پژوهش‌های کاربردی در گیاه‌پزشکی/ جلد ۷ شماره ۱/ سال ۱۳۹۷

تنوع قدرت تهاجمی جدایه‌های *Sclerotinia sclerotiorum* و *S. minor* در استان آذربایجان غربی و برهمکنش اختصاصی لاین‌های آفتابگردان با جدایه‌های این بیمارگرها

خدیجه موسی خلیفانی[۱]، رضا درویش‌زاده[۲*] و مسعود ابرین‌بنا[۳]

۱- دانشجوی سابق کارشناسی ارشد اصلاح نباتات، گروه اصلاح و بیوتکنولوژی گیاهی دانشکده کشاورزی دانشگاه ارومیه.

۲- استاد، گروه اصلاح و بیوتکنولوژی گیاهی دانشکده کشاورزی دانشگاه ارومیه.

۳- استادیار، گروه گیاه‌پزشکی دانشکده کشاورزی دانشگاه ارومیه.

[*] مسئول مکاتبه: r.darvishzadeh@urmia.ac.ir

تاریخ دریافت: ۹۵/۱۱/۱۴ تاریخ پذیرش: ۹۶/۱۲/۲۷

چکیده

پوسیدگی اسکلروتینیایی یقه ساقه و ساقه که توسط قارچ‌های *Sclerotinia sclerotiorum* و *S. minor* ایجاد می‌شود، یکی از بیماری‌های مخرّب و مهم آفتابگردان است. استفاده از ارقام مقاوم به عنوان مهم‌ترین روش کنترل این بیماری در نظر گرفته می‌شود، ولی بکارگیری و توسعه‌ی این ارقام، مستلزم وجود اطلاعاتی در زمینه‌ی قدرت تهاجمی بیمارگر در منطقه و برهمکنش جدایه‌های قارچ با ژنوتیپ‌های میزبان است. در این تحقیق ابتدا قدرت تهاجمی ۱۵ جدایه *S. sclerotiorum* و ۱۴ جدایه *S. minor* جمع‌آوری شده از مزارع آفتابگردان در مناطق مختلف استان آذربایجان غربی، روی رقم فرّخ بررسی شد. قدرت تهاجمی جدایه‌های *S. sclerotiorum* از کم تا زیاد متغیر بود ولی تنوع قدرت تهاجمی کمی در بین جدایه‌های *S. minor* مشاهده شد و اغلب آنها بسیار مهاجم بودند. سپس برهمکنش بین سه جدایه منتخب از هر گونه قارچ و ۴۰ لاین آفتابگردان مورد بررسی قرار گرفت. مقاومت اختصاصی جدایه نسبت به دو بیمارگر در بعضی از لاین‌های مورد بررسی شناسایی گردید و دو لاین ۱۵۰۳۱ و ENSAT-699 نسبت به هر سه جدایه *S. minor* مقاوم بودند. در بین لاین‌های مقاومی که در این تحقیق شناسایی شد، لاین ایرانی ۱۱۰ با مقاومت به دو جدایه از هر کدام از دو گونه بیمارگر و نیز میانگین آلودگی کلّ (۷۹/۴۴٪) کم، جزو مقاوم‌ترین لاین‌ها بود. از منابع مقاومت جدید که در این تحقیق شناسایی شد، می‌توان در برنامه‌های به‌نژادی آفتابگردان استفاده کرد و با ترکیب مقاومت‌های اختصاصی جدایه، ارقامی با طیف مقاومت وسیع نسبت به هر دو بیمارگر ایجاد نمود.

واژه‌های کلیدی: اثر متقابل جدایه × لاین، پوسیدگی یقه‌ی ساقه اسکلروتینیایی، گیاهان روغنی، مقاومت اختصاصی جدایه، مقاومت نسبی.

مقدمه

آفتابگردان (*Helianthus annuus* L.) یکی از محصولات مهم صنعتی در نقاط مختلف دنیا است و بر اساس آخرین گزارش‌های وزارت جهاد کشاورزی، استان آذربایجان غربی از لحاظ سطح زیر کشت و میزان تولید، رتبه اول را در کشور به خود اختصاص داده است (احمدی و همکاران، ۱۳۹۵). پوسیدگی اسکلروتینیایی یقه‌ی ساقه و ساقه از بیماری‌های مهم و خسارت‌زای این محصول در اغلب نقاط دنیا از جمله ایران است (ارشاد ۱۳۸۸، ساهاران و مهتا ۲۰۰۸، چاتوپادیای و همکاران ۲۰۱۶). مهم‌ترین و شایع‌ترین عامل بیماری، قارچ *Sclerotinia sclerotiorum* (Lib.) de Bary می‌باشد که به دلایل مختلف از جمله دارا بودن دامنه‌ی وسیع میزبانی، قدرت بیماری‌زایی بالا در شرایط مساعد و

Archive of SID

www.SID.ir

توانـایی بسـیار زیـاد سـختینه‌هـای آن بـرای مقاومـت در شرایط نامساعد و در غیاب گیاهان میزبان، به عنوان عامل بیماری‌زای خطرناک در خیلی از محصـولات کشـاورزی از جمله آفتابگردان محسوب می‌شود. خسـارت ناشـی از ایـن قارچ ممکن است در برخی شرایط به ۱۰۰ درصد هم برسد (پـوردی ۱۹۷۹، سـاهاران و مهتـا ۲۰۰۸، چاتاپودیـای و همکاران ۲۰۱۶). گونه‌ی *S. minor* Jagger نیز در مواردی بـه عنـوان عامـل پوسـیدگی و پژمردگـی اسـکلروتینیایی آفتـابگردان در ایـران (ارشـاد، ۱۳۸۸) و برخـی کشـورها (اکیـنس و همکـاران ۲۰۰۲، کـاروف و همکـاران ۲۰۱۱، چاتوپادیای و همکاران ۲۰۱۶، لی و همکاران ۲۰۱۶) معرفی شـده اسـت کـه اهمیـت آن بـه مراتـب کمتـر از *S. sclerotiorum* است.

کنترل زراعی، مهار زیستی، کنترل شیمیایی با اسـتفاده از قارچ‌کش‌ها و کاشـت ارقـام مقـاوم از جملـه روش‌هـایی هسـتند کـه بـرای مـدیریت پوسـیدگی اسـکلروتینیایی آفتابگردان توصیه شده‌انـد. از لحـاظ اقتصـادی و زیسـت-محیطی، استفاده از ارقـام مقـاوم بهتـرین روش کنتـرل بـه شـمار مـی‌رود و بکـارگیری ایـن ارقـام، کـارآیی مـدیریت تلفیقی بیماری ناشی از *S. sclerotiorum* را به میزان قابل توجهی افزایش می‌دهد (ساهاران و مهتا ۲۰۰۸، چاتاپودیای و همکاران ۲۰۱۶).

از آنجائیکـه *S. sclerotiorum* در مقایسـه بـا *S. minor* اهمیت بیشتر و پراکنش وسیع‌تری در مناطق کشت آفتـابگردان در سراسـر دنیـا دارد، مطالعـاتی در زمینـه‌ی برهمکنش ژنوتیپ‌های مختلـف آفتـابگردان نسـبت بـه ایـن بیمارگر و تنوع قدرت تهاجمی[1] جدایه‌های آن انجـام گرفتـه است. در طی این بررسی‌ها، چندین رقم و لاین آفتـابگردان مقاوم به قارچ عامل بیمـاری پوسـیدگی اسـکلروتینیایی در ایران (داور و همکاران ۲۰۱۱) و سایر نقاط دنیا (سـدون و براون ۱۹۸۹، کاستانو و همکـاران ۱۹۹۴، دگنـر و همکـاران ۱۹۹۸، هان ۲۰۰۲، هوانگ ۲۰۰۲، رونیک و همکـاران ۲۰۰۴، گودوی و همکاران ۲۰۰۵، رونیک و همکاران ۲۰۰۵) معرفی شده است که البته هیچکدام از آنها مقاومت کاملی نسبت به بیماری ندارند. بررسی ژنتیک مقاومت و مکان‌یابی ژن‌ها با استفاده از نشانگرهای مولکولی نیـز نشـان داده اسـت کـه مقاومت ارقام و لاین‌های آفتابگردان بـه *S. sclerotiorum* به صورت کمّی است و تاکنون چنـدین QTL[2] (مکـان‌هـای صفت کمّی) دخیل در این صفت نیز شناسـایی شـده اسـت (داور و همکـــاران ۲۰۱۰، عمـــوزاده و همکـــاران ۲۰۱۵، تالوکدر و همکاران ۲۰۱۶).

شناسـایی ارقـام مقـاوم مـوثر و بکـارگیری آنهـا در برنامه‌های بـه‌نـژادی و مـدیریت بیمـاری، مسـتلزم وجـود اطلاعـاتی در مـورد تنـوع و قـدرت تهـاجمی جدایـه‌هـای بیمـارگر در منطقـه اسـت. در زمینـه تنـوع قـدرت تهـاجمی جدایه‌های *S. sclerotiorum* نتایج متفاوتی گـزارش شـده است. در حالی که سدون و براون (۱۹۸۹) تفاوتی در قدرت تهـاجمی ۱۳ جدایـه قـارچ مشـاهده نکردنـد ولـی در سـایر مطالعات، جدایه‌هایی با قدرت تهاجمی مختلف گزارش شده است که به دلیل ماهیـت کمّـی ایـن صـفت، جدایـه‌هـا دارای طیف پیوسته‌ای از توانایی تهاجم خیلی کـم تـا خیلـی زیـاد روی آفتابگردان و سـایر محصـولات بودنـد (مارسـیانو و همکاران ۱۹۸۳، ریـدل و همکـاران ۱۹۹۱، کـول و همکـاران ۲۰۰۴، اکینس و همکـاران ۲۰۰۷). بررسـی قـدرت تهـاجمی جدایه‌هـای *S. sclerotiorum* در ایـران نیـز انجـام گرفتـه است. اختلاف قابل توجهی بین جدایه‌هـای ایـن بیمـارگر در مزارع آفتابگردان و کلـزا در اسـتان‌هـای شـمالی و شـمال غرب کشور وجود دارد (داور و همکـاران ۲۰۱۰، بـراری و همکاران ۲۰۱۴، ایرانی و همکاران ۲۰۱۵). بنابراین، با توجه به تنوع بالا در قدرت تهاجمی، بهتر اسـت واکـنش ارقـام و لاین‌های گیاه نسبت به *S. sclerotiorum* بـا بـیش از یـک جدایه ارزیابی شود (اکینس و همکـاران ۲۰۰۷، پاسـکوال و همکاران ۲۰۱۰) و برای شناسایی منابع مقاومت نیز جدایه-

[1] Aggressiveness

[2] Quantitative trait loci

Archive of SID

www.SID.ir

هایی با قدرت تهاجمی مناسب مورد استفاده قرار گیرند (اکینس و همکاران ۲۰۰۷، اوتو-هانسون و همکاران ۲۰۱۱).

در چند سال اخیر گونه *S. minor* در سطح وسیعی در مزارع آفتابگردان برخی مناطق به ویژه خوی و سلماس شایع شده است به طوری که در برخی مزارع، این گونه به عنوان تنها عامل بیماری‌زا دیده می‌شود (مشاهدات مزرعه-ای نگارندگان). با توجه به اهمیت بیماری، تحقیق حاضر به منظور بررسی تنوع و مقایسه‌ی قدرت تهاجم دو گونه *S. sclerotiorum* و *S. minor* در مناطق عمده کشت آفتابگردان در استان آذربایجان غربی و نیز ارزیابی واکنش لاین‌های آفتابگردان نسبت به جدایه‌های منتخب از هر دو گونه انجام گرفت.

مواد و روش‌ها

نمونه‌برداری، جداسازی و شناسایی جدایه‌های قارچی

در طی شهریور ماه سال ۱۳۹۳، از مزارع آفتابگردان در مناطق عمده‌ی تحت کشت این محصول در استان آذربایجان غربی شامل ارومیه، سلماس و خوی بازدید و از قسمت پایه‌ای ساقه (یقه ساقه یا طوقه) در گیاهان با نشانه‌های آلودگی به گونه‌های *Sclerotinia*، نمونه‌برداری انجام شد. در داخل هر مزرعه، نمونه‌برداری از قسمت‌های مختلف انجام و هر یک از نمونه‌ها به طور جداگانه درون پاکت‌های کاغذی قرار داده شده و به آزمایشگاه انتقال یافتند.

برای جداسازی قارچ از نمونه‌ها، سختینه‌های تشکیل شده روی بافت‌های آلوده گیاهی و یا داخل ساقه‌های آلوده، به مدت پنج دقیقه با هیپوکلریت سدیم نیم درصد ضد عفونی شدند و پس از سه بار شستشو با آب مقطر سترون و آب‌گیری با کاغذ صافی سترون، به تشتک‌های پتری حاوی محیط کشت PDA[1] (۳۹ گرم بر لیتر، ساخت شرکت Merck آلمان) به همراه آنتی‌بیوتیک سولفات استرپتومایسین (۱۰۰ میلی‌گرم بر لیتر) منتقل گردیدند. تشتک‌ها در انکوباتور با دمای ۲۵ درجه‌ی سلسیوس در شرایط تاریکی نگهداری شده و هر روز مورد بررسی قرار گرفتند و میسلیوم‌های رشد کرده از سختینه‌ها به محیط کشت جدید انتقال یافتند. خالص‌سازی و تکثیر جدایه‌ها از طریق برداشتن نوک ریسه‌ها در WA[2] دو درصد و سپس برداشتن یک سختینه جدید تولید شده در PDA انجام گرفت. شناسایی جدایه‌ها در سطح گونه، با استفاده از مشخصات ریخت‌شناختی و کلیدهای شناسایی انجام گرفت (کوهن ۱۹۷۹، ساهاران و مهتا ۲۰۰۸).

بررسی قدرت تهاجمی جدایه‌های *S. sclerotiorum* و *S. minor*

برای بررسی قدرت تهاجمی جدایه‌ها، تعداد ۱۵ جدایه *S. sclerotiorum* و ۱۴ جدایه *S. minor* که از مزارع اطراف ارومیه، سلماس و خوی جداسازی شده بودند، روی آفتابگردان رقم فرّخ مایه‌زنی شدند. فرّخ یک رقم حسّاس و مخصوص کشت در مناطق سرد معتدل مانند آذربایجان غربی و شرقی، زنجان و کرمانشاه است (فرخی و همکاران ۱۳۸۹). بذرهای این رقم از بخش دانه‌های روغنی در مؤسسه تحقیقات اصلاح و تهیه نهال و بذر کرج تهیه شد.

بذرها در گلدان‌های پلاستیکی مستطیلی شکل ۶۰×۲۰ سانتی متری، حاوی خاک و پیت‌ماس (به نسبت ۱:۱) کشت شدند و در اتاق رشد با دمای ۲۵ درجه‌ی سلسیوس، رطوبت ۷۵ درصد و دوره‌ی نوری ۱۲ ساعت نگهداری شدند. مایه‌زنی گیاهان حدود چهار هفته بعد از کاشت و در مرحله‌ی ۸-۶ برگی انجام شد. بدین منظور، یک حلقه چهار میلی‌متری از حاشیه‌های فعّال و در حال رشد پرگنه‌های پنج روزه جدایه‌های قارچ‌ها در قسمت یقه‌ی ساقه هر گیاه قرار داده شد. برای تامین رطوبت مورد نیاز برای رشد قارچ، یک قطعه پنبه خیس به مدت ۴۸ ساعت روی هر حلقه گذاشته و با پارافیلم پوشانده شد. سه روز پس از مایه-

[1] Potato dextrose agar

[2] Water agar

Archive of SID

www.SID.ir

زنی، درصد قسمت نکروزه و پوسیده اطراف یقه ساقه تا فاصله یک سانتیمتری، به صورت بصری اندازه‌گیری شد (پرایس و کولهون ۱۹۷۵، داور و همکاران ۲۰۱۰، عموزاده و همکاران ۲۰۱۵). این آزمایش گلدانی در قالب طرح کاملاً تصادفی با سه تکرار و هر تکرار شامل شش گیاهچه انجام گرفت.

ارزیابی واکنش لاین‌های آفتابگردان نسبت به جدایه‌های *S. sclerotiorum* و *S. minor*

واکنش ۴۰ لاین آفتابگردان (جدول ۱) نسبت به سه جدایه *S. sclerotiorum* و سه جدایه *S. minor* در اتاق رشد و طبق شرایط آزمایشی و روش‌هایی که در قسمت قبل توضیح داده شد، ارزیابی گردید. جدایه‌های هر دو گونه بر اساس قدرت تهاجمی متوسط روی رقم فرّخ انتخاب شدند. در این آزمایش لاین AS613 به عنوان شاهد حساس مورد استفاده قرار گرفت.

جدول ۱- مواد گیاهی مورد بررسی و منشا آن‌ها

شماره	لاین	کشور	مرکز تحقیقاتی	شماره	لاین	کشور	مرکز تحقیقاتی
۱	11×12	ایران	SPII	۲۱	AS613	فرانسه	ASGROW
۲	4	ایران	SPII	۲۲	H100A/90R78	فرانسه	ASGROW
۳	110	ایران	SPII	۲۳	LP-CSYB	فرانسه	ENSAT
۴	28	ایران	SPII	۲۴	ENSAT-283	فرانسه	ENSAT
۵	30	ایران	SPII	۲۵	AS3211	فرانسه	ENSAT
۶	36	ایران	SPII	۲۶	ENSAT-254	فرانسه	ENSAT
۷	1059	ایران	SPII	۲۷	ENSAT-270	فرانسه	ENSAT
۸	38	ایران	SPII	۲۸	1009329 2 (100K)	فرانسه	ENSAT
۹	346	ایران	SPII	۲۹	1009337 (100K)	فرانسه	ENSAT
۱۰	LC1064C	فرانسه	ASGROW	۳۰	100935 0(100K)	فرانسه	ENSAT
۱۱	8A*/LC1064C	فرانسه	ASGROW	۳۱	ENSAT-699	فرانسه	ENSAT
۱۲	AS5305	فرانسه	ASGROW	۳۲	AS3232	فرانسه	ENSAT
۱۳	RHA265	آمریکا	USDA	۳۳	PAC2	فرانسه	ENSAT
۱۴	H100B	فرانسه	ASGROW	۳۴	CAY	فرانسه	ENSAT
۱۵	AS5304	فرانسه	ASGROW	۳۵	A CONTROL PLASTIPIC	فرانسه	ENSAT
۱۶	SSD580	فرانسه	ASGROW	۳۶	1009370 1(100K)	فرانسه	ENSAT
۱۷	SSD581	فرانسه	ASGROW	۳۷	1009370 3(100K)	فرانسه	ENSAT
۱۸	5AS-F1/A2×R2	فرانسه	ASGROW	۳۸	AS0-1-POP-A	فرانسه	ENSAT
۱۹	8ASB2	فرانسه	ASGROW	۳۹	AS6305	فرانسه	ENSAT
۲۰	15031	فرانسه	ASGROW	۴۰	703-CHLORINA	فرانسه	ENSAT

USDA: The United States Department of Agriculture, SPII: Seed and Plant Improvement Research Institute, ENSAT: Ecole Nationale Supérieure Agronomique de Toulouse

Archive of SID

www.SID.ir

تجزیه‌ی داده‌ها

داده‌های درصد نکروز ابتدا با روش Arcsine تبدیل شدند و نرمال بودن توزیع خطاهای آزمایشی مورد بررسی قرار گرفت. پس از تجزیه داده‌ها، میانگین‌های واقعی با تبدیل معکوس محاسبه شد تا در جدول‌ها و شکل‌ها ارایه شود. تجزیه‌ی واریانس داده‌های مربوط به بررسی قدرت تهاجمی جدایه‌ها با روش مدل خطی عمومی[1] و مقایسه میانگین‌ها با روش Tukey در نرم‌افزار Minitab نسخه ۱۷ انجام گرفت. تجزیه‌های آماری مربوط به واکنش لاین‌های آفتابگردان نسبت به جدایه‌های *S. sclerotiorum* و *S. minor* به طور مجزا انجام گرفت. تجزیه واریانس در نرم‌افزار GenStat نسخه ۱۲ انجام شد و سپس برای تفکیک لاین‌های حساس و مقاوم و نیز شناسایی برهمکنش‌های اختصاصی بین لاین‌ها و جدایه‌ها، مقایسه میانگین با روش حداقل اختلاف معنی‌دار یا LSD[2] انجام گرفت (ابرین‌بنا و همکاران ۲۰۱۲). بدین منظور، مقادیر LSD برهمکنش‌ها در سطح پنج درصد برای همه برهمکنش‌ها محاسبه گردید. لاین‌هایی که از شاهد حساس (لاین AS613) اختلاف معنی‌داری داشتند و درصد آلودگی آنها نسبت به شاهد کمتر بود، به عنوان برهمکنش اختصاصی مقاومت در نظر گرفته شدند ولی آنهایی که اختلاف معنی‌داری نسبت به شاهد داشته و درصد آلودگی آنها نیز بالا بود، به عنوان برهمکنش اختصاصی حساسیت مدنظر قرار گرفتند. همچنین، مقایسه میانگین آلودگی کلّ هر لاین نسبت به هر سه جدایه *S. sclerotiorum* یا *S. minor*، با روش LSD انجام گرفت.

نتایج

قدرت تهاجمی جدایه‌های *S. sclerotiorum* و *S. minor*

نتایج تجزیه واریانس داده‌ها نشان داد که قدرت تهاجمی بین گونه‌ها و نیز جدایه‌های داخل گونه از لحاظ آماری در سطح احتمال یک درصد متفاوت است (جدول ۲).

جدایه‌های *S. minor* با میانگین ۹۳/۵۸ درصد آلودگی، قدرت تهاجمی بیشتری نسبت به جدایه‌های *S. sclerotiorum* (۶۸/۳۳ درصد) داشتند (شکل ۱).

مقایسه میانگین داده‌ها مشخص نمود که ۲۹ جدایه قارچ مورد بررسی، از لحاظ قدرت تهاجم مشابه نبوده و در گروه‌های آماری مختلف قرار گرفتند (شکل ۲). در بین آنها، جدایه‌های Ss15، Sm15، Sm14، Sm13، Sm12 و Sm11 صد درصد آلودگی ایجاد کردند که Ss15 مربوط به گونه‌ی *S. sclerotiorum* و بقیه مربوط به گونه‌ی *S. minor* بودند. پس از پنج جدایه مذکور، هشت جدایه *S. minor* (Sm3 تا Sm10) با ۸۴/۶۷ تا ۹۶/۶۷ درصد و سه جدایه *S. sclerotiorum* (Ss12 تا Ss14) با ۷۶ تا ۸۵ درصد آلودگی، در رتبه‌های بعدی بودند و با پنج جدایه با بیشترین آلودگی (صد درصد) در یک گروه آماری قرار داشتند. در کلّ این ۱۶ جدایه که در یک گروه آماری قرار گرفتند، مهاجم‌ترین جدایه‌ها بودند که از بین آنها ۱۲ جدایه متعلق به گونه *S. minor* بود و ۸۵/۷۱ درصد از جدایه‌های این گونه را شامل می‌شد و چهار جدایه متعلق به گونه *S. sclerotiorum* بود و ۲۶/۶۷ درصد از جدایه‌های گونه را شامل می‌شد. سه جدایه Ss1، Ss2 و Ss3 که به ترتیب ۱۱/۶۷، ۱۵ و ۱۹ درصد آلودگی ایجاد کردند و متعلق به گونه *S. sclerotiorum* بودند، کمترین قدرت تهاجمی را داشتند. در بین جدایه‌های *S. minor*، کمترین درصد آلودگی (۳۵/۵۵) در جدایه Sm1 مشاهده گردید که نسبت به سه جدایه Ss1، Ss2 و Ss3 در گروه آماری متفاوتی قرار گرفت (شکل ۲).

واکنش لاین‌های آفتابگردان نسبت به جدایه‌های *S. sclerotiorum*

تجزیه درصد آلودگی جدایه‌های Ss7، Ss8 و Ss9 روی ۴۰ لاین آفتابگردان نشان داد که اثر جدایه، لاین و اثر متقابل جدایه × لاین از لحاظ آماری در سطح احتمال یک درصد معنی‌دار است (جدول ۳).

[1]General Linear model: GLM
[2]Least significant difference

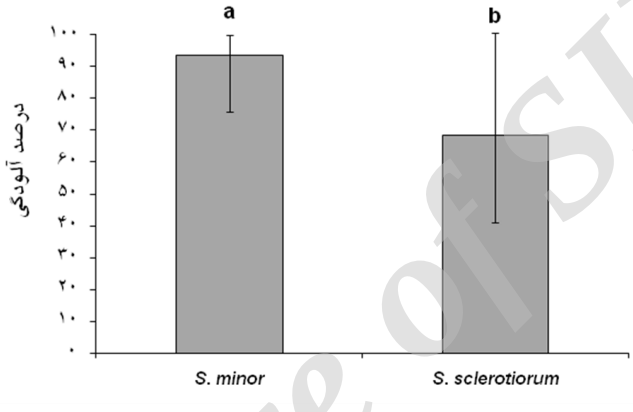
Archive of SID

www.SID.ir

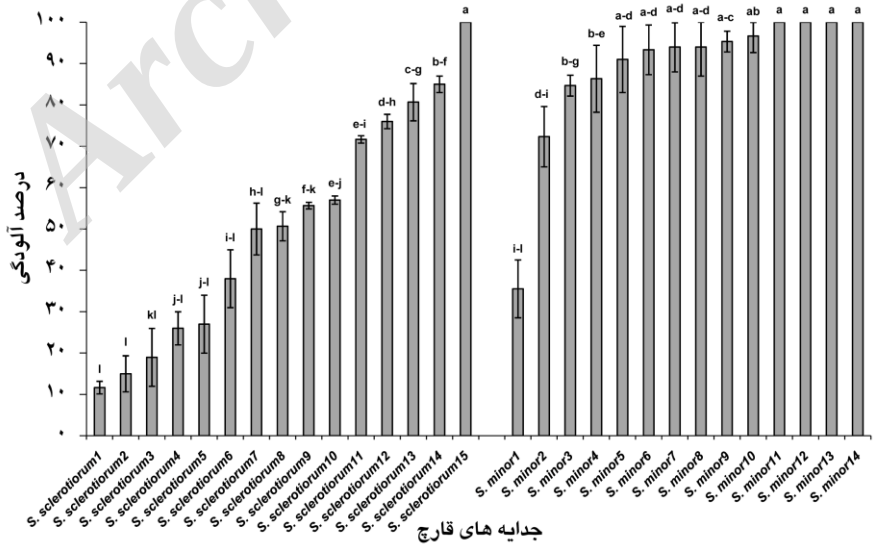
جدول ۲- تجزیه واریانس قدرت تهاجمی جدایه‌های ***Sclerotinia sclerotiorum*** و ***S. minor*** روی آفتابگردان به روش مدل خطی عمومی (**General linear model**)

منبع تغییر	درجه آزادی	میانگین مربعات	F
گونه	۱	۶/۰۷	۴۳۵/۵۲**
جدایه (گونه)	۲۷	۰/۲۸	۱۹/۷۴**
خطا	۵۸	۰/۰۱	-

**: معنی‌دار در سطح احتمال یک



شکل ۱- میانگین کلّ درصد آلودگی (قدرت تهاجمی) جدایه‌های ***S. sclerotiorum*** و ***S. minor*** (خطوط عمودی بیانگر انحراف معیار و حروف مختلف نشان‌دهنده اختلاف معنی‌دار میانگین‌ها (در سطح آماری ۵ درصد).



شکل ۲- میانگین درصد آلودگی (قدرت تهاجمی) جدایه‌های ***S. sclerotiorum*** (**Ss1** تا **Ss15**) و ***S. minor*** (**Sm1** تا **Sm14**) (خطوط عمودی بیانگر انحراف معیار و حروف مختلف نشان‌دهنده اختلاف معنی‌دار میانگین‌ها (در سطح آماری ۵ درصد)

Archive of SID

www.SID.ir

بنابراین لاین‌های آفتابگردان واکنش متفاوتی نسبت به جدایه‌های مورد مطالعه داشتند. معنی‌دار بودن اثر جدایه بیانگر اختلاف در توان تهاجمی و بیماریزایی جدایه‌های مورد استفاده در این آزمایش بود. همچنین معنی‌دار بودن اثر متقابل جدایه × لاین مشخص نمود که برهمکنش اختصاصی بین جدایه‌ها و لاین‌ها وجود دارد.

جدول ۳- تجزیه واریانس درصد آلودگی لاین‌های آفتابگردان توسط جدایه‌های ***Sclerotinia sclerotiorum*** و ***S. minor***

منبع تغییر	درجه آزادی	*S. sclerotiorum*		*S. minor*	
		میانگین مربعات	F	میانگین مربعات	F
لاین آفتابگردان	۳۹	۰/۳۰	۶/۹۴**	۰/۱۳	۴/۲۵**
جدایه قارچ	۲	۲/۵۰	۵۸/۴۶**	۰/۵۲	۱۶/۷۶**
لاین آفتابگردان × جدایه قارچ	۷۸	۰/۱۲	۲/۷۲**	۰/۰۷	۲/۱**
خطا	۲۴۰	۰/۰۴	-	۰/۰۳	-

**: معنی‌دار در سطح احتمال یک درصد.

با مقایسه میانگین‌های درصد آلودگی با استفاده از LSD برهمکنش‌ها (در سطح احتمال ۵ درصد) تعداد ۲۸ برهمکنش اختصاصی شناسایی گردید که از بین آنها نه برهمکنش مقاومت اختصاصی جدایه و بقیه حساسیت اختصاصی بودند (جدول ۴). مقاومت اختصاصی در هفت لاین آفتابگردان شناسایی شد که دو لاین ۱۱۰ و ۱۰۵۹ با منشا ایرانی نسبت به هر دو جدایه Ss8 و Ss9، و پنج لاین نیز فقط به یکی از این دو جدایه مقاومت نشان دادند. درصد آلودگی در برهمکنش‌های مقاومت اختصاصی، از ۳۰/۶۷ تا ۷۰/۶۷ متغیر بود. هیچکدام از لاین‌ها نسبت به جدایه Ss7 مقاومت نشان ندادند. همچنین در ۱۳ لاین آفتابگردان مورد بررسی، تعداد ۱۹ حساسیت اختصاصی وجود داشت که در بین آنها لاین ۳۸ نسبت به هر سه جدایه قارچ حساسیت اختصاصی نشان داد ولی در ۱۲ لاین، تعداد این برهمکنش‌ها از یک تا دو متغیر بود. درصد آلودگی در برهمکنش بین لاین 5AS-F1/A2×R2 و جدایه J2، ۹۸/۶۷ و در سایر واکنش‌های حساسیت اختصاصی از ۹۹/۳۳ تا ۱۰۰ بود (جدول ۴). مقایسه میانگین درصد آلودگی کلّ در لاین‌های آفتابگردان نسبت به هر سه جدایه *S. sclerotiorum* با روش LSD نشان داد که دو لاین ۱۰۵۹ و ۱۱۰ به ترتیب با ۶۳ و ۷۹/۴۴ درصد آلودگی، نسبت به شاهد حساس اختلاف معنی‌دار داشتند و به عنوان لاین‌های مقاوم شناخته شدند (جدول ۴).

واکنش لاین‌های آفتابگردان نسبت به جدایه‌های *S. minor*

تجزیه درصد آلودگی جدایه‌های Sm2، Sm3 و Sm8 روی ۴۰ لاین آفتابگردان مشخص نمود که اثر جدایه، لاین و اثر متقابل جدایه × لاین از لحاظ آماری در سطح احتمال یک درصد معنی‌دار است (جدول ۳). این نتایج نشان داد که لاین‌های آفتابگردان واکنش متفاوتی نسبت به جدایه‌های مورد مطالعه داشتند. معنی‌دار بودن اثر جدایه بیانگر اختلاف در توان تهاجم و بیماریزایی جدایه‌های مورد استفاده در این آزمایش بود. همچنین اثر متقابل جدایه × لاین نیز معنی‌دار بود که بیانگر وجود برهمکنش اختصاصی بین جدایه‌ها و لاین‌ها است.

با مقایسه میانگین‌های درصد آلودگی با استفاده از LSD برهمکنش‌ها (در سطح احتمال ۵ درصد) تعداد ۲۳ برهمکنش اختصاصی شناسایی گردید که در بین آنها یک برهمکنش حساسیت اختصاصی و بقیه مقاومت اختصاصی جدایه بودند (جدول ۴). مقاومت اختصاصی در ۱۵ لاین آفتابگردان شناسایی شد که دو لاین ENSAT-699 و ۱۵۰۳۱ نسبت به هر سه جدایه مقاومت نشان دادند.

Archive of SID

www.SID.ir

همچنین سه لاین ۱۱۰، LP-CSYB و SSD580 نسبت به دو جدایه مقاوم بودند و در ۱۰ لاین مقاومت اختصاصی به یک جدایه مشاهده گردید. درصد آلودگی در برهمکنش‌های مقاومت، از ۳۰/۶۷ تا ۷۰/۶۷ متغیر بود (جدول ۴).

مقایسه میانگین درصد آلودگی کلّ در لاین‌های آفتابگردان نسبت به هر سه جدایه *S. minor* با روش LSD نشان داد که چهار لاین ENSAT-699، ۱۵۰۳۱، ۱۱۰ و SSD581 به ترتیب با ۷۲/۶۷، ۷۸/۱۱، ۷۹/۴۴ و ۸۱/۲۲ درصد آلودگی، نسبت به شاهد حساس اختلاف معنی‌دار داشتند و به عنوان لاین‌های مقاوم شناخته شدند (جدول ۴).

جدول ۴- میانگین درصد آلودگی لاین‌های آفتابگردان مورد مطالعه به جدایه‌های *S. sclerotiorum* و *S. minor*

لاین آفتابگردان	*S. sclerotiorum*				*S. minor*			
	J1	J2	A37	میانگین	M1	G2	A1	میانگین
11×12	۹۸/۳۳	۱۰۰*	۱۰۰*	۹۸/۶۷	۱۰۰	۹۹/۳۳	۹۶/۶۷	۹۸/۶۷
4	۹۸	۹۴/۶۷	۷۵/۶۷	۹۳/۳۳	۹۸/۶۷	۹۴/۳۳	۸۷	۹۳/۳۳
110	۹۰	۶۰/۶۷*	۷۰/۳۳*	۷۹/۴۴**	۸۰/۳۳*	۸۸/۶۷	۶۹/۳۳*	۷۹/۴۴**
28	۹۵	۷۹/۶۷	۷۹/۳۳	۸۶/۱۱	۹۶/۶۷	۷۸/۳۳	۸۳/۳۳*	۸۶/۱۱
30	۹۵/۳۳	۸۱/۶۷	۸۴/۶۷	۸۷/۲۲	۹۷/۶۷	۹۹/۳۳	۹۱	۹۶
36	۹۸/۳۳	۸۸	۹۵/۳۳	۹۳/۸۹	۸۵	۹۶/۶۷	۹۷	۹۲/۸۹
1059	۹۸/۳۳	۳۰/۶۷*	۶۰*	۶۳**	۷۹*	۱۰۰	۷۹/۳۳	۸۶/۱۱
38	۱۰۰*	۱۰۰*	۱۰۰*	۱۰۰	۸۴	۱۰۰	۱۰۰	۹۴/۶۷
346	۹۷	۹۶	۱۰۰*	۹۷/۶۷	۹۲	۹۳/۳۳	۸۹/۶۷	۹۱/۶۷
LC1064C	۹۸	۹۰/۳۳	۸۳/۳۳	۹۰/۵۶	۹۸/۶۷	۱۰۰	۷۱/۶۷*	۹۰/۱۱
8A*/LC1064C	۱۰۰*	۸۳/۳۳	۵۹/۳۳*	۸۰/۸۹	۵۸/۳۳*	۱۰۰	۸۵/۳۳	۸۱/۲۲
AS5305	۹۸/۳۳	۷۸/۶۷	۸۸	۸۸/۳۳	۱۰۰	۹۹/۳۳	۹۰/۶۷	۹۶/۶۷
RHA265	۹۷/۶۷	۱۰۰*	۹۹/۳۳*	۹۹	۷۶/۶۷*	۹۳/۳۳	۹۶/۶۷	۸۸/۸۹
H100B	۹۸/۳۳	۹۸/۳۳	۹۷	۹۷/۸۹	۹۸/۳۳	۹۳/۳۳	۱۰۰	۹۷/۲۲
AS5304	۹۸	۹۰	۹۶	۹۴/۶۷	۱۰۰	۹۵/۶۷	۹۱/۳۳	۹۵/۶۷
SSD580	۹۷/۶۷	۹۷/۶۷	۷۸/۶۷	۹۱/۳۳	۸۱/۶۷*	۹۹/۳۳	۸۲/۸۹*	۸۷/۸۹
SSD581	۹۷/۶۷	۹۷	۸۳/۳۳	۹۲/۶۷	۸۷	۸۳/۳۳	۷۳/۳۳*	۸۱/۲۲**
5AS-F1/A2×R2	۹۹/۳۳*	۹۸/۶۷*	۸۸/۶۷	۹۵/۵۶	۹۹/۳۳	۹۳/۶۷	۱۰۰*	۹۷/۶۷
8ASB2	۹۱/۶۷	۸۶/۳۳	۶۷*	۸۱/۶۷	۸۷/۳۳	۹۰	۸۱*	۸۶/۱۱
15031	۹۵	۷۸	۷۷	۸۳/۳۳	۸۱/۳۳*	۸۱/۳۳*	۷۱/۶۷*	۷۸/۱۱**
H100A/90R78	۹۸/۳۳	۸۶/۶۷	۹۳/۶۷	۹۲/۸۹	۷۶/۶۷*	۱۰۰	۸۴/۶۷	۸۷/۱۱
LP-CSYB	۹۶	۹۶/۶۷	۶۸/۳۳*	۸۷	۸۸/۳۳	۸۲/۳۳*	۷۹/۳۳*	۸۳/۳۳
ENSAT-283	۹۷/۶۷	۱۰۰*	۹۵/۳۳	۹۷/۶۷	۹۳/۳۳	۹۶/۶۷	۹۹/۳۳	۹۶/۴۴
AS3211	۹۸	۱۰۰*	۹۱/۳۳	۹۶/۴۴	۱۰۰	۹۶/۳۳	۹۴/۶۷	۹۷
ENSAT-254	۹۷/۶۷	۹۸	۹۶/۶۷	۹۷/۴۴	۱۰۰	۱۰۰	۹۷/۶۷	۹۹/۲۲

Archive of SID

www.SID.ir

ادامه جدول ۴

ENSAT-270	۹۷	۸۶/۶۷	۷۵/۳۳	۸۶/۳۳	۸۸/۶۷	۹۶	۹۵/۶۷	۹۳/۴۴
1009329 2(100K)	۹۷/۶۷	۱۰۰*	۹۳/۳۳	۹۷	۸۳/۳۳*	۹۷/۳۳	۸۴/۶۷	۸۸/۴۴
1009337 (100K)	۹۵/۳۳	۷۵/۳۳	۷۸/۶۷	۸۳/۱۱	۹۴/۳۳	۹۷/۶۷	۸۹/۶۷	۹۳/۸۹
100935 0(100K)	۹۸	۹۳/۶۷	۸۸/۳۳	۹۳/۳۳	۹۵	۹۶	۷۹/۶۷	۹۰/۲۲
ENSAT-699	۹۵	۹۸	۷۷/۳۳	۹۰/۱۱	۶۸/۶۷*	۷۶*	۷۳/۳۳*	۷۲/۶۷**
AS3232	۹۵/۶۷	۱۰۰*	۸۵	۹۳/۵۶	۹۱	۹۷	۱۰۰	۹۶
PAC2	۹۸/۳۳	۸۸/۶۷	۷۰/۶۷*	۸۵/۸۹	۱۰۰	۹۵	۹۵/۳۳	۹۶/۷۸
CAY	۹۵	۹۳	۱۰۰*	۹۶	۹۸/۶۷	۸۳/۳۳	۸۹/۶۷	۹۰/۵۶
ACONTROL PLASTIPIC	۹۷	۸۰/۶۷	۸۰/۳۳	۸۶	۸۳/۳۳	۹۶/۳۳	۷۹/۳۳*	۸۶/۳۳
1009370 1(100K)	۹۶/۶۷	۱۰۰*	۹۹/۳۳*	۹۸/۶۷	۶۳/۳۳*	۹۶/۶۷	۹۲/۳۳	۸۴/۱۱
1009370 3(100K)	۹۷	۹۴	۵۸/۶۷*	۸۳/۲۲	۱۰۰	۹۶	۹۲/۳۳	۹۶/۱۱
AS0-1-POP-A	۹۸	۹۵/۳۳	۹۷	۹۶/۷۸	۹۷/۶۷	۹۶	۹۶	۹۶/۵۶
AS6305	۹۹/۳۳*	۸۱/۳۳	۸۱/۳۳	۸۷/۳۳	۹۱/۶۷	۱۰۰	۹۵/۳۳	۹۶/۶۷
703-CHLORINA	۹۴/۶۷	۹۶	۸۶	۹۲/۲۲	۹۸/۶۷	۹۸	۸۴/۳۳	۹۳/۶۷
AS613(شاهد)	۹۷/۳۳	۸۹/۳۳	۷۱	۸۵/۸۹	۱۰۰	۹۸/۶۷	۸۸/۳۳	۹۵/۶۷
LSD[a] برهمکنش (*S. sclerotiorum*)	۰/۳۳							
LSD[a] برهمکنش (*S. minor*)	۰/۲۹							
LSD[a] میانگین آلودگی لاین			۰/۱۹					۰/۲۲

*: اختلاف معنی‌دار با شاهد حساس در LSD=5%. برهمکنش‌هایی که با قلم تیره نشان داده شده‌اند، مقاومت اختصاصی جدایه و آنهایی که زیرشان خط کشیده شده است حساسیت اختصاصی جدایه می‌باشند. **: میانگین آلودگی با سه جدایه *S. sclerotiorum* و یا *S. minor* که اختلاف معنی‌داری با شاهد حساس در LSD=5% دارند. [a]: مقادیر LSD داده‌های تبدیل شده با روش Arcsine.

بحث

در این تحقیق قدرت تهاجمی جدایه‌های *S. sclerotiorum* و *S. minor* که از مناطق مختلف در استان آذربایجان غربی جمع‌آوری شده بودند، مورد بررسی قرار گرفت و تفاوت قابل توجهی بین قدرت تهاجمی دو گونه بیمارگر مشاهده شد. در داخل گونه‌ها نیز اختلاف معنی‌داری بین قدرت تهاجمی جدایه‌ها وجود داشت اگر چه تنوع قدرت تهاجمی جدایه‌های *S. sclerotiorum* بیشتر از گونه *S. minor* بود. همچنین با بررسی واکنش ۴۰ لاین آفتابگردان نسبت به سه جدایه از هر کدام از دو قارچ بیمارگر نیز مقاومت اختصاصی جدایه شناسایی شد.

استفاده از ارقام مقاوم از مهم‌ترین روش‌های کنترل پوسیدگی یقه‌ی ساقه و ساقه ناشی از گونه‌های *Sclerotinia* در آفتابگردان است (ساهاران و مهتا ۲۰۰۸). آگاهی از تنوع قدرت تهاجم در جمعیت بیمارگرها در منطقه و اطلاع از نحوه برهمکنش بین ژنوتیپ‌های میزبان و جدایه‌های قارچ، به انتخاب استراتژی های اصلاحی کمک شایانی می‌کند. در این راستا مطالعات متعددی در زمینه بررسی قدرت تهاجمی جدایه‌های گونه‌های این جنس به ویژه *S. sclerotiorum* انجام گرفته است. در برخی موارد قدرت تهاجم مشابه در جدایه‌های مورد بررسی گزارش

Archive of SID

www.SID.ir

شده است (سدون و براون ۱۹۸۹) ولی در اغلب تحقیقات تنوع بالایی از لحاظ قدرت تهاجمی بین جدایه‌های قارچ در ایران (داور و همکاران ۲۰۱۰، ایرانی و همکاران ۲۰۱۵) و سایر کشورها (مارسیانو و همکاران ۱۹۸۳، ریدل و همکاران ۱۹۹۱، کول و همکاران ۲۰۰۴، اکینس و همکاران ۲۰۰۷) مشاهده شده است. در مورد *S. minor* اختلاف معنی‌داری در قدرت تهاجمی ۱۴ جدایه روی آفتابگردان مشاهده نشده است (سدون و براون ۱۹۸۹) ولی تنوع بالایی در بین ۴۸ جدایه این بیمارگر روی بادام‌زمینی گزارش شده است (هالوول و همکاران ۲۰۰۳). در تحقیق حاضر، بررسی قدرت تهاجم ۱۵ جدایه *S. sclerotiorum* و ۱۴ جدایه *S. minor* نشان داد که میانگین درصد آلودگی در جدایه‌های *S. minor* جمع‌آوری شده از مزارع آفتابگردان در مناطق مختلف استان آذربایجان غربی، بیشتر از *S. sclerotiorum* بود و در کلّ آن‌ها خیلی مهاجم‌تر بودند. ولی تنوع قدرت تهاجمی در بین جدایه‌های *S. minor* کمتر بود و در اغلب جدایه‌های *S. minor* (۸۵/۷۱ درصد شامل ۱۲ جدایه) میانگین درصد آلودگی از حدود ۸۴ تا ۱۰۰ درصد مشاهده گردید. در این گروه تنها یک جدایه (Sm1) آلودگی کمتر روی آفتابگردان ایجاد کرد. جدایه‌های *S. sclerotiorum* طیف پیوسته‌ای از آلودگی از حدود ۱۱ تا ۱۰۰ درصد ایجاد کردند و با اینکه جدایه‌هایی با بیشترین و کمترین میانگین آلودگی در گروه‌های آماری مختلف قرار گرفتند، ولی در کلّ جدایه‌ها از لحاظ گروه‌بندی آماری با همدیگر همپوشانی داشتند و تقسیم‌بندی آنها به گروه‌های بیماریزایی مختلف امکان پذیر نبود. طیف پیوسته بیماریزایی جدایه‌های *S. sclerotiorum* روی آفتابگردان (اکینس و همکاران ۲۰۰۷، داور و همکاران ۲۰۱۰)، کلزا (مورال و همکاران ۱۹۷۲) و کاهو (مزلر و بلند ۱۹۹۶) قبلاً نیز گزارش شده است. نتایج مطالعات قبلی ثابت کرده است که تنوع در قدرت تهاجمی جدایه‌های این قارچ، مشکلاتی را در زمینه ارزیابی و اصلاح برای مقاومت ایجاد می‌کند (کول و همکاران ۲۰۰۴، اوتو-هانسون و همکاران ۲۰۱۱). بنابراین، با توجه به تنوع قدرت تهاجمی در جدایه‌های دو گونه در استان آذربایجان غربی، بهتر است قبل از مطالعات ارزیابی و نیز اصلاح و معرفی رقم مقاوم به پوسیدگی یقه ساقه، ساقه و پژمردگی اسکلروتینیایی در منطقه، قدرت تهاجمی جدایه‌ها بررسی شده و جدایه‌های مناسب مورد استفاده قرار گیرند. این موضوع به ویژه در مورد *S. sclerotiorum* از اهمیت ویژه‌ای برخوردار است زیرا یافته‌های این تحقیق و مطالعه قبلی (داور و همکاران ۲۰۱۰) نشان می‌دهند که تنوع این قارچ در منطقه زیاد است و در بین آنها جدایه‌هایی با قدرت تهاجمی خیلی کم نیز وجود دارند که نباید از آنها در مطالعات مرتبط با مقاومت ارقام استفاده کرد.

تنوع ژنتیکی و قدرت تهاجمی در جمعیت‌های *S. sclerotiorum* عموما باعث ایجاد برهمکنش بین ژنوتیپ-های میزبان و جدایه‌های قارچ شده و کارآیی ارقام مقاوم در مزرعه را تحت تاثیر قرار می‌دهد (کول و همکاران ۲۰۰۴، اکینس و همکاران ۲۰۰۷، اوتو-هانسون و همکاران ۲۰۱۱). در مطالعات ژنومیکس با بررسی واکنش لاین‌های خویش آمیخته نوترکیب (RILs[1]) آفتابگردان به جدایه‌های بیمارگر، در مواردی QTL مقاومت اختصاصی جدایه شناسایی شده است (داور و همکاران ۲۰۱۰، عموزاده و همکاران ۲۰۱۵). بنابراین به منظور توسعه و اصلاح ارقامی با مقاومت موثر و پایدار، بایستی واکنش ارقام و ژنوتیپ‌های گیاهی نسبت به بیش از یک جدایه قارچ مورد بررسی قرار گیرد (کول و همکاران ۲۰۰۴، اکینس و همکاران ۲۰۰۷، اوتو-هانسون و همکاران ۲۰۱۱، ویتری و همکاران ۲۰۱۵). در این تحقیق، ارزیابی لاین‌های آفتابگردان با استفاده از سه جدایه *S. sclerotiorum* انجام گرفت و نتایج بیانگر وجود برهمکنش اختصاصی در بین لاین‌ها و جدایه‌های مورد بررسی بود. مقاومت اختصاصی جدایه در هفت لاین شناسایی شد که هیچکدام نسبت به هر سه جدایه مقاوم نبودند. در بین آنها دو لاین ایرانی (۱۰۵۹ و ۱۱۰) نسبت به دو جدایه مقاومت نشان

[1] Recombinant inbred lines

Archive of SID

www.SID.ir

دادند و میانگین آلودگی آنها اختلاف معنی‌داری با شاهد حساس داشت، بنابراین، مقاوم‌ترین لاین‌های آفتابگردان بودند. پنج لاین نیز نسبت به یک جدایه مقاومت اختصاصی نشان دادند. در رابطه با گونه *S. minor*، ۱۵ لاین آفتابگردان با مقاومت اختصاصی جدایه شناسایی گردید. در بین آنها، ENSAT-699 و ۱۵۰۳۱ به هر سه جدایه مقاومت نشان دادند و سایر لاین‌ها از جمله لاین‌های ایرانی ۱۱۰، ۱۰۵۹ و ۲۸ نسبت به یک و یا دو جدایه مقاوم بودند. میانگین درصد آلودگی کلّ در ENSAT-699، ۱۵۰۳۱، ۱۱۰ و SSD581 اختلاف معنی‌داری با شاهد حساس داشت و در کلّ به عنوان مقاوم‌ترین لاین‌ها شناخته شدند.

با توجه به اینکه هیچکدام از لاین‌های آفتابگردان، طیف مقاومت وسیع نسبت به *S. sclerotiorum* نداشتند و نسبت به هر سه جدایه این بیمارگر مقاوم نبودند، استفاده از آن‌ها به طور مستقیم در شرایط مزرعه یا برنامه‌های اصلاح برای مقاومت به پوسیدگی اسکلروتینیایی موثر نخواهد بود. به نظر می‌رسد در بین لاین‌های مورد بررسی، دو لاین که به هر سه جدایه *S. minor* مقاوم بودند، طیف مقاومت وسیعی داشته باشند، ولی بایستی واکنش این دو لاین نسبت به سایر جدایه‌های این بیمارگر بررسی و مقاومت آنها نسبت به سایر جدایه‌ها نیز مشخص گردد. وجود مقاومت و یا حساسیت اختصاصی لاین‌های آفتابگردان نسبت به جدایه‌های مورد بررسی، یافته‌ها و توصیه‌های قبلی (کول و همکاران ۲۰۰۴، اکینس و همکاران ۲۰۰۷، اوتو-هانسون و همکاران ۲۰۱۱، ویتری و همکاران ۲۰۱۵) را تایید نمود و لزوم استفاده از بیش از یک جدایه در آزمایش‌های ارزیابی ارقام و ژنوتیپ‌های آفتابگردان نسبت به بیماری پوسیدگی یقه ساقه و ساقه اسکلروتینیایی را نشان می‌دهد.

در این تحقیق منابع مقاومت جدیدی نسبت به دو قارچ عامل پوسیدگی اسکلروتینیایی شناسایی گردید که می‌توان از این لاین‌های مقاوم در برنامه‌های به‌نژادی آفتابگردان استفاده کرد و با ترکیب مقاومت‌های اختصاصی جدایه، ارقامی با طیف مقاومت وسیع نسبت به هر دو بیمارگر ایجاد نمود. در این راستا توسعه جمعیت‌های نقشه‌یابی و مکان یابی دقیق QTLهای مقاومت و نشانگرهای مولکولی پیوسته به آنها در لاین‌های مقاوم در گزینش و برنامه‌های به‌نژادی مقاومت به این دو بیمارگر در آفتابگردان موثر خواهد بود. در بین لاین‌های مقاومی که در این تحقیق شناسایی شد، لاین ایرانی ۱۱۰ از اهمیت ویژه‌ای برخوردار است زیرا این لاین به دلیل مقاومت به دو جدایه از هر کدام از دو بیمارگر و نیز میانگین آلودگی کلّ کم، جزو مقاوم‌ترین لاین‌ها بود.

در مجموع، نتایج این تحقیق نشان داد که لاین‌های آفتابگردان مورد بررسی، دارای مقاومت اختصاصی جدایه هستند و هیچکدام طیف مقاومت وسیعی نسبت به *S. sclerotiorum* و احتمالاً *S. minor* ندارند. بنابراین پیشنهاد می‌شود واکنش ژنوتیپ‌هایی بیشتری نسبت به بیمارگرها بررسی شود تا در صورت وجود ارقام و لاین‌های با طیف گسترده مقاومت، شناسایی گردند. همچنین، به دلیل وجود برهمکنش اختصاصی، انتخاب جدایه‌های مناسب برای ارزیابی مقاومت ارقام و لاین‌های آفتابگردان از اهمیت ویژه‌ای برخوردار است. انتخاب جدایه‌های مناسب مستلزم وجود اطلاعاتی در مورد تنوع ژنتیکی، چرخه زندگی و پتانسیل تکاملی بیمارگرها در منطقه است تا با استفاده از این جدایه‌ها بتوان ارقامی با مقاومت موثر را شناسایی و یا تولید کرد. در این زمینه، آگاهی از روش تولیدمثل، وجود و نرخ تولیدمثل جنسی، سازگاری جنسی و نقش هر کدام از روش‌های تولیدمثلی در چرخه زیستی قارچ‌های بیماریزا از اهمیت ویژه‌ای برخوردار است زیرا هر کدام از این عوامل تنوع ژنتیکی و تنوع قدرت تهاجمی را در جمعیت‌های قارچ‌ها تحت تاثیر قرار می‌دهند و ممکن است استفاده از ارقام مقاوم گیاهی را در کنترل بیماری با مشکل مواجه کنند. نتایج بررسی‌ها ثابت کرده است که هر دو گونه *Sclerotinia* به صورت غیرجنسی و از طریق تولید سختینه تولید مثل می‌کنند. البته *S. sclerotiorum* در شرایط مساعد محیطی قادر به تولید آپوتسیوم است که آسکوسپورهای حاصل از این اندام می‌توانند در فواصل

Archive of SID

www.SID.ir

دورتری انتشار یابند و قسمت‌های فوقانی ساقه و به ویژه طبق را آلوده کنند (ساهاران و مهتا ۲۰۰۸، چاتوپادیای و همکاران ۲۰۱۶). با این حال، مطالعه جمعیت‌های *S. sclerotiorum* نشان داده است که این بیمارگر در اغلب مناطق به صورت همسانه‌ای[1] تکثیر می‌یابد و به طور معمول یک و یا تعداد محدودی همسانه با فراوانی بالا در مزارع گسترش داشته و جمعیت غالب را تشکیل می‌دهند (کوهلی و کوهن ۱۹۹۸، ساهاران و مهتا ۲۰۰۸). در حقیقت اگر چه در موارد معدودی دگرتالی[2] در *S. sclerotiorum* گزارش شده است (اتاللاه ۲۰۰۴، گومز و همکاران ۲۰۱۱، آتانایاک و همکاران ۲۰۱۳، آتانایاک و همکاران ۲۰۱۴)، در حالت کلّی این بیمارگر به عنوان یک قارچ هم‌تال[3] شناخته می‌شود که وقوع تولیدمثل جنسی، تنوع ژنتیکی قابل توجهی در قارچ ایجاد نمی‌کند و همسانه‌های مشابه می‌توانند به صورت آسکوسپور انتشار یابند (کوهلی و همکاران ۱۹۹۲، اندرسون و کوهن ۱۹۹۵، همبلتون و همکاران ۲۰۰۲، ساهاران و مهتا ۲۰۰۸). بنابراین شناسایی همسانه(های) غالب این بیمارگرها در هر منطقه، اهمیت اساسی دارد. با توجه به اینکه در حال حاضر اطلاعاتی در زمینه تنوع ژنتیکی و نقش تولیدمثل جنسی در چرخه این بیمارگرها در جمعیت‌های *S. sclerotiorum* و *S. minor* در آذربایجان غربی وجود ندارد، بهتر است مطالعات جامعی در این زمینه در سطح استان صورت گیرد تا بتوان بر اساس نتایج حاصل از این تحقیقات، تعداد جدایه مناسب و همسانه(های) غالب احتمالی را مشخص کرده و در ارزیابی مقاومت لاین‌های آفتابگردان مورد استفاده قرار داد. همچنین، استفاده از این نتایج کمک شایان توجهی در تعیین استراتژی مناسب برای بکارگیری منابع مقاومت در مزرعه و نیز روش مناسب برای اصلاح ارقامی با مقاومت موثر و پایدار می‌کند.

سپاسگزاری

این تحقیق در قالب طرح پژوهشی و با استفاده از اعتبارات پژوهشی دانشگاه ارومیه انجام شده است که بدین وسیله تشکر و قدردانی می‌شود. از دانشکده کشاورزی و پژوهشکده زیست فناوری دانشگاه ارومیه به خاطر فراهم‌نمودن امکانات لازم برای انجام پژوهش، و همچنین از انستیتو تحقیقات آگرونومی تولوز فرانسه به خاطر در اختیار قراردادن بذور لاین‌های آفتابگردان نیز تشکر و قدردانی می شود.

[1] Clonal
[2] Heterothallism
[3] Homothallic

Archive of SID

www.SID.ir

منابع

احمدی ک، قلی‌زاده ح، عبادزاده ح، حاتمی ف، فضلی استربق م، حسین‌پور ر، کاظمیان آ و رفیعی م، ۱۳۹۵. آمارنامه کشاورزی سال زراعی ۱۳۹۵-۱۳۹۴، جلد اوّل: محصولات زراعی. وزارت جهاد کشاورزی، معاونت برنامه‌ریزی و اقتصادی، مرکز فناوری اطلاعات و ارتباطات.

ارشاد ج، ۱۳۸۸. قارچ‌های ایران. موسسه تحقیقات گیاه‌پزشکی کشور.

فرخی،ا، خدابنده ا، دانشیان ج و رحمانپور س، ۱۳۸۹. هیبرید فرخ، پیشاهنگ نسل جدید هیبریدهای ایرانی آفتابگردان. سومین سمینار بین المللی دانه های روغنی و روغنهای خوراکی، تهران، کانون هماهنگی دانش و صنعت دانه های روغنی.

Abrinbana M, Mozafari J, Shams-bakhsh M and Mehrabi R, 2012. Resistance spectra of wheat genotypes and virulence patterns of *Mycosphaerella graminicola* isolates in Iran. Euphytica, 186(1): 75–90.

Amoozadeh M, Darvishzadeh R, Davar R, Abdollahi-Mandoulakani B, Haddadi P and Basirnia A (2015). Quantitative trait loci associated with isolate specific and isolate non-specific partial resistance to *Sclerotinia sclerotiorum* in sunflower. Journal of Agricultural Science and Technology, 17: 213-226.

Anderson JB and Kohn LM, 1995. Clonality in soilborne, plant-pathogenic fungi. Annual Review of Phytopathology, 33: 369–391.

Atallah Z K, Larget B, Chen X, and Johnson DA, 2004. High genetic diversity, phenotypic uniformity, and evidence of outcrossing in *Sclerotinia sclerotiorum* in the Columbia Basin of Washington State. Phytopathology, 94(7): 737–742.

Attanayake RN, Tennekoon V, Johnson DA, Porter L, del Río-Mendoza L, Jiang D and Chen W, 2014. Inferring outcrossing in the homothallic fungus *Sclerotinia sclerotiorum* using linkage disequilibrum decay. Heredity 113(4): 353–363.

Attanayake RN, Porter L, Johnson DA and Chen W, 2012. Genetic and phenotypic diversity and random association of DNA markers of isolates of the fungal plant pathogen *Sclerotinia sclerotiorum* from soil on a fine geographic scale. Soil Biology and Biochemistry, 55: 28–36.

Barari H, Dalili SA and Badalian SM, Mycelial compatibility grouping and aggressiveness of *Sclerotinia sclerotiorum* on different hosts in north of Iran. Jordan Journal of Agricultural Sciences, 10(1): 45–57.

Castaño F, Vear F and Labrouhe DT, 1993. Resistance of sunflower inbred lines to various forms of attack by *Sclerotinia sclerotiorum* and relations with some morphological characters. Euphytica, 68(1): 85–98.

Chattopadhyay C, Kolte SJ and Waliyar F, 2016. Diseases of Edible Oilseed Crops. CRC Press.

Davar R, Darvishzadeh R and Majd A, 2011. Genotype-isolate interaction for resistance to *Sclerotinia sclerotiorum* in sunflower. Phytopathologia Mediterranea, 50(3): 442–449.

Davar R, Darvishzadeh R, Majd A,Ghosta Y and Sarrafi A, 2010. QTL mapping of partial resistance to basal stem rot in sunflower using recombinant inbred lines. Phytopathologia Mediterranea, 49(3): 330–341.

Degener J, Melchinger AE, Gumber RK and Hahn V, 1998. Breeding for *Sclerotinia* resistance in sunflower: A modified screening test and assessment of genetic variation in current germplasm. Plant Breeding, 117(4): 367–372.

Ekins MG, Aitken EAB and Goulter K, 2002. Carpogenic germination of *Sclerotinia minor* and potential distribution in Australia. Australasian Plant Pathology, 31(3): 259–265.

Archive of SID

www.SID.ir

Ekins MG, Aitken EAB and Goulter K, 2007. Aggressiveness among isolates of *Sclerotinia sclerotiorum* from sunflower. Australasian Plant Pathology, 36(6): 580–586.

Godoy M, Castaño F, Ŕe J and Rodríguez R, 2005. *Sclerotinia* resistance in sunflower: I. Genotypic variations of hybrids in three environments of Argentina. Euphytica, 145(1): 147–154.

Gomes EV, do Nascimento LB, de Freitas MA, Nasser LCB and Petrofeza S, 2011. Microsatellite markers reveal genetic variation within *Sclerotinia sclerotiorum* populations in irrigated dry bean crops in Brazil. Journal of Phytopathology, 159(2): 94–99.

Hahn V, 2002. Genetic variation for resistance to *Sclerotinia* head rot in sunflower inbred lines. Field Crops Research, 77(2–3): 153–159.

Hambleton S, Walker C and Kohn LM, 2002. Clonal lineages of *Sclerotinia sclerotiorum* previously known from other crops predominate in 1999–2000 samples from Ontario and Quebec soybean. Canadian Journal of Plant Pathology, 24(3): 309–315.

Hollowell JE, Shew BB and Isleib TG, 2003. Evaluating isolate aggressiveness and host resistance from peanut leaflet inoculations with *Sclerotinia minor*. Plant Disease, 87(4): 402–406.

Huang HC, 2002. Screening sunflower for resistance to sclerotinia wilt. Plant Pathology Bulletin, 11(1) 15–18.

Irani H, Javan-Nikkhah M, İbrahimov AŞ and Heydari A, 2015. Diversity of aggressiveness of *Sclerotinia sclerotiorum* (Lib.) de Bary populations in oil plants fields of north and northeast of Iran. Iranian Journal of Plant Pathology, 51(1): 1–9.

Karov I, Mitrev S, Maširević S and Kovacevic B, 2011. First appearance of white mold on sunflower caused by *Sclerotinia minor* in the Republic of Macedonia. Helia, 34(54): 19–26.

Kohli Y. and Kohn LM, 1998. Random association among allels in clonal populations of *Sclerotinia sclerotiorum*. Fungal Genetics and Biology, 23(2): 139–149.

Kohli Y, Morrall R, Anderson JB and Kohn LM, 1992. Local and trans-canadian clonal distribution of *Sclerotinia sclerotiorum* on canola. Phytopathology 82(8): 875–880.

Kohn ML, 1979. Delimitation of the economically important plant pathogenic *Sclerotinia* species. Phytopathology, 69(8): 881–886.

Kull LS, Pedersen WL, Palmquist D and Hartman GL, 2004. Mycelial compatibility grouping and aggressiveness of *Sclerotinia sclerotiorum*. Plant Disease, 88(4): 325–332.

Li M, Zhang YK, Wang K, Hou YG, Zhou HY, Jin L, Chen WD and Zhao J, 2016. First report of sunflower white mold caused by *Sclerotinia minor* Jagger in Inner Mongolia region, China. Plant Disease, 100(1): 211.

Marciano P, Di Lenna P and Magro P, 1983. Oxalic acid, cell wall-degrading enzymes and pH in pathogenesis and their significance in the virulence of two *Sclerotinia sclerotiorum* isolates on sunflower. Physiological Plant Pathology**,** 22(3): 339–345.

Mezler MS and Boland, 1996. Transmissible hypovirulence in *Sclerotinia minor*. Canadian Journal of Plant Pathology, 18(1): 19–28.

Morrall RAA, Duczek LJ and Sheard JW, 1972. Variation and correlations within and between morphology, pathologenicity and pectolytic enzyme activity in *Sclerotinia* from Saskatchewan. Canadian Journal of Botany, 50(4): 767–786.

Otto-Hanson L, Steadman JR, Higgins R and Eskridge KM, 2011. Variation in *Sclerotinia sclerotiorum* bean isolates from multisite resistance screening locations. Plant Disease, 95(11): 1370–1377.

Archive of SID

www.SID.ir

Pascual A, Campa A, Pérez-Vega E, Giraldez R, Miklas PN and Ferreira JJ, 2010. Screening common bean for resistance to four *Sclerotinia sclerotiorum* isolates collected in northern Spain. Plant Disease, 94(7): 885–890.

Price K and Colhoun J, 1975. A study of variability of isolates of *Sclerotinia sclerotiorum* (Lib.) de Bary from different hosts. Journal of Phytopathology, 83(2): 159–166.

Riddle GE, Burpee LL and Boland GJ, 1991. Virulence of *Sclerotinia sclerotiorum* and *S. minor* on dandelion (*Taraxacum officinale*). Weed Science, 39(1): 109–118.

Rönicke S, Hahn V, Horn R, Gröne I, Brahm L, Schnabl H and Friedt W, 2004. Interspecific hybrids of sunflower as a source of *Sclerotinia* resistance. Plant Breeding, 123(2): 152–157.

Rönicke S, Hahn V and Friedt W, 2005. Resistance to *Sclerotinia sclerotiorum* of high oleic sunflower inbred lines. Plant Breeding, 124(4): 376–381.

Saharan GS and Mehta N, 2008. *Sclerotinia* Diseases of Crop Plants: Biology, Ecology and Disease Management. Springer Science+Business Media B.V.

Sedun FS and Brown JF, 1989. Comparison of three methods to assess resistance in sunflower basal stem rot caused by *Sclerotinia sclerotiorum* and *S. minor*. Plant Disease, 73(1): 52–55.

Talukder ZI, Seiler GJ, Song Q, Ma G and Qi L, 2016. SNP discovery and QTL mapping os Sclerotinia basal stalk rot resistance in sunflower using genotyping-by-sequencing. Plant genome, 9(3): doi:10.3835/plantgenome2016.03.0035.

Viteri DM, Otto K, Terán H, Schwartz HF and Singh SP, 2015. Use of four *Sclerotinia sclerotiorum* isolates of different aggressiveness, three inoculation per plant, and delayed multiple evaluations to select common beans with high levels of white mold resistance. Euphytica, 204(2): 457–472.

Archive of SID

www.SID.ir

Aggressiveness Diversity of *Sclerotinia sclerotiorum* and *S. minor* Isolates in West Azarbaijan Province and Specific Interaction of Sunflower Lines with the Isolates of these Pathogens

Kh Mousa Khalifani[1], R Darvishzadeh[2*] and M Abrinbana[3]

[1]Former MSc Student, Department of Plant Breeding and Biotechnology, Faculty of Agriculture, Urmia University.
[2]Professor, Department of Plant Breeding and Biotechnology, Faculty of Agriculture, Urmia University.
[3]Assisstant Professor, Department of Plant Protection, Faculty of Agriculture, Urmia University.
[*]Corresponding author: r.darvishzadeh@urmia.ac.ir

Received: 2 February 2017 Accepted: 18 March 2018

Abstract

Sclerotinia basal stem and stem rot, caused by *Sclerotinia sclerotiorum* and *S. minor*, is one of the most devastating diseases of sunflower. The use of resistant cultivars is considered as the most important method to control this disease; however, the employment and development of these cultivars require information on the aggressiveness of the pathogen in the region and interaction of fungal isolates with host genotypes. In this research, aggressiveness of 15 *S. sclerotiorum* and 14 *S. minor* isolates collected from sunflower fields in different regions of West Azarbaijan province was initially studied on the cultivar Farrokh. Aggressiveness of *S. sclerotiorum* isolates ranged from low to high, however, low aggressiveness diversity was observed among *S. minor* isolates and most of them were highly aggressive. Interactions between three isolates of each fungal species and 40 sunflower lines were then evaluated in controlled condition. Isolate-specific resistances to the pathogens were identified in some studied lines and the two lines, 15031 and ENSAT-699, were resistant to the three isolates of *S. minor*. Among the resistant lines identified in this study, the Iranian line '110' with resistance to two isolates of each of the pathogens and with low mean infection (79.44%) was among the most resistant lines. The new sources of resistance identified in this study could be used in sunflower breeding programs to develop cultivars with broad spectrum resistance to both pathogens.

Keywords: Isolate-specific resistance, Line × isolate interaction, Oily sunflower, Partial resistance, Sclerotinia basal stem rot.

Archive of SID

www.SID.ir