Archive of SID

دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی ساری
پژوهشنامه اصلاح گیاهان زراعی

ارزیابی نمونه‌های ژنتیکی دیپلوید وحشی کلکسیون سیب‌زمینی بانک ژن گیاهی ملی ایران برای مقاومت به بیماری لکه موجی ناشی از *Alternaria tenuissima* و *Alternaria solani* در شرایط درون شیشه‌ای و گلخانه‌ای

حمیدرضامیرکریمی[۱]، احمد عباسی مقدم[۲] و جواد مظفری[۳]

۱- دانشجوی دکتری، گروه اصلاح نباتات، دانشگاه آزاد اسلامی واحد علوم و تحقیقات تهران، (نویسنده مسوول: rezamirkarimi21@gmail.com)
۲ و ۳- استادیار و دانشیار، بانک ژن گیاهی ملی ایران، موسسه تحقیقات اصلاح و تهیه نهال بذر کرج
تاریخ دریافت: ۹۲/۴/۱ تاریخ پذیرش: ۹۲/۱۱/۱

چکیده

گونه‌های بیمارگر قارچی Alternaria SPP، موجب بیماری لکه موجی سیب‌زمینی می‌شوند. به‌منظور ارزیابی سطوح مقاومت در ژنوتیپ‌های دیپلوئید وحشی بانک ژن گیاهی ملی ایران، در قالب طرح کامل تصادفی به‌صورت فاکتوریل با سه تکرار در بانک ژن گیاهی ملی ایران در سال‌های ۸۸-۱۳۸۷ تحت شرایط درون شیشه‌ای و گلخانه‌ای انجام شده علائم بیماری ثبت گردید. بر اساس محاسبه سطح زیرمنحنی پیشرفت دو بیمارگر قارچی A. solani و A. tenuissima روی پنج نمونه ژنتیکی دیپلوئید 528-TN، 530-TN، 531-TN، 532-TN، 533-TN و آگریا (شاهد حساس) آزمایش طراحی شد. نتایج تجزیه واریانس در ارزیابی درون شیشه‌ای و گلخانه‌ای نشان داد که اثر بیمارگرها، نمونه‌های ژنتیکی و اثر متقابل آنها معنی‌دار بود. در ارزیابی درون شیشه‌ای، علائم بیماری از روز اول و سوم شروع و تا روز ششم ادامه داشت. در این ارزیابی برای بیمارگر A. solani نمونه ژنتیکی 533-TN در سطح پایین‌تر و نمونه ژنتیکی 531-TN و 530-TN در سطوح بالاتری از ژنوتیپ آگریا قرار گرفتند. در بررسی با بیمارگر A. tenuissima نمونه ژنتیکی 528-TN در سطح مشابه و نمونه‌های 533-TN و 531-TN در سطح بالاتری از آگریا قرار گرفتند. در ارزیابی گلخانه‌ای علائم بیماری در روز سوم شروع و تا روز بیستم ادامه یافت. در این ارزیابی بر اساس بیمارگر A. solani نمونه‌های 533-TN، 532-TN و 530-TN در سطوح پایین‌تر و نمونه‌های 531-TN و 528-TN در سطوح بالاتری از ژنوتیپ آگریا قرار گرفته است. با استفاده از بیمارگر A. tenuissima نمونه ژنتیکی 528-TN در سطح مشابه و نمونه 533-TN در سطح بالاتری از آگریا قرار گرفت.

واژه‌های کلیدی: ارزیابی، لکه موجی، سطح زیرمنحنی پیشرفت بیماری، مقاومت

مقدمه

سیب‌زمینی (سولانوم توبروزوم) متعلق به خانواده سولاناسه، دارای برگ‌های مرکب با گل‌های سفید یا بنفش است. بیماری لکه موجی سیب‌زمینی (سوختگی زودرس سیب‌زمینی)، است که توسط گونه‌های قارچی *Alternaria* ایجاد شده است، به‌عنوان یکی از مهم‌ترین بیماری‌های برگی در گیاهان سیب‌زمینی بشمار رفته و بصورت لکه‌های قهوه‌ای و سیاه در مرکز حلقه مشخص می‌گردد. این بیماری جزء مخربترین بیماری‌های قارچی به حساب می‌آید، که در شرایط هوایی گرم و مرطوب مشخص می‌گردد. (۱۰). بر اساس آمار سازمان خوار و بار جهانی (FAO) تولید سیب‌زمینی دنیا در سال ۲۰۰۷ به میزان ۳۲۱۷۳۶ هزار تن و در ایران ۵۲۴۰ هزار تن بوده است. تا کنون، مطالعات انجام شده روی دو گونه از جنس آلترناریا یعنی *A. alternata* و *A. solani* متمرکز شده است. در مطالعات اخیر، محققان شش گونه دیگر از این جنس از ایران را گزارش کرده‌اند که بیماری لکه موجی سیب‌زمینی را موجب می‌شود (۱۱). در این میان، گونه بیمارگر *A. tenuissima* را از برگ گیاهان میزبان مختلف مانند برنج، چای، چغندر قند، سویا، پنبه و غیره جدا نمودند (۳). پراکنش این بیمارگرهای قارچی *A. tenuissima* و *A. alternata* از جمع‌آوری نمونه‌های گیاهان سیب‌زمینی آلوده کشت شده در بسیاری از مناطق ایران گزارش شده است (۱۲).

کنترل این بیماری قارچی به‌صورت برجسته با استفاده از قارچ‌کش انجام می‌گیرد، اما استفاده بیش از حد از قارچ‌کش باعث آلودگی محیط زیست و خطراتی برای انسان می‌گردد. بنابراین ضروری است که استفاده از قارچ‌کش را کاهش داد و روش‌هایی را برای کنترل همه‌گیری بیماری جایگزین نمود. ارزیابی واکنش گیاهچه‌های سیب‌زمینی به این بیمارگرها بطور معمول بر اساس دو روش درون شیشه‌ای و گلخانه‌ای انجام می‌گیرند (۱). روش ارزیابی درون شیشه‌ای با پخش عصاره روی گیاه اولین بار معرفی شد و برای شناسایی مقاومت به بیماری لکه موجی مورد استفاده قرار گرفت (۴). رقم آگریا در منابع نسبت به جدایه‌های

www.SID.ir

Archive of SID

Alternaria tenuissima و *Alternaria solani* حساس گزارش شده است (۶).

مطالعه حاضر به‌منظور غربال کردن و تحمل به بیماری نمونه‌های ژنتیکی دیپلوید وحشی سیب‌زمینی در برابر عصاره‌های فیلتر شده بیمارگرهای قارچی*Alternaria tenuissima* و *Alternaria solani* در شرایط درون شیشه‌ای وگلخانه‌ای، انجام گردید.

مواد و روش‌ها

مواد گیاهی

پنج نمونه ژنتیکی دیپلوید وحشی سیب‌زمینی (528-TN، 530TN، 531TN، 532TN و 533TN) به همراه ژنوتیپ آگریا از بانک ژن گیاهی ملی ایران، به‌منظور تعیین سطوح مقاومت یا حساسیت در شرایط درون شیشه‌ای و گلخانه‌ای مورد استفاده قرار گرفتند.

نمونه‌ها بصورت ریزنمونه‌های عاری از ویروس در شرایط آزمایشگاهی نگهداری شدند. این ریزنمونه‌ها در اتاقک رشد با دمای ثابت ۱±۲۵ درجه سانتی‌گراد نگهداری شدند. این مطالعه شامل دو آزمایش در شرایط درون شیشه‌ای و گلخانه‌ای بود. آزمایش‌ها به‌صورت فاکتوریل در قالب طرح پایه کامل تصادفی با سه تکرار صورت گرفت. فاکتورها شامل نمونه‌های ژنتیکی سیب‌زمینی (۶ سطح) و بیمارگرهای قارچی (۲ سطح) در بانک ژن گیاهی ملی ایران در سال‌های ۱۳۸۷ و ۱۳۸۸ انجام شد.

به‌منظور ازدیاد گیاهچه‌ها از کشت بافت در محیط پایه MS بدون هورمون مکمل و یا ویتامین‌ها، و از جوانه‌های جانبی و انتهایی به‌عنوان جداکشت استفاده گردید. پس از کشت ریزنمونه در لوله‌های حاوی محیط کشت، این لوله‌ها به اتاقک رشد و تحت شرایط دمایی فوق منتقل شدند. به‌منظور ارزیابی گلخانه‌ای، گیاهچه‌ها در این موقعیت (تا رسیدن به مرحله ۵-۴ برگ) به مدت ۲۰ تا ۲۵ روز نگهداری شدند.

تهیه عصاره فیلتر شده کشت قارچ

جدایه‌ها از بیمارگرهای *Alternaria tenuissima* و *Alternaria solani* خالص شده در محیط کشت PCA کشت داده شد. این صفحات کشت در انکوباتور تحت شرایط دمایی ۲۵-۲۰ درجهٔ سانتی‌گراد و تحت نور سفید فلورسنت با چرخهٔ نوری/ تاریکی ۱۶/۸ ساعت، به مدت زمان ۱۲-۱۰ روز نگهداری شد. روی سطح این صفحات را آب مقطر ۲ بار استریل ریخته و با استفاده از سوزن سطح رویی قارچ کشت داده شده را چند بار کشیده و هاگ‌های تولید شده برمی‌داریم. بعد از تنظیم غلظت اسپور سوسپانسیون (10^6 با استفاده از لام هموسایتومتر)، از این در ارزیابی گلخانه‌ای استفاده می‌شود.

در مرحله بعد به‌منظور ارزیابی درون شیشه‌ای یک مایکرولیتر از سوسپانسیون را در شیشه محتوی ۱۰۰ سی‌سی محیط کشت مایع PDB ریخته و در انکوباتور تحت شرایط کشت بیمارگر قارچی به مدت ۱۰-۸ روز نگهداری شدند. سپس، محیط مایع کشت از پارچه ململ ۴ لایه عبور داده شده و به مدت ۲۰-۱۵ دقیقه با استفاده از سانتریفیوژ رومیزی قرار داده شد. برای جلوگیری از وجود و رشد باکتری‌ها در عصاره قارچی بدست آمده در مراحل فوق، با استفاده از فیلتر- سرنگ با استفاده از فیلترهای ۰/۲ میکرومتر استفاده گردید.

ارزیابی درون شیشه‌ای

ارزیابی درون شیشه‌ای گیاهچه‌های حاصل از کشت بافت با استفاده از عصاره‌های فیلتر شده کشت قارچ، بعد از پخش عصاره فیلتر شده قارچی روی سطح گیاه انجام شد و برمبنای بروز علائم شامل میزان نکروز، کلروز و مرگ گیاهچه‌ها یاداشت‌برداری گردید. در این روش عصاره فیلتر شده کشت قارچ بدست آمده از محیط کشت مایع بصورت قطره‌ای روی برگ گیاهچه‌های داخل لوله آزمایش پاشیده شد. گیاهچه‌ها بعد از تلقیح در انکوباتور تحت شرایط دمایی ۲±۲۳ درجه سانتی‌گراد و دوره روشنایی/ تاریکی ۱۶/۸ ساعت نگهداری شد. ارزیابی از روز اول تا روز ششم و بر مبنای مشاهده برگ‌های میانی انجام گرفت. علائم بیماری بر مبنای مقیاس پریور و میچالیدز رتبه‌بندی شد (جدول ۱).

جدول ۱- مقیاس برای ارزیابی میزان خسارت تولیدی بوسیله گونه‌های *Alternaria* در شرایط درون شیشه‌ای و گلخانه‌ای روی سیب‌زمینی (۸)

داده‌های بیماریزایی	علائم بیماری
۱	فاقد علائم توسعه لکه
۲	لکه‌های بزرگتر از ۱ میلی‌متر
۳	لکه‌های بین ۱ تا ۵ میلی‌متر
۴	لکه‌های بزرگتر از ۵ میلی‌متر

www.SID.ir

Archive of SID

ارزیابی گلخانه‌ای

گیاهچه‌های حاصل از کشت بافت به شرایط گلخانه‌ای منتقل شدند. پس از استقرار گیاه در شرایط گلخانه مراحل اسپور پاشی تحت شرایط تفکیک کامل و بصورت مجزا برای هر جدایه قارچی انجام گرفت و سوسپانسیون مایه تلقیح روی برگ‌ها بصورت یکنواخت پخش گردید. بر این اساس، ارزیابی از روز ششم تا بیستم و بر مبنای مقیاس پریور و میچالیدز رتبه‌بندی شد.

نحوه محاسبه AUDPC[1]

با توجه به منحنی پیشرفت بیماری، سطح زیرمنحنی پیشرفت بیماری را که معیاری مناسب از میزان شدت بیماری می‌باشد با استفاده از فرمول $AUDPC=\sum[(۰/۵)\ (Yi+1+Yi)\ (Ti+1-Ti)]$ محاسبه گردید و برای سنجش سطح مقاومت استفاده شد (۲).

Y= میزان بیماریزایی

i= نوبت یادداشت‌برداری

T= مدت زمان ارزیابی از زمان تلقیح

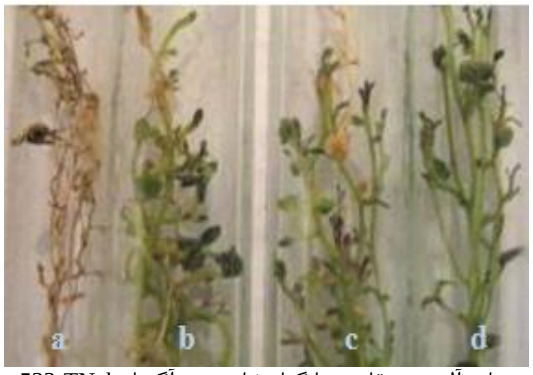
تجزیه آماری

این آزمایش در قالب طرح کاملا تصادفی بر پایه فاکتوریل انجام گردید و محاسبه شدت بیماری بر اساس سطح زیرمنحنی پیشرفت بیماری با دو فاکتور نمونه ژنتیکی و بیمارگر قارچی با سه تکرار، انجام شد. محاسبات آماری با استفاده از نرم‌افزار MSTAT و SPSS صورت گرفته است.

نتایج و بحث

ارزیابی درون شیشه‌ای

در این ارزیابی ظهور علائم بیماری از روز اول تا روزهای دوم و سوم شروع شد (شکل ۲). با توجه به جدول تجزیه واریانس در این روش بین بیمارگرهای قارچی، نمونه‌های ژنتیکی و اثرات متقابل آنها در سطح ۱٪ اختلاف معنی‌داری مشاهده شد (جدول ۲).



شکل ۲- نمایی از ریزنمونه‌های آلوده و مقایسه با گیاه شاهد، a- آگریا، b-533-TN، c-530-TN، d-531-TN.

جدول ۲- تجزیه واریانس ارزیابی درون شیشه‌ای بیمارگرهای قارچی و نمونه‌های ژنتیکی سیب‌زمینی با استفاده از سطح زیرمنحنی پیشرفت بیماری

منابع تغییرات	درجه آزادی	میانگین مربعات
بیمارگر قارچی	۱	۳۳۷/۶۴۱**
نمونه ژنتیکی	۵	۵/۹۵۳**
بیمارگر × نمونه	۵	۳/۰۲۰**
اشتباه آزمایشی	۲۴	۰/۰۵۹
کل	۳۵	

**: معنی‌دار در سطح احتمال ۱٪.

علائم بیماری ناشی از بیمارگر قارچی جدایه *A. solani* در نمونه‌های ژنتیکی حساس از روز اول و در سطوح دیگر مقاومت در روز دوم بعد از تلقیح نمایان گشت. با توجه به سطح زیرمنحنی پیشرفت بیماری با استفاده از آزمون توکی، نمونه‌های ژنتیکی دسته‌بندی شدند (جدول ۳). نمونه ژنتیکی 533-TN دارای سطح زیرمنحنی پیشرفت بیماری بیشتر از آگریا به‌عنوان شاهد حساس بوده و در سطوح بسیار حساس قرارگرفت. نمونه ژنتیکی 531-TN به‌عنوان نمونه ژنتیکی مقاوم شناخته شده و در مقایسه میانگین سطح زیرمنحنی پیشرفت بیماری با کمترین میزان درگروه مجزا و به‌عنوان مقاوم‌ترین شناخته شدند. به‌طورکلی نمونه‌های 531-TN، 530-TN، 532-TN، 528-TN، آگریا و 533-TN را می‌توان به ترتیب میزان مقاومت به این بیمارگر معرفی نمود.

در ارزیابی با جدایه *A. tenuissima* علائم بیماری ناشی از این گونه قارچی در نمونه‌های ژنتیکی حساس از روز دوم و در سطوح دیگر مقاومت در روزهای سوم و

1- Area under the disease progress curve

www.SID.ir

Archive of SID

چهارم بعد از تلقیح نمایان گشت. نمونه ژنتیکی 528-TN دارای سطح زیرمنحنی پیشرفت بیماری برابر با آگریا بوده و توسط آزمون توکی در یک گروه مجزا و جزء گروه بسیار حساس قرارگرفت. نمونه ژنتیکی 531-TN در پایین‌ترین سطح بوده و به‌عنوان نمونه ژنتیکی مقاوم شناخته شده است و در مقایسه میانگین سطح زیر منحنی پیشرفت بیماری با کمترین میزان در گروه مجزا و مقاوم‌ترین نمونه‌های ژنتیکی نسبت به این جدایه قرار گرفت (جدول ۳). با توجه به نتایج حاصله نمونه‌های 531-TN، 533-TN، 532-TN، 530-TN، آگریا و 528-TN را می‌توان به ترتیب میزان مقاومت به بیمارگر *A. tenuissima* معرفی نمود.

جدول ۳- مقایسه میانگین ارزیابی درون شیشه‌ای نمونه‌های ژنتیکی سیب‌زمینی بر اساس سطح زیرمنحنی پیشرفت بیماری

نمونه ژنتیکی	بیمارگر *A. solani*		بیمارگر *A. tenuissima*	
آگریا	۱۵/۸۵	ab	۹/۹۱	a
528-TN	۱۵/۳۳	bc	۹/۷۵	a
530-TN	۱۳/۷۵	d	۹/۵۸	b
531-TN	۱۲/۵۸	e	۷/۴۱	c
532-TN	۱۴/۷۵	c	۸/۰۸	bc
533-TN	۱۶/۲۵	a	۷/۵۰	c

میانگین‌های دارای حروف مشترک در هر ستون از نظر آماری در سطح احتمال ۱٪ تفاوت معنی‌داری ندارند (توکی ۱٪).

ارزیابی گلخانه‌ای

در این ارزیابی با استفاده از بیمارگرهای قارچی (*Alternaria tenuissima* و *Alternaria solani*) علائم بیماری از روز سوم تا هشتم آشکار شد (شکل ۳). جدول تجزیه واریانس نشان می‌دهد بین بیمارگرهای قارچی، نمونه‌های ژنتیکی و اثرات متقابل آنها در سطح معنی‌دار ۱٪ اختلاف وجود دارد (جدول ۴).

شکل ۳- نمایی از برگ‌های آلوده در شرایط گلخانه‌ای بعد از آلوده‌سازی با هر دو بیمارگر قارچی

جدول ۴- تجزیه واریانس ارزیابی گلخانه‌ای ایزوله‌های قارچی و نمونه‌های ژنتیکی سیب‌زمینی با استفاده از سطح زیرمنحنی پیشرفت بیماری

منابع تغییرات	درجه آزادی	میانگین مربعات
بیمارگر قارچی	۱	۱۹۲۸/۶۷۴**
نمونه‌های ژنتیکی	۵	۹۵/۴۷۴**
بیمارگر × نمونه	۵	۱۰۲/۸۰۷**
اشتباه آزمایشی	۲۴	۰/۲۹۲
کل	۳۵	

**: معنی‌دار در سطح احتمال ۱٪.

www.SID.ir

Archive of SID

در ارزیابی با جدایه *A. solani* مقایسه میانگین سطح زیرمنحنی پیشرفت بیماری در بین نمونه‌های ژنتیکی مورد بررسی نشان می‌دهد، نمونه‌های -532-TN, 530 TN و 533-TN در سطوح حساسیت بالاتری از آگریا در گروه حساس قرارگرفتند (جدول ۵). نمونه ژنتیکی -531 TN در سطح پایین‌تری در مقایسه با سایر نمونه‌ها بوده و به‌عنوان نمونه ژنتیکی مقاوم شناخته شد. ترتیب مقاومت ژنوتیپ‌ها به بیمارگر به‌صورت 531-TN، 528-TN، آگریا، 530-TN، 532-TN، آگریا و 533-TN بود. در ارزیابی با جدایه *A. tenuissima* علائم بیماری در ژنوتیپ‌های حساس از روز ششم تا هشتم و در سطوح دیگر مقاومت از روز دهم بعد از تلقیح نمایان گشت.

بر اساس مقایسه میانگین سطح زیرمنحنی پیشرفت بیماری در بین نمونه‌های ژنتیکی مورد بررسی، نمونه 528-TN در سطوح حساسیت یکسان با آگریا در گروه حساس قرارگرفت (جدول ۵). نمونه‌های ژنتیکی 531-TN و 532-TN در پایین‌ترین سطح از نمونه‌های ژنتیکی بوده و به‌عنوان نمونه ژنتیکی مقاوم شناخته شده است، و در گروه مجزا و مقاوم‌ترین نمونه‌های ژنتیکی نسبت به این جدایه قرار گرفت. نمونه‌های ژنتیکی را بر اساس میزان مقاومت به این بیمارگر به ترتیب 533-TN، 531-TN، 532-TN، 530-TN، آگریا و 528-TN می‌باشد.

جدول ۵- مقایسه میانگین ارزیابی گلخانه‌ای نمونه‌های ژنتیکی سیب‌زمینی بر اساس سطح زیرمنحنی پیشرفت بیماری

ژنوتیپ	بیمارگر *A. solani*		بیمارگر *A. tenuissima*	
آگریا	۵۶/۵۰	b	۴۶/۶۶	a
528-TN	۵۱/۸۳	c	۴۶/۰۰	a
530-TN	۶۱/۰۰	a	۴۱/۸۳	b
531-TN	۴۳/۸۳	d	۳۷/۵۰	c
532-TN	۶۰/۰۰	a	۳۷/۵۰	c
533-TN	۵۹/۸۳	a	۳۵/۶۶	d

میانگین‌های دارای حروف مشترک در هر ستون از نظر آماری در سطح احتمال ۱٪ تفاوت معنی‌داری ندارند (توکی ۱٪).

این آزمایشات بر مبنای محاسبه سطح زیر منحنی پیشرفت بیماری انجام گرفت، در ارزیابی درون شیشه‌ای برای مقاومت به بیماری لکه موجی با عامل قارچی *A. solani* ظهور علائم را در روزهای دوم و سوم مشاهده کردند (۱). در طی این آزمایش علائم بیماری لکه موجی در ارزیابی درون شیشه‌ای با روش پخش عصاره قارچ بروی گیاه در برابر گونه *A. solani* در نمونه‌های ژنتیکی حساس در روز اول و در نمونه‌های دیگر در روز دوم نمایان گشت.

گونه *A. tenuissima* در نمونه‌های ژنتیکی حساس در روز دوم بعد از تلقیح و در نمونه‌های ژنتیکی با سطوح دیگر مقاومت در روزهای سوم و چهارم بعد از تلقیح مشاهده شد. از آن جایی که طبق نظر بسیاری از محققان مقاومت بر بیماری لکه موجی بیشتر بصورت کمی است محاسبه سطح زیرمنحنی پیشرفت بیماری در دستیابی به منابع مقاومت کمی بسیار سودمند است و توسط بسیاری از متخصصان توصیه شده است (۷). در آزمایشات درون شیشه‌ای و گلخانه‌ای با توجه به مقایسه میانگین داده‌های سطح زیرمنحنی پیشرفت نتایج یکسانی بدست آمد و این نتایج حکایت از قابل اطمینان بودن روش‌های درون شیشه‌ای می‌باشد، که می‌تواند موجب کاهش قابل توجهی در وقت و هزینه ایجاد نماید.

نبود یا کمبود منابع مقاومت به *Alternaria* در بین لاین‌های سیب‌زمینی و همچنین سیب‌زمینی‌های تجاری اعلام شده بود (۹). هر چند که سطوح متفاوت مقاومت در سیب‌زمینی‌های دیپلویید وحشی مشاهده شده است (۱۳،۵). بنابراین وجود ژنوتیپ‌های احتمالی مصون با سطح بالای مقاومت به این بیماری می‌تواند در مقاومت به بیماری لکه موجی بسیار تاثیرگذار بوده و تولید کولتیوارهای زراعی مقاوم مورد استفاده قرار گیرد.

منابع

1. Dita Rodriguez, M.A., S.H. Brommonschenkel, K. Matsuoka and E.S.G. Mizubuti. 2006. Components of Resistance to Early Blight in Four Potato Cultivars: Effect of Leaf Position. Journal Phytopathology, 154: 230-235.
2. Frank, J.A., R.E. Webb and D.R. Douglas. 1979. Evaluation of several USDA potato clones for resistance to early blight. Plant Dieases, 63: 392-394.
3. Qusta, Y. 2004. T he studying Alternaria isolate in Iran. Tabiat modares university.
4. Locke, S.B. 1948. A method for measuring resistance to defoliation diseases in tomato and other Lycopersicon species, Phytopathoogyl, 38: 937-942.

www.SID.ir

Archive of SID

5. Mendoza, H.A. 1989. Population breeding as a tool for germplasm enhancement. American Potato Journal, 66: 639-653.
6. Nasr esfehani, M. 2004. Evaluation of early blight of potato dissese in Friden. Annual report Isfehan plant pathology, 256-276 pp.
7. Palloix, A., E. Pochad, T. Phaly and A.M. Daubeze. 1990. Reccurent selection for resistance to verticillium ahlia in pepper. Euphyticcca, 47: 79-89.
8. Pryor, B.M. and T.J. Michailides. 2002. Morphological, Pathogenic and Molecular Characterization of Alternaria Isolates Associated with Alternaria Late Blight of Pistachio. Phytopathoogyl, 406-416 pp.
9. Rotem, J. and S. Feldman. 1965. The relation between the ratio of yield to foliage and the incidence of early blight in potato and tomato. Israeli Journal of Agricultural Research, 15: 115-122.
10. Simmons, E.G. 2000. Alternaria themes and variations 244-286. Species on Solanaceae Mycotaxon, 75: 1-115.
11. Taheri Ardestani, S., B. Sharifnabi, R. Zare and A. Abbasi moghaddam. 2007. Alternaria species associated with potato early blight in Iran. Asian Mycology Congress and International Marine & freshwater Mycology Symposium. 2-6 december, 16-266 pp.
12. Taheri Ardestani, S., B. Sharifnabi, R. Zare and A. Abbasi moghaddam. 2008. Introduce two new isolate of Alternaria species in Iran.18th Congress of plant pathology, Hamedan. Iran, 674 pp.
13. Thompson, P.G. and H.A. Mendoza. 1984. Genetic variance estimates in a heterogenous potato population propagated from true seed. American Potato Journal 61: 697-702.

www.SID.ir

Archive of SID

Screening of Wild Diploid Accessions of Potato Collection in National Plant Gene Bank of Iran for Resistance to Early Blight Disease Caused by *Alternaria tenuissima* and *Alternaria solani* under *in vitro* and Greenhouse Conditions

Hamid Reza Mirkarimi[1], Ahmad Abasi Moghadam[2] and Javad Mozafari[3]

1- Ph.D. Student, Dept. of Plant Breeding, Islamic Azad University, Science and Research Branch Tehran, Iran (Corresponding author: Rezamirkarimi21@gmail.com)
2 and 3- Assistant Professor and Associate Professor. National Plant Gene Bank of Iran. Institute of Plant Seed Branch
Received: June 22, 2013 Accepted: January 21, 2014

Abstract

Species of pathogenic fungi *Alternaria* SPP developed early blight disease on potato. In order to evaluate the resistance levels of wild diploid accessions of National Plant Gene bank of Iran, a factorial randomized complete design with three replications was performed in National Plant Gene Bank under in vitro and greenhouse condition during 2007-2008 and disease symptoms were recorded. Based on area at disease progress curve for each of two pathogenic fungi *A. solani* and *A. tenuissima* disease development on five diploid accessions i.e: TN 528, TN 530, TN 531, TN 532, TN 533 and Agria (susceptible chek) experiment has been designed. Analysis of variance result of in vitro and greenhouse evaluation indicated significant effects of pathogens, sample of genotypes and their interaction. *In vitro* evaluation, symptoms were observed the first and third days after inoculation via *in vitro* evaluation, in which, continued up to date sixth. By using *A. solani* accession TN 533 and accessions TN 531 and TN 530 were at lower and higher levels than Agria. Respectively, mean while, by causing *A. tenuissima* accession TN 528 and TN 533 and TN accessions TN 531 were at semilar and higher level than that of Agria. Disease symptoms during green house evaluation began on the third day and continued until the day twentieth. During this part accessions: TN 533, TN 532 and TN 530 were at the lower levels compare with Agria and accessions: TN 531 and TN 528 were at higher levels when *A. solani* has been used. When *A. tenuissima* was applied accession TN 528 was at semilar level and accession TN 533 was in higher level than Agria.

Keywords: Evaluation, Early blight, Area under the disease progress curve, Resistance

www.SID.ir