ارزیابی مقاومت ۲۰ ژرم‌پلاسم کنجد نسبت به بوته‌میری فوزاریومی با عامل *Fusarium oxysporum* f.sp. *sesami* در استان یزد و بررسی فعالیت آنزیم فنیل آلانین آمونیالیاز(PAL) در ژرم‌پلاسم های مقاوم و حساس به این بیماری *

EVALUATION OF RESISTANCE OF 20 SESAME GERMPLASMS TO DAMPING OFF CAUSED BY *Fusarium oxysporum* f.sp. *sesami* IN YAZD REGION AND INVESTIGATION OF PHENYLALANINE AMMONIA-LYASE (PAL) ACTIVITY IN RESISTANT AND SUSCEPTIBLE GERMPLASMS

اعظم فلاح پوری[۱]**، حشمت الله امینیان [۱] و نوازالله صاحبانی[۱]، سید علیرضا اسمعیل زاده حسینی [۲]

(تاریخ دریافت: ۱۳۹۰/۳/۷؛ تاریخ پذیرش: ۱۳۹۲/۸/۸)

چکیده

بوته‌میری فوزاریومی با عامل *Fusarium oxysporum* f.sp. *sesami* یکی از مهم‌ترین بیماری‌های کنجد، در تمام نواحی کشت این گیاه در دنیا می‌باشد. در این تحقیق میزان مقاومت نسبی ۲۰ ژرم‌پلاسم کنجد نسبت به عامل بیماری بوته‌میری فوزاریومی در شرایط گلخانه بررسی شد. ۱۵ جدایه *Fusarium oxysporum* از سطح مزارع کنجد استان یزد جداسازی و خالص‌سازی شد و از این میان جدایه‌ای که دارای بالاترین سطح بیماری‌زایی بود انتخاب شد و در آزمون تعیین دامنه میزبانی جدایه مربوطه، *Fusarium oxysporum* f.sp. *sesami* تشخیص داده شد. در آزمایش ارزیابی مقاومت ارقام مختلف کنجد در شرایط گلخانه نسبت به این بیماری، ۲۰ ژرم‌پلاسم کنجد بر اساس شاخص شدت آلودگی (۲-۰) و درصد آلودگی بوته‌ها (۵-۱) مورد ارزیابی قرار گرفتند. آنالیز آماری داده‌ها نشان داد، از نظر میزان مقاومت به عامل بیماری، بین ژرم‌پلاسم های مورد بررسی اختلاف معنی‌داری در سطح یک درصد وجود داشت. با استفاده از نتایج این مرحله، توده محلی آسفیج بهاباد به عنوان مقاوم‌ترین ژرم‌پلاسم و توده محلی کهنوج به عنوان حساس‌ترین ژرم‌پلاسم به این بیماری شناسایی شد. سپس، فعالیت آنزیم فنیل آلانین آمونیا لیاز (PAL) در ژرم‌پلاسم‌های مقاوم و حساس در روزهای ۲، ۴، ۶، ۸، ۱۰ و ۱۲ روز پس از مایه‌زنی با قارچ عامل بیماری اندازه‌گیری شد. فعالیت آنزیم PAL در ژرم‌پلاسم مقاوم پس از مایه‌زنی با قارچ به سرعت افزایش و در روز چهارم به اوج خود رسید و سپس کاهش و دوباره در روز دوازدهم افزایش یافت اما این میزان افزایش نسبت به روز چهارم کمتر بود. در رقم حساس، افزایش فعالیت آنزیم با سرعت و به میزان کمتری رخ داد. تحقیق حاضر نشان داد که افزایش فعالیت PAL می‌تواند نقش احتمالی در القای مقاومت در گیاهان داشته باشد.

واژه‌های کلیدی: germplasm، بوته‌میری فوزاریومی کنجد، شدت آلودگی، درصد آلودگی، آنزیم PAL، *Fusarium oxysporum* f.sp. *sesami*

---

*: بخشی از پایان‌نامه کارشناسی ارشد نگارنده اول، ارایه شده به دانشکده کشاورزی، پردیس ابوریحان، دانشگاه تهران

**: مسئول مکاتبات، پست الکترونیکی:a.fallahpori@gmail.com

۱. به ترتیب دانشجوی سابق کارشناسی ارشد و استادیاران بیماری‌شناسی گیاهی پردیس ابوریحان، دانشگاه تهران

۲. مربی پژوهشی مرکز تحقیقات کشاورزی و منابع طبیعی استان یزد

مقدمه

کنجد با نام علمی *Sesamum indicum* L.، یکی از گیاهان روغنی یکساله است که به صورت رایج در مناطق گرمسیری و نیمه گرمسیری دنیا کشت می شود. کشت این گیاه در ایران سابقه‌ای طولانی داشته و هم اکنون در استان هایی چون، خوزستان، سیستان و بلوچستان، خراسان، کرمان، اصفهان و یزد متداول است (Zavareh 2006).

از بیماری‌های مهم این گیاه می‌توان به بلایت فیتوفتورایی، پوسیدگی زغالی، پوسیدگی ساقه و ریشه، لکه برگی آلترناریایی، لکه برگی سرکوسپورایی، سفیدک پودری و بوته‌میری اشاره کرد (Verma *et al*. 2005). بوته‌میری با عامل *Fusarium oxysporum* Sch.:Fr. f.sp. *sesami* (zap.) cas. به عنوان یکی از مهم‌ترین بیماری‌های خاکبرد کنجد در کشورهای مختلف مطرح است که خسارت اقتصادی قابل توجهی را وارد می‌سازد. این بیماری اولین بار در ۱۹۵۰ از ایالت کارولینای آمریکا توسط Armstrong گزارش شد. اولین گزارش آن از ایران در ۱۹۸۱ توسط *بنی‌هاشمی* از بوشهر صورت گرفت (Ershad 1995). علائم بیماری ابتدا در برگ‌های پایینی ظاهر می‌شود. زردی، پژمردگی برگ‌ها و در موارد شدید، ریزش برگ، خمیدگی و سپس مرگ اتفاق می‌افتد. آوندها از ریشه به سمت بالا قهوه‌ای می‌شوند، اما پوسیدگی ریشه به‌وجود نمی‌آید (Katan *et al*. 1983).

راه‌های کنترل این بیماری شامل روش‌های زراعی، شیمیایی، کنترل بیولوژیک، و استفاده از ارقام مقاوم است. در حال حاضر از بهترین راه‌های مبارزه با بیماری‌های خاکبرد از جمله فوزاریوم‌ها علاوه بر مبارزه بیولوژیک توسط گونه‌های تریکودرما و ریزوباکترها، کاربرد ارقام مقاوم یا ارقامی است که مقاومت نسبی دارند (Jae *et al*. 1999).

شازلی و همکاران (Shazly *et al*. 1999)، مقاومت ۲۵ ژنوتیپ کنجد را نسبت به این بیماری بررسی کردند و موفق به یافتن هشت ژنوتیپ مقاوم شدند. هم‌چنین *کاواک و بویداک* (Kavak & Boydak 2006)، ۲۶ لاین کنجد را نسبت به این بیماری ارزیابی کردند و در نهایت ۱۳ لاین مقاوم را گزارش نمودند.

گیاهان به اغلب پاتوژن‌ها در محیط اطرافشان مقاوم هستند. آنها مکانیسم‌های ضدمیکروبی زیادی از خود نشان می‌دهند. این استراتژی‌ها شامل عملکردهای دفاعی از قبیل موانع فیزیکی و یا ترکیبات شیمیایی می‌باشد (Ruuhola & Yang 2005). آنزیم فنیل آلانین آمونیالیاز (PAL) در تمام گیاهان عالی و برخی از قارچ‌ها وجود دارد. واکنش تبدیل ال- فنیل آلانین به ترانس سینامیک اسید توسط این آنزیم صورت می‌گیرد که مرحله کلیدی در مسیر فنیل پروپانوئید است. تفاوت مقاومت در ارقام حساس و مقاوم ممکن است به اختلاف میزان این آنزیم در گیاه مربوط باشد. القای آنزیم در ریشه‌های رقم مقاوم نخل (BsTn) نسبت به رقم حساس (JHL) در پاسخ به آلودگی با قطعات دیواره سلولی قارچ *Fusarium oxysporum* f.sp. *albedinis* سریع‌تر و بیشتر بود (Modafar *et al*. 2001).

لی و همکاران (Li *et al*. 2001) فعالیت آنزیم PAL را در دو لاین Prelsr6 (حساس) و PrelSr6 (مقاوم) گندم پس از مایه‌زنی با *Puccinia graminis* بررسی کردند. هشت روز پس از مایه‌زنی لاین مقاوم نقاط نکروزه فوق حساسیت بدون اوردیوم نشان داد، در حالی‌که در همان زمان اسپورزایی روی رقم حساس دیده شد و در واکنش ناسازگار القای آر ان ای پیک مربوط به PAL در روز چهارم پس از مایه‌زنی مشاهده شده است، در حالی‌که در واکنش سازگار القا تا شش روز پس از مایه‌زنی غیر قابل تشخیص بوده است.

درمطالعه‌ای ۴ ژنوتیپ لوبیا با میزان‌های متفاوت محرک‌های جدا شده از دیواره سلولی *F. oxysporum* f.sp. *phaseoli* تیمار شد. جز تیمار شاهد، چهار ژنوتیپ لوبیا فعالیت متفاوتی از PAL را نشان دادند که این تفاوت‌ها وابستگی شدید به میزان محرک و ژنوتیپ لوبیا داشت (Broetto *et al*. 2005). این تحقیق با هدف ارزیابی مقاومت ۲۰ ژرم‌پلاسم کنجد به عامل بیماری بوته‌میری فوزاریومی در استان یزد و بررسی نقش آنزیم PAL در القای مقاومت در توده مقاوم صورت گرفت.

روش بررسی

نمونه‌برداری، جداسازی و شناسایی جدایه‌ها

از اوایل تیر۱۳۸۷ از شهرستان‌های مختلف استان یزد (میبد، ابرکوه، طبس، صدوق و هرات) از بوته‌های آلوده کنجد با علائم بوته‌میری نمونه‌برداری شروع و تا پایان آبان ماه ۱۳۸۷ به اتمام رسید. ۹ جدایه *Fusarium oxysporum* با روش کاواک و بویداک (Kavak and Boydak 2006) جداسازی و خالص‌سازی شدند و با استفاده از کلید *نلسون و همکاران* (Nelson *et al*. 1983) و *برگس و همکاران* (Burgess *et al*. 1994) شناسایی شدند.

تهیه زاد مایه قارچ

از زادمایه خاک آلوده به قارچ با استفاده از گندم استفاده شد. در این روش بذهای گندم را به مدت ۲۴ ساعت خیسانده، سپس ۱۰۰ گرم بذر گندم را درون بطری‌های ۵۰۰ میلی‌لیتری ریخته و به منظور تأمین رطوبت مقداری آب مقطر به آن اضافه شد. بطری‌ها در سه روز متوالی به مدت ۲۰ دقیقه در ۱۲۱ درجه سانتی‌گراد و فشار یک اتمسفر در اتوکلاو سترون شدند. پس از خنک شدن بطری‌ها، به هر کدام چند قطعه به قطر ۵ میلی‌متر از محیط کشت ۵ روزه قارچ اضافه و سپس در دمای ۲۷ درجه سانتی‌گراد به مدت ۳ هفته نگهداری شدند. پس از این‌که قارچ کاملاً دانه‌های گندم را فراگرفت، به ازاء هر ۲ کیلوگرم ، ۷۵ گرم از این مخلوط به خاک سترون اضافه شد (Kavak & Boydak 2006).

آزمایش اثبات بیماری‌زایی

آزمایش بیماری‌زایی روی رقم داراب۲ که یکی از ارقام حساس به این بیماری است، در قالب طرح کاملاً تصادفی با ۱۰ تیمار و ۳ تکرار برای هر جدایه صورت گرفت (Banihashemi 1982). درصد بیماری‌زایی(تعداد بوته های آلوده) بر اساس مقیاس ۵ – ۱ به شرح زیر ارزیابی شد.

1=1-20%, 2=20.01-40%, 3=40.01-60%, 4=60.01-80%, 5=80.01-100% (Kavak & Boydak 2006).

تعیین دامنه میزبانی

جدایه‌ای که در آزمون اثبات بیماری‌زایی بیشترین درصد بیماری‌زایی را نشان داده بود، در این آزمایش مورد استفاده قرار گرفت. به منظور تعیین دامنه میزبانی از گونه‌های گیاهی متعلق به خانواده‌های مختلف (کنجد، خیار، کلم، کدو، گوجه فرنگی، میخک، نخود فرنگی، لوبیا، گندم و تربچه) براساس روش *چنگ و وو* (Cheng and Wu. 1991) استفاده شد و آلوده‌سازی به روش خاک آلوده به قارچ انجام گرفت. آزمایش در قالب طرح کاملاً تصادفی با ۲۰ تیمار و ۳ تکرار صورت گرفت. از روز هفتم تا روز سی ام پس از آلوده‌سازی، تیمارها جهت بررسی علائم بیماری هر روز بازدید شدند و نتایج ثبت شد.

ارزیابی مقاومت نسبی ارقام کنجد به بیماری در گلخانه

به منظور ارزیابی مقاومت به بیماری پژمردگی فوزاریومی، ۲۰ رقم کنجد انتخاب شد (جدول ۱).

ارزیابی مقاومت در گلخانه

در این آزمایش از جدایه‌ای که در آزمون اثبات بیماری‌زایی بیشترین درصد بیماری‌زایی را داشت استفاده شد. مایه‌زنی به روش خاک آلوده به قارچ با استفاده از گندم صورت گرفت. بذرهای ۲۰ ژرم‌پلاسم کنجد پس از ضدعفونی با محلول هیپوکلریت سدیم در گلدان‌های پلاستیکی سترون حاوی کمپوست برگ و خاک سترون به نسبت ۱:۱ کاشته شدند. به ازای هر۲ کیلوگرم مخلوط خاک گلدان، ۷۵ گرم زادمایه قارچ اضافه شد و به هر گلدان سه گیاهچه منتقل شد. در گلدان‌های شاهد گندم سترون به همراه خاک سترون اضافه شد و گلدان‌ها به گلخانه با متوسط دمای روزانه ۳۰-۲۵ و متوسط دمای شبانه ۱۷-۱۵ درجه سانتی‌گراد منتقل و هر دو روز یکبار آبیاری شدند. آزمایش در قالب طرح کاملاً تصادفی صورت گرفت. دو هفته پس از مایه‌زنی، علائم بیماری ظاهر شد و آماربرداری از بوته‌ها شروع شد. ارزیابی مقاومت بر اساس شاخص های ذکر شده به روش زیر صورت گرفت:

الف) شاخص شدت آلودگی

بر اساس روش Pavlou & Vakalounakis (2005) از مقیاس ۲ - ۰ استفاده شد:

۰ = بدون علائم بیماری

۱ = علائم نکروز آوندی در ساقه‌ها، پوسیدگی ریشه و ساقه، با پژمردگی یا بدون پژمردگی

۲ = گیاه مرده یا در حال مرگ

بر اساس روش *واکالوناکیس* (Vakalounakis 1996)، ارقامی که شدت بیماری آنها در مقیاس صفر تا نیم باشد جزء ارقام مقاوم، ارقامی که مقیاس نیم تا یک را نشان دهند جزء ارقام متحمل، ارقامی که مقیاس یک تا یک و نیم را نشان دهند جزء ارقام نیمه حساس و ارقامی که در مقیاس یک و نیم تا دو باشند جزء ارقام حساس طبقه‌بندی می‌شوند.

ب) شاخص درصد بیماری‌زایی

بر اساس روش Kavak & Boydak (2006) از مقیاس ۵ – ۱ استفاده شد:

۱ = ۲۰-۱ ٪ آلودگی (تعداد بوته آلوده)

۲ = ۴۰-۲۰/۰۱٪آلودگی

۳ = ۶۰-۴۰/۰۱٪آلودگی

۴ = ۸۰-۶۰/۰۱٪آلودگی

۵ = ۱۰۰-۸۰/۰۱٪آلودگی

بر اساس این مقیاس ارقامی که شماره یک بگیرند جزء ارقام مقاوم، شماره دو جزء ارقام متحمل، شماره سه جزء ارقام نیمه حساس، شماره چهار جزء ارقام حساس و شماره پنج جزء ارقام فوق حساس طبقه بندی می‌شوند.

داده‌ها با استفاده از نرم‌افزار SAS 9.0 تحلیل شد و میانگین‌ها با روش آزمون چند دامنه‌ای دانکن در سطح ۵٪ مقایسه شدند.

ارزیابی تغییرات بیوشیمیایی در ارقام مقاوم و حساس آلوده به عامل بیماری

در این مرحله از توده‌هایی که بیشترین مقاومت و حساسیت رابه عامل بیماری در آزمایش ارزیابی مقاومت نشان داده بودند به عنوان توده مقاوم و توده حساس استفاده شد. گیاهچه‌های توده‌های مقاوم و حساس در مرحله ۴ برگی به گلدان‌های حاوی خاک آلوده و خاک

جدول ۱. ژرم‌پلاسم‌های کنجد مورد استفاده در آزمون ارزیابی مقاومت

Table 1. Sesame germplasms used in evaluation of resistance

شماره رقم Germplasm number	نام رقم Germplasm name	شماره رقم Germplasm number	نام رقم Germplasm name
1	Darab 2	11	Line 5
2	Local germplasm Mobarake Bafgh	12	Local germplasm Dashtestan Booshehr
3	Yekta	13	Local germplasm Babroie Bafgh
4	Line 1	14	Local germplasm Sirjan
5	Naz tak shakhe	15	Jiroft 13
6	Ooltan	16	Karaj 1
7	Darab 1	17	Darab 14
8	Local germplasm Kahnoj	18	Naz chand shakhe
9	Local germplasm Harat Yazd	19	Local germplasm Asfij Bahabad
10	Line 2	20	Local germplasm Dezfol

سترون به عنوان شاهد منتقل شدند. مایه‌زنی به روش خاک آلوده به قارچ انجام گرفت. آزمایش به صورت فاکتوریل ۶×۴ در قالب طرح کاملاً تصادفی تنظیم شد. نمونه‌ها در روزهای ۲، ۴، ۶، ۸، ۱۰ و ۱۲ روز پس از مایه‌زنی با قارچ عامل بیماری جمع‌آوری شدند. ریشه‌ها در زیر آب به خوبی شسته و در پاکت‌هایی گذاشته شدند. نام تیمار روی پاکت درج شد و به دمای ۲۰- درجه سانتی‌گراد تا اتمام نمونه‌برداری منتقل شدند.

استخراج آنزیم

۰/۵گرم بافت ریشه در هاون چینی با استفاده از ازت مایع به خوبی ساییده، سپس ۱ میلی لیتر بافر فسفات سدیم ۰/۱مولار با pH 6 به آن اضافه گردید. عصاره حاصل به لوله های ۱/۵ میلی لیتری منتقل و سپس به مدت ۲۰ دقیقه در g ×۱۴۰۰۰ در دمای ۴ درجه سانتی‌گراد سانتریفوژ شد. محلول رویی به ویال های مشابه منتقل و جهت آزمایش‌های بعدی در دمای ۲۰- درجه سانتی‌گراد نگهداری شد (Madhaiyan *et al*. 2004).

ارزیابی میزان فعالیت آنزیم PAL

۲ میلی لیتر مخلوط واکنش شامل ۱۸۰۰ میکرولیتر محلول بافر اسیدی ۰/۵ مول pH 6.8 و فنیل آلانین ۶ میکرومول که به آن ۲۰۰ میکرولیتر عصاره گیاهی اضافه شده بود، تهیه گردید. این مخلوط به مدت ۷۰ دقیقه در حمام آب گرم ۳۷ درجه سانتی‌گراد تیمار شد. پس از پایان زمان قید شده با افزوده ۵۰ میکرولیتر HCL ۵ نرمال به هر لوله، واکنش متوقف شد. مقدار جذب نور برای هر لوله توسط دستگاه اسپکتروفوتومتر در ۲۹۰ نانومتر اندازه‌گیری شد. برای هر تیمار ۳ تکرار در نظر گرفته شد(Assis *et al*. 2001).

نتیجه

ویژگی‌های جدایه‌ها که بر اساس کلید *نلسون و همکاران* (Nelson *et al*. 1983) و *برگس و همکاران* (Burgess *et al*. 1994) *Fusarium oxysporum* تشخیص داده شد، به شرح زیر بود:

مشخصات ظاهری کلنی روی PDA

میانگین قطر کلنی روی محیط کشت PDA ، بعد از ۳ روز در همه جدایه‌ها بین ۴/۱ × ۲/۳ میلی‌متر بود. میسلیوم‌ها روی این محیط پنبه‌ای و پراکنده و گاهی متراکم، به رنگ سفید تا بنفش کمرنگ، زیر کلنی به رنگ گل بهی با یک هاله متمایل به بنفش بود. در بعضی جدایه‌ها، ماکروکنیدیوم‌های فراوان به صورت یک توده در سطح کلنی تشکیل شدند.

مشخصات ظاهری کلنی روی CLA

ماکروکنیدیوم‌ها در اسپوردوکیوم‌های فراوان و نارنجی کمرنگ، دارای ۴-۱ دیواره عرضی نازک، روشن، قایقی شکل و در اندازه‌های ۵ – ۳/۲ × ۳۶ – ۲۳ میکرومتر بودند. میکروکنیدیوم‌ها به رنگ روشن، به شکل تخم مرغی تا سیلندری و گاهی قلوه‌ای، به اندازه ۳/۵ – ۳/۲ × ۹/۵ – ۴/۲ میکرومتر، روی مونوفیالیدهای کوتاه، به صورت سر دروغین تشکیل شد. کلامیدوسپورها به فراوانی و با دیواره صاف به صورت انتهایی و میانی، به رنگ روشن تا قهوه‌ای روشن و اغلب تکی و گاهی جفتی یا بیشتر تشکیل گردید. تشکیل کلامیدوسپورها از ۷ تا ۱۴ روز طول کشید.

با توجه به مشخصات فوق و با استفاده از کلیدهای شناسایی، قارچ عامل بیماری *Fusarium oxysporum* تشخیص داده شد.

اثبات بیماری‌زایی

از میان ۹ جدایه (h9 , m13 , t3 , t9 , t11 , t12 , t17 , t18 , t19) که برای این آزمون انتخاب شدند، جدایه t9 با ۷۳٪ آلودگی، بیشترین درصد آلودگی را نشان داد (شکل ۱).

آزمون تعیین دامنه میزبانی

در این آزمون از میان ۱۰ گونه گیاهی ذکر شده در بالا، تنها کنجد علائم بیماری را نشان داد.

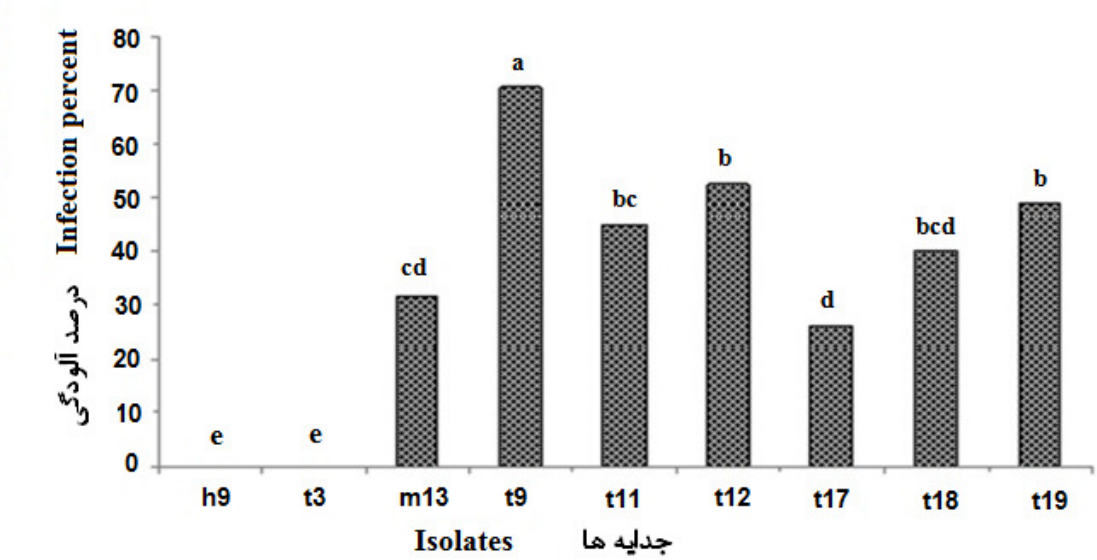
بررسی مقاومت ارقام کنجد به بیماری بوته‌میری فوزاریومی در شرایط گلخانه

مقاومت ارقام به بیماری از نظر شاخص شدت بیماری بوته‌ها

با آلوده‌سازی ارقام مختلف کنجد در مرحله چهاربرگی با جدایه t9 قارچ عامل بیماری، پس از ۱۴ تا ۳۰ روز، آلودگی با شدت‌های متفاوت در این ارقام بروز کرد (شکل ۲). بین ارقام مختلف کنجد از نظر میانگین شدت بیماری نسبت به شاهد مربوطه، اختلاف معنی‌داری وجود داشت (جدول ۲). توده محلی آسفیج بهاباد (شکل ۴،B) و رقم ناز چند شاخه کمترین شدت آلودگی و بنابراین بیشترین مقاومت نسبت به بیماری را داشتند. توده محلی کهنوج (شکل ۴، A)، ارقام داراب ۲ و ناز تک شاخه، بیشترین شدت بیماری و در نتیجه بیشترین حساسیت نسبت به بیماری را داشتند.

مقاومت ارقام به بیماری از نظر شاخص درصد آلودگی بوته ها

سی روز پس از آلوده سازی ارقام مختلف کنجد با جدایه t9، درصد آلودگی ارقام کنجد بر اساس روش *کاواک و بویداک* (Kavak and Boydak 2006) در مقیاس ۵-۱ محاسبه شد (شکل۳). مقایسه میانگین درصد آلودگی بوته‌ها نشان می دهد توده محلی آسفیج بهاباد، ارقام ناز چند شاخه و کرج ۱، کمترین درصد آلودگی و بیشترین مقاومت به بیماری را داشتند. در مقابل توده محلی کهنوج، ارقام داراب ۲ و ناز تک شاخه، بیشترین درصد آلودگی و در نتیجه بیشترین حساسیت به بیماری را دارا بودند (جدول ۳).



شکل ۱. درصد آلودگی رقم داراب ۲ در اثر جدایه‌های مختلف قارچ *F. oxysporum*. هر ستون میانگین سه تکرار می‌باشد.

Fig. 1. Infection percent of Darab2 influenced by isolates of *F. oxysporum*. Each column is average of three replications.

جدول۲. تجزیه واریانس شدت بیماری ارقام مختلف کنجد نسبت به شاهد مربوطه در آزمایش مقاومت ارقام به بیماری بوته‌میری فوزاریومی کنجد در گلخانه با متوسط دمای ^{O}C ۳۰-۲۵ و نور طبیعی

Table 2. Analysis of variances of Fusarium damping off severity in sesame germplasms compared to control in greenhouse at 25-30 ^{O}C and natural light.

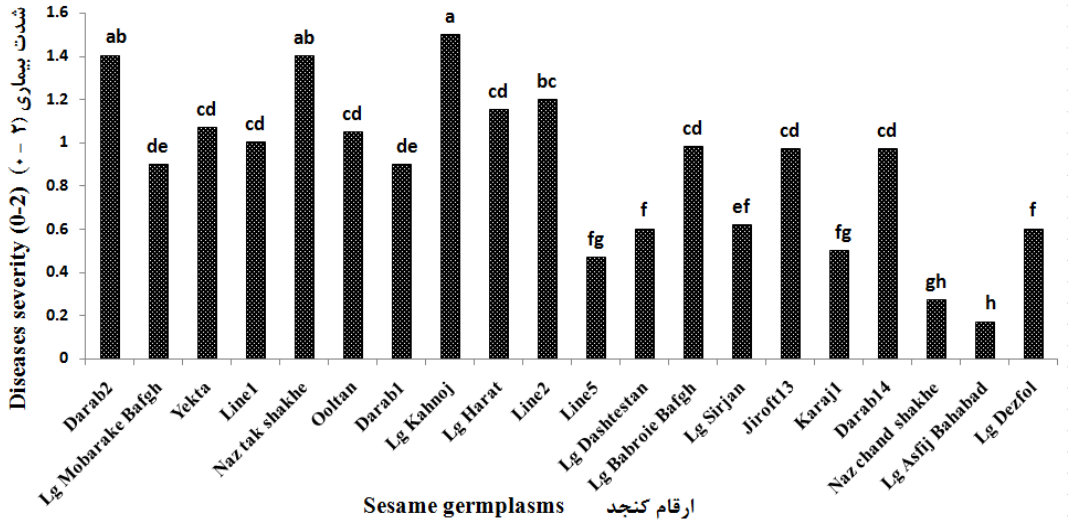
F	MS	Df	Sources of variation	منابع تغییر
4.08**	0.27	19	Treatment	تیمار
	0.06	60	Error	خطا
		79	Total	جمع

**: در سطح ۹۹/۹ درصد معنی‌دار است. ضریب تغییرات (CV) برابر با ۲۸/۶ می‌باشد.

**:Significant at 1% level (P≤ 0.01). Coefficient variation = 28.6

بررسی فعالیت آنزیم فنیل آلانین آمونیالیاز در ریشه توده مقاوم محلی آسفیج بهاباد و حساس محلی کهنوج

تجزیه واریانس بررسی فعالیت آنزیم فنیل آلانین آمونیالیاز در توده مقاوم محلی آسفیج بهاباد و حساس محلی کهنوج نسبت به بیماری بوته‌میری فوزاریومی کنجد در مراحل مختلف بعد از مایه‌زنی نشان می‌دهد، بین تیمارها، روزهای نمونه برداری و اثر متقابل آنها اختلاف معنی‌داری وجود داشت. مقایسه میانگین تأثیر قارچ عامل بیماری روی فعالیت آنزیم فنیل آلانین آمونیالیازدر توده مقاوم محلی آسفیج بهاباد و حساس محلی کهنوج، نشان داد بین تیمارهای آلوده هر دو توده مقاوم و حساس و تیمارهای شاهد آنها اختلاف معنی‌دار وجود داشت و میزان آنزیم در تیمارهای آلوده نسبت به تیمارهای شاهد بیشتر بود. مقایسه میانگین‌ها نشان داد که میزان فعالیت آنزیم در



شکل ۲. میانگین شدت بیماری ارقام مختلف کنجد نسبت به بیماری بوته میری فوزاریومی در گلخانه با متوسط دمای ^{O}C ۳۰-۲۵ و نور طبیعی ۳۰ روز پس از مایه‌زنی. هر ستون میانگین سه تکرار است. تیمارهایی که با حروف مختلف نشان داده شده‌اند در سطح ۵٪ در آزمون دانکن با یکدیگر اختلاف معنی‌دار دارند. Lg : توده محلی

Fig. 2. Average of Fusarium damping off severity in sesame germplasms in greenhouse at 25-30^{O}C and natural light at 30 days after inoculation. Each column is the average of three replications. Treatments followed by different letters are significantly different (P=0.05) according to Duncan multiple range test. Lg =Local germplasm

جدول ۳. تجزیه واریانس درصد آلودگی ارقام مختلف کنجد نسبت به شاهد مربوطه در آزمایش مقاومت ارقام به بیماری بوته میری فوزاریومی کنجد در گلخانه با متوسط دمای روزانه ^{O}C ۳۰-۲۵ و نور طبیعی

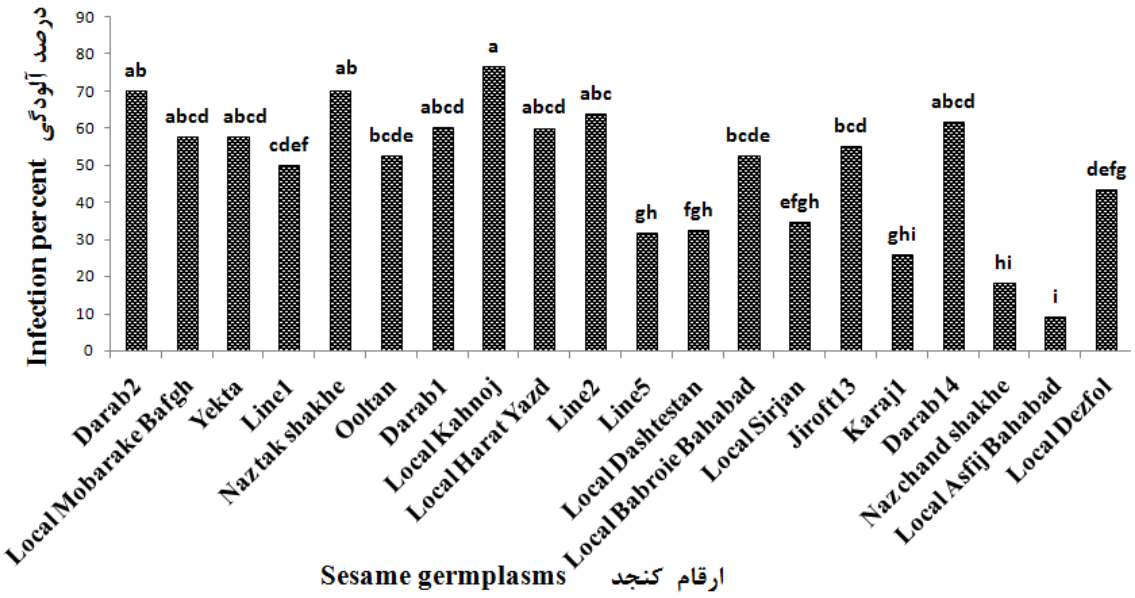
Table 3. Analysis of variances Fusarium damping off infection percent in sesame germplasms compared to control in greenhouse at 25-30 ^{O}C and natural light conditions.

F	MS	SS	Df	Sources of variation	منابع تغییر
10.17**	1343.46	25536.75	19	Treatment	تیمار
	132.7	7927	60	Error	خطا
		33452.75	79	Total	جمع

**:در سطح ۹۹/۹ درصد معنی‌دار است. ضریب تغییرات (CV) برابر با ۲۳/۳۹ می باشد.

**:Significant at 1% level (P≤0.01). Coefficient of variation = 23.39

توده مقاوم آلوده به قارچ نسبت به میزان آن در توده حساس آلوده به قارچ بیشتر بود (جدول ۴). بیشترین فعالیت آنزیم در هر دو توده، در تیمارهای آلوده به قارچ روز چهارم دیده شد. فعالیت آنزیم به طور کلی در هر دو تیمار آلوده مقاوم و حساس از روز دوم تا روز چهارم افزایش یافت و سپس تا روز دهم کاهش و در روز دوازدهم دوباره افزایش یافت. افزایش فعالیت آنزیم در روز چهارم و دوازدهم در توده مقاوم آلوده نسبت به افزایش آن در همان روزها در



شکل ۳. میانگین درصد آلودگی ارقام مختلف کنجد نسبت به بیماری بوته میری فوزاریومی در گلخانه با متوسط دمای ۲۵-۳۰°C و نور طبیعی ۳۰ روز پس از مایه زنی. هر ستون میانگین سه تکرار است. تیمارهایی که با حروف مختلف نشان داده شده اند در سطح ۵٪ در آزمون دانکن با یکدیگر اختلاف معنی‌دار دارند.

Fig. 3. Average Fusarium damping off infection percent in sesame germplasms in greenhouse at 25-30 ^{O}C and natural light conditions 30 days after inoculation. Each column is the average of three replications. Treatments followed by different letters are significantly different (P=0.05) according to Duncan multiple range test.

شکل ۴. A: مقایسه بوته‌های کنجد توده محلی کهنوج تیمار شده با *Fusarium oxysporum* f.sp. *sesami* (سمت راست) و شاهد سالم(سمت چپ) در گلخانه با متوسط دمای ۲۵-۳۰ ^{O}C و نور طبیعی. B: بوته‌های کنجد توده محلی آسفیج بهاباد تیمار شده با *Fusarium oxysporum* f.sp. *sesami* (سمت راست) و شاهد سالم(سمت چپ) در گلخانه با متوسط دمای ۲۵-۳۰ ^{O}C و نور طبیعی.

Fig. 4. A: Comparison of Kahnouj local germplasms infected by *Fusarium oxysporum* f.sp. *sesami* (right) and healthy control(left) in greenhouse at 25-30^{OC} and natural light conditions. B: Comparison of Asfij Bahabad local germplasms infected by *Fusarium oxysporum* f.sp. *sesami* (right) and healthy control (left) in greenhouse at 25-30 ^{O}C and natural light conditions.

جدول ۴. تجزیه واریانس بررسی فعالیت آنزیم فنیل آلانین آمونیالیاز در توده مقاوم محلی آسفیج بهاباد و حساس محلی کهنوج نسبت به بیماری بوته میری فوزاریومی کنجد در مراحل مختلف بعد از مایه‌زنی

Table. 4. Analysis of variance of PAL activity in resistant germplasm (Asfij Bahabad) and susceptible germplasm (Kahnouj) affected by sesame damping off at different stages after inoculation.

F	MS	SS	Df	منابع تغییر Sources of variation	
0.33 ns	0.0362	0.0724	2	Replication	تکرار
28.95**	3.155	9.467	3	Treatment	تیمار
8.95**	0.975	4.878	5	Sample days	روزهای نمونه‌برداری
1.92*	0.2089	3.133	15	Treatment × Sample days	تیمار×روزهای نمونه‌برداری
	0.109	5.014	46	خطا Error	
		22.566	71	جمع Total	

**:معنی‌دار در سطح ۹۹/۹ درصد. ضریب تغییرات (CV) برابر با ۱۴/۰۳۸ می‌باشد.

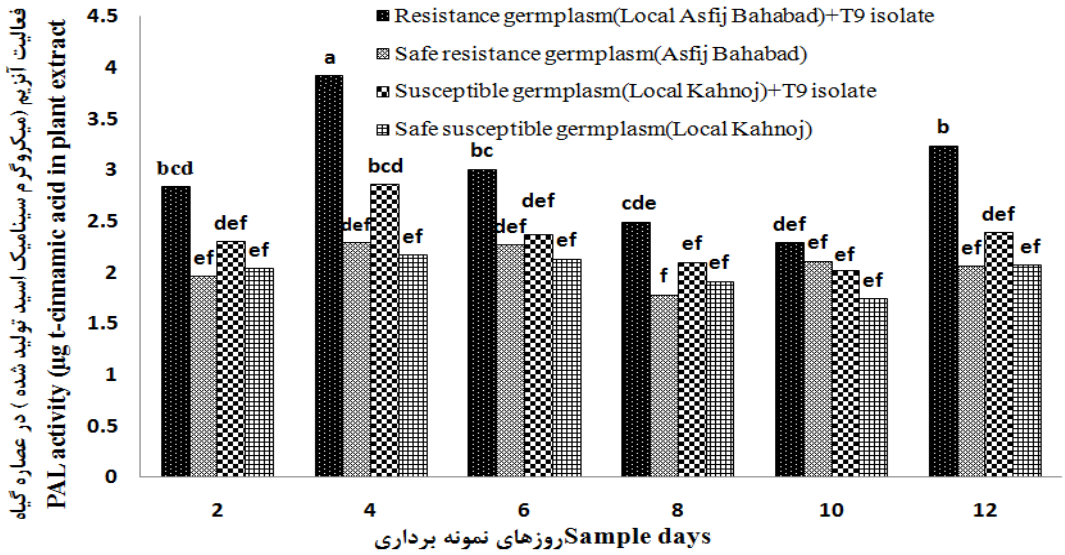
*:معنی‌دار در سطح ۵٪

ns: معنی‌دار نیست.

**:Significant at 1% level (P ≤ 0.01). Coefficient of variation = 14.038

*:Significant at 5% level (P ≤ 0.05)

Ns: non sense



شکل ۵. تغییرات فعالیت آنزیم فنیل آلانین آمونیالیاز در توده‌های مقاوم محلی آسفیج بهاباد و حساس محلی کهنوج در اثر جدایه t9 قارچ عامل بیماری بوته‌میری فوزاریومی کنجد در گلخانه با متوسط دمای ۳۰-۲۵ ^{O}C و نور طبیعی در شش مرحله زمانی بعد از مایه‌زنی. هر ستون میانگین سه تکرار است. تیمارهایی که با حروف مختلف نشان داده شده‌اند در سطح ۵٪ در آزمون دانکن با یکدیگر اختلاف معنی‌دار دارند.

Fig. 5. Variation of PAL activity in a resistant germplasm (Asfij Bahabad) and susceptible germplasm (Kahnouj) affected by t9 isolate.of Fusarium damping off in greenhouse at 25^{OC} and natural light conditions at6 stages after inoculation. Each column is the average of three replications. Treatments followed by different letters are significantly different (P=0.05) according to Duncan multiple range test.

تیمار حساس آلوده به قارچ، بیشتر و با شیب تندتری صورت گرفت (شکل ۵).

بحث

در بررسی نتایج آزمایش گلخانه‌ای مقاومت ارقام کنجد، علاوه بر شدت بیماری از شاخص درصد آلودگی بوته های هر رقم نسبت به شاهد مربوطه استفاده گردید. بین شاخص درصد آلودگی و شدت بیماری‌زایی در این تحقیق، همبستگی مثبت وجود داشت. یعنی در ارقامی مانند توده محلی کهنوج که بالاترین درصد بیماری‌زایی را داشت، شاخص شدت بیماری‌زایی نیز در بالاترین سطح خود بود و برعکس در ارقامی مانند توده محلی آسفیج بهاباد یزد که کمترین درصد آلودگی را داشت، شاخص شدت بیماری‌زایی نیز در پایین‌ترین سطح بود. با توجه به نتایج به‌دست آمده بر اساس شاخص شدت بیماری توده محلی آسفیج بهاباد، ارقام لاین ۵، ناز چند شاخه، توده محلی دزفول، محلی سیرجان، ارقام کرج ۱، جیرفت۱۳، داراب ۱۴، توده محلی ببروئیه بهاباد، محلی مبارکه بافق، ارقام داراب ۱ و لاین ۱ با داشتن میانگین شدت بیماری کمتر(۱–۰) جزء ارقام مقاوم و نیمه مقاوم و توده محلی کهنوج، ارقام داراب ۲، ناز تک شاخه، لاین ۲، توده محلی هرات، یکتا و اولتان با دارا بودن شدت بیماری بیشتر (۲–۱) جزء ارقام نیمه حساس تا حساس طبقه‌بندی شدند. بر اساس شاخص درصد آلودگی، توده محلی آسفیج بهاباد، ارقام ناز چند شاخه، کرج ۱، لاین ۵، توده محلی دشتستان بوشهر، محلی سیرجان و محلی دزفول با دارا بودن درصد آلودگی کمتر (۴۰–۰٪) جزء ارقام نیمه مقاوم تا مقاوم و بقیه ارقام با دارا بودن درصد آلودگی بیشتر(۶۰–۴۰٪) جزء ارقام نیمه حساس تا حساس طبقه‌بندی شدند. در هر دو شاخص توده محلی آسفیج بهاباد ورقم ناز چند شاخه به عنوان ارقام مقاوم و توده محلی کهنوج به عنوان رقم حساس شناسایی شد.

نتایج بررسی فعالیت آنزیم PAL در توده مقاوم (محلی آسفیج بهاباد) و حساس (محلی کهنوج) کنجد آلوده به قارچ *Fusarium oxysporum* f.sp. *sesami* در تحقیق حاضر نشان داد که، در توده مقاوم آلوده، فعالیت آنزیم در روز چهارم نسبت به روز دوم ۱/۲ برابر شده است. هم‌چنین فعالیت آنزیم از روز دهم تا دوازدهم در رقم مقاوم آلوده، ۱/۴۱ برابر شده است در حالی‌که در توده حساس آلوده میزان فعالیت آنزیم از روز دهم تا دوازدهم ۱/۱۸ برابر افزایش یافته است. بنابراین تحقیق حاضر نشان داد که تفاوت مقاومت در ارقام حساس و مقاوم ممکن است به اختلاف میزان این آنزیم در گیاه مربوط باشد. نتایج ما با یافته‌های بسیاری از محققین مطابقت دارد (Modafar *et al*. 2001 ; Kishore *et al*. 2006 ; Broetto *et al*. 2005 ; Bera and Purkayashta 1999).

با توجه به این‌که در تحقیق حاضر مقاوم‌ترین رقم به بیماری، یک توده محلی بود، پیشنهاد می شود در بررسی مقاومت ارقام کنجد نسبت به این بیماری از توده‌های محلی نقاط مختلف ایران استفاده و از پتانسیل توده های محلی در مقاومت به بیماری در فرآیند اصلاح ژنتیکی ارقام بهره‌وری شود. هم‌چنین پیشنهاد می‌شود مقاومت ارقام موجود در هر منطقه با استفاده از جدایه‌های بیماری‌زای قارچ مخصوص به همان منطقه بررسی شود تا متحمل‌ترین رقم در برابر مهم‌ترین بیمارگر که دارای مقاومت پایدار باشد جهت استفاده بهینه در اصلاح ژنتیکی ارقام بومی و پر محصول به دست آید.از آنجا که یکی از مهم‌ترین شیوه‌های مبارزه با این بیماری، به‌کارگیری ارقام

مقاوم است، استفاده از این روش به صورت تلفیقی با سایر روش‌های مدیریت بیماری مثل روش‌های کنترل بیولوژیکی، روش‌های زراعی و شیمیایی از بهترین راه‌های مبارزه با این بیماری است.

منابع

جهت ملاحظه به صفحات (151-149) متن انگلیسی مراجعه شود.