ارزیابی وضعیت مقاومت برخی ژنوتیپ‌های عدس نسبت به بیماری پژمردگی فوزاریومی

سمیرا حسنیان[۱]، امید سفالیان[۲*]، مهدی داوری[۳]، علی اصغری[۴]، منیژه جمشیدی[۵] و رحمت الله کریمی زاده[۶]

۱- دانش آموخته کارشناسی ارشد گروه اصلاح نباتات، دانشکده کشاورزی، دانشگاه محقق اردبیلی، اردبیل، ایران

۲- *نویسنده مسوول: دانشیار گروه اصلاح نباتات، دفتر مدیر امور آموزشی واقع در ساختمان سبلان دانشگاه محقق اردبیلی، اردبیل، ایران

۳- استادیار گروه گیاهپزشکی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه محقق اردبیلی، اردبیل، ایران

۴- دانشیار گروه اصلاح نباتات، دانشکده کشاورزی، دانشگاه محقق ا ردبیلی، اردبیل، ایران

۵- استادیار گروه گیاهپزشکی، دانشکده کشاورزی و منابع طبیعی، دانشگاه آزاد اسلامی واحد تبریز، تبریز، ایران

۶- استادیار پژوهشی، موسسه تحقیقات کشاورزی گچساران، گچساران، ایران

تاریخ دریافت: ۹۴/۱۰/۰۵ تاریخ پذیرش: ۹۵/۰۱/۱۴

چکیده

قارچ *Fusarium oxysporum* f.sp. *lentis* از عوامل مهم بیماری‌زای ریشه و ساقه عدس است و در تمام مراحل رشدی گیاه اعم از جوانه‌زنی، گیاهچه‌ای و گیاه کامل به میزبان حمله می‌کند و باعث پوسیدگی ریشه، ساقه و پژمردگی می‌شود. در این تحقیق، واکنش ۳۸ ژنوتیپ عدس نسبت به قارچ *Fusarium oxysporum* f.sp. *lentis* تحت شرایط گلخانه در دو مرحله گیاهچه‌ای (چهار هفتگی) و بلوغ فیزیولوژیکی (هشت هفتگی) براساس درصد گیاهان مرده و تعدادی صفات زراعی مورد بررسی قرار گرفت. نتایج نشان داد که بین ژنوتیپ‌ها، بین مراحل رشدی گیاه و هم‌چنین اثر متقابل آن‌ها برای صفت درصد گیاهان مرده تفاوت معنی‌داری وجود داشت ($p< 0.01$). بیش‌ترین میزان همبستگی مثبت بین صفات درصد مرگ و میر گیاهچه در هفته چهارم با هفته هشتم مشاهده شد. همبستگی بین درصد مرگ و میر با تعداد دانه در بوته معنی‌دار ولی منفی بود. در تجزیه خوشه‌ای، ژنوتیپ‌ها در سه گروه مجزا قرار گرفتند که تعداد ۱۵ ژنوتیپ خیلی مقاوم در گروه اول، ۱۵ ژنوتیپ نیمه‌مقاوم در گروه دوم و ۸ ژنوتیپ با واکنش بسیار حساس در گروه سوم گروه‌بندی شدند. انتظار می‌رود با شناسایی ژنوتیپ‌های مقاوم به عامل بیماری پژمردگی، از آن‌ها در برنامه‌های اصلاح و ایجاد ارقام مقاوم استفاده گردد.

کلید واژه‌ها: اصلاح گیاهان، پژمردگی فوزاریومی، عدس، مقاومت

مقدمه

عدس (*Lens esculenta* Medik) یکی از گیاهان زراعی مهم از زیرمجموعه‌حبوبات (*Fabaceae*) و سرشار از پروتئین است (Mohammadi et al., 2011). این گیاه به خاطر همزیستی با باکتری‌های تثبیت کننده نیتروژن نقش موثری در حاصلخیزی خاک دارد (Rubeena and Taylor, 2003). عوامل محدودکننده تولید از جمله قارچ‌های خاک‌زاد مثل گونه‌های مختلف فوزاریوم به خصوص *Fusarium oxysporum* عامل پژمردگی و بوته‌میری با فرم اختصاصی خود روی نخود و عدس هر ساله خسارت قابل توجهی بالغ بر ۱۷٪ بر عملکرد این محصول وارد می‌کنند (Bagheri et al., 1997). عامل بیماری پژمردگی عدس، قارچ *Fusarium oxysporum* f.sp. *lentis* است که اختصاصاً روی عدس بیماری‌زا است (Taylor et al., 2007). علایم

این بیماری شامل پژمردگی برگ‌ها، کوتاهی قد بوته، کوچک شدن و پیچش برگ‌ها، پوسیدگی دانه و در قسمت ریشه کاهش رشد ریشه و تغییر رنگ به قهوه‌ای می‌باشد (Mohammadi et al., 2011). طی تحقیقی منابع مقاومت به *Fusarium oxysporum* f.sp. *lentis* در یک مجموعه شامل ۵۷۷ ذخایر توارثی از ۳۴ کشور بررسی شد (Roncero et al., 2003). نتایج به‌دست آمده از این پژوهش که به‌صورت آلوده کردن کرت‌های آلوده[1] در ایکاردا[2] اجرا شده بود، نشان داد که لاین‌هایILL422 وILL2313 از شیلی، ILL813 از مصر، ILL1220 و ILL1462 از ایران و ILL2648 از هند، سطح بالایی از مقاومت را در مقابل بیماری نشان دادند. Pouralibaba et al. (2008) ۳۲ لاین پیشرفته عدس را با دو روش آلوده سازی خاک سترون و غوطه‌ورسازی ریشه بریده در سوسپانسیون اسپور، بر مبنای درصد گیاهان وسپانسیون اسپور، بر مبنای درصد گیاهان مرده مورد ارزیابی قرار دادند و در طی چند سال لاین‌های مقاوم را انتخاب و از نظر صفات زراعی مختلف مورد بررسی قرار دادند. نتایج ارزیابی آنها نشان داد که از این ۳۲ لاین، لاین‌های ILL7531 و ILL6037 برای کاشت در منطقه بیله سوار مغان مناسب هستند. Taheri et al. (2011) به منظور شناسایی مقاومت عدس در مقابل ۱۰ جدایه قارچ عامل پژمردگی آوندی، عکس العمل ۳۰ ژنوتیپ عدس را در شرایط گلخانه مورد بررسی قرار دادند. طی این بررسی‌ها در مرحله گیاهچه‌ای نسبت به جدایه بیماری‌زای HO_3F_3 (خراسان رضوی) درصد بیشتری از ژنوتیپ‌ها مقاومت بالایی نشان دادند و در رتبه دوم پس از جدایه HO_3F_3 بیشترین درصد ژنوتیپ‌های مقاوم مربوط به جدایه RA_1F_1 (خراسان شمالی) بود. اما هیچ‌یک از ژنوتیپ‌ها، نسبت به جدایه‌های بیمارگر در مرحله بلوغ فیزیولوژیکی مقاومت نداشتند. خسارت غیرمستقیم قارچ فوزاریوم شامل از دست رفتن مهم‌ترین و بهترین محصول در تناوب غلات منطقه مغان (عدس)، از بین رفتن علوفه برای دام و شیوع بیماری‌های خاک‌زاد غلات به دلیل کشت پی در پی آن‌ها است که هرسال به اقتصاد منطقه وارد می‌شود (Pouralibaba et al., 2008). به دلیل این‌که قارچ فوزاریوم می‌تواند در غیاب میزبان خود بیش از ۵ سال در خاک روی مواد آلی به صورت ساپروفیتی وهمچنین در بقایای گیاهی زنده بماند، کنترل بیماری با تناوب معمول زراعی امکان‌پذیر نیست. به علاوه، کنترل شیمیایی این بیماری‌ها در سطوح وسیع به دلیل خاکزی بودن عامل بیماری تقریباً غیرممکن می‌باشد. در حال حاضر اغلب ارقام رایج کشور به ویژه در منطقه مغان به این بیماری حساس می‌باشند. لذا، توجه جدی به اصلاح و معرفی ارقام مقاوم و جایگزینی آنها با ارقام حساس، ضروری به نظر می‌رسد. از طرفی معرفی و اصلاح ارقام مقاوم، مستلزم مطالعه عامل بیماری در مناطق مختلف، ارزیابی مقاومت ژنوتیپ‌های مختلف در برابر عامل بیماری، شناسایی ژنوتیپ‌های مقاوم و مطالعه ژنتیک مقاومت آنهاست (Davari et al., 2008). لذا دستیابی به ارقام مقاومی که بتوانند میزان مقاومت بالایی را نسبت به بیماری بوته‌میری فوزاریومی در مقایسه با ارقام محلی داشته باشند، بهترین روش پیشگیری این بیماری‌ها می‌باشد.

مواد و روش‌ها

در این آزمایش ۳۸ ژنوتیپ عدس در گلخانه تحقیقاتی دانشگاه محقق اردبیلی مورد بررسی قرار گرفت. ژنوتیپ‌های مذکور، ژنوتیپ‌های امیدبخش در شرف معرفی ایستگاه تحقیقات گچساران بودند و در جدول ۳ نام برده شده‌اند. ژنوتیپ های اخیر با روش اصلاح بالک تغییر شکل یافته حاصل شده اند.

جمع‌آوری نمونه‌های آلوده و جداسازی قارچ عامل بیماری

1- Wilt Sick Plot
2- International Center for Agricultural Research in the Dry Areas.

گیاهان مشکوک به آلودگی به این بیماری از مزارع پارس‌آباد و بیله‌سوار جمع‌آوری و در پاکت‌های کاغذی به آزمایشگاه منتقل شدند. به منظور جداسازی قارچ عامل بیماری از قسمت‌های مختلف ریشه و ساقه قطعاتی به اندازه چند میلی‌متر تهیه کرده و در محلول هیپوکلریت سدیم هشت درصد به مدت ۵-۲ دقیقه، بسته به زبری و لطافت بافت، غوطه‌ور و ضدعفونی سطحی شدند. سپس با آب مقطر سترون، دو بار شستشو و قطعات کوچکی از محل آوند با تیغ جراحی سترون بریده و در تشتک‌های پتری حاوی محیط کشت PDA[1] کشت داده شده ودر دمای ۲۵ درجه سانتی‌گراد در انکوباتور نگهداری شدند (Pouralibaba et al., 2008). برای خالص‌سازی، از کشت تک‌اسپور[2] و برای شناسایی قارچ عامل بیماری از قارچ کشت شده در SNA[3] و منابع معتبری مانند Nelson et al., 1983 و Leslie and Summerell, 2006 استفاده شد (Taheri et al., 2011).

آزمون بیماریزایی و تهیه سوسپانسیون

از رقم بومی اردبیل به عنوان میزبان حساس جهت اثبات بیماریزایی استفاده شد. به این ترتیب که سوسپانسیون با غلظت 10^6 اسپور در میلی‌لیتر (Omar et al., 1988) تهیه شد. برای تهیه سوسپانسیون، از تشتک‌های پتری حاوی محیط کشت PDA که جدایه *Fusarium oxysporum* f.sp. *lentis* در آن رشد و اسپورزایی کرده بود، استفاده گردید. حدود ۵۰ میلی‌لیترآب مقطر سترون روی قارچ‌های رشد کرده در تشتک‌ها ریخته شد وبا استفاده از اسکالپل سترون سطح آنها خراش داده شد. سوسپانسیون به‌دست آمده از هر تشتک پتری پس از عبور از پارچه ململ سترون در بشر۲۵۰cc جمع آوری گردید و با استفاده از لام گلبول شمار[4] تعداد اسپورهای موجود در سوسپانسیون شمارش شده و در نهایت تعداد آنها به میزان 10^6 اسپور به ازای هر میلی‌لیتر تنظیم شد (Hajiyanfar and Rostamforodi, 2005).

سنجش واکنش ژنوتیپ‌های عدس نسبت به قارچ *Fusarium oxysporum* f.sp.*lentis*

ابتدا بذرها به مدت ۵ دقیقه در هیپوکلریت سدیم ۰/۵ درصد ضدعفونی و سپس با آب مقطر سترون، شستشو داده شدند و در تشتک‌های پتری حاوی کاغذ صافی مرطوب، در دمای ۲۰ درجه سانتی‌گراد نگهداری شدند. پس از گذشت ۱۲ روز، گیاهچه‌ها از تشتک خارج و پس از قطع نوک ریشه آنها با غوطه‌ورسازی در سوسپانسیون اسپور قارچ با غلظت 10^6 اسپور در میلی‌لیتر مایه‌زنی شدند. گیاهچه‌ها برای رشد به مخلوط خاک و ماسه (۱:۳) ضدعفونی شده، منتقل شدند. دمای ۲۷-۲۴ درجه سانتی‌گراد و نور معمولی بر آزمایش گلخانه‌ای حاکم بود (Pouralibaba et al., 2008). ارزیابی جهت علایم بیماری پس از ظهور علایم در دو مرحله رشدی چهار هفتگی و هشت هفتگی بر مبنای درصد گیاهان از بین رفته به روش Erskine and Bayaa (1990) انجام شد. به این ترتیب که کمتر از ۱٪ گیاه مرده به عنوان خیلی مقاوم (HR)، ۱۰-۲٪ به عنوان مقاوم (R)، ۲۰-۱۱٪ به عنوان نیمه مقاوم (MR)، ۵۰-۲۱٪ به عنوان نیمه حساس (MS) و بیش از ۵۰٪ گیاه مرده به عنوان حساس (S) در نظر گرفته شد. صفات دیگر شامل تعداد روز تا گلدهی (تعداد روزهای پس از کاشت تا زمانی که ۵۰ درصد گیاهان دارای گل می‌شدند)، تعداد روز تا رسیدگی (تعداد روز پس از کاشت تا زمانی که ۹۰ درصد گیاهان به بلوغ می‌رسیدند)، طول بوته، وزن صددانه و تعداد دانه در بوته نیز در ژنوتیپ‌های مورد مطالعه بررسی گردید تا ژنوتیپ‌ها علاوه بر واکنش به قارچ بیمای‌زا، از نظر ویژگی‌های زراعی نیز مورد ارزیابی قرار گیرند.

1- Potato Dexteose Agar
2- Single sporing
3-Singapore Neuroscience Association
4- Haemocytometer

تجزیه و تحلیل داده‌ها

تجزیه واریانس صفات اندازه‌گیری شده به صورت آزمایش فاکتوریل در قالب طرح پایه کاملاً تصادفی با استفاده از نرم افزار SPSS و مقایسه میانگین به روش LSD برای صفات مورد مطالعه انجام شد. گروه‌بندی ژنوتیپ‌های عدس نیز براساس میانگین درصد گیاهان مرده و صفات ارتفاع بوته، وزن صد دانه و تعداد دانه در بوته به وسیله تجزیه خوشه‌ای به روش Ward انجام شد. ضرایب همبستگی ساده برای صفات مورد ارزیابی نیز با نرم افزار SPSS انجام گرفت.

نتایج و بحث

اولین علایم بیماری حدود ۲۰ روز پس از مایه‌زنی مشاهده شد که این علایم بسته به میزان حساسیت ژنوتیپ‌ها شدت‌های متفاوتی داشتند. میانگین درصد مرگ و میر بوته‌ها در هفته هشتم بیشتر از هفته چهارم بود. به این صورت که در هفته چهارم، تعداد هشت ژنوتیپ از ۳۸ ژنوتیپ با درصد مرگ و میر گیاهچه کمتر از یک درصد، به عنوان خیلی مقاوم شناخته شدند ولی در هفته هشتم تعداد ژنوتیپ‌های خیلی مقاوم به سه عدد (ILL7531، L 1278-2580، PI 299127-358-RINV-63-64) کاهش یافت که نشاندهنده‌ی گسترش عامل بیماری در مراحل بعدی رشد گیاهچه بود. زیرا عامل بیماری به تدریج به بافت‌های آوندی حمله کرده وانتقال آب را مختل کرده بود. بنابراین معیار ارزیابی واکنش ژنوتیپ‌های مذکور در هفته هشتم پس از مایه‌زنی در نظر گرفته شد تا ژنوتیپ‌هایی که در هر دو مرحله رشدی مقاومت نشان دادند، به عنوان ژنوتیپ‌های مقاوم معرفی گردند.

نتایج حاصل از تجزیه واریانس (جدول ۱) درصد مرگ و میر بوته‌ها نشان داد که بین ژنوتیپ‌های مورد بررسی و هم‌چنین بین دوره‌های رشدی گیاه از نظر واکنش به قارچ عامل بیماری، در سطح احتمال یک درصد اختلاف معنی‌دار وجود داشت. به همین ترتیب، برهمکنش بین ژنوتیپ‌ها و دوره رشدی گیاه نیز معنی‌دار بود (جدول ۱). تجزیه واریانس صفات مورد مطالعه ژنوتیپ‌های عدس که به صورت فاکتوریل با دو سطح برای فاکتور A (شرایط بدون بیماری و شرایط آلودگی به بیماری) و ۳۸ سطح (ژنوتیپ) برای فاکتور B انجام شد، اختلاف معنی‌داری بین ژنوتیپ‌ها برای همه صفات نشان داد (جدول ۲). صفات ارتفاع بوته، تعداد دانه در بوته و وزن صددانه دارای اختلاف معنی‌داری بین شرایط بدون آلودگی و شرایط تحت تنش بیماری بودند (جدول ۲). اثر متقابل تنش بیماری در ژنوتیپ برای هیچ کدام از صفات معنی‌دار نشد.

جدول ۱- تجزیه واریانس درصد مرگ و میر گیاهچه‌های ژنوتیپ‌های عدس مورد مطالعه
Table 1. Analysis of variance for percentage of dead plants in studied lentil genotypes

S.O.V	df	MS (dead plants)
Stage of growth (A)	1	13552.21**
Genotype (B)	37	2064.219**
A*B	37	175.792**
Error	152	2.18
CV (%)		7.02

**: Significant at 1% of probability levels.

جدول ۲- تجزیه واریانس صفات مورد بررسی ژنوتیپ‌های عدس مورد مطالعه
Table 2. Analysis of variance for studied traits in promising lentil genotypes

S.O.V	df	Bush height	Days for flowering	Days to maturity	100 Seed weight	Number of seed
Stress (A)	1	38.746**	0.884	1.167	72.746**	9.155**
Genotype(B)	37	6.855**	628.102**	593.957**	4.16**	160.715**
A*B	37	2.15^{ns}	65.72^{ns}	27.215^{ns}	5.81^{ns}	69.18^{ns}
Error	152	0.9	3.619	2.484	0.3	1.275
CV (%)		11.81	2.2	1.43	11.5	8.16

**: Significant at 1% of probability levels.

مقادیر صفات مورد مطالعه در ژنوتیپ‌های عدس و واکنش گیاهچه‌ها به عامل بیماری در جدول ۳ نشان داده شده است. مقایسه میانگین صفات مورد مطالعه ژنوتیپ‌های عدس با استفاده از آزمون LSD در سطح احتمال یک درصد نشان داد که میانگین‌های آن‌ها در گروه‌های آماری مختلف قرار گرفتند. براساس نتایج این آزمون، میانگین مرگ و میر گیاهچه صفر درصد و برهمکنش‌هایی که میانگین آن‌ها تفاوت معنی‌داری با میانگین صفر درصد نداشتند، به عنوان ژنوتیپ خیلی مقاوم در نظر گرفته شدند. بدین ترتیب بین ژنوتیپ‌های ۲۹، ۲۱، ۱۲، ۹، ۵، ۴، ۲، ۱ اختلاف معنی‌داری از نظر درصد مرگ و میر گیاهچه‌ها درسطح احتمال یک درصد وجود نداشت و این ژنوتیپ‌ها در گروه ژنوتیپ‌های مقاوم قرار گرفتند. مقادیرLSD برای صفات مورد مطالعه در انتهای جدول ۳ آورده شده است. اگر اختلاف بین دو ژنوتیپ مورد مقایسه از مقدار LSD در سطح احتمال یک درصد بیش‌تر باشد، معنی‌دار است و اگر از این مقدار کم‌تر باشد، آن دو ژنوتیپ در واقع در یک گروه آماری قرار می‌گیرند.

تجزیه خوشه‌ای ژنوتیپ‌های عدس

نتایج تجزیه خوشه‌ای ژنوتیپ‌های عدس براساس میانگین درصد مرگ و میر گیاهچه‌ها در هفته هشتم و صفات ارتفاع بوته، وزن صد دانه و تعداد دانه در بوته نشان داد که ژنوتیپ‌ها از لحاظ واکنش به قارچ عامل بیماری در سه خوشه مجزا قرار گرفتند (شکل۱). در خوشه ۱، تعداد ۱۵ ژنوتیپ با میانگین درصد مرگ و میر گیاهچه بین صفر تا ۱۷ قرار گرفتند. در خوشه ۲ نیز تعداد ۱۵ ژنوتیپ با میانگین درصد مرگ و میر بین ۱۱ تا ۲۷ و در خوشه ۳، تعداد هشت ژنوتیپ کاملا حساس با میانگین درصد مرگ و میر گیاهچه بین ۳۸ تا ۶۵ قرار گرفتند. بدین ترتیب، خوشه ۳ علاوه بر درصد مرگ و میر بالا، ارتفاع بوته، وزن صد دانه و تعداد دانه کمتری نسبت به خوشه اول و دوم داشت که می‌توان خوشه ۳ را خوشه ژنوتیپ‌های حساس معرفی کرد. تمامی ژنوتیپ‌هایی که دارای واکنش مقاوم در هر دو مرحله رشدی بودند در خوشه ۱ قرار گرفتند. برای اثبات صحت گروه‌بندی تجزیه تابع تشخیص صورت گرفت. آنالیز تشخیصی، راهکاری است برای آن که متغیرها را در قالب گروه‌های مجزا از هم تفکیک کنیم، به صورتی که هر گروه در عین اینکه با گروه دیگر شباهت و همبستگی دارد، از انسجام لازم نیز برخوردار باشد. نتایج تجزیه تابع تشخیص نشان داد که ۹۷/۴ درصد از تفکیک ژنوتیپ‌ها به گروه‌ها به صورت صحیح انجام گرفته است.

جدول ۳- مقادیر صفات مورد مطالعه ژنوتیپ‌های عدس و واکنش گیاهچه‌ها به عامل بیماری

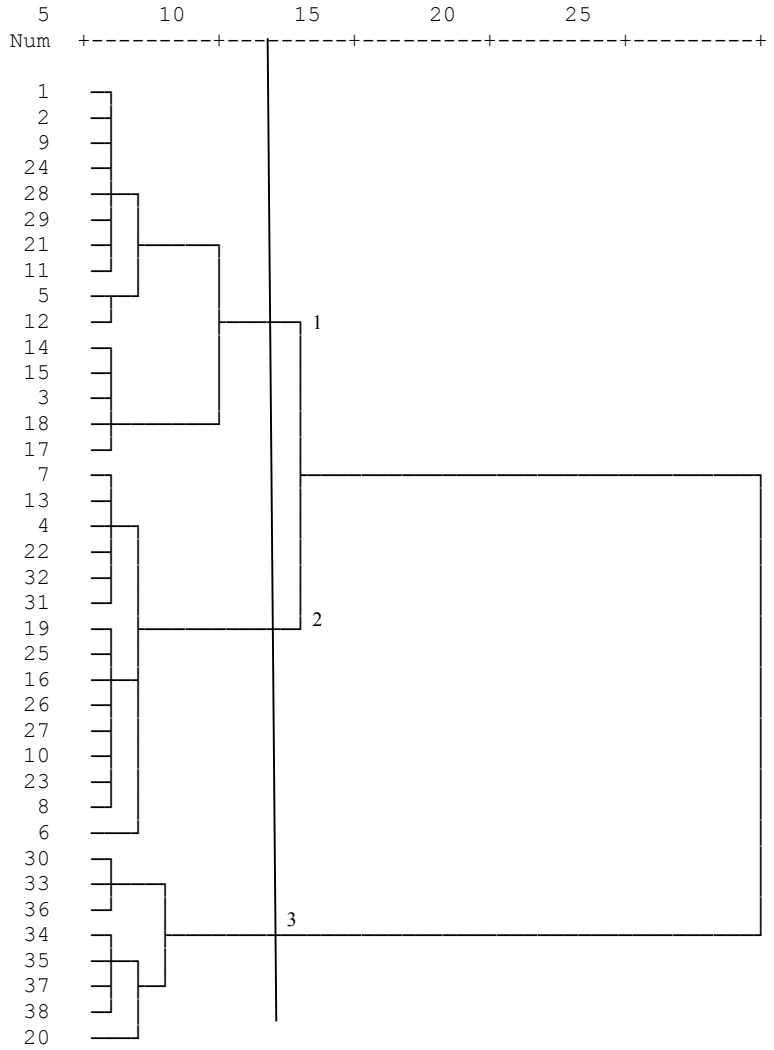
Table 3. Percentage of dead plants and reactions of advanced lentil lines to Fusarium wilt and Amounts of some studied traits

N.	Genotypes	% Dead plants in fourth week	Reaction	% Dead plants in eighth week	Reaction	bush height in fourth week	Days for flowering	Days to maturity	100 seed weight	number of seed
1	ILL7531	0	HR	1	HR	9	123	150	5.46	25
2	L 1278-2580	1	HR	1	HR	8	102	126	5.4	21
3	SYRIAN LOCAL-4400	10	R	24.3	MS	6.5	72	97	3.9	12
4	340-4404	0	HR	21.3	MS	8	84	108	5.14	26
5	PI 299127-358-RINV-63-64	0	HR	0	HR	6.5	128	153	3.76	22
6	78S 26013-5588ILL-16 selection	2	R	5	R	11	80	104	7.5	38
7	FLIP 84-51L-5722-ILL 883 / ILL 470	3	R	31.3	MS	6.5	93	116	5.44	20
8	81S15-5883UJL-197 / ILL 4400	15.7	MR	26.7	MS	7.5	100	124	6.72	13
9	FLIP 89-63L-3821ILL 4225 / ILL 4605	1	HR	3.3	R	10	90	114	5.36	12
10	FLIP 89-71L-3829ILL 4407 / ILL 4605	8.3	R	21.7	MS	7.5	86	111	6.6	4
11	FLIP 90-25L-3994ILL 5588 / ILL 99	6	R	13.3	MR	8.5	84	108	4.36	20
12	FLIP 92-12L-7177ILL 5582 / ILL 707	0	HR	4	R	8.5	69	95	3.52	23
13	FLIP 92-36L-7201ILL 5879 / ILL 5714	2	R	30	MS	8.5	81	105	5.22	10
14	FLIP 95-30L-7686	3	R	26.7	MS	6.5	110	132	3.62	7
15	FLIP 96-15 L-7947ILL-6209 / ILL 5671	6.7	R	28.7	MS	6.5	92	106	3.36	9
16	FLIP 96-46 L-7978	7.3	R	45.7	MS	8	86	109	5.88	5
17	FLIP 96-50 L-7982	22.3	MS	37.7	MS	7	90	113	3.22	17
18	Bari Masur 4-8006-ILL 5888 / ILL 5782	5.7	R	21.7	MS	9.5	83	107	2.64	10
19	CIFIC-10837	13.3	MR	33.3	MS	8	94	117	6.1	13
20	Bari Masur 6-10848-ILL 5888 / ILL 8008	37.7	MS	52.3	S	5	84	108	2.14	9
21	Gachsaran	0	HR	2	R	9	98	120	4.4	16

ادامه جدول ۳- مقادیر صفات مورد مطالعه ژنوتیپ‌های عدس و واکنش گیاهچه‌ها به عامل بیماری

22	GACH LOC 2010-01	11.7	MR	36.7	MS	8	74	100	4.96	14
23	FLIP2007-16L ILL 2126 X ILL 4659	5.7	R	22.3	MS	8.5	82	106	6.2	18
24	FLIP2010-8L ILL 2126 X ILL 6199	3	R	9.3	R	9.5	83	108	5.68	15
25	FLIP2011-5L ILL 6434 X ILL 6972	5	R	33.3	MS	9	80	104	6.14	10
26	FLIP2011-6L ILL 6434 X ILL 6972	12.7	MR	18	MR	9.5	74	98	5.72	24
27	FLIP1996-15L(Ibla 1) ILL 6209xILL5671	11.3	MR	19.3	MR	10	73	98	5.6	8
28	ILL 4605 x ADDA 2006-03-0GA-0GA-0GA-11	2	R	6.7	R	10.5	70	95	4.88	13
29	ILL 6434 x ILL 8008 2006-03-0G-0GA-0GA-11	1	HR	2	R	10.5	70	96	5.1	17
30	ILL 4605 x ADDA 2006-06-0G-0GA-0GA-11	23	MS	53.3	S	8.5	80	104	5	8
31	ILL 4605 x ILL 6002 2006-02-0G-0GA-0GA-11	6	R	39.7	MS	10.5	74	99	4.54	8
32	ILL 7547 x ILL 6211 2006-02-0G-0GA-0GA-11	7.7	R	31	MS	11	71	97	5.16	19
33	ILL 7547 x ILL 6002 2006-03-0G-0GA-0GA-11	26	MS	59	S	8	82	106	5.16	4
34	ILL 6211 x ILL 6002 2006-07-0G-0GA-0GA-11	51.3	S	70.3	HS	7	85	109	4.82	7
35	FLIP 2005-32L	52.3	S	71.7	HS	8	83	108	4.22	4
36	FLIP 2005-53L	33.3	MS	53.3	S	6.5	76	103	4.48	9
37	KIMIA	57.3	S	62.7	HS	7	76	102	3.96	12
38	Local check	53	S	76	HS	7.5	121	149	3.6	4
	The amount of LSD			1.93		1.23	2.48	2.06	0.72	1.47

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



شکل ۱- دندروگرام ژنوتیپ‌های عدس بر مبنای صفات ارتفاع بوته، وزن صددانه، تعداد دانه و میانگین درصد مرگ و میر گیاهان در اثر آلودگی به بیماری پژمردگی فوزاریومی.

Figure. 1. Clustering of promising lentil genotypes based on studding traits of bush height, 100 seed weight, number of seed and mean percentage of dead plants to wilt disease.

ضرایب همبستگی ساده برای صفات مورد ارزیابی در جدول ۴ نشان داده شده است. نتایج همبستگی بین اغلب صفات منفی به‌دست آمد. بیش‌ترین میزان همبستگی بین صفات روز تا گلدهی با روز تا رسیدگی و هم‌چنین بین درصد مرگ و میر گیاهچه در هفته چهارم با هفته هشتم مشاهده شد. همبستگی بین درصد مرگ و میر با تعداد دانه در بوته معنی‌دار ولی منفی بود، یعنی این دو صفت رابطه معکوسی با هم داشتند به طوری که بوته‌هایی که درصد مرگ و میر بیشتری داشتند، تعداد دانه کمتری تولید کردند. زیرا در پژمردگی فوزاریومی ارتفاع بوته‌ها کوتاه‌تر می‌شود و تعداد دانه‌های تولیدی گیاه به دلیل از دست رفتن برخی دانه‌ها در اثر پوسیدگی کم‌تر می‌شود. هم‌چنین به دلیل چروکیدگی دانه‌ها، وزن صد دانه کمتری به‌دست آمد. با توجه به جدول ۴، به‌دلیل اینکه همبستگی بین صفات ارتفاع بوته، وزن صد دانه و تعداد دانه در بوته با درصد مرگ و میر گیاهچه معکوس می‌باشد، ژنوتیپ‌های با ارتفاع کم‌تر، تعداد دانه کم‌تر

جدول ٤- ضرایب همبستگی ساده برای صفات مورد ارزیابی

Table 4. The simple correlation coefficient for studied traits

Traits	Dead plants in fourth week	Dead plants in eighth week	100 seed weight	number of seed	bush height	Days for flowering	Days to maturity
Dead plants in fourth week	1						
Dead plants in eighth week	0.842**	1					
100 seed weight	-0.157	-0.209	1				
number of seed	-0.600**	-0.674**	0.183	1			
bush height	-0.393	-0.421	0.396	0.276	1		
Days for flowering	-0.102	-0.069	-0.014	-0.032	-0.462	1	
Days to maturity	-0.095	-0.063	0.032	-0.034	-0.420	0.981**	1

**: Significant at 1% of probability levels.

و وزن صد دانه پایین‌تر در خوشه ژنوتیپ‌های حساس قرار گرفته‌اند. کمترین همبستگی بین صفات وزن صددانه و هم‌چنین تعداد دانه در بوته با صفات روز تا گلدهی و روز تا رسیدگی بدست آمد.

بحث

تعیین واکنش مقاومت ژنوتیپ‌های مورد مطالعه نسبت به قارچ عامل پژمردگی، تنوع ژنتیکی ژنوتیپ‌های عدس مورد مطالعه را نسبت به قارچ عامل بیماری نشان داد. در این تحقیق هدف، معرفی ژنوتیپ‌های مقاوم با صفات زراعی مطلوب بود. با توجه به نتایج تحقیق، ژنوتیپ‌های ILL7531، L 1278-2580، PI 299127-358-RINV-63-64، FLIP 92-78S 26013-5588ILL-16 selection، ILL 5582 / ILL 707-12L-7177، علاوه بر اینکه مقاومت نسبتاً بالایی به قارچ عامل بیماری‌زا نشان دادند، تعداد دانه‌های بیش‌تری نسبت به سایر ژنوتیپ‌ها در این شرایط تولید کردند. Pouralibaba et al. (2008) نیز دو لاین ILL7531 و ILL 6037 را برای کشت در منطقه توصیه کردند که در مورد لاین ILL7531 میزان مقاومت و واکنش مقاوم لاین به عامل بیماری در این تحقیق مورد تایید قرار گرفت. البته تعدادی از ژنوتیپ‌ها نیز مقاومت خوبی نسبت به عامل بیماری نشان دادند، اما تعداد دانه‌های سالم تولیدی کمتری داشتند که از جمله ژنوتیپ‌های ۴، ۹، ۱۱، ۲۱، ۲۴، ۲۶، ۲۸ و ۲۹ را می‌توان معرفی کرد. نتایج این تحقیق نشان داد که بسیاری از ژنوتیپ‌های عدس در مقابل این قارچ از مقاومت پایینی برخوردار هستند، به طوری که خسارت این قارچ در برخی از ژنوتیپ‌ها به بیش از ۷۰ درصد رسید. بنابراین استفاده از ژنوتیپ‌های مقاوم می‌تواند بهترین روش در پیشگیری از این خسارت باشد. البته در روش غوطه‌ورسازی در سوسپانسیون اسپور و شرایط کنترل شده گلخانه، میزان آلودگی نسبت به شرایط طبیعی مزرعه بیشتر بود زیرا در این روش، گیاه با نفوذ عامل بیماری در آوندهای چوبی، آلوده شده و موانع قبل از رخنه شامل موانع فیزیکی و بیولوژیکی حذف می‌شوند و تنها موانع و عوامل بازدارنده پس از رخنه باقی می‌مانند که بایستی در برابر عامل بیماری فعال باشند.

درصدهای بالای مرگ و میر در این تحقیق نسبت به تحقیقات مورد مطالعه در این زمینه، قابل تفسیر هستند. نتایج تحقیقات Pouralibaba et al (2008). در شرایط طبیعی مزرعه نیز بالا بودن میزان آلودگی ژنوتیپ‌ها را در این روش آلوده‌سازی تایید می‌نماید. در گزارش مقاومت، ذکر مرحله رشدی محصول هنگام غربالگری بسیار مهم است. طبق نتایج به دست آمده در مطالعه جاری، برخی از

ژنوتیپ‌هایی که در مرحله گیاهچه‌ای نسبت به قارچ عامل بیماری عکس العمل مقاوم نشان داده بودند، در مرحله بلوغ فیزیولوژیکی حساسیت نشان دادند. در واقع با رسیدن به مرحله بلوغ، مقاومت خود را از دست دادند. از جمله ژنوتیپ‌های ۴، ۷، ۱۳، ۱۶، ۲۵، ۳۱، ۳۲ در مرحله گیاهچه‌ای مقاوم بودند، ولی در مرحله بلوغ واکنش حساسیت نشان دادند. یادداشت‌برداری علایم بیماری در دو دوره رشدی ازگیاه نشان داد که علایم بیماری در طول دوره رشدی گیاه افزایش یافته و به‌تدریج در آوندهای گیاه رشد کرده و مانع انتقال آب از این آوندها می‌شود که این یافته با نتایج تحقیقات Taheri et al. (2011) مطابقت دارد. ICARDA (1990) نیز گزارش کرد که ژنوتیپ‌های مورد بررسی طی پژوهش‌های آن‌ها، در مرحله گیاهچه‌ای مقاومت نشان دادند اما در مرحله بلوغ مقاومت‌شان را نسبت به Taheri et al قارچ یاد شده از دست دادند که باز هم با نتایج به‌دست آمده در این پژوهش مطابقت دارد. Ansar Ahmad et al. (2010) نیز این امر را در پژوهش‌های خود مشاهده نمود و بیان نمود که این پدیده نشان دهنده این بود که ژنوتیپ‌ها نیازمند دوره طولانی مدتی برای پژمردگی هستند. از این رو ژنوتیپ‌های مورد بررسی را می‌توان به دو گروه تقسیم کرد. یک دسته آن ژنوتیپ‌هایی که زود پژمرده می‌شوند و دسته‌ی دیگر ژنوتیپ‌هایی که دیر پژمردگی را نشان می دهند. در پژوهش‌های انجام شده، اغلب ژنوتیپ‌ها در مرحله تولید مثل زایشی و بلوغ حساسیت نشان دادند. بنابراین بهترین مرحله برای تعیین خسارت بیماری، مرحله بلوغ گیاه است، زیرا در این مرحله واکنش هر دو گروه از ژنوتیپ‌ها نسبت به قارچ عامل بیماری مشخص می‌شود. نتایج حاصل از تجزیه واریانس نشان داد که ژنوتیپ‌های مورد مطالعه در همه صفات باهم اختلاف معنی‌داری داشتند. این امر بیانگر وجود تنوع ژنتیکی قابل توجه در بین ژنوتیپ‌های مورد مطالعه بود. اثر متقابل ژنوتیپ در مرحله رشدی در صفت درصد مرگ و میر گیاهچه معنی‌دار گردید. این امر بیانگر آن است که روند تغییرات بین ژنوتیپ‌های مورد بررسی از لحاظ صفت فوق الذکر، در دوره رشدی گیاه یکسان نبوده است. از ژنوتیپ‌های معرفی‌شده می‌توان در برنامه‌های اصلاح عدس منطقه استفاده نمود. این امر مستلزم مطالعه ژنتیک مقاومت و شناسایی ژن‌های عامل بروز مقاومت در این ارقام است. علاوه بر این، بهتر است واکنش ارقام و لاین‌های بیشتری مورد ارزیابی قرار گیرد تا منابع مقاومت موثرتری شناسایی شود. با کاشت ارقام پرمحصول و مقاوم به تنش‌های زیستی می‌توان به میزان قابل توجهی عملکرد محصول عدس را افزایش داد.

سپاس‌گزاری

از موسسه تحقیقات کشاورزی گچساران به خاطر در اختیار قرار دادن بذور مربوطه، تشکر و قدردانی می‌نماییم.

REFERENCES

Ansar Ahmad, M., Iqbal, Sh.M., Ayub, N., Ahmad, Y., and Akram, A. 2010. Identification of resistance sources in chickpea against Fusarium wilt. Pakistan Journal of Botany, 42: 417-426.

Bagheri, A., Goldani, M., and HassanZadeh, M. 1997. Agronomy and lentils, translated Universial Jihad Publication of Mashhad, p. 248. (In Farsi).

Davari, M., Abrianbana, M., Asghari Zakaria, R., and Arzanlou, M. 2012. Assesment of wheat cultivars for resistance to *Mycosphaerella graminicola* isolates, from moghan

plain at seedling stage under greenhouse condition. Iranian Journal of Plant Protection Science , 43: 379-389. (In Farsi with English abstract).

Erskine, W., and Bayaa, B. 1990. A Screening technique for resistance to vascular wilt in lentil. Arab Journal of Plant Protection, 8: 30-33.

Hajiyanfar, R., and Rustam-forodi, B. 2005. Evaluation of Fusarium root rot resistance in Iranian onion landraces under greenhouse conditions, Proceeding of fifth Iranian congress of Horticultural Sciences, University of madani Azarbaiyjan, p:45, (In Farsi).

International Center for Agricultural Research in the Dry Areas. 1990. Foodlegume Improvement Program, ICARDA Annual Report 1990. Aleppo, Syria, Vi, 129 pp.

Leslie, J.F., and Summerell, B.A., 2006. The Fusarium laboratory manual. Blackwell Publishing, Lowa, USA., 388 pp.

Mohammadi, N., Mohammadi Goltapeh, E., Kari Dolatabadi, H., Babaie Ahari, A., and Pouralibaba, H.R. 2011. The genetic diversity of Iranian isolates causing fusarium wilt of Lentil. Journal of Agricultural Technology, 7(6): 1809-1822.

Nelson, P.E., Toussoun, T.A., and Cook, R.J. 1983. Fusarium: disease, biology and taxonomy. The Pennsylvania State University Press, Press Park and London.

Omar, S.A.M., Salem, D.E., and Rizk, M.A. 1988. Sources of resistance to root-rot wilt disease complex of lentil. Lens Newsletter, 15: 37.

Pouralibaba, H.R., Sabbaghpour, S.H., Mehraban, A., and Asghari, S. 2008. Selection of new lentil lines resistant to wilt disease caused by *Fusarium oxysporum* f.sp. *lentis* , for Bilehsavar region, Moghan, Seed and Plant, 24: 429-444. (In Farsi with English abestract).

Roncero, M.I.G., Hera, C., Ruiz-Rubio, M., Garcia Maceira, F.I., Madrid, M.P., Caracuel, Z., Calero, F., Delgado-Jarana, J., Roldan-Rodriguez, R., Martinez- Rocha, A.L., Velasco, C., Roa, J., Martin-Urdiroz, M., Cordoba, D., and Di Pietro, A. 2003. Fusarium as a model for studing in soilborne pathogens. Physiological and Molecular Plant Pathology, 62: 87-98.

Rubeena, R., and Taylor, W.J. 2003. Construction of an intraspecific linkage map of lentil (*Lens culinaris* ssp. culinaris). Theoretical and Applied Genetics, 107, 910-916.

Taheri, N., Falahati Rastegar, M., Jafarpoor, B., Bagheri, A.R., and Jahanbaghsh, V. 2011. Investigation resistance genotypes of lentil against isolates of Fusarium wilt isolated from North and Razavi Khorasan Province, Plant Production Research, 18: 118 - 105. (In Farsi with English abestract).

Taylor, P., Lindbeck, K., Chen, W., and Ford, R. 2007. Lentil diseases. In S. S.Yadav, D. L. McNeil, and P. C. Stevenson. (eds.). Lentil, an ancient crop for modern times. Springer Publisher. Netherlands, Pp. 291- 313.

Plant Protection (Scientific Journal of Agriculture), 39(3) Fall 2016

Evaluating some lentil genotypes for*Fusarium oxysporum* f.sp. *lentis* resistance

S. Hasanian[1], O. Sofalian[2*], M. Davari[3], A. Asghari[4], M. Jamshidi[5] and R. Karimizadeh[6]

1. Former M.Sc. Student of Plant Breeding, Department of Agronomy and Plant Breeding, Faculty of Agricultural Sciences, University of Mohaghegh Ardabili, Ardabil, Iran
2. [*]**Corresponding author:** Associate Professor of Plant Molecoular Breeding, Department of Agronomy and Plant Breeding, Faculty of Agricultural Sciences, University of Mohaghegh Ardabili, Iran (sofalian@gmail.com)
3. Assistant Professor, Department of Plant Protection, Faculty of Agricultural Sciences, University of Mohaghegh Ardabili, Ardabil, Iran
4. Associated Professor of Plant Molecoular Breeding, Department of Agronomy and Plant Breeding, Faculty of Agricultural Sciences, University of Mohaghegh Ardabili, Ardabil, Iran
5. Assistant Professor, Department of Plant Protection, Faculty of Agriculture and Natural Resources, Islamic Azad University, Tabriz Branch, Iran
6. Research Assistant, Gachsaran Agricultural Research Institute, Gachsaran, Iran

Received: 26 December 2015 Accepted: 2 April 2016

Abstract

Fusarium oxysporum f.sp. *lentis* is an important cause of root and stem rot of lentil that attacks its host at all stages of plant growth including germination, seedling and adult plant. In this research, reaction of 38 genotypes of lentil to *Fusarium oxysporum* f.sp. *lentis* was investigated based on the percentage of dead plants and some agronomic traits in both of seedling (fourth week) and physiological maturity (eighth week) stages, under greenhouse conditions. Analysis of variance showed significant differences in percentage of dead plants between the genotypes, the growth stages and their interactions ($p< 0.01$). The highest positive correlation was between the average mortality of plants in the fourth and eighth weeks. The correlation between the average mortality of plants with the number of seeds per plant was significant and negative. In cluster analysis, the genotypes were placed into three separate groups:15 genotypes were placed in the very resistant group (A), 15 genotypes were placed in the partially resistant group (B) and 8 genotypes were placed in the third group with a very sensitive reaction (C). It seems that resistant genotypes to wilt disease could be used in breeding programs and resistant cultivars production.

Keywords: Agronomic traits, Fusarium oxysporum f.sp. lentis, Lens, Resistance