

گزینش لاین‌های جدید عدس مقاوم به بیماری پژمردگی فوزاریومی  
با عامل *Fusarium oxysporum* f.sp. *lentis* برای منطقه بیله سوار مغان

## Selection of New Lentil Lines Resistant to Wilt Disease Caused by *Fusarium oxysporum* f.sp. *lentis* , for Bilehsavar Region, Moghan

حمیدرضا پورعلی بابا<sup>۱</sup>، سیدحسین صباغ‌پور<sup>۲</sup>، اصغر مهربان<sup>۳</sup> و سلیمان اصغری<sup>۴</sup>

- ۱- مربی، مؤسسه تحقیقات کشاورزی دیم، مراغه
- ۲- استادیار، معاونت مؤسسه تحقیقات کشاورزی دیم، کرمانشاه
- ۳- محقق، مرکز تحقیقات کشاورزی و منابع طبیعی استان اردبیل، پارس آباد مغان
- ۴- کارشناس ترویج کشاورزی، بیله‌سوار، مغان

تاریخ دریافت: ۱۳۸۶/۴/۱۷ تاریخ پذیرش: ۱۳۸۶/۱۲/۱۰

### چکیده

پورعلی بابا، ح. ر.، صباغ‌پور، س. ح.، مهربان، ا.، و اصغری، س. ۱۳۸۷. گزینش لاین‌های جدید عدس مقاوم به بیماری پژمردگی فوزاریومی با عامل *Fusarium oxysporum* f.sp. *lentis* برای منطقه بیله سوار مغان. نهال و بذر ۲۴: ۴۴۴-۴۲۹.

بیماری پژمردگی فوزاریومی عدس با عامل *Fusarium oxysporum* f.sp. *lentis* (Vasd. and Srin.) Gordon در سال‌های اخیر به شدت در منطقه بیله سوار مغان ظاهر شده و باعث افت محصول و سطح زیرکشت آن شده است. در این آزمایش، عامل بیماری از گیاهان آلوده عدس جدا و برای ارزیابی واکنش تعدادی لاین پیشرفته در شرایط گلخانه به کار برده شد. لاین‌ها با دو روش آلوده‌سازی خاک استریل و غوطه‌ورسازی ریشه بریده در سوسپانسیون اسپور مایه‌زنی شدند. در شرایط مزرعه نیز واکنش این لاین‌ها با کاشت آنها در خاک آلوده طبیعی که آلودگی آن به عامل بیماری قبلاً به اثبات رسیده بود، ارزیابی شد. ارزیابی واکنش لاین‌ها در هر دو شرایط بر مبنای درصد گیاهان مرده بود. تجزیه کلاستر واکنش لاین‌ها در شرایط گلخانه‌ای و مزرعه‌ای منجر به انتخاب لاین‌هایی شد که در مدت دو سال در شرایط مزرعه‌ای مقاومت نشان دادند. در سال چهارم آزمایش، لاین‌های مقاوم منتخب برای بررسی صفات مختلف زراعی در شرایط مزرعه آلوده برای یک سال زراعی مورد بررسی قرار گرفتند. با توجه به نتایج ارزیابی‌ها، از ۳۲ لاین پیشرفته عدس، لاین‌های ILL7531 و ILL6037 برای کاشت در منطقه بیله سوار مغان انتخاب شدند.

واژه‌های کلیدی: عدس، پژمردگی فوزاریومی، *Fusarium oxysporum* f.sp. *lentis*، مقاومت.

نویسنده مسئول: hpourlibaba@yahoo.com

## مقدمه

در خصوص وجود یا عدم وجود تنوع بیماریزایی به مفهوم نژاد در این بیمارگر اختلاف نظر وجود دارد. کاره و همکاران (Khare et al., 1975)، کنایان (Kannaiyan, 1974) و کنایان ونن (Kannaiyan and Nene, 1978) معتقد به تنوع در شدت بیماریزایی (Virulence) بین جدایه‌ها بودند و نژادهایی را شناسایی کردند، اما ارسکین و بیاعه (Erskine and Bayaa, 1996)، بیاعه و همکاران (Bayaa et al., 1997) و بلاید و همکاران (Belabid et al., 2004) نشان دادند که تنوع بیماریزایی به مفهوم نژاد در این بیمارگر وجود ندارد و تنوع بیماریزایی ناشی از تفاوت در قدرت تهاجمی (Aggressiveness) جدایه‌هاست. بررسی رابطه بیمارگر و میزبان با استفاده از ۱۳ جدایه ایرانی و یک جدایه خارجی *Fusarium oxysporum* f.sp.lentis با سه رقم عدس نشان داد که بین جدایه‌ها تفاوت‌های ظاهری کلنی وجود دارد ولی از نظر شدت بیماریزایی روی ارقام تفاوت معنی‌داری مشاهده نشد و این مؤید عدم وجود تنوع نژادی عامل بیماریزا در ایران است (مشاهدات نگارنده اول). پانديا و همکاران (Pandya et al., 1980) با اعتقاد به وجود نژاد در این عامل بیماری، لاین Pant-406 عدس را در برابر هفت نژاد پیشنهادی کنایان (Kannaiyan, 1974) ارزیابی کردند و آن را مصون در برابر نژاد ۵، مقاوم به نژادهای ۳ و ۶ و نیمه مقاوم در برابر نژاد ۴

جنس فوزاریوم (*Fusarium*) یکی از مهم‌ترین قارچ‌های خاکزی است که گونه‌هایی از آن اهمیت اقتصادی ویژه‌ای دارند (Nelson et al., 1981). قارچ *Fusarium oxysporum* یکی از مهم‌ترین گونه‌های تغییرپذیر در بین گونه‌های فوزاریوم است که دارای فرم‌های اختصاصی و جمعیت‌های مختلفی بوده و در گیاهان متعدد ایجاد بیماری می‌کند (Sarami, 1998).

قارچ *Fusarium oxysporum* f.sp. *lentis* (Vasudeva and Srinivasan) Gordon از عوامل بیماریزای ریشه و ساقه عدس است و در تمام مراحل رشدی گیاه اعم از جوانه‌زنی بذر، گیاهچه و گیاه کامل به میزبان حمله می‌کند و باعث پوسیدگی بذر، مرگ گیاهچه، پژمردگی و پوسیدگی ریشه و ساقه می‌شود (Khare et al., 1979). در هند، هنگامی که دمای محیط به ۲۵ درجه سانتی‌گراد می‌رسد، علائم پژمردگی در مرحله گیاهچه، گلدهی و غلاف‌بندی بروز می‌کند (Kannaiyan and Nene, 1976). در چکسلواکی، در یک بررسی مشخص شد که گونه‌های مختلف فوزاریوم در ۷۵٪ نمونه‌های ارقام چک از جمله Okula، Trebiso، Lenka و یک رقم کانسادائی به نام Laird وجود داشته و عامل اصلی پژمردگی‌های مشاهده شده است (Bojdova and Sinsky, 1990). بین محققین

تشخیص دادند. این لاین با داشتن عملکرد ۱۰/۷۷ درصد بیشتر از سایر ارقام رایج و نیز مقاومت به پژمردگی و زنگ از میان ۹۵۷ لاین، مناسب برای کاشت در دامنه‌های هیمالیا تشخیص داده شد. در بررسی انجام شده توسط کنایان و نن (Kannaiyan and Nene, 1976)، ۳۲ لاین از ۱۵۸ لاین مورد بررسی به عنوان مقاوم تشخیص داده شدند که در میان آن‌ها لاین‌های Pusa3, YL 500, YL 674, YL 80 و Pont 1234 با داشتن صفات زراعی مناسب، بسیار امیدوارکننده بودند. در بررسی دیگری، ارزیابی ۱۶۲ لاین در گلخانه نشان داد که ۲۹ لاین مقاومت مناسبی داشته و لاین 78526013 با داشتن صفات مناسب زراعی، به عنوان لاین مناسب برای معرفی شناخته شد (Erksin and Bayaa, 1990). پرادهانانگ و همکاران (Pradhanang et al., 1993) با ارزیابی نمود لاین عدس برای مقاومت به این بیماری در شرایط طبیعی و کنترل شده، تمامی آن‌ها را به اضافه رقم Simal که به طور گسترده‌ای در شمال هند کشت می‌شود، حساس تشخیص دادند. عمر و همکاران (Omar et al., 1988) در ارزیابی ۱۲ لاین و رقم عدس در برابر بیماری‌های پژمردگی و پوسیدگی ریشه شامل *Fusarium solani*, *Rhizoctonia solani*, *F. moniliforme*, *F. oxysporum* و *Verticillium spp.*, *Gliocladium roseum* و *Pythium butleri*، رقم‌های H5 و H6، H81 را مقاوم، F29، K270 و F300 را نیمه مقاوم و

ILL16370 را حساس تشخیص دادند. منطقه بیله سوار مغان با سطح زیر کشت متوسط سالیانه ده هزار هکتار یکی از قطب‌های مهم تولید عدس کشور و استان اردبیل است. بیماری پژمردگی فوزاریومی از حدود ده سال پیش در این منطقه با شدت بالائی ظاهر شده است (گزارش‌های اداره حفظ نباتات بیله سوار). هم اکنون در ۷۰-۵۰٪ مزارع عدس با شدت‌های ۱۰۰-۷۰٪ وجود دارد (مشاهدات نگارنده اول) و خسارت زیادی به محصول دانه عدس وارد می‌کند. با در نظر گرفتن خسارت غیر مستقیم آن به دلیل از دست رفتن مهم‌ترین بهترین محصول در تناوب غلات منطقه، از بین رفتن علوفه برای دام و شیوع سایر بیماری‌های خاکزاد غلات به دلیل کشت پی‌درپی آن‌ها، همه ساله خسارت زیادی به اقتصاد منطقه که عمدتاً بر پایه کشاورزی است، وارد می‌شود.

با توجه به این که اقتصادی‌ترین و مؤثرترین روش کنترل این بیماری استفاده از ارقام مقاوم است، این آزمایش به منظور گزینش لاین‌هایی که علاوه بر مقاوم بودن، از صفات مناسب زراعی نیز برخوردار باشند، انجام شد.

#### مواد و روش‌ها

##### مشخصات جغرافیایی و اقلیمی محل اجرای

##### آزمایش

دشت مغان دارای طول و عرض جغرافیایی به ترتیب ۴۷/۲۴ شرقی و ۳۹/۲۷ شمالی، و ارتفاع آن از سطح دریا ۶۰ متر است. میانگین تعداد روزهای کاملاً آبریز حدود ۱۰۰ روز و

شرایط برای شناسائی استفاده شد (Booth, 1977). خالص سازی با استفاده از روش ترقیق مکرر سوسپانسیون ماکروکنیدی روی محیط آب آگار انجام شد که پس از جوانه زنی به محیط معمولی PDA منتقل شد. برای تکثیر مایه قارچ از محیط کشت مایع سیب زمینی - دکستروز استفاده شد (Omar et al., 1988).

#### آزمون بیماریزایی

از عدس رقم اردبیل به عنوان میزبان حساس جهت اثبات بیماریزائی استفاده شد. به این ترتیب که سوسپانسیون با غلظت  $10^5$  اسپور در میلی لیتر (Omar et al., 1988) تهیه شد و خاک ضد عفونی شده گلدان پس از کاشت بذره‌های عدس، با ۲۵۰ میلی لیتر سوسپانسیون مایه زنی شد. پس از ظهور علائم بیماری، عامل بیمارگر مجدداً جداسازی و شناسائی شد.

#### آزمون گلخانه‌ای

در سال اول (۱۳۸۰)، آزمایش با ۲۹ لاین پیشرفته عدس که از آزمایش‌های سازگاری عدس سال‌های ۸۰-۱۳۷۸ مؤسسه تحقیقات کشاورزی دیم انتخاب شده بودند به اضافه رقم حساس محلی بیل‌سوار به عنوان شاهد انجام شد. در سال‌های بعدی سه لاین پیشرفته دیگر که از آزمایش‌های سازگاری سال ۱۳۸۱ عدس انتخاب شده بودند (لاین‌هایی که با علامت ستاره مشخص شده‌اند) برای مقاومت به بیماری

تعداد روزهای مه‌آلود حدود ۲۰ روز در سال است. میانگین دمای سالانه ۲۱/۶ سانتی‌گراد و گرم‌ترین ماه سال مرداد ماه با ۲۷ و سردترین ماه سال دی ماه با ۴ درجه سانتی‌گراد است. متوسط بارندگی سالیانه ۲۴۱ میلی‌متر و با ۳۶ روز یخبندان جزو مناطق با اقلیم نیمه خشک و زیر اقلیم سرد محسوب می‌شود.

#### جداسازی قارچ عامل بیماری

گیاهان مشکوک به آلودگی به این بیماری از مناطق مختلف شهرستان بیل‌سوار که از مناطق شدیداً آلوده به این بیماری است جمع‌آوری شدند. پس از انتقال به آزمایشگاه، از قسمت‌های مختلف ساقه و انتهای شاخ و برگ قطعاتی به اندازه چند میلی‌متر تهیه شده و در محلول هیپوکلریت سدیم ۸٪ به مدت ۵-۲ دقیقه، بسته به زبری و لطافت بافت، غوطه‌ور و سپس با آب استریل شسته شدند. برای جداسازی، عامل بیماری، از محیط PDA که در آن غلظت سیب زمینی و دکستروز به نصف تقلیل یافته بود استفاده شد. برای تولید ماکروکنیدی از محیط کشت برگ میخک - آگار در شرایط دمای ۲۵ درجه سانتی‌گراد و رژیم نوری ۱۲ ساعت مخلوط نور سفید و نزدیک ماوراء بنفش (تامین شده به وسیله یک لامپ ۲۰ وات سیاه‌رنگ T9 Blacklight Blue Fluorescent, Schwan® و چهار لامپ فلورسنت معمولی) و ۱۲ ساعت تاریکی به مدت هفت روز استفاده شد. از ماکروکنیدی‌های تولید شده در این

آزمون شدند.

#### آلوده‌سازی خاک گلدان با سوسپانسیون اسپور

با تهیه سوسپانسیون اسپور به میزان  $10^5$  اسپور در میلی‌لیتر (Omar *et al.*, 1988)، اقدام به مایه‌زنی گلدان‌های حاوی خاک استریل (۴۵ دقیقه در دمای حدود ۷۰ درجه سانتی‌گراد) شد. به هر گلدان مقدار ۲۵۰ میلی‌لیتر سوسپانسیون اضافه شد و گلدان‌ها به مدت ده روز، روزانه با همان مقدار آب مقطر استریل، آبیاری شدند. در این مدت عامل بیماری در خاک تثبیت و توده هیف سفید رنگ در سطح خاک گلدان ظاهر شد. پس از این مرحله اقدام به کاشت بذرهاي آزمایشی که قبلاً به مدت هشت دقیقه در هیپوکلریت سدیم ۵/۲۵ درصد ضدعفونی شده بودند، در سه تکرار و هر تکرار حاوی پنج بذر در قالب طرح بلوک‌های کامل تصادفی شد. پس از دو ماه علائم پژمردگی در رقم حساس محلی و سپس به تدریج در سایر ارقام ظاهر شد.

#### آلوده‌سازی با فرو بردن نوک بریده ریشه در

#### سوسپانسیون اسپور

بذرها با هیپوکلریت سدیم ۵/۲۵ درصد به مدت هشت دقیقه ضدعفونی شدند و در تشتک‌های حاوی کاغذ صافی مرطوب در دمای ۲۰ درجه سانتی‌گراد نگهداری شدند. گیاهچه‌های ۱۲ روزه را از تشتک خارج و پس از قطع نوک ریشه با تیغ ضدعفونی شده، با غوطه‌ورسازی به مدت پنج دقیقه در سوسپانسیون اسپور با غلظت  $10^5$  اسپور در میلی‌لیتر (Omar *et al.*, 1988) مایه‌زنی شدند.

گیاهچه‌ها برای رشد به مخلوط خاک و ماسه (۱:۳) ضدعفونی شده منتقل شدند (پنج گیاهچه در هر گلدان) و در دمای ۲۵ درجه سانتی‌گراد و نور معمولی نگهداری شدند. خاک گلدان با آب مقطر استریل هفته‌ای دو بار آبیاری شد. برای هر تیمار سه تکرار در نظر گرفته شد.

یادداشت‌برداری در شرایط گلخانه پس از ظهور علائم بر مبنای درصد گیاهان مرده با روش پیشنهادی ارسکین و بیاعه (Erskin and Bayaa, 1990) انجام شد، به این ترتیب که کمتر از ۱٪ گیاه مرده به عنوان خیلی مقاوم (HR)، ۱۰-۲٪ به عنوان مقاوم (R)، ۲۰-۱۱٪ به عنوان نیمه مقاوم (MR)، ۵۰-۲۱٪ به عنوان نیمه حساس (MS) و بیش از ۵۰٪ گیاه مرده به عنوان حساس (S) در نظر گرفته شد. میانگین درصد گیاهان مرده مشاهده شده در تکرارها به عنوان نتیجه نهایی منظور شد.

#### آزمون مزرعه‌ای

این آزمایش به مدت چهار سال انجام شد. در سال اول (۸۱-۱۳۸۰) همزمان با آزمون گلخانه‌ای ۲۹ لاین پیشرفته عدس برای مقاومت به بیماری ارزیابی شدند. در سال دوم و سوم آزمایش (۸۳-۱۳۸۲) آن دسته از لاین‌هایی که علائم حساس تا خیلی حساس نشان داده بودند حذف شده و بقیه لاین‌ها همراه با سه لاین پیشرفته جدید مجدداً مورد ارزیابی قرار گرفتند. در سال چهارم آزمایش (۱۳۸۵) چهار لاین پیشرفته مقاوم انتخاب شده، از نظر خصوصیات

زرعی بررسی شدند.

در این آزمایش‌ها، قطعه‌ای از یک مزرعه که سابقه آلودگی شدید به پژمردگی فوزاریومی داشت در روستای گوگ تپه بيله سوار مغان شناسایی و انتخاب شد. نمونه‌های گیاه آلوده طی چند سال از این مزرعه جمع‌آوری و به آزمایشگاه منتقل و عامل بیماری جداسازی، خالص‌سازی و شناسایی شده بود. کشت سوسپانسیون خاک روی محیط زاپک دو کس آگار، وجود *F. oxysporum* و در موارد معدودی حضور سایر عوامل خاکزاد نظیر *Rhizoctonia solani* و *Fusarium solani* را نیز نشان داد. جمعیت *Fusarium oxysporum* f.sp. *lentis* با استفاده از روش ترقیق مکرر روی محیط کشت کومادا (Windels, 1992) تعیین شد. واحدهای تشکیل دهنده کلنی (Colony Forming Unit: CFU) طی سال‌های تحقیق حدود  $10^5 * 1/8$  بود.

در سال‌های تحقیق و در ماه‌های آبان الی دی تعداد ۴۰۰ بذر از لاین‌های پیشرفته عدس در دو خط دو متری (هر خط حاوی ۲۰۰ بذر) با فاصله خطوط ۲۵ سانتی‌متر و فاصله تیمارها نیم متر از یکدیگر در قالب طرح بلوک‌های کامل تصادفی در سه تکرار کاشته شدند. بعد از هر پنج لاین دو ردیف رقم حساس محلی اردبیل کاشته شد. برای ارزیابی لاین‌ها در مزرعه نیز درصد بوته مرده برای هر لاین منظور شد. به این ترتیب که درصد بوته‌های مرده کمتر از ۵٪ به

عنوان خیلی مقاوم (HR)، ۲۰-۶٪ به عنوان مقاوم (R)، ۴۰-۲۱٪ به عنوان نیمه مقاوم (MR)، ۶۰-۴۱٪ به عنوان نیمه حساس (MS)، ۸۰-۶۱٪ به عنوان حساس و تلفات بیش از ۸۰٪ به عنوان فوق حساس (HS) در نظر گرفته شد (Kannaiyan, 1974). میانگین درصد بوته‌های مرده سه تکرار به عنوان نتیجه نهائی منظور شد.

#### ارزیابی صفات مختلف لاین‌های منتخب در

##### مزرعه آلوده

این آزمون به منظور بررسی ویژگی‌های زراعی چهار لاین مقاوم منتخب از آزمایش‌های قبلی در شرایط مزرعه آلوده منطقه بيله سوار مغان با کاشت در کرت‌های ده متر مربعی (شامل ده خط چهار متری با فاصله خطوط ۲۵ سانتی‌متر) و در چهار تکرار انجام شد. ویژگی‌های مذکور شامل درصد سبز که در آن درصد سبز ۹۰ یا بیشتر به عنوان خیلی خوب، ۸۹-۸۰٪ به عنوان خوب، ۷۹-۷۰٪ به عنوان قابل قبول، ۶۹-۶۰٪ به عنوان ضعیف و کمتر از ۶۰٪ به عنوان خیلی ضعیف در اوایل سبز شدن در کرت یادداشت‌برداری شد. ویژگی‌های دیگر شامل تعداد روز تا گلدهی (تعداد روزهای پس از کاشت تا زمانی که ۵۰٪ گیاهان دارای گل می‌شد)، تعداد روز تا رسیدگی (تعداد روز پس از کاشت تا زمانی که ۹۰٪ گیاهان به بلوغ می‌رسید) و بالاخره وزن صد دانه و میزان محصول در هکتار یادداشت‌برداری شد.



جدول ۱- درصد گیاهان مرده و عکس العمل لاین های پیشرفته عدس در برابر عامل پژمردگی عدس در شرایط گلخانه و مزرعه (سال زراعی ۸۱-۱۳۸۰)

Table 1. Percentage of dead plants and reactions of advanced lentil lines to *Fusarium oxysporum* f.sp. *lentis* in the glasshouse and field (2001-02) conditions

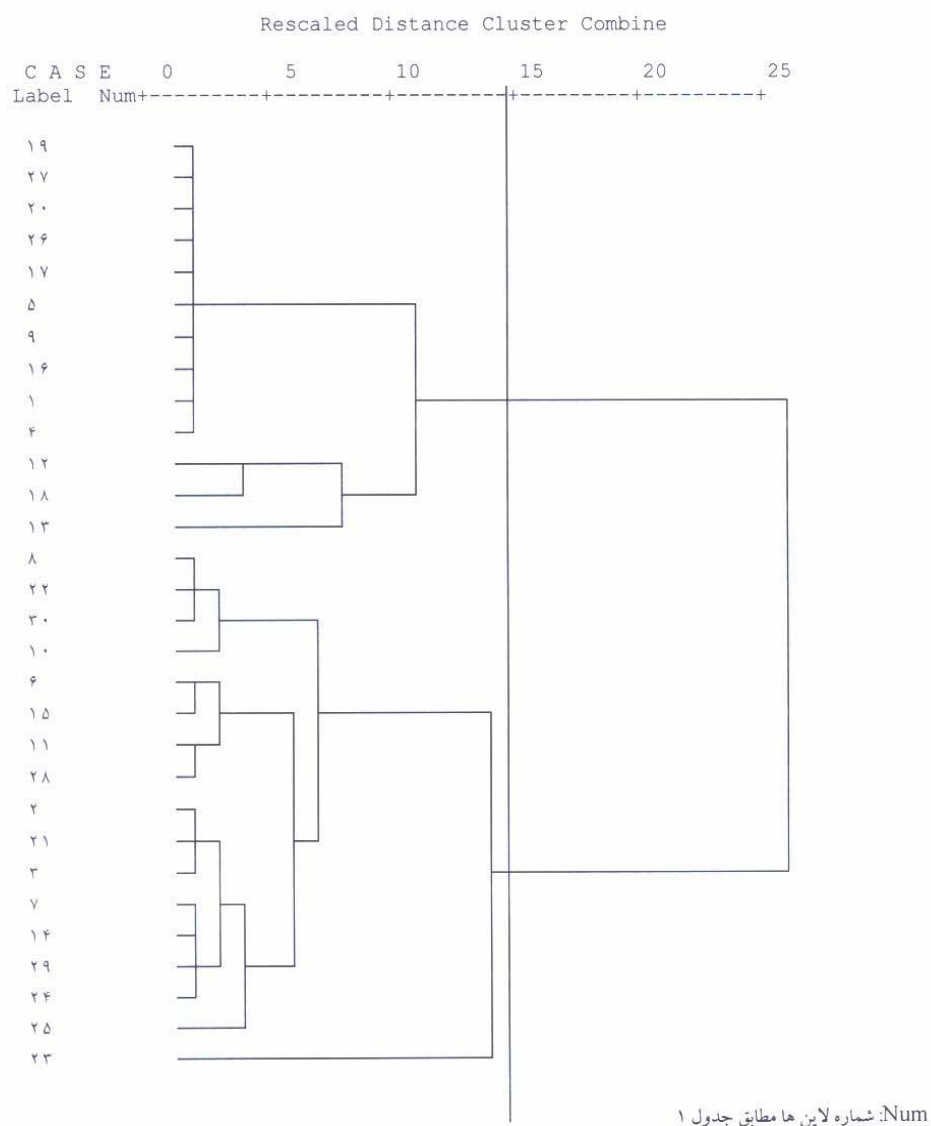
شماره لاین Line No.	نام Name	Glasshouse		گلخانه		مزرعه	
		آلوده سازی خاک گلدان		غوطه ورسازی در سوسپانسون اسپور		Field	
		Infected pot soil		Immersing in spore suspension			
		درصد گیاهان مرده % Dead plants	واکنش Reaction	درصد گیاهان مرده % Dead plants	واکنش Reaction	درصد گیاهان مرده % Dead plants	واکنش Reaction
1	ILL52	1.8	R	10.0	R	3.67	HR
2	ILL325	75.0	S	67.4	S	97.00	HS
	ILL323*	74.7	S	61.8	S	-	-
3	ILL465	85.0	S	60.8	S	97.67	HS
4	ILL590	12.8	MR	15.3	MR	5.00	HR
5	ILL759	0.0	HR	15.8	MR	5.00	HR
6	ILL780	31.8	MS	50.2	S	97.00	HS
7	ILL857	51.8	S	71.8	S	81.67	HS
8	ILL975	57.8	S	74.3	S	60.00	MS
9	ILL1875	0.0	HR	15.8	MR	2.00	HR
10	ILL4400	47.5	MS	100.0	S	49.67	MS
11	ILL6002	32.5	MS	69.6	S	92.33	HS
12	ILL6030	45.8	MS	30.7	MS	34.33	MR
13	ILL7523	43.5	MS	73.8	S	12.67	R
14	ILL5468	61.4	S	69.0	S	80.00	S
15	ILL6212	42.6	MS	57.3	S	100.00	HS
16	ILL6206	0.0	HR	15.8	MR	8.33	R
	ILL6434*	2.0	R	16.3	MR	-	-
	SLL*	45.2	MS	31.0	MS	-	-
17	Cabralinta	2.0	R	15.8	MR	29.33	MR
18	FLIP95-15L	32.5	MS	43.0	MS	61.00	S
19	FLIP97-1L	0.0	HR	10.0	R	16.00	R
20	FLIP82-1L	0.0	HR	15.8	MR	22.00	MR
21	FLIP92-15L	70.5	S	69.6	S	100.00	HS
22	FLIP96-9L	61.7	S	80.3	S	60.00	S
23	FLIP92-12L	100.0	S	74.3	S	33.00	MR
24	FLIP96-4L	70.0	S	81.0	S	82.67	HS
25	ILL7946	63.5	S	100	S	99.33	HS
26	ILL6037	0.0	HR	15.8	MR	19.33	R
27	ILL7531	0.0	HR	10.0	R	14.67	R
28	Ghazvin	27.5	MS	74.3	S	77.67	S
29	Gachsaran	54.7	S	75.6	S	92.00	HS
30	Local check	55.0	S	77.5	S	51.67	MS

\*: Lines added in following years

\*: لاین هایی که در سال های بعد افزوده شدند

HR: Highly Resistant; R: Resistant; MR: Moderately Resistant; MS: Moderately Susceptible; S: Susceptible; HS: Highly Susceptible.





Num : Line numbers as appeared in Table 1

شکل ۱- دندروگرام لاین‌های پیشرفته عدس بر مبنای میانگین درصد گیاهان مرده در اثر آلودگی به بیماری پژمردگی فوزاریومی ناشی از *Fusarium oxysporum* f.sp. *lentis* در شرایط گلخانه و مزرعه

Fig. 1. Clustering of lentil promising lines based on mean percentage of dead plants to wilt disease caused by *Fusarium oxysporum* f.sp. *lentis* in the glasshouse and field conditions

تجزیه واریانس مرکب درصد گیاهان مرده لاین‌های پیشرفته عدس در برابر بیماری پژمردگی جدول ۲-  
در مزرعه آلوده در بیله سوار مغان در *Fusarium oxysporum* f.sp. *lentis* فوزاریومی ناشی از

سال‌های ۸۳-۸۲

Table 2. Combined analysis of variance for percentage of dead plants of lentil promising lines to wilt disease caused by *Fusarium oxysporum* f.sp. *lentis* in the highly infected field in Bilehsavar, Moghan during 2003-04

S.O.V.	منبع تغییرات	درجه آزادی df.	میانگین مربعات MS
Year (Y)	سال	1	326.344*
Error	خطا	4	27.521
Line (L)	لاین	15	1306.227**
Y × L	اثر متقابل سال × لاین	15	101.544**
Error	خطا	60	9.721
C.V%	ضریب تغییرات		12.160

\*\* و \*: به ترتیب معنی‌دار در سطوح آماری ۱ درصد و ۵ درصد.

\* and \*\*: Significant at 5% and 1% of probability levels, respectively.

باتوجه به نتایج گلخانه‌ای و مزرعه‌ای در این سه سال (جدول‌های ۱ و ۳)، لاین‌های FLIP97- و ILL6037، ILL7531، ILL590 IL جهت بررسی صفات زراعی انتخاب شدند. ارزیابی صفات مختلف لاین‌های منتخب در مزرعه آلوده

این آزمایش با توجه به ابعاد کرت‌ها در شرایطی نزدیک به شرایط کشاورزان انجام شد. رقم حساس محلی که به عنوان شاهد انتخاب شده بود درصد تلفات بالای ۴۰٪ از خود نشان داد و دانه‌های حاصل از بوته‌های آلوده به شدت چروکیده بودند، اما لاین‌های ILL590، ILL6037، ILL7531 و FLIP97-1L در این سال هم عکس‌العمل مقاومت از خود نشان دادند. نتایج نشان داد که بین لاین‌ها از نظر میزان

شدت آلودگی بیشتری از سال اول (با میانگین ۲۳/۷۹) داشته است (جدول ۳). مقایسه میانگین لاین‌ها برای درصد تلفات در دو سال آزمایش به روش دانکن در سطح ۱٪ در جدول ۳ نشان داد لاین‌های ILL590، ILL6434 و ILL6037 با داشتن میانگین درصد تلفات به ترتیب ۱۵/۵، ۱۶/۳۳ و ۱۶/۶۷ و همچنین لاین‌های ILL52، ILL759، ILL7531 و FLIP97-1L با میانگین درصد تلفات به ترتیب ۹/۱۶۷، ۱۱/۶۷، ۱۴ و ۸/۳۳ در گروه لاین‌های مقاوم (R) قرار گرفتند (Kannayian, 1974). مقایسه میانگین اثر سال × لاین نشان داد که این لاین‌ها در دو سال آزمایش با داشتن درصد گیاه مرده زیر ۲۰٪ مقاوم بوده‌اند (جدول ۳).

جدول ۳- مقایسه میانگین درصد گیاهان مرده لاین‌های پیشرفته عدس در برابر بیماری پژمردگی فوزاریومی ناشی از *Fusarium oxysporum* f.sp. *lentis* در مزرعه آلوده در مدت دو سال (۱۳۸۲-۸۳)

Table 3. Mean comparison of percentage of dead plants of lentil promising lines to wilt disease caused by *Fusarium oxysporum* f.sp. *lentis* in the highly infected field for two years (2003-2004)

اثر لاین و سال Line and Year effects		واکنش سال * لاین Year x Line interaction	
تیمار Treatment	درصد گیاه مرده Percentage of dead plant	تیمار Treatment	درصد گیاه مرده Percentage of dead plant
<b>Year</b>		Y <sub>1</sub> xL <sub>1</sub>	11.67 hijk
First year(Y <sub>1</sub> )	27.48 a	Y <sub>1</sub> xL <sub>2</sub>	11.67 hijk
Second year(Y <sub>2</sub> )	23.79 a	Y <sub>1</sub> xL <sub>3</sub>	45.00 abcdef
<b>Line</b>		Y <sub>1</sub> xL <sub>4</sub>	18.33 ghijk
FLIP97-1L(L <sub>1</sub> )	8.33 d	Y <sub>1</sub> xL <sub>5</sub>	56.67 ab
ILL7531(L <sub>2</sub> )	9.167 d	Y <sub>1</sub> xL <sub>6</sub>	14.67 hijk
FLIP82-1L(L <sub>3</sub> )	45.83 abc	Y <sub>1</sub> xL <sub>7</sub>	21.00 fghijk
ILL6037(L <sub>4</sub> )	16.67 cd	Y <sub>1</sub> xL <sub>8</sub>	22.33 efghijk
Cabralinta(L <sub>5</sub> )	49.17 ab	Y <sub>1</sub> xL <sub>9</sub>	13.33 hijk
ILL759(L <sub>6</sub> )	14.00 d	Y <sub>1</sub> xL <sub>10</sub>	15.00 hijk
ILL1875(L <sub>7</sub> )	20.17 bcd	Y <sub>1</sub> xL <sub>11</sub>	26.67 defhijk
ILL6206(L <sub>8</sub> )	22.00 bcd	Y <sub>1</sub> xL <sub>12</sub>	30.00 cdefhijk
ILL52(L <sub>9</sub> )	11.67 d	Y <sub>1</sub> xL <sub>13</sub>	33.33 abcdefghi
ILL590(L <sub>10</sub> )	15.50 cd	Y <sub>1</sub> xL <sub>14</sub>	48.33 abcd
ILL7532(L <sub>11</sub> )	29.17 abcd	Y <sub>1</sub> xL <sub>15</sub>	58.33 a
FLIP95-15L(L <sub>12</sub> )	33.33 abcd	Y <sub>1</sub> xL <sub>16</sub>	13.33 hijk
ILL6030(L <sub>13</sub> )	27.17 abcd	Y <sub>2</sub> xL <sub>1</sub>	5.00 k
SLL(L <sub>14</sub> )	35.83 abcd	Y <sub>2</sub> xL <sub>2</sub>	5.667 jk
ILL323(L <sub>15</sub> )	55.83 a	Y <sub>2</sub> xL <sub>3</sub>	46.67 abcde
ILL6434(L <sub>16</sub> )	16.33 cd	Y <sub>2</sub> xL <sub>4</sub>	15.00 hijk
		Y <sub>2</sub> xL <sub>5</sub>	41.687 abcdehfg
		Y <sub>2</sub> xL <sub>6</sub>	13.33 hijk
		Y <sub>2</sub> xL <sub>7</sub>	19.33 fghijk
		Y <sub>2</sub> xL <sub>8</sub>	21.67 efghijk
		Y <sub>2</sub> xL <sub>9</sub>	10.00 ijk
		Y <sub>2</sub> xL <sub>10</sub>	16.00 ghijk
		Y <sub>2</sub> xL <sub>11</sub>	31.67 bcdefghij
		Y <sub>2</sub> xL <sub>12</sub>	36.67 abcdefgh
		Y <sub>2</sub> xL <sub>13</sub>	21.00 fghijk
		Y <sub>2</sub> xL <sub>14</sub>	23.33 defghijk
		Y <sub>2</sub> xL <sub>15</sub>	53.33 abc
		Y <sub>2</sub> xL <sub>16</sub>	19.33 fghijk

میانگین‌های هر منبع تغییر که دارای حداقل یک حرف مشترک در هر ستون هستند اختلاف معنی‌دار در سطح آماری ۱٪ ندارند.

Means in each column having at least a common letter are not significantly different at 1% level of probability.

ضرورت دارد. محاسبه میزان همبستگی سه روش نشان داد که بین دو روش گلخانه‌ای و مزرعه‌ای همبستگی متوسطی (۵۷/۱٪ و ۵۰/۱٪) به ترتیب برای روش آلوده‌سازی خاک و غوطه‌ورسازی گیاهچه ریشه بریده در سوسپانسیون اسپور) در سطح احتمال کمتر از ۱٪ وجود دارد که همبستگی ضعیفی است (نتایج ارائه نشده) و با توجه این میزان همبستگی، گزینش لاین‌ها نباید تنها بر اساس نتایج گلخانه‌ای و یا مزرعه‌ای باشد و لازم است ارزیابی در هر دو شرایط انجام شود.

در روش غوطه‌ورسازی در سوسپانسیون اسپور، هیچ رقمی از آلودگی مصون نبود (عکس‌العمل HR وجود نداشت) و لاین‌ها در هر صورت علایمی از آلودگی را نشان دادند، به طوری که کمترین درصد تلفات، یعنی ۱۰٪ برای لاین‌های ILL52، FLIP97-1L و ILL7531 مشاهده شد. در این روش، گیاه با نفوذ عامل بیماری در آوندهای چوبی، آلوده شده و موانع مقاومتی قبل از رخنه شامل موانع فیزیکی و بیولوژیکی (Vidhyasekaran, 1988) حذف می‌شوند و تنها موانع و عوامل بازدارنده پس از رخنه باقی می‌مانند که بایستی در برابر عامل بیماری فعال باشد. درصد‌های بالای مرگ و میر مشاهده شده در این روش، با این وصف قابل تفسیر هستند. برای ژنوتیپ‌های ILL6212، FLIP97-1L، Ghazvin، Ghachsaran و ILL6002 درصد‌های آلودگی

عملکرد محصول اختلاف معنی‌داری در سطح ۵٪ وجود دارد (جدول تجزیه واریانس ارائه نشده است).

مقایسه میانگین با روش دانکن انجام شد (جدول ۴). از نظر تعداد روزتا رسیدگی، تعداد روز لازم برای شروع گلدهی و درصد سبز بین لاین‌های آزمایشی و رقم محلی اختلاف معنی‌داری وجود نداشت. وزن صد دانه رقم محلی به شدت تحت تاثیر بیماری قرار گرفت و در مقایسه با وزن صد دانه آن در شرایط بدون بیماری (حدود ۵ گرم)، کاهش عمده‌ای را نشان داد. لاین‌های ILL7531 و LL6037 از نظر میزان عملکرد بالاتر از بقیه قرار گرفته و درشت دانه‌تر بودند.

در روش‌های به کاررفته برای ارزیابی مقاومت نسبت به بیماری، تعداد کمی از لاین‌ها عکس‌العمل‌های متفاوتی را نشان دادند، به عنوان مثال لاین FLIP 92-12L (شماره ۱۳ در شکل ۱) در مزرعه نیمه مقاوم و در گلخانه حساس بود. این اختلاف می‌تواند علاوه بر شرایط محیطی و میزان مایه اولیه قارچ، ناشی از ساختار ژنتیکی گیاه نیز باشد. عدم انطباق نتایج مزرعه‌ای و گلخانه‌ای در این پاتوسیستم قبلاً گزارش شده و دلیل آن عدم کنترل کامل شرایط در مزرعه و احتمال دخالت سایر عوامل بیولوژیکی عنوان شده است (Omar et al., 1988). با توجه به این موضوع برای گزینش لاین‌ها به ویژه لاین‌های پیشرفته که در حال معرفی هستند ارزیابی گلخانه‌ای

جدول ۴- مقایسه میانگین عملکرد و ویژگی‌های مهم زراعی چهار لاین مقاوم به بیماری پژمردگی فوزاریومی ناشی از *Fusarium oxysporum* f.sp. *lentis* در مقایسه با رقم محلی در مزرعه آلوده در

سال ۱۳۸۵

Table 4. Comparison of means of seed yield and some important agronomic traits of four resistant lines to *Fusarium oxysporum* f.sp. *lentis* and local check in infected field in 2006

لاین	درصد سبز	تعداد روز تا گلدهی	تعداد روز تا رسیدگی	واکنش به بیماری	وزن صد دانه بر حسب گرم	عملکرد	درصد عملکرد نسبت به شاهد
Line	ST	DF	DM	Reaction to the disease	100 SW (g)	Yield (Kgha <sup>-1</sup> )	%Check
FLIP97-1L	Very good	128	151	R	4.5	455.5 ab	154
ILL7531	Very good	127	153	R	5.5	564.8 a	191
ILL6037	Very good	126	154	R	5.0	479.3 ab	162
ILL590	Very good	128	150	R	4.3	385.0 bc	130
LOCAL	Very good	126	152	MS	3.6	295.0 c	100

میانگین‌های هر منبع تغییر که دارای حداقل یک حرف مشترک در هر ستون هستند اختلاف معنی‌دار در سطح آماری ۵٪ ندارند.

Means in each column having at least a common letter are not significantly different at 5% level of probability.

ST: Stand; DF: Days for flowering; DM: Days to maturity; 100SW: 100 seed weight ;R: Resistant; MS: Moderately Susceptible.

جمعیت هر یک از عوامل بیماری‌زا در خاک‌های آلوده منطقه بررسی جامع‌تری انجام شود. نتایج ارزیابی‌های گلخانه‌ای و سه سال مزرعه‌ای منجر به انتخاب لاین‌های ILL7531، ILL6037، ILL590 و FLIP97-1L شد که در هردو شرایط، مقاومت قابل قبولی از خود نشان دادند. این روش انتخاب لاین مقاوم قبلاً توسط پرادهانانگ و همکاران (Pradhanang et al., 1993) و عمر و همکاران (Omar et al., 1988) گزارش شده است. لاین‌های ILL52، FLIP97-1L و ILL7531 علاوه بر مقاومت در شرایط مزرعه، در شرایط گلخانه تلفات مساوی یا کمتر از ۱۰٪ را داشتند و مناسب برای بهره‌برداری‌های به‌نژادی به عنوان منبع مقاومت هستند ایران از نظر سطح زیر کشت عدس بعد از

مشاهده شده در مزرعه بیشتر از روش آلوده‌سازی خاک گلدان بود. علاوه بر عدس، در گیاهانی مانند شبدر و باقلا نیز مشاهده شده است که مایه‌زنی و آلوده‌سازی با مخلوط قارچ‌ها در مزرعه اثر بیشتری روی گیاه در مقایسه با آلوده‌سازی با تک تک قارچ‌ها یا نژادهای قارچ در گلخانه دارد (Omar, 1978; Abu-Blam, 1983; Abde-el-kader, 1977). علاوه بر این، اثر عوامل محیطی نیز بایستی در نظر گرفته شود (Pandya et al., 1980). همان‌طور که ذکر شد علایم مشاهده شده در محصول عدس منطقه اغلب علایم واضح پژمردگی حاصل از اثر *Fusarium oxysporum* بود اما قبل از انجام آزمایش‌ها برای مقاومت لازم است در خصوص (Bayaa et al., 1997).

درشتی دانه صفت‌های اساسی برای بازارپسندی منطقه به شمار می‌آیند. در این آزمایش، لاین‌ها هم از نظر مقاومت به مهم‌ترین عامل بیماری منطقه و هم از نظر دامنه سازگاری به محیط ارزیابی شدند، با توجه به نتایج ارزیابی‌ها، دو لاین ILL 6037 و ILL7531 برای کشت در منطقه توصیه می‌شوند.

با توجه به عدم وجود تنوع بیماریزایی در این عامل بیماریزا (Belabid *et al.*, 2004؛ Erksin and Bayaa, 1996؛ Bayaa *et al.*, 1997) لاین‌های مذکور به شرط سازگاری با شرایط محیطی، قابل توصیه برای کشت در سایر مناطق آلوده نیز هستند.

#### سپاسگزاری

به این وسیله از همکاری مسئولین جهاد کشاورزی بیله سوار مغان، به ویژه آقایان مهندس محمود علایی و مهندس سامان کاظم‌زاده به خاطر مساعدت‌های فراوان در سال‌های اجرای تحقیق تشکر و قدردانی می‌شود.

هند، ترکیه و کانادا، رتبه چهارم در جهان را دارد اما با متوسط ۴۵۷ کیلوگرم پایین‌ترین عملکرد در واحد سطح را دارد (Sabaghpour *et al.*, 2004). عوامل مختلفی در پایین بودن عملکرد گیاه عدس مؤثر هستند. قرار گرفتن این گیاه در زراعت دیم و وجود شرایط متغیر محیطی سبب شده است که همواره عملکرد آن ناچیز و ناپایدار باشد، از طرفی کشت مداوم ارقام با عملکرد پایین و واکنش ضعیف نسبت به نهاده‌ها و دامنه سازگاری اندک، همچنین عدم ثبات عملکرد و حساسیت نسبت به تنش‌های زنده و غیر زنده را می‌توان از مهم‌ترین عوامل پائین بودن عملکرد این محصول به حساب آورد (Koocheki and Bannayan Aval., 1993).

با کاشت ارقام پر محصول و مقاوم به تنش‌های زیستی می‌توان به میزان قابل توجهی عملکرد دانه در واحد سطح را افزایش داد. استفاده از صفات زراعی عدس به عنوان مکملی در توصیه رقم مقاوم و مناسب قبلاً گزارش شده است (Pandya *et al.*, 1980). عملکرد بالا و

#### References

- Abde-el-kader, M. A. M. 1977. Studies on some diseases of lentil .M.Sc. Thesis. Faculty of Agriculture, Assiut University, Egypt.
- Abu-Blan, H. A. 1983. Sources and mechanism of resistance to chocolate spot and rust in *Vicia faba* L. Ph.D. Thesis. University of London, UK.
- Bayaa, B., Erskine, W., and Singh, M. 1997. Screening lentil for resistance to Fusarium wilt: Methodology and Source of Resistance. *Euphytica* 98: 69-74.
- Belabid, L., Baum, M., Fortas, Z., Bouzand, Z., and Imad, E. 2004. Pathogenic and

- genetic characterization of Algerian isolates of *Fusarium oxysporum* f.sp. *lentis* by RAPD and AFLP analysis. African Journal of Biotechnology 3: 25-31.
- Bojdova, J., and Sinsky, T. 1990.** Specious spectrum of the *Fusarium* genus on lentil in Czechoslovakia. Lens Newsletter 17: 29-30.
- Booth, C. 1977.** *Fusarium-Laboratory Guide to the Identification of the Major Species.* Commonwealth Mycological Institute, Kew, Surrey, England.
- Erskine, W., and Bayaa, B. 1990.** A Screening technique for resistance to vascular wilt in lentil. Arab Journal of Plant Protection 8: 30-33.
- Erskine, W., and Bayaa, B. 1996.** Yield loss, incidence and inoculum density associated with vascular wilt of lentil. Phytopathology Mediterranean 36: 24-32.
- Kannaiyan, Y. 1974.** Studies on the control of lentil wilt. Ph.D Thesis, G. B. Pant University of Agriculture and Technology, Pantager, India.
- Kannaiyan, Y., and Nene, Y. L. 1976.** Reaction of lentil germplasm and cultivars against three root pathogens. Indian Journal of Agricultural Science 46: 165-167.
- Kannaiyan, J., and Nene, Y. L. 1978.** Strains of *Fusarium oxysporum* f.sp. *lentis* and their pathogenicity on some lentil lines. Lens Newsletters 5: 8-10.
- Khare, M. N., Agrawal, S. C., Dhingra, O. D., and Kushaha, L. S. 1975.** Variability in the growth of eight strains of *Fusarium oxysporum* f.sp. *lentis* on different solid media. Indian Phytopathology 28: 126-128.
- Khare, M. N., Agrawal, S. C., and Yain, A. C. 1979.** Diseases of Lentil and Their Control. Technical Bulletin. Jabalpur, India: Jawaherlal Nehru Krishi Vishwa Vidyalaya. 200 pp.
- Koocheki, A., and Bannayan Aval, M. 1993.** Pulse Crops. Jihad-e-Daneshgahi of Mashhad University Publications, Mashhad, Iran. 236pp. (in Farsi).
- Nelson, P. E., Toussoun, T. A., and Cook, R. J. 1981.** *Fusarium : Disease, Biology and Taxonomy.* The Pennsylvania State University Press, Press Park and London.
- Omar, S. A. M. 1978.** Studies on root-rot and damping-off disease of clover. MSc. Thesis. Faculty of Agriculture, Al-Azhar University, Egypt.
- Omar, S. A. M., Salem, D. E., and Rizk, M. A. 1988.** Sources of resistance to root-rot wilt disease complex of lentil. Lens Newsletter 15: 37.
- Pandya, B. P., Pandey, M. P., and Singh, J. P. 1980.** Development of Pant-406 lentil, resistant to rust and wilt. Lens, Lentil Experimental News Service 7: 34.

- Pradhanang, P. M., Pandey, R. R., and Ghimire, S. R. 1993.** Response of different lentil varieties to wilt (*Fusarium* spp.). *Lens Newsletter* 20: 62.
- Sabaghpour, S. H., Safikhani, M., Sarker, A., Gaffari, A., and Ketata, H. 2004.** Present status and future prospects of lentil cultivation in Iran. *Proceedings of the 5<sup>th</sup> European Conference on Grain Legumes*. 7-11 June, Dijon, France.
- Sarami, H. 1998.** Ecology and Taxonomy of *Fusarium* Species. Jihad-e-Daneshgahi of Mashhad University, Mashhad, Iran. 132 pp. (in Farsi).
- Vidhyasekaran, P. 1988.** Physiology of Disease Resistance in Plants. Volume 1. CRC Press Inc., Florida. 149 pp.
- Windels, C. E. 1992.** *Fusarium*. pp. 115-128. In: Singleton, J.D., Mihail, J. D., and Rush, C. M. (eds.). *Methods for Research on Soilborne Phytopathogenic Fungi*. APS Press. St. Paul, Minnesota, USA.

Archive of SID