مجله به‌نژادی نهال و بذر
جلد ۱-۲۹، شماره ۱، سال ۱۳۹۲

مقاله کوتاه علمی

Scientific Short Article

ارزیابی مقاومت ارقام کلزا در برابر قارچ *Sclerotinia sclerotiorum* عامل پوسیدگی سفید ساقه با استفاده از آزمون کوتیلدون

Evaluation of Resistance of Canola Cultivars Against *Sclerotinia sclerotiorum*, the Causal Agent of White Stem Rot, Using Cotyledon Test

رقیه همتی[۱]، مریم مهدیخانی[۲] و سیامک رحمانپور[۳]

۱ و ۲- به ترتیب استادیار و دانشجوی سابق کارشناسی ارشد بیماری‌شناسی گیاهی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه زنجان
۳- استادیار، مؤسسه تحقیقات اصلاح و تهیه نهال و بذر، کرج

تاریخ دریافت: ۱۳۹۰/۱۱/۱۰ **تاریخ پذیرش: ۱۳۹۱/۲/۱۴**

چکیده

همتی، ر.، مهدیخانی، م. و رحمانپور، س. ۱۳۹۲. ارزیابی مقاومت ارقام کلزا در برابر قارچ *Sclerotinia sclerotiorum* عامل پوسیدگی سفید ساقه با استفاده از آزمون کوتیلدون. **مجله به‌نژادی نهال و بذر ۱-۲۹: ۲۰۲ - ۱۹۹.**

آزمون کوتیلدون روشی سریع و ارزان برای ارزیابی مقاومت ارقام کلزا نسبت به قارچ *S. sclerotiorum* است که در مقایسه با سایر روش‌های به کار رفته، انطباق بیشتری با نتایج مورد مشاهده در مزرعه دارد (Garg *et al*., 2008). تاکنون چنین روشی در ایران برای ارزیابی ارقام کلزا به این بیمارگر به کار نرفته است، بنابراین آزمونی گلخانه‌ای به روش مایه‌زنی برگ‌های کوتیلدونی با استفاده از سوسپانسیون میسلیومی بر روی دوازده رقم کلزا شامل هفت رقم تیپ بهاره (هایولا ۳۰۸، هایولا ۴۰۱، هایولا ۴۲۰، RGS003، ساری گل، آپشن ۵۰۰ و مالوکا) و پنج رقم تیپ زمستانه (لیکورد، زرفام، اپرا، اکاپی و مودنا)، با دو جدایه قارچ *S. sclerotiorum* انجام شد. این دو جدایه که در تحقیقات قبلی از دو مزرعه به شدت آلوده کلزا به بیمارگر مذکور در دشت مغان به دست آمده بودند، با نام‌های A7 و A16 برای انجام آزمون به کار رفتند. قدرت تهاجمی و بیماریزایی این دو جدایه روی کلزا (رقم Opera) قبلاً به روش گودوی و همکاران (Godoy *et al*., 1990) مورد آزمون قرار گرفته بود و جدایه A7 به عنوان جدایه‌ای با قدرت تهاجمی متوسط و جدایه A16 به عنوان جدایه‌ای بسیار متهاجم ارزیابی شده بودند (Hemmati, 2009). از حاشیه کلونی در حال

نویسنده مسئول: rhemati@znu.ac.ir تلفن: ۰۲۴۱۵۱۵۴۰۵۳

Archive of SID

www.SID.ir

رشد این جدایه‌ها، سه دیسک میسلیومی به ارلن مایر حاوی ۱۰۰ میلی‌لیتر محیط کشت مایع دکستروز- عصاره مخمر انتقال یافت. در هر لیتر از این محیط کشت ۱۰ گرم دکستروز و دو گرم عصاره مخمر به کار رفته بود. ارلن‌مایرها به مدت ۴۸ ساعت درون انکوباتور در تاریکی با دمای ۲۴ درجه سانتی‌گراد نگهداری شدند، سپس به مدت سه روز روی شیکری با دور تقریبی ۱۲۰ دور در دقیقه قرار گرفتند. میسلیوم هر جدایه دو بار با آب مقطر استریل شسته شد. سپس به آن ۲۵۰ میلی‌لیتری آب مقطر استریل اضافه شده و با استفاده از همزن هموژنایزر به مدت سه دقیقه مخلوط شد. سوسپانسیون حاصله از پارچه ململ عبور داده و سوسپانسیون یکنواختی از میسلیوم تهیه شد. غلظت آن با استفاده از لام هموسیتومتر (گلبول شمار) به میزان تقریبی 10^4 قطعه میسلیومی در میلی‌لیتر رسانده شد و برای مایه‌زنی روی گیاهان کلزا در گلخانه به کار رفت. بذر ارقام مختلف کلزا در گلدان‌هایی به قطر دهانه ۷ و ارتفاع ۱۰ سانتی‌متر در دمای ۲۰ تا ۲۴ درجه سانتی‌گراد کاشته شدند. مایه‌زنی روی کوتیلدون گیاهان ده روزه در گلخانه مطابق روش گارگ و همکاران (Garg *et al.*, 2008) انجام شد. آزمایش به صورت آزمون فاکتوریل در قالب طرح کاملاً تصادفی در چهار تکرار برای هر رقم انجام شد که در آن فاکتور اول رقم کلزا و فاکتور دوم جدایه قارچ *S. sclerotiorum* بود. برای تیمارهای شاهد مایه‌زنی با آب مقطر استریل بدون قارچ در چهار تکرار انجام شد. هر تکرار شامل یک گیاهچه بود و در هر گیاهچه هر دو برگ کوتیلدونی با سوسپانسیون میسلیومی به میزان ۲۰ میکرولیتر مایه زنی شد. گیاهان مایه‌زنی شده، به مدت ۴۸ ساعت در زیر سکوهای گلخانه در شرایط کمبود نور درون کیسه‌های پلاستیکی با رطوبت نسبی نزدیک به اشباع قرار داده شدند. مه‌پاشی با آب به طور مرتب درون کیسه پلاستیکی انجام شد و سپس کیسه کاملا بسته شد تا شرایط مرطوبی برای گیاهان فراهم شود. پس از دو شبانه روز، گیاهان به بالای سکوها در شرایط نوری طبیعی منتقل شدند. دمای تقریبی گلخانه در مدت آزمایش ۲۴ درجه سانتی‌گراد بود. ارزیابی نتایج در روزهای دوم و سوم پس از مایه‌زنی انجام شد. برای این کار پوشش پلاستیکی از روی گلدان‌ها برداشته شده و تغییرات فنوتیپی ایجاد شده در گیاهان شامل قطر هاله نکروزه با استفاده از خط‌کش اندازه‌گیری و به میلی‌متر ثبت شد. از آن‌جایی که در هر گیاهچه هر دو برگ کوتیلدونی مایه‌زنی شده بودند، میانگین قطر هاله نکروزه به وجود آمده در دو برگ هر گیاهچه به عنوان یک تکرار در نظر گرفته شد. داده‌های به دست آمده (قطر هاله‌های نکروزه به میلی‌متر) در نرم‌افزار SAS ver. 9.1 وارد و تجزیه واریانس (ANOVA) انجام شد. سپس میانگین‌ها با استفاده از آزمون دانکن در سطح احتمال معنی‌داری ۵ در صد در نرم‌افزار مذکور

Archive of SID

www.SID.ir

مقایسه شدند.

دو روز پس از مایه‌زنی، علائم نکروز در گیاهچه‌ها به جز نمونه‌های شاهد مشاهده شد. اندازه هاله نکروزه بین ارقام مختلف متنوع بود و از ۰/۵ میلی‌متر تا نابودی کامل برگ‌های کوتیلدونی ثبت شد. نتایج تجزیه واریانس داده‌های به دست آمده در روز دوم و سوم پس از مایه‌زنی نشان‌دهنده وجود اختلاف معنی‌دار بین واکنش ارقام به بیمارگر بود. اثر متقابل بین رقم و جدایه نیز در روز دوم و سوم پس از مایه‌زنی معنی‌دار بود. تجزیه و تحلیل داده‌های به دست آمده در روز دوم، ارقام را در هفت گروه قرار داد که بر اساس آن، هیبرید بهاره هایولا۴۰۱ (Hyola 401) حساس‌ترین و رقم زمستانه زرفام (Zarfam) با میانگین قطر هاله نکروزه ۱/۸۷۵ میلی‌متر، مقاوم‌ترین رقم بود. بر اساس تجزیه واریانس و مقایسه میانگین داده‌های روز سوم پس از مایه‌زنی، ارقام در شش گروه قرار گرفتند که در این گروه‌بندی نیز هایولا۴۰۱ (که در روز دوم پس از مایه‌زنی تقریباً و روز سوم به کلی نکروزه و نابود شده بود) حساس‌ترین و زرفام با میانگین قطر هاله نکروزه ۲/۱۶۲ میلی‌متر مقاوم‌ترین رقم بود. بدین ترتیب در بین دوازده رقم مورد مطالعه، هیبرید بهاره هایولا۴۰۱ با بیشترین میزان آلودگی به عنوان حساس‌ترین و رقم و زرفام (Zarfam) با کمترین میزان آلودگی به عنوان مقاوم‌ترین رقم شناسایی شدند.

همان‌طور که فاکتورهای مختلف زراعی از جمله محصول بالا و سازگاری با اقلیم، در انتخاب رقم دارای اهمیت است، مقاومت به بیماری‌ها نیز باید به عنوان فاکتور مهمی در انتخاب نهایی رقم مورد توجه قرار گیرد. در همین راستا انتخاب روشی مناسب برای ارزیابی سریع و دقیق مقاومت ضروری است. گارگ و همکاران (۲۰۰۸)، که برای اولین بار آزمون کوتیلدون را در کلزا به کار بردند، آن را روشی مناسب ارزیابی کردند که نه تنها در مقایسه با سایر روش‌های گلخانه‌ای انطباق بالایی با نتایج مزرعه دارد، بلکه ازسرعت و دقت بالایی نیز برخوردار است. با این حال لازم است که آزمون‌های دیگر گلخانه‌ای از جمله آزمون‌هائی که مرحله آلوده‌سازی گیاه در آن‌ها منطبق بر مرحله آلوده شدن در طبیعت باشد، نیز روی ارقام مورد استفاده در این تحقیق انجام شود. علاوه بر آن آزمون‌های مزرعه‌ای نیز برای تمام ارقام انتخاب شده و میزان همخوانی نتایج هر نوع آزمون با نتایج مشاهده شده در مزرعه (در آلودگی‌های طبیعی) مورد ارزیابی قرار گیرد.

واژه‌های کلیدی: کلزا، ارقام، Sclerotinia، حساسیت، ارزیابی مقاومت.

Archive of SID

www.SID.ir

References

Garg, H., Sivasithamparam, K., Banga, S. S., and Barbetti, M. J. 2008. Cotyledon assay as a rapid and reliable method of screening for resistance against *Sclerotinia sclerotiorum* in *Brassica napus* genotypes. Australasian Plant Pathology 37: 106-111.

Godoy, G., Steadman, J. R., Dickman, M. B., and Dam, R. 1990. Use of mutants to demonstrate the role of oxalic acid in pathogenicity of *Sclerotinia sclerotiorum* on *Phaseolus vulgaris*. Physiological and Molecular Plant Pathology 37: 179-191.

Hemmati, R. 2009. Study on genetic diversity of Iranian populations of *Sclerotinia sclerotiorum* (Lib) de Bary using SSRs, identification of mycelial compatibility groups and a survey on their pathogencity. Ph. D. Thesis, College of Agriculture, University of Tehran, Karaj, Iran (in Persian).

Archive of SID

www.SID.ir