

مقاله پژوهشی

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

شهریار کیا^۱✉، ابراهیم هزارجریبی^۲

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

چکیده

بیماری پوسیدگی زغالی ناشی از قارچ *Macrophomina phaseolina* یکی از رایج‌ترین بیماری‌های سویا در ایران به شمار می‌رود. در این پژوهش، مقاومت ۳۵ ژنوتیپ سویا از گروه‌های رسیدگی II تا V در شرایط مزرعه و گلخانه در برابر بیماری پوسیدگی زغالی مورد ارزیابی قرار گرفتند. در شرایط مزرعه، درصد بوته آلوده و درصد ارتفاع تغییر رنگ داخلی ساقه و در شرایط گلخانه طول نکرز ساقه اندازه‌گیری شدند. براساس نتایج بدست آمده، ژنوتیپ‌های کتول، سامان، گرگان ۳، RVB × Katul و Katul × Krasnodar778 با کمترین درصد بوته آلوده، درصد ارتفاع تغییر رنگ داخلی ساقه و طول نکرز ساقه به عنوان 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 نکرز ساقه به عنوان ژنوتیپ‌های حساس ارزیابی شدند. ژنوتیپ‌های نسبتاً مقاوم شناسایی شده می‌توانند به عنوان منابع برای توسعه ارقام سویا مقاوم به بیماری پوسیدگی زغالی بکار روند.

واژه‌های کلیدی: سویا، مقاومت، بوته میری، ماکروفومینا

Evaluation of Resistance of Soybean Genotypes to Charcoal Rot Disease in Field and Greenhouse Conditions

Shahriyar Kia¹✉, Ebrahim Hezarjaribi²

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 conditions, 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 as can be used as sources for developing soybean cultivars with resistance to charcoal rot.

Keywords: Soybean, Resistance, Damping off, macrophomina

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 به شدت 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 به ویژه در طول دوره باروری سویا، کنترل بیولوژیکی با جدایه‌های قارچ تریکودرما به عنوان یک جایگزین ممکن برای کنترل بیماری و استفاده از ارقام مقاوم به عنوان یک روش موثر در کنترل 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، Jackson II و Hamilton 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^۱ (CFU)، به عنوان شاخص‌های مقاومت، لاین DT97-4290 به عنوان اولین ژرم‌پلاسم سویا برای مقاومت در برابر پوسیدگی

سویا (*Glycine max* (L.) Merr.) به دلیل محتوای پروتئین بالا (۳۸-۴۵٪) و مقدار بالای روغن (تقریباً ۲۰٪) در حال حاضر تولید آن در جهان بیشتر از سایر محصولات دانه روغنی است و بیشترین سهم را در تجارت جهانی به خود اختصاص می‌دهد. (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 بادام زمینی شود (Su et al., 2001; Marquez et al., 2021).

قارچ *M. phaseolina* قادر به آلوده کردن سویا در هر مرحله از رشد گیاه است اما معمولاً، 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 به عنوان 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 (Mengistu et al., 2011a). بررسی‌ها نشان داد این بیماری قارچی عملکرد دانه سویا را تا ۱۵ درصد در کرت‌های آزمایشی کاهش داد (Pawlowski et al., 2015). در سال ۱۳۷۰ به علت 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

¹ Colony-Forming Units (CFU)

زغالی معرفی شد (Paris et al., 2006). در ارزیابی مقاومت ۲۴ ژنوتیپ از گروه‌های رسیدگی III، VI و VII در شرایط مزرعه‌ای و آلودگی مصنوعی و براساس شاخص واحد تشکیل دهنده کلنی، ژنوتیپ‌های DT99-17483، DT99-16864 و DT99-4290 به عنوان ژنوتیپ‌های 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 PI567334، PI506764، PI567562 و PI594302 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 سال‌های 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 به عنوان 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 شدند. در بررسی واکنش ۱۲۱ لاین خالص سویا به بیماری پوسیدگی زغالی

در شرق مازندران، لاین‌های B.P-692 (به نام ساری)، J.K-695 (به نام تلار) و K.S-69033 به عنوان ژنوتیپ‌های متحمل به بیماری معرفی شدند (Rayatpanah et al., 2007). در ارزیابی مقاومت هفت ژنوتیپ سویا نسبت به جدایه بیماری‌زای *M. phaseolina* در شرایط گلخانه، ارقام هاجستون، ساری، همپلتون و کتول را به عنوان ارقام مقاوم به بیماری ارزیابی کردند (Hemmati et al., 2014). در ارزیابی ۶۴ رقم و لاین سویا در برابر بیماری پوسیدگی زغالی در شرایط مزرعه‌ای در مازندران، هشت ژنوتیپ سویا به عنوان ژنوتیپ‌های متحمل به بیماری تعیین شدند (Rayatpanah et al., 2016). در ارزیابی مقاومت ۱۳۰ ژنوتیپ سویا نسبت به بیماری پوسیدگی زغالی در شرایط مزرعه، ۲۶ ژنوتیپ سویا به عنوان ژنوتیپ‌های مقاوم به بیماری شناسایی شدند (Ghorbanipour et al., 2018).

مواد و روش‌ها

جداسازی و خالص سازی 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 ۲-۳ میلی‌متری تقسیم شده و سپس با محلول هیپوکلریت سدیم ۰/۵ درصد به مدت ۳-۵ دقیقه ضدعفونی سطحی شده، 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^۲ (PDA) حاوی ۵۰ µg/ml آنتی بیوتیک کلرامفنیکل منتقل در دمای ۳۰ درجه سلسیوس در انکوباتور نگهداری شد. بعد از گذشت ۳-۵ روز، قارچ‌های رشد کرده از حاشیه اندام‌های گیاهی در تشتک‌های پتری کشت شده با استفاده از سوزن نازک استریل برداشته و به محیط کشت PDA جدید منتقل گردید. خالص‌سازی جدایه قارچ ماکروفومینا به دلیل عدم تولید کنیدی در محیط کشت، با روش برداشتن نوک

² Potato Dextrose Agar (PDA)

جدول ۱- فهرست ژنوتیپ های 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

روز، دانه‌ها بطور کامل کلونیزه شدند و به رنگ مشکی درآمدند و برای استفاده در مزرعه آماده شدند.

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 به تعداد

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 بدست 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 عراقی محله 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 موسسه تحقیقات اصلاح و تهیه نهال و بذر دریافت شدند (جدول ۱). هر ژنوتیپ در چهار خط به طول ۵ متر با فاصله ۵۰ سانتی‌متر از هم 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 به میزان 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 به مدت ۳۰ دقیقه در دمای ۱۲۱ درجه سلسیوس اتوکلاو شدند. پس از سرد شدن، شش دیسک میسلیمی 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 به بعد، ارلن‌ها هر روز بهم‌زده شدند تا کلونیزاسیون بطور یکنواخت انجام شوند و از متراکم شدن و بهم پیوستن جلوگیری شود. پس از حدود ۲۰

کل گیاهان در هر کرت تعیین شدند (Ishikawa et al., 2019). درصد ارتفاع تغییر رنگ داخلی ساقه^۳ (PHSD) ناشی از پوسیدگی زغالی براساس ارتفاع تغییر رنگ داخلی آوندها از سطح زمین تقسیم بر ارتفاع ساقه $\times 100$ 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 تکنیک مایه‌زنی ساقه بریده در برابر جدایه‌ی *M. phaseolina* مورد ارزیابی قرار گرفتند (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 خاکبرگ و ماسه سترون در قالب طرح کاملاً تصادفی با سه تکرار کشت شدند. 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 تکنیک مایه‌زنی ساقه بریده، نوک ساقه هر گیاه سویا در در مرحله رشدی V2 (دومین برگ سه برگچه‌ای) از ناحیه ۲۵ میلی متری 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 میسلیم *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 نکرز ساقه ناشی از آلودگی با *M. phaseolina* بر روی هر گیاه با خط‌کش (بر حسب میلی‌متر) اندازه‌گیری و به فاصله هر سه روز تا ۱۵ روز پس از مایه‌زنی ثبت شد. مقدار طول

نکرز ساقه ناشی از آلودگی اندازه‌گیری شده، برای محاسبه سطح زیر منحنی پیشرفت بیماری^۴ (AUDPC) استفاده شد. مقدار AUDPC برای طول نکرز 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 y_i ارزیابی یک بیماری در مشاهده i th است، t_i زمان در مشاهده i th و n تعداد کل مشاهدات است.

آنالیز آماری داده‌ها

آنالیز واریانس داده‌های به دست آمده از درصد بوته‌های آلوده، درصد ارتفاع تغییر رنگ داخلی ساقه و مقدار AUDPC طول نکرز ساقه با استفاده از نرم افزار SAS نسخه ۹/۴ 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٪ با هم اختلاف معنی دار داشتند (جدول ۲). نتایج میانگین درصد بوته‌های آلوده نشان داد که ژنوتیپ‌های سپیده با ۵۸/۳۲ درصد و کتول با ۲۲/۸۳ درصد به ترتیب 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 \times Katul و Delsoy VVIT 82 نیز پس از کتول دارای درصد بوته‌های آلوده کمتری بودند (جدول ۳).

^۴Area Under the Disease Progress Curve (AUDPC)

^۳Percent Height of Internal Stem Discoloration (PHSD)

از نظر درصد ارتفاع تغییر رنگ داخلی ساقه، ژنوتیپ‌های ویلیامز با ۷۰/۵۲ درصد و سامان با ۱۵/۹۴ درصد به ترتیب 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 تکنیک مایه‌زنی ساقه بریده در شرایط گلخانه، تفاوت معنی داری ($P < 0.01$) بین ژنوتیپ‌ها از نظر میانگین سطح زیر منحنی پیشرفت بیماری (AUDPC) مشاهده شد (جدول ۲). ژنوتیپ ویلیامز با ۱۰۴۴/۶۶ بالاترین مقدار AUDPC و ژنوتیپ سامان با ۳۲۵/۴۲ 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).

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 *M. 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 *M. 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.

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 در منطقه گرگان، ارقام کتول و ویلیامز به ترتیب 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 ژنوتیپ‌های سویا نشان دادند که ارقام BMX Elite IPRO، BMX Potencia RR، GDM15I029 و Vmax با کمترین درصد بیماری مقاوم تا نسبتاً مقاوم بودند. در ارزیابی مقاومت

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 *M. 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 by *M. 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	Gorgan3 × Hamilton	31.50	34.10	592.00
26	Sari × Hamilton	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

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 هاجستون، همیلتون، ساری و کتول طول نکرود کمتری نشان دادند و به عنوان ارقام دارای مقاومت نسبی ارزیابی شدند (Hemmati et al., 2004).

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 به عنوان ژنوتیپ‌های نسبتاً مقاوم گروه‌بندی شدند (Mengistu et al., 2007).

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 (Pawłowski et al., 2015).

استفاده از تکنیک 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 تکنیک می‌تواند برای بررسی اختصاصیت میزبانی در بین جدایه‌های *M. phaseolina* جمع‌آوری شده از گیاهان میزبان نیز مورد استفاده قرار گیرد (Twizeyimana et al., 2015; Pawłowski et al., 2012). در تکنیک مایه‌زنی ساقه بریده برای ارزیابی مقاومت به *M. phaseolina*، مقدار یکنواخت زادمایه بطور مستقیم و در محل آلودگی روی گیاه قرار می‌گیرد، مقدار بیماری ناشی از *M. phaseolina* در هر گیاه به طور مستقیم با استفاده از تکنیک ساقه بریده با اندازه‌گیری مقدار طول نکروز ساقه ناشی از بیمارگر تعیین می‌شود که به طور قابل توجهی دقت ارزیابی را نسبت به اندازه‌گیری‌های غیرمستقیم، مانند روش CFU بهبود می‌بخشد. تکنیک 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 به عوامل

محیطی را فراهم کرده و نتایج دقیق‌تری از مقاومت نسبی در بین گروه‌های رسیدگی ژنوتیپ‌های سویا را ارائه می‌دهد (Pawłowski et al., 2015).

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

در این پژوهش با استفاده از ارزیابی‌های مزرعه‌ای و گلخانه‌ای، منابع جدیدی از مقاومت در برابر پوسیدگی زغالی در میان ژنوتیپ‌های 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 تایید می‌کند.

سپاسگزاری

این پژوهش مستخرج از نتایج پروژه‌های تحقیقاتی مستقل به شماره مصوب ۹۶۱۵۱۲-۳۰۵-۰۳-۵۷-۲ و ۹۹۰۸۲۶-۰۶۹-۰۳-۵۷-۲ می‌باشد. از موسسه تحقیقات اصلاح و تهیه نهال و بذر و مرکز تحقیقات و آموزش کشاورزی و منابع طبیعی استان گلستان بخاطر 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](https://doi.org/10.3852/mycologia.99.6.797)
- BELLALLOUI, 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 Registration, 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 Registration, 15:306-312. DOI:10.1002/plr2.20081
- GHORBANIPUR, 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 Improvement 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. ARRLI, N. BELLALLOUI, 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. BELLALLOUI, 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. BELLALLOUI, 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. ILKAEI, 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. DOI 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 Sci.* 46:2324–2325. doi:10.2135/cropsci2005.09.0297
- 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. *Proceeding 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. *Proceeding 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 Improvement 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](https://doi.org/10.1094/PHYTO-08-17-0287-R)

- SU, G., S. O. SUH, R. W. SCHNEIDER and J. S. RUSSIN, 2001. Host specialization in the charcoal rot fungus, *Macrophomina phaseolina*. *Phytopathology*, 91:120–126. <https://doi.org/10.1094/PHYTO.2001.91.2.120>
- TWIZEYIMANA, M., C. B. HILL, M. PAWLOWSKI, C. PAUL and G. L. HARTMAN, 2012. A cut-stem inoculation technique to evaluate soybean for resistance to *Macrophomina phaseolina*. *Plant Disease*, 96: 1210-1215. <http://dx.doi.org/10.1094/PDIS-02-12-0126-RE>
- VIBHA, 2016. *Macrophomina phaseolina*. The most destructive soybean fungal pathogen of global concern. In: P. Kumar, V. Gupta, A. Tiwari, M. Kamle (eds). *Current trends in plant disease diagnostics and management practices fungal biology*. Springer, New York. pp 193–205. https://doi.org/10.1007/978-3-319-27312-9_8
- ROMERO LUNA, M. P., D. MUELLER, A. MENGISTU, A. K. SINGH, G. L. HARTMAN and K. AWISE, 2017. Advancing our understanding of charcoal rot in soybeans. *Journal of Integrated Pest Management*, 8:1-8. doi: 10.1093/jipm/pmw020
- SAIDINEJAD, S.M.R., M.A. AGHAJANI, E. HEZARJARIBI, 2013. Response of soybean promising lines and commercial cultivars to charcoal rot disease in Gorgan region. *Iranian Journal of Oilseed Plant* 1: 30-44 (in Persian).
- SMITH, G. S. and N. CARVIL, 1997. Field screening of commercial and experimental soybean cultivars for their reaction to *Macrophomina phaseolina*. *Plant Disease*, 81(4): 363-368.