



## تعیین زمان مناسب ارزیابی مقاومت ریشه‌های چغندرقد نسبت به پوسیدگی ریزوکتونیایی در شرایط میکروپلات بر اساس درجه روز رشد<sup>†</sup>

### Determining the appropriate time to evaluate the resistance of sugar beet roots to rhizoctonia rot in microplot based on the growing degree days

حامد منصوری<sup>۱\*</sup>، حمزه حمزه<sup>۱</sup> و مهدی حسنی<sup>۲</sup>

تاریخ دریافت: ۱۴۰۲/۰۸/۱۴ ؛ تاریخ پذیرش: ۱۴۰۲/۱۰/۲۴

نوع مقاله: پژوهشی

DOI: 10.22092/jsb.2024.364027.1336

ح. منصوری، ح. حمزه و م. حسنی. ۱۴۰۲. تعیین زمان مناسب ارزیابی مقاومت ریشه‌های چغندرقد نسبت به پوسیدگی ریزوکتونیایی در شرایط میکروپلات بر اساس درجه روز رشد. چغندرقد، ۳۹(۱): ۶۷-۷۶.

#### چکیده

ارزیابی مقاومت لاین‌ها در شرایط آلودگی مصنوعی میکروپلات یکی از مؤثرترین روش‌ها برای دستیابی به لاین‌های مقاوم به بیماری است. به منظور تعیین زمان مناسب ارزیابی مقاومت لاین‌های چغندرقد نسبت به پوسیدگی ریزوکتونیایی، آزمایشی در شرایط آلودگی مصنوعی میکروپلات در سال ۱۴۰۱ در همدان اجرا شد. تیمارهای آزمایشی شامل شش زمان مختلف برداشت و ارزیابی ریشه‌ها شامل ۱۲، ۱۸، ۲۲، ۲۴، ۲۶ و ۲۹ روز پس از آلوده‌سازی در دو تکرار برای دو رقم حساس و مقاوم بود. در تمام تیمارها درجه روز رشد از زمان آلوده‌سازی تا زمان برداشت ثبت و در نهایت برای هر تیمار میزان درجه روز رشد در این فاصله زمانی به دست آمد. در زمان برداشت، ریشه‌ها بر اساس مقیاس یک تا نه بیماری، ارزیابی شدند. دوره زمانی ارزیابی ریشه‌ها با استفاده از برازش منحنی بین درجه روز رشد دریافتی به عنوان متغیر X و درصد ریشه‌های آلوده ژنوتیپ حساس به عنوان متغیر Y برای تعیین شروع دوره و از برازش منحنی بین درجه روز رشد دریافتی به عنوان متغیر X و شاخص بیماری ژنوتیپ مقاوم به عنوان متغیر Y برای تعیین پایان دوره ارزیابی استفاده شد. نتایج آزمایش نشان داد که دوره زمانی مناسب ارزیابی مقاومت ریشه‌های چغندرقد نسبت به ریزوکتونیا از ۴۸۳ درجه روز رشد تا ۵۱۸ درجه روز رشد بعد از آلوده‌سازی است.

واژه‌های کلیدی: آلودگی مصنوعی، برازش منحنی، چغندرقد، درجه حرارت، شاخص بیماری

<sup>†</sup> این مقاله مستخرج از پروژه تحقیقاتی به شماره مصوب « ۱۰۰۵۵-۰۰۲-۰۰۲-۶۳-۲ » می باشد.

۱- استادیار بخش تحقیقات چغندرقد، مرکز تحقیقات و آموزش کشاورزی و منابع طبیعی استان همدان، سازمان تحقیقات، آموزش و ترویج کشاورزی، همدان، ایران. \* نویسنده مسئول

h.mansori@areeo.ac.ir

۲- استادیار مؤسسه تحقیقات اصلاح و تهیه بذر چغندرقد، سازمان تحقیقات، آموزش و ترویج کشاورزی، کرج، ایران.



## مقدمه

ژنوتیپ گیاه بستگی دارد (Bolton *et al.* 2010)، نقش مؤثری در ایجاد بیماری در لاین‌های مختلف گیاهی و پایش مقاومت در آنها بازی می‌کند. درجه رشد یک شاخص دمایی رایج برای ارزیابی نمو گیاهی می‌باشد که اغلب برای تعیین آستانه دمایی برای توسعه و گسترش بیماری‌های گیاهی استفاده می‌شود (Holen Dexter (2009; Smiley 1996). از این‌رو زمان مناسب برای تعیین شدت آلودگی ریشه‌های چغندر قند در شرایط میکروپلات بر اساس درجه رشد امری ضروری می‌باشد؛ زیرا در سال‌هایی که درجه حرارت بالا بوده و ارزیابی مقاومت بر اساس روش معمول (روز پس از آلودگی) انجام می‌شود، حتی شاهد مقاوم به این بیماری با توجه به زمان نامناسب ارزیابی، به‌عنوان ژنوتیپ حساس شناسایی شده و بسیاری از مواد ژنتیکی مقاوم نیز به اشتباه حساس تشخیص داده شده و در برنامه‌های اصلاحی آتی کنار گذاشته می‌شوند. بنابراین تعیین دوره بحرانی ارزیابی مقاومت ریشه‌های چغندر قند بر اساس درجه رشد یک راهکار مناسب در راستای شناسایی دقیق و درست ژنوتیپ‌های مقاوم به پوسیدگی ریشه در برنامه اصلاح هیبریدهای مقاوم به بیماری می‌باشد.

## مواد و روش‌ها

به‌منظور تعیین دوره زمانی مناسب برای ارزیابی و نمره‌دهی به ریشه‌های آلوده چغندر قند در شرایط آلودگی مصنوعی، آزمایشی در میکروپلات در سال ۱۴۰۱ در همدان اجرا شد. تیمارهای آزمایشی شش زمان مختلف برداشت و ارزیابی ریشه‌ها شامل ۱۲، ۱۸، ۲۲، ۲۴، ۲۶ و ۲۹ روز پس از آلوده‌سازی در دو تکرار برای دو ژنوتیپ حساس (توده ۱۹۱) و مقاوم (FC-709) بود. به‌منظور آماده‌سازی میکروپلات‌ها برای کشت، در پاییز سال قبل از کوددابی پوسیده استفاده شد و بعد از کودپاشی با استفاده از نیروی کارگری

قارچ ریزوکتونیا (*Rhizoctonia solani*) که باعث پوسیدگی ریشه و طوقه می‌شود، یک بازیدیومیست خاکزی است و طیف وسیعی از محصولات و گونه‌های گیاهی از جمله چغندر قند (*Beta vulgaris* L.) را آلوده می‌سازد (Harveson *et al.* 2009). دامنه انتشار جغرافیایی این عامل بیماری‌زا بسیار وسیع است و در بیشتر نقاط چغندر کاری جهان از جمله چین، شیلی، ایران، کشورهای اروپایی (از جمله اسپانیا، آلمان، بلغارستان و هلند) و کشورهای آمریکای شمالی گزارش شده است (Buhre *et al.* 2009; McGrath *et al.* 2015).

این بیماری منجر به کاهش عملکرد چغندر قند تا ۵۰ درصد در ارقام تجاری آن می‌شود. این قارچ منجر به کاهش ساکاروز ذخیره شده ریشه شده و مشکلاتی را در فرآیند استحصال شکر در کارخانه ایجاد می‌نماید (Strausbaugh *et al.* 2011; Buttner *et al.* 2004). کنترل پوسیدگی ریزوکتونیایی ریشه و طوقه چغندر قند با استفاده از تناوب زراعی (Buddemeyer *et al.* 2010; Buhre *et al.* 2009; Kluth Verrelmann 2004) و مصرف قارچ‌کش‌ها (Bolton *et al.* 2010; Kirk *et al.* 2008; Windels Brantner 2005) منجر به کاهش خسارت بیماری می‌گردد ولی با این وجود مقدار غیرقابل قبول و چشمگیری از پوسیدگی در مزارع اتفاق می‌افتد (Bolton *et al.* 2010)؛ بنابراین استفاده از ارقام مقاوم به دلیل اینکه نسبت به سایر روش‌های کنترل کم هزینه‌تر بوده و کارایی بالاتری نیز دارد، به‌عنوان یک راهکار مطلوب برای کنترل بیماری شناخته شده است (Panella 2005). ارزیابی ژنوتیپ‌ها و لاین‌ها در شرایط آلودگی مصنوعی به بیماری یکی از روش‌های کارآمد و مؤثر در راستای دستیابی به ارقام مقاوم می‌باشد. در روش آلودگی مصنوعی، توسعه مناسب عامل بیماری که به عواملی همچون دما، رطوبت، نوع و میزان عامل بیماری و

بیماری، آبیاری میکروپلات‌ها تا دو هفته هر سه روز یک‌بار و سپس هفته‌ای یک‌بار انجام گرفت. بر اساس تیمارهای مختلف از ۱۲ تا ۲۹ روز پس از آلوده‌سازی، ریشه‌ها برداشت و شاخص بیماری ریشه‌ها بر اساس مقیاس ۱ تا ۹ (جدول ۱) مورد ارزیابی قرار گرفت (Buttner *et al.* 2004). به منظور اطمینان از نتایج آزمایش، چند نمونه تصادفی از بافت ریشه‌های آلوده انتخاب شد تا قارچ عامل پوسیدگی جداسازی و شناسایی گردد. برای این منظور ابتدا ریشه‌های آلوده در زیر جریان ملایم آب به مدت ۱۰ دقیقه شسته شدند تا اجزای خاک چسبیده به ریشه از آن جدا شود. سپس در داخل محفظه هود استریل با برداشتن قسمت کوچکی از بافت ریشه حد فاصل بین بافت سالم و قسمت پوسیده به ابعاد حدود پنج میلی‌متر، در داخل محلول هیپوکلریت سدیم پنج درصد به مدت یک دقیقه ضدعفونی شده و پس از آن سه بار در آب مقطر استریل شستشو و در نهایت بر روی کاغذ صافی استریل آب‌گیری شدند. سپس قطعات در شرایط استریل به محیط کشت (Potato Dextrose Agar, PDA) انتقال یافته و برای رشد بهتر در انکوباتور با دمای ۲۵ درجه سانتی‌گراد با دوره نوری هشت ساعت روشنایی و ۱۶ ساعت تاریکی قرار گرفتند. سه روز پس از رشد هیف‌های قارچ از قطعات کشت‌شده در روی محیط کشت، نسبت به جداسازی، خالص‌سازی و در نهایت شناسایی قارچ عامل بیماری با روش مورفولوژیکی اقدام گردید. نتایج کشت نمونه‌های انتخاب شده در آزمایشگاه نشان داد که عامل ایجاد بیماری در ۸۰ درصد از نمونه‌های کشت شده، قارچ ریزوکتونیا بود؛ بنابراین می‌توان عنوان کرد که پوسیدگی ریشه‌های چغندر قند بر اثر آلودگی ایجاد شده توسط قارچ ریزوکتونیا بوده است. هنگام برداشت ریشه‌ها، قارچ عامل بیماری تقریباً تمام ریشه‌ها را تحت تأثیر قرار داده بود و بیماری پوسیدگی ریزوکتونیایی در تمام سطوح ریشه‌های حساس

تا عمق ۴۰ سانتی‌متری خاک بیل‌زنی انجام گرفت. در بهار سال ۱۴۰۱ و قبل از کشت نیز به منظور آماده‌سازی مناسب بستر کشت دوباره بیل‌زنی انجام شده و خاک میکروپلات‌ها مسطح شد. در تاریخ پنج اردیبهشت‌ماه سال ۱۴۰۱ بذور چغندر قند در یک خط دو متری با دو تکرار کشت و آبیاری بلافاصله بعد از کشت انجام شد. عملیات تنک بوته‌ها به فاصله ۴۳ روز پس از کشت و در ۱۷ خرداد ماه انجام گرفت و بوته‌ها با فاصله ۸ تا ۱۰ سانتی‌متر تنک شدند و در نهایت ۲۰ تا ۲۵ بوته در هر خط کاشت باقی ماند. برای مبارزه با آفاتی همچون کک از سم دیازینون، کرم برگ‌خوار (کارادینا) از آوانت و برای آفات شته‌سیاه و زنجبرک از سم کونفیدور طبق دستورالعمل توصیه‌شده توسط شرکت‌های تولیدکننده‌ی آنها استفاده شدند و بر علیه بیماری‌های قارچی مبارزه انجام نشد. علف‌های هرز نیز به صورت مکانیکی کنترل شدند. آبیاری میکروپلات‌ها هر هفته یک‌بار و با استفاده از سیستم بابلر انجام شد.

برای تهیه مایه تلقیح، دانه‌های ذرت ۱۲ ساعت در آب خیسانده شدند و دو روز متوالی به مدت یک ساعت سترون گردیدند. پس از سترون شدن، چند دیسک از محیط کشت پنج‌روزه قارچ روی دانه‌های ذرت قرار گرفته و به مدت ۲۱ روز در دمای ۲۵ درجه سانتی‌گراد در دستگاه ژرمیناتور نگهداری شدند.

۸۵ روز پس از کشت (شروع حجیم شدن ریشه‌ها و زمانی که قطر ریشه‌ها تقریباً ۵ سانتی‌متر بود) و در اول مردادماه، آلودگی مصنوعی بوته‌های چغندر قند به قارچ ریزوکتونیا انجام گرفت. برای این منظور، پنج عدد بذور ذرت آلوده به جدایه *Rh133* ریزوکتونیا (دارای بیش‌ترین قدرت بیماری‌زایی) در پای هر بوته در عمق پنج سانتی‌متر قرار گرفت (Windels *et al.* 1997) و بلافاصله پای بوته‌ها خاک‌دهی و آبیاری شد. به منظور گسترش قارچ عامل

در تمام تیمارها میانگین دمای روزانه در هر روز از زمان آلوده‌سازی تا زمان برداشت ثبت و در نهایت برای هر تیمار میزان درجه روز رشد تجمعی (GDD) در این فاصله زمانی به دست آمد. لازم به ذکر است دمای پایه چغندر قند برای محاسبه درجه روز رشد چهار درجه سانتی‌گراد در نظر گرفته شد. به منظور تعیین زمان شروع و پایان ارزیابی ریشه‌ها از برازش منحنی استفاده شد. به این صورت که برای تعیین زمان شروع دوره، داده‌ها با استفاده از برازش منحنی بین درجه روز رشد تجمعی به عنوان متغیر  $X$  و درصد ریشه‌های آلوده با شاخص بیماری بزرگ‌تر از سه (شاخص بیماری  $< 3$ ) در ژنوتیپ حساس به عنوان متغیر  $Y$ ، زمان شروع زمان ارزیابی ریشه‌ها تعیین شد. طبق دستورالعمل مربوط به ارزیابی مقاومت ژنوتیپ‌های چغندر قند به بیماری پوسیدگی ریشه چغندر قند در شرایط میکروپلات، زمان مناسب ارزیابی ریشه‌ها هنگامی است که ۸۰ درصد ریشه‌های لاین حساس، علائم بیماری را نشان داده و در نتیجه شاخص بیماری بالای ۳ داشته باشند؛ بنابراین بعد از برازش منحنی، میزان درجه روز رشدی که در آن ۸۰ درصد ریشه‌های ژنوتیپ حساس نمره آلودگی بالای ۳ را داشته باشند، به عنوان زمان شروع ارزیابی ریشه‌ها در نظر گرفته شد. همچنین به منظور تعیین زمان پایان یا زمان بحرانی نمره‌دهی (زمانی که بعد از آن نمره‌دهی و ارزیابی نباید انجام گیرد)، از برازش منحنی بین درجه روز رشد دریافتی به عنوان متغیر  $X$  و میانگین نمره آلودگی ژنوتیپ مقاوم استفاده شد. طبق نظر باتنر و همکاران (2004) حد آستانه مقاومت برای یک ژنوتیپ زمانی است که میانگین شاخص آلودگی آن ژنوتیپ برابر با ۳ باشد؛ بنابراین میزان درجه روز رشدی که در آن میانگین شاخص آلودگی ژنوتیپ مقاوم برابر با ۳ باشد، به عنوان زمان بحرانی نمره‌دهی در نظر گرفته شد. تجزیه واریانس و مقایسه

منتشر شده بود. لازم به ذکر است که به منظور اطمینان از نتایج آزمایش، به ریشه‌هایی که کوچک بوده و رشد کمی داشتند و عامل بیماری در آنها مشاهده نشد، نمره صفر داده شد و در ارزیابی مقاومت، ریشه‌های با نمره صفر در محاسبات وارد نشدند؛ زیرا بوته‌ها باید قبل از آلوده‌سازی به اندازه کافی رشد کرده بودند (Buttner et al. 2004).

شاخص بیماری (Disease Index) هر کرت از تقسیم حاصل ضرب هر نمره در تعداد ریشه با آن نمره بر تعداد کل ریشه‌های آن کرت (رابطه ۱) محاسبه شد (Buttner et al. 2004).

(۱)

$$DI = (\sum(\text{Scale} * \text{Number of Roots}) / \text{Total Number of Roots})$$

شاخص برداشت (Harvesting Index (HI)) نیز، از تقسیم تعداد ریشه‌های با نمره ۱ تا ۳ بر تعداد ریشه‌های با نمره ۱ تا ۹ هر کرت به دست آمد.

**جدول ۱** مقیاس شدت بیماری ریشه‌های ارزیابی شده بر اساس باتنر و همکاران (Buttner et al. 2004)

معیار	توضیحات
نمره (۱):	ریشه‌های سالم
نمره (۲):	حدود یک درصد سطح ریشه دارای زخم سطحی ناشی از ریزوکتونیا
نمره (۳):	یک تا پنج درصد سطح ریشه دارای زخم سطحی ناشی از ریزوکتونیا
نمره (۴):	پنج تا ۱۰ درصد سطح ریشه دارای زخم و یا شانکر خشک ناشی از ریزوکتونیا
نمره (۵):	۱۰ تا ۲۵ درصد سطح ریشه دارای زخم و یا شانکر خشک ناشی از ریزوکتونیا
نمره (۶):	۲۵ تا ۵۰ درصد سطح ریشه دارای زخم و یا شانکر خشک ناشی از ریزوکتونیا
نمره (۷):	۵۰ تا ۷۵ درصد سطح ریشه دارای زخم و یا شانکر خشک ناشی از ریزوکتونیا
نمره (۸):	بیش از ۷۵ درصد سطح ریشه دارای زخم و یا شانکر خشک ناشی از ریزوکتونیا
نمره (۹):	گیاهان مرده، ریشه کاملاً پوسیده

نتایج تجزیه واریانس نشان داد که اثر زمان‌های مختلف ارزیابی ریشه‌های ژنوتیپ حساس و مقاوم نسبت به پوسیدگی ریزوکتونیایی بر صفات تعداد بوته و ریشه معنی‌دار نبود، در صورتی که بر صفات شاخص بیماری و شاخص برداشت در سطح احتمال ۱ درصد ( $P \leq 0.01$ ) اثر معنی‌داری داشت (جدول ۲).

میانگین داده‌ها با استفاده از نرم‌افزار SAS ver 9.2 و ترسیم نمودارها در محیط Excel انجام گرفت.

## نتایج و بحث ارزیابی ژنوتیپ حساس و مقاوم

جدول ۲ تجزیه واریانس (میانگین مربعات) اثر زمان‌های مختلف ارزیابی مقاومت ریشه‌های ژنوتیپ حساس و مقاوم

منابع تغییر	درجه آزادی	ژنوتیپ حساس			ژنوتیپ مقاوم		
		تعداد بوته	تعداد ریشه	شاخص بیماری	تعداد بوته	تعداد ریشه	شاخص برداشت
بلوک	۱	۱۲/۰۰ <sup>ns</sup>	۵/۳۳ <sup>ns</sup>	۰/۵۸۵ <sup>ns</sup>	۶/۷۵ <sup>ns</sup>	۰/۰۸۳ <sup>ns</sup>	۳۱/۴۶ <sup>ns</sup>
زمان ارزیابی	۵	۱۴/۷۳ <sup>ns</sup>	۱۷/۰۰ <sup>ns</sup>	۵/۴۹ <sup>**</sup>	۸۹۱/۹ <sup>**</sup>	۱۲/۸۸ <sup>ns</sup>	۸۸۸/۲ <sup>**</sup>
خطا	۵	۱۳/۴۰	۱۹/۷۳	۰/۲۷۳	۵۴/۸۷	۶/۸۸	۶/۹۳
ضریب تغییرات (%)	-	۱۲/۹۶	۱۸/۹۱	۹/۱۸	۱۳/۲۹	۱۴/۹۲	۷/۸۴

ns، \* و \*\*: به ترتیب غیرمعنی‌دار، معنی‌دار در سطح احتمال پنج درصد و یک درصد.

مشاهده شد. از لحاظ شاخص برداشت نیز نتایج نشان داد که با افزایش زمان ارزیابی و نمره‌دهی به ریشه‌ها میزان شاخص برداشت ژنوتیپ حساس کاهش معنی‌داری داشت، به طوری که از ۶۰/۵۵ درصد در اولین زمان ارزیابی (۱۲ روز بعد از آلودگی) به صفر درصد در آخرین زمان ارزیابی (۲۹ روز بعد از آلودگی) رسید (جدول ۳).

تعداد ریشه‌های مورد ارزیابی (ریشه‌های با نمره ۱ تا ۹) برای ژنوتیپ حساس به‌طور میانگین برابر با ۱۳/۵۰ ریشه بود بنابراین تعداد ریشه کافی برای ارزیابی وجود داشت. بیشترین شاخص بیماری ژنوتیپ حساس در تیمار ۲۴ روز بعد از آلوده‌سازی (۷/۷۶) و کمترین مقدار در تیمار ۱۲ روز بعد از آلوده‌سازی (۳/۳۸)

جدول ۳ مقایسه میانگین اثر زمان‌های مختلف ارزیابی مقاومت ریشه‌های ژنوتیپ حساس و مقاوم

زمان ارزیابی	تعداد بوته <sup>a*</sup>	تعداد ریشه <sup>β*</sup>	ژنوتیپ حساس		ژنوتیپ مقاوم	
			شاخص بیماری	شاخص برداشت	تعداد بوته <sup>*</sup>	تعداد ریشه <sup>*</sup>
۱۲ روز بعد از آلودگی	۱۲/۰۰ <sup>a</sup>	۱۱/۵۰ <sup>a</sup>	۳/۳۸ <sup>c</sup>	۶۰/۵۵ <sup>a</sup>	۱۵/۰۰ <sup>a</sup>	۱۵/۰۰ <sup>a</sup>
۱۸ روز بعد از آلودگی	۱۹/۵۰ <sup>a</sup>	۱۳/۰۰ <sup>a</sup>	۴/۸۷ <sup>b</sup>	۳۳/۶۳ <sup>b</sup>	۲۰/۰۰ <sup>a</sup>	۱۹/۰۰ <sup>a</sup>
۲۲ روز بعد از آلودگی	۱۸/۰۰ <sup>a</sup>	۱۷/۵۰ <sup>a</sup>	۵/۵۰ <sup>b</sup>	۲۰/۲۶ <sup>bc</sup>	۲۰/۵۰ <sup>a</sup>	۱۹/۰۰ <sup>a</sup>
۲۴ روز بعد از آلودگی	۱۸/۰۰ <sup>a</sup>	۱۶/۰۰ <sup>a</sup>	۷/۷۶ <sup>a</sup>	۱۵/۱۰ <sup>abcd</sup>	۲۱/۰۰ <sup>a</sup>	۲۱/۰۰ <sup>a</sup>
۲۶ روز بعد از آلودگی	۱۷/۵۰ <sup>a</sup>	۹/۵۰ <sup>a</sup>	۵/۲۰ <sup>b</sup>	۱۲/۵۰ <sup>cd</sup>	۲۱/۰۰ <sup>a</sup>	۱۴/۵۰ <sup>a</sup>
۲۹ روز بعد از آلودگی	۱۵/۰۰ <sup>a</sup>	۱۳/۵۰ <sup>a</sup>	۷/۴۶ <sup>a</sup>	۰/۰۰ <sup>d</sup>	۱۷/۰۰ <sup>a</sup>	۱۷/۰۰ <sup>a</sup>
میانگین	۱۶/۶۷	۱۳/۵۰	۵/۷۰	۲۳/۶۸	۱۹/۰۸	۱۷/۵۸
حداقل	۶/۰۰	۵/۰۰	۳/۱۷	۰/۰۰	۱۳/۰۰	۱۳/۰۰
حداکثر	۲۱/۰۰	۱۸/۰۰	۸/۴۷	۶۱/۱۱	۲۴/۰۰	۲۴/۰۰
انحراف معیار	۱/۰۸	۱/۲۰	۰/۴۷	۶/۲۵	۰/۹۰	۰/۸۷

\*: تعداد بوته بیانگر تعداد بوته بعد از تنک و تعداد ریشه بیانگر تعداد ریشه در زمان ارزیابی و نمره‌دهی به ریشه‌ها بود.

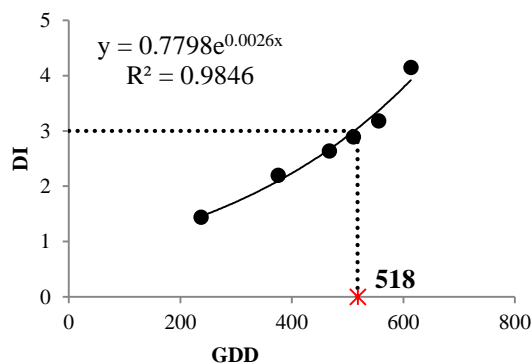
α و β میانگین‌های دارای حداقل یک حرف مشترک در هر ستون هستند، از نظر آماری در سطح احتمال پنج درصد با یکدیگر اختلاف معنی‌داری ندارند.

### تعیین زمان ارزیابی مقاومت ریشه‌ها

در جدول ۴ درجه روز رشد تجمعی محاسبه شده از زمان آلوده‌سازی تا زمان برداشت و ارزیابی ریشه‌ها در تیمارهای مختلف و همچنین درصد ریشه‌های با نمره شاخص بیماری بالای ۳ در ژنوتیپ حساس و مقاوم آمده است. نتایج نشان داد که با افزایش سن گیاه، درصد ریشه‌های حساس در هر دو ژنوتیپ (نمره شاخص بیماری بالای ۳) (Buttner *et al.* 2004) افزایش یافت؛ به طوری که در ۶۱۳/۵ درجه روز رشد (۲۹ روز بعد از آلوده‌سازی) تمامی ریشه‌ها در ژنوتیپ حساس و تقریباً ۵۸ درصد ریشه‌ها در ژنوتیپ مقاوم، حساس تشخیص داده شدند. طبق دستورالعمل مربوط به ارزیابی مقاومت ژنوتیپ‌های چغندر قند به بیماری پوسیدگی ریشه چغندر قند در شرایط میکروپلات، زمان مناسب ارزیابی ریشه‌ها هنگامی است که ۸۰ درصد ریشه‌های ژنوتیپ حساس، علائم بیماری را نشان داده و در نتیجه شاخص بیماری بالای ۳ داشته باشند؛ بنابراین به منظور تعیین شروع زمان مناسب ارزیابی ریشه‌ها از برآزش رگرسیون خطی بین درجه روز رشد تجمعی (متغیر X) با درصد ریشه‌های با شاخص بیماری بالای ۳ در ژنوتیپ حساس (متغیر Y) استفاده شد (شکل ۱). ضریب تبیین رگرسیون خطی برابر با ۰/۹۸ بود، بنابراین می‌توان نتیجه گرفت که مدل رگرسیون خطی از دقت کافی برای برآزش منجنی برخوردار بود. همانطور که در شکل ۲ نیز مشاهده می‌شود، برای اینکه ۸۰ درصد ریشه‌های ژنوتیپ حساس نمره بالای ۳ داشته باشند به درجه روز رشدی معادل ۴۸۳ نیاز است. بنابراین با توجه به

میانگین تعداد ریشه‌های مورد ارزیابی (ریشه‌های با نمره ۱ تا ۹) برای ژنوتیپ مقاوم برابر با ۱۷/۵۸ ریشه بود که از تعداد ریشه‌های ارزیابی شده ژنوتیپ حساس بیشتر بود. مقایسه میانگین اثر تیمارهای مختلف زمان ارزیابی مقاومت ریشه‌ها در ژنوتیپ مقاوم نشان داد که با افزایش طول دوره زمان ارزیابی و به عبارتی با به تأخیر انداختن زمان نمره‌دهی ریشه‌ها، هر دو صفت شاخص بیماری و شاخص برداشت در ژنوتیپ مقاوم به ترتیب افزایش و کاهش معنی‌داری نشان داد، به طوری که شاخص بیماری و شاخص برداشت به ترتیب از ۱/۴۴ و ۱۰۰ درصد در نخستین زمان ارزیابی (۱۲ روز بعد از آلودگی) به ۴/۱۵ و ۴۱/۱۸ درصد در آخرین زمان ارزیابی (۲۹ روز بعد از آلودگی) رسید (جدول ۳). با توجه به نتایج می‌توان عنوان کرد که زمان ارزیابی به شدت در تعیین لاین‌های حساس و مقاوم در شرایط میکروپلات تأثیرگذار است، به طوری که نتایج نشان داد که حتی ژنوتیپ مقاوم به این بیماری در تیمارهای ۲۶ و ۲۹ روز بعد از آلوده‌سازی با توجه به اینکه نمره شاخص بیماری آنها بیشتر از ۳ بود به دلیل زمان نامناسب ارزیابی، به عنوان لاین حساس شناسایی شد. بنابراین در صورت ارزیابی ریشه‌ها در زمان نامناسب امکان اینکه بسیاری از مواد ژنتیکی مقاوم به اشتباه حساس تشخیص داده شده و در برنامه‌های اصلاحی آتی کنار گذاشته شوند، وجود دارد.

معیار مقاوم بودن، نمره بیماری ۳ و کمتر از آن ( $DI \leq 3$ ) مدنظر قرار می‌گیرد (Buttner et al. 2004). بنابراین برای تعیین حد آستانه ارزیابی ریشه‌ها از برازش رگرسیون نمایی بین درجه روز رشد تجمعی (متغیر X) با میانگین نمره شاخص بیماری ژنوتیپ مقاوم (متغیر Y) استفاده شد (شکل ۲). ضریب تبیین مدل رگرسیون نمایی ( $R^2=0.98$ ) نیز نشان داد که مدل نمایی از توانایی و دقت کافی برای برازش منحنی و برآورد داده‌ها برخوردار بود. بر اساس مدل نمایی درجه روز رشدی که در آن شاخص بیماری ژنوتیپ مقاوم به ۳ می‌رسد برابر با ۵۱۸ درجه روز رشد بود؛ بنابراین حد آستانه نمره‌دهی به مقاومت ریشه‌های چغندرقد نسبت به پوسیدگی ریزوکتونیایی ریشه و طوقه ۵۱۸ درجه روز رشد به دست آمد.



شکل ۲ رابطه بین درجه روز رشد (GDD) با شاخص بیماری ژنوتیپ مقاوم

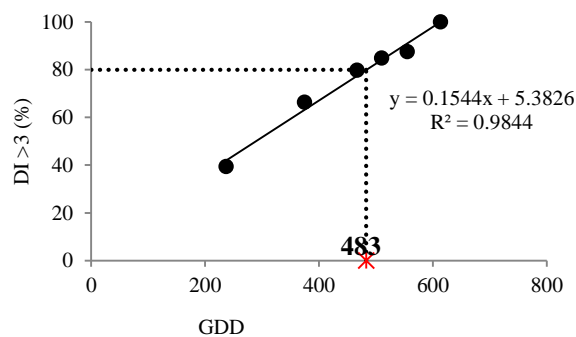
### نتیجه‌گیری

بر اساس نتایج آزمایش توصیه می‌شود که بسته به درجه حرارت منطقه و سال، بعد از آلوده‌سازی مصنوعی ریشه‌های چغندرقد به پوسیدگی ریزوکتونیایی در میکروپلات، درجه روز رشد محاسبه شده و زمانی که درجه روز رشد به ۴۸۳ تا ۵۱۸ رسید نمره‌دهی به ریشه‌های لاین‌های مختلف چغندرقد انجام گیرد.

نتایج زمان مناسب شروع نمره‌دهی و ارزیابی مقاومت ریشه‌های چغندرقد به پوسیدگی ریزوکتونیایی ریشه و طوقه چغندرقد در ۴۸۳ درجه روز رشد می‌باشد.

**جدول ۴** درجه روز رشد تجمعی از زمان آلوده‌سازی تا زمان ارزیابی ریشه‌ها و همچنین درصد ریشه‌های با نمره شاخص بیماری بالای ۳ در ژنوتیپ حساس و مقاوم در تیمارهای مختلف

زمان ارزیابی	درصد ریشه‌های با شاخص		درجه روز رشد تجمعی
	ژنوتیپ مقاوم	ژنوتیپ حساس	
۱۲ روز بعد از آلودگی	۰/۰۰	۳۹/۴۴	۲۳۷/۰۵
۱۸ روز بعد از آلودگی	۷/۷۸	۶۶/۳۶	۳۷۴/۹۰
۲۲ روز بعد از آلودگی	۲۳/۸۹	۷۹/۷۴	۴۶۶/۷۵
۲۴ روز بعد از آلودگی	۳۳/۳۳	۸۴/۹۰	۵۱۰/۰۰
۲۶ روز بعد از آلودگی	۳۴/۸۶	۸۷/۵۰	۵۵۵/۲۰
۲۹ روز بعد از آلودگی	۵۸/۸۲	۱۰۰/۰۰	۶۱۳/۵۰



شکل ۱ رابطه بین درجه روز رشد (GDD) با درصد ریشه‌های آلوده

با شاخص بیماری بالای ۳ در ژنوتیپ حساس

همچنین به منظور تعیین حد آستانه یا بحرانی ارزیابی ریشه‌ها، درجه روز رشدی که در آن میانگین نمره شاخص بیماری ژنوتیپ مقاوم برابر با ۳ باشد به عنوان حد بحرانی ارزیابی در نظر گرفته شد؛ زیرا در صورتی که نمره شاخص بیماری بیشتر از ۳ باشد لاین‌ها به عنوان لاین حساس تلقی می‌شوند و با توجه به اینکه لاین مورد استفاده در این آزمایش ژنوتیپ مقاوم است، بنابراین

**References:****منابع مورد استفاده:**

- Bolton MD, Panella L, Campbell L, Khan M. Temperature, moisture, and fungicide effects in managing *Rhizoctonia* root and crown rot of sugar beet. *Phytopathology*. 2010; 100:689-697. **doi:10.1094/PHYTO-100-7-0689.**
- Buddemeyer J, Pfähler B, Peterson J, Märlander B. Genetic variation in susceptibility of maize to *Rhizoctonia solani* (AG 2-2IIIB) symptoms and damage under field conditions in Germany. *Journal of Plant Diseases and Protection*. 2004; 111:521-533.
- Buhre C, Kluth C, Burecky K, Märlander B, Varrelmann M. Integrated control of root and crown rot in sugar beet: combined effects of cultivar, crop rotation, and soil tillage. *Plant Disease*. 2009; 93(2): 155–161. **doi:10.1094/PDIS-93-2-0155.**
- Buttner G, Pfähler B, Märlander B. Greenhouse and field techniques for testing sugar beet for resistance to *Rhizoctonia* root and crown rot. *Plant Breeding*. 2004; 123:158-166. **doi:10.1046/j.1439-0523.2003.00967.x.**
- Harveson RM, Hanson LE, Hein GL. Compendium of beet diseases and pests. St. Paul: American Phytopathological Society Press. 2009; pp. 140. **doi:10.1094/9780890546598.**
- Holen CD, Dexter A. A growing degree day equation for early sugar beet leaf stages. *Sugar beet Research and Extension Reports*. 1996; 27:152-157.
- Kirk WW, Wharton PS, Schafer RL, Tumbalam P, Poindexter S, Guza C, Fogg R, Schlatter T, Stewart J, Hubbell L, Ruppel D. Optimizing fungicide timing for the control of *Rhizoctonia* crown and root rot of sugar beet using soil temperature and plant growth stages. *Plant Disease*. 2008; 92:1091-1098. **doi:10.1094/PDIS-92-7-1091.**
- Kluth C, Verrelmann M. Maize genotype susceptibility to *Rhizoctonia solani* and its effect on sugar beet crop rotations. *Crop Protection*. 2010; 29:230-238. **doi:10.1016/j.cropro.2009.12.002.**
- McGrath JM, Hanson LE, Panella L. Registration of SR98 sugar beet germplasm with resistances to rhizoctonia seedling and crown and root rot diseases. *Journal of Plant Registrations*. 2015; 9:227–231. **doi:10.3198/jpr2013.08.0052crg.**
- Panella L. Root rots. *Genetics and Breeding of Sugar Beet*. E. Biancardi LG, Campbell, GN, Skaracis, and M. de Biaggi, eds. Science Publishers, Enfield, NH. 2005; 95-100.
- Smiley RW. Water and temperature parameters associated with winter wheat diseases caused by soil borne pathogens. *Plant Disease*. 2009; 93:73-80. **doi:10.1094/PDIS-93-1-0073.**
- Strausbaugh CA, Eujayl IA, Panella LW, Hanson LE. Virulence, distribution and diversity of *Rhizoctonia solani* from sugar beet in Idaho and Oregon. *Canadian Journal of Plant Pathology*. 2011; 33:210-226. **doi:10.1080/07060661.2011.558523.**



- Windels CE, Brantner JR. Early-season application of azoxystrobin to sugar beet for control of *Rhizoctonia solani* AG 4 and AG 2-2. *Journal of Sugar Beet Research*. 2005; 42:1-17. doi:10.5274/jsbr.42.1.1.
- Windels CE, Kuznia RA, Call J. Characterization and pathogenicity of *Thanatephorus cucumeris* from sugar beet in Minnesota. *Plant Disease*. 1997; 81, 245-249. doi:10.1094/PDIS.1997.81.3.245.

## Determining the appropriate time to evaluate the resistance of sugar beet roots to rhizoctonia rot in microplot based on the growing degree days

H. Mansouri<sup>1\*</sup>, H. Hamzeh<sup>1</sup> and M. Hasani<sup>2</sup>

(Received 05 Nov. 2023 ; Accepted 14 Jan. 2024)

**H. Mansouri, H. Hamzeh and M. Hasani. 2023.** Determining the appropriate time to evaluate the resistance of sugar beet roots to rhizoctonia rot in microplot based on the growing degree days. **J. Sugar Beet. 39(1): 67- 76 (in Persian).**

### Abstract

Evaluating the resistance of lines under artificial inoculation in micro-plot condition is one of the most effective methods to obtain disease-resistant lines. In order to determine the appropriate time to evaluate the resistance of sugar beet lines to rhizoctonia rot, an experiment was carried out in Hamedan in 2022 under artificial inoculation in micro-plot. The experimental treatments consisted of six different times of harvest and root evaluation including 12, 18, 22, 24, 26 and 29 days after inoculation with two replications for two susceptible and resistant genotypes. Growing degree days in all treatments was recorded from inoculation time until harvest, and finally the growth degree day was achieved for each treatment in this period. Roots were evaluated on a scale of 1-9 at the harvest. Root evaluation period was calculated by curve fitting between the growing degree days received as variable x and the percentage of rotted roots in susceptible genotype as variable y to determine the start of the evaluation period and using curve fitting between growing degree days received as variable x and the disease index of resistant genotype as variable y to determine the end of the evaluation period. Results of the experiment showed that the appropriate time to evaluate the resistance of sugar beet roots to rhizoctoneia is from 483 growing degree days to 518 growing degree days after inoculation.

**Key words:** Artificial inoculation, Curve fitting, Disease index, Sugar beet, Temperature

---

1. Assistant professor of Sugar Beet Research Department, Hamedan Agricultural and Natural Resources Research and Education Center (AREEO), Hamedan, Iran. \* -Corresponding author contact information email: h.mansori@areeo.ac.ir

۲ Assistant professor of Sugar Beet Seed Institute (SBSI), Agricultural Research, Education, and Extension Organization (AREEO), Karaj, Iran.