جهت تهیه فایل ورد این مقاله به سایت DaneshResan.com مراجعه نمایید و عنوان مقاله را جستجو کنید
بیش از ۲ میلیون مقاله فارسی در این سایت موجود میباشد

مقایسه روش‌های مختلف ارزیابی مقاومت به پوسیدگی ریزوکتونیایی ریشه و طوقه در ژنوتیپ‌های منتخب چغندرقند

Comparison of different methods for evaluation of resistance to Rhizoctonia root and crown rot in selected genotypes of sugar beet

سیدباقر محمودی[۱]، محمود مصباح[۱]، عزیزاله علیزاده[۲] و حسن ابراهیمی کولایی[۳]

چکیده

به منظور دستیابی به روشی ساده و قابل اعتماد جهت ارزیابی مواد ژنتیکی چغندرقند در برابر پوسیدگی ریزوکتونیایی ریشه و طوقه، مقاومت ۱۲ ژنوتیپ در شرایط مزرعه، گلخانه و در شیشه با همدیگر مقایسه شد. در شرایط مزرعه آزمایش در قالب طرح بلوک‌های کامل تصادفی با چهار تکرار در میکروپلات‌هایی به ابعاد ۱×۱×۲ متر انجام شد. میکروپلات‌ها قبل از کاشت، توسط متیل بروماید ضدعفونی شدند. آلودگی مصنوعی بوته‌ها توسط دانه‌های ذرت آلوده به جدایه‌ای از *Rhizoctonia solani* AG-2-2 با قدرت بیماریزایی بالا، در بوته‌های ۱۲ هفته‌ای انجام گرفت. میزان پوسیدگی ریشه هر بوته سه ماه بعد از مایه‌زنی ارزیابی شد. در شرایط گلخانه ارزیابی مقاومت ژنوتیپ‌ها در مرحله گیاهچه و گیاه بالغ در قالب دو آزمایش مجزا انجام شد. در مرحله گیاهچه‌ای درصد مرگ گیاهچه تا پنج هفته بعد از کاشت یادداشت‌برداری شد. درمرحله گیاه بالغ میزان پوسیدگی ریشه سه هفته پس از مایه‌زنی یادداشت شد. در روش ریشه بریده ژنوتیپ‌ها ابتدا در مزرعه کشت شدند و هفت ماه پس از کاشت، از هر ژنوتیپ ۳۰ عدد ریشه به تصادف انتخاب و در شرایط آزمایشگاه از هر ریشه یک برش به قطر یک سانتیمتر تهیه و در ظروف پتری سترون قرار گرفت. سپس برش‌ها با یک قرص هشت میلیمتری از جدایه مورد نظر، تلقیح شدند. قطر پوسیدگی روی هر برش هفت روز پس از مایه‌زنی اندازه‌گیری شد. ارزیابی در شیشه با پنج تکرار و در قالب طرح کاملا" تصادفی در ظروف پتری انجام شد. برای این کار، بذرهای جوانه زده چغندرقند پیرامون پرگنه در حال رشد قارچ قرار گرفت. شدت بیماری گیاهچه‌ها پنج روز بعد از مایه‌زنی با مقیاس ٤-٠ یادداشت شد. به منظور بررسی همبستگی بین پنج روش ارزیابی، ضریب همبستگی پیرسون(Pearson Correlation Coefficient) محاسبه گردید. روش ارزیابی گیاهچه‌های چغندرقند در گلخانه و روش ریشه بریده همبستگی چندانی با سایر روش‌های ارزیابی نداشتند. روش‌های ارزیابی درون شیشه‌ای، گلخانه‌ای(در مرحله گیاه بالغ) و مزرعه‌ای با یکدیگر همبستگی مثبت و معنی‌دار داشتند. روش ارزیابی درون شیشه‌ای با ارزیابی گلخانه‌ای و مزرعه‌ای به ترتیب با ضریب همبستگی ۰/۸٦۲ و ۰/٦۸۵ همبستگی مثبت و معنی‌دار نشان داد ($p \leq 0.05$). روش ارزیابی گلخانه‌ای با ارزیابی مزرعه‌ای نیز همبستگی معنی‌دار داشت(۰/۹۱۲). به نظر می‌رسد با استفاده از روش ابداعی ارزیابی در شیشه غربال اولیه ژرم‌پلاسم‌های چغندرقند در مدت کوتاه و با اعتماد بالاقابل توصیه است.

واژه‌های کلیدی: ارزیابی مقاومت، پوسیدگی ریزوکتونیایی ریشه و طوقه, چغندرقند, در شیشه, گلخانه

۱ - مؤسسه تحقیقات چغندرقند- کرج
۲ - دانشکده کشاورزی دانشگاه تربیت مدرس
۳ - مرکز تحقیقات کشاورزی و منابع طبیعی همدان

جهت تهیه فایل ورد این مقاله به سایت DaneshResan.com مراجعه نمایید و عنوان مقاله را جستجو کنید
بیش از ۲ میلیون مقاله فارسی در این سایت موجود میباشد

مقدمه

پوسیدگی‌های ریشه ناشی از بیمارگر ریزوکتونیا مشتمل بر پوسیدگی قهوه‌ای، شانکر خشک و پوسیدگی بنفش می‌باشند که توسط گونه‌های مختلف ریزوکتونیا ایجاد می‌شود (Whitney and Daffus 1986). پوسیدگی ریشه ناشی از این بیمارگر، در دهه هفتاد از مهم‌ترین بیماری‌های چغندرقند در آمریکا به حساب آورده شده و میزان خسارت آن را بالغ بر هفت درصد برآورد کرده‌اند (Hecker and Ruppel 1977). در اروپا، ریزوکتونیا به صورت یک مشکل جدی نمایان شده به طوری که ۱۳ درصد مزارع هلند، هشت درصد مزارع اسپانیا، پنج درصد مزارع فرانسه و یونان و دو درصد مزارع ایتالیا و آلمان تحت تاثیر این بیمارگر قرار گرفته است، به همین دلیل طرح‌های تحقیقاتی وسیعی در زمینه اتیولوژی، اپیدمیولوژی و خصوصیات بیماریزایی جدایه‌های مختلف قارچ جهت دستیابی به یک روش کنترل مناسب و یا جلوگیری از گسترش بیماری در اروپا شروع شده است (Rother 1999). گاهی خسارت این بیماری در ایران به حدی است که برخی از زارعین تمایلی به کشت چغندرقند ندارند و یکی از دلایل کاهش سطح زیر کشت آن در کشور، احتمالا" به همین علت است. (بهداد ۱۳۷۵)

گاسکیل و همکاران(Gaskill et al. 1970) اولین محققینی بودند که در سال ۱۹۶۶ توانستند دو رقم مقاوم چغندرقند به *R.solani* معرفی نماید. بعد از آن‌ها هکر و راپل (Hecker and Ruppel 1976) یک برنامه اصلاحی مشابه برنامه گاسکیل و همکاران(Gaskill et al. 1970) در ایالت‌های کلرادو و میشیگان اجرا کردند. لاین‌های توصیه شده به وسیله آنان، به منظور توسعه مقاومت در ارقام هیبرید تجاری مورد استفاده قرار گرفت.

چغندرقند یک گیاه دگرگشن است و مقاومت آن به *R. solani*، چند ژنی، مشتمل بر حداقل دو ژن با اثرات بزرگ به همراه برخی از ژن‌های با اثرات متغیر می‌باشد (Hecker and Ruppel, 1975). در گذشته اصلاح چغندرقند به *R. solani* با انتخاب توده‌ای و هم چنین ارزیابی مشاهده‌ای در مزرعه بعد از یک فشار بالا و یکنواخت بیماری که از طریق آلودگی مصنوعی فراهم می‌گشت صورت گرفته است (Ruppel et al.1979; Schneider *et* al. 1982). اما آزمایش‌های مزرعه‌ای مشکلاتی دارد و آن این که، ارزیابی در سال یک بار بیشتر امکان پذیر نبوده و تغییرات محیطی را نیز نمی‌توان کنترل کرد. این مسائل باعث اخذ نتایج متغیر در سال‌های مختلف می‌شود. برای غلبه بر این مشکلات، ارزیابی گیاهان چغندرقند برای مقاومت به *R.solani* در گلخانه توصیه شده است. روش‌های مختلف ارزیابی گلخانه‌ای منجمله روش استفاده از خلال دندان برای تلقیح، پیشنهاد شده است (Schuster et al. 1958). کامپبل و آلتمن (Campbell and Altman, 1976) فرض کردند که درصد گیاهچه‌های جوان، که علائم مرگ

جهت تهیه فایل ورد این مقاله به سایت DaneshResan.com مراجعه نمایید و عنوان مقاله را جستجو کنید
بیش از ۲ میلیون مقاله فارسی در این سایت موجود میباشد

گیاهچه را پس از رشد در خاک آلوده به ریزوکتونیا نشان می‌دهند، می‌تواند مدرک اولیه‌ای در میزان حساسیت به پوسیدگی ریشه باشد، اما محققین دیگر ارزیابی گیاهچه‌های جوان را در گلخانه به عنوان روشی مطمئن و جایگزین آزمایش مزرعه‌ای نمی‌دانند (Campbell and Bugbee 1993). هکر و راپل (Hecker and Ruppel 1977) در راستای اصلاح چغندرقند برای مقاومت به پوسیدگی ریشه ناشی از ریزوکتونیا، با مقایسه روش‌های مختلف مایه‌زنی، روش ارزیابی مواد ژنتیکی چغندرقند نسبت به این بیماری را در مزرعه، به صورت استاندارد درآوردند. در این روش استاندارد، چغندرقند در دهه اول اردیبهشت ماه کشت و یک ماه بعد تنک می‌گردد و در دهه سوم شهریور ماه در برابر بیماری ارزیابی می‌گردد. مواد ژنتیکی معمولا در یک ردیف شش متری در پنج تکرار کشت می‌گردند و نه هفته پس از کاشت با مایه تلقیح قارچ (پودر بذور جو تلقیح شده، ۱۷ گرم برای هر ردیف) تلقیح می‌گردند. ارزیابی بیماری بر اساس شاخص آلودگی با استفاده از مقیاس ۰-۷ انجام می‌شود (Panella 1998) که در آن صفر به منزله عدم آلودگی و در نمره هفت ریشه‌ها کاملا" پوسیده می‌باشند. پانلا (Panella 1998) نیز در پروژه تهیه ارقام مقاوم به پوسیدگی ریزوکتونیایی بر اساس روش پیشنهادی هکر و راپل (Hecker and Ruppel 1977) عمل کرد. بنکر (Benker 2000) با طرح این سؤال که آیا ارقام مقاوم به پوسیدگی ریزوکتونیایی ریشه می‌توانند در کنترل این بیماری مشارکت نمایند، اظهار داشت که ارزیابی مواد ژنتیکی برای دستیابی به ارقام مقاوم در شرایط طبیعی به لحاظ غیر قابل پیش بینی بودن اپیدمی‌های ناشی از ریزوکتونیا و آلودگی لکه‌ای بیماری در مزرعه، نمی‌توانند از سطح اعتماد بالایی برخوردار باشد و باید متدولوژی ارزیابی ارقام در برابر *R. solani* بهبود یابد تا به خواست اصلاح‌گران در تهیه ارقام مقاوم به ریزوکتونیا پاسخ مثبت داده شود. در ادامه تحقیقات جهت دستیابی به روشی ساده و قابل اعتماد برای ارزیابی ژرم‌پلاسم چغندرقند به ریزوکتونیا شولتن و همکاران (Scholten et al. 2001) یک تست گلخانه‌ای برای این امر ارائه کردند. آنها خاطر نشان کردند که اگر گیاهان در خاک غنی کشت شوند و ۸-۹ هفته پس از کاشت میزان ۰/۶ گرم بذور ارزن تلقیح شده با ریزوکتونیا، را دریافت کنند و پس از پنج هفته بر اساس مقیاس ۰-۷ ارزیابی شوند، نتایج قابل قبول با همبستگی بالایی با ارزیابی مزرعه‌ای حاصل می‌شود.

تاکنون روش‌های مختلف ارزیابی چغندرقند به بیماری ریزوکتونیایی ارائه شده‌اند که هر کدام مزایا و معایبی دارند. ارزیابی تعداد معدود ژنوتیپ و صرف زمان نسبتا" طولانی از معایب آن‌ها است. در این پژوهش جهت رفع مشکلات فوق‌الذکر، دو روش ارزیابی در شیشه، یکی ارزیابی مقاومت ژنوتیپ‌ها در مرحله جوانه‌زنی بذر و دیگری ارزیابی مقاومت

ژنوتیپ‌ها با استفاده از قطعات ریشه بریده (Detached root) مورد مطالعه قرار گرفته و با سایر روش‌های ارزیابی مقاومت (ارزیابی مقاومت ژنوتیپ‌ها در مرحله گیاهچه و گیاه بالغ در گلخانه و مزرعه) مقایسه شدند.

مواد و روش‌ها

ارزیابی مقاومت ژنوتیپ‌های منتخب چغندرقند نسبت به *R.solani* AG-2-2 در شرایط مزرعه

آزمایش در میکروپلات‌هایی به ابعاد۱×۱×۲ متر در مرکز تحقیقات کشاورزی و منابع طبیعی همدان درقالب طرح بلوک‌های کامل تصادفی با ۱۲ تیمار و چهار تکرار (جدول ۱) اجرا شد. قبل از کاشت، کلیه میکروپلات‌ها به وسیله متیل برومایـد (۱۰۰ گرم در متر مربع) ضدعفونی شدند. برای این کار سطح هر میکروپلات بوسیله پوشش پلاستیکی پوشیده شد و گاز متیل برومایـد بوسیله لوله های ارتباطی به زیر پوشش پلاستیکی هدایت شد. ۱۰ روز بعد از ضدعفونی، ۲۵-۳۰ عدد بذر ژنوتیپ مورد نظر در هر میکروپلات در دو خط کشت گردید. گیاهان ۱۲ هفته‌ای چغندرقند توسط چهار عدد بذر ذرت آلوده به جدایه مورد نظر(Rh133) مایه‌زنی شدند. جدایهRh133 متعلق به گروه آناستوموزی دو(*R. solani* AG-2-2IIIB) و در آزمایش‌های قبلی به عنوان بیماری‌زاترین جدایه مشخص شده است. جهت تهیه مایه تلقیح، ابتدا بذر ذرت دو مرتبه متوالی سترون شده و سپس با جدایه مورد نظر مایه‌زنی و مدت ۲۱ روز در دمای ۲۵-۲۷ درجه سانتی‌گراد نگه‌داری شد. مایه‌زنی با قرار دادن بذرهای ذرت آلوده درعمق سه سانتی‌متری خاک کنار ریشه صورت گرفت. میزان پوسیدگی ریشه هر بوته چهار ماه بعد از مایه زنی با استفاده از مقیاس پانلا(Panella 1998) یادداشت‌برداری شد. در این مقیاس بوته‌های سالم نمره صفر و بوته‌های کاملا" پوسیده نمره هفت دریافت کردند. هم چنین درصد بوته‌های سالم (بوته‌هایی که در مقیاس مذکور نمره صفر و یا یک دریافت کرده بودند) و بوته‌های قابل برداشت (بوته‌هایی که در مقیاس مذکور نمره صفر، یک، دو و یا سه دریافت کرده بودند) محاسبه شد.

ارزیابی مقاومت در مرحله گیاه بالغ در شرایط گلخانه

در این آزمایش از گیاهان ۱۴ هفته‌ای ژنوتیپ‌های 3002, 3003, 3004,9597, BP2 , Dorotea و41RT استفاده شد. نشاهای ژنوتیپ‌های مذکور به گلدان‌های بزرگ پنج کیلویی منتقل و هشت هفته پس از انتقال با چهار عدد بذر ذرت آغشته به جدایه مورد نظر(Rh133) مایه‌زنی شدند. تهیه مایه آلودگی و مایه‌زنی مشابه بند اول انجام گردید. آزمایش در قالب طرح کاملا" تصادفی با سه تکرار اجرا شد. میزان پوسیدگی ریشه هر بوته سه هفته بعد

از مایه‌زنی با استفاده از مقیاس پانلا(Panella 1998) یادداشت‌برداری شد.

ارزیابی مقاومت در مرحله گیاه‌چه در شرایط گلخانه

در این آزمایش از روش لایه مایه تلقیح(Windels et al.1997) جهت بررسی مقاومت ژنوتیپ‌های 3002 3003, 3004, 261, HM1990 و 41RT استفاده شد. گلدان‌های شاهد لایه آگار سترون دریافت کردند. برای این کار ابتدا مخلوط مساوی از ماسه ریز با خاک گلخانه در دو روز متوالی به مدت یک ساعت استریل شد. سپس ۱۵۰ سانتی‌متر مکعب خاک سترون در گلدان‌های به حجم ۲۵۰ سانتیمتر مکعب ریخته شد. روی خاک یک لایه WA مایه‌زنی شده با جدایه Rh133 قرار گرفت و سپس روی آن۵۰ سانتیمتر مکعب خاک سترون ریخته شد. در نهایت ۳۰ عدد بذر جوانه زده (در ژنوتیپ‌های چند جوانه‌ای نیز ۳۰ جوانه برای هر گلدان در نظر گرفته شد) در سطح خاک قرار گرفت و روی بذرها به وسیله ماسه استریل پوشیده شد. آزمایش با چهار تکرار و در قالب طرح کاملا" تصادفی در شرایط گلخانه با ۱۶ ساعت روشنایی و دمای ۲۵-۳۵ درجه سانتی‌گراد اجرا شد. درصد مرگ و میر گیاه‌چه‌ها تا پنج هفته بعد از کاشت یادداشت‌برداری شد وآزمایش دو مرتبه تکرار گردید.

ارزیابی مقاومت به روش ریشه بریده

در این روش، ژنوتیپ‌های مورد نظر فروردین ماه در سه خط ۱۰ متری در ایستگاه تحقیقاتی مطهری کرج کشت شدند. در طول دوره رشد مراقبت‌های لازم انجام شد و مهر ماه از هر ژنوتیپ ۳۰ ریشه به تصادف برداشت و پس از شستشو با آب، بوسیله متانول ضدعفونی سطحی شدند. از هر ریشه یک برش به ضخامت یک سانتیمتر تهیه و در تشتک‌های پتری سترون قرار گرفت. رطوبت اشباع با قرار دادن کاغذ صافی در ته تشتک پتری و افزودن دو میلی‌لیتر آب مقطر استریل فراهم گردید. برش‌های ریشه به وسیله یک قرص هشت میلی‌متری از حاشیه فعال پرگنه جدایه Rh133 مایه‌زنی شده و در انکوباتور با دمای ۲۵-۲۷ درجه سانتی‌گراد در شرایط تاریکی نگه‌داری شدند. آزمایش در قالب طرح کاملا" تصادفی با ۱۲ تیمار (جدول۱) و سه تکرار (در هر تکرار ۱۰ برش ریشه) اجرا شد و قطر پوسیدگی روی هر برش، هفت روز بعد از مایه‌زنی اندازه‌گیری شد.

ارزیابی در شیشه مقاومت ژنوتیپ‌های منتخب چغندرقند نسبت به *R. solani* AG-2-2

در این آزمایش از حاشیه فعال پرگنه قارچ، قرص‌های هشت میلی‌متری به WA منتقل شد. دوازده ساعت پس از انتقال جدایه مورد نظر به محیط کشت WA، ده عدد بذر جوانه زده از هر ژنوتیپ چغندرقند پیرامون دایره‌ای به شعاع سه سانتی‌متر اطراف پرگنه فعال قارچ چیده و تشتک‌های پتری در

دمای ۲۵-۲۷ درجه سانتی‌گراد نگه‌داری شدند. در این آزمایش از تشتک‌های پتری به قطر ۱۰ سانتی‌متر استفاده شد. ارزیابی ژنوتیپ‌ها در دو آزمایش در قالب طرح کاملا" تصادفی با پنج تکرار اجرا شد. در آزمایش اول شش ژنوتیپ 3002, 3003, 3004, 261, HM1990 و 41RT مورد ارزیابی قرار گرفتند. پیامد تعامل جدایه قارچ با گیاه‌چه‌های در حال رشد تا روز دهم بعد از قرار دادن بذر، مورد بررسی قرار گرفت. در آزمایش دوم ۱۲ ژنوتیپ، تیمارهای آزمایش بودند (جدول ۱) و پیامد تعامل جدایه قارچ با گیاه‌چه‌های در حال رشد تا روز هفتم بعد از مایه‌زنی مورد بررسی قرار گرفت. شدت علائم بیماری روی هر یک از گیاه‌چه‌ها بر اساس مقیاس کارلینگ و همکاران (Carling et al. 2002) با اصلاحات زیر یادداشت‌برداری شد:

نمره ۰ فاقد علائم

نمره ۱ قهوه‌ای شدن ریشه‌چه

نمره ۲ قهوه‌ای شدن هیپوکوتیل

نمره ۳ قهوه‌ای شدن ریشه‌چه و هیپوکوتیل

نمره ۴ مرگ کامل گیاه‌چه

محاسبات آماری

داده‌های جمع‌آوری شده با استفاده از نرم‌افزارهای SPSS و MSTATC مورد تجزیه و تحلیل قرار گرفت. در آزمایش ارزیابی در شیشه مقاومت ژنوتیپ‌های منتخب چغندرقند، سطح زیر منحنی پیشرفت بیماری (Area Under Disease Progress Curve, AUDPC) بر اساس فرمول زیر:

$$\sum_{i}^{n-1}[(y_i + y_{i+1})/2][t_{i+1} - t_i]$$

و با استفاده از نرم‌افزار EXCEL محاسبه شد. ضریب همبستگی پیرسون (Pearson Correlation Coefficient) مبنای مقایسه روش‌های مختلف ارزیابی مقاومت قرار گرفت. برای محاسبه آن از نرم‌افزار SPSS version 12 استفاده شد. تبدیل داده‌ها در مورد صفاتی که از توزیع نرمال برخوردار نبودند، صورت گرفت. تجزیه واریانس و مقایسه میانگین صفات به روش دانکن($p<0.05$) و با استفاده از نرم‌افزار MSTATC انجام گرفت و برای گروه‌بندی ژنوتیپ‌ها از لحاظ سطح مقاومت به پوسیدگی ریشه، تجزیه خوشه‌ای بر روی مجذور فواصل اقلیدسی و به روش UPGMA با استفاده از نرم‌افزار SPSS انجام شد. تعداد مطلوب گروه‌ها با استفاده از روش بررسی تغییرات مجذور فاصله اقلیدسی در هر مرحله نسبت به مرحله قبلی تجزیه خوشه‌ای تعیین گردید. (Jobson 1992)

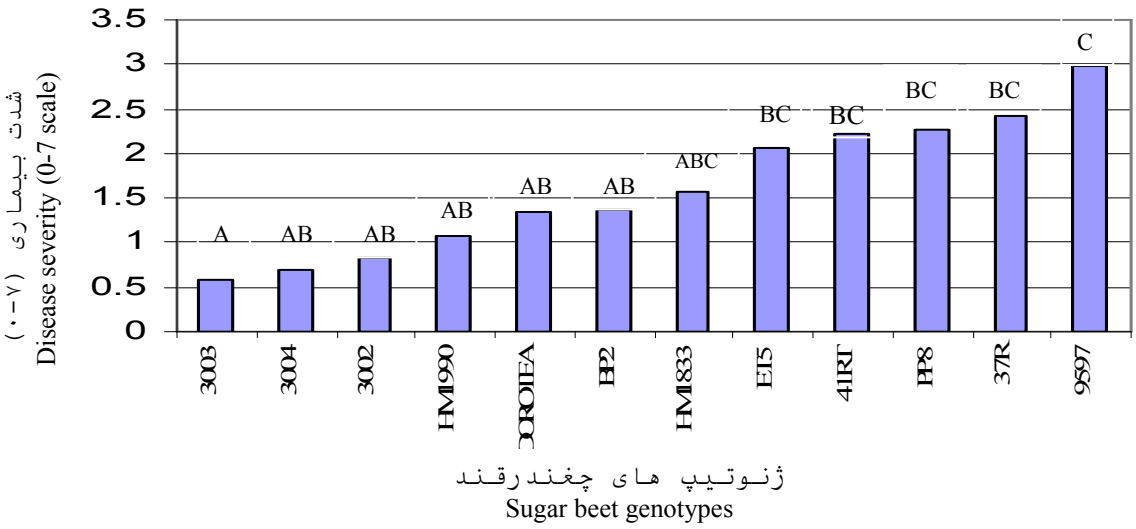
جدول ۱- مشخصات ژنوتیپ‌های چغندرقند مورد مطالعه
Table1 Particulars of the selected sugar beet genotypes

ردیف No.	ژنوتیپ Genotypes	ژرمیته Germity	پلوئیدی Poloidy	نوع ژرم‌پلاسم Germplasm type
1	3002	Multigerm	2N	Breeding line
2	3003	Multigerm	2N	Breeding line
3	3004	Multigerm	2N	Breeding line
4	41RT	Multigerm	4N	Breeding line
5	37R	Multigerm	4N	Breeding line
6	ET5	Multigerm	4N	Breeding line
7	BP2	Multigerm	2N	Breeding Population
8	HM1990	Multigerm	2N	Breeding line
9	9597	Monogerm	2N	Commercial variety
10	HM1833	Monogerm	2N	Commercial variety
11	Dorotea	Monogerm	3N	Commercial variety
12	PP8	Multigerm	Polyploid	Commercial variety
13	261	Monogerm	2N	O-type

نتایج

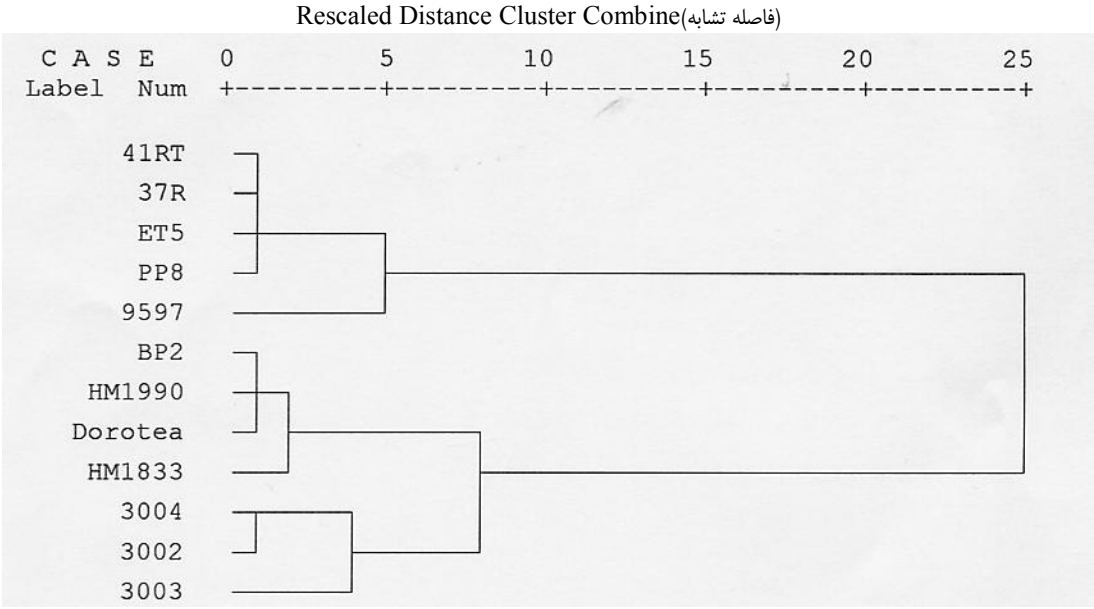
ارزیابی مقاومت ژنوتیپ‌های منتخب چغندرقند نسبت به *R. solani* AG-2-2 در شرایط مزرعه

مقایسه میانگین شدت آلودگی ژنوتیپ‌های مورد بررسی به روش دانکن، در شکل یک مشاهده می شود. ژنوتیپ 3003 با کمترین شدت آلودگی مقاومترین و ژنوتیپ9597 با شدت آلودگی سه (در مقیاس ۰-۷) حساسترین آن‌ها بود. نمودار خوشه‌ای ژنوتیپ‌ها بر مبنای سه صفت شدت آلودگی، درصد بوته‌های سالم و درصد بوته‌های قابل برداشت در شکل دو ارائه گردیده است. با بررسی مراحل تجزیه خوشه‌ای و اختلاف بین مقادیر مجذور فواصل اقلیدسی که در آن گروه‌های مختلف با یکدیگر ترکیب شده‌اند، مشخص گردید که می‌توان ژنوتیپ‌ها را در چهار گروه دسته‌بندی کرد. ژنوتیپ‌های 3003, 3002, و 3004 به عنوان ژنوتیپ‌های مقاوم در یک گروه و ژنوتیپ‌هایHM1833, Dorotea, BP2 وHM1990 به عنوان ژنوتیپ‌های نسبتا" مقاوم در گروه دیگری جای گرفتند. ژنوتیپ‌های ET5, PP8, 41RT و 37R جزو ژنوتیپ‌های نسبتا" حساس در گروه جداگانه‌ای دسته‌بندی شدند. ژنوتیپ 9597 به عنوان حساس‌ترین آن‌ها در گروهی منحصر به فرد قرار گرفت.



شکل ۱- عکس‌العمل ژنوتیپ‌های چغندرقند به *R.solani* AG-2-2 در شرایط مزرعه و گروه‌بندی میانگین آن‌ها

Fig.1 Reaction of sugar beet genotypes to *R.solani* AG-2-2 under field condition and their mean grouping



شکل ۲- نمودار خوشه‌ای ژنوتیپ‌های چغندرقند بر مبنای شدت پوسیدگی ریشه ناشی از *R.solani* AG-2-2، درصد بوته‌های سالم و درصد بوته‌های قابل برداشت در شرایط مزرعه

Fig.2 Denderogram of sugar beet genotypes based on root rot severity by *R.solani* AG-2-2, percentage of healthy and harvestable sugar beet plants in the field

ارزیابی مقاومت در مرحله گیاه بالغ در شرایط گلخانه

مقایسه میانگین میزان پوسیدگی ریشه به روش دانکن، هفت ژنوتیپ مورد بررسی در شکل ۳ آمده است. ژنوتیپ‌های3002 و 9597 به ترتیب با شدت آلودگی یک و ۵/۳ مقاوم‌ترین و حساس‌ترین ژنوتیپ‌ها بودند. با بررسی مراحل تجزیه خوشه‌ای و اختلاف بین مقادیر مجذور فواصل اقلیدسی که در آن گروه‌های مختلف با یکدیگر ترکیب شده‌اند، مشخص گردید که انتخاب سه گروه بهترین انتخاب برای دسته‌بندی ژنوتیپ‌های تحت مطالعه با استفاده از روش گروه‌بندی خوشه‌ای می‌باشد. (شکل۴)

ارزیابی مقاومت در مرحله گیاه‌چه در شرایط گلخانه

در این آزمایش درصد مرگ و میر گیاه‌چه‌ها مبنای مقایسه ژنوتیپ‌ها قرار گرفت. بر این اساس ژنوتیپ‌ها در سطح احتمال پنج درصد با یکدیگر اختلاف معنی‌دار داشتند(شکل۵). ژنوتیپ های 3004 و 41RT به ترتیب دارای کمترین و بیشترین درصد مرگ و میر گیاه‌چه بودند. تجزیه خوشه‌ای ژنوتیپ‌ها با استفاده از این صفت (درصد مرگ گیاه‌چه) آن‌ها را به سه گروه تقسیم نمود. ژنوتیپ 3004 و41RT هرکدام به تنهایی در یک گروه و بقیه ژنوتیپ‌ها در گروه دیگری دسته‌بندی شدند. (شکل۶)

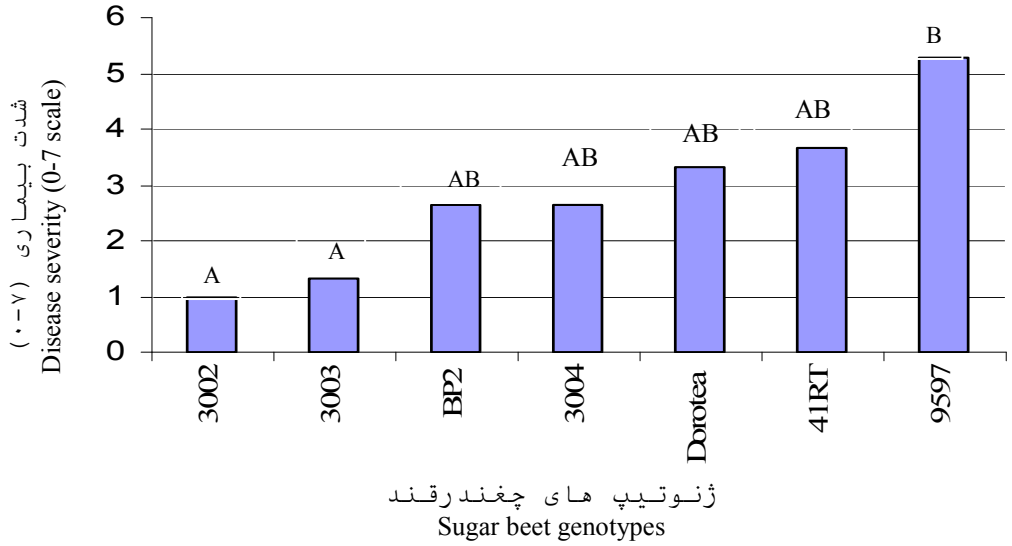
ارزیابی مقاومت به روش ریشه بریده

بیمارگر، روی برش‌های ریشه الگوهای رشد متفاوتی از خود نشان داد. تفاوت در الگوی رشد در تکرارهای یک تیمار هم قابل رویت بود. در برخی از تکرارها قارچ رشد نکرده بود. در برخی موارد رشد قارچ سطحی و تغییر رنگ جزئی روی سطح برش تا شعاع ۱۵-۲۰ سانتی‌متری برش ریشه مشاهده شد، حال آن که روی برخی از برش‌ها پوسیدگی قهوه‌ای تیره، عمیق و نرم قابل رؤیت بود. با توجه به این امر، در تکرارهایی که با شاهد مایه‌زنی نشده، اختلافی نداشتند و یا تغییر رنگ جزئی و سطحی در آن‌ها مشاهده شده بود، قطر پوسیدگی صفر منظور شد. به دلیل آلودگی‌های ناشی از سایر عوامل میکروبی در برخی از تکرارها، آزمایش با تکرار نامساوی تجزیه شد. تجزیه واریانس ساده قطر پوسیدگی روی برش‌ها نشان داد که تیمارها در سطح احتمال پنج درصد دارای اختلاف معنی‌دار می‌باشند (شکل۷). در ارزیابی مقاومت ژنوتیپ‌ها با استفاده از این روش، ژنوتیپ‌های 3002 و BP2 کمترین و ژنوتیپ HM1990 بیشترین میزان پوسیدگی ریشه را به خود اختصاص دادند. تجزیه خوشه‌ای بر مبنای این صفت، ژنوتیپ‌ها را در دو گروه قرار داد(شکل ۸).

ارزیابی در شیشه مقاومت ژنوتیپ‌های منتخب چغندرقند نسبت به *R.solani* AG-2-2

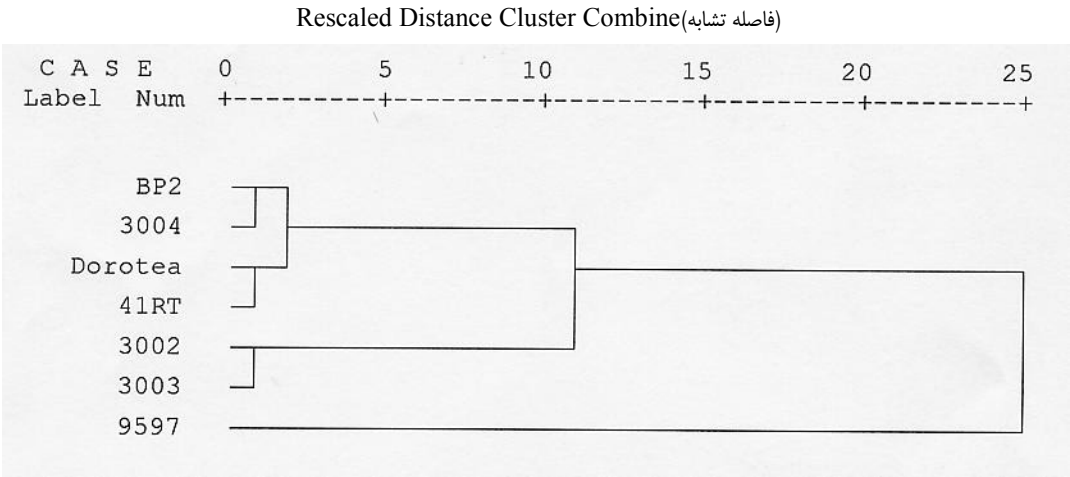
در آزمایش اول شش ژنوتیپ مورد بررسی بر اساس تجزیه میانگین سطح زیر منحنی پیشرفت بیماری در سه سطح قرار گرفتند (جدول۲). ژنوتیپ 3003 با کمترین سطح زیر منحنی پیشرفت بیماری مقاوم‌ترین و ژنوتیپ41RT با سطح زیر منحنی ۲۶/۴۳ حساس‌ترین آن‌ها بود. میانگین شدت آلودگی روزهای اول تا دهم بعد از مایه‌زنی با استفاده از آزمون دانکن با یکدیگر مقایسه شدند. ژنوتیپ‌ها تا روز پنجم بعد از مایه‌زنی، در دو گروه، روزهای ششم تا هشتم در سه گروه و روزهای نهم و دهم در دو گروه قرار گرفتند (جدول۲). به این ترتیب مشخص شد که شش تا هشت روز بعد از مایه‌زنی زمان مناسبی برای ارزیابی مقاومت ژنوتیپ‌ها است.

در آزمایش دوم نیز تیمارها بر اساس تجزیه میانگین سطح زیر منحنی پیشرفت بیماری در سطح احتمال پنج درصد اختلاف معنی‌داری با یکدیگر داشتند. در این آزمایش مشابه آزمایش اول ژنوتیپ 3003 کمترین سطح زیر منحنی پیشرفت بیماری را به خود اختصاص داد و به عنوان مقاوم‌ترین ژنوتیپ شناخته شد. ژنوتیپET5 با بیشترین سطح زیر منحنی پیشرفت بیماری حساس‌ترین آن‌ها بود (شکل ۹). تجزیه خوشه‌ای ژنوتیپ‌ها، آن‌ها را در سه گروه دسته‌بندی کرد. (شکل ۱۰)



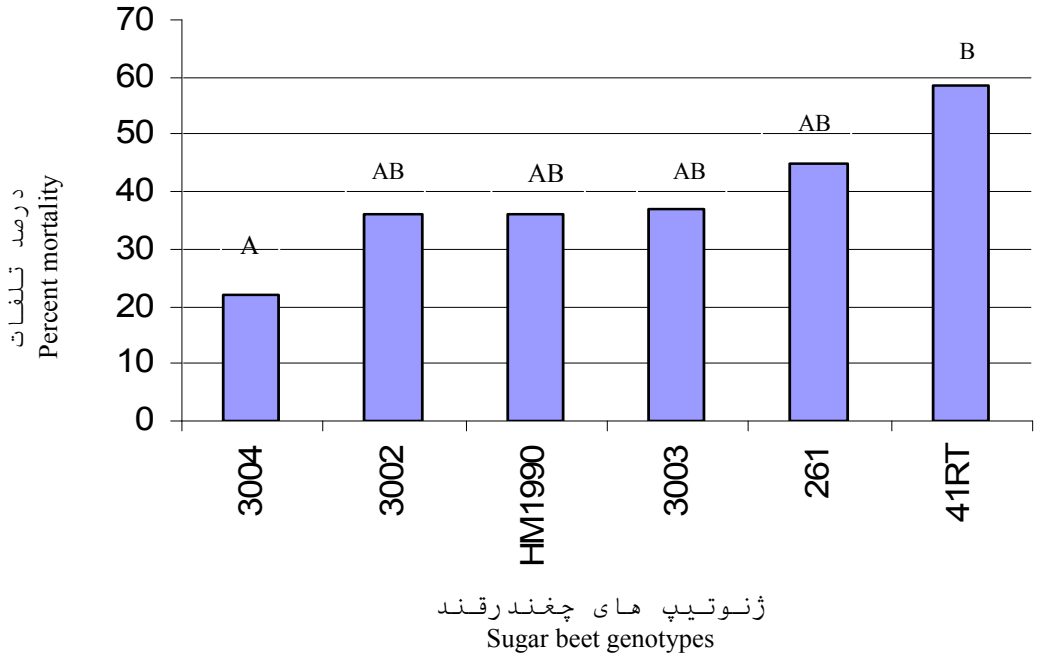
شکل ۳- عکس‌العمل ژنوتیپ‌های چغندرقند به *R. solani* AG-2-2 در شرایط گلخانه و گروه‌بندی میانگین آن‌ها

Fig.3 Reaction of sugar beet genotypes to *R. solani* AG-2-2 in the greenhouse conditions and their mean grouping



شکل۴- نمودار خوشه‌ای ژنوتیپ‌های چغندرقند بر مبنای شدت پوسیدگی ریشه ناشی از *R. solani* AG-2-2 در شرایط گلخانه

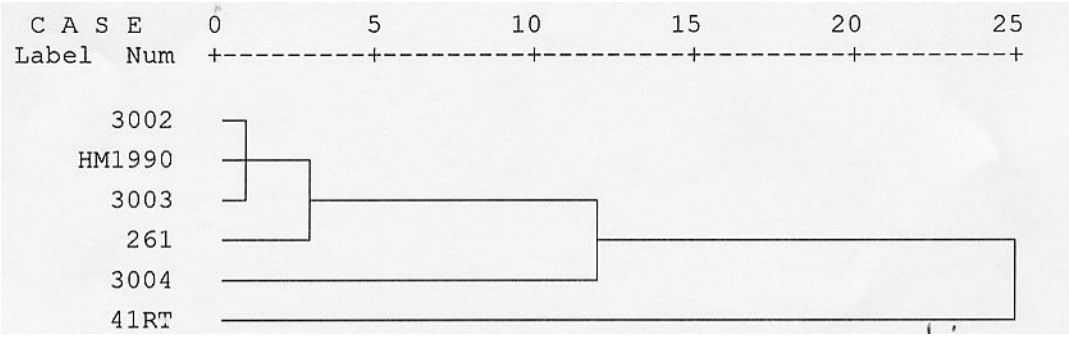
Fig.4 Denderogram of sugar beet genotypes based on root rot severity caused by *R.solani* AG-2-2 in the greenhouse conditions



شکل ۵- درصد مرگ گیاهچه در ژنوتیپ‌های چغندرقند ناشی از *R. solani* AG-2-2 در شرایط گلخانه و گروه‌بندی میانگین آن‌ها

Fig.5 Percent seedling damping-off of sugar beet genotypes caused by *R.solani* AG-2-2 under greenhouse conditions and their mean grouping

Rescaled Distance Cluster Combine(فاصله تشابه)



شکل۶- نمودار خوشه‌ای ژنوتیپ‌های چغندرقند بر مبنای درصد مرگ گیاهچه ناشی از *R.solani* AG-2-2 در شرایط گلخانه

Fig.6 Dendrogram of sugar beet genotypes based on percent seedling damping-off caused by *R. solani* AG-2-2 under greenhouse conditions

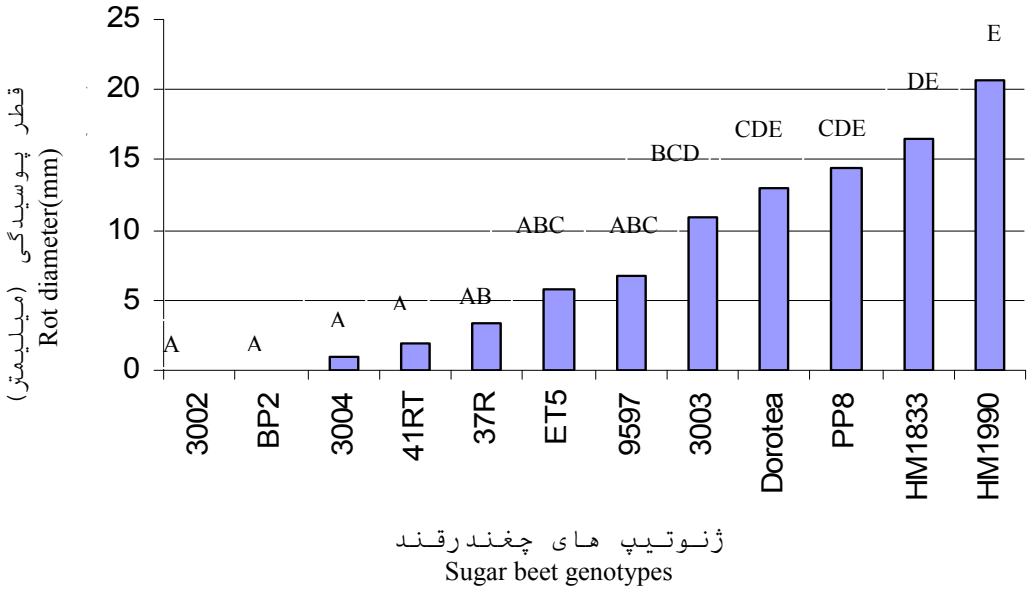
جدول ۲- شدت آلودگی و سطح زیر منحنی پیشرفت بیماری ناشی از *R.solani* AG2-2 در شش ژنوتیپ منتخب چغندرقند در ارزیابی درون شیشه‌ای

Table 2 Disease severity and area under disease progress curve of six selected sugar beet genotypes caused by *R.solani* AG2-2 in *in vitro*

ژنوتیپ Genotypes	شدت آلودگی در روزهای مختلف بعد از مایه‌زنی(مقیاس ۰-۴) Disease severity on various days after inoculation(scale 0-4)					سطح زیر منحنی پیشرفت بیماری AUDPC
	دو روز 2 days	چهار روز 4 days	شش روز 6 days	هشت روز 8 days	ده روز 10 days	
3003	0a	0.56a	2.26a	3.68a	3.98b	16.98a
3002	0a	0.92a	2.58a	3.78ab	3.94a	19b
3004	0.14a	0.58a	3.32b	3.88bc	4b	19.56b
HM19	0.2a	0.93a	3.16b	3.78ab	4b	20.09b
90						
261	0.48b	2.48b	3.82c	4c	4b	26c
41RT	0.59b	2.58b	4c	4c	4b	26.43c

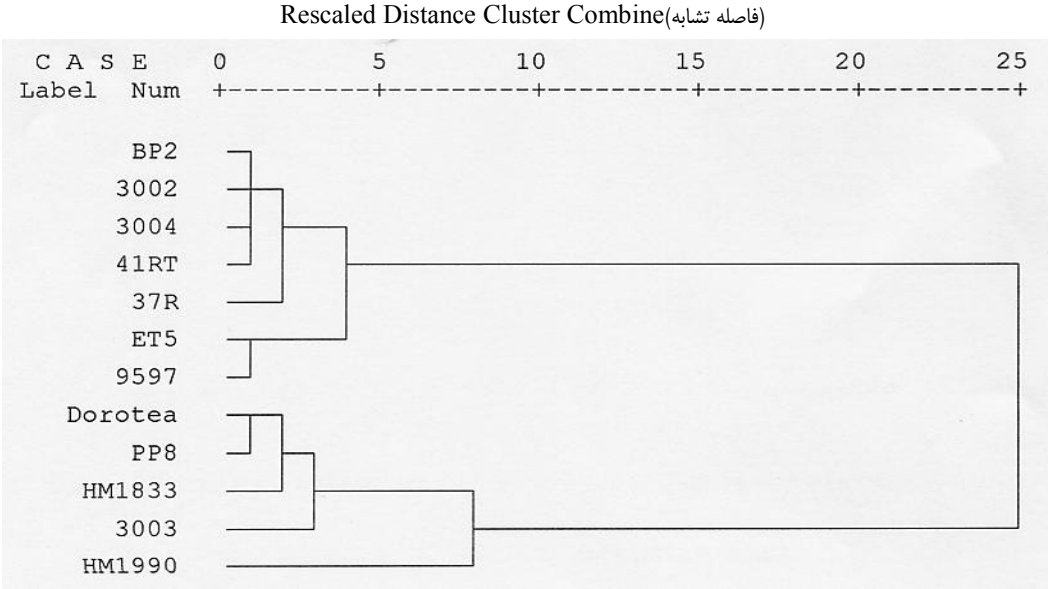
در هر ستون میانگین‌های دارای حروف یکسان فاقد اختلاف معنی‌داری می‌باشند $(p \leq 0.05)$ (آزمون چند دامنه‌ای دانکن)

$(p \leq 0.05)$ In each column, mean values followed by the same letter are not significantly different (Duncan's multiple range test)



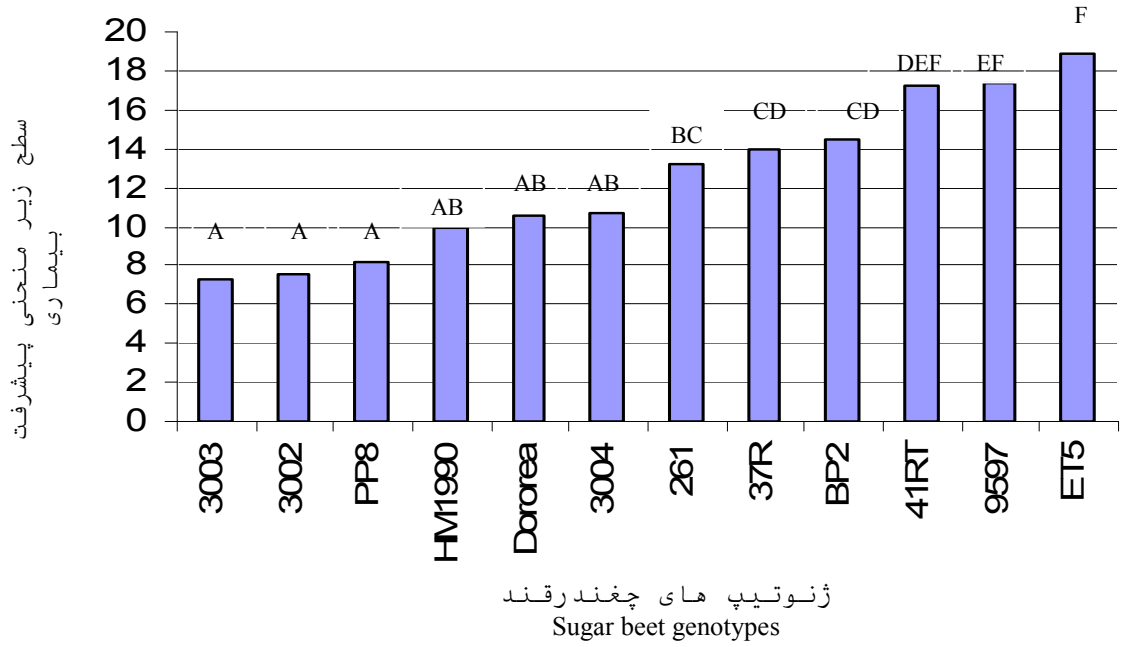
شکل ۷- میانگین قطر پوسیدگی ریشه ناشی از *R. solani* AG2-2 روی برش‌های ریشه ژنوتیپ‌های منتخب چغندرقند و گروه‌بندی میانگین آن‌ها

Fig. 7 Mean root rot diameter of selected sugar beet genotypes caused by *R.solani* G2-2 and their mean grouping



شکل ۸- نمودار خوشه‌ای ژنوتیپ‌های منتخب چغندرقند بر مبنای قطر پوسیدگی ریشه ناشی از *R.solani* AG2-2 روی برش‌های ریشه

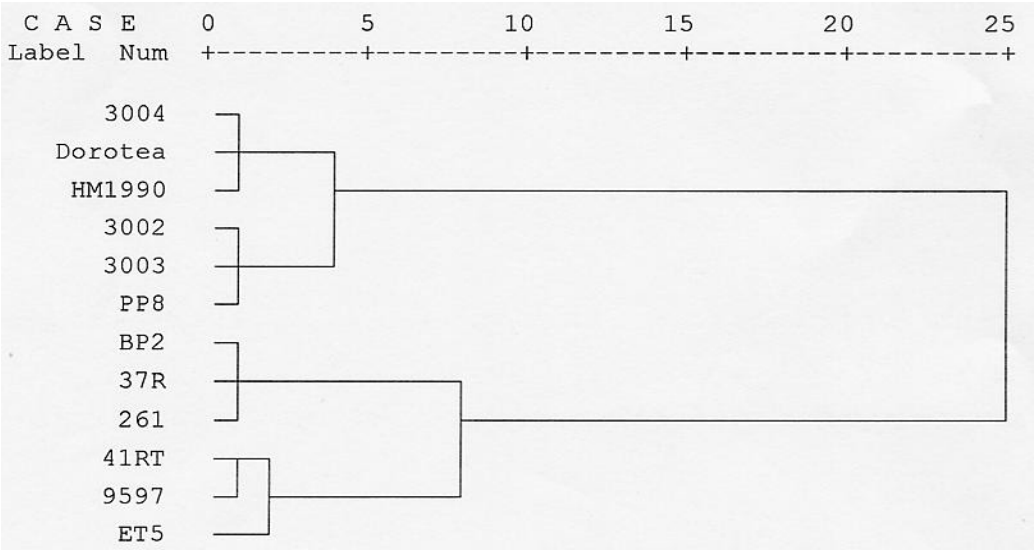
Fig. 8 Dendrogram of sugar beet genotypes based on root rot diameter caused by *R. solani* AG2-2



شکل۹ – عکس‌العمل ژنوتیپ‌های چغندرقند بر اساس محاسبه سطح زیر منحنی پیشرفت بیماری حاصل از *R. solani* AG2-2 درارزیابی درون شیشه‌ای و گروه‌بندی میانگین آن‌ها

Fig.9 Reaction of sugar beet genotypes based on area under disease progress curve caused by *R. solani* AG2-2 in *in vitro* test and their mean grouping

Rescaled Distance Cluster Combine(فاصله تشابه)



شکل۱۰– نمودار خوشه‌ای ژنوتیپ‌های چغندرقند بر مبنای سطح زیر منحنی پیشرفت بیماری در ارزیابی درون شیشه‌ای

Fig. 10 Denderogram of sugar beet genotypes based on area under disease progress curve in *in vitro* test

همبستگی بین روش‌های مختلف ارزیابی مقاومت چغندرقند نسبت به *R. solani* AG-2-2

همبستگی روش‌های مختلف ارزیابی مقاومت با محاسبه ضریب همبستگی پیرسون در جدول ۳ خلاصه شده است. همان‌طور که در جدول نشان داده شده است، روش‌های ارزیابی مقاومت با یکدیگر همبستگی مثبت و بعضا" معنی‌داری داشتند. درصد مرگ گیاهچه و روش ریشه بریده به عنوان روش‌های ارزیابی مقاومت، با هیچ کدام از روش‌های دیگر همبستگی معنی‌داری نشان ندادند. ضریب همبستگی پیرسون برای مراحل مختلف یادداشت‌برداری، در هر دو آزمایش در شیشه مقاومت ژنوتیپ‌ها محاسبه شد (جدول۳). دو آزمایش بر مبنای سطح زیر منحنی پیشرفت بیماری همبستگی معنی‌داری در سطح یک درصد (0.925) داشتند. در آزمایش دوم که ۱۲ ژنوتیپ در ارزیابی شرکت داشتند، همبستگی شدت آلودگی در روزهای دوم، چهارم، ششم و هفتم پس از مایه‌زنی با سطح زیر منحنی پیشرفت بیماری مثبت و در سطح پنج درصد معنی‌دار بود. شدت آلودگی در روز هفتم همبستگی بالا و معنی‌داری با سطح زیر منحنی پیشرفت بیماری(0.889) داشت. همبستگی بالایی بین درصد ریشه‌های سالم و درصد ریشه‌های قابل برداشت با شدت پوسیدگی ریشه در مزرعه، گلخانه و هم چنین آزمایش در شیشه مشاهده شد.

جدول۳- ضرایب همبستگی بین متغیرها و روش‌های مختلف ارزیابی مقاومت به پوسیدگی ریزوکتونیایی ریشه و طوقه در ژنوتیپ‌های مختلف چغندرقند***

Table 3 Correlation coefficients among variables and different evaluating methods of resistance to Rhizoctonia root and crown rot in sugar beet genotypes

Disease severity	2 days after inoculation	4 days after inoculation	6days after inoculation	8 days after inoculation	Area Under Disease Progress Curve(Exp.1)	Area Under Disease Progress Curve(Exp.2)	Disease severity in field condition	Disease severity in greenhouse condition	Damping-off in greenhouse condition	Rot diam. on detached roots	%harvestable plants	%healthy plants
4 days after inoculation	.840**											
6days after inoculation	.583	.860**										
8 days after inoculation	.478	.748**	.944**									
AUDPC(Exp.1)	.931*	.957*	.915*	.926*								
AUDPC(Exp.2)	.603*	.746**	.817**	.889**	.925**							
Disease severity in field	.307	.324	.412	.585	.993**	.685*						
Disease severity in greenhouse	.235	.179	.451	.720	.863	.862*	.912**					
Damping- off in greenhouse condition	.646	.820	.527	.547	.745	.706	.816	.466				
Rot diam. on detached roots	-.228	-.380	-.386	-.310	-.268	-.373	-.019	.154	-.050			
%harvestable plants	-.275	-.328	-.444	-.605*	-.948*	-.657*	-.982**	-.927**	-.815	-.062		
%healthy plants	-.348	-.422	-.544	-.706*	-.954*	-.758**	-.969**	-.860*	-.715	.066	.938**	

Significant at the 0.05 and 0.01 probability level, respectively

* و ** – معنی دار در سطح پنج و یک درصد احتمال

*** – تعداد مشاهدات هر متغیر و روش ارزیابی برای تخمین ضریب همبستگی بین تیمارها متفاوت است.

***- Number of observations per each variable and evaluating method for estimation of correlation coefficients among traits was different.

بحث

مقاومت ۱۲ ژنوتیپ چغندرقند به روش‌های مختلف در برابر *R.solani* AG2-2 بررسی شد. مقاومت برخی از این ژنوتیپ‌ها، در آزمایش‌های دیگری قبلا" ارزیابی شده بود (محمودی و همکاران، ۱۳۸۲ ; Windels et al. 1995). در این تحقیق دو روش ارزیابی در شیشه، دو روش ارزیابی گلخانه‌ای و یک روش ارزیابی مزرعه‌ای ضمن بهینه‌سازی با یکدیگر مقایسه شدند.

ارزیابی مزرعه‌ای در میکروپلات‌هایی که بدین منظور ساخته شده بودند، انجام شد. جلوگیری از گسترش بیماری یکی از مزایای استفاده از میکروپلات است. هکر و راپل (Hecker and Ruppel 1977) که برای اولین بار ارزیابی مقاومت ژنوتیپ‌های چغندرقند را در مزرعه به صورت استاندارد در آوردند، برای این منظور یک ایستگاه تحقیقاتی به این بیماری اختصاص دادند و از آن به عنوان خزانه (nursery) استفاده کردند. هکر و راپل ((Hecker and Ruppel 1977) در ارزیابی‌های مزرعه‌ای ابتدا بیمارگر را روی بذر جو پرورش داده، سپس بذرهای آلوده را آسیاب نموده و ۱۷ گرم پودر حاصل را در هر ردیف شش متری به وسیله تراکتور در کنار طوقه گیاهان قرار دادند. وینـدلز و همکاران(Windels et al. 1995) نیز از پودر جو به میزان یک ششم قاشق چایخوری به عنوان مایه تلقیح در کنار طوقه هر بوته قرار دادند. به نظر می‌رسد که کاربرد بذر ذرت به عنوان مایه تلقیح، ساده‌تر و راحت‌تر بوده و هر یک از بوته‌ها مایه تلقیح یکسانی دریافت می‌کنند. نتایج ارزیابی مقاومت ژنوتیپ‌ها در آزمایش میکروپلات‌ها نشان داد که ژنوتیپ3003 از سطح مقاومت بسیار بالایی برخوردار است. متوسط شدت آلودگی، درصد بوته‌های سالم و درصد بوته‌های قابل برداشت در این ژنوتیپ به ترتیب ۰/۵۸، ۹۵/۴۵ و ۱۰۰ اندازه‌گیری شد. این ژنوتیپ به عنوان یک گرده‌افشان مقاوم به ریزوکتونیا توسط سرویس تحقیقات کشاورزی آمریکا معرفی شده بود (Anonymous 1998) و به عنوان شاهد مقاوم در این تحقیق استفاده شد. دو رقم تجاری دروتی(Dorotea) و HM1833 در این آزمایش از سطح مقاومت نسبتا" خوبی برخوردار بودند. تجزیه خوشه‌ای ژنوتیپ‌ها (شکل ۲) این دو رقم تجاری را در گروه ژنوتیپ‌های نسبتا" مقاوم ارزیابی کرد. این دو رقم توسط شرکت سوئدی هیلسهوگ به عنوان رقم متحمل به پوسیدگی ریزوکتونیایی معرفی شده‌اند. حساسیت رقم ۹۵۹۷ نسبت به پوسیدگی ریزوکتونیایی که قبلا" گزارش شده بود (محمودی و همکاران ۱۳۸۲) مجددا" مورد تائید قرار گرفت. با این شواهد، به نظر می‌رسد که ارزیابی مقاومت نسبی ارقام در میکروپلات‌ها از اعتبار خوبی برخوردار بوده و به همین دلیل سایر روش‌های ارزیابی در این تحقیق با این روش مقایسه شدند.

ارزیابی مقاومت ژنوتیپ‌ها با استفاده از برش‌های ریشه(detached root) که برای اولین بار

در این پژوهش مورد مطالعه قرار گرفت، همبستگی چندانی با سایر روش‌های ارزیابی مقاومت نداشت (جدول۳). علاوه بر این، به جهت رهایی از آلودگی‌های احتمالی ناشی از عوامل ساپروفیت مراحل اجرایی آن در آزمایشگاه مشکل و نیاز به شرایط کاملا" سترون داشت. لذا استفاده از آن در ارزیابی مقاومت ارقام توصیه نمی‌گردد.

ارزیابی گلخانه‌ای مقاومت ژنوتیپ‌های چغندرقند در مرحله گیاهچه با ارزیابی مزرعه‌ای همبستگی مثبت نشان داد اما این رابطه معنی‌دار نبود. البته با توجه به مقدار عددی این همبستگی (0.816) احتمال معنی‌دار بودن آن در صورت استفاده از تعداد ژنوتیپ بیشتر وجود داشت. پنج ژنوتیپ در این روش با سایر روش‌های ارزیابی مشترک بودند. کامپبل و آلتمن(Campbell and Altman 1976) نیز از این روش به عنوان یک روش سریع برای غربال لاین‌های چغندرقند در برابر *R. solani* یاد کردند حال آن که کامپبل و باگبی(Campbell and Bugbee 1993) معتقدند که غربال لاین‌ها در مرحله گیاهچه‌ای نمی‌تواند به عنوان یک روش قابل اعتماد جایگزین تست مزرعه‌ای گردد. با توجه به مراحل اجرای آزمایش و کسب نتایج متغیر در هر بار تکرار آزمایش، استفاده از این روش ارزیابی چندان قابل توصیه نیست.

ارزیابی مقاومت ژنوتیپ‌های چغندرقند در گلخانه در مرحله گیاه بالغ همبستگی مثبت و معنی‌داری (0.912) با ارزیابی مزرعه‌ای داشت. با استفاده از این روش می‌توان در مدت زمان نسبتا" کوتاهی ژنوتیپ‌های چغندرقند را ارزیابی نمود. شولتن و همکاران (Scholten et al. 2001) ارزیابی مقاومت چغندرقند به ریزوکتونیا را در مرحله گیاه بالغ در شرایط گلخانه بهینه‌سازی کرده آن را برای مطالعه ژنتیک مقاومت مناسب دانستند. با عنایت به دگرگشن بودن چغندرقند و وجود قدری تنوع در افراد یک ژنوتیپ، این روش جهت ارزیابی ژرم‌پلاسم چندان مناسب به نظر نمی‌رسد، چرا که جهت اطمینان از نتایج نیاز به ارزیابی مقاومت حداقل ۳۰ بوته از هر ژنوتیپ می‌باشد. با این توصیف، برای بررسی مقاومت ژرم‌پلاسم‌ها، فضای گلخانه‌ای بسیار وسیعی نیاز خواهد بود. پیشنهاد می‌شود از این روش برای مطالعه مقاومت در جمعیت‌های در حال تفکیک استفاده شود.

روش ابداعی ارزیابی در شیشه مقاومت ژنوتیپ‌های چغندرقند به ریزوکتونیا که برای اولین بار در این پژوهش ارائه شده است، همبستگی مثبت و معنی‌داری با ارزیابی گلخانه‌ای و مزرعه‌ای داشت (جدول ۳). در آزمایش درون شیشه‌ای اول که شش ژنوتیپ چغندرقند در آزمایش شرکت داشتند همبستگی بسیار بالایی (0.925) با ارزیابی مزرعه‌ای بدست آمد، اما در آزمایش دوم که ۱۲ ژنوتیپ تیمارهای آزمایش بودند همبستگی کاهش پیدا کرد (0.685) که البته در سطح احتمال پنج درصد معنی‌دار بود. با توجه به مواد ژنتیکی مورد آزمایش (جدول۱) به نظر می‌رسد که

دقت کافی در انتخاب ژنوتیپ‌ها صورت نگرفته بود. ژنوتیپ BP2 یک توده اصلاحی و ژنوتیپ PP8 یک رقم تجاری و پلی‌پلوئید است. زمانی که ژنوتیپ BP2 از آنالیز آماری حذف شد ضریب همبستگی افزایش یافت (0.734) و زمانی که هر دو ژنوتیپ مذکور حذف شدند ضریب همبستگی بین ارزیابی درون شیشه‌ای و ارزیابی مزرعه‌ای در سطح یک درصد معنی‌دار شد(0.911). به این ترتیب به نظر می‌رسد که روش ارزیابی در شیشه برای بررسی مقاومت ژنوتیپ‌ها و لاین‌های چغندرقند روش مناسبی بوده و استفاده از آن جهت غربال اولیه ژرم‌پلاسم برای دستیابی به منبع مقاومت پیشنهاد می‌شود. از این روش می‌توان در مطالعات مربوط به تعامل جدایه- رقم نیز بهره گرفت. بدیهی است که هر یک از روش‌های ارزیابی دارای قابلیت‌ها و محدودیت‌هایی هستند لذا انتخاب روش ارزیابی ضمن این‌که به اهداف تحقیق بستگی دارد، به امکانات و شرایط موجود نیز مرتبط خواهد بود.

سپاسگزاری

از آقای مهندس محمدرضا میرزایی به خاطر همکاری در اجرای آزمایش مزرعه‌ای، از خانم مهندس مهدیه بنی‌هاشمی به خاطر همکاری در اجرای آزمایش های در شیشه و آقایان بهمن توانگر، کریم کشاورز، سیدفریدون بنی‌صدر و سیدمحمود میرسلیمی به خاطر همکاری در اجرای آزمایش‌های گلخانه‌ای تشکر و قدردانی می‌گردد.

منابع مورد استفاده References

بهداد، ا. ۱۳۷۵. دایرةالمعارف گیاه‌پزشکی ایران. چاپخانه نشاط اصفهان، ۳۱۱۴ ص.

محمودی، س.ب. مصباح، م. و علیزاده، ع. ۱۳۸۲. بررسی مقاومت ژنوتیپ‌های منتخب چغندرقند نسبت به پوسیدگی ریزوکتونیایی ریشه و طوقه. مجله علوم زراعی ایران ۵(۱): زیر چاپ.

Anonymous (1998) Notice of release of FC709-2 and FC727 multigerm sugar beet germplasms. http://www.crl.ars.usda.gov/nr_fc709-2.htm

Benker M (2000) Rhizoctonia root rot – Can resistant sugar beet varieties contribute to control the disease? Zuckerindustrie, 125: 693- 697.

Campbell CL, Altman J (1976) Rapid laboratory screening of sugar beet cultivars for resistance to *Rhizoctonia solani*. Phytopathology, 66: 1373- 1374.

Campbell LG, Bugbee WM (1993) Pre-breeding for root rot resistance. Journal of Sugar Beet Research, 30: 241-251.

Carling DE, Kuminaga S, Brainard A (2002) Hyphal anastomosis reactions, rDNA-internal transcribed spacer sequences, and virulence levels among subsets of *Rhizoctonia solani* anastomosis group- 2 (AG- 2) and AG-BI. Phytopathology, 92: 43-50.

Gaskill JO, Mumford DL, Ruppel EG (1970) Preliminary report on breeding for combined resistance to leaf spot, curly top and Rhizoctonia. Journal of the American Society of Sugar Beet Technologists, 16: 207-213.

Hecker RJ, Ruppel EG (1975) Inheritance of resistance to Rhizoctonia root rot in sugar beet. Crop Science 15: 487-490.

`Hecker RJ, Ruppel EG (1977) Rhizoctonia root rot resistance in sugarbeet: breeding and related research. Journal of the American Society of Sugar Beet Technologists, 19: 246-256.

Jobson JD (1992) Applied multivariate data analysis. Vol.II: Categorical and multivariate methods. Springer Press.

Panella LW (1998) Screening and utilizing *Beta* genetic resources with resistance to Rhizoctonia root rot and Cercospora leaf spot in a sugar beet breeding program. International Crop Network Series 12: 62-72.

Rother B (1999) Situation of Rhizoctonia in Europe. International Institute for SugarBeet Research Info, 4: 2-6.

Ruppel EG, Schneider CL, Hecker RJ, Hogaboam GL (1979) Creating epiphytotics of Rhizoctonia root rot and evaluation for resistance to *Rhizoctonia solani* in sugar beet field plots. Plant Disease Reporter, 63: 518-522.

Schneider CL, Ruppel EG, Hecker RJ, Hogaboam GL (1982) Effect of soil deposition in crowns of development of Rhizoctonia root rot sugar beet. Plant Disease, 66: 408-410.

Scholten OE, Panella LW, DeBock TSM, Lange W (2001) A greenhouse test for screening sugar beet (*Beta vulgaris*) for resistance to *Rhizoctonia solani.* European Journal of Plant Pathology, 107: 161-166.

Schuster M L , Jensen S G, Sayre R M (1958) Toothpick method of inoculating sugar beets for determining pathogenicity of *Rhizoctonia solani*. Journal of the American Society of Sugar beet Technologists, X: 142-149.

Whitney GD, Duffus JE (1986) Compendium of Beet Diseases and Insects. APS Press.

Windels CE, Panella LW, Ruppel EG (1995) Sugarbeet germplasm resistant to Rhizoctonia root and crown rot withstands disease caused by several pathogenic isolates of *Rhizoctonia solani* AG-2-2. Sugar beet Research and Extension Reports, 26: 179-185.

Windels CE, Kuzina RA, Call J (1997) Characterization and pathogenicity of *Thanatephorus cucumeris* from sugarbeet in Minnesota. Plant Disease, 81: 245- 249.