دانشکده علوم کشاورزی

پایان‌نامه کارشناسی ارشد

بررسی کنترل بیولوژیک نماتد مرکبات (***Tylenchulus semipenetrans***) با استفاده از قارچ های آنتاگونیست در شرق گیلان و غرب مازندران

از:

معصومه چاووشی ثانی

استاد راهنما:

دکتر سالار جمالی

دی ۱۳۹۰

بسم الله الرحمن الرحیم

دانشکده علوم کشاورزی
گروه گیاه پزشکی
(بیماری شناسی گیاهی)

بررسی کنترل بیولوژیک نماتد مرکبات (*Tylenchulus semipenetrans*) با استفاده از قارچ های آنتاگونیست در شرق گیلان و غرب مازندران

از:
معصومه چاووشی ثانی

استاد راهنما:
دکتر سالار جمالی

استاد مشاور:
مهندس حسین طاهری
دکتر سید اکبر خداپرست

دی ۱۳۹۰

تقدیم به

پدر و مادر عزیزم

سپاسگزاری

سپاس خداوند مهر پیشه را که دانش نزد اوست....

از خانواده عزیزم که منبع استوار پشتیبانی و تشویق من بودند صمیمانه قدردانی می‌کنم. از استاد ارجمند آقای دکتر سالار جمالی که در تمام مدت تحقیق با رهنمودهای علمی ارزشمند مرا مورد لطف خویش قرار دادند سپاسگزارم. از اساتید مشاور گرانقدر جناب آقای مهندس حسین طاهری و آقای دکتر سید اکبر خداپرست به خاطر ارائه نظرات و پیشنهادات سازنده تشکر و قدردانی می‌کنم. از داوران محترم، خانم دکتر موسی نژاد و جناب آقای دکتر روحی بخش که زحمت بازخوانی این پایان نامه را برعهده گرفتند تقدیر و تشکر می‌نمایم.

از پرسنل بخش گیاه‌پزشکی مرکز تحقیقات مرکبات کشور به ویژه از جناب آقای دکتر گل محمدی و آقای دکتر بنی هاشمیان به خاطر همکاری‌های بی‌دریغشان متشکرم. از تمام دوستان و همکلاسی‌های عزیزم که وجودشان همواره مایه آرامش و دلگرمی‌ام بود نهایت تشکر را دارم و از خداوند متعال سلامت و موفقیت روز افزون را برایشان آرزومندم.

معصومه چاووشی ثانی

دی ماه ۱۳۹۰

عنوان.....صفحه
چکیده فارسی.....خ
چکیده انگلیسی.....د
مقدمه.....۱
فصل اول: کلیات و مرور منابع
۱-۱- استان مازندران.....۲
۱-۲- استان گیلان.....۲
۱-۳- تاریخچه‌ی مرکبات در جهان و ایران.....۳
۱-۴- گیاه‌شناسی مرکبات.....۳
۱-۵- سطح زیر کشت و میزان تولید.....۴
۱-۶- نماتد مرکبات.....۵
۱-۶-۱- علایم بیماری و خسارت.....۶
۱-۶-۳- زیست شناسی.....۸
۱-۷- تاریخچه‌ی کنترل زیستی.....۹
فصل دوم: مواد و روش‌ها
۲-۱- نمونه‌برداری.....۱۳
۲-۲- استخراج نماتد از خاک.....۱۴
۲-۲-۱- روش سانتریفوژ.....۱۴
۲-۲-۲- روش سینی Tray.....۱۵
۲-۳- استخراج نماتد از ریشه.....۱۶
۲-۴- روش رنگ‌آمیزی ریشه.....۱۷
۲-۵- جداسازی قارچ‌های پارازیت کننده نماتد.....۱۸
۲-۶- روش تک اسپور.....۱۸
۲-۷- شناسایی گونه‌های فوزاریوم.....۱۹
۲-۸- محیط کشت جهت شناسایی قارچ‌ها.....۲۰
۲-۸-۱- محیط کشت سیب‌زمینی-دکستروز-آگار(PDA).....۲۰
۲-۸-۲- محیط کشت آب-آگار(WA).....۲۱
۲-۸-۳- محیط کشت برگ میخک-آگار(CLA).....۲۱
۲-۸-۴- محیط کشت کلرید پتاسیم-آگار(KCLA).....۲۱
۲-۹- آزمون آزمایشگاهی.....۲۲
۲-۱۰- تکثیر و تولید انبوه نماتد مرکبات جهت مایه‌زنی گلدان‌ها.....۲۳
۲-۱۱- تولید انبوه قارچ‌ها جهت تلقیح گلدان‌های طرح آزمایشی.....۲۴
۲-۱۲- انتقال نهال‌های لیمو به گلدان.....۲۵
۲-۱۳- تلقیح قارچ‌ها و نماتد به نهال‌ها.....۲۶
۲-۱۴- پیاده کردن طرح آزمایشی.....۲۸
۲-۱۵- ثبت اطلاعات.....۲۸

فصل سوم: نتایج و بحث

۳-۱- شناسایی نماتد ۳۰
۳-۲- شناسایی قارچ‌های آنتاگونیست ۳۲
۳-۳- قارچ *Paecilomyces lilacinus* ۳۵
۳-۴- قارچ *Fusarium Solani* ۳۷
۳-۵- قارچ *Fusarium oxysporum* ۳۹
۳-۶- قارچ *Acremonium sp.* ۴۱
۳-۷- قارچ *Cladosporium cladosporioides* ۴۲
۳-۸- آزمون ارزیابی آنتاگونیستی در شرایط آزمایشگاه ۴۴
۳-۹- آزمون ارزیابی آنتاگونیستی در شرایط گلخانه‌ای ۴۸
۳-۱۰- بحث ۵۱
۳-۱۱- نتیجه‌گیری کلی ۵۹
۳-۱۲- پیشنهادات ۶۰
منابع ۶۵

شکل ۱-۱- علایم بیماری: A: درخت آلوده به نماتد، B: ریشه آلوده به نماتد..... ۶
شکل ۲-۱- استخراج نماتد با روش سینی Tray ۱۵
شکل ۲-۲- خورد نمودن ریشه با استفاده از Blender ۱۶
شکل ۲-۳- رنگ‌آمیزی ریشه مرکبات..... ۱۷
شکل ۲-۴- تولید انبوه نماتد: A: نهال‌های تلقیح شده با نماتد مرکبات جهت ازدیاد نماتد، B: مایه‌زنی نماتد در پای نهال..... ۲۳
شکل ۲-۵- تولید انبوه قارچها: A: بستره کاه گندم به منظور تولید انبوه قارچ، B: تهیه‌ی کاه غنی شده با PD ۲۴
شکل ۲-۶- اتوکلاو استریل کننده‌ی خاک..... ۲۵
شکل ۲-۷- آماده‌سازی تیمارهای آزمایشی: A: تلقیح قارچ به نهال‌ها، B: نهال‌های تلقیح شده با نماتد و قارچ-ها..... ۲۷
شکل ۳-۱- *Tylenchulus semipenetrans*: A: قسمت ابتدایی بدن نماتد ماده، B: نماتد ماده مرکبات،C: لارو سن دوم و پوسته خالی تخم نماتد، D: نماتد ماده همراه با توده ژلاتینی تخم، E: نماتد ماده در حال تغذیه از ریشه..... ۳۱
شکل ۳-۲- نماتدهای پارازیت شده توسط قارچها: A: نماتد ماده آلوده به *F. solani*، B: نماتد ماده آلوده به *P. lilacinus*، C: نماتد پارازیت شده توسط *P. lilacinus*، D: تخم آلوده به *Acremonium sp.*، E: تخم آلوده به *C. cladosporioides*، F: تخم آلوده به *F. solani*..... ۳۴
شکل۳-۳- *Paecilomyces lilacinus*: A-B : اسپورهای تشکیل شده روی فیالیدهای انتهایی و میانی، C: زنجیرهای بلند کنیدی، D: کلنی قارچ..... ۳۶
شکل ۳-۴- *Fusarium solani*: A: کلنی قارچ، B: اسپوردوکیوم، C: ماکروکنیدیوفر حاوی کنیدی، D: ماکروکنیدی، E: میکروکنیدیوفر، F: میکروکنیدی..... ۳۸
شکل ۳-۵- *Fusarium oxysporum*: A: کلنی قارچ، B: اسپوردوکیوم، C: ماکروکنیدیوفر حاوی کنیدی، D: ماکروکنیدی، E: میکروکنیدیوفر، F: میکروکنیدی..... ۴۰
شکل ۳-۶- *Acremonium sp.*: A-B: کلنی قارچ، C: کنیدی، D: فیالیدهای حاوی کنیدی..... ۴۲
شکل۳-۷- *Cladosporium cladosporioides*: A: کنیدیوفر و کنیدی،B : زنجیرهای کنیدی، C: کلنی قارچ..... ۴۳

جدول ۳-۱- قارچ‌های آنتاگونیست جداسازی شده از مناطق نمونه‌برداری..... ۳۲
جدول ۳-۲- تاثیر قارچ‌های مختلف روی درصد پارازیت تخم و تفریخ تخم نماتد *T. semipenetrans* ۴۵
جدول ۳-۳- تاثیر قارچ‌های مختلف روی درصد مرگ و میر لارو در نماتد *T. semipenetrans* ۴۷
جدول ۳-۴- تاثیر تیمارهای مختلف روی جمعیت لارو و نماتد ماده *T. semipenetrans* در شرایط گلخانه..... ۴۹
جدول ۳-۵- مقایسه تاثیر زمان تلقیح نماتد بر جمعیت نماتد..... ۵۳

چکیده

بررسی کنترل بیولوژیک نماتد مرکبات (*Tylenchulus semipenetrans*) با استفاده از قارچ-های آنتاگونیست در شرق گیلان و غرب مازندران

معصومه چاووشی ثانی

به منظور شناسایی قارچهای آنتاگونیست نماتد مرکبات (*Tylenchulus semipenetrans*) نمونه‌برداری از خاک و ریشه درختان مرکبات دارای علایم در باغ‌های شرق گیلان و غرب مازندران انجام شد. لارو سن دوم این نماتد از خاک و ماده و تخم از ریشه‌ها جداسازی گردیدند. جهت جداسازی قارچهای آنتاگونیست، سوسپانسیون‌های تخم و لارو نماتد به طور جداگانه روی محیط کشت آب-آگار (Water agar) باافزودن آنتی‌بیوتیک استرپتومایسین کشت شد. میسلیوم‌های توسعه یافته از تخم و نماتدهای بالغ روی محیط کشت PDA خالص سازی شده و مورد شناسایی قرار گرفتند. قارچهای شناسایی شده عبارتند از *Fusarium solani, F. oxysporum, Cladosporium cladosporioides, Paecilomyces lilacinus* و *Acremonium* sp. به منظور بررسی فعالیت آنتاگونیستی قارچها روی نماتد مرکبات در شرایط آزمایشگاهی، درصد تخم‌های پارازیت شده، درصد تفریخ تخم و درصد مرگ و میر لاروها ثبت گردید. نتایج نشان داد که تمامی قارچهای جداسازی شده قدرت پارازیت کردن تخم و لارو این نماتد را دارا می‌باشند. در این بین، قارچهای *Paecilomyces lilacinus* و *Acremonium* sp. به ترتیب با اختصاص ۷۹/۱۱ و ۷۰/۶۶ درصد از پارازیت تخم‌ها، موفق‌ترین گونه‌ها بودند. علاوه بر این، کاربرد قارچ *Acremonium* sp. با۴۸/۳۳ درصد بیشترین درصد مرگ و میر لارو را به همراه داشت. تیمارهای قارچی در شرایط گلخانه‌ای مورد بررسی قرار گرفتند و دو شاخص تعداد نماتد ماده در یک گرم ریشه و تعداد لارو سن دوم نماتد مرکبات در ۱۰۰ گرم خاک محاسبه گردید. با توجه به مقایسه‌ی میانگین تیمارها، در تیمارهای قارچی؛ قارچهای *P. lilacinus* و *Acremonium* sp. بیشترین تأثیر را بر کاهش تعداد نماتد ماده دارا بودند. *C. cladosporioides* پس از شاهد در بالاترین گروه آماری نسبت به سایر تیمارها قرار داشت و ضعیف‌ترین تیماربود. همچنین مقایسه زمان تلقیح نماتد نشان داد تیمارهای تلقیح شده با نماتد مرکبات پس از ۲۰ از تلقیح قارچ عملکرد بهتری دارند. در بین گونه‌های قارچی با خاصیت ضدنماتدی تیمارهای قارچی *P. lilacinus* و *Acremonium* sp. مؤثرتر از گونه‌های دیگر بوده؛ اگرچه دو گونه‌ی *F. solani* و *F. oxysporum* مورد استفاده در این تحقیق نیز علیه نماتد مرکبات کارایی خوبی داشتند.

کلید واژه‌ها: قارچهای پارازیت کننده، کنترل بیولوژیک، نماتد مرکبات، *P.lilacinus*

Abstract

Investigation of biological control of the citrus nematode (*Tylenchulus semipenetrans*) by antagonist fungi in East of Guilan and West of Mazandaran

Masumeh Chavooshi sani

In order to identify antagonistic fungi of citrus nematode (*Tylenchulus semipenetrans*) in east of Guilan and west of Mazandaran, soil and root samples were collected from infected trees. second stage isolated from soils and egg and female extracted from roots.To isolate the antagonistic fungi suspension of egg and juvenile cultured separately on water agar media added streptomycin. Hyphal growing from nematodes and eggs or female fragments were transferred to PDA plates for purification and identification. The fungi identified were *Paecilomyces lilacinus*, *Fusarium oxysporum, Acremonium sp., Fusarium solani* and *cladosporium cladosporioides*. Nematophagous fungi were evaluated for their parasitism of eggs and effects on egg hatch and juvenile mortality in vitro. Results show that total isolates of fungi parasitized *Tylenchulus semipenetrans* eggs, inhibited egg hatching, and killed juveniles *Paecilomyces lilacinus* and *Acremonium* sp. parasitized 79.11 and 70.66 % eggs 5 days after inoculation, respectively.Although the pathogenicity varied among fungal species and isolates. The highest percentage of second stage juveniles (J2) morality was observed in *Acremonium* sp. .Compared to the egg hatch rate of 85.82% in sterile water, *Acremonium* sp. assayed resulted in egg hatch 52.23%. overtopped results gained was with genus *P. lilacinus* which recorded 66 female nematode in 1g of root and *Acremonium* sp where it formed 69.50 female nematode per g of root was when the pots were inoculated with fungi 20 days before the inoculation of *T. semipenetrans*. The second rank was obtained by genus *F. oxysporum* where it formed 77.33 female nematode per g of root. The results showed that the maximum decrease in number of female nematode /g root and number of second stage juveniles/500g soil were achieved when the pots were inoculated with fungi 20 days before the inoculation of *T. semipenetrans*.

Key words: Biological control, *Paecilomyces lilacinus*, Parasitic fungi, *Tylenchulus semipenetrans*

مقدمه

مرکبات به دلیل دارا بودن ویتامین C بالا به حفاظت انسان در برابر بیماری‌های قلبی کمک می‌کنند. همچنین مرکبات باعث کاهش شدت علائم سرماخوردگی، مهار رشد سلول‌های سرطانی، حفاظت از عدسی‌ها در برابر آب مروارید و افزایش جذب آهن می‌گردد. پوست میوه مرکبات حاوی اسانس است که منبع غنی از ترکیب‌های معطر و دارویی به‌شمار می‌رود و به راحتی و با کمترین هزینه‌ها قابل استخراج است.

شناخت و مدیریت بیماری‌های مرکبات، بخشی از نیازهای تحقیقاتی مربوط به تولید این محصول مهم است. در ایران، با توجه به این که کشت مرکبات عمدتا به صورت تک محصول و در سطح وسیع (۳۶/۷۸ درصد در استان مازندران و ۳/۲۲ درصد در استان گیلان)انجام می‌گیرد و همچنین مرکبات گیاهی دائمی، پایا و محدود به منطقه جغرافیایی خاص با شرایط اقلیمی یکنواخت می‌باشد. در حال حاضر نماتد مرکبات به عنوان مهم‌ترین نماتد خسارت‌زای مرکبات یک تهدید جدی برای باغ‌های مرکبات شمال کشور به حساب می‌آید.

بنابراین این بررسی برای رسیدن به اهدافی چون افزایش عملکرد مرکبات در واحد سطح و بهبود کیفیت مرکبات تولیدی انتخاب گردید. باتوجه به اینکه در حال حاضر کنترل شیمیایی این نماتد صرفه اقتصادی نداشته و در ضمن برای انسان و محیط‌زیست خطرات بالایی دارد؛ بنابراین، در این تحقیق سعی به شناسایی و بررسی قابلیت قارچ‌های آنتاگونیست در کنترل نماتد مرکبات نموده و کارآیی آنها را با نماتدکش فنامیفوس (نماکور، گرانول ده درصد) مقایسه نماییم.

به‌طور کلی اهداف این تحقیق عبارتند از:

۱-شناسایی قارچ‌های آنتاگونیست نماتد مرکبات *Tylenchulus semipenetrans*.
۲-بررسی میزان تاثیر این قارچ‌ها روی نماتد.

فصل اول

کلیات و مرور منابع

Formatted: Font: Bold, Complex Script Font: Not Bold

۱-۱- استان مازندران

استان مازندران دارای آب و هوای معتدل و مدیترانه‌ای با میزان بارندگی سالانه ۸۰۰-۱۵۰ میلی‌متر بوده و دارای میانگین درجه حرارت ۲۵ درجه سانتی‌گراد در تابستان و هشت درجه سانتی‌گراد در زمستان است [Anon, 2004]. سطح زیر کشت زراعی این استان بالغ بر ۴۷۰ هزار هکتار می‌باشد که عمده‌ترین محصولات زراعی استان شامل: یونجه، گندم، جو، شلتوک، نخود، لوبیا، عدس، توتون و تنباکو، سیب زمینی، پیاز، هندوانه، خیار و سایر محصولات جالیزی و نباتات علوفه‌ای می‌باشد. محصولات باغی استان شامل: باغات مرکبات با تولید ۱/۴ میلیون تن محصول، کیوی با ۵۰۰۰ تن محصول، میوه‌های سردسیری و خشک، دانه‌دارها و هسته‌دارها، گل و گیاه زینتی، گیاهان دارویی و تولید نهال زیتون می-باشد. این استان بزرگترین تولید کننده مرکبات در کشور است که ۳۶/۸ درصد از کل کشت مرکبات و ۳۸/۷ درصد از تولید سالانه را از آن خود کرده است [بی‌نام،۱۳۸۶ و آمارنامه کشاورزی، ۱۳۸۶].

۱-۲- استان گیلان

استان گیلان با توجه به سه عامل فراوانی آب، خاک مساعد و مرغوب و تنوع آب و هوایی حدوداً ۴۰۰۰۰۰ هکتار زمین کشاورزی دارد که ۶۰ درصد از آن به کشت برنج و حدود ۳۴۰۰۰ هکتار به کشت چای اختصاص دارد. این استان در تولید و صدور یکسری از کالاهایی نظیر برنج، توتون، چای، پیله‌ابریشم، بادام زمینی، زیتون، مرکبات، گردو و فندق، دانه‌های روغنی، گل و گیاه زینتی به سایر استان‌ها مزیت نسبی دارد. علاوه بر این، استان گیلان با سطح زیر کشت ۲۸۱۴ و تولید سالانه ۹۵۰۰ تن بادام مقام اول کشوری را دارد. سطح زیر کشت مرکبات در استان گیلان حدود ۷۲۰۰ هکتار با تولید سالانه ۱۰۳ تن مقام ششم را در کشور دارا می‌باشد [اصلاح عربانی، ۱۳۷۴ و آمارنامه کشاورزی، ۱۳۸۶].

۱-۳- تاریخچه‌ی مرکبات در جهان و ایران

طبق نظر بسیاری از پژوهشگران منشاء مرکبات، مناطق گرمسیری، نیمه‌گرمسیری جنوب شرقی آسیا، شمال کشور-های مالزی، اندونزی، فیلیپین و همچنین نواحی جنوب هیمالیا تا اندونزی بوده است. در بین این مناطق شمال شرقی هند و نواحی برمه موطن و مرکز اصلی مرکبات محسوب می‌شوند. استفاده از مرکبات و کشت آنها در چین به ۲۲۰۰ سال قبل از میلاد برمی‌گردد و نخستین کتاب چینی در مورد مرکبات در سال ۱۱۷۸ میلادی پدید آمده است [سیاری، ۱۳۸۲]. ورود مرکبات به ایران سابقه‌ای ۴۰۰ ساله دارد. به استناد مدارک تاریخی، ایران دروازه خروج مرکبات از آسیا به سایر نقاط بوده است. از زمان صفویه به لحاظ تردد کشتی‌های کشور پرتغال در جنوب ایران، بذور پرتقال در اختیار مردم جنوب قرار گرفت و کاشته شد. سپس بذور آن از جنوب در حدود ۳۰۰ سال قبل به شمال کشور منتقل شد و در خرم‌آباد شهرستان تنکابن کشت گردید. از آن زمان به بعد، به ویژه در اوایل سال ۱۳۰۰ شمسی، گونه‌ها و ارقام مختلفی از مرکبات وارد ایران شد و در ایستگاه‌های تحقیقاتی مرکبات یا در باغات کشت شد. میوه‌های مرکبات تقریبا جزء گسترده‌ترین میوه‌هایی هستند که در سراسر دنیا تولید می‌شوند. تولید سالانه مرکبات در حال حاضر ۸۵ میلیون تن است. مرکبات در بیش از ۱۲۵ کشور و در ناحیه کمربند ۳۵ درجه شمال و جنوب عرض جغرافیایی استوا رشد می‌کند [Davies and Albrigo, 1994].

۱-۴- گیاه‌شناسی مرکبات

گیاه مرکبات از راسته افراها[1] و خانواده سداب[2] می‌باشد. گیاهان این تیره چوبی، دارای برگهای ساده یا مرکب، گل‌های منظم و هرمافرودیت می‌باشند. درختان مرکبات به فراوانی گل می‌دهند، هر گل پنج کاسبرگ سبز بهم‌پیوسته و پنج گلبرگ سفید معطر دارد و درصد کمی از گل‌ها (تقریبا کمتر از پنج درصد) تبدیل به میوه می‌شوند. میوه مرکبات نوع منحصر به فردی از میوه سته است که هسپریدیوم نامیده می‌شود که شامل قسمتی به نام پوست و گوشت آبدار است و مشخصا ۱۰ تا ۱۵ قسمت به نام برچه دارد که در اطراف محور مرکزی یا مغز مجتمع می‌شوند. پوست دو قسمت دارد، قسمت رنگی خارجی فلاویدو و قسمت اسفنجی سفید داخلی آلبیدو نامیده می‌شود. سه جنس *Citrus*، *Fortunellat* و *Poncirus* از اهمیت تجاری ویژه‌ای برخوردارند [Davenport, 1990].

---

[1]. Sapindales
[2]. Rutaceae

۱-۵- سطح زیر کشت و میزان تولید

سطح زیر کشت مرکبات کل کشور در سال ۱۳۸۶حدود ۲۶۸ هزار هکتار می‌باشد که ۸۷/۰۷ درصد آن درختان بارور مرکبات و ۱۲/۹۳ درصد بقیه نهال می‌باشد. از ۲۳۳۰۸۳ هکتار سطح بارور درختان مرکبات کشور، ۸۳/۱۵ درصد آن آبی و ۱۶/۸۵ درصد بقیه فقط در استان‌های ساحلی شمال ایران به صورت دیم کشت شده است. مرکبات ایران در سه نوار، دریای خزر (شامل استان‌های مازندران، گیلان و گلستان با مساحت زیر کشت ۲۵۸۰۰هکتار)، نوار مرکزی (شامل استان-های فارس، کرمان، ایلام و کهکولیه و بویر احمد با سطح زیر کشت ۳۷۰۰۰هکتار) و نوار ساحلی دریای عمان (نوار خیلی باریک شامل هرمزگان، بوشهر تا چابهار و جهرم) تقسیم‌بندی می‌شود. استان مازندران با ۳۶/۷۸ درصد از اراضی بارور مرکبات کشور، بیشترین سطح زیر کشت را دارا است و استان‌های فارس، هرمزگان، جیرفت و کهوج، کرمان و گیلان به ترتیب با۲۱/۱۰، ۱۳/۶۹،۱۴/۹۰، ۳/۹۶، ۳/۲۲ درصد از اراضی بارور مرکبات مقام‌های دوم تا ششم سطح زیر کشت این محصول را به خود اختصاص داده‌اند و شش استان مزبور در مجموع ۹۳/۶۵ درصد سطح بارور مرکبات کشور را دارا می-باشند. تولید مرکبات کشور حدود ۴/۲۷ میلیون تن بوده و بیشترین تولید مرکبات۳۸/۷۳ با درصد از کل تولید این محصول در استان مازندران بوده است. متوسط تولید در هکتار مرکبات دیم کشور ۱۶۲۷۶ کیلوگرم می‌باشد. استان گیلان با تولید ۱۶۶۲۳ کیلوگرم در هکتار بالاترین و استان گلستان با ۱۳۳۹۱ کیلوگرم در هکتار کمترین عملکرد دیم را داشته‌اند [آمارنامه کشاورزی، ۱۳۸۶].

۱-۶- نماتد مرکبات

نماتدها جانورانی از شاخه Nematoda یا کرم‌هایی با مقطع گرد هستند که دارای تقارن جانبی، فاقد دستگاه‌های تنفسی و گردش خون هستند و تنفس آنها از طریق پوست انجام می‌شود. به علت این که فرم عمومی بدنشان باریک و کشیده است به نام نماتد یا نخی شکل خوانده می‌شوند. بدن شفاف و دارای دستگاه‌های گوارش، تولید مثل، سیستم‌های عصبی و ترشحی هستند [باروتی و علوی، ۱۳۷۴]. از میان تعداد ۲۳ گونه از نماتدهای پارازیت درختان مرکبات در جهان، نماتد مرکبات *Tylenchulus semipenetrans* Cobb,1913 یکی از مهم‌ترین آنها از نظر میزان خسارت و انتشار می‌باشد که باعث کاهش محصول و زوال تدریجی [1] آنها می‌گردد. نماتد مرکبات برای اولین بار توسط هوجز [Hodges] در سال ۱۹۱۲ روی ریشه پرتقال در کالیفرنیا مشاهده و جمع‌آوری شد. سپس کوب [Cobb] در سال ۱۹۱۴ سیکل زندگی، شکل نماتد و نحوه گسترش آن را مورد مطالعه قرار داد [Dauncan, 2005].

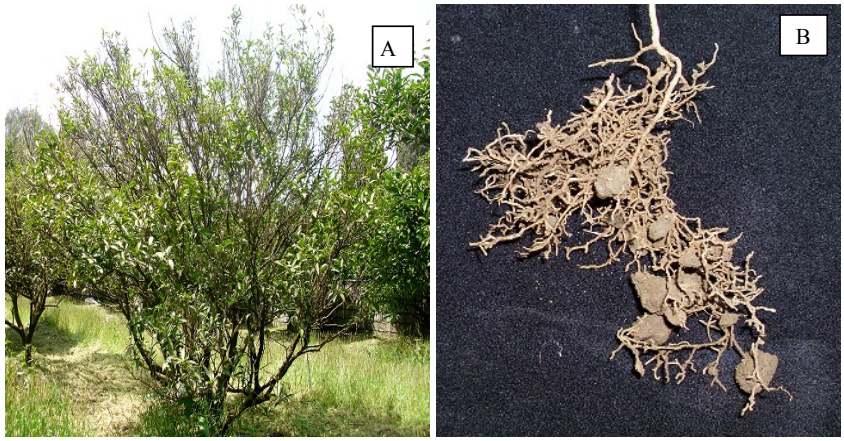
در ایران اولین بار این نماتد توسط ایزدپناه و سفریان در سال ۱۳۴۷ از ملاثانی اهواز روی مرکبات گزارش گردید و در همان سال نیز به وسیله امیدوار از شیراز گزارش شد [Tanha Maafi and Damadzadeh,2007]. در سال ۱۳۴۹ کاچو [Katcho] و آلو [Allow] همین نماتد را از جنوب ایران گزارش نمودند. در همان سال میناسیان و مؤدب راجع به تراکم جمعیت و انتشار آن در خوزستان و ابیوردی و همکاران در سال ۱۹۷۰ در مورد انتشار نماتد مذکور در فارس و رابطه آن با مرگ و میر درختان مرکبات گزارش‌هایی به چاپ رساندند. در حال حاضر این نماتد از ۲۳ کشور مرکبات‌خیز دنیا از جمله آرژانتین، آمریکا، اسپانیا، اسرائیل، ایتالیا، الجزایر، برزیل، پاکستان، ژاپن و عراق گزارش گردیده است [Cohn, 1969]. تراکم جمعیت نماتد از درختی به درخت دیگر و در مواقع مختلف سال متفاوت است. این نماتد قادر است خود را با انواع مختلف خاک تطابق دهد اما خاک‌های ریز بافت یا خاک‌های آلی برای افزایش سریع جمعیت این نماتد مطلوب‌تر است. خاک‌های شور تراکم جمعیت نماتد مرکبات را افزایش می‌دهد. همچنین افزایش جمعیت این نماتد نسبت معکوس با رطوبت خاک دارد به شرطی که درختان تحت تنش خشکی قرار نگیرند. بیشترین تراکم جمعیت این نماتد معمولا در اقلیم‌های مدیترانه‌ای یا بیابانی است. در مناطق گرمسیری و نیمه‌گرمسیری بیشترین جمعیت در فصل‌های خشک سال دیده می‌شود، با این حال هرگاه درختان به کم‌آبی دچار شوند جمعیت نماتد کم می‌شود. گفته می‌شود که شرایط مناسب

[1]. Slow decline

برای این نماتد از راه نیروی هیدرولیکی (مکانیسمی ایجاد می‌شود که آب عمق خاک از راه آوند چوبی ریشه، به ریشه‌های واقع در لایه‌های خشک بالایی خاک کشیده می‌شود) تامین می‌شود [اشکان و زکیئی، ۱۳۸۵].

۱-۶-۱- علایم بیماری و خسارت

نشانه‌های آلودگی روی اندام‌های هوایی درختان مرکبات بیشتر در قسمت‌های فوقانی تاج ظاهر گشته و در این قسمت‌ها است که برگ‌ها ابتدا ریز شده و سپس به تدریج می‌ریزند. با گذشت زمان سرشاخه‌ها خشکیده و درنتیجه تاج فرم غیرعادی پیدا می‌کند. به طور کلی ضعف عمومی، کوچکی برگ‌ها و میوه‌ها و ریزش آنها از علائم بیماری به شمار می‌روند. این علائم اغلب شباهت زیادی با علائم بیماری‌های فیزیولوژیک از جمله بیماری‌های ناشی از کمبود مواد غذایی و یا بیماری‌های قارچی دارند. لذا با کنترل ریشه‌ها و مشاهده نماتد مستقر روی ریشه‌های فرعی مشخص می‌شود که علائم بیماری ناشی از وجود این نماتد است یا خیر. در اندام‌های زیرزمینی، ریشه‌های فرعی کم‌رشد، متورم‌تر و دارای انشعابات کمتر شده و فرم غیرعادی پیدا می‌نمایند. در قسمت‌های خارجی پوست، لایه‌ای از ذرات خاک به ریشه می‌چسبد که نتیجه خاصیت چسبندگی ماده ژلاتینی مترشحه از نماتد در خاک است. نهایتا پوست ریشه در اثر خسارت نماتد و سایر عوامل بیماری‌زا زخم، پوسیده و فاسد می‌شود. بیشتر خسارت این نماتد مربوط به نماتدهای ماده و لاروها است [Siddiqi, 1974].



شکل ۱-۱- علایم بیماری: A: ریشه آلوده به نماتدمرکبات، B: درخت آلوده به نماتد مرکبات (اصلی)

نرها به علت کوتاهی دوران زندگی خسارتی روی ریشه‌ها ایجاد نمی‌کنند. نماتدهای ماده و لاروها علاوه بر خسارت مستقیم از جمله تغذیه از شیره نباتی، با تزریق آنزیم‌های مختلف به ریشه جهت حل نمودن مواد غذایی موجود در سلول-ها، باعث بروز یک سری تغییرات فیزیولوژیکی در گیاه میزبان می‌شوند که اثرات آن به صورت علائم بیماری در اندام‌های هوایی و زمینی بروز می‌کند. این نماتد با نفوذ خود، علاوه‌بر ۳ تا ۴ لایه سلولی پارانشیمی در ناحیه پوست[1] ، در صورت مناسب بودن میزبان می تواند تا ناحیه دایره محیطی ریشه[2] هم پیش برود و در محل استقرار در سلول‌ها، قادر خواهد بود با حرکت سر خود به جهات مختلف از کلیه سلول‌های مجاور که معروف به سلول‌های پرستار هستند تغذیه نموده و بدین ترتیب تعداد زیادی از سلول‌های پارانشیمی نسوج ریشه را ویران کرده و فعالیت آنها را مختل کنند. در این رابطه نوع گیاه میزبان، سن درخت، زمان آلودگی اولیه و جمعیت نماتد در بروز علائم بیماری و میزان خسارت مؤثرند. معمولا علائم بیماری در سال‌های اولیه آلودگی به علت پایین بودن جمعیت نماتد مشاهده نمی‌شود، ولی پس از چند سال و بالا رفتن جمعیت نماتد، علائم بیماری به تدریج ظاهر گشته و با افزایش بیشتر جمعیت، محصول کمتری تولید می شود [Mashela and Nthangeni, 2002].

در ارتباط با میزبان‌های گیاهی قابل ذکر است که این نماتد از ریشه انواع مرکبات از جمله بکرایی، پرتقال، لیموترش و نارنج، نارنج سه برگی و نارنگی استخراج و شناسایی گردیده است. علاوه‌بر این گیاهان، این نماتد از خاک اطراف ریشه ازگیل، انجیر، خرمالو، زیتون، مو و یاس بنفش نیز جمع‌آوری گردیده است. اغلب مطالعات میزان کاهش محصول به دلیل نماتد مرکبات را حدود ۱۰ تا ۳۰ درصد تخمین می‌زنند که این مقدار به عوامل مختلفی از جمله حساسیت ریشه‌های موجود، شرایط آب و هوایی، خصوصیات خاک و حضور سایر پاتوژن‌ها وابسته است [Dauncan and Cohn, 1990].

در مناطق اصلی تولید مرکبات مثل ایالات متحده امریکا و فلوریدا آلودگی باغ‌های مرکبات حدود ۶۰-۵۰ درصد و در آریزونا ۹۰ درصد گزارش شده است [Heald and OBannon, 1987]. در پاکستان ۹۸/۴ درصد مرکبات آلوده به *T. semipenetrans* هستند [Ahmad and Khan, 1999]. باغ‌های مرکبات شمال کشور نیز ۸۹ درصد به این نماتد آلودگی دارند [Tanha Maafi and Damadzadeh, 2007].

---

[1]. cortex
[2]. pericycle