

## بررسی تنوع بیماری‌زایی جدایه‌های مختلف *Verticillium dahliae* Kleb. و ارزیابی مقاومت برخی ارقام بادمجان نسبت به آنها

### Study on pathogenicity variation of the different isolates of *Verticillium dahliae* Kleb. and evaluating the resistance of the several eggplant cultivars to them

سحر تاری<sup>۱</sup>، مژده ملکی<sup>۲\*</sup> و داریوش شهریاری<sup>۳</sup>

دریافت: ۱۳۹۳/۱۰/۲۵

پذیرش: ۱۳۹۴/۲/۲۰

#### چکیده

بادمجان *Solanum elongata* L. از گروه سبزیجات میوه‌ای است که در نواحی گرم و استوایی رشد می‌کند. این گیاه همواره مورد حمله عوامل مختلف بیماری‌زا به ویژه قارچ عامل بیماری پژمردگی ورتیسیلیومی (*Verticillium dahliae*) قرار دارد. این بیماری با کاهش عملکرد تا ۵۰٪ و تقلیل کیفیت میوه، از مهم‌ترین بیماری‌های خسارت‌زای بادمجان محسوب می‌شود. کنترل بیماری با استفاده از قارچ‌کش‌ها موفقیت چندانی نداشته است، از این رو، در این تحقیق مقاومت ارقام مختلف بادمجان نسبت به این بیماری بررسی شد. بدین منظور ابتدا جدایه‌های این قارچ از مناطق مختلف کشت بادمجان در استان‌های تهران و البرز از آوند چوبی گیاه جداسازی شد و پس از خالص‌سازی و اثبات بیماری‌زایی، ۱۵ جدایه به دست آمده از نظر توان بیماری‌زایی به روش غوطه‌ور کردن ریشه رقم حساس ورامینی در سوسپانسیون اسپور با غلظت  $10^6$  اسپور در میلی‌لیتر مورد بررسی قرار گرفتند. شدت شاخص بیماری پس از پنج هفته بر اساس مقیاس یک تا هفت محاسبه گردید. بر اساس نتایج، جدایه V-E-Km-2 به دست آمده از نمونه گیاهی یا نمونه خاک آلوده در شهر در محمدشهر کرج با ۹۲ درصد آلودگی به عنوان مؤثرترین جدایه از لحاظ بیماری‌زایی شناسایی گردید. در مرحله ارزیابی مقاومت ارقام مختلف ریشه، ۱۴ رقم بادمجان متداول کشت و ارقام در دست معرفی همانند روش اثبات بیماری‌زایی، با اسپور قارچ مایه‌زنی شدند. آماربرداری از علائم بیماری ۳۵ روز بعد از آلوده‌سازی مورد ارزیابی قرار گرفت. نتایج حاصله از تجزیه واریانس داده‌ها نشان داد تیمارها در سطح ۱٪ با هم اختلاف معنی‌داری دارند. بررسی میانگین‌ها و ارزیابی مقاومت ارقام بادمجان به بیماری پژمردگی ورتیسیلیومی نشان داد هفت رقم پاسارگاد، Volentala، هیبرید آرو، Sohrab، Lady، یک بیوتی (۱) و Minabella در گروه متحمل (T) در دامنه ۳۱/۵ تا ۴۹/۷ درصد شاخص بیماری قرار گرفتند. در ادامه این تحقیق، انجام بررسی‌های تکمیلی در شرایط مزرعه جهت معرفی ارقام متحمل برای کشت در کشور ضروری است.

واژگان کلیدی: *Verticillium dahliae*، ارقام، بادمجان، مقاومت

۱ و ۲- به ترتیب دانشجوی سابق کارشناسی‌ارشد بیماری‌شناسی گیاهی و استادیار گروه گیاه‌پزشکی، دانشگاه آزاد اسلامی واحد ورامین- پیشوا، ورامین

۳- استادیار بخش تحقیقات گیاه‌پزشکی، مرکز تحقیقات و آموزش کشاورزی و منابع طبیعی استان تهران، سازمان تحقیقات، آموزش و ترویج

کشاورزی، ورامین، ایران.

مسئول مکاتبات: mojdehmaleki@gmail.com

## مقدمه

بادمجان *Solanum melongena* L. که به عنوان یک غذا در سراسر دنیا استفاده می‌شود از گروه سبزیجات میوه‌ای بوده و در نواحی گرم و استوایی به خوبی رشد می‌کند. سطح زیر کشت این گیاه در ایران بالغ بر ۳۰ هزار هکتار با عملکرد بیش از ۳۰ تن در هکتار می‌باشد (پیوست، ۱۳۸۸). پژمردگی ورتیسلیومی یکی از بیماری‌های مخرب بادمجان است که به وسیله *Verticillium dahliae* ایجاد می‌شود. میزان خسارت بیماری بالغ بر ۵۰٪ گزارش شده است به ویژه هنگامی که بیماری در اوایل فصل روی ارقام حساس ظاهر گردد (Sherf and MacNab, 1986). عامل این بیماری مخرب گونه *V. dahliae* است که از گروه قارچ‌های ناقص بوده و از سطح ریشه به سمت سیستم آوندی حرکت کرده و سبب انسداد آوندهای چوبی می‌شود (Wang et al., 2005). قارچ عامل بیماری جز عوامل خاکزاد (soil borne) و یک چرخه (monocyclic) است و از نظر فعالیت زیستی سه دوره استراحتی، پارزیتی و مرحله ساپروفیتی دارد (Hilloks, 1992). از نظر دمایی *V. dahliae* در دماهای بالای ۳۰ درجه سلیسیوس نیز رشد می‌کند (Issac, 1967). بادمجان و گیاهان دیگر در تمام مراحل رشد خود به این بیماری حساس هستند ولی علائم بیماری و بیش‌ترین خسارت در زمان میوه‌دهی مشاهده می‌شود. در ابتدای بیماری تعدادی از برگ‌های پایینی بوته به رنگ زرد و پژمرده ظاهر می‌شوند. در اوایل بیماری فقط حاشیه برگ‌ها و سپس تمام برگ‌های مبتلا پیچ خورده خشک شده و از گیاه جدا می‌شوند. گیاهانی که کوتوله مانده، میوه‌های کوچک و نامرغوب تولید می‌کنند. در داخل میوه‌های مبتلا ممکن است نوارهای سیاه دیده شوند که نشان دهنده فساد بافت آوند است. اگر ریشه و ساقه مبتلا به طور عرضی برش داده شوند بسته شدن آوندها به رنگ قهوه‌ای دیده می‌شوند (الهی‌نیا، ۱۳۹۰). *V. dahliae* در خاک به صورت ریز سختینه زمستان‌گذرانی می‌کند که می‌تواند تا ۳۰ سال در خاک پایدار بماند (Agris, 2005).

کنترل پژمردگی ورتیسلیومی به واسطه وجود ریز سختینه‌ها در خاک، قدرت بیماری‌زایی و دوام طولانی و همچنین گسترده‌ی دامنه میزبانی بسیار مشکل است. کاشت گیاهان عاری از بیماری در خاک سالم و بدون قارچ، استفاده از ارقام مقاوم به بیماری و پرهیز از کشت گیاهان حساس در زمین‌هایی که گیاهان تیره بادمجانیان قبلاً در آن زمین‌ها به صورت متوالی کشت می‌شده است، توصیه می‌شود. در بررسی‌های گروگان و همکاران (Grogan et al., 1979) جدایه‌های *V. dahliae* به دست آمده از مزارع گوجه فرنگی کالیفرنیا، مشخص شد که ۴۷ درصد از کل جدایه‌ها (۱۲۴ جدایه) مربوط به نژاد ۲ و ۴۲ درصد مربوط به نژاد ۱ و بقیه غیر بیماری‌زا بوده‌اند و نژاد ۱ دارای قدرت بیماری‌زایی بالاتری نسبت به نژاد ۲ بوده و ارقام فاقد ژن مقاومت به ورتیسلیوم (Ve)، به سرعت توسط این نژاد آلوده شده‌اند؛ به طوری که درصد وقوع بیماری نژاد ۱ روی ارقام مقاوم در شرایط مزرعه ۱۰۰ درصد بوده است (Grogan et al., 1979). بررسی‌های هیملیک (Himelick, 1997) نشان می‌دهد جدایه‌های مختلف *V. dahliae* در بیماری‌زایی و دیگر خصوصیات متفاوتند، اگر چه بعضی از جدایه‌های *V. dahliae* دارای خصوصیات اختصاصی روی ارقام هستند ولی بیش‌تر آن‌ها دامنه وسیعی از گیاهان را آلوده می‌کنند. خاک‌های کشاورزی ممکن است در هر گرم بیش از ۱۰۰ میکرواسکلروت داشته باشند ولی ۵۰ تا ۶۰ میکرواسکلروت در هر گرم خاک برای ایجاد بیماری در ارقام حساسی مثل بادمجان، فلفل، سیب زمینی و گوجه فرنگی کافی است (Himelick, 1997).

نتایج تحقیقات انجام شده در چین روی ارزیابی مقاومت ارقام بادمجان نسبت به بیماری پژمردگی ورتیسلیومی نشان داد که از چهارده رقم بادمجان مورد بررسی، رقم LYian (LY)، با شاخص بیماری ۲۸/۷۵ به عنوان رقم با مقاومت متوسط (MR) و رقم Xian (XL) با درصد وقوع بیماری ۱۰۰ درصد به عنوان رقم حساس (S) و سایر ارقام با شاخص بیماری بین ۳۵ تا ۵۸/۷۵ در گروه محتمل (T) و یا حساسیت متوسط (MS) طبقه‌بندی شدند. در این مطالعه رابطه شاخص فیزیولوژیکی (فعالیت‌های مرتبط با آنزیم‌های مقاومت) و مواد شیمیایی موجود در برگ با مقاومت ارقام بادمجان به پژمردگی ورتیسلیومی ارزیابی شدند. نتایج تحقیقات نشان داد که همبستگی فعالیت مواد فنلی مثل پلی‌فنل

اکسیداز (PPO) و فنیل آلانین آمینولیز (PAL) با مقاومت مثبت بوده، همچنین همبستگی مثبت فعالیت پراکسیداز (POD) و کل ترکیبات کلروفیل با مقاومت گزارش شد (Zhou *et al.*, 2012). با توجه به اهمیت بیماری و عدم تحقیقات مدون در کشور اجرای این پروژه برای شناسایی جدایه‌های با شدت بیماری‌زایی بالا و دستیابی به ارقام مقاوم یا متحمل ضروری به نظر می‌رسد.

## مواد و روش‌ها

### جمع‌آوری، جداسازی و خالص‌سازی قارچ

بدین منظور از مزارع مختلف بادمجان در منطقه شهرستان ورامین بازدید به عمل آمد و بوته‌هایی که دارای علائم پژمردگی در برگ‌ها و همچنین نکروز قهوه‌ای در آوند چوبی بودند، جمع‌آوری شدند. نمونه‌ها درون کیسه‌های پاکتی قرار داده شده و سپس در آزمایشگاه بعد از کدگذاری، اقدام به جداسازی قارچ عامل بیماری گردید. برای جداسازی قارچ عامل بیماری، ابتدا قطعه‌هایی به طول پنج تا هفت سانتی‌متر از ساقه و شاخه‌های آلوده جدا گردید و سپس به مدت یک دقیقه در الکل اتیلیک ۹۷٪ قرار داده شد. قطعات شاخه فقط چند ثانیه روی شعله آتش قرار داده شد، سپس با اسکالپل، برش‌های طولی و نازک از آوند چوبی تهیه شد. برش‌های فوق روی محیط کشت Potato Dextrose Agar (PDA) و در دمای ۲۴ درجه سلسیوس قرار داده شد. چهار تا پنج روز پس از رشد پرگنه قارچ و اسپورزایی روی محیط کشت از تجمع اسپورها قطعه‌ای به قطر ۵ میلی‌متری برداشت شد و جهت تهیه سوسپانسیون، ۱۰ سی‌سی آب مقطر سترون به آن افزوده گردید. سپس به روش رقت‌های سریال یک میلی‌لیتر از آخرین رقت روی محیط آب-آگار (WA) ریخته شد و ۴۸ ساعت بعد اسپورهای جوانه‌زده از محیط جداسازی و هر اسپور جوانه‌زده به وسط تشتک پتری دربردارنده محیط کشت PDA قرار داده شد.

### اثبات بیماری‌زایی و شناسایی

به منظور تکثیر قارچ یک میلی‌لیتر از سوسپانسیون کنیدیوم روی محیط PDA پخش شد تا جمعیت زیادی از اسپور قارچ در سطح پتری تولید شود.

در بخش دیگر بذور رقم بادمجان حساس (ورامینی) به بیماری در سینی کشت حاوی پیت ماس استریل کاشته شدند. بعد از ظهور گیاهچه و در مرحله ۲ برگی گیاهچه‌ها همراه با بستر پیت ماس به مدت دو دقیقه در سوسپانسیون اسپور قارچ به نسبت  $10^6 \times 1-5$  قرار داده شد و سپس در خاک گلدان سترون به تعداد ۲ بوته در هر گلدان کاشته شد. بعد از ظهور علائم، عامل بیماری کشت شده، جداسازی و خالص‌سازی شد و سپس با قارچ اولیه مقایسه گردید. جهت شناسایی *V. dahliae* از مشخصات مرفولوژیک قارچ شامل کنیدیوفورها، دیواره‌ها، شکل کنیدیوم‌ها و همچنین شکل سختینه استفاده شد (Isaac, 1967).

### تعیین اختلاف بیماری‌زایی جدایه‌ها

در این روند از آزمایشات بعد از تاثیر بیماری‌زایی جدایه‌ها، قدرت بیماری‌زایی آن‌ها طبق روش اثبات بیماری‌زایی در شرایط گلخانه مورد آزمایش قرار گرفت. بر اساس علائم حاصله شدت شاخص بیماری طبق روش زیائو و لین (Xiao and Lin, 1995) به شرح جدول ۱ انجام شد.

جدول ۱- مشخصات علائم بیماری پژمردگی ورتیسلیومی بادمجان با مقیاس یک تا هفت (Xiao and Lin, 1995)

Table 1. Characteristics of eggplant *Verticillium* wilt symptoms based on seven numbered scale (Xiao and Lin, 1995)

نمره number	Symptoms	علائم
1	Intact or no symptoms	سالم یا بدون علائم
2	(1-20) percent of the leaves showed signs of necrosis.	(۱-۲۰) درصد برگها علائم نکروز را نشان دادند
3	(21-40) percent of the leaves showed signs of necrosis.	(۲۱-۴۰) درصد برگها علائم نکروز را نشان دادند
4	(41-60) percent of the leaves showed signs of necrosis.	(۴۱-۶۰) درصد برگها علائم نکروز را نشان دادند
5	(61-80) percent of the leaves showed signs of necrosis.	(۶۱-۸۰) درصد برگها علائم نکروز را نشان دادند
6	(81-100) percent of the leaves showed signs of necrosis.	(۸۱-۱۰۰) درصد برگها علائم نکروز را نشان دادند
7	Dead plant	گیاه مرده

و شاخص شدت بیماری DSI با استفاده از فرمول:  $DSI = \frac{\sum i x P_i}{i_{max} \times P_{total}} \times 100$

i= Disease-severity rate  
 P<sub>i</sub>= the number of plant in i rate (identical)  
 i<sub>max</sub>=Highest disease rate  
 P<sub>total</sub>=The total number of inoculated plants

i= نرخ شدت بیماری  
 P<sub>i</sub>= تعداد گیاهان با نرخ i (مشابه)  
 i<sub>max</sub>= بالاترین نرخ بیماری  
 P<sub>total</sub>= تعداد کل گیاهان مایه‌زنی شده

### ارزیابی واکنش ارقام مختلف بادمجان نسبت به مؤثرترین جدایه *V. dahliae* از لحاظ بیماری‌زایی

در این مرحله ۲۱ رقم بادمجان شامل ارقام تجاری از شرکت فلات ایران، فروشگاه‌های بذر و همچنین از بخش تحقیقات سبزی و صیفی مؤسسه تحقیقات اصلاح و تهیه نهال بذر تهیه شد.

بذور فوق ابتدا در کلراکس ۱۰٪ به مدت ۲ دقیقه ضدعفونی سطحی شدند و سپس در سینی کشت حاوی پیت ماس کاشته شدند. جهت تهیه زادمایه قارچ *V. dahliae* از کشت هفت روزه مؤثرترین جدایه از لحاظ بیماری‌زایی که در آزمایش قبل مشخص شده بود، سوسپانسیون اسپور تهیه و روی محیط کشت PDA ساخت شرکت Merck به میزان یک میلی‌لیتر در پتری نه سانتی‌متری پخش شد. ده روز بعد، روی سطح محیط کشت به میزان ۱۰ سی سی آب مقطر سترون ریخته شد؛ سپس، اسپورهای تولید شده در سطح محیط با اسکالپل به آب مقطر استریل منتقل شده و بعد از عبور از پارچه ملامل استریل با لام هموسایتومتر شمارش شدند. جمعیت اسپور قارچ به میزان  $10^6 \times 5-1$  اسپور در میلی‌لیتر به دست آمد و سپس ریشه گیاهچه‌های ارقام مختلف بادمجان در مرحله دو تا سه برگی به مدت پنج دقیقه در سوسپانسیون اسپور قرار داده شد. نشاءهای فوق به تعداد ۲ بوته در هر گلدان کاشته شدند. آزمایش در قالب طرح کاملاً تصادفی با ۴ تکرار در شرایط گلخانه در دمای ۲۲ تا ۲۵ درجه سلسیوس و رطوبت نسبی ۶۰ تا ۷۰ درصد با آبیاری منظم اجرا شد.

یادداشت‌برداری از علائم بیماری با ظهور پژمردگی و خشکیدگی در برگ‌ها پنج هفته بعد از مایه‌زنی صورت گرفت. در این مرحله شاخص شدت بیماری (DSI=Disease Severity Index) مطابق روش زیائو و لین (Xiao and Lin, 1995) محاسبه گردید. سپس ارزیابی مقاومت ارقام براساس روش زوهو و همکاران (Zhou et al., 2012) به شرح ذیل انجام شد:

R = شاخص بیماری کم تر یا مساوی ۱۵ باشد ( $DI \leq 15$ )

MR = شاخص بیماری بیش تر از ۱۵ و کم تر یا مساوی ۳۰ باشد  $15 < DI \leq 30$

T = شاخص بیماری بیش تر از ۳۰ و کم تر یا مساوی ۵۰ باشد  $30 < DI \leq 50$

MS = شاخص بیماری بیش تر از ۵۰ و کم تر یا مساوی ۷۰ باشد  $50 < DI \leq 70$

S = شاخص بیماری بیش تر یا مساوی ۷۰ باشد  $DI \geq 70$

در نهایت گیاهان از گلستان خارج و قسمت هوایی از ریشه جدا و هر یک به صورت جداگانه توزین شدند. نتایج به دست آمده از تجزیه و تحلیل داده های آماری و مقایسه میانگین ها با استفاده از نرم افزار SPSS بر اساس آزمون دانکن در سطح احتمال ۱٪ صورت گرفت.

## نتایج

### جداسازی عوامل قارچی از بوته های بادمجان آلوده به بیماری پژمردگی

در این مرحله، جدایه های قارچی به دست آمده از بوته های بادمجان با علائم زردی و نکروز بین رگبریگی و پژمردگی برگ ها و دارای تغییر رنگ بافت آوند چوبی مربوط به جنس *Verticillium* spp. با ۱۵ جدایه بر اساس منطقه جمع آوری کدگذاری شدند (جدول ۲).

جدول ۲- کد جدایه های قارچی به دست آمده از بوته های بادمجان آلوده به بیماری پژمردگی و مناطق نمونه برداری برای بوته های پژمرده

Table 2. Code of fungal isolates obtained from eggplants with *Verticillium* wilt symptoms and the locations related to sampling for wilted plants

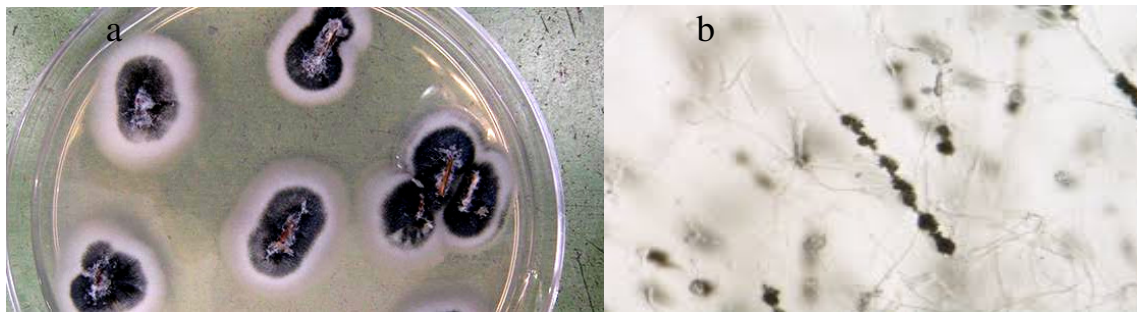
ردیف No.	محل نمونه برداری Sampling location			جنس جدایه قارچی	کد جدایه قارچی	
	شهرستان City	منطقه Region		The genus of fungal isolate	The code of fungal isolate	
1	Varamin	ورامین	Javadabad	جوادآباد	Verticilium	V-E-Vj-15
2	Varamin	ورامین	Javadabad	جوادآباد	Verticilium	V-E-Vj-21
3	Varamin	ورامین	Javadabad	جوادآباد	Verticilium	V-E-Vj-22
4	Varamin	ورامین	Javadabad	جوادآباد	Verticilium	V-E-Vj-12
5	Varamin	ورامین	ghalehsin	قلعه سین	Verticilium	V-E-Vg-1
6	Varamin	ورامین	Khaveh	خاوه	Verticilium	V-E-Vk-1
7	Varamin	ورامین	Varamin	ورامین	Verticilium	V-E-Vv-2
8	Pakdasht	پاکدشت	Puinak	پوئینک	Verticilium	V-E-Pp-1
9	Pishva	پیشوا	Jalilabad	جلیل آباد	Verticilium	V-E-Pj-2
10	Pishva	پیشوا	Pishva	پیشوا	Verticilium	V-E-Pp-4
11	Pishva	پیشوا	Sooran	شوران	Verticilium	V-E-Ps-1
12	Pishva	پیشوا	Pishva	پیشوا	Verticilium	V-E-Pp-5
13	Saveh	ساوه	Aveh	اوه	Verticilium	V-E-Sa-17
14	Karaj	کرج	Mohammadshahr	محمدشهر	Verticilium	V-E-Km-1
15	Karaj	کرج	Mohammadshahr	محمدشهر	Verticilium	V-E-Km-2

V-E-Vv-2 = این جدایه از گیاه پنبه به دست آمد.

V-E-Vv-2 = this isolates was obtained from cotton plant.

### شناسایی عوامل قارچی به‌دست آمده

شناسایی قارچ با استفاده از روش هیلوکس (Hillocks, 1992) بر اساس مشخصات ریخت‌شناسی و مرفولوژی کنیدیفور، فیامید، اسپور و سختینه به شرح ذیل صورت گرفت. پرگنه‌های موجود در محیط PDA، عموماً سیاه مایل به خاکستری با حاشیه سفید و بافت صاف، مسطح و میسلیم‌های کرکی بودند. (شکل ۱-ا). کنیدیوفورها با انشعابات فراهم (verticilliate)، کاملاً شفاف و کم و بیش افراشته با دو تا چهار فیالید (phialides) در هر گره می‌باشند. کنیدی‌ها در روی نوک فیالیدها تشکیل شده و شفاف، تخم مرغی شکل تا کشیده با طول  $2/5-2/5 \times 1/25-2/5$  میکرومتر می‌باشند. روی محیط PDA، این ریزسختینه‌ها، بر روی تک هیف‌های شفاف تشکیل شده، به رنگ قهوه‌ای تیره تا سیاه بوده و دارای شکل بسیار نامنظم، نیمه کروی تا کشیده با اندازه قطر ۱۷-۴۷ میکرومتر بودند. (شکل ۱-ب). مجموعه مشخصات قارچ بیمارگر با قارچ *Verticillium dahliae* مطابقت داشت و از این نظر جدایه‌های به‌دست آمده و به نام *V. dahliae* شناسایی شدند.



شکل ۱- پرگنه قارچ *V. dahliae* (a) روی محیط PDA (b) ریز سختینه

Fig. 1. The fungal colony of *Verticillium dahliae* (a) on PDA medium (b) microsclerotia

### آزمون اثبات بیماری‌زایی و تعیین مؤثرترین جدایه *V. dahliae* از لحاظ بیماری‌زایی

در این مرحله بعد از جداسازی، خالص‌سازی و تکثیر قارچ‌های به‌دست آمده که به تفکیک بر اساس نام منطقه کدگذاری شدند، روی گیاه بادمجان رقم ورامین (حساس به بیماری) اثبات بیماری‌زایی شدند. علائم بیماری سه تا چهار هفته بعد از مایه‌زنی با شروع زردی و پژمردگی برگ‌های پایینی مشاهده شد و با پیشرفت بیماری به سمت برگ‌های بالایی، پژمردگی در بوته‌ها از هفته پنجم به بعد اتفاق افتاد. در آوند چوبی این دسته از گیاهان، تغییر رنگ (قهوه‌ای شدن) به‌طور واضح دیده شد.

در این بخش از آزمایشات ۱۵ جدایه *V. dahliae* که اثبات بیماری‌زایی شده بودند روی رقم بادمجان ورامینی مایه‌زنی شدند. علائم همانند مرحله اثبات بیماری‌زایی ۳۵ روز بعد طبق روش زیانو و لین (۱۹۹۵) یادداشت‌برداری شدند و شاخص شدت بیماری محاسبه گردید. داده‌های به‌دست آمده با نرم افزار SPSS آنالیز و میانگین‌ها با آزمون دانکن در سطح ۱٪ مقایسه شدند. نتایج حاصله در این مرحله نشان داد تیمارها در سطح احتمال ۱ درصد اختلاف معنی‌داری دارند (جدول ۴). در بررسی مقایسه میانگین‌ها مشخص شد جدایه V-E-Km-2 کرج با بیش‌ترین شاخص شدت بیماری (۸۸/۵٪) در گروه a قرار گرفت و سپس جدایه دوم کرج V-E-Km-1 و جدایه ساوه در گروه‌های بعدی قرار گرفتند در حالی‌که جدایه‌های به‌دست آمده از پوئینک و جلیل‌آباد با کم‌ترین درصد شدت شاخص بیماری در گروه zj طبقه‌بندی شدند. جدایه‌های ورامین و پیشوا نیز با ۷۲/۷ و ۶۳/۷ درصد در میانه جدول قرار گرفتند. در این بررسی

جدایه به دست آمده از محمدشهر کرج (V-E-Km-2) که قوی ترین جدایه از لحاظ بیماری زایی بوده است، برای آزمایشات ارزیابی مقاومت ارقام بادمجان انتخاب گردید.

جدول ۳- تجزیه واریانس اثبات بیماری زایی جدایه های *V. dahliae* بر روی رقم حساس ورامینی

Table 3. Variance analysis of pathogenicity of *V. dahliae* isolates on Varamini susceptible cultivar

S.O.V	منابع تغییر	درجه آزادی df.	میانگین مربعات MS
Replication	تکرار	3	0.04
Treatment	تیمار	15	0.184
Error	خطا	45	0.011
CV(%)	ضریب تغییرات(%)		19.1

\*: اختلاف در سطح ۱٪ معنی دار است.

\*: Significant differences at 1% probability level.

جدول ۴- مقایسه میانگین های شاخص بیماری جدایه های *V. dahliae*

Table 4. Mean comparison of the disease severity index of the *V. dahliae* isolates

<i>Verticillium dahliae</i> جدایه های	میانگین شاخص شدت بیماری
<i>Verticillium dahliae</i> Isolates	disease severity index mean
V-E-Km-2	0.885 a
V-E-Km-1	0.832 ab
V-E-Sa-17	0.797 abc
VA-CO-29	0.745 abcd
V-E-Vj-15	0.727 abcde
V-E-Pp-4	0.6375 bcdef
V-E-Vj-21	0.585 cdefg
V-E-Vg-1	0.567 defgh
V-E-Vj-22	0.515 efghi
V-E-Vk-1	0.477 fghi
V-E-Ps-1	0.442 fghi
V-E-Pp-5	0.405 ghi
V-E-Vj-12	0.352 hij
V-E-Pj-2	0.332 ij
V-E-Pp-1	0.297 ij
check	0.14 j

\*: میانگین ها با حروف مشابه از نظر آماری تفاوت معنی دار ندارند.

\*: Treatments marked by the same letter (s) are not significantly different.

در بررسی مقایسه میانگین ها جدایه V-E-Km-2 جدا شده از کرج با شاخص شدت بیماری برابر با ۸۸/۵ درصد بیماری زاترین جدایه در بین ۱۵ جدایه مورد بررسی بوده است (جدول ۴).

### ارزیابی مقاومت ارقام بادمجان نسبت به مؤثرترین جدایه *V. dahliae* از لحاظ بیماری‌زایی

در این بخش از آزمایشات ارقام تجاری و کولتیوارها و لاین‌های گیاه بادمجان تهیه شده از موسسه اصلاح و تهیه نهال بذر (بخش تحقیقات سبزی و صیفی) از نظر شدت شاخص بیماری نسبت به جدایه V-E-Km-2 مورد ارزیابی قرار گرفت. نتایج حاصله از تجزیه واریانس داده‌ها نشان داد تیمارها در سطح ۱٪ اختلاف معنی‌داری با هم دارند. (جدول ۵).

جدول ۵- تجزیه واریانس وزن تر ریشه و اندام‌های هوایی ارقام بادمجان

Table 5. Variance analysis of fresh weight of root and shoot areas of eggplant varieties

S.O.V	منابع تغییر	درجه آزادی df.	MS		
			شاخص شدت بیماری Disease Severity Index (%)	وزن تر ریشه Root FreshWeight (gr)	وزن تر هوایی Shoot Fresh Weight (gr)
Replication	تکرار	3	0.001	0.072 <sup>ns</sup>	1.94 <sup>ns</sup>
Treatment	تیمار	15	0.2190**	23.5270**	205.6150**
Error	اشتباه	45	0.001	0.118	0.457
CV	ضریب تغییرات		6.97	11.97	6.97

\*\* اختلاف میانگین‌ها در سطح ۱٪ معنی‌دار و ns فاقد اختلاف معنی‌دار است.

\*\* Means comparison have significant differences at 1% probability level; ns: non-significant

جدول ۶- مقایسه میانگین‌های شاخص شدت بیماری، وزن تر قسمت هوایی و ریشه بادمجان در ارزیابی مقاومت ارقام مختلف بادمجان نسبت به *V. dahliae*

Table 6. The means comparison of disease severity index, root and shoot fresh weight of the eggplant varieties against *V. dahliae*.

ارقام بادمجان	Varieties	شاخص شدت بیماری Disease-severity index	وزن تر هوایی Shoot fresh weight	وزن تر ریشه Root fresh weight
یک بیوتی (۱)	Yek Beauty(1)	0.3325 fg	28.65 a	9.8a
یک بیوتی (۲)	Yek Beauty(2)	0.8150 bc	4.7 gh	1.87fgh
DAR665	DAR665	0.9025 ab	3.75 h	1.145hi
بادمجان قلمی-۲۴	Snake eggplant-24	0.9025 ab	3.75 h	0.83i
پاسارگاد	Pasargad	0.4975 e	6.9 f	1.355hi
Lady	Lady	0.3850 fg	10.65 d	2.95d
هیبرید آرو	Hybrid Arro	0.3850 fg	9.9 d	2.7de
Sohrab	Sohrab	0.3850 fg	18.8 c	6.95b
EP11025	EP11025	0.8325 abc	6.8 f	1.705gh
EP11028	EP11028	0.7975 c	8.5 e	2.085efg
Minabella	Minabella	0.3150 g	23.4 b	5.1c
پروسید هلند(۱)	Netherlands Proseed(1)	0.6050 d	10.05 d	2.45def
پروسید هلند(۲)	Netherlands Proseed(2)	0.6575 d	7 f	1.53ghi
Volentala	Volentala	0.4225 ef	10 d	2.95d
بادمجان جهرمی	Jahromi eggplant	0.8675 abc	6.85 f	1.5ghi
بادمجان ورامینی	Varamini eggplant	0.92 a	5.5 g	1.355ghi

\* میانگین‌ها با حروف مشابه از نظر آماری تفاوت معنی‌دار ندارند.

\* Treatments marked by the same letter (s) are not significantly different (P>0.01).



جدول ۷- رتبه بندی مقاومت ارقام مختلف بادمجان نسبت به *V. dahliae* بر اساس میانگین های درصد شدت بیماری  
 Table 7. Grading resistance of eggplant varieties to *V. dahliae* based on means of disease-severity percentage

ارقام	Varieties	درصد شدت بیماری disease-severity percentage	واکنش Response
بادمجان ورامینی	Varamini eggplant	92 a	S
DAR665	DAR665	90.2 ab	S
بادمجان قلمی-۲۴	Snake eggplant-24	90.2 ab	S
بادمجان جهرمی	Jahromi eggplant	86.7 abc	S
EP11025	EP11025	83.2 abc	S
یک بیوتی (۲)	Yek Beauty (2)	81.5 bc	S
EP11028	EP11028	79.7 c	S
پروسید هلند (۲)	Netherlands proseed	65.7 d	MS
پروسید هلند (۱)	Netherlands proseed	60.5 d	MS
پاسارگاد	Pasargad	49.7 e	T
Volentala	Volentala	42.2 ef	T
هیبرید آرو	Hybrid Arro	38.5 fg	T
Lady	Lady	38.5 fg	T
Sohrab	Sohrab	38.5 fg	T
یک بیوتی (۱)	Yek Beauty (1)	33.2 fg	T
Minabella	Minabella	31.5 g	T

\* میانگین ها با حروف مشابه از نظر آماری تفاوت معنی دار ندارند.

\* Treatments marked by the same letter (s) are not significantly different (P>0.01)

### بحث

با توجه به اینکه در سال های اخیر بیماری پژمردگی بادمجان در مناطق مختلف کشور و به خصوص در گلخانه ها گسترش زیادی پیدا کرده است، تحقیق در مورد بیماری زایی جدایه های مختلف عامل بیماری می تواند اطلاعات جدیدی از وضعیت بیماری زایی و جمعیت این قارچ ارائه نماید. با توجه به استفاده زارعین از ارقام جدید بادمجان که در سال های اخیر وارد کشور شده است و همچنین ارقام محلی ایرانی، ارزیابی مقاومت آن ها نسبت به جدایه های جدید لازم است تا حساسیت یا مقاومت آن در برابر این جدایه ها مشخص شود. در این تحقیق ابتدا به مناطق مختلف استان مراجعه شد و جمعاً ۱۵ جدایه به دست آمد که تحت نام *V. dahliae* اثبات بیماری زایی و شناسایی گردید و سپس اسپور جدایه ها روی رقم حساس ورامینی به منظور شناسایی جدایه ای با قدرت بیماری زایی بالا مایه زنی شد. در این بررسی جدایه های کرج بیشترین میزان بیماری زایی را نشان دادند. اگرچه در ایران هیچ تحقیقی در این مورد صورت نگرفته ولی با مطالعات انجام شده توسط گروگان و همکاران (۱۹۷۹) هماهنگی دارد. در بررسی جدایه های *V. dahliae* به دست آمده از مزارع گوجه فرنگی کالیفرنیا مشخص شد ۴۷ درصد جدایه (۱۲۴ جدایه) مربوط به نژاد ۲ و ۴۲ درصد مربوط به نژاد ۱ و بقیه غیر بیماری زا بودند و نژاد ۱ دارای قدرت بیماری زایی بالاتری نسبت به نژاد ۲ بود و ارقامی که فاقد ژن مقاومت به ورتیسیلیوم (Ve) بودند به سرعت توسط این نژاد آلوده شدند. بطوریکه درصد وقوع بیماری نژاد ۱ روی ارقام مقاوم در شرایط مزرعه ۱۰۰ درصد بوده است (Grogan et al., 1979). در بخش بعدی این پروژه، ارزیابی مقاومت ۱۴ رقم موجود در بازار در منطقه و ارقام تحت بررسی توسط موسسه تحقیقات با جدایه قوی V-E-Km-2 در شرایط گلخانه صورت گرفت، نتایج نشان داد ارقام مختلف واکنش های متفاوتی را در برابر قارچ عامل پژمردگی ورتیسیلومی دارند، به طوری که

هفت رقم کاملاً حساس شامل ارقام تحت کشت بادمجان ورامینی، بادمجان قلمی-۲۴، بادمجان جهرمی، یک بیوتی (۲) و ارقام تحت بررسی شامل EP11025، DAR665 و EP11028 دارای شدت بیماری بیش از ۷۰ درصد بودند. در حالی که رقم‌های پروسید هلند (۲و۱) در گروه نیمه حساس قرار گرفتند. هفت رقم بعدی مثل پاسارگاد، Volental، هیبرید آرو، Lady، Sohrab، یک بیوتی (۱) و Minabella در دامنه ۳۱/۵ تا ۴۹/۷۵ درصد قرار گرفتند و در گروه ارقام متحمل (T) طبقه‌بندی شدند. نتایج این بررسی‌ها هم با تحقیقات زوهو و همکاران (۲۰۱۲) که چهارده رقم بادمجان آلوده شده به *V. dahliae* را برای مقاومت به پژمردگی ورتیسیلیومی براساس وقوع بیماری DI و شاخص بیماری ID بررسی کردند مطابقت دارد. در این گزارش ارقام بادمجان به گروه‌های (R) مقاوم، (MR) مقاومت متوسط، (T) محتمل، (MS) حساسیت متوسط و (S) حساس طبقه‌بندی شدند و همچنین با تحقیقات اوبراین در سال ۱۹۸۳ که از تعداد ۴۷۳ لاین بادمجان جمع‌آوری شده از اروپا، آمریکا، آفریقا و آسیا (یک رقم از ایران) جهت ارزیابی مقاومت به *V. dahliae* به کار گرفته شده مشابهت دارد. در این بررسی ارقام 164458، 381160 و 381166 از هند و 320504 از کانادا و 286099 از آمریکا کم‌ترین حساسیت به بیماری را نشان دادند در حالی که ارقام Florida Market 468، Harris 468، Hibush و Harris Hybrid 77631 بیش‌ترین حساسیت به بیماری را داشتند و در این بین رقم ایرانی تحت شماره 251506 نیز با شاخص شدت بیماری ۳/۰۹ در گروه ارقام متحمل قرار گرفت (O'Brien, 1983). در تحقیقات هوالان و همکاران (Hualan et al., 2009) رقم بادمجان جمع‌آوری شده از استان سی‌چان در سال ۲۰۰۱ که برای ارزیابی به بیماری پژمردگی ورتیسیلیومی با سوسپانسیون اسپور قارچ مایه‌زنی کردند، ۱۰ رقم مانند OP 242-9، 41-1، R5-35 مقاوم، ۲۳ رقم مثل 68x47، Zizaoqie، 32-1 محتمل و بقیه را حساس ارزیابی کردند (Hualan et al., 2009). در تحقیقی که در ترکیه به منظور دستیابی به ارقام مقاوم یا متحمل به پژمردگی ورتیسیلیومی بادمجان در سال ۲۰۰۴ و ۲۰۰۵ روی ۱۴ رقم و لاین با دو گونه وحشی انجام شده فقط دو رقم مقاوم، یک رقم متحمل و بقیه حساس گزارش شدند (Basay et al., 2011). بررسی‌های فوق نیز مشابهت با نتایج به‌دست آمده در تحقیق حاضر دارد. با توجه به نتایج حاصله از این تحقیق، پیشنهاد می‌شود تحقیقات سراسری در کشور به منظور شناسایی سویه‌ها یا نژادهای احتمالی به روش‌های مرفولوژیکی و مولکولی صورت گیرد و همچنین بررسی‌های بیشتر برای یافتن ارقام مقاوم بادمجان به ویژه شناسایی ژن‌های موثر در مقاومت و انتقال آن به ارقام پر محصول توصیه می‌شود.

## References

## منابع

- الهی‌نیا، ع. ۱۳۹۰. بیماری‌های سبزی و صیفی و روش‌های مبارزه با آن‌ها. انتشارات دانشگاه گیلان. ۸۷ صفحه.
- پیوست، غ. ۱۳۸۸. سبزی‌کاری. چاپ پنجم، انتشارات دانش‌پذیر. ۲۱۴ صفحه.
- Agrios, G. N. 2005. Plant Pathology. 5<sup>th</sup> ed Elsevier Academic press. Vol.2. 678 pp.
- Basay, S., Senzi, V. and Tezcan, H. 2011. Reaction of eggplant cultivar and line to *Verticillium* wilt caused by *Verticillium dahliae* Kleb. African journal of Biotechnology 101(18): 3571-3573.
- Grogan, R. G., Ioannou, N., Schneider, R. W., Salt, M. A. and Kimble, K. A. 1979. *Verticillium* Wilt on Resistant Tomato Cultivars in California: Virulence of Isolates from Plants and Soil and Relationship of Inoculum Density to Disease Incidence. Phytopathology 69: 1176-1180
- Hilloks, R. J. 1992. Cotton Disease. C.A.B. International, Wallingford, UK.
- Himelick, E. B. 1997. *Verticillium* Wilt of Trees and Shrubs, Illinois Natural History Survey, RPD No. 1010.
- Hualan, Z., Pengsheng, Ye. and Lian, He. 2009. Resistance Evaluation of Eggplants Resources to *Verticillium* Wilt in Sichuan Province, Sichuan Academy of Agricultural Sciences, Jianyang (China), Industrial Crop Research Institute.
- Isaac, I. 1967. Speciation in *Verticillium*. Annual Review of phytopathology, 5: 201-222.
- O'Brien, M. J. 1983. Evaluation of Eggplant Accessions and cultivars for Resistance to *Verticillium* Wilt. Plant Disease 67: 763-764.

- Sherf, A. F. and MacNab, A. A. 1986.** Vegetable disease and their control. 2<sup>nd</sup> ed. John Wiley and Sons, New Yorke. 728 pp.
- Wang, R. H., Zhou, B. L., Zhang, F. L. and Zhang, Q. F. 2005.** Allelopathic effects of root extracts of eggplants on *Verticillium* wilt (*Verticillium dahliae*) Allelopathy Journal 15(1): 75-84.
- Xiao, Y. H. and Lin, B. Q. 1995.** The identification of eggplant germplasms' resistance to *Verticillium* wilt. China Vegetable 1:32-33. (In Chinese)
- Zhou, B., Chen, Z., Du, L., Ye, X. and Li, N. 2012.** Correlation between resistance of eggplant and defense-related enzymes and biochemical substances of leaves. African journal of Biotechnology 11(74): 13896-13902.