ارزیابی مقاومت ارقام گوجه فرنگی علیه بیماری‌زایی جدایه‌های قارچ *Alternaria alternata* f.sp. *lycopersici* عامل بیماری شانکر ساقه

Tomato evaluating resistance against pathogenic isolates of the fungus *Alternaria alternata* f.sp. *lycopersici* disease agent stem canker

عادله ایوبی‌فر[۱]، داریوش شهریاری[۲*] و مژده ملکی[۳]

تاریخ دریافت: ۱۳۹۴/۱/۲۵ تاریخ پذیرش: ۱۳۹۴/۴/۳۰

چکیده

در این بررسی واکنش ۲۷ رقم از ارقام گوجه فرنگی موجود در کشور با جدایه‌های *Alternaria alternata* f.sp. *lycopersici* جمع‌آوری شده از مناطق مختلف ارزیابی شد. بدین منظور ابتدا اقدام به جمع‌آوری جدایه‌های *A. alternata* از مناطق مختلف و جهت اثبات بیماری‌زایی از رقم گوجه فرنگی Peto Early-CH (رقم حساس به بیماری شانکر ساقه) استفاده شد. برای شناسایی عامل بیماری اندازه‌گیری‌های لازم به دو صورت ماکروسکوپی و میکروسکوپی صورت گرفت. به این ترتیب که رنگ پرگنه قارچ و سایر ویژگی‌های ماکروسکوپی آن روی محیط کشت بررسی و اندام‌های قارچی نیز زیر میکروسکوپ بررسی شدند و برای هر جدایه میانگین قطر۱۰۰ اسپور و کنیدیوفور محاسبه گردید. سایر مشخصات نظیر تعداد دیواره، اندازه طول و عرض و رنگ نیز مورد بررسی قرار گرفت. برای انجام آزمایش از بین نمونه‌های جمع‌آوری شده یک جدایه بر اساس شاخص شدت بیماری بر روی رقم حساس انتخاب گردید. گیاهچه‌های ارقام انتخاب شده پس از کاشت و انتقال به گلدان‌ها در شرایط گلخانه با سوسپانسیون جدایه قارچی عامل مزبور در آزمایشات جداگانه مایه‌زنی شدند. برای اندازه‌گیری درصد وقوع بیماری (Disease severity index) روی ساقه، پس از سپری شدن دوره کمون و ظهور علایم بیماری، وضعیت آلودگی گیاهچه‌ها و هر جدایه جهت محاسبه شاخص شدت بیماری درتیمارها، بوته‌ها از نظر گسترش طولی و عمق لکه-های شانکر در قسمت-های طوقه و ساقه ارزیابی شد و بر اساس مقیاس نمره‌دهی از صفر تا ۵ درجه آلودگی تعیین شد. نتایج ارزیابی-ها نسبت به شانکر ساقه نشان داد که سه رقم Ps 550 و Xamen و Super Set در ارزیابی سطح زیر منحنی پیشرفت بیماری در ساقه ارقام مورد بررسی، کم‌ترین سطح پیشرفت را نشان دادند و به عنوان ارقام مقاوم شناخته شدند. به منظور بررسی تولید ترکیبات خارج سلولی توسط قارچ و تعیین نقش آن در ایجاد بیماری، جدایه‌های عامل بیماری در محیط PDB (محیط کشت سیب زمینی- دکستروز مایع) Potato Dextrose Broth کشت شدند. گیاهچه‌ها و برگچه‌های گوجه فرنگی برای بررسی حساسیت به ترشحات برون سلولی (توکسین) مورد ارزیابی قرار گرفت. نتایج زیست سنجی برگ و گیاهچه‌ها و واکنش برگ‌ها با نتایج حاصل از واکنش ارقام روی ساقه مشابه نبودند اما با توجه به اینکه این بیماری بیش‌ترین خسارت را روی ساقه گوجه فرنگی ایجاد می‌نماید سه رقم ذکر شده می‌تواند به عنوان رقم نسبتا مقاوم معرفی شوند.

واژگان کلیدی: شانکر ساقه، *Alternaria alternata*، گوجه فرنگی، مقاومت ارقام

۱ و ۳- به ترتیب دانشجوی سابق کارشناسی ارشد و استادیار دانشگاه آزاد اسلامی، واحد ورامین- پیشوا، گروه بیماری‌شناسی گیاهی، ورامین، ایران

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

نویسنده مسئول مکاتبات: dshahriari37@gmail.com

مقدمه

گیاه گوجه فرنگی (*Lycopersicon esculentum* Miller) گیاهی است یکساله و متعلق به خانواده Solanaceae که در ایران به خصوص در نواحی مرکزی و جنوبی ، سطح کشت زیادی را به خود اختصاص داده است، ایران یکی از ده کشور بزرگ تولیدکننده گوجه فرنگی به شمار می‌رود (بهرامی و همکاران، ۱۳۹۰). گوجه فرنگی به دلیل دارا بودن طعم مطلوب و خواص مفید به مقدار زیاد و به صورت‌های مختلف در برنامه غذایی روزانه مردم مصرف می‌شود. این گیاه در گلخانه و مزرعه مورد حمله عوامل مختلف بیماری‌زا قرار می‌گیرد و همه ساله خسارت زیادی به محصول آن وارد می‌شود (بهرامی و همکاران، ۱۳۹۰). بیماری شانکر ساقه اولین بار از سان دیگو (San Diego) درکالیفرنیای جنوبی گزارش گردید (Grogan *et al*., 1975) در حال حاضر این بیماری از کشورهای متعددی گزارش شده است و میزان آلودگی در بعضی مناطق را تا زمان برداشت روی ارقام حساس بیش از ۹۰ درصد برآورد نموده‌اند (Grogan *et al*., 1975; Esmailzadeh *et al*., 2008). این بیماری در ابتدا تحت نام پوسیدگی تاج فوزاریومی (Fusarium crown Rot) یا پوسیدگی ریشه القا شده از تاج فوزاریومی فوزاریوم ایندوکت روت رت (Fusarium-induced root Rot) نامیده می‌شد تا این‌که در سال ۱۹۷۵ عامل بیماری شانکر ساقه به‌عنوان *A. alternata* f.sp. *lycopersisci* (Fr.)Keissler که اختصاصا برروی بعضی از کولتیوارهای گوجه فرنگی بیماری‌زا می‌باشد، معرفی گردید (Esmailzadeh *et al*., 2008 ; Abbas *et al*., 1995; Grogan *et al*., 1975).

علائم بارز بیماری بر روی برگ‌ها ، ساقه و آوندها بصورت شانکرهای بیضوی تا کشیده به رنگ قهوه‌ای تیره تا سیاه بر روی ساقه بروز می‌کند (Esmailzadeh *et al*., 2008). این شانکرها ممکن است به‌صورت زخم‌هایی با ناحیه مرکزی و یا متحدالمرکز بر روی ساقه نزدیک خاک و یا در طول ساقه به وجود آید که به مرور گسترش یافته و نهایتا می‌تواند موجب مرگ گیاه شود (Grogan *et al*., 1975). آوندهای آبکش تغییر رنگ داده و به رنگ قهوه‌ای در می‌آیند (Esmailzadeh *et al*., 2008). همچنین نقاط و لکه‌های نکروتیک در دو طرف رگبرگ برگچه‌ها به وجود می‌آید (Grogan *et al*., 1975). گوجه فرنگی یکی از محصولات مهم جالیزی است که با سطحی بالغ بر ۸۰۰۰۰ هکتار در مناطق مختلفی از ایران کاشته می‌شود و با تولید ۱۴۰۰۰۰۰ تن حدود ۳/۳٪ از تولید محصولات کشاورزی را در اختیاردارد. در یک دهه اخیر بیماری شانکر ساقه گوجه فرنگی توسط عامل *A. alternate* f.sp. *lycopersisci* در مناطق جنوبی و مرکز توسعه یافته و به دلیل نوع ایجاد آلودگی در قسمت‌های مختلف گیاه (ساقه، شاخه و میوه) پتانسیل خسارت‌زایی فراوانی دارد (قوستا، ۱۳۸۲).

زخم‌های قهوه‌ای آفتاب سوخته به صورت دوایر متحدالمرکز در روی میوه سبز به وجود می‌آید. و در حین رسیدن و پس از برداشت گسترش می‌یابد (Grogan *et al*., 1975) قارچ عامل بیماری ترکیبی به نام AAL-toxin تولید می‌کند که در ایجاد بیماری نقش دارد (Abbas *et al*., 1995) این توکسین دارای دو بخش TB و TA می‌باشد که بخش سمی TA به‌عنوان دو استر از یک آمینوفنیل ۱۹ کربن و تری کربوکسیلات شناخته شده و بخش سمی TB شبیه به بخش TA بوده و در یک گروه کربوکسیل روی آمینوفنیل متفاوت می‌باشد (Abbas *et al*., 1995; Moussatos *et al*., 1993). مقاومت ارقام مختلف گوجه فرنگی نسبت به عامل بیماری متفاوت می‌باشد و مقاومت به وسیله ژن غالب Asc کنترل می‌گردد (Vakalounakis, 1988;Vesonder *et al*., 1993). از آن‌جایی که قارچ کش‌ها در کنترل این بیماری موفق نبودند، لذا به کارگیری ارقام مقاوم تنها روش کاهش بیماری است. بدین جهت این آزمایش تدوین و انجام پذیرفت.

مواد و روش‌ها

نمونه‌برداری

نمونه‌برداری در سال ۱۳۹۳ از گلخانه‌ها و مزارع گوجه فرنگی استان هرمزگان و ورامین انجام شد. نمونه‌های متعددی با علائم بیماری تهیه و به آزمایشگاه منتقل شدند. اندام‌های نمونه‌برداری شده شامل برگ، میوه و ساقه بود (شکل ۱).

شکل ۱- ارزیابی بیماری‌زایی جدایه‌های قارچ عامل بیماری

Fig. 1. The pathogenicity isolates of production by the fungus

جداسازی عامل بیماری‌زا

به منظـور جداسازی عامل بیمـاری، نمونه‌های تهیه شـده به تفکیک ساقـه، برگ و میوه با محلول کلراکس ۱۰٪ ضدعفونی سطحی گردیده و بر روی محیط غذایی PDA و WA کشت داده شد و پس از رشد پرگنه، خالص‌سازی به روش تک اسپورکردن، کشت مجدد و اسپورزائی و در نهایت اندازه‌گیری‌های لازم به‌منظور شناسایی آن انجام پذیرفت.

اثبات بیماری‌زائی

در این مرحله بیماری‌زایی ارقام مختلف گوجه فرنگی با رقم حساس گیاه مذکور تحت عنوان Peto early-CH بررسی شد (امینیان و همکاران، ۱۳۸۳).

مایه زنی نشاها توسط تمام جدایه‌های شناسایی شده عامل بیماری به طور جداگانه انجام شد و جدایه‌ها از نظر بیماری‌زایی مورد ارزیابی قرار گرفتند. مایه‌زنی گیاهچه‌های گوجه فرنگی با قارچ عامل بیماری با دو روش اسپور پاشی و ایجاد زخم، سپس با قرار دادن پلاک‌های قارچ در محل اتصال دمبرگ انجام شد. در روش ایجاد زخم، پلاک‌های قارچ عامل بیماری به همراه محیط کشت از کشت ۱۰ روزه قارچ جدا شده و در محل اتصال دمبرگ میانی به ساقه که توسط تیغ شکاف داده شد و پس از مایه‌زنی دمبرگ به حالت اولیه برگردانده و ثابت شد. گلدان‌ها در شرایط رطوبت اشباع و دمای ۳ ± ۲۵ درجه سلسیوس نگهداری و سپس پلاک‌های قارچ در محل اتصال دمبرگ قرار داده شدند (امینیان و همکاران، ۱۳۸۳).

بررسی ترشحات خارج سلولی قارچ

توسعه نکروز در برگ‌ها ناشی از وجود توکسین در برگ‌ها مشاهده و ارزیابی نواحی از پهنک برگچه‌ها دارای علائم نکروز (درصد نکروز برگ) تعیین شد. تجزیه واریانس نتایج در سطح احتمال ۱ درصد معنی‌دار بود. نتایج ارزیابی گیاهچه‌ها و برگچه‌های گوجه فرنگی به منظور بررسی حساسیت به ترشحات برون سلولی، با تعیین درصد نکروز روی برگ‌های آلوده به توکسین نشان داده شد.

تهیه زادمایه بیمارگر

جهت تهیه زادمایه بیمارگر، تکثیر و اسپورزایی روی محیط کشتpotato dextrose agar (PDA) در دمای ۲۵ درجه سلسیوس به مدت یک هفته انجام شد. به این منظور با روش تک اسپور قارچ، ۲۰ نمونه جمع‌آوری شده از جدایه‌های مختلف عامل بیماری بر روی محیط کشت انتقال داده شد و تحت چرخه ۸ ساعت روشنایی و ۱۶ ساعت تاریکی نگهداری شد (Eloisa *et al*., 1994). پس از رشد کامل هر یک از جدایه‌های قارچی روی محیط کشت،۱۰ میلی‌لیتر آب مقطر استریل در سطح پرگنه‌های قارچ ریخته شد و با استفاده از اسکالپل تیز سطح آنها کاملا خراش

داده شد. سوسپانسیون به دست آمده از هر یک از جدایه‌های قارچی، جهت حذف مواد جامد محیط از پارچه ململ دولایه گذرانده شده و سپس، به مدت ۱۰ دقیقه در سانتریفوژ با ۳۰۰۰ دور در دقیقه رسوب داده شد، رسوبات ته نشین شده شامل اسپورهای مربوط به هر جدایه قارچی به آرامی جدا شده و به میزان ۱۰میلی‌لیتر آب مقطر به آن افزوده شد (Eloisa *et al*., 1994; Szurdoki *et al*., 1996).

بررسی مقاومت ارقام گوجه فرنگی نسبت به بیماری شانکر ساقه

به منظور بررسی واکنش ارقام مختلف گوجه فرنگی نسبت به قارچ عامل بیماری شانکر ساقه، ۲۷ رقم گوجه فرنگی به شرح زیر تهیه شد:

جدول ۱- مقاومت ارقام گوجه فرنگی نسبت به بیماری شانکر ساقه

Table 1. Resistance on tomato cultivars to stem canker disease

Primoealy	BHN_1 F 1105	Petomeck
Superstrain	Eper F1	Calg3
Riogrande	Monalisaf1	Super 270
Earlyurbarina	Mhn 1107	Danai
Queenty	Eden	Kismat
Speedy	Dinbolik	Ps 550
Nabateo	Ps 6515	Mariana
Super Set	Xamen	
Firenze	Petopride	Oule

جدول۲- درجه‌بندی و شرح علائم مشاهده شده روی ارقام حساس گوجه‌فرنگی در ارقام مایه‌زنی شده با جدایه‌های عامل بیماری، جهت محاسبه شاخص شدت بیماری

Table 2. Grading and descriptions of the symptoms observed on susceptible tomato cultivars inoculated with isolates for severity index calculation

(درجه) آلودگی (O) pollution	شرح علایم مشاهده شده	Descriptions of the observed symptoms
0	عدم آلودگی بوته ها حتی یک ماه پس از مایه زنی	Not even a month after inoculation plant pollution
1	ایجاد شانکر خفیف در محل مایه زنی و عدم گسترش آن	Create mild canker inoculation site and its non-proliferation
2	ایجاد شانکر خفیف در محل مایه زنی و گسترش خفیف آن	Create mild canker inoculation site and expanded its mild
3	ایجاد شانکر در محل مایه زنی و گسترش نسبی آن و عدم مرگ گیاه	Create a chancre at the site of inoculation and expansion of its relative lack of plant death
4	بروز شانکر در طول ساقه و اطراف محل تلقیح و مرگ گیاه سه هفته پس از مایه زنی	The incidence of canker during the shoot in and around the site of inoculation and plant death three weeks after inoculation
5	بروز شانکر در طول ساقه و گسترش آن در طول ساقه و اطراف محل مایه زنی و مرگ کامل گیاه در کمتر از ۳ هفته	The incidence and spread it over the stem and stem canker during the inoculation site and complete death of the plant in less than 3 weeks

مقاومت ارقام به شانکر ساقه

طبق روشی که در مبحث بیماری‌زائی ذکر شد مایه‌زنی انجام گرفت و علائم ظاهر شده تا پس از یک‌ماه بررسی و براساس نوع علائم وشانکر براساس مقیاس نمره‌دهی از صفر تا ۵ نمره آلودگی به شرح جدول ۲ تعیین شد. بررسی شاخص بیماری (Disease severity index) در ارقام هنگامی که آلودگی در برگ‌های گیاهان شاهد (حساس) به حداکثر نمره (نمره ۵) رسید یادداشت‌برداری گردید.

پس از نمره دهی، شاخص شدت بیماری بر اساس رابطه ذیل برای هر تیمار محاسبه شد رابطه تغییر یافته بر گرفته از (Witsenboer *et al*., 1989).

$$Ds=\frac{\sum n\times v}{N\times Vm}\times 100$$

در رابطه با بالا n تعداد بوته‌ها با درجه شاخص بیماری مربوط (v) می‌باشد و (N) بوته ها، Vm حداکثر در درجه بیماری است.

ارزیابی

نتایج جدول با نرم افزار SAS تجزیه واریانس و میانگین‌ها با آزمون دانکن در سطح ۱٪ مقایسه گردید. ارزیابی گیاهچه‌ها در ۳ تکرار انجام شد. بعد از ظهور برگ‌های چهارم الی پنجم گوجه‌فرنگی (حدودا یک ماه بعد از کاشت) با استفاده از سوسپانسیون اسپور جدایه عامل بیماری مایه‌زنی انجام شد.

نتایج و بحث

علائم مشاهده شده در مزرعه و آزمایشگاه

نمونه‌های گیاهی در سال ۱۳۹۳ و از مناطق مختلف ورامین و هرمزگان به تعداد ۲۰ نمونه با علایم شانکرهای بیضوی قهوه‌ای مایل به سیـاه در طوقه، ساقه، برگ‌ها و آوندهای گیاه وشانکرهایی با زخم‌هایی به صورت دوایر متحدالمرکز بر روی ساقه و با علایم برگ‌ها به صورت لکه‌های دایره‌ای شکل و نکروز بین رگبرگی و روی ساقه و لهیدگی ساقه آوندهای آبکش به رنگ قهوه‌ای جمع‌آوری شدند روی میوه نیز علایم به صورت زخم‌های قهوه‌ای آفتاب سوخته به صورت دوایر متحدالمرکز سبز بود. مشخصات نمونه‌ها از مناطق مختلف استان هرمزگان و ورامین در جدول (۲) نشان داده شده است. همچنین در برش عرضی از ساقه مشاهده شد که آوندهای آبکش تیره مایل به سیـاه شده ومغز ساقه نیز پوک و سیاه گردیده است که علائم مشاهده شده فوق با علائم مندرج در منابع دیگر مطابقت داشت (Esmailzadeh *et al*., 2008; Abbas *et al*., 1995; Abbas *et al*., 1996; Grogan *et al*., 1975; Siler and Gilchrist, 1982)

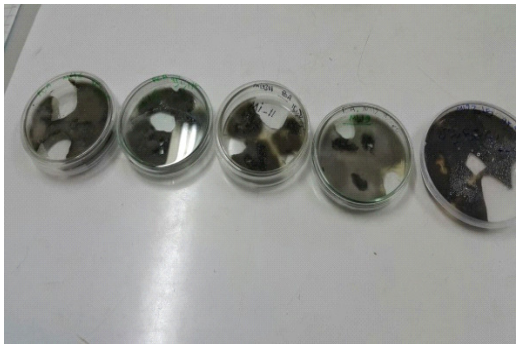
جدول۲- تاریخ و محل جمع‌آوری نمونه‌های آلوده به قارچ *Alternaria alternata* f.sp. *lycoprsici* و جدایه‌های آن

Table 2. Sample collection date and location of the infected *Alternaria alternata* f.sp. *lycoprsici* and its isolates.

ردیف Index	تیمار Treatment	محل جمع‌آوری	Gathering location	تاریخ جمع‌آوری Gathering date
1	mi-9301	میناب	Minab	1393
2	mi-9302	میناب	Minab	1393
3	mi-9303	میناب	Minab	1393
4	mi-9304	میناب	Minab	1393
5	mi-9305	میناب	Minab	1393
6	mi-9306	میناب	Minab	1393
7	mi-9307	میناب	Minab	1393
8	va-9308	ورامین	Varamin	1393
9	mi-9309	میناب	Minab	1393
10	va-9310	ورامین	Varamin	1393

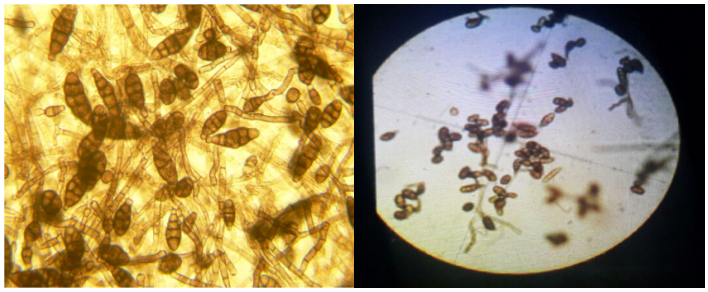
جداسازی عامل بیماری‌زا و اثبات بیماری‌زائی

به منظور اثبات بیماری‌زایی، مایه‌زنی نشاءها توسط تمام جدایه‌های شناسایی شده عامل بیماری به‌طور جداگانه انجام شد (شکل۲) و جدایه‌ها از نظر بیماری‌زایی مورد ارزیابی قرار گرفتند.



شکل ۲- کشت خالص عامل بیماری
Fig. 2. The pure cultures of disease agent

مایه‌زنی گیاهچه‌های گوجه فرنگی با جدایه‌های عامل بیماری با دو روش اسپورپاشی و ایجاد زخم و سپس با قرار دادن پلاک‌های قارچ در محل اتصال دمبرگ اجرا شد پس از بروز علایم از آن‌ها نمونه‌برداری شد و خصوصیات مرفولوژیکی و تاکسونومیکی آن‌ها زیر میکروسکوپ با صفات جدایه‌های مایه‌زنی شده مطابقت داده شد. به منظور شناسایی جدایه‌های قارچ عامل بیماری مشخصات تاکسونومیکی قارچ عامل بیماری بررسی شد پرگنه‌های حاصل از کشت نمونه‌های جمع‌آوری شده به رنگ قهوه‌ای در روی محیط کشت و دیکتیوسپورهای قهوه‌ای کمرنگ تا زیتونی کمرنگ با ابعاد ۱۸- ۳۵ و ۱۸-۱۰ میکرومتر با کنیدیوفورهای کوتاه، دیواره‌دار، قهوه‌ای تا سبز، منشعب یا غیرمنشعب و به طول ۲/۵ تا ۷/۵ میکرومتر بودند. برای هر جدایه ۱۰۰ کنیدی و کنیدیوفور اندازه‌گیری شد (شکل ۳).



شکل ۳- کنیدی‌های قارچ عامل بیماری
Fig. 3. Conidia of the fungus

کنیدیوم‌های قارچ انفرادی و یا در زنجیره‌های دو تا سه تایی مشاهده شده و به شکل تخم مرغی تا بیضی کشیده با دو تا چهار دیواره عرضی ویک تا دو دیواره طولی، بدون نوک (Beak) و با سطح صاف بودند. رشد قارچ در روی محیط PDA در دمای ۲۵ درجه سلسیوس سریع بوده و در سه روز به ۳۵ میلی‌متر رسید. بر اساس ویژگی‌های ریخت‌شناسی و خصوصیات پرگنه، قارچ جداسازی شده مطابق با کلید شناسایی Eloisa, Neergaard, Rotem و قوستا، *Alternaria alternate* تشخیص داده شد (قوستا و همکاران، ۱۳۸۳) (Moussatos *et al*., 1993).

ارزیابی مساحت زیر منحنی پیشرفت بیماری در ساقه

مقایسه میانگین تیمارها بر اساس مساحت زیر منحنی پیشرفت بیماری در ساقه نیز نشان داد، رقم Peto Early-ch (شاهد حساس) بالاترین شاخص پیشرفت بیماری را داشت. ارقام Early Urbarina, Firenze، ارقام Eper F1، Ps 6515، Speedy، Peto pride، Mariana، Eden، Mhn 1107، ارقام Kismat، Queenty، 1105 F1

BHN،Riogrande، Super 270، DINBO LIK، Nabteo، Oule، XA، ارقام Peto Meck، Primoealy، CALG3، Ps 550،Xamen و Super Set از نظر این صفت اختلاف معنی‌داری نداشتند و همگی نسبت به شاهد، حساس یا خیلی حساس ارزیابی شدند (جدول ۴).

در ارزیابی بیماری روی ساقه رقم Ps 550 با درصد شاخص بیماری‌زایی ۴۸ درصد نیمه حساس ارزیابی شد و پس از آن ارقام Super Set و Xamen و Primoealy و CALG3 و Eper و Oule و Nabteo به عنوان رقم حساس در درجات بعدی قرار گرفتند.در این بررسی هیچ‌کدام از ارقام نیمه مقاوم یا مقاوم نبودند.

در ارزیابی سطح زیر منحنی پیشرفت بیماری در ساقه ارقام Ps 550 و Xamen و Super Set کم‌ترین سطح پیشرفت را نشان دادند و با توجه به این‌که این بیماری بیش‌ترین خسارت را روی ساقه گوجه فرنگی ایجاد می‌نماید، علائم بارز بیماری روی برگ‌ها، ساقه و آوندها بروز می‌نماید که ایجاد شانکرهای بیضوی تا کشیده به رنگ قهوه‌ای، تیره تا سیاه بر روی ساقه از علائم بارز آن می‌باشد (شهریاری، ۱۳۷۲؛ Esmailzadeh *et al*., 2008).

جدول ۴- مقایسه میانگین درصد وقوع بیماری(DI) روی ساقه در شرایط گلخانه

Table 4. The mean percentage of disease incidence (DI) on the stem in greenhouse conditions

رقم Cultivar	میانگین Mean	Response	واکنش
Speedy	95a	Vs	خیلی حساس
Mhn 1107	94a	Vs	خیلی حساس
Peto Early-ch (شاهد حساس)	94a	Vs	خیلی حساس
Mariana	92a	Vs	خیلی حساس
Firenze	92ab	Vs	خیلی حساس
Early Urbarina	90abc	Vs	خیلی حساس
Riogrande	89abc	Vs	خیلی حساس
Peto pride	89abc	Vs	خیلی حساس
Dinbo Lik	88abc	Vs	خیلی حساس
Ps 6515	86abcd	Vs	خیلی حساس
1105 F1 BHN	85abcd	Vs	خیلی حساس
Eden	82abcde	Vs	خیلی حساس
Danai	80abcdef	Vs	خیلی حساس
Super 270	78abcdef	Vs	خیلی حساس
Queenty	78abcdef	Vs	خیلی حساس
Kismat	77.5abcdef	S	حساس
Peto Meck	77.5abcdef	S	حساس
Monaliza F1	77abcdef	S	حساس
SUPER STRIN	77abcdef	S	حساس
Nabteo	72.5bcdefg	S	حساس
Oule	70.2cdefgh	S	حساس
Eper	66.5defgh	S	حساس
CALG3	65.7efgh	S	حساس
Primoealy	63.2efgh	S	حساس
Xamen	61.7fgh	S	حساس
Super Set	56gh	S	حساس
Ps 550	48h	Ms	نیمه حساس

تجزیه واریانس سطح زیر منحنی پیشرفت بیماری در ساقه ارقام مختلف نشان داد که بین ارقام در سطح احتمال ۱٪ اختلاف معنی‌دار وجود داشت (جدول ۴).

جدول ۴- تجزیه واریانس مساحت زیر منحنی پیشرفت بیماری در ساقه (AUDPC – ST) ارقام گوجه فرنگی به جدایه برتر
Table 4. Analysis of variance area under the curve in disease progression stem (AUDPC - ST) isolates of tomato cultivars to superior

S.O.V	منابع تغییرات	درجه آزادی df.	مجموع مربعات SS.	میانگین مربعات MS.	F
Treatment	تیمار	26	29938.129	1151.46652	5.55**
Error	خطا	81	1680.500	207.42593	-
Total	کل	107	46739.629	-	-
CV (%)=12.32	درصد ضریب تغییرات=۱۲/۳۲				

**: معنی‌دار در سطح احتمال ۱٪

**: Significance at 1% probability level

با توجه به این‌که مقاومت به این بیماری به صورت مونوژنیک و غالب است و از این رو احتمال ظهور نژاد جدیدی از بیمارگر که قادر به شکستن مقاومت ارقام رایج در منطقه باشد نیز وجود دارد. در بررسی روی ژنتیک مقاومت نسبت به قارچ عامل بیماری شانکر ساقه گوجه فرنگی در نسل‌های در حال تفرق گوجه فرنگی مشخص شد که مقاومت به این بیماری توسط یک ژن غالب کنترل می‌شود. به همین سبب توصیه می‌شود آزمایشات بیش‌تری روی ارقام معرفی شده در شرایط مزرعه انجام شود و با انتقال ژن ارقام مقامتر با دوام بیش‌تری بدست آید. رقم F1 BHN 1105 که با شاخص حساسیت برگ ۴ و رقمPs 6515 با شاخص ۳ حساس‌ترین ارقام و ارقام Super strin و MHN1107 با شاخص ۲ نسبت به بقیه ارقام نیمه حساس و بقیه ارقام با شاخص ۱ حساسیت کم‌تری از نظر حساسیت به ترشحات برون سلولی نشان دادند.

بیماری شانکر ساقه با عامل *Alternaria alternata* f.sp. *lycopersici* در تمام مناطق کشت گوجه‌فرنگی در کشور شیوع دارد و در مناطق مختلف آلودگی به بیماری به طور میانگین در حدود ۳۰٪ برآورد شده است (شهریاری و کریمی روزبهانی، ۱۳۷۶). این نتـایج با نتـایج به‌دست آمده در این آزمایش از نظر شناسایی و تعیین شدت بیماری‌زایی مطابقت دارد.

در ارزیابی سطح زیر منحنی پیشرفت بیماری در ساقه ارقام Ps 550 و Xamen و Super Set کم‌ترین سطح پیشرفت را نشان دادند و با توجه به اینکه این بیماری بیش‌ترین خسارت را روی ساقه گوجه‌فرنگی ایجاد می نماید، علائم بارز بیماری روی برگ‌ها، ساقه و آوندها بروز می‌نماید که ایجاد شانکرهای بیضوی تا کشیده به رنگ قهوه‌ای، تیره تا سیاه بر روی ساقه از علائم بارز آن می‌باشد (Abbas *et al*., 1995).

در پاکستان ۲۸ گونه گوجه فرنگی در برابر *Alternaria alternata* مورد آزمایش قرار گرفتند. در این مطالعه ۳۲ ایزوله از قارچ جدا شد و قوی‌ترین آن‌ها برای بررسی مقاومت روی ارقام مورد نظر مورد آزمایش قرارگرفت؛ نتایج نشان داد که رقم Dinaar مقاومت نسبتا بیش‌تری نسبت به دیگر ارقام دارد (Aqeel *et al*., 2013).

منابع Referensec

امینیان، ح.، زاد، ج.، شریفی تهرانی، ع.، اخوت، م. و طالبی جهرمی، خ. ۱۳۸۳. مطالعه بیماری شانکر ساقه گوجه فرنگی در استان بوشهر، مجله علوم کشاورزی ایران ۳۵: ۲۵۲-۲۴۵.

بهرامی، ح.، بهرامی، س. و حسن‌زاده، ر. ۱۳۹۰. راهنمای جامع و مصور کشت و پرورش صیفی‌جات (هندوانه، طالبی، خربزه و کدو). آموزش و ترویج کشاورزی ۲۴۶ صفحه.

قوستـا، ی.، ارشـاد، ج.، زارع، ر. و محمـدی گل تپـه، الف. ۱۳۸۲. مطالعـه تاکسونومیکـی بر روی گونه‌های Alternaria در ایران، رستنی‌ها ۴: ۱۲۱-۱۰۵.

شهـریاری، د. و کریمی روزبهانی، ع. ۱۳۷۶. شیـوع بیماری شانکر ساقه گوجـه فرنگـی در ورامین. آفات و بیماری‌های گیاهی ۶۵: ۱۹-۱۲.

Abbas, H. K., Tanaka , T. and Duke, S. O. 1995. Pathogenicity of *Alternaria alternate* and *Fusarium moniliforme* and phytotoxicity of AAL-toxin andfumonisinB1 on tomato cultivars. Journal of Phytopathology 143 (6): 329-334.

Abbas, H. K., and R. T. Riley. 1996. The presence and phytotoxicity of fumonisins and AAL-toxin in *Alternaria alternata.* Toxicon. Oxford 34 (1): 133-136.

Abbas, H. K., Tanaka, T., and Shier, W. T. 1995. Biological activities of synthetic analogues of Alternaria toxin (AAL-toxin) and fumonisin in plant and mammalian cell cultures. Phytochemistry 40 (6): 1681-1689.

Abbas, H. K., Duke, S. O., Paul, R. N. and Riley, R. T. 1995. AAL-toxin, a potent natural herbicide which disrupts sphingolipid metabolism of plants. Pesticide Science 43 (3): 181 187.

Brandwagt, B. F., Kneppers, T. J. A., Nijkamp, H. J. J., and Hille, J. 2002. Overexpression of the tomato Asc-1 gene mediates high insensitivity to AAL Toxins and Fumonisin B(1) in tomato hairy roots and confers resistance to *Alternaria alternata* f. sp. *lycopersici* in *Nicotiana umbratica* Plants. Molecular Plant-Microbe Interactions 15(1): 35-42.

Eloisa D., Caladas, A., Daniel J., Barney Ward, C., Winter, K. and Gilchrist, D. G. 1994. Structural characterization of three new AAL-Toxins produced by *Alternaria alternata* f.sp. *lycopersici*. Journal of Agriculture Food Chemistry 42: 327-333.

Esmailzadeh, M., Soleimani, M. J. and Rouhani, H. 2008. Exogenous application of salicylic acid for inducing systemic acquired resistance against tomato stem canker disease. Journal of Biological Sciences 8: 1039-1044.

Grogan , R. G., Kimble, K. A. and Misaghi, I. 1975. A stem canker disease of tomato caused by *Alternaria alternata* f.sp. *lycopersici* . Phytopathology 65: 880-886

Jones, B. and Shell, R. E. 1991. compendium of tomato diseases. APS Press.

Mesbah, L. A., van der Weerden, G. M., Nijkamp, H. J. J. and Hille, J. 2000. Sensitivity among species of Solanaceae to AAL toxins produced by *Alternaria alternata* f.sp. *lycopersici*. Plant Pathology 49(6): 734-741.

Moussatos, V., Witsenboer, H., Hille, J. and Gilchrist, G. 1993. Behaviour of the disease resistance gene Asc in protoplasts of *Lycopersicon esculentum* Mill. Physiological and Molecular Plant Pathology 43(4): 255-263.

Moussatos, V., William V., Lucas J. and Gilchrist, D. G. 1993. AAL toxin induced physiological changes *in lycopersicon esculentum* Mill: differential sucrose transport in tomato lines isogenic for the Asc locus. Physiological and Molecular Plant Pathology 42: 359-371

Neergaard, P. 1945. Danish species of *Alternaria* and *Stemphylium*. Oxford University Press, London. 84pp.

Rotem, J. 1994. The Genus *Alternaria*. The American phytopathological society (APS Press) 326pp.

Siler, D. J. and Gilchrist, D. G. 1982. Determination of host–selective phytotoxines from *Alternaria alternate* f.sp. *lycopersici* as their maleyl derivatives by high-performance liquid chromatography. Journal of chromatography 238: 167-173.

Siler, D. J. and Gilchrist, D. G. 1983. Properties of host specific toxins produced by *Alternaria alternate* f.sp. *lycopersici* in culture and in tomato plants. Physiological plant pathology 23: 265-274.

Szurdoki, F., Trousdale, E., Gee, S. J., Ward, B., Hammock, B. D., Gilchrist, D. G., Beier, R. C. and Stanker, L. H. 1996. Development of an enzyme immunoassay for *Alternaria alternata* f.sp. *lycopersici* toxins. Immunoassays for residue-analysis: Food-safety 330-340.

Vesonder, R. F., Gasdorf, H. and Peterson, R. E. 1993. Comparison of the cytotoxicities of Fusarium metabolites and Alternaria metabolite AAL-toxin to cultured mammalian cell lines. Archives of Environmental Contamination and Toxicology 24(4): 473-477.

Vakalounakis, D. J. 1988. Cultivar reaction and genetic basis of resistance to Alternaria stem canker (*Alternaria alternate* f.sp. *lycopersici*) in tomato. Plant Pathology 37: 373-376.

Witsenboer, H. M. A., Griend, E. G., van de Tiersma, J. B., Nijkamp, H. J. J. and Hille, J. 1989. Tomato resistance to Alternaria stem canker: localization in host genotypes and functional expression compared to non-host resistance. Theoretical and Applied Genetics 78 (4): 457-462.

Witsenboer, H. M. A., Kloosterziel, K. M., Hateboer, G., Nijkamp, H. J. J. and Hille, J. 1992. Tomato susceptibility to Alternaria stem canker: parameters involved in host-specific toxin-induced leaf necrosis. Plant Science Limerick 81(1): 127-134.

Yan, Z., Dolstra, O., Prinst, W., Stam, P. and Visser, P. B. 2006. Assessment of partial resistance to powdery mildew *Podosphaera pannosa* in a teraploid rose population using a spore-suspension inoculation method. European Journal of Plant Pathology 114: 301–308.