

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

^۱دانش‌آموخته کارشناسی ارشد گروه گیاهپزشکی، دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی گرگان.

^۲دانشیار گروه گیاهپزشکی، دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی گرگان، ^۳مری گیاهپزشکی، دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی گرگان و

^۴دانشیار موسسه تحقیقات گیاهپزشکی کشور اوین، تهران

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

چکیده

در این آزمایش اثر متقابل نژاد دو نماتود مولد گره ریشه [*Meloidogyne incognita* (نژاد ۲)] و قارچ عامل پژمردگی آوندی (*Verticillium dahliae*) بر روی 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 علاوه بر 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 بر روی 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 به ترتیب 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 به صورت 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 آمریکا است

*- مسئول مکاتبه: haghghi_karizak@yahoo.com

حاضر، مطالعه اثر متقابل قارچ *V. dahliae* و نماتود *M. incognita* بر روی 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).

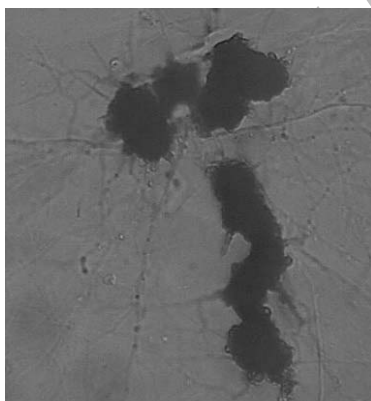
طرح آماری و شرایط نگهداری: آزمایش در قالب طرح کاملاً تصادفی (CRD) با هشت تیمار و چهار تکرار در گلخانه صورت گرفت. تیمارها شامل شاهد، نماتود به تنهایی، قارچ به تنهایی، قارچ دو هفته قبل از نماتود، نماتود دو هفته قبل از قارچ، قارچ و نماتود همزمان، قارچ همراه با اعمال زخم مکانیکی و زخم مکانیکی بود. پس از 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 ۲۴۰ روز نگهداری شدند. در تیمار زخم قبل از کاشت، ریشه‌های نهال‌های زیتون از

تاناسولوپولوس و همکاران، ۱۹۷۹؛ گالون و همکاران، ۲۰۰۵). این بیماری اولین بار در جهان توسط روجیری از ایتالیا گزارش (روجیری، ۱۹۴۶) و بعد از آن از کالیفرنیا، یونان، ترکیه، فرانسه، اسپانیا، سوریه، فلسطین، الجزایر، مصر، تونس و مراکش گزارش شد (ویلحلم و همکاران، ۱۹۶۲؛ جاکبسون و همکاران، ۱۹۷۹؛ تاناسولوپولوس و همکاران، ۱۹۷۹؛ بلانکولوپز و همکاران، ۱۹۸۴؛ ال احمد و همکاران، ۱۹۹۲؛ سرچینی 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، ۱۹۶۳؛ فرنند و همکاران، ۱۹۸۸؛ بوورس و همکاران، ۱۹۹۶؛ 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 پذیرفته است و غالب مطالعات بر مشاهدات مزرعه‌ای و بررسی علائم در ارقام زیتون در محیط طبیعی استوار بوده است. هدف از تحقیق

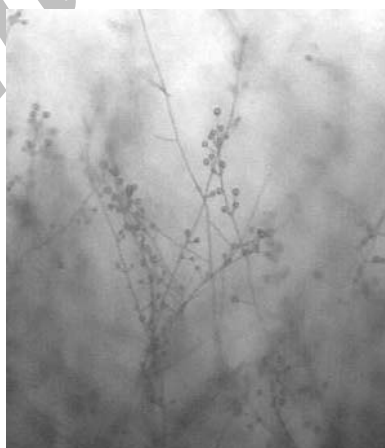
ناحیه ۲ سانتی متری نوک ریشه قطع شدند (لامبرتی و همکاران، ۲۰۰۴؛ لوپز اسکدرو و همکاران، ۲۰۰۴).

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. بیماری زایی این جدایه قبلاً بر روی سرشاخه های زیتون و گیاهچه های پنبه به اثبات رسیده بود (عطار و همکاران، ۲۰۰۴) (شکل های ۱ و ۲). به منظور تهیه میکرواسکلروت جدایه ورتسیلیوم زیتون مورد نظر (نژاد برگریز) به روش کشت در محیط مایع زاپکت بدون آگار^۱ (لوپز اسکدرو و همکاران، ۲۰۰۴) تولید و

جهت مایه زنی نهال های دوازده ماهه زیتون استفاده شد. محیط فوق پس از استریل کردن در تشتک های پتری به قطر ۹ سانتی متر به میزان ۱۵-۱۰ سی سی ریخته شد. در وسط هر تشتک پتری یک قطعه کوچک از حاشیه محیط کشت تازه قارچ ورتسیلیوم قرار داده شد. پتری ها به مدت ۶ هفته در انکوباتور تاریک با دمای ۲۴-۲۰ درجه سانتی گراد قرار داده شدند (شکل ۳). بعد از شش هفته، سوسپانسیون حاوی میکرواسکلروت از الک هایی به شماره های به ترتیب ۶۰، ۱۰۰ و ۴۰۰ مش عبور داده شد (ویلر و ریدل، ۱۹۹۴) (شکل ۴).



شکل ۱- میکرواسکلروت *V. dahliae* (X۴۰۰).



شکل ۲- کنیدیوفورهای قارچ *V. dahliae* (X۴۰).



شکل ۳- تهیه میکرواسکلروت بر روی محیط کشت.



شکل ۴- جمع‌آوری میکرواسکلروت‌ها بر روی الک ۴۰۰ مش.

ورتسیلیوم در ۵ تکرار کشت گردید (نیگرو و همکاران، ۲۰۰۵).

تهیه مایه آلوده‌کننده نماتود: در مرداد و شهریور ۱۳۸۴ 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^۳، کشت‌های اثبوه 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

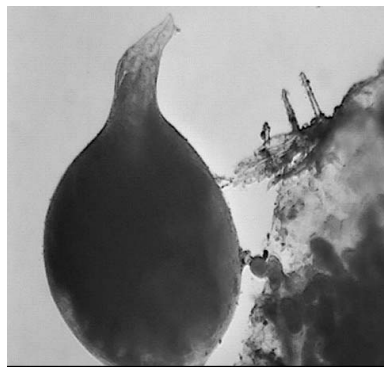
در نهایت سوسپانسیون حاصل با مقداری ماسه بادی^۱ دو بار اتوکلاو و آون خشک شده که از الک ۸۶۰ مش عبور داده شده بود، مخلوط گردید. مخلوط حاصل به مدت ۳ هفته در محیط استریل با دمای ۲۵ درجه سانتی‌گراد خشک گردید. پس از خشک شدن مخلوط با کمک آسیاب برقی^۲ کاملاً یکنواخت گردید و به‌وسیله پخش کردن روی محیط انتخابی 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 ۱۰^{-۲}، ۱ × ۱۰^{-۴}، ۱ × ۱۰^{-۶} و ۱ × ۱۰^{-۸} از آن تهیه شد. هر رقت به‌طور جداگانه روی محیط کشت نیمه انتخابی

3- Red Clod

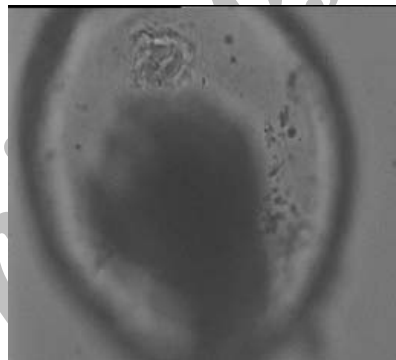
1- Sand
2- Blender

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.

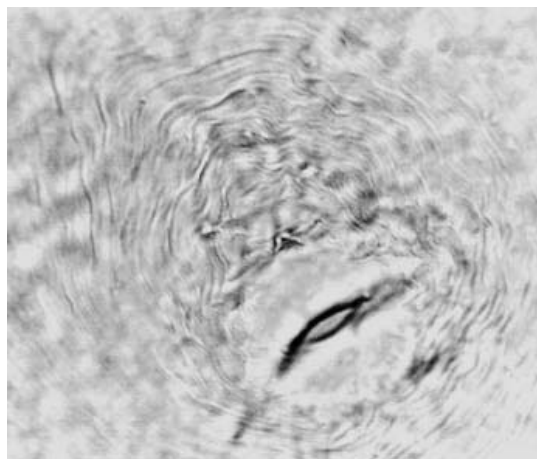
مشخصات مرفولوژیک شبکه کوتیکولی انتهای بدن ماده‌ها، مشخصات مرفولوژیک و مرفومتری ماده و سن جوانی دوم و همچنین عکس‌العمل میزبان‌های افتراقی، نژاد دو نماتود *M. incognita* تشخیص داده شد (شکل‌های ۱۰-۵)، این بررسی براساس روش پیشنهادی ساسر (۱۹۷۲) برای آزمون میزبان‌های افتراقی انجام شد (ساسر، ۱۹۷۲). حدود ۱۰۰۰ تخم و لارو سن دو در پای



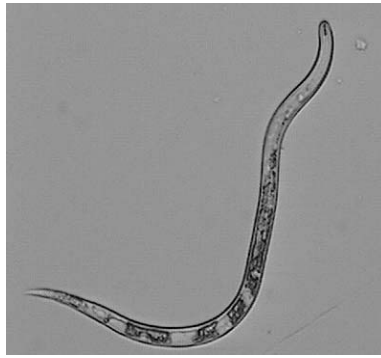
شکل ۵- نماتود ماده بالغ *M. incognita* (۴۰X).



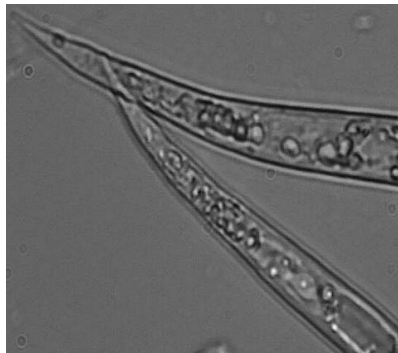
شکل ۶- انتهای بدن نماتود ماده بالغ (۱۰۰X).



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



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



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



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

درصد قرار داده و در زیر استرئومیکروسکپ زمان لازم را برای حل شدن توده ژلاتینی به دست آورد. تهیه سری رقت و کالیبراسیون: بدین منظور از روش هوسی و بارکر (۱۹۷۳) با انجام اصلاحاتی استفاده گردید. در نهایت مشخص شد که هر میلی لیتر از محلول پایه حاوی چه مقدار از مایه تلقیح است و چه میزان از آن بایستی مایه زنی شود.

استخراج توده های تخم: از کشت های 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

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 ۲-۵ سانتی‌متر در اطراف ریشه نهال‌ها اضافه گردید (حسینی نژاد و واجدخان، ۲۰۰۰).

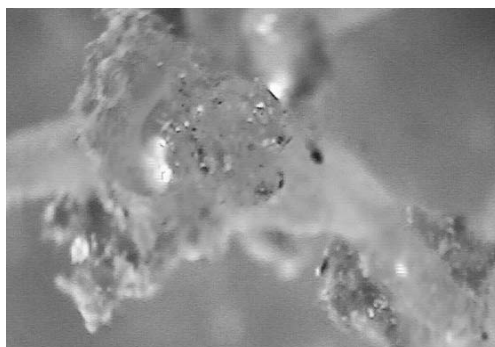
طرز اختلاط میکرواسکلروت با خاک گلدان‌ها: مایه تلقیح قارچ، به میزان ۴۰ عدد میکراسکلروت در گرم خاک گلدان تعیین شد. به هر گلدان مورد نظر ۱۷۵ سی‌سی سوسپانسیون شامل 8×10^4 عدد میکرواسکلروت تعلق گرفت. برای اختلاط این مایه تلقیح به عمق چهار سانتی‌متری، خاک سطحی اطراف ریشه‌ها کنار زده شد و سوسپانسیون مایه تلقیح به‌طور یکنواخت در یک سطح ریخته شد، سپس خاک کنار زده دوباره روی ریشه‌ها قرار داده شد (سعیدی‌زاده، ۲۰۰۲).

ثبت علائم پژمردگی و رتسیلیومی و آماربرداری جهت ارزیابی بیماری: مایه‌زنی نهال‌های زیتون در ۸۵/۱/۲۵ انجام شد، و در تاریخ ۸۵/۹/۱۵ پس از گذشت ۲۴۰ روز از مایه‌زنی، نهال‌ها مورد ارزیابی قرار گرفتند. در پایان آزمایش با کشت شاخه‌های فرعی با قطر ۷-۴ میلی‌متر از ارتفاع ۱۰-۶۰ سانتی‌متری نهال‌ها بر روی محیط انتخابی، قارچ *V. dahliae* دوباره جداسازی شد. ارزیابی بیماری با بررسی ظاهری علائم در شاخه و برگ انجام گرفت. در فواصل هفتگی یادداشت‌برداری از علائمی نظیر شادابی گیاه، بروز علائم پژمردگی، ریزش و قهوه‌ای شدن برگ‌ها صورت گرفت. شدت بیماری با استفاده از شاخص ۵ درجه‌ای پیشنهاد شده توسط لویزاسکودرو و همکاران (۲۰۰۴) تعیین شد. به این ترتیب 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، ۴= 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 بر روی 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 یادداشت 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 (حسینی نژاد و واجدخان، ۲۰۰۰).

محاسبه شاخص گال و شاخص کیسه تخم: توده‌های تخم به وسیله فرو بردن ریشه‌ها به‌مدت ۲۰ دقیقه در محلول اسید فوشین ۰/۴ 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 رنگ‌آمیزی شد. پس از رنگ‌آمیزی نمونه‌های ریشه، تعداد توده‌های تخم شمارش و براساس شاخص ۰-۵ تایلور و ساسر (۱۹۷۸) ارزیابی شد. شدت گال ریشه (RGS) نیز براساس شاخص ۰-۵. ۰: بدون گال، ۱: ۱-۲ گال، ۲: ۳-۱۰ گال، ۳: ۱۱-۳۰ گال، ۴: ۳۱-۱۰۰ گال و ۵: بیش از ۱۰۰ گال ارزیابی شد (تایلور و ساسر، ۱۹۷۸).



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 ۶۱/۴ 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 به ترتیب ۴۲/۰۸ و ۲۷/۰۵ 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 ۲۴۰ روز بعد از تلقیح.

تیمار	ریشه	اندام هوایی
شاهد	۳۵/۰۰a	۷۴/۷۵a
نماتوده تنهایی	۳۱/۰۰b	۷۰/۰۰b
قارچ به تنهایی	۲۶/۵۰c	۶۵/۵۰c
قارچ دو هفته قبل نماتود	۲۱/۶۰ed	۵۴/۲۵d
نماتود دو هفته قبل قارچ	۲۰/۱۵e	۴۹/۷۵e
نماتود و قارچ هم زمان	۲۳/۰۰d	۵۵/۰۰d
قارچ همراه با اعمال زخم مکانیکی	۲۷/۰۰c	۶۴/۲۵c
زخم تنها	۳۳/۷۵a	۷۳/۵۰a
LSD	**۱/۴۹	**۱/۴۱
% CV	۱۱/۰۷	۴/۶۵

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

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

جدول ۲- مقایسه تاثیر نماتود *M. incognita* و قارچ *V. dahliae* به تنهایی و در ترکیب با یکدیگر بر روی وزن تر اندام‌های گیاه زیتون رقم زرد در ۲۴۰ روز بعد از تلقیح.

وزن تر ریشه، اندام هوایی و کل گیاه (g)			تیمار
کل گیاه	اندام‌های هوایی	ریشه	
۷۱/۲۵a	۵۰/۵۰a	۲۰/۷۵a	شاهد
۵۲/۰۰d	۳۸/۵۰d	۱۳/۵۰c	نماتود
۵۸/۰۰c	۴۱/۲۵c	۱۶/۷۵b	قارچ
۴۸/۷۸e	۳۷/۴۵ed	۱۱/۳۲d	نماتود + قارچ
۴۷/۲۵f	۲۹/۲۵f	۸/۰۰e	نماتود دو هفته قبل قارچ
۴۷/۵۵e	۳۶/۷۵e	۱۰/۸۰d	قارچ دو هفته قبل نماتود
۷۰/۲۵a	۴۹/۷۵a	۲۰/۵۰a	زخم مکانیکی
۶۱/۱۱b	۴۴/۷۰b	۱۶/۴۱b	قارچ همراه با زخم مکانیکی
**۱/۵۳	**۱/۲۶	**۱/۷۴	LSD
۶/۰۴	۶/۳۳	۱۲/۳۷	% CV

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 (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).

وزن خشک اندام هوایی، ریشه و کل گیاه: کمترین وزن خشک اندام هوایی مربوط به تیمار نماتود دو هفته قبل از قارچ (۱۶/۵ 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 به ترتیب

جدول ۳- مقایسه تاثیر نماتود *M. incognita* و قارچ *V. dahliae* به تنهایی و در ترکیب با یکدیگر بر روی وزن خشک اندام‌های گیاه زیتون رقم زرد در ۲۴۰ روز بعد از تلقیح.

وزن خشک ریشه اندام هوایی و کل گیاه (g)			تیمار
کل گیاه	اندام‌های هوایی	ریشه	
۴۳/۵۰a	۲۸/۷۵a	۱۴/۷۵a	شاهد
۳۰/۵۳d	۲۲/۲۸d	۸/۲۵d	نماتود
۳۵/۷۵c	۲۴/۷۵c	۱۱/۰۰c	قارچ
۲۷/۰۵e	۱۹/۲۵ef	۷/۸۰ed	نماتود + قارچ
۲۱/۷۵g	۱۶/۵۰g	۵/۲۵f	نماتود دو هفته قبل قارچ
۲۵/۷۵f	۱۸/۲۵f	۷/۵۰e	قارچ دو هفته قبل نماتود
۴۱/۲۵b	۲۷/۲۵b	۱۴/۰۰b	زخم مکانیکی
۳۰/۵۳d	۲۰/۰۰e	۱۰/۵۳c	قارچ همراه با زخم مکانیکی
**۱/۰۳۴	**۱/۰۷	**۱/۴۸	LSD
۶/۸۸	۱۰/۰۶	۱۱/۲۶	% CV

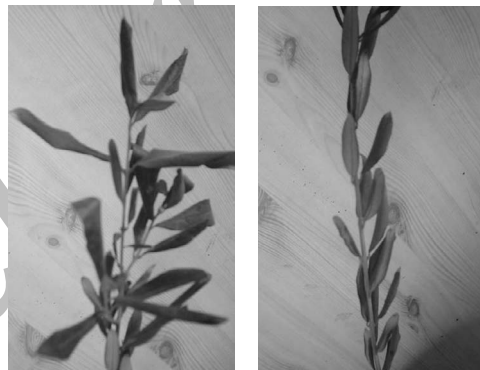
اعداد نشان‌دهنده میانگین چهار تکرار می‌باشند. میانگین‌هایی که دارای حروف مشترک نیستند براساس آزمون LSD در سطح احتمال یک درصد دارای تفاوت معنی‌داری می‌باشند.

ارزیابی بیماری پژمردگی ورتسیلیومی: علائم ناشی از قارچ *V. dahliae* بر روی رقم مورد آزمایش ۲۴ هفته پس از تلقیح در تاریخ ۸۵/۷/۱ در تکرار سوم تیمار نماتود دو هفته قبل از قارچ مشاهده شد. علائم ابتدایی بیماری به صورت مشاهده تغییر رنگ تدریجی به رنگ سبز مات برگ‌ها ظاهر شد. برگ‌ها به سمت بالا کشیده شده و حالتی ایستاده پیدا نمودند (شکل ۱۴-۱۲). 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 ۴).



شکل ۱۲- مقایسه نهال سالم و بیمار (به ترتیب از راست به چپ).



شکل‌های ۱۳ و ۱۴- علائم بیماری بر روی نهال‌های زیتون بیمار (راست ایستادن و تمایل به لوله شدن در برگ‌ها).

جدول ۴- مقایسه تأثیر نماتود *M. incognita* و قارچ *V. dahliae* بر روی شاخص بیماری پژمردگی گیاه زیتون رقم زرد.

شده پژمردگی ورتسیلیومی	تیمار
.	شاهد
۲/۳۳c	قارچ
۳/۵۵b	نماتود+ قارچ
۴/۱۷a	نماتود دو هفته قبل قارچ
۳/۴۵b	قارچ دو هفته قبل نماتود
.	زخم مکانیکی
۲/۴۳c	قارچ همراه با زخم مکانیکی
**/۲۳	LSD
۱۳/۶۸	% CV

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

V. نتایج اثرات آمیخته نماتود *M. incognita* و قارچ *dahliae*

بر تعداد توده تخم و گره روی ریشه

تعداد کیسه 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 معنی دار 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* بر روی 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	**۲/۹۴	
% CV	۱۴/۱۶	

اعداد نشان دهنده میانگین مجموع چهار تکرار هستند. میانگین‌هایی که دارای حروف مشترک نیستند. براساس آزمون LSD در سطح احتمال یک درصد دارای تفاوت معنی داری 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 ۶).

جدول ۶- مقایسه تأثیر *M. incognita* و *V. dahliae* بر روی تعداد گره (GN) و شاخص گره (GI) ریشه نهالهای زیتون رقم زرد.

تیمار	GN	GI
شاهد	۰	
نماتود	۴۲۵/۵۰a	۳/۰۴
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	**۱۶/۱۸۳	
% CV	۱۹/۱۲	

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

بحث

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 (۱۹۹۴) نشان دادند که گیاهان لوبیایی 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 اسکلتز و مورهای (۱۹۸۱) نیز نشان داد که *P. penetrans* بر روی 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 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. 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 میانه‌زنی 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 علاوه بر نماتود قارچ نیز حضور داشت،

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 آبابی، ۱۹۹۴؛ 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 ۶۱/۴۵ 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 اندام‌های هوایی را در مقایسه با شاهد به ترتیب به میزان ۱۳/۹۱ و ۲۲/۵ درصد کاهش داد. علت کاهش رشد گیاه در اثر حضور نماتود را این‌گونه 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 می‌شود. 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 کم‌رشدی 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 برهم 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،

معنی داری در سطح احتمال یک درصد باعث کاهش فاکتورهای رشدی نهال‌های زیتون شد همچنین علائم شدیدتری از پژمردگی را باعث شد. بررسی‌های ندوبیز (۱۹۷۷) نشان داد که پژمردگی ورتسیلیومی نهال‌های گیلاس توسط قارچ *V. dahliae* در حضور نماتودهای *Pratylenchus penetrans* *M. hapla* و *Tylenchorhynchus claytoni* دز مقایسه با عدم حضور آنها بیشتر بود که نتایج آزمایش‌های ما را تأیید می‌کند. تاکنون دلایل گوناگونی برای افزایش بیماری مطرح شده که از آن جمله می‌توان به نکات زیر اشاره 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 تشکیل درپوش‌های ژلاتینی، تایلوز، ایجاد لایه دیوار اضافی، القاء مواد فنولی، توکسین‌ها، آنزیم‌ها و تنظیم‌کننده‌های رشد به تنهایی یا با همدیگر و سایر مواد حاصله از سوخت و ساز که باعث مسدود شدن آوندها و در نتیجه محصور ساختن قارچ در منطقه فعالیت باشد، که در ایجاد پژمردگی دخالت دارند. لامبرتی و همکاران (۲۰۰۴) نتیجه گرفتند که تولید مثل نماتود با توسعه پژمردگی رابطه عکس دارد. فرانس و آبایی (۱۹۹۴) نیز معتقدند که توقف تولید مثل نماتود ممکن است از محدودیت جا و در اثر آلودگی به قارچ و یا تحریک نوعی سیستم دفاعی و یا هر دو باشد. کاهش ضریب تکثیر نماتود در حضور قارچ *V. dahliae* ممکن است ناشی از تخریب بافت ریشه‌ای بوسیله قارچ قبل از اینکه نماتود چرخه زندگی خود را روی گیاه کامل کند باشد و یا ممکن است در اثر تغییرات فیزیولوژیکی و بیوشیمیایی ایجاد شده در میزبان در نتیجه تعامل قارچ و نماتود باشد. آسیب ریشه‌ای ایجاد شده بوسیله قارچ احتمالاً مکان‌های نفوذ نماتود و تغذیه آن را کاهش می‌دهد. متابولیت‌های سمی قابل انتقال تولید شده توسط قارچ‌های بیماری‌زای گیاهی ممکن است سبب کاهش و فساد سلول‌های غول آسا، کاهش تفریح و کاهش فعالیت

نسبت به شاهد و تیمارهایی که هر یک از این دو به تنهایی حضور داشتند نشان می‌دهد که وجود توأم این دو بیمارگر باعث خواهد شد که علاوه بر شدت پژمردگی بر روی کاهش فاکتورهای رشدی نیز تأثیر معنی‌دار بگذارند. این نتایج موید نقش نماتود در افزایش میزان پژمردگی در تیمارهایی است که نماتود *M. incognita* و قارچ *V. dahliae* وجود دارند. افزایش معنی‌دار پژمردگی در سطح احتمال یک درصد در تیمارهای آلودگی توأم نماتود با قارچ می‌تواند گواه این امر باشد. نتایج مطالعات ما با یافته‌های سعیدی‌زاده (۲۰۰۲) و لامبرتی و همکاران (۲۰۰۴) مشابهت دارد. آنها دریافتند که آلودگی ایجاد شده توسط قارچ *V. dahliae* در حضور نماتود مولد گره افزایش یافت. سعیدی‌زاده (۲۰۰۲) اثرات متقابلی از نماتود مولد گره و قارچ *V. dahliae* را روی نهال‌های زیتون، پیشنهاد کرده است. مطالعات حسینی نژاد و واجدخان (۲۰۰۰) بر روی اثرات متقابل نماتود مولد گره ریشه و قارچ عامل پژمردگی *F. oxysporum* f.sp. *ciceri* در ارقام نخود نشان داد که اثرات متقابل این دو بیمارگر در کاهش رشد گیاه در هر دو تلقیح همزمان و تناوبی به صورت افزایشی بوده و خسارت وارده به گیاه بیشتر از مجموع خساراتی بود که هر یک از این عوامل بیماری‌زا به طور جداگانه بر گیاه وارد می‌ساختند. در تحقیق آنها مشخص شد که حضور نماتود باعث سریع‌تر ظاهر شدن و تشدید علائم پژمردگی در گیاه گردید و علائم پژمردگی در تلقیح تناوبی بیشتر بود که با نتایج حاصل از این تحقیق مطابقت دارد. مطالعات نردمایر و همکاران (۱۹۸۳) نشان داد که وقتی نماتود *Heterodera daverti* یک یا دو هفته بعد از قارچ تلقیح شود، وزن خشک گیاه به شدت کاهش می‌یابد. همچنین آنها پی بردند که شدت پژمردگی گیاهان در تلقیح قارچ یک یا دو هفته بعد از نماتود به طور معنی‌داری نسبت به زمانی که بیمارگرها به تنهایی تلقیح شده بودند بیشتر بود، نتایج حاصل از این تحقیق نیز نشان داد که تلقیح تناوبی بیمارگرها علاوه بر اینکه به طور

سنین جوانی مرحله دوم شوند (فرانس و آبایی، ۱۹۹۴). 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 (۱۹۹۴) نیز نشان دادند که در آلودگی میزبان به‌وسیله نماتود ضریب تکثیر نماتود و گره‌زایی زمانی که نماتود به تنهایی مایه‌زنی شده بود در بالاترین و زمانی که قارچ *F. oxysporum* f.sp. *phaseoli* در تمام ترکیبات حضور داشت، این ضریب به‌طور معنی‌داری کاهش یافت. زمان تلقیح بیمارگرها بر روی اثر برهمکنش قارچ-نماتود تأثیر می‌گذارد، به‌طوری‌که تلقیح همزمان یا متوالی بیمارگرها بر سینرژیستی بودن یا آنتاگونیستی بودن تأثیر می‌گذارد. تابلور (۱۹۹۰) پیشنهاد کرد تلقیح نماتود ۳-۴ 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 ۳-۴ 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 گوجه‌فرنگی 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 می‌افتد و درصد پژمردگی گیاهان ۴۰ 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 عظیم‌الجثه 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 میکرواسکلروت‌های در حال خواب^۱ 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 مکرورگانیزم را جدی تلقی کرده و از توسعه و اشاعه هر چه بیشتر نهال‌های آلوده به سایر نقاط کشور جلوگیری به‌عمل آورد.

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., Rahnema, 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 bean 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 diversity of *Verticillium* isolates from infected trees. Journal of Plant Path. 87: 13-23.
14. Hosseinijad, S.E., and Vajedkhan, M. 2000. Interactions of Root-Knot nematode (Race1) *Meloidogyne javanica* and Verticellium wilt fungi *Fusarium oxysporum* 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.

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. Rahnema, 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 *Meloidogyne* 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, North 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 splices and races of root-knot nematode (*Meloidogyne* 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. Thanassouloupoulos, 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.).

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

* H. Haghghi¹, A.H. Taheri², S.E. Razavi², Z. Tanhamaafi³ and M. Mamaghani¹

¹Former M.Sc. student, Dept. of Plant Pathology, Gorgan University Of Agricultural Sciences and Natural Resources, Iran, ²Associate Prof., Dept. of Plant Pathology, Gorgan University Of Agricultural Sciences and Natural Resources, Iran, ³Instructor, Dept. of Plant Pathology, Gorgan University Of Agricultural Sciences and Natural Resources, Iran, ⁴Associate, 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 ($P \leq .01$) 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*.

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

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