ارزیابی مقاومت به *Cercospora beticola* در چغندرقند با استفاده از قطعات جداشده برگ

Evaluation of sugar beet resistance to *Cercospora beticola* using detached leaf disks

سعید عباسی[۱]، عزیزاله علیزاده[۱]، محمود مصباح[۲] و مهدیه بنی‌هاشمی[۲]

چکیده

به منظور بررسی امکان استفاده از قطعات جدا شده برگ جهت ارزیابی مقاومت مواد گیاهی نسبت به *Cercospora beticola* عامل بیماری لکه برگی سرکوسپورایی، دوازده رقم چغندرقند با درجات مختلف مقاومت نسبت به عامل بیماری، تحت شرایط مزرعه و آزمایشگاه مورد ارزیابی قرار گرفتند. آزمایش مزرعه‌ای در قالب طرح بلوک‌های کامل تصادفی با شش تکرار در منطقه قائم‌شهر که از شرایط محیطی مساعدی جهت آلودگی برخوردار می‌باشد به اجرا در آمد. در ارزیابی آزمایشگاهی، مقاومت قطعات جدا شده برگ، در محیط سترون و در ظروف مستطیل شکل از جنس پیرکس در سطح آب ـ آگار ۱/۵ درصد مورد بررسی قرار گرفت. نتایج این مطالعه نشان داد که همبستگی بالایی بین ارزیابی مقاومت قطعات جدا شده برگ و ارزیابی مزرعه‌ای وجود دارد و این دو روش می‌توانند جایگزین یکدیگر شوند. با استفاده از روش قطعات جدا شده برگ می‌توان مستقل از شرایط آب و هوایی، به سهولت مقاومت تعداد زیادی از مواد گیاهی را طی مدت کوتاهی در آزمایشگاه بررسی نمود.

واژه‌های کلیدی: چغندرقند، دیسک‌برگی، مقاومت، *Cercospora beticola*

۱- گروه بیماری‌شناسی گیاهی دانشکدهٔ کشاورزی دانشگاه تربیت مدرس

۲- مؤسسهٔ تحقیقات چغندرقند

مقدمه

بیماری لکه‌برگی سرکوسپورایی چغندرقند (*Beta vulgaris* L.) که عامل آن *Cercospora beticola* Sacc. می‌باشد, مهم‌ترین بیماری برگی این گیاه است که در شرایط محیطی گرم و مرطوب، بیشترین خسارت را به محصول چغندرقند وارد می‌کند (Skaracis and Biancardi 2000). در مزارع آلوده، عملکرد ریشه و عیارقند هر دو کاهش یافته و علاوه بر آن کیفیت فرآوری نیز به دلیل افزایش ناخالصی‌ها نظیر سدیم، پتاسیم، نیترات و آمینواسیدها افت می‌کند؛ در نتیجه، عملکرد شکر قابل استحصال، به دلیل کاهش اجزاء اصلی عملکرد کاهش می‌یابد (Rossi 2000; Shane and Teng 1992). این بیماری انتشار جغرافیایی وسیعی داشته و در تمامی مناطق کشت چغندرقند مشاهده شده است (Holtschulte 2000). در ایران بیماری مزبور از خوزستان، کرانه‌های دریای خزر، اردبیل، ارومیه، خوی، بجنورد، بندرعباس و کازرون گزارش شده است(Ershad 1995). استفاده از ارقام مقاوم و کاربرد قارچ‌کش‌های مختلف راه‌های اصلی مبارزه با این بیماری هستند(Windels et al.1998). در این میان، استفاده از ارقام مقاوم در جهت کنترل بیماری به دلایل اقتصادی و زیست محیطی حائز اهمیت بوده و بر کنترل شیمیایی ارجحیت دارد (Koch and Jung 2000; Miller et al. 1994).

به استثنای یک مورد مقاومت منوژنیک (Lewellen and Whitney 1976) که به دلیل ناپایداری عملاً مورد استفاده به‌نژادگران قرار نگرفت (Koch and Jung 2000)، مقاومت به سرکوسپورا در ارقام تجاری چغندرقند از نوع کمی است. منشأ این مقاومت در واقع به برنامه به‌نژادی مونراتی (Munerati) در ایتالیا باز می‌گردد که در آن برنامه *Beta vulgaris* sub sp. *maritima*، به عنوان منبع مقاومت مورد استفاده قرار گرفت (Panella and Frese 2000; Bilgen et al. 1969) و بعداً ماهیت پلی ژنیک آن به اثبات رسید (Smith and Gaskill 1970; Saito 1966). به دلیل ماهیت کمی مقاومت به سرکوسپورا، انتخاب منابع مقاومت تنها در جمعیت‌های بزرگ و در شرایط استاندارد موفقیت‌آمیز خواهد بود و در این راستا، اعتبار، صحت و سهولت ارزیابی یک ضرورت به شمار می‌رود (Koch and Jung 2000). اغلب پژوهشگران برای ارزیابی مقاومت به سرکوسپورا به اپیدمی‌های طبیعی بیماری متکی بوده‌اند (Panella and Frese 2000) اما به تدریج روش‌هایی برای ایجاد آلودگی مصنوعی در مزرعه ابداع گردیده است (Pfleiderer and Schaufele 2000; Adams et al. 1995; Smith and Gaskill 1970) ارزیابی مقاومت

تحت شرایط مزرعه، عمدتاً با تعیین شدت علائم بر روی برگ‌ها به صورت مشاهده‌ای انجام گرفته و از طریق نمره‌دهی عددی انجام می‌شود. اخیراً از روش جدیدی برای ارزیابی مقاومت گیاهان انفرادی با استفاده از دیسک برگی تحت شرایط کنترل شده در ظروف سترون استفاده شده است (Koch and Jung 2000). با این روش می‌توان در مدت کوتاهی تعدادی زیادی از گیاهان انفرادی را از نظر مقاومت به سرکوسپورا مورد ارزیابی قرار داد. لیکن به جزئیات این روش ارزیابی در منابع اشاره‌ای نشده است.

از آن جایی که ارزیابی معتبر، صحیح و آسان مقاومت، لازمه اجرای برنامه‌های به‌نژادی مربوط به مقاومت است و با توجه به این که در کشور ما تحقیقات جامعی در این خصوص صورت نگرفته است، لذا در این پژوهش، امکان ارزیابی مقاومت ارقام چغندرقند به سرکوسپورا با بهره‌گیری از تکنیک دیسک برگی، با استفاده از دوازده ژنوتیپ چغندرقند با درجات مختلف مقاومت که قبلاً تحت شرایط آلودگی طبیعی در آزمایش‌های مزرعه‌ای انتخاب شده بودند مورد بررسی قرار گرفت و برای اطمینان از صحت و اعتبار ارزیابی مقاومت با استفاده از قطعات جدا شده برگ، نتایج این آزمایش با نتایج ارزیابی مزرعه‌ای مورد مقایسه قرار گرفت.

مواد و روش‌ها

۱ـ ارقام چغندرقند

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

ارقام انتخابی عبارت از:

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

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

رقم Puma از شرکت دانیسکو دانمارک

رقم Kaweintermono از شرکت KWS آلمان

و دو رقم ایرانی شامل رسول و ۱۹۱ بودند.

۲- جداسازی و تخلیص جدایه‌های بیمارگر

نمونه‌های آلوده به بیماری لکه‌برگی سرکوسپواریی طی سال‌های ۱۳۸۰ و ۱۳۸۱ از مناطق آلوده در استان‌های خوزستان، اردبیل (منطقه دشت مغان) و مازندران (منطقه قائم‌شهر) و گلستان جمع‌آوری گردید. به منظور جداسازی بیمارگر قطعه‌ای از برگ‌های آلوده که اسپورهای قارچ *Cercospora beticola* در سطح لکه‌های آن تشکیل شده بود با استفاده از آب مقطر استریل شستشو داده شد و سوسپانسیون اسپور حاصل با رقت مناسب برروی محیط آب ـ آگار ۱/۵ درصد پخش گردید. پس از

جوانه‌زدن اسپورها، یک اسپور جوانه زده به محیط کشت عصارهٔ تجارتی سبزیجات V_8 juice Agar (۲۰۰ میلی لیتر عصارهٔ هشت سبزی V_8 ، ۳ گرم $CaCO_3$ و ۲۰ گرم آگار در یک لیتر آب) منتقل شده و به این ترتیب یک جدایهٔ تک اسپور خالص بدست آمد. جدایه‌های بیمارگر سپس برای نگه‌داری بلند مدت به محیط کشت PDA (Potato Dextrose Agar) در لولهٔ آزمایش انتقال داده شد و در چهار درجه سانتی‌گراد نگه‌داری شدند. به منظور جلوگیری از کاهش قدرت بیماری‌زایی جدایه‌های بیمارگر، کلیهٔ جدایه‌ها قبل از انجام آزمایش تحت شرایط گلخانه بر روی رقم حساس مایه‌زنی گردیده و پس از ظهور علائم آلودگی، جداسازی و تخلیص بیمارگر مجدداً به ترتیبی که قبلاً ذکر گردیده صورت پذیرفت.

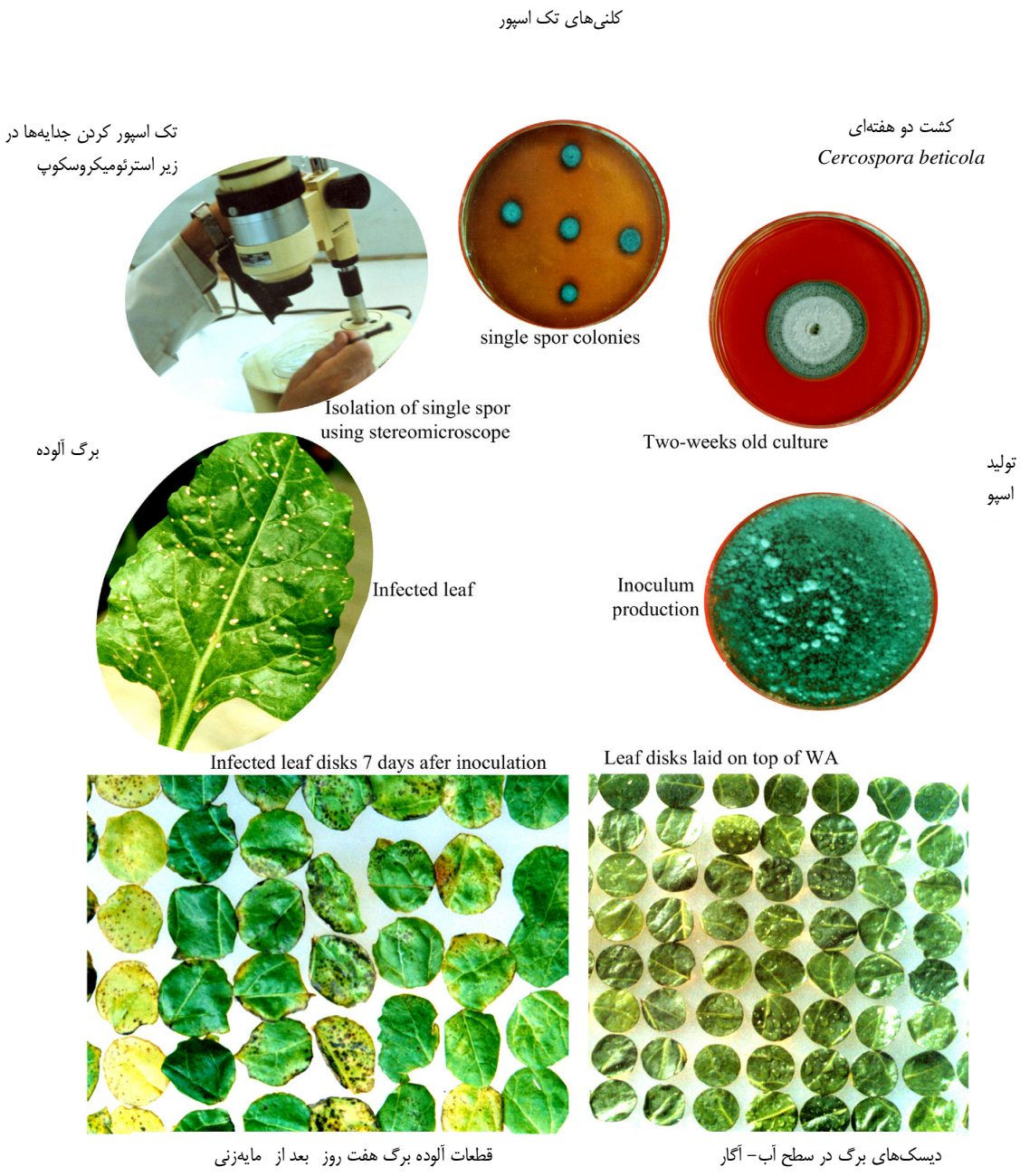
۳ ـ تهیهٔ مایهٔ قارچ

در این مطالعه، جهت انجام آزمایش‌های درون شیشه‌ای از مخلوط هفت جدایهٔ عامل بیماری شامل سه جدایه از خوزستان، سه جدایه از منطقه مغان و یک جدایه از منطقه قائم‌شهر استفاده گردید. به منظور تهیه اسپور، جدایه‌های مذکور بر روی محیط کشت V_8A کشت داده شده و پس از دو هفته نگهداری در شرایط روشنایی دائم و دمای ۲۰ درجه سانتی‌گراد سطح پرگنه‌های قارچ خراش داده شده و پس ازافزودن آب مقطر سترون، سوسپانسیون حاصل مجدداً بر روی محیط کشت V_8A پخش گردید و نهایتاً پس از گذشت چهار روز نگه‌داری در شرایط روشنایی دائم و دمای ۱۵ درجه سانتی‌گراد، سطح پرگنهٔ قارچ با استفاده از مه‌پاش دستی شستشو داده شد و غلظت سوسپانسیون حاصل پس از صاف کردن در حد $۳*۱۰^{۴}$ اسپور در میلی‌لیتر تنظیم گردید.

٤ ـ نحوهٔ ارزیابی مقاومت با استفاده از قطعات جداشده برگ در آزمایشگاه

گیاه‌چه‌های ارقام آزمایشی در مرحلهٔ چهار برگی به گلدان‌های اصلی انتقال داده شدند. آزمایش در قالب طرح کاملاً تصادفی با سه تکرار به اجرا درآمد و برای هر تکرار هشت گلدان در نظر گرفته شد. ارزیابی مقاومت سه ماه پس از انتقال گیاه‌چه‌ها انجام گرفت. در این مرحله، قطعاتی از پهنک برگ به صورت دوایری به قطر ۱/۸ cm (از هر گیاه چهار دیسک برگی) تهیه و در محیط سترون در ظروف دردار مستطیل شکل از جنس پیرکس به ابعاد ۲۰*۳۰ سانتیمتر بر روی آب ـ آگار ۱/۵ ٪ قرار داده شدند. لازم به ذکر است که قبل از تهیه دیسک‌های برگی، برگ‌ها با آب مقطر شستشو داده شدند تا گرد و خاک موجود در سطح برگ‌ها حذف شود و سپس در معرض هوا خشک شدند. قطعات برگ با استفاده از سوسپانسیون اسپور حاوی $۳*۱۰^{۴}$ اسپور در میلی‌لیتر به طور یکنواخت با کمک یک مه‌پاش دستی مایه‌زنی شده و پس از مایه‌زنی در ژرمیناتور قرار گرفتند. با توجه به اهمیت سن برگ‌ها در حساسیت به بیماری لکه برگی سرکوسپورایی، در این ارزیابی سعی شد که در همهٔ ارقام ، برگ‌های تقریباً هم‌سن و بالغ

انتخـاب شـوند. ارزیـابی مقاومـت هشـت روز پـس از نگه‌داری در دمای ۲۵ درجه سانتی‌گراد و رطوبت نسبی ۱۰۰ درصد صورت گرفت. به این منظور تعداد لکه‌های آلوده در هر دیسک برگی شمارش شده و تعداد لکـه در واحد سطح محاسبه شد. در شکل یک, مراحل مختلـف ارزیـابی مقاومـت ژنوتیـپ‌های چغندرقنـد نسـبت بـه سرکوسپورا با استفاده از قطعات جداشدهٔ برگ ارائه شده است.



شکل۱ ـ مراحل مختلف ارزیابی آزمایشگاهی مقاومت با استفاده از قطعات جداشده برگ

Fig. 1 Different steps of the leaf disk resistance assay

٤ ـ نحوهٔ اجرای آزمایش مزرعه‌ای

آزمایش مزرعه‌ای در فصل زراعی ۱۳۸۱ در منطقهٔ قائم شهر (ایستگاه تحقیقاتی قراخیل) به اجرا درآمد. ژنوتیپ‌های مورد مطالعه، در قالب طرح بلوک‌های کامل تصادفی با شش تکرار مورد ارزیابی قرار گرفتند. برای هر کرت آزمایشی یک خط کاشت به طول هشت متر در نظر گرفته شد و فاصله‌ی بین خطوط کاشت ۵۰ سانتی‌متر منظور گردید. با توجه به اهمیت رطوبت در جوانه‌زنی کنیدی و نفوذ عامل بیماری هیچ‌گونه فواصل اضافی در بین کرت‌ها اعمال نشد تا به این ترتیب تراکم پوشش گیاهی شرایط مساعدتری برای گسترش بیماری ایجاد نماید. هم چنین به منظور توزیع یکنواخت آلودگی در سطح مزرعهٔ آزمایشی، رقم حساس ۱۹۱، در سه خط کاشت در اطراف مزرعه کشت گردید. مزرعهٔ آزمایشی به طور مرتب در طی فصل مورد بازدید قرار گرفت. به دلیل وجود شرایط مناسب محیطی در منطقهٔ قائم‌شهر، بیماری به سرعت گسترش یافت و از آنجا که افزایش شدت آلودگی در چنین شرایطی احتمالاً تفکیک درجات مقاومت را مشکل می‌نمود، اسپورپاشی صورت نگرفت. یادداشت‌برداری درجهٔ آلودگی بر اساس دستورالعمل تصویری نه‌گانه (۹ـ۱) KWS (Anonymous 1970) تقریباً هر دو هفته یک بار، به صورت زیر صورت گرفت و هر کرت به صورت مشاهده‌ای نمره داده شد.

- برگ‌ها، کاملاً سالم (۱)
- وجود لکه‌های آلوده بر روی برگ‌های خارجی (۳)
- لکه‌های آلوده به یکدیگر متصل شده و نواحی مرده‌ای را روی برگ تشکیل داده‌اند (۵)
- بخش وسیعی از پهنک برگ‌های خارجی خشک شده است (۷)
- از بین رفتن برگ‌های خارجی ، آلودگی شدید برگ‌های داخلی به همراه تشکیل سریع برگ‌های جدید (۹)

به گیاهانی که بر اساس مقیاس فوق حالات حد واسط آلودگی داشتند، نمرات زوج (۲، ۴، ۶، ۸) اختصاص یافت.

به این ترتیب مزرعهٔ آزمایشی قائم‌شهر طی چهار مرحله مورد بازدید قرار گرفته و درجهٔ آلودگی یادداشت‌برداری گردید. در نهایت پس از تجزیه واریانس داده‌های حاصل از ارزیابی آزمایشگاهی و مزرعه‌ای، مقایسهٔ میانگین‌ها به روش آزمون چند دامنه‌ای دانکن انجام شد. لازم به ذکر است که فرض نرمال بودن داده‌ها با استفاده از نرم‌افزار SAS روش Capability انجام گردید و از آنجایی که داده‌های مزرعه‌ای و داده‌های مربوط به ارزیابی مقاومت در آزمایشگاه توزیع نرمال نداشتند، تبدیل داده‌ها به صورت جذر، لگاریتم بر پایهٔ اعشاری و لگاریتم طبیعی صورت گرفت. از این میان، تبدیل از نوع لگاریتم طبیعی منجر به بیشترین کاهش در میزان نایکنواختی داده‌ها گردید. لذا، از این روش برای تبدیل

داده‌ها و تجزیهٔ واریانس صفات مذکور استفاده شد. سپس داده‌های تبدیل شده به مقادیر اصلی خود بازگردانده شدند. نهایتاً در هر آزمایش، ارقام مورد مطالعه، بر اساس درجه مقاومت، گروه‌بندی شدند. بدین منظور از تجزیهٔ خوشه‌ای به روش UPGMA و با کمک مقادیر مجذور فاصله اقلیدسی استفاده گردید.

نتایج

در جدول‌های ۱و۲ تجزیهٔ واریانس ساده صفات مورد مطالعه در آزمایشگاه و مزرعه ارائه شده است. مقایسهٔ میانگین‌های مربوطه در جدول ۳، اختلاف بین ارقام مختلف را به تفصیل نمایان می‌سازد. در جدول ۴ ضرایب همبستگی ساده بین دو روش ارزیابی مقاومت به بیماری لکه‌برگی سرکوسپورایی ارائه گردیده است. هم چنین دندروگرام‌های حاصل ازگروه‌بندی ارقام مورد آزمایش با استفاده از داده‌های مربوط به ارزیابی مقاومت از طریق قطعات جدا شدهٔ برگ و ارزیابی مقاومت در شرایط مزرعه، در شکل‌های ۲و۳ ارائه شده است.

جدول ۱ ـ خلاصه تجزیه واریانس داده‌های مربوط به ارزیابی مقاومت سرکوسپو را در چغندرقند تحت شرایط مزرعه

Table l Summary of analysis analysis of variance of data obtained in evaluating of resistance to *Cercospora beticola* under field conditions

منابع تغییرات Source of variation	درجه آزادی df	میانگین مربعات MS — دفعات مختلف یادداشت‌برداری Recording dates			
		I	II	III	IV
تیمار Treatment	11	0.4282**	0.3077**	0.1447**	0.1272**
خطا Error	60	0.0147	0.0089	0.0072	0.0112

** : معنی دار در سطح احتمال یک درصد

** Significant at the 1 % level

جدول ۲ـ تجزیه واریانس ساده داده‌های مربوط به ارزیابی مقاومت سرکوسپورا در چغندرقند تحت شرایط آزمایشگاه

Table 2 Analysis of variance of data obtained in evaluating resistance to *Cercospora beticola* under laboratory conditions

منابع تغییرات Source of variation	درجه آزادی df	میانگین مربعات MS
تیمار Treatment	11	0.67102**
خطا Error	24	0.0127

** : معنی دار در سطح احتمال یک درصد

** Significant at the 1 % level

جدول ۳ - واکنش ارقام مورد مطالعه چغندرقند نسبت به بیماری لکه برگی سرکسپورایی و گروه بندی آن‌ها تحت شرایط مزرعه و آزمایشگاه

Table 3 The reactions of the sugar beet cultivars to Cercospora leaf spot under field and laboratory conditions and their grouping

تراکم لکه در دیسک برگ leaf disk spot density (No./cm^2)	دفعات مختلف یادداشت‌برداری در مزرعه * Recording dates under field conditions				مواد گیاهی Genotypes
	IV	III	II	I	
7.34 a	6.86 a	7.99 a	6.00 a	3.66 a	191
6.91 ab	5.41 b	7.24 ab	6.00 a	3.33 ab	Eudora
5.68 cd	5.16 b	7.32 ab	5.49 ab	3.33 ab	Monatunna
6.61 abc	5.33 b	6.84 bc	5.96 ab	3.17 abc	Kaweintermono
6.06 bc	5.16 b	6.41 c	5.00 bc	3.02 bc	Rasool
4.42 de	4.74 bc	7.03 bc	4.99 bc	3.49 ab	Monohikari
6.55 abc	4.90 bc	6.75 b	4.48 cd	3.02 bc	Ranger
3.94 ef	4.90 bc	5.79 d	4.41 d	2.81 c	Mondoro
3.48 f	4.14 d	5.33 def	3.58 e	2.15 d	Dorothea
2.42 g	4.41 cd	5.58 de	3.75 e	2.01 de	Puma
2.03 g	4.33 cd	5.17 f	2.98 f	1.83 e	FD 0018
2.19 g	4.01 d	5.00 f	3.67 e	1.75 e	HM 1836

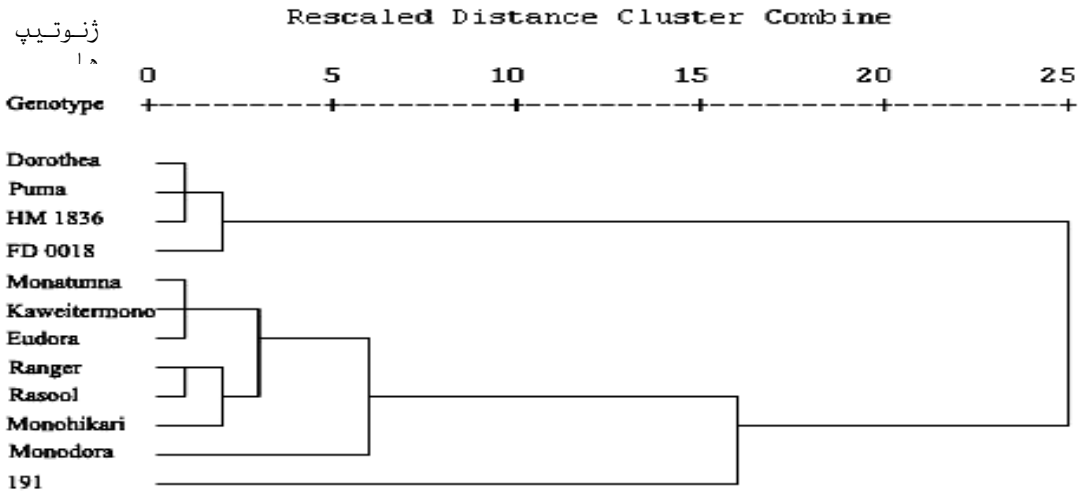
*میانگینهای دارای حروف مشابه از نظر آماری در سطح احتمال پنج درصد اختلاف معنی‌دار ندارند.

The mean with same symbols are not significant at 5% level.

جدول ۴ – ضرایب همبستگی ساده بین روش‌های ارزیابی مقاومت به سرکوسپورا در شرایط مزرعه و آزمایشگاه

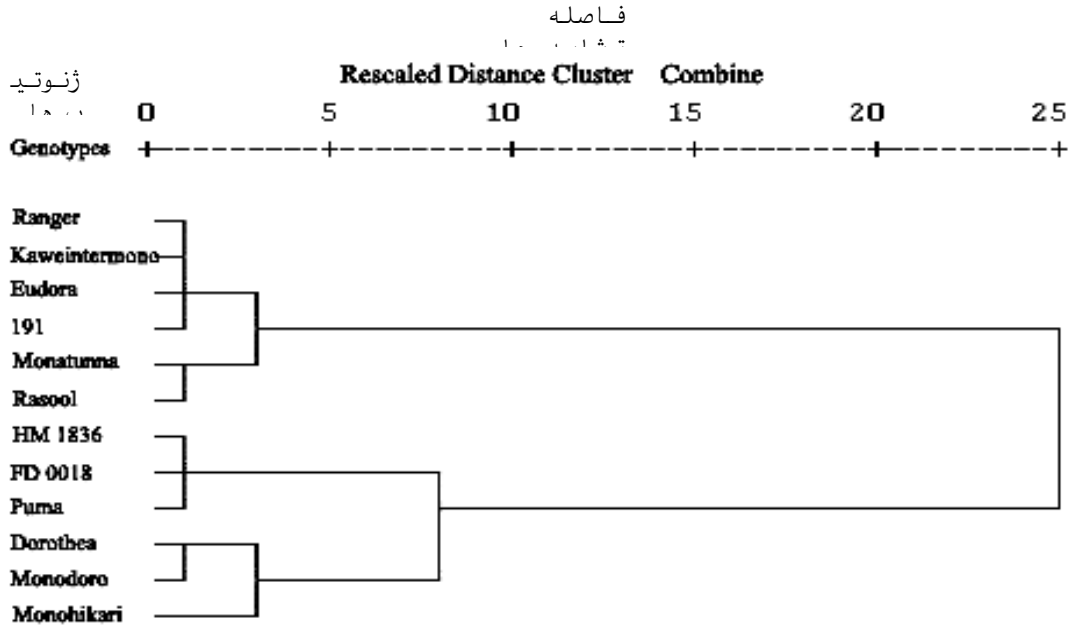
Table 4 Simple correlation coefficients between field and laboratory methods for evaluating of resistance to *Cercospora beticola*

Recording dates دفعات مختلف یادداشت‌برداری				
یادداشت‌برداری چهارم 4th recording date	یادداشت‌برداری سوم 3rd recording date	یادداشت‌برداری دوم 2nd recording date	یادداشت‌برداری اول 1st recording date	
				یادداشت‌برداری اول 1st recording date
			0.894**	یادداشت‌برداری دوم 2nd recording date
		0.935**	0.968**	یادداشت‌برداری سوم 3rd recording date
	0.867**	0.931**	0.805**	یادداشت‌برداری چهارم 4th recording date
0.923**	0.853**	0.914**	0.832**	تراکم لکه در دیسک برگ leaf disk spot density (No./cm^2)



شکل ۲- دندروگرام حاصل از گروه‌بندی ارقام بر اساس ارزیابی مقاومت از طریق دیسک برگی

Fig. 2 Dendrogram of cluster analysis for grouping of genotypes based on evaluation of resistance to *Cercospora beticola* using leaf disk assay



شکل۳- دندروگرام حاصل از گروه‌بندی ارقام بر اساس ارزیابی مقاومت تحت شرایط مزرعه در منطقه قائم‌شهر

Fig. 3 Dendrogram of cluster analysis for grouping of genotypes based on evaluation of resistance to *Cercospora beticola* under field conditions in the Ghaemshahr region

۱ـ ارزیابی مقاومت با استفاده از قطعات جدا شده برگ

ظهور اولین علائم آلودگی تقریباً شش روز بعد از مایه‌زنی صورت گرفت. علائم بیماری در همهٔ ارقام آزمایش، کاملاً بارز بوده و پوشش خاکستری رنگی از کنیدی‌های بیمارگر در سطح لکه‌ها نمایان بود. مقایسه میانگین تراکم لکه‌های آلوده در واحد سطح قطعات جدا شده برگ در جدول شماره ۳ ارائه گردیده است. شکل ۲ گروه‌بندی ژنوتیپ‌های تحت مطالعه را با استفاده از تجزیه خوشه‌ای نشان می‌دهد. با بررسی مراحل تجزیه خوشه‌ای و اختلاف بین مقادیر مجذور فواصل اقلیدسی که در آن گروه‌های مختلف با یکدیگر ترکیب شده‌اند، مشخص گردید که در هر دو مورد انتخاب سه گروه، بهترین انتخاب برای رتبه بندی ژنوتیپ‌های تحت مطالعه با استفاده از روش تجزیه خوشه‌ای می‌باشد. بر این اساس، ژنوتیپ‌های مورد مطالعه، به سه گروه زیر طبقه‌بندی می‌شوند که به ترتیب درجه‌ی مقاومت آنها کاهش می‌یابد:

گروه اول : ارقام Puma، HM1836، FD 0018

گروه دوم : ارقام Monohikari ،Monodoro، Dorothea

گروه سوم : ارقام Monatunna، Ranger،Eudora، Rasool، Kaweintermono، 191

۲ ـ ارزیابی مقاومت در شرایط مزرعه

تجزیه واریانس ساده یادداشت‌برداری‌های مزرعه‌ای در جدول شماره یک ارائه گردیده است. مطابق این جدول در مراحل مختلف یادداشت‌برداری اختلاف بین تیمارها در سطح یک درصد معنی‌دار است. با این حال مقایسهٔ میانگین درجات آلودگی در جدول شماره سه نشان می‌دهد که درجهٔ آلودگی ارقام از نظر سطح مقاومت در طی فصل رشد کمی تغییر یافته است. شدت آلودگی در منطقه قائم‌شهر به حدی بود که در پایان فصل رشد ارقام مقاوم‌تر در مقایسه با ارقام حساس اختلاف بارزی از نظر شاخص سطح برگ داشتند. دندروگرام حاصل از تجزیه‌ی خوشه‌ای ارقام مورد مطالعه بر اساس مجموع مراحل یادداشت‌برداری در شکل ۳ ارائه گردیده است. در این مورد نیز بهترین انتخاب، انتخاب سه گروه بوده و بر این اساس گروه‌بندی ژنوتیپ‌های مورد مطالعه در منطقهٔ قائم شهر به صورت زیر است:

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

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

گروه سوم: رقم ۱۹۱

با وجود این که اختلافاتی در گروه‌بندی خوشه‌ای ارقام مورد مطالعه در دو روش ارزیابی مزرعه‌ای و آزمایشگاهی ملاحظه می‌شود، ضرایب همبستگی این دو روش ارزیابی که در جدول شماره چهار ارائه شده است نشان می‌دهد که همبستگی بالایی بین این دو روش ارزیابی وجود دارد.

بحث

نتایج این مطالعه نشان داد که همبستگی بالایی بین ارزیابی مقاومت از طریق قطعات جدا شده برگ و ارزیابی‌های مزرعه‌ای وجود دارد. به گونه‌ای که درجه همبستگی ارزیابی آزمایشگاهی مقاومت با هر یک از مراحل ارزیابی مزرعه‌ای بالای۸۳ درصد بوده است. با این حال گروه‌بندی ارقام آزمایشی در این دو روش ارزیابی کاملاً یکسان نیست. به عنوان مثال رقم حساس ۱۹۱ در ارزیابی‌های مزرعه‌ای به تنهایی در یک گروه مستقل قرار گرفته است در حالی که در روش دیسک برگی، همراه با سایر ارقام حساس گروه‌بندی شده است. لازم به ذکر است که درجهٔ مقاومت تک‌تک گیاهان یک رقم کاملاً یکسان نبوده و وجود تنوع درونی در هر رقم امری طبیعی می‌باشد. از طرفی این تنوع در ارقام مختلف متفاوت است. بدیهی است در ارزیابی‌های مزرعه‌ای از آن جایی که نمره‌دهی ارقام به صورت مشاهده‌ای صورت می‌گیرد، واکنش غالب یادداشت‌برداری شده و لذا تک بوته‌هایی که واکنشی متفاوت با واکنش کلی رقم دارند، در ارزیابی منظور نمی‌شوند. حال آن که در ارزیابی آزمایشگاهی واکنش تک‌تک بوته‌های یک رقم در ارزیابی دخیل می‌باشند و میانگین آن به عنوان واکنش رقم منظور می‌گردد. بنابراین نتایج ارزیابی‌ها کاملاً یکسان نیست. با این حال ارزیابی مقاومت به هر یک از روش‌های مزبور صورت گیرد، قابل اعتماد خواهد بود. بدیهی است هریک از روش‌های ارزیابی دارای قابلیت و محدودیت‌هایی است و لذا انتخاب روش ارزیابی، خود، به اهداف و امکانات ما بستگی دارد. نتایج این مطالعه نشان داد که ارزیابی مقاومت با استفاده از قطعات جدا شده برگ همبستگی با ارزیابی مزرعه‌ای دارد با استفاده از این روش در مدت کوتاهی می‌توان تعداد زیادی از مواد گیاهی را مورد ارزیابی قرار داد. در این روش ارزیابی هیچ گونه محدودیتی در تعداد تکرارهای آزمایش وجود نداشته و شرایط انجام آزمایش مستقل از شرایط محیطی و کاملاً قابل کنترل می‌باشد. از طرفی در این ارزیابی هیچ گونه تنشی به گیاه مورد بررسی وارد نمی‌شود؛ بنابراین چنانچه حفظ تک‌بوته‌های آزمایش شده به دلیل جایگاه ویژه آن‌ها در دستور کار باشد این روش ارزیابی قویاً قابل توصیه می‌باشد. تنها محدودیت این روش حفظ شادابی دیسک‌های برگی طی مدت انجام آزمایش بوده که لازم است در این زمینه مطالعات بیشتری صورت پذیرد. در این خصوص به نظر میرسد با افزودن ترکیباتی نظیر کینتین که موجب به تعویق انداختن پیری در برگ‌ها می‌شوند این روش را می‌توان بهبود بخشید (Browne and Cooke 2004). این روش ارزیابی به منظور تعیین تعداد لوکوس‌های کمی مقاومت به سرکوسپورا QTLs با موفقیت مورد استفاده قرار گرفته است(Koch and Jung 2000). لیکن به جزئیات این روش ارزیابی در منابع اشاره‌ای نشده است. هم چنین گزارش‌های متعددی در خصوص استفاده موفق از برگ بریده جهت ارزیابی مقاومت در سایر بیماری‌های گیاهی نیز وجود دارد (Browne and Cooke 2004; Daayf and Platt 2003) به هر حال نتایج این مطالعه نشان می‌دهد که ارزیابی آزمایشگاهی مقاومت با استفاده از دیسک‌های برگی روشی معتبر، آسان و سریع بوده و برخلاف آزمایش‌های مزرعه‌ای که مستلزم صرف وقت، هزینه و امکانات زیاد است، به سهولت و با هزینه اندک قابل اجرا است.

References منابع مورد استفاده

Adams H, Schauffle WR, Marlander B (1995) A method for the artificial inoculation of sugar beet with *Cercospora beticola* under field conditions. Journal of Plant Diseases and Protection 102: 320-322

Anonymous (1970) *Cercospora* tafel. Kleinwanzleber Saatzucht Ag. Einbeck and Giesecke

Browne RA, Cooke BM (2004) Development and evaluation of an in vitro detached leaf assay for pre-screenig resistance to Fusarium head blight in wheat. European Journal of Plant Pathology 110: 91-102

Daayf F, Platt HW (2003) Differential pathogenicity on potato and tomato of *Phytophthora infestans* US-8 and US-11 strains isolated from potato and tomato. Canadean Journal of Plant Pathology 25: 150-154

Ershad D (1995) Fungi of Iran. Department of Botany, Publication No 10. Plant Pests and Diseases Research Institute, Tehran 874 p

Holtschulte B (2000) *Cercospora beticola*-worldwide distribution and incidence. *In:* Asher MIC, Holtschulte B, Richard Molard M, Rosso F, Steinrucken G, Beckers R, eds. *Cercospora beticola* Sacc. Biology, Agronomic Influence and Control Measures in Sugar Beet, Vol. 2: 5-16pp

Koch G, Jung, C (2000) Genetic localization of Cercospora resistance genes. *In:* Asher MIC, Holtschulte B, Richard Molard M, Rosso F, Steinrucken G, Beckers R, eds. *Cercospora beticola* Sacc. Biology, Agronomic Influence and Control Measures in Sugar Beet, Vol. 2: 197-210pp

Lewellen RT, Whitney ED (1976) Inheritance of resistance to race 2 of *Cercospora beticola* in sugar beet. Crop Science, 16: 558-561

Miller J, Rekoske M, Quinn A (1994) Genetic resistance, fungicide protection and variety approval politics for controlling yield losses from Cercospora leaf spot infection. Journal of Sugar Beet Research, 31: 7-12

Panella L, Frese L (2000) Cercospora resistance in *Beta* species and the development of resistant sugar beet lines. *In:* Asher MIC, Holtschulte B, Richard Molard M, Rosso F, Steinrucken G, Beckers R, eds. *Cercospora beticola* Sacc. Biology, Agronomic Influence and Control Measures in Sugar Beet, Vol. 2, pp163-176

Pfleiderer UE, Schaufele WR (2000) Development of a testing method for resistance against *Cercospora beticola* in sugar beet. *In:* Asher MIC, Holtschulte B, Richard Molard B, Rosso F, Steinrucken G, Beckers R, eds. *Cercospora beticola* Sacc. Biology, Agronomic Influence and Control Measures in Sugar Beet, Vol. 2, pp147-154

Rossi V (2000) Cercospora leaf spot infection and resistance in sugar beet. *In:* Asher MIC, Holtschulte B, Richard Molard M, Rosso F, Steinrucken G, Beckers R, eds. *Cercospora beticola* Sacc. Biology, Agronomic Influence and Control Measures in Sugar Beet, Vol. 2, pp17-48

Saito K (1966) Studies on the Cercospora leaf spot resistance in sugar beet breeding. Memoirs of the Faculty of Agriculture Hokkaido, 6: 113-176

Shane WW, Teng PS (1992) Impact of Cercospora leaf spot on root weight, sugar yield and purity of *Beta vulgaris*. Plant Disease, 76: 812-820

Skaracis GN, Biancardi E (2000). Breeding for Cercospora resistance in sugar beet. In: Cercospora beticola Sacc. Biology, Agronomic Influence and Control Measures in Sugar Beet, Vol. 2, eds. Asher MIC, Holtschulte B, Richard Molard B, Rosso F, Steinrucken G, Beckers R, pp 177-196

Smith GA, Gaskill JO (1970) Inheritance of resistance to Cercospora leaf spot in sugar beet. Journal of American Society of Sugar Beet Technologists, 16: 172-180

Windels CE, Lamey HA, Hilde D, Widner J, Knudsen T (1998) A Cercospora leaf spot model for sugar beet in practice by an industry. Plant Disease, 82: 716-726