

## ارزیابی مقاومت نسبی شش رقم آفتابگردان در برابر

گونه *Alternaria alternata* \*

### EVALUATION OF THE RELATIVE RESISTANCE OF SIX SUNFLOWER CULTIVARS TO *Alternaria alternata*

سیما خدایی، مهدی ارزنلو<sup>\*\*</sup>، اسداله بابای اهری و مصطفی ولیزاده<sup>۱</sup>

(تاریخ دریافت: ۱۳۹۰/۱۲/۱۵؛ تاریخ پذیرش: ۱۳۹۱/۸/۱۷)

#### چکیده

بیماری لکه‌برگی آفتابگردان یکی از مهم‌ترین بیماری‌های اندام‌های هوایی این محصول به شمار می‌آید. کشت ژنوتیپ‌های مقاوم به این بیماری بدون تردید یکی از اقتصادی‌ترین روش کنترل بیماری به شمار می‌رود. این مطالعه با هدف ارزیابی واکنش ارقام رایج روغنی و آجیلی رایج در مزارع استان آذربایجان غربی در مقابل بیماری انجام شد. مقاومت نسبی شش رقم آفتابگردان رایج تحت کشت در این استان شامل سه رقم آجیلی دورسفید، پسته‌ای، قلمی و سه رقم روغنی آذرگل، اوروفلور، Master-op در شرایط گلخانه نسبت به سه جدایه از گونه *A. alternata* سنجیده شد. نتایج بررسی نشان داد که اختلاف معنی‌داری بین جدایه‌ها از نظر میزان بیماری‌زایی وجود دارد. قدرت بیماری‌زایی جدایه‌ها در بخش‌هایی بالایی و پایینی کانوپی نیز متفاوت بود. با اینکه ارقام مختلف واکنش‌های متفاوتی در مقابل بیماری نشان دادند، اما به‌طور کلی تمام ارقام در برابر بیماری آسیب‌پذیر بودند. تحقیق حاضر، اولین مطالعه در زمینه تعیین مقاومت نسبی برخی ارقام آفتابگردان در مقابل بیماری لکه‌برگی آلترناریایی در ایران می‌باشد.

واژه‌های کلیدی: ارقام روغنی، ارقام آجیلی، آفتابگردان، مقاومت

\*: بخشی از پایان‌نامه کارشناسی ارشد نگارنده اول ارائه شده به دانشکده کشاورزی، دانشگاه تبریز

\*\* : مسئول مکاتبات، پست الکترونیکی: arzanlou@hotmail.com

۱. به ترتیب دانشجوی دکتری، استادیار و استاد بیماری‌شناسی گیاهی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه تبریز

## مقدمه

آفتابگردان زراعی (*Helianthus annuus* L.) به عنوان چهارمین منبع عمده تولید روغن خوراکی در دنیا به شمار می‌رود (Anonymous 2010). ویژگی‌های منحصر بفرد این گیاه از جمله دوره رشدی کوتاه و سازگاری آن با شرایط مختلف آب و هوایی، آفتابگردان را به گیاهی مناسب جهت کشت در نواحی خشک و کم باران تبدیل کرده است (Bhutta 1998). بهبود تولید آفتابگردان به عنوان یکی از مهم‌ترین محصولات روغنی در دنیا می‌تواند نقطه امید برای جبران کمبود روغن‌های گیاهی مورد نیاز باشد. عوامل متعدد زنده و غیرزنده در کاهش عملکرد آفتابگردان دخیل هستند. در این بین بیماری‌ها و بویژه بیماری‌های لکه‌برگی و پوسیدگی سفید طوقه بیشترین خسارت را به محصول آفتابگردان وارد می‌کنند. تاکنون شش گونه آلترناریا به عنوان عوامل ایجادکننده لکه‌برگی آفتابگردان گزارش شده‌اند (Kintzios et al. 1996, Lagopodi & Thanassoulopoulos 1998). در این بین، گونه *A. alternata* در سرتاسر جهان از آفتابگردان گزارش شده است (Lagopodi & Thanassoulopoulos 1998, Chattopadhyay 1999) و تحت شرایط مساعد محیطی قادر است به سرعت توسعه یافته و باعث همه‌گیری شود (Kintzios et al. 1996). استفاده از ارقام مقاوم یکی از راه‌کارهای اقتصادی در مدیریت بیماری‌های گیاهی به شمار می‌رود. با این حال، تاکنون سطوح بالای مقاومت در برابر لکه‌برگی آلترناریایی در آفتابگردان گزارش نشده است. در کشور هند به دلیل همه‌گیر بودن *A. alternata* مطالعات وسیعی در جهت شناسایی ارقام مقاوم آفتابگردان در برابر این بیماری صورت گرفته است (Lagopodi & Thanassoulopoulos 1998). کشت بافت گیاهی تیمار شده با زهرابه یا عصاره کشت قارچ‌های

بیمارگر روش مناسبی برای مطالعه برهم کنش انگل-میزبان است. هم‌چنین، تنوع ژنتیکی ایجاد شده با کشت بافت می‌تواند منبع مهمی برای ژنوتیپ‌های مقاوم به بیماری باشد (Kintzios et al. 1996). کیتزیوس و همکاران در سال ۱۹۹۶ توانستند با کشت کالوس‌های گیاه آفتابگردان در محیط‌های کشت حاوی غلظت‌های مختلف زهرابه *A. alternata* مقاومت را در آنها القا کنند. در یک بررسی واکنش چند هیبرید آفتابگردان در مقابل *A. zinniae* ارزیابی شد. این هیبریدها بر اساس ماهیت ژنتیکی و مرحله فنولوژیکی که در آن برهم کنش بیمارگر-گیاه رخ می‌داد رفتارهای متفاوتی از خود نشان دادند (Raranciuc & Pacureanu-Joipa 2002).

با وجود شیوع بیماری لکه‌برگی آلترناریایی ناشی از *A. alternata* در مزارع آفتابگردان استان آذربایجان غربی و اهمیت این بیماری در این منطقه، تا کنون راه‌کار مدیریتی مناسبی برای این بیماری ارائه نشده است. از این رو، در بررسی حاضر تلاش شد میزان مقاومت نسبی شش رقم رایج آفتابگردان تحت کشت در منطقه در برابر بیماری بررسی شود.

## روش بررسی

جهت نمونه‌برداری بازدیدهایی از ۲۰ مزرعه آفتابگردان استان آذربایجان غربی واقع در شهرستان‌های خوی، سلماس، میاندوآب و ماکو طی شهریور و مهرماه سال ۱۳۸۹ به عمل آمد. نمونه‌های برگ‌های مشکوک به آلودگی آلترناریایی به صورت تصادفی جمع‌آوری و در داخل پاکت‌های کاغذی جداگانه به آزمایشگاه منتقل شدند. بعد از جداسازی و خالص‌سازی، جدایه‌های قارچی با استفاده از کلید گونه‌های *Alternaria* شناسایی شدند (Simmons 2007). مقاومت نسبی شش رقم آفتابگردان

سطح احتمال ۵ درصد صورت گرفت و به صورت داده اصلی ارائه شدند. تحلیل‌های آماری داده‌ها با استفاده از نرم‌افزار SPSS و ترسیم نمودارها با نرم‌افزار Excel انجام شد.

## نتایج و بحث

علائم ناشی از مایه‌زنی ۶ رقم آفتابگردان شامل سه رقم آجیلی و سه رقم روغنی در شرایط گلخانه‌ای با ۳ جدایه از گونه *A. alternata* پس از دو روز ظاهر شدند. لکه‌های نکروتیک در تمام ارقام مایه‌زنی شده با هر سه جدایه قارچی پس از ۵-۷ روز تمام سطح جفت برگ اول را فرا گرفت. بنابراین، داده‌های مرتبط با جفت برگ اول در ارزیابی مقاومت ارقام استفاده نشدند. با توجه به این که در گیاهان شاهد آثار بیماری مشاهده نگردید و داده‌های صفر به دست آمدند، این تیمار از تجزیه‌ها حذف شد. جدایه‌های مورد استفاده در این پژوهش اختلاف معنی‌دار در سطح احتمال یک درصد از لحاظ قدرت بیماری‌زایی داشتند. در جفت برگ دوم جدایه 17A کمترین میزان بیماری‌زایی را داشت و بین بیماری‌زایی جدایه‌های 15A و 24A اختلاف معنی‌داری دیده نشد (جدول ۱). در جفت برگ سوم جدایه 15A بیشترین میزان بیماری‌زایی را داشت و جدایه‌های 17A و 24A از نظر میزان بیماری‌زایی تفاوت معنی‌داری نداشتند. تفاوت دیده شده در میزان بیماری‌زایی جدایه‌ها می‌تواند ناشی از تفاوت‌های موجود در فیزیولوژی جدایه‌های مختلف باشد. به عنوان مثال، ثابت شده است که میزان مانیتول تولید شده توسط جدایه‌ها رابطه مستقیمی با میزان بیماری‌زایی دارد. با این حال نقش این ترکیب در توسعه بیماری ناشناخته است (Velez et al., 2008). به علت تفاوت موجود در شدت بیماری ایجاد شده توسط جدایه‌های مختلف، برای ارزیابی

شامل سه رقم روغنی Master-op، آذرگل، اوروفلور و سه رقم آجیلی پسته‌ای، قلمی و دورسفید نسبت به سه جدایه از گونه غالب آلترناریا در مزارع آفتابگردان استان آذربایجان غربی در شرایط گلخانه‌ای بررسی شد. برای این کار، در هر گلدان تعداد چهار بذر پس از ضدعفونی سطحی با اتانول ۷۰ درصد به مدت پنج دقیقه و دو بار شستشو با آب مقطر استریل کاشته شد. در نهایت تنها یک گیاهیجه جهت تلقیح نگه‌داری و بقیه حذف شدند. از هر رقم سه گلدان برای هر جدایه و یک گلدان به عنوان شاهد در نظر گرفته شد. بدین ترتیب، آزمایش به صورت فاکتوریل ۳ × ۶ با دو فاکتور جدایه قارچ و رقم آفتابگردان در قالب طرح پایه کاملاً تصادفی در سه تکرار اجرا گردید. سوسپانسیون کنیدی با استفاده از آب مقطر استریل حاوی ۰/۰۴ درصد توئین ۸۰ از پرگنه‌های ۷ روزه جدایه‌های قارچ رشد داده شده در محیط کشت عصاره برگ آفتابگردان آگار (SLEA) به غلظت ۱۰<sup>۵</sup> کنیدی در هر میلی‌لیتر تهیه شد. پاشش سوسپانسیون کنیدی در تمام سطح اندام‌های هوایی گیاه تا زمان جاری شدن آن ادامه یافت. تلقیح گیاهان شاهد نیز توسط آب مقطر استریل حاوی ۰/۰۴ درصد توئین ۸۰ انجام شد. گیاهان پس از مایه‌زنی به مدت ۴۸ ساعت با کیسه‌های پلاستیکی پوشانده شدند. علائم پس از ۱۰ روز بررسی شدند. ارزیابی شدت علائم دیده شده توسط دستگاه تعیین شاخص سطح برگ و در دو مرحله شامل اندازه‌گیری کل سطح برگ و اندازه‌گیری مساحت بخش‌های سالم و سپس تفاضل این دو مقدار صورت پذیرفت. در نهایت شدت علائم بر حسب درصد آلوده سطح برگ محاسبه گردید. آزمون نرمال بودن داده‌ها نشان داد که این درصدها توزیع نرمال ندارند و بنابراین تجزیه‌های آماری روی داده‌های تبدیل شده (زاویه) انجام شد. مقایسه میانگین‌ها با آزمون دانکن در

جدول ۱. مقایسه میانگین درصد آلودگی سطح جفت برگ‌های دوم و سوم توسط جدایه‌های *A. alternata* در ارقام آفتابگردان (آزمون دانکن،  $P < 5\%$ ).

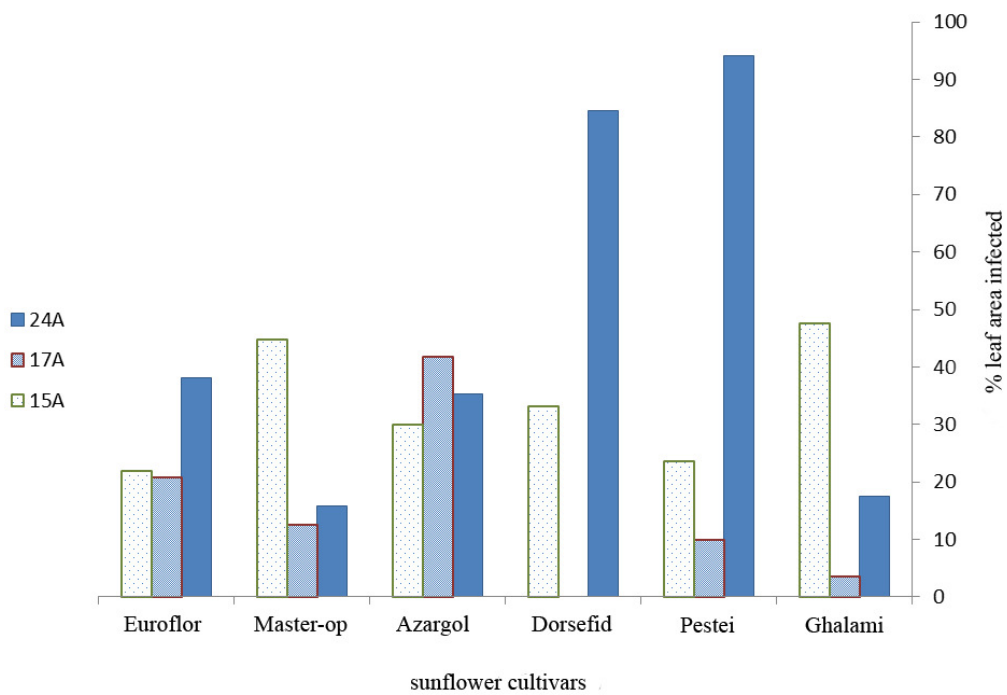
**Table 1. Mean comparison of percentage of the infected area of second and third leaf pairs on six sunflower cultivars caused by three *A. alternata* isolates. (Duncan test,  $P < 5\%$ ).**

شدت بیماری در جفت برگ سوم (disease severity on the third leaf pairs)	شدت بیماری در جفت برگ دوم (disease severity on the second leaf pairs)	عامل (agent)
		جدایه (isolate)
11.73 b	37.15 a	24A
8.25 ab	14.73 b	17A
18.56 b	33.50 a	15A
		رقم (cultivar)
10.22 b	22.86 b	قلمی (Ghalami)
8.36 b	21.65 b	پسته‌ای (Pestei)
10.43 b	39.27 b	دورسفید (Dorsefid)
21.07 a	35.67 ab	آزرگل (Azargol)
11.64 b	24.36 b	Master-op
15.33 ab	26.93 ab	اروفلور (Euroflor)

رقم دورسفید بیشتر از دو رقم دیگر بود و درصد آلوده سطح برگ در ارقام قلمی و پسته‌ای تفاوت معنی‌داری نداشت. شدت بیماری در جفت برگ دوم ارقام آجیلی تفاوت معنی‌داری از خود نشان نداد. در بین ارقام روغنی رقم Master-op در مقابل جدایه‌های *A. alternata* مقاوم‌تر از دو رقم دیگر بود. در جفت برگ دوم شدت بیماری در ارقام آزرگل و اروفلور حالت حدواسط ارقام را داشت. در جفت برگ سوم بیشترین میزان بیماری در رقم آزرگل و به دنبال آن رقم اروفلور دیده شد. علی‌رغم وجود این تفاوت‌ها، تمامی ارقام مورد استفاده در این پژوهش در مقابل لکه‌برگی آلترناریایی آسیب‌پذیر بودند و می‌توان اظهار داشت در صورت وجود شرایط مساعد محیطی در هر شش رقم علایم شدید لکه‌برگی ایجاد

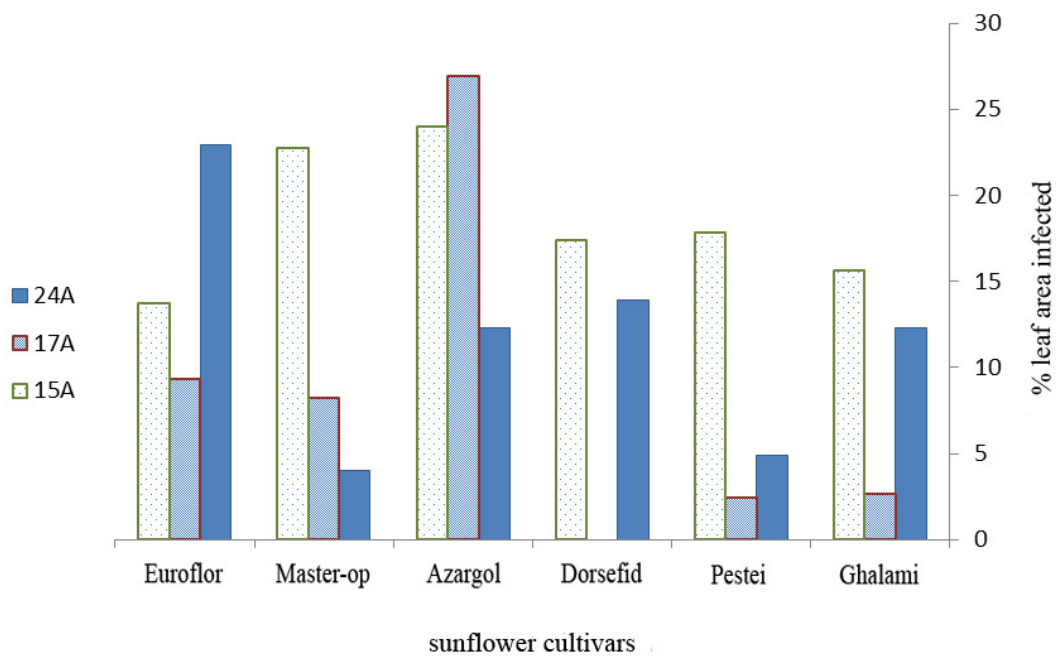
دقیق میزان مقاومت ارقام باید از طیف وسیعی از جدایه‌های قارچی و یا از جدایه‌های با قدرت بیماری‌زایی بالاتر همانند 15A استفاده گردد.

مقایسه میانگین شش رقم مورد بررسی از نقطه نظر میزان مقاومت در برابر سه جدایه قارچی اختلاف معنی‌دار نشان داد (جدول ۱). موقعیت برگ تأثیر بسزایی در سرعت توسعه لکه‌ها داشت. صرف‌نظر از رقم گیاه و شرایط رشدی (شرایط کنترل شده یا محل مزرعه)، برگ‌های موجود در بخش‌های بالایی کانوبی مقاوم‌تر از برگ‌های پایینی بودند. البته نباید این حقیقت را نیز نادیده گرفت که در بخش‌های پایینی کانوبی شرایط میکروکلیمای مساعدتری برای توسعه بیماری وجود دارد. در بین سه رقم آجیلی مورد بررسی شدت بیماری در جفت برگ دوم



شکل ۱. شدت بیماری ناشی از سه جدایه *A. alternata* در جفت برگ دوم شش رقم آفتابگردان (LSD<sub>5%</sub> = ۲۲/۳۶).

Fig. 1. Disease severity of three *A. alternata* isolates on the second pair of leaves of six sunflower cultivars (LSD<sub>5%</sub>=22.36).



شکل ۲. شدت بیماری ناشی از سه جدایه *A. alternata* در جفت برگ سوم شش رقم آفتابگردان (LSD<sub>5%</sub> = ۱۰/۵۰).

Fig. 2. Disease severity of three *A. alternata* isola

شکل از شیوه بیوتروفیک به نکروتروفیک و موفقیت قارچ در ایجاد بیماری کمک می‌کند (Duan et al. 2010). به این ترتیب حتی در ارقام مقاوم نیز بیماری ایجاد می‌شود. در بسیاری از قارچ‌های مولد زهرابه‌های اختصاصی میزبان از جمله *A. alternata* f. sp. *helianthina*، تولید این مواد سمی باعث تحریک واکنش دفاعی میزبان، مرگ برنامه‌ریزی شده سلولی و ایجاد لکه‌های بافت مرده می‌گردد. این امر باعث تسهیل زندگی نکروتروفیک قارچ می‌گردد. به این ترتیب در شرایط محیطی مساعد حتی سیستم دفاعی گیاه نیز به توسعه بیماری در قارچ‌های نکروتروف کمک می‌کند (Duan et al. 2010).

به طور کلی نتایج این بررسی به عنوان نقطه شروعی برای تحقیقات بعدی روی این بیماری مهم در ایران به شمار می‌رود. با شناسایی *A. alternata* به عنوان عامل اصلی بیماری لکه‌برگی آفتابگردان در استان آذربایجان غربی تعیین دامنه میزبانی جدایه‌های آفتابگردان گونه *A. alternata*، بررسی نقش توکسین در برهم کنش میزبان-قارچ و تشخیص و اندازه‌گیری توکسین‌های *A. alternata* در نمونه‌های بذر آفتابگردان جزء اولویت‌های بعدی تحقیق در زمینه این بیماری به شمار می‌روند.

### سپاسگزاری

نویسندگان مقاله مراتب قدردانی خود را از معاونت محترم پژوهشی دانشگاه تبریز به خاطر تامین اعتبار پژوهش حاضر اعلام می‌دارند.

### منابع

جهت ملاحظه به صفحات (25-26) متن انگلیسی مراجعه شود.

خواهد شد. شکل ۱ میانگین ترکیبات تیماری رقم و جدایه را برای درصد آلودگی سطح جفت برگ دوم نشان می‌دهد. اثر متقابل این دو عامل معنی‌دار بود. همان‌گونه که از شکل ۱ برمی‌آید این اثر متقابل از نوع تغییر در ترتیب بود. به عنوان مثال، در رقم قلمی جدایه 15A و در رقم پسته‌ای جدایه 24A آلودگی شدیدتری ایجاد کردند. در حالی که رقم آذرگل در مقابل سه جدایه رفتار تقریباً یکسانی نشان داد. در جفت برگ سوم نیز اثر متقابل رقم و جدایه معنی‌دار و از نوع تغییر در ترتیب بود (شکل ۲). به عنوان مثال، در رقم اروفلور جدایه 24A بیشترین میزان بیماری‌زایی را به خود اختصاص داد، در حالی که در ارقام پسته‌ای و آذرگل شدیدترین علائم به ترتیب مربوط به 15A و 17A بود. مطالعات انجام شده در زمینه آثار متقابل بین گیاهان میزبان، قارچ نکروتروف *A. alternata* و شرایط آب و هوایی نشان داده است که نقش نسبی این عوامل در این برهم‌کنش‌ها پیچیده بوده و ناشناخته‌های بسیاری دارد (Soleimani & Kirk 2012). نقش گیاه میزبان در ایجاد مقاومت در برابر این گونه بسیار مهم است. چون آلودگی در این گیاهان ارتباط مستقیمی با توکسین‌های اختصاصی میزبان دارد. منابع مقاومت در برابر این توکسین‌ها در آفتابگردان ناشناخته است (Rotem 1998). از مهم‌ترین عوامل محیطی دخیل در ایجاد بیماری میزان رطوبت نسبی است. رطوبت نسبی بالا، میزان نفوذپذیری سطح گیاه به آمونیاک و میزان بالای مواد قندی محلول باعث افزایش جوانه‌زنی کنیدی و افزایش آلودگی توسط این گونه می‌شود. آمونیوم پس از اختلاط با آب باعث آزادسازی آمونیاک گازی، ایجاد تنش در قارچ و تحریک تولید اپرسوریوم می‌شود. بنابراین، با افزایش رطوبت موجود در محیط میزان آمونیاک بیشتری از خاک و سطح اندام‌های گیاهی آزاد شده و این به تغییر