DOI: http://dx.doi.org/10.22092/ijcr.2016.106778

های پنبه ایران مجله پژوهش
جلد سوم، شماره دوم، ۱۳۹۴
۱-۱۴
www.jcri.ir

ارزیابی مقاومت نسبی ارقام پنبه در برابر گونه *Alternaria alternata*

هادی خسروی [۱]، مهدی جهانی [۲]، *فاطمه آزاد دیسفانی [۳] و عباس محمدی [۴]

[۱] دانشجوی کارشناسی ارشد گروه گیاهپزشکی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه بیرجند، [۲] استادیار گروه گیاهپزشکی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه بیرجند، [۳] استادیار پژوهشی بخش گیاهپزشکی، موسسه تحقیقات پنبه کشور و [۴]استادیار گروه گیاهپزشکی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه بیرجند

تاریخ دریافت: ۱۳۹۴/۱۲/۴ ؛ تاریخ پذیرش: ۱۳۹۵/۳/۱۲

چکیده

بیماری لکه برگی پنبه ناشی از *Alternaria alternata* یکی از عمومی‌ترین و شایع‌ترین بیماری‌های مهم در مناطق پنبه‌خیز می‌باشد. کاشت ارقام متحمل به این بیماری یکی از اقتصادی‌ترین روش‌های کنترل بیماری به شمار می‌رود. این مطالعه با هدف ارزیابی واکنش ارقام پنبه در مقابل قارچ عامل بیماری انجام شد. در این تحقیق ابتدا قارچ عامل بیماری در مرحله گیاهچه از مزارع پنبه استان گلستان جداسازی و خالص گردید و سپس با استفاده از داده‌های مرفولوژیکی شناسایی شد. تائید گونه جنس آلترناریا با استفاده از داده‌های توالی نوکلئوتیدی ناحیه ITS-rDNA و توالی‌یابی بخشی از ژن Endo pg انجام شد. بر این اساس جدایه Kb۲ با قارچ *A. alternata* در یک گروه قرار گرفت. سپس مقاومت نسبی هفت رقم پنبه شامل: سپید،گلستان، ارمغان، ب- ۵۵۷، ساحل، بختگان، ترموس- ۱۴ در شرایط گلخانه و مرحله گیاهچه نسبت به جدایه *A. alternata* Kb۲ در قالب طرح کاملاً تصادفی با سه تکرار سنجیده شد. نتایج بررسی نشان داد با اینکه ارقام مختلف واکنش‌های متفاوتی در مقابل بیماری دارند، اما بطور کلی تمام ارقام در مقابل عامل بیماری‌زا آسیب‌پذیر بودند. از نظر شدت بیماری لکه برگی آلترناریایی رقم ترموس۱۴ بیشترین شدت بیماری و ارقام ب- ۵۵۷ و بختگان دارای کم‌ترین شدت بیماری بودند بعبارتی این دو رقم، ارقام متحمل به این بیماری در مرحله گیاهچه معرفی گردیدند.

واژه‌های کلیدی: آلترناریا، گیاهچه، لکه برگی، مقاومت نسبی

---

*نویسنده مسئول: f_azaddisfani@yahoo.com

مقدمه

پنبه یکی از قدیمی‌ترین گیاهان زراعی است که توسط بشـر اهلـی شـده است. این گیاه جهت استفاده از الیاف آن در حدود ۵۰۰۰ سال قبل از میلاد کشت می‌شد (خواجه‌پور، ۱۹۹۱). گیاه پنبه در طول دوره رشد به بیماری‌های مختلفی مبتلا می‌شود که اهمیت هرکدام از آن‌ها در منطقه بستگی به نوع بیماری، گونه‌ها، ارقام پنبه مورد کشت، محیط رشد پنبه، اعمال روش‌های زارعی و دامنه میزبانی عامل بیماری دارد. از بین بیماری‌های پنبه، لکه برگی‌های قارچی و بخصوص لکه برگی و بلایت آلترناریایی *Alternaria* spp. یکی از عمومی‌ترین و شایع‌ترین بیماری‌های مهم در مناطق پنبه‌خیز جهان است. *Alternaria Nees* یکی از فراوان‌ترین جنس‌های قارچی است که در مکان‌های متنوعی در سرتاسر دنیا یافت می‌شود و شامل گونه‌های بیماری‌زای گیاهی و پوده‌زی است که موجب خسارت به بسیاری از گیاهان در مزارع یا موجب فساد تولیدات گیاهی در انبارها می‌گردند (اندرسون و تارانه، ۱۹۹۶). جنس *Alteranria* یکی از هیفومیست‌های دماتیاسه است که در سال ۱۸۱۶ توسط Nees و با گونه تیپ *Alternaria tenuis* (مترادف با *A. alternata*) معرفی شد (نیس، ۱۸۱۶). در ایران بیماری لکه برگی در تمام نقاط کشور شایع بوده ولی شدت بیماری در استان‌های گلستان، مازندران، اردبیل و برخی مناطق استان‌های فارس و خراسان که از شرایط مرطوب و خنک در اول و آخر فصل رشد پنبه برخوردار هـستند، بیشتر می‌باشد. حداقل دو گونه از آلترناریا قادر به ایجاد علائم عمومی‌اند که به لکه برگی آلترناریایی شناخته می‌شوند. عامل لکه برگی آلترناریایی در پنبه کمی متفاوت است و بسته به گونه قارچی که در گیاه وجود دارد، رقم پنبه می‌تواند از توسعه بیماری جلوگیری کند (قوستا،۲۰۰۴). گونه‌های قارچ آلترناریا سبب پوسیدگی بذر، مرگ گیاهچه، لکه برگی، لکه روی ساقه، غوزه، دمگل، ساقه و تمام قسمت هوایی گیاه، پوسیدگی طوقه، بلایت گیاهچه پنبه و بلایت بوته پنبه می‌شوند. لکه‌ها به رنگ قهوه‌ای تیره یا سیاه بوده و به مقدار زیاد و گاهی پیوسته به‌صورت دوایر متحدالمرکز و به حالت موجی شکل مشاهده می‌شوند (هیلوکس، ۱۹۹۲). شدت بیماری لکه برگی آلترناریایی پنبه با توجه به محل، سال و سطح حاصلخیزی متفاوت است. اگر حذف برگ‌های زودرس ناشی از این بیماری گسترده باشد بازده ممکن است کاهش یابد (هاوارد و همکاران، ۱۹۹۷). اگرچه بیشتر گونه‌های پنبه به عامل بیماری زا حساس‌اند اما غالب گونه‌های که در آمریکا رشد می‌کنند مقاوم در نظر گرفته می‌شوند.کیفیت بالا و طولانی‌مدت پنبه رقم پیما باعث مقاومت آن شده است. لکه برگی آلترناریایی باعث کاهش محصول تا ۲۵ درصد در پنبه پیما می‌شود (باشی و روتم، ۱۹۳۸). رقم پیما S-۶ اولین بار در طول سال‌های ۱۹۸۳ و ۱۹۸۴ در بین کشاورزان توزیع شد. حساسیت رقم پیما S-۶ بیشتر از پیما S-۵ بود. از اولین علائم بیماری حضور لکه‌ها بر روی کوتیلدون بذور تازه جوانه‌زده است. در فلسطین اشغالی (باشان و لوانوئی، ۱۹۸۷) و هند (پاداگانو، ۱۹۷۹) قارچ *A.macrospora*

شناخته‌شده که به بذر حمله می‌کند. اگرچه *A.macrospoa* عامل سوختگی برگ در پنبه پیما در نظر گرفته شده است و *A.alternata* عامل سوختگی برگ در پنبه آکالا در نظر گرفته شده است شواهدی وجود دارد که سوختگی آلترناریایی یک مجموعه از هر دو پاتوژن است (باشان و هرناندز، ۱۹۹۲). لذا با توجه به اهمیت بیماری این تحقیق با هدف معرفی ارقام متحمل یا مقاوم به عنوان یک راه کنترل بیماری اجرا گردید.

مواد و روش‌ها

نمونه‌برداری، جداسازی و شناسایی عامل بیماری: نمونه‌برداری برگی در سطح استان گلستان و شهرهای مختلف ازجمله گرگان، کردکوی، علی‌آباد، گالیکش، انبارالوم، کلاله و گنبد از مزارع پنبه در مرحله ۲ تا ۶ برگی با علائمی برگی متفاوت شامل لکه‌های نکروزه، ارغوانی، زرد و قهوه‌ای موجی شکل با دوایر متحدالمرکز در سال‌های ۱۳۹۳ و ۱۳۹۴ صورت گرفت. نمونه‌های هر منطقه به‌طور جداگانه با یادداشت زمان و محل نمونه‌برداری در پاکت‌های کاغذی قرارگرفته و به آزمایشگاه منتقل شدند (سیمونز، ۱۹۹۲). جداسازی قارچ عامل بیماری با استفاده از ضدعفونی سطحی انجام گرفت. نمونه‌ها بر روی تشتک‌های پتری حاوی محیط کشت سیب‌زمینی- دکستروز- آگار کشت گردیدند. پس از رشد پرگنه‌های قارچی نسبت به خالص‌سازی نمونه‌ها اقدام گردید. خالص‌سازی بر روی محیط آب- آگار صورت گرفت (قوستا، ۲۰۰۴). جهت بررسی خصوصیات مرفولوژیک و شناسایی اولیه قارچ‌های جنس آلترناریا، این قارچ‌ها به محیط سیب‌زمینی- هویج- آگار منتقل شدند (سیمونز،۲۰۰۷).

آماده‌سازی قارچ آلترناریا جهت استخراج DNA برای تایید گونه: در این بخش جدایه kb2 گونه *Alternaria alternata* با کد ۱۹ مورد بررسی قرار گرفت، کد ۱۹ از رقم گلستان و ایستگاه تحقیقاتی پنبه کارکنده جداسازی شده بود. بدین منظور بلوک میسیلیومی به ابعاد ۱ در ۱ سانتی‌متر از سطح محیط کشت قارچ تهیه و در شرایط سترون به ویال‌های ۱۰ میلی‌لیتری حاوی ۵ میلی‌لیتر محیط کشت زاپک براث منتقل گردید. در این تحقیق برای استخراج DNA از روش Chelex ۸ درصد مطابق روش والش و همکاران (۱۹۹۱) استفاده شد.

برای تکثیر بخشی از ناحیه Endo poly galacturonase از آغازگرهای اختصاصی شامل aa-endo-f1 با توالی (GTCCCTTCAGGCACAACTTT) و aa-endo-r1 با توالی (GCTGGAGCCAATATCGAAAC) به‌عنوان آغازگرهای مستقیم و معکوس استفاده گردید (مارگاریت و همکاران، ۲۰۱۱).

توالی‌یابی و تجزیه‌وتحلیل فیلوژنتیکی: توالی به‌دست‌آمده با استفاده از نرم‌افزار بیوادیت ویرایش شد. بعد از تبدیل کردن توالی‌ها به فرمت FASTA از ابزار BLAST در پایگاه توالی‌های به‌دست‌آمده

با توالی‌های موجود در پایگاه NCBI جهت تعیین شباهت توالی‌های به‌دست‌آمده با توالی‌های ثبت‌شده استفاده گردید (التسچول و همکاران، ۱۹۹۰).

آزمون بیماری‌زایی در شرایط گلخانه: در این آزمون جدایه‌های قارچی بر روی گیاه پنبه آزمایش در شرایط گلخانه شدند. جهت کاشت بذور، بذور پنبه مورد استفاده با هیپوکلریت سدیم ۵ درصد به‌مدت ۲ تا ۳ دقیقه ضدعفونی شده و سپس در زیر هود بر روی حوله‌های استریل خشک‌شده و بلافاصله کشت گردید. تلقیح گیاهچه‌ها در مراحل چهار برگی صورت پذیرفت. جدایه‌های قارچی روی محیط PDA تحت شرایط استاندارد و در دمای ۲۲ تا ۲۴ درجه سلسیوس کشت داده شدند. برای مایه‌زنی از دو روش استفاده گردید.

الف: روش اول: سطح برگ با الکل ۷۰ درصد ضدعفونی گردید و با اسکالپل سترون ۲ تا ۳ برش سطحی داده شد و با استفاده از چوب‌پنبه بر قطعاتی به قطر نیم سانتی‌متر از محیط کشت ۷ روز قارچ روی برگ قرار داده شد. جهت نمونه شاهد از محیط کشت PDA بدون قارچ استفاده شد.

ب: روش دوم: جهت تلقیح سوسپانسیون اسپور از گیاهچه۴ برگی پنبه استفاده شد. قبل از مایه‌زنی اسپور سطح برگ با الکل ۷۰ درصد ضدعفونی گردید و سپس توسط یک سوزن سترون ظریف چند زخم کوچک بر روی برگ‌ها ایجاد شد و سوسپانسیون اسپور تهیه‌شده بر روی زخم‌ها اسپری گردید و روی گیاهچه جهت تثبیت اسپور با نایلون پوشانده شد؛ و در دمای ۲۲ درجه سلسیوس در گلخانه نگهداری شد؛ در تیمار شاهد از آب مقطر سترون برای مایه‌زنی استفاده شد.

ارزیابی مقاومت نسبی ارقام پنبه در برابر گونه *A. alternata*: در این بررسی جدایه kb۲ از بین جدایه‌های *A.alternata* که در مراحل قبلی بیماری‌زایی بیشتر را نشان داد جهت عکس‌العمل ارقام تجاری پنبه انتخاب گردید. این آزمایش در شرایط کنترل‌شده گلخانه با حرارت ۲۵ تا ۳۰ درجه سلسیوس و شرایط نوری ۱۶ ساعت روشنایی و ۸ ساعت تاریکی انجام شد. ارقام مورد آزمایش شامل سپید،گلستان، ارمغان، ب- ۵۵۷، ساحل، بختگان (متعلق به گونه *Gossypium hirsutum*) ترموس-۱۴ (متعلق به گونه *G. barbadense*) بودند. مراحل آزمون حساسیت مطابق روش‌هافمن و همکاران (۲۰۰۲) با استفاده از سوسپانسیون اسپور انجام شد. این بررسی در قالب طرح کاملاً تصادفی و با سه تکرار به مرحله اجرا درآمد. جهت تست ۲ برگ از برگ‌های کوتیلدونی هر گیاه مایه‌زنی گردید. هر گلدان دارای ۶ گیاهچه پنبه بود. برای هر تیمار (رقم) ۳ تکرار (گلدان) و یک شاهد (گلدان) در نظر گرفته شد. غلظت سوسپانسیون اسپور جهت مایه‌کوبی۴۰۰۰ اسپور در تریتون ۰/۰۰۱ درصد (سوسپانسیون غلیظ) در نظر گرفته شد. زخمی نمودن برگ با کاربوراندم و مالش برگ به‌صورت یکنواخت انجام شد و مه پاشی برگ با توین ۲۰ درصد (جهت حفظ رطوبت) قبل از اینوکوله کردن انجام شد؛ سپس سوسپانسیون اسپور بر روی برگ‌های کوتیلدونی اسپری شد. تلقیح گیاهان شاهد نیز

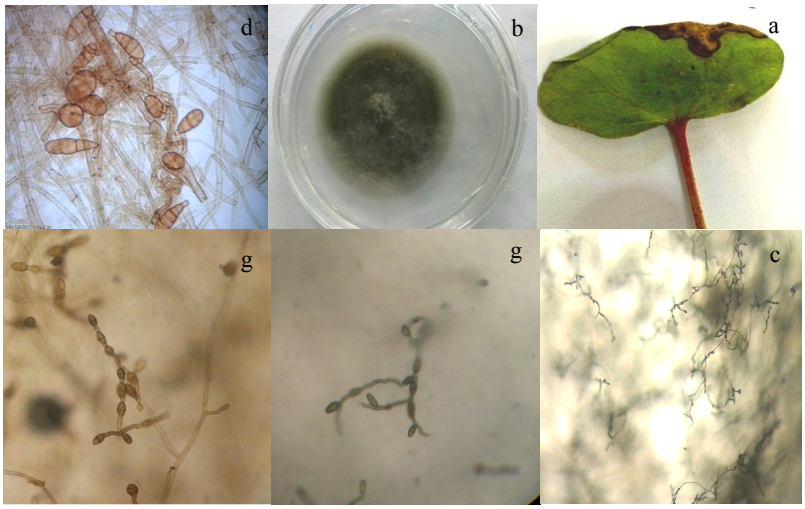
توسط آب مقطر سترون حاوی تریتون ۰/۰۰۱ درصد انجام شد و گیاهچه به‌مدت ۲۴ ساعت بـه‌منظـور تثبیت رطوبتی با پلاستیک تیره پوشانده شد. آماربرداری ۲ هفته بعد از مایـه‌زنـی انجـام شـد و شـدت بیماری لکه برگی ثبت گردید. ارزیابی شدت علائم دیده‌شده با اندازه‌گیری کل سطح برگ و اندازه‌گیری مساحت بخش‌های سالم و سپس تفاضل این دو مقدار(با استفاده از روش استاندارد و کاغذ میلی‌متری) صورت پذیرفت (خاوری نژاد، ۱۹۹۹). درنهایت شدت علائم برحسب درصد آلوده سطح بـرگ محاسـبه گردید (کاتی، ۱۹۸۷). مقایسه میانگین‌ها با استفاده از آزمون چند دامنه‌ای دانکن صورت گرفت. تحلیل آماری داده‌ها با استفاده از نرم‌افزار Mstatc و ترسیم نمودارها با نرم‌افزار Excel انجام شد.

نتیجه و بحث

جداسازی، شناسایی عامل بیماری: در این بررسی تعداد ۱۸جدایه متعلق بـه گونـه *A. alternata* جداسازی و شناسایی گردید. همه جدایه‌ها در آزمون بیمـاری زایـی در شـرایط گلخانـه بـر روی پنبـه بیماری‌زا بودند. روش استفاده از سوسپانسیون قارچ علائم بهتری را نشـان داد و از طرفـی جدایـه kb2 علائم لکه برگی شدیدتری را از خود نشان داد، لذا ارزیابی حساسیت ارقام پنبه با استفاده از این جدایه و روش سوسپانسیون اسپور انجام شد. این جدایـه kb2 از رقـم گلسـتان و از ایسـتگاه تحقیقـاتی پنبـه کارکنده (کردکوی) جداسازی گردید (شکل ۱).

شکل ۱-علائم لکه برگی بر روی برگ گیاهچه تلقیح شده با جدایه Kb2 *A. alternate* در آزمون بیماری‌زایی

شناسایی مرفولوژیکی عامل بیماری (*A. alternata*): صفاتی‌که در شناسایی گونه‌ها مدنظر قرار گرفت شامل: الگوهای کلی‌هاگ‌زایی که شامل آرایش‌هاگ‌ها روی‌هاگ بر، تعدادهاگ در هر زنجیره و الگوی انشعاب یافتن زنجیره‌ها، اندازه‌هاگ‌ها، رنگ‌هاگ‌ها، آرایش بندها، وجود یا عدم وجود نوک و طول آن درهاگ، تزیینات سطح‌هاگ و ابعادهاگ بود. بر این اساس در تحقیق حاضر یک‌گونه از جنس آلترناریا شناسایی شد. در جدایه kb2 رنگ پرگنه در محیط کشت PCA سبز زیتونی بود.هاگ بر اولیه ساده و بدون انشعاب بود. ابعاد هاگ‌بر اولیه ۲-۱×۷۰-۳۰ بود.هاگ‌ها به‌صورت زنجیره‌های طویل و منشعب مشاهده گردید و در هر زنجیره ۸ اسپور وجود داشت و ابعاد هاگ ۲۰/۹۸×۸۵/ ۴۸ میکرومتر بود. تمامی مشخصات مشاهده‌شده در جدایه‌های فوق با مشخصات گونه‌ی *A.alternata* در کلید سیمونز (۲۰۰۷) منطبق بود؛ بنابراین این جدایه‌ها با مشخصات فوق گونه *A.alternata* تشخیص داده شد (شکل ۲).

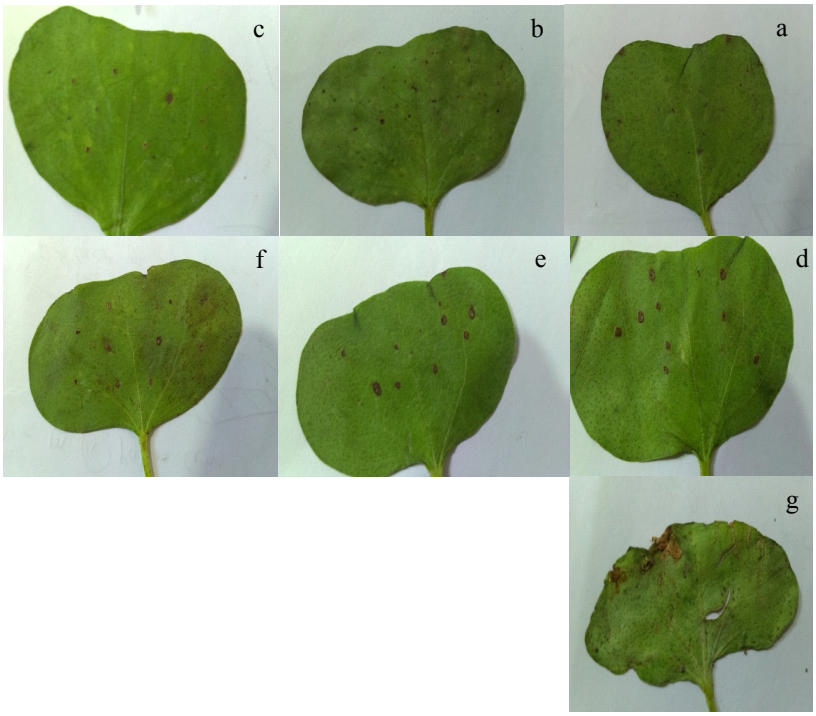


شکل ۲- جدایه Kb2 جداسازی شده از رقم گلستان در ایستگاه تحقیقاتی پنبه کارکنده (کردکوی)، a- نمونه برگی عامل بیماری، b-پرگنه قارچ روی محیط PCA، d-اسپورهای قارچ روی محیط PCA، c- زنجیره‌های‌هاگ، g-کنیدیوفر اولیه و ثانویه

تایید مولکولی عامل بیماری (*A. alternata*): شناسایی گونه‌های جنس آلترناریا، مخصوصاً گونه‌های ریزاسپور این جنس، بر اساس داده‌های ریخت‌شناختی به راحتی امکان پذیر نمی‌باشد. در اصل این امر ناشی از تنوع قابل توجه موجود در شکل‌شناسی هر گونه و نیز در یک پرگنه واحد، همپوشانی صفات کنیدیوم در بین گونه‌های نزدیک به‌هم، وابستگی بسیار بالای صفات ریخت‌شناختی

به شرایط محیط بوده است (هنگ و همکاران، ۲۰۰۶). نتایج شناسایی مولکولی جدایه‌های قارچی با استفاده از تعیین توالی نوکلئوتیدی ناحیه ITS نتایج بررسی‌های مورفولوژیک را تایید کرد. بر اساس توالی یابی بخشی از ژن Endo pg جدایه kb۲ با شماره دست رسی Ay۲۹۵۰۲۰ (*A. alternata*) در یک گروه قرار گرفت.

ارزیابی مقاومت نسبی هفت رقم پنبه در برابر گونه *A. alternata*: تجزیه واریانس صفت شدت بیماری لکه برگی ناشی از *A. alternata* انجام شد و نتایج نشان داد که بین ارقام پنبه مورد آزمایش ازنظر این صفت اختلاف آماری وجود دارد ($P\leq0.01$) (جدول۱). مقایسه میانگین شدت ارقام مختلف با استفاده از آزمون دانکن در سطح آماری یک درصد صورت گرفت. ازنظر شدت بیماری رقم ترموس ۱۴ با ۲/۷۴ درصد بالاترین شدت بیماری را داشت و ارقام ب- ۵۵۷ و بختگان دارای کمترین شدت بیماری بودند (شکل ۳ و نمودار ۱). رقم ب- ۵۵۷ از ارقام در دست معرفی پنبه در منطقه گلستان می‌باشد. این رقم می‌تواند در مناطق با بارندگی سنگین و رطوبت نسبی بالا در اول فصل و وجود دمای مناسب بیماری لکه برگی در اثر قارچ آلترناریا توصیه گردد.

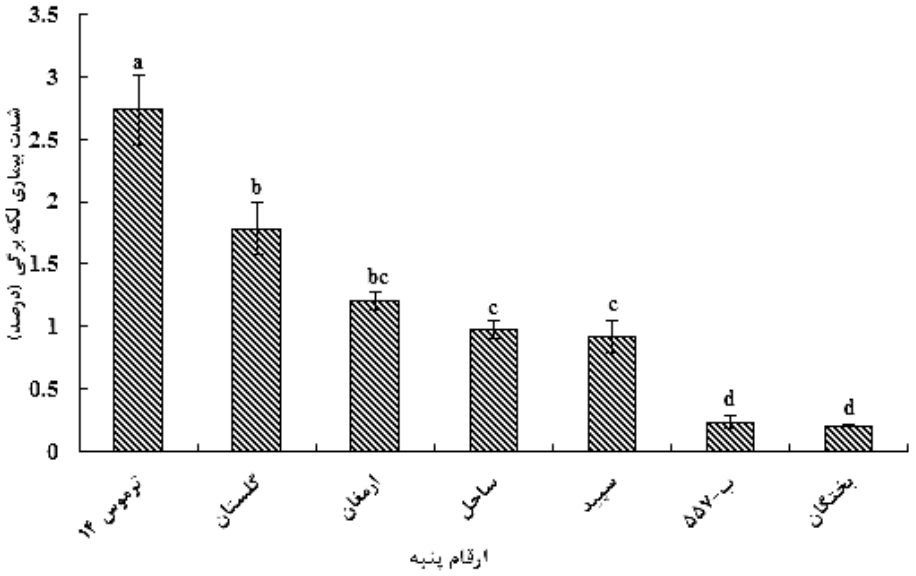


شکل۳ - علائم لکه برگی ناشی از جدایه (kb۲) *A. alternata* بر روی ارقام مختلف پنبه.
شماره ارقام: a- بختگان، b- ب- ۵۵۷، c- سپید، d- ساحل، e- ارمغان، f- گلستان، g- ترموس۱۴

جدول ۱- تجزیه واریانس شدت لکه برگی ارقام پنبه در اثر مایه‌کوبی با جدایه *Alternaria alternata*

منابع تغییرات	میانگین	مربعات
	درجه آزادی	شدت بیماری لکه برگی (٪)
تیمار	۶	۲/۳۷۸ **
اشتباه	۱۴	۰/۰۶۴
ضریب تغییرات (CV%)		۲۱/۹۹

: در سطح آماری یک درصد معنی‌دار است.*: در سطح آماری پنج درصد معنی‌دار است. **ns: معنی‌دار نیست.



نمودار ۱- مقایسه میانگین شدت لکه برگی ارقام پنبه در اثر مایه‌کوبی با جدایه *Alternaria alternata*. هر عدد، میانگین ۳ تکرار می‌باشد و خطوط روی ستون‌ها خطای استاندارد (± SE) می‌باشد. تیمارهایی که با حروف مختلف نشان داده شده‌اند، در آزمون دانکن (P≤0.01) دارای اختلاف معنی‌دار با یکدیگر هستند.

در این پژوهش رقم گلستان که بیشترین سطح زیر کشت پنبه در استان گلستان را دارد، بعد از رقم ترموس ۱۴ از حساسیت بالاتری نسبت به سایر ارقام برخوردار بود. ارقام ساحل و ارمغان نیز که از ارقام تجاری پنبه می‌باشند متحمل‌تر از ارقام ترموس ۱۴ و گلستان و حساس‌تر از ارقام بختگان و ب-۵۵۷ بودند. هر چهار گونه اهلی پنبه به بیماری لکه برگی ناشی از قارچ آلترناریا مبتلا شده ولی ارقام متعلق به گونه *Gossypium barbadense* و ارقام دیپلوئید (*G. arboreum* و *G. herbaceum*) و همچنین ارقام هیبریدی که از تلاقی گونه‌های (*G. hirsutum*× *G.*

barbadense) به وجود آمده‌اند حساس‌تر بوده و شدت بیماری در آنها بیشتر است (کاتی، ۱۹۸۷). ارقام پنبه متعلق به گونه *G. barbadense* حساسیت بیشتر و ارقام متعلق به *G. hirsutum* مقاومت بیشتری نسبت به بیماری لکه برگی آلترناریایی دارند. راشال وهاین در آزمایشی در ایالت آریزونا در سال ۱۹۷۸، ملاحظه کردند لاین‌های پیما ELS از حساسیت زیاد و واریته‌های تجارتی آپلند[1] مقاومت بیشتری نسبت به بیماری داشتند (واتکینز، ۱۹۸۱). بر اساس تحقیقات کاتی (۱۹۸۷) در آمریکا پنبه Pima ss و Pima Sj5 به‌عنوان حساس‌ترین لاین‌های پنبه نسبت به بیماری شناخته شدند و نیز لاین دلتاپاین و آکالا ۹۰ حساسیت بیشتری نسبت به دلتاپاین ۶۱ و آکالا Sj5 داشت. ارقام گلستان، ب- ۵۵۷، ارمغان، سپید، بختگان و ساحل در این بررسی همگی متعلق به گونه *G. hirsutum* و رقم ترموس ۱۴ متعلق به گونه *G. barbadense* بودند. ارقام مقاوم مثل آکالا (متعلق به *G. hirsutum*) مقادیر زیادی مواد فنلی در برگ و ساقه دارند. مقدار بیشتر و زمان زودتر فعالیت آنزیم پلی فنل اکسیداز با میزان مقاومت ارتباط دارد. رقم بختگان حاصل از سلکسیون رقم آکالا Sj2 می‌باشد که در این بررسی به همراه رقم ب- ۵۵۷ شدت بیماری کمتری را داشتند که این تحمل به بیماری را با میزان فنل بالاتر برگ‌ها می‌توان در ارتباط دانست. نتایج این پژوهش نشان داد با وجود تفاوت از نظر حساسیت ارقام در برابر قارچ آلترناریا، تمامی ارقام در برابر لکه برگی آلترناریایی آسیب‌پذیر بودند. . مطالعات انجام شده در زمینه آثار متقابل بین گیاهان میزبان، قارچ نکروتروف *A. alternata* و شرایط آب و هوایی نشان داده است که نقش نسبی این عوامل در این بر همکنش پیچیده است و ناشناخته‌های زیادی در این زمینه وجود دارد (سلیمانی و کیرک، ۲۰۱۲). مهم‌ترین عوامل محیطی دخیل در ایجاد بیماری میزان رطوبت نسبی است. رطوبت نسبی بالا، باعث افزایش میزان نفوذپذیری سطح گیاه به آمونیاک و میزان بالای مواد قندی محلول نیز باعث افزایش جوانه زنی اسپور و افزایش آلودگی توسط این گونه می‌شود. بنابر این، با افزایش رطوبت موجود در محیط میزان آمونیاک بیشتری از خاک و سطح اندام گیاهی آزاد شده و این به تغییر شکل از شیوه بیوتروفیک به نکروتروفیک و موفقیت قارچ در ایجاد بیماری کمک می‌کند (دوآن و همکاران، ۲۰۱۰). به این ترتیب حتی در ارقام مقاوم نیز بیماری ایجاد می‌شود. نقش گیاه میزبان در ایجاد مقاومت در برابر این‌گونه قارچی بسیار مهم است. چون آلودگی در این گیاهان ارتباط مستقیمی با توکسین‌های اختصاصی میزبان دارد (روتم، ۱۹۹۸). بافت برگ مهم‌ترین بخش جهت آلودگی توسط قارچ آلترناریا می‌باشد. ویژگی‌های برگ ازجمله ضخامت کوتیکول، تعداد روزنه و رطوبت پذیری سطح برگ عوامل مؤثری برای آلودگی این قارچ محسوب می‌شوند. تعداد روزنه‌ها اثر مستقیمی بر روی شدت آلودگی دارد. در ارقامی که ضخامت کوتیکول کمتر است آلودگی نسبت به ارقام با کوتیکول ضخیم‌تر بیشتر می‌باشد (روتم،

1- Upland

۱۹۹۸). رقم ب- ۵۵۷ از ارقام در دست معرفی پنبه در منطقه گلستان می‌باشد. این رقـم مـی‌توانـد در مناطق با بارندگی سنگین و رطوبت نسبی بالا در اول فصل و وجود دمای مناسب بیماری لکه برگـی در اثر قارچ آلترناریا توصیه گردد. ضمناً این رقم به‌عنوان رقم متحمل به بیمـاری پژمردگـی ورتیسـیلیومی پنبه در ایران گزارش شده است (آزاددیسفانی و زنگی، ۲۰۱۴؛ خیری و فتحی، ۲۰۱۰).

منابع

1. Altschul, S.F., Gish, W., Miller, W., Myers, E.W. and Lipman, D.J. 1990. Basic local alignment search tool. Journal of Molecular Biology. 215: 403-410.
2. Andersen, B., and 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.
3. Azad Disfani, F., and Zangi, M.R. 2014. Complementary study of *Verticillium* tolerance genotypes of cotton. 13 th Iranian crop science conference and seed science and technology conference. 24-27 Aug. Karaj. Iran. 1-4 pp.
4. Bashan, Y., Levanony, H. 1987. Transfer of *Alternaria macrospora* from Cottn seed to seedling: Light and scanning electron microscopy of colonization. J. Phytopathology. 120: 60-68.
5. Bashan, Y., Hernandez-Saavedra, NY. 1992. *Alternaria*-blight of cotton: Epidemiology and transmission. In: Chelkowski, J., Visconti, A., (eds) *Alternaria*: biology, plant diseases and metabolites. Elsevier Scientific Publishers, Amsterdam, pp 233-266.
6. Bashi, E., Rotem, J., Pinnschmidt, H. and Kranz, J. 1983. Influence of controlled environment and age on development of *Alternaria macrospora* and on shedding of leaves in cotton. Phytopathology. 73: 1145-114 7.
7. Cotty, P.J. 1987. Temperature- induced suppression of *Alternaria* leaf spot of cotton in Arizona. Plant Disease. 71: 1138-1140.
8. Duan, W.J., Zhang, X.Q., Yang, T. Z., Dou, X.W., Chen, T.G., Li, S.J., Jiang, S.J., Huang, Y.J. and Yin, Q.Y. 2010. A novel role of ammonia in appressorium formation of *Alternaria alternata* (Fries) Keissler, a tobacco pathogenic fungus. J. Plant Dis. Protec. 117 (3): 112–116.
9. Ghosta, Y., Ershad, J., Zare, R. and Mohammadi Goltapeh, E. 2004. A taxonomic study on *Alternaria* species in Iran (2). Botanic Journal of Iran. 4: 17 p.
10. Hillocks, R.J. 1992. Cotton Diseases. C.A.B. International Wallingford. UF.415 Pp.
11. 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. and Stienstra, W.C. 2002. Selected soybean plant introductions with partial resistance to *Sclerotinia sclerotiorum*. Plant Disease. 86: 971-980.
12. Hong, S.G., Maccaroni, M., Figuli, P.J., Pryor, B.M. and Belisario, A. 2006. Polyphasic classification of *Alternaria* isolated from hazelnut and walnut fruit in Europe. *Mycological* Research 110: 1290-1300.
13. Howard, D. D., Newman, M.A. and Chambers, A.Y. 1997. Soil and Foliar Potassium Effects on Alternaria Leaf Spot Disease in Cotton. Better Crops. 81(4): 17-19.

14. Khavarinejad, R. 1999. Plant physiology practical. Omid press, Teharan. 331- 328 pp. (In Persian).
15. Khajehpour, M.R. 1991. Production of industrial plants. 1st edition. Academic Center of Isfahan University of Technology. Iran. pp. 97-121.
16. Kheiri, A., and Fathi, M. 2010. Evaluation of Verticillium Wilt Tolerance in Different Cotton Cultivars. Journal of Research in Agricultural Science. 6: 57- 61.
17. Mmbaga, M., Shi, A., and Kim, M-S. 2011. Identification of *Alternaria alternata* as a Causal Agent for Leaf Blight in Syringa Species. Plant Pathology J. 27(2): 120-127.
18. Nees Von Esenberck, C.G. 1816-1817. Das System der Pilze and Schwame. Shlen Buchhandlung Wurzburg. XXXVIII+329 pp. Pl. I-XXVIItahelsc (1816); Pl. XXVIII – XLIV.
19. Padaganu, G.M. 1979. The seed-borne nature of Alternaria macrospora Zimm. In cotton, Madras Agric. J. 66: 325
20. Rotem, J. 1998. The genus Alternaria: Biology, Epidemiology, Pathology. 2nd ed. APS Press, St, MN, 326 pp.
21. Simmons, E.G. 1992. *Alternaria* taxonomy: Current status, viewpoint, challenge. Pages 1-35 in: *Alternaria*: Biology, Plant Diseases and Metabolites. J. Chelkowski and A. Visconti, eds. Elsevier Scientific Publishers, Amsterdam.
22. Simmons, E.G. 2007. *Alternaria*: an identification manual. Am Soc Microbiol. 51: 687.
23. Soleimani, M.J. and Kirk, W. 2012. Enhance resistance to *Alternaria alternata* causing potato brown leaf spot disease by using some plant defense inducers. J. Plant Protection Res. 52 (1): 83-90.
24. Walsh, P.S., Metzger, D.A., Higuchi, R. 1991. Chelex 100 as a medium for simple extraction of DNA for PCR-based typing from forensic material. *Biotechniques*. 10(4): 506-13.
25. Watkins, G.M. 1981. Leaf spots. In: Watkins, G. M. (ed.), compendium of cotton Diseases. *American phytopathological* Society, St paul, Minnesota, USA, pp. 28-30.

Iranian Journal of Cotton Researches
Vol. 3, No. 2, 2015
www.jcri.ir

Evaluation of relatve resistance of cotton cultivars to *Alternaria alternata*

Abstract

Cotton leaf spot disease caused by *Alternaria alternata* is one of the most common and important diseases in the cotton growth areas. The use of tolerant cultivars is one of the most economic means for the disease control. This study was conducted to evaluate the response of cotton cultivars against the fungus. In this research the fungus were isolated in seedling stage and purified in seedling stage from the cotton fields of Golestan province. and then fungus was detected using morphological data. Confirmed *Alternaria* species was performed using nucleotide sequence data of ITS – rDNA region and sequencing of the part of endo poly galacturonase gene. Accordingly, isolated Kb2 isolate with fungus *A. alternata* were in one group phylogeneticlly. The relative resistance of seven cotton cultivars consist of Sepid, Golestan, B - 557, Sahel, Thermus-14, Bakhtegan and Armaqan to *A.alternata* Kb2were evaluated in greenhouse conditions and seedling stage with completely randomized design in three replications.The results revealed that the reaction of cultivars to disease were different, however, none of the cultivars showed high levels of resistance. Termus- 14 cultivar had the highest of leaf spot severity and B-557 and bakhtegan cultivars had the lowest of leaf spot severity. In other words, these two cultivars were introduced as the tolerant cultivars to leaf spot disease at seedling stage.

***Keywords**: Alternaria*, Seedling, Leaf spot, Relative resistance

*Corresponding author;