مجموعه مقالات
چهارمین همایش ملی کاربرد فناوری هسته‌ای در علوم کشاورزی و منابع طبیعی
(۲۹-۳۰ اردیبهشت، ۱۳۹٤، پژوهشکده کشاورزی هسته ای)
The 4th National Congress on Nuclear Technology Application in Agricultural & Natural Resource Sciences (19-20 May, 2015, Nuclear Agriculture Research School)

استفاده از اشعه گاما در ایجاد موتانت غیربیماری‌زا به منظورکنترل بیولوژیکی بیماری پوسیدگی ریشه لوبیا در شرایط مزرعه

حسین اهری مصطفوی*[۱]، هادی فتح اللهی[۱] . سید مهیار میرمجلسی[۲] محمد بابایی[۱]، رامین محمدی[۱]، عادل قدیری[۳]
۱- پژوهشگاه علوم و فنون هسته‌ای، پژوهشکده کشاورزی هسته‌ای
۲ - دانشجوی سابق کارشناسی ارشد بیماری شناسی گیاهی دانشکده کشاورزی، دانشگاه تربیت مدرس، تهران
۳- مرکز تحقیقات کشاورزی و منابع طبیعی، استان مرکزی، ایستگاه تحقیقات لوبیای کشور(خمین)
* مسئول مکاتبات، پست الکترونیکی: hahari@nrcam.org

چکیده: طی سال‌های ۸۶- ۱۳۸۵ گیاهانی با علائم پوسیدگی ریشه و طوقه از ۴۸ مزرعه مختلف لوبیا واقع در استان های خوزستان و مرکزی جمع آوری شد. بر اساس نتایج حاصل از تعیین دامنه میزبانی، تعداد سه جدایه به عنوان فرم مخصوص لوبیا شناسایی شد. سوسپانسیون اسپور یکی از این سه جدایه در محدوده دز ۱۳۰ گری مورد پرتوتابی با اشعه گاما قرار گرفت. نتایج آزمون بیماری زایی، ایجاد دو موتانت غیر بیماری زا را اثبات نمود. بررسی کنترل بیولوژیکی موتانت‌های غیر بیماری‌زا در شرایط مزرعه نشان داد که درصد پوسیدگی ریشه در اثر کاربرد موتانت M23 با غلظت 10^6 (اسپور در هر میلی لیتر)، از ۶۷/۳ درصد به ۳۹/۵ درصد کاهش یافته و شاخص عملکرد از ۲۰۲۸/۳ به ۳۰۹۰ کیلوگرم در هکتار افزایش یافت. با توجه به پتانسیل بیوکنترلی بالای M23 می توان، از روش کلونه سازی بذور لوبیا جهت کاهش پوسیدگی ریشه و افزایش راندمان محصول استفاده نمود.

واژه های کلیدی: اشعه گاما، کنترل بیولوژیکی، موتانت غیر بیماری‌زا، *Fusarium solani*

BIOLOGICAL CONTROL OF BEAN ROOT ROT DISEASE, USING AVIRULANCE MUTANT OF *FUSARIUM SOLANI* F.SP. *PHASEOLI* IN FIELD CONDITION

*H.Ahari Mostafavi[1], , H. Fathollahi[1], S.M. Mirmajlessi[1], M. Babaie[1], R.Mohammadi[1], A.Ghadiri[3]
[1.] Researchers of Nuclear Science and Technology Research Institute, Nuclear Agricultural Research School, Karaj,
[2]Collage of Agricultur, Tarbiat Modares University, Tehran, Iran
[3.] Researchers of Center of Agricultural Researches and Natural Resources, Markazi provinces, Arak, Iran
Corresponding Author, E-mail: *hahari@nrcam.org

Abstract: During 2006-2007, plants showing root and crown rot were collected from 48 bean fields in the Khuzestan and Markazi provinces. Using host range test, three isolates were identified as *Fusarium solani* f.sp. *phaseoli*. Spore suspension of one of these isolates were irradiated (in a 60 Co- gamma cell with activity of 2500 curi and 0.38 grey per second dose rates) with 130 Gy. Results of Pathogenicity test confirmed two avirulent mutants. Investigation of biocontrol potential of avirulent mutants showed that percentage of root rot was significantly decreased (from 67.3% to 39.5%) in concentration of 10^6

conidia/ml avr-M23 mutant in field condition. Also, evaluation of plant yield showed that yield parameter increased (from 2028.3 to 3090 kg/ha) using concentrations of 10^6 conidia/ml M23 mutant. Whereas, biocontrol potential of M23 mutant was high, indicating that avr-M23 is an effective agent for coloning of bean seeds to reducing of root rot and increasing of bean crop yield.

Keyword: avirulent mutants, Biocontrol, *Fusarium solani* f.sp. *phaseoli*, gamma ray

مقدمه

بیماری پوسیدگی ریشه لوبیا ناشی از قارچ *Fusarium solani* f. sp. *phaseoli*، از اکثر مناطق لوبیا کاری دنیا گزارش شده است (Goody *et al.*, 2004). در ایران نیز این بیماری همه ساله خسارت قابل ملاحظه ای را به کشاورزان تحمیل می نماید. بنحویکه در مناطق کاملا آلوده، تا ۸۵٪ محصول را از بین می‌برد. گیاه لوبیا، به عنوان یکی از محصولات بسیار مهم در جیره غذایی مردم جهان محسوب شده و ارقام مختلف آن به صورت سبز تا فراورده‌های کنسروی به بازار مصرف عرضه می گردد. هنگامی که قارچ عامل بیماری پوسیدگی ریشه در زمین مستقر شود، ریشه کنی آن عملی غیر ممکن است (Nelson *et al.*, 2009). از آنجا که صفت بیماری‌زایی *F. solani* تحت کنترل ناحیه ای از ژنوم قارچ می باشد، پرتوتابی با اشعه گاما (در دامنه دز معین) می تواند موجب شکل گیری موتانت‌هایی گردد، که علیرغم از دست دادن صفت بیماری‌زایی، همه خصوصیات دیگر از قبیل شناسایی میزبان، استقرار در ریشه و رقابت با سایر میکروارگانیسم‌ها را حفظ کرده‌اند (Mes *et al.*, 1999). *مس و همکاران* (۱۹۹۹) با انجام آزمایشاتی دامنه دز ۱۳۰ گری را به عنوان محدوده القای موتاسیون در قارچ عامل پژمردگی گوجه فرنگی انتخاب کردند. آنها با پرتوتابی قارچ *F. oxysporum* f. sp. *lycopersici* موفق به ایجاد موتانت‌های غیر بیماریزا شده و از آن به منظور کنترل بیولوژیکی عامل بیماری استفاده نمودند. مقایسه ژنوم موتانت‌های حاصل با جدایه طبیعی نشان داد که علت اصلی غیربیماری‌زایی، مربوط به تغییر ژن کنترل کننده صفت بیماریزایی در ژنوم جدایه پرتودهی شده می‌باشد. *لاکشمشا و همکاران* (Lakshmesha *et al.*, 2005) با به کارگیری اشعه UV موتانت‌هایی در قارچ *Colletotrichum capsici* (عامل آنتراکنوز) ایجاد کردند که میزان تولید آنزیم‌های سلولاز و پکتیناز در آنها حدود ۴۳ و ۴۰ درصد کاهش یافت. *لین* (Lin 2001) تاثیر اشعه ماورای بنفش را بر فعالیت آنزیم RNA پلی مراز در باکتری *Xanthomonas oryzae* pv. *oryzae* مورد بررسی قرار دادند.

در این تحقیق *F. solani* فرم مخصوص لوبیا با استفاده از آزمون بیماری زایی و آغازگرهای اختصاصی تعیین شد و سپس با پرتوتابی اشعه گاما و طی مراحل مختلف، دو موتانت غیر بیماری‌زا بوجود آمد. بر اساس درصد کلونه سازی و میزان کاهش پوسیدگی ریشه در آزمایش گلخانه ای، یکی از دو موتانت غیر بیماری‌زای بدست آمده به عنوان عامل کنترل بیولوژیکی انتخاب شد، و طی دو سال متوالی توانایی کاهش بیماری پوسیدگی ریشه لوبیا و افزایش شاخص عملکرد در خاک کاملا آلوده مزرعه مورد ارزیابی قرار گرفت.

روش بررسی

۱- جداسازی و شناسایی پاتوژن

نمونه برداری در طی فصول زراعی سال های ۸۶-۱۳۸۵ و یک ماه پس از شروع کشت لوبیا از مناطق عمده کشت این محصول در استان های مرکزی و خوزستان انجام شد. گیاهان آلوده بر اساس علائم ظاهری شامل کوتولگی، زردی و ریزش برگها انتخاب شدند. از ۴۸ مزرعه با توجه به سطح زیر کشت، ۵ تا ۱۰ عدد بوته آلوده در هکتار و به صورت تصادفی جمع آوری شد. تشخیص و شناسایی گونه *F. solani* با استفاده از کلید شناسایی *نلسون و همکاران* (Nelson *et al.*, 1983) انجام پذیرفت.

۲- تعیین دامنه میزبانی

برای تهیه مایه تلقیح از روش *وسترلاند وهمکاران* (Westerland *et al.*, 1974) استفاده شد. عمل مایه‌زنی روی گیاهانی از خانواده بقولات صورت پذیرفت. پس از گذشت یک ماه گیاهان لوبیا از خاک خارج شده و شدت بیماری زایی بر اساس درجه بندی شش شماره‌ای *دار و همکاران* (Dar *et al.*, 1997) مورد ارزیابی قرارگرفت.

۳- دزیابی، پرتوتابی و ایجاد موتانت غیر بیماری‌زا

اسپور خالص *F. s.* f.sp. *phaseoli* در معرض دز های ۰ (شاهد)،۶۰، ۹۰، ۱۲۰، ۱۵۰و ۱۸۰ گری با استفاده از دستگاه گاماسل با چشمه کبالت-۶۰ اکتیویته ۲۵۰۰ کوری و نرخ دز ۰/۳۸ گری در ثانیه مستقر در پژوهشکده کشاورزی هسته ای قرار گرفت. پس از ۱۰ روز میزان قطر کلونی تعیین شد. همچنین تعداد اسپورهای جوانه زده و جوانه نزده شمارش شد. نهایتا، دز مورد نیاز برای ایجاد موتاسیون مفید بر اساس میزان ۵۰ درصد جوانه زنی اسپورها و میزان رشد رویشی (قطر کلونی) تعیین گردید. سپس سوسپانسیونی حاوی 10^3 اسپور در هر میلی لیتر از جدایه بیماری‌زای *F.s.* f.sp. *phaseoli* تهیه و عملیات پرتوتابی با دز انتخابی انجام پذیرفت. اسپورهای جوانه زده زیر بینوکولر مشخص شده و به صورت جداگانه به محیط کشت PDAانتقال یافت.

به منظور تعیین موتانت های غیر بیماری زا، تلقیح سوسپانسیون اسپورهای موتانت (با غلظت 10^6 اسپور در هر میلی لیتر) به روش *دار و همکاران* (۱۹۹۷) به سطح بذور لوبیا انجام پذیرفت. نهایتا بررسی علائم بیماری پس از یک ماه از کشت بذور در گلخانه بر اساس درجه بندی شش شماره‌ای *دار و همکاران* (۱۹۹۷) انجام شد.

٤- بررسی گلخانه ای موتانت‌های غیر بیماری‌زا به عنوان عامل کنترل بیولوژیکی

جهت بررسی میزان توانایی کنترل بیولوژیکی موتانت‌ها، ۱۰ روز پس از کاشت لوبیا در خاک استریل و با دو برگی شدن گیاهچه، خاک اطراف ریشه گیاه کنار زده شد و سطح ریشه اصلی در معرض cc ۱ محلول سوسپانسیون اسپور موتانت (به غلظت10^6 اسپور در هر میلی لیتر) قرار گرفت (فیلیون و همکاران، ۲۰۰۳). با گذشت هفت روز، سوسپانسیون اسپور قارچ

بیماری‌زا (تیپ وحشی) مجددا روی ریشه گیاهان تلقیح شده با موتانت‌ها، ریخته شد تا تاثیر کلونه‌کنندگی موتانت‌های غیر بیماری‌زا بر کاهش قدرت بیماری‌زایی تیپ وحشی (مادری) آشکار شود. پس از گذشت دو هفته گیاهان از خاک خارج شده و شدت بیماری‌زایی جدایه‌ها بر اساس درجه بندی شش شماره‌ای *دار و همکاران* (۱۹۹۷) مورد ارزیابی قرار گرفت. این آزمایش دو بار و هر بار با چهار تکرار در گلخانه اجرا شد.

۵- بررسی مزرعه ای موتانت‌های غیر بیماری‌زا به عنوان عامل کنترل بیولوژیکی

سوسپانسیون اسپور موتان *F. s.* f.sp. *phaseoli* در غلظت های $۱۰^{۶}$،$۱۰^{۳}$ و $۱۰^{۹}$ اسپور در هر میلی لیتر تهیه شد. سه ساعت قبل از کشت لوبیا، سوسپانسون های مزبور در داخل کیسه فریزر با مقدار کافی از بذور آغشته شد. بذور در نظر گرفته شده به عنوان شاهد نیز سه ساعت پیش از کشت، به آب مقطر استریل آغشته شدند. عملیات کاشت بذور به دلیل سابقه آلودگی ۲۰ ساله به عامل پوسیدگی ریشه لوبیا و کشت متوالی این گیاه بدون انجام تیمار شیمیایی در کرت های آزمایشی مزرعه مرکز تحقیقات لوبیای کشور (شهرستان خمین) انجام پذیرفت. تعداد شش بلوک به مساحت ۵۰ متر مربع (۵×۱۰m) آماده و کاشت به صورت جوی و پشته‌ای و آبیاری توسط سیفون و هر پنج روز یکبار انجام شد. شدت بیماری‌زایی تیمارها و همچنین شاخص عملکرد گیاه لوبیا مورد ارزیابی قرار گرفت. شدت پوسیدگی بر اساس مشاهده زخم های نکروز در ناحیه ریشه و هیپوکوتیل و با استفاده از سیستم شش شماره ای *دار و همکاران* (۱۹۹۷) ارزیابی گردید. این آزمایش در دو سال متوالی (۱۳۸۸-۱۳۸۹) انجام شد.

٦- ارزیابی عملکرد گیاه لوبیا

با گذشت ۱۱۰ روز از کاشت لوبیا، مقایسه کیفیت محصول بر اساس متغیرهای تعداد غلاف در گیاه، وزن صد دانه (گرم) و میزان محصول (کیلوگرم در هکتار) مورد ارزیابی قرار گرفت (Nelson *et al.*, 2009) . تعداد ۱۰ گیاه از هر ردیف به طور تصادفی برای این منظور انتخاب شد. این آزمایش شامل چهار تیمار و شش تکرار بود. آنالیز آماری تمامی آزمایشات بر اساس طرح بلوک کامل تصادفی و همچنین مقایسه میانگین ها با بکارگیری آزمون دانکن($P\leq 0.05$) با استفاده از نرم افزار MSTATC Version 1.42 انجام پذیرفت.

نتیجه

۱- جداسازی و شناسایی پاتوژن

بر اساس نمونه برداری که در فصول زراعی ۸۶-۱۳۸۵ از مزارع لوبیا واقع در استان های مرکزی و خوزستان انجام شد، تعداد ۲۰ جدایه *F. solani* از بافت طوقه و ریشه جداسازی و شناسایی گردید.

۲- تعیین دامنه میزبانی

آزمون بیماری زایی ۲۰ جدایه *F.solani* بر روی میزبان های مختلف انجام شد که در نهایت چهار جدایه Kh9 ، Kh12، Kh11 و D6 به عنوان فرم مخصوص لوبیا مشخص شدند. این چهار جدایه در بین تمامی گیاهان مورد آزمایش تنها موفق به آلوده سازی و بروز علائم پوسیدگی در ریشه گیاه لوبیا شدند.

۳- دزیابی، پرتوتابی و ایجاد موتانت غیر بیماری‌زا

پس از گذشت ۱۰ روز از پرتوتابی با دزهای مختلف (تیمارها)، مقایسه میانگین‌های قطر پرگنه *F. s.* f.sp. *phaseoli* آنها را در سه گروه مختلف قرار داد. بر این اساس پرتوتابی با دزهای ۱۵۰ و ۱۸۰ گری (پس از ۱۸ ساعت) به طور معنی داری سبب کاهش قطر پرگنه نسبت به شاهد و سایر دزها شد (جدول ۱).

جدول ۱- مقایسه میانگین درصد جوانه زنی و قطر کلونی *Fusarium solani* f.sp. *phaseoli* تحت تاثیر پرتو گاما

دز تابشی اشعه گاما (گری)	جوانه زنی (درصد)	قطر پرگنه (سانتی متر)
۰	۹۶/۳(a)*	۷/۷۳(a)*
۶۰	۹۳/۲(a)	۷/۱۷(ab)
۹۰	۸۱/۳۳(b)	۷/۰۳(b)
۱۲۰	۵۹/۶۷(c)	۶/۹۷(b)
۱۵۰	۵۴/۳۳(d)	۶(c)
۱۸۰	۵۱/۶۷(d)	۵/۵(c)

* میانگین‌های دارای حرف غیر مشترک، در سطح ۵٪ اختلاف معنی داری دارند

در این آزمایش از محدوده دز ۱۲۰ گری، میزان مرگ و میر ۴۰ درصدی اسپورها آغاز و در محدوده دز ۱۵۰ گری این میزان به حدود ۵۰ درصد رسید. بر این اساس محدوده دز ۱۲۰ تا ۱۵۰ گری جهت القای موتاسیون‌های مفید انتخاب شد. این الگو با نتایج حاصل از تحقیقات مس و همکاران (۱۹۹۹) روی قارچ *F. Oxysporum* f.sp. *lycopersici* مطابقت می کند، با این تفاوت که حساسیت این قارچ در برابر تابش اشعه گاما بیشتر از *F. s.* f.sp. *phaseoli* می‌باشد. نهایتا پرتوتابی اسپورها با دز ۱۳۰ گری انجام و اسپورهای جوانه‌زده (۵۰۰ اسپور موتانت) بصورت جداگانه به محیط کشت PDA منتقل

شدند. شدت بیماری‌زایی جدایه‌ها پس از گذشت یک ماه از تلقیح، مورد ارزیابی قرار گرفته و در پایان این مرحله، دو موتانت غیر بیماری‌زا با نام های M23 و M22 شناسایی گردید.

٤- بررسی گلخانه ای موتانت‌های غیر بیماری‌زا به عنوان عامل کنترل بیولوژیکی

نتایج حاصل از بررسی توان کنترل بیولوژیکی موتانت‌های غیر بیماری‌زا نشان داد که درصد پوسیدگی ریشه در اثر کاربرد موتانت های غیر بیماری‌زا به طور معنی‌داری در مقایسه با گیاهان تلقیح شده با جدایه بیماری‌زا کاهش یافت، به طوریکه درصد پوسیدگی ریشه از ۷۷/۵ به ۵۸/۷۵ و ۲۲/۵ به ترتیب تحت تاثیر جدایه های M22 و M23 کاهش یافت (جدول ۲). بر این اساس موتانت M23 برای آزمایش کنترل بیولوژیکی پوسیدگی ریشه در سطح مزرعه انتخاب شد.

جدول ۲- مقایسه میانگین درصد پوسیدگی ریشه لوبیا تحت تاثیر تیپ وحشی و موتانت های *Fusarium solani* f.sp. *phaseoli*

بیمارگر	درصد پوسیدگی ریشه
تیپ وحشی	۷۷/۵(a)*
موتانت M22	۲/۵(d)
موتانت M23	۲/۵(d)
تیپ وحشی+ M22	۵۸/۷۵(b)
تیپ وحشی+ M22	۲۲/۵(c)

* میانگین‌های دارای حرف غیر مشترک، در سطح ۵٪ اختلاف معنی داری دارند

۵- بررسی مزرعه ای موتانت‌های غیر بیماری‌زا به عنوان عامل کنترل بیولوژیکی

به منظور بررسی توانایی بازدارندگی موتانت غیر بیماری زا (M23)در شرایط مزرعه با شدت آلودگی بالای فوزاریمی، غلظت های مختلف M23 (۱۰۳، ۱۰۶ و ۱۰۹ اسپور در هر میلی لیتر)، ۱۱۰ روز پس از کاشت لوبیا مورد ارزیابی قرار گرفت. پوسیدگی ریشه در تیمار های تلقیح شده با غلظت های ۱۰۶ و ۱۰۹ اسپور در هر میلی لیتر به ترتیب معادل ۳۹/۵ و ۳۸/۸ درصد ارزیابی شد، که بطور کاملا معنی داری در مقایسه با تیمار شاهد (۶۷/۳) اختلاف نشان داد. در حالیکه پوسیدگی ریشه در تیمار تلقیح شده با غلظت ۱۰۳ اسپور در هر میلی لیتر هیچگونه اختلاف معنی داری با تیمار شاهد نداشت (جدول ۳). نتایج نشان داد، علیرغم اینکه غلظت های ۱۰۶ و ۱۰۹ اسپور در هر میلی لیتر نتوانستند بطور کامل مانع پوسیدگی ریشه در خاک آلوده شوند، اما بطور کاملا معنی داری درصد پوسیدگی ریشه لوبیا را در مقایسه با تیمار شاهد کاهش دادند.

جدول ۳- مقایسه میانگین درصد پوسیدگی ریشه، ۱۱۰ روز پس از تیمار بذور با غلظت های مختلف avr-M23 و آب (شاهد)، کاشته شده در خاک آلوده به فوزاریوم.

درصد پوسیدگی ریشه	غلظت (میلی لیتر/اسپور)
٦٧/٣a*	۱۰۰ (شاهد)
٥٩/٦a	۱۰۳
٣٩/٥b	۱۰٦
٣٨/٨b	۱۰۹

* میانگین‌های دارای حرف غیر مشترک، در سطح ۵٪ اختلاف معنی داری دارند

۷- ارزیابی عملکرد گیاه لوبیا

نتایج حاصل از مقایسه عملکرد تیمارهای مختلف نشان داد که غلظت های ۱۰۶ و ۱۰۹ اسپور در هر میلی لیتر هیچگونه اختلاف معنی داری با یکدیگر نداشته و بیشترین تاثیر افزایشی را در تعداد غلاف در گیاه، وزن صد دانه (گرم) و میزان برداشت (کیلوگرم در هکتار) گیاه لوبیا نشان دادند. به طوریکه میزان برداشت لوبیا در غلظت های ۱۰۶ و ۱۰۹ اسپور در هر میلی لیتر به ترتیب ۳۰۹۰ و ۳۰۸۳/۶ کیلوگرم در هکتار بدست آمد، درحالیکه غلظت های ۱۰۳ و ۱۰۰ (شاهد) اسپور در هر میلی لیتر، به ترتیب مقادیر ۲۱۶۱/۶ و ۲۰۲۸/۳ کیلوگرم در هکتار و بدون اختلاف معنی داری را نشان دادند (جدول ۴). غلظت ۱۰۶ اسپور در هر میلی لیتر موتانت M23 به عنوان مناسب ترین تیمار آنتاگونیست تاثیرگذار در افزایش عملکرد گیاه لوبیا (تحت شرایط حضور عامل بیماری پوسیدگی ریشه) انتخاب گردید.

جدول ۴- مقایسه میانگین تاثیر غلظت های مختلف avr-M23 و آب (شاهد) بر تعداد غلاف درگیاه، وزن صد دانه و عملکرد گیاه لوبیا

غلظت ها	تعداد غلاف در هر گیاه	وزن ۱۰۰ دانه (گرم)	عملکرد گیاه (kg/ha)
۱۰۳ (میلی لیتر/اسپور)	۷/۸۳b*	۳۲/۰b	۲۱۶۱/۶b
۱۰۶ (میلی لیتر/اسپور)	۱۱/۰a	۴۲/۱۶a	۳۰۹۰/۰a
۱۰۹ (میلی لیتر/اسپور)	۱۱/۱۶a	۴۵/۱۶a	۳۰۸۳/۶a
۱۰۰ (شاهد)	۷/۳۳b	۳۰/۰b	۲۰۲۸/۳b

* میانگین‌های دارای حرف غیر مشترک، در سطح ۵٪ اختلاف معنی داری دارند

بحث

در این تحقیق، تلقیح بذور لوبیا با موتانت غیر بیماری زا *F. solani* f.sp. *phaseoli* به طور کاملا معنی داری بیماری پوسیدگی ریشه لوبیا را در خاک به شدت آلوده کاهش داد. این نتایج با گزارش *مس و همکاران* (۱۹۹۹) مطابقت دارد. آنها نشان دادند که موتان غیر بیماری زای *F. oxysporum* f. sp. *lycopersici* حاصل از تابش اشعه گاما توانست بیماری پژمردگی فوزاریومی ناشی از تیپ وحشی *F. o.* f. sp. *Lycopersici* را در گیاهان حساس گوجه فرنگی به طور معنی داری کاهش دهد. نتایج تحقیق نشان داد که موتانت غیر بیماری زا (avr-M23) ظرفیت بکارگیری به عنوان عامل بیوکنترل را دارا بوده به نحویکه علائم پوسیدگی ریشه ناشی از *F. s.* f.sp. *phaseoli* در گیاهان تلقیح شده با آن بطور کاملا معنی داری کاهش یافت. در این بررسی میزان کاهش علائم بیماری پوسیدگی ریشه لوبیا با غلظت avr-M23 تلقیح شده به بذر ارتباط داشت. به نحویکه تاثیر حفاظتی این موتانت در غلظت های 10^6 و 10^9 اسپور در هر میلی لیتر بطور معنی داری در مقایسه با غلظت های 10^0 و 10^3 اسپور در هر میلی لیتر بیشتر بود. بر این اساس، غلظت های 10^6 و 10^9 اسپور در هر میلی لیتر به ترتیب با عملکرد ۳۰۹۰ و ۳۰۸۳/۶ کیلوگرم در هکتار به عنوان مناسب ترین غلظت های موتانت، در بدست آوردن بالاترین عملکرد گیاه لوبیا در شرایط خاک آلوده به عامل بیماری پوسیدگی ریشه انتخاب شدند. بر اساس نتایج حاصل از تحقیقات مزرعه ای پیشنهاد می گردد، با توجه به پتانسیل بیوکنترلی بالای avr-M23، از روش کلونه سازی بذور لوبیا در غلظت های 10^6 و 10^9 اسپور در هر میلی لیتر جهت کاهش پوسیدگی ریشه و افزایش راندمان محصول لوبیا استفاده شود.

در حال حاضر موتانت avr-M23 به عنوان عامل کنترل بیولوژیکی پوسیدگی ریشه لوبیا مورد تایید قرار گرفته و با نمره مسلسل IRAN 1670 C در کلکسیون کشت موسسه تحقیقات گیاهپزشکی کشور نگهداری می شود.

References:

BIRREN, B. 2003. Fungal genome initiative a white paper for fungal comparative genomics. http://www.broad.mit.edu/fungi/fgi/FGI.

DAR, G. H., ZARGAR, M. Y., and BEIGH, G. M. 1997. Biocontrol of Fusarium root rot in the common bean (*Phaseolus vulgaris* L.) by using symbiotic *Glomus mosseae* and *Rhizobium legominosarum*. **Micro. Eco.** 34: 74-80.

FILION, M., ST-ARNAUD, M., and JABAJI-HARE, S. H. 2003. Quantification of *Fusarium solani* f.sp. *phaseoli* in mycorrhizal bean plants and surrounding mycorrhizosphere soil using real time polymerase chain reaction and direct isolations on selective media. **Plant Dis**. APS Press, 93(2) 229-235.

LAKSHMESHA, K. K., LAKSHMIDEVI, N., and MALLIKARJUNA, S. 2005. Changes in pectinase and cellulase activity of *Colletotrichum*

capsici mutants and their effect on antheracnose disease on *Capsicum* fruit. **Archi. of Phytopathol. and Plant Protec**. 38: 267-279.

LIN, S. H. 2001. Uv-induced increase in RNA polymerase activity in *Xanthomonas oryzae* pathovar *oryzae*. **Microb**. 43: 120-123.

McFADDEN, W., HALL, R., and PHILIPS, L. 1989. Relation of initial inoculum density to severity of fusarium root rot of white bean in commercial fields. **Can. J. Plant Pathol**. 11: 122-126.

MESS, J., WIT, R., CHRISTA, S. T., FRANCIS, D. G., MICHEL, A. H., and BEN, J. C. 1999. Loss of avirulence and reduced pathogenecity of a gamma-irradiated mutant of *Fusarium oxysporum* f. sp. *lycopersici.* **Phytopathology**. 89: 1131-1137.

NELSON A., PACHONL-DIEGO F., GRACIA L., GUSTAVO A. and LIGARRETO, F. 2009. Yield evaluation of fourteen populations of climbing bean (*Phaseolus vulgaris* L.) segregating lines with anthracnose (*Colletotrichum lindemuthianum*) resistance genes. **Agronomía Colombiana**, **27**(1): 7-13.

NELSON, P. E., TOUSSOUN, T. A. and MARASAS, W. F. O. 1983. *Fusarium* species: An illustrated manual for identification. Penssylvania State University Press. University Park,193pp.

PHILLIPS, R. L. and VASIL, I. K. 2001. DNA Based Markers in Plants. Kluwer Academic Publishers. 512 pp.

SAFAIE, N., ALIZADEH, A. SAIDI, A., RAHIMIAN, H. and ADAM, A. 2005: Molecular characterization and genetic diversity among Iranian populations of *Fusarium graminearum* the causal agent of wheat head blight. **Iranian Journal of Plant Pathology,** 41, 69-73.

WESTERLAND, F. U., CAMPBELL, J. R. and LIMBLE, K. A. 1974. Fungal root rots and wilt of chickpea in California. **Phytopathology**. 64: 432- 436.