گیاه‌پزشکی (مجله علمی کشاورزی)
جلد ٤٦، شماره ١، بهار ١٤٠٢

10.22055/ppr.2023.43424.1687

ارزیابی حساسیت برخی ارقام لوبیا به گونه مرکب *Fusarium solani*، عامل پوسیدگی ریشه لوبیا در ایران

اسماعیل راه‌خدایی[1*]، حبیب‌اله حمزه‌زرقانی[2]، ضیاالدین بنی‌هاشمی[3]، رضا مستوفی‌زاده قلمفرسا[3] و رضا فرخی‌نژاد[4]

۱- **نویسنده مسوول:** دانش‌آموخته دکتری، محقق بخش تحقیقات علوم زراعی و باغی، مرکز تحقیقات و اموزش کشاورزی و منابع طبیعی استان فارس، سازمان تحقیقات، آموزش و ترویج کشاورزی، شیراز، ایران (Rahkhodaei@gmail.com)

۲- دانشیار بیماری‌شناسی گیاهی دانشکده کشاورزی، دانشگاه شیراز، شیراز، ایران

۳- استاد بیماری‌شناسی گیاهی دانشکده کشاورزی، دانشگاه شیراز، شیراز، ایران

۴- استاد بیماری شناسی گیاهی دانشکده کشاورزی، دانشگاه شهید چمران اهواز، اهواز، ایران

تاریخ دریافت: ۱۴۰۲/۰۱/۱۷ تاریخ پذیرش: ۱۴۰۲/۰۲/۱۴

چکیده

پوسیدگی فوزاریومی ریشه از بیماری‌های مهم لوبیا (*Phaseolus vulgaris*) در ایران می‌باشد. به دلیل خاک‌بُرد بودن، کنترل این بیماری مشکل بوده و استفاده از ارقام مقاوم لوبیا نقش بسیار مهمی در کاهش خسارت بیماری دارد. پژوهش حاضر با هدف بررسی حساسیت یا مقاومت ارقام مختلف لوبیا به پوسیدگی فوزاریومی ریشه ناشی از گونه مرکب *Fusarium solani*، در محیط گلخانه انجام شد. در تابستان ۱۳۹٦ تا ۱۳۹۸ از مزارع لوبیا در استان‌های فارس، کهگیلویه و بویراحمد، چهارمحال بختیاری، همدان، مرکزی، لرستان، قزوین، زنجان، آذربایجان شرقی و مازندران بازدید به‌عمل آمد و از بوته‌های آلوده به پوسیدگی ریشه، نمونه‌برداری شد و در آزمایشگاه جداسازی و خالص‌سازی قارچ‌ها انجام گرفت. جدایه‌های فوزاریوم بر اساس خصوصیات ریخت‌شناختی و توالی دو ناحیه‌ی ژنی فاصله‌ی ترانویسی شده‌ی داخلی (ITS) دی‌اِن‌اِی ریبوزومی و عامل امتداد ترجمه‌ی یک آلفا (*EF-1α*)، شناسایی شدند. تمام جدایه‌های گونه مرکب *F. solani* پس از مایه‌زنی روی لوبیای رقم صدری، پوسیدگی ریشه ایجاد کردند. از هر استان یک جدایه به‌عنوان نماینده و در مجموع ۱۰ جدایه با بیشترین شدت بیماری‌زایی انتخاب و با هم مخلوط شدند و واکنش ۱۰ رقم لوبیا به آن‌ها در گلخانه ارزیابی گردید. ارقام لوبیا چیتی صالح، صدری و کوشا و ارقام لوبیا قرمز اختر، گلی و صیاد و ارقام لوبیا سفید درسا و شکوفا و ارقام لوبیا سبز والنتینو و سانری بر اساس شدت بیماری و اجزای همبسته عملکرد (وزن تر و خشک بوته و ریشه) مقایسه شدند. از نظر شدت پوسیدگی ریشه و وزن نسبی تر و خشک بوته، ارقام لوبیا از نظر آماری در سطح احتمال یک درصد با هم اختلاف معنی‌داری داشتند. رقم لوبیا چیتی کوشا با کمترین شدت پوسیدگی ریشه (۱۹/۵٪) و ارقام لوبیا قرمز گلی و لوبیا سفید درسا با بیشترین شدت پوسیدگی ریشه (به ترتیب با ٦٦/٦٧٪ و ۷۰/۲٤٪) به‌ترتیب کمترین و بیشترین حساسیت را به جدایه‌های گونه مرکب *F. Solani* داشتند.

کلید واژه‌ها: ارقام لوبیا، حساس، شناسایی، فوزاریوم، مقاوم

دبیر تخصصی: دکتر روح الله شریفی

Citation: Rahkhodaei, E., Hamzehzarghani, H., Banihashemi, Z., Mostowfizadeh-Ghalamfarsa, R. & Farrokhinejad, R. (2023). Evaluating the susceptibility of some common bean cultivars to *Fusarium solani* species complex causing bean root rot in Iran. *Plant Protection (Scientific Journal of Agriculture)*, *46*(1), 129-142. https://doi.org/ 10.22055/ppr.2023.43424.1687.

مقدمه

حبوبات از منابع مهم و اولیه‌ی تأمین کننده‌ی پروتئین در جیره‌ی غذایی انسان و دام در سرتاسر دنیا هستند. از بین انواع مختلف حبوبات، لوبیا مهم‌ترین آنهاست. لوبیا بیشتر از یک سوم از تولید جهانی حبوبات را به خود اختصاص داده است (Joshi & Rao, 2017). بیماری‌های قارچی و به ویژه قارچ‌های خاک‌برد[1] از مهم‌ترین و خطرناک‌ترین عوامل خسارت‌زای لوبیا به‌شمار می‌آیند (Montiel-González et al., 2005). قارچ *Fusarium solani* (Mart.) Sacc. عامل پوسیدگی ریشه، یکی از مهم‌ترین عوامل محدودکننده کشت لوبیا در جهان معرفی شده است (Knodel et al., 2007). نتایج تحقیقات نشان داده است که در دنیا، کاهش محصول در اثر وقوع این بیماری در حدود ۶ تا ۵۳ درصد بوده است (Schwartz et al., 2005).

کشت ارقام مقاوم به‌عنوان سالم‌ترین، اقتصادی‌ترین و مؤثرترین روش محافظت گیاهان در برابر بیمارگرها مطرح می‌باشد (Johnson & Jellis, 1992). داشتن ارقام مقاوم نیاز به در دسترس بودن ژرم‌پلاسم غنی با منبع بالای ژنتیکی میزبان است که به کمک روش‌های غربالگری[2] میزبان، ارقام مقاوم انتخاب می‌شوند. لازمه‌ی غربالگری، برخورداری از دانش کافی در زمینه زیست‌شناسی، پراکنش بیمارگر، تنوع ژنتیکی آن و برهم‌کنش بیمارگر-گیاه میزبان[3] است. انتخاب روش‌های مناسب برای ارزیابی مقاومت گیاهان، یکی از اساسی‌ترین اصول اولیه اصلاح نباتات می‌باشد (Strange, 2003). ارزیابی ارقام و ژنوتیپ‌های گیاهی به دو روش مستقیم و غیرمستقیم در مزرعه، گلخانه و یا آزمایشگاه انجام می‌شود. در روش مستقیم، آسیب‌های بیمارگر روی گیاه مورد بررسی قرار می‌گیرد (Russell, 1978). در دنیا، تحقیقات زیادی در مورد غربالگری ژرم‌پلاسم لوبیا در مقابل پوسیدگی فوزاریومی ریشه انجام شده است. در کشور مکزیک، در سال ۱۹۹۵ رقم Pinto Villa به عنوان رقم مقاوم به پوسیدگی فوزاریومی ریشه‌ی لوبیا معرفی گردید (Miklas et al., 2006). در امریکا، ژنوتیپ RR 6950، (Schneider et al., 2001; Hagerty et al., 2015) و ارقام Middle American (Roman-Aviles & Kelly, 2005) و VAX 3 (Bilgi et al., 2008) مقاومت بسیار بالایی به پوسیدگی فوزاریومی ریشه داشتند. در ایران ارقام و ژنوتیپ‌های مختلفی از لوبیا وجود دارد، اما تحقیقات در زمینه‌ی ارزیابی مقاومت ژرم‌پلاسم لوبیا به بیماری پوسیدگی فوزاریومی اندک بوده است. در تحقیقی اثر تاریخ کاشت لوبیا چیتی بر عملکرد و شدت بیماری پوسیدگی ریشه ناشی از *F. solani* f.sp. *phaseoli*، بررسی گردید و سه ژنوتیپ (محلی خمین، تلاش و COS16) در چهار تاریخ کاشت مختلف ارزیابی شدند. در این پژوهش،لاین COS16 با تاریخ کاشت ۱۹ خرداد بیشترین عملکرد را نشان داد (Lak et al., 2009). در پژوهشی دیگر که به منظور شناسایی ژنوتیپ‌های مقاوم به قارچ پژمردگی فوزاریومی لوبیا با عامل *F. oxysporum* f.sp. *phaseoli*، در شرایط گلخانه انجام شد، به‌ترتیب ژنوتیپ‌های ناز، صیاد، WA و صدری مقاوم، ارقام جگری، اختر و E9، نیمه حساس و ارقام خمین، کپسولی، ایج، شکوفا و تلاش حساس بودند (Hasanvand et al., 2014). همچنین ارزیابی مقاومت ۱۳ رقم تجاری لوبیا در سه نوع لوبیا قرمز، چیتی و سفید نسبت به *F. solani* در استان اصفهان و چهارمحال بختیاری، در شرایط گلخانه نشان داد که ژنوتیپ‌های قرمز نسبت به لوبیا چیتی و سفید مقاوم‌تر بودند (Amanifar et al., 2017).

با توجه به اطلاعات بسیار اندک در خصوص عکس‌العمل ارقام مختلف لوبیا نسبت به پوسیدگی فوزاریومی ریشه ناشی از گونه مرکب *F. solani*[4] (FSSC)، پژوهش حاضر با هدف بررسی مقاومت چند رقم لوبیا نسبت به این بیمارگر در محیط گلخانه انجام شد.

1- Soil borne
2- Screening
3- Pathogen–host interaction
4- *Fusarium solani* species complex

مواد و روش‌ها

جمع‌آوری، جداسازی و شناسایی جدایه‌ها

در تابستان سال‌های ۱۳۹۶، ۱۳۹۷ و ۱۳۹۸، نمونه‌برداری از مزارع لوبیا که بوته‌های آلوده علایم زردی، کم‌رشدی و پوسیدگی ریشه و طوقه داشتند، انجام شد. از مناطق مختلف استان‌های فارس، کهگیلویه و بویراحمد، چهارمحال بختیاری، لرستان، همدان، مرکزی، قزوین، زنجان، آذربایجان شرقی، مرکزی و مازندران نمونه‌برداری انجام گرفت. در آزمایشگاه، از ریشه و طوقه‌ی نمونه‌ها قطعات کوچکی (پنج میلی‌متر) از حد واسط بافت سالم و نکروز شده جدا شد و با محلول هیپوکلریت سدیم نیم درصد به مدت یک تا دو دقیقه گندزدایی گردید. نمونه‌ها در تشتک‌های پتری حاوی محیط‌کشت عمومی سیب‌زمینی- دکستروز- آگار (PDA) و محیط‌کشت نش و اسنایدر[1] با اندکی تغییرات، حاوی آنتی‌بیوتیک آموکسی‌سیلین به جای استرپتومایسین کشت شدند. پس از ظهور پرگنه‌ی قارچ، جدایه‌ها با روش تک اسپور کردن یا نوک ریسه، روی محیط‌کشت آب آگار دو درصد خالص‌سازی شدند (Leslie & Summerell, 2006). برای شناسایی قارچ‌ها، از منابع و کلیدهای معتبر شناسایی گونه‌های فوزاریوم براساس خصوصیات ریخت‌شناختی و رنگ پرگنه فوزاریوم استفاده گردید (Booth, 1971; Nelson et al., 1983; Aoki et al., 2003; Aoki et al., 2005; Leslie & Summerell, 2006).

شناسایی مولکولی جدایه‌ها

به منظور شناسایی مولکولی جدایه‌ها، استخراج DNA به روش Doyle and Doyle (1987) انجام شد. برای تکثیر قسمتی از ناحیه‌ی ژنی فاصله‌ی ترانویسی شده‌ی داخلی ژن آرِان‌ای ریبوزومی[2] (ITS) و عامل امتداد ترجمه‌ی یک آلفا[3]، از واکنش زنجیره‌ای پلیمراز[4] (پی‌سی‌آر) به ترتیب از جفت آغازگرهای ITS1/ITS4 (White et al., 1990; O'Donnell et al., 2000) و EF-728/EF-986 (Carbone & Kohn,1999) استفاده شد. قطعات تکثیر شده در پی‌سی‌آر به‌صورت رفت و برگشت توسط بخش کاردیوژنتیک بیمارستان قلب شهید رجایی (تهران، ایران) توالی‌یابی شدند. پس از ویرایش، جستجوی بلاست[5] توالی‌های ITS و *EF-1α* جدایه‌ها در مجموعه داده‌های بانک ژن در پایگاه NCBI، انجام شد تا بیشترین شباهت جدایه‌ها برای کمک در تشخیص و تأیید گونه فوزاریوم مشخص گردد.

آزمون بیماری‌زایی جدایه‌ها

زادمایه‌ی قارچ مطابق روش Bilgi et al. (2008) با اندکی تغییر تهیه گردید (به جای ماسه از ورمی‌کولیت استفاده شد). برای آزمون‌های بیماری‌زایی از لیوان پلاستیکی با حجم ۴۰۰ میلی‌لیتر به عنوان گلدان استفاده شد. در دو سوم حجم پایینی گلدان، مخلوط خاک بکر و ماسه سترون ریخته شد و یک سوم لایه‌ی رویی از مایه‌ی قارچ مخلوط شده با ورمی‌کولیت به نسبت یک به نُه پر شد. به گلدان شاهد، ورمی‌کولیت و آرد فاقد مایه‌ی قارچ افزوده شد. بذرهای لوبیا با هیپوکلریت سدیم یک درصد، به مدت سه دقیقه ضدعفونی سطحی شده و دو مرتبه با آب مقطر سترون شسته شدند. در هر گلدان، سه عدد بذر کشت شد و گلدان‌ها به مدت چهار هفته در گلخانه در دامنه‌ی دمایی ۲۰ تا ۳۰ درجه سلسیوس نگه‌داری شدند. گلدان‌ها با دور سه روزه آبیاری گردیده و هر هفته یکبار با کود NPK (۲۰-۲۰-۲۰) (پیگما، شرکت پیرومیسول، اسپانیا) به میزان دو در هزار تغذیه و یک نوبت نیز در اواخر هفته‌ی دوم با عناصر کم‌مصرف (میکروفول کمبی، شرکت بیول کیم، ایتالیا) محلول‌پاشی شدند.

آزمون‌های اولیه‌ی بیماری‌زایی جدایه‌های فوزاریوم روی لوبیا چیتی رقم صدری که از ارقام تجاری و متداول کشت لوبیا در کشور است انجام شد. برای مقایسه‌ی شدت بیماری‌زایی

1- Nash & Snyder
2- Internal Transcribed Spacers of rDNA (ITS)
3- Translation Elongation Factor 1-α (*EF-1α*)
4- Polymerase chain reaction (PCR)
5- Blast

جدایه‌ها، آزمایش در قالب طرح کاملاً تصادفی با سه گلدان و نُه بوته برای هر جدایه اجرا شد. پس از چهار هفته، بوته‌ها به دقت از گلدان‌ها خارج گردیده و ریشه و طوقه‌ی آن‌ها با آب شسته شد. برای بررسی میزان پوسیدگی ریشه از شاخص‌های توصیفی Schneider et al.(2001) استفاده شد. شدت بیماری‌زایی هر جدایه نیز از فرمول زیر محاسبه شد:

$$DS= \{(a\times1) + (b\times2) + (c\times3) + (d\times4) + (e\times5) + (f\times6) + (g\times7)\}/ (i\times7) \times 100$$

در این فرمول a تا g، تعداد نمونه در هر شاخص توصیفی، یک تا هفت، اعداد شاخص توصیفی و i، تعداد کل تکرارها است (Li et al., 2014).

بررسی حساسیت ارقام لوبیا به جدایه‌های منتخب

ارقام لوبیا چیتی صالح و کوشا و ارقام لوبیا قرمز اختر، گلی و صیاد و ارقام لوبیا سفید درسا و شکوفا از ایستگاه تحقیقاتی لوبیای شهرمیان اقلید وابسته به مرکز تحقیقات و آموزش کشاورزی و منابع طبیعی استان فارس و رقم لوبیا چیتی صدری از ایستگاه تحقیقاتی لوبیای خمین متعلق به مرکز تحقیقات و آموزش کشاورزی و منابع طبیعی استان مرکزی و ارقام لوبیا سبز سانری و والنتینو از موسسه تحقیقات اصلاح و تهیه‌ی نهال و بذر تهیه شد.

از بین جدایه‌های FSSC، ۱۰ جدایه با بیشترین شدت بیماری‌زایی از استان‌های مختلف انتخاب شد و مایه تلقیح تمام جدایه‌ها با هم مخلوط شد. آزمایش بررسی حساسیت ارقام، مانند آزمون بیماری‌زایی انجام گرفت با این تفاوت که در این آزمون از گلدان‌های ۳ لیتری استفاده شد. برای هر رقم لوبیا چهار گلدان (تیمار شده با مایه قارچ‌ها) در نظر گرفته شد. در هر گلدان شش عدد بذر کشت شد که پس از اطمینان از جوانه‌زنی بذرها در هر گلدان سه بوته نگهداری شد. برای هر رقم ۴ گلدان به عنوان تکرار آزمایش در نظر گرفته شد. برای هر رقم چهار گلدان شاهد نیز در نظر گرفته شد. این آزمایش نیز در قالب طرح کاملاً تصادفی اجرا شد. گلدان‌ها در گلخانه نگهداری شدند. شرایط دمایی، آبیاری و کوددهی آنها مانند آزمون‌بیماری‌زایی بود. محلول پاشی با عناصر ریز مغذی هر دو هفته یک‌مرتبه انجام شد.

پس از دو ماه بوته‌ها به دقت از گلدان‌ها خارج گردیدند و پس از بررسی و ثبت آلودگی ریشه‌ها، وزن تر بوته و ریشه برای هر رقم و شاهد آن رقم اندازه‌گیری و ثبت شد. اندام‌های گیاهی، ۲۴ ساعت در دمای اتاق و سپس به مدت ۲۴ ساعت در ۵۰ درجه‌ی سلسیوس در آون خشک گردیدند و وزن آنها ثبت شد. وزن تر و خشک بوته و ریشه به صورت نسبی، محاسبه شد. برای این عمل، وزن ثبت شده تیمار (آلوده به قارچ) بر وزن ثبت شده نظیر تیمار در شاهد (بدون قارچ) تقسیم شد.

واکاوی آماری داده‌ها

داده‌ها با استفاده از نرم‌افزار SAS 9.4 تجزیه واریانس شده و میانگین‌ها با آزمون دانکن گروه‌بندی شدند. به کمک نرم‌افزار SPSS 26 تجزیه خوشه‌ای داده‌های صفات نسبی و شدت پوسیدگی ریشه‌ی لوبیا انجام شده و بهترین رقم یا رقم‌ها از نظر حساسیت به پوسیدگی ریشه مشخص گردیدند.

نتایج

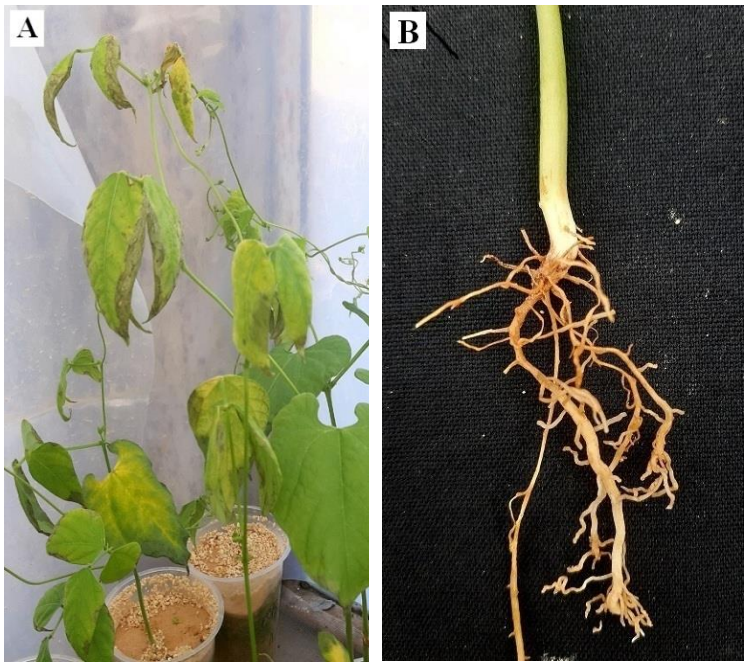
جداسازی و شناسایی گونه مرکب *Fusarium solani* (Mart.) Sacc.

جدایه‌های FSSC، جداسازی شده از استان‌های مورد آزمایش با بیشترین فراوانی، براساس خصوصیات ریخت‌شناختی به کمک منابع معتبر شناسایی گردیدند. از نظر ملکولی نیز جستجوی بلاست توالی‌های ITS و TEF در بانک ژن، یکسانی نوکلئوتیدی ۱۰۰٪ را با توالی‌های گونه مرکب *F. solani* نشان داد و هویت جدایه‌های این گونه مرکب تایید شد. لازم به ذکر است علاوه بر جدایه‌های FSSC، جدایه‌هایی از گونه‌هایی مرکب *F. oxysporum* Schltdl. و *F. lateritium* Nees. و گونه‌های *F. acuminatum* Ellis & Everh.، *F. equiseti* (Corda) Sacc. و *F. redolens* Wollenw. جداسازی و شناسایی شدند که در این تحقیق ارزیابی ارقام با ۱۰ جدایه‌ی منتخب FSSC انجام شد.

آزمون بیماری‌زایی جدایه‌ها روی گیاه لوبیا

سه هفته پس از مایه‌زنی، علائم زردی و ریزش برگ‌ها روی لوبیا چیتی رقم صدری در گلخانه ظاهر شد و وقوع

بیماری به ثبت رسید. در پایان هفته‌ی چهارم، بوته‌ها از گلدان خارج و ریشه‌ی آن‌ها از لحاظ پوسیدگی ارزیابی شد (شکل ۱). دراین تحقیق همه جدایه‌ها قادر به ایجاد پوسیدگی ریشه و طوقه در لوبیا بودند. براساس شاخص‌های توصیفی Schneider et al.(2001) میزان پوسیدگی ریشه نمره‌دهی شد و داده‌ها به صورت ناپارامتری و براساس آزمون کروسکال-والیس، واکاوی آماری شدند. از نظر آماری، تفاوت معنی‌داری در سطح یک درصد بین جدایه‌ها و شاهد مشاهده شد. شدت بیماری‌زایی جدایه‌ها محاسبه شد و از هر استان یک جدایه با بیشترین شدت بیماری‌زایی (در مجموع ۱۰ جدایه) برای ارزیابی حساسیت ارقام انتخاب گردید (جدول ۱).



شکل ۱- علایم، (A) زردی برگ و (B) پوسیدگی ریشه‌ی لوبیا رقم صدری در گلخانه چهار هفته پس از مایه‌زنی جدایه‌ی FKOR12

Figure 1. Symptoms, (A) yellowing of leaves and (B) root rot of Sadri beans in the greenhouse four weeks after inoculation with FKOR12 isolate

جدول ۱- مشخصات جدایه‌های منتخب گونه مرکب *Fusarium solani* عامل پوسیدگی ریشه‌ی لوبیا از ایران برای ارزیابی ارقام لوبیا همراه با رس‌شمار بانک‌ژن آنها

Table 1. Characteristics of selected isolates of *Fusarium solani* species complex causing root rot of beans from Iran for the evaluation of bean cultivars with their accession number in the GenBank database

Isolate code	Mean Disease severity (%)	Year of Isolation	GenBanck/Accession number		Province
			ITS	*EF1-a*	
FKOR12	82.54	2017	OM502970	OM669789	Fars
RB31	80.95	2019	OL348236	OL419253	Markazi
ZSN154	82.54	2019	OM503000	OM669818	Zanjan
AMB70	69.84	2018	OM502953	OM669821	East Azerbaijan
CY85	71.43	2018	OM502961	OM669828	Chaharmahal and Bakhtiari
QAO77	85.71	2018	OM503008	OM864166	Qazvin
LBA63	79.37	2018	OM502984	OM669802	Lorestan
MAL45	82.54	2018	OM503007	OM864158	Mazandaran
HZD24	77.78	2018	OM503003	OM864164	Hamdan
YD3-2	61.90	2018	OM502993	OM669811	Kohgilouyeh and Boyer-Ahmad

بررسی حساسیت ارقام لوبیا به جدایه‌های منتخب

پس از پایان زمان آزمایش در گلخانه، شدت بیماری‌زایی جدایه‌ها روی ارقام و همچنین وزن تر و خشک بوته و ریشه‌ی تیمار مایه‌زنی شده با قارچ و شاهد هر رقم اندازه‌گیری شد. براساس شاخص‌های توصیفی Schneider et al.(2001) میزان پوسیدگی ریشه تکرارهای هر رقم نمره دهی شده و داده‌ها به‌صورت ناپارامتری با آزمون کروسکال- والیس واکاوی آماری شدند (جدول ۲). نتایج نشان داد که ارقام لوبیا از نظر شاخص پوسیدگی ریشه در سطح احتمال یک درصد با هم اختلاف معنی‌داری داشته و پس از طبقه‌بندی داده‌ها، به کمک آزمون دانکن میانگین پوسیدگی ریشه، ارقام مقایسه و گروه‌بندی شدند و سپس بر اساس شاخص توصیفی، شدت پوسیدگی ریشه در ارقام مختلف محاسبه گردید (جدول ۴). میانگین شدت پوسیدگی ریشه در لوبیا چیتی رقم کوشا، ۱۹/۰۵ درصد اندازه-گیری شد که از این نظر مقاوم‌ترین رقم در بین ارقام مورد آزمایش بود (شکل ۲). در رقم لوبیا سفید درسا، میانگین شدت پوسیدگی ریشه ۷۷/۲۴ درصد بود که بیشترین حساسیت به پوسیدگی ریشه در اثر جدایه‌های FSSC را نشان داد (شکل ۳).

جدول ۲- نتایج واکاوی نا پارامتری کروسکال- والیس پوسیدگی ریشه‌ی ارقام لوبیا

Table 2. Kruskal-Wallis non parametric analysis of root rot of bean cultivar

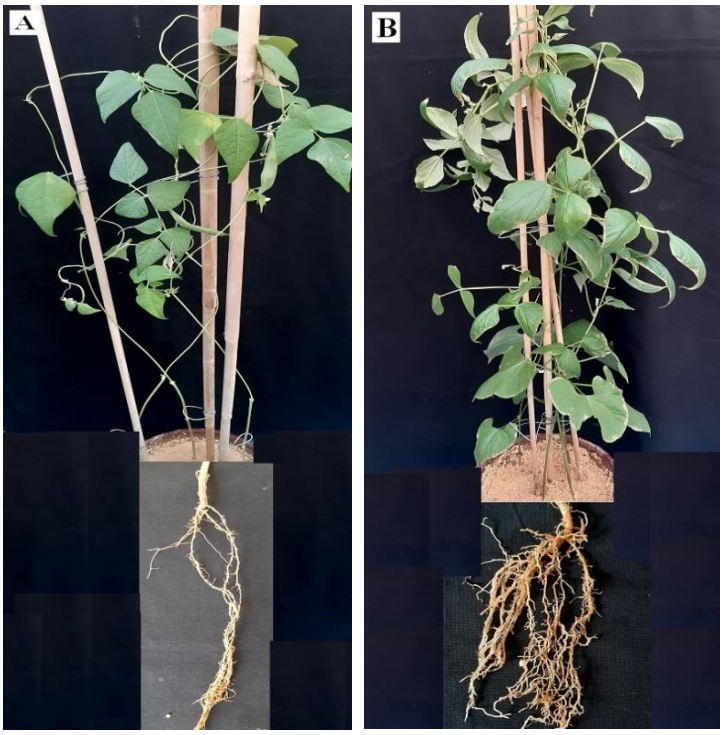
Variation source	Degree of freedom	Kruskal-Wallis H	P value
Bean cultivar	9	103.9	0.000

شکل ۲- مقایسه اندام هوایی بوته و ریشه‌ی لوبیا چیتی رقم مقاوم کوشا در(A) تیمار مایه زنی شده با قارچ و (B) شاهد

Figure 2. Comparison of aerial part of plant and root of chiti bean resistant cultivar Koosha inoculated (A) with the fungus and (B) control.

ارقام لوبیا از نظر وزن نسبی تر و خشک بوته و ریشه، در سطح احتمال یک درصد مقایسه آماری شدند (جدول ۳). نتایج نشان داد که ارقام از نظر صفات اندازه‌گیری شده با هم اختلاف معنی‌داری داشته و به کمک آزمون دانکن مقایسه میانگین صفات انجام و ارقام براساس آن صفات گروه‌بندی شدند (جدول ۴).

وزن نسبی که نشان دهنده نسبت کاهش وزن ایجاد شده در بوته و ریشه ارقام در اثر آلودگی به قارچ نسبت به شاهد است، بین عدد صفر تا یک متغیر بوده و هرچقدر وزن نسبی به عدد یک نزدیک‌تر باشد، نشان‌دهنده تحمل بیشتر رقم به بیمارگر است. از نظر وزن نسبی تر بوته و ریشه، لوبیا چیتی رقم کوشا به ترتیب با ۰/۹۲ و ۰/۹۳. نسبت به سایر ارقام در سطح یک درصد اختلاف معنی‌داری داشته و از این نظرنسبت به سایر ارقام به بیمارگر مقاوم‌تر بود.این رقم و رقم لوبیا چیتی صالح به ترتیب با ۰/۸۳ و ۰/۷۹ از نظر وزن نسبی خشک بوته نیز با سایر ارقام اختلاف معنی‌داری داشتند. از نظر وزن نسبی خشک ریشه نیز ارقام لوبیا چیتی کوشا، لوبیا قرمز اختر و لوبیا سفید والنتینو با بیشترین وزن نسبی در یک گروه آماری مجزا قرار گرفتند.



شکل ۳- مقایسه اندام هوایی بوته و ریشه‌ی لوبیا سفید رقم حساس درسا، در (A) تیمار مایه زنی شده با قارچ و (B) شاهد

Figure 3. Comparison of aerial part of plant and root in white bean sensitive cultivar Dorsa inoculated (A) with the fungus and (B) control.

جدول ۳- تجزیه واریانس وزن تر و خشک بوته و ریشه‌ی ارقام لوبیا

Table 3. Variance analysis of fresh and dry weight of plants and roots of bean cultivar

Variation source	Trait	Degree of freedom	Sum Squares	Mean squares	F value	P value
Bean cultivar	fresh weight of plant	9	4.230	0.470	60.20	< 0.0001
Bean cultivar	fresh weight of root	9	116279.46	12919.94	51.51	< 0.0001
Bean cultivar	dry weight of plant	9	103952.75	11550.31	31.38	< 0.0001
Bean cultivar	dry weight of root	9	110453.0	12272.56	40.35	< 0.0001

جدول ٤- مقایسه‌ی میانگین شدت بیماری‌زایی و وزن نسبی صفات مورد مطالعه ارقام لوبیا

Table 4. Mean comparison of disease severity and relative weight of studied traits of bean cultivars evaluated by10 isolates of Fusarium solani species complex

bean cultivars	Disease severity (%)	Relative weight of fresh plant	Relative weight of fresh root	Relative weight of dry plant	Relative weight of dry root
Chiti (pinto) Koosha	19.05 e	0.92 a	0.93 a	0.83 a	0.82 ab
Red Akhtar	24.52 d	0.79 b	0.67 c	0.72 b	0.78 a
Green Sanri	22.62 e	0.74 b	0.63 c	0.70 b	0.58 c
Green Valentino	23.81 e	0.77b	0.75 b	0.69 b	0.65 b
Chiti (pinto) Saleh	34.52 d	0.78 b	0.54 d	0.79 a	0.58 c
Chiti (pinto) Sadri	52.38 c	0.57 c	0.41 d	0.56 cd	0. 37 ed
White Shekoofa	57.14 cb	0.57 c	0.47 e	0.54 d	0.44 d
Red Sayyad	59.52 b	0.55 c	0.46 d	0.61 c	0.52 c
White Dorsa	70.24 a	0.33 d	0.32 f	0.41 e	0.33 ef
Red Goli	66.67 a	0.30 d	0.25 f	0.32 e	0.27 f

Similar letters, at the probability level of one percent, indicate no significant difference in that trait

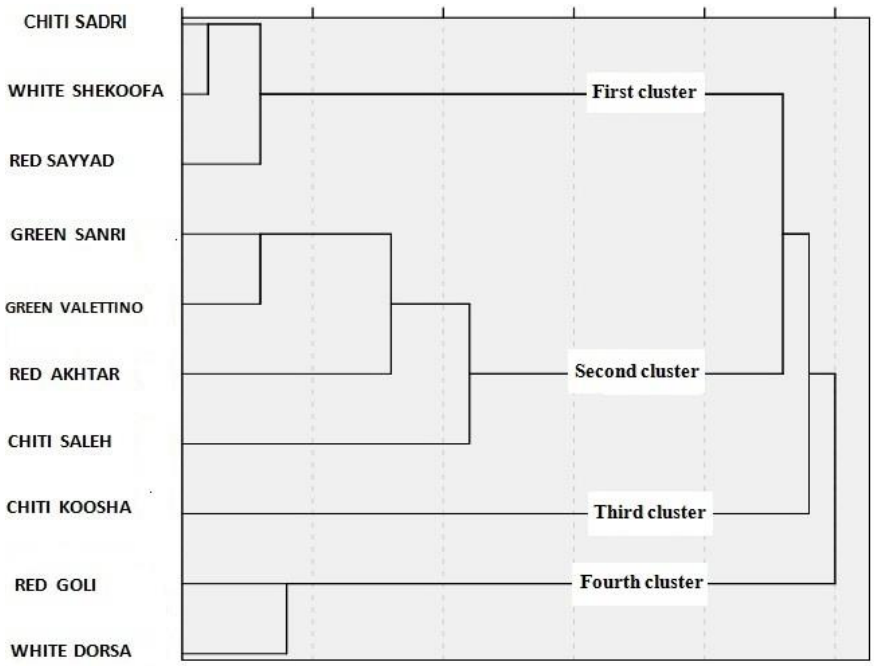
حروف مشابه، برای هر صفت نشانگر عدم اختلاف معنی‌دار در سطح احتمال یک درصد است.

به منظور تعیین رقم یا ارقام لوبیا که کمترین حساسیت را به پوسیدگی فوزاریومی FSSC ریشه دارند، تجزیه‌ی خوشه‌ای صفات وزن نسبی اندازه‌گیری شده و شدت پوسیدگی ریشه در ارقام نیز انجام شد (شکل ۴ و ۵). در نمودار صفات وزن نسبی، ارقام در چهار خوشه قرار گرفتند، لوبیا چیتی رقم کوشا به طور مجزا و با اختلاف در خوشه‌ی سوم قرار گرفت. پس از آن ارقام لوبیا قرمز اختر، لوبیا سبز سانری و والنتینو و لوبیا چیتی صالح در خوشه‌ی دوم قرار گرفتند. ارقام حساس لوبیا قرمز گلی و لوبیا سفید درسا با اختلاف نیز در خوشه‌ی چهارم جای گرفتند. در نمودار خوشه‌ای شدت پوسیدگی ریشه نیز، ارقام در دو خوشه‌ی اصلی قرار گرفتند. در خوشه‌ی اول رقم لوبیا چیتی کوشا در کنار ارقام نسبتا مقاوم سبز والنتینو، سانری و قرمز اختر و چیتی صالح قرار گرفت. انطباق خوشه‌ها در هر دو دندروگرام نشان می‌دهد در ارقام با حساسیت کمتر نسبت به پوسیدگی ریشه، مقاومت واقعی رخ داده و تحمل به بیماری در ارقام اتفاق نیفتاده است.

بحث

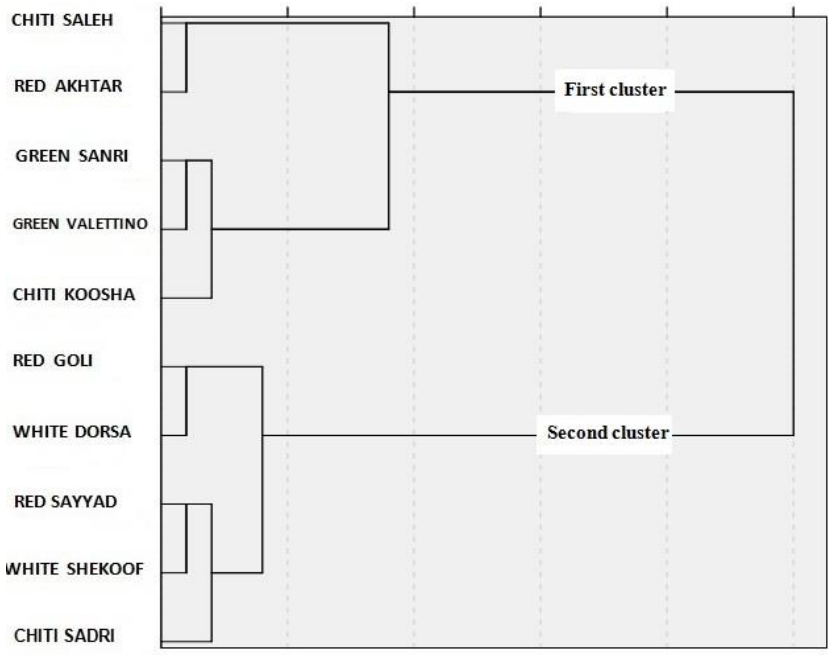
با توجه به اهمیت و نقش لوبیا در جیره‌ی غذایی، در دنیا تحقیقات زیادی در مورد غربالگری ژرم‌پلاسم لوبیا در مقابل پوسیدگی فوزاریومی ریشه انجام شده است (Miklas et al., 2006). پژوهش گلخانه‌ای حاضر نیز با هدف بررسی مقاومت چند رقم لوبیا نسبت به پوسیدگی فوزاریومی ریشه ناشی از گونه مرکب *F. solani* انجام شد.

در این مطالعه ارقام مختلف واکنش‌های متفاوتی به بیماری نشان دادند. ارقام لوبیا چیتی کوشا و صالح، لوبیا قرمز اختر، لوبیا سبز والنتینو و سانری ارقام با حساسیت کم به جدایه‌های انتخابی FSSC معرفی می‌شوند. ارقام قرمز گلی و سفید درسا نیز بیشترین حساسیت را نسبت به پوسیدگی ریشه نشان دادند. در پژوهش دیگری نیز که چندین رقم لوبیا نسبت به *F. solani* در گلخانه و در شرایط بدون تنش آبی، ارزیابی شدند، ارقام کوشا، صیاد و صدری با آلودگی خفیف و ارقام، اختر و درسا با آلودگی متوسط و رقم شکوفا با آلودگی زیاد معرفی گردیدند (Amanifar et al., 2017). در یک مطالعه دیگر نیز در میان ۱۰ رقم لوبیای آزمایش شده نسبت به پوسیدگی فوزاریومی ریشه، رقم ناز به‌عنوان مقاوم‌ترین رقم معرفی شد (Saremi et al., 2011). به عقیده‌ی Naseri (2016) ارقام لوبیا سفید حساس‌ترین و ارقام لوبیا قرمز از مقاوم‌ترین ارقام به پوسیدگی فوزاریومی ریشه‌ی لوبیا بوده‌اند. با توجه به نتایج تحقیق حاضر رنگ بذر و یا نوع لوبیا معیاری برای وجود حساسیت یا مقاومت به رقم نمی‌باشد. برای مثال لوبیا قرمز درسا به پوسیدگی ریشه حساس بوده و ارقام لوبیا سبز سانری و والنتینو که رنگ بذر آنها سفید بود به بیماری حساسیت کمی داشتند.



شکل ٤- دندروگرام تجزیه‌ی خوشه‌ای صفات نسبی وزن‌تر و خشک بوته و ریشه‌ی ارقام لوبیای مایه‌زنی شده با جدایه‌های منتخب FSSC

Figure 4. Dendrogram of cluster analysis of relative fresh and dry weight of plant and root of bean cultivars inoculated with selected isolates of FSSC



شکل ٥- دندروگرام تجزیه‌ی خوشه‌ای شدت بیماری‌زایی پوسیدگی ریشه‌ی ارقام لوبیای مایه‌زنی شده با جدایه‌های منتخب FSSC

Figure 5. Dendrogram of cluster analysis of root rot severity of bean cultivars inoculated with selected isolates of FSSC

در کشور مکزیک نیز، لوبیا چیتی رقم Pinto Villa به عنوان یکی از ارقام مقاوم به پوسیدگی ریشه‌ی فوزاریومی معرفی شده است (Miklas et al., 2006). در آمریکا، ۱۱ ژنوتیپ لوبیا در رنگ و اندازه‌های مختلف با مخزن ژنی آند در شرایط کنترل شده، نسبت به پوسیدگی ریشه‌ی ناشی از *F. graminearum* Schwabe و *F. solani* f. sp. *Phaseoli* (Burk) Snyder & Hans مقایسه و مطالعه شدند (Bilgi et al., 2011). ژنوتیپ‌های لوبیا سیاه Eclipse، T-39 و ژنوتیپ لوبیا قرمز VAX3 به پوسیدگی فوزاریومی ریشه بیشترین مقاومت را داشته و ژنوتیپ‌های لوبیا چیتی Othello و لوبیا قرمز Montcalm و Rojo Chiquito، بیشترین حساسیت به پوسیدگی ریشه را در بین ژنوتیپ‌های مورد آزمایش نشان دادند. در آن تحقیق همبستگی قوی و معنی‌داری بین واکنش‌های ژنوتیپی لوبیا به فوزاریوم‌ها وجود داشت. همچنین در آزمایش دیگری در امریکا، ژنوتیپ لوبیا قرمز رنگ روشن RR 6950، (Schneider et al., 2001; Hagerty et al., 2015) به عنوان رقم مقاوم به پوسیدگی فوزاریومی ریشه لوبیا معرفی شده است.

در تحقیق حاضر، با توجه به اینکه جدایه‌های FSSC بیشترین فراوانی را داشته و گونه مرکب غالب بودند، جهت غربالگری ارقام از جدایه‌های FSSC استفاده شد. بر اساس پژوهش‌های انجام شده، در ایران گونه مرکب *F. solani* در اکثر استان‌های مهم کاشت لوبیا مهمترین عامل پوسیدگی ریشه بوده است. این قارچ با بیشترین فراونی از استان‌های زنجان، قزوین، آذربایجان شرقی، مرکزی و لرستان به عنوان یکی از مهمترین عوامل محدودکننده و خسارت‌زننده به مزارع لوبیا معرفی شده است (Naseri 2008; Saremi et al. 2011; Dehghani et al. 2018; Rahkhodaei et al. 2021). در یک مطالعه‌ی پنج ساله، برای شناسایی منابع بالقوه مقاومت به پوسیدگی ریشه در ارقام لوبیا در غرب کانادا، بیمارگرهای *Rhizoctonia solani* J.G. Kühni، *F. solani* f. sp. *phaseoli* شدیدترین میزان پوسیدگی ریشه را ایجاد کردند (Conner et al., 2014).

همچنین در این پژوهش جهت غربالگری ارقام از چند جدایه‌ی FSSC دارای توان بیماری‌زایی بالا به طور توأم استفاده شد. نتایج حاصل از یک پژوهش نیز نشان داد که استفاده از یک جدایه‌ی FSSC برای تلقیح، ممکن است منجر به عدم بروز علایم یا علایم بسیار کم شود، بنابراین در آن پژوهش جهت غربالگری ژنوتیپ‌های لوبیا، از نه جدایه‌ی FSSC استفاده شد (Zitnick-Anderson et al., 2020).

تحقیق حاضر در شرایط کنترل شده‌ی گلخانه‌ای انجام شد. در مطالعه‌ی Bilgi et al. (2011)، سه روش غربالگری صحرایی، گلخانه و آزمایشگاهی برای ارزیابی ارقام لوبیا در مقابل پوسیدگی فوزاریومی ریشه مقایسه شدند. تجزیه و تحلیل نتایج، همبستگی مثبت و معنی‌داری بین سه روش ذکر شده را نشان داد. به نظر ایشان از هر سه روش می‌توان برای غربالگری موثر ژرم پلاسم لوبیا برای مقاومت در برابر پوسیدگی فوزاریومی ریشه استفاده کرد. در پژوهش دیگری، جهت شناسایی ژنوتیپ‌های مقاوم به پوسیدگی فوزاریومی ریشه‌ی لوبیا، آزمایش‌ها در شرایط گلخانه و مزرعه انجام شد و همبستگی معنی‌داری بین آزمایش‌های گلخانه‌ای و مزرعه‌ای مشاهده شد. در آن بررسی، مقاومت ژنتیکی به پوسیدگی ریشه به شدت تحت تأثیر عوامل محیطی قرار گرفت و برای کاهش اثر شرایط محیطی و افزایش دقت آزمایش، ارزیابی‌های گلخانه‌ای سازگار، جهت شناسایی ژنوپیپ‌های مقاوم به پوسیدگی فوزاریومی ریشه‌ی لوبیا توصیه شد (Schneider & Kelly, 2000). آزمایش‌های گلخانه‌ای با حداقل هزینه و نیروی کار با پروتکل‌های ساده، سریع و ارزان قابل اجرا هستند. هرچند که آزمایش‌های صحرایی واقعی‌ترین آزمایش مقاومت در برابر بیمارگرها هستند، اما با چالش‌های زیادی نیز روبرو بوده‌اند. بیمارگرها درخاک مزرعه به ندرت به طور مساوی و یکنواخت در سرتاسر مزارع پراکنده‌اند، این امر منجر به نتایج غیرواقعی همراه با خطا می‌شود، به ویژه هنگامی که غربالگری

F. redolens Wollenw و *F. acuminatum* Ellis & Everh. مورد آزمایش قرار گرفتند. جدایه‌های *F. solani* f.

با تعداد زیادی ژنوتیپ انجام شود. همچنین در شرایط مزرعه، میزبان و سطح فشار بیمارگر به شدت تحت تأثیر شرایط محیطی هستند. آزمایش‌های صحرایی به‌طور مداوم توسط شرایط آب و هوایی از جمله تگرگ، سیل یا خشکسالی تهدید می‌شوند. در مقابل، شرایط گلخانه تا حدودی از اثرات میکروبیوم خاک و عوامل محیطی خاک که بر توسعه بیماری تأثیر می‌گذارند، ممانعت می‌کنند. همچنین غربالگری گلخانه‌ای می‌تواند فرصتی برای شناسایی مداوم ژنوتیپ‌های دارای مقاومت به یک بیمارگر خاص در یک دوره زمانی کوتاه، و در هر فصلی فراهم کند (Zitnick-Anderson et al., 2020).

در مدیریت بیماری‌ها، اگر چه مقاومت میزبان اولین خط دفاعی در برابر بیمارگر است، ولی ترکیب ارقام مقاوم با سایر روش‌های زراعی، زیستی و شیمیایی برای کاهش بیماری ضروری است. کنترل بیمارگرهای خاک مشکل بوده و مدیریت مناسب خاک و تاریخ کاشت در کنار ارقام مقاوم بخش مهمی از مجموعه رهیافت‌های کاهش بیماری پوسیدگی ریشه لوبیاست. شرایط خاک می‌تواند تنش گیاه را افزایش داده و منجر به حساسیت بیشتر به پوسیدگی ریشه گردد. در تحقیق Lak et al. (2017) بررسی واکنش ۱۰۰ ژنوتیپ لوبیا سفید به *F. solani* در تنش‌های خشکی نشان داد که با افزایش تنش خشکی، میزان تحمل گیاه به بیماری نیز کاهش یافته و حساسیت ژنوتیپ‌ها به پوسیدگی ریشه زیاد می‌شود. از طرف دیگر، بر اساس تحقیقات مختلف، ساختار ژنتیکی جدایه‌های FSSC تنوع بالایی را نشان داده، ضمن اینکه این ساختار ژنتیکی در حال تغییر و تحول است. بنابراین، چالش مقاومت به پوسیدگی فوزاریومی ریشه‌ی لوبیا همواره وجود خواهد داشت. در کنار این چالش‌ها، آزمون‌های بیماری‌زایی در کنار روش‌های مولکولی، با کمک نشانگرهای ژنتیکی موجب پیشرفت در بهبود تولید ارقام مقاوم لوبیا شده‌است (Miklas et al., 2006).

سپاس‌گزاری

نویسندگان از مدیر محترم ایستگاه تحقیقاتی لوبیای شهرمیان اقلید جناب آقای مهندس صالحی وابسته به مرکز تحقیقات و آموزش کشاورزی و منابع طبیعی استان فارس و مدیر محترم ایستگاه تحقیقاتی لوبیای خمین متعلق به مرکز تحقیقات و آموزش کشاورزی و منابع طبیعی استان مرکزی و جناب آقای مهندس توسلی از موسسه تحقیقات اصلاح و تهیه‌ی نهال و بذر بابت تهیه و ارسال بذر ارقام لوبیا و همچنین از جناب آقای دکتر فقیهی و سرکار خانم دکتر عبادی کمال تشکر و قدردانی را دارند.

REFERENCES

Amanifar, N., Ghadirian, M., and Salehi, F. (2017). Reaction of some common bean cultivars and genotypes to *Fusarium solani* f. sp. *phaseoli* with and without drought stress under greenhouse conditions. *Applied Entomology and Phytopathology, 85(1)*, 57-68. (In Farsi with English summary)

Aoki, T., O'Donnell, K., Homma, Y. & Lattanzi, A. R. (2003). Sudden-death syndrome of soybean is caused by two morphologically and phylogenetically distinct species within the *Fusarium solani* species complex and *F. virguliforme* in North America and *F. tucumaniae* in South America. *Mycologia, 95*, 660-684.

Aoki, T., O'Donnell K. and Mercedes Scandiani M. (2005). Sudden death syndrome of soybean in South America is caused by four species of *Fusarium*: *Fusarium brasiliense* sp. nov., *F. cuneirostrum* sp. nov., *F. tucumaniae* and *F. virguliforme*. *Mycoscience, 46*,162–183.

Bilgi, V. N., Bradley, C. A., Khot, S. D., Grafton, K. F. and Rasmussen, J. B. (2008). Response of dry bean genotypes to *Fusarium* root rot, caused by *Fusarium solani* f. sp. *phaseoli*, under field and controlled conditions. *Plant Disease, 92(8),* 1197-1200.

Bilgi, V.N., Bradley, C.A., Mathew, F.M., Ali, S. and Rasmussen, J.B. (2011). Root rot of dry edible bean caused by *Fusarium graminearum*. *Plant Health Progress*, *12(1),* 14.

Booth, C. (1971). *The* genus *Fusarium*. USA: Common wealth Agricultural Bureaux.

Carbone I. and Kohn L. M. (1999). A method for designing primer sets for speciation studies in filamentous ascomycetes. *Mycologia, 91*(*3*): 553-556.

Conner, R. L., Hou, A., Balasubramanian, P., McLaren, D. L., Henriquez, M. A., Chang, K. F. and McRae, K. B. (2014). Reaction of dry bean cultivars grown in western Canada to root rot inoculation. *Canadian Journal of Plant Science*, *94(7),* 1219-1230.

Dehghani A., Panjehkesh N., Darvishnia M., Salari M. and Asadi Rahmani H. (2018). Importance and climatic distribution of pathogenic fungi associated with bean root and crown in Lorestan province. *Applied Entomology and Phytopathology 86(2)*: 219-234. (In Farsi with English summary)

Doyle J. J. and Doyle, J. L. (1987). Genomic plant DNA preparation from fresh tissue-CTAB method. *Phytochemical Bulletin*, *19,* 11-15.

Hagerty, C. H., Cuesta-Marcos, A., Cregan, P. B., Song, Q., McClean, P., Noffsinger, S. and Myers, J. R. (2015). Mapping and root rot resistance and root architecture quantitative trait loci in common bean. *Crop Science*, *55*(5), 1969-1977.

Hasanvand, E., Vafaei, H., and Mirzaei, H. (2014). Evaluation of SU20 molecular marker in recognition of susceptible and resistant Iranian common bean genotypes to *Fusarium oxysporum* f. sp. *phaseoli*, the casual agent of *Fusarium* wilting. *Research in Plant Pathology, 2(4),* 35-44.

Johnson, R. and Jellis, G. J. (1992). *Development in Plant Pathology*. *Breeding for Disease Resistance.* Dordrecht, The Netherlands: Kluwer Academic.

Joshi, P. K., and Rao, P. P. (2017). Global pulses scenario: status and outlook. *Annals of the New York Academy of Sciences*, *1392(1),* 6-17.

Knodel, J. J., Bradley, C. A., Luecke, J. L. and Mars, G. A. (2007). *2004 and 2005 dry bean grower survey*. USA: North Dakota State University External Report.

Lak, M. R., Ghanbari, A. A., Dorri, H. R., and Ghadiri, A. (2009). Effect of planting date on seed yield and F*usarium* root rot diseases severity in Chitti bean in Khomein. *Seed and Plant Production Journal, 25(3),* 275-286. (In Farsi)

Lak, M. R., Assadi, B., and Dorri, H. R. (2017). Effect of drought stress on *Fusarium* root rot severity of white bean (*Phaseolus vulgaris* L.) genotypes. *Research in Plant Pathology, 5(1),* 71-80. ((In Farsi with English summary)

Leslie, J. F. and Summerell, B. A. (2006). *The Fusarium Laboratory Manual. Ames.* USA, Blackwell Publishing.

Lewis, J.A. and Papavizas, G.C. (1977). Effect of plant residues on chlamydospore germination of *Fusarium solani* f. sp. *phaseoli* and on *Fusarium* root rot of beans. *Phytopathology, 67*, 925-929.

Li Y. P., You M. P. and Barbetti M. J. (2014). Species of *Pythium* associated with seedling root and hypocotyl disease on common bean (*Phaseolus vulgaris*) in Western Australia. *Plant Disease, 98 (9),* 1241-1247.

Miklas, P. N., Kelly, J. D., Beebe, S. E. and Blair, M. W. (2006). Common bean breeding for resistance against biotic and abiotic stresses. *classical to MAS breeding, Euphytica, 147*, 105-131.

Montiel-González L., González-Flores F., Sánchez-García B. M., Guzmán-Rivera S., Gámez-Vázquez F. P., Acosta-Gallegos J. A., Rodríguez-Guerra R., Simpson-Williamson J., Cabral-Enciso M. and Mendoza-Elos M. (2005). *Fusarium* species on bean (*Phaseolus vulgaris* L.) roots causing rots, in five states of Central Mexico. *Revista Mexicana de Fitopatologia*, *23*, 1-10.

Naseri B. (2008). Root rot of common bean in Zanjan, Iran: major pathogens and yield loss estimates. *Australasian Plant Pathology 37*: 546-551.

Naseri, B. (2016). Integrated management of bean *Fusarium* root rot. Agricultural Research, Education & Extension Organization Iranian Research Institute of Plant Protection. Registration No.50694. (In Farsi with English summary)

Nelson, P.E., T.A. Tousson, and W.F.O.Marasas. (1983). *Fusarium* species, An illustrated manual for identification. Penn State University Press. 193p.

O'Donnell, K., Nirenberg, H. I., Aoki, T. and Cigelnik, E. (2000). A multigene phylogeny of the *Gibberella fujikuroi* species complex: detection of additional phylogenetically distinct species. *Mycoscience, 41*(*1*), 61-78.

Rahkhodaei, E., Hamzehzarghani, H., Banihashemi, Z., Mostowfizadeh-Ghalamfarsa, R., and Farrokhi Nejad, R. (2021). Identification and pathogenicity of Fusarium species causing bean root rot with emphasize on phylogenetic study and host range of *Fusarium solani* species complex in Markazi Province. *Iranian Journal of Plant Pathology, 57(3),* 217-236. (In Farsi with English summary).

Roman-Aviles, B. and Kelly, J. D. (2005). Identification of quantitative trait loci conditioning resistance to Fusarium root rot in common bean. *Crop Science, 45*, 1881-1890.

Russell, G. E. (1978). Plant Breeding for Pest and Disease Resistance. London, UK: Butterworths London press.

Saremi, H., Amiri, M. E. and Ashrafi, J. (2011). Epidemiological aspects of bean decline disease caused by *Fusarium* species and evaluation of the bean resistant cultivars to disease in Northwest Iran. *African Journal of Biotechnology*, *10*(*66*), 14954-14961.

Schneider, K. A. and Kelly, J. D. (2000). A greenhouse screening protocol for *Fusarium* root rot in bean. *HortScience*, *35*(*6*), 1095-1098.

Schneider, K. A., Grafton, K. F. and Kelly, J. D. (2001). QTL analysis of resistance to *Fusarium* root rot in bean. *Crop Science*, *41*, 535-542.

Schwartz, H. F., Steadman, J. R., Hall, R., and Forster, R. L. (2005). *Compendium of bean diseases* (No. Ed. 2). American Phytopathological Society (APS Press).

Strange, R. N. (2003). *Introduction to Plant Pathology*. Chichester, UK: Wiley.

White, T. J., Bruns, T., Lee, S. and Taylor, J. (1990). Amplification and direct sequencing of fungal ribosomal RNA genes for phylogenetics. In Innis, M. A., Gelfand, D. H., Sninsky, J. J. & White, T. J. (Eds.), *PCR protocols: a guide to methods and applications* (pp. 315-322). New York, USA: New York Academic Press.

Zitnick-Anderson, K., Oladzadabbasabadi, A., Jain, S., Modderman, C., Osorno, J.M., McClean, P.E. and Pasche, J.S. (2020). Sources of resistance to *Fusarium solani* and associated genomic regions in common bean diversity panels. *Frontiers in Genetics*, *11* p.475.

© 2023 by the authors. Licensee SCU, Ahvaz, Iran. This article is an open access article distributed under the terms and conditions of the Creative Commons Attribution-NonCommercial 4.0 International (CC BY-NC 4.0 license) (http://creativecommons.org/licenses/by-nc/4.0/.

Plant Protection (Scientific Journal of Agriculture)
46(1), Spring, 2023

10.22055/ppr.2023.43424.1687

Evaluating the susceptibility of some common bean cultivars to *Fusarium solani* species complex causing bean root rot in Iran

E. Rahkhodaei[1*], H. Hamzehzarghani[2], Z. Banihashemi[3], R. Mostowfizadeh-Ghalamfarsa[3], R. Farrokhinejad[4]

1. ***Corresponding Author:** Ph.D, Faculty member of Field and Horticultural Crops Research Department, Fars Agricultural and Natural Resources, Education and Extension Organization (AREEO), Shiraz, Iran (Rakhodaei@gmail.com)
2. Associate Professor of Plant Pathology, Faculty of Agriculture, Shiraz University, Shiraz, Iran
3. Professor of Plant Pathology, Faculty of Agriculture, Shiraz University, Shiraz, Iran
4. Professor of Plant Pathology, Faculty of Agriculture, Shahid Chamran University of Ahvaz, Ahvaz, Iran

Received: 6 April 2023 Accepted: 4 May 2023

Abstract

Background and Objectives

Legumes are one of the primary protein sources in human and livestock diets worldwide. There are five different types of legumes (i.e., beans, peas, peanuts, lentils, and lupines), with beans as the most important. *Fusarium* root rot (FRR) is among the most challenging diseases of common beans (*Phaseolus vulgaris*). While soil-borne diseases are difficult to control, resistant bean cultivars significantly help reduce the losses caused by the disease. This study was conducted in a greenhouse to investigate the susceptibility of different bean cultivars to FRR caused by the *F. solani* species complex (FSSC).

Materials and Methods

Several bean fields in Fars, Kohgilouyeh and Boyer-Ahmad, Chaharmahaal and Bakhtiari, Hamdan, Lorestan, Markazi, Qazvin, Zanjan, East Azerbaijan, and Mazandaran provinces were explored during summer from 2017 to 2019. Infected plants were sampled, and the fungi were isolated in the laboratory. Once appeared on the culture medium, the fungal isolates were purified using single-spore isolation or hyphal tip methods. Fungal DNA extraction was performed using Doyle and Doyle's method for molecular identification of the isolates. A part of the internal transcribed spacer (ITS) region of the ribosomal RNA (rRNA) gene and a translation elongation factor 1-alpha (*EF-1α*) were amplified from the polymerase chain reaction (PCR). PCR-amplified fragments were sent to the Cardiogenetics Department of Rajaie Cardiovascular, Medical and Research Center (Tehran, Iran) for sequence analysis. After editing, the Basic Local Alignment Search Tool (BLAST) was applied to ITS and *EF*-1α sequences of the isolates in the GenBank data set in the National Center for Biotechnology Information (NCBI) database. A preliminary pathogenicity test was performed on the Sadri bean cultivar-pathogenicity tests were fulfilled in 400ml plastic pots. An inoculum was prepared by pooling the isolates in a pot experiment utilizing Bilgi et al.'s (2008) method to evaluate bean cultivars. Ten representative isolates of *F. solani* with

the highest pathogenicity were selected from different regions. The cultivar susceptibility was assessed in 3-liter pots as described in the preliminary pathogenicity test. Saleh, Sadri and Koosha chiti (pinto) bean cultivars, Akhtar, Goli and Sayyad red bean cultivars, Dorsa, Shekoofa white bean cultivars, and Valentino and Sanri green bean cultivars were compared based on disease severity and yield correlates (shoot/root fresh and dry weight).

Results and Discussion

Fusarium isolates from the sampled provinces were identified using authentic scientific sources and *Fusarium* identification keys based on morphological properties. A Blast search of ITS and *EF*-1α sequences in GenBank yielded 100% nucleotide identity with the sequences of strains of FSSC. In the preliminary pathogenicity test, leaf yellowing and falling symptoms appeared on the Sadri cultivar in the greenhouse three weeks after inoculation. All FSSC isolates caused root rot on the tested bean cultivar. To evaluate the susceptibility of bean cultivars to the selected isolates, the plants were carefully removed from the 3-liter pots two months after inoculation. The results showed statistically significant differences ($p=0.01$) among the cultivars. Koosha chiti bean, green Sanri and Valentino cultivars with the lowest root rot severity (19.5%, 22.62% and 23.81%, respectively) and red Goli and Dorsa white bean cultivars with the highest root rot severity (66.67% and 70.24%, respectively) were the least and most susceptible bean cultivars to the pooled FSSC isolates, respectively. The results also indicated relatively significant differences in yield correlates (shoot/root fresh and dry weight) among the cultivars. Besides, the Koosha cultivar was shown to be the most resistant to the disease, followed by Akhtar, Sanri, Valentino and Saleh cultivars. Dorsa white bean and Goli red bean cultivars were demonstrated to be the most susceptible to the disease. This study identified several cultivars with low susceptibility to bean root rot caused by FSSC isolates. A good variation was observed in the spectrum of bean plant responses to the disease. Koosha, Akhtar, Valentino, Sanri and Saleh cultivars with low susceptibility to the selected FSSC isolates may be considered for further studies. Proper soil management with cultivating resistant cultivars is an integral part of any disease management program for FRR.

Keywords: Bean Cultivars, Fusarium, Identification, Resistant, Sensitive

Associate editor: R. Sharifi (Ph.D.)

Citation: Rahkhodaei, E., Hamzehzarghani, H., Banihashemi, Z., Mostowfizadeh-Ghalamfarsa, R. & Farrokhinejad, R. (2023). Evaluating the susceptibility of some common bean cultivars to *Fusarium solani* species complex causing bean root rot in Iran. *Plant Protection (Scientific Journal of Agriculture)*, *46*(1), 129-142. https://doi.org/ 10.22055/ppr.2023.43424.1687.