"۳۳۳۳۳نهال و بذر"
جلد ۲٤ ، شماره ۳، سال ۱۳۸۷

گزینش لاین‌های جدید عدس مقاوم به بیماری پژمردگی فوزاریومی با عامل *Fusarium oxysporum* f.sp. *lentis* برای منطقه بیله سوار مغان

Selection of New Lentil Lines Resistant to Wilt Disease Caused by *Fusarium oxysporum* f.sp. *lentis* , for Bilehsavar Region, Moghan

حمیدرضا پورعلی بابا[۱]، سیدحسین صباغ‌پور[۲]، اصغر مهربان[۳] و سلیمان اصغری[۴]

۱- مربی، مؤسسه تحقیقات کشاورزی دیم، مراغه
۲- استادیار، معاونت موسسه تحقیقات کشاورزی دیم، کرمانشاه
۳- محقق، مرکز تحقیقات کشاورزی و منابع طبیعی استان اردبیل، پارس‌آباد مغان
٤- کارشناس ترویج کشاورزی، بیله‌سوار، مغان

تاریخ دریافت: ۱۳۸٦/٤/۱۷ تاریخ پذیرش: ۱۳۸٦/۱۲/۱۰

چکیده

پورعلی بابا، ح. ر.، صباغ‌پور، س. ح.، مهربان، ا.، و اصغری، س. ۱۳۸۷. گزینش لاین‌های جدید عدس مقاوم به بیماری پژمردگی فوزاریومی با عامل *Fusarium oxysporum* f.sp. *lentis* برای منطقه بیله سوار مغان. **نهال و بذر ۲٤**: ۴۴۴-۴۲۹.

بیماری پژمردگی فوزاریومی عدس با عامل *Fusarium oxysporum* f.sp. *lentis* (Vasd. and Srin.) Gordon در سال‌های اخیر به شدت در منطقه بیله سوار مغان ظاهر شده و باعث اُفت محصول و سطح زیرکشت آن شده است. در این آزمایش، عامل بیماری از گیاهان آلوده عدس جدا و برای ارزیابی واکنش تعدادی لاین پیشرفته در شرایط گلخانه به کار برده شد. لاین‌ها با دو روش آلوده‌سازی خاک استریل و غوطه‌ورسازی ریشه بریده در سوسپانسیون اسپور مایه‌زنی شدند. در شرایط مزرعه نیز واکنش این لاین‌ها با کاشت آنها در خاک آلوده طبیعی که آلودگی آن به عامل بیماری قبلاً به اثبات رسیده بود، ارزیابی شد. ارزیابی واکنش لاین‌ها در هر دو شرایط بر مبنای درصد گیاهان مرده بود. تجزیه کلاستر واکنش لاین‌ها در شرایط گلخانه‌ای و مزرعه‌ای منجر به انتخاب لاین‌هایی شد که در مدت دو سال در شرایط مزرعه‌ای مقاومت نشان دادند. در سال چهارم آزمایش، لاین‌های مقاوم منتخب برای بررسی صفات مختلف زراعی در شرایط مزرعه آلوده برای یک سال زراعی مورد بررسی قرار گرفتند. با توجه به نتایج ارزیابی‌ها، از ۳۲ لاین پیشرفته عدس، لاین‌های ILL7531 وILL6037 برای کاشت در منطقه بیله سوار مغان انتخاب شدند..

واژه‌های کلیدی: عدس، پژمردگی فوزاریومی، *Fusarium oxysporum* f.sp. *lentis*، مقاومت.

نویسنده مسئول: hpouralibaba@yahoo.com

مقدمه

جنس فوزاریوم(Fusarium) یکی از مهم‌ترین قارچ‌های خاکزی است که گونه‌هایی از آن اهمیت اقتصادی ویژه‌ای دارند (Nelson *et al.*, 1981). قارچ *Fusarium oxysporum* یکی از مهم‌ترین گونه‌های تغییرپذیر در بین گونه‌های فوزاریوم است که دارای فرم‌های اختصاصی و جمعیت‌های مختلفی بوده و در گیاهان متعدد ایجاد بیماری می‌کنند (Sarami,1998).

قارچ *Fusarium oxysporum* f.sp. *lentis* (Vasudeva and Srinivasan) Gordon ازعوامل بیماریزای ریشه و ساقه عدس است و در تمام مراحل رشدی گیاه اعم از جوانه‌زنی بذر، گیاهچه و گیاه کامل به میزبان حمله می‌کند و باعث پوسیدگی بذر، مرگ گیاهچه، پژمردگی و پوسیدگی ریشه و ساقه می‌شود (Khare *et al.*,1979). در هند، هنگامی که دمای محیط به ۲۵ درجه سانتی‌گراد می‌رسد، علائم پژمردگی در مرحله گیاهچه، گلدهی و غلاف‌بندی بروز می‌کند (Kannaiyan and Nene,1976). درچکسلواکی، در یک بررسی مشخص شد که گونه‌های مختلف فوزاریوم در ۷۵٪ نمونه‌های ارقام چک از جمله Lenka، Trebiso، Okula و یک رقم کانادائی به نام Laird وجود داشته و عامل اصلی پژمردگی‌های مشاهده شده است (Bojdova and Sinsky,1990). بین محققین در خصوص وجود یا عدم وجود تنوع بیماریزایی به مفهوم نژاد در این بیمارگر اختلاف نظر وجود دارد. کاره و همکاران (Khare *et al.*, 1975)، کناییان (Kannaiyan, 1974) و کناییان ونن (Kannaiyan and Nene, 1978) معتقد به تنوع در شدت بیماریزایی (Virulence) بین جدایه‌ها بودند و نژادهایی را شناسایی کردند، اما ارسکین وبیاعه (Erskine and Bayaa,1996)، بیاعه وهمکاران (Bayaa *et al.*,1997) و بلابید و همکاران (Belabid *et al.*,2004) نشان دادند که تنوع بیماریزایی به مفهوم نژاد در این بیمارگر وجود ندارد و تنوع بیماریزایی ناشی از تفاوت در قدرت تهاجمی (Aggressiveness) جدایه‌هاست. بررسی رابطه بیمارگر و میزبان با استفاده از ۱۳ جدایه ایرانی و یک جدایه خارجی*Fusarium oxysporum* f.sp.*lentis* با سه رقم عدس نشان داد که بین جدایه‌ها تفاوت‌های ظاهری کلنی وجود دارد ولی از نظر شدت بیماریزایی روی ارقام تفاوت معنی‌داری مشاهده نشد و این مؤید عدم وجود تنوع نژادی عامل بیماریزا در ایران است (مشاهدات نگارنده اول). پاندیا و همکاران (Pandya *et al.*,1980) با اعتقاد به وجود نژاد در این عامل بیماری، لاین Pant-406 عدس را در برابر هفت نژاد پیشنهادی کناییان (Kannaiyan,1974) ارزیابی کردند و آن را مصون در برابر نژاد ۵، مقاوم به نژادهای ۳ و۶ و نیمه مقاوم در برابر نژاد ۴

تشخیص دادند. این لاین با داشتن عملکرد ۱۰/۷۷ درصد بیشتر از سایر ارقام رایج و نیز مقاومت به پژمردگی و زنگ از میان ۹۵۷ لاین، مناسب برای کاشت در دامنه‌های هیمالیا تشخیص داده شد. در بررسی انجام شده توسط کناییان و نن (Kannaiyan and Nene,1976)، ۳۲ لاین از ۱۵۸ لاین مورد بررسی به عنوان مقاوم تشخیص داده شدند که در میان آن‌ها لاین‌های YL 80، YL 674، YL 500، Pusa3 و Pont 1234 با داشتن صفات زراعی مناسب، بسیار امیدوارکننده بودند. در بررسی دیگری، ارزیابی ۱۶۲ لاین در گلخانه نشان داد که ۲۹ لاین مقاومت مناسبی داشته و لاین 78526013 با داشتن صفات مناسب زراعی، به عنوان لاین مناسب برای معرفی شناخته شد Erksin and (Bayaa,1990). پرادهانانگ و همکاران (Pradhanang *et al.*,1993) با ارزیابی نود لاین عدس برای مقاومت به این بیماری در شرایط طبیعی و کنترل شده، تمامی آن‌ها را به اضافه رقم Simal که به طور گسترده‌ای در شمال هند کشت می‌شود، حساس تشخیص دادند. عمر و همکاران (Omar *et al.*,1988) در ارزیابی ۱۲ لاین و رقم عدس در برابر بیماری‌های پژمردگی وپوسیدگی ریشه شامل *Rhizoctonia solani*، *Fusarium solani*، *F. oxysporum*، *F. moniliforme*، *Gliocladium roseum* و *Verticillium* spp.، *Pythium butleri*، رقم‌های H81، H6 و H5 را مقاوم، F29، K270 و F300 را نیمه مقاوم و ILL16370 را حساس تشخیص دادند.

منطقه بیله سوار مغان با سطح زیر کشت متوسط سالیانه ده هزار هکتار یکی از قطب‌های مهم تولید عدس کشور و استان اردبیل است. بیماری پژمردگی فوزاریومی از حدود ده سال پیش در این منطقه با شدت بالائی ظاهر شده است (گزارش‌های اداره حفظ نباتات بیله سوار). هم اکنون در ۷۰-۵۰ ٪ مزارع عدس با شدت‌های ۱۰۰- ۷۰ ٪ وجود دارد (مشاهدات نگارنده اول) و خسارت زیادی به محصول دانه عدس وارد می‌کند. با در نظر گرفتن خسارت غیر مستقیم آن به دلیل از دست رفتن مهم‌ترین و بهترین محصول در تناوب غلات منطقه، از بین رفتن علوفه برای دام و شیوع سایر بیماری‌های خاکزاد غلات به دلیل کشت پی‌درپی آن‌ها، همه ساله خسارت زیادی به اقتصاد منطقه که عمدتاً بر پایه کشاورزی است، وارد می‌شود.

با توجه به این که اقتصادی‌ترین و مؤثرترین روش کنترل این بیماری استفاده از ارقام مقاوم است، این آزمایش به منظور گزینش لاین‌هایی که علاوه بر مقاوم بودن، از صفات مناسب زراعی نیز برخوردار باشند، انجام شد.

مواد و روش‌ها

مشخصات جغرافیایی و اقلیمی محل اجرای آزمایش

دشت مغان دارای طول وعرض جغرافیایی به ترتیب ۴۷/۲۴ شرقی و ۳۹/۲۷ شمالی، و ارتفاع آن از سطح دریا ۶۰ متر است. میانگین تعداد روزهای کاملاً ابری حدود ۱۰۰ روز و

تعداد روزهای مه‌آلود حدود ۲۰ روز در سال است. میانگین دمای سالانه ۲۱/۶ سانتی‌گراد و گرم‌ترین ماه سال مرداد ماه با ۲۷ و سردترین ماه سال دی ماه با ۴ درجه سانتی‌گراد است. متوسط بارندگی سالیانه ۲۴۱ میلی متر و با ۳۶ روز یخبندان جزو مناطق با اقلیم نیمه خشک وزیر اقلیم سرد محسوب می‌شود.

جداسازی قارچ عامل بیماری

گیاهان مشکوک به آلودگی به این بیماری از مناطق مختلف شهرستان بیله‌سوار که از مناطق شدیداً آلوده به این بیماری است جمع‌آوری شدند. پس از انتقال به آزمایشگاه، از قسمت‌های مختلف ساقه و انتهای شاخ و برگ قطعاتی به اندازه چند میلی متر تهیه شده و در محلول هیپوکلریت سدیم ۸٪ به مدت ۵-۲ دقیقه، بسته به زبری و لطافت بافت، غوطه‌ور و سپس با آب استریل شسته شدند. برای جداسازی، عامل بیماری، از محیط PDA که درآن غلظت سیب‌زمینی و دکستروز به نصف تقلیل یافته بود استفاده شد. برای تولید ماکروکنیدی از محیط کشت برگ میخک – آگار در شرایط دمای ۲۵ درجه سانتی‌گراد و رژیم نوری۱۲ ساعت مخلوط نورسفید و نزدیک ماوراءبنفش (تامین شده به وسیله یک لامپ ۲۰ وات سیاهرنگ T9 Blacklight Blue Fluorescent, Schwan® و چهارلامپ فلورسنت معمولی) و ۱۲ ساعت تاریکی به مدت هفت روز استفاده شد. از ماکروکنیدی های تولید شده در این شرایط برای شناسائی استفاده شد(Booth,1977). خالص‌سازی با استفاده از روش ترقیق مکرر سوسپانسیون ماکروکنیدی روی محیط آب آگار انجام شدکه پس از جوانه‌زنی به محیط معمولی PDA منتقل شد. برای تکثیر مایه قارچ از محیط کشت مایع سیب‌زمینی- دکستروز استفاده شد (Omar *et al*., 1988).

آزمون بیماریزایی

از عدس رقم اردبیل به عنوان میزبان حساس جهت اثبات بیماریزائی استفاده شد. به این ترتیب که سوسپانسیون با غلظت 10^5 اسپور در میلی لیتر(Omar *et al*.,1988) تهیه شد و خاک ضدعفونی شده گلدان پس از کاشت بذرهای عدس، با ۲۵۰ میلی‌لیتر سوسپانسیون مایه‌زنی شد.پس از ظهور علایم بیماری، عامل بیمارگر مجددا جداسازی و شناسائی شد.

آزمون گلخانه‌ای

در سال اول (۱۳۸۰)، آزمایش با ۲۹ لاین پیشرفته عدس که از آزمایش‌های سازگاری عدس سال‌های ۸۰- ۱۳۷۸ مؤسسه تحقیقات کشاورزی دیم انتخاب شده بودند به اضافه رقم حساس محلی بیله‌سوار به عنوان شاهد انجام شد. در سال‌های بعدی سه لاین پیشرفته دیگر که از آزمایش‌های سازگاری سال ۱۳۸۱ عدس انتخاب شده بودند (لاین‌هایی که با علامت ستاره مشخص شده‌اند) برای مقاومت به بیماری

آزمون شدند.

آلوده‌سازی خاک گلدان با سوسپانسیون اسپور

با تهیه سوسپانسیون اسپور به میزان 10^5 اسپور در میلی‌لیتر (Omar *et al.*,1988)، اقدام به مایه‌زنی گلدان‌های حاوی خاک استریل (۴۵ دقیقه در دمای حدود ۷۰ درجه سانتی‌گراد) شد. به هر گلدان مقدار ۲۵۰ میلی‌لیتر سوسپانسیون اضافه شد و گلدان‌ها به مدت ده روز، روزانه با همان مقدار آب مقطر استریل، آبیاری شدند. در این مدت عامل بیماری در خاک تثبیت و توده هیف سفید رنگ در سطح خاک گلدان ظاهر شد. پس از این مرحله اقدام به کاشت بذرهای آزمایشی که قبلاً به مدت هشت دقیقه در هیپوکلریت سدیم ۵/۲۵ درصد ضدعفونی شده بودند، در سه تکرار و هر تکرار حاوی پنج بذر در قالب طرح بلوک‌های کامل تصادفی شد. پس از دو ماه علائم پژمردگی در رقم حساس محلی و سپس به تدریج در سایر ارقام ظاهرشد.

آلوده‌سازی با فرو بردن نوک بریده ریشه در سوسپانسیون اسپور

بذرها با هیپوکلریت سدیم ۵/۲۵ درصد به مدت هشت دقیقه ضدعفونی شدند و در تشتک‌های حاوی کاغذ صافی مرطوب در دمای ۲۰ درجه سانتی‌گراد نگهداری شدند. گیاهچه‌های ۱۲ روزه را از تشتک خارج و پس از قطع نوک ریشه با تیغ ضدعفونی شده، با غوطه‌ورسازی به مدت پنج دقیقه در سوسپانسیون اسپور با غلظت 10^5 اسپور در میلی‌لیتر(Omar *et al.*, 1988) مایه‌زنی شدند. گیاهچه‌ها برای رشد به مخلوط خاک و ماسه (۱:۳) ضدعفونی شده منتقل شدند (پنج گیاهچه در هر گلدان) ودردمای ۲۵ درجه سانتی‌گراد و نور معمولی نگهداری شدند. خاک گلدان با آب مقطراستریل هفته‌ای دو بار آبیاری شد. برای هر تیمار سه تکرار در نظر گرفته شد.

یادداشت‌برداری در شرایط گلخانه پس از ظهورعلایم بر مبنای درصد گیاهان مرده با روش پیشنهادی ارسکین و بیاعه (Erskin and Bayaa,1990) انجام شد، به این ترتیب که کمتر از ۱٪ گیاه مرده به عنوان خیلی مقاوم (HR) ، ۱۰-۲٪ به عنوان مقاوم (R) ، ۲۰-۱۱٪ به عنوان نیمه مقاوم (MR)، ۵۰-۲۱٪ به عنوان نیمه حساس(MS) و بیش از ۵۰٪ گیاه مرده به عنوان حساس (S) در نظر گرفته شد. میانگین درصد گیاهان مرده مشاهده شده در تکرارها به عنوان نتیجه نهایی منظور شد.

آزمون مزرعه‌ای

این آزمایش به مدت چهار سال انجام شد. در سال اول (۸۱-۱۳۸۰) همزمان با آزمون گلخانه‌ای ۲۹ لاین پیشرفته عدس برای مقاومت به بیماری ارزیابی شدند. در سال دوم و سوم آزمایش (۸۳-۱۳۸۲) آن دسته از لاین‌هایی که علایم حساس تا خیلی حساس نشان داده بودند حذف شده و بقیه لاین‌ها همراه با سه لاین پیشرفته جدید مجدداً مورد ارزیابی قرار گرفتند. در سال چهارم آزمایش (۱۳۸۵) چهار لاین پیشرفته مقاوم انتخاب شده، از نظر خصوصیات

زراعی بررسی شدند.

در این آزمایش‌ها، قطعه ای از یک مزرعه که سابقه آلودگی شدید به پژمردگی فوزاریومی داشت در روستای گوگ تپه بیله سوار مغان شناسایی و انتخاب شد. نمونه‌های گیاه آلوده طی چند سال از این مزرعه جمع‌آوری و به آزمایشگاه منتقل و عامل بیماری جداسازی، خالص‌سازی و شاسائی شده بود. کشت سوسپانسیون خاک روی محیط زاپک دوکس آگار، وجود *F. oxysporum* و در موارد معدودی حضور سایر عوامل خاکزاد نظیر *Rhizoctonia solani* و *Fusarium solani* را نیز نشان داد. جمعیت *Fusarium oxysporum* f.sp. *lentis* با استفاده از روش ترقیق مکرر روی محیط کشت کومادا (Windels,1992) تعیین شد. واحدهای تشکیل دهنده کلنی (Colony Forming Unit: CFU) طی سال‌های تحقیق حدود $۱/۸ * ۱۰^{۵}$ بود.

در سال‌های تحقیق و در ماه‌های آبان الی دی تعداد ۴۰۰ بذر از لاین‌های پیشرفته عدس در دو خط دو متری (هر خط حاوی ۲۰۰ بذر) با فاصله خطوط ۲۵ سانتی‌متر و فاصله تیمارها نیم متر از یکدیگر در قالب طرح بلوک‌های کامل تصادفی در سه تکرار کاشته شدند. بعد از هر پنج لاین دو ردیف رقم حساس محلی اردبیل کاشته شد. برای ارزیابی لاین‌ها در مزرعه نیز درصد بوته مرده برای هر لاین منظور شد. به این ترتیب که درصد بوته‌های مرده کمتر از ۵٪ به عنوان خیلی مقاوم (HR)، ۲۰-۶٪ به عنوان مقاوم (R) ، ۴۰-۲۱٪ به عنوان نیمه مقاوم (MR)، ۶۰-۴۱٪ به عنوان نیمه حساس (MS)، ۸۰-۶۱٪ به عنوان حساس و تلفات بیش از ۸۰٪ به عنوان فوق حساس (HS) در نظر گرفته شد (Kannaiyan,1974). میانگین درصد بوته‌های مرده سه تکرار به عنوان نتیجه نهائی منظور شد.

ارزیابی صفات مختلف لاین‌های منتخب در مزرعه آلوده

این آزمون به منظور بررسی ویژگی‌های زراعی چهار لاین مقاوم منتخب از آزمایش‌های قبلی در شرایط مزرعه آلوده منطقه بیله سوار مغان با کاشت در کرت‌های ده متر مربعی (شامل ده خط چهار متری با فاصله خطوط ۲۵ سانتی‌متر) و در چهار تکرار انجام شد. ویژگی‌های مذکور شامل درصد سبز که در آن درصد سبز ۹۰ یا بیشتر به عنوان خیلی خوب، ۸۹-۸۰٪ به عنوان خوب، ۷۹-۷۰٪ به عنوان قابل قبول، ۶۹-۶۰٪ به عنوان ضعیف و کمتر از ۶۰٪ به عنوان خیلی ضعیف در اوایل سبز شدن در کرت یادداشت‌برداری شد. ویژگی‌های دیگر شامل تعداد روز تا گلدهی (تعداد روزهای پس از کاشت تا زمانی که ۵۰٪ گیاهان دارای گل می‌شد)، تعداد روز تا رسیدگی (تعداد روز پس از کاشت تا زمانی که ۹۰٪ گیاهان به بلوغ می‌رسید) و بالاخره وزن صد دانه و میزان محصول در هکتار یادداشت‌برداری شد.

نتایج و بحث

الف- آزمون گلخانه‌ای

آلوده‌سازی خاک با سوسپانسیون اسپور

علایم پژمردگی دو ماه پس از مایه‌زنی ظاهر شد و به تدریج گیاهان آلوده از بین رفتند. میانگین درصد مرگ و میر در محدوده صفر تا صد بود (جدول ۱).

آلوده‌سازی گیاهچه با غوطه‌ورسازی در سوسپانسیون اسپور

در این روش علایم پژمردگی یک ماه پس ازمایه‌زنی ظاهر شد. گیاهان علایم کلروز، نکروز وبالاخره مرگ تدریجی را نشان می‌دادند. میانگین درصد مرگ و میر در محدوده بین ۱۰ تا ۱۰۰ بود (جدول ۱). در این روش هیچ لاینی بسیار مقاوم (HR) نبود و فقط لاین‌های FLIP97-IL، ILL52 و ILL7531 ۱۰ درصد مرگ و میر داشتند و به عنوان مقاوم یادداشت‌برداری شدند.

ب- آزمون مزرعه‌ای

علایم پژمردگی در مزرعه از اوایل مرحله گل در رقم حساس محلی شروع به تظاهر کرد و به تدریج روی تمام لاین‌های حساس ظاهر شد، به طوری که در اوایل مرحله غلاف‌بندی، لاین‌های حساس (شامل تعدادی لاین آزمایشی و شاهد) به کلی از بین رفته بودند. میانگین درصد تلفات در محدوده بین دو تا صد بود (جدول ۱).

تجزیه کلاستر عکس‌العمل ۲۹ لاین مورد مطالعه و رقم حساس محلی در شرایط گلخانه‌ای و مزرعه‌ای (سال ۱۳۸۰) به طور همزمان با روش B-average دندروگرامی داد که با برش در فاصله ۱۵ واحد، لاین‌ها را به دو گروه عمده تقسیم می‌کرد (شکل ۱). گروه اول شامل ۱۳ لاین به شماره‌های ۱۹، ۲۷، ۲۰، ۲۶، ۱۷، ۵، ۹، ۱۶، ۱ و ۴ با عکس‌العمل بسیار مقاوم تا مقاوم در هر دو شرایط، و لاین‌های شماره ۱۸،۱۳ و ۱۲با عکس‌العمل حساس تا نیمه‌مقاوم را شامل می‌شد. گروه دوم شامل لاین‌های شماره ۳۰، ۱۰، ۶، ۱۵، ۱۱، ۲۸، ۲، ۲۱، ۳، ۷، ۱۴، ۲۹، ۲۴، ۲۵، ۸، ۲۲و۱۳ می‌شد که عکس‌العمل نیمه مقاوم تا خیلی حساس را دریکی از شرایط گلخانه‌ای و یا مزرعه‌ای از خود نشان داده بودند. لاین‌های گروه اول کلاستری به اضافه سه لاین جدید ILL6434 و ILL323 و SLL که از آزمایش‌های جدید سازگاری عدس مؤسسه تحقیقات کشاورزی دیم بودند (جمعاً ۱۶ لاین) برای ارزیابی‌های بعدی در شرایط مزرعه‌ای انتخاب شدند.

تجزیه واریانس مرکب درصد گیاهان مرده در شرایط مزرعه‌ای متعلق به ۱۶ لاین در مدت دو سال زراعی (۸۲-۱۳۸۱ و ۸۳-۱۳۸۲) در جدول ۲ نشان داده شده است. بر این مبنا مشخص شد که بین سال‌های انجام آزمایش در سطح ۵٪ و بین لاین‌ها در سطح ۱٪ اختلاف معنی‌دار وجود دارد. اثر متقابل سال × لاین برای این داده‌ها نیز در سطح ۱٪ اختلاف معنی‌دار داشت. مقایسه میانگین سال‌ها برای درصد تلفات نشان داد که سال اول با میانگین ۲۷/۴۸

جدول ۱- درصد گیاهان مرده وعکس‌العمل لاین‌های پیشرفته عدس در برابر عامل پژمردگی عدس در شرایط گلخانه و مزرعه (سال زراعی ۸۱-۱۳۸۰)

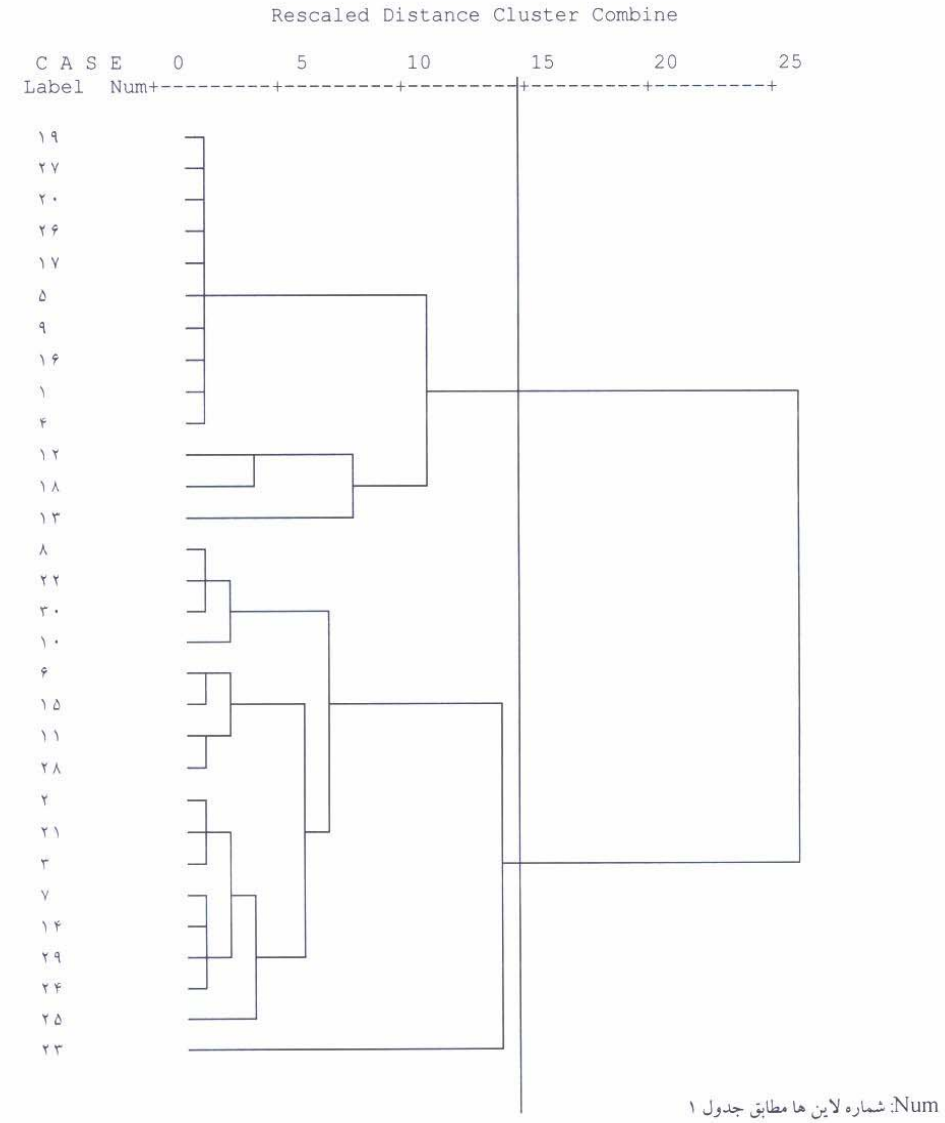
Table 1. Percentage of dead plants and reactions of advanced lentil lines to *Fusarium oxysporum* f.sp. *lentis* in the glasshouse and field (2001-02) conditions

شماره لاین Line No.	نام Name	Glasshouse گلخانه				مزرعه Field	
		آلوده‌سازی خاک گلدان Infected pot soil		غوطه‌ورسازی در سوسپانسون اسپور Immersing in spore suspension			
		درصدگیاهان مرده % Dead plants	واکنش Reaction	درصدگیاهان مرده % Dead plants	واکنش Reaction	درصدگیاهان مرده % Dead plants	واکنش Reaction
1	ILL52	1.8	R	10.0	R	3.67	HR
2	ILL325	75.0	S	67.4	S	97.00	HS
	ILL323*	74.7	S	61.8	S	-	-
3	ILL465	85.0	S	60.8	S	97.67	HS
4	ILL590	12.8	MR	15.3	MR	5.00	HR
5	ILL759	0.0	HR	15.8	MR	5.00	HR
6	ILL780	31.8	MS	50.2	S	97.00	HS
7	ILL857	51.8	S	71.8	S	81.67	HS
8	ILL975	57.8	S	74.3	S	60.00	MS
9	ILL1875	0.0	HR	15.8	MR	2.00	HR
10	ILL4400	47.5	MS	100.0	S	49.67	MS
11	ILL6002	32.5	MS	69.6	S	92.33	HS
12	ILL6030	45.8	MS	30.7	MS	34.33	MR
13	ILL7523	43.5	MS	73.8	S	12.67	R
14	ILL5468	61.4	S	69.0	S	80.00	S
15	ILL6212	42.6	MS	57.3	S	100.00	HS
16	ILL6206	0.0	HR	15.8	MR	8.33	R
	ILL6434*	2.0	R	16.3	MR	-	-
	SLL*	45.2	MS	31.0	MS	-	-
17	Cabralinta	2.0	R	15.8	MR	29.33	MR
18	FLIP95-15L	32.5	MS	43.0	MS	61.00	S
19	FLIP97-1L	0.0	HR	10.0	R	16.00	R
20	FLIP82-1L	0.0	HR	15.8	MR	22.00	MR
21	FLIP92-15L	70.5	S	69.6	S	100.00	HS
22	FLIP96-9L	61.7	S	80.3	S	60.00	S
23	FLIP92-12L	100.0	S	74.3	S	33.00	MR
24	FLIP96-4L	70.0	S	81.0	S	82.67	HS
25	ILL7946	63.5	S	100	S	99.33	HS
26	ILL6037	0.0	HR	15.8	MR	19.33	R
27	ILL7531	0.0	HR	10.0	R	14.67	R
28	Ghazvin	27.5	MS	74.3	S	77.67	S
29	Gachsaran	54.7	S	75.6	S	92.00	HS
30	Local check	55.0	S	77.5	S	51.67	MS

*: Lines added in following years

*: لاین‌هائی که در سال‌های بعد افزوده شدند

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



شکل ۱- دندروگرام لاین‌های پیشرفته عدس بر مبنای میانگین درصد گیاهان مرده در اثر آلودگی به بیماری پژمردگی فوزاریومی ناشی از *Fusarium oxysporum* f.sp. *lentis* در شرایط گلخانه و مزرعه

Fig. 1. Clustering of lentil promising lines based on mean percentage of dead plants to wilt disease caused by *Fusarium oxysporum* f.sp. *lentis* in the glasshouse and field conditions

تجزیه واریانس مرکب درصد گیاهان مرده لاین‌های پیشرفته عدس در برابر بیماری پژمردگی جدول ۲- در مزرعه آلوده در بیله سوار مغان در *Fusarium oxysporum* f.sp. *lentis* فوزاریومی ناشی از سال‌های ۸۳-۸۲ ۱۳

Table 2. Combined analysis of variance for percentage of dead plants of lentil promising lines to wilt disease caused by *Fusarium oxysporum* f.sp. *lentis* in the highly infected field in Bilehsavar,Moghan during 2003-04

S.O.V.	منبع تغییرات	df. درجه آزادی	MS میانگین مربعات
Year (Y)	سال	1	326.344*
Error	خطا	4	27.521
Line (L)	لاین	15	1306.227**
Y × L	اثر متقابل سال × لاین	15	101.544**
Error	خطا	60	9.721
C.V%	ضریب تغییرات		12.160

** و *: به ترتیب معنی‌دار در سطوح آماری ۱ درصد و ۵ درصد.

* and **: Significant at 5% and 1% of probability levels, respectively.

شدت آلودگی بیشتری از سال اول (با میانگین ۲۳/۷۹) داشته است (جدول ۳).

مقایسه میانگین لاین‌ها برای در صد تلفات در دو سال آزمایش به روش دانکن در سطح ۱٪ در جدول ۳ نشان داد لاین‌های ILL590، ILL6434 و ILL6037 با داشتن میانگین درصد تلفات به ترتیب ۱۵/۵، ۱۶/۳۳ و ۱۶/۶۷ و همچنین لاین‌های ILL52، ILL759، ILL7531 و FLIP97-1L با میانگین درصد تلفات به ترتیب ۹/۱۶۷، ۱۱/۶۷، ۱۴ و ۸/۳۳ در گروه لاین‌های مقاوم (R) قرار گرفتند (Kannayian,1974).مقایسه میانگین اثر سال× لاین نشان داد که این لاین‌ها در دوسال آزمایش با داشتن درصد گیاه مرده زیر ۲۰٪ مقاوم بوده‌اند (جدول ۳).

باتوجه به نتایج گلخانه‌ای و مزرعه‌ای در این سه سال (جدول‌های ۱ و ۳)، لاین‌های ILL590، ILL7531، ILL6037 و FLIP97-1L جهت بررسی صفات زراعی انتخاب شدند.

ارزیابی صفات مختلف لاین های منتخب در مزرعه آلوده

این آزمایش با توجه به ابعاد کرت‌ها در شرایطی نزدیک به شرایط کشاورزان انجام شد. رقم حساس محلی که به عنوان شاهد انتخاب شده بود درصد تلفات بالای ۴۰٪ از خود نشان داد و دانه‌های حاصل از بوته‌های آلوده به شدت چروکیده بودند، اما لاین‌های ILL590، ILL6037، ILL7531 و FLIP97-1L در این سال هم عکس‌العمل مقاومت از خود نشان دادند. نتایج نشان دادکه بین لاین‌ها از نظر میزان

جدول ۳- مقایسه میانگین درصد گیاهان مرده لاین‌های پیشرفته عدس در برابر بیماری پژمردگی فوزاریومی ناشی از *Fusarium oxysporum* f.sp. *lentis* در مزرعه آلوده در مدت دو سال (۸۳-۱۳۸۲)

Table 3. Mean comparison of percentage of dead plants of lentil promising lines to wilt disease caused by *Fusarium oxysporum* f.sp. *lentis* in the highly infected field for two years (2003-2004)

اثر لاین و سال Line and Year effects		واکنش سال * لاین Year $_X$ Line interaction	
تیمار	درصد گیاه مرده	تیمار	درصد گیاه مرده
Treatment	Percentage of dead plant	Treatment	Percentage of dead plant
Year		$Y_{1X}L_1$	11.67 hijk
First year(Y_1)	27.48 a	$Y_{1X}L_2$	11.67 hijk
Second year(Y_2)	23.79 a	$Y_{1X}L_3$	45.00 abcdef
Line		$Y_{1X}L_4$	18.33 ghijk
FLIP97-1L(L_1)	8.33 d	$Y_{1X}L_5$	56.67 ab
ILL7531(L_2)	9.167 d	$Y_{1X}L_6$	14.67 hijk
FLIP82-1L(L_3)	45.83 abc	$Y_{1X}L_7$	21.00 fghijk
ILL6037(L_4)	16.67 cd	$Y_{1X}L_8$	22.33 efghijk
Cabralinta(L_5)	49.17 ab	$Y_{1X}L_9$	13.33 hijk
ILL759(L_6)	14.00 d	$Y_{1X}L_{10}$	15.00 hijk
ILL1875(L_7)	20.17 bcd	$Y_{1X}L_{11}$	26.67 defjhijk
ILL6206(L_8)	22.00 bcd	$Y_{1X}L_{12}$	30.00 cdefjhijk
ILL52(L_9)	11.67 d	$Y_{1X}L_{13}$	33.33 abcdefghi
ILL590(L_{10})	15.50 cd	$Y_{1X}L_{14}$	48.33 abcd
ILL7532(L_{11})	29.17 abcd	$Y_{1X}L_{15}$	58.33 a
FLIP95-15L(L_{12})	33.33 abcd	$Y_{1X}L_{16}$	13.33 hijk
ILL6030(L_{13})	27.17 abcd	$Y_{2X}L_1$	5.00 k
SLL(L_{14})	35.83 abcd	$Y_{2X}L_2$	5.667 jk
ILL323(L_{15})	55.83 a	$Y_{2X}L_3$	46.67 abcde
ILL6434(L_{16})	16.33 cd	$Y_{2X}L_4$	15.00 hijk
		$Y_{2X}L_5$	41.687 abcdehfg
		$Y_{2X}L_6$	13.33 hijk
		$Y_{2X}L_7$	19.33 fghijk
		$Y_{2X}L_8$	21.67 efghijk
		$Y_{2X}L_9$	10.00 ijk
		$Y_{2X}L_{10}$	16.00 ghijk
		$Y_{2X}L_{11}$	31.67 bcdefghij
		$Y_{2X}L_{12}$	36.67 abcdefgh
		$Y_{2X}L_{13}$	21.00 fghijk
		$Y_{2X}L_{14}$	23.33 defghijk
		$Y_{2X}L_{15}$	53.33 abc
		$Y_{2X}L_{16}$	19.33 fghijk

میانگین‌های هر منبع تغییر که دارای حداقل یک حرف مشترک در هر ستون هستند اختلاف معنی‌دار در سطح آماری ۱٪ ندارند.

Means in each column having at least a common letter are not significantly different at 1% level of probability.

عملکرد محصول اختلاف معنی‌داری در سطح ۵٪ وجود دارد (جدول تجزیه واریانس ارائه نشده است).

مقایسه میانگین با روش دانکن انجام شد (جدول ۴). از نظر تعداد روزتا رسیدگی، تعداد روز لازم برای شروع گلدهی و درصد سبز بین لاین‌های آزمایشی و رقم محلی اختلاف معنی‌داری وجود نداشت. وزن صد دانه رقم محلی به شدت تحت تاثیر بیماری قرار گرفت و در مقایسه با وزن صد دانه آن در شرایط بدون بیماری (حدود ۵ گرم)، کاهش عمده‌ای را نشان داد.لاین‌های ILL7531 و LL6037 از نظر میزان عملکرد بالاتر از بقیه قرار گرفته و درشت دانه‌تر بودند.

در روش‌های به کاررفته برای ارزیابی مقاومت نسبت به بیماری، تعداد کمی از لاین‌ها عکس‌العمل‌های متفاوتی را نشان دادند، به عنوان مثال لاین FLIP 92-12L (شماره ۱۳ در شکل ۱) در مزرعه نیمه مقاوم و در گلخانه حساس بود. این اختلاف می‌تواند علاوه بر شرایط محیطی و میزان مایه اولیه قارچ، ناشی از ساختار ژنتیکی گیاه نیز باشد.عدم انطباق نتایج مزرعه‌ای و گلخانه‌ای دراین پاتوسیستم قبلاً گزارش شده و دلیل آن عدم کنترل کامل شرایط در مزرعه و احتمال دخالت سایر عوامل بیولوژیکی عنوان شده است (Omar *et al.*,1988). با توجه به این موضوع برای گزینش لاین‌ها به ویژه لاین‌های پیشرفته که در حال معرفی هستند ارزیابی گلخانه‌ای ضرورت دارد. محاسبه میزان همبستگی سه روش نشان داد که بین دو روش گلخانه‌ای و مزرعه‌ای همبستگی متوسطی (۵۷/۱٪ و ۵۰/۱ ٪ به ترتیب برای روش آلوده‌سازی خاک و غوطه‌ورسازی گیاهچه ریشه بریده در سوسپانسیون اسپور) در سطح احتمال کمتر از ۱٪ وجود دارد که همبستگی ضعیفی است (نتایج ارائه نشده) و با توجه این میزان همبستگی، گزینش لاین‌ها نباید تنها بر اساس نتایج گلخانه‌ای و یا مزرعه‌ای باشد ولازم است ارزیابی در هر دو شرایط انجام شود.

در روش غوطه‌ورسازی در سوسپانسیون اسپور، هیچ رقمی از آلودگی مصون نبود (عکس‌العمل HR وجود نداشت) و لاین‌ها درهر صورت علایمی از آلودگی را نشان دادند، به طوری که کمترین درصد تلفات، یعنی ۱۰٪ برای لاین‌های FLIP97-1L، ILL52 و ILL7531 مشاهده شد. در این روش، گیاه با نفوذ عامل بیماری در آوندهای چوبی، آلوده شده و موانع مقاومتی قبل از رخنه شامل موانع فیزیکی و بیولوژیکی (Vidhyasekaran, 1988) حذف می‌شوند وتنها موانع و عوامل بازدارنده پس از رخنه باقی می‌مانند که بایستی در برابرعامل بیماری فعال باشد. درصدهای بالای مرگ و میر مشاهده شده در این روش، با این وصف قابل تفسیر هستند. برای ژنوتیپ‌های ILL6212، FLIP97-1L، Ghazvin، Ghachsaran و ILL6002 درصدهای آلودگی

جدول ۴- مقایسه میانگین عملکرد و ویژگی‌های مهم زراعی چهار لاین مقاوم به بیماری پژمردگی فوزاریومی ناشی از *Fusarim oxysporum* f.sp. *lentis* در مقایسه با رقم محلی در مزرعه آلوده در سال ۱۳۸۵

Table 4. Comparison of means of seed yield and some important agronomic traits of four resistant lines to *Fusarium oxysporum* f.sp. lentis and local check in infected field in 2006

لاین Line	درصد سبز ST	تعداد روز تا گلدهی DF	تعداد روز تا رسیدگی DM	واکنش به بیماری Reaction to the disease	وزن صد دانه برحسب گرم 100 SW (g)	عملکرد Yield ($Kgha^{-1}$)	درصد عملکرد نسبت به شاهد %Check
FLIP97-1L	Very good	128	151	R	4.5	455.5 ab	154
ILL7531	Very good	127	153	R	5.5	564.8 a	191
ILL6037	Very good	126	154	R	5.0	479.3 ab	162
ILL590	Very good	128	150	R	4.3	385.0 bc	130
LOCAL	Very good	126	152	MS	3.6	295.0 c	100

میانگین‌های هر منبع تغییر که دارای حداقل یک حرف مشترک در هر ستون هستند اختلاف معنی‌دار در سطح آماری ۵٪ ندارند.

Means in each column having at least a common letter are not significantly different at 5% level of probability.

ST: Stand; DF: Days for flowering; DM: Days to maturity; 100SW: 100 seed weight ;R: Resistant; MS: Moderately Susceptible.

مشاهده شده در مزرعه بیشتر از روش آلوده‌سازی خاک گلدان بود. علاوه بر عدس، در گیاهانی مانند شبدر و باقلا نیز مشاهده شده است که مایه‌زنی و آلوده‌سازی با مخلوط قارچ‌ها در مزرعه اثر بیشتری روی گیاه در مقایسه با آلوده‌سازی با تک تک قارچ‌ها یا نژادهای قارچ در گلخانه دارد (Omar, 1978؛ Abde-el-kader, 1977؛ Abu-Blam, 1983).

علاوه بر این، اثر عوامل محیطی نیز بایستی در نظر گرفته شود (Pandya *et al.*,1980). همان طور که ذکر شد علایم مشاهده شده در محصول عدس منطقه اغلب علایم واضح پژمردگی حاصل از اثر *Fusaruim oxysporum* بود اما قبل از انجام آزمایش‌ها برای مقاومت لازم است در خصوص جمعیت هر یک از عوامل بیماریزا در خاک‌های آلوده منطقه بررسی جامع‌تری انجام شود.

نتایج ارزیابی‌های گلخانه‌ای و سه سال مزرعه‌ای منجر به انتخاب لاین‌های ILL7531، ILL6037، ILL590 و FLIP97-1L شد که در هردو شرایط، مقاومت قابل قبولی از خود نشان دادند . این روش انتخاب لاین مقاوم قبلاً توسط پرادهانانگ و همکاران(Pradhanang *et al.*, 1993) و عمر و همکاران (Omar *et al.*, 1988) گزارش شده است.لاین‌های ILL52، FLIP97-1L و ILL7531 علاوه بر مقاومت در شرایط مزرعه، در شرایط گلخانه تلفات مساوی یا کمتر از ۱۰٪ را داشتند و مناسب برای بهره‌برداری‌های به‌نژادی به عنوان منبع مقاومت هستند ایران از نظر سطح زیر کشت عدس بعد از

هند، ترکیه و کانادا ، رتبه چهارم در جهان را دارد اما با متوسط ۴۵۷ کیلوگرم پایین‌ترین عملکرد در واحد سطح را دارد (Sabaghpour *et al*., 2004). عوامل مختلفی در پایین بودن عملکرد گیاه عدس مؤثر هستند.. قرار گرفتن این گیاه در زراعت دیم و وجود شرایط متغیر محیطی سبب شده است که همواره عملکرد آن ناچیز و ناپایدار باشد، از طرفی کشت مداوم ارقام با عملکرد پایین و واکنش ضعیف نسبت به نهاده‌ها و دامنه سازگاری اندک، همچنین عدم ثبات عملکرد و حساسیت نسبت به تنش‌های زنده و غیر زنده را می‌توان از مهم‌ترین عوامل پائین بودن عملکرد این محصول به حساب آورد (Koocheki and Bannayan Aval., 1993). با کاشت ارقام پر محصول و مقاوم به تنش‌های زیستی می‌توان به میزان قابل توجهی عملکرد دانه در واحد سطح را افزایش داد. استفاده از صفات زراعی عدس به عنوان مکملی در توصیه رقم مقاوم و مناسب قبلاً گزارش شده است (Pandya *et al*., 1980). عملکرد بالا و درشتی دانه صفت‌های اساسی برای بازارپسندی منطقه به شمار می‌آیند. در این آزمایش، لاین‌ها هم از نظر مقاومت به مهم‌ترین عامل بیماری منطقه و هم از نظر دامنه سازگاری به محیط ارزیابی شدند، با توجه به نتایج ارزیابی‌ها، دو لاین ILL 6037 و ILL7531 برای کشت در منطقه توصیه می‌شوند.

با توجه به عدم وجود تنوع بیماریزایی در این عامل بیماریزا (Belabid *et al*., 2004؛ Bayaa *et al*., 1997؛ Erksin and Bayaa, 1996) لاین‌های مذکور به شرط سازگاری با شرایط محیطی، قابل توصیه برای کشت در سایر مناطق آلوده نیز هستند.

سپاسگزاری

به این وسیله از همکاری مسئولین جهاد کشاورزی بیله سوار مغان، به ویژه آقایان مهندس محمود علایی و مهندس سامان کاظم‌زاده به خاطر مساعدت‌های فراوان در سال‌های اجرای تحقیق تشکر و قدردانی می‌شود.

References

Abde-el-kader, M. A. M. 1977. Studies on some diseases of lentil .M.Sc. Thesis. Faculty of Agriculture, Assiut University, Egypt.

Abu-Blan, H. A. 1983. Sources and mechanism of resistance to chocolate spot and rust in *Vicia faba* L. Ph.D. Thesis. University of London, UK.

Bayaa, B., Erskine, W., and Singh, M. 1997. Screening lentil for resistance to Fusarium wilt: Methodology and Source of Resistance. Euphytica 98: 69-74.

Belabid,L., Baum,M., Fortas,Z., Bouzand,Z., and Imad, E. 2004. Pathogenic and

genetic characterization of Algerian isolates of *Fusarium oxysporum* f.sp. *lentis* by RAPD and AFLP analysis. African Journal of Biotechnology 3: 25-31.

Bojdova, J., and Sinsky, T. 1990. Specious spectrum of the Fusarium genus on lentil in Czechoslovakia. Lens Newsletter17: 29-30.

Booth, C. 1977. Fusarium-Laboratory Guide to the Identification of the Major Species. Commonwealth Mycological Institute, Kew, Surrey, England.

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

Erskine,W., and Bayaa, B. 1996. Yield loss, incidence and inoculum density associated with vascular wilt of lentil. Phytopathology Mediterranen 36: 24-32.

Kannaiyan, Y. 1974. Studies on the control of lentil wilt. Ph.D Thesis, G. B. Pant University of Agriculture and Technology, Pantager, India.

Kannaiyan, Y., and Nene, Y. L. 1976. Reaction of lentil germplasm and cultivars against three root pathogens. Indian Journal of Agricultural Science 46: 165-167.

Kannaiyan, J., and Nene, Y. L. 1978. Strains of *Fusarium oxysporum* f.sp.lentis and their pathogenicity on some lentil lines. Lens Newsletters 5: 8-10.

Khare, M. N., Agrawal, S. C., Dhingra, O. D., and Kushaha, L. S. 1975. Variability in the growth of eight strains of *Fusarium oxysporum* f.sp.*lentis* on different solid media. Indian Phytopathology 28: 126-128.

Khare, M. N., Agrawal, S. C., and Yain, A. C. 1979. Diseases of Lentil and Their Control. Technical Bulletin. Jabalpur,India: Jawaherlal Nehru Krishi Vishwa Vidyalaya. 200 pp.

Koocheki, A., and Bannayan Aval, M. 1993. Pulse Crops. Jihad-e-Daneshgahi of Mashhad University Publications, Mashhad, Iran. 236pp. (in Farsi).

Nelson, P. E., Toussoun, T. A., and Cook, R. J. 1981. Fusarium : Disease, Biology and Taxonomy. The Pennsylvania State University Press, Press Park and London.

Omar, S. A. M. 1978. Studies on root-rot and damping-off disease of clover. MSc. Thesis. Faculty of Agriculture, Al-Azhar University, Egypt.

Omar, S. A. M., Salem, D. E,. and Rizk, M. A. 1988. Sources of resistance to root-rot wilt disease complex of lentil. Lens Newsletter15:37.

Pandya, B. P., Pandey, M. P., and Singh, J. P. 1980. Development of Pant-406 lentil, resistant to rust and wilt. Lens, Lentil Experimental News Service 7: 34.

Pradhanang, P. M., Pandey, R. R., and Ghimire, S. R. 1993. Response of different lentil varieties to wilt (*Fusarium* spp.). Lens Newsletter 20: 62.

Sabaghpour, S. H., Safikhani, M., Sarker, A., Gaffari, A., and Ketata, H. 2004. Present status and future prospects of lentil cultivation in Iran. Proceedings of the 5th European Conference on Grain Legumes. 7-11 June, Dijon, France.

Sarami, H. 1998. Ecology and Taxonomy of Fusarium Species. Jihad-e-Daneshgahi of Mashhad University, Mashhad, Iran. 132 pp. (in Farsi).

Vidhyasekaran, P. 1988. Physiology of Disease Resistance in Plants.Volume 1. CRC Press Inc., Florida. 149 pp.

Windels,C. E. 1992. Fusarium.pp.115-128.In:Singleton,J.D., Mihail, J. D., and Rush, C. M. (eds.). Methods for Research on Soilborne Phytopathogenic Fungi. APS Press. St. Paul, Minnesota, USA.