بررسی مقاومت تعدادی از لاین‌های دابلدهاپلوییید گندم به پاتوتیپ های قارچ عامل بیماری زنگ زرد گندم در مرحله گیاهچه ای

طیبه بخشی[۱]، رضا بزرگی[۲]، فرشاد بختیار[۳]، فرزاد افشاری[۴] و علی عمرانی[۵]

چکیده

بیماری زنگ زرد یکی از بیماری های مهم گندم در ایران است. در این پژوهش واکنش ٦٤ لاین دابلدهاپلوییید گندم، حاصل از روش حذف کروموزومی تلاقی گندم و ذرت نسبت به سه پاتوتیپ عامل بیماری زنگ زرد گندم شامل $70E10A^+$، $166E14A^+$ و $70E34A^+$ از منطقه ساری مورد ارزیابی قرار گرفتند. لاین های دابلد هاپلوییید گندم به همراه سه رقم شاهد مقاوم (پارسی، سیوند و مروارید) و رقم حساس بولانی هر کدام در سه تکرار در گلدان های پلاستیکی در اطاق کشت کاشته شدند و در مرحله یک تا دو برگی، گیاهچه ها جداگانه با یوردینیوسپورهای هر پاتوتیپ مایه زنی شدند. بعد از ١٤ تا ٢٥ روز، تیپ آلودگی هر یک از لاین ها بر اساس مقیاس ۹-۰ یادداشت برداری شدند. مقاومت به وسیله تیپ آلودگی (Infection type)، دوره نهان (Latent period)، اندازه جوش ها (Pustule size) و تراکم جوش ها (Pustule density)اندازه گیری گردید. تجزیه واریانس برای تمام صفات، تفاوت معنی داری بین ژنوتیپ ها نشان داد. لاین های مقاوم نسبت به پاتوتیپ می توانند به عنوان منابع مقاومت در برنامه های اصلاحی این بیماری استفاده شوند. در کل این نتایج پیشنهاد می کنند که سیستم دابلد هاپلوئیدی می تواند روشی مناسب برای تولید لاین های مقاوم به زنگ زرد گندم در حداقل زمان باشد.

کلمات کلیدی: زنگ زرد، گندم، لاین‌های دابلدهاپلوئید، مقاومت

✓ تاریخ دریافت: ۹۰/۱۱/۱۵ تاریخ پذیرش: ۹۳/۱۱/۳۰

[۱]- گروه بیوتکنولوژی کشاورزی، واحد علوم و تحقیقات تهران ، دانشگاه آزاد اسلامی ، تهران- ایران. (نویسنده مسئول) adelehbakhshi@yahoo.com
۲- گروه موسسهٔ تحقیقات اصلاح و تهیه نهال و بذر، کرج –ایران.
۳- گروه موسسهٔ تحقیقات اصلاح و تهیه نهال و بذر، کرج –ایران.
[۴]- گروه موسسهٔ تحقیقات اصلاح و تهیه نهال و بذر، کرج –ایران.
[۵]- گروه اصلاح نباتات، واحد کرج ، دانشگاه آزاد اسلامی، کرج –ایران.

مقدمه و بررسی منابع علمی

بیماری زنگ زرد (yellow rust) یا زنگ نواری (stripe rust) که توسط قارچ *puccinia striiformis* west. f.sp. *tritici* ایجاد می شود مهم ترین بیماری گندم در ایران و کشور های آسیای مرکزی و غربی است. در ایران همه گیری های بیماری از سال ۱۳۷۰ به دفعات مکرر رخ داده است که شدیدترین همه گیری در سال های ۱۳۷۲ و ۱۳۷٤ بود، شرایط آب و هوایی در آن سال ها برای بیماری فوق العاده مناسب بود همچنین چندین رقم گندم رایج در مقابل پاتوتیپ هایی که در این سال ها ظاهر شدند، حساسیت نشان دادند (Torabi & Nazari, 1998). بر اساس گزارش ترابی و همکاران همه گیری زنگ زرد در این سال ها موجب خسارات شدیدی گردید که برابر با ۱۵٪ ظرفیت کل تولید این محصول بود و میزان آن حدود ۱/۵ میلیون تن گندم برآورد گردید (Torabi *et al*., 1995). دستیابی به منابع مقاومت به نژادهای مختلف زنگ زرد و کشت ارقام مقاوم مطمئن ترین و اصولی ترین روش کنترل بیماری و کاهش خسارت ناشی از بروز همه گیری زنگ زرد می باشد (Johnson, 1993).از میان روش های اصلاحی، به نظر می رسد روش اصلاحی هاپلوئیدی مناسب ترین روش برای ایجاد ارقام مقاوم به بیماری زنگ زرد باشد، زیرا علاوه بر افزایش کارایی غربال و گزینش، سبب سرعت بخشیدن به برنامه های اصلاحی نیز می گردد (Snape, 1989). روش‌های اصلی تولید هاپلوئید گندم عبارتند از: ۱) کشت بساک ۲) کشت میکروسپور ۳) گرده افشانی با *Hordeum bulbosum* گرده افشانی با ذرت. عوامل بازدارنده استفاده از کشت پرچم در برنامه‌های اصلاحی شامل وابستگی ژنتیکی، واکنش ضعیف برخی از ژنوتیپ ها (ظهور گیاهان آلبینو) و نوسانات ژنتیکی می باشند (Bozorgipour, 1990). گرده افشانی با *H.bolbosum* و حذف کروموزم‌های *H.bolbosum* فقط در ارقامی از گندم موفقیت آمیز بوده است که در لوکوس‌های قابلیت تلاقی Kr1, Kr2 واقع بر کروموزمهای 5B (Reily & Chapman, 1967)، 5A (Sitch & Snap, 1987) دارای آلل-های مغلوب بوده اند.

در حال حاضر، بهترین روش تولید هاپلوئید گندم روش تلاقی با ذرت است که توسط لاری و بنت (Lauri & bennet, 1988) گزارش گردیده است. در این روش می توان ٤ تا ٦ گلچه به ازا هر سنبله گرده افشانی شده به دست آورد (Riera-lazarazu & Mujeebkazi, 1990). ارزیابی مقاومت توسط عامل های مقاومت انجام می گیرد. این عوامل یا اجزا شامل مواردی همچون تیپ آلودگی، دوره نهان، اندازه جوش ها و تراکم جوش ها است که به روش های متفاوتی ارزیابی می شوند. تیپ آلودگی حاصل از اثر متقابل میزبان و عامل بیمارگر است و می تواند هم برای توصیف مقاومت و هم برای شدت بیماریزائی عامل بیماری مورد استفاده قرار گیرد. مقیاس های متفاوتی برای ارزیابی تیپ آلودگی ارائه شده است که مقیاس مکنیل و همکاران (McNeal *et al*., 1971) رایج می باشد. اهداف اصلی این تحقیق تولید لاین های دابلد هاپلوئید گندم و بررسی مقاومت در مرحله گیاهچه ای آنها در شرایط گلخانه ای است.

مواد و روش‌ها

٦٤ لاین دابلد هاپلوئید تولید شده در بخش غلات موسسه اصلاح و تهیه نهال و بذر و همچنین رقم حساس بولانی (به عنوان شاهد) در گلخانه در قالب یک طرح کاملا "تصادفی متعادل با پایه سه تکرار از نظر مقاومت به زنگ زرد مورد ارزیابی قرار گرفتند. پاتوتیپ های بیمارگر مورد استفاده در این تحقیق $70E10A^+$، $166E14A^+$ و $70E34A^+$ بودند که از منطقه ساری و از روی رقم حساس بولانی جمع آوری شده بودند. اسپورهای این نژادها از واحد پاتولوژی بخش غلات موسسه تحقیقات اصلاح و تهیه نهال و بذر تهیه شد. برای آزمون مقاومت گیاهچه ای، اسپورهای زنگ ابتدا روی رقم حساس بولانی در گلخانه تکثیر شدند. پس از جوانه زنی بذر ها و انتقال به خاک، هنگامی که برگ اول گیاهچه‌ها به رشد کامل رسید، آب مقطر حاوی روغن Tween 20 (به مقدار یک قطره در لیتر) به منظور پخش یکنواخت آب و چسبندگی سطح برگ مه پاشی گردیدند. به منظور مایه زنی مواد آزمایشی، اسپور ها به کمک دستگاه مکنده از روی رقم بولانی جمع آوری شده و بلافاصله مورد استفاده قرار گرفتند. گیاهچه ها با اسپور مخلوط شده با پودر تالک به نسبت ۱ به ٤ به روش گرد پاشی، به صورت یکنواخت مایه زنی گردیدند. دوباره برگ ها با آب مقطر مه پاشی و بوته ها با درپوش پلاستیکی جهت حفظ رطوبت برای جوانه زدن اسپور و نفوذ به داخل برگ ها پوشانده شدند. جهت ایجاد شرایط مناسب برای جوانه زنی اسپورها، گلدان ها پس از مایه زنی به مدت ٢٤ ساعت در تاریکخانه با دمای ۱۰ درجه سانتیگراد و رطوبت نسبی ۹۵% قرار گرفتند. پس از گذشت ٢٤ ساعت گلدان ها به گلخانه معمولی با دمای ۱۵درجه سانتیگراد منتقل شد. آبیاری دوره ای گلدانها در داخل گلخانه تا پایان آزمایش انجام گرفت. ۱۱ روز دوره کمون بیماری می باشد در این مدت بر روی برگ ها هیچ جوشی وجود ندارد. پس از ظهور اولین جوش ها روی برگ ها اقدام به انداختن حلقه های رنگی به دور بوته ای که روی برگ آن جوش پدیدار شده است می نماییم. بدیهی است بروی بوته های ژنوتیپ های مختلف در روزهای متفاوت جوش نمایان شود. بدین منظور برای هر روز از یک رنگ متفاوت استفاده شد. انداختن حلقه های رنگی تا روز ۲۵ انجام گرفت.اندازه گیری دوره نهان مدت(زمان مایه زنی تا ظهور اولین جوش های زنگ) بر روی برگ ها یادداشت گردید. برای گیاهانی که هیچ جوشی روی برگ های آن ها مشاهده نگردید، فقط برای تجزیه های آماری تعداد آنها در ۲۵ روز در نظر گرفته شد. تیپ آلودگی لاین ها نیز ۲۵ روز پس از مایه زنی با روش مک نیل و همکاران (Mc Neal *et al*., 1971)تعیین گردیدند. نحوه امتیاز دهی برگ های آلوده در جدول ۱ ارائه شده است. به منظور اندازه گیری تراکم و اندازه جوش ها، ۲۵ روز پس از مایه زنی، برگ های آلوده با قیچی بریده شد و به شیشه های حاوی محلول لاکتوفنول منتقل گردید تا رنگ سبز برگ از بین برود و به رنگ سفید درآید تا ابعاد جوش ها زیر میکروسکوپ بخوبی تشخیص داده شوند. اندازه جوش ها به کمک میکرومتر صفحه ای و چشمی با اندازه گیری طول و عرض و محاسبه مساحت آن انجام شد. برای تراکم جوش ها نیز

قطعات برگی روی لام و زیر بینوکولر قرار داده شده و تعداد آن در هر میدان دید بینوکولر شمارش گردید و سپس تعداد جوش در واحد سطح (سانتی متر مربع) محاسبه گردید. جهت تجزیه واریانس طرح آزمایشی، از نرم افزار SAS و برای تجزیه کلاستراز نرم افزار SPSS (ضریب اقلیدوسی) استفاده گردید.

جدول۱- عکس العمل میزبان ، علائم و تیپ آلودگی گیاهچه‌ای در بیماری زنگ زرد گندم بر اساس مقیاس ۰ تا ۹ به روش مک نیل و همکاران (McNeal *et al*., 1971)

Table1. Host response, Symptom and Seedling infection type in yellow rust Based on 0-9 scale of McNeal *et al*., 1971

Host response عکس العمل میزبان	Infection type تیپ آلودگی	Symptom علائم بیماری
Immune	**0**	بدون هیچگونه آلودگی
Very resistant	**1**	ظهور لکه های نکروزه
Resistant	**2**	لکه های نکروزه، بدون اسپوردهی
Moderately resistant	**3**	لکه های نکروز وکلروز، اسپوردهی بسیار ناچیز
Light moderate	**4**	لکه های نکروز وکلروز،اسپوردهی بصورت ناچیز
Moderate	**5**	لکه های نکروز وکلروز،اسپوردهی در حد متوسط
High moderate	**6**	لکه های نکروز وکلروز،اسپوردهی متوسط
Susceptible	**7**	اسپوردهی فراوان با کلروز
Susceptible	**8**	اسپوردهی فراوان با کمی کلروز
Susceptible	**9**	اسپوردهی فراوان بدون کلروز

ج و بحث

۱) تجزیه واریانس لاین‌ها

نتیجه تجزیه یادداشت برداری ها در جدول۲ نشان داده شده است. پس از تجزیه واریانس، هر چهار صفت دوره نهان، تیپ آلودگی، اندازه جوش ها و تراکم جوش‌ها معنی داری گردیدند. به عبارت دیگر در لاین های آزمایشی از نظر تمام صفات اختلاف معنی داری مشاهده گردید. وجود اختلاف معنی دار بین ژنوتیپ های مورد مطالعه نشان دهنده تنوع ژنتیکی لازم در برنامه انتخاب برای مقاومت به زنگ زرد می باشد. وجود تنوع ژنتیکی برای مقاومت به زنگ زرد توسط محققین دیگر مانند بروئرز (Broers, 1993)، کرومی (Cromey, 1992)، قنادها و همکاران (Ghannadha *et al*., 1995) گزارش شده است.

جدول ۲- تجزیه واریانس طرح کاملاً تصادفی متعادل برای صفات مختلف نسبت به جدایه های $70E10A^+$، $166E14A^+$ و $70E34A^+$

Table 2. Analysis of variance of balanced completely randomized desighn for different traits to races $70E10A^+$, $166E14A^+$ and $70E34A^+$

S.O.V	منبع تغییرات	درجه آزادی	Trait	صفت	میانگین مربعات MS		
					$70E10A^+$	$166E14A^+$	$70E34A^+$
Genotype	ژنوتیپ	63	Latent period	دوره کمون	16.05**	40/80**	41/96**
			Infection type	تیپ آلودگی	48.11**	123/14**	124/67**
			Pustule size	اندازه پوستول ها	5.39**	14/42**	14/41**
			Pustule density	تراکم پوستول ها	4.66**	12/32**	12/79**
Error	اشتباه آزمایشی	128	Latent period	دوره کمون	0.45	0/14	0/16
			Infection type	تیپ آلودگی	0.54	0/22	0/18
			Pustule size	اندازه پوستول ها	0.10	0/13	0/13
			Pustule density	تراکم پوستول ها	0.06	0/10	0/11

**Significant at α=0.01

در ستون یادداشت ارزیابی مقاومت گیاهچه-ای تیپ های آلودگی ۰ تا ٦ به عنوان عکس العمل مقاومت و تیپ های آلودگی ۷ تا ۹ به عنوان عکس العمل حساسیت در نظر گرفته شد(McNeal *et al*., 1971). با توجه به تراکم زیاد اعداد، در جداول (۳، ٤ و ٥) لاین های با تیپ آلودگی ۰ تا ٦ که مقاوم می باشند آورده شده اند. بعبارتی ژنوتیپ های مقاوم در برابر پاتوتیپ های زنگ زرد مورد استفاده، در این جداول گنجانده شده است. اولین جوش ها در لاین های شماره ۱، ۲ و ٦٤ نسبت به سه جدایه ۱۰ روز پس از مایه زنی مشاهده شد، که این عدد کمترین دوره نهان بین لاین های آزمایشی بود. دوره نهان لاین های شماره ٥، ۳٥، ٤۰، و ٥۰ یازده روز،لاین شماره ۱۷ دوازده روز بود و بقیه لاین ها دارای دوره نهان ۱٥ تا ۲٥ روز بودند که جز لاین هایی با مقاومت کامل شناسایی شدند. همبستگی صفات دوره کمون و تیپ آلودگی در جدول ٦ ارائه شده است که بیانگر این مطلب می باشد که بین دوره کمون و تیپ آلودگی همبستگی منفی بالایی وجود دارد. بر اساس آزمایش های براورز و لوپز - آتیلانو دوره نهان طولانی همبستگی بالایی با

طول کوتاه نوارهای زنگ و شدت آلودگی کمتر در مزرعه دارد. بنابراین هر چقدر دوره نهان طولانی تر باشد امکان حضور ژنهای مقاومت در آن لاین بیشتر است همین امر از ظهور سریع علائم زنگ زرد روی میزبان جلوگیری می کند. تغییرات مشاهده شده در مورد دوره نهان علاوه بر تاثیر ژنوتیپ در اثر شرایط محیط آزمایش نیزمی تواند باشد(Broers and lopez-Atilano, 1993).

ما وسینگ (Ma and Singh, 1996) ۱۱ ژنوتیپ گندم را در مراحل مختلف رشد و مکانهای مختلف بررسی کردند و نشان دادند که دوره نهان علاوه بر رقم و مرحله رشدی، تحت تاثیر شرایط محیطی گلخانه نیز قرار میگیرد.

دوره نهان دارای همبستگی منفی بالایی با تیپ آلودگی در سه جدایه مورد استفاده بود (جداول ٤،٣ و ٥) هر چه دوره نهان طولانی تر باشد نشان میدهد که لاین‌ها دارای ژن‌های مقاومتی هستند که از استقرار سریع زنگ زرد روی میزبان جلوگیری کند (Broers and Lopez-Atilano, 1993).

لاین های شماره ٥، ١٣، ١٥، ١٧، ٣٣، ٤٠، ٤٣ و ٤٦ نسبت به سه جدایه منطقه ساری دارای تیپ آلودگی ٧ بوده و حساس ترین تیپ آلودگی را نشان دادند. در لاین شماره ٥٧، تیپ آلودگی ٨ و در لاین شماره یک، نه و در بقیه لاین ها تیپ آلودگی کمتر از ٦ بود که بر اساس مقیاس مکنیل و همکاران (McNeal *et al*., 1971) جز لاین های مقاوم محسوب می شوند.

در این تحقیق بیشتر لاین‌هایی که دارای تیپ آلودگی پایین بودند همگی دوره نهان طولانی داشتند. دوره نهان و تیپ آلودگی نه تنها به ژن مقاومت موثر ارتباط دارد بلکه به شرایط محیطی میزبان بیمارگر نیز بستگی دارد (Roelfs *et al*., 1992).

از نظر اندازه جوش لاین های شماره ٥٣ و ٦٤ برای جدایه $70E10A^{+}$ بزرگترین جوش ها را تولید نمودند. لاین شماره ١ برای جدای $70E34A^{+}$و $166E14A^{+}$ بزرگترین جوش ها را داشتند. از نظر تراکم جوش لاین شماره ٤٥ برای جدایه $70E10A^{+}$ دارای بیشترین تراکم جوش و برابر ٥/٣ جوش در یک سانتیمتر مربع و لاینهای شماره ٤٩ و ٥٨ برای جدایه $166E14A^{+}$دارای تراکمی برابر ٤/٨ جوش در یک سانتیمتر مربع و لاین شماره ٤٨ برای جدایه $70E34A^{+}$ دارای تراکم ٤/٦ جوش در یک سانتی متر مربع بودند. با توجه به آزمایشات انجام شده مشخص شد با افزایش تعداد جوش ها در واحد سطح، اندازه آنها کاهش می یابد و با کاهش تعداد جوش ها در واحد سطح، اندازه آنها افزایش می یابد.

لاین های شماره ٦، ١٨، ٢٣، ٢٨، ٣٦، ٣٧، ٣٨، ٤١ نسبت به سه جدایه منطقه ساری از خود مقاومت نشان دادند و دارای تیپ آلودگی پایین، دوره نهان طولانی، جوش های کوچک و تعداد کمتر جوش ها بودند. به جز لاین های ذکر شده

واکنش بقیه لاین های مورد مطالعه نسبت به جدایه های استفاده شده غیر یکنواخت بود که بیانگر وجود پدیده برگشت غالبیت (Reversal Dominance)می باشد. از آن جایی که برای لاین‌های دابلد هاپلوئید ژن‌های مقاومت شناسایی نشده اند، لذا تغییر در نحوه پاسخ لاین های مورد مطالعه نسبت به جدایه های مختلف می‌تواند دلیلی بر وجود اثر متقابل بین ژن‌های مقاومت لاین‌های مورد مطالعه با ژن‌های بیماریزایی مورد استفاده باشد (Ghannadha *et al*., 1995; Dehghani *et al*., 2002) محققین دیگری (Johnson *et al*., 1983;Chen and Line,1992a, b, c, 1993a, b; Moghaddam *et al*., 2002) چنین گزارشی را برای وجود پدیده برگشت غالبیت در زنگ زرد وقتی که از نژادهای مختلف زنگ زرد استفاده کردند ارائه نمودند. آنها اظهار داشتند که عوامل محیطی مثل نور و درجه حرارت می توانند بر روی بیان مقاومت موثر باشند. اما این عوامل نمی‌توانستند روی نتایج آزمایش حاضر موثر باشند، زیرا این آزمایش برای هر پاتوتیپ معین به صورت جداگانه و در شرایط کنترل شده و کاملاً مشابه با سایر جدایه-ها انجام شد، بنابراین پدیده برگشت غالبیت می‌بایستی ناشی از اثر متقابل ژن های مقاومت و بیماریزایی باشد. این نتایج در توافق با نتایج قنادها و همکاران (Ghannadha *et al*., 1995) می باشد. نکته هایی که بایستی توجه شود این است که در این آزمایش اولین روزی که بعد از مایه زنی، جوش های زنگ زرد بر روی برگ اول دیده شدند به عنوان طول دوره نهان بیماری ثبت شده است. مسلماً برای داشتن یک معیار قوی و محکم، بایستی دوره نهان علاوه بر برگ اول در مرحله بلوغ نیز اندازه گیری شود، اما کرومی (Cromey, 1992) گزارش کرد که تفاوت بین ارقام از لحاظ دوره نهان در برگ های اول در مقایسه با برگ های پرچم بسیار کم می باشد. از طرفی، به دلیل این که در این آزمایش تفاوت بین دوره نهان و تیپ آلودگی ارقام کاملاً معنی‌دار بود، و از طرف دیگر چون تعداد زیاد گیاهان عامل محدود کننده ای در اندازه گیری دوره نهان در مرحله بلوغ در گلخانه بود، لذا اندازه گیری دوره نهان روی برگ اول کاملا "قابل توجیه می باشد که این مطلب در توافق با نظر قنادها و همکاران (Ghannadha *et al*., 1995) می باشد.

جدول۳- مقایسه صفات مختلف در لاین های دابلد هاپلوئید گندم در شرایط گلخانه نسبت به جدایه

زنگ زرد $70E10A^{+}$

Table 3. Comparison of different traits in doubled haploid wheat lines in greenhouse conditions to race $70E10A^{+}$

No	Name of lines	Infection type	Latent period	Pstule size	Pustule density
6	PWS-N-11	0 H	25 A	0 J	0 Q
18	PWS-N-30	5.3 CDE	15.6 E	2.7 H	2.4 NO
20	PWS-N-33	3 G	18 C	2.6 H	2.2 NO
23	PWS-N-40	6 BCD	15 E	2.6 H	2.6 MN
25	PWS-N-43	0 H	25 A	0 J	0 Q
27	PWS-N-48	3.6 FG	17.6 CD	2.3 H	2.3 NO
28	PWS-N-49	0 H	25 A	0 J	0 Q
36	DH-142	0 H	25 A	0 J	0 Q
37	DH-143	0 H	25 A	0 J	0Q
38	DH-144	5.3 CDE	15.6 E	2.5 H	1.9 O
41	DH-149	1.3 H	21.3 B	0.9 I	0.5 P
58	DH-168	4.6 DEF	16.6 CDE	2.6 H	2.2 NO
60	DH-172	4.3 EFG	16.6 CDE	4.7 ABCDEF	3.7 EFGHIJKL
62	DH-174	5 DEF	16 DE	2.5 H	2 O

جدول٤- مقایسه صفات مختلف در لاین های دبلد هاپلوئید گندم در شرایط گلخانه نسبت به جدایه

زنگ زرد $166E14A^{+}$

Table 4. Comparison of different traits in doubled haploid wheat lines in greenhouse conditions to race $166E14A^{+}$

No	Name of lines	Infection type	Latent period	Pstule size	Pustule density
6	PWS-N-11	0 I	25 A	0 L	0 M
7	PWS-N-12	0 I	25 A	0 L	0 M
8	PWS-N-13	0 I	25 A	O L	0 M
9	PWS-N-15	4 G	17 C	2 JK	2.3 JK
10	PWS-N-17	0 I	25 A	0 L	0 M
11	PWS-N-18	0 I	25 A	0 L	0 M
12	PWS-N-19	0 I	25 A	0 L	0 M
14	PWS-N-24	0 I	25 A	0 L	0 M
16	PWS-N-26	0 I	25 A	0 L	0 M
18	PWS-N-30	0 I	25 A	0 L	0 M
19	PWS-N-31	6 F	15 D	2.4 J	2.3 JK
21	PWS-N-34	4 G	17 C	2.5 J	1.7 JK
23	PWS-N-40	0 I	25 A	0 L	0 M
24	PWS-N-42	0 I	25 A	0 L	0 M
26	PWS-N-47	0 I	25 A	0 L	0 M
27	PWS-N-48	0 I	25 A	0 L	0 M

28	PWS-N-49	0 I	25 A	0 L	0 M
30	PWS-N-53	0 I	25 A	0 L	0 M
31	PWS-N-54	6 F	15 D	2.2 JK	2.3 JK
32	PWS-N-55	0 I	25 A	0 L	0 M
36	DH-142	2 H	20 B	1.5 K	0.8 L
37	DH-143	0 I	25 A	0 L	0 M
38	DH-144	4.6 G	16.3 C	2.5 J	1.7 K
41	DH-149	0 I	25 A	0 L	0 M
42	DH-150	0 I	25 A	0 L	0 M
44	DH-152	6 F	15 D	2.5 J	2.1 JK
52	DH-162	6 F	15 D	5.1 BCDE	4.3 BCDEF
54	DH-164	6 E	15 D	2.3 JK	2.5 IJ
56	DH-166	0 I	25 A	0 L	0 M
59	DH-171	0 I	25 A	0 L	0 M
60	DH-172	0 I	25 A	0 L	0 M

جدول۵- مقایسه صفات مختلف در لاین های دبلد هاپلوئید گندم در شرایط گلخانه نسبت به جدایه

$70E34A^{+}$ زنگ زرد

Table 5. Comparison of different traits in doubled haploid wheat lines in greenhouse conditions to race $70E34A^{+}$

No	Name of lines	Infection type	Latent period	Pstule size	Pustule density
4	PWS-N-8	6 D	15 D	2.7 K	2.2 L
6	PWS-N-11	0 G	25 A	0 M	0 N
7	PWS-N-12	0 G	25 A	0 M	0 N
8	PWS-N-13	0 G	25 A	0 M	0 N
11	PWS-N-18	0 G	25 A	0 M	0 N
14	PWS-N-24	0 G	25 A	0 M	0 N
18	PWS-N-30	0 G	25 A	0 M	0 N
19	PWS-N-31	0 G	25 A	0 M	0 N
21	PWS-N-34	4.3 C	16.6 C	2.6 K	2.2 L
22	PWS-N-36	0 G	25 A	0 M	0 N
23	PWS-N-40	0 G	25 A	0 M	0 N
24	PWS-N-42	0 G	25 A	0 M	0 N
26	PWS-N-47	2.3 F	19.3 B	1.3 L	0.7 N
28	PWS-N-49	0 G	25 A	0 M	0 N
29	PWS-N-51	0 G	25 A	0 M	0 N
30	PWS-N-53	0 G	25 A	0 M	0 N
31	PWS-N-54	6 D	15 D	2.7 K	2.5 KL
32	PWS-N-55	0 G	25 A	0 M	0 N
34	PWS-N-57	0 G	25 A	0 M	0 N
36	DH-142	2 F	20 B	1.1 L	0.7 M
37	DH-143	0 G	25 A	0 M	0 N

38	DH-144	4.6 E	16.3 E	2.4 K	2.4 KL
41	DH-149	0 G	25 A	0 M	0 N
42	DH-150	0 G	25 A	0 M	0 N
44	DH-152	6 D	15 D	2.2 K	2.4 KL
54	DH-164	5.6 D	15.3 D	2.5 K	2.4 KL
56	DH-166	0 G	25 A	0 M	0 N
59	DH-171	0 G	25 A	0 M	0 N
60	DH-172	0 G	25 A	0 M	0 N
65	susceptible	9 A	10 H	6 A	6.1 A

جدول ٦ همبستگی صفات دوره کمون بیماری و تیپ آلودگی در ژنوتیپهای گندم برای سه پاتوتیپ زنگ زرد در شرایط گلخانه

Table 6. Correlation coefficients between infection type and latent period in genotypes of wheat to 3 races of yellow rust in greenhouse

	پاتوتیپ	Pathotype	
ضریب همبستگی	70E10A+	166E14A+	70E34A+
Correlation cofficient	-0. 77**	-0.81**	-0.75**

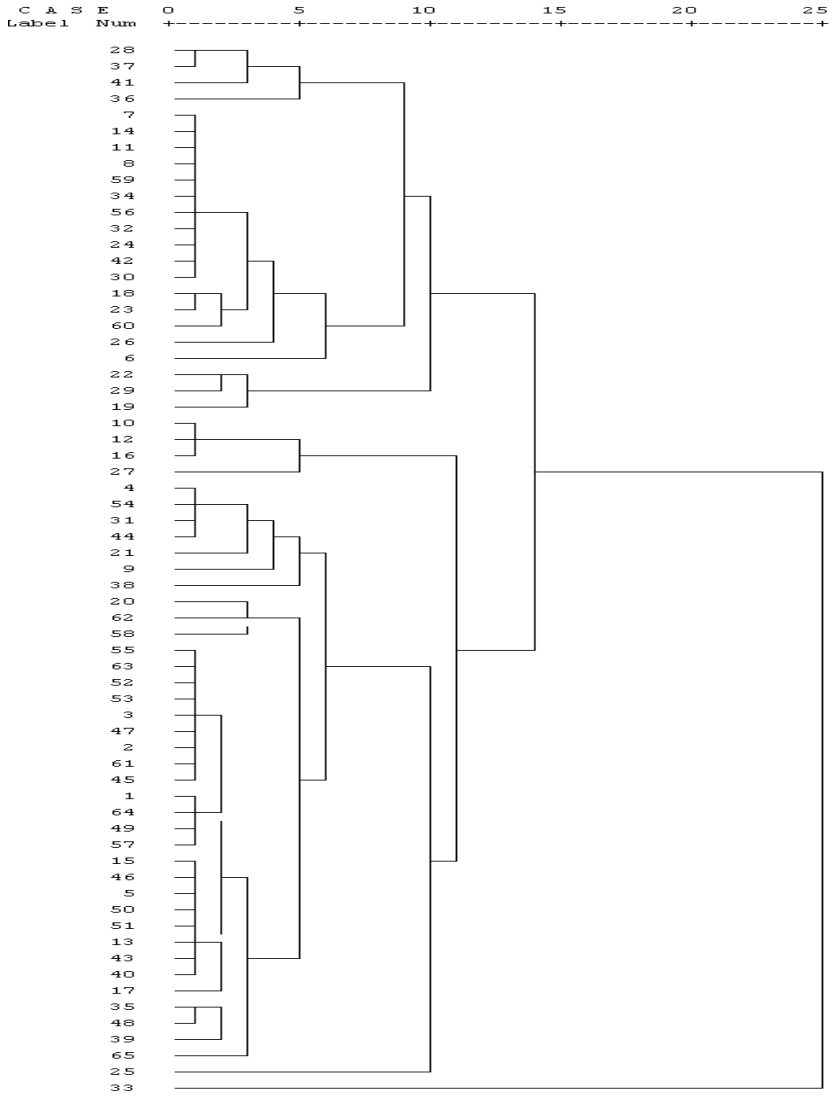
*و** : به ترتیب معنی دار در سطح احتمال ۵و۱درصد.

* and **: Significant at 5% and 1% probability levels, respectively
ns: not Significant

۲) نتایج تجزیه خوشه‌ای

به منظور اندازه گیری و تعیین فواصل ژنتیکی، دوری یا نزدیکی، خویشاوندی یا عدم خویشاوندی و نیز الگوپذیری تنوع ژنتیکی در اجزا مقاومت به زنگ زرد از روش دسته بندی خوشه ای استفاده شد. ضریب اقلیدوسی، فاصله ژنتیکی ژنوتیپ ها را مشخص می کند. هر چقدر فاصله ژنتیکی بین دو دسته بیشتر باشد آن دو دسته از هم دورترند. در این آزمایش، لاین های آزمون شده بر اساس چهار صفت: دوره نهان، تیپ آلودگی، اندازه جوش ها، تراکم جوش ها در خوشه های مختلف قرار گرفته اند. شکل ۱ لاین های دابلد هاپلوئیدی را در دو گروه حساس و مقاوم دسته بندی می کند. آنچه مسلم است این است که به دلیل واکنش متفاوت لاین ها برای جدایه های مختلف، می توان دریافت که لاین های دابلد هاپلوئید مورد مطالعه دارای ژن های مقاومت اختصاصی (Race specific resistance) برای مقاومت به زنگ زرد می-باشند. زیرا بعضی از لاین‌های دابلد هاپلوئید که نسبت به یک جدایه، مقاومت کامل نشان می‌دهند نسبت به جدایه دیگر واکنش حساسیت دارند. به طور کلی برخی از لاین های دابلد هاپلوئید

نسبت به بعضی از جدایه های زنگ زرد آزمایش شده مقاوم یا نیمه مقاوم بودند. لذا در انتخاب برای مقاومت به زنگ زرد، بایستی برای هر جدایه به صورت جداگانه، بر اساس واکنش لاین های دابلد هاپلوئید مورد مطالعه انتخاب صورت گیرد و در صورت پاسخ مناسب در آزمایش‌های سازگاری و مقایسه عملکرد در مناطق مختلف، می‌توان مستقیما" از آنها به عنوان یک رقم استفاده نمود و این امر بیانگر کارایی روش دابلد هاپلوئیدی برای ایجاد احتمالی و تثبیت برخی صفات مثل مقاومت به زنگ زرد می باشد.



شکل ۱- تجزیه خوشه ای لاین های دبلد هاپلوئید گندم براساس مقاومت آنها نسبت به جدایه های $70E10A^+$, $166E14A^+$ and $70E34A^+$

Fig.1. Dendrogram of wheat doubled haploid lines based on their resistance to races of $70E10A^+$, $166E14A^+$ and $70E34A^+$

نتیجه گیری

به طور کلی از نتایج این مطالعه و مطالعات دیگران (Inagaki, 1997; Matzk and Mahn, 1994) می‌توان چنین استنباط نمود که روش تلاقی گندم و ذرت، روش بسیار موثر و کارا برای تولید هاپلوئید و دابلد هاپلوئید گندم می باشد. این روش می‌تواند به خوبی به جای کشت میکروسپور یا بساک به کار رود. همچنین استفاده از جدایه‌های مختلف یک نژاد در ارزیابی مقاومت ارقام و لاین‌های گندم (Multipathotypes Screening) در شرایط کنترل شده و در مرحله گیاهچه‌ای می‌تواند تاحدودی به تشخیص ژن‌های مقاومت در ارقام و لاین‌های پیشرفته منجر گردد.

به هر حال، روش تلاقی گندم و ذرت با تولید لاین های دابلد هاپلوئید به عنوان لاین‌های نوترکیب می‌تواند در برنامه های کاربردی اصلاح نباتات به ویژه مقاومت به بیماریها استفاده شود. در تحقیق حاضر نیز با استفاده از این روش لاین‌هایی شناسایی شد که با استفاده از ارزیابی مقاومت لاین‌های مقاوم به بیماری در مرحله گیاهچه ای انتخاب گردیدند.

References منابع مورد استفاده

- Bozorgipour, R. 1990. The use in vitro techniques for crop improvement in cereal. Ph.D. Thesis. University of Cambridge. 350 pp.
- Broers, L.H.M. 1993. Breeding for partial resistance in wheat to stripe rust. In: Durability of disease resistance. Jacobs, Th., and J. E. Parlevliet (eds.). Pp:173-183. Kluwer Academic Publisher, The Netherlands.
- Broers, L.H.M, and R.M, Lopez–Atilano, 1993. Components of adult resistance in bread wheat to stripe rust. 6th International Congress of Plant Pathology. 85 pp.
- Chen, X.M., and R.F. Line. 1992a. Inheritance of stripe rust resistance in wheat cultivars used to differentiate races of *puccinia striiformis* in North American. Journal of Phytopathology. 82: 633-637.
- Chen, X.M., nad R.F. Line. 1992b. Identification of stripe resistance of stripe resistance gene in wheat genotypes used to differentiate North American races of *puccinia striiformis*. Journal of Phytopathology. 82: 1428-1434.
- Chen, X.M., nad R.F. Line. 1992c. Genes of resistance to stripe rust in Tres wheat. Journal of Crop Science. 32: 692-696.
- Chen, X.M., nad R. F. Line. 1993a. Inheritance of stripe rust resistance in wheat cultivars postulated to have resistance gene at *Yr3* and *Yr4* loci. Journal of Phytopathology. 83: 382-388.
- Chen, X.M., nad R. F. Line. 1993b. Inheritance of stripe rust (yellow rust) resistance in wheat cultivar Carstent V. Journal of Euphytica. 71: 107-113.
- Cromey, M.J. 1992. Adult plant resistance to stripe rust in some New Zealand wheat cultivars. New Zealand Journal of Crop and Horticultural Science. 20: 413-419.
- Dehghani, H., M. Moghadam., M.R. Ghannadha., M. Valizadeh., and M. Torabi. 2002. Inheritance of latent period of stripe rust in wheat. Journal of Genetics and Breeding. 56: 155-163.
- Ghannadha, M.R., I.L. Gordon., and M.G. Cromey. 1995. Diallel analysis of the latent preiod of stripe rust in wheat. Journal of Theoretical and Applied Genetics. 90: 471-476.
- Inagaki, M. 1997. Technical advances in wheat haploid production using ultra – wide crosses. Journal of Jircas. 4:51-62.
- Johnson, R. 1993. Durability of resistance in crops: Some closing remarks about the topics and the symposium. Pp: 283-300. In: Jacobs, Th and J. E. Parlevliet (eds). Durability of disease resistance. Kluwer Academic Publisher.
- Laurie, D.A., and M.D. Bennet. 1988. The production of haploid wheat from *wheat×maize* crosses. Theoretical Applied Genetics. 76: 393-397.
- Matzk, F., and A. Mahn. 1994. Improvement techniques for haploid production in wheat using chromosome elimination. Journal of Plant Breeding. 113: 125-129.

- ✓ Ma, H., and R. P. Singh, 1996. Expression of adult resistance to stripe rust at different growth stages of wheat. Journal of Plant Disease. 80: 373-379.
- ✓ McNeal, F.H., C.F. Konzak, E.P. Smith, W.S. Tale and T.S. Russell. 1971. A uniform system for recording and processing cereal research data. The United States Department of Agricultural Research Service. (ARS). Pp 34-121.
- ✓ Moghaddam, m., H. Dehghani., M.R. Ghannadha., M. Valizadeh., and M. Torabi. 2002. Genetic analysis of infection type of stripe rust in wheat. Abstracts of EUCARPIA Cereal Section Meeting, 21-25 November, 2002, Salsomaggiore, Italy. 215 pp.
- ✓ Parlevliet, J.E. 1978. Further evidence of polygenic inherthance of partial resistance in barley to leaf rust. Journal of Euphytica 27: 369-345.
- ✓ Riely, R., and V. Chspman. 1967. The inheritance in wheat of crossability with rye. Genet Research. 9: 259-267.
- ✓ Riera-Lizarazu., and A. Mujeeb-Kazi. 1990. Maize (*zea mays L.*) mediated wheat (*Triticum aestivum L.*) polyhaploid production using various crossing method. Cereal Research Communication. 18:339-345.
- ✓ Roelfs, A.P., R.P. Singh., and E.E. Saari. 1992. Rust disease of wheat: Concepts and methods of disease management. Pp 81. Mexico, D. F.: CIMMYT.
- ✓ Sitch, L.A and., J.W. Snape. 1987. Factors affecting haploid production in wheat (*Triticum aestivum*). Theoretical Applied Genetics. 70: 309-314.
- ✓ Snape, J.W. 1989. Doubled haploid breeding. Theoretical basis and practical application. Pp: 19-31. In: Mujeeb – kazi, A., and L. A. Stich, (eds). Review of Advances in Plant Biotechnology 1985 – 1988. Mexico, D. F.: CIMMYT.
- ✓ Torabi, M., V. Mardoukhi., K. Nazari., F. Afshari., A.R. Forootan., M.A. Ramai., H. Golzar., and A. Kashani. 1995. Effectiveness of wheat yellow rust resistance genes in different parts of iran. Cereal Rusts and Powdery Mildews Bulletin. 23: 9-12.
- ✓ Torabi, M., and K. Nazari. 1998. Seedling and adult plant resistance to yellow rust in Iranian bread wheats. Journal of Euphytica 100: 51-54.