

## عملکرد سه رقم متحمل توتون هواخشک تحت تاثیر آلودگی به نماتد ریشه گرهی و عامل بیماری ساق سیاه در استان گلستان

مرضیه شازده احمدی<sup>1\*</sup>، سید افشین سجادی<sup>1</sup>

تاریخ دریافت: 95/4/5 تاریخ پذیرش: 95/9/17

### چکیده

مهمترین عوامل بیماری‌زای خاکزی توتون شامل قارچ‌های بیماری‌زای خاکزی و نماتدهای ریشه گرهی در تمام نقاط دنیا پراکنده بوده و موجب وارد آمدن خسارت اقتصادی فراوان به توتون می‌گردند. موثرترین روش مدیریت این عوامل بیماری‌زا، استفاده از ارقام مقاوم می‌باشد. این تحقیق به منظور عملکرد کمی و کیفی ارقام متحمل توتون هواخشک به نماتد ریشه گرهی و عامل بیماری ساق سیاه توتون جهت معرفی رقم برتر در شرایط آلودگی طبیعی مزرعه در استان گلستان طی سال‌های 1393-94 با چهار تیمار و سه تکرار اجرا شد. سه رقم متحمل توتون هواخشک، شامل Burley Geel 3، K17 و BCE به همراه بارلی 21 (به عنوان شاهد حساس) در کرت‌هایی به ابعاد 8 × 5 متر مربع در قالب طرح بلوک‌های کامل تصادفی به صورت کرت‌های جفت شده در مزرعه‌ای با شرایط آلودگی طبیعی در روستای والش‌آباد گرگان کشت شد. ارزیابی بیماری کرت‌ها از نظر آلودگی به قارچ عامل ساق سیاه توتون بر اساس روش ون جارسولد و همکاران با استفاده از شاخص 1 تا 5، به صورت هفتگی انجام شد. در چین‌های مختلف و در انتهای دوره رشد، صفات مورفولوژیک مانند طول، عرض و تعداد برگ و ارتفاع بوته اندازه‌گیری شد. ارزیابی مقاومت ارقام نسبت به نماتد ریشه‌گرهی بر اساس شاخص گال، تعداد توده تخم و متوسط تخم توده در انتهای فصل زراعی بر اساس نمره دهی 0-10 انجام شد. صفات زراعی، عملکردی و کیفی مهم اندازه‌گیری شدند. مقایسه میانگین صفات کیفی نشان داد که رقم BCE دارای بیشترین و رقم بارلی 21 دارای کمترین مقدار نیکوتین بود. رقم BCE دارای بیشترین و رقم K17 دارای کمترین میزان پتاسیم بود. از نظر مقدار ازت، رقم بارلی 21 دارای بیشترین و رقم Burley Geel3 دارای کمترین بود. نتایج حاصل از تجزیه واریانس داده‌ها نشان داد که واکنش ارقام به نماتد ریشه گرهی و عامل ساق سیاه توتون در سطح احتمال 1 یا 5 درصد به طور معنی دار متفاوت بود. از نظر همه صفات زراعی و عملکردی و شاخص‌های ارزیابی بیماری، رقم BCE به عنوان رقم برتر شناخته شده و کمترین میزان بیماری و درصد آلودگی را دارا بود، ولی رقم شاهد (Burley 21) پایین‌تر از سایر ارقام بوده و بیشترین درصد آلودگی را داشت.

واژه‌های کلیدی: توتون هواخشک، عوامل بیماری‌زای خاکزی، ارقام متحمل، عملکرد.

<sup>1</sup> مربی پژوهش، مرکز تحقیقات و آموزش توتون تیرتاش، بهشهر، مازندران، ایران.

\* نویسنده مسئول مکاتبات: noshinshazdeahmadi@Yahoo.com

## مقدمه

نظر به اهمیت اقتصادی گیاه توتون و نقشی که در افزایش درآمد سرانه ایفا می‌نماید، توجه به بالا بردن کمیت و کیفیت آن حائز اهمیت بسیار می‌باشد. توتون (*Nicotiana tabacum*) مانند سایر محصولات زراعی، مورد هجوم بسیاری از عوامل بیماری‌زا قرار می‌گیرد. قارچ‌های خاکزی بیماری‌زا و نماتد ریشه گرهی، از عوامل محدود کننده کشت توتون در تمام مناطق توتون‌کاری جهان بوده و در تمام مراحل رشد توتون خسارت وارد نموده و موجب از بین رفتن بوته‌ها در مزرعه می‌شوند (Lucas, 1975). مهمترین قارچ‌های خاکزی بیماری‌زای توتون در استان گلستان شامل *Rhizoctonia solani* (عامل بیماری شانکر یا زخم طوقه توتون)، *Phytophthora nicotianae* (عامل بیماری ساق سیاه توتون) و *Fusarium oxysporum* f.sp. *nicotianae* (عامل بیماری پژمردگی فوزاریومی توتون) می‌باشند که در این میان، شبه قارچ عامل ساق سیاه توتون از اهمیت بیشتری برخوردار است (Sajjadi et al., 2011). مدیریت بیماری‌های خاکزی مشکل است و کاربرد یک روش خاص، قادر به مهار موثر این بیماری‌ها نیست. برای مهار این عوامل بیماری‌زا، روش‌های مختلفی از جمله تناوب زراعی و از بین بردن بقایای گیاهی آلوده، سمپاشی با سموم قارچ‌کش و نماتدکش و استفاده از ارقام مقاوم توصیه شده است. خوشبختانه در سال‌های اخیر، ارقام متحمل به هر دو مورد از این عوامل خاکزی توتون در شرایط گلخانه‌ای و آزمایشگاهی یافت شده‌اند که برای تایید دقیق و نهایی مقاومت و یا تحمل آن‌ها به این عوامل بیماری‌زای خاکزی، بررسی واکنش مقاومت و نیز سازگاری و پایداری آن‌ها در شرایط آلودگی طبیعی مزرعه کاملاً ضروری می‌باشد (Sajjadi et al., 2012). عملکرد، کیفیت و مقاومت به عوامل بیماری‌زا از جمله فاکتورهای موثر و مهم در انتخاب ارقام مناسب برای کشت در هر منطقه می‌باشند. با توجه به اینکه عملکرد هر رقم توتون، بستگی به ظرفیت ژنتیکی و عکس‌العمل آن رقم در شرایط محیطی مختلف دارد، لازم است برای استفاده بهتر از این ارقام متحمل، با توجه به شرایط محیطی هر منطقه، ارقام برتر و مناسب‌تری که دارای عملکرد و کیفیت بالاتر و سازگاری و تحمل بهتری نسبت به این عوامل بیماری‌زا هستند، مشخص و معرفی گردند (Abdel-Momen et al., 1998). تحقیقات انجام گرفته در زمینه تولید و استفاده از واریته‌های زراعی مقاوم به عوامل بیماری‌زای خاکزی، منجر به بهبود عملکرد محصول توتون شده است. در تحقیقی، مقاومت 10 رقم توتون تیپ گرمخانه‌ای به نماتد ریشه گرهی در قالب طرح بلوک‌های کامل تصادفی بررسی شد. ارقام Coker 258، R30، Virginia E1، Coker347، Spiegth G-28 و N2 مقاوم بودند و شاخص گال 1/6 تا 2 نشان دادند. ارقام Mac Nair944، Coker319، Coker411 و Perega حساس بوده و آلودگی 4/2 تا 5 نشان دادند. ارقام مقاوم ژن‌های غالب مقاومت به نماتد داشته و ارقام حساس ژن‌های مغلوب داشتند. بنابراین مقاومت به نماتد ریشه گرهی توتون توسط ژن‌های غالب و حساسیت با ژن‌های مغلوب به ارث می‌رسد (Honarnejad, 2000). حسینی و همکاران با بررسی واکنش توتون تیپ بارلی به نماتد ریشه گرهی، سه رقم K17، KY9 و بارلی ارومیه 3 به عنوان ارقام مقاوم و ارقام Ergo و Burley TMV4 به عنوان ارقامی که در بین ارقام مورد بررسی، حساسیت بیشتری به این نماتد داشتند معرفی کردند (Hosseini et al., 2010). سجادی و همکاران در طرحی که در گلخانه مرکز تحقیقات و آموزش تیرتاش انجام دادند، واکنش توتون گرمخانه‌ای و هواخشک به قارچ‌های خاکزی بیماری‌زا و نماتد ریشه

گرهی بررسی نمودند و ارقام Bel 61-10، NC 100، بارلی ارومیه 3 و HB 4105P به قارچ‌های خاکزی بیماری‌زا و نماتد ریشه گرهی مقاوم و ارقام Ergo، Speight G-28 و Burley 21 را حساس به قارچ‌های خاکزی بیماری‌زا و نماتد ریشه گرهی معرفی کردند (Sajjadi et al., 2012). پاول و همکاران گزارش کردند که اثر متقابل نماتد ریشه گرهی توتون و بیماری‌های ناشی از پیتیوم موجب افزایش خسارت توتون در رقم C319 نسبت به زمانیکه هر کدام از عوامل بیماری‌زا به تنهایی حضور داشته باشند می‌شوند (Powell et al., 1971). جانسون و رد گزارش کردند که از سال 1996 با انتقال یک ژن (Php) از *Nicotiana plumbaginifolia* به تعدادی از ارقام تجاری توتون هواخشک و گرمخانه‌ای موجب مقاومت به نژاد 0 و 3 عامل ساق سیاه و نماتد کیست توتون شدند (Johnson and Reed, 2010). پاول در تحقیقی، اثرات متقابل بین نماتدها و قارچ‌ها را در بیماری‌زایی توتون بررسی نموده و گزارش کرد که بافت‌های ریشه توتون آلوده به نماتد برای رشد قارچ‌های خاکزی بسیار مساعد است و ریشه‌های قارچ به سرعت در میان گال‌های نماتد رشد می‌کنند و باعث انتشار بیماری می‌گردند (Powell, 1971). کولین و پاول تحقیقی در مورد بروز همزمان بیماری‌های ساق‌زخم و نماتد ریشه گرهی انجام دادند و دریافتند که ریشه‌های گیاه توتون 10 تا 21 روز پس از آلودگی به نماتد در خاک، نسبت به آلودگی با *R. solani* بسیار مستعد هستند، نسبت به زمانیکه هر کدام از این عوامل به تنهایی در خاک وجود داشته باشند، زیرا این عوامل بیماری‌زا در خاک اثرات افزایش‌دهنده با همدیگر ایجاد کرده و باعث آلودگی‌های توأم می‌گردند. آن‌ها بیان کردند که استفاده از تناوب زراعی باعث کاهش خسارات ناشی از قارچ‌های خاکزی و نماتدها می‌گردد (Colin and Powell, 1971). مای و ابوی اثرات متقابل بین نماتدهای ریشه گرهی و قارچ عامل پژمردگی فوزاریومی را در گیاهان میزبان بررسی نموده و گزارش کردند که تحت شرایط طبیعی مزرعه، ریشه‌های گیاهان به طور دائم در معرض بسیاری از میکروارگانسیم‌های خاک قرار می‌گیرند. وجود رطوبت زیاد در ناحیه محیط ریشه، در فعالیت نماتدها و قارچ‌های خاکزی بیماری‌زا در گیاهان موثر بوده و اکثر بیماری‌های ریشه گیاهان، به صورت کمپلکس هستند و توسط مجموعه‌ای از میکروارگانسیم‌های خاکزی به صورت ترکیبی بروز می‌کنند (Mai and Abawi, 1987). به منظور بررسی و شناسایی گونه‌ها و نژادهای نماتد مولد غده ریشه مزارع توتون در استان گلستان، سجادی و همکاران، طی فصول زراعی 1387-1388 در چندین مرحله، 244 نمونه خاک و ریشه از مزارع توتون در کلیه مناطق استان گلستان جمع‌آوری کردند. شناسایی گونه‌های جنس *Meloidogyne* انجام شد و در نتیجه چهار گونه *M. arenaria*، *M. javanica*، *M. incognita* Race 2 و *M. hapla* شناسایی شدند که نژاد 2 گونه *M. incognita* بیشترین فراوانی (81/9%) را داشت و به عنوان گونه و نژاد غالب نماتد در استان گلستان معرفی شد که موجب کوتولگی و کاهش شدید محصول می‌شود (Sajjadi et al., 2014). تاکنون پژوهشی به منظور شناسایی و معرفی رقم برتر توتون متحمل به عامل بیماری ساق سیاه و نماتد ریشه گرهی در شرایط آلودگی طبیعی مزرعه انجام نشده است. هدف از اجرای این تحقیق، ارزیابی عملکرد کمی و کیفی ارقام متحمل توتون هواخشک به نماتد ریشه گرهی و قارچ عامل بیماری ساق سیاه توتون در استان گلستان بود.

## مواد و روش ها

این آزمایش در قالب طرح بلوک‌های کامل تصادفی و به صورت کرت‌های جفت شده با چهار تیمار و سه تکرار طی دو سال زراعی 1393-94 در مزرعه‌ای با شرایط آلودگی طبیعی در استان گلستان - روستای والش آباد گرگان در کرت‌هایی به ابعاد 5×8 متر مربع اجرا شد. والش آباد دارای طول جغرافیایی "32/6' 51° 36" و عرض جغرافیایی "19/4' 37° 54" و متوسط ارتفاع از سطح دریا 116 متر است. در هر دو سال زراعی اجرای این پژوهش، کلیه شرایط و ارقام مورد آزمایش، عملیات زراعی و بررسی صفات انجام گرفته یکسان در نظر گرفته شد تا سازگاری و پایداری ارقام و گزینش رقم برتر متحمل در شرایط آلودگی طبیعی در مزرعه کاملاً میسر گردد. تیمارهای آزمایشی شامل ارقام متحمل توتون تیپ هواخشک به نام‌های K17، Burley Geel 3، BCE، Burley 21 و (به عنوان شاهد) بود. این ارقام متحمل بر اساس نتایج آزمایش‌های اولیه گلخانه‌ای اجرا شده در سال‌های قبل توسط محققین مرکز تحقیقات و آموزش توتون تیرتاش، انتخاب شدند. بذریاشی در اوایل اسفند ماه انجام و نشاها به روش خزانه شناور تهیه گردیدند. بعد از مراقبت‌های زراعی، در اوایل خرداد ماه و بعد از آماده سازی زمین اصلی، نشاها به زمین اصلی انتقال داده شدند و نشاکاری ارقام انجام شد. فاصله ردیف‌ها 40 سانتی‌متر و فاصله بوته‌ها 20 سانتی‌متر از یکدیگر در نظر گرفته شد. کود مصرفی مورد نیاز پتاسیم، فسفر و نیتروژن بود که به ترتیب به میزان 5، 10 و 5 کیلوگرم به ازای 1000 مترمربع زمین و همزمان با نشاکاری به زمین اصلی داده شد. مقدار 10 کیلوگرم از کود ازته، چهل روز بعد از نشاکاری و در مرحله رشد سریع گیاه به صورت سرک داده شد. کلیه عملیات زراعی از قبیل آبیاری، مبارزه با علف‌های هرز، مبارزه با آفات، وجین، کوددهی، سرزنی طبق توصیه کارشناسان مرکز تحقیقات و آموزش تیرتاش انجام شد (جدول 1).

جدول 1- تاریخ و شرح عملیات زراعی انجام گرفته در مزرعه توتون مورد آزمایش

| شرح عملیات  | تاریخ عملیات                                      | ردیف |
|---|---|------|
| آماده‌سازی زمین و کرت بندی                                  | 1 خرداد   | 1    |
| نشاکاری   | 10 خرداد  | 2    |
| واکاری  | 17 خرداد  | 3    |
| کوددهی (مرحله اول)  | 18 خرداد  | 4    |
| خاک دهی پای بوته و وجین                                     | 27 خرداد  | 5    |
| آبیاری  | 18 خرداد، 10 تیر، 1 مرداد                         | 6    |
| سرزنی و محلول پاشی با سم پرایم پلاس                         | 30 مرداد  | 7    |
| کود سرک (مرحله دوم)   | 30 تیر  | 8    |
| سمپاشی علیه شته و آفات                                      | 23 تیر  | 9    |
| ارزیابی بیماری و شمارش تعداد بوته‌های آلوده                 | به صورت هفتگی (از اوایل نشاکاری تا آخر فصل زراعی) | 10   |
| برداشت برگ سبز  | 24 مرداد، 14 شهریور، 4 مهر، 6 آبان                | 11   |
| درآوردن ریشه‌های آلوده به نماتد و انتقال آن‌ها به آزمایشگاه | 10 آبان   | 12   |

قبل از نشاکاری از هر کرت نمونه‌برداری خاک انجام شد تا جمعیت اولیه نماتد در خاک شمارش شود. همچنین برای ارزیابی مقاومت بوته‌ها به قارچ عامل بیماری ساق سیاه توتون، در حدود یک ماه پس از نشاکاری، عملیات شمارش تعداد بوته‌های آلوده و سالم در هر کرت، بر اساس روش ون جارسولد و همکاران به صورت هفتگی انجام و ثبت شد (جدول 2).

جدول 2- ارزیابی بیماری ساق سیاه توتون بر اساس روش ون جارسولد و همکاران (Van Jaarsveld *et al.*, 2003)

| درجه بیماری | علائم                                  |
|-------------|--|
| 1           | بوته سالم                              |
| 2           | برگ‌های پایین بوته زرد رنگ             |
| 3           | برگ‌های پایین و میانه بوته زرد رنگ     |
| 4           | کل برگ‌های بوته زرد رنگ و ساقه قهوه ای |
| 5           | مرگ بوته                               |

در انتهای فصل زراعی هم زمان با ارزیابی بیماری، نمونه از بافت آلوده بوته‌های بیمار در هر کرت، در محیط کشت اختصاصی CMA-PARPH کشت داده شد تا از وجود قارچ عامل بیماری ساق سیاه در بوته‌های آلوده توتون اطمینان حاصل شود. بعد از شناسایی قارچ عامل بیماری، تهیه مایه تلقیح و اثبات بیماری‌زایی روی رقم Burley 21 در گلخانه مرکز تحقیقات و آموزش تیرتاش انجام شد. همچنین جهت ارزیابی مقاومت این ارقام به نماتد ریشه گرهی، در انتهای فصل زراعی و پس از برداشت کلیه چین‌ها، بوته‌های توتون به آرامی از خاک خارج شده (ده بوته از هر کرت) و ریشه‌ها شستشو و از نظر شاخص گال، تعداد توده تخم و تعداد تخم در هر توده ارزیابی شد. ارزیابی بر اساس شاخص گال با مقیاس 0-10 انجام شد (Zeck, 1971) (جدول 3).

برای شمارش توده‌های تخم، ریشه‌ها به قطعات 3-4 سانتی متری تقسیم شده و پنج گرم از آن انتخاب و در زیر بینوکولر شمارش گردید و با توجه به وزن ریشه تعداد کل توده ریشه محاسبه گردید. برای محاسبه تعداد تخم‌های نماتد، قطعات ریشه درون ارلن حاوی هیپوکلریت سدیم 0/5 درصد ریخته و به مدت 4-5 دقیقه به سرعت تکان داده شد. بعد محتوی ارلن را روی الک‌های 200 و 500 مش ریخته و پس از شستشو با آب، محتویات الک 500 مش را به ارلن 250 میلی لیتری منتقل و تعداد تخم‌ها در یک میلی لیتر از سوسپانسیون در 3 نوبت در زیر میکروسکوپ شمارش گردید. تعیین گونه نماتد با استفاده از الگوی انتهای بدن نماتد ماده<sup>1</sup> انجام گردید (Vovlas *et al.*, 2004). به این صورت که حداقل ده غده بطور تصادفی انتخاب شد پس از خارج کردن نماتدهای ماده بالغ از گال، درون یک قطره اسید لاکتیک 45% روی طلق قرار داده و برش‌های لازم تهیه گردید. سپس قطعه برش داده شده انتهای بدن به یک قطره گلیسرین انتقال داده شد و در زیر میکروسکوپ مطالعه برای شناسایی در سطح گونه صورت گرفت (Vovlas *et al.* 2005). برای تعیین نژاد، از روش Taylor and Sasser (1978) استفاده شد. محاسبه فاکتور تولید مثل طبق فرمول  $RF = Pf/Pi$  انجام شد (Vovlas *et al.*, 2004) که در آن RF فاکتور تولید مثل، Pf

<sup>1</sup> - Perineal pattern

جمعیت نهایی و  $Pi$  جمعیت اولیه است. جمعیت نهایی مجموع جمعیت نماتد در خاک و ریشه است که استخراج نماتدها از خاک با استفاده از روش جنکینز (Jenkins, 1964) و از ریشه توسط روش کولن (Coolen, 1979) انجام شد. در طول دوره رشد، ثبت صفات مهم زراعی از قبیل طول برگ، عرض برگ، تعداد برگ، ارتفاع بوته و صفات عملکردی و کیفی از قبیل عملکرد برگ سبز و خشک (برگ عمل آوری شده)، قیمت هر کیلوگرم وزن خشک، درآمد ریالی در هکتار، درصد قند و نیکوتین انجام شد. به منظور یکنواخت کردن صفات مورد ارزیابی مقاومت ارقام توتون، داده‌های بدست آمده با روش درجه‌بندی یا نمره‌دهی به کمک توزیع نرمال به شاخص‌های مقاومت تبدیل شدند. در این روش میانگین  $\bar{X}$  و انحراف معیار  $Sd$  هر صفت به طور جداگانه محاسبه گردید و سپس به ارقامی که شاخص مقاومت آن‌ها در دامنه  $R \geq \bar{X} + Sd$ ،  $\bar{X} \leq R \leq \bar{X} + Sd$  و  $\bar{X} - Sd \leq R \leq \bar{X}$  قرار داشتند، به ترتیب رتبه‌های 8، 6، 4 و 2 داده شد که رتبه کوچک‌تر بیانگر مقاومت بیشتر است. میانگین رتبه‌های به دست آمده برای نمره گال، درجه بیماری و فاکتور تولیدمثل به عنوان رتبه‌ی کل و شاخص مقاومت کل در نظر گرفته شد. ارقام توتونی که میانگین شاخص‌های مقاومت کل آنها 2-3/5 و 3/5-5 و 5-6/5 و 6/5-8 بودند به ترتیب در گروه مقاوم، نیمه مقاوم، نیمه حساس و حساس قرار گرفتند (Zali and Jafari, 1990).

جدول 3- شاخص ارزیابی آلودگی ریشه‌های توتون به نماتد مولد گره ریشه

| مقیاس | درصد آلودگی         |
|-------|---------------------|
| 0     | ریشه بدون گره       |
| 1     | 10% ریشه دارای گره  |
| 2     | 20% ریشه دارای گره  |
| 3     | 30% ریشه دارای گره  |
| 4     | 40% ریشه دارای گره  |
| 5     | 50% ریشه دارای گره  |
| 6     | 60% ریشه دارای گره  |
| 7     | 70% ریشه دارای گره  |
| 8     | 80% ریشه دارای گره  |
| 9     | 90% ریشه دارای گره  |
| 10    | 100% ریشه دارای گره |

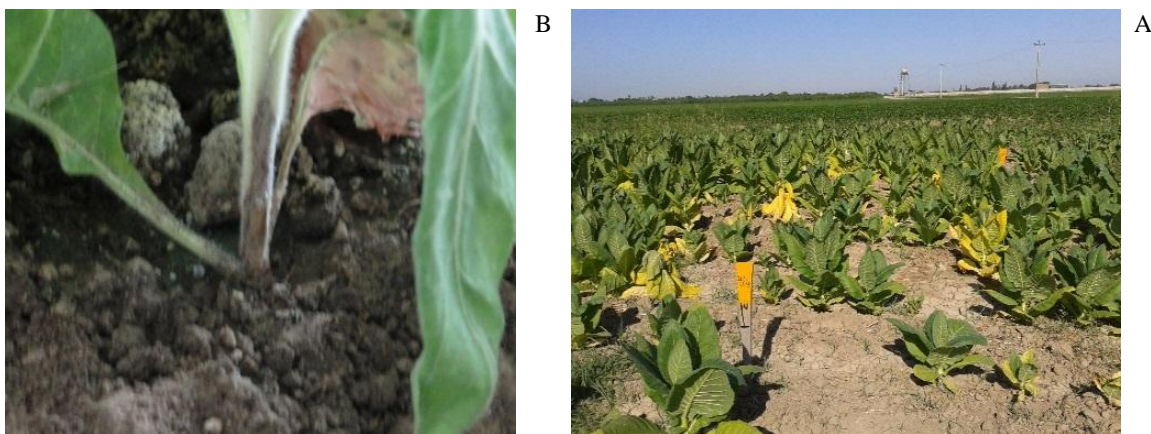
برگ‌های سبز توتون تیمارهای مختلف بر اساس زمان رسیدگی در چهار چین مختلف برداشت شدند. عملیات سوزن‌زنی و نخ‌کشی برگ‌ها به منظور عمل‌آوری آن‌ها به روش هواخشک بلافاصله پس از برداشت هر چین انجام شد. عملیات جور و دسته‌بندی و پس از آن ارزیابی و قیمت‌گذاری صورت گرفت و عملکرد وزن سبز و خشک، متوسط قیمت توتون و درآمد ناخالص ریالی در هکتار محاسبه شدند. از توتون‌های چین سوم هر کرت، جهت

اندازه‌گیری فاکتورهای کیفی از قبیل درصد قند، نیکوتین، ازت کل و پتاسیم نمونه برگ تهیه شده و به آزمایشگاه شیمی مرکز ارسال شدند. داده‌های جمع‌آوری شده در محیط نرم افزار Excel مرتب شده و سپس توسط نرم افزار SAS تجزیه آماری شده و مقایسه میانگین‌ها با آزمون دانکن در سطح 5% انجام گرفت.

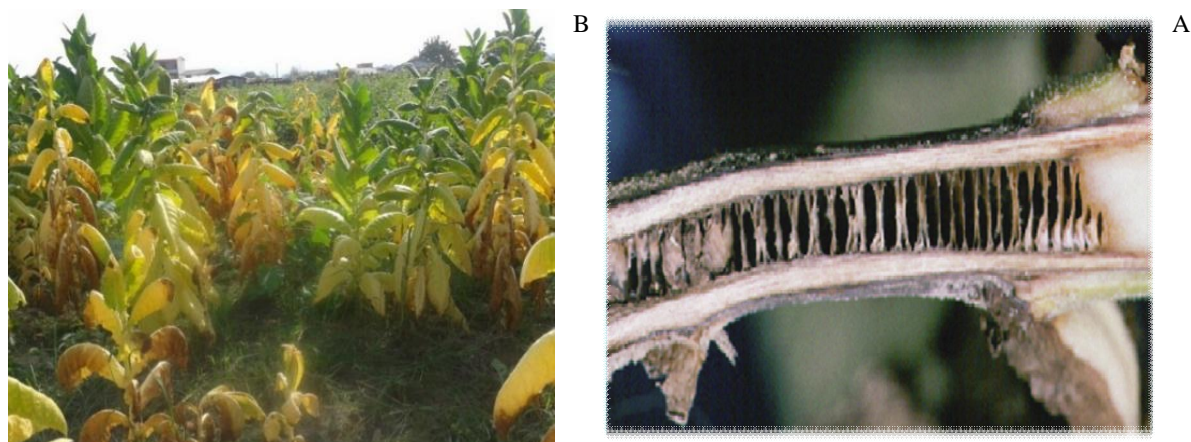
## نتایج و بحث

از نمونه‌های کشت داده شده، قارچ عامل بیماری ساق سیاه توتون شناسایی شد و در آزمایش اثبات بیماریزایی موجب از بین رفتن بوته‌های رقم Burley 21 شدند و در جداسازی مجدد قارچ عامل بیماری از گیاه، جداسازی و شناسایی قارچ عامل بیماری ساق سیاه انجام شد.

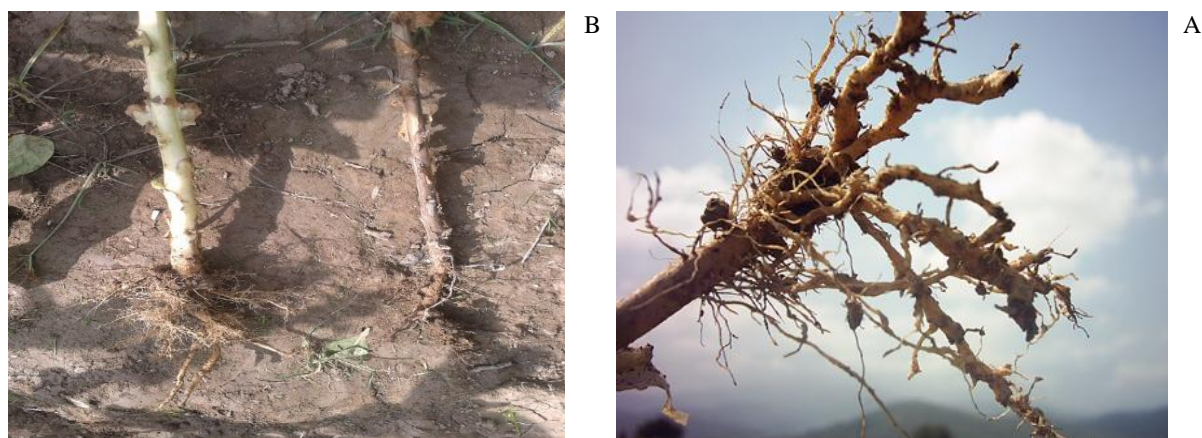
در مورد نماتد ریشه گرهی توتون، بر اساس مشخصات مرفولوژیک شبکه کوتیکولی انتهای بدن ماده‌ها و همچنین عکس‌العمل میزبان‌های افتراقی، نماتد جدا شده از مزرعه توتون آزمایشی در روستای والش‌آباد گرگان نژاد 2 از گونه‌ی *M. incognita* شناسایی شد. عکس‌العمل میزبان‌های افتراقی در برابر جمعیت‌های مختلف این گونه یکسان بوده و نفوذ و تکثیر تمامی جمعیت‌های آزمایش شده روی پنبه و بادام زمینی منفی بوده در صورتی‌که روی سایر میزبان‌ها به راحتی تکثیر یافته و غده تولید نموده با جدول تست افتراقی (Taylor and Sasser (1978) مطابقت داشت. اشکال 1 تا 3 علایم ناشی از قارچ عامل بیماری ساق سیاه و نماتد ریشه گرهی را روی گیاه توتون نشان می‌دهند.



شکل 1- (A) پیشرفت بیماری در تیمار شاهد یک ماه پس از نشاکاری (B) علائم بیماری ساق سیاه توتون روی طوقه گیاه



شکل 2- (A) صفحات دیسک مانند در مغز ساقه ناشی از بیماری ساق سیاه توتون (B) نمایی از حساسیت بسیار زیاد رقم بارلی 21 (شاهد)



شکل 3- (A) علائم گال روی ریشه ناشی از نماتد غده در ریشه توتون (B) در آوردن ریشه‌های آلوده توتون جهت ارزیابی آلودگی به نماتد

واکنش ارقام توتون هواخشک از نظر مقاومت و درصد آلودگی به هر دو بیماری نماتد ریشه گرهی و قارچ عامل ساق سیاه توتون به طور معنی‌داری با هم اختلاف داشتند (در سطح احتمال 1 یا 5%). اثر سال بر صفات متوسط قیمت، درآمد، درصد قند، درصد نیکوتین، درصد آلودگی بوته‌ها در سطح 5% معنی‌دار بود اما تاثیر معنی‌داری روی صفات وزن تر، وزن خشک، طول برگ، عرض برگ، تعداد برگ، ارتفاع بوته، درصد پتاسیم، ازت کل، نمره گال، ضریب تولیدمثلی، تعداد توده تخم و تعداد تخم در هر توده تخم نداشت. در حالیکه وزن تر و خشک، متوسط قیمت، درآمد ناخالص، طول، عرض و تعداد برگ، ارتفاع بوته، ضریب تولیدمثلی، درصد آلودگی، تعداد توده تخم، تعداد تخم در هر توده در سطح احتمال 1% و صفات درصد نیکوتین، درصد پتاسیم و ازت کل در سطح احتمال 5% در ارقام توتون به طور معنی‌دار با توجه به نوع تیمار تغییر کردند، صفات درصد قند و نمره گال



تحت تاثیر تیمارهای مختلف قرار نگرفتند. همچنین اثرات متقابل سال در تیمار بر هیچ یک از خصوصیات زراعی، عملکردی و کیفی به جز درصد آلودگی به ساق سیاه معنی‌دار آماری نبود (جدول 4 و 5).

ارقام مورد مطالعه از نظر میزان مقاومت و یا حساسیت به این بیماری‌ها، عکس‌العمل‌های متفاوتی نشان داده‌اند. از نظر وزن تر، رقم BCE با 31422 کیلوگرم در هکتار بیشترین و رقم بارلی 21 کمترین مقدار را دارا بودند. از نظر عملکرد خشک، نیز رقم BCE با 3861/7 کیلوگرم در هکتار بیشترین و رقم بارلی 21 کمترین مقدار را به خود اختصاص دادند. از نظر متوسط قیمت، رقم BCE با 82890 ریال بیشترین و رقم BGeel3 و بارلی 21 کمترین مقدار را دارا بوده‌اند. از نظر درآمد ناخالص در هکتار، رقم BCE با 322/4 میلیون ریال در هکتار بیشترین و رقم بارلی 21 کمترین مقدار را به خود اختصاص دادند. از نظر صفات طول برگ، عرض برگ، تعداد برگ و ارتفاع بوته، نیز رقم BCE بیشترین مقدار را داشته و در بالاترین گروه آماری قرار گرفت و رقم بارلی 21 کمترین مقدار را در این صفات به خود اختصاص داد. همچنین نتایج مقایسه میانگین صفات ارزیابی بیماری ارقام در طی دو سال بررسی نشان داد که از نظر همه شاخص‌های ارزیابی بیماری و درصد آلودگی، رقم بارلی 21 بیشترین مقدار را داشته و حساس‌ترین رقم بود و رقم BCE کمترین مقدار را داشته و به عنوان مقاوم‌ترین رقم شناخته شد (جدول 6).

بر اساس نتایج به دست آمده در ارزیابی ارقام در تحقیق فوق مشخص شد که رقم بارلی 21 با شاخص مقاومت 8 به عنوان رقم حساس، رقم BGeel3 با شاخص مقاومت 6 نیمه‌حساس، رقم K17 با شاخص مقاومت 4 نیمه مقاوم و رقم BCE با شاخص مقاومت 2 به عنوان رقم مقاوم شناسایی شدند (جدول 7). این نتایج با نتایج تحقیقات انجام شده توسط سایر محققین کمی مغایرت داشت ( Hosseini *et al.*, 2011; Sajjadi and Assemi, 2015) که علت آن عکس‌العمل برخی از ارقام به نماتد در گلخانه و مزرعه متفاوت بوده که ناشی از تفاوت شرایط دمایی، شکسته شدن مقاومت توسط جمعیت‌های طبیعی و تراکم جمعیت نماتد می‌باشد (Ahmadi and Mortazavi, 2005).

جدول ۴- تجزیه واریانس مرکب صفات عملکردی و کیفی ارقام متحمل توتون هواخشک به قارچ عامل ساق سیاه و نماتد ریشه گرهی توتون در استان گلستان در طی دو سال ۹۴-۱۳۹۳.

| منابع تغییرات      | میانگین مربعات |             |           |             |                           |         |         |           |          |        |         |        |        |
|--------------------|----------------|-------------|-----------|-------------|---------------------------|---------|---------|-----------|----------|--------|---------|--------|--------|
|                    | درجه آزادی     | وزن تر      | وزن خشک   | متوسط قیمت  | درآمد                     | طول برگ | عرض برگ | تعداد برگ | ارتفاع   | قند    | نیگوتین | پتاسیم | ارت    |
| سال                | ۱              | ۳۷۷۵۰۸۰NS   | ۱۳۵۹۰۱NS  | ۸۸۷۸۷۶۹۰*   | ۱۱۰۰×۱۰ <sup>۱۲</sup> *** | ۳۲/۹ NS | ۷/۴NS   | ۰/۰۰۰۴NS  | ۲۱۸/۴NS  | ۰/۷۳*  | ۱۶/۷*   | ۰/۰۲NS | ۰/۱NS  |
| خطا(۱)             | ۴              | ۲۱۰۳۶۲۸۶    | ۵۷۶۰۹     | ۱۷۰۲۵۱۲۸    | ۸/۹×۱۰ <sup>۱۲</sup>      | ۳/۵     | ۲۹/۸    | ۲۷/۴      | ۲۴۲/۲    | ۰/۰۳   | ۰/۳۴    | ۰/۵۸   | ۴/۱/۶  |
| تیمار              | ۳              | ۲۳۲۵۶۲۰۵۹** | ۲۶۲۴۱۷۲** | ۳۲۲۲۹۲۶۰۸** | ۳۸۰۰×۱۰ <sup>۱۲</sup> *** | ۷۲۲/۶** | ۱۳۷**   | ۲۶/۶**    | ۱۶۶۹/۱** | ۰/۰۵NS | ۱/۸*    | ۱/۳۵*  | ۵/۶/۳* |
| سال × تیمار        | ۳              | ۶۷۲۰۵۸۳NS   | ۲۳۵۴۸NS   | ۹۸۰۵۸۸۴NS   | ۹/۵۳×۱۰ <sup>۱۲</sup> NS  | ۶۳/۱NS  | ۱۳/۸NS  | ۲۷/۱NS    | ۲۶۸/۳NS  | ۰/۰۱NS | ۰/۲NS   | ۰/۱NS  | ۲۴/۶NS |
| خطا(۲)             | ۱۲             | ۱۳۲۹۸۴۰۱    | ۱۰۲۰۹۷    | ۱۵۰۶۶۵۲۰    | ۹/۳×۱۰ <sup>۱۲</sup>      | ۲۸/۹    | ۱۵/۹    | ۴۰/۲      | ۱۳۲/۹    | ۰/۰۲   | ۰/۳     | ۰/۳۲   | ۹/۱/۶  |
| ضریب تغییرات(درصد) |                | ۱۵/۰۴       | ۱۰/۵      | ۵/۳         | ۱۳/۸                      | ۹/۷     | ۱۳/۶    | ۷/۲       | ۸/۸      | ۱۷/۵   | ۱۶/۴    | ۱۹/۷   | ۷/۴    |

\*، \*\*، و \*\*\* به ترتیب معنی دار در سطح احتمال ۱٪، ۵٪ و غیر معنی دار.

جدول ۵- تجزیه واریانس مرکب صفات ارزیابی بیماری ارقام متحمل توتون هواخشک به قارچ عامل ساق سیاه و نماتد ریشه گرهی توتون در استان گلستان در طی دو سال ۹۴-۱۳۹۳.

| منابع تغییرات      | میانگین مربعات |          |                |                         |                |                      |                    |  |  |  |
|--------------------|----------------|----------|----------------|-------------------------|----------------|----------------------|--------------------|--|--|--|
|                    | درجه آزادی     | نمره گال | ضریب تولید مثل | درصد آلودگی به ساق سیاه | تعداد توده تخم | تعداد تخم در هر توده | ضریب تغییرات(درصد) |  |  |  |
| سال                | ۱              | ۱/۰۴NS   | ۰/۱۹NS         | ۷۱۲/۹*                  | ۵۱/۰۴NS        | ۱۹/۳NS               | سال                |  |  |  |
| خطا(۱)             | ۴              | ۰/۲۷     | ۱/۲            | ۴۶/۹                    | ۲۸/۲           | ۴۵/۷                 | خطا(۱)             |  |  |  |
| تیمار              | ۳              | ۶۰/۳**   | ۱۰/۱۲۷**       | ۲۸۳/۴**                 | ۳۵۶۱۵/۷**      | ۵۷/۶۸**              | تیمار              |  |  |  |
| سال × تیمار        | ۳              | ۰/۸NS    | ۲۶/۴NS         | ۴۹۰/۸**                 | ۶۲/۳NS         | ۵۰/۳NS               | سال × تیمار        |  |  |  |
| خطا(۲)             | ۱۲             | ۰/۲۷     | ۸/۱            | ۱۲/۰۸                   | ۴۱/۵           | ۲۵/۰۶                | خطا(۲)             |  |  |  |
| ضریب تغییرات(درصد) |                | ۱۲/۹     | ۶/۵            | ۱۷/۵                    | ۹/۷            | ۱/۰۷                 | ضریب تغییرات(درصد) |  |  |  |

\*، \*\*، و \*\*\* به ترتیب معنی دار در سطح احتمال ۱٪، ۵٪ و غیر معنی دار.

جدول ۶- مقایسه میانگین دوساله ارقام متحمل توتون هواخشک از نظر کلیه صفات مورد بررسی به قارچ عامل سیاه و نماتد ریشه گرهی توتون در استان گلستان نسبت به شاهد در طی دو سال ۹۴-۱۳۹۳.

| ارتفاع (سانتیمتر) | تعداد برگ | عرض برگ (سانتیمتر) | طول برگ (سانتیمتر) | درآمد (میلیون ریال در هکتار) | قیمت (ریال) | عملکرد (kg/ha) | وزن تر (kg/ha) | تیمار     |
|-------------------|-----------|--------------------|--------------------|------------------------------|-------------|----------------|----------------|-----------|
| ۱۴۵/۸۸            | ۳۰/۴۸     | ۳۴/۶۸              | ۶۶/۵۸              | ۳۲۲/۴۸                       | ۸۲۸۹۰۰a     | ۳۸۶۱/۷۸        | ۳۱۴۲۲۸         | BCE       |
| ۱۴۰/۹۸b           | ۲۷/۴b     | ۳۰/۸ab             | ۵۸/۲b              | ۲۴۰/۲b                       | ۷۴۸۶۱b      | ۳۱۹۹/۳b        | ۲۶۲۲۳b         | K17       |
| ۱۲۷/۰۱b           | ۲۶/۴b     | ۲۸/۶b              | ۵۶/۵b              | ۱۷۹/۴c                       | ۶۶۵۰۶c      | ۲۶۸۳/۵c        | ۲۲۷۰۴b         | BGeel3    |
| ۱۰۸/۶c            | ۲۵/۶b     | ۲۳/۲c              | ۴۰/۲c              | ۱۳۶/۷d                       | ۶۶۴۳۲c      | ۲۰۲۹/۲d        | ۱۶۵۹۸c         | Burley 21 |

میانگین‌هایی که دارای حروف مشابه هستند اختلاف معنی‌دار ندارند.

ادامه جدول ۶- مقایسه میانگین دوساله ارقام متحمل توتون هواخشک از نظر کلیه صفات مورد بررسی به قارچ عامل ساق سیاه و نماتد ریشه گرهی توتون در استان گلستان نسبت به شاهد در سال‌های ۹۴-۱۳۹۳

| ازت   | پتاسیم (%) | نیکوتین (%) | تیمار     |
|-------|------------|-------------|-----------|
| ۴۲/۱a | ۳/۴a       | ۴/۲a        | BCE       |
| ۴۲/۹a | ۲/۲b       | ۴/۳a        | K17       |
| ۳۷/۶b | ۳ab        | ۳/۳b        | BGeel3    |
| ۴۴/۸a | ۲/۸ab      | ۳/۰۴b       | Burley 21 |

میانگین‌هایی که دارای حروف مشابه هستند اختلاف معنی‌دار ندارند.

در تحقیقی در سطح گلخانه، رقم بارلی 21 با نمره گال 8 و ضریب تولیدمثل 46/3 و شاخص مقاومت 8 به عنوان رقم حساس و ارقام BCE و Burley Geel 3 با نمره گال 3/4 و شاخص مقاومت 4 به عنوان نیمه مقاوم و ارقام K17 و BB163 با نمره گال 5/8 و شاخص مقاومت 6 به عنوان ارقام نیمه حساس معرفی شدند (Sajjadi and Assemi, 2015).

مشاهده شد که توتون‌هایی که به ساق سیاه مقاوم بودند، علائم نماتد ریشه گرهی کمتری هم داشتند (Tisdale, 1931). در پژوهش دیگری، اثر متقابل نماتد ریشه گرهی (*M. incognita*) و قارچ عامل ساق سیاه توتون (*P. parasitica* var. *nicotianae*) روی رقم توتون Dixie Bright 101 که نیمه مقاوم به ساق سیاه می باشد را در سطح گلخانه و آزمایشگاه بررسی شد. در توتون‌هایی که 30 روز بعد از مایه زنی با نماتد با قارچ عامل ساق سیاه مایه زنی شدند، بعد از یک هفته علائم ساق سیاه مشاهده شد، اما توتون‌هایی که فقط با قارچ مایه زنی شدند، علائم بیماری را تا 300 روز بروز ندادند. حضور همزمان نماتد و قارچ، شدت بیماری را افزایش داد (Sasser et al., 1955).

میزان مقاومت گیاه در برابر آلودگی به نماتد، به تاثیر گیاه روی تولید مثل نماتد بستگی دارد. همچنین دمای هوای روزانه، میزان رطوبت و بارندگی در سرعت پیشرفت این بیماری‌ها با اهمیت است. گونه‌هایی از نماتد ریشه گرهی مانند *M. javanica* و *M. incognita* تقریباً هر نوع گیاهی را در هر منطقه‌ای به خصوص مناطق گرم و نیمه گرم مورد حمله قرار داده و به آن خسارت وارد می‌سازند (Shengfu et al., 1994). بیماری‌های ناشی از نماتدها و قارچ‌های بیماریزای خاکزی در سال‌های اخیر، در مناطق توتون‌کاری استان گلستان در سطح قابل توجهی گسترش و اهمیت یافته است (مشاهدات مزرعه‌ای نگارندگان) و مهم‌ترین عامل شیوع آن، استفاده از ارقام گیاهی حساس، کم توجهی به مدیریت بقایای گیاهی و افزایش مصرف کودهای نیتروژنی بوده است (Sajjadi et al., 2011).

مقایسه میانگین صفات معنی‌دار شده در طی دو سال اجرای این تحقیق، نشان داد که صفات متوسط قیمت، درآمد ناخالص ریالی، درصد قند، درصد نیکوتین و درصد آلودگی دارای اختلاف معنی‌دار آماری بودند (جدول 8). دی بیر و تربلانچ، از نظر توارثی، مقاومت در برابر این بیماری‌های خاکزی را چندژنی می‌دانند و توصیه می‌نمایند که در برنامه‌های اصلاحی بایستی از روش تلاقی لاین‌های مقاوم با یک لاین حساس استفاده شود و ارزیابی مقاومت در هیبریدهای حاصل در نسل‌های F1 و F2 بررسی گردد (De Beer and Terblanche, 2011). به دلیل ماهیت کمی مقاومت به بیماری‌های خاکزی در توتون، هر چه تعداد ژن‌های مقاومت افزایش یابد، سطح مقاومت گیاه نیز افزایش می‌یابد. به این ترتیب انتخاب ارقام مقاوم به این عوامل بیماری‌زای خاکزی با توجه به شدت آلودگی منطقه مورد مطالعه و نمایش ظرفیت عملکرد رقم در شرایط آلوده اهمیت دارد. اگرچه وجود ژن‌های مقاومت در کاهش خسارت این بیماری‌ها موثر است، اما معماری رقم (نوع ژنوتیپ) در پتانسیل عملکرد آن نقش مهم‌تری دارد (Lannon et al., 2012). به همین دلیل جهت انتخاب ارقام مناسب برای مناطقی که شرایط آلودگی به این عوامل بیماری‌زا مساعد می‌باشد، مقاومت به بیماری تنها معیار انتخاب نبوده و میزان عملکرد در شرایط بروز بیماری و آلودگی طبیعی در منطقه می‌تواند معیار بسیار مناسبی جهت انتخاب صحیح ارقام مقاوم باشد (Batten and Powell, 1971). در ضمن وجود تعداد زیاد بیوتیپ‌های هاپلوئید و دیپلوئید قارچ‌های عامل بیماری‌زای خاکزی در طبیعت که

از بیوتیپ‌های جدید از طریق هیبرید شدن و انجام موتاسیون در مراحل هاپلوئیدی و دیپلوئیدی به وجود می‌آیند، سبب می‌شود که ارزیابی ژنوتیپ‌های برتر در برابر بیماری در مناطقی که شیوع آلودگی بالاست، به طور مستمر صورت گیرد (Johnson and Reed, 2010). بک و همکاران بیان کردند که در تعیین عکس‌العمل ژنوتیپ‌های مختلف توتون نسبت به مجموعه بیماری‌های خاکزی، مقایسه درصد و شدت آلودگی ارقام، مشخصه پایداری برای ارزیابی لاین‌هاست، زیرا مقاومت ژنتیکی میزبان را بر اساس مقاومت فعال درگیر شده تعیین می‌کند (Back et al., 2002). مقاومت گیاه به عوامل بیماری‌زای خاکزی در خاک با دمای بیشتر از 30 درجه سانتی‌گراد کاهش یافته و شکسته می‌شود. افزایش دما در شرایط مزرعه، گیاهان را به حمله توسط عوامل بیماری‌زای خاکزی حساس‌تر می‌سازد. در دمای بالا ترکیبات شیمیایی مسئول ایجاد مکانیزم مقاومت گیاه در برابر عوامل بیماری‌زای خاکزی مانند ترکیبات فنلی (Phenolic compounds)، ترپن‌ها (Terpen)، فنیل آلانین آمینولیز و ... تولید نشده و یا به محض تولید، خنثی و بی‌اثر می‌شوند. عوامل بیماری‌زای خاکزی با افزایش دما و رطوبت هوا در مزرعه با سرعت بیشتری ظاهر می‌شوند. افزایش دما عامل اولیه‌ی تعیین‌کننده زمان استقرار بیماری است. دماهای بالاتر از 30 درجه سانتی‌گراد برای شیوع و سرعت پیشرفت این بیماری‌ها بسیار مساعد است (Back et al., 2002). این دمای بهینه از اواسط خرداد ماه شروع شده و در کل فصل تابستان هم‌زمان با مرحله‌ی گلدهی و رشد سریع توتون در استان گلستان فراهم است. به طور خلاصه می‌توان نتیجه‌گیری نمود که مدیریت این عوامل بیماری‌زای خاکزی توتون باید بر پایه راهبردهایی مبتنی بر تولید ارقام با سطح مقاومت بالا، پتانسیل بالای تولید محصول برای بازدهی اقتصادی بالا و سازگار با شرایط آب و هوایی در مناطق دارای آلودگی طبیعی باشد.

### نتیجه‌گیری نهایی

از لحاظ کلیه صفات زراعی، عملکردی و کیفی، رقم BCE بهتر از بقیه بوده و به عنوان رقم برتر مقاوم به قارچ عامل بیماری ساق سیاه توتون و نماتد ریشه گرهی در شرایط آلودگی طبیعی مزرعه در استان گلستان شناخته شده که به توتون‌کاران برای کشت در مناطق دارای آلودگی طبیعی استان گلستان معرفی می‌گردد.

### سپاسگزاری

بدین وسیله از مدیریت و معاونت محترم پژوهشی و سایر کارکنان مرکز تحقیقات و آموزش توتون تیرتاش به خاطر تأمین امکانات و همکاری در کلیه مراحل اجرای این تحقیق، سپاسگزاری می‌شود.

جدول ۷- مقایسه میانگین دوساله ارقام متحمل توتون هواخشک از نظر بررسی به قارچ عامل ساق سیاه و نماتد ریشه گرهی توتون در استان گلستان نسبت به شاهد در سال‌های ۱۳۹۳-۹۴.

| واکنش رقم  | شاخص مقاومت | تعداد تخم | تعداد توده | تعداد سیاه | درصد آلودگی به ساق سیاه | درصد آلودگی به ساق سیاه | RF        | شاخص گال | تیمار |
|------------|-------------|-----------|------------|------------|-------------------------|-------------------------|-----------|----------|-------|
| مقاوم      | ۲           | ۴۳۳d      | ۷/۸d       | ۵/۴c       | ۱۲/۵d                   | ۱/۳d                    | BCE       |          |       |
| نیمه مقاوم | ۴           | ۴۵۰c      | ۱۶/۳c      | ۹/۴bc      | ۲۲/۳c                   | ۲/۳c                    | K17       |          |       |
| نیمه حساس  | ۶           | ۴۶۴b      | ۶۴b        | ۱۲/۲b      | ۳۵/۴b                   | ۴b                      | BGeel3    |          |       |
| حساس       | ۸           | ۵۰۶a      | ۱۷۵/۳a     | ۵۲/۱a      | ۱۰۳/۴a                  | ۸/۴a                    | Burley 21 |          |       |

میانگین‌هایی که دارای حروف مشابه هستند اختلاف معنی دار ندارند.

جدول ۸- مقایسه میانگین صفات معنی دار شده در طی دو سال ۹۴ - ۱۳۹۳

| سال  | قیمت(ریال) | درآمد(میلیون ریال در هکتار) | فقد(درصد) | نیکو تین(درصد) | درصد آلودگی به ساق سیاه |
|------|------------|-----------------------------|-----------|----------------|-------------------------|
| ۱۳۹۳ | ۷۸۷۵۴a     | ۲۴۱/۷a                      | ۰/۶۲b     | ۲/۷b           | ۲۵/۲a                   |
| ۱۳۹۴ | ۶۶۵۹۰b     | ۱۹۷/۷b                      | ۱/۳a      | ۴/۳a           | ۱۴/۳b                   |

## References

1. Ahmadi R, and Mortazavi Bac A. 2005. Reaction of some tomato cultivars to root – knot nematode (*Meloidogyne javanica*). Iranian Journal of Plant Pathology 41 (3): 403–414.
2. Abdel-Momen SA and Starr JL. 1998. *Meloidogyne javanica*-*Rhizoctonia Solani* disease complex of peanut. Fundamental and Applied Nematology 21: 611–616.
3. Back MA, Haydock PJ and Jenkinson P. 2002. Disease complexes involving plant parasitic nematodes and soil-borne pathogens. Plant Pathology 51: 683–697.
4. Chaplin JF. 1966. Comparative performance of F1 Flue-cured tobacco hybrids and their parents and evaluation agronomic and quality characteristics. Tobacco science Journal 10: 126–130.
5. Coolen WA. 1979. Methods for the extraction of *Meloidogyne* spp. and other nematodes from roots and soil. pp. 317–329, In F Lamberti and CE Taylor (eds). Root-Knot Nematodes (*Meloidogyne* species) Systematics, Biology and Control. New York: Academic Press.
6. Colin K and Powell NT. 1971. The *Rhizoctonia*–*Meloidogyne* disease complex in flue-cured tobacco. Journal of Nematology 3: 110–117.
7. De Beer MC and Terblanche J. 2011. Black shank resistance in air-cured tobacco South Africa. Paper presented at: CORESTA Agronomy / Phytopathology Joint Study Group Meeting; 6–10 November; Santiago, Chile.
8. Ganaie MA and Khan TA. 2011. Studies on the interactive effect of *Meloidogyne incognita* and *Fusarium Solani* on *Lycopersicon esculentum*, Mill. International Journal of Botany 7(2): 205–208.
9. Hosseini A, Moarefzadeh N and Salavati MR. 2010. Evaluation of Burley tobacco varieties to root-knot nematode (*Meloidogyne incognita*). Annual Report of Tirtash Tobacco Research & Education Center.
10. Honarnejad R. 2000. Investigation on genetics of resistance to root-knot nematode (*Meloidogyne incognita*) in tobacco (*Nicotiana tabacum*). Contributions to Tobacco Research 19(1): 17–23 (In Persian).
11. Jenkins, WR. 1964. A rapid centrifugal-flotation technique for separating nematodes from soil. Plant Disease Reporter 48: 692.
12. Johnson CS and Reed TD. 2010. Impact of resistance associated with *php* gene on management of tobacco black shank and tobacco cyst nematode in Virginia. Paper presented at: CORESTA Congress; 12 – 16 September; Edinbargh, Scotland, UK.
13. Lannon KR, Lewis RS and Shew HD. 2012. Quantifying components of resistance to *Phytophthora nicotianae* in tobacco double haploid lines possessing a novel source of resistance. Crop Science 55: 210–218.
14. Lucas G B. 1975. Disease of Tobacco, 3<sup>rd</sup> ed. Releigh: Biological Consulting Associates. 621 p.
15. Mai WF and Abawi GS. 1987. Interactions among root-knot nematodes and *Fusarium* wilt fungi on host Plants. Phytopathology 72: 317–338.
16. Porter DM and Powell NT. 1967. Influence of certain *Meloidogyne* species on *Fusarium* wilt development in flue-cured tobacco. Phytopathology 57: 282–285.
17. Powell NT, Melendez PL and Batten CK. 1971. Disease complexes in tobacco involving *Meloidogyne incognita* and certain soil-borne fungi. Phytopathology 61(2): 1332–1337.
18. Powell NT. 1971. Interactions between Nematodes and fungi in disease complexes. Annual Review of Phytopathology 9(1): 253–274.

19. Powell NT. 1963. The role of plant-parasitic nematodes in fungus diseases. *Phytopathology* 53(1): 28–35.
20. Powell NT and Batten CK. 1967. The influence of *Meloidogyne incognita* on *Rhizoctonia* root rot in tobacco. *Phytopathology* 57: 826 (Abstract).
21. Sajjadi A, Assemi H, Salavati MR and Alizadegan M. 2012. Evaluation of some of flue-cured tobacco varieties to soil-borne fungi and root-knot nematodes. Annual report of Tirtash tobacco research & education center.
22. Sajjadi A, Afshariyazad H, Assemi H and Najafi MR. 2011. Identification of soil pathogenic fungi of tobacco fields in Golestan province. Paper presented at: 20<sup>th</sup> Iranian plant protection congress; 26–29 August; Shiraz, Iran.
23. Sajjadi A, Hosseiniyjad A and Assemi H. 2014. Identification and Physiological races of root-knot nematode species (*Meloidogyne* spp.) in the tobacco fields in Golestan province of Iran. *Applied Plant Protection* 1: 233–248 (In Persian).
24. Sasser JN, Lucas GB and Powers HR. 1955. The relationship of root knot nematodes to black shank resistance in tobacco. *Phytopathology* 45: 459–461.
25. Shepherd JA. 1999. Nematode pests of tobacco. pp: 216–227, In DL Davis and MT Nielsen (eds). *Tobacco Production Chemistry and Technology*. Oxford: Blackwell Science.
26. Shengfu Y, Shew HD and Barker KR. 1994. Interaction of *Meloidogyne incognita*, *Phytophthora nicotianae* var. *nicotianae* and Metalaxyl on resistant and susceptible tobacco. *Journal of Nematology* 26(4): 538–571.
27. Tisdale WB. 1931. Development of strains of cigar wrapper tobacco resistant to black shank (*phytophthora nicotianae* Breda de Haan). *Stations Bulletin* 226: 1–45.
28. Van Jaarsveld E, Wingfield MJ and Drenth A. 2003. A rapid seedling based screening technique to assay tobacco for resistance to *Phytophthora nicotianae*. *Journal of Phytopathology* 151: 394–398.
29. Vovlas N, Mifsud D, Landa BB and Castillo P. 2005. Pathogenicity of the root-knot nematode *Meloidogyne javanica* on potato. *Plant Pathology* 54: 657–664.
30. Vovlas N, Simoes NJO and Sasanellia N. 2004. Host-Parasite relationships in tobacco plants infected with a root-knot nematode (*Meloidogyne incognita*) population from the Azores. *Phytoparasitica* 32: 167–173.
31. Zali A and Jafari Shabestari J. 1991. *Introduction to Probability and Statistics*. Tehran: Tehran University Publication. 474 p.
32. Zeck WM. 1971. A rating scheme for field evaluation of root knot nematode infestations. *Pflanzenschutz-Nachrichten Bayer* 24: 141–144.



## **Performance of three tolerant air-cured tobacco cultivars when infected by black shank and root-knot nematode in Golestan province**

M. Shazdehahmadi \*<sup>1</sup>, A. Sajjadi<sup>1</sup>

### **Abstract**

Soil-borne fungi and root-knot nematodes are distributed all over the world and cause great economic loss to tobacco. The best managing method to these diseases is using resistant cultivars. This research was performed to determine the effect of black shank and root-knot nematode on quality and yield of tolerant air-cured tobacco cultivars in Golestan province during 2014-2015 with 4 treatments and 3 replications. Three tolerant (K17, Burley Geel3 and BCE) and a susceptible tobacco cultivar (Burley 21 as control) were planted and grown on 5 × 8 m<sup>2</sup> plots in a randomized complete block design (RCBD) as coupled plots in a field that was naturally infested with both pathogens in Valeshabad village of Gorgan. Black shank (*Phytophthora nicotianae*) severity on tobacco plants was determined weekly based on 1 to 5 index. Evaluation of root-knot nematode infection was performed based on gall index (0-10 scoring system), number of egg masses, and average number of eggs per egg mass at the end of season. Important morphological, agronomical and qualitative traits were determined. Mean comparison of qualitative traits showed that in the terms of nicotine content, BCE had the highest and Burley 21 had the lowest amount. For potassium level, BCE had the highest and K17 had the lowest amount. For total nitrogen, Burley 21 had the highest and Burley Geel3 had the lowest content. Reaction of air-cured tobacco varieties to soil-borne pathogenic agents showed significant differences at P≤1% or 5%. In terms of all agronomic traits, yield and disease amount, BCE cultivar was superior and showed lowest disease incidence and infection percent. The susceptible control cultivar (Burley 21) showed the highest rate of infection to soil-borne diseases and was the poorest in agronomic traits and yield.

**Keywords:** Air-cured tobacco, soil-borne pathogens, tolerant cultivars, yield.

---

<sup>1</sup>- Research Instructor, Department of Plant Protection, Tirtash Research and Education Center, Behshahr, Iran.

\*Corresponding author: noshinshazdeahmadi@Yahoo.com