توريث مقاومة مرض التفحم السائب في الشعير في الصنفين ناتانس وكومبانا

محمد عبد الخالق الحمداني جمال عبد الرحمن صبار عبد الكريم محمد تقي

الملخص

أشرت نتائج التضريب بين صنف الشعير نومار ومصدري المقاومة لمرض التفحم السائب في الشعير ناتانس وكومبانا سيادة كاملة لصفة المقاومة في نباتات الجيل الأول لكلا التضريبين. أظهرت انعزالات النباتات السليمة والمصابة في أفراد الجيل الثاني لكلا التضريبين بأن صفة المقاومة يتحكم بها زوجان من المورثات مع حالة التفوق. بلغت احتمالات انعزال السليم والمصاب على فرضية ١٥: ١، ٠,٧٥ الى ٠,٥٠ في تضريب نومار مع ناتانس و ٠,٧٥ في تضريب نومار مع كومبانا.

المقدمة

ينتشر مرض التفحم السائب في الشعير المتسبب عن الفطر البازيدي *Ustilago nuda* (Jens.) Rostr. في معظم حقول الشعير في العالم وبنسب مئوية متفاوتة قد تبلغ مستويات عالية في المواسم الرطبة. وعلى الرغم من إمكانية مكافحة هذا المرض بالمبيدات الفطرية الجهازية، إلا ان مخاطر استعمال تلك المبيدات على العاملين واحتمال تطور مقاومة لها في المسبب (١٠، ١١، ١٣)، جعل تطوير الأصناف المقاومة هو الاسلوب الأمثل في المكافحة. تكمن خطورة هذا المرض في إمكانية وحدات لقاحية (أبواغ) لسنبلة مصابة ان تصل الى زهيرات السنابل المجاورة كليا في أثناء مرحلة التزهير، لذلك فإن نسبة الإصابة المقبولة في حقول الأصناف المقاومة أو الحقول المعدة لانتاج البذور المصدقة لا تتعدى ٠,٥% (٣)، مما يشير الى حساسية أصناف الشعير وعدم صلاح معظم الحقول المذكورة في المسح العام للمرض في العراق (١) كمصادر للبذور المصدقة.

وبسبب تأثر مستويات الاصابة بعاملي العائل (مواعيد مراحل التزهير) والظروف البيئية، فقد طورت طرائق عديدة للتلويث، أبرزها التفريغ الهوائي لبادرات حديثة بعمر ٤٨-٧٢ ساعة بعد قطع أطراف أغماد رويشاتها (٦، ١٤).

وظفت هذه الطريقة في دراسات عديدة استهدفت الاستجابة المرضية (Disease response) لعوائل عديدة وتشخيص مصادر مقاومة وتحديد طبيعة المقاومة (٢، ٥، ٧، ٨). ولما كان الفطر المسبب يعتمد في نشر واحداث الاصابة على مهاجمة المبايض في أثناء مرحلة التزهير، فأن فحص أجنة التراكيب الوراثية لملاحظة وجود الغزل الفطري والمساحات التي يحتلها في أنسجة الأجنة أضحى اختباراً ضرورياً لكنه ليس بديلاً لاختبار تكشف الاصابة في الحقل لمعرفة مستويات المقاومة والحساسية (١٦). استخدم اسلوبا فحص الأجنة وتكشف الاصابة في الحقل في أول دراسة أجريت في القطر على مجموعة من أصناف وطفرات الشعير كشف فيها عن مصادر المقاومة للمرض التي تمثلت في الصنفين ناتانس وكومبانا (٢). ولغرض معرفة طبيعة المقاومة في هذين الصنفين لابد من دراسة توريث المقاومة فيهما كجزء أساسي في برنامج تطوير أصناف شعير مقاومة للمرض.

تمثل الدراسة الحالية نتائج تحليل انعزال المقاومة والحساسية في أفراد الجيل الأول والثاني للتضريب الحاصل بين الصنف نومار ومصدري المقاومة ناتانس وكومبانا.

دائرة البحوث الزراعية والبايولوجية – ص. ب. ٧٦٥ التويثة – بغداد ، العراق .

المواد وطرائق البحث

ضرب صنف الشعير نومار مع مصدري المقاومة لمرض التفحم السائب ناتانس وكومبانا وحصل على بذور الجيل الأول. استخدمت طريقة التفريغ الهوائي (٦) في تلويث بادرات الجيل الأول والآباء، إذ عقمت البذور بمادة كلوريد الزئبق ٠,١% ثم زرعت بعد غسلها عدة مرات بالماء المقطر على ورق ترشيح مرطب داخل صحون زجاجية. حضنت الصحون بدرجة ٢٠م مع ١٢ ساعة إضاءة/ يوم لمدة ٤٨ – ٧٢ ساعة. قطعت أطراف أغماد رويشات البذور النابتة (Coleoptile) وغمرت البادرات المجروحة لمدة ٥ دقائق في معلق مائي للأبواغ التيلية للفطر *U. nuda* (٥ غم/ لتر). نقلت البادرات الملوثة من المعلق الى أوعية بلاستيكية مغلقة ذات فتحات صغيرة تسمح بخروج ودخول الهواء في أثناء عملية التفريغ الهوائي. وضعت الأوعية الحاوية على البادرات الملوثة في وعاء معدني مخصص للتفريغ الهوائي نوع B α T لشركة A searle Comp. سحب الهواء بقوة ٥٠٠ ملم زئبق لمدة دقيقتين ثم أعيد فجأة. نقلت البادرات الملوثة الى الحقل وزرعت في لوح حقلي مرطب وفي موعد متأخر (الأسبوع الثالث من كانون الأول). روعي في الزراعة تجنب حدوث تلوث للجروح حيث عوملت البادرات الملوثة كالشتلات (١٤). حسبت أعداد النباتات المصابة والسليمة لكل من الآباء والجيل الأول للتضريبين في طور التسنبل.

الجيل الثاني:

لوثت زهيرات السنابل السليمة في نباتات الجيل الأول وكذلك الآباء بأبواغ الفطر المسبب لمرض التفحم السائب باتباع طريقة الفرشاة (Brush method) (٤). هيئت السنابل للتلويث قبل خروجها بشكل كامل من دور البطان (Boot stage)، إذ قطعت أطراف القنابع وبضمنها السفا لتكون الزهيرات مفتوحة لاستقبال الأبواغ، مررت سنبلة مصابة على الزهيرات وباتجاه عكسي من الأعلى الى أسفل السنبلة المراد تلويثها وبطريقة الفرشاة. غلفت السنابل الملوثة بعد وضع سنبلة مصابة بموازاة السنبلة الملوثة لمدة أربعة أيام لضمان التلويث. جمعت بذور السنابل الملوثة في نهاية الموسم وقسمت كل مجموعة الى قسمين بواقع ١٠٠ بذرة للقسم الواحد لمجموعات الآباء والجيل الثاني للتضريبين نومار × ناتانس ونومار × كومبانا. استخرجت أجنة بذور القسم الأول بعد معاملتها بـ ١٠% هيدروكسيد الصوديوم ووضعها في صبغة لاكتوفينول المغلية (٢ و ٧). فحصت الأجنة تحت المجهر قوة 100 وحددت المساحات المشغولة بالغزل الفطري للفطر *U. nuda* وحسبت أعداد الأجنة المصابة ضمن كل من المساحات صفر و ١٠ و ٢٠ و ٥٠ و أكثر من ٥٠% من مساحة الجنين.

زرعت بذور القسم الثاني ولكل مجموعة أيضاً في الحقل وبموعد متأخر. حسبت في طور التسنبل أعداد النباتات المصابة والسليمة في الآباء ونباتات الجيل الثاني للتضريبين. وبسبب حدوث هروب في اصابة الصنف الحساس نومار فقد استخدمت نسبة اصابة هذا الصنف كعامل تصحيح للأعداد المصابة المتوقعة في أفراد الجيل الثاني (١٩). خضعت انعزالات نباتات الجيل الثاني لكلا التضريبين الى ثلاث فرضيات وهي ٣: ١ (زوج واحد من المورثات) و ١٥: ١ (زوجان من المورثات وأخيراً ٦٣: ١ (ثلاثة أزواج من المورثات). استخرجت قيم مربعات كاي لكل فرضية وحسبت فيها احتمالات كل فرضية. أعتمدت الفرضية المناسبة استناداً الى أعلى الاحتمالات.

النتائج والمناقشة

أظهرت نتائج الاصابة بالفطر المسبب لمرض التفحم السائب *U. nuda* في الآباء حساسية الصنف نومار إذ بلغت نسبة الاصابة ٧١,٦% مقارنة بالمقاومة العالية للمصدرين ناتانس وكومبانا (جدول ١). أكد انعدام الاصابة في

نباتات المصدرين في هذه الدراسة النتائج المسجلة في دراسة سابقة (٢). أما أفراد الجيل الأول للتضريبين نومار × ناتانس ونومار × كومبانا فقد خلت من أية سنبلة مصابة مما يعكس سيادة كاملة لصفة المقاومة (جدول ١).

جدول ١: الاستجابة المرضية لمرض التفحم السائب في الشعير في الآباء والجيل الأول بعد التلويث الاصطناعي

التراكيب الوراثية للآباء والجيل الاول	النسب المئوية للإصابة في الحقل (%)
الآباء	
نومار	٧١,٦
ناتانس	صفر
كومبانا	صفر
الجيل الأول	
نومار × ناتانس	صفر
نومار × كومبانا	صفر

لوثت بادرات الشعير باتباع اسلوب التطريع الهوائي (٦) وزرعت في الحقل في الاسبوع الثالث من كانون الأول فيما شتلات.

وفي الجيل الثاني فأن فحص أجنة الآباء وأفراد الجيل الثاني أشار الى اصابة ٧٤% من أجنة الصنف نومار متوزعة بنسب ٤، ٢٠، ٢٠ و ٣٠% في المساحات ١٠، ٢٠، ٥٠ وأكثر من ٥٠% من أنسجة الأجنة على التوالي. بينما بلغت نسبة الأجنة المصابة في ناتانس و كومبانا ٦ و ٤% على التوالي مع محدودية المساحات المشغولة من الجنين والتي لم تتعدى ٢٠% (جدول ٢). وعند مقارنة هذه النتائج مع نتائج أجنة أفراد الجيل الثاني لكلا التضريبين اتضح لدينا وجود زيادة في نسب الأجنة المصابة ارتفعت من ٦% في الصنف ناتانس الى ٢٠% من أجنة بذور الجيل الثاني لنومار × ناتانس. بينما ازدادت نسبة الأجنة المصابة من ٤% في كومبانا الى ٢٥% في أجنة بذور الجيل الثاني للتضريب بين نومار وكومبانا، كما لوحظ وجود الغزل الفطري في ٥٠% من أنسجة بعض الأجنة مما يعكس دور الصنف الحساس نومار في احداث هذه الزيادات سواء في أعداد الأجنة المصابة أو في المساحات المشغولة من قبل الغزل الفطري، ومع ذلك لم تلاحظ أية أجنة مصابة بأكثر من ٥٠% من مساحة أنسجتها مقارنة بوجود مثل هذه الحالة في أجنة الصنف نومار (جدول ٢).

جدول ٢: المساحات المشغولة بالغزل الفطري للفطر المسبب لمرض التفحم السائب في الشعير ونسب أجنة الشعير المصابة

التراكيب الوراثية للآباء والجيل الثاني	المساحات المشغولة في الأجنة (%)					المجموع الكلي للأجنة المصابة (%)
	صفر	١٠	٢٠	٥٠	أكثر من ٥٠	
	النسب المئوية للأجنة المصابة					
الآباء						
نومار	٢٦	٤	٢٠	٢٠	٣٠	٧٤
ناتانس	٩٤	٢	٤	صفر	صفر	٦
كومبانا	٩٦	١	٣	صفر	صفر	٤
الجيل الثاني						
نومار × ناتانس	٨٠	٧	٨	٥	صفر	٢٠
نومار × كومبانا	٧٥	١٠	٧	٨	صفر	٢٥

لوثت زهيرات السنابل في الحقل بطريقة الترشاة (٤). ١ حسبت أعداد الأجنة المصابة والمساحات المشغولة بالغزل الفطري تحت المجهر

وعلى الرغم من أهمية فحص الأجنة في أمراض التفحم السائب، الا أن تكشف الاصابة في الحقل هو العامل الحاسم في معرفة الاستجابة المرضية للإباء أو أفراد الجيل الثاني، لأن كثافة الغزل الفطري والمساحات المشغولة في أنسجة الأجنة ومواقع وجود الغزل الفطري سواء في نقاط النمو أو في أغلفة الأجنة (Scutellum) هي عوامل أساسية مؤثرة في تكشف الاصابة في الحقل (١٧).

أشارت نتائج تكشف الاصابة في الحقل الى ظهور نباتات مصابة في أفراد الجيل الثاني لكلا التضريبين (جدول ٣). فقد بلغت نسب النباتات المصابة ٣ و ٥ % على التوالي، بينما بلغت نسبة الاصابة ٦٩,١% في الصنف نومار مع عدم ملاحظة أية سنابل مصابة في نباتات المصدرين ناتانس وكومبانا. ولما كانت نسبة إصابة الصنف الحساس نومار ٦٩,١% بدلاً من ١٠٠% فقد أستخدمت هذه النسبة في تعديل الاعداد المتوقعة في أثناء حساب مربعات كاي لكل فرضية (١٩). أن قيم مربعات كاي واحتمالاتها المذكورة في جدول (٣) تؤكد أرجحية وجود زوجين من المورثات يتحكمان بصفة المقاومة لكلا المصدرين، إذ بلغت احتمالاتها ٠,٧٥-٠,٥٠ في ناتانس و ٠,٧٥ في كومبانا بينما كان احتمال وجود زوج واحد من المورثات ضعيفاً جداً (أقل من ٠,٠٠٥). كما أظهرت تلك الانعزالات وجود حالة تفوق Epistasis. إن توزيع النباتات السليمة والمصابة وفقاً للنسبة ١٥ : ١ على التوالي تأكيداً إضافياً على كون الحساسية صفة متنحية بشكل كامل. وعند مقارنة نتائج تكشف الاصابة مع نتائج فحص الأجنة يتضح لنا وجود النوعين الأول والثالث من آليات المقاومة للفطر المسبب في المصدرين، واللذان يعبران عن عدم التوافق وفرط الحساسية (٥، ٨، ١٢) مع أرجحية عالية لتفاعل فرط الحساسية (٨)، إذ أن وجود الغزل الفطري في الأجنة وعدم تكشف الاصابة في الحقل يعبر عن فرط الحساسية بينما يمثل عدم تمكن الغزل الفطري من احتلال مساحات واسعة من أنسجة الأجنة عدم التوافق.

جدول ٣: انعزال المقاومة والحساسية لمرض التفحم السائب في الشعير في الجيل الثاني للتضريبي الصنف نومار مع مصدري المقاومة بعد التلويث الاصطناعي لزهيرات سنابل الجيل الأول

التضريبات وفرضيات الانعزال	الانعزال الملاحظ في الحقل		الانعزال المتوقع		الانعزال المصحح		قيم مربع كاي χ^2	الاحتمالية P
	سليم	مصاب	سليم	مصاب	سليم	مصاب		
نومار × ناتانس								
١٥ : ١	٩٧	٣	٧٥	٢٥	٨٢,٧٣	١٧,٢٧	١٤,٢٥	< ٠,٠٠٥
١٥ : ١	٩٧	٣	٩٣,٧٥	٦,٢٥	٩٥,٦٩	٤,٣١	٠,٤١٦	٠,٥٠ - ٠,٧٥
٦٣ : ١	٩٧	٣	٩٨,٤٤	١,٥٦	٩٨,٩٣	١,٠٧	٣,٥١	٠,٠٥٠ - ٠,١٠٠
نومار × كومبانا								
٣ : ١	٩٥	٥	٧٥	٢٥	٨٢,٧٣	١٧,٢٧	١٠,٥٣	< ٠,٠٠٥
١٥ : ١	٩٥	٥	٩٣,٧٥	٦,٢٥	٩٥,٦٩	٤,٣١	٠,١١	٠,٧٥٠
٦٣ : ١	٩٥	٥	٩٨,٤٤	١,٥٦	٩٨,٩٣	١,٠٧	١٤,٣٨	<٠,٠٠٥
الآباء								
نومار	٣٠,٩	٦٩,١						
ناتانس	١٠٠	صفر						
كومبانا	١٠٠	صفر						

زرعت البذور المأخوذة من السنابل الملوثة في الموسم السابق ؛ صححت الاعداد المتوقعة اعتماداً على نسبة اصابة الصنف الحساس نومار (١٩).

أن طبيعة المقاومة لمرض التفحم السائب في كل من ناتانس وكومبانا تشبه المقاومة الموجودة في أصناف الشعير cvs CI-13-662 وDorsett وOAC 21 (٩) فضلاً عن الصنف المعروف Jet الذي أدخل في برامج عديدة لتحسين المقاومة للمرض في مناطق مختلفة من العالم. أن عدم تكشف الاصابة في الحقل على الرغم من وجود أجنة مصابة قد لوحظ كذلك في الصنف Jet إذ بلغت إصابة الأجنة ٣٦% (١٥) وكذلك في الصنف المقاوم Tribi الذي يتحكم به زوج واحد من المورثات. فعلى الرغم من وجود ٦% أجنة مصابة الا أن نباتات الصنف كانت خالية من أية سنبلة مصابة (١٢). ومما تجدر الاشارة اليه أن صنف كومبانا هو أحد الأصناف التفريقية للفطر المسبب لمرض التفحم السائب في الشعير *U. nuda* اضافة الى الصنفين شارلوت تاون و Valki (١٨)، لذلك فإن مقاومة الصنف كومبانا وحساسية الصنف شارلوت تاون المسجل في دراسة سابقة (٢) يشير الى أن السلالة السائدة للفطر المسبب لمرض التفحم السائب في الشعير هي سلالة ١.

وأخيراً فإن المصادر الوراثية المذكورة في هذه الدراسة بعد معرفة طبيعة المقاومة فيهما قد يشكلان ركناً أساسياً في برنامج تحسين صفة المقاومة لمرض التفحم السائب في الشعير لتقليل أضرار هذا المرض أولاً والابتعاد عن استعمال المبيدات الفطرية التي سجل عدم كفاءتها في المواسم الممطرة (١١) فضلاً عن وجود حالات مقاومة من قبل الفطر *U. nuda* لبعض المبيدات مثل Carboxin و Fenfuram (١٠، ١٣).

المصادر

1- البلداوي، عبد الستار عبد الحميد، محمد محمود العودة و محمد صادق حسن (١٩٨١). مسح عام لمرض التفحم السائب على الحنطة والشعير في العراق. الكتاب السنوي لبحوث وقاية المزروعات، ٢: ٢٥-٣٦.

2- الحمداني، محمد عبد الخالق، اسماعيل عباس الدليمي، محمد محي الدين صالح وعلي كريم الطائي (١٩٩٢). استجابة بعض التراكيب الوراثية في الشعير لمرض التفحم السائب. مجلة البصرة للعلوم الزراعية ٥: ٢١٥-٢٢٢.

3- Agarwal, V. K. (1983). An integrated approach for the control of loose smut of wheat. Page 401 in Proc. 4th. Int. Cong. Plant. Pathol. Milbourne, Australia.

4- Browder, L. E. (1971). Pathogenic Specialization in Cereal Rust Fungi, Especially *Puccinia recondita* f. sp. *tritici*: Concepts, Methods of Study, and Application. Tech. Bull. No. 1432, USDA.

5- Gaskin, T. A. and J. F. Schafer (1962). Some histological and genetic relationships of resistance of wheat to loose smut. Phytopa., 52:602-607.

6- Kavanagh. T. (1961). Inoculating barley seedlings with *Ustilago nuda* and wheat seedlings with *U. tritici*. Phytopa. 51:175-177.

7- Kiraly, Z.; Z. Klement; F. Solymosy and J. Voros (1974). Methods in Plant Pathology with Special Reference to Breeding for Disease Resistance. Elsevier Sci. Pub. Comp. Amsterdam, London, New York. 509 pp.

8- Kiraly, Z. and J. Lelley (1956). Contributions to hypersensitive reaction of wheat to loose smut (*Ustilago tritici*). Phytopath. 26, 143-146.

9- Kozera, W. and A. Roszko (1995). Inheritance of resistance to *Ustilago nuda* (Jens.) Rostr. in some spring barley cultivars. J. Appl. Gen., 36: 119-127.

10- Leroux, P. and G. Berthier (1988). Resistance of barley loose smut (*Ustilago nuda*) to carboxin and fenfuram. Pages 1283-1291 in Proc. 2nd. Inter. Conf. on Plant Diseases, Bordeux, France, Nov., 1988.

11- Loughman, R.; E. J. Speijers; G. J. Thomas and D. J. Ballinger (1991). Chemical control of loose smut of barley and the effects of cultivar and environment on disease incidence. Aus. J. Exper. Agric., 31: 373-378.

12- Mumford, D. L. and D. C. Rasmusson (1963). Resistance of barley to *Ustilago nuda* after embryo infection. Phytopathology, 53: 125-128.

13- Newcombe, G. and P. L. Thomas (1991). Incidence of carboxin resistance in *Ustilago nuda*. Phytopa., 81: 247-250.

14- Pierce, A. R. (1985). Evaluation of seedling infection of barley with *Ustilago nuda*. Phytopa. 75, 965 (Abstr.).

15- Rasmusson, D. C. and D. L. Mumford (1961). Relationship between loose smut infection in embryos and adult plant of barley. Crop Sci., 1: 381.

16- Rewal, H. S. and J. S. Jhooty (1982). Correlation between embryo, seedling and field infection of loose smut of wheat. Indi. Phytopath., 35:571-573.

17- Shinohara, M. (1974). Anatomical studies on barley loose smut *Ustilago nuda* (Jens.) Rostrup II. Observations on the developing ovary of Tribi 1, a highly resistant barley variety artificially flower inoculated. Bull. College. Agric. Vet. Med - Nihon Univ., 31: 166-175.

18- Thomas, P. L. (1983). Inheritance of virulence of *Ustilago nuda* on the barley cultivars Warrior, Compana, Valkie, Keystone, and Bonanaza. Can. J. Gen. and Cytol., 25: 53-56.

19- Wells, S. A. (1958). Inheritance of reaction to *Ustilago hordei* (Pers.) Lagerh. in cultivated barley. Can. J. Plant. Sci., 38:45-60.

INHERITANCE OF BARLEY LOOSE SMUT RESISTANCE IN NATANS AND COMPANA CULTIVARS

M. A. Al-Hamdany J. A. Sabar A. K. Taqi

ABSTRACT

Two crosses between barley cultivar Numar with two sources of loose smut resistance Natans and Compana demonstrated the dominance nature of disease resistance in F1 progenies of both crosses. The segregation ratio of healthy and infected plants in F2 progenies of both crosses indicated that the loose smut resistance in both sources were conditioned by two gene pairs with epistasis pattern. The probabilities of 15 healthy to 1 infected plants were 0.75 to 0.50 in Numar × Natans and 0.75 in Numar × Compana, respectively.

Agric. And Bio. Res. Center – P. O. Box 765 Al – Tuwaitha. – Baghdad, Iraq