کارآیی قارچ‌کش‌های رایج در کنترل کپک خاکستری گوجه‌فرنگی

اردشیر ماوندادی[۱]، جهانگیر خواجه علی[۱*] و بهرام شریف نبی[۱]

(تاریخ دریافت: ۱۳۹۲/۱۲/۲۶ ؛ تاریخ پذیرش: ۱۳۹۳/۸/۲۹)

چکیده

یکی از بیماری‌های مهم گوجه‌فرنگی، کپک خاکستری است که توسط قارچ *Botrytis cinerea* به وجود می‌آید. در این پژوهش، تأثیر ۱۰ قارچ‌کش بر رشد میسلیومی و جوانه‌زنی کنیدیوم‌های این قارچ بررسی گردید. نتایج نشان داد که کاربندازیم با غلظت کشندگی ۵۰٪ (IC_{50}) برابر با ۰/۱ میلی‌گرم بر لیتر بیشترین و بردو با IC_{50} برابر با ۱۰۹۶/۹ میلی‌گرم بر لیتر کمترین بازدارندگی از جوانه‌زنی کنیدیوم‌های این قارچ را داشتند. در بررسی رشد میسلیومی، بنومیل با IC_{50} برابر با ۰/۰۴ میلی‌گرم بر لیتر بعد از ۳ و ۷ روز بیشترین تأثیر را در بازدارندگی از رشد میسلیومی این قارچ داشت. در این پژوهش، همچنین تأثیر قارچ‌کش‌ها در جلوگیری از رشد زخم ناشی از *B. cinerea* مطالعه شد. تیمار میوه با بنومیل با قطر زخم ۰/۷۳ میلی‌متر و اکسی کلرور مس با قطر زخم ۶/۱۶ میلی‌متر بیشترین و کمترین اثر را در جلوگیری از گسترش این قارچ روی میوه داشتند. جدایه‌های متفاوتی از قارچ *B. cinerea* از مناطق مختلف اصفهان جمع‌آوری شدند و تأثیر قارچ‌کش‌ها بر میزان جوانه‌زنی کنیدیوم‌های آنها ارزیابی گردید. نتایج نشان داد که این جدایه‌ها حساسیت متفاوتی به ۱۰ قارچ‌کش مورد بررسی از خود نشان دادند.

واژه‌های کلیدی: *Botrytis cinerea*، رشد میسلیومی، کنیدیوم، ایزوله، مقاومت

مقدمه

گوجه‌فرنگی (*Lycopersicum esculentum* Miller) گیاهی یکساله و متعلق به خانواده سولاناسه (Solanaceae) می‌باشد. این گیاه بومی آمریکای جنوبی و مرکزی است که طی دوره‌ی استعماری اسپانیا به سایر نقاط جهان منتقل شده است. گوجه‌فرنگی در اوایل قرن نوزدهم به خاورمیانه آورده شد و غالباً به عنوان یکی از مواد لازم برای پخت غذا مصرف می‌شود. کشت و پرورش این گیاه به طور کلی مساحتی حدود سه میلیون هکتار را به خود اختصاص داده، که نزدیک به یک‌سوم کل سطح زیر کشت تره‌بار در جهان است (۵).

قارچ *Botrytis cinerea* Pers. 1794. [teleomorph *Botryotinia* Whetzl 1945] عامل وقوع کپک خاکستری، یک قارچ نکروتروفیک با گستردگی جهانی است که می‌تواند بیش از ۲۰۰ محصول مهم اقتصادی مثل سبزی‌ها، گیاهان زینتی، غده‌ها و میوه‌ها را تحت تأثیر قرار دهد (۲ و ۱۲). این قارچ، بخصوص برگ‌ها، گل‌ها و میوه‌ها را در محصولات مهم کشاورزی مورد حمله قرار می‌دهد و مسئول خسارت‌های جدی قبل و پس از برداشت محصولات است (۶ و ۹). این بیماری یک تهدید جدی و دائمی در گوجه‌فرنگی‌های مزرعه‌ای و گلخانه‌ای در بسیاری از کشورهای دنیا است که در ابتدا معمولاً برگ‌ها را آلوده می‌کند (۱ و ۱۱). رشد قارچ در دمایی بین ۳ تا ۳۰ درجه سلسیوس (بهینه ۱۵-۲۰) اتفاق می‌افتد (۶). رطوبت نسبی زیاد، رطوبت آزاد در سطح گیاهان، دمای ملایم، مدت استقرار گیاه و فعالیت‌های انسان در طول دوره مهمترین عواملی هستند که آلودگی *B. cinerea* را توسعه می‌دهند (۲). کپک خاکستری یک بیماری با کنترل بسیار مشکل است که

۱. گروه گیاه‌پزشکی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه صنعتی اصفهان

*: مسئول مکاتبات، پست الکترونیکی: khajeali@cc.iut.ac.ir

جدول ۱. نام عمومی، نام تجارتی، شرکت تهیه کننده، فرمولاسیون و دُز توصیه شده قارچ‌کش‌های استفاده شده.

نام عمومی قارچ‌کش	نام تجارتی قارچ‌کش	نام شرکت تهیه‌کننده	فرمولاسیون	دُز توصیه شده مزرعه‌ای
بردوفیکس	بردوفیکس	باغبان تاک	SC ٪۱۸	۳ در هزار
آیپرودیون + کاربندازیم	روورال تی اس	گل سم گرگان	WP ٪۵۲/۵	۱/۵ در هزار
مانکوزب	مانزب	آریا	WP ٪۸۰	۲ در هزار
کوپر اکسی کلراید	کوپراویت	Biesterfeld یونان	WP ٪۳۵	۳ در هزار
کاربندازیم	باویستین	آریا	WP ٪۶۰	۲ در هزار
بنومیل	بنلت	اگروشیمی	WP ٪ ۵۰	۲ در هزار
کاپتان	اورتوساید	مشکفام	WP ٪۵۰	۳ در هزار
استروبی	کروزکسیم متیل	Sinochem Nigbo چین	WG ٪۵۰	۰/۲ در هزار
کلروتالونیل	داکونیل	Syngenta آمریکا	SC ٪۷۲	۲ در هزار
زینب	پارازیت	Inpofil هند	WP ٪۸۰	۳ در هزار

هنوز مقاومت طبیعی علیه این بیماری در محصول گوجه‌فرنگی مشاهده نشده و کنترل شیمیایی به‌عنوان عمده‌ترین راه برای کاهش پیشرفت آن است (۱۲). قارچ *B. cinerea* یک بیمارگر با پتانسیل زیاد جهت مقاومت به قارچ‌کش‌ها است که این امر به‌خاطر تنوع ژنتیکی، سیکل کوتاه زندگی و تولید مثل فراوان می‌باشد. قارچ‌کش‌ها باعث کاهش خسارت توسط قارچ می‌شوند. اما تکرار استفاده از گروه‌های محدودی از قارچ‌کش‌ها منجر به توسعه مقاومت در قارچ می‌شود (۱۳).

با توجه به خسارت عمده‌ای که سالانه قارچ *B. cinerea* در گلخانه‌های گوجه‌فرنگی وارد می‌سازد، انواع مختلف قارچ‌کش‌ها به صورت بی‌رویه جهت مهار این قارچ استفاده می‌شوند که منجر به بروز مقاومت در این قارچ در برابر بسیاری از قارچ‌کش‌ها شده است. در این پژوهش، تأثیر ۱۰ قارچ‌کش بر رشد میسلیومی و جوانه‌زنی کنیدیوم این قارچ بررسی شد. همچنین، تأثیر قارچ‌کش‌ها در جلوگیری از رشد زخم ناشی از قارچ *B. cinerea* روی میوه گوجه‌فرنگی و نیز تأثیر این قارچ‌کش‌ها بر جوانه‌زنی کنیدیوم‌های ایزوله‌های مختلف قارچ *B. cinerea* که از مناطق مختلف استان اصفهان جمع‌آوری شده بودند، مورد مطالعه قرار گرفت.

مواد و روش‌ها

قارچ

جدایه *Botrytis cinerea* استرین ۱۷۲۶e از مرکز تحقیقات گیاه‌پزشکی کشور تهیه شد و در کوتاه‌مدت تا زمان استفاده از آنها روی محیط کشت PDA نگهداری شد.

قارچ‌کش‌ها

قارچ‌کش‌های مورد استفاده در این تحقیق شامل: استروبی (کروزکسیم متیل ٪۵۰WG)، کوپراویت (کوپر اکسی کلراید ٪۳۵WP)، بردوفیکس (بردوفیکس ٪۱۸SC)، بنلیت (بنومیل ٪۵۰WP)، داکونیل (کلروتالونیل ٪۷۵WP)، پارازیت (زینب ٪۸۰WP)، ارتوساید (کاپتان ٪۵۰WP)، روورال تی اس (آیپرودیون+ کاربندازیم ٪۵۲/۵WP)، باویستین (کاربندازیم ٪۶۰WP) و مانزب (مانکوزب ٪۸۰WP) بودند که مشخصات آنها در جدول ۱ نشان داده شده است.

تهیه غلظت‌های قارچ‌کش‌ها

به منظور تهیه غلظت‌های مورد نیاز، ابتدا برای همه قارچ‌کش‌ها، با توجه به فرمولاسیون آنها، غلظت ۲۰۰۰ میلی‌گرم بر لیتر از

قارچ‌کش به‌دست آمد. سپس، با استفاده از روش رقیق‌سازی مکرر (Serial dilution) غلظت‌های ۱۰۰۰، ۱۰۰، ۱۰، ۵، ۰/۵ و ۰/۰۵ میلی‌گرم بر لیتر از فرمولاسیون قارچ‌کش‌ها به دست آمد که با در نظر گرفتن درصد ماده مؤثره موجود در هر فرمولاسیون، غلظت‌ها بر حسب میزان ماده مؤثره محاسبه گردید و در نهایت در مورد هر کدام از قارچ‌کش‌ها غلظت‌های مختلفی از ماده مؤثره مورد آزمون قرار گرفت.

تأثیر قارچ‌کش‌ها بر درصد جوانه‌زنی کنیدیوم‌های *B. cinerea*

برای اندازه‌گیری درصد جوانه‌زنی قارچ *B. cinerea* از محیط کشت مدیوم آگار ۱ شامل ۱۰ گرم گلوکز، ۲ گرم KH_2PO_4، ۲ گرم K_2HPO_4 و ۱۲/۵ گرم آگار برای یک لیتر آب استفاده شد. مقدار ۲۰ میلی‌لیتر از غلظت مناسب ترکیب تهیه شده قارچ‌کش‌ها به‌همراه محیط کشت در تشتک‌های پتری ۹۰ میلی‌لیتری ریخته و اجازه داده شد تا کاملاً سرد شود. برای به‌دست آوردن سوسپانسیون کنیدیوم قارچ‌ها، روی محیط کشت ۱۵ روزه قارچ، آب مقطر ریخته شد تا سطح آن را فرا گیرد. سپس، یک میلی‌لیتر ماده تویین ۸۰ (Tween80) به آن اضافه گردید و تشتک پتری به شدت تکان داده شد تا کنیدیوم‌ها جدا شوند. بعد از قرار دادن یک قطره از سوسپانسیون در زیر لام گلبول‌شمار، تعداد کنیدیوم‌ها شمارش شد و پس از تعیین غلظت سوسپانسیون کنیدی با اضافه کردن آب مورد نیاز، سوسپانسیون ۲×۱۰^{۵} کنیدیوم در هر میلی‌لیتر قارچ در شرایط کاملاً استریل تهیه شد. مقدار ۳۵۰ میکرولیتر از این سوسپانسیون به پتری‌های حاوی محیط کشت به همراه غلظت‌های مختلف قارچ‌کش و همچنین محیط کشت به همراه آب مقطر به عنوان شاهد اضافه شد. پس از گذشت ۲۴ ساعت، در زیر میکروسکوپ، با عدسی چشمی ۴۰× تعداد ۵۰ الی ۱۰۰ کنیدیوم شمارش شدند. کنیدیوم‌هایی که طول لوله تندش آنها از طول کنیدیوم بیشتر بود جوانه‌زده در نظر گرفته شد و درصد کنیدیوم‌های جوانه نزده در مقایسه با شاهد پس از ۲۴ ساعت به‌دست آمد.

تأثیر قارچ‌کش‌ها روی رشد میسلیومی *B. cinerea*

به منظور انجام این آزمایش، از محیط کشت مدیوم آگار ۲ شامل ۱۰ گرم گلوکز، ۱/۵ گرم K_2HPO_4، ۲ گرم KH_2PO_4، ۱ گرم $(NH_4)_2SO_4$، ۰/۵ گرم $MgSO_4.7H_2O$، ۲ گرم عصاره مخمر، ۱۰ گرم گلوکز و ۱۲/۵ گرم آگار استفاده شد. غلظت‌های مناسب قارچ‌کش‌ها به صورت توضیح داده شده به‌دست آمدند و جهت کنترل نیز از محیط کشت به همراه آب مقطر استفاده شد. مقدار ۲۰ میلی‌لیتر از غلظت مناسب ترکیب تهیه شده قارچ‌کش‌ها به همراه محیط کشت در تشتک‌های پتری ۹۰ میلی‌لیتری ریخته و اجازه داده شد تا کاملاً سرد شود. در شرایط کاملاً استریل، از حاشیه در حال رشد یک کلنی هفت روزه قارچ *B. cinerea* که در دمای ۲۵ درجه سلسیوس نگهداری شده بود، یک دیسک از محیط کشت به همراه قارچ با قطر ۵ سانتی‌متر و ارتفاع ۳ میلی‌متر برداشته شد و به صورت وارونه در مرکز محیط کشت PDA به تنهایی به عنوان شاهد و محیط کشت همراه با قارچ‌کش‌ها، در تشتک پتری مایه‌زنی شد و در انکوباتور با دمای ۲۵ درجه سلسیوس و ۱۲ ساعت روشنایی و ۱۲ ساعت تاریکی قرار گرفت. خط رشد آنها بعد از ۳ و ۷ روز اندازه‌گیری و میزان رشد به وسیله یک خط‌کش از چهار نقطه از دیسک گذاشته شده در مرکز پتری اندازه‌گیری شد. برای هر تیمار و شاهد چهار تکرار در نظر گرفته شد. نتایج به دست آمده در فرمول I=100((C-T) /C) استفاده شده توسط منگ و همکاران (۷) قرار گرفت که در آن I درصد بازدارندگی، C قطر کلنی در شاهد و T قطر کلنی در تیمار می‌باشد. درصد بازدارندگی در مورد هر قارچ‌کش روی رشد میسلیومی قارچ *B. cinerea* به‌دست آمد. همچنین، غلظت‌هایی که باعث ۵۰٪ بازدارندگی از جوانه‌زنی کنیدیوم‌ها شده بودند با استفاده از نرم‌افزار Polo Plus به‌دست آمدند.

تأثیر قارچ‌کش‌ها بر قطر زخم روی میوه

آزمایش به روش دسن و همکاران (۴) در قالب

جدول ۲. مشخصات جدایه‌های *B. cinerea* جمع‌آوری شده از گلخانه‌های استان اصفهان.

نام جدایه	محل جمع‌آوری	گیاه میزبان	تاریخ جمع‌آوری
EF1	اصفهان – شهرضا	بادمجان	دی ماه ۱۳۹۱
EF2	اصفهان – فلاورجان	بادمجان	بهمن ماه ۱۳۹۱
EF3	اصفهان – فلاورجان	گوجه‌فرنگی	بهمن ماه ۱۳۹۱
EF4	اصفهان – شهرضا	گوجه‌فرنگی	بهمن ماه ۱۳۹۱

طرح کاملاً تصادفی در ۱۱ تیمار و سه تکرار اجرا شد. تیمارها شامل میوه‌های گوجه‌فرنگی به همراه قارچ *B. cinerea* و ۱۰ قارچ‌کش و یک تیمار شامل میوه گوجه‌فرنگی به همراه قارچ *B. cinerea* و آب به عنوان شاهد بود.

میوه‌ها ابتدا چهار الی پنج دقیقه در آب مقطر معلق شدند. قارچ‌کش‌ها با دُز توصیه شده (جدول ۱) روی میوه‌هایی که با سوزن روی آنها سوراخ‌هایی ایجاد شده بود محلول‌پاشی شدند تا زمانی که به‌صورت روان درآمدند. پس از خشک شدن، یک قطعه ۰/۵ سانتی‌متری از یک کلنی ۱۴ روزه قارچ *B. cinerea* در زخم ایجاد شده در میوه‌ها قرار گرفت. تیمار کنترل با آب مقطر انجام شد. هر آزمایش در سه تکرار انجام شد. میوه‌ها در کیسه‌های پلاستیکی استریل در رطوبت نسبی ۹۰ تا ۹۵ درصد قرار گرفتند تا توسعه بیماری تسریع شود. تمام بسته‌ها برای چهار روز در دمای ۲۳ درجه سلسیوس با دوره نوری ۱۲ ساعت روشنایی و ۱۲ ساعت تاریکی قرار داده شدند. این آزمایش دو مرتبه تکرار شد و پس از ۴ روز، قطر زخم رشد کرده در اثر قارچ *B. cinerea* اندازه‌گیری شد و تأثیر قارچ‌کش‌ها در بازدارندگی از رشد زخم ناشی از قارچ *B. cinerea* روی میوه گوجه‌فرنگی به دست آمد.

تأثیر قارچ‌کش‌ها بر ایزوله‌های مختلف قارچ *B. cinerea*

جهت بررسی تأثیر قارچ‌کش‌های مختلف بر قارچ بوتریتیس و بررسی و مقایسه با جدایه‌های موجود در طبیعت، در فواصل زمانی مهرماه تا آذرماه سال ۱۳۹۱ از گلخانه‌های فلاورجان و شهرضا در اصفهان، نمونه‌های مشکوک به این قارچ از روی میوه، ساقه، شاخه و برگ‌های گوجه‌فرنگی و بادمجان جمع‌آوری و به آزمایشگاه منتقل شدند که در جدول ۲ مشخصات آنها نشان داده شده است. بعد از انتقال، نمونه‌ها روی محیط PDA کشت داده شدند. پس از کشت اولیه، نمونه‌ها از لحاظ مورفولوژیک در زیر میکروسکوپ بررسی و پس از تأیید خصوصیات مورفولوژیک شامل قطر کنیدیوم، قطر میسلیوم و نحوه تشکیل کنیدیوم‌ها روی کنیدیوفور، اقدام به خالص‌سازی و تکثیر نمونه‌ها گردید. با توجه به منطقه، گلخانه و محل جمع‌آوری، چهار جدایه جمع‌آوری گردید که شامل جدایه‌های EF1، EF2، EF3 و EF4 بود و برای مقایسه یک جدایه نیز از مؤسسه گیاه‌پزشکی کشور گرفته شد و تحت عنوان Tp2 نامگذاری شد.

جهت بررسی تأثیر قارچ‌کش‌ها بر جدایه‌ها، غلظت‌های مختلف قارچ‌کش مورد آزمایش قرار گرفتند و غلظت‌هایی که باعث ۵۰٪ بازدارندگی از جوانه‌زنی کنیدیوم‌ها شده بودند با استفاده از نرم‌افزار Polo Plus به‌دست آمدند و در ایزوله‌های مختلف مورد مقایسه قرار گرفتند. جهت تعیین تأثیر قارچ‌کش‌ها بر میزان جوانه‌زنی کنیدیوم‌های این قارچ از محیط کشت مدیوم آگار ۱ و سوسپانسیون کنیدیوم با غلظت ۲×۱۰^{۵} کنیدیوم در میلی‌لیتر استفاده شد.

نتایج و بحث

تأثیر قارچ‌کش‌ها بر جوانه‌زنی کنیدیوم‌های قارچ *B. cinerea*

تأثیر قارچ‌کش‌های رایج در گلخانه بر جوانه‌زنی قارچ *B. cinerea* مورد بررسی قرار گرفت و بر حسب داده‌های

جدول ۳. مقایسه اثر غلظت بازدارندگی ۵۰٪ (IC_{50}) قارچ‌کش‌ها (میلی‌گرم بر لیتر) بر درصد جوانه‌زنی کنیدیوم‌های قارچ *Botrytis cinerea*.

قارچ‌کش	mg/L (95%FL)۵۰IC	۹۰IC	χ^2
کاربندازیم	۰/۰۹۷ (۰/۰۶۸–۰/۱۳۷)	۴/۴۶۴	۳/۳۱
بنومیل	۰/۱۰۶ (۰/۰۹۵–۰/۱۱۷)	۰/۵۱۹	۸/۵۳
مانکوزب	۰/۴۹۲ (۰/۳۷۶–۰/۶۳۵)	۱۱/۴۵۰	۱/۵۱
استروبی	۱/۷۶۶ (۱/۵۲۲–۲/۰۲۹)	۱۲/۰۰۲	۳/۵۹
کلروتالونیل	۳/۳۴۵ (۲/۸۴۳–۳/۸۸۱)	۲۴/۲۱۸	۵/۷۶
آیپرودیون + کاربندازیم	۶/۶۶۵ (۵/۰۶۲–۹/۲۱۰)	۳۸۱/۶۷۵	۶/۳۰
کاپتان	۳۴/۰۶۵ (۲۶/۹۱۵–۴۳/۱۵۱)	۱۰۵۵/۲۲۷	۷/۱۸
زینب	۶۲/۸۷۷ (۵۲/۹۰۷–۷۴/۱۳۲)	۴۳۶/۴۶۴	۴/۶۳
اکسی کلرور مس	۳۵۱/۳۶۷ (۲۷۲/۱۲۲–۴۴۶/۶۰۱)	۱۹۶۱۵/۷۵	۳/۳۵
بردو	۱۰۹۶/۹۰۲ (۵۵۶/۲۳۸–۳۱۵۱/۸)	۶۷۷۸۹	۴/۰۴

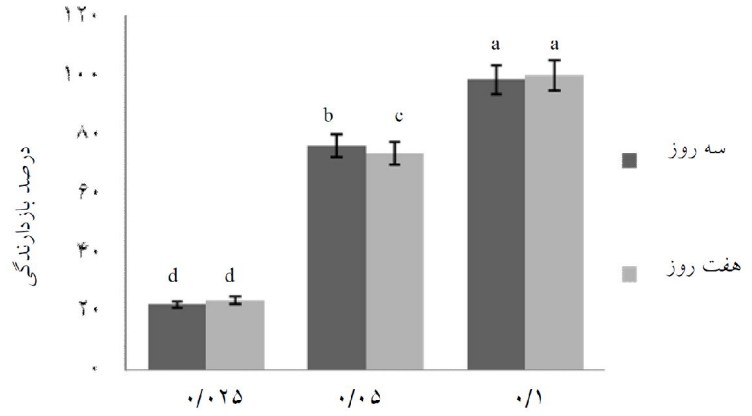
IC_{50}: دُز کشنده ۵۰٪، IC_{90}: دُز کشنده ۹۰٪، Fiducial limits (FL): حدود اطمینان.

به‌دست آمده، غلظت لازم برای ۵۰٪ بازدارندگی از جوانه‌زنی کنیدیوم‌های این قارچ تعیین شد. داده‌ها در جدول ۳ بر حسب میزان IC_{50} مرتب شده‌اند. در میان این قارچ‌کش‌ها، کاربندازیم کمترین میزان IC_{50} (۰/۰۹۷ میلی‌گرم بر لیتر) را به خود اختصاص داد و بعد از آن قارچ‌کش بنومیل قرار گرفت. این نتایج تأثیر زیاد قارچ‌کش‌های بنزیمیدازول را نشان می‌دهد. از سوی دیگر، قارچ‌کش‌های بردو و اکسی کلرور مس به ترتیب با مقادیر ۱۰۹۶/۹ و ۳۵۱/۳۷ میلی‌گرم بر لیتر بیشترین میزان IC_{50} را دارا بودند. بی و همکاران (۲) تأثیر کاربندازیم بر جوانه‌زنی کنیدیوم‌های قارچ *B. cinerea* را بررسی کردند. بعد از استفاده از دُز توصیه شده مزرعه‌ای این قارچ‌کش، تولید کنیدی بلافاصله متوقف شد، کنیدی‌ها تخریب شدند و یا به‌صورت غیر طبیعی شروع به تقسیم کردند که نشان از اثر مخرب این قارچ‌کش بر کنیدیوم‌های این قارچ داشت.

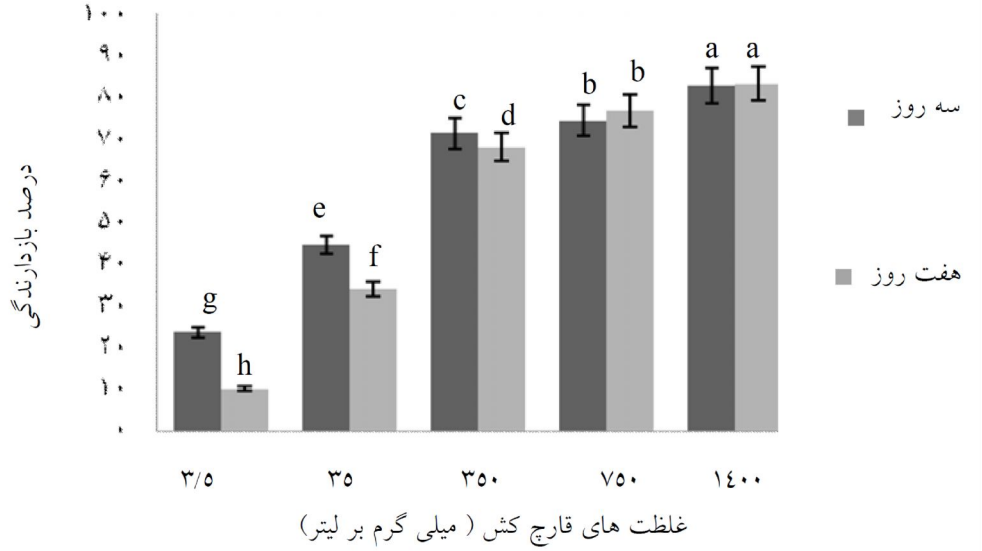
تأثیر قارچ‌کش‌ها بر رشد میسلیومی قارچ *B. cinerea*

میزان تأثیر قارچ‌کش‌ها بر بازدارندگی از رشد میسلیومی قارچ *B. cinerea* بعد از ۳ و ۷ روز برآورد شد. نتایج به‌دست آمده در جداول ۴ و ۵ نشان داده شده است. در بین قارچ‌کش‌ها، بنومیل کمترین میزان IC_{50} را داشت و بعد از آن نیز قارچ‌کش کاربندازیم دارای بیشترین تأثیر بر بازدارندگی رشد میسلیومی این قارچ بود. قارچ‌کش‌های اکسی کلرور مس، کاپتان و بردو دارای بیشترین مقدار IC_{50} بودند که نسبت به سایر قارچ‌کش‌ها تفاوت قابل ملاحظه‌ای داشتند. در این بین، اکسی کلرور مس کمترین تأثیر را بر رشد میسلیومی قارچ *B. cinerea* داشت.

با توجه به جداول ۴ و ۵ مشاهده می‌شود که بجز در مورد قارچ‌کش‌های بردو و زینب، در سایر قارچ‌کش‌ها مقدار IC_{50} بعد از گذشت ۷ روز بیشتر از مقدار محاسبه شده بعد از ۳ روز می‌باشد. همانطور که در شکل‌های ۱ و ۲ مشاهده می‌شود، در مورد قارچ‌کش بنومیل که بیشترین تأثیر را بر رشد میسلیومی این قارچ داشت، درصد بازدارندگی در غلظت‌های مختلف بعد از ۷ روز، نسبت به زمان ۳ روز تفاوت چندانی ندارد. در حالی که تفاوت بین درصد بازدارندگی در غلظت‌های کم اکسی کلرور مس بعد از ۳ و ۷ روز بیشتر است که نشان از پایداری کمتر این قارچ‌کش طی زمان نسبت به بنومیل دارد. همچنین، با توجه به این شکل‌ها مشاهده می‌شود که دامنه غلظت‌های مؤثر برای بنومیل بین ۰/۰۲۵ تا ۰/۴ میلی‌گرم بر لیتر و برای



شکل ۱. تأثیر قارچ‌کش بنومیل بعد از ۳ و ۷ روز بر رشد میسلیومی قارچ *B. cinerea*. میانگین‌هایی که حداقل در یک حرف مشترک‌اند با استفاده از آزمون Tukey در سطح ۰/۰۵ درصد اختلاف معنی‌داری با یکدیگر ندارند.



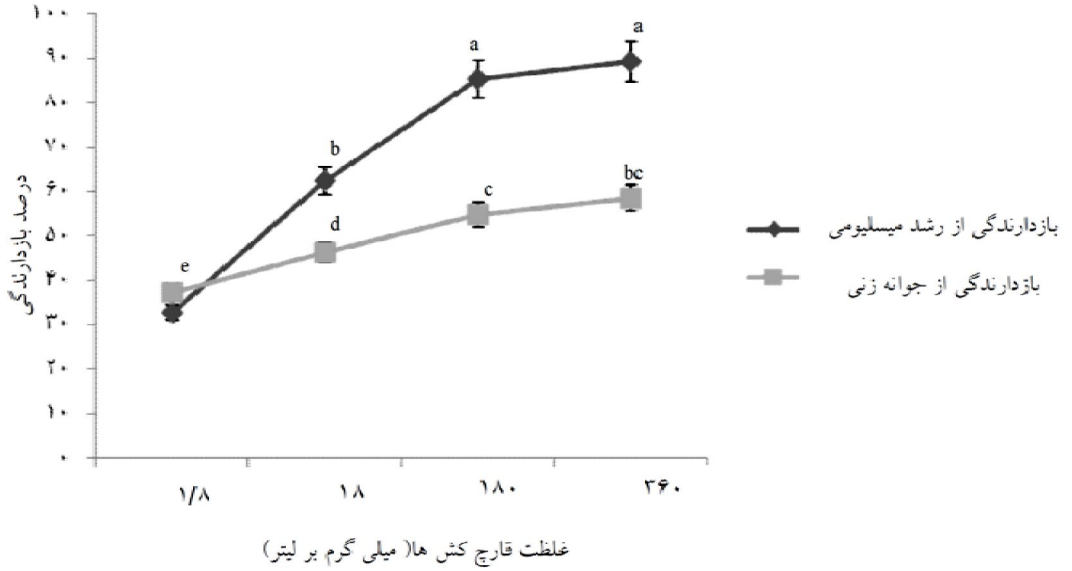
شکل ۲. تأثیر قارچ‌کش اکسی کلرور مس بعد از ۳ و ۷ روز بر رشد میسلیومی قارچ *B. cinerea*. میانگین‌هایی که حداقل در یک حرف مشترک‌اند با استفاده از آزمون Tukey در سطح ۰/۰۵ درصد اختلاف معنی‌داری با یکدیگر ندارند.

کسی کلرور مس از ۳/۵ تا ۱۴۰۰ میلی‌گرم بر لیتر می‌باشد.

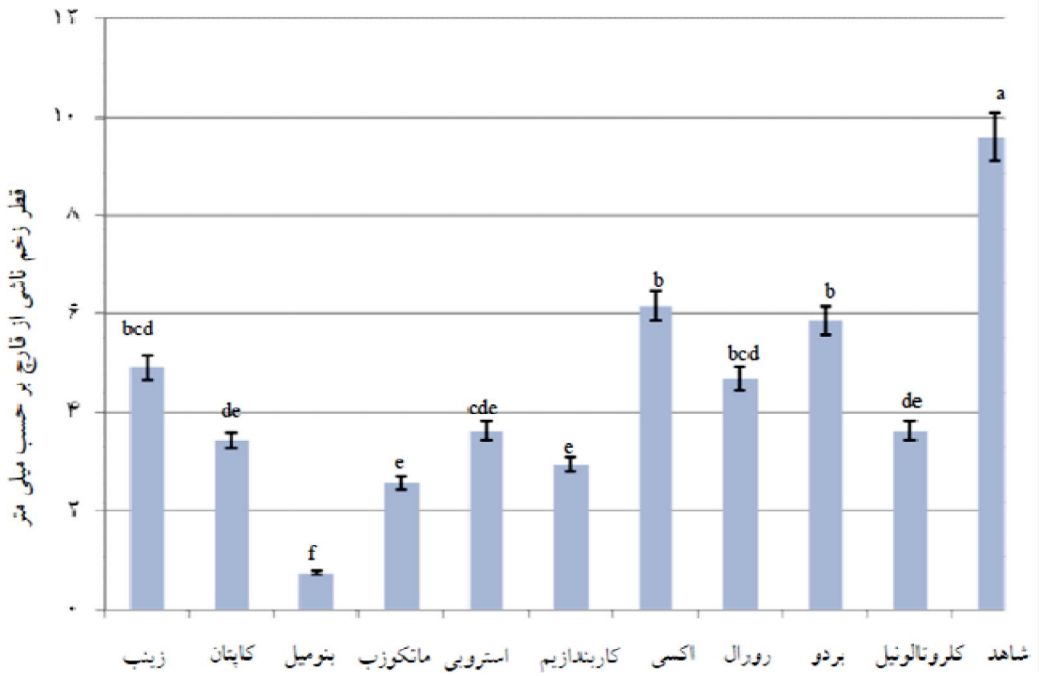
با مقایسه جداول ۳ و ۴ مشاهده می‌شود که میزان IC_{50} قارچ‌کش‌های مختلف در جلوگیری از رشد میسلیومی و جلوگیری از جوانه‌زنی کنیدیوم‌های قارچ *B. cinerea* متفاوت می‌باشد. همانطور که در شکل ۳ مشاهده می‌شود، در مورد قارچ‌کش بردو در غلظت‌های مشابه، میزان درصد بازدارندگی رشد میسلیومی و درصد جوانه‌زنی کنیدیوم قارچ *B. cinerea* اختلاف معنی‌داری دارد و در غلظت‌های ۱۸، ۱۸۰ و ۳۶۰ میلی‌گرم بر لیتر این قارچ‌کش درصد بازدارندگی از رشد میسلیومی بیشتر از درصد بازدارندگی از جوانه‌زنی کنیدیوم‌های این قارچ می‌باشد.

تأثیر قارچ‌کش‌های مختلف بر میزان زخم ناشی از قارچ *B. cinerea* بر میوه گوجه‌فرنگی

یکی از اثرهای مخربی که قارچ *B. cinerea* بر گوجه‌فرنگی



شکل ۳. مقایسه بین غلظت‌های مصرفی بردو بر رشد میسلیومی و درصد جوانه‌زنی قارچ *B. cinerea*. میانگین‌هایی که حداقل در یک حرف مشترک‌اند، با استفاده از آزمون توکی در سطح ۰/۰۵ درصد اختلاف معنی‌داری با یکدیگر ندارند.



شکل ۴. میزان رشد زخم ناشی از قارچ *Botrytis cinerea* روی میوه گوجه‌فرنگی تحت تیمار با دُز مصرفی (میلی‌گرم بر لیتر) قارچ‌کش‌ها. میانگین‌هایی که حداقل در یک حرف مشترک‌اند، با استفاده از آزمون توکی در سطح ۰/۰۵ درصد اختلاف معنی‌داری با یکدیگر ندارند.

می‌گذارد تخریب میوه و ایجاد پوسیدگی در آن است. بنابراین، تأثیر قارچ‌کش‌های مختلف بر کنترل این پوسیدگی بر میوه اندازه‌گیری شد. بدین منظور، پس از ایجاد زخم در میوه و تیمار قارچ‌کش‌های مختلف با دُز توصیه شده و تلقیح قارچ به آن، قطر زخم‌ها بعد از گذشت ۴ روز اندازه‌گیری شد. نتایج در شکل ۴ آورده شده است. قطر زخم ناشی از قارچ ها در تمام

جدول ۴. مقایسه تأثیر بازدارندگی قارچ‌کش‌ها (IC_{50}) بر جوانه‌زنی کنیدیوم‌ها در جدایه‌های *B. cinerea*

قارچ‌کش / جدایه	بردو	اکسی کلرور مس	زینب	کاپتان	آیپرودیون + کاربندازیم	کلروتالونیل	کاربندازیم	استروبی	مانکوزب	بنومیل
EF1	۱۱۷۸/۶۵۵	۱۶/۱۶	۴۱/۵۲۵	۱۵/۳۲	۷/۵۸۷	۴/۹۴۳	۱۰/۹۲۴	۱/۷۵۶	۰/۳۴۸	۰/۰۸۷
EF2	۱۳۴۳/۹۷۹	۴۸/۴۵۸	۲۹/۱۷۹	۵/۱۶۹	۷/۳۸۷	۶/۷۰۸	۱۳/۷۶	۲/۵۴۳	۰/۳۲۷	۰/۱۶۱
EF3	۱۱۱۱/۱۰۷	۹۲۸/۷۲۹	۱۶۱/۱۴۸	۱۰/۷۳	۷/۴۸۸	۸/۴۲۱	۱۰/۴۵۴	۲/۳۱۶	۰/۱۷۹	۰/۱۹۵
EF4	۷۵۷/۹۹۵	۶۹/۰۲	۳۹/۷۸	۲۲/۵۶۳	۹/۲۸۹	۵/۵۳۳	۰/۹۳۹	۳/۰۴۸	۰/۲۹۹	۰/۱۵۲
Tp2	۶۰۹۳/۹	۱۰۰۳/۹۰۸	۷۸/۵۹۷	۶۸/۱۳۱	۱۲/۶۹۶	۴/۶۴۷	۰/۱۶۳	۳/۵۳۲	۰/۶۱۶	۰/۲۱۲

تیمارهای قارچ‌کش اختلاف معنی‌داری با شاهد داشت و نشان داد که تمام قارچ‌کش‌های استفاده شده تا حدود زیادی از رشد زخم جلوگیری کرده بودند.

با توجه به شکل ۴، در میان قارچ‌کش‌های استفاده شده، اکسی کلرور مس به همان صورت که در جلوگیری از رشد میسلیومی و جوانه‌زنی کنیدیوم‌های این قارچ تأثیر کمتری نسبت به دیگر قارچ‌کش‌ها داشت، در جلوگیری از رشد زخم ناشی از *B. cinerea* نیز موفقیت کمتری داشت. قطر زخم ایجاد شده در میوه با تیمار قارچ‌کش بردو اختلاف معنی‌داری با اکسی کلرور مس نداشت. از سوی دیگر، قارچ‌کش بنومیل تا حدود بسیار زیادی از رشد زخم بر میوه جلوگیری کرده بود و بیشترین اثر را در جلوگیری از رشد زخم ناشی از این قارچ داشت. بعد از بنومیل، قارچ‌کش‌های کاربندازیم و مانکوزب بیشترین تأثیر را در کنترل زخم ناشی از قارچ *B. cinerea* داشتند که این دو قارچ‌کش نیز با یکدیگر اختلاف معنی‌داری نداشتند.

مقایسه غلظت بازدارنده ۵۰٪ قارچ‌کش‌ها (IC_{50}) بر جوانه‌زنی کنیدیوم‌ها در جدایه‌های *B. cinerea*

با توجه به میزان IC_{50} ایزوله‌های جمع‌آوری شده (جدول ۴) مشخص شد که بردو کم‌اثرترین قارچ‌کش جهت جلوگیری از جوانه‌زنی کنیدیوم‌های جدایه‌های جمع‌آوری شده می‌باشد. میزان IC_{50} این قارچ‌کش در مقیاس با دو قارچ‌کش دیگر با IC_{50} بالا، یعنی اکسی کلرور مس و زینب، تفاوت زیادی داشت. از سوی دیگر، قارچ‌کش‌های بنومیل و مانکوزب دارای بیشترین بازدارندگی روی این قارچ‌ها بودند. در میان جدایه‌های جمع‌آوری شده، جدایه EF3 در برابر قارچ‌کش‌های اکسی کلرور مس و زینب مقاومت قابل ملاحظه‌ای نسبت به سایر جدایه‌ها نشان داد. همچنین، جدایه EF4 نسبت به قارچ‌کش کاربندازیم و جدایه EF1 در برابر بنومیل در قیاس با سایر جدایه‌ها به‌صورت قابل توجهی حساسیت و عدم جوانه‌زنی در کنیدیوم‌ها داشت.

در آزمایش‌هایی که توسط پاپلوماتاس و همکاران (۷) صورت گرفت، جدایه‌های متفاوتی از این قارچ، حساسیت‌های گوناگونی به قارچ‌کش‌های کاربندازیم، آیپرودیون و دیتوفن کارب نشان دادند. با توجه به جدول ۶، مشخص شد که در بعضی موارد جدایه‌های جمع‌آوری شده با جدایه اصلی موجود در آزمایشگاه از لحاظ حساسیت و مقاومت به قارچ‌کش‌ها تفاوت قابل ملاحظه‌ای دارند. قارچ *B. cinerea* کشت شده در آزمایشگاه در رابطه با قارچ‌کش‌های بردو، مانکوزب و کاپتان مقاومت بیشتری نسبت به جدایه‌های جمع‌آوری شده داشت. در صورتی که در مورد قارچ‌کش کاربندازیم حساسیت بسیار

بیشتری در جوانه‌زنی کنیدیوم‌ها از خود نشان داد.

نتیجه‌گیری

در آزمون های صورت گرفته قارچ کش های متعلق به گروه ترکیبات مسی جزو ضعیفت ترین گروه قارچ کشی بر روی رشد میسلیومی و جوانه زنی کنیدیوم های قارچ *B.cinerea* بودند که هر دو قارچ کش اکسی کلرور مس و بردو در این دو آزمون در کم ترین سطح جهت بازدارندگی قرار داشتند. از سوی دیگر با توجه به آزمون های صورت گرفته مشخص شد قارچ کش های کاربندازیم و بنومیل که هر دو متعلق به گروه بنزیمیدازول می باشند تاثیر زیادی بر روی قارچ *B.cinerea* دارند که بازدارندگی زیادی این ترکیبات و تاثیر کم قارچ کش های مسی بر روی این قارچ در آزمون مقایسه رشد زخم های ناشی از آلودگی به این قارچ نیز تایید شد. ایجاد مقاومت در جدایه های مختلف قارچ *B.cinerea* در مقابل قارچ کش ها یکی از موارد مهمی می باشد که در این آزمایشات به ما یادآور می شود.

منابع مورد استفاده

1. Ambethgar, V., M. Swamiappan, R.J. Rabindra and R. Rabindran. 2010. Effect of selected fungicides on *in vitro* vegetative growth of *Beauveria bassiana* (Balsamo) Vuillemin, a pathogen of rice leaf folders. J. Biol. Control 24: 85-87.
2. Bi, C.W., J.B. Qiu, M. G. Zhou, C.J. Chen and J.X. Wang. 2009. Effects of carbendazim on conidial germination and mitosis in germlings of *Fusarium graminearum* and *Botrytis cinerea*. Int. J. Pest Manage. 55(2): 157-163.
3. Chapeland, F., R. Fritz, C. Lanen, M. Gredt and P. Leroux. 1999. Inheritance and mechanisms of resistance to anilinopyrimidine fungicides in *Botrytis cinerea* (*Botryotinia Fuckeliana*). Pestic. Biochem. Physiol. 64**:** 85-100.
4. Desen, N,. N. Ozer and N. Delen. 2012 . Sensitivity of *Botrytis cinerea* isolate against some fungicides used in vineyard. Afr .J. Biotechnol. 11: 1892-1899.
5. Li, Z., P.P. Li, H.L. Yang, J.Z. Liu and Y.F. Xu. 2012. Mechanical properties of tomato exocarp, mesocarp and locular gel tissues. J. Food Eng. 111: 82-91.
6. Liu, W., P. Leroux and S. Fillinger. 2008. The HOG1-like MAP kinase Sak1 of *Botrytis cinerea* is negatively regulated by the upstream histidine kinase Bos1 and is not involved in dicarboximide- and phenylpyrrole-resistance. Fungal Genet. Biol. 45: 1062-1074.
7. Meng, Z., Y. Wei, D. Xu, S. Hao and J. Hu. 2007. Effect of 2-allylphenol against *Botrytis cinerea* Pers., and its residue in tomato fruit. Crop Prot. 26: 1711-1715.
8. Paplomatas, E.J., A.C. Pappas and D. Antoniadis. 2004. A relationship among fungicide-resistant phenotypes of *Botrytis cinerea* based on RAPD analysis. J. Phytopathol. 152: 503-508.
9. Suarez, M.B., K. Walsh, N. Boonham, T. O'Neill, S. Pearson and I. Barker. 2005. Development of real-time PCR (TaqMan®) assays for the detection and quantification of *Botrytis cinerea* in planta. Plant Physiol. Biochem. 43: 890-899.
10. Touhidul Islam, Md., S.J. Castle and S. Ren. 2010. Compatibility of the insect pathogenic fungus *Beauveria bassiana* with neem against sweetpotato whitefly, *Bemisia tabaci*, on eggplant. Entomol. Exp. Appl. 134: 28-34.
11. Van der Heyden, H., O. Carisse and L. Brodeur. 2012. Comparison of monitoring based indicators for initiating fungicide spray programs to control Botrytis leaf blight of onion. Crop Prot. 33: 21-28.
12. Van Zyl, S.A., J.C. Brink, F.J. Calitz, S. Coertze and P.H. Fourie. 2010. The use of adjuvants to improve spray deposition and *Botrytis cinere*a control on Chardonnay grapevine leaves. Crop Prot. 29: 58-67.
13. Zhao, H., Y.K. Kim, L. Huang and C.L. Xiao. 2010. Resistance to thiabendazole and baseline sensitivity to fludioxonil and pyrimethanil in *Botrytis cinerea* populations from apple and pear in Washington State. Postharvest Biol. Technol. 56: 12-18.