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

بررسی بیماریزایی جدایه‌های برگریز و غیربرگریز قارچ *Verticillium dahliae* در باغ‌های زیتون استان گلستان

لیلا عطار - کامران رهنما* - منصور صلاتی[1]

تاریخ دریافت:۸۶/۳/۶
تاریخ پذیرش:۸۶/۱۰/۳۰

چکیده

قارچ *Verticillium dahliae* Klebahn عامل پژمردگی ورتیسیلیومی زیتون در استان گلستان است. در این تحقیق بر اساس صفات مختلف: اختلاف دمای بهینه، ابعاد میکرواسکلروت‌ها، عکس‌العمل گیاهچه پنبه رقم ورامین و آزمون بیماریزایی در سرشاخه زیتون رقم زرد روغنی، جدایه‌های برگریز و غیربرگریز قارچ *V. dahliae* در زیتون تعیین گردید. نتایج حاصل نشان داد که نژاد برگریز در محیط آب-آگار، میکرواسکلروت‌های کشیده‌تری نسبت به نژاد غیربرگریز تولید کرد. ابعاد میکرواسکلروت‌ها در جدایه‌های زیتون نسبت به جدایه‌های پنبه بزرگتر بود. دمای بهینه در نژاد برگریز ۲۷ و در نژاد غیربرگریز ۲۳ درجه سانتیگراد ارزیابی شد. نژاد برگریز در گیاهچه‌ی رقم ورامین پژمردگی شدیدی را ایجاد نمود درحالیکه نژاد غیربرگریز حالت کلروز و پژمردگی متوسطی را ایجاد کرد. در آزمون بیماریزایی در سرشاخه زیتون رقم زرد روغنی نژاد برگریز سبب لوله‌شدن و ریزش برگ‌ها شد اما نژاد غیربرگریز این عارضه را تولید نکرد.

واژه های کلیدی: برگریز، زیتون، غیربرگریز، *Verticillium dahliae*

مقدمه

پژمردگی ورتیسیلیومی زیتون اولین بار در سال ۱۹۴۶ از ایتالیا گزارش شد(۱۲). این بیماری یکی از مهم‌ترین بیماری‌های زیتون در سطح دنیاست و در حال حاضر در کشورهای ترکیه، سوریه، فلسطین، اسپانیا، ایتالیا، یونان، الجزایر و آمریکا خسارات فراوانی را ایجاد کرده است(۱۹).

این بیماری ابتدا در سال ۱۳۷۲ توسط حمدا... زاده در ایستگاه تحقیقات هاشم آباد گرگان مشاهده و در سال ۱۳۷۷، توسط رهنما و همکاران(۳) در درختان زیتون استان گلستان شناسایی شد. این بیماری سپس از دیگر نقاط ایران مانند مازندران،گیلان، ایوانکی در استان سمنان، مغان در استان اردبیل، سیستان و بلوچستان، بم، اصطهبان، مریوان، زنجان، کهگیلویه‌وبویراحمد گزارش شد(۱). لیگوکسیگاکیس و همکاران(۱۳) نشان دادند، جدایه‌های ورتیسیلیوم در زیتون از لحاظ شدت بیماریزایی با یکدیگر متفاوتند. ابوقمر و الرداد(۶)بیان نمودند جدایه‌های زیتون را

۱. کارشناس ارشد بیماری شناسی گیاهی، دانشیار گروه گیاهپزشکی- بخش تحقیقات آفات و بیماری های گیاهی‌دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی گرگان ، مربی مرکز تحقیقات کشاورزی و منابع طبیعی استان گلستان
*. نویسنده مسئول Email: karma-ra@yahoo.com

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

می‌توان بر اساس توانایی آنها در بی‌برگ کردن گیاه به دو دسته برگریز و غیربرگریز تقسیم کرد. آلودگی ایجاد شده توسط جدایه‌های برگریز می‌تواند برای گیاه کشنده باشد، اما آلودگی ایجاد شده با جدایه‌های غیربرگریز علائم خفیف‌تری را ایجاد می‌کند. مطابق گزارش لوپز-اسکودرو(۱۵) جدایه‌های برگریز شدت علائم بیشتری نسبت به جدایه‌های غیربرگریز داشته و مرگ زودرس گیاه را سبب می‌شوند. جدایه برگریز ۱۰۰-۷۰٪ مرگ گیاهان را در ۱۳ رقم از ۲۳ رقمی که تحت مایه کوبی قرار گرفته بودند سبب شد، درحالیکه جدایه غیربرگریز تنها در ۷ رقم زوال و خشکیدگی را ایجاد نمود. علائم بیماری همیشه در پاتوتیپ برگریز، شدیدتر بوده است. همچنین لوپز-اسکیودرو و همکاران گزارش کردند در مایه کوبی مصنوعی درختان زیتون با جدایه‌های غیربرگریز حالت کلروز از علائم عمومی و رایج بوده است؛ درحالیکه در گیاهانی که با جدایه‌های برگریز مایه کوبی شده بودند در ارقام مقاوم‌تر کلروز و در سایر ارقام، حالت برگریزی از ۴-۳ هفته پس از مایه کوبی و بدون بروز حالت کلروز، مشاهده شده است. همچنین پژمردگی ناگهانی مشخص همراه با پیچش و کلروز برگ‌ها، در گیاهانی که با جدایه‌های برگریز و غیربرگریز مایه کوبی شده بودند دیده شده است. آنها مشاهده نمودند که برگ‌ها نکروز شده و به شاخه‌ها متصل باقی مانده‌اند.

نژاد برگریز و غیربرگریز قارچ ورتیسیلیوم توسط حمدا...زاده از مزارع پنبه شمال ایران در استان گلستان گزارش شده است(۲). بررسی جدایه‌های برگریز و غیربرگریز قارچ ورتیسیلیوم از میزبان زیتون در استان گلستان به صورت خلاصه گزارش بوده (۵) ولیکن مطالعات کامل آن تاکنون ارائه نشده است. در خصوص مقایسه جدایه‌های برگریز و غیربرگریز در پنبه و زیتون نیز اطلاعاتی موجود نیست. تسرور و همکاران(۲۲) نشان دادند جدایه‌های پنبه قادر به ایجاد پژمردگی در زیتون و بالعکس در گیاه پنبه می‌باشند. همچنین جدایه‌های برگریز و غیربرگریز قارچ از پنبه در روی ارقام مختلف زیتون بیماریزایی مختلفی را نشان دادند. طبق بررسی‌های صانعی و همکاران(۴) در میان جدایه‌های ورتیسیلیوم زیتون در ایران اختلافات ریخت‌شناسی و ویژگی‌های بیماریزایی متفاوتی وجود دارد. این جدایه‌ها در دمای ۲۰ و ۲۵ درجه‌ی سانتیگراد سرعت رشد متفاوتی دارند. ولیکن لازم است با توجه به حضوربیماری پژمردگی ورتیسیلیومی در باغ‌های زیتون استان گلستان، خصوصیات جدایه‌ها بررسی گردد و بیماریزایی آنها در روی هر یک از میزبان‌های زیتون و پنبه مورد ارزیابی قرار گیرد. هدف از این مطالعه بررسی خصوصیات مرفولوژیک و بیماریزایی جدایه های برگریز *V.dahila* روی زیتون و مقایسه آن با همین خصوصیات روی پنبه بوده است.

مواد و روش ها

نمونه‌برداری از باغ‌های زیتون

در طی ماه‌های اردیبهشت تا شهریور۸۳ از ۱۴ باغ زیتون در منطقه گرگان بازدید و از درختان زیتون مشکوک به پژمردگی ورتیسیلیومی نمونه‌برداری شد. از هر درخت، ۶ قطعه شاخه آلوده به صورت تصادفی از قسمت‌های پایین، وسط و بالای درخت جدا شد. سپس نمونه‌ها علامت‌گذاری شده و به آزمایشگاه منتقل شدند.

نمونه‌برداری از پنبه

در دو مرحله بازدید از مزرعه تحقیقاتی کشت پنبه در منطقه‌ی کارکنده، از بوته‌های پنبه‌ی دارای علائم ریزش برگ و پژمردگی و بوته‌هایی با علائم خفیف، نمونه‌برداری به عمل آمد. جدایه‌های پنبه از بافت ساقهٔ بوته‌های بیمار جداسازی گردید.

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

جداسازی از بافت ساقه زیتون

جهت جداسازی قارچ عامل بیماری از دو روش ذیل استفاده گردید:

روش اول

حدود ۸ سانتیمتر از ساقه(با قطر حدود ۱۰-۶ میلیمتر) در محلول هیپوکلریت سدیم[1] ۰/۵ درصد (وایتکس ۵٪) فرو برده و پس از ۳-۲ دقیقه پوست ساقه گرفته شد و ۳ میلیمتر از هر انتها حذف گردید. سپس با کمک قیچی باغبانی استریل ساقه به قطعات ۵-۴ میلیمتری تقسیم و قطعات روی کاغذ صافی واتمن مرطوب درون ظروف پتری ۱۰ سانتیمتری قرار داده شد. پس از گذشت ۱۰-۴ روز قطعات ساقه از لحاظ داشتن ریسه‌های نرم و روشن در حال رویش از آوندها بررسی شدند. ریسه‌های رشد یافته به ظروف کشت حاوی محیط غذایی زاپک-داکس-آگار[2] دارای ۱۰۰ پی‌پی‌ام سولفات استرپتومایسین[3] انتقال داده شدند.

روش دوم

در این روش جهت ضدعفونی سطحی از اتانول[4] ۹۶ درصد استفاده گردید. به این منظور قطعه‌ای از ساقه به طول ۵ سانتیمتر را در اتانول فرو برده و سپس با پنس استریل در مجاورت شعله گرفته شد. سپس با کمک تیغ جراحی استریل پوست ساقه حذف شد. ۰/۵ سانتیمتر از هر انتها حذف و ساقه به قطعات ۴-۳ میلیمتری تقسیم گردید. قطعات بر روی محیط کشت نیمه‌انتخابی ورتیسیلیوم حاوی ۱۰۰ پی‌پی‌ام[5] سولفات استرپتومایسین کشت گردیدند.

نمونه‌ها پس از کشت در انکوباتور ۲۴ درجه سانتیگراد و شرایط تاریکی به مدت دو هفته نگهداری شدند.

جداسازی از ساقه پنبه

به منظور جداسازی قارچ ورتیسیلیوم از ساقه پنبه، ساقه به قطعات ۴-۳ سانتیمتری تقسیم و به مدت ۵-۴ دقیقه در محلول اتانول ۹۶ درصد فروبرده شد. سپس نمونه‌ها از محلول خارج گردید. ۰/۵ سانتیمتر از هر انتها حذف گردیده و بقیه قسمت‌ها به قطعات ۳-۲ میلیمتری تقسیم و در محیط زاپک-داکس-آگار حاوی ۱۰۰ پی‌پی‌ام سولفات استرپتومایسین کشت گردید.

شناسایی و خالص‌سازی

ریسه‌های رشد یافته با تهیه آموده‌های میکروسکوپی مورد بررسی قرار گرفتند. جنس قارچ با استفاده از کلید شناسایی قارچ‌های ناقص شناسایی شد. جهت تشخیص گونه از کلید تشخیص گونه‌های ورتیسیلیوم استفاده شد(۲۳،۱۰). جدایه‌ها با روش تک اسپوری خالص‌سازی شدند.

بررسی تاثیر دما بر رشدقارچ

به منظور بررسی تاثیر دما بر رشد قارچ، آزمایشی در قالب طرح کاملا تصادفی انجام یافت. به این منظور جدایه‌ها روی محیط زاپک-داکس-آگار کشت گردیدند. برای هر جدایه سه تکرار در نظر گرفته شد. رشد قارچ در دماهای ۱±۲۳، ۱±۲۵، ۱±۲۷ و ۱±۲۹ درجه سانتیگراد اندازه‌گیری و مقایسه شد. پس از گذشت ۱۰ روز قطر پرگنه‌ها با تعیین میانگین طول دو قطر عمود بر هم اندازه گیری شد(۲).

بررسی ابعاد میکرواسکلروت‌ها

طول و عرض میکرواسکلروت‌ها در جدایه‌های زیتون و پنبه، اندازه‌گیری شد. میکرواسکلروت‌ها به صورت تصادفی از

1. NaHClO
2. Czapeck-Dox-Agar
3. Streptomycin sulphate
4. Etanol
5. Part per milion

مرکز تا حاشیه پرگنه انتخاب شدند. طول و عرض ۵۰ میکرواسکلروت رشد یافته در محیط آب-آگار پس از گذشت ۳ هفته اندازه گیری و میانگین ابعاد آنها تعیین شد و با استفاده از آزمون LSD مورد مقایسه قرار گرفت.

آزمون بیماریزایی روی سرشاخه زیتون

کلیه جدایه‌های بدست آمده از پنبه و زیتون روی محیط سیب‌زمینی-دکستروز-آگار درون ظروف پتری به مدت یک هفته در دمای ۲۵ درجه سانتیگراد رشد داده شدند. پس از گذشت این مدت، به هر پتری ۵ سی‌سی آب مقطر استریل اضافه گردید. پس از شناورسازی اسپور قارچ در آب، غلظت سوسپانسیون اسپور به حدود ۴×۱۰^{۶} اسپور در میلی‌لیتر تنظیم شد. جهت انجام آزمون بیماریزایی مطابق روش تسرور و لوین(۲۲) مراحل ذیل انجام گردید:

سرشاخه‌هایی به طول ۲۵-۲۰ سانتیمتر از شاخه‌های جوان یکساله‌ی نهال‌های سالم فاقد علائم رقم زردروغنی جدا گردید. ابتدا برگ‌های ناحیه ۸ سانتیمتری پایین سرشاخه‌ها حذف و سپس در اتانول ۹۶ درصد به مدت ۵ دقیقه ضدعفونی سطحی گردیدند و سپس ساقه‌ها با فروبردن در محلول آب مقطر استریل، شستشو داده شدند و یک سانتیمتر قاعده ساقه با استفاده از چاقوی استریل حذف گردید. سرشاخه‌ها در لوله آزمایش حاوی سوسپانسیون اسپور قارچ قرار داده شدند. تیمار شاهد در آب مقطر استریل قرار گرفت. لوله‌های آزمایش به اتاقک رشد با نور دائمی و دمای ۲۵ درجه سانتیگراد و رطوبت ۷۵٪ منتقل شدند. آزمایش در قالب طرح کاملا تصادفی انجام شد. برای هر تیمار ۴ تکرار در نظر گرفته شد. در این آزمایش ۶ جدایه از پنبه و ۸ جدایه از زیتون مورد بررسی قرار گرفت. تیمارها در هفته پنجم پس از مایه کوبی، از لحاظ ظهور علائم و شدت بیماری بازدید شدند و شدت بیماری به روش شماره‌دهی(۲۱) از ۴-۰ تعیین شد. به این صورت که ۰=بدون علائم، ۱= لوله شدن حدود ۵۰٪ برگ‌ها، ۲= لوله شدن بیش از ۵۰٪ برگ‌ها و نکروز شدن برخی از آنها، ۳= نکروز شدن حدود ۹۰٪ برگ‌ها، ۴= خشک شدن کامل برگ‌ها یا ریزش برگ‌ها. جهت تعیین میزان اشغال شدن بافت سرشاخه‌ها توسط قارچ *V.dahliae*، قطعاتی از بافت ساقه از سه ناحیه‌ی پایین (ناحیه ۶ سانتیمتری قاعده ساقه)، ناحیه وسط(۱۲-۷ سانتیمتری)، بالا(۱۳ سانتیمتری) جدا و روی محیط زاپک-داکس-آگار کشت گردید. نمونه‌ها به مدت یک هفته در انکوباتور ۲۵ درجه سانتیگراد در شرایط تاریکی نگهداری شدند. میزان کلونیزاسیون بافت به روش چراب و همکاران(۸) با استفاده از فرمول زیر محاسبه گردید.

$$CI=(N_b*2 + N_m*4 + N_t*6)/ N$$

CI = شاخص کلونیزاسیون[1]

N_b = تعداد بخشهای آلودهٔ قطعه‌ی پایین ساقه

N_m = تعداد بخشهای آلودهٔ قطعه‌ی وسط ساقه

N_t = تعداد بخشهای آلوده‌ی قطعه‌ی بالای ساقه

N = تعداد کل قطعات

آزمون بیماریزایی در گیاهچه پنبه

تهیه مواد گیاهی

جهت تهیه گیاهچه‌های مورد نیاز برای آزمون بیماریزایی، بذر پنبه رقم ورامین از موسسه تحقیقات پنبه کشور تهیه گردید. سپس مطابق روش دایف و همکاران(۹) بذور پنبه ۵ دقیقه در محلول هیپوکلریت سدیم ۰/۵٪ ضد عفونی سطحی شده و با آب مقطر استریل شستشو داده شدند. سپس در روی کاغذ صافی مرطوب گذاشته و به مدت ۲۴ ساعت در شرایط آزمایشگاه نگهداری شدند. پس از این مدت بذور جوانه زده به گلدان‌های حاوی خاک استریل انتقال یافتند و سپس آبیاری گردیدند.

1. Colonization Index

جدول(۱) مشخصات جدایه‌های *V.dahliae* از زیتون و پنبه مورد استفاده در این تحقیق

ردیف	نام جدایه	تاریخ جمع آوری	میزبان	محل جمع آوری
۱.	B_1	۱۳۸۳/۴/۲۸	زیتون	هاشم آباد
۲.	B_4	۱۳۸۳/۴/۲۸	زیتون	هاشم آباد
۳.	D_3	۱۳۸۳/۴/۲۸	زیتون	جاده کردکوی
۴.	D_5	۱۳۸۳/۴/۲۸	زیتون	جاده کردکوی
۵.	D_7	۱۳۸۳/۴/۲۸	زیتون	جاده کردکوی
۶.	E_3	۱۳۸۳/۵/۱۱	زیتون	جاده علی آباد
۷.	E_4	۱۳۸۳/۵/۱۱	زیتون	جاده علی آباد
۸.	F_4	۱۳۸۳/۵/۱۳	زیتون	جاده کردکوی
۹.	G_1	۱۳۸۳/۷/۲۷	پنبه	کارکنده
۱۰.	G_2	۱۳۸۳/۷/۲۷	پنبه	کارکنده
۱۱.	G_3	۱۳۸۳/۷/۲۷	پنبه	کارکنده
۱۲.	G_4	۱۳۸۳/۸/۸	پنبه	کارکنده
۱۳.	G_5	۱۳۸۳/۸/۸	پنبه	کارکنده
۱۴.	G_6	۱۳۸۳/۸/۸	پنبه	کارکنده

تهیه مایه تلقیح

جدایه‌های زیتون روی محیط مایع سیب‌زمینی-دکستروز[1] و در دمای معمولی اتاق به مدت ۴-۳ روز کشت داده شدند. ارلن‌های حاوی محیط کشت، طبق روش رسندل و همکاران(۱۸) یک ساعت روی شیکر[2] با سرعت ۱۱۰ دور در دقیقه قرار داده شدند. کشت‌ها از پارچه ململ ۴ لایه اتوکلاو شده گذرانده شد. غلظت کنیدی‌ها با لام گلبول شمار(هماسیتومتر[3]) تعیین شد و با استفاده از آب مقطر استریل تا حدود 5×10^6 اسپور در میلی لیتر تنظیم گردید.

مایه کوبی گیاهچه ها

مایه کوبی گیاهچه‌ها به روش فرو بردن ریشه در سوسپانسیون اسپور قارچ انجام گرفت. گیاهچه‌های دو هفته‌ای از خاک خارج شده و یک ساعت تحت آب روان ریشه‌شویی شدند.آزمایش در قالب طرح کاملا تصادفی انجام شد. سپس برای هر جدایه، تعداد ۴ گیاهچه به مدت ۳۰ دقیقه در سوسپانسیون اسپور قرار داده شدند و گیاهچه‌های شاهد در آب مقطر استریل فرو برده شدند. سپس گیاهچه‌ها به گلدان‌های حاوی خاک اتوکلاو شده (خاک لومی رسی+ ماسه+ خاکبرگ به نسبت ۱:۱:۱) منتقل و در شرایط آزمایشگاه با دمای ۲۵ درجه سانتیگراد نگهداری شدند. پس از سه هفته، علائم بیماری ظاهر شده و به روش شماره‌دهی ثبت گردید. سپس میانگین علائم ظاهر شده در تیمارها با استفاده ا آمون LSD مورد مقایسه قرار گرفت. در این روش شماره ۰=گیاه سالم و فاقد علائم، ۱= زردی و نکروز قسمتی از لپه، ۲= ریزش لپه، ۳= زردی در برگ، ۴= برگ پژمرده یا مرده، ۵= ریزش برگ یا برگ شدیدا لوله بود.

شاخص کلونیزاسیون

در پایان آزمایش از ساقه گیاهچه‌ها نمونه‌برداری شده و روی محیط زاپک-داکس-آگار حاوی ۱۰۰ پی‌پی‌ام

1. Potato-Dextrose-Broth
2. Shaker
3. Hemocitometer

سولفات‌استرپتومایسین کشت گردید. درصد جداسازی مجدد قارچ از بافت به عنوان شاخص کلونیزاسیون تعیین گردید و با استفاده از آزمون LSD در بین تیمارها مورد مقایسه قرار گرفت.

$$CI=(N/Total) \times 100$$

Cl[1]= شاخص کلونیزاسیون

N= تعداد قطعه آلوده

Total= کل قطعه ها

نتیجه

از درختان زیتون مشکوک به آلودگی ورتیسیلیومی ۱۴ باغ در منطقه گرگان، ۴۴ نمونه جمع‌آوری شد، و ۸ جدایه خالص‌سازی گردید. تمامی جدایه‌ها از شاخه‌های پایینی و از ساقه‌هایی با قطر بیش از ۱۰ میلیمتر جداسازی گردیدند. قارچ ورتیسیلیوم ۱۰-۵ روز پس از کشت نمونه‌های زیتون جداسازی گردید. جهت جداسازی قارچ از بافت آلودهٔ زیتون، روش ضد عفونی سطحی با اتانول نسبت به روش ضد عفونی با هیپوکلریت‌سدیم ۰/۵٪ نتیجه بهتری داشت. به طوریکه از ۸ جدایه‌ی بدست آمده‌ی زیتون، ۶ جدایه با روش نخست و ۲ جدایه با هر دو روش جداسازی گردیدند.

در نمونه‌برداری از مزارع پنبه‌ی منطقه کارکنده ۱۲ نمونه جمع‌آوری گردیده و ۱۰ جدایه خالص‌سازی شد. در نمونه‌های پنبه ۲ روز پس از کشت ریسه‌های قارچ ورتیسیلیوم مشاهده و خالص‌سازی گردیدند.

بررسی ابعاد میکرواسکلروت‌ها

جهت تعیین ابعاد میکرواسکلروت‌ها، طول و عرض ۵۰ میکرواسکلروت از هر جدایه پس از گذشت سه هفته بر روی محیط آب-آگار اندازه گیری شد. ابعاد میکرواسکلروت‌ها در ۸ جدایه‌ی زیتون و ۶ جدایه‌ی پنبه اندازه‌گیری شد(جدول۲). دامنه تغییرات ابعاد میکرواسکلرت‌ها در جدایه‌های زیتون (۱۰۵-)۴۰-۳۰(-۱۰)×(۵۵۵-)۱۳۷-۸۳(-۲۵) میکرون اندازه‌گیری شد. میانگین طول و عرض در جدایه‌های زیتون ۲۳×۱۰۲ میکرون و به طور متوسط نسبت طول به عرض[2] آنها ۵/۴ بود. در میان جدایه‌های زیتون جدایه D_5 با نسبت طول به عرض ۷/۹۶ دارای کشیده‌ترین و جدایه E_4 با نسبت طول به عرض ۲/۶ دارای کوتاه ترین میکرواسکلروت‌ها بودند.

دامنه تغییرات ابعاد میکرواسکلروت‌ها در جدایه‌های پنبه (۵۰-)۳۰-۱۰(-۲/۵)×(۱۵۰-)۱۰۰-۳۰(-۲۰) میکرون بود. میانگین طول و عرض در میان جدایه‌ها ۲۱×۵۸ میکرون و نسبت طول به عرض به طور متوسط ۳/۵ بوده است. در میان جدایه‌های پنبه، جدایه G_5 با داشتن نسبت طول به عرض ۷/۶ دارای کشیده‌ترین و جدایه G_6 با نسبت ۱/۹ دارای کوتاه‌ترین میکرواسکلروت‌ها بودند. به طور کلی ابعاد میکرواسکلروت‌ها در جدایه‌های زیتون نسبت به جدایه‌های پنبه بزرگتر بود(شکل۲). میانگین طول میکرواسکلروت‌ها در جدایه‌های پنبه ۵۸ میکرون بود در حالیکه در جدایه‌های زیتون این اندازه به ۱۰۲ میکرون می‌رسید(شکل۱).

میزان رشد در دماهای مختلف

رشد جدایه‌ها در دماهای۱±۲۳، ۱±۲۵، ۱±۲۷ و ۱±۲۹ درجه‌ی سانتیگراد اندازه‌گیری شد(شکل۳و۴). در دمای ۲۳ درجه سانتیگراد از میان جدایه‌های زیتون، جدایه E_4 دارای بالاترین رشد و جدایه E_3 دارای پایین‌ترین رشد بودند. در میان جدایه‌های پنبه جدایه G_6 حداکثر و جدایه G_1حداقل رشد را از خود نشان دادند.

در دمای ۲۵ درجه سانتیگراداز میان جدایه‌های زیتون جدایه D_5بیشترین و جدایه E_3کمترین رشد را دارا بودند. در میان

1. Colonozation Index

2. L/W: (Length/ Width)

جدایه‌های پنبه جدایه G_3حداکثر رشد و جدایه G_1 حداقل رشد را از خود نشان دادند. در دمای ۲۷ درجه سانتیگراد از میان جدایه‌های زیتون جدایه F_4 حداکثر رشد و جدایه E_3 حداقل رشد را دارا بودند. همچنین در میان جدایه‌های پنبه جدایه G_5 حداکثر و جدایه G_1 حداقل رشد را از خود نشان دادند. تمامی جدایه‌ها در ۲۹ درجه سانتیگراد کاهش رشد داشتند.

بررسی بیماریزایی جدایه‌های زیتون روی گیاهچه پنبه

شدت بیماری و شاخص کلونیزاسیون

جدایه‌های F_4 و D_5 سبب مرگ کامل گیاهچه و جدایه‌های B_4، D_7 و D_3 سبب پژمردگی شدید آن شدند. سایر جدایه‌های E_3، E_4 و B_1 تا حد متوسطی بیماریزا بودند. جدایه‌ها در سطح ۵٪ اختلاف معنی‌داری با یکدیگر داشتند. (شکل۷).

در جدایه B_4 به میزان ۱۰۰٪ و در جدایه‌های D_3،E_4 و D_7 ۶۰-۴۰ ٪ جداسازی مجدد انجام یافت این شاخص در سایر جدایه‌ها حدود ۳۰-۱۰٪ بود. تمامی جدایه‌ها در سطح ۵٪ دارای اختلاف معنی‌داری بودند (شکل۸).

آزمون بیماریزایی روی سرشاخه زیتون

ارزیابی شدت بیماری

پس از مایه کوبی و بررسی علائم میزان بیماری ایجاد شده به روش شماره گذاری تعیین شد. در این آزمون جدایه‌های G_5 از پنبه و جدایه F_4 از زیتون بالاترین بیماریزایی را در سرشاخه ایجاد نمودند و سبب خشکیدگی کامل سرشاخه شدند. جدایه‌های D_3، E_3، E_4 و G_4 دارای بیماریزایی کمتری بودند و با یکدیگر اختلاف معنی داری نداشتند. این جدایه‌ها سبب ایجاد پژمردگی متوسط و لوله شدن در برگها شدند. جدایه‌های B_1، D_5، G_1، G_2 و G_3 نسبت به سایر جدایه‌ها بیماریزایی کمتری داشتند. جدایه‌های D_7، B_4 و G_6 دارای کمترین بیماریزایی بودند. به طور کلی همه جدایه‌های ورتیسیلیوم از زیتون و پنبه روی رقم زرد روغنی بیماریزا بودند و علائم بیماری را به صورت مختلف ظاهر ساختند(شکل۵) جدایه‌ها در سطح ۵ درصد دارای اختلاف معنی داری بودند(جدول۳).

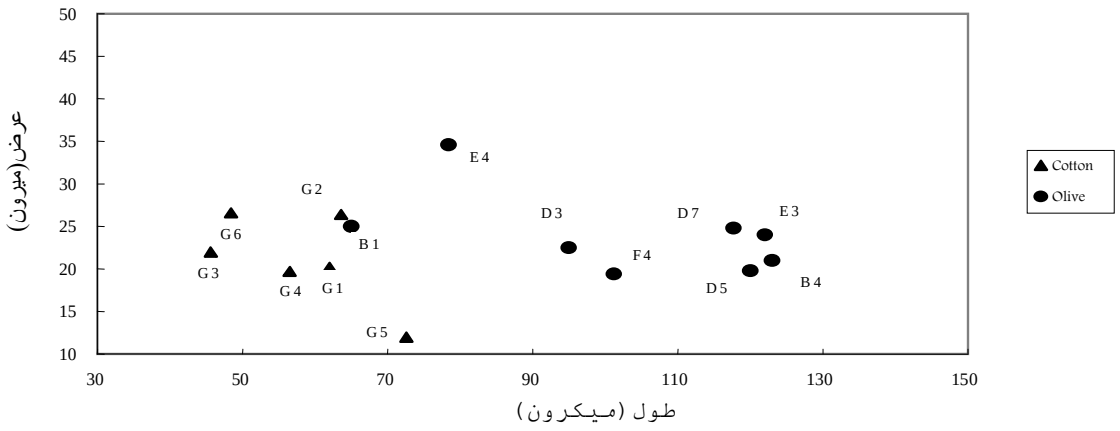
میزان کلونیزاسیون بافت

درصد کلونیزاسیون بافت در پایان آزمایش تعیین شد. جدایه E_3 دارای بیشترین و جدایه G_5 دارای کمترین میزان کلونیزاسیون بودند. جدایه‌ها از لحاظ درصد کلونیزاسیون در سطح ۵٪ با یکدیگر و با شاهد اختلاف معنی‌داری داشتند(جدول۴).

در جدایه‌های E_3، E_4 و F_4 به ترتیب درصد کلونیزاسیون در بالاترین مقدار خود بود. سایر جدایه‌ها اختلاف معنی داری با هم نداشتند. تمامی جدایه‌ها دارای اختلاف معنی داری با شاهد بودند(شکل۶).

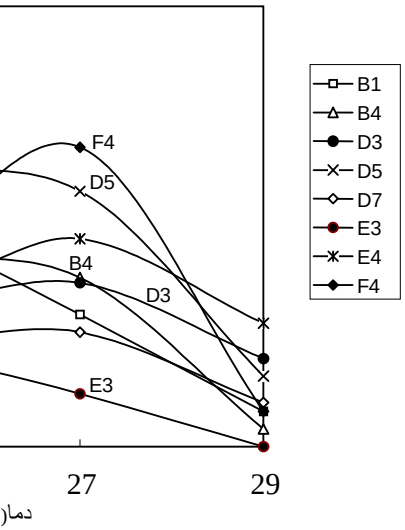
جدول (۲) ابعاد میکرواسکروتها در جدایه‌های قارچ *V.dahliae* از زیتون و پنبه پس از ۲۱ روز نگهداری در محیط آب-آگار (جدایه‌های ردیف ۸-۱ از زیتون و جدایه‌های ردیف ۱۴-۹ از پنبه جداسازی شده اند) میانگین‌هایی که با حروف مشابه نشان داده شده‌اند در سطح ۵٪ دارای اختلاف معنی‌داری نیستند.

ردیف	جدایه ها	طول(میکرون)	عرض(میکرون)	دامنه تغییرات ابعاد میکرواسکلروتها(میکرون)	نسبت طول به عرض (L/W)
.۱	B_1	۶۵/۰۶±۳/۹۵^{cde}	۲۵/۸۴±۱/۸۷^{b}	۲۵/۰-۱۴۵/۵×۷/۵-۴۰	۳/۲۰ ±۰/۳۲^{de}
.۲	B_4	۱۲۰/۰±۷/۲۴^{a}	۱۹/۸۰±۱/۲۶^{e}	۴۲/۵-۲۴۲/۵×۱۰-۴۲/۵	۷/۰۷ ±۰/۶۴^{abc}
.۳	D_3	۹۵/۲۲±۵/۶۴^{b}	۲۱/۵۶±۱/۹۵^{de}	۴۰/۰-۲۲۵/۰×۷/۵-۵۰	۶/۷۰ ±۰/۷۶^{abc}
.۴	D_5	۱۲۳/۷±۹/۵۰^{a}	۲۱/۱۰±۱/۸۷^{de}	۷۵/۰-۳۰۰/۰×۲۵-۱۰۰	۷/۹۶ ±۱/۰۰^{a}
.۵	D_7	۱۱۷/۷±۱۲/۱^{a}	۲۴/۸۰±۱/۶۴^{bc}	۴۵/۰-۵۵۵/۰×۱۰-۶۲/۵	۶/۲۲±۰/۷۸^{c}
.۶	E_3	۱۲۲/۰±۳/۱۰^{a}	۲۴/۰۰±۱/۲۰^{b}	۸۳/۰-۲۸۶/۰×۳۰-۱۰۵	۳/۴۵ ±۰/۶۲^{d}
.۷	E_4	۷۸/۴۰±۳/۸۸^{c}	۳۴/۶۵±۱/۶۲^{a}	۴۵/۰-۱۳۷/۰×۱۲/۵-۵۷/۵	۲/۶۲±۰/۲۳^{de}
.۸	F_4	۱۰۱/۲±۸/۹۶^{b}	۱۹/۴۵±۱/۰۴^{e}	۲۰/۰-۲۲۷/۰×۱۰-۴۰	۶/۵۸ ±۰/۸۳^{bc}
.۹	G_1	۶۲/۰۰±۳/۲۲^{def}	۲۰/۲۰±۰/۹۸^{e}	۳۰/۰-۱۲۰/۰×۱۰-۴۰	۳/۶۹ ±۰/۳۱^{d}
.۱۰	G_2	۶۳/۶۰±۴/۶۰^{cdef}	۲۶/۴۰±۰/۹۷^{b}	۳۰/۰-۱۵۰/۰×۲۰-۴۰	۲/۶۰ ±۰/۲۶^{de}
.۱۱	G_3	۴۵/۶±۲/۳۰^{g}	۲۲/۰۰±۰/۸۴^{cde}	۲۰/۰-۹۰/۰۰×۱۰-۳۰	۲/۳۷ ±۰/۲۱^{de}
.۱۲	G_4	۵۶/۵ ± ۳/۱۰^{efg}	۱۹/۷۰±۰/۹۲^{e}	۲۰/۰-۱۲۰/۰×۱۰-۳۰	۳/۲۵ ±۰/۳۱^{d}
.۱۳	G_5	۷۲/۶ ± ۴/۹^{cd}	۱۲/۰۰±۰/۸۴^{f}	۲۰/۰-۱۵۰/۰×۲/۵-۴۰	۷/۶۰ ±۰/۹۰^{b}
.۱۴	G_6	۴۸/۴ ± ۲/۳^{fg}	۲۶/۶۰±۰/۹۲^{b}	۲۰/۰-۱۰۰/۰×۲۰-۵۰	۱/۹ ±۰/۱۰^{e}
	LSD=5%	۱۵/۴۹	۳/۲۶		۱/۳

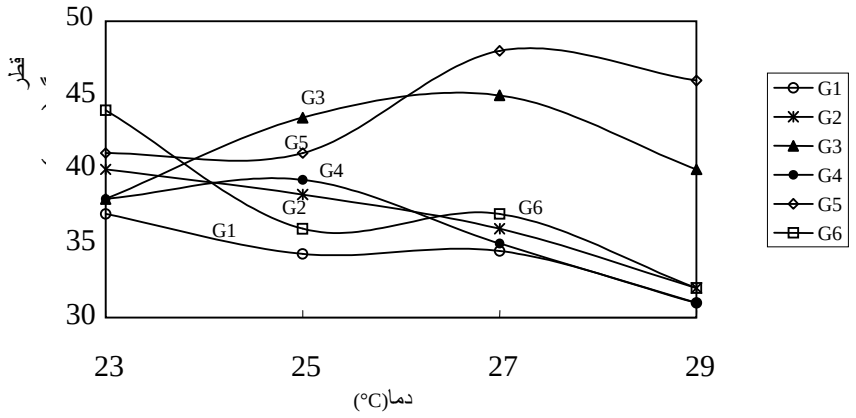


شکل(۱) مقایسه ابعاد میکرواسکلروت‌ها در جدایه‌های زیتون و پنبه قارچ*Verticillium dahliae* پس از ۲۱ روز نگهداری در محیط آب-آگار.

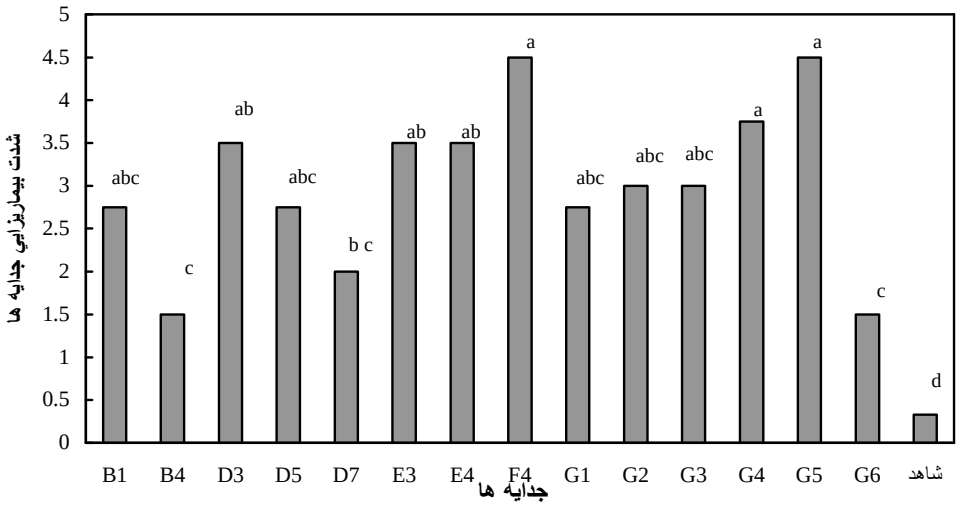
شکل(۲) میکرواسکلروت کشیده در نژاد برگریز(جدایهF_4) قارچ *V. dahliae* (۱۰۰*)(راست) و میکرواسکلروت گرد در نژاد غیربرگریز(جدایهB_1) قارچ *V. dahliae* (۶۰۰*)(چپ)



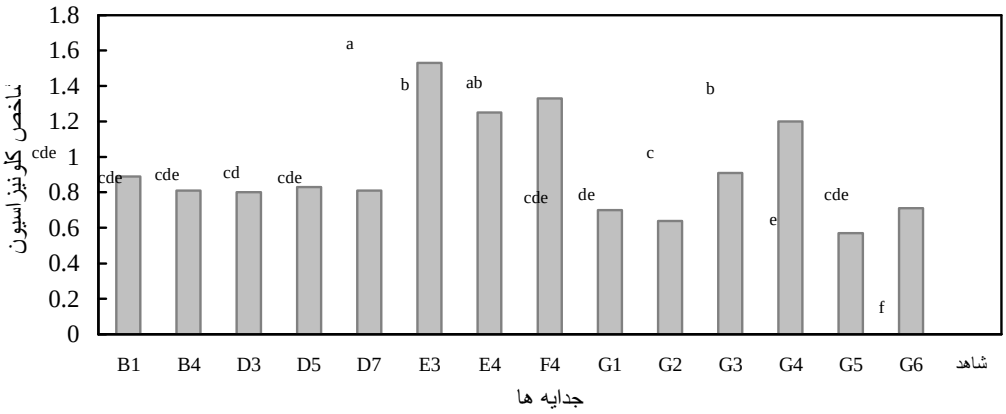
نمودار(۳) رشد جدایه‌های زیتون قارچ *V. dahliae* در دماهای ۲۳، ۲۵،۲۷ و ۲۹ درجه سانتیگراد پس از ۱۰ روز نگهداری در محیط زاپک-داکس-آگار



نمودار(۴) رشد جدایه‌های پنبه در دماهای ۱±۲۳، ۱±۲۵، ۱±۲۷ و ۱±۲۹ درجه سانتیگراد پس از ۱۰ روز در محیط زاپک-داکس-آگار



نمودار(۵) میزان بیماریزایی جدایه‌های پنبه و زیتون در سرشاخه‌ی زیتون رقم زردروغنی پس از ۳۵ روز. سرشاخه‌های زیتون رقم زرد (سرشاخه نهال یکساله به طول ۲۵-۲۰ سانتیمتر) با فرو بردن در سوسپانسیون اسپور قارچ ($۴*۱۰^{۶}$ اسپور در میلی لیتر) مایه کوبی گردید. سرشاخه‌های شاهد در آب مقطر استریل قرار داده شدند. سرشاخه‌ها در اتاقک رشد نگهداری گردیدند(۲۵ درجه سانتیگراد، نور ثابت، رطوبت نسبی ۷۵٪).میانگین‌هایی که با حروف مختلف نشان داده شده‌اند در آزمون LSD دارای اختلاف معنی داری می‌باشند($P<0.05$)



نمودار(۶) درصد کلونیزاسیون بافت سرشاخه زیتون رقم زرد روغنی توسط جدایه‌های زیتون و پنبه قارچ *Verticillium dahliae* پس از گذشت ۳۵ روز در اتاقک رشد(دما ۲۵ درجه سانتیگراد، نور ثابت، رطوبت نسبی ۷۵٪) میانگین‌هایی که با حروف مختلف نشان داده شده‌اند در آزمون LSD دارای اختلاف معنی داری می‌باشند(P<0.05)

جدول(۳) مقایسه میانگین شدت بیماری ایجاد شده توسط جدایه‌های زیتون و پنبه قارچ *V.dahliae* در سرشاخه زیتون رقم زرد روغنی

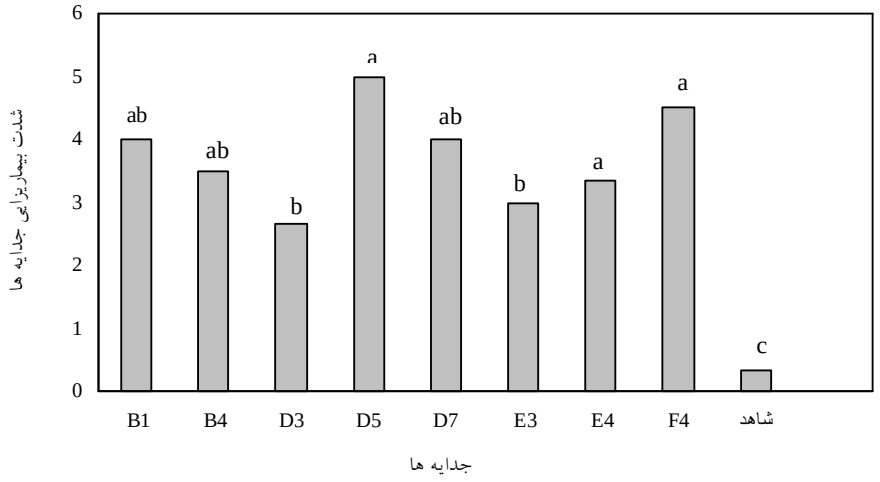
منبع تغییرات	درجه آزادی	مجموع مربعات	میانگین مربعات	Fvalue
جدایه	۱۴	۷۳/۴	۵/۲۴	۳/۵
خطا	۴۵	۶۷/۵	۱/۵	
کل	۵۹	۱۴۰/۹		

بر اساس آزمون LSD در سطح ۵٪ تفاوت بین میانگین‌ها معنی دار است. (۴۲/۲٪= ضریب تغییرات)

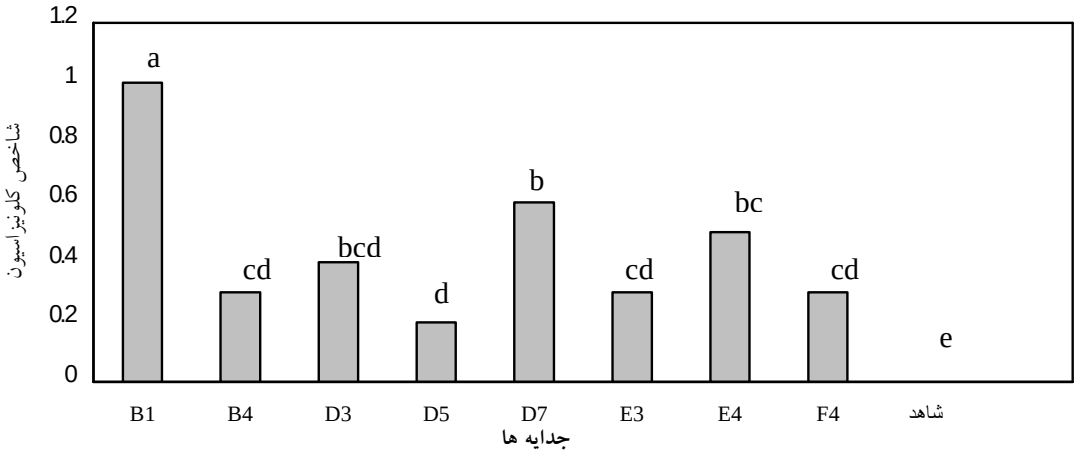
جدول(۴) مقایسه میانگین شاخص کلونیزاسیون جدایه‌های زیتون و پنبه قارچ *V.dahliae* در سرشاخه زیتون رقم زرد روغنی

منبع تغییرات	درجه آزادی	مجموع مربعات	میانگین مربعات	Fvalue
جدایه	۱۴	۵/۶۱	۰/۴	۱۸/۳۶
خطا	۳۰	۰/۶۵	۰/۰۲	
کل	۴۴	۶/۲۶		

بر اساس آزمون LSD در سطح ۵٪ تفاوت بین میانگین‌ها معنی‌دار است. (۱۷/۰۷٪= ضریب تغییرات)



نمودار (۷) شدت بیماری ایجاد شده در گیاهچه پنبه رقم ورامین توسط جدایه‌های زیتون قارچ *V. dahliae* پس از ۲۱ روز(در بین تیمارها با حروف مشابه اختلاف معنی داری وجود ندارد$P=0.05$).



نمودار(۸) درصد کلونیزاسیون در بافت ساقه گیاهچه پنبه رقم ورامین توسط جدایه‌های زیتون قارچ *V. dahliae* پس از ۲۱ روز(در بین تیمارها با حروف مشابه اختلاف معنی داری وجود ندارد $P=0.05$).

بحث

در بررسی خصوصیات جدایه‌های زیتون جدایه هایی با بیماریزایی بالا و جدایه هایی با بیماریزایی ضعیف مشاهده گردید. جدایه‌های دارای بیماریزایی بالا، بیشترین رشد را در دمای ۲۷ درجه سانتیگراد داشتند. صانعی و همکاران(۴) نیز نشان داده‌اند که جدایه‌های ورتیسیلیوم تهیه شده از زیتون در دماهای ۲۰ و ۲۵ درجه سانتیگراد سرعت رشد متفاوتی دارند. حمدا... زاده(۲) با مطالعه جدایه‌های پنبه گزارش نمود جدایه‌های برگریز بیشترین رشد را در ۲۷ درجه و جدایه‌های غیربرگریز بیشترین رشد را در ۲۳ درجه سانتیگراد دارند. دایف و همکاران(۹) اختلافات موجود در بیماریزایی نژادهای ورتیسیلیوم را به سازگاری ایجاد شده در آنها در دماهای مختلف نسبت دادند و بیان نمودند این امر بر توزیع پاتوتیپ‌های برگریز و غیربرگریز در دنیا تاثیرگذار است.

همچنین بیان نمودند پاتوتیپ‌های برگریز نسبت به پاتوتیپ‌های غیربرگریز دامنه حرارتی بالاتری را تحمل می‌کنند و دما بر روی قدرت بیمارگری قارچ در گیاه تاثیر دارد.

در میان جدایه‌های مورد بررسی جدایه هایی با میکرواسکروتهای به مراتب کشیده تر با نسبت طول به عرض۷-۶ نسبت به دیگر جدایه‌ها مشاهده شد. این جدایه‌ها در آزمون بیماریزایی در سرشاخه زیتون و گیاهچه پنبه بیشترین بیماریزایی را داشتند. درحالیکه جدایه‌های دارای میکرواسکلروتهای کوتاه بیماریزایی کمتری را از خود نشان دادند. حمدا... زاده(۲) در بررسی گیاه پنبه، گزارش نمود جدایه‌های برگریز در پنبه دارای میکرواسکروت‌های کشیده و جدایه‌های غیربرگریز دارای میکرواسکروت‌های گرد هستند. این یافته‌ها همچنین با نظر بلانکولوپز و همکاران(۷)در خصوص اشکال میکرواسکلروت در نژادهای بیمارگر مطابقت دارد.در مقایسه ابعاد میکرواسکلروت‌ها در جدایه‌های زیتون و پنبه، ابعاد میکرواسکلروت در جدایه‌های زیتون نسبت به جدایه‌های پنبه بزرگتر بود که این خود نشان‌دهنده‌ی وجود تفاوت در نژادهای بیمارگر زیتون و پنبه است. تحقیقات انجام شده روی گروه‌های سازگار رویشی این قارچ نیز در چند سال اخیر وجود یک تنوع ژنتیکی معنی‌دار را در جمعیت‌های قارچ *V. dahliae* نشان می‌دهد(۱۱،۱۷).

جدایه‌های برگریز در سرشاخه‌ی زیتون رقم زردروغنی سبب لوله شدن کامل، نکروز برگها و ریزش برگ و حتی خمیدگی در سرشاخه شدند. درحالیکه جدایه‌های غیربرگریز سبب لوله شدن برگ‌ها و نکروز، بدون ریزش و خم شدگی سرشاخه شدند. لوپز-اسکودرو و همکاران(۱۴) با مایه کوبی مصنوعی جدایه‌های زیتون مشاهده کردند جدایه‌های برگریز علائم ظاهری بیشتری نسبت به جدایه‌های غیربرگریز در میزبان بروز داده و مرگ زودرس گیاه را سبب می‌شوند. لیگوکسیگاکیس و همکاران(۱۳) نیز وجود گوناگونی بیماریزایی را در جدایه‌های زیتون گزارش نمودند. صانعی و همکاران(۴) بیان نمودند، در میان جدایه‌های زیتون در ایران، اختلافات ریخت‌شناسی و بیماریزایی متفاوتی وجود دارد که تایید کننده‌ی این نتایج است.

غالب جدایه‌های پنبه علائم خفیف‌تری را نسبت به جدایه‌های زیتون در روی سرشاخه‌ی زیتون ایجاد نمودند. رسندل و همکاران(۱۸) نیز گزارش نموده‌اند جدایه‌های ورتیسیلیوم در میزبان اصلی بیمارگرترند.

در بررسی درصد کلونیزاسیون بافت توسط جدایه‌ها در سرشاخه زیتون و گیاهچه‌ی پنبه، میان شدت بیماری و درصد کلونیزاسیون ارتباط مستقیمی وجود داشت. جدایه‌های برگریز با ایجاد بیشترین علائم، درصد کلونیزاسیون بالایی را نیز به خود اختصاص دادند. مرکادو-بلانکو و همکاران(۱۶) نیز با بررسی مقدار DNA قارچ در ژنوتیپ‌های حساس و مقاوم زیتون نشان دادند این مقدار با میزان حساسیت یا مقاومت رقم به پژمردگی ورتیسیلیومی همبستگی دارد، ولی نسبت کمتری به قدرت بیماریزایی پاتوتیپ آلوده‌کننده قارچ دارد و اظهار داشتند میزان گسترش آلودگی در بافت توسط عامل بیماریزا، لزوما قدرت بیماریزایی آنرا تعیین نمی‌کند.

در بررسی بیماریزایی در گیاهچه‌ی پنبه رقم ورامین، جدایه‌ها سبب لوله شدن شدید برگ و خم‌شدگی گیاهچه شدند. این حالت با گزارش چراب و همکاران(۸) در خصوص واکنش پنبه به جدایه‌های زیتون مطابقت دارد. آنها با انجام آزمون بیماریزایی جدایه‌های زیتون بر روی ۴ گونه گیاهی مشاهده کردند این جدایه‌ها در روی پنبه و بادنجان آلودگی شدیدی را ایجاد می‌کنند، علائم در گوجه‌فرنگی به صورت ضعیف تا متوسط ایجاد شد ولی هیچ جدایه‌ای روی فلفل علائم بیماری را ایجاد ننمود.

منابع

۱. افشاری‌آزاد، ه.، م. ر. معینی، م. صلاتی و س. ع. میرحسینی‌مقدم. ۱۳۷۹. بررسی وضعیت آلودگی درختان مادری زیتون به عوامل خسارتزای قارچی، باکتریایی و ویروسی استان‌های مختلف کشور. گزارش پژوهشی موسسه تحقیقات آفات و بیماریهای گیاهی کشور. ۱۲۰ صفحه.

۲. حمد ا... زاده، ا. ۱۳۷۲. ویژگیهای نژادهای برگریز و غیر برگریز قارچ *V. dahliae* عامل پژمردگی پنبه در شمال ایران. بیماریهای گیاهی. ۲۹ (۳و۴). صفحات ۱۲۵-۱۲۱.

۳. رهنما، ک.، س. ا. رضوی، ن. لطیفی و ح. زارعی. ۱۳۷۷. بررسی وقوع خشکیدگی درختان زیتون در استان گلستان. خلاصه مقالات سیزدهمین کنگره گیاهپزشکی ایران. صفحه ۲۲۲.

۴. صانعی، س. ج.، س. م. اخوت، ق. حجارود و م. ج. نیکخواه. ۱۳۸۲. بهره گیری از پراکنش روزنه های برگی در ارزیابی مقاومت درختان زیتون به پژمردگی ورتیسیلیومی در برنامه های اصلاحی.سومین همایش ملی توسعه ی کاربرد مواد بیولوژیک و استفاده بهینه از کود و سم در کشاورزی. صفحه ۵۹۳

۵. عطار، ل.، ک. رهنما و م. صلاتی. ۱۳۸۵. بررسی جدایه‌های برگریز و غیربرگریز قارچ *Verticillium dahliae* Kleb. در باغات زیتون استان گلستان. خلاصه مقالات هفدهمین کنگره گیاهپزشکی ایران. صفحه ۳۰۴.

6. Abu-qamar, M. and A. Al-Raddad. 2001. Integrated control of Verticillium wilt of olive with cryptonol in combination with a solar chamber and fertilizer. Phytoparasitica. 29(3): 1-8.
7. Blanco-Lopez , M. A. , J. Hiemstra. , D. Harris. , F. J. Lopez-Scudero. and P. Antoniou. 1998. Selection and screening for host resistance.In: Hiemstra J and Harris.D.(eds) Compendium of Verticillium Wilt in Tree Species (pp 51-54) Ponsen & Looijen, Wageningen the Netherlands.
8. Cherrab. M.، A. Bennani.، P. M. Charest. and M. N. Serrhini. 2002. Pathogenicity and vegetative compatibility of *Verticillium dahliae* Kleb. Isolates from olive in Morocco. J Phytopath. 150(11-12):703.
9. Daayf, F. , Nicole. M. and J. P. Geiger. 1995. Differentiation of *Verticillium dahliae* populations on the basic of vegetative compatibility on colon. Buletin OEPP. 101(1)، 69-79.
10. Goud, J-K. c. , J. Termorshuizen and W. Gams. 2003. Morphology of *Verticillium.dahliae* and *V.tricorpus* on semi-selective media used for the detection of *V.dahliae* in soil. Mycol Res. 107(7): 822-830.
11. Korolev. N.، Katan، J. and Katan، T. 2000. Vegetative compatibility groups of *Verticillium dahliae* in Israel their distribution and association with pathogenicity. Phytopathology. 90: 529-536.
12. Levine, A. G. , S. Lavee. and L. Tsror. 2003a. Epidemiology of *Verticillium dahliae* on olive and its effect on yield under saline conditions. Plant Path. 52:212-218.
13. Ligoxigakis. E. k.، D. J. Vakalounakis. 1992. Occurance of race 2 of *verticillium dahliae* on tomatoes in cretes. Plant Path. 41:774_776
14. Lopez-Escudero، F. J.، and Blanco-Lopez، M. A. 2001. Effects of a single or double soil solarization to control of Verticillium wilt in established olive orchards in Spain. Plant Dis. 85: 482-486.
15. Lopez-Escudero. F. J.، C. Del Rio.، J. M. Caballero. and M. A. Blanco-Lopez. 2004. Evaluation of olive cultivars for resistance to Verticillium dahliae. Eu J Plant Pathol. 110: 79-85.
16. Mercado-Blabco. J.، M. Collado-Remeroa، S. Parrilla-Araujoa، D. Rodreguez-Jurado. R.M.Jeimenez-Diaz. 2003. Quantitative monitoring of colonization of olive genotypes by *Verticillium dahliae* Pathotypes with real-time polymerase chain reaction. Phys Mol Plant Pathol. 63(2) : 91-105.

17. Perez-Lara. C.، E. Perez-Artes And R. M. Jimenes-Diaz. 1995. Used ofRAPD to characteris cotton defoliating and nondefoliating isolates of *Verticillium dahliae*. 6 th International Verticillium Symposium. Israel. Phytoparasitica 23:41pp
18. Resendle. M. L.، V. My. Flood and R. M. Cooper. 1994. Host specialization of *Verticillium dahliae* with emphasis on isolates from cocoa(*Teobrama cacao*). Plant Path. 48: 104-111.
19. Rodriguez-Jurado, D. , M. A. Blanco-Lopez. , H. E. Rapoport. and R. M. Jimenez-Diaz. 1993. Present status of Verticillium wilt of olive in Andalucia(southern of Spain). EPPO Bulletin 23: 513-516
20. Singleton. l. l.، M. Jeanne، D. Rush and M. Charles. 1992. Methods for research on soil born phytopathogenic fungi. APS Press. Second Printing. 175-178.
21. Thanassoulopoulos, C. C. , Biris. D. A. and E. C. Tjamos. 1979. Survay of verticillium wilt of olive trees in Greec. Plant Disease Reporter. 63: 936-940
22. Tsror، L and A. G. Levin. 2003. Vegetative compatibility and pathogenicity of *Verticillium dahliae* isolates from olive in Israel. J Phytopathology. 151: 451-455.
23. Zare. R. , W. Gams and H. C. Evans. 2002. Avervision of Verticillium sect. Prostrata Verticiliium. The genus Pochonia. Nova Hedwigia 73: 51-86

Study pathogenicity of defoliate and non-defoliate isolates of *Verticillium dahliae* kleb of olive trees in orchards of Golestan province

L. Attar– K. Rahnama* – M. Salati[1]

Abstract

Verticillium dahliae is the causal agent of verticillium wilt of olive trees in Golestan province. Based on sampling of twigs from various area of olive orchards such as:Hashem-Abad,Kordkoy Road, Ali-Abad Road, Shastkalate, Toshan, Karkande and Alang. Defoliate and Non-defoliate isolates were determined by significant differences in reaction of optimum temperature, dimension of microsclerotia, reaction of cotton(CV Varamin)seedling, and pathogenicity of olive(CV Zard-Roghani) twigs. Elongated microsclerotia produced by defoliate isolates in Water-agar medium rather than by non-defoliate isolates. Dimension of microsclerotia in olive isolates was112×28µ significantly larger than cotton isolates 58×21µ. Optimum temprature in defoliate and non-defoliate isolates were 27^{oc} and 23^{oc} respectively. Defoliate isolates of cotton on Varamin cultivar seedlings occured severe wilting, while non-defoliate isolates showed symptom of chlorosis with mild wilting. In pathogenicity test with defoliate isolate on the twigs of olive trees Zard-Roghani cultivar caused rolling and twisting of leaves.

Key words: Defoliate, Non-defoliate, Olive,*Verticillium dahliae*

* Corresponding author Email: kamran-ra@yahoo.com

1. Department of Plant Protection,University of Agricultural science and Natural resources,Gorgan,Iran. Research Center of Agriculture and Natural resources of Golestan Province,Gorgan,Iran.