

بررسی مقاومت ژنوتیپ‌های باقلا به بیماری لکه‌شکلانی (*Botrytis fabae* Sard.) در منطقه گرگان

فاطمه شیخ^۱ و حمید دهقانی^{۲*}

۱ و ۲- به ترتیب، دانشجوی دکتری و دانشیار گروه اصلاح نباتات، دانشکده کشاورزی دانشگاه تربیت مدرس

تهران، ایران، صندوق پستی ۳۳۶-۱۴۱۱۵

تاریخ دریافت: ۱۳۹۱/۱۱/۱۵

تاریخ پذیرش: ۱۳۹۳/۰۲/۲۵

چکیده

بیماری‌های قارچی نظیر بیماری لکه‌شکلانی (*Botrytis fabae* sard) یکی از مهم‌ترین بیماری‌های گیاه باقلا (*Vicia faba* L.) در مناطق مرطوب می‌باشد که منجر به کاهش عملکرد باقلا می‌شود. این تحقیق با هدف بررسی مقاومت مزرعه‌ای ژنوتیپ‌های باقلا شامل ۳۵ لاین به همراه رقم شاهد حساس ILB 365 و شاهد محلی (برکت) در برابر بیماری لکه‌شکلانی در ایستگاه تحقیقات کشاورزی گرگان انجام شد. نتایج تجزیه واریانس حاکی از اختلاف ژنوتیپ‌ها از نظر عملکرد، اجزای عملکرد و صفات مرتبط با مقاومت به بیماری در سطح احتمال یک درصد بود. بالاترین عملکرد دانه، ارتفاع بوته و وزن ۱۰۰ دانه به رقم برکت تعلق داشت و ژنوتیپ‌های FLIP03-58FB، FLIP03-35FB و FLIP03-33FB در رتبه‌های بعد قرار گرفتند. به منظور بررسی واکنش ارقام نسبت به لکه‌شکلانی، میزان وقوع و شدت بیماری در فاصله‌های زمانی مشخص از ظهور علائم پیشرفت بیماری تا زمان برداشت اندازه‌گیری و بر این اساس، منحنی پیشرفت بیماری رسم و با استفاده از آن، متغیرهای AUDPC، rAUDPC و SAUDPC محاسبه شدند. با توجه به نتایج حاصل از تجزیه واریانس، مقایسه میانگین و تجزیه کلاستر بر اساس مقادیر AUDPC و rAUDPC، تفاوت معنی‌داری بین ژنوتیپ‌های مورد بررسی و عکس‌العمل آن‌ها نسبت به بیماری وجود داشت. ژنوتیپ‌های ILB 365، FLIP03-57FB، FLIP03-43FB و FLIP03-59FB حساس و ژنوتیپ‌های Icarus، FLIP03-29FB، FLIP03-30FB، FLIP03-34FB و FLIP03-52FB با دارا بودن کمترین مقادیر AUDPC مقاوم تشخیص داده شدند.

واژه‌های کلیدی: تجزیه کلاستر، سطح زیر منحنی پیشرفت بیماری (AUDPC)، شدت بیماری، عملکرد

مقدمه

این بیماری در ارقام حساس به ۶۰ تا ۸۰ درصد می‌رسد (Bouhassan *et al.*, 2004). بیماری لکه‌شکلانی نخستین بار توسط Berkely (1983) گزارش شد. این بیماری طی سال‌های ۹۸-۱۹۹۷ در جنوب استرالیا حالت همه‌گیر پیدا کرد و به دنبال آن سطح زیرکشت باقلا کاهش یافت (Paul & White, 2004). در سال ۲۰۰۵، این بیماری از ۳۶ کشور دنیا گزارش شده است، ولی بیشتر در مناطق مرطوب دنیا نظیر اروپا و کشورهای حوزه مدیترانه، دارای اهمیت می‌باشد (Jamali, 2009) و در ایران از استان‌های شمالی و استان خوزستان گزارش شده است (Aghajani *et al.*, 2009).

علائم لکه‌شکلانی به صورت لکه‌های گرد و بیضی‌شکل متمایل به رنگ قرمز و شکلاتی، به صورت منفرد، فراوان و با قطری کمتر از یک میلی‌متر قابل مشاهده روی پهنک برگ بوده که در شرایط مساعد، روی ساقه‌ها و گل‌ها نیز دیده می‌شود و در شدت‌های بالاتر بیماری، نشانه‌های بیماری روی غلاف و بذر مشاهده می‌شوند (MacLeod & Sweetingham, 1999; Tivoli *et al.*, 2006)

باقلا (*Vicia faba* L.) متعلق به تیره بقولات است. گیاه باقلا با داشتن ۲۵ تا ۳۸ درصد پروتئین همانند سایر حبوبات دارای ارزش غذایی بالایی است (Jelenic *et al.*, 2000). باقلا با توجه به داشتن توانایی تثبیت نیتروژن دارای اثر تناوبی بسیار خوبی بوده (Dahmarde *et al.*, 2010) و باعث تقویت و حاصلخیزی شیمیایی و بیولوژیکی خاک می‌گردد. لکه‌شکلانی یکی از مهم‌ترین بیماری‌های باقلا در سراسر دنیا محسوب می‌شود که در اکثر مناطق کشت این محصول در دنیا دیده شده است. قارچ عامل این بیماری *Botrytis fabae* از خانواده اسکروتیناسه (Sclerotiniaceae) و شاخه آسکومیست (Ascomycota, Fungi) می‌باشد (Staats *et al.*, 2012) و از طریق خسارت به برگ و کاهش فتوسنتز، عملکرد جهانی باقلا را کاهش می‌دهد (Torres *et al.*, 2003). درصد خسارت

* نویسنده مسئول: تلفن: ۰۲۱-۴۸۲۹۲۰۴۰، همراه: ۰۹۱۲۵۱۴۴۸۲۰
dehghanr@modares.ac.ir

به لکه‌شکل‌تای شناسایی شدند (Juan, 1993). در ارزیابی مقاومت ۱۸ باقلا نسبت به بیماری لکه‌شکل‌تای، لاین‌های ILB 2026-A، ILB 4726 و ILB 5322 نسبت به بیماری لکه‌شکل‌تای مقاوم بودند (Sarparast, 2008). در مصر، مقاومت ۴۰۰۰ لاین نسبت به این بیماری ارزیابی گردید و مشاهده شد که ۳۰ لاین با مقاومت متوسط وجود داشت که آلودگی آنها کمتر از ۱۰ درصد بود. در صورتی که در رقم محلی حساس Roba Ya40 (ILB365) حدود ۹۲ درصد آلودگی مشاهده شد (Jamali, 2009). ترسیم منحنی پیشرفت بیماری و محاسبه سطح زیر منحنی (AUDPC^۱) و مقایسه ارقام بر این اساس، از روش‌های بررسی مقاومت ارقام می‌باشد (Rossi, 1999). کاربرد AUDPC در مقایسه ژنوتیپ‌ها به دلیل این که یک معیار کمی از کل مقاومت بوده و تمام مؤلفه‌های مقاومت نظیر فراوانی آلودگی، زمان ظهور آلودگی، دوره زمانی آلودگی و مقدار اسپورزایی را مشخص می‌سازد، مورد تأکید است (Milus & Line, 1986). ژنوتیپ‌های دارای AUDPC، sAUDPC و rAUDPC کمتر، از مقاومت پایدارتری برخوردارند. AUDPC ابزار کارآمدی در تمایز واکنش ارقام نسبت به بیماری می‌باشد (Singh & Rao, 1989). هدف از تحقیق حاضر شناسایی منابع جدید مقاومت به بیماری لکه‌شکل‌تای دارای صفات مطلوب زراعی در بین مواد دریافتی از ایکاردا (ICARDA^۲) بود تا لاین جدید را بتوان در برنامه‌های اصلاحی آینده استفاده نمود.

مواد و روش‌ها

در این تحقیق ۳۵ ژنوتیپ به همراه شاهد حساس لاین ILB365 (Rhaiemi et al., 2002) و شاهد محلی رقم برکت، جمعاً ۳۷ ژنوتیپ و رقم (جدول ۱) در سال زراعی ۹۰-۱۳۸۹ در ایستگاه تحقیقات کشاورزی گرگان ارزیابی شدند. مواد ژنتیکی مورد بررسی از مؤسسه اصلاح و تهیه نهال و بذر تأمین شد. هر ژنوتیپ در دو خط دومتری (۲۰ بوته در خط) در قالب طرح بلوک‌های کامل تصادفی در سه تکرار کشت شد. جهت کمک به گسترش و توزیع یکنواخت بیماری در خزانه ارزیابی بیماری، بعد از هر چهار خط، دو خط ژنوتیپ حساس کشت گردید (Tivoli et al., 2006). ضمناً، بهترین نتیجه زمانی حاصل می‌گردد که آلودگی مصنوعی در روزهای ابری یا هنگام غروب آفتاب در مزرعه انجام شود.

در اردیبهشت‌ماه سال ۱۳۸۹، برگ‌های آلوده به بیماری لکه‌شکل‌تای جمع‌آوری و با هیپوکلرید سدیم ۵ درصد ضدعفونی

محیطی، از سالی به سال دیگر متغیر می‌باشد. رطوبت نسبی ۷۰ درصد، دامنه دمایی ۱۵ تا ۲۲ درجه سانتی‌گراد، پاتوژن بیماری‌زا، حساسیت رقم، تراکم زادمایه، سن گیاه و نوع عملیات زراعی از عوامل مؤثر در توسعه بیماری محسوب می‌شوند (Sahile et al., 2008). تناوب زراعی، تنظیم تاریخ کاشت، زهکشی مناسب، استفاده از پتاس و قارچ‌کش، شیوع بیماری را کاهش می‌دهد (Liang, 1996). کنترل بیماری لکه‌شکل‌تای از طریق بذر عاری از بیماری، استفاده از قارچ‌کش (مانکوزب و کاربندازیم)، اقدامات زراعی و استفاده از ارقام متحمل، امکان‌پذیر است (Stoddard et al., 2010; Hawthorne, 2004). تغییر تاریخ کاشت، تناوب، شخم زدن، سوزاندن بقایای محصول، کاهش تراکم بوته و کشت مخلوط از عوامل به‌زراعی مؤثر در کاهش شدت بیماری محسوب می‌شوند (Fininsa & Yuen, 2002) با توجه به نسبی بودن کنترل بیماری از طریق مبارزه شیمیایی (Bouhassan et al., 2004)، افزایش هزینه‌های تولید در واحد سطح و آسیب به محیط‌زیست، استفاده از ارقام مقاوم، ارزان‌ترین و بهترین روش کنترل بیماری لکه‌شکل‌تای می‌باشد (Makkouk & Hanounik, 1993). مقاومت به لکه‌شکل‌تای یک صفت کمی است و منابع مقاومت اغلب منشأ یکسانی دارند. پایداری ژنوتیپ‌های مقاوم در چند کشور اثبات شده است؛ با وجود این، اصلاح‌گران باقلا نباید به یک منبع مقاومت تکیه کنند، تا تولید باقلا تثبیت گردد (Rhaiemi et al., 2002). نتایج برخی از آزمایشات نشان داده است که بیماری‌زایی جدایه‌های مختلف *B. fabae* روی لاین‌های مختلف باقلا متفاوت می‌باشد (Hosni et al., 1981). بررسی ۱۹ لاین مقاوم باقلا در سوریه، انگلیس، مصر و نیوزیلند نسبت به سه ایزوله قارچ عامل بیماری لکه‌شکل‌تای نشان داد که لاین‌های BPL710، BPL1169 و BPL1179-1 دارای مقاومت پایدار و افقی بوده و لاین‌های BPL1763، BPL1821 و ILB1814 مقاومت عمودی دارند (Maliha, 1986 & Hanounik).

در آزمایشی (Kamel & Malila 1990) اظهار کردند که ۹۱ درصد از مزارع باقلا حداقل به یکی از سه بیماری شایع (لکه‌شکل‌تای، برق‌زدگی و زنگ) آلوده شده‌اند که مهم‌ترین بیماری، لکه‌شکل‌تای بوده است. در ایکاردا ۲۵۳ ژنوتیپ باقلا که از کلمبیا منشأ گرفته بودند، جهت شناسایی منابع مقاومت طی دو سال ارزیابی شدند. در سال اول، ۵۳ ژنوتیپ مقاومت نشان دادند؛ در حالی که در سال دوم ۱۴ ژنوتیپ مقاوم شناسایی شدند و ۳۹ ژنوتیپ حساس بودند (Jamali, 2009). در ارزیابی بیماری لکه‌شکل‌تای، ۹۰۰ لاین باقلا که ۵۰۰ لاین آن به استان جی‌جیانگ ژاپن و مابقی به ایکاردا تعلق داشت، ۱۴ لاین مقاوم

¹ Area Under the Disease-Progress Curve

² International Center for Agricultural Research in the Dry Areas

پس از نگهداری کشت‌های قارچی در انکوباتور با دمای ۲۵ درجه سانتی‌گراد، بررسی میکروسکوپی جدایه‌های به‌دست‌آمده انجام شد. خالص‌سازی بر اساس روش تک‌اسپور و شناسایی گونه قارچ با استفاده از کلیدهای قارچ‌شناسی انجام شد.

سطحی شدند. سپس قطعه‌های ضد عفونی‌شده سه تا چهار بار در آب مقطر استریل شستشو داده شدند تا اثر محلول ضد عفونی‌کننده برطرف گردد. سپس قطعه‌ها در کاغذ صافی استریل، آگیری شدند و در محیط PDA کشت شدند (به تعداد چهار قطعه در هر پلیت محتوی محیط کشت). دو تا سه روز

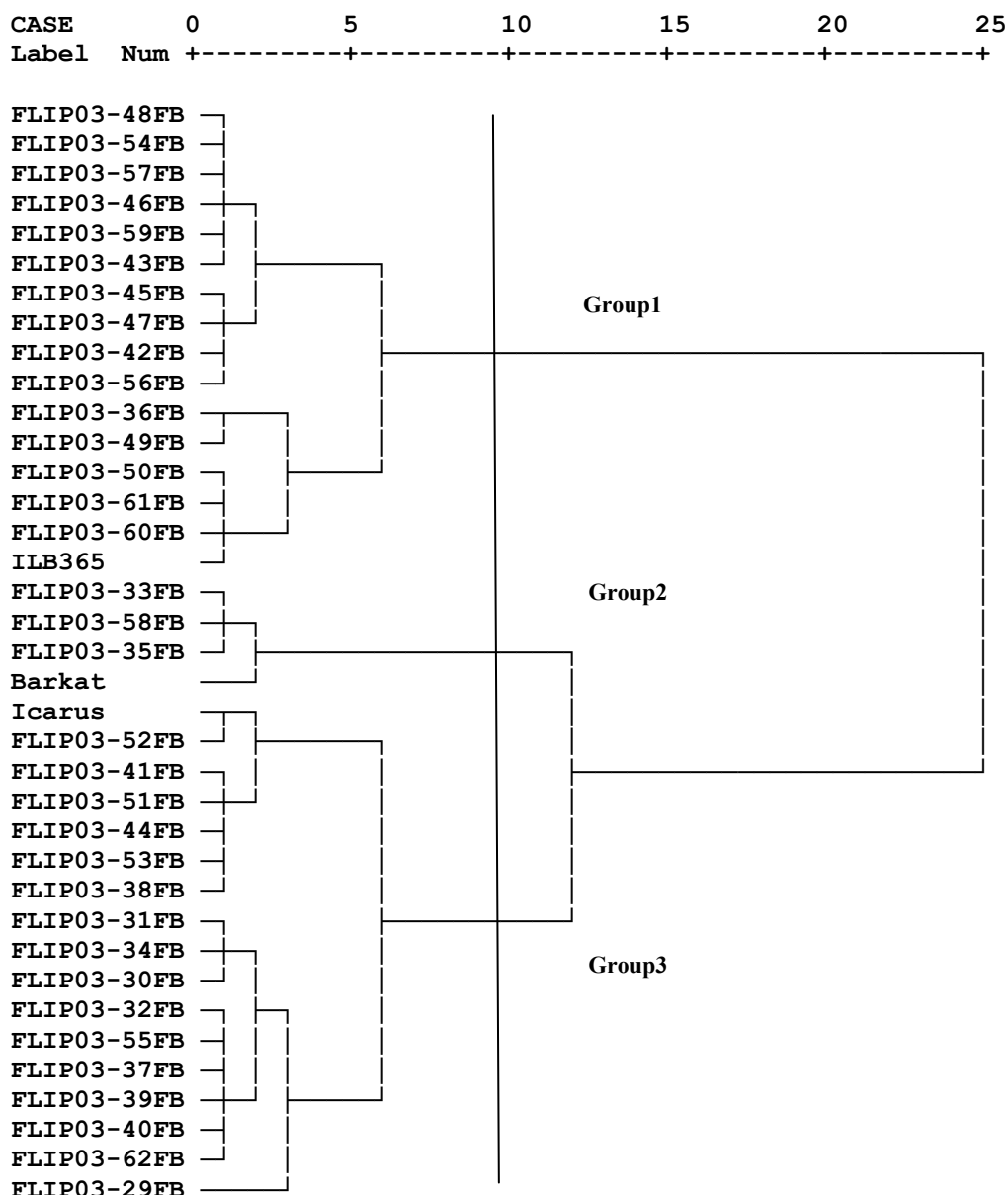
جدول ۱- نام، منشأ و شجره ژنوتیپ‌های باقلا در ارزیابی برای مقاومت به بیماری لکه‌شکلانی

Table 1. Names, pedigree and origin of faba bean genotypes for evaluation of chocolate spot disease resistance

Case No. ردیف	Entry name نام	Pedigree شجره	Origin منشأ	F.A.O. status*
1	ICARUS	BPL710	ICARDA	U
2	FLIP03-29FB	F6/1437/03-2/HBP/Bot×Bot/Fam657-1	Ecuador	D
3	FLIP03-30FB	F6/1438/03-1/HBP/Bot×Bot/Fam657-2	ICARDA	U
4	FLIP03-31FB	F6/1438/03-2/HBP/Bot×Bot/Fam657-2	ICARDA	U
5	FLIP03-32FB	F6/1441/03-1/HBP/Bot×Bot/Fam657-3	ICARDA	U
6	FLIP03-33FB	F6/1441/03-2/HBP/Bot×Bot/Fam657-3	ICARDA	U
7	FLIP03-34FB	F6/1443/03/HBP/Bot×Bot/Fam665-2	ICARDA	U
8	FLIP03-35FB	F6/1444/03-/HBP/Bot×Bot/Fam665-3	ICARDA	U
9	FLIP03-36FB	F6/1454/03/HBP/Bot×Bot/Fam675-3	ICARDA	U
10	FLIP03-37FB	F6/1457/03/HBP/Bot×Bot/Fam675-7	ICARDA	U
11	FLIP03-38FB	F6/1462/03/HBP/Bot×Bot/Fam676-7	ICARDA	U
12	FLIP03-39FB	F6/1551/03/HBP/Bot×Bot/Fam712-2	ICARDA	U
13	FLIP03-40FB	F6/1585/03/HBP/Bot×Ascot/Fam734-5	ICARDA	U
14	FLIP03-41FB	F6/1589/03/HBP/Bot×Ascot/Fam734-9	ICARDA	U
15	FLIP03-42FB	F6/1590/03/HBP/Bot×Ascot/Fam734-1	ICARDA	U
16	FLIP03-43FB	F6/1591/03/HBP/Bot×Ascot/Fam734-3	ICARDA	U
17	FLIP03-44FB	F6/1593/03/HBP/Bot×Ascot/Fam734-7	ICARDA	U
18	FLIP03-45FB	F6/1594/03/HBP/Bot×Ascot/Fam735-1	Egypt	D
19	FLIP03-46FB	F6/1597/03-1/HBP/Bot×Ascot/Fam735-2	ICARDA	U
20	FLIP03-47FB	F6/1597/03-2/HBP/Bot×Ascot/Fam735-2	ICARDA	U
21	FLIP03-48FB	F6/1598/03-2/HBP/Bot×Ascot/Fam735-3	ICARDA	U
22	FLIP03-49FB	F6/1605/03-1/HBP/Bot×Ascot/Fam736-8	ICARDA	U
23	FLIP03-50FB	F6/1605/03-2/HBP/Bot×Ascot/Fam736-8	ICARDA	U
24	FLIP03-51FB	F6/1621/03/HBP/Bot×Ascot/Fam739-2	ICARDA	U
25	FLIP03-52FB	F6/1606/03-2/HBP/Bot×Ascot/Fam737-2	ICARDA	U
26	FLIP03-53FB	F6/1492/03/HBP/Bot×Bot/Fam688-3	ICARDA	U
27	FLIP03-54FB	F6/1549/03/HBP/Bot×Bot/Fam716-1	ICARDA	U
28	FLIP03-55FB	F6/1603/03/HBP/Bot×Ascot/Fam736-1	Egypt	D
29	FLIP03-56FB	F6/1606/03-1/HBP/Bot×Ascot/Fam737-1	ICARDA	U
30	FLIP03-57FB	F6/1748/03-1/HBP/C.Spot×Ascot×Oro/775-2	ICARDA	U
31	FLIP03-58FB	F6/1603/03/HBP/Bot×Ascot/Fam736-1	ICARDA	U
32	FLIP03-59FB	F6/1749/03-2/HBP/C.Spot×Ascot×Oro/775-3	ICARDA	U
33	FLIP03-60FB	F6/1765/03/HBP/C.Spot×Ascot×Oro/776-1	ICARDA	U
34	FLIP03-61FB	F6/1767/03/HBP/C.Spot×Ascot×Oro/776-3	ICARDA	U
35	FLIP03-62FB	F6/1796/03/HBP/C.Spot×Ascot×Oro/784-1	ICARDA	U
36	Local Check (Barkat)	ILB1269	ICARDA	U
37	RobaYa40	ILB365	Egypt	D

D: Designated; U: Undesignated

در این کلیدها، با استفاده از ویژگی‌های ریخت‌شناسی میکروسکوپی قارچ نظیر ابعاد و تعداد دیواره‌های عرضی کنیدی‌ها، اقدام به تعیین گونه قارچ شد (Barnett & Hunter, 1998). سپس، اسپورها به محیط کشت PDA منتقل شدند و درب لوله‌ها با پارافین بسته شد و تا بهمن‌ماه در یخچال در دمای ۴ درجه سانتی‌گراد نگهداری شدند. به‌منظور تهیه زادمایه، اسپورها در محیط کشت PDB کشت شده و جهت تکثیر اسپور، ظروف حاوی سوسپانسیون در معرض نور متناوب (۱۲ ساعت نور فلورسنت ۴۰ وات و ۱۲ ساعت تاریکی) به‌مدت سه‌روز قرار گرفتند و سپس به‌مدت ۹ روز در تاریکی قرار داده شدند. بعد از این مدت، سوسپانسیون اسپورها با غلظت ۱۰^۶ اسپور در میلی‌لیتر تهیه شد و بعد از غروب آفتاب روی گیاهانی که ۱۲ هفته قبل کشت شده بودند، به‌میزان ۲۰ میلی‌لیتر در بوته اسپری شدند (Tivoli *et al.*, 2006).



شکل ۱- دندروگرام ژنوتیپ‌های باقلا بر اساس عملکرد، اجزای عملکرد و صفات مرتبط با مقاومت به بیماری بر اساس روش وارد و معیار فاصله توان دوم اقلیدسی

Fig. 1. Dendrogram generated by cluster analysis (Ward) based on yield, yield component and related traits to disease resistance

می‌شود (حساس)؛ نمره ۹، زخم‌های خیلی بزرگ و ریزش برگ بسیار گسترده است (خیلی حساس).
سپس مقادیر سطح زیر منحنی پیشرفت بیماری (AUDPC^۱)، سطح زیر منحنی استاندارد شده پیشرفت بیماری AUDPC و مقدار نسبی سطح زیر منحنی پیشرفت بیماری rAUDPC به صورت زیر به دست آمد:

علایم بیماری سه هفته بعد از مایه زنی، یادداشت برداری شدند و بر اساس حساسیت و تحمل نسبت به بیماری، نمره دهی بر اساس مقیاس ۹ درجه‌ای (Tivoli *et al.*, 2006) انجام شد: نمره ۱، زخم‌ها قابل مشاهده نیستند (مقاومت بالا)؛ نمره ۳، زخم‌های پراکنده که در صورت بررسی دقیق، قابل مشاهده‌اند (مقاوم)؛ نمره ۵، زخم‌ها مشخص هستند و ریزش برگ مختصر دیده می‌شود (نسبتاً مقاوم)؛ نمره ۷، زخم‌های بزرگ، خیلی مشخص و مقداری ریزش برگ مشاهده

¹ Area Under the Disease-Progress Curve

(Campbell & Modden, 1990):

$$DS (disease severity) = \left(\frac{score}{9} \right) \times 100$$

(Villegas-Fernandez *et al.*, 2011; Campbell & Modden, 1990):

$$AUDPC = \sum_{i=1}^n \frac{1}{2} \left\{ (y_{i+1} + y_i) (x_{i+1} - x_i) \right\}$$

(Campbell & Modden, 1990):

$$rAUDPC = \left(\frac{AUDPC (genotype)}{AUDPC susceptible genotype} \right)$$

(Campbell & Modden, 1990):

$$sAUDPC = \frac{AUDPC (genotype)}{T}$$

در فرمول فوق، Y_i شدت بیماری در ارزیابی i ام، X_i زمان بر حسب روز از کاشت، score نمره بیماری، T طول مدت زمان یادداشت‌برداری و n تعداد مراحل یادداشت‌برداری می‌باشد. همچنین صفاتی نظیر عملکرد دانه، تعداد دانه در غلاف، تعداد غلاف در بوته، ارتفاع بوته و وزن ۱۰۰ دانه ثبت شد. تجزیه واریانس داده‌ها با استفاده از نرم‌افزار SAS انجام شد. میانگین‌ها با استفاده از آزمون LSD^1 مورد بررسی قرار گرفتند. با استفاده از تجزیه به روش خوشه‌ای (کلاستر)، گروه‌بندی ژنوتیپ‌ها نیز انجام گردید و نمودار درختی (دندروگرام) آن رسم گردید. ماتریس فاصله (بر مبنای مجموع مربعات) تشکیل شد. گروه‌بندی ژنوتیپ‌ها با استفاده از پارامترهای بیماری، صفات مورفولوژیکی، عملکرد و اجزای عملکرد به روش وارد^۲ و براساس توان دوم فاصله اقلیدسی با استفاده از نرم‌افزار SPSS نسخه ۱۹ انجام شد (SPSS, 2010). برش دندروگرام‌های حاصل براساس مقادیر آماره ویلکس لامبدا^۳، صورت‌گرفت (Moghaddam *et al.*, 1995).

نتایج و بحث

نتایج تجزیه واریانس نشان داد که ژنوتیپ‌های باقلا از لحاظ صفات مورد بررسی با یکدیگر اختلاف معنی‌داری در سطح احتمال یک‌درصد داشتند که دلالت بر وجود تنوع مناسب بین ژنوتیپ‌های مورد بررسی دارد (جدول ۲). رقم برکت و دو لاین FLIP03-57FB و FLIP03-58FB بیشترین ارتفاع بوته و رقم برکت و لاین FLIP03-58FB بیشترین عملکرد بیولوژیکی به خود اختصاص دادند (جدول ۳).

¹ Least Significant Different

² Ward

³ Wilk's Lamda

جدول ۲- تجزیه واریانس میانگین مربعات برای faba bean chocolate spot disease resistance

S.O.V.	منبع تغییرات	درجه آزادی	ارتفاع بوته	تعداد غلاف در بوته	تعداد دانه در غلاف	عملکرد	عملکرد بیولوژیکی	شاخص برداشت	وزن صد دانه	شدت بیماری ۱	شدت بیماری ۲	شدت بیماری ۳	شدت بیماری ۴	DS4	DS3	DS2	DS1	100 seed weight	Harvest index	Biomass	Seed yield	عملکرد	تعداد دانه	طول غلاف	Pod length	Seed no. per pod	Pod per plant	Plant height	ارتفاع بوته	درجه آزادی	منبع تغییرات
Replication	تکرار	2	102.86*	34.65**	0.14 ^{ns}	19593**	20098 ^{ns}	0.007**	69.66*	103.53 ^{ns}	754.51**	281.15*	554.96**	315793**																	
Treatment	تیمار	36	402.65**	19.77**	0.62**	140007*	225947**	0.004**	1306.3**	415.52**	382.87**	311.86**	462.98**	238041**																	
Error	خطا	72	40.31	6.01	0.32	4033	8221.79	0.002	20.91	52.99	102.628	74.5891	108.191	39998.5																	
CV(%)	ضریب پراکنندگی (%)		6.18	11.11	8.04	8.66	7.05	5.99	7.20	22.02	24.03	17.26	16.44	14.64																	

ns، * و ** به ترتیب غیرمعنی‌دار و معنی‌دار در سطح احتمال ۵٪ و ۱٪؛ ns، * and ** non significant and significant at 0.05 and 0.01 probability level, respectively.

FLIP03-34FB مقاومتی بالاتر از شاهد مقاوم (Icarus) نشان دادند و کلیه ژنوتیپ‌های مورد بررسی از لحاظ مقاومت به بیماری، برتر از شاهد حساس بودند (جدول ۳). سرعت افزایش علائم بیماری در ژنوتیپ‌های مختلف متفاوت بود. لاین‌های FLIP03-32FB، FLIP03-34FB و FLIP03-58FB نسبت به بیماری حساس و نیمه‌حساس بودند، ولی مقادیر سطح زیر منحنی پیشرفت بیماری پایینی داشتند، که نشان‌دهنده توانایی این ژنوتیپ‌ها در کند کردن روند پیشرفت بیماری در مراحل ابتدایی توسعه است. این دسته از ژنوتیپ‌ها که در گروه‌های نیمه‌حساس و نیمه‌مقاوم قرار دارند، منابع مطمئنی جهت کاهش سرعت انتشار قارچ هستند (Rhaiemi *et al.*, 2002).

برای انتخاب ژنوتیپ‌های برتر، عملکرد و اجزای آن و عکس‌العمل ژنوتیپ‌ها نسبت به بیماری اهمیت دارد، لذا گروه‌بندی بر اساس این صفات انجام شد (شکل ۱). برش دندروگرام مزبور در فاصله ۱۰ واحد منجر به تشکیل سه گروه گردید. در این دندروگرام، گروه اول شامل ۱۶ ژنوتیپ بود که بردار میانگین این گروه بر اساس مقدار آماره T^2 هتلینگ (۲۰۱۹۲) تفاوت معنی‌داری با بردار میانگین کل نداشت. از لحاظ ارتفاع بوته، عملکرد و بیوماس، نزدیک به بردار میانگین کل بودند و بردار میانگین شاخص‌های حساسیت به لکه‌شکلانی بالاتر از بردار میانگین کل بود. اعضای این گروه دارای عملکرد کم و حساسیت بالا نسبت به لکه‌شکلانی بودند.

بردار میانگین گروه دوم بر اساس مقدار آماره T^2 هتلینگ (۲۰۱۸۴) تفاوت معنی‌داری با بردار میانگین کل نداشت. بردار میانگین گروه دوم از لحاظ ارتفاع، عملکرد و بیوماس تعداد غلاف در بوته، طول غلاف، تعداد دانه در غلاف و وزن ۱۰ دانه بالاتر از میانگین کل و از لحاظ شاخص‌های حساسیت به بیماری در سطحی پایین‌تر از بردار میانگین کل قرار گرفت. رقم برکت و لاین‌های FLIP03-33FB، FLIP03-35FB و FLIP03-58FB در این گروه قرار داشتند. افراد این گروه دارای مقاومت بالاتر از حد متوسط و عملکرد مطلوب بودند، بنابراین می‌توان این گروه از ژنوتیپ‌ها را وارد آزمایشات مقایسه عملکرد نمود.

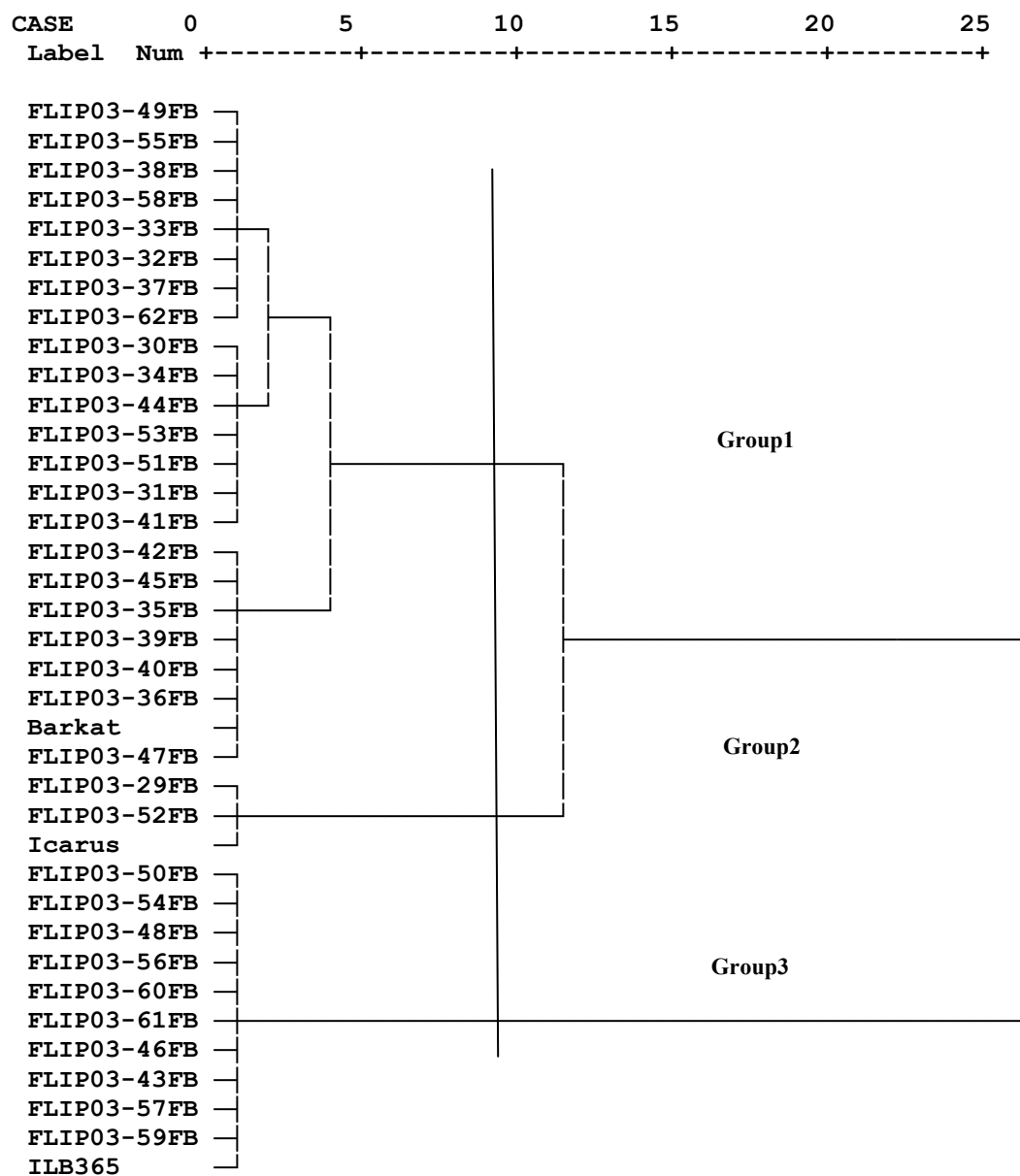
وجود تنوع برای صفات مورفولوژیک، عملکرد، اجزای عملکرد و صفات مرتبط با بیماری در بین ژنوتیپ‌های مورد بررسی، به انتخاب همزمان برای عملکرد و مقاومت کمک خواهد کرد و با یافتن ترکیبات مناسب، به تولید هیبرید به‌منظور ترکیب این صفات، نیاز نخواهد بود (Anastasios *et al.*, 2004).

ژنوتیپ‌های FLIP03-49FB، FLIP03-48FB و FLIP03-34FB بیشترین تعداد غلاف در بوته را داشتند و براساس آزمون LSD اختلاف معنی‌داری با سایر ژنوتیپ‌ها در سطح احتمال پنج‌درصد داشتند. رقم برکت و لاین FLIP03-31FB به‌ترتیب بیشترین و کمترین طول غلاف را داشتند. بالاترین تعداد دانه در غلاف به رقم برکت و لاین FLIP03-62FB تعلق داشت. به گزارش Sarparast (2008) تعداد دانه در غلاف، باثبات‌ترین جزء عملکرد است و لاین‌های مقاوم به بیماری، کمترین تغییرات تعداد غلاف را داشته‌اند. نتایج آزمون LSD در سطح احتمال یک‌درصد نشان داد که بالاترین عملکرد دانه مربوط به رقم برکت بود و ژنوتیپ‌های FLIP03-35FB و FLIP03-58FB به‌ترتیب با عملکرد ۱۱۰۴ و ۱۰۵۰ کیلوگرم در هکتار بعد از رقم برکت قرار گرفتند (جدول ۳). وزن ۱۰۰ دانه یکی از مهم‌ترین اجزای تعیین‌کننده عملکرد دانه است. البته اجزای عملکرد، اثر متقابلی با همدیگر داشته و نمی‌توان یک شاخص معین را به‌عنوان تأثیرگذار اصلی معرفی کرد. نتایج مقایسه میانگین در سطح احتمال یک‌درصد نشان داد که بالاترین وزن ۱۰۰ دانه به رقم برکت با ۱۶۲/۸ گرم تعلق داشت و ژنوتیپ‌های FLIP03-62FB، RobaYa40 و FLIP03-45FB در رتبه‌های بعدی قرار گرفتند (جدول ۳).

بعد از آلوده‌سازی، روند پیشرفت بیماری کند بود و در یک بوته، بافت‌های جوان، علائم بیماری کمتری نسبت به بافت‌های مسن‌تر بروز دادند. علائم اولیه بیماری لکه‌شکلانی از اوایل دوره گلدهی و ابتدا در لاین حساس مشاهده شد. نتایج حاصل از تجزیه واریانس برای متغیرهای DS، AUDPC و rAUDPC نشان داد تنوع بالایی برای عکس‌العمل ژنوتیپ‌ها نسبت به بیماری لکه‌شکلانی وجود دارد (جدول ۲). سایر محققان نیز تنوع بالایی در واکنش لاین‌ها نسبت به بیماری لکه‌شکلانی گزارش کردند (Rhaiemi *et al.*, 2002; Jamali, 2009; Bouhassan *et al.*, 2004). در ضمن، بارندگی و رطوبت بالای ماه‌های بهمن و اسفند شرایط مناسبی را برای رشد و توسعه بیماری لکه‌شکلانی ایجاد نمود که با اظهارات سایر محققان مطابقت داشت (Stoddard *et al.*, 2010). بررسی میانگین مقادیر مساحت زیر منحنی پیشرفت شدت بیماری (AUDPC) نشان داد که کمترین مقادیر به ژنوتیپ‌های Icarus، FLIP03-29FB، FLIP03-34FB و FLIP03-52FB و بیشترین مقادیر به ژنوتیپ‌های ILB365، FLIP03-43FB، FLIP03-57FB، FLIP03-59FB تعلق داشت و به‌ترتیب این دو گروه دربرگیرنده مقاوم‌ترین و حساس‌ترین ژنوتیپ‌ها بودند. دو لاین FLIP03-29FB و

مختلفی از مقاومت را در باقلا مشاهده نمود و ژنوتیپ‌های دانه‌ریز با رنگ دانه سبز مقاوم‌تر بودند (Liang, 1986).

به‌دست‌آمده توسط Liang (1986) هماهنگی دارد. ایشان پس از بررسی مقاومت به لکه‌شکل‌لایه در ۱۰۵ لاین باقلا، سطوح



شکل ۲- دندروگرام ژنوتیپ‌های باقلا بر اساس روش وارد و بر مبنای صفات Disease Severity، AUDPC، sAUDPC و rAUDPC
 Fig. 2. Dendrogram generated by cluster analysis (Ward) based on Disease Severity, AUDPC, sAUDPC and rAUDPC traits

گروه اول تفاوت معنی‌داری با بردار میانگین کل نداشت. بردار میانگین گروه دوم بر اساس مقادیر آماره T^2 هتلینگ (۰/۳۵۶) تفاوت معنی‌داری با بردار میانگین کل داشت. گروه دوم شامل سه ژنوتیپ بود و اعضای این گروه DS، مساحت زیر منحنی پیشرفت شدت بیماری (AUDPC) کمتر و مقاومت بیشتری

گروه‌بندی بر اساس صفات شدت بیماری Disease Severity، AUDPC و rAUDPC انجام شد (شکل ۲). برش دندروگرام مزبور بر اساس آماره ویلکس لاندن در فاصله ۹ واحد انجام شد و سه گروه تشکیل گردید. گروه اول شامل ۲۳ ژنوتیپ بود. با توجه به نتایج آماره T^2 هتلینگ (۰/۳۵) بردار میانگین

نسبت به بیماری لکه‌شکل‌اتی مقاوم بودند. بنابراین، کاشت این لاین‌ها با هدف کنترل بیماری لکه‌شکل‌اتی مناسب‌تر است، اما از نظر عملکرد دانه خشک و نیز وزن ۱۰۰ دانه و عملکرد بیولوژیک در رتبه‌های پایین‌تری قرار دارند. با توجه به عدم وجود تنوع در عامل بیماری‌زا (Tivoli *et al.*, 2006) لاین‌های مذکور به شرط سازگاری با شرایط محیطی، برای سایر مناطق آلوده نیز قابل توصیه هستند. ارقام مقاوم را می‌توان در اصلاح نباتات جهت انتقال مقاومت به ارقام پرمحصول و حساس استفاده نمود. نظر به این‌که ژنوتیپ‌های FLIP03-52FB و ILB365 از نظر صفات مرتبط با مقاومت به لکه‌شکل‌اتی به ترتیب بیشترین و کمترین میانگین را به خود اختصاص دادند، بنابراین این ارقام می‌توانند به‌عنوان والدین مناسب جهت تهیه جمعیت‌های ژنتیکی مناسب برای ترسیم نقشه ژنتیکی استفاده شوند. به‌این‌ترتیب، امکان شناسایی QTL‌های کنترل‌کننده صفات کمی مؤثر در مقاومت به بیماری فراهم خواهد شد.

در مجموع، از نتایج از این آزمایش حاصل می‌توان در برنامه‌های به‌نژادی استفاده کرد و با ترکیب و انتخاب صفات مطلوب به اهداف موردنظر دست یافت.

سیاسگزاری

از مؤسسه اصلاح و تهیه نهال و بذر به جهت حمایتی که در طول اجرای طرح نمودند و تهیه بذور ژنوتیپ‌ها تشکر و قدردانی می‌گردد.

نسبت به بیماری در مقایسه با سایر ژنوتیپ‌ها داشتند. رقم Icarus نیز در این گروه قرار داشت. اعضای این گروه منابع ژنتیکی مطلوبی از لحاظ مقاومت به بیماری محسوب می‌شوند. بررسی رقم (BPL710) Icarus در استرالیای غربی نیز نشان داد که این رقم نسبت به لکه‌شکل‌اتی، مقاوم، ولی عملکرد دانه آن کم است (Bouhassan *et al.*, 2004).

در تحقیقی (Tivoli *et al.*, 1988) نیز پس از انجام تجزیه کلاستر، ژنوتیپ‌های باقلا را در سه گروه ضعیف، قوی و متوسط قرار دادند و لاین‌های ILB938 و Icarus (BPL710) نسبت به *B. fabae* در شرایط فرانسه مقاوم بودند و Giza 402 بیشترین حساسیت را نشان داد. نتایج حاصل از این بررسی، با یافته‌های سایر محققان هماهنگی دارد (Tivoli *et al.*, 1988). بردار میانگین گروه سوم بر اساس مقادیر آماره T^2 هتلینگ (۰/۳۳۹) تفاوت معنی‌داری با بردار میانگین کل داشت. گروه سوم DS، مساحت زیر منحنی پیشرفت شدت بیماری (AUDPC) زیادتری نسبت به میانگین کل داشت که ۱۰ ژنوتیپ حساس به بیماری و ILB365 (شاهد حساس) در این گروه جای گرفتند.

ژنوتیپ‌های FLIP03-60FB، FLIP03-58FB و FLIP03-61FB از لحاظ عملکرد و اجزای عملکرد در سطح مطلوبی قرار داشتند. با توجه به حساسیت لاین ILB 365 نسبت به بیماری لکه‌شکل‌اتی به‌خصوص در سال‌های مرطوب، از این ژنوتیپ‌ها می‌توان در کارهای اصلاحی در ارتباط با ارزیابی مقاومت نسبت به بیماری لکه‌شکل‌اتی استفاده کرد. از بین لاین‌های مورد بررسی، لاین‌های Icarus، FLIP03-29FB، FLIP03-30FB، FLIP03-34FB و FLIP03-

منابع

1. Aghajani, M., Razinataj, A., and Mohammadi, H. 2009. Identification and Management Guide for Broad Bean Diseases. Rashad Publishers. 87p. (In Persian)
2. Anastasios S.L., Dimitrios G.R., and Christos, A.D. 2004. Evaluation of faba beans for resistance to sclerotinia stem rot caused by *Sclerotinia trifoliorum*. Phytoprotection 85: 89-94.
3. Barnett, H.L., and Hunter, B.B. 1998. Illustrated Genera of Imperfect Fungi. Fourth Edition. American Phytopathological Society Press.
4. Berkely, M.G. 1983. Gardners Chronicle. In: P.D. Hebblethwaite (Ed.). The Faba Bean (*Vicia faba* L.). A Basic for Improvement. Cambridge, UK. 573p.
5. Bouhassan, A., Sadiki, M., and Tivoli, B. 2004. Evaluation of a collection of faba bean (*Vicia fabae* L.) genotypes originating from the Maghreb for resistance to chocolate Spot (*Botrytis fabae*) by assessment in the field and laboratory. Euphytica 135: 55-62.
6. Campbell, C.L., and Modden, L.V. 1990. Introduction to Plant Disease Epidemiology. John Willey and Sons, New York, 532p.
7. Fininsa, C., and Yuen, J. 2002. Temporal progression of bean common bacterial blight (*Xanthomonas campestris* pv. *phaseoli*). European Journal of Plant Pathology 108: 485-495.

8. Hanounik, S.B., and Maliha, M. 1986. Horizontal and vertical resistance in *Vicia faba* to chocolate spot caused by *Botrytis fabae*. *Plant Disease* 70: 770-773.
9. Hawthorne, W. 2004. Faba bean disease management strategy for southern region. <http://www.sardi.sa.gov.au/pdfserve/fieldcrops/publications/advicefactsheets/brochure.pdf>
10. Hosni, A.M., Zed, N.A., and Habib, W.F. 1981. Variation within the fungus *Botrytis fabae* sard. *FABIS Newsletter* 3: 49-50.
11. Jamali, A.R. 2009. Identification of sources of disease resistance in Chinese faba bean germplasm for incorporation in Australian cultivars. MSc. Thesis. University of Adelaide, South Australia.
12. Jelenic, S., Mitrikeski, P.T., Papes, D., and Jelaska, S. 2000. Agrobacterium-mediated transformation of broad bean (*Vicia faba* L). *Food Technology and Biotechnology* 38: 167-172.
13. Juan, L.L. 1993. Research on breeding and germplasm of autumn sown faba bean. *Faba Bean Information Services Newsletter* 32:3-22.
14. Kamel, A., and Malila, N.F. 1990. Faba bean diseases in Tanisa. *FABIS* 10: 20-25.
15. Liang, X.Y. 1986. Faba bean diseases in China. *FABIS Newsletter*, Faba Bean Information Service, ICARDA 15: 49-51.
16. MacLeod, B., and Sweetingham, M. 1999. Faba bean, Chocolate Spot Disease. In: A.W. Australia (Ed.). *Farm Note*, Perth Australia. Available at Web site <http://www.agric.wa.gov.au/> (verified 1 August 2012).
17. Makkouk, K.M., and Hanounik, S.B. 1993. Major faba bean disease with special emphasis on viral disease. pp. 123-137. In: M.C. Saxena, S. Weigand and L. Li-Juan (Eds.). *Faba bean Production and Research in China*. International Center for Agricultural Research in the Dry Areas (ICARDA), Aleppo, Syria.
18. Milus, E.A., and Line, R.F. 1986. Gene action for inheritance of durable, high-temperature, adult plant resistances to stripe rust in wheat. *Phytopathology* 76: 435-441.
19. Moghaddam, M., Mohamadi, S.A., and Aghaee-Sarbarzeh, M. 1995. Introduction to Multivariate Statistical Methods. 281pp. (In Persian).
20. Paull, J.G., and White, P. 2004. Breeding for the future-southern and western regions. In: J. Egan, J. Paull, A. Mayfield and Hawthorne (Eds). *Faba and broad beans: Delivering a quality product in to the future*. Tanunda, South Australia. pp. 66-70. (Pulse Australia).
21. Rhaيمي, A., Cherif, M., Kharrat, M., and Harrabi, M. 2002. New faba bean genotypes resistant to chocolate spot caused by *Botrytis fabae*. *Phytopathol. Mediterr* 41: 99-108.
22. Rossi, V. 1999. Effect of host resistance and fungicide sprays against *Cercospora leaf Spot* in different sugar beet-growing areas of the Mediterranean basin. *Phytopathologia Mediterranea* 38(2): 465-470.
23. Sahile, S., Chemed, F., Sakhuja, P.K., and Ahmed, S. 2008. Effect of mixed cropping and fungicides on chocolate Spot (*Botrytis fabae* sard) of faba bean (*Vicia faba* L.) in Ethiopia. *Crop Protection* 27: 275-282.
24. Sarparast, R. 2008. A Final Report of the International Faba Bean Chocolate Spot Experiment Nursery. Publishing Seed and Plant Improvement Institute of Karaj. (In Persian).
25. Staats, M., Baarlen, P., and van Kan, J.A.L. 2012. Molecular phylogeny of the plant pathogenic genus *Botrytis* and the evolution of host specificity. *Molecular Biology and Evolution* 22(2).
26. Singh, A., and Rao, M.V. 1989. Area under disease progress curve: its reliability as a measure of slow-rusting resistance. *Plant Breeding* 103: 319-323.
27. SPSS Inc. 2010. Released IBM SPSS Statistics for Windows, Version 19.0.
28. Stoddard, F.L., Nicholas, A.H., Rubiales, D., Thomas, J., and Villegas-Fernandez, A.M. 2010. Integrated pest management in faba bean. *Field Crop Research* 115: 308-318.
29. Tivoli, B., Baranger, A.C., Avila, M., Banniza, S., Barbetti, M., Chen, W., Davidson, J., Lindeck, K., Tivoli, B., Berthelem, P., Leguen, J., and Onfroy, C. 1988. A study of the performance of certain Faba bean genotypes in relation to *Botrytis fabae* and *Ascochyta fabae* in France. *FABIS Newsletter* 21: 36-40.
30. Tivoli, B., Baranger, A., Avila, C.M., Banniza, S., Barbetti, M., Chen, W., Davidson, J., Lindeck, K., Kharrat, M., Rubiales, D., Sadiki, M., Sillero, J.C., Sweetingham, M. and Muehlbauer, F.J. 2006. Screening techniques and sources of resistance to foliar diseases caused by major necrotrophic fungi in grain legumes. *Euphytica* 147: 223-253.

31. Torres, A.M., Roman, B., Avila, C.M., Satovic, Z., Rubiales, D., Sillero, J.C., Cubero, J.I., Ulukan, H., Guler, M., and Keskin, S. 2003. A path analysis some yield and yield components in Faba bean (*Vicia faba* L.) genotypes. *Pakistan Journal of Biological Sciences* 6: 1951-1955.
32. Villegas-Fernandez, A.M., Sillero, J.C., and Rubiales, D. 2011. Screening faba bean for chocolate Spot resistance: evaluation methods and effects of age of host tissue and temperature. *European Journal of Plant Pathology* 132: 443-453.

Investigation of resistance to chocolate spot (*Botrytis fabae* sard) in faba bean (*Vicia faba* L.) in Gorgan region

Sheikh¹, F. & Dehghani^{2*} H.

1 & 2. Respectively, PhD. Student and Associate Professor, Department of Plant Breeding and Biotechnology, Faculty of Agriculture, Tarbiat Modares University, Tehran, P.O.Box 14115-336, Iran

Received: 3 February 2013
Accepted: 15 May 2014

Abstract

Fungal diseases, chocolate spot (*Botrytis fabae* Sard) is the most destructive diseases of faba bean and causes considerable dramatic damage losses on faba bean yield worldwide. The levels of resistance to chocolate spot were evaluated in 35 faba bean cultivars and one susceptible check (ILB365) and local check (Barkat) at the Gorgan Agricultural Research Station during the 2010 and 2011 cropping seasons. The obtained results showed a significant difference ($P < 0.01$) among genotypes for yield, yield component and related traits to disease resistance. Barkat, FLIP03-35FB and FLIP03-58FB produced the highest plant height, seed yield and 100 seed weight, respectively. In order to determine genotype reaction to chocolate spot, disease symptoms scored in certain intervals until harvest, then AUDPC, rAUDPC and sAUDPC was calculated. A significant variation among the tested genotypes and their reaction to chocolate spot disease was found. Results of variance, comparing the mean and also cluster analysis revealed that ILB 365, FLIP03-57FB, FLIP03-43FB and FLIP03-59FB where susceptible. Whereas, Icarus, FLIP03-29FB, FLIP03-30FB, FLIP03-34FB and FLIP03-52FB introduced as resistance genotypes to chocolate spot judged by the lowest AUDPC.

Key words: Area Under the Disease Progress Curve, Cluster Analysis, Disease Severity, Yield

* Corresponding Author: dehghanr@modares.ac.ir, Tel: 02148292040, Mobile: 09125144820