

ردیابی مولکولی ژن مقاومت ژنوتیپ‌های گوجه‌فرنگی نسبت به بیماری شانکر ساقه ناشی

از قارچ *Alternaria alternata*خدیجه پیری فرد^۱، محمد علی ابراهیمی^{۱*} و سعیده پیرایش^۲^۱ تهران، دانشگاه پیام نور، گروه بیوتکنولوژی کشاورزی^۲ تهران، وزارت جهاد کشاورزی، معاونت زراعت

تاریخ پذیرش: ۹۵/۹/۲۸

تاریخ دریافت: ۹۵/۵/۲

چکیده

با گسترش فعالیت قارچ‌های بیمارگر در گیاهان زراعی، انجام مطالعات دقیق را در بحث کنترل آفات و بیماری‌های گیاهی، مهم و ضروری به نظر می‌رسد. شانکر ساقه گوجه‌فرنگی که در اثر فعالیت قارچ *Alternaria alternata* f. sp. *lycopersici* ایجاد می‌شود، از مهم‌ترین بیماری‌های گوجه‌فرنگی در ایران است. این قارچ فیتوتوکسینی بنام AAL-toxins تولید می‌کند که بازدارنده بیوسنتز اسفنگولپید در گیاه میزبان بوده و باعث شانکر ساقه می‌شود. مقاومت در برابر پاتوژن و عدم حساسیت به توکسین، توسط جایگاه ژنی ASC1 در گیاه میزبان کنترل می‌شود. پروتئین حاصل از بیان این ژن، قادر به سم زدایی AAL-Toxin است. این تحقیق با هدف ردیابی این ژن در ۳۴ ژنوتیپ مهم مورد استفاده در ایران انجام شد. پس از ساخت آغازگر مناسب برای ردیابی ژن دخیل در مقاومت گوجه‌فرنگی به بیماری شانکر ساقه و این ژن طی واکنش PCR در ارقام مورد آزمایش ردیابی گردید. سپس محصول PCR توالی‌یابی شده و نتیجه سکوانس نشان داد که باند ایجاد شده مربوط به ژن مورد نظر می‌باشد که از بین ژنوتیپ‌های مورد آزمایش ارقام کال جی N3، اکسیر فلات، Early urbana VF، اوان، هیبرید ps515، CH فلات، متین، Bonny Bost، هیبرید ایون، دارای ژن ASC-1 بودند و برای اولین بار در ایران با روش‌های مولکولی به عنوان ژنوتیپ‌های دارای ژن مقاوم به شانکر ساقه برای مطالعات بعدی معرفی شدند.

واژه‌های کلیدی: ارقام مقاوم، *Alternaria alternata*، شانکر ساقه، گوجه‌فرنگی

* نویسنده مسئول، تلفن: ۰۲۱۲۲۴۴۲۰۴۱، پست الکترونیکی: ma_ebrahimi@pnu.ac.ir

مقدمه

می‌شود. بررسی (۱۲) جدایه‌های مختلف قارچ به وضوح نشان داد که *A. alternata* پاتوژن اولیه می‌باشد و در این قارچ سمی به نام AAL-toxins تولید می‌شود که باز دارنده بیوسنتز اسفنگولپید در گیاه میزبان بوده و باعث شانکر ساقه و از بین رفتن گونه‌های حساس گوجه‌فرنگی می‌شود. فیتوتوکسین AAL-toxins اولین بار توسط بوتینی و همکاران در سال ۱۹۸۱ از قارچ *alternata lycopersici* و همکاران جدا شد. این توکسین دارای دو بخش TB و TA است که بخش سمی TA آن به عنوان دو استر از

با توجه به افزایش میزان کاشت گوجه‌فرنگی در کشور، انجام مطالعات دقیق در بحث کنترل آفات و بیماری‌های گیاهی مهم و ضروری است، از بیماری‌های مهم گوجه‌فرنگی بیماری شانکر ساقه گوجه‌فرنگی که اولین بار در کالیفرنیا آمریکا جنوبی گزارش شده است. عامل بیماری قارچ *Alternaria alternata* f. sp. *lycopersici* می‌باشد که علائم آن به صورت زخم‌های روی ساقه و لکه‌های بیضوی مایل به سیاه در طوقه، ساقه و شاخه‌های گیاه در برگ‌ها و میوه‌ها به صورت لکه‌های نکرور دیده

شده اخیر روی عامل این بیماری نشان داد حضور DNA آلترناریا و شناسایی آن بر اساس منطقه ITS با حضور مایکوتوکسین قارچ در مواد مختلف ارتباط مستقیم دارد (۱۳). گونه‌های مختلف آلترناریا با تکنیک‌های مولکولی و مورفولوژیکی متفاوت به راحتی در حد گونه و زیرگونه قابل تفکیک هستند (۷). لذا شناسایی پاتوژن و تفکیک آن در شرایط مناسب با دقت بالا امکان‌پذیر است. اما در ادامه این مطالعات تعیین دامنه میزبانی و شناسایی ارقام مقاوم، نیازمند مطالعات تکمیلی و جدید است (۱۱). بررسی رابطه فیلوژنتیکی عامل بیماری نیز با روش‌های مبتنی بر PCR نیز با RAPD (۱۱ و ۱۳) نشان داد که شناسایی ارقام مقاوم با روش‌های جدید مولکولی اغلب دارای دقت بالاتر و نیازمند زمان کمتری است، در این تحقیق تلاش می‌شود شناسایی ارقام مقاوم در سطح ۳۴ رقم مهم گوجه فرنگی در ایران و به روش مولکولی انجام پذیرد. شناسایی توالی ژن دخیل در مقاومت گوجه فرنگی به بیماری شانکر ساقه اخیراً انجام شده است و برای اولین بار در این تحقیق از نگاه کاربردی از نتایج حاصل از پژوهش فوق در راستای شناسایی ارقام مقاوم در ایران استفاده شد. ژن ASC1 میزان مقاومت و حساسیت گیاه را نسبت توکسین تعیین می‌کند. بیان ژن ASC1 باعث تولید پروتئین ASC-IP شده که با آنزیم سرآمد سنتاز در مسیر اسفنگولپید بوده که با حضور ASC1 پروتئین باعث مقاومت گیاه می‌شود. بررسی نتایج حاصل از تکثیر نشان داد که این پرایمر قدرت تمایز میان ارقام هموزیگوس غالب (Asc/Asc) و ارقام هتروزیگوس (Asc/asc) با ارقام هموزیگوس مغلوب (asc/asc) را دارد. توالی مربوط به ژن ASC1 در بانک ژن ثبت شده است با توجه به یافته‌های محققان و اینکه روش‌های معمول برای شناسایی و کنترل بیماری زمان‌بر و هزینه‌بر است و بسته به نوع آب و هوا شرایط کشت و پرورش متفاوت بوده و احتمال مقاومت به قارچ کشتها وجود دارد، مطمئن‌ترین و موثرترین روش کنترل، شناسایی ارقام مقاوم و کاشت آنها است (۹ و ۱۷) که برای اولین بار در این تحقیق در ایران

یک آمینوفیل ۱۹ کربن و تریو کربوکسیلات شناخته شده و بخش TB شبیه به بخش سمی TA بوده و در یک گروه کربوکسیل روی آمینوفیل متفاوت می‌باشد. در واقع این توکسین جزء توکسین‌های میزبان اختصاصی می‌باشد (۸). مطالعات انجام شده بر روی جمعیت‌های در حال تفرق برای ردیابی ژن‌های مقاومت به این بیماری نشان داده که بیماری شانکر ساقه گوجه‌فرنگی در نسل‌های در حال تفرق انجام شده است همچنین نشان داده که یک ژن غالب کنترل کننده این بیماری بوده که توسط دانشمندی به نام بارون با کمک مارکر MAS بنام ASC1 شناسایی و توالی‌یابی شد به طوری که این ژن بر روی بازوی بلند کروموزوم ۳ قرار دارد. مقاومت در برابر پاتوژن و عدم حساسیت به توکسین توسط جایگاه ژنی ASC1 کنترل می‌شود (۳ و ۹). در سایر مطالعات انجام شده وراثت پذیری مقاومت به عامل بیماریزای *A. alternata* مورد بررسی قرار گرفته و مشخص شده که این بیماری روی ارقام خاصی از گوجه فرنگی خسارت‌زا است و ژنوتیپ‌های مختلف دارای طیف وسیعی از واکنش نسبت به این بیماری می‌باشد (۱). تا آنجا در تحقیق مشابهی، وجود اختلاف معنی‌دار بین ژنوتیپ‌های گوجه‌فرنگی نسبت به بیماری شانکر ساقه گوجه‌فرنگی مشخص شد که از نظر صفات بیماری برخی ژنوتیپ‌ها کاملاً مقاوم و برخی ژنوتیپ‌ها حساس، تعدادی از ژنوتیپ‌ها مقاومت نسبی به بیماری دارند (۱۶). همچنین درجه پاسخ متفاوت به *A. alternata* با هجده رقم گوجه-فرنگی، برای ارزیابی احتمال دخالت فعالیت پروتئاز و پراکسیداز از نتایج قابل ملاحظه‌ای (۶) و نیز بررسی واکنش مقاومت و یا حساسیت شش رقم گوجه‌فرنگی نسبت به بیماری شانکر ساقه با عامل *A. alternata f. sp. Lycopersici* (۸) مورد بررسی قرار گرفت. حال با توجه به اینکه این بررسی‌ها عمدتاً با روش‌های تست بیماریزایی انجام شده است (۵ و ۱۴) بررسی تنوع ژنتیکی عامل بیماری با استفاده از تکنیک‌های مولکولی و مارکرهای مبتنی بر PCR از جمله RAPD (۱۵) مطالعات مولکولی و بیوشیمیایی انجام

سپس DNAهای تمیز و با غلظت مناسب برای PCR از همه ارقام انتخاب شد.

در ارقام مهم گوجه فرنگی از روش‌های مولکولی به این منظور بهره گرفته شده است.

مواد و روشها

کاشت ارقام گوجه فرنگی ۵ رقم بذر اصلاح شده L1 تا L5 در جدول ۴ از مؤسسه تحقیقاتی و اصلاح نهال و بذر کرج، ۲۱ رقم بذر از L6 تا L27 از شرکت فلات و مابقی بذرها و L22 از شرکت گل سم که از ارقام گوجه فرنگی رایج در کشور تهیه شد. کاشت ۳۴ رقم مختلف گوجه فرنگی در فضای آزاد با خاک peat moss در گلدان و ماه اردیبهشت در دمای بین ۱۹ تا ۲۹ درجه سانتی‌گراد صورت گرفت. ارقام مورد آزمایش، در شرایط مناسب کاشته شده و طبق (شکل ۱) و (جدول ۱) کدگذاری گردید.



شکل ۱ - کاشت ارقام گوجه فرنگی

استخراج DNA: پس از آماده سازی نمونه‌ها، استخراج DNA به روش CTAB انجام گرفت (۱۰) به منظور انجام فرآیند استخراج DNA بافت برگ گیاهچه‌ها را با ازت مایع خرد نموده و سپس کدگذاری کرده و برای نگهداری به دمای ۲۰- تا ۸۰- منتقل گردید. بافر CTAB تهیه و pH=8 تنظیم شد. نمونه‌های DNA استخراج شده بر روی ژل آگارز ۰/۸ درصد بارگذاری گردید و بعد از انجام الکتروفورز و رنگ آمیزی با اتیدیوم بروماید اندازه باند هر DNA خام استخراج شده با مقایسه غلظت مشخصی از نشانگر وزن مولکولی (Gen Ruler DNA Ladder Mix 10kb) شرکت Fermentas تخمین زده شد. استخراج DNA برای هر رقم در ۴ تکرار انجام گرفت و

جدول ۱- ارقام مورد استفاده در این تحقیق و کد مربوطه

ارقام گوجه فرنگی	کد	ارقام گوجه فرنگی	کد
هیبرید پی اس	L20	Walter	L1
سوپر 2270	L21	Early ur bana	L2
متین	L22	Mana pd	L3
هیبریدفیزنزه	L23	Pate early ch	L4
هیبریدکومودورو	L24	Bonny Best	L5
پریمو فلات	L25	شف فلات	L6
هیبریدتوپراید ۲	L26	پتو 86	L7
سی اچ فلات	L27	اکسیر فلات	L8
روژین	L28	کینگ استون	L9
کال جی ان ۳	L29	کینگ استار	L10
هرمز	L30	ارلی اوربانا وی اف	L11
هنگام	L31	کیمیا فلات	L12
رها	L32	وای فلات	L13
زیومرد	L33	هیبریدایون	L14
کیان	L34	اوان	L15
		کارون فلات	L16
		هیبرید سوپرست	L17
		فلات 111	L18
		سوپر شف	L19

انجام فرآیند واکنش زنجیره‌ای پلیمرز: برای تهیه ۲۵ میکرولیتر مخلوط اجزای واکنش زنجیره‌ای پلیمرز به ترتیب از ۲/۵ میکرولیتر PCR buffer، ۰/۷۵ میکرولیتر کلریدمنیزیم، ۰/۷ میکرولیتر dNTP، ۱/۲ میکرولیتر آغازگر رفت و برگشت، ۰/۳ میکرولیتر Taq DNA polymerase، ۲ میکرولیتر DNA استفاده شد. جهت انجام این واکنش آغازگر اختصاصی ASC1 ساخت شرکت متابیون آلمان مورد استفاده قرار گرفت. توالی آغازگر مورد استفاده در واکنش زنجیره‌ای پلیمرز برای Asc1f و برای Asc1r عبارت است از: ATCACATCGCTGCTTCGGTTG و برای Asc1r عبارت است از: ATCCAGTCCGTTCTTCT.

urbana، اوان، هیبرید ps515، CH فلات، متین، Bonny Bost، هیبرید ایون دارای قطعه ژن ASC1 بودند که پروتئین حاصل از بیان آن، قادر به سم زدایی AAL-Toxin بوده و بررسیها نشان داده است که وجود این ژن در گیاه میزبان مانع بروز علائم بیماری شانکر ساقه می‌شود. تک بانده دیده شده در واکنش زنجیره‌ای پلیمرز، همراه با پرایمر مربوطه برای توالی‌یابی به شرکت پیشگام ارسال شد. نتیجه سکوئنس نشان داد که بانده ایجاد شده همان ژن مورد نظر می‌باشد. که نتیجه این توالی در پیوست نمایه شده است. این نتایج با مطالعات برخی از محققین همسو بود. کمترین میزان شاخص بیماری به رقمهای Early VF urbana و هیبرید ps تعلق دارد (۱). نتایج این تحقیق وجود ژن مقاومت ASC1 را در این ارقام تأیید کرد. نتایج نشان دهنده وجود اختلاف معنی دار بین ژنوتیپها از نظر صفات بیماری (۱۶) که این امر در نتایج این تحقیق تأیید شد.

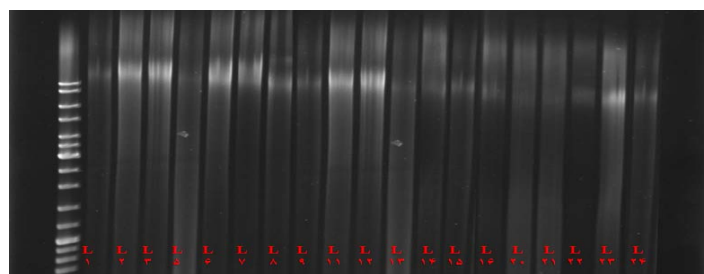
با توجه به تحقیقات براندواج (۲۰۰۲) که بر اساس آن مقاومت به وسیله ژن غالب ASC-1 در برابر قارچ *Alternaria alternata* f.sp. *lycopersici* ایجاد می‌شود می‌توان مقاومت ارقام ذکر شده دارای این ژن را تأیید کرد. از آنجا که توالی این ژن به تازگی در سایت‌های معتبر درج گردیده است این یافته‌ها به صورت کاربردی برای اولین بار در ایران گزارش می‌گردد. فیتوتوکسین ALL toxin، که عامل اصلی ایجاد علائم است در تعامل پاتوژن میزبان تولید می‌شود و صفت مورد بررسی QTL دارای مقاومت عمودی است در سایر ارقام نیز قابل بررسی است.

برنامه حرارتی واکنش زنجیره‌ای پلیمرز اجرا شده عبارت است از: چرخه نخست، دو دقیقه در دمای ۹۵ درجه سانتی‌گراد، ۳۵ چرخه بعدی شامل، ۹۵ درجه سانتی‌گراد به مدت یک دقیقه، ۵۶ درجه سانتی‌گراد به مدت یک دقیقه و ۷۲ درجه سانتی‌گراد به مدت دو دقیقه و چرخه نهایی ۷۲ درجه سانتی‌گراد به مدت دو دقیقه در دستگاه ترموسایکلر گرادینت Bio rad مدل Mycycler™ انجام گرفت. این واکنش برای هر یک از نمونه‌ها ۵ بار تکرار شد و در این تحقیق برای تعیین وزن بانده از DNA Ladder mix 10000 استفاده شده است. برای بررسی تکثیر قطعه ژن مورد نظر، از الکتروفورز محصول PCR در ژل آگارز ۱/۲ درصد با بافر TBE استفاده گردید.

توالی‌یابی (sequence): پس از الکتروفورز محصول واکنش زنجیره‌ای پلیمرز و تکثیر قطعه ژن در برخی ارقام، جهت اطمینان از صحت کار، قطعه تکثیر شده تعیین توالی شد.

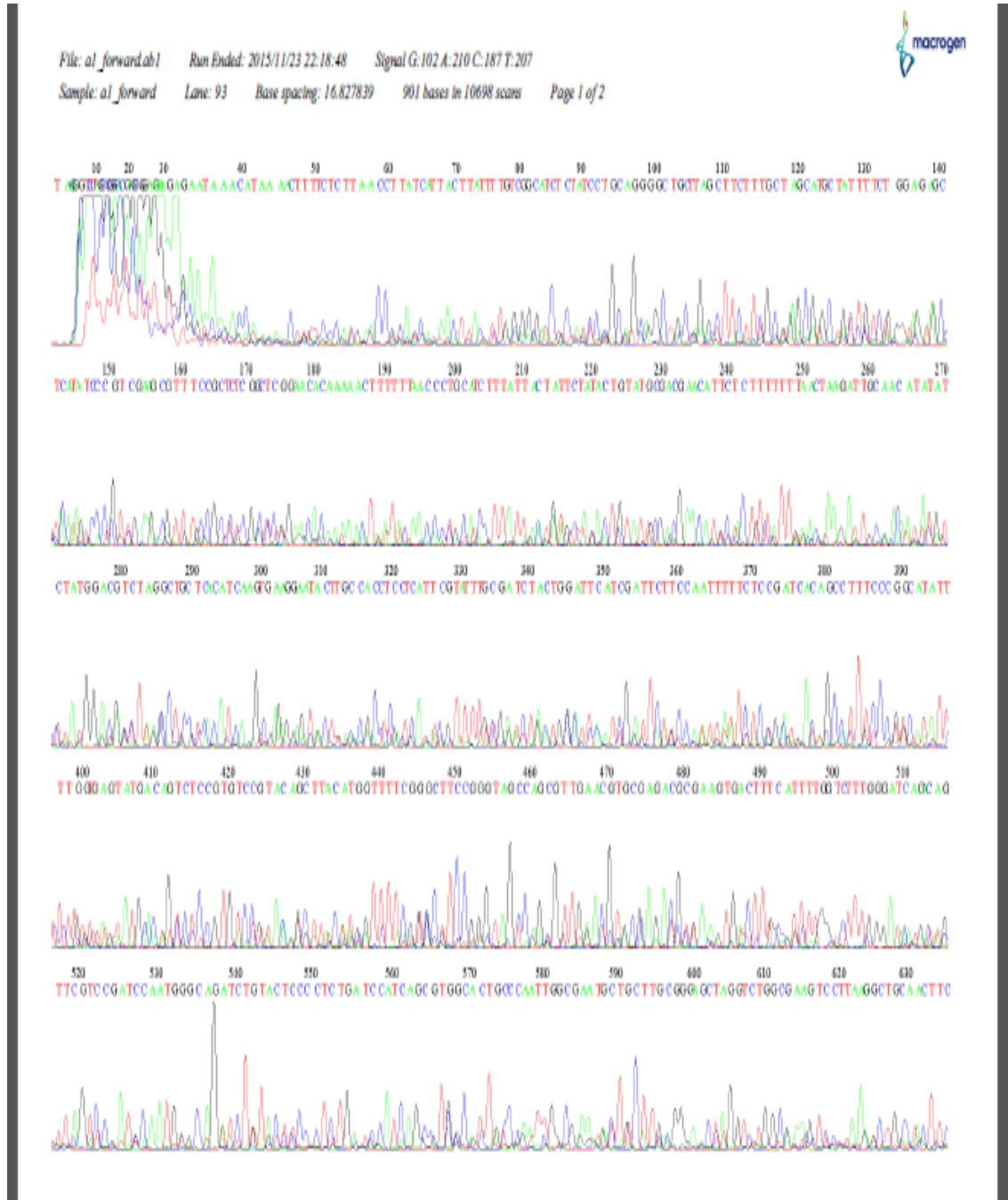
نتایج و بحث

استخراج DNA به روش CTAB انجام شد. الگوی الکتروفورزی استخراج DNA در ارقام مختلف گوجه فرنگی در ژل آگارز ۰/۸ درصد در شکل ۲ آمده است. واکنش زنجیره‌ای پلیمرز طبق شرایط ذکر شده انجام و محصول واکنش زنجیره‌ای پلیمرز در ژل آگارز ۱/۲ درصد با بافر TBE الکتروفورز شد. برخی از ارقام قطعه ژنی به وزن ۱۲۰۰ bp تکثیر کردند. (شکل ۳) از بین ارقام مورد آزمایش، ارقام کال جی N3، اکسیر فلات، Early VF



شکل ۲- الگوی الکتروفورزی استخراج DNA در ارقام مختلف گوجه فرنگی در ژل آگارز ۰/۸ درصد

پیوست یک



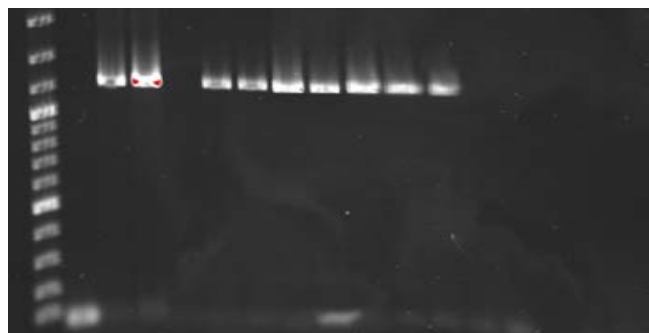
است. ارقام مختلفی از این گونه در ایران کشت می‌شود که برخی از آنها به دلیل پرمحصول بودن، زودرس بودن و یا کیفیت میوه بر ارقام دیگر ترجیح دارند همچنین با وجود اینکه اصلاح ژنتیکی بذر گیاهی توانسته است تا حدودی از

در حالی که اصلاح نباتات سنتی یک نقش محوری در توسعه ارقام مقاوم گوجه‌فرنگی را ایفا کرده است. لذا با توجه به اینکه گیاه گوجه‌فرنگی گونه‌ای اقتصادی است و تولید آن به صورت مزرعه‌ای و گلخانه‌ای در کشور مرسوم

محققان مورد بررسی قرار گرفته است تا از تولید گوجه فرنگی در مزرعه با تنش‌های مختلف ممانعت شود.

طریق بهبود جوانه زنی در شرایط نامساعد، عملکرد را تحت تأثیر قرار دهد با این حال ویژگی‌های دیگر این ارقام از نظر تحمل کمبودهای تغذیه‌ای و یا شرایط تنش نیز توسط

L5 L7 L11 L14 L15 L20 L22 L27 L29



۱۲۰۰bp

شکل ۳- الگوی الکتروفورزی محصول PCR روی ژل آگارز ۱/۲ درصد

دسترسی به این ژن و انتقال آن به ارقام حساس می‌توان به ارقام مقاوم با صفات زراعی مناسب دست یافت. آزمون‌های بیماری‌زایی متعددی قابل طرح است که می‌تواند تأییدی بر تحقیقات انجام شده و نتایج حاصل را به فضای گلخانه و مزرعه تعمیم دهد. با امید به اینکه این تحقیقات، راه‌گشایی برای مطالعات جدید در شناسایی سریع و تولید ارقام مقاوم نسبت به بیماری‌های مختلف باشد.

هدف از این پژوهش‌ها علاوه بر معرفی رقمی با تحمل بیشتر نسبت به کمبودها و تنش‌ها و همچنین افزایش مقاومت آنها در برابر شرایط نامساعد محیطی به شمار می‌رود (۲ و ۴) اما ردیابی مولکولی ژن ثابت کرد که این روش می‌تواند یک ابزار بسیار مفید برای شناسایی مقاومت به سایر بیماری‌ها در گوجه‌فرنگی باشد. با توجه به اینکه برخی ارقام با خصوصیات زراعی مناسب، فاقد ژن مقاوم هستند، با

منابع

۳. طاهری، س (۱۳۹۰)، بررسی تنوع ژنتیکی مقاومت به لکه موجی آلترناریا گوجه فرنگی در کلکسیون بانک ژن گیاهی ملی ایران، پایان نامه ارشد رشته مهندسی بیوتکنولوژی کشاورزی گروه بیوتکنولوژی دانشگاه پیام نور کرج.
۴. نیک‌زاد، خ.، و عموآقایی، ر (۱۳۹۲). تأثیر پرایمینگ بر جوانه زنی دانه های گوجه فرنگی در دماهای زیربینه. مجله زیست‌شناسی ایران. جلد ۲۶. صفحات ۲۳۳-۲۳۵.

۱. حاجیان فر، ر.، و زربخش، ع. (1389). واکنش ژنوتیپ های گوجه فرنگی به بیماری شانکر آلترناریائی ساقه. مجله نژادی نهال و بذر جلد 26. 449 - 437
۲. حاجی بلند، ر. (۱۳۹۳). تأثیر کمبود فسفر بر تحمل تنش خشکی در دو رقم گیاه گوجه فرنگی (*Solanum lycopersum* L.). مجله زیست‌شناسی ایران. جلد ۲۷. صفحات 803-788.

5. Andrew M, Peever T, et al. (2009). An expanded multilocus phylogeny does not resolve morphological species within the small-spored *Alternaria* species complex. *Mycologia*, 101: 95-109.
6. Amjad H , Akhtar K P, Saleem M Y, et al. (2010). Correlative evidence for peroxidase involvement in disease resistance against *Alternaria* leaf blight of tomato. *Acta Physiologiae Plantarum*, 32: 1171-1176.

7. Aneja J , Agarwal A , & Agnihotri A. (2014). Inter and intra-specific diversity in *Alternaria* species infecting oilseed Brassicas in India. *Journal of Oilseed Brassica*, 5: 102-117.
8. Aminian H, Zad J, Sharifi Tehrani A, Okhovat S M, et al. (2004). A study of tomato stem canker in Busher province. *Iranian Journal of Agriculture Sciences* 35: 245-252 (in Persian).

9. Barone, A., & Frusciante, L. (2007). Molecular marker-assisted selection for resistance to pathogens in tomato. *Marker-Assisted Selection, Current status and future perspectives in crops, livestock, forestry and fish*, 153-164
10. Guo, L., Hyde, K., & Liew, E. (2000). Identification of endophytic fungi from *Livistona chinensis* based on morphology and rDNA sequences. *New phytologist*, 147(3), 617-630.
11. Meena P, Rani A, Meena R, Sharma P, Gupta R, et al. (2012). Aggressiveness, diversity and distribution of *Alternaria brassicae* isolates infecting oilseed Brassica in India. *African J Microbiol Res*, 6:5249-5258..
12. Margaret M T, Shi A, & Kim M. S. (2011). Identification of *Alternaria alternata* as a causal agent for leaf blight in *Syringa* species. *The Plant Pathology Journal*, 27: 120-127.
13. Miguel P A, Luna A , de la Cruz S , González I , Martín R , et al. (2012). PCR-based assay for the detection of *Alternaria* species and correlation with HPLC determination of alternene, alternariol and alternariol monomethyl ether production in tomato products. *Food Control*, 25: 45-52.
14. Naik M K , Chennappa G, Bhat K V, et al. (2014). RESEARCH ARTICLE MOLECULAR AND PATHOGENIC DIVERSITY OF *ALTERNARIA* SP. SOLATED FROM *SESAMUM* BY SCAR MARKER. *International Journal of Current Research Vol. 6, Issue, 09:8335-8350*
15. Reni C, Voorrips R E. (2006). Tomato early blight (*Alternaria solani*): the pathogen, genetics, and breeding for resistance. *Journal of general plant pathology*, 72: 335-347.
16. Shahriari D, Kangarlo S, Lak F, Ghasemi M A, et al. (2009). Study on stem canker disease in tomato genotypes. Abstracts of the First National Congress on Tomato Production and Processing Technology. 11-12 February, Iran, Mashhad. page 108 (in Persian).
17. Tiwari S, Kumar S and Gontia I.(2011). Biotechnological approaches for sesame (*Sesamum indicum* L.) and Niger (*Guotia abyssinica* L.f. Cass). *Asian Pacific Journal of Molecular Biology and Biotechnology*. 19:29.

Molecular detection of tomato Resistance gene to stem canker disease caused by *alternata* *Alternaria*

Pirifard Kh.¹, Ebrahimi M.A.¹ and Pirayesh S.²

¹ Biotechnology Dept., Payame Noor University, Tehran, I.R. of Iran

² Ministry of Agriculture Jihad, Agriculture Dep. Tehran, I.R. of Iran

Abstract

The spread pathogenic fungi activity in crop plants, detailed studies on the control of pests and plant diseases, is considered essential. Tomato stem canker caused by *Alternaria alternata* f. sp. *lycopersici* created the most important diseases of tomato in Iran. This pathogen produces phytotoxin called AAL-toxins that is sphingolipid biosynthesis inhibitor in host plants, causing stem canker. Resistance against pathogens and lack of sensitivity to the toxin, by the gene in the host plant is controlled ASC1. The protein product of this gene, is able to detoxify AAL-Toxin. Therefore, this study aimed to detect canker disease resistance gene in 34 major genotypes used in Iran. PCR products were sequenced the sequencer result showed that the gene is reproduced. That the genotype of the cultivars Cal Jay N3, Elixir plateau, VF Early urbana, Evan, hybrid ps515, CH Plateau, Matin, Bonny Bost, hybrid ion, had ASC1 gene. Resistant genotypes to stem canker were identified by molecular methods for the first time in Iran for further study.

Key words: Resistant varieties , *Alternaria alternata* , Stem canker, Tomato