Iranian Genetics Society
Journal of Genetics and Plant Breeding
Shahid Bahonar University of Kerman
Print ISSN : 3060-7965 Online ISSN : 3060-7271

# Identification of genetic resistance resources to *Phytophthora nicotianae* causing black shank disease in commercial tobacco cultivars and optimization of chemical control

**Mehdi Baratian**

PhD Student, Islamic Azad University, Gorgan Branch, Gorgan, Iran. Email address: mehdi.baratianalahabad@iau.ac.ir

**Fakhtak Taliei**

*Corresponding Author: Associate Professor, Department of Plant Production, Faculty of Agriculture and Natural Resources, Gonbad Kavous University, Gonbad Kavous, Iran. Email address: Taliei@gonbad.ac.ir

**Mohammad Ali Aghajani**

Associate Professor, Plant Protection Research Department, Golestan Agricultural and Natural Resources Research and Education Center, Agricultural Research, Education and Extension Organization (AREEO), Gorgan, Iran. Email address: Maaghajanina@areeo.ac.ir

**Amir Zolfaghari**

Researcher, Department of Phytopathology, Faculty of Agronomy, Federal University of Lavras, Minas Gerais, Brazil. Email address: amir.zolfaghary@estudante.ufla.br

## *Abstract*

### Objective

Black shank disease, caused by *Phytophthora nicotianae*, is one of the most important soilborne diseases of tobacco worldwide and causes substantial yield losses. This study aimed to evaluate the resistance of commercial tobacco cultivars to *P. nicotianae* under greenhouse conditions and to assess the efficacy of novel and conventional fungicides for disease control under natural infection conditions.

### Materials and Methods

For resistance evaluation, eight commercial tobacco cultivars, along with resistant (K346) and susceptible (K326) controls, were assessed under greenhouse conditions using the collar inoculation method. Disease severity was recorded, and the area under the disease progress curve

was calculated. Analysis of variance, principal component analysis, and hierarchical cluster analysis were employed to differentiate the cultivars. To assess fungicide efficacy, a field experiment was conducted in a randomized complete block design with three replications using the K326 cultivar under natural infection conditions. The effectiveness of four fungicides—Elite (2.5%), Ridomil MZ (2%), Orvego (0.7%), and Beltanol (0.5%) was compared with an untreated control.

**Results**

Results indicated that cultivars K394, NC60, Bel61-10, and K346 were resistant to the disease. Cultivars Coker 176 and MN944 showed moderate tolerance, whereas TC100, Coker 347, and K326 were highly susceptible. The first principal component (PC1) accounted for over 97% of the total variance and clearly distinguished resistant from susceptible cultivars. The Iranian cultivar TC100 was highly susceptible, with a disease severity of 93.75%. Regarding fungicide efficacy, Elite and Ridomil provided the best disease control, with efficacies of 77.4% and 67.7%, respectively. These fungicides also significantly ($P < 0.01$) increased dry leaf yield (up to 5,265 kg/ha), plant height, fresh and dry leaf weight, gross income, nicotine content, and nutrient elements compared with the control.

**Conclusion**

This study highlights the need to integrate resistant cultivars (e.g., K394 and NC60) with effective fungicides (particularly Elite and Ridomil) in an integrated management program for black shank disease. The findings provide a basis for breeding programs and management recommendations in northern Iran. Given the potential emergence of new races, continuous monitoring of pathogen populations and diversification of control strategies are essential.

**Keywords:** Area under the disease progress curve (AUDPC), Fungicide efficacy, Principal component analysis, Resistance, Tobacco black shank.

**Paper Type:** Research Paper.

**Citation:** Baratian M, Taliei F, Aghajani MA, Zolfaghari A (2025) Identification of Genetic Resistance Resources to *Phytophthora nicotianae* Causing Black Shank Disease in Commercial Tobacco Cultivars and Optimization of Chemical Control. *Journal of Genetics and Plant Breeding* 2 (4), 1-30.

---

*Journal of Genetics and Plant Breeding* 2 (4), 1-30. DOI: 10.22103/gpb.2026.27400.1041

Received: October 10, 2025. Received in revised form: December 16, 2025.

Accepted: December 19, 2025. Published online: December 23, 2025.

Publisher: Research and Technology Institute of Plant Production, Afzalipour Research Institute, Shahid Bahonar University of Kerman and Iranian Genetics Society.

© the authors

مجله ژنتیک و به نژادی گیاهی
شاپا چاپی: ۷۹۶۵-۳۰۶۰ شاپا الکترونیکی: ۷۲۷۱-۳۰۶۰
انجمن ژنتیک ایران
دانشگاه شهید باهنر کرمان

# شناسایی منابع ژنتیکی مقاومت به *Phytophthora nicotianae* عامل بیماری ساق سیاه در ارقام تجاری توتون و بهینه‌سازی کنترل شیمیایی آن

**مهدی براتیان**

دانشجوی دکتری، گروه کشاورزی، واحد گرگان، دانشگاه آزاد اسلامی، گرگان، ایران. رایانامه: mehdi.baratianalahabad@iau.ac.ir

**فاختک طلیعی**

*نویسنده مسئول: دانشیار، گروه تولیدات گیاهی، دانشکده علوم کشاورزی و منابع طبیعی، دانشگاه گنبدکاووس، گنبدکاووس، ایران. رایانامه: Taliei@gonbad.ac.ir

**محمدعلی آقاجانی**

دانشیار، گروه تحقیقات گیاه‌پزشکی، مرکز تحقیقات و آموزش کشاورزی و منابع طبیعی استان گلستان، سازمان تحقیقات، آموزش و ترویج کشاورزی، گرگان، ایران. رایانامه: Maaghajanina@areeo.ac.ir

**امیر ذولفقاری**

پژوهش‌گر، گروه بیماری شناسی گیاهی، دانشکده زراعت، دانشگاه فدرال لاوراس، میناس ژرایس، برزیل. رایانامه: amir.zolfaghary@estudante.ufla.br

تاریخ دریافت: ۱۴۰۴/۰۷/۱۸ تاریخ دریافت فایل اصلاح شده نهایی: ۱۴۰۴/۰۹/۲۵ تاریخ پذیرش: ۱۴۰۴/۰۹/۲۸

---

## چکیده

**هدف:** بیماری ساق سیاه توتون یکی از مهم‌ترین بیماری‌های خاک‌زاد توتون در سطح جهانی است که خسارت بالایی ایجاد می‌کند. هدف از پژوهش حاضر، بررسی مقاومت ارقام تجاری توتون نسبت به جدایه محلی *P. nicotianae* در شرایط گلخانه‌ای و ارزیابی کارایی قارچ‌کش‌های جدید و رایج در کنترل بیماری در شرایط آلودگی طبیعی بود.

**مواد و روش‌ها:** به‌منظور ارزیابی واکنش ارقام به بیماری، هشت رقم تجاری توتون به‌همراه دو شاهد مقاوم (K346) و حساس (K326) در شرایط گلخانه‌ای با روش مایه‌زنی طوقه ارزیابی، و شدت بیماری و شاخص سطح زیر منحنی پیشرفت بیماری محاسبه

گردید. تجزیه واریانس، تحلیل مؤلفه‌های اصلی (PCA) و خوشه‌بندی سلسله‌مراتبی (HCA) برای تفکیک ارقام انجام شد. همچنین برای ارزیابی کارایی قارچ‌کش‌ها، آزمایش مزرعه‌ای در قالب طرح بلوک‌های کامل تصادفی با ۳ تکرار روی رقم K326 در شرایط آلودگی طبیعی انجام شد و کارایی قارچ‌کش‌های الیت (۲/۵ g/L)، ریدومیل (۲ g/L)، اوروگو (۰/۷ ml/L) و بلتانول (۰/۵ ml/L) مورد مقایسه قرار گرفت. Coker 176

**نتایج:** نتایج نشان داد ارقام K394، NC60، Bel61-10 و K346 به بیماری مقاوم بودند. ارقام Coker 176 و MN944 متحمل و ارقام TC100 ، Coker 347 و K326 بسیار حساس بودند. مؤلفه اصلی اول (PC1) بیش از ۹۷ درصد واریانس را توجیه کرد و ارقام مقاوم و حساس را به‌طور واضح تفکیک نمود. رقم TC100 (ایرانی) حساسیت بالایی (۹۳/۷۵ درصد) نشان داد. قارچ‌کش‌های الیت و ریدومیل با کارایی به‌ترتیب ۷۷/۴ و ۶۷/۷ درصد، بهترین کنترل را نشان دادند و به‌طور معنی‌داری ($P<0.01$) عملکرد برگ خشک (تا ۵۲۶۵ کیلوگرم در هکتار)، ارتفاع بوته، وزن سبز و خشک برگ، درآمد ناخالص، نیکوتین و عناصر غذایی را نسبت به شاهد افزایش دادند.

**نتیجه‌گیری:** این پژوهش بر لزوم استفاده تلفیقی از ارقام مقاوم مانند K394 و NC60 و قارچ‌کش‌های مؤثر (به‌ویژه الیت و ریدومیل) در برنامه مدیریت یکپارچه بیماری ساق سیاه تأکید دارد. نتایج می‌تواند مبنایی برای برنامه‌های به‌نژادی و توصیه‌های مدیریتی در مناطق شمالی ایران باشد. با توجه به پتانسیل ظهور نژادهای جدید، نظارت مداوم بر جمعیت بیمارگر و تنوع‌بخشی به روش‌های کنترل ضروری است.

**کلیدواژه‌ها:** ساق سیاه توتون، مقاومت ارقام، قارچ‌کش، سطح زیر منحنی پیشرفت بیماری، تحلیل مؤلفه‌های اصلی.

**نوع مقاله:** پژوهشی.

**استناد:** براتیان مهدی، طلیعی فاختک، آقاجانی محمدعلی، ذولفقاری امیر (۱۴۰۴). شناسایی منابع ژنتیکی مقاومت به *Phytophthora nicotianae* عامل بیماری ساق سیاه در ارقام تجاری توتون و بهینه‌سازی کنترل شیمیایی آن. *مجله ژنتیک و به‌نژادی گیاهی*، ۲(۴)، ۳۰-۱.

Publisher: Research and Technology Institute of Plant Production, Afzalipour Research Institute, Shahid Bahonar University of Kerman and Iranian Genetics Society

© the authors

## مقدمه

شبه‌جنس *Phytophtora nicotianae* از بیمارگرهای مهم گیاهی است که بیماری‌های ویرانگری با گستردگی جهانی ایجاد می‌کند که تأثیرات اکولوژیکی، اقتصادی و اجتماعی به‌دنبال دارد و در بین ۱۰ بیمارگر مهم اُمیستی، جایگاه هشتم را بر اساس

اهمیت علمی و اقتصادی به خود اختصاص داده است (Panabieres et al. 2016). شبه قارچ همی بیوتروفیک *P. nicotianae* عامل بیماری ساق سیاه توتون است که یکی از بیماری‌های مهم خاکزاد توتون و تهدیدی جدی برای تولید توتون در سراسر جهان محسوب می‌شود (Gallup et al. 2018). چرخه آلودگی با یک فاز بیوتروفیک آغاز می‌شود که طی آن دفاع پایه گیاه میزبان سرکوب می‌شود و پس از آن با مرگ سلول‌های میزبان، فاز نکروتروفیک آغاز می‌شود (Theron et al. 2025). خسارت بیماری ۳۰ تا ۵۰ درصد و در صورت همه‌گیری تا ۱۰۰ درصد گزارش شده است (Ma et al. 2023). آلودگی‌ها هم در مرحله گیاهچه و هم مرحله بلوغ گیاه توتون رخ می‌دهند و منجر به کاهش قابل‌توجه عملکرد و کیفیت محصول می‌شوند. ریشه‌ها و ساقه‌ها، قسمت‌های اصلی آلوده شده گیاه هستند که منجر به پوسیدگی تدریجی بافت‌های بیمار مانند نکروز ریشه و ساقه، پژمردگی، کلروز و در نهایت مرگ گیاه می‌شوند (Chen et al. 2020; Panabieres et al. 2016; Gallup et al. 2006). همچنین دامنه میزبانی این بیمارگر وسیع بوده و بیش از ۵۰ محصول از خانواده‌های مختلف گیاهی به‌عنوان میزبان جایگزین، به بقا و گسترش آن کمک می‌کنند (Zhou et al. 2023; Panabieres et al. 2016). علاوه بر این، *P. nicotianae* به دماهای بالا به‌خوبی سازگار است. بنابراین، با افزایش روند گرمایش جهانی، اهمیت آن در کشاورزی و سلامت گیاهان در سراسر جهان در حال افزایش است (Panabieres et al. 2016).

عملکرد متوسط توتون در ایران دو تن در هکتار است که این مقدار از سطح زیر کشتی در حدود ۵۵۰۰ هکتار با میزان برداشت سالیانه حدود ۹ هزار تن به‌دست می‌آید. استان‌های گلستان و مازندران با تولید ۷۵۰۰ تن توتون (ارقام بارلی، ویرجینیا و باسما) و سطح زیر کشت بیش از ۳۰۰۰ هکتار توتون، بیش از ۷۰ درصد از تولید توتون کشور را به خود اختصاص داده‌اند (Iran Tobacco Company, 2018). در تحقیقات پیشین، وقوع گسترده این بیماری از مزارع توتون استان‌های مازندران و گلستان گزارش شده است (Sajjadi & Asemi 2012; Sajjadi et al. 2017). کنترل بیماری ساق سیاه توتون به‌دلیل تنوع و سازگاری بالای بیمارگر بسیار دشوار است (Gallup et al. 2018) بنابراین برای مدیریت صحیح و کارآمد بیماری، تلفیق رویکردهای مختلفی از جمله کاشت ارقام مقاوم، کاربرد قارچ‌کش‌ها، تناوب زراعی، مدیریت آب و کود و کنترل بیولوژیک ضرورت دارد (Shew & Lucas 1991).

برای مدیریت موثر ساق سیاه، استفاده از ترکیبی از استراتژی‌های مختلف از جمله استفاده از مقاومت ژنتیکی ضروری است. استفاده از ارقام مقاوم روش ترجیحی برای مدیریت بیماری ساق سیاه توتون است زیرا استفاده از این روش نسبت به سایر روش‌ها آسان‌تر و مقرون به صرفه است (Thiessen 2021) اما وضعیت مقاومت ارقام رایج توتون به این بیماری در ایران چندان مورد بررسی قرار نگرفته است. ارقام مقاوم دارای ژن‌ها یا ویژگی‌هایی هستند که با کاهش تراکم *P. nicotianae* و یا از طریق مکانیسم‌های فیزیولوژیکی دیگر، احتمال بیماری‌زایی را کاهش‌می‌دهند. به‌عنوان مثال، سیستم‌های ریشه کوچکتر و متراکم‌تر، سبب کاهش بروز بیماری می‌شوند زیرا احتمال تماس مستقیم با بیمارگر را کاهش می‌یابد اما ممکن است بر عملکرد گیاه میزبان تأثیر

منفی بگذارند (Jones & Shew 1995). از طرف دیگر با توجه به توانایی جدایه‌های قارچ در ایجاد بیماری بر روی ارقام توتون با ژن‌های مقاومت متفاوت، چهار نژاد فیزیولوژیک (۰، ۱، ۲ ، ۳) برای این بیمارگر معرفی شده است (Sullivan et al. 2005 a,b; Gallup & Shew 2010). نژاد غالب صفر و یک در اغلب نقاط عمده کشت توتون در دنیا، چین، آمریکا و ایران شایع است (Gallup & Shew 2010; Sajjadi & Asemi 2012; Li et al. 2015). درحالی‌که تغییرپذیری در ویرولانس و نژادهای فیزیولوژیک بیمارگر در مناطق و کشورهای مختلف دنیا گزارش شده است (Van Jaarsveld et al. 2002; Sullivan et al. 2005 a,b; Gallup and Shew 2010) و کشت مداوم ارقام توتون مقاوم در مزرعه آلوده به یک نژاد خاص *P. nicotianae*، احتمال انتخاب برای نژادهای جدید ویرولانت را افزایش می‌دهد (Sullivan et al. 2005b; Ji et al. 2014).

کاربرد قارچ‌کش‌ها یکی از رویکردهای مهم در مدیریت تلفیقی بیماری ساق سیاه توتون است، اما استفاده مداوم از یک قارچ‌کش با ریسک بالایی همراه است و ممکن است منجر به توسعه نژادهای مقاوم قارچ *P. nicotianae* نسبت به قارچ‌کش شود (Thiessen 2021). چندین قارچ‌کش مانند متالاکسیل و ماده فعال آن، مفنوکسام و همچنین فسفات پتاسیم سال‌ها است مورد استفاده قرار می‌گیرند اما وقوع مقاومت در بیمارگر برای هر دو ترکیب گزارش شده است (Hao et al. 2019; Ji et al. 2014). در سال‌های اخیر، چندین قارچ‌کش جدید وارد بازار شده‌اند که کنترل قابل قبولی بر روی بیماری ساق سیاه داشته‌اند. برخی از قارچ‌کش‌های جدید مانند فلوپیکولید، اتابوکسام، اوکساتیاپرولین و ماندپروپامید با مکانیسم‌های عمل متفاوت توسعه یافته‌اند که کارایی بالاتری در کنترل این بیمارگر در میزبان‌های مختلف نشان داده‌اند (Hao et al. 2019; Ji et al. 2014; Qu et al. 2016). همچنین کاربرد هم‌زمان فلوپیکولید و ماندپروپامید نسبت به مفنوکسام در کاهش بیماری موثرتر بوده است (Mila & Radcliff 2014). آزمایش‌های میدانی که در سال‌های اخیر در جنوب شرقی ایالات متحده انجام شده است، نشان داده‌اند که اوکساتیاپرولین به‌طور قابل‌توجهی بیماری ساق سیاه را کاهش و عملکرد تنباکو را افزایش داده است (Bittner & Mila 2017; Ji et al. 2014). این قارچ‌کش‌های جدید در کنار تناوب زراعی و استفاده صحیح از سایر قارچ‌کش‌های موجود، در کاهش خسارت ناشی از بیماری بسیار مؤثر بوده‌اند. استفاده از قارچ‌کش‌های شیمیایی برای کنترل عامل بیماری ممکن است با توسعه بالقوه مقاومت قارچ‌کش‌ها به چالش کشیده شود. بنابراین، توجه بیشتر به توسعه مقاومت در برابر قارچ‌کش‌های جدید در بین جمعیت‌های *P. nicotianae* ضروری است (Panabieres et al. 2016; Qu et al. 2016). با توجه به شیوع بیماری ساق سیاه در مزارع توتون شمال ایران و اهمیت مدیریت تلفیقی آن، این پژوهش با هدف ارزیابی کارایی چند قارچ‌کش در شرایط آلودگی طبیعی و بررسی مقاومت ارقام تجاری و جدید توتون نسبت به جدایه محلی *P. nicotianae* انجام شد.

## مواد و روش‌ها

**تهیه جدایه بیمارگر:** نمونه‌برداری در تابستان سال ۱۴۰۰، از یک مزرعه توتون (با مختصات جغرافیایی "۱۲/۲۱ '۵۲ °۳۶ شمالی و "۶/۸۸ '۳۸ °۵۴ شرقی) واقع در منطقه‌ی تقرتپه استان گلستان (با سابقه آلودگی به بیماری) انجام شد. گیاهان توتون بیمار با علائم پوسیدگی طوقه و ریشه، بوته‌میری و پژمردگی جمع آوری و به آزمایشگاه بخش گیاه‌پزشکی موسسه تحقیقات توتون تیرتاش منتقل گردید. برای جداسازی بیمارگر، بافت آلوده طوقه و ریشه به‌مدت ۲۰ تا ۳۰ دقیقه در زیر جریان ملایم آب شست‌وشو داده شد. سپس قطعاتی با قطر پنج میلی‌متر از مرز بافت آلوده و سالم بریده شده و پس از انجام ضدعفونی سطحی توسط محلول یک درصد هیپوکلریت سدیم برای مدت سه دقیقه، سه بار در آب مقطر سترون شست‌وشو داده شده و سپس روی کاغذ صافی سترون خشک گردید. نمونه‌ها در محیط کشت نیمه انتخابی PARPH (حاوی ۱۰ میلی‌گرم ریفامپسین، ۱۲ میلی‌گرم پیماریسین، ۵۰ میلی گرم هیمکسازول، ۱۰۰ میلی گرم پنتاکلرونیتروبنزن (PCNB) و ۲۵۰ میلی‌گرم آمپی‌سیلین بر لیتر محیط کشت) کشت شد. ظروف پتری در دمای ۲۵ درجه سانتی‌گراد نگهداری و پس از مشاهده رشد قارچ، قطعاتی از آن به محیط آب آگار دو درصد منتقل و به‌روش نوک‌ریسه خالص‌سازی شد (Chehri et al. 2010). نمونه خالص‌شده برای نگهداری و تهیه زادمایه به محیط کشت آرد ذرت آگار (CMA) منتقل شد. شناسایی بیمارگر به‌صورت میکروسکوپی، با استفاده از کلید شناسایی استمپ و همکاران صورت گرفت (Stamps et al. 1990).

آزمون بیماری‌زایی بر روی رقم حساس K326 (که حساسیت بالایی به همه نژادهای شناخته شده این بیمارگر دارد) به‌روش تغییریافته (Vanegas et al. 2022) انجام شد. به این منظور قرص‌های ۵ میلی‌متری از حاشیه جوان محیط کشت کلونیزه شده توسط بیمارگر برداشته شد. خاک پای بوته‌ها کنار زده شد و قرص حاوی قارچ پس از ایجاد زخم بر روی ناحیه طوقه گیاهچه‌های ۸ –۶ هفته ای قرار داده شد و روی آن با خاک پوشانده شد. گیاهان شاهد با استفاده از دیسک محیط کشت مایه‌زنی شدند. گلدان‌ها در گلخانه با دمای ۵±۲۰ درجه سانتی‌گراد، رطوبت نسبی ۱۰±۶۵ درصد و دوره نوری ۱۶ ساعت روشنایی و ۸ ساعت تاریکی نگهداری شدند. بوته‌ها پس از کاشت، تحت مراقبت و آبیاری قرار گرفتند. علائم بیماری شامل ظهور زخم و پژمردگی، ۷ روز پس از مایه‌زنی مورد بررسی قرار گرفت.

**بررسی مقاومت ارقام رایج به بیماری:** بذرهای هشت رقم رایج و تجاری توتون شامل K394، MN944، Coker 347، Coker 176، NC60، NC100، TC100 و Bel61-10 از موسسه تحقیقات توتون کشور دریافت شد. رقم K326 به‌عنوان شاهد حساس به بیماری (Zeng et al. 2019) و رقم K346 به‌عنوان شاهد مقاوم (Sullivan et al. 2005a) در نظر گرفته شد. بذور در سینی‌های نشا کاشته شدند و ۵۰ روز پس از بذرپاشی، گیاهان به گلدان‌های ۱ کیلوگرمی حاوی مخلوط ۱:۱:۱ (vol:vol:vol) خاک پاستوریزه شده (دمای ۸۰ درجه سانتی‌گراد به‌مدت ۳۰ دقیقه)، پرلیت و ماسه منتقل شده و در شرایط گلخانه (۲۸–۲۵ درجه سانتی‌گراد و رطوبت ۸۵ درصد– آبیاری منظم) نگهداری شدند. ۱۰ روز پس از نشاکاری، مایه‌زنی بر روی گیاهچه‌های

۸ هفته‌ای (با ارتفاع ۲۰–۲۵ سانتی متر و قطر ساقه ۵–۷ میلی‌متر) با روش ذکرشده در بالا انجام شد. آزمایش با پنج تکرار برای هر رقم انجام شد و گیاهان شاهد با قرص‌های حاوی محیط کشت بدون قارچ مایه‌زنی شدند. ارزیابی بیماری هفت روز پس از مایه‌زنی و با ظهور اولین علائم بیماری در گیاهان حساس آغاز شد و طی هفت نوبت و در فواصل زمانی یک هفته‌ای انجام شد. برای ارزیابی بیماری از مقیاس جدول ۱ استفاده شد (Van Jaarsveld et al. 2003) و شدت نهایی بیماری ثبت گردید. شاخص شدت بیماری به‌صورت زیر محاسبه شد که در آن $n_i$ تعداد بوته بیمار با درجه آلودگی $x_i$ بر اساس مقیاس و N تعداد کل بوته‌های بررسی شده می‌باشد.

$$DS=(\sum x_i n_i)/5N$$ معادله ۱

همچنین سطح زیر منحنی پیشرفت بیماری برای هر رقم با استفاده از معادله ۲ محاسبه شد (Madden et al. 2007). که در این معادله، n تعداد دفعات ارزیابی، i نوبت ارزیابی، $y_i$ و $t_i$ به ترتیب میانگین شدت بیماری و زمان در ارزیابی قبلی، $y_{i+1}$ و $t_{i+1}$به ترتیب میانگین شدت بیماری و زمان در ارزیابی حاضر هستند.

$$AUDPC=\sum_{i=1}^{n}(y_i + y_{i+1})\frac{(t_{i+1}-t_i)}{2}$$ معادله ۲

**جدول ۱. مقیاس ارزیابی بیماری ساق سیاه بر روی گیاهچه‌های توتون بعد از آلودگی با *Phytophthora nicotianae***

**Table 1. Disease rating scale for symptoms on seedlings after infection by *Phytophthora nicotianae***

| مقیاس بیماری<br>Disease scale | علائم قابل مشاهده<br>Symptoms |
|---|---|
| 1 | گیاهچه‌ها سبز و سالم هستند<br>Healthy green seedlings |
| 2 | برگ‌های پایینی گیاهچه متمایل به زرد هستند (کلروز)<br>Bottom leaves turn light yellow |
| 3 | برگ‌های میانی و پایینی گیاهچه زرد هستند<br>Bottom and middle leaves are yellow |
| 4 | مرگ گیاهچه رخ داده و همه برگ‌ها زرد و ساقه قهوه‌ای می‌شود<br>Seedlings are damping off, all leaves are yellow and stems are brown |
| 5 | مرگ کامل گیاهچه<br>Seedlings dead |

**بررسی اثربخشی قارچ‌کش‌ها:** با هدف بررسی کارآیی قارچ‌کش‌های مختلف در کنترل بیماری ساق سیاه توتون، آزمایشی در سال زراعی ۱۴۰۲-۱۴۰۱ در قالب طرح بلوک‌های کامل تصادفی با ۵ تیمار و ۳ تکرار، بر روی رقم توتون گرمخانه‌ای K326، در شرایط آلودگی طبیعی و در مزرعه‌ای که سابقه ۱۵ سال کشت توتون و آلودگی به نژاد یک عامل بیماری در آن وجود دارد (Sajjadi & Assemi 2012) اجرا شد. ابعاد کرت‌های آزمایشی ۵×۴ متر، فاصله بین ردیف‌ها یک متر و فاصله داخل ردیف‌ها نیم متر در نظر گرفته شد. قبل از نشاکاری، آنالیز نمونه خاک برای تعیین برنامه کودی انجام شد. کرت‌بندی، واله‌کشی و نشاکاری و همچنین مدیریت سفید بالک و کرم غنچه توتون مطابق عرف منطقه انجام شد.

محلول‌پاشی با قارچ‌کش‌های مختلف در سه مرحله، سه روز قبل از انتقال نشا به زمین اصلی، و ۲۰ و ۳۰ روز بعد از نشاکاری در مزرعه با رویکرد پیشگیرانه (Preventive/Protective) انجام شد. تیمارهای آزمایشی شامل شاهد بدون سمپاشی، قارچ‌کش الیت ۸۰ درصد (Elite–فوزیل آلومینیوم– شرکت خزر کود سم) به‌میزان ۲/۵ گرم بر لیتر، قارچ‌کش بلتانول ۳۷/۵ درصد (Beltanol– هیدروکسی کینولین– شرکت پروبلته فیتو اسپانیا) به‌میزان ۰/۵ میلی‌لیتر بر لیتر، اوروگو ۵۲/۵ درصد (Orvego– آمتوکترادین ۳۰ درصد+ دیمتومورف ۲۲/۵ درصد– شرکت باسف آلمان) به‌میزان ۰/۷ میلی‌لیتر بر لیتر و ریدومیل ۷۲ درصد (Ridomil MZ– متالکسیل مانکوزب– بهاور شیمی) به‌میزان ۲ گرم بر لیتر بودند. با توجه به رفتار مکانیکی بیمارگر در حمله به ناحیه طوقه و پیشگیری از آبشویی سموم در عمق خاک، قارچ‌کش‌ها پیش از عملیات خاک‌دهی پای بوته، به‌صورت محلول‌پاشی هدفمند و اشباع‌کننده قاعده بوته‌ها (Stem-based drenching) اعمال شدند تا مانع از استقرار زئوسپورها در مدخل ورودی گیاه گردد. در تیمار شاهد از آب برای محلول‌پاشی استفاده شد. با توجه به اینکه اولین علائم بیماری معمولا ۴۰ تا ۴۵ روز پس از نشاکاری (۱۰ تا ۱۵ روز پس از آخرین نوبت سم‌پاشی) پدیدار می‌شود، توالی زمانی این تیمارها پایداری پتانسیل پیشگیرانه مد نظر را کاملاً پوشش داد. ده روز پس از ظهور علایم بیماری، میزان وقوع بیماری که معادل درصد بوته‌های بیمار است برای هر تیمار با استفاده از معادله ۳ محاسبه شد که در آن $x$ تعداد بوته‌های بیمار و $N$ تعداد کل بوته‌های ارزیابی شده می‌باشد. همچنین میانگین اثربخشی قارچکش‌ها در کاهش مقدار بیماری در مقایسه با شاهد با استفاده از معادله ۴ محاسبه شد (Azimi 2014) که در آن $ef$ میزان اثربخشی تیمار، $x_t$ مقدار بیماری در تیمار و $x_c$ مقدار بیماری در نمونه شاهد است.

معادله ۳
$$I = \frac{\sum x}{N}$$

معادله ۴
$$ef = 100 - (\frac{x_t}{x_c} \times 100)$$

در زمان برداشت پس از حذف حاشیه و بوته‌های خارج از تیپ، تعداد ۲۷ بوته از هر کرت به‌طور تصادفی انتخاب و صفات مورفولوژیک شامل طول برگ (cm)، عرض برگ (cm)، ارتفاع بوته (cm)، شاخص سطح برگ ($LAI$)، عملکرد برگ سبز (g) و عملکرد برگ خشک (g) در هر کرت محاسبه گردید. میانگین قیمت یک کیلوگرم توتون در نمونه‌های مربوط به هر طبقه از

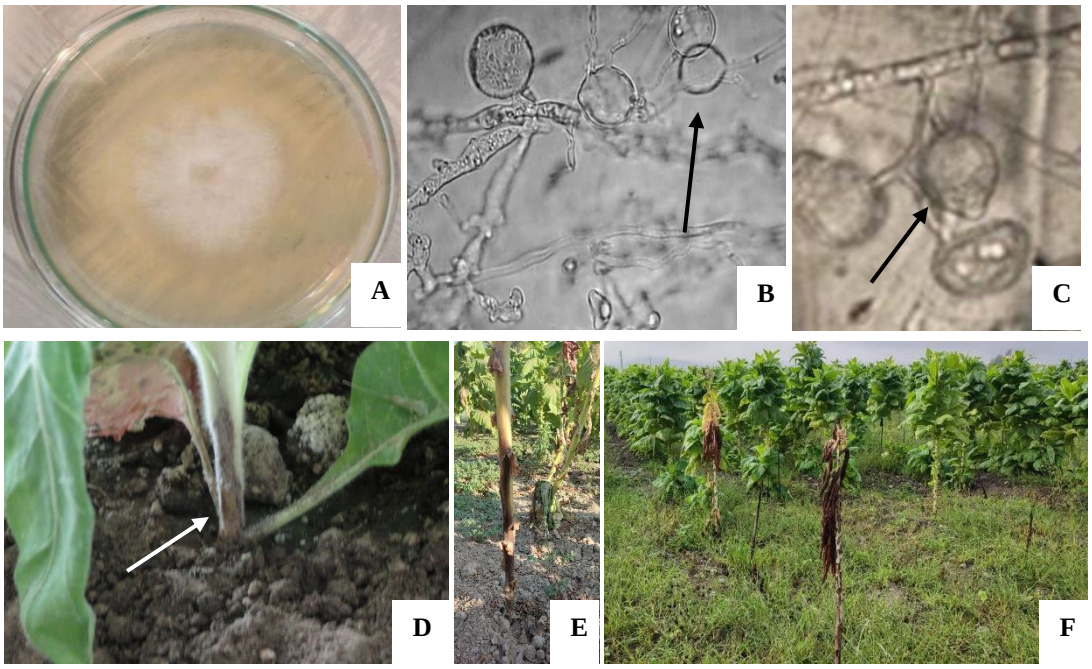
برگ‌ها بر اساس جدول نرخ خرید تضمینی توتون تعیین شده از سوی شرکت دخانیات ایران برای سال آزمایش ۱۴۰۱ و میزان درآمد ناخالص به‌صورت حاصل‌ضرب وزن خشک در میانگین قیمت برای هر تیمار تعیین شد. درصد نیتروژن برگ پس از نمونه‌برداری گیاهی و هضم به‌وسیله اسید سولفوریک به‌روش کجلدال اندازه‌گیری شد. درصد پتاسیم با استفاده از دستگاه جذب اتمی برای هر تیمار اندازه‌گیری شد. درصد قند احیا بر اساس استاندارد شماره ۳۸ سازمان جهانی کورستا تعیین شد. به این منظور پس از تهیه عصاره برگ توتون، به آن استات سرب، اسید کلریدریک و آب مقطر افزوده شد. ارلن حاوی محلول در حمام بخار قرار داده و بعد از عبور از صافی با محلول پرمنگنات پتاسیم تیتر و درصد قند محاسبه شد (Coresta Recommended Methods 2010a). درصد نیکوتین به‌روش آنالیز جریان پیوسته و بر اساس استاندارد شماره ۳۵ سازمان جهانی کورستا تعیین شد. به این منظور یک گرم پودر توتون در بالن تقطیر به‌ترتیب با آب مقطر، سدیم کلراید و محلول سدیم هیدروکسید مخلوط شد. محلول حاصل از تقطیر در بالن حجمی حاوی اسید سولفوریک غلیظ ریخته و با آب مقطر به حجم رسانده و در انتها به‌روش اسپکتروفتومتری میزان نیکوتین تعیین شد (Coresta Recommended Methods 2010b).

**تجزیه و تحلیل داده‌ها:** برای آزمایش‌های غربالگری ارقام و دسته‌بندی ارقام تجاری توتون بر اساس رفتار فنوتیپی واکنش به بیماری، تجزیه واریانس روی داده‌های شدت نهایی بیماری و شاخص سطح زیر منحنی پیشرفت بیماری انجام شد و میانگین‌ها با استفاده از آزمون توکی (Tukey's HSD) در سطح احتمال پنج درصد ($P<0.05$) مورد مقایسه قرار گرفتند. همچنین داده‌های مربوط به کینتیک پیشرفت بیماری در فواصل زمانی مختلف ارزیابی بیماری، ابتدا با استفاده از روش استانداردسازی Z-score (میانگین صفر و واریانس یک) مقیاس‌بندی شدند تا اثر تفاوت‌های مقیاسی حذف گردد. سپس، تجزیه خوشه‌ای سلسله‌مراتب (HCA) بر پایه ماتریس فواصل اقلیدسی و با استفاده از الگوریتم کمترین واریانس وارد (Ward's minimum variance method) برای خوشه‌بندی ارقام صورت گرفت.

به‌منظور درک بهتر روابط چندمتغیره بین ارقام توتون و پویایی پیشرفت بیماری در طول زمان، تجزیه به مؤلفه‌های اصلی (PCA) بر روی متغیرهای پیشرفت زمان (شدت بیماری در هفته‌های اول تا پنجم) اجرا گردید. در این تحلیل، به‌دلیل یکسان بودن واحد سنجش متغیرها (درصد) و به‌منظور حفظ ارزش اطلاعاتی واریانس واقعی و انحراف معیار صفت شدت بیماری در هفته‌های متأخر (که نشان‌دهنده تفاوت‌های کینتیک واقعی بیماری در ارقام است)، مبنای محاسبات بر روی ماتریس کوواریانس قرار گرفت تا از فشرده‌سازی و یکدست‌سازی کاذب داده‌ها توسط ماتریس همبستگی جلوگیری شود. نمودار بای‌پلات مؤلفه‌های اول و دوم در طول پنج هفته ارزیابی (W1 تا W5) رسم شد. تجزیه واریانس برای آزمون ارزیابی کارایی قارچ‌کش‌ها بر روی میزان وقوع بیماری و میانگین اثربخشی قارچ‌کش‌ها و اجزای عملکرد اندازه‌گیری‌شده، به‌طور جداگانه انجام شد و میانگین‌ها مورد مقایسه قرار گرفت. تجزیه و تحلیل داده‌ها با استفاده از نرم‌افزار آماری SAS 9.4 و مقایسه میانگین‌ها با استفاده از آزمون LSD ($P<0.01$) انجام شد.

## نتایج و بحث

پرگنه قارچ جداسازی شده به رنگ سفید مایل به زرد و به‌صورت کم و بیش پنبه‌ای و از قسمت پشت تشتک پتری نمایی بدون ساختار و حاشیه‌ای دندانه‌ای داشت. ریسه‌ها دارای ضخامت غیر یکنواخت در طول و اغلب آماس‌دار و بدون دیواره عرضی بودند. اسپورانژیوفور باریک، طویل و اسپورانژیوم‌ها تخم مرغی و اغلب دارای پاپیل بودند. کلامیدوسپورها کروی و گاهی مایل به بیضوی و اکثرا به‌صورت انتهایی و گاهی میانی تشکیل شده بودند (شکل ۱–A تا C). آزمون بیماری‌زایی جدایه بر روی رقم حساس K326 انجام شد. در محل طوقه لکه‌های قهوه‌ای تیره یا سیاه ظاهر شده پس از مایه‌زنی آشکار شد و بیماری به‌سرعت از ساقه به برگ‌ها توسعه یافت و لکه‌های آب‌سوخته در سطح برگ‌ها ظاهر و به‌تدریج سبب پژمرده‌شدن برگ‌ها گردید. بوته‌های آلوده دچار مرگ گیاهچه یا بوته‌میری شدند. بیمارگر مجددا از بوته‌های مایه زنی شده گیاه حساس جداسازی و شناسایی شد (شکل ۱–D).




**شکل ۱. A) پرگنه شبه قارچ *Phytophthora nicotianae* بر روی محیط کشت PDA، B) اسپورانژیوم پاپیل‌دار، C) کلامیدوسپور، D) علائم اولیه بیماری ساق سیاه توتون روی گیاهچه رقم حساس K326 در شرایط گلخانه، E) علائم اولیه بیماری و F) علائم پیشرفته بیماری ساق سیاه در شرایط مزرعه.**

**Figure 1. A) *Phytophthora nicotianae* colony on PDA medium, B) Papillary sporangium, C) Chlamydospore, D) early disease symptom on tobacco susceptible cultivar K326 in greenhouse conditions, E) early disease symptom and F) disease symptoms in field conditions.**

اگرچه در این مطالعه تعیین نژاد عامل بیمارگر انجام نشده است اما در مطالعات پیشین، وقوع نژاد صفر و یک این بیمارگر از مزارع استان گلستان گزارش شده است (Sajjadi & Assemi 2012). تفاوت زیادی در قدرت تهاجمی جدایه‌های *P. nicotianae* به‌دست آمده از توتون گزارش شده است (Colas et al. 1998; Van Jaarsveld et al. 2002). سازگاری با برخی ژن‌های مقاومت موجود در ارقام مقاوم، سبب تغییر میزان تجاوزگری جدایه‌های این بیمارگر می‌شود (Jin & Shew 2022). این جدایه‌ها، قدرت کلونیزاسیون، رشد رویشی و تولید مثل غیرجنسی بیشتر و در نتیجه قدرت تجاوزگری بالاتری را دارا می‌باشند (Jin & Shew 2021). بنابراین گیاهان آلوده به جدایه‌های مهاجم، ممکن است در اوایل فصل رشد توتون علائم شدید بیماری ساق سیاه را نشان دهند (Van Jaarsveld et al. 2002).

مطالعه واکنش ارقام تجاری جدید توتون نسبت به جدایه *P. nicotianae*، به‌دست آمده از مزارع استان گلستان حاکی از آن است که علائم بیماری در هیچ یک از گیاهان شاهد هر رقم در طول آزمایش رخ نداد. تجزیه واریانس شدت نهایی بیماری و سطح زیر منحنی پیشرفت بیماری (جدول ۲) نشان داد که اختلاف معنی‌داری ($P<0.01$) در واکنش ارقام مورد مطالعه نسبت به بیماری وجود دارد. بر اساس مقایسه میانگین داده‌ها (جدول ۳) مقدار بیماری از عدم بروز علایم تا آلودگی ۱۰۰ درصد بوته، متغیر بود. شدت بیماری در مورد رقم K326 (شاهد حساس) با مرگ‌ومیر کامل گیاهان مورد بررسی، برابر ۱۰۰ درصد بود که نشان دهنده حساسیت کامل این رقم به بیماری می‌باشد. همچنین ارقام Coker 347 و TC100 شدت بیماری نهایی بالایی داشتند (۹۳.۷۵ درصد) که تفاوت معنی‌داری با شاهد حساس نداشت. در ارقامی مانند K394، NC60 و Bel61-10 همانند رقم مقاوم K346 ، علائم بیماری توسعه نیافت که نشان‌دهنده احتمال وجود مقاومت به نژادهای رایج *P. nicotianae* در این ارقام می‌باشد. همچنین بیشترین شدت پیشرفت بیماری در رقم حساس K326 مشاهده شد. اگرچه شدت نهایی بیماری در ارقام Coker 347 و TC100 در آخرین نوبت ارزیابی بیماری مشابه رقم K326 در بالاترین سطح قرار داشت، اما بررسی کینتیک پیشرفت بیماری (شکل ۲) نشان داد که نرخ پیشرفت اولیه (Disease Progress Rate) در این دو رقم به‌ویژه در هفته‌های اول و دوم بسیار کندتر از رقم K326 بوده است. این تأخیر در توسعه ثانویه علائم و کمتر بودن شیب منحنی در فاز استقرار بیمارگر، سبب کاهش معنی‌دار ($P<0.01$) شاخص تجمعی AUDPC در ارقام Coker 347 و TC100 نسبت به شاهد حساس (K326) شده است. پدیده‌ای که نشان‌دهنده وجود مکانیسم‌های بازدارنده اولیه در این ژنوتیپ‌ها پیش از غلبه کامل بیمارگر است. تنها رقم ایرانی مورد بررسی در این مطالعه (رقم TC100) نیز با میزان شدت بیماری برابر ۹۳/۷۵ درصد، حساسیت بالایی به بیماری نشان داد. سایر ارقام مورد بررسی حساسیت متوسطی به بیماری نشان دادند.

به‌منظور درک بهتر روابط میان ارقام مختلف توتون و پویایی کینتیک پیشرفت بیماری، تجزیه به مؤلفه‌های اصلی (PCA) بر پایه ماتریس کوواریانس داده‌های پنج هفته اول انجام شد. مدل چندمتغیره با موفقیت بالایی توانست ۹۹/۶۳ درصد از کل تنوع داده‌ها را توسط دو مؤلفه اول مهار کند. مؤلفه اصلی اول (PC1) به‌تنهایی ۹۸/۹۶ درصد از کل واریانس را تبیین نمود (جدول ۴). بردارهای بار عاملی (که نوبت‌های ارزیابی W1 تا W5 را نشان می‌دهند) همگی در جهت مثبت محور PC1 هم‌راستا هستند، اما

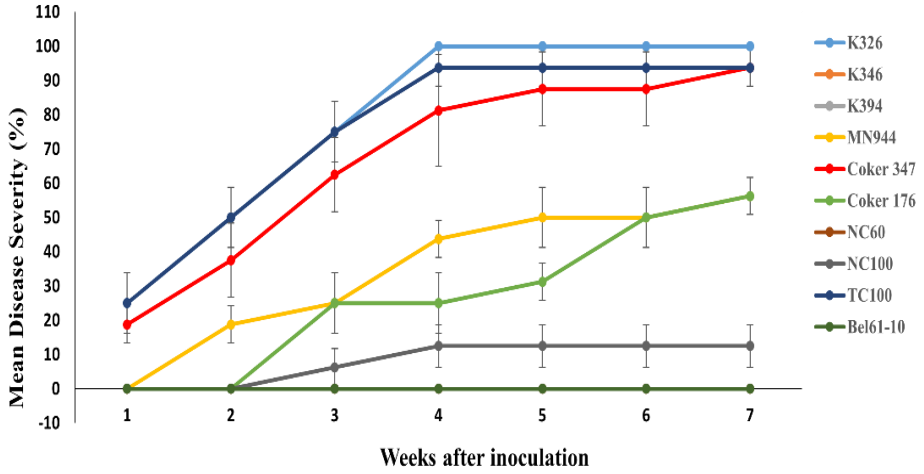
طول این بردارها با حرکت از هفته اول به‌سمت هفته پنجم به‌طور معنی‌داری افزایش یافته است (صعود بار عاملی از ۱۰/۵۶ به ۴۲/۰۷). این اختلاف طول بردارها در بای‌پلات، پویایی سرعت پیشرفت بیماری و اوج‌گیری تنوع فنوتیپی ارقام را در هفته‌های پایانی به تصویر می‌کشد. ارقامی که در سمت مثبت محور PC1 مستقر شده‌اند (K326، Coker 347 و TC100)، هم‌بستگی مثبت شدیدی با بردارهای طویل هفته‌های پایانی داشته که تأییدکننده حساسیت شدید و نرخ توسعه بالای بیماری در آن‌هاست. در مقابل، ارقام K346، K394، NC60 و Bel61-10 در منتهی‌الیه سمت منفی محور PC1 (جهت عکس بردارها) یک خوشه متراکم تشکیل دادند که نشان‌دهنده مقاومت نسبی این ژرم‌پلاسم در شرایط گلخانه‌ای به‌دلیل حفظ شدت بیماری در سطح صفر مطلق تا پایان آزمایش است.

**جدول ۲. تجزیه واریانس مقدار شدت بیماری و سطح زیر منحنی پیشرفت بیماری ساق سیاه توتون**

**Table 2. Analysis of variance of disease severity and area under the disease progression curve for tobacco black shank disease in different Varieties**

| منابع تغییرات SOV | درجه آزادی df | میانگین مربعات Mean square | |
|---|---|---|---|
| | | سطح زیر منحنی پیشرفت بیماری Area under disease progress curve | شدت نهایی بیماری Final Disease Severity |
| تکرار Replication | 4 | 51057.62 | 78.125 |
| ارقام Variety | 9 | 3590701.5** | 9470.49** |
| خطا Error | 36 | 62010.31 | 60.763 |
| ضریب تغییرات (درصد) Coefficient Variation (%) | | 25.4 | 18.89 |

** معنی داری در سطح احتمال یک درصد را نشان می دهد.




**شکل ۲. پیشرفت بیماری ساق سیاه بر روی ۱۰ رقم توتون مورد مطالعه در شرایط گلخانه‌ای**

**Figure 2. Black shank disease progression on 10 tobacco cultivars in the greenhouse**

**جدول ۳. مقایسه میانگین شدت بیماری و سطح زیر منحنی پیشرفت بیماری ساق سیاه در ارقام توتون غربالگری‌شده و منشا آن‌ها**

**Table 3. Comparison of the mean disease severity and the area under the progress curve of black shank in screened tobacco varieties and their origin**

| ارقام | سطح زیر منحنی پیشرفت بیماری | شدت بیماری (٪) | منشا ارقام |
|---|---|---|---|
| Variety | AUDPC | Disease Severity (%) | Country of origin |
| K326 | 2012.5 a | 100 a | USA, Novartis Seeds, Inc |
| K346 | 0 d | 0 d | USA, Novartis Seeds, Inc |
| K394 | 0 d | 0 d | USA, Novartis Seeds, Inc |
| MN944 | 787.50 c | 56.25 b | USA, University of Minnesota |
| Coker 347 | 1640.63 b | 93.75 a | USA, Coker Seed |
| Coker 176 | 459.38 c | 56.25 b | USA, Coker Seed |
| NC60 | 0 d | 0 d | USA, North Carolina Agricultural Experiment Station |
| NC100 | 175.0 cd | 12.5 c | Brazil, ProfiGen |
| TC100 | 1946.85 ab | 93.75 a | Iran, Tobacco Research and Education Center |
| Bel61-10 | 0 d | 0 d | USA, University of Kentucky |

حروف متفاوت نشان دهنده وجود اختلاف معنی دار در میانگین تیمارها بر اساس آزمون Tukey's HSD می باشند ($P<0.05$).

مؤلفه اصلی دوم (PC2) با وجود تبیین درصد پایینی از تنوع (۰/۶۶ درصد)، به‌دلیل داشتن بارهای عاملی مثبت در هفته‌های W1 و W2 و بارهای منفی در هفته‌های متأخر، مسئول تفکیک ارقام بر اساس کینتیک زودرس و نرخ شروع آلودگی است. به‌طوری‌که ارقامی مانند Coker 176 با وجود آلودگی نهایی، به‌دلیل تأخیر مطلق در شروع علائم طی هفته‌های اول و دوم، در موقعیت کاملاً متمایزی روی محور عمودی قرار گرفته‌اند (شکل ۳).

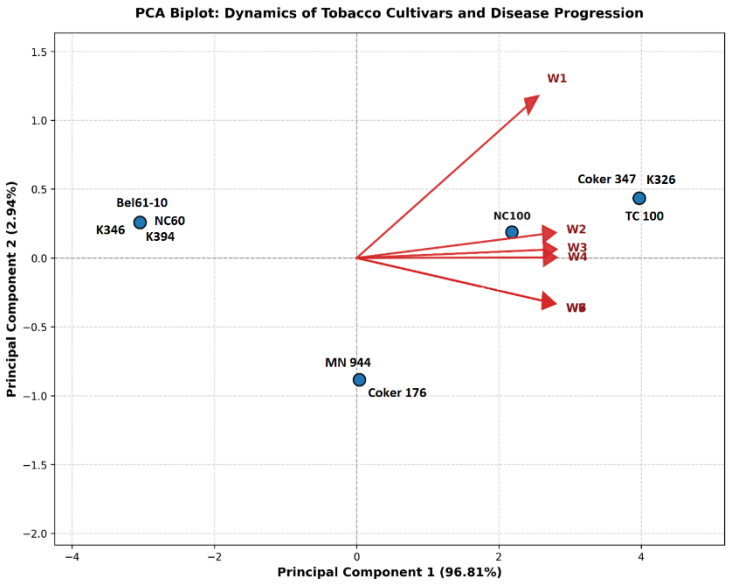
انطباق این مدل با نتایج محققانی مانند Shew (1987)، کارایی شاخص‌های کینتیک را به‌عنوان معیاری پایدار در برنامه‌های به‌نژادی حمایتی توتون اثبات می‌کند. Shew (1987) در ارزیابی واکنش ژرم‌پلاسم توتون نسبت به *P. nicotianae* گزارش داد که پیشرفت بیماری در ارقام حساس از یک الگوی خطی/سیگموئیدی با شتاب بالا پیروی می‌کند که در آن واریانس فنوتیپی بین ژنوتیپ‌ها در هفته‌های میانی و پایانی به حداکثر می‌رسد. این یافته کاملاً با ساختار برداری مدل PCA حاضر هم‌خوانی دارد. نتایج تحقیق خاضر نشان داد که بارهای عاملی مؤلفه اول از هفته اول تا پنجم صعودی بوده و طول بردارهای W4 و W5 به‌دلیل به اوج رسیدن تفاوت فنوتیپی ارقام، به بالاترین حد خود رسیده است. این تطابق نشان می‌دهد که محور افقی PCA در شرایط و محیط‌های مختلف آزمایشگاهی و گلخانه‌ای، معیاری پایدار و قابل اعتماد برای ارزیابی نرخ پیشرفت علائم است.

**جدول ٤. مقادیر ویژه، درصد واریانس تبیین‌شده و بارهای عاملی متغیرها در دو مؤلفه اصلی اول PC1 و PC2**

**Table 4. Eigenvalues, percentage of explained variance, and factor loadings of variables for the first two principal components (PC1 and PC2)**

| متغیرها (نوبت‌های ارزیابی)<br>Variables (Assessing times) | مؤلفه اصلی اول (PC1)<br>Principle component 1 (PC1) | مؤلفه اصلی دوم (PC2)<br>Principle component 2 (PC2) |
|---|---|---|
| هفته اول(W1)<br>Week 1 (W1) | 10.567 | 3.411 |
| هفته دوم(W2)<br>Week 2 (W2) | 21.462 | 3.744 |
| هفته سوم(W3)<br>Week 3 (W3) | 31.860 | 0.451 |
| هفته چهارم(W4)<br>Week 4 (W4) | 41.343 | -0.246 |
| هفته پنجم(W5)<br>Week 5 (W5) | 42.076 | -2.866 |
| مقدار ویژه<br>Eigenvalue | 5066.982 | 34.127 |
| درصد واریانس تبیین‌شده<br>Explained variance (%) | 98.969% | 0.667% |
| درصد واریانس تجمعی<br>Cumulative explained variance (%) | 98.969% | 99.635% |

از سوی دیگر، Csinos (2005) با بررسی پایداری مقاومت ارقام تجاری در شرایط آلودگی شدید، نشان داد که برخی ارقام به‌رغم داشتن تبار ژنتیکی متمایز، رفتارهای فنوتیپی مشابهی در فازهای نهایی اپیدمی بروز می‌دهند. در پژوهش حاضر نیز، خوشه‌بندی متراکم و همگرای ارقام مقاوم نظیر Bel61-10، K346، K394 و NC60 در منتهی‌الیه سمت منفی محور PC1 (شکل ۳) اثبات می‌کند که مدل چندمتغیره کوواریانس توانسته است با الگوبرداری از رفتار پایدار این ژنوتیپ‌ها در مهار ۱۰۰ درصدی بیمارگر، آن‌ها را به‌عنوان منابع ژنتیکی پایدار و هم‌گروه متمایز سازد. علاوه بر این مدل به‌دست آمده در این تحقیق از طریق مؤلفه دوم تفاوت‌های کینتیک زودرس ارقامی مانند Coker 176 را متمایز کرد که منطبق با نتایج محققین دیگر مبنی بر اهمیت فاز شروع آلودگی می‌باشد (Csinos, 2005). این مقایسه تطبیقی اثبات می‌کند که ساختار دووجهی (Biplot) حاصل از این آزمایش، پتانسیل بالایی در فرموله‌کردن روابط میزبان–بیمارگر داشته و می‌تواند به‌عنوان یک ابزار غربال‌گری استاندارد در برنامه‌های به‌نژادی آینده مورداستفاده قرار گیرد.

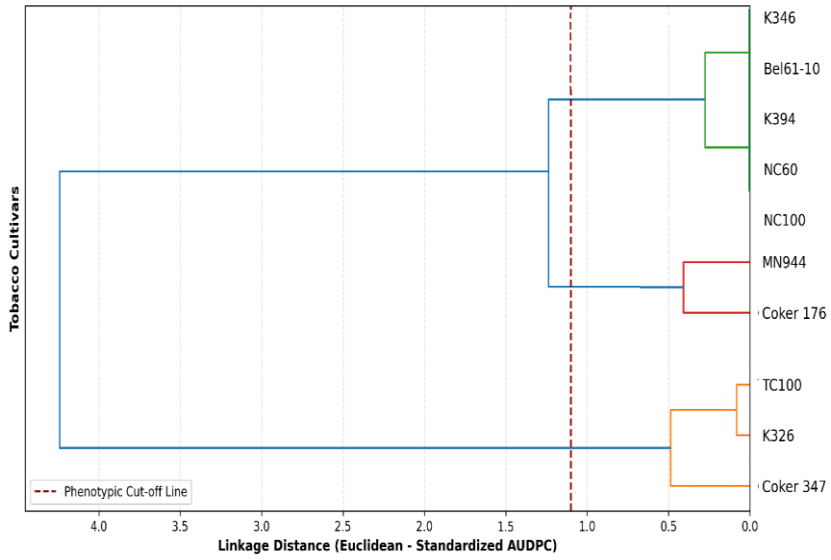



**شکل ۳. نمایش بای پلات روند پیشرفت بیماری ساق سیاه توتون طی پنج هفته (W1 تا W5) در ارقام موردمطالعه**

**Figure 3. Show biplot based on principal components (PC1 and PC2) for disease progress during 5 weeks in the studied varieties**

**تجزیه خوشه‌ای ارقام:** به‌منظور گروه‌بندی ۱۰ رقم توتون موردمطالعه بر اساس رفتار فنوتیپی واکنش به بیماری، تجزیه خوشه‌ای سلسله مراتبی (HCA) بر پایه ماتریس فواصل اقلیدسی استانداردشده بر روی شاخص AUDPC و کینتیک علائم بیماری انجام شد. بر اساس خط برش فنوتیپی (شکل ۴)، ارقام در سه کلاستر مجزا قرار گرفتند. برای ارزیابی کیفیت خوشه‌بندی، متریک‌های درون‌کلاستری مورد تحلیل قرار گرفتند (جدول ۵) پایین بودن شاخص مجموع مربعات درون کلاستر (Within-

Cluster SS) در هر سه گروه (بین ۰/۰۹۸ تا ۰/۴۱۵) نشان‌دهنده تراکم و همگرایی بالای ارقام در داخل کلاسترهای خود است. کلاستر یک (ارقام مقاوم) شامل ۵ رقم K346، Bel61-10، K394، NC60 و NC100، با کمترین میانگین AUDPC (۳۵) و شدت بیماری (۲/۵ درصد) فنوتیپ برتر را به خود اختصاص داد. در این کلاستر، میانگین فاصله از مرکز کلاستر ۰/۲۸ بود، اما رقم NC100 با ثبت بیشترین فاصله از مرکز (۰/۶۲)، به‌عنوان یک ژنوتیپ مرزی و واسطه میان ارقام مقاوم و ارقام دارای مقاومت نسبی عمل می‌کند. کلاستر ۲ (دارای مقاومت نسبی) با مجموع مربعات درون کلاستر بسیار ناچیز (۰/۰۹۸) منسجم‌ترین کلاستر بود. ارقام MN944 و Coker 176 با نرخ پیشرفت بیماری کندتر و میانگین شدت بیماری ۵۶/۲۵ درصد تفاوت معنی‌داری ($P<0.05$) با دو گروه دیگر داشتند و به‌عنوان ارقام نیمه‌حساس یا دارای مقاومت نسبی دسته‌بندی شدند، پدیده‌ای که در اپیدمیولوژی بیماری‌های خاکزاد نشان‌دهنده کنترل چندژنی (Polygenic) و کاهش سرعت توسعه علائم است. در نهایت، کلاستر ۳ با بالاترین میانگین شدت بیماری (۹۵/۸۳ درصد)، گروه حساس را تشکیل داد. نتایج به‌دست آمده با خروجی‌های تجزیه به مؤلفه‌های اصلی همپوشانی داشت که نشان می‌دهد شاخص AUDPC یک معیار کلیدی و پایدار برای غربالگری ژرم‌پلاسم توتون در برنامه‌های به‌نژادی مقاومت به بیماری است.




**شکل ٤. دندروگرام حاصل از تجزیه خوشه‌ای به روش کمترین واریانس وارد و فاصله اقلیدسی بر روی سطح زیر منحنی پیشرفت بیماری ساق سیاه توتون در ارقام مورد مطالعه.**

**Figure 4. Dendrogram of Cluster analysis based on Ward's minimum variance method and Euclidean distance of the area under disease progress curve in tobacco varieties**

شرایط گلخانه‌ای مورد استفاده برای انجام این آزمایش‌ها با دمای ۲۵ تا ۲۸ درجه سانتی‌گراد و دوره‌های اشباع مکرر خاک برای تشکیل اسپورانژیوم و رهایش زئوسپور (Gallup et al. 2006) بسیار مساعد بود و سبب بروز علائم بیماری، ۱۴ روز پس از مایه‌زنی گیاهان گردید. در رقم حساس K326، دوره انکوباسیون مشاهده شده کوتاه‌تر و شدت بیماری روی آن بالا بود اما حتی در شرایط مطلوب این مطالعه، رقم شاهد مقاوم (K346) علائم خاصی از بیماری بروز نداد. این نتایج با گزارش‌های قبلی در مورد سطوح بالای مقاومت نسبی رقم K346 و حساسیت بالای رقم K326 در مطالعات گلخانه‌ای و مزرعه‌ای (Zeng et al. 2019; Sullivan et al. 2005a) مطابقت دارد. اگرچه در مطالعه حاضر وضعیت سیستم ریشه‌ای ارقام توتون موردارزیابی تجربی قرار نگرفته است، اما بررسی منابع علمی موجود می‌تواند سرنخ‌هایی از مکانیسم‌های احتمالی مقاومت به‌دست دهد. به‌عنوان مثال، گزارش‌های پیشین نشان داده است که تعداد ریشه‌های نابجا در رقم K326 (با مقاومت جزئی کم) بیشتر از K346 (با مقاومت جزئی بالا) است (Antonopoulos et al. 2010). بر مبنای این فرضیه کلاسیک بیماری شناختی که توسط Jones & Shew (1995) مطرح شده است، احتمال می‌رود یکی از مکانیسم‌های توجیه‌کننده فرار یا اجتناب از بیماری (Disease Avoidance) در ژنوتیپ‌های مقاوم، به ساختار فیزیکی ریشه مرتبط باشد، به‌طوری‌که گیاهانی با ریشه‌های کمتر از شانس تماس فیزیکی کمتری با زادمایه خاکزاد بیمارگر برخوردارند. همچنین مطالعات نشان می‌دهند ارقام با سیستم ریشه‌ای کوچک‌تر ممکن است برای تحریک فاز آلودگی به تراکم زادمایه اولیه بالاتری نیاز داشته باشند (English & Mitchell 1989). اگرچه تایید قطعی این مکانیسم معماری ریشه در ارقام مورد بررسی در این تحقیق، نیازمند ارزیابی‌های اختصاصی در پژوهش‌های آینده است، اما هم‌خوانی فنوتیپ‌های حرکتی ارقام موردمطالعه در تحقیق حاضر با الگوهای فوق، پتانسیل این فرضیه را در توجیه پویایی بیماری نشان می‌دهد.

**جدول ۵. مشخصات آماری، فاصله و میانگین صفات فنوتیپی در کلاسترهای حاصل از تجزیه خوشه‌ای ارقام توتون**

**Table 5. Statistical characteristics, distance metrics, and mean phenotypic traits of clusters derived from the cluster analysis of tobacco cultivars**

| مشخصات کلاسترها<br>Clusters characteristics | کلاستر ۱ (مقاوم)<br>Cluster1 (Resistant) | کلاستر ۲ (مقاومت نسبی)<br>Cluster2 (SemiResistant) | کلاستر ۳ (حساس)<br>Cluster3 (Susceptible) |
|---|---|---|---|
| ارقام موجود در کلاستر<br>Cultivars in cluster | K346, Bel61-10, K394, NC60, NC100 | MN944, Coker 176 | TC100, K326 Coker 347 |
| میانگین شاخصAUDPC<br>Mean AUDPC index | 35.00 c | 623.44 b | 1866.66 a |
| میانگین شدت بیماری (٪)<br>Mean Disease severity (%) | 2.50 c | 56.25 b | 95.83 a |
| مجموع مربعات درون کلاستر<br>(Within-Cluster SS) | 0.415 | 0.098 | 0.312 |
| میانگین فاصله از مرکز کلاستر<br>(Average Distance) | 0.28 | 0.14 | 0.24 |
| بیشترین فاصله از مرکز کلاستر<br>(Maximum Distance) | 0.62 | 0.18 | 0.45 |

منابع متعددی برای بهبود وضعیت مقاومت در ارقام توتون در برابر *P. nicotianae* مورداستفاده قرار گرفته است. به‌عنوان مثال، مقاومت کامل در ارقام توتون بارلی و گرمخانه‌ای در برابر نژاد صفر، حاصل ادغام ژن‌های *Php* و *Phl* است که از گونه‌های نزدیک *N. plumbaginifolia* و *N. longifora* وارد شده‌اند (Antonopoulos et al. 2010). علاوه بر مقاومت غالب، مقاومت چندژنی نیز در ارقام تجاری توتون‌های گرمخانه‌ای و بارلی وجود دارد که احتمالاً از رقم توتون Florida 301 مشتق شده است و در برابر تمام سویه‌های شناخته‌شده *P. nicotianae* مقاوم است. همچنین رقم Beinhart 1000، بالاترین سطح مقاومت کمی در برابر *P. nicotianae* را دارا است و مقاومت در این لاین ممکن است در برابر تمام نژادها مؤثر باشد. یک ژن خارجی دیگر به نام *Wz* که از *N. rustica* وارد شده است، نیز سطح بالایی از مقاومت در برابر نژادهای صفر و یک را ایجاد می‌کند (McCorkle et al. 2018). در این راستا پویایی فنوتیپی ارقام مورد بررسی در پژوهش حاضر را می‌توان بر اساس تبار ژنتیکی آن‌ها تبیین نمود. قرارگیری ارقام K346 و K394 در خوشه ارقام مقاوم (شکل ۴)، مستقیماً با منشأ ژنتیکی آن‌ها ارتباط دارد. این ارقام مقاومت چندژنی و پایدار خود را از لاین مشهور Florida 301 به ارث برده‌اند که مکانیسم کنترل فنوتیپی آن‌ها را در فازهای میانی و نهایی پیشرفت بیماری توجیه می‌کند (Jin et al. 2022). از سوی دیگر، مقاومت در لاین‌های NC در طول آزمایش ناشی از انتقال ژن غالب *Php* از گونه *N. plumbaginifolia* به این ژنوتیپ است که سد دفاعی مستحکمی در برابر پویایی زئوسپورها ایجاد می‌کند (Gallup, 2009). اگرچه کشت ارقام مقاوم یکی از بهترین روش‌های مدیریت این بیماری است اما کشت ارقام مقاوم احتمالا منجر به ظهور نژادهای جدید *P. nicotianae* نیز خواهد شد (Van Jaarsveld et al. 2002). بر طبق گزارش‌های موجود، کاشت مداوم ارقام با مقاومت کامل در برابر نژاد صفر (نظیر ژنوتیپ‌های حامل ژن *Phl* یا *Php*)، ساختار نژادی جمعیت *P. nicotianae* را به سمت نژاد یک تغییر داده است (Csinos 2005; Ji et al. 2014). بنابراین از آنجا که رقم تجاری K346 بر پایه مقاومت چندژنی (Florida 301) توسعه یافته، پتانسیل بالاتری برای پایداری در مزارع آلوده دارد و بر خلاف ارقام تک‌ژنی، فشار انتخابی کمتری برای جهش بیمارگر ایجاد می‌کند. یافته‌ای که اهمیت استفاده از این ژرم‌پلاسم مقاوم را در برنامه‌های مدیریت یکپارچه و تلفیقی بیماری (تلفیق روش‌های زراعی، بیولوژیکی و شیمیایی) دو چندان می‌سازد.

آزمایشات مزرعه‌ای انجام شده در تقرتپه استان گلستان نشان داد که کاربرد تمامی قارچ‌کش‌ها بر روی نشای توتون رقم K326 به‌طور قابل توجهی درصد آلودگی بیماری ساق سیاه را نسبت به شاهد کاهش و کارایی قابل توجهی در کنترل بیماری نشان می‌دهد (شکل ۵ و ۶). اولین علایم بیماری ساق سیاه توتون در تیمار شاهد، ۴۴ روز بعد از نشاکاری مشاهده و علایم گیاه‌سوزی در هیچ یک از تیمارها مشاهده نگردید. بر اساس نتایج به‌دست آمده تفاوت معنی‌داری ($P<0.01$) در اثر کنترلی بین قارچ‌کش اوروگو ۰/۷ میلی‌لیتر بر لیتر (۳۲/۷ درصد) و بلتانول ۰/۵ میلی‌لیتر بر لیتر (۳۸ درصد) مشاهده نشد (جدول ۶).

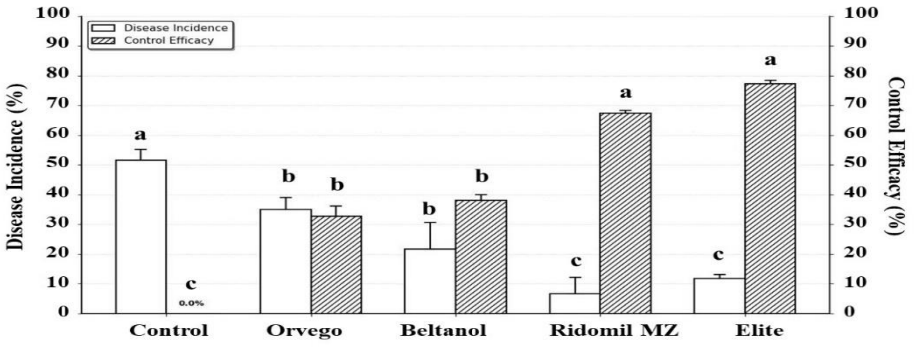
**جدول ٦. تجزیه واریانس مقدار وقوع بیماری ساق سیاه توتون و میزان کارایی قارچ‌کش‌ها**

**Table 6. Analysis of variance of the tobacco black shank incidence and the efficacy of the applied fungicides**

| منابع تغییرات SOV | درجه آزادی df | میانگین مربعات Mean Squared | |
|---|---|---|---|
| | | وقوع بیماری (٪) Disease Incidence (%) | کارایی قارچ‌کشی (٪) Fungicidal efficacy (%) |
| تکرار Replication | 2 | 823.33 | 1066.14 |
| قارچ‌کش Fngicides | 4 | 4006.67** | 3752.66** |
| خطا Error | 8 | 433.33 | 271.25 |

** معنی داری در سطح احتمال یک درصد را نشان می دهد.

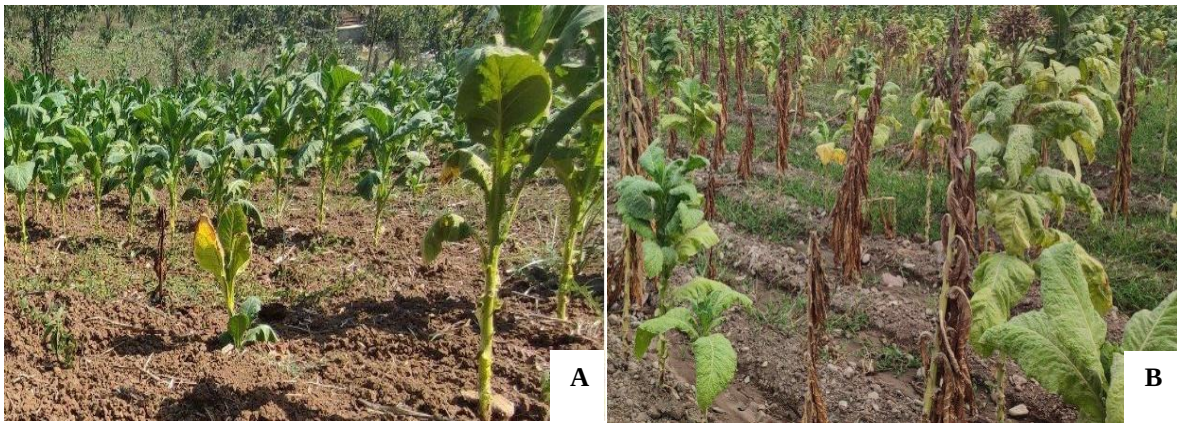
همچنین تاثیر کاربرد قارچ‌کش‌های مختلف بر میزان ارتفاع بوته توتون، ورن خشک و وزن سبز برگ گیاهان، در سطح احتمال یک درصد مقایسه آماری شدند. نتایج نشان داد که کاربرد قارچ‌کش‌های مختلف از نظر صفات اندازه‌گیری شده با تیمار شاهد اختلاف معنی‌داری داشته و به کمک آزمون LSD مقایسه میانگین صفات انجام و تیمارها براساس آن صفات گروه‌بندی شدند. بر اساس این نتایج همه تیمارهای قارچ‌کش ارتفاع بوته توتون، وزن خشک و وزن سبز برگ را در مقایسه با شاهد تیمار نشده بهبود بخشیدند (جدول ۷).




**شکل ۵. تاثیر قارچ‌کش‌ها بر روی میزان وقوع بیماری ساق سیاه توتون رقم K236 در شرایط مزرعه. حروف متفاوت نشان دهنده وجود اختلاف معنی‌دار می باشند (P<0.01)**

**Figure 5. Effect of fungicides on tobacco black shank disease in K326 cultivar, under field conditions. Different letters indicate the presence of significant differences (P<0.01). Fungicide Elite 80% (2.5 per thousand), Orvego 52.5% (0.7 per thousand), Beltanol 37.5% (0.5 per thousand) and Ridomil 72% (2 per thousand). Different letters indicate the presence of significant differences (P<0.01).**

در مورد میزان تولید توتون، تیمار گیاهان با الیت توانست میانگین قیمت و درآمد ناخالص را به‌طور قابل توجهی تحت تاثیر قرار دهد و حداکثر عملکرد برگ خشک توتون به ۵۲۶۵ کیلوگرم در هکتار رسید که به‌طور معنی‌داری ($P<0.01$) بیشتر از عملکرد برگ خشک در شاهد تیمار نشده (۴۲۰۰ کیلوگرم در هکتار) بود (جدول ۷ و شکل ۷–D). نتایج آزمایشات میدانی روند مشابهی را در خصوص قارچ‌کش ریدومیل نشان داد. نتایج نشان داد که قارچ‌کش ریدومیل با غلظت دو در هزار اثر کنترلی مثبت و معنی‌داری بر وقوع بیماری ساق سیاه توتون داشت (شکل ۵). علاوه بر این، کاربرد این قارچ‌کش به‌طور معنی‌داری مقدار ازت کل موجود در برگ توتون را نسبت به سایر تیمارها افزایش داد. کارایی قارچ‌کش‌های الیت و ریدومیل در کنترل بیماری به‌ترتیب برابر ۷۷/۴ و ۶۷/۷ درصد بود و اثرات آن‌ها بر کنترل بیماری، به‌طور معنی‌داری بهتر از اوروگو (۳۲/۷ درصد) و بلتانول (۳۸ درصد) بود (شکل ۵). همچنین تیمار با دو قارچ‌کش الیت و ریدومیل، کیفیت محصول توتون و مقدار نیکوتین را به‌طور معنی‌داری ($P<0.01$) نسبت به شاهد افزایش داد (جدول ۷ و شکل ۷–H,I). بیشترین مقدار نیکوتین در تیمار الیت (۲ درصد) مشاهده شد. از سوی دیگر، ارتفاع بوته توتون، وزن سبز و وزن خشک برگ و میزان درآمد ناخالص حاصل، در تیمار کاربرد قارچ‌کش الیت، به‌طور معنی‌داری بیشتر از سایر تیمارها بود (شکل ۷).




**شکل ٦. مقایسه کارایی A) قارچ‌کش الیت و B) تیمار شاهد، در مدیریت بیماری ساق سیاه توتون روی رقم حساس K326 در شرایط مزرعه.**

**Figure 6. Study of fungicide efficacy in A) Elite and B) control treatment, in managing black shank symptoms on the tobacco susceptible cultivar K326 in field conditions.**

استفاده از قارچ‌کش‌ها روش اصلی برای مدیریت بیماری ساق سیاه توتون است (Bittner and Mila 2017). در این مطالعه، محلول‌پاشی با قارچ‌کش‌های مختلف یک بار قبل از نشاکاری و دو بار بعد از آن در مزرعه انجام شد. مطالعات نشان داده است که اگر سابقه آلودگی به بیماری ساق سیاه توتون در مزرعه وجود داشته باشد، کاربرد قارچ‌کش‌های قابل استفاده در خاک، قبل یا بلافاصله پس از نشاکاری ممکن است در محافظت از نشای توتون در مزرعه موثر باشد (Hansen & Zeng 2022). این نوع

کاربرد، پوشش نواری از قارچ‌کش را مستقیماً در مجاورت نشاهای تازه منتقل شده فراهم می‌آورد و شانس کنترل بیماری را افزایش می‌دهد (Miller et al. 2024). در تحقیقات گوناگون قارچ‌کش‌هایی مانند متالاکسیل و ایزومر آن مفنوکسام (Antonopoulos et al. 2010)، اگزاتیاپیپرولین (Ji et al. 2014)، دی‌متومورف، فلوپیکولید و اینفینیتو (Ren et al. 2018) برای کنترل این بیماری مورد آزمایش و مطالعه قرار گرفته‌اند. در مطالعه حاضر چهار قارچ‌کش الیت ۸۰ درصد، بلتانول ۳۷/۵ درصد، اوروگو ۵۲/۵ درصد و ریدومیل ۷۲ درصد برای کنترل بیماری ساق سیاه توتون مورد ارزیابی قرار گرفتند. ارزیابی مزرعه‌ای کارایی قارچ‌کش‌ها نشان داد که قارچ‌کش‌های الیت و ریدومیل قادر هستند به‌طور قابل‌توجهی وقوع بیماری ساق سیاه را نسبت به شاهد کاهش و عملکرد و کیفیت تنباکو را افزایش دهند. تیمارهای الیت و ریدومیل به‌طور کلی عملکرد بهتری نسبت به سایر تیمارها داشته‌اند و باعث افزایش ارتفاع بوته، وزن سبز و خشک، عملکرد، قیمت و درآمد شدند. همچنین کاربرد قارچ‌کش الیت باعث افزایش مقدار عناصر غذایی و نیکوتین شده است. این نتایج حاکی از آن است که کاربرد این قارچ‌کش‌ها می‌تواند به‌عنوان یک جزء امیدوارکننده در توسعه برنامه‌های یکپارچه برای مدیریت موثر بیماری مورد استفاده قرار گیرد.

**جدول ۷. تجزیه واریانس صفات مورفولوژیک و فیزیولوژیک اندازه‌گیری‌شده در تیمارهای مختلف مصرف قارچ‌کش به‌منظور کنترل بیماری ساق سیاه توتون در شرایط مزرعه**

**Table 7. Analysis of variance of morphological and physiological traits measured in different fungicide treatments to control tobacco black shank disease under field conditions**

| | | Mean squared میانگین مربعات | | | | |
|---|---|---|---|---|---|---|
| SOV | درجه آزادی df | شاخص سطح برگ (LAI) Leaf area index (LAI) | ارتفاع بوته (cm) Plant height (cm) | وزن سبز (تن در هکتار) Green weight (T/h) | وزن خشک (کیلوگرم در هکتار) Dry weight (Kg/h) | میانگین قیمت هزار تومان Mean price (Thousands Toman) |
| تکرار Replicarion | 2 | 0.008 | 0.87 | 0.295 | 1179.16 | 0.164 |
| قارچ‌کش Fungicide | 4 | 0.482** | 7.43** | 19.82** | 498443.93** | 39.255** |
| خطا Error | 8 | 0.031 | 0.28 | 0.690 | 227.73 | 0.793 |
| ضریب تغییرات (٪) CV (%) | | 2.3 | 1.2 | 7.3 | 7.8 | 2.8 |

ns و** به‌ترتیب عدم وجود اختلاف معنی‌دار و وجود اختلاف معنی‌دار در سطح احتمال یک درصد را نشان می دهد.

**ادامه جدول ۷. تجزیه واریانس صفات مورفولوژیک و فیزیولوژیک اندازه‌گیری‌شده در تیمارهای مختلف مصرف قارچ‌کش به‌منظور کنترل بیماری ساق سیاه توتون در شرایط مزرعه**

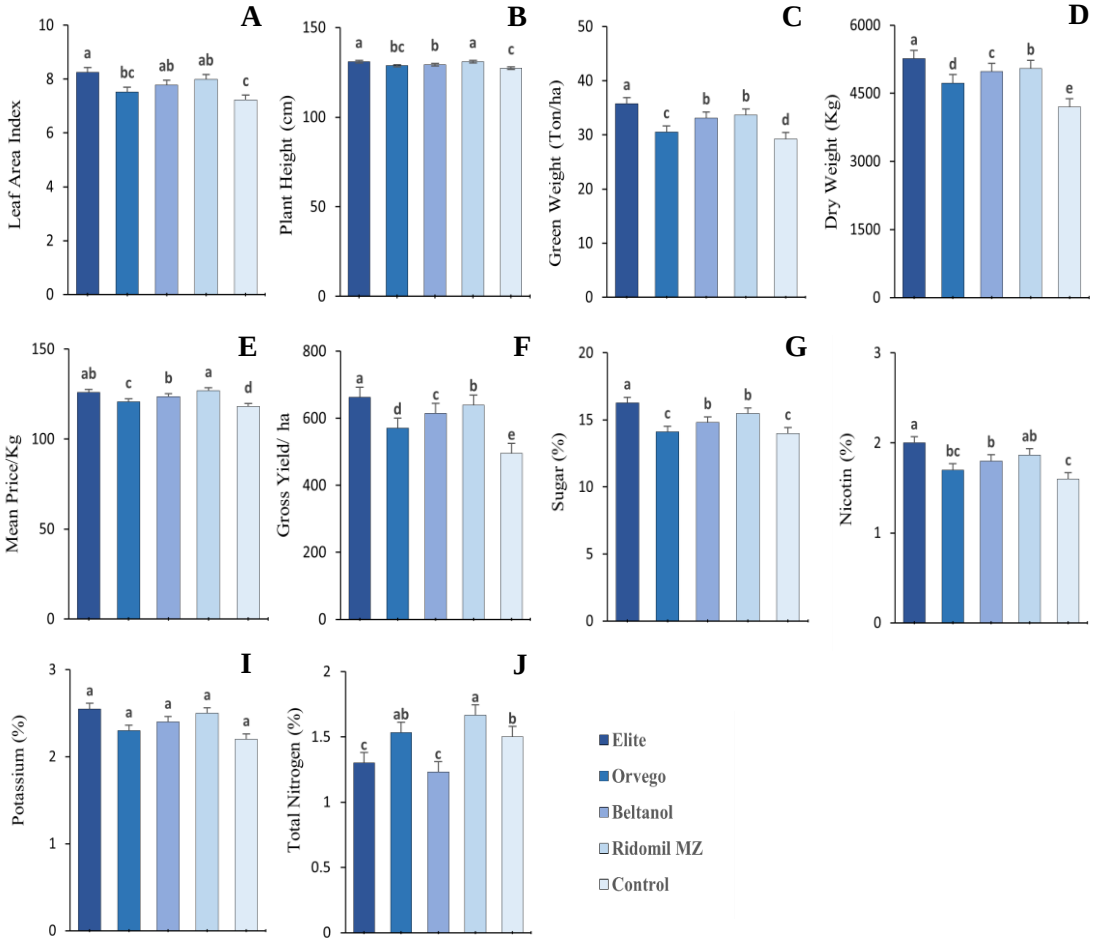
**Table 7. Analysis of variance of morphological and physiological traits measured in different fungicide treatments to control tobacco black shank disease under field conditions**

| SOV | درجه آزادی df | Mean squared میانگین مربعات | | | | |
|---|---|---|---|---|---|---|
| | | درآمد ناخالص (میلیون تومان در هکتار) Gross income (Million Tomans/h) | ازت کل Total Nitrogen (%) | پتاسیم کل Total Potassium (%) | قند Sugar (%) | نیکوتین Nicotine (%) |
| تکرار Replicarion | 2 | 115.4 | 0.005 | 0.013 | 0.02 | 0.0007 |
| قارچ‌کش Fungicide | 4 | 13159.73** | 0.095** | 0.062$^{ns}$ | 2.73** | 0.071** |
| خطا Error | 8 | 17.73 | 0.003 | 0.02 | 0.06 | 0.004 |
| ضریب تغییرات (٪) CV (%) | | 10.3 | 3.6 | 5.9 | 1.7 | 3.6 |

** به‌ترتیب عدم وجود اختلاف معنی‌دار و وجود اختلاف معنی‌دار در سطح احتمال یک درصد را نشان می‌دهد.

متالاکسیل و ایزومر فعال آن، مفنوکسام، که به‌عنوان قارچ‌کش ریدومیل گلد در دسترس بوده است، به گروه فنیل‌آمید تعلق دارند و در مطالعات متعدد کارایی آن‌ها در کنترل ساق سیاه توتون به اثبات رسیده است (Csinos 2005; Antonopoulos et al. 2010; Miller et al. 2024). نحوه عملکرد آن‌ها شامل انتقال سیستمیک مواد فعال از طریق آوند چوبی در گیاه می‌باشد که از رشد میسلیوم و تولید اسپورانژیوم بیمارگر جلوگیری می‌کند (Antonopoulos et al. 2010). از آن‌جایی که مفنوکسام و مشتقات آن برای چندین دهه به‌عنوان یکی از تنها قارچ‌کش‌های موجود برای کنترل بیماری ساق سیاه به‌کار گرفته شده است، استفاده مداوم از آن باعث کاهش حساسیت میسلیوم جدایه‌های *P. nicotianae* در طول زمان شده و خطر ایجاد مقاومت در این بیمارگر را به‌همراه دارد (Qu et al. 2016). از طرف دیگر قارچ‌کش فوزتیل آلومینیوم یا الیت، قارچ‌کش و باکتری‌کش سیستمیک از مشتقات اسید فسفونیک و خانواده الکیل فسفانات است. اگرچه رشد بیمارگر را در شرایط آزمایشگاهی تا حدی مهار می‌کند، اما اثربخشی اولیه آن در القای مکانیسم‌های دفاعی قوی در گیاه میزبان نهفته است (Guest & Bompeix 1990). فوزتیل آلومینیوم

به‌سرعت از طریق برگ و ریشه جذب گیاه شده و با حرکت رو به بالا و پایین درگیاه منتشر می‌شود و با فعال کردن مکانیسم دفاعی و تأثیر بر بیمارگر، سبب کاهش رشد بیمارگر و کنترل بیماری می‌گردد. فوزتیل آلومینیوم با ایجاد مقاومت در گیاه از طریق تولید فیتوالکسین‌ها به‌ویژه کپسیدیول از شدت بیماری می‌کاهد و دارای فعالیت اختصاصی علیه گونه‌های Phytophtora می‌باشد (Young et al. 1992).




**شکل ۷. مقایسه تاثیر قارچ‌کش‌های مختلف بر شاخص سطح برگ، ارتفاع گیاه، عملکرد و کیفیت توتون در مزرعه. میانگین‌ها با استفاده از حداقل فاصله معنی‌داری (P<0.01) مورد مقایسه قرار گرفته‌اند. A) شاخص سطح برگ، B) ارتفاع بوته (cm)، C) وزن سبز (T/h)، D) وزن خشک (Kg/h)، E) میانگین قیمت (هزار تومان) F) درآمد ناخالص (میلیون تومان/هکتار)، G) نیتروژن کل (٪)، H) پتاسیم کل (٪)، I) قند (٪)، J) نیکوتین (٪)**

**Figure 7. Effects of fungicides on leaf area index, plant height, yield and quality of tobacco in the field. Least squares mean of the ranked data compared with Least significant difference (LSD, P<0.01) comparisons as follow; A) Leaf area index, B) Plant height (cm), C) Green weight (T/h), D) Dry weight (Kg/h), E) Mean price (Thousand Tomans), F) Gross income (Million Tomans/h), G) Total nitrogen (%), H) Total potassium (%), I) Sugar (%) and J) Nicotine (%). Error bars indicate the standard error of the mean.**

**نتیجه‌گیری:** توتون یک محصول اقتصادی مهم در ایران است به‌طوری‌که گردش مالی دخانیات در ایران طی سال ۱۳۹۸ در برآورد حداقلی حدود ۳۰ هزار میلیارد تومان بوده است. با این حال، ساق سیاه توتون یکی از بیماری‌های ویرانگر است که باعث مرگ گیاه و کاهش عملکرد توتون در مناطق تحت کشت آن در ایران می‌شود. مدیریت بیماری ساق سیاه در استان‌های شمالی کشور از اهمیت بیشتری برخوردار است زیرا وجود رطوبت بالا و بارندگی در فصل رشد توتون، شرایط زیست محیطی مساعد را برای توسعه بیماری و ظهور چرخه‌های ثانویه بیماری در طول فصل رشد فراهم می‌آورد. نتایج این پژوهش نشان داد که جدایه *Phytophthora nicotianae* جداسازی‌شده از مزارع استان گلستان قادر به ایجاد بیماری ساق سیاه با شدت بالا بر روی ارقام حساس توتون است. با این حال، ارزیابی مقاومت ارقام تجاری حاکی از وجود تنوع ژنتیکی قابل‌توجه در واکنش به این بیمارگر بود. ارقام K394، NC60، Bel61-10 و K346، کاملا مقاوم به بیماری بودند و هیچ علائم بیماری در آن‌ها مشاهده نشد. این ارقام می‌توانند به‌عنوان منابع ژنتیکی ارزشمند در برنامه‌های به‌نژادی توتون برای توسعه ارقام مقاوم به کار گرفته شوند. در مقابل تنها رقم ایرانی موردمطالعه به بیماری حساسیت نشان داد. تجزیه‌های PCA و خوشه‌بندی نیز به‌وضوح این دو گروه مقاوم و حساس را تفکیک کردند و شاخص AUDPC را به‌عنوان معیار مناسبی برای غربالگری مقاومت تأیید نمودند. از منظر مدیریت تلفیقی، کاربرد قارچ‌کش‌های الیت و ریدومیل کارایی بالایی در کاهش وقوع بیماری و افزایش عملکرد و کیفیت محصول در شرایط آلودگی طبیعی مزرعه داشتند. کنترل شیمیایی بیماری به‌عنوان بخشی از یک سیستم مدیریت یکپارچه بیماری مفید به‌نظر می‌رسد اما در صورت استفاده بر روی ارقام حساس چندان موثر نخواهد بود. بنابراین چنانچه کنترل شیمیایی در ترکیب با عملیات زراعی و ارقام مقاوم به‌همراه ارائه اطلاعات پیش‌آگاهی به کشاورزان تلفیق گردد، به کاهش مصرف سموم شیمیایی و کاهش هزینه تولید خواهد انجامید. با توجه به شیوع بیمارگر در شمال ایران، استفاده از ارقام مقاوم شناسایی‌شده همراه با قارچ‌کش‌های مؤثر و روش‌های زراعی مناسب، می‌تواند خسارت بیماری ساق سیاه را به‌طور قابل‌توجهی کاهش داده و پایداری تولید توتون را در مناطق آلوده تضمین کند. این یافته‌ها تأکید می‌کنند که بهره‌گیری از مقاومت ژنتیکی ارقام، به‌عنوان پایه اصلی مدیریت پایدار این بیماری ویرانگر می‌توانند مورد تاکید قرار گیرند.

## سپاسگزاری

نگارندگان از آقای مهندس افشین سجادی، کارشناس گیاهپزشکی ایستگاه تحقیقات توتون تیرتاش صمیمانه سپاسگزاری می‌نمایند.

## References

Antonopoulos, D. F., Melton, T., & Mila, A. L. (2010). Effects of chemical control, cultivar resistance, and structure of cultivar root system on black shank incidence of tobacco. *Plant Disease*, *94*, 613–620. doi.org/10.1094/PDIS-94-5-0613

Azimi H. (2014). Effect of chlorothalonil and famoxadone + cymoxanil in control of early blight disease of tomato under field conditions. *Journal of Applied Research in Plant Protection, 3*(1), 35-48 (in Persian with English abstract).

Bittner, R. J., & Mila, A. L. (2017). Efficacy and timing of application of oxathiapiprolin against black shank of flue-cured tobacco. *Crop Protection*, *93*, 9-18. doi.org/10.1016/ j.cropro.2016.10.019

Chehri, K., Abbasi, S., Reddy, K. R. N., & Salleh, B. (2010). Occurrence and pathogenicity of various pathogenic fungi on cucurbits from Kermanshah province, Iran. *African Journal of Microbiology Research*, *4*(12), 1215-1223.

Chen, X., He, B., Yang, H., & Cernava, T. (2020). Bacteriome and mycobiome in *Nicotiana tabacum* fields affected by black shank disease. *Plant Disease*, *104*, 315–319. doi.org/10.1094/ PDIS-07-19-1342-A

Colas, V., Lacourt, I., Ricci, P., Vanlerberghe-Masutti, F., Venard, P., Poupet, A., & Panabieres, F. (1998). Diversity of virulence in *Phytophthora parasitica* on tobacco, as reflected by nuclear RFLPs. *Phytopathology*, *88*:205–213. doi.org/10.1094/PHYTO. 1998.88.3.205

Coresta Recommended Methods. (2010a). Determination of reducing carbohydrates in tobacco by continuous flow analysis. N 38. www.coresta.org, visited: 2013/12/19.

Coresta Recommended Methods. (2010b). Determination of total alkaloids (as nicotine) in tobacco by continuous flow analysis. N 35. www.coresta.org, visited: 2013/12/19

Csinos, A.S. (2005). Relationship of isolate origin to pathogenicity of race 0 and 1 of *Phytophthora parasitica* var. *nicotianae* on tobacco cultivars. *Plant Disease*, *89*(3), pp.332-337. doi.org/10.1094/PD-89-0332

English, J. T., & Mitchell, D. J. (1989). Use of morphometric analysis for characterization of tobacco root growth in relation to infection by *Phytophthora parasitica* var. *nicotianae*. *Plant Soil*, *113*:243-249. https://doi.org/10.1007/BF02280187

Gallup, A., Sullivan, M., & Shew, H. (2006). Black shank of tobacco. St. Paul, MN: APS Press.

Gallup, C. A. (2009). The impacts of black shank resistance management on the population biology of *Phytophthora nicotianae* in tobacco. North Carolina State University. http://www.lib.ncsu.edu/resolver/ 1840.16/3128

Gallup, C. A., & Shew, H. D. (2010). Occurrence of race 3 of *Phytophthora nicotianae* in North Carolina, the causal agent of black shank of tobacco. *Plant Disease*, *94*:557-562. doi.org/ 10.1094/PDIS-94-5-0557

Gallup, C. A., McCorkle, K. L., Ivors, K. L., & Shew, D. (2018). Characterization of the black shank pathogen, *Phytophthora nicotianae*, across North Carolina tobacco production areas. *Plant Disease*, *102*, 1108–1114. https://doi.org/10.1094/PDIS-02-17-0295-RE

Guest, D., & Bompeix, G. (1990). The complex mode of action of phosphonates. *Australasian Plant Pathology*, *19*(4), 113-115. doi.org/10.1071/APP9900113

Hao, W., Gray, M.A., Förster, H., & Adaskaveg, J.E. (2019). Evaluation of new Oomycota fungicides for management of *Phytophthora* root rot of citrus in California. Plant Disease, *103*(4), 619-628. doi.org/10.1094/PDIS-07-18-1152-RE

Hansen, Z., & Zeng, Y. (2022). Disease Management. In 2023-2024 Burley and Dark Tobacco Production Guide (pp. 33-39). http://www2.ca.uky.edu/agcomm/pubs/ID/ID160/ ID160.pdf

Iran Tobacco Company. (2018). ITC research yearbook. Iranian Tobacco Company Press, Tirtash research and education center. doi.org/10.1094/PDIS-94-5-0613

Ji, P., Csinos, A.S., Hickman, L.L. & Hargett, U. (2014). Efficacy and application methods of oxathiapiprolin for management of black shank on tobacco. *Plant Disease*, *98*(11), pp.1551-1554. doi.org/10.1094/PDIS-02-14-0172-RE

Jin, J. & Shew, H.D. (2022). Impacts of Continued Exposure to a Susceptible Host Genotype on Aggressiveness of *Phytophthora nicotianae* Isolates Adapted to Multiple Sources of Partial Resistance. *Plant Disease*, *106*(2), pp.373-381. doi.org/10.1094/ PDIS-09-20-1972-RE

Jin, J., & Shew, H. D. (2021). Components of aggressiveness in *Phytophthora nicotianae* during adaptation to multiple sources of partial resistance in tobacco. *Plant Disease,* 105:1960-1966. doi.org/10.1094/PDIS-09-20-1929-RE

Jin, J., McCorkle, K. L., Cornish, V., Carbone, I., Lewis, R. S., & Shew, H. D. (2022). Adaptation of *Phytophthora nicotianae* to multiple sources of partial resistance in tobacco. *Plant Disease*, *106*(3): 906-917. doi.org/10.1094/PDIS-06-21-1241-RE

Jones, K. J., & Shew, H. D. (1995). Early season root production and zoospore infection of cultivars of flue-cured tobacco that differ in level of partial resistance to *Phytophthora parasitica* var. nicotianae. *Plant and Soil, 172*(1): 55-61. doi.org/10.1007/ BF00020859

Li, B., Liu, P., Xie, S., Yin, R., Weng, Q., & Chen, Q. (2015). Specific and Sensitive Detection of *Phytophthora nicotianae* by Nested PCR and Loop-Mediated Isothermal Amplification Assays. *Journal of Phytopathology*, *163*:185-193. doi.org/10.1111/ jph.12305

Ma, Y-N., Gu, Y-L., Liu, J., Zhang, Y., Wang, X., Xia, Z., & Wei, H-L. (2023). Deciphering the rhizosphere bacteriome associated with biological control of tobacco black shank disease. *Frontiers in Plant Science*, 14:1152639. doi.org/10.3389/ fpls.2023.1152639

Madden, L. V., Hughes, G., & Van den Bosch, F. (2007). Temporal analysis I: Quantifying and comparing epidemics. Pages 63-116 in: The Study of Plant Disease Epidemics. American Phytopathological Society, St. Paul, MN. doi.org/10.1094/ 9780890545058

McCorkle, K. L., Drake-Stowe, K., Lewis, R. S., & Shew, D. (2018). Characterization of *Phytophthora nicotianae* resistance conferred by the introgressed *Nicotiana rustica* region, Wz, in flue-cured tobacco. *Plant Disease*, *102*(2), pp.309-317. doi.org/10.1094/ PDIS-03-17-0339-RE

Mila, A. L., & Radcliff, J. (2014). Flue-Cured Tobacco Guide (Raleigh: North Carolina State University), pp. 124–156.

Miller, T., Richmond, M., Vann, M., & Hansen, Z. (2024). Sensitivity of *Phytophthora nicotianae* in Tennessee and North Carolina to mefenoxam, oxathiapiprolin, mandipropamid, and fluopicolide. *Plant Disease*, *108*(6), 1612-1620. doi.org/10.1094/PDIS-04-23-0632-RE

Panabieres, F., Ali, G. S., Allagui, M. B., Dalio, R. J., Gudmestad, N.C., Kuhn, M.L., Guha Roy, S., Schena, L., & Zampounis, A. (2016). *Phytophthora nicotianae* diseases worldwide: new knowledge of a long-recognised pathogen. *Phytopathologia Mediterranea*, pp.20-40. doi.org/10.14601/ phytopathol_mediterr-16423

Qu, T., Shao, Y., Csinos, A. S., & Ji, P. (2016). Sensitivity of *Phytophthora nicotianae* from tobacco to fluopicolide, mandipropamid, and oxathiapiprolin. *Plant Disease*, *100* (10), 2119–2125. doi.org/10.1094/PDIS-04-16-0429-RE

Ren, X., Ji, X., Qi, W., Meng, Z. & Qiao, K. (2018). Evaluation of the combination of propamocarb hydrochloride and fluopicolide for management of black shank on tobacco. *Crop Protection*, *114*: 12-17. doi.org/10.1016/j.cropro.2018.08.013

Sajjadi, A., & Assemi, H. (2012). Identification of pathogenic soilborne fungi of tobacco in Golestan province fields. *Applied Plant Protection*, 1(3): 233–248.

Sajjadi, A., Aghajani, M. A., Asemi, H., & Najafi, M.R. (2017). Status of tobacco black shank disease in Golestan province. *Research in Plant Pathology*, *5*(2):1-12.

Shew, H.D., & Lucas, G.B. (1991). Compendium of Tobacco Diseases. American Phytopathological Society, St. Paul, MN

Shew, H.D. (1987). Effect of host resistance on spread of *Phytophthora parasitica* var. *nicotianae* and subsequent development of tobacco black shank under field conditions. Phytopathology. 1; *77*(7):1090-3.

Stamps, D. J., Waterhouse, G. M., Newhook, F. J., & Hall, G. S. (1990). Revised tabular key to the species of Phytophthora (No. Ed. 2, pp. v+-28).

Sullivan, M. J., Melton, T. A., & Shew, H. D. (2005a). Fitness of races 0 and 1 of *Phytophthora parasítica* var. *nicotianae*. *Plant Disease*, *89*:1220-1228. doi.org/10.1094/PD-89-1220

Sullivan, M. J., Melton, T. A., & Shew, H. D. (2005b). Managing the race structure of *Phytophthora parasitica* var. *nicotianae* with cultivar rotation. *Plant Disease*, *89*:1285-1294. doi.org/10.1094/PD-89-1285

Thiessen, L. (2021). Managing Diseases. Pages 117-135 in: 2021 Flue-Cured Tobacco Guide. NC State Extension Publications, Raleigh, NC. https://content.ces.ncsu.edu/flue-cured-tobacco-information/ managing-diseases.

Theron, E., van Niekerk, J., & Van der Waals, J. (2025). A review of the use of phosphonates in the management of *Phytophthora nicotianae* in citrus in South Africa. *Phytoparasitica*, *53*(1):11.

Van Jaarsveld, E., Wingfield, M. J., & Drenth, A. (2002). Evaluation of Tobacco Cultivars for Resistance to Races of Phytophthora nicotianae in South Africa. *Journal of Phytopathology*, *150*:456-462. doi.org/10.1046/j.1439-0434.2002.00766.x

Van Jaarsveld, E., Wingfield, M. J., & Drenth, A. (2003). A rapid seedling-based screening technique to assay tobacco for resistance to *Phytophthora nicotianae*. J*ournal of Phytopathology*, *151*(7-8), 389-394. doi.org/10.1046/j.1439-0434.2003.00737.x

Vanegas, D. M., Navarro, R. A., Alfanador, L., Gutiérrez, J. A., Morales, J. G., & Gaviria, B. M. (2022). Characterization of *Phytophthora nicotianae* isolates from tobacco plants (Nicotiana tabacum) in Colombia. *Revista Ceres*, *69*, 78-91. doi.org/10.1590/0034-737X202269010011

Young, H. S., Tepper, B. L., Mercer, R. T., Pelizzo, G., & Anelich, R. (1992). Fosetyl-AI, A Management Tool for Control of Phytophthora Root Rot. World Second Avocado Congress. 69-74.

Zeng, J. M., Nifong, J., Liu, Y., Huang, C. J., Fang, D. H., Lewis, R. S., & Li, Y. P. (2019). Evaluating diverse systems of tobacco genetic resistance to *Phytophthora nicotianae* in Yunnan, China. *Plant Pathology*, *68*(9), 1616-1623. doi.org/10.1111/ppa.13091

Zhou, J., Xu T, Xu X, Dai T, & Liu T. (2023). The new report of root rot on Fatsia japonica caused by *Phytophthora nicotianae* in China. *Fores 14*:1459. doi.org/ 10.3390/f14071459