

بررسی همبستگی اسپورزائی روی کوتیلدون و برگ‌ها به عنوان مهم‌ترین صفت آلودگی به  
بیماری سفیدک کرکی آفتابگردان با دیگر صفات آن

**Correlation of Sporulation on Cotyledons and Leaves as the Main  
Infection Characteristics of Sunflower Downy Mildew with its other  
Characteristics**

سیامک رحمانپور، امیرحسین شیرانی راد و عزیزالله علیزاده

مؤسسه تحقیقات اصلاح و تهیه نهال و بذر

تاریخ دریافت: ۸۱/۹/۱۰

چکیده

رحمانپور، س.، شیرانی‌راد، ا. ح.، و علیزاده، ع. ۱۳۸۳. بررسی همبستگی اسپورزائی روی کوتیلدون و برگ‌ها به عنوان مهم‌ترین صفت آلودگی به بیماری سفیدک کرکی آفتابگردان با دیگر صفات آن. نهال و بذر ۲۰: ۳۴۳-۳۲۹.

در این بررسی هشت نشانه از نشانه‌های ماکروسکوپی آلودگی به بیماری سفیدک کرکی شامل مرگ گیاهچه، اسپورزایی روی کوتیلدون‌ها، اسپورزایی روی کوتیلدون و برگ‌ها، کوتولگی، موزائیک یا رنگ پریدگی برگ‌ها، بدشکلی، وجود زخم روی هیپوکوتیل و کاهش رشد ریشه، به عنوان شاخص‌هایی برای تعیین حساسیت و مقاومت (ظهور یا عدم ظهور) در ارقام و هیبریدهای آفتابگردان مورد مقایسه قرار گرفتند. گیاهچه‌های سه روزه با روش غوطه‌ورسازی کامل گیاهچه‌ها در سوسپانسیون اسپور، مایه‌زنی گردیده و واکنش آن‌ها دو هفته بعد مورد ارزیابی قرار گرفت. محاسبه همبستگی بین این علایم نشان داد که اسپورزایی روی کوتیلدون و برگ‌ها به عنوان مهم‌ترین صفت بروز بیماری، با صفات رنگ پریدگی یا موزائیک (M)، کوتولگی (S)، وجود زخم روی هیپوکوتیل (HL) و کاهش رشد ریشه (RR) همبستگی مثبت بالایی دارد. همچنین در میان مدل‌های رگرسیونی که بین صفات مختلف برای تعیین مقاومت بررسی شد، مدل قابل قبول دیگری نیز وجود داشت که از لحاظ آماری ضرایب آن معنی‌دار بودند و  $R^2$  بالایی داشت. این مدل برای تخمین سریع مقاومت قابل استفاده بود که از روی تک صفت (نشانه) موزائیک به دست آمد.

واژه‌های کلیدی: آفتابگردان، سفیدک کرکی، مقاومت، همبستگی، مدل رگرسیونی

کشت این گیاه در دنیا می‌باشد. قارچ

عامل بیماری (Farl) *Plasmopara halstedii*

Berl and de Toni، تا کنون از مناطق مختلف

مقدمه

بیماری سفیدک کرکی آفتابگردان یکی از

مهم‌ترین عوامل خسارت‌زا و محدود کننده

این مقاله بر اساس نتایج به دست آمده از اجرای طرح تحقیقاتی شماره ۷۵۰۰۱-۱۲-۱۰۰ مؤسسه تحقیقات اصلاح و تهیه نهال و بذر تهیه گردیده است.

بوته‌ها نیز از جمله علایم این بیماری هستند (رحمانپور و همکاران، ۱۳۷۹ الف). استفاده از انواع مقاوم آفتابگردان، برای مناطقی که شرایط برای توسعه بیماری کاملاً مساعد است، از راه‌های اساسی جلوگیری از خسارت بیماری به شمار می‌آید (پانچنکو، ۱۳۴۸؛ رحمانپور و همکاران، ۱۳۷۹ الف). در این راستا بیشتر پژوهشگران، در ارزیابی حساسیت یا مقاومت مواد ژنتیکی آفتابگردان در مقابل قارچ عامل بیماری سفیدک کرکی، اسپورزایی روی جفت اول برگ‌ها و کوتیلدون‌ها را ملاک حساسیت بوته‌ها در نظر گرفته‌اند و بوته‌های فاقد این علایم، مقاوم تلقی شده‌اند (Miller and Gulya, 1991, 1987؛ Thompson et al., 1978؛ Gulya et al., 1991؛ Rashid, 1993؛ Tan et al., 1992؛ Vear et al., 1990؛ Mouzeyar et al., 1992). ویرانی (Viranyi, 1977, 1978, 1980, 1981) در ارزیابی‌های مربوط به آلودگی سیستمیک آفتابگردان به این بیماری و مقایسه انواع مقاوم و حساس، اسپورزایی روی کوتیلدون‌ها، علایم آلودگی روی برگ‌ها، مرگ گیاهچه، ظهور زخم روی هیپوکوتیل‌ها، اسپورزایی هیپوکوتیل‌هایی که علایم ظاهری آلودگی نداشته و کاهش رشد ریشه را مد نظر قرار داده و بر آزمایش‌های هیستولوژیک تأکید کرده است. پاتیل و مایی (Patil and Mayee, 1988) نیز علایمی شامل مرگ گیاهچه، کوتولگی، رنگ پریدگی رگبرگ‌ها، گال طوقه، قائمه

بیش از ۱۲ استان کشور گزارش گردیده است (رحمانپور و همکاران، ۱۳۷۹ الف؛ شریف، ۱۳۵۰؛ میناسیان، ۱۳۴۶). استان‌های گلستان، مازندران، همدان و آذربایجان غربی با توجه به قدمت کشت آفتابگردان در آن مناطق، دارای پراکنش و درصد بیماری بالایی می‌باشند (علیزاده و رحمانپور، بررسی‌های منتشر نشده). بوته‌های آفتابگردان دارای آلودگی سیستمیک این بیماری از فاصله چندمتری قابل تشخیص بوده و در مراحل اولیه رشد خود لکه‌های رنگ پریده متقارن را در اطراف رگبرگ‌های اصلی به خوبی نشان می‌دهند. در آلودگی‌های شدید بوته، لکه‌های رنگ پریده، کل سطح برگ را فرا می‌گیرند. این لکه‌ها خاصیت فلوتورسانس داشته و در مواردی خود رگبرگ‌ها نیز حالت درخشندگی دارند. در مراحل بعدی کوتولگی نمایان می‌شود. فاصله بین گره‌ها خیلی کم شده و ساقه حالت خشبی، ترد و شکننده پیدا می‌کند. گلدهی چنین بوته‌هایی، نسبت به بوته‌های سالم زودتر انجام می‌شود. طبق‌های تولیدی کوچک بوده و به حالت قائم رو به آسمان قرار می‌گیرند. چرخش به سمت نور خورشید (Phototropism) در بوته‌ها و طبق‌ها دیده نمی‌شود (رحمانپور، ۱۳۷۵). علایم ظاهری دیگری را نیز مثل کم شدن حجم ریشه بوته‌ها با آلودگی سیستمیک و قهوه‌ای شدن آن‌ها، بروز شکاف‌های طولی روی هیپوکوتیل در قسمت طوقه و حتی زیر خاک و بدشکلی یا تغییر شکل

حساس به بیماری به کار برده شدند (رحمانپور و همکاران، ۱۳۷۹ ب). پس از مایه‌زنی گیاهچه‌ها با روش WSI، آزمایش به صورت فاکتوریل در قالب طرح بلوک‌های کامل تصادفی در گلخانه پیاده شد. در هر گلدان پنج عدد گیاهچه کاشته شدند. گلدان‌ها حاوی مخلوط پرلیت - ماسه (Perlite-Sand) به نسبت حجمی یک به یک بود و به مدت پانزده روز نگهداری شدند. عوامل مورد مطالعه در آزمایش عبارت بودند از:

۱- مایه قارچ در دو سطح (قارچ عامل بیماری و آب مقطر سترون)

۲- ارقام و هیبریدهای آزمایشی در هشت

سطح

شرایط نگهداری بوته‌ها در گلخانه و همچنین تحریک به اسپورزایی بوته‌های آلوده مطابق روش رحمانپور و همکاران (۱۳۷۹ الف) در طول آزمایش اعمال گردید. پس از عمل تحریک به اسپورزایی بوته‌ها، ارزیابی ارقام و هیبریدهای مورد آزمایش از نظر واکنش به بیماری انجام شد که در این راستا هشت نشانه ظاهری ناشی از آلودگی به قارچ عامل بیماری روی این مواد مشاهده و مورد مطالعه قرار گرفتند (رحمانپور و همکاران، ۱۳۷۹ الف؛ Spring et al., 1991؛ Singh, 1990؛ Mouzeyar et al., 1993؛ Miller, 1992؛ Tan et al., 1992؛ Thompson et al., 1978). برای این منظور تک تک بوته‌های تیمار شده و شاهد ارقام و هیبریدها از نظر دارا بودن این صفات بررسی شدند. جهت تعیین نقش هر یک از علایم

بودن طبق و بدشکلی گلچه‌های آفتابگردان را در آلودگی‌های طبیعی و مصنوعی مورد مطالعه قرار دادند. اونان و اونوگور (Onan and Onogur, 1991) اهمیت وجود میسلیوم و اووسپورهای درون ریشه و هیپوکوتیل ارقام مقاوم را از نظر افزایش مایه قارچ (Inoculum) در خاک و امکان ظهور نژادهای جدید یادآور شده‌اند. تحقیق حاضر به منظور بررسی میزان همبستگی نشانه‌های ظاهری (ماکروسکوپی) بیماری سفیدک کرکی آفتابگردان با نشانه اصلی و مورد تأکید اکثریت قریب به اتفاق پژوهشگران، یعنی اسپورزایی روی کوتیلدون‌ها و برگ‌ها، به مورد اجرا گذاشته شد.

### مواد و روش‌ها

جهت اجرای آزمایش و بررسی نشانه‌های حاصل از آلودگی به نژاد ایرانی قارچ عامل بیماری سفیدک کرکی، نیاز به مایه‌زنی آفتابگردان به طور مصنوعی بود. بدین منظور روش آلوده‌سازی غوطه ور کردن گیاهچه‌ها در سوسپانسیون زئوسپورانژ قارچ (WSI: Whole Seedling Immersion) با تغییراتی مورد استفاده قرار گرفت (رحمانپور و همکاران، ۱۳۷۹ الف و ب). هیبریدهای گلشید، آذرگل و گل‌دیس و رقم پروگرس (Progress) به عنوان ژرم پلاسما مقاوم و ارقام رکورد (Record)، چرنیانکا (Cherneanka)، پردویک (Perodovik) و گابور (Gabor) به عنوان ارقام

(رحمانپور و همکاران، ۱۳۷۹ ب). و هر کدام براساس اهمیت در تظاهر آلودگی طبقه‌بندی شدند (جدول ۱).

آلودگی که حاکی از شدت یا ضعف واکنش میزبان می‌باشند، درجه‌بندی و تبدیل صفات کیفی به کمی صورت پذیرفت

جدول ۱- علائم آلودگی به بیماری سفیدک کرکی آفتابگردان و امتیازات عددی آنها

Table 1. Sunflower downy mildew symptoms and their numerical scores

Symptom	نشانه	امتیاز Score
Damping-off	مرگ گیاهچه	100
Sporulation on cotyledons and leaves (S. C. L.)	اسپورزایی روی کوتیلدون‌ها و برگ‌ها	60
Stunt (S)	کوتولگی	15
Sporulation on cotyledons (SC)	اسپورزایی روی کوتیلدون‌ها	10
Mosaic or chlorosis (M)	موزائیک یا رنگ پریدگی برگ‌ها	10
Deformation (D)	بدشکلی	5
Hypocotyl lesions (HL)	وجود زخم روی هیپوکوتیل یا طوقه	5
Root reduction (RR)	کاهش رشد ریشه	5

آنها از مجموع این علائم حاصل می‌شد که مساوی ۳۰ بود. حداکثر میزان شاخص شدت بیماری در بوته‌های مقاوم ۳۰ بود و به بوته‌های بدون علائم آلودگی امتیاز صفر داده می‌شد. بوته‌هایی که علامت اسپورزایی روی کوتیلدون را داشتند دیگر دچار اسپورزایی روی کوتیلدون و برگ‌ها نمی‌شدند. همچنین بوته‌هایی وجود داشتند که اسپورزایی روی کوتیلدون، کوتولگی، بدشکلی و کاهش رشد ریشه را با هم نشان می‌دادند و امتیاز آنها برابر با ۳۵ می‌شد. بنابراین تغییرات شاخص شدت بیماری بین حداقل یعنی صفر و (بدون علائم آلودگی) تا حداکثر یعنی ۱۰۰ (با کلیه علائم آلودگی سیستمیک و یا مرگ گیاهچه) متغیر بود. در آلودگی سیستمیک گیاهان حساس، نشانه‌های

برای درجه‌بندی و تبدیل صفات، شاخص شدت بیماری برای هر گیاه بین صفر تا ۱۰۰ در نظر گرفته شد. هنگامی که گیاهی دارای علائم کامل سیستمیک ذکر شده در جدول ۱ بود و دچار مرگ گیاهچه نشده بود، میزان شاخص شدت بیماری از مجموع امتیازات نشانه‌های اسپورزایی روی کوتیلدون و برگ‌ها، کوتولگی، موزائیک یا رنگ پریدگی، بدشکلی، وجود زخم روی هیپوکوتیل یا طوقه و کاهش رشد ریشه به دست می‌آمد که برابر با ۱۰۰ می‌شد. گیاهانی که در اثر بیماری دچار مرگ گیاهچه می‌شدند بالاترین امتیاز بیماری یعنی ۱۰۰ به آنها داده می‌شد. بوته‌هایی که فقط نشانه‌های کوتولگی، اسپورزایی روی کوتیلدون و کاهش رشد ریشه را داشتند، امتیاز

صفات مستقلی در مدل باقی ماندند که اولاً همبستگی معنی‌داری با SCL داشتند، ثانیاً ضرایب صفات مذکور از لحاظ آماری معنی‌دار بود. همچنین در بین کلیه مدل‌هایی که چنین شرایطی را داشتند، مدلی انتخاب گردید که بالاترین ضریب تبیین ( $R^2$ ) را داشت و علاوه بر این ضرایب آن در سطح یک درصد معنی‌دار بود. در این تحقیق همچنین ضرایب همبستگی ساده بین کلیه صفات اندازه‌گیری شده تعیین و معنی‌دار بودن یا نبودن ضرایب حاصل با توجه به جداول آماری مشخص گردید.

#### نتایج و بحث

محاسبه همبستگی بین علایم آلودگی و برآورد رابطه این علایم نشان داد که اسپورزایی روی کوتیلدون و برگ‌های اصلی به عنوان مهم‌ترین صفت بروز بیماری، با صفات رنگ پریدگی یا موزائیک (M)، کوتولگی (S)، وجود زخم روی هیپوکوتیل (HL) و کاهش رشد ریشه (RR) همبستگی مثبت بالایی دارد. بر این اساس، بهترین مدل رگرسیونی برای تعیین رابطه صفت اسپورزایی روی کوتیلدون و برگ‌های اصلی با صفات یاد شده عبارت بود از:

$$SCL = -1.103601 + 1.650386(M) + 1.289624(HL) - 2.337194(RR) + 1.406138(S)$$

$$R^2 = 0.91^{**}$$

مدل قابل قبول دیگری نیز وجود داشت که از لحاظ آماری ضرایب آن معنی‌دار بودند و

بارز بیماری شامل اسپورزایی روی کوتیلدون و برگ‌ها، کوتولگی، موزائیک، بدشکلی، وجود زخم روی هیپوکوتیل یا طوقه و کاهش رشد ریشه را داشتند که مجموع امتیازات آن‌ها ۱۰۰ می‌شد. مهم‌ترین نشانه‌ای که در سراسر دنیا محققان از آن برای تعیین مقاومت یا حساسیت استفاده می‌کنند همان اسپورزایی روی کوتیلدون و برگ‌ها می‌باشد. از آن جایی که در آزمایش‌ها سه تکرار وجود داشت و در هر تکرار از هر تیمار یک گل‌دان با پنج بوته استفاده شده بود، شاخص شدت بیماری در هر کدام از تکرارها از میانگین شاخص بوته‌های تیمار محاسبه گردید. در نهایت سه میانگین به دست آمده در تجزیه و تحلیل و مقایسه با رقم شاهد حساس یعنی رکورد مورد استفاده قرار گرفتند.

به منظور برآورد یا پیش‌بینی رابطه صفت SCL (اسپورزایی روی کوتیلدون‌ها و برگ‌ها) با صفات مورد ارزیابی، روش رگرسیون چند متغیره به کار برده شد. بدین صورت که کلیه صفات مورد نظر در این آزمایش وارد مدل شده و رابطه SCL به عنوان متغیر وابسته برآورد گردید. لذا به روش رگرسیون گام به گام عمل شد. برای انتخاب بهترین مدل از بین مدل‌های به دست آمده به صورت زیر اقدام گردید:

همچنین در میان مدل‌های رگرسیونی که بین صفات مختلف برای تعیین مقاومت بررسی شد،

$R^2=0.94^{**}$

ضرایب همبستگی ساده بین صفات اندازه گیری شده بیماری در جدول ۲ آمده است.

$R^2$  بالایی داشت. این مدل برای تخمین سریع مقاومت قابل استفاده بود که از روی تک صفت (نشانه) موزائیک به دست آمد و عبارت بود از:

$$SCL = -47.362415 + 54.733745M^{0.5} -$$

$$6.454248(M)^3$$

جدول ۲- ضرایب همبستگی ساده بین صفات اندازه گیری شده در بیماری سفیدک کرکی آفتابگردان

Table 2. Correlation coefficients of trial characteristics in sunflower downy mildew

	SC	SCL	DO	S	M	D	HL	RR
SC		0.301 <sup>ns</sup>	0.624 <sup>ns</sup>	-0.014 <sup>ns</sup>	0.460 <sup>ns</sup>	-0.442 <sup>ns</sup>	0.509 <sup>ns</sup>	0.191 <sup>ns</sup>
SCL			-0.224 <sup>ns</sup>	0.784*	0.931*	-0.506 <sup>ns</sup>	0.887**	0.807*
DO				-0.473 <sup>ns</sup>	-0.132 <sup>ns</sup>	0.142 <sup>ns</sup>	0.031 <sup>ns</sup>	-0.261 <sup>ns</sup>
S					0.705 <sup>ns</sup>	-0.214 <sup>ns</sup>	0.785*	0.918**
M						-0.731*	0.895**	0.799*
D							-0.595 <sup>ns</sup>	-0.477 <sup>ns</sup>
HL								0.881**
RR								

ns، \* و \*\* به ترتیب غیرمعنی دار، معنی دار در سطح احتمال ۵٪ و ۱٪.

ns، \* and \*\* : Non significant, significant at 5% and 1% leves, respectively.

SC: Sporulation on Cotyledons

SCL: Sporulation on Cotyledons and Leaves

DO : Damping off

S: Stunt

M: Mosaic

D: Deformation

HL: Hypocotyl Lesions

RR: Root Reduction

SC: اسپورزایی روی کوتیلدون

SCL: اسپورزایی روی کوتیلدون و برگها

DO: مرگ گیاهچه

S: کوتولگی

M: موزائیک

D: بدشکلی

HL: زخم هیپوکوتیل

RR: کاهش رشد ریشه

تنها روی کوتیلدونها به دو حالت دیده می شود:

الف- در تمامی سطح کوتیلدونها، اندام تولید مثل غیر جنسی قارچ (اسپورزایی) پدیدار می شود.

ب- اسپورزایی فقط محدود به ناحیه نزدیک دم کوتیلدونها می باشد. در هر دو حالت هیچ علائمی مبنی بر نفوذ قارچ به منطقه اپی کوتیل دیده نمی شود و فقط ناحیه هیپو کوتیل،

ضریب همبستگی دو صفت SC و SCL معنی دار نبود ( $r=0.301^{ns}$ ) و نشانگر آن است که اسپورزایی روی کوتیلدونها همیشه اسپورزایی روی برگهای واقعی را به همراه ندارد. چنین وضعیتی در آزمایش دیگر گزارش شده است (رحمانپور و همکاران، ۱۳۷۹ الف)، به گونه ای که اسپورزایی روی کوتیلدونها در ارقام یا لاینهای مقاوم آفتابگردان نیز آن را به اثبات رسانده است. اسپورزایی

معدودی از موارد، بررسی مقاومت ژرم پلاسم آفتابگردان به سفیدک کرکی در ترکیبات مقاوم و حساس میزبان، چنین عارضه‌ای را نشان داده‌اند. ساکستون همچنین مکانیزم مقاومت در ترکیبات ناسازگار را به مقاومت اپی کوتیل و برگ‌های آفتابگردان نسبت می‌دهد. اونان و اونوگور (Onan and Onogur, 1991) نیز در پژوهش‌های خود، اسپورزایی ضعیف در ناحیه کوتیلدون ارقام مقاوم را مشاهده کرده و بر نظریه مونتس و ساکستون (1974) مبنی بر وجود سد فیزیکی و تفاوت میزان نفوذپذیری آن در ترکیبات حساس و مقاوم صحه گذاشتند. سلطانی (Soltani, 1999) هم در ارزیابی هیبرید مقاوم گلشید در مقابل مایه‌زنی با عامل سفیدک کرکی، اسپورزایی محدود به کوتیلدون‌های بوته‌ها را تأیید نمود. صرف نظر از مکانیزم مکانیکی یا فیزیولوژیک فعالیت دیافراگم در جلوگیری از نفوذ قارچ عامل بیماری سفیدک کرکی به ناحیه اپی کوتیل، برآیند این فعالیت به صورت مقاومت در بوته‌ها نمایان شده و آلودگی سیستمیک گیاه به وقوع نمی‌پیوندد. در بیان رابطه اسپورزایی کوتیلدون‌ها و مرگ گیاهچه (DO) باید اذعان داشت که ضریب همبستگی معنی‌داری ندارند ( $r=0.624^{ns}$ )، زیرا صفت DO در شدیدترین حالت بیماری بروز کرده و گیاه زنده‌ای وجود ندارد که نسبت به ارزیابی سایر نشانه‌های سفیدک کرکی اقدام نمود. به طور کلی مرگ گیاهچه به همین دلیل با هیچ یک از نشانه‌های دیگر بیماری،

آلودگی و به دنبال آن اسپورزایی را نشان می‌دهد. ویرانی (Viranyi, 1980) در توجیه اسپورزایی روی کوتیلدون بدون بروز نشانه‌های آلودگی در اپی کوتیل، اسپورزایی فراوان (حالت اول) در تمامی سطح کوتیلدون را به گیاهان حساس و اسپورزایی ضعیف را به انواع مقاوم آفتابگردان نسبت می‌دهد. ویرانی و محمد (Viranyi and Mohamed, 1985) در تحقیقات بعدی به وجود سدی فیزیکی به نام دیافراگم (Diaphragm) در ناحیه مابین هیپوکوتیل و اپی کوتیل بوته‌ها اشاره می‌کنند که عامل جلوگیری از پیشرفت قارچ به اپی کوتیل شده و آلودگی سیستمیک است. مونتس و ساکستون (Montes and Sackston, 1974) در تشریح این حالت اشاره کرده بودند که ناحیه مزبور سدی در مقابل قارچ، البته در هر دو نوع ارقام مقاوم و حساس، ایجاد می‌کند با این تفاوت که در ارقام حساس، سد فرضی شکسته می‌شود. ساکستون (Sackston, 1992) همچنین در تحقیقات بعدی خود با مشاهده اسپورزایی متراکم (فراوان) در اکثریت ترکیبات سازگار و ناسازگار عامل بیماری - میزبان، مکانیزم مقاومت را بیشتر به نقش مکانیکی دیافراگم (سد) نسبت می‌دهد تا نقش فیزیولوژیک آن. این اسپورزایی در اثر آلودگی محدود به کوتیلدون‌ها (CLI: Cotyledon Limited Infection) حادث می‌شود. لازم به ذکر است که در

می‌شود. قارچ در حالت دوم قادر به نفوذ از منطقه دیافراگم نخواهد بود که صفاتی همانند کوتولگی و موزائیک مشاهده شوند. ولی در ارقام حساس همه این صفات قابل مشاهده هستند. پس اسپورزایی روی کوتیلدون فقط در ژرم پلاسما مقاوم با مقاومت در ناحیه دیافراگم و پائین تر از آن امکان دارد که دیده شود و گرنه در مواد ژنتیکی حساس این نشانه‌ها بروز می‌کنند.

ضریب همبستگی مابین صفت اسپورزایی روی کوتیلدون (SC) با صفات زخم‌های هیپوکوتیل (HL) ( $r=0.509^{ns}$ ) و کاهش رشد ریشه (PR) ( $r=0.191^{ns}$ ) نیز معنی‌دار نبودند. نکته‌ای که لازم به یادآوری است وجود دو نشانه اخیر در تمامی بوته‌های تیمارها می‌باشد، با این وجود در بوته‌های مقاوم مانند هیبرید گلشید و آذرگل، صفات RR و HL علیرغم ظاهر نشدن اسپورزایی کوتیلدون وجود داشتند (رحمانپور و همکاران، ۱۳۷۹ ب). ویرانی (Viranyi, 1980) با توجه به بروز حالت یاد شده، ناتوانی قارچ در اسپورزایی کوتیلدون و اپی کوتیل را در انواع مقاوم آفتابگردان علت اصلی آن می‌داند. همچنین (Viranyi, 1977) و (Viranyi and Bartha, 1981) با قرار دادن قطعات هیپوکوتیل بوته‌های مقاوم در شرایط رطوبت اشباع و دمای زیر ۲۰ درجه سانتی‌گراد، اسپورزایی روی آن‌ها را مشاهده کردند. این در حالی بود که اسپورزایی کوتیلدون در ژرم پلاسما یاد شده وجود نداشت.

شامل اسپورزایی روی کوتیلدون‌ها و برگ‌ها ( $r = -0.224^{ns}$ )، کوتولگی ( $r = -0.473^{ns}$ )، موزائیک ( $r = -0.132^{ns}$ )، بدشکلی ( $r = 0.142^{ns}$ )، زخم‌های هیپوکوتیل ( $r = 0.031^{ns}$ ) و کاهش رشد ریشه ( $r = -0.261^{ns}$ ) رابطه معنی‌دار نداشتند.

ضرایب همبستگی ساده بین اسپورزایی کوتیلدون (SC) با صفات کوتولگی (S) ( $r = -0.014^{ns}$ )، موزائیک (M) ( $r = 0.460^{ns}$ ) و بدشکلی (D) ( $r = 0.442^{ns}$ ) معنی‌دار نبودند. سه صفت اخیر هنگامی قابل مشاهده هستند که قارچ عامل بیماری از ناحیه دیافراگم گیاه مابین هیپوکوتیل و اپی کوتیل عبور کرده و به اپی کوتیل وارد شود (آلودگی سیستمیک). از آنجایی که در حالت اسپورزایی روی کوتیلدون، نفوذ قارچ به اپی کوتیل میسر نیست، لذا ظهور نشانه‌های یاد شده منتفی خواهد بود (Viranyi, 1980)؛ (Viranyi and Mohamed, 1985)؛ (Sackston, 1992). نتایج حاصل از واکنش اکثر بوته‌های هیبریدهای مقاوم گل‌دیس، آذرگل و گلشید مؤید این پدیده است. به گونه‌ای که بوته‌های دارای اسپورزایی در کوتیلدون دچار بدشکلی، موزائیک و کوتولگی ناشی از قارچ *P. halstedii* نشده بودند. در ارقام مقاوم آفتابگردان، مقاومت به دو صورت ظاهر می‌شود: یا در ناحیه ریشه‌ها و هیپوکوتیل رخ می‌دهد و یا این که در ناحیه دیافراگم (ما بین هیپوکوتیل و اپی کوتیل) دیده



سیتوکینین از طرف دیگر در بوته‌های آلوده سیستمیک آفتابگردان باعث کوتولگی گیاه شده و اسپورزایی روی بخش‌های مختلف هوایی آن در مراحل بعدی قابل مشاهده می‌گردد. همچنین کوهن و ساکستون (Cohen and Sackston, 1974) به وجود ارتباطی مابین نواحی آلوده به بیماری در سطح برگ و توانایی ساقه برای کاهش فعالیت اکسین (IAA) اشاره کرده‌اند که عامل بروز کوتولگی (S) گردیده است. از طرفی اسپورزایی در این سطوح آلوده از برگ رخ می‌دهد که بخش زیرین برگ‌ها را در بر می‌گیرد. کوهن و ابراهیم (Cohen and Ibrahim, 1975) کوتولگی شدید در آلودگی‌های سیستمیک را به تغییرات ترکیبات فنلی میزبان نسبت دادند. صفات SCL (اسپورزایی کوتولدون‌ها و برگ‌ها) و M (موازیک برگ) نیز همبستگی ساده معنی‌داری (\*\* $r=0.931$ ) داشتند. در شرایط آلودگی سیستمیک به سفیدک کرکی، قارچ عامل بیماری از طریق رگبرگ‌ها به فضاهای کلروفیل دار محدود به رگبرگ‌ها نفوذ کرده و توسعه می‌یابد. در زمان تولید مثل غیرجنسی، اندام‌های اسپورزایی علاوه بر کوتولدون‌ها در سطح زیرین نواحی یاد شده نیز تولید می‌شوند. (Viranyi and Bartha (1981) و Viranyi (1977) در ارزیابی مقاومت ژرم‌پلاسم آفتابگردان، از اسپورزایی روی کوتولدون‌ها و نواحی رنگ پریده برگ‌های واقعی، به عنوان علائم آلودگی سیستمیک و

در تمامی ارقام و هیبریدهای آزمایشی (مقاوم و حساس) اسپورزایی روی برگ‌های واقعی به تنهایی مشاهده نگردید. در توجیه این پدیده می‌توان چنین اظهار نظر کرد که اسپورزایی روی برگ‌ها موقعی اتفاق می‌افتد که قارچ عامل بیماری از ناحیه مابین هیپوکوتیل و اپی کوتیل عبور کرده و حالت آلودگی سیستمیک در کل بوته را باعث می‌شود. بنابراین همیشه همراه با اسپورزایی کوتولدون خواهد بود و این همان صفت SCL (اسپورزایی کوتولدون و برگ‌ها) است.

وضعیت عارضه کوتولگی (S) با اسپورزایی روی کوتولدون‌ها و برگ‌ها (SCL) در سطح ۵ درصد معنی‌دار بود ( $r=0.784^*$ ). بروز کوتولگی و به دنبال آن اسپورزایی در روی کوتولدون‌ها و برگ‌های بوته‌هایی که به صورت آلوده سیستمیک هستند، چه در طبیعت و چه در شرایط گلخانه مؤید این همبستگی می‌باشد. اختلال در تعادل هورمون‌های گیاهی بوته‌های آفتابگردان توسط قارچ عامل بیماری، کاهش شدید فاصله میان گره‌ها و در نهایت کوتولگی را به همراه دارد. عامل بیماری نیز در این میان از طریق رگبرگ‌ها به سطح برگ‌ها رسیده و نفوذ خود را گسترش می‌دهد. بنابراین در هنگام اسپورزایی، این نواحی به عنوان نقاط تولید اسپور عمل می‌کنند. بنا به اشاره کوهن و ابراهیم (Cohen and Ibrahim, 1975)، کاهش مقادیر هورمون‌های اکسین و ترکیبات مشابه جیبرلین از یک طرف و افزایش فعالیت ترکیبات شبه

هیپوکوتیل مستقیم بوده و ضریب همبستگی آن دو صفت در سطح یک درصد معنی دار بود ( $r=0.887^{**}$ ). زخم‌های طولی آب سوخته و قهوه‌ای رنگ در ناحیه هیپوکوتیل ایجاد می‌شوند که بیشتر در ناحیه پایین‌تر از سطح خاک نمایان هستند. این وضعیت در ژرم‌پلاسم حساس و مقاوم آفتابگردان (به ترتیب زخم‌های بزرگ و کوچک) دیده شده است. بروز چنین حالتی ناشی از نقاط نفوذ و پیشرفت قارچ است. (Viranyi and Bartha (1981) و Viranyi (1977, 1978) با تحریک قطعات هیپوکوتیل مایه‌زنی شده (از هر دو نوع مقاوم و حساس) میزبان به اسپورزایی، نفوذ قارچ در این نواحی را به اثبات رساندند.

ضرایب همبستگی ساده بین صفات اندازه‌گیری شده نشان داد که همبستگی بین دو صفت RR (کاهش رشد ریشه) و SCL نیز در سطح ۵ درصد معنی دار بود ( $r=0.807^*$ ). به‌طور کلی آلودگی به سفیدک کرکی، کاهش رشد و حجم ریشه را به همراه دارد و بوته‌های حساس، کاهش رشد بیش‌تری را از خود نشان می‌دهند. همچنان که ارقام حساس مانند رقم رکورد به خوبی بیانگر این واقعیت هستند. این عارضه در ارقام و لاین‌های مقاوم آفتابگردان نیز، البته به صورت محدود مشاهده شده است. سلطانی (Soltani, 1999) در نتایج بررسی‌های خود بر روی لاین مقاوم R-43 به بروز تعداد کمی زخم در بخش بالایی ریشه‌ها اشاره کرد که قبلاً با روش WSI آلوده شده بودند.

حساسیت استفاده نمودند. اسپرینگ و همکاران (Spring et al., 1991) در بررسی متابولیسمی نواحی رنگ پریده در برگ‌های بوته‌های آلوده سیستمیک، با اندازه‌گیری میزان ترپنوئیدهای شاخص آفتابگردان (Sesquiterpene Lactone=STL)، نتیجه گرفتند که این میزان در نواحی رنگ پریده برگ‌های آلوده که محل حضور قارچ عامل بیماری هستند کم‌تر از نواحی بدون علائم همان برگ‌ها می‌باشند. همچنین در بررسی‌های کروماتوگرافی، مقادیر افزایش یافته دو نوع ترکیب فلوئورسنت موجود در نقاط رنگ پریده برگ‌های آلوده از دیگر نتایج این محققان بود. ویرانی (Viranyi, 1978) نیز کلروز برگ (M) را به عنوان مهم‌ترین شاخص آلودگی سیستمیک به سفیدک کرکی قلمداد می‌کند.

ضریب همبستگی صفات بدشکلی (D) و اسپورزایی روی کوتیلدون‌ها و برگ‌ها (SCL) معنی دار نبود ( $r = -0.506^{ns}$ ). در تعدادی از مواد ژنتیکی آفتابگردان، قارچ عامل بیماری فقط در داخل رگبرگ‌های اصلی نفوذ کرده و باعث اختلال در رشد آن‌ها می‌گردد. در نهایت ناهماهنگی رشد رگبرگ‌های اصلی با سطح برگ را باعث شده و حالت بدشکلی به برگ می‌دهد. در مواردی نیز اختلال در رشد ساقه به وجود می‌آید. بنابراین قارچ در بافت برگ وارد نشده و اسپورزایی در برگ‌ها رخ نخواهد داد. رابطه تولید مثل غیرجنسی قارچ (اسپورزایی کوتیلدون‌ها و برگ‌ها) با وجود زخم روی

ذکر شده را به همراه دیگر علایم آلودگی سیستمیک در نظر گرفت.

در بررسی ضریب همبستگی صفات رنگ پریدگی (M) و بدشکلی (D)، رابطه معکوس این دو صفت مشخص گردید و معنی دار بودن آن‌ها به دست آمد ( $r = -0.731^*$ ). از آنجایی که صفت بد شکلی برگ‌ها در حالت محدود بودن قارچ در رگبرگ‌های اصلی رخ می‌دهد و صفت رنگ پریدگی در شرایط پراکنش عامل بیماری در سطح برگ به وجود می‌آید، لذا با ظهور یکی از این دو علایم، وجود نشانه دیگر کم رنگ‌تر خواهد بود.

ضرایب همبستگی صفت رنگ پریدگی (M) با زخم‌های هیپوکوتیل (HL) و کاهش رشد ریشه (RR) به ترتیب  $r = 0.895^{**}$  و  $r = 0.799^{**}$  بوده و رابطه معنی داری با یکدیگر داشتند. رحمانپور و همکاران (۱۳۷۹ب) و ویرانی (Viranyi, 1977, 1981) در بررسی‌های خود روی نشانه‌های سفیدک کرکی به رابطه همیشگی ایسن نشانه‌ها در حالت سیستمیک آن پی بردند. سلطانی (Soltani, 1978) نیز با پژوهش روی ژرم‌پلاسم مقاوم و حساس آفتابگردان به بیماری، نتایج حاصل را مورد تأیید قرار داد.

زخم‌های هیپوکوتیل (HL) و کاهش رشد ریشه (RR) ( $r = 0.881^{**}$ ) همبستگی معنی داری با یکدیگر داشتند. از آنجایی که قارچ عامل بیماری سفیدک کرکی برای ایجاد آلودگی سیستمیک در مراحل ابتدایی گیاهچه

رحمانپور و همکاران (۱۳۷۹ب) با توجه به بروز کاهش ریشه در هر دو ژرم‌پلاسم مقاوم و حساس، از این نشانه در ارزیابی‌های مقاومت ارقام و هیبریدهای ایرانی آفتابگردان استفاده نمودند. ویرانی (Viranyi, 1978) نتیجه گرفته بود که رقم رمل (Remil) و لاین HA-61 به عنوان ارقام مقاوم پس از مایه‌زنی با قارچ عامل بیماری، علی‌رغم نشان ندادن علائمی مبنی بر اسپورزایی و کلروز (M) برگ، کاهش رشد ریشه و زخم‌های هیپوکوتیل را به نمایش گذاردند.

ضرایب همبستگی کوتولگی با صفات وجود زخم روی هیپوکوتیل (HL) و کاهش رشد ریشه (RR) معنی دار بودند و به ترتیب مقادیر  $r = 0.785^*$  و  $r = 0.918^{**}$  را داشتند. کاهش رشد ریشه و زخم‌های طولی هیپوکوتیل در اکثریت قریب به اتفاق بوته‌های سیستمیک آفتابگردان مشاهده شدند. کوتولگی نیز یکی از نشانه‌های اصلی آلودگی سیستمیک آفتابگردان به سفیدک کرکی محسوب می‌شود. رحمانپور و همکاران (۱۳۷۹ب) در بررسی‌هایشان روی ارزیابی مقاومت ارقام و هیبریدهای آفتابگردان به سفیدک کرکی، وجود رابطه تنگاتنگ آن را با کاهش رشد ریشه و زخم‌های هیپوکوتیل در ژرم‌پلاسم حساس میزبان به دست آوردند. ویرانی (Viranyi, 1977, 1981) صفات کاهش رشد ریشه و زخم هیپوکوتیل را در انواع مقاوم و حساس آفتابگردان مشاهده کرده و در ارزیابی واکنش آن‌ها به بیماری، نقش صفات

حساس، در ابتدای روند آلودگی گیاه ظاهر می‌شوند.

با استفاده از روش رگرسیون گام به گام مدل‌های رگرسیونی مختلفی برای تعیین SCL از روی صفات اندازه‌گیری شده که همبستگی معنی‌داری با آن داشتند، به دست آمد. همان طوری که قبلاً اشاره شد بهترین مدل رگرسیونی عبارت بود از:

$$SCL = -1.103601 + 1.650386(M) + 1.289624(HL) - 2.337194(RR) + 1.406138(S)$$

$$R^2 = 0.91^{**}$$

آفتابگردان و تفکیک انواع مقاوم و حساس در شرایط گلخانه و مزرعه اقدام نمود. لازم به ذکر است که برای برآورد صفت SCL در گلخانه و مزرعه نیاز به تأمین رطوبت اشباع به مدت حداقل ۲۴ ساعت می‌باشد. بنابراین با برآورد این صفات بدون تأمین رطوبت اشباع و دمای پایین، ارزیابی مقاومت یا حساسیت مواد ژنتیکی آفتابگردان امکان‌پذیر خواهد بود.

#### سپاسگزاری

بدین وسیله از خانم محبوبه رنجی و آقایان سید موسی علایی و محمد اسماعیلی که در انجام تحقیق همکاری داشتند، سپاسگزاری می‌شود.

از طریق ریشه (مخصوصاً تارهای کشنده و منطقه طویل شدن ریشه) نفوذ می‌نماید، برای راه‌یابی به بخش‌های کوتیلدون و اپی کوتیل از هیپوکوتیل عبور می‌نماید. لذا زخم‌هایی نیز به صورت لکه‌های آب سوخته طولی و قهوه‌ای رنگ در مسیر پیشرفت خود، مخصوصاً در نزدیکی ریشه ایجاد می‌کند. براین اساس، صفات یاد شده در هر دو ژرم پلاسما مقاوم و

در این مدل با استفاده از صفاتی نظیر موزائیک، زخم هیپوکوتیل، کاهش رشد ریشه و کوتولگی می‌توان صفت SCL را به طور نسبتاً دقیقی پیش‌بینی نمود، بدون این که نیاز به اندازه‌گیری مستقیم این صفت باشد. علاوه بر این مدل، مدل ساده‌تری به شرح زیر به دست آمد:

$$SCL = -47.362415 + 54.733745M^{0.5} - 6.454248(M)^3$$

$$R^2 = 0.94$$

با استفاده از اندازه‌گیری تنها صفت موزائیک، می‌توان برآورد خوبی از صفت SCL داشت. بنابراین با استفاده از اندازه‌گیری صفات یاد شده می‌توان به ارزیابی ژرم پلاسما

#### References

- منابع مورد استفاده  
پانچنکو، آ. تی. ۱۳۴۸. مقدار بار آلودگی (تراکم عامل بیماریزا) برای تشخیص ارقام مقاوم آفتابگردان نسبت به بیماری سفیدک دروغی. انتشارات شرکت سهامی خاص توسعه کشت دانه‌های روغنی. نشریه شماره ۱۵.

رحمانپور، س. ۱۳۷۵. بیماری سفیدک داخلی آفتابگردان در استان مازندران و دشت گرگان - شناسایی نژادهای فیزیولوژیک قارچ عامل بیماری (*Plasmopara halstedii*) و بررسی مقاومت ارقام آفتابگردان. پایان نامه فوق لیسانس در رشته بیماری شناسی گیاهی، گروه گیاهپزشکی دانشکده کشاورزی دانشگاه تهران. ۷۵ صفحه.

رحمانپور، س.، زاد، ج.، و حجارود، ق. ۱۳۷۹ الف. شناسایی نژادهای فیزیولوژیک قارچ عامل بیماری سفیدک داخلی آفتابگردان (*Plasmopara halstedii* (Farlow) Berl and de Toni) در استان مازندران و دشت گرگان. مجله علوم کشاورزی ایران ۳۱: ۸۵-۹۰.

رحمانپور، س.، زاد، ج.، و احمدی، م. ر. ۱۳۷۹ ب. بررسی مقاومت ارقام و هیبریدهای آفتابگردان به بیماری سفیدک داخلی. مجله علوم کشاورزی ایران ۳۱: ۳۱۰-۳۰۳.

شریف، ق. ۱۳۵۰. سفیدک دروغی آفتابگردان. آفات و بیماریهای گیاهی ۳۱: ۱-۱۹.  
میناسیان، و. ۱۳۴۶. سفیدک دروغی آفتابگردان. بیماریهای گیاهی ۳: ۲۹-۳۰.

**Cohen, Y., and Ibrahim, R. K. 1975.** Changes in phenolic compounds of sunflowers infected by *plasmopara hasledii*. Canadian Journal of Botany 53: 2625-2630.

**Gulya, T.J., Miller, J.F., Viranyi, F., and Sackston, W.E. 1991.** Proposed international standardized methods for race identification of *Plasmopara halstedii*. Helia 14, 15: 11-20.

**Miller, J. F. 1992.** Update on inheritance of sunflower characteristics. Proceedings of the 13th International Sunflower Conference, Pisa, Italy. pp. 905-945.

**Miller, J. F., and Gulya, T. J. 1987.** Inheritance of resistance to race 3 of downy mildew in sunflower. Crop Science 27: 210-212.

**Miller, J. F., and Gulya, T. J. 1991.** Inheritance of resistance to race 4 of downy mildew derived from interspecific crosses in sunflower. Crop Science 31: 40-43.

**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. pp: 623-629.

**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. Pisa, Italy. Tom II, pp. 1162-1167.

- 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.
- Onan, E., and Onogur, E. 1991.** Studies on relation between host and pathogen of sunflower downy mildew (*Plasmopara helianthi* Novot.). Journal of Turk. Phytopathology 20 (1):1-10.
- Patil, M. A., and Mayee, C. D. 1988.** Investigations on downy mildew of sunflower in India. Proceedings of the 12th. International Sunflower Conference, Novi-Sad, Yugoslavia. pp. 42-47.
- 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. 1992.** Cotyledon limited infection (CLI) and leaf disk immersion (LDI) inoculation of sunflower by downy mildew (*Plasmopara halstedii*). Proceedings of the 12th. International Sunflower Conference Pisa, Italy. pp. 840-849.
- Singh, R. S. 1990.** Plant Diseases. 6<sup>th</sup> ed. Oxford and IBH Publishing Co. PVT. LTD. 343 pp.
- Soltani, N.M. 1999.** Detection of resistance mechanism in some lines of sunflower (*Helianthus annuus* L.) against sunflower downy mildew, *Plasmopara halstedii* (Farl.) Berlese et de Toni. and role of phenolic compounds in the resistance. Msc. Thesis. Shiraz University. 116 pp.
- Spring, O., Benz, A., and Faust, V. 1991.** Impact of downy mildew (*Plasmopara halstedii*) infection on the development and metabolism of sunflower. Journal of Plant Diseases and Protection . 98: 597-604.
- Tan, A. S., Jan, C., and Gulya, T. J. 1992.** Inheritance of resistance to race 4 of sunflower downy mildew in wild sunflower accessions. Crop Science 32: 949-952.
- Thompson, T. E., Rogers, C. E., Zimmerman, D. C., Huang, H. C., Whelan, E. D. P., and Miller, J. F. 1978.** Evaluation of *Helianthus* species for disease resistance and oil content and quality. Proceedings of the 8th. International Sunflower Conference, Minneapolis, Minnesota, U.S.A. pp. 501-509.
- Vear, F., Mouzeyar, S., and Tourvieille, D. 1990.** Downy mildew resistance in sunflowers. I.N.R.A. 207-212.

- Viranyi, F. 1977.** An improved method for detecting systemic infection of sunflower seedlings caused by *Plasmopara halstedii*. Acta Phytopathol. Acade. Scient. Hungaricae .12 (3-4): 263-267.
- Viranyi, F. 1978.** Harmful incidence of *Plasmopara halstedii* in downy mildew "resistant" sunflowers. Journal of Phytopathology 91: 362-364.
- Viranyi, F. 1980.** Limited manifestation of resistance in sunflowers to downy mildew. Proceedings of the 9th. International Sunflower Conference. Torremolinos. Vol. 1: 57-61.
- Viranyi, F., and Bartha, M. 1981.** Evaluation of sunflowers for the degree of resistance to downy mldew. Acta Phytopathol. Acade. Scient. Hungaricae, 16 (3-4): 265-267.
- Viranyi, F., and Mohamed, S. A. 1985.** Factors associated with downy mildew resistance in sunflower . Acta Phytopathol. Acade.Hungaricae 20 (1-2): 137-139.

---

آدرس نگارندگان:

سیامک رحمانپور و امیرحسین شیرانی-راد-بخش تحقیقات دانه‌های روغنی، مؤسسه تحقیقات اصلاح و تهیه نهال و بذر، صندوق پستی ۴۱۱۹، کرج ۳۱۵۸.  
 عزیزالله علیزاده- گروه بیماری شناسی گیاهی، دانشکده کشاورزی دانشگاه تربیت مدرس، تهران.