مجله دانش گیاه‌پزشکی ایران
دوره ۴۲، شماره ۱، ۱۳۹۰ (۱۳۵-۱۲۵)

بررسی اثر متقابل نماتد ریشه گرهی *Meloidogyne javanica* و قارچ عامل پژمردگی ورتیسیلیومی *Verticillium dahliae* روی نهال‌های برخی از ارقام زیتون

آیت‌اله سعیدی‌زاده[1]* و فهیمه نیاستی[2]
۱، ۲، استادیار و کارشناس دانشکده علوم کشاورزی، دانشگاه شاهد
(تاریخ دریافت: ۸۸/۳/۲۰- تاریخ تصویب: ۸۹/۷/۷)

چکیده

در این تحقیق نمونه‌برداری از قارچ *Verticillium dahliae* سویه غیر برگریز (SS-4) از باغ‌های آلوده زیتون در ناحیه توشن واقع در جنوب شهر گرگان انجام گرفت. نماتد ریشه گرهی، *Meloidogyne javanica*، از نهال‌های زیتون آلوده جداسازی شده و بعد از شناسایی گونه، نماتد روی نشاءهای گوجه‌فرنگی رقم روتگرز تکثیر گردید. در این آزمایش نهال‌های یکساله زیتون رقم زرد، روغنی، کرونیکی (مقاوم به ورتیسیلیوز) و مانزانیلا (حساس به ورتیسیلیوز) در بستری از خاک لومی شنی سترون کشت شدند. آزمایش بر اساس طرح کاملاً تصادفی در ۳۲ تیمار و پنج تکرار به صورت ذیل طراحی گردید: شاهد، نماتد به تنهایی، قارچ به تنهایی و قارچ + نماتد. میزان زادمایه نماتد با سه جمعیت (۲۰۰۰، ۳۰۰۰ و ۴۰۰۰) لارو سن دوم و در مورد قارچ ۱۰ عدد میکرواسکلروت در هر گرم خاک بستر برای هر گلدان تعیین گردید. گلدان‌ها در شرایط گلخانه با نور طبیعی و دمای ۲۵-۲۷ درجه سلسیوس نگهداری شدند. پس از گذشت ۱۰ ماه از مایه‌زنی نهال‌ها از خاک خارج و پارامترهایی مانند وزن تر ریشه و ساقه، تعداد گال و توده تخم ایجاد شده در ریشه و میزان درصد نشانه‌های بیماری در بخش هوایی نهال، قهوه‌ای شدن بافت آوندی، کاهش ارتفاع نهال و کلونیزاسیون بافت ریشه و ساقه توسط قارچ اندازه‌گیری شد. نتایج نشان داد که حضور نماتد موجب کاهش کلونیزاسیون ریشه و ساقه توسط قارچ شده است و در مقابل وجود قارچ نیز سبب کاهش گالزایی و تولید توده تخم از سوی نماتد شده است. در حالی که بیشترین درصد نشانه‌های بیماری روی بخش هوایی نهال‌ها در تیمارهای قارچ + نماتد مشاهده گردید. پژمردگی ناشی از فعالیت قارچ در بخش هوایی در تیمارهای قارچ + نماتد، در رقم زرد از بیشترین مقدار برخوردار بود. کمترین شدت پژمردگی قارچی در رقم کرونیکی در تیمارهایی که قارچ را به تنهایی دریافت کرده‌اند مشاهده شد. گالزایی و تولید توده تخم نماتد در ریشه به ترتیب در ارقام مانزانیلا، زرد، روغنی و کرونیکی کاهش یافته بود ($p \leq ۰/۰۵$).

واژه‌های کلیدی: نماتد، قارچ، هم‌افزایی، تعامل.

* نویسنده مسئول: آیت‌اله سعیدی‌زاده تلفن: ۰۹۱۲-۶۴۰۹۹۲۷ E-mail: ayatsaeed314@gmail.com

Archive of SID
www.SID.ir

مقدمه

پژمردگی ورتیسیلیومی زیتون با عامل *Verticillium dahliae* Klebahn نخستین بار در سال ۱۹۴۶ از ایتالیا (Ruggieri, 1946) و پس از آن از سایر نقاط جهان گزارش شده است (Al-Ahmad, 1993; Caballero *et al.*, 1980; Sarejanni *et al.*, 1952; Saydam & Copcu, 1972; Tous & Ferguson, 1997).

خشکیدگی سرشاخه‌ها و زوال درختان زیتون با عامل *V. dahliae* در ایران اولین بار در منطقه گرگان و گنبد توسط Rahnama *et al.* (1998) گزارش شده است. مطالعات دیگر محققین نیز وجود آلودگی ورتیسیلیومی در باغ‌های زیتون سایر مناطق ایران را تأیید می‌کند (Afshari Azad & Khozeini, 2000; Afshari Azad & Alizadeh, 2004; Razavi *et al.*, 2003).

در میان نماتدهای انگل گیاهی، نماتدهای ریشه گرهی (Root-knot nematodes) از اهمیت و جایگاه ویژه‌ای برخوردارند. گونه *Meloidogyne javanica* (Treub) Chitwood از نظر میزان خسارت اقتصادی در جهان و ایران به ترتیب در مرتبه دوم و اول اهمیت قرار دارد (Akhiani *et al.*, 1984; Hussey & Janssen, 2002).

نتایج حاصل از اغلب مطالعات انجام گرفته در خصوص اثرات متقابل نماتدهای انگل گیاهی و سایر بیمارگرهای موجود در خاک حاکی از افزایش تأثیر مخرب بیمارگرهای قارچی و باکتریایی در حضور نماتدهای انگل گیاهی بوده است. این پدیده در مورد *V. dahliae* و برخی نماتدهای انگل گیاهی؛ از جمله نماتدهای مولد زخم ریشه (*Pratylenchus* spp.) و نماتدهای ریشه گرهی (*Meloidogyne* spp.)؛ نیز صادق است (Bowers *et al.*, 1996; Mai & Abawi, 1987).

تقلیل و شکسته شدن مقاومت گیاهان به عوامل بیمارگر در حضور نماتدهای انگل گیاهی به خصوص گونه‌های جنس *Meloidogyne* توسط بسیاری از محققان به اثبات رسیده است (Hassan, 1993; Hosseini Nejad & Khan, 2001). برخی محققین رابطه بین نماتدهای انگل ریشه و عوامل پژمردگی قارچی را در گیاهان از نوع هم‌افزایی (Synergism) دانسته‌اند (Letani *et al.*, 2006; Saeedizadeh *et al.*, 2003).

با توجه به گسترش کشت زیتون طی سال‌های اخیر در ایران و آلوده بودن مناطق زیتون‌کاری و تولید نهال کشور، از جمله استان گلستان به قارچ *V. dahliae* و نماتد *M. javanica* و از آنجایی که وجود نماتد *M. javanica* در ریزوسفر زیتون بر بیماری ورتیسیلیوز مؤثر خواهد بود، در این مطالعه اثر متقابل *V. dahliae* و *M. javanica* روی نهال‌های زیتون ارقام زرد و روغنی (به عنوان مهمترین ارقام داخلی) و ارقام کرونیکی (Koroneiki) و مانزانیلا (Manzanilla) (به عنوان دو مورد از ارقام به ترتیب مقاوم و حساس به ورتیسیلیوم) (Bellini, 2002; Hosseini Nejad & Ramezani, 2005; Tous & Ferguson, 1997; Mlekrodi، مورد بررسی قرار گرفته است.

مواد و روش‌ها

تهیه زادمایه بیمارگرها و مایه‌زنی

تهیه زادمایه قارچ عامل پژمردگی ورتیسیلیومی *V. dahliae*

نمونه‌برداری از اندام‌های گیاهی آلوده به قارچ بیمارگر

نمونه شاخه‌های زیتون آلوده به قارچ *V. dahliae* (نژاد غیر برگ‌ریز SS-4) از منطقه توشن، واقع در جنوب شهر گرگان، از باغ‌های زیتون رقم زرد در خرداد ۱۳۸۶ جمع‌آوری گردید. جداسازی قارچ موردنظر از شاخه‌هایی که بخشی از بافت پوست و چوب آنها در اثر فعالیت قارچ تغییر رنگ داده بود، از حد فاصل بافت سالم و بیمار انجام گرفت. نمونه‌ها پس از سترون شدن با محلول یک درصد هیپوکلریت سدیم تجاری به مدت یک دقیقه و شستشو با آب مقطر به محیط PDA جهت رشد بیمارگر منتقل شد.

خالص‌سازی و تشخیص قارچ بیمارگر

شناسایی قارچ بر اساس مشخصات ریخت‌شناسی و ریخت‌سنجی فیالید، اسپور و میکرواسکلروت و با استفاده از کلید ارایه شده توسط Hilloks (1992) انجام گرفت. زادمایه قارچ برای انجام آزمون بیماریزایی، کنیدی و برای انجام آزمایش اصلی، میکرواسکلروت در نظر گرفته شد. این قارچ در محیط PDA در شرایط نور زرد تولید کنیدی و در محیط زاپک مایع در شرایط بدون نور،

Archive of SID

www.SID.ir

میکرواسکلروت به میزان فراوان تولید کرد. در هر دو حالت دمای محیط کشت قارچ مورد نظر ۲۳ درجه سلسیوس در نظر گرفته شد (Bhat & Subbarao, 1999; Khan *et al*., 2000).

آزمون بیماریزایی قارچ بیمارگر

برای تهیه سوسپانسیون کنیدی جهت آزمون بیماریزایی، به هر تشتک پتری حاوی پرگنه (Colony) قارچ در حدود ۱۵ سی‌سی آب مقطر سترون اضافه شد. توسط یک میله شیشه‌ای سر کج سترون و حرکت آرام آن روی سطح پرگنه، بدون کندن محیط کشت، کنیدی‌ها از پرگنه جدا شده و در آب مقطر به صورت سوسپانسیون درآمدند. این سوسپانسیون از پارچه ململ دو لایه سترون عبور داده شد. با کمک اسلاید گلبول شمار (Hemocytometer) تعداد کنیدی‌های موجود در هر میلی‌لیتر از سوسپانسیون تعیین گردید. با اضافه کردن آب مقطر سترون و یا اضافه کردن مجدد سوسپانسیون، غلظت نهایی سوسپانسیون روی ۱×۱۰^{۶} کنیدی در هر میلی‌لیتر تنظیم شد (Khan *et al*., 2000). آزمون بیماریزایی به روش تزریق سوسپانسیون کنیدی به میزان یک میلی‌لیتر برای هر نهال، در بخش‌های فوقانی ساقه نهال یکساله، در پنج تکرار انجام گرفت. به نهال‌های شاهد همین میزان آب مقطر سترون تزریق گردید (Dhingra & Sinclair, 1986; Khan *et al*., 2000).

در مورد آزمون بیماریزایی قارچ *V. dahliae*، پس از گذشت دو ماه، بخش‌هایی از ساقه (نواحی نزدیک به محل تزریق) که دارای نشانه‌های بیماری (پژمردگی در برگ‌ها و تیرگی در بافت ساقه) بودند، جداسازی و در محیط PDA کشت گردید. مشخصات میکروسکوپی قارچ به دست آمده با قارچ *V. dahliae* مطابقت داشت.

تهیه زادمایه قارچ بیمارگر برای آزمایش اصلی

برای تهیه میکرواسکلروت‌ها ابتدا پرگنه قارچ به ترتیب از الک‌های ۶۰، ۱۰۰ و ۴۰۰ مش عبور داده شد. سپس محتویات داخل الک ۴۰۰ مش با آب مقطر سترون به صورت سوسپانسیون جمع‌آوری گردید. این سوسپانسیون با حجم مساوی از ماسه بادی مخلوط گردید. ماسه بادی را ابتدا پس از شستشو با آب مقطر به ترتیب از الک‌های ۴۵ و ۶۰ مش عبور داده و محتویات الک ۶۰ مش در اتوکلاو با دمای ۱۲۱ درجه سلسیوس به مدت ۲۰ دقیقه سترون گردید. مخلوط میکرواسکلروت و ماسه پس از خشک شدن با استفاده از دستگاه همزن یکنواخت شد. جهت تعیین تعداد زادمایه‌زنده در مایه آلوده کننده، پنج نمونه یک گرمی از مخلوط را برداشته و با آب مقطر سترون، رقت‌های $۱۰^{-۲}$، $۱۰^{-۴}$، $۱۰^{-۶}$ و $۱۰^{-۸}$ از آن تهیه کرده و هر رقت به طور جداگانه روی محیط کشت PDA در پنج تکرار کشت گردید. بعد از ۵-۶ روز نگهداری در انکوباتور با دمای ۲۳ درجه سلسیوس، تعداد زادمایه‌های جوانه زده در زیر میکروسکوپ با بزرگنمایی ×۱۰۰ یا بینوکولر با بزرگنمایی ×۶۴ شمارش شده و تعداد آنها در هر گرم از مخلوط میکرواسکلروت و ماسه بادی مشخص شد (Khan *et al*., 2000; Hall & Ly, 1972).

تعداد زادمایه فعال (میکرواسکلروت زنده) برای جدایه توشن ۵×۱۰^{۴} عدد در گرم مخلوط میکرواسکلروت و ماسه بادی برآورد گردید. جهت مایه‌زنی قارچ به ریزوسفر میزبان، ۰/۴ گرم از مخلوط میکرواسکلروت و ماسه بادی (معادل ۲۰۰۰۰ عدد میکرواسکلروت زنده یا ۱۰ عدد میکرواسکلروت زنده در هر گرم از خاک بستر) در پنج میلی‌لیتر آب مقطر سترون به حالت سوسپانسیون درآورده و به طور یکنواخت در عمق یک سانتی‌متری بستر هر نهال (۲۰۰۰ گرم خاک لومی شنی) ریخته شد.

تهیه زادمایه نماتد ریشه گرهی *M. javanica*

نمونه‌برداری و تشخیص نماتد ریشه گرهی

در مورد نماتد *M. javanica* نمونه‌برداری از نهالستان‌های حومه شهر گرگان از نهال‌های یکساله و یا دو ساله رقم زرد زیتون به عمل آمد. استخراج نماتد نر و لارو سن دوم از خاک با استفاده از روش De Grisse (1969) به طریق کاربرد سری الک‌ها و سانتریفیوژ انجام شد. پس از آن استخراج ماده بالغ از گره‌های موجود روی ریشه آلوده و انجام برش‌های لازم، اسلاید میکروسکوپی از کوتیکول انتهای بدن ماده تهیه گردید. مشخصات ریخت‌سنجی و ریخت‌شناسی افراد ماده، نر و لارو سن دوم و نیز شبکه کوتیکولی انتهای بدن ماده در نماتد مورد نظر با مشخصات ارایه شده توسط Jepson (1987) و Eisenback & Triantaphyllou (1991) در

Archive of SID

www.SID.ir

مورد *M. javanica* مطابقت داشت.

خالص‌سازی و تکثیر نماتد ریشه گرهی

برای خالص‌سازی و تکثیر نماتد از روش توده تخم منفرد (Single egg mass) بر روی نشاءهای گوجه‌فرنگی رقم روت گرز (Rutgers) استفاده شد. شناسایی نماتد پس از تکثیر آن نیز انجام گرفت. استخراج تخم و تهیه لارو سن دوم با استفاده از روش Hussey & Barker (1973) انجام گرفت. تشتک حاوی تخم نماتد در آب جهت تفریخ در انکوباتور و تاریکی با دمای ۲۰-۲۲ درجه سلسیوس به مدت ۲۴-۴۸ ساعت قرار داده شد. پس از سترون کردن لاروهای سن دوم با محلول یک درصد هیپوکلریت سدیم به مدت یک دقیقه و شمارش آنها، جمعیت نماتد با سه سطح (۲۰۰۰، ۳۰۰۰ و ۴۰۰۰) در پنج میلی‌لیتر آب مقطر سترون تهیه گردید. سپس این مایه آلوده‌کننده به طور یکنواخت در عمق یک سانتی‌متری بستر هر نهال ریخته شد. برای شمارش لاروهای سن دوم نیم میلی‌لیتر از لارو شناور در آب به صورت قطرات کوچک روی یک تشتک پلاستیکی قرار گرفت. در زیر میکروسکوپ با بزرگنمایی ×۱۰۰ لاروهای درون قطرات شمارش گردید. برای افزایش دقت در تخمین تعداد لاروها، شمارش لاروها سه مرتبه انجام گرفت (Hussey & Barker, 1973; Sasanelli *et al.*, 1997).

آزمون نهال‌های یکساله زیتون در حضور نماتد *M. javanica* و قارچ *V. dahliae*

زیتون مورد آزمایش از قلمه‌های ساقه ارقام زرد، روغنی، کرونیکی و مانزانیلا ریشه‌دار شده در خاک لومی شنی سترون در گلخانه‌های وزارت جهاد کشاورزی واقع در عرب آباد کرج و مزرعه فدک واقع در کیلومتر پنج جاده قم-کاشان تهیه شد. نهال‌های مورد انتخاب یکساله، دارای بخش‌های هوایی سالم، فاقد شاخه فرعی و در حدود ۲۵ سانتی‌متر طول داشتند. نهال‌ها به چهار دسته ۱۶۰ تایی تقسیم شدند. میزان بستر منظور شده برای هر نهال دو کیلوگرم خاک لومی‌شنی تعیین گردید. آبیاری به طور منظم هر سه روز یک بار به میزان ۲۰ میلی‌لیتر آب در هر نوبت به هر واحد آزمایشی انجام گرفت.

جهت محاسبات آماری از آزمایش فاکتوریل بر پایه طرح کاملاً تصادفی با ۳۲ تیمار و پنج تکرار به این شرح استفاده گردید: شاهد (بدون زادمایه)، نماتد به تنهایی (با سه جمعیت ۲۰۰۰، ۳۰۰۰ و ۴۰۰۰ لارو سن دوم)، قارچ به تنهایی (۱۰ عدد میکرواسکلروت به ازای هر گرم از خاک بستر)، قارچ + نماتد (با سه جمعیت ۲۰۰۰، ۳۰۰۰ و ۴۰۰۰ لارو سن دوم + ۱۰ عدد میکرواسکلروت به ازای هر گرم خاک بستر به صورت همزمان). به این ترتیب برای هر رقم زیتون هشت تیمار تعیین شد که مجموعاً برای چهار رقم زیتون مورد آزمایش ۳۲ تیمار تنظیم گردید. برای مقایسه میانگین‌ها از روش دانکن استفاده گردید.

آزمایش ۱۰ ماه به طول انجامید. پس از این مدت ریشه‌های نهال‌ها از بخش هوایی در ناحیه طوقه جدا شدند. وزن تر ریشه (پس از خشک شدن سطحی ریشه‌ها) و وزن تر ساقه بدون برگ در مورد هر نهال تعیین شد. تعداد برگ‌های سبزرد (Chlorotic) و بافت مرده (Necrotic) هر نهال شمارش شد. تعداد گره، ماده بالغ، توده تخم و تخم در هر ریشه شمارش شده و نیز فاکتور تولیدمثل نماتد مورد نظر محاسبه گردید.

ارزیابی میزان بیماری ورتیسیلیوز روی نهال‌های زیتون

تعیین درصد نشانه‌های بیماری روی بخش هوایی

میزان نشانه‌های بیماری در بخش هوایی هر نهال بر اساس درصد برگ‌های کلروتیک و نکروتیک موجود بر نهال‌های ارقام مورد نظر و با در نظر گرفتن روش ارایه شده توسط McDonald *et al.* (1992) ارزیابی شد.

تعیین درصد قهوه‌ای شدن بافت آوندی

اندازه‌گیری میزان تغییر رنگ بافت آوندی بر حسب درصد با استفاده از مقایسه وزنی بافت قهوه‌ای و بافت دارای رنگ طبیعی در هر نهال انجام گرفت (Erwin *et al.*, 1976; Khan *et al.*, 2000).

تعیین درصدکاهش ارتفاع نهال

ارتفاع گیاه از ناحیه طوقه تا جوانه انتهایی اندازه‌گیری شد و اختلاف ارتفاع هر نهال از میانگین ارتفاع نهال‌های شاهد در هر رقم تقسیم بر ارتفاع نهال شاهد ضربدر ۱۰۰ تعیین شد (Hadizadeh & Banihashemi, 2005).

تعیین درصد کلونیزاسیون بافت‌ها

کل طول ساقه و ریشه به سه قسمت تحتانی، میانی

Archive of SID

www.SID.ir

و فوقانی تقسیم شد و از هر قسمت ۳۰ مقطع عرضی به ضخامت سه میلی‌متر از ساقه و ریشه هر گیاه برداشته شد. مقطع‌های عرضی پس از ضدعفونی سطحی با الکل اتانول ۷۰ درصد به مدت سه دقیقه، بر روی محیط PDA دارای آنتی‌بیوتیک کشت شدند. کشت‌ها از نظر وجود *V. dahliae* مورد بررسی قرار گرفته و تعداد قطعات کلونیزه شده بر حسب درصد محاسبه شد (Hadizadeh & Banihashemi, 2005).

ارزیابی میزان فعالیت نماتد *M. javanica* روی نهال‌های زیتون

بر اساس روش پیشنهادی Hussey & Janssen (2002) جهت بررسی و ارزیابی میزان فعالیت نماتد *M. javanica* روی نهال‌های مورد آزمایش از شاخص‌هایی مانند تعداد تعداد گال و ماده بالغ در هر ریشه استفاده گردید. ابتدا ریشه‌های هر نهال با آب معمولی شستشو داده شد و با قرار دادن ریشه روی کاغذ خشک کن آب اضافی آنها گرفته شد. بعد از شمارش گال‌ها، برای تعیین تعداد توده تخم، ریشه‌ها به قطعات ۳-۴ سانتی‌متری تقسیم شده و جهت سهولت شمارش، توده‌های تخم با محلول فلوکسین ب (۰/۱۵ گرم در یک لیتر آب) رنگ‌آمیزی و سپس با لاکتوفنل رنگ‌بری شدند.

جهت محاسبه تعداد تخم نماتد، قطعات ریشه در یک ارلن حاوی هیپوکلریت سدیم یک درصد ریخته شد و به مدت ۴-۵ دقیقه به سرعت تکان داده شد. سپس محتوی ارلن را روی الک‌های ۲۰۰ و ۵۰۰ مش ریخته و پس از شستشو با آب، محتویات الک ۵۰۰ مش را به ارلن ۲۵۰ میلی‌لیتری منتقل و حجم سوسپانسیون به ۱۰۰ میلی‌لیتر رسانده شد. تعداد تخم در یک میلی‌لیتر از سوسپانسیون در سه نوبت شمارش و در ۱۰۰ میلی‌لیتر حجم محاسبه گردید (Sadegh Moosavi *et al.*, 2006).

محاسبه فاکتور تولیدمثل بر اساس روش ارایه شده توسط Walters *et al.* (1999) طبق فرمول RF = Pf/Pi انجام گرفت که در آن RF فاکتور تولیدمثل، Pf جمعیت نهایی و Pi جمعیت اولیه نماتد (۲۰۰۰، ۳۰۰۰ و ۴۰۰۰ لارو سن دو) بوده است.

نتایج

میزان بیماری ورتیسیلیوز روی نهال‌های زیتون

میزان درصد نشانه‌های بیماری روی بخش هوایی

نتایج آزمایش نشان داد که بیشترین میزان درصد نشانه‌های بیماری روی بخش‌های هوایی مربوط به تیمارهای نماتد ۴۰۰۰ + قارچ (مانزانیلا)، نماتد ۳۰۰۰ + قارچ (مانزانیلا) و نماتد ۴۰۰۰ + قارچ (زرد) می‌باشد. با این حال کمترین میزان درصد نشانه‌های بیماری روی بخش‌های هوایی به ترتیب در تیمارهای قارچ (کرونیکی)، نماتد ۲۰۰۰ (کرونیکی) و نماتد ۳۰۰۰ (کرونیکی) مشاهده گردید. بیشترین میزان درصد نشانه‌های بیماری روی بخش‌های هوایی به ترتیب در ارقام مانزانیلا، زرد، روغنی و کرونیکی مشاهده شد ($p \leq ۰/۰۵$) (جدول ۱).

میزان درصد قهوه‌ای شدن بافت آوندی

نتایج نشان داد که بیشترین میزان درصد قهوه‌ای شدن آوندها توسط بیمارگرهای مورد نظر به ترتیب مربوط به تیمارهای نماتد ۴۰۰۰ + قارچ (مانزانیلا)، نماتد ۳۰۰۰ + قارچ (مانزانیلا) و قارچ (کرونیکی) می‌باشد. از طرفی کمترین میزان درصد قهوه‌ای شدن آوندها در اثر حضور بیمارگرها در ریزوسفر در تیمارهای دارای قارچ به ترتیب در تیمارهای نماتد ۲۰۰۰ + قارچ (کرونیکی)، نماتد ۳۰۰۰ (کرونیکی) و نماتد ۴۰۰۰ (کرونیکی) مشاهده گردید. بیشترین میزان درصد قهوه‌ای شدن آوندها به ترتیب در ارقام مانزانیلا، زرد، روغنی و کرونیکی مشاهده شد. در این خصوص در ارقام زرد و روغنی اختلاف معنی‌دار مشاهده نشد ($p \leq ۰/۰۵$) (جدول ۱).

میزان درصد کاهش ارتفاع نهال

نتایج نشان می‌دهد که بیشترین میزان درصد کاهش ارتفاع میزبان در اثر حضور بیمارگرهای مورد نظر در ریزوسفر نهال‌های زیتون به ترتیب در تیمارهای نماتد ۴۰۰۰ + قارچ (مانزانیلا)، نماتد ۳۰۰۰ + قارچ (مانزانیلا) و نماتد ۴۰۰۰ + قارچ (زرد) مشاهده می‌شود. همچنین کمترین میزان درصد کاهش ارتفاع میزبان در تیمارهای دارای بیمارگر به ترتیب در تیمارهای قارچ (کرونیکی)، نماتد ۲۰۰۰ + قارچ (کرونیکی) و نماتد ۳۰۰۰ + قارچ (کرونیکی) مشاهده شد. بیشترین میزان درصد کاهش ارتفاع میزبان به ترتیب در ارقام مانزانیلا، زرد، روغنی و کرونیکی مشاهده شد ($p \leq ۰/۰۵$) (جدول ۱).

Archive of SID

www.SID.ir

جدول ۱- میزان درصد نشانه‌های بیماری در بخش هوایی، قهوه‌ای شدن بافت آوندی، کاهش ارتفاع نهال و کلونیزاسیون بافت‌ها (مرگ بافت‌ها) توسط قارچ در ارقام زیتون پس از مایه‌زنی قارچ *V. dahliae* و نماتد *M. javanica*

رقم	تیمار	نشانه‌های بیماری روی بخش هوایی (٪)	قهوه‌ای شدن بافت آوندی (٪)	کاهش ارتفاع نهال (٪)	کلونیزاسیون بافت‌ها (٪)
		میانگین	میانگین	میانگین	میانگین
کرونیکی					
	شاهد	۱/۲n	۰k	۱/۴k	۰k
	قارچ	۱۵ml	۶۴/۶abc	۶/۶ghij	۶/۲hij
	نماتد ۴۰۰۰	۱/۱n	۰k	۰l	۰k
	نماتد ۴۰۰۰ + قارچ	۲۵/۲j	۳۵/۴efghij	۱۰/۲ef	۸fghi
	نماتد ۳۰۰۰	۰/۹n	۰k	۰l	۰k
	نماتد ۳۰۰۰ + قارچ	۲۰/۲jkl	۳۲/۶efghij	۸/۲fghi	۷/۶ghi
	نماتد ۲۰۰۰	۱/۱n	۰k	۰l	۰k
	نماتد ۲۰۰۰ + قارچ	۱۶l	۲۵/۴ghij	۷ghij	۸/۲fgh
مانزانیلا					
	شاهد	۱/۲n	۰k	۱/۲k	۰k
	قارچ	۴۳/۸e	۵۴/۴bcde	۱۹c	۱۶/۶c
	نماتد ۴۰۰۰	۱/۱n	۰k	۰l	۰k
	نماتد ۴۰۰۰ + قارچ	۷۰/۶a	۸۱/۲a	۲۹/۸a	۲۵/۴a
	نماتد ۳۰۰۰	۰/۷n	۰k	۰l	۰k
	نماتد ۳۰۰۰ + قارچ	۵۹/۴b	۷۳ab	۲۴/۴b	۲۱/۶b
	نماتد ۲۰۰۰	۰/۸n	۰k	۰l	۰k
	نماتد ۲۰۰۰ + قارچ	۴۹/۸cd	۶۲/۴abcd	۲۳/۸b	۲۱b
روغنی					
	شاهد	۱/۴n	۰k	۱/۴k	۰k
	قارچ	۳۰/۴i	۳۹/۸defghij	۱۱e	۹fg
	نماتد ۴۰۰۰	۰/۹n	۰K	۰l	۰k
	نماتد ۴۰۰۰ + قارچ	۳۹/۶ef	۵۱bcdef	۲۰/۲c	۱۸/۴c
	نماتد ۳۰۰۰	۱/۲n	۰k	۰l	۰k
	نماتد ۳۰۰۰ + قارچ	۳۶/۲fgh	۴۵/۴cdefg	۱۵/۶d	۱۱de
	نماتد ۲۰۰۰	۱/۱n	۰k	۰l	۰k
	نماتد ۲۰۰۰ + قارچ	۳۱/۲ghi	۴۱/۴cdefgh	۱۰/۲ef	۹fg
زرد					
	شاهد	۱/۶n	۰k	۱/۴k	۰k
	قارچ	۳۴/۶fghi	۴۴/۸cdefg	۱۵d	۱۱/۶de
	نماتد ۴۰۰۰	۰/۹n	۰k	۰l	۰k
	نماتد ۴۰۰۰ + قارچ	۵۰/۸c	۶۱abcd	۲۴b	۲۲b
	نماتد ۳۰۰۰	۰/۹n	۰k	۰l	۰k
	نماتد ۳۰۰۰ + قارچ	۳۶/۴fgh	۵۴/۶bcde	۲۰/۸c	۱۷/۶c
	نماتد ۲۰۰۰	۱/۱n	۰k	۰l	۰k
	نماتد ۲۰۰۰ + قارچ	۴۴/۸de	۵۵/۶bcde	۱۴/۸d	۱۲/۸d

میانگین‌های دارای حروف مشابه در هر ستون در آزمون دانکن در سطح ۵٪ اختلاف معنی‌دار نشان نمی‌دهند.

میزان درصد کلونیزاسیون بافت‌ها

نتایج مربوط به فعالیت قارچ *V. dahliae* نشان داد که بیشترین میزان درصد کلونیزاسیون بافت توسط این قارچ به ترتیب مربوط به تیمارهای نماتد ۴۰۰۰ + قارچ (مانزانیلا)، نماتد ۲۰۰۰ + قارچ (مانزانیلا) و نماتد ۳۰۰۰ + قارچ (مانزانیلا) می‌باشد. این در حالی است که کمترین میزان درصد کلونیزاسیون بافت‌ها توسط قارچ مورد نظر به ترتیب در تیمارهای قارچ (کرونیکی)، نماتد

Archive of SID

www.SID.ir

۳۰۰۰ + قارچ (کرونیکی) و نماتد ۴۰۰۰ + قارچ (کرونیکی) مشاهده گردید. بیشترین میزان درصد کلونیزاسیون بافت‌ها به ترتیب در ارقام مانزانیلا، زرد، روغنی و کرونیکی مشاهده شد ($p \leq ۰/۰۵$) (جدول ۱).

تعداد گال، توده تخم و فاکتور تولیدمثل نماتد

نتایج آزمایش نشان می‌دهد که بیشترین تعداد گال (گره) و توده تخم حاصل از فعالیت نماتد *M. javanica* روی ریشه‌های نهال‌های زیتون به ترتیب مربوط به تیمارهای نماتد ۴۰۰۰ (مانزانیلا)، نماتد ۳۰۰۰ (مانزانیلا) و نماتد ۲۰۰۰ (مانزانیلا) بوده است. از طرفی کمترین تعداد گال و توده تخم پدید آمده روی ریشه‌ها در تیمارهای دارای نماتد به ترتیب در تیمارهای نماتد ۲۰۰۰ + قارچ (کرونیکی)، نماتد ۳۰۰۰ + قارچ (کرونیکی) و نماتد ۲۰۰۰ + قارچ (روغنی) مشاهده گردید. بیشترین تعداد گال و توده تخم به ترتیب در ارقام مانزانیلا، زرد، روغنی و کرونیکی مشاهده شد ($p \leq ۰/۰۵$) (جدول ۲). فاکتور تولیدمثل (RF) در تیمارهای نماتد ۴۰۰۰ (مانزانیلا) و نماتد ۲۰۰۰ + قارچ (کرونیکی) به ترتیب بیشترین و کمترین میزان را داشته است. بیشترین میزان این فاکتور به ترتیب در ارقام مانزانیلا، زرد، روغنی و کرونیکی به دست آمد.

بحث

گیاه زیتون در میان محصولات باغی از اهمیت بسزایی برخوردار است. در سال‌های اخیر با احداث باغ‌ها و نهالستان‌های متعدد زیتون در برخی نقاط ایران سعی بر آن بوده که سطح زیر کشت این محصول و نهایتاً میزان تولید آن در کشور افزایش یابد. از گذشته های دور شمال ایران از مناطق مناسب برای کشت زیتون بوده است. با توجه به مساعد بودن شرایط آب و هوایی و نوع بافت خاک در این منطقه خصوصاً استان گلستان، پراکنش *V. dahliae* در این استان رو به گسترش است. حضور نماتد *M. javanica* در نهالستان‌های این منطقه، انتشار قارچ و نماتد مورد نظر را به سایر نقاط ایران میسر کرده است. وجود نماتد *M. javanica* در ریزوسفر زیتون موجب پیچیدگی بیماری ورتیسیلیوز و میزان علائم و فعالیت این بیماری را در ارقام مختلف تحت تأثیر قرار داده است.

ورود سر نماتد به منطقه پروکامبیوم و ترشح آنزیم‌ها و متابولیت‌های شبه هورمونی و عکس‌العمل سلول‌های میزبان، سبب ایجاد چندین سلول درشت مغذی به نام سلول‌های غول‌آسا (Giant cells) در این ناحیه می‌گردد. این سلول‌های درشت به طور مجزا از هم شکل می‌گیرند و هر کدام دارای سیتوپلاسم فراوان و هسته‌های متعددی (گاهی تا ۱۰۰ هسته) می‌شوند و به عنوان یک حوضچهٔ غذایی برای نماتد عمل می‌کند به طوری که دارای اندامک های خاصی بوده که قدرت جذب مواد غذایی از آوند آبکش و ارسال آن به درون این حوضچه‌ها را تسریع می بخشند (Barthels *et al*., 1997).

فعالیت شدید متابولیکی در سلول‌های غول آسا و انتقال مواد غذائی از دیگر قسمت‌های گیاه به این ناحیه، تمایل قارچ را جهت حمله و کلونیزه کردن ریشه‌های آلوده تشدید می‌کند. این موضوع نشان‌دهنده اهمیت تجمع منبع انرژی در گال و رشد و توسعه سریع‌تر قارچ در این اندام‌ها است (Mai & Abawi, 1987).

نتایج آزمایش ما علاوه بر تأیید تشدید بیماری پژمردگی ورتیسیلیومی زیتون در حضور نماتد *M. javanica*، با نتایج دیگر محققان (Bowers *et al.*, 1996; Devay *et al*., 1997; Mai & Abawi, 1987) در این زمینه مشابهت دارد.

نتایج مطالعات برخی محققین نشان داده است که در محل سایت های غذایی نماتد ارتباط متقابل مستقیم، اعم از نفوذ قارچ به درون گال و تجمع در آن بین دو بیمارگر مشاهده می‌شود. همچنین رشد و تکثیر بیش از حد سلول‌های میزبان در اثر حمله نماتد مولد گره ریشه، روند طبیعی شکل‌گیری سلول‌ها و استحکام دیواره‌ها از نظر ترکیب و حضور مواد دیواره سلولی خصوصاً لیگنین و سلولز را به تأخیر می‌اندازد.

در مقایسه با سلول‌های طبیعی در چنین سلول‌هایی آلودگی قارچی به سهولت انجام می‌گیرد (Fattah & Webster, 1983). وفور ترکیبات مختلف از قبیل اسیدهای آمینه، پروتئین، اسیدهای چرب، لیپید، RNA و DNA در سلول‌های غول‌آسا در مقایسه با سلول‌های سالم، همانند یک بستر غذایی، تمایل قارچ به آلودگی را حتی درون سلول‌های غول‌آسا افزایش می‌دهد (Mai & Abawi, 1987). در غالب موارد مشاهده شده که حضور

Archive of SID

www.SID.ir

نماتد انگل سبب افزایش خسارت قارچ بیمارگر می‌گردد. نماتدها در افزایش نفوذ و آلودگی *V. dahliae* در ریشه‌های میزبان از طریق تسهیل محل ورود قارچ دخالت دارند. نماتدها سبب افزایش ترشحات ریشه می‌شوند و این امر سبب افزایش وسعت ریزوسفر می‌گردد که این مسئله باعث افزایش ریشه زایی گیاه و نهایتاً افزایش احتمال تماس نوک ریشه‌ها با میکرواسکلروت‌ها می‌گردد (Bowers *et al.*, 1996).

در اثر آلودگی میزبان به نماتدهای ریشه گرهی تغییرات مرفولوژیک، آناتومیک و بیوشیمیایی در منطقه تغذیه نماتد رخ می‌دهد. از طرف دیگر قارچ عامل پژمردگی نیز در همین ناحیه فعالیت و بیماریزایی داشته و سرانجام از طریق آوندهای چوبی در گیاه گسترش می‌یابد (Mai & Abawi, 1987).

در آزمایش ما نیز نشانه‌های بیماری روی بخش‌های هوایی میزبان به صورت میزان درصد نشانه‌های بیماری، قهوه‌ای شدن آوندها، کاهش ارتفاع نهال و کلونیزاسیون بافت‌ها توسط قارچ *V. dahliae* در تیمارهای دارای نماتد *M. javanica* خصوصاً تیمارهای نماتد ۴۰۰۰ + قارچ در مقایسه با سایر تیمارها از بیشترین مقدار خود برخوردار بوده است (جدول ۱).

نتایج مطالعات لتانی و همکاران در سال ۱۳۸۵ در مورد اثرات متقابل نماتد مولد زخم ریشه *P. thornei* و قارچ *V. dahliae* روی گیاه سیب‌زمینی نشان داده است که برهمکنش دو بیمارگر مذکور روی سیب‌زمینی به صورت هم‌افزایی است به طوری که مایه‌زنی همزمان نماتد و قارچ افزایش معنی‌داری در پژمردگی و شدت زخم ریشه و کاهش معنی‌داری در وزن تر و خشک ریشه و اندام‌های هوایی گیاه داشته است (Letani *et al.*, 2006).

حضور نماتد *P. penetrans* سبب بیماریزایی جمعیتی از قارچ *V. dahliae* می‌گردد که بدون حضور نماتد قادر به بیماریزایی نیست. ریشه‌های زخمی شده توسط نماتد سبب تحریک رشد و جوانه‌زنی میکرواسکلروت‌های در حال خواب (dormant) در اثر افزایش ترشحات ریشه می‌شوند و یا اینکه مسیر ورود لوله تندش (germ tube) قارچ را تسهیل می‌کنند. نماتد مذکور می‌تواند با تغییر فیزیولوژی ریشه سبب افزایش ترشحات ریشه گردد. از طرفی حضور انبوه میسلیوم‌های قارچ در آوندها و ناحیه پوست ریشه مانع تحرک و پیشرفت نماتد در پوست ریشه می‌گردد. تراکم هیف‌های قارچ در نواحی اندودرم و استوانه مرکزی نسبت به نواحی سطحی و کم عمق پوست ریشه بیشتر است (Gerik & Huisman, 1988). طی یک بررسی مشخص شده است که آلودگی سیب‌زمینی به قارچ *V. dahliae* ممکن است سبب کاهش جمعیت نماتد مولد زخم ریشه (*P. penetrans*) گردد. از طرفی حضور همزمان نماتد مذکور و قارچ *V. dahliae* موجب ظهور علائم مرگ زودرس در سیب‌زمینی گردید (Rowe *et al*, 1985).

مهمترین و بارزترین نشانهٔ فعالیت نماتدهای جنس *Meloidogyne* روی اندام‌های زیرزمینی گیاه میزبان، وجود گره یا گال روی ریشه است. شدت گره‌زایی نماتد به میزان برقراری رابطهٔ انگلی نماتد و میزبان بستگی دارد. طبق تحقیقات انجام شده گره‌های ایجاد شده توسط دو گونهٔ *M. javanica* و *M. incognita* با توجه به نوع رقم زیتون، از نظر اندازه و تعداد متفاوت می‌باشند. مواد حاصل از فتوسنتز و فعالیت‌های متابولیکی گیاه به سلول‌های غول آسا انتقال می‌یابد. به این ترتیب رشد گیاه و میزان تولید محصول کاهش می‌یابد. دیگر نشانه‌های بیماری روی اندام‌های هوایی شامل زردی و به تدریج پژمردگی نیز ناشی از کمبود مواد غذایی و کاهش شدید توانایی ریشه آلوده در جذب آب و مواد غذایی می‌باشد (Sasanelli *et al.*, 1997).

از نتایج به دست آمده از این آزمایش نیز چنین برمی آید که بیشترین میزان گال‌زایی و ایجاد توده تخم از سوی نماتد در تیمارهایی که فاقد قارچ بوده‌اند مشاهده شده است (جدول ۲). نتایج نشان می‌دهد که وجود قارچ موجب کاهش گال‌زایی نماتد شده است هرچند که حضور توأم قارچ و نماتد موجب افزایش نشانه‌های بیماری در بخش‌های هوایی شده است (جدول ۱).

نتایج دیگر مطالعات نیز نشان داده است که در برخی موارد *M. javanica* به ترشحات حاصل از ریشه میزبان جلب شده ولی پس از نفوذ به میزبان، به علت نامساعد بودن محیط درونی ریشه، نماتد قادر به برقراری ارتباط انگلی و القای سایت‌های تغذیه‌ای در میزبان

Archive of SID

www.SID.ir

جدول ۲- تعداد گال، توده تخم و فاکتور تولیدمثل (RF) نماتد در ریشه ارقام زیتون پس از مایه‌زنی قارچ *V. dahliae* و نماتد *M. javanica*

رقم	تیمار	گال (عدد) میانگین	توده تخم (عدد) میانگین	فاکتور تولیدمثل (RF)
کرونیکی				
	شاهد	۰p	۰p	-
	قارچ	۰p	۰p	-
	نماتد ۴۰۰۰	۲۰/۴j	۲۲/۴۰j	۱/۴۰
	نماتد ۴۰۰۰ + قارچ	۶/۶n	۹mn	۰/۵۱
	نماتد ۳۰۰۰	۱۰/۲m	۱۲/۸l	۱/۱۰
	نماتد ۳۰۰۰ + قارچ	۴/۶n	۶/۴۰n	۰/۵۱
	نماتد ۲۰۰۰	۷n	۹/۸۰m	۱/۲۷
	نماتد ۲۰۰۰ + قارچ	۱/۴o	۲/۴۰o	۰/۳۱
مانزانیلا				
	شاهد	۰p	۰p	-
	قارچ	۰p	۰p	-
	نماتد ۴۰۰۰	۶۹/۶a	۷۶/۲۰a	۷/۲۳
	نماتد ۴۰۰۰ + قارچ	۴۴e	۴۶/۸۰e	۳/۷۴
	نماتد ۳۰۰۰	۶۳/۶b	۷۶b	۹/۵۰
	نماتد ۳۰۰۰ + قارچ	۳۳/۲g	۴۰/۲۰f	۴/۰۲
	نماتد ۲۰۰۰	۵۳/۶c	۵۸/۸۰c	۱۰/۸۷
	نماتد ۲۰۰۰ + قارچ	۳۰/۶h	۳۴/۴۰g	۵/۱۶
روغنی				
	شاهد	۰p	۰p	-
	قارچ	۰p	۰p	-
	نماتد ۴۰۰۰	۴۰/۸f	۴۴/۶۰e	۳/۱۷
	نماتد ۴۰۰۰ + قارچ	۱۴/۶k	۱۷k	۱/۳۶
	نماتد ۳۰۰۰	۳۰h	۳۴g	۴/۲۱
	نماتد ۳۰۰۰ + قارچ	۱۱/۸ml	۱۳/۸۰l	۱/۵۱
	نماتد ۲۰۰۰	۱۶/۶k	۱۸/۸۰k	۳/۳۷
	نماتد ۲۰۰۰ + قارچ	۴/۶n	۷/۶۰mn	۱/۲۱
زرد				
	شاهد	۰p	۰p	-
	قارچ	۰p	۰p	-
	نماتد ۴۰۰۰	۵۰d	۵۲/۲۰d	۳/۸۴
	نماتد ۴۰۰۰ + قارچ	۲۴/۶i	۲۸/۲۰h	۱/۹۱
	نماتد ۳۰۰۰	۳۸/۶f	۴۱/۶۰f	۳/۸۸
	نماتد ۳۰۰۰ + قارچ	۲۰/۴j	۲۴/۲۰ij	۲/۲۵
	نماتد ۲۰۰۰	۲۲/۸ij	۲۶/۸۰hi	۳/۷۱
	نماتد ۲۰۰۰ + قارچ	۱۴kl	۱۷/۶۰k	۲/۲۸

میانگین‌های دارای حروف مشابه در هر ستون در آزمون دانکن در سطح ۵٪ اختلاف معنی‌دار نشان نمی‌دهند.

نمی‌باشد. نرخ بلوغ نماتد *M. javanica* در ریشهٔ میزبان روی تعداد نسل‌های آینده در همان فصل زراعی مؤثر است، از این رو بر نرخ افزایش جمعیت در طول فصل زراعی نیز تأثیر خواهد گذاشت (Sasanelli *et al.*, 1997).

در مورد رقم مانزانیلا نتایج به دست آمده نشان می‌دهد که وجود قارچ و نماتد مورد نظر در ریزوسفر نهال‌های رقم مذکور علائم بیشتری را در پی داشته است. نتایج

Archive of SID

www.SID.ir

برخی مطالعات در مورد این رقم با نتایج به دست آمده در این آزمایش مشابهت دارد (Bellini, 2002; Walters *et al.*, 1999). نتایج به دست آمده در مورد ارقام بررسی شده نشان می‌دهد که میزان نشانه‌های ورتیسیلیوز و فعالیت نماتد ریشه گرهی به ترتیب در ارقام مانزانیلا، زرد، روغنی و کرونیکی از بیشترین تا کمترین میزان برخوردار بوده است. از نتایج به دست آمده چنین به نظر می‌رسد رقم کرونیکی که مقاوم به قارچ است به نماتد نیز از مقاومت نسبی برخوردار است. میزان فاکتور تولیدمثل در تیمارهای این رقم کمتر از سایر ارقام بوده و در حضور قارچ به حداقل رسیده است (Hosseini Nejad & Ramezani Malekrodi, 2005).

نتیجه‌گیری کلی

از نتایج به دست آمده در این آزمایش چنین بر می‌آید که رقم کرونیکی در بین ارقام مورد مطالعه، در حضور بیمارگرهای مورد نظر علائم کمتری از بیماری را بروز داده است. از این نظر ارقام روغنی، زرد و مانزانیلا در رتبه‌های بعدی قرار گرفته اند.

حضور توأم نماتد ریشه گرهی و قارچ عامل ورتیسیلیوز در ریزوسفر میزبان موجب محدودیت فعالیت هر یک از این بیمارگرها شده است با این حال میزان نشانه‌های پژمردگی به صورت برگ‌های کلروتیک و نکروتیک در نهال‌هایی که قارچ و نماتد را بطور توأم دریافت کرده‌اند بیشتر بوده است.

REFERENCES

1. Afshari Azad, H. & Khozeini, F. (2000). Isolated fungi from seedlings of olive in Iran. In: Proceedings of *the 14th Iranian Plant Protection Congress*, Esfehan University, Isfehan, Iran, Vol II, p.333.
2. Afshari Azad, H. & Alizadeh, P. (2004). Isolation of *Verticillium dahliae* from olive trees in Kohkiloei & Boyerahmad, Iran. In: Proceedings of *the 16th Iranian Plant Protection Congress*, Tabriz University, Tabriz, Iran, Vol II, p.348. (In Farsi).
3. Akhiani, A., Mojtahed, H. & Naderi, A. (1984). Species and physiological races of root-knot nematodes in Iran. *Iranian Journal of Plant Pathology*, 20, 1-4. (In Farsi).
4. Al-Ahmad, M. A. (1993). The solar chamber: an innovative technique for controlling Verticillium wilt of olive. *Bulletin OEPP*. (*Organisation Europenne et Mediterraneenne pour la Protection de Plantes*), 23, 531-532.
5. Barthels, N., Lee, F. M., Lap, J. K., Goddijn, O. J. M., Karimi, M., Puzio, P., Grundler, F. M. W. & Ohi, S. A. (1997). Regulatory sequences of Arabidopsis drive reporter gene expression in nematode feeding structures. *Plant Cell*, 9, 2119- 2134.
6. Bellini, E. (2002). Miglioramento Genetico. In Arsia (Ed.), *La Toscana Nella Storia Dell'olivo e Dell'olio*. (pp. 229-260). Florence, Italy.
7. Bhat, R. G. & Subbarao, K. V. (1999). Host range specificity in *Verticillium dahliae*. *Phytopathology*, 89, 1218-1225.
8. Bowers, J. H., Nameth, S. T. & 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.
9. Caballero, J. M., Perez-Hernandez, J., Blanco-Lopez, M. A. & Jimenez-Diaz, R. M. (1980). Olive, a new host of *Verticillum dahliae* in Spain. In: Proceedings of *the 5th Congress of the Mediterranean Phytopathological Union*, Patras, Greece, P.50.
10. De Grisse, A. (1969). Redescription ou modifications de quelques techniques utilisees dans letude des nematodes phytoparasitaires. *Mededelingen Rijksfaculteit der Landbouwwetenschappen*, 34, 351-369.
11. Devay J. E., Garber, L. L. & Butterfield, E. J. (1973). Characteristics and concentration of propagules of *Verticillium dahliae* in air-dried field soils in relation to the prevalence of Verticillium wilt in cotton. *Phytopathology*, 64, 22-29.
12. Dhingra, O. D. & Sinclair, J. B. (1986). *Basic plant pathology methods*. C. R. C. Press. Inc. 355 pp.
13. Eisenback, J. & Triantaphyllou, H. H. (1991). Root-knot nematodes: *Meloidogyne* species and races. In W. R. Nickle, (Ed). *Manual of agriculture nematology*. (pp. 191-274). Marcel Dekker. New York.
14. Erwin, D. C., Tsai, S. D. & Khan, R. A. (1976). Reduction of the severity of verticillium wilt of cotton by the growth retardant, tributyl (5-chloro-2-thienyl methyl) phosphonium chloride. *Phytopathology*, 66, 106-110.
15. Fattah, F. & Webster, J. M. (1983). Ultrastructural changes caused by *Fusarium oxysporum* f.sp. *lycopersici* in *Meloidogyne javanica* induced giant cells in Fusarium: resistance and susceptible tomato cultivars. *Journal of Nematology*, 15, 128-135.
16. * HUIN - 6 + XLVP DQ 2 & 6WXG\ RI IIHFW RI URZ Q FRWWRQ URRW LQIHFWG ZLWK *Verticillium*

Archive of SID

www.SID.ir

dahliae using an immunoenzymatic staining technique. *Phytopathology*, 78, 1174-1178.
17. Hadizadeh, I. & Banihashemi, Z. (2005). Reaction of *Pistacia vera* cultivars to *Verticillium dahliae* the causal agent of vascular wilt. *Iranian Journal of Plant Pathology*, 41, 561-583. (In Farsi).
18. Hall, R. & Ly, H. (1972). Development and quantitative measurement of *Verticillium dahliae*. *Canadian Journal of Botany*, 50, 2097-2102.
19. +DVDQ $ 7KH UROH RI IXQJL LQ IXQJXV±QHP DWRGH LQWHUDFWLRQV ,Q 0 : DXG . KDQ (G *Nematode Interactions*, (pp. 273-288). Chapman and Hall.
20. Hilloks, R. J. (1992). *Cotton Diseases*. CABI Publishing, Walling ford.
21. Hosseininejad, S. A. & Khan, M. W. (2001). Interaction of root-knot nematode, *Meloidogyne incognita* UDFH RQ FKLFN±SHDFXOWLVV *Applied Entomology and Phytopathology*, 68, 1-11.
22. Hosseininejad, S. A. & Ramezani Malekrodi, M. (2005). Reaction of olive cultivars to *Meloidogyne javanica*. *Integrated Protection of Olive Crops*, IOBC, WPRS Bull. 28(9), 141-145.
23. Hussey, R. S. & Barker, K. R. (1973). A comparison of methods of collecting inocula of *Meloidogyne* spp. including a new technique. *Plant Disease Reporter*, 57, 1025-1028.
24. Hussey, R. S. & Janssen, G. J. W. (2002). Root-Knot. nematodes: *Meloidogyne* species. In J. L. Starr, J. Bridge and R.Cook, (Eds). *Plant resistance to parasitic nematodes*. (pp. 43-70). CABI Publishing, Walling ford.
25. Jepson, S. B. (1987). *Identification of root-knot nematodes (Meloidogyne species)*. CABI Publishing, Walling ford. 265pp.
26. Khan, A., Atibalentja, N. & Eastburn, D. M. (2000). Influence of inoculum density of *Verticillium dahliae* on root discoloration of horseradish. *Plant Disease*, 84, 309-315.
27. Letani, S., Taheri, A., Tanha Moafi, Z. & Razavi, S. A. (2002). Study of interaction of root-lesion nematode, Pratylenchus thornei, and wilt fungus, *Verticillium dahliae* on potato plants. In: Proceedings of *the 17th Iranian Plant Protection Congress*, Tehran University, Karaj, Iran, Vol II, p. 227. (In Farsi).
28. Mai, W. F. & Abawi, G. S. (1987). Interaction among Root-knot nematodes and Fusarium wilt fungi on host plant. *Annual Review of Phytopathology*, 25, 317-338.
29. McDonald, J. D., Goldhamer, D., Bolkan, L. & Beede, R. (1992). Influence of irrigation method on distribution of water, root and *Verticillium dahliae* pistachio industry. *Annual Report Crop Year*, 1991-1992.
30. Nickle, W. R. (1991). *Mannual of Agricultural Nematology*. Marcel DeKKer, 1035pp.
31. Rahnama, K., Razavi, A. S., Latifi, N. & Zarei, H. (1998). Occurrence of die-back and decline of olive trees in Gorgan and Gondad. In: Proceedings of *the 13th Iranian Plant Protection Congress*, Tehran University, Karaj, Iran, Vol II, p. 222. (In Farsi).
32. Razavi, S. A., Sanei, S. J. & Okhovvat, S. M. (2003). Olive Verticillium wilt in Golestan Province, Iran. In: Proceeding of *the workshop of Olive*. Institute of Agriculture in Golestan Province, Iran, p. 4. (In Farsi).
33. Rowe, R. C., Riedel, R. M. & Martin, M. J. (1985). Synergistic interactions between *Verticillium dahliae* and *Pratylenchus penetrans* in potato early dying disease. *Phytopathology*, 75, 412-418.
34. Ruggieri, G. (1946). A new disease of olive. *Italian Agricola*, 83, 369-372.
35. Sadegh Moosavi, S., Karegar, A. & Deljoo, A. (2006). Responses of some common cucumber cultivars in Iran to root-knot nematode, *Meloidogyne incognita*, under greenhouse condition. *Iranian Journal of Plant Pathology*, 42(2), 241-252.
36. Saeedizadeh A., Kheiri, A., Okhovvat, S. M. & Hoseininejad, A. (2003). Study on interaction between root-knot nematode, *Meloidogyne javanica*, and wilt fungus, *Verticillium dahliae*, on olive seedlings in greenhouse. *Communication Applied of Biology Science*, 68(4a), 139-143.
37. Sarejanni, J. A., Demetriades, S. D. & Zachos, D. G. (1952). Rapport sommaire sur les principles P DODGLHV GHV SODQWV REVHUYHV HQ * UHFH DX FRXUV GH / ¶ DQQH *Annales de L¶ Institut Phytopathologique Benaki*, 6, 5-9.
38. 6DVDQHQDL 1) RQWDQ] D * / DP EHUW) ' ¶$GGLEER 7 3DWP L 0 9 HJ DL * 5 HDFWRQ of olive cultivars to *Meloidogyne* species. *Nematologia Mediterranea*, 25, 183-190.
39. Saydam, C. & Copcu, M. (1972). Verticillium wilt of olives in Turkey. *Journal of Turkish Phytopathology*, 1, 45-48.
40. Tous, J. & Ferguson, L. (1997). La Colltura Dell'olivo in California. *Olivae*, 67, 18-26.
41. Walters, S. A., Wehner, T. C. & Barker, K. R. (1999). Greenhouse and field resistance in cucumber to root-knot nematodes. *Journal of Nematology*, 1, 279-284.

Archive of SID

www.SID.ir