

## واکنش اکوتیپ‌های سردسیری یونجه به فیض‌بخش، قارچ عامل بیماری سفیدک کرکی

### Response of Cold Region Alfalfa Ecotypes to *Peronospora trifoliorum* de Bary, the Causal Fungus of Downy Mildew

وحید رهجو<sup>۱</sup>، محمدتقی فیض‌بخش<sup>۲</sup>، مجید زمانی<sup>۱</sup> و ویدا قطبی<sup>۳</sup>

۱ و ۳- به ترتیب استادیار و مریبی، موسسه تحقیقات اصلاح و تهیه نهال و بذر، کرج

۲- مریبی، مرکز تحقیقات کشاورزی و منابع طبیعی استان گلستان، گرگان.

تاریخ دریافت: ۱۳۹۰/۵/۱۸ تاریخ پذیرش: ۱۳۹۰/۱۱/۱۳

#### چکیده

رهجو، و.، فیض‌بخش، م.، ت.، زمانی، م. و قطبی، و. ۱۳۹۱. واکنش اکوتوتیپ‌های سردسیری یونجه به *Peronospora trifoliorum* de Bary، قارچ عامل بیماری سفیدک کرکی. مجله بهنژادی نهال و بذر ۴۴۴:۲۸-۱. ۴۲۹ - ۴۴۴:۲۸-۱.

به منظور ارزیابی واکنش اکوتوتیپ‌های سردسیری یونجه نسبت به بیماری سفیدک کرکی، پانزده اکوتوتیپ شامل سیزده اکوتوتیپ مختلف سردسیری به همراه دو رقم نیمه حساس (یزدی) و نیمه مقاوم (نیکشهری) به عنوان شاهد، در سال ۱۳۸۷ در یک آزمایش مزرعه‌ای در سه منطقه گرگان، همدان و زنجان در قالب طرح بلوک‌های کامل تصادفی در چهار تکرار و در یک آزمایش گلخانه‌ای در کرج مورد بررسی قرار گرفتند. بر اساس نتایج مقایسه میانگین داده‌های مربوط به شدت بیماری اکوتوتیپ‌ها در سه منطقه، اکوتوتیپ‌های یزدی و همدانی با میانگین شدت بیماری  $67/4\%$  و  $55/3\%$  حساس، اکوتوتیپ نیکشهری با میانگین شدت بیماری  $18/4\%$  مقاوم و اکوتوتیپ‌های ملک‌کندي و قارقلوق با میانگین شدت بیماری  $26/8\%$  و  $26/3\%$  نیمه مقاوم ارزیابی شدند. سایر اکوتوتیپ‌ها حالت بینایین داشتند. نتایج آزمایش گلخانه‌ای مشابه نتایج آزمایش مزرعه‌ای بود. در آزمایش گلخانه‌ای نیز اکوتوتیپ‌های یزدی و همدانی حساس و اکوتوتیپ‌های نیکشهری، رامندی و قارقلوق مقاوم شناسائی شدند. با توجه به این نتایج اکوتوتیپ‌هایی چون ملک‌کندي، قارقلوق و رامندی به جهت دارا بودن عملکرد و صفات زراعی مناسب و مقاومت به بیماری سفیدک کرکی برای تحقیقات بعدی در جهت معرفی رقم انتخاب شدند.

واژه‌های کلیدی: یونجه، اکوتوتیپ، سفیدک کرکی، شدت بیماری، مقاومت.

## مقدمه

فراوان داشته و لازم است ارقام مناسب کشت در هر منطقه از نظر حساسیت به قارچ عامل بیماری‌هایی از جمله سفیدک کرکی مورد ارزیابی قرار گیرند. عامل بیماری سفیدک کرکی یونجه قارچ (*Peronospora trifoliorum* de Bary) زمستان را به صورت آسپور روی نسوج مرده و یا روی جوانه‌های طوفه یونجه به سرمه برد (Stuterville, 1984). قارچ *P. trifoliorum* مخصوص از نظر میزان‌هایش است. استوتوایل (Stuterville, 1977) توانست با استفاده از کنیدی‌های جدایه‌های مختلف، اختصاصی بودن بیماری‌ای قارچ عامل بیماری را به اثبات رساند و نشان داد که مقاومت ارقام مختلف به این بیماری بستگی به جدایه قارچ مایه‌زنی شده دارد. اسکینر و استوتوایل (Skinner and Stuterville, 1992) ارقام و ژنتیپ‌های یونجه جمع‌آوری شده از پنجاه کشور با دو جدایه قارچ عامل بیماری نشان دادند که میزان مقاومت اختصاصی ارقام مختلف نسبت به یک جدایه قارچ ظاهراً با مناطق جغرافیایی منشاء ژنتیپ آنها در ارتباط نیست. تفاوت ژنتیکی و بیماری‌ای جدایه‌های مختلف عامل بیماری توسط این محققین در سال‌های ۱۹۸۵ و ۱۹۸۸ به اثبات رسید ولی هیچ گونه نژاد مشخصی از این قارچ تاکنون معرفی نشده است (Stuterville, 1988; Skinner and Stuterville, 1985). استوتوایل (Stuterville, 1984) عقیده دارد

یونجه (*Medicago sativa* L.) یکی از مهم‌ترین محصولات علوفه‌ای در جهان به شمار می‌رود (Stuterville and Erwin, 1990) یونجه بهترین محصول علوفه‌ای محسوب می‌شود و به دلیل نیاز روزافروز کشور به مواد غذایی و علوفه برای دامداری‌ها و مرغداری‌ها و ضرورت افزایش تولید آن اجتناب‌ناپذیر است. یکی از عوامل کاهش عملکرد این محصول بیماری سفیدک کرکی یونجه است که در شرایط مساعد بالاخص در فصل بهار و چین اول یونجه گسترش یافته و به صورت اپیدمی درمی‌آید و باعث زرد شدن، خشکیدن و ریزش برگ‌ها می‌شود. این بیماری از اغلب مناطق کشت یونجه در جهان گزارش و با اهمیت شمرده شده است. در ایران اولین بار قارچ عامل بیماری توسط Magnus در سال ۱۲۷۸ در منطقه اهر شناسایی (Behdad, 1990) و از آن به بعد در بیشتر مناطق یونجه خیز کشور گزارش شده است. این بیماری یکی از مهم‌ترین بیماری‌های شایع در مزارع یونجه استان همدان در سال‌های پر باران است (Arjmandian and Hedjaroude, 1998). با توجه به مسئله تغذیه دام‌ها از یونجه و نهایتاً مصرف گوشت و شیر توسط انسان، استفاده از سوم قارچ کش در این محصول باقیستی با دقت و حساسیت فراوان انجام شود. لذا کشت ارقام مقاوم به این بیماری اهمیت

بیماری مقاومت نشان می دادند. امروزه تحقیقات زیادی در مورد مقاومت یونجه به قارچ عامل بیماری سفیدک کرکی انجام شده و توده‌های مقاوم متعددی گزارش شده است. به عنوان مثال، توده KS224 در سال ۱۹۹۴ به عنوان رقم مقاوم نسبت به بسیاری از آفات و بیماری‌های یونجه به ویژه سفیدک کرکی ثبت شده است. این رقم در مقابل جدایه‌های شماره ۷ و ۸ سفیدک کرکی به ترتیب ۸۴ و ۹۰ درصد مقاومت نشان داده است در حالی که مقاومت ارقام شاهد به ترتیب ۱۵٪ و ۵٪ (در رقم Saranac) و ۳٪ و ۰٪ (در رقم Kanza) نسبت به دو جدایه فوق بود (Sorensen *et al.*, 1994). در ایران تحقیقات زیادی در مورد مقاومت ارقام یونجه به بیماری سفیدک کرکی انجام نشده است ولی در تحقیقی که در سال‌های ۱۳۷۴ و ۱۳۷۵ در همدان انجام شد، حساسیت ۱۵ رقم یونجه ایرانی و خارجی بر اساس روش‌های استاندارد مورد مقایسه قرار گرفت. به طور کلی نتایج حاصل از بررسی‌های مزرعه‌ای و آزمایشگاهی حاکی از آن بود که ارقام 2122 و Kisverdai بیشترین سطح مقاومت و ارقام همدانی و یزدی دارای بیشترین سطح حساسیت به قارچ عامل بیماری را داشتند و سایر ارقام بین این دو گروه قرار گرفتند (Arjmandian *et al.*, 1998) نتایج پژوهشی که در همدان و گرگان (آزمایش‌های مزرعه‌ای) و کرج (آزمایش‌های گلخانه‌ای) در سال‌های ۱۳۸۰ تا ۱۳۸۲ بر روی ده رقم خارجی و داخلی انجام شد نشان داد

اغلب ارقام یونجه دارای مقاومت اندکی نسبت به سفیدک کرکی یونجه هستند که می‌توان این مقاومت را در آن‌ها افزایش داد. از طرف دیگر هیچ رقم مقاوم یونجه وجود ندارد که تمامی گیاهان آن به سفیدک کرکی مقاوم باشند بلکه سطوح مختلفی از مقاومت با نسبت‌های متفاوت در این گیاهان قابل ملاحظه است، لذا محققین معمولاً برای مشخص کردن سطوح مقاومت آلودگی گیاهان، کلاس‌ها یا تیپ‌های مختلفی را به صورت قراردادی تعیین کرده‌اند. باسیس و همکاران (Busbice *et al.*, 1972) مراحل مختلف اصلاح ارقام یونجه را برای تهیه ارقام مقاوم شرح داده‌اند. آن‌ها معتقدند که برای گزینش سریع و افزایش مقاومت که نیاز به غربال شدید گیاهان دارد بایستی به طور مصنوعی اپیدمی را در آزمایشگاه به وجود آورد زیرا اپیدمی‌های طبیعی در اغلب نقاط غیر قابل پیش‌بینی هستند و به ندرت به میزان کافی شدید می‌شوند که بتوان گیاهان حساس و مقاوم را تشخیص داد. برای مثال در طی یک اپیدمی شدید طبیعی در مینه سوتا در آمریکا ارزیابی ۳۶ رقم یونجه نشان داد که در بیشتر ارقام حدود ۵۵ درصد بوته‌ها و در رقم Saranac بیش از ۹۰ درصد بوته‌ها عاری از بیماری بودند (Kehr *et al.*, 1978) در صورتی که در شرایط آزمایشگاهی و انجام مراحل آلوده‌سازی گیاهچه‌ها تنها در حدود ۱۶ درصد بوته‌ها فاقد علائم بیماری بودند و برخی ارقام کمتر از یک درصد نسبت به

مناسب جهت توصیه برای معرفی رقم و کشت در مناطق مورد نظر بود.

### مواد و روش‌ها

برای ارزیابی واکنش اکوتیپ‌های یونجه نسبت به بیماری سفیدک کرکی در مزرعه، در شهریور ماه سال ۱۳۸۶ در ایستگاه‌های اکباتان واقع در مرکز تحقیقات کشاورزی همدان، عراقی محله واقع در مرکز تحقیقات کشاورزی گرگان و ایستگاه خیرآباد واقع در مرکز تحقیقات کشاورزی زنجان اکوتیپ‌های مختلف سردسیری یونجه در قالب طرح آماری بلوک‌های کامل تصادفی با چهار تکرار کاشته شدند و از سیستم آبیاری مطابق با سیستم رایج منطقه (آبیاری نشستی) استفاده شد. تیمارها شامل ۱۳ اکوتیپ مختلف سردسیری یونجه بود. این اکوتیپ‌ها پس از جمع آوری از مناطق مختلف به ویژه استان‌های همدان، آذربایجان و لرستان، از نظر عملکرد علوفه و سازگاری به مدت چهار سال در قالب پروژه‌ای جداگانه در موسسه تحقیقات اصلاح و تهیه نهال و بذر مورد ارزیابی قرار گرفته بودند. دو اکوتیپ نیمه حساس (یزدی) و نیمه مقاوم (نیک‌شهری) به بیماری سفیدک کرکی که حساسیت و مقاومت نسبی آن‌ها پیش‌تر در آزمونی جداگانه به اثبات رسیده بود (Rahjoo *et al.*, 2004) (به عنوان شاهد در آزمایش منظور شدند. به منظور افزایش آlundگی بین هر دو اکوتیپ به جای دو ردیف نکاشت، دو ردیف از اکوتیپ یونجه همدانی

که ارقام نیک‌شهری و کیسوردای (Kiseverdai) بیشترین مقاومت نسبی به بیماری سفیدک کرکی و ارقام همدانی و یزدی دارای بیشترین حساسیت نسبی به بیماری بودند (Rahjoo *et al.*, 2004).

در خصوص نحوه مقاومت میزان در برابر سفیدک کرکی یونجه اطلاعات کمی در دسترس است. نتایج تحقیقات متعددی نشان داده که ساپونین‌ها (Saponins) که از گل‌کردهای موجود در برخی گیاهان از جمله یونجه هستند نیز ممکن است در ایجاد مقاومت به سفیدک کرکی یونجه موثر باشند (Stuteville and Skinner, 1987; Berkenkamp, *et al.*, 1978; Leath *et al.*, 1972). بر اساس مشاهدات زیادی که از نظر تفاوت تولید گاز اتیلن از بافت میزان در ارقام حساس و مقاوم به برخی بیماری‌ها وجود دارد، آزمایش‌هایی انجام شده است که در آن تصاعد گاز اتان و اتیلن در گیاهان حساس و مقاوم به بیماری سفیدک کرکی را پس از آlund کردن مصنوعی گیاهچه‌های یونجه مقایسه و نتیجه گرفته اند که مقدار گاز اتیلن آزاد شده از گیاهان حساس ۲ تا ۶ برابر گیاهان مقاوم است (Johnson *et al.*, 1980).

هدف از انجام این تحقیق بررسی واکنش اکوتیپ‌های سردسیری یونجه به بیماری سفیدک کرکی که در اکثر مناطق سردسیر و معتل در برخی فصول سال شایع است، و همچنین تعیین اکوتیپ‌هایی با مقاومت نسبی

۱۰۰ درصد (خیلی حساس) در نظر گرفته شد. نمونه‌برداری از ارقام مورد آزمایش در مزرعه پس از وقوع بارندگی و وجود شرایط مساعد بیماری در بهار و هنگام اوج شدت بیماری در چین اول روی رقم حساس انجام شد. پس از یادداشت‌برداری از شدت آلودگی اکوتیپ‌ها، با استفاده از روش تایر و همکاران (۱۹۷۸) واکنش آن‌ها تعیین شد.

در آزمایش‌های مزرعه‌ای سایر صفات نظیر عملکرد علوفه تر و خشک نیز در هر چین‌برداری در هر سه منطقه اندازه‌گیری و ثبت شدند تا با بررسی این صفات به همراه میزان حساسیت به بیماری سفیدک کرکی اکوتیپ‌های برتر از نظر مقاومت به بیماری و عملکرد برای آزمایش‌های بعدی معرفی رقم گزینش شوند. برای اندازه‌گیری عملکرد علوفه تر در زمان برداشت از دو خط وسط با حذف یک متر از ابتدا و انتهای خط (اثر حاشیه‌ای) علوفه برداشت و توزین شد و عملکرد علوفه در هر پلات (۴ متر مربع) مشخص و این مقدار به عملکرد به واحد تن در هکتار تبدیل شد. برای اندازه‌گیری علوفه خشک از یک متر مربع از دو خط وسط هر کرت یک نمونه علوفه تر به طور تصادفی جدا کرده و درون پاکت‌های مجزا در آون با دمای ۷۵ درجه سانتی‌گراد به مدت ۴۸ ساعت قرار داده شدند تا خشک شوند. سپس این مقدار علوفه خشک توزین و به صورت تن در هکتار تبدیل شد. در انتهای فصل زراعی میانگین داده‌های مربوط به کل چین‌ها و چین اول که با

که حساس به بیماری شناخته شده است (Arjmandian *et al.*, 1998) به عنوان پخش‌کننده بیماری (Spreader) کاشته شد. بذر مورد نیاز از بخش تحقیقات ذرت و گیاهان علوفه‌ای موسسه تحقیقات اصلاح و تهیه نهال و بذر کرج دریافت شد.

در بازدیدهای متوالی از تیمارهای آزمایش در سال ۱۳۸۷، پس از مشاهده علائم و آلودگی شدید بیماری سفیدک کرکی در کرت‌های آزمایش بر روی بوته‌های رقم حساس یا پخش‌کننده بیماری (اکوتیپ همدانی) در طول فصل زراعی نمونه‌برداری از دو خط وسط هر یک از تیمارهای آزمایش انجام شد و ده ساقه به صورت تصادفی از هر خط چیده و در مجموع ۲۰ ساقه برداشت شده از هر کرت در داخل کیسه پلاستیکی قرار گرفته و به آزمایشگاه منتقل شد. میزان آلودگی ارقام براساس صفت شدت بیماری (Disease severity) (روی برگ‌ها تعیین و تیپ آلودگی آن‌ها مطابق با روش تایر و همکاران (Thyr *et al.*, 1978) بر مبنای درصد آلودگی برگ‌ها، در پنج کلاس مختلف ۰ تا ۴ تعیین شد به طوری که کلاس صفر معرف عدم هرگونه علائم بیماری در برگ‌ها (مصلون)، کلاس یک معرف وجود آلودگی بین ۰ تا ۲۵ درصد (مقاوم)، کلاس دو معرف وجود آلودگی بین ۲۵ تا ۵۰ درصد (نیمه حساس یا نیمه مقاوم)، کلاس سه معرف وجود آلودگی بین ۵۰ تا ۷۵ درصد (حساس)، کلاس چهار معرف وجود آلودگی بین ۷۵ تا

میلی لیتر آب مقطر استریل به کمک لام هماستیومتر، روی گیاهچه‌های یونجه هفت روزه مه‌پاشی شدند (اسپورپاشی گیاهچه‌ها به گونه‌ای بود که یک قطره سوسپانسیون در بین کوتیلودون‌ها تجمع یابد). برای ایجاد آلودگی، گیاهچه‌ها با پلاستیک پوشانده و ۱۶ ساعت در تاریکی قرار گرفتند و سپس پلاستیک‌ها را برداشته و جهت اسپورزائی قارچ، گلدان‌ها در فتوپریود ۸ ساعت و دمای ۲۰ و ۲۰ درجه سانتی گراد قرار گرفتند. پس از گذشت پنج روز روی گلدان‌ها را مجدداً با پلاستیک پوشانده و چراغ‌ها به مدت ۱۶ ساعت خاموش شدند. پس از ظهرور علائم بیماری بر روی گیاهچه‌ها ارزیابی مقاومت گیاهچه‌ها در ارقام مورد آزمون با تعیین درصد گیاهان فاقد آلودگی (Symptomless) مطابق با روش استوتوایل (Stuteville, 1984) انجام شد.

## نتایج و بحث

در بررسی‌های مزرعه‌ای با مشاهده اولین علائم بیماری در مناطق، با مطالعه علائم ماکروسکوپی روی برگ‌ها و ساقه‌ها در مزرعه و بررسی میکروسکوپی و مشاهده کنیدی‌ها و کنیدیوفورها، قارچ Peronospora trifoliorum بیماری سفیدک کرکی یونجه در مناطق مورد بررسی شناسائی شد. پس از بررسی دقیق برگ‌های مربوط به ساقه‌های چیده شده، شدت بیماری برای هر اکوئیپ مشخص شد که

بیماری همراه بود نیز جهت بررسی تاثیر بیماری به طور جداگانه در جدول‌های مربوطه ثبت شدند. تجزیه آماری داده‌ها با استفاده از نرم‌افزار MSTATC و رسم شکل‌ها با استفاده از نرم‌افزار Excel انجام شدند و مقایسه میانگین داده‌ها از طریق آزمون چند دامنه‌ای دانکن به دست آمد.

ارزیابی واکنش اکوئیپ‌های یونجه نسبت به بیماری در گلخانه موسسه تحقیقات اصلاح و تهیه نهال و بذر کرج و براساس روش استوتوایل (Stuteville, 1984) انجام شد. در این بررسی گلخانه‌ای از ۱۵ اکوئیپ یونجه در چهار تکرار استفاده شد و در هر تکرار ده بوته برای هر رقم در نظر گرفته شد. پس از کاشت بذر اکوئیپ‌های یونجه در عمق ۰/۸ سانتی‌متری خاک پاستوریزه، گلدان‌های پلاستیکی در گلخانه با دمای ۲۰ درجه سانتی گراد و ۸۵-۸۰٪ رطوبت نسبی در معرض نور فلورسنت با شدت ۱۰۰۰-۱۰۰۰۰ لوکس و فتوپریودی ۱۶-۱۲ ساعت نگهداری شدند. گلدان‌ها روزی ۱ الی ۲ مرتبه آبیاری شدند. برای تهیه سوسپانسیون اسپور از برگ‌های دارای اسپور جدایه‌های مختلف منطقه زنجان که تازه از مزرعه به آزمایشگاه منتقل شده بودند استفاده شد بدین ترتیب که برگ‌های اسپوردار در ظرف محتوى آب مقطر استریل و آنتی‌بیوتیک تتراسیکلین (۱۰ میکروگرم در میلی‌لیتر) منتقل و ظرف به شدت تکان داده شد تا اسپورها جدا شوند. سوسپانسیون اسپور پس از تنظیم غلظت به میزان ۱۰<sup>۵</sup> کنیدی در هر

بیماری و واکنش آنها در شرایط مزرعه در هر یک از مناطق در جدول ۳ نشان داده شده است.

خلاصه تجزیه واریانس داده‌های در جدول ۱ و نتایج تجزیه واریانس مرکب مربوط به داده‌های سه منطقه در جدول ۲ درج شده است. مقایسه میانگین تیمارها از نظر شدت

جدول ۱- تجزیه واریانس ساده شدت بیماری اکوتیپ‌های یونجه آلوده به سفیدک کرکی در آزمایش مزرعه‌ای در مناطق مختلف

Table 1. Analysis of variance for disease severity on alfalfa ecotypes infected with downy mildew in field experiments in different locations

| S.O.V.      | منابع تغییرات     | درجه آزادی | میانگین مربعات |            |           |
|-------------|-------------------|------------|----------------|------------|-----------|
|             |                   |            | زنجان          | همدان      | گرگان     |
| Replication | تکرار             | 3          | 251.53         | 642.78     | 382.50    |
| Ecotype     | اکوتیپ            | 14         | 378.09 **      | 1094.46 ** | 798.16 ** |
| Error       | خطا               | 42         | 82.78          | 75.81      | 66.22     |
| C.V. (%)    | درصد ضریب تغییرات |            | 25.93          | 19.14      | 21.81     |

\*\*: Significant at 1% probability level. . \*\*: اختلاف معنی دار در سطح احتمال ۱٪.

جدول ۲- تجزیه واریانس مرکب شدت بیماری در اکوتیپ‌های یونجه آلوده به سفیدک کرکی در آزمایش مزرعه‌ای در سه منطقه زنجان، همدان و گرگان

Table 2. Analysis of variance for disease severity on alfalfa ecotypes infected with downy mildew in field experiments in Zanjan, Hamadan and Gorgan

| S.O.V.       | منابع تغییرات     | درجه آزادی | میانگین مربعات |     |
|--------------|-------------------|------------|----------------|-----|
|              |                   |            | df.            | M S |
| Location (L) | مکان              | 2          | 1804.62 *      |     |
| R (L)        | تکرار درون مکان   | 9          | 425.60         |     |
| Ecotype (A)  | اکوتیپ            | 14         | 1780.84 **     |     |
| L×A          | مکان × اکوتیپ     | 28         | 244.94 **      |     |
| Error        | خطا               | 126        | 74.94          |     |
| C.V. (%)     | درصد ضریب تغییرات |            | 22.03          |     |

\*\* و \*: به ترتیب اختلاف معنی دار در سطح احتمال ۱٪ و ۵٪.

\*\* and \*: Significant at 1% and 5% probability levels, respectively.

وجود داشت (جدول ۱) در مجموع اکوتیپ‌های یزدی و همدانی به ترتیب با میانگین شدت بیماری ۴۶/۳٪ و ۴۶/۵٪ به عنوان

نتایج حاصل از ارزیابی‌های مزرعه‌ای در زنجان نشان داد که بین تیمارها از نظر آماری تفاوت معنی داری از نظر میزان شدت بیماری

### جدول ۳- مقایسه میانگین شدت بیماری سفیدک کر کی اکو تیپ های مختلف یونجه در ارزیابی مزرعه ای

Table 3. Mean comparison for disease severity of downy mildew on different alfalfa ecotypes in field

| Ecotype        | اکو تیپ          | زنگان   | همدان   | گرگان    | میانگین کل | واکنش    |
|----------------|------------------|---------|---------|----------|------------|----------|
|                |                  | Zanjan  | Hamedan | Gorgan   | Mean       | Response |
| Chaleshtor     | چالشتر           | 25.0cd  | 27.5d   | 32.0bcde | 28.2def    | MS       |
| Kozareh        | کوزره            | 31.3bcd | 37.5cd  | 38.0bcd  | 35.6cde    | MS       |
| Sadaghian      | صدقیان           | 21.9cd  | 38.8cd  | 40.8bc   | 33.8cde    | MS       |
| Famanein       | فامین            | 27.5cd  | 43.8bcd | 48.0ab   | 39.8bcd    | MS       |
| Ghargoloogh    | قارقلوق          | 23.1cd  | 35.0cd  | 22.3def  | 26.8ef     | MR       |
| Ghahavand      | قهاووند          | 25.0cd  | 60.0b   | 36.3bcde | 40.4bc     | MS       |
| Malek Kandi    | ملک کندی         | 20.6cd  | 38.8cd  | 19.5ef   | 26.3ef     | MR       |
| Mohajeran      | مهاجران          | 33.1bc  | 51.3bc  | 37.5bcd  | 40.6bc     | MS       |
| Hamedani       | همدانی           | 46.3ab  | 61.3b   | 58.3a    | 55.3ab     | S        |
| Yazdi          | یزدی             | 50.0a   | 88.8a   | 63.5a    | 67.4a      | S        |
| Nikshahri      | نیک شهری         | 16.3d   | 28.8d   | 10.0f    | 18.4f      | R        |
| Ramandi        | رامندی           | 31.9bc  | 28.8d   | 40.0bc   | 33.6cde    | MS       |
| Khankhodi      | خانخدوی          | 31.9bc  | 43.8bcd | 49.5ab   | 41.7abc    | MS       |
| Azarshahri     | آذر شهری         | 27.5cd  | 37.5cd  | 29.5cde  | 31.5de     | MS       |
| Siahe Lorestan | سیاه بومی لرستان | 35.7bc  | 61.3b   | 34.8bcde | 43.9abc    | MS       |

میانگین ها با حروف مشابه در هر ستون فاقد اختلاف معنی دار در سطح احتمال ۱٪ هستند (آزمون چند دانمنه دانکن)

Means with similar letters in each column are not significantly different at 1% probability level (Duncan's multiple range test).

R: مقاوم؛ MR: نیمه مقاوم؛ MS: نیمه حساس؛ S: حساس.

R: Resistant; MR: Moderately resistant; MS: Moderately susceptible; S: Susceptible.

### (جدول ۳).

نتایج حاصل از ارزیابی های مزرعه ای مقایسه شدت آلودگی اکو تیپ ها در همدان بیانگر آن بود که بین تیمارها از نظر آماری تفاوت معنی داری از نظر شدت بیماری وجود داشت (جدول ۱). اکو تیپ چالشتر کمترین شدت آلودگی در بین اکو تیپ های مورد آزمون را داشت و اکو تیپ های نیک شهری و رامندی در رتبه های بعدی قرار گرفتند. اکو تیپ های کوزره، صدقیان، قارقلوق و

اکو تیپ های حساس و اکو تیپ های نیک شهری، ملک کندی و صدقیان به ترتیب با میانگین شدت بیماری ۱۶/۳٪، ۲۰/۷٪ و ۲۱/۹٪ به عنوان اکو تیپ های مقاوم تعیین شدند (جدول ۳)، بنابراین به غیر از اکو تیپ نیک شهری که یک اکو تیپ گرسیری بوده و به عنوان شاهد مقاوم به بیماری استفاده شد، اکو تیپ های ملک کندی و صدقیان به عنوان اکو تیپ های برتر از نظر مقاومت به بیماری سفیدک کر کی در منطقه زنجان تعیین شدند

مقاومت بالائی نسبت به بیماری برخوردار بودند. نتایج به دست آمده در این مورد به غیر از اکوتیپ گرمیسری نیک‌شهری که به عنوان شاهد مقاوم مورد استفاده قرار گرفته بود، با نتایج به دست آمده از آزمایش همدان مطابقت زیادی نداشت ولی اکوتیپ ملک‌کندي که در زنجان مقاوم به بیماری نشان داده بود در گرگان نیز از مقاومت نسبی مناسبی برخوردار بود. علی‌رغم تفاوت در رتبه‌بندی، اکثر اکوتیپ‌ها در دو آزمایش همدان و گرگان تقریباً در صدھای مشابھی از آلدگی نشان دادند ولی تنها تفاوت بارز مربوط به اکوتیپ‌های قهاؤند و سیاه بومی لرستان بود که هر دو در همدان حساسیت نسبتاً بالاتری نسبت به گرگان نشان دادند که این تفاوت می‌تواند از تفاوت بیماریزائی جدایه گرگان با همدان و یا تفاوت در شرایط محیطی تاثیرگذار بر بیماری ناشی شود.

از آن‌جا که همگن بودن واریانس تیمارها با استفاده از آزمون لیون (Leven's Test) به کمک نرم‌افزار Minitab ver. 14 اثبات شده بود، می‌توان با مقایسه میانگین شدت بیماری برای هر اکوتیپ در سه منطقه همدان، گرگان و زنجان (جدول ۳) نتیجه گرفت که در اکثر اکوتیپ‌ها میزان ایتلا به بیماری و شدت بیماری مشاهده شده بر مبنای درصد آلدگی برگ‌ها به جز چند مورد مشابهت وجود داشته اگرچه رتبه‌بندی اکوتیپ‌ها در هر منطقه اندکی متفاوت با مناطق دیگر بود که این تفاوت‌ها طبیعی به نظر رسیده و می‌تواند در اثر عوامل

ملک‌کندي نیز دارای مقاومت نسبی قابل قبولی به قارچ عامل بیماری بودند ولی اکوتیپ‌های یزدی (تیپ آلدگی ۴)، سیاه بومی لرستان، همدانی و قهاؤند (تیپ آلدگی ۳) حساسیت نسبتاً زیادی به قارچ عامل بیماری نشان دادند. سایر اکوتیپ‌ها بین دو گروه فوق قرار گرفتند. نتایج به دست آمده در این آزمایش در ارتباط با برخی اکوتیپ‌ها که در آزمون‌های پیشین مورد استفاده قرار گرفته بودند مؤید نتایج به دست آمده در تحقیقات قبلی (Arjmandian and Hedjaroude, 1998) (Rahjoo *et al.*, 2004) با تغییرات اندکی در رتبه‌بندی تیپ آلدگی آن‌ها بود. تفاوت‌های موجود بین نتایج این تحقیق و تحقیقات پیشین را می‌توان مرتبط به تنوع جدایه‌هایی دانست که بیماری را در زمان ارزیابی هر آزمون موجب شده‌اند.

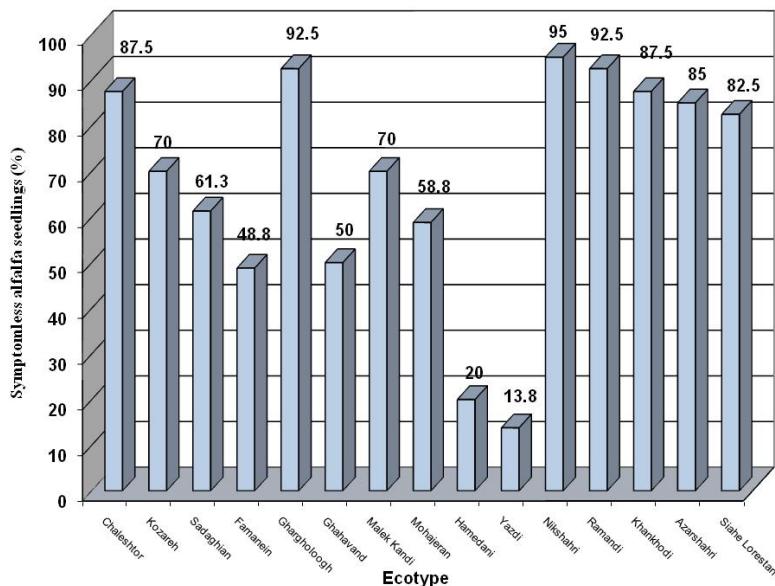
نتایج به دست آمده در گرگان بیانگر آن بود که بین تیمارها از نظر آماری تفاوت معنی‌داری از نظر شدت بیماری وجود داشت (جدول ۱). اکوتیپ‌های یزدی و همدانی به ترتیب با ۶۳/۵٪ و ۵۳/۸٪ میانگین شدت آلدگی حساس‌ترین اکوتیپ‌ها شناخته شدند. اکوتیپ‌های خانخودی و فامینین نیز اگرچه در کلاس ۲ از نظر آلدگی به بیماری قرار گرفتند ولی با توجه به میانگین درصد آلدگی برگ‌ها (شدت بیماری) می‌توان به حساسیت نسبتاً بالا در این اکوتیپ‌ها پی برد. در مقابل اکوتیپ‌های نیک‌شهری، ملک‌کندي و قارقلوق به ترتیب با ۱۰٪، ۱۹/۵٪ و ۲۲/۳٪ از

همدانی و سیاه بومی لرستان به ترتیب با میانگین شدت بیماری  $4/67\%$ ،  $3/55\%$  و  $9/43\%$  بیشترین حساسیت به بیماری و اکوتیپ‌های نیک شهری، ملک کندی و قارقلوق به ترتیب با  $4/18\%$ ،  $8/26\%$  و  $3/26\%$  بیشترین مقاومت را به بیماری داشتند و سایر اکوتیپ‌ها از حساسیت یا مقاومت نسبی بین مقادیر ذکر شده فوق برخوردار بودند.

نتایج بررسی آلودگی اکوتیپ‌های یونجه در آزمون گلخانه‌ای پس از مشاهده علائم و تعیین درصد گیاهچه‌های فاقد آلودگی برای هر اکوتیپ در شکل ۱ نشان داده شده است. این نتایج نشان می‌دهد که در آزمون گلخانه‌ای اکوتیپ‌های یزدی، همدانی با دارا بودن کمترین درصد گیاهچه‌های فاقد علائم بیماری (به ترتیب با  $13/8\%$  و  $20\%$  درصد) حساسیت بالاتری نسبت به بیماری در مقایسه با سایر اکوتیپ‌های نشان داده و اکوتیپ‌های نیک شهری، قارقلوق و رامندی با کمترین بروز علائم بیماری و یا به عبارتی با دارا بودن بیشترین درصد گیاهچه‌های فاقد علائم (به ترتیب با  $92/5\%$  و  $95\%$  درصد) مقاومت خوبی را نسبت به بیماری در شرایط گلخانه‌ای نشان دادند. بقیه ارقام نیز حساسیت نسبی به بیماری نشان دادند. نتایج آزمون گلخانه‌ای (با جدایه زنجان) تا اندازه‌ای با نتایج حاصل از آزمایش مزرعه‌ای در زنجان (به جز اکوتیپ رامندی که حساسیت نسبی در مزرعه نشان داد) مشابهت نشان داد به طوری که میزان همبستگی مثبت و نسبتاً بالائی بین این دو

مختلفی چون تفاوت در بیماریزائی جدایه‌های قارچ عامل بیماری در سه منطقه، تفاوت در فشار اپیدمیولوژیکی هر منطقه و شرایط محیطی حاکم در زمان گسترش بیماری و دیگر عوامل دخیل در پیشرفت بیماری ایجاد شود. در این میان اکوتیپ‌های سیاه بومی لرستان و قهاآند با بروز حساسیت بیشتر به ترتیب با شدت آلودگی  $3/61\%$  و  $60\%$  در منطقه همدان تفاوت بارزتری نسبت به میزان شدت بیماری در دو منطقه دیگر نشان دادند.

نتایج تجزیه واریانس مرکب (جدول ۲) داده‌های مربوط به میانگین شدت بیماری اکوتیپ‌ها در سه منطقه آزمایشی مشخص کرد که بین تیمارهای آزمون یعنی اکوتیپ‌ها با احتمال بیش از  $99\%$  تفاوت معنی‌دار از نظر واکنش به بیماری وجود دارد ولی تفاوت معنی‌داری بین مناطق آزمایش از این نظر مشاهده نشد. به عبارت دیگر در هر سه منطقه شرایط مناسب برای بررسی واکنش اکوتیپ‌ها نسبت به بیماری وجود داشته و بررسی بیماری در هر یک از مناطق یاد شده امکان پذیر است. بدیهی است جهت حصول نتایج کامل تر در این زمینه نیاز به تکرار ارزیابی‌ها در تحقیقات تکمیلی که منجر به معرفی رقم می‌شوند است تا با در دست داشتن داده‌های بیشتر ارزیابی مطمئن‌تر و بهتری در این زمینه ارائه شود. نتایج بررسی و مقایسه میانگین داده‌های مربوط به شدت بیماری اکوتیپ‌ها در سه منطقه آزمایشی (جدول ۳) نشان داد که در مجموع از میان ۱۵ اکوتیپ تحت بررسی، اکوتیپ‌های یزدی،



شکل ۱- مقایسه درصد گیاهچه‌های فاقد علائم در اکو-تیپ‌های مختلف یونجه پس از آسودگی مصنوعی به بیماری سفیدک کرکی در آزمون گلخانه‌ای

Fig. 1. Comparison of symptomless seedlings percentage of different alfalfa ecotypes after artificial inoculation with downy mildew disease in greenhouse test

جدول‌های ۴ و ۵، و نتایج مقایسه میانگین صفات فوق در چین اول و مجموع چین‌ها برای کل مناطق در جدول ۶ درج شده است. در مجموع با مراجعه به جدول ۴ که خلاصه تجزیه واریانس مرکب صفات زراعی اکو-تیپ‌ها در هر سه منطقه است و با مشاهده و مقایسه میانگین داده‌ها در جدول ۶ چنین نتیجه گرفته می‌شود بین تیمارها از نظر صفات فوق تفاوت معنی‌دار در سطح ۱٪ وجود داشت. در مجموع در کل مناطق مورد بررسی از نظر عملکردتر، اکو-تیپ‌های مهاجران و ملک‌کندی به ترتیب با ۱۹/۲ و ۱۹/۱ تن در هکتار در چین اول و اکو-تیپ‌های مهاجران، همدانی و ملک‌کندی به ترتیب با ۵۴/۳، ۵۵/۶ و ۵۳/۷ تن در هکتار در مجموع عملکرد اکو-تیپ‌های برتر بودند (جدول ۶). در این میان اکو-تیپ‌های نیک‌شهری، خان‌خودی و یزدی

آزمون مشاهده شد ( $r = +0.78$ ). از طرفی این نتایج با نتایج به دست آمده در تحقیقات قبلی (Arjmandian and Hedjaroude, 1998) Rahjoo et al., 2004 مشابهت دارد.

به منظور بررسی صفات زراعی مهم اکو-تیپ‌ها در کنار صفت تحمل به بیماری سفیدک کرکی و بررسی ارتباط آن‌ها، صفات زراعی نظری عملکرد علوفه تر و خشک در هر چین‌برداری در هر سه منطقه اندازه‌گیری و ثبت شدند. از آن‌جا که بیماری عمده‌تاً در فصل بهار و پیش از چین‌برداری اول وقوع یافته و در مزرعه مشاهده می‌شود، داده‌های مربوط به چین اول از اهمیت بیشتری برخوردار بوده و در کنار داده‌های مربوط به سایر چین‌ها (مجموع چین‌ها) در جدول‌های مربوطه ثبت شدند. نتایج مربوط به تجزیه واریانس مرکب عملکرد در چین اول و در چین‌های مختلف در

**جدول ۴- تجزیه واریانس مرکب مربوط به عملکرد علوفه تر و خشک اکو-تیپ‌های یونجه در سه منطقه زنجان، همدان و گرگان**

Table 4. Combined analysis of variance for fresh and dry forage yield of alfalfa ecotypes in three locations Zanjan, Hamedan and Gorgan

| S.O.V.       | منابع تغییرات     | درجه آزادی  | میانگین مربعات MS |             |              |           |
|--------------|-------------------|-------------|-------------------|-------------|--------------|-----------|
|              |                   |             | چین اول           |             | مجموع عملکرد |           |
|              |                   |             | First cutting     | Total yield | عملکرد خشک   | عملکرد تر |
| Fresh yield  | Dry yield         | Fresh yield | Dry yield         |             |              |           |
| Location (L) | مکان              | 2           | 1804.62*          | 145.319**   | 9994.414**   | 381.531** |
| Error        | خطا               | 9           | 26.967            | 0.934       | 178.858      | 4.241     |
| Ecotypes(A)  | اکو-تیپ           | 14          | 116.278**         | 6.883**     | 452.517**    | 33.596**  |
| L×A          | مکان × رقم        | 28          | 14.277**          | 1.634**     | 69.436**     | 8.361**   |
| Error        | خطا               | 126         | 9.524             | 0.509       | 43.188       | 2.300     |
| C.V. (%)     | درصد ضریب تغییرات |             | 19.53             | 20.24       | 13.44        | 14.92     |

\* و \*\*: به ترتیب اختلاف معنی دار در سطح احتمال ۵٪ و ۱٪

\* and \*\* : Significant at 5% and 1% probability levels, respectively.

**جدول ۵- تجزیه واریانس مرکب عملکرد علوفه تر و خشک اکو-تیپ‌های یونجه در چین‌های مختلف در سه منطقه**

Table 5. Combined analysis of variance for fresh and dry forage yield on alfalfa ecotypes in different cuttings in three locations

| S.O.V.       | منابع تغییرات        | درجه آزادی | میانگین مربعات MS |           |
|--------------|----------------------|------------|-------------------|-----------|
|              |                      |            | عملکرد خشک        | عملکرد تر |
| Location (L) | مکان                 | 2          | 79.596**          | 357.699** |
| Cutting (C)  | چین                  | 4          | 1361.346**        | 35.501**  |
| C × L        | مکان × چین           | 4          | 199.715**         | 9.814**   |
| R (C × L)    | تکرار (مکان × چین)   | 33         | 18.263            | 0.776     |
| Ecotype (E)  | اکو-تیپ              | 14         | 120.417**         | 10.233**  |
| L × E        | مکان × اکو-تیپ       | 28         | 22.943**          | 3.095**   |
| C × E        | چین × اکو-تیپ        | 56         | 19.696**          | 1.114**   |
| E × C × L    | اکو-تیپ × مکان × چین | 56         | 8.007**           | 0.712**   |
| Error        | خطا                  | 462        | 7.332             | 0.349     |
| C.V. (%)     | درصد ضریب تغییرات    |            | 20.310            | 21.300    |

\*\*: Significant at 1% probability level.

\*: اختلاف معنی دار در سطح احتمال ۱٪

ملک کنندی به ترتیب با ۴/۲ و ۴/۱ تن در هکتار در چین اول و همدانی با ۱۱/۷ تن در هکتار در مجموع چین‌ها

کمترین میزان عملکرد را هم در چین اول و هم در مجموع چین‌ها دارا بودند. از نظر عملکرد خشک نیز اکو-تیپ‌های مهاجران و

**جدول ۶- مقایسه میانگین عملکرد علوفه تر و خشک اکو-تیپ‌های یونجه در آزمایش مزرعه‌ای در سه منطقه**

Table 6. Mean comparison of fresh and dry forage yield of alfalfa ecotypes in field experiment in three locations

| Ecotype        | اکو-تیپ     | مجموع عملکرد                                    |  | چین اول   |  |
|----------------|-------------|---|--|---|--|
|                |             | Total yield                                     |  | First cutting                                   |  |
|                |             | عملکرد خشک<br>Dry yield<br>(tha <sup>-1</sup> ) | عملکرد تر<br>Fresh yield<br>(tha <sup>-1</sup> ) | عملکرد خشک<br>Dry yield<br>(tha <sup>-1</sup> ) | عملکرد تر<br>Fresh yield<br>(tha <sup>-1</sup> ) |
| Chaleshtor     | چالشتر      | 9.9d  | 50.4abc  | 3.5b  | 16.4abc  |
| Kozareh        | کوزره       | 11.2abcd  | 52.2abc  | 3.9ab   | 16.3bcd  |
| Sadaghian      | صدقیان      | 11.5abc   | 53.0abc  | 4.0ab   | 17.6abc  |
| Famanein       | فامنین      | 10.6abcd  | 47.3c  | 3.9ab   | 16.0c  |
| Ghargholoogh   | قارقلوق     | 10.4abcd  | 50.6abc  | 3.7ab   | 16.5abc  |
| Ghahavand      | قهووند      | 11.6ab  | 51.1abc  | 3.8ab   | 15.7c  |
| Malek Kandi    | ملک کندی    | 11.1abcd  | 53.7ab   | 4.1ab   | 19.1ab   |
| Mohajeran      | مهاجران     | 11.5ab  | 55.6a  | 4.2a  | 19.2a  |
| Hamedani       | همدانی      | 11.7a   | 54.3ab   | 3.9ab   | 17.5abc  |
| Yazdi          | یزدی        | 8.3e  | 40.8d  | 2.5c  | 11.6d  |
| Nikshahri      | نیک شهری    | 6.2f  | 34.2e  | 1.7d  | 8.4e   |
| Ramandi        | رامندی      | 10.2bcd   | 49.7abc  | 3.7ab   | 18.4abc  |
| Khankhodi      | خانخودی     | 7.1ef   | 39.1de   | 2.2cd   | 10.9d  |
| Azarshahri     | آذر شهری    | 10.1cd  | 49.1bc   | 3.6ab   | 15.9c  |
| Siahe Lorestan | سیاه لرستان | 10.7abcd  | 52.2abc  | 3.9ab   | 17.5abc  |

میانگین‌ها با حروف مشترک در هر ستون فقد اختلاف معنی‌دار در سطح احتمال ۵٪ هستند (آزمون چند دامنه دانکن).

Means with similar letters in each column are not significantly different at 5% probability level (Duncan's multiple range test).

شاهد حساس و مقاوم به بیماری مورد استفاده قرار گرفتند از نظر عملکرد وضعیت چندان مناسبی نداشته و در مقایسه با سایر اکو-تیپ‌ها در برخی مناطق پائین‌ترین سطح را به خود اختصاص دادند. از آن جا که این اکو-تیپ‌ها گرسیری هستند می‌توان فرض کرد که به دلیل عدم سازگاری در مناطق سردسیری عملکرد بالائی نداشته‌اند و در این راستا

اکو-تیپ‌های برتر بودند. با توجه به نتایج حاصله می‌توان گفت که رابطه‌ای مشخص و قابل توجه بین حساسیت به بیماری و عملکرد وجود نداشت به گونه‌ای که مثلاً اکو-تیپ همدانی و یزدی که هردو به بیماری حساس بودند از نظر عملکرد رفتار متفاوتی نشان دادند. به نظر می‌رسد اکو-تیپ‌های یزدی و نیک شهری که به عنوان

چین برداری و رشد مجدد بوته‌ها در ماههای بعدی که بیماری وجود ندارد اثر افت عملکرد جبران می‌شود. با این توضیح به نظر می‌رسد در اغلب موارد و مناطق کشت یونجه صرف زمان و هزینه برای مقابله با این بیماری در اولویت نباشد، اما با توجه به این که مناطق یادشده و دیگر مناطقی که شرایط شیوع بیماری را به واسطه شرایط آب و هوایی خود دارند در صورت مساعد شدن شرایط محیطی و افزایش بارندگی حتی پس از چین اول ممکن است با پیشرفت بیماری و خسارت شدید رو برو شوند، استفاده از اکوتیپ‌هایی مانند ملک کندي، رامندی و صدقیان که علاوه بر دارا بودن عملکرد مناسب به بیماری نیز مقاوم هستند در کنار سایر روش‌های کنترل بیماری توصیه و پیشنهاد می‌شود در آزمون‌های نهائی و انتخاب لاین‌های امیدبخش که منجر به معرفی رقم می‌شود این موضوع مورد توجه قرار گیرد. همچنین استفاده از اکوتیپ‌هایی نظیر نیک‌شهری و ملک کندي در بررسی‌های ژنتیکی که نوع و نحوه توارث ژن‌های مقاوم به بیماری را مطالعه می‌کنند می‌تواند مفید باشد.

#### سپاسگزاری

بدینوسیله از همکاری آقایان مهندس جهانبخش سوری و مهندس غلامرضا طاهریون به خاطر همکاری در انجام این تحقیق تشکر و قدر دانی می‌شود.

سازگاری اکوتیپ به شرایط منطقه از اهمیت بیشتری نسبت به حساسیت یا مقاومت به بیماری برخوردار بوده و تاثیر بیشتری بر عملکرد داشته است، به طوری که اکوتیپ‌های مهاجران و همدانی به دلیل سازگاری بهتر و پتانسیل‌های بیشتر علی رغم حساسیت نسبی به بیماری عملکرد مناسبی در اکثر مناطق داشته‌اند. در این میان اکوتیپ ملک کندي و پس از آن اکوتیپ‌های رامندی و صدقیان و حتی قارقلوق را می‌توان به عنوان اکوتیپ‌هایی که هم مقاومت خوبی به بیماری سفیدک داخلی یونجه داشته و هم از عملکرد مناسبی برخوردارند معرفی کرد، به عبارت بهتر معرفی ارقام پرمحصول در عین حال مقاوم به بیماری معقول به نظر می‌رسد.

در یک نتیجه‌گیری کلی می‌توان گفت که اکوتیپ‌های قره یونجه (مانند ملک کندي، قارقلوق، آذرباقی و صدقیان) مقاومت بیشتری به قارچ عامل بیماری سفیدک کرکی یونجه در مقایسه با اکوتیپ‌های همدانی (مانند همدانی، مهاجران، قهاروند و فامین) نشان داده‌اند. این نتایج می‌تواند مورد استفاده متخصصان اصلاح نباتات برای انتخاب اکوتیپ‌های قره یونجه به عنوان منابع دارای مقاومت به بیماری سفیدک کرکی و انتقال این صفت به ارقام موردنظر قرار گیرد.

از آن‌جا که بیماری معمولاً در اوایل بهار که مصادف با چین اول در مناطق مورد آزمایش است شیوع پیدا می‌کند، چین اول بیشتر تحت تاثیر بیماری قرار می‌گیرد ولی با

## References

- Arjmandian, A., and Hedjaroude, G. 1998.** Study on alfalfa downy mildew disease and climatical conditions affecting the epidemics of disease in Hamedan province. Proceedings of the 13rd Iranian Plant Protection Congress, Karaj, Iran. Page 95 (in Persian).
- Arjmandian, A., Sharifi Tehrani, A., and Okhovvat, S. M. 1998.** Susceptibility of 15 alfalfa cultivars to downy mildew disease in laboratory and field conditions. Proceedings of the 13rd Iranian Plant Protection Congress, Karaj, Iran. Page 96 (in Persian).
- Behdad, E. 1990.** Diseases of Crop Plants in Iran. Neshat Publications, Isfahan, Iran. 425 pp. (in Persian).
- Berkenkamp, B., Folkins, L. P., and Meeres, J. 1978.** Resistance of alfalfa cultivars to downy mildew. Canadian Journal of Plant Science 58: 893-894.
- Busbice, T. H., Hill, R. R. Jr., and Carnahan, H. L. 1972.** Genetics and breeding procedures. pp. 283-318. In: Hanson, C. H. (ed.) Alfalfa Science and Technology. American Society of Agronomy, Wisconsin, USA.
- Johnson, L. B., Davis, L.C., and Stuterville, D. L. 1980.** Ethane and ethylene evolution from alfalfa seedling infected with *Peronospora trifoliorum*. Physiological Plant Pathology 16: 155-162.
- Kehr, W. F. 1978.** Multiple pest resistance in alfalfa. Agricultural Research, USA 26 (10): 3-4 .
- Leath, K. T., Davis, K. H., Wall, Jr. M. E., and Hanson, C. H. 1972.** Vegetative growth responses of alfalfa pathogens to saponin and other extracts from alfalfa (*Medicago sativa* L.). Crop Science 12: 851-856.
- Rahjoo, V., Moghaddam, A., Mosavat, A., Mazaheri-Laghab, H., and Arjmandian, A. 2004.** Study on the resistance of different alfalfa cultivars to downy mildew disease. Proceedings of the 16<sup>th</sup> Iranian Plant Protection Congress, Tabriz, Iran. Page 126 (in Persian).
- Skinner, D. Z., and Stuterville, D. L. 1985.** Genetics of host-parasite interactions

- between alfalfa and *Peronospora trifoliorum*. Phytopathology 75: 119–121.
- Skinner, D. Z., and Stuterville, D. L. 1992.** Geographical variation in alfalfa accessions for resistance to two isolates of *Peronospora trifoliorum*. Crop Science 32: 1467-1470.
- Sorensen, E. L., Stuterville, D. L., Horber, E. K., and Skinner, D. Z. 1994.** Registration of KS224 glandular-haired alfalfa germplasm with multiple pest resistance. Crop Science 34:544.
- Stuterville, D. L. 1977.** Antibiotics that selectively inhibit bacteria and fungi antagonistic to *Peronospora trifoliorum*. Proceedings of the American Phytopathological Society 4: 167-168.
- Stuterville, D. L. 1984.** Evaluating downy mildew resistance. pp. 23-24. In: Elgin, J. H. Jr., (ed.) Standard Tests to Characterize Pest Resistance in Alfalfa Varieties U.S. Department of Agriculture, Miscellaneous Publication No.1434. Washington DC, USA.
- Stuterville, D. L., and Erwin, D. C. 1990.** Compendium of Alfalfa Diseases. American Phytopathological Society Press, St. Paul, Minnesota, USA. 84 pp.
- Stuterville, D. L., and Skinner, D. Z., 1987.** Effect of selection for downy mildew resistance in alfalfa on Saponin content. Crop Science 27: 906-908.
- Thyr, B. D., Hartman, B. J., Hunt, O. J., and McCormick, J. A., 1978.** Response of alfalfa cultivars to *Peronospora trifoliorum* in Western Nevada. Plant Disease Reporter 62: 338 –339.

