مجله به‌نژادی نهال و بذر
جلد ۱-۳۰، شماره ۳، سال ۱۳۹۳

ارزیابی اولیه ژرم‌پلاسم کنجد برای مقاومت به بیماری پوسیدگی زغالی در شرایط آزمایشگاهی

Primary Evaluation of Sesame Germplasm for Resistance to Charcoal Rot Disease in Laboratory Condition

حمید صادقی گرمارودی[۱] و سعداله منصوری[۲]

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

تاریخ دریافت: ۱۳۹۲/۵/۲۰ تاریخ پذیرش: ۱۳۹۲/۱۱/۳

چکیده

صادقی گرمارودی، ح. و منصوری، س.۱۳۹۳. ارزیابی اولیه ژرم‌پلاسم کنجد برای مقاومت به بیماری پوسیدگی زغالی در شرایط آزمایشگاهی. **مجله به‌نژادی نهال و بذر ۱-۳۰: ۵۰۵ - ۴۹۳.**

بیماری پوسیدگی زغالی کنجد ناشی از قارچ *Macrophomina phaseolina* (Tassi) Goid. یکی از مهم‌ترین بیماری‌های قارچی خاکزاد کنجد در ایران است. برای ارزیابی واکنش ژنوتیپ‌های کنجد به این بیماری، ابتدا بیست و شش جدایه قارچ عامل بیماری از مناطق مختلف کنجدکاری ایران تهیه شد. آزمون بیماریزائی جدایه‌ها روی رقم داراب۱۴، درون تشتک‌های پتری حاوی محیط کشت آب-آگار (WA) انجام شد و جدایه‌های مناطق مختلف از نظر بیماریزائی تنوع چشمگیری نشان دادند. به منظور تعیین مقاومت، ۷۵ ژنوتیپ کنجد شامل ارقام اصلاح شده، لاین‌های پیشرفته و توده‌های محلی به مدت پنج دقیقه از ناحیه ریشه، درون سوسپانسیون میسلیوم مخلوطی از جدایه‌های انتخابی قارچ عامل قرار داده شدند. گیاهچه‌های مایه‌زنی شده در دمای ۳۲ درجه سانتی‌گراد نگهداری و پس از ۲ تا ۳ روز، واکنش آن‌ها با استفاده از مقیاس مشاهده‌ای ۵-۱ ثبت شد. میانه محاسبه شده مقیاس‌ها نشان داد که چهارده ژنوتیپ واکنش مقاومت و هشت ژنوتیپ واکنش نیمه مقاومت داشتند. با استفاده از آزمون کروسکال والیس، ژنوتیپ‌های پتک موسیان، محلی ایرانشهر و لاین ۳ صفی‌آباد دارای بالاترین سطوح مقاومت به بیماری در سطح احتمال ۵٪ بودند. سایر ژنوتیپ‌های مقاوم نیز با این که سطح آلودگی کمی داشتند، از نظر آماری با شماره ۱ و ۲ مقیاس (به ترتیب سطوح مقاوم و نیمه مقاوم) تفاوت‌های معنی‌داری نشان دادند.

واژه های کلیدی: کنجد، ژنوتیپ‌ها، پوسیدگی زغالی، واکنش به بیماری.

نویسنده مسئول: hsgarmaroodi@gmail.com تلفن: ۰۲۶۳۶۷۰۲۰۵۱

مقدمه

گیاه کنجد (*Sesamum indicum* L.) از محصولات مناطق حاره ونیمه حاره است و روغن آن همواره دارای ارزش غذائی بالائی است. به علت ریزش بذر در هنگام رسیدگی، کشت کنجد در ایران محدود به مزارع کوچک بوده تا بتوان آن را با دست برداشت کرد. کاشت این محصول در شرایطی که محدودیت منابع آب و خاک وجود دارد، کاملاً مقرون به صرفه است. کنجد گیاهی است که به شرایط کم آبی و خسارت طیف وسیعی از حشرات مقاوم بوده وفعالیت نماتد مولد گره و عوامل پوسیدگی ریشه پنبه در کشت بعدی را محدود می‌کند (Starr and Black, 1995). علاوه بر این، کاشت این گیاه باعث بهبود بافت خاک و کاهش عملیات خاک‌ورزی در کشت بعدی می‌شود (Langham *et al.*, 2008). مهم‌ترین معضل زراعت کنجد در دنیا، ریزان بودن کپسول‌های کنجد در هنگام رسیدگی و برداشت دستی این محصول می‌باشد. برای رفع این مشکل، تلاش‌های فراوانی برای اصلاح ارقام ناشکوفا (Non-dehiscent: ND) طی یک قرن اخیر در ایالات متحده آمریکا انجام شده که خوشبختانه در ۳۰-۲۰ سال اخیر به نتیجه رسیده است، به طوری که کلیه مراحل زراعت کنجد در دهه‌های اخیر در این کشور کاملاً مکانیزه شده و سطح وسیعی از کنجدکاری‌های جنوب ایالات متحده به زیر کشت ارقام جدید نریز یا همان ناشکوفا رفته است. این ارقام توسط شرکت Sesaco با نام‌های S25 الی S31 معرفی شده‌اند و اصلاح این ارقام همچنان ادامه دارد (Langham *et al.*, 2008).

بیماری پوسیدگی زغالی ناشی از قارچ *Macrophomina phaseolina* از مهم‌ترین بیماری‌های قارچی کنجد در مناطق گرم و نیمه گرم دنیا به شمار می‌رود. این بیماری باعث خسارت ۵ تا ۱۰۰ درصدی به محصول می‌شود (Gupta, 1995). در اوائل دوره رشد، گیاهان آلوده معمولاً علائم مشخصی نشان نمی‌دهند، ولی در آخر فصل، پوسیدگی و سیاه شدن ریشه و طوقه و نیز پژمردگی گیاهان در ساعت گرم روز، به راحتی در گیاهان آلوده قابل تشخیص است. قارچ بیمارگر با مسدود کردن مسیر انتقال آب و مواد غذائی در ریشه و طوقه و یا از بین بردن بافت های گیاهی از طریق فعالیت های آنزیمی، باعث بروز علائم بیماری در میزبان می‌شود. سختینه یا میکرواسکلروت‌ها، زادمایه اولیه این بیمارگر هستند که تا سه سال در خاک (Dhingra and Sinclair, 1995) و تا نه سال در بذرهای انباری (Laurentine, 2007) باقی می‌مانند.

در کنار روش‌های کنترل به زراعی و شیمیائی، استفاده از ارقام مقاوم یکی از بهترین راه‌ها برای کنترل این بیماری معرفی شده است (Elizondo-Barron, 1997). مطالعات پایداری عملکرد و ارزیابی واکنش ژنوتیپ‌های زودرس و متوسط رس در شرایط مزرعه آلوده به

ماکروفومینا و فوزاریوم نشان داد که که تعداد شاخه‌ها و رنگ دانه‌ها با درصد آلودگی به قارچ‌های فوزاریوم و ماکروفومینا به طور معنی‌داری همبستگی دارد. ارقام مقاوم به این دو بیماری دارای شاخه‌دهی متوسط و بذرهای دارای رنگ روشن یا کرم بودند (El-Bramawy *et al.*, 2009). بر این اساس امکان استفاده از این صفات در انتخاب ارقام مقاوم به بیماری‌های فوق وجود دارد. در یک بررسی، تعداد روزها تا رسیدگی همبستگی معنی‌داری با سطوح مقاومت نشان نداد (Changalvaii, 2000).

در مطالعات انجام شده توسط الفیکی و همکاران (El-Fiki *et al.*, 2004) علاوه بر تحقیق روی روش‌های کنترل شیمیائی، واکنش ۱۵ رقم و ژنوتیپ کنجد به قارچ عامل پوسیدگی زغالی در شرایط گلخانه و مزرعه بررسی شد. در شرایط گلخانه ای ژنوتیپ‌های شماره ۷۷۱، Toushka 3، Adnan 1(5/91) و Taka 2 با میزان آلودگی زیر ۲۰ درصد بالاترین مقاومت به بیماری را از خود نشان دادند. میزان ترکیبات فنلی و قندها به طور معنی داری در ارقام مقاوم یاد شده بالاتر از ارقام حساس بود. در شرایط مزرعه ژنوتیپ‌های Aceteru-M، Adnan 1(5/91)، Taka 2، B35 و موتاسیون ۴۸ دارای بالاترین سطوح مقاومت به بیماری بودند. تأثیر این بیماری بر درصد روغن هم مورد ارزیابی قرار گرفت. ژنوتیپ‌های Shandaweel 3، موتاسیون 48، Giza 32، Taka 3 و Tushka 2 کمتر از سایر ژنوتیپ‌ها بر اثر این بیماری کاهش روغن داشتند در حالی‌که کاهش درصد روغن در ژنوتیپ شماره ۸۰۶ بیشترین مقدار (۱۱/۲۷ درصد) بود.

با توجه به تنوع صفات مورفولوژیک و فنولوژیک در گیاه کنجد، تلاش‌هائی برای استفاده مستقیم از این صفات برای انتخاب ارقام و ژنوتیپ‌های مقاوم کنجد به بیماری‌های پوسیدگی زغالی و پوسیدگی یک‌طرفه فوزاریومی انجام شده است (El-Bramawy *et al.*, 2009).

در تحقیق دیگری در چین در سال‌های ۱۹۹۰-۱۹۸۷، تعداد ۳۱۰۸ رقم و لاین کنجد در شرایط گلخانه و مزرعه نسبت به این بیماری ارزیابی شدند. هیچ رقم مصون نسبت به بیماری مشاهده نشد و همه ژنوتیپ‌ها کم و بیش به این بیماری آلودگی نشان دادند. ژنوتیپ‌های تک شاخه در مقایسه با انواع چند شاخه دارای سطوح مقاومت بالاتری بودند. ژنوتیپ‌های با بذر سفید رنگ بالاترین مقاومت را داشتند. بذرهای زرد و قهوه‌ای از نظر مقاومت به پوسیدگی زغالی در رتبه بعدی قرار داشتند. ژنوتیپ‌های با بذر سیاه و خاکستری حساس‌ترین واکنش را از خود نشان دادند (Shengyu, 1991).

در یک ارزیابی مزرعه‌ای در پاکستان، ۱۰۷ ژنوتیپ کنجد در مزرعه آلوده ارزیابی شدند. واکنش گیاهان در مرحله رسیدگی با استفاده از

یک مقیاس ۵-۰ ثبت شد. ژنوتیپ Khippro 1 کاملاً مصون از بیماری بود و هیچ‌گونه علائم بیماری در آن دیده نشد. ۴۶ ژنوتیپ واکنش مقاومت، ۵۵ ژنوتیپ واکنش نیمه مقاومت و ۵ ژنوتیپ واکنش نیمه حساسیت از خود نشان دادند (Rajput *et al.*, 1998).

با توجه به تعداد زیاد ژنوتیپ‌های کنجد موجود در بخش تحقیقات دانه‌های روغنی موسسه تحقیقات اصلاح و تهیه نهال و بذر و عدم امکان ارزیابی گلخانه‌ای و مزرعه‌ای همه آن‌ها، در این بررسی ارزیابی مقدماتی آن‌ها از نظر مقاومت به عامل بیماری پوسیدگی زغالی در شرایط آزمایشگاهی انجام شد تا ژنوتیپ‌های غربال شده در فاز بعدی در شرایط گلخانه و مزرعه مورد ارزیابی قرار گیرند.

مواد و روش‌ها

در بازدیدهای مختلف از مناطق عمده کنجدکاری در سراسر کشوردر سال‌های ۸۳-۱۳۸۰، نمونه های آلوده به بوته‌میری و پوسیدگی طوقه و ساقه جمع‌آوری و به آزمایشگاه بیماری‌های گیاهی، بخش دانه‌های روغنی منتقل شدند. اکثر نمونه‌ها علائم بارز بیماری پوسیدگی زغالی ناشی از قارچ *M. phaseolina* را روی ریشه و طوقه خود نشان می‌دادند. ساقه‌ها و ریشه‌های آلوده به این قارچ، قهوه‌ای شده و میکرواسکلروت‌ها به صورت ردیف‌های منظم روی ساقه دیده می‌شدند. ساقه و طوقه‌های آلوده پس از شستشو و ضد عفونی سطحی با محلول ۰/۵ ٪ هیپوکلریت سدیم و حداقل سه بار شستشوبا آب مقطر سترون هر کدام به مدت ۵ دقیقه، در هود استریل روی کاغذ صافی‌های استریل خشک شده و در تشتک‌های پتری روی محیط کشت سیب‌زمینی- دکستروز- آگار (PDA) که آنتی بیوتیک ریفامپیسین (Rifampicin) به مقدار $34\ \mu gml^{-1}$ به آن افزوده شده بود، کشت داده و به مدت یک هفته در دمای ۳۲ درجه سانتی‌گراد بدون نوردهی مصنوعی نگهداری شدند. جدایه‌های رشد یافته به محیط کشت آب-آگار (WA) ۳٪ منتقل شدند تا پس از دو روز رشد، برای خالص‌سازی تک هیف شوند. مشخصات جدایه‌های خالص شده پس از کشت مجدد و تکثیر، با شرح گونه ارائه شده توسط هالیدی و پونیتالینگهام (Holliday and Punithalingham, 1970) مقایسه شدند؛ تا گونه قارچ بیمارگر تأیید شود. جدایه‌های خالص شده به محیط کشت PDA درون لوله و یا روی بذر سورگوم دوبار اتوکلاو شده منتقل و در شرایط دمائی ۴ درجه سانتی‌گراد برای نگهداری طولانی مدت منتقل شدند.

آزمایش‌های اندازه‌گیری شدت بیماریزائی جدایه‌ها در تشتک‌های پتری ۹ سانتی‌متری حاوی محیط کشت آب-آگار ۱٪ انجام شد (Thirmulachar *et al.*, 1979). انجام این آزمون برای انتخاب جدایه‌هائی با شدت

بیماریزائی بالا جهت ارزیابی مقاومت ارقام و نیز حذف جدایه‌های فاقد قدرت بیماریزائی، الزامی بود. برای این منظور، تشتک‌های پتری حاوی آب-آگار پس از مایه‌زنی با جدایه‌های خالص شده، به مدت یک هفته در دمای ۳۲ درجه سانتی‌گراد در تاریکی نگهداری شدند. سپس بذرهای کنجد رقم داراب-۱۴ را که از دو روز قبل روی کاغذ صافی وادار به جوانه‌زنی شده بودند (به تعداد ۱۰ بذر رشد یافته و سالم) در سه تشتک پتری را روی توده میسلیومی قرار داده و به همان دما و زیر نور مصنوعی منتقل شدند. رقم یاد شده در بازدیدهای میدانی شدت بالائی از بیماری از خود نشان می‌داد. شدت بیماریزائی جدایه‌ها روی گیاهچه‌ها روی محیط کشت مذکور سه روز بعد با استفاده از مقیاس زیر یادداشت‌برداری شد:

۱: فاقد آلودگی.

۲: بخش‌هائی از ریشه تغییر رنگ داده و دچار پوسیدگی می‌شوند.

۳: پوسیدگی ریشه تا طوقه و قسمتی از ساقه بالا می‌آید.

۴: تمام ساقه آلوده می‌شود ولی برگ‌های لپه‌ای سالم هستند.

۵: تمام گیاهچه آلوده شده و دچار بوته میری می‌شود (Raghuwanshi *et al.*, 1992؛ Chattopadhyay and Kalapana Sastry, 2000).

تشتک‌های شاهد حاوی محیط کشت آب-آگار بدون حضور قارچ بود. داده‌های حاصل با استفاده از آزمون ناپارامتری Kruscal-Wallis در نرم‌افزار SPSS 16 تجزیه و تحلیل آماری شدند.

در آزمایش‌های ارزیابی مقاومت ارقام از مخلوط پنج جدایه مختلف استفاده شد. از هر منطقه جغرافیائی یک جدایه که دارای بیشترین شدت بیماریزائی بود انتخاب شد. با این روش سعی شد تا از تنوع ژنتیکی بیشتری از بیمارگر در ارزیابی واکنش ارقام استفاده شود. روش تهیه‌سوسپانسیون مخلوط جدایه‌ها به این صورت بود که یک لیتر محیط کشت مایع سیب‌زمینی-دکستروز در ده فلاسک ۲۵۰میلی‌لیتری ریخته شد و پس از استریل کردن، پنج قطعه از کلنی هفت روزه قارچ عامل بیماری را درون هر فلاسک انداخته و در دمای ۳۲ درجه سانتی‌گراد در تاریکی قرار داده شد. دو فلاسک برای هر جدایه در نظر گرفته شد. یک هفته زمان کافی بود تا قارچ به اندازه کافی درون محیط کشت مایع رشد کند. محتویات درون فلاسک‌ها صاف شدند تا محیط کشت‌های اضافی از توده قارچ جدا شود. در نهایت همه توده‌های میسلیومی با هم مخلوط و پس از شستشو با آب مقطر سترون (۵۰ میلی‌لیتر آب مقطر سترون به ازای هر توده میسلیومی) درون مخلوط‌کن ریخته و مخلوط فوق درون دستگاه همزن به صورت سوسپانسیون یکنواخت درآمد.

بذرهای جوانه‌زده ژنوتیپ‌های مختلف کنجد روی کاغذ صافی، در سوسپانسیون قارچ به مدت ۵ دقیقه غوطه‌ور و بذرهای مایه‌زنی شده مجدداً به کاغذ صافی استریل جدید

به ابعاد ۳۰×۲۰ سانتی‌متر منتقل شدند. پس از آن کاغذ دیگری به همان ابعاد روی آن گذاشته و مجموعه لوله شده به صورت عمودی داخل بشرهای ۱ لیتری قرار گرفتند. برای خیس ماندن کاغذها، مقدار کمی آب مقطر استریل در کف بشر ریخته شد. گیاهچه‌ها در همان دما درون انکوباتور نگهداری شده و سه روز بعد یادداشت‌برداری‌ها با استفاده از مقیاس یاد شده انجام شد. برای هر ژنوتیپ ۱۸-۱۰ گیاهچه ارزیابی شد. شماره‌های ۱ و ۲ مقیاس به ترتیب به عنوان مقاوم (R) و نیمه مقاوم (MR) و مقیاس‌های ۴،۳ و ۵ به ترتیب به عنوان نیمه حساس (MS)، حساس (S) و فوق‌العاده حساس (HS) در نظر گرفته شدند. برای تعیین واکنش ژنوتیپ‌ها به بیماری، مربع تفاضل هر مشاهده با نمرات ۵-۱ مقیاس، به ترتیب به عنوان سطوح مورد انتظار محاسبه شدند.

نتایج و بحث

جداسازی قارچ عامل بیماری از بافت گیاهی آلوده به پوسیدگی زغالی با سهولت انجام شد. بیست و شش جدایه بیمارگر ماکروفومینا از نقاط مختلف جغرافیائی کشور به دست آمد (جدول ۱). جدایه‌های ماکروفومینا از نظر نحوه رشد و تولید هیف‌های هوائی تفاوت چندانی با هم نداشتند ولی از نظر شدت بیماریزائی تفاوت‌های چشمگیری نشان دادند (جدول ۱).

مقدار مربعات کای (Chi square) با استفاده از آزمون کروسکال والیس ۱۴۷/۹ به دست آمد که حاصل از تفاوت معنی‌دار در سطح ۹۹٪ بین جدایه‌ها از نظر شدت بیماریزائی بود. جدایه‌های هر منطقه از نظر شدت بیماریزائی تفاوت‌های زیادی با هم داشتند. در جدایه‌های Mse4، Mse5، Mse8، Mse9، Mse15 و Mse20 بیش از ۵۰٪ مشاهدات مقداری بیش از میانه (مقیاس ۲) نشان می‌دادند.

میانگین شدت بیماریزائی در تشتک‌های شاهد همواره کمتر از ۲ بود. پنج جدایه جمع‌آوری شده از جیرفت، داراب، کرج و بهبهان (Mse20، Mse15، Mse9، Mse8 و Mse5) هر کدام به عنوان نماینده یک منطقه جغرافیائی، بر اساس شدت بیماریزائی بالا و مشخصات میکروسکوپی انتخاب شدند. جدایه‌های Mse8 و Mse9 از کرج در دو سال متوالی به دست آمدند و شدت بیماریزائی بالائی داشتند. از این جدایه‌های منتخب، در آزمون‌های غربال ژرم‌پلاسم کنجد به بیماری پوسیدگی زغالی استفاده شد. جدایه‌های ماکروفومینا به دست آمده از کرج و بهبهان، تنوع بیماریزائی بالائی را از خود نشان دادند در حالی که جدایه‌های دزفول و قائم شهر دارای شدت بیماریزائی پایینی بودند (جدول ۱).

نام ژنوتیپ‌های کنجد مورد استفاده در این تحقیق در جدول ۲ و داده‌های به دست آمده از محاسبات آماری روی مقیاس‌های شدت بیماری یادداشت‌برداری برای هر ژنوتیپ و واکنش ژنوتیپ‌ها به جدایه‌ها در جدول ۳ نشان داده

جدول ۱- مشخصات جدایه‌های قارچ *Macrophomina phaseolina* و بیماریزائی آن‌ها روی رقم کنجد داراب- ۱۴ بر اساس مقیاس ۵-۱

Table 1. Characteristics of *Macrophomina phaseolina* isolates and their pathogenicity on Darab- 14 sesame cultivar based on 1-5 scoring scale

نام جدایه Isolate name	محل جمع‌آوری Location	بیماریزائی Pathogenicity**	نام جدایه Isolate name	محل جمع‌آوری Location	بیماریزائی Pathogenicity
Mse1	بهبهان Behbahan	2.5	Mse14	داراب، حسن آباد Darab, Hassanabad	4
Mse2	بهبهان Behbahan	2	Mse15	داراب، حسن آباد Darab, Hassanabad	5
Mse3	بهبهان Behbahan	2	Mse16	داراب، ایستگاه تحقیقات کشاورزی بختاجرد Darab, Bakhtajerd ARS	4.5
Mse4	بهبهان Behbahan	5	Mse17	داراب، ایستگاه تحقیقات بختاجرد Darab, Bakhtajerd ARS	1.5
Mse5	بهبهان Behbahan	5	Mse18	ایستگاه تحقیقات کشاورزی علی آباد، جیرفت Jiroft, Aliabad ARS	1.5
Mse6	بهبهان، ایستگاه تحقیقات کشاورزی Behbahan, ARS*	1	Mse19	ایستگاه تحقیقات کشاورزی علی آباد، جیرفت Jiroft, Aliabad ARS	2
Mse7	بهبهان، ایستگاه تحقیقات کشاورزی Behbahan, ARS	1	Mse20	جیرفت Jiroft	5
Mse8	کرج، مزرعه ۴۰۰ هکتاری Karaj, 400 ha farm	5	Mse21	جیرفت Jiroft	4.5
Mse9	کرج، مزرعه ۴۰۰ هکتاری Karaj, 400 ha farm	5	Mse22	قائم شهر، جویبار Qaemshahr- Joybar	2
Mse10	کرج، مزرعه ۴۰۰ هکتاری Karaj, 400 ha farm	2	Mse23	قائم شهر، جویبار Qaemshahr- Joybar	2
Mse11	کرج، مزرعه ۴۰۰ هکتاری Karaj, 400 ha farm	2	Mse24	دزفول، کنجد وحشی Dezful, wild sesame	2
Mse12	کرج، مزرعه ۴۰۰ هکتاری Karaj, 400 ha farm	1	Mse25	مرکز تحقیقات کشاورزی دزفول- صفی آباد Dezful, Safiabad ARS	1
Mse13	کرج، مزرعه ۴۰۰ هکتاری Karaj, 400 ha farm	1	Mse26	مرکز تحقیقات کشاورزی دزفول، صفی آباد Dezful, Safiabad ARS	1

* ARS: Agricultural Research Station

** اعداد میانه مقیاس محاسبه شده برای هر جدایه هستند. ده مشاهده برای هرجدایه.

** The figures are the median scale calculated for each isolate. Ten observations per each isolate were recorded.

شده است.

از آن‌جائی‌که اعداد مربوط به مقیاس‌ها اعداد کیفی هستند، میانه مشاهدات محاسبه شد. چهارده ژنوتیپ از جمله پتک موسیان، عراقی ۱، عراقی ۲، محلی اصفهان، محلی بهبهان، محلی شوشتر، محلی کلات، محلی ایرانشهر، محلی حاجی‌آباد، محلی طارم، محلی دزفول، مغان ۱۹،54-RT و TS-13 واکنش مقاومت نشان دادند. هشت ژنوتیپ هم در حد نیمه مقاوم ظاهر شدند. این ژنوتیپ‌ها عبارت بودند از سینتتیک، محلی بم، محلی اهواز، محلی زرقان، ورامین ۲۸۲۲، لاین ۳ صفی آباد، هندی ۱۰ و مغان ۱۴. بقیه ژنوتیپ‌ها به صورت نیمه حساس تا خیلی حساس واکنش نشان دادند.

جدول ۲- لیست ژرم‌پلاسم کنجد غربال شده برای مقاومت بیماری پوسیدگی زغالی در شرایط آزمایشگاهی

Table 2. List of sesame germplam evaluated for resistance to charcoal rot disease in laboratory conditions

No.	Genotype name	No.	Genotype name	No.	Genotype name	No.	Genotype name	No.	Genotype name
1	کپسول بسته باکو Capsule baste Baku	16	محلی سیستان Mahalli Sistan	31	محلی طارم Mahalli Tarom	46	لاین ۲ برازجان Borazjan- L2	61	مغان ۱۱ Moghan11
2	پتک موسیان Potak-e-Musian	17	محلی مغان Mahalli Moghan	32	محلی دزفول Mahalli Dezful	47	لاین ۵ برازجان Borazjan- L5	62	مغان ۱۳ Moghan13
3	ناز تک شاخه Naze Takshakhe	18	محلی گیجوئیه Mahalli Geijuye	33	فائو۲ Fao2	48	لاین ۳ صفی آباد Safiabad- L3	63	مغان ۱۴ Moghan14
4	ناز چند شاخه Naze chandshakhe	19	محلی بهبهان Mahalli Behbahan	34	پنجاب ۸۹ Panjab89	49	هندی Hindi	64	مغان ۱۷ Moghan17
5	پاناما Panama	20	محلی برازجان Mahalli Borazjan	35	ورامین ۳۷ Varamin37	50	هندی ۱ Hindi1	65	مغان ۱۹ Moghan19
6	ماهان Mahan	21	محلی زرقان Mahalli Zarghan	36	ورامین ۲۳۷ Varamin237	51	هندی ۳ Hindi3	66	GL 4/137
7	عراقی ۱ Iraqi-1	22	محلی هندیجان Mahalli Hendijan	37	ورامین ۲۸۲۲ Varamin2822	52	هندی ۵ Hindi5	67	GL 91/027
8	عراقی ۲ Iraqi-2	23	محلی بم Mahalli Bam	38	کرج۲۶ Karaj26	53	هندی ۹ Hindi9	68	RT-46
9	پاکستانی Pakistani	24	محلی شوشتر Mahalli Shushtar	39	کرج ۲ Karaj2	54	هندی ۱۰ Hindi10	69	RT-54
10	سینتتیک Synthetic	25	محلی کلات Mahalli Kalat	40	کرج۱ Karaj1	55	هندی ۱۱ Hindi11	70	B5γM7
11	خانوک زرند کرمان Khanuk Zarande Kerman	26	محلی اهواز Mahalli Ahvaz	41	لاین ۲ داراب ۲ Darab2-L2	56	هندی ۱۲ Hindi12	71	KC-326002
12	زودرس اسرائیلی Zoodrase Israeli	27	محلی ایرانشهر Mahalli Iranshahr	42	ژاپنی ۱ Japoni 1	57	هندی ۱۴ Hindi14	72	TS-3
13	چینی Chini	28	محلی زرقان Mahalli Zarghan	43	ژاپنی ۱۴۲ Japoni 142	58	یکتا Yekta	73	TC-25
14	محلی طالخونچه Mahalli Talkhuncheh	29	محلی حاجی آباد Mahalli Hajiabad	44	ژاپنی ۳۱۱۱ Japoni 3111	59	مغان ۳ Moghan3	74	TKG-21
15	محلی اصفهان Mahalli Isfahan	30	محلی جیرفت Jiroft Mahalli	45	ژاپنی ۶۵۶ Japoni 656	60	مغان ۵ Moghan5	75	CO-1

برای یافتن تفاوت‌های معنی‌دار بین مشاهدات کیفی و سطوح مورد انتظار در مقیاس بیماری، از آزمون ناپارامتری کای اسکویر استفاده شد. از آن‌جائی‌که هدف یافتن سطوح مقاومت در ژنوتیپ‌ها بوده و نیز برای خلاصه‌تر شدن جدول ۳، تنها مربعات کای برای مقیاس‌های ۱ (بدون آلودگی، مقاوم)و ۲ (وضعیتی که ریشه‌ها کم وبیش نکروز شده، ولی این نکروز به ریشه محدود است، نسبتاً مقاوم) نشان داده شده‌اند. بدیهی است در صورتی‌که تفاوت معنی‌داری با نمرات ۱و۲ مقیاس مشاهده نشود، قطعاً با نمرات بعدی مقیاس هم تفاوت معنی‌دار وجود نخواهد داشت. با در نظر گرفتن درجه آزادی (تعداد مشاهدات برای هر ژنوتیپ) و سطح معنی‌داری، مقدار مربعات کای محاسبه شده با مقدار بحرانی

جدول ۳- پارامترهای آماری و واکنش ژنوتیپ‌های کنجد به بیماری پوسیدگی زغالی در شرایط آزمایشگاهی

Table 3. Statistic parameters and reaction of seasame genotypes to charcoal rot disease in laboratory conditions

Genotype No.	Median[1] (Freq.)	X^2-R[2]	X^2-MR[2]	Reaction	Genotype No.	Median[1] (Freq.)	X^2-R	X^2-MR	Reaction	Genotype No.	Median[1] (Freq.)	X^2-R	X^2-MR	Reaction
1	3(14)	85	22.5	MS	26	2(15)	113	35.0	MR	51	5(15)	161	43.0	HS
2	1(18)	7^{ns}	7.5^{ns}	R	27	1(14)	8	5.0^{ns}	R	52	3.5(16)	114	31.0	MS-S
3	5(11)	138	36.5	HS	28	2(11)	60	17.5	MR	53	3(14)	91	23.5	MS
4	3(17)	104	26.5	MS	29	1(15)	33	15.0	R	54	2(13)	29	6.0	MR
5	3(15)	92	25.5	MS	30	5(13)	112	34.5	HS	55	5(10)	153	42.5	HS
6	5(12)	152	42.0	HS	31	1(12)	16	6.0	R	56	5(14)	184	51.0	HS
7	1(15)	62	20.5	R	32	1(12)	9	7.5	R	57	5(15)	186	52.5	HS
8	1(16)	78	25.0	R	33	4.5(18)	165	47.0	S-HS	58	5(15)	174	46.5	HS
9	4(17)	191	49.0	S	34	3(16)	92	26.5	MS	59	3(13)	96	26.5	MS
10	2(11)	44	13.5	MR	35	3(14)	108	31.0	MS	60	4.5(14)	127	35.5	S-HS
11	5(18)	199	55.5	HS	36	2.5(16)	76	20.0	MR-MS	61	3(14)	98	24.0	MS
12	5(13)	189	52.0	HS	37	2(16)	83	24.5	MR	62	5(11)	129	35.0	HS
13	4(15)	154	40.5	S	38	3(13)	100	30.5	MS	63	2(13)	53	14.0	MR
14	5(10)	160	45.0	HS	39	2.5(14)	94	28.0	MR-MS	64	3(15)	119	30.0	MS
15	1(12)	26	11.0	R	40	4(15)	128	35.5	S	65	1(13)	17	10.0	R
16	3(11)	47	12.0	MS	41	2.5(16)	94	25.0	MR-MS	66	5(13)	180	50.5	HS
17	5(12)	137	37.5	HS	42	3(11)	72	21.5	MS	67	3(13)	102	29.5	MS
18	4(13)	120	32.5	S	43	5(11)	112	29.5	HS	68	5(15)	177	49.0	HS
19	1(14)	20	7.0	R	44	3(15)	102	26.5	MS	69	1(10)	9	4.5	R
20	5(16)	162	47.0	HS	45	5(14)	168	47.0	HS	70	5(14)	156	43.0	HS
21	3.5(14)	118	32.0	MS-S	46	5(15)	178	48.5	HS	71	2.5(14)	78	22.0	MR-MS
22	4(17)	143	37.0	S	47	5(10)	160	45.0	HS	72	1(13)	37	14.0	R
23	2(15)	52	15.5	MR	48	2(14)	12	3.0^{ns}	MR	73	4(15)	125	31.0	S
24	1(15)	41	15.0	R	49	4(15)	119	34.0	S	74	5(15)	148	39.5	HS
25	1(11)	16	9.5	R	50	5(15)	176	51.5	HS	75	4.5(12)	110	31.0	S-HS

For name of genotypes see Table 2.

ns: No significant difference at the 5% probability level. The rest (not marked in the table) are significantly different comparing with the scores 1 and 2 of the disease scale.

(1): The figures in the paranthesis indicate the frequency of recorded observations.

(2): Figures in columns of χ^2-R and χ^2-MR are the Chi square values when the scores 1 and 2 are expected, respectively.

(3): Reaction of germplasm was recorded according to a 1-5 disease scale. 1,2,3,4 and 5 indicate Resistant (R), Moderately Resistant (MR), Moderately Susceptible (MS), Susceptible (S) and Highly Susceptible (HS), respectively.

جدول کای مقایسه و درصورتی‌که مقدار محاسبه شده بیشتر از مقدار جدول باشد، فرض صفر (تفاوت معنی‌دار بین مشاهدات و مقدار مورد انتظار وجود ندارد) رد می‌شود. در ژنوتیپ پتک موسیان که مقدار کای محاسبه شده در مقایسه با شماره ۱ مقیاس (مقاوم) کمتر از مقدار بحرانی در جدول کای اسکویر است فرض صفر رد نمی‌شود و تفاوت معنی‌دار بین سطح مقاومت این ژنوتیپ و شماره ۱ مقیاس نخواهد بود. ژنوتیپ پتک موسیان در سطح ۵٪ و درجه آزادی ۱۷، در سطح مقاوم قرار گرفت (جدول ۳ ردیف ۲). طبعاً در صورتی‌که با نمره ۱ مقیاس تفاوت معنی‌داری وجود نداشته باشد، با سایر سطوح مقیاس هم تفاوتی مشاهده نخواهد شد.

توده محلی ایرانشهر و لاین ۳ صفی‌آباد نیز اگرچه با سطح اول مقیاس (مقاوم) تفاوت معنی‌داری از خود نشان دادند (مقادیر محاسبه شده کای اسکویر بالاتر از مقادیر بحرانی در جدول بود)، در مقایسه با سطح دوم مقیاس (نیمه مقاوم) تفاوت معنی‌داری نشان ندادند، بنابراین پس از پتک موسیان بالاترین سطوح مقاومت به بیماری را دارا بودند.

ژنوتیپ‌هائی که واکنش مقاوم و نیمه مقاوم نشان دادند ولی در آزمون مربعات کای، تفاوت‌های معنی‌داری با سطوح مقاوم و نیمه مقاوم مقیاس داشتند، بهتر است دوباره با تعداد بیشتری گیاهچه مورد ارزیابی قرار بگیرند. درجه آزادی مشاهدات می‌تواند روی نتیجه‌گیری نهائی تأثیر بگذارد و به طور قطعی واکنش آن‌ها را تعیین کند.

نتیجه مهمی که از نتایج اخیر به دست آمد این است که ارقام و ژنوتیپ‌های محلی عموماً دارای سطوح خوبی از مقاومت به این بیماری بودند و باید بیشتر مورد توجه به‌نژادگران قرار گیرند، به خصوص رقم مغان ۱۹ که در ارزیابی‌های مزرعه‌ای نیز مقاومت خوبی به بوته‌میری نشان داده است (مشاهدات مزرعه‌ای).

اگرچه ژنوتیپ‌های مورد استفاده در این تحقیق تحقیقات محققان دیگر وجود نداشته‌اند تا مقایسه‌ای بین نتایج انجام شود، در تمام ارزیابی‌های انجام شده، به خصوص در مواردی که مایه‌زنی مصنوعی انجام شده است، کلیه ارقام و ژنوتیپ‌های کنجد با درجات مختلف به بیماری آلوده شده‌اند و رقم یا ژنوتیپ مصون از بیماری مشاهده نشده است. این موضوع بیانگر بیماریزائی بالای قارچ ماکروفومینا روی گیاه کنجد است، در حالی که این قارچ معروف به داشتن حالت گندروئی و شدت بیماریزائی پایین روی اکثر میزبان‌های زراعی است. بنابراین بیماری پوسیدگی زغالی کنجد، مدل بسیار مناسبی برای مطالعه روابط میزبان - بیمارگر قارچ ماکروفومینا است.

یکی از مواردی که ارزیابی‌های آزمایشگاهی را اجتناب‌ناپذیر می‌کند این است که بذرهای دریافتی ممکن است دارای آلودگی بذری باشند و لازم است با تندش روی محیط کشت و یا روی کاغذ صافی استفاده از این

بذرها را محدود کرد. این آلودگی‌ها گاهی باعث ناهماهنگی در داده‌های حاصل از ارزیابی‌های گلخانه‌ای هم می‌شوند. گاهی نیز درصد دگرگشنی در ارقام کنجد که به ۲۰-۱۵ درصد می‌رسد باعث می‌شود در اثر تفرق ژنتیکی حاصل نتایج را غیر قابل تکرار باشند.

اگرچه استفاده از ارقام مقاوم به عنوان یکی از عوامل کاهش شیوع بیماری عنوان می‌شود، زمانی استفاده از ارقام مقاوم مفید خواهد بود که توصیه‌های بهداشتی - زراعی تا حدود زیادی رعایت شود، در غیر این صورت فشار بالای بیماری مقاومت همه ارقام را بی‌اثر خواهد کرد (Sinclair and Backman, 1989). تا زمانی که برداشت کنجد به صورت سنتی و به صورت کوبیدن کپسول‌ها انجام می‌شود، بیماری پوسیدگی زغالی کنجد همچنان در سطح نگران کننده‌ای وجود خواهد داشت. بافت‌های گیاهی آلوده که حاوی میکرواسکلروت‌های قارچ بیمارگر هستند به صورت پودری روی بذر قرار می‌گیرند. بنابراین در صورت آلوده بودن گیاه، بذرها و مواد همراه آن‌ها منشأ اصلی بیماری در سال بعد خواهند بود و بیماری را به صورت تصاعدی در سال‌های بعد افزایش می‌دهند (El-Fiki *et al.*, 2004). بنابراین رعایت مسائل به زراعی به خصوص در مورد این بیماری بسیار موثر است. علاوه براین، انتقال بیماری از طریق آندوسپرم نیز به دلیل اهمیت موضوع باید در مطالعات زیست‌شناسی بیماری مورد توجه قرار گیرد (Holliday and Punithalingham, 1970).

دامنه میزبانی و پراکنش عامل بیماری بسیار وسیع است و درحدود ۵۰۰ گونه گیاهی به عنوان میزبان این قارچ شناخته شده‌اند (Sinclair and Backman, 1989). غرقاب مزارع کنجد و کشت مداوم محصول در یک مزرعه باعث شدت یافتن بیماری می‌شود، بنابراین تناوب کنجد با میزبان‌های مختلف مثل غلات و پنبه برای یک یا دو سال یا با محصولاتی مثل ذرت و سورگوم دانه‌ای به مدت سه سال، در کاهش میزان بیماری موثرخواهد بود. رعایت فاصله کاشت مناسب، تقویت میزبان، آبیاری منظم و از همه مهم‌تر استفاده از بذر تمیز و سالم در کاهش بیماری بسیار تاثیرگذار هستند (Mihail, 1992). البته باید توجه کرد که کنجد به شدت به حالت غرقابی حساسیت داشته و باعث بروز تنش‌های فیزیولوژیک و شیوع برخی بیماری‌ها می‌شود. بارندگی در آخر فصل، طول دوره رویشی کنجد را بیشتر کرده و خسارات ناشی از ریزش را نیز افزایش می‌دهد (Changalvaii, 2000).

References

Changalvaii, K. 2000. Studying the damping-off of sesame and its distribution across

the Khuzestan province, Iran. MSc. Thesis, Faculty of Agriculture, Shahid Chamran University of Ahvaz, Ahvaz, Iran (in Persian).

Chattopadhyay, C., and Kalpana Sastry, R. 2000. Methods for screening against sesame stem-root rot disease. Sesame and Safflower Newsletter 15: 68-70.

Dhingra, O. D., and Sinclair, J. B., 1995. Basic Plant Pathology Methods. CRC Press, Boca Raton, Florida, USA. 439 pp.

El-Bramawy, M. H. S., El-Hendawy, S., and Shaban, W. A. 2009. Assessing the suitability of morphological and phenological traits to screen sesame genotypes for fusarium wilt and charcoal rot disease resistance. Journal of Plant Protection Research 48(4): 397–410.

El-Fiki, A. I., El-Deeb, F., Mohamed, F. G., and Khalifa, M. M. A. 2004. Controlling sesame charcoal rot incidence by *Macrophomina phaseolina* under field conditions by using the resistant cultivars and some seed and soil treatments. Egyptian Journal of Phytopathology 32 (1-2): 103-118.

Elizondo-Barron, J. 1997. *Macrophomina phaseolina* resistance, adaptation and stability of different sesame genotypes in Tamaulipas, Mexico. Subtropical Plant Sciences 49: 42-45.

Gupta, R. B. L. 1995. Evaluation of sesame genotypes for resistance to root rot and oozing. Indian Phytopathology 48 (2): 194-195.

Holliday, P., and Punithalingham, E. 1970. *Macrophomina phaseolina*. Descriptions of pathogenic fungi and bacteria. No. 275. Commonwealth Mycological Institute, Kew, Surrey, England.

Langham, D. R., Riney, J., Smith, G., and Wiemers, T. 2008. Sesame Grower Guide. Sesaco, Sesame Coordinators. www. sesaco.net.

Laurentin, T. 2007. Genetic diversity in sesesame, molecular markers, metabolic profiles and effect of plant extract on soil borne pathogenic fungi. Ph. D. Thesis, George-August University, Gottingen, Germany.

Mihail, J. D. 1992. Macrophomina. pp:134-136. In: Singleton, L., Mihail, J.D., and Rush, C.M. (eds.) Methods for Research on Soil-borne Phytopathogenic Fungi. APS Press, St. Paul, Minnesota, USA.

Raghuwanshi, K. S., Khune, N. N., Deokar, C. D., Veer, D. M., and Bharud, R. W. 1992. Screening of sesame germplasm against *Fusarium oxysporum* f.sp. sesami.

Sesame and Safflower Newsletter 7: 22-24.

Rajput, M. A., Khan, Z. H., Jafri, K. A., and Fazal Ali, J. A. 1998. Field screening of sesame germplasm for resistance against charcoal rot (*Macrophomina phaseolina*). Sesame and Safflower Newsletter 13: 63-66.

Shengyu, L. L. W. 1991. Identification of seasome germplasm resistance to *Macrophomina phaseolina* in China. Chinese Journal of Oil Crop Sciences (Abstract).

Sinclair, J. B., and Backman, P. A. 1989. Compendium of Soybean Diseases (3rd ed.). APS Press. St. Paul , Minnesota, USA. 126 pp.

Starr, J. L. and Black, M. C. 1995. Reproduction of *Meloidogyne arenaria*, *M. incognita* and *M. javanica* on sesame. Suppl. Journal of Nematology 27 (4S): 624-627.

Thirmulachar, M. J., Neergaard, P., and Fakir, G. A. 1979. Methods for pathogenic tests of seed borne *Macrophomina phaseolina* isolates from different host. Phytopathology 69: 234-237.