

ارزیابی مقاومت برخی پایه های مرکبات به نماتد مرکبات (*Tylenchulus semipenetrans*) در استان فارس

کاوس ایازپور*

گروه بیماری شناسی گیاهی، دانشگاه آزاد اسلامی واحد جهرم

عبدالحسین ابوطالبی

گروه باغبانی، دانشگاه آزاد اسلامی واحد جهرم

مجید پاک نیت

مرکز تحقیقات کشاورزی استان فارس، زرقان

چکیده

نماتد مرکبات از جمله نماتدهای مهم است که به طور وسیعی در باغهای مرکبات دنیا گسترش داشته و باعث زوال تدریجی درختان و تقلیل محصول می شود. با توجه به این که یکی از بهترین روش های کنترل این نماتد، استفاده از ارقام مقاوم است، مقاومت هجده پایه مختلف مرکبات شامل مینه اول، نارنج، لیموشیرین، لیموآهوازی، ته بشقابی، کمکوات، ترنج، اترج، لیموی لیسبون، تایوانیکا، ولکامریانا، یورکا، لیموترش، بتابی، راف لیمون، ماکروفیلا، سیتروملو و پونسیروس در شرایط گلدان و باغ آلوده نسبت به نماتد مرکبات ارزیابی شد. در آزمایش های گلدانی نهال های سه ماهه این پایه ها در گلدان هایی با جمعیت ۴۰ عدد لارو سن دوم نماتد در هر سانتیمتر مکعب خاک کاشته و بعد از گذشت شش ماه میزان آلودگی ریشه ها بررسی شد. در شرایط باغ نهال های پنج ماهه این پایه ها در فاصله بین درختان پرتقال ۲۵ ساله آلوده به نماتد مرکبات کاشته شدند. هر تیمار شامل شش نهال بود که تعداد سه نهال از هر تیمار چهار ماه و نیم بعد از کاشت و سه نهال دیگر پانزده ماه بعد از کاشت از نظر میزان آلودگی ریشه ها به نماتد بررسی شدند. نتایج هر دو آزمایش نشان داد که پونسیروس، سیتروملو و نارنج با کمترین میزان جمعیت نماتد ماده بالغ در ریشه اختلاف آماری معنی داری با سایر تیمارها دارند.

واژه های کلیدی: نماتد مرکبات، *Tylenchulus semipenetrans*، ارزیابی مقاومت، پایه های مرکبات، فارس

* مسئول مکاتبات، پست الکترونیکی: kayazpour@yahoo.com

تاریخ دریافت: ۸۸/۳/۶، تاریخ پذیرش: ۸۸/۷/۱۶

مقدمه

نماتد مرکبات، *Tylenchulus semipenetrans* Cobb از جمله نماتدهای مهم است که به طور وسیعی در باغ‌های مرکبات دنیا گسترش داشته و باعث زوال تدریجی درختان و تقلیل محصول می شود (Baines *et al.*, 1948; Van Gundy, 1958). طبق بررسی‌های Ahmad *et al.* (2004)، هشتاد گونه و رقم مرکبات به این نماتد حساس هستند. تحقیقات نشان می دهند که کاهش عملکرد محصول توسط نماتد مرکبات بسته به میزان آلودگی، بین ۱۰ تا ۳۰ درصد است (Verdego-Lucas & McKenry, 2004). نماتد مرکبات اولین با در سال 1912 در کالیفرنیا مشاهده و در سال‌های 1913 و 1914 توسط Cobb شناسایی و نامگذاری شد (Cobb, 1914). میزبانان نماتد مرکبات شامل مرکبات، انگور، زیتون، خرمندی (خرمالو) و پونسیروس است (Insera *et al.*, 1994). بررسی‌های انجام شده در شهرستان جهرم بیانگر گسترش وسیع این نماتد در باغات مرکبات بوده و تمامی باغات نمونه‌برداری شده و حدود ۸۵٪ درختان مورد بررسی آلوده به نماتد مرکبات بوده‌اند (Ayazpour & Ghanaatian, 2004).

این نماتد از انگل‌های خاکزی است و بنابراین، کنترل شیمیایی آن بسیار مشکل است. علی‌رغم آن که یکی از روش‌های کنترل آن ضدعفونی خاک قبل از کاشت مرکبات است، ولی توصیه شده است که در خاک‌های آلوده به این نماتد پایه‌های مقاومی مثل نارنج سه برگ (*Poncirus trifoliata*) کشت شود (Verdego-Lucas & McKenry, 2004).

اولین گزارش از وجود تفاوت در مقاومت پایه‌های مرکبات به نماتد مرکبات، مربوط به Ducharme (1948) در آرژانتین است که بر این اساس نارنج سه برگ به عنوان پایه مقاوم و سایر پایه‌ها حساس به نماتد مرکبات گزارش شده‌اند. (Baines *et al.* (1948) نیز چندین کلکسیون نارنج سه برگ و خویشاوندان جنس سیتروس را که مقاوم یا مصون به نماتد مرکبات بودند از کالیفرنیا گزارش کردند. (Van Gundy & Kirkpatrick (1964) مقاومت میزبانی را مطالعه نموده و سه نوع واکنش در واریته‌های مقاوم به نماتد مرکبات: مشتمل بر واکنش سلولی فوق حساسیت نسبت به تغذیه نماتد، تشکیل لایه چوب پنبه‌ای روی زخم درون پوست ریشه و وجود ترکیبات سمی در عصاره ریشه مشاهده کردند.

O'Bannon *et al.* (1977) فعالیت پنج جمعیت مختلف نماتد مرکبات را روی جنس‌های سیتروس و پونسیروس و هیبریدهای آنها مورد بررسی قرار دادند. نتایج نشان داد که تعداد لارو نماتد مرکبات روی گونه‌های جنس سیتروس و هیبریدهای آن به طور معنی داری در سطح یک درصد بیشتر از پونسیروس و هیبریدهای آن بود. در این آزمایش‌ها، جمعیت نژاد ۳ این نماتد روی پونسیروس و هیبریدهای آن بیشتر بود.

McCarty *et al.* (1979) حساسیت ۲۵ پایه مختلف مرکبات را نسبت به ۳ نژاد از نماتد مرکبات ارزیابی کردند. بر اساس نتایج این آزمایش، جمعیت نژادهای ۱ و ۲ بر روی پونسپروس و هیبریدهای آن بسیار کمتر بود و از این رو آنها را می توان مقاوم دانست. برخی بیوتیپها از این نماتد گزارش شده اند. Baines *et al.* (1974) بیوتیپهایی از نماتد مرکبات را که از نظر دامنه میزبانی و نیز بیماریزایی متفاوت بودند گزارش کردند. Insera *et al.* (1980) در بررسیهایی بر روی بیوتیپ نماتد مرکبات، چهار بیوتیپ را با دامنه میزبانی متفاوت گزارش نموده و Geraci *et al.* (1981) بیشترین مقاومت را در بین ۲۰ پایه تحت آزمایش، در Savage citrange orange و Swingle trifoliolate shekwasha یافته اند. بر اساس مطالعات Campos *et al.* (1979)، ارقام نارنج سه برگ و سیتروملو (*Poncirus trifoliolate* × *Citrus paradise*) دارای مقاومت بالایی به بیوتیپ مورد آزمایش بوده اند.

تأثیر پایه های *Fortunella*، *C. reticulata* cv. Cleopatra، *Citrus limon* cv. Milam و *P. trifoliolate* cv. Flying Dragon، *margarita* cv. Nagami و هیبرید *Citrus paradise* (Swingle Citrumelo) × *Poncirus trifoliolate* بر تولید مثل نماتد مرکبات بررسی گردید (Kaplan, 1981). نتایج نشان داد که هر دو بیوتیپ سیتروس و پونسپروس این نماتد بیشترین تولید مثل را روی وارسته ناگامی و کمترین تولید مثل را روی وارسته سوینگل سیتروملو داشتند. Walker (2007) تأثیر پایه را بر روی نماتد مرکبات مورد بررسی قرار داد. نتایج نشان داد که جمعیت نماتد مرکبات روی پرتقال بیشتر از سیترنج و همچنین رشد ریشه و شاخه سیترنج نسبت به پرتقال بیشتر بود.

در ایران، Tanha Maafi *et al.* (2000) مقاومت پایه های متداول مرکبات شمال ایران را نسبت به نماتد مرکبات مورد ارزیابی قرار دادند و نتیجه گرفتند که نارنج سه برگ و سیتروملو با داشتن کمترین میزان جمعیت نماتدی روی ریشه نسبت به سایر ارقام مقاومت بیشتری دارند.

بررسی میزان مقاومت پایه های موجود در منطقه و دستیابی به منابع مقاومت، می تواند به عنوان روشی مناسب برای کنترل این انگل به کار گرفته شود.

مواد و روش ها

بذرهای ۱۸ پایه مختلف مرکبات شامل مینه اولا، نارنج، لیموشیرین، لیمواهواری، تهبشقای، کمکوات، ترنج، اترج، لیموی لیسبون، تایوانیکا، ولکامریانا، یورکا، لیموترش، بتابی، راف لمون، ماکروفیلا، سیتروملو و پونسپروس از ایستگاه های تحقیقاتی جهرم و داراب و باغات میوه جهرم تهیه و کاشته شد. تعداد یکصد عدد بذر از هر یک از ارقام مورد بررسی در ماسه استریل در

سینی‌های کشت در گلخانه شرکت پارس نارنگ واقع در منطقه محمدآباد جهرم کاشته شد. مقاومت نهال‌های حاصله به دو روش زیر نسبت به نماتد مرکبات بررسی شد.

آزمایش‌های گلدانی

در قالب یک طرح آزمایشی کاملاً تصادفی با ۶ تکرار، نهال‌های سه ماهه کلیه ارقام در گلدان‌های محتوی ۴۰ عدد لارو سن دوم نماتد مرکبات در هر سانتیمتر مکعب خاک، کاشته شدند. گلدان‌ها در فضای آزاد به مدت ۶ ماه نگهداری و سپس نهال‌ها را از خاک خارج کرده و پس از جدا کردن ریشه‌ها از قسمت‌های هوایی و توزین آن‌ها، به ملایمت با آب شسته و سپس با محلول رنگی اسید فوشین لاکتوفنل رنگ آمیزی و میزان جمعیت ماده‌های جوان و ماده‌های بالغ فرو رفته در داخل ریشه شمارش شد (Tanha Maafi et al., 2000). پس از شمارش نماتدهای ماده، میانگین جمعیت نماتد در هر گرم ریشه محاسبه گردید و با استفاده از نرم افزار Mstat-c مقایسه میانگین‌ها انجام شد.

آزمایش‌های باغ آلوده

با استفاده از روش Duncan et al. (1994) نهال‌ها در معرض حمله لاروهای سن دوم نماتد مرکبات قرار داده شدند. بدین منظور قطعه‌ای از فضای بین درختان مسن (حدود ۲۵ ساله) پرتقال با پایه لیموترش در بخشی از باغ مرکبات شرکت پارس نارنگ انتخاب شد. جهت تعیین میزان آلودگی قطعه زمین مورد آزمایش در چند نقطه از عمق ۲۰-۲۵ سانتیمتر خاک به طور جداگانه نمونه برداری گردید و سپس به روش Jenkin's (1964) لاروهای سن دوم نماتد مرکبات استخراج و متوسط آلودگی آن تعیین گردید. حدود ۲۵ لارو سن ۲ در هر سانتیمتر مکعب از خاک باغ مورد بررسی شمارش گردید که شدت آلودگی این قطعه از باغ را تایید می‌کرد. تعداد ۳۶ اصله نهال ۵ ماهه از هر یک از ارقام مورد بررسی در قالب طرح بلوک‌های کامل تصادفی با ۶ تکرار کاشته شد.

تعداد سه اصله نهال از هر تیمار ۴/۵ ماه و تعداد سه اصله نهال پانزده ماه بعد از کاشت از خاک خارج شدند.

روش بررسی ریشه‌ها مشابه روش ذکر شده در آزمایش گلدانی بود با این تفاوت که در این آزمایش مقدار یک گرم از مجموع ریشه‌های نهال‌های هر تیمار جهت بررسی انتخاب شد.

نتایج

آزمایش‌های گلدانی

نتایج مقایسه میانگین‌ها بر اساس آزمون دانکن در سطح ۰.۱٪ در جدول یک آمده است. بر این اساس، بین تعداد نماتد در هر گرم ریشه روی پایه‌های مختلف اختلاف معنی‌داری وجود دارد. بر اساس اطلاعات موجود در این جدول، نارنج سه برگ (پونسیروس) و هیبرید آن (سیتروملو) نسبت به نماتد مرکبات موجود در خاک‌های جهرم بسیار مقاوم هستند که نارنج و

ترنج در درجه های بعدی مقاومت قرار داشته و به ترتیب مقاوم و نیمه مقاوم هستند. بیشترین آلودگی روی پایه های لیموترش و سپس یورکا مشاهده شد و بنابراین از بقیه حساس ترند.

آزمایش های باغ آلوده

نتایج شمارش نماتدهای ماده ۴/۵ ماه پس از انتقال نهال به باغ آلوده در جدول یک آورده شده است. با توجه به این جدول پونسیروس و سیتروملو نسبت به نماتد مرکبات موجود در جهرم مقاومتی در حد مصونیت دارد و نارنج در درجه بعدی مقاومت قرار دارد ولی از نظر آماری با پونسیروس و سیتروملو اختلاف معنی داری نشان نمی دهد. راف لمون، ترنج، مینه اولا و لیموشیرین در درجات بعدی مقاومت قرار دارند که نیمه مقاوم به نظر می رسند. لیموترش و یورکا بیشترین میزان آلودگی را دارند که از حساس ترین پایه ها به شمار می روند.

نتایج شمارش نماتدهای ماده ۱۵ ماه پس از انتقال نهال به باغ آلوده نیز نشان می دهد که پونسیروس و سیتروملو مقاومتی در حد مصونیت نسبت به نماتد مرکبات موجود در جهرم دارند. پایه های نارنج، مینه اولا، راف لمون، کمکوات و لیموشیرین هم از نظر آماری اختلاف معنی داری با پونسیروس و سیتروملو نشان نمی دهند و مقاوم به نظر می رسند.

بحث

نتایج آزمایشات گلدانی نشان می دهند که پونسیروس و سیتروملو که هیبریدی از پونسیروس است نسبت به بیوتیپ نماتد مرکبات موجود در منطقه مورد آزمایش بسیار مقاوم است و پس از آن آلودگی نارنج نسبت به بقیه پایه ها کمتر است (جدول ۱). با توجه به این نتایج احتمالاً نژاد مورد مطالعه بیوتیپ سیتروس می باشد.

نتایج آزمایش های باغ آلوده ۴/۵ و ۱۵ ماه پس از انتقال نهال به خاک آلوده با نتایج آزمایشات گلدانی مشابه است. در این آزمایشات نیز پونسیروس و سیتروملو بدون آلودگی و نارنج کمترین آلودگی را داشته است.

پیش از این Ducharme (1948) در آرژانتین و Baines *et al.* (1948) نیز گزارش کرده بودند که پونسیروس و هیبریدهای آن نسبت به نماتد مرکبات مقاوم هستند. Campos *et al.* (1979) در برزیل نیز مقاومت بالای پونسیروس و سیتروملو را نسبت به بیوتیپ مورد استفاده گزارش نموده بودند. O'Bannon *et al.* (1977) در آمریکا مقایسه ای بین ارقام مختلف انجام دادند که در همه بیوتیپ های مورد استفاده جمعیت نماتد به طور معنی داری در سطح ۱٪ روی جنس سیتروس بیش از پونسیروس بود. McCarty *et al.* (1979) نیز نتایج مشابهی به دست آوردند. بنابراین نتایج این آزمایشات با نتایج آزمایشات دیگر محققین از جمله Ducharme (1948)، Baines *et al.* (1948)، Campos *et al.* (1979)، O'Bannon *et al.* (1977)، McCarty *et al.* (1979)، Insera *et al.* (1980)، Kaplan (1981)، Niles *et al.* (1995) و Tanha Maafi *et al.* (2000) و Walker (2007) مطابقت دارد.

جدول ۱- مقایسه میانگین تعداد نماتد ماده بالغ در هر گرم ریشه به منظور ارزیابی مقاومت پایه‌های مرکبات به نماتد مرکبات، *Tylenchulus semipenetrans*.

آزمایش‌ها در باغ		آزمایش‌های گلدانی		پایه
تعداد نماتد بر گرم ریشه ۱۵ ماه پس از انتقال نهال	تعداد نماتد بر گرم ریشه ۴/۵ ماه پس از انتقال نهال	تعداد نماتد بر گرم ریشه، ۶ ماه پس از انتقال نهال	تعداد نماتد بر گرم ریشه، ۶ ماه پس از انتقال نهال	
۶۵fgh	۷۷ef	۸۴hi	۸۴hi	مینه اولا
۲۰gh	۲۳fg	۲۷j	۲۷j	نارنج
۸۳efgh	۹۸ef	۸۸hi	۸۸hi	لیموشیرین
۱۲۳defg	۱۴۵e	۱۲۷g	۱۲۷g	لیموآهوازی
۱۹۹bcde	۲۳۴d	۱۸۴e	۱۸۴e	ته بشقابی
۹۴efgh	۱۱۰e	۱۰۴h	۱۰۴h	کمکوات
۱۷۱cdef	۸۲ef	۷۷i	۷۷i	ترنج
۱۲۷defg	۱۴۸e	۱۴۸f	۱۴۸f	اترج
۱۳۴defg	۱۵۸e	۱۳۹fg	۱۳۹fg	لیسبون
۰h	۰g	۰k	۰k	سیتروملو
۲۶۶bc	۳۱۳bc	۲۶۴d	۲۶۴d	تایوانیکا
۲۲۶bcd	۲۶۶cd	۲۷۵d	۲۷۵d	ولکامریانا
۵۰۱a	۵۹۰a	۵۹۲b	۵۹۲b	یورکا
۰h	۰g	۰k	۰k	پونسیروس
۴۹۶a	۵۸۳a	۶۲۰a	۶۲۰a	لیموترش
۲۸۰bc	۳۳۰bc	۳۲۶c	۳۲۶c	بتابی
۷۳fgh	۸۶ef	۸۴hi	۸۴hi	رافلمون
۳۱۱b	۳۶۶b	۳۳۳c	۳۳۳c	ماکروفیلا
۱۹/۴۸	۲۳/۵۳	۶/۷۳	۶/۷۳	CV%

* در هر ستون اعدادی که در کنار آن‌ها حداقل دارای یک حرف مشترک هستند، در سطح ۱٪ اختلاف معنی داری با یکدیگر ندارند.

مطابق جدول یک، بیشترین حساسیت را لیموترش و یورکا و بعد از آن به ترتیب ماکروفیلا و بتابی، ولکامریانا و تایوانیکا، ته بشقابی، اترج، لیموی لیسبون، لیمو آهوازی، لیموشیرین، مینه اولا و راف لمون، نارنج، پونسیروس و سیتروملو داشتند. علیرغم مقاوم بودن پونسیروس و سیتروملو نسبت به نماتد مرکبات، به دلیل عدم سازگاری آن‌ها به خاک‌های قلیایی (Duncan, 1994)، برای جنوب کشور مناسب نیستند. با توجه به این نتایج، در صورتی که خصوصیات دیگر نارنج (رشد، باردهی، سازگاری با آب و هوا و سازگاری با خاک و ...) مناسب باشد، به عنوان بهترین پایه برای کاشت مرکبات در جهرم قابل توصیه می‌باشد.

منابع

- Ahmad, M.S., Mukhtar, T. & Ahmad, R. 2004. Some studies on the control of citrus nematode (*Tylenchulus semipenetrans*) by leaf extracts of three plants and their effects on plant growth variables. *Asian Journal of Plant Science*, 36: 544-548.
- Ayazpour, K. & Ghanaatian A. 2004. Determination of root parasite nematodes of citrus in Jahrom (Fars province, Iran). Islamic Azad University, Jahrom Branch, *Final Report of Research Project*, 28 p. (unpublished)
- Baines, R.C., Cameron, J.W. & Soost, R.K. 1974. Four biotypes of *Tylenchulus semipenetrans* in California identified and their importance in the development of resistant citrus rootstocks. *Journal of Nematology*, 6: 63-66.
- Baines, R.C., Clarck, O.F. & Bitters, W.P. 1948. Susceptibility of some Citrus species and other plants to the citrus-root nematode, *Tylenchulus semipenetrans*. *Phytopathology*, 38: 912 (Abs.).
- Campos, D.V. & Barbosa Ferraz, L.C.C. 1979. Susceptibility of nine citrus rootstocks to *Tylenchulus semipenetrans*. *Sociedade Brasileira de Nematologia*, 3: 85-96.
- Cobb, N.A. 1914. Citrus root nematode. *Journal of Agricultural Research*, 2: 217-230.
- Ducharme, E.P. 1948. Resistance of *Poncirus trifoliata* rootstock to nematode infestation in Argentina. *Citrus Industry*, 29: 9-15.
- Duncan, L.W., Insera, R.N., O'Bannon, J.H. & El-Morshedy, M.M. 1994. Reproduction of a Florida population of *Tylenchulus semipenetrans* on resistant citrus rootstocks. *Plant Disease*, 78: 1067-1071.
- Geraci, G. Lo Guidice, V. & Insera, B.N. 1981. Response of *Citrus* spp. And hybrid rootstocks to *Tylenchulus semipenetrans*. *Rivista Della Ortoflorofruitt coltura Italiana*, 65: 173-178.
- Insera, R.N., Vovlas, N. & O'Bannon, J.H. 1980. Classification of *Tylenchulus semipenetrans* biotypes. *Journal of Nematology*, 12: 283-287.
- Insera, R.N., Duncan, L.W., O'Bannon, J.H. & Fuller, S.A. 1994. Citrus nematode biotypes and resistant Citrus rootstocks in Florida. *Citrus Circular Gainesville*, 205:4
- Jenkins, W.R. 1964. A rapid centrifugal-flotation technique for separating nematodes from soil. *Plant Disease*, 48: 692.
- Kaplan, D.T. and J.H. O'Bannon. 1981. Evaluation and nature of citrus nematode resistance in Swingle Citrumelo. *Proceeding of the Florida State Horticultural Society*, 94: 158-162.
- McCarty, C.D., Bitters, W.P. & Van Gundy, S.D. 1979. Susceptibility of 25 citrus rootstocks to the citrus nematode. *Horticultural Science*, 14: 54-55.
- Niles R.K., Freckman, D.W. & Roose, M.L. 1995. Use of trifoliolate orange as a comparative standard for assessing the resistance of citrus rootstocks to citrus nematode. *Plant Disease*, 79: 813-818.
- O'Bannon, J.H., Chew, V. & Tomerlin, A.T. 1997. Comparison of five populations of *Tylenchulus semipenetrans* to *Citrus*, *Poncirus* and their hybrids. *Journal of Nematology*, 9: 162-165.
- Tanha Maafi, Z., Ebrahimi, Z. & Anvari, F. 2000. Evaluation of the resistance of some citrus rootstocks to *Tylenchulus semipenetrans* in Mazandaran province. *Iranian Journal of Plant Pathology*, 36: 189-196.

-
- Van Gundy, S.D. 1958. The life history of the citrus nematode *Tylenchulus semipenetrans* Cobb. *Nematologica*, 3: 283-294.
- Van Gundy, S.D., and Kirkpatrick, J.D. 1964. Nature of resistance in certain rootstocks to citrus nematode. *Phytopathology*. 54:419-427.
- Verdego-Lucas, S. & Mckenry, M.V. 2004. Management of the citrus nematode *Tylenchulus semipenetrans*. *Journal of Nematology*, 36: 424-432.
- Walker, G.E. 2007. Effects of chemicals and cultivar on nematodes and fungal pathogens of citrus roots. *Nematologica Mediterranea.*, 35: 123-129.