غربال لاین های اوتایپ چغندر قند از نظر مقاومت به بیماری لکه گرد برگ در شرایط درون شیشه و مزرعه

محسن آقائی زاده [۱]*، سید باقر محمودی [۲]، مژده کاکوئی نژاد [۳] و شهرام خدادادی [۴]

۱*- **نویسنده مسئول** عضو هیئت علمی موسسه تحقیقات اصلاح و تهیه بذر چغندر قند، بخش به نژادی، کرج
(mohsen_agh@yahoo.com)

۲- استادیار پژوهشی موسسه تحقیقات اصلاح و تهیه بذر چغندر قند، کرج

۳- عضو هیئت علمی موسسه تحقیقات اصلاح و تهیه بذر چغندر قند، بخش گیاهپزشکی، کرج

۴- کارشناس ارشد زراعت موسسه تحقیقات اصلاح و تهیه بذر چغندر قند، فیروزکوه

تاریخ دریافت: ۹۱/۱۰/۱۰ تاریخ پذیرش: ۹۳/۳/۳

چکیده

تعداد ٤٧ لاین اوتایپ منوژرم چغندر قند به همراه دو شاهد حساس داخلی تحت شماره های ٢٦٠٩١ و ٢٦٣٨١ و دو شاهد مقاوم داخلی و خارجی به نام های کهریز-٩١ وHM1990 با استفاده از تکنیک ارزیابی مقاومت در قطعات جدا شده برگ از نظر مقاومت به بیماری لکه برگی سرکوسپورائی در شرایط درون شیشه ارزیابی شدند. آزمایش در قالب طرح کاملا تصادفی با سه تکرار انجام شد که در هر تکرار برای هر ژنوتیپ تعداد ١٠ قطعه جدا شده برگ متعلق به ١٠ بوته مورد استفاده قرار گرفت. قطعات در شرایط درون شیشه اسپور پاشی شده و پس از ٨ روز تعداد لکه در واحد سطح برگ شمارش گردید. نتایج تجزیه واریانس حاکی از حساسیت ٤٢ ژنوتیپ از ٤٧ لاین مورد بررسی بود اما پنج لاین منوژرم (١١٨٦٦، ١١٨٦٧، ١١٨٦٨، ١٢٣٢٦ و ١٢٧٦١) با میانگین تعداد لکه ٣/٠١ تا ٣/٥٢ با شاهد مقاوم در یک گروه آماری قرار گرفتند. ژنوتیپ های انتخابی در شرایط مزرعه با آلودگی طبیعی در ایستگاه قراخیل قائم شهر از نظر مقاومت به بیماری ارزیابی شدند. آزمایش در قالب طرح بلوک های کامل تصادفی با چهار تکرار اجرا گردید. شدت آلودگی هر تیمار در سه مرحله از رشد گیاه و با استفاده از مقیاس استاندارد ٩-١ اندازه گیری شد که مبنای مقایسه تیمارها بود. نتایج مزرعه ای ضمن تائید نتایج درون شیشه، لاین منوژرم ١٢٧٦١ را با شاهد مقاوم در یک گروه دسته بندی کرد.

کلید واژه: چغندر قند ، ژرم پلاسم ، ارزیابی ، Cercospora beticola

مقدمه

بیماری لکه برگی سرکوسپورایی ناشی از (*Cercospora beticola* Sacc.) در چغندرقند مهمترین، شایعترین و مخرب ترین بیماری برگی این محصول است که تحت شرایط محیطی گرم و مرطوب بیشترین خسارت را به محصول چغندرقند وارد می‌کند (اسکاراسیس و بیانکاردی[۱]، ۲۰۰۰). نخستین بار در سال ۱۹۶۹ نقشه انتشار جغرافیائی بیماری در بسیاری از نواحی نیمکره شمالی و جنوبی به چاپ رسید (آنونیموس[۲]، ۱۹۶۹). در ایران بیماری مزبور از مناطق مختلف نظیر خوزستان، کرانه های دریای خزر، اردبیل، ارومیه، خوی، مغان و کازرون گزارش شده است (ارشاد، ۱۳۷۳) ولی به نظر می رسد که خسارت اقتصادی بیماری به مناطق زیر کشت چغندرقند در استان خوزستان و دشت مغان محدود می شود. این در حالی است که به استناد آمار و ارقام موجود، کشت چغندرقند در مناطق

1 Skaracis &Biancardi

2 Anonymous

خوزستان و دشت مغان از مزیت نسبی برخوردار بوده به گونه ای که بیشترین عملکرد ریشه در هکتار در سطح کشور مربوط به این دو منطقه میباشد (عبدالهیان و همکاران، ۱۳۸۱).

بیماری لکه برگی سرکوسپورائی رشد چغندر قند، عملکرد و همچنین کیفیت آن را تحت تاثیر قرار می دهد. علاوه بر کاهش شدید عملکرد، افت عملکرد شکر خام در اپیدمی‌های شدید بیماری در برخی مطالعات تا ۴۲ درصد (اسمیت و راپل[3]، ۱۹۷۱، اسمیت و مارتین [4]، ۱۹۷۸) و در مطالعات دیگر تا ۵۰ درصد (اسکاراسیس و بیانکاردی، ۲۰۰۰) گزارش گردیده است. تاثیر عامل بیماری بر رشد و نمو چغندر قند در دو مرحله نمایان می شود. نخست در مرحله تشکیل لکه بر روی برگ های اولیه و گسترش آن که موجب نابودی برگ ها و اختلال در فرایندهای حیاتی گیاه شده و سپس تشکیل برگ های جدید بعنوان واکنش گیاه به بیماری که با مصرف مواد ذخیره شده همراه است و خسارت بیشتری به گیاه وارد می سازد. جالب این که رشد مجدد برگ ها در مقایسه با آلودگی اولیه برگ ها خسارت شدیدتری را باعث می شود. جدای از بکارگیری روش‌های زراعی نظیر تناوب، تاریخ کاشت مناسب و شخم عمیق که در راستای کاهش مایهٔ تلقیح اولیه صورت می‌گیرد، استفاده از ارقام مقاوم و کاربرد قارچکش‌های مختلف راه های اصلی مقابله با این بیماری هستند (روسی و همکاران[5]، ۱۹۹۹). زمانی که آلودگی بسیار شدید باشد، کاربرد قارچ‌کش‌ها ممکن است به ۶ تا ۷ بار در طی فصل برسد (اسکاراسیس و همکاران، ۱۹۹۶).

مونراتی[6]، محقق ایتالیایی از پیشگامان اصلاح و تهیه ارقام مقاوم به سرکوسپورا می‌باشد. مقاومت موجود در اکثر ارقام فعلی چغندرقند در واقع دستاورد برنامه به نژادی وی بر روی هیبریدهای حاصل از تلاقی با چغندر وحشی *B. vulgaris* sub sp. *maritima* است. تحقیقات مستمر وی در طول قریب به بیست سال منجر به تهیه لاین های بسیار مقاوم به بیماری شد (اسکاراسیس و بیانکاردی، ۲۰۰۰). براساس بررسی های به عمل آمده مقاومت به این بیماری ماهیتی چندژنی داشته و تعداد ژن های دخیل در ایجاد مقاومت ۴ یا ۵ ژن برآورد شده است (اسمیت و گاسکیل[7]، ۱۹۷۰). یکی از مشکلاتی که در اصلاح ارقام مقاوم به بیماری لکه برگی سرکوسپورائی وجود داشت وجود رابطه منفی بین مقاومت به بیماری و عملکرد چغندر قند بود (میلر و همکاران[8]، ۱۹۹۴) که به نژادگران برآن فائق آمده و بر این رابطه منفی غلبه کرده اند (بیانکاردی و همکاران، ۱۹۹۹). ماهیت مقاومت در گونه های وحشی *B.pattelaris* و *B.procumbens* نیز مطالعه شده و گیاهان منوسومیک با یک کروموزوم اضافی از گونه های فوق الذکر در شرایط گلخانه بررسی شدند (مصباح و همکاران[9]، ۱۹۹۷). نتایج این بررسی نشان داد که برای ایجاد مقاومت کامل به سرکوسپورا مجموعه ژن های موجود روی کروموزوم های مختلف ضروری است (مصباح و همکاران، ۱۹۹۷).

اغلب پژوهشگران برای ارزیابی مقاومت به سرکوسپورا به اپیدمی‌های طبیعی بیماری متکی بوده‌اند، بعنوان مثال ارجمند و همکاران (۱۳۷۳) رگه‌های چغندرقند در سطوح مختلف پلوئیدی را با استفاده از مقیاس KWS ۹-۱ تحت شرایط آلودگی طبیعی مورد ارزیابی قرار داده‌اند. همچنین تعدادی از لاین‌های منوژرم چغندرقند بـه منظور انتخاب توأم مقاومت به گلدهـی زودرس و سرکوسپورا تحت شرایط آلودگی طبیعی مورد ارزیابـی قرار گرفته‌اند (صادقیان و شریفی، ۱۹۹۹). اما به تدریج روش‌هایی برای ایجاد آلودگی مصنوعی درمزرعه (اسمیت و گاسکیل، ۱۹۷۰) و همچنین ارزیابی مقاومت تحت شرایط کنترل شده در

3- Smith & Ruppel
4- Martin
5- Rossi *et al.*
6- Munerati
7- Gaskill
8- Miller *et al.*
9- Mesbah *et al.*

گلخانه نیز ابداع گردید (روسی و همکاران، ۱۹۹۹). اخیراً نیز روش جدیدی برای ارزیابی مقاومت تک بوته ها با استفاده از قطعات جدا شده برگ تحت شرایط کنترل شده در ظروف پتری ارائه گردیده است که با این روش در مدت کوتاهی می توان تعداد کثیری از گیاهان را از نظر مقاومت به سرکوسپورا مورد ارزیابی قرار داد (عباسی و همکاران، ۱۳۸۲). با مقایسه روش های مختلف ارزیابی مقاومت به بیماری در شرایط مزرعه، گلخانه و آزمایشگاه مشخص گردید همبستگی بالائی بین ارزیابی های مزرعه ای، گلخانه ای و ارزیابی مقاومت از طریق برگ جدا شده وجود دارد و ارزیابی مقاومت با هر یک از روش های مزبور قابل اعتماد خواهد بود (عباسی و همکاران، ۱۳۸۲). در بررسی واکنش ارقام به جدایه های مختلف عامل بیماری که از چهار منطقه خوزستان، اردبیل، گلستان و مازندران جمع آوری شده بودند مشخص گردید که جدایه ها از نظر قدرت بیماری زائی با یکدیگر اختلاف دارند اما واکنش ارقام در برابر جدایه ها افتراقی نیست و مقاومت ارقام در برابر همه جدایه های بیمارگر در ایران موثر است (عباسی و محمودی، ۱۳۸۹).

در تحقیق حاضر با استفاده از تکنیک قطعات جدا شده برگ (عباسی و همکاران، ۱۳۸۲) اقدام به ارزیابی و غربال تعدادی از رگه های اوتایپ (حفظ کننده نرعقیمی) منوژرم موجود در بانک ژن زراعی موسسه تحقیقات اصلاح و تهیه بذر چغندر قند شد. سپس براساس نتایج حاصل از این تکنیک لاین های مقاوم شناسائی و انتخاب گردید که جهت اطمینان بیشتر در شرایط آلودگی طبیعی در مزرعه (عباسی و همکاران، ۱۳۸۱) نیز مورد ارزیابی مقاومت قرار گرفتند.

مواد و روش ها

بذر تعداد ۴۷ لاین اوتایپ منوژرم در سال ۱۳۸۶ به همراه دو شاهد حساس داخلی تحت شماره های ۲۶۰۹۱ و ۲۶۳۸۱ و دو شاهد مقاوم داخلی و خارجی به نام های کهریز- ۹۱ و HM1990 در مزرعه کشت شد. طول کاشت هر ژنوتیپ ردیفی به طول ۱۰ متر بود. عملیات داشت طبق روال معمول انجام گرفته و سه ماه پس از تاریخ کاشت زمانی که بوته ها به اندازه کافی رشد نموده بودند از هر ژنوتیپ تعداد ۳۰ بوته به تصادف انتخاب و از هر بوته یک برگ نمونه برداری شد. تا حد امکان سعی شد برگ ها از نظر شرایط سنی یکسان باشند. در آزمایشگاه ابتدا برگ ها با آب مقطر شستشو شدند و از پهنک هر برگ قطعه ای به قطر ۱/۸ سانتی متر جدا گردید. تعداد ۱۰ قطعه برگ متعلق به یک ژنوتیپ در یک بشقاب پتری حاوی محیط سترون آب آگار ۱/۵ ٪ قرار داده شد. قطعات برگ با استفاده از سوسپانسیون اسپور حاوی $۱۰^{۴}$ ×۳ اسپور در میلی‌لیتر و ۰/۰۵ درصد توین ۲۰ به طور یکنواخت با کمک یک مه‌پاش دستی مایه‌زنی شده و پس از مایه‌زنی در ژرمیناتور قرار گرفتند (عباسی و همکاران، ۱۳۸۲). ارزیابی مقاومت ۸ روز پس از نگهداری در دمای $۲۵\ ^{\circ}C$ و رطوبت نسبی ۱۰۰ درصد صورت گرفت. به این منظور تعداد لکه‌های آلوده در هر دیسک برگی شمارش و تعداد لکه در واحد سطح برای هر ژنوتیپ در هر تکرار براساس متوسط تعداد لکه در ۱۰ دیسک برگی محاسبه شد.

در این مطالعه، جهت انجام آزمایش های درون شیشه ای ارزیابی مقاومت، از مخلوط جدایه های عامل بیماری شامل جدایه خوزستان، جدایه منطقه مغان و جدایه منطقه قائم شهر استفاده گردید. جدایه های بیمارگر بر روی محیط کشت V8A (۲۰۰ میلی لیتر عصاره هشت سبزی V8 در یک لیتر آب، ۳ گرم CaCo2 و ۲۰ گرم آگار) کشت شدند و پس از دو هفته نگهداری در شرایط روشنائی دائم و دمای ۲۰ درجه، سطح پرگنه های قارچ خراش داده شد و پس از افزودن آب مقطر سترون، سوسپانسیون حاصل مجددا بر روی محیط V8A پخش گردید و در نهایت پس از چهار روز نگهداری در شرایط روشنائی دائم و دمای ۱۵ درجه سطح پرگنه قارچ با استفاده از مه پاش دستی

شستشو شد و غلظت سوسپانسیون حاصل پس از صاف کردن در حد ۳۰۰۰۰ اسپور در میلی لیتر برای ارزیابی مقاومت قطعات جدا شده برگ تنظیم گردید. مایه قارچ با اختلاط مقادیر مساوی از سوسپانسیون جدایه های انتخابی بدست آمد. آزمایش در قالب طرح کاملا تصادفی با سه تکرار انجام گرفت. هر بشقاب پتری بعنوان یک تکرار منظور گردید و میانگین تعداد لکه در واحد سطح ۱۰ قطعه برگ موجود در بشقاب پتری برای هر تکرار محاسبه شد.

به منظور اطمینان از نتایج غربال در شرایط درون شیشه، ژنوتیپ های انتخابی از این روش در شرایط آلودگی طبیعی در مزرعه ای واقع در ایستگاه قراخیل قائم شهر از نظر مقاومت به بیماری ارزیابی شدند. شرایط طبیعی منطقه به گونه ای است که بدون نیاز به آلودگی مصنوعی، بیماری هر ساله از اوایل تیرماه ظهور کرده و تا اوایل شهریور به منتهای شدت خود می رسد (عباسی و همکاران، ۱۳۸۱). پنج لاین انتخابی که در غربال اولیه مقاوم و سه لاینی که در همان شرایط حساس نشان دادند، به همراه یک شاهد مقاوم خارجی و یک شاهد حساس در قالب طرح بلوک های کامل تصادفی با چهار تکرار بررسی شدند. هر کرت شامل خطی به طول ۱۰ متر بود. به ازای کاشت دو ردیف از تیمارهای آزمایش، یک ردیف از شاهد حساس کشت شد تا بیماری بطور یکنواخت توسعه یابد. پس از ظهور علائم اولیه بیماری، کرت های آزمایشی از اواسط تیرماه در سه مرحله و به فاصله دو هفته از یکدیگر از نظر مقاومت به بیماری امتیاز دهی شدند. امتیاز براساس وضعیت کل بوته های کرت داده شد. مقیاس مورد استفاده مقیاس ۹-۱ KWS بود که در آن نمره یک برای بوته های سالم و بدون علائم بیماری و نمره ۹ برای بوته هائی بود که بر اثر بیماری برگ های خود را به شدت از دست داده و مجدداً تولید برگ های جدید نموده بودند. در هر مرحله میانگین نمره آلودگی چهار تکرار هر ژنوتیپ بعنوان رتبه آلودگی آن ژنوتیپ در نظر گرفته شد. هر نوبت از ارزیابی مقاومت به بیماری بعنوان یک تکرار در نظر گرفته شد و آزمایش براساس ۱۰ تیمار و سه تکرار تجزیه واریانس گردید. تجزیه واریانس نمرات آلودگی با استفاده از نرم افزار SAS انجام شد و تیمارها براساس روش دانکن گروه بندی شدند.

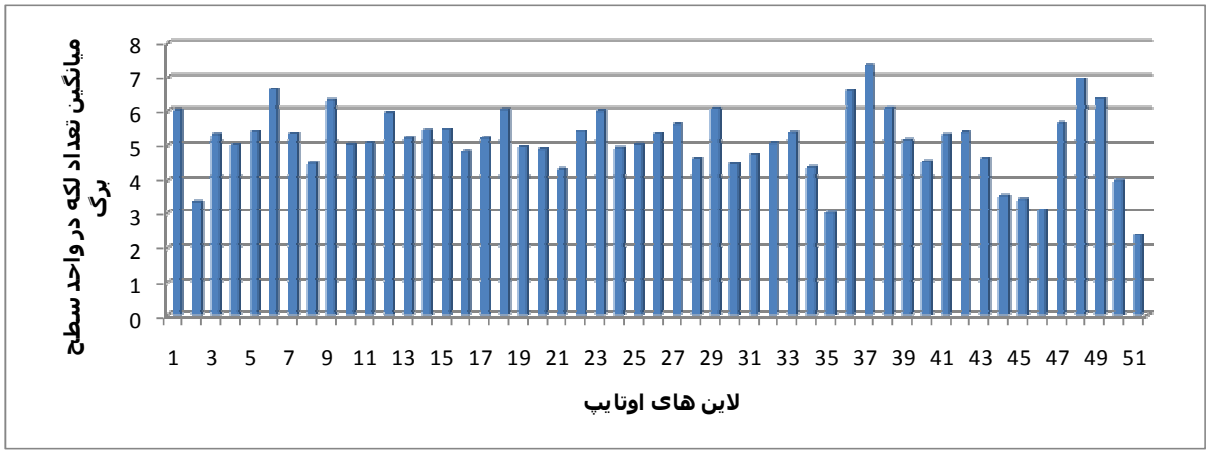
نتایج

نتایج حاصل از تجزیه واریانس داده های ارزیابی لاین ها در شرایط درون شیشه حاکی از وجود اختلاف معنی دار بین ژنوتیپ ها از نظر مقاومت به بیماری بود (جدول ۱). مقایسه متوسط تعداد لکه در واحد سطح ژنوتیپ های مورد بررسی با شاهد مقاوم خارجی (که متوسط تعداد لکه در واحد سطح آن معادل ۲/۳۶ بود) نشان از حساسیت بسیاری از مواد ژنتیکی مورد بررسی داشت. عکس العمل ژنوتیپ ها نسبت به عامل بیماری تنوع زیادی نشان داد. در گروه ژنوتیپ های حساس کمترین رتبه ۴/۲۹ و بیشترین آن معادل ۷/۳۶ بود (نمودار ۱) که نشان می داد واکنش ژنوتیپ ها از نظر میزان حساسیت به بیماری با یکدیگر متفاوت بوده و می توان آنها را به دو گروه حساس و بسیار حساس تقسیم بندی کرد. گروه بندی ژنوتیپ ها براساس دانکن در سطح احتمال یک درصد آنها را درپانزده گروه دسته بندی کرد که از میان آنها پنج ژنوتیپ اوتایپ با شماره ردیف ۲، ۳۵، ۴۴، ۴۵ و ۴۶ با شاهد مقاوم خارجی (ردیف ۵۱) هم گروه شدند و اختلاف میانگین آنها با شاهد مقاوم از نظر آماری معنی دار نبود (نمودار ۱). هیچ یک از پنج ژنوتیپ مورد نظر رتبه ای کمتر از شاهد مقاوم خارجی بدست نیاوردند. رتبه مقاوم ترین لاین منوژرم ۳/۰۱ و رتبه پنجمین لاین برگزیده ۳/۵۲ بود. متوسط تعداد لکه در واحد سطح شاهد مقاوم داخلی (تیمار شماره ۵۰) ۴/۰۰ برآورد گردید که هر پنج ژنوتیپ انتخابی بهتر از آن بودند هرچند این اختلاف از نظر آماری معنی دار نبود. متوسط تعداد لکه در واحد سطح دو شاهد حساس به ترتیب ۶/۳۹ و ۶/۹۵ بود (تیمارهای ۴۸ و ۴۹) که اختلاف فاحشی با شاهد های

جدول ۱- تجزیه واریانس نتایج ارزیابی لاین ها در شرایط درون شیشه

منابع تغییرات	درجه آزادی	میانگین مربعات
تیمار	۵۰	۳/۰۹۴ **
اشتباه	۱۰۲	۰/۴۱۵
کل	۱۵۲	

** : معنی دار در سطح احتمال ۱٪



نمودار ۱- واکنش لاین های اوتایپ منوژرم به بیماری لکه برگی در شرایط درون شیشه

مقاوم و همچنین لاین های انتخابی داشتند. پنج ژنوتیپ مقاوم به همراه سه لاین حساس در شرایط آلودگی طبیعی نیز ارزیابی و در سه مرحله از نظر شدت آلودگی نمره داده شدند (جدول ۲). نمره آلودگی هر ژنوتیپ در هر مرحله عبارت از میانگین نمره آلودگی آن ژنوتیپ در چهار تکرار بود. از پنج ژنوتیپ برگزیده در ارزیابی آزمایشگاهی (ردیف های ۵-۱) چهار ژنوتیپ در اولین مرحله از ارزیابی مقاومتی همچون شاهد مقاوم داشتند و رتبه آلودگی شان اختلاف کمی با شاهد مقاوم داشت. اما به تدریج با افزایش شدت آلودگی مزرعه از پایداری لاین های مقاوم کاسته شد و اختلاف رتبه آلودگی آنها با شاهد مقاوم افزایش یافت. هر سه لاینی که در ارزیابی اولیه (ردیف های ۸-۶) حساس بودند در شرایط مزرعه نیز به شدت آلوده شدند و نمره ای در حد و اندازه شاهد حساس آزمایش دریافت کردند و حتی از آن حساس تر بودند. در سومین مرحله از ارزیابی و نمره دهی لاین ها، فقط یکی از ژنوتیپ ها توانست رتبه ای نزدیک به شاهد مقاوم دریافت کند.

در تجزیه واریانس نمره آلودگی ژنوتیپ ها در سه مرحله ارزیابی هم اثر تکرار و هم تیمار معنی دار گردید (جدول ۳). با توجه به این که تکرارها درواقع مراحل مختلف ارزیابی بودند، معنی دار شدن تکرارها نشان می دهد مراحل ارزیابی با یکدیگر اختلاف داشته و یا به عبارت دیگر شدت آلودگی مزرعه و وضعیت آن از مرحله ای به مرحله دیگر تفاوت می کرد. بین ژنوتیپ ها نیز از نظر مقاومت به بیماری لکه برگی سرکوسپورائی و

واکنش نسبت به آن اختلاف وجود داشت. گروه بندی تیمارها براساس متوسط نمره آلودگی آنها را در سه گروه آماری قرار داد و چهار ژنوتیپ ردیف های ۱، ۲، ۳ و ۵ از نظر میانگین نمره آلودگی اختلاف آماری معنی داری با شاهد مقاوم آزمایش نداشته و با آن هم گروه شدند.

جدول ۲- ارزیابی مقاومت لاین های اوتایپ تحت شرایط آلودگی طبیعی در مزرعه

ردیف	ژنوتیپ	نمره آلودگی		
		یادداشت برداری اول	یادداشت برداری دوم	یادداشت برداری سوم
۱	۱۲۳۲۶ – ۵۹	۳/۲۵ c	۶/۷۵ abc	۶/۵۰ a
۲	۱۲۷۶۱ – ۶۰	۳/۷۵ bc	۴/۰۰ d	۴/۵۰ b
۳	۱۲۷۶۹ – ۶۰	۴/۵۰ abc	۴/۷۵ d	۶/۷۵ a
۴	۲۵۴۴۷ – ۷۹	۶/۲۵ a	۵/۲۵ cd	۶/۰۰ a
۵	۲۵۴۴۸ – ۷۹	۴/۵۰ abc	۵/۵۰ bcd	۶/۰۰ a
۶	۱۶۵۶۶ – ۶۷	۴/۷۵ abc	۷/۲۵ a	۷/ ۰۰ a
۷	۱۶۹۱۸ – ۶۸	۶/۰۰ ab	۶/۵۰ abc	۶/۰۰ a
۸	۱۶۵۷۷ – ۶۷	۵/۷۵ ab	۷/۰۰ ab	۶/۰۰ a
۹	شاهد مقاوم	۳/۷۵ bc	۴/۰۰ d	۴/۲۵ b
۱۰	شاهد حساس	۵/۳۲ abc	۶/۶۲ abc	۶/۷۵ a

جدول ۳- تجزیه واریانس نمره آلودگی لاین های منوژرم تحت شرایط آلودگی طبیعی در مزرعه

منابع تغییرات	درجه آزادی	میانگین مربعات
تکرار	۲	۴/۰۴۸ **
تیمار	۹	۲/۲۱۹ **
اشتباه	۱۸	۰/۵۹۹

** : معنی دار در سطح احتمال ۱٪

بحث

ارزیابی مقاومت با استفاده از قطعات جدا شده برگ روشی موثر در ارزیابی مواد گیاهی در مدت کوتاه است که مستقل از شرایط محیطی و کاملا قابل کنترل بوده و همبستگی خوبی با ارزیابی مزرعه ای و گلخانه ای دارد (عباسی و همکاران، ۱۳۸۲). در این بررسی نیز همبستگی خوبی بین نتایج ارزیابی در شرایط درون شیشه و مزرعه دیده شد. ژنوتیپ هائی که در ارزیابی قطعات جدا شده برگ حساس بودند در شرایط مزرعه نیز حساسیت بالائی داشتند. به نظر می رسد این روش بخصوص زمانی که تعداد زیادی ژنوتیپ باید ارزیابی شود می تواند با اطمینان جهت حذف ژنوتیپ های حساس استفاده شود. بمنظور انتخاب ژنوتیپ های مقاوم از سطح احتمال یک درصد استفاده شد، در این سطح احتمال حتی دومین شاهد مقاوم آزمایش (شاهد مقاوم داخلی) نیز در گروه ژنوتیپ های حساس قرار گرفت و اختلاف معنی دار با

شاهد مقاوم خارجی پیدا کرد. اما با توجه به نتایج بدست آمده به نظر می رسد این سخت گیری مفید بوده باشد زیرا از پنج ژنوتیپ انتخابی، چهار ژنوتیپ در شرایط ارزیابی در مزرعه مقاوم نشان داده و متوسط رتبه آلودگی آنها با شاهد مقاوم خارجی اختلاف آماری معنی دار نداشت.

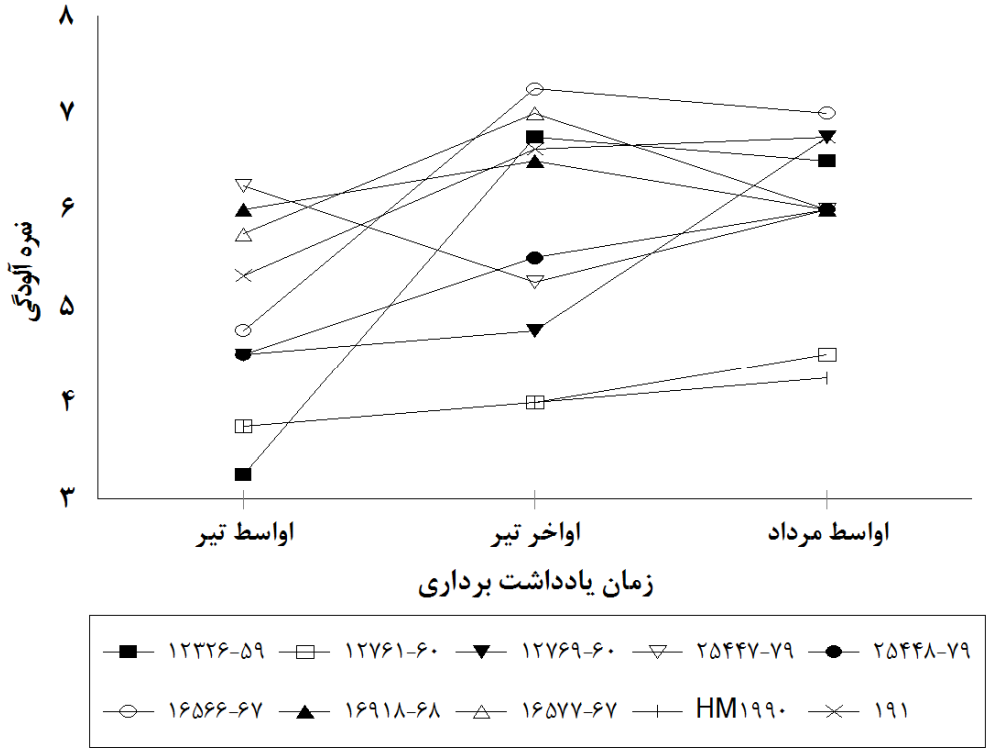
در ارزیابی مزرعه ای چنانچه شرایط مساعد محیطی جهت آلودگی تداوم داشته باشد، به دلیل تکرار چرخه بیماری، اختلاف سطح مقاومت ژنوتیپ ها نمود بارزتری دارد (عباسی و همکاران، ۱۳۸۲). در این مطالعه نیز واکنش ژنوتیپ ها در شرایط مزرعه بخصوص در مراحل آغازین ارزیابی کاملا از یکدیگر متمایز بود. همانند بررسی های دیگر محققین (عباسی و همکاران، ۱۳۸۲ ؛ روسی و همکاران، ۱۹۹۹) در این تحقیق نیز زمان شروع آلودگی در ارقام مقاوم و حساس یکسان بود اما کمی بعد و در اولین دور یادداشت برداری ها ژنوتیپ های حساس کاملا از ارقام مقاوم متمایز شدند (جدول ۲). با گذشت زمان و در آخرین دور یادداشت برداری تفکیک درجات مقاومت مشکل تر شد و به استثناء شاهد مقاوم، فقط در مورد یک ژنوتیپ متوسط رتبه آلودگی نقشی متمایز کننده ایفا می کرد. عباسی و همکاران (۱۳۸۲) نیز در تحقیق خود به این نکته اشاره داشته اند.

به اعتقاد عباسی و همکاران (۱۳۸۲) روند آلودگی از دیگر نکاتی است که در ارزیابی مقاومت مواد اصلاحی می بایست مد نظر قرار گیرد. واکنش ژنوتیپ ها در مقابل عامل بیماری در طول فصل رشد می تواند با یکدیگر فرق داشته باشد. رقمی که در اوایل فصل نمره بالائی دریافت کرده اما در پایان فصل نمرات پائین تری بگیرد حساس تر از رقمی است که نمره آلودگی آن به تدریج در طول فصل افزایش یافته است. در مورد ارقام حساس به نظر می رسد روند آلودگی مصداق بارزی نداشته باشد. ژنوتیپ های حساس در اولین یادداشت برداری ها نمره تقریبا بالائی دریافت کرده و در یادداشت برداری های بعدی این مقدار کمی افزایش یافته و سپس ثابت باقی می ماند. اما در ژنوتیپ های مقاوم واکنش نسبت به بیماری متغیر است و روند آلودگی نمایان می شود. از بین هشت ژنوتیپ مورد بررسی فقط یک ژنوتیپ (تیمار ۲) پایداری محسوسی نشان داده و نمره آلودگی آن همانند شاهدمقاوم خارجی در طول فصل رشد و طی یادداشت برداری های مختلف به تدریج افزایش نشان داده است (جدول ۲). دیگر ژنوتیپ های مقاوم علی رغم کسب نمره پائین در اولین مرحله یادداشت برداری، واکنشی متفاوت با تیمار شماره ۲ داشتند و با شدت گرفتن درجه آلودگی محیط از میزان مقاومت شان کاسته شده و در یادداشت برداری های بعدی رتبه آلودگی بالائی کسب نمودند.

در نمودار شماره ۲ روند آلودگی تیمارهای مورد مطالعه و واکنش آنها نسبت به شدت آلودگی محیط در طول سه مرحله ارزیابی ارائه شده است. به اعتقاد عباسی و همکاران (۱۳۸۲) بهتر است بجای تجزیه واریانس متوسط شدت آلودگی در چند مرحله یادداشت برداری، نتایج هر مرحله جداگانه تجزیه گردد. نتایج این تحقیق نیز صحت این ادعا را تائید می کند. براساس تجزیه واریانس هر یک از مراحل یادداشت برداری واکنش ژنوتیپ ها متفاوت بود. در اولین مرحله، کلیه ژنوتیپ ها به استثناء تیمار شماره ۴ با شاهد مقاوم آزمایش در یک گروه آماری قرار گرفتند. همانطور که ملاحظه می شود در این مرحله حتی رتبه آلودگی شاهد حساس نیز از نظر آماری اختلاف معنی داری با شاهد مقاوم نداشت. اما در مرحله دوم تمایز بین تیمارها بیشتر شده و فقط ژنوتیپ های شماره ۲، ۳، ۴ و ۵ با شاهد مقاوم آزمایش یک گروه آماری را تشکیل دادند. در این مرحله ژنوتیپ شماره ۱ و شاهد حساس در گروه جداگانه ای قرار گرفتند. در سومین مرحله از یادداشت برداری و براساس رتبه آلودگی تیمارها دو گروه آماری تشکیل شد و فقط ژنوتیپ شماره ۲ با شاهد مقاوم آزمایش یک گروه آماری را تشکیل داد در حالی که براساس متوسط آلودگی سه مرحله ژنوتیپ های ۱، ۲، ۳ و ۵ با شاهد

مقاوم اختلاف معنی داری نداشتند. به نظر می رسد بررسی جداگانه هر یک از مراحل ارزیابی آلودگی در مزرعه و گزینش براساس واکنش ژنوتیپ ها در طول فصل رشد در مزرعه دید مطمئن تری نسبت به مواد مورد بررسی به دست می دهد.

در مجموع براساس نتایج حاصل از این بررسی از میان ۴۷ لاین اوتایپ مورد مطالعه فقط می توان یک لاین یعنی ژنوتیپ ۶۰-۱۲۷۶۱ را بعنوان ژنوتیپ مقاوم به بیماری لکه برگی سرکوسپورائی در نظر گرفت. این ژنوتیپ هم از نظر متوسط رتبه آلودگی و هم روند آلودگی در طول فصل در مزرعه رفتاری مشابه شاهد مقاوم آزمایش نشان داده (نمودار ۲) و در ارزیابی به روش قطعات جدا شده برگ با کسب رتبه ۳/۰۱ بعد از شاهد مقاوم (نمودار ۱) مقاوم ترین ژنوتیپ آزمایش بود.



نمودار ۲- روند آلودگی ژنوتیپ های مورد مطالعه در ارزیابی مزرعه ای در مراحل مختلف یادداشت برداری

منابع

۱. ارجمند، م.، کتال، ب. و علیمرادی، ا. (۱۳۷۳). گزینش اولیه در چغندرقند برای مقاومت به بیماری لکه گرد برگ. مجموعه خلاصه مقالات سومین کنگره زراعت و اصلاح نباتات، تبریز. ص۲۴۷.

۲. ارشاد، ج. ۱۳۷۳. قارچ های ایران. سازمان تحقیقات، آموزش و ترویج. تهران. ۶۱ ص.

۳. عباسی، س.، مصباح، م.، و محمودی، م. ۱۳۸۱. بهینه سازی ارزیابی مزرعه ای مقاومت ارقام چغندر قند نسبت به بیماری لکه برگی سرکوسپورائی. مجله چغندر قند، ۱۸ (۱) : ۸۱ – ۹۲ .

۴. عباسی، س.، علیزاده، الف.، مصباح، م.، و گل تپه، ا. ۱۳۸۲. مقایسه روش های مختلف ارزیابی مقاومت به *Cercospora beticola* در چغندر قند تحت شرایط مزرعه، گلخانه و آزمایشگاه. مجله آفات و بیماری های گیاهی، ۷۱ (۱): ۱-۲۶.

۵. عباسی، س. و محمودی، م. ۱۳۸۹. واکنش ارقام چغندر قند به نژادهای قارچ مولد بیماری لکه برگی. مجله گیاهپزشکی، ۳۳ (۱). ۶۹ – ۷۷.

۶. عبداللهیان، م.، شیخ الاسلامی، ر.، منصوری، ب. و بابائی. ب.۱۳۸۱. بررسی وضعیت عملکرد کمّی و کیفی چغندر قند و ضایعات شکر در ایران طی ۱۵ سال گذشته. چکیده مقالات هفتمین کنگره علوم زراعت و اصلاح نباتات ایران. ص ۲۲۴.

7. Anonymous 1969. CMI-distribution maps of plant diseases. Ed.4. Map No. 96.

8. Biancardi, E., Boschetti, W., Beltrami, G., Cecchini, M., and Ghedini, R. 1999. Effects of integrated control against Cercospora leaf spot in sugar beet. Proceeding of 30th American Society of sugar beet technologist, General Meetings, Orlando, Florida, pp. 249-254.

9. Mesbah, M., Scholten, O.E., De Bock, T.S.M., and Lang, W. 1997. Chromosome localization of genes for resistance to *Heterodera schachtii*, *Cercospora beticola* and *Polymyxa betae* using sets of *Beta procumbens* and *B. patellris* drived monosomic additions in *B.vulgaris*. Euphytica, 97: 117-127.

10. Miller, J., Rekoske, M., and Quinn, A. 1994. Genetic resistance, fungicide protection and variety approval politics for controlling yield losses from Cercospora leaf spot. Journal of Sugar Beet Research, 31: 7-12.

11. Rossi, V., Battilani, P., Chiusa, G., Languasco, L., and Racca, P. 1999. Components of rate-reducing resistance to Cercospora leaf spot in sugar beet: incubation length, infection efficiency, lesion size. Journal of Plant Pathology, 81: 25-35.

12. Sadeghian, S.Y., and Sharifi, H. 1999. Improvement of sugar beet for combined resistance to bolting and Cercospora leaf spot. In Proceedings of the 62nd Institute International de Recherches Betteravieres Congress, Seville, Spain, pp: 61-67.

13. Skaracis, G.N., Ioannidis, P.M., and Ionnidis, P.I. 1996. Integrated management system against sugar beet Cercospora leaf spot disease. Proceedings of International Institute for Beet Research, 59: 45-54.

14. Skaracis, N., and Biancardi, E. 2000. Breeding for Cercospora resistance in sugar beet. In: Asher, M.I.C., Holtschulte, B., Richard Molard, M., Rosso, F., Steinrucken, G., and Beckers, R., (eds.), *Cercospora beticola* Sacc. Biology, agronomic influence and control measures in sugar beet. Advances in sugru beet resarch international inotitute for beet resarch, brusseis, belyium, 2: 177-196.

15. Smith, G.A., and Gaskill, J.O. 1970. Inheritance of resistance to Cercospora leaf spot in sugar beet. Journal of American Society of sugar beet technologist, 16: 172-180.

16. Smith, G.A., and Martin, S.S. 1978. Differential response of sugar beet cultivars to Cercospora leaf spot disease. Crop Science, 18: 38-42.

17. Smith, G.A., and Ruppel, E.G. 1971. Cercospora leaf spot as a predisposing factor in storage rot of sugar beet roots. Phytopathology, 61: 1485-1487.