مجله علوم کشاورزی و منابع طبیعی
جلد پانزدهم، شماره چهارم، ۱۳۸۷
www.jasnr.info
www.sid.ir
www.magiran.com/jasnr

بررسی گلخانه‌ای اثر متقابل نژاد دو نماتود مولد گره *Meloidogyne incognita* و قارچ *Verticillium dahliae* عامل پژمردگی نهال‌های زیتون (*Olea europaea*) در گرگان

*حسین حقیقی[۱]، عبدالحسین طاهری[۲]، سیداسماعیل رضوی[۳]، زهرا تنهامعافی[۴] و مریم ممقانی[۱]

[۱]دانش‌آموخته کارشناسی‌ارشد گروه گیاهپزشکی، دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی گرگان،
[۲]دانشیار گروه گیاهپزشکی، دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی گرگان، [۳]مربی گروه گیاهپزشکی، دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی گرگان و
[۴]دانشیار موسسه تحقیقات گیاهپزشکی کشور اوین، تهران

تاریخ دریافت: ۸۵/۱۲/۱۵ ؛ تاریخ پذیرش: ۸۶/۱۱/۲۴

چکیده

در این آزمایش اثرمتقابل نژاد دو نماتود مولد گره ریشه [(نژاد۲) *Meloidogyne incognita*] و قارچ عامل پژمردگی آوندی (*Verticillium dahliae*) برروی نهال‌های زیتون در قالب طرح کاملاً تصادفی (CRD) با هشت تیمار و چهار تکرار در گلخانه بررسی شد. برای هر تیمار قارچ، تعداد ۴۰ میکرواسکلروت در هر گرم خاک گلدان و برای هر تیمار نماتود ۱۰۰۰۰ تخم و سن جوانی دو در هر گلدان منظور گردید. نتایج نشان داد که نماتود مولد گره به میزان زیادی شدت و سرعت پژمردگی در اثر قارچ *V. dahliae* را افزایش می‌دهد. این در حالی بود که تیمارهای فاقد قارچ، هیچ گونه علائم پژمردگی بروز ندادند. میزان فاکتورهای رشدی تیمارهایی که علاوه‌بر نماتود، قارچ نیز دریافت کرده بودند نسبت به شاهد و تیمارهایی که هر یک از این دو به تنهایی حضور داشت، کاهش نشان می‌داد. نتایج آزمون مقایسه میانگین‌ها نشان داد که در سطح احتمال یک درصد، تلقیح همزمان و تناوبی دو بیمارگر برروی کاهش فاکتورهای رشدی و شدت پژمردگی ورتسیلیومی نهال‌های زیتون معنی‌دار بود. تلقیح قارچ *V. dahliae* دو هفته بعد از نماتود *M. incognita* باعث شد وزن تر ریشه نسبت به شاهد به میزان ۶۱/۴۵ درصد کاهش یابد. همچنین، این کاهش وزن از مجموع کاهش وزن تیمارهای قارچ و نماتود به تنهایی بیشتر بود. تلقیح جداگانه قارچ و نماتود وزن خشک اندام‌های هوایی را در مقایسه با شاهد به‌ترتیب به میزان ۱۳/۹۱ و ۲۲/۵ درصد کاهش داد. زمانی که قارچ دو هفته بعد از نماتود تلقیح شد وزن خشک ریشه (۶۴/۴ درصد) نسبت به سایر تیمارها به‌صورت افزایشی کمتر بود، همچنین در این حالت درصد پژمردگی ورتسیلیومی به ۸۳/۴ درصد افزایش یافت.

واژه‌های کلیدی: اثر متقابل، *Verticillium dahliae*، *Meloidogyne incognita*، زیتون، گرگان

مقدمه

گیاه زیتون از جنس *Olea* و خانواده *Oleaceae* با بیش از ۴۰-۳۰ گونه می‌باشد. معروف‌ترین گونه آن *Olea europaea* است که در اقصی نقاط دنیا کاشته می‌شود (حسن عباسی، ۱۹۹۴). چندین بیمارگر به سیستم ریشه زیتون حمله می‌کنند که از جمله مهم‌ترین آنها، قارچ *Verticillium dahliae* و نماتود *Meloidogyne* spp. است. بیماری پژمردگی آوندی ناشی از ورتسیلیوم یکی از مهم‌ترین بیماری‌های زیتون در سطح دنیا به‌خصوص نواحی مدیترانه و ایالات متحده آمریکاست

*- مسئول مکاتبه: haghighi_karizak@yahoo.com

Archive of SID
www.SID.ir

(تاناسولوپلوس و همکاران، ۱۹۷۹؛ گالون و همکاران، ۲۰۰۵). این بیماری اولین بار در جهان توسط روجیری از ایتالیا گزارش (روجیری، ۱۹٤٦) و بعد از آن از کالیفرنیا، یونان، ترکیه، فرانسه، اسپانیا، سوریه، فلسطین، الجزایر، مصر، تونس و مراکش گزارش شد (ویلحلم و همکاران، ۱۹٦۲؛ جاکبسون و همکاران، ۱۹۷۹؛ تاناسولوپولوس و همکاران، ۱۹۷۹؛ بلانکولوپز و همکاران، ۱۹۸٤؛ ال احمد و همکاران، ۱۹۹۲؛ سرحینی و زروال، ۱۹۹۵؛ لچکور و همکاران، ۲۰۰۲). آلودگی درختان زیتون به این بیماری ابتدا در استان گلستان توسط رهنما و همکاران (۱۹۹۸) و در درختان موجود در ایستگاه تحقیقات هاشم‌آباد گرگان مشاهده شد. از لحاظ میزان خسارت گونه‌های مختلف جنس *Meloidogyne* در سطح جهان مهم‌ترین جنس در بین نماتودهای گیاهی ذکر شده‌اند و یکی از پنج عامل درجه اول بیماری‌زا در گیاهان به شمار می‌آیند (تنهامعافی و مهدویان، ۱۹۹۷؛ بیچوا و همکاران، ۲۰۰۲). بیشتر گونه‌های *M. incognita* و *M. javanica* نماتودهای مولد گره‌ای هستند که در نواحی مختلف کشت زیتون وجود دارند (کاستیلو و همکاران، ۲۰۰۳). برهمکنش نماتودها با عوامل پژمردگی آوندی یکی از موضوعات مورد بحث محققان است که اثر آن در پژمردگی ورتسیلیومی به‌صورت افزایش شدت بیماری (برگسون، ۱۹٦۳؛ فرند و همکاران، ۱۹۸۸؛ بوورس و همکاران، ۱۹۹٦؛ جانسون و سانتوز، ۲۰۰۱) و کاهش محصول (رو و همکاران، ۱۹۸۵) ارائه شده است. امروزه با افزایش کشت زیتون در استان‌های مختلف کشور، آلودگی‌های فراوانی در سطح مناطق کشت به‌خصوص در استان گلستان مشاهده می‌شود. روند رو به گسترش کشت زیتون در استان گلستان، لزوم تحقیق در زمینه عوامل محدودکننده موجود از جمله پژمردگی ورتسیلیومی را هر چه بیشتر روشن می‌سازد. به‌رغم روند رو به گسترش کشت زیتون در ایران، تاکنون آزمون‌های بررسی مقاومت ارقام به‌صورت اختصاصی انجام نپذیرفته است و غالب مطالعات بر مشاهدات مزرعه‌ای و بررسی علائم در ارقام زیتون در محیط طبیعی استوار بوده است. هدف از تحقیق حاضر، مطالعه اثر متقابل قارچ *V. dahliae* و نماتود *M. incognita* برروی نهال‌های زیتون است تا اهمیت حضور نماتود و نقش آن در تغییر میزان بیماری‌زایی این قارچ مورد بررسی قرار گیرد. بنابراین، نظر به گسترش روند کشت درختان زیتون در استان گلستان و همچنین اهمیت پیدا کردن بیماری پژمردگی ورتسیلیومی در اکثر باغات سطح استان و گسترش روزافزون آن و همچنین با توجه به اهمیت نقش نهالستان‌های این استان در تهیه و توزیع نهال‌های زیتون به سراسر کشور لازم گردید تا بررسی دقیقی جهت شناسایی گونه نماتود مولد گره ریشه و نقش آنها در بروز پژمردگی ورتسیلیومی نهال‌های زیتون انجام گیرد.

مواد و روش‌ها

تهیه نهال‌های زیتون جهت کاشت: نهال‌های زیتون رقم زرد مورد نظر با معرفی سازمان حفظ نباتات استان گلستان تهیه گردید. به‌طور تصادفی تعدادی از نهال‌ها جهت بررسی آلودگی احتمالی انتخاب و از نظر آلودگی به نماتود مولد گره و قارچ پژمردگی ورتسیلیومی مورد بررسی قرار داده شدند.

آماده‌سازی خاک: جهت کاشت نهال‌ها، خاک مناسب به نسبت مساوی حاوی لوم رسی + خاک برگ + ماسه به نسبت ۱:۱:۱ تهیه و در دو مرحله، پاستوریزه گردید (سعیدی‌زاده، ۲۰۰۲).

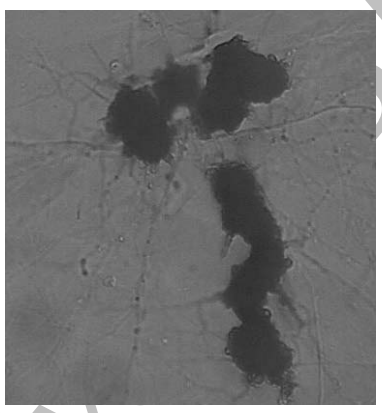
طرح آماری و شرایط نگهداری: آزمایش در قالب طرح کاملاً تصادفی (CRD) با هشت تیمار و چهار تکرار در گلخانه صورت گرفت. تیمارها شامل شاهد، نماتود به تنهایی، قارچ به تنهایی، قارچ دو هفته قبل از نماتود، نماتود دو هفته قبل از قارچ، قارچ و نماتود همزمان، قارچ همراه با اعمال زخم مکانیکی و زخم مکانیکی بود. پس از اضافه کردن مایه تلقیح، نهال‌ها در درجه حرارت ۳۰– ۲۵ درجه سانتی‌گراد در گلخانه مرتب و نگهداری و در صورت نیاز آبیاری و به مدت ۲٤۰ روز نگهداری شدند. در تیمار زخم قبل ازکاشت، ریشه‌های نهال‌های زیتون از

Archive of SID

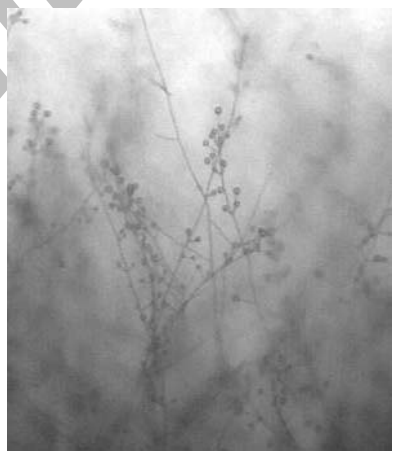
www.SID.ir

ناحیه ۲ سانتی‌متری نوک ریشه قطع شدند (لامبرتی و همکاران، ۲۰۰٤؛ لوپز اسکدرو و همکاران، ۲۰۰٤).

تهیه مایه تلقیح قارچ: جدایه قارچ ورتسیلیوم مورد استفاده در این تحقیق از کلکسیون آزمایشگاه بیماری شناسی گروه گیاهپزشکی دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی گرگان تهیه شد. بیماری‌زایی این جدایه قبلاً برروی سرشاخه‌های زیتون و گیاهچه‌های پنبه بـه اثبات رسیده بود (عطار و همکاران، ۲۰۰٤) (شکل‌های ۱ و ۲). به منظور تهیه میکرواسکلروت جدایه ورتسیلیوم زیتون مورد نظر (نژاد برگریز) به روش کشت در محیط مایع زاپکت بدون آگار[1] (لوپز اسکدرو و همکاران، ۲۰۰٤) تولید و جهت مایه‌زنی نهال‌های دوازده ماهه زیتون استفاده شد. محیط فوق پس از استریل کردن در تشتک‌های پتری به قطر ۹ سانتی‌متر به میزان ۱۵-۱۰ سی‌سی ریخته شد. در وسط هر تشتک پتری یک قطعه کوچک از حاشیه محیط کشت تازه قارچ ورتسیلیوم قرار داده شد. پتری‌ها به‌مدت ٦ هفته در انکوباتور تاریک با دمای ۲٤-۲۰ درجه سانتی‌گراد قرار داده شدند (شکل ۳). بعد از شش هفته، سوسپانسیون حاوی میکرواسکلروت از الک‌هایی به شماره‌های به‌ترتیب ٦۰، ۱۰۰ و ٤۰۰ مش عبور داده شد (ویلر و ریدل، ۱۹۹٤) (شکل ٤).



شکل ۱- میکرواسکلروت *V. dahliae* (٤۰۰X).



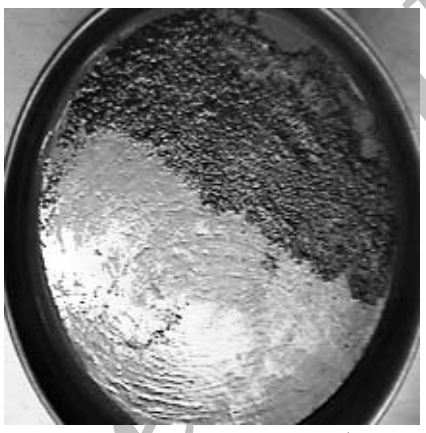
شکل ۲- کنیدیوفورهای قارچ *V. dahliae* (٤۰X).

1- Czapecks Liquid Medium

Archive of SID

www.SID.ir

شکل ۳- تهیه میکرواسکلروت برروی محیط کشت.



شکل ٤- جمع‌آوری میکرواسکلروت‌ها برروی الک ٤٠٠ مش.

در نهایت سوسپانسیون حاصل با مقداری ماسه بادی[1] دو بار اتوکلاو و آون خشک شده که از الک ۸٦۰ مش عبور داده شده بود، مخلوط گردید. مخلوط حاصل به مدت ۳ هفته در محیط استریل با دمای ۲۵ درجه سانتی‌گراد خشک گردید. پس از خشک شدن مخلوط با کمک آسیاب برقی[2] کاملاً یکنواخت گردید و به‌وسیله پخش کردن روی محیط انتخابی ورتسیلیوم شرح داده شده توسط آشورت (آشورت و همکاران، ۱۹۷۲) میکرواسکلروت‌های زنده تعیین کمیت شد. جهت تعیین تعداد زادمایه زنده در مایه تلقیح، پنج نمونه یک گرمی از مخلوط را برداشته و با آب مقطر استریل، رقت‌های 10^{-2} × ۱ ، 10^{-4}× ۱، 10^{-6}× ۱ و 10^{-8} × ۱ از آن تهیه شد. هر رقت به‌طور جداگانه روی محیط کشت نیمه انتخابی ورتسیلیوم در ۵ تکرار کشت گردید (نیگرو و همکاران، ۲۰۰۵).

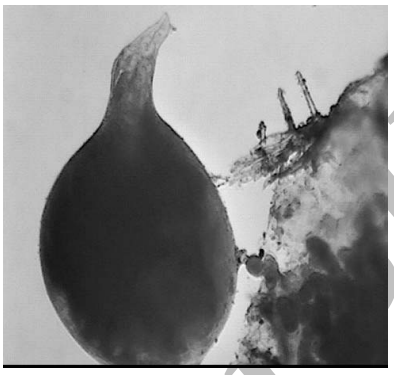
تهیه مایه آلوده‌کننده نماتود: در مرداد و شهریور ۱۳۸٤ به‌منظور جداسازی نماتود مولد گره، طی بازدیدهای مکرر، از باغ‌ها و مراکز تولید نهال زیتون، نمونه‌گیری به‌عمل آمد. پس از تهیه توده تخم منفرد، روی گوجه فرنگی رقم رد کلود[3]، کشت‌های انبوه و خالص از این نماتود به‌دست آمد. در این مرحله پس از گذشت حدود ۷۰ روز جمعیت کافی از مایه تلقیح، که بتوان آنها را استخراج نمود نیز در دسترس خواهد بود. این کار تا رسیدن به جمعیت مورد نیاز نماتود ادامه می‌یابد. بدین ترتیب، جمعیت خالص موردنیاز جهت تعیین نژاد و تلقیح نهال‌های زیتون به‌دست آمد. این جمعیت براساس

1- Sand
2- Blender
3- Red Clod

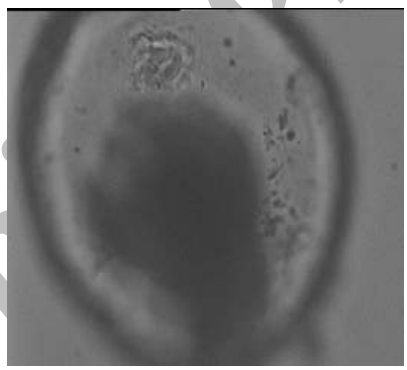
Archive of SID

www.SID.ir

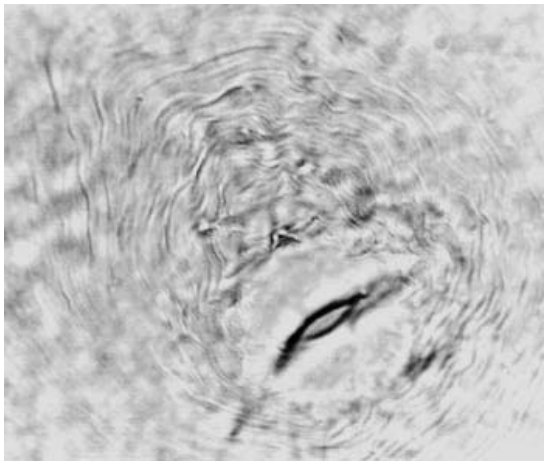
مشخصات مرفولوژیک شبکه کوتیکولی انتهای بدن ماده‌ها، مشخصات مرفولوژیک و مرفومتری ماده و سن جوانی دوم و همچنین عکس‌العمل میزبان‌های افتراقی، نژاد دو نماتود *M. incognita* تشخیص داده شد (شکل‌های ۱۰- ۵)، این بررسی براساس روش پیشنهادی ساسر (۱۹۷۲) برای آزمون میزبان‌های افتراقی انجام شد (ساسر، ۱۹۷۲). حدود ۱۰۰۰ تخم و لارو سن دو در پای ریشه چهار تکرار میزبان افتراقی که قبلاً به مدت دو ماه در گلدان‌های حاوی خاک پاستوریزه پرورش یافته بودند، اضافه شد. در پایان، ریشه‌ها در آب روان شسته و امکان تشکیل غده روی ریشه‌ها در اثر حمله نماتود و تکمیل نسل انگل در روی میزبان به روش ساسر (۱۹۷۲) بررسی گردید.



شکل ۵- نماتود ماده بالغ *M. incognita* (۴۰X).



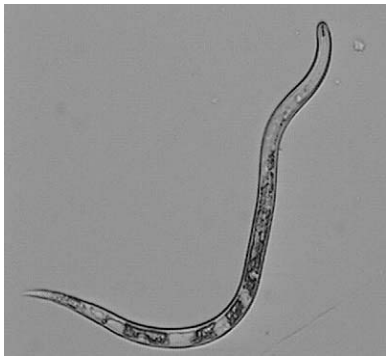
شکل ٦- انتهای بدن نماتود ماده بالغ (۱۰۰X).



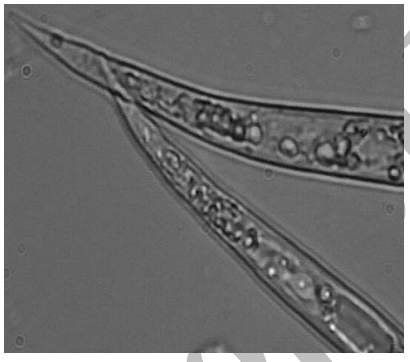
شکل ۷- شبکه کوتیکولی انتهای بدن ماده بالغ *M. incognita* (۴۰۰X).

Archive of SID

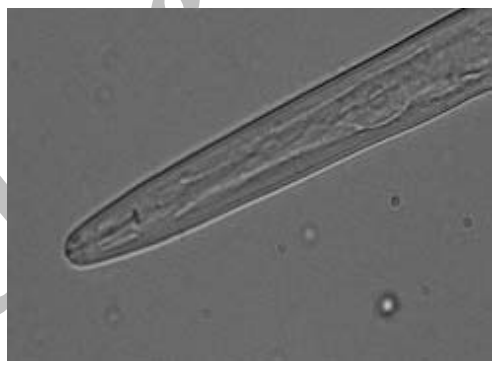
www.SID.ir



شکل ۸- سن جوانی دوم *M. incognita* (۱۰۰X).



شکل ۹- ناحیه انتهای بدن سن جوانی دوم (۴۰۰X).



شکل ۱۰- ناحیه جلویی بدن سن جوانی دوم *M. incognita* (۴۰۰X).

استخراج توده‌های تخم: از کشت‌های خالص که به روش تک کیسه تخم تهیه شده بودند، مایه تلقیح مورد استفاده تهیه گردید. در این مرحله از روش معمول هوسی و بارکر (۱۹۷۳) از محلول هیپوکلرید سدیم استفاده شد. از آنجا که حیات نماتودهای سن جوانی دوم در این مرحله برای ما مهم است، جهت دست‌یابی به زمان مناسب، بهتر است قبل از ریختن هیپوکلرید سدیم، یک عدد توده تخم را در مقداری هیپوکلرید سدیم چهار درصد قرار داده و در زیر استرئومیکروسکپ زمان لازم را برای حل شدن توده ژلاتینی به‌دست آورد.

تهیه سری رقت و کالیبراسیون: بدین‌منظور از روش هوسی و بارکر (۱۹۷۳) با انجام اصلاحاتی استفاده گردید. در نهایت مشخص شد که هر میلی‌لیتر از محلول پایه حاوی چه مقدار از مایه تلقیح است و چه میزان از آن بایستی مایه‌زنی شود.

Archive of SID

www.SID.ir

نحوه اختلاط تخم و نماتودهای سن جوانی دوم با خاک گلدان‌ها: دو هفته پس از کاشت نهال‌ها، ۱۰۰۰۰ تخم و نماتود سن جوانی دوم به داخل چاهک‌هایی به عمق ۵-۲ سانتی‌متر در اطراف ریشه نهال‌ها اضافه گردید (حسینی نژاد و واجدخان، ۲۰۰۰).

طرز اختلاط میکرواسکلروت با خاک گلدان‌ها: مایه تلقیح قارچ، به میزان ٤٠ عدد میکراسکلروت در گرم خاک گلدان تعیین شد. به هر گلدان مورد نظر ۱۷۵ سی‌سی سوسپانسیون شامل 8×10^{4} عدد میکرواسکلروت تعلق گرفت. برای اختلاط این مایه تلقیح به عمق چهار سانتی‌متری، خاک سطحی اطراف ریشه‌ها کنار زده شد و سوسپانسیون مایه تلقیح به‌طور یکنواخت در یک سطح ریخته شد، سپس خاک کنار زده دوباره روی ریشه‌ها قرار داده شد (سعیدی‌زاده، ۲۰۰۲).

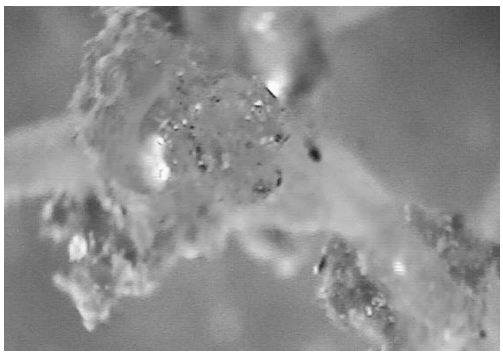
ثبت علائم پژمردگی ورتسیلیومی و آماربرداری جهت ارزیابی بیماری: مایه‌زنی نهال‌های زیتون در ۸۵/۱/۲۵ انجام شد، و در تاریخ ۸۵/۹/۱۵ پس از گذشت ۲٤۰ روز از مایه‌زنی، نهال‌ها مورد ارزیابی قرار گرفتند. در پایان آزمایش با کشت شاخه‌های فرعی با قطر ۷-٤ میلی‌متر از ارتفاع ۱۰-٦۰ سانتی‌متری نهال‌ها برروی محیط انتخابی، قارچ *V. dahliae* دوباره جداسازی شد. ارزیابی بیماری با بررسی ظاهری علائم در شاخه و برگ انجام گرفت. در فواصل هفتگی یاداشت‌برداری از علائمی نظیر شادابی گیاه، بروز علائم پژمردگی، ریزش و قهوه‌ای شدن برگ‌ها صورت گرفت. شدت بیماری با استفاده از شاخص ۵ درجه‌ای پیشهاد شده توسط لوپزاسکودرو و همکاران (۲۰۰٤) تعیین شد. به این‌ترتیب که ۰= بدون علائم، ۱= تغییر رنگ برگ‌ها، ۲= تمایل به لوله شدن برگ‌ها، ۳= پژمردگی ملایم تا متوسط و تغییر رنگ برگ‌ها به سبز مات تا خاکستری، ٤= رنگ برگ‌ها متمایل به قهوه‌ای و لوله شده و ۵= مرگ کل گیاه بود. بررسی علائم از دو هفته بعد از تلقیح آغاز و تا پایان آزمایش ادامه یافت. نتایج حاصل از شمارش گال و کیسه‌های تخم تشکیل شده برروی ریشه گیاهان مورد آزمون و همچنین فاکتورهای طول ریشه، وزن ریشه، طول و وزن ساقه در هر یک از تیمارها اندازه‌گیری و آزمون مقایسه میانگین‌ها صورت گرفت.

ارزیابی فاکتورهای رشدی گیاهان مورد آزمون: اندازه‌گیری طول ریشه از انتهای نوک تا محل یقه، طول ساقه از محل یقه تا انتهای نوک ساقه به‌عنوان مشخصه‌های رشدی گیاه به‌منظور ارزیابی وضعیت رشد و نمو گیاهان مورد آزمون یاداشت شد. وزن خشک ریشه و اندام هوایی در گیاه پس از قرار دادن آنها در آون در دو روز متوالی در دمای ۷۰ درجه سانتی‌گراد اندازه‌گیری گردید (حسینی‌نژاد و واجدخان، ۲۰۰۰).

محاسبه شاخص گال و شاخص کیسه تخم: توده‌های تخم به وسیله فرو بردن ریشه‌ها به‌مدت ۲۰ دقیقه در محلول اسید فوشین ۰/٤ درصد رنگ‌آمیزی شد (تایلور و ساسر، ۱۹۷۸) (شکل ۵)، بدین طریق که در انتهای آزمایش ریشه هر یک از نهال‌های دارای تیمار نماتود به قطعات چند سانتی‌متری خرد و دو نمونه ۱ گرمی از هر تیمار گرفته و با اسید فوشین رنگ آمیزی شد. پس از رنگ‌آمیزی نمونه‌های ریشه، تعداد توده‌های تخم شمارش و براساس شاخص ۵-۰ تایلور و ساسر (۱۹۷۸) ارزیابی شد. شدت گال ریشه (RGS) نیز براساس شاخص ۵-۰. ۰: بدون گال، ۱: ۲-۱ گال: ۲: ۱۰-۳ گال، ۳: ۳۰-۱۱ گال، ٤: ۱۰۰-۳۱ گال و ۵: بیش از ۱۰۰ گال ارزیابی شد (تایلور و ساسر، ۱۹۷۸).

Archive of SID

www.SID.ir



شکل ۱۱- توده‌های تخم نماتود *M. incognita* بعد از رنگ‌آمیزی.

نتایج

ارزیابی فاکتورهای رشدی گیاهان مایه‌زنی شده با توجه به وضعیت رشدی آنها

طول ریشه و اندام هوایی: اثر متقابل نماتود *M. incognita* و قارچ *V. dahliae* در کاهش ارتفاع گیاه به صورت افزایشی بود و در تیمار مایه‌زنی نماتود دو هفته قبل از قارچ کاهش معنی‌دار ارتفاع گیاه مشاهده شد. براساس مقایسه میانگین‌ها تیمارهای تناوبی نماتود دو هفته قبل از قارچ، قارچ دو هفته قبل از نماتود و قارچ و نماتود همزمان بیشترین کاهش طول ریشه را نسبت به شاهد داشتند. (جدول ۱).

وزن تر ریشه، اندام هوایی و کل گیاه: وزن تر ریشه در تیمار نماتود دو هفته قبل از قارچ نسبت به شاهد به‌طور معنی‌داری کاهش یافت، اما این کاهش با تیمار زخم به تنهایی اختلاف معنی‌داری نداشت. مایه‌زنی نماتود دو هفته قبل از قارچ این عوامل باعث کاهش ٦١/٤ درصدی وزن تر ریشه نسبت به شاهد شد که در بین تیمارها بالاترین تأثیر را در کاهش وزن تر دارا بوده است. از لحاظ آماری وزن تر اندام هوایی تیمار نماتود دو هفته قبل از قارچ و قارچ دو هفته قبل از نماتود به‌ترتیب ٤٢/٠٨ و ٢٧/٠٥ درصد نسبت به تیمار شاهد کمتر بود. اختلاف معنی‌داری بین تیمارها، نماتود دو هفته قبل از قارچ و قارچ دو هفته قبل از نماتود وجود داشت و این کاهش نسبت به شاهد در سطح احتمال یک درصد بسیار معنی‌دار بود. بنابراین زمان مایه‌زنی نماتود و قارچ تأثیر معنی‌داری بر وزن تر اندام هوایی داشته است (جدول ۲).

جدول ۱- مقایسه تاثیر نماتود *M. incognita* و قارچ *V. dahliae* به تنهایی و در ترکیب با یکدیگر بر روی طول ریشه و اندام‌های هوایی گیاه زیتون رقم زرد در ۲٤۰ روز بعد از تلقیح.

تیمار	طول ریشه و اندام هوایی (سانتی‌متر)	
	ریشه	اندام هوایی
شاهد	٣٥/٠٠a	٧٤/٧٥a
نماتودبه تنهایی	٣١/٠٠b	٧٠/٠٠b
قارچ به تنهایی	٢٦/٥٠c	٦٥/٥٠c
قارچ دو هفته قبل نماتود	٢١/٦٠ed	٥٤/٢٥d
نماتود دو هفته قبل قارچ	٢٠/١٥e	٤٩/٧٥e
نماتود و قارچ هم زمان	٢٣/٠٠d	٥٥/٠٠d
قارچ همراه با اعمال زخم مکانیکی	٢٧/٠٠c	٦٤/٢٥c
زخم تنها	٣٣/٧٥a	٧٣/٥٠a
LSD	**١/٤٩	**١/٤١
% CV	١١/٠٧	٤/٦٥

اعداد نشان‌دهنده میانگین چهار تکرار می‌باشند. میانگین‌هایی که دارای حروف مشترک نیستند براساس آزمون LSD در سطح احتمال یک درصد دارای تفاوت معنی‌داری می‌باشند.

Archive of SID

www.SID.ir

جدول ۲- مقایسه تاثیر نماتود *M. incognita* و قارچ *V. dahliae* به تنهایی و در ترکیب با یکدیگر برروی وزن تر اندام‌های گیاه زیتون رقم زرد در ۲٤۰ روز بعد از تلقیح.

تیمار	وزن تر ریشه، اندام هوایی و کل گیاه (g)		
	ریشه	اندام‌های هوایی	کل گیاه
شاهد	۲۰/۷۵a	۵۰/۵۰a	۷۱/۲۵a
نماتود	۱۳/۵۰c	۳۸/۵۰d	۵۲/۰۰d
قارچ	۱٦/۷۵b	٤۱/۲۵c	۵۸/۰۰c
نماتود + قارچ	۱۱/۳۲d	۳۷/٤۵ed	٤۸/۷۸e
نماتود دو هفته قبل قارچ	۸/۰۰e	۲۹/۲۵f	٤۷/۲۵f
قارچ دو هفته قبل نماتود	۱۰/۸۰d	۳٦/۷۵e	٤۷/۵۵e
زخم مکانیکی	۲۰/۵۰a	٤۹/۷۵a	۷۰/۲۵a
قارچ همراه با زخم مکانیکی	۱٦/٤۱b	٤٤/۷۰b	٦۱/۱۱b
LSD	**./۷٤	**۱/۲٦	**۱/۵۳
% CV	۱۲/۳۷	٦/۳۳	٦/۰٤

اعداد نشان‌دهنده چهار تکرار می‌باشند. میانگین‌هایی که دارای حروف مشترک نیستند براساس آزمون LSD در سطح احتمال یک درصد دارای تفاوت معنی‌داری می‌باشند

وزن خشک اندام هوایی، ریشه و کل گیاه: کمترین وزن خشک اندام هوایی مربوط به تیمار نماتود دو هفته قبل از قارچ (۱٦/۵ گرم) و بیشترین وزن مربوط به تیمار شاهد و زخم به تنهایی بود. وزن خشک اندام هوایی تیمار نماتود دو هفته قبل از قارچ، قارچ دو هفته قبل از نماتود و نماتود و قارچ همزمان نسبت به تیمار شاهد به‌ترتیب ٤۲/٦، ۳٦/۵ و ۳۳/۰٤ درصد کاهش داشت. کمترین وزن خشک ریشه به تیمار نماتود دو هفته قبل از قارچ (۵/۲۵ گرم) و تیمار قارچ دو هفته قبل از نماتود (۷/۵۰ گرم) و بیشترین وزن خشک مربوط به تیمار شاهد و تیمار زخم بود (جدول ۳).

جدول ۳- مقایسه تأثیر نماتود *M. incognita* و قارچ *V. dahliae* به تنهایی و در ترکیب با یکدیگر برروی وزن خشک اندام‌های گیاه زیتون رقم زرد در ۲٤۰ روز بعد از تلقیح.

تیمار	وزن خشک ریشه اندام هوایی و کل گیاه (g)		
	ریشه	اندام‌های هوایی	کل گیاه
شاهد	۱٤/۷۵a	۲۸/۷۵a	٤۳/۵۰a
نماتود	۸/۲۵d	۲۲/۲۸d	۳۰/۵۳d
قارچ	۱۱/۰۰c	۲٤/۷۵c	۳۵/۷۵c
نماتود + قارچ	۷/۸۰ed	۱۹/۲۵ef	۲۷/۰۵e
نماتود دو هفته قبل قارچ	۵/۲۵f	۱٦/۵۰g	۲۱/۷۵g
قارچ دو هفته قبل نماتود	۷/۵۰e	۱۸/۲۵f	۲۵/۷۵f
زخم مکانیکی	۱٤/۰۰b	۲۷/۲۵b	٤۱/۲۵b
قارچ همراه با زخم مکانیکی	۱۰/۵۳c	۲۰/۰۰e	۳۰/۵۳d
LSD	**./٤۸	**۱/۰۷	**۱/۰۳٤
% CV	۱۱/۲٦	۱۰/۰٦	٦/۸۸

اعداد نشان‌دهنده میانگین چهار تکرار می‌باشند. میانگین‌هایی که دارای حروف مشترک نیستند.

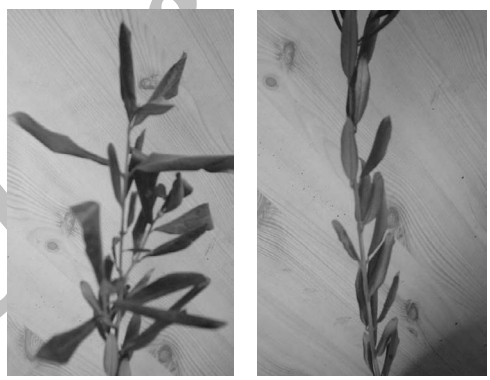
براساس آزمون LSD در سطح احتمال یک درصد دارای تفاوت معنی‌داری می‌باشند.

Archive of SID

www.SID.ir

ارزیابی بیماری پژمردگی ورتسیلیومی: علائم ناشی از قارچ *V. dahliae* برروی رقم مورد آزمایش ٢٤ هفته پس از تلقیح در تاریخ ٨٥/٧/١ در تکرار سوم تیمار نماتود دو هفته قبل از قارچ مشاهده شد. علائم ابتدایی بیماری به‌صورت مشاهده تغییر رنگ تدریجی به رنگ سبز مات برگ‌ها ظاهر شد. برگ‌ها به سمت بالا کشیده شده و حالتی ایستاده پیدا نمودند (شکل ١٤-١٢). بعد از مدتی برگ‌ها لوله شده و در نهایت قهوه‌ای رنگ شدند. علائم ابتدا در برگ‌های یک شاخه توسعه یافت. از لحاظ میزان علائم بیماری بین تیمارها در سطح احتمال یک درصد اختلاف معنی‌داری وجود داشت. بالاترین شدت علائم در تیمار مایه‌زنی نماتود دو هفته قبل از قارچ مشاهده گردید، که اختلاف معنی‌داری با سایر تیمارها داشت. در کلیه تیمارهایی که قارچ را دریافت کرده بودند شاخص پژمردگی بیش از دو بود. بیشترین علائم هوایی را در تیمارهایی که هم قارچ و هم نماتود را دریافت کرده‌اند، می‌توان دید (جدول ٤).

شکل ١٢- مقایسه نهال سالم و بیمار (به‌ترتیب از راست به چپ).



شکل‌های ١٣ و ١٤- علائم بیماری برروی نهال‌های زیتون بیمار (راست ایستادن و تمایل به لوله شدن در برگ‌ها).

جدول ٤- مقایسه تأثیر نماتود *M. incognita* و قارچ *V. dahliae* برروی شاخص بیماری پژمردگی گیاه زیتون رقم زرد.

تیمار	شدت پژمردگی ورتسلیومی
شاهد	٠
قارچ	٢/٣٣c
نماتود+ قارچ	٣/٥٥b
نماتود دو هفته قبل قارچ	٤/١٧a
قارچ دو هفته قبل نماتود	٣/٤٥b
زخم مکانیکی	٠
قارچ همراه با زخم مکانیکی	٢/٤٣c
LSD	٠/٢٣**
% CV	١٣/٦٨

اعداد میانگین چهار تکرار هستند. میانگین‌هایی که دارای حروف مشترک نیستند.
براساس آزمون LSD در سطح احتمال یک درصد دارای تفاوت معنی‌داری می‌باشند.

Archive of SID

www.SID.ir

نتایج اثرات آمیخته نماتود *M. incognita* و قارچ *V. dahliae* بر تعداد توده تخم و گره روی ریشه

تعدادکیسه تخم: مقایسه میانگین تعداد کیسه تخم تولید شده توسط هر یک از تیمارهای نماتود نشان داد که توانایی تولید کیسه تخم در تیمار نماتود به تنهایی بیشتر و با سایر تیمارها در سطح احتمال یک درصد دارای تفاوت معنی‌دار بود (جدول ۵). کمترین تعداد گال تولید شده در تیمار قارچ دو هفته قبل از نماتود و بیشترین در تیمار نماتود به تنهایی بود. شاخص گال در کلیه تیمارها بیش از سه بود.

جدول ۵- مقایسه تأثیر نماتود *M. incognita* و قارچ *V. dahliae* برروی تعداد کیسه تخم (EN)، شاخص کیسه تخم (EI) ریشه نهال‌های زیتون رقم زرد.

تیمار	EN	EI
شاهد	۰	۰
نماتود	۷۰/۷۵a	۳/۵۷
نماتود + قارچ	۵۵/۰۰b	۳/۳۶
نماتود دو هفته قبل قارچ	۵۳/۲۵b	۳/۳۱
قارچ دو هفته قبل نماتود	۳۷/۰۰c	۳/۱
LSD	**۲/۹٤	
% CV	۱٤/۱٦	

اعداد نشان‌دهنده میانگین مجموع چهار تکرار هستند. میانگین‌هایی که دارای حروف مشترک نیستند.
براساس آزمون LSD در سطح احتمال یک درصد دارای تفاوت معنی‌داری می‌باشند.

تعداد گره: براساس مقایسه میانگین‌ها، تیمار نماتود به تنهایی در گروه a، تیمار نماتود و قارچ هم‌زمان در گروه b و تیمار قارچ دو هفته قبل از نماتود و نماتود دو هفته قبل از قارچ در گروه c قرار گرفتند. کمترین تعداد گال تولید شده مربوط به تیمار قارچ دو هفته قبل از نماتود و بیشترین مقدار متعلق به تیمار نماتود بود. شاخص گال‌زایی در کلیه تیمارهایی که نماتود را دریافت کرده بودند، بیش از دو بود (جدول ٦).

جدول ٦- مقایسه تأثیر *M. incognita* و *V. dahliae* برروی تعداد گره (GN) و شاخص گره (GI) ریشه نهال‌های زیتون رقم زرد.

تیمار	GN	GI
شاهد	۰	
نماتود	٤۲۵/۵۰a	۳/۰٤
نماتود + قارچ	۳۲۰/۵۰b	۲/۹۵
نماتود دو هفته قبل قارچ	۲۸۵/۷۵c	۲/۳۹
قارچ دو هفته قبل نماتود	۲۷۳/۰۰c	۲/۷۷
LSD	**۱٦/۱۸۳	
% CV	۱۹/۱۲	

اعداد میانگین چهار تکرار هستند. میانگین‌هایی که دارای حروف مشترک نیستند.
براساس آزمون LSD در سطح احتمال یک درصد دارای تفاوت معنی‌داری می‌باشند.

Archive of SID

www.SID.ir

بحث

اثر متقابل نماتود *M. incognita* و قارچ *V. dahliae* در کاهش فاکتورهای رشدی نهال‌های زیتون (طول ریشه و اندام هوایی، وزن تر و خشک ریشه و اندام هوایی) به‌صورت افزایشی بود که با نتایج دیگران (سکولتز و مورهارت، ۱۹۸۱؛ ابراهیم و همکاران، ۱۹۸۲؛ نردمایر و سیکورا، ۱۹۸۳؛ فرانس و آبایی، ۱۹۹٤؛ حسینی نژاد و واجدخان، ۲۰۰۰؛ سعیدی‌زاده، ۲۰۰۲) مشابهت دارد. تلقیح قارچ *V. dahliae* دو هفته بعد از نماتود *M. incognita* باعث شد وزن تر ریشه نسبت به شاهد به میزان ٦۱/٤٥ درصد کاهش یابد. همچنین، این کاهش وزن از مجموع کاهش وزن تیمارهای قارچ و نماتود به تنهایی بیشتر بود. این در حالی بود که تلقیح جداگانه قارچ و نماتود وزن خشک اندام های هوایی را در مقایسه با شاهد به ترتیب به میزان ۱۳/۹۱ و ۲۲/٥ درصد کاهش داد. علت کاهش رشد گیاه در اثر حضور نماتود را این گونه بیان کرده‌اند که نماتود مولد گره ریشه، نماتودی است داخلی و غیر مهاجر که باعث تغییرات ساختمانی، فیزیولوژیکی، بیوشیمیایی، بروز اختلالات در گیاه میزبان و در نتیجه کاهش رشد آن می شود. آلودگی ریشه، سیستم آوندی را مختل و از جذب، انتقال آب و مواد غذایی به بالا، از طریق سیستم ریشه گیاه جلوگیری می‌کند. کاهش کارایی انتقال آب و مواد غذایی باعث کم رشدی اندام‌های هوایی گیاه و تغییر رنگ یا زردی برگ‌ها می‌شود. سن جوانی دوم پس از ورود به ریشه با وجود آوردن ناهنجاری در بافت آوندی موجب بر هم زدن موازنه بین ریشه و ساقه و کاهش جذب آب و مواد غذایی و کاهش فتوسنتز در گیاه می‌گردد. نماتود *M. incognita* سبب تضعیف گیاه از راه آسیب زدن به ریشه و کاهش قدرت جذب آب می‌شود. حال هر چه حضور نماتود و قارچ مذکور توأم با یکدیگر باشد تضعیف گیاه محتمل‌تر است. نماتودهای *Meloidogyne* spp. با نفوذ به داخل ریشه و با ترشحات آنزیمی مخصوص خود از جمله پروتئاز، متابولیسم میزبان را به نفع خود و قارچ‌های بیماری‌زا تغییر می‌دهند. گیاهان میزبان نیز با عکس‌العمل و ایجاد خاصیت بزرگ شدن سلول‌ها و ازدیاد سلول‌ها در نسوج ریشه با سنتز اکسین و سایر مواد یا هورمون‌های رشدی به مقابله برخاسته و در نتیجه از حالت طبیعی خارج می‌گردند. اطراف نماتودهای مهاجم را سلول‌های زیادی احاطه می‌نماید که منجر به تشکیل غده روی ریشه می‌شود. در نتیجه، ریشه گیاه میزبان نمی‌تواند وظایف اصلی خود یعنی رشد طبیعی و تأمین مواد غذایی از طریق جذب مواد از خاک را به خوبی انجام دهد (برگسون، ۱۹۷۰). فرانس و همکاران (۱۹۹٤) نشان دادند که گیاهان لوبیای آلوده با *M. incognita* به‌طور معنی‌داری حاوی مقادیر پایینی از کلروفیل، کربوهیدرات‌ها و ترکیبات نیتروژنی بوده و جذب آب و ازت در آنها کاهش می‌یابد. بررسی‌های مزرعه‌ای و گلخانه‌ای سکلتز و مورهات (۱۹۸۱) نیز نشان داد که *P. penetrans* برروی پژمردگی ورتسیلیومی نهال‌های لاله درختی یک ساله تأثیر می‌گذارد. نتایج نشان داد که با افزایش سطوح بیمارگرها، رشد گیاه تحت تأثیر قرار می‌گیرد. در مطالعه ما مشاهده شد زمانی‌که قارچ دو هفته بعد از نماتود تلقیح شد، وزن خشک ریشه (٦٤/٤ درصد) نسبت به سایر تیمارها به‌صورت افزایشی کمتر بود، همچنین در این حالت درصد پژمردگی ورتسیلیومی به ۸۳/٤ درصد افزایش یافت. از نتایج حاصل از این تحقیق چنین برمی‌آید که هر چه وزن تر ریشه کمتر باشد، شدت علائم هوایی در میزبان نیز بیشتر است. از آنجائیکه حضور نماتود دو هفته قبل از قارچ و همزمان با قارچ بیشتر از حضور نماتود بعد از قارچ شدت پژمردگی را افزایش داد این اثر را می‌توان به قابلیت نماتود در ایجاد تغییرات فیزیولوژیکی نسبت داد، به‌طوری‌که در این بررسی در مایه‌زنی همزمان و تناوبی عوامل، مشاهده گردید. نتایج حاصل از این تحقیق نشان می‌دهد که تیمار نماتد به تنهایی هیچگونه علائم پژمردگی نشان نداد. کاهش میزان فاکتورهای رشدی تیمارهایی که علاوه‌بر نماتود قارچ نیز حضور داشت،

Archive of SID

www.SID.ir

نسبت به شاهد و تیمارهـایی کـه هـر یـک از ایـن دو بـه تنهایی حضور داشتند نشان می‌دهد که وجود توأم ایـن دو بیمارگر باعث خواهد شد که عـلاوه‌بـر شـدت پژمردگـی بـرروی کـاهش فاکتورهـای رشـدی نیـز تـأثیر معنـی‌دار بگذارند. این نتایج موید نقـش نمـاتود در افـزایش میـزان پژمردگی در تیمارهایی است که نمـاتود *M. incognita* و قـارچ *V. dahliae* وجـود دارنـد. افـزایش معنـی‌دار پژمردگـی در سـطح احتمـال یـک درصـد در تیمارهـای آلودگی توأم نماتود با قارچ می‌تواند گواه ایـن امـر باشـد. نتایج مطالعـات مـا بـا یافتـه‌هـای سـعیدی‌زاده (۲۰۰۲) و لامبرتی و همکاران (۲۰۰٤) مشابهت دارد. آنهـا دریافتنـد که آلـودگی ایجـاد شـده توسـط قـارچ *V. dahliae* در حـضور نمـاتود مولـد گـره افـزایش یافـت. سـعیدی‌زاده (۲۰۰۲) اثرات متقابلی از نمـاتود مولـد گـره و قـارچ *V. dahliae* را روی نهال‌های زیتون، پیـشنهاد کـرده اسـت. مطالعات حسینی نژاد و واجدخان (۲۰۰۰) برروی اثـرات متقابل نماتود مولد گره ریشه و قارچ عامل پژمردگـی *F. oxysporum* f.sp. *ciceri* در ارقام نخود نشان داد که اثرات متقابل این دو بیمارگر در کاهش رشد گیـاه در هـر دو تلقیح همزمان و تنـاوبی بـه‌صـورت افزایـشی بـوده و خسارت وارده به گیاه بیشتر از مجموع خساراتی بـود کـه هر یک از این عوامل بیماری‌زا به‌طـور جداگانـه بـر گیـاه وارد می‌ساختند. در تحقیق آنها مشخص شد کـه حـضور نماتود باعث سریع‌تر ظاهر شدن و تشدید علائم پژمردگی در گیاه گردید و علائم پژمردگی در تلقـیح تنـاوبی بیـشتر بود کـه بـا نتـایج حاصـل از ایـن تحقیـق مطابقـت دارد. مطالعات نردمایر و همکاران (۱۹۸۳) نشان داد کـه وقتـی نماتود *Heterodera daverti* یک یا دو هفتـه بعـد از قارچ تلقـیح شـود، وزن خـشک گیـاه بـه شـدت کـاهش می‌یابد. همچنین آنها پی بردند که شدت پژمردگی گیاهان در تلقیح قارچ یـک یـا دو هفتـه بعـد از نمـاتود بـه‌طـور معنی‌داری نسبت به زمانی که بیمارگرها به تنهـایی تلقـیح شده بودند بیشتر بود، نتایج حاصل از این تحقیق نیز نشان داد که تلقیح تناوبی بیمارگرهـا عـلاوه‌بـر اینکـه بـه‌طـور معنی‌داری در سطح احتمـال یـک درصـد باعـث کـاهش فاکتورهای رشدی نهال‌های زیتـون شـد همچنـین علائـم شدیدتری از پژمردگی را باعث شد. بررسـی‌هـای نـدوبیز (۱۹۷۷) نشان داد کـه پژمردگـی ورتـسیلیومی نهـال‌هـای گیلاس توسط قارچ *V. dahliae* در حضور نماتودهـای *M. hapla*، *Pratylenchus penetrans* و *Tylenchorhynchus claytoni* دز مقایـسه بـا عـدم حضور آنها بیشتر بود که نتایج آزمـایش‌هـای مـا را تأییـد می‌کند. تاکنون دلایـل گونـاگونی بـرای افـزایش بیمـاری مطرح شده که از آن جمله می‌توان بـه نکـات زیـر اشـاره کرد. گسترش رو به بالای بیمارگر در بافت آوندی در ابتدا توسط انتقال کنیدی‌ها تحت سیستم تعرق و تعریق گیاه و انتقال در جریان آوندی انجام می‌شود. مکانیزم دفاعی گیاه نسبت به قارچ ورتسیلیوم می‌تواند تـشکیل درپـوش‌هـای ژلاتینی، تایلوز، ایجاد لایه دیوار اضافی، القاء مواد فنـولی، توکسین‌ها، آنزیم‌ها و تنظیم‌کننده‌های رشد به تنهایی یا بـا همدیگر و سایر مواد حاصله از سوخت وسـاز کـه باعـث مسدود شدن آوندها و در نتیجه محصور ساختن قـارچ در منطقه فعالیت باشد، که در ایجاد پژمردگی دخالت دارنـد. لامبرتی و همکاران (۲۰۰٤) نتیجه گرفتند کـه تولیـد مثـل نماتود با توسعه پژمردگـی رابطـه عکـس دارد. فـرانس و آبایی (۱۹۹٤) نیز معتقدند که توقـف تولیـد مثـل نمـاتود ممکن است از محدودیت جا و در اثر آلودگی به قـارچ و یا تحریک نوعی سیستم دفاعی و یا هر دو باشـد. کـاهش ضریب تکثیر نماتود در حضور قارچ *V. dahliae* ممکن است ناشی از تخریب بافت ریشه‌ای بوسیله قارچ قبـل از اینکه نماتود چرخه زندگی خود را روی گیـاه کامـل کنـد باشد و یا ممکـن اسـت در اثـر تغییـرات فیزیولـوژیکی و بیوشیمیایی ایجاد شده در میزبان در نتیجه تعامـل قـارچ و نماتود باشد. آسیب ریـشه‌ای ایجـاد شـده بوسـیله قـارچ احتمالاً مکـان‌هـای نفـوذ نمـاتود و تغذیـه آن را کـاهش می‌دهد. متابولیت‌های سمی قابل انتقال تولید شده توسـط قارچ‌های بیماری‌زای گیاهی ممکن است سـبب کـاهش و فساد سلول‌های غول آسا، کاهش تفریخ و کاهش فعالیـت

Archive of SID

www.SID.ir

سنین جوانی مرحله دوم شوند (فرانس و آبایی، ۱۹۹٤). به نظر مارتین و همکاران (۱۹۸۲) گیاهانی که آلودگی شدیدی به *V. dahliae* دارند جایگاه مناسبی برای تکثیر نماتودها نمی‌باشند. این نتیجه می‌تواند ناشی از نامساعد شدن محیط برای رشد نماتود از طریق تخریب سلول غول‌آسا باشد که می‌تواند یکی از دلایلی باشد که کاهش تعداد گره‌های نماتود مولد گره را در این بررسی توضیح دهد. فرانس و آبایی (۱۹۹٤) نیز نشان دادند که در آلودگی میزبان به‌وسیله نماتود ضریب تکثیر نماتود و گره‌زایی زمانی‌که نماتود به تنهایی مایه‌زنی شده بود در بالاترین و زمانی‌که قارچ *F. oxysporum* f.sp. *phaseoli* در تمام ترکیبات حضور داشت، این ضریب به‌طور معنی‌داری کاهش یافت. زمان تلقیح بیمارگرها برروی اثر برهمکنش قارچ- نماتود تأثیر می‌گذارد، به‌طوری‌که تلقیح همزمان یا متوالی بیمارگرها بر سینرژیستی بودن یا آنتاگونیستی بودن تأثیر می‌گذارد. تایلور (۱۹۹۰) پیشنهاد کرد تلقیح نماتود ٤-۳ هفته قبل از قارچ در بیماری‌های کمپلکس باعث حساس شدن گیاه به بیماری می‌شود که می‌تواند با توسعه سینسیتیوم مرتبط باشد و در شرایط مناسب در یک میزبان حساس ٤-۳ هفته لازم است تا به اوج فعالیت برسد. صاحبانی و همکاران (۲۰۰۵) در مطالعه ارتباط بین مراحل مختلف بیولوژی نماتود مولد گره ریشه و شدت بیماری پژمردگی فوزاریومی گوجه فرنگی دریافتند که در تیمار قارچ و نماتود همزمان، علائم بیماری در هفته سوم به نحو قابل توجهی آغاز شد و این در حالی بود که تا هفته دوم در تیمارهای قارچ و نماتود همزمان و قارچ به تنهایی تفاوت معنی‌داری در علائم بیماری وجود نداشت. ابراهیم و همکاران (۱۹۸۲) مشاهده کردند که علائم پژمردگی فوزاریومی پنبه در حضور نماتود *M. incognita* ده روز زودتر اتفاق می افتد و درصد پژمردگی گیاهان ٤۰ تا ۹۵ درصد افزایش می‌یابد. استقرار ماده‌های ساکن نماتودهای *Meloidogyne* spp. در محل‌های تغذیه موجب تغییرات زیادی در مورفولوژی، آناتومی و بیوشیمیایی گیاه میزبان می‌شود. این تغییرات بیوشیمیایی باعث غنی شدن سلول‌های عظیم الجثه و افزایش کلنی‌های قارچ در سلول‌های مذکور گردیده که این امر سبب افزایش غلظت توکسین پژمردگی در گیاه میزبان می‌شود. ترشحات ریشه‌های زخمی شده توسط نماتود سبب تحریک رشد و جوانه زنی میکرو اسکلروت‌های در حال خواب[1] در اثر افزایش ترشحات ریشه می‌شوند (ندوبیز، ۱۹۷۷). در این بررسی مشخص گردید که نماتد مولد گره ریشه می‌تواند در میزان افزایش شدت پژمردگی نقش داشته باشد. بنابراین، کاهش جمعیت نماتد به‌عنوان یک عمل تأثیرگذار می‌تواند علاوه‌بر جلوگیری از خسارت مستقیم باعث کاهش میزان پژمردگی گردد. نظر به گسترش روند کشت درختان زیتون در استان گلستان و همچنین اهمیت پیدا کردن بیماری پژمردگی ورتسیلیومی در اکثر باغ‌های سطح استان و گسترش روزافزون آن توصیه می‌شود به‌دلیل وجود برهمکنش میان نماتود مذکور و قارچ عامل پژمردگی ورتسیلیومی در محل‌هایی که هر دو عامل بیماری‌زا وجود دارند به‌خصوص نهالستان‌های زیتون که در تولید و توزیع نهال‌های سالم از اهمیت بالایی برخوردارند، نسبت به مدیریت این نماتود و کاهش جمعیت آن با استفاده از راه کارهای مدیریتی اقدام شود. در پایان با توجه به آلودگی نواحی شمالی ایران از جمله گرگان به قارچ و نماتد مورد بحث و ایجاد کانون‌های بزرگ تولید نهال زیتون در این مناطق بایستی حضور این دو مکروارگانیسم را جدی تلقی کرده و از توسعه و اشاعه هر چه بیشتر نهال‌های آلوده به سایر نقاط کشور جلوگیری به‌عمل آورد.

1- Dormant

Archive of SID

www.SID.ir

منابع

1.Al-Ahmad, M.A., Moseli, M.N., and Duksi, A. 1992. Verticillium wilt of olive and the effects of variety, age of tree and other agricultural practices on disease development in middle and northern Syria. Arab J. Plant Prot. 10:131-139.

2.Ashworth, L.J., Waters, J.E., George, A.G., and McCutcheon, O.D. 1972. Assessment of microsclerotia of *Verticillium albo-atrum* in field soils. Phytopathology 62: 715-719.

3.Atar, L., Rahnama, K., and Salati, M. 2004. Investigation influence defoliating and nondefoliating pathotypes of *Verticillium dahliae* on olive cultivars in Gorgan. Thesis Master of Science, Gorgan University. 73 p.

4.Back, M.A., Haydock, P.P.J., and Jenkinson, P. 2002. Disease involving plant parasitic nematodes and soilborn pathogens. Plant pathology 51: 683-697.

5.Baicheva, O., Salkova, D., and Palazova, G. 2002. Root-Knot nematodes (*Meloidogyne*, Goeldi, 1887) Species composition, pathogenicity, some problems for investigation. Experimental pathology and parasitology 10: 21-24.

6.Bergeson, G.B. 1963. Influence of *Pratylenchus penetrans* alone and in combination with *Verticillium albo-atrum* on growth of peppermint. Phytopathology 53: 1164-1166.

7.Bergeson, G.B., Van Gundy, S.D., and Thomason, I.J. 1970. Effect of *Meloidogyne javanica* on rhizosphere microflora and *Fusarium* wilt of tomato. Phytopathology 60: 1245 -9.

8.Blanco-Lopez, M.A., Jimenes-Dias, R.M., and Caballero, J.M. 1984. Symptomatology, incidence and distribution of Verticillium wilt of olive trees in Andalucia. Phytopathol. Mediterr. 23: 1-8.

9.Bowers, J.H., Nameth, S.T., Riedel, R.M., and Rowe, R.C. 1996. Infection and colonization of potato roots by *Verticillium dahliae* as affected by *Pratylenchus penetrans* and *P. crenatus*. Phytopathology 86: 614-621.

10.Castillo, P., Vovlas, N., Subbtin, S., and Troccoli, A. 2003. A New root-knot nematode, *Meloidogyne baetica* (Nematoda: *Heteroderidae*), parasitizing wild olive in southern spain. Phytopathology 93: 1093-1102.

11.France, R.A., and Abawi, G.S. 1994. Interaction between *Meloidogyne incognita* and *Fusarium oxysporum* f. sp. *phaseoli* on selected been genotypes. J. Nematol. 26: 467-474.

12.Frand, I.J., Rowe, R.C., Riedel, R.M., and Madden, L.V. 1988. Effects of tree soil types on potato early dying and associated yield reduction. Phytopathology 76: 159-166.

13.Gallone, N.F., Romanazzi, P., Schena, G., Ippolito, L., and Salerno, M.G. 2005. Incidence of Verticillium wilt on olive in Apulia and genetic divercity of *Verticillium* isolates from infected trees. Journal of Plant Path. 87: 13-23.

14.Hosseininejad, S.E., and Vajedkhan, M. 2000. Interactions of Root-Knot nematode (Race1) *Meloidogyne javanica* and Verticellium wilt fungi *Fusarium oxysporium* f.sp. *ciceri* on pea varieties. Pests and Plant Diseases of Iran 68(1-2): 1-12

15.Hussey, R.S., and Barker, K.R. 1973. A comparison of methods of collecting inoculum of *Meloidogyne spp*. including a new technique. Plant Disease Report. 57:1025 - 1028.

16.Hasanabbasi, N.A. 1994. Olive the holy tree, wonderful with different uses. First congers of olive problems in Iran. Agricultural Organization of Gorgan and Gonbad 29-49 page.

17.Ibrahim, I.K.A., Rezk, M.A., and Khalil, H.A.A. 1982. Effects of *Meloidogyne incognita* and *Fusarium oxysporum* f.sp. *vasinfectum* on plant growth and mineral content of cooton, *Gossypum barbadense*. Nematologica 28: 298-302.

18.Jacobsen, B.T., MacDonald, D.H., and Bissonette, H.I. 1979. Interaction between *Meloidogyne hapla* and *Verticillium albo-atrum* in the Verticillium willt disease of potato. Phytopathology 69: 288-292.

19.Jepson, S. 1987. Identification of root-knot nematodes (*Meloidogyne* species). London, UK. C.A.B International. 293P.

20.Johnson, D.A., and Santo, G.S. 2001. Development of wilt in mint in response to infection by two pathotypes of *Verticillium dahliae* and co-infection by *Pratylenchus penetrans*. Plant Disease 85: 1189 –92.

21.Lachquer, K., Sedra, M.H., and Tantaoui, A. 2002. Vegetative compatibility and pathogenicity of *Verticillium dahliae* isolates from olive *(Olea europea* L.) in Morocco. Phytopathol. Mediter. 41: 19 – 27.

Archive of SID

www.SID.ir

22. Lamberti, F., Sasoneli, N., Daddabbo, T., Ciccarese., Ambrico, A., and Schiavone, D. 2004. Relationship between plant parasitic nematods and *Verticillium dahliae* in olive. ISHS Acta Horticulture. 5-6.
23. Lopez-Escudero, F.J., Cdel Rio, J.M., and Blanco-Lopez, M.A. 2004. Evaluation of olive cultivars for resistance to *Verticillium dahliae*. Eu. J. Plant Pathol. 110: 79-85.
24. Martin, M.J., Riedel, R.M., and Rowe, R.C. 1982. *Verticillium dahliae* and *Pratylenchus penetrans*: Interactions in the early dying complex of potatoes in Ohio. Phytopathology 72: 640-644.
25. Ndubizu, T.O.C. 1977. Effects of earthworms, nematodes, cultivation and hosts plants on verticillium wilt of peach and cherry. Ann. Appl. Biol. 86: 153-161.
26. Nigro, F., Gallone, P., Romanazzi, L., Schena, A., and Ippolito, M.G. 2005. Incidence of Verticillium wilt on olive in Apulia and genetic diversity of *Verticillium dahliae* isolates from infected trees. Plant pathology 87: 13-23.
27. Nordmeyer, D., and Sikora, R.A. 1983. Studies on the interaction between *Heterodera daverti*, *Fusarium avenaceum* and *F. oxysporum* on *Trifolium subterraneum*. Revu Nematol. 6: 193-198.
28. Rahnama, K., Latifi, N., Razavi, S.E. and Zarei, H. 1998. Investigation of occurrence of dieback olive trees in Golestan Province. Thirteen Iranian Plant Protection Congress. Page 122.
29. Rowe, R.C., Riedel, R.M., and Martin, M.J., 1985. Synergistic interactions between *Verticillium dahliae* and *Pratylenchus penetrans* in potato early-dying disease. Phytopathology 75: 412-418.
30. Ruggieri, G. 1946. A new disease of olive. Italia Agricola. 83: 369-372.
31. Saeidizade, A. 2002. Investigation of interactions Root-Knot nematode *Meloidogyne javanica* and wilt fungi *Verticillium dahliae* on olive seedlings in greenhouse. Thesis Master of Science, Tehran University. 130 p.
32. Sahebani, N., Rad, j., sharifitehrani, E., Khiri, A., and Mohamadi, M. 2005. Study of relation between biology different stages of Root-Knot nematode (*Meloidogyne javanica*) and severity tomato Fusarium wilt disease (*Fusarium oxysporium* f.sp. *lycopersici*) and possible systemic sensitive by nematode in plant to fungi. J. of Agriculture Sciences Iran 26: 199-207.
33. Sasser, J.N. 1972. Physiological Variation in the genus Meloldogyne as determined by differential hosts. Bulletin OEPP No. 6:41-48.
34. Schultz, F.J. and Morehart, A.L. 1981. Studies on the interaction of *Pratylenchus penetrans* and *Verticillium albo-atrum* on yellow poplar roots. Phytopathology 71: 770-775.
35. Serrhini, M.N., and Zeroual, A. 1995. Verticillium wilt of olive trees in Morocco. Olivae 58: 58-61.
36. Taylor, A.L., and Sasser, J.N. 1978. Biology, identification and control of some root-knot nematodes (*Meloidogyne* spp.). A cooperative publication of the Department of Plant Pathology, Norh Carolina State University and the United States Agency for International Development, North Carolina State Graphics, Raleigh, N.C.
37. Tanhamaafi, Z., and Mahdavian, S.I. 1997. Identification of spices and races of root-knot nematode (*Melodogyne* spp) on kiwi and effect of *M. incognita* on kiwi seedling. Pests and Plant Diseases of Iran 65: 1-11
38. Taylor, C.E. 1990. Nematode interactions with other pathogens. Annals of Applied Biology 116: 405 -16.
39. Thanassoulopoulos, C.C., Biris, D.A., and Tjamos, E.C. 1979. Survey of Verticillium wilt of olive trees in Greece. Plant Dis. Rep. 63: 936-940.
40. Wheeler, T.A., and Riedel, R.M. 1994. Interactions among *Pratylenchus penetrans*, P. scribneri, and *Verticillium dahliae* in the early dying disease complex. Journal of Nematology 26: 228-234.
41. Wilhelm, S., Kaiser, W.J., Georgopoulos, S.G., and Opitz, K.W. 1962. Verticillium wilt of olives in California. Phytopathology 52:32 (abstr.).

Archive of SID

www.SID.ir

J. Agric. Sci. Natur. Resour., Vol. 15(4), 2008
www.jasnr.info
www.sid.ir
www.magiran.com/jasnr

Investigation greenhouse of Interaction Race two Root-Knot Nematode *Meloidogyne incognita* and *Verticillum dahliae* agent verticillium wilt Olive (*Olea europaea*) Seedlings in Gorgan

[*]H. Haghighi[1], A.H. Taheri[2], S.E. Razavi[2], Z. Tanhamaafi[3] and M. Mamaghani[1]
[1]Former M.Sc. student, Dept. of Plant Pathology, Gorgan University Of Agricultural Sciences and Natural Resources, Iran, [2]Associate Prof., Dept. of Plant Pathology, Gorgan University Of Agricultural Sciences and Natural Resources, Iran, [3]Instructor, Dept. of Plant Pathology, Gorgan University Of Agricultural Sciences and Natural Resources, Iran, [4]Associate, Research Plant Protection Institute of Iran

Abstract

In this research interaction between Root-Knot nematode *Meloidogyne incognita* (Race 2) and wilt fungi *Verticillium dahliae* was studied in a Completely Randomize Design with four replications and eight treatments in greenhouse experiment. For each fungi treatment 40 microsclerote per gram soil pot and each nematode treatment 10000 eggs and J2 in each pot were assigned. Results showed that Root-Knot nematode increase severity and rate wilting caused by *V. dahliae*. But treatments without fungi showed no symptoms of wilting. The growth factors rate of treatments which have received both fungi and nematodes, in comparison to control and treatments which one of these treatments (fungi or nematode) received lonely decreased. Measures analysis of variance indicated that simultaneously and alternatively inoculations effects of both organisms were significant (P≤./01) for severity of verticillium wilt. Inoculation of the *V. dahliae* two weeks after the *M. incognita* resulted in a 61/45% wet weigh root loss, which was greater than the additive losses from treatments of the *M. incognita* and *V. dahliae* alone. Separate inoculations of the *V dahliae* and *M. incognita* reduced dry weight shoot by 13/91% and 22/5% respectively in compared with the control. When the *V. dahliae* was inoculated two week after *M. incognita* dry weigh root (64/40%) was significantly lesser than in any of the other treatments. The percentage of Verticillium wilt increased further to 83/4% when the *V. dahliae* was inoculated two week after *M. incognita.*

Kaywords: Interaction; *Verticillium dahliae*; *Meloidogyne incognita*; Olive; Gorgan

*- Corresponding Author; Email: haghighi_karizak@yahoo.com

Archive of SID

www.SID.ir