

غربال ژنوتیپ های مختلف لوبیا (*Phaseolus vulgaris*) در شرایط آلودگی به بیماری سوختگی باکتریایی معمولی در استان مرکزی

محمد رضا لک*

مرکز تحقیقات کشاورزی و منابع طبیعی استان مرکزی- ایستگاه خمین

حمید رضا دری

مرکز تحقیقات کشاورزی و منابع طبیعی استان مرکزی- ایستگاه خمین

چکیده

بیماری سوختگی باکتریایی معمولی لوبیا ناشی از *Xanthomonas axonopodis* pv. *phaseoli* یکی از بیماری های مهم لوبیا است که باعث کاهش کمیت و کیفیت محصول می گردد. از آن جا که کنترل این بیماری با روش های شیمیایی موثر نیست، لذا استفاده از ارقام مقاوم به منظور کنترل بیماری توصیه می گردد. این تحقیق به منظور بررسی و شناسایی اولیه ژنوتیپ های مقاوم لوبیا به بیماری سوختگی باکتریایی معمولی در ایستگاه تحقیقات کشاورزی و منابع طبیعی استان مرکزی (اراک) انجام گردید. آزمایش در دو قطعه زمین جداگانه اجرا شد. در یک قطعه زمین، آلودگی مصنوعی به روش اسپری کردن در قبل از گلدهی با غلظت 10^7 سلول در میلی لیتر انجام شد. پیشرفت بیماری با مقیاس ۱ (ایمن) تا ۵ (حساس) تعیین گردید. ۲۳۲ ژنوتیپ لوبیا در قالب طرح آگمنت با سه شاهد لوبیا چیتی محلی خمین، لوبیا سفید دانشکده و لوبیا قرمز گلی در ۱۲ بلوک اجرا شد. صفات اندازه گیری شده در سه شاهد در ۱۲ بلوک آزمایشی اختلاف معنی داری نداشت که نشان دهنده دقت بالای آزمایش بود. تعداد ۴۱ ژنوتیپ با مقیاس بیماری ۳ و کمتر از ۳ انتخاب شد.

واژه های کلیدی: استان مرکزی، سوختگی باکتریایی، لوبیا، مقاومت

* مسئول مکاتبات، پست الکترونیکی: rezalak2000@yahoo.com

تاریخ دریافت: ۸۸/۲/۲۱، تاریخ پذیرش: ۸۹/۴/۱۳

مقدمه

یکی از بیماری های مهم لوبیا در مناطق مختلف، به ویژه نواحی گرم و مرطوب، بیماری سوختگی باکتریایی معمولی لوبیا ناشی از *Xanthomonas axonopodis* pv. *phaseoli* (Smith) Vauterin *et al.* است (Gilbertson & Maxwell 1992). اولین گزارش از وجود این بیماری در ایران، در سال ۱۳۷۷ از مزارع لوبیای شهرستان اراک می باشد (Lak *et al.*, 2000). بازدیدهای بعدی از مزارع لوبیای این استان نشان داد که بیماری در مزارعی که با سیستم بارانی، آبیاری می شوند روند افزایشی داشته است (Lak *et al.*, 2002).

کنترل این بیماری مشکل است، زیرا باکتری عامل بیماری با بذر منتقل می شود و قادر است سالیان متمادی در بذر زنده باقی بماند (Cafati & Saettler, 1980; Zaiter & Coyne, 1989). تاکنون روش شیمیایی مؤثری نیز برای کنترل بیماری توصیه نشده است (Mohamed & Coyne 1995). روش های مختلفی مانند استفاده از بذر سالم، تناوب زراعی، شخم عمیق پس از برداشت محصول و ارقام مقاوم به منظور کنترل بیماری توصیه شده که از میان این روش ها استفاده از ارقام مقاوم به عنوان یکی از بهترین روش های مبارزه دراز مدت تأکید پیشنهاد شده است (Coyne & Schuster 1974; Valladares-Sanchez *et al.*, 1983; Aggour & Goyne, 1989). تا کنون هیچ مورد ایمنی کامل به معنای عدم ایجاد علائم بیماری، در گونه *P. vulgaris* مشاهده نشده است (Gilbertson & Maxwell, 1992). طول روز در محیط های گوناگون در حساسیت بعضی از ژنوتیپ ها موثر است. همچنین تفاوت بسیار زیادی در قدرت بیماری زایی جمعیت های طبیعی این پاتوژن وجود دارد. بنابراین در پروژه های مقاومت، لاین ها باید با جدایه منطقه تلقیح شوند (Gilbertson & Maxwell 1992). هدف از این تحقیق شناسایی چند ژنوتیپ مقاوم لوبیا به بیماری سوختگی باکتریایی معمولی در استان مرکزی است.

مواد و روش ها

یک جدایه *Xanthomonas axonopodis* pv. *phaseoli* با بیماری زایی شدید که در آزمایشگاه تحقیقات گیاه پزشکی اراک وجود داشت انتخاب و روی محیط Nutrient Agar مخطط گردید. پس از ۴۸ ساعت، به درون هر پتری ۵ میلی لیتر آب مقطر سترون اضافه و بوسیله یک لام تمیز و ضد عفونی شده، کلنی های باکتری خراشیده و سوسپانسیون حاصل درون یک ارلن سترون جمع آوری شد. غلظت سوسپانسیون تهیه شده در حدود 10^7 سلول باکتری در میلی لیتر تنظیم گردید.

سوسپانسیون آماده شده باکتری قبل از مرحله گلدهی با فشار روی برگ های لوبیا اسپری شد. ۲۳۲ ژنوتیپ انواع لوبیا سفید، قرمز، چیتی و کرم انتخاب شدند. بذرها قبل از کشت به

مدت ۲ دقیقه در هیپوکلریت سدیم تجارتي ۱۰ درصد ضدعفونی و سپس بوسیله آب مقطر استریل شسته شدند. هر ژنوتیپ روی پشته به طول ۲ متر کشت گردید. فاصله پشته ها از یکدیگر ۵۰ سانتی متر و فاصله بوته ها روی ردیف ۵ سانتی متر بود. از سیستم بارانی ویل مو برای آبیاری مزارع استفاده شد. طرح در دو منطقه با فاصله ۱۵۰۰ متر از یکدیگر اجرا گردید. فقط در یک منطقه آلودگی مصنوعی انجام شد. از طرح آماری آگمنت با سه شاهد (چیتی: محلی خمین، سفید: دانشکده، قرمز: گلی) در ۱۲ بلوک استفاده شد. صفاتی مانند عملکرد کرت در شرایط آلودگی و عدم آلودگی به باکتری عامل بیماری، تیپ بوته، تعداد روز تا گلدهی (R5) و تعداد روز تا رسیدگی (R9) یادداشت شد. در این بررسی از انواع تیپ های رشدی لوبیا شامل ۱- رشد محدود و ایستاده ۲- رشد نامحدود و ایستاده ۳- رشد نامحدود و رونده ۴- رشد نامحدود و بالا رونده استفاده گردید.

مقیاس پیشرفت بیماری با نمره دهی از ۱ تا ۵ به شرح ذیل انجام گردید (Webster *et al.*, 1983):

۱= بدون علائم (ایمن)، ۲= لکه ها کمتر از ۲۵٪ سطح برگ ها را در کمتر از ۱۰٪ برگ ها می پوشاند (مقاوم)، ۳= لکه ها کمتر از ۲۵٪ سطح برگ ها را در ۵۰-۱۰٪ برگ ها می پوشاند (نیمه مقاوم)، ۴= لکه ها بیش از ۲۵٪ سطح برگ ها را در ۵۰-۱۰٪ برگ ها می پوشاند (حساس)، ۵= لکه ها بیش از ۲۵٪ سطح برگ ها را در بیش از ۵۰٪ برگ ها می پوشاند (حساس).

برای نمره دهی کل کرت آزمایشی در نظر گرفته شد. داده ها با استفاده از نرم افزار SPSS تجزیه شدند.

نتایج

به منظور تعیین یکنواختی آزمایش، آزمون آگمنت برای شاهدهای لوبیا چیتی (محلی خمین)، لوبیا سفید (دانشکده) و لوبیا قرمز (گلی) انجام شد. نتایج تجزیه واریانس بر روی صفات مقیاس بیماری، عملکرد در شرایط آلودگی و عدم آلودگی و تعداد روز تا رسیدگی نشان داد تیمارها و تکرارها اختلاف معنی داری نداشتند (جدول ۱)، لذا مقایسه تیمارها از نظر علمی با دقت انجام شده است.

جدول ۱- مقادیر میانگین مربعات صفات مورد ارزیابی (طرح آگمنت)

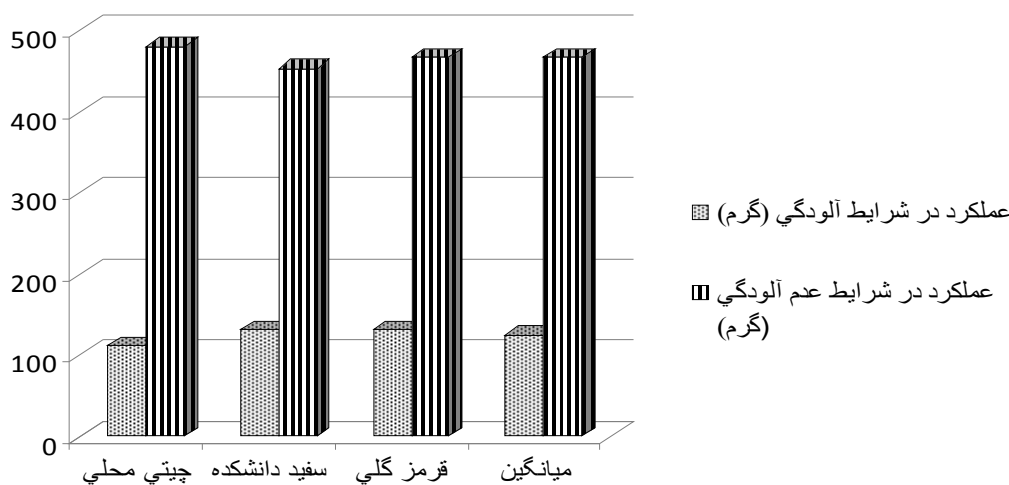
منابع تغییرات	درجه آزادی	مقیاس بیماری	عملکرد در شرایط عدم آلودگی	عملکرد در شرایط تا رسیدگی
تیمار	۲	۰/۱۹۴ ^{ns}	۱۵۱۴ ^{ns}	۲۲۱۰ ^{ns}
تکرار	۱۱	۰/۳۲۳ ^{ns}	۳۲۶۲ ^{ns}	۴۲۸۱ ^{ns}
خطا	۲۲	۰/۴۹۷	۱۵۳۶	۶۷۰۹
ضریب تغییرات	-	٪۱۵	٪۳۱	٪۱۷

^{ns} بدون اختلاف معنی دار

به طور متوسط در هر سه شاهد ۷۳/۳ درصد کاهش عملکرد در اثر بیماری ایجاد گردید. این کاهش عملکرد بسیار قابل توجه بوده و نشان دهنده اهمیت بیماری سوختگی باکتریایی لوبیا است. ارقام شاهد شامل لوبیا چیتی محلی خمین، لوبیا سفید دانشکده و لوبیا قرمز گلی از ارقام تجاری و پر مصرف بوده که نسبت به عامل بیماری حساسیت بالایی دارند (جدول ۲). لذا ضرورت شناسایی ارقام با مقاومت و تحمل بالا به بیماری اهمیت ویژه ای دارد.

جدول ۲- میانگین مقیاس بیماری و عملکرد تیمارهای شاهد در شرایط آلودگی و عدم آلودگی

نوع لوبیا	مقیاس بیماری	عملکرد در شرایط آلودگی (گرم)	عملکرد در شرایط عدم آلودگی (گرم)	اختلاف میانگین عملکرد	درصد کاهش
چیتی محلی خمین	۴/۵۸	۱۱۱/۷۵	۴۸۱/۲	۳۶۹/۵	۷۷
سفید دانشکده	۴/۳۳	۱۳۱/۲۵	۴۵۴/۳۳	۳۲۳/۱	۷۱
قرمز گلی	۴/۴۲	۱۳۱/۱۷	۴۶۶/۷۵	۳۳۵/۵۸	۷۲
میانگین	۴/۴۴	۱۲۴/۷	۴۶۶/۸	۳۴۲/۱	۷۳/۳



نمودار ۱- میانگین عملکرد تیمارهای شاهد در شرایط آلودگی و عدم آلودگی

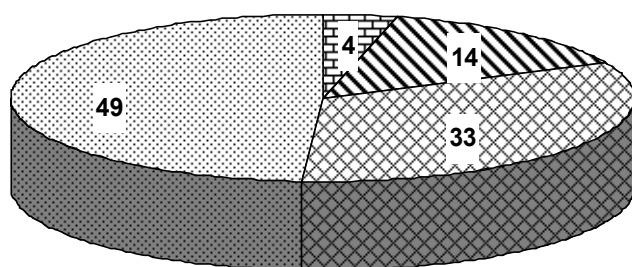
از ۲۳۲ ژنوتیپ انواع لوبیای مورد ارزیابی ۱۶۵ لوبیا چیتی، ۳۵ لوبیا قرمز، ۳۱ لوبیا سفید و یک لوبیا کرم بود. در شرایط آلودگی به باکتری، میزان مقاومت و عملکرد کرم و در شرایط عدم آلودگی صفات عملکرد کرم، دوره رشد تا گلدهی و دوره رشد تا رسیدگی و تیپ بوته مورد ارزیابی قرار گرفت (جدول ۳).

جدول ۳- مشخصات کلی صفات مورد ارزیابی

صفات مورد ارزیابی	میانگین	اشتباه معیار	دامنه	حداقل	حداکثر
عملکرد کرم در شرایط آلودگی (گرم)	۱۳۶/۰۴	۶/۵۱	۶۶۷	۷	۶۷۴
عملکرد کرم در شرایط عدم آلودگی (گرم)	۳۶۷/۸۲	۹/۱۳	۷۲۲	۸۰	۸۰۲
مقیاس پیشرفت بیماری	۴/۲۸	۰/۰۵	۳	۲	۵
تعداد روز تا غنچه دهی	۴۲/۲۸	۰/۴۴	۴۱۸	۲۳	۵۷
تعداد روز تا رسیدگی	۹۶/۸۳	۰/۷۲	۷۲	۵۴	۱۲۶
تیپ بوته	۲/۲	۰/۰۵	۳	۱	۴

علائم بیماری در کلیه ژنوتیپ ها مشاهده شد و بسته به میزان توسعه بیماری مقیاس ۲ تا ۵ را گرفتند. تعداد ۹ ژنوتیپ مقیاس ۲، ۳۲ ژنوتیپ مقیاس ۳، ۷۹ ژنوتیپ مقیاس ۴ و ۱۱۴ ژنوتیپ مقیاس ۵ را نشان دادند. فقط ۳/۹ درصد از ژنوتیپ های ارزیابی شده مقاوم بودند. در این آزمایش هیچکدام از ژنوتیپ ها مقیاس ۱ (ایمن) را نشان ندادند (نمودار ۲).

مقیاس بیماری



2 3 4 5

نمودار ۲- در صد فراوانی ژنوتیپ های لوبیا بر اساس مقیاس بیماری

ژنوتیپ های مقاوم شامل ۸ لوبیا چیتی و ۱ لوبیا قرمز بود. تعداد ۳۲ ژنوتیپ مقیاس ۳ را نشان دادند که ۱۳/۸ درصد ژنوتیپ ها را شامل می شد. از این تعداد ۲۶ لوبیا چیتی، ۵ لوبیا قرمز و یک لوبیا کرم بود (جدول ۵).

جدول ۵- مشخصات ژنوتیپ های مقاوم و نیمه مقاوم به باکتری عامل بیماری

مقیاس بیماری	نوع لوبیا	کد ژنوتیپ	مقیاس بیماری	نوع لوبیا	کد ژنوتیپ
۳	چیتی	۲۱۴۰۰	۲	چیتی	۲۱۴۰۹
۳	چیتی	۲۱۲۳۴	۲	چیتی	۲۱۳۹۳
۳	چیتی	۲۱۲۶۹	۲	چیتی	۲۱۴۱۹
۳	چیتی	۲۱۲۸۴	۲	چیتی	۲۱۲۷۶
۳	چیتی	۲۱۲۷۵	۲	چیتی	۲۱۴۴۷
۳	چیتی	۲۱۱۷۴	۲	چیتی	۲۱۴۰۷
۳	چیتی	۲۱۳۳۴	۲	چیتی	۲۱۴۲۵
۳	چیتی	۲۱۴۲۶	۲	چیتی	۲۱۳۶۰
۳	چیتی	۲۱۴۲۱	۲	قرمز	۳۱۱۶۳
۳	چیتی	۲۱۳۲۰	۳	چیتی	۲۱۳۶۲
۳	چیتی	۲۱۴۱۰	۳	چیتی	۲۱۳۷۸
۳	چیتی	۲۱۴۱۷	۳	چیتی	۲۱۳۱۳
۳	چیتی	۲۱۴۴۱	۳	چیتی	۲۱۴۰۵
۳	چیتی	۲۱۹۵۲	۳	چیتی	۲۱۳۴۴
۳	کرم	۵۱۱۰۳	۳	چیتی	۲۱۴۰۸
۳	قرمز	۳۱۱۵۷	۳	چیتی	۲۱۳۱۹
۳	قرمز	۳۱۱۵۶	۳	چیتی	۲۱۳۰۴
۳	قرمز	۳۱۱۱۳	۳	چیتی	۲۱۳۲۵
۳	قرمز	۳۱۱۶۱	۳	چیتی	۲۱۳۴۲
۳	قرمز	۳۱۱۱۵	۳	چیتی	۲۱۳۹۹
			۳	چیتی	۲۱۳۸۹

بررسی عملکرد ژنوتیپ ها در شرایط وجود و عدم بیماری تفاوت معنی داری نشان داد (جدول ۶). بیماری در مجموع باعث کاهش عملکرد به مقدار ۲۴۰/۸ گرم معادل ۶۴ درصد نسبت به شرایط عدم بیماری گردید.

جدول ۶- آزمون Z صفت عملکرد در شرایط آلودگی و عدم آلودگی

صفات مورد ارزیابی	میانگین	ضریب همبستگی	اختلاف	آزمون Z درجه آزادی	Z محاسبه شده
عملکرد کرت در شرایط عدم آلودگی	۳۷۶/۸	۰/۲۶**	۲۴۰/۸	۲۳۱	۲۶/۷**
عملکرد کرت در شرایط آلودگی	۱۳۶				

** معنی دار در سطح ۱٪

بررسی های بیشتر بر روی ژنوتیپ ها نشان داد که تعدادی از ژنوتیپ ها با مقیاس بیماری ۲ و ۳ دارای عملکردی بیش از میانگین در شرایط آلودگی و عدم آلودگی بوده اند. بنابراین ژنوتیپ های مزبور نسبت به سایر ژنوتیپ ها مناسب تر تشخیص داده شد (جدول ۷).

جدول ۷- ژنوتیپ های مقاوم و نیمه مقاوم با عملکرد بیش از میانگین در شرایط آلودگی و عدم آلودگی

کد ژنوتیپ	تعداد روز تا رسیدگی	تعداد روز تا غنچه دهی	مقیاس بیماری	عملکرد کرت در شرایط آلودگی (گرم)	عملکرد کرت در شرایط عدم آلودگی (گرم)	تیپ بوته
۲۱۴۰۵	۸۶	۴۵	۳	۳۲۱	۳۹۴	۱
۲۱۴۰۹	۱۱۴	۴۹	۲	۱۷۸	۳۹۸	۱
۲۱۴۰۰	۹۵	۴۳	۳	۴۸۸	۶۱۳	۳
۲۱۲۸۹	۱۰۱	۴۵	۳	۱۴۳	۵۱۴	۱
۲۱۴۱۰	۱۰۰	۴۱	۳	۲۰۹	۶۱۱	۳
۲۱۳۸۹	۱۰۰	۴۱	۳	۳۷۹	۴۱۸	۳
۲۱۳۶۰	۱۱۰	۴۵	۲	۴۸۶	۵۰۰	۳
۳۱۱۵۶	۹۴	۳۸	۳	۲۹۰	۳۹۴	۲
۳۱۱۱۳	۹۶	۳۶	۳	۱۹۵	۴۱۸	۲
۵۱۱۰۳	۱۰۴	۴۳	۳	۴۳۶	۵۶۰	۱

بحث

بیماری سوختگی باکتریایی معمولی یکی از بیماری های مهم لوبیا بوده که کنترل آن مشکل است. استفاده از ارقام مقاوم بهترین روش کنترل بیماری است (Todrovic *et al.*, 2008). در این تحقیق تمام ژنوتیپ های مورد بررسی علایم بیماری را نشان دادند. بنابراین هیچکدام از ژنوتیپ ها نسبت به عامل بیماری ایمن نبودند. بسیاری از محققین نیز گزارش کردند که ایمنی نسبت به بیماری در ارقام و لاین های لوبیا مشاهده نشده است (Gilbertson & Maxwell 1992 & Saettler 1989)

بیشتر ژنوتیپ های مورد بررسی نسبت به باکتری عامل بیماری حساس بودند و تعداد کمی به عنوان ژنوتیپ های مقاوم شناسایی شدند. این نتیجه نشان می دهد که منابع مقاومت به باکتری عامل بیماری محدود می باشد. تحقیقات زیادی در زمینه یافتن ارقام مقاوم لوبیا به بیماری سوختگی باکتریایی معمولی انجام شده اما تا کنون تعداد کمی ارقام و لاین های مقاوم به عامل بیماری گزارش شده است (Fortes ;Dursun *et al.*, 2002; Todrovic *et al.*, 2008; Ferreira *et al.*, 2003).

وجود بیماری عملکرد را در ژنوتیپ های لوبیا به طور متوسط حدود ۶۴ درصد کاهش داد. این کاهش عملکرد نشان دهنده اهمیت بیماری سوختگی باکتریایی معمولی لوبیا در منطقه است. در بسیاری از مناطق زیر کشت لوبیا نیز خسارت بالای ۵۰ درصد گزارش شده است (Saettler, 1989).

عملکرد در شرایط آلودگی و عدم آلودگی به باکتری همبستگی معنی داری نشان داد. اگرچه به دلیل زیاد بودن تعداد ژنوتیپ ها مقدار عددی ضریب همبستگی پایین است اما این مقدار معنی دار می باشد. این نتیجه نشان می دهد ژنوتیپ هایی که در شرایط عدم آلودگی عملکرد بالایی دارند در شرایط آلودگی نیز از عملکرد بیشتری دارند.

منابع

- Aggour, A.R. & Goyne, D.P. 1989. Heritability, phenotypic correlations, and associations of the common blight disease reactions in beans. *Journal of American Society of Horticultural Science*, 114: 828-833.
- Cafati, C.R. & Saettler, A.W. 1980. Transmission of *Xanthomonas phaseoli* in seed of resistant and susceptible *phaseolus* genotypes. *Phytopathology*, 70: 638-640.
- Coyne, D.P. & Schuster, M.L. 1974. Breeding and genetic studies of tolerance to several bean (*phaseolus vulgaris*) bacterial pathogens. *Euphytica*, 23: 651-656.
- Dursun, A., Figen Donmez, M. & Sahin, F. 2002. Identification of resistance to common bacterial blight disease on bean genotypes grown in Turkey. *European Journal of Plant Pathology*, 108:811-813.
- Fortes Ferreira, C., Gonzaga Pereira, M., Santos, A. S., Rodrigues, R., Bressan-Smith, R.E., Pio Viana, A. & Figueiredo Daher, R. 2003. Resistance to common bacterial blight in *Phaseoulus vulgaris* L. recombinant inbred lines under natural infection of *Xanthomonas axonopodis* pv. *phaseoli*. *Euphytica*, 134:43-46
- Gilbertson, R.L. & Maxwell, D.P. 1992. Common bacterial blight of bean, pp.18-39, In: Chaub, H. C., Kumar, J. & Sing, U. S. (Eds.), *Plant Diseases of International Importance*. Prentice Hall, New Jersey.
- Lak, M.R., Shamsbakhsh, M. & Bahar, M. 2000. Occurance of common bacterial blight of bean in Markazi Province. *Proceeding of the 14th Iranian Plant Protection Congress, 5-8 Sept. 2000. Isfahan University of Technology, Iran*, p.285.

- Lak, M.R., Shamsbakhsh, M. & Bahar, M. 2002. Identification of the Bacterial Agent of Bean Leaf and Pod Blight in Markazi Province. *Journal of Science and Technology of Agriculture and Natural Resources*, 6:231-242.
- Mohamed, M.F. & Coyne, D.P. 1995. Photoperiod sometimes influences common bacterial blight disease of common beans. *Hortscience*, 30: 551-553.
- Saettler, A.W. 1989. Common Bacterial Blight. pp. 261-283, In: Schwartz, H. F. & Pastor-Corrales, M. A. (Eds.), *Bean Production Problems in the Tropics*. CIAT. Cali, Colombia.
- Todorovic, B., Milijasevic, S., Rekanovic, E., Potocnik, I. & Stepanovic, M. 2008. Susceptibility of bean genotypes to *Xanthomonas campestris* pv. *phaseoli* in greenhouse condition. *Pesticidi Fitomedicina*, 23: 167-173.
- Valladares-Sanchez, N.E., Coyne, D.P. & Mumm, R.F. 1983. Inheritance and associations of leaf, external, and internal pod reaction to common blight bacterium in *Phaseolus vulgaris*. *Journal of American Society of Horticultural Science*, 108: 272-278.
- Webster, D.M., Temple, S.R. & Galvez, G.E. 1983. Expression of resistance to *Xanthomonas campestris* pv. *phaseoli* in *phaseolus vulgaris* under tropical conditions. *Plant Disease*, 67: 394-396.
- Zaiter, H.Z. & Coyne, D.P. 1989. Differential reaction of tepary bean lines to *Xanthomonas campestris* pv. *phaseoli*. *Hortscience*, 24: 134-137.