وزارت جهاد کشاورزی
سازمان تحقیقات، آموزش و ترویج کشاورزی
موسسه تحقیقات گیاه‌پزشکی کشور

نشریه فنی

روش‌های ارزیابی مقاومت ارقام و لاین‌های لوبیا نسبت به آفات و بیماری‌های مهم آن

نگارنده:
محمدرضا لک

شماره ثبت:
۵۵۶۳۲
۱۳۹۸

وزارت جهاد کشاورزی
سازمان تحقیقات، آموزش و ترویج کشاورزی
موسسه تحقیقات گیاه‌پزشکی کشور

روش‌های ارزیابی مقاومت ارقام و لاین‌های لوبیا نسبت به آفات و بیماری‌های مهم آن

نگارنده:
محمدرضا لک

مخاطبان نشریه فنی: کشاورزان پیشرو، مروجین و کارشناسان ارشد مراکز آموزشی، پژوهشی و اجرایی وابسته به وزارت جهاد کشاورزی

موسسه تحقیقات گیاه‌پزشکی کشور، نشریه فنی
روش‌های ارزیابی مقاومت ارقام و لاین‌های لوبیا نسبت به آفات و بیماری‌های مهم آن
نگارنده: محمدرضا لک
ناشر: موسسه تحقیقات گیاه‌پزشکی کشور
سال نشر: ۱۳۹۸
شماره و تاریخ ثبت نشریه: ۵۵۶۳۲ مورخ ۹۸/۳/۱
نشانی مرکز اطلاعات و مدارک علمی کشاورزی: تهران، بزرگراه شهید چمران، خیابان یمن، پلاک ۱ - سازمان تحقیقات، آموزش و ترویج کشاورزی

فهرست مندرجات

مقدمه..... ۱
الف) بیماری های مهم لوبیا..... ۱
پوسیدگی فوزاریومی ریشه ۱
پوسیدگی رایزوکتونیایی ریشه ۳
بیماری پژمردگی آوندی فوزاریومی..... ۴
پوسیدگی زغالی ریشه ۶
سوختگی جنوبی ۸
کپک سفید ۹
آنتراکنوز..... ۱۰
نماتد مولد غده..... ۱۲
بیماری سوختگی باکتریایی معمولی لوبیا..... ۱۴
ویروس موزائیک معمولی لوبیا..... ۱۶
ب) آفات مهم لوبیا..... ۱۷
کنه دو لکه ای..... ۱۷
مگس لوبیا..... ۱۸
تریپس..... ۱۹
شته..... ۲۰
ارزیابی واکنش ارقام و لاین های لوبیا..... ۲۰
منابع مورد استفاده..... ۲۲

مقدمه

لوبیا با نام انگلیسی Bean, Dry Bean, Common Bean و نام علمی *Phaseolus vulgaris* L. از خانواده‌ی Fabaceae و زیرخانواده‌ی Papilionoideae یکی از گیاهان تغذیه‌ای مهم و منبع سرشار پروتئین است. جنس *Phaseolus* sp. در سراسر جهان پراکنده است. گیاهان این جنس بیشتر در مناطق گرمسیری، نیمه گرمسیری و معتدله کشت می‌شوند. در حالی که بیش از ۳۰ گونه از جنس *Phaseolus* شناخته شده است، فقط پنج گونه‌ی آن زراعی است. از بین این پنج گونه، لوبیای معمولی (*P.vulgaris*) بیشترین سطح کشت را دارد.

از جمله عواملی که باعث کاهش میزان تولید و عملکرد در گیاه لوبیا می‌شوند، انواع آفات و بیماری‌های گیاهی است. ژنوتیپ‌های مختلف لوبیا در مواجهه با انواع آفات و بیماری‌های گیاهی واکنش های متفاوتی نشان می‌دهند و بر این اساس استفاده از ژنوتیپ‌های مقاوم و متحمل از اصول مهم مدیریت کنترل محسوب می‌شود. به‌منظور شناسایی ژنوتیپ‌های مقاوم، استفاده از روش های ارزیابی دقیق، علمی و در عین حال ساده از اهمیت ویژه‌ای برخوردار است. در این مجموعه با استفاده از منابع علمی معتبر، روش-های ارزیابی میزان مقاومت ژنوتیپ های لوبیا در برابر آفات و بیماری‌های مهم این محصول درکشور، در-شرایط گلخانه و مزرعه جمع‌آوری شده که می‌تواند مورد استفاده محققان و کارشناسان کشاورزی قرار گیرد.

الف)بیماری های مهم لوبیا

پوسیدگی فوزاریومی ریشه (*Fusarium solani* f. sp. *phaseoli*)

اهمیت بیماری

این بیماری از تمام مناطق لوبیا کاری دنیا گزارش شده است و هرساله خسارت های زیادی را به این محصول وارد می‌کند. بیماری پوسیدگی فوزاریومی ریشه مهم‌ترین بیماری در مزارع لوبیای کشور است.

علائم بیماری

قارچ *Fusarium solani* f. sp. *phaseoli* قادر است از زمان جوانه زدن بذر تا انتهای فصل رشد، گیاه را مورد حمله قرار دهد. علایم مشخصه بیماری شامل لکه یا نوارهای طولی قرمز و باریک روی هیپوکوتیل و ریشه‌های اولیه لوبیا است (شکل۱ الف). با پیشرفت بیماری لکه‌ها بزرگ تر شده و بهم پیوسته می‌شوند و ممکن است تمام اندام های زیرزمینی گیاه به‌وسیله لکه های قهوه‌ای مایل به قرمز بدون حاشیه مشخص پوشیده شود (شکل۱ ب). دراثر بیماری ممکن است هیپوکوتیل به‌صورت طولی شکاف بردارد. ریشه‌های اولیه و ریشه‌هایی که بعداً تولید می‌شوند غالباً به‌وسیله قارچ از بین می‌روند. با از بین رفتن ریشه‌های اولیه، قسمت‌های پائین ساقه توخالی می‌گردند. در آلودگی‌های شدید علایم کوتولگی، زردی، ریزش برگ ها و مرگ بوته‌های لوبیا (شکل۱ ج) دیده می‌شود(۱).

شکل۱- نوارهای طولی قرمز درناحیه هیپوکوتیل و ریشه‌های لوبیا (الف)، پوسیدگی کامل هیپوکوتیل و ریشه‌های لوبیا (ب)، مرگ بوته های لوبیا (ج)

تهیه مایه تلقیح و روش آلوده سازی

بذر سالم سورگوم را با آب شسته و به‌همراه ۱۵۰ میلی لیترآب درون بطری های ۵۰۰ میلی لیتری ریخته به‌طوری که دوسوم آن پر شود. درب بطری‌ها را بسته و به‌مدت یک ساعت در دمای ۱۲۰ درجه سلسیوس اتوکلاو شود. قطعاتی از کشت جوان جدایه قارچ روی محیط PDA برداشته و درون لوله‌های آزمایش حاوی۱۰-۴ میلی‌لیتر آب مقطر استریل ریخته، خوب بهم زده، سپس به‌بطری های حاوی دانه سورگوم استریل شده اضافه شود. درب بطری ها را بسته و محتویات آن را خوب مخلوط کرده و به مدت ۵ روز دردمای ۲۸-۲۰ درجه سلسیوس نگهداری شود. بعد از ۵ روز درب بطری‌ها را برداشته و به‌جای آن ورق آلومینیوم استریل گذاشته تا رطوبت اضافی آن درطی مدت نگهداری خارج شود. برای جلوگیری از چسبندگی بذور، بطری‌ها هر روز تکان داده شود. بعد از ۲۱ روز محتویات بطری ها خارج و اجازه داده شود تا خشک شود. در این شرایط اسپور های استراحتی قارچ بالغ و کامل می‌شود(۸).

در شرایط کنترل شده، ابتدا گلدان‌ها را با خاک استریل یا پاستوریزه شده به‌اندازه کافی پر کرده و روی آن را یک لایه از مایه تلقیح تهیه شده ریخته و بذرها کشت شود. پس از ۲۸-۲۴ روز بوته‌ها را به‌آرامی از خاک خارج کرده و میزان پیشرفت بیماری در ناحیه طوقه و ریشه تعیین شود. درشرایط مزرعه، قبل از خاک دادن روی بذرها مقداری از مایه تلقیح آماده شده را درکنار بذر لوبیا قرارداده و یا ابتدا خاک یا ماسه استریل را که به نسبت حداقل ۳۰۰۰ کنیدی به‌ازای هر گرم خاک آلوده‌شده‌است را درون بستر کشت روی بذرها ریخته و خاکدهی شود.

ارزیابی بیماری

مناسب‌ترین زمان ارزیابی بیماری در مراحل سبز شدن(V1)، گل دهی(R6) و پر شدن غلاف ها (R8) است. چنانچه ارزیابی یک بار بخواهد انجام شود مرحله گل‌دهی توصیه می‌شود. درشرایط مزرعه، ابعاد کرت‌های آزمایشی بسته به تعداد ژنوتیپ‌ها و شرایط مزرعه می تواند متفاوت باشد. بر اساس روش پیشنهادی Abawi *et al*., 2006 هر ژنوتیپ دردو ردیف چهارمتری با فواصل ردیف ۵۰ سانتی‌متر و فواصل بذور ۵ سانتی‌متر کشت و درزمان گل‌دهی حداقل ۲۰ بوته لوبیا از خاک به آرامی بیرون کشیده شود و پس از شستشوی خاک های اطراف ریشه ارزیابی بیماری انجام شود (۳). همچنین شمارش بوته-های مرده یا شمارش بوته‌های زنده نیز توصیه شده است. برای ارزیابی بیماری روش های زیر توصیه شده است.

۱: بدون علایم بیماری

۳: تغییر رنگ خفیف بدون لکه های نکروز یا با لکه‌های نکروز به میزان تقریبی ۱۰ درصد در ناحیه ریشه و هیپوکوتیل

۵: تقریبا ۲۵ درصد ریشه‌ها و هیپوکوتیل پوشیده از لکه‌های نکروتیک است اما بافت های آن ها محکم باقی می ماند. علائم زوال و تغییر رنگ ریشه مشاهده می‌شود.

۷: تقریبا ۵۰ درصد ریشه‌ها و هیپوکوتیل پوشیده از لکه های نکروتیک که با بافت های نرم و پوسیده همراه است. سیستم ریشه کاهش یافته است.

۹: تقریبا ۷۵ درصد یا بیشتر ریشه‌ها و هیپوکوتیل علائم پوسیدگی شدید را نشان می‌دهند. سیستم ریشه به شدت کاهش یافته‌است(Van Schoonhoven *et al.*, 1987).

مقیاس دیگر نمره دهی بیماری پوسیدگی فوزاریومی ریشه در ناحیه هیپوکوتیل(۱۲):

۰ : بدون لکه

۱ : لکه‌ها کوچک و جدا از هم، یا لکه‌ها کمتر از ۲۵ درصد ناحیه هیپوکوتیل را پوشانده است.

۲ : لکه‌ها بهم پیوسته، یا لکه‌ها بین ۲۵ تا ۵۰ درصد هیپوکوتیل را پوشانده است.

۳ : لکه‌ها در ناحیه پوست عمیق، یا لکه‌ها بین ۵۰ تا ۷۵ درصد هیپوکوتیل را پوشانده است.

۴ : لکه‌ها از حالت قبلی عمیق تر بوده و گاهی تا نزدیکی استوانه مرکزی می‌رسد، یا لکه‌ها بیش از ۷۵ درصد هیپوکوتیل را می‌پوشاند (شکل ۲).

شکل۲– ارزیابی پوسیدگی ریشه لوبیا براساس مقیاس ۱ تا ۹ (الف)، ارزیابی پوسیدگی ریشه لوبیا بر اساس مقیاس ۰ تا ۴ (ب)

پوسیدگی رایزوکتونیایی ریشه (*Rhizoctonia solani*)

اهمیت بیماری

پوسیدگی رایزوکتونیایی ریشه لوبیا از بیماری‌های شایع این‌محصول در سراسر دنیا می‌باشد و از بیماری-های مهم اقتصادی در مزارع کوچک و بزرگ لوبیا است.

علائم بیماری

قارچ عامل بیماری ممکن است باعث پوسیدگی بذر، بوته میری، زخم ساقه، پوسیدگی ریشه و غلاف شود. این قارچ می‌تواند بذر را قبل از جوانه زدن در خاک بپوساند. از علایم مشخصه بیماری وجود لکه‌های فرورفته قهوه‌ای مایل به قرمز روی ساقه و ریشه اصلی است (شکل۳). با پیشرفت بیماری، زخم‌ها بزرگ

شده و بهم پیوسته می‌شوند که نتیجه آن کاهش رشد است. درصورتی که این زخم‌ها دور ساقه را فراگیرند ممکن است باعث مرگ گیاه شوند (۱).

شکل ۳- علائم اولیه و پیشرفته پوسیدگی رایزوکتونیایی در ریشه و هیپوکوتیل لوبیا

تهیه مایه تلقیح و روش آلوده سازی

۵۰ گرم سیب زمینی سالم ریز خرد شده با ۵۰۰ میلی لیتر خاک سبک درون بطری های ۱ لیتری درب‌دار ریخته و خوب مخلوط کرده و به‌مدت ۲۰ دقیقه دردمای ۱۲۱ درجه سلسیوس اتوکلاو گردد. تحت شرایط استریل، از حاشیه کشت جوان قارچ در محیط PDA چند دیسک کوچک برداشته و به درون بطری‌ها انداخته و بطری‌ها به مدت ۷ روز در دمای ۲۷-۲۵ درجه سلسیوس نگهداری شود. سپس محتویات بطری ها خارج و به خوبی مخلوط شوند. مایه تلقیح آماده شده به نسبت ۲-۱ درصد به خاک استریل شده اضافه گردد. خاک آلوده شده به‌صورت یک لایه به قطر ۵-۳ سانتی‌متر روی بذور لوبیا قرار داده شده درگلدان یا مزرعه آزمایشی افزوده شود. برای آزمایش های مزرعه ای می توان از بذور غلات مانند سورگوم یا چغندر قند تلقیح شده با قارچ استفاده کرد(۲).

ارزیابی بیماری

زمان و مقیاس ارزیابی بیماری پوسیدگی رایزوکتونیایی ریشه شبیه بیماری پوسیدگی فوزاریومی ریشه لوبیا است(شکل۴).

شکل ۴ – ارزیابی پوسیدگی رایزوکتونیایی ریشه لوبیا بر اساس مقیاس ۱ تا ۹

بیماری پژمردگی آوندی فوزاریومی (*Fusarium oxysporum* f. sp. *Phaseoli*)

اهمیت بیماری

این بیماری از تمام مناطق لوبیا کاری دنیا گزارش شده‌است و هرساله خسارت‌های زیادی را به این محصول وارد می‌کند. از نظر اهمیت و پراکنش بیماری پژمردگی فوزاریومی بعد از بیماری‌های پوسیدگی فوزاریومی و رایزوکتونیایی ریشه قرار دارد.

علائم بیماری

علایم اولیه بیماری روی برگ‌های پائینی بوته ظاهر می‌شود که شامل زردی و پژمردگی است (شکل۵ الف). این‌علایم ممکن است با علایم کمبود فسفر اشتباه شود. زردی و پژمردگی به‌تدریج به‌سمت برگ-های جوان پیشرفت می‌کند. کوتولگی، به‌ویژه اگر لوبیا در زمان گیاهچه‌ای آلوده شده باشد، یکی دیگر از علایم بیماری است. حاشیه برگ‌های آلوده ممکن است سوخته و گیاه بیمار کاملاً زرد شود. گیاهان شدیداً آلوده ممکن است کاملاً پژمرده شده و برگ‌ها قبل از موعد ریزش کنند. از علایم مشخصه بیماری، تغییر رنگ آوندها است (شکل۵ ب).

شکل۵- زردی و پژمردگی برگ‌های پایینی بوته‌های لوبیا (الف)، تغییر رنگ آوندها در اثر فعالیت قارچ عامل پژمردگی فوزاریومی لوبیا (ب)

تهیه مایه تلقیح و روش آلوده سازی

جدایه خالص بیمارگر تهیه و به‌تعداد کافی روی محیط PDA تکثیر شود. محیط‌های کشت در دمای ۲۵ درجه سلسیوس به‌مدت دو هفته نگهداری شود. مقدار ۵ میلی لیتر آب مقطر استریل به‌محیط کشت افزوده و سطح آن با یک لام شیشه ای تمیز خراشیده شود. جهت جدا کردن ریسه‌های قارچ، سوسپانسیون تهیه شده را از یک پارچه توری چهارلا رد شود. مایع حاصل با ۵۰۰۰-۳۰۰۰ دور دردقیقه سانتریفیوژ گردد، سپس مایع رویی دور ریخته شده و قسمت ته‌نشین شده درآب مقطر استریل سوسپانسیون شده و مجددا سانتریفیوژ شود. اسپورهای ته نشین شده در آب مقطر استریل به صورت سوسپانسیون درآمده و غلظت اسپور با لام هموسیتومتر به $۱۰^{۶}$ اسپور در میلی لیتر تنظیم شود(۲).

بذر لوبیای سالم و ضدعفونی شده در ماسه یا خاک با بافت سبک که قبلا استریل شده باشد کشت گردد. پس از یک هفته گیاهچه ها را به‌آرامی از بستر کشت خارج کرده، ریشه ها را زیر شیر آب شسته و حدود یک سانتی‌متر از انتهای ریشه‌ها قطع و ریشه‌ها به‌مدت ۵ دقیقه در سوسپانسیون تهیه شده قارچ غوطه‌ور شود. گیاهچه‌های تلقیح شده در گلدان‌ها که با خاک استریل یا پاستوریزه شده پرشده‌اند، کشت گردد.

معمولا در ارقام حساس پس از دو هفته برگ ها زرد شده و ریزش می کنند و در مدت ۴ یا ۵ هفته بوته-ها می‌میرند(۲).

برای آزمایش‌های مـزرعه‌ای پس از قرار دادن بـــذر در بستر کشت و قبل از خـــاک دادن می‌توان به یکی از سه روش زیر آلودگی مصنوعی ایجاد کرد(۲).

- سوسپانسیون اسپور تهیه شده به روش فوق، روی بذرها اسپری شود.
- اسپورها را به نسبت ۳۰۰۰-۲۰۰۰ یا بیشتر در هرگرم خاک یا ماسه تمیز مخلوط کرده و روی بذرها ریخته شود.
- بذور تلقیح شده برخی غلات نظیر سورگوم با جدایه قارچ در بستر کشت روی بذور لوبیا ریخته شود.

ارزیابی بیماری

مناسب‌ترین زمان ارزیابی بیماری در مراحل گل‌دهی(R6) و پرشدن غلاف ها (R8) است.

۱: بدون علایم بیماری.

۳: کمتر از ۱۰درصد برگ ها پژمرده‌شده، تغییر رنگ آوندهای ریشه و هیپوکوتیل به صورت محدود مشاهده می‌شود.

۵: تقریبا ۲۵ درصد برگ ها و شاخه ها علائم پژمردگی و زردی را نشان می‌دهند.

۷: تقریبا ۵۰ درصد برگ ها و شاخه ها علائم پژمردگی، زردی و خیلی کم بافت مردگی را نشان می‌دهند. بوته های آلوده کوتاه ترند.

۹: تقریبا ۷۵ درصد یا بیشتر برگ‌ها و شاخه‌ها علائم پژمردگی، زردی، بافت مردگی و کوتولگی شدید را نشان می‌دهند. برگ‌ها قبل از موعد ریزش می‌کنند و ممکن است بوته‌ها بمیرند (Van Schoonhoven *et al.*, 1987).

پوسیدگی زغالی ریشه (*Macrophomina phaseolina*)

اهمیت بیماری

این بیماری ازتمام مناطق لوبیا کاری دنیا گزارش شده‌است. در ایران بیماری به صورت پراکنده بوده و بیشتر در مناطق گرمسیر مانند مناطق گرم استان کهگیلویه و بویر احمد شایع است.

علائم بیماری

قارچ عامل بیماری باعث ایجاد زخم های متحد المرکز سیاه و فرورفته با حاشیه تیز در ناحیه طوقه می-شود. ممکن است ساقه‌ها در اثر وجود زخم و ضعیف‌شدن بشکنند. آلودگی ممکن اسـت به‌سـمت هیپوکوتیل و ریشه‌ها پیشرفت کرده و باعث پوسیدگی آنـها شود (شکل۶ الف). گیاهان آلوده ممکن است کوتوله و زرد شوند. گاهی پژمردگی و تغییر رنگ بافت آوندی ریشه به قهوه‌ای مشاهده می‌شود. برگ‌ها قبل از موعد ریزش کرده و گیاه می‌میرد (شکل۶ ب). آلودگی معمولاً در یک طرف گیاه اتفاق می افتد. زخم های تیره روی غلاف و بذرها تشکیل می‌شود. چند روز بعد از آلودگی، قارچ در اندام های آلوده به‌ویژه در ساقه‌ها تولید اسکلرت‌های سیاه، صاف و کوچک می‌کند (شکل۶ ج). پیکنیدهای سیاه و کوچک قارچ نیز ممکن است در بافت های آلوده تشکیل شود(۱).

شکل ۶- پوسیدگی شدید ریشه و هیپوکوتیل لوبیا در اثر بیماری پوسیدگی زغالی ریشه (الف)، ریزش قبل از موعد برگ ها و مرگ بوته های لوبیا در اثر بیماری پوسیدگی زغالی ریشه (ب)، اسکلرت‌های قارچ عامل بیماری پوسیدگی زغالی ریشه در ناحیه هیپوکوتیل لوبیا (ج)

تهیه مایه تلقیح و روش آلوده سازی

استفاده از اسکلرت قارچ موثرترین روش ارزیابی بیماریزایی جدایه‌ها و بررسی مقاومت ارقام و لاین های لوبیا به عامل پوسیدگی زغالی ریشه است. برای تهیه اسکلرت قارچ، به یک لیتر آب مقطر مواد زیر اضافه شود:

۱۰ گرم پپتون، ۱۵ گرم دکستروز، ۰/۲۵ گرم سولفات منیزیوم، ۰/۵ گرم دی پتاسیم هیدروژن فسفات

پس از اتوکلاو و سرد شدن، محیط کشت تهیه شده درون بطری یا ظروف پتری (لایه ای به‌ضخامت یک سانتی متر) ریخته شود.

دیسک‌های کوچک از حاشیه کلنی‌های جوان قارچ رشد یافته روی PDA به محیط کشت تهیه شده انتقال و به‌مدت ۱۵ روز در دمای ۳۰ درجه سلسیوس نگهداری شود. لایه قارچی تشکیل شده درسطح محیط را برداشته و به همراه مقداری آب مقطر استریل درون مخلوط کن ریخته و خوب هم‌زده‌شود و سوسپانسیون حاصل با ۵۰۰۰-۳۰۰۰ دور دردقیقه سانتریفیوژ گردد. مایع رویی دور ریخته شود و بخش ته‌نشین‌شده با آب مقطر استریل به‌صورت سوسپانسیون درآمده و سانتریفیوژ شود. مجددا بخش ته نشین شده در آب به صورت سوسپانسیون درآمده و حاصل روی کاغذهای صافی پخش شود و اجازه داده شود کاغذها برای مدت ۴۸ ساعت دردمای ۳۰ درجه سلسیوس خشک شود. توده اسکلرت خشک شده قارچ با استفاده از هاون کوبیده و نرم شود. مایه تلقیح آماده شده به مقدار دو گرم به ازائ هرکیلوگرم خاک استریل شده اضافه و خوب مخلوط گردد(۲).

برای آزمون گلخانه‌ای، بذور لوبیا را درون گلدان‌هایی که با خاک استریل یا پاستوریزه پر شده‌است قرار-داده و روی آن‌ها را با خاک آلوده‌شده به‌روش فوق با ضخامت ۳-۲ سانتی‌متر پوشانده شود. در ارقام حساس، گیاهچه‌ها قبل از خروج از خاک از بین رفته یا گیاهچه های ظاهر شده دارای علایمی روی برگ‌های لپه‌ای بوده که این علایم به‌ساقه ها سرایت کرده و گیاهچه ها را در مدت ۳-۲ هفته می-کشد(۲).

مایه تلقیح این بیمارگر بوسیله بذر برنج نیز قابل تهیه است. بذر برنج به نسبت ۱ به ۱ با آب مخلوط و سپس اتوکلاو شود. از محیط کشت یک هفته ای بیمارگر دیسک هایی را برداشته و به بطری های حاوی برنج استریل‌شده اضافه و بطری ها به مدت ۱۵ روز در دمای ۳۰ درجه سانتی‌گراد نگهداری شود. در-آزمایش‌های گلخانه‌ای ۲ تا ۳ بذر برنج کلونیزه شده با بیمارگر را اطراف بذر لوبیا قرار داده و روی آن‌ها با خاک پوشانده شود. این مایه تلقیح برای آزمایش‌های مزرعه‌ای بسیار مناسب است. پس از آماده‌سازی

زمین و ردیف‌های کشت، بذر را در بستر کشت قرار داده و به میزان دو گرم یا بیشتر از بذور برنج کلونیزه شده با بیمارگر را به‌ازای هر متر طولی از ردیف کشت در کنار بذر قرارداده و روی بذرها خاک داده شود (۲).

ارزیابی بیماری

مناسب ترین زمان ارزیابی بیماری در مراحل ظهور اولین سه برگچه (V3) و پرشدن غلاف ها (R8) است.

۱: بدون علایم بیماری.

۳: علائم بیماری محدود به ناحیه کوتیله دونی است

۵: تقریبا ۱۰ درصد هیپوکوتیل و بخش‌های پائینی ساقه پوشیده از لکه‌های بیماری و اغلب همراه با ساختمان های بارده قارچ است.

۷: تقریبا ۲۵ درصد هیپوکوتیل و بخش های پائینی ساقه پوشیده از لکه‌های بیماری و اغلب همراه با ساختمان های بارده قارچ است.

۹: تقریبا ۵۰ درصد یا بیشتر هیپوکوتیل و بخش‌های ساقه پوشیده از لکه‌های بیماری و همراه با تعداد بسیار زیادی از ساختمان های بارده قارچ است (Van Schoonhoven *et al.*, 1987).

سوختگی جنوبی *(Sclerotium rolfsii)*

اهمیت بیماری

این بیماری در مناطق شمالی کشور که از رطوبت بالایی برخوردارهستند اهمیت دارد.

علائم بیماری

علایم بیماری درمزرعه به‌صورت بوته میری، سوختگی ساقه و پوسیدگی ریشه می‌تواند ظاهر شود. علایم اولیه آلودگی شامل لکه‌های آب‌سوخته و قهوه‌ای تیره در روی ساقه، درست در زیر خاک ظاهر می‌شود. سپس لکه ها به سمت اندام های پائینی گیاه پیشرفت کرده و باعث پوسیدگی ریشه‌ها می‌شود (شکل۷ الف). علایم بیماری در اندام های هوایی شامل زردی و ریزش برگ‌ها است. گاهی پژمردگی نیز درگیاه دیده می‌شود. اسکلرت و ریسه‌های خشن، سفید و فراوان قارچ به همراه ذرات خاک به‌زیر طوقه لوبیا می‌چسبند (شکل۷ ب). غلاف های لوبیا در صورت تماس با خاک آلوده شده و می‌پوسند. رشد قارچ در سطح خاک، به‌ویژه در شرایط مرطوب، ادامه یافته و باعث آلودگی گیاهان اطراف می شود(۱).

شکل۷- زردی برگ‌ها به‌همراه دانه های قهوه‌ای اسکلرت قارچ عامل سوختگی جنوبی (الف)، ریسه‌های سفید قارچ عامل سوختگی جنوبی در محل طوقه لوبیا (ب)

تهیه مایه تلقیح و روش آلوده سازی

تهیه مایه تلقیح این بیمارگر شبیه روش توضیح داده شده برای قارچ ماکروفومینا است.

ارزیابی بیماری

مناسب‌ترین زمان ارزیابی بیماری درمراحل ظهور اولین سه‌برگچه (V3) و پرشدن غلاف‌ها (R8) است.

۱: بدون علایم بیماری.

۳: تقریبا ۱ درصد ناحیه هیپوکوتیل و بخش‌های پائینی ساقه پوشیده از لکه‌های بیماری است.

۵: تقریبا ۱۰ درصد هیپوکوتیل و بخش‌های پائینی ساقه پوشیده از لکه‌های بیماری و اغلب همراه با ساختمان های بارده قارچ است.

۷: تقریبا ۲۵ درصد هیپوکوتیل و بخش‌های پائینی ساقه پوشیده از لکه‌های بیماری و اغلب همراه با ساختمان های بارده قارچ است.

۹: تقریبا ۵۰ درصد یا بیشتر هیپوکوتیل و بخش‌های ساقه پوشیده از لکه‌های بیماری و همراه با تعداد بسیار زیادی از ساختمان‌های بارده قارچ است(Van Schoonhoven *et al.*, 1987) .

کپک سفید *(Sclerotinia sclerotiorum)*

اهمیت بیماری

این بیماری در مناطق با رطوبت بالا نظیر مناطق شمالی کشور اهمیت دارد.

علائم بیماری

علائم بیماری به‌صورت لکه‌های گرد، سبز تیره و آب‌سوخته روی غلاف‌ها ، برگ‌ها، شاخه‌ها و ساقه‌ها ظاهرشده که درابتدا کوچک اما اندازه آنها به‌سرعت افزایش یافته و ممکن است آبکی شوند. این لکه‌ها ممکن است درنهایت بهم وصل شوند و تمام اندام آلوده را از بین ببرند (شکل۸ الف). همچنین این لکه‌ها ممکن است در شرایط مرطوب تولید ریسه‌های خارجی سفید رنگ کنند (شکل۸ ب). بافت-های آلوده خشک شده و تولید مناطق سفید بزرگی می‌کنند که از رنگ خرمایی کم‌رنگ معمول در اندام های مسن قابل تشخیص است(۱۱).

شکل ۸- خشک شدن اندام‌های هوایی دراثر بیماری کپک سفید (الف)، کپک سفید و سختینه های قارچ ***Sclerotinia sclerotiorum*** روی غلاف های لوبیا (ب)

تهیه مایه تلقیح و روش آلوده سازی

روش‌های مختلفی برای آلوده‌سازی لوبیا به‌قارچ عامل بیماری وجود دارد. یکی از این روش‌ها برش ساقه است. در این روش، لوبیا درون گلدان کشت و در گلخانه نگهداری می شود. از حاشیه پرگنه قارچ در محیط PDA یک دیسک ($۳\ mm^2$) برداشته و به‌عنوان مایه تلقیح استفاده شود. به‌وسیله یک تیغ استریل ساقه اصلی لوبیا بالای گره چهارم یا پنجم به اندازه تقریبی ۰/۵ سانتی‌متر به صورت افقی برش زده و مایه تلقیح درون آن قرار داده می شود. گلدان‌ها دراطاقک رشد با دمای ۱± ۲۰ درجه سلسیوس و رطوبت نسبی بالای ۸۰ درصد که به‌وسیله یک پارچه توری مشکی جهت کاهش نور پوشانده شده، به مدت ۲۴ ساعت نگهداری و سپس به گلخانه با دمای ۱± ۲۵ درجه سلسیوس منتقل شود. پس از دو هفته علایم بیماری و طول زخم ایجاد شده در ساقه اصلی یادداشت شود(۷).

ارزیابی بیماری

بهترین زمان ارزیابی شدت بیماری درمراحل پرشدن غلاف و رسیدگی فیزیولوژیکی است. محل ارزیابی-ها در ساقه و شاخه های اصلی لوبیا است. درصد آلودگی هرگیاه به‌طور جداگانه تعیین و سپس میانگین آن محاسبه شود.

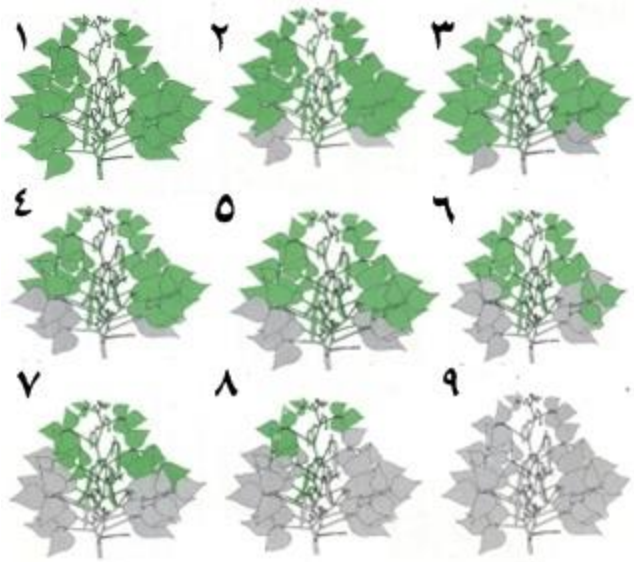
۱: بدون علائم بیماری

۳: تقریبا ۱۰-۵ درصد ناحیه مورد ارزیابی آلوده شده است.

۵: تقریبا ۳۰-۲۰ درصد ناحیه مورد ارزیابی آلوده شده است.

۷: تقریبا ۶۰-۴۰ درصد ناحیه مورد ارزیابی آلوده شده است.

۹: بیش از ۸۰ درصد ناحیه مورد ارزیابی آلوده شده است(Van Schoonhoven *et al.*, 1987).



شکل ۹- ارزیابی بیماری کپک سفید لوبیا بر اساس مقیاس ۱ تا ۹

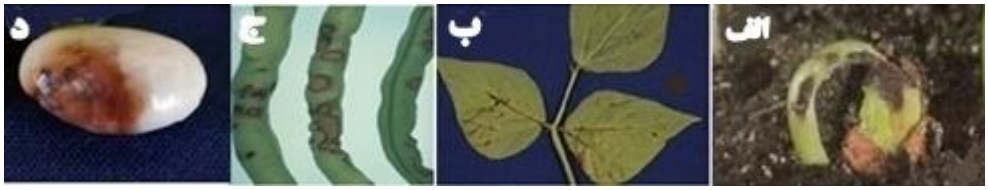
آنتراکنوز (*Colletotrichum lindemuthianum*)

اهمیت بیماری

آنتراکنوز جزء بیماری‌های مهم لوبیا درکشور محسوب نمی‌شود ولی دربعضی مناطق کشور مانند استان-های آذربایجان شرقی و غربی اهمیت اقتصادی دارد.

علائم بیماری

علائم بیماری روی تمام اندام‌های هوایی لوبیا ممکن است دیده شود. علائم به‌صورت زخم های کوچک تا بزرگ، نامنظم به‌رنگ قرمز آجری تا ارغوانی بوده که بعدا قهوه‌ای تیره تا سیاه می شوند (شکل های ۱۰ الف و ب). روی غلاف شانکرهای تیره و فرورفته همراه با حلقه سیاه برجسته در اطراف شانکر می‌باشد (شکل۱۰ ج). مرکز لکه دارای ترشحات عنابی رنگ است. شانکر روی بذر (شکل۱۰ د) نیز دیده می-شود(۱۱).



شکل۱۰- لکه‌های تیره و فرورفته در مرحله کوتیله دونی لوبیا (الف)، سوختگی رگبرگ های لوبیا در سطح تحتانی برگ (ب)، شکل لکه‌های تیره و فرورفته در غلاف‌های لوبیا (ج)، لکه‌های تیره روی بذر لوبیا (د)

تهیه مایه تلقیح و روش آلوده سازی

مقداری آب مقطر استریل روی کشت ۷ روزه قارچ عامل بیماری در محیط PDA ریخته و با استفاده از یک لام استریل سطح محیط کشت را خراشیده و سوسپانسیون حاصل با عبور از یک پارچه ململ تمیز صاف شده و سپس با استفاده از لام هموسیتومتر غلظت اسپور به حدود 10^6 در میلی لیتر تنظیم می-شود. در آزمون گلخانه‌ای، برای هر جدایه قارچ تعداد۱۰ بذر لوبیا را پس از ضد عفونی به‌مدت ۳ روز روی کاغذ صافی استریل با رطوبت کافی درون ظروف پتری در دمای ۲۵ درجه سلسیوس با ۱۲ ساعت روشنایی قرار می‌گیرد. سپس پوسته بذر را برداشته و به مدت ۵ تا ۱۰ دقیقه در سوسپانسیون اسپور تهیه شده غوطه ور می‌شود. بذر های تلقیح شده را درون گلدان با خاک استریل کشت کرده و در دمای ۲۲ درجه سلسیوس، رطوبت ۹۰ درصد و روشنایی ۱۲ ساعت به‌مدت ۴ روز نگهداری و سپس گلدان ها را به گلخانه با دمای ۲۴-۲۲ درجه سلسیوس، رطوبت ۷۰ درصد منتقل و نتایج یک تا دو هفته بعد یادداشت می‌شود.

درروش دیگر، سوسپانسیون اسپور تهیه شده روی ساقه و برگ های کوتیله دونی لوبیای کشت شده درون گلدان اسپری کرده و گلدان‌ها در گلخانه با دمای ۲۲-۱۹ درجه سلسیوس، رطوبت ۱۰۰-۹۰ درصد با ۱۲ ساعت روشنایی به مدت ۸ روز نگهداری و علایم یادداشت می‌شود. برای ارزیابی مزرعه‌ای تعداد ۱۰ بذر لوبیا در ردیف های ۵۰ سانتی متری با حداقل سه تکرار کشت و بعد از سه هفته سوسپانسیون اسپور قارچ با فشار روی بوته ها اسپری می‌گردد. جهت تامین رطوبت، روی بوته‌ها با پلاستیک به مدت ۴ روز

پوشیده می‌شود. برای اطمینان از نتایج آزمون، رقم‌های حساس و مقاوم به بیماری آنتراکنوز کشت می-شود (۴ و ۹).

ارزیابی بیماری

بهترین زمان ارزیابی شدت بیماری در مراحل گل‌دهی و پرشدن غلاف است.

۱: بدون علائم بیماری

۳: بروز لکه‌های کوچک بسیار کم اغلب روی رگبرگ‌های سطح زیری برگ‌ها یا غلاف‌ها که در مجموع حدود یک درصد سطح بافت گیاه را می‌پوشاند.

۵: بروز تعدادی لکه کوچک روی دمبرگ یا روی رگبرگ‌های اولیه و ثانویه سطح زیری برگ ها. روی غلاف‌ها لکه های گرد کوچک با قطر کمتر از دو میلی‌متر با یا بدون تولید اسپورکه در مجموع حدود پنج درصد سطح غلاف را می‌پوشاند.

۷: بروز تعدادی لکه‌های بزرگ در سطح زیری برگ‌ها. لکه‌های سوخته روی هر دو سطح بالایی و زیری برگ و دمبرگ ها قابل مشاهده است. روی غلاف‌ها لکه هایی با اندازه متوسط (با قطر بیش از دو میلی‌متر) ظاهر می‌شود . همچنین روی غلاف‌ها لکه‌های کوچک و بزرگ که معمولا دارای اسپور بوده و حدود ۱۰ درصد غلاف را می‌پوشاند.

۹: نکروز شدید در ۲۵ درصد یا بیشتر بافت گیاه که حاصل لکه‌های روی برگ، دمبرگ، ساقه، شاخه و حتی نقطه رشد انتهایی بوده که دراین حالت باعث مرگ گیاه می‌شود. در غلاف‌ها تعداد زیادی لکه‌های فرو رفته بزرگ با اسپور فراوان که نتیجه آن بدشکلی غلاف‌ها، تولید بذر کم یا مرگ غلاف‌ها است(Van Schoonhoven *et al.*, 1987).

شکل ۱۱- ارزیابی شدت بیماری آنتراکنوز بر اساس مقیاس ۱ تا ۹ روی غلاف‌های لوبیا

نماتد مولد غده *(Meloidogyne spp.)*

اهمیت بیماری

پراکنش نماتد مولد غده در مزارع لوبیای کشور محدود بوده و اهمیت زیادی ندارد.

علائم بیماری

گیاهان به‌شدت آلوده به‌ویژه در شرایط تنش خشکی و دمایی، علائم رنگ پریدگی، توقف رشد، نکروز یا پژمردگی نشان می‌دهند. علائم مشخصه بیماری وجود گال یا گره روی ریشه‌های اصلی و فرعی لوبیا است (شکل ۱۲). آلودگی ریشه به نماتدهای مولدگره، کارایی ریشه را کاهش داده و باعث پژمردگی، برگ‌ریزی و حتی مرگ گیاه می شود(۱۱).

شکل ۱۲- ریشه های لوبیای آلوده به نماتد مولد غده

تهیه مایه تلقیح و روش آلوده سازی

ریشه‌های آلوده به‌گال نماتد مولدگره جمع‌آوری، زیر شیر آب شسته شده و به قطعات کوچک برش داده شده و درون محلول ۱ درصد هیپوکلریت سدیم به‌مدت ۳/۵ دقیقه به شدت تکان داده شود. سوسپانسیون حاصل را از الک های ۲۰۰ و ۴۰۰ مش عبور داده و تخم‌های انفرادی نماتد را که روی الک ۴۰۰ مش جمع شده با چند بار شستشو درون بطری جمع آوری‌گردد. در روش دیگر می‌توان ابتدا ریشه آلوده به نماتد را پس از قطعه‌قطعه‌کردن درون بطری حاوی ۱۰۰ میلی لیتر آب انداخت و آن را برای مدت ۳ تا ۵ روز روی دستگاه تکان دهنده (Shaker) گذاشت. پس از جداکردن ریشه‌ها می‌توان آب حاوی نماتدها را به ریشه گیاهان آزمایشی اضافه کرد. بذر گوجه فرنگی حساس به‌نماتد مولدگرهی ریشه در یک خاک سبک استریل شده در شرایط گلخانه کشت و پس از ۵-۴ هفته با ایجاد سه سوراخ کوچک در اطراف ساقه گوجه فرنگی و ریختن سوسپانسیون تخم نماتد درون آن‌ها و یا ریختن سوسپانسیون روی خاک پای بوته های گوجه فرنگی، آلوده سازی انجام شود. دمای گلخانه ۳۰-۲۵ درجه سلسیوس تنظیم شود. پس از ۶ تا ۸ هفته از زمان تلقیح جمعیت نماتد افزایش می‌یابد. با استفاده از هیپوکلریت سدیم می‌توان از گال‌های نماتد، سوسپانسیون تخم نماتد تهیه کرد یا گال ها را با خاک یا ماسه مخلوط کرد. برای آلوده کردن لوبیا در مزرعه قبل از خاک دادن روی بذر، حدود ۵۰۰۰ تخم نماتد در اطراف هر بذر یا ۲۰۰۰۰۰-۱۰۰۰۰۰ تخم به ازای هر متر طولی ردیف کشت اضافه کرده و بذرها با خاک پوشانده شود(۲).

ارزیابی میزان آلودگی نماتد

بهترین زمان ارزیابی در شرایط مزرعه در مراحل گل دهی(R6) و پر شدن غلاف ها (R8) است(۱۳).

مقیاس نمره دهی (۶)

۰: ریشه ها بدون گره

۱: ۲۵ – ۱ درصد ریشه ها داری گره

۲: ۵۰ – ۲۶ درصد ریشه ها داری گره

۳: ۷۵ – ۵۱ درصد ریشه ها داری گره

۴: ۱۰۰ – ۷۶ درصد ریشه ها داری گره

بیماری سوختگی باکتریایی معمولی لوبیا(*Xanthomonas axonopodis* pv. *phaseoli*)

اهمیت بیماری

این بیماری از بیماری‌های مهم مزارع لوبیای کشور محسوب می‌شود. خسارت بیماری در شرایط گرم و مرطوب و مزارعی که مجهز به آبیاری بارانی هستند به ۱۰۰ درصد نیز می‌رسد.

علائم بیماری

علائم بیماری ابتدا به صورت لکه‌های آب‌سوخته روی برگ‌ها ظاهر می شود. سپس این لکه‌ها سوخته و هاله زرد رنگی آنها را احاطه می‌کند (شکل۱۳ الف). لکه ها شکل مشخصی ندارند و بهم پیوستن لکه‌ها موجب سوختگی بخش زیادی از سطح برگ می شود. در آلودگی‌های شدید کل بوته از بین می رود (شکل۱۳ ب). گاهی در ساقه های بوته‌های آلوده لکه‌های تیره ایجاد شده که با توسعه آنها بوته‌ها از محل این لکه‌ها می شکنند (شکل۱۳ ج). درغلاف‌ها ابتدا لکه های بسیار کوچک و آب‌سوخته ایجاد شده (شکل۱۳ د) و این لکه‌ها به‌تدریج بزرگ شده و به‌رنگ قرمز یا قهوه‌ای درمی‌آید (شکل۱۳ ه). دانه درون غلاف های آلوده، چروکیده و تغییر رنگ می‌دهند(شکل۱۳ و).

شکل۱۳-ایجاد لکه‌های سوخته با هاله زرد رنگ ناشی از بیماری سوختگی باکتریایی (الف)، سوختگی شدید بوته های لوبیا در مزرعه با آبیاری بارانی (ب)، آلودگی ساقه اصلی لوبیا و شکسته شدن آن در اثر بیماری (ج)، ایجاد لکه‌های آب‌سوخته روی غلاف لوبیا (د)، ایجاد لکه‌های سوخته دایره‌ای روی غلاف‌های لوبیا (ه)، علایم بیماری روی بذرهای مختلف لوبیا (و)

تهیه مایه تلقیح و روش آلوده سازی

از کشت ۴۸ ساعته باکتری سوسپانسیونی به‌غلظت 10^8 cfu/ml تهیه و به‌عنوان مایه تلقیح در زمان ظهور سه‌برگچه دوم یا سوم لوبیا استفاده شود. در شرایط گلخانه پس از اسپری سوسپانسیون باکتری، روی بوته ها به مدت ۴۸ ساعت با پلاستیک پوشانده شود و بعد از آن رطوبت در حدود ۷۵ درصد نگهداری و بعد از دو هفته نتایج ارزیابی شود.

وجود گرما و رطوبت کافی جهت بررسی واکنش ارقام و لاین‌های لوبیا به بیماری سوختگی باکتریایی در شرایط مزرعه ضروری است. بنابراین در مناطقی که در فصل کشت لوبیا رطوبت کم است بایستی از آبیاری بارانی استفاده شود. ابتدا باکتری در مزرعه اسپری و بلافاصله سطح برگ ها با سیستم آبیاری بارانی مرطوب شود.

ارزیابی بیماری

بهترین زمان ارزیابی شدت بیماری در مراحل گل‌دهی و پر شدن غلاف است.

۱: بدون علایم بیماری

۳: تقریبا دو درصد از سطح برگ به‌وسیله لکه‌های کوچک پوشیده شده، غلاف‌ها عموما بدون علایم بیماری

۵: تقریبا پنج درصد از سطح برگ به‌وسیله لکه های کوچک پوشیده شده و لکه ها شروع به پیوستن نموده و گاهی توسط هاله زرد رنگی احاطه می‌شوند. لکه‌های روی غلاف معمولا کوچک هستند و به‌هم ملحق نمی‌شوند.

۷: تقریبا ۱۰ درصد از سطح برگ بوسیله لکه‌های متوسط و بزرگ پوشیده شده و معمولا همراه با هاله زردرنگ و سوختگی است. لکه‌های روی غلاف بزرگ و به‌هم ملحق شده و ترشحات باکتری روی آن دیده می‌شود.

۹: بیش از ۲۵ درصد از سطح برگ با لکه‌های بزرگ پوشیده‌شده، برگ‌ها سوخته و ممکن است ریزش کنند. لکه‌های بزرگ روی غلاف را گرفته و ترشحات فراوان باکتری روی آن دیده می‌شود. غلاف‌ها معمولا تولید بذر نمی‌کنند یا بذرهای ناهنجاری تشکیل می‌دهند(Van Schoonhoven *et al.*, 1987) .

مقیاس دیگر ارزیابی(۱۴)

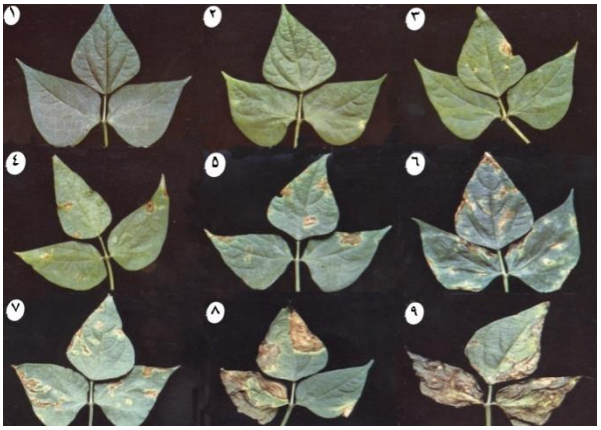
.: بدون علایم

۱: لکه‌ها کمتر از ۲۵ درصد سطح برگ‌ها را در کمتر از ۱۰ درصد برگ‌ها می‌پوشاند

۲: لکه‌ها کمتر از ۲۵ درصد سطح برگ‌ها را در ۵۰-۱۰ درصد برگ‌ها می‌پوشاند

۳: لکه‌ها بیش از ۲۵ درصد سطح برگ‌ها را در ۵۰-۱۰ درصد برگ‌ها می‌پوشاند

۴: لکه‌ها بیش از ۲۵ درصد سطح برگ‌ها را در بیش از ۵۰ درصد برگ‌ها می‌پوشاند



شکل ۱۴- ارزیابی شدت بیماری سوختگی باکتریایی معمولی
بر اساس مقیاس ۱ تا ۹ روی سه برگچه لوبیا

ویروس موزائیک معمولی لوبیا (Bean Common Mosaic Virus)

اهمیت بیماری

ویروس موزائیک معمولی دراکثر مزارع لوبیای کشور وجود دارد ولی میزان خسارت آن برآورد نشده است.

علائم بیماری

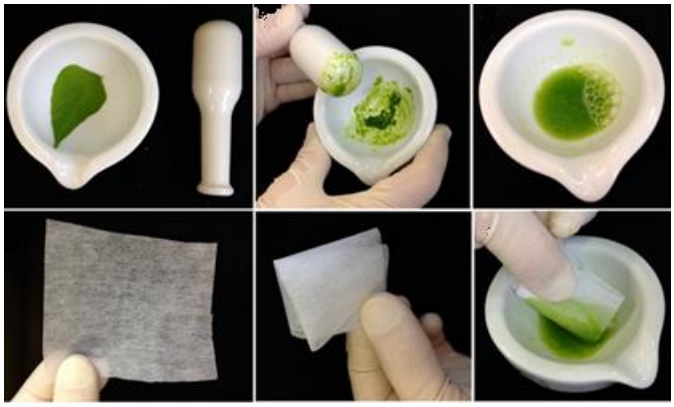
علائم بیماری ویروس موزائیک معمولی در لوبیا متنوع است. علائم موزائیکی (شکل۱۵الف)، قاشقی شدن و پیچیدگی برگ (شکل۱۵ ب)، کوتولگی، باریک و طویل شدن برگ های آلوده، سوختگی برگ‌های جوان (شکل۱۵ ج) و پژمردگی و مرگ برگ‌های مسن‌تر (شکل۱۵ د)، ایجاد نوارهای قهوه‌ای مایل به قرمز درساقه، ریشه و غلاف و تولید کم‌تر و کوچک‌تر غلاف ها از نشانه های ویروس موزائیک معمولی در لوبیا است (۱۱).

شکل۱۵– علائم موزائیک ویروس موزائیک معمولی روی برگ‌های لوبیا (الف)، پیچیدگی و بدشکلی برگ های لوبیا ناشی از ویروس موزائیک معمولی لوبیا (ب)، سوختگی رگبرگ‌های لوبیا دراثر ویروس موزائیک معمولی لوبیا (ج)، علائم پژمردگی و مرگ بوته لوبیا در اثر ویروس موزائیک معمولی لوبیا (د)

تهیه مایه تلقیح و روش آلوده سازی

برگ‌های جوان لوبیا با آلودگی سیستمیک به ویروس BCMV انتخاب و زیر شیر آب شسته و خشک شود. پس از انتخاب قطعات مناسبی از برگ‌های آلوده، آنها را خرد و درون یک هاون سرد و استریل به وسیله بافر فسفاته خنک (اسیدتیه ۷ و یک صدم مولار) له شود. اگر مقدار زیادی مایه تلقیح نیاز باشد

می‌توان از خردکن‌های برقی استفاده کرد. عصاره حاصل از یک پارچه ململ تمیز برای جدانمودن مواد زائد درشت عبور داده‌شود. گیاهچه‌های رشد یافته لوبیا به‌روش سایش برگ‌های اولیه، آلوده شوند (شکل ۱۶). ابتدا لازم است برگ‌های لوبیا با پاشیدن پودر کاربوراندوم (۶۰۰-۴۰۰ مش) زخمی و سپس مایه تلقیح با استفاده از انگشت دست، کاردک کوچک، دسته هاون و غیره به سطح برگ مالیده شود (۱۰).



شکل ۱۶– مراحل آماده سازی مایه تلقیح ویروس موزائیک معمولی لوبیا

ارزیابی بیماری

علائم بیماری‌های ویروسی در مزارع تابع شرایط مختلف ازجمله شرایط آب و هوایی است. لذا شدت بیماری‌های ویروسی یا غلظت ویروس در ارقام یا لاین‌های مورد بررسی در آزمون‌هایی مانند الایزا (ELISA) تعیین می‌شود.

ب) آفات مهم لوبیا

کنه دولکه ای

کنه دولکه ای یا کنه‌تارتن (*Tetranychus urticae* Koch.) جانور بسیار کوچکی است که با چشم غیر مسلح به زحمت دیده‌شده و مهم‌ترین آفت لوبیا درکشور به‌شمار می‌رود (شکل۱۷الف). این آفت تقریباً تمام گیاهان زراعی به‌ویژه لوبیا، صیفی جات، پنبه، سویا، چغندر قند و غیره را مورد حمله قرار می‌دهد. با تغذیه آفت از شیره گیاهی، اعمال حیاتی گیاه مختل می شود. در اثر تغذیه کنه از برگ‌ها، روی برگ نقاط روشن و در پشت برگ کنه‌ها و پوسته های حاصل ازتعویض جلد دیده‌می‌شوند (شکل ۱۷ ب و ج). برگ ها به‌تدریج زرد و نهایتاً خشک می شود (شکل۱۷ د). با افزایش جمعیت کنه، انبوه تارهای تنیده شده در اندام‌های هوایی گیاه مشاهده می‌شود و ظاهری غبار آلود به بوته‌ها می‌دهد و به‌همین دلیل کشاورزان به‌کنه دولکه‌ای، گرته یا سیاه بور نیز می‌گویند. آلودگی معمولاً از حاشیه مزرعه شروع شده و به‌تدریج توسعه می یابد (شکل۱۷ ه).

شکل ۱۷- کنه‌های بالغ و تخم آن در پشت برگ‌های لوبیا (الف)، نقاط روشن ناشی از تغذیه کنه روی برگ لوبیا (ب)، علائم و نشانه‌های کنه تارتن درپشت برگ‌های لوبیا (ج)، تارهای تنیده شده توسط کنه تارتن دراندام های هوایی لوبیا (د)، آلودگی حاشیه مزرعه لوبیا به کنه تارتن(ه)

ارزیابی خسارت کنه دولکه ای

مقیاس سیات بر اساس میزان خسارت کنه دولکه ای دربرگ‌ها و ساقه‌های لوبیا محاسبه شده است. ارزیابی ها می‌تواند درآلودگی طبیعی یا مصنوعی بعد از ۸ تا ۱۵ روز از قرار دادن برگ های آلوده به کنه روی هر بوته انجام شود. توصیه می‌شود آلودگی مصنوعی در مراحل ظهور سه‌برگچه سوم و غنچه‌دهی انجام شود.

۱: بدون خسارت

۳: سطح بالایی برگ‌ها در بخش میانی بوته‌ها دارای لکه‌های روشن خفیف با نقاط سفید رنگ است

۵: لکه‌های روشن تقریبا یک سوم مساحت برگ‌های لوبیا را پوشش داده و به‌سمت برگ های میانی و انتهایی درحال گسترش است

۷: لکه‌های روشن تقریبا دو سوم مساحت برگ‌های لوبیا را پوشانده‌است

۹: لکه‌های روشن درتمام برگ‌ها مشاهده‌می‌شود. برگ‌ها زرد، سوخته و ریزش کرده‌اند (Van Schoonhoven *et al.*, 1987).

مگس لوبیا

حشره کامل مگس لوبیا (*Hylemia cilicrura*) مگس کوچکی به طول ۶-۴ میلیمتر و تقریباً شبیه مگس خانگی است (شکل ۱۸ الف). لارو این مگس کوچک، استوانه‌ای و سفیدرنگ است و می‌تواند به بذور بسیاری از گیاهان خسارت بزند (شکل ۱۸ب). لاروها بذر را قبل از جوانه زدن از بین می‌برند، یا به قسمتی از آن آسیب رسانـده که نتیجه آن ضعیف شدن گیاهچه‌ها است (شکل ۱۸ ج و د). لاروها از ساقه زیرزمینی و ریشه‌های جوان نیز می‌توانند تغذیه کنند.

شکل ۱۸- حشره کامل مگس لوبیا (الف)، لارو و شفیره مگس لوبیا (ب)، علائم خسارت مگس لوبیا روی بذر (ج)، علائم خسارت مگس لوبیا روی برگ‌های لپه‌ای لوبیا(د)

ارزیابی خسارت مگس لوبیا

در مرحله ظهور سه برگچه سوم لوبیا ابتدا وقوع و شدت آلودگی بررسی شود. در وقوع آلودگی تعداد گیاهان دارای شفیره مگس شمارش و درصد آن محاسبه و در صورت بودن آلودگی، شدت آن با مقیاس زیر بررسی گردد (۱۳):

۱: بوته‌های آلوده از نظر ظاهری شبیه بوته های غیرآلوده است. مگس خسارتی به بوته لوبیا وارد نمی کند.

۳: بوته های آلوده کمی تاخیر رشد دارند.

۵: بوته های آلوده تاخیر رشد قابل ملاحظه ای دارند.

۷: بوته های آلوده تاخیر رشد شدیدی دارند.

۹: مرگ بوته های آلوده.

تریپس

حشره کامل تریپس(*Thrips tabaci*) به رنگ خاکستری روشن، قهوه‌ای یا تیره به طول تقریبی ۰/۹ میلی‌متر است (شکل ۱۹ الف). حشرات نابالغ تریپس به رنگ زرد روشن می‌باشد (شکل ۱۹ ب). تریپس در پشت برگ‌ها فعالیت کرده و با فرو بردن خرطوم خود در اپیدرم برگ از شیره گیاهی و کلروفیل تغذیه می‌نماید. محل تغذیه حشره به صورت تاول یا نقاط سفید متمایل به‌زرد درسطح زیری و رویی برگ‌ها قابل مشاهده است (شکل ۱۹ ب). به طور کلی نشانه‌های خسارت شامل تغییر رنگ و بدشکلی برگ‌ها، پژمردگی، ضعف و کاهش محصول است.

شکل ۱۹- حشره بالغ تریپس (الف)، حشرات نابالغ تریپس و علائم خسارت ناشی از تغذیه آفت در پشت برگ (ب)

ارزیابی خسارت تریپس (۵)

۰: بدون خسارت

۱: تاول ها کمتر از ۵٪ برگ‌ها را می‌پوشاند.

۲: تاول ها کمتر از یک سوم برگ‌ها را می‌پوشاند.

۳: تاول ها کمتر از نصف برگ‌ها را می‌پوشاند.

۴: تاول ها بیش از نصف و کمتر از سه چهارم برگ‌ها را می‌پوشاند.

۵: تاول ها بیش از سه چهارم برگ‌ها را می‌پوشاند.

شته ها: شته ها بوته های لوبیا را معمولا قبل از گلدهی، در مراحل سه برگچه سوم و غنچه دهی مورد حمله قرار می دهند. مقیاس ذیل بر اساس میزان خسارت به برگ تنظیم شده است (۱۳):

۱: بدون خسارت

۳: برگ‌ها خیلی کم فنجانی شکل شده‌اند

۵: برگ‌ها به طور متوسط فنجانی شکل و کمی زردرنگ

۷: برگ‌ها به شدت تغییر شکل داده و به رنگ زرد همراه با ترشحات چسبنده شته ها است

۹: برگ‌ها و ساقه ها خیلی شدید تغییر شکل داده و به رنگ زرد همراه با ترشحات چسبنده فراوان شته‌ها است

ارزیابی واکنش ارقام و لاین های لوبیا

جهت ارزیابی واکنش ارقام و لاین‌های متفاوت لوبیا به‌عوامل مختلف خسارت‌زا از مقیاس های متفاوتی استفاده‌می‌شود که دراین مجموعه سیستم ارزیابی سیات (CIAT) ارائه شده توسط Van Schoonhoven *et al.*, 1987 و برخی روش‌های استفاده شده در مقالات معتبر آورده شده‌است.

بر اساس میزان توسعه علائم و نمره دهی به آن، میزان مقاومت یا حساسیت ارقام و لاین های لوبیا به شرح جدول ۱ تعیین می‌گردد.

جدول۱ – واکنش ارقام و لاین‌های لوبیا به‌عوامل بیماری زا براساس دو مقیاس ۹- ۱ و ۴- ۰

مقیاس	نوع واکنش

	۰-۴	۱ -۹
مقاوم	۰	۱ -۳
نسبتا مقاوم/متحمل	۱	۳/۱ -۵
نسبتا حساس	۲	۵/۱ -۶
حساس	۳	۶/۱ -۷/۹
خیلی حساس	۴	۸ -۹

با توجه به جمعیت جامعه مورد بررسی، تعدادی بوته انتخاب و پس از نمره دادن بر اساس روش های توضیح داده شده، شدت و شاخص بیماری طبق روابط زیر محاسبه و درتجزیه و تحلیل آماری استفاده می‌شود.

$$Ds = \frac{\sum_{i=0or1}^{4or9}(Si * Ps)}{N}$$

$$Di = \frac{\sum_{i=0or1}^{4or9}(Si * Ps)}{N * 4or9} * 100$$

D_s: شدت بیماری، D_i: شاخص بیماری، S_i: مقیاس بیماری (۱تا۹ یا ۰ تا ۴)، P_s: تعداد گیاهانی که مقیاس i را نشان دادند، N: تعداد کل گیاهان نمونه برداری شده

منابع مورد استفاده

1-Abawi, G. S. 1989. Root Rots. PP 105-157. In : Bean Problems in the tropics. H.F. Schwartz, and M.A. Pastor-Corrales (eds), CIAT, Cali, Colombia.

2-Abawi, G. S., and Pastor Corrales, M. A. 1990. Root rots of beans in Latin America and Africa: Diagnosis, research methodologies, and management strategies. Centro Internacional de Agricultura Tropical (CIAT), Cali, Colombia.

3-Abawi, G. S., Ludwig, J. W., and Gugino, B. K. 2006. Bean root rot evaluation protocols currently used in New York. Annual Report Bean Imporvement Cooperative. 49, 83.

4- Bigirimana, J., and Höfte, M. 2001. Bean anthracnose: inoculation methods and influence of plant stage on resistance of *Phaseolus vulgaris* cultivars. Journal of Phytopathology. 149: 403-408.

5-Fail, J., and Penzes, B. 2002. Developing methods for testing the resistance of white cabbage against Thrips tabaci.Proceeding of 7th international symposium on Thysanoptera. 229-237.

6-Khanzada, S., Jiskani, M. M., Khanzada, S. R., Khanzada, M. S., Ali, S., Khanzada, K. A., Saeed, N., Anwar, S.,and Khalid, M. 2012. Response of some tomato cultivars against root-knot nematode, Meloidogyne incognita (Kofoid & White) Chitwood. JAPS, Journal of Animal and Plant Sciences. 22(4), 1076-1080.

7- Kull, L. S., Vuong, T. D., Powers, K. S., Eskridge, K. M., Steadman, J. R., and Hartman, G. L. 2003. Evaluation of resistance screening methods for Sclerotinia stem rot of soybean and dry bean. Plant Disease. 87: 1471-1476.

8-Mukankusi, C. 2008. Improving resistance to Fusarium root rot [*Fusarium solani* (Mart.) Sacc. f. sp. *phaseoli* (Burkholder) W. C. Snyder & H. N. Hans.] in common bean (Phaseolus vulgaris L.). PhD. Thesis.University of KwaZulu-Natal, Pietmeritzburg, South Africa.

9-Pathania, A., Sharma, P. N., Sharma, O. P., Chahota, R. K., Ahmad, B., and Sharma, P. 2006. Evaluation of resistance sources and inheritance of resistance in kidney bean to Indian virulences of Colletotrichum lindemuthianum. Euphytica. 149: 97-103.

10-Sharma, P. N., Pathania, A., Kapil, R., Sharma, P., Sharma, O. P., Patial, M., and Kapoor, V. 2008. Resistance to bean common mosaic potyvirus strains and its inheritance in some Indian land races of common bean. Euphytica. 164: 173-180.

11- Schwartz, H. F., Steadman, J. R., Hall, R., and Forster, R. L. 2005. Compendium of bean diseases. American Phytopathological Society (APS Press).

12-Sippell, D. W., and Hall, R.1982. Effects of pathogen species, inoculum concentration, temperature, and soil moisture on bean root rot and plant growth. Canadian Journal of plant pathology. 4: 1-7.

13-Van Schoonhoven, A., and M. A. Pastor-Corrales.1987.Standard system for the evaluation of bean germplasm. CIAT,Cali, Colombia.

14-Webster, D. M. Temple, S.R., and Galvez. G. E. 1983. Expression of resistance to *Xanthomonas campestris* pv. p*haseoli* in *phaseolus vulgaris* under tropical conditions. Plant Disease 67(4): 394-396.

Ministry of Jihad–e-Agriculture
Agricultural Research, Education & Extension Organization
Iranian Research Institute of Plant Protection

Methods of evaluation of bean cultivars/ lines resistance to its important pests and diseases

By:
Mohammad Reza Lak

Iranian Research Institute of Plant Protection

55632

2019