

مقاله پژوهشی

بررسی واکنش چند رقم غیرهیبرید و هیبرید گوجه‌فرنگی به بیماری خال‌زدگی باکتریایی

افسانه عباس پور انبی^۱ - مریم خضری^{۲*}

تاریخ دریافت: ۱۳۹۹/۱۰/۱۰

تاریخ پذیرش: ۱۴۰۰/۰۶/۲۰

چکیده

بیماری خال‌زدگی باکتریایی گوجه‌فرنگی که توسط باکتری *Pseudomonas syringae* pv. *tomato* ایجاد می‌شود، یکی از بیماری‌های مهم گوجه‌فرنگی در جهان و ایران است که می‌تواند به طور جدی میزان عملکرد و کیفیت محصول را تحت تاثیر قرار دهد. این بیماری بذربرد است بنابراین موثرترین راهکار در کنترل بیماری، استفاده از بذر و نشاء سالم و عاری از باکتری می‌باشد اما از روش‌های دیگری از قبیل استفاده از ارقام مقاوم یا متحمل، رعایت اصول بهداشتی، تناوب کاشت و کاربرد سموم باکتری کش، نیز در مدیریت تلفیقی بیماری استفاده می‌شود. در این پژوهش، واکنش ۲۴ رقم (غیرهیبرید و هیبرید) گوجه‌فرنگی در برابر بیماری خال‌زدگی باکتریایی در محیط گلخانه مورد مطالعه قرار گرفت. برای این منظور، از گیاهچه‌های چهار تا پنج برگی گوجه‌فرنگی استفاده شد و مایه‌زنی به صورت اسپری سوسپانسیون (OD₆₀₀) 1×10^7 CFU ml⁻¹ باکتری بیماری‌زا روی گیاهچه‌ها انجام شد. در بررسی مقاومت ارقام مورد مطالعه، زمان ظهور اولین نشانه‌های بیماری، شدت بیماری ایجاد شده و سطح زیر منحنی پیشرفت بیماری (AUDPC) مورد ارزیابی قرار گرفت. نتایج نشان داد، شاخص AUDPC با زمان ظهور اولین نشانه‌های بیماری ($r=0/71$) و شاخص شدت بیماری ($r=0/76$) همبستگی مثبت داشت اما زمان ظهور اولین نشانه‌های بیماری با شدت بیماری ($r=0/22$) همبستگی معنی‌داری نداشت. بر اساس یافته‌های این پژوهش، نتایج حاصل از ارزیابی چند شاخص مختلف در بررسی واکنش ارقام گیاهی به بیماری‌ها، اطلاعات دقیق‌تری در رابطه با میزان حساسیت یا مقاومت ارقام به بیماری ارائه می‌دهد. در این مطالعه، ارقام هیبرید Hyb. 1585، Hyb. Superset، Hyb. King stone، Hyb. Bellariva و Hyb. Firenze همچنین رقم غیرهیبرید Super Chef، به‌عنوان ارقام با مقاومت بالاتر در برابر بیماری خال‌زدگی باکتریایی گوجه‌فرنگی ارزیابی شدند که استفاده از این ارقام در مدیریت تلفیقی این بیماری توصیه می‌گردد.

واژه‌های کلیدی: ارقام مقاوم، گوجه‌فرنگی، *Pseudomonas syringae* pv. *tomato*، AUDPC

مقدمه

۱۸۰ میلیون تن بوده است. در همین سال، در ایران ۱۲۱۲۰۳ هکتار از زمین‌های زراعی زیر کشت این محصول بوده است که تولید بیش از پنج میلیون تن گوجه‌فرنگی را به همراه داشته است (۹).

گیاه گوجه‌فرنگی میزبان تعدادی از عوامل بیماری‌زا است و برخی از بیماری‌های ایجاد شده توسط این عوامل بطور قابل توجهی، عملکرد گیاه را تحت تاثیر قرار می‌دهند (۲۴). بیماری‌های گوجه‌فرنگی توسط عوامل قارچی، ویروسی، نماتدی، فیتوپلاسمایی، باکتریایی و گاهی توسط تنش‌های محیطی و عوامل فیزیولوژیکی ایجاد می‌شوند. عوامل بیماری‌زای باکتریایی مهم این محصول، شامل باکتری‌های گرم منفی *Pseudomonas syringae* pv. *syringae*، *Dickeya chrysanthemi* P. *syringae* pv. *tomato* X. *X. gardneri* X. *perforans* Xanthomonas *vesicatoria* *euvesicatoria* و باکتری گرم مثبت *Clavibacter michiganensis* subsp. *michiganensis* است (۳، ۷، ۲۴).

گوجه‌فرنگی از محصولات کشاورزی مهم در سراسر دنیا به شمار می‌آید که به صورت تازه‌خوری و فرآوری شده مصرف می‌شود. به دلیل دارا بودن انواع ویتامین‌ها، قندها، آنتی‌اکسیدان‌ها، همچنین عناصر آهن، فسفر، پتاسیم و کلسیم جایگاه خاصی را در جیره غذایی انسان‌ها به خود اختصاص داده است و یکی از پرمصرف‌ترین سبزیجات میوه‌ای در دنیا می‌باشد (۲۱). در سال ۲۰۱۹ سطح زیر کشت گوجه‌فرنگی در دنیا ۵۰۳۰۵۴۵ هکتار و میزان تولید آن بیش از

۱- دانش‌آموخته کارشناسی ارشد رشته بیماری‌شناسی گیاهی، گروه گیاهپزشکی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه ارومیه، ارومیه، ایران

۲- استادیار مؤسسه تحقیقات گیاهپزشکی کشور، سازمان تحقیقات، آموزش و ترویج کشاورزی، تهران، ایران

(Email: ma_khezri@yahoo.com)

*- نویسنده مسئول:

DOI: 10.22067/JPP.2021.67720.1000

است که در مراحل اولیه بیماری، با هاله زرد کم‌رنگی احاطه می‌شوند. با گذشت زمان، هاله زرد پررنگ‌تر می‌شود. لکه‌ها که به صورت مدور، نکروزه و قهوه‌ای رنگ هستند، معمولاً در تمام سطح برگ ایجاد می‌شوند. روی میوه ابتدا خال‌های برجسته و ریز دیده می‌شود که قابل لمس هستند. در میوه سبز، اطراف لکه‌ها هاله مشخص وجود ندارد و لکه‌ها به‌ندرت توسط هاله زرد رنگ احاطه می‌شوند. ایجاد لکه روی میوه سبب کاهش بازارپسندی آن می‌شود (۳ و ۴). باکتری عامل بیماری خال‌زدگی باکتریایی بذربرد است، به همین دلیل استفاده از بذر سالم و عاری از باکتری می‌تواند در کاهش بیماری تأثیرگذار باشد. به طور کلی، این بیماری از طریق استفاده از بذر و نشاء سالم، رعایت اصول بهداشتی، تناوب کاشت، آبیاری قطره‌ای با هدف کاهش رطوبت برگ‌ها، تقویت گیاه با ترکیباتی مانند سولفات روی، استفاده از ترکیبات باکتری‌کش از قبیل سموم مسی و استفاده از ارقام مقاوم مدیریت می‌شود (۱۴، ۱۸ و ۱۹).

یکی از شاخص‌هایی که در بررسی میزان خسارت بیماری‌ها مورد استفاده قرار می‌گیرد، سطح زیر منحنی پیشرفت بیماری^۲ (AUDPC) است که روشی جهت بررسی میزان پیشرفت بیماری در طول زمان است (۲۰). این شاخص که کاربرد فراوانی دارد، جهت مقایسه بین ژنوتیپ‌های مختلف یک گیاه استفاده می‌شود و از این جهت که مولفه‌های مختلف مقاومت در آن لحاظ می‌شود و در قالب یک معیار کمی میزان مقاومت را نشان می‌دهد، اهمیت دارد (۵، ۱۵ و ۱۶).

در حال حاضر گوجه‌فرنگی در بیشتر استان‌های کشور در مزرعه یا گلخانه کشت می‌شود و تعداد زیادی از کارخانجات صنایع فرآوری گوجه‌فرنگی در این استان‌ها فعالیت می‌کنند که علاوه بر مصارف داخل کشور، برخی از فرآورده‌های آن به کشورهای همجوار نیز صادر می‌گردد. با توجه به ارزآوری مطلوب، این محصول مورد توجه مسئولین، صاحبان صنایع و کشاورزان قرار دارد. با توجه به اهمیت بیماری خال‌زدگی باکتریایی در کمیت و کیفیت محصول تولیدی (۱ و ۶)، ضروری است مدیریت این بیماری مورد توجه قرار گیرد و روش‌های مناسب با کمترین خطر آلودگی برای انسان و محیط زیست پیشنهاد شوند. از آنجایی که همه ساله ارقام مختلف گیاه گوجه‌فرنگی با ویژگی‌های متفاوت، توسط محققان اصلاح نباتات تولید و به بازار عرضه می‌شود و با توجه به اهمیت استفاده از ارقام مقاوم در مدیریت بیماری خال‌زدگی باکتریایی، بررسی واکنش چند رقم غیرهیبرید و هیبرید گوجه‌فرنگی در برابر این بیماری به عنوان هدف این پژوهش در نظر گرفته شد.

بیماری خال‌زدگی باکتریایی گوجه‌فرنگی یکی از بیماری‌های مهم و اقتصادی گوجه‌فرنگی در دنیا است (۶). این بیماری اولین بار توسط اکابه در مزارع گوجه‌فرنگی فورموسا^۱ (تایوان) مشاهده و گزارش شد (۱۷). این بیماری در ابتدا به عنوان یک بیماری کم‌اهمیت در دنیا شناخته می‌شد اما پس از مدتی نشانه‌های بیماری در اکثر مزارع گوجه‌فرنگی در شمال و جنوب آمریکا مشاهده شد. با این حال، گزارش‌های کمی از حضور بیماری در آن زمان وجود دارد که احتمالاً دلیل آن تشابه نشانه‌های این بیماری با سایر لکه‌برگی‌های گوجه‌فرنگی، بویژه لکه باکتریایی ناشی از زانتاموناس‌ها و لکه‌برگی سیرینگایی می‌باشد (۱۰). در ایران، این بیماری اولین بار در سال ۱۳۷۴ از مزارع گوجه‌فرنگی ورامین گزارش شد (۲۲). بر اساس پژوهش‌های انجام شده، این بیماری هم‌اکنون در بیشتر شهرستان‌های استان آذربایجان غربی نیز وجود دارد (۱). بسیاری از سویه‌های *P. syringae* pv. *tomato* فقط در گوجه‌فرنگی، بیماری ایجاد می‌کند. اما آلودگی گیاهان تیره شب‌بو (Brassicaceae) نیز توسط برخی از سویه‌های این باکتری گزارش شده است (۱۸).

باکتری *P. syringae* pv. *tomato* (Pst) عامل بیماری خال‌زدگی باکتریایی است. این باکتری گرم منفی، متحرک و هوازی اجباری است که پس از ورود به گیاه از طریق منافذ طبیعی، در فضای بین سلولی مستقر شده و تکثیر می‌شود (۲۳). این باکتری قادر است به صورت اپی‌فیت روی علف‌های هرز و گیاهان غیرمیزبان بقاء داشته باشد، همچنین بقاء این باکتری در خاک و بذرهای گوجه‌فرنگی اثبات شده است. باکتری Pst می‌تواند بدون بروز علائم بیماری، نشاء‌های گوجه‌فرنگی را آلوده نموده و موجبات انتقال آلودگی به نشاء‌های سالم را فراهم آورد (۶).

بیماری خال‌زدگی باکتریایی از زمان معرفی در سال ۱۹۳۳ در تایوان، تا دهه ۱۹۷۰ میلادی خسارت چندانی نداشته است اما با انتقال نشاء‌های آلوده از مناطق جنوبی آمریکا به مناطق شمالی و مساعد بودن شرایط محیطی، عامل بیماری به یک تهدید جدی برای تولید گوجه‌فرنگی در این مناطق تبدیل شد (۴). این بیماری یکی از بیماری‌های اقتصادی در مناطق سرد، مرطوب و بارانی است که از اکثر مناطق کاشت گوجه‌فرنگی در جهان گزارش شده است. خسارت بیماری بسته به مرحله رشدی گیاه آلوده شده، از ۷۵ درصد در مرحله گیاهچه تا ۵ درصد در مراحل آخر رشد متفاوت است. عمده خسارت این بیماری روی گیاه گوجه‌فرنگی، به دلیل کاهش بازارپسندی میوه می‌باشد. در صورتی که شدت بیماری زیاد باشد، علاوه بر کاهش کیفیت محصول، باعث خسارت کمی نیز می‌شود و حتی ممکن است محصول به‌طور کامل از بین برود (۲۶).

نشانه‌های بیماری در برگ‌ها به صورت لکه‌های آسوخسته کوچک

مواد و روش‌ها

تهیه سویه‌های باکتری بیماری‌زا

در این تحقیق از چهار سویه باکتری *P. syringae* pv. *tomato* جداسازی شده از مزارع گوجه‌فرنگی استان آذربایجان غربی استفاده شد. شناسایی فنوتیپی و مولکولی، همچنین اثبات بیماری‌زا بودن این سویه‌ها، در مطالعات قبلی انجام شده است (۱).

بررسی واکنش ارقام گوجه‌فرنگی مورد مطالعه به بیماری

خال‌زدگی باکتریایی

ماده گیاهی مورد استفاده

جهت انجام این آزمون، از ۲۴ رقم مزرعه‌ای گوجه‌فرنگی شامل ۱۳ رقم غیرهیبرید (آزادگرده‌افشان) Early Urbana 111، Early Rio، 2270، CalJ N3، Super 22 TO، King stone، Urbana Y، Super Falat CH، Primo early، Early Urbana، grenade، Hyb. 6515، Red Stone و Primax، Chef Hyb. 6515، Hyb. Comodoro، Hyb. Firenze، Hyb. Superset Hyb. 6515، Hyb. Eden، Hyb. Kishmat، Hyb. 1585، Bellariva Hyb. 6515، Ferguson F1 و Hyb. Monty marker F1، 8320 استفاده شد. بذرهاى ارقام غیرهیبرید از موسسه تحقیقات، اصلاح و تهیه نهال و بذر کرج و بذرهاى ارقام هیبرید از شرکت‌های واردکننده فرآورده‌های کشاورزی تهیه شد.

مایه‌زنی گیاهچه‌های گوجه‌فرنگی با سویه‌های باکتری

بذرهاى ارقام مختلف در سینی‌های کشت حاوی مخلوط رس و ماسه کاشته شدند. پس از اینکه نشاءها به مرحله دو تا سه برگه رسیدند، به گلدان‌های پلاستیکی حاوی مخلوط رس، ماسه و خاک‌برگ به نسبت‌های مساوی انتقال داده شدند. از گیاهچه‌ها، در مرحله چهار تا پنج برگه جهت مایه‌زنی باکتری بیماری‌زا استفاده شد. جهت مایه‌زنی، سویه‌های باکتری روی محیط کشت نوترینت آگار^۲ کشت شدند و پس از ۲۴ تا ۴۸ ساعت، سوسپانسیون با غلظت 1×10^7 CFU ml⁻¹ (OD₆₀₀) از سویه‌های باکتری بیماری‌زا تهیه شد. سطح اندام‌های هوایی بوته‌ها، با سوسپانسون باکتری به طور کامل اسپری گردید. جهت حفظ رطوبت، گیاهچه‌ها به مدت ۲۴ ساعت زیر پوشش‌های پلاستیکی قرار داده شدند. دما در طول انجام آزمایش 27 ± 2 درجه سلسیوس و طول دوره روشنائی ۱۲ ساعت در طول شبانه‌روز تنظیم شد. گیاهچه‌های مایه‌زنی شده از یک روز پس از

مایه‌زنی تا ۲۱ روز بعد، به صورت روزانه مورد بررسی قرار گرفتند و از نشانه‌های ایجاد شده یادداشت‌برداری انجام شد. در تیمار شاهد هر رقم، آب مقطر سترون روی گیاهچه‌ها اسپری شد (۱۲).

شاخص‌های بررسی شده

جهت بررسی واکنش ارقام گوجه‌فرنگی مورد مطالعه در برابر بیماری خال‌زدگی باکتریایی، از شاخص‌های زمان ظهور اولین نشانه‌های بیماری، شاخص شدت بیماری و سطح زیر منحنی پیشرفت بیماری (AUDPC) استفاده شد. جهت ارزیابی شدت بیماری، تعداد لکه‌های ایجاد شده روی شش برگ هر بوته شمارش شد و از شاخص صفر تا شش به صورت: صفر) بدون نشانه‌های بیماری، ۱) یک تا ۱۰ لکه روی برگ‌ها، ۲) ۱۱ تا ۱۵ لکه روی برگ‌ها، ۳) ۱۶ تا ۲۰ لکه روی برگ‌ها، ۴) ۲۱ تا ۲۵ لکه روی برگ‌ها، ۵) ۲۶ تا ۳۰ لکه روی برگ‌ها و ۶) بیش از ۳۰ لکه روی برگ‌ها انجام گرفت (۲۷).

شاخص شدت بیماری با استفاده از فرمول ۱ محاسبه شد (۱۱).

$$DS = \frac{\sum(n \times x_0 - 6)}{N} \times 100$$

در این معادله n: تعداد برگ در هر نمره عددی، x₀: نمره عددی، N: تعداد کل برگ‌های ارزیابی شده است. شاخص سطح زیر منحنی پیشرفت بیماری نیز از فرمول ۲ محاسبه شد (۵).

$$AUDPC = \sum_{i=1}^{n_i-1} \frac{y_i + y_{i+1} + 1}{2} (t_i + 1 - t_{i+1})$$

در این معادله، y_i درصد بیماری در مشاهده t_i ، y_{i+1} میزان بیماری در مشاهده t_{i+1} ، t_i زمان یادداشت‌برداری در مشاهده t_i ، t_{i+1} زمان یادداشت‌برداری در مشاهده t_{i+1} و n تعداد کل مشاهدات است.

تجزیه و تحلیل آماری داده‌ها

آزمایش‌ها در قالب طرح کاملاً تصادفی انجام شد. برای هر تیمار (رقم) چهار گلدان و در هر گلدان چهار بوته استفاده شد. مقایسه میانگین و تجزیه واریانس داده‌ها به روش توکی، با استفاده از نرم‌افزار SAS (version 9.4) انجام شد. نمودارها با استفاده از نرم‌افزار Excel رسم شدند. شاخص AUDPC با استفاده از نرم‌افزار R (version 3.5.2) و بسته agricolae محاسبه شد (۸). بررسی همبستگی رتبه‌ای بین شاخص‌های مقاومت به بیماری نیز با استفاده از ضریب همبستگی اسپیرمن در نرم‌افزار SPSS (version 25) انجام شد.

- 1- Open pollination
- 2- Nutrient agar

نتایج

با توجه به نتایج تجزیه واریانس داده‌ها، زمان ظهور اولین نشانه‌های بیماری، شدت بیماری و AUDPC در ارقام مختلف گوجه‌فرنگی، در سطح احتمال یک درصد معنی‌دار شدند (جدول ۱).

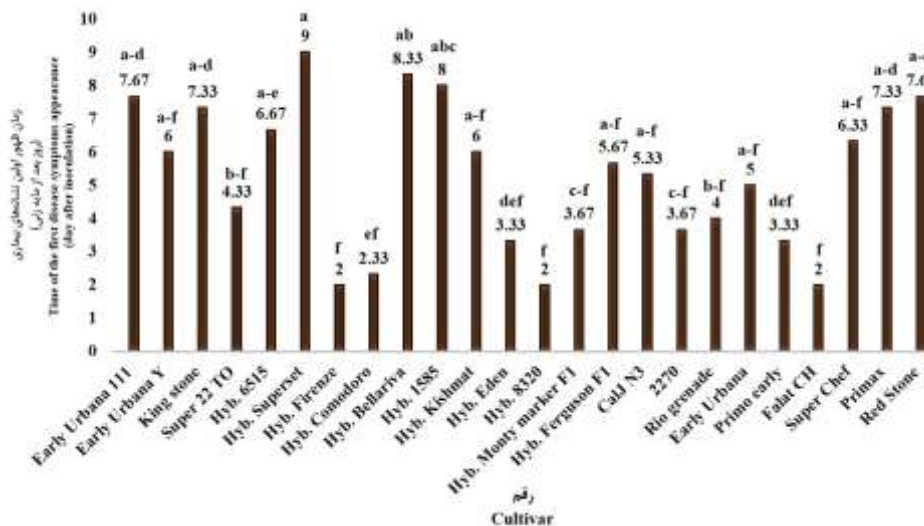
واکنش ارقام مختلف گوجه‌فرنگی به بیماری خال‌زدگی باکتریایی

جدول ۱- تجزیه واریانس شاخص‌های مورد بررسی در واکنش ارقام گوجه‌فرنگی به بیماری خال‌زدگی باکتریایی
Table 1- Variance analysis of studied indexes in tomato cultivars reaction to bacterial speck disease

منابع تغییرات Source of variation	درجه آزادی Degrees of freedom	میانگین مربعات Mean squares		
		زمان ظهور اولین نشانه‌های بیماری Time of the first symptoms appearance	شدت بیماری Disease severity	سطح زیر منحنی پیشرفت بیماری AUDPC
رقم گوجه‌فرنگی Tomato cultivar	23	14.47**	3.68**	176.4**
خطا Experimental error	48	2.08	0.75	31.12
درصد ضریب تغییرات Coefficient of variabilities %		27.28	22.03	19.13

** Significance level at 1%

** معنی‌داری در سطح احتمال یک درصد



شکل ۱- میانگین زمان ظهور اولین نشانه‌های بیماری در ارقام مختلف گوجه‌فرنگی پس از مایه‌زنی با باکتری *Pseudomonas syringae* pv. *Tomato*

ستون‌های با حروف یکسان از نظر آماری با هم اختلاف معنی‌داری ندارند ($p \leq 0.05$).

Figure 1- The average of time of the first symptoms appearance in different tomato cultivars after inoculation with *Pseudomonas syringae* pv. *tomato*

There is no statistically significantly difference between columns with the same letters ($p \leq 0.05$).

نشانه‌های بیماری در گروه‌های آماری مختلف قرار گرفتند (شکل ۱). نتایج آماری نشان داد که رقم‌های Hyb. 8320، Falat CH و Hyb. Firenze، نشانه‌های بیماری را در روز دوم نشان دادند و بر اساس شاخص زمان ظهور اولین نشانه‌های بیماری از لحاظ آماری در گروه f

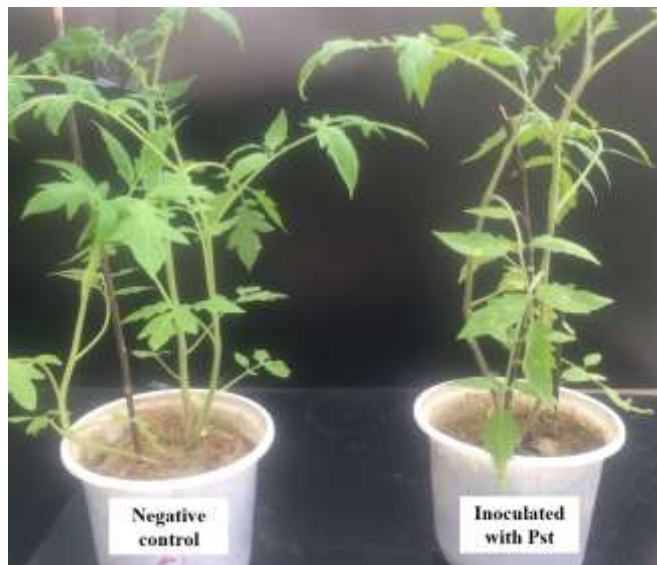
زمان ظهور اولین نشانه‌های بیماری خال‌زدگی در ارقام مختلف گوجه‌فرنگی

با توجه به مقایسه میانگین واکنش ارقام مختلف گوجه‌فرنگی به بیماری خال‌زدگی باکتریایی، ارقام مورد مطالعه بر اساس زمان ظهور

مطالعه، بین سه تا هفت روز پس از مایه‌زنی، اولین نشانه‌های بیماری را بروز دادند (شکل ۱).

شدت بیماری خال‌زدگی در ارقام مختلف گوجه‌فرنگی

نشانه‌های بیماری به صورت بروز لکه‌های نکروزه دو تا پنج میلی‌متری روی برگ که با هاله زرد رنگ احاطه شده بودند، ایجاد شد (شکل ۲). تعداد لکه‌های ایجاد شده در ارقام مورد مطالعه متفاوت بود و ارقام مورد بررسی از نظر درصد بیماری ایجاد شده، در گروه‌های آماری مختلف قرار گرفتند (شکل ۳).



شکل ۲- نشانه‌های بیماری خال‌زدگی باکتریایی روی بوته گوجه‌فرنگی رقم Hyb. Comodoro، پنج روز پس از مایه‌زنی با باکتری بیماری‌زای *Pseudomonas syringae* pv. *tomato* (Pst) (راست) و شاهد منفی (چپ)

Figure 2- Symptoms of bacterial speck disease on inoculated tomato plant cv. Hyb. Comodoro, five days after inoculation with *Pseudomonas syringae* pv. *tomato* (Pst) (right) and negative control (left)

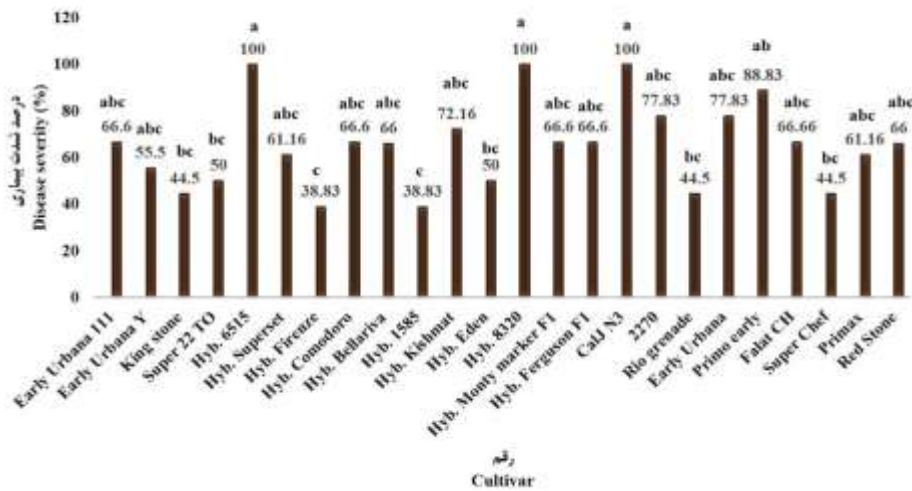
از بین ارقام مورد بررسی، بیشترین مقدار شاخص AUDPC مربوط به رقم Hyb. 8320 بود. این رقم به عنوان حساس‌ترین رقم به بیماری تعیین شد. پس از آن، رقم‌های Hyb. Comodoro، Early Urbana، Hyb. 6515، Primo early، Calj N3، 2270، Falat CH، Hyb. Kishmat و Hyb. Monty marker F1 نیز به ترتیب شاخص AUDPC بیشتر از ۳۰ داشتند. ارقام Hyb. Supersent و Super Chef، King stone، Bellariva حساسیت کمتری نسبت به بیماری نشان دادند و در کنار ارقام با مقاومت بالاتر قرار گرفتند. کمترین مقدار شاخص AUDPC مربوط به رقم Hyb. 1585 بود که شاخص AUDPC در آن ۱۶/۸ تعیین شد و به عنوان مقاوم‌ترین رقم از بین ارقام مورد مطالعه ارزیابی شد. سایر ارقام با AUDPC زیر ۳۰، در گروه آماری b-e قرار گرفتند (شکل ۴).

قرار گرفتند. این ارقام به عنوان حساس‌ترین ارقام از نظر این شاخص، ارزیابی شدند. همچنین حساسیت رقم Hyb. Comodoro به بیماری، به این سه رقم نزدیک بود (شکل ۱).

دیرترین زمان ظهور نشانه‌های بیماری، مربوط به رقم Hyb. Supersent بود که نه روز پس از مایه‌زنی و سپس ارقام Hyb. 1585 و Hyb. Bellariva که هشت روز پس از مایه‌زنی، اولین نشانه‌های بیماری را نشان دادند. از نظر زمان ظهور اولین نشانه‌های بیماری، رقم Hyb. Supersent به عنوان رقم با مقاومت بالاتر نسبت به سایر ارقام مورد مطالعه، ارزیابی شد. سایر ارقام مورد

در بین ۲۴ رقم مورد بررسی، سه رقم Hyb. 6515، Hyb. 8320 و Calj N3 بیشترین شدت بیماری را نشان دادند که هر سه در گروه آماری a قرار گرفتند. درصد بیماری ایجاد شده در این ارقام ۱۰۰ درصد بود که به عنوان حساس‌ترین ارقام ارزیابی شدند (شکل ۳). پنج رقم Hyb. 1585، Hyb. Firenze، King stone، Rio grenade، Super Chef و Hyb. 1585 شدت بیماری کمتر از ۵۰ درصد داشتند که از میان آن‌ها، دو رقم Hyb. Firenze و Hyb. 1585 شدت بیماری ۳۸/۸۳ درصد را نشان دادند و بر اساس این شاخص به عنوان مقاوم‌ترین ارقام در بین ارقام مورد بررسی ارزیابی شدند. در سایر ارقام شدت بیماری ایجاد شده بین ۵۰ و ۸۸ درصد بود (شکل ۳).

سطح زیر منحنی پیشرفت بیماری (AUDPC)

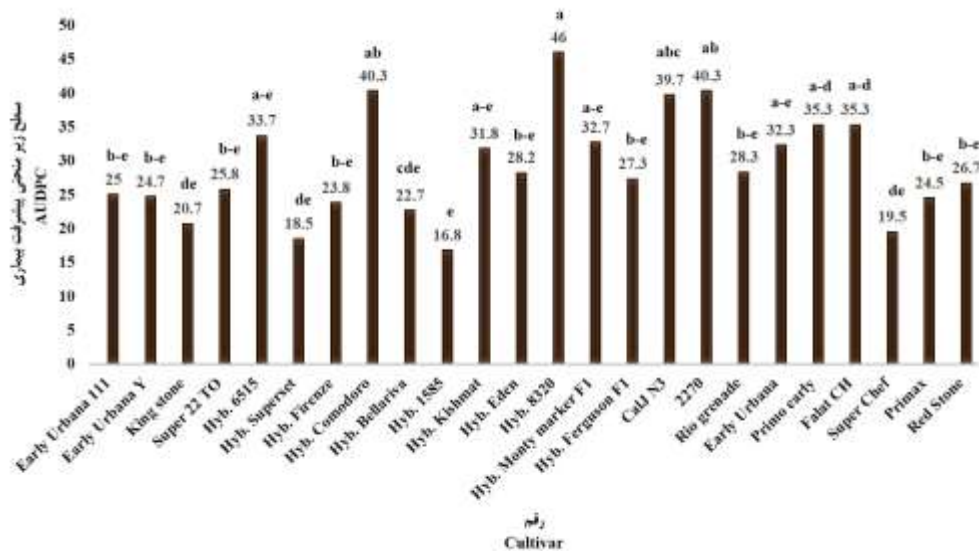


شکل ۳- میانگین داده‌های شدت بیماری در ارقام هیبرید و غیرهیبرید گوجه‌فرنگی، ۲۱ روز پس از مایه‌زنی با باکتری *Pseudomonas syringae* pv. *tomato*

ستون‌های با حروف یکسان از نظر آماری با هم اختلاف معنی‌داری ندارند ($p \leq 0.05$).

Figure 3- The average of disease severity in hybrid and non-hybrid tomato cultivars 21 days after inoculation with *Pseudomonas syringae* pv. *Tomato*

There is no statistically significantly difference between columns with the same letters ($p \leq 0.05$).



شکل ۴- میانگین شاخص سطح زیر منحنی پیشرفت بیماری (AUDPC) در ارقام گوجه‌فرنگی مورد مطالعه، ۲۱ روز پس از مایه‌زنی با باکتری *Pseudomonas syringae* pv. *Tomato*

ستون‌های با حروف یکسان از نظر آماری با هم اختلاف معنی‌داری ندارند ($p \leq 0.05$).

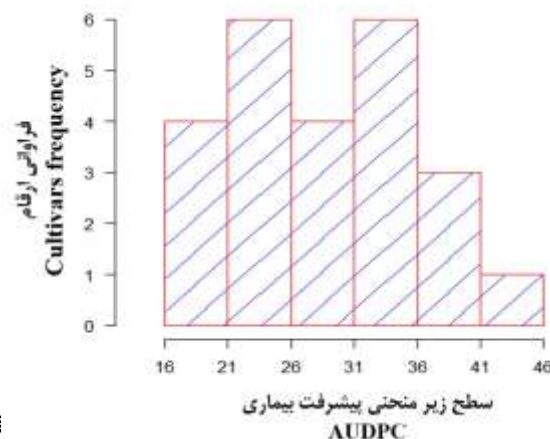
Figure 4- The average of the area under the disease progress curve (AUDPC) in studied tomato cultivars 21 days after inoculation with *Pseudomonas syringae* pv. *Tomato*

There is no statistically significantly difference between columns with the same letters ($p \leq 0.05$).

بیماری نشان می‌دهد. بنابراین از بین ۲۴ رقم گوجه‌فرنگی مورد بررسی، تعداد شش رقم (شامل ارقام هیبرید Hyb. Firenze، Hyb. Bellariva، Super Chef، Hyb. Supersent و Hyb. 1585 و رقم غیر هیبرید King stone) نسبت به سایر ارقام مقاومت بیشتری به بیماری نشان دادند.

نمودار فراوانی ارقام مورد مطالعه بر اساس شاخص AUDPC

بر اساس نمودار فراوانی ارقام مورد مطالعه، بیشترین فراوانی ارقام در AUDPC های ۲۱ تا ۲۶ و ۳۱ تا ۳۶ دیده شد. تنها رقم Hyb. 8320 دارای AUDPC دامنه ۴۱-۴۶ بود و به عنوان حساس‌ترین رقم تعیین شده رقم مورد نظر مقاومت بیشتری نسبت به عامل



شکل ۵- فراوانی ارقام گو

Figure 5- Frequency of studied tomato cultivars based on the area under the disease progress curve (AUDPC)

دلیل است که در محاسبه شاخص AUDPC دو پارامتر زمان و درصد شدت بیماری هر دو لحاظ شده‌اند و همبستگی آن‌ها دور از انتظار نبود. شاخص زمان ظهور اولین نشانه‌های بیماری با درصد شدت بیماری همبستگی معنی‌داری نداشتند ($r=0/22$).

همبستگی بین شاخص‌های مورد ارزیابی

شاخص AUDPC با زمان ظهور اولین نشانه‌های بیماری ($r=0/71$) و درصد شدت بیماری ($r=0/76$) همبستگی مثبت و معنی‌داری در سطح احتمال یک درصد داشت. این موضوع به این

جدول ۲- ضریب همبستگی بین شاخص‌های واکنش ارقام گوجه‌فرنگی (زمان ظهور اولین نشانه‌های بیماری، شدت بیماری و AUDPC) به بیماری خال‌زدگی باکتریایی

Table 2- Correlation coefficient between tomato cultivars reaction indexes (time of the first symptoms appearance, disease severity and AUDPC) to bacterial speck disease

	زمان ظهور اولین نشانه‌های بیماری Time of the first symptoms appearance	شدت بیماری Disease severity	سطح زیر منحنی پیشرفت بیماری AUDPC
زمان ظهور اولین نشانه‌های بیماری Time of the first symptoms appearance	1.00		
شدت بیماری Disease severity	0.22	1.00	
سطح زیر منحنی پیشرفت بیماری AUDPC	0.71**	0.76**	1.00

**Significance level at 1%

**معنی‌داری در سطح احتمال یک درصد

بحث

در این مطالعه، واکنش ۲۴ رقم غیرهیبرید و هیبرید گوجه‌فرنگی در برابر بیماری خال‌زدگی باکتریایی در محیط گلخانه مورد ارزیابی قرار گرفت. نتایج بررسی‌های انجام شده نشان داد، اولین نشانه‌های بیماری در رقم‌های هیبرید Hyb. Bellariva، Hyb. Superset و Hyb. 1585، هشت تا نه روز پس از مایه‌زنی و دیرتر از سایر ارقام ظاهر شد. درحالی‌که در ۱۱ رقم مورد بررسی، این نشانه‌ها دو تا پنج روز پس از مایه‌زنی مشاهده شد. با توجه به اینکه گیاه گوجه‌فرنگی در مرحله گیاهچه نسبت به بیماری خال‌زدگی باکتریایی حساس است، هرچه زمان ظهور نشانه‌های بیماری در رقم مورد نظر افزایش یابد، احتمال بروز بیماری در آن رقم کمتر و یا شدت بیماری ایجاد شده کمتر خواهد بود و در نتیجه این رقم نسبت به بیماری مقاومت بیشتری خواهد داشت. شدت بیماری با استفاده از شاخص صفر تا شش بر اساس نشانه‌هایی که پس از مایه‌زنی باکتری بیمارگر روی گیاهچه‌های گوجه‌فرنگی ایجاد شد، ارزیابی گردید. بر اساس نتایج شاخص شدت بیماری، درصد بیماری ایجاد شده در رقم‌های Hyb. Super، Rio grenade، King stone، Hyb.1585، Firenze و Chef نسبت به سایر ارقام مورد بررسی کمتر بود و این ارقام جزو ارقام با مقاومت بالاتر نسبت به بیماری تعیین شدند. با توجه اینکه برخی از ارقام مورد مطالعه، ارقام هیبرید و اصلاح ژنتیکی شده با هدف دستیابی به کیفیت و کمیت بالاتر محصول بودند، توجه به این نکته که فقط در پنج رقم ذکر شده، شدت بیماری زیر ۵۰ درصد بود، حائز اهمیت است. در بررسی شدت بیماری، هرچه رقم گیاه در برابر بیماری حساس‌تر باشد، میزان نشانه‌های ایجاد شده بیشتر و شدت بیماری بالاتر خواهد بود (۲۷). از بین ۲۴ رقم مورد بررسی، رقم Hyb.1585 که بر اساس شاخص AUDPC مقاوم‌ترین رقم بود، بر اساس زمان ظهور اولین نشانه‌های بیماری (روز هشتم) و شاخص شدت بیماری (۳۸/۸۳ درصد) نیز جزو ارقام با مقاومت بیشتر نسبت به بیماری بود. از بین ارقام مورد بررسی، سطح زیر منحنی پیشرفت بیماری در رقم‌های Hyb. Comodoro، Hyb. 8320، CaJ، 2270، Primo early، N3 و Falat CH بیشتر از سایر ارقام بود و بنابراین این ارقام نسبت به بیماری حساسیت بیشتری داشتند. هیچ‌گونه ویژگی ریخت‌شناسی مشترکی بین ارقام با مقاومت مشابه در برابر بیماری مشاهده نشد.

نتایج تحقیقات پیشین نشان داده است که شدت بیماری در ارقام مختلف گوجه‌فرنگی، در مقابل بیماری خال‌زدگی باکتریایی متفاوت است. تاکنون چندین رقم با مقاومت بالا یا متوسط به بیماری خال‌زدگی باکتریایی گوجه‌فرنگی معرفی شده است (۲ و ۲۵) اما تحقیقات نشان داده است که در بسیاری از موارد، مقاومت با ظهور نژادهای جدید عامل بیماری شکسته می‌شود (۱۹). در مطالعه‌ای،

مقاومت ارقام 144، Selin، Newton، 5656، Marmara، Dorit و Beril نسبت به بیماری خال‌زدگی باکتریایی مورد بررسی قرار گرفت. بر اساس نتایج، کمترین شدت بیماری مربوط به رقم 144 و بیشترین شدت بیماری مربوط به رقم Newton بود. در این مطالعه، رقم‌های 144 و Marmara به عنوان ارقام با مقاومت زیاد، ارقام Selin و Beril دارای مقاومت متوسط، ارقام Dori و 5656 ارقام حساس و رقم Newton به عنوان رقم خیلی حساس معرفی شدند (۲). در پژوهشی دیگر، سطح مقاومت ۱۷ رقم گوجه‌فرنگی از جمله رقم مقاوم Ontario 7710 در برابر بیماری خال‌زدگی مورد بررسی قرار گرفت. علاوه بر رقم ذکر شده، گونه وحشی *Lycopersicon hirsutum* و هیبرید ایجاد شده از تلاقی رقم Ontario 7710 با رقم حساس A100 نیز در برابر این بیماری مقاومت نشان دادند (۱۳). در مطالعه‌ای که توسط تورگات و بسیم (۲۵) انجام شد، واکنش ۹۳ رقم مختلف گوجه‌فرنگی که در ناحیه شرق مدیترانه‌ای ترکیه کشت می‌شوند، نسبت به این بیماری مورد بررسی قرار گرفت. از بین این ارقام، هفت رقم نسبت به سویه‌های باکتری *P. syringae* pv. *tomato* واکنش فوق حساسیت نشان دادند. بررسی مولکولی ارقام مورد مطالعه نشان داد، این هفت رقم حامل ژن *avrptol1* بودند. از بین این هفت رقم، ژن *pto* که در بروز مقاومت علیه بیماری خال‌زدگی باکتریایی نقش دارد، در شش رقم Party، Atalay، Petrus، Piccadilly، Prenses، Tyty و Tyty توالی ژن *Pto* در این ارقام ۹۲ تا ۹۵ درصد با توالی این ژن در رقم مقاوم *L. esculentum* VFNT Cherry (AF220603) و ۹۵ تا ۱۰۰ درصد با رقم مقاوم *L. pimpinellifolium* Rio Grande 76R (AF220602) مشابهت نشان داد. این یافته‌ها نشان‌دهنده تنوع قابل توجه ارقام گوجه‌فرنگی در مقاومت به بیماری خال‌زدگی است که به انتخاب لاین‌های مقاوم گیاه برای اصلاح ژنتیکی و تولید ارقام جدید مقاوم به بیماری کمک می‌کند (۲۵). مقاومت یک گیاه به بیماری، نیازمند وجود ژن یا ژن‌های مقاوم در گیاه میزبان و ژن غیربیماری‌زایی در بیمارگر است و تعامل این ژن‌ها موجب بروز مقاومت نسبت به بیماری می‌شود. بنابراین علیرغم وجود تعدادی ژن مقاوم در ژنوم گیاه، در برابر بیماری مقاومتی ایجاد نخواهد شد (۲۵). یافته‌های این تحقیق نشان داد، بین نتایج سه شاخص ارزیابی شده در اغلب ارقام همخوانی وجود داشت. به عنوان مثال، طبق نتایج هر سه شاخص، رقم Hyb.1585 به عنوان رقم مقاوم و رقم Hyb. 8320 به عنوان رقم حساس به این بیماری تعیین شدند. با این حال برخی ارقام از جمله Hyb. Firenze بر اساس شاخص شدت بیماری به عنوان رقم مقاوم و بر اساس شاخص زمان ظهور اولین نشانه‌های بیماری، حساس بودند. همچنین رقم Hyb. Bellariva با اینکه از نظر زمان ظهور نشانه‌های بیماری در رتبه دوم قرار داشت، دارای شاخص شدت بیماری چهار بود و بر اساس شاخص AUDPC در

محصول، به شرایط اقلیمی و بیماری‌های غالب منطقه نیز توجه نمود و با توجه به جمع شرایط مبادرت به انتخاب و کاشت ارقام تجاری و پرمحصول نمود. از آنجایی که مقاومت به عوامل بیماری‌زای گیاهی تحت تاثیر فاکتورهای مختلف ژنتیکی، فیزیولوژیکی و تعاملات بین گیاه و بیمارگر قرار دارد، توصیه می‌شود در روند ارزیابی واکنش ارقام گیاهان به بیماری‌ها، چند شاخص مختلف مورد مطالعه قرار گیرد و از برآیند نتایج آن‌ها در تصمیم‌گیری‌های نهایی در مدیریت تلفیقی بیماری‌ها بهره گرفته شود.

رتبه پنجم قرار گرفت. با در نظر گرفتن نتایج سه شاخص بررسی شده، ارقام هیبرید King stone, Hyb. Superset, Hyb. 1585, Hyb. Bellariva و Hyb. Firenze همچنین رقم غیرهیبرید Super Chef، به عنوان ارقام با مقاومت بالاتر نسبت به سایر ارقام، در برابر بیماری خال‌زدگی گوجه‌فرنگی معرفی می‌شوند و استفاده از این ارقام در مناطقی که بیماری از آن‌ها گزارش شده است، توصیه می‌گردد.

بنا بر نتایج تحقیق حاضر، لازم است در انتخاب ارقام محصولات کشاورزی علاوه بر در نظر گرفتن ویژگی‌های زارعی و فیزیولوژیکی

منابع

- Allahyari S., Khezri M., and Sadeghinasab F. 2017. A study on tomato gram-negative pathogenic bacteria in West Azarbaijan. p 279. In: Proceedings of the 1st International and 5th National Congress on Organic vs. Conventional Agriculture. 6-17 August. University of Mohaghegh Ardabili, Ardabil, Iran.
- Bakir V., Özdemir Z., and Yardim H. 2012. Reaction of some popular hybrid tomato cultivars grown in Aegean region to bacterial speck disease and determination of disease incidence in Şahnalı, Aydın. The Journal of Turkish Phytopathology 41: 37-42.
- Blancard D. 2012. A Color Handbook Tomato Diseases, Identification, Biology and Control. 2nd. Academic press, USA. 688 pp.
- Borkar S.G., and Yumlembam R.A. 2016. Bacterial Diseases of Crop Plants. 1st ed. CRC Press, Boca Raton, USA. 594 pp.
- Campbell C.L., and Modden L.V. 1990. Introduction to Plant Disease Epidemiology. John Willeyand Sons, New York, USA. 532 pp.
- Canzoniere P., Francesconi S., Giovando S., and Balestra G.M. 2021. Antibacterial activity of tannins towards *Pseudomonas syringae* pv. *tomato*, and their potential as biostimulants on tomato plants. Phytopathologia Mediterranea 60: 23-36.
- Caruso A., Licciardello G., La Rosa R., Catara V., and Bella P. 2016. Mixed infection of *Pectobacterium carotovorum* subsp. *carotovorum* and *P. carotovorum* subsp. *brasiliensis* in tomato stem rot in Italy. Journal of Plant Pathology 98: 3. doi: 10.4454/JPP.V98I3.062.
- de Mendiburu F., and de Mendiburu M.F. 2019. Package 'agricolae'. R Package, Version, 1-2.
- FAOSTAT. 2021. The Agricultural Production Domain. Available at: <http://www.fao.org/faostat/en/#data/QC> [visited 27 August 2021].
- Fletcher J. 1992. Compendium of Tomato Disease. APS Press, St. Paul, Minnesota, USA, 73 pp.
- Gullino M.L., Gilardi G., Sanna M., and Garibaldi A. 2009. Epidemiology of *Pseudomonas syringae* pv. *syringae* on tomato. Phytoparasitica 37: 461-466.
- Hibberd A.M., Heaton J.B., Finally G.P., and Dullahide S.R. 1992. A greenhouse method for selecting tomato seedlings resistant to bacterial canker. Plant Disease 76: 1004-1007.
- Kozik E.U. 2002. Studies on resistance to bacterial speck (*Pseudomonas syringae* pv. *tomato*) in tomato cv. Ontario 7710. Plant Breeding 121: 526-530.
- Le K.D., Kim J., Yu N.H., Kim B., Lee C.W., and Kim J.C. 2020. Biological control of tomato bacterial wilt, kimchi cabbage soft rot, and red pepper bacterial leaf spot using *Paenibacillus elgii* JCK-5075. Frontiers in Plant Science 11: 775. doi.org/10.3389/fpls.2020.00775.
- Louws F.J. 2018. Evaluation of biopesticides and biorationals on bacterial canker and bacterial spot disease levels in tomato fresh-market production in North Carolina. Acta Horticulture 1207: 241-248
- Najeeb S., Ahmad M., Khan R.A.A., Naz I., Ali A., and Alam S.S. 2019. Management of bacterial wilt in tomato using dried powder of *Withania coagulan* (L) Dunal. Australasian Plant Pathology 48: 183-192
- Okabe N. 1933. Bacterial disease of plants occurring in Formosa. II. Bacterial leaf spot of tomato. Journal of the Society of Tropical Agriculture 5: 25-36.
- Preston G.M. 2000. *Pseudomonas syringae* pv. *tomato*: the right pathogen, of the right plant, at the right time. Molecular Plant Pathology 1: 263-275.
- Quaglia M., Bocchini M., Orfei B., D'Amato R., Famiani F., Moretti C., and Buonauro R. 2021. Zinc phosphate protects tomato plants against *Pseudomonas syringae* pv. *tomato*. Journal of Plant Diseases and Protection 128: 989-998.

20. Rossi V. 1999. Effect of host resistance and fungicide sprays against *Cercospora* leaf spot indifferent sugar beet-growing areas of the Mediterranean basin. *Phytopathologia Mediterranea* 38: 465-470.
21. Saimin J., Soetjpto, and Hendarto H. 2020. Antioxidant effects of tomato juice on reducing serum malondialdehyde levels in menopausal rats. *Pakistan Journal of Nutrition* 19: 362-366.
22. Shahriari D., and Rahimian H. 1995. Tomato bacterial speck in Varamin. p 168. In: Proceedings of the 12th Iranian Plant Protection Congress. August 27-September 1. Karaj, Iran. (In Persian with English abstract)
23. Shao X., Tan M., Xie Y., Yao C., Wang T., Huang H., Zhang Y., Ding Y., Liu J., Han L., Hua C., Wang X., and Deng X. 2021. Integrated regulatory network in *Pseudomonas syringae* reveals dynamics of virulence. *Cell Reports* 34: 108920. doi: 10.1016/j.celrep.2021.108920.
24. Thomas J.E., Geering A.D.W., and Maynard G. 2018. Detection of Candidatus *Liberibacter solanacearum* in tomato on Norfolk Island, Australia. *Australasian Plant Disease Notes* 13: 1.
25. Turgut A., and Basim H. 2013. Sensitivity of tomato (*Solanum lycopersicum*) cultivars from Turkey to bacterial speck (*Pseudomonas syringae* pv. *tomato*). *African Journal of Biotechnology* 12: 1793-1801.
26. Yang W.E.N.C.A.I., and Francis D.M. 2007. Genetics and Breeding for Resistance to Bacterial Diseases in Tomato: Prospects for Marker-Assisted Selection. Genetic Improvement of Solanaceous Crops. Volume 2: tomato. Eds M.K. Razdan and A.K. Mattoo (eds.) Science Publishers Inc, New Hampshire. pp. 379-419.
27. Yunis H., Bashan Y., Okon Y., and Heniis Y. 1980. Two sources of resistance to bacterial speck of tomato caused by *Pseudomonas tomato*. *Plant Disease* 64: 851-852.



Evaluating the Reaction of some Non-hybrid and Hybrid Tomato Cultivars to Bacterial Speck Disease

A. Abbaspour Anbi¹- M. Khezri^{2*}

Received: 30-12-2020

Accepted: 11-09-2021

Introduction: Tomato bacterial speck caused by *Pseudomonas syringae* pv. *tomato*, is one of the several tomato diseases in the world. The disease can seriously affect the quantity and quality of this high-consumption crop in its cultivated areas. Disease symptoms included black spots surrounded by yellow halo on the leaves and small black spot on fruits surface. The spots on ripe fruits may surround with yellow haloes. It is difficult to diagnose the disease via symptoms, because there is high similarity among symptoms of bacterial speck and other tomato bacterial leaf spot diseases, especially bacterial spot caused by *Xanthomonas* spp. and *Pseudomonas syringae* pv. *syringae*. The disease is seed-borne, and application of bacterial-free seeds is the most effective strategy to reduce disease damage. Besides using healthy seed and seedling, other strategies such as applying resistant cultivars, crop rotation, drip irrigation and using pesticides are common procedures in integrated disease management

Materials and Methods: In this study, the reaction of 24 tomato cultivars including 13 non-hybrid cultivars (Early Urbana 111, Early Urbana Y, King stone, Super 22 TO, CalJ N3, 2270, Rio grenade, Early Urbana, Primo early, Falat CH, Super Chef, Primax and Red Stone, and 11 hybrid cultivars (Hyb. Superset, Hyb. Firenze, Hyb. Comodoro, Hyb. Bellariva, Hyb. 1585, Hyb. Kishmat, Hyb. Eden, Hyb. 8320, Hyb. Monty marker F1 and Hyb. Ferguson F1) was evaluated against bacterial speck disease in greenhouse. Four pathogenic *P. syringae* pv. *tomato* strains isolated from tomato fields in West Azarbaijan province, northwest of Iran, used in all experiments. For inoculation, bacterial suspension of 10^7 CFU ml⁻¹ (OD₆₀₀) was sprayed on the foliage of tomato seedling at four-five leaf stage. Inoculated seedlings were monitored daily for 21 days, and symptoms were recorded. The indexes of disease severity (DS), time of the first disease symptoms appearance and the area under the disease progress curve (AUDPC) were determined. To assess the disease severity, spots were counted on six leaves of each plant, and the index from zero to six was used, where 0) without symptom, 1) 1-10 spots, 2) 11-15 spots, 3) 16-20 spots, 4) 21-25 spots, 5) 26-30 spots and 6) more than 30 spots on leaves. Experiments were conducted in a completely randomized design, and four pots with four seedlings in each pot were considered for each treatment (cultivar). Statistical analysis of data was performed via Tukey' HSD test using SAS software (version 9.4). The AUDPC index was calculated using R (version 3.5.2) and Agricolae package. Correlation among studied indexes was evaluated via Spearman's rank correlation coefficients in SPSS (version 25).

Results and Discussion: Analysis variance of data indicated the significance at 1% level among the studied indexes. Positive correlation observed between AUDPC and the time of the first symptoms appearance ($r=0.71$), as well as the disease severity index ($r=0.76$), but there was no significant correlation between the time of the first symptoms appearance and the disease severity indexes ($r=0.22$). According to all three indexes cv. Hyb.1585 determined as a resistant cultivar and cv. Hyb. 8320 were identified as disease susceptible cultivar. However, some cultivars such as cv. Hyb. Firenze was susceptible based on the disease severity index but it considered as a resistant cultivar based on the time of the first disease symptoms appearance index. The results of previous research on tomato bacterial speck disease have shown different degrees of disease severity in various cultivars. So far, several resistant cultivars against this disease have been reported. The response of 93 different tomato cultivars growing in the Mediterranean region of Turkey was examined and seven cultivars showed resistance against *P. syringae* pv. *tomato*. Six of these cultivars included Atalay, Party, Petrus, Piccadilly, Prensens and they had the *Pto* gene, which encodes proteins related to resistance against the disease. Overall, based on the findings of this study, hybrid cultivars of Hyb. 1585, Hyb. Superset, King stone, Hyb. Bellariva and Hyb. Firenze, and non-hybrid cultivar Super Chef showed higher resistance to tomato bacterial speck disease in compare to other studied cultivars.

1- M.Sc. Student, Department of Plant Protection, Faculty of Agriculture, Urmia University, Urmia, Iran

2- Assistant Professor, Iranian Research Institute of Plant Protection, Agricultural Research, Education and Extension Organization (AREEO), Tehran, Iran

(*- Corresponding Author Email: ma_khezri@yahoo.com)

DOI: 10.22067/JPP.2021.67720.1000

Conclusion: According to the results of this study, the resistance to this pathogen depends on various genetic and physiological factors, as well as plant-pathogen interactions. Application of different disease indexes in evaluating the cultivars reaction to diseases is recommended which can be effective in the final decisions for diseases management.

Keywords: AUDPC, *Pseudomonas syringae* pv. *tomato*, Resistance cultivars, Tomato