

Scientific Short Article

ارزیابی درون شیشه‌ای ژنوتیپ‌های کلزا نسبت به بیماری ساق سیاه ناشی از قارچ *Phoma lingam*

In Vitro Evaluation of Oilseed Rape Genotypes Against Blackleg Disease Caused by *Phoma lingam*

سیامک رحمانپور^۱ و بهرام علیزاده^۲

۱ و ۲- استادیار، مؤسسه تحقیقات اصلاح و تهیه نهال و بذر، کرج

تاریخ دریافت: ۱۳۹۳/۵/۷ تاریخ پذیرش: ۱۳۹۳/۱۱/۱۶

رحمانپور، س. و علیزاده، ب. ۱۳۹۴. ارزیابی درون شیشه‌ای ژنوتیپ‌های کلزا نسبت به بیماری ساق سیاه ناشی از قارچ *Phoma lingam*. مجله به‌نژادی نهال و بذر ۱-۳۱: ۴۰۲-۳۹۹.

روش مایه‌زنی عامل بیماری روی برگ‌های جدا شده از گیاه و نگهداری آن‌ها در شرایط تحت کنترل در مورد تعدادی از بیماری‌ها اعمال شده است (Rahmanpour et al., 2012). سواتی و همکاران (Swathi Anuradha et al., 2008) در ارزیابی مقاومت ژنوتیپ‌های توتون در مقابل قارچ‌های بیماری‌زای *Phytophthora parasitica* pv. *nicotianae* و *Fusarium moniliforme* از دیسک‌های میسلومی سه روزه برای مایه‌زنی برگ‌های جدا شده میزبان استفاده کردند. بنائی و همکاران (Banaei et al., 2008) نیز از قرص‌های (دیسک‌های) پنج میلی‌متری کشت ۲۱ روزه حاوی پیکنیدیوم و پیکنیدیوسپورهای قارچ *Phoma lingam* برای مایه‌زنی ده رقم

ساق سیاه یکی از بیماری‌های مهم کلزا در دنیا است که همه ساله خسارات زیادی را باعث می‌شود (West et al., 2001). به طور کلی، آلودگی ساق کلزا به بیماری ساق سیاه پیش از مرحله شش برگگی سبب کاهش شدید در عملکرد دانه می‌شود. از آن جایی که حفاظت شیمیایی مشکل و پرهزینه است، مقاومت ژنتیکی روش ترجیح داده شده برای کنترل ساق سیاه در کلزا به شمار می‌آید. منابع مقاومت به این بیماری در ژرم‌پلاسم کلزا در دنیا دست یافتنی هستند (Fitt et al., 2006). در ارزیابی ژنوتیپ‌های گیاهان در مقابل بیماری‌ها روش‌های مختلفی برای مایه‌زنی و بررسی واکنش میزبان مورد استفاده قرار گرفته‌اند. استفاده از

بالا به مدت پنج روز نگهداری شدند (Swathi Anuradha *et al.*, 2008). پس از این مدت قطر ناحیه آلوده شده در بافت برگ (میانگین بیشترین و کمترین قطر)، اندازه‌گیری شد. علایم پیشرفت به صورت لکه‌های قهوه‌ای گرد و یا نامنظم در اطراف محل مایه‌زنی نمایان شدند. در بیشتر ژنوتیپ‌ها حاشیه زرد رنگ پیشرفت بیماری نیز وجود داشت و بنابراین در اندازه‌گیری‌ها این نواحی نیز جزو منطقه پیشرفت بیماری به شمار آمدند. در تیمارهای شاهد از دیسک محیط کشت بدون میسلیم قارچ استفاده شد. آزمایش با طرح کامل تصادفی و چهار تکرار اجرا و تجزیه آماری داده‌های به دست آمده با روش دانکن و نرم‌افزار SAS انجام شد.

نتایج تجزیه آماری حاکی از معنی‌دار بودن وقوع بیماری در برگ‌های لاین‌ها و ارقام کلزا بود. لاین‌های HW101، HW104 و SW104 کمترین و لاین‌های L170، L72، HW118 و L102 بیشترین قطری پیشرفت بیماری را نشان دادند. سه لاین برتر در مقایسه با رقم شاهد اکابی میانگین پیشرفت بیماری کمتری داشتند (جدول ۱).

ارقام و لاین‌های آزمایش شده همگی از ارقام تیپ پاییزه کلزا به شمار می‌آیند. با این وجود تنوع واکنش به بیماری در میان جمعیت این لاین‌ها مشاهده شد. بنایی و همکاران (Banaei *et al.*, 2008) در آزمایش‌های ارزیابی مقاومت در شرایط گلخانه، ارقام پاییزه

کلزا در شرایط گلخانه استفاده کردند. با توجه به کاربرد برگ‌های جداشده از بوته گیاهان و مایه‌زنی آن‌ها با بیمارگرهای متفاوت، استفاده از چنین روشی برای بررسی واکنش درون شیشه‌ای ژنوتیپ‌های کلزا در مقابل عامل بیماری ساق سیاه می‌تواند امکان ارزیابی واکنش تعداد زیادی از لاین‌های کلزا در مراحل مختلف رشدی را در مدت زمان کوتاهی فراهم کند.

جدایه قارچ عامل بیماری ساق سیاه کلزا از منطقه کلاله واقع در استان گلستان با بررسی‌های تولید یا عدم تولید رنگدانه، تغییر رنگ محیط کشت (سیب‌زمینی دکستروز آگار) و تولید پیکنید در سطوح مختلف محیط کشت شناسایی و تکثیر شد. در این پژوهش مجموعاً مقاومت ۲۵ لاین و رقم پیشرفته کلزا در مقابل جدایه بیماری‌زا ارزیابی شدند. کاشت بذر لاین‌ها و ارقام کلزا در گلخانه بخش تحقیقات دانه‌های روغنی موسسه تحقیقات اصلاح و تهیه نهال و بذر درون گلدان‌های حاوی مخلوط خاک و ماسه و نگهداری آن‌ها به مدت سه ماه در شرایط گلخانه انجام شد. دیسک‌های ۴ میلی‌متری میسلیم قارچ از حاشیه محیط کشت هفت روزه تهیه و پس از ایجاد زخم در ناحیه مرکزی برگ‌های توسعه یافته قرار داده شدند. از هر لاین یا رقم چهار برگ هر کدام در یک تشتک پتری به عنوان تکرار مایه‌زنی شدند. مجموعه ایجاد شده درون ژرminatور با دمای ۲۰ درجه سانتی‌گراد، تاریکی و رطوبت

جدول ۱- مقایسه میانگین قطر لکه ایجاد شده بعد از مایه‌زنی قارچ *Phoma lingam* در برگ بریده ژنوتیپ‌های کلزا

Table 1. Comparison of lesion diameter means induced on detached leaves of oilseed rape genotypes after inoculation with *Phoma lingam*

Genotype	Mean lesion diameter (mm)
HW101	7.25a
HW104	8.75ab
SW104	9.25ab
SW102	12.25abc
SW103	12.37abc
OKAPI	12.50abc
K2	12.50abc
L183	15.25abcd
MODENA	15.62abcd
L139	16.00abcd
HW114	17.12abcd
HW113	17.50abcd
HW112	17.50abcd
L200	19.00abcd
K3	19.00abcd
AHMADI	19.25abcd
L120	19.37abcd
L62	19.62abcd
L147	20.12abcd
SW101	20.12abcd
HW111	22.12bcde
HW118	23.50cde
L72	25.25cde
L170	28.25de
L102	34.375e

میانگین‌ها با حروف مشابه فاقد اختلاف معنی‌دار در سطح احتمالی ۵ درصد هستند.

Means with similar letters are not significantly different at 5% probability level.

و بهاره را دارای به ترتیب کمترین و بیشترین حساسیت در مقابل بیماری شناسایی کردند. مقاومت بالا و مناسب ارقام تیپ پاییزه کلزا در مقابل بیماری ساق سیاه کلزا از نقاط مختلف دنیا نیز گزارش شده است. نتایج آزمایش درون شیشه‌ای اعمال شده در این تحقیق نشان داد که با این روش می‌توان واکنش اولیه تعداد زیادی از ژنوتیپ‌های کلزا را در مدت کوتاهی مشخص و ژنوتیپ‌های حساس و خیلی حساس را در مراحل مختلف تولید ارقام مقاوم غربال کرد. بدیهی است برای ارزیابی نهائی ژنوتیپ‌های انتخاب شده با این روش، لازم است آزمایش‌های دقیق‌تر گلخانه و مزرعه‌ای نیز انجام شود.

واژه‌های کلیدی: کلزا، ساق سیاه، مایه‌زنی برگ، واکنش لاین‌ها.

References

- Banaei, R., Minassian, V., and Safaie, N. 2008.** Evaluation of relative resistance of ten canola cultivars to *Phoma lingam*. Iranian Journal of Plant Pathology 44(4): 347-354 (in Persian).
- Fitt, B. D. L. , Brun, H., Barbetti, M. J., and Rimmer, S. R. 2006.** World-wide importance of phoma stem canker (*Leptosphaeria maculans* and *L. biglobosa*) on oilseed rape (*Brassica napus*). European Journal of Plant Pathology 114: 3-15.
- Rahmanpour, S., Backhouse, D., and Nonhebel, M.H. 2012.** Reaction of Brassica species to *Sclerotinia sclerotiorum* applying inoculation techniques under controlled conditions. Crop Breeding Journal 1 (2): 143-149.
- Swathi Anuradha, K., Divya, K., Jami, S. K., and Kirti, P. B. 2008.** Transgenic tobacco and peanut plants expressing a mustard defensin show resistance to fungal pathogens. Plant Cell Report 27: 1777–1786.
- West, J. S., Kharbanda, P. D., Barbetti, M. J., and Fitt, B. D. L. 2001.** Epidemiology and management of *Leptosphaeria maculans* (phoma stem canker) on oilseed rape in Australia. Canada and European Plant Pathology 50: 10-27.