تأثیر بیماری پوسیدگی اسکلروتینائی ساقه کلزا روی کمیّت و کیفیت روغن به دست آمده

نسرین علیزاده[۱]، اسدالله بابای اهری[۲]، یعقوب اسدی[۳]، مصطفی ولیزاده[۴] و بهمن پاسبان اسلام[۵]

چکیده

به منظور بررسی اثر قارچ عامل پوسیدگی اسکلروتینائی ساقه کلزا (*Sclerotinia sclerotiorum*) در شرایط مزرعه روی کمّیت و کیفیت روغن به دست آمده و کنجاله آن، سه رقم کلزای پاییزه اکاپی، طلایه و SLM046 در سه بلوک کامل تصادفی در دو حالت بدون بیماری و دارای بیماری مورد ارزیابی قرار گرفت. به‌منظور ایجاد بیماری در شرایط مزرعه، گیاهان به وسیله جدایه SK_4 قارچ (*S. sclerotiorum*) به روش لوارتوسکا مایه‌زنی شدند. محل مایه‌زنی ساقه‌های گیاهان در ارتفاع ۳۰ سانتی‌متری از سطح خاک و در اواسط مرحلهٔ گل‌دهی بوته‌ها بود. نتایج نشان داد که ویژگی‌هایی مانند وزن هزار دانه، درصد اسید چرب اولئیک در گیاهان بیمار به طور معنی‌داری کمتر از گیاهان سالم بود، ولی درصد اسید چرب اروسیک در روغن و میزان گلوکزینولات کنجاله در گیاهان بیمار به طور معنی‌داری بیشتر از گیاهان سالم بود. هم‌چنین بین سه رقم مورد آزمایش به غیر از درصد روغن برای تمامی صفات دیگر اختلاف معنی‌داری دیده نشد. بین وزن هزار دانه و درصد اسید اروسیک و نیز بین درصد روغن به دست آمده و میزان گلوکزینولات، هم‌بستگی منفی و معنی‌داری دیده شد. بنابراین به نظر می‌رسد که بیماری پوسیدگی اسکلروتینائی ساقه در کلزا کمّیت و کیفیت روغن را از طریق کاهش اسید اولئیک و درصد روغن و افزایش اسید اروسیک و گلوکزینولات کاهش می‌دهد.

واژه‌های کلیدی: پوسیدگی اسکلروتینایی ساقه، کلزا، کمیت و کیفیت روغن، *Sclerotinia sclertiorum*

مقدمه

کلزا (*Brassica napus* L.) یکی از دانه‌های روغنی سازگار با شرایط کشور ماست (۴). روغن آن برای مصارف خوراکی و کنجاله باقی مانده آن برای تغذیه دام مورد استفاده قرار می‌گیرد (۷). سازگاری کلزا با شرایط آب و هوایی گوناگون و داشتن عملکرد بالای روغن از جمله ویژگی‌های جالب توجه

۱. دانشجوی سابق کارشناسی ارشد بیماری شناسی گیاهی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه تبریز
۲. دانشیار گیاه‌پزشکی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه تبریز
۳. استادیار دانشکده تغذیه و بهداشت، دانشگاه علوم پزشکی تبریز
۴. استاد زراعت و اصلاح نباتات، دانشکده کشاورزی، دانشگاه تبریز
۵. استادیار مرکز تحقیقات کشاورزی و منابع طبیعی استان آذربایجان شرقی

این گیاه است (۴). وزن هزار دانه در کلزا بسته به نوع رقم بین ۳ تا ۷ گرم متغیر است (۱ و ۶). اسید چرب اروسیک یکی از اسیدهای چرب نامطلوب در روغن کلزاست ولی اسید اولئیک از اسیدهای چرب مطلوب بوده و بالا بودن درصد آن باعث مرغوب‌تر شدن روغن می‌گردد (۱۸). گلوکزینولات‌ها ترکیبات گوگردی با ماهیت قندی هستند که در مکانیزم دفاعی گیاه کلزا در برابر بیمارگرهای قارچی و باکتریایی مشارکت دارد که تغذیه از مواد اخیر در انسان، باعث بروز عوارض نامطلوب روی غده تیروئید شده و موجب کاهش رشد می‌گردد. از طرف دیگر این مواد، عوارض خطرناک دیگر مانند آسیب‌های کلیوی و کبدی نیز به وجود می‌آورد (۲ و ۷).

امروزه ارقام اصلاح شده کلزا که به ارقام دو صفر (00) معروف است دارای مقدار بسیار کم و ناچیز اسید چرب اروسیک (۲٪ >) و گلوکزینولات کنجاله (۲۰ > میکرومول برگرم ماده خشک کنجاله) هستند (۱۹). از روغن به دست آمده ارقام با اسید اروسیک بالا در صنایع و ساخت مواد بهداشتی و در دستگاه‌های صنعتی و موتورها به عنوان روان‌کننده استفاده می‌کنند (۵). پوسیدگی اسکلروتینائی ساقه کلزا که در اثر *Sclerotinia sclerotiorum* ایجاد می‌شود یکی از شایع‌ترین بیماری‌های این گیاه است. قارچ یاد شده دامنه میزبانی بسیار گسترده‌ای دارد، به طوری که بیش از ۲۰۰ گونه گیاهی متعلق به ۵۰ جنس را مورد حمله قرار می‌دهد (۸).

در گیاهان بیمار کلزا زودرسی محصول و کاهش وزن هزار دانه از نشانه‌های بارز بیماری پوسیدگی اسکلروتینائی است (۱۱). به علاوه در روغن به دست آمده از دانه‌های گیاهان بیمار و هم‌چنین کنجاله آنها، افزایش میزان اسید اروسیک و گلوکزینولات و کاهش اسید اولئیک از عوارض مهم دیگر به شمار می‌رود (۱۷ و ۱۸). هدف از پژوهش حاضر، مطالعه آثار بیماری پوسیدگی اسکلروتینائی ساقه کلزا روی وزن هزاردانه حاصل از گیاهان آلوده، کمیّت و کیفیت روغن به دست آمده و کنجاله آن است.

مواد و روش‌ها

پیاده کردن آزمایش

آزمایش در مزارع ایستگاه تحقیقاتی خلعت‌پوشان واقع در شرق تبریز اجرا شد. آماده‌سازی زمین در اوایل شهریور ماه سال ۱۳۸۱ انجام گرفت و بذرهای سه رقم کلزای پاییزه شامل اکاپی، طلایه و SLM046 به صورت جوی پشته در ۱۵ شهریور همان سال در ۱۸ کرت – که هر کرت شامل ۵ ردیف بود– به صورت فاکتوریل در قالب بلوک‌های کامل تصادفی در سه تکرار کاشته شد (یکی از فاکتورهاارقام کلزاوفاکتوردیگرآلودگی وغیرآلودگی بود). فاصله پشته‌ها از همدیگر ۳۰ سانتی‌متر، عمق کاشت بذرها ۵ سانتی‌متر و میزان بذر مصرفی ۱۰– ۸ کیلوگرم در هکتار بود. بعد از ۴–۳ هفته یعنی زمانی که گیاهان به مرحلهٔ سه برگی رسیدند، عملیات تنک‌سازی به فواصل ۳ سانتی‌متری انجام گرفت. آبیاری از زمان کاشت تا اولین باران پاییزه هر هفته یک‌بار به روش غرقابی صورت پذیرفت. در هر آبیاری سعی شد تا خاک مزرعه تا عمق ۱۰ سانتی‌متری مرطوب گردد. ۲۰۰ کیلوگرم نیتروژن، ۲۰۰ کیلوگرم پتاس و ۱۰۰ کیلوگرم فسفر در هکتار مصرف گردید. در فروردین ماه سال ۱۳۸۲ تنک‌سازی مجدداً به فواصل ۵ سانتی‌متری انجام گرفت و در فصل بهار، آبیاری هر هفته یک‌بار تا زمان بسته شدن دانه‌ها انجام گردید.

تجزیه‌های آماری

پس از آزمون نرمال بودن داده ها تجزیه آنها به صورت فاکتوریل با طرح پایه بلوک‌های کامل تصادفی در سه تکرار، توسط نرم‌افزار آماری SAS، انجام شد. مقایسه میانگین‌ها با آزمون دانکن در سطح احتمال ۵ ٪ صورت پذیرفت. رسم نمودارها با استفاده از نرم‌افزار Excel و هم‌بستگی صفات با استفاده از نرم‌افزار SPSS انجام گرفت.

خالص‌سازی و شناسایی جدایه‌های قارچ *S. sclerotiorum*

اسکلروت‌های ۴ جدایه قارچی موسوم به SK_1، SK_2، SK_3 و SK_4

که از گیاهان آلوده کلزا به بیماری پوسیدگی اسکلروتینائی ساقه، جداسازی شده بودند، از طریق مرکز تحقیقات آفات و بیماری‌های گیاهی ایران واقع در اوین (تهران) در اختیار قرار گرفت. اسکلروت‌ها به روش هوانگ و دیوک (۱۲) در ظروف پتری محتوی محیط کشت PDA کشت داده شدند. ۲ تا ۳ روز بعد خالص‌سازی جدایه‌ها از طریق نوک ریسه در محیط کشت آب آگار (WA) ۲ درصد صورت پذیرفت. برای تشخیص گونه (*S. sclrotiorum*) از روش کوهن (۱۵) و پوردی (۲۰) استفاده شد.

تهیه مایه و آزمون بیماری‌زایی جدایه‌ها

مایه قارچ مورد استفاده در این پژوهش دانه‌های گندم آغشته به ریسه‌های جدایه‌های مختلف قارچ (*S. sclerotiorum*) بود. برای تهیه آن مقدار ۳۰ گرم بذر گندم با ۵۰ میلی‌لیتر آب مقطر در ارلن‌های ۲۵۰ میلی‌لیتری به مدت ۳۰ دقیقه در دمای ۱۲۱ درجه سانتی‌گراد و فشار یک اتمسفر سترون گردید. پس از خنک شدن محتویات ارلن‌ها به هر کدام ۳ حلقه به قطر ۷- ۵ میلی‌متر از کشت سه روزه جدایه‌های (*S. sclerotiorum*) انداخته شد. ارلن‌های حاوی بذرهای گندم و حلقه‌های قارچی هر دو روز یک‌بار به هم زده شد. بعد از ۱۰ روز، سطح همهٔ بذرهای گندم پوشیده از ریسه‌های سفید قارچ شد. بذرهای نام برده به عنوان مایه برای مایه‌زنی ساقه‌های گیاهان کلزا مورد استفاده قرار گرفت. ضمناً از بین جدایه‌های مورد آزمایش، جدایه SK_4 به دلیل این‌که در شرایط گلخانه‌ای از بیماری‌زایی شدیدتری نسبت به سایر جدایه‌ها برخوردار بود در آزمایش‌های مزرعه‌ای برای مایه‌زنی مورد استفاده قرار گرفت.

مایه‌زنی گیاهان

مایه‌زنی گیاهان هم‌زمان با اواسط مرحلهٔ گل‌دهی در اوایل خرداد ماه ۱۳۸۲ به روش لوارتوسکا انجام گرفت (۳). برای این کار در ارتفاع ۳۰ سانتی‌متری روی ساقه اصلی بوته‌ها توسط اسکالپل خراش سطحی ایجاد شد و بر روی خراش دو عدد بذر گندم آغشته به ریسه جدایه SK_4 قرار داده شد. بعد از مرطوب کردن بذرها با چند قطره آب مقطر سترون محل مایه‌زنی توسط نوار پارافیلم بسته شد و برای حفظ رطوبت ساقه‌ها به مدت ۷ روز ساقه‌های تلقیح شده به طور مرتب توسط دستگاه سمپاش پشتی آب‌پاشی شدند. از روز هفتم نشانه‌های آلودگی به صورت لکه‌های خاکستری توام با پوشش قارچی در محل آلودگی رویت گردید.

نمونه برداری بذور

ارقام کلزا در کرت‌های آلوده نسبت به کرت‌های شاهد، زودرس بودند. این امریکی از علائم بارز پوسیدگی اسکلروتینائی ساقه کلزاست، به طوری که بذرهای کرت‌های آلوده ۴ هفته بعد از تاریخ مایه‌زنی و بذر کرت‌های شاهد، ۶ هفته بعد از تاریخ مایه‌زنی برداشت شد. برداشت بذرها از کرت‌ها به‌طور تصادفی صورت پذیرفت و بذرهای برداشت شده درون پاکت‌ها ریخته شد و برای اندازه‌گیری وزن هزار دانه، درصد روغن، اسیدهای چرب اروسیک و اولئیک و میزان گلوکزینولات کنجاله به آزمایشگاه انتقال داده شد.

صفات مورد اندازه‌گیری

الف) وزن هزار دانه

اندازه‌گیری وزن هزار دانه براساس روش ISTA (۲۴) صورت پذیرفت. برای این کار از هر کدام از نمونه‌های متعلق به ارقام مورد آزمایش اعم از بذرهای به‌دست آمده از گیاهان بیمار و شاهد تعداد ۱۰۰۰ عدد بذر توسط دستگاه بذر شمار برداشته شد و توسط ترازوی دقیق وزن گردید. این عمل برای هر کدام از نمونه‌ها ۴ بار تکرار شد.

ب) درصد روغن

درصد روغن تیمارها با استفاده از روش NMR تعیین گردید. این روش براساس القای مغناطیسی هسته هیدروژن کار کرده و یک روش اسپکترومتری می‌باشد. در این آزمایش دستگاه مورد استفاده مدل H20- 18-25A ساخت کارخانه Bruker کشور

جدول ۱. تجزیه واریانس (میانگین مربعات) صفات مورد اندازه‌گیری در آزمایش بررسی تأثیر آلودگی اسکلروتینیایی روی کیفیت و کمیّت روغن به‌دست آمده از ارقام کلزا

منابع تغییرات	درجه آزادی	وزن هزار دانه	درصد روغن	مقدار گلوکزینولات	درصد اسید اروسیک	درصد اسید اولئیک
بلوک	۲	۰/۰۲۶۹^{ns}	۳/۲۲۰۲ ^{ns}	۲۸۱/۷۲۹۹ ^{ns}	۰/۲۰۹۷ ^{ns}	۱/۰۴۸۹ ^{ns}
رقم	۲	۰/۹۶۹۱*	۷/۴۵۹۷ *	۶۴۲/۲۷۲۸*	۰/۶۳۸۹*	۱۵۹/۰۷۹۵**
آلودگی	۱	۴۵/۷۲۸۷**	۶۶۸/۶۵**	۲۵۳۳/۷۷۰۷**	۲۷/۱۰۴۴**	۵۵۶۱/۲۵۷**
رقم × آلودگی	۲	۰/۲۱۸۰ ^{ns}	۱/۸۹۵۰ ^{ns}	۷۹۵/۸۲۶۵*	۱/۰۱۳۶**	۷۰/۳۵۳۵*
خطای آزمایش	۱۰	۰/۱۴۲۸	۲/۷۱۶۷	۷۹/۵۷۴۱	۰/۰۸۰۷	۱۴/۷۸۵۸
ضریب تغییرات (٪)		۸/۹۶	۴/۲۱	۱۴/۲۴	۱۴/۷	۸/۰۱

ns:: غیر معنی‌دار

*: معنی‌دار در سطح احتمال ۰/۰۵

**: معنی‌دار در سطح احتمال ۰/۰۱

کانادا بود (۱۳). برای این کار مقدار ۳ گرم از هر کدام از نمونه‌های بذر، توزین و داخل لوله آزمایش ریخته شد. مقدار روغن به صورت منحنی توسط کامپیوتر متصل به دستگاه مربوط ترسیم و تعیین گردید.

ج) درصد اسیدهای چرب اروسیک و اولئیک

اندازه‌گیری درصد اسیدهای چرب اروسیک و اولئیک با استفاده از روش گاز کروماتوگرافی (GC) که در مرکز تحقیقات دانه‌های روغنی معمول است، صورت پذیرفت. در این روش روغن‌کشی از نمونه‌ها توسط دستگاه سوکسله انجام و روغن به دست آمده بعد از طی مراحل مختلف برای اندازه‌گیری اسیدهای چرب اروسیک و اولئیک به GC تزریق گردید (۱۱).

د) مقدار گلوکزینولات کنجاله

برای اندازه‌گیری میزان گلوکزینولات‌های کنجاله از روش کروماتوگرافی مایع با عملکرد بالا (HPLC) استفاده شد. برای این منظور دستگاه HPLC مدل Knaube ساخت کشور آلمان به کار رفت (۱۳ و ۱۴). این دستگاه قادر به اندازه‌گیری پیک‌های آلیلی بوتینل می‌باشد. پیک مورد نظر برای بیان آلیلی در محدوده ۴/۹– ۳/۸ دقیقه و برای بخش بوتینل در محدوده ۷– ۵/۵ دقیقه قرار دارد. دستگاه HPLC به یک کامپیوتر وصل است و برای هر نمونه یک جدول و یک گراف رسم می‌کند. در جدول از روی سطح زیرمنحنی (AUDPC) و با استفاده از رابطه $A_1 = ۱۸/۸۱X + ۵/۶۹$ میزان بنیان آلیل و رابطه $A_2 = ۲۹/۶۶X - ۱/۷۹$ میزان بنیان بوتینل از انواع گلوکزینولات‌ها به نسبت میکروگرم در هرگرم کنجاله به دست می‌آمد.

نتایج و بحث

آلودگی بوته‌ها و ظهور نشانه‌های بیماری

دو روز بعد از مایه‌زنی ساقه‌ها لکه‌های آب سوخته روی محل‌های مایه‌زنی دیده شد. لکه‌های یاد شده به تدریج بزرگ‌تر شده و به رنگ قهوه‌ای در آمدند. در این‌حال لکه‌ها حالت پوسیدگی نرم برخود گرفتند و ریسه‌های قارچ بیمارگر به صورت پوشش سفید رنگ در روی لکه‌ها ظاهر شد. به دنبال این مرحله سختینه‌های قارچ نیز روی لکه‌های فوق تولید گردید. خورجین بوته‌های آلوده زودرس بودند و به همین دلیل بذرهای بوته‌های آلوده ۴ هفته و گیاهان شاهد ۶ هفته بعد از مایه‌زنی برداشت شد.

وزن هزار دانه

بر اساس جدول ۱، ارقام کلزا از نظر وزن هزار دانه در سطح

جدول ۲. مقایسه میانگین صفات مورد اندازه‌گیری در بررسی تأثیر آلودگی قارچ *S. sclerotiorum* روی کلزا

عامل (فاکتور)		وزن هزار دانه	درصد روغن	میزان گلوکزینولات	درصد اسید اروسیک	درصد اسید اولئیک
رقم	اکاپی	۳/۸۶۸۳^{b}	۳۸/۶۶۶۶^{ab}	۷۲/۸۱۶۶^{a}	۲/۱۶۱۵^{a}	۴۶/۹۸۳۳^{a}
	SLM046	۴/۱۲۶۶^{b}	۴۰/۳۶۱۶^{a}	۵۲/۱۳۱۳^{b}	۲/۰۷۸^{ab}	۵۳/۵۵۸۳^{a}
	طلایه	۴/۶۵۶۶^{a}	۳۸/۳۱^{b}	۶۳/۰۱^{b}	۱/۵۵۹۱^{b}	۴۳/۴۰۶۶^{b}
آلودگی	شاهد	۵/۸۱۱۱^{a}	۴۵/۱۹۱۱^{a}	۵۰/۷۸۸۹^{b}	۰/۷۰۵۸^{b}	۶۵/۵۶^{a}
	آلوده	۲/۶۲۳۳^{b}	۳۳/۰۰۱۱^{b}	۷۴/۵۱۷۸^{a}	۳/۱۶^{a}	۳۰/۴۰۵۵^{b}
درصد افزایش یا کاهش ٪		−۲۶/۹۷	+۴۶/۷۲	+۴۴۸		−۵۳/۲

در هر ستون و عامل حروف غیر یکسان بیانگر اختلاف معنی‌دار در سطح احتمال ۵٪ می‌باشد.

احتمال ۵٪ و آلودگی با قارچ در سطح احتمال ۱٪ اختلاف معنی‌دار نشان داد. اثر متقابل رقم × آلودگی معنی‌دار نبود که می‌تواند حاکی از واکنش یکسان ارقام در برابر آلودگی باشد. با وجود این، رقم طلایه بدون آلودگی با میانگین بیش از ۶ گرم بیشترین و رقم اکاپی در شرایط آلودگی با حدود ۲ گرم کمترین وزن هزار دانه را به خود اختصاص دادند (جدول ۲). رقم طلایه با میانگین وزن هزار دانه ۴/۶۵۶۶ گرم در رتبه اول و دو رقم دیگر یعنی SLM046 با میانگین ۴/۱۲۶۶ و اکاپی با میانگین ۳/۸۶۸۳ گرم در رتبه دوم قرار گرفته‌اند. در گیاهان مایه زنی نشده سه رقم فوق (شاهد) میانگین وزن هزار دانه برابر ۵/۸۱۱۱ گرم برآورد گردید. در حالی که پس از آلودگی این میانگین به ۲/۶۲۳۳ گرم رسید. به عبارت بهتر، کاهش وزن هزار دانه برابر ۵۴/۸۶٪ برآورد شد. به علاوه در گیاهان شاهد، درصد روغن هم‌بستگی منفی و معنی‌دار ($r = -۰/۷۷۲^{**}$) با وزن هزار دانه نشان داد (جدول ۳). نتایج به‌دست آمده با یافته‌های هی‌تفوس و همکاران (۱۱) و کروگر و همکاران (۱۶) مطابقت دارد.

درصد روغن

درصد روغن در سه رقم مورد آزمایش، اختلاف معنی‌دار در سطح ۵٪ و آلودگی با قارچ برای این صفت در سطح احتمال ۱٪ اختلاف معنی‌دار نشان داد (جدول ۱). اثر متقابل رقم × آلودگی معنی‌دار نبود و همانند وزن هزار دانه ارقام در برابر آلودگی با قارچ *S. sclerotiorum* واکنش یکسان داشته‌اند. رقم SLM046 با میانگین ۴۰/۳۶۱۶ درصد روغن و بدون تفاوت معنی‌دار با رقم اکاپی بیشترین درصد روغن را به خود اختصاص داد. رقم طلایه با میانگین ۳۸/۳۱ درصد در گیاهان بیمار و بدون اختلاف معنی‌دار با اکاپی کمترین درصد روغن را داشت. برای سه رقم مورد آزمایش در گیاهان شاهد، میزان روغن به دست آمده ۴۵/۱۹۱۱ درصد و در گیاهان بیمار ۳۳/۰۰۱ درصد برآورد شده است که در واقع نشان‌دهندهٔ ۲۶/۹۷ درصد کاهش می‌باشد (جدول ۲).

هم‌چنین درصد روغن در گیاهان شاهد با وزن هزار دانه هم‌بستگی منفی معنی‌دار ($r = -۰/۷۷۲^{**}$) نشان داد. یعنی با افزایش درصد روغن، وزن هزار دانه کاهش پیدا کرده است. ولی هم‌بستگی درصد روغن با صفات اندازه‌گیری شده دیگر هم‌بستگی معنی‌دار نداشت. اما پس از آلودگی گیاهان با قارچ *S. sclerotiorum* این هم‌بستگی از بین رفته، در مقابل، هم‌بستگی منفی معنی‌دار ($r = -۰/۹۱۱^{**}$) بین درصد روغن و

جدول ۳. هم‌بستگی خطی بین صفات مورد اندازه‌گیری در ارقام کلزا در شرایط عادی (شاهد)

وزن هزار دانه				
-۰/۷۷۲*	**درصد روغن**			
-۰/۰۸۴	−۰/۱۰۸	**میزان گلوکزینولات**		
-۰/۵۲۴	۰/۵۰۵	−۰/۰۳۳	**درصد اسید اروسیک**	
-۰/۵۹۵	۰/۲۷۰	−۰/۰۲۲	۰/۷۸۳*	**درصد اسید اولئیک**

* : معنی‌دار در سطح احتمال ۵ درصد

جدول ۴. هم‌بستگی خطی بین صفات مورد اندازه‌گیری در سه رقم کلزا در گیاهان آلوده با قارچ *Sclerotinia sclerotiorum*

وزن هزار دانه				
۰/۴۲۱	**درصد روغن**			
-۰/۲۸۵	−۰/۹۱۱**	**میزان گلوکزینولات**		
-۰/۷۴۰*	۰/۵۰۵	۰/۲۱۹	**درصد اسید اروسیک**	
-۰/۰۵۵	۰/۰۳۲	−۰/۱۲۵	−۰/۳۴۲	**درصد اسید اولئیک**

* : معنی‌دار در سطح احتمال ۵ درصد

** : معنی‌دار در سطح احتمال ۱ درصد

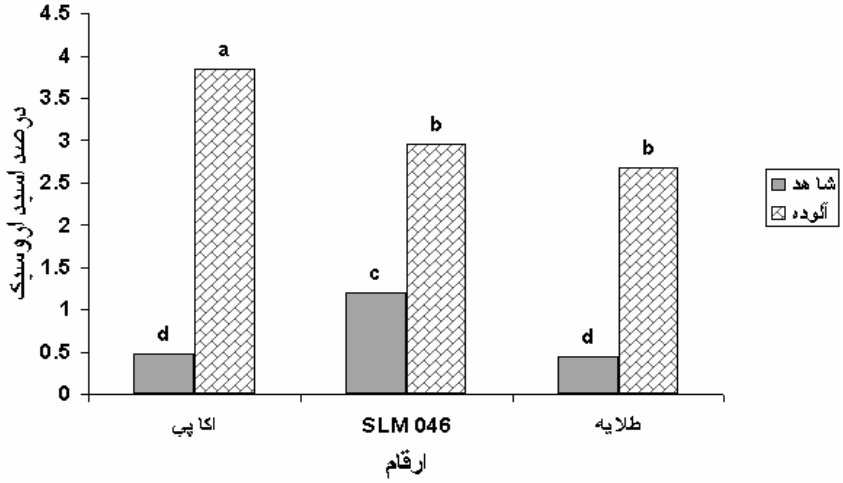
میزان گلوکزینولات به وجود آمده است. یعنی با افزایش درصد روغن، میزان گلوکزینولات کاهش داشته است. (جداول ۳ و ۴). آگاروال و کومار (۸) نیز در تحقیقات خویش در سال ۱۹۹۷ گزارش کردند که بیماری پوسیدگی اسکلروتینائی ساقه کلزا هم روی کمیت و هم بر روی کیفیت روغن به‌دست آمده تأثیر گذاشته و موجب کاهش درصد روغن می‌گردد.

اسیدهای چرب اسید اروسیک و اسید اولئیک

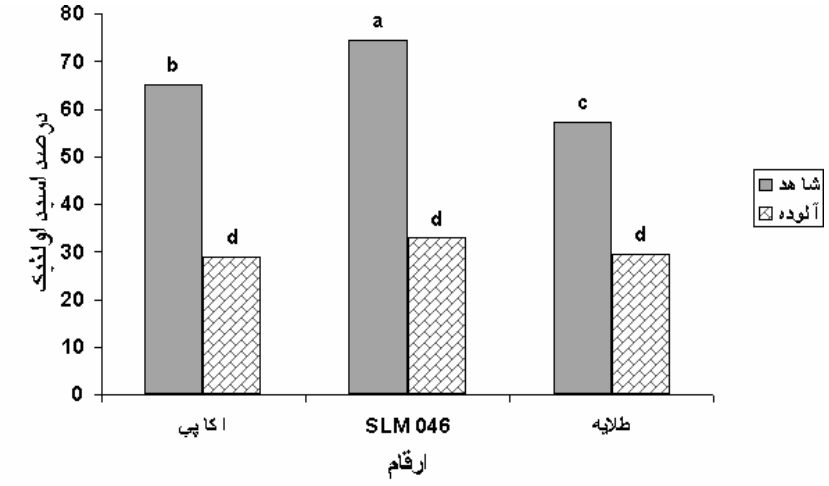
همان طوری که جدول ۲ نشان می‌دهد درصد اسید اروسیک در بین سه رقم مورد آزمایش و در بین گیاهان آلوده و شاهد اختلاف معنی‌دار نشان داده است. اثر متقابل بین رقم × آلودگی نیز در سطح احتمال ۱٪ اختلاف معنی‌دار نشان داد (جدول ۱).

به عبارت دیگر روند تغییرات درصد اروسیک درگیاهان شاهد و بیمارارقام مورد آزمایش یکسان نمی‌باشد (شکل ۱). هم‌چنین تفاوت درصد این اسید در گیاهان شاهد و بیمار رقم اکاپی بیشتر از دو رقم طلایه و SLM046 بود (شکل ۱). به علاوه میانگین درصد اسید اروسیک در گیاهان شاهد سه رقم، ۰/۷۰۵۸ و در گیاهان بیمار به ۳/۱۶ درصد افزایش یافته است (یعنی حدود ۴/۵ برابر). میزان اسید اروسیک در گیاهان شاهد با درصد اسید اولئیک هم‌بستگی مثبت و معنی‌دار نشان داد (r =+۰/۷۸۳) (جدول ۳)، اما بعد از آلودگی، هم‌بستگی منفی و معنی‌دار بین وزن هزار دانه و اسید اروسیک دیده شده است (r =۰/۷۴) (جدول ۴).

درصد اسید اولئیک نیز در گیاهان بیمار ارقام مورد آزمایش

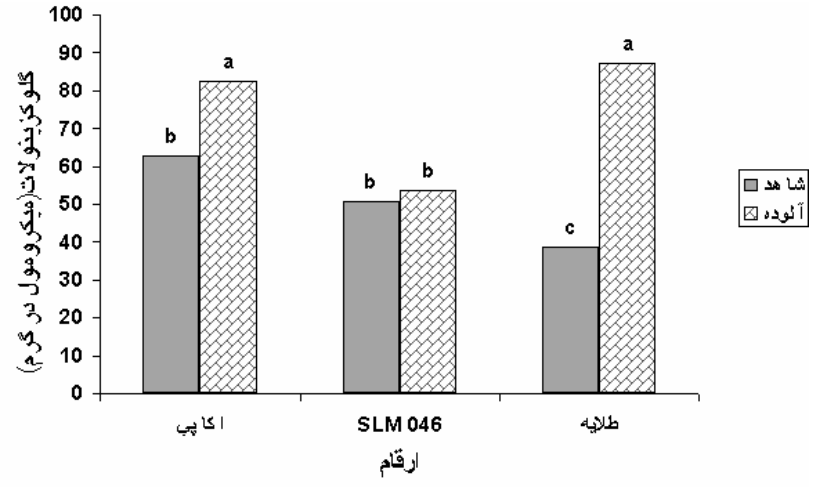


شکل ۱. میانگین میزان اسید اروسیک ارقام کلزا در گیاهان آلوده و شاهد حروف متفاوت در هر میانگین بیانگر اختلاف معنی‌دار می‌باشد.



شکل ۲. میانگین میزان اسید اولئیک ارقام کلزا در گیاهان آلوده و شاهد حروف متفاوت در هر میانگین بیانگر اختلاف معنی‌دار می‌باشد.

نسبت به شاهد در سطح احتمال ۱٪ اختلاف معنی‌دار نشان داد (جدول ۱). اثر متقابل رقم × آلودگی همانند اسید اروسیک در اسید اولئیک نیز معنی‌دار بود (شکل ۲). این امر نشان‌دهنده واکنش‌های متفاوت ارقام برای این اسیدهای چرب در برابر آلودگی بود. اندازه‌گیری درصد اسید اولئیک در گیاهان شاهد و آلوده ارقام نشان داد که رقم SLM046 غیرآلوده با ۷۴/۲۶۷ درصد اسید اولئیک و رقم اکاپی در حالت آلودگی با ۲۸/۸۶۸ درصد اسید اولئیک به ترتیب بیشترین و کمترین درصد را به خود اختصاص دادند (شکل ۲). در کل با توجه به جدول ۲ مشخص می‌گردد که در گیاهان شاهد سه رقم مورد آزمایش، میانگین درصد اسید اولئیک برابر ۶۵/۵۶ درصد و در گیاهان بیمار سه رقم برابر ۳۰/۴۰۵۵ درصد برآورد شده است. به عبارت دیگر در اثر بیماری، میزان اسید اولئیک ۵۳/۶۲ درصد کاهش پیدا کرده است. هم‌چنین درصد اسید اولئیک در گیاهان شاهد با درصد اسید اروسیک هم‌بستگی مثبت و معنی‌دار داشت ($r = +0/783$)، ولی با صفات دیگر هم‌بستگی نشان نداد (جدول ۳). در صورتی که در اثر آلودگی با *S. sclerotiorum* هم‌بستگی بین اسید اروسیک و اسید اولئیک از بین رفت و در نتیجه



شکل ۳. نمودار پاسخ میزان گلوکزینولات ارقام کلزا در گیاهان آلوده و شاهد حروف متفاوت در هر میانگین بیانگر اختلاف معنی‌دار می‌باشد.

تغییرات میزان اسید اولئیک هیچ گونه هم‌بستگی با سایر صفات مورد مطالعه نشان داد (جدول ۴). کاهش کمیت و کیفیت روغن به دست آمده از بوته‌های بیمار کلزا توسط McCartney نیز گزارش گردیده است به ویژه این‌که آلودگی گیاه با *S. sclerotiorum* موجب تغییر در میزان اسیدهای چرب روغن شده و با افزایش اسید اوروسیک و اسید دگزاد کاترینوئیک کیفیت آن را به شدت کاهش می‌دهد و در حقیقت با نتایج به‌دست آمده از این پژوهش انطباق کامل دارد (۱۷). از طرف دیگر سن‌جای و همکاران نیز گزارش کرده‌اند که افزایش اسیدهای چرب مضر مانند اسید اوروسیک در کلزا باعث کاهش میزان اسیدهای چرب مفید مانند اسید اولئیک و اسید لینولیک می‌گردد (۲۲).

میزان گلوکزینولات

میزان گلوکزینولات در بین ارقام در سطح احتمال ۵٪ و در بین گیاهان آلوده و شاهد همین ارقام در سطح احتمال ۱٪ اختلاف معنی‌دار نشان داد. هم‌چنین اثر متقابل رقم × آلودگی در سطح احتمال ۵٪ برای میزان گلوکزینولات معنی‌دار بود. به عبارت بهتر ارقام مورد آزمایش برای میزان گلوکزینولات در برابر آلودگی واکنش‌های متفاوت نشان دادند (جدول ۱). بیشترین میزان گلوکزینولات در گیاهان بیمار رقم طلایه و کمترین مقدار گلوکزینولات در گیاهان شاهد همین رقم به ترتیب برابر ۸۷/۲۵۳ و ۳۸/۷۶۷ میکرومول در گرم بود (شکل ۳). هم‌چنین در گیاهان شاهد سه رقم اکاپی، طلایه و SLM046 میانگین میزان گلوکزینولات ۵۰/۷۸۸۹ و در گیاهان بیمار برابر ۷۴/۵۱۷۸ میکرومول در گرم اندازه‌گیری شد به عبارت بهتر آلودگی گیاهان سه رقم توسط *S. sclerotiorum* موجب افزایش ۴۶/۷۲ درصد گلوکزینولات در کنجاله آنها گردیده است.

از طرف دیگر میزان گلوکزینولات درگیاهان شاهد با هیچ یک از صفات دیگر مورد مطالعه هم‌بستگی معنی‌دار نداشت اما پس از آلودگی با درصد روغن، هم‌بستگی منفی و معنی‌دار نشان داده است (r =-۰/۹۱۱) (جداول۳ و ۴). به عبارت دیگر با افزایش میزان گلوکزینولات، درصد روغن به طور معنی‌دار کاهش یافته است. این صفت در گیاهان شاهد ارقام با بقیه صفات مورد مطالعه ارتباط معنی‌دار ندارد. والس‌گرا و همکاران نیز افزایش میزان گلوکزینولات در گیاه کلزای آلوده به *S. sclerotiorum* را گزارش کرده و این افزایش، یک نوع مقاومت در مقابل آلودگی قارچ ذکر شده است (۲۳). جنسون و همکاران ضمن اشاره به اثر عوامل بیماری‌زا و تنش‌های خشکی به ویژه در مراحل رویشی و تولید گل را نیز عامل بسیار مؤثر

در افزایش میزان گلوکز نیولات و کاهش وزن و اندازه دانه معرفی کرده‌اند (۱۳). راولیسون و همکاران (۲۱) افزایش میزان گلوکزینولات‌ها را به عنوان عکس‌العمل دفاعی کلزا در مقابل عوامل بیماریزای زنده یاد کرده است، اما گیاموستاریس و میتن با آلوده‌سازی ۳۳ لاین کلزا توسط Alternaria spp، *ptosphaeria maculan* در شرایط مزرعه نشان دادند که رابطه محکمی بین میزان گلوکزینولات و مقاومت گیاه کلزا در مقابل *Leptospheria maculans* و *Alternaria Spp* وجود ندارد (۱۰).

صرف‌نظر از نوع رقم مورد آزمایش، آلودگی با قارچ *S. sclerotiorum* موجب کاهش وزن هزاردانه به میزان ۵۴/۸۵ درصد می‌گردد. از طرف دیگر اندازه‌گیری درصد روغن نشانگر این امر است که آلودگی موجب کاهش ۲۶/۹۷ درصدی روغن در ارقام مورد آزمایش می‌شود. از طرف دیگر بین وزن هزاردانه و میزان روغن به‌دست آمده در گیاهان شاهد هم‌بستگی منفی معنی‌دار به اثبات رسید. هم‌زمان با این تغییرات روند تغییرات اسید اروسیک در گیاهان شاهد و بیمار ارقام مورد آزمایش نسبت به آنچه که در اندازه‌گیری وزن هزاردانه و درصد روغن مشاهده گردید متفاوت است زیرا که اولاً درصد این اسید هم در بین سه رقم و هم در بین گیاهان آلوده و شاهد ارقام مختلف معنی‌داربود. ثانیاً میانگین درصد این اسید در گیاهان آلوده نسبت به شاهد از افزایش بسیار زیاد و در حد ۴۴۸ درصدی برخوردار بود. همین روند در تغییرات درصد اسید اولئیک نیز مشاهده گردید با این تفاوت که برعکس تغییرات اسید اروسیک در گیاهان آلوده، میزان اسید اولئیک کاهش ۵۳/۲ درصدی نسبت به گیاهان شاهد نشان داد. مجموع نتایج به‌دست آمده از این آزمایش نشانگر آثار منفی بیماری پوسیدگی اسکلروتینیایی روی کمیت و کیفیت روغن به‌دست آمده از دانه‌های کلزا می‌باشد.

سپاسگزاری

بدین وسیله از مسئولین و همکاران آزمایشگاهی مرکز تحقیقات دانه‌های روغنی که در انجام این پروژه نهایت همکاری صمیمانه را مبذول داشته و زحمات زیادی متقبل شدند، تشکر و قدردانی می‌شود.

منابع مورد استفاده

۱. آلیاری، هـ .، ف. شکاری و ف. شکاری. ۱۳۷۹. *دانه‌های روغنی، زراعت و فیزیولوژی*. انتشارات عمیدی.
۲. احمدی، م. ر.، ۱۳۷۶. اهمیت گلوکزینولات‌ها و روش تعیین آنها در دانه کلزا، ماهنامه زیتون. ۱۳۳ (۴۶، ۴۷ و ۶۱).
۳. براری، ح. ۱۳۷۹. *پراکندگی پوسیدگی اسکلروتینائی ساقه کلزا در مازندران*. خلاصه مقالات چهاردهمین کنگره گیاه‌پزشکی ایران (جلد دوم)، دانشگاه صنعتی اصفهان.
۴. بی‌نام. ۱۳۸۱. گزارش وضعیت عمومی زراعت دانه‌های روغنی کشور تا پایان تیر ماه ۱۳۸۱. شرکت سهامی خاص توسعه دانه‌های روغنی، تهران.
۵. بی‌نام. ۱۳۸۲. معرفی آزمایشگاه شیمی تجزیه. بخش تحقیقات دانه‌های روغنی. مؤسسه تحقیقات اصلاح و تهیه نهال و بذر، کرج.
۶. سعادت لاجوردی، ن. ۱۳۵۹. *دانه‌های روغنی*. انتشارات دانشگاه تهران.
۷. عزیزی، م.، ا. سلطانی و س. خاوری خراسانی. ۱۳۷۸. *کلزا*. جهاد دانشگاهی مشهد.
8. Aggarwal, R. A. K., A. Kumar and H. L. Thkur. 1997. Effect of *Sclerotina* rot on oil quality in low erucic acid cultivars of rapeseed. Cruciferae- Newsletter 19. 103-104.
9. Clement, R. E. 1990. Gas Chromatography: Biochemical, Biomedical and Clinical Application. Jhon Wiley & Sons Pub., New York.
10. Giamoustais, A. and Mithen, L. 1997. Glucosinolates and disease resistance in oilseed rape (*Brassica napus* ssp.

Oleifera). Plant Pathol 46: 271-275.
11. Heitefuss, R., K. Konig, A. Obst and M. Research. 1986. Pflanzen- Krankheiten und Schaedling in Akerbau. 2. Auflage, DLG- Verlag Pub., Frankfurt.
12. Huang, H. C., Dueck. J. 1980. Wilt of sunflower from infection by myceliogenic germination of sclerotia of *Sclerotinia sclerotiorum*. Can. J. Bot. 76: 494-499.
13. Jensen, C. R., V.O. Mogensen, G. Mortensen, J. K. Fieldsend, G. F. J. Miford, M. N. Andersen and J. H. Thage. 1996. Seed glucosinolate, oil and protein contents of field grown rape (*Brassica napus* L.) affected by soil drying and evaporative demand. Field Crop Res. 47: 93-105.
14. Kaushik, N. and A. Agnihotri. 1999. High- performance liquid chromatographic method for separation and quantification of intact glucosinolates. Chromatographia 49: 281-284.
15. Kohn, L. M. 1979a. A monographic revision of the genus Sclerotinia. Mycotaxon 9: 365-444.
16. Kurger, W., W. R. Marquard and E. Schosser. 1981. Plant disease product II. Influence of stem canker *Sclerotinia sclerotiorum* (Lib) deBary on quality of rapeseed. Abst. Rev. Plant Pathol. 60 (6): 29 49
17. Mc Carteny, H. A. and K. J. Doughty. 1999. A study of the effect of disease on seed quality parameters of oilseed rape. New horizons for oil crop. Proceeding of the 20th International Rapeseed Cougress. Canberra Australia.
18. Mollers, C. 2002. Development of high oleic acid oilseed rape. Proceeding of 8th International Conference for Renewable Resources and Plant Biotechnology, NAROSSA, Magdebury.
19. Morra, R. A. A., J. Dueck, D. L. Mckenzie and D. C. McGee. 1976. Some aspects of *Sclerotinia sclerotiorum* in Saskatchewan, 1970-75. Can. Plant Dis. Sur. 56 (2): 56-62.
20. Purdy, L. H. 1955. A broader concept of species *Sclerotinia sclerotiorum* based on variability. Phytopathol. 45: 427-427.
21. Rawilnson, CJ., Kj. Doughty, CJ. Boc., VJ. Church, GFJ. Milford, KK. Fieldsend. 1989. Diseases and responses to disease and pest control on single and double- low cultivars of winter oilseed rape. Aspect of Appl. Biol. 23: 398-400.
22. Sanjay J. Jambhulkar and D. C. Joshua. 2004. Gammaray induced ′00′ lines in *Brassica napus*. http:// www. regional. org. au/au/gcirc/4/406. htm.
23. Wallsgrove, R., R. Bennett., G. Kiddle., E. Bartlet and Mueller. 1999. Glucosinolate biosynthesis and pest / disease intractions proceeding of the 10th international rapeseed congress. Canbera. Australia.
24. Whitfor, W. 1985. The roules of 1000-Seed weight determination. Seed Sci. and Technol. 13(2): 342-343.