

بِسْمِ اللَّهِ الرَّحْمَنِ الرَّحِيمِ



دانشگاه زنجان

دانشکده کشاورزی

پایان نامه کارشناسی ارشد مهندسی گیاه پزشکی (بیماری شناسی گیاهی)

بررسی خصوصیات فنوتیپی و ژنوتیپی باکتری‌های عامل سوختگی معمولی لوبیا در
استان زنجان

فاطمه محمدی

استاد راهنما

دکتر علیرضا معرفت

استاد مشاور

مهندس محمدرضا لک

زمستان ۱۳۸۸

چکیده

بیماری سوختگی معمولی از بیماری‌های مهم لوبیا می‌باشد و به دلیل اهمیت استان زنجان از نظر کشت این محصول وجود این بیماری هم حائز اهمیت می‌باشد. تحقیق حاضر به منظور شناسایی و تعیین تنوع جدایه‌های باکتری عامل بیماری و مقایسه آنها با جدایه‌های شناخته شده صورت گرفت. از برگ و غلاف در بوته‌های لوبیا با علائم لکه‌های آب سوخته با هاله زردرنگ، از مناطق مختلف استان زنجان نمونه برداری گردید. کلیه جدایه‌ها با سه جدایه شناخته شده (استان مرکزی، اصفهان و لرستان) از نظر خصوصیات بیوشیمیایی، فیزیولوژیکی، مورفولوژیکی و اثبات بیماری‌زایی مورد مقایسه قرار گرفتند. علاوه بر این با استفاده از روش rep-PCR، تنوع جدایه‌ها مورد بررسی قرار گرفت. بر اساس آزمون‌های بیوشیمیایی، فیزیولوژیکی، مورفولوژیکی و اثبات بیماری‌زایی، باکتری‌های جدا شده در استان زنجان *Xanthomonas axonopodis* pv. *phaseoli* شناسایی شدند. آنالیز داده‌ها در روش rep-PCR با استفاده از برنامه NTSYS انجام گرفت و مشخص شد که تنوع ژنتیکی زیادی در جدایه‌های جمع آوری شده از مناطق مختلف استان وجود دارد. با استفاده از نتایج دندروگرام‌های حاصل از آنالیز داده‌ها در روش rep-PCR و آزمون‌های بیوشیمیایی، می‌توان نتیجه گرفت که تفاوت‌های زیادی در جدایه‌های جمع آوری گردیده از مناطق مختلف استان وجود دارد، که نشانگر وجود تنوع در سویه *X. a. pv. phaseoli* در این استان بوده و می‌تواند دلیلی بر قابلیت تغییرپذیری این گونه باشد. نتایج این مطالعات نشان می‌دهد که سوختگی معمولی در استان زنجان گسترش زیادی دارد و یکی از بیماری‌های خسارت‌زا می‌باشد.

کلمات کلیدی: لوبیا، سوختگی معمولی، *Xanthomonas axonopodis* pv. *phaseoli*، استان زنجان، rep-PCR.

فهرست مطالب

عنوان

مقدمه ۸

فصل اول: بررسی منابع

۱-۱. بیماری‌های لوبیا ۱۳

۱-۱-۱. بیماری‌های قارچی ۱۳

۱-۱-۱-۱. پوسیدگی ریزوکتونیایی ریشه ۱۳

۱-۱-۱-۲. پوسیدگی پیتومی ریشه ۱۳

۱-۱-۱-۳. پوسیدگی فوزاریومی ریشه ۱۳

۱-۱-۱-۴. آنتراکنوز ۱۴

۱-۱-۱-۵. سفیدک پودری ۱۴

۱-۱-۱-۶. سفیدک داخلی ۱۴

۱-۱-۱-۷. زنگ لوبیا ۱۵

۱-۱-۱-۸. لکه برگ آلترناریایی ۱۵

۱-۱-۱-۹. لکه برگ زاویه‌ای ۱۵

۱-۱-۱-۱۰. لکه برق زدگی برگ و غلاف ۱۶

۱-۱-۱-۱۱. سوختگی خاکستری ساقه ۱۶

۱-۲. بیماری نماتدی ۱۶

۱-۲-۱. نماتد گره ریشه ۱۶

۱-۳. بیماری‌های ویروسی ۱۷

- ۱۷-۱-۳-۱. ویروس موزاییک معمولی لوبیا (BCMV) و ویروس موزاییک زرد لوبیا (BYMV) ۱۷
- ۱۷-۱-۳-۲. ویروس پیچیدگی ۱۷
- ۱۸-۱-۳-۳. موزاییک طلائی لوبیا ۱۸
- ۱۸-۱-۴. بیماری‌های باکتریایی ۱۸
- ۱۸-۱-۴-۱. سوختگی هاله‌ای ۱۸
- ۱۸-۱-۴-۲. لکه قهوه‌ای باکتریایی ۱۸
- ۱۹-۱-۴-۳. پژمردگی باکتریایی ۱۹
- ۱۹-۲. تاریخچه بیماری سوختگی باکتریایی لوبیا ۱۹
- ۱۹-۲-۱. تاریخچه بیماری در دنیا ۱۹
- ۲۰-۲-۲. تاریخچه بیماری در ایران ۲۰
- ۲۰-۳. علائم بیماری ۲۰
- ۲۱-۴. مکانیسم بیماری ۲۱
- ۲۲-۵. عامل بیماری ۲۲
- ۲۲-۶. جایگاه طبقه‌بندی، تکامل و ویژگی‌های باکتری‌شناسی عامل بیماری ۲۲
- ۲۲-۶-۱. خصوصیات باکتری‌شناسی جنس *Xanthomonas* ۲۲
- ۲۳-۶-۲. خصوصیات باکتری‌شناسی *X. phaseoli* ۲۳
- ۲۵-۶-۳. خصوصیات باکتری‌شناسی *X. fuscans* subsp. *fuscans* ۲۵
- ۲۵-۶-۴. تغییرات درون گونه و زیرگونه‌ای ۲۵

- ۱-۷. پراکنش جغرافیایی بیماری در جهان ۲۶
- ۱-۸. دامنه میزبانی عامل بیماری ۲۷
- ۱-۹. خصوصیات بیولوژیکی و اپیدمیولوژیکی ۲۸
- ۱-۹-۱. انتشار باکتری و دوره کمون ۲۸
- ۱-۹-۲. زمستان‌گذرانی و بقا باکتری ۲۸
- ۱-۱۰. فاکتورهای محیطی موثر در شدت بیماری ۲۹
- ۱-۱۱. کنترل بیماری ۳۰
- ۱-۱۲. اهمیت بیماری در جهان و ایران ۳۰
- ۱-۱۳. تنوع ژنتیکی ۳۱
- ۱-۱۴. بررسی تنوع ژنتیکی پاتوژن‌های سوختگی باکتریایی معمولی ۳۱
- ۱-۱۵. کاربرد rep-PCR در بررسی تنوع ژنتیکی ۳۲

فصل دوم: مواد و روش‌ها

- ۲-۱. نمونه‌برداری ۳۵
- ۲-۲. جداسازی باکتری‌ها از نمونه‌های گیاهی جمع‌آوری شده ۳۶
- ۲-۳. نگهداری جدایه‌ها ۳۶
- ۲-۴. بررسی ویژگی‌های فنوتیپی - بیوشیمیایی و تغذیه‌ای جدایه‌ها ۳۷
- ۲-۴-۱. آزمون گرم‌حلالیت در پتاس ۳ درصد ۳۷
- ۲-۴-۲. آزمون فوق‌حساسیت روی شمعدانی (Hypersensitivity reaction (HR) ۳۷
- ۲-۴-۳. آزمون خصوصیات کلنی روی محیط King-B agar (KB) ۳۷

- ۳۸..... ۲-۴-۴. آزمون رشد هوازی و بی‌هوازی
- ۳۸..... ۲-۴-۵. آزمون اکسیداز
- ۳۸..... ۲-۴-۶. آزمون کشت روی محیط YDC
- ۳۸..... ۲-۴-۷. آزمون تحمل نمک طعام ۵٪ و ۶٪
- ۳۹..... ۲-۴-۸. آزمون هیدرولیز ژلاتین
- ۳۹..... ۲-۴-۹. آزمون هیدرولیز توئین ۸۰
- ۳۹..... ۲-۴-۱۰. آزمون هیدرولیز نشاسته
- ۳۹..... ۲-۴-۱۱. آزمون احیای نیترات
- ۳۹..... ۲-۴-۱۲. آزمون کازئین
- ۴۰..... ۲-۴-۱۳. آزمون هیدرولیز اسکولین
- ۴۰..... ۲-۴-۱۴. آزمون تولید سولفید هیدروژن
- ۴۰..... ۲-۴-۱۵. آزمون استفاده از کربوهیدرات‌ها
- ۴۰..... ۲-۴-۱۶. آزمون احیای شیرلیتموس
- ۴۰..... ۲-۴-۱۷. آزمون رشد در ۳۵°C
- ۴۱..... ۲-۴-۱۸. آزمون کاتالاز
- ۴۱..... ۲-۵. اثبات بیماری‌زایی جدایه‌ها روی لوبیا
- ۴۲..... ۲-۶. بررسی تنوع ژنتیکی جدایه‌ها با روش rep-PCR
- ۴۲..... ۲-۶-۱. پرایمرها
- ۴۳..... ۲-۶-۲. آماده سازی نمونه‌ها
- ۴۳..... ۲-۶-۲-۱. لیز شدن سلولها توسط حرارت(جوشاندن)

۴۳ DNA استخراج ۲-۶-۲-۲
۴۴ PCR تهیه مخلوط ۲-۶-۳
۴۵ PCR برنامه ۲-۶-۴
۴۶ PCR بررسی نتایج ۲-۶-۵
۴۷ تجزیه و تحلیل مشاهدات ۲-۷
۴۷ تشکیل ماتریکس یک و صفر ۲-۷-۱

فصل سوم: نتایج

۴۹ نمونه برداری ۳-۱
۵۰ جدایه‌های سفید شده ۳-۲
۵۱ بررسی ویژگی‌های فنوتیپی-بیوشیمیایی و تغذیه‌ای جدایه‌ها ۳-۳
۵۳ اثبات بیماری‌زایی جدایه‌ها روی لوبیا ۳-۴
۵۶ آماده سازی نمونه‌ها ۳-۵
۵۷ آغازگرهای مورد استفاده ۳-۵-۱
۵۸ نتایج حاصل از BOX-PCR ۳-۵-۱-۱
۵۸ نتایج حاصل از ERIC-PCR ۳-۵-۱-۲
۶۱ بررسی روابط ژنتیکی بین جدایه‌ها ۳-۶
۶۱ تجزیه خوشه‌ای داده‌های ملکولی ۳-۶-۱

فصل چهارم: بحث

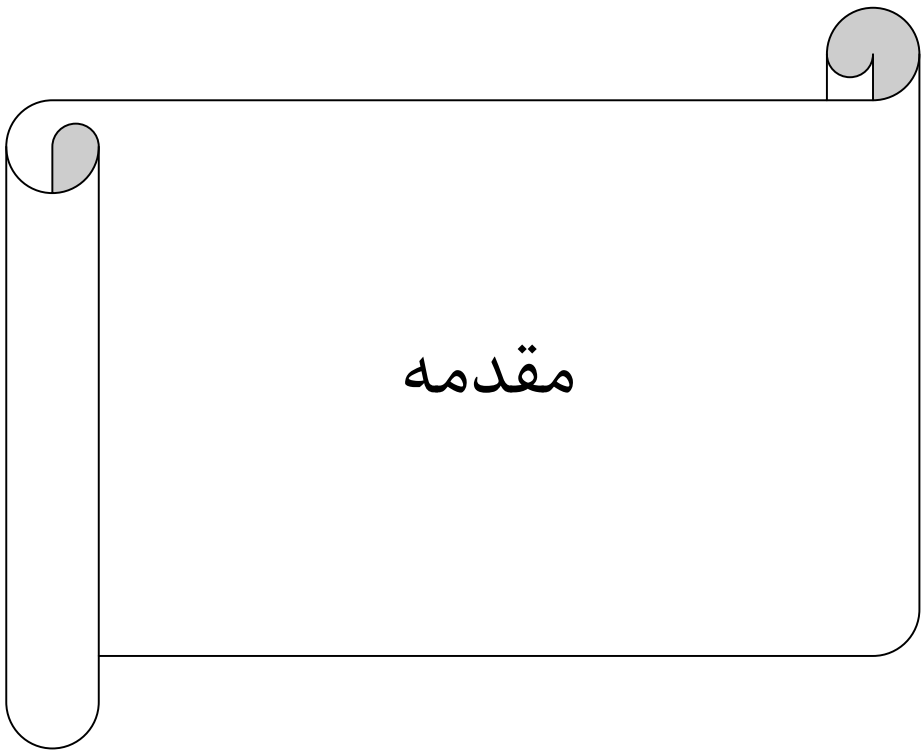
۶۴ بحث

۷۰ منابع:

پیوست‌ها

Error! Bookmark not defined. پیوست ۱-آزمون‌ها

۸۶ پیوست ۲-محلول‌ها و بافرها



مقدمه

لوبیا معمولی (*Phaseolus vulgaris* L.) متعلق به خانواده بقولات (*Leguminosae*) و از زیر خانواده پروانه آسا (*Papilionoideae*) می‌باشد. لوبیا گیاهی است یکساله، دولپه و دارای ساقه باریک، بندبند و زاویه‌دار که به فرم‌های بوته‌ای یا خزنده دیده می‌شوند. این نبات دارای یک ریشه اصلی است که تا عمق یک متری و چندین ریشه جانبی که در خاک رویی تا عمق ۲۰-۱۵ سانتی‌متری توسعه می‌یابند. برگ‌های لوبیا مرکب بوده و هر برگ از سه برگچه تشکیل یافته که توسط دم‌برگ بلندی بصورت متناوب در روی ساقه قرار گرفته‌اند. کنار هر برگچه یک عدد گوشوارک وجود دارد، برگچه‌ها کرکدار، پهن و در انتها به یک راس باریک ختم می‌گردند. برگ‌ها دارای رگبرگ‌های منشعب بوده و به اشکال گوناگون در بوته‌های مختلف مشاهده می‌شوند. برگ لوبیا زبر، دارای کرک‌های خشن و سختی می‌باشند که در اثر لمس کردن احساس می‌شوند. گل آذین لوبیا خوشه‌ای بوده و در خوشه ۸-۲ گل در امتداد دمگل خوشه‌ای قرار دارند. گل‌ها به رنگ‌های متنوع از قبیل سفید، ارغوانی و صورتی مایل به بنفش دیده می‌شوند. در اغلب انواع لوبیا وقتی گل آذین ظاهر می‌شود رشد بوته متوقف شده و در نتیجه رسیدن یکنواخت محصول و برداشت مکانیکی امکان‌پذیر می‌گردد. نیام یا میوه که پس از انجام عمل تلقیح گل‌ها بوجود می‌آیند، کشیده و آویزان هستند. رنگ، شکل و طول غلاف‌ها بسته به ارقام مختلف متفاوت خواهند بود و در بعضی از انواع لوبیا موقعی که نیام‌ها سبز و تازه هستند. بصورت گوشتی بوده، سبز و نارس مصرف می‌شوند و در برخی دیگر نیام‌ها لیفی، سخت و غیر قابل خوردن می‌باشند که از نظر دانه مورد استفاده قرار می‌گیرند. غلاف‌های لوبیا از نظر شکل ممکن است خمیده و یا مستقیم، پهن و یا استوانه‌ای باشند. آنها پس از رسیدن بوسیله دو شکاف طولی باز شده و دانه‌ها به بیرون می‌ریزند. دانه‌ها در ارقام مختلف به اشکال متفاوت و به رنگ‌های سفید، سیاه، قرمز، صورتی، بنفش، کرم، خاکستری، قهوه‌ای، منقوط و مخطط دیده می‌شوند. شکل دانه‌ها نیز قله‌ای، کروی و یا استوانه‌ای است (مجنون حسینی، ۱۳۸۳). لوبیا یکی از

مهمترین گونه‌های خانواده لگومینوز است و متعلق به دو جنس فازنولوس و ویگنا می‌باشد که به ترتیب بومی آمریکا و آسیا هستند. گونه‌های مهم لوبیا عبارتند از:

لوبیای معمولی (*P. vulgaris*)

لوبیا لیما یا فرنگی (*P. limensis*)

لوبیاهای روند اسکارلت یا لوبیا قرمز (*P. coccieus*)

لوبیا تپاری (*P. actifolius*)

لوبیا چشم بلبلی (*Vigna unguiculata*)

حبوبات به عنوان دومین منبع غذایی بشر پس از غلات عمده‌ترین منبع پروتئین گیاهی محسوب می‌شوند. در بین حبوبات از لحاظ سطح زیرکشت و ارزش اقتصادی مقام اول متعلق به لوبیا است. لوبیا یکی از حبوبات عمده در دنیا محسوب می‌شود که دارای ۲۵-۲۰ درصد پروتئین و ۵۶-۵۰ درصد کربوهیدرات است که در جهان هم از نظر اقتصادی و هم از نظر مواد غذایی اهمیت بسیار دارد. و بطور زیاد به عنوان یک پروتئین توسط خانواده‌های کم درآمد در کشورهای توسعه یافته مصرف می‌شوند (Karavina, et al., 2008). لوبیا در جهان در بین حبوبات دارای بیشترین سطح زیر کشت معادل ۲۷ میلیون هکتار بوده که با عملکردی معادل ۵۶۸ کیلوگرم در هکتار مجموعاً ۱۵۱۵ میلیون تن تولید دارد (مجنون حسینی، ۱۳۸۳). لوبیا در پنج قاره دنیا کشت می‌گردد در کشورهای از جمله: مصر، اتیوپی، کنیا، مالزی، مالاوی، جنوب افریقا، سودان، تانزانیا، یوگاندا، زامبیا، زیمبابوه، چین، ژاپن، کره، نپال، فیلیپین، سریلانکا، تایوان، ترکیه، استرالیا، هاوایی، نیوزلند، آلمان، اسپانیا، کوبا، شیلی، کلمبیا و برزیل کشت می‌گردد. آسیا و آمریکا به ترتیب با بیش از ۳۰ و ۴۰ درصد بالاترین سطح زیر کشت را بخود اختصاص داده‌اند (مجنون حسینی، ۱۳۸۳). سطح زیر کشت لوبیا طی سال ۸۴-۸۳ در ایران ۱۱۳۱۴ هکتار

به میزان تولید ۲۱۶۱۳۱/۱۶ تن و میزان عملکرد ۱۲۲۷/۷۶ کیلوگرم در هکتار گزارش شده است (پارسا و باقری، ۱۳۸۷). علاوه با میانگین عملکرد تولید ۱۵۳۷۳ کیلوگرم در هکتار، لوبیا دارای بالاترین متوسط عملکرد بین حبوبات است (شونهوون و ویسست، ۱۳۸۰). از مناطق مهم کشت این محصول در ایران استان‌های مرکزی، زنجان، فارس و لرستان هستند. میزان تولید و سطح زیرکشت این محصول در استان مرکزی به ترتیب ۳۶۱۹۰ تن و ۱۶۸۷۴ هکتار می‌باشد (Anonymous, 2008 b).

استان زنجان در ناحیه مرکزی شمال غربی ایران واقع شده است. این استان بر اساس آخرین تقسیمات کشوری در سال ۱۳۷۶ دارای هفت شهرستان به نام‌های زنجان، ابهر، خرمدره، خدابنده، ایجرود، طارم و ماهنشان می‌باشد. وسعت استان برابر ۲۲۱۶۴ کیلومتر مربع است که ۱/۳۴ درصد کل کشور می‌باشد. استان از دو منطقه کوهستانی و جلگه‌ای تشکیل یافته است. میزان بارندگی در این استان، سالانه ۳۲۳ میلی‌لیتر و میانگین تعداد روزهای یخبندان آن در طول سال، ۱۱۵ روز است. حداکثر مطلق دما در شهر زنجان ۴۰ و حداقل آن ۲۹/۶- درجه سانتی‌گراد ثبت شده است.

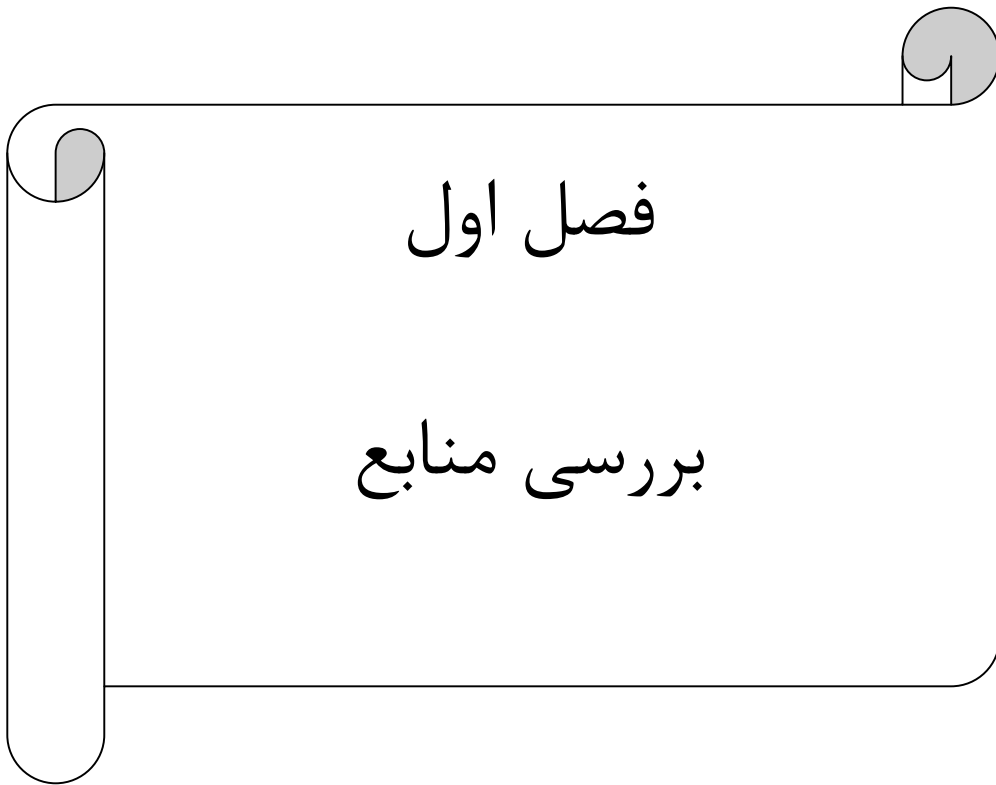
محصولات عمده کشاورزی استان که اکثراً صادر هم می‌شوند عبارت‌اند از: انجیر، برنج، انگور، زرد آلو، سیب، لوبیا، خیار، پیاز، گردو، فندق، بادام، زیتون، انار و سیر (بی‌نام، ۱۳۸۸).

استان زنجان یکی از مهمترین تولید کنندگان لوبیا در ایران است. این استان مقام چهارم سطح زیر کشت لوبیا آبی را دارا می‌باشد، سطح زیر کشت لوبیا در سال ۸۳-۸۴ برای استان زنجان ۸۱۳۱ به میزان تولید ۱۷۹۰۸/۳۲ تن و میزان عملکرد ۲۲۰۲/۴۷ کیلوگرم گزارش شده است (پارسا و باقری، ۱۳۸۷) و از این نظر در بین استان‌های کشور در رتبه سوم قرار می‌گیرد (بی‌نام، ۱۳۸۲). بر اساس اطلاعات منتشر نشده سازمان جهاد کشاورزی استان زنجان در سال زراعی ۸۸ سطح زیر کشت لوبیا در شهرستان ابهر ۴۵۰۰ هکتار، خرمدره ۲۵۰۰، خدابنده ۷۰۰ هکتار و شهرستان زنجان ۱۵۰ هکتار گزارش شده است. لذا مهمترین مراکز تولید لوبیا در استان زنجان سه

شهرستان ابهر، خرمدره و خدابنده می‌باشد. هزینه تولید عملکرد در واحد سطح و قیمت فروش محصول سه عامل مهم هستند که تاثیر ویژه‌ای بر سودآوری و در نتیجه ایجاد انگیزه‌های لازم برای حفظ یا توسعه سطح زیر کشت لوبیا دارند. بطوریکه هزینه کمتر تولید این محصول در مقایسه با بسیاری از دیگر محصولات زراعی و از طرفی سودآوری بیشتر لوبیا نسبت به سایر محصولات باعث افزایش سطح زیر کشت آن شده است. از دیگر عواملی که سبب گسترش سطح زیر کشت لوبیا در استان شده است می‌توان به خاصیت انبارداری بالای آن نسبت به محصولات زراعی دیگر همچون سبزی و صیفی، عدم نیاز به دستگاه و ماشین خاص برای کشت، قدمت کشت لوبیا در استان و وجود تجربه لازم در این زمینه اشاره کرد (پارسا و باقری، ۱۳۸۷).

هدف:

از جمله عواملی که عملکرد لوبیا را تحت تاثیر قرار می‌دهند عوامل بیماری‌زای گیاهی می‌باشند. از جمله می‌توان به بیماری‌های باکتریایی اشاره کرد که یکی از مهمترین این بیماری‌ها، بیماری سوختگی معمولی لوبیا می‌باشد. بدلیل سهولت انتقال بذر، احتمال وجود بیماری‌های مختلفی به این دلیل وجود داشته است و علائمی از بیماری سوختگی معمولی در استان دیده شده است. طی این تحقیق وجود یا عدم وجود بیماری و تنوع ژنتیکی بین جدایه‌های جدا شده از مزارع استان زنجان، مورد مطالعه قرار گرفت. همچنین مقایسه جدایه‌های جدا شده از لوبیاهای استان بر اساس خصوصیات مولکولی، گروه‌بندی و تعیین میزان شباهت‌ها و تفاوت‌های باکتری مولد بیماری در استان زنجان با جدایه‌های شناخته شده نیز انجام شده و سرانجام پراکنش بیمارگر در سطح استان تعیین گردید.



فصل اول

بررسی منابع

۱-۱. بیماری‌های لوبیا

۱-۱-۱. بیماری‌های قارچی

۱-۱-۱-۱. پوسیدگی رایزوکتونیا (Rhizoctonia root rot): عامل بیماری *Rhizoctonia solani* می‌باشد. علائم تپیک شامل زخم‌های کوچک، کشیده، فرورفته و قرمز مایل به قهوه‌ای روی ریشه‌ها و هیپوکوتیل‌های گیاهان جوان می‌باشد. زخم‌ها در سطح خاک ایجاد می‌شوند و در ابتدا بصورت آب سوخته‌اند که با گذشت زمان خشک می‌شوند، و به قرمز متمایل به قهوه‌ای و قرمز آجری تغییر رنگ می‌دهند. زخم‌ها گیاهچه‌ها را احاطه کرده و باعث کوتولگی و مرگ گیاهان می‌شوند (Hagedorn, et al., 1986).

۱-۱-۱-۲. پوسیدگی پیتیومی ریشه (Pythium root rot): بیماری توسط یک گروه از قارچ‌های خاکزاد در جنس *Pythium* ایجاد می‌شوند و در نتیجه باعث پوسیدگی بذر پیش و پس از جوانه‌زنی و *damping off* گیاهچه می‌شود. پیتیوم می‌تواند باعث توقف رشد گیاهان ضعیف، کوتولگی و بی‌رنگی برگ‌ها شود. در ابتدا به بذور و ریشه‌ها حمله می‌کند، بذور آلوده نرم شده و تغییر رنگ می‌دهند. ریشه‌های بیمار تغییر رنگ داده و از بی‌رنگی به قهوه‌ای تیره و با زخم‌های آب سوخته مشخص می‌شوند. بافت آلوده نرم، آبکی و به آسانی از استوانه مرکزی ساقه توسط کشیدن ریشه بین انگشت شست و راهنما جدا می‌شود. غلاف‌های آلوده آب سوخته شده و با یک پوشش سفید قارچی پوشیده می‌شوند (Hagedorn, et al., 1986).

۱-۱-۱-۳. پوسیدگی فوزاریومی ریشه (Fusarium root rot): این بیماری توسط *Fusarium solani* f.sp. *phaseoli* ایجاد می‌شود. علائم تا یک هفته یا بیشتر، بعد از ظهور گیاهچه‌ها ظاهر نمی‌شوند. اولین علائم شکاف‌های باریک، کشیده و قهوه‌ای مایل به قرمز روی هیپوکوتیل و ریشه عمودی اصلی می‌باشند. ریشه عمودی اصلی ممکن است چروکیده شده و بمیرد. دسته‌های ریشه‌های فیبری ممکن است بالای ریشه عمودی اصلی

چروکیده شده، توسعه پیدا کند. این ریشه‌های فیبری گیاه را، تحت شرایط رشدی ایده‌آل زنده نگاه می‌دارند. گیاهان آلوده کوتوله می‌شوند و تغییر رنگ داده و به آرامی نسبت به گیاهان سالم رشد می‌کنند (Hagedorn, et al., 1986).

۴-۱-۱-۱. آنتراکنوز (Anthracnose): عامل بیماری *Colletotrichum lindemuthianum* می‌باشد. علائم روی برگ‌ها، ساقه‌ها، غلاف‌ها و بذور دیده می‌شود. زخم‌ها روی ساقه‌ها بصورت شانکرهای بیضی فرورفته به بالا و پایین ساقه توسعه می‌یابند، زخم یک ظاهر لکه چشمی دارند زخم‌ها کشیده، زاویه‌دار و قرمز آجری تا ارغوانی و در طی زمان قهوه‌ای تیره به سیاه می‌شوند. زخم‌ها اغلب به دنبال رگبرگ‌های برگ روی سطح پایینی ایجاد می‌شوند در آلودگی شدید، نواحی مرده زاویه‌دار تشکیل می‌شود و روی سطح بالایی برگ گیاهان ظاهری خشن ایجاد می‌گردد. غلاف‌های جوان چروکیده و خشک می‌شوند. در ابتدا لکه‌های کوچک، کشیده و قهوه‌ای مایل به قرمز دیده می‌شوند. این لکه‌ها قدری حلقوی و در مرکز فرورفته‌اند و یک حاشیه قهوه‌ای زنگ زده اطراف هر زخم تشکیل می‌شود (Hagedorn, et al., 1986).

۵-۱-۱-۱. سفیدک پودری (powdery mildew): عامل بیماری *Erysiphe polygoni* می‌باشد. این بیماری تشکیل لکه‌های کوچک، گرد و نسبتاً سفید روی برگ‌های اولیه می‌دهد، رشد قارچ پنبه‌ای در لکه‌های سفید دیده می‌شود. عاقبت تمام برگ با یک پودر طلق مانند پوشیده می‌شود. در حالات شدید برگ‌ها کج و زرد خواهند شد و امکان دارد قبل از بلوغ بمیرند و در نتیجه برگ‌ریزی وسیعی ایجاد می‌شود. ساقه‌ها و غلاف‌ها می‌توانند هم چنین آلوده شوند، روی غلاف‌های آلوده لکه‌های ارغوانی توسعه می‌یابند و ممکن است کج شوند (Hagedorn, et al., 1986).

۶-۱-۱-۱. سفیدک داخلی (Downy mildew): عامل بیماری *Phytophthora phaseoli* می‌باشد. سفیدک داخلی توسط رشد قارچ پنبه‌ای که روی غلاف‌ها تشکیل می‌دهد، شناخته می‌شود. یک حاشیه ارغوانی

یا قهوه‌ای مایل به قرمز ممکن است اطراف ناحیه آلوده توسعه پیدا کند. غلاف‌های آلوده چروکیده شده، می‌میرند و سیاه می‌گردند و اغلب پیوسته به گیاه باقی می‌مانند. قارچ از طریق غلاف و بذور آلوده نفوذ می‌کند. رگبرگ‌های برگ ارغوانی و کج می‌شوند. بیماری می‌تواند باعث *damping off* گیاهچه شود (Hagedorn, *et al.*, 1986).

۷-۱-۱-۱. زنگ لوبیا (Rust of beans): زنگ توسط قارچ *Uromyces phaseoli var. typical* علائم اولیه زنگ، لکه‌های کوچک و سفید روی سطح پایینی برگ می‌باشند. این ساختارهای جوش مانند توسط یک هاله زرد رنگ احاطه می‌شوند. در یک هفته این پاستول‌ها شکافته و زخم‌های زنگی رنگ ظاهر می‌شود که در حد اندازه سر سنجاق می‌باشند. دسته اسپوره‌های رنگی به رنگ زنگی در خواهند آمد. این زخم‌ها روی سطح پایینی و بالایی برگ‌ها ظاهر می‌شوند. در حدود یک هفته پاستول‌ها ظاهر می‌شوند و برگ‌ها کاملاً زرد خواهند شد. برگ‌های شدیداً آلوده زرد، چروکیده و خشک می‌شوند و نارس می‌ریزند و در آلودگی شدید، مزرعه ظاهری سوخته پیدا می‌کند (Hagedorn, *et al.*, 1986).

۸-۱-۱-۱. لکه برگی آلترناریایی (Alternaria leaf spot): عامل بیماری قارچ *Alternaria alternate* می‌باشد. روی برگ‌ها زخم‌های کوچک، قهوه‌ای با شکل نامرتب که به زخم‌های بزرگتر و قهوه‌ای تا خاکستری بیضی شکل با دوایر متحدالمرکز توسعه پیدا می‌کنند. چندین زخم به هم متصل می‌شوند و نواحی نکروتیک را ایجاد می‌کنند و برگ ظاهری گلوله‌ای پیدا می‌کند. برگ‌ریزی برگ‌های پایینی قبل از بلوغ اتفاق می‌افتد. زخم‌های قهوه‌ای مایل به قرمز با هم ترکیب شده و خطوط بلندی را روی غلاف‌ها بوجود می‌آورند (Hagedorn, *et al.*, 1986).

۹-۱-۱-۱. لکه برگی زاویه‌ای (Angular leaf spot): عامل بیماری قارچ *Isariopsis griseola* می‌باشد. گیاهان بیمار توسط لکه‌های زاویه‌دار روی برگ‌ها مشخص می‌شوند. در ابتدا زخم‌ها خاکستری سبز هستند اما

بعداً قهوه‌ای تیره یا سیاه می‌شوند زخم‌ها بزرگ شده و با هم ترکیب می‌شوند و برگ آلوده و کلروتیک می‌گردند. سطح زیری برگ‌ها سیاه نم‌دی شکل، که در اثر اسپوره‌های بیمارگر می‌باشند. برگ ریزی قبل از بلوغ اتفاق می‌افتد و روی غلاف‌های بیمار لکه‌های حلقوی شکل با مرکز قهوه‌ای مایل به قرمز تشکیل می‌شود (Hagedorn, et al., 1986).

۱-۱-۱-۱۰. لکه برق زدگی برگ و غلاف (Ascochyta leaf and pod spot): این بیماری توسط قارچ‌های *Ascochyta boltshauseri* و *A. phaseolorum* ایجاد می‌گردد. زخم‌های روی برگ بزرگ و قهوه‌ای روشن تا تیره هستند که یکسری دواير متحدالمرکز روی آنها دیده می‌شود، زخم‌ها ظاهری لایه‌دار دارند. پیکنیدهای کوچک و سیاه در بافت بیمار تشکیل می‌شود. زخم‌های روی غلاف قهوه‌ای تیره، کمی فرورفته و لایه‌دار هستند. در آلودگی‌های شدید باعث برگ‌ریزی قبل از بلوغ و کاهش نیروی گیاه می‌شوند (Hagedorn, et al., 1986).

۱-۱-۱-۱۱. سوختگی خاکستری ساقه (Ashy stem blight): این بیماری توسط قارچ *Macrophomina phaseoli* ایجاد می‌گردد. اولین علائم بصورت زخم‌های سیاه، فرورفته و کشیده فقط در سطح خاک و روی ساقه گیاهچه‌های لوبیا ظاهر می‌شوند. تمام ساقه‌ها بیمار شده و باعث پژمردگی، برگ‌ریزی قبل از بلوغ و مرگ گیاه می‌شوند. گاهی سوختگی ساقه روی یک طرف گیاه برجسته‌تر می‌باشد و حلقه‌های متحدالمرکز روی شانکرهای ساقه دیده می‌شوند. در بافت بیمار تعدادی اسکروتینای سیاه و/یا تعدادی پیکنیدهای جوش مانند سیاه کوچک تشکیل می‌شود (Hagedorn, et al., 1986).

۱-۱-۲. بیماری نمادی

۱-۱-۲-۱. نماد گره ریشه (Root-knot nematod): نماد گره ریشه *Meloidogyne* ssp. بیشتر نمادهای پارازیت معمول گیاهان هستند که باعث علائم یکسان بالای سطح زمین می‌شوند. گیاهان اغلب کوتوله

باقی می‌مانند و برگ‌های گیاهان آلوده بطور تپیک سبز کم‌رنگ تا زرد هستند و پژمردگی در طی قسمت‌های گرم‌تر روز اتفاق می‌افتد. علائم بیشتر در خاک‌های شنی و سبک شدید است. علائم در پایین سطح زمین بصورت گال‌ها، گره‌ها یا برجستگی‌ها ظاهر می‌شوند. گال‌ها به اندازه سر سنجاق تا ۱/۲ اینچ در قطر می‌باشند (Hagedorn, et al., 1986).

۳-۱-۱. بیماری‌های ویروسی

۳-۱-۱-۱. ویروس موزاییک معمولی لوبیا (BCMV) و ویروس موزاییک زرد لوبیا (BYMV): از بیماری‌های ویروسی که گیاه لوبیا را تحت تاثیر قرار می‌دهند. علائم ایجاد شده توسط این دو ویروس یکسان است و تفکیک این دو از هم مشکل است. علائم با وارپته، سن گیاهان، استرین ویروس و شرایط محیطی تغییر می‌کنند. هر دو ویروس باعث کوتولگی و کاهش محصول می‌شوند. روی برگ‌های گیاهان آلوده یک حالت موزاییک بی‌رنگ و رگه رگه دیده می‌شوند و در نتیجه سبز روشن‌تر و مرتب‌تر و تکه‌های زرد که بافت سبز تیره سالم ترکیب می‌شوند. گیاهان آلوده با BCMV در ابتدا فصل کوتوله و برگ‌های رگه رگه‌ای دارند. برگ‌ها بزرگتر و باریکتر از برگ‌های سالم هستند و تعدادی چروکیده شده و در حاشیه به سمت پایین پیچ می‌خورند. گیاهان آلوده به BYMV بیشتر کوتوله و پرپشت‌تر هستند، غلاف‌های گیاهان آلوده کوچکتر از حد معمول و پیچ خورده هستند (Hagedorn, et al., 1986).

۳-۱-۱-۲. ویروس پیچیدگی (curly top virus): این بیماری توسط BCTV ایجاد می‌شود. برگ‌ها به سمت پایین چروک خورده، حلقوی شده، زرد و در نهایت می‌میرند. برگ‌های اولیه ضخیم و شکننده هستند شکوفه‌های گیاهان ممکن است بریزند و گیاه به شدت کوتوله و دسته‌ای می‌گردد. گاهی برگ‌ها سبز تیره می‌شوند و غلاف‌ها کوتوله باقی می‌مانند (Hagedorn, et al., 1986).