ارزیابی مقاومت لاین‌های امیدبخش بادمجان ایرانی نسبت به بیماری‌های مهم عامل پژمردگی قارچی

رامین حاجیان‌فر *[۱]، ژاله منصوری [۲]، ناهید قاسمی[۳]، حمیدرضا زمانی‌زاده[۴]

[*۱] استادیار پژوهشکده سبزی و صیفی موسسه تحقیقات علوم باغبانی، سازمان تحقیقات، آموزش و ترویج کشاورزی،کرج

[۳،۲] دانشجویان کارشناسی ارشد رشته بیماری شناسی گیاهی دانشگاه آزاد اسلامی واحد علوم و تحقیقات تهران

[۴] استاد و عضو هیئت‌علمی گروه بیماری شناسی گیاهی، دانشگاه آزاد اسلامی واحد علوم و تحقیقات تهران

*نویسنده مسئول: rhajianfar@gmail.com

چکیده

در این تحقیق واکنش تعداد ۱۱ لاین انتخابی بادمجان که از آزمایش‌های قبلی سازگاری و پایداری انتخاب شده بودند، از نظر مقاومت یا تحمل به بیماری‌های مهم پژمردگی بادمجان در مقایسه با رقم شاهد حساس مورد ارزیابی قرار گرفتند. برای این منظور ابتدا نمونه‌برداری از گیاهان آلوده در مزارع بادمجان مناطق مختلف و عمده کشت محصول انجام گرفته و اقدام به جداسازی، خالص‌سازی، شناسایی و اثبات بیماری‌زایی جدایه‌های قارچی عامل پژمردگی (Vascular wilt disease) شد. ارزیابی لاین‌های امیدبخش بادمجان با استفاده از جدایه‌های مهاجم شناسایی شده انجام گرفت. جدایه‌های مهاجم از گونه‌های شناسایی شده در شرایط آزمایشگاهی کشت داده شده و جهت مایه‌زنی مصنوعی لاین‌های انتخابی در گلخانه مورد استفاده قرار گرفتند. آزمایش در قالب طرح آماری فاکتوریل انجام گرفت. پس از انجام مایه‌زنی و مشاهده علائم بیماری، یادداشت‌برداری‌های هفتگی برای هر یک از لاین‌های بادمجان و رقم شاهد بر اساس مقیاس‌های درجه‌بندی صفات بیماری به عمل آمد و سطح زیر منحنی پیشرفت بیماری (AUDPC) و شاخص بیماری (DI) در رابطه با بیماری‌های فوزاریوم و ورتیسلیوم محاسبه گردید. نتایج حاصل از تحقیق نشان داد که جدایه‌های عامل بیماری پژمردگی قارچی آوندی بادمجان بدست آمده از بوته‌های پژمرده مناطق موردبررسی متعلق به گونه‌های *Fusarium oxysporum* ,*F. solani* و *Verticillium dahliae* بودند. نتایج بررسی واکنش لاین‌های امیدبخش به جدایه‌های مهاجم فوزاریومی نشان داد که لاین B29، حاصل اصلاح توده بومی جمعیت‌های سرخون بندرعباس، با کمترین میزان شاخص بیماری و سطح زیر منحنی پیشرفت بیماری به ترتیب با میانگین ۴۸/۱۴ و ۱۶/۴٪، نسبت به عامل بیماری مقاومت داشت. لاین‌های بادمجان Y3و BJ30، حاصل اصلاح توده‌های بومی جمعیت‌های پابلند یزد و دلمه‌ای برازجان، در رده بعدی قرار داشته و نسبت به بیماری مقاومت نشان دادند. در رابطه با بیماری ورتیسلیومی لاین امیدبخش BJ30 ،حاصل اصلاح توده بومی جمعیت دلمه‌ای برازجان، با میانگین شاخص بیماری۱/۶ مقاوم و لاین V44 ،حاصل اصلاح توده بومی قلمی ورامین، با میانگین۳/۸ نسبت به بیماری متحمل تشخیص داده شدند.

کلمات کلیدی: **پژمردگی قارچی، مقاومت ، بادمجان، *Verticillium* sp. ،*Fusarium* sp. و لاین‌های امیدبخش**

مقدمه

بادمجان (*Solanum melongena* L.) یکی از سبزیجات مهم خانواده سولاناسه می‌باشد. نخستین گزارش در مورد کشت این محصول در یکی از قدیمی‌ترین نسخه‌های کشاورزی چین به چاپ رسیده است (Dunlop, 2006). سطح زیر کشت بادمجان در دنیا ۱۸۷۰۷۲۸ هکتار و متوسط عملکرد آن ۲۶/۸۳۰۸ تن در هکتار می‌باشد (FAO, 2014). طبق آخرین آمار وزارت جهاد کشاورزی کشور سطح زیر کشت، کل تولید و متوسط عملکرد بادمجان در ایران به ترتیب ۲۶۷۶۱ هکتار، ۹۷۴۷۳۵ تن و ۳۶/۴ تن در هکتار می‌باشد (وزارت جهاد کشاورزی، ۱۳۹۴). ایران از نظر تولید محصول بادمجان مقام پنجم دنیا را به خود اختصاص داده است. مرکز اولیه تنوع بادمجان، هند و مرکز ثانویه آن چین می‌باشد. همچنین ایران ازجمله کشورهای مهم از نظر تنوع توده‌های بومی بادمجان می‌باشد. و توده‌های بومی متنوعی از قبیل قلمی و دلمه‌ای در مناطق مختلف کشور وجود دارد.

این محصول همواره توسط عوامل بیمارگر و خسارت‌زای متعددی مورد تهدید جدی قرار می‌گرفته است. از بین عوامل متعدد خسارت‌زا، عوامل بیمارگر پژمردگی فوزاریومی و ورتیسلیومی به‌عنوان مهم‌ترین و گسترده‌ترین عامل خسارت‌زای این محصول در جهان به شمار می‌روند. کشت این محصول عمدتاً در مناطق گرمسیری کشور رایج می‌باشد و شرایط آب و هوایی گرم در این مناطق می‌تواند شدت بیماری ناشی از هر دو عامل بیمارگر را هم در خزانه و هم در مزرعه فزونی بخشد.

بیماری پژمردگی فوزاریومی (Fusarium wilt) با عامل *F. oxysporum* f.sp. *melongenae* (Fom) موجب زردی برگ‌های بیرونی گیاه، به‌ویژه در حدفاصل بین رگبرگ‌ها می‌شود. همچنین این بیماری باعث تغییر رنگ آوندی و پژمردگی گیاه شده که در حالت شدید مرگ کل بوته را در پی خواهد داشت (Altınok, 2005). چنین علائمی معمولاً با بیماری پژمردگی ناشی از ورتیسلیوم با عامل *Verticillium dahliae* مشابهت داشته و از نظر علائم ظاهری غیرقابل تشخیص می‌باشند. هر دو پاتوژن قادر به بقاء در خاک و بقایای گیاهی بوده و به‌طوری‌که فومیگاسیون خاک ونیز تناوب طولانی‌مدت با گیاهان غیرمیزبان می‌تواند آن‌ها را کنترل نماید. لیکن با توجه به هزینه بالا و زمان در روش فومیگاسیون (Yücel *et al.*, 2007) و نیز محدودیت‌های روش تناوب زراعی به دلیل عدم کشت محصول اصلی و میزبان پاتوژن برای طولانی‌مدت، استفاده از روش مقاومت گیاهی برای کنترل این بیماری‌ها بیش از سایر روش‌ها مورد توجه متخصصین بیماری‌های گیاهی قرار گرفته است (Altinok et al., 2014; Liu et al ., 2015).

تحقیقات انجام گرفته در رابطه با واکنش لاین‌ها و ارقام بادمجان به بیماری پژمردگی فوزاریومی در ژاپن نشان داد که لاین‌های LS1934، LS174 و LS2436 مقاومت کامل نسبت به بیماری دارند (Mochizuki *et al.*, 1997). با انجام روش‌های اصلاحی بر روی لاین‌های مزبور، دو رقم تجاری Daitaro و Daizaburou از لاین مقاوم LS1934 و یک لاین پدری (EPL-1) از لاین مقاوم LS174 منتج گردید (Yoshida *et al.*, 2004). تحقیقات مشابهی در کشور چین و بر روی ۱۴ رقم بادمجان انجام گرفت و واکنش آن‌ها نسبت به قارچ عامل بیمارگر *Verticillium dahliae* بررسی گردید تا میزان پایداری آن‌ها در مقابل قارچ تعین گردد. بر اساس نتایج مربوط به بررسی مقاومت، ارقام به ۴ گروه شامل پایدار (R) مقاومت متوسط (MR)، حساس (MS) و فوق حساس (S) تقسیم شدند (Baoli *et al.*, 2012).

با توجه به اینکه توده‌های بومی متنوعی از بادمجان در مناطق مختلف کشور وجود داشته که در برنامه اصلاحی و تحقیقات پیشین خالص‌سازی و اصلاح‌شده‌اند لذا در این تحقیق مقاومت لاین‌های امیدبخش داخلی بادمجان نسبت به بیماری‌های مهم پژمردگی فوزاریوم و ورتیسلیوم موردبررسی قرار گرفت تا در برنامه معرفی رقم و یا لاین‌های مقاوم به بیماری مورد استفاده قرار گیرند.

مواد و روش‌ها

در سال‌های زراعی۱۳۹۵-۱۳۹۴ نمونه‌برداری از گیاهان آلوده به بیماری در مناطق مختلف کشت بادنجان در کشور انجام گرفت. نمونه‌های آلوده پس از انتقال به آزمایشگاه کرچ، ضدعفونی و در محیط PDA کشت شدند. جدایه های قارچی فوزاریومی پس از خالص‌سازی، به محیط‌های کشت CLA و SNA برای اسپورزایی منتقل شدند. جدایه‌های ورتیسلیومی پس از شناسایی اولیه و خالص‌سازی به محیط کشت انتخابی (VSM) Verticillium selective medium منتقل شده و جهت تولید اسپور و مایه تلقیح برای آزمون‌های بیماری‌زایی و ارزیابی مقاومت مورد استفاده قرار گرفتند پس از بررسی مشخصات ماکرو و میکروسکوپی قارچ‌ها، شناسایی قارچ‌ها با استفاده از کلید شناسایی نلسون و قارچ‌های ناقص صورت گرفت. آزمون بیماری‌زایی نسبت به جدایه‌های قارچی نماینده از مناطق و گونه‌های مختلف به روش غوطه‌ورسازی ریشه (root dip) به مدت ۱۰ دقیقه با استفاده از سوسپانسیون اسپور قارچ و برای جدایه های فوزاریوم و ورتیسلیوم به ترتیب به میزان $۱۰^{۶}$ و $۱۰^{۷}$ اسپور/ میلی‌لیتر انجام گرفت. گیاهچه‌های آلوده سازی شده به گلدان‌های محتوی خاک استریل منتقل شده و در گلخانه شیشه‌ای با دمای۲ ± ۲۵درجه سانتی‌گراد نگه‌داری شدند. یک هفته پس از انجام مایه‌زنی، شدت بیماری حاصل از جدایه‌های قارچی فوزاریومی و ورتیسلیومی بر روی گیاهچه حساس بادمجان بررسی و جدایه مهاجم هر یک از گونه‌ها مشخص شد. پس از تعیین جدایه‌های بیماری‌زا و مهاجم از گونه‌های شناسایی شده قارچی، با انجام آلودگی مصنوعی واکنش تعداد ۱۱ لاین امیدبخش بادمجان در مقایسه با رقم شاهد حساس Black beauty مطابق همان روش اثبات بیماری‌زایی انجام گردید. آزمایش ارزیابی مقاومت لاین‌های بادمجان در قالب طرح فاکتوریل با دو فاکتور لاین × جدایه قارچی در شرایط گلخانه و با سه تکرار انجام گرفت. پس از انجام مایه‌زنی و مشاهده علائم بیماری، یادداشت‌برداری‌های هفتگی برای هر یک از لاین‌های بادمجان و رقم شاهد بر اساس مقیاس‌های درجه‌بندی صفات شدت بیماری (DS) در مورد بیماری فوزاریوم، شاخص علائم برگی (LSI)، تغییر رنگ آوندی (VDI) در مورد بیماری ورتیسلیوم، به عمل آمد و سطح زیر منحنی پیشرفت بیماری (AUDPC) و شاخص بیماری (DI) به ترتیب در رابطه با بیماری‌های فوزاریوم و ورتیسلیوم محاسبه گردید (Altinok and Can, 2010; Liu *et al* ., 2015). نتایج آماری حاصل از ارزیابی شدت بیماری، سطح زیر منحنی گسترش بیماری لاین‌های بادمجان به بیماری پژمردگی فوزاریوم و شاخص بیماری پژمردگی لاین‌ها به بیماری ورتیسلیوم محاسبه و با یکدیگر مقایسه گردیدند. با توجه به شاخص‌های ارزیابی بیماری‌های موردبررسی، لاین‌های مقاوم ، متحمل و حساس در مورد هر یک از عوامل پژمردگی تعیین شد.

نتایج و بحث

نتایج بررسی و شناسایی جدایه‌های عامل بیماری مناطق مختلف کشور نشان داد که جدایه‌های فوزاریوم و ورتیسلیوم به‌عنوان عوامل اصلی بیماری در مناطق مختلف کشور شناخته شدند. جدایه‌های شناسایی شده فوزاریوم اغلب به گونه‌های *F.solani, F.oxysporum* تعلق داشتند. گونه قارچی همه جدایه‌های ورتیسیلیومی مناطق موردبررسی *V.dahliae* تشخیص داده شد. گزارش‌های متعددی بروز بیماری پژمردگی شدید در اثر گونه‌های مختلف فوزاریوم در بادمجان و در نقاط مختلف جهان را نشان می‌دهند (Altınok, 2005Baysal *et al.*, 2010;Matuo and Ishigami, 1958;). ازجمله بررسی‌های انجام گرفته در این زمینه در تانزانیا و در سال ۲۰۱۱، مشخص شد که جدایه های عامل بیماری متعلق به گونه‌های مختلف شامل *Fusarium oxysporum* f. sp. *melongenae*، *Fusarium solani* و *Fusarium incarnatum-equiseti* بودند. نتایج حاصل از بررسی‌های انجام‌شده روی قارچ پلی‌فاژ *V.dahliae* در کشور مغرب نشان داد که در بین ۴ گیاه بادمجان، گوجه‌فرنگی، فلفل و زیتون که مورد آزمایش قرار گرفته بودند بادمجان و گوجه‌فرنگی بیشترین حساسیت را نسبت به دو گیاه دیگر داشتند (Darai Soumia *et al.*, 2014).

لاین‌های B29، BJ30 و Y3 که به ترتیب حاصل اصلاح توده‌های بومی جمعیت‌های سرخون بندرعباس، دلمه‌ای برازجان و پابلند یزد بودند در مقایسه با سایر لاین‌ها و رقم شاهد در این تحقیق کمترین میزان آلودگی را به بیماری فوزاریوم نشان دادند. جدول مقایسه میانگین شاخص بیماری لاین‌های مزبور نسبت به جدایه‌های مهاجم هر دو گونه عامل فوزاریومی در سطح ۵٪ کمتر از سایر لاین‌ها و ارقام شاهد و به ترتیب به میزان ۴۸/۱۴، ۱۰۵/۵۵ و ۸۸/۸۸ تعیین گردید. همچنین سطح زیر منحنی پیشرفت بیماری در این لاین‌ها با میانگین ۱۶/۴٪، ۳۳/۴۴٪ و ۳۴/۲۷٪ از نظر آماری کمتر از سایر لاین‌ها و ارقام شاهد در آزمایش بود. بنابراین لاین‌های اصلاح‌شده B29، BJ30 و Y3 نسبت به دو گونه عامل فوزاریومی در تحقیق مقاومت داشتند. بررسی واکنش لاین‌های اصلاح‌شده نسبت به جدایه‌های مهاجم *Verticillium dahliae* نیز نشان داد که لاین BJ30، حاصل اصلاح توده بادمجان دلمه‌ای برازجان، کمترین میانگین شاخص بیماری به میزان ۱/۶ را داشت و در جدول مقایسه میانگین‌ها در سطح آماری ۵٪ پایین‌ترین میزان آلودگی را به هر دو جدایه بیماری‌زا داشت. ازاین‌رو واکنش آن نسبت به بیماری پژمردگی ورتیسلیومی از نوع مقاومت تعیین گردید. لاین V44، منتج از توده قلمی ورامین، با میانگین شاخص بیماری ۳/۸ نسبت به هر دو جدایه عامل بیماری پس از لاین BJ30 در جدول گروه‌بندی آماری قرار گرفت و واکنش آن از نوع تحمل تعیین گردید. اگرچه که مقاومت به بیماری پژمردگی فوزاریومی در ارقام تجاری و خوراکی بادمجان یافت شده است (Altinok, 2014; Yoshida *et al.*, 2004). لیکن در مورد پژمردگی ورتیسلیومی مقاومت به بیماری عمدتاً در گونه‌های وحشی و ارقام و لاین‌های خویشاوند بادمجان نظیر *Solanum torvum*، *S. linnaeanum* و *S. integrifolium* گزارش شده است (Liu *et al.*, 2015; Gousset *et al.*, 2005). ازاین‌رو این اولین گزارش از وجود مقاومت در لاین‌های خوراکی بادمجان می‌باشد.

منابع

Altınok, H. 2005. First report of Fusarium wilt of eggplant caused by *Fusarium oxysporum* f. sp. *melongenae* in Turkey. Plant Pathology 54, 577.

Altinok, H., Can C., Boyaci, H.F. and Topcu, V. 2014. Genetic variability among breeding lines and cultivars of eggplant against *Fusarium oxysporum* f. sp. *melongenae* from Turkey. Phytoparasitica 42, 75-84.

Baoli, Z., Zhixia, C., Liang, D., Xueling, Y. and Ning, L. 2012. Correlation between resistance of eggplant and defense-related enzymes and biochemical substances of leaves. African Journal of Biotechnology, 11, 74: 13896-13902.

Baysal, O., Siragusa. M., Gumrukcu. E., Zengin, S., Carimi, F., Sajeva, M., Jamie, A. and Silva T. 2010. Molecular Characterization of *Fusarium oxysporum* f. *melongenae* by ISSR and RAPD Markers on eggplant. Biochemical genetics 48(5-6): 524-537.

Soumia, D., Elali, C. A., Said, A. and Mohammed, D. 2014. Assessment of the Tolerance Level of Three Olive Intercroppings (Tomato, Eggplant and Pepper) vis-à-vis Verticillium dahliae Klebahn, at Seed and Cutting Stage. J Plant Pathol Microb, 5(218), 2.

Dunlop F. 2006. *The Revolutionary Chinese Cookbook*. Ebury

FAO. 2014. "FAOSTAT database." Food and Agriculture Organization of the United Nations, Rome, Italy.

Gousset, C., Collonnier, C., Mulya, K., Mariska, I., Rotino, G. L., Besse, P., Servaes, A. and Sihachakr, D. 2005. Solanum torvum, as a useful source of resistance against bacterial and fungal diseases for improvement of eggplant (S. melongena L.). Plant Science, 168(2), 319-327.

Liu, J., Zheng, Z., Zhou. X., Feng. C. and Zhuang, Y. 2015. Improving the resistance of eggplant (*Solanum melongena*) to Verticillium wilt using wild species Solanum linnaeanum. Euphytica 201: 463-9.

Matuo, T. and Ishigami, K. 1958. On the wilt of *Solanum melongena* L. and its causal fungus Fusarium oxysporum f. sp melongenae Ann Phytopathol Soc Japan 23:189-192.

Mochizuki, H., Sakata, Y., Yamakawa, K., Nishio, T., Komochi, S., Narikawa, T. and Monma, S .1997.'Eggplant parental line 1', an eggplant breeding line resistant to Fusarium wilt. Bulletin of the National Institute of Vegetable and Tea Science 12: 85–90.

Monma, S., Akazawa, S., Simosaka, K., Sakata, Y. and Matsunaga, H .1997. 'Daitaro', a bacterial wilt- and Fusarium wilt-resistant hybrid eggplant for rootstock. Bull Natl Inst Veg Ornam Plants Tea 12:73–83.

Yücel, S., Özarslandan, A., Çolak, A., Ay, T. and Can, C. 2007. Effect of solarization and fumigant applications on soilborne pathogensand root-knot nematodes in greenhouse-grown tomato in Turkey. Phytoparasitica 35: 450-6.

Yoshida, T., Monma, S., Matsunaga, H., Sakata, Y., Sato, T. and Saito, T .2004. Development of a new rootstock eggplant cultivar 'Daizaburou' with high resistance to bacterial wilt and Fusarium wilt. Bull Natl Inst Veg Tea Sci 3: 199–21.

Evaluation of Resistance of Iranian Promising Eggplants Lines to the Important Fungal Wilt Diseases

Ramin Hajianfar[1*], Zhaleh Mansouri[2], Nahid Ghasemi[3], Hamid Reza Zamani Zadeh[4]
[1*] Assistant Professor of Vegetable Research Center, Iranian Horticultural Science Research Institute, Agricultural Research Education Extension Organization (AREEO), Karaj, Iran.
[2,3] MSc Students of Department of Plant Pathology, Science and Research Branch, Islamic Azad University, Tehran, Iran
[3] Professor of Department of Plant Pathology, Science and Research Branch, Islamic Azad University, Tehran, Iran
[*]*Corresponding Author: rhajianfar@gmail.com*

Abstract

In this research, 11 eggplant lines previously selected from compatibility and stability trails, were assessed for resistance or tolerance to the fusarium and verticillium diseases. To this end, infected samples were collected from eggplant fields in different regions of Iran and fungal wilt diseases were isolated and purified in the lab. Then, the causal agents were identified and used in the pathogenicity test. The evaluation of promising eggplant lines compared to susceptible check cultivar Black beauty was done with the identified aggressive isolates. The aggressive isolates were cultured in the laboratory and their spore suspension was prepared, then eggplant lines and the check cultivar were inoculated artificially in greenhouse and the experiment was carried on a factorial statistical design. After symptoms were appeared, the disease traits for each eggplant lines and check cultivar were recorded on the basis of disease scaling, weekly. Area under disease progress (AUDPC) and disease index (DI) for fusarium and verticillium disease were measured.

The results showed that the collected isolates belong to the different species including: *Fusarium oxysporum*, *Fusarium solani*, *Verticillium dahliae*. The result of evaluation of eggplant lines to the fusarium isolates showed that eggplant line B29, derived from eggplant population Sarkhon of Bandarabbas, had the least amount of DI and AUDPC with 48.14 and 16.4%, respectively and were assigned as resistant. Eggplant lines Y3 and BJ30, derived from eggplant populations Paboland of Yazd and Dolmehii of Borazjan, in the table of mean comparison were ranked after the resistant line. Two eggplant lines including BJ30 and V44, derived from eggplant populations including Dolmehii of Borazjan and Ghalami of Varamin, had the least DI of verticillium with the means of 1.6 and 3.8, and were determined as resistant and tolerant to the disease, respectively.

***Keywords*: Fungal wilt diseases, Resistance, Eggplant, *Veriticillium* sp., *Fusarium* sp. , Promising line**