دانش بیماری‌شناسی گیاهی (شاپای ا: ۶۲۹۰-۲۵۸۸، شاپای چ: ۹۲۷۰-۲۲۵۱)
سال هشتم، جلد ۲، بهار و تابستان ۱۳۹۸
Plant Pathology Science (eISSN:2588-6290, pISSN:2251-9270)
Vol. 8(1), 2019

Research Article

Effect of Nano-Chitosan on Early Blight Disease of Tomato

AIDA AHMADIZADEH ESFAHANI1, MEHDI SADRAVI[1]✉ , SHOLEH KAZEMI[2]

1- Department of Plant Protection, Faculty of Agriculture and Natural Resources, Yasouj University, Yasouj, Iran. 2- Fars Plant Protection Organization, Shiraz, Iran.

Received: 09.06.2019 Accepted: 04.09.2019

Ahmadizadeh Esfahani A, Sadravi M and Kazem S (2019) Effect of nano-chitosan on early blight disease of tomato. Plant Pathology Science 8(2):102-109. DOI: 10.2982/PPS.8.2.102.

Abstract

Introduction: Early blight caused by *Alternaria* species is one of the most important tomato diseases in the world. The disease has been reported from most areas in Iran with up to 90% infection. This study was conducted to investigate the effect of nano-chitosan on the severity of the disease and its use as a replacement of the chemical fungicide, chlorothalonil. **Materials and Methods:** Diseased tomato plants of fields and greenhouses of Fars province in southern Iran were sampled. Pathogens were isolated from diseased tissues, purified and identified by studying their morphological characteristics. The effect of nano-chitosan at three concentrations of three, five and seven grams per liter and the fungicide chlorothalonil were tested before and after inoculation of two pathogens. The disease severity indexes were measures in Sunseed and 16 cultivars of tomato under greenhouse conditions using a factorial experimental in completely randomized design with four replications. The data were analyzed with comparing the means. **Results:** The isolated pathogens were identified as *A. solani* and *A. alternata*. Results of the greenhouse experiment showed that *A. solani* was more aggressive than *A. alternata* and the cultivar 16 was more resistant to the disease. Nano-chitosan at 5 and 7 mg/ l significantly reduced disease severity indexes when use before pathogen inoculation, and at 7 mg/l when use after pathogen inoculation. **Conclusion:** Nano-chitosan can be used as a bio-fungicide to replace chlorothalonil as a chemical fungicide for disease management.

Key words: Blight, Nano-chitosan, Tomato, *Alternaria*.

✉ Corresponding author: msadravi@yu.ac.ir

مقاله پژوهشی

تاثیر نانوکیتوزان بر بیماری سوختگی زودهنگام گوجه‌فرنگی

آیدا احمدی‌زاده اصفهانی[۱]، مهدی صدروی[۱]✉ و شعله کاظمی[۲]
۱- گروه گیاه‌پزشکی، دانشکده کشاورزی و منابع طبیعی، دانشگاه یاسوج، یاسوج
۲- اداره حفظ نباتات استان فارس، شیراز

دریافت: ۱۳۹۸/۰۳/۱۹ پذیرش: ۱۳۹۸/۰۶/۱۵
احمدی‌زاده اصفهانی آ، صدروی م و کاظمی ش (۱۳۹۸) تاثیر نانوکیتوزان بر بیماری سوختگی زودهنگام گوجه‌فرنگی. دانش بیماری‌شناسی گیاهی ۸(۲):۱۰۹-۱۰۲. DOI: 10.2982/PPS.8.2.102

چکیده

مقدمه: سوختگی زودهنگام ناشی از گونه‌های *Alternaria* یکی از بیماری‌های مهم گوجه‌فرنگی در جهان است. این بیماری از بیشتر مناطق ایران با آلودگی تا ۹۰ درصد گزارش شده است. این پژوهش به منظور بررسی تاثیر نانوکیتوزان بر شدت بیماری برای استفاده از آن به عنوان جایگزین قارچکش شیمیایی کلروتالونیل انجام شد. **مواد و روش‌ها:** مزرعه‌ها و گلخانه‌های تولید گوجه‌فرنگی استان فارس، در جنوب ایران، بازدید و از بوته‌های بیمار نمونه‌برداری شد. بیمارگرها از بافت‌های بیمار جداسازی، خالص‌سازی وبا مطالعه خصوصیات ریخت‌شناسی شناسایی گردیدند. تاثیر نانوکیتوزان در سه غلظت سه، پنج و هفت گرم بر لیتر قبل و بعد از تلقیح دو بیمارگر و قارچکش کلروتالونیل بر شاخص‌های شدت بیماری در رقم‌های Sunseed و ۱۶، در شرایط گلخانه در قالب طرح آزمایشی- فاکتوریل با طرح آماری کاملاً تصادفی با چهار تکرار برای هر تیمار آزمایش شدند. داده‌های حاصله مورد تجزیه و تحلیل قرار گرفتند و میانگین‌ها مقایسه شدند. **یافته‌ها:** بیمارگرها *A. solani* و *A. alternata* شناخته شدند. نتیجه آزمایش گلخانه‌ای نشان داد که قدرت بیماریزایی *A. solani* بیشتر از *A. alternata* است، رقم ۱۶ مقاومت نسبی بیشتری به بیماری دارد و نانوکیتوزان در ۵ و ۷ میلی‌گرم در لیتر قبل از تلقیح بیمارگرها و در غلظت ۷ میلی‌گرم بعد از تلقیح بیمارگرها شاخص‌های شدت بیماری را به طور معنی‌داری بیشتر از سایر تیمارها کاهش می‌دهد. **نتیجه‌گیری:** نانوکیتوزان می‌تواند به عنوان یک قارچکش زیستی جایگزین مناسب قارچکش شیمیایی کلروتالونیل برای مدیریت بیماری باشد.

واژگان کلیدی: سوختگی، نانوکیتوزان، گوجه‌فرنگی، *Alternaria*

مقدمه Introduction

سوختگی زودهنگام (Early Blight) ناشی از گونه‌های *Alternaria* یکی از بیماری‌های مهم قارچی گوجه‌فرنگی به خصوص در مناطق گرم و مرطوب جهان است. نشانه‌های بیماری به شکل لکه‌های قهوه‌ای تیره تا سیاه‌رنگ با دوایر متحدالمرکز و هاله زردرنگ روی اندام‌های هوایی گیاه هستند، که به بوته‌های بیمار ظاهری سوخته می‌دهند. افزایش یک درصد شدت بیماری، موجب کاهش ۱/۳۶ درصد محصول می‌شود (Jones *et al.* 1993).

بیشترین خسارت بیماری در مناطقی با باران یا رطوبت زیاد و دمای بین ۲۴ تا ۲۹ درجه‌سلسیوس روی می‌دهد. اپیدمی بیماری همچنین می‌تواند در مناطقی با آب و هوای خشک که شبنم‌های طولانی و مکرر در شب‌ها دارند نیز اتفاق افتد (خنشا و همکاران Khansha *et al.* 2012,۱۳۹۱). کاهش محصول تا ۷۹ درصد از کانادا، هند، آمریکا و نیجریه گزارش شده است که ۴۰-۲۰ درصد این خسارت مربوط به سوختگی کامل نشاها در مزرعه بوده است (Chaerani and Voorrips 2006).

✉ مسئول مکاتبه : msadravi@yu.ac.ir

بیماری سوختگی زودهنگام گوجه‌فرنگی در تمام مناطق کشت این گیاه در ایران شیوع دارد و خسارت آن روی ارقام زودرس گوجه‌فرنگی که در نواحی دزفول، بوشهر و بندرعباس کشت می‌شود حدود ۹۰-۶۰ درصد برآورد شده است (Sufejalian 1991, Ershad 2009).

کیتوزان یک پلی‌مر طبیعی زیست تخریب‌پذیر، گرفته شده از پوست خرچنگ‌ها و میگو است. تاثیر کیتوزان بر رشد میسلیوم گونه‌هایی از *Alternaria*، *Botrytis*، *Colletotricum*، *Fusarium* و *Rhizopus* بررسی شده است (Propagdee *et al.* 2006, ElGhaouth *et al.* 1992). تاثیر نانوکیتوزان نیز بر رشد میسلیوم گونه‌هایی از *Candida*، *Fusarium* و *Aspergillus* مطالعه شده است (Ing *et al.* 2012).

نظربه اهمیت اقتصادی گوجه‌فرنگی، تحت کشت در مزرعه‌ها و گلخانه‌های استان فارس و مشاهده شیوع و خسارت شدید بیماری در این استان انجام این تحقیق برای بررسی امکان مدیریت بیماری با استفاده از نانو کیتوزان که یک ماده زیستی و سالم برای مصرف‌کننده و محیط زیست است، به عنوان جایگزین سم شیمیایی کلروتالونیل ،که در این منطقه برای مبارزه با بیماری مصرف می‌شود، ضروری به نظر رسید.

مواد و روش‌ها Materials and Methods

نمونه‌برداری، جداسازی، خالص‌سازی و شناسایی بیمارگرها

مزرعه‌ها و گلخانه‌های تولید گوجه‌فرنگی در شهرستان‌های مرودشت، زرقان و بیدزرد استان فارس بازدید شدند و از بوته‌های بیمار با نشانه‌های سوختگی نمونه‌برداری شد. نمونه‌ها به آزمایشگاه منتقل و بیمارگر از بافت‌های بیمار پس از ضدعفونی سطحی آنها با محلول هیپوکلریت سدیم ۰/۵ درصد به مدت ۳۵ ثانیه و شست‌وشو با آب مقطر سترون و قرار دادن روی محیط سیب‌زمینی/دکستروز/آگار (PDA) در دمای ۲۵ درجه سلسیوس جداسازی شدند. قارچ‌ها به روش تگ هاگ روی محیط (Potato Carrot Agar=PCA) در دمای ۲۵ درجه سلسیوس و دوره‌ی نوری شش ساعت روشنایی و ۱۸ ساعت تاریکی برای مدت پنج روز خالص‌سازی شدند (Pandey *et al.* 2003). خصوصیات پرگنه، ریسه، کنیدیوم‌بر و کنیدیوم قارچ‌ها با بینوکولر Zeiss مدل STEMI-SV8 و میکروسکوپ زمینه‌روشن Zeiss مدل Axiostar plus مطالعه و اندازه‌گیری شدند و با توصیف‌های گونه‌های *Alternaria* مقایسه و شناسایی گردیدند (Thomma 2003).

آزمایش تاثیر نانوکیتوزان بر شدت بیماری در شرایط گلخانه

این آزمایش به صورت طرح آزمایشی فاکتوریل با فاکتور اول: دو بیمارگر، فاکتوردوم: دو رقم گوجه‌فرنگی به نام‌های Sunseed و ۱۶، فاکتورسوم: کاربرد مواد شیمیایی شامل: سه غلظت نانوذره کیتوزان در قبل و بعد تلقیح بیمارگرها و پاشیدن سم کلروتالونیل به همراه شاهدهای سالم و بیمار برای هر بیمارگر، با طرح آماری کاملاً تصادفی با چهار تکرار برای هر تیمار انجام گرفت. بذرهای هر دو رقم گوجه‌فرنگی با محلول هیپوکلریت سدیم ۰/۵ درصد به مدت دو دقیقه و سه بار شست‌وشو با آب مقطر سترون ضدعفونی سطحی شدند و در گلدان‌های پلاستیکی حاوی یک کیلوگرم مخلوط خاک، شن و کود دامی سترون شده به نسبت مساوی ۱:۱:۱ کشت و هفته‌ای دوبار آبیاری شدند. پنجاه روز بعد برگ‌های بوته‌ها ابتدا به وسیله سوزن خراش داده شد و سپس با ۵۰ میلی‌لیتر هاگ‌های کشت خالص قارچ‌های بیمارگر به غلظت 10^6 در میلی‌لیتر برای هر بوته تلقیح شدند. تیمارهای شاهد با آب مقطر سترون تلقیح شدند. همه بوته‌ها پس از تلقیح در محیطی با رطوبت نسبی بیش از ۹۵ درصد (گلدان‌ها با استفاده از مه‌پاش و آب مقطر سترون مرطوب شدند و برای حفظ رطوبت با پلاستیک پوشانده شدند) و در دمای ۲۵ درجه سلسیوس به مدت پنج روز متوالی نگهداری شدند. بعد از سه روز نشانه‌های اولیه بیماری قابل مشاهده بودند. بوته‌ها با غلظت‌های سه، پنج و هفت گرم در لیتر نانوکیتوزان (Sigma Aldrich) همراه با یک درصد اسید استیک یک هفته قبل از تلقیح بیمارگرها و به محض مشاهده نشانه‌های بیماری به میزان ۵۰ میلی‌لیتر روی برگ‌های هر بوته پاشیده شدند. به محض مشاهده اولین نشانه‌های بیماری از سم کلروتالونیل (75%WP) در غلظت دو در هزار و به فاصله هر ده روز به میزان ۵۰

میلی‌لیتر برای هر بوته در سه نوبت روی برگ‌های آن تیمار پاشیده شد . همزمان با زرد و نزدیک به خشک شدن بوته‌های شاهد بیمار شاخص‌های شدت بیماری در هر بوته (درصد برگ‌های بیمار، تعداد و قطر لکه‌ها) یادداشت‌برداري گردیدند (Pandey *et al.* 2003). بافت‌های بیمار در همه تیمارها نمونه‌برداری شدند و پس از جداسازی و خالص‌سازی قارچ‌ها ، خصوصیات ریختی آنها با قارچ‌های تلقیح شده مقایسه شدند.

یافته‌ها Results

نشانه‌های بیماری

نشانه‌های بیماری در مزرعه‌ها و گلخانه‌ها روی برگ و میوه گوجه‌فرنگی به صورت لکه‌های زرد روی برگ‌های مسن پایین بوته‌ها بود، که با افزایش قطر آنها بزرگ‌تر و قهوه‌ای رنگ با دوایر متحدالمرکز زرد و قهوه‌ای شده بودند (شکل ۱). این لکه‌ها گاهی تمام سطح پهنک برگ را فراگرفته و باعث خشک شدن و ریزش برگ‌ها شده بودند.

بیمارگرها

دو گونه *Alternaria* به عنوان بیمارگرها شناسایی شدند که خصوصیات ریختی آنها به این شرح بود.

۱- *Alternaria solani* (Ellis and G. Martin) L.R. Jones: پرگنه تیره رنگ، ریسه منشعب با دیواره‌های عرضی، کنیدیوم‌برها کوتاه،کنیدیوم‌ها، قهوه‌ای رنگ تقریباً گلابی شکل به ابعاد ۲۰-۱۸×۲۸۸-۱۵۳ میکرومتر، چند سلولی با دیواره‌های عرضی و طولی و با نوکی مشخص و نسبتا بلند بودند.

۲- *Alternaria alternata* (Fr.) Keissl.: پرگنه قهوه‌ای تیره‌رنگ، کنیدیوم‌برها کوتاه، کنیدیوم‌ها به رنگ زیتونی تیره مایل به قهوه‌ای، گرد، بیضی تا تخم‌مرغی شکل به ابعاد ٤-۱۲×۲۲-۳۰ میکرومتر و اغلب به صورت زنجیری تشکیل شده بودند. کنیدیوم‌های این گونه در مقایسه با *A. solani* کوچکتر با نوک کوتاه‌تری هستند.

شکل ۱. نشانه‌های بیماری سوختگی زودهنگام گوجه‌فرنگی در جنوب ایران، A- لکه‌های سوخته روی برگ و میوه در مزرعه، B- لکه‌های سوخته روی برگ‌ها در گلخانه.

Figure 1. Symptoms of early tomato blight disease in southern Iran, A- Scorched spots on leaves and fruit in the farm, B- Scorched spots on leaves in the greenhouse.

تاثیر نانوکیتوزان بر شدت بیماری در شرایط گلخانه

نتیجه تجزیه واریانس داده‌های این آزمایش نشان داد که در سطح احتمال یک درصد بین تیمارها اختلاف معنی‌دار وجود دارد. نشانه‌های بیماری روی برگ‌های بوته‌های تلقیح شده با بیمارگرها کاملا مشهود بود (شکل ۲).

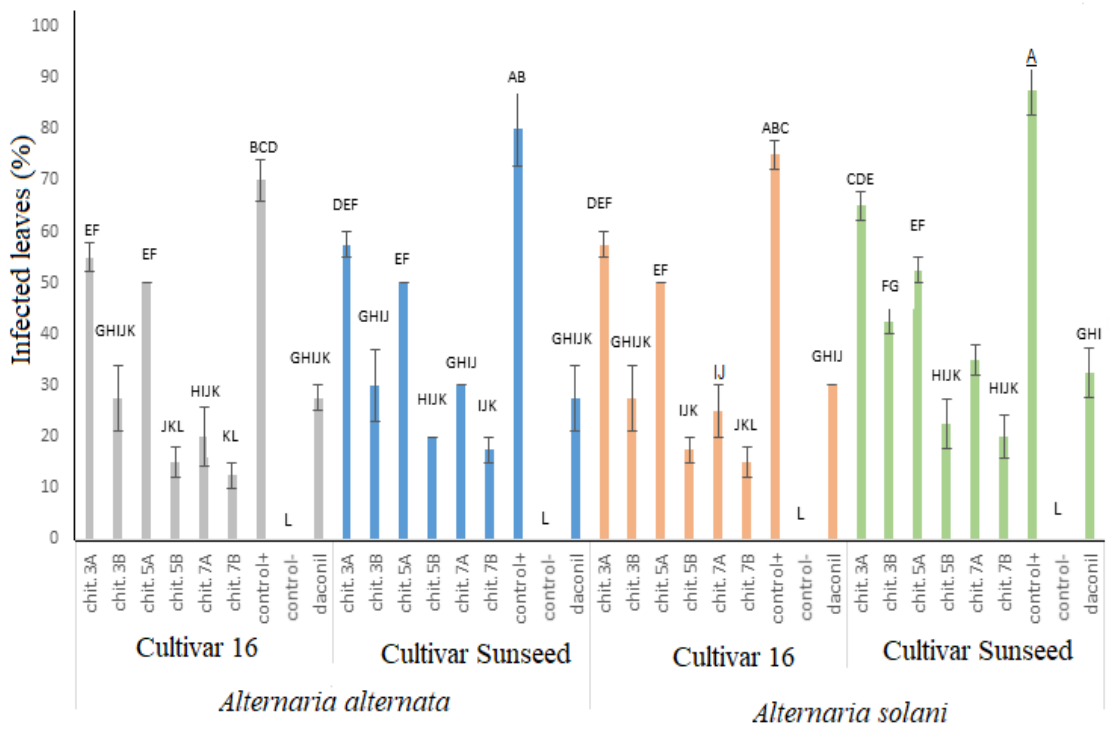
مقایسه میانگین‌ها درصد برگ‌های آلوده، نشان داد، که تمامی تیمارها با شاهدهای مثبت اختلاف معنی‌داری دارند (شکل ۳) . درصد برگ‌های آلوده در بوته‌های تلقیح شده هر دو رقم با *A. solani* بیشتر از بوته‌های تلقیح شده با *A. alternata* بود، که این حاکی از قدرت بیماری‌زایی بیشتر این قارچ بود. هم‌چنین درصد برگ‌های آلوده بین دو رقم Sunseed و ۱۶ نیز دارای اختلاف معنی‌داری بودند و در رقم Sunseed تلقیح شده با دو بیمارگر بیشتر از رقم ۱۶ بود و با هم اختلاف معنی‌دار داشتند، که این حالت حاکی از مقاومت نسبی رقم ۱۶ در مقابل دو بیمارگر است. غلظت‌های ۷ و ۵ گرم‌برلیتر نانوکیتوزان به صورت تیمار قبل از تلقیح بوته‌ها با بیمارگرها بیشترین اثر را در کاهش درصد برگ‌های آلوده داشتند. پس از این دو، تیمارهای سم کلروتالونیل و غلظت ۷ گرم بر لیتر نانوکیتوزان به صورت تیمار بعد از آلودگی توسط بیمارگرها بیشترین اثر را در کاهش درصد برگ‌های آلوده داشتند و هر سه در یک گروه آماری قرار گرفتند. مقایسه میانگین‌های تعداد و قطرلکه‌ها در تیمارهای مختلف نیز نتیجه مشابهی با مقایسه میانگین‌های درصد برگ‌های آلوده نشان دادند.

بحث **Discussion**

قارچ *A. solani* به عنوان عامل سوختگی زودهنگام گوجه‌فرنگی در بیشتر نقاط دنیا شناخته شده است (Jones 1993 *et al.*). این قارچ در ایران از استان‌های خوزستان، فارس، کرمان، تهران و آذربایجان غربی از روی گوجه‌فرنگی گزارش شده است (Ershad 2009). قارچ *A. alternata* نیز از روی گوجه‌فرنگی، در ایران از استان‌های خوزستان، بوشهر، اصفهان و سمنان گزارش شده است (Ershad 2009). بنابراین حضور *A. alternata* روی گوجه‌فرنگی در استان فارس برای نخستین بار گزارش می‌شود.

شکل ۲. نشانه‌های بیماری سوختگی زودهنگام روی رقم Sunseed گوجه‌فرنگی تلقیح شده با *Alternaria solani* در گلخانه.

Figure 2. Symptoms of early blight disease on tomato Sunseed cultivar, inoculated with *Alternaria solani* in greenhouse.



شکل ۳. تاثیر نانو کیتوزان و سم کلروتالونیل بر درصد برگهای آلوده دو رقم گوجه‌فرنگی به بیماری سوختگی زودهنگام ناشی از دو گونه*Alternaria* در گلخانه.

Figure 3. The effect of nano-chitosan and chlorotalonil on the percentage of infected leaves of two tomato cultivars due to early blight disease caused by two *Alternaria* species in greenhouse.

بررسی تاثیرکیتوزان بر میسلیوم و کنیدیوم‌های *Alternaria alternata*، تجزیه دیواره سلولی، انقباض غشای پلاسمایی، کج و کولگی سلولی، جدا شدن نوک کنیدیوم‌ها و تحلیل سلول‌های قارچ را نشان داده است (Bautista-Baños *et al.* 2011). کیتوزان باعث کاهش رشد میسلیوم گونه‌هایی از *Botrytis*، *Colletotricum*، *Fusarium* و *Rhizopus* می‌شود (ElGhaouth *et al.*1992، Propagdee *et al.* 2006). نانوکیتوزان نیز باعث کاهش رشد میسلیوم گونه‌هایی از *Candida*، *Fusarium* و *Aspergillus* شده است (Ing *et al.*2012). نتایج این پژوهش نیز نشان داد، که نانوکیتوزان میتواند در به طور معنی‌داری شدت بیماری سوختگی زودهنگام گوجه‌فرنگی ناشی از قارچ‌های *Alternaria solani* و *A. alternata* را کاهش دهد و این تاثیر با افزایش غلظت آن افزایش می‌یابد. طرز تاثیر کیتوزان و نانوکیتوزان بر میسلیوم و هاگ قارچ‌ها، به تحریک فعالیت آنزیم کیتین‌دی‌استیلاز توسط آنها، که منجر به تجزیه دیواره سلولی کیتینی قارچ‌ها و خارج شدن مواد درون سلولی آنها می‌انجامد نسبت داده شده است (Bautista-Baños *et al.* 2011) . تاثیر کیتوزان در القای مقاومت در گندم به بیماری سفیدشدن فوزاریومی سنبله به توانایی آن در فعال‌سازی آنزیم‌های پراکسیداز و پلی‌فنل‌اکسیداز و افزایش بیان ژنهای بتا-۱و۳ گلوکاناز و اگزالات اکسیداز نسبت داده شده است (Ghazimohseni and Sabagh 2016).

نتیجه‌گیری Conclusion

بیماری سوختگی زودهنگام در مزرعه‌ها و گلخانه‌های تولید گوجه‌فرنگی شهرستان‌های مرودشت، زرقان و بیدزرد استان فارس شایع است و خسارت زیادی به این محصول وارد می‌کند. عوامل بیماری در این منطقه قارچ‌های *Alternaria solani* و *A. alternata* هستند. آزمایش تاثیر غلظت‌های مختلف نانوکیتوزان و سم

کلروتالونیل بر شدت بیماری ناشی از این دو بیمارگر در رقم‌های تجارتی Sunseed و ۱۶ نشان داد که قدرت بیماری‌زایی *Alternaria solani* بیشتر از *A. alternata* است، رقم ۱۶ مقاومت نسبی بیشتری نسبت به رقم Sunseed دارد و نانوکیتوزان در ۵ و ۷ میلی‌گرم در لیتر قبل از تلقیح بیمارگرها و در غلظت ۷ میلی‌گرم بعد از تلقیح بیمارگرها شدت بیماری را به طور معنی‌داری بیشتر از سایر تیمارها کاهش می‌دهد، بنابراین می‌توان از نانوکیتوزان به عنوان یک قارچ‌کش زیستی مناسب برای مبارزه با این بیماری استفاده کرد.

منابع References

۱. خنشا م، برزگر ف و حمزه‌زرقانی ح (۱۳۹۱) معرفی سامانه پیش‌آگاهی تام‌کست برای مبارزه شیمیایی با بیماری سوختگی زودهنگام گوجه‌فرنگی. دانش بیماری‌شناسی گیاهی ۱(۲):۲۰-۱۰.

2. Bautista-Baños S, Ramos-García M, Zavala-Padilla G, Castillo-Ocampo P, Ríos MY, Sánchez-Domínguez D (2011) Cytological and biochemical changes induced by chitosan in the pathosystem *Alternaria alternata*–tomato. Pesticide Biochemistry and Physiology 99:250-255.

3. Chaerani R, Voorrips R E (2006) Tomato early blight(*Alternaria solani*): The pathogen, genetics and breeding for resistance. Journal of General Plant Pathology 72:335-347.

4. ElGhaouth A, Arul J, Asselin A and Benhamou N (1992) Antifungal activity of chitosan on post-harvest pathogens: induction of morphological and cytological alterations in *Rhizopus stolonifer*. Mycological Research 96:769-779.

5. Ershad D (2009) Fungi of Iran. Iranian Research Institute of Plant Protection, Tehran, Iran, 558p.

6. Ghazimohseni V, Sabagh SK (2016) Effect of chitosan on gene expression and enzymes involved in resistant induction to fusariuse of wheat. Iranian Journal of Plant Protection Science 46:363-371. (In Persian with English abstract).

7. Ing LY, Zin NM, Sarwar A, Katas H (2012) Antifungal activity of chitosan nanoparticles and correlation with their physical properties. International Journal of Biomaterials, Article ID 632698, 9 pages, http://dx.doi.org/10.1155/2012/632698

8. Jones JB, Jones JP, Stall RE, Zitter TA (1993) Compendium of Tomato Diseases. APS Press, USA, 73p.

9. Khansha M, Barzegar F, Hamzehzarghani H (2012) Introduction TOMCAST forecasting system for chemical control of tomato early blight disease. Plant Pathology Science 1:10-20.

10. Pandey KK, Pandey PK, Kalloo G, Banerjee MK (2003) Resistance to early blight of tomato with respect to various parameters of disease epidemics. Journal of General Plant Pathology 69:364-371.

11. Propagdee B, Kotchdat-Kumsopa A, Visarathanonth N (2006) The role of chitosan in protection of soybean from suolden death syndrome caused by *Fusarium solani* f. sp. *glycines*. Bioresource Technology 98:1353-1358.

12. Sufejalian N K (1991) Early blight of tomato and its chemical control in Jiroft and Bam area. Abstract book of Tenth Iranian Plant Protection Congress, Ferdowsi University of Mashhad, Iran, p: 118.

13. Thomma BPHJ (2003) *Alternaria* spp: from general saprophyte to specific parasite. Molecular Plant Pathology 4:225-236.