بررسی مقاومت ارقام تجاری چغندرقند در برابر پوسیدگی‌ریشه ناشی از *R. solani* و *F. oxysporum*

Evaluation of sugar beet commercial cultivars resistance against root rot caused by *R. solani* and *F. oxysporum*

سمیه مشاری*[۱]، رقیه همتی[۲]، سیدباقر محمودی[۳] و عادل پدرام[۴]

تاریخ دریافت: ۹۷/۱۲/۰۴ ؛ تاریخ پذیرش: ۹۸/۰۶/۲۱

نوع مقاله: پژوهشی

DOI: 10.22092/jsb.2019.124950.1212 ; DOR: 20.1001.1.17350670.1398.35.2.1.5

س. مشاری، ر. همتی، س.ب. محمـودی و ع. پدرام. ۱۳۹۸. بررسی مقاومت ارقام تجاری چغندرقند در برابر پوسیدگی‌ریشه ناشی از *R. solani* و *F. oxysporum*. **چغندرقند، ۳۵(۲): ۱۲۱- ۱۳۹.**

چکیده

در تحقیق حاضر مقاومت ۳۰ رقم تجاری رایج چغندرقند در برابر پوسیدگی‌های ریشه ناشی‌از دو بیمارگر *Rhizoctonia solani* و *Fusarium oxysporum* f. sp. *betae* طی سال‌های ۱۳۹۵ و ۱۳۹۶ در استان آذربایجان غربی ارزیابی قرار شد. ارقام تحت شرایط کنترل شده گلخانه در گلدان تحت مایه‌زنی قرار گرفتند. آزمایش در قالب طرح کاملاً تصادفی با ۱۵ تکرار و پنج شاهد برای هر تیمار اجرا شد. رتبه‌بندی شدت پوسیدگی حاصل از مایه‌زنی قارچ *R. solani* هشت هفته بعد از شروع مایه‌زنی با مقیاس ۹-۱ انجام گرفت. همچنین شاخص برداشت (Harvest Index) نیز برای هر تیمار محاسبه شد. رتبه‌بندی رنگ زرد برگ‌ها و پوسیدگی حاصل از قارچ *F. oxysporum* به صورت هفتگی از هفته دوم بعد از مایه‌زنی با شاخص ۵-۰ ثبت شد. میانگین سطح زیرمنحنی پیشرفت بیماری (Area Under Disease Progress Curve) برای مقایسه پیشرفت آلودگی بین ارقام مورد محاسبه قرار گرفت. همچنین جهت مقایسه میزان بوته‌میری هریک از ارقام تحت شرایط طبیعی، آزمایش مزرعه‌ای در قالب طرح بلوک‌های کامل تصادفی اجرا گردید. بوته‌های از دست رفته یا در حال زوال، سه بار بعد از انجام تنک و وجین شمارش شدند. بوته‌های در حال مرگ شناسایی و جهت تشخیص عامل بیماری به آزمایشگاه منتقل شدند. نتایج حاصل از محاسبه AUDPC تحت شرایط مزرعه به دست آمد و ارقام مقاوم مشخص شدند. عملکرد شکرخالص ارقام در واحد سطح محاسبه شد. نتایج به‌دست آمده از میزان مقاومت ارقام در مزرعه و گلخانه با خصوصیات ژنتیکی معرفی شده توسط شرکت تولید کننده بذر و عملکرد شکرخالص مورد مقایسه قرار گرفتند و ارقام مقاوم و با عملکرد بالا معرفی شدند. ارقام بی‌تی‌اس ۲۳۳، فلورس، دلتا و موریل دارای مقاومت نسبی در برابر هر دو بیمارگر بودند و عملکرد قابل ملاحظه‌ای در هکتار نشان داده و در مزارعی با آلودگی توام قابل توصیه می‌باشند.

واژه‌های کلیدی: ارقام تجاری چغندرقند، پوسیدگی ریزوکتونیایی ریشه، زردی فوزاریومی

۱- دانشجوی دکتری بیماری‌شناسی گیاهی، قارچ شناسی- گروه گیاهپزشکی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه زنجان، زنجان، ایران. *- نویسنده مسئول s_moshari@yahoo.com

۲- دانشیار گروه گیاهپزشکی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه زنجان، زنجان، ایران.

۳- دانشیار مؤسسه تحقیقات اصلاح و تهیه بذر چغندرقند، سازمان تحقیقات ،آموزش و ترویج کشاورزی، کرج، ایران.

۴- استادیار مرکز تحقیقات و آموزش کشاورزی و منابع طبیعیی آذربایجان غربی، سازمان تحقیقات، آموزش و ترویج کشاورزی، ارومیه، ایران.

مقدمه

بیمارگرهای قارچی ریشه چغندرقند از مهم‌ترین محدودیت‌های کشت این محصول پر ارزش محسوب می‌شوند. از بین قارچ‌های عامل پوسیدگی‌های ریشه دو قارچ *Rhizoctonia solani* Kuhn و *Fusarium oxysporum* Schltdl از مهم‌ترین عوامل خسارت‌زای چغندرقند می‌باشند (Arzanlou *et al*. 2000; Soltani Nejad *et al*. 2007; Taleghani *et al*. 2010). خطرناک‌ترین و رایج‌ترین پوسیدگی ریشه چغندرقند در دنیا توسط قارچ *R. solani* ایجاد می‌شود. این بیمارگر با حمله به مراحل مختلف رشد اعم از بذر، گیاهچه، ریشه کامل و بعد از برداشت محصول، بیشترین خسارت را به محصول چغندرقند وارد می‌کند. از بیماری‌هایی که بعد از ظهور ریشه کامل توسط قارچ *R. solani* ایجاد می‌شود می‌توان به پوسیدگی ریشه و طوقه، شانکر خشک ریشه و پوسیدگی بنفش اشاره کرد(Whitney and Duffus 1986). پوسیدگی‌های ریشه در آمریکا و اروپا از دیرباز مشکل جدی مزارع بوده‌اند و خساراتی بیش از ۱۰ درصد به بار آورده‌اند (Hecker and Ruppel 1977). برخی مزارع چغندرقند در ایران خسارات بالای ۳۰ درصد از این قارچ را متحمل می‌شوند و بیشترین خسارت نیز توسط گونه *R. solani* در ایران به بار می‌آید (Mahmoudi and soltani 2005). جدایه‌های این گونه به گروه‌های مختلف آناستوموزی تقسیم می‌گردند که تاکنون گروه‌های آناستوموزی مختلف شناخته شده است. از این بین دو گروه AG-2-2 و AG-4 از مناطق مختلف چغندرکاری ایران گزارش شده‌اند (Mahmoudi *et al*. 2003; 2004; 2013; Soltani Nejad *et al*. 2007). به علت خاکزاد بودن و بقاء طولانی مدت قارچ چرخه زیستی آن متأثر از تغییرات محیطی خاک می‌باشد و روش‌های مدیریت زراعی و شیمیایی را با مشکل مواجه می‌سازد (Whitney and Duffus 1986; Buhre *et al*. 2009). بر هم زدن مثلث بیماری مانند انتخاب رقم مقاوم و تناوب طولانی مدت از روش‌های مدیریتی مناسب می‌باشد (Hecker and Rupeel 1977; Buddemeyer and Märländer 2004). نتایج ارزیابی ارقام در شرایط گلخانه در برابر گروه‌های آناستوموزی مختلف *R. solani* بین ژنوتیپ‌های تحت آزمایش، اختلاف معنی‌دار نشان داده است، بنابراین ارزیابی ژرم‌پلاسم چغندرقند در برابر این بیمارگر منجر به معرفی ارقامی با سطح مقاومت مناسب می‌شود. چغندرقند گیاهی دگرگشن است و مشخص شده است که مقاومت به *R. solani* پلی‌ژنیک است و حداقل دو ژن در این مقاومت نقش دارند (Hecker and Ruppel 1977). اولین ارقام مقاوم چغندرقند در برابر *R. solani* در آمریکا معرفی شده است (Panella 1998). در ایران چندین رقم و لاین در شرایط گلخانه و مزرعه در برابر پرآزارترین جدایه *R. solani* متعلق به گروه آناستوموزی AG-2-2 مورد ارزیابی قرار گرفته‌اند و منجر به معرفی ارقام و لاین‌های مقاوم شده‌اند (Mahmoudi *et al*. 2004; Fattahi *et al*. 2011; Mahmoudi and Ghashghaie 2013).

مشخص شد که گونه‌های *Fusarium* spp. باعث بروز علایم پوسیدگی و پژمردگی ریشه چغندرقند می‌شوند (Whitney and Duffos 1986). گونه‌های مختلفی از جنس *Fusarium* از چغندرهای دارای علایم جداسازی شده‌اند و قارچ *F. oxysporum* f. sp. *betae* مهم‌ترین زیرگونه خسارت‌زای *Fusarium* می‌باشد که منجر به بروز دو نوع علایم زردی برگ‌ها و پوسیدگی ریشه در چغندرقند می‌شود (Dimitros *et al*. 2006). زردی که شایع‌ترین علایم بیماری فوزاریومی در چغندرقند می‌باشد با پژمردگی هنگام بروز کم‌آبی و بروز رنگ پریدگی در برگ‌های پایینی شروع شده و درحالت شدیدتر برگ‌ها نکروزه می‌شوند و عملیات انتقال آب به بافت‌های برگی مختل

می‌گردد و در نهایت توقف رشد و مرگ گیاه اتفاق می‌افتد (Hanson and Jacobsen 2009). پوسیدگی‌های ریشه ناشی از فوزاریوم با علایم زردی آغاز شده و در حالت پیشرفته سیاه شدگی نوک ریشه‌های چغندرقند یا قسمت‌های خارجی مشاهده می‌شود. خسارت این بیمارگر در برخی کشورها مثل آمریکا، روسیه، اوکراین، چین و ایران چشمگیر بوده و باعث بروز زیان-های اقتصادی شده است (Harveson *et al*. 2014). در ایران زردی‌های فوزاریومی در اغلب مناطق مهم استراتژیک کشت باعث ایجاد خسارت و کاهش محصول می‌شوند. در ایران ۲۸ درصد از کل گونه‌های مختلف جدا شده از علایم پوسیدگی ریشه و پژمردگی آوندی در چغندرقند مربوط به جدایه‌های *Fusarium* spp. می‌باشند (Mahmoudi and Soltani 2005). تمهیدات مدیریتی زیادی مانند تناوب، کنترل زراعی و کنترل شیمیایی برای محدود کردن خسارت این قارچ انجام شده است ولی به علت خاک‌زاد بودن و دوام طولانی مدت قارچ در بقایای گیاهی و خاک اغلب اقتصادی یا موفق نبوده‌اند (Skonieczek *et al*. 2016; Harveson *et al*. 2014). بنابراین بهبود مقاومت ذاتی گیاه گزینه مناسبی برای مدیریت بیمارگرهای سمج مانند *Fusarium* بدون به‌جای گذاشتن اثرات سوء جانبی که سایر روش‌های کنترلی ایجاد می‌کنند می‌باشد (De Lucchi *et al*. 2017). متخصصین اصلاح چغندرقند در صدد پیدا کردن ژن‌های مقاوم برای مقابله با این بیماری می‌باشند (Stevanato *et al*. 2017).

در رابطه با قارچ *R. solani* تنوع و پراکنش جغرافیایی گروه‌های آناستوموزی با قدرت بیماری‌زایی متفاوت، معرفی یک رقم مقاوم و مناسب را برای تمام مناطق کشت مشکل می‌سازد. چنانکه احتمال می‌رود برخی بذرهای مقاوم معرفی شده در برابر بیمارگرهای قارچی، مقاومت مناسبی در شرایط خاص اقلیمی نداشته باشند که این منجر به شکست مقاومت می‌شود (Steven *et al*. 2005). همچنین در رابطه با قارچ فوزاریوم به علت وجود تنوع در بین گروه‌های سازگار رویشی و به علت تنوع منطقه‌ای جمعیت‌های *F. oxysporum* گزارش‌هایی از شکست مقاومت توسط کشاورزان و کارشناسان وجود دارد. به غیر از تنوع منطقه‌ای جدایه قارچ، عوامل دیگر مانند تغییر درجه مقاومت رقم بسته به محیط اطراف ریشه، کاهش کیفیت و کمیت محصول ناشی از رقم مقاوم و برخی خصوصیات فیزیولوژیکی ناخواسته مثل خاصیت ساقه‌روی (Bolting) و عملکرد و عیار پایین در شکست معرفی ارقام مقاوم تاثیرگذار هستند (Buttner *et al*. 2002; 2004). ارقام مقاوم باید مقاومت نسبی قابل‌قبولی را در برابر دیگر بیمارگرها و آفات و بیماری‌های فیزیولوژیک داشته باشند و عملکرد و عیار قند بالا ایجاد کنند. با این توصیف اصلاح ارقام با مقاومت بالا در برابر بیماری‌ها به همراه حداقل خصوصیات مثبت عملکردی کار را برای اصلاح‌کنندگان گیاهی مشکل می‌سازد. با این وجود اصلاح‌کنندگان چغندرقند همواره در صدد تولید ارقام مقاوم در برابر این عوامل خسارت‌زا بوده‌اند و تاکنون ارقام مختلف با درجاتی از مقاومت معرفی شده است و در اختیار مصرف کنندگان قرار گرفته است (Biancardi *et al*. 2010). در ایران ارقام شرکت‌های خارجی و ارقام داخلی تولید شده توسط موسسه تحقیقات اصلاح و تهیه بذر چغندرقند–کرج اغلب مورد پسند کشاورزان می‌باشند، اما با وجود انتخاب و کشت بذرهایی که حاوی ژن‌های مقاومت بر علیه دو قارچ *Rhizoctonia solani* Kuhnو *Fusarium oxysporum* Schltdl هستند همچنان خسارات سنگین ناشی از این قارچ‌ها در مزارع مشاهده می‌گردد. لذا با شناخت مقاومت ذاتی ارقام تجاری مورد پسند چغندرکاران به روش‌های مایه‌زنی با جدایه‌های پرآزار هر منطقه و نیز بررسی این مقاومت در شرایط طبیعی می‌توان اقدام به ترویج کشت ارقام با مقاومت بالا نمود.

با توجه به این که رفتارهای مقاومتی ارقام مقاوم ممکن است درجاتی از تغییر مقاومت در مناطق مختلف کشت نشان دهند و نیز با توجه به اهمیت کشت چغندرقند در استان

آذربایجان‌غربی و شرایط ویژه کشت و عادت‌های آبیاری محصول (اعمال تنش خشکی در طی مـراحل رشد گیـاه) ارقام مهم تجاری چغنـدرقند در این استان مورد بررسی قرار گرفتنـد. در این تحقیـق ارقام تجاری مطلوب و مورد انتخاب کشاورزان استان آذربایجان‌غربی که از لحاظ میزان مقاومت در برابر دو بیمارگر قارچی *R. solani* و *F. oxysporum* f. Sp. *betae* متغیر هستند در شرایط مزرعه و نیز در محیط گلدان مورد آزمایش و مایه‌زنی قرار گرفتند. بعد از سنجش مقاومت تحت شرایط مزرعه و گلخانه و همچنین بررسی عملکرد شکرخالص در واحد سطح، این نتایج با خصوصیات ژنتیکی معرفی شده برای هر رقم مقایسه و ارقام با مقاومت نسبی به هر دو بیمارگر برای کشت معرفی شدند.

مواد و روش‌ها

در این تحقیق بذر ۳۰ رقم تجاری مطلوب کشت کشاورزان توسط مؤسسه تحقیقات اصلاح و تهیه بذر چغندرقند تأمین شد. این ارقام درجه‌های مختلفی از مقاومت به بیماری‌های مهم چغندرقند را دارا هستند (جدول ۱). مایه‌زنی ارقام طی سال ۱۳۹۵ و ۱۳۹۶ در کنار مزرعه آزمایشی ایستگاه تحقیقات کشاورزی شهرستان میاندوآب صورت گرفت.

جدول ۱ ارقام تجاری مطلوب کشت چغندرکاران در ایران و خصوصیات مقاومتی آنها

رقم	شرکت و کشور تولید کننده	مقاومت به	رقم	شرکت و کشور تولیدکننده	خصوصیات
آریا	SBSI, Iran	Rhizomania/Nemathod	لوریگوت	Florimond Desprez	
بی‌تی‌اس۲۱۳	Beta seed, America	*F. oxysporum*	پالما	Maribo Seed, Denmark	Bolting/ Cercospora
اکباتان	SBSI, Iran	Rhizoctonia/ Rhizomania	دی‌اس۴۰۵۷		
پایا	SBSI, Iran	Drought	توکان	DEZPREZ, France	Rhizomania/Nemathod
دلتا	SESVANDERHAVE, Belgium	Rhizomania	مراک	STRUBE, Germany	Rhizomania
دوروتی	Syngenta, Sweden	Rhizomania (R	لیندا	US Agriseeds	
نوودور	Syngenta, Sweden	Rhizomania/Rhizoctonia	پرفکتا	Lion seed	Rhizomania
آذر	SESVANDERHAVE, Belgium	Rhizomania(R)/Rhizoctonia(t)	روزیر	DEZPREZ, France	Rhizomania
موریل	Florimond Desprez,France	Rhizomania/ *F. oxysporum*	ایزابلا	KWS, Germany	Rhizomania
شکوفا	SBSI, Iran	Rhizomania/Nemathod/ *F. oxysporum*	بالو	SESVANDERHAVE, Belgium	Rhizomania
بی‌تی‌اس۲۳۳	Beta seed, America		قزیرا	Khun &co, Netherlands	Rhizomania
پارس	SBSI, Iran	Rhizomania	آنتک	STRUBE, Germany	Rhizomania
فلورس	Maribo Seed, Denmark	Rhizomania/Rhizoctonia	شریف	SBSI, Iran	Bolting
رجا	SESVANDERHAVE	Bolting/ *F. oxysporum*	چیمنه	Florimond Desprez,France	Bolting
ایریس	Kuhn &co, Netherlands	Rhizoctonia/ Rhizomania	بی‌تی‌اس۳۳۵	Beta seed, America	Rhizomania

آزمایش‌های گلخانه‌ای

ارقام تجاری (جدول ۱) جهت ارزیابی مقاومت در برابر بیمارگرهای *F. oxysporum* و جدایه *R. solani* AG-2-2 مورد مقایسه قرار گرفتند. جدایه‌های انتخابی از چغندرقندهای دارای علایم پوسیدگی‌ریشه و زردی از مزارع استان آذربایجان‌غربی جداسازی شدند سپس با استفاده از روش مورفولوژیکی مانند مشخصات پرگنه روی محیط کشت PDA، مشخصات ماکروکنیدی، میکروکنیدی، تشکیل اسپورودوکیوم و کلامیدوسپور

در محیط کشت برگ میخک- آگار (CLA) شناسایی شدند. شناسایی مولکولی با استفاده از توالی ناحیه فاصله‌انداز بین ژنی اپرون RNA ریبوزومی (rDNA -ITS) صورت گرفت و توالی‌های مورد نظر تحت بلاست قرار گرفتند و قارچ‌ها شناسایی شدند (Carling *et al*. 2002; Liu *et al*. 2011). چهار جدایه جداسازی شده از چغندرقندهای دارای علایم پوسیدگی ریزوکتونیایی و چهار جدایه از چغندرقندهای دارای علایم زردی و پوسیدگی انتهای ریشه از مناطق مختلف جغرافیایی انتخاب شدند. این جدایه‌ها در شرایط گلخانه (دمای ۲۴ درجه سانتی‌گراد در روز و ۱۸ درجه سانتی‌گراد در شب، رطوبت نسبی تقریباً ۸۰٪) روی گیاهچه‌های یک رقم حساس چغندرقند (رقم شریف) مایه‌زنی شدند (Buttner *et al*. 2004). مایه‌زنی قارچ *F. oxysporum* با تهیه سوسپانسون اسپور به روش هنسون و هیل (Hanson and Hill 2004) در چهار تکرار و دو شاهد (هر تکرار حاوی ۳ تیمار) انجام شد. ریشه گیاهان در گلدان‌های تیمار با سوسپانسیون اسپور قارچ مایه‌زنی شده بودند و گیاهان در تیمارهای شاهد با آب مقطر استریل مایه‌زنی شدند. مایه‌زنی *R. solani* با استفاده از بذر آغشته به میسلیوم قارچ (۴ تکرار و ۲ شاهد) که در ادامه توضیح داده می‌شود صورت گرفت (Mahmoudi *et al*. 2003). گیاهان شاهد با بذر ذرت استریل مایه‌زنی شدند. به این ترتیب بعد از گذشت ۳ هفته بعد از مایه‌زنی و بروز علایم، جدایه‌هایی که دارای بیشترین مرگ و میر و بالاترین سطح پیشرفت زیرمنحنی بیماری بودند، جهت مایه‌زنی ارقام تحت آزمایش انتخاب شدند.

مایه زنی *R. solani*

تک بوته‌های چغندرقند در گلدان‌های عاری از بیماری در مرحله هشت هفتگی با زادمایه جدایه پرآزار *R. solani* AG-2-2 مایه‌زنی شدند. ۱۵ تکرار با پنج شاهد از هر رقم با *R. solani* مورد مایه‌زنی قرار گرفتند (Mahmoudi *et al*. 2003). به علت عدم تولید اسپور توسط قارچ *R. solani* و عدم‌امکان استفاده از روش مایه‌زنی با سوسپانسیون اسپور، از بذر ذرت آلوده به ریسه‌های قارچ استفاده گردید. برای این کار ابتدا بذرهای ذرت به مدت دو شب در آب خیسانده شدند و سپس با استفاده از دستگاه اتوکلاو دوبار ضدعفونی شدند. سپس بذرها در پتری دیش‌های نه سانتی‌متری استریل شده قرار داده شدند و قطعاتی از ایزوله *R. solani* که قبلاً به مدت یک هفته در شرایط کنترل شده (۲۵ درجه سانتی‌گراد) روی محیط آگار دکستروز سیب‌زمینی (PDA) رشد داده شده بود در پتری‌های حاوی بذرهای ذرت استریل مایه‌زنی شدند و در انکوباتور نگه‌داری شدند. بعد از اینکه بذرهای ذرت به خوبی به ریسه‌های قارچ آغشته شدند به مدت یک روز درب پتری دیش‌ها برداشته شد و اجازه داده شد تا بذرها خشک شوند. بذرها بعد از کشت در گلدان‌های پلاستیکی قطر ۱۲ سانتی‌متر غنی شده با ورمی کمپوست (۶۰ درصد ورمی کمپوست، ۳۰ درصد خاک لومی- ماسه‌ای و ۱۰ درصد پرلیت) و بعد از هشت هفته مایه‌زنی شدند. بدین صورت چهار بذر ذرت آلوده به ریسه‌های قارچ *R. solani* در عمق سه سانتی‌متری اطراف ریشه در گلدان قرار داده شدند و آبیاری صورت گرفت (Mahmoudi *et al*. 2003). پنج گلدان شاهد در هر تیمار با دانه‌های سترون ذرت مایه‌زنی شدند. ریشه‌ها هشت هفته بعد از مایه‌زنی از گلدان خارج و علایم پوسیدگی با شاخص ۹-۱ برای آنها ثبت شد به طوری که ۱= ریشه سالم، ۲= یک درصد سطح ریشه آلوده، ۳= ۵-۱ درصد سطح ریشه آلوده، ۴= ۱۰-۵ درصد آلوده، ۵= ۲۵-۱۰ درصد آلوده، ۶= ۵۰ -۲۵ درصد آلوده، ۷= ۷۵-۵۰ درصد آلوده، ۸= ۷۵ درصد سطح ریشه آلوده و ۹= مرگ کامل گیاه درجه‌بندی شدند. برای هر بوته در تکرار رتبه‌بندی شدند و مورد ارزیابی قرار گرفتند (Altier and Theis

1995; Panella 1998). برخی از ریشه‌ها به طور تصادفی انتخاب شده و جهت تایید اصول کخ روی محیط کشت PDA مورد جداسازی قرار گرفتند.

مایه‌زنی *F. oxysporum* f. sp. *betae*

مایه‌زنی *F. oxysporum* روی گیاهچه‌های دو هفته‌ای ارقام چغندرقند با استفاده از غوطه‌ور سازی ریشه‌های گیاهچه‌ها در سوسپانسیون اسپور *F. oxysporum* f. sp. *betae* صورت گرفت (Hanson and Hill 2004). گیاهان ابتدا در سینی‌های نشاء کوچک تحت شرایط کنترل شده گلخانه کشت داده شدند بعد از گذشت دو هفته گیاهچه‌ها از خاک بیرون آورده شدند و جهت زدودن خاک اطراف ریشه‌ها به آرامی در ظروف حاوی آب شیر لوله‌کشی نگه داشته شدند تا ریشه‌ها عاری از خاک و گل شوند، این‌کار تا زمان حصول اطمینان کامل از تمیز بودن ریشه‌ها ادامه یافت. یک تکه دو میلی‌متری تک اسپور شده *F. oxysporum* جهت اسپورزایی در محیط کشت PDA تیمارشده با دو درصد تتراسایکیلن قرار گرفت. این محیط کشت تحت نور فرابنفش نوع A و نور لامپ معمولی انکوباتور به مدت ۱۲ ساعت روشنایی و ۱۲ ساعت تاریکی در دمای ۲۵ درجه سانتی‌گراد قرار گرفتند. بعد از ۱۴ روز سوسپانسیون اسپور *F. oxysporum* تهیه شد و غلظت سوسپانسیون با استفاده از لام هموسیوتومتر (Homocytometer) اندازه‌گیری گردید و سپس سوسپانسیون به غلظت 10^4 در هر میلی‌لیتر رسانده شد. سپس ریشه‌های هر رقم به صورت مجزا در ظرف حاوی سوسپانسون اسپور به مدت هشت دقیقه قرار داده شدند و هر یک دقیقه برای جلوگیری از ته‌نشین شدن اسپورها ظرف‌ها تکان داده شدند. گیاهان گلدان‌های شاهد با آب مقطر خالی از اسپور قارچ مایه‌زنی شدند. سپس گیاهان مایه‌زنی شده در گلدان‌هایی به ابعاد ۱۰×۱۰ سانتی‌متر حاوی خاک غنی از ورمی‌کمپوست کشت داده شدند (Mahmoudi *et al.* 2003). دوازده تکرار برای هر تیمار انتخاب شد. ثبت علایم برگی با استفاده از مقیاس ۵-۰، به طوری که ۰= گیاه سالم، ۱= نقاط زرد کوچک روی برگ‌ها یا پژمردگی برگ‌ها، ۳= زردی بین رگبرگی یا زردی عمومی، ۴= نصف یا بیشتر از نصف برگ‌ها مرده، ۵= مرگ کل گیاه برای قارچ فوزاریوم دو هفته بعد از مایه‌زنی شروع شد و تا شش هفته ادامه یافت. شش هفته بعد از مایه‌زنی ریشه‌ها از خاک خارج شده و پس از شستشو جهت مشاهده تغییر رنگ آوندی و یا پوسیدگی نوک ریشه مورد بررسی قرار گرفتند (Hanson and Hill 2004). میزان حساسیت ارقام در این تحقیق بر اساس علایم برگی محاسبه گردید و سطح زیرمنحنی پیشرفت بیماری (AUDPC) برای هر رقم محاسبه شد (Hanson and Hill 2004). برخی از ریشه‌های گیاهان تیمار جهت بازیابی قارچ مایه‌زنی شده و اجرای اصول کخ انتخاب و در محیط کشت PDA کشت شدند.

آزمایش‌های مزرعه‌ای

برای این منظور ارقام تجاری چغندرقند در مزرعه‌ی آزمایشی ایستگاه تحقیقات کشاورزی شهرستان میاندوآب در سال ۱۳۹۶ تحت کشت قرار گرفتند. مزارع این شهرستان اغلب تحت کشت چغندرقند می‌باشند و تناوب زراعی بیشتر از دو سال توسط زارعین رعایت نمی‌شود، بنابراین آلودگی طبیعی خاک مزرعه اساس بیماری‌زایی قرار گرفت. این تحقیق در قالب طرح بلوک‌های کامل تصادفی با شش تکرار برای هر رقم در کرت‌هایی به ابعاد (۸×۱/۵) مترمربع اجرا شد. رقم شریف به‌عنوان شاهد حساس در نظر گرفته شد. تعداد بوته‌های از دست رفته در سه بار مشاهده ۳۰، ۶۰ و ۹۰ روز بعد از اعمال وجین شمارش شدند و نمودار سطح زیرمنحنی پیشرفت بیماری (AUDPC) برای هر رقم در مزرعه محاسبه شد.

تعداد کل بوته‌های هر کرت به طور تقریبی ۱۳۵ عدد بود و تعداد بوته‌های از بین رفته بر اساس این تعداد بررسی شد. درصد بوته‌میری، نوع و میزان پوسیدگی‌ریشه از زمان تشکیل ریشه کامل چغندرقند تا زمان برداشت با توجه به علایم ظاهری در مزرعه بررسی شد (Ebrahimi Koulaee *et al*. 2010). ریشه‌های پوسیده و گیاهان دارای علایم تا زمان برداشت به طور دوره‌ای جمع‌آوری و بیمارگرها در محیط کشت PDA جداسازی شدند. بیمارگرها با میکروسکوپ نوری دوچشمی ۱۶۰۰ برابر مدل XSZ-801 BN بررسی شدند. جهت شناسایی گونه‌های دارای اسپور و اندام‌های باردهی از مشخصات مورفولوژیکی اسپور و اندام‌های باردهی جنسی یا غیرجنسی استفاده شد. برای گونه‌هایی مانند فوزاریوم به روش اندازه‌گیری ابعاد و تعداد دیواره‌های سلولی میکروکنیدی و ماکروکنیدی و نیز مشخصات ظاهری پرگنه استفاده گردید. در رابطه با شبه‌قارچ‌های اوومیستی از مشخصات اسپورانژ و اسپورانژیوفور استفاده گردید. در مورد قارچ *R. solani* مشخصاف ریسه‌ها مورد بررسی قرار گرفت. جنس‌های *Phoma* و *Macrophomina* بر اساس مشخصات اندام باردهی و شناسایی سایر گونه‌های با استفاده از مشخصات کنیدی و کنیدیوفور صورت گرفت (Stamps *et al*. 1990; Sneh *et al*. 1996; Leslie and Summerell 2006). جهت تشخیص نهایی نماینده‌هایی از گونه‌ها تحت استخراج DNA قرار گرفته و با استفاده ناحیه ITS-rDNA تکثیر صورت گـرفت و جهت توالی‌یابی ارسال شدند (Hill *et al*. 2011).

بررسی عملکرد شکر سفید (WSY ha^{-1}) ارقام تحت تنش

به منظور مقایسه عملکرد ریشه (Root Yield)، وزن ریشه تازه اندازه‌گیری شد. برای به‌دست آوردن عملکرد شکرسفید (SY)، خمیر حاصل از چغندرقند از ریشه‌های همه‌ی تکرارهای تیمار با استفاده از وسیله نمونه‌گیری ویژه آماده شد. نمونه‌های خمیر جهت تجزیه شیمیایی و اندازه‌گیری عیار قند (Sugar Content) به دستگاه بتالایزر مدل ۳۰۱۶ و فلیم‌فتومتر (Flame Photometer) انتقال یافتند. از فرمول‌های مربوطه برای محاسبه درصد شکرسفید (White Sugar Content) استفاده شد (Abdollahian-Noghabi 1999).

آزمون آماری

تجزیه واریانس داده‌ها با نرم‌افزار SAS انجام گرفت (Fattahi *et al*. 2011). تجزیه واریانس داده‌های مزرعه‌ای با آزمون‌های هووتست لون (Leven HOVTEST) و آنووا (ANOVA) صورت گرفت (Altier and Theis 1995; Fattahi *et al*. 2011). برای محاسبه آماری آزمایش‌های گلدانی مایه‌زنی *R. solani* از شاخص برداشت (HI) و شاخص بیماری (DI) استفاده شد. شاخص برداشت عبارت است از درصد ریشه‌هایی از آن تیمار با قابلیت برداشت (تعداد بوته‌هایی که مقیاس بیماری آنها ۱–۳ بر اساس مقیاس ۹–۱ می‌باشد) نسبت به کل گیاهان تیمار در آن تکرار (در این آزمایش ۱۵ بوته). شاخص بیماری با استفاده از فرمول راپل محاسبه شد (Ruppel 1972). نتایج آزمون مایه‌زنی قارچ *F. oxysporum* با استفاده از میانگین AUDPC به‌دست آمده برای هر رقم مورد تجزیه و تحلیل آماری قرار گرفت (Ruppel 1972). آزمون غیرپارامتریک کروسکال والیس (Kruskal-Wallis) بـرای تجـزیه واریـانس نتایج مـایه‌زنی *R. solani* مورد استفاده قرار گرفت. مقایسات بین گروه‌ها با استفاده از آزمون‌های ANOVA (آنالیز واریانس یک طرفه)، Tukey (توکی) و LSD (ال‌اس‌دی) صورت گرفت.

نتایج

بیماری‌زایی و مشخصات مورفولوژیکی و مولکولی دو قارچ *F. oxysporum* f. sp. *betae* و *R. solani*

گونه *R. solani* AG-2-2

رنگ کلنی در روی محیط کشت PDA سفید و بعد از مدتی متمایل به شکلاتی و در نهایت قهوه‌ای می‌شود. رنگ آن در پشت پرگنه قهوه‌ای است. قارچ بعد از دو هفته تولید سختینه می‌کند و رنگ آن‌ها از قهوه‌ای تا خرمایی متغیر است. در مشخصات میکروسکوپی هیف‌ها دارای سلول‌های درشت و طویل بوده و انشعاباتی با زاویه ۹۰ درجه دارند. هیف‌ها در محل انشعابات کمی فرورفتگی داشته و تولید سلول‌هایی به نام مونیلوئید کرده که به‌صورت زنجیر به هم متصل می‌باشند. همچنین با بررسی توالی‌های ناحیه rDNA ITS مشخص شد که گروه خواهری جدایه تیپ *R. solani* AG-2-2 با تشابه ۹۷ درصد می‌باشد. بیماری‌زایی این قارچ همانطور که در مطالعات قبلی توسط بیماری‌شناسان صورت گرفته بود، مثبت بود. به طوری که بعد از پنج هفته تیمارهای مایه‌زنی شده با بذر ذرت آلوده نسبت به تیمار شاهد، مایه‌زنی شده با بذر ذرت سترون، علایم مرگ گیاهچه در برخی بوته‌های تیمار، پوسیدگی خشک ریزوکتونیایی در ریشه و ضعف و پژمردگی نشان دادند.

گونه *F. oxysporum* f. sp. *betae*

مونوفیالیدهای این گونه در مقایسه با *F. solani* ساده و منشعب و اغلب کوتاه است. اسپوردوکیوم قارچ کرم تا نارنجی رنگ بوده و تولید کلامیدیوسپورهای منفرد و دوتایی از مشخصات برجسته این گونه می‌باشد. این گونه روی چغندرقند بیماری‌زا بود. این گونه با بررسی توالی‌های ناحیه *ITS* و نیز *TEF1-a* مشخص شد که گروه خواهری جدایه‌ی تیپ *F. oxysporum* f. sp. *betae* (Fob13) با ۹۶ درصد تشابه توالی می‌باشد. گیاهچه‌های مایه‌زنی شده در مراحل ابتدایی حالت پژمردگی سپس حالت زردی در برخی برگ‌ها و بعد از آن زردی در تمام یا اغلب برگ‌ها و با پیشرفت بیماری نکروز برگی نشان دادند. همچنین در بررسی نهایی ریشه‌ها حالت تغییر رنگ قهوه‌ای در آوندهای بیش از ۴ درصد بوته‌ها مشاهده شد. گیاهان شاهد فاقل علائم بودند.

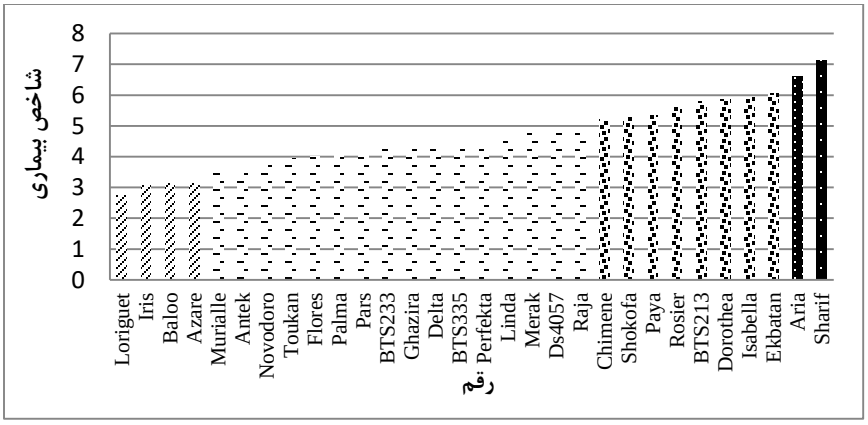
مایه‌زنی *R. solani* در گلخانه

در این آزمایش تیمارهای شاهد بدون‌آلودگی فاقد علایم بیماری بودند. رقم شریف (شاهد حساس) اختلاف معنی‌دار در سطح ۵ درصد (Pvalue<۰/۰۵) داشت. شاخص برداشت (HI) و شاخص بیماری (DI) برای هر یک از تیمارها در جدول ۲ آورده شده است. اختلاف شاخص بیماری بین گروه‌ها در شکل ۱ آمده است و ارقام با شاخص ۳–۱ مقاوم، ۵–۳ نسبتاً مقاوم، ۷–۵ نسبتاً حساس و ۹–۷ حساس می‌باشند. ارقامی با شاخص بیماری کمتر از سه در گروه مقاوم قرار گرفتند. ارقام لوریگوت، ایریس، بالو و آذر مقاومت خوب و شاخص بیماری پایین (حدود ۳/۹۳–۲/۷۳) در شرایط گلدان نشان دادند. ارقام موریل، آنتک، نوودور، توکان، فلورس، پالما، بی‌تی‌اس ۲۳۳، قزیرا، ذلتا، پرفکتا، لیندا و غیره صبق شکل ۱ در گروه نسبتاً مقاوم حای گرفتند. ارقام چیمنه، شکوفا، پایا، روزیر، بی‌تی‌اس۲۱۳، دورتئا، ایزابلا و اکباتان در گروه نسبتاً حساس قرار گرفتند. دو رقم آریا و شریف به این قارچ حساس بودند. شاخص بیماری پایین با شاخص برداشت بالا ارتباط مستقیم دارد، اما عملاً برخی ارقام از این فرمول تبعیت نمی‌کنند. آزمون Kruskal-Wallis اختلاف معنی‌دار بین ارقام نشان داد. مقایسات چندگانه با

آزمون‌های Tukey و LSD با سطح معنی‌داری ۰/۰۵ چهار نوع واکنش در برابر *R. solani* را ثابت کرد (شکل ۱). رقم شریف به عنوان شاهد حساس بیشترین و ارقام بالو و آذر کمترین مرگ و میر بوته در بلوک را نشان داد. میزان مقاومت ارقام تجاری در برابر قارچ ریزوکتونیا به شرح جدول ۲ می‌باشند.

جدول ۲ میانگین و انحراف معیار شاخص بیماری (DI) و شاخص برداشت (HI) حاصل از آزمایش‌های گلدانی بین ۳۰ رقم در برابر *R. solani*

رقم	DI	HI(%)	رقم	DI	HI(%)	رقم	DI	HI (%)
لوریگوت	۱/۳۸ ± ۲/۷۳	۸۶	پارس	۱/۹۵ ± ۴/۱۳	۶۰	چیمنه	۲/۳۹ ± ۵/۲	۴۶
ایریس	۱/۳۳ ± ۳/۰۶	۸۰	بی‌تی‌اس۲۳۳	۱/۶۶ ± ۴/۲۶	۴۶	شکوفا	۲/۵۲ ± ۵/۲۶	۴۶
بالو	۰/۹۱ ± ۳/۱۳	۹۳	قزیرا	۲/۳۱ ± ۴/۲۶	۵۳	پایا	۲/۵۲ ± ۵/۳۳	۳۳
آذر	۱/۱۲ ± ۳/۱۳	۹۳	دلتا	۲/۱۵ ± ۴/۲۶	۶۶	روزیر	۱/۹۹ ± ۵/۶	۳۳
مورایل	۱/۸۸ ± ۳/۴۶	۷۳	بی‌تی‌اس۳۳۵	۲/۱۲ ± ۴/۳۳	۶۶	بی‌تی‌اس۲۱۳	۲/۹۵ ± ۵/۸	۳۳
آنتک	۲/۶۴ ± ۳/۴۶	۸۰	پرفکتا	۲/۵۸ ± ۴/۴	۶۶	دورتئا	۲/۵۰ ± ۵/۸۶	۳۳
نوودور	۱/۴۸ ± ۳/۷۳	۶۶	لیندا	۲/۰۹ ± ۴/۵۳	۴۶	ایزابلا	۲/۶۵ ± ۵/۹۳	۳۳
توکان	۲/۳۱ ± ۳/۹۳	۶۶	مراک	۲/۵۹ ± ۴/۸	۵۳	اکباتان	۱/۵۳ ± ۶/۰۶	۱۳
فلورس	۲/۰۳ ± ۴	۳۳	دی‌اس۴۰۵۷	۲/۱۴ ± ۴/۸	۵۳	آریا	۲/۵۵ ± ۶/۶	۲۶
پالما	۲/۲۳ ± ۴/۱۳	۴۰	رجا	۲/۰۹ ± ۴/۸۶	۴۶	شریف	۱/۷۶ ± ۷/۱۳	۶



شکل ۱ مقایسه شاخص بیماری (DI) بین ۳۰ رقم در مایه‌زنی قارچ *R. solani* در شرایط گلخانه. چهار گروه واکنش در این نمودار قابل مشاهده می‌باشد. ارقام با شاخص ۳-۱ مقاوم، ۵-۳ نسبتا مقاوم، ۷-۵ نسبتاً حساس و ۹-۷ حساس می‌باشند.

مایه‌زنی *F. oxysporum* f. sp. *betae* در گلخانه

سطح زیر منحنی پیشرفت بیماری (AUDPC) با استفاده از شاخص (۵-۰) برای هر رقم در جدول ۳ آورده شده است. مقایسه مقادیر AUDPC با استفاده از آزمون ANOVA تفاوت معنی‌دار در بین و میان اغلب گروه‌ها نشان داد (P-value<0.05). تجزیه و تحلیل Post Hoc نشان داد که در بین اغلب ارقام از لحاظ مقاومت به این بیمارگر تفاوت معنی‌دار وجود دارند و چهار گروه واکنش با مقاومت بالا (۱۰۰<AUDPC<۸۰۰)، مقاوم (۸۰۰<AUDPC<۱۰۰۰)، نسبتاً حساس (۱۰۰۰<AUDPC<۱۲۰۰)، حساس (۱۲۰۰<AUDPC<۲۵۰۰)

مشخص کرد (جدول ۲). در این تحقیق رقم آریا به عنوان رقم مقاوم و رقم ایریس حساس‌ترین رقم شناخته شد.

ژنوتیپ‌های حساس رشد شاخص شدت بیماری سریع‌تری نسبت به ژنوتیپ‌های مقاوم داشتند. تیمارهای شاهد که با آب مقطر استریل مایه‌زنی شده بودند علایم بیماری فوزاریومی را نشان ندادند. بعد از اتمام دوره آزمایش، ریشه‌های گیاهان آلوده برداشت شدند و علایم نوک ریشه ثبت و سپس مورد بررسی و مقایسه قرار گرفت. در موارد ظهور بیماری تغییر رنگ قهوه‌ای مایل به سیاه در بخش انتهایی ریشه‌های بوته‌های بیمار مشاهده گردید. برخی ریشه‌ها جهت اجرای اصول کخ انتخاب و تحت کشت مجدد بر روی PDA قرار گرفتند. قارچ *F. oxysporum* از ریشه‌ها بازیابی گردید.

جدول ۳ مقادیر محاسبه شده سطح زیرنمودار پیشرفت بیماری ارقام مختلف چغندرقند مایه‌زنی شده با جدایه *F. oxysporum* در شرایط کلخانه

رقم	AUDPC	رقم	AUDPC	رقم	AUDPC
آریا	۴۹۶/۱۶	بی‌تی‌اس۲۳۳	۹۵۰/۸۳	پرفکتا	۱۰۹۶/۶۶
بی‌تی‌اس۲۱۳	۵۲۵	پارس	۹۵۰/۸۳	روزیر	۱۱۰۲/۵
اکباتان	۷۸۷/۵	فلورس	۹۸۶/۳۳	ایزابلا	۱۱۳۷/۵
پایا	۸۶۳/۳۳	رجا	۹۷۴/۱۶	بالو	۱۱۵۵
دلتا	۸۸۰/۸۳	پالما	۱۰۰۳/۳۳	قزیرا	۱۱۹۰
دوروتی	۸۸۶/۶۶	لوریگوت	۱۰۰۳/۳۳	آنتک	۱۳۱۳/۳۳
نوودور	۸۹۲/۵	دی‌اس۴۰۵۷	۱۰۲۶/۶۶	شریف	۱۲۶۰
آذر	۹۱۵/۸۳	توکان	۱۰۵۵/۸۳	چیمنه	۱۳۷۶/۶۶
مورایل	۹۴۵	مراک	۱۰۷۹/۱۶	بی‌تی‌اس۳۳۵	۱۴۴۶/۶۶
شکوفا	۹۴۵	لیندا	۱۰۸۵	ایریس	۱۴۶۴/۱۶

میزان بوته‌میری در مزرعه

ریشه‌های آلوده جمع‌آوری شده از مزرعه در آزمایشگاه تحت بررسی و جداسازی قارچی قرار گرفتند. از بوته‌های بیمار دارای علایم پوسیدگی خشک قارچ *R. solani* و از بوته‌های دارای علایم زردی برگ‌ها و تغییر رنگ نوک ریشه قارچ *F. oxysporum* جداسازی گردید. سایر عوامل آلوده‌کننده متعلق به گونه‌های *F. solani*، *Pythium* spp.، *Macrophomina phaseolina* و سایر گونه‌های ساپروفیت بودند. نتایج جداسازی عوامل پوسیدگی و پژمردگی ریشه در جدول ۴ آمده است.

جدول ۴ درصد شیوع بیماری‌های قارچی در سه بار شمارش بوته‌ها بعد از انجام تنک و وجین در مزرعه

روزهای مشاهده	میانگین تعداد گیاهان بیمار	درصد شیوع انواع جدایه‌های قارچی				
	تعداد گیاهان	*R. solani*	*F. oxysporum*	*F. solani*	*M. phaseolina*	سایر گونه‌ها
۳۰	۱۴/۱	۳۴	۷	۰/۳	۰/۲	۰/۰۳
۶۰	۲۲/۲	۴۶	۱۲	۰/۴۵	۰/۵۵	۰/۰۸
۹۰	۳۱/۹	۶۹	۲۳	۰/۵	۰/۵	۰/۱
جمع	۶۸/۲	۴۹/۶	۱۴	۰/۴۱	۰/۴۱	۰/۰۷

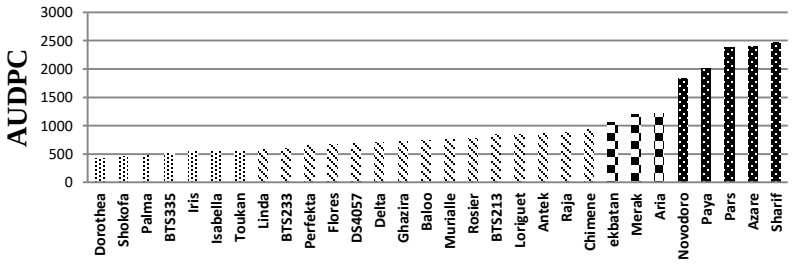
تجزیه واریانس داده‌های حاصل از مزرعه

از آزمون لون جهت تجزیه و تحلیل داده‌های حاصل از سه مرحله شمارش بوته در کرت‌های مزرعه استفاده شد. نتایج نشان داد که اختلاف معنی‌دار بین ارقام در هر سه مرحله وجود دارد. تجزیه و تحلیل ANOVA نیز اختلاف معنی‌دار بین ارقام و بین تکرارهای آزمایش نشان داد به طوری که بلوک‌های تحت آزمایش اختلاف معنی‌دار نشان دادند. آزمون توکی ارقام را در چهار گروه با مقاومت بالا (۵۰<AUDPC<۵۰۰)، مقاوم (۵۰۰<AUDPC<۱۰۰۰)، نسبتاً حساس (۱۰۰۰<AUDPC<۱۵۰۰)، و حساس (۱۵۰۰<AUDPC<۲۵۰۰) خوشه‌بندی کرد (شکل ۴).

جدول ۵ تجزیه واریانس یک طرفه (ANOVA) و نتایج آزمون لون روی نتایج حاصل از آزمون مزرعه در سه بار مشاهده و شمارش

فواصل شمارش بوته‌ها	گروه‌ها	مجموع مربعات	df	میانگین مربعات	F	Levene Statistic	Sig.
۳۰ روز	داخل گروه‌ها	۱۰۱۶۷/۴۰	۲۹	۳۵۰/۹۱	۶/۰۶	۴/۶۸۹	/۰۰۰
	بین تکرارهای گروه	۸۶۷۴/۵	۱۵۰	۵۷/۸۳			
	کل	۱۸۸۵۰/۹۹	۱۷۹				
۶۰ روز	داخل گروه‌ها	۲۱۵۰۹/۸۹	۲۹	۷۴۱/۷۲	۹/۷۷	۳/۴۳۵	/۰۰۰
	بین گروه‌ها	۱۱۳۸۷/۵	۱۵۰	۷۵/۹۱			
	کل	۳۲۸۹۷/۳۹	۱۷۹				
۹۰ روز	داخل گروه‌ها	۵۲۸۱۸/۲۴	۲۹	۱۸۲۱/۳۱	۱۵/۲۴	۴/۱۳۸	/۰۰۰
	بین گروه‌ها	۱۷۹۲۲/۳۳	۱۵۰	۱۱۹/۴۸			
	کل	۷۰۷۴۰/۵۷	۱۷۹				

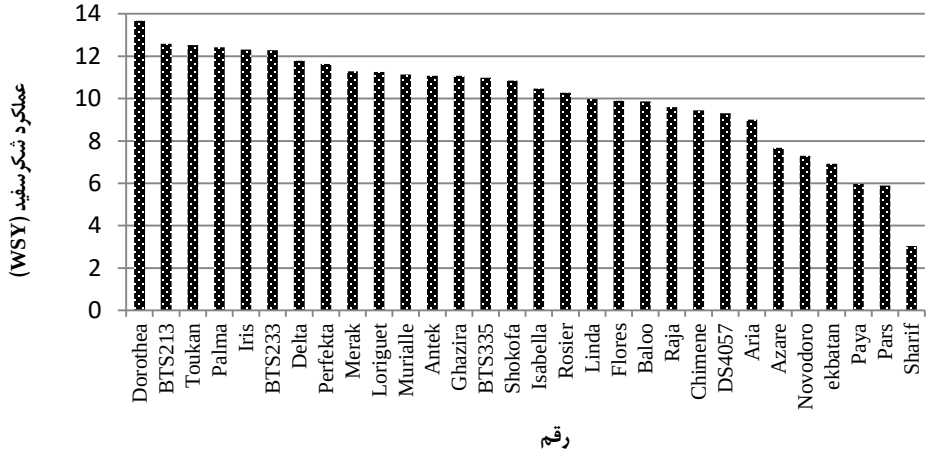
نتایج AUDPC شیوع بالای قارچ ریزوکتونیا را در رقم شریف، تیمار کنترل مثبت، نشان دادند. همچنین تعداد بالای زوال گیاه مشابه با رقم شریف به ترتیب در ارقام آذر، پارس، پایا و نوودور مشاهده شد و به عنوان ارقام حساس در برابر پوسیدگی‌های ریشه مشخص شدند. ارقام آریا، مراک و اکباتان در برابر پوسیدگی‌های ریشه نسبتاً حساس بودند. ارقام دوروتی، شکوفا، پالما، بی‌تی‌اس ۳۳۵، ایریس، ایزابلا و توکان مقاومت بالا و ارقام لیندا، بی‌تی‌اس ۲۳۳، پرفکتا، فلورس، دی‌اس ۴۰۵۷، دلتا، قزیرا، بالو، موریل، روزیر، بی‌تی‌اس۲۱۳، لوریگوت، آنتک، رجا و چیمینه مقاومت نسبی در برابر پوسیدگی‌های‌ریشه تحت شرایط مزرعه نشان دادند. مقادیر تغییرات AUDPC ارقام در شکل ۲ آمده است.



شکل ۲ نتایج AUDPC بین ۳۰ رقم تست شده در شرایط طبیعی مزرعه با آلودگی طبیعی به بیمارگرهای پوسیدگی‌ریشه. چهار گروه واکنش در مزرعه مشاهده شدند. گروه‌های مقاوم، نسبتاً مقاوم، نسبتاً حساس و حساس در این شکل با طرح‌های متفاوت نمایش داده شده‌اند.

نتایج عملکرد شکرسفید ارقام تحت آزمایش

عملکرد شکرسفید ارقام در واحد سطح (تن در هکتار) محاسبه شد و در جدول ۳ آورده شده است. ارقام دوروتی، بی‌تی‌اس ۲۱۳، توکان، پالما، ایریس و بی‌تی‌اس ۲۳۳ عملکرد بالا نشان دادند. ارقام دلتا، پرفکتا، مراک، موریل، آنتک، قزیرا، بی‌تی‌اس۲۳۳، شکوفا و ایزابلا عملکرد متوسط نشان دادند. ارقام آریا، آذر، نوودور، اکباتان، پایا، پارس و شریف عملکرد پایین داشتند.



شکل ۳ نمودار مقایسه بین ارقام در کرت‌های تحت‌تنش و فاقدتنش. عملکرد شکرسفید بالا (بیشتر از ۱۰)، عملکردشکر متوسط (۸–۱۰) و عملکردشکر پایین (زیر ۸).

بحث

در این تحقیق مقاومت ارقام تجاری رایج و مطلوب نظر چغندرکاران استان آذربایجان‌غربی در برابر دو جدایه قارچی پرآزار *F. oxysporum* f. sp. *betae* (Fob13) و *R.* AG-2-2 *solani* در گلخانه و شرایط مزرعه با آلودگی طبیعی به بیماری پوسیدگی ریشه این استان مورد ارزیابی قرار گرفتند. در ایران اغلب بذرهای شرکت‌های اروپایی و بذرهای تولیدی مؤسسه تحقیقات اصلاح و تهیه بذر چغندرقند، کرج ارقام مورد پسند کشاورزان می‌باشند (Annonymous 2011). اما گاه با وجود انتخاب و کشت بذرهای مقاوم بر علیه بیمارگرها همچنان خسارات ناشی از این قارچ‌ها در مزارع مشاهده می‌گردد. برای بررسی این مسأله عوامل دخیل در شکست مقاومت این ارقام بایستی مدنظر قرار گیرد. اصلاح‌کنندگان بذر همواره در صدد تولید بذرهای مقاوم بر علیه این عوامل خسارت‌زا بوده‌اند (Biancardi *et al*. 2012). اما تأثیر شرایط محیطی بر روی شیوع و گسترش بیماری‌های قارچی و نیز اثرات متقابل شرایط ویژه محیط اطراف ریشه با ژنوتیپ میزبان کمتر مورد توجه واقع شده است (Buttner *et al*. 2004; 2002). این احتمال می‌رود بذرهای معرفی شده مقاوم در برابر بیمارگرهای قارچی، مقاومت مناسبی در شرایط خاص اقلیمی خاک نداشته باشند که این منجر به شکست مقاومت می‌شود (Steven *et al*. 2005). بنابراین یک آزمایش مزرعه‌ای تحت شرایط آلودگی طبیعی مزرعه که میزان پوسیدگی و بوته‌میری ارقام مختلف چغندرقند را مورد مقایسه قرار دهد ضروری بود. شرایط کاشت و داشت چغندرقند که در این استان مورد استفاده قرار می‌گیرد بر روی کرت‌های آزمایشی به همان صورت اعمال گردید. در آزمایش مزرعه‌ای

دو قارچ *R. solani* و *F. oxysporum* درصد وقوع بیش از ۶۵ داشتند و مابقی گونه‌ها با درصد وقوع پایین اکثرا جزو گونه‌های قارچی عامل پوسیدگی نرم و یا ساپروفیت بودند. این نتیجه خاطر نشان کرد که دو قارچ *R. solani* و *F. oxysporum* مهم‌ترین عوامل مرگ و میر و خسارت در شرایط کشت چغندرقند در استان آذربایجان‌غربی می‌باشند (Irani and Ershad 1995).

نتایج تحقیقات در ایران حاکی از درصد بالای آلودگی یه قارچ *R. solani* با گروه سازگار رویشی AG-2-2 است که از چغندرقندهای دارای علایم پوسیدگی ریشه در استان‌های غربی جداسازی می‌شوند (Mahmoudi *et al*. 2005). همچنین تحقیقات زیادی جدایه‌های پرآزار قارچ *F. oxysporum* f. sp. *betae* را از عوامل عمده پوسیدگی و پژمردگی این محصول در دنیا گزارش کرده‌اند (Hanson and Jacobsen 2009). در مورد *F. oxysporum* در ایران فرم مختص میزبان چغندرقند (*F. oxysporum* f. sp. *betae*) تاکنون شناسایی نشده است و اغلب فرم‌های مختص سایر میزبان‌های زراعی در این گیاه علایم زردی ایجاد می‌کنند (Arzanlou *et al*. 2000; Soltani Nejad *et al*. 2007; Taleghani *et al*. 2010). در این تحقیق با استفاده از نواحی ژنی ITS-rDNA و *TEf1-a* فرم مختص میزبان چغندرقند *F. oxysporum* f. sp. *betae* به روش بلاست و تعیین فواصل فیلوژنی شناسایی و در مایه‌زنی استفاده گردید. روش‌های مایه‌زنی به کار رفته برای هر دو قارچ به صورت موفقیت‌آمیز عمل کردند. بذر ذرت آلوده به میسلیوم قارچ *R. solani* در تحقیق محمودی و همکاران (Mahmoudi *et al*. 2003) به‌عنوان یکی از روش‌های مایه‌زنی قارچ‌های فاقد اسپور در ارزیابی گلدانی و حتی در کرت‌های مزرعه‌ای مورد استفاده قرار گرفت. همچنین مایه‌زنی به روش سوسپانسیون اسپور در مورد جدایه‌های قارچ فوزاریوم به ویژه جدایه *F. oxysporum* همیشه موفقیت‌آمیز بوده است. غوطه‌ورسازی ریشه‌های گیاهچه‌های چغندرقند در محلول اسپور با شبیه‌سازی نحوه پخش اسپور در محیط اطراف ریشه گیاهچه‌ها کمک خوبی در موفقیت مایه‌زنی نموده است و اغلب کارهای تحقیقاتی در حوزه قارچ فوزاریوم از این روش ابداعی بهره جسته‌اند (Hanson and Hill 2004).

در بررسی مقاومت ارقام در برابر قارچ ریزوکتونیا در گلخانه بسته به میزان شاخص بیماری رقم لوریگوت مقاومت زیاد و بعد از آن ارقام ایریس، بالو و آذر به ترتیب مقاوم بودند. ولی با این حال ارقام موریل، آنتک، نوودور، توکان، فلورس، پالما، پارس، بی‌تی‌اس ۲۳۳، قزیرا، دلتا، بی‌تی‌اس۳۳۵، پرفکتا، لیندا مراک، دی اس ۴۰۵۷ و رجا مقاومت نسبی (شاخص بیماری پایین) در برابر قارچ *R. solani* نشان دادند. حساسیت نسبی در ارقام چیمنه، شکوفا، پایا، روزیر، بی‌تی‌اس۲۱۳، دوروتی، ایزابلا، اکباتان و آریا مشاهده شد. رقم شریف (شاهد مثبت) به‌عنوان یک رقم حساس، بیشترین مرگ و میر و آلودگی را در شرایط مزرعه و نیز گلدان نشان داد و حاکی از تأیید نتیجه آزمایش بود. اما در بین ارقام با شاخص بیماری پایین در مایه‌زنی *R. solani* دو رقم فلورس و پالما شاخص برداشت پایین داشتند که با نتیجه اصلی مغایرت نشان می‌دهد. برای بررسی بهتر این موضوع نیاز به تکرار آزمایش در شرایط طبیعی بود که در ادامه آزمایش صورت گرفت و نتایج شفاف‌تری در دسترس قرار گرفت. همچنین مقاومت ارقام مورد بررسی با مقاومت ژنتیکی اعلام شده توسط شرکت‌های تولید کننده این بذرها مورد مقایسه قرار گرفتند. بنابراین با توجه به خصوصیات اعلام شده توسط تولیدکنندگان ارقام هیبرید مورد آزمایش (جدول ۱) می‌توان متوجه شد که هیبریدهای دارای ژنتیک مقاومت به *R. solani* مثل آذر، ایریس، نوودور، فلورس و دلتا به ترتیب در گروه ارقام مقاوم و نسبتاً مقاوم در این آزمایش

قرار گرفتند. این نتایج صحت روش به کار رفته در آزمون مایه‌زنی را تأیید کرد. ارقامی مثل مورایل، آنتک، توکان، پارس، شکوفا، پایا و سایر ارقام دسته‌بندی شده در گروه با مقاومت نسبی با داشتن سایر ویژگی‌های مثبت در برابر *R. solani* نیز مقاومت نشان دادند. اما در این تحقیق گروه‌های مغایر با این اصل نیز یافت شدند که رقم دوروتی با وجود دارا بودن ژن مقاومت به *R. solani* از مقاومت پایین در مقابل این قارچ برخودار شد و نیز رقم اکباتان با وجود دارا بودن ژن مقاومت در گروه نسبتاً حساس جای گرفت. اما جهت نتیجه‌گیری قطعی اقدام به اجرای آزمایش در مزرعه و تحت شرایط طبیعی گردید.

با پیشـرفت آگـاهی از ساختار ژنتیکی جمعیت‌های قارچ *R. solani* عرصه جدیدی از تحقیقات جهت تولید ارقام مقاوم گیاهی در برابر این بیمارگر به روی اصلاح‌کنندگان ارقام مقاوم گشوده شده است (Panella *et al*. 2011). تاکنون تحقیقات زیادی در زمینه ارزیابی مقاومت ارقام تجاری و رگه‌های اصلاحی چغنـدرقند در مـواجهه با گـروه‌های آناستـوموزی مختلـف قارچ *R. solani* در ایران و جهان صورت گرفته است (Buttner *et al*. 2004; Panella and Hanson 2007; Ebrahimi Koulaee *et al*. 2010; Mahmoudi *et al*. 2013). اما افزایش روزافزون تعداد ارقام تجاری و معرفی آنها به بازار باعث ایجاد نوعی سردرگمی در انتخاب بذر مقاوم توسط زارعین می‌شود. از طرفی به علت تغییرات ژنتیکی که در نتیجه جهش‌ها و نیز هم‌جوشی ریسه‌ها به طور مداوم در اکوسیستم طبیعی خاک صورت می‌گیرد، شاهد جدایه‌های پرآزار از گروه‌های سازگار رویشی در طول زمان هستیم که این امر لزوم اجرای تحقیقات مداوم و علمی در برهم‌کنش میزبان– بیمارگر را در جهت بررسی علل شکست مقاومت در ارقام تجاری را می‌طلبد.

ارزیابی مقاومت ارقام تجاری در گلخانه نشان داد که ارقام آریا، بی‌تی‌اس ۲۱۳، اکباتان و پایا در برابر قارچ *F. oxysporum* مقاوم و ارقام دلتا، دوروتی، نوودور، آذر، اوکراین، مورایل، شکوفا، بی‌تی‌اس۲۳۳، پارس، فلورس و رجا نسبتاً مقاوم در برابر این قارچ بودند. با توجه به نتایج مندرج در جدول ۳ ارقام پالما، لوریگوت، دی‌اس۴۰۵۷، توکان، مراک، لیندا، پرفکتا، روزیر، ایزابلا، بالو، قزیرا، آنتک، شریف، چیمنه، بی‌تی‌اس ۳۳۵ و ایریس به ترتیب در گروه حساس تا با حساسیت زیاد جای گرفتند. لاین‌های مقاوم در برابر *F. oxysporum* توسط اصلاح‌کنندگان بذر در طول فرایند اصلاح به‌دست آمده‌اند و به علت موجود بودن منابع کافی مقاومت توجه زیادی به منشاء بروز این مقاومت نشده است (De Lucchi *et al*. 2017). اما بدون در نظر گرفتن جایگاه و منشاء مقاومت مشکلاتی بر سر راه اصلاح‌کنندگان بذرهای مقاوم پدیدار می‌شود. به طوری که انتخاب لاین‌های مقاوم به روش سنتی حتی در بهترین شرایط کنترل شده همواره تحت تأثیر محیط و فاکتورهای ناخواسته قرار می‌گیرد و شانس انتخاب مؤثر را کاهش می‌دهد در حالی که نشانگرهای ژنتیکی به راحتی این کار را در کوتاه‌ترین زمان بدون خطا انجام می‌دهند (Stevanato *et al*. 2017). برای تسهیل در امر انتخاب ژنوتیپ مقاوم برای اولین بار در سال ۲۰۱۷ تحقیقی جهت جستجوی منشا مقاومت در ژن‌های وابسته به مقاومت در ایتالیا انجام شد. دو لوکوس تفاوت تک نوکلئوتیدی (Single Nucleotide Polymorphisms or SNP) وابسته به مقاومت به قارچ *F. oxysporum* در داخل دو ژن وابسته به مقاومت در لاین‌ها و ارقام مقاوم چغندرقند کشف شد (De Lucchi *et al*. 2017). ژنوتیپ‌های مورد بررسی در تحقیق حاضر با استفاده از این دو نوع SNP تازه کشف شده در آزمایشی جداگانه مورد بررسی قرار گرفته‌اند و مقاومت ژنتیکی ۳۰ رقم مشخص شده

است (Moshari *et al*. 2018). در این تحقیق نتایج حاصل از مایه‌زنی قارچ فوزاریوم با خصوصیت ژنتیکی مشخص شده برای هر رقم (وجود یا عدم وجود SNP وابسته به مقاومت) مورد مقایسه قرار گرفتند و مشخص شد که رقم آریا دارای هر دو SNP وابسته به مقاومت می‌باشد و ارقام بی‌تی‌اس ۲۱۳، پایا، دلتا، شکوفا، موریل و رجا دارای حداقل یکی از دو SNP وابسته به مقاومت هستند (Moshari *et al*. 2018). هر چند SNP2 همبستگی کمتری با نتایج فنوتیپی داشت و برخی ارقام دارای SNP2 مانند رقم پایا الزاما فنوتیپ مقاوم نشان ندادند. نتایج حاصل از آزمایش‌های گلخانه‌ای ثابت کرد که ارقام آریا، بی تی اس ۲۱۳، اکباتان و دلتا در برابر مایه‌زنی *F. oxysporum* در گلدان مقاوم بودند. با مشخص شدن خصوصیت ژنتیکی رقم آریا که دارای هر دو SNP وابسته به مقاومت و ارقام بی‌تی‌اس ۲۱۳، دلتا و اکباتان هر کدام دارای یک SNP وابسته به مقاومت می‌باشند، فنوتیپ مقاومت را به خوبی در گلدان بروز داده‌اند و مهر تایید صحت این آزمایش می‌باشد.

همچنین در این تحقیق اقدام به بررسی مقاومت ارقام تجاری در شرایط آلودگی طبیعی مزرعه گردید. مزرعه آزمایشی با سابقه کشت چغندرقند و آلودگی به بیمارگرهای پوسیدگی ریشه انتخاب شد و عملیات زراعی در مزرعه منطبق با عملیات کاشت و داشت چغندرقند توسط کشاورزان استان آذربایجان‌غربی بود. بر منطقه تحت آزمایش اعمال شد. بعد از اتمام آزمایش بیشترین میانگین سه مرتبه یادداشت‌برداری با فواصل ۳۰ روز مربوط به قارچ *R. solani* با ۴۹/۶ درصد آلودگی و گونه‌های قارچ فوزاریوم به ویژه *F. oxysporum* حدود ۱۴ درصد آلودگی بودند. این میزان آلودگی نشان دهنده درجه غالبیت قارچ *R. solani* در مزرعه مورد آزمایش بود با این وجود ارقام مقاوم در برابر این قارچ و نیز *F. oxysporum* در مزرعه با توجه به میزان مرگ و میر ناشی از آنها شناسایی شدند چون در شرایط آلودگی پیشرفته قارچ *F. oxysporum* باعث ایجاد پوسیدگی ریشه و زوال چغندرقند می‌شود (Hanson *et al*. 2017). بنابراین بوته‌های در حال زوال جهت بررسی عامل پوسیدگی در آزمایشگاه تحت جداسازی قرار گرفتند و میزان مشارکت هر کدام از عوامل در پوسیدگی‌های ریشه مشخص شدند. همچنین اعمال شرایط زراعی مختص منطقه مورد آزمایش (اعم از عدم‌آبیاری به مدت ۳۰ روز یا بیشتر و آبیاری مجدد) روی ارقام در حال بررسی یکی دیگر از عوامل مطرح در این آزمایش بود. نتایج دو آزمایش گلخانه و مزرعه در این تحقیق ثابت کرد که ارقام مقاوم در شرایط گلخانه و نیز ارقامی که حاوی ژن مقاومت می‌باشند ممکن است در مزرعه رفتار مقاومتی متفاوت نشان دهند. این موضوع نشان می‌دهد که عملاً در شرایط طبیعی مزرعه حتی ارقام با مقاومت ژنتیکی تحت تغییر و تحولات اکوسیستم پیچیده خاک به‌خصوص واریانت‌های مختلف قارچ عامل و شرایط زراعی اعمال شده در آن خاک قرار می‌گیرند و متحمل شکست در برابر بیمارگرها می‌شوند (Buttner *et al*. 2004).

در این تحقیق مقاومت ارقام در شرایط کنترل شده گلخانه با مقاومت ارقام در شرایط طبیعی مزرعه مقایسه شد. داده‌های AUDPC در شرایط مزرعه با داده‌های شاخص بیماری (DI) به‌دست آمده از مایه‌زنی *R. solani* و AUDPC به‌دست آمده از مایه‌زنی *F. oxysporum* در گلدان مقایسه و ارقام مقاوم معرفی شدند. دو رقم مقاوم مزرعه یعنی دوروتی و شکوفا در مایه‌زنی *R. solani* در گروه نسبتاً حساس جای گرفتند. رقم شکوفا (دربردارنده یک SNP وابسته به مقاومت به *F. oxysporum*) در مایه زنی *F. oxysporum* مقاوم و رقم دوروتی (فاقد ژنتیک مقاوم) نسبتاً حساس بود. رقم پالما در شرایط مزرعه مقاومت خوبی نشان داد در حالی که فاقد ژنتیک مقاومت

به هر یک از دو قارچ است ولی در مایه‌زنی گلدانی به هر دو قارچ نسبتاً حساس بود. ارقام بی‌تی‌اس ۳۳۵ و ایریس (حاوی ژنتیک مقاومت) در شرایط مزرعه و در مایه‌زنی *R. solani* مقاوم بوده ولی در مایه‌زنی *F. oxysporum* در گروه حساس قرار گرفته‌اند. رقم ایزابلا در شرایط مزرعه مقاوم ولی در مایه‌زنی *R. solani* و *F. oxysporum* حساس بود. با این وصف ارقام مقاوم و نسبتاً مقاوم در شرایط مزرعه و مایه‌زنی *R. solani* شامل ارقام بی-تی‌اس ۳۳۵، ایریس، توکان، لیندا، بی‌تی‌اس ۲۳۳، پرفکتا، فلورس، دی‌اس ۴۰۵۷، دلتا، قزیرا، موریل و پرفکتا می‌باشند. ارقام دلتا، دوروتی، موریل، شکوفا، بی¬تی¬اس۲۳۳، فلورس، رجا، پالما و لوریگوت نیز در مایه‌زنی *F. oxysporum* و مزرعه مقاومت بالا و نسبی داشتند. پس می‌توان گفت ارقام بی‌تی‌اس ۲۳۳، فلورس، دلتا و موریل دارای مقاومت نسبی در برابر هر دو بیمارگر بودند و در مزارعی با آلودگی توام قابل توصیه می‌باشند.

معیارهای انتخاب و معرفی ارقام تجاری مناسب برای مقاومت در برابر اختلالات بیولوژیکی و فیزیولوژیکی و همچنین عملکرد اقتصادی آن اهمیت دارد (Biancardi *et al*. 2012). در این مطالعه عملکرد شکرسفید ارقام در تیمارهای مزرعه اندازه‌گیری شد و ارقام با عملکرد شکرسفید بالا معرفی شدند. نتایج نشان دادند که ارقام اغلب ارقام تجاری از عملکرد شکر بالا تا متوسط برخوردار هستند. با این وجود معرفی ارقام مقاوم به دو بیمارگر قارچی بایستی با در نظر گرفتن میزان عملکرد شکرسفید در واحد سطح آن رقم باشد.

نتیجه‌گیری

با جمع‌بندی نتایج می‌توان اذعان کرد که ارقام مختلف دارای درجات متفاوتی از مقاومت در برابر هر دو عامل بیمارگر *F. oxysporum* و *R. solani* هستند و منشاء این دو مقاومت مستقل از همدیگر می‌باشند. انتخاب بذر مناسب بایستی با توجه به سابقه آلودگی‌های مزرعه صورت گیرد و مسلماً مزارع دارای سابقه آلودگی به هر کدام از قارچ‌های ذکر شده، گزینش رقم مقاوم در مقابل آن قارچ را می‌طلبد. همچنین در صورت وجود احتمال شیوع هر دو قارچ پرآزار در یک مزرعه کشاورز باید در انتخاب رقم با توجه به اهمیت بیشتر ریزوکتونیا آن را در درجه اول اهمیت قرار دهد و از هیبریدهای دارای درجاتی قابل قبول از مقاومت به فوزاریوم استفاده نماید. امید است بزودی اصلاح‌گران ژنتیکی به کمک نشانگرهای مولکولی موجود به‌توانند مقاومت به دو بیمارگر پرآزار را در یک رقم تجمیع نمایند.

منابع مورد استفاده:

References:

Abdollahian Noghabi M. Ecophysiology of sugar beet cultivars and Weed species subjected to water deficiency stress. Ph.D. Thsis, University of Reading. 1999.

Altier NA, Theis JA. Identification of resistance to pythium seedling diseases in alfalfa using a culture plate method. Plant Diseases. 1995; 97: 341- 346.

Annonymous. 2011. National List of Plant Varieties of Iran. Publications of Seed and Plant Certification and Registraction Research Institute.

Arzanlou M. Sugar beet root rots ethiology in Karaj (MSc Thesis). Faculty of Agriculture. Tehran univercity. 2000. (in Persian, abstract in English)

Biancardi E, Panella LW, Lewellen RT. Beta maritima: the origin of beets. 2012; Springer, Heidelberg.

Buddemeyer J, Märländer B. Integrierte Kontrolle der Späten Rübenfäule (*Rhizoctonia solani* Kühn) in Zuckerrüben – Einfluß von Anbaumaßnahmen und Fruchtfolgegestaltung sowie Sortenwahl unter Berücksichtigung des Maises. [Integrated control of crown rot in sugar beet roots (Rhizoctonia solani Kühn)– the impact of tillage factors, crop rotation, and selection of varieties, including maize]. Zuckerindustrie, 2004; 129: 799–809.

Buhre C, Kluth C, Bürcky K, Märländer B, Varrelmann M. Integrated control of root and crown rot in sugar beet: Combined effects of cultivar, crop rotation, and soil tillage. Plant Dis. 2009; 93 (2): 155-161.

Buttner G, Pfahler B, Marlander B. Greenhouse and field techniques for testing sugar beet for resistance to Rhizoctonia root and crown root. Plant Breed. 2004; 123: 158-166.

Buttner, G, Fuhrer Ithurrart ME, Buddemeyer J. Spate Rubenfaule Rhizoctonia solani– Verbreitung, wirtschaftliche Bedeutung und integrierte Bekampfungskonzepte. 2002; Zuckerind. 127: 856-866.

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

De Lucchi C, Stevanato P, Hanson L, McGrath M, Panella L, De Biaggi M, Broccanello C, Bertaggia M, Sella L, Concheri G. Molecular markers for improving control of soil borne pathogen *Fusarium oxysporum* in sugar beet. Euphytica. 2017; 213: 71.

Dimitros A, Karadimos JT, Sialtas T, Maslaris N, Apakosta DP. Root rot diseases of sugar beet (*beta vulgaris* l.) as affected by defoliation intensity. Matica Srpska Proc. for Nat. Sci. 2006; 110: 123-127.

Ebrahimi Koulaee H, Mahmoudi SB, Hasani M. Evaluation of the resistance of sugar beet breeding lines to Rhizoctonia root and crown rot. Journal of Sugar Beet. 2010; 26(1): 31-42. (in Persian, abstract in English)

Fattahi SH, Zafari DM, Mahmoudi SB. Evaluation of superior sugar beet genotypes for resistance to important root rot pathogens in the greenhouse, Journal of Sugar Beet. 2011; 27(1): 25-38. (in Persian, abstract in English)

Hanson LE and Hill AL. Fusarium species causing Fusarium yellows of sugar beet. Journal of Sugar Beet Research. 2004; 41: 163-178.

Hanson LE, Jacobsen BJ. Fusarium yellows. In: Harveson RM, Hanson LE, Hein GL (eds) Compendium of beet diseases and pests. 2nd edn. APS Press, St Paul, 2009; pp 28–29.

Hanson L, De Lucchi Ch, Stevanato P, McGrath M, Panella L, Sella L, De Biaggi M, Concheri G. Root rot symptoms in sugar beet lines caused by *Fusarium oxysporum* f. sp. *betae*. European Journal of Plant Pathology, 2017; 150: 589-593.

Harveson RM, Nielsen KA, Eskridge KM. Utilizing a preplant soil test for predicting and estimating root rot severity in sugar beet in the central high plains of the United States. Journal of American Phytopathology. Society. 2014; 98: 1248-1252.

Hecker RJ, Ruppel EG. Rhizoctonia root rot resistance in sugar beet: breeding and related research. Journal of the American Society of Sugar Beet Technology. 1977; 19:246-256.

Hill AL, Reeves PA, Larson RL, Fenwick AL, Hanson LE, Panella L. Genetic variability among isolates of *Fusarium oxysporum* from sugar beet. Plant Pathol. 2011; 60:496-505.

Irani H and Ershad J. Identification of fungi associated with root rot of sugar beet in West Azarbaijan. articles summeries of 12th Iranian Plant Protection Congress.1995, Page 126.

Leslie JF, Summerell BA. The Fusarium laboratory manual. Blackwell Publishing Ltd, Iowa. 2006.

Liu KH, Yeh YL, Shen WC. Fast preparation of fungal DNA for PCR screening. Journal of Microbiology Method. 2011;85(2):170–172.

Mahmoudi SB, Ghashghaie S. Reaction of sugar beet S1 lines and cultivars to different isolates of *Macrophomina phaseolina* and *Rhizoctonia solani* AG-2-2IIIB. Euphytica. 2013; 190 (3):439-445.

Mahmoudi SB, Soltani J. Sugar beet root rot in Iran. Newsletter of Iranian Sugar Industries Research and Training Center. 2005; 16(178):14–18. (in Persian, abstract in English)

Mahmoudi SB, Mesbah M, Alizadeh A, Ebrahimi Koulaei H. Comparison of different methods for evaluation of resistance to Rhizoctonia root and crown rot in selected genotypes of sugar beet. Journal of Sugar Beet. 2003; 19: 1- 22. (in Persian, abstract in English)

Mahmoudi SB, Mesbah M, Alizadeh A. Pathogenic variability of sugar beet isolates of Rhizoctonia solani. 2004. Iranian Journal of Plant Pathology. 2004; 40(3, 4):253- 280. (in Persian, abstract in English)

Moshari S, Hemmati R, Mahmoudi SB, Chiodi C, Broccanello C, Squartini A, Concheri G, Stevanato P. Validation of two *Fusarium oxysporum* resistance-related SNPs in wild and cultivated beets. BETAnet meeting, Venice (Italy), June 18-20, 2018.

Panella L, Vagher T, Fenwick AL, Webb KM. Rhizoctonia crown and root rot resistance of Beta PIs from the USDA-ARS National Plant Germplasm System, 2010. Plant Disease Management Reports. 2011; 5: FC067, doi: 10.1094/PDMR05.

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

Ruppel EG. Correlation of cultural characters and sources of isolates with pathogenicity of Rhizoctonia solani from sugar beet. Phytopathology. 1972; 63:202– 205.

Skonieczek P, Nowakowski M, Piszczek J, Żurek M, Matyka L. Influence of selected *Rhizoctonia solani* isolates on sugar beet seedlings. Journal of plant Protection Research. 2016; 56 (2):116-121.

Sneh B, Jabaji-Hare S, Nette S, Dijste G. Rhizoctonia species, taxonomy, molecular biology, ecology, pathology and disease control. KA. 1996; 577p.

Soltani Nezhad S, Mahmoudi SB, Farokhi Nezhad RF. Characterization of sugar beet Rhizoctonia isolates in Iran. Journal of Sugar Beet. 2007; 46(2): 135-150. (in Persian, abstract in English)

Stamps DJ, Waterhouse GM, Newhook FJ, GS Hall. Revised tabular keyto the species of Phytophthora, Institute of Mycology. Agricultural Bureau of International Mycology Institute. 1990; 162.

Stevan M J, Vera BS, Ferenc FB. Sugarbeet root rot in drought conditions. Proceeding in National Science. 2005; 109, 103-111.

Stevanato P, Broccanello C, Pajola L, Biscarini F, Richards C, Panella L, Hassani M, Formentin E, Chiodi C, Concheri G, Heidari B. Targeted Next-Generation Sequencing Identification of Mutations in Disease Resistance Gene Analogs (RGAs) in Wild and Cultivated Beets. Genes. 2017; 8: 264.

Taleghani FD, Sadeghzadeh Hemayati S, Mesbah M. Sugar Beet Research Strategic Paper. Research, Education and Promotion Organization, Ministry of Agriculture. 2010. Sugar Beet Seed Institute. (in Persian)

Whitney ED, Duffus JE. Compendium of beet diseases and insects. APS Press, USA. 1986.