Archive of SID

بیماریهای گیاهی، جلد ٤٠، ١٣٨٣

تنوع در بیماریزایی جدایه‌های *Rhizoctonia solani* چغندرقند*

Pathogenic variability of sugar beet isolates of *Rhizoctonia solani*

سیدباقرمحمودی، محمود مصباح و عزیزاله علیزاده**

دانشکده کشاورزی دانشگاه تربیت مدرس و موسسه تحقیقات اصلاح و تهیه بذر چغندرقند

دریافت ٨٢/١٢/١٠ پذیرش ٨٣/٥/١٤

چکیده

بیماریزایی نسبی ١٣١ جدایه *Rhizoctonia solani* درشرایط درون شیشه و گلخانه مورد بررسی قرار گرفت. از مجموع جدایه‌ها،۴۴ جدای‌ه متعلق به گروه آناستوموزی دو، ۵۸ جدایه متعلق به گروه آناستوموزی چهار و ۲۹ جدایه باقیمانده به عنوان گروه آناستوموزی نامشخص طبقه‌بندی شدند. جهت انجام آزمایش درون شیشه‌ای، بذرهای جوانه زده چغندرقند (رگه حساس ٢٦١) پیرامون پرگنه در حال رشد قارچ در محیط WA قرار گرفت. شدت بیماری گیاهچه‌ها با مقیاس ٤-٠ به فواصل سه ، پنج و هفت روز بعد از مایه‌زنی یادداشت‌برداری شد. تجزیه میانگین سطح زیر منحنی پیشرفت بیماری (Area Under Disease Progress Curve) ، جدایه‌های AG-4 را در ٢٦ گروه، جدایه‌های AG-2 را در ١٧ گروه و جدایه‌های با گروه آناستوموزی نامشخص را در ١١ گروه دسته‌بندی کرد. گروه‌بندی حاصل از یادداشت‌برداری دوم (پنج روز بعد از مایه‌زنی) بیشتری‌ن همبستگی (٩٢٪) را با AUDPC نشان داد. بیماریزایی جدایه‌های نماینده حاصل از گروه‌بندی خوشه‌ای گروههای آناستوموزی مشخص (AG-2 ، AG-4) و نامشخص، در شرایط درون شیشه‌ای با یکدیگر مقایسه شدند. نتایج نشان داد که

*بخشی از رساله دکتری نگارنده اول ارائه شده به دانشگاه تربیت مدرس

** مسئول مکاتبه

www.SID.ir

Archive of SID

جدایه Rh124(AG-4) جمع‌آوری شده از کرمانشاه بیماریزاترین جدایه و Rh157(AG-4) جمع‌آوری شده از خراسان ضعیف‌ترین آنها بود.

در آزمایشهای تکمیلی، بیماریزایی جدایه‌های منتخب از هر دو گروه آناستوموزی دو و چهار (بیماریزاترین و ضعیف‌ترین جدایه‌ها بر مبنای نتایج حاصل از آزمایش‌های درون شیشه‌ای) در مرحله گیاهچه‌ای و گیاه بالغ در شرایط گلخانه مطالعه شد. نتایج ضمن تایید وجود اختلاف در قدرت بیماریزایی آنها، مشخص کرد که دامنه تغییرات بیماریزایی در جدایه‌های AG-4 بیشتراز جدایه‌های AG-2 می‌باشد و جدایه Rh157(AG-4) روی گیاهچه‌ها و گیاهان بالغ مجددا به عنوان ضعیف‌ترین جدایه از نظر بیماریزایی تشخیص داده شد. جدایه‌های AG-2 در مایه‌زنی روی گیاهان بالغ بیماریزایی بیشتری از جدایه‌های AG-4 داشتند.

در بخش دیگری از این تحقیق، مخلوطی از جدایه‌ها روی گیاهان بالغ مایه‌زنی شد. برای این کار، چهار تیماردر نظر گرفته شد. مخلوطی از چهار جدایه با قدرت بیماریزایی بالا و مخلوط دیگری از چهار جدایه با قدرت بیماریزایی پایین از گروه آناستوموزی AG-4 به عنوان تیمارهای اول و دوم به کار برده شدند.مشابه این برای جدایه‌های AG-2 به عنوان تیمارهای سوم و چهارم استفاده شد. نتایج نشان داد که جدایه‌های بسیار بیماری‌زا متعلق به AG-4اختلاف معنی‌داری از نظر بیماریزایی با جدایه‌های AG-2 ندارند. تعامل چهار جدایه با قدرت بیماری‌زایی مختلف از AG-4 و AG-2 با شش ژنوتیپ چغندرقند دارای سطوح مختلف مقاومت، در شرایط درون شیشه‌ای مشخص کرد که استفاده از جدایه‌های AG-2 ،ژنوتیپهای چغندرقند با درجه متفاوت مقاومت را نسبت به AG-4 بهتر از هم تفکیک می‌نمایند.

واژه‌های کلیدی: گروههای آناستوموزی ریزوکتونیا، تنوع بیماریزایی، تعامل جدایه-رقم، چغندرقند، ایران

مقدمه

جنس ریزوکتونیا از نظر ژنتیکی، اکولوژیکی و بیماریزایی یک مجموعه متنوع می باشد. گونه *Rhizoctonia solani* به لحاظ تنوع بالای ژنتیکی به گونه مرکب یا گونه پیچیده (*R. solani* complex, Collective species) مشهور است(Moore,1996). بر اساس گروه بندی

www.SID.ir

Archive of SID

آناستوموزی(Anastomosis Group) گونه *R. solani* به ١٤ گروه مشخص که از نظر ژنتیکی از هم مجزایند، تقسیم‌بندی می‌شود (Carling 2000). تعیین ویژگی‌های گروه‌ها و زیرگروه‌های آناستوموزی بر اساس ریخت شناسی، بیماری‌زایی و رفتار آناستوموز موفق‌ترین تلاش‌هایی بوده که تاکنون برای توصیف گوناگونی ژنتیکی موجود در جنس ریزوکتونیا انجام گرفته است (Vilgalys & Cubeta 1994, Carling *et al*. 2002). برخی از گروه‌های آناستوموزی شامل ١،٢،٣،٤،٦،٨و ٩ بر اساس خصوصیات ریخت‌شناسی، بیوشیمیایی، ژنتیکی، بیماری‌زایی، اکولوژیکی و دامنه میزبانی به زیرگروههایی تقسیم می‌شوند (Sneh *et al.* 1991, Schneider *et al.* 1997, Carling *et al*. 2002) نشانگرهای مولکولی نیز ضمن تایید محدوده گروه‌های آناستوموزی بر اعتبار بیشتر گروه‌ها و کم و بیش زیرگروه‌ها صحه گذاشته و در برخی موارد در دستیابی به آغازگرهای اختصاصی گروه‌ها و زیرگروه‌ها کمک شایانی نموده‌است (Cubeta & Vilgalys 1997, Carling *et al*. 2002) با پیشرفت علم ژنتیک و ارائه روشهای نوین مولکولی، وجود تنوع در این مجموعه مرکب، بیشتر نمایان شده است به طوری که در داخل یک زیرگروه غالبا جمعیت‌ها و جدایه‌های مستقلی می‌توانند تشخیص داده شوند که خصوصیات منحصر به فردی دارند (Cubeta & Vilgalys 1997).

استفاده از صفت بیماریزایی به عنوان یک فاکتور مهم از دید بیماری‌شناسان، در گروه‌بندی *R. solani* چندان مفید واقع نشده است. دامنه میزبانی جدایه‌های *R. solani* در محدوده هر AG اختصاصی نبوده و جدایه‌های متعلق به گروه‌های آناستوموزی مختلف از این منظر همپوشانی دارند. *کارلینگ* و همکاران (Carling *et al.* 2002) در بررسی ارتباط بینAG با rDNA-ITS و سطح بیماری‌زایی در زیرگروه‌های AG-2 به این نتیجه دست یافتند که هفت زیرگروه موجود در AG-2 با گروه‌بندی حاصل از مطالعات مولکولی نیز تطابق دارد حال آن که با گروه‌بندی حاصل از سطح بیماری‌زایی چنین تطابقی یافت نشد و چنین استنتاج نمودند که نمی‌توان از بیماری‌زایی و دامنه میزبانی به عنوان یک ابزار مناسب برای گروه‌بندی استفاده نمود.

تاکنون گروه‌های آناستوموزی AG-1-IC, AG-1-2, AG-2-2IIIB, AG-2-2IV, AG-3, AG-4 و AG-5 از چغندرقند گزارش شده‌اند (Sneh *et al.* 1991). این بیمارگردر چغندرقند طیف وسیعی از بیماریها از جمله مرگ گیاهچه، پوسیدگی ریشه و طوقه وسوختگی برگی را موجب می‌شود

www.SID.ir

Archive of SID

(Herr, 1996). گروههای آناستوموزی AG-3, AG-5, AG-2-1, AG-4, AG-2-2 به ترتیب اهمیت ، بـــه عنـــوان عوامـــل پوســـیدگی ریشـــه و طوقـــه چغندرقنـــد گـــزارش شـــده‌انـــد (Windels & Nabben 1989, Rush *et al*. 1994).گروه آناستوموزی یک (AG-1) و چهار(AG-4) به همراه گروههای آناستوموزی دوهسته‌ای AG-I, AG-E, AG-C, AG-A و AG-K به عنوان عوامل مرگ گیاهچه چغندرقند معرفی شده اند (Sneh *et al*. 1991). از عوامل سوختگی برگ گروههای آناســـــتوموزی, AG-4 ,AG-2-2و AG-1 گـــــزارش شـــــده انـــــد (Naito 1984, Whitney & Duffus 1986). *راپـل* (Ruppel 1972) همبسـتگی بـین خصوصـیات ظاهری پرگنه، منبع جدایه (برگ، ریشه و طوقه) و گروه آناستوموزی را با قدرت بیمـاریزایی آنها مورد مطالعه قرار داد. نتایج مطالعاتش نشان داد که شدت بیمـاریزایی جدایـه‌هـای بـرگ، طوقه(*R. solani* AG-4) و ریشـه (*R. solani* AG-2) در مایـه‌زنـی بـه بـرگ و ریشـه اخـتلاف معنی‌داری بـا یکـدیگر دارنـد. *وینـدلز و نـابن* (Windels & Nabben 1989) بیمـاریزایی نسـبی جدایه‌های*R. solani* متعلق به گروههای مختلف آناستوموزی را روی گیاهچـه و گیاهـان بـالغ چغندرقند با هم مقایسه کردند. بیماریزایی جدایه‌های *R. solani* AG-2-2 IIIB و-*R. solani* AG-2 2IV که از دو گیاه لوبیا و چغندر قند جدا شده بودند روی گیاهان بالغ چغندرقند مطالعه شد. نتایج بیانگر اختلاف در شدت بیماریزایی جدایه‌ها بـود (Engelkes & Windels 1994) . بررسـی حساسیت چغندرقند و لوبیا نسبت به جدایه‌های فوق نشان داد که علیرغم تنوع در بیماریزایی جدایه‌ها، ارقام چغندرقند مقاوم به *R. solani* AG-2-2 IIIB بـه *R solani* AG-2-2IV نیـز مقـاوم بودند (Windels *et al*. 1995, Engelkes & Windels 1996) . تنوع در بیماریزایی جدایه‌های متعلق بـه گـروه آناسـتوموزی دو قـبلا گـزارش شـده و روشـهای مولکـولی جهـت ردیـابی جدایه‌های بیماریزای آن در حال توسعه می‌باشد (van den Boogert *et al*. 1998).

مطالعه تنوع در بیماریزایی بیمارگرها از زوایای مختلف حایز اهمیت است. یکی از دلایـل عمده موفقیت ناچیز ما در مدیریت بیماریهای گیاهی، بویژه در مورد این بیمارگر، بـه آگـاهی اندک ما از ساختار ژنتیک جمعیتهای بیمارگر بر می‌گـردد (Martin & English 1997). در زمـان شیوع گسترده بیماریها یکی از سوالاتی که اغلب پژوهشگران با آن مواجهند این است که آیا طغیان بیماری نتیجه ورود یک نژاد جدید بیمارگر به منطقه است یا این که جهشی در جمعیت

www.SID.ir

Archive of SID

بومی بیمارگر در جهت افزایش بیماریزایی رخ داده است.بیماری‌شناسان نیز مایلند بدانند که آیا افزایش فراوانی جدایه‌های بیمارگر که دارای صفت بیماریزایی قوی هستند ناشی از جایگزینی جدایه‌های با قدرت بیماریزایی بالا به جای جدایه‌های بومی است یا این که صفت بیماریزایی می تواند بین جدایه های ریزوکتونیا منتقل شود. پاسخ علمی به این سوالات نه تنها در بکارگیری راهبردهای فوری مبارزه موثر است، بلکه برای تعیین خط مشی برنامه‌های اصلاح نباتات ضروری بنظر می‌رسد.آگاهی از ساختار ژنتیک جمعیت عامل بیماری و تعامل آن با میزبان پاسخهای لازم را به ما می دهد (van den Boogert *et al*. 1998, Peever *et al*. 2000).

پایداری مقاومت میزبان یکی دیگر از مسائل بسیار مهم و مورد توجه متخصصین اصلاح نباتات است. این پدیده بر اساس شناخت کافی از ساختار جمعیت بیمارگر قابل پیش‌بینی است (Peever *et al*. 2000). به این ترتیب بنظر می‌رسد که در تدوین پروژه تهیه ارقام مقاوم چغندرقند به ریزوکتونیا شناخت کافی از تنوع بیماریزایی بیمارگر قبل از جستجوی منبع مقاومت در ژرم پلاسم میزبان، ضروری باشد. این مسئله موضوع مطالعه مقاله حاضر است.

روش بررسی

تنوع بیماریزایی جدایه‌های *R. solani* در شرایط درون شیشه‌ای

قدرت بیماریزایی ۵۸ جدایه از *R. solani* AG-4 ، ٤۴ جدایه از *R. solani* AG-2 و ۲۹ جدایه *R. solani* با گروه آناستوموزی نامشخص (با گروه‌های استاندارد ۱ تا ۵ تعامل نکردند) ، جمع‌آوری شده از مزارع مختلف چغندرقند در ظروف پتری مطالعه شد.بیماریزایی جدایه‌های متعلق به گروه آناستوموزی دو ، چهار و همچنین جدایه‌های با گروه آناستوموزی نامشخص هر کدام در یک آزمایش جداگانه در قالب طرح کاملا تصادفی با پنج تکرار مورد بررسی قرار گرفت. برای این کار، ابتدا جدایه‌ها روی محیط کشت PDA در دمای ۲۵–۲۷ درجه سانتیگراد رشد یافته و از حاشیه فعال پرگنه قارچ قرصهای هشت میلیمتری به محیط WA منتقل شدند. دوازده ساعت پس از انتقال جدایه‌ها به محیط کشت WA، ده عدد بذر جوانه زده والد پدری ژنوتیپ ۲٦۱ پیرامون دایره ای به شعاع سه سانتیمتر اطراف پرگنه فعال قارچ در تشتک‌های پتری ده سانتیمتری چیده و در دمای ۲۵–۲۷ درجه سانتیگراد نگهداری شدند. پیامد تعامل

www.SID.ir

Archive of SID

جدایه قارچ با گیاهچه‌های در حال رشد سه، پنج و هفت روز بعد از مایه‌زنی، مورد بررسی قرار گرفت. شدت بیماری روی هر یک از گیاهچه‌ها بر اساس مقیاس *کارلینگ* و همکاران (Carling *et al.* 2002) با اصلاحات جزئی یادداشت برداری شد:

نمره ۰ فاقد علائم

نمره ۱ قهوه‌ای شدن ریشه‌چه

نمره ۲ قهوه‌ای شدن هیپوکوتیل

نمره ۳ قهوه‌ای شدن ریشه‌چه و هیپوکوتیل

نمره ٤ مرگ کامل گیاهچه

شاخص شدت بیماری با محاسبه میانگین نمرات گیاهچه‌های هر تشتک پتری در هر یادداشت برداری محاسبه و در نهایت سطح زیر منحنی پیشرفت بیماری (Area Under Disease Progress Curve, AUDPC) برای هر جدایه بر اساس فرمول زیر محاسبه شد:

$$\sum_{i}^{n-1}[(y_i + y_{i+1})/2][t_{i+1} - t_i]$$

که در آن n تعداد دفعات ارزیابی بیماری، y_i شدت بیماری در زمان i و t_i زمان است. همچنین همبستگی سطح زیر منحنی پیشرفت بیماری با شاخص شدت بیماری در یادداشت برداری اول، دوم و سوم نیز مورد تجزیه و تحلیل قرار گرفت.

تنوع بیماریزایی جدایه های نماینده حاصل از آزمایش درون شیشه‌ای

در این آزمایش، بیماریزایی شش جدایه *R. solani* AG-4، پنج جدایه *R. solani* AG-2 و چهار جدایه با گروه آناستوموزی نامشخص به عنوان نماینده کلاسترهای حاصل از آزمایش‌های درون شیشه‌ای، در قالب یک طرح کاملا تصادفی با پنج تکرار مطابق آنچه که در بند یک توضیح داده شده است، با یکدیگر مقایسه شدند. این آزمایش دو بار تکرار شد.

تنوع بیماریزایی جدایه های منتخب *R. solani* روی گیاهچه های چغندرقند

در این آزمایش چهار جدایه *R. solani* شامل جدایه‌هایی با قدرت بیماریزایی بسیار بالا و بسیار پایین ، متعلق به گروههای آناستوموزی دو و چهار به عنوان چهار تیمار مورد استفاده قرار گرفتند (جدایه‌های شماره Rh124 و Rh133 بالاترین قدرت بیماریزایی و جدایه‌های

www.SID.ir

Archive of SID

Rh157 و Rh147 ضعیف‌ترین آنها بودند). انتخاب جدایه‌ها بر اساس نتایج حاصل از آزمایش‌های درون شیشه‌ای (بند اول) صورت گرفته است. در این آزمایش از روش لایه مایه قارچ جهت مایه‌زنی جدایه‌ها روی گیاهچه‌های چغندرقند استفاده شد (Windels *et al*.,1997). در این روش مخلوطی از خاک مزرعه، شن و پیت به نسبت حجمی ۳:۱:۱ تهیه و پس از سترون شدن در دو روز متوالی، استفاده شد. مقدار ۲۵۰ سانتی‌متر مکعب خاک به گلدانهایی به قطر ۱۰ سانتی‌متر منتقل و لایه‌ای از کشت ۱۰ روزه جدایه قارچ موردنظر در WA روی خاک قرار گرفت. سپس ۵۰ سانتی‌متر مکعب خاک روی لایه WA ریخته شد و روی آن ۳۰ عدد بذر منوژرم رگه ۲۶۱ پس از ضدعفونی با هیپوکلریت سدیم یک درصد به مدت ۲ دقیقه کشت گردید و روی بذرها توسط ماسه نرم استریل پوشیده شد. به گلدانهای شاهد لایه آگار سترون اضافه شد. آزمایش با چهار تکرار و در قالب طرح کاملا تصادفی اجرا شد. درصد مرگ ومیر گیاهچه ها تا هفته پنجم بعد از کاشت یادداشت‌برداری شد.

تنوع بیماریزایی جدایه های منتخب *R. solani* روی گیاهان بالغ

از گیاهان ١٤ هفته‌ای رقم یونیورس(Universe) استفاده شد. نشاءهای رقم یونیورس به گلدانهای بزرگ پنج کیلویی منتقل و هشت هفته پس از انتقال با چهارعدد بذر ذرت آلوده به جدایه‌های مورد نظر (Rh124 ، Rh133، Rh147 وRh157) مایه‌زنی شدند. جهت تهیه مایه قارچ، ابتدا بذر ذرت دومرتبه متوالی به فاصله ۲۴ ساعت سترون شد و جدایه مورد نظرروی آن به مدت ۲۱ روز در دمای ۲۵-۲۷ درجه سانتیگراد رشد داده شد. بذرهای آلوده ذرت در عمق سه سانتیمتری خاک کنار ریشه قرار گرفتند.آزمایش در قالب طرح کاملا تصادفی با سه تکرار اجرا شد. میزان پوسیدگی ریشه هر بوته دو هفته بعد از مایه‌زنی با استفاده از مقیاس *پانلا* (Panella 1998) یادداشت‌برداری شد. در این مقیاس به بوته‌های سالم نمره صفر و بوته‌های کاملا پوسیده نمره هفت داده شد.

بررسی بیماریزایی مخلوط جدایه‌ها روی گیاهان بالغ چغندرقند

در این بخش، مخلوط مساوی از چهار جدایه با قدرت بیماریزایی بالا و چهار جدایه با قدرت بیماریزایی پایین (جدول ۱) از هر دو گروه آناستوموزی دو و چهار روی گیاهان ١٤ هفته‌ای چغندرقند رقم یونیورس مایه‌زنی شدند. تیمار اول مخلوط مساوی از چهار

www.SID.ir

Archive of SID

جدایه با قدرت بیماریزایی بالا متعلق بـه گـروه آناسـتوموزی چهـار (Rh124،Rh128،Rh166 و Rh251) بود. جدایه‌های با قدرت بیماریزایی پایین (Rh186 ، Rh174 ، Rh181 ،Rh157)متعلق به گروه آناستوموزی چهار تیمار دوم را شامل شدند. مخلوط مساوی از چهار جدایه بـا قـدرت بیماریزایی بالا متعلق به گروه آناستوموزی دو (Rh123، Rh133، Rh114 و Rh170) تیمار سوم را تشـکیل دادنـد و جدایـه‌هـای Rh144، Rh147، Rh121 و Rh228 (جدایـه‌هـای بـا قـدرت بیماریزایی پایین از گروه آناستوموزی دو) تیمار چهارم آزمایش بودند. میزان پوسیدگی ریشـه روی هـر بوتـه چهـار هفتـه پـس از مایـه‌زنـی بـا اسـتفاده از مقیـاس *پـانلا* (Panella, 1998) یادداشت‌برداری شد.

تعامل جدایه–رقم

تعامل چهـار جدایـه (AG-4) Rh124 ،(AG-4)Rh157، (AG-2)Rh133 ، و (AG-2)Rh147 بـا شش لاین 3002، 3003، 3004، 261، 41RT و HM1990 که سطوح مختلفی از مقاومت به بیماری را دارا بودند، در ظروف پتری مطالعه شد. روش اجرای آزمایش مشابه آنچـه کـه در بنـد اول توضیح داده شده است، می‌باشد. در تکرار دیگری تعامل چهار جدای‌ه فوق با چهار ژنوتیـپ 3003، 3004 ،41RT و HM1990 مورد بررسی قرار گرفت.

نتیجه

تنوع در بیماریزایی جدایه های*R.solani* درشرایط درون شیشه

نتایج حاصل از تجزیه آماری داده ها با استفاده از آزمون دانکن، بر مبنـای محاسـبه سـطح زیر منحنی پیشرفت بیماری، جدایه‌های گروه آناستوموزی چهار را به ۲۶ و جدایه‌هـای گـروه آناستوموزی دو را به ۱۷ گروه تقسـیم کـرد (جـدول ۱). جدایـه‌هـای بـا گـروه آناسـتوموزی نامشخص بر مبنای محاسبه سطح زیر منحنی پیشرفت بیماری، در ۱۱ گروه دسته‌بندی شـدند. جدایه Rh124 از استان کرمانشـاه و جدایـه Rh157 از اسـتان خراسـان بـه ترتیـب بـه عنـوان بیماریزاترین و ضعیف‌ترین جدایه‌های گروه آناستوموزی چهار مشخص شدند. نتایج حاصل از تجزیه مراحل مختلف یادداشت‌برداری نشان داد که جدایه‌های AG-4 بر مبنای یادداشت‌برداری اول (سه روز بعد از مایه‌زنی) به ۲۳ گروه تقسیم مـی‌شـوند امـا بـراسـاس یادداشـت‌بـرداری

www.SID.ir

Archive of SID

دوم(پنج روز بعد از مایه‌زنی) در ۱۷ گروه دسته‌بندی شدند. در یادداشت‌برداری سوم (هفت روز بعد از مایه‌زنی) اکثر جدایه‌ها از نقطه‌نظر شدت بیماری مشابه هم بوده و در ۴ سطح قرار گرفتند. محاسبه همبستگی ساده بین مراحل مختلف یادداشت‌برداری باAUDPC در جدول دو خلاصه شده است.جدایه‌های AG-4 در یادداشت‌برداری دوم بیشتری‌ن همبستگی (۹۳/۲٪) را با AUDPC نشان دادند (جدول ۲). تجزیه خوشه‌ای جدایه‌ها بر مبنای سه متغیر (میزان شدت بیماری در روز سوم، پنجم و هفتم بعد از مایه‌زنی) با استفاده از متوسط پیوستگی بین گروهها (Average linkage between groups) درمجذور فاصله اقلیدسی (Squared Euclidean Distance) ، جدایه‌ها را به چهار گروه بیماری‌زا، نسبتا بیماری‌زا، بیماری‌زایی نسبتا ضعیف و ضعیف دسته‌بندی کرد (شکل۱). جدایه‌های Rh174 و Rh157 به همراه شاهد در یک کلاستر قرار گرفتند. در بین جدایه‌های متعلق به گروه آناستوموزی دو، جدایه Rh133 جمع‌آوری شده از لرستان، بیماریزاترین و جدایه Rh147، جزو ضعیف‌ترین آنها بود. تجزیه میانگین شدت بیماری‌زایی با استفاده از آزمون دانکن در مراحل مختلف یادداشت‌برداری، جدایه‌های AG-2 را در یادداشت‌برداری اول به ۱۰، در یادداشت‌برداری دوم به ۱۴ و در یادداشت‌برداری سوم به ۱۱ گروه تقسیم کرد (جدول ۱). محاسبه همبستگی بین سه یادداشت‌برداری با AUDPC نشان داد که یادداشت‌برداری دوم بیشتری‌ن همبستگی (۹۸/۳ ٪) را باAUDPC دارد (جدول ۲). تجزیه خوشه‌ای، جدایه‌های AG-2 را بر مبنای سه متغیر (میزان شدت بیماری در روز سوم، پنجم و هفتم بعد از مایه‌زنی) به سه گروه تقسیم کرد (شکل۲). گروه اول با ۲۵ جدایه، جدایه‌های بیماری‌زا را در خود جای داد و گروه دوم بیماری‌زایی کمی داشتند و شاهد در گروه سوم قرار گرفت.

آزمون دانکن ۲۹ جدایه‌ای را که گروه آناستوموزی آنها مشخص نبود، بر مبنای سطح زیر منحنی پیشرفت بیماری در ۱۱ گروه دسته‌بندی کرد(جدول۱). جدایه Rh256 بیماری‌زاترین آنها و جدایه Rh236 ضعیفترین آنها بود. تجزیه خوشه‌ای این گروه از جدایه‌ها، آنها را به سه دسته، جدایه‌های شدیدا بیماری‌زا، با بیماری‌زایی متوسط و ضعیف تقسیم‌بندی کرد(شکل ۳). اکثر جدایه‌های این گروه قدرت بیماری‌زایی پایینی داشتند. یادداشت‌برداری دوم (پنج روز بعد از مایه‌زنی)۸۵/۳٪ با AUDPC همبستگی نشان داد (جدول ۲). مقایسه قدرت بیماری‌زایی

www.SID.ir

Archive of SID

جدایه‌های نماینده از گروه آناستوموزی دو، چهار و جدایه‌های با گروه آناستوموزی نامشخص در شرایط درون شیشه (شکل ۴) نشان داد که دامنه تغییرات بیماری‌زایی جدایه‌های AG-4 به حدی است که جدایه‌های گروه آناستوموزی دو و جدایه‌ها با گروه آناستوموزی نامشخص را در خود جای داده است. روند شدت بیماری برای برخی از جدایه‌های نماینده از گروه آناستوموزی دو، چهار و جدایه‌ها با گروه آناستوموزی نامشخص در شکل ۸ ترسیم شده است. شدت بیماری جدایه Rh124 در روز ششم بعد از مایه‌زنی به حداکثر میزان خود (۴) رسیده است حال آنکه در این روز میزان بیماری حادث از جدایه Rh157 صفر است. جدایه Rh124، Rh133 و Rh256 که در آزمایش‌های قبلی به عنوان بیماری‌زاترین جدایه‌ها به ترتیب در بین گروه آناستوموزی چهار، دو و جدایه‌ها با گروه آناستوموزی نامشخص بدست آمده بودند، در روز دهم پس از مایه‌زنی به حداکثر شدت بیماری رسیدند حال آنکه در این تاریخ میزان شدت بیماری ناشی از جدایه Rh157 به عنوان ضعیف‌ترین جدایه، ۲/۳۸ اندازه‌گیری شد.

تنوع بیماریزایی جدایه های *R. solani* روی گیاهچه‌های چغندرقند

درصد مرگ و میر گیاهچه رگه حساس ۲۶۱ ناشی از مایه‌زنی چهار جدایه مورد بررسی که به روش دانکن تجزیه گردیده بود نشان داد که جدایه Rh124 با بیشترین درصد مرگ گیاهچه با جدایه‌های Rh133 و Rh147، در یک گروه و جدایه Rh157 به عنوان ضعیف‌ترین جدایه در گروه دوم قرار گرفت.جدایه‌های Rh124 و Rh157 متعلق به AG-4 هستند. درصد مرگ گیاهچه ناشی از دو جدایه Rh133 و Rh147 متعلق به AG-2 تفاوت معنی‌داری با یکدیگر نداشت (شکل۵).

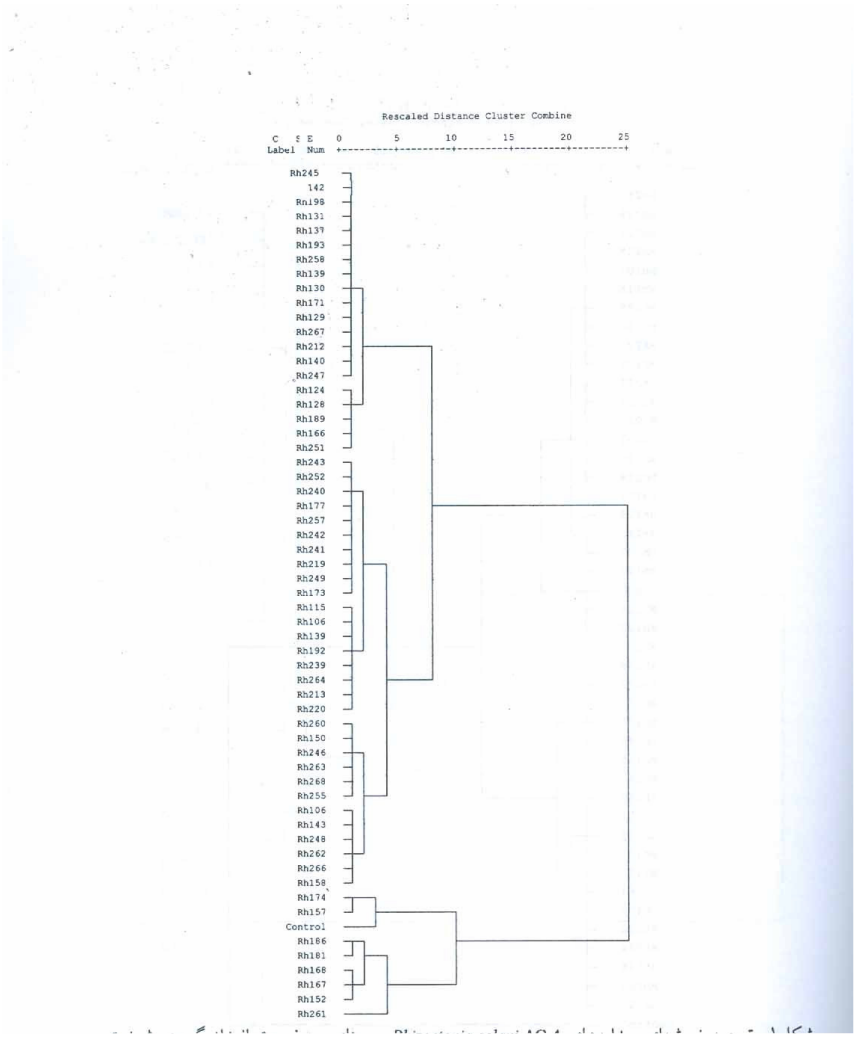
تنوع بیماریزایی جدایه های*R. solani* روی گیاهان بالغ چغندرقند

تنوع در بیماریزایی چهار جدایه منتخب روی رقم یونیورس که به روش دانکن تجزیه شد جدایه‌ها را در سه سطح کاملا مجزا دسته بندی کرد. جدایه‌های Rh133 و Rh147 به عنوان قویترین جدایه‌ها با میانگین شدت بی‌ماری ٤/٤٥ و ٤/١١ در مقیاس ۷-۰ در یک سطح و جدایه Rh124 در سطح دوم قرار گرفت. جدایه Rh157 با شدت بیماریزایی ۰/۷ کمترین قدرت بیماریزایی را از خود نشان داد (شکل۶).

تجزیه و تحلیل شدت بیماری گروههای چهارگانه حاصل از مخلوط جدایه ها نشان داد که

www.SID.ir

Archive of SID

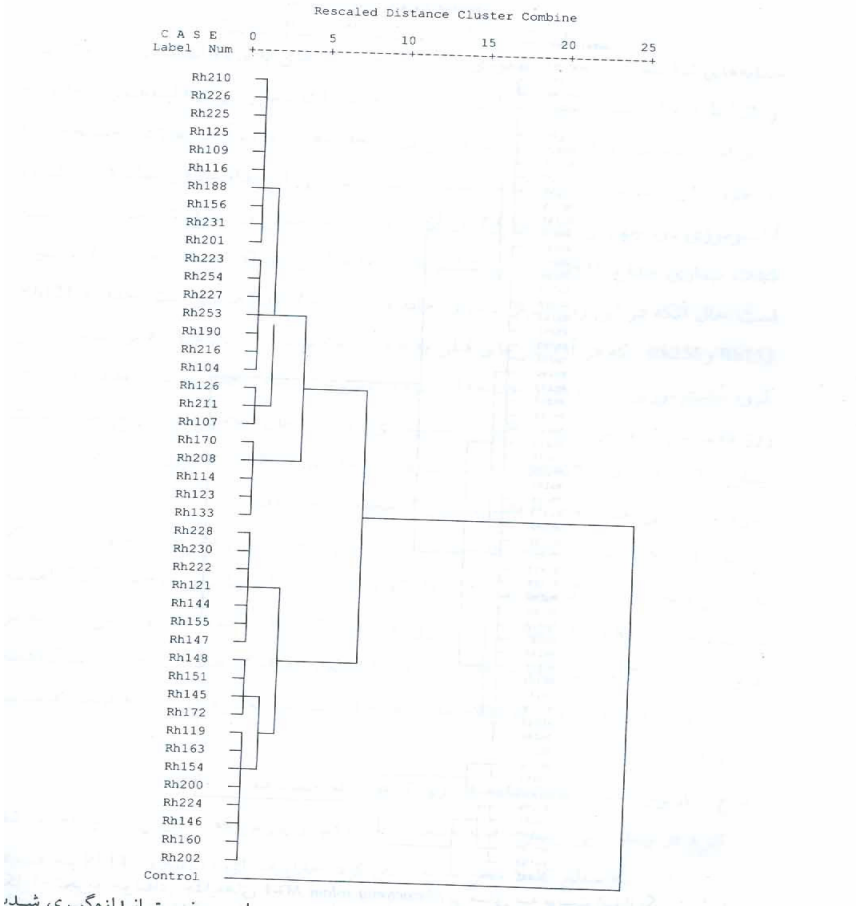


شکل۱- تجزیه خوشه‌ای جدایه‌های AG-4 *Rhizoctonia solani* بر مبنای سه نوبت انـدازه‌گیـری شـدت بیماری در روزهای سوم، پنجم و هفتم بعد از مایه‌زنی (مقیاس ۰-۴) روی رگـه چغندرقنـد ۲۶۱ در شرایط درون شیشه‌ای.

Fig.1.Cluster analysis of *Rhizoctonia solani* AG-4 isolates based on disease severity (scale 0-4) 3, 5 and 7 days after inoculation on sugar beet line 261 in *in vitro* test.

www.SID.ir

Archive of SID

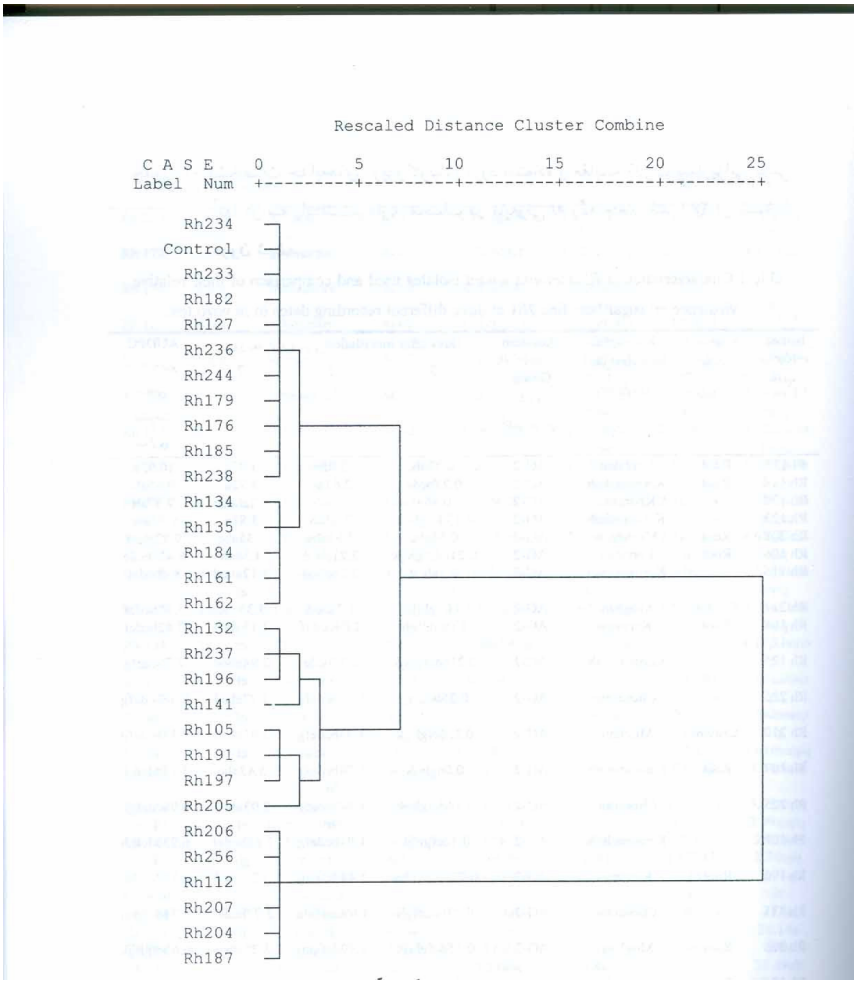


شکل۲- تجزیه خوشه‌ای جدایه‌های*Rhizoctonia solani* AG-2 بر مبنای سه نوبت اندازه‌گیری شدت بیماری در روزهای سوم، پنجم و هفتم بعد از مایه‌زنی (مقیاس ۰-۴) روی رگه چغندرقند ۲۶۱ در شرایط درون شیشه‌ای.

Fig.2. Cluster analysis of *Rhizoctonia solani* AG-2 isolates based on disease severity (scale 0-4) 3, 5 and 7 days after inoculation on sugar beet line 261 in *in vitro* test.

www.SID.ir

Archive of SID



شکل۳- تجزیه خوشه‌ای جدایه‌های *Rhizoctonia solani* باگروه آناستوموزی نامشخص بـر مبنـای سـه نوبت اندازه‌گیری شدت بیماری در روزهای سوم، پنجم و هفتم بعد از مایه‌زنی (مقیـاس ۰-۴) روی رگه چغندرقند۲۶۱ در شرایط درون شیشه‌ای.

Fig.2.Cluster analysis of *Rhizoctonia solani* isolates of unknown anastotomosis group based on disease severity (scale 0-4) 3, 5 and 7 days after inoculation on sugar beet line 261 in *in vitro* test.

www.SID.ir

Archive of SID

جدول ۱- مشخصات جدایه‌های ریزوکتونیای مورد استفاده و مقایسه قدرت بیماریزایی نسبی آنها در سه یادداشت‌برداری مختلف در مایه‌زنی به رگه جغندرقند ۲۶۱ در شـرایط درون شیشه

Table 1.Characteristics of *Rhizoctonia solani* isolates used and comparison of their relative virulence on sugar beet line 261 at three different recording dates in *in vitro* test

Isolate No: جدایه	Source بافت	Geographic location محل جمع‌آوری	Anastomosis Group گروه آناستوموزی	Days after inoculation روز بعد از مایه‌زنی 3	5	7	AUDPC ساحت زیر منحنی پیشرفت بیماری
Rh133	Root	Lorestan	AG-2	0.39ab	3.05a	3.85a	10.95a
Rh 114	Root	Kermanshah	AG-2	0.27bcde	2.61ab	3.72a	9.65ab
Rh 170	-	Khorasan	AG-2	0.46a	2.6ab	3.2abcde	9.57ab
Rh 123	-	Kermanshah	AG-2	0.15defghijk	2.63ab	3.81a	9.45abc
Rh 208	Root	Miandoab	AG-2	0.36abc	2.53abc	3.35abc	9.32abcd
Rh 126	Root	Lorestan	AG-2	0.21cdefghijk	2.21abcd	3.56ab	8.45abcde
Rh 116	-	Kermanshah	AG-2	0.3abcd	2.24abcd	3.12abcdef	8.4bcdef
Rh 211	Crown	Moghan	AG-2	0.07ghijk	2.2abcd	3.35abc	7.95bcdef
Rh 188	Root	Kerman	AG-2	.23bcdefghi	2.04bcdef	3.15abcdef	7.82bcdef
Rh 125	-	Kermanshah	AG-2	0.21cdefghijk	2.11bcde	2.94abcdef	7.7bcdefg
Rh 226	-	Chenaran	AG-2	0.25bcdefg	1.93bcdefg	2.97abcdef	7.46bcdefgh
Rh 210	Crown	Moghan	AG-2	0.2cdefghijk	1.93bcdefg	2.95abcdef	7.33bcdefgh
Rh 107	Root	Kermanshah	AG-2	0.06ghijk	1.78bcdefghi	3.42abc	7.14cdefghi
Rh 225	-	Chenaran	AG-2	0.14defghijk	1.84bcdefgh	2.93abcdef	6.98cdefghi
Rh 109	-	Kermanshah	AG-2	0.1defghijk	1.91bcdefg	2.68bcdefgh	6.93cdefghi
Rh 190	Root	Kerman	AG-2	0.22bcdefghij	1.44defghijklm	3.29abcd	6.75defghij
Rh 231	-	Chenaran	AG-2	0.23bcedfgh	1.69cdefghij	2.77bcdefg	6.74defghij
Rh 216	Root	Moghan	AG-2	0.15defghijk	1.49defghijkl	3.29abcd	6.65efghijk
Rh 104	Root	Kermanshah	AG-2	0.05hijk	1.58defghijk	3.05abcdef	6.34efghijkl
Rh 156	Root	Chenaran	AG-2	0.11efghijk	1.69cdefghij	2.63bcdefgh	6.31efghijkl
Rh 201	-	Kermanshah	AG-2	0.17defghijk	1.48defghijkl	2.71bcdefgh	6.11efghijklm
Rh 227	-	Chenaran	AG-2	0.06ghijk	1.35defghijklmn	2.97abcdef	5.84fghijklm

www.SID.ir

Archive of SID

Table 1. (continued)

جدول ۱- (ادامه)

Rh 223	-	Chenaran	AG-2	0.12efghijk	1.26efghijklmno	2.94abcdef	5.77fghijklm
Rh 172	-	Chenaran	AG-2	0.26bcdef	1.52defghijkl	2ghijkl	5.71ghijklm
Rh 254	Root	Shahrekord	AG-2	0.07ghijk	1.22efghijklmno	2.98abcdef	5.63ghijklmn
Rh 160	Root	Chenaran	AG-2	0.11efghijk	1.42defghijklm	2.4defghij	5.53ghijklmn
Rh 253	Root	Shehrekord	AG-2	0.03k	1.18fghijklmno	3.05abcdef	5.5ghijklmn
Rh 200	-	Kermanshah	AG-2	0.03jk	1.26efghijklmno	2.65bcdefgh	5.29ghijklmnop
Rh 154	-	Khorasan	AG-2	0.09efghijk	1.12ghijklmno	2.55cdefghi	5.02hijklmnopq
Rh 224	-	Chenaran	AG-2	0.04ijk	1.04ghijklmno	2.75bcdefg	4.95hijklmnopq
Rh 146	Root	Chenaran	AG-2	0.05hijk	1.25efghijklmno	2.31efghijk	4.95hijklmnopq
Rh202	-	Chenaran	AG-2	0.081fghijk	1.05ghijkl	2.32efghijk	4.63ijklmnopq
Rh 145	Root	Chenaran	AG-2	0.19cdefghijk	1.14fghijklmno	1.82hijkl	4.57ijklmnopq
Rh 163	Root	Chenaran	AG-2	0.06ghijk	0.62hijklmno	2.53cdefghi	4.55ijklmnopq
Rh 148	Root	Chenaran	AG-2	0.16defghijk	091ijklmno	1.92ghijkl	4.17jklmnopq
Rh 151	-	Chenaran	AG-2	0.06ghijk	0.99hijklmno	1.9ghijkl	4.05klmnopq
Rh 119	-	Kermanshah	AG-2	0.08fghijk	0.73klmno	2.21fghijkl	3.88lmnopq
Rh 155	-	Chenaran	AG-2	0.21cdefghijk	0.78jklmno	1.5jkl	3.61mnopq
Rh 222	-	Chenaran	AG-2	0.1efghijk	0.44no	1.93ghijkl	3.06nopq
Rh 230	-	Chenaran	AG-2	0.05hijk	0.61lmno	1.66ijkl	3.01nopq
Rh 121	-	Kermanshah	AG-2	0.1efghijk	0.63lmno	1.46kl	2.99nopq
Rh 144	-	Chenaran	AG-2	0.05hijk	0.7klmno	1.3l	2.83opq
Rh 228	-	Chenaran	AG-2	0.09efghijk	0.41o	1.67ijkl	2.74opq
Rh 147	Root	Chenaran	AG-2	0.11efghijk	0.54mno	1.13l	2.51q
Control	-	-	-	0l	0p	0m	0r
Rh 124	-	Kermanshah	AG-4	3.84a	4a	4a	21.6a
Rh 128	Crown	Lorestan	AG-4	3.72a	3.94a	3.96a	21.14a
Rh251	Crown	Lorestan	AG-4	3.6ab	4a	4a	21a
Rh 166	-	Khorasan	AG-4	3.54abc	3.82ab	4a	20.49ab
Rh 189	Root	Kerman	AG-4	3.48abcd	3.86ab	4a	20.42abc
Rh 129	Root	Lorestan	AG-4	3.18abcde	3.92a	4a	19.7abcd
Rh 267	Crown	Karaj	AG-4	3.18abcde	3.86ab	4a	19.67abcd
Rh 171	-	Khorasan	AG-4	3.06abcde	3.92a	4a	19.49abcde
Rh 130	Root	Lorestan	AG-4	3.06abcde	3.88a	4a	19.41abcde
Rh 140	Root	Moghan	AG-4	2.88abcdef	3.96a	4a	19.12abcdef
Rh 212	Petiole	Moghan	AG-4	2.88abcdef	3.88a	4a	18.96abcdefg
Rh 137	Crown	Moghan	AG-4	2.7bcdefgh	4a	4a	18.75abcedfgh

www.SID.ir

Archive of SID

Table 1. (continued) جدول ۱- (ادامه)

Rh 247	Root	Lorestan	AG-4	2.84abcdefg	3.8ab	4a	18.7abcdefgh
Rh 142	Crown	Moghan	AG-4	2.62bcdefghi	4a	4a	18.55abcdefgh
Rh 245	Root	Naghadeh	AG-4	2.58cdefghi	4a	4a	18.45abcdefghi
Rh 198	Root	Kohkiluyeh	AG-4	2.5defghij	4a	4a	18.25abcdefghi
Rh 131	Root	Lorestan	AG-4	2.52defghij	3.96a	4a	18.22abcdefghi
Rh 258	Root	Karaj	AG-4	2.54cdefghij	3.84ab	4a	18.03abcdefghij
Rh 193	Seedling	Karaj	AG-4	2.46efghij	3.82ab	4a	17.79abcdefghijk
Rh 139	Crown	Moghan	AG-4	2.2efghijkl	3.94a	4a	17.38abcdefghijkl
Rh 243	Crown	Piranshahr	AG-4	2.26efghijk	3.56abcd	3.92a	16.69bcedfghijklm
Rh 241	Root	Miandoab	AG-4	1.82hijklmn	3.88a	4a	16.31bcdefghijklm
Rh 219	Root	Karaj	AG-4	1.78hijklmnop	3.92a	4a	16.29bcdefghijklm
Rh 242	Root	Miandoab	AG-4	1.8hijklmno	3.88a	4a	16.22cdefghijklm
Rh259	Crown	Karaj	AG-4	1.98fghijklm	3.64abcd	3.98a	16.21cdefghijklm
Rh249	Crown	Lorestan	AG-4	1.64ijklmnopqr	3.8ab	4a	15.7defghijklmn
Rh 257	Petiole	Karaj	AG-4	1.84hgijklmn	3.44abcde	4a	15.48efghijklmn
Rh 213	Root	Moghan	AG-4	1.4klmnopqrst	3.92a	4a	15.34efghijklmno
Rh 173	-	Khorasan	AG-4	1.54jklmnopqrs	3.68abc	4a	15.21fghijklmno
Rh 240	Root	Miandoab	AG-4	1.68ijklmnopq	3.4abcde	4a	15ghijklmnop
Rh 177	-	Khorasan	AG-4	1.68hijklmnopq	3.36abcde	4a	14.92hijklmnop
Rh 220	Crown	Karaj	AG-4	1.28klmnopqrstu	3.8ab	3.96a	14.76hijklmnopq
Rh 115	Crown	Kermanshah	AG-4	0.98mnopqrstuvw	4a	4a	14.45ijklmnopq
Rh 264	Root	Karaj	AG-4	1.32klmnopqrstu	3.56abcd	4a	14.42jklmnopq
Rh 106	Root	Kermanshah	AG-4	0.92nopqrstuvw	3.96a	4a	14.22jklmnopq
Rh 239	Root	Miandoab	AG-4	1.24lmnopqrstuv	3.48abcde	4a	14.06klmnopq
Rh 138	Crown	Moghan	AG-4	0.78opqrstuvw	4a	4a	13.95klmnopq
Rh 192	Seedling	Karaj	AG-4	0.94nopqrstuvw	3.66abcd	4a	13.67mnopqr
Rh 255	Root	Moghan	AG-4	0.94nopqrstuvw	3.08cdef	3.74ab	12.25nopqrs

www.SID.ir

Archive of SID

Table 1. (continued) جدول ۱- (ادامه)

Rh 263	Root	karaj	AG-4	0.78opqrstuvw	3.14bcdef	3.96a	12.19nopqrs
Rh 268	Root	Karaj	AG-4	0.7qrstuvw	3.08cdef	4a	11.91opqrs
Rh 150	-	Chenaran	AG-4	0.48tuvw	3.08cdef	4a	11.36pqrst
Rh 260	Sclerot	Karaj	AG-4	0.52stuvw	2.96defg	3.98a	11.2qrst
Rh 246	Root	Lorestan	AG-4	0.34uvw	3.14bcdef	3.92a	11.05qrst
Rh 143	Crown	Moghan	AG-4	0.76pqrstuvw	2.4ghij	3.96a	10.66rstu
Rh 118	-	Kermanshah	AG-4	0.76pqrstuvw	2.26hijk	3.72ab	10.14stu
Rh 266	Root	Karaj	AG-4	0.34uvw	2.54fghi	3.98a	9.91stuv
Rh 262	Crown	Karaj	AG-4	0.18w	2.34ghij	3.98a	9.11stuv
Rh 248	Root	Lorestan	AG-4	0.06w	2.18hijk	3.88ab	8.39tuvw
Rh 152	-	Chenaran	AG-4	0.64rstuvw	1.68klm	2.82c	7.7uvw
Rh 158	-	Khorasan	AG-4	0.24vw	1.8jklm	3.48b	7.68uvwx
Rh 261	Sclerot	Karaj	AG-4	0w	1.2mno	4a	6.4vwx
Rh 168	-	Khorasan	AG-4	0.46tuvw	1.24mn	2.54c	6.17wx
Rh 167	-	Khorasan	AG-4	0.3uvw	1.28lmn	2.84c	6.15wx
Rh 181	-	Khorasan	AG-4	0w	0.84nop	2.72c	4.4wxy
Rh 186	Root	Hamadan	AG-4	0w	0.5pq	2.62c	3.62xy
Rh 174	-	Khorasan	AG-4	0.1w	0.6opq	1.08d	2.53yz
Rh 157	Root	Nishabour	AG-4	0w	0q	1.44d	1.44z
Control	-	-	-	0w	0q	0e	0/
Rh 256	Crown	Karaj	Not distinguished	2.58a	4a	4a	19.8a
Rh 206	Seed	Karaj	Not distinguished	2.55a	4a	4a	18.45ab
Rh 112	Root	Kermanshah	Not distinguished	2.44b	4a	4a	18.1b
Rh 204	Crown	Moghan	Not distinguished	2.3b	3.88ab	4a	17.61b
Rh 187	-	Hamadan	Not distinguished	2.4b	3.6b	4a	17.2b
Rh 207	Seedling	Karaj	Not distinguished	2.2b	3.82ab	392a	16.96b
Rh 141	Crown	Moghan	Not distinguished	0.47cdef	1.96c	3.1bc	8.2c
Rh 237	Root	Lorestan	Not distinguished	0.56cde	1.84c	2.42de	7.51c
Rh 132	Root	Lorestan	Not distinguished	0.33cdef	1.34d	2.31e	5.83d
Rh 196	Seedling	Dezful	Not distinguished	0.18def	1.76c	1.76f	5.73de

www.SID.ir

Archive of SID

Table 1. (continued) جدول ۱- (ادامه)

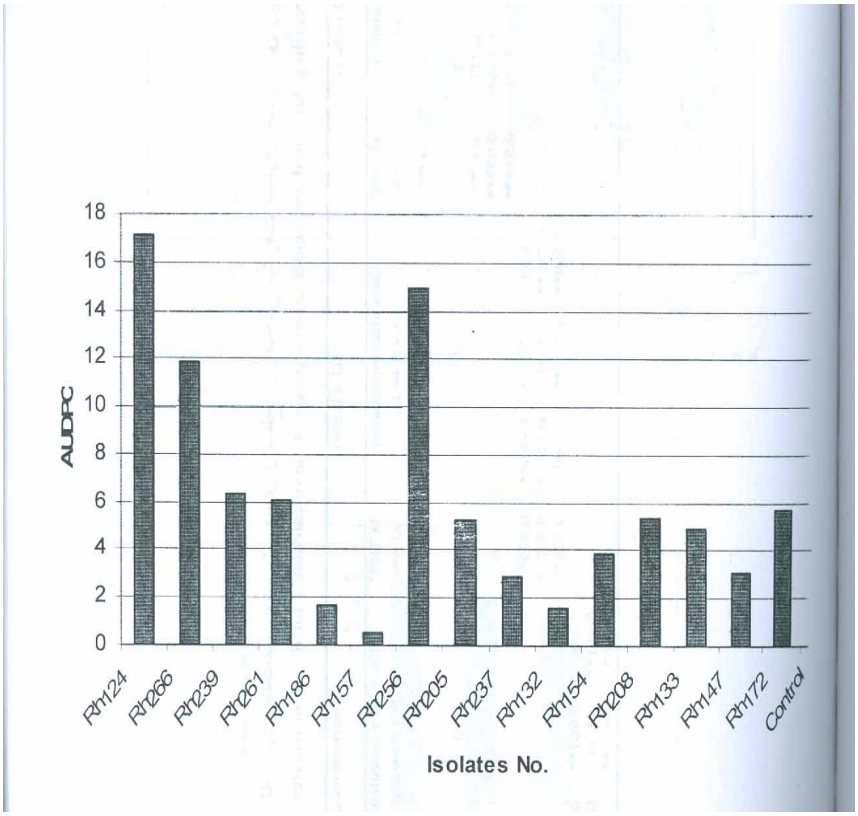
Rh 161	Root	Birjand	Not distinguished	0.68c	1.14de	1.48f	5.46de
Rh 197	Seedling	Dezful	Not distinguished	0f	0.98def	3.32b	5.28de
Rh 184	-	Hamadan	Not distinguished	0.58cd	0.93efg	1.32fgh	4.63def
Rh 162	Root	Birjand	Not distinguished	0.58cd	0.88efg	0.98ghi	4.19defg
Rh 191	Root	Karaj	Not distinguished	0f	0.56gh	2.78cd	4efg
Rh 105	Root	Kermanshah	Not distinguished	0f	0.28hij	3.36b	3.97efg
Rh 135	Root	Lorestan	Not distinguished	0.32cdef	0.62fgh	1.34fgh	3.38fgh
Rh 238	Root	Lorestan	Not distinguished	0.18cdef	0.44hi	0.88hi	2.41ghi
Rh 205	seedling	Hamadan	Not distinguished	0f	0.1ij	2.24e	2.41ghi
Rh 134	Root	Lorestan	Not distinguished	0f	0.38hij	1.4fg	2.16hij
Rh 185	-	Hamadan	Not distinguished	0f	0.36hij	0.68ijk	1.6ijk
Rh 179	-	Khorasan	Not distinguished	0f	0j	0.74ij	0.74ijk
Rh 176	-	Khorasan	Not distinguished	0f	0.1ij	0.64ijk	0.72ijk
Rh 244	Root	Piranshahr	Not distinguished	0f	0j	0.64ijk	0.64ijk
Rh 127	Root	Lorestan	Not distinguished	0f	0.16ij	0.22kl	0.54jk
Rh 182	-	Khorasan	Not distinguished	0f	0.1ij	0.18l	0.3k
Rh 236	-	Khorasan	Not distinguished	0f	0j	0.2kl	0.2k

www.SID.ir

Archive of SID

Table 1. (continued) جدول ۱ (ادامه)

Rh 233	_	Chenaran	Not distinguished	0f	0j	0l	0k
Rh 234		Chenaran	Not distinguished	0f	0j	0l	0k
Control	-	-	-	0f	0j	0l	0k



شکل ۴- مقایسه سطح زیر منحنی پیشرفت بیماری جدایه‌های نماینده گروه آناستوموزی ۲، ۴ و جدایه‌ها با گروه آناستوموزی نامشخص روی رگه چغندرقند۲۱۶ در شرایط درون شیشه.

Fig.4. Comparison of AUDPC of representative isolates of *Rhizoctonia solani* AG-2, AG-4 and of unknown AG-group in inoculation on sugar beet line of 261 in *in vitro* test.

www.SID.ir

Archive of SID

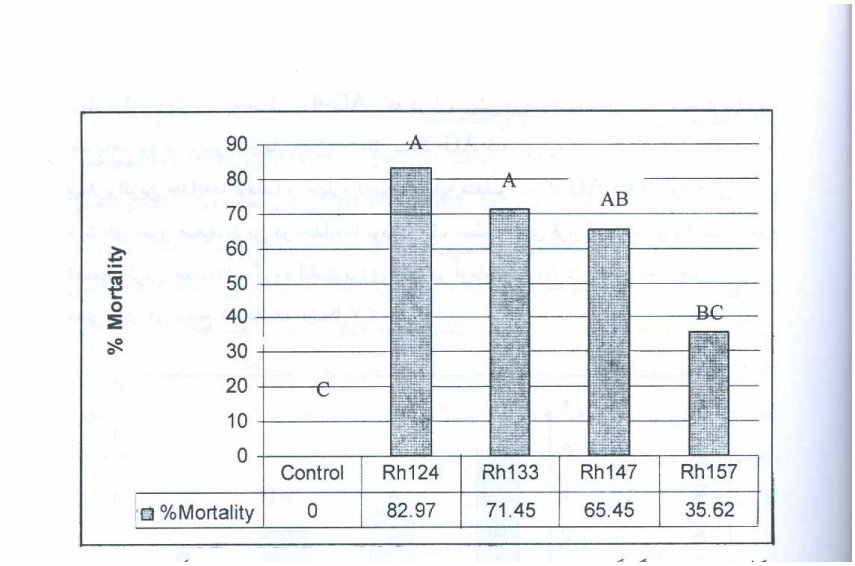
جدول ۲- ضرایب همبستگی بین تاریخهای مختلف یادداشت‌برداری و سطح زیر منحنی پیشرفت بیماری جدایه‌های ریزوکتونیا در آزمایش درون شیشه‌ای

Table 2. Correlation coefficient between recording dates and area under disease progress curve calculated for *R. solani* isolates in *in vitro* test

AG-2 isolates					AG-4 isolates				Undetermined isolates			
Terion روز به	Days after inoculation روز بعد از مایه‌زنی			AUDPC سطح زیر منحنی	Days after inoculation روز بعد از مایه‌زنی			AUDPC سطح زیر منحنی	Days after inoculation روز بعد از مایه‌زنی			AUDPC سطح زیر منحنی
	3	5	7		3	5	7		3	5	7	
3	1.00	0.688**	0.417**	0.67**	1.00	0.739**	0.469**	0.929**	1.00	0.961**	0.767**	0.97**
5	0.688	1.00	0.846**	0.983**	0.739**	1.00	0.821**	0.932**	0.961**	1.00	0.853**	0.991**
7	0.417**	0.846**	1.00	0.919**	0.469**	0.821**	1.00	0.726**	0.767	0.853**	1.00	0.888**

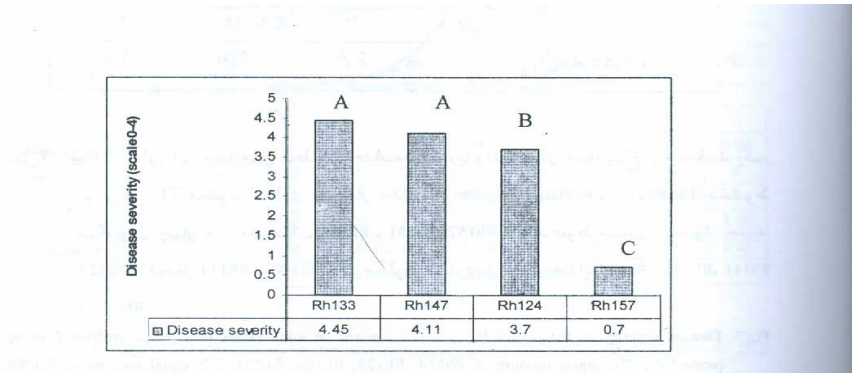
www.SID.ir

Archive of SID



شکل ۵- درصد مرگ گیاهچه ناشی از جدایه‌های منتخب ریزوکتونیا در مایه‌زنی به رگه چغندرقند ۲۶۱.

Fig. 5. Percent damping-off caused by selected isolates of *R. solani* in inoculation on sugar beet line of 261.



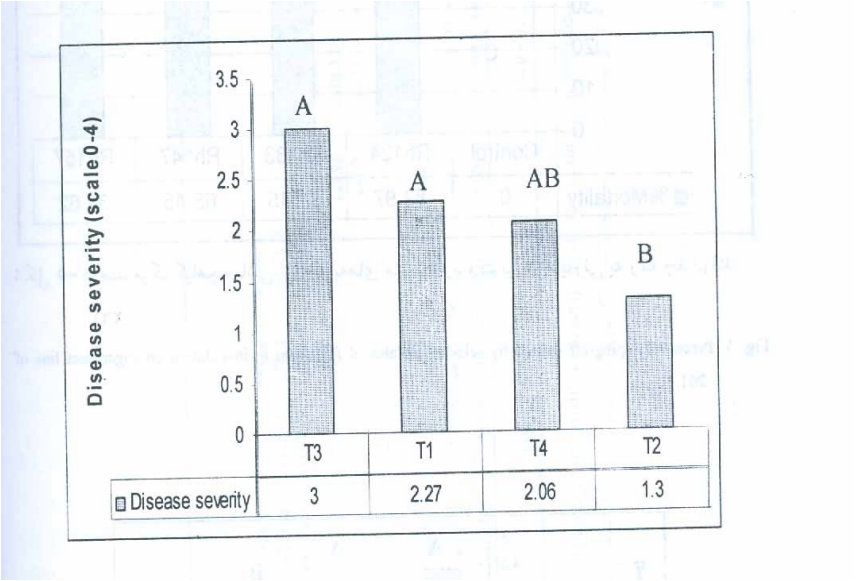
شکل ۶- شدت بیماریزایی چهار جدایه منتخب ریزوکتونیا در گیاه بالغ چغندرقند رقم یونیورس.

Fig.6.Disease severity of selected *Rhizoctonia* isolates on adult sugar beet plants of cultivar Universe (scale 0-7).

www.SID.ir

Archive of SID

تیمار اول (چهار جدایه متعلق به AG-4 که در آزمایش درون شیشه‌ای جزو بیماری‌زاترین جدایه‌ها بودند) ، سوم (چهار جدایه متعلق به AG-2 که در آزمایش درون شیشه‌ای جزو بیماری‌زاترین جدایه‌ها بودند) و چهارم (چهار جدایه متعلق به AG-2 که در آزمایش درون شیشه‌ای جزو ضعیف‌ترین در جدایه‌ها بودند) یک سطح آماری قرار گرفتند. و با تیمار دوم (ضعیف‌ترین جدایه‌های گروه آناستوموزی چهاردر آزمایش درون شیشه‌ای) اختلاف معنی‌داری در سطح ۵٪ داشتند (شکل۷).



شکل۷ - شدت بیماریزایی تیمارهای مخلوط جدایه‌های ریزوکتونیا در گیاه بالغ چغندرقند رقم یونیورس. T1: مخلوط مساوی از چهار جدایه Rh124، Rh128، Rh166 و Rh251. T2: مخلوط مساوی از چهار جدایه Rh186 ، Rh174 ، Rh181، Rh157. T3: مخلوط مساوی از چهار جدایه Rh123، Rh133، Rh114 و Rh170. T4: مخلوط مساوی از چهار جدایه Rh144 ، Rh147، Rh121 و Rh228.

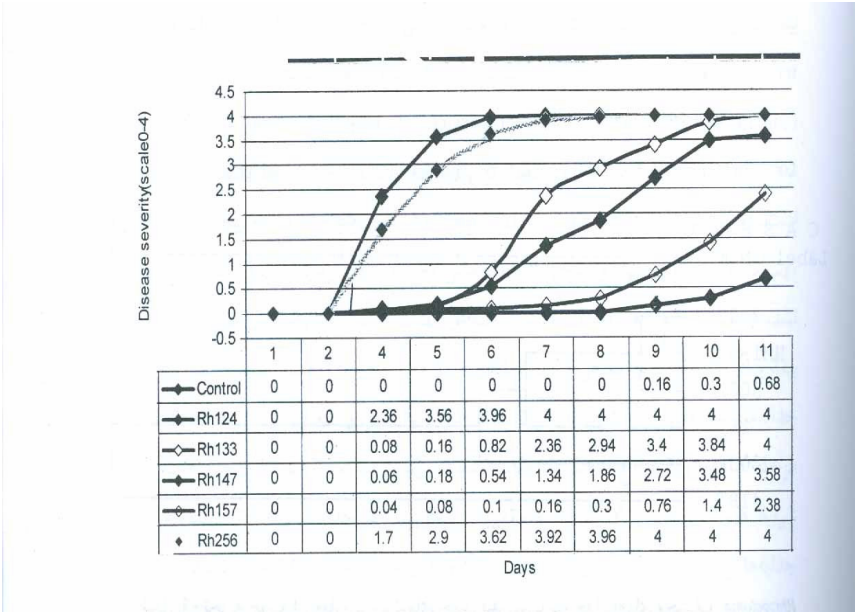
Fig.7. Disease severity of the mixed *Rhizoctonia* isolates on adult sugar beet plants cultivar Universe (scale 0-7). T1: equal mixture of Rh124, Rh128, Rh166, Rh251. T2: equal mixture of Rh186, Rh174, Rh181, Rh157. T3: equal mixture of Rh123, Rh133, Rh114, Rh170. T4: equal mixture of Rh144, Rh147, Rh121, Rh228.

www.SID.ir

Archive of SID

تعامل جدایه های ریزوکتونیا با لاینهای چغندرقند

تعامل چهار جدایه Rh124 (AG-4)، Rh157(AG-4)، Rh133(AG-2) و Rh147(AG-2) با شش لاین چغندرقند 3002، 3003، 3004، 261، 41RT و HM1990 در شرایط درون شیشه‌ای معنی دار شد. در بین شش ژنوتیپ مورد بررسی، رگه 3003 کمترین سطح زیر منحنی پیشرفت بیماری (AUDPC) را به خود اختصاص داد و ژنوتیپ 41RT با بیشترین سطح زیر منحنی پیشرفت بیماری حساسترین ژنوتیپ به حساب آمد.به همین ترتیب جدایه Rh124 بیشترین AUDPC و جدایهRh157 کمترین آن را به خود اختصاص داد (جدول۳). با ترسیم خط برش کلاستر حاصل از تجزیه خوشه‌ای مقاومت ژنوتیپهای چغندرقند بر اساس چهار جدایه مورد بررسی، در مجذور فاصله اقلیدسی پنج، ژنوتیپها را به حساس، نیمه‌حساس، نیمه مقاوم و مقاوم تقسیم‌بندی کرد (شکل۹).



	1	2	4	5	6	7	8	9	10	11
Control	0	0	0	0	0	0	0	0.16	0.3	0.68
Rh124	0	0	2.36	3.56	3.96	4	4	4	4	4
Rh133	0	0	0.08	0.16	0.82	2.36	2.94	3.4	3.84	4
Rh147	0	0	0.06	0.18	0.54	1.34	1.86	2.72	3.48	3.58
Rh157	0	0	0.04	0.08	0.1	0.16	0.3	0.76	1.4	2.38
Rh256	0	0	1.7	2.9	3.62	3.92	3.96	4	4	4

شکل ۸- مقایسه روند شدت بیماری جدایه‌های منتخب *Rhizoctonia solani* روی چغندرقند رگه ۲۶۱ در شرایط درون شیشه.

Fig.8. Comparison of disease severity trend of *Rhizoctonia solani* selected isolates on sugar beet line of 261 in *in vitro* test.

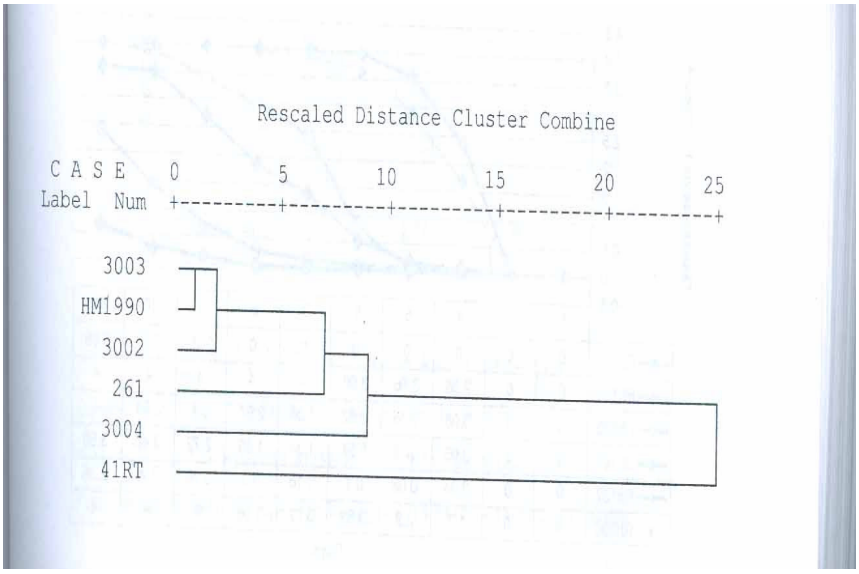
www.SID.ir

Archive of SID

جدول ۳- سطح زیر منحنی پیشرفت بیماری حاصل از تعامل چهار جدایه *Rhizoctonia solani* با شش ژنوتیپ چغندرقند در شرایط درون شیشه. اعداد با حروف مختلف در آزمون دانکن با $(p \leq 0.05)$ اختلاف معنی‌داری دارند

Table 3. Area under disease progress curve from interaction of 4 *Rhizoctonia solani* isolates with 6 sugar beet genotypes in *in vitro* test. Data with different letters indicating statistical differences based on Duncans' multiple test $(p \leq 0.05)$

Isolates No:	Genotypes						
	3003	3004	HM1990	3002	261	41RT	Mean
Rh124	30.12	31.18	30.27	35.4	32.11	43.84	33.82A
Rh133	18.67	21.18	22.6	21.21	30.49	30.95	24.28B
Rh147	8.97	9.03	9.17	10.6	13.42	20.6	11.96C
Rh157	3.6	4.57	4.55	6.3	5.6	16.33	6.3D
Mean	15.34A	16.64A	16.64A	18.39B	20.45C	27.93D	



شکل ۹- تجزیه خوشه‌ای مقاومت ژنوتیپهای چغندرقند نسبت به جدایه‌های مختلف *Rhizoctonia solani* AG-2 and AG-4 در آزمایش درون شیشه‌ای.

Fig.9. Clustring of the sugar beet genotyps based on their resistance to different isolates of *Rhizoctonia solani* AG-2 and AG-4 in *in vitro* test.

www.SID.ir

Archive of SID

بحث

نتایج این تحقیق بیانگر وجود تنوع بالائی در بیماری‌زایی جدایه‌های *R. solani* متعلق به گروه‌های آناستوموزی مختلف، جدا شده از چغندرقند می‌باشد. اهمیت تنوع در بیماریزایی بیمارگرها، از زوایای مختلف، مورد توجه بیماری‌شناسان گیاهی و متخصصین اصلاح نباتات می‌باشد. بیماری‌شناسان بدنبال بررسی علل و عوامل تاثیرگذار بر تغییر در بیماری‌زایی بیمارگرها، فراوانی ژنهای بیماری‌زا از نظر زمانی و مکانی و مطالعه اپیدمیولوژی بیمارگرهای حامل ژنهای مختلف بیماری‌زا هستند از طرفی متخصصین اصلاح نباتات تنوع در بیماری‌زایی بیمارگرها را به دلیل تاثیر آن بر پایداری مقاومت میزبان حائز اهمیت دانسته و شکسته شدن مقاومت ارقام را به این مسئله نسبت می‌دهند (Peever *et al*.,2000). دستیابی به ارقامی با مقاومت مطلوب و پایدار علاوه بر دسترسی به منبع مقاومت، به شناخت کافی از ژنتیک بیمارگر و میزبان نیز وابسته است. وجود تنوع بیماریزایی و به ویژه ژنتیکی در جدایه‌های *R. solani* قبلا توسط متخصصین مختلف مطالعه شده است (Ruppel, 1972; Hecker and Ruppel, 1977;Vilgalys, 1988; Windels *et al*., 1995; Carling *et al*., 2002; Ceresini *et al*., 2002) اما در غالب این پژوهشها، از تعداد معدودی جدایه استفاده شده است. در این بررسی، ۱۳۱ جدایه (جدول۱) با منشا دمبرگ، ریشه و طوقه متعلق به دو گروه مهم آناستوموزی دو، چهار و برخی از جدایه‌هایی که گروه آناستوموزی آنها تشخیص داده نشد، جمع‌آوری شده طی فصل رشد، از مناطق مهم کشت چغندرقند در ایران، از نظر بیماریزایی ابتدا به روش ابداعی درون شیشه‌ای مورد مقایسه قرار گرفت. سپس بیماریزایی جدایه‌های دو غایت رده بندی، به عنوان جدایه‌های بسیار قوی و ضعیف در شرایط گلخانه در مرحله گیاهچه و گیاه بالغ با همدیگر مقایسه شدند.بررسی قدرت بیماریزایی جدایه‌ها در شرایط درون شیشه‌ای نشان داد که دامنه تغییرات بیماری‌زایی در جدایه‌های AG-4 و بویژه در جدایه‌هایی با گروه آناستوموزی نامشخص (با گروه‌های استاندارد ۱ تا ۵ تعامل نکردند) بسیار بالاست. در بین جدایه‌های هر دو گروه برخی از جدایه‌ها نظیر Rh124 ، Rh137، Rh142 ، Rh245، Rh198 متعلق به AG-4 و جدایه‌های Rh256, Rh206 و Rh112 از جدایه‌های با گروه آناستوموزی نامشخص در یادداشت‌برداری دوم به حداکثر شدت بیماری رسیدند حال آنکه

www.SID.ir

Archive of SID

جدایه‌هایی با گروه آناستوموزی نامشخص نظیر Rh182, Rh244, Rh127 و یا Rh157 از AG-4 حتی پنج روز بعد از مایه‌زنی نتوانستند علائم بیماری را نشان دهند. جدایه‌های AG-2 اگر چه هفت روز بعد از تعامل با میزبان نتوانستند به حداکثر شدت بیماری دست یابند ولی برخلاف جدایه‌های AG-4 و یا جدایه‌های با گروه آناستوموزی نامشخص سه روز بعد از تعامل با میزبان علائم بیماری را نشان دادند. به عبارت دیگر می‌توان چنین استنتاج کرد که از نقطه‌نظر قدرت بیماری‌زایی افراد متعلق به AG-2 متعادل‌تر از افراد متعلق به AG-4 عمل می‌کنند. این موضوع در آزمایشی که جدایه‌های نماینده از گروههای آناستوموزی مختلف با هم مقای‌سه شده‌اند بهتر نمایان است(شکل ۵). در هر سه آزمایش درون شیشه‌ای مربوط به جدایه‌های AG-4، AG-2 و جدایه‌های با گروه آناستوموزی نامشخص، یادداشت‌برداری دوم بیشترین همبستگی را با AUDPC نشان داد. به عبارت دیگر پنج روز بعد از تعامل بیمارگر–میزبان اختلاف در بیماری‌زایی جدایه‌ها بوضوح قابل تفکیک است. در شکل ۱ نیز که روند شدت بیماری برای برخی از جدایه‌ها ترسیم شده است تفکیک آنها در روز پنجم براحتی امکانپذیر بوده است. بررسی بیماری‌زایی جدایه‌های منتخب از AG-2 و AG-4 در مرحله گیاهچه‌ای در شرایط گلخانه نشان داد که کمترین و بیشترین درصد مرگ گیاهچه ناشی از دو جدایه متعلق به AG-4 می‌باشد. مطالعه بیماری‌زایی جدایه‌های منتخب روی گیاهان بالغ چغندرقند رقم یونیورس ضمن تایید نتایج حاصل از آزمایش درون شیشه‌ای مبنی بر وجود تنوع بالا در بیماری‌زایی افراد مختلف از یک گروه آناستوموزی، همچنین نشان داد که این تنوع در بین افراد متعلق به AG-2 کمتر از افراد AG-4 است. تایید استنتاجات فوق‌الذکر با آزمایش دیگری که در آن مخلوط جدایه‌های دو غایت رده‌بندی حاصل از آزمایش درون شیشه‌ای از هر دو گروه آناستوموزی مورد بررسی قرار گرفت به اثبات رسید (شکل ۶). در این آزمایش چهار جدایه‌ای که در آزمایش درون شیشه‌ای بالاترین شدت بیماری را داشتند به نسبت مساوی با هم مخلوط شده و به عنوان یک تیمار با مخلوط مساوی چهار جدایه‌ای که در همان آزمایش بیماری‌زایی بسیار پایینی از خود نشان داده بودند به عنوان تیمار دوم از گروه AG-4 و AG-2 با هم مقایسه شدند. با مقایسه آزمایش‌های درون شیشه‌ای و گلخانه‌ای محرز گردید که رده‌بندی جدایه‌ها از نظر بیماری‌زایی در مرحله جوانه‌زنی و رشد اولیه گیاهچه که در این

www.SID.ir

Archive of SID

تحقیق برای اولین بار ارائه گردید توانست آنها را به نحو شایسته‌ای دسته‌بندی کند و از این روش می‌توان برای غربال کردن جدایه‌ها از این منظر بهره جست. از نتایج آزمایش‌های گلخانه‌ای چنین استنباط می‌شود که جدایه‌های هر دو گروه آناستوموزی دو و چهار قادر به ایجاد بیماری در مرحله گیاهچه و گیاه بالغ می‌باشند حال آنکه برخی از محققین (Windels and Ruppel, 1972; Nabben, 1989) بر این باورند که گروه آناستوموزی چهار بیشتر ایجاد مرگ گیاهچه نموده و توان ایجاد پوسیدگی ریشه مشابه جدایه‌های گروه آناستوموزی دو را ندارد و بالعکس گروه آناستوموزی دو بیشترعامل پوسیدگی ریشه بوده و قادر به ایجاد مرگ گیاهچه در قیاس با گروه آناستوموزی چهار نیست. البته حذف جدایه‌های Rh157 و Rh147 (دو جدایه‌ای که در آزمایش‌های درون شیشه‌ای به عنوان ضعیف‌ترین جدایه‌هامشخص شده بودند) از تجزیه و تحلیل آزمایش‌های بیماری‌زایی منجر به همخوانی یافته‌های این تحقیق با استنباط سایر محققین می‌گردد. لذا بنظر می‌رسد که تعداد جدایه‌های این پژوهش و قلت آن‌ها در پژوهشهای سایر محققین منجر به دستیابی به چنین یافته‌هایی شده است.

معنی‌دار شدن تعامل جدایه‌های ریزوکتونیا در لاینهای چغندرقند در آزمایش درون شیشه‌ای مبین این مطلب است که برخی از جدایه‌ها قادر به تفکیک ارقام با سطوح مختلف مقاومت نیستند و یا برخی از ارقام واکنشهای نسبتا یکسانی در برابر جدایه‌های متفاوت از خود نشان می‌دهند (جدول ۳). این مطلب توسط *راپل* (Ruppel, 1972) و *وینـدلز* وهمکاران (Windels *et al*., 1995) نیز در شرایط مزرعه مشاهده شده بود اما آنها اظهار داشتند که اگر ژنوتیپ حساس از آنالیز آماری حذف گردد این تعامل معنی‌دار نیست و ارقام مقاوم در برابر جدایه‌های مختلف سطح مناسبی از مقاومت را از خود بروز می‌دهند. در این بررسی نیز زمانی که ژنوتیپهای 9597 و 41RT از آنالیز آماری حذف گردید تعامل معنی‌دار نبوده و بقیه ژنوتیپها در برابر هر چهار جدایه مورد بررسی از خود مقاومت نسبتا یکسانی بروز دادند. ماهیت چند ژنی مقاومت چغندرقند به ریزوکتونیا خود دلیلی بر این تعامل است (Windels *et al*., 1995). قدرت بیماریزایی چهار جدایه Rh124، Rh157، Rh133 و Rh147 که در مطالعه تعامل جدایه ها با ارقام مورد استفاده قرار گرفته بودند، نشان داد که در شرایط درون شیشه‌ای، دو جدایه Rh124 و Rh157 به عنوان قویترین و ضعیف‌ترین جدایه‌ها در دو طیف بیماریزایی قرار دارند و

www.SID.ir

Archive of SID

جدایه‌های Rh133 و Rh147 حد واسط آنها هستند. سطح مقاومت ژنوتیپهایی که در این تحقیق مورد استفاده قرار گرفتند علاوه بر این که قبلا توسط محققین دیگری Windels *et al*., (1995) بررسی شده بود، توسط نویسنده نیز در آزمایش‌های گلخانه‌ای و مزرعه‌ای مورد مطالعه قرار گرفته بود و با نتایج حاصل از این تحقیق تطابق داشت. تفکیک مقاومت نسبی ژنوتیپها با استفاده از دو جدایه (AG-4) Rh124 و(AG-4) Rh157 صحیح بنظر نمی‌رسد (جدول ۳) حال آنکه تفکیک آنها با استفاده از دو جدایه (AG-2)Rh133 و (AG-2)Rh147 با نتایج مزرعه و گلخانه همخوانی دارد.

امروزه بذر چغندرقند دریافتی توسط کشاورزان، بوسیله قارچکشهای مختلف تیمار و یا پلت (Pellet) شده‌است به همین دلیل بیماری مرگ گیاهچه چغندرقند اهمیت چندانی ندارد. جمع‌آوری دو جدایه ریزوکتونیا از مرگ گیاهچه مبین این مطلب است. بیشترین جدایه‌های جمع‌آوری شده در این تحقیق از پوسیدگی ریشه و طوقه می‌باشن دو در این میان جدایه‌های AG-2 قدرت بیماریزایی بیشتری روی گیاهان بالغ دارند. با این توصیف بهتر آن است که پایه‌ریزی هر گونه تحقیقی، بویژه ارزیابی مقاومت ارقام بر روی گروه آناستوموزی دو متمرکز گردد. مطالعه تنوع بیماری‌زایی جدایه‌های *R. solani* با این روش و با این وسعت برای اولین بار انجام شد و افقهای جدیدی را در مورد تنوع بیماری‌زایی افراد مختلف *R. solani* گشود. به استناد نتایج این پژوهش بنظر می‌رسد که ارزیابی درون شیشه‌ای مقاومت ارقام فقط با جدایه‌هایی که از قدرت بیماری‌زایی متوسطی برخوردارند امکان‌پذیر می‌باشد.

سپاسگزاری

نگارندگان از آقای مهندس اصغر میرزایی اصل و مهندس مسعود سلطانی نجف آبادی بخاطر همکاری در تجزیه و تحلیل آماری داده‌ها قدردانی می‌نمایند.

منابع

جهت ملاحظه به صفحات 66-63 متن انگلیسی مراجعه شود.

نشانی نگارندگان: سیدباقر محمودی و محمود مصباح، موسسه تحقیقات اصلاح و تهیه بذر چغندرقند و عزیزاله علیزاده دانشکده کشاورزی دانشگاه تربیت مدرس

www.SID.ir