

عکس العمل شش رقم بهاره و زمستانه کلزا در مرحله گیاهچه نسبت به بیماری پوسیدگی
اسکلروتینیایی ساقه، *Sclerotinia sclerotiorum* (Lib) de Bary در گلخانه
Reactions of Six Spring and Winter Types of Canola Cultivars to
Sclerotinia sclerotiorum (Lib) de Bary, the Causal Agent of Sclerotinia Stem
Rot Disease, at Seedling Stage in Greenhouse

مهوش بهروزین

مؤسسه تحقیقات اصلاح و تهیه نهال و بذر

تاریخ دریافت: ۱۳۸۴/۱۲/۱۴

چکیده

بهروزین، م. ۱۳۸۵. عکس العمل شش رقم بهاره و زمستانه کلزا در مرحله گیاهچه نسبت به بیماری پوسیدگی اسکلروتینیایی ساقه،
Sclerotinia sclerotiorum (Lib) de Bary در گلخانه. نهال و بذر ۲۲: ۵۴۱-۵۲۹.

در این بررسی عکس العمل چهار رقم کلزای تیپ بهاره به نام‌های ساری گل، RGS003، Quantum و Hayola و دو رقم تیپ زمستانه به نام‌های Okapi و طلایه در برابر سه جدایه *S. sclerotiorum* به نام‌های SS1Go (جدا شده از رقم RGS003، ایستگاه عراقی محله گرگان)، SS2Sari (جدا شده از رقم Hayola، ایستگاه قراخیل مازندران) و SS3Cal (جدا شده از رقم Hayola، کلاله استان گلستان) در سال زراعی ۱۳۸۴ با استفاده از روش مایه‌زنی دمبرگ با قرص‌های میسلیومی جدایه‌های فوق در شرایط گلخانه در دو گروه آزمایشی (با ایجاد زخم و بدون ایجاد زخم) مورد ارزیابی قرار گرفت. آزمایش به صورت طرح بلوک‌های کامل تصادفی با ۱۸ تیمار و سه تکرار انجام شد. هر آزمایش سه مرتبه به فاصله یک ماه از یکدیگر تکرار گردید. برای هر یک از حالات ایجاد زخم و بدون زخم ارقام، جدایه‌ها و عوامل یک آزمایش فاکتوریل در نظر گرفته شدند و به طور جداگانه (تیمار با زخم و بدون زخم) مورد تجزیه آماری قرار گرفتند. نتایج نشان داد که ارقام از نظر مقاومت به بیمارگر و همین‌طور جدایه‌ها از نظر قدرت بیماری‌زایی اختلاف معنی‌داری در سطح ۱٪ دارند. اثر متقابل بین ژنوتیپ و جدایه نیز معنی‌دار بود. از بین جدایه‌ها، جدایه SS1Go از نظر قدرت بیماری‌زایی و از بین ارقام دو رقم زمستانه Okapi و طلایه از نظر تحمل به بیماری با داشتن اختلاف معنی‌دار در سطح ۱٪ در گروه جداگانه قرار گرفتند. ایجاد زخم در موقع مایه‌زنی در توسعه لکه‌های بیماری موثرتر بود و عکس العمل ارقام به عامل بیماری از یک روند مشابهی تبعیت می‌کرد.

واژه‌های کلیدی: کلزا، بیماری پوسیدگی اسکلروتینیایی، عکس العمل ارقام.

مقدمه

کلزا (*Brassica napus* L.) یکی از مهم‌ترین گونه‌های تیره Cruciferae است که کشت آن در سال‌های اخیر در ایران توسعه یافته است، به طوری که در سال زراعی ۸۱-۱۳۸۰ سطح زیر کشت آن به ۶۴۰۰۰ هکتار رسید که بیش از دوازده برابر سال زراعی ۷۸-۱۳۷۷ (۵۰۰۰ هکتار) بود (شیرانی‌راد و دهشیری، ۱۳۸۱). در سال ۱۳۸۴ سطح زیر کشت کلزا بیش از ۲۱۲۰۰۰ هکتار گزارش شده است (بی‌نام، ۱۳۸۴). به دلیل وجود بیماری‌ها و آفات، همه ساله خسارت سنگینی به محصول کلزا در دنیا وارد می‌شود. یکی از مهم‌ترین بیماری‌های کلزا بیماری پوسیدگی اسکروتینیایی ساقه است که عامل آن قارچ *Sclerotinia sclerotiorum* می‌باشد که در برخی از سال‌ها خسارت ناشی از این بیماری جبران‌ناپذیر است (Abawi and Grogan, 1979)؛ Bardin and Huang, 2001؛ Boyetchko, 1999؛ Boland and Hall, 1994؛ Kharbanda and Tewari, 1996؛ Tu, 1997؛ Mullins et al., 1999).

عامل بیماری پلی‌فاژ بوده و دامنه میزبانی وسیعی دارد و قدرت بیماری‌زایی آن بسیار شدید است. توانایی مقاومت بسیار زیاد سختینه‌های عامل بیماری در برابر شرایط نامساعد موجب شده که از این عامل به عنوان یک بیمارگر بسیار خطرناک یاد شود.

بیشتر از ۴۰۰ گونه گیاهی از ۷۵ خانواده مختلف توسط این قارچ مورد تهاجم قرار گرفته و خسارت قابل ملاحظه‌ای را متحمل می‌شوند (Boland and Hall, 1994)؛ Mullins et al., 1999). براساس گزارش‌باردین و هوانگ (Bardin and Huang, 2001) در سال ۲۰۰۱ در کشور کانادا بیش از ۱۰۰ گونه گیاه مختلف که شامل تعدادی از گیاهان مهم اقتصادی از جمله کلزا بودند مورد حمله قارچ *S. sclerotiorum* قرار گرفتند. در کشور ایران در برخی از سال‌ها محصول افتابگردان و کلزا صددرصد (ایرانی و همکاران، ۱۳۷۷)، ۸۰ درصد (امیرصاقلی، ۱۳۷۱) و ۵۴/۴ درصد (براری و همکاران، ۱۳۷۹) از این بیماری خسارت دیده‌اند.

استفاده از روش‌های زراعی مانند برقراری آیش و تناوب زراعی و اعمال اقدامات بهداشتی اغلب موجب کاهش چشمگیر خسارت ناشی از این قارچ نشده‌اند (Knudsen et al., 1991). استفاده از قارچکش‌ها نیز ظهور نژادهای مقاوم بیمارگر و آلودگی محیط زیست رابه همراه دارد، ولی با این حال در مواردی استفاده از این ترکیبات اجتناب‌ناپذیر است (Boyetchko, 1999)؛ Burgess and Hepworth, 1996). لذا با توجه به بررسی‌های انجام شده، استفاده از ارقام مقاوم و یا متحمل در برابر عامل بیماری بهترین روش مهار بیماری به نظر می‌رسد. سان چائوکای و سان (Sunchaocai and Sun, 1995) در بررسی مقاومت ارقام بهاره کلزا به بیماری

شده از شمال کشور، ۲) مطالعه کارایی روش مایه‌زنی دمبرگ در تولید بیماری با ایجاد زخم و بدون زخم و ۳) ارزیابی عکس‌العمل ارقام رایج کلزا در برابر پوسیدگی اسکروتینیایی در مرحله گیاهچه بود.

مواد و روش‌ها

ارقام کلزای مورد استفاده و شرایط رشد

در این بررسی از شش رقم کلزای تجاری که در شمال کشور کشت می‌شوند (جدول ۱) استفاده شد.

آزمایش به صورت طرح بلوک‌های کامل تصادفی با سه تکرار برای شش رقم و سه جدایه در حالت ایجاد زخم و بدون زخم (در مجموع هیجده تیمار برای هر یک از آزمایش‌ها) در شرایط گلخانه انجام شد. برای کلیه تیمارها شاهد (مایه‌زنی با محیط غذایی PDA خالص و بدون قارچ) در نظر گرفته شد. برای هر واحد آزمایشی تعداد ده عدد بذر از هر رقم شمارش و پس از ضدعفونی با محلول هیپوکلریت سدیم یک درصد به مدت دو دقیقه و سپس شستشو با آب مقطر در گلدان‌هایی به قطر داخلی ۱۳ سانتی‌متر حاوی خاک زراعی کشت و روی آن‌ها با ماسه استریل پوشانده شد. گلدان‌ها پس از آبیاری در گلخانه قرار گرفتند. شرایط گلخانه در سه مرحله آزمایش دارای درجه حرارت 20 ± 1 درجه سانتی‌گراد و رطوبت نسبی ۷۵ درصد بود.

پوسیدگی اسکروتینیایی، نشان دادند که ژنوتیپ کاملاً مقاوم در بین ارقام وجود نداشته ولی درجه مقاومت این ارقام نسبت به بیماری متفاوت است. جدریژکا و همکاران (Jedreyczka *et al.*, 1996) عکس‌العمل سیزده رقم کلزا را در گلخانه و مزرعه نسبت به بیماری پوسیدگی اسکروتینیایی مقایسه و گزارش دادند که ارقام زمستانه مورد استفاده در لهستان از مقاومت بالایی در برابر عامل بیماری برخوردار بودند. دلیلی و همکاران (۱۳۸۳) عکس‌العمل چند لاین و رقم کلزا را در برابر بیماری پوسیدگی اسکروتینیایی ارزیابی و گزارش دادند که بین ارقام و لاین‌های مورد آزمایش از نظر تحمل به بیماری پوسیدگی ساقه اختلاف معنی‌دار در سطح احتمال ۱٪ وجود داشت و رقم Ebony کمترین و رقم Foseto بیشترین تحمل را در برابر عامل بیماری از خود نشان دادند. ژائو و همکاران (Zhao *et al.*, 2004) با استفاده از روش مایه‌زنی دمبرگ در مرحله گیاهچه‌ای و در شرایط گلخانه مقاومت چند رقم ولاین کلزا را در برابر بیماری پوسیدگی اسکروتینیایی ساقه بررسی و نشان دادند که اختلاف معنی‌داری بین ارقام از نظر عکس‌العمل در برابر عامل بیماری وجود داشت. این محققان سطح بالاتری از مقاومت را در میان ارقام تیپ زمستانه مشاهده نمودند.

هدف از این تحقیق ۱) ارزیابی قدرت بیماری‌زایی سه جدایه عامل بیماری جمع‌آوری

جدول ۱- تیپ رشد، مبداء و کیفیت بذر شش رقم کلزای مورد استفاده در این مطالعه

Table 1. Growth habit, seed quality and origin of six *Brassica napus* cultivars used in this study

Growth habit, cultivar	Origin	Seed quality
Spring type		
Hayola	Australia	LL
RGS003	Germany	LL
Sarigol (PF7045.91)	Germany	LL
Quantum	Canada	LL
Winter type		
Okapi	France	LL
Talaieh	Germany	LL

LL: Low erucic acid and low glucosinolate

LL: مقدار اسید اروسیک و کلگوزینولات کم

جدایه‌های قارچی

از نیمه دوم فروردین ماه سال ۱۳۸۴ از مزارع کلزای استان مازندران و گلستان نمونه بوته‌هایی با علائم ابتلا به بیماری پوسیدگی اسکروتینیایی جمع‌آوری و پس از درج مشخصات رقم جهت جداسازی عامل بیماری و تهیه جدایه به آزمایشگاه بیماری شناسی بخش تحقیقات دانه‌های روغنی کرج انتقال داده شدند. برای جداسازی و خالص کردن قارچ عامل بیماری، از حد فاصل بافت آلوده و سالم قطعات کوچک به اندازه نیم سانتی‌متر جدا و پس از ضدعفونی سطحی با محلول هیپوکلریت سدیم یک درصد و شستشو با آب مقطر استریل و آگیری بین کاغذهای صافی استریل در تشتک‌های پتری نه سانتی‌متری حاوی محیط غذایی سیب‌زمینی دکستروز آگار (Potato-Dextrose-Agar=PDA) کشت و در انکوباتور در حرارت 20 ± 1 درجه سانتی‌گراد و نور متناوب ۱۲ ساعت قرار داده شدند. پس از رویش کامل قارچ در محیط و تشکیل سختینه،

تک سختینه از محیط جدا و مجدداً در محیط غذایی PDA کشت و در همان شرایط بالا قرار گرفتند. پس از جوانه‌زنی سختینه با استفاده از روش نوک سوزن استریل اقدام به خالص سازی قارچ و در نهایت سختینه‌های خالص از روش نوک هیف تهیه شد. مشخصات جدایه‌های مورد استفاده در این بررسی در جدول ۲ آمده است.

اثبات بیماری‌زایی جدایه‌ها و روش آلوده نمودن گیاهان

برای اثبات بیماری‌زایی جدایه‌ها از کلزای رقم ساری گل (PF7045.91) به شرح زیر استفاده شد: در گلدان‌هایی به قطر داخلی ۱۳ سانتی‌متر حاوی خاک زراعی مناسب تعداد ده عدد بذر ضدعفونی شده رقم فوق کاشته و گلدان‌ها در شرایط گلخانه با حرارت 20 ± 1 درجه سانتی‌گراد قرار گرفتند. پس از رویش، تعداد سه بوته در هر گلدان حفظ و بقیه بوته‌ها حذف شدند. مایه‌زنی در مرحله رزت کامل و بر روی دم‌برگ برگ اول

جدول ۲- مشخصات سه جدایه *S.sclerotiorum* جمع آوری شده از استان‌های مازندران و گلستان
Table 2. Characteristics of three *S.sclerotiorum* isolates collected from Mazandaran and Golestan Provinces

Isolate	Location	Province	Canola cultivars (host)
SS1Go	Araghi Mahalleh	Golestan	RGS003
SS2Sari	Gharakil	Mazandaran	Hayola
SS3Cal	Calaleh	Golestan	Hayola

مایه‌زنی در مرحله رزت کامل انجام شد و در مورد تیمارهای بدون ایجاد زخم محل مایه‌زنی با اتانول ضدعفونی و سپس مایه‌زنی با عامل بیماری بدون ایجاد زخم صورت گرفت. با مشاهده علائم بیماری پنج روز بعد از مایه‌زنی، لکه‌های ایجاد شده بر روی بوته‌ها با استفاده از کولیس ورنیه اندازه‌گیری شدند. بوته‌هایی از هر رقم درحالات زخم و بدون زخم که به صورت شاهد بودند هیچ گونه علائم بیماری نشان ندادند.

این بررسی سه مرتبه به فاصله یک ماه از هم تکرار شد.

طرح آماری

برای هر یک از حالات ایجاد زخم و بدون زخم، آزمایش به صورت طرح بلوک‌های کامل تصادفی با ۱۸ تیمار و سه تکرار به صورت جداگانه انجام شد. هر آزمایش به فواصل یک ماه سه بار تکرار شد. تجزیه آماری به صورت فاکتوریل برای هر یک از حالات ایجاد زخم و بدون زخم به طور جداگانه انجام شد.

نتایج و بحث

نتایج تجزیه واریانس داده‌ها برای تیمار ایجاد زخم و بدون زخم نشان داد که بین سه

ویا دوم انجام شد. برای مایه‌زنی از قسمت کناری کلنی در حال رشد (کشت سه روزه قارچ در محیط PDA) قرص پنج میلی‌متری برداشته و بر روی دمبرگ ضدعفونی شده با اتانول ۹۶٪ که با اسکالپل زخم سطحی در آن ایجاد شده بود مستقر و روی آن با پارافیلیم پوشانده شد. برای تأمین رطوبت، گلدان‌ها پس از مایه‌زنی با پوشش پلاستیکی شفاف که داخل آن کاملاً با آب خیس شده بود قرار داده شد (این مراحل در مورد تیمارهای آزمایش نیز انجام شد). پس از ظهور علائم بیماری، از بوته‌هایی که علائم بیماری را نشان می‌دادند قارچ عامل بیماری جدا و خالص‌سازی شد (شکل‌های ۱ و ۲).

ارزیابی عکس‌العمل ارقام کلزای مورد بررسی

عکس‌العمل ارقام به جدایه‌های *S. sclerotiorum* در هر آزمایش (مایه‌زنی با ایجاد زخم و بدون زخم) که شامل شش رقم و سه جدایه و در مجموع ۱۸ تیمار در سه تکرار بود، یادداشت‌برداری شد. شرایط آزمایش برای هر سری آزمایش (ایجاد زخم و بدون زخم) مشابه بود.

تحقیقات ژائو و همکاران (Zhao et al., 2004) نشان دادند که از چهار جدایه *S. sclerotiorum* که از سویا و کلزا جدا شده بودند، جدایه 105HT از نظر قدرت ایجاد بیماری با جدایه‌های دیگر تفاوت داشت و در آزمایش‌ها از این جدایه برای ایجاد بیماری استفاده کردند.

تجزیه واریانس داده‌ها برای دو تیمار با ایجاد زخم و بدون ایجاد زخم نشان داد که بین ارقام از نظر تحمل به بیماری اختلاف معنی‌دار در سطح احتمال ۱٪ وجود دارد و کلیه ارقام نسبت به جدایه SS1Go تحمل کمتری از خود نشان دادند (جدول ۵). جدول ۶ گروه‌بندی ارقام را بر اساس روش آزمون دانکن نشان می‌دهد که حساس‌ترین رقم Sarigol و مقاوم‌ترین آن رقم Talaieh بود.

نتایج این بررسی نشان داد که روش مایه‌زنی استفاده شده در این تحقیق برای ارزیابی اولیه عکس‌العمل ارقام کلزا در برابر بیماری اسکلروتینیایی ساقه در گلخانه روش سریع و مؤثری است. ظهور علایم بیماری پنج روز بعد از مایه‌زنی هر چند در کلیه ارقام همزمان بود ولی در ارقامی مانند ساری گل و RGS003 پیشرفت بیماری بسیار سریع‌تر بود و گیاهان بیمار پس از یک هفته کاملاً از بین رفتند، در حالی که ارقامی مانند Okapi و طلایه که ارقام زمستانه هستند، فرار از پژمردگی و بیماری را نشان دادند. در این ارقام لکه‌های آب‌سوخته به اطراف محل مایه‌زنی محدود شد. این یافته با

آزمایش انجام شده اختلاف معنی‌داری وجود نداشته و شرایط هر سه آزمایش متجانس بوده است (جدول‌های ۳ و ۴).

هر سه جدایه *Sclerotinia sclerotiorum* توانستند در رقم ساری گل ایجاد بیماری نمایند. علایم بیماری پنج روز بعد از مایه‌زنی به صورت لکه آب‌سوخته در سطح محل آلوده ظاهر و پس از سه روز پوسیدگی همراه با بار سفید میسلیم پنبه‌ای قارچ دور محل آلوده را فرا گرفت و دو هفته بعد از مایه‌زنی سختینه‌های قارچ در محل آلوده تشکیل شدند.

تجزیه واریانس داده‌ها نشان داد که بین سه جدایه *S. sclerotiorum* از نظر قدرت بیماری‌زایی در ایجاد آلودگی در ارقام کلزای مورد بررسی اختلاف معنی‌دار در سطح ۱٪ وجود دارد (جدول‌های ۳ و ۴). جدایه SS1Go از نظر قدرت بیماری‌زایی در گروه جداگانه‌ای قرار گرفت و این موضوع هم در گروه تیمار اول (مایه‌زنی ارقام با ایجاد زخم) و هم در گروه تیمار دوم (مایه‌زنی ارقام بدون ایجاد زخم) صدق می‌کرد (جدول ۵). اختلاف از نظر قدرت بیماری‌زایی در جدایه‌های مختلف این قارچ توسط محققین زیادی گزارش شده است. پرایس و کولهون (Price and Colhon, 1975) گزارش دادند که جدایه‌های *S. sclerotiorum* از نظر قدرت تهاجمی و ایجاد بیماری در میزبان با یکدیگر اختلاف دارند.

گرفتند. نتایج بررسی آن‌ها نشان داد که سن گیاه نقشی در عکس‌العمل رقم در برابر قارچ بیمارگر نداشته ولی درجه حرارت در توسعه بیماری مهم است. در بررسی انجام شده حاضر هر چند هر سه آزمایش از نظر آماری اختلافی با هم نشان ندادند، اما ملاحظه شد که توسعه لکه‌ها در ارقام مورد آزمایش در آزمایش اول که در خرداد ماه انجام شد بیشتر از دو آزمایش دیگر که در تیر و مرداد انجام شد، هر چند که درجه حرارت گلخانه تغییری نکرده بود ولی به نظر می‌رسد شرایط محیط بیرون از نظر طول روز و شدت نور و احتمالاً درجه حرارت تا حدودی در کند شدن توسعه لکه‌ها بی تأثیر نبوده است. کیم و همکاران (Kim et al., 2000) عقیده دارند که برخلاف بررسی‌های مزرعه‌ای که شرایط محیط کاملاً در آن مؤثر است، در آزمایش‌های گلخانه‌ای این تأثیر به حداقل می‌رسد. کال و همکاران (Kull et al., 2003) عکس‌العمل ارقام نخود و سویا را با استفاده از روش‌های مختلف مایه‌زنی در برابر شش جدایه *S. sclerotiorum* بررسی و گزارش دادند که روش مایه‌زنی ساقه بریده روش مناسبی برای ارزیابی مقاومت است. هافمن و همکاران (Hoffman et al., 2002) عکس‌العمل ارقام سویا را در برابر بیماری پوسیدگی اسکروتینیایی با استفاده از روش مایه‌زنی دمبرگ و برگ جدا شده در گلخانه بررسی و گزارش دادند که در روش مایه‌زنی دمبرگ بین ارقام از نظر عکس‌العمل به بیماری

نتایج ژائو و همکاران (Zhao et al., 2004) مطابقت دارد. این محققان با استفاده از روش مایه‌زنی دمبرگ عکس‌العمل ارقام بهاره و زمستانه کلزا را در برابر بیماری پوسیدگی اسکروتینیایی ساقه بررسی و گزارش دادند که ارقام تیپ زمستانه مقاومت بیشتری نسبت به ارقام بهاره از خود نشان دادند. براساس گزارش این محققین روش مایه‌زنی دمبرگ روش مناسبی برای ارزیابی عکس‌العمل ژرم‌پلاسم کلزا در برابر بیماری پوسیدگی اسکروتینیایی ساقه است. به طور کلی ارزیابی عکس‌العمل ارقام در گلخانه و آزمایشگاه قبل از ارزیابی مزرعه ضروری است و روش‌های مختلفی مانند مایه‌زنی دمبرگ، مایه‌زنی ساقه بریده شده و مایه‌زنی برگ جدا شده با دیسک میسلومی قارچ *S. sclerotiorum* در گلخانه و آزمایشگاه توسط محققین مورد بررسی قرار گرفته است. ونگ و همکاران (Vuong et al., 2004) مقاومت ارقام سویا، نخود و آفتابگردان را در برابر *S. sclerotiorum* بررسی و گزارش دادند که ارزیابی گلخانه‌ای برای غربال کردن ارقام بسیار مهم است و می‌تواند اساس ارزیابی مزرعه‌ای با توده کمتر و دقت عمل بیشتر باشد. این محققین از روش مایه‌زنی ساقه بریده برای ارزیابی مقاومت ارقام سویا، نخود و آفتابگردان در برابر *S. sclerotiorum* استفاده کرده و طول لکه و یا زخم ایجاد شده را به عنوان معیار ارزیابی با کولیس ورنیه اندازه

مشابه ندارند، بنابراین برای ارزیابی و انتخاب ژرم پلاسما کلزا پیشنهاد می‌شود که از مواد ژنتیکی وسیع‌تری استفاده شود و برای آلوده‌سازی، از مخلوط جدایه‌های قارچ *S. sclerotiorum* استفاده شود و آزمایش چند بار تکرار شود، زیرا ضمن این که اثر متقابل ژنوتیپ × جدایه معنی‌دار است، ممکن است اثر محیطی نیز بر نتایج اثرگذار باشد. قبل از آلوده کردن، ایجاد زخم در دمبرگ گیاهچه‌ها در غربال کردن ژرم پلاسما مقاوم و حذف بوته‌های حساس بسیار مؤثر بود، بنابراین در شرایط گلخانه می‌توان اختلافات ژنتیکی ارقام را در مدت کوتاهی (در این آزمایش ۵ روز بود) پس از آلوده کردن بوته‌ها به دست آورد. با توجه به اهمیت کشت گیاهان روغنی و منابع ژنتیکی وسیع این گیاهان، به کارگیری روش سریع برای ارزیابی اولیه مقاومت و حساسیت ژرم پلاسما در گلخانه و آزمایشگاه اهمیت زیادی دارد ضمن این که حذف مواد ژنتیکی حساس از

اختلاف معنی‌دار وجود دارد، ولی این محققین نظر دادند که روش مایه‌زنی دمبرگ می‌تواند یک بررسی مقدماتی برای ارزیابی‌های مزرعه‌ای باشد. مقایسه روش ایجاد زخم در زمان مایه‌زنی با روش مایه‌زنی بدون ایجاد زخم مشخص نمود که وجود زخم در توسعه بیماری مؤثر است (جدول ۶). در ارقامی که بدون ایجاد زخم مایه‌زنی شده بودند یا لکه‌ای تشکیل نشد و یا توسعه لکه بسیار محدود بود. لوله تندشی عامل بیمارگر می‌تواند از طریق زخم و بافت آسیب‌دیده وارد گیاه شده و بعد از ورود به صورت درون سلولی یا بین سلولی توسعه یابد (افشاری آزاد، ۱۳۸۰؛ Bailey et al., 2003). نتایج حاصل از این بررسی نشان می‌دهد که تنوع ژنتیکی در بین ارقام زراعی و ژرم پلاسما کلزا وجود دارد. ارقام Okapi, Talaieh و Quantum به دلیل حساسیت پایین می‌توانند مورد استفاده به نژادگران کلزا قرار گیرند. از آن جایی که جدایه‌های مختلف قدرت بیمارزایی

جدول ۳- تجزیه واریانس عکس‌العمل ارقام کلزا در برابر جدایه‌های *S. sclerotiorum*

برای سه آزمایش انجام شده با ایجاد زخم

Table 3. Analysis of variance of responses of canola cultivars to *S.sclerotiorum* isolates for three experiments with wounding

S. O. V.	df.	SS	MS	F	Pr > F
Experiment	2	0.62	0.31	0.83	0.4400
Replication	2	2.10	1.05	2.79	0.0650
Isolate	2	36.23	18.11	48.06**	<.0001
Cultivar	5	138.17	27.63	73.32**	<.0001
Isolate× cultivar	10	20.88	2.09	5.54**	
Error	128	52.76	0.38		

** = Significant at 1% of probability level.

جدول ۴- تجزیه واریانس عکس العمل ارقام کلزا در برابر جدایه‌های *S. sclerotiorum* برای سه آزمایش انجام شده بدون ایجاد زخم

Table 4. Analysis of variance of responses of canola cultivars to *S.sclerotiorum* isolates for three experiment without wounding

S. O. V.	df.	SS	MS	F	Pr > F
Experiment	2	1.11	0.55	1.76	0.1800
Replication	2	1.72	0.86	2.72	0.0700
Isolate	2	54.13	27.06	85.67**	<.0001
Cultivar	5	52.21	10.44	33.06**	<.0001
Isolate× cultivar	10	19.92	1.99	6.30**	<.0001
Error	142	44.23	0.31		

** = Significant at 1% of probability level.

جدول ۵- گروه‌بندی جدایه‌های *S. sclerotiorum* براساس طول لکه به روش دانکن

Table 5. Duncan grouping of *S.sclerotiorum* isolates based on lesion length

Isolate	Lesion length (cm)	
	Wounded	Non-wounded
SS1 Go	3.23 a	1.65 a
SS2 Sari	2.25 b	0.55 b
SS3 Cal	2.21 b	0.33 c

حروف مشابه در مقابل میانگین‌ها در هر ستون بیانگر عدم اختلاف معنی‌دار در سطح احتمال یک درصد است.

Means followed by similar letters in each column are not significantly different at 1% probability level.

جدول ۶- مقایسه میانگین داده‌های عکس العمل ارقام کلزا در برابر جدایه‌های *S.sclerotiorum*

Table 6. Mean comparison of canola cultivars responses to *S.sclerotiorum* isolates

Isolate	Lesion length (cm)	
	Wounded	Non-wounded
Sarigol	4.02 a	1.66 a
RGS003	3.50 b	1.51 a
Hayola	2.62 c	0.82 b
Quantum	1.91 d	0.59 bc
Okapi	1.83 d	0.17 e
Talaieh	1.04 e	0.29 cd

حروف مشابه در مقابل میانگین‌ها در هر ستون بیانگر عدم اختلاف معنی‌دار در سطح احتمال یک درصد است.

Means followed by similar letters in each column are not significantly different at 1% probability level.

شکل ۱- علایم بیماری پوسیدگی اسکروتینیایی روی رقم ساری گل
Fig. 1. Symptoms of sclerotinia stem rot on cultivar Sarigol

شکل ۲- کلنی قارچ *Sclerotinia sclerotiorum* (جدایه SS1Go) روی محیط غذایی PDA
Fig. 2. Cloni of *Sclerotinia sclerotiorum* (isolate SS1Go) on PDA

هزینه‌های اضافی بررسی‌های مزرعه‌ای خواهد کاست و حداکثر استفاده از زمان را به دنبال خواهد داشت.

سپاسگزاری

از آقای دکتر سید یعقوب صادقیان که در کلیه مراحل انجام کار اینجانب را بهره‌جسته‌ام کمال تشکر و قدردانی را می‌نمایم.

References

منابع مورد استفاده

- افشاری آزاد، ه. ۱۳۸۰. بیماری‌های مهم کلزا. نشر آموزش کشاورزی، وزارت کشاورزی. ۹۹ صفحه.
- امیرصادقی، س. ۱۳۷۱. بررسی اثر چند قارچکش و *Trichoderma* روی قارچ *Sclerotinia clerotiorum* عامل بیماری اسکروتینیا روی گیاه بادنجان (*Solanum melogena*). ایان نامه کارشناسی ارشد. دانشکده کشاورزی، دانشگاه تهران. ۲۱۴ صفحه.
- ایرانی، ه.، ارشاد، ج.، و علیزاده، ع. ۱۳۷۷. سبب‌شناسی پوسیدگی طوقه و ریشه آفتابگردان در استان آذربایجان غربی. خلاصه مقالات سیزدهمین گنگره گیاهپزشکی ایران، کرج. صفحه ۶۵۴.
- براری، ه.، زمانی‌زاده، ح. ر.، ارشاد، ج.، و فروتن، ع. ۱۳۷۹. بررسی پراکنش پوسیدگی اسکروتینیایی ساقه در مازندران. خلاصه مقالات چهاردهمین گنگره گیاهپزشکی ایران، اصفهان. صفحه ۲۹۵.
- بی‌نام. ۱۳۸۴. خیرنامه دانه‌های روغنی.. وزارت جهاد کشاورزی. شماره ۱۴.
- دیلی، س. ع.، علوی، س. و.، و عرب، غ. ۱۳۸۳. ارزیابی مقاومت نسبی ارقام و لاین‌های کلزا به بیماری پوسیدگی اسکروتینیایی ساقه. نهال و بذر ۲۰: ۲۳۴-۲۲۵.
- شیرانی‌راد، ا. ح.، و دهشیری، ع. ۱۳۸۱. راهنمای کلزا (کاشت، داشت و برداشت). نشر آموزش کشاورزی. وزارت جهاد کشاورزی. ۱۱۶ صفحه.

Abawi, G.S., and Grogan, R. G. 1979. Epidemiology of diseases caused by *Sclerotinia* spieces. *Phytopathology* 69: 899-904.

Bailey, K. L., Gossen, B. D., Gugel, R. K., and Morall, R. A. A. 2003. Diseases of Field Crop in Canada. The Canadian Phytopathological Society 290 pp.

Bardin, S. D. D., and Huang, H. C. 2001. Research on biology and control of *Sclerotinia sclerotiorum* in Canada. *Canadian Journal of Plant Pathology* 23: 88-98.

Boland, G., and Hall, R. 994. Index of plant hosts of *Sclerotinia sclerotiorum*. *Canadian Journal of Plant Pathology* 16: 93-108.

- Boyetchko, S. M. 1999.** Biological control of canola and rape seed diseases status and practical approaches. pp. 51-57. In: Mukerji, K. G., Channola, B. P., and Upadhaya, K. (eds.) Biotechnological Approaches in Biological Control of Plant Pathogens. Kluwer Academic/ Plenum Publishers, UK.
- Burgess, D. R., and Hepworth, G. 1996.** Biocontrol of sclerotinia stem rot (*Sclerotinia minor*) in sunflower by treatment with *Gliocladium virens*. Plant Pathology 45: 583-592.
- Hoffman, D. D., Diers, B. W., Hartman, G. L., Nickell, C. D., Nelson, R. L., Pederson, W. L., Cober, E. R., Graef, G. L., Steadman, J. R., Grau, C. R., Nelson, B. D., Del Rio, L. E., Helms, T., Anderson, T., Poysa, V., Rajcan, I., and Stienstra, W. C. 2002.** Selected soybean plant introductions with partial resistance to *Sclerotinia sclerotiorum*. Plant Diseases 86: 971-980.
- Kharbanda, P. D., and Tewari, J. P. 1996.** Integrated management of canola diseases using cultural methods. Canadian Journal of Plant Pathology 18: 168-175.
- Kim, H. S., Hartman, J. I., Manandhar, J. B., Graef, G. L., Steadman, J. R., and Diers, B. W. 2000.** Reaction of soybean cultivars to *Sclerotinia* stem rot in field, greenhouse and laboratory evaluations. Crop Science 40: 665-669.
- Knudsen, G. R., Eschen, D. G., Danduranand, D., and Bin, L. 1991.** Potential for Biocontrol of *Sclerotinia sclerotiorum* through colonization of sclerotia by *Trichoderma harzianum*. Plant Disease 75: 466-470.
- Kull, L. S., Voung, T. D., Powers, K. S., Eskridge, K. M., Steadman, J. R., and Hartman, G. L. 2003.** Evaluation of resistance screening methods for *Sclerotinia* stem rot of soybean and dry bean. Plant Disease 87: 1471-1475.
- Jedryczka, V., Lewaslovska, M., France, E., and Drobmik, M. 1996.** Evaluation of resistance of polish oilseed winter rape cultivars to stem canker and *Sclerotinia* stem rot. Plant Breeding and Seed Science 40: 17-22.
- Mullins, E., Queinl, C., and Jons, P. 1999.** Isolation of mutant exhibiting altered resistance to *Sclerotinia sclerotiorum* from small MZ populations of an oilseed rape (*Brassica napus*) variety. European Journal of Plant Pathology 105: 465-475.
- Price, K., and Colhoun, J. 1975.** Pathogenicity of isolates of *Sclerotinia sclerotiorum* (Lib.) de Bary, to several hosts. Phytopathology 83: 232-238.

- Sunchaocai, I., and Sun, C. C. 1995.** Comparison of methods for resistance to *Sclerotinia sclerotiorum* in *Brassica napus* L. *Acata Agriculture*, Shanghai 11: 17-22.
- Tu, J. C. 1997.** An integrated control of white mold (*Sclerotinia sclerotiorum*) of beans, with emphasis on recent advance in biological control. *Botanical Bulletin* 38: 73-76.
- Young, t. D., Hoffman, D. D., Diers, B. W., Miller, J. F., Steadman, J. R., and Hartman, G. L. 2004.** Evaluation of soybean, drubean and sunflower for resistance to *Sclerotinia sclerotiorum*. *Crop Science* 44: 777-783.
- Zhao, J., Peltier, A. J., Meng, J., Osborn, T. C., and Grau, C. K. 2004.** Evaluation of *Sclerotinia* stem rot resistance in oilseed *Brassica napus* using petiol inoculation technique under greenhouse conditions. *Plant Disease* 88: 1033-1039.