بررسی تنوع بیماری‌زایی *Colletotricum lindemuthianum* (Sacc. and Mgnus) Briosi and Cav. عامل آنتراکنوز لوبیا و ارزیابی مقاومت ارقام لوبیا نسبت به آن

Study of pathogenicity diversity *Colletotricum lindemuthianum* (Sacc. and Mgnus) Briosi and Cav. agent bean anthracnose and resistant evaluation of common bean cultivars.

سیده مطهره موسوی[۱]، مژده ملکی[۲*] و داریوش شهریاری[۳]

تاریخ دریافت: ۱۳۹۴/۲/۱۲ تاریخ پذیرش: ۱۳۹۴/۵/۱۵

چکیده

آنتراکنوز لوبیا توسط *Colletotrichum lindemuthianum* (Sacc. and Magnus) Briosi and Cav., ایجاد می‌شود که یکی از مهم‌ترین بیماری‌های لوبیا در مناطق نسبتاً سرد، مرطوب و معتدل است. خسارات وارده به محصول می‌تواند در صورت کاشت ارقام حساس لوبیا در شرایط مساعد شدید یا کلی باشند. در بررسی این بیماری ابتدا جدایه‌های مختلف قارچ از مناطق غرب و شمال کشور جمع‌آوری گردید، خالص‌سازی و اثبات بیماری‌زایی روی رقم تلاش حساس به بیماری با سوسپانسیون اسپور spore/ml $۱۰^{+۶}$× ۲-۱ روی برگ‌ها در گلخانه انجام شد. سپس اختلاف بیماری‌زایی جدایه‌ها، مانند روش اثبات بیماری‌زایی روی رقم تلاش تعیین گردید. شدت شاخص بیماری ۱۵روز بعد از اسپورپاشی به روش ون شونوون و پاستور-کوراس صورت گرفت. بر اساس نتایج بدست آمده از کل نمونه‌برداری‌ها از مناطق مختلف، جمعاً ۱۱ جدایه خالص *C. lindemuthianum* به‌دست آمد که اکثراً دارای قدرت بیماری‌زایی بالا بودند ولی از نظر شاخص شدت بیماری متفاوت و در محدوده بین ۹۸-۲۲/۲ درصد قرار گرفتند. در بررسی واکنش ۴۰ رقم یا ژنوتیپ لوبیا به عامل بیماری در شرایط گلخانه در شش رقم (تاز، پاچه باقلا-رگه قرمز، الماس، شکوفا، دانشکده، درسا) و چهار ژنوتیپ (۲۱۶۷۶، ۹۴۰۰۴۰، ۹۲۰۰۴۰ و ۳۱۱۶۷) با درجه آلودگی کم‌تر از ۳ واکنش مقاومت "R" (۲۵٪ کل ارقام و ژنوتیپ‌ها) مشاهده شد، در حالی‌که هشت ژنوتیپ یا رقم واکنش نیمه مقاوم "MR"را نشان دادند و سایرین در گروه حساس "S" قرارگرفتند.

واژگان کلیدی: *Colletotrichum lindemuthianum*، لوبیا، بیماری‌زایی، رقم

۱و ۲- به ترتیب دانشجوی سابق کارشناسی ارشد و استادیار دانشگاه آزاد اسلامی واحد ورامین –پیشوا، دانشکده کشاورزی، گروه بیماری‌شناسی گیاهی، ورامین، ایران

۳- استادیار بخش تحقیقات گیاهپزشکی، مرکز تحقیقات و آموزش کشاورزی و منابع طبیعی استان تهران، سازمان تحقیقات، آموزش و ترویج کشاورزی، ورامین، ایران

نویسنده مسئول مکاتبات: mojdehmaleki@gmail.com

مقدمه

لوبیا، *Phaseolus vulgaris* L.، یکی از غنی‌ترین منابع پروتئین در برنامه غذایی کشورهای در حال توسعه مناطق گرمسیری و نیمه‌گرمسیری، به ویژه در آمریکای لاتین، آفریقای شرقی و جنوبی می‌باشد (Broughton *et al.,* 2003). لوبیا سومین لگوم غذایی بعد از سویا و بادام زمینی است که به صورت جهانی کشت می‌شود (Mukankusi, 2008). مطابق آمار وزارت جهاد کشاورزی در سال ۱۳۹۳ سطح زیر کشت انواع لوبیا در ایران حدود ۱۱۶۲۳۲ هکتار، میزان تولید ۲۲۶۳۶۹ تن و عملکرد ۲۱۲۶ کیلوگرم در هکتار برآورد شده است. در ایران، استان‌های اصفهان، چهارمحال و بختیاری، لرستان، فارس، زنجان و آذربایجان شرقی مهم‌ترین مناطق کشت این محصول به شمار می‌روند (بی نام، ۱۳۹۴). این گیاه در اکثر نواحی دنیا در معرض انواع عوامل بیماری‌زای قارچی قرار دارد و آنتراکنوز یکی از مهم‌ترین بیماری‌های این محصول می‌باشد. در صورت کاشت بذرهای آلوده تحت شرایط مطلوب خساراتی تا حدود۱۰۰ درصداز سوی این بیماری به محصول وارد می‌شود (Silva *et al.,* 2007).

آنتراکنوز لوبیا اولین بار توسط ساکاردو و ماگنوس در سال ۱۸۷۸ شناخته شد. عامل بیماری، قارچ *Colletotrichum lindemuthianum* می‌باشد. آنتراکنوز به دلیل شدت اثر بالا روی کاهش عملکرد محصول در برزیل و سرتاسر جهان، یکی از مهم‌ترین بیماری‌های لوبیا محسوب می‌شود. بیش‌ترین شدت وقوع بیماری در مناطق با رطوبت بالا و تغییرات دمایی بین ۱۸ تا ۲۴ درجه سلسیوس است (Chaves, 1980). عامل بیماری تنوع بیماری‌زایی قابل ملاحظه‌ای داشته و بیش از ۱۰۰ پاتوتیپ از این قارچ شناسایی شده است (Silva *et al.,* 2007). یکی از رایج‌ترین و کم هزینه‌ترین راهکارها برای کنترل آنتراکنوز لوبیا استفاده از ارقام حامل ژن‌های مقاوم است. موفقیت در تولید ارقام مقاوم به عنوان یک راهکار برای کنترل بیماری به شناخت از سطح تنوع در داخل و بین جمعیت‌های بیمارگر بستگی دارد. اگاهی درباره فرآیندهای دخیل در تنوع بالای جمعیت‌های بیمارگر بسیار مهم می‌باشد. به هرحال، روش‌های متداول اصلاحی برای به-دست آوردن ارقام مقاوم به نژادهای مختلف بیمارگرها، همچنان موثرترین و اقتصادی‌ترین شیوه برای مبارزه با این بیماری می‌باشد (Mahuku *et al.,* 2002).

باروس (۱۹۲۱) استرین‌های مختلف این قارچ با توانایی متفاوت درآلوده کردن واریته‌های مختلف لوبیا را گزارش کرد و این آغازی بر شناسایی ۱۱ استرین مختلف از این پاتوژن توسط Moreland و Edgerto بود (Leach, 1922). در کتاب سینگ (Singh, 1997)، بیمارگر آنتراکنوز لوبیا به عنوان یک فرم از *C. lindemuthianum* Briosi and Cav., (Sacc. and Magn.) شناخته شده است. بیلی و جگر (Bailey and Jeger, 1992) سؤالات مهمی درباره طبقه‌بندی بیمارگر آنتراکنوز لوبیا براساس تفاوت‌های مولکولی، مورفولوژیکی و آنتی‌ژنیکی موجود بین بیمارگرهای آنتراکنوز لوبیا مطرح کرده‌اند و همین محققین، بیمارگر آنتراکنوز لوبیا را به عنوان گونه‌ای متفاوت از *C. lindemuthianum* و احتمالاً فرمی از *C. gloeosporoides* پیشنهاد دادند.

خصوصیات کشت بر روی محیط‌های آگار به منظور تشخیص برخی گونه‌های قارچ *Colletotrichum* مورد استفاده قرار گرفته است (Von Arx, 1957). مورفولوژی کنیدی‌های *C. gloeosporioides* و *C. lindemuthianum* مشابه ولی از نظر ویژگی‌های کشت کاملاً متفاوت می‌باشند. *C. lindemuthianum* در محیط‌های کشت تولید رنگدانه تیره کرده و رشد پایدار کندتری نسبت به *C. gloeosporioides* دارد (Baxter *et al.,* 1983; Sutton, 1992). تولید مثل جنسی سبب ساخت ترکیبات تازه از ژن‌ها در چرخه پیوندی می‌شود که در نتیجه سطح بالایی از تنوع ژنتیکی در جمعیت‌های بیمارگر ایجاد خواهد کرد. بنابراین، تولید مثل جنسی متناوب، قادر است اکثر تنوع‌های موجود در جمعیت‌های *C. lindemuthianum* را توجیه نماید. در بررسی منطقه شمال غربی هیمالیا در هند، ۸۵ جدایه از بیمارگر *C. lindemuthianum* از لوبیاهای قرمز (*Phaseolus vulgaris*) برای تجزیه تنوع و ارزیابی مقاومت میزبان جمع‌آوری شدند.

براساس نوع واکنش از لحاظ بین‌المللی و CIAT ، ۱۲ نژاد افتراقی یافت شد، (Sharma *et al.*, 2008). اگرچه هیچ ژن مقاوم مؤثری در برابر همه نژادهای شناخته شده این بیمارگر وجود ندارد ولی یکی از راه‌های پایدارسازی مقاومت، ترکیب چندین ژن مقاوم به یک لاین منفرد می‌باشد. با این وجود، در این تحقیق درصد آلودگی و پراکنش بیماری در سطح مناطق کشت لوبیا و شناسایی جدایه‌ها و تفاوت‌های بیماری‌زایی عامل بیماری تعیین شد، همچنین واکنش ارقام تحت کشت، لاین‌های پیشرفته وژنوتیپ‌های لوبیا از نظر مقاومت به بیماری ارزیابی گردید.

مواد و روش‌ها

جمع آوری و تعیین درصد آلودگی

بدین منظور در سال‌های ۱۳۹۳ و ۱۳۹۴ از مزارع مختلف لوبیای استان زنجان، شامل حومه شهر زنجان، خرمدره، ابهر و مناطق گوار، پیرسقا، ترکان و نصیر آباد و حاشیه مزارع در مسیر جاده زنجان، شهرستان ساری متطقه کیاسر، شهر تنکابن منطقه لشت نشاء، خشکه داران وکاردشت در استان مازندران بازدید به‌عمل آمد. ابتدا بوته‌های‌دارای لکه‌های کشیده کوچک یا بزرگ قرمز تیره به موازات رگبرگ‌ها و همچنین لکه‌های روی غلاف لوبیا با اشکال مدور یا بیضوی کوچک و یا بزرگ به قطر ۲-۷ میلی‌متر که با علایم بیماری آنتراکنوز مطابقت داشت، شناسایی شدند. برای تعیین درصد آلودگی روی قطرهای مزرعه در ۱۰ تقطه در کادر یک متر مربعی بوته‌های آلوده شمارش و درصد وقوع بیماری از فرمول تعداد بوته‌های آلوده به کل بوته محاسبه گردید (Padder *et al*., 2010). برای جداسازی قارچ عامل بیماری از هر مزرعه چند غلاف با علایم تازه جمع‌آوری شدند. نمونه درون کیسه‌های پاکتی قرار داده و سپس در آزمایشگاه بعد از کدگذاری اقدام به جداسازی قارچ عامل بیماری گردید.

جداسازی و خالص‌سازی قارچ عامل بیماری

برای جداسازی بیمارگر، ابتدا لکه‌های موجود روی غلاف یا بذر در زیر بینوکولر مورد بررسی قرار گرفت، پس از تایید حضور قارچ نمونه‌های غلاف و بذر آلوده روی کاغذ صافی مرطوب در محفظه پلاستیکی در دمای ۲۰ درجه سلسیوس تا تشکیل اسپور نگهداری گردید. پس از تشکیل اسپورهای قارچ *C. lindemuthianum* در سطح لکه‌ها با استفاده از آب مقطر استریل شستشو داده شد. سوسپانسیون اسپور حاصل با رقت مناسب بر روی محیط WA (آب-آگار) ۱/۵٪ پخش گردید. پس از جوانه‌زدن اسپورها، یک اسپور جوانه زده به محیط کشت PDA شرکت Difco منتقل گردید. به این ترتیب یک جدایه تک اسپور خالص به دست آمد (Menezes and Dianese, 1988). جدایه‌های به‌دست آمده با استفاده از کلید Common Wealth Mycological Institute شناسایی گردید (Menezes and Dianese, 1988). جدایه‌ها جهت بررسی‌های بعـدی مطـابق روش اصـلاح شـده Castellonis نگهداری شدند (Dhingra and Sinclair,1995).

اثبات بیماری‌زائی

جهت تهیه زادمایه، غلاف‌های رسیده لوبیا به قطعات کوچک تقسیم و به محیط WA در عمق ۰/۵ سانتی‌متری منتقل شدند، سپس دیسک‌هایی به قطر ۵ میلی‌متر از کشت خالص ۱۰ روزه جدایه‌ها روی غلاف‌های موجود در WA قرار داده شدند، تشتک‌های پتری به مدت ۱۲ روز در دمای ۱۸ درجه سلسیوس درانکوباتور نگهداری شدند. بعد از تشکیل میسلیوم و اسپورهای متراکم روی غلاف‌ها و بستر آگار، اسپورها با اسکالپل از سطح غلاف و محیط جمع‌آوری و به ارلن حاوی آب مقطر استریل منتقل گردیدند. سوسپانسیون اسپور به‌دست آمده از پارچه ململ چهار لایه عبور داده شد و غلظت آن با استفاده از لام هموستیومیتر به میزان spore/ml $۱-۲ \times ۱۰^{+۶}$ برای آلوده‌سازی لوبیا تعیین گردید (Vidigal *et al*., 2007).

همچنین بذور لوبیا رقم تلاش حساس به بیماری با کلراکس ۱۰٪ ضدعفونی سطحی گردیده و در گلدان‌های پلاستیکی حاوی خاک و پیت ماس استریل کاشته شدند. سپس سوسپانسیون اسپور آماده شده در مرحله قبلی روی قسمت هوایی گیاه در مرحله ظهور اولین سه برگچه با استفاده از اسپری‌های دستی، اسپورپاشی شدند. گلدان‌ها به‌مدت ۷۲ ساعت در دمای ۲۱-۲۳ درجه سلسیوس و ۱۲ ساعت روشنایی و رطوبت نسبی بیش از ۹۵٪ قرار داده شدند. پس از ظهور علائم بیماری بر روی برگ‌ها، از آن‌ها نمونه‌برداری صورت گرفت و مجدداً قارچ عامل بیماری جدا وخالص‌سازی گردید و برای اثبات بیماری‌زایی خصوصیات مرفولوژیکی آن‌ها با صفات جدایه‌های اولیه مطابقت داده شد.

ارزیابی اختلاف بیماری‌زائی جدایه‌های *C. lindemuthianum* و تعیین جدایه‌های با قدرت بیماری‌زائی بالا

در این آزمایش بعد از اثبات بیماری‌زائی جدایه‌ها، قدرت بیماری‌زائی آن‌ها مطابق روش ذکر شده در قسمت اثبات بیماری‌زائی در شرایط گلخانه مورد آزمایش قرار گرفت. براساس علائم حاصله، شاخص شدت بیماری (تیپ آلودگی) ۱۵ روز بعد از آلودگی براساس مقیاس ارزیابی بیماری (۱- ۹) مرکز بین‌المللی کشاورزی مناطق معتدل (CIAT) یادداشت‌برداری شد (Van schoonhoven and Pastor- Corrales, 1987). میانگین شاخص شدت بیماری (DSI) با استفاده از فرمول جدول ۱ تعیین گردید. این آزمایش بر اساس طرح آماری کاملاً تصادفی در گلخانه بیماری‌شناسی گیاهی مرکز تحقیقات کشاورزی و منابع طبیعی استان تهران – ورامین و با چهار تکرار انجام شد. تعداد تیمارها به تعداد جدایه‌های تهیه شده قارچ *C. lindemuthianum* بود و یک تیمار شاهد بدون آلودگی نیز منظور شد. در پایان آزمایش جدایه‌ای که بیش‌ترین شاخص شدت بیماری را نشان داد به عنوان جدایه برتر برای آزمایش‌های گلخانه‌ای انتخاب شد.

بررسی واکنش ارقام و لاین‌های لوبیا به قارچ عامل بیماری در شرایط گلخانه‌ای

به منظور بررسی واکنش ارقام و لاین‌های مختلف لوبیا نسبت به قارچ عامل بیماری آنتراکنوز، بذر ۴۰ رقم و لاین لوبیا از مرکز تحقیقات و آموزش کشاورزی استان مرکزی و زنجان تهیه شد. این بذور در بین کاغذهای مرطوب شده به مدت ۴۸ ساعت قرار داده شدند. سپس ۳ بذر جوانه زده از هر رقم لوبیا در گلدان‌های حاوی خاک، کود و ماسه استریل در عمق ۳-۴ سانتی‌متری قرار داده شد. گیاهچه در مرحله اولین سه برگچه حقیقی با سوسپانسیون اسپور جدایه‌های *C. lindemuthianum* مطابق روش اثبات بیماری‌زایی مایه‌زنی شدند. گلدان‌ها در گلخانه با رطوبت بالای ۹۵٪، دمای ۲۱-۲۳ درجه سلسیوس و ۱۲ ساعت روشنایی قرار داده شدند. این آزمایش در قالب طرح کاملاً تصادفی با سه تکرار اجرا گردید. ارزیابی‌ها ۱۵ روز بعد از آلودگی با استفاده از شاخص شدت بیماری (مقایس ارزیابی ۰ تا ۹) به شرح زیر صورت گرفت (Munda *et al*., 2009).

واکنش ارقام به صورت زیر تعیین شد:

(۰-۳)= مقاوم (R): گیاهانی فاقد علائم و یا تشکیل لکه‌های کوچک، اغلب کم روی دو سمت برگ‌ها و تقریباً تا ۱٪ کل سطح گیاه (برگ) را می‌پوشاند.

(۳/۱-۶)= نیمه مقاوم (MR): گیاهانی با لکه‌های قهوه‌ای تیره روی برگ‌ها و ساقه تا ۲۰٪ سطح برگ و ساقه را می‌پوشاند.

(۶/۱-۹)= حساس (S): لکه‌های بزرگ با اسپور فراوان، تا ۲۵٪ سطح برگ و ساقه را می‌پوشاند ویا خشک می‌گردد؛ در این مرحله اگر بیش از سه گیاهچه علائم حساسیت را نشان دهند آن رقم حساس (S) ارزیابی می‌شود (Munda *et al*., 2009).

سپس شاخص شدت بیماری بر اساس رابطه (۱) محاسبه شد و همچنین ارزیابی کمی واکنش ارقام بر اساس شاخص شدت بیماری انجام شد. داده‌های به‌دست آمده مربوط به هر یک از صفات، تجزیه واریانس و میانگین‌ها بر اساس آزمون چند دامنه دانکن مقایسه شدند. برای انجام محاسبات از نرم افزار SPSS استفاده شد.

جدول ۱- یادداشت‌برداری از تیپ آلودگی (درجه آلودگی) لوبیا نسبت به بیماری آنتراکنوز بر اساس روش ون شونوون و پاستور-کوراس (Van Schoonhoven and Pastor -Corrales, 1987)

Table 1. Recording of the infection type of bean (infection degree) to anthracnose disease based on Van Schoonhoven and Pastor -Corrales method (Van Schoonhoven and Pastor -Corrales, 1987)

درجه آلودگی infection degree	توصیف علائم بیماری بر روی هرگیاه	Symptoms description on each plant
1	برگ‌ها کاملا سالم	leaves are intact
3	فقط چند لکه کوچک معمولا روی رگبرگ‌های اولیه برگ پائینی یا غلاف که تقریبا در ۱٪ سطح گیاه قرار دارد	Presence of very few and small lesions, mostly on the primary vein of the leaf's lower side or on the pod, that cover approximately 1% of the surface area.
5	چند لکه کوچک روی دمبرگ یا روی رگبرگ‌های اولیه و ثانویه برگ‌های پایینی . قطر لکه‌ها روی غلاف کم‌تر از ۲ میلی‌متر. گرد با یا بدون اسپور که تقریبا ۵٪ سطح غلاف گیاه را در بر می‌گیرد.	Presence of several small lesions on the petiole or on the primary and secondary veins of the leaf's lower side. on the pods, small(less than 2 mm in diameter) round lesions, with or without reduced sporulation, cover approximately 5% of the pod surface area.
7	وجود لکه‌های فراوان در برگ‌های پائینی و لکه‌های کلروتیک در سطح برگ‌های بالایی و دمبرگ‌ها. اندازه لکه‌ها روی غلاف متوسط (بیش از ۲ میلی‌متر قطر) ، لکه‌ها واضح ولی اغلب کوچک یا بزرگ با اسپور و تقریبا ۱۰٪ سطح غلاف را می‌پوشاند.	Presence of numerous enlarged lesions on the lower side of the leaf and necrotic lesions can also be observed on the upper leaf surface and on petioles. on the pods the presence of medium-sized (larger than 2 mm in diameter) lesions are evident but also some small and large lesions generally with sporulation and that cover approximately 10% of pod surface area.
9	نکروز شدید در بیش از ۲۵٪ بافت گیاه که در تمام بخش‌های گیاه (برگ، دمبرگ، ساقه، شاخه و غلاف) و حتی روی رشد که اغلب سبب مرگ گیاه می‌گردد.حضور زخم‌های فرورفته، بزرگ، فراوان با اسپور فراوان که سبب بدشکلی غلاف، کاهش بذر و مرگ غلاف می‌گردد.	Severe necrosis on 25% or more of plant tissue is evident as a result of lesions on the (leaf, petioles, stem, branches and pod) and even on the growing point which often results in death of much of the plant tissues. The presence of numerous, large, sporulating, sunken cankers can result in pod malformation, low seed number and death of the pod

$$DSI=\frac{\sum(i\times p_i)}{i_{max}\times p_{total}}\times 100$$

i= نرخ شدت بیماری

Pi = تعداد گیاهان با نرخ i

imax = بالاترین نرخ بیماری

P total = تعداد کل گیاهان مایه‌زنی شده

نتایج

جمع‌آوری نمونه‌ها، اثبا ت بیماری‌زایی و شناسایی

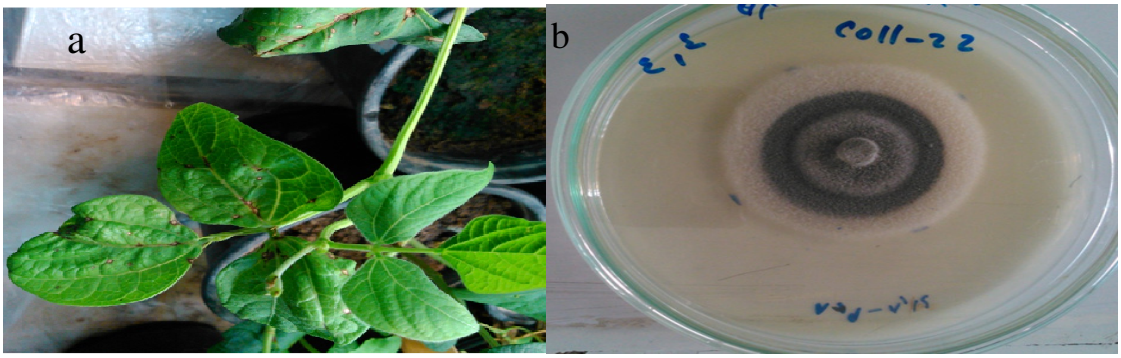
از لکه‌های مذبور روی غلاف لوبیا از مناطق مختلف استان زنجان، جمعاً ۱۱ جدایه *C. lindemuthianum* روی محیط PDA جدا و خالص گردید و به شرح (جدول ۲) بر حسب منطقه جمع‌آوری کدگذاری شدند. در مناطق مختلف استان مازندران به دلیل کمبود بارندگی و کاهش محسوس رطوبت، قارچ عامل آنتراکنوز از برگ وغلاف لوبیا جدا نگردید.

در مرحله اثبات بیماری‌زایی در گلخانه، علائم بیماری یک هفته بعد از مایه‌زنی به صورت لکه‌های کشیده، زاویه‌دار در رگبرگ‌های پایینی عموماً به رنگ قهوه‌ای تیره همراه با توده‌های اسپور صورتی رنگ در شرایط مرطوب قابل مشاهده بودند. با گسترش قارچ به بافت‌های اطراف، نهایتاً لکه‌های زخم مانند در قسمت‌های بالایی رگبرگ‌ها ظاهر گردیدند. پس از تایید حضور قارچ در قطعه‌ای از برگ آلوده مجدداً قارچ عامل بیماری از سطح لکه‌ها جدا و پس از تطبیق با قارچ اولیه بیماری‌زائی آن به اثبات رسید (شکل ۱- a و b).

جدول ۲- مناطق جمع‌آوری نمونه‌های لوبیا آلوده به بیماری آنتراکنوز در سال‌های ۱۳۹۴ و ۱۳۹۵

Table 2. Samples of bean collected from areas that infected by anthracnose disease in the years 1394 and 1395

ردیف No.	کد نمونه Isolates	درصد آلودگی(٪) Infection (%)	شهرستان City		منطقه Region	
1	Coll-2	95	Zanjan	زنجان	the country	حومه
2	Coll-8	94	Zanjan	زنجان	the country	حومه
3	Coll-15	87	Zanjan	زنجان	the country	حومه
4	Coll-19	91	Zanjan	زنجان	the country	حومه
5	Coll-22	96	Zanjan	زنجان	the country	حومه
6	Coll-31	24	Khoramdeh	خرمدره	Nasir Abad	نصیر آباد
7	Coll-35	26	Khoramdeh	خرمدره	Nasir Abad	نصیر آباد
8	Coll-36	41	Abhar	ابهر	Gooaz	گواز
9	Coll-41	79	Abhar	ابهر	Pir saqqa	پیرسقا
10	Coll-42	77	Abhar	ابهر	Pir saqqa	پیرسقا
11	Coll-45	82	Abhar	ابهر	Turkan	ترکان

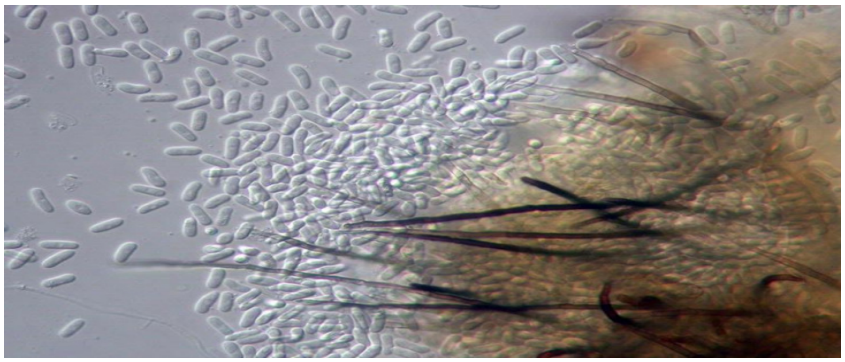


شکل ۱- (a) لکه‌های کشیده، زاویه‌ای در رگبرگ‌های پایینی با ضایعات عموماً قهوه‌ای تیره (b) پرگنه قارچ *C. lindemuthianum* روی محیط PDA

Fig 1. (a) Elongated, angular spots, in the lower side of veins with lesions generally dark brown (b) fungal colony *C. lindemuthianum* on PDA medium

ویژگی‌های مورفولوژیکی قارچ *Clindemuthianum Colletotrichum* (Sacc and Magan.) Scriber

قارچ مذکور بر روی محیط آگار دکستروز سیب زمینی به‌صورت یکنواخت، سفید مایل به خاکستری تا قهوه‌ای، دایره‌ای، رشد کرکی در مرکز با حلقه‌های متحدالمرکز و رشد به هم فشرده در حواشی مشاهده گردید (Rajesha and Mantur, 2014). کنیدی‌ها در داخل آسروول و توسط میسیلیوم‌ها تولید شدند. همه جدایه‌ها دارای کنیدی-های شفاف، تک سلولی، دارای دیواره صاف، بیضی شکل با نسبت تقریبی طول به عرض ۳:۱ بودند. به طور کلی، شکل کنیدی‌های اکثر جدایه‌ها بسیار شبیه به یکدیگر بوده و شکل قسمت انتهایی کنیدی‌ها (apices) در اکثر جدایه‌ها مدور یا نقطه‌ای بود. اکثر جدایه‌ها دارای کنیدی‌هایی به ابعاد µm ۱۲-۲۰ × ۸ - ۵/۴ بودند. آپرسوریوم‌ها (Appressoria) تک سلولی، در ابتدا شفاف اما به سرعت تیره شده، رنگ آپرسوریوم‌ها از قهوه‌ای روشن تا قهوه‌ای بسیار تیره بود (Zakaria and Bailey, 2000). خارها (setae) در ۹ جدایه (Coll-2، Coll-8، Coll-15، Coll-19، Coll-22، Coll-31، Coll-45، Coll-36، Coll-41) از ۱۱ جدایه موجود مشاهده شدند. بیش‌تر خارها در آسرول اما گاهی اوقات بر روی هیف‌های مجزا تشکیل شدند. خارها ضخیم ، تیره و چند دیواره بودند (شکل ۲).



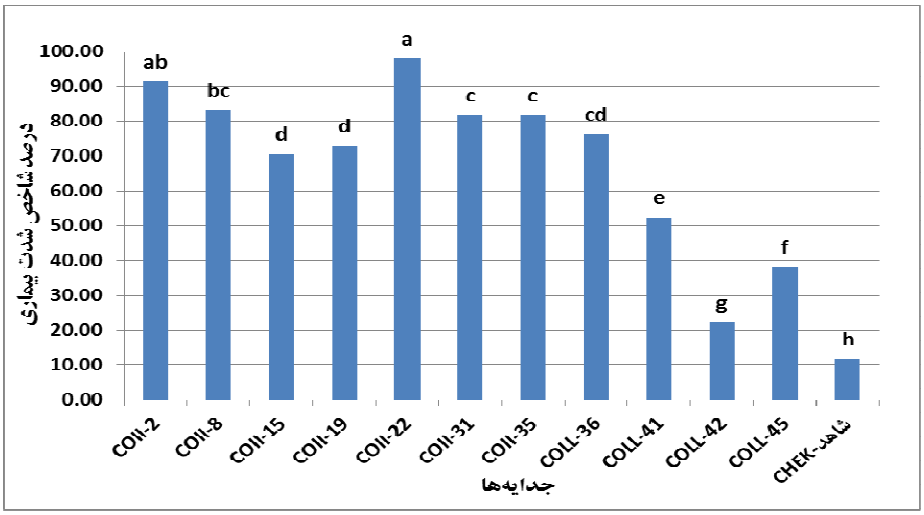
شکل ۲- آسرول قارچ *C. lindemuthianum* شامل کنیدی‌های بیضی شکل وتک سلولی و خارهای تیره ودیواره‌دار با مقیاس ۴۰ میکرومتر

Fig 2. The acervuli of fungus *C. lindemuthianum* having ovoid, unicellular conidia with dark setae and septate scaled 40µm

تفاوت بیماری‌زائی جدایه‌های *C.lindemuthianum* و انتخاب جدایه برتر

در این آزمایش ۱۱ جدایه *C. lindemuthianum* که اثبات بیماری‌زائی شده بودند، بر روی لوبیا، رقم تلاش مایه‌زنی شدند. علائم همانند مرحله اثبات بیماری‌زائی ۱۵ روز بعد از ظهور، مطابق روش ون شونوون و پاستور-کوراس (Van Schoonhoven and Pastor-Corrales, 1987) یادداشت‌برداری شدند و شاخص شدت بیماری محاسبه گردید. داده‌های به‌دست آمده با نرم افزار SPSS تجزیه واریانس و میانگین‌ها با آزمون چند دامنه دانکن در سطح احتمال ۱٪ مقایسه شدند. نتایج حاصله نشان داد جدایه‌ها در در سطح احتمال یک درصد اختلاف معنی‌داری با هم داشتند.

در بررسی مقایسه میانگین‌ها مشخص شد جدایه‌های زنجان شامل:Coll-22 ، Coll-2، Coll-8، Coll-15 و Coll-19 به ترتیب با شدت شاخص بیماری ۹۸، ۴/ ۹۱، ۱/ ۸۳، ۶۵/ ۷۰ و۹/ ۷۲ در گروه آماری a تا d قرار گرفتند. در ادامه جدایه‌های مناطق جمع‌آوری شده از ابهر شامل (Coll-42، Coll-45) با کم‌ترین مقدار شدت شاخص بیماری ۲۲/۲۰ و ۳۸/۱۵ در گروه آماری g و f قرار گرفتند (شکل ۳). در این بررسی تفاوت آماری بین جدایه‌های حومه زنجان دیده شد ولی این اختلاف بسیار ناچیز است، به عبارت دیگر تمام جدایه‌ها دارای قدرت بیماری‌زایی بالایی هستند ولی با جدایه‌های ابهر تفاوت زیادی دارند.



شکل ۳- نمودار میانگین شاخص شدت بیماری جدایه‌های *C. lindemuthianum* روی لوبیا رقم حساس تلاش

Fig 3. Mean of disease severity index of the *C. lindemuthianum* isolates on the susceptible cultivar Talash

ارزیابی مقاومت ارقام و ژنوتیپ‌های لوبیا در شرایط گلخانه

در این آزمایش مقاومت ۴۰ ژنوتیپ و رقم لوبیا در مقابل قارچ عامل آنتراکنوز *C. lindemuthianum* مورد ارزیابی قرار گرفت. نتایج حاصله از تجزیه واریانس شاخص شدت بیماری نشان داد که بین این ارقام یا ژنوتیپ‌ها از نظر صفت اندازه‌گیری شده اختلاف معنی‌دار در سطح احتمال ۱٪ وجود دارد (جدول ۳).

جدول ۳- تجزیه واریانس شاخص شدت بیماری در ارقام یا ژنوتیپ‌های لوبیا نسبت به عامل بیماری آنتراکنوز *C. lindemuthianum*

Table 3. Variance analysis of disease severity index on cultivars or genotypes of bean to causal agent of anthracnose *C. lindemuthianum*

S.O.V	منابع تغییرات	درجه آزادی df.	میانگین مربعات MS.
Replication	تکرار	3	44/308^{ns}
Treatment	تیمار	39	175242/156**
Error	اشتباه	117	1435/159
CV (%) = 5.699		درصد ضریب تغییرات= ۵/۶۹۹	

ns و **: به ترتیب غیر معنی‌دار و معنی‌دار در سطح احتمال ۱٪

ns and **: Respectively non-significant and significant at 1% probability level

در مرحله ارزیابی مقاومت ۴۰ ژتوتیپ ورقم لوبیا به بیماری آنترکنوز *C. lindemuthianum* در شرایط گلخانه در بخش تحقیقات گیاهپزشکی مرکز تحقیقات کشاورزی ورامین در سال ۱۳۹۵ بر اساس میانگین شدت شاخص بیماری در شش رقم (تاز، پاچه باقلا-رگه قرمز، الماس، شکوفا، دانشکده، درسا) و چهار ژنوتیپ (۲۱۶۷۶، ۹۴۰۰۴۰، ۹۲۰۰۴۰، ۳۱۱۶۷) با درجه آلودگی کم‌تر از ۳ و شدت شاخص بیماری بین ۱۲/۷۸ درصد در ژنوتیپ ۲۱۶۸۶ تا ۲۳/۶۰ درصد در رقم دانشکده ثبت شده است، (۲۵٪ کل ارقام و ژنوتیپ‌ها) در گروه مقاوم (R) قرار گرفتند. در ادامه ارقام اختر و صیاد و همچنین

ژنوتیپ‌های۹۲۰۱۰۴، ۲۱۶۸۱، ۹۲۰۱۳۱، ۲۱۶۸۲، Kos-676،Cos-16 Ds-1083 با درجه آلودگی ۳/۱ -۶ با شدت شاخص بیماری بین ۳۶/۰۷ درصد در ژنوتیپ ۲۱۶۸۲ تا ۵۵/۵۹ درصد در رقم صیاد بعنوان نیمه مقاوم (MR) ثبت شده است (۲۲/۵٪ کل ارقام و ژنوتیپ‌ها). ولی در بقیه ارقام و ژنوتیپ‌ها (۵۲/۵٪ کل ارقام و ژنوتیپ‌ها) واکنش حساسیت به بیماری با درجه آلودگی بیش از ۶-۹ و شدت شاخص بیماری بین ۶۰/۹۲ درصد در رقم گلی تا ۹۷/۴۳ درصد در ژنوتیپ‌های ۹۲۰۱۴۳، ۹۲۰۱۱۷ و ۹۲۰۱۵۶ به‌عنوان حساس (S) ثبت شدند (Munda *et al*., 2009) (جدول ۴).

بحث

لوبیا، *Phaseolus vulgaris* L.، یکی از غنی‌ترین منابع پروتئین در برنامه غذایی کشورهای در حال توسعه، مناطق گرمسیری و نیمه‌گرمسیری، به ویژه در آمریکای لاتین، آفریقای شرقی و جنوبی می‌باشد (Broughton *et al.,* 2003). آنتراکنوز لوبیا به دلیل شدت اثر بالا روی کاهش عملکرد محصول در سرتاسر جهان، یکی از مهم‌ترین بیماری‌های لوبیا محسوب می‌شود. بیش‌ترین شدت وقوع بیماری در مناطق با رطوبت بالا با محدوده دمایی ۱۸ تا ۲۴ درجه سلسیوس می‌باشد (Chaves, 1980). گسترش بیماری در ایران در مناطق شمال (کرانه‌های دریای خزر) و غرب کشور می‌باشد (ارشاد، ۱۳۷۴). در این بررسی نیز نمونه‌های جمع‌آوری شده از زنجان، ابهر و خرمدره وجود و گسترش بیماری آنتراکنوز لوبیا را با بیش از ۹۶ درصد آلودگی در مناطق غرب کشور تایید می‌کند. ولی در نمونه‌های مناطق شمال کشور مثل کیاسر ساری و کلاردشت و لشت نشاء چالوس به‌واسطه نامساعد بودن شرایط محیطی در سال ۱۳۹۴، بیماری آنتراکنوز لوبیا مشاهده نشد. اگرچه منطقه کلاردشت و لشت نشاء به‌عنوان مناطق بسیار آلوده گزارش شدند (احمدی‌نژاد، ۱۳۶۸). همچنین در بررسی‌هایی که در مناطق مختلف مازندران، گیلان و زنجان به‌عمل آمده *Colletotrichum fracticola* عامل بیماری آنتراکنوز روی لوبیا معمولی و لوبیا چشم بلبلی گزارش شده است (Atgia *et al.*, 2015).

در بخش دوم بررسی‌ها قارچ *C. lindemuthianum* روی رقم حساس تلاش اثبات بیماری‌زایی شد و علائم بیماری یک هفته بعد از مایه‌زنی با لکه‌های کشیده، زاویه‌ای در رگبرگ‌های پایینی با ضایعات عموماً قهوه‌ای تیره همراه با توده‌های اسپور صورتی رنگ در شرایط مرطوب گلخانه قابل مشاهده بودند. تحقیقات دیلارد (Dillard, 1988) در امریکا نشان می‌دهد که شیوع و شدت این بیماری در بین گونه‌های لوبیا خشک و لوبیا سبز (*P. vulgaris*) بیش‌تر بوده و همچنین روی لوبیای آمریکایی لیما (*P. lunatus* L.)، لوبیا رونده قرمز (*P. multiflorus* Willd.)، لوبیا مانگ (*P. aureus* Roxb.)، لوبیا چشم بلبلی (*Vigna sinensis* Savi.) و باقلا (*Vicia faba* L.) تاثیرگذار می‌باشد. علایم این بیماری به طور کلی در قسمت زیرین برگ‌ها به صورت زخم‌های باریک و کشیده، قرمز آجری تیره تا سیاه بر روی رگبرگ‌ها ظاهر می‌گردد. با پیشرفت بیماری، تغییر رنگ بر روی سطح فوقانی برگ ظاهر می‌شود. برجسته‌ترین علائم بیماری بر روی غلاف لوبیا قابل مشاهده می‌باشد که شامل لکه‌های کوچک قهوه‌ای مایل به قرمز تا سیاه و ضایعات قهوه‌ای مایل به قرمز با دایره‌های مشخص می‌باشند. ضایعات پیشرفته‌تر شامل حاشیه دایره‌ای، قهوه‌ای مایل به قرمز با قسمت داخلی سیاه مایل به خاکستری می‌باشند. توده‌های اسپور صورتی رنگ نیز در قسمت‌های داخلی ضایعات در شرایط آب و هوایی مرطوب قابل مشاهده است (Dillard, 1988). در تفکیک جدایه‌ها از نظر قدرت بیماری‌زایی، آنالیز واریانس داده‌های حاصله تفاوت معنی‌داری بین جدایه‌ها را در سطح ۱٪ نشان می‌دهد. ازنظر شاخص شدت بیماری، اکثر جدایه‌ها دارای قدرت بالای آلودگی در لوبیا رقم تلاش داشتند. در این بررسی‌ها وجود تنوع بالای بیماری‌زایی *C. lindemuthianum* به اثبات رسید در حالی‌که جدایه به‌دست آمده از زنجان Coll-22 بیش‌ترین قدرت بیماری‌زایی با شدت بیماری برابر با ۹۸ درصد را نشان داد ولی جدایه حاصله از خرمدره Coll-42 با شدت بیماری ۲۲/۲درصد

کم‌ترین میزان بیماری‌زایی داشته است. نتایج به‌دست آمده در این تحقیق با یافته‌های بالاردین وهمکاران (Balardin *et al.,* 1997) مطابقت دارد.

در این بررسی‌ها قدرت بیماری‌زایی بالای نژادهای *C. lindemuthianum* در مقابل میزبان‌های موجود در آمریکای مرکزی و منطقه آند و تنوع بیماری‌زایی بالای این قارچ گزارش شده است (Balardin *et al.,* 1997). نتایج ارزیابی مقاومت ۴۰ رقم یا زنوتیپ لوبیا دریافت شده از موسسه مرکز تحقیقات کشاورزی استان مرکزی و زنجان نسبت به بیماری آنتراکنوز لوبیا در شرایط گلخانه‌ای نشان داد ۱۰ رقم یا ژنونیپ لوبیا (۲۵درصد کل ارقام وژنوتیپ‌ها) با درجه آلودگی کم‌تر از ۳ شناسایی شدند، ۲۲/۵درصد متحمل و بقیه با بیش از ۵۰ درصد ارقام و ژنوتیپ‌های آزمایش شده واکنش حساسیت را نشان دادند. در بررسی‌های انجام شده توسط شارما و همکاران (Sharma *et al.,* 2008) در شرایط مرطوب منطقه جنوب غربی هیمالیا روی چهار رقم لوبیا، حداکثر میزان خسارت روی رقم Jawala با ۷۹/۴۸٪ و سپس رقم محلی با ۲۶/۲۳٪ و رقم Him-1 با ۳/۷۴٪ با توجه به آلودگی بذر اتفاق افتاد ولی روی رقم خیلی مقاوم Baspa هیچ‌گونه علائم بیماری دیده نشد. این نتایج تفاوت‌های معنی‌داری را روی ارقام مختلف از نظر وقوع بیماری نشان می‌دهد (Sharma *et al*., 2008). اما تغییرات وسیع طبیعی در *C. lindemuthianum* و توانایی آن‌ها در ظهور نژادهای ویرولانت (Virulent) یک چالش اصلی برای اصلاح‌گران و بیماری شناسان در پایداری مقاومت ژنتیکی میزبان به بیماری در چنین شرایطی محسوب می‌شود (Mahuku *et al.*, 2002). بنابراین تولید و معرفی ارقام در برنامه اصلاحی بر اساس تداخل لاین‌ها با ژن‌های جدیدی که بتوانند مقاومت در ارقام را افزایش دهند از اهمیت بالایی برخودار است (Schwartz *et al.,* 1982; Pastor-Corrales *et al.*, 1995; Young *et al.,* 1998; Melotto and Kelly, 2000).

جدول ۴- مقایسه میانگین شاخص شدت بیماری آنتراکنوز *C. lindemuthianum* در ارقام یا ژنوتیپ‌های لوبیا تحت شرایط گلخانه-۱۳۹۵

Table 5. Mean comparison of disease severity index of *C. lindemuthianum* inciting anthracnose on bean cultivars and genotypes under greenhouse conditions-1395

شماره No.	ارقام Cultivars	شدت شاخص بیماری Disease severity index	درجه آلودگی Infection degree	واکنش Response	
1	21676	12.78j	1.17	R	مقاوم
2	21681	38.82 g	2.67	MR	نیمه مقاوم
3	920131	36.75 g	2.84	MR	نیمه مقاوم
4	920172	94.40 ab	8.84	S	حساس
5	920151	96.90 ab	9	S	حساس
6	940040	15.65 ij	1	R	مقاوم
7	920180	89.80 bc	8.50	S	حساس
8	920040	17.17 hij	1.83	R	مقاوم
9	Kos-682	87.03 c	8.67	S	حساس
10	Kos-676	36.07 g	3.50	MR	نیمه مقاوم
11	Cos-16	52.60 f	5.37	MR	نیمه مقاوم
12	Ds-1083	38.15 g	3.84	MR	نیمه مقاوم
13	920156	97.43 ab	9	S	حساس
14	920101	97.15	9	S	حساس
15	920098	95.63 ab	9	S	حساس
16	920054	91.40abc	8.67	S	حساس
17	920147	94.43 ab	8.84	S	حساس
18	920104	38.82 g	3.34	MR	نیمه مقاوم
19	920030	95.50 ab	9	S	حساس

20	920141	96.32 ab	9	S	حساس
21	920117	97.43 ab	9	S	حساس
22	920143	97.43 ab	9	S	حساس
23	21682	36.07 g	3.5	MR	نیمه مقاوم
24	31167	17.17 hij	2.17	R	مقاوم
25	درخشان Derakhshan	77.53 d	7.67	S	حساس
26	محلی خمین Mahali Khomein	94.10 ab	8.84	S	حساس
27	دوری Doori	94.80 ab	8.84	S	حساس
28	ناز Naaz	15.65 ij	1.50	R	مقاوم
29	پاک Paak	57.47 ef	6.34	S	حساس
30	پاچه باقلا- رگه قرمز Pache Baghela-Rageh Ghermez	19.40 hij	1.83	R	مقاوم
31	الماس Almaas	18.70 hij	2.16	R	مقاوم
32	گلی Goli	60.92 e	6.83	S	حساس
33	تلاش Talash	97.30 ab	9	S	حساس
34	غفار Ghafaar	97.30 ab	9	S	حساس
35	صیاد Sayaad	55.95ef	5.5	MR	نیمه مقاوم
36	شکوفا Shokoofa	18.00 hij	1.83	R	مقاوم
37	دانشکده Daneshkadeh	23.60 h	2.84	R	مقاوم
38	کوشا Koosha	98.00 a	9	S	حساس
39	اختر Akhtar	40.20 g	5.17	MR	نیمه مقاوم
40	درسا Dorsa	22.20 hi	2.67	R	مقاوم

میانگین‌ها با حروف مشابه در هر ستون فاقد اختلاف معنی‌دار در سطح احتمال ۱٪ هستند.

Mean with similar letters in each column are not significantly different at 1% probability level

منابع References

ارشاد، ج. ۱۳۷۴. قارچ‌های ایران. انتشارات سازمان تحقیقات، آموزش و ترویج کشاورزی. ۸۷۴ صفحه.

احمدی نژاد، ا. ۱۳۶۸. بیماری آنتراکنوز لوبیا. خلاصه مقالات نهمین کنگره گیاهپزشکی ایران، دانشکده کشاورزی دانشگاه فردوسی. مشهد. صفحه ۷۶.

بی‌نام. ۱۳۹۴. آمار نامه کشاورزی. انتشارات وزارت جهاد کشاورزی، معاونت برنامه‌ریزی و اقتصادی مرکز فناوری و ارتباطات. جلد اول. صفحه ۱۲.

Atghia, O., Alizadeh, A. and Fotouhifar, K. H. B. 2015. First report of *Colletrichum fructicola* as the causal agent of anthracnose on common bean and cowpea. Mycologia Iranica 2(2): 139-140.

Bailey, J. A. and Jeger, M. J. 1992. *Colletotrichum* :biology, pathology and control. CAB International. Wallingford, UK.

Balardin, R. S., Jarosz, M. and Kelly, J. D. 1997. Virulence and molecular diversity in *Colletotrichum lindemuthianum* from South, Central, and North America. Phytopathology 87: 1184-1191.

Baxter, A. P., Van der Westhuizen, G. C. A. and Eicker, A. 1983. Morphology and taxonomy of South African isolates of *Colletotrichum*. South African Journal of Botany 2: 259-289.

Broughton, W. J., Hernandez, G., Blair, M. W., Beebe, S. E., Gepts, P. and Vanderleyden, J. 2003. Beans (*Phaseolus vulgaris* L spp.) -model food legumes. Plant Soil 252: 55-128.

Chaves, G. 1980. La Antracnosis. In: Schwartz, H. F. and Galvez G. E. (eds), Problemas de producio´ n del frijol; enfermidades, insectos, limitaciones eda´ ficas y clima´ ticas de *Phaseolus vulgaris*, CIAT, Cali. pp. 37-53.

Dhingra, O. D. and Sinclair, J. B. 1995. Basic Plant Pathology Methods. 2th ed. Lewis Publishers, Boca Raton, Florida, USA. 434pp.

Dillard, H. R. 1988. Bean Anthracnose. Department of Plant Pathology, New York State, Agricultural Experiment Station, Geneva Cornell University

Leach, G.B. 1922. The Parasitism of *Colletotrichum lindemuthianum*. University of Minnesota. Retrieved, USA

Mahuku, G. S., Jara, C. E., Cajiao, C. and Beebe, S. 2002. Sources of resistance to *Colletotrichum lindemuthianum* in the secondary gene pool of *Phaseolus vulgaris* and in crosses of primary and secondary gene pools. Plant Disease 86(12): 1383-7.

Melotto, M., and Kelly, J. D. 2000. An allelic series at the Co-1 locus for anthracnose in common bean of Andean origin. Euphytica 116: 143-149.

Menezes, J. R. and Dianese, J. C. 1988. Race characterization of Brazilian isolates of *Colletotrichum lindemuthianum* and detection of resistance to anthracnose in *Phaseolus vulgaris*. Phytopathology 78: 650-655.

Mukankusi, C. 2008. Improving resistance to Fusarium root rot (*Fusarium solani* f.sp. *phaseoli*) in common bean (*Phaseolus vulgaris* L.) in Uganda. PhD Thesis. University of KwaZulu-Natal, S. Africa.

Munda, A., Radisek, S., Šuštar-Vozlic, J. and Javornik, B. 2009. Genetic variability of *Colletotrichum lindemuthianum* isolates from Slovenia and resistance of local *Phaseolus vulgaris* germplasm. Journal of Plant Diseases and Protection 116: 23-29.

Padder, B. A., Sharma, P. N. and Sharma, O. P. 2010. Distribution of *Colletotrichum lindemuthianum* race flora and its implicati on in deployment of resistant sources across Himachal Pradesh. Research Journal of Agricultural Sciences 1(1): 1-6.

Pastor-Corrales, M. A., Otoya, M. M., Molina, A. and Singh, S. P. 1995. Resistance to *Colletotrichum lindemuthianum* isolates from Middle America and Andean South America in different common bean races. Plant Dis. 79:63-67.

Rajesha, G. and Mantur, S. 2014. Studies on morphological and cultural characters of *Colletotrichum lindemuthianum* inciting Anthracnose of *Dolichos* bean. Journal of Mycopathological Research 52(1): 121-124.

Schwartz, H., Corrales, M. P. and Singh, S. 1982. New sources of resistance to anthracnose and angular leaf spot of beans (*Phaseolus vulgaris* L.). Euphytica 31: 741-754.

Sharma, P. N., Kumar, A., Sharma, O. P., Sud, D. and Tyagi, P. D. 2008. Pathogenic Variability in *Colletotrichum lindemuthian*um and Evaluation of Resistance in Phaseolus vulgaris in the North-Western Himalayan Region of India. Journal of Phytopathology 147(1): 41-45.

Silva, K. J. D., Souza, E. A. and Ishikawa, F. H. 2007. Characterization of *Colletotrichum lindemuthianum* isolates from the state of Minas Gerais, Brazil. Journal of Phytopathology 155: 241-247.

Singh, B. B., Mohanraj, D. R., Dashiell, K. E. and Jackai, L. E. N.1997. Advances in Cowpea Research. 372 pp.

Sutton, B. C. 1992. The genus *Glomerella* and its anamorph *Colletotrichum*. Pp. 1-26. In: Bailey, J. A. and Jeger, M. J. (eds.) ***Colletotrichum* :biology, pathology and control CAB International, Wallingford**.

Van Schoonhoven, A. and Pastor-Corrales, M. A. 1987. Standard System for the Evaluation of Bean Germplasm, Cali, Colombia, CIAT, 56pp.

Vidigal, P. S., Goncalves-vidigal, M. C., Kelly, J. D. and Kirk, W. W. 2007. Sources of resistance to anthracnose in traditional common bean cultivars from Parana. Brazil Phytopathology 155: 108-113

Von Arx, J. A. 1957. Die Arten der Gattung *Colletotrichum* Cda. Phytopathologische Zeitschrift 29: 413-468.

Young, R. A., Melotto, M., Nodari, R. O. and Kelly, J. D. 1998. Marker-assisted dissection of the oligogenic anthracnose resistance in the common bean cultivar, G 2333. Theoretical Applied Genetics 96: 87-94.

Zakaria, M. and Bailey, J. A. 2000. Morphology and cultural variation among *colletotrichum* isolates obtained from tropical forest nurseries. Journal of Tropical Forest Science 12: 1-20.