

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

حسین طاهری^۱، واهه میناسیان^۲ و رضا فرخی نژاد^۲

^۱ عضو هیات علمی موسسه تحقیقات مرکبات کشور، رامسر، ^۲ اعضای گروه گیاهپزشکی دانشگاه شهید چمران اهواز

تاریخ دریافت: ۲۰۸۳۰۴۰۲ 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، اکسی‌کلرورکس، مانکوزب، بنومیل و زینب و بازدارنده‌های رشد شعاعی میسلیم‌های 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 بیولوژیکی، اثر آنتاگونیستی پنج جدایه، *T.koningii*، *T.virens*، *T.longibrachiatum*، *T.harzianum*، *T.harzianum* 199 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 بیچش هیفی و لیزشیدن مشاهده نشد و متابولیت‌های فرار جدایه‌های تریکودرما نیز تاثیری در ممانعت از رشد میسلیم *N.mangiferae* نداشتند.

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

(وابتساید و همکاران، ۱۹۸۷).

در ایران مرکبات در مناطق شمال و جنوب کشور کشت می‌شود. متوسط عملکرد مرکبات در ایران ۱۶/۷ تن در هکتار است که نسبت به اکثر کشورهای تولیدکننده این محصول کمتر می‌باشد (اداره کل آمار و اطلاعات کشاورزی، ۱۳۶۷). این مورد علل مختلفی دارد که از آن جمله می‌توان به شرایط نامساعد محیطی، تغذیه، خاک،

مقدمه

گونه‌های مختلف جنس *Citrus* بومی نواحی گرمسیری و نیمه‌گرمسیری آسیا و مجمع‌الجزایر مالایا بوده و از آنجا به سایر نقاط پخش شده‌اند (روتز و همکاران، ۱۹۶۷). 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



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 کاربرد و چکش استریل شاخه‌های آلوده از وسط دو نیم شده و با اسکالیل 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 ریشه خالص‌سازی شد.

بررسی مقاومت نسبی چهار وارسته 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 لیمون لیسبون (*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 سوراخ‌کن استریل دیسکی از پوست ساقه به قطر ۸ میلی‌متر برداشته و قرصی از PDA حاوی میسلیم ۳۰ ساعته قارچ در آن محل قرار داده شد و روی آن با یک لایه پارافیلیم (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 اسکالیل برداشته و شکل زخم ایجاد شده روی چوب، بر روی نایلون رسم گردید و بعد بر روی کاغذ منتقل شد و در آخر مساحت

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، بوال و مرگ مرکبات ناشی از قارچ *N. mangiferae* می‌باشد. این قارچ برای اولین بار توسط ناتراس (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 بالغ 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 تن، 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 آتروکتیدی‌ها 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 به نظر می‌رسد. هدف این تحقیق بررسی امکان کنترل بیماری مذکور بود.



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 $\alpha=5\%$ انجام شد.

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

بررسی اثر قارچ‌کش‌ها در جلوگیری از رشد میسلیم قارچ *N. mangiferae* در شرایط آزمایشگاه: در این آزمایش اثر قارچ‌کش‌های پروپیکونازول، تری‌سیکل‌ازول، اکسی‌کلورومس، 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^۱ صورت گرفت. بدین ترتیب که پس از استریل کردن لوله‌های آکسایش 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 پیر می‌کرد). درصد بازداری از رشد میسلیم با استفاده از رابطه زیر محاسبه شد:

$$\% \text{بازداری} = \frac{\text{شعاع رشد میسلیم در غلظت معین سم} - \text{شعاع رشد میسلیم در سری شاهد}}{\text{شعاع رشد میسلیم در پتری شاهد}}$$

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

تعیین EC_{50} قارچ‌کش‌ها نسبت به *N. mangiferae*: سموم به کار رفته عبارتند از: پروپیکونازول، مانکوزب، ادیفنموس، تری‌سیکل‌ازول، تریادیمفون، اکسی‌کلورومس 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 میسلیم 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 آورده و با قرار دادن پروبیت ۵ در معادله، غلظت سم تعیین شد. با محاسبه آنتی‌لگاریتم غلظت حاصل میزان EC_{50} قارچ‌کش حاصل گشت.

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

الف- کشت متقابل^۲ 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

2- Dual culture

1- Horsfall



پتری‌ها به انکوباتور با دمای ۳۰ درجه سانتی‌گراد منتقل گردیدند. پس از هر ۲۴ ساعت دو پتری از هر جدایه به منظور بررسی نحوه تأثیر آنتاگونیست‌ها روی عامل بیماریزای زیر میکروسکوپ مورد مطالعه قرار گرفت. این عامل تا ۱۵ روز ادامه یافت.

د- بررسی اثر متابولیت‌های فرار (گازی) جدایه‌های آنتاگونیست در جلوگیری از رشد میسلیم قارچ *N. mangiferae* در شرایط آزمایشگاه: جهت مطالعه اثر متابولیت‌های فرار (گازی) آنتاگونیست‌ها در جلوگیری از رشد میسلیم 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 به صورت وارونه روی پتری حاوی آنتاگونیست‌ها قرار داده و حداقل دو پتری با چند لایه پارافیلیم 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 میسلیم به روش زیر محاسبه شد:

۹۱



به انکوباتور با دمای ۳۰ درجه سانتی‌گراد منتقل شد. با بازدید روزانه پتری‌ها، توانایی جدایه‌های تریکودرما و گلیوکلادیوم، سرعت پیشروی آنها روی میسلیم‌های قارچ *N. mangiferae* پس از متوقف نمودن 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 میسلیم 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 روزه پتری‌ها، میزان و سرعت رشد میسلیم‌ها 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 ۴ میلی‌متر) در یک سوی لام و قرصی از قارچ بیماری‌زا (کشت ۳۰ ساعته به قطر ۴ 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

۱۰۰× (میزان رشد شعاعی کلنی قارچ بیمارگر مجاور گازهای فرار- میزان رشد شعاعی کلنی قارچ بیمارگر در پتری شاهد)

میزان رشد شعاعی کلنی قارچ بیمارگر در پتری شاهد

قرار گرفتند.

این آزمایش در قالب طرح کامل تصادفی ۶ تیمار و ۳ تکرار یافت و داده‌های حاصل مورد تجزیه و تحلیل آماری

نتایج و بحث

جدایه *N. mangiferae* قارچ جداسازی شده از روی خصوصیات شکل‌شناسی و دمای رشد کمینه و بهینه، طبق

گزارش‌های حیدریان (۱۳۷۶) و ساتون و دایکو (۱۹۸۹) *N. mangiferae* تشخیص داده شد. بررسی مقاومت نسبی چهار وارسته پیوندک تجاری

بررسی مقاومت نسبی پنج واریته از پایه‌های مرکبات نسبت به بیماری حاصل از *N. mangiferae*: با توجه به جدول‌های ۱، ۲ و ۳ بین ۵ واریته مذکور از لحاظ مقاومت نسبی در مقابل بیماری حاصل از *N. mangiferae* اختلاف معنی‌دار در سطح ۱ درصد وجود دارد.

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

مرکبات نسبت به بیماری حاصل از *N. mangiferae*: با توجه به جدول‌های فوق بین ۴ واریته مذکور از لحاظ مقاومت نسبی در مقابل بیماری حاصل از *N. mangiferae* اختلاف معنی‌دار در ۵ درصد وجود دارد.

در تعیین مقاومت نسبی پیوندک‌ها، لیموترش لیسبون نسبت به بیماری فوق حساس‌تر از بقیه بود. استنبرگ و اکیلیا (۱۹۷۵) حساسیت ۷ 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 (۱۳۷۴) لیموترش اورکا و لیموترش لیسبون بین ۲۵ واریته تجاری مرکبات حساس‌تر از بقیه بودند.

جدول ۱- 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)	۳	۳۱۴۳۸۵۳۲۰۹۶	۱۰۴۷۹۵۱۰۰۶۶۹	۶۴۷۰۲۳۸***
خطا	۱۶	۲۴۸۶۸۳۷۱۶۴	۱۵۵۴۲۸۲۳	
کلی	۱۹	۳۱۶۸۷۲۱۵۸۱۲		

ضریب تغییرات = ۹

***: در سطح ۹۹ درصد معنی‌دار است.

جدول ۲- 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 (میلی‌متر مربع)	مقایسه میانگین‌ها (۰.۵)
لیموترش لیسبون	۳۳۳۰/۳۸	A
پرتقال والنسیا	۱۴۰۹/۶۷	B
پرتقال محلی	۳۸۱/۲۹	C
لیموشیشه	۱۵۵/۱۶	D

جدول ۳- جدول 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 (پایه‌ها)	۴	۲۳۲۴۵۸۰۲۱۵۰	۵۵۶۱۴۰۵۵۳۷	۵۲۶۵۸***
خطا	۲۰	۲۱۱۳۲۸۸۰۵۳	۱۰۵۶۱۴۴۰۲	
کلی	۲۴	۴۳۳۶۸۷۰۲۱۳۸		



جدول ۴- مقایسه میانگین‌های مقاومت نسبی پنج پایه مرکبات نسبت به بیماری حاصل از *N. mangiferae* با استفاده از آزمون دانکن.

مقایسه میانگین‌ها (%۵)	میانگین مساحت، زخم (میلی‌متر مربع)	واریته (تیمار)
A	۵۲۵/۹۸۶	ولک
A	۴۸۳/۹۲۲	رافلسون
AB	۳۹۸/۴۱۸	سیتروملو
B	۳۰۰/۷۷۸	نارنج
B	۲۹۱/۷	رنگپور لایم

جدول ۵- جدول تجزیه واریانس اثر قارچ‌کش‌ها بر قارچ *N. mangiferae*

منبع تغییر	درجه آزادی	مجموع مربعات	میانگین مربعات	F
قارچ‌کش	۶	۱۸۶/۵۸۹	۳۱/۰۹۸	۳۹۷۴/۳۳۷**
غلظت	۴	۱۲۹/۷۸۲	۳۲/۴۴۵	۴۱۴۶/۵**
قارچ‌کش × غلظت	۲۴	۱۲۰/۹۶۶	۵/۰۰۴	۶۴۴/۱۳۹**
خطا	۷۰	۰/۵۴۸	۰/۰۰۸	
کل	۱۰۴	۴۳۷/۸۸۴		

ضریب تغییرات = ۲/۰۱

جدول ۶- مقایسه میانگین‌های اثر قارچ‌کش‌ها بر قارچ *N. mangiferae* با استفاده از آزمون دانکن.

مقایسه میانگین‌ها (%۵)	میانگین (میلی‌متر)	قارچ‌کش‌ها (تیمار)
A	۶۳/۷۹	شاهد (آب)
B	۵۴/۹۳	زینب
C	۵۱/۹	تری‌سیکلازول
D	۴۶/۳۵	اکسی‌کلورومس
E	۳۶/۲۳	مانکوزب
F	۳۱/۶۲	بنومیل
G	۲۲/۷۶	پروپیکونازول

جدول ۷- مقایسه میانگین‌های میزان رشد قارچ *N. mangiferae* در غلظت‌های مختلف قارچ‌کش‌ها با استفاده از آزمون دانکن.

مقایسه میانگین‌ها (%۵)	میانگین (میلی‌متر)	غلظت‌ها ppm (تیمار)
A	۵۷	۰/۰۱
B	۵۲/۷۴	۱
C	۴۵/۸۲	۱۰
D	۳۸/۵۹	۱۰۰
E	۲۵/۵۶	۱۰۰۰



جدول ۸- تأثیر ۶ قارچ کش در ۵ غلظت بر روی رشد میسلیم قارچ *N. mangiferae* بعد از ۴۸ ساعت نگهداری در دمای ۳۰ درجه سانتی‌گراد.

قارچ کش	۱۰۰ 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	۱۰۰
بنومیل	۱۸.۴	۵۲.۸۲	۱۰	۷۴.۳۵	۸۸.۲
مانکوزب	۳۷.۶	۳.۵۸	۳۴.۸	۱۰.۷۷	۱۰۰
اکسی‌کلوروس	۲۷.۶	۲۹.۲۳	۲۵.۷	۳۴.۱	۷۴.۱
زینب	۳۷.۷	۳.۳۳	۳۴.۳	۱۲.۰۵	۶۴.۳۵
تری‌سیکلازول	۳۸.۷	۰.۷۴	۳۸.۲۹	۱.۸۲	۱۰۰
شاهد	۳۹	۰	۳۹	۰	۰

اعداد متن جدول میانگین ۳ تکرار می‌باشند.

الف- کشت متقابل جدایه‌های آنتاگونیست و قارچ *N. mangiferae*: در بررسی‌ها مشخص شد که تمام جدایه‌ها ضمن رشد و برخورد با میسلیم‌های 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. koningii* و *T. longibrachiatum* نسبت به *T. harzianum* و *T. virens* قارچ بیمارگر را سریع‌تر کلنیزه کردند.

با توجه به جدول‌های فوق بین قارچ‌کش‌های به کار رفته و بین غلظت‌های مورد بررسی در جلوگیری از رشد میسلیم قارچ بیمارگر اختلاف معنی‌دار در سطح ۱ درصد وجود داشت. در بررسی اثر قارچ‌کش‌ها در بازداری از رشد شعاعی میسلیم *N. mangiferae* سموم پروپیکونازول، بنومیل، مانکوزب، اکسی‌کلوروس و زینب به ترتیب 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 ترکیب‌درما توسط مهندس عمرانی در اختیار نگارنده قرار گرفت.

۹۴



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
اکسی‌کلوروس	۴.۶۱	۰.۲۵	۰.۸۹	$y = 0.25x + 4.61$	۳۱.۶ ppm
تری‌سیکلازول	۱.۰۳	۱.۹۷	۰.۹۲	$y = 1.97x + 1.03$	۱۰.۲۳ ppm
زینب	۳.۳۹	۰.۶۴	۰.۹۸	$y = 0.64x + 3.39$	۳۲.۷ ppm
پروپیکونازول	۵.۹۷	۱.۱۹	۰.۸۸	$y = 1.19x + 5.97$	۰.۱۵۳ ppm
مانکوزب	۴.۲۳	۱.۶۲	۰.۹۴	$y = 1.62x + 4.23$	۲.۹ ppm
ادیفنتوی	۴.۵۸	۰.۷۶	۰.۹۵	$y = 0.76x + 4.58$	۳.۵۷ ppm
تری‌ادیمفون	۴.۲۸	۰.۶۱	۰.۹۶	$y = 0.61x + 4.28$	۱۵.۲۱ ppm

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

جدایه‌های آنتاگونیست قادر به لیز کردن، پیچش و نفوذ به هیف‌های قارچ بیماری‌زا نبودند و هیچگونه اثر آنتاگونیستی از این لحاظ بر روی قارچ *N. mangiferae* نداشتند.

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

ت جدایه‌های آنتاگونیست در حاشیه کلنی *N. mangiferae*: در این مورد نیز سرعت میسلیم جدایه‌های *T. longibrachiatum*، *T. k* و *T. harzianum* 199 نسبت به *T. harzianum* و *T. virens* بر روی کلنی کامل قارچ رگر بیشتر بود.

ث جدایه‌های *T. koningii*، *T. longibrachiatum* و *T. harzianum* 199 بر روی کلنی *N. mangiferae* اسپورزایی نموده ولی *T. harzianum* بر روی کلنی بیمارگر فقط تولید میسلیم کرد. سی میکروسکوپی نحوه تأثیر جدایه‌های *N. mangiferae* قارچ هیچ یک از

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

تبع تغییر	درجه آزادی	مجموع مربعات	میانگین مربعات	F
تیمار	5	3/458	0/692	2/184
خطا	12	3/8	0/317	
کل	17	7/258		

رات = 1/14

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

آنتاگونیست‌ها	میانگین (میلی‌متر)	مقایسه میانگین‌ها (%0.5)
<i>T. k</i>	39/93	AB
<i>T. harzianum</i>	39/67	AB
<i>T. harzianum</i>	40/17	AB
<i>T. longibrachiatum</i>	39/16	B
<i>T.</i>	40/63	A
	40/27	AB

ول‌های فوق اختلاف بین تیمارها معنی‌دار نیست.

میسلیم‌های 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.

یت‌های فرار آنها نیز در مقایسه با شاهد تأثیری ت از رشد شعاعی میسلیم *N. mangiferae* به آزمایش‌های فوق و عدم نفوذ و پیچش



منابع

۱. اداره کل آمار و اطلاعات وزارت کشاورزی، ۱۳۷۶. آمارنامه کشاورزی. نشریه شماره ۷۷/۰۱ اداره کل آمار و اطلاعات، وزارت کشاورزی، ۸۵ صفحه.
۲. حیدریان، ا.، ۱۳۷۴. بیماری پژمردگی شاخه، زوال و مرگ مرکبات ناشی از قارچ *N. mangiferae* (H. and Sydow) Sutton در استان خوزستان. پایان‌نامه کارشناسی ارشد گروه گیاهپزشکی دانشکده کشاورزی دانشگاه شهید چمران اهواز، ۹۹ صفحه.
۳. شتاب پوشه‌ری، م.، ۱۳۷۶. بررسی اثر چند قارچ‌کش و قارچ آنتاگونیست *Trichoderma spp.* روی قارچ *Manginiella scaettae* Cva. عامل بیماری پوسیدگی گل‌آذین خرما. پایان‌نامه کارشناسی ارشد گروه گیاهپزشکی دانشکده کشاورزی دانشگاه دانشکده تهران، ۱۱۴ صفحه.
4. Achilea, O., and Sttenbergg, A. 1975. A newly discovered gummosis disease on lemon trees in Israel caused by *Hendersonula toruloidea*. *Phytoparasitica* 3(1):80.
5. Aminaec, M.M., and Ershad, J. 1993. Occurrence of *Natrassia mangiferae* in Kerman province. *Iranian Journal of Plant Pathology* 2(3-4):12.
6. Natrass, 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. (eds.). 1996. *The Pesticide Manual*. The British Crop Protection Council. 695pp.



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

¹H. Taheri, ²V. Minassian and ²R. Farrokhi-nejad

¹Scientific member of Iran citrus Research Institute, Ramsar, ²Academic 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 mechanisms i.e: coiling, vaculization and lysis occurred. Volatile metabolites of *Trichoderma* spp. Did not inhibit growth of pathogen.

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

