



ایجاد لاینهای مقاوم به فوزاریوم سنبله **Scab** در گندم نان با استفاده از روش دابل هاپلوئیدی

حبيب اله سوقی^۱ مهدی کلاته عربی^۱ و فرشاد بختيار^۲

۱- مرکز تحقیقات کشاورزی و منابع طبیعی گلستان

۲- موسسه تحقیقات اصلاح و تهیه نهال و بذر

نویسنده مسئول: حبيب اله E mail: hab3asog@yahoo.com

چکیده

بیماری فوزاریوم سنبله گندم (**Fusarium head blight**) یکی از بیماریهای مهم گندم در مناطق مرطوب و نیمه مرطوب جهان می باشد. علاوه بر خسارتهای کمی این بیماری نظیر چروکیدگی بذر و کاهش عملکرد خسارات کیفی نظیر کاهش قوه نامیه و آلودگی بذر به توکسینهای تولید شده توسط قارچ از عوارض دیگر بیماری می باشند که برای سلامتی انسان نیز زیان آور هستند. دستیابی به منابع ژنتیکی مقاوم به بیماری فوزاریوم خوشه و کشت ارقام مقاوم، مطمئن ترین و اصولی ترین روش کنترل بیماری فوق و کاهش خسارت ناشی از بروز اپیدمی می باشد. در گونه های خودگشن به نژادگران عموماً با توجه به اهداف اصلاحی موردنظر از روشهای معرفی، شجره ای، توده ای و تلاقی برگشتی استفاده می کنند. مزایای سیستم دابل هاپلوئیدی در مقایسه با سایر روشهای کلاسیک اصلاحی در سرعت بخشیدن به برنامه های اصلاحی و افزایش کارایی سلکسیون است. به همین منظور ۱۴۳ لاین دابل هاپلوئید گندم که با استفاده از روش حذف کروموزمی تلاقی گندم و ذرت از هیبریدهای **F1** و **F3** انتخابی ایستگاه تحقیقات کشاورزی گرگان با اهداف مشخص تولید گردیده بودند در سال زراعی ۸۴-۸۳ در زیر سیستم مه پاش (**Mist**) مورد ارزیابی قرار گرفتند. هر لاین دابل هاپلوئید تولید شده بر روی خطوط یک متری با فاصله ۳۰ سانتی متر از یکدیگر به صورت یک خط بر روی هر پشته کشت شدند. برای گسترش بیشتر آلودگی در حاشیه آزمایش رقم حساس بولانی کشت شد. همچنین پس از ۱۵ لاین، ارقام بولانی، **Milan\ShA7** و تجن به ترتیب به عنوان لاینهای حساس، مقاوم و شاهد منطقه کشت شدند. در مرحله گلدهی اکثریت ارقام، اسپور پاشی با سوسپانسیون میکروکنیدی ۵ جدایه جمع آوری شده از ایستگاههای تحقیقات کشاورزی اقلیم ساحل خزر به میزان 10^5 اسپور در هر میلی لیتر و در سه مرحله با فاصله یک هفته انجام شد. یادداشت برداری بر اساس علائم ظاهری و بر اساس جدول استاندارد یک ماه پس از اولین مایه زنی مصنوعی انجام گرفت. شاخص بیماری (**Disease Index**) با در نظر گرفتن درصد وقوع بیماری (**Disease Incidence**) و شدت بیماری (**Disease Severity**) با بهره گیری از فرمولهای مربوطه محاسبه شد. نتایج حاصل از این مطالعه نشان داد که مقاومت لاینها نسبت به بیماری فوزاریوم سنبله در لاینهای مختلف متفاوت بود. به طوری که با توجه به شاخص بیماری تعداد ۵۳ لاین بین ۰-۱۰ و ۵۷ لاین بین ۱۰-۲۵ و ۲۴ لاین بین ۲۵-۵۰ و ۵ لاین بین ۵۰-۷۵ و ۴ لاین بین ۷۵-۱۰۰ درصد بودند و براساس شدت بیماری ۱۴ لاین بین ۰-۲۵ و ۵۷ لاین بین ۲۵-۵۰ و ۵۰ لاین بین ۵۰-۷۵ و ۲۲ لاین بین ۷۵-۱۰۰ درصد بود همچنین بر اساس درصد وقوع بیماری ۶۰ لاین بین ۰-۲۵ و ۴۴ لاین بین ۲۵-۵۰ و ۲۷ لاین بین ۵۰-۷۵ و ۱۲ لاین بین ۷۵-۱۰۰ درصد بودند.

واژگان کلیدی: دابل هاپلوئیدی، گندم نان، فوزاریوم سنبله، حذف کروموزمی

مقدمه

در گونه های خودگشن به نژادگران عموماً با توجه به اهداف اصلاحی موردنظر از روشهای معرفی، شجره ای، توده ای و تلاقی برگشتی استفاده می کنند. از نظر اصلاحی در گیاهان خودگشن سیستم دابل هاپلوئیدی می تواند مستقیماً جهت تولید ارقام جدید استفاده شود زیرا هر لاین دابل هاپلوئید تولید شده پتانسیل تبدیل شدن به یک کولتیوار جدید را دارد. مزایای اصلی سیستم دابل هاپلوئیدی در مقایسه با سایر روشهای کلاسیک اصلاحی در سرعت بخشیدن به برنامه های اصلاحی و افزایش کارایی سلکسیون در طول برنامه است. یکی از مهمترین روشهای تهیه لاین دابل هاپلوئید روش حذف کروموزومی است. روش حذف کروموزومی شامل هیبریداسیون بین گونه ای و بین جنسی است. کاشا (Kassha., 1974) این پدیده را به عنوان حذف ترجیعی و تدریجی کروموزومهای یک ژنوم خاص در نتیجه هر یک از دو روش کاهش سوماتیکی و یا تقسیم میتوزی سلولها تعریف کرده است. روش حذف کروموزومی کاربرد موفقیت آمیزی در تولید هاپلوئید جو از طریق تلاقی بین گونه ای با *Hordeum bulbosum* داشته است.

برکلی (Barcly., 1975) تولید گندم هاپلوئید را با استفاده از تلاقی *Triticum aestivum L.* با *H. bulbosum* گزارش کرد. تلاقی بین گندم هگزاپلوئید *T. aestivum* و ذرت *Zea mays* اولین بار توسط زنکتر و نیتزیچ (Zenkteler and Nitzsche., 1984) گزارش شد. بزرگی پور و اسنپ (Bozorgipour and Snape., 1990) تولید هاپلوئید در ارقام گندم ایرانی را با استفاده از روش تلاقی گندم و *H. bulbosum* مورد ارزیابی قرار دادند. در این آزمایش میزان تلاقی پذیری برای ارقام گندم ایرانی بسیار کم گزارش شد و در نتیجه استفاده از روش کشت پرچم و یا تلاقی گندم و ذرت جهت تولید هاپلوئید در ارقام گندم ایرانی پیشنهاد گردید. بیماری فوزاریوم سنبله گندم (*Fusarium head blight*) یکی از بیماریهای مهم گندم در مناطق مرطوب و نیمه مرطوب جهان می باشد. علاوه بر خسارتهای کمی این بیماری نظیر چروکیدگی بذر و کاهش عملکرد خسارات کیفی نظیر کاهش قوه نامیه و آلودگی بذر به توکسینهای تولید شده توسط قارچ از عوارض دیگر بیماری می باشند که برای سلامتی انسان نیز زیان آور هستند. بعلاوه جدایه های بخصوص قادرند میکوتوکسین هایی را در گیاهان زنده مزرعه و دانه های انبار شده تولید کنند. شرایط جوی مناسب (رطوبت و دما)، وجود مایه تلقیح و کشت ارقام حساس به بیماری، خسارت جبران ناپذیری بر محصول گندم این مناطق وارد کرده است.

مواد و روشها

برای تهیه لاینهای دابل هاپلوئید گندم نان ابتدا تلاقیهای لازم بین والدین مورد نظر در ایستگاه تحقیقات کشاورزی گرگان داده شد. سپس بذور حاصل از کراسها برداشت و در سال بعد در مزرعه کشت گردیدند (F1). بذورهای حاصل از بوته های F1 جهت تولید توده F2 در سال بعد با فاصله و در کرتیهای جداگانه کاشته شدند. با توجه به صفات مرفولوژیک و مقاومت به بیماریهای شایع در منطقه بوته های مطلوب از F2 انتخاب و جهت تولید لاینهای دابل هاپلوئید در گلخانه کشت گردید. همزمان با کشت گندم در گلخانه، ذرت سینگل کراس ۷۰۴ نیز برای تولید دانه گرده مورد نیاز در گلخانه کاشته شد. زمانی که ۲/۳ سنبله ها از غلاف بیرون آمدند عمل اخته کردن در بوته های گندم انجام گرفت. بعد از ۴۸ ساعت دانه های گرده جمع آوری شده از ذرت برای تحریک سلول تخمزا بر روی سنبله های اخته شده گندم قرار داده شد. پس از چند روز که سلول تخمزا شروع به رشد و نمو کرد، از سنبله جدا شده و در محیط کشت قرار داده شد. به مرور زمان و با رشد گیاهچه های حاصل به گلدان منتقل گردید و برای اطمینان از هاپلوئید بودن کروموزومها مطالعات سیتولوژیکی بر روی نمونه



های حاصل انجام گرفت. سپس با کمک کلشسین کروموزمهای گیاه حاصل دو برابر شد. ۱۴۳ لاین دابل هاپلوئید گندم که با استفاده از روش حذف کروموزمی تلاقی گندم و ذرت از هیبریدهای F1 و F3 انتخابی ایستگاه تحقیقات کشاورزی گرگان با اهداف مشخص تولید گردیده بودند در سال زراعی ۸۴-۸۳ در زیر سیستم مه پاش (Mist) مورد ارزیابی قرار گرفتند. برای گسترش بیشتر آلودگی در حاشیه آزمایش رقم حساس بولانی کشت شد. همچنین پس از ۱۵ لاین، ارقام بولانی، Milan\ShA7 و تجن به ترتیب به عنوان لاینهای حساس، مقاوم و شاهد منطقه کشت شدند. برای گسترش بیشتر آلودگی در حاشیه آزمایش رقم حساس بولانی کشت شد. همچنین پس از ۱۵ لاین، ارقام بولانی، Milan\ShA7 و تجن به ترتیب به عنوان لاینهای حساس، مقاوم و شاهد منطقه کشت شدند. در مرحله گلدهی اکثریت ارقام، اسپور پاشی با سوسپانسیون میکروکنیدی ۵ جدایه جمع آوری شده از ایستگاههای تحقیقات کشاورزی اقلیم ساحل خزر به میزان ۱۰^۵ اسپور در هر میلی لیتر و در سه مرحله با فاصله یک هفته انجام شد. یادداشت برداری بر اساس علائم ظاهری گیاه و بر اساس جدول استاندارد یک ماه پس از اولین مایه زنی مصنوعی انجام گرفت. شاخص بیماری (Disease Index) با در نظر گرفتن درصد وقوع بیماری (Disease Incidence) و شدت بیماری (Disease Severity) با بهره گیری از فرمولهای مربوطه محاسبه شد.

نتایج و بحث

نتایج حاصل از این مطالعه نشان داد که مقاومت لاینها نسبت به بیماری فوزاریوم سنبله در لاینهای مختلف متفاوت بود که شاخص بیماری (Disease Index) با در نظر گرفتن درصد وقوع بیماری (Disease Incidence) و شدت بیماری (Disease Severity) با بهره گیری از فرمولهای مربوطه محاسبه شد.

به طوری که با توجه به شاخص بیماری تعداد ۵۳ لاین بین ۱۰-۰ و ۵۷ لاین بین ۲۵-۱۰ و ۲۴ لاین بین ۵۰-۲۵ و ۵ لاین بین ۷۵-۵۰ و ۴ لاین بین ۱۰۰-۷۵ درصد بودند و براساس شدت بیماری ۱۴ لاین بین ۲۵-۰ و ۵۷ لاین بین ۵۰-۲۵ و ۵۰ لاین بین ۷۵-۵۰ و ۲۲ لاین بین ۱۰۰-۷۵ درصد بود همچنین بر اساس درصد وقوع بیماری ۶۰ لاین بین ۲۵-۰ و ۴۴ لاین بین ۵۰-۲۵ و ۲۷ لاین بین ۷۵-۵۰ و ۱۲ لاین بین ۱۰۰-۷۵ درصد بودند. با توجه به نتایج بدست آمده در روشهای مختلف ارزیابی بیماری فوزاریوم لاینهای مقاوم انتخاب و برای بررسی بیشتر به آزمایشات تکراردار هدایت شدند.

منابع

1. Barcly, I.R.,(1975) High frequencies of haploid production in wheat (*Triticum aestivum* L.) by chromosome elimination. *Nature* (London) 256:410-411.
2. Bozogipour, R. and J,W, Snape. (1990) the cross ability of Persian wheat cultivars with *Hordeum bulbosum* and their potential for haploid production. *Cereal research communication* vol. 18 No.3.
3. Kasha, K. G. (1974) haploid from somatic cell in: K.J. Kasha (Ed.), *Haploid in higher plants- Advances and potential*, pp. 67-87 The university of Guelph, Guelph.
4. Zenkteler. m, w. Nitzsche. (1984) Wide hybridization experiment in cereal. *Theor Appl Genet*, 68: 311-315.



Establishing resistant lines to Fusarium head blight (FHB) in bread wheat with double haploid method

H.A. Soqi¹, M. Kalateh Arabi¹, F. Bakhtear²

1. Agricultural and natural resource research center of Golestan

2. Seed and Plant Improvement Institute

E-mail: hab3asog@yahoo.com

Abstract

Fusarium head blight is the most important disease in humid and semi humid regions of world. Fusarium head blight can cause quality and quantitative damages on grain yield of wheat. Also this disease of wheat can hurt healthy of human. The best way to control of Fusarium head blight is using of resistant cultivars. Breeders in self pollination crops for breeding use the classic methods include, introduction, pedigree, bulk and back cross methods. The haploid method is another method that breeders use for decreasing the period of breeding programs. In order to obtain resistant lines to Fusarium head blight 143 double haploid lines was evaluated under field conditions and mist irrigation. Each genotype was planted on a row in one meter long in Gorgan agricultural research station in 2004-2005 cropping season. After 15 double haploid lines three cultivars Bolani, Milan/Sha7 and Tajan were planted as susceptible, resistant and local check respectively. In experiment margin, susceptible cultivar (Bolani) was planted for spreading of infection. Plants were inoculated artificially at three times. Reaction of each genotype was recorded after a month the first inoculated artificially. Disease Index, Disease Incidence and Disease Severity were calculated. Results showed that reaction of double haploid lines were different. On base of Disease Index 53 double haploid lines were 0-10, 57 double haploid lines 10-25, 24 double haploid lines 25-50, 5 double haploid lines 50-75 and 4 double haploid lines 75-100 percent. On base of Disease Severity 14 lines were 0-25%, 57 lines 25%-50%, 50 lines 50%-75% and 22 lines 75%-100% and also on base of Disease Incidence 60 double haploid lines were 0-25%, 44 double haploid lines 25%-50%, 27 double haploid lines 50%-75% and 12 double haploid lines were 75%-100%.

Key words: Double haploid, Bread wheat, Fusarium head blight, Chromosome drift