



بررسی تأثیر چند قارچ کش در کنترل *Rhizoctonia solani* عامل مرگ نهال‌های بذری لیموترش در جهرم فارس

کاوس ایازپور

مربی گروه گیاهپزشکی دانشگاه آزاد اسلامی واحد جهرم

حمیدرضا مژدهی

دانشیار گروه بیماری شناسی گیاهی دانشگاه آزاد اسلامی واحد علوم و تحقیقات

نادر حسن‌زاده

استادیار گروه بیماری شناسی گیاهی دانشگاه آزاد اسلامی واحد علوم و تحقیقات

چکیده

تأثیر قارچ کش‌های تیلت، کاربندازیم، بنومیل، مانکوزب و کربوکسین - تیرام روی رشد قارچ عامل بیماری مرگ گیاهچه لیموترش در شرایط آزمایشگاهی و گلخانه‌ای (گلدان) به روشهای ضد عفونی بذر و محلول پاشی خاک بررسی شدند. پس از محاسبه EC_{50} هر قارچ کش در محیط کشت، برای مقایسه کارایی قارچ کش‌ها در کاهش رشد قطری میسلیوم قارچ عامل بیماری، EC_{50} ها با هم مقایسه شدند. نتایج حاصله نشان داد که قارچ کش‌های تیلت، کاربندازیم، کربوکسین - تیرام و بنومیل به ترتیب بیشترین تأثیر را در کاهش رشد قطری میسلیوم داشتند. در روش ضد عفونی بذر، تأثیر قارچ کش‌ها در کنترل بیماری به ترتیب مؤثرترین تا کم‌اثرترین عبارت بودند از تیلت، کربوکسین - تیرام، بنومیل، کاربندازیم و مانکوزب و میزان بقای گیاهچه‌ها در خاک غیر استریل بیش از خاک استریل بود. در روش محلول پاشی خاک، وقتی قارچ کش‌ها ۲۴ ساعت قبل از مایه زنی استفاده شدند، مؤثرتر بودند. در این آزمایش‌ها درصد بقای گیاهچه در خاک استریل بیشتر بود. تأثیر قارچ کش‌ها بر کاهش بیماری به ترتیب مؤثرترین تا کم‌اثرترین عبارتند از: کاربندازیم، تیلت، کربوکسین - تیرام، بنومیل و مانکوزب.

واژه‌گان کلیدی: لیموترش، مرگ گیاهچه، قارچ کش، کنترل، *Rhizoctonia solani*

مقدمه

مرگ گیاهچه‌های نارنج با عامل *Rhizoctonia solani* در سال ۱۳۷۷ توسط ناصر صفایی و واهه میناسیان برای اولین بار از ایران (خوزستان) گزارش گردید (صفایی - ناصر و میناسیان - واهه، ۱۳۷۷). پس از آن در سال ۱۳۸۱ این بیماری برای اولین بار در ایران از گیاهچه‌های لیموترش در جهرم گزارش گردید (ایازپور - کاوس و همکاران، ۱۳۸۱).

طبق مشاهدات و بررسیها مرگ نهال‌های بذری لیموترش در خزانه در اثر قارچ *Rhizoctonia solani* از مهمترین بیماری‌های گیاهچه در جهرم بوده و در بعضی خزانه‌ها تا ۴۰ درصد خسارت وارد می‌نماید.

کنترل شیمیایی بیماری ریزوکتونیایی موضوع صدها مقاله بوده و تحقیقات از سال ۱۹۱۳ وقتی تیمار بخار فرمالین برای اولین بار در کنترل مرگ ریشه^۱ سیب زمینی استفاده شد، شروع شده است (Sneh et al. 1996).

بیماری‌های ریزوکتونیایی با روش‌های ضد عفونی بذری، خاک، بذر و خاک و یا محلول پاشی بخشهای هوایی گیاه با قارچ کش‌هایی از گروه‌های مختلف کنترل می‌شوند. از بین قارچ کش‌ها طی سال‌های ۱۹۳۵ تا ۱۹۶۶، گروه Quintozene کاربرد بیشتری داشته و در کنترل طولانی مدت ریزوکتونیا مفیدتر بودند. در سال ۱۹۶۶ که استفاده از کربوکسین^۲، به عنوان اولین قارچ کش سیستمیک شروع شد ضد عفونی بذر و خاک با این قارچ کش تأثیر زیادی علیه مرگ گیاهچه و پوسیدگی ریشه در اثر *R. solani* داشت (Sneh et al., 1996).

Martin و همکاران (۱۹۸۴) در شرایط گلخانه عکس‌العمل بلایت ریزوکتونیایی علف بره نی مانند^۳ را نسبت به قارچ کش‌های بنومیل، کربوکسین، PCNB، ایپرودیون، کلروتالونیل و تری آدیمفون از طریق اسپری روی گیاه بررسی کردند. گیاهان علف بره نی مانند با جدایه‌های *R. solani*، قارچ‌های دو هسته‌ای شبه ریزوکتونیا و *R. zeae* مایه زنی شده و بنومیل از پیشرفت بیماری حاصل از قارچ‌های دو هسته‌ای شبه ریزوکتونیایی جلوگیری نکرد و روی بعضی گیاهان محلول پاشی شده با بنومیل بیماری شدیدتر از گیاهان سم پاشی نشده بود. جدایه‌های *R. zeae* روی گیاهان محلول پاشی شده با بنومیل نسبت به گیاهان محلول پاشی نشده بیماری مساوی یا شدیدتری ایجاد کردند. سم PCNB علیه *R. zeae* و یکی از جدایه‌های *R. solani* آزمایش شده بی اثر بود. کربوکسین، تری آدیمفون، ایپرودیون و کلروتالونیل در جلوگیری از ایجاد آلودگی به وسیله همه گونه‌های ریزوکتونیا و شبه ریزوکتونیا مؤثر بودند (Martin et al., 1984).

(Sharma, 1989) نه قارچ کش باویستین، تیابندازول، سرزان تر، تیرید، سرزان خشک، براسیکل، کاپتان، ویتاواکس و دیفولتان را برای کنترل مرگ ریزوکتونیایی گیاهچه‌های لیموترش به کار برد. قارچ کش‌ها به دو صورت ضد عفونی بذر و محلول پاشی خاک به کار رفتند. بهترین کنترل با ضد عفونی بذر به وسیله TBZ حاصل شد و پس از آن بهترین قارچ کش‌ها به ترتیب باویستین، براسیکل، ویتاواکس و تیرید بودند. سرزان تر و سرزان خشک، دیفولتان و کاپتان نتوانستند در حد معنی داری از مرگ گیاهچه‌ها جلوگیری نمایند (Sharma, 1989).

(Jaganathan, 1992) هفت قارچ کش به نام‌های کاپتان، اکسی کلرید مس، مانکوزب، زینب، PCNB، بنومیل و کاربندازیم را برای کنترل پوسیدگی ریزوکتونیایی ریشه لیموترش به صورت Soil drench به کار گرفت. نتایج بررسی‌ها پس از گذشت ۳۰ روز نشان داد که مؤثرترین قارچ کش‌ها بنومیل و سپس کاربندازیم و ضعیف‌ترین آنها PCNB می‌باشد (Jaganathan, 1992). هدف از این تحقیق تعیین بهترین قارچ کش و بهترین زمان استفاده از آن برای کنترل بیماری بود.

1. Black scurf
2. Carboxin
3. Tall fescue

روش تحقیق

۱- انتخاب قارچ کشها

در این تحقیق از پنج قارچ کش شامل بنومیل (Wp50%)، کربوکسین - تیرام (Wp75%)، کاربندازیم (Wp60%)، مانکوزب (Wp80%) و تیلت (Ec25%) استفاده شد. دلیل انتخاب این قارچ کشها در این آزمون‌ها عمدتاً بر اساس نتایج مطالعات و تحقیقات قبلی و به لحاظ تهیه آسان آنها در داخل کشور بوده است.

۲- بررسی اثر غلظت‌های مختلف قارچ کشها در جلوگیری از رشد میسلیم قارچ در آزمایشگاه

۱-۲- طرح آزمایشی

این سری از آزمایشها به صورت یک طرح کاملاً تصادفی در قالب فاکتوریل با دو فاکتور نوع و غلظت قارچ کشها و با پنج تکرار انجام شد. برای پنج قارچ کش استفاده شده در این آزمون با استفاده از اطلاعات موجود در منابع و همچنین نتایج حاصل از آزمون‌های مقدماتی برای یافتن غلظت‌های مؤثر سموم، چهار غلظت در نظر گرفته شد به طوری که برای کاربندازیم غلظت‌های صفر، ۱۰، ۱۵، ۲۰ پی پی ام (ppm)، برای مانکوزب غلظت‌های صفر، ۱۰، ۱۵ و ۲۰ پی پی ام، برای تیلت غلظت‌های صفر ۰/۰۵، ۰/۵، ۱، ۲ پی پی ام، برای کربوکسین - تیرام غلظت‌های صفر، ۱/۱، ۲/۵ و ۵ پی پی ام و برای بنومیل غلظت‌های صفر، ۲/۵، ۵ و ۱۰ پی پی ام ماده مؤثره انتخاب شد که غلظت صفر به عنوان شاهد و مبین محیط کشت‌هایی است که در آن هیچ میزان سم به کار نرفته است. تجزیه این آزمون‌ها نیز بر اساس غلظت‌ها جداگانه انجام و سپس با هم مقایسه شدند. گروه بندی میانگین‌های هر دو فاکتور با استفاده از آزمون چند دامنه‌ای دانکن در سطح $\alpha=1\%$ انجام شد.

۲-۲- آماده کردن محیط‌های کشت حاوی سموم

این آزمایش‌ها به روش اختلاط سم با محیط کشت انجام شد. برای هر غلظت از قارچ کش (تیمار) پنج لوله آزمایش (تکرار) در نظر گرفته شد و درون هر لوله آزمایش ۱۸ میلی لیتر محیط کشت PDA ریخته شد. پس از استریل کردن محیط کشت در اتوکلاو در دمای ۱۲۱ درجه سانتیگراد و فشار ۱۵ PSI به مدت ۲۰ دقیقه، لوله‌های حاوی محیط کشت در داخل بن ماری با دمای حدود ۵۰ درجه سانتیگراد نگهداری شدند.

پیش از مخلوط کردن سموم با محیط کشت، سوسپانسیون یکنواختی از غلظت‌های مختلف قارچ کشها در آب مقطر استریل با استفاده از یک دستگاه تکان دهنده^۱ تهیه شد و سپس در شرایط دمایی بن ماری دو میلی لیتر از هر کدام به لوله‌های محتوی ۱۸ میلی لیتر محیط کشت PDA اضافه شد. به این ترتیب غلظت‌های مورد نیاز تهیه و مخلوط به دست آمده جهت یکنواخت شدن به آرامی تکان داده شد. در نهایت محتوی هر لوله در یک پتری استریل (به قطر ۹ سانتیمتر) ریخته شد.

۳-۲- انتقال ایزوله انتخابی *R. solani* بر روی محیط کشت‌های حاوی سموم

پس از بستن محیط‌های کشت، جهت بررسی واکنش قارچ، به کمک یک چوب پنبه سوراخ کن^۲ دیسک‌هایی به قطر ۶ میلی‌متر از حاشیه کلنی‌های سه روزه و در حال رشد قارچ عامل بیماری برداشته و در کنار شعله و با رعایت شرایط استریل به صورت واژگون در مرکز تشتک‌های پتری محیط کشت واجد غلظت‌های مختلف سموم و نیز تشتک‌های پتری شاهد قرار داده شد.

1. Shaker
2. Corck borer

۴-۲- اندازه‌گیری قطر کلنی قارچ عامل بیماری بر روی محیط کشت‌های حاوی سموم

پس از انتقال دیسک‌های تهیه شده از قارچ مذکور به محیط کشت‌های دارای غلظت‌های مختلف قارچ کش‌ها، تشتک‌های پتری به یک انکوباتور تاریک با دمای ۲۵ درجه سانتیگراد منتقل شدند. اندازه‌گیری قطر حلقه رشدی قارچ قبل از اینکه قارچ در محیط شاهد به کناره‌های تشتک برسد انجام شد و ملاک عمل برای محاسبات آماری اندازه‌گیری‌ها توسط خط کش و در دو جهت بر حسب میلی‌متر بود. سپس بعد از محاسبه میانگین رشد آزمون چند دامنه‌ای دانکن در سطح $\alpha = 5\%$ انجام و طبقه بندی تیمارها انجام شد.

۵-۲- تعیین درصد بازداری رشد میسلیوم

پس از کسر اندازه قطر دیسک‌های اولیه (6mm) که بر روی محیط‌های کشت قرار داده شده بودند از اندازه قطر کلنی‌های قارچ در کلیه غلظت‌های سموم و نیز تشتک‌های پتری شاهد، میزان رشد میسلیوم در غلظت‌های یاد شده به دست آمد. پس از آنکه میزان رشد میسلیوم در هر تشتک پتری محتوی محیط کشت واجد سموم یا شاهد تعیین شد، درصد بازداری رشد میسلیوم برای (درصد مهار رشد شعاعی) در هر غلظت از رابطه زیر محاسبه گردید.

$$\text{inhibition } (\%) = \frac{A-B}{A} \times 100$$

A = اندازه قطر رشد میسلیوم در پتری شاهد (mm)

B = اندازه قطر رشد میسلیوم در غلظت معین قارچ کش (mm)

پس از محاسبه میانگین درصد بازداری رشد میسلیوم برای هر قارچ کش، آزمون چند دامنه‌ای دانکن در سطح $\alpha = 5\%$ انجام و میانگین‌ها طبقه بندی گردید.

۶-۲- تعیین غلظت مؤثره ۵۰ درصد (EC50) برای قارچ کش‌ها

برای مقایسه اثر چند قارچ کش روی این قارچ غلظت مؤثره ۵۰ درصد^۱ به عنوان شاخصی مناسب مورد استفاده قرار گرفت.

۳- بررسی اثر قارچ کش‌های مختلف در جلوگیری از پوسیدگی بذر و مرگ گیاهچه لیموترش به صورت ضد عفونی بذر**۱-۳- طرح آزمایشی**

این آزمایش به صورت یک آزمایش فاکتوریل در قالب یک طرح کاملاً تصادفی با دو فاکتور انجام شد. در این آزمون‌ها برای کلیه تیمارها ۴ تکرار در نظر گرفته شد. هر تیمار شامل دو گلدان بود و در هر گلدان ۵۰ بذر لیموترش^۲ کاشته شد. آزمایشات دو بار تکرار شدند. فاکتورهای مورد بررسی عبارت بودند از:

۱- خاک: که شامل دو سطح خاک استریل و خاک غیر استریل بود. برای استریل نمودن خاک، ۱۰ کیلوگرم خاک در یک کیسه پارچه‌ای ریخته شد و سپس به مدت یک ساعت در دمای ۱۲۱ درجه سانتیگراد و فشار یک اتمسفر اتوکلاو شد.

۲- قارچ کش‌های مختلف: سموم مورد استفاده عبارت بودند از: بنومیل، مانکوزب، کربوکسین - تیرام، تیلت و کاربندازیم، که با غلظت دو گرم ماده مؤثره در کیلو گرم بذر (توصیه روی بسته سم) در ضد عفونی بذر به کار رفتند.

1. Effective concentration 50% (EC50)
2. Key lime

۳-۲- تهیه مایه تلقیح و آلوده سازی خاک

برای تهیه مایه تلقیح قارچ عامل بیماری در تشتک‌های پتری با قطر ۸ سانتیمتر و حاوی محیط کشت PDA کشت گردید. پس از ۱۴ روز رشد در دمای ۲۵ درجه سانتیگراد در تاریکی، محتوی هر تشتک پتری به وسیله تیغ اسکالپل استریل در ابعاد ۵ میلیمتری خرد گردید و سپس با خاک سطحی (۲ تا ۳ سانتیمتر) یک گلدان با حجم ۲ کیلو گرم مخلوط گردید. گلدان‌ها آبیاری شدند و ۷۲ ساعت اجازه داده شد که قارچ خاک را کلنیزه کند و سپس بذرها کشت گردیدند.

۳-۳- شمارش گیاهچه‌های بقا یافته

پس از گذشت حدود ۷۰ روز از کاشت گیاهچه‌ها تعداد گیاهچه‌های موجود در تکرارهای هر تیمار شمارش و ثبت گردید. سپس میانگین گیاهچه بقا یافته در هر تیمار محاسبه شد. نتایج آزمایش به صورت یک طرح کاملاً تصادفی فاکتوریل دو فاکتوره با استفاده از نرم افزار کامپیوتری Mstat-c مورد تجزیه و تحلیل آماری قرار گرفتند.

۴- بررسی اثر قارچ کشتهای مختلف به صورت محلول پاشی خاک در کنترل مرگ گیاهچه لیموترش**۴-۱- طرح آزمایشی**

این آزمایش به صورت فاکتوریل در قالب یک طرح کاملاً تصادفی با ۴ فاکتور انجام شد. در این آزمون‌ها نیز برای کلیه تیمارها ۴ تکرار در نظر گرفته شد. آزمایشات دو بار تکرار شدند و نتایج مشابه حاصل شد. هر تیمار شامل دو گلدان بود که در هر گلدان ۵۰ بذر لیموترش کاشته شد. فاکتورهای مورد بررسی عبارت بودند از:

- ۱- نوع خاک: شامل دو سطح استریل و غیر استریل.
- ۲- قارچ کشتهای مختلف شامل ۵ قارچ کش: بنومیل، مانکوزب، کربوکسین-تیرام، تیلت و کاربندازیم.
- ۳- غلظت‌های مختلف قارچ کش‌ها: هر قارچ کش در چهار غلظت به کار رفت. غلظت‌های انتخابی بر اساس نتایج به دست آمده در مقالات مختلف بود که عبارت بودند از: صفر، ۲،۵/۵ و ۱۰ میکروگرم ماده مؤثره قارچ کش بر گرم خاک. ضمناً شاهد مایه زنی نشده و بدون کاربرد قارچ کش هم در نظر گرفته شد.
- ۴- زمان کاربرد قارچ کش‌ها: این قارچ کش‌ها در تیمارهای جداگانه در دو زمان متفاوت به کار گرفته شدند. بعضی ۲۴ ساعت قبل از مایه زنی گیاهچه‌ها و در موارد دیگر ۲۴ ساعت بعد از مایه زنی.

۴-۲- تهیه مایه تلقیح و مایه زنی گیاهچه‌ها

برای تهیه مایه تلقیح از محیط کشت سیب زمینی + دکستروز (PD) استفاده گردید. در هر ارلن مایر ۲۵۰ میلی لیتری به میزان ۲۵ میلی لیتر محیط کشت PD ریخته شد. سپس ارلن‌های حاوی محیط کشت به مدت ۲۰ دقیقه در دمای ۱۲۱ درجه سانتیگراد و فشار ۱۵PSI اتوکلاو شدند. پس از سرد شدن محیط کشتهای در هر ارلن مایر یک قرص ۶ میلیمتری از کشت تازه قارچ عامل بیماری قرار داده شد. پس از ۱۵ روز رشد قارچ در دمای ۲۵ درجه سانتیگراد و در تاریکی محتوی هر ارلن در ۲۵۰ میلی لیتر آب استریل ریخته شد و روی شیکر قرار داده شد تا سوسپانسیون یکنواختی از میسلیم به دست آید. گیاهچه‌های هر گلدان که در این زمان در مرحله ۲ تا ۵ برگی بودند با سوسپانسیون مذکور به طریق افزودن آن به سطح خاک گلدانها آلوده شدند.

۴-۳- کاربرد قارچ کش‌ها

برای این کار میزان قارچ کش مورد استفاده در غلظت‌های مختلف هر قارچ کش برای ۲ کیلو گرم خاک (خاک هر گلدان) محاسبه گردید. این مقدار سم در ۲۵۰ میلی لیتر آب حل گردید و گلدان با آن آبیاری شد. در غلظت صفر گلدان با ۲۵۰ میلی لیتر آب بدون قارچ کش آبیاری شد.

۴-۴- شمارش گیاهچه‌های بقا یافته

۳۰ روز پس از مایه زنی تعداد گیاهچه‌های بقاء یافته تکرارهای هر تیمار شمارش و نتایج آزمایش با استفاده از نرم افزار کامپیوتری Mstat-c تجزیه و تحلیل آماری گردید.

نتایج

۱- نتایج بررسی اثر غلظت‌های مختلف قارچ کشته در جلوگیری از رشد میسلیموم قارچ در محیط کشت

نتایج این آزمایشات نشان داد که بین غلظت‌های مختلف قارچ کشته به جز مانکوزب و بین قارچ کشته از نظر تأثیر بر میزان رشد قتری و درصد بازدارندگی قارچ عامل بیماری اختلاف آماری وجود دارد.

۲- محاسبه غلظت مؤثره ۵۰ درصد (EC50) قارچ کشته و مقایسه آنها از نظر EC50

نتایج آزمایشها بر روی محیط کشت PD نشان داد که پایین‌ترین مقدار EC50 به قارچ کش تیلت تعلق دارد و بالاترین EC50 مربوط به مانکوزب می‌باشد (نمودار ۱).

۳- نتایج بررسی اثر قارچ کشته‌های مختلف در جلوگیری از پوسیدگی بذر و مرگ گیاهچه لیموترش به صورت ضد عفونی بذر

با توجه به جدول ۱ نتیجه گرفته می‌شود که بین خاک استریل و خاک غیر استریل در سطح $\alpha=1\%$ اختلاف آماری و تفاوت معنی داری وجود دارد. بین قارچ کشته‌های مختلف در سطح $\alpha=1\%$ اختلاف آماری وجود دارد یعنی اینکه تأثیر قارچ کشته‌ها با هم متفاوت بوده است. همچنین بین تیمارهای مختلف در سطح $\alpha=1\%$ اختلاف آماری دیده می‌شود ولی برهمکنش بین قارچ کشته و خاک اختلاف معنی دار وجود ندارد. با توجه به نمودار ۲ بهترین کنترل بیماری با ضد عفونی بذر با تیلت به دست آمد که با شاهد در سطح $\alpha=1\%$ اختلاف معنی دار نداشت. پس از آن به ترتیب بیشترین بقا گیاهچه توسط تیمارهای ضد عفونی بذر با کربوکسین - تیرام، بنومیل، کاربندازیم، مانکوزب و شاهد قارچ دار به دست آمد. آنچه در اینجا قابل توجه است آن است که قارچ کش بنومیل در خاک استریل نتوانست بیماری را کنترل نماید و با شاهد آلوده به قارچ در سطح $\alpha=5\%$ اختلاف معنی دار نداشت. در حالی که در خاک غیر استریل بیماری تا حدودی کنترل گردید. همچنین میانگین بقا گیاهچه در خاک غیر استریل تیمار شده با تیلت نسبت به خاک استریل اختلاف معنی دار نشان داد.

البته ذکر این نکته ضروری است که قارچ کشته‌های مانکوزب، بنومیل و کار بندازیم نسبت به شاهد آلوده به قارچ در سطح $\alpha=5\%$ اختلاف معنی دار نداشت. با توجه به جدول ۲ چنین نتیجه گرفته می‌شود که به طور کلی در خاک غیر استریل میانگین بقا گیاهچه بیشتر و در سطح $\alpha=1\%$ اختلاف معنی دار وجود دارد.

۴- نتایج بررسی اثر قارچ کشته‌های مختلف به صورت محلول پاشی خاک در کنترل مرگ گیاهچه لیموترش ناشی از قارچ *R.solani*

تجزیه واریانس این آزمایش در جدول ۳ آمده است. با توجه به جدول تجزیه واریانس این آزمایش نتیجه گرفته می‌شود که بین تیمارهای قارچ کشته‌ها، غلظت‌های مختلف و زمان مصرف قارچ کش در سطح $\alpha=1\%$ اختلاف معنی داری وجود دارد.

با توجه به جدول ۴ مشخص می‌گردد که قارچ کش کار بندازیم با غلظت ۵ پی پی ام ماده مؤثره توانسته بیماری را به خوبی کنترل نماید و از نظر آماری با شاهد در یک سطح (a) قرار بگیرد. پس از آن غلظت ۲/۵ پی پی ام تیلت کنترل خوبی داشته و در سطح b قرار گرفته است. کمترین اثر بر کنترل بیماری مربوط به غلظت ۲/۵ پی پی ام مانکوزب می‌باشد. پس از تیلت به ترتیب غلظت ۵ پی پی ام کربوکسین - تیرام، غلظت ۵ پی پی ام تیلت، غلظت ۲/۵ پی پی ام بنومیل، غلظت ۱۰ پی پی ام کربوکسین - تیرام، غلظت ۱۰ پی پی ام کار بندازیم و تیلت و غلظت ۵ و ۱۰ پی پی ام مانکوزب در کنترل بیماری مؤثر بوده‌اند. جدول ۵ نشان می‌دهد که بین زمان‌های مختلف مصرف قارچ کش اختلاف وجود دارد. و این اختلاف در کنترل بیماری معنی دار می‌باشد. بنابراین با توجه جدول

فوق می‌توان چنین نتیجه‌گیری کرد که کاربرد سم ۲۴ ساعت قبل از مایه زنی اثر بهتری داشته و بیماری را بهتر کنترل نموده است.

در نمودار ۳ مشخص می‌شود که کربوکسین - تیرام وقتی ۲۴ ساعت قبل از مایه زنی به کار رود بیشترین تأثیر را در کنترل بیماری دارد و پس از شاهد در سطح b قرار می‌گیرد. پس از آن کاربندازیم است که در سطح c قرار گرفته و زمان بر آن تأثیری ندارد. یعنی تأثیر کار بندازیم در دو زمان ۲۴ ساعت قبل و ۲۴ ساعت بعد از مایه زنی در مقایسه با یکدیگر اختلاف آماری نشان نمی‌دهد. تیلت و مانکوزب نیز در زمان‌های متفاوت اختلاف آماری نشان نمی‌دهند. ولی بنومیل وقتی ۲۴ ساعت قبل از مایه زنی به کار رود مؤثرتر واقع می‌شود.

با توجه به نمودار ۴ می‌توان چنین نتیجه‌گیری کرد که غلظت ۵ پی پی ام قارچ کش‌ها وقتی ۲۴ ساعت قبل از مایه زنی به کار رود بهترین تأثیر را در کنترل بیماری دارد و در گروه بندی آماری در سطح a قرار می‌گیرد.

با توجه به جدول ۶ این نتیجه به دست می‌آید که میانگین بقاء گیاهچه در خاک استریل بیشتر بوده است و در مقایسه با متوسط بقاء گیاهچه در خاک غیر استریل در سطح $\alpha=1\%$ اختلاف معنی دار نشان می‌دهد.

با توجه به نمودار ۵ نتیجه‌گیری می‌شود که بقاء گیاهچه در خاک استریل و غیر استریل در تیمارهای شاهد تفاوت آماری ندارد و هر دو در سطح a قرار می‌گیرند. به طور کلی بنومیل، تیلت و کار بندازیم در خاک استریل میانگین بقاء گیاهچه بیشتری داشته‌اند. در حالیکه مانکوزب در خاک غیر استریل مؤثرتر واقع شده و در تیمار کربوکسین - تیرام نیز میانگین بقاء گیاهچه در خاک غیر استریل بیشتر بوده است.

با توجه به نمودار ۶ نتیجه گرفته می‌شود که در غلظت ۲/۵ پی پی ام بقاء گیاهچه در خاک غیر استریل بیشتر بوده و با خاک استریل اختلاف آماری نشان می‌دهد. در غلظت ۵ پی پی ام اختلاف آماری بین خاک استریل و خاک غیر استریل دیده نمی‌شود و در غلظت ۱۰ پی پی ام بقاء گیاهچه در خاک استریل بیشتر بوده و با میانگین بقاء گیاهچه در خاک غیر استریل تفاوت آماری نشان می‌دهد.

بحث

در بررسی EC50 قارچ کش‌ها دیده می‌شود که کمترین EC50 مربوط به تیلت و متعاقب آن به ترتیب مربوط به کار بندازیم، مانکوزب، کربوکسین - تیرام و بنومیل بوده است. بنابراین در شرایط آزمایشگاهی مؤثرترین قارچ کش در جلوگیری از رشد عامل بیماری تیلت و کم اثرترین قارچ کش بنومیل می‌باشد.

در ضد عفونی بذر همانند شرایط آزمایشگاهی تیلت مؤثرترین قارچ‌کش در کنترل بیماری بوده است و پس از آن کربوکسین - تیرام، بنومیل، کاربندازیم و مانکوزب بیشترین تأثیر را داشته‌اند. البته ذکر این نکته ضروری است که بنومیل در خاک استریل نتوانست بیماری را کنترل نماید و فقط در خاک غیر استریل قادر بود بیماری را کنترل نماید. تیلت نیز در خاک غیر استریل بهتر توانسته است بیماری را کنترل نماید. سم بنومیل در شرایط آزمایشگاه و در خاک استریل بر روی عامل بیماری مؤثر نبود اما در خاک غیر استریل بیشتر مؤثر واقع شد. دلیل این امر ممکن است این باشد که بنومیل به طور مستقیم بر عامل بیماری مؤثر نیست ولی در خاک غیر استریل توانسته است روی دیگر میکرو ارگانیسم‌ها و میکرو فلور خاک تأثیر بگذارد که این به نوبه خود به نفع عوامل کنترل کننده عامل بیماری باشد و به این ترتیب در خاک غیر استریل توانسته باشد بیماری را تا حدودی کنترل نماید. تیلت نیز به همین ترتیب علاوه بر کنترل مستقیم ممکن است با چنین تأثیر انتخابی بر میکروفلور خاک توانسته باشد بیماری را در خاک غیر استریل بهتر کنترل کند. به طور کلی نیز دیده می‌شود که بقاء گیاهچه در خاک غیر استریل بیشتر است و حتی در شاهد مایه زنی شده نیز دیده می‌شود که در خاک غیر استریل بقاء گیاهچه بیشتر است. این‌ها خود نشان دهنده وجود عوامل میکروبی کنترل کننده عامل بیماری در خاک است.

در استفاده از سموم به صورت محلول پاشی خاک دیده شد که وقتی قارچ کش‌ها ۲۴ ساعت قبل از مایه زنی گیاهچه‌ها به کار رفتند تأثیر بسزایی داشته‌اند و بهتر توانسته‌اند بیماری را کنترل نمایند. این نتایج با نتایج ارائه شده توسط Jaganathan (1992) هماهنگی و مطابقت دارد. این امر ممکن است به دو دلیل زیر باشد: ۱- سموم سیستمیک که از راه ریشه جذب می‌شوند و یا اگر باید در گیاه تغییر شیمیایی حاصل بشود تا فعال بشوند این فرصت تغییر را پیدا می‌کنند. ۲- عامل بیماری از همان ابتدای ورود به خاک با قارچ کش روبرو شده و فرصت حمله به گیاه را پیدا نمی‌کند.

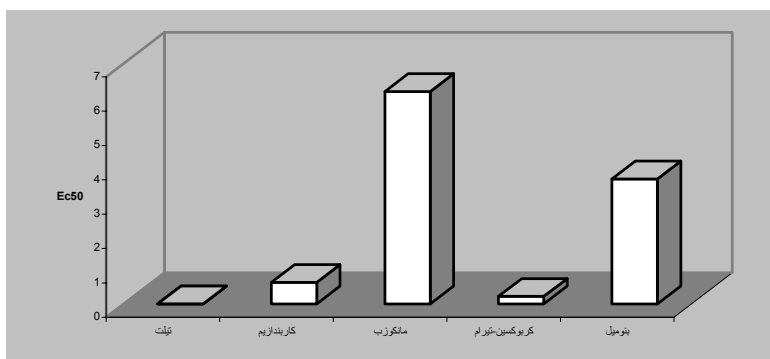
شاهد فرض اول دو قارچکش سیستمیک کربوکسین - تیرام و بنومیل است که وقتی ۲۴ ساعت قبل از مایه زنی بکار روند مؤثرتر هستند. تیلت و مانکوزب و کار بندازیم در هر دو زمان یعنی ۲۴ ساعت قبل و ۲۴ ساعت بعد از مایه زنی نتیجه مشابه می‌دهند. همچنین مشاهده شد که مؤثرترین غلظت، غلظت ۵ پی پی ام، سپس ۲/۵ پی پی ام و در نهایت ۱۰ پی پی ام است. علت اینکه در غلظت ۱۰ پی پی ام کمترین بقا گیاهچه دیده می‌شود احتمالاً به این دلیل است که غلظت بالای قارچ کش باعث گیاه سوزی می‌شود. بنابراین درصدی از مرگ و میر گیاهچه به دلیل گیاه سوزی بوده است.

در روش استفاده از سموم به صورت محلول پاشی خاک، متوسط بقا گیاهچه در خاک استریل بیشتر از خاک غیر استریل بوده است. حال آنکه در روش ضد عفونی بذر متوسط بقا گیاهچه در خاک غیر استریل بیشتر بود. شاید دلیل آن این باشد که در ضد عفونی بذر مدت زمان زیادی تا رویش و پایان مرگ و میر گیاهچه طول می‌کشد. بنابراین در این مدت نسبتاً طولانی تأثیر انتخابی بعضی قارچ کش‌ها روی میکرو فلور خاک، روی فعالیت بعضی عوامل زنده میکروبی خاک در جهت کمک به کنترل شیمیایی تأثیر می‌گذارد. در روش محلول پاشی خاک زمان زیادی تا پایان مرگ و میر وجود ندارد زیرا گیاهچه به زودی از مرحله حساس خارج می‌شود بنابراین فرصت دخالت عوامل بیولوژیک داده نمی‌شود.

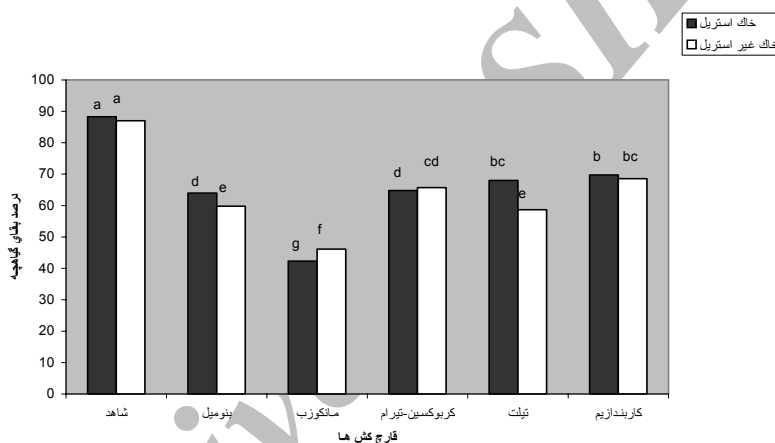
تیلت بهترین نتیجه را در غلظت ۲/۵ پی پی ام نشان داد در حالی که غلظت ۵ پی پی ام موجب گیاه سوزی شد. با توجه به اینکه بهترین کنترل بیماری با غلظت ۵ پی پی ام کاربندازیم حاصل شده و پس از آن غلظت ۲/۵ پی پی ام تیلت قرار دارد و با توجه به اینکه تیلت در ضد عفونی بذر بهترین نتیجه را داشت این احتمال داده می‌شود که اگر چنانچه غلظت پایین‌تری از تیلت بکار می‌رفت ممکن بود نتیجه بهتری به دست آید. یعنی ممکن است تیلت در غلظت ۲/۵ پی پی ام هم باعث گیاه سوزی شده باشد. مانکوزب در هر سه روش آزمایش یعنی شرایط آزمایشگاه، ضد عفونی بذر و محلول پاشی خاک کمترین تأثیر را بر عامل بیماری داشته است. بنابراین سم مانکوزب در کنترل بیماری توصیه نمی‌شود.

کاربندازیم با غلظت ۵ پی پی ام در روش محلول پاشی خاک بهترین تأثیر را بر کنترل بیماری داشته است. در شرایط آزمایشگاه نیز کاربندازیم پس از تیلت اثر بسیار خوبی بر عامل بیماری داشت. حال آنکه در ضد عفونی بذر نتیجه مطلوب به دست نیامد. با توجه به نتایج فوق می‌توان چنین نتیجه‌گیری نمود که کاربندازیم در خاک به مدت کافی دوام ندارد و غلظت آن به سرعت تنزل می‌کند. بنابراین روش ضد عفونی بذر نمی‌تواند بیماری را کنترل نماید.

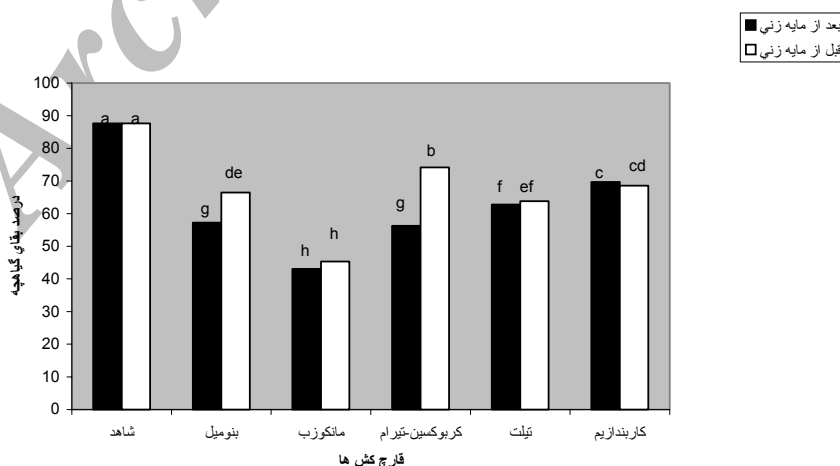
با توجه به تحقیق (1989) Sharma و (1992) Jaganathan که بهترین قارچ کش را کاربندازیم معرفی کردند نتایج این آزمایش نیز با تحقیقات آنان هماهنگی دارد. ولی تأثیر بنومیل در اینجا بسیار پایین است که بر خلاف نتایج Jaganathan (1992) می‌باشد. البته نتایج مربوط به بنومیل در این آزمایش با نتایج آزمایش Martin و همکاران (1984) هماهنگی دارد. ایشان نیز مشاهده کردند که بنومیل روی بعضی از ریزوکتونیاها بی‌تأثیر می‌باشد. بنابراین شاید دلیل اختلاف نتایج این آزمایش با نتایج Jaganathan (1992) تفاوت جدایه‌ها باشد. کربوکسین - تیرام نیز در این آزمایش تأثیری متوسط بر قارچ عامل بیماری داشته که با نتایج اکثر تحقیقات انجام شده از جمله تحقیقات Martin و همکاران (1984) و (1989) Sharma مطابقت دارد. تیلت در اینجا به عنوان یک محصول جدید آزمایش شده و در تحقیقات دیگر از آن برای کنترل ریزوکتونیا در خاک استفاده نشده است، ولی دیده می‌شود که نتیجه بسیار مطلوبی داشته است. مانکوزب تأثیر چندانی در کنترل بیماری به صورت ضد عفونی بذر یا محلول پاشی خاک نداشته است که این مورد نیز با نتایج تحقیقات Jaganathan (1992) مطابقت دارد.



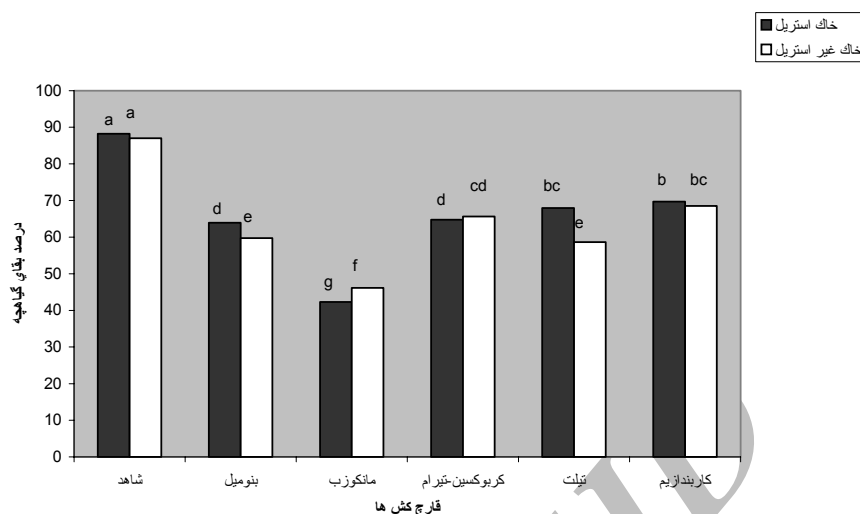
نمودار ۱- مقایسه قارچ کش‌های تیلت، کاربندازیم، مانکوزب، کربوکسین - تیرام و بنومیل بر اساس میزان EC50 محاسبه شده برای هر قارچ کش (برحسب پی پی ام) پس از ۴ روز رشد عامل بیماری بر روی محیط کشت PDA



نمودار ۲- میانگین بقا گیاهچه لیموترش در تیمارهای مختلف ضد عفونی بذر و گروه بندی آماری میانگین‌ها بر اساس آزمون چند دامنه‌ای دانکن در سطح $\alpha=1\%$ (۷۰ روز پس از کاشت)



نمودار ۳- مقایسه تأثیر قارچ کشها بر بقا گیاهچه لیموترش با توجه به زمان مایه زنی آنها و گروه بندی آماری میانگین‌های درصد بقا گیاهچه با استفاده از آزمون چند دامنه‌ای دانکن در سطح $\alpha=5\%$ (۳۰ روز پس از مایه زنی)



نمودار ۴- مقایسه تاثیر قارچ کشها بر بقا گیاهچه لیموترش با توجه به نوع خاک و گروه بندی آماری میانگین‌های درصد بقا گیاهچه با استفاده از آزمون چند دامنه‌ای دانکن در سطح $\alpha = 5\%$ (۳۰ روز پس از مایه زنی)

جدول ۱- تجزیه واریانس آزمایش بررسی اثر قارچ کشهای بنومیل، کربوکسین - تیرام، مانکوزب، کاربندازیم و تیلت در جلوگیری از پوسیدگی بذر و مرگ گیاهچه لیموترش به صورت ضد عفونی بذر (۷۰ روز پس از کاشت)

Fs	Ms	Ss	Df	منابع تغییر
		۴۲۵۵۹/۹۳	۱۳	تیمار
۵۰/۵۶**	۳۲۷۳/۸۴	۵۴۰/۶۴	۱	خاک استریل
۸/۳۵**	۵۴۰/۶۴	۴۱۳۶۶/۴۳	۶	و غیر استریل
۱۰۶/۴۷**	۶۸۹۴/۴۰۵	۶۵۲/۸۶	۶	قارچ کشها
۱/۶۸ n.s	۱۰۸/۸۱	۲۷۱۹/۵	۴۲	خاک × قارچ کش
	۶۴/۷۵	۴۵۲۷۹/۴۳	۵۵	خطای آزمایش
				کل

**=اختلاف آماری در سطح $\alpha = 1\%$
Coefficient of variation (CV)=17.57%

جدول ۲- مقایسه میانگین بقا گیاهچه لیموترش در خاک استریل و غیر استریل به روش ضد عفونی بذر براساس آزمون دانت در سطح $\alpha = 1\%$

گروه بندی آماری	میانگین بقا گیاهچه	تیمار
a	۴۳/۸۹	خاک غیر استریل
b	۳۷/۶۸	خاک استریل

جدول ۳- تجزیه واریانس آزمایش بررسی اثر قارچ کش‌های بنومیل، کربوکسین - تیرام، مانکوزب، کاربندازیم و تیلت به صورت محلول پاشی خاک در سه دوز ۲/۵، ۵ و ۱۰ میکرو گرم بر گرم خاک در کنترل مرگ گیاهچه لیموترش (۳۰ روز پس از مایه زنی)

Fs	Ms) میانگین مربعات	مجموع مربعات (Ss)	درجه آزادی (Df)	منابع تغییرات
۳۸۳/۱۵۷۷**	۹۳۴۸/۷۸۱	۴۶۷۴۳/۹۰۶	۵	قارچ کشها
۱۷۶/۴۱۲۶**	۴۳۰۴/۳۴۴	۸۶۰۸/۶۸۸	۲	غلظت های قارچ کشها
۵۹/۲۷۳۵**	۱۴۴۶/۲۳۱	۱۴۴۶۲/۳۱۳	۱۰	غلظت× قارچ کش
۷۰/۳۳۰**	۱۷۱۶/۰۰۳	۱۷۱۶/۰۰۳	۱	زمان مصرف قارچ کش
۲۶/۶۶۴۲**	۶۵۰/۵۸۷	۳۲۵۲/۹۳۴	۵	زمان مصرف× قارچ کش
۴/۲۸۳۹*	۱۰۴/۵۲۴	۲۰۹/۰۴۹	۲	زمان مصرف× غلظت
۲/۳۳۵۹*	۵۶/۹۹۵	۵۶۹/۹۵۱	۱۰	زمان مصرف× غلظت× قارچ کش
۱۰/۱۴۵۰**	۲۴۷/۵۳۱	۲۴۷/۵۳۱	۱	نوع خاک
۹/۹۸۶۵**	۲۴۳/۶۶۵	۱۲۱۸/۳۲۳	۵	نوع خاک× قارچ کش
۱۹/۶۰۱۴**	۴۷۸/۲۶۰	۹۵۶/۵۲۱	۲	نوع خاک× غلظت
۱۱/۸۱۲۱**	۲۸۸/۲۰۶	۲۸۸۲/۰۶۳	۱۰	نوع خاک× غلظت× قارچ کش
۵/۵۲۲۸*	۱۳۴/۷۵۳	۱۳۴/۷۵۳	۱	نوع خاک× زمان مصرف
۸/۲۹۶۸**	۲۰۲/۴۳۷	۱۰۱۲/۱۸۴	۵	نوع خاک× زمان مصرف× قارچ کش
۱/۲۹۰۳ns	۳۱/۴۸۳	۶۲/۹۶۵	۲	نوع خاک× زمان مصرف× غلظت
۲/۳۱۸۹*	۵۶/۵۷۸	۵۶۵/۷۸۵	۱۰	نوع خاک× زمان مصرف× غلظت× قارچ کش
	۲۴/۳۹۹	۵۲۷۰/۲۵۰	۲۱۶	خطای آزمایش
		۸۷۹۱۳/۲۱۹	۲۸۷	کل

**= اختلاف آماری در سطح ۱% α

*= اختلاف آماری در سطح ۵% α Coefficient of variation(CV)=7.57%

جدول ۴- مقایسه میانگین‌های بقاء گیاهچه لیموترش در آزمایش بررسی اثر قارچ کشهای بنومیل، کربوکسین - تیرام، مانکوزب، کاربندازیم و تیلت به صورت محلول پاشی خاک در سه دوز ۲/۵، ۵ و ۱۰ میکرو گرم بر گرم خاک در کنترل مرگ گیاهچه لیموترش و گروه بندی آماری تیمارها بر اساس آزمون چند دامنه‌ای دانکن در سطح ۵% α (۳۰ روز پس از مایه زنی)

تیمارها	میانگین ها	گروه بندی آماری
شاهد	۸۷/۶۳	a
غلظت دوم کاربندازیم	۸۵/۶۳	a
غلظت اول تیلت	۷۸/۵۰	b
غلظت دوم کربوکسین-تیرام	۷۴/۵۰	c
غلظت دوم بنومیل	۷۱/۳۸	cd
غلظت اول کاربندازیم	۷۰/۶۳	d
غلظت اول کربوکسین-تیرام	۶۲/۱۹	e
غلظت دوم تیلت	۶۱/۵۶	e
غلظت اول بنومیل	۶۱/۱۹	e
غلظت سوم کربوکسین-تیرام	۵۸/۹۴	e
غلظت سوم بنومیل	۵۲/۹۴	f
غلظت سوم کاربندازیم	۵۱/۱۳	fg

fg	۴۹/۸۸	غلظت سوم تیلت
g	۴۸/۸۱	غلظت سوم مانکوزب
g	۴۸/۶۹	غلظت دوم مانکوزب
h	۳۵/۱۳	غلظت اول مانکوزب

جدول ۵- گروه بندی آماری زمان‌های مصرف قارچ کشها با استفاده از آزمون دانت در سطح $\alpha=1\%$ بر اساس میانگین درصد بقا گیاهچه لیموترش (۳۰ روز پس از مایه زنی)

تیماها	میانگین بقا گیاهچه	گروه بندی آماری
کاربرد سم ۲۴ ساعت قبل از مایه زنی	۶۷/۶۶۰	a
کاربرد سم ۲۴ ساعت بعد از مایه زنی	۶۲/۷۷۸	b

جدول ۶- گروه بندی آماری میانگین درصد بقا گیاهچه لیموترش در خاک استریل و خاک غیر استریل با استفاده از آزمون دانت در سطح $\alpha=1\%$ (۳۰ روز پس از مایه زنی)

تیماها	میانگین بقا گیاهچه	گروه بندی آماری
خاک استریل	۶۷/۶۶۰	a
خاک غیر استریل	۶۴/۲۹۲	b

منابع و مأخذ:

- ۱- ایازپور- کاوس، مژدهی- حمید رضا و حسن زاده- نادر. ۱۳۸۱. بررسی خصوصیات قارچ *Rhizoctonia solani* عامل مرگ نهال‌های بذری لیموترش در جهرم فارس و مقاومت پایه‌های مختلف مرکبات به عامل بیماری. ضمیمه خلاصه مقالات پانزدهمین کنگره گیاهپزشکی ایران، ۱۶ تا ۲۰ شهریور ۱۳۸۱، دانشگاه رازی کرمانشاه. صفحه ۳۵.
- ۲- صفایی- ناصر و میناسیان - واهه. ۱۳۷۷. تعیین گروه آناستوموزی ریزوکتونیای عامل مرگ گیاهچه نارنج بذری. خلاصه مقالات سیزدهمین کنگره گیاهپزشکی ایران، جلد دوم، بیماریهای گیاهی و علفهای هرز، ۱ تا ۵ شهریور ۱۳۷۷، آموزشکده کشاورزی کرج. صفحه ۲۲۸.
- 3- Jaganathan, R. 1992. Chemical control of damping-off of acid lime. Madras Agric. J. 79: 418-420.
- 4- Martin, S. B., Compbell, C. L. and Lucas, L. T. 1984. Response of *Rhizoctonia* blights of tallfescue to selected fungicides in greenhouse. Phytopathology 74: 782-785.
- 5- Sharma, I. M. 1989. Damping-off of Citrus jambhiri (Jatti-khatti) seedlings, its cause and control in Himachal Pradesh. Prog. Hort. 21: 254-256.
- 6- Sneh, B., Jabaji-hare, S. and Dijst, G. 1996. *Rhizoctonia* species: Taxonomy, Molecular biology, Ecology, Pathology and Disease control. Kluwer Academic Publishers. 579pp.

Evaluating effects of some fungicides on *Rhizoctonia solani* causal agent of key lime damping-off in the Jahrom

K. Ayazpour

Scientific member, Islamic Azad university of Jahrom, Jahrom, Iran

H. Mojdehi

Assoc. professor, Science and Research Branch, Islamic Azad University, Tehran, Iran

N. Hasanzadeh

Assis. professor, Science and Research Branch, Islamic Azad University, Tehran, Iran

Abstract

Efficacy of five fungicides, Tilt, Carbendazim, Benomyl, Mancozeb and Carboxin-Thiram on saprophytic growth of *Rhizoctonia solani* on PDA and the disease when used as seed treatment or soil drench were investigated. Comparing EC_{50} values of the said fungicides Tilt, Carbendazim, Carboxin-Thiram and Benomyl were the most effective compounds against fungal mycelial growth, respectively. In seed treatment experiments, where the number of surviving key lime seedlings were assessed, Tilt, Carboxin-Thiram, Benomyl, Carbendazim and Mancozeb were found to be more effective in order of Tilt > Carboxin-Thiram > Benomyl > Carbendazim > Mancozeb. On the other hand in soil drench experiments, when the seedlings at 2-5 leaf stages were treated 24 hr prior to inoculation with above – mentioned fungicides, the seedlings remained most healthy. In general, this study showed Carbendazim, Tilt, Carboxin-Thiram, Benomyl and Mancozeb are among the most effective fungicides, respectively.

Keywords: Keylime, Damping-off, Fungicides, Control, *Rhizoctonia solani*.