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

آفات و بیماری‌های گیاهی
جلد ۷۱، شماره ۱، شهریور ۱۳۸۲

مقایسه روش‌های مختلف ارزیابی مقاومت به *Cercospora beticola* در چغندرقند تحت شرایط مزرعه، گلخانه و آزمایشگاه

Comparison of different methods for evaluating of resistance to *Cercospora beticola* in sugar beet under field, greenhouse and in *vitro* conditions

سعید عباسی[۱]، عزیزاله علیزاده[۱]، محمود مصباح[۲]، ابراهیم محمدی گل‌تپه[۱]
۱- گروه بیماری‌شناسی گیاهی دانشکدهٔ کشاورزی دانشگاه تربیت مدرس
۲- مؤسسهٔ تحقیقات اصلاح و تهیهٔ بذر چغندر قند
(تاریخ دریافت: اسفند ۱۳۸۱، تاریخ پذیرش: شهریور ۱۳۸۲)

چکیده

به منظور مقایسه روش‌های مختلف ارزیابی مقاومت به *Cercospora beticola* عامل بیماری لکه‌برگی سرکوسپورایی، دوازده رقم چغندر قند با درجات مختلف مقاومت نسبت به عامل بیماری، تحت شرایط مزرعه، گلخانه و آزمایشگاه مورد ارزیابی قرار گرفتند. آزمایش‌های مزرعه‌ای در مناطق دزفول و قائم‌شهر به اجرا درآمد. در مطالعه گلخانه‌ای، پنج صفت شامل طول دورهٔ نهفتگی بیماری، درصد برگ‌های آلوده، تعداد لکه‌های آلوده در واحد سطح، قطر لکه‌ها و تعداد اسپورهای تولید شده در سطح یک لکه، مورد مقایسه قرار گرفت. در ارزیابی آزمایشگاهی مقاومت قطعات جداشدهٔ برگ، در محیط سترون در ظروف دردار مستطیل شکل از جنس پیرکس در سطح آب- آگار ۱/۵ ٪ مورد بررسی قرار گرفت.

براساس نتایج مطالعات گلخانه‌ای همه صفات مورد بررسی در مقاومت دخیل بوده و جز در موارد استثنایی در مجموع با افزایش درجهٔ مقاومت طول دورهٔ نهفتگی فزونی یافته و تراکم لکه در واحد سطح، قطر لکه، درصد برگ‌های آلوده و تعداد اسپور تولید شده در سطح

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

لکه کاهش می‌یابد. نتایج این مطالعه نشان داد که همبستگی بالایی بین ارزیابی‌های مزرعه‌ای، گلخانه‌ای و ارزیابی مقاومت از طریق برگ جداشده وجود دارد. بر این اساس ارزیابی مقاومت به هریک از روش‌های مزبور صورت گیرد، قابل اعتماد خواهد بود. از طرفی ارزیابی مقاومت در یک منطقه قابل تعمیم به مناطق دیگر بوده و لذا نیازی به تکرار ارزیابی در مناطق مختلف که مستلزم صرف وقت، هزینه و امکانات زیاد است، نمی‌باشد. بنابراین ارزیابی مزرعه‌ای مقاومت به بیماری لکه‌برگی سرکوسپورایی را می‌توان به یک منطقه که از شرایط محیطی مساعدی جهت آلودگی برخوردار باشد، محدود نمود. نتایج ارزیابی‌های انجام شده نشان می‌دهد که منطقهٔ قائم‌شهر، از این نظر شرایط بسیار مطلوبی دارا می‌باشد.

واژه‌های کلیدی: چغندرقند، سرکوسپورا، *Cercospora beticola*، اجزای مقاومت

مقدمه

بیماری لکه‌برگی سرکوسپورایی چغندر قند (*Beta vulgaris* L.) که عامل آن *Cercospora beticola* Sacc. می‌باشد، مهمترین بیماری برگی این محصول است که تحت شرایط محیطی گرم و مرطوب، بیشترین خسارت را به محصول چغندر قند وارد می‌کند (Skaracis and Biancardi, 2000). در مزارع آلوده، عملکرد ریشه و عیار قند هر دو کاهش یافته و علاوه بر آن کیفیت فرآوری نیز به دلیل افزایش ناخالصی‌هایی نظیر سدیم، پتاسیم، نیترات و آمینواسیدها افت می‌کند، لذا عملکرد شکر قابل استحصال، به دلیل کاهش اجزاء اصلی عملکرد، کاهش می‌یابد (Rossi *et al.*, 2000; Shane and Teng, 1992). این بیماری انتشار جغرافیایی وسیعی داشته و در تمامی مناطق کشت میزبان اصلی آن یعنی چغندر قند، مشاهده می‌شود (Holtschulte, 2000). در ایران بیماری مزبور از خوزستان، کرانه‌های دریای خزر، اردبیل، ارومیه، خوی، بجنورد، بندرعباس و کازرون گزارش شده است (Ershad, 1995). استفاده از ارقام مقاوم در جهت کنترل بیماری به دلایل اقتصادی و زیست محیطی حائز اهمیت بوده و بر کنترل شیمیایی ارجحیت دارد (Koch and Jung, 2000; Miller *et al.*, 1999). به استثنای یک مورد مقاومت منوژنیک (Lewellen and Whitney, 1976) که به دلیل ناپایداری عملاً مورد استفاده بهنژادگران قرار نگرفت (Koch and Jung, 2000)، مقاومت به سرکوسپورا در ارقام تجاری چغندرقند از نوع کمّی است. منشأ این مقاومت در واقع به برنامه بهنژادی مونراتی

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

(Muncrati)در ایتالیا باز می‌گردد که در آن برنامه *Beta vulgaris* sub sp. *maritima* به عنوان منبع مقاومت مورد استفاده قرار گرفت (Panella and Frese, 2000; Bilgen *et al.*, 1969) و بعداً ماهیت پلی ژنیک آن به اثبات رسید (Smith and Gaskil, 1970 ; Saito, 1966). به دلیل ماهیت کمی مقاومت به سرکوسپورا، انتخاب منابع مقاومت تنها در جمعیت‌های بزرگ و تحت شرایط استاندارد موفقیت‌آمیز خواهد بود و در این راستا، اعتبار، صحت و سهولت ارزیابی یک ضرورت به شمار می‌رود (Koch and Jung, 2000). اغلب پژوهشگران برای ارزیابی مقاومت به سرکوسپورا به اپیدمی‌های طبیعی بیماری متکی بوده‌اند (Panella and Frese, 2000). اما به تدریج روش‌هایی برای ایجاد آلودگی مصنوعی در مزرعه ابداع گردیده است (Smith and Gaskill, 1970; Pfleiderer and Schaufele, 2000; Adams *et al.*,1995) همچنین ارزیابی مقاومت تحت شرایط کنترل شده در گلخانه نیز به منظور مطالعهٔ دقیق اجزاء مقاومت انجام شده است (Rossi *et al.*, 1999). اخیراً نیز روش جدیدی برای ارزیابی مقاومت گیاهان انفرادی با استفاده از دیسک برگی تحت شرایط کنترل شده در ظروف پتری ارائه گردیده است (Koch and Jung, 2000).

از آنجایی که ارزیابی معتبر، صحیح و آسان مقاومت، لازمهٔ اجرای هر برنامه بهنژادی است و با توجه به این که در کشور ما تحقیقات جامعی در این خصوص صورت نگرفته است، لذا در این پژوهش، روش‌های مختلف ارزیابی مقاومت به سرکوسپورا در مزرعه، گلخانه و آزمایشگاه با استفاده از دوازده ژنوتیپ چغندر قند، با درجات مختلف مقاومت که قبلاً تحت شرایط آلودگی طبیعی در آزمایش‌های مزرعه‌ای انتخاب شده بودند مورد مقایسه قرار گرفت.

روش بررسی

۱- ارقام چغندر قند

در این مطالعه از دوازده رقم چغندرقند با درجات مختلف مقاومت به بیماری لکه‌برگی سرکوسپورایی که قبلاً تحت شرایط آلودگی طبیعی در آزمایش‌های مزرعه‌ای انتخاب شده بودند استفاده گردید. ارقام انتخابی عبارت بودند از:

پنج رقم از شرکت هیلزوک سوئد شامل Dorothea, Monodoro, Monatunna, HM 1836 و Eudora

سه رقم از شرکت دپره فرانسه شامل Monohikari, FD0018 و Ranger .

رقم Puma از شرکت دانیسکو دانمارک.

رقم Kaweintermono از شرکت KWS آلمان.

و دو رقم ایرانی شامل رسول و 191 .

۲ـ جداسازی و تخلیص جدایه‌های بیمارگر

نمونه‌های آلوده به بیماری لکه‌برگی سرکوسپورایی طی سال ۱۳۸۰ از مناطق آلوده در استان‌های خوزستان، اردبیل (منطقه دشت مغان) و مازندران (منطقه قائم‌شهر) جمع‌آوری گردید. به منظور جداسازی بیمارگر قطعه‌هایی از برگ‌های آلوده که اسپورهای قارچ *Cercospora beticola* در سطح لکه‌های آن تشکیل شده بود با استفاده از آب مقطر سترون شستشو داده شده و سوسپانسیون اسپور حاصل با رقت مناسب برروی محیط آب-آگار ۱/۵ درصد پخش گردید. پس از جوانه‌زدن اسپورها، یک اسپور جوانه‌زده به محیط کشت عصارهٔ تجارتی سبزیجات V8 juice Agar (۲۰۰ میلی‌لیتر عصارهٔ هشت سبزی V8 در یک لیترآب، ۳گرم CaCO3 و ۲۰ گرم آگار) منتقل شده و بدین ترتیب یک جدایهٔ تک اسپور خالص بدست آمد. جدایه‌های بیمارگر سپس برای نگهداری بلند مدت به محیط کشت PDA (Potato Dextrose Agar) در لولهٔ آزمایش انتقال داده شده و در ٤ °C نگهداری شدند. به منظور جلوگیری از کاهش قدرت بیماری‌زایی جدایه‌های بیمارگر، کلیهٔ جدایه‌ها قبل از انجام آزمایش تحت شرایط گلخانه بر روی رقم حساس مایه‌زنی گردیده و پس از ظهور علائم آلودگی، جداسازی و تخلیص بیمارگر مجدداً به ترتیبی که قبلاً ذکر گردید صورت پذیرفت.

۳- تهیهٔ مایهٔ قارچ

در این مطالعه، جهت انجام آزمایش‌های گلخانه‌ای و آزمایشگاهی از مخلوط هفت جدایهٔ عامل بیماری شامل سه جدایه از خوزستان، سه جدایه از منطقه مغان و یک جدایه از منطقه قائم‌شهر استفاده گردید. به منظور تهیه اسپور، جدایه‌های مذکور بر روی محیط کشت V & A کشت داده شده و پس از دو هفته نگهداری در شرایط روشنایی دائم و دمای ۲۰ °C، سطح پرگنه‌های قارچ خراش داده شده و پس از افزودن آب مقطر سترون، سوسپانسیون حاصل مجدداً بر روی محیط V & A پخش گردید و نهایتاً پس از گذشت چهار روز نگهداری در شرایط روشنایی دائم و دمای ۱۵ °C، سطح پرگنهٔ قارچ با استفاده از مه‌پاش دستی شستشو

داده شده و غلظت سوسپانسیون حاصل پس از صاف کردن در حد $۱۰^{۵} \times ۳$ اسپور در میلی لیتر جهت آزمایش مایه‌زنی و $۱۰^{٤} \times ۳$ اسپور در میلی لیتر برای ارزیابی مقاومت قطعات جداشده برگ تنظیم گردید. مایه قارچ با اختلاط مقادیر مساوی از سوسپانسیون جدایه‌های مورد استفاده بدست آمد. در مورد آزمایش‌های مزرعه‌ای مایه‌زنی مصنوعی فقط در مزرعه آزمایشی دزفول اعمال گردید. به این منظور یک سوسپانسیون اسپور شامل مخلوطی از جدایه‌های همان منطقه تهیه شده و مایه‌زنی مزرعه با کمک سمپاش مزرعه با احتساب یک پتری دیش ۹ سانتی‌متری از کشت قارچ به ازای هر ۱۰ متر مربع از مساحت مزرعه صورت گرفت (Adams *et al*., 1995).

٤- نحوهٔ اجرای آزمایش‌های مزرعه‌ای

آزمایش‌های مزرعه‌ای طی فصول زراعی ۸۱-۸۰ در مناطق دزفول (مرکز تحقیقات کشاورزی صفی‌آباد) و قائم‌شهر (ایستگاه تحقیقاتی قراخیل) به اجرا در آمد. ژنوتیپ‌های مورد مطالعه، در قالب طرح بلوک‌های کامل تصادفی با شش تکرار مورد ارزیابی قرار گرفتند. برای هر کرت آزمایشی یک خط کاشت به طول هشت متر در نظر گرفته شد و فاصلهٔ بین خطوط کاشت ۵۰ سانتی‌متر منظور گردید. با توجه به اهمیت رطوبت در جوانه‌زنی کنیدی و نفوذ عامل بیماری هیچ گونه فاصله اضافی در بین کرت‌ها اعمال نشد تا بدین ترتیب تراکم پوشش گیاهی شرایط مساعدتری برای گسترش بیماری ایجاد نماید. همچنین به منظور توزیع یکنواخت آلودگی در سطح مزرعه آزمایشی، رقم حساس191، در سه خط کاشت در اطراف مزرعه کشت گردید. مزارع آزمایشی به طور مرتب در طی فصل مورد بازدید قرار گرفته و در منطقهٔ دزفول همزمان با ظهور اولین علائم آلودگی در مزرعه، مایه‌زنی مصنوعی انجام شد. در منطقهٔ قائم‌شهر به دلیل وجود شرایط مناسب محیطی، بیماری به سرعت گسترش یافت و از آنجا که افزایش شدت آلودگی در چنین شرایطی احتمالاً تفکیک درجات مقاومت را مشکل می‌نمود، اسپورپاشی صورت نگرفت. یادداشت برداری درجهٔ آلودگی براساس دستورالعمل تصویری نه‌گانه (۹ - ۱) KWS (Anonymous,1970) تقریباً هر دو هفته یک بار، به صورت زیر صورت گرفت و به هر کرت بصورت مشاهده‌ای نمره داده شد.

برگ‌ها، کاملاً سالم (۱)

وجود لکه‌های آلوده بر روی برگ‌های خارجی (۳)

لکه‌های آلوده به یکدیگر متصل شده و نواحی مرده‌ای را روی برگ تشکیل داده‌اند(۵)
بخش وسیعی از پهنک برگ‌های خارجی خشک شده است (۷)
از بین رفتن برگ‌های خارجی، آلودگی شدید برگ‌های داخلی به همراه تشکیل سریع برگ‌های جدید(۹)

به گیاهانی که بر اساس مقیاس فوق حالات حد وسط آلودگی داشتند، نمرات زوج (۲، ٤، ٦، ۸) اختصاص یافت.

بدین ترتیب مزرعه آزمایشی دزفول طی سه مرحله و مزرعه آزمایشی قائم‌شهر چهار مرحله مورد بازدید قرار گرفته و درجهٔ آلودگی یادداشت برداری گردید .

۵- نحوهٔ اجرای آزمایش در گلخانه

بذرهای ارقام منتخب ابتدا در گلدان‌های بزرگ کشت شده و پس از رشد در مرحلهٔ چهار برگی به گلدان‌های اصلی انتقال داده شدند. آزمایش در قالب طرح کاملاً تصادفی با سه تکرار به اجرا درآمد. در هر گلدان یک گیاهچه کاشته شده و برای هر تکرار ۸ گلدان در نظر گرفته شد. مایه‌زنی گیاهان مذکور سه ماه پس از انتقال انجام گرفت. در این مرحله هر گیاه در حدود ٦ تا ۱۰ برگ کاملاً رشد یافته و ۸ تا ۱۲ برگ در حال رشد داشت. گیاهان چغندر قند با استفاده از سوسپانسیون اسپور حاوی $۱۰^{۵} \times ۳$ اسپور در میلی لیتر و ۰/۰۵ درصد توبین ۲۰ به طور یکنواخت با کمک یک مه‌پاش دستی مایه‌زنی شدند. گیاهان مایه‌زنی شده به مدت ٤۸ ساعت تحت شرایط رطوبت اشباع قرار گرفته، سپس به مدت بیش از یک ماه در شرایط گلخانه در دمای حدود ۱۵ تا ۲۰ درجهٔ سانتی‌گراد در شب و ۲۲ تا ۳۵ درجهٔ سانتی‌گراد در روز نگهداری شدند. به منظور ارزیابی مقاومت ژنوتیپ‌های مورد مطالعه، اجزای مختلف مقاومت به بیماری لکه‌برگی سرکوسپورایی به صورت زیر مورد بررسی قرار گرفت.

الف- دورهٔ نهفتگی: ارزیابی دورهٔ نهفتگی بیماری در ارقام انتخابی به دو روش مختلف صورت گرفت. در روش نخست، ظهور علائم بیماری در ۵۰ در صد گیاهان هر تکرار، ملاک محاسبه قرار گرفت. به این منظور گیاهان مایه‌زنی شده همه روزه مورد بازدید قرار گرفته و زمان ظهور اولین علائم در تک‌تک گیاهان یادداشت‌برداری گردید. طی دورهٔ اجرای آزمایش، میانگین دمای گلخانه در شبانه روز محاسبه گردیده و از آنجایی که دمای گلخانه طی این مدت دستخوش تغییر بوده و تا حدی تابع شرایط آب و هوایی بود، به جای زمان از روز- درجه

جهت مقایسهٔ دوره نـهفتگی بیمـاری در ارقـام مختلـف اسـتفاده گردیـد (Rossi *et al.*, 1999). محاسبهٔ روز ـ درجه‌ها مطابق فرمول زیر صورت گرفت:

$$\sum_{t=1}^{n} (T_t - 5)$$

در این فرمول t معادل زمان بر حسب روز از زمان مایه‌زنی (t = 1) تا ظـهور علائـم در ۵۰ درصد گیاهان (n = t) است. T_tمیانگین دمای روزانه بر حسـب درجـهٔ سـانتی‌گـراد و ۵ دمای پایه بر حسب درجهٔ سانتی‌گراد می‌باشد. بنـابراین بـه منظـور تعییـن دورهٔ نـهفتگی روز- درجه‌های بالای پنج درجهٔ سـانتی‌گـراد از زمـان مایـه‌زنی تـا زمـان ظـهور علائـم بیمـاری در ۵۰ درصد گیاهان هر تکرار محاسبه گردیده و بـه عنـوان دورهٔ نـهفتگی بـرای تکـرار مربوطـه منظور گردید. در روش دوم، ظهور ۵۰ در صد مجموع لکـه‌های آلـوده مـلاک ارزیـابی قـرار گرفت. در این روش پس از ظهور نخستین علائم بیماری، در هر گیاه یـک بـرگ کـاملاً رشـد یافته، انتخاب و علامت گذاری گردید. سپس تا زمان توقـف ظـهور لکـه‌های آلـوده، هـر روز تعداد لکه‌ها در برگ مورد نظر شمارش گردید. در این روش مجموع روز ـ درجـه‌ها از زمـان مایه‌زنی تا ظهور ۵۰ درصد تعداد نهایی لکه‌ها ملاک محاسبه قرار گرفت.

ب- **تعداد لکه در واحد سطح برگ:** به منظور ارزیابی تعداد لکه‌های آلوده در سطح برگ در هـر تکرار تعداد ٤۰ برگ آلوده از برگ‌های کاملاً رشد یافتـه (هـر گیـاه پنـج بـرگ)جـدا شـده و مساحت برگ‌ها با استفاده از دستگاه اندازه‌گیری سطح برگ (Leaf area meter) معیـن گردیـد. سپس تعداد لکه‌های آلوده در هر برگ شمارش شده و بدین ترتیب تعداد لکه در واحد سـطح برگ محاسبه شد. در این ارزیابی سعی شد که در همهٔ ارقام برگ‌های تقریباً هم سـن انتخـاب شوند.

ج- **قطر لکه های آلوده:** به منظور تعیین قطر لکه‌های آلوده، در هر تکرار حدوداً ۸۰۰ لکه (هـر گیاه ۵ برگ، هر برگ ۲۰ لکه) در زیر استرئومیکروسکوپ با دقت mm ۰/۱ اندازه‌گیری شـده و میانگین آن به عنوان اندازهٔ قطر لکه در تکـرار مربوطـه در نظـر گرفتـه شـد. بدیـهی اسـت در مواردی که تعداد لکه‌های موجود در سطح برگ کمتر از ۲۰ لکـه بـود قطـر لکـه‌های موجـود ملاک عمل قرار گرفت.

د- تعداد اسپور تولید شده در هر لکه: پس از توقف تشکیل لکه‌های آلوده، در هر تکرار ۸ برگ (هر گیاه یک برگ) جدا شده و ضمن شمارش تعداد لکه‌های موجود، به مدت ٤٨ ساعت در شرایط تاریکی در دمای ۲۵ درجه سانتی‌گراد و رطوبت نسبی اشباع قرار گرفتند. بدین منظور برگ‌ها ابتدا به کمک یک مه‌پاش دستی کاملاً با آب مقطر شستشو داده شدند تا گرد و خاک موجود در سطح برگ‌ها و همچنین بقایای اسپورهایی که از مرحلهٔ مایه‌زنی در سطح برگ‌ها باقی مانده بود حذف شوند. سپس برگ‌ها بر روی یک صفحهٔ مشبک پلاستیکی در ظروف مخصوص نگهداری مواد غذایی (شبیه دسیکاتور) قرار داده شدند. در ته ظرف حدود ۰/۵ لیتر آب مقطر استریل ریخته شد تا رطوبت فضای داخلی ظرف به حالت اشباع در آید. پس از گذشت این مدت هر برگ در درون یک ظرف پتری بزرگ قرار داده شده و ۱۰ میلی لیتر آب مقطر به آن اضافه گردید. آنگاه سطح برگ کاملاً با استفاده از قلم مو شستشو داده شد تا اسپورها در آب آزاد گردند، سپس ۱۰ میکرولیتر از سوسپانسیون حاصل بر روی لام قرار داده شده و تعداد کل اسپورهای موجود، در زیر میکروسکوپ شمارش گردید. شمارش، سه بار تکرار شده و میانگین آن جهت برآورد تعداد اسپور تولید شده در برگ مورد نظر منظور گردید. بدین ترتیب میانگین تعداد اسپور تولید شده در سطح هر لکه محاسبه شد.

ه- درصد برگ‌های آلوده: پس از توقف ظهور لکه‌های آلوده، در صد برگ‌های آلوده در تک‌تک بوته‌ها تعیین گردید. در این ارزیابی برگی که حداقل یک لکه آلوده داشت بعنوان برگ آلوده محسوب گردید.

۵- نحوهٔ ارزیابی مقاومت با استفاده از قطعات جداشده برگ در آزمایشگاه

گیاهچه‌های ارقام آزمایشی در مرحلهٔ چهار برگی به گلدان‌های اصلی انتقال داده شدند. آزمایش در قالب طرح کاملاً تصادفی با سه تکرار به اجرا درآمد و برای هر تکرار ۸ گلدان در نظر گرفته شد. ارزیابی مقاومت سه ماه پس از انتقال گیاهچه‌ها انجام گرفت. در این مرحله، قطعاتی از پهنک برگ بصورت دوایری به قطر ۱/۸ cm (هر گیاه چهار دیسک برگی) تهیه و در محیط سترون در ظروف دردار مستطیل شکل از جنس پیرکس به ابعاد ۲۰×۳۰ سانتی‌متری بر روی آب-آگار ۱/۵٪ قرار داده شدند. لازم به ذکر است که قبل از تهیه دیسک‌های برگی، برگ‌ها با آب مقطر شستشو داده شدند تا گرد و خاک موجود در سطح برگ‌ها حذف شود و سپس در معرض هوا خشک شدند. قطعات برگ با استفاده از

سوسپانسیون اسپور حاوی ۳×۱۰^{٤} اسپور در میلی‌لیتر و ۰/۰۵ درصد توییـن ۲۰ بـه طـور یکنواخت با کمک یک مه‌پاش دستی مایه‌زنی شده و پس از مایه‌زنی در ژرمیناتور قرار گرفتند. با توجه به اهمیت سن برگ‌ها در حساسیت به بیماری لکه‌برگی سرکوسپورایی، در این ارزیابی سعی شد که در همهٔ ارقام، برگ‌های تقریباً همسن و بالغ انتخاب شـوند. ارزیـابی مقـاومت ۸ روز پس از نگهداری در دمای ۲۵ °C و رطوبت نسبی ۱۰۰ درصد صـورت گرفـت. بـه ایـن منظور تعداد لکه‌های آلوده در هر دیسک برگی شمارش شـده و بدیـن ترتیـب تعـداد لکـه در واحد سطح محاسبه شد.

در نهایت پس از تجزیهٔ واریانس داده‌های حاصل از سه ارزیابی مزرعه‌ای، گلخانه‌ای و آزمایشگاهی، مقایسهٔ میانگین‌ها به روش دانکن انجام شد. لازم به ذکر است که فرض نرمـال بودن داده‌ها با استفاده از نرم افزار SAS و روش Capability انجام گردید که بر ایـن اسـاس در کلیه صفات مربوط به ارزیـابی گلخانـه‌ای، فـرض نرمـال بـودن صـادق بـود. لیکـن داده‌هـای مزرعه‌ای و داده‌های مربوط به ارزیابی مقاومت در آزمایشگاه توزیع نرمال نداشتند. لذا در ایـن موارد، تبدیل داده‌ها به صورت جذر، لگاریتم بر پایه ۱۰ و لگـاریتم طبیعـی صـورت گرفـت و چون تبدیل از نوع لگاریتم طبیعی منجر به بیشترین کاهش در میزان نایکنواختی داده‌ها گردیـد، از این تبدیل برای تجزیهٔ واریانس صفات مذکور استفاده شد. سپس داده‌های تبدیـل شـده بـه مقادیر اصلی خود بازگردانده شدند. همچنین ضرایب همبستگی بین صفات مورد مطالعه تعیین گردید. در نهایت ارقام مورد مطالعه براساس هر یـک از ارزیابی‌هـای مزرعـه‌ای، گلخانـه‌ای و ارزیابی مقاومت از طریق قطعات جداشـده بـرگ گروه‌بنـدی شـدند. بدیـن منظـور از تجزیـه خوشه‌ای به روش UPGMA و با کمـک مقـادیر مجـذور فاصلـه اقلیدسـی اسـتفاده گردیـد. از آنجاییکه واحد صفات مورد بررسی در ارزیابی گلخانه‌ای متفاوت بود لذا جهت انجـام تجزیـه خوشه‌ای در این مورد، ابتدا کلیه صفات به دامنه صفر تا یک تبدیل شدند.

نتیجه و بحث

در جداول ۱ و ۲ تجزیهٔ واریانس ساده صفات مـورد مطالعـه در مزرعـه، گلخانـه و آزمایشگاه ارائه شده است. این جداول وجود اختلاف معنی‌دار را برای هر یک از صفات مـورد بررسی نشان می‌دهد. مقایسه میانگین صفات مورد بررسی در جداول ۳ و ٤ اختلاف بین ارقام

مختلف را به تفصیل نمایان می‌سازد. در جدول ۵ ضرایب همبستگی ساده بین روش‌های مختلف ارزیابی مقاومت به بیماری لکه‌برگی سرکوسپورایی ارائه گردیده است. همچنین طبقه‌بندی حاصل از تجزیهٔ خوشه‌ای ارقام مورد آزمایش با استفاده از داده‌های مربوط به هر یک از روش‌های ارزیابی مقاومت در شرایط مزرعه، گلخانه و ارزیابی مقاومت از طریق قطعات جداشده برگ، بصورت دندروگرام در شکل‌های ۱، ۲، ۳ و ٤ ارائه شده است.

بطور کلی نتایج این مطالعه را می توان بصورت زیر خلاصه نمود.

۱- ارزیابی مقاومت در شرایط مزرعه

تجزیه واریانس ساده یادداشت‌برداری‌های مزرعه‌ای در جدول ۱ ارائه گردیده است. مطابق این جدول در مراحل مختلف یادداشت‌برداری اختلاف بین تیمارها در سطح ۱٪ معنی دار است. با این حال مقایسهٔ میانگین درجات آلودگی در جدول ۳ نشان می‌دهد که درجهٔ آلودگی ارقام در آمار برداری‌های آخر فصل کمتر تفکیک شده است. چنانکه در این جدول

جدول ۱، تجزیهٔ واریانس ساده داده‌های مربوط به ارزیابی مقاومت به بیماری لکه‌برگی سرکوسپورایی در شرایط مزرعه

Table 1, Analysis of variance of data obtained in evaluating of resistance to Cercospora leaf spot under field conditions

منابع تغییرات Source of variation	درجه آزادی df	میانگین مربعات MS						
		مراحل یادداشت‌برداری در قائم شهر Recording dates in Ghaemshahr region			مراحل یادداشت‌برداری در دزفول Recording dates in Dezful region			
		I	II	III	IV	I	II	III
تیمار Treatment	11	0.4282**	0.3077**	0.1447**	0.1272**	0.3233**	0.3966**	0.1029**
خطا Erorr	60	0.0147	0.0089	0.0072	0.0112	0.172	0.241	0.0106

**: معنی‌دار در سطح احتمال ۱٪

جدول ۲، تجزیهٔ واریانس ساده داده‌های مربوط به ارزیابی مقاومت به بیماری لکه‌برگی سرکوسپورایی در چغندرقند تحت شرایط گلخانه و آزمایشگاه

Table 2, Analysis of variance of data obtained in evaluating of resistance to Cercospora leaf spot under greenhouse and in vitro conditions

منابع تغییرات Sourcde of variation	درجه آزادی Df	میانگین مربعات MS					
		اجزای مقاومت Resistance Components					
		دوره نهفتگی (ظهور نخستین علائم) incubation period	دوره نهفتگی (ظهور ۵۰٪ علائم) incubation period	تعداد لکه در واحد سطح Spot density	قطر لکه Lesion diameter	تعداد اسپور spore density	درصد برگ‌های آلوده Percent of infected leaves	تراکم لکه در دیسک برگ leaf disk spot density (No/cm^2)
تیمار Treatment	11	1419.2**	3514.6**	0.8935**	0.1326**	36534**	0.0253**	0.67102**
خطا Error	24	66.52	259.2	0.0067	0.0041	3504	0.0006	0.0127

**: معنی‌دار در سطح احتمال ۱٪

جدول۳ ، واکنش ارقام مورد مطالعه چغندر قند نسبت به بیماری لکه‌برگی سرکوسپورایی بر حسب درجه آلودگی مطابق مقیاس KWS تحت شرایط مزرعه[1]

Table 3, The reaction of the sugar beet cultivars to Cercospora leaf spot based on KWS scale under field conditions

مواد گیاهی Genotypes	مراحل مختلف یادداشت‌برداری شدت آلودگی مطابق مقیاس KWS در قائم شهر Recording disease severity using KWS scale in Ghaemshahr region								مراحل مختلف یادداشت‌برداری شدت آلودگی مطابق مقیاس KWS در دزفول Recording disease severity using KWS scale in Dezful region					
	I		II		III		IV		I		II		III	
191	3.66	a	6.00	a	7.99	a	6.86	a	2.84	a	6.48	A	3.92	A
Eudora	3.33	ab	6.00	a	7.24	ab	5.41	b	2.56	ab	5.24	B	3.17	B
Monatunna	3.33	ab	5.49	ab	7.32	ab	5.16	b	2.34	bc	5.02	B	3.09	B
Kaweintermono	3.17	abc	5.96	ab	6.84	bc	5.33	b	2.91	a	5.24	B	3.09	B
Rasool	3.02	bc	5.00	bc	6.41	c	5.16	b	2.15	cde	4.66	Bcd	2.92	B
Mnohikari	3.49	ab	4.99	bc	7.03	bc	4.74	bc	2.25	bcd	4.29	Cd	3.09	B
Ranger	3.02	bc	4.48	cd	6.75	b	4.90	bc	1.92	de	4.04	D	3.01	B
Monodoro	2.81	c	4.41	d	5.79	d	4.90	bc	1.83	ef	4.06	D	2.55	C
Dorothea	2.15	d	3.58	e	5.33	def	4.14	d	1.52	g	2.94	E	1.92	De
Puma	2.01	de	3.75	e	5.58	de	4.41	cd	1.83	ef	4.13	D	2.01	D
FD 0018	1.83	e	2.98	f	5.17	f	4.33	cd	1.59	fg	3.05	e	1.66	F
HM 1836	1.75	e	3.67	e	5.00	f	4.01	d	1.52	g	2.83	e	1.74	Ef

۱- میانگین‌های دارای حروف یکسان از نظر آماری در سطح احتمال ۵٪ معنی‌دار نمی‌باشند.

جدول٤ – واکنش ارقام مورد مطالعه چغندر قند نسبت به بیماری لکه‌برگی سرکوسپورایی تحت شرایط گلخانه و آزمایشگاه[1] .

Table 4. The reaction of the sugar beet cultivars to Cercospora leaf spot under greenhouse and in vitro condition.

ارقام Cultivars	دوره نهفتگی (ظهور نخستین علائم) Incubation period		دوره نهفتگی (ظهور ۵۰٪ علائم) Incubation period		تعداد لکه در واحد سطح Spot density		قطر لکه Lesion diameter		تعداد اسپور spore density		درصد برگهای آلوده Percent of infected leaves		تراکم لکه در دیسک برگ leaf disk spot density (No/cm^2)	
191	311.8	def	478	d	1.49	d	2.02	A	400.2	a	0.612	Ab	7.34	A
Monohikari	265.7	g	405.8	e	1.70	c	1.64	Ef	325.3	ab	0.584	Bcd	4.42	De
Eudora	308.2	ef	499	bcd	1.96	b	1.97	Ab	402.4	a	0.587	Bc	6.91	Ab
Monatunna	310.2	ef	478.7	d	1.28	e	1.78	Cd	198.6	cd	0.644	A	5.68	Cd
Kaweintermono	322	cde	489.8	cd	1.91	b	1.87	Bc	436.8	a	0.645	A	6.61	Abc
Rasool	326.2	bcd	493.3	bcd	2.12	a	1.69	Def	409.8	a	0.564	Cde	6.06	Bc
Ranger	304.2	f	489.3	cd	1.43	d	1.75	De	374.8	a	0.562	Cde	6.55	Abc
Monodoro	327.8	bc	509.3	abc	1.13	f	1.44	G	148.8	d	0.555	Cde	3.94	Ef
Dorothea	329.5	bc	523	ab	0.72	h	1.43	G	258.3	bcd	0.519	Efg	3.48	F
Puma	334.3	bc	532	a	0.65	h	1.36	G	150.5	d	0.538	Def	2.42	G
FD 0018	340.3	ab	516.3	abc	0.97	g	1.67	Def	267.8	bc	0.508	Fg	2.03	G
HM 1836	350	a	533.7	a	0.47	i	1.58	F	163.9	cd	0.482	G	2.19	G

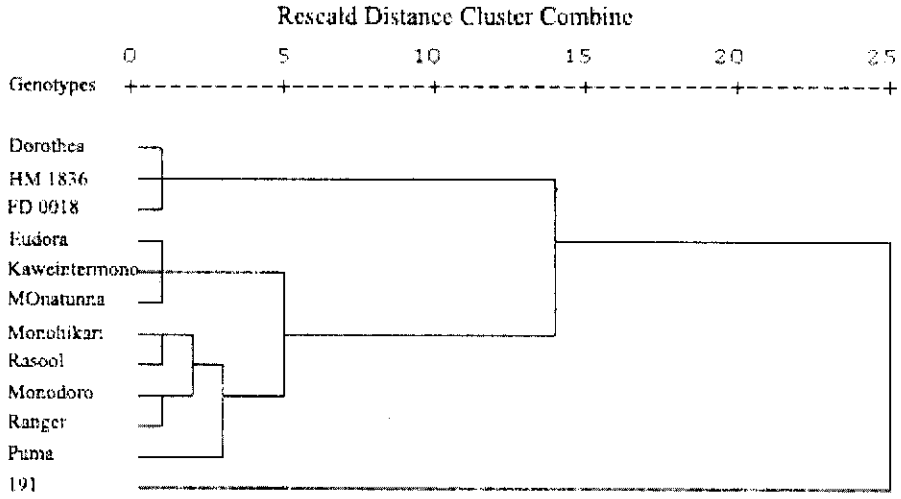
۱- میانگین‌های دارای حروف یکسان از نظر آماری در سطح احتمال ۵٪ معنی‌دار نمی‌باشند.

جدول۵- ضرایب همبستگی ساده بین روشهای مختلف ارزیابی مقاومت به بیماری لکه‌برگی سرکوسپورایی.

Table 5- Coefficients of simple correlation between different methods for evaluating of resistance to Cercospora leaf spot

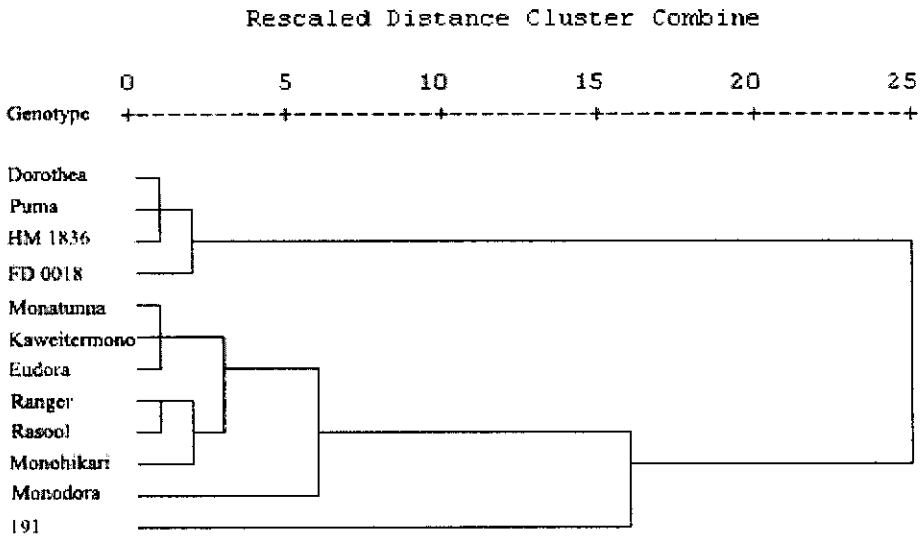
		مراحل یادداشت‌برداری در دزفول Recording dates in Dezful region			مراحل یادداشت‌برداری در قائم شهر Recording dates in Ghaemshahr region				اجزای مقاومت Resistance Components					
		I	II	III	I	II	III	IV	Incubation Period (First Symptoms)	Incubation Period (50% Symptoms)	Spot Density (No/cm^2)	Lesion Diameter mm^2	Spore Density	Percent of Infected Leaves
مراحل یادداشت برداری در دزفول Recording dates in Dezful	I													
	II	0.963**												
	III	0.926**	0.905**											
مراحل یادداشت برداری در قائم شهر Recording dates in Ghaemshahr	I	0.870**	0.845**	0.958**										
	II	0.942**	0.938**	0.970**	0.894**									
	III	0.902**	0.891**	0.972**	0.968**	0.935**								
	IV	0.921**	0.940**	0.887**	0.805**	0.931**	0.867**							
Incubation Period (First Symptoms)		-0.699*	-0.600*	-0.824**	-0.863**	-0.724**	-0.832**	-0.614*						
Incubation Period (50% Symptoms)		-0.761**	-0.674*	-0.803**	-0.905**	-0.717**	-0.860**	-0.656*	0.867**					
Spot Density (No/cm^2)		0.789**	0.754**	0.732**	0.737**	0.766**	0.685*	0.793**	-0.699*	-0.678*				
Lesion Diameter mm^2		0.728**	0.779**	0.782**	0.712**	0.823**	0.769**	0.846**	-0.573	-0.650*	0.692*			
Spore Density		0.677*	0.621*	0.563	0.537	0.594*	0.483**	0.639*	-0.483	-0.504	0.846**	0.741**		
Percent of Infected Leaves		0.945**	0.897**	0.909**	0.883**	0.908**	0.928**	0.870**	-0.734**	-0.790**	0.691*	0.737**	0.501	
Leaf Disk Spot Density (No/cm^2)		0.870**	0.846**	0.916**	0.832**	0.914**	0.853**	0.923**	-0.734**	-0.692*	0.797**	0.832**	0.727**	0.815**

ملاحظه می‌گردد، رتبه بندی ارقام از نظر سطح مقاومت در طی فصل کمی تغییر یافته است. مقایسه مقادیر عددی درجات آلودگی در دو منطقه دزفول و قائم‌شهر نشان می‌دهد که شدت آلودگی در منطقهٔ قائم‌شهر به مراتب بیشتر از منطقهٔ دزفول بوده است. این در حالی‌است که در منطقهٔ قائم شهر مایه‌زنی مصنوعی صورت نگرفت. شدت آلودگی در منطقهٔ مذکور به حدی بود که در پایان فصل، ارقام مقاومتر در مقایسه با ارقام حساس اختلاف بارزی از نظر شاخص سطح برگ داشتند. دندروگرام های حاصل از تجزیهٔ خوشه‌ای ارقام مورد مطالعه بر اساس مجموع مراحل یادداشت‌برداری در هر یک از مناطق مذکور در شکل یک و 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 در هر دو مورد انتخاب سه گروه، بهترین انتخاب برای رتبه‌بندی ژنوتیپ‌های تحت مطالعه با استفاده از روش تجزیه



شکل ۱، دندروگرام حاصل از تجزیهٔ خوشه‌ای ارقام براساس ارزیابی مقاومت تحت شرایط مزرعه در منطقه دزفول

Fig. 1. Dendrogram of cluster analysis for grouping of genotypes based on evaluation of resistance to Cercospora leaf spot under field conditions in the Dezful region



شکل ۲، دندروگرام حاصل از تجزیه خوشه‌ای ارقام براساس ارزیابی مقاومت تحت شرایط مزرعه در منطقه قائم شهر

Fig. 2, Dendrogram of cluster analysis for grouping of genotypes based on evaluation of resistance to Cercospora leaf spot under field conditions in the Ghaemshahr region

خوشه‌ای می‌باشد. بر این اساس ژنوتیپ‌های مورد مطالعه در منطقهٔ دزفول به سه گروه زیر طبقه‌بندی شدند که به ترتیب درجهٔ مقاومت آنها کاهش می‌یابد.

گروه اول : ارقام Dorothea, HM1836, FD 0018

گروه دوم : ارقام , Monatunna, Ranger, Eudora, Rasool, Kaweintermono, Monodoro, Puma Monohikari,

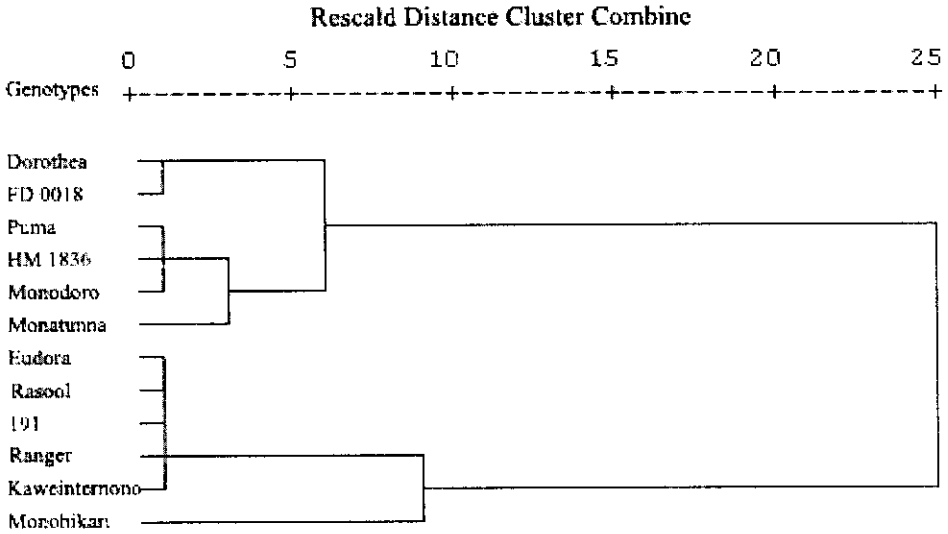
گروه سوم : رقم 191

در منطقهٔ قائم‌شهر گروه بندی به صورت زیر بود:

گروه اول : ارقام Dorothea, HM1836, FD 0018, Puma

گروه دوم : ارقام Monodoro, Monatunna, Ranger, Eudora, Rasool, Kaweintermono, Monohikari

گروه سوم : رقم 191



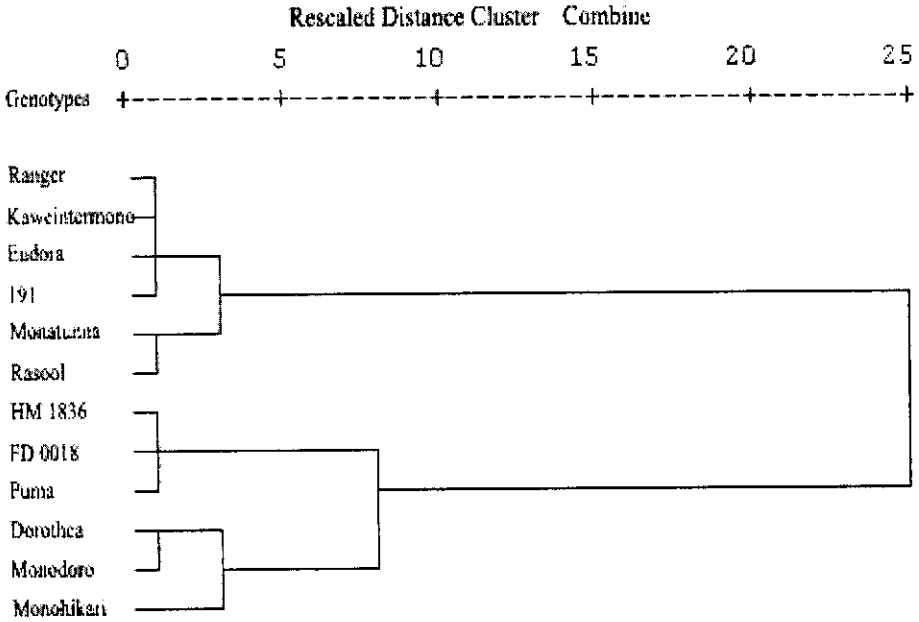
شکل ۳، دندروگرام حاصل از تجزیه خوشه‌ای ارقام براساس ارزیابی اجزای مقاومت در گلخانه

Fig. 3. Dendrogram of cluster analysis for grouping of genotypes based on evaluation of resistance components under greenhouse conditions

چنانکه ملاحظه می‌شود به استثنای رقم Puma که از گروه دوم به گروه اول منتقل شده است گروه بندی ارقام در هر دو منطقه یکسان است. ضرایب بالای همبستگی بین ارزیابی‌های مزرعه‌ای در دو منطقهٔ مذکور که در جدول پنج ارائه گردیده است نیز موید همین امر است.

۲- ارزیابی مقاومت در شرایط گلخانه

الف- دورهٔ نهفتگی: نخستین لکهٔ آلوده ده روز پس از مایه‌زنی معادل (۱۹۰ روز- درجه) بر روی یک بوته از رقم Monohikari ظاهر گردید. چنانکه نتایج ارائه شده در جدول ٤ نشان می دهد رقم مذکور کوتاهترین دورهٔ نهفتگی را دارا بوده و طولانی‌ترین دورهٔ نهفتگی به رقم HM1836 مربوط می شود. ظهور اولین علائم در ۵۰ در صد گیاهان در رقم Monohikari تقریباً ١٤ روز پس از مایه‌زنی (معادل ٢٦٥/٧ روز- درجه) صورت گرفته حال آنکه در رقم HM1836 این مدت تقریباً ۱۸ روز پس از مایه‌زنی (معادل ۳۵۰ روز- درجه) بوده است.



شکل ٤، دندروگرام حاصل از تجزیه خوشه‌ای ارقام براساس ارزیابی مقاومت از طریق دیسک برگی

Fig. 4. Dendrogram of cluster analysis for grouping of genotypes based on leaf disk resistance assay

بنابراین ظهور علائم در رقم اخیر با چهار روز تأخیر نسبت به رقم Monohikari صورت گرفته است و سایر ارقام از این نظر مابین این دو رقم قرار داشته‌اند. همچنین ظهور ۵۰ در صد تعداد نهایی لکه‌ها در رقم Monohikari تقریباً ۲۱ روز بعد از مایه‌زنی (معادل ٤۰۵/۸ روز- درجه) صورت گرفته است، حال آنکه در مورد رقم HM1836 این مدت ۲۷ روز بعد از مایه‌زنی (معادل ۵۳۳/۷ روز- درجه) بوده است. چنانکه از جدول ٤ استنباط می شود رتبه‌بندی ارقام در هر دو روش ارزیابی، تقریباً یکسان می‌باشد.

ب- **تعداد لکه‌های آلوده در واحد سطح:** علائم بیماری در همهٔ ارقام آزمایش، کاملاً بارز بوده و لکه‌هایی تقریباً گرد، با حاشیهٔ مشخص، اغلب با متن سفید یا قهوه‌ای روشن تشکیل گردید. لازم به ذکر است که در هیچ یک از ارقام حاشیهٔ ارغوانی در اطراف لکه مشاهده نشد. در این ارزیابی بیشترین تعداد لکه شمارش شده در سطح یک برگ درمجموع ۷۰۸

عدد بوده که در یک بوته از رقم ۱۹۱ مشاهده گردید. مطابق جدول ۲، میانگین تعداد لکه در واحد سطح برگ در رقم HM1836 در پایینترین سطح بوده و در رقم رسول و Eudora در بالاترین سطح قرار داشته است. بر اساس این جدول، تراکم لکه‌ها در رقم HM1836 تقریباً یک چهارم تراکم لکه‌ها در رقم رسول بوده است.

ج- **قطر لکه‌های آلوده:** ارقام ۱۹۱ و Eudora، بیشترین قطر لکه، و ارقام Puma، Dorothea و Monodoro کمترین قطر لکه را داشتند. به گونه ای که میانگین قطر لکه‌ها در رقم Puma ۰/٦٧ میانگین قطر لکه‌ها در رقم 191 بود. همچنین بزرگترین قطر لکه اندازه‌گیری شده ۵/۷ میلی‌متر و کوچکترین قطر، ۰/٦ میلی‌متر بود که به ترتیب در ارقام 191 و Puma اندازه‌گیری شدند.

د- **تعداد اسپور:** به دلیل نگهداری گیاهان در رطوبت نسبی پایین تر از ٦۰ درصد، سطح لکه‌های آلوده قبل از قرار گرفتن در محیط مرطوب عاری از اسپور بود ولی پس از قرار دادن برگ‌ها در شرایط بهینه، به تدریج استرومای عامل بیماری به صورت نقاط سیاه رنگ در متن لکه‌های آلوده ظاهر شده و پوشش خاکستری رنگی از کنیدیهای بیمارگر در سطح لکه‌ها نمایان گردید. با این حال حتی بعد از ٤٨ ساعت نگهداری برگ‌های آلوده در محیط مرطوب اسپورزایی در سطح همهٔ لکه‌ها مشاهده نگردید. مطابق جدول ٤ ارقام 191، Ranger، Kaweintermono، Rasool، Eudora و Monohikari بیشترین تولید اسپور را داشته و در مقابل ارقام، Monodoro، Puma، HM1836، Monatunna، Dorothea و FD 0018 کمترین تولید اسپور را داشتند. میانگین تعداد اسپور تولید شده در سطح یک لکه در رقم Kaweintermono تقریباً سه برابر اسپور تولید شده در رقم Monodoro بود.

ه- **درصد برگ‌های آلوده:** بر اساس نتایج ارائه شده در جدول ٤ بیشترین درصد آلودگی برگ‌ها مربوط به ارقام Kaweintermono، Monatunna، 191 و Eudora و کمترین درصد آلودگی مربوط به ارقام HM1836 FD 0018 و Dorothea بوده است. بر این اساس درصد برگ‌های آلوده در رقم HM1836 تقریباً ١٦ درصد کمتر از ارقام Kaweintermono و Monatunna بوده است.

چنان که ملاحظه می‌شود نتایج حاصل از رتبه‌بندی ارقام بر اساس اجزای مختلف مقاومت متفاوت است بنابراین ژنوتیپ‌های تحت مطالعه براساس کلیه اجزای مقاومت و با استفاده از تجزیه خوشه‌ای رتبه‌بندی گردیدند. با بررسی مراحل تجزیه خوشه‌ای و اختلاف بین مقادیر مجذور فواصل اقلیدسی که در آن گروه‌های مختلف با یکدیگر ترکیب شده‌اند، مشخص گردید که بر خلاف ارزیابی‌های مزرعه‌ای، انتخاب دو گروه، بهترین انتخاب برای رتبه‌بندی ژنوتیپ‌های تحت مطالعه با استفاده از روش تجزیهٔ خوشه‌ای می‌باشد. بر این اساس ژنوتیپ‌ها به دو گروه مقاوم و حساس زیر طبقه‌بندی می‌شوند:

گروه اول : ارقام Monatunna FD 0018, HM1836, Monodoro, Puma,Dorothea,

گروه دوم : ارقام Monohikari و Ranger, 191, Eudora, Rasool, Kaweintermono

۳- ارزیابی مقاومت با استفاده از قطعات جدا شده برگ

ظهور اولین علائم آلودگی تقریباً ٦ روز بعد از مایه‌زنی صورت گرفت. برخلاف ارزیابی گلخانه‌ای اختلاف دوره نهفتگی بیماری در ژنوتیپ‌های مورد مطالعه نمود بارزی نداشت. علائم بیماری در همهٔ ارقام آزمایش، کاملاً بارز بوده و پوشش خاکستری رنگی از کنیدی‌های بیمارگر در سطح لکه‌ها نمایان بود. مقایسهٔ میانگین تراکم لکه‌های آلوده در واحد سطح قطعات جدا شدهٔ برگ در جدول چهار ارائه گردیده است. مقایسه مقادیر عددی تراکم لکه‌های آلوده با همین صفت در ارزیابی مایه‌زنی نشان می‌دهد که شدت آلودگی در این ارزیابی به مراتب بیشتر از ارزیابی گلخانه‌ای بوده است. این در حالی است که غلظت سوسپانسیون اسپور استفاده شده جهت مایه‌زنی قطعات جدا شده برگ یک دهم غلظت آن در ارزیابی گلخانه‌ای بوده است. شکل٤ رتبه‌بندی ژنوتیپ‌های تحت مطالعه را با استفاده از تجزیه خوشه‌ای نشان می‌دهد. در این مورد بهترین انتخاب، انتخاب ۳ گروه بوده و بر این اساس، ژنوتیپ‌های مورد مطالعه، به سه گروه زیر طبقه‌بندی می‌شوند که به ترتیب درجهٔ مقاومت آنها کاهش می‌یابد:

گروه اول: ارقام ، Puma HM1836, FD 0018

گروه دوم : ارقام ، Monohikari Monodoro, Dorothea

گروه سوم : رقم Monatunna, Ranger, Eudora, Rasool, Kaweintermono, 191,

مقایسهٔ میانگین درجات آلودگی در مراحل مختلف ارزیابی‌های مزرعه‌ای که در جدول ۳ ارائه شده است، نشان می‌دهد که در یادداشت‌برداری‌های آخر فصل تفکیک درجات مقاومت مشکل‌تر می‌شود. لذا به نظر می‌رسد که ارزیابی مقاومت براساس یادداشت برداری‌های آخر فصل به هیچوجه قابل اعتماد نیست. ارزیابی مقاومت باید در چندین مرحله طی فصل انجام شود. همچنین داده‌های مربوط به هر بار یادداشت برداری باید مستقل از هم مورد تجزیه آماری قرار گیرند تا ارزیابی هر رقم بر اساس روند آلودگی آن در طی فصل صورت گیرد. چراکه حتی اگر دو رقم از نظر میانگین نمراتی که در طی فصل دریافت می کنند یکسان باشند، هنوز نمی‌توان سطح مقاومت را در هر دو برابر دانست؛ زیرا رقمی که در اوایل فصل نمره بالایی دریافت کرده اما در پایان فصل نمرات پایینتری دریافت نموده است، نسبت به رقمی که تدریجاً در طی فصل نمره بیشتری دریافت نموده حساس‌تر بوده و خسارت بیشتری را متحمل گردیده است. از این‌رو حتی استناد به میانگین نمرات فصل می‌تواند گمراه کننده باشد. وقوع چنین پدیده‌ای در مزرعه بعید نیست. در واقع چنانچه شرایط محیطی مساعد جهت آلودگی تداوم داشته باشد، برگ‌های ارقام حساس به شدت آلوده شده و از بین می‌روند. در نتیجه گیاه تحریک شده و تولید برگ‌های جدید می‌کند. این برگ‌های جوان قبل از آنکه به رشد کامل برسند نسبت به بیماری مقاومت نسبی دارند . لذا بوته‌ای که در مرحله قبل نمره بالایی دریافت کرده است، ممکن است نمره پائین‌تری دریافت نماید؛ بخصوص که در مراحل وجین کاری معمولاً برگ‌های خشک شده همراه با بقایای علف‌های هرز جمع‌آوری شده و از سطح مزرعه خارج می‌شوند. وجود تغییرات جزئی در رتبه‌بندی سطح مقاومت ارقام آزمایشی در یادداشت برداری‌های مختلف نیز با توجه به همین امر قابل توجیه می‌باشد.

نتایج مطالعات گلخانه‌ای نشان داد که همهٔ صفات مورد بررسی در مقاومت دخیل می‌باشند؛ بنابراین مقاومت طول دوره نهفتگی را افزایش داده و با کاهش تعداد برگ‌های آلوده در هر بوته، کاهش تعداد و اندازه لکه‌های آلوده در هر برگ و نیز کاهش تعداد اسپور تولید شده در لکه آلوده، مآلاً نرخ رشد اپیدمی را کاهش می‌دهد. بدیهی است اجزای مقاومت اهمیت یکسانی در کاهش نرخ اپیدمی ندارند، لیکن تعامل اجزای مقاومت نهایتاً روند پیشرفت بیماری را در مزرعه کند می‌سازد. در این مطالعه، وجود تنوع در واکنش بوته‌های مختلف در هر رقم کاملاً مشهود بود. این تنوع درونی در ارقام چغندر قند به دلیل ناهمگونی ژنتیکی این ارقام

امری طبیعی به نظر می‌رسد. علاوه بر این سطح آلودگی برگ‌های مختلف در هر بوته نیز به نحو بارزی متفاوت بود بطوریکه در برخی از برگ‌های جوان هیچ لکه‌ای مشاهده نشد. مکانیسم مقاومت برگ‌های جوان به آلودگی با وجود مطالعاتی که تاکنون در این زمینه صورت گرفته است(Pool and Mackay, 1916; Feindt *et al*., 1981) همچنان ناشناخته باقی مانده است (Ruppel, 1972; Rossi *et al.*, 1999).

طول دورهٔ نهفتگی بیماری در این مطالعه به دو روش مختلف محاسبه گردید. مقایسهٔ نتایج حاصل نشان می‌دهد که رتبه‌بندی ارقام در هر دو روش ارزیابی، تقریباً یکسان است. لذا به نظر می‌رسد که در ارزیابی دورهٔ نهفتگی بیماری، تعیین زمان ظهور ۵۰ درصد تعداد نهایی لکه‌های آلوده که کاری بسیار مشکل و طاقت‌فرسا است ضرورتی ندارد. در زمینهٔ طول دورهٔ نهفتگی گزارش‌های متعددی در منابع مختلف وجود دارد به گونه‌ای که طول دورهٔ نهفتگی بیماری بین ٤ تا ۲۱ روز گزارش شده است (Rossi *et al* ; 1999; Rathaiah, 1977; Windels *et al*., 1998). طول دورهٔ نهفتگی بیماری در این مطالعه، هرچند در محدودهٔ گزارش‌های مزبور است لیکن مجموع روز درجات محاسبه شده بطور کلی بیشتر از روز درجاتی است که Rossi و همکاران گزارش نموده‌اند (Rossi *et al*., 1999). بنابراین به نظر می‌رسد علاوه بر سطح مقاومت ارقام و درجه حرارت محیط، احتمالاً عوامل دیگری نظیر قدرت بیماری‌زایی جدایه‌های بیمارگر، نور، رطوبت، شدت فتوسنتز، شدت آلودگی و غیره در دورهٔ نهفتگی بیماری مؤثر است. Rossi و همکاران مطالعه اجزای مقاومت به بیماری را در سه آزمایش مستقل انجام داده‌اند که در آزمایش اول از مایه تلقیح طبیعی و در دو آزمایش دیگر از مخلوطی از سه جدایه بیمارگر استفاده شده است. نتایج مطالعات ایشان نشان می‌دهد که دورهٔ نهفتگی بیماری در آزمایش اول کوتاهتر از سایر آزمایش‌هاست. ایشان این اختلاف را ناشی از اختلاف نرخ جوانه‌زنی و نیز طول لوله تندش در مایهٔ تلقیح طبیعی نسبت به مایهٔ تلقیح تولید شده بر روی محیط کشت دانسته‌اند.

در مقایسه با آزمایش Rossi و همکاران قطر لکه‌های آلوده در این مطالعه در مجموع کوچکتر از آزمایش مذکور بوده‌است. همچنین مجموع روز درجات محاسبه شده بطور کلی بیشتر از روز درجاتی است که روسی و همکاران گزارش نموده‌اند (Rossi *et al*., 1999). این مسئله ممکن است تا حدی ناشی از اختلاف قدرت تهاجمی جدایه‌های ایرانی بیمارگر در

مقایسه با جدایه‌های کشور ایتالیا باشد. هرچند با توجه به دخالت عوامل متعدد محیطی در فرایند آلودگی چنین قضاوتی به سادگی امکان‌پذیر نیست.

مقایسهٔ اجزای مقاومت در جدول ٤ نشان می‌دهد که ارقام FD 0018, HM1836. Monodoro, Puma و Dorothea بطورکلی نسبت به سایر ارقام از مقاومت مطلوبتری برخوردار می‌باشند. با این حال موقعیت ارقام مختلف در همهٔ اجزای مقاومت کاملاً ثابت نیست. بعنوان مثال رقم 191 از نظر طول دورهٔ نهفتگی و همچنین تراکم لکه در واحد سطح برگ از وضعیت متوسطی برخوردار بوده حال آنکه از نظر سایر صفات بیشترین حساسیت را داشته است . همچنین با توجه به رتبه‌بندی رقم Monatunna در سایر اجزای مقاومت، تعداد اسپور تولید شده در واحد سطح آلوده در این رقم، کمتر از حد انتظار بوده است. رقم Monohikari کوتاهترین دورهٔ نهفتگی را دارا بوده ولی در سایر صفات این موقعیت را حفظ نکرده است. بنابراین در ارزیابی ارقام در گلخانه بهتر است همهٔ اجزای مقاومت مد نظر قرار گیرند.

نتایج این مطالعه نشان داد که همبستگی بالایی بین ارزیابی‌های مزرعه‌ای، گلخانه‌ای و ارزیابی مقاومت از طریق برگ جدا شده وجود دارد. با این حال گروه‌بندی ارقام آزمایشی در همه روش‌های ارزیابی کاملاً یکسان نیست به عنوان مثال رقم حساس ۱۹۱ در ارزیابی‌های مزرعه‌ای به تنهایی در یک گروه مستقل قرار گرفته است در حالی که در ارزیابی‌های گلخانه‌ای و روش دیسک برگی، همراه با سایر ارقام حساس گروه‌بندی شده است. چنانکه قبلاً ذکر شد درجهٔ مقاومت تک‌تک گیاهان یک رقم کاملاً یکسان نبوده و وجود تنوع درونی در هر رقم امری طبیعی می‌باشد. با این حال این تنوع در ارقام مختلف متفاوت است. بدیهی است در ارزیابی‌های مزرعه‌ای از آن جایی که نمره‌دهی ارقام به صورت مشاهده‌ای صورت میگیرد، واکنش غالب یادداشت‌برداری شده و لذا تک‌بوته‌هایی که واکنشی متفاوت با واکنش کلی رقم دارند در ارزیابی منظور نمی‌شوند. حال آن که در ارزیابی‌های گلخانه‌ای و آزمایشگاهی واکنش تک‌تک بوته‌های یک رقم در ارزیابی دخیل می‌باشند و میانگین آن به عنوان واکنش رقم منظور می‌گردد. از این رو گروه‌بندی رقمی مانند 191 که برخی از بوته‌های آن حساسیت متوسطی دارند در ارزیابی گلخانه‌ای با ارزیابی مزرعه‌ای متفاوت است. از طرف دیگر گروه‌بندی ارقام آزمایشی در ارزیابی گلخانه‌ای بر اساس اجزاء مختلف مقاومت صورت گرفته و لذا همه اجزاء

مقاومت با ضرایب یکسانی در گروه‌بندی ارقام دخالت داشته‌اند، حال آنکه اهمیت واقعی همه‌اجزای مقاومت در نرخ رشد اپیدمی یکسان نیست. با این توضیح اختلافات جزئی که در گروه بندی ارقام در روش‌های مختلف ارزیابی ملاحظه می‌شود قابل توجیه می‌باشد. به‌هر حال ارزیابی مقاومت به هریک از روش‌های مزبور صورت گیرد، قابل اعتماد خواهد بود. بدیهی است هریک از روش‌های ارزیابی دارای قابلیت و محدودیت‌هایی است و لذا انتخاب روش ارزیابی خود به اهداف و امکانات ما بستگی دارد. به عنوان مثال در ارزیابی‌های مزرعه‌ای چنانچه شرایط مساعد محیطی جهت آلودگی تداوم داشته باشد، به دلیل تکرار چرخهٔ بیماری، اختلاف سطح مقاومت ژنوتیپ‌های مختلف نمود بارزتری خواهد داشت. با این حال در این روش ارزیابی، به دلیل تداخل چرخه‌های بیماری و شرایط غیر قابل کنترل محیطی، مطالعه دقیق اجزای مقاومت از جمله تعیین دورهٔ نهفتگی بیماری امکان‌پذیر نمی‌باشد. مطالعهٔ اجزای مقاومت هر چند ارزیابی دقیقی محسوب می‌شود کاری وقت‌گیر و پر دردسر است. این روش فراتر از یک ارزیابی مقایسه‌ای بوده و لذا بهتر است این ارزیابی فقط در مواردی که هدف انتخاب منابع مقاومت یا انجام مطالعات جامع در زمینهٔ مقاومت باشد صورت پذیرد. نتایج این مطالعه نشان داد که ارزیابی مقاومت با استفاده از قطعات بریدهٔ برگ همبستگی خوبی با ارزیابی مزرعه‌ای و گلخانه‌ای دارد با استفاده از این روش در مدت کوتاهی می‌توان تعداد زیادی گیاه را مورد ارزیابی قرار داد. در این روش ارزیابی هیچگونه محدودیتی در تعداد تکرارهای آزمایش وجود نداشته و شرایط انجام آزمایش مستقل از شرایط محیطی و کاملاً قابل کنترل می‌باشد. از طرفی در این ارزیابی هیچگونه تنشی به گیاه مورد بررسی وارد نمی‌شود؛ بنابراین چنانچه حفظ تک‌بوته‌های آزمایش‌شده در دستور کار باشد این روش ارزیابی توصیه می‌گردد. تنها محدودیت این روش حفظ شادابی دیسک‌های برگی طی مدت انجام آزمایش بوده که لازم است در این زمینه مطالعات بیشتری صورت پذیرد.

وجود همبستگی زیاد بین ارزیابی‌های انجام شده در این پژوهش، از جهت دیگری نیز قابل تأمل و حائز اهمیت می‌باشد. چنانکه قبلاً ذکر شد در این مطالعه، جهت انجام ارزیابی‌های گلخانه‌ای از مخلوطی از هفت جدایهٔ مختلف عامل بیماری از سه منطقه مختلف استفاده گردید تا امکان مقایسهٔ نتایج حاصل از ارزیابی اجزای مقاومت در ارقام مورد بررسی با ارزیابی‌های مزرعه‌ای مقاومت همین ارقام در مناطق دزفول و قائم‌شهر فراهم گردد. نتایج این

بررسی نشان داد که علیرغم وجود اختلاف در شدت آلودگی، گروه‌بندی ارقام از نظر سطح مقاومت کم و بیش ثابت می‌باشد. از این رو نتایج این مطالعه، ماهیت غیر اختصاصی مقاومت ارقام تجاری چغندرقند به بیماری لکه‌برگی سرکوسپورایی را (Saito, 1966; Smith and Gaskill, 1970; Koch and Jung, 2000) که در بخش دیگری از همین پژوهش نیز به اثبات رسیده (عباسی و همکاران، اطلاعات منتشر نشده) تأیید می‌کند. لذا می‌توان با قاطعیت نتیجه گرفت که مقاومت ارقام تجاری چغندرقند، چنانکه قبلاً نیز در گزارش‌های متعدد مشخص شده بود (Rossi, 1995; Cai and Han, 1992; Smith, 1985; Ruppel, 1972) در شرایط اقلیمی بسیار متفاوت، کاملاً پایدار می باشد. اگر چه برخی از پژوهشگران وجود اختلاف در شدت بیماری را برای جدایه‌هایی که از نقاط مختلف جغرافیایی بر روی ژنوتیپ‌های مختلف چغندرقند مایه‌زنی کرده بودند گزارش نموده‌اند (Brillova, 1988; Dumitras, 1979). اما دیگر محققین معتقدند در این موارد تعامل مشاهده شده بین رقم و نژاد می‌تواند در واقع ناشی از تعامل بین نژاد، رقم و شرایط محیطی باشد. چرا که در اغلب پژوهش های مذکور تجزیه و تحلیل آماری صورت نگرفته و از طرح آزمایشی مناسب استفاده نشده است (Kulkarni and Chopra, 1982). به‌هرحال نتایج این مطالعه نشان می‌دهد که ارزیابی مقاومت در یک منطقه قابل تعمیم به مناطق دیگر بوده و لذا نیازی به تکرار ارزیابی در مناطق مختلف که مستلزم صرف وقت، هزینه و امکانات زیاد است، نمی‌باشد. با این توضیح می‌توان ارزیابی مزرعه‌ای مقاومت به بیماری لکه‌برگی سرکوسپورایی را به یک منطقه که از شرایط محیطی مساعدی جهت آلودگی برخوردار باشد، محدود نمود. نتایج ارزیابی‌های انجام شده نشان می‌دهد که منطقهٔ قائم‌شهر از این نظر شرایط بسیار مطلوبی دارا می‌باشد. لذا توصیه می‌شود با توجه به شرایط آب و هوایی مناسب منطقه و ثبات نسبی آن طی فصول زراعی مختلف، ارزیابی‌های مزرعه‌ای فقط در این منطقه انجام شود. بدیهی است ارزیابی مقاومت در مناطقی که بیماری هر چند سال یک بار به صورت اپیدمی در می‌آید، می‌تواند گمراه کننده باشد. چنان که قبلاً نیز ذکر گردید ارقام مقاوم در بازدیدهای مزرعه‌ای که در پایان فصل در منطقهٔ قائم‌شهر صورت گرفت کاملاً از نظر شاخص سطح برگ از سایر ارقام قابل تفکیک بودند. از

این رو به نظر می‌رسد می‌توان از شرایط مطلوب طبیعت در این منطقه به عنوان غربالی طبیعی به منظور انتخاب تک‌بوته‌های مقاوم در نسل‌های در حال تفکیک استفاده نمود.

سپاسگزاری

نگارندگان از آقایان مهندس سید باقر محمودی، بهمن توانگر، کریم کشاورز و خانم مهندس مهدیه بنی‌هاشمی بخاطر کمک‌های ارزنده‌شان در مراحل مختلف انجام این پژوهش صمیمانه سپاسگزاری می‌نمایند. همچنین از آقای دکتر رضا امیری که زحمت تجزیهٔ آماری را متقبل شدند صمیمانه قدردانی می‌شود.

نشانی نگارندگان: مهندس سعید عباسی، دکتر عزیزاله علیزاده و دکتر ابراهیم محمدی، گروه بیماری شناسی گیاهی دانشکدهٔ کشاورزی دانشگاه تربیت مدرس، دکتر محمود مصباح موسسه تحقیقات اصلاح و تهیهٔ بذر چغندر قند، کرج