واکنش ارقام و لاین‌های پیشرفته کنجد به بیماری پژمردگی فوزاریومی در شرایط آزمایشگاه و گلخانه

حمید صادقی گرمارودی[1*] و سعداله منصوری[1]

۱- موسسه تحقیقات اصلاح و تهیه نهال و بذر، سازمان تحقیقات، آموزش و ترویج کشاورزی، کرج، ایران.

*مسئول مکاتبه hsgarmaroodi@gmail.com

تاریخ دریافت: ۹۳/۱۲/۲٤ تاریخ پذیرش: ۹٤/۹/۲۲

چکیده

بیماری پژمردگی و پوسیدگی فوزاریومی کنجد یکی از مهمترین بیماری‌های خاکزاد کنجد در ایران و جهان است.نمونه‌های بیمار کنجد از مزرعه آزمایشی موسسه تحقیقات اصلاح و تهیه نهال و بذر جمع‌آوری و قطعاتی از ریشه، ساقه و بذر آنها کشت گردید. در این تحقیق قارچ *Fusarium oxysporum* f.sp. (Fos) *sesame* در ۸۱٪ موارد از بافتهای آلوده کنجد جداسازی و به‌عنوان عامل اصلی بیماری معرفی شد،همچنین شمار معدودی ازگونه*F.solani* به‌دست آمدند. آزمون بیماریزائی جدایه‌ها با رقم داراب-۱٤ درون تشتک‌های پتری پلاستیکی حاوی محیط کشت SNA انجام گردید. واکنش ارقام به این بیمارگر با دو روش انجام شد.در روش اول، همانند آزمون بیماریزائی مایه‌زنی صورت گرفت. در این آزمون، لاین جیرفت-۱۳ کمترین درصد آلودگی را نشان داد. در روش دوم، ریشه گیاهچه‌هادر سوسپانسیون اسپور غوطه‌ور شده،سپس درون گلدان‌های حاوی ماسه و پرلیت نشاو به گلخانه با دمای ۲۵ درجه‌ی سانتیگراد منتقل شدند. شدت بیماری برای هر گیاه با استفاده از مقیاس ۵-۱ و بعد از ۱۵ روز یادداشت گردید.مشاهدات این آزمون با استفاده از آزمون ناپارامتری کای اسکویر تجزیه و تحلیل آماری شدند. نتایج نشان داد که همه ۲٦ ژنوتیپ آزمایش‌شده به درجات مختلف به این بیماری آلوده شدند و هیچ کدام مصون از بیماری نبودند. در بین ژنوتیپ‌های کمتر آلوده شده، مغان ۱۹، شاهد گیجوییه، محلی مغان۱، هندی ۱۱، مغان ۱۳، محلی مغان۲، و B5γM7به‌ترتیب دارای کمترین میزان آلودگی بوده و به‌عنوان ژنوتیپ‌های نسبتاً مقاوم شناخته شدند.

واژه‌های کلیدی: ارقام مقاوم، کنجد، *Fusarium oxysporum*.

مقدمه

دانه کنجد به دلیل وجود ترکیبات غذائی مهم مثل امگا-۳ و چربی‌های غیراشباع، انواع ترکیبات پلی‌فنولیک موسوم به لیگنان‌ها[1]، توکوفرول‌ها[2] و مقدار بالای کلسیم و فسفر به عنوان میکروکپسول غذائی[3] شناخته شده است.

ترکیبات لیگنانی مثل سزامین و سزامول، و همچنین توکوفرول‌ها به دلیل خاصیت آنتی‌اکسیدانی در حفظ و نگهداری کیفیت روغن کنجد نقش ایفا می‌کنند. دانه‌های کنجد دارای ٥٠-٤٦ درصد روغن است که ۹۰-۸۳ درصد آن را روغنهای باارزش غیراشباع تشکیل می‌دهد. یکی از اولویتهای اساسی در اصلاح کنجد، تحمل به تنشهای محیطی و میکروبی از جمله پوسیدگی‌های ماکروفومینائی و فوزاریومی ذکر شده است (پاتک و همکاران ۲۰۱٤).

پوسیدگی فوزاریومی ریشه و ساقه کنجد که پوسیدگی یکطرفه کنجد نیز نامیده می‌شود، مهمترین بیماری خاکزاد و بذرزاد این محصول بویژه در مناطق معتدله محسوب می‌گردد. عامل بیماری قارچ فوزاریوم بوده

[1]Polyphenolic compound such as lignans
[2]Tochopherols
[3]Nutrient microcapsule

Archive of SID

www.SID.ir

است که برای اولین بار در ایران توسط بنی‌هاشمی از بوشهر گزارش شده است(بنی‌هاشمی ۱۳۶۰). این قارچ آوندهای گیاهی را مسدود نموده و باعث بروز پژمردگی در گیاه می‌شود. عامل بیماری که از نظر میزبانی بسیار تخصصی عمل می‌کند قبلاً *Neocosmospora vasinfecta* var.*sesame* Jacz نامیده می‌شد.به‌دلیل مشابهت مرحله کنیدی این قارچ با *Fusarium vasinfectum* قارچ بیمارگر به‌عنوان نژادی از قارچ اخیر درنظرگرفته شد. در نهایت پیشنهاد گردید که قارچ عامل به‌عنوان یک فرم مخصوص از *F.oxysporum* Castellani نامیده شود و قارچ بیمارگر را *F.o.* f.sp.*sesame* (Fos) نامیدند (کولته ۱۹۸۵).در تحقیقات انجام شده توسط بصیرنیا و بنی‌هاشمی (۱۳۸۵)، بذرزاد بودن قارچ عامل بیماریاثبات گردید. با توجه به اثرات مخرب ترکیبات شیمیائی تدخینی در خاک بر روی باکتریهای مفید و نیز اثرات جانبی این ترکیبات بر روی گیاه کنجد، استفاده از روشهای بیولوژیک و مقاومت ارقام مدنظر قرار گرفته است. از جمله روشهای بیولوژیک جهت کنترل این بیماری، می‌توان به استفاده از باکتری‌های تقویت کننده رشد گیاهان[1] و نیز قارچ‌های میکوریزا اشاره کرد که برای کنترل بیماری‌های قارچی ریشه کنجد از جمله Fos و *Macrophomina phaseolina* به‌کار رفته‌اند (زیدان و همکاران ۲۰۱۱؛ کومار و همکاران ۲۰۱۱).

استفاده از ارقام و ژنوتیپ‌های مقاومنیز به‌عنوان یکی از مهمترین راهکارهای کنترل بیماری مورد توجهبسیاری از محققین قرار گرفته است. در یک نمونه از این تلاشها،واکنش ۲۸ ژنوتیپ (انتخابی از ارقام محلی یا دورگه) کنجد در شرایط مزرعه طی دو فصل متوالی به یک جدایه مهاجم از Fos ارزیابی گردید. بر اساس نتایج حاصله، تنوع زیادی در واکنش ژنوتیپ‌ها مشاهده گردید. تعداد زیادی از آنها واکنش‌هاییکسانی طی دو سال متوالی از خود نشان ندادند. ژنوتیپ‌های S3 و S4 دارای سطوح بالای مقاومت و عملکرد خیلی پایین بودند؛ بنابراین لازم است در برنامه‌های اصلاح مقاومت به بیماری، عملکرد ژنوتیپ‌ها نیز مدنظر قرار گیرد (البراماوی و عبدالوحید ۲۰۰۹). در تحقیق مشابه دیگری از همان گروه، واکنش تعداد ٤٨ ژنوتیپ کنجد که از مناطق مختلف جغرافیائی جمع‌آوری شده بودند، در شرایط مزرعه به بیمارگرهای فوزاریوم و ماکروفومینا ارزیابی شدند. در تجزیه و تحلیل‌های آماری، تعداد شاخه‌ها و رنگ بذور با درصد آلودگی ارتباط معنی‌داری نشان می‌دادند. ترکیبات پلی‌فنلی که در رنگ‌بندی دانه‌ها موثر شناخته شده‌اند، ممکن است بر روی سازوکارهای مقاومت به بیماری هم موثر واقع شوند (البراماوی و همکاران ۲۰۰۸). ارتباط مقاومت به بیماری با صفات مهم زراعی در تحقیقات مطلبی (۱۳۷۸) در استان فارس نیز نشان داده شده است. درصد بیماری با درصد سبزشدن، پایان گلدهی، رسیدن ۱۰ کپسول اولیه و وزن هزار دانه بیمار در سطح ۱٪ رابطه‌ی منفی ولی با طول کپسول در سطح ۵٪ رابطه‌ی مثبت نشان داد. یعنی ارقام و لاین‌هائی که زودرس‌تر بودند یا طول غلاف بلندتری داشتند بیشتر دچار بیماری شدند. در این تحقیق توده بومی "ده زیر" مقاوم و رقم داراب-١٤ حساس شناخته شد.

در تحقیق دیگری در ترکیه، ٢٦ ژنوتیپ کنجد در شرایط مزرعه طی پنج سال در برابربیمارگر Fos ارزیابی شدند. به‌دلیل تغییرات زیاد در واکنش ژنوتیپ‌ها، داده‌های دو سال مورد تجزیه تحلیل‌های آماری قرار گرفتند. ژنوتیپ سانلیورفا-٦٣١٨٩ با متوسط آلودگی ٦/٦ ٪ مقاوم‌ترین ژنوتیپ شناخته شد و نیمی از ژنوتیپ‌ها آلودگی زیر ۲۰٪ نشان دادند (کاواک و بویداک ۲۰۰٦).

در ارزیابی‌های انجام شده در استرالیا در شرایط مزرعه و گلخانه، از میان ۳۵ ژنوتیپ ارزیابی شده، ژنوتیپ‌های NSKMS با شماره های ٢٦٠، ٢٦٧، ٢٦١

[1]Plant- Growth- Promoting Bacteria

Archive of SID

www.SID.ir

و TMV3 به‌ترتیب با ۱۳/۱ ، ۱٤/٦، ۱۵/۱ و ۱۵/۷ درصد آلودگی بیشترین سطوح مقاومت را نشان دادند. ژنوتیپ‌های NSKMS115، TMV4 و RT54 نیز در کلاس ژنوتیپ‌های نسبتاً مقاوم جای گرفتند. بقیه ژنوتیپ‌ها در کلاس حساس دسته‌بندی گردیدند. ژنوتیپ TKG22 با درصد آلودگی بالای ۹۰ درصد فوق‌حساس شناخته شد (جیوتی و همکاران ۲۰۱۱).

با توجه به خسارت بالای این بیماری در کشور و دشواری‌های کنترل عوامل بیماری‌زای خاکزاد با روش‌های شیمیائی، استفاده از ارقام مقاوم باصرفه‌ترین روش کنترل بیماری ذکر می‌گردد. در نتیجه این تحقیق برای تعیین سطوح مقاومت ارقام و لاین‌های امیدبخش کنجد در بخش تحقیقات دانه‌های روغنی موسسه تحقیقات اصلاح و تهیه نهال و بذر انجام شد.

مواد و روش‌ها

جداسازی قارچ عامل بیماری

نمونه‌های بذر، ساقه و ریشه‌یگیاهان آلوده که علائم مشخصه این بیماری مثل پژمردگی و تغییر رنگ آوندها و پوسیدگی یک‌طرفه را نشان میدادند،از مزرعه ٤۰۰ هکتاری موسسه تحقیقات اصلاح و تهیه نهال وبذر جمع آوری شدند. قطعات کوچکی از اندام‌های گیاهی فوق پس از ضدعفونی سطحی با هیپوکلریت سدیم ۰/۵ درصد (محلول سفید کننده تجاری۱۰٪)، سه بار با آب مقطر استریل شسته شده و سپس تحت شرایط سترون به تشتک‌های پتری حاوی محیط کشت PDA[1] حاوی ۳٤µg/ml آنتی‌بیوتیک ضدباکتری کلرامفنیکل منتقل و در دمای اتاق نگهداری گردیدند. پس از ٤-۳ روز، تکه کوچکی از حاشیه کلنی‌های درحال رشد، بریده‌شده و به محیط‌کشت M-100 (جدول ۱) که برای اسپورزائی فوزاریوم‌ها مناسب می‌باشد،منتقل شدند (استیونس ۱۹۷٤). این محیط‌کشت بر اساس ستون a ساخته میشود. در این ستون برای تهیه محلول نمکی از ستون b و در ستون b برای تهیه محلول عناصر کم مصرف از ستون c استفاده میشود.

جدایه‌هائی که در تشتک‌های M-100 میکرو یا ماکروکنیدی تولید کرده بودند، انتخاب و سوسپانسیون بسیار رقیقی (۱۰۰۰ اسپور در میلی‌لیتر) از اسپور آنها تهیه شد. چند قطره از هر سوسپانسیون را روی تشتکآب-آگار (WA)[2] پخش کرده و در عرض کمتر از ۲۰ ساعت جوانه‌زنی کنیدی‌ها ردیابی گردیدند. تعداد ٥-٤ تک‌کنیدی جوانه‌زده از هر جدایه را به لوله‌های مورب حاوی محیط کشت PDA منتقل و ٥-٤ روز پس از آن، تکه کوچکی از محیط کشت‌های تازه رشد کرده به تشتک‌های پتری حاوی SNA[3] (نیرنبرگ ۱۹۷٦) که دارایقطعات کوچک مربعی کاغذ صافی سترون بودند، منتقل شده و در دمای۲۵ درجه‌ی سانتیگراد و شرایط نوری متناوب هشت ساعت نور و ۱٦ ساعت تاریکی نگهداری شدند. ۱٤-۱۰ روز بعد با استفاده از کلید شناسائی گونه‌های فوزاریوم (لزلی و سامرل ۲۰۰٦) جدایه‌های انتخابی تا سطح گونه شناسائی گردیدند.

آزمون بیماریزائی بر روی تشتک‌های پتری حاوی محیط کشت SNA و با استفاده از رقم حساس داراب۱٤ انجام شد. بذرهای کنجد رقم داراب۱٤ را با محلول هیپوکلریت سدیم ۰/۵ درصد به‌مدت ۱۰ دقیقه ضدعفونی سطحی کرده و پس از سه بار شستشو با آب مقطر سترون،درون تشتک‌های پتری وادار به جوانه‌زنی شدند. سپس ۱۵ بذرجوانه زده سالم انتخابو در سه تکرار (پنج گیاهچه در هر تشتک) با فاصله یکسان در تشتک‌های پتری ۹ سانتیمتری حاوی SNA که دو روز قبل سطح محیط کشت با یک لایه از سوسپانسیون اسپور هر جدایه پوشیده شده بودند قرار گرفتند (سینکلر و دینگرا ۱۹۹۵). در مدت دو روز نگهداری تشتک‌های مایه‌زنی شده قبل از قرار دادن

[1]Potato Dextrose Agar

[2]Water Agar

[3]Spezieller Nährstoffarmer Agar

Archive of SID

www.SID.ir

گیاهچه‌ها، توده هیفی یکنواخت بر روی سطح محیط کشت تشکیل می‌شد. چهار روز بعد از قرار دادن گیاهچه‌ها، مرگ‌ومیر آنها ثبت گردید. تهیه زادمایه و آلوده‌سازی گیاهچه‌ها در دمای ۲۵ درجه‌ی سانتی‌گراد و شرایط نوری ۲۰ ساعت نور و ٤ ساعت تاریکی در اتاقک رشدانجام شد. تشتک‌های بدون توده میسلیومی به‌عنوان شاهد در نظر گرفته شدند. تشتک‌های پتری (واحدهای آزمایشی) به‌صورت کاملاً تصادفی درون اتاقک رشد قرار گرفته و تجزیه و تحلیل آماری شدند.

جدول ۱- مواد شیمیائی و مقادیر آنها در محیط کشت **M-100***

محیط کشت حداقل a		محلول نمکی b		محلول عناصر کم مصرف c	
گلوکز	۱۰g	KH_2PO_4	۱٦g	H_3BO_3	۳۰mg
$KNO_3/NH_3(NO_3)_2$	۳g	Na_2SO_4	٤g	$MnCl_2.4H_2O$	۷۰mg
محلول نمکی (b)	٦۲/۵ ml	KCl	۸g	$ZnCl_2$	۲۰۰mg
آب مقطر	۱L	$MgSO_4.7H_2O$	۲g	$Na_2MoO_4.2H_2O$	۲۰mg
آگار	۱۵g	$CaCl_2$	۱g	$FeCl_3.6H_2O$	۵۰mg
		محلول عناصر کم مصرف (c)	۸ml	$CuSO_4.5H_2O$	۲۰۰ mg
		آب مقطر	۱L	آب مقطر	۵۰۰m

* نحوه تهیه محیط کشت در مواد و روشها توضیح داده شده است.

محیط کشت بر اساس ترکیبات ستون a ساخته میشود. در ستون a از استوک‌های پیش ساخته b و c استفاده می‌گردد.

برای بررسی مقاومت ارقام دو روش مورد استفاده قرار گرفت. در روش اولبه همان صورت که برای آزمون بیماریرائی گفته شد بذرهای ۱۲ رقم تجاری کنجد پس از جوانه‌زنی، بر روی تشتک‌های حاوی توده هیفی دو روزه قارچ بیمارگر قرار گرفتند. در این آزمون فقط از جدایه K3-2از قارچ Fosبه‌عنوان نماینده مهاجم قارچ استفاده گردید. هر رقم در سه تکرار (تشتک) برای تیمار اصلی و یک تکرار برای شاهد ارزیابی شد. درصد مرگ‌ومیر گیاهچه‌ها به‌عنوان معیاری جهت مقایسه ارقام و ژنوتیپ‌های مختلف بکار گرفته شد. در تشتک‌های شاهد از محیط کشت فاقد قارچ استفاده شد.

در روش دوم، مایه‌زنی ارقام مختلف کنجد با آلوده‌سازی ریشه‌ها انجام گرفت. برای تهیه زادمایه (سوسپانسیون اسپور قارچ)از مخلوط آب و کاه در ارلن مایرهای ۵۰۰ میلی‌لیتری استفاده شد (وگنر ۱۹۹۲). انتهای ریشه اصلی گیاهچه به طول ۳-۲ میلی‌متر با تیغ قطع و سپس گیاهچه‌ها به‌مدت پنج دقیقه در سوسپانسیون اسپور با غلظت 10^6 اسپور در میلی‌لیتر زیر نور مهتابی قرار گرفتند. در مورد گیاهان شاهد بعد از برش نوک ریشه با آب مقطر سترون مایه‌زنی شدند. گیاهچه‌های مایه‌زنی شده در محیط شن و پرلیت سترون نشاء و به گلخانه ۲۵ درجه سانتیگراد منتقل شدند. طی این مدت، گیاهچه‌ها با محلول هوگلند نیم غلظت[1] یک روز در میان آبیاری شدند. تعداد۲٦ رقم و لاین کنجد به روش فوق در شرایط گلخانه مایه‌زنی شدند. هر رقم در سه گلدان به‌عنوان سه تکرار و در هر گلدان سه گیاهچه نشا گردیدند. گلدان‌ها به‌صورت کاملاً تصادفی در گلخانه قرار گرفتند.

یادداشت‌برداری‌ها ۱۵روز بعد انجام شد. شدت بیماری روی هر گیاهچه با استفاده از مقیاسی از ۵-۱ (صادقی گرمارودی و منصوری، ۱۳۹۳)بدین

[1]Half-strength

Archive of SID

www.SID.ir

صورتتعیین گردید: ۱. گیاه فاقد علائم بیماری بوده و کاملاً سالم بود (مقاوم، R)،۲. تعداد محدودی لکه نکروزه روی ساقه و ریشه مشاهده می‌شد (نسبتاً مقاوم، MR)، ۳. لکه‌های نکروزه توسعه یافته و بخشی از گیاه را آلوده کرده بود (نسبتاً حساس، MS)، ٤. علائم بیماری کاملاً بر روی ریشه و ساقه توسعه یافته و باعث پژمردگی گیاه می‌شد (حساس، S)، ٥. مرگ گیاه بر اثر بیماری (بسیار حساس، HS).داده های آزمون اول ارزیابی مقاومت ارقام پس از تجزیه و تحلیل واریانس با آزمون مقایسه میانگین‌های دانکن بررسی شدند. برای داده های آزمون دوم به‌دلیل کیفی بودن از آزمون ناپارامتری کای اسکویر جهت مقایسه مقیاس‌های داده شده به هر گیاه، استفاده شد.

نتایج و بحث

جمع‌آوری نمونه‌های آلوده فوزاریومی از مزرعه

این بیماری در تمام مراحل رشدی کنجد قادر به آلوده کردن میزبان بود. زرد شدن برگ‌ها و پژمردگی، اولین علامت قابل مشاهده در مزرعه بود. برگ‌ها زرد، خمیده و خشک می‌شدند.گاهی حاشیه برگ‌های آلوده لوله شده و درنهایت از بین می‌رفتند (شکل ۱: A,D,E,F). تغییررنگ سیستم آوندی در ریشه‌ها بطور مشخص دیده می‌شد. بارزترین علامت بیماری در مزرعه که آنرا از سایر بیماری‌های پوسیدگی آوندی کنجد متمایز می‌کرد، پوسیدگی یک طرفه ساقه بود که نیمی از محور طولی ساقه می‌پوسید (شکل۱C). اسپورودوخیوم‌های[1] صورتی و سرسوزنی فراوانی در طول ساقه خشک شده دیده می‌شد. این اسپورودوخیوم‌ها شامل توده‌ای از ماکروکنیدی‌های قارچ بود (شکل ۱: B,G,H). اندام قارچی فوق روی کپسول‌های گیاهان پژمرده نیز دیده می‌شد.

پژمردگی ناشی از قارچ ماکروفومینا نیز در بین نمونه‌ها مشاهده می‌شد. تشخیص این دو بیماری در اوائل دوره رشدی که علائم عمدتاً به‌صورت پژمردگی بوته‌ها مشاهده می‌شد، مشکل بود. بهرحال مشاهدات ما در مزارع جنوب کشور حاکی از فراوانی بیشتر قارچ ماکروفومینا در مقایسه با گونه‌های فوزاریوم برای ایجاد بوته‌میری روی کنجد بود.

جداسازی و شناسائی

قارچ فوق رشد فراوانی روی محیط کشت PDAنشان می‌داد. هیف بی‌رنگ، دیواره‌دار و بسیار منشعب بوده و کلنی‌ها عموماً فاقد رنگدانهبودند ولی گاهی رنگدانه‌های صورتی یا قهوه ای در آنها دیده می‌شد به‌ویژه زمانیکه کلنی مسن می‌گردید (شکل۲). کلامیدوسپور، ماکرو و میکروکنیدی‌های بسیار زیاد تشکیل می‌شدند. مهمترین ویژگی مورفولوژیکی گونه‌ی *F. oxysporum*تشکیل میکروکنیدها به شکل توپی بر روی فیالیدهای کوتاه و تولید کلامیدوسپورهای فراوان بود ولی در گونه *F. solani* میکروکنیدی‌ها به شکل توپی بر روی فیالیدهای بلند تشکیل می‌شدند. اندازه‌گیریهای انجام شده با مشخصات دو گونه *F. oxysporum* و *F. solani*در کلید شناسائی گونه‌های فوزاریوم (لزلی و سامرل ۲۰۰٦) مطابقت داشت.

آزمون بیماریزائی

از ریشه، ساقه و بذر بوته‌های آلوده جمع‌آوری شده از کرج بیش از ۷۰ جدایه مختلف فوزاریوم حاصل شد. تعدادی از آنها که ماکروکنیدی محدودی تولید می‌کردند و یا فاقد آن بودند، حذف گردیدند. تعداد ٦٦ جدایه تک اسپور که مشخصات بارز فوزاریوم‌ها را نشان می‌دادند برای مراحل بعدی انتخاب شدند. نتایج فعالیت‌های انجام شده برای جداسازی، شناسائی و آزمون بیماریزائی در جدول ۲ خلاصه شده است.جدایه‌های انتخابی از کرج طی دو سال متفاوت به‌دست آمدند.در ستون a، اندام‌های گیاهی مورداستفاده برای جداسازی ذکر شده‌اند و همانطور که بیان شده تنها پنج جدایه از ٦٦ جدایه از ریشه‌ها به‌دست آمدند که علت اصلی آن حضور سایر قارچ‌های

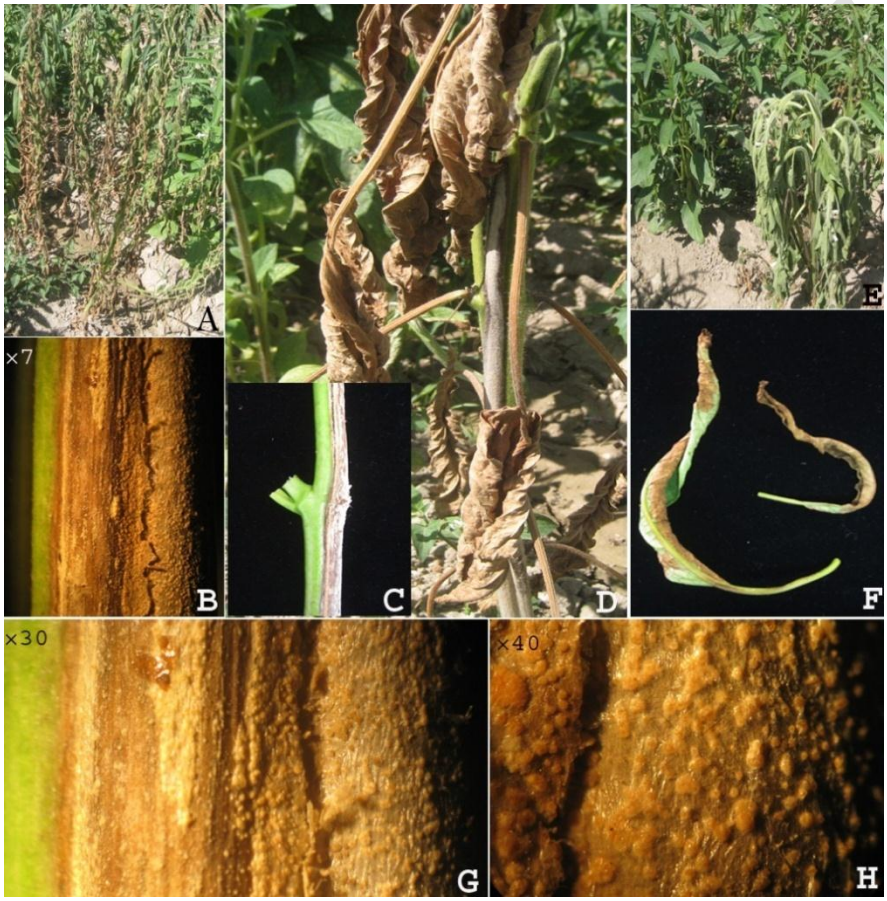
[1]Sporodochia

Archive of SID

www.SID.ir

ساپروفیت مزاحم بود که کار جداسازی فوزاریوم‌ها را مشکل میکرد.

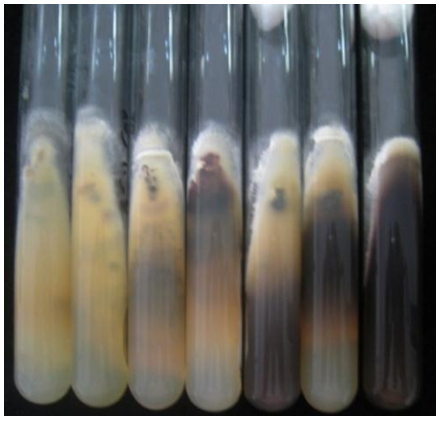
به‌هرحال جداسازی قارچ عامل از ساقه به سادگی انجام پذیرفت. زیرا توده میسلیومی روی ساقه به خوبی با چشم غیر مسلح قابل تشخیص بود (شکل ۱). در جدول ۲ ستون b، آرایه‌های تشخیصی ٦٦ جدایه به‌تفکیک بیان شده‌اند. بیش از ۸۱٪ جدایه‌ها (٥٤ جدایه) به‌عنوان گونه *F. oxysporum* شناسائی شدند در حالیکه کمتر از ۱٪ جدایه ها (٥ جدایه) به‌عنوان گونه *F. solani* معرفی شدند. سایر جدایه‌ها غیر قابل تشخیص بودند. در ستون آخر (c)، درصد آلودگی گیاهچه‌ها و درنتیجه شدت بیماریزائی جدایه‌ها به سه گروه ضعیف، متوسط و یا قوی تقسیم و شمار جدایه‌های متعلق به هر گروه داخل کمانه ذکر شده‌اند. اکثر جدایه‌ها (٦٢٪) به شدت بیماریزا بودند.



شکل ۱- علائم مختلف بیماری پژمردگی و پوسیدگی کنجد ناشی از قارچ *F. oxysporum* f.sp. *sesame*

A.بوته‌میری کنجد در شرایط مزرعه.B، C و D. پوسیدگی یکطرفه روی ساقه.E. پژمردگی بوته کنجد در شرایط مزرعه.F. علائم بیماری روی برگها.G و H نمای نزدیک از پوسیدگی ساقه. اسپورودوخیوم‌ها بر روی بافت‌های آلوده مشخص هستند.

www.SID.ir



شکل ۲- رنگ کلنی از پشت در جدایه‌های مختلف ***F. oxysporum* f.sp. *sesame***

جدول ۲- مشخصات بیماریزائی و آرایه تشخیصی ٦٦ جدایه فوزاریوم بدست آمده از اندام‌های آلوده کنجد*

a. اندام آلوده گیاهی	b. آرایه تشخیصی	c. درصد مرگ ومیر گیاهچه‌ها**
بذر (۱۱)	غیر قابل تشخیص (۹)	۳۵-۰ (ضعیف)(۹)
ساقه (۵۰)	(۳) *F. solani*	۷۵-۳٦ (متوسط)(۱٦)
ریشه (۵)	(٥٤) *F. oxysporum*	۱۰۰- ۷٦ (قوی)(٤۱)

*اعداد داخل کمانه بیانگر تعداد جدایه بدست آمده از هر مورد است.

**. درصد مرگ ومیر گیاهچه‌ها در آزمون بیماریزائی. شدت بیماریزائی هر جدایه در یکی از گروههای ضعیف، متوسط و قوی قرار گرفت.

از میان ٥٤ جدایه قارچ *Fusarium oxysporum* (Fos) *Fusarium oxysporum* f.sp. *sesame* تعداد ۱۰ جدایه که حداکثر بیماریزائی را نشان می‌دادند، انتخاب و به محیط کشت SNA منتقل شده و در دمای ٤°C در یخچال برای طولانی مدت نگهداری شدند. جدایه-K3 2 از قارچ یادشده، به‌دلیل بیماریزائی بالا روی رقم داراب ١٤ به‌عنوان جدایه مرجع برای ارزیابی ارقام مختلف به‌کار گرفته شد.

آزمون ارزیابی مقاومت

با توجه به تعداد زیاد ژنوتیپ‌های کنجد، لازم است در ابتدا غربال اولیه آنها در شرایط آزمایشگاهی با روشهای ساده، سریع و مطمئن صورت گرفته، سپس در صورت لزوم تعداد محدودی را در شرایط مزرعه ارزیابی کرد.

در آزمون بررسی واکنش ارقام به این بیماری از دو روش مایه‌زنی استفاده شد. در روش اول، هیچ کدام از ارقام و ژنوتیپ‌ها مصون از بیماری نبودند و همگی با درجات متفاوت به این بیماری آلوده شدند. بذور دشستان-٥ و یکتا به‌دلیل آلودگی‌های مختلف قوه‌نامیه پایینی داشتند به‌طوریکه حتی در تشتک‌های شاهد نیز بوته‌میری مشاهده گردید لذا در این آزمون حذف شدند. تجزیه تحلیل واریانس نشان داد که اختلاف معنی‌داری بین ارقام و ژنوتیپ‌ها در سطح احتمال ۱٪ وجود دارد. همچنین مقایسه میانگین‌ها با روش آزمون چند دامنه ای دانکن حاکی از حساس بودن بیشتر ارقام بود. درحالیکه ژنوتیپ جیرفت ۱۳ سطوح بالائی از مقاومت به این بیماری را نشان می‌داد (جدول ۳).

Archive of SID

www.SID.ir

جدول ۳- مقایسه میانگین شدت آلودگی (درصد مرگ‌ومیر) گیاهچه‌ها در ژنوتیپ‌های امیدبخش کنجد به بیماری پوسیدگی فوزاریومی در شرایط درون شیشه با آزمون دانکن در سطح احتمال ۵ درصد.

نام رقم یا ژنوتیپ	میانگین	نام رقم یا ژنوتیپ	میانگین
صفی آباد ۱	۱۰۰a	اولتان	۷۳b
ناز تک شاخه	۱۰۰a	داراب ۱۴	۵۳c
TS3	۹۳a	Yellow white	۵۱c
داراب ۲	۹۳a	دشتستان ۲	۴۲c
داراب ۱	۷۶b	جیرفت ۱۳	۲۶d

ژنوتیپ‌هائی که با حروف یکسان مشخص شده‌اند تفاوت معنی‌داری با هم ندارند.

در روش دوم آلوده سازی، شدت بیماری روی ۲۶ رقم و ژنوتیپ با مقیاس ۵-۱ اندازه‌گیری شد. میانگین سه تکرار در جدول ٤ خلاصه شده است. همه ژنوتیپ‌ها به‌درجات مختلف به این بیماری آلوده شدند و هیچ کدام مصون از بیماری نبودند. اعداد ۵-۱ مقیاس به عنوان حالت مورد انتظار در محاسبات مربع کای استفاده شد. زمانیکه عدد یک مقیاس (واکنش مقاوم) مبنای مقایسه قرار گرفت، همه ۲۶ ژنوتیپ تفاوت معنی‌داری با این حالت (χ^2-R)نشان دادند (جدول ٤). این تفاوت به‌معنای آنست که هیچ کدام از ژنوتیپ‌ها به این بیماری مقاوم نیستند. برای ساده‌تر شدن جدول از قرار دادن ستاره روی اعداد خودداری گردید. زمانیکه شماره دو مقیاس یعنی حالت نسبتاً مقاوم (MR) مبنای مقایسه قرار گرفت و تک‌تک مشاهدات با این حالت مقایسه شده و مربعات کای برای ارقام و ژنوتیپ‌ها در مقایسه با شماره دو مقیاس محاسبه گردید، اکثر ژنوتیپ‌ها و ارقام تفاوت معنی‌داری نشان دادند که همانند حالت قبل ستاره آنها در جدول مشخص نشده است و فقط هفت ژنوتیپ تفاوت معنی‌داری با حالت نسبتاً مقاوم (شماره ۲ مقیاس) نداشتند که با حروف ns نشان داده شدند. بنابراین می‌توان آنها را در گروه نسبتاً مقاوم قرار داد. این ژنوتیپ‌ها به‌ترتیب صعودی میانگین مربعات کای محاسبه شده عبارت بودند از: محلی مغان۱، شاهد گیجوئیه، مغان۱۹، هندی۱۱، محلی مغان۲،B5γM7و مغان ۱۳. این نتایج و همچنین مشاهدات نویسندگان در مزرعه حاکی از آنست که ارقام محلی مغان دارای منابع باارزشی از مقاومت به این بیماری هستند و بایستی در مطالعات به‌نژادی مورد استفاده قرار گیرند.

مجموع مربعات کای برای حالت های حساس بیماری (مقیاسهای ۳،٤ و۵) هم محاسبه گردیدند و همانطور که انتظار می‌رفت همه ارقام و ژنوتیپ‌های ارزیابی شده تفاوت معنی‌داری با حالت‌های حساسیت نداشتند و به عبارت بهتر در گروه حساس‌ها قرار گرفتند. برای ساده تر شدن جدول ٤، مقایسات انجام شده برای مقیاس‌های ۳، ٤ و ۵ ارائه نشدند. ارزیابی سطوح مقاومت در شرایط آزمایشگاهی به چند دلیل دارای برتری نسبت به روشهای مزرعه‌ای است. اول، در شرایط مزرعه علاوه بر بیمارگر مورد نظر، عوامل دیگر مثل ماکروفومینا و ورتی‌سیلیوم بسته به منطقه مورد مطالعه وجود دارند که کار ارزیابی را پیچیده‌تر می‌کنند. دوم، آلودگی‌های بذری که از مزرعه انتقال می‌یابند در آزمونهای آزمایشگاهی قابل‌مشاهده و حذف هستند (لیندرمان و دیویس، ۲۰۰۷) ولی در شرایط مزرعه تفکیک این آلودگی‌ها امکان‌پذیر نیست. سوم، نتایج آزمون‌های مزرعه‌ای در سالهای مختلف به‌دلیل تغییر در شرایط آب و هوائی قابل تکرار نیست (البراماوی و عبدالوحید ۲۰۰۹). چهارمین دلیل مربوط به هزینه اجرای آزمایش‌ها است. هزینه اجرای ارزیابی‌ها در شرایط مزرعه و زمان لازم برای انجام

Archive of SID

www.SID.ir

آنها معمولاً خیلی بیشتر از شرایط آزمایشگاهی است. در مواردی که لازم است تعداد زیادی مواد ژنتیکی ارزیابی شوند، بهتر است غربال اولیه در شرایط آزمایشگاهی انجام و تعداد محدودی برای ارزیابی‌های مزرعه‌ای انتخاب شوند.

نتایج این تحقیق نشان داد که توده‌های بومی کشور دارای پتانسیل بالائی برای اصلاح ارقام کنجد به بیماری‌ها می‌باشند. لاین‌های به‌دست آمده از مغان مثل محلی‌مغان، مغان۱۹ و مغان۱۳ دارای سطوح بالایی از مقاومت به بیماری بودند. این مواد ژنتیکی در ارزیابی‌های مزرعه‌ای نیز مقاومت بالائی از خود نشان دادند (نتایج منتشر نشده از گزارش نهائی پروژه تحقیقاتی سازمان تحقیقات کشاورزی). اگرچه ارقام و ژنوتیپ‌های مورد استفاده در این تحقیق، در کار سایر همکاران مشاهده نشده است ولی استفاده از توده‌های بومی برای اصلاح به بیماری بوته‌میری فوزاریومی در تحقیقات سایرین هم مورد تأکید بوده است (فلاح پوری و همکاران، ۱۳۹۲).

از آنجائیکه تعداد شاخه‌های گیاه کنجد و رنگ دانه همبستگی معنی‌داری با درصد آلودگی گیاه با قارچهای فوزاریوم و ماکروفومینا دارد، توصیه شده است که از این صفات برای انتخاب مستقیم ژنوتیپ‌های مقاوم به بیماری بوته‌میری در شرایط مزرعه استفاده گردد. شمار روزهای رسیدگی با صفت مقاومت به بیماری بوته‌میری همبستگی نداشته است (البراماوی و عبدالوحید ۲۰۰۸).

جدول ٤-ارزیابی سطوح مقاومت ۲٦ ژنوتیپ کنجد به قارچ ***Fusarium oxysporum* f.sp *sesame*** در شرایط گلخانه.

رقم یا ژنوتیپ	میانگین[a]	χ^2-R[b]	χ^2-MR[c]	رقم یا ژنوتیپ	میانگین[a]	χ^2-R[b]	χ^2-MR[c]
خانوک زرند کرمان	۴/۶(۹)	۱۲۹	۳۶	محلی مغان۲	۲/۵(۱۱)	۴۸	۱۷/۵ns
B5γM7	۲/۵(۱۰)	۵۷	۱۸/۵ns	Yellow white	۴/۶(۷)	۹۳	۲۵
صفی آباد ۳	۵(۱۰)	۱۶۰	۴۵	عراقی ۲	۴/۱(۸)	۹۷	۲۷/۵
عراقی ۱	۵(۱۰)	۱۶۰	۴۵	مغان ۱۹	۲/۳(۸)	۳۶	۱۲ns
محلی دزفول	۳/۳(۷)	۶۴	۱۹/۵	چینی	۳/۶(۷)	۶۸	۱۹
محلی بهبهان	۴/۱(۸)	۹۳	۲۵/۵	شاهد گیجوییه	۲/۳(۸)	۳۶	۱۲ns
پتک موسیان	۵(۱۰)	۱۶۰	۴۵	برازجان ۲	۴/۳(۶)	۸۰	۲۳
مغان ۱۳	۲/۸(۹)	۶۰	۱۶/۵ns	محلی مغان۱	۱/۵(۹)	۳۲	۱۲/۵ns
محلی گیجوییه	۴(۷)	۷۷	۲۱	پاناما	۴(۹)	۱۱۲	۳۲/۵
ناز چند شاخه	۵(۱۰)	۱۶۰	۴۵	ورامین۳۷	۴/۵(۸)	۱۱۲	۳۲
سینتیک	۴/۹(۷)	۱۰۵	۲۹	GL91/027	۲/۵(۹)	۶۴	۲۰/۵
داراب ١٤	۵(۱۰)	۱۶۰	۴۵	TS3	۲/۵(۱۰)	۶۰	۲۵
کرج ۱	۳(۱۱)	۱۱۲	۳۳/۵	هندی ۱۱	۲/۵(۸)	۴۸	۱۶ns

a. اعداد داخل کمانه بیانگر تعداد گیاه مایه‌زنی شده می‌باشد.

b. در این ستون، شماره ۱ (واکنش مقاوم، **R**) از مقیاس ۵ تائی ثبت شدت خسارت، به‌عنوان حالت مورد انتظار در نظر گرفته شده است. مقادیر محاسبه شده مربع کای در این ستون همگی بیانگر تفاوت معنی‌دار با حالت مقاوم مقیاس در سطح احتمال ۱٪ معنی‌دار می‌باشد. برای اجتناب از تکرار از قراردادن ستاره بر روی اعداد خودداری شده است.

c. در این ستون، شماره ۲ (واکنش نسبتاً مقاوم، **MR**) از مقیاس ۵-۱ به عنوان حالت مورد انتظار درنظر گرفته شده است. مربعاتی که اختلاف معنی‌داری در سطح ۱٪ با شماره ۲ مقیاس نداشتند با حروف **ns** مشخص شده‌اند. همانند ستون قبلی از قرار دادن ستاره به معنای اختلاف معنی‌دار خودداری شده است.

Archive of SID

www.SID.ir

به دلیل برداشت سنتی کنجد، آلودگی بذرها با بقایای آلوده یکی از چالش‌های اصلی در زراعت این محصول می‌باشد. بجز ایالات متحده آمریکا که به دلیل معرفی ارقام مقاوم به ریزش (ناریزان)، زراعت کنجد در آن به‌طور کاملاً ماشینی صورت می‌گیرد (لنگهام و همکاران ۲۰۰۸)، در سایر نقاط دنیا از ارقام ریزان استفاده می کنند. بنابراین برای اجتناب از بروز اختلال در نتایج، لازم است آلودگی‌های اولیه بذرها با روش‌های متعدد حذف شده و یا با استفاده از روش‌های آزمایشگاهی بذرهای آلوده مشخص گردند. بدین منظور می‌توان بذرها را با محلول هیپوکلریت سدیم، بنومیل یا کاپتان ضدعفونی کرد. حرارت درمانی بذرها نیز در عاری‌سازی بذر از بیمارگر فوزاریوم بسیار موثر تشخیص داده شده است.لازم است در انتخاب روش مناسب دقت زیادی شود زیرا گاهی اوقات بیمارگرها بر اثر اعمال این تیمارها به حالت غیرفعال درآمده ولی در مرحله گیاهچه‌ای دوباره فعال شده و گسترش می‌یابند (دانیلز ۱۹۸۳).

در کنار استفاده از روش‌های به‌زراعی و بهداشتگیاهی، استفاده از بذر مقاوم در کنترل بیماری نقش مهمی دارد. بهرحال اگر آلودگی قارچی بذرها بالا باشد، ضدعفونی با قارچ‌کش‌ها و یا حتی استفاده از ارقام مقاوم تأثیربدر کنترل بیماری نخواهد داشت (اطلاعات منتشر نشده).

سپاس‌گزاری

این پروژه در آزمایشگاه و گلخانه بخش تحقیقات دانه‌های روغنی، موسسه تحقیقات اصلاح و تهیه نهال و بذر با استفاده از اعتبارات اختصاص یافته به پروژه مصوب سازمان تحقیقات، آموزش و ترویج کشاورزی به شماره ۸۰۳۴۹-۰۰۰-۰۰-۱۲۰۰۰-۱۰۷-۲ انجام گرفته است.

منابع

بصیرنیا ط و بنی‌هاشمی ض، ۱۳۸۵. بررسی انتقال *Fusarium oxysporum* f.sp.*sesame* در مزارع استان فارس. بیماری‌های گیاهی، جلد ٤٢، صفحه‌های۱۱۷ تا ۱۲۳.

بنی‌هاشمی ض، ۱۳٦۰. بیماری پوسیدگی کنجد در ایران. مجله بیماری‌های گیاهی، نشریه جمعیت کارشناسان بیماری‌های گیاهی ایران، جلد ۱۷، تهران.

صادقی گرمارودی ح و منصوری س. ۱۳۹۳. ارزیابی اولیه ژرم‌پلاسم کنجد برای مقاومت به بیماری پوسیدگی ذغالی در شرایط آزمایشگاهی. مجله به نژادی نهال و بذر، جلد ۳۰، صفحه‌های ٤۹۳ تا ۵۰۵.

فلاح‌پوری ا، امینیان ح و اسمعیل‌زاده حسینی سع، ۱۳۹۲. ارزیابی فعالیت آنزیم پراکسیداز در دو توده مقاوم و حساس کنجد نسبت به بیماری بوته میری فوزاریومی با عامل *Fusarium oxysporum* f.sp*sesame*. مجله بیماری‌های گیاهی، جلد ٤۹، صفحه‌های ۱۱۲ تا ۱۱۸.

مطلبی ش، ۱۳۷۸. تعیین منابع مقاومت در ذخائر توارثی کنجد نسبت به پژمردگی فوزاریومی *Fusarium oxysporum* f.sp. *sesame*. وزارت کشاورزی،سازمان تحقیقات، آموزش و ترویج کشاورزی، مرکز تحقیقات کشاورزی فارس.

Daniels BA, 1983. Elimination of *Fusarium moniliforme* from the corn seed. Plant Disease 67: 609-611.

Archive of SID

www.SID.ir

El-Bramawy MAES, El-HendawySES and Shaban WIA, 2008.Assessing the suitability of morphological and phenological traits to screen Sesame genotypes for Fusarium wilt and charcoal rot disease resistance. Journal of Plant Protection Research 48: 397-410.

El-BramawyMAES and AbdAl-Wahid OA, 2009. Evaluation of resistance of selected sesame (*Sesamum indicum*) genotypes to Fusarium wilt disease caused by *Fusarium oxysporum* f.sp. *sesame*. Tunisian Journal of Plant Protection 4: 29-39.

JyothiB, Ansari NA, Vijay Y, Anuradha G,Sarkar A, Sudhakar R and Siddiq EA, 2011. Assessment of resistance to Fusarium wilt disease in sesame (*Sesamum indicum* L.) germplasm. Australasian Plant Pathology 40: 471-475.

Kavak H and Boydak E, 2006.Screening of the resistance levels of 26 sesame breeding lines to Fusarium wilt disease. Plant Pathology Journal 5:157-160.

Kolte SJ, 1985. Diseases of annual edible oilseeds crops. Vol. II.(Rapeseed-Mustardand sesame diseases).CRC Press, USA.

Kumar S, Aeron A, Pandey P and Maheshwari D, 2011. Ecofriendly management of charcoal rot and Fusarium wilt disease in sesame (*S. indicum*, L.). chapter 14, pp: 387-405In: Maheshwari D. (Ed.), Bacteria in Agrobiology: Crop Ecosystem, Springer, Berlin, Heidelberg.

Langham DR, Riney J, Smith G and Weimers T, 2008.Sesame grower guide, Sesaco, Sesame coordinators.www.sesaco.net.

Leslie JF and Summerell, BA, 2006. The Fusarium Laboratory Manual. Blackwell Publishing, USA. 388 pp.

Linderman RG and Davis EA. 2007.Evaluation of *Phytophthora ramorum* in nursery crop tissue culture propagation.Plant Health Progress. Doi:10.1094/PHP-2007-0822-01-RS.

Nirenberg HI, 1976. Untersuchungen uber die morphologische und biologische differenzierung in der Fusarium- Sektion Liseola. Mitt. Biol. Bundesanst.Ld-u. Forstw. Berlin-Dahlem 169: 1-117.

Pathak N, Rai, AK, Kumari R, Thapa A and Bhat KV, 2014. Sesame crop: An underexploited oilseed holds tremendous potential for enhanced food value. Agricultural Sciences5: 519-529.

Sinclair JB and Dhingra OD, 1995.Basic Plant Pathology Methods.CRC Press, USA.448 pp.

Stevens RB, 1974. Mycology Guidebook.University of Washington Press, Seattle, WA, 703 pp.

Wegener, M, 1992. Optimierung Von Saatgutpillierungen mit mikrobiellen antagonisten zur biologischen Biologischen Bekampfung Von *Fusarium culmorum* (W. G. SM) Sacc.In Weizen. Diplomarbeit, Universitat Gottingen.

Ziedan EH, Elewa IS, Mostafa MH and Sahab AF, 2011. Application of mycorrhizae for controlling root disease of sesame. Journal of Plant Protection Research 5: 355-361.

Archive of SID

www.SID.ir

Reaction of Improved Sesame Lines and Cultivars to Fusarium Wilt at *In vitro* and Greenhouse Conditions

H Sadeghi Garmaroodi[1*] and S Mansouri[1]

[1]Seed and Plant Improvement Institute, Agricultural Research, Education and Extension Organization (AREEO), Karaj, Iran.
*Corresponding author: hsgarmaroodi@gmail.com
Received: 15 Mar 2015 Accepted:13 Dec 2015

Abstract

Fusarium vascular wilt of sesame is one of the destructive soilborn diseases of this crop in Iran and worldwide. Infected tissues of sesame were collected from the experimental field of Seed and Plant Improvement Institute in Karaj, then pieces of stem and roots were excised and cultured on the media. *Fusarium oxysporum* f.sp. *sesame* (Fos) was recovered frequently from the tissues up to 81% of the isolated fungi, while *F. solani* was isolated in some few cases. Pathogenicity of the isolates was evaluated on the SNA Petri plates in the lab condition. The disease resistance assessment carried out using two different methods. For the laboratory method, the SNA plates were used for 12 cultivars and lines. The line Jiroft-13 had the highest level of disease resistance in this test. In the second method of inoculation, roots of the seedlings of 26 cultivars and lines were dipped into the spore suspension for 5 minutes and then planted in pots in greenhouse. Disease severity was recorded after 15 days using a 1-5 scale. Observations of each genotype was statistically analyzed using non-parametric Chi-square test. None of the genotypes were immune to the disease. Among the less infected genotypes, Moghan 19, Shahed-e-Gijuye, Mahali Moghan Shahed, Hindi-11, Moghan 13, Mahalli Moghan and B5γM7 showed considerably low infection, so regarded as moderately resistant cultivars.

Keywords: Resistant Cultivars, Sesame, *Fusarium oxysporum.*

Archive of SID

www.SID.ir