دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی ساری
پژوهشنامه اصلاح گیاهان زراعی

بررسی مقاومت برخی ارقام و گونه‌های جنس براسیکا نسبت به عامل بیماری ساق سیاه کلزا *Leptosphaeria maculans*

ابوالفضل کی پور[1]، حمید نجفی زرینی[2] و علی زمان میرآبادی[3]

۱- کارشناس ارشد، دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی ساری، (نویسنده مسوول: arash.keypoor@gmail.com)
۲- استادیار، دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی ساری
۳- رئیس مرکز تحقیقات کاربردی شرکت توسعه کشت دانه‌های روغنی
تاریخ دریافت: ۹۱/۶/۱۸ تاریخ پذیرش: ۹۳/۵/۴

چکیده

ساق سیاه کلزا *Leptosphaeria maculans*، یکی از بیماری‌های مهم کلزا (*Brassica napus*) در سراسر جهان می‌باشد که منجر به خسارت‌های اقتصادی زیادی شده است. به منظور تعیین تیپ بیماری‌زا، جدایه‌های نمونه‌برداری شده از این قارچ در استان‌های مازندران و گلستان از سه رقم افتراقی وستار، کوئینتا و گلاسیر استفاده شد. در مجموع از ۱۲ جدایه بدست آمده دو تیپ بیماریزای PG2 و PGT شناسایی گردید. جهت تعیین حساسیت ارقام مختلف کلزا نسبت به این بیماری، ۲۴ رقم از چهارگونه *B. napus* و *B. rapa* و *B. juncea* و *B. nigrs* نسبت به دو جدایه بیماری‌زا مورد آزمون قرار گرفت و در نهایت مشخص گردید از بین ارقام داخلی پاییزه Option و PF (ساری گل) نسبت به PG2 به ترتیب دارای مقاومت و مقاومت نسبی بوده و از بین ارقام زمستانه خارجی Champlein و Adriana به ترتیب دارای مقاومت و مقاومت نسبی می‌باشند. همچنین ارقام Option و Champlein و Adriana نسبت به جدایه PGT دارای مقاومت نسبی بودند.

واژه‌های کلیدی: کلزا، ساق سیاه، *Leptosphaeria maculans*، حساسیت

مقدمه

کلزا (*Brassica napus*) گیاهی است یکساله متعلق به خانواده چلیپائیان یا شب بوئیان (Cruciferae)، پنج گونه از جنس براسیکا در سطح جهانی به عنوان دانه روغنی کشت می‌شوند. گونه زراعی آن همان ناپوس می‌باشد و از بین آنها سه گونه *B. rapa* و *B. juncea* و *B. napus* اهمیت بیشتری داشته و ۹۹٪ سطح زیر کشت دانه‌های روغنی را شامل می‌شوند (۱). *B. napus* مهم‌ترین گونهٔ جنس براسیکا بوده که بعد از سویا و نخل روغنی سومین گیاه مهم در تامین روغن نباتی جهان می‌باشد (۳). باتوجه به افزایش جمعیت در جهان و افزایش نیازمندی به روغن لذا توسعه کشت کلزا همراه با تغییر در کیفیت روغن آن و افزایش انواع مقاومت‌ها از قبیل تحمل تنش‌های آبی و خشکی، آفات و بیماری‌ها، لازم و ضروری به نظر می‌رسد (۷).

بیماری‌های زیادی در دنیا، بسته به شرایط اقلیمی، کلزا را مورد تهدید قرار می‌دهد و باعث وارد آمدن خسارت اقتصادی به آن می‌گردد. غالب این بیماری‌ها قارچی بوده و عامل شانکر ساقه کلزا (ساق سیاه) مهمترین قارچ بیمارگر کلزا دراغلب کشورهاست که بیماری ناشی از آن به فوما معروف می‌باشد (۱۸). با مطالعات انجام شده در زمینه اهمیت جهانی بیماری فوما مشخص شد که این بیماری سبب آسیب جدی در اروپا، استرالیا و آمریکا می‌گردد. همچنین در انگلیس در هر فصل زراعی حدود ۲۸۰۰۰ تن محصول در اثر این بیماری از بین می‌رود (۱۴،۵). بر اساس اطلاعات موجود تا سال ۲۰۰۴ میلادی بیماری ساق‌سیاه کلزا از اروپا (۲۵ کشور)، آفریقا (هشت کشور)، آسیا (۱۶ کشور)، آمریکای شمالی (سه کشور شامل: کانادا، آمریکا و مکزیک)، آمریکای مرکزی (پنج کشور)، آفریقای جنوبی، اقیانوسیه (پنج کشور) و نیز آرژانتین و برزیل گزارش شده است (۱۶،۶،۴). جمعیت عامل بیماری ساق سیاه کلزا در حال حاضر با دو گونه اصلی شناخته می‌شود: *Leptosphaeria maculans* و *Leptosphaeria biglobosa* که اولی با خسارت شدید در قسمت پائین ساقه یا پایه گیاه شناخته شده که بصورت زخم عمیق سبب شکستگی و از بین رفتن ساقه و خسارت ۱۰۰٪ می‌گردد در گیاهانی که کمتر صدمه دیده‌اند جریان شیره گیاه کاهش می‌یابد و دومی اغلب با خسارتی کمتر آنهم در ناحیه فوقانی ساقه اصلی گزارش شده است (۴). قارچ عامل بیماری ساق‌سیاه دارای دو شکل بیماری‌زا (تیپ A) و غیربیماری‌زا (تیپ B) بوده تیپ‌های غیر بیماری‌زا به PG1 و همچنین تیپ‌های بیماری‌زا بسته به شدت بیماری‌زایی تحت عناوین PG2 و PG3 و PG4 و PGT نام‌گذاری شده‌اند. اولین بررسی در خصوص اثرات متقابل ارقام کلزا به *L. maculans* توسط ویلیامز و دلویچ انجام شد (۱۷). آنها سه رقم شامل: رقم وستار[1] (رقم حساس به بیماری و تیپ بهاره) و نیز ارقام کوینتا[2] و گلاسیر[3] (هر دو پائیزه) را انتخاب نمودند (۱۰). بر اساس علائم حاصل

1- Westar 2- Quinta 3- Glacier

[Downloaded from jcb.sanru.ac.ir on 2026-11-12]

از *L. maculans* روی این سه رقم، سه گروه بیماری‌زا (PG) تحت عناوین PG2 (غیربیماری‌زا روی کوینتا و گلاسیر) - PG3 (بیماری‌زا روی گلاسیر و غیر بیماری‌زا روی کوینتا) و PG4 (بیماری‌زا روی هرسه رقم) معرفی گردید. کنترل عامل بیماری ساق سیاه با استفاده از روش‌های مختلفی باید انجام پذیرد از جمله این روش‌ها عبارتند از: تناوب (۶)، بهداشت زراعی (۶)، مبارزه با علف‌های هرز و تاریخ کاشت (۶)، بذر سالم و گواهی شده (۶)، روش‌های شیمیایی (۸،۴)، کنترل بیولوژیک و ارقام مقاوم (۱۳) که اصولی‌ترین روش استفاده از ارقام مقاوم به بیماری است.

در سال‌های اخیر تیپ‌های PG2 (۱۹) و PGT (۲۰) که هر دو بیماری‌زا بوده در ایران گزارش شده است. همچنین در بررسی‌های انجام شده توسط زمان میرآبادی و همکاران (۲۱) مشخص شده است که هیولا ۴۰۱ و زرفام و اکاپی نسبت به تیپ‌های PG2 و PGT کاملاً حساس هستند و جدایه‌هایی از این بیماری در هفت استان کشور از جمله مازندران و گلستان محرز گردیده است.

با توجه به بررسی‌های انجام شده درخصوص حساسیت اغلب ارقام رایج کشور به بیماری فوما و گزارش‌های متعدد از افزایش درصد شیوع این بیماری در کشور و همچنین اثبات وجود ژن‌های مقاومت در ارقام زمستانه (خارجی) و برخی گونه‌های دیگر جنس براسیکا از قبیل *B. juncea*، *B. rapa* و *B. nigra* و نیز توجه به سیاست استفاده از ارقام متحمل یا مقاوم به بیماری، این تحقیق به منظور تعیین حساسیت یا مقاومت به عامل بیماری ساق سیاه کلزا و دستیابی به رقم مقاوم انجام گرفته است. لازم به ذکر است که چنانچه ارقام مقاوم بین نمونه‌های داخلی و خارجی تعیین گردند می‌توان با بکارگیری تکنیک‌های مدرن نسبت به انتقال ژن‌های مقاومت به ارقام مورد دلخواه خصوصاً ارقام رایج و یا ارقام پر محصول اقدام نمود.

مواد و روش‌ها

مواد آزمایشی

بذور مورد آزمایش از بانک بذر مرکز تحقیقات کاربردی شرکت توسعه کشت دانه‌های روغنی تهیه و شامل چهار گونه *B. napus* و *B. rapa* و *B. juncea* و *B. nigra* بوده که اسامی آنها در جدول ۱ آمده است.

جدول ۱- اسامی ارقام مورد آزمایش

نام گونه	نام رقم
B. napus	RGS, PF, Zarpham, Okapi, Hyolla401, Option, Westar, Glacier, Quinta, Jet Neuf , Cooper, Adriana, Champlein, Savannah, Karun
B. rapa	Torch Falo Maleksberger Sombuck
B. juncea	Ib 1434 Ib 1632
B. nigra	CR 2620

جهت تعیین بیماری‌زایی جدایه‌های قارچی به روش تست کوتیلدونی از سه رقم افتراقی وستار (رقم بهاره)، کوینتا و گلاسیر (ارقام پاییزه) استفاده شد. ارقام مذکور نیز از بانک بذر مرکز تحقیقات کاربردی شرکت توسعه کشت دانه‌های روغنی تهیه شد. بذور تهیه شده دارای قوه نامیه بیش از ۹۰٪ بوده لذا نیازی به انجام آزمون تست قوه نامیه نیست.

تهیه بستر و کشت بذور

برای آماده‌سازی بستر کشت مناسب جهت اجرای طرح در ابتدا از خاک زراعی الک شده، ماسه بادی و کود حیوانی (گوسفندی) پوسیده آماده شده و به مقدار مورد نیاز در کیسه‌های پلاستیکی قرار داده و سپس برای ۲ مرتبه در یک دوره زمانی ۲۴ ساعته به مدت ۱۲۰ دقیقه در دمای ۱۲۱ درجه سانتی‌گراد و فشار یک اتمسفر اتوکلاو گردید. در نهایت به نسبت ۱:۱:۱ بعد از اتمام اتوکلاو آنها را کاملاً با یکدیگر مخلوط کرده و از ترکیب حاصله در حدود ۱۰۰۰ گرم به ظروف پلاستیکی منتقل و سطح خاک ظروف برای کشت کلزا کاملاً یکنواخت و هموار شد و پس از مرطوب کردن آن با ایجاد حفره‌های کوچک در خاک نسبت به کاشت بذور اقدام گردید. ظروف یا گلدان‌ها در گلخانه و در شرایط دمایی محیط و نوری ۱۲ ساعت روشنایی- تاریکی نگهداری شد و تا زمان رشد کافی کوتیلدون‌های گیاه، در صورت ایجاد برگ‌های حقیقی نسبت به حذف آنها اقدام شد.

مشخصات طرح

ارقام جدول ۱ در سه تکرار و هر تکرار شامل شش بذر و قالب طرح بلوک‌های کامل تصادفی در داخل گلخانه و اتاقک رشد کشت شد.

کرت اصلی از یک ظرف پلاستیکی (به ابعاد ۲۰×۱۳/۵×۸ سانتی‌متر مکعب) و شامل یک مقسم چوبی شش قسمتی بود. ابعاد هر کرت آزمایشی ۶/۵ × ۶/۲۵ سانتی‌متر مربع در نظر گرفته شد.

نمونه‌برداری عامل بیماری ساق سیاه کلزا

مجموعا ۱۲ جدایه *Leptosphaeria maculans* (جدول ۲) از نمونه‌برداری شکل جنسی و غیرجنسی قارچ عامل بیماری در دو استان مازندران و گلستان بدست آمد.

[Downloaded from jcb.sanru.ac.ir on 2026-11-12]

جدول ۲- مشخصات مربوط به نمونه‌برداری جدایه‌های جمع‌آوری شده قارچ *L.maculans*

ردیف	استان	منطقه	تعداد جدایه	نوع جدایه	رقم	میزبان	کد	فرم نمونه برداری
۱	مازندران	لالا	۲	PG1	زرفام	کلزا	۱۲ و ۱۱	شکل جنسی
۲	مازندران	خالخیل	۳	PG1	زرفام	کلزا	۱۵ و ۱۴ و ۱۳	شکل جنسی
۳	مازندران	بیکارآیش	۲	PG1	هیولا ۴۰۱	کلزا	۱۷ و ۱۶	شکل جنسی
۴	مازندران	بیکارآیش	۱	PG2	-	خردل	۱۸	شکل جنسی
۵	گلستان	رامیان	۲	PGT	هیولا ۴۰۱	کلزا	۲۰ و ۱۹	شکل غیرجنسی
۶	گلستان	بندر ترکمن	۲	PG1	هیولا ۴۰۱	کلزا	۲۱ و ۲۰	شکل غیرجنسی

جداسازی قارچ عامل بیماری ساق سیاه

برای جداسازی شکل غیرجنسی قارچ از برگ و ساقه موجود در تمام سطح مزارع کلزا بطور تصادفی نمونه‌برداری و از نمونه‌های مشکوک و دارای علائم تیپیک استفاده شد. برای جداسازی شکل جنسی قارچ از بقایای بجا مانده کلزا آنهم سه ماه پس از برداشت نمونه‌برداری انجام شده و نمونه‌ها داخل پاکت‌های کاغذی قرارداده شده و به آزمایشگاه منتقل گردید. درصورتیکه نمونه‌های جمع‌آوری شده مرطوب باشد آنها را به مدت ۴۸ ساعت در دمای ۳۰ درجه سانتی‌گراد در داخل آون می‌گذاریم و سپس تا زمان استفاده در دمای چهار الی شش درجه سانتی‌گراد در داخل یخچال قرار داده شد.

محیط‌های غذایی

برای جداسازی و خالص‌سازی قارچ از محیط‌های غذایی PDA[1] و V8[2] استفاده گردید. محیط‌های‌کشت غذایی پس از ترکیب با آب مقطر استریل به نسبت لازم و بر اساس مقدار توصیه شرکت سازنده به مدت حداقل ۳۰ دقیقه در روی شیکر هیتردار تا حصول محلول یکنواخت قرار داده شده و سپس در دمای ۱۲۱ درجه سانتی‌گراد به مدت ۱۶ دقیقه در فشار یک اتمسفر در داخل اتوکلاو استریل شد. پس از سرد شدن محیط کشت در دمای حدود ۴۵ درجه سانتی‌گراد به میزان ۱۰۰ پی‌پی‌ام در لیتر آنتی بیوتیک استرپتومایسین بعلاوه ۲۰۰ پی‌پی‌ام پنی‌سیلین برای جلوگیری از فعالیت باکتری‌ها اضافه گردید. سپس در زیر هود و در شرایط استریل محیط کشت را درون تشتک پتری ریخته و پس از سخت شدن یا بستن، ظروف بصورت وارونه درون یخچال قرار داده شد.

جداسازی هاگ جنسی (آسکوسپور) قارچ از بقایای کلزا

جهت جداسازی و بدست آوردن هاگ‌های جنسی، ساقه‌های به طول ۲۰ تا ۴۰ سانتی‌متر جمع‌آوری شده و بطور تصادفی سه ساقه هر کدام به طول حدودا ۵ سانتی‌متر و دارای شکل جنسی قارچ *L. maculans* (پزدوتسیوم‌های بالغ) را تهیه و به منظور حذف هر گونه خاک، مواد زائد، حشرات و کنه‌های ریز ابتدا زیر شیر آب گرفته و سپس در هیپوکلریت سدیم ۰/۵٪ به مدت یک دقیقه قرار گرفت. بقایای جمع‌آوری شده را می‌توان تا زمان احتیاج در دمای ۵ درجه سانتی‌گراد یا در شرایط خشک و دمای اتاق نگهداری نمود. نمونه‌های ضدعفونی شده به منظور تحریک آسکوکارپهای روی آنها جهت رهاسازی آسکوسپورها به مدت ۳۰ ثانیه در آب مقطر استریل قرار داده‌شد. آنگاه درب پتری را گذارده و سپس پشت درب تشتک‌های پتری با پارافیلم محکم شد با این عمل آسکوسپورهایی که به سمت بالا پرتاب شدند به سطح محیط آگار چسبیدند.

خالص‌سازی هاگ‌های جنسی (آسکوسپورها)

در زیر یک بینی کولر با بزرگنمایی ۴۰× توسط یک سوزن استریل و در شرایط اتاق کشت تک هاگ‌های چسبیده روی محیط آگار هر کدام به داخل یک محیط کشت V8 یا PDA منتقل شده و سپس دور پتری‌ها با پارافیلم مسدود و در داخل انکوباتور با دمای حدود ۲۲ درجه سانتی‌گراد در شرایط تاریکی منتقل شد. به منظور تحریک جدایه‌ها برای کاهش مدت زمان اسپوردهی، ظروف پتری در فاصله ۳۰ سانتی‌متری مقابل لامپ با نور سیاه ۴۰ وات (مدل FL-T8) قرار گرفت تا جوانه زده و رشد نموده تا پیکنید تولید نماید.

تهیه مایه تلقیح از پیکنیدیوسپورها

از یک پلیت حاوی تعداد فراوانی پیکنیدیوم، جهت تولید سوسپانسیون قارچ استفاده شد. برای اینکار ۵ میلی لیتر آب مقطر استریل را جهت تحریک پیکنیدیوم‌ها و آزادسازی اسپورها روی پلیت مذکور ریخته و سپس بخوبی تکان داده تا زمانیکه یک توده اسپور در لوله آزمایش مشاهده شود. سوسپانسیون بدست آمده از هشت لایه پارچه تنظیف استریل عبور داده شده و در داخل میکرو تیوپ‌های ۱/۵ میلی‌لیتری منتقل گردید. نمونه‌ها را به مدت ۵ دقیقه در سانتریفیوژ ۳۰۰۰ دور در دقیقه قرار داده و بعد از طی مدت فوق محلول زلال روی رسوب خارج شد. پس از اضافه کردن آب مقطر استریل تا حجم یک میلی‌لیتر به رسوب، غلظت سوسپانسیون اسپور با هموسیتومتر تخمین زده شده (۲×۱۰^{۷} اسپور در میلی‌لیتر) و در صورت نیاز با آب مقطر استریل رقیق گردید.

تست بیماری‌زایی روی کوتیلدون‌ها:

تلقیح عامل بیماری به گیاهان

بعد از تهیه مایه تلقیح در مرحله کوتیلدونی با دستکش‌های استریل و توسط یک سوزن انسولین

1- Potato dextrose agar

2- Vegetable 8 juice agar

[Downloaded from jcb.sanru.ac.ir on 2026-11-12]

ضدعفونی شده زخم کوچکی بر کوتیلدون‌های ۷ روزه ایجاد و سپس در حدود ۱۰ میکرولیتر از سوسپانسیون قارچ به غلظت ۲×۱۰^{۷} اسپور در میلی‌لیتر توسط سمپلر متغیر (۵۰-۵ میکرولیتر) درمحل زخم تلقیح گردید. این روش بنام مک ناب و ریمر معروف است (۷). و بلافاصله ظروف پلاستیکی به داخل اتاقک رشد منتقل گردیده و در شرایط رطوبتی اشباع یا ۱۰۰٪ و در دمای ۲۰ درجه سانتی‌گراد به مدت ۴۸ ساعت نگهداری شد. سپس تنظیمات دستگاه بعد از زمان یاد شده در شرایط رطوبتی ۹۵ درصد در یک دوره تناوبی ۱۶ ساعت روشنایی (با استفاده از ۲ لامپ نور زرد و ۲ لامپ نور سفید ۲۰ وات در فاصله ۱۵ تا ۲۰ سانتی متر از کوتیلدون‌ها) و ۸ ساعت تاریکی و دمای روزانه ۲۱ و شبانه ۱۶ درجه سانتی‌گراد تنظیم گردید.

تعیین تیپ بیماری‌زایی جدایه‌ها با روش ویلیامز

۱۰ روز بعد از زمان تلقیح و با ظهور لکه‌ها و علائم بیماری روی کوتیلدون‌های ارقام افتراقی: (وستار، کوینتا و گلاسیر) با روش ویلیامز (۱۷) میانگین قطر زخم‌های روی کوتیلدون‌ها اندازه‌گیری و شکل ظاهری لکه‌های نکروز یا هاله کلروتیک و نیز وضعیت تشکیل پیکنید و همچنین تغییر حالت بافت برگی یادداشت برداری و بر اساس اطلاعات جدول ۳ مقایسه شده و میزان مقاومت یا حساسیت از ۰ تا ۹ درجه‌بندی و در سه بخش مقاوم، مقاومت نسبی و حساس رده‌بندی گردید.

جدول ۳- واکنش فنوتیپی ارقام افتراقی کلزا نسبت به جدایه‌های قارچ *L. maculans*

مقیاس	شرح علائم ایجاد شده جدایه‌های قارچ *Phoma lingam* روی رقم افتراقی	حساسیت رقم
۰	بدون تیرگی اطراف محل زخم (بدون علائم)	
۱	نکروز شدن اطراف محل زخم (قطر آن درحدود ۰/۵ تا ۱/۵ میلی‌متر) و احتمال حضور یک هاله کلروتیک اطراف آن ضعیف می باشد	مقاوم
۳	نکروزه شدن اطراف محل زخم (قطر آن در حدود ۱/۵ تا ۳ میلی‌متر) و ممکن است یک هاله کلروتیک اطراف آن باشد	
۵	زخم‌ها در حدود ۳ تا ۵ میلی‌متر که بوسیله یک حاشیه زاویه‌دار نکروزه محدود گشته است (ممکن است بافت آن مضمحل یا به شکل سبز - خاکستری تغییر یابد)	مقاومت نسبی
۷	زخم ۳ تا ۵ میلی‌متر، بافت سبز- خاکستری با یک حاشیه زاویه دار بدون تیرگی اطراف آن	
۹	زخم‌ها خاکستری بیشتر از ۵ میلی‌متر با یک حاشیه پخش شده - پکنیدها به مقدار فراوان در روی زخم ها مشخص	حساس

آنگاه با اطلاعات بدست آمده و مقایسه آن با جدول ۴ که توسط ویلیامز و دلویچ (۱۷) تهیه و به ثبت رسید تیپ یا گروه بیماری‌زایی جدایه‌های مورد آزمایش تعیین شد. این گروه‌ها به شکل‌های PG1، PG2، PG3، PGT و PG4 معرفی می‌شوند.

جدول ۴- تعیین تیپ بیماری‌زایی جدایه‌های قارچ *L. maculans* بر اساس واکنش فنوتیپی آنها روی سه رقم افتراقی وستار، کوئینتا و گلاسیر با توجه به اطلاعات جدول ۳

گروه بیماری زایی	تعیین میزان حساسیت یا مقاومت ارقام با اندازه‌گیری قطر لکه‌های حلقوی ایجاد شده روی کوتیلدون‌ها بر حسب میلی‌متر		
	وستار	گلاسیر	کوئینتا
PG1	۰ (مقاوم)	۰ (مقاوم)	۰ (مقاوم)
PG2	۹-۷ (حساس)	۲-۰ (مقاوم)	۶-۳ (حدواسط)
PG3	۹-۷ (حساس)	۹-۷ (حساس)	۶-۳ (حدواسط)
PGT	۹-۷ (حساس)	۶-۳ (حدواسط)	۹-۷ (حساس)
PG4	۹-۷ (حساس)	۹-۷ (حساس)	۹-۷ (حساس)

تعیین میزان مقاومت ارقام بر اساس شدت آلودگی کوتیلدون‌ها

کلیه مراحل کاشت بذور مورد آزمایش در گلدان‌های پلاستیکی و نیز تهیه سوسپانسیون عامل بیماری و تلقیح آن به کوتیلدون‌ها صورت گرفته و پس از ظهور بیماری و حلقه‌های زخم با خط‌کش دقیق قطر حلقه در هریک از کوتیلدون‌ها یا نمونه‌های بیمار اندازه‌گیری شد سپس تجزیه و تحلیل این نتایج با نرم‌افزار MSTAT_C انجام گرفته و جهت مقایسه میانگین‌ها از آزمون دانکن در سطح احتمال ۱٪ استفاده گردید.

نتایج و بحث

پس از اندازه‌گیری قطر لکه‌ها و تجزیه واریانس داده‌ها اختلاف معنی‌دار در سطح ۱٪ مشاهده گردید. بدین ترتیب مقایسه میانگین داده‌ها به منظور تعیین

[Downloaded from jcb.sanru.ac.ir on 2026-11-12]

میزان مقاومت یا حساسیت ارقام نسبت به جدایه PG2 صورت پذیرفت (جدول ۶).

جدول ۵- تجزیه واریانس مقایسه قطر لکه‌های حاصل از عامل بیماری روی کوتیلدون‌ها (تست PG2)

منبع تغییر	مجموع مربعات	درجه آزادی	میانگین مربعات	F
تکرار	۲/۳۴	۲	۱/۱۷	۵/۵۷**
ژنوتیپ	۴۸/۲۸۶	۲۱	۲/۲۹۹	۱۰/۹۴**
خطا	۸/۸۱	۴۲	۰/۲۱	
جمع	۵۹/۴۳۶	۶۵		

**: در سطح ۱٪ معنی‌دار می‌باشد CV = 18.10 %

جدول ۶- مقایسه میانگین تحمل ارقام تست شده با PG2

ردیف	رقم		میانگین قطر لکه‌های ناشی از عامل بیماری روی کوتیلدون‌ها (میلی‌متر)	درجه مقاومت
۱	Torch	a	۳/۸۳۳	حساس
۲	RGS	a	۳/۵۵۷	حساس
۳	Cr2620	a	۳/۳۹۰	حساس
۴	Maleksberger	a	۳/۳۸۷	حساس
۵	Falo	ab	۳/۳۳۳	حساس
۶	Zarfam	ab	۳/۲۲۰	حساس
۷	Hyolla401	ab	۳/۲۲۰	حساس
۸	Okapi	ab	۳/۲۲۰	حساس
۹	Sombuck	(a-c)	۳/۱۶۳	حساس
۱۰	Westar	(a-d)	۳/۱۱۰	حساس
۱۱	Karun	(b-e)	۲/۳۳۳	مقاومت نسبی
۱۲	Ib1632	(c-f)	۲/۱۶۳	مقاومت نسبی
۱۳	Savannah	(d-f)	۲/۱۱۰	مقاومت نسبی
۱۴	PF	ef	۲/۰۰۰	مقاومت نسبی
۱۵	Cooper	ef	۲/۱۱۳	مقاومت نسبی
۱۶	Quinta	(e-g)	۱/۹۴۳	مقاومت نسبی
۱۷	Jetneuf	(e-g)	۱/۷۸۰	مقاومت نسبی
۱۸	Ib1434	(e-g)	۱/۵۵۷	مقاومت نسبی
۱۹	Option	(e-g)	۱/۵۵۷	مقاومت نسبی
۲۰	Adriana	(e-g)	۱/۵	مقاومت نسبی
۲۱	Champlein	fg	۱/۲۲۳	مقاوم
۲۲	Glacier	g	۰/۹۴۳۳	مقاوم

در آزمون انجام شده مشخص گردید ارقام Torch، RGS، Cr2620، Maleksberger، Falo، Zarfam، Hyolla401، Okapi، Sombuck و Westar نسبت به جدایه PG2 کاملا حساس بودند لذا استفاده از این ارقام در برنامه‌های اصلاحی به منظور مقاومت تجدید نظر می‌شود اگرچه ممکن است برخی از آنها مثل Okapi و یا RGS عملکرد بهتری داشته باشند که آنرا هم می‌توان برای بهره‌گیری در سیستم بک‌کراس استفاده نمود و نیز ارقام Champlein و Glacier دارای مقاومت کامل نسبت به جدایه مذکور بودند اما مابقی آنها یعنی Karun، Ib1632، Savannah PF، Cooper، Quinta، Jetneuf، Ib1434، Option و Adriana از خود مقاومت نسبی نشان دادند مطمئناً از ارقام مقاوم Glacier و Champlein می‌توان در برنامه‌های اصلاحی برای مقاومت به بیماری ساق‌سیاه کلزا استفاده نمود اگرچه هر دوی آنها زمستانه هستند ولی می‌توان با تلاقی آنها با ارقام بهاره‌ای که راندمان عملکردی بالا دارند به نتاج بهاره یا زودرس همراه با مقاومت به فوما در نسل‌های پیشرفته دست یافت در خصوص ارقام با مقاومت نسبی اگرچه مقداری تحمل به بیماری در آنها شناسایی شد اما برای پیشگیری از شکستن مقاومت نسبی آنها به بیماری، مانیتورینگ این وضعیت یعنی تحمل بیماری به صورت مستمر و سالانه می‌بایست انجام شود. در نمونه‌برداری از منابع آلوده استان‌های مازندران و گلستان تیپ‌های PG2 و PGT جداسازی شدند در تحقیقات میرآبادی و همکاران (۲۰،۱۹) نیز همین تیپ‌ها گزارش شده است اما بهتر است کلیه مناطق کشت کلزا در کشور بررسی و با مانیتورینگ، تیپ‌های بیماری‌زا در مناطق مختلف شناخته شوند.

بررسی واکنش‌ها به تست بیماری‌زایی جدایه‌ها نشان داد که رقم داخلی Option و رقم Adriana دارای مقاومت نسبی و رقم Champlein در رده ژنوتیپ‌های مقاوم قرار دارد دو رقم اخیر جزء ارقام زمستانه وارداتی بوده و نتیجه این آزمون و تعیین آنها در رده مقاوم‌ها بر اساس گزارشات موجود (۱۵،۱۲) مبنی بر مهار برخی از جدایه‌های بیماری در اروپا یعنی محل اصلی کشت دو رقم فوق قابل اثبات است.

[Downloaded from jcb.sanru.ac.ir on 2026-11-12]

همچنین Hayolla401 و RGS و Zarfam و Okapi در رده ارقام حساس قرار گرفتند. بنایی و همکاران (۲) نیز Hayolla401 و PF را به‌عنوان رقم حساس معرفی نمودند البته در این تحقیق PF جز ارقام متحمل شناسایی شده دلیل این موضوع می تواند ناشی از عدم تیپ سنجی جدایه و احتمال استفاده از جدایه قویتر نظیر PGT توسط آنان باشد. در آزمایشات نصرتی (۱۱) نیز همانند این تحقیق Okapi بعنوان رقم حساس معرفی شده است. آزمایشات زمان میرآبادی و همکاران (۲۱) نشان داد که ارقام Hayolla401 و Okapi و Zarfam نسبت به جدایه‌های PG2 و PGT حساسند. در مجموع با توجه به اینکه قارچ عامل بیماری‌زای فوما می‌تواند هر ۳ تا ۴ سال جمعیت بیماری‌زای خود را تغییر دهد لذا درخصوص ارقام مقاوم و یا دارای مقاومت نسبی می‌بایست ردیابی و آزمون‌های بیماری‌زایی تعیین حساسیت ارقام داخلی یا وارداتی به منظور پیشگیری از توسعه بیماری و برنامه‌ریزی جهت بکارگیری ارقام و هیبریدهای مقاوم سالانه انجام شود.

منابع

1. Ahmadi, M.R. and F. Javidfar. 1998. In translation of canola. Holmez, M.R.J., Cultivation of oilseed development compani, 194 pp. (In Persian)
2. Banaei, R., N. Safaei and V. Minasian. 2008. Evaluation of relative resistance of ten canola cultivars to phoma lingam. Iranian Plant Disease 176: 347-354. (In Persian)
3. Burbulis, N., R. Kuprine, A. Blinstrubiene, R. Juozaitye and L. Zilenaite. 2007. Aplication of biotechnology methods in spring rapeseed (*Brassica napus* L.) breeding. Agricultur 94: 129-138.
4. Fitt, B.D.L., H. Brun, M.J. Barbetti and S.R. Rimmer. 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.
5. Fitt, B.D.L., B.A. Fraaije, P. Chandramohan and M.W. Shaw. 2011. Impacts of changing air composition on severity of arable crop disease epidemics. Plant Pathology 60: 44-53.
6. Gugel, R.K. and G.A. Petrie. 1992. History, occurrence, impact, and control of blackleg of rapeseed. Canadian Journal of Plant Pathology 14: 36-45.
7. Jeiran, A. and A. Mehrabanian. 2005. Guaranteed purchase evaluation of canola crop, ministry of jehad agriculture. 68 pp. (In Persian)
8. Kharbanda, P.D. 1992. Performance of fungicides to control blackleg of canola. Canadian Journal of Plant Pathology 14: 169-176.
9. McNabb, W., C.G.J. Van Den Berg and S.R. Rimmer. 1993. Comparison of inoculation methods for selection of plants resistant to Leptosphaeria maculans in Brassica napus. Canadian journal of Plant Science 73: 1199-1207.
10. Mengistu, A., S.R. Rimmer, E. Koch and P.H. Williams. 1991. Pathogenicity grouping of isolates of Leptosphaeria maculans on Brassica napus cultivars and their disease reaction profiles on rapid-cycling brassicas. Plant disease 75: 1279-1282.
11. Nosrati, S. 2003. Evaluation of resistance of six winter rapeseed cultivars to phoma lingam in greenhose conditions. M.Sc. Thesis, Tabriz University, Tabriz, Iran. 103 pp. (In Persian)
12. Raman, H., R. Raman and N. Larkan. 2013. Genetic Dissection of Blackleg Resistance Loci in Rapeseed (*Brassica napus* L.). Plant Breeding from Laboratories to Fields. 4: 86-120
13. Saneei, S.J., S. Ghadirirad, N. Bagherani, A. Noorinia and S. Razavi. 2010. Rapeseed pathology, Peyk-Reyhan publication, Gorgan, Iran. 272 pp. (In Persian)
14. Stonard, J.F., A.O. Latunde-Dada, Y.J. Huang, J.S. West and N. Evans. 2010. Geographic variation in severity of phoma stem canker and Leptosphaeria maculans / L. biglobosa populations on UK winter oilseed rape (Brassica napus). European Journal of Plant Pathology 126: 97-109.
15. Wang, Z. 2013. Development of High-throughput Molecular Markers for Blackleg (Leptosphaeriamaculans) Resistance Genes in Brassica napus for Gene Stacking Universal Journal of Plant Science, 1: 118-124.
16. West, J.S., P.D. Kharbanda, M.J. Barbetti and B.D.L. Fitt. 2001. Epidemiology and management of Leptosphaeria maculans (phoma stem canker) on oilseed rape in Australia, Canada and Europe. Plant Pathology, 50: 10-27.
17. Williams, P.H. and P.A. Delwiche. 1979. Screening for resistance to blackleg of crucifers in the seedling stage. Proceedings Eucarpia Conference, Breeding of Cruciferous Crops, Wageningen, Netherlands, 164-170.
18. Yilan, Z. 2004. Biocontrol of Sclerotinia stem rot of Canola by bacterial antagonists and study of biocontrol mechanisms involved. Master of science thesis. Winnipeg, Manitoba, Canada. University of Manitoba. Department of plant science. 137 pp.
19. Zaman Mirabadi, A., K. Rahnama and A. Esmaailifar. 2009. First report of pathogenicity group 2 of Leptosphaeria maculans causing blackleg of oilseed rape in Iran. Plant Pathology 58: 1175-1175. (In Persian)
20. Zaman Mirabadi, A., K. Rahnama and A. Esmaailifar. 2009. First report of rapeseed blackleg caused by pathogenicity group T (PGT) of Leptosphaeria maculans in Mazandaran province of Iran. Australian Plant Pathology Society 17: 223 pp. (In Persian)
21. Zaman Mirabadi, A., K. Rahnama, M. Sadravi and M. Salati. 2010. Identification, distribution, symptomology and population structure of the causal agents of rapeseed blackleg (Leptosphaeria maculans and Leptosphaeria biglobosa) in Mazandaran and Golestan provinces and determination of three common cultivars susceptibility reaction of rapeseed. Iranian Plant Disease 45: 285-267. (In Persian)

[Downloaded from jcb.sanru.ac.ir on 2026-11-12]

Evaluation of Resistance to *Leptosphaeria maculans* in Some Varieties and Species of the Brassica Genus

Aoalfazl Keypoor[1], Hamid Najafi Zarrini[2] and Ali Zaman Mirabadi[3]

1- M.Sc., Sari Agricultural Sciences and Natural Resources University
(Corresponding author: arash.keypoor@gmail.com)
2- Assistant Professor, Sari Agricultural Sciences and Natural Resources University
3- Oilseed crop Development Company
Received: September 8, 2012 Accepted: July 26, 2014

Abstract

Leptosphaeria maculans causes blackleg disease on Brassica oilseedcrops, which globally is one of the great threats for oilseed production. In order to determine virulence types of this fungi, several isolates were collected from canola fields in Mazandaran and Golestan provinces, Totally 12 isolates were selected and tested by three standard (definitional) cultivars including Westar, Quinta and Glacier in which two virulence types including PGT and PG2 were identified. In order to screen some existence local and some new canola genotypes, 24 genotypes of B. *rapa*, B. *napus*, B. *juncea* and B. *nigra* species were tested against PGT and PG2 isolates. As a result, among tested genotypes, Option and Champlain cultivars were resistance but PF and Adriana were moderate resistance to PG2 virulence type. In addition, Option and Champlain cultivars were moderate resistance to PGT virulence type of the disease.

Keywords: Canola, Black leg, *Leptosphaeria maculans*, Susibtibility

[Downloaded from jcb.sanru.ac.ir on 2026-11-12]