فصلنامه گیاه‌پزشکی
۱۳۹۲ - ۵ : ۸۳-۹۷

مقایسه بیماری‌زایی چند جدایه قارچ *Rhizoctonia solani* روی برخی ارقام لوبیا

ساسان فرهنگیان کاشانی*، آزاده بهلولی
دانشگاه آزاد اسلامی واحد شهر ری، گروه کشاورزی، تهران، ایران

چکیده

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 ۱۳۸۴- ۱۳۸۳ از مناطق عمده لوبیا کاری استان تهران نمونه‌برداری به عمل آمد و جمعا ۸۱ جدایه، جداسازی، خالص و نگهداری گردید. خصوصیات ظاهری جدایه‌های بدست آمده شامل رنگ پرگنه، ریسه هوایی، شکل و اندازه سختینه‌ها، اندازه قطر ریسه‌ها و تعداد هسته مورد بررسی قرار گرفت. پس از رنگ‌آمیزی هسته‌ها مشخص شد که تمام جدایه‌ها به جز دو جدایه چند هسته‌ای می‌باشند. همچنین در بررسی خصوصیات آناستوموزی مشخص شد که ۸۱/۳ ٪ جدایه‌ها به گروه آناستوموزی چهار (AG-4)، ۱۶/۴٪ جدایه‌ها به گروه آناستوموزی شش (AG-6) و دو جدایه به گروه آناستوموزی دو (AG-2) تعلق دارند. دو گروه اخیر برای اولین بار در ایران از روی لوبیا گزارش می‌شوند. آزمون بیماری‌زایی جدایه ها روی لوبیا (رقم ناز) در شرایط گلخانه و به روش مخلوط کردن مایه آلودگی (دانه های کلونیزه شده گندم و جو با قارچ) با خاک سترون در طرح بلوک‌های کامل تصادفی با چهار تکرار انجام شد. نتیجه بیانگر وجود تنوع بالایی در بیماری‌زایی جدایه‌ها بود. شدت بیماری‌زایی جدایه‌ها با استفاده از مقیاس یک تا پنج اندازه‌گیری شد و نتایج نشان داد کلیه جدایه‌ها به غیر از جدایه‌های گروه آناستوموزی شش (AG-6) از بیماری‌زایی نسبتا بالایی برخوردار هستند. جدایه‌های گروه Rs21 و Rs71 به ترتیب بیش‌ترین و کم‌ترین بیماری‌زایی را از خود نشان دادند. در آزمون مقایسه واکنش ارقام از ۱۶ رقم اصلاح شده لوبیای چیتی، قرمز، سفید، سبز و چشم بلبلی استفاده شد. این ارقام در برابر پنج جدایه Rs7، Rs18، Rs21، Rs62، Rs74 که بالاترین بیماری‌زایی را در آزمون بیماری‌زایی از خود نشان دادند، در گلخانه و در طرح بلوک‌های کاملا تصادفی در قالب فاکتوریل مورد بررسی قرار گرفتند.

*مسئول مکاتبات و پست الکترونیکی: sfarhangian@yahoo.com
تاریخ دریافت: ۱۳۹۰/۰۳/۲۳، تاریخ پذیرش: ۱۳۹۲/۰۶/۲۵

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.

واژه های کلیدی: لوبیا، *Phaseolus vulgaris*، *Rhizoctonia solani*، بیماری‌زایی

مقدمه

حبوبات، دانه های خشک و سبز خوراکی هستند که به خانواده بقولات (Leguminosae) تعلق دارند. بذور رسیده و خشک حبوبات ارزش غذایی زیاد و قابلیت نگهداری خوبی دارند و یکی از مهم‌ترین منابع سرشار از پروتئین (۱۸-۳۲ درصد) می‌باشند. طبق مطالعات انجام شده، ترکیب مناسبی از پروتئین حبوبات با غلات می تواند سوء تغذیه و کمبود اسیدهای آمینه را بر طرف سازد. از طرف دیگر با توجه به توانایی تثبیت ازت در گیاهان، قرار دادن آنها در تناوب به پایداری سیستم‌های زراعی کمک می کند (باقری و همکاران، ۱۳۸۰).

لوبیا (*Phaseouls 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 بذر لوبیای استحصالی از آن ۲۱۸ هزار تن است. همچنین لوبیا با میانگین عملکرد ۳۰۱۷ کیلوگرم در هکتار نسبت به سایر حبوبات دارای بالاترین متوسط عملکرد در کشور است (بی نام، ۱۳۸۳). این محصول با داشتن حدود ۲۲ درصد پروتئین از نظر ارزش غذایی جایگزین خوبی برای گوشت به شمار می‌رود.

با توجه به مطالب فوق ضرورت انجام مطالعه و تحقیق پیرامون مسائل و مشکلات مربوط به لوبیا بیش از پیش احساس می شود. بدون شک در راه دست یابی به عملکرد بالاتر محصول، عوامل متعددی نقش دارند. 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 می‌روند (Ahon manesh, 2000).

متاسفانه لوبیا نیز در طول رشد خود مورد حمله آفات و عوامل بیماری‌زای متعددی 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 بیماری‌شناسی‌گیاهی، مشخص می‌شود که گونه‌های جنس *Rhizoctonia* ، ۳ درصد کل بیماری‌های گیاهی دنیا را ایجاد می‌کند (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 نموده و از طرفی، پیچیدگی محیط خاک و عدم کارایی روش‌های متداول کنترل شیمیایی، مدیریت بیماری‌های ناشی از آن را بغرنج می سازد. از این رو استفاده از ارقام مقاوم در ترکیب با تناوب زراعی و سایر روش ها در کنترل تلفیقی توصیه می‌شود (Panella & Ruppel, 1996). همچنین در بیشتر برنامه های توسعه کشت لوبیا در جهان از مقاومت گیاه به عنوان تنها و یا مهم ترین جزء خط مشی مدیریت بیماری استفاده می شود. بدیهی است که موفقیت در تهیه ارقامی با مقاومت مطلوب و پایدار، به شناخت کافی از ژنتیک بیمارگر و میزبان و تعامل آنها متکی است. یکی از دلایل عمده عدم توفیق در مدیریت مبارزه با بیماری های گیاهی ناشی از شناخت اندک از ساختار ژنتیکی جمعیت های بیمارگر می‌باشد (Martin & English, 1997). لذا آگاهی از ساختار ژنتیک جمعیت عامل بیماری‌زا و تعامل آن با میزبان از اهمیت ویژه ای برخوردار است. هر چند مطالعه تنوع ژنتیکی *R. solani* امروزه با روش‌های بیوشیمیایی و مولکولی امکان‌پذیر است، لیکن گروه‌بندی آناستوموزی هنوز هم مهم‌ترین روش مطالعه تنوع ژنتیکی آن می‌باشد (Carling *et al.*, 2002). انتخاب یک ژرم پلاسم مقاوم با طبقه بندی جدایه‌ها در گروه‌های آناستوموزی ممکن می‌شود (Muyolo *et al.*, 1993). جز در موارد استثنائی، مقاومت به ریزوکتونیا در گیاهان، به وسیله بیش از یک ژن کنترل می‌گردد و به همین خاطر، مقاومت به ریزوکتونیا در بسیاری از گونه‌های گیاهی پایدار است (Panella & Ruppel, 1996). Sumner (1995) گروه‌های آناستوموزی و مقاومت گروهی از ارقام لوبیا را در جورجیا بررسی کرده است. طبق گزارش‌های وی گروه آناستوموزی غالب، AG-4 بوده و ارقام B4175، BG4173، 208-8R و 5181R و رقم Venezuela 54 نسبت به قارچ *R. solani* مقاومت نشان داده‌اند. ارقام مورد بررسی Snap bean ، Lima bean و Cowpea بوده‌اند. در ضمن وجود گروه آناستوموزی چهار AG-4 بر روی لوبیا در ایران توسط زمانی گزارش شده است (Zamani, *et al.*, 1989). همچنین صفایی قارچ *R. solani* را عامل شانکر ریشه و هیپوکوتیل لوبیا در خوزستان معرفی و گروه آناستوموزی آن را AG-4تعیین کرد (Safaei, 1999).

هدف از این تحقیق، تعیین گروه‌های آناستوموزی قارچ *R. solani* جدا شده از لوبیا، بررسی مقاومت تعدادی از ارقام لوبیا به این قارچ به منظور دست‌یابی به ارقام مقاوم یا متحمل و همچنین بررسی ساختار جمعیتی و تنوع ژنتیکی آن با استفاده از انگشت نگاری DNA به روش RAPD-PCR در استان تهران می‌باشد.

مواد و روش ها

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 عمده کشت لوبیا در استان تهران شامل شهرستان های کرج، ورامین، پیشوا، هشتگرد، دماوند، شهرری، لواسانات و شهریار انجام گرفت. در هر مزرعه با توجه به سطح زیر کشت آن چند نمونه لوبیا (بطور متوسط پنج 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 علائم مشکوک به بیماری بودند، در زیر جریان ملایم آب به مدت ۱۰-۱۵ دقیقه کاملا شسته شدند. سپس قطعات کوچکی به اندازه پنج در پنج میلی‌متر از مرز ناحیه آلوده و سالم جدا شده و در محلول هیپوکلریت‌سدیم تجاری ۱۰ درصد حاوی ۰/۵ در صد کلر به مدت دو دقیقه برای بافت‌های ضخیم‌تر و به مدت یک دقیقه برای بافت‌های نازکتر قرار گرفت تا گندزدائی سطحی انجام شود. جهت زدودن ماده گندزدا قطعات جدا شده با آب مقطر سترون شسته و سپس توسط کاغذ صافی سترون خشک گردید. آنگاه تحت شرایط کاملا سترون (زیر هود) به تشتک پتری حاوی محیط کشت PDA (potato,dextrose,agar) حاوی سولفات استرپتومایسین به میزان 50mg/L (singleton, 1992) منتقل گردید.

محیط کشت انتخابی R. solani

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

$NaNO_2$	200mg
K_2HPO_4	1g
$MgSO_4.7H_2O$	500mg
KCl	500mg
$FeSO_{2.}7H_2O$	10mg
Gallic acid	400mg
Dexon , 70 wp	63mg
Chloram phenicol	50mg
Streptomycin Sulfate	50mg
Agar	20g

Distilled Water	1L

برای این منظور یک گرم خاک خشک و نرم با ۱۰ میلی لیتر آب سترون به هم زده شد و رقت های مختلفی از آن تهیه و ۰/۲ میلی لیتر از هر کدام روی محیط کشت منتقل گردید. کشت های انجام شده در آزمایشگاه در دمای ۲۵-۲۲ درجه سلسیوس در شرایط تاریکی داخل انکوباتور نگهداری شدند. پس از دو تاچهار روز رشد قارچ در محیط کشت مشهود بود.

مایلو و همکاران برای جدا شدن بهتر *R. solani* از ترکیب محیط کشت آب آگار حاوی متالاکسیل (5 ppm) استفاده کردند (Muyolo *et al*., 1993). آزمون بررسی واکنش ارقام مختلف لوبیا به *R. solani* همانند روش آزمون بیماری زایی انجام شد، 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).

جدول ۱- نوع و نام ارقام لوبیا مورد استفاده در آزمون سنجش مقاوم

Table 1. Type the name of the bean used in the test of resistance

No.	Variety	Type of Bean	Variety Number
1	Bahman	Kindy Bean	R1
2	Goli		R2
3	Sayad		R3
4	Naz	Navy Bean	R4
5	Dehghan		R5
6	Sadaf		R6
7	Marmar		R7
8	Yas		R8
9	Daneshkede	Green Bean	R9
10	Sunry		R10
11	Viker		R11
12	Cantander		R12
13	Daneshjoo	Wax Bean	R13
14	Shad		R14
15	Talash		R15

پنج جدایه $Rs_7(AG_4)$، $Rs_{18}(AG_4)$، $Rs_{21}(AG_4)$، $Rs_{62}(AG_4)$، $Rs_{74}(AG_4)$ که به عنوان مهاجم‌ترین جدایه‌ها در آزمون بیماری‌زایی مشخص شده بودند برای انجام این آزمایش انتخاب گردید. مایه‌زنی با قرار دادن بذرهای گندم و جو آلوده به قارچ در عمق سه سانتی‌متری خاک صورت گرفت. گلدان‌های شاهد بذر گندم و جو سالم سترون دریافت کردند. آزمایش با چهار تکرار (۱۵ بذر در هر گلدان) و درقالب بلوک کامل تصادفی در قالب فاکتوریل در شرایط گلخانه با ۱۶ ساعت روشنایی و دمای ۲۵- ۳۵ درجه سلسیوس اجرا شد. درصد مرگ و میر گیاهچه‌ها تا شش هفته بعد از کاشت یادداشت برداری شد و آزمایش دو مرتبه تکرار گردید.

بررسی پیشرفت بیماری براساس روش انجام شد. شدت بیماری براساس مقیاس یک تا پنج به ترتیب نشان دهنده واکنش‌های ایمن، مقاوم، نیمه مقاوم، نیمه حساس و حساس می‌باشد (Muyolo *et al*., 1993).

نتایج

علائم پوسیدگی بذر، زخم روی ساقه، پوسیدگی ریشه و طوقه و مرگ گیاهچه در مزارع آلوده به این قارچ مشاهده گردید. مرگ گیاهچه قبل از سبز شدن (pre emergence damping-off) و یا بعد از آن (post-emergence damping-off) صورت می‌گرفت. در حالت اول گیاهچه‌ها قبل از استقرار در خاک و رشد توسط قارچ مورد حمله واقع شده و کاملا از بین می‌رفتند. علائم این عارضه در مزرعه بصورت لکه‌های خالی و بدون گیاه مشاهده گردید. در مواقعی حمله قارچ پس از جوانه‌زنی بذر و خروج گیاهچه از خاک صورت می‌گرفت، که بسته به شدت آلودگی، بوته‌ها سبز خشک شده یا کم رشد باقی می‌ماندند. بیماری پوسیدگی ریزوکتونیایی ریشه و طوقه و مرگ گیاهچه لوبیا از یک لکه (زخم) قهوه ای دقیقا در زیر سطح خاک شروع شده و تا هیپوکوتیل را احاطه نمود، زخم‌های آلوده در ریشه و یا در طوقه عمق بیشتری پیدا می‌کرد و بیمارگر به نقاط مختلف ریشه حمله و زخم‌های آب سوخته‌ای روی آن ایجاد می‌کرد که گاهی اوقات ترک‌هایی روی این زخم‌ها دیده می‌شد، در این حالت گیاهچه‌ها در سطح خاک افتاده و می‌مردند و بیش‌ترین خسارت در این محصول ایجاد می‌شد. ریشه ها درجه‌های متفاوتی از پوسیدگی قهوه‌ای تا سیاه را نشان دادند که معمولا از طوقه شروع و تا انتهای ریشه اصلی ادامه می‌یافت. شانکر یا شکاف‌های عمیق در ناحیه طوقه و در کنار ریشه‌های بیمار امری عادی بود.

در مواردی هم بافت ریشه‌ی پوسیده به دلیل حمله‌ی عوامل ثانویه از قبیل قارچ ها و باکتری‌ها نرم می‌شود. مرگ گیاهچه و پوسیدگی ریشه طوقه‌ی لوبیا در تمام مناطق لوبیا کاری استان تهران مشاهده گردید. در برخی مناطق خسارت حاصل از این بیماری بالا و در برخی نیز خسارت لکه‌ای بود. از حدود دو سوم نمونه‌های جمع‌آوری شده، *R. solani* جدا شد که بر فراوانی نسبتا بالای این بیمارگر در خاک دلالت دارد.

نتایج حاصل از آزمون تعیین گروه آناستوموزی در روش کشت متقابل جدایه‌های نامعلوم با جدایه‌های استاندارد (جدایه‌های دریافتی از موسسه تحقیقات اصلاح و تهیه نهال بذر کرج) بر روی لام نشان داد که ۸۱/۴ درصد جدایه‌ها به گروه آناستوموزی AG-4 (۵۶/۷ درصد AG4HGI، ۲۴/۶ درصد AG4HGII)، ۱۶/۴ درصد به گروه آناستوموزی AG-6 بوده و دو جدایه به گروه آناستوموزی AG2-2-IIIB تعلق داشتند. در استان تهران اکثر جدایه‌های *R. Solani* متعلق به گروه آناستوموزی AG-4 بوده و بدین ترتیب گروه آناستوموزی چهار به

عنوان مهم‌ترین گروه آناستوموزی این قارچ در پدید آوردن بیماری پوسیدگی ریزوکتونایی ریشه و طوقه لوبیا این استان اعلام می‌شود.

جدول ۲- برخی ویژگی‌های جدایه‌های *Rhizoctonia solani* از مناطق مختلف لوبیا کاری در استان تهران*

Table 2 Some of Characteristics of *Rhizoctonia solani* isolates from different areas in Tehran*

Anastomosis group	shape and size of sclerotia in the PDA (mm)	production of aerial mycelia	Growth rate in the PDA (Cm per Day)	Collected area	Isolate number
AG-4	dispersed/low, 0.4-0.6	High	3.2	karaj	Rs1
AG-4	- - - -	-	3.7	karaj	Rs2
AG-4	- - - -	High	3.4	karaj	Rs3
AG-4	complex/low, 0.35-0.5	-	3.4	shahriar	Rs4
AG-4	dispersed/high , 0.35-0.5	Very high	3.4	shahriar	Rs5
AG-4	dispersed/high, 0.3-0.5	High	3.5	shahriar	Rs6
AG-4	complex/medium , 0.35-0.5	High	3.7	shahriar	Rs7
AG-4	dispersed/low۰, 0.35-0.5	Low	3.5	karaj	Rs8
AG-4	- - - -	Very high	3.7	karaj	Rs9
AG-4	- - - -	-	3.7	karaj	Rs10
AG-4	dispersed/very low۰/۴-۰/۶،	-	3.4	karaj	Rs11
AG-4	dispersed/high, 0.35-0.8	High	3.4	karaj	Rs12
AG-4	dispersed/low, 0.35-0.5	Low	3.4	karaj	Rs13
AG-4	complex/high , 0.9-1.1	High	2.8	karaj	Rs14
AG-4	- - - -	Low	2.7	Hashtgerd	Rs15
AG-6	dispersed/low ,0.6-0.8	High	2.8	Hashtgerd	Rs16
AG-4	dispersed/low , 0.3-0.6	Low	3.5	Hashtgerd	Rs17
AG-4	dispersed/high,1.2-1.5	Low	3.1	Hashtgerd	Rs18
AG-4	- - - -	-	3.2	Hashtgerd	Rs19
AG-4	dispersed/low, 1.2-1.5	-	3.4	Hashtgerd	Rs20
AG-4	complex/high, 1.1-1.4	High	3.2	karaj	Rs21
AG-4	- - - -	-	3.2	karaj	Rs22
AG-4	- - - -	Low	3.2	pishva	Rs23
AG-4	- - - -	Very low	3.8	pishva	Rs24
AG-4	complex/medium 1.1-1.5	Very Low	3.4	pishva	Rs25
AG-4	complex/high, 0.6-0.8	Low	3.5	pishva	Rs26
AG-4	dispersed/high ,0.6-0.8	High	3.5	varamin	Rs27
AG-4	- - - -	High	3.5	varamin	Rs28
AG-4	dispersed/high,0.8-1	High	3.4	varamin	Rs29
AF-4	complex/medium ,0.9-1.1	Very high	2.9	varamin	Rs30
AG-4	- - - -	-	2.1	varamin	Rs31
AG-6	dispersed/medium ,0.4-0.6	Low	3.5	karaj	Rs32
AG-44	complex/high,1.1-1.5	-	3.1	varamin	Rs33
AG-4	complex/very high ,1.1-1.5	Low	3.1	varamin	Rs34
AG-4	dispersed/low ,0.65-0.8	Low	3.2	karaj	Rs35
AG-4	dispersed/low,0.65-0.8	Very high	3.2	Shahre-Rey	Rs36
AG-4	- - - -	Very high	3.4	Shahre-Rey	Rs37
AG-4	- - - -	-	3.2	Shahre-Rey	Rs38
AG-4	dispersed/low, 0.35-0.5	High	3.2	Shahre-Rey	Rs39
AG-4	dispersed/high,1.1-1.5	Low	3.8	Damavand	Rs40
AG-6	- - - -	Low	3.5	Hashtgerd	Rs41
AG-6	dispersed/low,0.4-0.6	Low	3.7	Hashtgerd	Rs42

AG-4	- - - -	Low	3.5	Damavand	Rs43
AG-4	dispersed/low ,0.6-0.8	Low	3.1	Damavand	Rs44
AG-4	complex/high, 0.8-1	Very Low	3.3	Damavand	Rs45
AG-4	dispersed/low,0.9-1.1	Low	3.9	shahriar	Rs46
AG-4	dispersed/low,0.8-1	Low	3.8	shahriar	Rs47
AG-4	dispersed/medium,0.8-1.1	Low	3.9	shahriar	Rs48
AG-6	dispersed/medium,0.8-1.1	Low	3.9	karaj	Rs49

ادامه جدول در صفحه بعد ..

ادامه جدول ۲ :

Anastomosis group	shape and size of sclerotia in the PDA (mm)	production of aerial mycelia	Growth rate in the PDA (Cm per Day)	Collected area	Isolate number
AG-6	dispersed/low ,0.4-0.6	Low	3.9	karaj	Rs50
AG-4	complex/medium ,0.9-1	High	3.7	varamin	Rs51
AG-4	complex/medium,0.9-1	Low	3.4	varamin	Rs52
AG-6	- - - -	Low	3.4	varamin	Rs53
AG-2-2IIIB	complex/high ,0.7-1.1	Medium	3.4	varamin	Rs54
AG-2-2IIIB	complex/high,0.8-1.1	Low	2.9	varamin	Rs55
AG-4	complex/medium,0.4-0.7	High	2.8	Hashtgerd	Rs56
AG-4	- - - -	Very Low	2.9	Hashtgerd	Rs57
AG-4	dispersed/low ,0.9-1.5	Very Low	3.3	Hashtgerd	Rs58
AG-4	- - - -	Low	3.3	Hashtgerd	Rs59
AG-6	- - -	Low	3.7	karaj	Rs60
AG-6	- - - -	Low	3.7	karaj	Rs61
AG-4	- - - -	High	3.8	shahriar	Rs62
AG-4	complex/low,1.2-1.6	High	3.9	shahriar	Rs63
AG-4	complex/medium ,1.1-1.2	Very high	3.7	shahriar	Rs64
AG-4	dispersed/low ,0.9-1.1	High	3.7	shahriar	Rs65
AG-4	- - - -	Very high	3.9	shahriar	Rs66
AG-4	dispersed/high,0.7-0.9	Low	2.8	Lavasaan	Rs67
AG-4	dispersed/very high,0.7-1.1	Low	2.4	Lavasaan	Rs68
AG-4	dispersed/high,0.7-1.1	Low	2.9	Lavasaan	Rs69
AG-4	- - -	Low	3.5	karaj	Rs70
AG-4	- - - -	High	3.2	varamin	Rs71
AG-4	complex/low ,0.9-1.5	High	3.7	varamin	Rs72
AG-4	- - - -	-	3.5	karaj	Rs73
AG-4	- - - -	-	3.6	karaj	Rs74
AG-4	complex/high ,0.9-1.4	High	3.6	karaj	Rs75
AG-4	complex/very high,0.9-1.1	Very high	3.9	karaj	Rs76
AG-4	complex/high,0.4-0.5	-	3.8	pishva	Rs77
AG-4	dispersed/low,0.4-0.6	High	3.5	pishva	Rs78
AG-4	dispersed/low,1.2-1.6	Low	3.5	pishva	Rs79
AG-4	dispersed/high,1.1-1.5	Low	3.9	pishva	Rs80

*علامت (-)، نشان دهنده عدم مشاهده سختینه می‌باشد.

بحث

با توجه به این که نمونه‌برداری از کلیه مناطق کشت لوبیا در استان تهران انجام شد، به نظر می‌رسد که اکثر مناطق کشت این محصول تحت تاثیر قارچ *R. solani* عامل پوسیدگی بذر و مرگ گیاهچه باشند. در برخی مناطق خسارت حاصل از بیماری بالا و در برخی از مناطق

خسارت لکه ای بود. علائم بیماری شامل کم رشدی و زردی بطور غیر یکنواخت در سطح مزارع بود (Behdad, 1999).

قارچ عامل بیماری می‌تواند باعث مرگ گیاهچه قبل و یا بعد از خروج از خاک شود که این امر سبب تنک شدن قسمت‌هایی از مزارع شده بود. علائم بیماری بر روی طوقه و ریشه مشابه نشانه‌هایی بود که در دیگر نقاط جهان گزارش شده است، وجود لکه‌های قهوه‌ای مایل به قرمز روی طوقه و ریشه که با پیشرفت بیماری لکه‌ها بزرگ شده و بهم می‌پیوندند که در نهایت باعث کاهش رشد می‌شوند و اگر این زخم‌ها دور ساقه را فرا گیرند، باعث مرگ گیاه می‌شوند (Behdad 1999; Davis *et al*.; Okhovat *et al*., 1993; Sumner, 1995). در مزارع استان تهران بار جنسی قارچ مشاهده نشد که احتمالا قارچ در شرایط نامساعد را توسط هیف‌ها و سختینه‌ها تحمل می‌کند (Agrios, 1997). در اوایل فصل کشت لوبیا در مقایسه با اواخر فصل زراعی، قارچ عامل بیماری به نسبت بیشتری جداسازی گردید. با گذشت زمان و قوی‌تر شدن گیاه و احتمالا ترشح فیتوالکسین ها و افزایش کلسیم، گیاه از بیماری فرار می‌کند. جداسازی از گیاهچه جوان بیشتر و شدت خسارت بیماری با افزایش سن گیاه کاهش می‌یابد (Haward & Scharts, 1980).

مطالعات انجام شده روی *R. solani* نشان می‌دهد که این قارچ یک گونه یکنواخت نمی‌باشد و کوشش‌هایی در زمینه شناسایی و تقسیم بندی آن به گروه‌های ریزتر و حتی گونه‌های بیشتر انجام گردیده است. این گونه عامل مرگ گیاهچه، پوسیدگی ریشه و طوقه و بلایت برگی لوبیا بوده و تنوع ژنتیکی بسیار بالائی از جمعیت آن گزارش شده است، لذا به آن گونه مرکب اطلاق شده است (Vilgalys & Cubeta, 1994). در این بررسی از سطح استان تهران ۸۱ جدایه ی *R. solani* جمع‌آوری و خصوصیات ظاهری پرگنه آنها از قبیل شکل، رنگ، سختینه واندازه و فرم تشکیل آنها، سرعت رشد و... مورد بررسی واقع شد. قارچ *R. solani* به آسانی بر روی محیط کشت‌های عمومی مانند PDA, WA و CMA جدا می‌شود (Anderson *et al*., 1982; Safaei *et al*. 1999; Snech *et al*., 1991). همچنین در این بررسی محیط کشت انتخابی پیشنهاد شده توسط (Ko & Hora, 1971) نسبت به محیط PDA برتری چندانی نشان نداد. پرگنه ها به اشکال ستاره ای، دوایر متحدالمرکز یا کاملا یکنواخت و همگن بودند. رنگ پرگنه ها از سفید تا قهوه ای تیره متغیر بود. تعداد پرگنه‌ها با رنگ قهوه‌ای تیره بیشتر بود و از نظر بیماری‌زایی، بیماری‌زاترین جدایه‌ها بودند. این امر ممکن است ناشی از تجمع ملانین در این هیف‌ها باشد که منجر به تیره شدن آنها می‌شود (Snech *et al*., 1991).

اکثر پرگنه‌های قهوه‌ای از هفته اول سختینه تشکیل دادند و سختینه‌ها گرد، بیضی و یا بی‌شکل و بصورت مجتمع و یا پراکنده بودند. پرگنه‌های سفید یا سختینه تشکیل ندادند و یا

بسیار دیرتر از سایر جدایه‌ها تشکیل دادند و بسیار کوچک و کم بودند. شدت بیماری‌زایی این جدایه‌ها نیز، نسبتا کمتر بود که با بررسی Snech (1991) تا حدی مطابقت داشت. وی بیان می‌کند که هیف جدایه‌های غیر بیماری‌زا شفاف و بی‌رنگ است و در مقابل، هیف جدایه‌های بیماری‌زا قهوه‌ای رنگ می‌باشند که به علت تجمع ملانین در این سلول‌ها است. چنین هیف‌های بی‌رنگ قدرت نفوذ به داخل سلول را ندارند. عدم ساخت ملانین در جدایه‌های غیر بیماری‌زا ممکن است فقدان ملانین دلیلی بر غیر بیماری‌زا بودن جدایه‌های ریزوکتونیای غیر بیماری‌زا باشد. سرعت رشد اکثر جدایه‌های *R. solani* بسیار زیاد و به طور متوسط ۲/۹ – ۳/۶ سانتی‌متر در روز بود.

گروه آناستوموزی جدایه‌ها که از ریشه و طوقه لوبیا به دست آمده بود گروه چهار(AG-4)، گروه شش (AG-6) و ۲ جدایه متعلق به گروه آناستوموزی (AG-2) بودند که ۲ گروه اخیر برای اولین بار از ایران گزارش می‌شود. گروه آناستوموزی چهار از جدایه‌های بدست آمده از لوبیا توسط محققین دیگر نیز از ایران گزارش شده است (Safaei *et al.*, 1999; Bazgir, 1993; Zamani, 1989; Ghosta, 1996).

بنا به نظر Sumner (1995)، گروه آناستوموزی *R. solani* مهم‌ترین و بیماری‌زاترین گروه آناستومزی است که با بررسی حاضر مطابقت دارد. جدایه‌های موجود در گروه آناستوموزی چهار (AG-4) براساس رنگ سختینه‌ها و تشابه در ردیف بازهای DNA به دو زیر گروه به نام‌های HG-I و HG-II تقسیم بندی شده‌اند. جدایه‌های زیر گروه HG-I سختینه‌های قهوه‌ای تیره رنگی روی محیط کشت PDA تولید می‌کنند و تشابه دو ردیف بازهای DNA را در بین جدایه‌ها به میزان ۸۹ تا ۹۳ درصد می‌باشد. جدایه‌های موجود در زیر گروه HG-II سختینه‌های قهوه‌ای خاکستری رنگ یا قهوه‌ای مایل به سفید روی محیط کشت PDA تولید می‌کنند و میزان تشابه دو ردیف بازهای DNA ما بین جدایه‌ها ۸۹ - ۱۰۰ درصد می‌باشد.

اکثر جدایه‌های بررسی شده در این تحقیق، به دلیل اینکه سختینه‌های قهوه‌ای تیره تولید در زیر گروه AG-4 HG-I و تعدادی کمتر که سختینه‌های سفید تولید نموده در زیر گروه AG-4 HG-II قرار می‌گیرند که تا حدود زیادی با نتایج محققین دیگر مطابقت دارد (Snech *et al.*, 1991).گروه آناستوموزی دو (AG-2) توسط Galnido *et al* . (1982) و Goday *et al*. (2003) و Ceresini *et al*. (2002) و Muyolo *et al*. (1996) و Eken & Demric (2004) و گروه آناستوموزی شش (AG-6) توسط Sunder *et al*., (2003) از لوبیا نیز گزارش شده است.

Lyndel *et al*., (2002) بیان نمودند که پوسیدگی ریشه و طوقه از لوبیا عمدتا به وسیله گروه آناستوموزی AG-4 ایجاد می‌شود و گروه‌های دیگر با درصد کمتر از ریشه‌های پوسیده جدا می‌شوند که این امر با بررسی حاضر نیز مطابقت دارد. گروه آناستوموزی (چهار GH-4)

دارای زمینه میزبانی وسیع با شدت بیماری‌زایی بالا است (Muyolo *et al*., 1993). بسیاری از محققین پس از انجام آزمون بیماری‌زایی چنین نتیجه گرفتند که گروه آناستوموزی چهار بیماری‌زا ترین گروه آناستوموزی نسبت به گروه‌های آناستوموزی دیگر جدا شده از لوبیا می‌باشد. جدایه‌های شماره Rs7 و Rs21 مورد استفاده در این تحقیق که در آزمایش‌ها بررسی شدت بیماری‌زایی، بالاترین درجه را نشان دادند، تعلق به گروه AG-4 دارند. این جدایه‌ها علاوه بر پوسیدگی بذور و لپه‌های لوبیا روی هیپوکوتیل گیاهچه بلافاصله بالای سطح خاک زخم‌های فرورفته قهوه‌ای رنگ و بیضی شکل ایجاد نمودند که با ویژگی‌های ارائه شده توسط Ogoshi, (1996) برای این گروه آناستوموزی مطابقت می نماید.

در آزمون بیماری‌زایی، جدایه‌ها بر روی رقم اصلاح شده ناز آزمایش شدند. بیماری‌زایی جدایه‌های Rs74، Rs62، Rs18، Rs21، Rs71 از همه بیشتر و شدت بیماری‌زایی جدایه Rs71 از همه کمتر بود و جدایه‌های متعلق به گروه آناستوموزی شش (AG-6) نیز تقریبا غیر بیماری‌زا بودند که نظریه Ogoshi (1996) که AG-6 را اساسا غیر بیماری‌زا می‌داند، منطبق می‌باشد. این نتایج همبستگی بین رنگ جدایه‌ها و بیماری‌زایی آنها را تا حدود زیادی تایید کرد (Snech *et al*.,1991). نتایج این تحقیق بیانگر وجود تنوع بالائی در بیماری‌زایی جدایه‌های *R. solani* متعلق به گروه‌های آناستوموزی مختلف از لوبیا می‌باشد. اهمیت تنوع در بیماری‌زایی بیمارگرها، از زوایای مختلف مورد توجه بیماری شناسان گیاهی و متخصصین اصلاح نباتات می‌باشد. بیماری شناسان به دنبال بررسی علل و عوامل تاثیرگذار بر تغییر در بیماری‌زایی بیمارگرها، فراوانی ژن‌های بیماری‌زایی از نظر زمانی و مکانی و مطالعه اپیدمیولوژیکی بیمارگرهای حامل ژن‌های مختلف بیماری‌زایی 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).

مقایسه مقاومت ارقام لوبیا در مقابل جدایه‌های *R. solani* موید این نظر است که مقاومت ارقام به صورت پیوسته تغییر می‌کند، به طوریکه بطور قطع نمی‌توان یک رقم را در مقابل جدایه‌های بکار برده شده کاملا مقاوم دانست و به نظر می‌رسد که مقاومت لوبیا نسبت به *R. solani* حالت نسبی داشته و یک نوع مقاومت پلی ژنیک باشد. این چنین مقاومتی اصولا در ارتباط با تعداد زیادی ژن می‌باشد. کامل نبودن مقاومت لوبیا به *R. solani* در کارهای (Erper *et al*., 2003; Sachin *et al*., 2004; Haward & Scharts, 1980) نیز مورد اشاره قرار گرفته است و این موضوع یکی از مشکلات اصلی تهیه ارقام مقاوم به شمار می‌رود. نکته دیگر اینکه احتمالا یک نوع ارتباط مستقیم بین لوبیا نسبت به *R. solani* و تیرگی رنگ پوسته بذر لوبیا وجود دارد که این پدیده در مطالعات Haward & Scharts (1982) 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 خود محدود می‌کنند، به این دلیل که پوشش دانه محکم به کوتیلدون‌ها چسبیده و این امر باعث می‌شود که پوشش دانه بسیار کم شکاف بردارد. دومین عامل، تولید فیتوالکسین‌ها در دانه‌های با پوشش تیره است که در مقاومت آنها به آلودگی گزارش شده است. تصور می‌شود که ژن رنگدانه با ژن مقاومت به صورت پیوسته است (Prasad & Weigle, 1970).

در دنیا ارقام مقاوم متعددی گزارش شده اند که اکثرا از ارقام بومی هستند و در ارقام تجاری، رقم مقاوم کمتر دیده می‌شود. اکثر ارقام مقاوم گزارش شده به علت تیرگی رنگ و کوچکی و چروکیده بودن دانه دارای بازار پسندی پایینی هستند.

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 مورد تایید قرار گرفت. بنابراین لازم است که ارقام رایج در دیگر استان‌های کشور نیز مورد بررسی قرار گیرند و مقاومت شان نسبت به بیماری پوسیدگی ریشه و طوقه لوبیا ارزیابی شود.

همچنین از آنجایی که رقم کاملا مقاومی در مقابل این بیماری یافت نشد، پیشنهاد می‌شود که از روش‌های دیگر به صورت تلفیقی برای کنترل بیماری پوسیدگی ریزوکتونیایی لوبیا استفاده شود (Dubey, 2003).

منابع

Agrios, G. 1997. *Plant Pathology*. 4th Edition. Academic press. USA.

Anderson. N. A.1982. The genetics and pathology of *Rhizoctonia solani. Annual Review of Phyopathology*, 20: 329-374.

Ahonmanesh, A. 2000. *Principles of Plant Disease*. Isfahan University Publication Center. (In Persian).

Bagheri, A., Mahmoodi, A & Ghezli, F. D. 2000. *Agronomy and Bean breeding*. Jahad Mashhad University Press, (In Persian).

Behdad, A. 1999. *Plant pathogens and diseases of Iran*. Falahat Publications of Iran, (In Persian).

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

Carling D. E., Baird R.E., Gitaitis R.D., Brainard K.A., Kuninaga S. 2002a. Characterization of AG-13, a newly reported anastomosis group of *Rhizoctonia solani*. *Phytopathology* 92:893-899.

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

Dubey, S. C. 2003. Integrated management of web blight of mung bean by bio-seed treatment. *Indian Physiopathology*, 56 : 34-38.

Eken, C. & Demrici, E. 2004. Anstomosis groups and pahtogenicity of *Rhizoconia solani* and binucleate Rhizoctonia isolates from bean in Erzurum,Turkey. *Journal of Plant Pathlogy*, 86: 49-52

Erper, T., Karaca ,G & Balkaya, A. 2003. Determination of the susceptibility of som greenbean cultivars grown in Samsun province against *Rhizoctonia solani*. *Agronomy Faculty- Dergisi*, 18: 51-55.

Galindo, J. I., Abawi, G. S. & Thurston, H. D. 1982. Variability among isolates of Rhizoconia solani associated with snapbean hypocotyls and soil in Newyork. *Plant Disease*, 66:390-394.

Goday – Lutz, G., Steadman, J. R., Higgins, B. & Powers , K. 2003. Genetic variation among isolates of the web blight pathogen of common bean based on PCRRELP of the ITS- rDNA region. *Plant Disease*,87: 766-771.

Ghosta, Y. 1996. *Research on Classification Decandolle Rhizoctonia*. MS Thesis Plant Pathology, Faculty of Agriculture, Tehran University, Karaj, Iran. 110 pp.

Haward, F. & Schartz, E. 1980. Bean Production Problems, Control International Agricultural Tropical (CIAT) Apartodo pereo, cali, Colombia: 3-99.

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

Lyndel, W., Meinhard , T ., Nelson, A., Wulf . F ., Claodia, M., Bellat, O. & Stu, M. 2002. Genetic analyses of *Rhizoconia solani* isolates from *Phaseolus vulgaris* grown in the Atlantic rainforest region of Saopaulo, Brazilia. 27:1-7.

Martin, F. N., & English, J. T., 1997. Population genetics of soil born fungal plant pathogens. *Phytopathology*. 87: 447-449.

Muyolo, N. G., Lipps, S. E. & Schmithenner, A. F. 1993. Reactions of dry bean, 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.* pp: 1-9. In: Sneh, B. *et al.* (Eds.), *Rhizoctonia species: Taxonomy, Molecular Biology, Ecology, Pathology and Disease Control*, Kluwer Aademic Publishers.

Okhovvat, M., Bazgir, A., Rohani, H & Karimi roozbahani, A. 1993. Eleven varieties of beans reactions against six isolates of *Rhizoctonia solani* in greenhouse conditions. *Proceedings of the Eleventh Iranian Plant Protection Congress, Gilan.*p. 139.

Panella, L. W. & Ruppel, E. G. 1996. Avalibility of germplasm for resistance against Rhizoctonia spp. Pp. 515-527 In: Sneh, B. *et al.* (Eds.), *Rhizoctonia* species: Taxonomy, molecular Bilogy, Ecology Pathology and Disease Control, Kluwer Academic Publishers.

Peever, T. L., Zeigler, R. S., Dorrance, A. E., Correa-victoria, F. J. & Martin, S. S. 2000. Pathogen population genetics and breeding for resistance. APSnet feature.

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

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

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

Snech,B., 1991. Identification of Rhizoctonia Species. APS Press.St. Paul. Minnesota, USA. 733 pp.

Sunder , S., Kataria, H .R. & Sheoran, O. P. 2003. Charactization Rhizoctonia Solani associated with root/ collar rots and blights. *Indian Phyto pathology*, 56: 27-33.

Sarafi, A & Okhovat, M. 1972. Resistance of bean cultivars to five isolates of the fungus *Rhizoctonia solani* Kuehn 3 in greenhouse. Journal of Agricultural Faculty of Tehran University, 56: 49- 30.

Safaii, N., Minasian. V., Rahimian., H & Banihashemi., Z. 1999. Isolation, identification and pathogenicity of different species of plants in the province *Rhizoctonia solani*. *Journal of Plant Diseases*, 35: 8-1.

Vilgalys, R. & Cubeta, M. A. 1994. Molecular systematic and population biology of *Rhizoctonia solani.* Annual Review of *Phytopathology*, 32: 135-155.

Zamani, M. R., Balali, G. H., Danesh, D & Rahimian, H. M. 1989. Anastomosis groups of *Rhizoctonia solani* isolates from several hosts in Isfahan. *Proceedings* of the 9th Iranian *Plant Protection Congress*, Mashhad University, p.: 141.