Archive of SID

فصلنامه علمی - پژوهشی گیاه و زیست بوم
سال ۷ ، شماره ۲۵ ، بهار ۱۳۹۰

ارزیابی واکنش ارقام مختلف لوبیا نسبت به ۵ جدایه از قارچ *Rhizoctonia solani* در گلخانه

آزاده بهلولی[۱] ، ساسان فرهنگیان کاشانی [۱*]

چکیده

لوبیا (*Phaseolus vulgaris*) در بین حبوبات بیش‌ترین سطح زیر کشت را در جهان بخود اختصاص دارد و با داشتن حدود ۲۲ درصد پروتیین در جیره غذایی مردم از اهمیت زیادی برخوردار است. بیماری پوسیدگی ریزوکتونیایی طوقه و ریشه لوبیا ناشی از قارچ *Rhizoctonia solani* یکی از مهم‌ترین بیماری‌های این محصول در ایران می‌باشد. در این تحقیق، طی سال‌های زراعی ۱۳۸۵-۱۳۸۴ از مناطق عمده لوبیاکاری استان تهران که نمونه‌برداری شد در کل ۸۱ جدایه، جداسازی، خالص و نگهداری شد.

در آزمون مقایسه‌ی واکنش ارقام از 15 رقم اصلاح شده لوبیای چیتی، قرمز، سفید، سبز و چشم بلبی استفاده شد. این ارقام در برابر ۵ جدایه Rs7 ، Rs18 ، Rs21 ، Rs62 ، Rs74 که بالاترین بیماری‌زایی را در آزمون بیماری‌زایی از خود نشان دادند، در گلخانه و در طرح بلوک‌های کاملاً تصادفی در قالب فاکتوریل با ۴ تکرار (۱۵ بذر در هر گلدان) مورد بررسی قرار گرفتند. نتایج نشان داد که هیچ کدام از ارقام، مقاومت کاملی نسبت به این بیماری ندارند و تمامی ارقام به این بیماری حساس و نیمه حساس و فقط دو رقم لوبیای قرمز گلی و قرمز صیاد با میانگین شدت بیماری‌زایی ۲/۵۸ و ۲/۹ (در مقیاس ۵-۱) نسبت به بیماری نیمه مقاوم بودند.

کلمه‌های کلیدی: بیماری‌زایی، قارچ، لوبیا، مقاومت

۱- دانشگاه آزاد اسلامی، واحد شهرری، گروه کشاورزی، تهران، ایران
* مسئول مکاتبه. (sfarhangiyan@yahoo.com)

تاریخ دریافت: بهار ۱۳۸۸ تاریخ پذیرش: پاییز ۱۳۸۸

www.SID.ir

Archive of SID

مقدمه

حبوبات (Pulse) یا Food and grain legumes، دانه‌های خشک و سبز خوراکی هستند که به خانواده‌ی بقولات (Leguminosae) تعلق دارند. بذور رسیده و خشک حبوبات ارزش غذایی زیاد و قابلیت نگهداری خوبی دارند و یکی از مهم‌ترین منابع سرشار از پروتیین (۱۸ تا ۳۲ درصد) می‌باشند. طبق مطالعه‌های انجام شده، ترکیب مناسبی از پروتیین حبوبات با غلات می‌تواند سوءتغذیه و کمبود اسیدهای آمینه را برطرف سازد و از طرف دیگر با توجه به توانایی تثبیت ازت در گیاهان، قرار دادن آن‌ها در تناوب به پایداری سیستم‌های زراعی کمک می‌کند (باقری، ۱۳۸۰). طبق آمار موجود، سطح زیر کشت حبوبات در کشور ۱۰۱۳۶۳۷ هکتار و تولید آن ۶۷۰ هزار تن است (بی‌نام، ۱۳۸۳). لوبیا (*Phaseolus vulgaris* L.) در بین حبوبات در جهان، از نظر سطح زیر کشت و ارزش غذایی مقام اول را دارا است. در ایران این گیاه در سطحی حدود ۱۱۵ هزار هکتار کشت می‌شود و لوبیا استحصالی از آن ۲۱۸ هزار تن است. همچنین لوبیا با میانگین عملکرد ۳۰۱۷ کیلوگرم در هکتار نسبت به سایر حبوبات دارای بالاترین عملکرد در کشور است (بی‌نام،۱۳۸۳). این محصول با داشتن حدود ۲۲ درصد پروتیین از نظر ارزش غذایی جایگزین خوبی برای گوشت به شمار می‌رود. با توجه به مطالب بالا ضرورت انجام مطالعه و تحقیق پیرامون مسائل و مشکلات مربوط به لوبیا بیش از پیش احساس می‌شود. بدون شک در راه دستیابی به عملکرد بالاتر محصول، عوامل زیادی نقش دارند و در این راستا مدیریت عوامل بیماری‌زای گیاهی در خور توجه است. بیماری‌های گیاهی همواره به عنوان یکی از عوامل مهم در کاهش بازدهی محصولات کشاورزی مطرح بوده و به استناد آمارهای منتشر شده، سالیانه حدود ۱۷ درصد از محصولات کشاورزی در اثر خسارت ناشی از بیماری‌های گیاهی از بین می‌رود (آهون‌منش، ۱۳۷۹). متأسفانه لوبیا نیز در طول رشد خود مورد حمله آفات و عوامل بیماری‌زای زیادی قرار می‌گیرند که پوسیدگی بذر و مرگ گیاهچه ناشی از قارچ *Rhizoctonia solani Kuehn* یکی از شایع‌ترین و مهم‌ترین بیماری‌های آن می‌باشد. با نگاهی کوتاه بر گزارش‌های منتشره در رشته بیماری‌شناسی گیاهی، مشخص می‌شود که جنس Rhizoctonia، ۳ درصد کل بیماری‌های گیاهی دنیا را تشکیل می‌دهد (Ogoshi, 1996). قارچ *R. solani* بیمارگری خاکزی است که مرگ گیاهچه، پوسیدگی بذر، پوسیدگی ریشه و طوقه و همچنین بیماری‌هایی در اندام‌های هوایی لوبیا ایجاد می‌کند. گسترده بودن دامنه میزبانی، انتشار وسیع جغرافیائی، بالا بودن قدرت بیماری‌زایی، دوام و قدرت بقاء ساپروفیتی این قارچ را از نظر بیماری‌زایی با اهمیت کرده و از طرفی، پیچیدگی محیط خاک و عدم کارآیی روش‌های متداول شیمیایی، مدیریت بیماری‌های خاکزاد را مشکل می‌سازد. از این رو استفاده از ارقام مقاوم در ترکیب با تناوب زراعی و سایر روش‌ها در کنترل تلفیقی توصیه می‌شود (Panella & Ruppel, 1996). یکی از مهم‌ترین شیوه‌های مبارزه بر علیه بیماری‌های گیاهی، تولید و بکارگیری ارقام مقاوم به بیماری‌های گیاهی است که در طی آن فیزیولوژی، ساختمان و یا محل زندگی میزبان مورد نظر به صورت موقت یا دائم به گونه‌ای تغییر می‌یابد که از آلودگی فرار (Escape) ویا در مقابل آلودگی مقاومت کرده (Resistance) و یا عکس العمل کم‌تری بروز داده و آن را تحمل (Tolerance) می‌کند (آهون‌منش، ۱۳۷۹). بنابراین

www.SID.ir

Archive of SID

استفاده از ارقام مقاوم، مؤثرترین و امن‌ترین روش زیست محیطی در مدیریت بیماری‌های گیاهی است. قارچ *R. solani* انتشار جهانی دارد و حتی در خاک‌های کشت نشده نیز یافت می‌شود. دامنه میزبانی گسترده، قدرت بقای ساپروفیتی بالا و خاکزی بودن این قارچ کارآیی روش‌های زراعی و شیمیایی را کم می‌کند تا اندازه‌ای که ریشه‌کنی بیماری ممکن نمی‌باشد(Panella & Ruppel, 1996) کاملاً مشخص است که بهترین روش کنترل این بیماری استفاده از روش‌های تلفیقی شامل عملیات زراعی، قارچ کش‌ها و واریته‌های مقاوم می‌باشد (باقری، ۱۳۸۰). تاکنون در حدود ۵۹ رقم لاین مادری و ژرم پلاسم با مقاومت مؤثر در برابر ریزوکتونیا از محصولات زراعی مختلف به ثبت رسیده است. بنابراین استفاده از لاین‌های مقاوم به همراه رعایت تناوب زراعی و سایر تدابیر زراعی یک مدیریت بسیار مؤثر برای کنترل بیماری را فراهم می‌کند(Panella & Ruppel, 1996). امروزه برای ایجاد ارقام مقاوم با بهره‌گیری از علم مهندسی ژنتیک گیاهان تراریخته مقاوم به بیماری‌های گیاهی تهیه شده است. دیدگاه‌های مورد استفاده در توسعه‌ی گیاهان ترانسژن مقاوم به بیماری‌های ریزوکتونیایی محدود به بیان ژن‌های کد کننده پروتئین‌های ضد قارچی می‌باشد (Cornelissent, 1996).

اولین رقم لوبیا در سال ۱۹۵۴ به نام uribe redono با مقاومت نسبتاً بالا به R.solani معرفی شد. بعد از آن یک ژن مقاوم به R.solani در رقم لوبیا lima bean کشف کردند که به صورت یک ژن غالب به ارث می‌رسید. ارقام ۵۴ Venzuela و ۱۶۵۴۲۶ .P.I با مقاومت بالا نسبت به آلودگی ریزوکتونیایی ریشه در لوبیا گزارش شده است (Prasad & Weigle, 1970). تراوشات ارقام دارای دانه‌های تیره دارای ترکیبات فنلی هستند، که این ترکیبات بازدارنده رشد قارچ R.solani است. گزارش‌های زیادی بیانگر ارتباط بین پوشش تیره و مقاومت لوبیا به قارچ *R.solani* است (Beeb *et al.,* 1987) البته لوبیاهایی با دانه‌های سفید هم به عنوان ارقام مقاوم گزارش شده است. ۴۶ ژنوتیپ لوبیا برای مقاومت علیه Mungbea Yellow Mosaic، Anthrachose و *R. solani* ارزیابی شدند که ۲۰ ژنوتیپ به هر ۳ بیماری ذکر شده مقاومت نشان دادند ولی در شرایط آزمایشگاهی (ارزیابی درون شیشه‌ای) این ژنوتیپ‌ها هیچ مقاومتی به R.solani از خود نشان ندادند (Sekhar *et al.,* 2001). اولین گزارش در مورد مرگ گیاهچه و پوسیدگی بذر و ریشه لوبیا در ایران در سال ۱۳۴۵ توسط منوچهری و قنادزاده از اطراف کرج ذکر شده است. این محققین خسارت بیماری را در کرج حدود ۵٪ گزارش دادند.

مواد و روش‌ها

نمونه برداری از مزارع لوبیا

در طی فصول زراعی ۱۳۸۵-۱۳۸۴ نمونه‌برداری در مراحل مختلف رشد از اوایل اردیبهشت ماه تا پایان فصل برداشت لوبیا انجام گرفت. نمونه‌برداری از مناطق مهم کشت لوبیا در استان تهران شامل شهرستان‌های کرج، ورامین، پیشوا، هشتگرد، دماوند، شهرری، لواسانات و شهریار انجام گرفت. در هر مزرعه با توجه به سطح زیر کشت آن چند نمونه لوبیا (به طور متوسط ۵ عدد در هکتار) که علائم ظاهری بیماری را داشتند با استفاده از بیلچه از خاک خارج و پس از حذف مقداری از خاک‌های اطراف ریشه درون کیسه‌های نایلونی گذاشته شدند.

در آزمایشگاه پس از قطع اندام‌های هوایی لوبیا، ناحیه طوقه و ریشه که دارای نشانه‌های مشکوک به

www.SID.ir

Archive of SID

بیماری بودند، در زیر جریان ملایم آب به مدت ۱۰-۱۵ دقیقه خاک‌های آن‌ها کاملاً شسته شدند، سپس قطعه‌های کوچکی به اندازه ۵×۵ میلی‌متر با تیغ تشریح از مرز ناحیه آلوده و سالم جدا کرده و در هیپو کلریت سدیم ۱۰ درصد (۰/۵ درصد کلر) به مدت دو دقیقه برای بافت‌های ضخیم‌تر و به مدت یک دقیقه برای بافت‌های نازک‌تر قرار گرفت تا گندزدائی سطحی انجام شود. برای زدودن ماده‌ی گندزدا قطعه‌های جدا شده ۲-۳ مرتبه با آب مقطر سترون شسته شد و سپس توسط کاغذ صافی سترون خشک شد. آنگاه تحت شرایط کاملاً سترون (زیر هود) به تشتک پتری دارای محیط کشت PDA (Potato, Dextrose, Agar) منتقل شد.

محیط کشت سیب زمینی دکستروز آگار (Potato Dextroe Agar)

مقدار ۳۹ گرم ازمحیط کشت در یک لیتر آب مقطر حل و سپس داخل اتوکلاو و دردمای ۱۲۱ درجه سانتی‌گراد و فشار ۱/۵ اتمسفر به مدت ۲۰ دقیقه سترون شد. پس از سترون شدن محیط کشت لازم است یک آنتی‌بیوتیک به آن اضافه شد تا دچار آلودگی باکتریایی نشود. برای این کار از سولفات استرپتومایسین به میزان ۵۰ mg/lit استفاده شد که پس از سرد شدن محیط کشت (حدودا ۵۰ درجه سانتی‌گراد) به آن آنتی بیوتیک اضافه شد. به نظر Singelton (1992) این محیط برای بررسی خصوصیات مورفولوژیکی قارچ R.solani مناسب است.

محیط کشت انتخابی (Ko and Hora agar) R. solani

این محیط کشت از ترکیب مواد زیر در یک لیتر آب مقطر تهیه شد (Ko & Hora, 1971).

$NaNO_2$	200mg
K_2HPO_4	1g
$MgSO_4.7H_2O$	500mg
KCL	500mg
$FeSOo_2.7H_2O$	10mg
Gallic acid	400mg
Dexon , 70 wp	63mg
Chloram phenicol	50mg
Streptomycin Sulfate	50mg
Agar	20mg
Distilled Water	1L

بعد از اتو کلاو کردن محیط و سرد شدن آن (تا دمای ۵۰ درجه سانتی‌گراد) اسید گالیک، دکسون و آنتی‌بیوتیک اضافه شد. از این محیط کشت برای جداسازی قارچ R. solani از خاک استفاده می‌شود. برای این منظور ۱ گرم خاک خشک و نرم با ۱۰ میلی‌لیتر آب سترون بهم زده شد و رقت‌های مختلفی از آن تهیه و ۰/۲ میلی‌لیتر از هر کدام روی محیط کشت منتقل شد. کشت‌های انجام شده در آزمایشگاه در دمای ۲۵c-۲۲ در شرایط تاریکی داخل انکباتور نگهداری شدند. پس از ۲ تا ۴ روز رشد قارچ در محیط کشت مشهود بود.

مایلو و همکاران برای جداشدن بهتر R. solani از ترکیب محیط کشت آب آگار و متالاکسیل (۵ میلی‌گرم متالاکسیل + ۱ لیتر آب آگار ۲ درصد) استفاده کردند (Muyolo *et al.,* 1993). آزمون بررسی واکنش ارقام مختلف لوبیا به R.solani همانند روش آزمون بیماری‌زایی انجام شد (بند ۱۰-۳). در این آزمون از ۱۵ رقم اصلاح شده لوبیا تهیه شده از گروه زراعت و اصلاح نباتات دانشکده کشاورزی کرج در شرایط گلخانه استفاده شد (جدول ۱). ۵ جدایه $Rs_7(AG_4)$، $Rs_{18}(AG_4)$، $Rs_{21}(AG_4)$، $Rs_{62}(AG_4)$، $Rs_{74}(AG_4)$ که به عنوان بیماری‌زا ترین جدایه‌های در آزمون

www.SID.ir

Archive of SID

بیماری‌زایی مشخص شده بودند، برای انجام این آزمایش انتخاب شد. مایه‌زنی با قرار دادن بذرهای گندم و جو آلوده به قارچ در عمق ۳ cm خاک صورت گرفت. گلدان‌های شاهد بذر گندم و جو سالم سترون دریافت کردند. آزمایش با ۴ تکرار (۱۵ بذر در هر گلدان) و در قالب بلوک کامل تصادفی در قالب فاکتوریل در شرایط گلخانه با ۱۶ ساعت روشنایی و دمای ۲۵-۳۵ درجه سانتی‌گراد اجرا شد. درصد مرگ و میر گیاهچه‌ها تا شش هفته بعد از کاشت یادداشت‌برداری شد و آزمایش دو مرتبه تکرار شد.

پیشرفت بیماری بر اساس روش مایلو و همکاران انجام شد و شدت بیماری براساس مقیاس ۱ تا ۵ به ترتیب نشان‌دهنده‌ی واکنش‌های ایمنی، مقاوم، نیمه مقاوم، نیمه حساس و حساس می‌باشد (Muyolo *et al.*, 1993).

۱- هیچگونه خسارت و لکه‌ای روی طوقه پدید نمی‌آید = ایمن

۲- لکه‌های سوخته سطحی و جدا از هم = مقاوم

۳- لکه‌های سوخته سطحی و جدا از هم و ساقه را دور نمی‌زند = نیمه مقاوم

۴- پوسیدگی توسعه یافته و ساقه را دور می‌زند = نیمه حساس

۵- مرگ گیاهچه = حساس

نتایج

نشانه‌های بیماری ناشی از حمله‌ی قارچ *R.solani* روی لوبیا در مزرعه متنوع می‌باشد. نخستین علامت بیماری که در سطح خاک مشاهده می‌شود، پژمردگی برگ‌ها و تغییر رنگ آنهاست. نشانه‌ی پوسیدگی بذر، زخم روی ساقه، پوسیدگی ریشه و طوقه و مرگ گیاهچه در مزارع آلوده به این قارچ مشاهده شد. مرگ گیاهچه قبل از سبز (Pre emergence Damping-off) و یا بعد از آن (Post-emergence Damping-off) صورت می‌گیرد. در حالت اول گیاهچه قبل از استقرار در خاک و رشد توسط قارچ مورد حمله واقع شده و کاملاً از بین می‌روند. آثار این عارضه در مزرعه به صورت لکه‌های خالی و بدون گیاه مشاهده شد. در مواقعی حمله قارچ پس از جوانه‌زنی بذر و خروج گیاهچه از خاک صورت می‌گیرد، که بستگی به شدت حمله دارد، بوته‌ها سبزخشک شده یا کم رشد باقی می‌مانند. بیماری پوسیدگی ریشه و طوقه ریزوکتونیایی و مرگ گیاهچه لوبیا از یک لکه (زخم) قهوه‌ای دقیقاً در زیر سطح خاک شروع شده و تا هیپو کوتیل را احاطه کرد، زخم‌های آلوده در ریشه و یا در طوقه عمق بیش‌تری پیدا می‌کنند و بیمارگر به نقاط مختلف ریشه حمله و زخم‌های آبسوخته‌ای روی آن ایجاد می‌کند که گاهی اوقات ترک‌هایی روی این زخم‌ها دیده می‌شود، در این حالت گیاهچه‌ها در سطح خاک افتاده و می‌میرند و بیش‌ترین خسارت را در این محصول ایجاد می‌کند. ریشه‌ها درجه‌های متفاوتی از پوسیدگی قهوه‌ای تا سیاه را نشان دادند که معمولاً از منقطه طوقه شروع و تا انتهای ریشه اصلی ادامه می‌یابد. شانکر یا شکاف‌های عمیق در ناحیه طوقه و در کنار ریشه‌های بیمار امری عادی است. بافت ریشه پوسیده در مواردی هم به دلیل حمله سایر عوامل دیگر از قبیل قارچ‌ها و باکتری ها نرم می‌شود. مرگ گیاهچه و پوسیدگی ریشه و طوقه لوبیا در تمام مناطق لوبیاکاری استان تهران مشاهده شد. در برخی مناطق خسارت حاصل از این بیماری بالا و در برخی نیز خسارت لکه‌ای بود. از حدود ۳/۲ نمونه‌های جمع‌آوری شده، ریزوکتونیا جدا شد که بر فراوانی

www.SID.ir

نسبتاً بالای این بیمارگر دلالت دارد. این آزمایش برای یافتن حساس‌ترین و مقاوم‌ترین رقم لوبیا صورت گرفت و از ۵ جدایه ریزوکتونیا (Rs7, Rs21, Rs18, Rs62, Rs74) به دلیل بیماری‌زایی نسبتاً بالا به عنوان نماینده برای ارزیابی مقاومت ۱۵ رقم لوبیا اصلاح شده در طرح بلوک‌های کاملاً تصادفی در قالب فاکتوریل استفاده شد. مقایسه‌ی میانگین شدت آلودگی مورد بررسی به روش دانکن (جدول ۳)، آن‌ها را به سه گروه از نظر درجه حساسیت تقسیم کرد. رقم قرمز گلی با شدت آلودگی ۲/۵۶ مقاوم‌ترین رقم و رقم سبز سانری با شدت آلودگی ۴/۸۹ (در مقیاس ۱-۵) حساس‌ترین آن‌ها بود. با توجه به جدول تجزیه واریانس (جدول۲) بین تیمارهای مختلف از نظر میزان شدت بیماری و مقاومت در سطح یک درصد اختلاف معنی‌دار وجود داشت و چون در بین داده‌ها (X) صفر وجود داشت از تبدیل X+1/2 استفاده و سپس این داده‌ها مورد تجزیه و تحلیل آماری قرار گرفته‌اند. تجزیه واریانس داده‌ها نشان داد که جدایه‌های قارچ از نظر بیماری‌زایی نیز در سطح یک درصد با هم تفاوت دارند و RS21 و RS71 به ترتیب بیش‌ترین و کم‌ترین بیماری‌زایی را از خود نشان دادند. همچنین بین جدایه‌ها قارچ و ارقام مختلف یکسان نمی‌باشد. هیچکدام از رقم‌های مرود استفاده در این بررسی مقاومت کاملی به بیماری پوسیدگی ریزوکتونیایی ریشه و طوقه از خود نشان ندادند و فقط ۲ رقم قرمز گلی و قرمز صیاد نسبت به این بیماری نیمه مقاوم بودند. به طور کلی مقاومت ارقام لوبیا به کار برده شده در این آزمایش نسبت به جدایه‌های قارچ R.solani مورد آزمایش یکسان نبوده است. با بررسی مراحل تجزیه خوشه‌ای مشخص شد که می‌توان ارقام را در سه گروه دسته‌بندی کرد. ارقام گلی و صیاد به عنوان ارقام نیمه مقاوم و بقیه ارقام در دو گروه حساس و نیمه‌حساس دسته‌بندی شدند.

جدول ۱- نوع و نام ارقام لوبیا در آزمون مقاومت

ردیف	شماره رقم	نوع لوبیا	نام رقم
۱	R1	قرمز	بهمن
۲	R2	قرمز	گلی
۳	R3	قرمز	صیاد
۴	R4	قرمز	ناز
۵	R5	سفید	دهقان
۶	R6	سفید	صدف
۷	R7	سفید	مرمر
۸	R8	سفید	یاس
۹	R9	سفید	دانشکده
۱۰	R10	سبز	سانری
۱۱	R11	سبز	ویکر
۱۲	R12	سبز	کانتاندر
۱۳	R13	چیتی	دانشجو
۱۴	R14	چیتی	شاد
۱۵	R15	چیتی	تلاش

www.SID.ir

Archive of SID

جدول ۲- جدول تجزیه واریانس ارزیابی مقاومت ارقام لوبیا نسبت به ۵ جدایه بیماریزای R. solani

منابع تغییرات	درجه آزادی	مجموع مربعات	میانگین مربعات	F
ارقام (A)	۱۵	۱۱۴/۴	۷/۶۳	۲۵۱/۱۹**
جدایه قارچ (B)	۵	۱۰۷/۷	۲۱/۵۴	۷۰۹**
AB	۷۵	۲۷/۶	۰/۳۶	۱۲/۱۲**
تکرار	۳	۰/۰۴	۰/۰۱	۰/۴
E(AB)	۲۸۵	۸/۶۵	۰/۰۳	–
کل	۳۸۳	۲۵۸/۴	–	–
ضریب تغییرات (CV)	–	–	۶/۳۷	–

** اختلاف در سطح یک درصد معنی‌دار است.

جدول ۳- مقایسه میانگین شدت بیماری و ارزیابی مقاومت ارقام لوبیا نسبت به قارچ *R.solani*

رقم	شدت بیماری *	گروه‌بندی آماری **	مقاومت ***
سانری	۴,۸۴	a	حساس
شاد	۴,۸	a	حساس
صدف	۴,۷۱	a	حساس
یاس	۴,۶۹	ab	حساس
پرستو	۴,۶۵	ab	حساس
دانشکده	۴,۴۳	b	حساس
مرمر	۴,۳۱	c	حساس
ویکر	۴,۲۲	cd	حساس
کانتاندر	۳,۹۱	cde	نیمه حساس
تلاش	۳,۸۴	de	نیمه حساس
دهقان	۳,۶۹	ef	نیمه حساس
ناز	۳,۵۵	fg	نیمه حساس
دانشجو	۳,۳۵	gh	نیمه حساس
بهمن	۳	hi	نیمه حساس
صیاد	۲,۹	hi	نیمه مقاوم
گلی	۲,۵۸	i	نیمه مقاوم

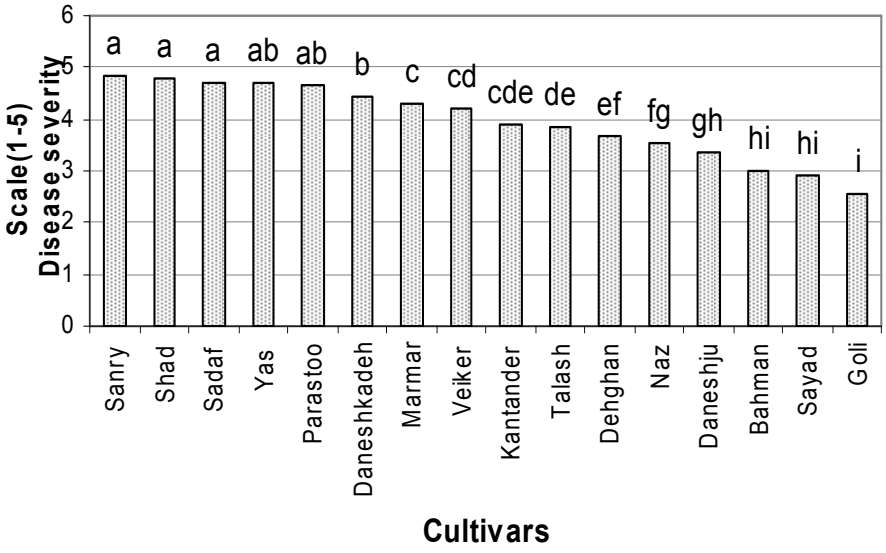
* اعداد جدول میانگین چهار تکرار است.

** تیمارهایی که به حروف مختلف نشان داده شده‌اند، در آزمون دانکن در سطح یک درصد با یکدیگر اختلاف معنی‌دار دارند.

*** شدت بیماری ۵-۴ حساس، ۴-۳ نیمه حساس، ۳-۲ نیمه مقاوم، ۲-۱مقاوم.

www.SID.ir

Archive of SID



شکل ۱ - عکس العمل ارقام لوبیا به ۵ جدایه منتخب قارچ *R.solani* در گلخانه

شکل ۲- تهیه مایه تلقیح آلوده کننده قارچ *R.solani* با کمک بذر گندم و جو برای انجام تست بیماری‌زایی و ارزیابی میزان مقاومت ارقام لوبیا در گلخانه

www.SID.ir

Archive of SID

شکل ۳ مقایسه گیاهچه سالم (وسط) و گیاهچه‌های آلوده به قارچ *R.solani* پس از انجام تست بیماری‌زایی

بحث

با توجه به این که نمونه‌برداری از همه‌ی مناطق کشت لوبیا در استان تهران انجام شد، به نظر می‌رسد که بیش‌تر مناطق کشت این محصول تحت تأثیر قارچ R. solani عامل پوسیدگی بذر و مرگ گیاهچه باشند. در برخی مناطق خسارت حاصل از بیماری بالا و در برخی از مناطق خسارت لکه‌ای بود. نشانه‌های بیماری شامل کم رشدی و زردی به طور غیر یکنواخت در سطح مزارع بود (بهداد، ۱۳۷۷).

وجود لکه‌های قهوه‌ای مایل به قرمز روی طوقه و ریشه که با پیشرفت بیماری لکه‌ها بزرگ شده و بهم می‌پیوندند که در پایان سبب کاهش رشد می‌شوند و اگر این زخم‌ها دور ساقه را فرا گیرند سبب مرگ گیاه می‌شوند(Davis,2005;Sumner *et al.*, 1995؛ اخوت و بازگیر، ۱۳۷۲ ؛ بهداد، ۱۳۷۷). در مزارع استان تهران بار جنسی قارچ مشاهده نشد که ممکن است قارچ در شرایط نامساعد را توسط هیف‌ها و اسکلروت‌ها تحمل می‌کند (Agrios, 1997).

در اوایل فصل کشت لوبیا در مقایسه با اواخر فصل زراعی، قارچ عامل بیماری به نسبت بیش‌تری جداسازی شد. بیماری در مزارعی که تناوب زراعی را رعایت نمی‌کردند و چند سال متوالی لوبیا کاشته بودند بسیار شدید و همچنین مزارعی که زیاد آبیاری می‌شدند به دلیل عدم رعایت اصول زهکشی، آب در مزارع باقی می‌ماند و شیوع بیماری در این مزارع بسیار زیاد بود (Hall, 1991). با توجه به تأثیر نامطلوب این بیماری بر کمیت و کیفیت محصول، مشخص است که هر گونه اقدامی برای شناخت بیمارگر و دستیابی به روش‌های مدیریت آن، قابل توجه و از اهمیت بسزایی برخوردار خواهد بود.

مطالعه‌های انجام شده روی R.solani نشان می‌دهد که این قارچ یک گونه یکنواخت نمی‌باشد و کوشش‌هایی در زمینه شناسایی و تقسیم‌بندی آن به

www.SID.ir

Archive of SID

گروه‌های ریزتر و حتی گونه‌های بیش‌تر انجام شده است. این گونه عامل مرگ گیاهچه، پوسیدگی ریشه و طوقه وبلایت برگی لوبیا بوده و تنوع ژنتیکی بسیار بالائی از جمعیت آن گزارش شده است، بنابراین به آن گونه مرکب اطلاق شده است (Vilgalys & Cubeta, 1994). در این بررسی از سطح استان تهران ۸۱ جدایه R.solani جمع‌آوری و خصوصیات ظاهری پرگنه آن‌ها از قبیل شکل، رنگ، اسکلروت و اندازه و فرم تشکیل آن‌ها، سرعت رشد و موارد دیگر مورد بررسی واقع شد. قارچ R.solani به آسانی بر روی محیط کشت‌های عمومی مانند WA, PDA و CMA جدا می‌شود (Anderson *et al.,* 1982 ; Snech *et al.,* 1991 اخوت و بازگیر، ۱۳۷۲ ؛ صفایی، ۱۳۷۸).

بیش‌تر کلونی‌های قهوه‌ای از هفته اول اسکلروت تشکیل دادند و اسکلروت‌ها گرد، بیضی و یا بی‌شکل و به صورت مجتمع و یا پراکنده بودند. کلونی‌های سفید یا اسکلروت تشکیل ندادند و یا بسیار دیرتر از سایر جدایه‌ها اسکلروت تشکیل دادند و بسیار کوچک وکم بودند. شدت بیماری‌زایی این جدایه‌ها نیز، به نسبت کم‌تر بود که با بررسی Snech (2000) تا اندازه‌ای برابری داشت. سرعت رشد بیش‌تر جدایه‌های R. solani بسیار زیاد و به طور متوسط ۲/۹ – ۳/۶ سانتی‌متر در روز بود.

برای تعیین تعداد هسته از رنگ‌آمیزی توسط محلول‌های رنگ آمیزی توسط سافرانین قلیایی استفاده شد که تمام جدایه‌ها (به جز دو لایه) در گروه ریزوکتونیاهای چند هسته‌ای قرار گرفتند. قطر هیف‌ها هم اندازه‌گیری شد، قارچ R. solani دارای هیف‌های قطوری می‌باشد که قطر هیف‌ها بین ۵-۱۰ میکرومتر بود (Snech *et al.,* 1991 ; Parmeter, 1970 ؛ بازگیر، ۱۳۷۲، صفایی، ۱۳۷۸).

قنادزاده و منوچهری (۱۳۴۵) برای اولین بار قارچ R. solani را عامل بوته میری لوبیا در اطراف کرج گزارش کرده است. همچنین این قارچ را از برخی اقلام گیاهان دیگر با گروه‌های متفاوت جداسازی کرده بودند.

در آزمون بیماری‌زایی، جدایه‌ها بر روی رقم اصلاح شده ناز آزمایش شدند. بیماری‌زایی جدایه‌های Rs74, Rs62, Rs18, Rs21, Rs7 از همه بیش‌تر و شدت بیماری‌زایی جدایه Rs71 از همه کم‌تر بود و جدایه‌های متعلق به گروه آناستوموزی شش (AG-6) تقریباً غیر بیماری‌زا بودند که طبق نظریه Ogoshi (1987) , AG-6 از اساس غیر بیماری‌زا می‌باشد. این نتایج همبستگی بین رنگ جدایه‌ها و بیماری‌زایی آن‌ها را تا حدود زیادی تأکید کرد (Snech *et al.,* 1991). نتایج این تحقیق بیانگر وجود تنوع بالائی در بیماری‌زایی جدایه‌های R.solani متعلق به گروه آناستوموزی مختلف از لوبیا می‌باشد. اهمیت تنوع در بیماری‌زایی بیمارگرها، از زوایای مختلف، مورد توجه بیماری شناسان گیاهی و متخصصین اصلاح نباتات می‌باشد (Ceresini *et al.,* 2002 ; Carling *et al.,* 2002 ؛ محمودی، ۱۳۸۳).

مقایسه‌ی مقاومت ارقام لوبیا در مقابل جدایه‌های R.soani بیانگر این نظر است که مقاومت ارقام به صورت پیوسته تغییر می‌کند، بنابراین نمی‌توان یک رقم را در مقابل جدایه‌های به کار برده شده کاملاً مقاوم دانست و به نظر می‌رسد که مقاومت لوبیا نسبت به R, solani حالت نسبی داشته و یکنوع مقاومت پلی ژنتیک باشد. این چنین مقاومتی اصولاً در ارتباط با تعداد زیادی ژن می‌باشد. کامل نبودن مقاومت لوبیا به R. soani در کارهای Haward (1980) ، Sachin *et al* (2004) و

www.SID.ir

Archive of SID

Eoer *et al* (2003) نیز مورد اشاره قرار گرفته است و این موضوع یکی از مشکلات اصلی تهیه ارقام مقاوم به شمار می‌رود. نکته‌ی دیگر اینکه ممکن است یکنوع ارتباط مستقیم بین لوبیا نسبت به R. solani و تیرگی رنگ پوسته بذر لوبیا وجود دارد که این پدیده در کارهای صرافی و اخوت (۱۳۵۱) و Haward (1980) نیز مشاهده شده است. به این ترتیب دور از ذهن نیست اگر تصور شود که ژن‌های عامل مقاومت لوبیا به R. solani در ارتباط با ژن‌های تولید رنگدانه در پوسته بذر باشند که این موضوعی است که احتیاج به بررسی‌های بیش‌تری دارد. بعضی از محققین اظهار کردند که دانه‌های با پوشش تیره ورود پاتوژن را به داخل دانه‌ها محدود می‌کنند، به این دلیل که پوشش دانه محکم به کوتیلدون‌ها چسبیده و این امر سبب می‌شود که پوشش دانه بسیار کم شکاف بردارند. دومین عامل تولید فیتوالکسین‌ها در دانه‌های با پوشش تیره استکه در مقاومت آن‌ها به آلودگی گزارش شده است. تصور می‌شود که ژن رنگ دانه با ژن مقاومت به صورت پیوسته است (Prasad *et al.,* 1970). هیچ کدام از ارقام مورد استفاده در این بررسی مقاومت کامل نسبت به بیماری پوسیدگی ریزوکتونیایی از خود نشان ندادند و حساسیت ارقام صدف و شاد نسبت به پوسیدگی ریزوکتونیایی لوبیا که قبلا گزارش شده بود (بازگیر و همکاران، ۱۳۷۲) دوباره مورد تأیید قرار گرفت. پیشنهاد می‌شود که ارقام گزارش شده در دنیا را با رعایت اصول قرنطینه وارد کرده و به طور آزمایش در مناطقی کشت شوند. نظر به اینکه ارقام مقاوم دارای دانه‌هایی با رنگ تیره و ریز هستند که بازار پسندی بسیار پایینی دارند می‌توان از نظر ژنتیکی روی این دانه‌ها کار کرده و ژن مقاومت را استخراج و به دانه‌های مرغوب که از بازار پسندی خوبی بر خوردارند، اضافه کرد. برآورد میزان خسارت ناشی از تأثیر جدایه‌های R. solani بر روی تمامی ارقام لوبیا ثابت می‌کند که تفاوت مقاومت ارقام در مرحله‌ی قبل از خروج گیاهچه از خاک کم‌تر از مرحله‌ی بعد از خروج گیاهچه از خاک می‌باشد. این پدیده نشان می‌دهد که عامل یا عوامل مقاومت به تدریج اثرات خود را در طول دوره‌ی رشد گیاه ظاهر می‌سازند. بنابراین استفاده از لاین‌های مقاوم به همراه رعایت تناوب زراعی و سایر تدابیر زراعی یک مدیریت بسیار مؤثر برای کنترل این بیماری را فراهم می‌کند.

منابع

آهون‌منش،ع. ۱۳۷۹. اصول مبارزه با بیماری‌های گیاهی. مرکز نشر دانشگاه صنعتی اصفهان، صفحه ۳۲۴.

اخوت،م.، ع.بازگیر، ح.روحانی، و ع.کریمی روزبهانی. ۱۳۷۲. بررسی اثر چند قارچ آنتاگونیست Trichoderma بر قارچ *Rhizoctonia solani* عامل پوسیدگی و مرگ گیاهچه لوبیا. خلاصه مقالات یازدهمین کنگره گیاه‌پزشکی ایران، گیلان، صفحه ۱۳۷.

www.SID.ir

بازگیر،ع.، م.اخوت، ح.روحانی، و ع.کریمی روزبهانی. ۱۳۷۲. بررسی عکس العمل یازده رقم لوبیا در مقابل شش ایزوله *Rhizoctonia solani* در شرایط گلخانه، خلاصه مقالات یازدهمین کنگره گیاهپزشکی ایران، گیلان. صفحه ۱۳۹.

باقری،ع.، ع.محمودی، و ف.د.قزلی. ۱۳۸۰. زراعت و اصلاح لوبیا. انتشارات جهاد دانشگاهی مشهد، صفحه ۵۵۶.

بهداد،ا. ۱۳۷۳. عوامل بیماری‌زا وبیماری‌های مهم گیاهی ایران. انتشارات فلاحت ایران، اصفهان، صفحه ۴۵۶.

بی نام. آمارنامه کشاورزی. ۱۳۸۳. وزارت جهاد کشاورزی، معاونت برنامه‌ریزی و اقتصادی، جلد اول، محصولات زراعی و باغی سال زراعی ۱۳۸۱-۸۲، صفحه ۱۹۱.

صرافی،ا.، و م.اخوت. ۱۳۵۱. بررسی مقاومت پنج رقم لوبیا نسبت به ۳ جدا شده قارچ *Rhizoctonia solani Kuehn* در گلخانه. نشریه کشاورزی دانشگاه تهران، سال چهارم شماره۵۶: صفحه ۴۹-۳۰

صفائی،ن.، و.میناسیان، ح.رحیمیان، و ض.بنی هاشمی. ۱۳۷۸. جداسازی، تشخیص و بررسی بیماری‌زایی گونه‌های ریزوکتونیا از گیاهان مختلف در استان خوزستان. مجله بیماری‌های گیاهی، ۳۵: ۸-۱.

محمودی،س.ب. ۱۳۸۳. مقایسه روش‌های مختلف ارزیابی مقاومت ژنوتیپ‌های منتخب چغندر نسبت به پوسیدگی ریزوکتونیایی ریشه و طوقه. رساله دکتری رشته بیماری‌شناسی گیاهی. دانشکده کشاورزی دانشگاه تربیت مدرس، تهران. ۱۴۴ صفحه.

منوچهری،ع. و م.قنادزاده. ۱۳۴۵. از پا افتادگی گیاهچه های لوبیا در اطراف کرج. نشریه بیماری‌های گیاهی، ۳(۲): ۱-۹.

Agrios, G. 1997. plant pathology. 4th Edition. Academic press. 630 p. Anderson. N. A.1982. the genetic and pathology of *Rhizoctonia solani.* Ann Rev. Phyopathology, 20: 329-374.

Carling, D.E., S.Kuninaga, and A.Braind. 2002. Hyphal anastomosis reactions, rDNA- internal transcribed spacer sequences, and virulence levels among subsets of *Rhizoctonia solani* anastomosis group- 2(AG-2) and AG-BI. Phytopathology, 92: 43-50.

Ceresini, P.C., H.D.Shew, R.Vilgalys, J. and M.A.Cubeta. 2002 Genetic diversity of *Rizoctonia solani* AG-3 from potato and tobacco in North Carolina. Mycologia, 94: 437-449.

Cornelissent, B.J.C., M.P.Does, and L.S.Melchers. 1996. Strategies for molecular resistance breeding (transgenic plants). In: *Rhizoctonia* species: Taxonomy, Molecular Biology, Ecology, Pathology and Disease Control, eds. Sneh, B., Jabaji-Hare, s., Neate, S. and Dijist, G., pp. 526-536. Kluwer Academic Publishers. Dordrecht.

Davis, R.M., A.E.Hall, and A.Gilbertson. 2005. Dry beans seedling disease. UCIPM Pest Management Guidelins. Rev, 1:2.

Haward, F., and E.Schartz. 1980. Bean production problems, control international agricultural tropical (CIAT) Apartodo pereo, cali, Colombia:3-99.

www.SID.ir

Archive of SID

Ko, W., and F.Hora. 1971. A selective medium for quantitative deerrmination of *Rhizoctonia solani* in soil. Phytopathology, 61: 701-710.

Muyolo, N.G., S.E.Lipps, and A.F.Schmithenner. 1993. Reactions of dry lean, lima bean and soybean cultivars to Rhizoctonia root and hypocotyl rot and web blight. Plant Disease, 77:234-238.

Ogoshi, A. 1996. The genus *Rhizoctonia.* In: *Rhizoctonia* species: Taxonomy, Molecular Biology, Ecology, Pathology and Disease Control, eds. Snech, B., Jabaji- Hare, S., Neate. S. and Dijist, G., pp:1-9. Kluwar Academic Publishers. Dorsrecht.

Ogoshi, A. 1987. Ecology and Pathogenicity of anastomosis and intraspecific groups of *Rhizoctonia solani* Kuehn. Anna. Rev. Phytopatology, 25: 125-143.

Panella, L.W., and E.G.Ruppel. 1996. Avalibility of germplasm for resistance against Rhizoctonia ssp. In: *Rhizoctonia* species: Taxonomy, molecular Bilogy, Ecology Pathology and Disease Control. Eds, Sneh, B., Jabaji-Hare, S., Neate, S. and Dijst, G.,pp. 515-527. Kluwer Academic PuBLISHERS. Dordrecht.

Parmeter, J.R., and M.S.Withney. 1970. Taxonomy and nomenclature of the imperfect state. Pages 7-19 in: Parmeter, J. R., Jr. (e.) Biology and Pathology of *Rhizocotnia solani.* Univereity of Californha Pres, Berkeley.

Prasad, K., and J.L.Weigle. 1970. screening for resistance to Rhizoctonia solani in Phaseolus vulgaris. Plant Disease, 64:40-44

Sachin, U., S.K.Gupla, and M.K.Sharma. 2004. Evaluation of French bean (*Phaseolus vulgaris*) germplasm against web blight (*Rhizoctonia solani).* Indian Journal of agricultural Sciences, 74(8): 448-450.

Sekhar, N.R., C.Hari, and H.Chand. 2001. Screening of mungbean genotypes against root rot and leaf crinkle virus. Indian Journal of plant protection, 29(1-2_:57-61.

Sumner, D.R. 1995. Sclerotuim formation and development: Proceedings of 3 th International Symposium on *Rhizoctonia.* Noordwijkerhout, the Netherlands: 89.

Vilgalys, R., and M.A.Cubeta. 1994. Molecular systematic and population biology of *Rhizoctonia.* Ann. Rev.Phytopathology.,32:135

www.SID.ir