جهت تهیه فایل WORD این مقاله به سایت DaneshResan.com مراجعه نمایید و عنوان مقاله را جستجو کنید
بیش از ۲ میلیون مقاله فارسی در این سایت موجود میباشد

تعیین نژاد فیزیولوژیکی جدایه های عامل بیماری پژمردگی فوزاریومی گوجه فرنگی در مناطق عمده کشت محصول در ایران

رحیم احمدوند[۱] و عبدالجمیل زربخش[۲]

چکیده

در سال ۱۳۸۲، طی بازدید از مناطق مهم کشت گوجه‌فرنگی از جمله ورامین، آذربایجان غربی، آذربایجان شرقی، خوزستان، بوشهر و اصفهان از گیاهان دارای علائم پژمردگی نمونه برداری و به آزمایشگاه منتقل شدند. پس از جداسازی به روش تک اسپور خالص سازی گردیدند. در مجموع ۳۸ جدایه به‌عنوان نماینده انتخاب و با استفاده از کلید نلسون و همکاران تعیین هویت شدند. همه جدایه‌ها متعلق به گونه *Fusarium oxysporum* بودند. با تلقیح گیاهچه‌های ۳۰ روزه رقم حساس Bonny Best با سوسپانسیون قارچ با غلظت 5×10^6 Spores/ml بیماری‌زایی آن‌ها به اثبات رسید. جدایه‌های بیماری‌زا قادر به ایجاد پوسیدگی در ریشه و طوقه نبوده و تغییر رنگ آوندهای چوبی تا قسمت‌های بالایی ساقه و حتی در دمبرگ مشاهده گردید. سرعت رشد کلنی‌های قارچ در دمای ۲۷° C بیشتر از دمای ۱۸°C بود. لذا فرم اختصاصی این جدایه‌ها *lycopersici* تعیین گردید. میانگین درجه آلودگی جدایه‌های مختلف روی رقم Bonny Best نشان داد که بین توان بیماری‌زایی جدایه‌ها در سطح یک درصد اختلاف معنی‌دار وجود دارد. جدایه MD_4 (جمع آوری شده از مرند) با میانگین درجه آلودگی ۴/۸۴ مهاجم‌تر (More Aggressive) از سایر جدایه‌ها بوده و جدایه DSF_{28} (جمع‌آوری شده از دزفول) با میانگین آلودگی ۳/۰۶۲ کم‌ترین شدت بیماری‌زایی را نشان‌داد. به منظور تعیین نژاد جدایه-ها، گیاهچه‌های ۳۰ روزه ارقام افتراقی شامل Bonny Best (فاقد ژن مقاومت)، Manapal (مقاوم به نژاد یک) و Walter (مقاوم به نژادهای یک و دو) مایه‌زنی کرده و در ۵ تکرار با سه گیاهچه (نشاء) در هر تکرار در گلخانه کشت شدند. پس از سه هفته علائم و شدت بیماری‌زایی بر اساس سیستم نمره‌دهی صفر تا پنج همینگ و همکاران ارزیابی گردید. نتایج نشان داد که همه جدایه‌ها تنها روی رقم Bonny Best قادر به ایجاد علائم بیماری بوده اما روی ارقام Manapal و Walter بیماری‌زا نبودند. هم‌چنین مقایسه این جدایه‌ها با نژادهای استاندارد (۱، ۲ و ۳ تهیه شده ار دانشگاه آمستردام هلند) روی ارقام افتراقی نشان داد که با نژاد یک مطابقت دارند، بنابراین به نژاد یک تعلق داشتند.

واژه‌های کلیدی: گوجه فرنگی، پژمردگی فوزاریومی، *Fusarium oxysporm* f.sp. *lycopersici*، نژاد فیزیولوژیکی

---

۱ و ۲. به ترتیب مربی و استادیار پژوهشی موسسه تحقیقات اصلاح و تهیه نهال و بذر، کرج

جهت تهیه فایل WORD این مقاله به سایت DaneshResan.com مراجعه نمایید و عنوان مقاله را جستجو کنید
بیش از ۲ میلیون مقاله فارسی در این سایت موجود میباشد

مقدمه

گوجه فرنگی (*Lycopersicon esculentum* Mill) یکی از گیاهان مهم تیره سولاناسه (Solancaceae) می‌باشد که منشاء آن کشور پرو است. سابقه کشت آن در ایران حدود ۱۵۰ سال است. میوه این گیاه دارای ویتامین‌های مختلف و عناصر معدنی فراوانی است و از نظر مصرف غذایی این گیاه جایگاه ویژه‌ای در بین محصولات مختلف دارد (خوشخوی و همکاران، ۱۳۷۱) . سطح زیر کشت این محصول در ایران حدود ۱۳۰ هزار هکتار با میزان تولید حدود ۴/۵ میلیون تن است (آمار-نامه کشاورزی، سال زراعی ۱۳۸۴-۱۳۸۳). بیماری پژمردگی فوزاریومی دارای اهمیت جهانی بوده و حداقل از ۳۲ کشور گزارش شده است (واکر، ۱۹۸۱ ؛ بوث، ۱۹۷۱). در برخی ایالت-های امریکا خسارت ناشی از این بیماری ۱۰۰-۸۰ درصد بوده است (نیرگارد، ۱۹۸۸). این بیماری به دلیل دارا بودن خصوصیاتی از قبیل انتشار وسیع، ایجاد خسارت قابل ملاحظه، بقای طولانی مدت عامل بیماری در خاک، داشتن نژادهای فیزیولوژیک مختلف و مشکل بودن مبارزه شیمیایی با آن‌ها، در ردیف مهم‌ترین و مورد توجه ترین بیماری‌های گوجه فرنگی قرار گرفته است. اولین علائم بیماری در گیاهچه‌های گوجه فرنگی به صورت روشن شدن رگبرگ‌ها و خمیدگی دمبرگ‌ها (Epinasty) است (دیموند و واگونر، ۱۹۵۳؛ فوستر، ۱۹۴۶). گیاهچه‌های آلوده کوتاه‌تر از گیاه طبیعی شده، برگ‌های مسن‌تر ریزش کرده یا به طرف پایین خم می‌شوند. بافت آوندی آن‌ها قهوه‌ای تیره بوده و این گیاهچه‌ها غالباً پژمرده شده و می‌میرند (جونز، ۱۹۹۱). علائم بیماری در مزرعه به صورت زردی برگ‌های پایین و مرگ آن‌ها بوده، سپس این علائم به طرف برگ‌های جوان پیشروی می‌کند. معمولاً یک یا چند شاخه تحت تاثیر بیماری قرار می‌گیرد و گاهی برگچه‌های یک طرف برگ و یا یک طرف برگچه‌ها علائم زردی را نشان می‌دهند. در برش ساقه یا دمبرگ آوندها به‌صورت قهوه‌ای مشاهده می‌شوند (واکر، ۱۹۸۱). قهوه‌ای شدن سیستم آوندی از ویژگی‌های این بیماری بوده و عموماً جهت تشخیص بیماری به کار می‌رود (جونز،۱۹۹۱).

قارچ *F. oxysporum* Schl. f. sp. *lycopersici* (Sacc.) Snyder & Hansen, 1940 عامل این بیماری می‌باشد.

این قارچ سه نوع اسپور تولید می‌کند که شامل میکروکنیدی، ماکروکنیدی و کلامیدوسپور است. میکروکنیدی‌های یک تا دو سلولی به میزان فراوان و به‌طور مکرر در همه شرایط از جمله در آوندهای گیاهان آلوده تولید می‌شوند. ماکروکنیدی‌های ۵-۳ سلولی به تدریج باریک شده و در انتها حالت خمیده دارند. این ماکروکنیدی‌ها روی گیاهان مرده تشکیل می‌شوند. کلامیدوسپورها در حفظ بقاء قارچ در خاک نقش دارند. آن‌ها یک یا دو سلولی با دیواره ضخیم و مدور بوده که از هیف‌های پیر و ماکروکنیدی‌ها به‌وجود می‌آیند. هر سه نوع اسپور در محیط کشت و احتمالاً در خاک تولید می‌شوند. هر چند که تنها کلامیدوسپورها عامل حفظ بقاء قارچ در خاک می‌باشند (اگریوس،۱۹۹۷). میسلیوم‌ها در ابتدا بی‌رنگ بوده اما به تدریج تیره‌تر شده و به رنگ کرم، زرد کمرنگ، صورتی کمرنگ و یا ارغوانی می‌شوند (آرمسترانگ و آرمسترانگ، ۱۹۸۱). بعد از اینکه پاتوژن از طریق سیستم ریشه‌ای وارد گیاه شد، هیف‌های آن در آوندها مستقر شده و در آوندهای چوبی زهرابه (توکسین) تولید می‌کنند که وارد قسمت‌های مختلف گیاه شده و باعث زردی و پژمردگی برگ‌ها و ساقه‌ها و در نهایت مرگ گیاه می‌شوند. به‌طور کلی پژمردگی فوزاریومی بیماری مناطق گرم می‌باشد و بیشتر در خاک‌های اسیدی و ماسه‌ای شایع می‌باشد. دمای بهینه مورد نیاز هوا و خاک برای توسعه این بیماری ۲۸ درجه سانتی‌گراد می‌باشد. دمای خاک‌هایی که خیلی گرم (۳۴ درجه سانتی‌گراد) و خنک (۲۰-۱۷ درجه سانتی‌گراد) هستند توسعه پژمردگی را به تاخیر می‌اندازد (اگریوس، ۱۹۹۷). کم بودن شدت نور و یا فتوپریود کوتاه باعث کاهش مقاومت گوجه فرنگی می‌شود. در حالی‌که صدمه به ریشه که باعث افزایش میزان قند در ساقه می‌شود باعث افزایش مقاومت گیاه نسبت به پاتوژن می‌گردد (بل و مسی، ۱۹۸۱).

این قارچ دارای سه نژاد فیزیولوژیکی است (دیویس و همکاران،۱۹۸۸). درسال ۱۹۴۰ مقاومت در

جهت تهیه فایل WORD این مقاله به سایت DaneshResan.com مراجعه نمایید و عنوان مقاله را جستجو کنید
بیش از ۲ میلیون مقاله فارسی در این سایت موجود میباشد

برابر قارچ *F.oxysporum* f.sp. *lycopersici* عامل بیماری پژمردگی گوجه فرنگی در گونه *Lycopersicon pimpinellifolium* lih مشاهده و گزارش گردید که توسط یک ژن غالب I کنترل می‌شود (بون و استاکر، ۱۹۴۰). این ژن به ارقام تجاری گوجه فرنگی منتقل شد. اما در سال ۱۹۴۵ الکساندر و تاکر مشاهده کردند که جدایه‌هایی از قارچ مذکور قادر به ایجاد بیماری در ارقام تجاری حامل ژن I می‌باشند. این جدایه‌ها را به‌عنوان نژاد جدیدی از قارچ عامل بیماری بنام نژاد ۲ معرفی کردند (الکساندر و تاکر، ۱۹۴۵). این نژاد تا سال ۱۹۶۱ از اهمیت چندانی برخوردار نبود. اما در همین سال از ایالت فلوریدا (استال، ۱۹۶۱) و پس از آن در چند ایالت دیگر آمریکا و در دیگر کشورها گزارش شد. مقاومت به نژاد II باز هم در گونه *L. pimpinellifolium* مشاهده شد و سپس ژن مسئول مقاومت با ایجاد تلاقی بین این گونه و گونه زراعی *L. esculentum* به ارقامی از قبیل Walter منتقل گردید (استال و واکر، ۱۹۶۵). در این ارقام، مقاومت توسط دو ژن غالب مجزا به نام‌های I و I-2 کنترل می‌شود. در سال ۱۹۶۶ نژاد سوم این قارچ از برزیل گزارش شد (تاکشی و همکاران، ۱۹۶۶). اما این گزارش تایید نگردید (جونز و ولتز، ۱۹۸۱). سپس این نژاد از عراق (اسماعیل و عبداله، ۱۹۷۶)، استرالیا (گراتیج و ابراین، ۱۹۸۲)، فلوریدا و جورجیا (چملی و همکاران، ۱۹۹۱؛ مارلات و همکاران، ۱۹۹۶) و ایالت کالیفرنیای آمریکا (دیویس و همکاران، ۱۹۸۸) گزارش شد. هم‌چنین در سال ۱۹۹۶ این نژاد از مکزیک گزارش شد (والنزولا- اورتا، ۱۹۹۶). در تمام این موارد ارقام مقاوم به نژاد II نسبت به این نژاد حساس بودند. مقاومت در برابر نژاد سوم این قارچ در گونه *L. pennellii* (Corr.) DARCY مشاهده و به ارقام تجاری منتقل گردید (مک گرات و مالتبای، ۱۹۸۹؛ مک گرات، ۱۹۸۸) این مقاومت توسط ژن غالب I-3 کنترل می‌شود. نژادهای یک و دو با اپتیمم دمای ۲۸ درجه سانتی‌گراد فعالیت می‌کنند ولی نژاد III در دمای کمتر از ۲۰ درجه سانتی گراد نیز فعالیت می‌کند (چملی و همکاران، ۱۹۹۱).

گراتلیج و اوبرین از ارقام افتراقی Strabelee (مقاوم به نژاد یک) Walter (مقاوم به نژادهای یک و دو)، Flora-Dode (مقاوم به نژادهای یک و دو) و Q_2 (مقاومت نامشخص) جهت تعیین نژاد جدید استفاده کردند. در سال ۱۹۹۱ الیاس و اشنایدر برای تعیین فرم اختصاصی و شناسایی نژاد این بیمارگر از ارقام افتراقی Fantastic (بدون ژن مقاوم)، Supersonic (مقاوم به نژاد یک) و Walter (مقاوم به نژاد یک و دو) استفاده نمود و سه نژاد این قارچ را شناسایی کرد (الیاس و اشنایدز، ۱۹۹۱). در سال ۱۹۹۶ مارلات و همکاران جهت تعیین نژاد *F. oxysporum* f.sp. *lycopersici* جدا شده از ایالات آرکانزاس از ارقام افتراقی Bonny Best (فاقد ژن مقاوم)، UC82-L (مقاوم به نژاد یک) MH (مقاوم به نژادهای یک و دو) و I_3R-1 (مقاوم به نژادهای یک، دو و سه) در یک طرح کاملا تصادفی استفاده کرد (مارلات و همکاران، ۱۹۹۶).

این بیماری در ایران اولین بار به‌وسیله فصیحیانی در سال ۱۳۶۴ از استان هرمزگان گزارش شد (فصیحیانی، ۱۳۶۴). سپس اعتباریان در سال ۱۳۶۸ پژمردگی فوزاریومی را از منطقه ورامین گزارش و میزان آلودگی خزانه‌ها را در فروردین و اردیبهشت ماه ۱۹٪ درصد و میزان آلودگی مزارع را در مرداد ماه ۲۷/۴ درصد برآورد نمود (اعتباریان، ۱۳۶۸). فصیحیانی جهت تعیین نژاد جدایه-های این قارچ در استان هرمزگان از ارقام افتراقی گوجه‌فرنگی شامل Bonny Best (بدون ژن مقاوم)، Manapal (مقاوم به نژاد یک) و Walter (مقاوم به نژاد یک و دو) استفاده نمود و جدایه‌های این استان را تحت عنوان نژاد یک معرفی نمود (فصیحیانی، ۱۳۷۱). هم‌چنین در سال‌های ۱۳۷۳ و ۱۳۷۴ ویانی پژمردگی فوزاریومی گوجه‌فرنگی را در استان آذربایجان شرقی بررسی نمود. وی میزان خسارت این بیماری را طی این دو سال به‌ترتیب ۷٪ و ۷/۶٪ گزارش کرد (ویانی، ۱۳۷۴).

استفاده از ارقام مقاوم موثرترین و آسان‌ترین روش کنترل پژمردگی فوزاریومی گوجه فرنگی گزارش شده است (آگریوس،۱۹۹۷). در این پژوهش به‌منظور دستیابی به ارقام مقاوم به بیماری پژمردگی فوزاریومی

جدایه‌های مختلفی از قارچ عامل بیماری از مناطق مختلف جمع‌آوری کرده تا ضمن شناسایی، نژاد فیزیولوژیکی آن‌ها را تعیین کرده تا در مراحل بعدی پروژه منابع مقاومت را شناسایی کرده و در آزمایشات اصلاحی به‌کار گرفته شوند.

مواد و روش‌ها

نمونه‌برداری، جداسازی و خالص سازی عامل بیماری

در سال ۱۳۸۲ به منظور جداسازی عامل بیماری، از مناطق مهم کشت این محصول از جمله ورامین، آذربایجان غربی، آذربایجان شرقی، خوزستان، بوشهر و اصفهان بازدید به‌عمل آمد. از بوته‌های مشکوک گوجه‌فرنگی با علائم ظاهری بیماری پژمردگی فوزاریومی شامل زردی، پژمردگی برگ‌ها و ساقه و تغییر رنگ آوند چوبی نمونه‌برداری کرده و به آزمایشگاه منتقل شدند. قطعات آلوده روی محیط PDA با نصف غلظت کشت شدند. بعد از ۴-۳ روز در دمای ۲۵ درجه سانتی‌گراد پرگنه‌های قارچ فوزاریوم ظاهر گردید. خالص سازی جدایه‌های به‌دست آمده به روش تک اسپور کردن (single spore) انجام شد (نلسون و همکاران، ۱۹۸۳).

جدایه‌های دارای مشخصات گونه *F. oxysporum* را انتخاب و بررسی‌های بیشتر جهت شناسایی دقیق و بیماری‌زایی آن‌ها صورت گرفت. جهت نگهداری طولانی مدت جدایه‌ها، حدود یک سوم حجم لوله آزمایشگاهی را از ماسه نرم شسته شده و پیت‌موس به نسبت مساوی پرکرده و سپس دو بار به مدت ۳۰ دقیقه در دمای ۱۲۱ درجه سانتی‌گراد اتوکلاو شدند. حدود یک میلی‌لیتر از سوسپانسیون اسپور فوزاریوم به این لوله‌ها افزوده و به مدت ۱۰ روز در دمای ۲۵ درجه سانیت‌گراد قرار داده شدند. پس از این مدت، در دمای ۴درجه سانتی‌گراد یخچال نگهداری گردیدند.

شناسایی جدایه‌های فوزاریوم

برای شناسایی جدایه‌های فوزاریوم تا سطح گونه از روش نلسون و همکاران (نلسون و همکاران، ۱۹۸۳) استفاده شد. برای این منظور از خصوصیات اندام‌های رویشی و زایشی از قبیل وجود و یا عدم وجود میکروکنیدی و نحوه تشکیل آن، وجود و یا فقدان کلامیدوسپور و نوع آن، شکل ماکرو کنیدی و نوع فیالیدها استفاده گردید. در مراحل مختلف شناسایی جدایه برای تحریک اسپور زایی و تولید کنیدی تیپیک بجای محیط کشت PDA از محیط CLA (Carnation leaf Agar) استفاده شد. جهت تهیه این محیط کشت قطعاتی به ابعاد حدود ۵ میلی‌متر از برگ-های جوان گیاه میخک تهیه و پس از خشک کردن در آون با دمای ۷۰درجه سانتی‌گراد به مدت ۲۴ ساعت قرار داده شدند. محیط کشت Water Agar٪۲ را پس از استریل در داخل پتری‌دیش ریخته و قبل از منجمد شدن کامل محیط، تعداد ۵ -۴ قطعه ضدعفونی شده برگ میخک با کمک پنس استریل روی آن قرار داده شد.

اثبات بیماری‌زایی و تعیین توان بیماری‌زایی جدایه‌ها

جهت تهیه مایه تلقیح، قطعه کوچکی از حاشیه کشت شش روزه قارچ را درون ارلنهای ۲۵۰ میلی‌لیتری حاوی ۵۰ میلی‌لیتر محیط کشت PDB (Potato Dextrose Broth) قرار داده و سپس روی دستگاه شیکر (Shaker) با ۱۲۰ دور در دقیقه در دمای ۲۵ درجه سانتی‌گراد به مدت ۳ روز نگهداری شدند. بعد از این مدت، اسپورها را با کمک ۴-۳ لایه پارچه ململ استریل از میسلیوم جدا کرده و با استفاده از سانتریفوژ با سرعت ۳۰۰۰ دور در دقیقه به مدت ۱۰ دقیقه اسپورها از محیط کشت جدا گردید. به رسوب حاصل از سانتریفوژ، آب مقطر استریل حاوی ۰/۰۵ درصد آگار اضافه کرده و با کمک لام هموسیتو متر (Hemocytometer) سوسپانسیونی با غلظت 5×10^{6} spores/ml تهیه گردید (بنی‌هاشمی و همکاران، ۱۳۶۱، فصیحیانی، ۱۳۶۴). برای اثبات بیماری‌زایی، از بذر رقم Bonny Best (فاقد ژن مقاومت به *Fusariam oxysporum* f.sp. *lycopersici*) استفاده شد. حدود سی روز بعد از کشت بذور (ظهور دو برگی واقعی) گیاهچه‌ها را از خاک بیرون آورده و به

آرامی با آب معمولی شسته و ریشه آن‌ها را به مدت پنج دقیقه به‌طورجداگانه در سوسپانسیون هر یک از جدایه‌ها با غلظت فوق الذکر فرو برده شدند (Root dip inoculation). سپس در قالب یک طرح کاملاً تصادفی با ۵ تکرار و سه گیاهچه در هر تکرار در گلدان‌های حاوی پیت‌موس و ماسه استریل به نسبت ۱:۱ نشاء شدند. گیاهچه‌های شاهد با آب مقطر استریل حاوی ۰/۰۵ درصد آگار تلقیح شدند.

علائم و شدت بیماری سه هفته بعد از تلقیح بر اساس سیستم نمره‌دهی همینگ و همکاران (۲۰۰۴) مورد ارزیابی قرار گرفت:

صفر: بدون واکنش

۱: نوک ریشه‌های اولیه آوندها به‌صورت موضعی قهوه‌ای شده‌اند

۲: تغییر رنگ آوندها تا کوتیلدون ادامه یافته است

۳: تغییر رنگ آوندی تا بالای گره کوتیلدون ادامه یافته اما بدون علائم خارجی است

۴: علائم خارجی مشاهده شده و کوتولگی شدید است

۵: پژمردگی و مرگ گیاه

گیاهان با میانگین درجه آلودگی ۲-صفر به عنوان مقاوم و گیاهان با میانگین درجه آلودگی ۵-۳ به عنوان حساس ارزیابی شدند (همینگ و همکاران، ۲۰۰۴).

داده‌های حاصل با استفاده از نرم افزار SAS مورد تجزیه و تحلیل قرار گرفت و مقایسه میانگین‌ها با آزمون LSD انجام شد.

تعیین فرم اختصاصی جدایه‌های گونه *Fusarium oxysporum*:

برای تعیین فرم اختصاصی (form special) جدایه‌های گونه *F. oxysporum* از ویژگی‌های ایجاد یا عدم ایجاد پوسیدگی در ریشه و طوقه، میزان گسترش تغییر رنگ آوندی به طرف قسمت‌های بالاتر ساقه و میزان رشد کلنی قارچ در دماهای ۱۸ و ۲۷ درجه سانتی‌گراد استفاده شد (دیویس و همکاران، ۱۹۸۸؛ جونز و همکاران، ۱۹۹۱). برای تعیین میزان رشد کلنی در دماهای فوق، جدایه‌های کشت شده به مدت ۴ روز در روی محیط کشت PDA نگهداری شدند. هر جدایه در سه تکرار بررسی گردید.

تعیین نژاد جدایه‌های *F. oxysporum* f.sp. *lycopersici*

بذور ارقام افتراقی شامل Bonny Best (فاقد ژن مقاومت)، Manapal (مقاوم به نژاد یک)، Walter (مقاوم به نژادهای یک و دو) از مرکز تحقیقات بین المللی AVRDC دریافت شد. جهت تکثیر این بذور آنها را در جعبه های گلدانی در گلخانه کشت کرده و نشاهای حاصل به مزرعه منتقل گردید. پس از میوه‌دهی از هر یک از ارقام بذرگیری شد. جهت تعیین نژاد جدایه‌ها، هر یک از ارقام افتراقی گوجه فرنگی در جعبه‌های نشاء کشت شده و پس از ظهور دو برگ واقعی با ۵ تکرار با سه گیاهچه (نشاء) در هر تکرار در گلخانه کشت شدند. مایه تلقیح همانند مرحله اثبات بیماریزایی تهیه گردیده و گیاهچه های سی روزه را تلقیح و در همان محیط قبلی کشت شدند. گیاهچه های شاهد بدون آلودگی نیز با آب مقطر استریل حاوی ۰/۰۵ درصد آگار تلقیح گردیدند.

همچنین نژادهای ۱، ۲ و ۳ این پاتوژن را از دانشگاه آمستردام هلند تهیه و به عنوان استاندارد جهت مقایسه با جدایه های ایرانی در این آزمایش استفاده گردید.

نتایج و بحث

خالص سازی و شناسایی جدایه های فوزاریوم

بوته های آلوده عموماً دارای علائم زردی، پژمردگی و خمیدگی دمبرگ‌ها (epinasty) بوده و در موارد شدید بوته‌های آلوده کاملاً خشک شده بودند. این علائم معمولاً هنگام شروع رسیدگی میوه‌ها ظاهر می‌شدند. برای انتخاب بوته‌های آلوده به *F. oxysporum* f.sp. *lycopersici*، تنها بوته‌های پژمرده فاقد علائم پوسیدگی ریشه انتخاب شدند (به دلیل این‌که *F. oxysporum* f.sp. *radicis-lycopersici* علاوه بر پژمردگی باعث پوسیدگی ریشه نیز می شوند). با برش

ساقه گیاهان آلوده، آوند چوبی تا قسمت‌های بالایی ساقه قهوه‌ای شده بودند.

از تعداد زیادی جدایه قارچ جدا شده در مناطق مورد بررسی در مجموع ۳۷ جدایه به‌عنوان نماینده انتخاب شد که به‌ترتیب تعداد ۶، ۲، ۶، ۸، ۹ و ۶ جدایه مربوط به مناطق آذربایجان شرقی، آذربایجان غربی، ورامین، اصفهان، خوزستان و بوشهر بود (جدول ۱).

تقریباً رنگ کلنی تمامی جدایه‌های جدا شده روی محیط PDA سفید کرمی مایل به ارغوانی با سطح زیرین کرمی تا ارغوانی بود. هر چند که در برخی جدایه‌ها تنوع در رنگ کلنی آن‌ها مشاهده گردید. این جدایه‌ها روی محیط کشت PDA سریع‌الرشد بوده و بعد از ۴-۳ روز تقریباً تمامی سطح پتری‌دیش را پوشاندند. میکروکنیدی‌ها یک تا دو سلولی بوده و روی سرهای دروغین (false head) به تعداد فراوان تشکیل گردید. مونوفیالیدها به‌صورت کوتاه و ساده بودند (خصوصیت بارز). ماکروکنیدی‌ها به‌صورت داسی شکل و اغلب ۵-۳ سلولی تشکیل شده بود (شکل ۱). کلامیدوسپورها به صورت تکی و یا دوتایی مشاهده گردید. بنابراین همه جدایه‌ها به گونه *F. oxysporum* نسبت داده شدند (نلسون و همکاران، ۱۹۸۳).

اثبات بیماری‌زایی، تعیین فرم اختصاصی جدایه‌ها

تمامی جدایه‌ها تنها علائم پژمردگی روی گیاهچه‌های ۳۰ روزه رقم Bonny Best گوجه‌فرنگی به‌وجود آورده و توانایی ایجاد پوسیدگی روی ریشه و یا طوقه را نداشتند. هم‌چنین تغییر رنگ آوندی در قسمت‌های بالاتر ساقه و حتی دمبرگ مشاهده گردید. این جدایه‌ها در دمای ۲۷ درجه سانتی‌گراد سرعت بیشتری نسبت به دمای ۱۸ درجه سانتی‌گراد داشتند. لذا فرم اختصاصی (f.sp.) این جدایه‌ها *lycopersici* تعیین گردید. لازم به‌ذکر است که تعداد ۱۴ جدایه *F. oxysporum* دیگر نیز شناسایی شده بود که توان بیماری‌زایی خود را از دست داده بودند.

نتایج حاصل از تست بیماری‌زایی نشان داد که تمامی جدایه‌ها قادر به ایجاد زردی و پژمردگی برگ‌ها و در نهایت پژمردگی و مرگ گیاهچه‌های گوجه‌فرنگی بودند. قارچ عامل بیماری مجدداً از قسمت‌های هوایی گیاهچه‌هایی که علائم بیماری را نشان داده بودند، جداسازی و شناسایی گردید.

نتایج حاصل ازتجزیه واریانس داده‌های حاصل از میانگین درجه آلودگی جدایه‌های مختلف روی رقم Bonny Best نشان داد که بین جدایه‌ها در سطح یک درصد اختلاف معنی‌دار وجود دارد.

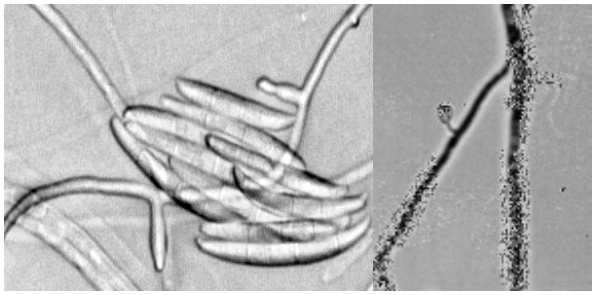
جدایه MD_4 با میانگین آلودگی ۴/۸۴ بیش‌ترین توان بیماری‌زایی را داشته و در واقع مهاجم‌تر از سایر جدایه‌ها بوده و جدایه DSF_{28} با میانگین آلودگی ۳/۰۶۲ کمترین شدت بیماری را روی این رقم حساس داشت. اما این رقم نسبت به همه جدایه‌های مورد آزمایش حساس بود. جدول‌های ۲ و ۳ تجزیه واریانس و مقایسه میانگین داده‌های حاصل را نشان می‌دهد.

تعیین نژاد جدایه‌های *F. oxysporum* f.sp. *lycopersici*

نژاد فیزیولوژیکی جدایه‌های هر یک از مناطق با بررسی عکس‌العمل ارقام افتراقی گوجه‌فرنگی نسبت به هر یک از این جدایه‌ها تعیین گردید. تمامی جدایه-ها قادر به ایجاد تغییر رنگ در آوندهای چوبی رقم Bonny Best (فاقد ژن مقاومت) بودند که شدت این تغییر رنگ در جدایه‌های مختلف متفاوت بود و در بیشتر موارد منجر به پژمردگی و در نهایت مرگ گیاهچه‌ها گردید (شکل ۲). میانگین درجه آلودگی ایجاد شده توسط هر یک از جدایه‌ها را روی رقم Bonny Best در جدول ۲ آمده است. برخی از جدایه‌ها قادر به ایجاد علائم بیماری روی گیاهچه‌های این رقم حساس هم نشدند که احتمالاً در اثر انتقال روی محیط کشت مصنوعی در آن‌ها موتاسیون صورت گرفته و بیماری‌زایی خود را از دست داده‌اند. از دست دادن بیماری‌زایی یکی از مشکلات کار با این قارچ می‌باشد.

جدول ۱: جدایه‌های *F. oxysporum* جمع آوری شده از مناطق مختلف

ردیف	کد جدایه	محل نمونه‌برداری	تاریخ نمونه‌برداری	ردیف	کد جدایه	محل نمونه‌برداری	تاریخ نمونه‌برداری
۱	MA_1	اربطان- مرند	مرداد ۱۳۸۲	۲۰	BA_{23}	بوشهر- آبدان	بهمن ۱۳۸۲
۲	ST_2	اسفهان - تبریز	مرداد ۱۳۸۲	۲۱	DKF_{24}	دزفول- کرخه	اردیبهشت ۱۳۸۳
۳	ASH_3	تبریز	مرداد ۱۳۸۲	۲۲	DKF_{25}	دزفول- کرخه	اردیبهشت ۱۳۸۳
۴	MD_4	دیزج- مرند	مرداد ۱۳۸۲	۲۳	DKF_{26}	دزفول- حومه	اردیبهشت ۱۳۸۳
۵	MD_5	دیزج- مرند	مرداد ۱۳۸۲	۲۴	DKF_{27}	دزفول- حومه	اردیبهشت ۱۳۸۳
۶	MD_8	دیزج- مرند	مرداد ۱۳۸۲	۲۵	DSF_{28}	دزفول- جاده سیاه‌منصور	اردیبهشت ۱۳۸۳
۷	SB_9	ساری‌بیگلو- ارومیه	مرداد ۱۳۸۲	۲۶	DSF_{29}	دزفول- جاده سیاه‌منصور	اردیبهشت ۱۳۸۳
۸	OF_{10}	ارومیه	مرداد ۱۳۸۲	۲۷	DKF_{37}	دزفول	اردیبهشت ۱۳۸۳
۹	AF_{11}	ورامین	تیر ۱۳۸۲	۲۸	DKF_{38}	دزفول	اردیبهشت ۱۳۸۳
۱۰	AF_{12}	ورامین	تیر ۱۳۸۲	۲۹	DKF_{39}	دزفول	اردیبهشت ۱۳۸۳
۱۱	AF_{13}	ورامین	تیر ۱۳۸۲	۳۰	$EBNF_{30}$	اصفهان- برآن شمالی	تیر ۱۳۸۳
۱۲	AF_{14}	ورامین	تیر ۱۳۸۲	۳۱	EJF_{31}	اصفهان – جوزان	تیر ۱۳۸۳
۱۳	PF_{15}	ورامین- پیشوا	تیر ۱۳۸۲	۳۲	EHF_{32}	اصفهان- حیدر آباد	تیر ۱۳۸۳
۱۴	HF_{16}	ورامین- حصار	تیر ۱۳۸۲	۳۳	EHF_{13}	اصفهان- حیدر آباد	تیر ۱۳۸۳
۱۵	BD_{17}	بوشهر- دشتستان	بهمن ۱۳۸۲	۳۴	EHF_{34}	اصفهان- حیدر آباد	تیر ۱۳۸۳
۱۶	BD_{18}	بوشهر- دانشکده	بهمن ۱۳۸۲	۳۵	EBF_{35}	اصفهان- برآن شمالی	تیر ۱۳۸۳
۱۷	BD_{19}	بوشهر- دشتستان	بهمن ۱۳۸۲	۳۶	EBF_{36}	اصفهان- برآن شمالی	تیر ۱۳۸۳
۱۸	BD_{20}	بوشهر- دشتستان	بهمن ۱۳۸۲	۳۷	EJF_5	اصفهان	تیر ۱۳۸۳
۱۹	BD_{21}	بوشهر- دانشکده	بهمن ۱۳۸۲				



شکل۱: مشخصات مونوفیالید و میکروکنیدی روی آن (راست) و ماکروکنیدی (چپ) *F. oxysporum* f.sp. *lycopersici*

جدول ۲: تجزیه واریانس شدت بیماری‌زایی جدایه‌های *F.oxysporum* f.sp. *lycopersici* روی رقم حساس Bonny Best

منابع تغییرات	درجه آزادی DF	مجموع مربعات SS	میانگین مربعات MS	F Value	Pr>F
جدایه	۳۷	۵۱/۹۹	۱/۴۰**	۶/۵۶	۰/۰۰۰۱
جدایه(تکرار)	۱۵۲	۳۲/۵۴	۰/۲۱	–	–
C.V.			۱۲/۱۷۲		

** معنی‌دار بودن اثر جدایه‌های آزمایشی روی رقم Bonny Best در سطح یک درصد

جدول ۲: مقایسه میانگین درجه آلودگی جدایه‌های آزمایشی روی رقم حساس Bonny Best

کد جدایه	میانگین درجه آلودگی	کلاس	کد جدایه	میانگین درجه آلودگی	کلاس
MD_4	۴/۸۴	a	DSF_{29}	۳/۵۹۸	hijklm
ST_2	۴/۷۰	ab	EHF_{34}	۳/۵۹۶	hijklmn
MA_1	۴/۶۶	ab	DKF_{27}	۳/۵۳۰	hijklmn
BA_{23}	۴/۵۹۶	abc	BD_{21}	۳/۵۳۰	hijklmn
AF_{13}	۴/۵۲۸	abc	BD_{18}	۳/۴۶۴	ijklmn
MD_8	۴/۵۰	abcd	EJF_{31}	۳/۳۹۶	jklmn
BD_{17}	۴/۴۶۴	abcd	EBF_{36}	۳/۳۹۶	jklmn
AF_{14}	۴/۴۶۴	abcd	DKF_{24}	۳/۳۹۴	jklmn
MD_5	۴/۳۶	abcde	EHF_{32}	۳/۳۳۰	klmn
HF_{16}	۴/۳۳	abcdef	$EBNF_{30}$	۳/۳۳۰	klmn
ASH_3	۴/۱۸۰	bcdefg	DKF_{38}	۳/۳۳۰	klmn
EHF_{13}	۴/۰۶۴	cdefgh	BD_{20}	۳/۲۶۴	lmn
DKF_{25}	۴/۰۶۴	cdefgh	DKF_{37}	۳/۲۶۴	lmn
OF_{10}	۴/۰۲۰	cdefghi	DKF_{39}	۳/۲۶۲	lmn
AF_{12}	۳/۹۳	defghi	SB_9	۳/۲۵۲	lmn
EBF_{35}	۳/۸۵	efghij	EJG_5	۳/۱۹۶	mn
AF_{11}	۳/۷۸۰	fghijkl	BD_{19}	۳/۰۶۲	n
PF_{15}	۳/۷۳۰	ghijklm	DSF_{28}	۳/۰۶۲	n
DKF_{26}	۳/۷۳۰	ghijklm			

میانگین‌هایی که دارای حروف مشترک هستند اختلاف معنی‌دار با همدیگر ندارند.

هیچ‌یک از جدایه‌ها قادر بـه ایجـاد بیمـاری روی ارقام Manapal (مقاوم به نژاد یـک) و Walter (مقـاوم به نژادهـای یـک و دو) نبودنـد و تغییـر رنـگ آونـدهای چوبی در برخی از گیاهچه‌ها به ریشه اصلی محدود بـوده و به قسمت‌هـای بـالایی کوتیلـدون توسـعه نیافتـه بـود (شکل‌های ۳ و ۴).

هم‌چنین مقایسه واکنش این جدایه‌ها بـا نـژاد ۱، ۲ و ۳ استاندارد تهیه شـده از دانشـگاه آمسـتردام هلنـد روی ارقام افتراقی نشان داد که این جدایه‌ها به نژاد یـک این پاتوژن تعلق دارند. این نتایج با مشاهدات فصـیحیانی در منطقه هرمزگان و ویانی در منطقه آذربایجـان شـرقی مطابقت دارد (فصیحیانی، ۱۳۷۱؛ ویـانی، ۱۳۷۴). هـم-چنین امینی با بررسی ۱۱ جدایه از این بیمارگر نژاد یک از استان کردستان گزارش کرده است (امینی، ۲۰۰۸).

شکل ۲- علائم پژمردگی گیاهچه های رقم Bonny Best در اثر مایه زنی توسـط قارچ *F. oxysporum* f.sp. *lycopersici*

شکل ۳: گیاهچه‌های مایه زنی شده رقم Manapal توسط قارچ *F. oxysporum* f.sp. *lycopersici*

شکل ۴: گیاهچه‌های مایه‌زنی شده رقم Walter توسط قارچ *F. oxysporum* f.sp. *lycopersici*

از نظرشدت بیماری‌زایی، بین جدایه‌های هر منطقه تفاوت زیادی وجود نداشت. اما به‌طور کلی جدایه‌های آذربایجان شرقی بیش‌ترین شدت بیماری‌زایی و استان اصفهان کم‌ترین بیماری‌زایی را در بین استان‌های مورد بررسی داشتند، که احتمالاً به دلیل کشت ارقام متحملی نظیر شف (Chef) در منطقه اصفهان می‌باشد.

تعدادی از جدایه‌ها بیماری‌زایی خود را از دست داده بودند. این امکان وجود دارد که هنگام تجدید کشت کردن و یا نگهداری قارچ در در روی ماسه و پیت‌موس در آن‌ها جهش رخ داده باشد (بوث،۱۹۷۱؛ لزلی و سامرلا، ۲۰۰۶).

با توجه به این‌که گوجه فرنگی بومی ایران نمی‌باشد و در حال حاضر نیز بذر آن از خارج کشور تهیه می‌شود، احتمال دارد که این پاتوژن از یک منبع خارجی وارد کشور شده و از طریق بذر و نشاهای آلوده به سایر مناطق گسترش یافته باشد.

از دلایل عمده توسعه و انتشار این بیماری آلوده بودن خزانه‌های تهیه نشاء گوجه فرنگی در مناطق مختلف و هم‌چنین کشت ارقام حساس و عدم رعایت تناوب بلندمدت زراعی می‌باشند. چرا که این قارچ خاکزاد بوده و مدت زیادی قادر به حفظ بقاء در خاک می‌باشد (جونز و همکاران،۱۹۹۱؛ اگریوس، ۱۹۹۷). قابل ذکر است که تناوب‌های کوتاه مدت تاثیری در کنترل این بیماری نخواهد داشت (جونز و ولتزف، ۱۹۸۱؛ نیرگارد، ۱۹۸۸).

به‌علاوه استفاده از روش‌های شیمیایی جهت کنترل این بیماری علاوه بر مشکلات زیست‌محیطی در کنترل این بیماری نقش چندانی ندارند (یاماگوچی و همکاران، ۱۹۹۲). لذا هر مزرعه‌ای که به عامل بیماری آلوده شود تقریباً برای همیشه آلوده باقی خواهد بود (اگریوس، ۱۹۹۷).

از طرفی در برخی از استان‌های کشت این محصول نظیر بوشهر، رقم امپریال از ارقام رایج منطقه بوده که نسبت به *F. oxysporum* f.sp. *lycopersici* حساس می‌باشد. در استان‌های دیگر از قبیل آذربایجان غربی، تهران (ورامین) و خوزستان از بذر ارقام محلی در سطح نسبتاً وسیعی استفاده می‌شود. این بذور سال‌های قبل وارد کشور شده و تقریباً همه آن‌ها نسبت به پژمردگی فوزاریومی حساس هستند (عابدی، مکاتبه شخصی). لذا کشت مداوم این ارقام باعث افزایش جمعیت بیمارگر در خاک مناطق مذکور شده است. به‌علاوه، کشاورزان این مناطق بذر مورد نیاز خود را از میوه‌های سال قبل تهیه می‌کنند. به‌دلیل این‌که این پاتوژن از طریق بذر نیز انتقال می‌یابد. لذا این بذور نیز می‌توانند در انتقال و انتشار بیماری نقش داشته باشند.

از ارقام رایج و مقاوم به این بیماری در کشور می‌توان به رقم‌های کال جی(Cal- J)، ارلی اوربانا (Early urbana)، سوپر استرین بی (Super strain B) و کستل راک (Castle rock) اشاره نمود.

هم اکنون یک طرح تحقیقاتی در موسسه تحقیقات اصلاح وتهیه نهال و بذر کرج با هدف دستیابی به رقم ایرانی مقاوم به بیماری‌های پژمردگی فوزاریومی، لکه‌موجی، و شانکر آلترناریایی در حال انجام می‌باشد،

که این پژوهش نتایج یکی از پروژه‌های طرح مذکور می‌باشد. در مراحل بعدی این طرح، واکنش ارقام و دورگ‌های مختلف گوجه‌فرنگی نسبت به قارچ *F. oxysporum* f.sp. *lycopersici* بررسی شده که نتایج آن متعاقباً منتشر خواهد شد.

طی بررسی‌های به عمل آمده از مزارع گوجه‌فرنگی در مناطق مورد بررسی مشخص شد که علاوه بر پژمردگی‌های آوندی، پوسیدگی‌های خشک ریشه هم به طور گسترده‌های مشاهده گردید که احتمالاً سایر گونه‌های فوزاریوم در ایجاد این علائم نقش مهمی دارند. شناسایی علل عمده این پوسیدگی‌ها جهت به‌کار گیری راهکارهای مناسب برای کنترل آن‌ها ضروری به نظر می‌رسد.

منابع

اعتباریان، ح. ۱۳۶۸. بررسی بیماری پژمردگی فوزاریومی گوجه فرنگی در منطقه ورامین. نهمین کنگره گیاهپزشکی ایران، دانشگاه مشهد.

بنی هاشمی، ض. ۱۳۶۱. پیدایش یک نژاد فیزیولوژیک جدید *F. o.* f.sp. *melonis* در ایران، مجله بیماری‌های گیاهی ۱۸: ۱-۶.

بی نام. ۱۳۸۴. آمارنامه کشاورزی، وزارت جهاد کشاورزی، معاونت برنامه ریزی اقتصادی. دفتر فن‌آوری آمار و اطلاعات.

خوشخوی، م. ۱۳۷۱. اصول باغبانی: مبانی دانش بوستانداری. چاپ اول، انتشارات دانشگاه شیراز، ۵۶۶ صفحه.

فصیحیان، ع. ۱۳۶۴. پیدایش بیماری پژمردگی فوزاریومی گوجه‌فرنگی در استان هرمزگان. مجله بیماری‌های گیاهی ۱: ۲۹-۳۲.

فصیحیان، ع. ۱۳۷۱. نژاد فیزیولوژیک فوزاریوم عامل پژمردگی گوجه‌فرنگی در استان هرمزگان مجله بیماری‌های گیاهی ۲۸: ۱۹-۲۶.

ویانی، ع. ۱۳۷۴. بیماری فوزاریومی گوجه‌فرنگی در آذربایجان شرقی و اهمیت بذر در انتقال این بیماری. پایان‌نامه دوره کارشناسی ارشد بیماری گیاهی ،دانشکده کشاورزی دانشگاه تربیت مدرس ۹۷ صفحه.

Agrios, G. N. 1997. Plant pathology, 4th edition, Academic Press, USA. Pp: 635.

Alexander, L. J., and Tucker, C. M. 1945. Physiological specialization in the tomato wilts fungus *Fusarium oxysporum* f.sp. *lycopersici* .303-313. In: Nelson, P. E., Toussoun, T. A., and cook, R. J. (eds). 1981. Fusarium: Disease, Biology and Taxonomy.

Amini, J. 2008.Physiological race of *Fusarium oxysporum* f.sp. *lycopersici* in Kordistan province of Iran snd reaction of some tomato cultivars to race 1 of pathogen. 1-6.

Armstrong, G. M., and Armstrong, J. K. 1981. Form specials and races of *Fusarium oxysporum* causing wilt disease. In Fusarium: Disease, Biology and Taxonomy (Nelson, P. E., Toussoun, T. A. and Cook, R. J. eds.) The Pennsylvania State University Press, University Park. Pp.391-399.

Bell, A. A. and Mace, M. E. 1981. Biochemistry and physiology of resistance. In: Fungal Wilt Disease of Plant (Mace, M. E., Bell, A. A. and Beckman, C. H. eds). Academic Press, New York. Pp. 431-477.

Booth, C. 1971. The genus *Fusarium.* CMI, Kew, Surrey, England, 237P.

Bohn, G. W., and Stuker, C. M. 1940, Studies on Fusarium wilt of the tomato, immunity in *Lycopersicon pimpinellifolium* and its inheritance in hybrids, pp:82, In: Nelson P. E. and Toussoum T. A. (eds), Fusarium: Disease, Biology and Taxonomy, Pennsylvania St. Univ. Press. Park and London.

Chellemi, D. O., Dankers, H. A., and Crosier, B. 1991. First report of *Fusarium oxysporum* f.sp. *lycopersici* race & on tomato in Northwest Florida and Georgia. Plant Disease. 76:861(Abst).

Dimond, A. E., and Wagonner, P. E. 1953. The cause of epinastic symptoms in fusarium wilt of tomatoes. Phytopathology 43: 663-669.

Davis, R. M., Limble, K. A., and Farrar, J. J. 1988. A Third race of *Fusarium oxysporum* f.sp. *lycopersici* identified in California. Plant Disease 72:453(Abst).

Elias, K. S., and Schneides, R. W. 1991. Vegetative Compatibility groups in *Fusarium oxysporum* f.sp. *lycopersici*. Phytopathology 81:159-162.

Foster. R. E. 1946. The firstsymptoms of tomato fusarium wilt: clearing of the ultimate veinlets in the leaf. Phytopathology 36:691-694.

Grattidge, R., and O"Brien, R. G. 1982. Occurrence of third race of Fusarium wilt of tomatoes in Queens land, Plant Disease 66:165-166.

Heming, M. N., Basuki, S., and Mc Grath, D. J. (2004). Fine mapping of the tomato I-3 gene resistance for Fusarium wilt resistance and elimination of a co-segregation resistance gene analogue as a candidate for I-3 Theo. Appl. Genet. 109: 409-418.

Ismail, A. L. S., and Abdulah, S. K. 1976. Occurrence of physiological races in Fusarium causing wilt in tomato cultivars in Basrah. Iraq. Indian Phytopathology 29:378-380.

Jones, J. B., Jones, J. P., Stall, R. E., and Zitter, T. A. 1991. Compendium of tomato disease, APS Press, pp: 73.

Jones, J. P., and Woltz, S. S. 1981. Fusarium – incited disease of tomato and potato and their control, 157-168. In: Nelson, P. E. and Tousson, T.A. (eds.), Fusarium: disease, Biology and Taxonomy. Penssylvania State Univ. Press, University Park and London.

Leslie, J. F., and Summerell, B. A. 2006. The Fusarium Laboratory Manual. Blackwell. 388p.

Marlatt, M. L., Correl, J. C., Kautmann, P. and Cooper, P. E. 1996. Two Genetically distinct populations of *Fusarium oxysporum* f.sp. *lycopersici* race 3 in the united States. Plant Disease 80:1336-1342.

McGrath, D. J. 1988. Fusarium wilt resistant tomatoes, Queensland Agric. J. 114:290-295.

Mcgrath, D. J., and Maltby, J. E. 1989. Fusariums wilt race 3 resistance in tomato, Acta Hortic., 272:107-109.

Neergard, P. 1988. Seed pathology. Vol. I, II. Macmillan Press. 1191 P.

Nelson, P. E., Toussoun, T. A., and Marasas, W. F. O. 1983. Fusarium species: An illustrated manual for identification, Pennsylvania state Univ. Press, University Park and London, 193 p.

Stall, R. E. 1961. Development of Fusarium wilt on resistant varieties of tomato caused by a strain different from race 1 isolates of *Fusarium oxysporum* f.sp. *lycopersici*. Plant disease 45:12-15.

Stall, R. E., and Walker, J. M. 1965. Selection and inheritance of resistance in tomato to isolate of race 1 and 2 of the Fusarium wilt organism. Phytopathology 55: 1213-1215.

Tokeshi, H., Galli, F., and kurozawa, C. 1966. A new race of tomato Fusarium in Soupaulo. Anais Luiz aueiroz. 217-227. In: Nelson, P. E. and Toussoum, T. A. (eds.,). Fusarium: Disease, Biology and Taxonomy. Pennsylvania St.univ.Pren univ.Paslc and Fondon .

Valenzuela –Ureta, J. G., Lown, D. A., Heisey, R. F. and Zamudionaloa, V. 1996. First report of Fusarium wilt race 3 Caused by *Fusarium oxysporum* f.sp. *lycopersici* of tomato in Mexico. Plant Disease 80:105(Abst).

Walker, J. C. 1981. Fusarium wilt of tomato, Monograph No: 6, APS Press, 86 p.

Yamaguchi, K., Sano, T., Arita, M. and Takahashi, M. 1992. Biocontrol of Fusarium wilt of tomato by non- pathogenic *Fusarium oxysporum* MT0062. Ann. Phytopathol. Scoc. Jpn. 58: 188-194.

Determination of Physiological Races of Tomato Wilt Agent in Major Cultivation Areas in Iran

Ahmadvand[1], R. and Zarbakhsh[2], A.

Abstract

The most common areas of tomato fields such as Varamin, west Azarbarijan, east Azarbaijan, Khoozestan, Busheher and Isfahan were surveyed and infected fields were identified during 2003-2004. Infected plants with wilt symptoms were identified. The samples were cultured on PDA (half concentration). The fungi grew after 3-4 days and each isolate was purified by single spore method. Thirty eight isolates were selected as Representative. The isolates were identified as *Fusarium oxysporum* by using Nelson key. The seedlings of Bonny Best cultivar was used for pathogenesis test. Thirty days old, tomato seedlings were inoculated with 5×10^6 spores/ml of each isolate. After inoculation, seedlings were cultured in a Random Complete Design with five replications (three seedlings in each replicate). The result showed that all isolates caused discoloration of xylem extended to stems and even petioles. Root and crown were not rotted. Growth at 27ºC was quicker than that of 18ºC. There fore, their form special was determined as *lycopersici*. The severity of disease (Aggressiveness of each isolate) was evaluated based on 0-5 scale presented by Hemming et al., 2004. The result of data analysis showed that the pathogenicity of isolates was significant at 1% level. The mean comparative of infection severity showed that the isolate MD_4 and DSF_{28} with 4.84 and 3.062 of mean infection were the most and least aggressive, respectively. The isolates inoculated on differential tomato cultivars, Bonny Best (lacking resistance gene), Manapal (resistant to race one) and Walter (resistant to races1& 2) in five replications and three seedlings in each replication in greenhouse condition. Bonny Best without any resistance gene wilted four weeks after inoculation. Manapal and Walter cultivars did not develop symptoms to any of tested isolates. Hence, they were determined as race one.

Kehwords: Tomato, Fusarium wilt, *Fusarium oxysporum* f. sp., *lycopersici and* Physiological Races

1 and 2. respectively, M.Sc and Asisciate Professor, Seed and Plant Certificate Research institute, Karaj

---