**مجله دانش گیاه‌پزشکی ایران**
دوره ۴۳، شماره ۱، ۱۳۹۱ (۱۶۳-۱۵۵)

# شناسایی و مطالعه بیماریزایی گونه‌های آلترناریای گوجه‌فرنگی و سیب‌زمینی در استان آذربایجان غربی

**زهرا حاجی پور جارچلو [1*]، یوبرت قوستا [2] و سعید رضائی [3]**
**۱، ۳، دانشجوی سابق کارشناسی ارشد و استادیار دانشگاه آزاد اسلامی، واحد علوم و تحقیقات، گروه بیماری‌شناسی گیاهی، تهران، ۲، استادیار دانشکده کشاورزی دانشگاه ارومیه**
**(تاریخ دریافت: ۹۰/۵/۸ – تاریخ تصویب: ۹۱/۲/۵)**

## چکیده

**از مزارع گوجه‌فرنگی و سیب‌زمینی در استان آذربایجان غربی در فصل زراعی ۸۹-۱۳۸۸، اندامهای گیاهی مشکوک به آلودگی توسط جنس آلترناریا جمع آوری شدند. در مجموع ۲۶۱ جدایه قارچی جداسازی و خالص‌سازی شدند. بر اساس مطالعات ریخت‌شناسی ۶ گونه *A. alternata, A.tenuissima, A. interrupta, A. arborescense, A. brassicina,* و *A. tomatophila* از روی گوجه‌فرنگی و ۳ گونه *A. mimicola, A. humuli* و *A. brassicina* از روی سیب‌زمینی شناسایی گردیدند. گونه‌های *A. alternata, A. tenuissima, A. arborescense* و *A. tomatophila* قبلا از روی گوجه‌فرنگی گزارش شده بودند و سه گونه *A. mimicola, A. humuli* و *A. brassicina* در این مطالعه برای فلور قارچی ایران جدید بوده و برای اولین بار از روی سیب‌زمینی و دو گونه *A. interrupta* و *A. brassicina* برای اولین بار از گوجه‌فرنگی در دنیا جداسازی گردیدند. مطالعات بیماریزایی جدایه‌های گونه‌های شناسایی شده روی سیب‌زمینی رقم Agria و گوجه‌فرنگی رقم BSS۲۸۲ انجام گرفت و بیماریزایی جدایه‌ها با اجرای اصول کخ به اثبات رسید. تمامی جدایه‌های مورد مطالعه روی سیب‌زمینی و گوجه‌فرنگی بیماریزا بودند اگر چه بیماریزایی جدایه‌های متعلق به گونه‌های مختلف با هم متفاوت بودند. بیشترین فراوانی را دو گونه *A. tenuissima* و *A. arborescense* و بیشترین بیماریزایی را گونه‌های *A. tomatophila* و *A. arborescense* در میان جدایه‌های مورد مطالعه دارا بودند.**

**واژه‌های کلیدی**: **گونه‌های آلترناریا، بیماریزایی، سیب‌زمینی، گوجه‌فرنگی، آذربایجان غربی**

## مقدمه

سیب‌زمینی و گوجه‌فرنگی از محصولات مهم اقتصادی در استان آذربایجان غربی هستند و سطح زیر کشت آنها به طور مداوم در حال افزایش است.

یکی از مهمترین بیماری‌هایی که کشت این محصولات را تهدید می‌کند، بیماری لکه موجی ناشی از قارچ آلترناریا است. جنس *Alternaria* یکی از فراوان‌ترین جنس‌های قارچی است که در مکانهای مختلفی در سر تا سر دنیا یافت می‌شود. بیشتر گونه‌های آلترناریا از عوامل اصلی بیماریزای گیاهی هستند که باعث خسارت مهم اقتصادی در ارقام مختلف گیاهان زراعی میزبان اعم از حبوبات، گیاهان صنعتی و دانه‌های روغنی و سبزیجاتی همچون کلم، گوجه‌فرنگی، هویج و سیب‌زمینی و میوه‌هایی مانند مرکبات و سیب می‌شوند (Andersen & Thrane, 1996; Chou & Wu, 2002; Konstantinova *et al.,* 2002). گونه‌های این

* نویسنده مسئول: زهرا حاجی پور جارچلو تلفن: ۰۹۱۴۱۴۸۰۴۷۸ E-mail: hajipour.zahra@yahoo.com

جنس مواد سمی مختلفی را تولید می‌کنند که ممکن است در بیماریزایی آنها روی گیاهان نقش مهمی داشته و یا منجر به آلودگی تولیدات گیاهی به این مواد سمی شده و اثرات نامطلوبی روی انسان و جانوران داشته باشند (Montemurro & Visconti, 1992; Bottalico & logrieco, 1998).

گونه‌های مختلفی از جنس آلترناریا به عنوان عوامل ایجاد کننده لکه برگی و شانکر ساقه در این گیاهان ذکر شده‌اند. سیمونز جدایه‌های مختلف از گیاهان تیره Solanaceae را تحت شرایط کنترل شده بررسی نموده است و چندین گونه مختلف و متمایز را توصیف نموده است (Simmons, 2000). گونه‌های *A. tenuissima* و *A.cosortians* از کانادا، *A. solani* از آفریقای جنوبی و دو گونه *A. solani* و *A. alternata* از آمریکای شمالی به عنوان عوامل مولد بیماری لکه موجی سیب‌زمینی و گوجه‌فرنگی معرفی شده‌اند (Hooker, 1981; Van der Waales *et al.,* 2004). گزارشات متعددی از گونه‌های این جنس روی گوجه‌فرنگی و سیب‌زمینی وجود دارد. در ایران اولین گزارش مشاهده این بیماری روی گوجه‌فرنگی مربوط به گونه *A. solani* است که توسط اسفندیاری ارائه شده است (Esfandiari, 1948). از منطقه دزفول عامل این بیماری روی گوجه‌فرنگی *Alternaria* sp. معرفی گردید (Vaziri, 1973). قارچ عامل بیماری لکه موجی گوجه‌فرنگی از خوزستان *A. alternata* گزارش شده است (Baymani *et al*., 2002). طی مطالعه تاکسونومیکی گونه‌های آلترناریا در ایران عامل بیماری لکه موجی گوجه‌فرنگی *A. tomatophila* و *A. arborescense* معرفی شد (Ghosta, 2004). در سال ۱۳۸۶ عامل این بیماری روی گوجه‌فرنگی در مناطق بوشهر، اصفهان و سمنان مورد بررسی قرار گرفت و گونه‌های *A. tenuissima* و *A. alternata* جداسازی گردید (Hajianfar & Zarbakhsh, 2006).

همچنین دو گونه *A. solani* و *A. alternata* به عنوان عامل بیماری لکه موجی سیب‌زمینی از منطقه فریدن اصفهان (Anonymous, 2004)، گونه‌های *A. arborescense* و *A. alternata* از سیب‌زمینی در مناطق اردبیل و ارومیه (Ghosta, 2004) و گونه‌های *A. solani, A. alternata, A. tenuissima, A. interrupta, A. dumosa, A. arborescense* و *A. infectoria* از مناطق خوزستان، سمنان، همدان، و اصفهان به عنوان گونه‌های مرتبط با لکه برگی سیب‌زمینی (Taheri-Ardestani *et al.,* 2008) گزارش شده‌اند. هدف از تحقیق حاضر جمع آوری و شناسایی گونه‌های جنس آلترناریا از مزارع تحت کشت گوجه‌فرنگی و سیب-زمینی در مناطق مختلف استان آذربایجان غربی، بررسی وضعیت بیماری‌زایی جدایه‌ها و فراوانی گونه‌های شناسایی شده می‌باشد.

## مواد و روش ها

### محیط‌های کشت

۱-۱) محیط کشت سیب‌زمینی – هویج – آگار (PCA): حاوی عصاره‌های ۲۰ گرم سیب‌زمینی و ۲۰ گرم هویج پخته شده و ۲۰ گرم آگار در یک لیتر آب مقطر است.

۲-۱) محیط کشت سیب‌زمینی – دکستروز - آگار (PDA ساخت کارخانه Merck آلمان): طبق توصیه کارخانه سازنده به میزان ۳۹ گرم در یک لیتر آب مقطر استفاده شد.

### نمونه‌برداری

ازاندام‌های مختلف گیاهان گوجه‌فرنگی و سیب-زمینی که نشانه‌های مشکوک به آلودگی توسط جنس *Alternaria* را به صورت لکه‌های تیره‌رنگ داشتند، در مناطق تحت کشت این دو محصول در استان آذربایجان غربی نمونه‌برداری انجام گرفت. هر کدام از نمونه‌ها در داخل پاکت‌های کاغذی جداگانه قرار داده شد و به آزمایشگاه منتقل گردید. نمونه‌ها در یخچال با دمای ۴ درجه سلسیوس نگهداری شدند و در عرض ۴۸-۲۴ ساعت عمل جداسازی قارچها از آنها انجام گرفت.

### جداسازی

### جداسازی از بافت‌های گیاهی بدون ضدعفونی سطحی

در این روش، بخشهای آلوده زیر بینوکولر مورد بررسی قرار گرفتند. در مواردی که علائم قارچی همراه با هاگ‌های *Alternaria* بود، هاگ‌ها توسط سوزنی سترون و ظریف برداشته شدند و به تشتک‌های حاوی محیط غذایی PCA و PDA منتقل شدند این تشتک‌ها در

انکوباتور با دمای ۲۲ تا ۲۵ درجه سلسیوس نگهداری شدند. مجددا پرگنه‌های رشد کرده از آنها با بینوکولر بررسی و آنهایی که دارای مشخصات جنس *Alternaria* بودند به روش تک هاگ یا تک زنجیره هاگ خالص شدند و بعد از کشت در لوله‌های آزمایش حاوی محیط کشت PCA در یخچال با دمای ۴ درجه سلسیوس برای مطالعات بعدی نگهداری شدند.

**جداسازی از بافت‌های گیاهی با ضدعفونی سطحی**

اندام‌های گیاهی با نشانه‌های مشکوک به آلودگی و فاقد هاگ، ابتدا به مدت ۱۰ دقیقه با شیر آب شسته شدند و بخش‌های نشانه‌دار توسط اسکالپل از بخش‌های سالم جدا گردیدند. این قطعات توسط محلول‌های کلرور جیوه یک در هزار به مدت نیم تا یک دقیقه و یا محلول وایتکس ۱۰ درصد (معادل نیم درصد هیپوکلریت سدیم) به مدت دو تا سه دقیقه ضدعفونی سطحی شدند و بلافاصله دو بار با آب مقطر سترون شستشو شدند. این قطعات روی کاغذهای صافی سترون آب‌گیری و بعد از بریدن آنها به قطعات کوچک‌تر، در تشتک‌های حاوی محیط‌های غذایی PCA و PDA کشت شدند. تشتک‌ها در انکوباتور با دمای ۲۲ تا ۲۵ درجه سلسیوس نگهداری شدند. پرگنه‌های رشد کرده ازآنها که مشخصات آلترناریا را داشت، به روش تک هاگ و یا برداشتن تک زنجیره هاگ خالص شدند.

**جداسازی با استفاده از روش کاغذ صافی مرطوب**

در این روش اندام‌های آلوده (برگ و ساقه) بعد از شستشو زیر آب شیر در درون تشتک‌های حاوی کاغذ صافی مرطوب قرار داده شدند. تشتک‌ها در دمای ۲۲ تا ۲۵ درجه سلسیوس نگهداری شدند. بعد از گذشت ۲۴ ساعت تشتک‌ها توسط بینوکولر بررسی شدند و با کمک سوزن باریک سترون از قارچ‌های رشد یافته روی اندام-های آلوده، آنهایی که مشخصات جنس آلترناریا را داشتند به روش تک هاگ یا تک زنجیره هاگ برداشته شده و به محیط غذایی PDA وPCA منتقل گردیدند. کلیه جدایه‌ها بعد از خالص‌سازی، در داخل لوله‌های آزمایش حاوی محیط کشت غذایی PCA رشد داده شدند و بعد از رشد کامل داخل لوله‌های آزمایش، به یخچال با دمای ۴ درجه سلسیوس برای مطالعات بعدی نگهداری شدند. کلیه نمونه‌های مورد مطالعه در آزمایشگاه قارچ شناسی دانشگاه ارومیه نگهداری می‌شوند.

**بررسی مشخصات ریخت‌شناسی**

برای بررسی مشخصات ریخت‌شناسی، حلقه‌هایی به قطر ۵ میلی‌متر از حاشیه در حال رشد پرگنه‌های مربوط به هر جدایه برداشته شد و به تشتک‌های حاوی محیط غذایی PCA منتقل شدند. این تشتک‌ها در دمای ۲۲ تا ۲۵ درجه سلسیوس تحت نور سفید فلورسنت با چرخه نوری ۸ ساعته و تاریکی ۱۶ ساعته نگهداری و بعد از ۷-۵ روز مورد بررسی قرار گرفتند. برای تابش نور سفید از دو عدد لامپ مهتابی سفید رنگ ۴۰ وات در فاصله ۴۰ سانتیمتری از سطح تشتک‌های پتری استفاده گردید. الگوهای کلی هاگ‌زایی که شامل آرایش هاگ روی هاگ‌بر، تعداد هاگ در هر زنجیره و الگوی انشعاب یافتن زنجیره‌ها بود با استفاده از بینوکولر و بدون تخریب حالت طبیعی آنها مشخص گردید. برای بررسی مشخصات میکرومورفولوژیکی، ابتدا نمونه‌ای از قسمت هاگ‌زا به فاصله یک سانتی‌متری از حاشیه پرگنه برداشته و به داخل یک قطره اسید لاکتیک ۹۰ درصد (Merck) منتقل گردید و توسط میکروسکوپ با بزرگنمایی‌های ۴۰۰X و ۱۰۰۰X مطالعه شد. صفات مورد مطالعه شامل اندازه هاگ‌ها، رنگ، آرایش بندها، وجود یا عدم وجود نوک و طول آن، تزیینات سطح هاگ‌ها و ابعاد هاگ‌بر بود. برای به دست آوردن ابعاد، در هر مورد، ۵۰ نمونه اندازه‌گیری و میانگین آنها محاسبه گردید.

**اثبات بیماریزایی**

برای اثبات بیماریزایی جدایه‌های خالص‌سازی شده، آزمایش‌هایی به صورت کشت گلدانی و در گلخانه در قالب طرح کاملا تصادفی با سه تکرار و به طور جداگانه برای هر گونه انجام شد. آزمایش اصلی برای هر گونه ۲ بار تکرار گردید. مایه‌زنی با برداشتن حلقه‌های میسلیومی به قطر ۵ میلیمتر از حاشیه درحال رشد پرگنه‌های هفت روزه گونه‌های مورد نظر و قرار دادن آنها روی زخم ایجاد شده با نوک سوزن ظریف روی برگ‌های هم سن گیاهان ۴۰ روزه سیب‌زمینی و گوجه-فرنگی انجام گرفت. به همین ترتیب برای تیمار شاهد حلقه‌های آگار عاری از قارچ روی زخم‌ها قرار داده شد

(Hoffman *et al.,* 2002). بعد از قرار دادن حلقه‌ها روی هر برگ، سطح برگ مرطوب گردید و گیاهچه‌ها پس از مایه‌زنی زیر کیسه پلاستیکی با رطوبت نسبی ۹۰ در صد یا بیشتر و دمای ۲۴-۲۳ درجه سلسیوس به مدت ۳ روز نگهداری گردیدند. نشانه‌ها بعد از ۳ روز مورد بررسی قرار گرفتند. برگ‌هایی که بعد از مایه‌زنی، نشانه‌های آلودگی به صورت لکه‌های قهوه‌ای رنگ در اطراف محل تلقیح قارچ را بروز دادند، جمع‌آوری شده و با آب شیر به طور کامل شسته شدند. برگ‌ها توسط محلول هیپوکلریت سدیم ۱۰ درصد به مدت ۵-۲ دقیقه ضد عفونی سطحی شدند و بعد از شستشو با آب مقطر سترون (۳ بار) روی کاغذ صافی استریل آبگیری و به قطعات کوچکتر بریده شده و روی محیط کشت PCA و PDA کشت گردیدند. قارچ‌های رشد کرده از آنها مجدداً مورد مطالعه مورفولوژیکی قرار گرفتند.

## نتایج و بحث

### بررسی‌های مورفولوژیکی

براساس بررسی‌های ریخت شناسی انجام شده روی ۲۶۱ جدایه خالص سازی شده، ۶ گونه *A. alternata A. tenuissima, A. interrupta, A. arborescense, A. brassicina,* و *A. tomatophila* از روی گوجه‌فرنگی و ۳ گونه *A. mimicola, A. humuli* و *A. brassicina* از روی سیب‌زمینی شناسایی گردیدند. گونه‌های *A. alternata, A. tenuissima, A. arborescense* و *A. tomatophila* قبلا از روی گوجه‌فرنگی گزارش شده بودند و سه گونه *A. mimicola, A. humuli* و *A. brassicina* در این مطالعه برای فلور قارچی ایران جدید بوده و برای اولین بار از روی سیب‌زمینی و دو گونه *A. interrupta* و *A. brassicina* برای اولین بار از گوجه‌فرنگی در دنیا جداسازی گردیدند. در این مقاله گونه‌هایی که قبلا از ایران نام برده شده‌اند ذکر شده ولی گونه‌های جدید به طور کامل توصیف می‌شوند.

***Alternaria alternata*** (Fr.) Keissler, Beih. Bot. Centralb. 29: 434. 1912.

این گونه به عنوان عامل بیماری روی گیاهان مختلف از جمله برگ سیب‌زمینی، برگ نعنا، میوه کدو، میوه فلفل، برگ پیرتروم، زیره سیاه، میوه گل حنا، برنج، گندم، کدو، گوجه‌فرنگی، سیب، سورگوم، مرکبات، سویا، لوبیا، فرفیون، گلابی، گل ساعت، شبدر، آفتابگردان، آویشن، پسته، عدس، باقلا، کتان، مرکبات، خردل، بادام‌زمینی، انبه، چغندر قند، پنبه، فندق، گردو، ژرانیوم، کلزا، پاپایا، گزارش شده است (Gasonshi & Takanashi, 1973; Alvarez & Nishjima, 1987; Hutton, 1988; Bashan *et al.,* 1991; Ei Kholi *et al.,* 1994; Simmons, 1994; 1995; 1996; 1997; Lagopodi & Thanassoulopoulos, 1998; Pryor & Michailides, 2002; Ma *et al.,* 2003; Belisario *et al.,* 2004; Ghosta, 2004; Gruzdeviene *et al.,* 2006; Abdel - (El – Kareem, 2007. (شکل ۱)

***Alternaria arborescense*** E. G. Simmons, Mycotaxon, 70: 356. 1999.

این گونه تا کنون از روی سیب‌زمینی، گردو، پسته، یونجه، برگ پیچک صحرایی، برگ پنبه، برگ بادمجان، برگ نعنا، برگ خربزه، برگ بادام زمینی، برگ پونه، برگ گوجه‌فرنگی، مرکبات و فندق گزارش شده است (Simmons, 1999b; Ma *et al.,* 2003; Belisario *et al.,* 2004; Ghosta, 2004). (شکل ۲)

***Alternaria brassicinae*** E. G. Simmons. MycoBank, 50502.

پرگنه‌ها روی محیط کشت PCA به رنگ قهوه‌ای روشن هستند. ریسه‌ها در سطح و در داخل محیط کشت رشد می‌کنند. ریسه‌های هوایی به ندرت تشکیل می‌شوند. هاگ‌برهای اولیه‌ای که از ریسه‌های موجود در سطح محیط کشت به وجود می‌آیند حاوی زنجیره‌های بلند و خمیده از هاگ‌ها می‌باشند. تعداد هاگ در هر زنجیر تا ۲۰ عدد می‌رسد. زنجیره ها معمولاً غیر منشعب‌اند ولی گاهی انشعابات کوتاه در آنها دیده می شود. زنجیرهایی که در روی ریسه‌های هوایی تشکیل می شوند حاوی ۶ تا ۸ عدد هاگ هستند، ابعاد هاگ‌بر ۵-۴ × ۷۰-۴۰ میکرومتر است. هاگ‌ها بیضی، تخم‌مرغی و سیلندری بوده، دارای ۶ـ۱ بند عرضی و فاقد بند طولی یا یک بند طولی در برخی از بخش‌های عریض هاگ هستند. ابعاد این هاگ‌ها ۱۰ـ۵ × ۳۵ـ۲۰ میکرومتر می‌باشد.

هاگ‌بر ثانویه‌ای که در بین هاگ‌ها تشکیل می‌شود معمولاً تک سلولی بوده و ابعادآن ۴-۳ × ۵-۴ میکرومتر است. رنگ هاگ‌ها قهوه‌ای روشن و سطح هاگ‌ها صاف یا منقوط است. این گونه قارچی برای اولین بار از ایران گزارش شده و بیماریزایی آن برای اولین بار روی سیب‌زمینی و گوجه‌فرنگی از دنیا به اثبات می‌رسد. بر

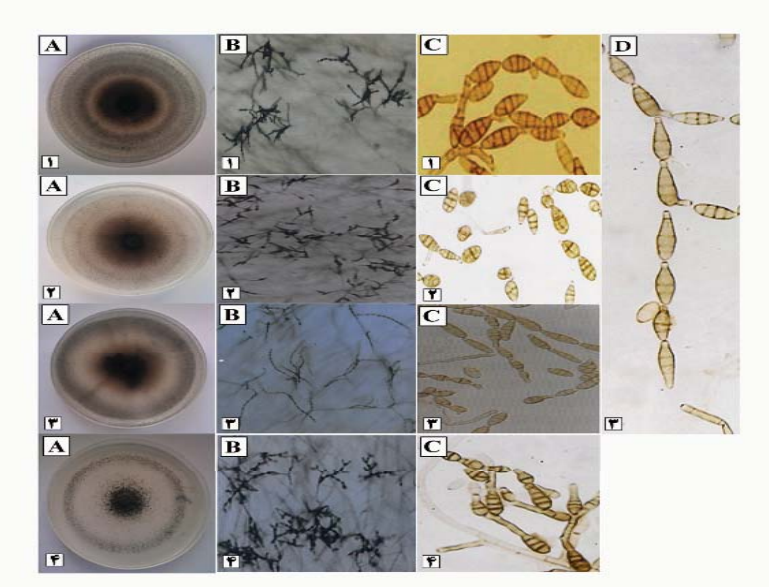
اساس منابع موجود این گونه در سطح جهان تاکنون از کلم گزارش شده است (Simmons, 2007). (شکل۳)

***Alternaria humuli*** E. G. Simmons, Mycotaxon 83: 139. 2002.

پرگنه‌های این گونه روی محیط کشت PCA به رنگ سفید می‌باشند. ریسه‌ها هم در سطح و هم در داخل محیط کشت رشد می‌کنند. ریسه‌های هوایی به صورت کم تراکم و حالت پشم مانند تشکیل می‌شوند. در کشت‌های ۳ روزه هاگ‌زایی به مقدار فراوان هم در ریسه‌های هوایی و هم در ریسه‌های موجود در سطح محیط کشت دیده می‌شود. هاگ‌برهای اولیه ساده یا منشعب‌اند که ممکن است ۳-۲ سلولی بوده اما معمولاً ابعاد آنها ۴-۳ × ۶۰-۴۰ میکرومتر است و در بخش انتهایی خود دارای ۳-۱ خمیدگی زانوئی هستند. در هر محل هاگ‌زایی زنجیره‌های منشعب هاگ تشکیل می‌شوند. در هر زنجیر تا ۱۰ هاگ و در هر انشعاب ۶-۲ هاگ تشکیل می‌شود. زنجیره‌های منشعب هاگ به صورت دسته‌های مرکب از ۴۰-۲۰ عدد هاگ دیده می‌شوند.

هاگ‌های اولیه تخم‌مرغی تا بیضوی بوده و ابعاد آنها ۱۳-۹ × ۴۵-۲۵ میکرومتر است. آنها دارای ۸-۱ بند عرضی و یک بند طولی در تعدای از بخش‌های عریض خود هستند. در بعضی از هاگ‌ها دیواره طولی دیده نمی‌شود. هاگ‌بر ثانویه که در نوک هاگ‌ها تشکیل می‌شود تک یاخته‌ای بوده اما اغلب هاگ‌ها تولید هاگ‌بر ثانویه درازی می‌کنند که ممکن است دارای ۳-۱ خمیدگی زانوئی باشد. طول هاگ‌بر ثانویه تا ۶۰ میکرومتر می‌رسد. رنگ هاگ‌ها قهوه‌ای مایل به خاکستری روشن و سطح آن صاف است. مرحله جنسی برای *Alternaria humuli* شناخته نشده است. این گونه قارچی برای اولین بار از ایران گزارش شده و بیماریزایی آن برای اولین بار روی سیب‌زمینی از دنیا به اثبات می‌رسد. بر اساس منابع موجود این گونه در سطح جهان تاکنون از رازک گزارش شده است (Simmons, 2002). (شکل۴)

***Alternaria interrupta*** E. G. Simmons, Mycotaxon 70: 306.1999




شکل ۱- *A. alternata* (A): پرگنه ۷ روزه روی محیط کشت PCA، (B): هاگ‌برها و نحوه هاگ‌زایی، (C): زنجیره هاگ‌ها، نحوه انشعاب زنجیره هاگ‌ها، هاگ‌برهای ثانویه کوتاه، شکل ۲- *A. arborescense* (A): پرگنه ۷روزه روی محیط کشت PCA، (B): هاگ‌برها و نحوه هاگ‌زایی،(C): هاگ‌برهای ثانویه کوتاه، تزئینات سطحی هاگ و بندهای طولی و عرضی، شکل ۳- *A. brassicina* (A): پرگنه ۷ روزه روی محیط کشت PCA، (B): هاگ‌برها و نحوه هاگ‌زایی، (C): هاگ‌ها، (D): هاگ‌بر اولیه ساده، زنجیره بلند هاگ‌ها و انشعاب در زنجیره هاگ‌ها، شکل ۴- *A. humuli* (A): پرگنه ۷ روزه روی محیط کشت PCA، (B): هاگ‌برها و نحوه هاگ‌زایی، (C): رشد درختچه‌ای، نحوه انشعاب زنجیره هاگ و هاگ‌بر ثانویه بلند

این گونه قارچی برای اولین بـار از گوجـه‌فرنگـی در دنیا جداسازی و بیماریزایی آن اثبات گردیـد. بـر اسـاس منابع موجود این گونه در سطح جهان تاکنون از مرکبات و سیب‌زمینی گزارش شـده اسـت ( Simmons, 1999a; Taheri-Ardestani *et al.,* 2008). (شکل۵)

***Alternaria mimicola*** E. G. Simmons, Mycotaxon 55: 128. 1995

پرگنه‌های این گونه روی محیط کشت PCA به رنگ قهوه‌ای روشن هـستند. ریـسه‌هـا در سـطح و در داخـل محیط کشت به صورت شعاعی رشد می‌کنند.

هاگ‌برهای اولیه که مستقیماً از ریسه‌های موجود در سطح محیط کشت به وجود می‌آیند، ساده یا منشعب‌اند و گاهی در قسمت انتهایی خود دارای خمیـدگی زانـوئی هستند که در هر محل هـاگ‌زایـی زنجیرهـای منـشعب هاگ تشکیل می‌شوند. در هر زنجیر ۱۰-۸ هاگ تشکیل می‌شود. زنجیرهای منشعب هاگ به صـورت دسـته‌هـای مرکب از ۴۰-۳۰ عدد هاگ دیده می‌شوند. ابعاد هاگ‌بـر ۱۵۰-۶۵ میکرومتر است.

هاگ‌های اولیه در هر زنجیر معمولاً بیضی یا تخم-مرغی دراز و دارای ۶-۳ دیواره عرضی و فاقد بند طولی می‌باشند. ابعاد این هاگ‌ها

۱۰-۷×۴۰-۳۵ میکرومتر است. هاگ‌هـای کـوچکتر تخم‌مرغی شکل بوده و به ابعاد ۸-۵×۱۵-۸ میکرومتر بـا ۲-۱ بند عرضی و یک بند طولی در بخش عـریض هـاگ هستند. هاگ‌بر ثانویه‌ای که در نوک هاگ‌ها تشکیل می-شود اغلب یک یاخته منفرد به ابعاد ۲ ×۴-۳ میکرومتر و به ندرت دارای یک خمیدگی زانوئی بوده و طـول آن بـه ۱۰ میکرومتر می‌رسد. هاگ‌برهای ثانویه گاهی بـه طـور جانبی از یاخته‌های بدنه هاگ تشکیل مـی‌شـوند. رنـگ هاگ‌ها قهوه‌ای مایل به زرد و سطح آنها صاف یا زگیـل-دار است. این گونه قارچی برای اولین بار از ایران گزارش شده و بیماریزایی آن برای اولین بار روی سیب‌زمینی از دنیا به اثبات می‌رسد.

بر اساس منابع موجود ایـن گونـه در سـطح جهـان تـاکنون از گوجـه‌فرنگـی گـزارش شـده اسـت (Simmons, 1995). (شکل۶)

***Alternaria tenuissima*** (Nees & T. Nees : Fr.) Wiltshire, Trans. Brit. Mycol. Soc.,18:157. 1933.

این گونه روی گیاهان لوبیا، دانه برنج، دانه سـورگوم، دانـه ارزن، بنفـشه، گـردو، فنـدق، گنـدم، انبـه، نخـود، مرکبات، سیب، تاج خروس، ذغال اخته، برگ برنج، برگ چای، برگ چغندر، برگ توتون، برگ سویا، بـرگ کـاهو، زنبـق، میـوه کـاج، فلفـل، تـوت‌فرنگـی، پـسته، نخـود، کاکتوس، چمـن، گوجـه‌فرنگـی، سـیب‌زمینـی، یونجـه، مرکبـات، بادمجـان و آرامـانتوس گـزارش شـده اسـت ( Morton, 1964; Gasonshi & Takanashi, 1973; Simmons, 1981; 1986; 1997; Khan & Khanzada, 1987; Nutsugah *et al.,* 1994; Blodgett *et al*., 1999; Swart & Kriel, 2002; Blodgett & Swart, 2002; Serdani *et al*., 2002; Ma *et al.,* 2003; Rahman *et al.,* 2003; Belisario *et al.,* 2004; Ghosta, 2004; Gannibal *et al.,* 2007). (شکل۷)

***Alternaria tomatophila*** E. G. Simmons, Mycotaxon, 75: 53. 2000

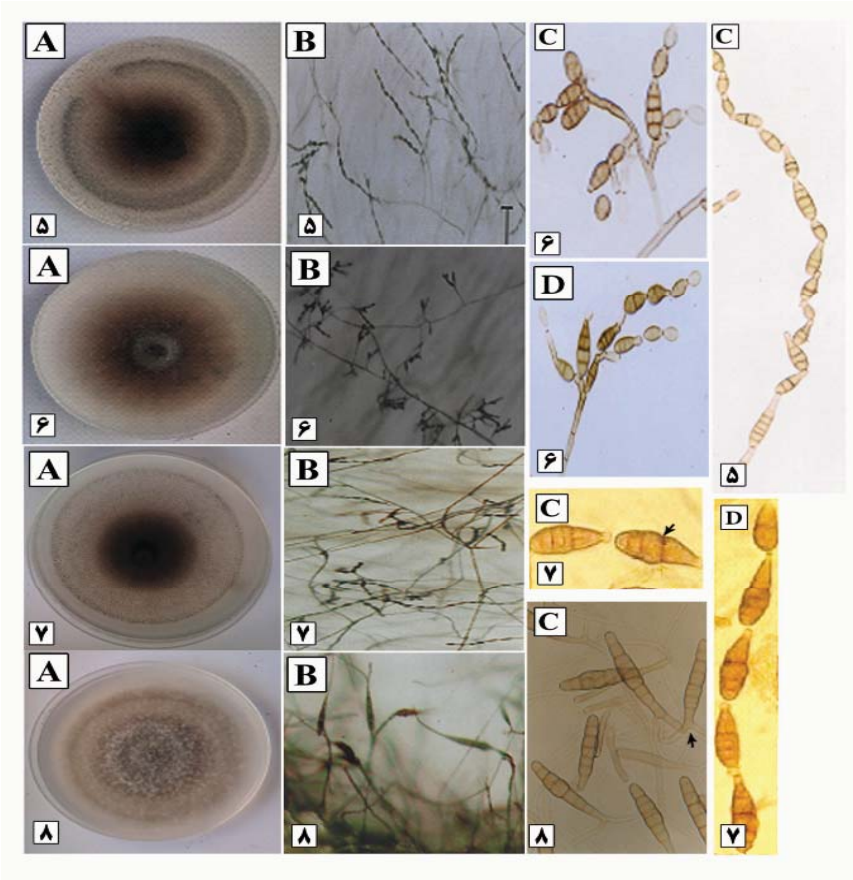
براساس منـابع موجـود ایـن گونـه در سـطح جهـان تاکنون ازگوجه‌فرنگـی گـزارش شـده اسـت (Simmons, 2000; Ghosta, 2004). (شکل۸)

## بیماریزایی جدایه‌ها

بیماریزایی جدایه‌های گونه‌های مختلـف *Alternaria* روی سیب‌زمینی و گوجه‌فرنگی در این تحقیق با اجـرای اصول کخ به اثبات رسید. جدایه‌های مورد مطالعه بعد از مایه‌زنی روی گوجه‌فرنگی رقم ۲۸۲BSS و سیب‌زمینـی رقم Agria نشانه‌های لکه‌های قهـوه‌ای رنـگ (همـراه بـا هاله زرد رنـگ) را از خـود بـروز دادنـد در صـورتیکه در تیمارهای شاهد هیچگونـه نـشانه‌ای از وجـود لکـه‌هـای قهوه‌ای رنگ در اطراف محل تلقیح مشاهده نگردید. بـر اساس اندازه‌گیری قطر لکه‌ها در دو جهت عمود بر هم از زیر سطح برگ و اندازه‌گیری درصد سطح بـرگ آلـوده و مقایسه میانگین داده‌ها با استفاده از آزمون دانکن نتـایج نـشان داد کـه گونـه‌هـای *A. tomatophila* و *A. arborescense* بالاترین میزان بیماریزایی و گونـه *A. brassicina* (گوجه‌فرنگی) کمترین میزان بیماریزایی را دارا بودند. بقیه گونه‌های شناسایی شده ازنظر بیماریزایی در میان این دو گروه قرارگرفتند.

مطالعات مورفولوژیکی جدایه‌هـای حاصـل از مایـه-زنی‌های بیماریزایی وجود قارچ‌های تلقیح شده را تائیـد نمـود. گونـه‌هـای *A. tenuissima, A. arborescense* بیشترین فراوانی و دو گونـه *A. humuli* و *A. mimicola* کمترین فراوانی را دارا بودند. بـا توجـه بـه تنـوع بـالای گونه‌های *Alternaria* جدا شـده از ایـن دو محـصول در سطح استان، و با توجه به اینکه انجام اقدامات مـدیریتی

نیازمند آگاهی درست و کامل از پاتوژن ایجاد کننده بیماری است لذا به نظر می‌رسد که با توجه به شناسایی عوامل بیماریزا، پیشرفت‌های قابل توجهی در مدیریت این بیماریها در سطح استان انجام گیرد.




شکل ۵- *A. interrupta* (A): پرگنه ۷ روزه روی محیط کشت PCA، (B): هاگ‌برها و نحوه هاگ‌زایی(C): هاگ‌بر اولیه ساده و زنجیره بلند هاگ‌ها، شکل ۶- *A. mimicola* (A): پرگنه ۷ روزه روی محیط کشت PCA، (B): هاگ‌برها و نحوه هاگ‌زایی، (C,D): هاگ‌بر ساده و منشعب، رشد درختچه‌ای، نحوه انشعاب زنجیره هاگ و هاگ‌بر ثانویه، شکل۷-*A.tenuissima* (A): پرگنه ۷ روزه روی محیط کشت PCA، (B): هاگ‌برها و نحوه هاگ‌زایی، (D): زنجیره هاگ‌ها، (C): هاگ‌ها با دیواره ضخیم و مشخص و اغلب فاقد بند طولی، شکل ۸- *A. tomatophila* (A): پرگنه ۷ روزه روی محیط کشت PCA، (B): رشد پراکنده هاگ‌برها با هاگ‌زایی اندک، (C): هاگ‌بر ساده، نوک بسیار بلند و نخی شکل، انشعاب در نوک و تعداد زیاد بندهای طولی و عرضی

## REFERENCES

1. Abd-El-Kareem, F. (2007). Induced resistance in bean plants against root rot and *Alternaria* leaf spot diseases using biotic and abiotic inducers under field conditions. *Plant Physiology*, 3(6), 767-774.
2. Alvarez, A. M. & Nishijima, W. T. (1987). Post-harvest diseases of papaya. *Plant Disease*, 71, 681-686.
3. Andersen, B. & Thrane, U. (1996). Differentiation of *Alternaria infectoria* and *A. alternata* based on morphology, metabolic profiles and cultural characteristics. *Canadian Journal of Microbiology,* 42, 685-689.
4. Anonymous, (2004). *Study on Potato Early Blight in Feradan*. Annual report of Plant protection department of Isfahan Jehade Agriculture research Institute. 256-276 pp.

5. Bashan, Y., Levanony, H. & OR, R. (1991). Association between *Alternaria macrospora* and *Alternaria alternata*, causal agents of cotton leaf blight. *Canadian Journal of Botany*, 69, 2603-2607.
6. Baymani, M., Hayati, J. & Shetab Booshehri, S. M. (2002). Identification of dominant species of causal agent of early blight of tomato and investigation on best culture, media for its growth in Khuzestan province. Proceedings of *the 15th Iranian Plant Protection Congress*, 7-11 Sept., Kermanshah, Iran, P. 107.
7. Belisario, A., Maccaroni, M., Coramusi, A., Corazza, L., Figuli, P. & Pryor, B. M. (2004). First report of *Alternaria* species groups involved in disease complexes of hazelnut and walnut fruit. *Plant Disease*, 88 (4), 426-426.
8. Blodgett, J. T., Swart, W.J. & Chen, W. (1999). First report of *Alternaria tenuissima* as a leaf pathogen of *Amaranthus hybridus* in South Africa**.** *Plant Disease*, 83, 878.
9. Blodgett, J. T. & Swart, W. J. (2002). Infection, colonization and disease of *Amaranthus hybridus* leaves by the *Alternaria tenuissima* group. *Plant Disease*, 86, 1199-1205.
10. Bottalico, A. & Logrieco, A. (1998). Toxigenic *Alternaria* species of economic importance. In: K. K. Sinhu & D. Bhatnager (Eds.), *Mycotoxins in Agriculture and Food Safety.* (pp. 65-108). Marcel Dekker, New York.
11. Chou, H. H. & Wu, W. S. (2002). Phylogenetic analysis of internal transcribed spacer regions of the genus *Alternaria* and the significance of filament–beaked conidia. *Mycological Research,* 106, 164-169.
12. El-Kholi, M. M., Ragab, M. M., Hussein, M. Y.& Ragab, M. M. (1994). *Alternaria* leaf spot of sugar beet in Egypt. *Egyptian Journal of Phytopathology*, 2, 179-193.
13. Esfandiari, E. (1948). Troixieme liste de fungi ramasses en Iran. *Entomologia et phytopathologie Appliguees,* 8, 1-12.
14. Gannibal, P. B., Klemsd, S. S. & Levitin, M. M. (2007). AFLP analysis of Russian *Alternaria tenuissima* populations from wheat kernels and other hosts. *European Journal of Plant Pathology,* 119, 175-182.
15. Gasonshi, K. & Takanashi, K. (1973). Resistance of pear black spot pathogen to polyoxin. *Annals. Phytopatholical Society of Japan*, 39, 173-174.
16. Ghosta, Y. (2004). *A taxonomic study on the genus Alternaria from Iran*. Ph. D. dissertation. Tarbiat Modarres University, Tehran, Iran.
17. Gruzdeviene, E., Mankeviciene, A., Lugauskas, A. & Repeckiene, J. (2006). The effect of environmental conditions on the variation of fungi and mycotoxin contents in oil flax seed. *Ecology*, 3, 64-70.
18. Hajianfar, R. & Zarbakhsh, A. (2006). Identification of causal organism of early blight and stem canker diseases on tomato in major production regions of country. Proceedings of *the 17th Iranian Plant Protection Congress*, 2-5 Sept., Karaj, Iran, P. 182.
19. Hoffman, D. D., Diers, B. W., Hartman, G. l., Nickell, C. D., Nelson, R. L. & Pedeson, W. L., Cober, E. R., Greaf, G. L., Steadman, J. R., Grau, C. R., Nelson, B. D., Rio, L. E., Helms, T., Andrson, T., Poysa, V., Rajcan, L. & Stienstra, W. C. (2002). Selected soybean plant introductions with partial resistance to *Sclerotinia sclerotiorum*. *Plant Disease,* (86), 971-980.
20. Hooker, W. J. (1981). *Compendium of Potato Diseases.* APS Press, USA, 125 pp.
21. Hutton, D. G. (1988). The appearance of dicarboximide resistance in *Alternaria alternata* in passionfruit in South-East Queensland Australia. *Australian Journal of Plant Pathology,* 17, 34-36.
22. Khan, S. A. J. & Khanzada, A. K. (1987). A new leaf spot disease of pea (*Pisum sativum* L.) caused by *Alternaria tenuissima* (Kunze ex Pers.) Wiltshire. *Pakistan Journal of Scientific and Industrial Research*, 30(1), 46
23. Konstantinova, P., Bonants, P. J. M., Van Gent-Pelzer, M. P. E., Van Der Zouwen, P. & Van Den Bulk, K. (2002). Development of specific primers for detection and identification of *Alternaria* spp. in carrot material by PCR and comparison with blotter and plating assay. *Mycological Research,* 106, 23-33.
24. Lagopodi, A. L. & Thanassoulopoulos, C. C. (1998). Effect of a leaf spot disease caused by *Alternaria alternata* on yield of sunflower in Greece. *Plant Disease*, 82, 41-44.
25. Ma, Z., Felts, D. & Michailides, T. J. (2003). Resistance to azoxystrobin in *Alternaria* isolates from pistachio in California. *Pesticide Biochemistry and Physiology,* 77, 66-74.
26. Morton, F. J. (1964). Species of *Alternaria* on *Brassica* host in New Zealand. *New Zealand Journal of Botany*, 2, 19-33.
27. Montemurro, N. & Visconti, A. (1992). *Alternaria* metabolites – chemical and biological data. In: J. Chelkowski & A. Visconti (Eds.), *Alternaria Biology, Plant Disease and Metabolites*. (pp. 451-460). Elsevier, the Netherlands.

28. Nutsugah, S. K., Kohomoto, K., Otani, H., Kodama. M. & Sunkesweri, R. R. (1994). Production of a non-specific toxin by germinating spores of *Alternaria tenuissima* causing leaf spot of pea. *Phytopathology*, 140: 19-31.
29. Pryor, B. M. & Michailides, T. J. (2002). Morphological, pathogenic and molecular characterization of *Alternaria* isolates associated with *Alternaria* late blight of pistachio. *Phytopathology*, 92, 406-416.
30. Rahman, M. Z., Muroguchi, N., Arase, S. & Honda, Y. (2003). Red-light-induced resistance in Broad Bean (*Vicia faba* L.) to leaf spot disease caused by *Alternaria tenuissima*. *Phytopathology*,151, 86 – 91.
31. Serdani, M., Kang, J. C., Andersen, B. & Crous, P. W. (2002). Characterization of *Alternaria* species-groups associated with core rot of apples in South Africa. *Mycological Research*, 106, 561-569.
32. Simmons, E. G. (1981). *Alternaria* themes and variations. *Mycotaxon,* 13, 16-34.
33. Simmons, E. G. (1986). *Alternaria* themes and variations (22-26). *Mycotaxon,* 25, 287-308.
34. Simmons, E. G. (1994). *Alternaria* themes and variations (74–105). *Mycotaxon,* 50, 219-270.
35. Simmons, E. G. (1995). *Alternaria* themes and variations (112–144). *Mycotaxon*, 55, 55-163.
36. Simmons, E. G. (1996). *Alternaria* themes and variations (145–149). *Mycotaxon*, 57, 391-409.
37. Simmons, E. G. (1997). *Alternaria* themes and variations (151–223). *Mycotaxon* ,65, 1-91.
38. Simmons, E. G. (1999a). *Alternaria* themes and variations (226-235). Classification of citrus pathogens. *Mycotaxon,* 70, 263-323.
39. Simmons, E. G. (1999b). *Alternaria* themes and variations (236-243). Host specific toxin producers. *Mycotaxon,* 70, 325-369.
40. Simmons, E. G. (2000). *Alternaria* themes and variations (244–286). *Mycotaxon*,75, 1-115.
41. Simmons, E. G. (2002). *Alternaria* themes and variations (305-309). Lewia/ *Alternaria* revisited. *Mycotaxon*, 83, 127-145.
42. Simmons, E. G. (2007). *Alternaria: An Identification Manual*. CBS Biodiversity. 775pp.
43. Swart, W .J. & Kriel, W. M. (2002). Pathogens associated with necrosis of Cactus Pear cladodes in South Africa. *Plant Disease*, 6,693.
44. Taheri-Ardestani, S., Sharifnabi, B., Zare, R. & Abbasi Moghadam, A. (2008). Two new *Alternaria* species on potato from Iran. Proceedings of *the 18 th Iranian plant Protection Congress*, 24-27 Aug., Hamedan, Iran, P. 674.
45. Van Der Waals, J. E., Korsten, L. & Slippers, B. (2004). Genetic diversity among *Alternaria solani* isolates from potatoes in South Africa. *Plant Disease,* 88, 959-964.
46. Vaziri, A. (1973). *List of plant diseases in Dezful, Safiabad.* Irrigation Department, Agricultural Research Center, 25 pp.