



Research article

Evaluation of some tobacco genotypes to identify sources of resistance to tobacco black shank disease in the greenhouse and field conditions.MARZIYEH SHAZDEHAHMADI¹ , GHAFFAR KIANI², NADALI BAGHERI³

1- PhD. Student, Plant genetic and Breeding, Faculty of Agricultural Science, University of Agricultural Sciences and Natural Resources, Sari, Iran; 2, 3- Assistant Professor, Plant genetic and Breeding Department, University of Agricultural Sciences and Natural Resources, Sari, Iran.

(Received: Dec. 2024; Accepted: Apr. 2026)

Abstract

Phytophthora nicotianae (= *P. parasitica*) is one of the important pathogens in tobacco by causing tobacco black shank. Applying genetic resources to improve resistant varieties is the most effective method to control this disease. In order to determine the resistance of genotypes to this disease, 26 tobacco genotypes, including 16 F₁ hybrids, 8 parents, and 2 controls, were evaluated with three replications in greenhouse and field conditions. Inoculation of the plants were done by placing the disease-causing fungus discs at the base of each plant. The traits studied in greenhouse conditions included disease severity, Latent period, and in field, were disease percentage, disease index, and AUDPC. Cluster analysis using Ward's method was used to group the cultivars. Variance analysis indicated that there were statistically significant difference at the 1% level between the genotypes in the greenhouse and the field. Genotypes 18 (Coker 371G) and 8 (Coker 371 G × Coker 347), were selected as the most resistant cultivars in the greenhouse and field. Based on the dendrogram of cluster analysis, the cultivars were classified into three groups: resistant, semi-resistant, and susceptible in the greenhouse, and into four groups: resistant, semi-resistant, semi-susceptible, and susceptible in the field.

Keywords: Black shank disease, cluster analysis, contamination, inoculation, tobacco.



مقاله پژوهشی

ارزیابی برخی ژنوتیپ‌های توتون به منظور شناسایی منابع مقاومت به بیماری ساق سیاه توتون
در شرایط گلخانه و مزرعهمرضیه شازده احمدی^۱✉، غفار کیانی^۲، نادرعلی باقری^۳

۱- دانشجوی دکتری ژنتیک و به‌نژادی گیاهی، دانشکده علوم زراعی، دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی ساری، ایران؛
۲ و ۳، دانشیاران گروه ژنتیک و به‌نژادی گیاهی، دانشکده علوم زراعی، دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی ساری، ایران.

(تاریخ دریافت: دی ۱۴۰۴؛ تاریخ پذیرش: اردیبهشت ۱۴۰۵)

چکیده

شبه قارچ *Phytophthora nicotianae* با ایجاد بیماری ساق سیاه توتون، یکی از عوامل مهم بیماری‌زا در توتون می‌باشد. استفاده از منابع ژنتیکی مقاومت و تولید ارقام مقاوم، مؤثرترین روش کنترل این بیماری می‌باشد. به منظور تعیین مقاومت ژنوتیپ‌ها به این بیماری، ۲۶ ژنوتیپ توتون، شامل ۱۶ هیبرید F1، ۸ والد و دو رقم شاهد (K326, K346) با سه تکرار، در شرایط گلخانه و مزرعه ارزیابی شدند. مایه‌زنی بوته‌ها، با قراردادن دیسک‌های قارچ عامل بیماری در محل طوقه برخی از گیاهان به طور تصادفی از هر تکرار انجام شد. صفات مورد بررسی در شرایط گلخانه شامل شدت بیماری، دوره کمون و در شرایط مزرعه صفات درصد آلودگی، شاخص بیماری و سطح زیر منحنی پیشرفت بیماری بود. از تجزیه خوشه‌ای به روش Ward برای گروه‌بندی ارقام استفاده گردید. تجزیه واریانس داده‌ها، نشان دهنده وجود اختلاف معنی‌دار آماری در سطح یک درصد بین ژنوتیپ‌ها در گلخانه و مزرعه بود. ژنوتیپ‌های شماره ۱۸ (Coker 371G) و ۸ (Coker 371 G × Coker 347)، با کمترین میزان شاخص ارزیابی بیماری، به عنوان مقاوم‌ترین رقم در گلخانه و مزرعه انتخاب شد. بر اساس دندروگرام تجزیه خوشه‌ای، ارقام در گلخانه به سه گروه مقاوم، نیمه مقاوم، حساس و در مزرعه به چهار گروه مقاوم، نیمه مقاوم، نیمه حساس، حساس طبقه‌بندی شدند.

واژه‌های کلیدی: آلودگی، بیماری ساق سیاه، توتون، تجزیه خوشه‌ای مایه‌زنی.

مقدمه

توتون (*Nicotiana tabacum* L.)، از خانواده بادمجانیان (*Solanaceae*) و یکی از گیاهان مهم زراعی، صنعتی و با ارزش تجاری است که در اقتصاد کشورهای تولیدکننده نقش بسیار مهمی دارد، از این رو، توجه به بالا بردن کمیت و کیفیت آن حائز اهمیت بسیار می‌باشد (Zamani, 2010). سطح زیر کشت توتون در جهان در سال ۲۰۲۴ نزدیک به سه میلیون هکتار و کل تولید توتون بیش از شش میلیون تن بوده است (FAO, 2024). توتون، همانند سایر محصولات کشاورزی، مورد هجوم بیمارگرهای مختلفی قرار می‌گیرد که موجب کاهش کمیت و کیفیت آن می‌شوند. بیماری‌های گیاهی که در تمام مراحل رشد و در هر قسمت از گیاه می‌توانند رخ دهند، هر سال سبب از بین رفتن بخش عمده‌ای از هر نوع توتون می‌شوند. هر بیماری، نتیجه برهم‌کنش یک عامل بیماری‌زا، عوامل محیطی و میزبان حساس است (Bickers, 1992). بیماری ساق سیاه توتون (tobacco black shank)، که توسط شبه قارچ *Phytophthora nicotianae* ایجاد می‌شود، یکی از مهم‌ترین بیماری‌های توتون در جهان بوده و به دلیل خاکی بودن و داشتن دامنه میزبانی وسیع، اهمیت زیادی دارد، زیرا موجب کاهش شدید عملکرد گیاه و خسارت بسیار زیاد می‌گردد، به طوری که خسارت این بیماری گاهی به ۱۰۰ درصد نیز می‌رسد (Agrios, 2005). اولین علائم و نشانه‌های بیماری ساق سیاه توتون روی بافت‌های اطراف طوقه دیده می‌شود. در محل طوقه، لکه‌های سیاه یا قهوه‌ای رنگ ظاهر شده و بیماری به سرعت از ساقه به برگ‌ها توسعه می‌یابد و لکه‌های آب‌سوخته در سطح برگ‌ها زرد و به تدریج قهوه‌ای رنگ می‌شوند. مهم‌ترین علامت، تشکیل صفحات دیسک مانند تیره در مغز ساقه می‌باشد، که با برش عرضی قسمت‌های

پایینی ساقه می‌توان تیره شدن بافت داخلی ساقه و ظاهر ورقه ورقه مانند آن‌ها را مشاهده کرد. در کل، این بیماری باعث ایجاد علائم نکروز ریشه، پژمردگی، کلروز، زخم ساقه، مرگ گیاهچه یا بوته‌میری، کوتولگی، زردی و خشک شدن کل بوته و پوسیدگی ریشه می‌شود (Campbell and Madden, 1990). بیماری ساق سیاه توتون اولین بار توسط وان براد دوهان (Van Breda de Hann) در سال ۱۸۹۶ از کشور اندونزی گزارش شد. در کشور آمریکا، نخست در سال ۱۹۱۵ در ایالت جورجیا مشاهده گردید (Lucas, 1975). در ایران، این بیماری، برای اولین بار در سال ۱۳۴۸ در اطراف برازجان توسط قوام الدین شریف روی بوته‌های تنباکو مشاهده شد. سپس، توسط زالپور در سال ۱۳۵۲ روی بوته‌های توتون در اطراف ارومیه گزارش شد (Elahinia, 1998). در ایران، عمده‌ترین مناطق آلوده به بیماری ساق سیاه، مناطق توتون‌کاری استان‌های مازندران، گلستان، گیلان، آذربایجان غربی و کردستان می‌باشند. در سال‌های اخیر، به دلایلی از قبیل وجود زادمایه کافی، کشت ارقام حساس و شرایط مساعد جوی، این بیماری در استان گلستان به صورت یک بیماری بسیار مخرب درآمده است. جمعیت قارچ و نماتد در خاک، تعداد دفعات سمپاشی در مزرعه و خزانه، مدت آبیاری و بافت خاک از مهم‌ترین متغیرها در بروز شدت بیماری ساق سیاه توتون در استان گلستان گزارش شده‌اند (Sajjadi et al., 2017). شناخت و استفاده از توانایی‌های ذاتی گیاهان در مقابله با خسارت عوامل نامساعد از جمله بیماری‌ها یا به عبارتی مقاومت آن‌ها در مقابل این عوامل خسارت‌زا برای کاهش خسارت ناشی از بیماری‌ها و کاهش دخالت نامطلوب در اکوسیستم‌های طبیعی از اهمیت بسیاری برخوردار است

در پژوهشی، واکنش برخی از ارقام توتون گرمخانه‌ای و هواخشک به قارچ‌های خاکزی توتون، اثر متقابل آن‌ها با نماتد ریشه گرهی توتون و شناسایی ژنوتیپ‌های مقاوم در شرایط گلخانه ارزیابی گردید. نتایج نشان داد که اثرات متقابل نماتد و قارچ‌های خاکزی در توتون از نوع تشدید کننده (Synergistic) بود، به طوری که برهم‌کنش همزمان قارچ و نماتد، افزایش معنی‌داری در درجه علایم و شدت نکروز ریشه داشت. رقم K346 توتون در همه آزمایش‌های مورد بررسی به عنوان رقم مقاوم شناخته شد که دارای سطوح بالایی از مقاومت به هر دو نژاد ۰ و ۱ بیمارگر بود (Sajjadi et al., 2012). در پژوهشی دیگری، استفاده از ارقام حساس توتون مانند K326 (Burley 21)، افزایش کود ازته، افزایش مدت زمان و تعداد دفعات آبیاری، تناوب با گیاهان میزبان بیماری، علف‌های هرز میزبان و بافت خاک سنگین رسی موجب افزایش بیماری ساق سیاه توتون گردیدند. رقم K346 دارای سطوح بالایی از مقاومت به این پاتوژن بود (Sullivan et al., 2005). در مطالعه‌ای گزارش گردید که با انتقال یک ژن (Ph_p) از یک گونه وحشی توتون (*N. plumbaginifolia*) به تعدادی از ارقام تجاری توتون‌های تیپ هواخشک و گرمخانه‌ای، موجب مقاومت به نژاد ۰ و ۳ عامل بیماری ساق سیاه توتون و نماتد کیست توتون شدند (Johnson and Reed, 2010). در پژوهشی، گونه‌های *Nicotiana* که مقاوم به نژاد ۱ قارچ *P. nicotianae* بودند، مورد شناسایی قرار گرفتند. مشخص شد که همه گونه‌ها به جز *N. sylvestris* مقاوم به نژاد ۱ این پاتوژن بودند. آن‌ها گزارش کردند که گونه‌های وحشی *Nicotiana*، منبع ژنتیکی قوی برای مقاومت در برابر ساق سیاه توتون می‌باشند (Li et al., 2006). در پژوهشی در کشور آفریقا، رقم جدید هواخشک LD2، به

(Gallup et al., 2006). برای مدیریت این بیماری، با توجه به انتشار وسیع بیماری و بروز نژادهای مقاوم در برابر برخی از قارچ‌کش‌های شیمیایی رایج و عوارض زیست محیطی سموم، اهمیت توسعه منابع مقاومت ژنتیکی در برابر این بیماری آشکار می‌گردد. استفاده از منابع ژنتیکی مقاومت و تولید ارقام مقاوم یا متحمل توتون، مؤثرترین و اقتصادی‌ترین روش برای مقابله با این بیماری می‌باشد (Nicholson, 2006).

زمستان‌گذرانی این شبه قارچ، به مدت چندین سال روی بقایای گیاهی داخل خاک صورت می‌گیرد. آبیاری غرقابی باعث انتقال عامل بیماری به مناطق عاری از بیماری می‌شود. خسارت این بیماری، در مناطق گرم‌تر، شدیدتر است. این بیماری در مناطق گرم و مرطوب گسترش فراوانی دارد. عامل بیماری‌زا از طریق نشاهای آلوده، آب یا خاک منتشر می‌شود (Sajjadi et al., 2017). در تحقیقی، تأثیر دما و بارندگی روی پیشرفت بیماری ساق سیاه توتون در ایالت کارولینای شمالی آمریکا، بررسی و گزارش شد که دمای هوای روزانه، بارندگی و تعداد روزهای خشک در سرعت پیشرفت این بیماری مؤثر می‌باشند (Jacobi et al., 1983). در پژوهشی، تراکم و پراکنش اینوکلوم اولیه و وضعیت رطوبت خاک بر روی اپیدمیولوژی بیماری ساق سیاه توتون را بررسی نمودند. آن‌ها بیان نمودند که یکی از ابزارهای مهم مدیریت بیماری، مطالعات اپیدمیولوژیک می‌باشد (Ferrin and Mitchell, 1986). در پژوهشی، عامل بیماری ساق سیاه توتون و تنباکو را *P. nicotianae* گزارش نمودند و ویژگی‌های نظیر شکل‌شناسی قارچ، تأثیر دما روی رشد آن و همچنین حساسیت نه رقم توتون و تنباکو نسبت به آن را مورد بررسی قرار دادند و دریافتند که همه ارقام به این بیمارگر حساس بودند (Ershad et al., 1974).

عنوان رقم مقاوم به ساق سیاه معرفی شد که این رقم از روش تلاقی برگشتی بعد از طی هفت نسل هموزیگوسیتی حاصل شده و دارای عملکرد بیشتری بود (De Beer & Terblanche, 2011). در سالیان اخیر، با توجه به گرم‌تر شدن هوا و گسترش و خسارت و اهمیت زیاد بیماری ساق سیاه توتون در کمیت و کیفیت محصول تولیدی، ضروری است مدیریت این بیماری مورد توجه قرار گیرد و روش‌های مناسب با کمترین خطر آلودگی برای انسان و محیط زیست پیشنهاد شوند. با توجه به اهمیت استفاده از ارقام مقاوم در مدیریت این بیماری، این پژوهش، با هدف ارزیابی مقاومت ژنوتیپ‌های توتون گرمخانه‌ای نسبت به بیماری ساق سیاه توتون در شرایط گلخانه و مزرعه انجام شد تا بتوان از منابع مقاومت آن در برنامه‌های به نژادی در آینده استفاده کرد.

مواد و روش‌ها

تهیه زاد مایه و خالص‌سازی قارچ عامل بیماری ساق سیاه توتون

شبه قارچ *P. nicotianae* از کلکسیون بخش گیاه‌پزشکی مرکز تحقیقات و آموزش تیرتاش تهیه شد. برای مایه‌زنی، قطعات کوچکی از حاشیه کلنی فعال این شبه قارچ، جهت جداسازی عامل بیماری، روی محیط کشت نیمه انتخابی PARPH کشت داده شد و ظروف پتری به مدت ۷-۵ روز در دمای 25°C داخل انکوباتور برای رشد قارچ نگهداری شدند. پس از مشاهده رشد قارچ، جهت اثبات بیماری-زایی، قطعاتی از قارچ به محیط آب آگار (WA) دو درصد منتقل و پس از ۲۴ ساعت، با روش برداشتن نوک ریشه یا تک اسپور، به محیط کشت PDA منتقل و کشت داده شد تا کشت خالص جهت تهیه زاد مایه به دست آید (Kannwischer & Mitchell, 1981).

مواد گیاهی

ژنوتیپ‌های توتون تیپ گرمخانه‌ای مورد مطالعه، شامل ۱۶ هیبرید F_1 ، ۸ والد آن‌ها به همراه ۲ رقم شاهد (k326, k346) بودند. بذور ژنوتیپ‌های مورد مطالعه، به طور جداگانه در سینی‌های کشت حاوی مخلوط پیت ماس، پرلیت و کوکوپیت با نسبت‌های مساوی، به روش خزانه شناور (Float system) بذرپاشی شدند و از آن‌ها مراقبت-های زراعی لازم، جهت تهیه نشاهای مرغوب به عمل آمد. آزمایشات گلخانه‌ای

ارزیابی واکنش ژنوتیپ‌های توتون در گلخانه بخش تحقیقات گیاه‌پزشکی مرکز تحقیقات و آموزش توتون تیرتاش، در قالب طرح آزمایشی کاملاً تصادفی با ۲۶ تیمار و در ۳ تکرار که هر تکرار، شامل ۵ گلدان بوده و در هر گلدان، یک بوته توتون قرار داشت، اجرا شد. پس از اینکه نشاها به مرحله ۵-۴ برگگی رسیدند، در گلدان‌های پلاستیکی یک کیلوگرمی حاوی خاک سترون کاشته شدند. گلدان‌ها در شرایط گلخانه با دمای 25 ± 5 درجه سلسیوس، رطوبت نسبی 10 ± 65 درصد و دوره نوری ۱۶ ساعت روشنایی و ۸ ساعت تاریکی قرار داده شدند. بوته‌ها پس از کاشت، تحت مراقبت و آبیاری قرار گرفتند. حدود ۱۰ روز پس از نشاکاری، مایه‌زنی و آلوده‌سازی مصنوعی بوته‌ها با شبه قارچ عامل بیماری ساق سیاه توتون (*P. nicotianae*)، با قراردادن قطعات دیسک‌های میسلیم قارچی در اطراف طوقه و انتهای ساقه گیاهان، پای سه بوته توتون به طور تصادفی از هر تکرار، با کنار زدن خاک اطراف آن‌ها، انجام شده و از خاک گلدان، روی آن‌ها برگردانده شد.

شناسایی شبه قارچ عامل بیماری ساق سیاه توتون (*P. nicotianae*) بر اساس بررسی و مقایسه خصوصیات مورفولوژیک و پاره‌ای از ویژگی‌های فیزیولوژیک با استفاده از کلید شناسایی استمپ و همکاران صورت

دوره رشد گیاه در مزرعه، طبق روال انجام شد. از هیچ گونه قارچ‌کشی استفاده نشد تا جمعیت شبه قارچ بیماری، کاهش پیدا نکند. مایه‌زنی بوته‌های توتون با شبه قارچ *P. nicotianae*، در شرایط مزرعه با قراردادن قطعات دیسک-های میسلیم قارچی، در محل طوقه پای ۱۰ بوته توتون به صورت تصادفی از هر کرت انجام شد. صفات مورد ارزیابی در مزرعه شامل درصد آلودگی، شاخص بیماری و سطح زیر منحنی پیشرفت بیماری (AUDPC) بودند. از زمان شروع علائم بیماری در مزرعه، طی بازدیدهای مستمر هفتگی، یادداشت برداری‌های لازم، شامل شمارش تعداد کل بوته در هر کرت، تعداد بوته آلوده در هر کرت و ارزیابی بوته‌ها از نظر آلودگی بیماری بر اساس خصوصیات ظاهری و علائم بیماری در سه نوبت (۲۰ تیرماه، ۲۰ مردادماه و ۲۰ شهریورماه) انجام شد و از آن‌ها میانگین گرفته شد. برای تعیین رتبه شدت بیماری از مقیاس رتبه‌دهی پنج قسمتی استفاده شد (Van Jaarsveld *et al.*, 2003). جهت مقایسه ژنوتیپ‌ها از نظر شاخص بیماری، از رابطه زیر استفاده گردید:

(رتبه شدت بیماری $\times$ درصد آلودگی) = شاخص بیماری

گرفت (Stamps *et al.*, 1990). ارزیابی شدت بیماری ساق سیاه، حدود دو هفته پس از مایه‌زنی، با استفاده از روش (Van Jaarsveld *et al.*, 2003) بر اساس مقیاس رتبه‌دهی (۱-۵) انجام شد (جدول ۱). در شرایط گلخانه، صفت دوره کمون که بیانگر تعداد روز از زمان مایه‌زنی تا ظهور اولین علائم بیماری روی گیاه می‌باشد و نیز صفات درصد آلودگی بیماری و شدت بیماری یادداشت‌برداری و ارزیابی شدند.

مطالعات مزرعه‌ای

ارزیابی واکنش ژنوتیپ‌های توتون به شبه قارچ *P. nicotianae* در شرایط مزرعه، در قالب طرح آزمایشی بلوک‌های کامل تصادفی با ۲۶ تیمار و در ۳ تکرار (کرت) انجام شد. نشاهای مربوط به هر رقم، پس از رسیدن به مرحله ۵-۴ برگی، جهت نشاکاری به مزرعه منتقل شدند. ابعاد کرت‌های آزمایشی ۲۰ مترمربع بود و نشاهای توتون با فاصله ۳۰ سانتی‌متر درون کرت‌ها و فاصله ۶۰ سانتی‌متر بین کرت‌ها کاشته شدند. عملیات زراعی، شامل کوددهی، آبیاری، وجین علف‌های هرز و مبارزه با آفات در طول

جدول ۱- مقیاس رتبه‌دهی بیماری ساق سیاه توتون بر اساس پیشرفت بیماری، طبق روش (Van Jaarsveld *et al.*, 2003).

Table 1. Tobacco Black shank disease scoring based on disease progression, according to (Van Jaarsveld *et al.*, 2003) method.

Disease severity	Symptoms	infection
1	Healthy plant	0-25
2	The lower leaves of the plant are yellow.	26-50
3	The lower and middle leaves of the plant are yellow.	51-75
4	All the leaves of the plant are yellow and the stem is brown.	76-100
5	Death of the plant.	> 100

آنالیز داده‌ها با استفاده از نرم افزارهای SAS ver.9.1 و Excel و مقایسه میانگین‌ها با استفاده از آزمون حداقل تفاوت معنی‌دار (LSD) انجام شد. برای گروه‌بندی ارقام، تجزیه خوشه‌ای به روش واریانس ward و با استفاده از مجذور فاصله اقلیدسی با استفاده از نرم افزار XLSTAT 2016 انجام شد

نتایج و بحث

ارزیابی واکنش ژنوتیپ‌های توتون در شرایط گلخانه

نتایج تجزیه واریانس نشان داد که ژنوتیپ‌های توتون از لحاظ صفات مورد بررسی در شرایط گلخانه، دارای اختلاف معنی‌دار آماری در سطح یک درصد بودند (جدول ۲). مقایسه میانگین صفات مورد بررسی در ژنوتیپ‌های توتون در شرایط گلخانه (جدول ۳) نشان داد که از لحاظ صفت شدت بیماری (DS)، رقم K326 و پس از آن، ارقام شاهد NC100 و TC100 بیشترین و ارقام Coker 371G و Coker 176 کمترین مقدار را داشتند.

درصد آلودگی بیماری که نشان‌دهنده تعداد بوته‌های آلوده نسبت به تعداد کل بوته‌های هر کرت است، با استفاده از فرمول $I = \sum x / N$ به دست آمد، که در این معادله I بیانگر میزان درصد آلودگی، x بیانگر تعداد بوته‌های آلوده و N بیانگر تعداد کل بوته‌های ارزیابی شده می‌باشد (Cardoso *et al.*, 2004). شاخص سطح زیر منحنی پیشرفت بیماری (AUDPC) معیار خوبی برای مقایسه آلودگی ارقام مختلف به بیماری می‌باشد که این شاخص برای درصد آلودگی بیماری و نیز شدت متوسط بیماری در مزرعه تعیین گردید. جهت محاسبه سطوح زیر منحنی پیشرفت بیماری از معادله $AUDPC = \sum_{i=1}^{n-1} [(x_i + x_{i+1})/2](t_{i+1} - t_i)$ استفاده گردید که در این معادله AUDPC بیانگر سطح زیر منحنی پیشرفت بیماری، n بیانگر تعداد ارزیابی، x_i بیانگر وقوع بیماری در i امین ارزیابی و t_i بیانگر زمان i امین ارزیابی می‌باشد (Sajjadi *et al.*, 2015).

آنالیز آماری داده‌ها

جدول ۲- تجزیه واریانس صفات مورد ارزیابی در شرایط گلخانه

Table 2. Analysis of evaluated characteristic in Greenhouse conditions

S. O. V	df	MS	
		Disease severity (DS)	Latent period (LP)
Genotype	25	2.15 **	978.46**
Error	52	0.020	0.0011
CV (%)	-	7.76	10.06

** : significant at 1% probability level

بیشتری به بیماری ساق سیاه توتون می‌باشد. از لحاظ صفت دوره کمون (LP)، رقم Coker 371G بیشترین و ارقام NC100 و K326 کمترین مقدار دوره کمون را دارا بودند. هر چقدر مقدار دوره کمون بیشتر باشد،

هر چقدر مقدار صفت شدت بیماری بیشتر باشد، بدین معنی است که آن رقم، دارای حساسیت بیشتری به بیماری ساق سیاه بوده و هر چقدر مقدار شدت بیماری (DS) کمتر باشد، یعنی آن رقم، دارای مقاومت

بدین معنی است که آن رقم، دارای مقاومت بیشتری بوده و هر چقدر دوره کمون کمتر باشد، یعنی آن رقم دارای حساسیت بیشتری به بیماری ساق سیاه می-باشد. بر اساس اطلاعات حاصل در شرایط گلخانه

می‌توان نتیجه گرفت که حساس‌ترین ارقام، دارای کمترین دوره کمون (LP) و بیشترین شدت بیماری (DS) بودند.

جدول ۳- مقایسه میانگین صفات مورد ارزیابی در ژنوتیپ‌های توتون در شرایط گلخانه

Table 3. Mean comparison for evaluated characteristics of tobacco genotypes in greenhouse condition

Genotype number	Genotype name	DS	LP	Reaction
1	K394 × Coker 176	1.91 ^F	9 ^K	Moderately resistant
2	K394 × MN944	1.83 ^{GF}	9 ^K	Moderately resistant
3	K394 × k326	2.33 ^{DE}	8 ^L	Moderately resistant
4	K394 × Coker 347	1.58 ^{HI}	10 ^J	resistant
5	Coker 371G × Coker 176	1 ^K	13 ^G	resistant
6	Coker 371G × MN944	2.58 ^C	8 ^L	Moderately resistant
7	Coker 371G × K326	1.58 ^{HI}	12 ^H	resistant
8	Coker 371G × Coker 347	1.08 ^K	17 ^C	resistant
9	NC60 × Coker 176	1.33 ^J	13 ^G	resistant
10	NC60 × MN944	1.41 ^{IJ}	12 ^H	resistant
11	NC60 × K326	1.83 ^{GF}	11 ^I	Moderately resistant
12	NC60 × Coker 347	1.66 ^{GH}	13 ^G	Moderately resistant
13	K346 × Coker 176	1.08 ^K	16 ^D	resistant
14	K346 × MN944	1.58 ^{HI}	12 ^H	resistant
15	K346 × K326	2.41 ^{CD}	9 ^K	Moderately resistant
16	K346 × Coker 347	1.08 ^K	19 ^B	resistant
17	K394	1.33 ^J	14 ^F	resistant
18	Coker 371G	1 ^K	20 ^A	resistant
19	NC60	1.33 ^J	13 ^G	resistant
20	K346	1.08 ^K	15 ^E	resistant
21	Coker 176	2.58 ^C	8 ^L	susceptible
22	MN944	2.16 ^E	9 ^K	Moderately resistant
23	K326	4.83 ^A	7 ^M	susceptible
24	Coker 347	1.83 ^{GF}	10 ^J	Moderately resistant
25	NC100	3 ^B	7 ^M	susceptible
26	TC100	2.83 ^B	8 ^L	susceptible

DS: Means with similar letters are not significantly different at the 1% probability level. LP: دوره کمون

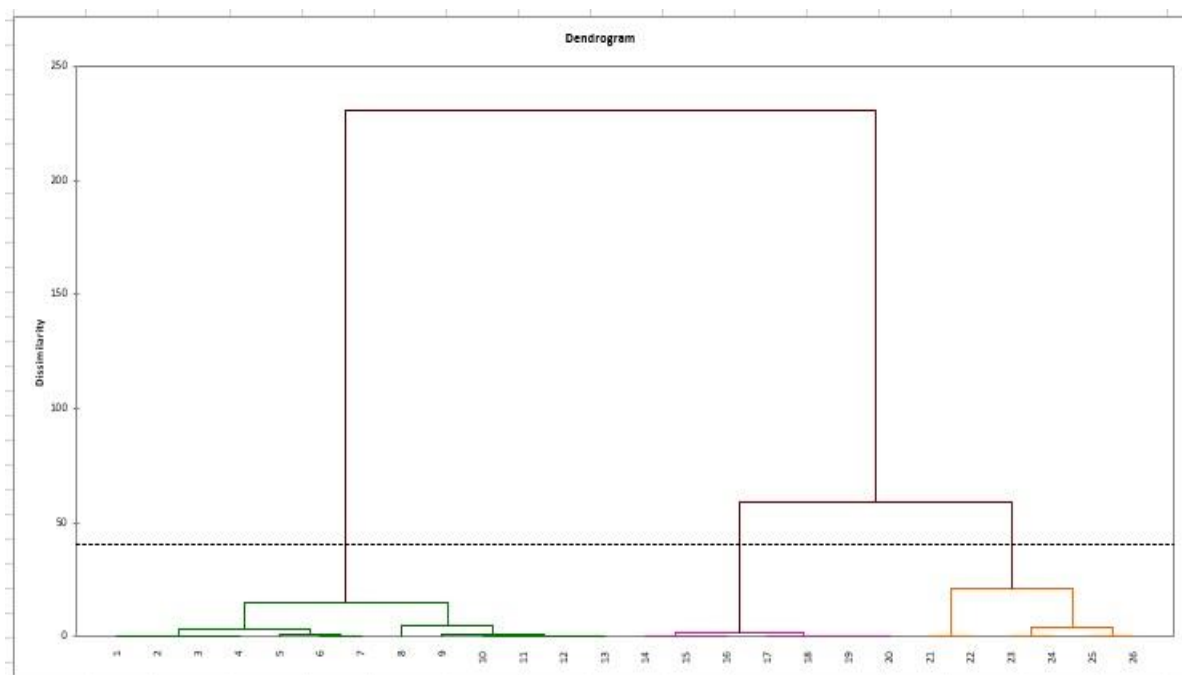
از تجزیه خوشه‌ای، برای تعیین شباهت بین ارقام استفاده گردید. این روش، تحلیل چند متغیره است که بر اساس صفات اندازه‌گیری شده و با محاسبه ماتریس فاصله اقلیدوسی، گروه‌بندی را بر اساس کمترین فواصل

(بیشترین شباهت‌های ژنتیکی) انجام و خوشه‌ها را تعیین می‌کند. تجزیه خوشه‌ای به روش حداقل واریانس Ward انجام گرفت. پس از رسم دندروگرام تجزیه خوشه‌ای ژنوتیپ‌های توتون از نظر صفات مورد مطالعه مقاومت به

و دارای شدت بیماری پایین در سمت چپ و وسط نمودار و ژنوتیپ‌های حساس با شدت بیماری بالا در سمت راست نمودار قرار گرفتند.

می‌باشند. ژنوتیپ‌های گروه (خوشه) اول و دوم، جزء ارقام مقاوم (resistant) و یا نیمه مقاوم (Moderately resistant) به این بیماری هستند. ژنوتیپ‌های حساس به این بیماری، در گروه (خوشه) سوم قرار داشتند.

بیماری ساق سیاه در گلخانه و تعیین خط برش توسط نرم افزار، سه گروه (خوشه) بدست آمد (شکل ۱). بر اساس دندروگرام حاصل در گلخانه، ژنوتیپ‌های مقاوم دندروگرام حاصل در شرایط گلخانه، مشخص نمود که گروه اول، شامل ژنوتیپ‌های شماره ۱، ۲، ۳، ۴، ۵، ۶، ۷، ۸، ۹، ۱۰، ۱۱، ۱۲ و ۱۳ می‌باشند. گروه دوم، شامل ژنوتیپ‌های شماره ۱۴، ۱۵، ۱۶، ۱۷، ۱۸، ۱۹ و ۲۰ هستند. گروه سوم، شامل ژنوتیپ‌های شماره ۲۱، ۲۲، ۲۳، ۲۴، ۲۵ و ۲۶



شکل ۱- دندروگرام تجزیه خوشه‌ای ژنوتیپ‌های توتون از نظر صفات مورد مطالعه برای مقاومت به بیماری ساق سیاه در گلخانه

Figure 1. Dendrogram of cluster analysis of tobacco genotypes for studied traits to resistance of Black shank disease in greenhouse.

ارزیابی واکنش ژنوتیپ‌های توتون در شرایط مزرعه

و رقم Coker 371G، هیچ گونه درصد آلودگی نداشته و کمترین مقدار را دارا بودند. از لحاظ صفات شاخص بیماری (DI) و نیز سطح زیر منحنی پیشرفت بیماری (AUDPC)، رقم NC100 دارای بیشترین مقدار و رقم Coker 371G دارای کمترین مقدار بودند.

نتایج تجزیه واریانس نشان داد که ژنوتیپ‌های توتون از لحاظ صفات مورد بررسی در شرایط مزرعه، دارای اختلاف معنی‌دار در سطح یک درصد بودند (جدول ۴). مقایسه میانگین صفات مورد بررسی در ژنوتیپ‌های توتون در شرایط مزرعه (جدول ۵) نشان داد که از لحاظ صفت درصد آلودگی (DP)، رقم NC100 و پس از آن، رقم TC100 بیشترین

جدول ۴- تجزیه واریانس صفات مورد ارزیابی در شرایط مزرعه

Table 2. Analysis of evaluated characteristic in field conditions.

S.O.V	df	MS		
		DP	DI	AUDPC
Block	2	11.85	131.39	31.39
Genotype	25	266.11 **	7717.31 **	37534.37 **
Error	50	3.19	21.19	169.46
CV (%)	-	14.4	11.37	8.82

**: significant at 1% probability level.

جدول ۵- مقایسه میانگین صفات مورد ارزیابی در ژنوتیپ‌های توتون در شرایط مزرعه

Table 5. Mean comparison for evaluated characteristics of tobacco genotypes in field condition

Genotype number	Genotype name	DP	DI	AUDPC	Reaction
1	K394 × Coker 176	25 ^C	125 ^B	361.6 ^B	Moderately susceptible
2	K394 × MN944	10 ^G	20 ^F	131.6 ^F	Moderately resistant
3	K394 × k326	5 ^{HI}	5 ^{GH}	58.6 ^{GH}	resistant
4	K394 × Coker 347	10 ^G	20 ^F	130 ^F	Moderately resistant
5	Coker 371G × Coker 176	15 ^E	45 ^D	191.6 ^E	Moderately resistant
6	Coker 371G × MN944	13.3 ^{EF}	20 ^F	125 ^F	Moderately resistant
7	Coker 371G × K326	10 ^G	20 ^F	125 ^F	Moderately resistant
8	Coker 371G × Coker 347	3.3 ^{IJ}	3.3 ^{GH}	30 ^J	resistant
9	NC60 × Coker 176	25 ^C	125 ^B	300 ^C	Moderately susceptible
10	NC60 × MN944	5 ^{HI}	5 ^{GH}	56.6 ^{GH}	resistant
11	NC60 × K326	10 ^G	20 ^F	128.3 ^F	Moderately resistant
12	NC60 × Coker 347	5 ^{HI}	5 ^{GH}	58.3 ^{GH}	resistant
13	K346 × Coker 176	6.6 ^H	10 ^G	53.3 ^{HI}	Moderately resistant
14	K346 × MN944	6.6 ^H	10 ^G	76.6 ^G	Moderately resistant
15	K346 × K326	10 ^G	20 ^F	128.3 ^F	Moderately resistant
16	K346 × Coker 347	5 ^{HI}	6 ^{GH}	71.6 ^{GH}	resistant
17	K394	20 ^D	80 ^C	213.3 ^D	Moderately susceptible
18	Coker 371G	0 ^K	0 ^H	0 ^K	resistant
19	NC60	15 ^E	45 ^D	213.3 ^D	Moderately resistant
20	K346	1.6 ^{JK}	1.6 ^H	33.3 ^{IJ}	resistant
21	Coker 176	6.6 ^H	10 ^G	63.3 ^{GH}	Moderately resistant
22	MN944	11.6 ^{FG}	28.3 ^E	140 ^F	Moderately resistant
23	K326	20 ^D	80 ^C	213.3 ^D	Moderately susceptible
24	Coker 347	11.6 ^{FG}	28.3 ^E	138.3 ^F	Moderately resistant
25	NC100	40 ^A	200 ^A	433.3 ^A	susceptible
26	TC100	30 ^B	120 ^B	360 ^B	susceptible

Means with similar letters are not significantly different at the 1% probability level.

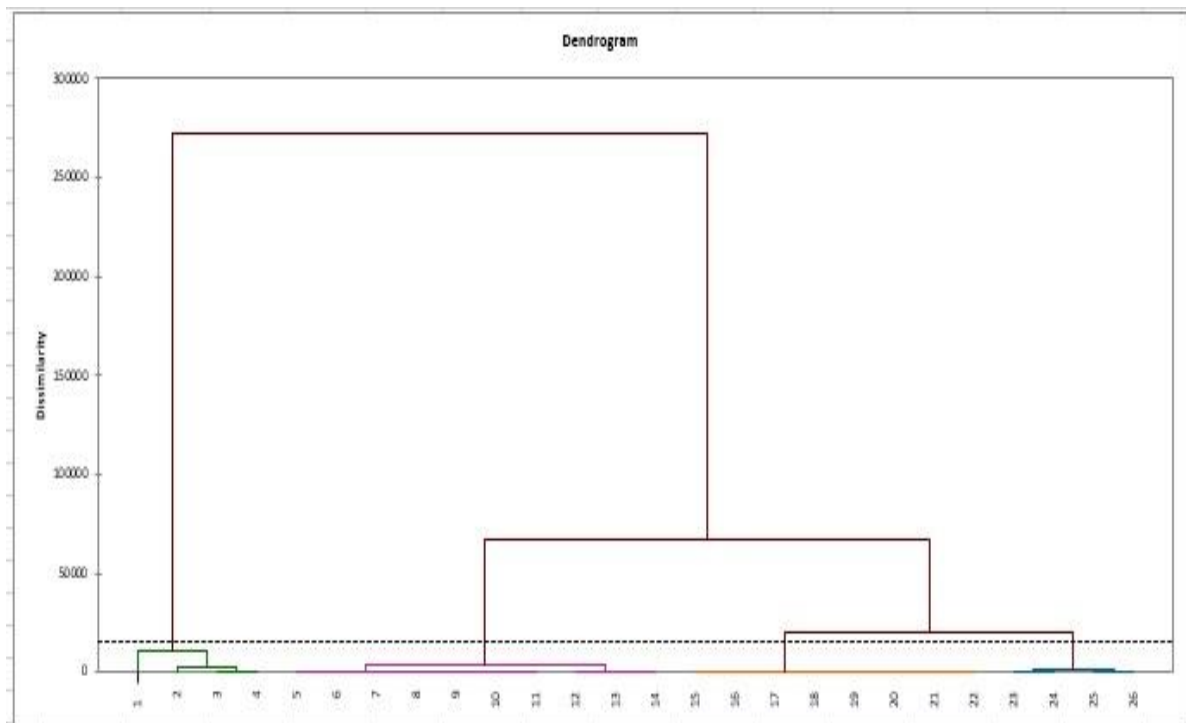
DP: درصد آلودگی، DI: شاخص بیماری، AUDPC: سطح زیر منحنی پیشرفت بیماری

تجزیه خوشه‌ای به روش واریانس Ward و با تعیین فاصله اقلیدوسی و الگوریتم ادغام متوسط انجام گرفت. بر اساس دندروگرام حاصل برای صفات مورد مطالعه در شرایط مزرعه و تعیین خط برش توسط نرم افزار (شکل ۲)، ژنوتیپ‌های مورد مطالعه به ۴ گروه مجزا طبقه‌بندی شدند. بر اساس دندروگرام حاصل در شرایط مزرعه، ژنوتیپ‌های مقاوم و حساس به صورت پراکنده در گروه‌ها (خوشه‌ها) قرار گرفتند. علت قرار گرفتن ژنوتیپ‌ها در گروه‌های مختلف، ممکن است مربوط به منشأ جغرافیایی و تفاوت‌های ژنتیکی آن‌ها باشد.

دندروگرام حاصل در شرایط مزرعه، مشخص نمود که گروه اول، شامل ژنوتیپ‌های شماره ۱، ۲، ۳، ۴ هستند. گروه دوم، شامل ژنوتیپ‌های شماره ۵، ۶، ۷، ۸، ۹، ۱۰، ۱۱، ۱۲، ۱۳ و ۱۴ هستند. گروه سوم، شامل ژنوتیپ‌های شماره ۱۵، ۱۶، ۱۷، ۱۸، ۱۹، ۲۰، ۲۱ و ۲۲ هستند. گروه چهارم، شامل ژنوتیپ‌های شماره ۲۳، ۲۴، ۲۵ و ۲۶ هستند. ژنوتیپ‌های گروه (خوشه) اول، جزء ارقام مقاوم (resistant) و یا نیمه مقاوم (Moderately resistant) به این بیماری هستند. ژنوتیپ‌های گروه (خوشه) دوم و سوم، جزء ارقام مقاوم (resistant)، نیمه مقاوم (Moderately resistant) و

نیمه حساس (Moderately susceptible) به این بیماری هستند. ارقام حساس (susceptible) به این بیماری در مزرعه که جزء ارقام شاهد بودند، در گروه چهارم قرار گرفتند. بر اساس دندروگرام حاصل در هر دو شرایط مزرعه و گلخانه، ژنوتیپ‌های مقاوم و دارای شدت بیماری پایین در سمت چپ و وسط نمودار و ژنوتیپ‌های حساس با شدت بیماری بالا در سمت راست نمودار قرار گرفتند.

نتایج بدست آمده از پژوهش حاضر نشان داد که ژنوتیپ شماره ۸، حاصل از تلاقی Coker 371 G × Coker 347 که تحمل بالایی در هر دو شرایط گلخانه و مزرعه نسبت به بیماری ساق سیاه توتون داشته است، از رقم Coker 371 G بدست آمده که رقمی مقاوم بوده و دارای منبع ژن مقاومت به بیماری ساق سیاه توتون بوده است. در هر دو شرایط گلخانه و مزرعه، ژنوتیپ شماره ۱۸ (Coker 371G) و پس از آن، ژنوتیپ شماره ۸ (Coker 371G × Coker 347) مقاوم-ترین ارقام بودند. در شرایط گلخانه، حساس‌ترین ارقام، ژنوتیپ‌های شماره ۲۳ (K326) و شماره ۲۵ (NC100) بودند. در شرایط مزرعه، حساس‌ترین ارقام، ژنوتیپ‌های شماره ۲۵ (NC100) و ۲۶ (TC100) بودند.



شکل ۲- دندروگرام تجزیه خوشه‌ای ژنوتیپ‌های توتون از نظر صفات مورد مطالعه برای مقاومت به بیماری ساق سیاه در مزرعه
Figure 2. Dendrogram of cluster analysis of tobacco genotypes for studied traits to resistance of Black shank disease in field

مقاومت به بیماری ساق سیاه توتون مورد استفاده قرار گیرند. به همین دلیل، جهت مدیریت این بیماری، شناسایی مداوم منابع مقاومت جدید و استفاده از آن‌ها در برنامه‌های به نژادی ارقام مقاوم به بیماری، ضروری می‌باشد. در سالیان اخیر، بیماری ساق سیاه بیش از هر بیماری دیگر توتون مورد توجه محققین قرار گرفته است. خسارت بسیار شدید این بیماری، پیچیدگی چرخه زندگی، خاکزی بودن و پایداری طولانی مدت این پاتوژن در خاک و دشواری کنترل این بیماری، از دلایل این امر می‌باشند. برای مبارزه با قارچ عامل بیماری ساق سیاه توتون، از روش‌های متفاوتی نظیر کنترل شیمیایی با استفاده از انواع قارچکش‌ها، کنترل بیولوژیک، روش‌های فیزیکی و غیره بهره برده شده است که هیچ‌کدام از روش‌های فوق توفیق کامل در کنترل این بیمارگر را به همراه نداشته است. برای اتخاذ یک روش مناسب مبارزه با قارچ‌های بیماری‌زای

برای گروه‌بندی و تعیین میزان ارتباط و قرابت ژنوتیپ‌ها بر اساس صفات مورد مطالعه، تجزیه خوشه‌ای (کلاستر) با استفاده از ضریب فاصله اقلیدوسی (Euclidean Distance) به روش حداقل واریانس وارد انجام شد. ژنوتیپ‌های واقع در هر گروه (خوشه) دارای کمترین فاصله ژنتیکی و دارای بیشترین میزان قرابت و خویشاوندی ژنتیکی می‌باشند. در نمودار تجزیه خوشه‌ای در هر دو شرایط گلخانه و مزرعه، ارقام هیبرید و والدی در گروه (خوشه)‌های مجزا قرار گرفتند، ولی از نظر مقاومت به بیماری ساق سیاه توتون، تا حدودی مشابهت نشان دادند، یعنی هیبریدهایی که والدین آن‌ها، مقاوم و یا نیمه مقاوم به این بیماری بودند، آن‌ها نیز نیمه مقاوم تا مقاوم بودند، که احتمالاً دارای ژن مقاومت به این بیماری می‌باشند. بنابراین، این ارقام می‌توانند به عنوان منابع مقاومت به این بیماری در برنامه‌های اصلاح ارقام جهت

خاکری، شناخت دقیق آن و داشتن اطلاعات جامع از آن ضروری به نظر می‌رسد و همین خلأ اطلاعاتی منجر به عدم کارایی روش‌های به کار گرفته شده در کنترل این بیمارگرها بوده است (Bertrand et al., 2016). با توجه به اثرات مخرب زیست محیطی سموم شیمیایی و نیز مقاومت احتمالی عوامل بیماری‌زا به آن‌ها، به همین دلیل، شناسایی و بهره‌گیری از منابع ژنتیکی جدید مقاومت و استفاده از ارقام مقاوم، بهترین و مؤثرترین روش کنترل بوده و حائز اهمیت زیاد می‌باشد و روش بسیار مناسبی در حفظ تراکم جمعیت این عوامل بیماری‌زا زیر آستانه خسارت اقتصادی است. زیرا در این روش، مقاومت از طریق بذر به نتاج نسل بعد منتقل می‌شود (Valleau, 1952).

جهت تعیین مقاومت ارقام، نسبت به بیماری، پیشرفت-هایی را با آلودگی مصنوعی گزارش کردند. زیرا آلودگی طبیعی یکنواخت نبوده و دامنه آلودگی حداکثر تا ۵۰ درصد است. ولی با روش آلودگی مصنوعی، می‌توان میزان آلودگی و شدت بیماری را تا ۱۰۰-۸۰ درصد بالا برد و به طور یکنواخت، همه بوته‌ها را آلوده کرده و ارزیابی آن‌ها را از نظر حساسیت به بیماری انجام داد. شاخص و میزان آلودگی، بسته به رقم، تراکم جمعیت و شرایط محیطی منطقه متفاوت می‌باشد (Melton and Morris, 2001). شرایط محیطی تأثیر زیادی بر مقاومت گیاه دارد، به طوری که دما یکی از مهم‌ترین عوامل محیطی پاسخ گیاه نسبت به عوامل بیماری‌زای خاکری است. دما بر شیوع، بقا، پراکنش، مهاجرت و نفوذ این عوامل بیماری‌زای خاکری در خاک و ریشه، مراحل تکاملی و بیان علائم در گیاه تأثیر دارد. با افزایش دمای خاک به بیش از ۳۰ درجه سانتی‌گراد، بیماری از گیاهچه‌های جوان آغاز می‌شود. نشانه‌های بیماری با سن گیاه و شرایط آب و هوایی متفاوت است. با پوسیدگی ریشه و ساقه، علایم پژمردگی شروع می‌شود

و برگ‌ها تغییر رنگ داده و زرد یا قهوه‌ای می‌شوند که میزان آن، با توجه به سطح مقاومت میزبان و نوع ژنوتیپ توتون متفاوت است (Korubin-Aleksoska and Aleksoski, 2015). قارچ عامل بیماری (*P. nicotianae*) با گرما و رطوبت زیاد، تهویه ضعیف خاک، آبیاری زیاد و فاصله کم بوته‌ها شدت پیدا می‌کند. این پاتوژن، همچنین، از طریق نشاهای آلوده، آب یا خاک منتشر می‌شود. بنابراین، رعایت تناوب زراعی، فاصله کاشت، پرهیز از کوددهی اضافی، آبیاری مناسب و پرهیز از جمع شدن آب در پای بوته‌ها در طولانی مدت در کاهش بیماری مؤثر می‌باشند (Jerald et al., 1993). شبه قارچ (*P. nicotianae*) دارای چهار نژاد ۰، ۱، ۲ و ۳ بر روی توتون در مناطق مختلف توتون‌کاری در جهان می‌باشند که نژاد ۰ و ۱ آن در ایران غالب می‌باشند (Sajjadi and Assemi, 2012). تعیین نژاد قارچ *P. nicotianae* از طریق میزبان‌های افتراقی انجام می‌شود که مطابق منابع، ارقام Coker 371-Gold، NC 71، K346 و Beinhardt 1000-1 به هر دو نژاد صفر و یک این قارچ مقاوم بودند (Shew et al., 2006). در تحقیقی، گزارش شد که توتون رقم Coker 371-Gold دارای بالاترین سطح مقاومت به هر دو نژاد صفر و یک قارچ بوده است (Tashkoski, 2005)، که با نتایج پژوهش حاصل مطابقت داشت. همچنین، در مطالعه دیگری که به منظور ارزیابی مقاومت چند رقم توتون نسبت به قارچ *P. nicotianae* از طریق مایه‌زنی ریشه گیاهان انجام شد، گزارش شد که بالاترین میزان مقاومت به هر دو نژاد صفر و یک این قارچ، در ارقام توتون Coker 371-Gold و Beinhardt 1000-1 مشاهده شد (Tashkoski, 2003).

در پژوهشی، مقاومت ساقه و ریشه برخی ارقام توتون گرمخانه‌ای را در برابر عامل بیماری ساق سیاه توتون بررسی نمود و گزارش کرد که ارقام توتون

تعیین عکس‌العمل ارقام مختلف توتون نسبت به مجموعه بیماری‌های خاکزی، مقایسه درصد آلودگی ارقام، مشخصه پایداری برای ارزیابی ارقام می‌باشد، زیرا مقاومت ژنتیکی میزبان را بر اساس مقاومت فعال درگیر شده تعیین می‌کند. به دلیل ماهیت کمی مقاومت به عوامل بیماری‌زای خاکزی در توتون، هر چه تعداد ژن‌های مقاومت افزایش یابد، سطح مقاومت گیاه نیز افزایش می‌یابد. به این ترتیب انتخاب ارقام مقاوم به این عوامل بیماری‌زای خاکزی با توجه به شدت آلودگی منطقه مورد مطالعه و ظرفیت عملکرد رقم در شرایط آلوده اهمیت بالایی دارد. عملکرد، کیفیت و مقاومت به عوامل بیماری‌زا از جمله عوامل مؤثر و مهم در انتخاب ارقام مناسب برای کشت در هر منطقه می‌باشند. با توجه به اینکه عملکرد، بستگی به ظرفیت ژنتیکی و عکس‌العمل آن‌ها در شرایط محیطی مختلف دارد، لازم است برای استفاده بهتر از ارقام متحمل، در هر منطقه، ارقام برتر و مناسب‌تری که دارای پتانسیل عملکرد و کیفیت بالاتر و سازگارتر نسبت به عوامل بیماری‌زا، مشخص و معرفی گردند (Mitreski et al., 2006).

یک رقم زراعی ممکن است در مرحله گیاهچه یا مراحل اولیه رشد نسبت به یک بیمارگر حساس باشد ولی در مرحله بلوغ مقاومت نشان دهد. مقاومت در مرحله بلوغ از نظر اقتصادی بسیار اهمیت داشته و در کنترل بیماری‌ها و جلوگیری از کاهش محصول بسیار مؤثر است. لذا ارزیابی گلخانه‌ای، به تنهایی معیار مناسبی برای انتخاب ارقام مقاوم در مورد بیماری‌ها محسوب نمی‌شود و حتماً باید ارزیابی مقاومت ارقام در مزارع آلوده مورد بررسی قرار گیرد. ارزیابی مزرعه‌ای مقاومت به این بیماری‌ها را می‌توان در یک منطقه خاص که شرایط محیطی برای آلودگی مساعد است متمرکز نمود (Melton and Morris, 2001). در پژوهش (Mohajervatan et al., 2016) نیز چنین

Coker 371- Gold، NC71 و NC 1071، مقاومت بسیار زیادی را در برابر آلودگی با نژاد صفر قارچ *P. nicotianae* در هر دو اندام ساقه و ریشه از خود نشان دادند (Csinos, 1999). در پژوهشی، شناسایی منبع ژنتیکی جدید دارای مقاومت بالا به بیماری ساق سیاه توتون و نیز شناسایی جایگاه‌های ژنومی مرتبط با مقاومت آن‌ها مورد بررسی قرار گرفت. آن‌ها یک جمعیت دابل هاپلوئید (DH) از تلاقی رقم مقاوم x حساس به این بیماری ایجاد کردند و گزارش کردند که چند مکان ژنومی جدید در لاین‌های مقاوم ایجاد شده یافت شد که می‌توانند مقاومت به بیماری ساق سیاه در گونه‌های تجاری توتون را بهبود بخشد (Shinjo et al., 2018).

در مورد نحوه توارث مقاومت به بیماری ساق سیاه توتون، تحقیقاتی انجام شده است، از جمله، توارث‌پذیری مقاومت به نژاد صفر قارچ *P. nicotianae* در توتون رقم Coker 371-Gold بررسی و گزارش گردید که توتون رقم Coker 371-Gold دارای ژن منفرد غالب (ژن Ph) است که ایجاد سطوح بسیار بالایی از مقاومت به نژاد صفر قارچ عامل بیماری ساق سیاه می‌کند. همچنین، بیان شد که رقم توتون Florida 301 که در برابر هر دو نژاد صفر و یک قارچ *P. nicotianae* ایجاد مقاومت می‌کند، چندین سال است که در مناطق توتون کاری ایالات متحده آمریکا کشت می‌گردد (Carlson et al., 1997). در تحقیق دیگری، به منظور بررسی توارث‌پذیری مقاومت به بیماری ساق سیاه توتون، گزارش شد که مقاومت در برابر نژاد صفر قارچ *P. nicotianae* که از *Nicotiana longiflora* مشتق شده و به لاین اصلاحی توتون تیپ هواخشک به نام L8 منتقل شده است، توسط یک ژن منفرد غالب ایجاد شده است (Collins et al., 2011). در پژوهشی، گزارش شد که ارقام توتون گرمخانه‌ای K346، K394 و NC60 دارای مقاومت خیلی زیاد به بیماری ساق سیاه می‌باشند (Taskoski, 2003). بررسی‌ها نشان داد که در

منتقل می‌شوند و به راحتی به مناطق سالم و غیرآلوده منتشر می‌شوند (Sajjadi and Assemi, 2012). مطالعات نشان داده است که جهت انتخاب ارقام مناسب برای مناطقی که شرایط آلودگی به بیماری مساعد باشد، مقاومت به بیماری، تنها معیار انتخاب نبوده و میزان عملکرد ارقام در شرایط منطقه و در شرایط بروز بیماری، می‌تواند معیار مناسبی جهت انتخاب صحیح ارقام باشد.

نتایج به دست آمده از این پژوهش، نشان داد که ژنوتیپ‌های شماره ۸، ۱۰، ۱۶، ۱۸ و ۲۰ در برابر بیماری ساق سیاه توتون در هر دو شرایط گلخانه و مزرعه، مقاوم بودند. این ژنوتیپ‌ها می‌توانند به عنوان منابع ژنتیکی مقاومت به این بیماری در برنامه‌های به‌نژادی جهت اصلاح ارقام مقاوم مورد استفاده قرار گیرند. به همین دلیل، لازم است که در طرح‌های آتی، این ارقام از نظر عملکرد کمی و کیفی و سازگاری و پایداری عملکرد نیز در مناطق و مزارع مختلف آلوده به این بیماری، مورد بررسی قرار گیرند.

سپاسگزاری

از مرکز تحقیقات و آموزش توتون تیرتاش به خاطر زحمات و فراهم نمودن امکانات مالی و اجرایی این تحقیق، قدردانی می‌شود.

نتیجه‌ای گزارش شد. در پژوهش حاضر نیز این موضوع تأیید شد. ژن مقاومت به بیماری ساق سیاه توتون، تک ژنی و غالب (Dominant) به نام ژن *ph* می‌باشد. بنابراین از طریق تلاقی به آسانی به نسل بعد (نتاج F_1) منتقل می‌گردد. اگرچه وجود ژن‌های مقاومت در کاهش خسارت بیماری مؤثر است، اما نوع ژنوتیپ (پتانسیل رقم)، نقش مهم‌تری دارد (Lewis, 2020). در پژوهشی، منشأ ژن مقاومت به بیماری ساق سیاه توتون را در توتون گرمخانه‌ای رقم Coker 371-Gold مطالعه و گزارش شد که توتون رقم Coker 371-Gold دارای ژن منفرد غالب (ژن *Ph*) است که ایجاد مقاومت بسیار بالا در برابر عامل بیماری ساق سیاه توتون نموده و توسط نژاد صفر قارچ *P. nicotianae* ایجاد می‌شود. مبدأ این ژن از طریق دو منبع به نام‌های *N. plumbaginifolia* و *N. longiflora* بوده که در حین انتقال درون گونه‌ای به *Nicotiana tabacum* منتقل شده‌اند (Johnson et al., 2002). در پژوهشی، گزارش شد که بیماری ساق سیاه در مزارع با خاک‌های سنگین (رسی)، بیشتر بروز می‌کند. همچنین، اهمیت مدیریت آب، در گسترش قارچ عامل بیماری ساق سیاه توتون گزارش شده است، به طوری که پروپاگول‌های *P. nicotianae* مانند زئوسپورها و کلامیدوسپورها اغلب به همراه آب آبیاری

References

- AGRIOS, G.N. 2005. Plant Pathology (5th ed.). Academic Press, San Diego, CA. 922 pp.
- BERETRAN, P. F., MOORE, J. M., SHEW, D., LEWIS, R. S. and VON WALDNER, M. 2016. Working to improve black shank control in flue-cured tobacco. Coretta congress, AP 05.
- BICKERS, C. 1992. Black Shank: The major culprit in U.S. burley loss. Tobacco Int. 3: 27–28.
- CAMPBELL, C. L. and MADDEN, L. V. 1990. Introduction to plant Disease and Epidemiology. Wiley-Inter science. 532 pp. ISBN: 978-0-471-83236-2.
- CARDOSO, J. E., SANTOS, A. A., ROSSETTI, A. G., & VIDAL, J. C. 2004. Relationship between incidence and severity of cashew gummosis in semiarid north-eastern Brazil. Plant Pathology. 53(3): 363-367.
- CARLSON, S. R., WOLFF, M. F., SHEW, H. D. and WERNSMAN, E. A. 1997. Inheritance of

- resistance to race 0 of *Phytophthora parasitica* var. *nicotianae* from the flue-cured tobacco cultivar Coker 371-Gold. Plant disease. 81(11): 1269-1274.
<https://doi.org/10.1094/PDIS.1997.81.11.1269>
- CSINOS, A. S. 1999. Stem and Root resistance to tobacco black shank. Journal of Plant Disease. 83(8): 771-780. DOI: [10.1094/PDIS.1999.83.8.777](https://doi.org/10.1094/PDIS.1999.83.8.777)
- COLLINS, G. B., LEGG, P. D., LITTON, C. C., KASPERBAUER, M. J. 2011. Inheritance of resistance to Black shank in *Nicotiana tabacum* L. Canadian Journal of Genetics and Cytology. 13(3): 422-428. DOI: [10.1139/g71-065](https://doi.org/10.1139/g71-065)
- DE BEER, M. C. and TERBLANCHE, J. 2011. Black shank resistance in air-cured tobacco - South Africa. CORESTA congress, AP 5.
- ELAHINIA, A. 1998. Mycology and plant pathology. Rasht: University of Guilan Publishing. 533 p. (In Persian).
- ERSHAD, J., ZALPOUR, N. and MAKKI, M. 1974. Appearance of Tobacco Black shank disease in Iran. Iranian Journal of Plant Pathology. 10 (2): 92-100. (In Persian).
- FERRIN, D. M. and MITCHELL, D. J. 1986. Influence of soil water status on the Epidemiology of tobacco black shank. Phytopathology. 76: 1213-1217.
- GALLUP, C. A., SULLIVAN, M. J. and SHEW, H. D. 2006. Black Shank of Tobacco. The Plant Health Instructor DOI: [10.1094/PHI-I-2006-0717-01](https://doi.org/10.1094/PHI-I-2006-0717-01)
- JACOBI, W. R., MAIN, C. E. and POWELL, N. T. 1983. Influence of temperature and rainfall on the development of tobacco black shank. Phytopathology. 73: 139-143.
- GERALD, F., PEEDIN, W., SMITH, D. and FRED, H. 1993. Flue-cured tobacco: the complete Handbook. North Carolina state university, cooperative extension service. Diane publishing company. 149 p
- JOHNSON, E. S., WOLFF, M. F. and WERNSMAN, E. A. 2002. Origin of Black shank resistance gene, *ph*, in tobacco cultivar Coker 371-Gold. Journal of Plant Disease. The American Phytopathology Society, 86(10): 1081-1084 DOI: [10.1094/PDIS.2002.86.10.1080](https://doi.org/10.1094/PDIS.2002.86.10.1080)
- JOHNSON, C. S. and REED, T. D. 2010. Impact of resistance associated with the *ph* gene on management of tobacco black shank and tobacco cyst nematode in Virginia. CORESTA congress, AP 19.
- KANNWISCHER, M. E., & MITCHELL, D. J. 1981. Relationships of numbers of spores of *Phytophthora parasitica* var. *nicotianae* to infection and mortality of tobacco. Phytopathology. 71: 69-73.
- KORUBIN- ALEKSOSKA, A. and ALEKSOSKI, J. 2015. Detection of resistance to Black shank (*Phytophthora parasitica* var. *nicotianae*) in a trial with diallel crosses of tobacco. International Journal of Agriculture Innovations and Research, 3(4): 1114-1118, ISSN (online) 2319-1473.
- LEWIS, R.S. (2020). *Nicotiana tabacum* L.: Tobacco. In Medicinal, Aromatic and Stimulant Plants. Springer, Cham, 345-375. [http://doi.org/10.1007/978-3-030-38792-1-9](https://doi.org/10.1007/978-3-030-38792-1-9)
- LI, B. C., BASS, W. T., and CORNELIUS, P. L. 2006. Resistance to Tobacco Black Shank in *Nicotiana* Species. Journal of Crop Science. 46: 554-560. DOI: [10.2135/cropsci2005.04-0027](https://doi.org/10.2135/cropsci2005.04-0027)
- LUCAS, G. B. 1975. Disease of tobacco, 3rd, edition, Biological consulting Associates, Releigh, North Carolina. 621pp.

- MELTON, T. A. and MORRIS, P. 2001. Tobacco Disease Management in Greenhouses. Tobacco Disease, 5(1): 81-97.
- MITRESKI, M., ALEKSOSKI, J. and KORUBIN-ALEKSOSKA, A. 2006. Obtaining a resistance to Black shank (*Phytophthora parasitica* var. *nicotianae*) in tobacco. Tobacco, 1-2: 3-10.
- MOHAJERVATAN, F., NASROLLAHNEJAD GHOMI, A. A., KALATE ARABI, M. AND DEHGHAN, M. A. 2016. Evaluation of Resistance to Leaf Rust in some wheat Cultivars in Field and Greenhouse Conditions. Journal of Crop Breeding, 8(20): 70-76. (In Persian)
- NICHOLSON, J. 2006. Characterization of new sources of resistance to black shank (*Phytophthora parasitica* var. *nicotianae*). Coresta congress. AP 27.
- SAJJADI, A., ASSEMI, H., SALAVATI, M. R. and ALIZADEGAN, M. 2012. Study of the response of some flue-cured and air-dried tobacco cultivars to soil-borne pathogenic fungi and root-knot nematode. Final report of the research project, Tirtash Research and Education Center Research Workbook, Iran Tobacco Company (In Persian)
- SAJJADI, A. and ASSEMI, H. 2012. Identification of pathogenic soil borne fungi of tobacco in Golestan province fields. Applied Plant Protection 1(3): 233-248. (In Persian).
- SAJJADI, A., AGHAJANI, M. A. ASSEMI, H. and NAJAFI, M. R. 2015. Study on the infections status and important agronomic factors in severity of Black shank disease of tobacco in Golestan province. Plant Protection Journal, 9: 41-73. (In Persian)
- SHEW, H. D., IVORS, K. L. and HOYT, G. 2006. Identification and quantification of high-risk site characteristics associated with the occurrence of tobacco black shank and establishment of *Phytophthora nicotianae* race 1. Coresta Congress. AP 29.
- SHINJO, A., KOGA, K., ONO, T. and NOGUCHI, S. 2018. New genetic source of Black shank resistance and genomic loci associated with its resistance. Coresta congress, Ap 45.
- SULLIVAN, M. J., MELTON, T. A., SHEW, H. D. 2005. Fitness of races 0 and 1 of *Phytophthora parasitica* var. *nicotianae*. Plant Disease. 89(11): 1220-1228 DOI: [10.1094/PD-89-1220](https://doi.org/10.1094/PD-89-1220)
- TASKOSKI, P. 2003. Estimation of tobacco resistance to *Phytophthora parasitica* var. *nicotianae* by root inoculation. Tobacco, 53(1-2): 53-61. ISSN: 0494-3244. <http://www.tobaccobulletin.mk/>
- TASKOSKI, P. 2005. Reaction of some tobacco varieties to Black shank disease in inoculation of the stalk with races 0 and 1. Tobacco, 55(7-8): 175-185. ISSN: 0494-3244. <http://www.tobaccobulletin.mk/>
- VALLEAU, W. D. 1952. Breeding tobacco for disease resistance. Economic Botany 52(1): 69-102.
- VAN JAARSVELD, E., WINGFIELD, M. J., DRENTH, A. 2003. A rapid Seedling based screening technique to assay tobacco for resistance to *Phytophthora nicotianae*. Journal of Phytopathology. 151: 389-394. <https://doi.org/10.1046/j.1439-0434.2003.00737.x>
- ZAMANI, P. (2010). Agronomy and Curing of Tobacco. Beh Andishan publishers, Tehran, Iran. 160 pp. (In Persian).