مجله پژوهش‌های پنبه ایران
جلد دوم، شماره دوم، ۱۳۹۳
۵۹-۷۳
www.jcri.ir

همه‌گیرشناسی بیماری پژمردگی ورتیسیلیومی پنبه: تنوع بیماری‌زایی جدایه‌های قارچ *Verticillium dahliae*

مرتضی عرب سلمانی*
استادیار پژوهش مرکز تحقیقات کشاورزی و منابع طبیعی تهران
تاریخ دریافت: ۹۳/۶/۲ ؛ تاریخ پذیرش: ۹۳/۱۱/۸

چکیده

به منظور تعیین تنوع عامل بیماری پژمردگی ورتیسیلیومی پنبه، تعداد ۹۵ جدایه قارچ *Verticillium dahliae* Kleb. از خاک، پنبه، بادنجان، بامیه، خیار، پسته، کنجد، گوجه فرنگی و غوزک و ریزوسفر علف‌های هرز داتوره، توق و تاجریزی سیاه جمع‌آوری شدند. خصوصیات بیماری‌زایی، مورفولوژیکی، بهترین دمای رشد و دامنه میزبانی وسازگاری رویشی جدایه‌ها بررسی گردید. نتایج نشان دادکه جدایه‌ها از نظر ایجاد علائم در پنبه و بامیه به دو گروه برگ‌ریز و غیر برگ‌ریز تقسیم شدند. جدایه‌هایی که باعث برگ‌ریزی در پنبه شدند از نظر علائم در پنبه و بامیه، مورفولوژی میکرواسکلروت در آب آگار، دامنه میزبانی، دمای بهینه رشد در محیط کشت PDA و سازگاری رویشی با جدایه‌های غیر برگ‌ریز متفاوت بودند. تنوع بیماری‌زایی درجدایه‌های غیر برگ‌ریز بیشترتر از جدایه‌های برگ‌ریز بود. بیماری‌زایی متقابل جدایه‌های جدا شده از میزبان‌های مختلف نشان داد که اختصاصیت میزبانی در بین جدایه‌های مورد مطالعه وجود نداشت ولی شدت بیماریزایی متفاوت بود. سویه برگ‌ریز *V. dahliae* از پنبه، بادنجان و خاک از مناطق پنبه‌کاری خیر استهبان، کردکوی و ورامین جداسازی و مورد شناسایی قرار گرفت. پنجاه و دو موتانت از ۹۵ جدایه قارچ بدست آمد. بر اساس توان استفاده از منبع نیتروژن موتانت‌ها به سه گروه نیت ۱ (۲۵٪)، نیت ۳ (۱۲ ٪) و نیت ام (۵۴ ٪) تقسیم شدند. نتایج نشان دادکه بر اساس سیستم میزبان ـ پاتوژن و علائم ایجاد شده در پنبه دو سویه برگ‌ریز و غیر برگ‌ریز ولی بر اساس سازگاری رویشی هشت گروه دربین جدایه‌های مورد مطالعه وجود دارد. سویه برگ‌ریز در یک گروه و سویه غیر برگ‌ریز در هفت گروه دیگر سازگاری رویشی قرار گرفتند.

واژه‌های کلیدی: پژمردگی ورتیسیلیومی، سازگاری رویشی، تنوع بیماری‌زایی و پنبه.

*نویسنده مسئول: mortezaarabsalmani@yahoo.com

مقدمه

بیماری پژمردگی ناشی از *V. dahliae*، یکی از مهمترین عوامل محدود کننده کاشت ارقام پنبه پر محصول و حساس به این بیماری در مناطق مستعد توسعه آن می‌باشد (واتکینسون، ۱۹۸۱؛ الزیک، ۱۹۸۵؛ هیلوکس، ۱۹۹۲؛ سرینی واسان، ۱۹۹۴). سویه‌های مختلف عامل بیماری توسط محققین بر اساس خصوصیات مورفولوژی، بیماریزایی، تولید میکروکنیدیوم، شکل میکرواسکلروت، غیر سمی‌کردن سانگوینارین، پاسخ فیزیولوژیکی پنبه، گروههای سازگاری رویشی، مارکرهای مولکولی و صفات الکتروفورزی و نقوش پروتئینی شناخته شده‌اند. در ژاپن جدایه‌های که ازگوجه فرنگی، کلم چینی، فلفل شیرین و ترب ژاپنی جمع‌آوری شده بودند. بر اساس بیماری‌زایی و اختصاصی بودن میزبان به چهار گروه زیر تقسیم شدند. این سویه‌ها عبارت بودند از سویه بادنجان، سویه گوجه فرنگی، سویه فلفل شیرین و سویه خاجیان (هوریوچی، ۱۹۹۰). اشناتورست (۱۹۶۶) با استفاده از دامنه میزبانی و شدت بیماری در پنبه، دو سویه برگ‌ریز(T-1) و غیر برگ‌ریز(SS-4) در قارچ *V. dahliae* را شناسایی نمود. درسال‌های بعد مشخص شد که این دو سویه از نظر مورفولوژی میکرواسکلروت در آب آگار، بهینه دمای رشد، دامنه میزبانی، حساسیت به الکالوئید سانگوینارینو سازگاری رویشی با هم تفاوت دارند (اشناتورس و ماثره، ۱۹۶۶؛ پرسلی، ۱۹۶۹؛ پولمن، ۱۹۷۹؛ پولمن و هیومل، ۱۹۸۳؛ بلانکو لوپز و همکاران؛ ۱۹۸۸؛ بجارانو الکازار و همکاران، ۱۹۹۵). پوهالا (۱۹۸۳) جدایه‌های ورتیسیلیوم را بر اساس توانایی تشکیل هتروکاریون پایدار به چهار گروه تقسیم کرد. سویه T-1 اشناتورست با گروه P-1 و سویه SS-4 با گروه P-2، پوهالا منطبق بود. گروه P-1 بیماریزایی خفیفی در سیب زمینی، گوجه فرنگی و هندوانه ایجاد می‌کنند و بندرت از این گیاهان در مزرعه جدا می‌شوند. گروه P-2 درجات مختلف بیماری را در پنبه ایجاد می‌کنند. گروه P-4 بیماری شدیدی درسیب زمینی ایجاد کرده و در پنبه کمترین شدت بیماری را دارند (هیلوکس، ۱۹۹۲). پوهالا و هیومل (۱۹۸۳) و ژاکیوم و روو (۱۹۹۰) و فوند و همکاران (۱۹۹۵) و بهات و سابارو (۲۰۰۳) مشخص کردند که سویه برگ‌ریز و غیربرگ‌ریز به دو زیر جمعیت ژنتیکی متفاوت تعلق دارند. روزبه و بنی‌هاشمی (۲۰۰۶) گیاهان را از نظر حساسیت به عامل بیماری به سه گروه طبقه بندی و از نظر سازگاری رویشی مشخص کردند که تمام گروه VCG یک به سویه برگ‌ریز تعلق دارند (روزبه و بنی‌هاشمی، ۲۰۰۶). در همه‌گیری بیماری پژمردگی ورتیسیلیومی پنبه پتانسیل زادمایه قارچ، تنوع عامل بیماری (بیماری‌زایی و قدرت تهاجمی)، رقم مورد کشت، زمان و تراکم کاشت پنبه، دما بویژه دمای خاک، شرایط خاک بویژه pH، رطوبت، موادآلی، ECe و موادغذایی آن، تراکم و تنوع موجودات آنتاگونیست با قارچ ورتیسیلیوم، تراکم و تنوع موجودات افزایش‌دهنده حساسیت پنبه به پاتوژن و عکس‌العمل متقابل بین عوامل مختلف زنده با محیط موثر می‌باشند. برآیند این عوامل مؤثر به صورت درجات مختلف بیماری در بوته ظاهر می‌شود

(کمپل و مادن، ۱۹۹۰؛ آهومنش، ۲۰۰۷). سیکل شبه جنسی و سازگاری رویشی و تشکیل هتروکاریون‌ها روش‌های شناخته شده افزایش تنوع در جمعیت *Verticillium dahliae* می‌باشد (هاستی، ۱۹۶۷). بر اساس نظر پوهالا (۱۹۷۹)، پوهالا و هیومل(۱۹۸۳) و کورل و همکاران (۱۹۸۸)، بررسی سازگاری رویشی از طریق هتروکاریوزیس یک وسیله مفید برای مشخص نمودن استرین‌های *V. dahliae* می‌باشد. این تحقیق،با هدف شناسایی تنوع و سویه عامل بیماری از روی علایم، جهت بررسی همه‌گیر شناسی ومدیریت بیماری از طریق معرفی ارقام متحمل با انتخاب تک بوته‌های بذری متحمل برای تهیه هسته اولیه بذر درارقام تجاری پنبه ایران انجام شده است.

روش بررسی

الف: جدا سازی نمونه‌های قارچ *V. dahliae*: از گیاهان پنبه، بادنجان، بامیه، کنجد و گوجه فرنگی که تابستانه بوده و هم زمان با پنبه کاشته می‌شوند و درمواردی جایگزین کاشت پنبه شده‌اند و علف‌های هرز که مشکوک به آلودگی به قارچ *V. dahliae* بودند،در اواسط دوره رشد، قطعاتی از بافت چوبی یا دمبرگ بطول ۰/۵ سانتی‌متر جدا و حدود ۰/۵ تا ۱ دقیقه با هیپوکلریت ۰/۵ درصد (محصول ۱۰ ٪ ماده سفید کننده تجارتی) ضدعفونی شدند و پس از شستشو با آب مقطر استریل و خشک کردن با کاغذ صافی به محیط کشت عصاره سیب زمینی دکستروز آگار (PDA) منتقل و در دمای ۲۵ درجه سانتی‌گراد در اتاقک رشد نگهداری شدند. سپس در صورت ظهور پرگنه‌های قارچ ورتیسیلیوم با استفاده ازآب مقطر سترون سوسپانسیون حدود $۱۰^{۶}$ اسپور در میلی‌لیتر تهیه و قطراتی ازاین سوسپانسیون به محیط کشت آب آگار (WA) منتقل شدند. سپس قطعه‌ای ازیک پرگنه رشد کرده در WA به لوله حاوی محیط کشت PDA منتقل و در دمای ۱۰^{0}c نگه‌داری شدند.

ب) جدا سازی از ریشه علف‌های هرز: نباتات غیر زراعی از مزارع پنبه، گندم، جو و چغندر قند، بادنجان، بامیه، کنجد و گوجه فرنگی جمع‌آوری و پس از شستن سطح ریشه‌ها با آب لوله قطعاتی ۰/۵ تا۱ سانتی‌متری از ریشه‌های فرعی و اصلی جدا و در درون فلاسک‌های ارلن مایر ۲۵۰ میلی‌لیتری با ۱۰۰ میلی‌لیتر آب مقطر سترون به‌مدت ۱۵-۱۰ دقیقه بر روی دستگاه تکان‌دهنده (شیکر) با حرکت ۱۴۰ دور در دقیقه قرار داده شدند. سپس قطعات جدا شده به درون تشتک‌های پتری حاوی محیط کشت آشر و همکاران (محیط کشت تغییر یافته الکل آگار) منتقل شدند (اوشر و همکاران، ۱۹۷۵). تشتک‌ها در دمای ۲۰ درجه سانتی‌گراد نگهداری و پس از ۱۰-۷ روز پرگنه‌های رشد کرده ورتیسیلیوم شمارش و مانند روشهای ذکر شده تک کلنی تهیه و نگهداری شدند. جدایه‌هایی ازخاک جدا و نیز از محققین دیگر دریافت شد.

ج) اندازه‌گیری ابعاد کنیدیوم: برای اندازه‌گیری ابعاد کنیدیوم از پرگنه‌های *V. dahliae* روی PDA، قطعه‌ای به قطر ۰/۵ سانتی‌متر به مرکز تشتک پتری حاوی محیط کشت (PSA) = Potato Sucrose Agar با pH = ۷/۲ انتقال و در دمای ۲۵ درجه سانتی‌گراد در تاریکی نگه‌داری شد. پس از ۷-۶ روز طول و عرض ۳۰ ـ ۲۵ کنیدیوم از هر جدایه با بزرگنمایی ۱۰۰ اندازه‌گیری شد (هوریوچی و همکاران، ۱۹۹۰؛ سینگلتون و همکاران، ۱۹۹۲).

چ) اندازه‌گیری ابعاد میکرواسکلروت: برای این منظور از هر یک از جدایه‌های قارچ *V . dahliae* بر روی PDA، قطعاتی به قطر ۰/۵ سانتی‌متر به مرکز تشتک پتری حاوی محیط کشت آب آگار انتقال و در دمای ۲۵ درجه سانتی‌گراد نگه‌داری شد و پس از ۴-۳ هفته از قسمت ۲-۱/۵ سانتی‌متری مرکزتشتک پتری، نمونه‌هایی برداشته و طول و عرض ۲۵-۳۰ میکرواسکلروت با بزرگنمایی ۴۰ اندازه‌گیری شد (بلانکو لوپز و همکاران، ۱۹۸۸).

ح) اکسید کردن اسید تانیک: برای این منظور از محیط کشت‌هاول (۱۹۷۰) در سال ۱۹۷۰ حاوی ۵ درصد اسید تانیک استفاده شد. قطعاتی به قطر ۰/۵ سانتی‌متر از قارچ هفت روزه رشد داده شده بر روی PDA به مرکز تشتک پتری حاوی محیط کشت‌هاول حاوی ساکارز، K_2Hpo_4، $K_2H_2po_4$ و اسید تانیک منتقل و در دمای ۲۵ درجه سانتی‌گراد در تاریکی نگه‌داری گردید. بعد از ۵-۴ روز مشاهده حلقه تیره رنگ در اطراف پرگنه مؤید تولید آنزیم پلی فنل اکسید از توسط قارچ بود.

خ) بیماری‌زایی جدایه‌های *V. dahliae* در پنبه و بررسی تیپ علائم بیماری: بذر پنبه رقم ساحل در طبقه هسته اولیه که از یکنواختی ژنتیکی بالایی برخوردار است و متحمل به بیماری است ودر استان گلستان و مازندران کاشته می‌شود، در گلدان‌های حاوی خاک بکر کاشته شد. گلدان‌ها در گلخانه در دمای ۲۸ ـ ۲۰ درجه سانتی‌گراد قرار داده و آبیاری شدند. بعد از سبز شدن، در هر گلدان سه گیاه نگه‌داری و بقیه حذف شدند. جهت تولید اسپور قارچ ورتیسیلیوم از محیط کشت PDA ودمای ۲۵ درجه سانتی‌گراد استفاده شده و با کمک اسلاید گلبول شمار (Hemocytometer) سوسپانسیون حاوی 10^6 کنیدیوم در هر میلی‌لیتر تهیه و در مرحله ۸ ـ ۶ برگی به روش تزریق به ساقه (stem puncture) دو قطره از سوسپانسیون مذکور با سرنگ (شماره ۲۳ گیج) در محل اتصال برگ به ساقه انداخته و با سوزن به داخل آوند هدایت شد.

گیاهان شاهد با آب مقطر سترون مایه زنی شدند. بعداز ظهور علائم (سه ماه بعد از مایه زنی) نوع علائم از نظر برگ‌ریز و غیر برگ‌ریز بودن و بیماری‌زایی جدایه‌ها مشخص شد (اروین و همکاران، ۱۹۶۵؛ اشناتورس و ماتره، ۱۹۶۶). بعد از تزریق، گلدان‌ها در گلخانه با دمای ۲۸-۲۰ درجه سانتی‌گراد نگه‌داری شدند. دو ماه بعد از تزریق شاخص بیماری با رابطه ۱ محاسبه شد (اشناتورس و ماتره، ۱۹۶۶؛

اشورث، ۱۹۸۳؛ چانگ و ایسبورن، ۱۹۹۴). به هر بوته در گلخانه درجات زیر داده شد (شدت بیماری= disease severity). بوته کاملاً سالم =۰، تا ۳۳٪ برگ‌ها علائم بیماری را نشان می‌دهند= ۱، از ۳۴ تا ۶۶ درصد برگها علائم بیماری را نشان می‌دهند = ۲،از ۶۷ تا ۱۰۰ درصد برگها علائم بیماری را نشان می‌دهند = ۳ و بوته کاملاً لخت و بدون برگ و قوزه=۴. سپس شاخص بیماری با استفاده از فرمول زیر محاسبه می‌گردد (چن و همکاران، ۲۰۰۸). در این فرمول X، درجه یا شدت بیماری بوته بیمار، f، تعداد بوته با درجه معین و n، حداکثر درجه داده شده به بوته بیمار.

$$DI = \frac{\sum(Xifi)\times 100}{n\sum fi} \qquad (۱)$$

د) تعیین دمای بهینه رشد جدایه‌ها: جهت تعیین دمای بهینه رشد ۹ جدایه *V. dahliae* که از نظر علائم درروی رقم ساحل، مورفولوژی میکرواسکلروت و سازگاری رویشی در دو گروه جداگانه قرارگرفته بودند انتخاب و از کشت ۷ روزه قارچ روی PDA قطعه‌ای به قطر ۰/۵ سانتی‌متر به مرکز تشتک پتری حاوی PDA انتقال و در دماهای ۱۵، ۲۰، ۲۵، ۲۷و ۳۰ درجه سانتی‌گراد قرار داده شدند. بعد از ۸ روز میانگین رشد دو قطر عمود بر هم پرگنه قارچ اندازه‌گیری شد. برای هر جدایه در هر دما سه تکرار در نظر گرفته شد (بجارانو الکازار و همکاران، ۱۹۹۵).

ذ) مطالعه دامنه میزبانی جدایه‌های برگ‌ریز و غیر برگ‌ریز: دو جدایه که از نظر دمای بهینه رشد، مورفولوژی میکرواسکلروت، علائم در پنبه و سازگاری رویشی در دو گروه جداگانه قرار گرفته بودند، انتخاب و مطالعه شدند. میکرواسکلروت قارچ طبق روش Hall و Ly در سال ۱۹۷۲ تهیه گردید. خاک بکر جمع‌آوری و با مقداری کود دامی پوسیده به نسبت ۱/۴ کود و ۳/۴ خاک مخلوط و زادمایه قارچ ورتیسیلیوم در هر گرم این خاک به ۷۰ رسانده شد. قبل از مخلوط کردن میکرواسکلروت با خاک خصوصیات خاک مخلوط با کود دامی اندازه‌گیری شد. این خاک دارای Ec_e = 1/446 ds ،pH= 8/72، درصد مواد آلی = ۲/۵ و بافت خاک سیلت لوم (Silt - loam) بود. خاک آلوده درگلدان‌های پلاستیکی ضد عفونی شده ریخته شد و سپس اقدام به کشت گیاهان زراعی شامل بادنجان، فلفل وگوجه فرنگی رقم پیرسون بصورت نشاء و گلرنگ رقم ژیلا، خیار، نخود فرنگی، لوبیا چشم بلبلی، بامیه،گل میمون و ارقام پنبه شامل T-۱۴ و دکتر عمومی (متعلق به گونه *Gossypium barbadense*)، اولتان، بختگان، تاشکند، ورامین، B-۴۳۳، ساحل، $Acalasj_2$ ۲، B-۵۵۷ و Zeta-۲ (متعلق به گونه *Gossypium hirsutum*) به صورت بذر کشت گردید. برای جدایه و هر رقم سه گلدان در نظر گرفته شد. گیاهان شاهد در خاک بکر کشت گردیدند و برای هر رقم گیاه یک گلدان بود. گلدان‌ها را در گلخانه با دمای متغیر ۲۸-۲۰ درجه سانتی‌گراد قرار داده و ۳/۵ ماه بعد از کشت عکس العمل گیاهان

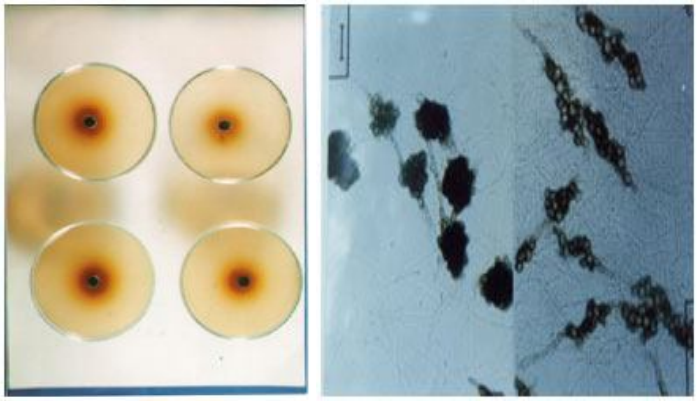
را بر اساس روش (بندخ) ارزیابی شد (اشـناتورس و مـاتره، ۱۹۶۶؛ اشـورث، ۱۹۸۳؛ چانـگ و ایسـبورن، ۱۹۹۴).

ر) بیماری‌زایی متقابل ورتیسیلیوم جدا شده از میزبـان‌هـای مختلـف: میکرواسـکلروت جدایـه‌هـای جمع‌آوری شده از پنبه (برگ‌ریز و غیر برگ‌ریز)، بامیه، کنجد، نخـود فرنگـی، بادنجـان ، خیـار و پسـته طبق روش (بند ذ) تکثیر و با خاک بکر به نسبت به ۷۰ زادمایه در هر گرم خاک مخلوط و در آن پنبـه، بامیه، کنجد و خیار به صورت بذر و گوجه فرنگی و بادنجان به صورت نشاء کشت شدند. برای هر جدایه از هر میزبان دوگلدان در نظر گرفته شد. دو ماه بعد از کشت بیماری‌زایی جدایه‌ها بررسی شد.

ز) تهیه موتانت‌های Nit و شناسایی آنها و بررسی سازگاری رویشی بین جدایه‌ها: موتانـت‌هـای Nit طبق روش جوواکوئیم و روو (۱۹۹۰) تهیه و شناسایی آنها بر اساس تـوان اسـتفاده از منبـع ازت طبـق روش کـورل و همکـاران، ۱۹۷۳) بـرای *Fusarium oxysporum* و کـورل و همکـاران (۱۹۸۸) و جوواکوئیم و روو (۱۹۹۰) برای *V. dahliae* صورت گرفـت. بـرای ایـن منظـور قطعـه‌ای بـه قطـر ۰/۵ میلی‌متر از محیط کشت PDA حاوی قارچ ورتیسیلیوم به محیط کشت حـداقل (MM = minimal medium) انتقال (پوهالا و هیومل، ۱۹۸۳) و در دمای ۲۵ درجه سانتی‌گراد در تـاریکی نگـه‌داری شـد. بعد از ۱۰ ـ ۷ روز از حاشیه پرگنه قطعه‌ای به قطر ۰/۵ میلی‌لیتر به تشتک پتـری حـاوی عصـاره ذرت آگار (CMA) بـه اضـافه کلـرات پتاسـیم ۱۵، ۲۰ و ۲۵ گـرم در لیتـر منتقـل و در حـرارت ۲۵ درجـه سانتی‌گراد در تاریکی نگه‌داری شد. بعد از ۱۵-۱۰ روز سـکتورهای (sector) مقـاوم بـه کلـرات ظـاهر شدند. از حاشیه سکتور قطعه کوچکی به محیط کشت MM منتقل و فنوتیپ آنهـا مـورد بررسـی قـرار گرفت. جهت شناسایی نوع موتانتهای Nit به محیط کشـت پایـه (BM = basal medium) یـا محـیط کشت MM بدون منبع ازت، منابع ازت شامل نیترات سدیم ۲ گرم در لیتر، نیتریت سدیم ۰/۴ گـرم در لیتر، هیپوگزاتین ۰/۵ گرم در لیتر، اسیداوریک ۰/۲ گرم در لیتـر، تارتـارات آمونیـوم ۰/۸ گـرم درلیتـر اضافه شد. چون ممکن است بعضی از موتانت‌ها رشد خفیف داشته باشـند بـه محـیط حـاوی تارتـارات آمونیوم ۰/۵ گرم کربنات کلسیم اضافه شد. سپس قطعه‌ای بـه قطـر ۰/۵ میلی‌لیتـر از قـارچ ۱۰-۸ روز رشد کرده در محیط BM به‌طور جداگانه به محیط‌های حاوی ازت منتقل و بعد از ۱۰-۷ روز بر اسـاس توان استفاده از موتانت از منابع ازت نوع موتانت مشخص شد. میزان رشـد قـارچ روی محـیط BM بـه عنوان شاهد در نظر گرفته شد. جهت تعیین گروه سـازگاری رویشـی، موتانـت‌هـا بـه صـورت دو تـائی روبروی هم گذاشته شدند. بین موتانت‌های سازگار، هتروکاریون تشکیل خواهد شـد و بصـورت وحشـی رشد خواهند کرد ولی در صورت سازگار نبودن بین آن دو سد ایجاد شده و یا ریسه‌ها از کنار هم عبـور می‌کنند.

نتایج و بحث

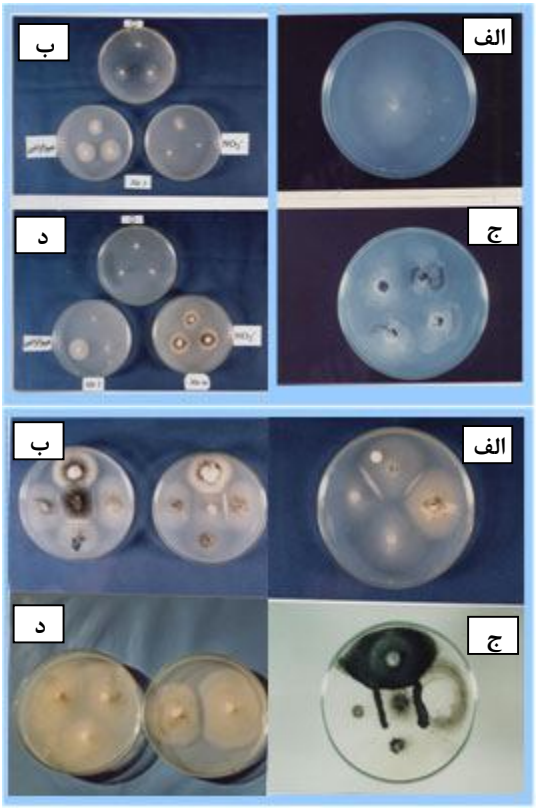
مجموعاً ۹۵ جدایه از میزبان‌های پنبه، بادنجان، کنجد، غوزک، گوجه فرنگی، بامیه و سطح ریشه علف‌های هرز توق، داتوره و تاجریزی و از خاک مزارع پنبه آلوده بدست آمد و جدایه‌هایی از خیار، پسته و پنبه (SS-4 و T-1) از تهران، رفسنجان و آمریکا دریافت شد. جدایه‌ها از مناطق خیر استهبان، گلستان (کردکوی)، ورامین، کفترک شیراز، فسا، قزوین، رفسنجان و کالیفرنیای آمریکا بودند. از ۹۵ جدایه ۲۷ جدایه که از خاک مزارع پنبه (فخرآباد و مبارک آبا د خیر استهبان)، بادنجان (خیر استهبان)، کنجد (خیراستهبان) T-1 (کالیفرنیای آمریکا) و پنبه از مناطق خیر استهبان، کردکوی، شیراز (کفترک) و ورامین جدا شده بودند، در گلخانه در روی رقم پنبه ساحل باعث برگ‌ریزی کامل شدند و بقیه جدایه‌ها که از پنبه، بادنجان، غوزک، کنجد، گوجه فرنگی، پسته، خیار، بامیه و سطح ریشه علف‌های هرز توق و تاجریزی و خاک مناطق ورامین، کردکوی و خیر استهبان، قزوین، رفسنجان، فسا و کالیفرنیای آمریکا جدا شده بودند، باعث برگ‌ریزی در روی رقم ساحل نشدند.شاخص بیماری جدایه‌های برگ‌ریز بیشتر از جدایه‌های غیر برگ‌ریز بود و در بین جدایه‌های غیر برگ‌ریز ازنظر شاخص بیماری تنوع بیشتر از جدایه‌های برگ‌ریز مشاهده می‌شد. در اطراف کلیه جدایه‌ها حلقه تیره رنگ مشاهده می‌شد و همه توانایی اکسید کردن اسید تانیک را داشتند ولی رنگ و مقدار حلقه تیره رنگ اطراف پرگنه در جدایه‌های برگ‌ریز تیره رنگ تر مساحت بیشتری داشت (هاول، ۱۹۷۰) (شکل ۳).



شکل ۱- اکسید شدن اسید تانیک توسط *V. dahlia* در محیط کشت، میکرواسکلروت سویه برگ‌ریزو سویه غیر برگ‌ریز.

اندازه طول و عرض کنیدیوم در بین جدایه‌ها و حتی در داخل یک جدایه متغیر بود. این اندازه در بین جدایه‌ها همپوشانی داشت و بین ۶/۷-۶ × ۲/۴-۳/۱ میکرومتر متغیر بود. لذا نمی‌توان از این صفت در دسته بندی جدایه‌ها استفاده نمود. میکرواسکلروت‌های پاتوتیپ برگ‌ریز کشیده تر از پاتوتیپ غیر برگ‌ریز بود و بین ۵- ۸ × ۹- ۳۵ میکرومتر برای جدایه‌های برگ‌ریز و بین ۱۰- ۱۹ × ۱۵-۳۵ میکرومتر برای جدایه‌های غیر برگ‌ریز متغیر بود (شکل ۱). از بین ۹ جدایه انتخابی مورد آزمایش بهترین دمای رشد برای ۴ جدایه ۲۷ درجه و برای ۵ جدایه دیگر ۲۳ درجه سانتی‌گراد بود. جدایه‌هایی که بهترین دمای رشد آنها ۲۷ درجه سانتی‌گراد بود از نظر برگ‌ریزی در روی رقم ساحل و مورفولوژی میکرواسکلروت در یک گروه قرار داشتند. جدایه‌های برگ‌ریز در ارقام مختلف پنبه که متعلق به گونه *G. hirsutum* بودند (اولتان، بختگان، تاشکند، ورامین، ۴۳۳- B، ساحل، AcalaSJ2، ۵۵۷ - B و Zeta-۲) باعث برگ‌ریزی کامل شدند در حالی که دو رقم T-۱۴ و دکتر عمومی که متعلق به گونه *G. barbadense* هستند علائم متغیر ایجاد کردند. بیشترین شاخص بیماری مربوط به رقم ورامین وکمترین شاخص بیماری مربوط به رقم بختگان در ارقام تجاری ایران مشاهده شد. ولی در ارقام متعلق به *G. barbadense* بیماری خفیف ایجاد کردند. جدایه‌های برگ‌ریز باعث برگ‌ریزی در بامیه، علائم شدید بیماری ولی بدون برگ‌ریزی در بادنجان، گل میمون و گلرنگ، علائم خفیف درخیار و گوجه فرنگی رقم پیرسون و تغییر رنگ آوندی در فلفل و گوجه فرنگی رقم پیرسون شد ولی در نخود فرنگی و لوبیا چشم بلبلی بیماری‌زا نبود. جدایه برگ‌ریز در بامیه برگ‌ریزی شدید درگوجه فرنگی رقم پیرسون بیماری شدید ولی بدون برگ‌ریزی در خیار، گلرنگ وبادنجان علائم خفیف تولید کرد ولی در نخود فرنگی و لوبیا چشم بلبلی بیماریزا نبود. سکتورهای مقاوم به کلرات در محیط کشت کلرات دار با رشد سریع تر و در محیط کشت MM با رشد خفیف از غیر موتانت‌ها مشخص بودند. از۹۵ جدایه،که جهت تولید موتانت مورد استفاده قرار گرفتند ۵۲ جدایه (۵۵ ٪) تولید موتانت کردند. از ۵۲ موتانت ۱۴ موتانت (۲۵٪) Nit 1 و شش موتانت (۱۲٪) Nit 3 و ۲۹ موتانت (۵۴ ٪) Nit m بودند. دو موتانت بین Nit 3 یا Nit m و یک موتانت بین Nit 3 یا Nit 1 مشکوک بودند. Nitهای مختلف توانایی تشکیل هتروکاریون را با هم داشتند .هتروکاریون در محیط کشت MM بصورت رشد متراکم (وحشی) بین موتانت‌های آگزوتروف سازگار در محل تلاقی آنها تشکیل شد. گاهی بین دو موتانت که در یک گروه سازگار رویشی قرار ندشتند سدی تشکیل می‌شد و ناسازگاری بروز می‌کرد (پوهالا و هیومل، ۱۹۸۳). سازگاری رویشی ۵۲ موتانت بدست آمده مورد بررسی قرار گرفت که در نتیجه بیست جدایه در یک گروه قرار گرفتند. این بیست جدایه از نظر مورفولوژی میکرواسکلروت و نوع علائم در روی رقم ساحل با هم یکسان بودند و باعث برگ‌ریزی کامل درروی رقم ساحل شدند. این جدایه‌ها از خاک ، پنبه، کنجد، بادنجان و از مناطق کردکوی، استهبان، ورامین، کفترک شیراز و کالیفرنیا بدست آمده بودند.

بقیه موتانت‌ها در گروه‌های دیگر قرار گرفتند که باعث برگ‌ریزی در پنبه نمی‌شدند و شاخص آلـودگی متغیری را ایجاد می‌کردند. از این موتانت‌ها بیست و پنج موتانت در یک گـروه و ۷ موتانـت در ۶ گـروه قرار گرفتند.



شکل ۲- الف: تولید سکتور، ب: موتانت‌های نیت، ج: تشکیل هتروکاریون و د : ایجاد سد بین دو موتانت ناسازگار.

اختصاصیت میزبانی در بین جدایه‌های مورد آزمایش وجود نداشت و تمام میزبان‌های مورد آزمایش با جدایه‌های دیگر میزبان‌ها آلوده شدند ولی شدت بیماری متفاوت بود. در چنـد سـال اخیـر در مـزارع پنبه‌کاری گرگان، وارمین و استهبان نوع خاصی از بیماری پژمردگی ورتیسیلیومی بدلیل گرمتـر شـدن هوا ، فشار انتخاب زیاد در انتخاب ارقام متحمل مشاهده و گسترش یافته است کـه علائـم آن بـا آنچـه واتکینسون (۱۹۸۱) درباره سویه برگ‌ریز قارچ ورتیسیلیوم گزارش داده است مطابقـت دارد و بـا علائـم

سویه غیر برگ‌ریز کاملاً متفاوت می‌باشد. علائم این بیماری در کلیه ارقام تجارتی پنبه ایران شامل ورامین، ساحل، بختگان، مهر، اولتان B-۵۵۷، سای اکرا که متعلق به گونه *G. hirsutum* می‌باشند، مشاهده می‌شد. این علائم شامل پیچیدگی برگ‌ها به سمت بالا، روخمشی دمبرگ (Epinasty)، مرگ از انتهای بوته (Die back) ریزش برگ و گل و قوزه ورشد شاخه‌های زایشی، جوانه زدن مجدد جوانه‌های پایین ساقه و پیدایش یک گیاه علفی با علائم کمبود مواد غذایی و تغییر رنگ بافت آوندی تا انتهای بوته می‌باشد. بوته‌هایی با درجات مختلف آلودگی به ورتیسیلیوم مشاهده می شود که علائم آنها با علائم نوع برگ‌ریز متفاوت و شامل کلروز و سپس نکروز بین رگبرگ‌ها و تغییر رنگ بافت آوندی تا نیمه بوته و گاهی ریزش برگهای آلوده می‌باشد. دراین نوع ریزش برگ با ریزش نوع برگ‌ریز متفاوت بوده و برگ‌هایی ریزش می‌کنند که علائم آلودگی را نشان می‌دهند. بررسی جدایه‌های قارچ ورتیسیلیوم از نظر دامنه میزبانی، تیپ علائم در گلخانه و نوع علائم در مزرعه نشان داد که نوع خاص علائم برگریزی (به صورت سبز و سریع) مختص پنبه و بامیه می‌باشد. جدایه‌های پنبه، بادنجان و کنجد در گلخانه در پنبه رقم ساحل و بامیه علائم برگ‌ریزی ایجاد کردند، در حالیکه بادنجان و کنجد علائم برگ‌ریزی شبیه به پنبه نداشتند. جدایه‌های تیپ برگ‌ریز باعث ریزش کامل برگ در ارقام گونه *G. hirsutum* و گونه *G. barbadense* می‌شوند. این نوع علائم با آنچه که اشناتورست و ماتره (۱۹۶۶) در مورد بیماری سویه برگ‌ریز روی ارقام پنبه گزارش نمودند تا حدودی صدق می‌کنند. همچنین در تعیین دامنه میزبانی سویه برگ‌ریز و غیر برگ‌ریز و بیماری‌زایی آنها بر روی گوجه فرنگی رقم پیرسون، گلرنگ رقم ژیلا و گل میمون نتایج این تحقیق با آنچه که محققین بالا گزارش نموده اند مطابقت دارد. جدایه برگ‌ریز یا بیماری‌زایی شدید بر روی بادنجان وکلیه ارقام پنبه وبیماری زایی خفیف بر روی گوجه فرنگی رقم پیرسون و ارقام پنبه متعلق به گونه *G. barbadence* از جدایه‌های غیر برگ‌ریز قابل تشخیص هستند. جدایه‌های غیر برگ‌ریز در گوجه فرنگی رقم پیرسون بیماری شدید و در گل میمون بیماری خفیف ایجاد می‌کنند. بهینه دمای رشد برای جدایه‌های برگ‌ریز ۲۷ و برای جدایه‌های غیر برگ‌ریز ۲۳ درجه سانتی‌گراد تعیین شد. این نتایج با آنچه که در مورد دمای بهینه رشد برای جدایه‌های برگ‌ریز و غیر برگ‌ریز گزارش شده است مطابقت دارد. جدایه‌های غیر برگریز با تولید بیشتر آنزیم پلی فنل اکسید از قدرت تهاجمی بیشتری نسبت به جدایه‌های غیربرگریز دارند. شکل میکرواسکلروت درجدایه‌های برگ‌ریز کشیده و در جدایه برگ‌ریز غیر کشیده است. این نتایج با آنچه در مورد مرفولوژی میکرواسکلروت سویه برگریز و غیر برگ‌ریز گزارش شده است صدق می‌کند. گرچه در این پژوهش امکان تهیه جدایه‌های استاندارد برای تعیین گروه‌های سازگاری رویشی وجود نداشت ولی ازنظر سازگاری رویشی و تشکیل هتروکاریون جدایه‌های برگ‌ریز در یک گروه سازگاری رویشی و جدایه‌های غیر برگ‌ریز در ۷ گروه قرار گرفتند و

ارتباط مشخصی بین علایم و گروه سازگاری رویشی در جایه‌های غیر برگ‌ریز مشاهده نشد.گروه‌های ۱ و۲ تعداد بیشتری از موتانت‌ها را به خود اختصاص داده‌اند. این جدایه‌ها توان سازگار بودن با هم و تشکیل هتروکاریون را داشتند و در نتیجه توان تکامل ورقابت و بقاء بیشتر را کسب کرده‌اند. به نظر می‌رسد که جدایه‌های یک منطقه بیشتر در یک یا دو گروه سازگاری رویشی قرار داشته باشند .شاید به دلیل خاکزاد بودن قارچ درسطح وسیع با منابع دیگر قارچ در مناطق مختلف و کاشت پنبه بصورت مداوم، تیپ‌های سازگار با هم تشکیل هتروکاریون را داده‌اند و قدرت بقاء بیشتر و تکامل را بدست آورده‌اند و جمعیت بیشتری از قارچ را به خود اختصاص داده‌اند تجامس و همکاران، ۲۰۰۰). سازگاری رویشی یا قابلیت یک تال در تبادل هسته‌ها با تال دیگر جهت تشکیل هتروکاریون روشی است که در بعضی از قارچ‌ها باعث تنوع می‌شود. اگر چه در قارچ *V. dahliae* تولید مثل جنسی گزارش نشده است ولی سازگاری رویشی بین ریسه‌های گروه‌های سازگار این قابلیت را به این قارچ می‌دهد که باعث تنوع در جمعیت طبیعی شوند (النا، ۱۹۹۹). این عمل درون گونه‌ای بوده و بین گونه‌ای نیست‌هاستی، ۱۹۶۷). بنابر این لازم است که میزان تحمل ارقام پنبه به صورت سالیانه برای جمعیت جدید بررسی گردد. در بین جدایه‌های ورتیسیلیوم از نظر بیماریزایی، مورفولوژی میکرو اسکلروت و سازگاری رویشی تنوع وجود داشت. در سیستم میزبان پاتوژن، دو سویه از قارچ و در سیستم سازگاری رویشی بیش از دو گروه تشخیص داده شد. جدایه‌هایی که علائم برگ‌ریزی شدید در پنبه ایجاد می‌کنند، دارای میکرواسکلروت کشیده در آب آگار و در یک گروه سازگار رویشی قراردارند ولی جدایه‌هایی که باعث علائم غیر برگ‌ریزی در پنبه می‌شوند در بیش از یک گروه سازگاری رویشی قرار دارند و دارای فرم میکرواسکلروت غیر کشیده هستند و علائم بیماری که با درجات مختلف آلودگی نشان داده می شود ایجاد می‌کنند. فراوانی علایم جدایه‌های برگ‌ریز در مزارع پنبه بین ۵ تا ۱۰ درصد مشاهده شد عرب سلمانی و همکاران، ۲۰۱۱). همبستگی مشخصی بین علائم غیر برگ‌ریزی با سازگاری رویشی وجود نداشت. در بین ارقام پنبه از نظر تحمل به بیماری تنوع وجود داشت. رقم‌های متعلق به گونه *G. barbadense* تحمل بالایی به سویه‌های قارچ *V. dahliae* دارند. ولی ارقام متعلق به گونه *G. hirsutum* تحمل نسبی به سویه برگ‌ریز قارچ مذکور دارند. بنابراین جهت مدیریت بیماری پژمردگی ورتیسیلیومی پنبه در کل مناطق تحت پوشش رقم زراعی، توصیه‌های زیر را بایستی مد نظر قرارداد:

۱- تولید ارقام مناسبی که از نظر خصوصیات زراعی یکسان ولی به سویه‌های غالب تحمل داشته باشند.

۲- استفاده از لاین‌های یک رقم (multiline) به سویه‌های غالب تحمل داشته باشند.

۳-اگر به دلیل ژنتیکی یا اقتصادی یا اجرایی استفاده از ارقام مخلوط یا مولتی لاین‌ها ممکن نباشد با استفاده از دو رگ‌گیری بین گونه‌ای ژن یا ژن‌های مقاومت را (تحمل زیاد به استرین برگ‌ریز و غیر

برگ‌ریز) از گونه *G. barbadense* به گونه *G. hirsutum* انتقال داد که نقش مهمی در کاهش خسارت بیماری در کشور خواهد داشت.

۴- به دلیل ایجاد تنوع در جمعیت میزبان(پنبه) بوسیله گرده‌افشانی و تفرق صفات و عامل بیماری (*V. dahliae*) بوسیله سازگاری رویشی هرساله باید تک بوته‌های مولد بذر در زمین آلوده دارای جمعیت غالب عامل بیماری در مناطق رقم مورد توصیه تهیه گردند، لذا ضرورت دارد اندام‌های آلوده پنبه از مناطق جمع‌آوری و پس از خرد نمودن با خاک مزرعه مخلوط و انتخاب تک بوته‌ها در این مزرعه صورت گیرد.

۵- در انتخاب تک بوته‌های بذری به سویه غیربرگ‌ریز به عنوان سویه غالب توجه شود و ابتدا بوته‌های باعلایم آلودگی به سویه برگ‌ریز از چرخه تولید خارج شوند.

منابع

Ahoomanesh, A. 2007. Principles of Plant Disease Control. Isfahan University of Technology, 391pp.

Arabsalman I., Okhovvat, S.M., Sharifitherani, A., Nikkha, M.J., and Safaie, N. 2011. Epidemiology of verticillium wilt of cotton in Golestan provience: Effect of verticillium wilt on quantitative and qualitative characters of cotton. Iranian J. Plant Pathol. 7(1):1-18.

Arabsalmani, M., and Banihashemi, Z. 2000. Vegetative compatibility groups within isolates of *Verticillium dahliae* from cotton and other sources in Iran. 14th Iranian Plant Protection Congress.

Ausher, R., Katan, J., and Ovadia, S. 1975. An improved selective medium for the isolation of *Verticillium dahliae*. Phytoparasitica 3: 193-137.

Bhat, R.G., aND Subbarao, V. 2003. Characterization of *Verticillium dahliae* isolates and epidemics of pepper. Plant Disease, 87:789-797.

Blanco-Lopea, M.A, Melero-Vara, J.M., and Jimmenz– Diaz, R.M. 1988. Studies on *Verticillium dahliae* wilt of cotton in Andalucía Southern Spain. Agronimique Mediteranian de Montpellier. 3-4 Mars.

Begarano-Alcazar, J., Melero-Vara, J.M., Blanco-Lopez, M.A., and Jimenez-Diaz, R.M. 1995. Influence of inoculums density of defoliating and non defoliating pathotypes of *Verticillium dahliae* on epidemiology of *Verticillium* of cotton in Southern Spain .Phytopathology 85: 1474-1481.

Correll, J.C., Gordon, T.R. and Mclain, A.H. 1988. Vegetative compatibility and pathogenicity of *Varticillium albo- atrum*. phytophathology, 78:1017-1021.

Cammpbell, C.L., and Madden, L.V. 1990. Introduction to Plant Disease Epidemiology. New York, WILEY Press, 531p.

Chen, B., Li, S.K., Wang, K.R., Wang, J., Wang, F.Y., Xiae, C.H., Lai, J.C., and Wang, N. 2008. Spectrum characteristics of cotton canopy infected with Verticillium wilt and applications. Agri. Sci. in China, 7(5):561–569.

Chang, R.J., and Eastburn, D.M. 1994. Host range of *Verticillium dahliae* from hoseradish and pathogeniecty of strains. Plant Dis. 78: 503 - 506.

Carder, J.H., and Barbara, D.J. 1994. Molecular variation within some Japanese isolates of *Verticillium dahliae*. Plant Phathol. 43: 947-950.

El-zik, K.M. 1985. Integrated control of *Verticillium* wilt of cotton. plant Dis. 69:1025 -1032.

Elena, K. 1999. Genetic relationship among *Verticillium dahliae* from cotton in Greace based on Vegetative compatibility .Europe. J. Plant Pathol. 105: 609-616.

Found, D., Michel, N., and Jeam, P.G. 1995. Differentiation of *Verticillium dahliae* population on the basis of Vegetative compatibility and pathogenicity on cotton. Europe. J. Platholo. 101: 69-79.

Joaquim, T.F., and Row, R.C. 1990. Reassessment of vegetative compatibility relationship among strains of *Verticillum dahliae* using nitrate non-utilizing mutants. Phytopathol. 80: 1160 -1166.

Hamidi, H., Naderi-Aarefi, A., Forghani, S.H., Arabsalmani, M., Vafai-Tabar, M., and Hakimi, M. 2012. Cotton seed production and technology. SPCRI press, 648p.

Howel, C.R. 1970. Differential enzyme synthesis by haploid and diploid forms of *Verticillium albo– atrum.* Phytopthol. 60: 488- 490.

Hastie, A.C. 1967. Mitotic recombination of *Verticillium albo- atrum.* Nature, 214:24- 252.

Hillocks, R.J. 1992. Cotton Diseases. CAB International, Wallingford, UK. 415p.

Horiuchi, S.H., and Takeuchi, S. 1990. Host specificity of isolates of *Varticillium dahliae* towards Cruciferous and Solanaceous plants. pp. 235-295. *In:* Hornby, D. (ed.), Biological control of Soil born plant pathogens. CAB International UK.

Heale, J. and Isaac, I. 1963. Wilt of Lucerne caused dy species of verticillium IV. Pathogenicity of *Verticillium albo-atrum* to Lucerne and other crops: spread and survival of *Verticillium albo- atrum* in soil and in weed. Effect upon Lucerne production. Ann. Appl. Biol. 52: 439- 451.

Isaac, I. 1967. Speciation in verticillium. Annu. Rev. Phytopathol. 5:201–222.

Kirkpatrik, T.L., and Rotrock, C.S. 2001. Compendium of cotton disease. APS Press, 77 p.

Mace, M.E., Bell, A.A., ad Beckman, C.H. 1981. Fungal wilt disease of Plant. Academic Press. New York, 640 pp.

Mathere, D.E., Erwin, D.C., Paulus, A.O., and Ravencroft, A.V. 1966. Comparison of the virulence of isolates of *Verticillium albo - atrum* from several of the cotton growing regions in the United States. Plant Dis. Reporter, 50: (12) 930 - 933.

Nelson, R. 1950. Verticillium wilt of Peppermint. Mich. Agr. Eept. Sta. Tech. Bull. 221.

Otero, L., Ducasse, D., and Miller, G. 2004. Variability in ribosomal DNA genetic and spacer regions in *Verticillium dahliae* isolates from different hosts. Fitopatologia Brasileria, 29: 441–446.

Okoli, C.A.N., Carder, J.H. and Barbara, D.J. 1994. Restriction fragment Ineght polymorphism (RFLPS) and the relationships of some host - adapted isolates of *Verticillium dahliae*. Plant pathol. 43: 33-40.

Puhalla, J.E. 1979. Classification of isolates of *Verticillium dahliae* based on heterocaryon incompatibility. Phytopathol. 69: 1186–1189.

Puhalla, J.E. and Hummel, M. 1983. Vegetative compatibility groups within *Verticillium dahliae*. Phytopathol. 73: 1305 - 1308.

Presely, J.T. 1969. Growth response of Verticillium albo-atrum to sanguinarine in nutrient agar. Phytopatholo. 59: 1968-1969.

Radisk, S., Jakes, J., Simoni, A., and Javornik, B. 2003.Charactrization of verticillium albo-atrum field isolates using pathogenicity data and AFLP analysis. Plant Dis. 87: 633- 638.

Roozbeh, M., and Banihashemi, Z. 2006. Host range of *Verticillium dahliae* from Iran. 17th Iranian Protection Congress, 2-5 Sep. p. 428.

Roozbeh, M., and Banihashemi, Z. 2006. Genetic diversity and host specificity of *Verticillium dahliae* in Iran. Iranian J. Plant pathol. 42(1):323-325.

Saneii, S.J., RAazavi, S.E., Okhovvat, S.M., and Pahlevani, M. 2010. Verticillium Wilts. Paek Raihan press. 651pp.

Srinivasan, K.V. 1994. Cotton diseases. Indian Society for Cotton Improvement C/O CIRCOT.187 p.

Schnathorst, W.C., and Mather, D.E. 1966. Host range and differentiation of a severe form of *Verticillium albo-atrum* in cotton. Phytopathol. 56: 1155 – 1165.

Singlton, L.L., Miral, J.D., and Rush, C.M. 1992. Methods for Research on Soil-born phytopathologenic Fungi. Am. Phytopathol. Soc. St. Minnesota, 265p.

Tjamos, E.C., Rowe, R.C., Heale, J.B., and Fravel, D.R. 2000. Advances in verticillium research and disease management. Am. Phytopathol. Soc. St. Minnesota, 357pp.

Watkinson, G.M .1981. Compendium of cotton disease. APS Press, 87 p .

Zare, R. 2001. An integrated approach to the taxonomy of plant-associated *Verticillium* species. Rostaniha, 2: 65-66.

Zare, R., and Gams, W. 2000. A revision of *Verticillium* sect. Prostrata1. Phylogenetic using its sequences. Nova Hedwigia, 71: 465-480.

Iranian Journal of Cotton Researches
Vol. 2, No. 2, 2015
www.jcri.ir

Epidemiology of verticillium wilt of cotton: Pathogenicity variation among isolates *Verticillium dahlia*

M. Arabsalmani*
Assistant Prof. Agricultural and Natural Resources Research Center of Tehran Province
Received: 2014/8/24 Accepted: 2015/1/28

Abstract

In order to determination of variability of pathogenicity of *Verticillium dahliae* kleb., Ninety five isolates form soil, cotton, eggplant, okra, cucumber, pistachio, sesame, tomato, and wild hemp, and rhizospher of *Datura stramonium*, *Xanthium* sp. and *Solanum nigrum* were compared in respect to microsclerotial morphology,pathogenicity, host range, optimum temperature for growth and vegetative compatibility groups (VCGs).The result showed that based on symptom in cotton and okra plants the isolates were divided in two defoliating and no defoliating strains which also differed in microsclerotial morphology on water agar, optimal temperature for growth on potato dexteros agar. The variability among no defoliating isolates were more than defoliating isolates. Although, there was not host specificity among isolates but observed various disease severity in cotton .The defoliating strains were collected from cotton, eggplant, sesame and soil in Estahban, Kord kuy and Varamin regions. From 52 nit mutants (54%) were obtained 95 isolates. Based on the ability to use different nitrogen sources the mutant were grouped into three phenotypic classes nit 1(25%), nit 3(12%) and nit M(54%).The isolates were separated into different groups. Eight VCGs were recognized among nit mutants. All defoliating isolates were belonged to one VCG and rest of the isolated grouped in 7 VCG_S.

Keywords: *Verticillium* Wilt, Cotton, Vegetative Compatibility Groups

*Corresponding author; mortezaarabsalmani@yahoo.com