

مقاله کوتاه

بررسی مقاومت نسبی ده رقم کلزا به بیماری ساق سیاه با

عامل *Phoma lingam*\*

Evaluation of relative resistance of ten canola cultivars to *Phoma lingam*

راضیه بنائی، واهه میناسیان و ناصر صفایی\*\*

گروه بیماری شناسی گیاهی دانشکده کشاورزی، دانشگاه تربیت مدرس

پذیرش ۱۳۸۸/۲/۲۳

دریافت ۱۳۸۷/۸/۲۵

چکیده

ساق سیاه کلزا ناشی از قارچ *Phoma lingam* از نظر اقتصادی یک بیماری مهم در سراسر دنیا است. بیماریزایی ده جدایه از این بیمارگر در گلخانه روی رقم Hayola 401 کلزا بررسی شده و پرآزارترین جدایه با شدت بیماری ۱۷ درصد برای بررسی مقاومت ارقام انتخاب گردید. به منظور بررسی مقاومت نسبی ده رقم کلزا شامل Hayola 401، Hayola 308، Talaye، Sarigol، Zarfam، Option 500، Okapi، Modena، Fornax و RGS 003 در برابر این بیمارگر آزمایشی در گلخانه در قالب طرح بلوک کامل تصادفی با سه تکرار و یک شاهد به اجرا درآمد. شدت بیماری با اندازه گیری سطح کلروز و نکروز در برگ ها، ده روز پس از مایه زنی توسط دستگاه تعیین شاخص سطح برگ اندازه گیری شد. تفاوت معنی داری بین مقاومت ارقام کلزا نسبت به این بیمارگر مشاهده گردید ( $P=0.01$ ). مقایسه میانگین شدت بیماری در ارقام مختلف با آزمون دانکن نشان داد که ارقام از نظر حساسیت به قارچ عامل ساق سیاه در چهار گروه قرار می گیرند. ارقام بهاره Sarigol و Hayola 401 با شدت بیماری ۱۹/۳۵ و ۱۷/۵ درصد بیشترین حساسیت و ارقام پاییزه Talaye و Fornax با شدت بیماری ۵/۸۶ و ۵/۸۲ درصد کمترین حساسیت را نشان دادند. سایر ارقام نیز حدواسط این دو گروه بودند. این اولین مطالعه

\* بخشی از پایان نامه کارشناسی ارشد نگارنده اول، ارایه شده به دانشگاه تربیت مدرس

\*\* مسئول مکاتبه

در زمینه بررسی مقاومت نسبی ارقام مختلف کلزا به *Phoma lingam* در ایران می باشد.

واژه های کلیدی: کلزا، مقاومت، ساق سیاه، *Phoma lingam*

#### مقدمه

شانکر ساقه یا ساق سیاه کلزا ناشی از فوما *Phoma lingam* (Tode) Desm با مرحله جنسی *Leptosphaeria maculans* (Desm.) Ces. & de Not. یک بیماری مهم کلزا در سراسر جهان است که به طور مؤثری در نواحی اصلی کشت کلزا شامل اروپا، استرالیا و آمریکای شمالی خسارت می زند (West et al. 2001). در اوایل دهه ۱۹۷۰، ارقام بهاره کلزا هایی که در استرالیا رشد کرده بودند برای اولین بار نسبت به ساق سیاه حساسیت نشان دادند (Colton & Potter 1999). اپیدمی های شدیدی در استرالیا (Bokor et al. 1975) و بخش هایی از فرانسه (Brunin & Lacoste, 1970) منجر به خسارت زیادی به محصول کلزا شده است. در انگلستان، این بیماری می تواند در ارقام حساس تا بیش از ۵۰ درصد باعث خسارت شود (Gladders & Musa 1979). در سال ۱۳۸۴ این بیماری به صورت قابل توجه در منطقه کلاله استان گلستان مشاهده شد و به نظر می رسد عامل بیماری طی چند سال اخیر در مناطق مزبور مستقر گردیده و در حال گسترش است (Afshari azad et al. 2005).

علائم اولیه ناشی از این بیمارگر زخم های مدور روی برگ ها است که ممکن است حاوی پیکنید های سیاه رنگ باشند و در پایین ظاهر می شوند (Hammond & Lewis 1986). آلودگی برگ ها با یک مرحله کلونیزاسیون سیستمیک دمبرگ دنبال می شود و ممکن است بیمارگر به ساقه رسیده و ایجاد زخم کند (Hammond et al. 1985).

جهت کنترل این بیماری می توان از روش های زراعی مثل سوزاندن یا مدفون نمودن بقایای گیاهی، غرقاب کردن مزرعه، تناوب دو تا سه ساله با گیاهان غیر خانواده چلیپانیان به ویژه غلات و کنترل علف های هرز (West et al. 2001)، کنترل بیولوژیک (Kharbanda & Dahiya 1990) و کنترل شیمیایی (Ballinger et al. 1988) استفاده کرد. استفاده از ارقام مقاوم یک روش معمول و بسیار مؤثر برای کنترل شانکر ساقه ناشی از فوما است (Delourme et al. 2006). در ارقام مقاوم پاسخ های دفاعی شامل نکروز سلول های نزدیک به

محل آلودگی، تولید فیتوآلکسین ها، کالوز و لیگنین و پروتئین های مرتبط با بیماریزایی در برابر آلودگی کلزا به *L. maculans* مشاهده می شود (Howlett 2004). هدف از این پژوهش که برای اولین بار در ایران انجام می شود، بررسی مقاومت نسبی ده رقم کلزای متداول کشت شده در کشور به یک جدایه پرآزار *P. lingam* می باشد.

### روش بررسی

جهت جداسازی عامل بیماری اندام های گیاهی آلوده روی کاغذ های صافی مرطوب در تشتک های پتری مورد بررسی قرار گرفتند. در مواردی که اسپورهای خارج شده از پیکنیدیوم (ooze) مشاهده گردید، این اسپورها با سوزن سترون برداشته و به تشتک های حاوی محیط کشت یولاف- آگار (Oat meal Agar, OMA) یا PDA حاوی آنتی بیوتیک کلرامفنیکل منتقل و در دمای ۲۰ تا ۲۵°C نگهداری شدند. به منظور انجام بررسی های ریخت شناسی از کلید شناسایی گونه های *Phoma* (Boerema et al. 2004) استفاده شد.

سنجش بیماریزایی جدایه ها روی رقم Hayola 401 به عنوان یک رقم متداول کشت شده در شمال کشور صورت گرفت. این آزمایش در قالب طرح بلوک کامل تصادفی با سه تکرار و یک شاهد به ازای هر جدایه در شرایط گلخانه روی گیاهان ۴۰ روزه کلزا به شرح زیر انجام شد. به تعداد ۴۰ گلدان، از هر گلدان دو گیاه و از هر گیاه دو برگ انتخاب شد. به منظور مایه زنی، از قرص های پنج میلیمتری کشت ۲۱ روزه حاوی پیکنیدیوم و پیکنیدیوسپور های قارچ استفاده شد. قبل از قرار دادن قرص ها روی برگ های انتخاب شده، سطح برگ ها با توئین ۲۰ مه پاشی شد، سپس روی برگ ها در دو نقطه متقابل با سوزن ظریف سترون سوراخ های ظریفی ایجاد شده و قرص های محیط کشت حاوی قارچ روی سوراخ های ایجاد شده قرار داده شد. در مورد گیاهان شاهد از قرص های محیط کشت بدون قارچ استفاده گردید. پس از آن سطح برگ ها با آب مه پاشی شده و به مدت ۴۸ ساعت در کیسه های پلاستیکی مرطوب با رطوبت نسبی ۹۰ درصد یا بیشتر و دمای ۲۲ تا ۲۵°C نگهداری شدند (Hoffman et al. 2002). برآورد شدت علائم بیماری در روز دهم پس از مایه زنی با استفاده از دستگاه تعیین شاخص سطح برگ (leaf area index) انجام شد، که طی دو مرحله اندازه گیری کل سطح برگ و اندازه

گیری سطح برگ بدون آلودگی (نکروز و کلروز) و سپس تفاضل این دو مقدار صورت پذیرفت. در نهایت شدت علائم بر حسب درصد نکروز به اضافه کلروز محاسبه گردید. مقاومت نسبی ده رقم کلزا شامل Hayola 401, Hayola 308, Sarigol Zarfam, Talaye, P. lingam, Option 500, Okapi, Modena, Fornax و RGS 003 نسبت به یک جدایه پر آزار *P. lingam* بررسی شد. به این منظور آزمایشی در قالب طرح بلوک کامل تصادفی با سه تکرار و یک شاهد به ازای هر رقم در شرایط گلخانه روی گیاهان ۴۰ روزه کلزا انجام شد. مایه زنی به روش فوق الذکر انجام شد. برآورد شدت علائم (نکروز و کلروز) نیز با دستگاه تعیین شاخص سطح برگ صورت گرفت. تجزیه واریانس با استفاده از نرم افزار MSTATC و مقایسه میانگین با استفاده از آزمون دانکن در سطح یک درصد انجام شد..

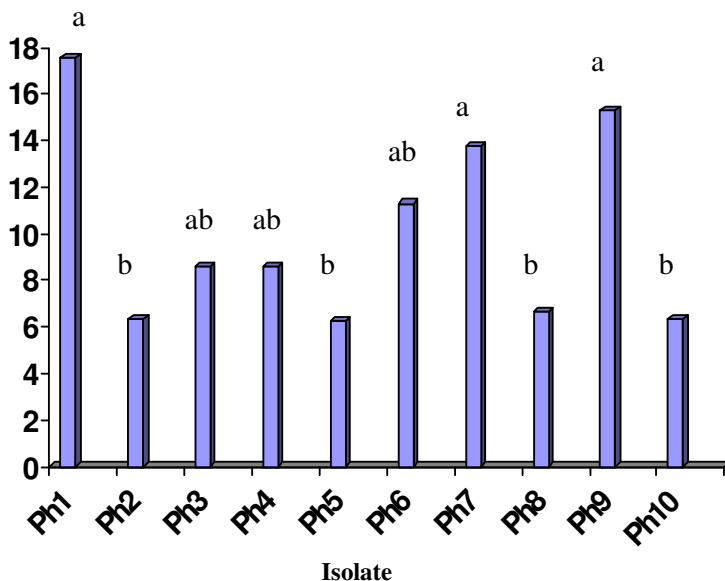
#### نتیجه

براساس بررسی‌های ریخت‌شناسی و با استفاده از کلید شناسایی گونه‌های *Phoma* (Boerema et al. 2004) ده جدایه خالص شده دارای مشخصات گونه *P. lingam* بودند. روی محیط کشت تولید مسیلیوم‌های فراوان به رنگ سفید و خاکستری کردند و در بعضی از قسمت‌های مسیلیوم سلول‌های متورم انتهایی و میانی مشاهده گردید. درون و روی محیط کشت پیکنیدیوم‌ها به صورت منفرد یا چندتایی و به قطر ۲۰۰ تا ۲۵۰ میکرومتر مشاهده گردید که تراوشات حاوی پیکنیدیوسپورها (ooze) به رنگ ارغوانی یا کرم از آنها خارج شده بود. پیکنیدیوسپورها بیضوی تا استوانه‌ای شکل و دارای دو قطره کوچک در دو قطب بودند. اندازه پیکنیدیوسپورها بین ۳ تا ۶ میکرومتر مشاهده شد.

سنجش بیماری‌زایی جدایه‌ها روی رقم Hayola 401 در قالب طرح بلوک کامل تصادفی در شرایط گلخانه روی گیاهچه‌های ۴۰ روزه انجام شد. نتایج بررسی‌ها در شرایط گلخانه و تجزیه و تحلیل داده‌ها بر اساس اندازه‌گیری درصد سطح آلوده برگ نشان داد که بین جدایه‌های مختلف از نظر توانایی در ایجاد علائم نکروز و کلروز روی کلزا تفاوت معنی‌دار وجود دارد. مقایسه میانگین شدت بیماری ایجاد شده توسط جدایه‌های مختلف با استفاده از آزمون دانکن، جدایه‌ها را در سه گروه قرار داد. جدایه‌های Ph1، Ph7 و Ph9 بیشترین شدت بیماری

و جدایه های Ph2، Ph5، Ph8 و Ph10 کمترین شدت بیماری را ایجاد کردند. بقیه جدایه ها حدواسط این دو گروه بودند (شکل ۱).

Disease severity



شکل ۱- مقایسه میانگین شدت بیماری (کلروز و نکروز) ایجاد شده در رقم Hayola 401 در تعامل با ده جدایه *Phoma lingam* با استفاده از آزمون چند دامنه ای دانکن در سطح یک درصد.

Fig. 1. Comparison of disease severity (chlorosis and necrosis) means in Hayola 401 cultivar interacting with ten isolates of *P. lingam* using Duncan's multiple range test ( $P \leq 0.01$ ).

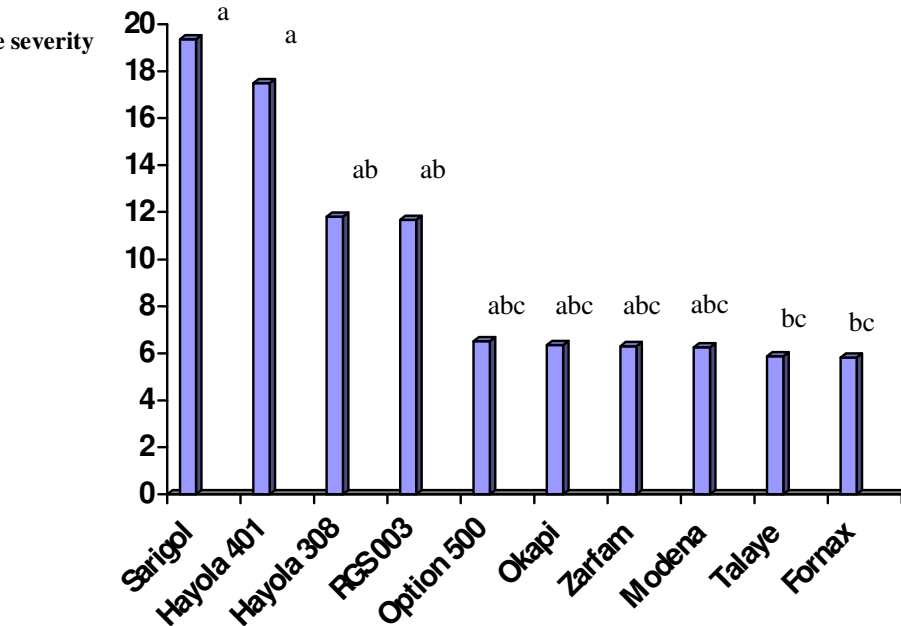
مقاومت نسبی ده رقم کلزا شامل Hayola 401، Talaye، Zarfam، Sarigol، Fornax، Hayola 308، Option 500، Okapi، Modena و RGS 003 در شرایط گلخانه نسبت به یک جدایه پر آزار *P. lingam* (جدایه Ph1) مورد سنجش قرار گرفت. علائم ناشی از این بیمارگر ده روز پس از مایه زنی بررسی شد. توسعه علائم ناشی از این بیمارگر شامل نکروز و کلروز روی ارقام مختلف متفاوت بود. نتایج تجزیه واریانس (جدول ۱) نشان داد که تفاوت معنی دار بین مقاومت ارقام نسبت به این بیمارگر وجود دارد ( $P=0.01$ ). مقایسه میانگین شدت بیماری در ارقام مختلف با آزمون دانکن نشان داد که ارقام از نظر حساسیت به ساق سیاه در چهار گروه

قرار می گیرند (شکل ۲). ارقام بهاره Sarigol و Hayola 401 به ترتیب با شدت بیماری ۱۹/۳۵ و ۱۷/۵ درصد بیشترین شدت نکروز و کلروز را نشان داده و از بین ارقام مورد بررسی حساس ترین ارقام در برابر *P. lingam* بودند. ارقام پاییزه Fornax و Talaye هم به ترتیب با شدت بیماری ۵/۸۶ و ۵/۸۲ درصد کمترین حساسیت را نشان داده و از بین ارقام مذکور مقاوم ترین ارقام بودند. سایر ارقام مورد مطالعه حدواسط این دو گروه قرار گرفتند. بیشترین شدت نکروز در ارقام Sarigol و Hayola 308 و بیشترین شدت کلروز نیز در ارقام Sarigol و Hayola 401 مشاهده گردید. رقم Fornax دارای کمترین شدت نکروز بود، به علاوه این رقم نسبت به سایر ارقام کلروز کمتری نیز نشان داد.

جدول ۱- تجزیه واریانس تعامل یک جدایه پرازار *P. lingam* با ده رقم کلزا

Table 1. Analysis of variance of reaction between a virulent isolate of *P. lingam* and ten canola cultivars

منبع Source	درجه آزادی Degrees of freedom	مجموع مربعات Sum of squares	میانگین مربعات Mean of squares	ارزش F F value
بلوک Block	2	10.7	5.35	1.19
رقم Cultivar	9	407.46	45.27	10.11*
خطا Error	18	80.63	4.48	
کل Total	29	498.79		
ضریب تغییرات Coefficient of Variation		22.84%		



شکل ۲- مقایسه میانگین شدت بیماری (کلروز و نکروز) در ده رقم کلزا در تعامل با *P. lingam* با استفاده از آزمون چند دامنه ای دانکن در سطح یک درصد.

Fig. 3. Comparison of disease severity (chlorosis and necrosis) means in ten canola cultivars interacting with *P. lingam* using Duncan's multiple range test ( $P \leq 0.01$ ).

مطالعات متعددی در زمینه ارزیابی مقاومت به ساق سیاه در تیپ های بهاره و پاییزه کلزا صورت گرفته است. در کلزای بهاره پس از مایه زنی مصنوعی مقاومتی مشاهده نشد (Helms & Cruickshank 1979; Sjodin & Glimelus 1988). ارقام بهاره مورد مطالعه شامل Sarigol، Hayola 401، Hayola 308، RGS 003 و Option 500 نیز نسبت به ساق سیاه حساسیت نشان دادند. در کلزای پاییزه مقاومت خوبی در ارقام Jet Neuf و Rafal و مقاومت حد واسطی در ارقام Primor و Rapora در برابر جدایه های انگلستان مشاهده شده است (Newman 1984). در بررسی دیگری که در آلمان صورت گرفته، ارقام پاییزه Jet Neuf و Tamara مقاومت خوبی

را در برابر ساق سیاه نشان دادند. بیشتر ارقام پاییزه ای که مورد آزمون قرار گرفته اند دارای مقاومت خوبی علیه این بیماری بودند (Thurling & Venn 1977). در این بررسی نیز ارقام پاییزه مورد مطالعه شامل Talaye, Fornax, Modena, Okapi و رقم حدواسط Zarfam مقاومت خوبی نسبت به بیماری نشان دادند.

در یک بررسی که روی مقاومت نسبی ارقام مذکور نسبت به سه گونه *Alternaria brassicicola* و *A. raphani* صورت گرفت، ارقام بهاره Option500، Hayola401 و Hayola308 بیشترین میزان زردی و بافت مردگی را نشان دادند و کمترین توسعه علائم مربوط به رقم حدواسط Zarfam بود. رقم Option500 به عنوان حساس ترین و Zarfam به عنوان مقاوم ترین رقم نسبت به گونه *A. brassicicola* معرفی گردید. رقم Hayola 401 به عنوان حساس ترین و Zarfam به عنوان مقاوم ترین رقم نسبت به گونه *A. brassicicola* و ارقام Sarigol و Hayola308 حساس ترین ارقام نسبت به گونه *A. raphani* بودند (Nourani 2008).

در مایه زنی مستقیم قارچ روی ارقام کلزا، ارقام بهاره Sarigol و Hayola 401 حساس ترین و ارقام پاییزه Fornax و Talaye مقاوم ترین ارقام در برابر بیمارگر بودند. در حالیکه در تزریق توکسین های ناخالص بیمارگر به ارقام مختلف کلزا، ارقام بهاره Hayola 308 و Sarigol حساس ترین و ارقام پاییزه Fornax و Modene مقاوم ترین ارقام در برابر توکسین های ناخالص گزارش شده اند (Banaei 2009). در هر دو آزمایش مایه زنی مستقیم قارچ و تزریق توکسین های ناخالص بیمارگر به گیاه، ارقام بهاره نسبت به ارقام پاییزه حساسیت بیشتری نشان دادند و نتایج هر دو سری آزمایش با هم رابطه مستقیم داشت. با توجه به نتایج حاصل به نظر می رسد در بررسی مقاومت ارقام کلزا به ساق سیاه، توکسین های عامل بیماری نیز دارای این پتانسیل هستند که به جای مایه زنی مستقیم قارچ استفاده شوند.

## منابع

جهت ملاحظه به صفحات (87-89) متن انگلیسی مراجعه شود.

نشانی نگارندگان: راضیه بنائی، واهه میناسیان و ناصر صفایی، گروه بیماری شناسی گیاهی دانشکده کشاورزی، دانشگاه تربیت مدرس