نظر آماری در سطح احتمال یک درصد فاقد تفاوت معنی‌دار می‌باشند.

Significant differences are denoted by different letters, according to Duncan's Multiple Range Test.

در برنامه‌های به نژادی استفاده شوند (جدول ۱ و۲). مقایسه نتایج ارزیـابی مقـاومت گیاهچه‌ای و گیاه کامل نسبت به نژاد ۵۳ با بروز عکس‌العمل حساسیت در مرحله گیاهچه‌ای و مقاومت در مرحله گیاه کامل، نشان دهنده وجود ژن یا ژن‌های مقاومت گیاه کامل می‌باشد کـه بر این اساس لاین‌ها و ارقام Chul, Axminster, Ulka، چمران، پاسـتور، هـیرمند و بیـات چنیـن وضعیتی داشتند. بروز حالت مقاومت کامل در مرحلـه گیاهچـه‌ای و مقـاومت در مرحلـه گیـاه کامل، نشان دهنده اختصاصی بودن مقاومت این لاین‌ها (Race specific) می‌باشد که در ارقـام و

www.SID.ir

Archive of SID

لاین‌های هیرمند، Weihenst. M1، Halle13471 و Chul این حالت مشاهده می‌گردد (جدول ۱و۲). همچنین تجزیه واریانس و آزمون مقایسه میانگین‌های تیمارها در مزرعه در سطح یک درصد دارای اختلاف معنی‌داری بودند. ارقام و لاین‌های مورد بررسی با توجه به آزمون مقایسه میانگین‌ها به روش دانکن، واکنش‌های متفاوتی نشان دادند، به‌طوریکه ارقام سرخ تخم و هیرمند در مزرعه به ترتیب در گروه A و L قرار گرفتند و حداکثر حساسیت و مقاومت را نسبت به نژاد ۵۳ بروز دادند که با نتایج حاصل از بررسی ویرولانس نژاد مزبور بر روی ارقام در گلخانه مطابقت دارد. سایر ارقام و لاین‌ها واکنش‌های نسبتاً حساس تا مقاوم داشتند (جدول ۳). اینگونه ارقام دارای مقاومت قابل قبول یا ارقامی با خصوصیات مقاومت نسبی و مقاومت تدریجی می‌باشند، بطوریکه با دارابودن چندین ژن کوچک مقاومت ولی به صورت ترکیبی از ژن‌های فرعی قادرند مقاومت نسبی مطلوبی داشته باشند. این موضوع نقش مهمی در محدود کردن تنوع نژادی در عامل بیماری‌زا خواهد داشت (Huang *et al*., 1997). بنابراین بهره‌گیری از پاتوتیپ‌های مختلف در ارزیابی مقاومت لاین‌ها و ارقام گندم (Multi pathotypes screening) در شرایط کنترل شده و در مرحله گیاهچه‌ای می‌تواند تا حدودی به تشخیص ژن‌های مقاومت منجر گردد (Persaud *et al*., 1994).

بحث

نتایج حاصل از این پژوهش نشان دهنده کاربرد چشمگیر مربوط به مقاومت اختصاصی (Race specific) در برنامه‌های به نژادی ژنوتیپ‌های مورد مطالعه می‌تواند باشد، عکس‌العمل مزرعه‌ای این ژنوتیپ‌ها نیز این ادعا را تأیید می‌کند. بنابراین با افزایش تعداد منابع مقاومت به این بیماری و بالاخص استفاده از منابع مقاومت پایدار و منابع ژنی از نوع ژن‌هایی با اثر کوچک به طریق دو رگ گیری توصیه می‌گردد، که بر این اساس لازم است در نسل‌های درحال تفکیک از نژادهای متنوع‌تر و با طیف ویرولانس وسیع‌تر در جهت شناسائی منابع مقاومت از نوع اختصاصی استفاده شود، تا از این طریق ژنوتیپ‌های مقاوم موجود در منطقه سیستان را ضمن حمایت نیز حفظ و پایدار نمود. از طرفی چون ژنوتیپ بیماری‌زای غالب منطقه نژاد ۵۳ بوده و با توجه به نتایج آزمایش و تئوری ژن برای ژن (Ghanadha, 1999) بر روی ژنوتیپ pm4b ویرولانس داشته است، لذا توصیه می‌شود برای پایدار نمودن و حفظ

www.SID.ir

Archive of SID

منابع مقاومت در منطقه، همواره بایستی متوجه فنوتیپ‌ها و ژنوتیپ‌های بیماری‌زا و تغییرات ویرولانس نژادها بوده و طیف تغییرات بیماری‌زایی جدایه‌های مزبور را تحت نظر داشته تا مانع شکسته شدن منابع ژنی مقاومت و اپیدمی بی‌رویه بیماری در منطقه گردد. با اطلاعات بدست آمده پیشنهاد می‌شود که مقاومت ارقام نسبت به جدایه‌های ویرولانت مناطق آلوده بطور مداوم مورد بررسی قرار گیرند، زیرا ممکن است واریته‌ای در یک منطقه نسبت به جدایه‌های آن منطقه مقاوم باشد، در صورتیکه در همان منطقه یا مناطق دیگر، واریته حساسیت نشان دهد. در این ارتباط نتایج تحقیقات شارما و سینگ (Sharma and Singh, 1990) نشان می‌دهد که نژادهای ۳ و ٤ روی ژنوتیپ‌های pm3c ، pm3b و pm3a در شمال و بر روی ژنوتیپ‌های pm4 و pm1 در سایر مناطق کشور هندوستان بیماری‌زا بوده‌اند. نتایج حاصل از مطالعه واکنش جدایه‌های مختلف بر روی لاین‌های افتراقی و ارقام تجارتی و توده‌های بومی تحت کشت منطقه سیستان نشان داد که تمامی جدایه‌ها از نظر الگوی بیماری‌زائی بر روی ارقام متفاوت هستند (جدول ۱). بنابراین استنباطی که از نتایج این مطالعات می‌توان داشت، این است که اولاً جمعیت بیمارگر سفیدک در منطقه، جمعیتی نسبتاً ناهمگن بوده و دارای تنوع ژنتیکی و ژنوتیپی متفاوتی است، دوم آنکه تفرق ژنتیکی و تنوع ژنوتیپی نژادها در جمعیت بیمارگر منطقه احتمالاً ناشی از عوامل مختلفی نیز می‌باشد. بنابراین از یک سو، تغییر در ویرولانس عامل بیماری‌زا هرچند مستقل از میزبان می‌باشد، لیکن آنچه موجب توسعه یک جدایه می‌شود، مسئله انتخاب طبیعی و رقابت بین جمعیت می‌باشد. از سوی دیگر منشأ تغییرات در جمعیت قارچ در سیستان ممکن است، در اثر موتاسیون، ترکیب ژن‌های پرآزار (Virulence) و ورود اینوکولوم جدید از کانون‌های آلودگی از مناطق دیگر مثل کشورهای افغانستان، پاکستان و یا از جنوب خراسان و سایر مناطق در جریان تولیدمثل جنسی و غیرجنسی باشد. با توجه به اینکه تاکنون از مواد ژنتیکی مقاوم به سفیدک استفاده نشده است، احتمالاً کاشت وسیع و مستمر برخی از ارقام در منطقه، تنوع ژنتیکی و ژنوتیپی و تغییرات ویرولانس عامل بیماری‌زا را توجیه می‌نماید. نتایج بررسی نشان می‌دهد که برای دستیابی به منابع مقاومت به بیماری سفیدک سطحی گندم لازم است در جمع‌آوری‌های تخصصی بیشتر در مناطقی که گیاه برای مبارزه با دشمن طبیعی خود سال‌ها عکس‌العمل نشان داده و ژن‌های مقاوم با شرایط منطقه سازگار شده اند نیز همواره توجه شود. بنابراین برای حفظ منابع مقاومت با وجود ژنوتیپ مقاوم هیرمند و

www.SID.ir

Archive of SID

حضور نژاد ۵۳ بیماری‌زای غالب در منطقه، همواره بایستی متوجه تغییرات ویرولانس نژادها و طیف نوسانات بیماری‌زایی جدایه‌های قارچ عامل بیماری بوده تا مانع شکسته شدن منابع ژنی مقاومت و اپیدمی احتمالی بی رویه بیماری در سیستان گردد.

سپاسگزاری

این مقاله قسمتی از رساله دکتری و یکی از طرح‌های تحقیقاتی بوده و از محل اعتبارات حوزه معاونت پژوهشی دانشگاه تهران انجام شده است که بدینوسیله تقدیر و تشکر می‌گردد. ضمناً از همکاری آقای دکتر توزا از ژاپن به خاطر ارسال بذور ارقام استاندارد بین المللی و برخی مقالات، واحد پاتولوژی مؤسسه تحقیقات اصلاح وتهیه نهال و بذر کرج، مرکز تحقیقات کشاورزی زابل و گروه زراعت دانشکده کشاورزی کرج به خاطر در اختیار گذاشتن بذور ارقام گندم قدردانی می‌نماید.

نشانی نگارندگان: مهندس محمد سالاری، دکتر سید محمود اخوت، دکتر عباس شریفی تهرانی، دکتر قربانعلی حجارود، دکتر سید جواد زاد و دکتر مجتبی محمدی، گروه گیاه‌پزشکی دانشکده کشاورزی، دانشگاه تهران، کرج، ایران

www.SID.ir