Archive of SID

مجله علوم کشاورزی و منابع طبیعی
سال دوازدهم ـ شماره چهارم ـ مهر ـ آبان ۱۳۸٤
www.magiran.com/jasnr

بررسی امکان کنترل شیمیایی و بیولوژیکی بیماری پژمردگی شاخه، زوال و مرگ مرکبات ناشی از قارچ *Nattrassia mangiferae*

حسین طاهری[1]، واهه میناسیان[2] و رضا فرخی‌نژاد[2]

[1] عضو هیات علمی موسسه تحقیقات مرکبات کشور، رامسر، [2] اعضای گروه گیاهپزشکی دانشگاه شهید چمران اهواز

تاریخ دریافت: ۸۳/٤/۲ ؛ تاریخ پذیرش: ۸۳/۱۲/۲۲

چکیده

بیماری پژمردگی شاخه، زوال و مرگ مرکبات ناشی از قارچ *Nattrassia mangiferae* یکی از مهمترین بیماری‌های مرکبات در استان خوزستان می‌باشد. این بیماری در چند سال اخیر خسارات هنگفتی به درختان مرکبات بخصوص لیموترش لیسبون وارد کرده است. هدف از مطالعه بررسی امکان کنترل شیمیایی بیماری مذکور بود. بدین منظور در دو آزمایش مجزا ابتدا مقاومت نسبی چهار نوع پیوندک تجاری و پنج پایه شامل نسبت به بیماری به مایه‌زنی نهال‌های دو ساله مورد بررسی قرار گرفتند. از میان پیوندک‌ها لیموترش لیسبون و در بین پایه‌ها، ولک و رافلمون حساس‌تر از بقیه بودند. در آزمایشگاه اثر قارچکش‌های پروپیکونازول، تری‌سیکلازول، اکسی کلرورکس، مانکوزب، بنومیل و زینب و بازداری از رشد شعاعی میسلیوم‌های قارچ *N.mangiferae* در روی محیط کشت درون تشتک پتری مورد بررسی قرار گرفت که پروپیکونازول موثرترین سم بود. EC50 قارچکش‌ها در شرایط آزمایشگاه نسبت به عامل بیماری تعیین شد. به‌منظور یافتن یک روش کنترل بیولوژیک، اثر آنتاگونیستی پنج جدایه، *T.harzianum*، *T.longibrachiatum*، *T.virens*، *T.koningii* و *T.harzianum199* بر قارچ بیمارگر مورد آزمایش قرار گرفت. در کشت متقابل آنتاگونیست‌ها و قارچ بیماری‌زا و کشت جدایه‌های آنتاگونیست در حاشیه کلنی قارچ *N.mangiferae* تمامی جدایه‌ها سطح کلنی را پوشاندند. اما مکانیسم‌های آنتاگونیستی و قارچ بیمارگر، اعم از پیچش هیفی و لیزشدن مشاهده نشد و متابولیت‌های فرار جدایه‌های تریکودرما نیز تاثیری در ممانعت از رشد میسلیوم *N.mangiferae* نداشتند.

واژه‌های کلیدی: *Nattrassia mangiferae*، مرکبات، قارچکش، آنتاگونیست

مقدمه

گونه‌های مختلف جنس Citrus بومی نواحی گرمسیری و نیمه‌گرمسیری آسیا و مجمع‌الجزایر مالایا بوده و از آنجا به سایر نقاط پخش شده‌اند (روتر و همکاران، ۱۹٦۷). مرکبات در سراسر دنیا در مناطقی که بارندگی کافی داشته و یا امکان آبیاری مناسب مهیا باشد و در ضمن سرمای شدید نداشته باشد کشت می‌شوند (وابتساید و همکاران، ۱۹۸۷).

در ایران مرکبات در مناطق شمال و جنوب کشور کشت می‌شود. متوسط عملکرد مرکبات در ایران ۱٦/۷ تن در هکتار است که نسبت به اکثر کشورهای تولید کننده این محصول کمتر می‌باشد (اداره کل آمار و اطلاعات کشاورزی، ۱۳٦۷). این مورد علل مختلفی دارد که از آن جمله می‌توان به شرایط نامساعد محیطی، تغذیه، خاک،

www.SID.ir

Archive of SID

مدیریت باغات، آفات و بیماری‌ها اشاره نمود. عوامل مختلف قارچی، باکتریایی، نماتدی، فیتوپلاسمایی، ویروسی و ویرویدی به این گیاهان حمله می‌کنند. یکی از مهمترین بیماری‌های مرکبات در استان خوزستان بیماری پژمردگی، زوال و مرگ مرکبات ناشی از قارچ *N.mangiferae* می‌باشد. این قارچ برای اولین‌بار توسط ساتراس (۱۹۳۳) از روی درختان خزان‌کننده در مصر گزارش شد. اکیلیا و استنبرگ (۱۹۷۵) آلودگی شدیدی را از باغ‌های لیموترش شمال فلسطین اشغالی گزارش کرده و از شاخه‌های آلوده، قارچ *H.toruloidea* را جداسازی و بیماری‌زایی آن را اثبات نمودند و زخم‌های سطحی ناشی از بیماری را روی درختان لیموترش با سولفات مس یا فنیل کلیرید جیوه کنترل نمودند که این عمل با از بین بردن قسمت‌های آلوده چوب قبل از محلول‌پاشی نتیجه بهتری داشت.

در ایران قارچ عامل بیماری در سال ۱۳۷۲ توسط امینایی و ارشاد از استان کرمان گزارش شد. این بیماری در چند سال اخیر خسارات هنگفتی به درختان مرکبات، بخصوص لیموترش لیسبون وارد کرده است. در خوزستان باغ بر پنجاه گونه و کولتیوار به‌عنوان میزبان این بیمارگر شناسایی شده‌اند (حیدریان، ۱۳۷۶). علائم بیماری در درختان آلوده بدین صورت است که ابتدا برگ‌ها سبز خشک می‌شوند و بعد به رنگ زرد و قهوه‌ای در می‌آیند، در شاخه‌ها و تنه، چوب آلوده قهوه‌ای و سیاه‌رنگ می‌شود. در محل آلودگی شانکر ایجاد شده که اغلب در اطراف آن صمغ ترشح می‌شود. در اثر شاخه خشک شده و در نهایت لایه سیاه‌رنگی از آتروکنیدی‌ها بین اپیدرم و پوست تشکیل می‌شود (حیدریان، ۱۳۷۶).

با توجه به گستردگی میزبانی و خسارت شدید آن روی مرکبات یافتن راه‌هایی جهت مبارزه با این بیماری ضروری به‌نظر می‌رسد. هدف این تحقیق بررسی امکان کنترل بیماری مذکور بود.

مواد و روش‌ها

تهیه جدایه *N.mangiferae*: جهت تهیه جدایه از شاخه‌های آلوده لیموترش لیسبون، نمونه‌هایی جمع‌آوری شده و بلافاصله به آزمایشگاه منتقل شدند. در آنجا سطح نمونه‌ها با استفاده از الکل اتیلیک ۹۶ درصد و شعله چراغ ضدعفونی گردید. سپس با کارد و چکش استریل شاخه‌های آلوده از وسط دو نیم شده و با اسکالپل و پنس استریل از حاشیه فعال زخم، تکیه‌هایی از چوب برداشته و در پتری‌های حاوی PDA کشت شدند و به انکوباتور با دمای ۳۰ درجه سانتی‌گراد منتقل شدند. دو روز بعد از حاشیه کلنی‌های در حال رشد، دیسک‌هایی از قارچ همراه با محیط کشت دوباره به محیط کشت PDA منتقل شدند و ظرف‌ها در انکوباتور دارای شرایط فوق قرار گرفتند. بعد از ۳۰ ساعت از حاشیه کلنی‌ها، قارچ به روش نوک ریسه خالص‌سازی شد.

بررسی مقاومت نسبی چهار واریته پیوندک تجاری مرکبات نسبت به بیماری حاصل از *N. mangiferae*: در این آزمایش نهال‌های دو ساله لیموشیشه (*Citrus aurantifolia*)، پرتقال والنسیا (*C. sinensis var. valencia*)، پرتقال محلی (*C. sinensis var. siavaraz*) و لمون‌لیسبون (*C. limon*) پیوندی روی پایه نارنج مایه‌زنی شدند، بدین صورت که در فاصله ۵۰-۴۰ سانتی‌متری از مریستم انتهایی روی ساقه اصلی محل مناسبی انتخاب و با اتانول ۹۶ درصد ضدعفونی گردید. پس از آن با چوب پنبه سوراخ کن استریل دیسکی از پوست ساقه به قطر ۸ میلی‌متر برداشته و قرصی از PDA حاوی میسلیوم ۳۰ ساعته قارچ در آن محل قرار داده شد و روی آن با یک لایه پارافیلم (جهت حفظ رطوبت) و چسب کاغذی پوشانده شد. این آزمایش در قالب طرح کامل تصادفی شامل ۴ تیمار و ۵ تکرار صورت گرفت. ساقه نهال‌ها ۱ روز بعد از چند سانتی‌متری زیر محل تلقیح بریده، پوست محل تلقیح را با اسکالپل برداشته و شکل زخم ایجاد شده روی چوب، برروی نایلون رسم گردید و بعد برروی کاغذ منتقل شد و در آخر مساحت

www.SID.ir

Archive of SID

زخم‌ها با استفاده از پلانیمتر اندازه‌گیری شد. داده‌های به‌دست آمده مورد تجزیه آماری قرار گرفت و گروه‌بندی میانگین‌ها با استفاده از آزمون دانکن در سطح ۵٪=a انجام شد.

بررسی مقاومت نسبی پنج واریته از پایه‌های مرکبات نسبت به بیماری حاصل از *N. mangiferae*: در این آزمایش نیز نهال‌های دو ساله نارنج (*C. aurantium*)، سیتروملو× (*C. paradisi*) (*P. trifliata*)، ولک (*C. volkameriana*)، رافلمون (*C. jambhiri*) و رنگپورلایم (*C. limonia*) طبق روش فوق مورد آزمایش قرار گرفتند.

بررسی اثر قارچ‌کش‌ها در جلوگیری از رشد میسلیوم قارچ *N. mangiferae* در شرایط آزمایشگاه: در این آزمایش اثر قارچ‌کش‌های پروپیکونازول، تری‌سیکلازول، اکسی کلرورمس، بنومیل، مانکوزب و زینب در بازداری رشد شعاعی قارچ بیمارگر در روی محیط کشت درون تشتک پتری مورد بررسی قرار گرفت. اختلاط سموم با محیط کشت به روش هورسفال[1] صورت گرفت. بدین ترتیب که پس از استریل کردن لوله‌های آمایش محتوی PDA در اتوکلاو آنها را به بن‌ماری با دمای حدود ۴۹ درجه سانتی‌گراد منتقل شد تا دمای محیط کشت ثابت بماند. در این دما به لوله‌ها، غلظت‌های از پیش تهیه شده قارچ‌کش‌ها اضافه شد و در نهایت غلظت‌های ۰/۱، ۱، ۱۰، ۱۰۰ و ۱۰۰۰ پی‌پی‌ام تهیه شد. مخلوط به‌دست آمده را به آرامی تکان داده و محتوی لوله‌ها در کنار شعله و با رعایت شرایط استریل در یک پتری استریل ریخته شد. در تیمار شاهد بجای محلول سمی از آب مقطر استریل استفاده شد.

پتری‌ها پس از انعقاد محیط کشت حاوی سم، با کلنی در حال رشد قارچ *N. mangiferae* کشت شدند و به انکوباتور با دمای ۳۰ درجه سانتی‌گراد منتقل شدند. اندازه‌گیری شعاع کلنی قارچ با استفاده از کولیس از پشت پتری حدود ۴۸ ساعت بعد از کشت انجام شد (در این مدت کلنی قارچ پتری‌های شاهد را تقریباً پر می‌کرد). درصد بازداری از رشد میسلیوم با استفاده از رابطه زیر محاسبه شد:

$$\frac{\text{شعاع رشد میسلیوم در تیمار سم - شعاع رشد میسلیوم در پتری شاهد}}{\text{شعاع رشد میسلیوم در پتری شاهد}} \times 100$$

این آزمایش در قالب طرح فاکتوریل دو فاکتوره با طرح پایه کامل تصادفی اجرا شد. فاکتورهای مورد نظر قارچ‌کش و غلظت سم بودند.

تعیین EC50 قارچ‌کش‌ها نسبت به *N. mangiferae*: سموم به کار رفته عبارتنداز: پروپیکونازول، مانکوزب، ادیفنفوس، تری‌سیکلازول، تریادیمفون، اکسی کلرورمس و زینب. در این آزمایش غلظت‌های قارچ‌کش‌ها با توجه به داده‌های حاصل از آزمایش فوق به گونه‌ای انتخاب شدند که قارچ عامل بیماری تحت تأثیر دامنه‌ای از غلظت‌ها قرار گیرد. سپس میانگین درصد بازداری از رشد میسلیوم قارچ، پروبیت درصد ممانعت با استفاده از جدول پروبیت و لگاریتم هر غلظت محاسبه شد. برای رسم خط رگرسیون هر قارچ‌کش نیز از برنامه رایانه‌ای استفاده شد. معادله خط رگرسیون را به‌دست اورده و با قرار دادن پروبیت ۵ در معادله، غلظت سم تعیین شد. با محاسبه آنتی‌لگاریتم غلظت حاصل میزان EC50 قارچ‌کش حاصل گشت.

بررسی مکانیسم تأثیر جدایه‌های قارچ‌های آنتاگونیست روی *N. mangiherae*: در این بررسی اثر جدایه‌های *T. harzianum* ،*Trichoderma koningii* ،*T. longibrachiatum* و *Trichoderma virens* 199 *harizianum* بر قارچ *N. mangiferae* مورد بررسی قرار گرفت.

الف- کشت متقابل[2] جدایه‌های آنتاگونیست و قارچ *N. mangiferae*: در کشت متقابل آنتاگونیست‌ها و قارچ بیماریزا در یک سوی پتری حاوی PDA قرصی از قارچ *N. mangiferae* و در طرف مقابل قرصی از آنتاگونیست قرار گرفت (شتاب بوشهری، ۱۳۷۶). پتری‌ها

1- Horsfall

2- Dual culture

www.SID.ir

Archive of SID

به انکوباتور با دمای ۳۰ درجه سانتی‌گراد منتقل شد. با بازدید روزانه پتری‌ها، توانایی جدایه‌های تریکودرما و گلیوکلادیوم، سرعت پیشروی آنها روی میسلیوم‌های قارچ *N. mangiferae* پس از متوقف نمودن رشد و اسپورزایی روی کلنی آن مورد ارزیابی و مقایسه قرار گرفت.

ب- کشت جدایه‌های آنتاگونیست در حاشیه کلنی کامل قارچ *N. mangiferae*: در این آزمایش در حاشیه پتری‌های حاوی میسلیوم قارچ بیماری‌زا روی PDA (کشت ۳ روزه) قرصی از حاشیه کشت سه روزه آنتاگونیست‌ها داده شد و پتری‌ها به انکوباتور با دمای ۳۰ درجه سانتی‌گراد منتقل شد. با مشاهده روزانه پتری‌ها، میزان و سرعت رشد میسلیوم‌ها و مدت زمانی که جدایه‌ها تمام سطح قارچ بیمارگر را فرا گرفته و روی آن اسپورزایی می‌کنند، مورد مطالعه قرار گرفت.

ج- بررسی میکروسکوپی نحوه تأثیر جدایه‌های آنتاگونیست روی قارچ *N. mangiferae*: در بررسی میکروسکوپی، در شرایط استریل روی لام‌های ضدعفونی شده لایه نازکی از PDA قرار داده و بعد از انجماد محیط کشت، قرصی از قارچ آنتاگونیست (کشت ۳ روزه به قطر ٤ میلی‌متر) در یک سوی لام و قرصی از قارچ بیماری‌زا (کشت ۳۰ ساعته به قطر ٤ میلی‌متر) در سوی دیگر آن قرار داده شد سپس آنها در پتری‌های حاوی کاغذ صافی مرطوب استریل قرار داده شدند (۳۰ تکرار) و در انتهای پتری‌ها به انکوباتور با دمای ۳۰ درجه سانتی‌گراد منتقل گردیدند. پس از هر ٢٤ ساعت دو پتری از هر جدایه به‌منظور بررسی نحوه تأثیر آنتاگونیست‌ها روی عامل بیماریزا زیر میکروسکوپ مورد مطالعه قرار گرفت. این عامل تا ۱۵ روز ادامه یافت.

د- بررسی اثر متابولیت‌های فرار (گازی) جدایه‌های آنتاگونیست در جلوگیری ازرشد میسلیوم قارچ *N. mangiferae* در شرایط آزمایشگاه: جهت مطالعه اثر متابولیت‌های فرار (گازی) آنتاگونیست‌ها در جلوگیری از رشد میسلیوم قارچ *N. mangiferae* در شرایط آزمایشگاه، ابتدا داخل پتری‌ها ۱۸ میلی‌متر PDA ریخته، وسط هر پتری قرصی از حاشیه کلنی در حال رشد *N. mangiferae* قرار داده شد. جدایه‌های آنتاگونیست نیز به همین روش کشت شدند. سپس تحت شرایط استریل پتری حاوی دیسک قارچ بیماری‌گر به‌صورت وارونه روی پتری حاوی آنتاگونیست‌ها قرار داده و حدفاصل دو پتری با چند لایه پارافیلم پوشانده شد. در تیمار شاهد به جای قارچ آنتاگونیست قرصی از PDA فاقد قارچ وسط پتری قرار گرفت. پس از سه روز رشد شعاعی کلنی قارچ بیماری‌زا در تیمار مختلف اندازه‌گیری و درصد ممانعت از رشد شعاعی میسلیوم به روش زیر محاسبه شد:

$$\frac{\text{(میزان رشد شعاعی کلنی قارچ بیمارگر مجاور گازهای فرار - میزان رشد شعاعی کلنی قارچ بیمارگر در پتری شاهد)}}{\text{میزان رشد شعاعی کلنی قارچ بیمارگر در پتری شاهد}} \times 100$$

این آزمایش در قالب طرح کامل تصادفی ٦ تیمار و ۳ تکرار یافت و داده‌های حاصل مورد تجزیه و تحلیل آمای قرار گرفتند.

نتایج و بحث

جدایه *N. mangiferae*: قارچ جداسازی شده از روی خصوصیات شکل‌شناسی و دمای رش کمینه و بهینه، طبق گزارش‌های حیدریان (۱۳۷٦) و ساتون و دایکو (۱۹۸۹) *N. mangiferae* تشخیص داده شد.

بررسی مقاومت نسبی چهار واریته پیوندک تجاری

www.SID.ir

Archive of SID

مرکبات نسبت به بیماری حاصل از *N. mangiferae*: با توجه به جدول‌های فوق بین ٤ واریته مذکور از لحاظ مقاومت نسبی در مقابل بیماری حاصل از *N. mangiferae* اختلاف معنی‌دار در ٥ درصد وجود دارد.

در تعیین مقاومت نسبی پیوندک‌ها، لیموترش لیسبون نسبت به بیماری فوق حساس‌تر از بقیه بود. استنبرگ و اکیلیا (١٩٧٥) حساسیت ٧ واریته از مرکبات را نسبت به این بیماری در شرایط آزمایشگاه بررسی کردند که در بین آنها لیموترش اورکا حساس‌تر از بقیه بود. در تحقیقات حیدریان (١٣٧٤) لیموترش اورکا و لیموترش لیسبون بین ٢٥ واریته تجاری مرکبات حساس‌تر از بقیه بودند.

بررسی مقاومت نسبی پنج واریته از پایه‌های مرکبات نسبت به بیماری حاصل از *N. mangiferae*: با توجه به جدول‌های ١، ٢ و ٣ بین ٥ واریته مذکور از لحاظ مقاومت نسبی در مقابل بیماری حاصل از *N. mangiferae* اختلاف معنی‌دار در سطح ١ درصد وجود دارد.

واریته‌های نارنج و رنگپورلایم حساسیت کمتری در مقایسه با واریته‌های ملک و رافلمون نسبت به بیماری داشته و واریته سیترومدو از لحاظ مقاومت به بیماری حدواسط این دو بود.

جدول ١- تجزیه واریانس مقاومت نسبی چهار واریته پیوندک تجاری مرکبات نسبت به بیماری حاصل از *N. mangiferae*

منبع تغییر	درجه آزادی	مجموع مربعات	میانگین مربعات	F
تیمار (واریته)	٣	٣١٤٣٨٥٣٢/٠٩٦	١٠٤٧٩٥١٠/٦٦٩	٦٤٧/٢٣٨**
خطا	١٦	٢٤٨٦٨٣/٧١٦٤	١٥٥٤٢/٧٣٢	
کل	١٩	٣١٦٨٧٢١٥/٨١٢		

ضریب تغییرات= ٩

**: در سطح ٩٩ درصد معنی‌دار است.

جدول ٢- مقایسه میانگین‌های مقاومت نسبی چهار واریته پیوندک تجاری مرکبات نسبت به بیماری حاصل از *N. mangiferae* با استفاده از آزمون دانکن.

واریته (تیمار)	میانگین مساحت زخم (میلی‌مترمربع)	مقایسه میانگین‌ها (٥٪)
لیموترش لیسبون	٣٣٣٠/٣٨	A
پرتقال والنسیا	١٤٠٩/٦٧	B
پرتقال محلی	٣٨١/٢٩	C
لیمو شیشه	١٥٥/١٦	D

جدول ٣- جدول تجزیه واریانس مقاومت نسبی چهار واریته پیوندک تجای مرکبات نسبت به بیماری حاصل از N. mangiferae

منبع تغییر	درجه ازادی	مجموع مربعات	میانگین مربعات	F
تیمار (پایه‌ها)	٤	٢٢٢٤٥٨/٢١٥٠	٥٥٦١٤/٥٥٣٧	٥ ٢٦٥٨**
خطا	٢٠	٢١١٢٢٨/٨٠٥٣	١٠٥٦١/٤٤٠٢	
کل	٢٤	٤٣٣٦٨٧٠/٢١٣٨		

www.SID.ir

Archive of SID

جدول ٤- مقایسه میانگین‌های مقاومت نسبی پنج پایه مرکبات نسبت به بیماری حاصل از ***N. mangiferae*** با استفاده از آزمون دانکن.

واریته (تیمار)	میانگین مساحت زخم (میلی‌مترمربع)	مقایسه میانگین‌ها (٪۵)
ولک	٥٢٥/٩٨٦	A
رافلسون	٤٨٣/٩٢٢	A
سیتروملو	٣٩٨/٤١٨	AB
نارنج	٣٠٠/٧٧٨	B
رنگپورلایم	٢٩١/٧	B

جدول ٥- جدول تجزیه واریانس اثر قارچ‌کش‌ها بر قارچ ***N. mangiferae***

منبع تغییر	درجه آزادی	مجموع مربعات	میانگین مربعات	F
قارچ‌کش	٦	١٨٦/٥٨٩	٣١/٠٩٨	٣٩٧٤/٣٣٧**
غلظت	٤	١٢٩/٧٨٢	٣٢/٤٤٥	٤١٤٦/٥**
قارچ‌کش× غلظت	٢٤	١٢٠/٩٦٦	٥/٠٤	٦٤٤/١٣٩**
خطا	٧٠	٠/٥٤٨	٠/٠٠٨	
کل	١٠٤	٤٣٧/٨٨٤		

ضریب تغییرات= ٢/٠١

جدول ٦- مقایسه میانگین‌های اثر قارچ‌کش‌ها بر قارچ ***N. mangiferae*** با استفاده از آزمون دانکن.

قارچ‌کش‌ها (تیمار)	میانگین (میلی‌متر)	مقایسه میانگین‌ها (٪۵)
شاهد (آب)	٦٣/٧٩	A
زینب	٥٤/٩٣	B
تری‌سیکلازول	٥١/٩	C
اکسی کلرورمس	٤٦/٣٥	D
مانکوزب	٣٦/٢٣	E
بنومیل	٣١/٦٢	F
پروپیکونازول	٢٢/٧٦	G

جدول ٧- مقایسه میانگین‌های میزان رشد قارچ ***N. mangiferae*** در غلظت‌های مختلف قارچ‌کش‌ها با استفاده از آزمون دانکن.

غلظت‌ها ppm (تیمار)	میانگین (میلی‌متر)	مقایسه میانگین‌ها (٪۵)
٠/٠١	٥٧	A
١	٥٢/٧٤	B
١٠	٤٥/٨٢	C
١٠٠	٣٨/٥٩	D
١٠٠٠	٢٥/٥٦	E

www.SID.ir

Archive of SID

جدول ۸- تأثیر ٦ قارچ‌کش در ۵ غلظت برروی رشد میسلیوم قارچ ***N. mangiferae*** بعد از ٤٨ ساعت نگهداری در دمای ۳۰ درجه سانتی‌گراد.

قارچ‌کش	۰/۱ ppm		۱ ppm		۱۰ ppm		۱۰۰ ppm		۱۰۰۰ ppm	
	قطر رشد	% بازداری	قطر رشد	% بازداری	قطر رشد	% بازداری	قطر رشد	% بازداری	قطر رشد	% بازداری
پروپیکونازول	۲۷/۷	۲۸/۸۹	۱۵/۳	۶۰/۷۶	۰	۱۰۰	۰	۱۰۰	۰	۱۰۰
بنومیل	۱۸/٤	۵۲/۸۲	۱۰	۷٤/۳۵	۹/٦	۷۵/۳۸	۷/۳	۸۱/۲۸	٤/٦	۸۸/۲
مانکوزب	۳۷/٦	۳/۵۸	۳٤/۸	۱۰/۷۷	۲۰/۸	٤٦/٦٦	۰	۱۰۰	۰	۱۰۰
اکسی‌کلرورمس	۲۷/٦	۲۹/۲۳	۲۵/۷	۳٤/۱	۲۳/۱	٤۰/۷٦	۲۱/۲	٤۵/٦٤	۱۰/۱	۷٤/۱
زینب	۳۷/۷	۳/۳۳	۳٤/۳	۱۲/۰۵	۳٤/۱	۱۲/۵٦	۳۲/۳	۱۷/۱۷۱	۱۳/۹	٦٤/۳۵
تری‌سیکلازول	۳۸/۷	۰/۷٤	۳۸/۲۹	۱/۸۲	۳۸/۱۵	۲/۱۷	۳۳/۱٤	۱۵/۰۲	۰	۱۰۰
شاهد	۳۹	۰	۳۹	۰	۳۹	۰	۳۹	۰	۳۹	۰

اعداد متن جدول میانگین ۳ تکرار می‌باشند.

با توجه به جدول‌های فوق بین قارچ‌کش‌های به کار رفته و بین غلظت‌های مورد بررسی در جلوگیری از رشد میسلیوم قارچ بیمارگر اختلاف معنی‌دار در سطح ۱ درصد وجود داشت. در بررسی اثر قارچ‌کش‌ها در بازداری از رشد شعاعی میسلیوم *N. mangiferae* سموم پروپیکونازول، بنومیل، مانکوزب، اکسی کلرورمس و زینب به‌ترتیب نزولی قرار گرفتند.

تعیین EC50 قارچ‌کش‌ها نسبت به *N. mangiferae*: نتایج آزمایش‌های این بخش به قرار زیر است.

بررسی مکانیسم تأثیر جدایه‌های قارچ‌های آنتاگونیست روی *N. mangiferae*: جدایه‌های تریکودرما توسط مهندس عمرانی در اختیار نگارنده قرار گرفت.

الف- کشت متقابل جدایه‌های آنتاگونیست و قارچ *N. mangiferae*: در بررسی‌ها مشخص شد که تمام جدایه‌ها ضمن رشد و برخورد با میسلیوم‌های قارچ بیماریزا از رشد و توسعه آن جلوگیری نموده و سپس شروع به پیشروی، کلنیزاسیون و اسپورزایی روی آن نمودند.

در بین آنتاگونیست‌ها جدایه‌های *T. harzianum* 199، *T. longibrachiatum* و *T. koningii* نسبت به *T. harzianum* و *T. virens* قارچ بیمارگر را سریع‌تر کلنیزه کردند.

جدول ۹- مقادیر ثابت عددی (a)، ضریب رگرسیون (b)، ضریب همبستگی (r)، معادله خطی رگرسیون و EC50 قارچ‌کش‌های مورد آزمایش.

قارچ‌کش	ثابت عددی	ضریب رگرسیون	ضریب همبستگی	معادله خطی رگرسیون	EC50
اکسی کلرورمس	٤/٦۱	۰/۲۵	۰/۸۹	y=۰/۲۵X+٤/٦۱	۳۱/٦ppm
تری‌سیکلازول	۱/۰۳	۱/۹۷	۰/۹۲	y=۱/۹۷X+٤/٦۱	۱۰۲/۳ppm
زینب	۳/۳۹	۰/٦٤	۰/۹۸	y=۰/٦٤X+۳/۳۹	۳۲۷/۸ppm
پروپیکونازول	۵/۹۷	۱/۱۹	۰/۸۸	y=۱/۱۹X+۵/۹۷	۰/۱۵۳ppm
مانکوزب	٤/۲۳	۱/٦۲	۰/۹٤	y=۱/٦۲X+٤/٦۱	۲/۹۵ppm
ادیفنفوی	٤/۵۸	۰/۷٦	۰/۹۵	y=۰/۷٦X+٤/۵۸	۳/۵۷ppm
تریادیمفون	٤/۲۸	۰/٦۱	۰/۹٦	y=۰/٦۱X+٤/۲۸	۱۵/۲۱ppm

کمترین میزان EC50 مربوطه به قارچ‌کش پروپیکونازول و بیشترین آن مربوط به زینب بود.

www.SID.ir

Archive of SID

ت جدایه‌های آنتاگونیست در حاشیه کلنی
چ *N. mangiferae*: در این مورد نیز سرعت
میسلیوم جدایه‌های *T. longibrachiatum*،
T. k و 199 *T. harzianum* نسبت به
T. har و *T. virens* برروی کلنی کامل قارچ
رگر بیشتر بود.
T. longibrachiatum، *T. koningii*، *T.*
har و 199 *T. harzianum* برروی کلنی
رچ *N. mangiferae* اسپورزایی نموده ولی
T. برروی کلنی بیمارگر فقط تولید میسلیوم کرد.
ی میکروسکوپی نحوه تأثیر جدایه‌های
ت روی قارچ *N. mangiferae*: هیچ یک از
جدایه‌های آنتاگونیست قادر به لیزکردن، پیچش و نفوذ به هیف‌های قارچ بیماری‌زا نبودند و هیچگونه اثر آنتاگونیستی از این لحاظ برروی قارچ *N. mangiferae* نداشتند.

د- بررسی اثر متابولیت‌های فرار (گازی) جدایه‌های آنتاگونیست در جلوگیری از رشد میسلیوم قارچ *N. mangiferae* در شرایط آزمایشگاه: نتایج حاصل در جدول‌های زیر خلاصه شده‌اند.

- تجزیه واریانس تأثیر متابولیت‌های فرار جدایه‌های آنتاگونیست در جلوگیری از رشد میسلیوم قارچ ***N. mangiferae***

منبع تغییر	درجه آزادی	مجموع مربعات	میانگین مربعات	F
تیمار	۵	۳/٤٥٨	۰/٦٩٢	۲/۱۸٤
خطا	۱۲	۳/۸	۰/۳۱۷	
کل	۱۷	۷/۲۵۸		

رات= ۱/۱٤

مقایسه میانگین‌های میزان جلوگیری از رشد میسلیوم قارچ *N. mangiferae* بر اثر متابولیت‌های فرار آنتاگونیست‌ها با استفاده از
ن:

آنتاگونیست‌ها	میانگین (میلی‌متر)	مقایسه میانگین‌ها (٪۵)
T. k	۳۹/۹۳	AB
T. har	۳۹/٦۷	AB
T. harziam	٤۰/۱۷	AB
T. longibrac	۳۹/۱٦	B
T.	٤۰/٦۳	A
	٤۰/۲۷	AB

ول‌های فوق اختلاف بین تیمارها معنی‌دار نیست.

یت‌های فرار آنها نیز در مقایسه با شاهد تأثیری
ت از رشد شعاعی میسلیوم *N. mangiferae*

ه آزمایش‌های فوق و عدم نفوذ و پیچش میسلیوم‌های آنتاگونیست‌ها به هیف‌های قارچ بیمارگر و لیز کردن آنها می‌توان نتیجه گرفت که جدایه‌های تریکودرما تأثیر چندانی در کنترل بیماری نداشته و قابل توصیه نیستند.

www.SID.ir

Archive of SID

منابع

۱.اداره کل آمار و اطلاعات وزارت کشاورزی، ۱۳۷٦. آمارنامه کشاورزی. نشریه شماره ۷۷/۰۱ اداره کل آمار و اطلاعات وزارت کشاورزی. ۸۵ صفحه.

۲.حیدریان، ا. ۱۳۷٤. بیماری پژمردگی شاخه، زوال و مرگ مرکبات ناشی از قارچ *N. mangiferae* (H. and sydow) Sutton and Dyko در استان خوزستان. پایان‌نامه کارشناسی ارشد گروه گیاهپزشکی دانشکده کشاورزی دانشگاه شهید چمران اهواز. ۹۹ صفحه.

۳.شتاب بوشهری، م. ۱۳۷٦. بررسی اثر چند قارچ‌کش و قارچ آنتاگونیست *Trichoderma* spp. روی قارچ *Mauginiella scaettae* Cva. عامل بیماری پوسیدگی گل‌انار خرما. پایان‌نامه کارشناسی ارشد گروه گیاهپزشکی دانشکده کشاورزی دانشگاه تهران. ۱۱٤ صفحه.

4.Achilea, O., and Sttenberrg, A. 1975. A newly discovered gummosis disease on lemon trees in Israel caused by Hendersonula toruloidea. Phytoparasitica 3(1):80.

5.Aminaee, M.M., and Ershad, J. 1993. Occurrence of Nattrassia mangiferae in Kerman province. Iranian Journal of Plant Pathology 2(3-4):12.

6.Nattrass, R.M. 1993. A new species of Hendersonula (H. toruloidea) on deciduous trees in Egypt. Tran. Brit. Mycol. Soc. 18:189-198.

7.Reuther, W. et al. 1967. The citrus industry. Vol. 1: history, world, distribution, botany and varieties. University of California, Division of Agricultural Science, Bereley. 611 pp.

8.Sutton, B., and Dyko, B.J. 1989. Revision of Hendersonula. Mycological Research 3(4): 466-488.

9.Whiteside, J.O. et al. 1987. Compendium of Citrus Diseases. APS Press. 80pp.

10.Worthing. C.R., and S.B. Walker. (edts.). 1996. The Pesticide Manual. The British Crop Protection Council. 695pp.

www.SID.ir

Archive of SID

J. Agric. Sci. Natur. Resour., Vol. 12(4), Oct - Nov 2005
www.magiran.com/jasnr

Investigation on the possibility of chemical and biological control of citrus branch wilt, decline and death disease caused by *Nattrassia mangiferae*

[1]H. Taheri, [2]V. Minassian and [2]R. Farrokhi-nejad
[1]Scientific member of Iran citrus Reasearch Institue, Ramsar, [2]Academic members Plant protection Dept., College of Agriculture, Shahid-chamran Univ., Ahvaz, Iran.

Abstract

Citrus branch wilt, decline and death disease caused by *Nattrassia mangiferae* is one of the most devastating diseases of citrus in Khuzestan province and causes heavy losses in this region every year. The aim of this investigation was to examine the chemical control measures against this disease. The relative resistance of some citrus varieties to pathogen was tested with infection of two-year old scions in two separate experiments. In first experiment Lisbon lemon was the most susceptible. Laboratory experiments were conducted to evaluate the effect of six fungicides including Propiconazol, Copper oxychloride, Zineb, Benomil Tricyclazol and Mancozeb against the pathogen on PDA culture. Results indicated that, Propiconazol was the most effective in inhibiting growth fungus. The EC50 of fungicides on PDA culture to *N. mangiferae* were determined. In an attempt to find a biological control method, antagonistic effects of *Trichoderma longibrachiatum*, *T. harzianum*, *T. harzianum* 199, *T. virens* were studied on *N. mangiferae*. In dual culture experiments and cultures on complete colony of *N. mangiferae*, antagonists colonized the pathogen. However no antagonistic mechanisma ie: coiling, vaculization and lysis occurred. Volatile metabolites of *Trichoderma* spp. Did not inhibit growth of pathogen.

Keywords: *Nattrassia mangiferae*; Citrus; Fungicides; Antagonists

www.SID.ir