Archive of SID

"نهال و بذر"
جلد ۱۶، شماره ۴، اسفند ۱۳۷۹

بررسی روش‌های مختلف ارزیابی مقاومت به‌گسترش *Fusarium graminearum* در سنبله‌های گندم*

Study of Different Assessment Methods of Resistance to *Fusarium graminearum* Spread in Wheat Spikes

محمد عابدینی اسفهلانی، عباس سعیدی، قاسم کریم‌زاده و عزیزالله علیزاده

مؤسسه تحقیقات اصلاح و تهیه نهال و بذر

تاریخ دریافت: ۱۳۷۹/۲/۸

چکیده

عابدینی اسفهلانی، م.، سعیدی، ع.، کریم‌زاده، ق. و علیزاده، ع. ۱۳۷۹. بررسی روش‌های مختلف ارزیابی مقاومت به گسترش *Fusarium graminearum* در سنبله‌های گندم. نهال و بذر ۱۶: ۴۹۴-۴۸۱.

برای بررسی روش‌های مختلف ارزیابی مقاومت به‌گسترش فوزاریوم سنبله، واکنش ۲۸ ژنوتیپ گندم بهاره (*Triticum aestivum* L.) به دو جدایه *F. graminearum* در شرایط گلخانه‌ای مورد ارزیابی قرار گرفت. روش مایه‌زنی، نقطه‌ای و زمان آن اوایل گل‌دهی بود. داده‌ها برای مقاومت به‌گسترش فوزاریوم در داخل سنبله به سه روش نرخ نهایی آلودگی اندازه‌گیری شده در ۲۸ روز بعد از مایه‌زنی بر اساس مقیاس ۵-۰، سطح زیر منحنی پیشرفت بیماری (Area Under Disease Progress Curve= AUDPC) بر اساس ارزیابی نرخ آلودگی ۷، ۱۴، ۲۱ و ۲۸ روز بعد از مایه‌زنی و درصد آلودگی محور سنبله (درصد محورهای سنبله آلوده شده به گل سنبله‌های مایه‌زنی شده) مورد تجزیه و تحلیل قرارگرفت. تنوع بین ژنوتیپ‌ها برای هر سه روش ارزیابی، معنی‌دار شد. داده‌های حاصله از سه روش ارزیابی، همبستگی مثبت و معنی‌داری نشان داد. لذا می‌توان نتیجه گرفت که هر سه روش ارزیابی لزوماً یک فرآیند اساسی گسترش بیماری را در سنبله اندازه‌گیری می‌کند. از مشابهت نتایج حاصله از ارزیابی بر اساس تعداد سنبلچه‌های آلوده (دو روش اوّل ارزیابی) و محور سنبله (روش سوّم) می‌توان نتیجه گرفت که محور سنبله به عنوان مهّم‌ترین سد دفاعی گیاه در مقابل گسترش فوزاریوم سنبله می‌باشد.

واژه‌های کلیدی: گندم (*Triticum aestivum* L.)، فوزاریوم سنبله *Fusarium graminearum*، مقاومت، روش‌های ارزیابی.

* این مقاله بر اساس نتایج به دست آمده از اجرای طرح تحقیقاتی شماره ۷۸۱۸۷-۱۲-۱۰۰ سازمان تحقیقات، آموزش و ترویج کشاورزی تنظیم گردیده و قسمتی از پایان‌نامه کارشناسی ارشد نگارنده اوّل که به گروه اصلاح نباتات دانشکده کشاورزی دانشگاه تربیت مدرس ارائه شده است.

www.SID.ir

Archive of SID

مقدمه

بیماری فوزاریومی سنبله یا اسکب (Fisarium head blight or scab) یکی از مهم‌ترین بیماری‌های گندم و سایر غلات دانه‌ریز، در مناطق مرطوب و نیمه مرطوب است که گونه‌های متعددی از فوزاریوم (*Fusarium* spp.)، از زمان ظهور سنبله تا رسیدگی، سنبله‌ها را آلوده کرده و باعث کاهش کمّی و کیفی محصول می‌شود (Chen *et al.*, 1997; Miedaner, 1997; Johnes and Mirocha, 1999).

استفاده از قارچ‌کش‌ها و عملیات زراعی فقط میزان خسارت را کاهش می‌دهد و نمی‌تواند از تمامی آسیب‌های کمّی و کیفی جلوگیری کند (Parson, 1994; Bowden and Leslie, 1997; Millus and). استفاده از ارقام مقاوم همراه با عملیات مدیریت زراعی مناسب، بهترین و مؤثرترین روش کنترل بیماری شناسایی شده است (Parry *et al.*, 1995; McMullen *et al.*, 1997). پیشرفت در اصلاح ارقام مقاوم به اسکب در گندم کند بوده است. از دلایل آن می‌توان نبود مقاومت کامل، پیچیدگی روابط بیمارگر - میزبان - محیط، ناشناخته بودن اساس ژنتیکی مقاومت و نبود روشی ارزان، سریع و مطمئن را برای ارزیابی آن نام برد (Miedaner, 1997; Walsh *et al.*, 1998).

مکانیسم‌های مقاومت به بیماری فوزاریوم سنبله پیچیده بود و تا به حال به طور کامل شناخته نشده‌اند. عواملی وجود دارد که حساسیت را کاهش می‌دهند، از آن جمله عوامل فیزیولوژیکی و مورفولوژیکی هستند که بیان‌کننده واکنش‌های دفاعی فعال و غیرفعال به وسیلهٔ میزبان می‌باشند. بیمارگر و هر کدام از فاکتورهای مقاومت میزبان قویاً تحت تأثیر شرایط محیطی و مرحلهٔ رشدی میزبان قرار می‌گیرند و این عوامل تجزیه و تحلیل مقاومت را با پیچیدگی بیشتری مواجه ساخته است (Mesterhazy, 1995; Miedaner, 1997).

اجزاء مکانیسم‌های فعال مقاومت عبارتند از: ۱) مقاومت به آلوده شده اولیه (Schroeder and Christensen, 1963)، ۲) مقاومت به گسترش قارچ در بافت‌های میزبان (Schroeder and Christensen, 1963)، ۳) مقاومت به مایکوتوکسین‌ها (Miller *et al.*, 1985; Snijders and Perkowski, 1990)، ۴) تحمل (Mesterhazy, 1995) و ۵) مقاومت به آلوده شده دانه (Mesterhazy, 1995). دو جزء اوّل یعنی مقاومت به آلوده شدن اوّلیه یا ممانعت از نفوذ قارچ و مقاومت به گسترش قارچ بعد از نفوذ در درون سنبله، بیشتر به مرحلهٔ رشدی میزبان بستگی دارند، و گزارش شده که از نظر ژنتیکی با هم ارتباطی ندارند (Procunier *et al.*, 1998). مه‌پاشی مایه قارچ بر روی سنبله و ارزیابی تعداد سنبلچه‌های آلوده، امکان ارزیابی این دو جزء مقاومت را به صورت توأم فراهم می‌آورد، ولی در مایه‌زنی یکی از گلچه‌های سنبله یا مایه‌زنی نقطه‌ای، فقط جزء دوّم ارزیابی می‌شود. در بعضی آزمایش‌ها، بین داده‌های حاصله از دو نوع مایه‌زنی، همبستگی معنی‌داری وجود نداشته که این نشان‌دهندهٔ بیان‌های مختلف ژنتیکی در پاسخ به این دو روش مایه‌زنی می‌باشد (Buerstmayr *et al.*, 1999; Schroeder and Christensen, 1963). تنوع از

www.SID.ir

Archive of SID

نظر مقاومت به آلودگی اوّلیه، در بین ژنوتیپ‌های گندم کمتر گزارش شده و به علت تأثیرپذیری زیاد آن از شرایط محیطی، ماهیّت آن به خوبی شناخته نشده است (Bai *et al.*, 1999)، ولی اختلاف ژنوتیپ‌ها از نظر گسترش بیمارگر در درون سنبله، در همهٔ آزمایش‌ها مشاهده شده و به عنوان جزء پایدار مقاومت معرفی شده است که کمتر از جزء اوّل تحت تأثیر شرایط محیطی قرار می‌گیرد (Buerstmayr *et al.*, 1999).

ملاک‌ها یا روش‌های ارزیابی در مایه‌زنی نقطه‌ای که تا به حال مورد استفاده قرار گرفته‌اند عبارتند از: ارزیابی ظاهری بر اساس تعداد سنبلچه‌های آلوده شده (Bai *et al.*, 1999; 1996 Bai and Shaner,)، سطح زیر منحنی پیشرفت بیماری (AUDPC) بر اساس چند بار ارزیابی ظاهری (Bai and Shaner, 1996) و ارزیابی تعداد دانه‌های آلوده شده بعد از برداشت (Singh *et al.*, 1995) بوده است. در این تحقیق جهت ارزیابی علاوه بر دو دروش اوّل، روش جدیدی با عنوان درصد آلودگی محور سنبله استفاده شد که از نسبت محورهای سنبلهٔ آلوده شده به کل سنبله‌های مایه‌زنی شده در یک تکرار حاصل می‌شد. و هدف بررسی کارآیی این روش نسبت به دو روش دیگر بود.

مواد و روش‌ها

در این آزمایش عکس‌العمل ۲۸ ژنوتیپ شامل ٦ رقم تجاری و ۲۲ لاین پیشرفته گندم بهاره (جدول ۱)، در مقابل دو جدایه از قارچ *F. graminearum* ارزیابی شد. لاین‌های مورد استفاده، بخشی از لاین‌ها انتخابی بخش تحقیقات غلات مؤسسه تحقیقات اصلاح و تهیه نهال و بذر کرج بود. بذر هرکدام از ژنوتیپ‌ها توسط محلول هیپوکلریت سدیم ۲% (۲/۵ برابر رقیق شدهٔ وایتکس تجاری ۵%) به مدّت ۵ دقیقه ضدعفونی و بعد سه بار (هر بار یک دقیقه) با آب مقطر استریل شسته شدند. برای جوانه‌زنی، بذرهای ضدعفونی شده در داخل ظروف پتری حاوی کاغذ صافی، به مدّت سه روز در $25^{\circ}C$ در انکوروباتور قرار داده شد. شرایط نوری برای جوانه‌زنی ۱۲ ساعت روشنایی و ۱۲ ساعت تاریکی بود. تعداد ۵-۴ بذر جوانه زده در گلدان‌های پلاستیکی به قطر و ارتفاع ۱۵cm کشت شد. خاک گلدان‌ها از مخلوط خاک ماسه: خاک برگ: کود دامی پوسیده به نسبت ۲: ۱: ۱: ۱ تهیه شد. از هر ژنوتیپ ٦ گلدان [۳ گلدان (تکرار) برای هر جدایه] کاشته و گلدان‌ها در قالب طرح بلوک‌های کامل تصادفی، در روی سکوهای گلخانه قرار داده شدند. کشت گیاهان در ۲۰ بهمن ۱۳۷۷ در گلخانهٔ فوزاریوم بخش تحقیقات غلات مؤسسه تحقیقات اصلاح و تهیه نهال و بذر کرج انجام شد. دمای گلخانه در مدّت رشد گیاهان روی $20^{\circ}C$ تنظیم شده بود و شرایط نوری ۱٦ ساعت روشنایی و ۸ ساعت تاریکی بود. نور گلخانه به صورت طبیعی و تکمیلی توسط لامپ‌های ۴۰۰W سدیمی تأمین می‌شد و شدت نوری تقریباً برابر با ۱٦ هزار لوکس بود. مرحلهٔ داشت شامل آبیاری، کوددهی و سمپاشی به طور منظم و معمول انجام شد. کود مصرف شده، اوره بود که به میزان یک گرم به هر گلدان داده شد. این میزان کود در سه مرحله به فاصلهٔ

www.SID.ir

Archive of SID

جدول ۱ - ارقام و شجرهٔ لاین‌های گندم بهاره (*T. aestivum* L.) مورد استفاده در ارزیابی مقاومت به فوزاریوم سنبله

Table 1. Cultivars and line pedigrees of spring wheat (*T. aestivum* L.) used for evaluation of resistance to Fusarium head blight

No	Cultivar/pedigree
1	Tajan
2	Falat
3	Shiroodi
4	Wangshuibai
5	Ghods
6	Pastour
7	Chirya.5//Nanjing 82149/Lira/3/Kite/Glen
8	Sha4/Chili
9	Vpm/Mo535.11.4.8//pen/3/Wea V1/4/Wea V2
10	Kauz CM 67456-4y-1m
11	Kauz//Altra 84/Aos CM 111633-6m
12	Kauz//cinh 77.308//Bau CM 108805-Otopm
13	Milan/Sha4
14	Tan"S"/Pew"S"//Sara CM
15	Kauz*2MNV//Kauz-CRG958-10Y-010m..
16	FURY.KEN-SLM//ALDAN/4/PAT10/ALD//PAT 72300/3Pvn
17	Attila (CM85836-4v-0m-0y-8m-0y-0pz)
18	Jup/Bjy"s"//Ures
19	Tan//BUC/Pvn
20	F6.74/BUN//SIS/3/LIRA
21	Gov/AZ//MUS/3/KEA
22	LFN/1158.57//PRL/3/HAHN
23	OPATA/RAYON//KAUZ
24	THB/KEA//S KAUZ
25	SHA3/SERI//SHA4/LIRA
26	PVN//STAR/LUCO-M
27	Sha3/Seri//G.C.W1/Seri
28	BOW/SERI

www.SID.ir

Archive of SID

۱۵ روز از هم به گلدان‌ها اضافه شد. مهّم‌ترین آفت گلخانه، شته بود که به محض رؤیت آن، سمپاشی با متاسیستوکس ـ ار (Metasystox-R) با غلظت ۱/۵ در هزار به وسیله سمپاش دستی انجام می‌شد. همچنین در صورت مشاهدهٔ سفیدک پودری از قارچکش میلگو (Milgoe با مادهٔ مؤثره Ethirimol) با غلظت ۰/۵ در هزار استفاده می‌شد. اثر قارچ‌کش میلگو بر روی فوزاریوم گزارش نشده است (ترابی، م. ۱۳۷۷، مذاکرات شخصی).

جهت تهیهٔ مایه قارچ، دو جدایه تک اسپور شده، به شماره‌های ۱۶۲ و ۱۷۱ قارچ *F. graminearum*، از واحد پاتولوژی بخش تحقیقات غلات مؤسسه تحقیقات اصلاح و تهیه نهال و بذر تهیه گردید. جدایهٔ ۱۶۲ از رستم کلا مازندران و جدایهٔ ۱۷۱ از کمال‌آباد گرگان جمع‌آوری شده بودند. برای تهیهٔ مایه قارچ از روش زیر استفاده شد (مرآبادی، ۱۳۷۵ ;Wegner, 1992) مقدار ۵ گرم کلش خرد شدهٔ گندم را در ارلن‌های ۲۵۰ml ریخته و به آن ۱۲۵ ml آب مقطر اضافه گردید. مجموعهٔ حاصله ۲ بار به فاصله ۲۴ ساعت در $121^{\circ}C$ و فشار یک اتمسفر به مدّت ۳۰ دقیقه اتوکلاو شد و پس از خنک شدن، یک تکهٔ به قطر $1cm^2$ از محیط کشت همراه با میسلیوم‌های روی آن برداشته و به ارلن‌ها اضافه شد. ارلن‌ها بر روی شیکر چرخشی (Rotary shaker) در $25^{\circ}C$ و ۱۲۰ دور در دقیقه قرار گرفتند. ۴ روز بعد سوسپانسیونی با غلظت تقریبی 10^6 اسپور (ماکروکنیدی) در هر میلی‌لیتر تولید شد. برای جداکردن میسلیوم و خرده‌های کلش از سوسپانسیون، آن را از پارچهٔ ململ استریل عبور داده و به این ترتیب محلول زلال و قهوه‌ای رنگی حاصل شد. شمارش اسپورها توسط لام شمارش (Haemocytometer) انجام شد.

مایه‌زنی سنبله‌ها در اوایل مرحلهٔ گل‌دهی، زمانی که بساک‌ها از وسط سنبله شروع به بیرون آمدن می‌کردند [مرحلهٔ ۶۰ زادوکس و همکاران (Zadoks *et al.*, 1974)] انجام شد. با استفاده از میکروپیپت (Micropipett) با $10\mu l$ ـ ۰ دقت، $5\ \mu l$ از مایه قارچ در یکی از گلچه‌های وسطی هر سنبله تزریق شد. غلظت مورد استفاده اینوکلوم برای هر دو جدایه 2×10^4 اسپور در هر میلی‌لیتر بود. سنبله‌های مایه‌زنی شده توسط آبپاش دستی مرطوب و در داخل کیسهٔ پلاستیکی با رطوبت قرار داده شدند. سه روز بعد سنبله‌ها را از کیسه درآورده و گلدان‌های مربوطه در اتاقک‌های پلاستیکی با رطوبت نسبی ۷۵ ـ ۷۰٪ قرار داده شدند. همزمان نبودن گل‌دهی ژنوتیپ‌های مختلف منجر به مایه‌زنی آن‌ها در تاریخ‌های متفاوت گردید. به همین دلیل تاریخ مایه‌زنی سنبله‌ها در روی آن‌ها با استفاده از برچسب کاغذی درج گردید تا بر اساس آن‌ها یادداشت‌برداری‌ها انجام شود. علائم ظاهری بیماری از نقاط قهوه‌ای تیره یا آبسوخته در روی گلوم‌ها تا زرد شدن سنبلچه‌ها متغیر بود.

اولین یادداشت‌برداری از سنبله‌ها ۷ روز بعد از مایه‌زنی انجام و یادداشت‌برادری‌های بعدی به فاصلهٔ یک هفته و سه‌بار دیگر از هر سنبله انجام شد. در یادداشت‌برداری میزان گسترش قارچ در

www.SID.ir

Archive of SID

درون سنبله از مقیاس ۵-۰ ارائه شده توسط ون و همکاران (Wan *et al.*, 1997) استفاده شد.

میانگین نرخ آلودگی سنبله‌های مربوط به گلدان در هر چهار بار یادداشت‌برداری محاسبه شد. میانگین حاصله از یادداشت‌برداری چهارم به عنوان نرخ نهایی آلودگی در نظر گرفته و مورد تجزیه و تحلیل قرار گرفت. با استفاده از میانگین‌های به دست آمده از ۴ بار یادداشت‌برداری، برای هر تکرار (گلدان) مساحت زیر منحنی پیشرفت بیماری یا AUDPC (Area Under Disease Progress Curve) نیز محاسبه گردید. برای محاسبه AUDPC از فرمول زیر استفاده (Buerstmayr *et al.*, 1999):

$$AUDPC= \Sigma^{n}_{1-1}\{[Y1+Yi-1)/2](Xi-Xi-1)\}$$

که در آن: Yi= امتیاز اکتسابی در یادداشت‌برداری iام، Xi= روز یادداشت‌برداری iام بعد از مایه‌زنی و n= تعداد یادداشت‌برداری می‌باشد. در مورد آلودگی محور سنبله (تعداد سنبله‌هایی که در آن‌ها محور سنبله آلوده شده تقسیم بر تعداد سنبله‌های مایه‌زنی شده ضربدر ۱۰۰) چون داده‌ها به صورت درصد بودند از تبدیل arcsin استفاده شده (Steel and Torrie, 1980). چون داده‌های حاصل از دو روش دیگر از توزیع نرمال تبعیت می‌کردند مستقیماً در تجزیه‌های آماری از آن‌ها استفاده شد. تجزیه‌های آماری شامل تجزیهٔ واریانس، مقایسه میانگین‌ها و محاسبهٔ همبستگی بین سه روش ارزیابی (نرخ نهایی آلودگی AUDPC و آلودگی محور سنبله) با استفاده از نرم‌افزار MSTATC انجام شد.

نتایج

نتیجهٔ تجزیهٔ واریانس برای سه روش ارزیابی گسترش بیماری یعنی نرخ نهایی آلودگی (میانگین امتیاز مربوط به یک گلدان در یادداشت‌برداری چهارم)، سطح زیر منحنی پیشرفت بیماری یا AUDPC و آلودگی محور سنبله (درصد سنبله‌هایی که محور سنبله در آن‌ها آلوده شد) برای ژنوتیپ‌های مختلف در شرایط هر دو جدایه (جدول ۲)، بیانگر این بود که در هر دو جدایه بلوک‌ها معنی‌دار هستند. معنی‌دار شدن بلوک‌ها نشان‌دهندهٔ اختلاف بین بلوک‌ها از نظر گسترش آلودگی می‌باشد. این اختلاف از شرایط رطوبتی و دمایی زیر محفظه‌های پلاستیکی هر کدام از بلوک‌ها ناشی شده است و اثر این عوامل را در گسترش شدت بیماری نشان می‌دهد در مورد جدایهٔ ۱۶۲ میانگین مربعات نرخ نهایی آلودگی در سطح ۱٪ معنی‌دار شد در صورتی که در مورد دو روش دیگر ارزیابی، میانگین مربعات مربوط به ژنوتیپ‌ها معنی‌دار نبود. هر سه روش ارزیابی در مورد جدایهٔ ۱۷۱ در سطح ۱٪ معنی‌دار شد. یعنی با اطمینان ۹۹ درصد می‌توان گفت که بین ژنوتیپ‌ها از نظر مقاومت به گسترش فوزاریوم در درون سنبله در هر سه روش ارزیابی اختلاف وجود دارد.

از مقایسهٔ ژنوتیپ‌ها با آزمون دانکن (جدول‌های ۳ و ۴) استنباط می‌شود که ژنوتیپ‌ها واکنش متفاوت داشته و در شرایط هر دو جدایه ژنوتیپ‌های حساس واکنش مشابه فلات (ژنوتیپ شماره ۲) داشته و ژنوتیپ‌های مقاوم برای هر دو جدایه مقاومت‌شان کمتر از Wangshuibai

www.SID.ir

Archive of SID

جدول ۲ ـ میانگین مربعات سه روش ارزیابی گسترش بیماری فوزاریوم سنبله گندم در ارزیابی مقاومت ۲۸ ژنوتیپ گندم با دو جدایه *F. graminearum*

Table 2. Means of squares of three assessment methods of resistence to Fusarium head blight spread in spikes of 28 wheat genotypes with two isolates of *F. graminearum*

			نرخ نهایی آلودگی Final disease rating		سطح زیر منحنی پیشرفت بیماری AUDPC		آلودگی محور سنبله Rachis infection	
S.O.V.	منابع تغییرات	درجه آزادی df	I_{162}	I_{171}	I_{162}	I_{171}	I_{162}	I_{171}
Block	بلوک	2	1.33**	3.95**	275.29*	1388.12**	1428.04**	227.93*
Genotype	ژنوتیپ	27	0.39**	1.98**	130.09ns	813.44**	282.50ns	515.76**
Error	خطا	53	0.18	0.41	80.55	172.33	218.06	1225.91

I_{162} and I_{171}= Isolate 161 and isolate 171 respectively.

* Significant at 5% level.

** Significant at 1% level.

ns Not significant.

* معنی‌دار در سطح احتمال ۵٪.

** معنی‌دار در سطح ۱٪.

ns غیرمعنی‌دار.

(ژنوتیپ شماره ۴) بوده است. میزان آلودگی در شرایط جدایه ۱۶۲ پایین بود و ژنوتیپ‌های حساس نیز میزان آلودگی پایینی را نشان دادند، لذا شرایط برای بروز همه‌گیری مساعد نبوده است. در مورد جدایهٔ ۱۷۱ شرایط محیطی در محل آزمایش مساعد بود و در دو ژنوتیپ (شماره ۲۰ و ۱۷) ۱۰۰٪ آلودگی مشاهده شد.

ضرایب همبستگی بین سه روش ارزیابی (جدول ۵) برای هر دو جدایه در سطح احتمال ۰/۰۱ معنی‌دار بود، لذا رابطهٔ نزدیکی بین این سه روش ارزیابی وجود داشته و هر سه روش می‌توانند به یک میزان اختلافات بین ژنوتیپ‌ها را از نظر مقاومت به فوزاریوم سنبله بیان کند.

بحث

در مورد مقاومت به فوزاریوم سنبله بیش از ۱۰۰ سال است که به وجود تنوع ژنتیکی در بین ژنوتیپ‌های مختلف گندم پی برده شده است و تحقیقات متعدد بعدی وجود این تنوع را به اثبات رسانده‌اند. در این تحقیق تنوع ژنتیکی بالایی از نظر مقاومت به گسترش فوزاریوم در داخل سنبله در بین ژنوتیپ‌های مختلف مشاهده شد. مشخص شد که رقم شناخته شده فلات به عنوان حساس‌ترین و رقم Wangshuibai به عنوان مقاوم‌ترین ژنوتیپ در برابر هر دو جدایه می‌باشند. مقاومت رقم Wangshuibai در این تحقیق با گزارش‌های قبلی محققین در توافق کامل می‌باشد. محدودهٔ نرخ نهایی آلودگی آن بر اساس مقیاس ۵ ـ ۰ در تحقیق حاضر ۱/۴۶ ـ ۱/۴۲ بود که در بیشتر موارد

www.SID.ir

Archive of SID

جدول ۳ـ مقایسه میانگین‌ها (± SE) در سه روش ارزیابی مقاومت به گسترش بیماری فوزاریوم سنبله در ۲۸ ژنوتیپ گندم با جدایه ۱۶۲ *F. graminearum*

Table 3. Means (± SE) of three assesment methods of resistence to Fusarium head blight spread in spikes of 28 wheat genotypes with isolate 162 of *F. graminearum*

شماره ژنوتیپ	نرخ نهایی آلودگی	سطح زیر منحنی پیشرفت بیماری	درصد محورهای سنبله آلودگی
Genotype No.	Final disease rating	AUDPC	Rachis infection(%)
2*	2.83±0.23 a	51.24±9.00 a	66.67±7.39 a
23	2.63±0.06 ab	49.24±4.77 ab	66.67±5.00 ab
19	2.48±0.10 abc	49.76±1.63 ab	41.67±5.00 abc
17	2.42±0.06 abc	46.49±1.71 abc	41.67±5.00 abc
24	2.35±0.18 abcd	43.41±1.53 abcd	33.33±9.42 bc
14	2.27±0.13 abcde	43.27±4.61 abcd	22.22±6.18 abc
22	2.18±0.18 abcdef	43.57±6.90 abcd	33.33±10.20 bc
18	2.18±0.22 abcdef	38.91±4.16 abcd	25.00±8.83 abc
20	2.18±0.23 abcdef	46.38±6.31 abc	33.33±13.38 abc
11	2.17±0.35 abcdef	36.80±3.70 abcd	25.00±13.81 abc
3	2.13±0.34 bcdefg	38.62±3.58 abcd	33.33±13.38 abc
27	2.12±0.30 bcdefg	39.26±6.39 abcd	41.67±10.01 abc
10	2.10±0.08 bcdefg	32.44±2.17 bcd	16.67±5.20 c
28	2.10±0.24 bcdefg	39.55±8.01 abcd	41.67±5.00 abc
13	2.07±0.45 bcdefg	38.37±6.53 abcd	33.33±13.38 abc
1	2.03±0.32 bcdefg	35.70±7.70 abcd	16.67±9.83 c
15	2.02±0.38 bcdefg	40.80±6.88 abcd	22.22±6.95 bc
5	2.00±0.14 bcdefg	37.34±2.78 abcd	8.33±5.20 c
16	1.97±0.31 bcdefg	32.76±5.30 bcd	30.56±11.47 abc
9	1.97±0.23 bcdefg	43.16±2.60 abcd	16.67±5.20 c
26	1.85±0.31 cdefgh	37.63±7.94 abcd	16.67±9.33 bc
25	1.83±0.51 cdefgh	35.75±5.98 abcd	25.00±14.43 abc
8	1.69±0.38 defgh	34.51±5.43 abcd	11.11±6.59 c
7	1.67±0.19 defgh	30.89±2.63 cd	19.44±5.51 bc
12	1.61±0.14 efgh	29.34±3.20 cd	0.00±0.00 c
21	1.50±0.29 fgh	29.56±8.88 cd	25.00±8.16 bc
4	1.47±0.07 gh	28.17±3.19 d	8.33±4.85 c
6	1.16±0.17 h	28.58±4.08 d	25.00±8.83 bc

* For name or pedigree of genotypes see Table 1.

میانگین‌هائی که با حروف مشابه در هر ستون مشخص شده‌اند با یکدیگر اختلاف معنی‌دار ندارند($P<0/05$).

Means followed by similar letters in each culumn are not significantly different ($P<0.05$).

www.SID.ir

Archive of SID

آلودگی محدود به سنبلچهٔ مایه‌زنی شده می‌بود. با استفاده از همین مقیاس، آلودگی آن در مرحلهٔ خمیری سخت ۱/۵۷ گزارش شده است (Wan *et al.*, 1997). رقم Wangshuibai در آزمایش‌های مختلف ارزیابی مقاومت، به عنوان مقاوم‌ترین ژنوتیپ گزارش شده است (Wang and Miller, 1988; Liu, 1985; Wang *et al.*, 1982; Wan *et al.*, 1997; Lin *et al.*, 1992).

عوامل محیطی در شروع و توسعهٔ آلودگی اسکب گندم مهم‌ترین نقش تعیین کننده را دارند (Bai and Shanner, 1994). همچنین پاری و همکاران (Parry *et al.*, 1995) نتیجه گرفته‌اند که علاوه بر مقاومت میزبان برخی از عوامل دیگر نیز در گسترش فوزاریوم سنبله تأثیر دارند از جمله این عوامل می‌توان به نوع و مقدار مایه قارچ، مرحلهٔ رشدی گیاه، دما و رطوبت محیط اشاره کرد. لذا این منابع تا حد ممکن بایستی در آزمایش‌های ارزیابی و به‌نژادی تحت کنترل قرار گیرند. معنی‌دار شدن بلوک‌ها در این تحقیق اثر دما و رطوبت را در آزمایش‌های گلخانه‌ای نشان می‌دهد چون هر کدام از بلوک‌ها بعد از مایه‌زنی در زیر یک محفظهٔ پلاستیکی قرار گرفتند لذا شرایط محیطی (رطوبت و دما) در زیر آن‌ها متفاوت بوده و این عامل باعث اختلاف معنی‌دار بین بلوک‌ها از نظر گسترش فوزاریوم گردیده است. در صورتی که در آزمایش دیگری که در شرایط گلخانه‌ای مشابه، همه بلوک‌ها در زیر یک محفظه بزرگ قرار گرفته بودند اختلاف بین بلوک‌ها معنی‌دار نشده بود (عابدینی اسفهلانی، ۱۳۷۸).

در این تحقیق جهت ارزیابی مقاومت به فوزاریوم سنبله از روش مایه‌زنی نقطه‌ای استفاده شد. این روش امکان جدا کردن اجزاء مختلف مقاومت را از هم فراهم می‌آورد. همانطوری که اشاره شد مقاومت به گسترش فوزاریوم درون سنبله به عنوان تیپ عمده مقاومت معرفی شده است و مایه‌زنی یک سنبلچه در یک سنبله اختلاف در وقوع بیماری در ژنوتیپ‌های مختلف را محدود کرده و سیستم پیچیده بیماری را جهت بررسی تسهیل می‌کند (Bai *et al.*, 1999). بررسی همبستگی بین میانگین‌های حاصله از سه روش برای هر ژنوتیپ، نشان داد که همبستگی بالا و معنی‌دار بین این روش‌ها وجود دارد (جدول ۵). در ژنوتیپ‌های مقاوم درصد آلودگی محور سنبله پایین بود و این با نرخ نهایی آلودگی آن‌ها در توافق بود. برای مثال رقم مقاوم Wangshuibai که نرخ نهایی آلودگی ۱/۴۲ در برابر جدایه ۱۷۱ داشته، فقط در ۸/۳۳٪ از سنبله‌ها، نفوذ بیمارگر از سنبلچهٔ مایه‌زنی شده به محور سنبله اتفاق افتاد در صورتی که در رقم حساس فلات با میانگین نرخ نهایی آلودگی ۴/۶۷، ۱۰۰٪ محورهای سنبله آلودگی را نشان دادند. از همبستگی بالا و مشابهت نتایج حاصله از آن‌ها می‌توان نتیجه گرفت که سه روش ارزیابی مقاومت لزوماً یک فرآیند اساسی گسترش بیماری را در درون سنبله اندازه‌گیری می‌کنند و ساده‌ترین روش برای اخذ اطلاعات، کافی خواهد بود. نرخ نهایی آلودگی بر اساس شمارش تک‌تک سنبلچه‌های آلوده به دست می‌آید. سطح زیر منحنی پیشرفت بیماری نه تنها نرخ نهایی آلودگی را نشان میدهد بلکه سرعت پیشرفت بیماری، در مراحل اوّلیه آلودگی را نیز

www.SID.ir

Archive of SID

جدول ۴- مقایسهٔ میانگین‌ها (± SE) در سه روش ارزیابی مقاومت به گسترش بیماری فوزاریوم سنبله در ارزیابی ۲۸ ژنوتیپ گندم با جدایه ۱۷۱ *F. graminearum*

Table 4. Means (± SE) of three assesment methods of resistence to Fusarium head blight spread in spikes of 28 wheat genotypes with isolate 171 of *F. graminearum*

شماره ژنوتیپ	نرخ نهایی آلودگی	سطح زیر منحنی پیشرفت بیماری	درصد محورهای سنبله آلودگی
Genotype No.	Final disease rating	AUDPC	Rachis infection(%)
20*	5.00±0.00 a	109.60±0.93 a	91.67±5.16 ab
17	5.00±0.00 a	92.87±4.11 abc	4.06±93.33 ab
2	4.67±0.17 ab	90.42±5.59 abcde	100.00±0.02 a
28	4.58±0.22 ab	93.16±3.31 ab	91.67±6.95 abc
24	4.57±0.28 ab	91.89±4.30 abcd	91.67±5.16 ab
3	4.50±0.14 abc	67.08±10.21 defgh	75.00±15.16 abc
23	4.20±0.59 abcd	82.83±1032 bcdef	91.67±5.16 ab
15	4.18±0.32 abcd	76.13±9.50 bcdefg	91.67±5.16 ab
5	4.17±0.71 abcd	77.70±14.07 bcdefg	83.33±10.16 abc
19	4.15±0.35 abcd	65.63±3.47 efgh	83.33±5.16 abc
22	4.13±0.23 abcd	81.25±3.72 bcdef	88.89±6.18 abc
11	4.10±0.15 abcd	81.43±1.93 bcdef	83.33±5.16 abc
6	3.93±0.31 abcde	78.40±7.33 bcdefg	83.33±5.16 abc
16	3.88±0.61 abcdef	70.06±14.77 bcdefgh	58.33±13.38 abc
7	3.85±0.42 abcdef	67.93±4.75 bcdefgh	80.56±6.22 abc
13	3.73±0.38 abcdef	66.3±8.91 defgh	83.33±10.16 abc
14	3.61±0.32 bcdef	64.55±5.33 efgh	83.33±13.27 ab
9	3.49±0.25 bcdef	66.70±6.22 defgh	58.33±7.53 abc
21	3.29±0.27 cdef	67.41±9.16 cdefgh	61.11±11.400 abc
18	3.28±0.43 cdef	60.38±10.21 fgh	66.67±13.35 abc
27	3.26±0.56 cdef	63.43±11.19 fgh	53.33±8.88 abcd
10	3.16±0.38 def	61.48±6.90 fgh	75.00±8.80 abc
25	3.10±1.07 def	65.22±20.66 efgh	41.67±8.32 cd
1	2.98±0.52 def	61.08±7.98 fgh	66.67±5.00 abc
8	2.80±0.43 ef	58.22±9.75 hi	50.00±8.66 bcd
26	2.67±0.30 ef	46.78±4.59 hi	41.67±5.00 cd
12	2.64±0.58 f	52.23±9.00 gh	38.89±12.15 cd
4	1.42±0.17 g	27.13±1.01 i	8.33±5.20 d

* For name or pedigree of genotypes see Table 1.

میانگین‌هائی که با حروف مشابه در هر ستون مشخص شده‌اند با یکدیگر اختلاف معنی‌دار ندارند($P<0/05$).

Means followed by similar letters in each culumn are not significantly different ($P<0.05$).

www.SID.ir

Archive of SID

جدول ۵ - ضرایب همبستگی بین سه روش ارزیابی مقاومت به گسترش بیماری فوزاریوم سنبله گندم در ۲۸ ژنوتیپ گندم با دو جدایه *F. graminearum*

Table 5. Correlation coefficients of three assessment methods of resistence to Fusarium head bllight spread in spikes of 28 wheat genotypes with two isolates of *F. graminearum*

Assessment method	روش ارزیابی	Isolate جدایه	Final disease rating نرخ نهایی آلودگی	AUDPC سطح زیر منحنی پیشرفت بیماری
AUDPC	سطح زیر منحنی پیشرفت بیماری	162	0.89**	
		171	0.92**	
Rachis infection	آلودگی محور سنبله	162	0.73**	0.72**
		171	0.90**	0.84**

** Significant at 1% level.

** معنی‌دار در سطح احتمال ۱٪.

نشان می‌دهد. در این مطالعه بین این دو روش ضریب همبستگی بالا (۰/۹۲-۰/۸۹) وجود داشت که این در توافق با گزارش بای و همکاران (Bai *et al.*, 1999) در این مورد بود که همبستگی بین آن دو را ۰/۹۶-۰/۹۲ اعلام کرده‌اند. بنابراین هر دو روش برای تمایز ژنوتیپ‌ها از همدیگر مناسب هستند ولی ارزیابی AUDPC، با توجّه به این که نیاز به چند مرحله یادداشت‌برداری دارد فوق‌العاده گران تمامی می‌شود و شاید در جوامع بزرگ گیاهی امکان‌پذیر نباشد. روش آلودگی محور سنبله، همانطوری که گفته شد تعداد محورهای سنبلهٔ آلوده شده را نسبت به گل سنبله‌های مایه‌زنی شده نشان می‌دهد. این روش مزایای مختلفی را نسبت به ارزیابی بر اساس کل سنبلچه‌های آلوده دارد که آسان بودن ارزیابی و کاهش اشتباه در ارزیابی را می‌توان از آن جمله شمرد. معمولاً اساس تشخیص سنبلچه‌های آلوده زرد شدن آن‌ها می‌باشد. زرد شدن پیش از موعد ممکن است عوامل دیگری نیز داشته باشد و یا آلودگی به وجود آمده از منبع دیگری غیر از سنبلچهٔ مایه‌زنی باشد. همچنین بعد از مرحلهٔ شیری، کل سنبلچه‌ها (سالم و آلوده) به تدریج زرد می‌شوند که در آن موقع، تشخیص سنبلچه‌های آلوده از سالم غیر ممکن می‌نماید (Parry *et al.*, 1995; Miedaner, 1997). در صورتی که در روش استفاده از محور سنبله برای ارزیابی، مشکل محدودیت زمانی وجود نداشته و حتی بعد از رسیدگی کامل سنبله ارزیابی ممکن می‌باشد. لذا استفاده از آن در روش مایه‌زنی نقطه‌ای می‌تواند کار ارزیابی را تسهیل بخشد.

گزارش شده که مقاومت به گسترش فوزاریوم در داخل سنبله خودش شامل دو جزء می‌باشد: یکی نفوذ بیمارگر به محور سنبله و دوّمی گسترش آن به سنبلچه‌های مجاور بعد از نفوذ در محور

www.SID.ir

Archive of SID

سنبله (Yu, 1982; Bai and Shaner, 1996). همچنین بر اساس نظر یو (Yu, 1982) ممکن است ژن‌های متفاوتی این دو جزء را کنترل کنند ولی اطلاعات مستدلی در این مورد گزارش نشده است. تحقیق حاضر نشان داد که این دو عامل با هم ارتباط داشته و محور سنبله به عنوان اولین سد دفاعی گیاه بعد از نفوذ بیمارگر در یک سنبلچه می‌باشد و در صورت شکسته شدن این سد دفاعی سنبلچه‌های مجاور به راحتی آلوده خواهند شد. این نتیجه‌گیری را هم تجزیهٔ همبستگی و هم تجزیهٔ ژنتیکی به روش دیالل (عابدینی اسفهلانی، ۱۳۷۸) به خوبی تأیید می‌کرد.

منابع مورد استفاده

References

عابدینی اصفهلانی، م. ۱۳۷۸. بررسی ژنتیک مقاومت به فوزاریوم سنبله در ارقام گندم هگزاپلوئید. پایان‌نامه کارشناسی ارشد اصلاح نباتات، دانشکده کشاورزی، دانشگاه تربیت مدرس تهران.

ممرآبادی، م. ۱۳۷۵. بررسی مقاومت نسبی ارقام و لاین‌های مختلف گندم به بیماری فوزاریومی خوشه گندم. پایان‌نامه کارشناسی ارشد بیماری‌شناسی گیاهی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه تربیت مدرس تهران.

Bai, G.H., Kolb, L., Shaner, G., and Domier, L.L. 1999. Amplified fragment length polymorphism markers linked to a major quantitative trait locus controlling scab resistance in wheat. Phytopathology 89: 343-348.

Bai, G., and Shaner, G. 1994. Scab of wheat: Prospects for control. Plant Disease 78: 760-766.

Bai, G.H., and Shaner, G. 1996. Variation in *Fusarium graminearum* and cultivar resistance to wheat scab. Plant Disease 80: 975-979.

Bowden, R.L., and Leslie, J.F. 1997. Diversity and sexuality in *Gibberella zeae*. pp. 35-39. In: Dublin H.J., Gilbert, I., Reeves, J., and McNab, A. (eds.). Fusarium Head Scab: General Status and Future Prospects. CIMMYT. Mexico. D.F.

Johnes, R.K., and Mirocha, C.J., 1999. Quality parameters in small grains from Minnesota affected by Fusarium head blight. Plant Disease 83: 506-511.

Lin, Y., Yang, Z., and Wu, Z. 1992. Genetic analysis of resistance to scab (*Gibberella zeae*) in wheat varieties from different regions. Acta Agricultural of Shanghhai 8: 31-36.

Liu, Z.Z. 1985. Recent advances in research on wheat scab in China. pp. 174-181. In: Saunders, D.A. (ed.). Wheat for More Tropical Environments, CIMMYT, Mexico, D.F.

McMullen, M., Jones, R., and Gallenberg, D. 1997. Scab of wheat and barley: A reemerging

www.SID.ir

Archive of SID

disease of devastating impact. Plant Disease 81: 134-148.

Mesterhazy, A. 1995. Types and components of resistance to Fusarium head blight of wheat. Plant Breeding 114: 377-386.

Miedaner, T. 1997. Breeding wheat and rye for resistance to Fusarium diseases-review article. Plant Breeding 116: 201-220.

Miller, J.D., Young, J.C., and Sampon, D.R. 1985. Deoxynivalenol and Fusarium head blight resistant in spring cereals. Phytopathology 113: 359-367.

Millus, E.A., and Parson, C.E. 1994. Evaluation of foliar fungicides for controlling Fusarium head blight of wheat. Plant Disease 78: 697-799.

Parry, D.W., Jenkinson, P., and Mcleon, L. 1995. Fusarium ear blight (scab) in small grain cereals-a review. Plant Pathology 44: 207-238.

Procunier, J.D., Gilbert, J., Aung, T., Gray, M., and Prashar, S. 1998. Microsatellite identification of specific D chromosomes for Fusarium head blight resistance in hexaploid wheat. pp. 143-144. In: Slinkard, A.E. (ed.). Proceedings of the 9th International wheat Genetics Symposium, Vol. 3, University of Saskatehewan, Canada.

Schroeder, H.W., and Christensen, J.J. 1963. Factors affecting resistance of wheat to scab caused by *Gibberella zeae*. Phytopathology 53: 831-838.

Singh, R.P., Ma, H., and Rajaram, S. 1995. Genetic analysis of resistance to scab in spring wheat cultivar Frontana. Plant Disease 79: 238-240.

Snijders, C.H.A., and Perkowski, J. 1990. Effect of head blight caused by *Fusarium culmorum* on toxin content and weight of wheat kernels. Phytopathology 80: 66-70.

Steel, R.G.D., and Torrie, J.H. 1980. Principales and Procedures of Statistics: A Biometrical Approach. 2nd edn. New York: McGraw-Hill Publ. USA.

Walsh. E.J., Fanning, M.J., and Bannon, E. 1998. An evaluation of screening techniques to assess Fusarium head blight resistance in spring wheat (*Triticum aestivum* L.). Cercal Research Communications 26: 59-66.

Wan, Y.F., Yen, C., and Yang, J.L. 1997. Sources of resistance to head scab in Triticum Euphytica 94: 31-36.

Wang, Y.Z., and Miller, J.D. 1988. Screening techniques and sources of resistance to Fusarium head blight. pp. 125-140. In: Klatt, A. (ed.). Wheat Production Constraints in

www.SID.ir

Archive of SID

Topical Environments. CIMMYT, Mexico. D.F.

Wang, Y.Z., Yang, X.N., and Xiao, Q.P. 1982. The improvement of indentification technique of scab (*Gibberella zeae* Petch) resistance of wheat and the development of resistant sources. Scientia Agricultural Sinica 5: 67-77.

Wegner, M. 1992. Optimierung von saatgutpillierungen mit mikrobiellen antagonisten zur biologischen Bekampfung von *Fusarium culmorum* (W.G.SM) Sacc. in weizen. Diplomarbeit Universitaet Goettingen. Germany.

Yu, Y.J. 1982. Monosomic analysis for scab resistance and yield components in the wheat cultivar Soo-Moo-3. Cereal Research Communications 10: 185-190.

Zadoks, J.C., Chang, T.T., and Konzak, C.F. 1974. A decimal code for the growth stage of cereals. Weed Research 14: 415-421.

آدرس نگارندگان

محمد عابدینی اسفهلانی - بخش تحقیقات اصلاح و تهیه نهال و بذر، مرکز تحقیقات کشاورزی ایرانشهر، ایرانشهر.
عباس سعیدی - بخش تحقیقات غلات، مؤسسه تحقیقات اصلاح و تهیه نهال و بذر، صندوق پستی ۴۱۱۹، کرج ۳۱۵۸۵.
قاسم کریم‌زاده - گروه اصلاح نباتات، دانشکده کشاورزی دانشگاه تربیت مدرس، تهران.
عزیزالله علیزاده - گروه بیماری‌شناسی گیاهی، دانشکده کشاورزی دانشگاه تربیت مدرس، تهران.

www.SID.ir