آفات و بیماری‌های گیاهی
جلد ۹۱، شماره ۲، اسفند ۱۴۰۲
Applied Entomology and Phytopathology
Vol. 91, No. 1, Sep. 2023
DOI: 10.22092/JAEP.2024.363708.1495

مقاله پژوهشی

ارزیابی مقاومت ژنوتیپ‌های سویا به بیماری پوسیدگی زغالی در شرایط مزرعه و گلخانه

شهریار کیا[1]✉، ابراهیم هزارجریبی [2]

۱- استادیار، بخش تحقیقات علوم زراعی و باغی، مرکز تحقیقات و آموزش کشاورزی و منابع طبیعی گلستان، سازمان تحقیقات، آموزش و ترویج کشاورزی، گرگان، ایران؛ ۲- مربی، بخش تحقیقات علوم زراعی و باغی، مرکز تحقیقات و آموزش کشاورزی و منابع طبیعی گلستان، سازمان تحقیقات، آموزش و ترویج کشاورزی، گرگان، ایران

(تاریخ دریافت: مهر ۱۴۰۲؛ تاریخ پذیرش: اسفند ۱۴۰۲)

چکیده

بیماری پوسیدگی زغالی ناشی از قارچ *Macrophomina phaseolina* یکی از رایج‌ترین بیماری‌های سویا در ایران به‌شمار می‌رود. در این پژوهش، مقاومت ۳۵ ژنوتیپ سویا از گروه‌های رسیدگی II تا V در شرایط مزرعه و گلخانه در برابر بیماری پوسیدگی زغالی ارزیابی شد. در شرایط مزرعه، درصد بوته آلوده و درصد ارتفاع تغییر رنگ داخلی ساقه و در شرایط گلخانه طول نکروز ساقه اندازه‌گیری شد. براساس نتایج به‌دست آمده، ژنوتیپ‌های کتول، سامان، گرگان ۳، RVB × Katul و Katul × Krasnodar778 با کمترین درصد بوته آلوده، درصد ارتفاع تغییر رنگ داخلی ساقه و طول نکروز ساقه به‌عنوان ژنوتیپ‌های نسبتاً مقاوم شناخته شدند. ژنوتیپ‌های ویلیامز، سپیده، سحر، L17 و Karbin× Valenta با بیشترین درصد بوته آلوده، ارتفاع تغییر رنگ داخلی ساقه و طول نکروز ساقه به‌عنوان ژنوتیپ‌های حساس ارزیابی شدند. ژنوتیپ‌های نسبتاً مقاوم شناسایی شده می‌توانند به‌عنوان منابع برای توسعه ارقام سویا مقاوم به بیماری پوسیدگی زغالی به‌کار روند.

واژه‌های کلیدی: بوته میری، سویا، ماکروفومینا، مقاومت

Resistance evaluation of soybean genotypes to charcoal rot disease in greenhouse and field conditions

S. KIA[1]✉, E. HEZARJARIBI[2]

1. Asistance Professor, Crop and Horticulture Science Research Department, Golestan Agricultural and Natural Resources Research and Education Center, Agricultural Research, Education and Extension Organization (AREEO), Gorgan, Iran;
2. Instructor, Crop and Horticulture Science Research Department, Golestan Agricultural and Natural Resources Research and Education Center, Agricultural Research, Education and Extension Organization (AREEO), Gorgan, Iran.

Abstract

Charcoal rot caused by the fungus *Macrophomina phaseolina* is one of the most common soybean diseases in Iran. In this study, resistance of 35 soybean genotypes from maturity groups II to V were evaluated against Charcoal rot in the field and greenhouse conditions. In the field cinditions, the percent of infected plants and the percent height of internal stem discoloration, and in the greenhouse conditions, length of stem necrosis were measured. As the results, genotypes Katul, Saman, Gorgan3, RVB × Katul and Katul × Krasnodar778 have the lowest percent of infected plant, percent height of internal stem discoloration and length of stem necrosis and identified as moderately resistant genotypes. Genotypes Williams, Sepideh, Sahar, L 17, and Karbin × Valenta have the highest percent of infected plant, percent height of internal stem discoloration and length of stem necrosis evaluated as susceptible genotypes. The moderately resistant genotypes identified can be used as the sources for developing soybean cultivars with resistance to charcoal rot.

Keywords: Damping off, macrophomina, resistance, soybean

✉ shabankia@gmail.com

©2024, The Author(s). Published by Iranian Research Institute of Plant Protection (IRIPP). This is an open-access article distributed under the terms of the Creative Commons Attribution License (http://creativecommons.org/licenses/by/4.0)

مقدمه

تولید سویا (*Glycine max* (L.) Merr.) به‌دلیل محتوای پروتئین بالا (۳۸–۴۵ درصد) و مقدار بالای روغن (تقریباً ۲۰ درصد) در جهان بیشتر از سایر محصولات دانه روغنی است و بیشترین سهم را در تجارت جهانی به‌خود اختصاص داده است (Bellaloui *et al.*, 2015). بیمارگرهای مختلفی عملکرد سویا را تحت تأثیر قرار می‌دهند. قارچ *Macrophomina phaseolina* (Tassi) Goid یک قارچ بیمارگر خاکزاد است که در سراسر جهان وجود دارد و حداقل ۵۰۰ گونه گیاهی در بیش از ۱۰۰ خانواده را آلوده می‌کند و باعث بیماری‌هایی مانند پوسیدگی ساقه و ریشه، پوسیدگی زغالی و سوختگی گیاهچه می‌شود. این بیمارگر در دمای ۳۰ تا ۳۵ درجه سلسیوس و رطوبت خاک زیر ۶۰ درصد، می‌تواند باعث کاهش عملکرد قابل توجه در محصولاتی مانند سویا، سورگوم و بادام‌زمینی شود (Su *et al.* 2001; Marquez *et al.*, 2021).

قارچ *M. phaseolina* قادر به آلوده کردن سویا در همه مراحل رشد گیاه است اما معمولا، آلودگی پس از گل‌دهی رخ می‌دهد. این قارچ همچنین در بسیاری از محصولات از جمله سویا بذرزاد نیز هست. قارچ بیمارگر در بافت ریشه و ساقه گیاه میزبان میکرواسکلروت تولید می‌کند که ۲ تا ۱۵ سال در خاک زنده می‌ماند و می‌تواند به‌عنوان منبع زادمایه اولیه عمل کند (Gupta *et al.*, 2012).

در یک بررسی در سال‌های ۲۰۰۴ و ۲۰۰۵ در ایالت کارولینای شمالی آمریکا، کاهش عملکرد ناشی از پوسیدگی زغالی در سویا در شرایط آبیاری، ۶ تا ۳۳ درصد گزارش شد (Mengistue *et al.*, 2011a). بررسی‌ها نشان داد این بیماری قارچی عملکرد دانه سویا را تا ۱۵ درصد در کرت‌های آزمایشی کاهش داده است (Pawlowski *et al.*, 2015). در سال ۱۳۷۰ به‌علت آلودگی شدید برخی مزارع سویا به بیماری پوسیدگی زغالی در مازندران، متوسط عملکرد سویا در مناطق میانی استان به ۹۹۰ کیلوگرم در هکتار کاهش یافت (Rayatpanah *et al.*, 2002) در پژوهش انجام شده در سال‌های ۱۳۹۳ و ۱۳۹۴، کمترین کاهش عملکرد دانه در بوته سویا در اثر بیماری پوسیدگی زغالی ۱/۱۱ درصد و بیشترین کاهش عملکرد دانه سویا ۶۰/۹۶ درصد برآورد شد (Ghorbanipour *et al.*, 2018).

علایم بیماری پوسیدگی زغالی در مرحله گیاهچه‌ای شامل مرگ گیاهچه و یا توسعه زخم در لپه و یا ساقه می‌باشد. علایم بیماری در مرحله بلوغ شامل پوسیدگی ریشه، کوتولگی، پژمردگی، تغییر رنگ خاکستری بافت ساقه، کلروز بین رگبرگی، نکروز برگ، و مرگ زودرس گیاه است. میکرواسکلروت‌ها نیز در در بافت آوندی ساقه و ریشه مشاهده می‌شوند. قارچ بیمارگر همچنین می‌تواند دانه و غلاف را به‌شدت آلوده کرده و غلاف چروکیده شده و با میکرواسکلروت پر شود. این قارچ همچنین می‌تواند توسط بذر آلوده نیز منتقل شود (Gupta *et al.*, 2012; Mengistu *et al.* 2016).

راهبردهای مدیریت بیماری پوسیدگی زغالی شامل تناوب زراعی با محصولات غیرمیزبان، مانند پنبه،گندم و جو، اجتناب از تنش آبی به‌ویژه در طول دوره باروری سویا، کنترل بیولوژیکی با جدایه‌های قارچ تریکودرما به‌عنوان یک جایگزین ممکن برای کنترل بیماری و استفاده از ارقام مقاوم به‌عنوان یک روش موثر درکنترل بیماری و کاهش خسارت محصول و مدیریت تولید پایدار می‌باشند (Vibha, 2016; Romero-Luna *et al.*, 2017; Reznikov *et al.*, 2019; Orojnia *et al.* 2021).

تا سال ۲۰۱۸، هیچ ژنوتیپ سویا دارای سطح بالایی از مقاومت به *M. phaseolina* شناسایی نشده بود (Lin *et al.*, 2022). فقط مواردی از مقاومت متوسط به پوسیدگی زغالی در تعدادی از ژنوتیپ‌های سویا مشاهده شد. در بررسی واکنش ۲۴ رقم سویا از گروه‌های رسیدگی III و IV به *M. phaseolina* و

براساس میزان کلونیزاسیون پایین ساقه و بالای ریشه، چهار رقم Asgrow4715، Deltapineland 3478، Hamilton و Jackson II نسبتاً مقاوم بودند (Smith and Carvil, 1997). در ارزیابی مزرعه‌ای ژنوتیپ‌های سویا در خاک‌های آلوده به بیمارگر، براساس شدت تغییر رنگ داخلی ساقه و ریشه و واحد تشکیل دهنده کلنی (Colony-Forming Units (CFU))، به‌عنوان شاخص‌های مقاومت، لاین DT97-4290 به‌عنوان اولین ژرم‌پلاسم سویا برای مقاومت در برابر پوسیدگی زغالی معرفی شد (Paris *et al.*, 2006). در ارزیابی مقاومت ۲۴ ژنوتیپ از گروه‌های رسیدگی III، VI و V در شرایط مزرعه‌ای و آلودگ مصنوعی و براساس شاخص واحد تشکیل دهنده کلنی، ژنوتیپ های DT99-16864،DT99-17483، DT99-17554 و DT99-4290 به‌عنوان ژنوتیپ های نسبتاً مقاوم گروه‌بندی شدند (Mengistu *et al.*, 2007). در ارزیابی مزرعه‌ای ژنوتیپ‌های سویا از گروه‌های رسیدگی مختلف جهت شناسایی منابع مقاومت به بیماری پوسیدگی زغالی، چهار ژنوتیپ PI594302، PI567562، PI506764 و PI567334 با کمترین شاخص واحد تشکیل دهنده کلنی سطح مقاومت بالاتری از لاین DT99-4290 داشتند (Mengistu *et al.*, 2013). در بررسی شدت بیماری پوسیدگی زغالی در ۱۳ ژنوتیپ سویا متحمل به خشکی، سه ژنوتیپ R07-7232، USG Allen و USG 75Z38 مقاومت پایدار به پوسیدگی زغالی نشان دادند (Mengistu *et al.*, 2018).

در سال های اخیر، پژوهش‌های انجام شده منجر به شناسایی ژنوتیپ‌های مقاوم به *M. phaseolina* شده است. در ارزیابی واکنش ۳۱ ژنوتیپ سویا در شرایط مزرعه، دو ژنوتیپ BMX Elite و GDM15I029 به‌عنوان ژنوتیپ‌های مقاوم شناسایی شدند (Ishikawa *et al.*, 2019). در بررسی بیماری‌زایی هفت جدایه *M. phaseolina* روی چهار ژنوتیپ سویا، رقم Munasqa RR در مقایسه با رقم نسبتاً مقاوم DT97-4290، مقاومت بالاتری در برابر *M. phaseolina* نشان داد (Reznikove *et al.*, 2019). مرکز تحقیقات فیشر دلتا دانشگاه میسوری، ارقام 'S14-15138GT' و 'S13-2743C' که دارای مقاومت بالاتر در برابر بیماری پوسیدگی زغالی بودند معرفی کرد (Chen *et al.*, 2020 ; 2021 b).

در بررسی‌های انجام شده در ایران تعدادی ژنوتیپ سویا مقاوم تا متحمل به بیماری پوسیدگی زغالی شناسایی شده‌اند. در بررسی واکنش ۱۲۱ لاین خالص سویا به بیماری پوسیدگی زغالی در شرق مازندران، لاین‌های B.P-692 (به‌نام ساری)، J.K-695 (به‌نام تلار) و K.S-69033 به‌عنوان ژنوتیپ‌های متحمل به بیماری معرفی شده‌اند (Rayatpanah *et al.*, 2007). در ارزیابی مقاومت هفت ژنوتیپ سویا نسبت به جدایه بیماری‌زای *M. phaseolina* در شرایط گلخانه، ارقام هاچستون، ساری، همیلتون و کتول را به‌عنوان ارقام مقاوم به بیماری ارزیابی شده‌اند (Hemmati *et al.*, 2014). در ارزیابی ٦٤ رقم و لاین سویا در برابر بیماری پوسیدگی زغالی در شرایط مزرعه در مازندران، هشت ژنوتیپ سویا به‌عنوان ژنوتیپ‌های متحمل به‌بیماری تعیین شده‌اند (Rayatpanah *et al.*, 2016). در ارزیابی مقاومت ۱۳۰ ژنوتیپ سویا نسبت به‌بیماری پوسیدگی زغالی در شرایط مزرعه، ۲٦ ژنوتیپ سویا به‌عنوان ژنوتیپ‌های مقاوم به بیماری شناسایی شده‌اند (Ghorbanipour *et al.*, 2018).

مواد و روش‌ها

جداسازی و خالص‌سازی قارچ عامل بیماری پوسیدگی زغالی

بخش‌های آلوده ساقه و طوقه بوته‌های سویا پس از شستشو با آب شیر و رطوبت‌گیری در دمای اتاق، به قطعات کوچک ۳-۲ میلی‌متری تقسیم و سپس با محلول هیپوکلریت سدیم ۰/۵ درصد به‌مدت ۵-۳ دقیقه ضدعفونی سطحی و سپس با آب مقطر سترون سه بار متوالی شستشو شد. نمونه‌ها بر روی کاغذ صافی سترون زیر هود خشک و به محیط کشت سیب‌زمینی-دکستروز-آگار (Potato Dextrose Agar (PDA))

حاوی ۵۰ µg/ml آنتی‌بیوتیک کلرامفنیکل منتقل در دمای ۳۰ درجه سلسیوس در انکوباتور نگهداری شد. بعد از گذشت ۵-۳ روز، قارچ‌های رشد کرده از حاشیه اندام‌های گیاهی در تشتک‌های پتری کشت شده با استفاده از سوزن نازک سترون برداشته و به محیط کشت PDA جدید منتقل گردید. خالص‌سازی جدایه قارچ ماکروفومینا به‌دلیل عدم تولید کنیدیوم در محیط کشت، با روش برداشتن نوک ریسه انجام شد. جدایه رشد کرده در محیط PDA به محیط کشت آب-آگار (WA) دو درصد منتقل و بعد از ۴۸-۲۴ ساعت با روش برداشتن نوک ریسه، دوباره به محیط کشت PDA منتقل تا کشت خالص به‌دست آمد.

ارزیابی واکنش ژنوتیپ های سویا در شرایط مزرعه

در این پژوهش، واکنش تعداد ۳۵ ژنوتیپ سویا از گروه‌های رسیدگی II، III، IV و V در ایستگاه تحقیقات کشاورزی عراقی‌محله گرگان، در دو سال زراعی ۱۳۹۹ و ۱۴۰۰ در برابر بیماری پوسیدگی زغالی ارزیابی شدند. این ژنوتیپ‌ها مربوط به آزمایشات سازگاری ارقام و لاین‌های خالص سویا می‌باشند که از بخش تحقیقات دانه‌های روغنی مؤسسه تحقیقات اصلاح و تهیه نهال و بذر دریافت شدند (جدول ۱). هر ژنوتیپ در چهار خط به‌طول ۵ متر با فاصله ۵۰ سانتی‌متر ازهم و در قالب طرح بلوک‌های تصادفی با سه تکرار کشت شدند. در زمان کاشت زادمایه قارچ *M. phaseolina* بر روی دانه‌های سورگوم تکثیر و مخلوط با پرلیت به‌میزان ۱۰ گرم همراه با بذر سویا در هر شیار کاشت توزیع شد. عملیات زراعی شامل کوددهی، آبیاری، وجین علفهای هرز و مبارزه با آفات در طول دروه رشد گیاه انجام شد.

برای تولید زادمایه‌ی جدایه‌ی قارچ *M. phaseolina*، ابتدا بذر سورگوم شسته شده در ارلن‌های یک لیتری و در نیمی از حجم آن قرار داده شد و با آب کافی خیسانده شدند. ۲۴ ساعت بعد بذرها به‌مدت ۳۰ دقیقه در دمای ۱۲۱ درجه سلسیوس اتوکلاو شدند. پس از سرد شدن، شش دیسک میسلیومی از حاشیه کلنی‌های قارچی پنج روزه *M.phaseolina* کشت شده در محیط PDA در هر ارلن قرار داده شد. ارلن‌ها در دمای ۳۰ درجه سلسیوس در تاریکی انکوبه شدند. از روز سوم به‌بعد، ارلن‌ها هر روز بهم‌زده شدند تا کلونیزاسیون به‌طور یکنواخت انجام شوند و از متراکم شدن و بهم پیوستن جلوگیری شود. پس از حدود ۲۰ روز، دانه‌ها به‌طور کامل کلونیزه شدند و به رنگ مشکی درآمدند و برای استفاده در مزرعه آماده شدند.

جدول ۱- فهرست ژنوتیپ‌های سویا مورد بررسی در ارزیابی مقاومت به بیماری پوسیدگی زغالی

Table 1. List of soybean genotypes investigated in the evaluation of resistance to charcoal rot disease

Genotype No.	Genotype name	Maturity group
1	L 17	II
2	HT	II
3	Karbin× Hamilton	]]
4	Karbin× Valenta	]]
5	Williams	III
6	Sepideh	III
7	DI 42	III
8	TMS× Hamilton	III
9	Williams82×Telar	III
10	Clary× Williams	III
11	Williams× RVB	III
12	L87.0174× K1380	III
13	L87.0174× Williams82	III
14	Sahar	IV
15	Saba	IV
16	Sahar × Hamilton	IV
17	Charleston×Sari	IV
18	Sari×Sahar	IV
19	Telar× T215	IV
20	Gorgan3	V
21	Katul	V
22	Saman	V
23	Amir	V
24	Sari	V
25	× Hamilton Gorgan3	V
26	× Hamilton Sari	V
27	Katul × Krasnodar778	V
28	RVB × Katul	V
29	RVB × Telar	V
30	Valenta × Telar	V
31	Lavina × Gorgan3	V
32	Gorgan3 × Liana	V
33	Fora × Katul	V
34	Sepideh × Katul	V
35	Delsoy VVIT 82	V

در مرحله رشدی R7 سویا، درصد بوته‌های آلوده به بیماری پوسیدگی زغالی بر اساس نشانه‌های تغییر رنگ و پوسیدگی ریشه و ساقه گیاهان آلوده با مشاهده بروز گیاهان بیمار نسبت به‌تعداد کل گیاهان در هر کرت تعیین شدند (Ishikawa *et al.*, 2019). درصد ارتفاع تغییر رنگ داخلی ساقه ((Percent Height of Internal Stem Discoloration (PHSD)) ناشی از پوسیدگی زغالی براساس ارتفاع تغییر رنگ داخلی آوندها از سطح زمین تقسیم بر ارتفاع ساقه × ۱۰۰ تعیین شدند (Mengistu *et al.*, 2007).

ارزیابی واکنش ژنوتیپ‌های سویا در شرایط گلخانه

واکنش ژنوتیپ‌های سویا در گلخانه بخش تحقیقات علوم زراعی و باغی مرکز تحقیقات و آموزش کشاورزی و منابع طبیعی استان گلستان با استفاده از روش مایه‌زنی ساقه بریده در برابر جدایه‌ی *M. phaseolina* ارزیابی شد(Twizeyimana *et al.* 2012). در این آزمایش هر ژنوتیپ به تعداد ۱۰ عدد بذر در گلدان پلاستیکی به قطر دهانه ۲۰ سانتی‌متر حاوی مخلوط خاک و خاک برگ و ماسه سترون در قالب طرح کاملاً تصادفی با سه تکرار کشت شد. گلدان‌ها داخل گلخانه با دمای ۳۰ درجه سلسیوس، با یک دوره نوری ۱۶ ساعته قرار داده شدند. پس از سبز شدن، تعداد پنج بوته در هر گلدان را حفظ و بقیه حذف شدند.

در روش مایه‌زنی ساقه بریده، نوک ساقه هر گیاه سویا در در مرحله رشدی V2 (دومین برگ سه برگچه‌ای) از ناحیه ۲۵ میلیمتری بالای گره اولین برگ سه برگچه‌ای توسط یک تیغ تیز بریده شد. انتهای باز یک نوک سرسمپلر ۱۰ تا ۲۰۰ میکرولیتری به حاشیه‌ی کشت در حال رشد *M. phaseolina* روی محیط کشت PDA فروبرده شد. نوک پیپت حاوی دیسک آگار حاوی هیف *M. phaseolina* روی ساقه بریده شده قرار داده شد و به سمت پایین فشار داده شد تا ساقه در محیط کشت جاسازی و محکم شود. سه روز پس از مایه‌زنی، نوک پیپت از روی ساقه گیاه برداشته شد. طول نکروز ساقه ناشی از آلودگی با *M. phaseolina* روی هر گیاه با خط‌کش (بر حسب میلی‌متر) اندازه‌گیری و به‌فاصله هر سه روز تا ۱۵ روز پس از مایه‌زنی ثبت شد. مقدار طول نکروز ساقه ناشی از آلودگی اندازه‌گیری شده، برای محاسبه سطح زیر منحنی پیشرفت بیماری (Area Under the Disease Progress Curve (AUDPC)) استفاده شد. مقدار AUDPC برای طول نکروز ساقه با استفاده از فرمول زیر محاسبه شد (Madden *et al.*, 2007).

$$AUDPC = \sum_{i=0}^{n-1} \frac{(y_i + y_{i+1})}{2} (t_{i+1} - t_i)$$

که در آن yi ارزیابی یک بیماری در مشاهده ith است، ti زمان در مشاهده ith، و n تعداد کل مشاهدات است.

آنالیز آماری داده‌ها

آنالیز واریانس داده‌های به‌دست آمده از درصد بوته‌های آلوده، درصد ارتفاع تغییر رنگ داخلی ساقه و مقدار AUDPC طول نکروز ساقه با استفاده از نرم افزار SAS نسخه ۹/٤ انجام شد. مقایسه میانگین‌ها نیز با استفاده از آزمون چند دامنه‌ای دانکن انجام شد.

نتایج و بحث

ارزیابی واکنش ژنوتیپ‌های سویا در شرایط مزرعه

ژنوتیپ‌های سویا مورد بررسی در این پژوهش که از گروه‌های رسیدگی مختلف زودرس، متوسط رس و دیررس بودند، از نظر درصد بوته‌های آلوده و درصد ارتفاع تغییر رنگ داخلی ساقه در شرایط مزرعه در سطح احتمال ۱ درصد با هم اختلاف معنی‌دار داشتند (جدول ۲). نتایج میانگین درصد بوته‌های آلوده نشان داد که ژنوتیپ‌های سپیده با ۵۸/۳۲ درصد و کتول با ۲۲/۸۳ درصد به‌ترتیب دارای بیشترین و کمترین درصد بوته‌های آلوده بودند. ژنوتیپ‌های ویلیامز، سحر و Karbin× Valenta, پس از سپیده، درصد بوته‌های آلوده بیشتری داشتند. ژنوتیپ‌های سامان،

گرگان ۳، RVB × Katul و Delsoy VVIT 82 نیز پس از کتول دارای درصد بوته‌های آلوده کمتری بودند (جدول ۳).

از نظر درصد ارتفاع تغییر رنگ داخلی ساقه، ژنوتیپ‌های ویلیامز با ۷۰/۵۲ درصد و سامان با ۱۵/۹٤ درصد به‌ترتیب بالاترین و پایین‌ترین درصد ارتفاع تغییر رنگ داخلی ساقه را داشتند. ژنوتیپ‌های سپیده، سحر، Karbin× Valenta و L17 پس از ویلیامز درصد ارتفاع تغییر رنگ داخلی ساقه بالاتری داشتند. ژنوتیپ‌های کتول، گرگان ۳، RVB × Katul و Katul × Krasnodar778 نیز پس از سامان دارای درصد ارتفاع تغییر رنگ داخلی ساقه پایین‌تری بودند (جدول ۳).

ارزیابی واکنش ژنوتیپ‌های سویا در شرایط گلخانه

در ارزیابی ژنوتیپ‌ها با روش مایه‌زنی ساقه بریده در شرایط گلخانه، تفاوت معنی داری (P< ۰/۰۱) بین ژنوتیپ‌ها از نظر میانگین سطح زیر منحنی پیشرفت بیماری (AUDPC) مشاهده شد (جدول ۲). ژنوتیپ ویلیامز با ۱۰٤٤/٦٦ بالاترین مقدار AUDPC و ژنوتیپ سامان با ۳۲۵/٤۲ پایین‌ترین مقدار AUDPC را داشتند. ژنوتیپ‌های سپیده، سحر، L17 و Karbin× Valenta پس از ویلیامز، مقدار AUDPC بالاتری داشتند. ژنوتیپ‌های کتول، گرگان ۳، Katul × Krasnodar778 و RVB × Katul نیز پس از سامان دارای مقدار AUDPC پایین‌تری بودند (جدول ۳).

در این پژوهش، ژنوتیپ‌های ارزیابی شده در شرایط مزرعه و گلخانه دچار آلودگی، تغییر رنگ داخلی و نکروز ساقه شدند و هیچ کدام از ژنوتیپ‌ها مقاومت کامل در برابر بیماری نشان ندادند. درصد بوته‌های آلوده، درصد ارتفاع تغییر رنگ داخلی ساقه و طول نکروز ساقه در بین ژنوتیپ‌های مورد بررسی متغیر بود که با یافته‌های دیگر پژوهشگران تا حدودی مطابقت داشت. در بررسی واکنش ارقام و لاین‌های سویا به بیماری پوسیدگی زغالی در مازندران، رقم گرگان ۳ کمترین و رقم ویلیامز بیشترین میزان آلودگی را نشان دادند(Rayatpanah and) Alavi., 2006). در بررسی رعیت پناه و همکاران (Rayatpanah *et al*., 2007) در شرق مازندران، لاین‌های B.P-692 (رقم ساری)، J.K-695 (رقم تلار) و K.S-69033 با کمترین درصد بوته‌های آلوده و میزان آلودگی در گروه متحمل قرار گرفتند. در ارزیابی واکنش ارقام تجاری و امید بخش سویا نسبت به بیماری پوسیدگی زغالی درمنطقه گرگان، ارقام کتول و ویلیامز به‌ترتیب بیشترین و کمترین میزان آلودگی را نشان دادند (Saidinejad *et al*., 2013). ایشیکاوا و همکاران (Ishikawa *et al.*, 2019) با ارزیابی بیماری پوسیدگی زغالی در ژنویپ‌های سویا نشان دادند که ارقامBMX Elite IPRO، GDM15I029، BMX Potencia RR و Vmax با کمترین درصد بیماری مقاوم تا نسبتاً مقاوم بودند. در ارزیابی مقاومت ژنوتیپ‌های سویا در شرایط مزرعه‌ای و آلودگی مصنوعی، ژنوتیپ‌های DT99-4290، DT98-7553، DT99-16864 و DT99-17554 با کمترین درصد ارتفاع تغییر رنگ داخلی ساقه به‌عنوان ژنوتیپ‌های نسبتاً مقاوم گروه‌بندی شدند (Mengistu *et al*., 2007).

در ارزیابی مقاومت ارقام سویا نسبت به جدایه بیماری‌زای *M. phaseolina*، با دو تکنیک مایه‌زنی ساقه بریده و مایه‌زنی ساقه با خلال دندان در شرایط گلخانه، ارقام هاچستون، همیلتون، ساری و کتول طول نکروز کمتری نشان دادند و به‌عنوان ارقام دارای مقاومت نسبی ارزیابی شدند (Hemmati et al., 2004).

تویزیمانا و همکاران (Twizeyimana *et al*., 2012) با استفاده از تکنیک مایه‌زنی ساقه بریده نشان دادند که نکروز ساقه در همه ژنوتیپ‌های مورد بررسی توسعه یافت ولی ژنوتیپ‌های DT97-4290، DT98-7553، DT99-17554، و DT99-16864 مقدار RAUDPC پایین‌تری داشتند. در ارزیابی مقاومت ژنوتیپ‌های سویا به *M. phaseolina*، با استفاده از تکنیک مایه‌زنی ساقه بریده، سه ژنوتیپ PI 548302، PI 548178 و PI 548414 با طول زخم کمتر و درصد بقای بالاتر، مقاومت نسبی بالاتری از ژنوتیپ نسبتاً مقاوم DT97-4290 داشتند (Pawlowski *et al*., 2015).

جدول ۲- آنالیز واریانس درصد بوته‌های آلوده، درصد ارتفاع تغییر رنگ داخلی ساقه (PHSD) و سطح زیر منحنی پیشرفت بیماری (AUDPC) در ژنوتیپ‌های سویا در اثر *Macrophomina phaseolina*

Table 2. Variance analysis of the percentage of infected plants, percent height of internal stem discoloration (PHSD) and the area under disease progress curve (AUDPC) caused by *Macrophomina phaseolina* in soybean genotypes

S.O.V	DF	MS			Pr > F
		Infected plant %	PHSD %	AUDPC	
Year	1	602.083*	349.573*	-	0.0004
Rep	2	63.657^{ns}	125.742^{ns}	-	0.2287
Genotype	33	1243.205**	652.386**	8352.702**	0.0001
Year*Genotype	66	150.612**	294.582**	-	0.0002
Error	132	44.049	32.157	4607.333	
CV		15.805	17.562	10.884	

^{ns}،* and**: Non significant, Significant at the 5% and 1% of probability levels, respectively.

جدول ۳- میانگین درصد بوته‌های آلوده، درصد ارتفاع تغییر رنگ داخلی ساقه (PHSD) و سطح زیر منحنی پیشرفت بیماری (AUDPC) در ژنوتیپ‌های سویا در اثر *Macrophomina phaseolina*در شرایط مزرعه و گلخانه

Table 3. Mean of the percentage of infected plants, percent height internal stem discoloration (PHSD) and the area under disease progress curve (AUDPC) in soybean genotypes caused اثر*Macrophomina phaseolina* in the field and greenhouse conditions

Genotype No.	Genotype name	Field		Greenhouse
		Infected plant %	PHSD %	AUDPC
1	L 17	48.30	55.25	859.33
2	HT	36.12	35.75	529.52
3	Karbin× Hamilton	41.25	38.45	545.67
4	Karbin× Valenta	57.33	60.25	812.00
5	Williams	56.83	70.52	1044.66
6	Sepideh	58.32	61.32	947.00
7	DI 42	30.42	34.25	573.33
8	TMS× Hamilton	37.10	49.22	711.43
9	Williams×Telar	37.67	42.33	593.32
10	Clary× Williams	37.42	50.32	752.67
11	Williams× RVB	46.50	42.83	714.33
12	L87.0174× K1380	39.25	34.90	522.45
13	L87.0174× Williams82	48.15	43.15	658.00
14	Sahar	55.20	57.12	817.66
15	Saba	42.75	43.25	615.33
16	Sahar × Hamilton	41.90	36.82	549.67
17	Charleston×Sari	42.33	52.83	755.32
18	Sari×Sahar	47.5	43.50	671.67
19	Telar× T215	32.45	28.66	494.22
20	Gorgan3	23.17	24.33	421.00
21	Katul	22.83	20.75	347.27
22	Saman	25.44	15.94	325.42
23	Amir	40.67	38.42	739.33
24	Sari	32.80	42.90	612.45
25	× Hamilton Gorgan3	31.50	34.10	592.00
26	× Hamilton Sari	40.66	38.25	624.33
27	Katul × Krasnodar778	28.33	25.75	379.67
28	RVB × Katul	25.49	25.82	475.00
29	RVB × Telar	37.20	35.20	581.49
30	Valenta × Telar	39.30	37.25	562.44
31	Lavina × Gorgan3	40.83	41.17	634.25
32	Gorgan3 × Liana	36.17	28.50	465.32
33	Fora × Katul	40.53	32.75	497.83
34	Sepideh × Katul	35.66	31.42	482.25
35	Delsoy VVIT 82	25.73	32.64	475.64

استفاده از روش مایه‌زنی ساقه بریده نه تنها در ارزیابی مقاومت ژنوتیپ‌های سویا به *M. phaseolina* مفید و اثربخش است بلکه می‌تواند در غربال‌گری مقاومت به *M. phaseolina* در سایر محصولات زراعی مانند کنجد و آفتابگردان نیز مناسب باشد. همچنین این روش می‌تواند برای بررسی اختصاصیت میزبانی در بین جدایه‌های *M. phaseolina* جمع‌آوری شده از گیاهان میزبان نیز مورد استفاده قرار گیرد (Twizeyimana *et al.* 2012; Pawlowski *et al.*, 2015). در تکنیک مایه‌زنی ساقه بریده برای ارزیابی مقاومت به *M.phaseolina*، مقدار یکنواخت زادمایه به‌طور مستقیم و در محل آلودگی روی گیاه قرار می‌گیرد، مقدار بیماری ناشی از *M .phaseolina* در هر گیاه به‌طور مستقیم با استفاده از روش ساقه بریده با اندازه‌گیری مقدار طول نکروز ساقه ناشی از بیمارگر تعیین می‌شود که به‌طور قابل توجهی دقت ارزیابی را نسبت به اندازه‌گیری‌های غیرمستقیم، مانند روش CFU بهبود می‌بخشد. روش مایه‌زنی ساقه بریده برای غربال‌گری ژرم‌پلاسم یا نقشه‌برداری ژنتیکی فنوتیپ جمعیت‌ها برای مقاومت به *M.phaseolina* مناسب است (Twizeyimana *et al.*, 2012).

عوامل محیطی مانند دما و بارندگی و رسیدگی گیاه تأثیر عمده‌ای بر شدت پوسیدگی زغالی دارند و باید هنگام تفسیر ارزیابی‌های مزرعه‌ای در نظر گرفته شوند. تکنیک مایه‌زنی ساقه بریده امکان غربال‌گری ژنوتیپ‌های سویا با گروه‌های رسیدگی مختلف در محیط‌های کنترل‌شده و بدون توجه به‌عوامل محیطی را فراهم کرده و نتایج دقیق‌تری از مقاومت نسبی در بین گروه‌های رسیدگی ژنوتیپ‌های سویا را ارائه می‌دهد (Pawlowski *et al.*, 2015).

در این پژوهش با استفاده از روش مایه‌زنی ساقه بریده، ژنوتیپ‌های سویا با بیشترین و کمترین مقاومت به *M.phaseolina* از هم تفکیک شدند. این روش به‌دلیل سهولت استفاده و مزایای متعدد آن نسبت به ارزیابی مزرعه‌ای می‌تواند به‌عنوان یک روش استاندارد در بین پژوهشگران به‌کار رود. کارآیی و اثربخشی شناسایی منابع بالقوه مقاومت با استفاده از روش مایه‌زنی ساقه بریده در مقایسه با ارزیابی مزرعه‌ای، می‌تواند مجموعه بیشتری از ژنوتیپ‌های سویا برای ارزیابی مقاومت نسبی به بیماری پوسیدگی زغالی با این روش را غربال‌گری کند.

در این پژوهش با استفاده از ارزیابی‌های مزرعه‌ای و گلخانه‌ای، منابع جدیدی از مقاومت در برابر پوسیدگی زغالی در میان ژنوتیپ های مورد بررسی شناسایی شدند. استفاده از ارزیابی‌های مزرعه‌ای و گلخانه‌ای برای مقاومت در برابر پوسیدگی زغالی به شناسایی و انتخاب ژنوتیپ‌های سویا با مقاومت بهتر به بیماری کمک می‌کند. غربال‌گری‌های مزرعه‌ای و گلخانه‌ای امکان مقایسه محیط‌های مختلف برای درک مکانیسم‌های مقاومت درگیر در هر یک را فراهم کرده و همبستگی بین بیان مقاومت در شرایط مزرعه‌ای و گلخانه‌ای را تأیید می‌کند.

سپاسگزاری

این پژوهش مستخرج از نتایج پروژه‌های تحقیقاتی مستقل به‌شماره مصوب ۲-۵۷-۰۳-۳۰۵-۹۶۱۵۱۲ و ۲-۵۷-۰۳-۰۶۹-۹۹۰۸۲۶ می‌باشد. از مؤسسه تحقیقات اصلاح و تهیه نهال و بذر و مرکز تحقیقات و آموزش کشاورزی و منابع طبیعی استان گلستان به‌خاطر فراهم نمودن امکانات و حمایت از اجرای این پژوهش قدردانی می‌گردد.

References

BABU, B. K., A. K. SAXENA, A. K. SRIVASTAVA and D. K. ARORA, 2007. Identification and detection of *Macrophomina phaseolina* by using specific species oligonucleotide primers and prob. Mycologia, 99: 797-803. DOI: 10.3852/mycologia.99.6.797

BELLALOUI, N., S. R. STETINA, R. B. TURLEY, 2015. Cottonseed protein, oil, and mineral status in near-isogenic Gossypium hirsutum cotton lines expressing fuzzy/linted and fuzzless/linted seed phenotypes under field conditions. Frontiers in plant science, 6: 137. https://doi.org/10.3389/fpls.2015.00137

CHEN, P., G. SHANNON, A. SCABOO, M. CRISEL, S. SMOTHERS, M. CLUBB, S. SELVES, C. C. VIEIRA, M. L. ALI, M. G. MITCHUM, H. NGUYEN, Z. LI, J. BOND, C. MEINHARDT, M. KLEPADLO, S. LI, A. MENGISTU and R. T. ROBINS, 2020. Registration of 'S14-15146GT'soybean, a high-yielding RR1 cultivar with high oil content and broad disease resistance and adaptation. Journal of Plant Registeration, 14:35–42. DOI: 10.1002/plr2.20018

CHEN, P., G. SHANNON, A. SCABOO, M. CRISEL, S. SMOTHERS, M. CLUBB, S. SELVES, C. C. VIEIRA, M. L. ALI, M. G. MITCHUM, H. NGUYEN, C. MEINHARDT, M. KLEPADLO, Z. LI, J. BOND, S. LI and J. R. SMITH, 2021. Registration of 'S13-2743C' as a conventional soybean cultivar with high oil content, broad disease resistance, and high yield potential. Journal of Plant Registeration, 15:306–312. DOI:10.1002/plr2.20081

GHORBANIPOUR, A., B. RABIEI, S. RAHMANPOUR and A. KHODAPARAST, 2018. Evaluation of resistance of some soybean genotypes to charcoal rot (*Macrophomina phaseolina*) disease under field conditions. Seed and Plant, 34(1): 143-160. (in Persian). DOI:10.22092/spij.2018.118832

GUPTA, G. K., S. K. SHARMA and R. RAMTEKE, 2012. Biology, epidemiology and management of the pathogenic fungus *Macrophomina phaseolina* (Tassi) Goid with special reference to charcoal rot of soybean (Glycine max (L.) Merrill). Phytopathology, 160:167–180.https://doi.org/10.1111/j.1439-0434.2012.01884.x

HEMMATI, P., D. ZAFARI, S. M. BAGHERI and M. HASHEMI, 2014. Pathogenic variation of *Macrophomina phaseolina* isolates and resistance of soybean genotypes to the fungus *in vitro* and greenhouse conditions. Seed and Plant Improvment Journal, 30-1(1): 207-220. (in Persian).

ISHIKAWA, M. S., N. R. RIBEIRO, A. A. DE ALMEIDA and M. I. BALBI-PENA, 2019. Identification of soybean genotypes resistant to charcoal rot by seed inoculation with *Macrophomina phaseolina*. Journal of Agricultural Science; 11(7): 213-219. https://doi.org/10.5539/jas.v11n7p213

LIN, F., S. S. CHHAPEKAR, C. C. VIEIRA, M. P. DA SILVA, A. ROJAS, D. LEE, N. LIU, E. M. PARDO, Y. LEE, Z. DONG, J. B. PINHEIRO, L. D. PLOPER, J. RUPE, P. CHEN, D. WANG and H. T. NGUYEN, 2022. Breeding for disease resistance in soybean: a global perspective. Theoretical and Applied Genetics, https://doi.org/10.1007/s00122-022-04101-3.

MADDEN, L. V., G. HUGHES and F. VAN DEN BOSCH, 2007. The Study of Plant Disease Epidemics. American Phytopathological Society, St. Paul, MN.

MARQUEZ, N., M. L. GIACHERO, S. DECLEREK and D. A. DUCASSE, 2021. *Macrophomina phaseolina*: General characteristics of pathogenicity and methods of control. Front Plant Science, 12:634397. DOI:10.3389/fpls.2021.634397

MENGISTU, A., P. A. ARELLI, J. P. BOND, G. J. SHANNON, A. J. WRATHER, J. B. RUPE, P. CHEN, C. R. LITTLE, C. H. CANADAY, M. A. NEWMAN and V. R. PANTALONE, 2011b. Evaluation of soybean genotypes for resistance to charcoal rot. Plant Health Progress, 10:1–26. https://doi.org/10.1094/PHP-2010-0926-01-RS

MENGISTU, A., J. Bond, R. NELSON, J. RUPE, G. SHANNON, P. ARELLI and A. WRATHER, 2013. Identification of soybean accessions resistant to

Macrophomina phaseolina by field screening and laboratory validation. Plant Health Progress, 14(1):25. https://doi.org/10.1094/PHP-2013-0318-01-RS

MENGISTU, A., J. C. RUPE, and A. J. WRATHER, 2016. Charcoal rot. In: G. L. Hartman, J. C. Rupe, E. J. Sikora, L. L. Domier, K. L. Steffey and J. A. Davis (eds). Compendium of Soybean diseases and pests, 5th edn. American Phytopathological Society, St. Paul, Minnesota, pp 29–31.

MENGISTU, A., J. D. RAY, J. R. SMITH and R. L., PARIS, 2007. Charcoal rot disease assessment of soybean genotypes using a colony-forming unit index. Crop Science,47:2453–2461. https://doi.org/10.2135/.04.0186

MENGISTU, A., J. D. RAY, J. R. SMITH, P. R. ARRLLI, N. BELLALOUI, P. CHEN, G. SHANNON and D. BOYKIN, 2018. Effect of charcoal rot on selected putative drought tolerant soybean genotypes and yield. Crop Prot 105:90–10. https://doi.org/10.1016/j.cropro.2017.11. 012

MENGISTU, A., J. SMITH, J. D. RAY and N. BELLALOUI, 2011a. Seasonal progress of charcoal rot and its impact on soybean productivity. Plant Disease, 95:1159-1166. Doi: 10.1094/PDIS-02-11-0100

MENGISTU, A., P. R. ARELLI and N. BELLALOUI, 2021. Resistance to charcoal rot identified within soybean cyst nematode resistant accessions. Plant Health Progress, 22(4):552–559. https://doi.org/10.1094/PHP-01-21-0004-RS

OROJNIA, S., D. HABIBI, S. SHAHBAZI, F. PAKNEJAD, and M. ILKAEE, 2021. Investigation of biological control of Trichoderma formulations and its mutant type related to chemical treatments in the control of soybean charcoal rots. Romanian Agricultural Research, 38:419–427. D0I 2067-5720 RAR 2021-30

Paris, R. L., Mengistu, A., Tyler, J., and Smith, J. 2006. Registration of soybean germplasm line DT 97–4290 with moderate resistance to charcoal rot. Crop Science. 46:2324-2325. doi:10.2135/cs2005.09.0297

PAWLOWSKI, M. L. C., B. HILL and G. L. HARTMAN, 2015. Resistance to charcoal rot identified in ancestral soybean germplasm. Crop Science, 55:1230–1235. Doi:10.2135/cropsci2014.10.0687

RAYATPANAH, S. and S. V. ALAVI, 2006. Study on soybean charcoal rot disease in Mazandaran. Journal of Agricultural and Natural Resources Sciences, 13: 107-114. (In Persian).

RAYATPANAH, S., A. FOROUTAN, and M. OLADI, 2002. Evaluation of soybean cultivars to charcoal rot caused by (*Macrophomina phaseolina*) in Mazandaran. Proseeding of 15th Iranian Plant Protection Congress, Razi University of Kermanshah, Kermanshah, Iran, P: 101.

RAYATPANAH, S., M. ALDAGHI, and S. A. DALILI, 2016. Evaluation of tolerance of soybean pure lines to charcoal rot disease. Proseeding of 22th Iranian Plant Protection Congress, College of Agriculture and Natural Resources, University of Tehran, Karaj, Iran.P: 381.

RAYATPANAH, S., S. V. ALAVI and G. ARAB, 2007. Reaction of some soybean advanced lines to charcoal rot disease, *Macrophomina phaseolina* (Tassi) Goid. in east Mazandaran. Seed and Plant Improvment Journal, 23(2): 181-186. (in Persian).

REZNIKOV, S., M. A. CHIESA, E. M. PARDO, V. DELISIA, N. BOGARD, V. GONZALES, F. LEDESMA, E. N. MORANDI, D. PLOPER and A. P. CASTAGNARO, 2019. Soybean-*Macrophomina phaseolina*-specific interactions and identification of a novel source of resistance. Phytopathology, 109:63–73. DOI: 10.1094/PHYTO-08-17-0287-R