

## ارزیابی جمعیت نماتد ریشه‌ی مرکبات (*Tylenchulus semipenetrans* Cobb, 1913) و شبه‌قارچ فیتوفترا (*Phytophthora nicotianae* Breda de Hann, 1896) در درختان سالم و مبتلا به بیماری زوال مرکبات در جنوب استان کرمان

موسی نجفی نیا<sup>۱\*</sup>، مهدی آزادوار<sup>۱</sup> و فرحناز جهانشاهی افشار<sup>۲</sup>

۱- بخش تحقیقات گیاهپزشکی، مرکز تحقیقات و آموزش کشاورزی و منابع طبیعی جنوب کرمان، سازمان تحقیقات، آموزش و ترویج کشاورزی، جیرفت.

۲- بخش تحقیقات نماتدشناسی، موسسه تحقیقات گیاهپزشکی کشور، سازمان تحقیقات، آموزش و ترویج کشاورزی، تهران.

\* مسئول مکاتبه: [m.najafinia@areeo.ac.ir](mailto:m.najafinia@areeo.ac.ir)

تاریخ دریافت: ۱۳۹۸/۴/۲ تاریخ پذیرش: ۱۳۹۸/۱۰/۱۶

### چکیده

مرکبات (*Citrus spp.*) در جنوب استان کرمان نقش بسیار مهمی از نظر اقتصادی ایفا می‌کند. در سال‌های اخیر شیوع بیماری جدید زوال درختان مرکبات تهدید جدی برای مرکبات این منطقه به شمار می‌رود. درختان آلوده ظاهری ضعیف و رنگ‌پریده نشان می‌دهند. علائم پوسیدگی شدید ریشه‌ها در تمامی درختان آلوده دیده می‌شود. در این تحقیق، پراکنش نسبی بیماری زوال مرکبات و وضعیت آلودگی درختان سالم و در حال زوال به نماتد ریشه‌ی مرکبات (*Tylenchulus semipenetrans*) و شبه‌قارچ فیتوفترا (*Phytophthora nicotianae*) مورد بررسی قرار گرفت. درصد وقوع بیماری زوال مرکبات در منطقه ۷۶ درصد تعیین گردید. نتایج نشان داد نمونه‌های مورد بررسی دارای آلودگی متوسط تا شدید به نماتد ریشه‌ی مرکبات و شبه قارچ فیتوفترا بودند. میانگین دو سال (۹۲ و ۹۳) جمعیت لارو سن دو نماتد ریشه در ۲۰۰ سانتی‌متر مکعب خاک درختان آلوده و سالم به ترتیب ۲۵۷۲ و ۱۸۳ شمارش شد. میانگین ماده‌ی بالغ در یک گرم ریشه‌ی درختان آلوده و سالم به ترتیب ۲۱۰ و ۱۱ عدد شمارش شد. میانگین تعداد زادمایه‌ی قارچ فیتوفترا در یک گرم خاک ریزوسفر درختان آلوده و سالم به ترتیب ۱۳/۵ و چهار عدد شمارش گردید. مایه‌زنی گیاهچه‌های بکرایی با نماتد و قارچ فیتوفترا، منجر به بروز پوسیدگی ریشه و مرگ گیاهچه شد. نتایج نشان داد که اگرچه نماتد و فیتوفترا نمی‌توانند به‌عنوان عامل اصلی بروز زوال ناگهانی مرکبات در جنوب کرمان باشند ولی ترکیبی از نماتد ریشه‌ی مرکبات و شبه‌قارچ فیتوفترا، می‌تواند به‌عنوان یکی از عوامل همراه و تشدیدکننده‌ی بیماری زوال ناگهانی مرکبات در منطقه‌ی جنوب کرمان باشد.

واژه‌های کلیدی: پوسیدگی ریشه، زوال ناگهانی، جیرفت، قارچ و نماتد.

### مقدمه

به‌عنوان عامل بیماری زوال مرکبات در دنیا گزارش شده است. بیماری پوسیدگی طوقه و ریشه‌ی مرکبات ناشی از شبه قارچ *Phytophthora nicotiana* یکی از بیماری‌های مهم مرکبات در سراسر دنیا است که باعث زوال درختان می‌شود. زمانی که ریشه‌ها فعال و در حال رشد باشند، این شبه قارچ نیز فعال و از طریق ایجاد پوسیدگی ریشه‌ها، باعث بروز زوال می‌شود (Grech and Rijkenberg, 1992).

منطقه‌ی جنوب استان کرمان با بیش از ۳۶۰۰۰ هکتار سطح زیر کشت و دارا بودن جایگاه سوم تولید، سهم مهمی در تأمین مرکبات کشور به خود اختصاص داده است. بیماری زوال مرکبات (بیماری کمپلکس و با عوامل مختلف) یکی از مهم‌ترین بیماری‌های مرکبات و تهدیدکننده‌ی توسعه‌ی کشت مرکبات است. تاکنون عوامل متعددی

قارچ‌های *Helminthosporium spp.*، *F. solani*، *F. semitectum* و *Phytophthora nicotianae* به همراه نماتد از ریشه‌ی مرکبات دارای علائم مرگ ناگهانی در پاکستان جداسازی و گزارش شده است (Safdar et al., 2010). قارچ *F. solani* از ریشه‌ی درختان مرکبات دارای علائم زوال جداسازی و به‌عنوان عامل احتمالی ایجاد زوال در مرکبات گزارش شده است (Rehman and Haq, 2012). بیماری زوال و پوسیدگی فیتوفترایی ریشه همراه با نماتد مرکبات از آفریقای جنوبی گزارش شده است (Kotze, 1982). نتایج بازدیدهای میدانی در باغات مرکبات ایتالیا و مطالعات آزمایشگاهی به‌منظور سبب‌شناسی زوال مرکبات که دارای علائم پوسیدگی ریشه و طوقه بوده‌اند نشان داده که گونه‌های فیتوفترا از خاک و ریشه‌های تغذیه‌کننده جداسازی شده اند (Ippolito et al., 1990).

نماتد ریشه‌ی مرکبات (*Tylenchulus semipenetrans*) Cobb) برای اولین بار از کالیفرنیا گزارش و توصیف شد (Cobb, 1914). این نماتد به‌طور وسیعی در باغ‌های مرکبات دنیا گسترش داشته و باعث زوال تدریجی درختان و کاهش ۱۰ تا ۳۰ درصدی محصول مرکبات می‌شود (Ahmad et al., 2004; Verdijo and Mc Kenry, 2004). وجود نماتد مرکبات در باغات شمال و جنوب ایران گزارش شده است. تحقیقات نشان داده است که نماتد مرکبات به‌صورت گسترده در جنوب ایران شیوع داشته و احتمالاً باعث زوال جدی مرکبات در این منطقه است (Abivardi et al., 1970). میناسیان و مؤدب، (۱۳۶۹). وضعیت جمعیت نماتد ریشه‌ی مرکبات در منطقه‌ی فارس و هرمزگان بررسی و بیشترین جمعیت لارو سن دو در ماه‌های اردیبهشت، مرداد و شهریور گزارش شده است (تنها معافی و خیری، ۱۳۶۹; Sharafeh, 1972). ایازپور و همکاران (۱۳۸۸) میزان وقوع آلودگی باغات مرکبات استان فارس به نماتد مرکبات را حدود ۸۵ درصد گزارش نموده‌اند. تحقیقات نشان داده است شدت خسارت نماتد مرکبات زمانی که با سایر عوامل محدودکننده‌ی ریشه نظیر آلودگی قارچی و تنش دمایی و آبی همراه باشد، شدیدتر است (Verdijo

and Mc Kenry, 2004). علاوه بر نماتد ریشه‌ی مرکبات، نماتد *Radopholus spp.* نیز از ریشه‌ی نهال‌ها و درختان مرکبات در کالیفرنیا، استرالیا، آمریکای مرکزی و جنوبی گزارش و بیان شده است که این نماتد با جمعیت بالای ۱۰۰۰ نماتد در ریشه و بروز علائم در ریشه و اندام‌های هوایی، می‌تواند در مرکبات، موز و گیاهان زینتی ایجاد زوال سریع نماید (Machon and Bridge, 1996). تاکنون گونه *Radopholus similis* از ایران گزارش نشده و همچنان در لیست نماتدهای قرنطینه‌ای ایران قرار دارد اما دو گزارش از جنس *Radopholus sp.* بدون تشخیص گونه با عنوان *Radopholus* توسط باروتی (۱۳۷۷) از روی سیب، استان آذربایجان شرقی و پورجم و نساج حسینی (۱۳۸۴) از روی موز، استان گیلان از ایران موجود است (قادری و کارگر بیده، ۱۳۹۷).

بیماری جدید زوال ناگهانی مرکبات که بنام بلایت جیرفتی<sup>۱</sup> مرکبات معرفی شده است اولین بار در سال ۱۳۸۹ در جنوب استان کرمان مشاهده شد (Najafiniya and Azadvar, 2015). نتایج تحقیقات اولیه، عامل بیماری زوال ناگهانی مرکبات در منطقه جیرفت را حاصل کمپلکسی از قارچ فیتوفترا، نماتد ریشه‌ی مرکبات، قارچ فوزاریوم و افزایش دما معرفی و تلاش برای جداسازی ویروس، باکتری و فیتوپلازما منفی گزارش شده است (Najafiniya and Azadvar, 2016). تحقیقات تکمیلی نشان داد علاوه بر نماتد ریشه و شبه‌قارچ فیتوفترا، عوامل *Candidatus Liberibacter asiaticus* و *Candidatus Phytoplasma aurantifolia* با بیماری زوال درختان مرکبات با پایه‌ی بکرایی در جنوب استان کرمان همراه و کاندید اصلی عامل زوال مرکبات گزارش شد (آزادوار و همکاران، ۱۳۹۸; Alizadeh et al., 2017; Alessandro et al., 2018). علی‌رغم گزارش نماتد ریشه‌ی مرکبات و قارچ فیتوفترا همراه با درختان زوال یافته، اطلاع دقیقی از وضعیت جمعیت این دو پاتوژن در باغات آلوده وجود ندارد. این تحقیق به‌منظور شناسایی مناطق آلوده و بررسی دقیق وضعیت جمعیت نماتد ریشه‌ی مرکبات و شبه‌قارچ فیتوفترا در درختان مرکبات مبتلا به بیماری زوال ناگهانی و درختان سالم در منطقه‌ی جنوب کرمان انجام پذیرفته است.

<sup>1</sup> Citrus Jiroft blight

## مواد و روش‌ها

## نمونه‌برداری

به منظور تعیین پراکنش نسبی و شناسایی مکان‌های آلوده، به طور تصادفی از ۲۱ منطقه (هر منطقه مشتمل بر حداقل ۱۰ باغ مرکبات) در شهرستان‌های دارای کشت مرکبات در جنوب کرمان بازدید انجام گرفت و با توجه به مشاهده یا عدم مشاهده علائم بیماری، اطلاعات یادداشت و از باغات مرکبات دارای علائم بیماری زوال و درختان به ظاهر سالم نمونه‌برداری شد و وضعیت نسبی جمعیت شبه قارچ فیتوفترا گونه *P. nicotianae* و نماتد ریشه‌ی مرکبات *T. semipenetrans* در خاک و ریشه تعیین گردید. برای این منظور، از هر درخت دو نمونه‌ی یک کیلوگرمی حاوی خاک و ریشه در ناحیه‌ی سایه‌انداز درخت و از عمق ۱۰ تا ۳۰ سانتی‌متری گرفته و مخلوط نموده، سپس یک نمونه‌ی یک کیلوگرمی انتخاب و داخل کیسه‌های پلاستیکی با ثبت اطلاعات مربوطه در اسرع وقت و در شرایط مناسب به آزمایشگاه منتقل شد و جمعیت نسبی پاتوژن‌های مذکور تعیین گردید. در سال اول آزمایش، نمونه‌برداری در ماه مرداد (پیک بروز علائم بیماری زوال مرکبات) انجام و در سال دوم بر اساس نتایج سال اول، سه باغ دارای سابقه‌ی آلودگی انتخاب و طی تابستان که شدت زوال بیشتر بود، در سه بازه‌ی زمانی (ماه‌های تیر، مرداد و شهریور) به طور مرتب هر ماه یکبار نمونه‌ی خاک و ریشه از قطعات موردنظر جمع‌آوری و نسبت به استخراج نماتد ریشه‌ی مرکبات از خاک و ریشه، اقدام و جمعیت نماتد و قارچ شمارش گردید.

## تعیین جمعیت شبه‌قارچ فیتوفترا

توده‌ی خاک اضافی اطراف ریشه را با تکان آرام جدا نموده، باقیمانده‌ی خاک که هنوز چسبیده به ریشه بود به‌عنوان ریزوسفر در نظر گرفته شد. تعداد کلنی فیتوفترا در یک گرم خاک به روش رقیق‌سازی مکرر شمارش شد. رقت نهایی را یک به ۱۰۰۰ رسانده و یک سی‌سی از سوسپانسیون نهایی به پتری دیش نه سانتی‌متری حاوی محیط PARPH منتقل و پخش گردید. چهار تا پنج روز بعد

از نگهداری تشک‌های کشت داده‌شده در دمای اتاق، هردوی تشک‌های حاوی ریزوسفر خاک و ریشه از جهت وجود یا عدم رشد فیتوفترا موردبررسی قرار گرفت (Jeffers and Martin, 1986; Mitchell et al., 1986).

## تعیین جمعیت نماتد ریشه‌ی مرکبات

استخراج نماتد از ۲۰۰ سانتی‌متر مکعب خاک با روش سینی (Whitehead and Hemming, 1965) به مدت ۴۸ تا ۷۲ ساعت انکوباسیون صورت گرفت. سوسپانسیون حاصل را دو بار از الک ۴۰۰ مش عبور داده و در یک بشر ۲۰۰ سی‌سی جمع‌آوری شدند. شمارش نماتد لارو سن دو زیر بینوکولار با بزرگنمایی ۴۰X انجام و متوسط جمعیت لارو نماتد محاسبه گردید. وضعیت جمعیت نماتد بالغ ریشه‌ی مرکبات گونه‌ی *T. semipenetrans* در یک گرم ریشه‌ی درختان آلوده و سالم مورد بررسی قرار گرفت (تنها معافی و همکاران، ۱۳۷۹).

اثبات بیماری‌زایی نماتد و شبه‌قارچ فیتوفترا روی پایه‌ی حساس بکرایی

برای این منظور، نهال‌های دو تا سه‌ماهه‌ی رقم بکرایی، حساس‌ترین پایه‌ی منطقه بر اساس گزارش‌های قبلی (Najafiniya and Azadvar, 2016) در شرایط گلخانه مایه‌زنی شد. مایه‌زنی با نماتد، فیتوفترا و شاهد بدون پاتوژن انجام شد. تعداد ۱۰۰ لارو سن دوم نماتد ریشه‌ی مرکبات برای مایه‌زنی استفاده شد. (با توجه به اینکه هیچ اطلاعاتی از وضعیت نژادهای نماتد در منطقه وجود نداشت، جهت بالا بردن دقت کار، نماتدهای جمع‌آوری‌شده از یک مکان خاص جهت مایه‌زنی استفاده گردید). زئوسپور شبه‌قارچ فیتوفترا گونه *P. nicotianae* به‌عنوان زامایه برای مایه‌زنی استفاده شد. برای این منظور دیسک‌های میسلیمی از حاشیه‌ی پرگنه‌ی فعال شبه قارچ روی محیط کشت به تعداد چهار تا پنج عدد در یک تشک حاوی آب مقطر گذاشته و زیر نور نگهداری شد تا اسپورانژ تولید شود. سپس تشک‌ها در یخچال به مدت ۳۰ دقیقه نگهداری، و به دمای اتاق برگردانده شده تا زئوسپور ها آزاد شوند. غلظت سوسپانسیون زئوسپور به‌دست‌آمده با لام گلبول شمار

### نتایج

علائم بیماری زوال مرکبات روی پایه‌ی بکرایی در جنوب کرمان به‌صورت رنگ‌پریدگی عمومی درختان، تغییر رنگ برگ‌ها از سبز پررنگ به سبز کم‌رنگ، کاهش یا عدم تولید جوانه‌ی جدید در فصل جوانه‌زنی در درختان دارای علائم زوال، ریز ماندن برگ‌ها و میوه‌ها (اغلب بدون ریزش برگ و میوه) مشاهده شد. پوسیدگی شدید ریشه‌های اصلی و از بین رفتن ریشه‌های تغذیه‌ای در تمام نمونه‌ها دیده شد. علائم بیماری به‌صورت مفصل و مصور در گزارش‌های قبلی نگارندگان توصیف شده است (Najafiniya and Azadvar, 2016). در مراحل اولیه‌ی پوسیدگی ریشه، آلودگی ریشه‌ها به نماتد با ظاهری کثیف و خاک‌های چسبیده به ریشه به‌خوبی قابل مشاهده بود (شکل ۱). بیماری روی ارقام پرتقال محلی، واشنگتن ناول، نارنگی و گریپ‌فروت پیوند شده روی پایه‌ی بکرایی (پایه‌ی محلی) مشاهده شد.

تعیین و ۱۰ سی‌سی سوسپانسیون با غلظت ۶۰۰۰ زئوسپور در سی‌سی در ناحیه‌ی ریشه ریخته و مایه زنی شد (El Boraei et al., 2002). جهت استقرار نماتد، گلدان‌ها به مدت سه تا شش ماه نگهداری و پس از یادداشت برداری لازم، نهال‌ها را از خاک خارج کرده و وضعیت ریشه‌ها از نظر آلودگی و استقرار نماتد و بروز پوسیدگی ریشه و مرگومیر نهال مورد بررسی قرار گرفتند. در برخی از نمونه‌های مایه‌زنی شده، پس از جدا کردن ریشه‌ها از قسمت هوایی، به‌ملایمت با آب شسته و سپس با محلول اسید فوشین لاکتوفنل رنگ‌آمیزی شدند و وجود ماده‌های جوان و بالغ فرورفته در داخل ریشه مورد بررسی قرار گرفت (تنها معافی و همکاران، ۱۳۷۹). شاهد با آب مقطر مایه‌زنی شد.



شکل ۱- بدشکلی و چسبیدن خاک به ریشه‌ی آلوده به نماتد مرکبات (*Tylenchulus semipenetrans*) در درخت مبتلا به بیماری زوال (اصلی).

**Figure 1. Deformation and soil dirtye of infected roots by citrus root nematode (*Tylenchulus semipenetrans*) in tree showing decline (original).**

نگردید (جدول ۱). از ۲۱ منطقه‌ی مورد بازدید، در ۱۶ منطقه بیماری زوال مشاهده گردید. علائم بیماری زوال در بالغ بر ۷۶ درصد مناطق مورد بازدید مشاهده شد. مناطق نراب و دلفارد جهت بررسی جمعیت و پایش میدانی انتخاب گردیدند. بیماری عمدتاً در مناطق کوهپایه‌ای و معتدل مشاهده شد و در نواحی دشت و جلگه‌ای کمتر مشاهده گردید (جدول ۱). نتایج بازدیدهای میدانی نشان داد بیماری

### پراکنش جغرافیایی بیماری زوال مرکبات در جنوب کرمان

نتایج بازدیدهای میدانی در استان کرمان (جیرفت، عنبرآباد، فاریاب، کهنوج و منوجان و ارزوئیه) نشان داد بیماری زوال ناگهانی مرکبات در شهرستان‌های جنوب استان کرمان (جیرفت و عنبرآباد) شیوع دارد و در سایر مناطق (ارزوئیه، منوجان، فاریاب و منوجان) مشاهده

۲۰۰ سانتی‌متر مکعب خاک درختان آلوده در ماه‌های تیر، مرداد و شهریور در سال ۱۳۹۳ به ترتیب ۲۴۰۷، ۳۲۷۰ و ۱۹۷۶ عدد و در درختان سالم ۲۴۶، ۲۵۰ و ۱۸۳ عدد شمارش گردید. از نمونه‌های دارای علائم زوال، علاوه بر نماتد، شبه‌قارچ فیتوفترا گونه‌ی *P. nicotianae* نیز جداسازی گردید (شکل ۳). متوسط تعداد زادمایه‌ی شبه قارچ فیتوفترا در یک گرم خاک درختان آلوده در ماه‌های تیر، مرداد و شهریور سال ۱۳۹۳ به ترتیب ۱۴، ۱۳ و ۱۳/۲ زادمایه در گرم خاک ریزوسفر و در درختان به‌ظاهر سالم دو، پنج و پنج عدد شمارش گردید. گزارش‌ها نشان داده است وجود تعداد ۱۰ تا ۲۰ زادمایه در یک گرم خاک حد بحرانی برای بروز زوال مرکبات است (Graham and Feichtenberger, 2015). وضعیت نماتد ریشه‌ی مرکبات در شش تا نهالستان از نهالستان‌های تولید مرکبات به‌صورت تصادفی مورد ارزیابی قرار گرفت. نتایج نشان داد در سه نهالستان، شدت آلودگی بسیار بالا بود (جدول ۴).

نهالستان‌های آلوده مربوط به مناطقی بودند که مجوز تولید نهال نداشته و چندین سال پیاپی در زمین ثابتی تولید نهال انجام می‌شده است. طبیعتاً توزیع نهال آلوده می‌تواند منشأ آلودگی اولیه و سبب انتقال نماتد و سایر پاتوژن‌ها به باغ اصلی باشد.

**نتایج آزمایش مایه‌زنی گیاهچه‌های بکرایی (پایه‌ی حساس به زوال مرکبات) با نماتد و شبه‌قارچ فیتوفترا**

نتایج مایه‌زنی گیاهچه‌های دو تا سه ماهه‌ی بکرایی نشان داد نماتد ریشه‌ی مرکبات *T. semipenetrans* به‌راحتی پس از گذشت یک تا دو ماه روی ریشه استقرار یافته و ریشه‌های آلوده به‌خوبی علائم بدشکلی و کثیفی را نشان دادند (شکل ۴). خرد کردن ریشه‌های مایه‌زنی شده و استخراج نماتد به‌راحتی انجام شد. هیچ‌گونه مقایسه‌ی آماری و شمارش تعداد لارو استقرار یافته در این آزمایش انجام نگردید. نتایج مایه‌زنی گیاهچه‌های بکرایی با قارچ فیتوفترا نشان داد پس از یک هفته، گیاهچه‌ها دچار مرگ‌ومیر شدند (شکل ۵). در شاهد هیچ‌گونه مرگ‌ومیری مشاهده نشد.

زوال مرکبات هم در باغ‌های با مدیریت ضعیف از نظر آبیاری، تغذیه، هرس و کنترل علف‌های هرز (برخی مناطق دلفارد، اکثر مناطق جبال بارز شمالی و جنوبی) و هم با مدیریت نسبتاً عالی (نراب) و مدیریت متوسط مشاهده گردید. در کلیه‌ی باغات مورد بازدید، شدت بیماری زوال ناگهانی در باغات با مدیریت ضعیف، بیشتر مشاهده گردید. در باغات ضعیف، دو تا سه ماه بعد از مشاهده علائم زوال در اندام‌های هوایی مرکبات، مرگ کامل درختان اتفاق می‌افتاد. ولی در باغات با مدیریت نسبتاً بهتر، شش تا ۱۲ ماه بعد از شروع علائم، زوال کامل مشاهده شد. هیچ‌گونه نظم خاصی در خصوص پراکنش بیماری مشاهده نگردید. شیوع بیماری در منطقه و باغات به‌صورت تصادفی بود.

#### نتایج ردیابی نماتد ریشه‌ی مرکبات

نتایج این تحقیق در جدول دو نشان داده شده است. کلیه‌ی درختان دارای علائم زوال، به نماتد ریشه‌ی مرکبات آلوده بودند. در بخش تحقیقات نماتد شناسی، موسسه تحقیقات گیاه‌پزشکی گونه‌ی نماتد ریشه‌ی مرکبات *T. semipenetrans* شناسایی و تأیید گردید (شکل ۲).

جدول دو نشان می‌دهد که در تمامی نمونه‌های آلوده به زوال که به‌صورت تصادفی از باغات دارای علائم انتخاب شده بودند، آلودگی به نماتد ریشه‌ی مرکبات (*T. semipenetrans*) مشاهده شد. تعداد ماده‌ی بالغ در یک گرم ریشه‌ی درختان آلوده به زوال مرکبات از ۵۰ تا ۴۲۰ عدد و در درختان به‌ظاهر سالم از صفر تا ۱۷ عدد متغیر بود. متوسط تعداد نماتد ماده‌ی بالغ در یک گرم ریشه‌ی درختان آلوده ۲۱۰ عدد و در درختان سالم ۱۱ عدد در سال ۹۲ شمارش گردید. تعداد لارو سن دو در ۲۰۰ سانتی‌متر مکعب خاک ریزوسفر درختان آلوده به زوال مرکبات از ۱۰۲۰ تا ۷۲۷۰ عدد متغیر و متوسط تعداد لارو در درختان آلوده ۲۵۹۴ عدد و در درختان به‌ظاهر سالم ۱۴۰ عدد شمارش شد.

نتایج بررسی‌های انجام شده در سال ۱۳۹۳ نشان داد که نمونه‌های مورد بررسی آلودگی بالا به نماتد مرکبات دارند. میانگین تعداد لارو سن دو نماتد ریشه‌ی مرکبات در

جدول ۱- پراکنش جغرافیایی بیماری زوال ناگهانی مرکبات در جنوب استان کرمان طی سال‌های ۹۴-۹۱.

**Table 1- Geographical distribution of citrus sudden decline in South of Kerman Province during 2012-2015.**

Descriptions (توضیحات- مدیریت باغ)	Declined symptoms		Location (مکان)	No (ردیف)
	(علائم)	Host (میزبان)		
	بیماری زوال			
	مرکبات			
Foothill کوهپایه (مدیریت خوب)	*	Orange navel	نراب-جیرفت	1
Foothill کوهپایه (مدیریت خوب)	*	Orange navel	نراب-جیرفت	2
Foothill کوهپایه (مدیریت خوب)	*	Orange navel	رمون-جیرفت	3
Foothill کوهپایه (مدیریت ضعیف)	*	Orange navel	رمون-جیرفت	4
Foothill کوهپایه (مدیریت خوب)	*	Mandarine	دلفارد-جیرفت	5
Foothill کوهپایه (مدیریت ضعیف)	*	Orange valencia	باغعلیشیر-جیرفت	6
Foothill کوهپایه (مدیریت خوب)	*	Grapefruit	دلفارد-جیرفت	7
Foothill کوهپایه (مدیریت خوب)	*	Orange navel	زارین-جیرفت	8
Foothill کوهپایه (مدیریت ضعیف)	*	Orange valencia	زارین-جیرفت	9
Foothill کوهپایه (مدیریت ضعیف)	*	Orange local	سقدر-جیرفت	10
Foothill کوهپایه (مدیریت ضعیف)	*	Orange navel	میجان-جیرفت	11
Foothill کوهپایه (مدیریت ضعیف)	*	Orange navel	هیشین-جیرفت	12
Foothill کوهپایه (مدیریت ضعیف)	*	Orange navel	گمرکان-عنبرآباد	13
Foothill کوهپایه (مدیریت ضعیف)	*	Orange navel	بارده-عنبرآباد	14
Plain area دشت (مدیریت خوب)	*	Grapefruit	سعدآباد-عنبرآباد	15
Plain area دشت (مدیریت خوب)	*	Grapefruit	گزاباد-عنبرآباد	16
Plain area دشت (مدیریت خوب)	-	Orange valencia	نودژ- منوجان	17
Plain area دشت (مدیریت ضعیف)	-	Orange local	رودبار	18
Plain area دشت (مدیریت ضعیف)	-	Orange valencia	فاریاب	19
Plain area دشت (مدیریت خوب)	-	Orange valencia	بنیاد مستضعفان-ارزوئیه	20
Plain area دشت (مدیریت ضعیف)	-	Mandarine	ارزوئیه	21

\*= مشاهده بیماری زوال مرکبات، - = عدم مشاهده بیماری زوال مرکبات (در هر منطقه حداقل ۱۰ باغ به صورت تصادفی مورد بازدید قرار گرفت).

\*=observation of citrus decline, -= no observation of citrus decline (at least 10 locations randomly investigated).

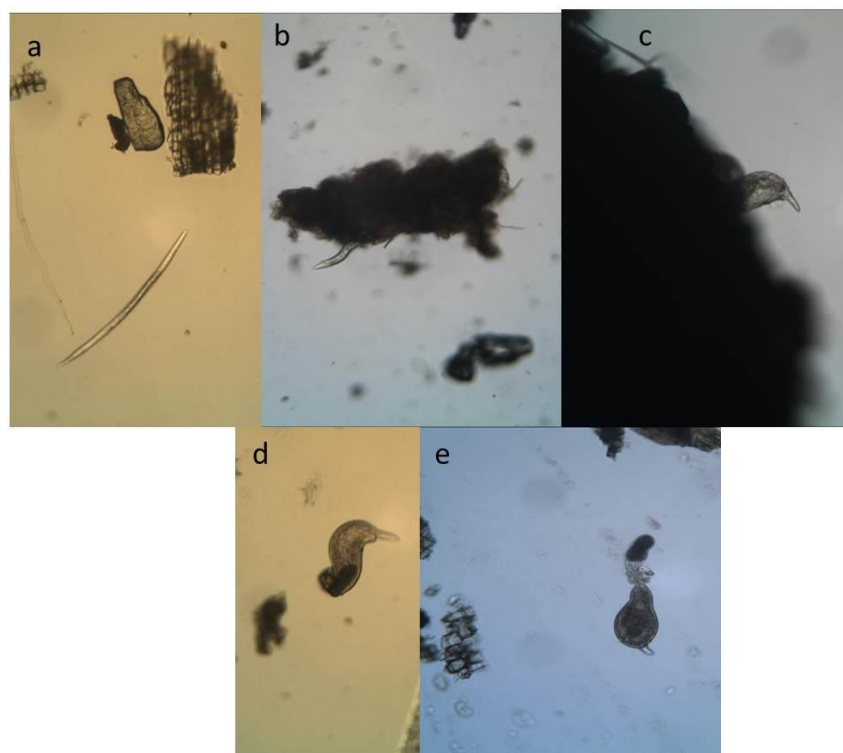
جدول ۲- وضعیت جمعیت لارو سن دو و ماده‌ی بالغ نماتد ریشه‌ی مرکبات (*Tylenchulus semipenetrans*)، شبه قارچ فیتوفترا (*Phytophthora nicotianae*) در درختان سالم و آلوده به زوال مرکبات (نمونه‌برداری تصادفی مرداد ۹۲).

**Table 2- The population of 2<sup>nd</sup> larvae of citrus root nematode (*Tylenchulus semipenetrans*) and *Phytophthora nicotianae* in healthy and declined citrus tree (Random sampling).**

Phytophthora probagule/1 gr soil (تعداد زادمایه‌ی فیتوفترا در یک گرم خاک)	Female/1gr root (تعداد نماتد ماده در یک گرم ریشه)	2 <sup>nd</sup> larvae/200cm <sup>3</sup> (تعداد لارو سن دو در ۲۰۰cm <sup>3</sup> خاک)	Symptom (علائم)	Location (مکان)	Code (کد نمونه)	No. (ردیف)
16	217	4770	Sever decline (زوال شدید)	نراب	N1	1
18	352	2690	Starting decline (شروع زوال)	نراب	N2	2
12	275	1600	Starting decline (شروع زوال)	نراب	N3	3
15	114	3570	Sever decline (زوال شدید)	نراب	N4	4
6	420	1278	Starting decline (شروع زوال)	نراب	N5	5
14	124	7270	Sever decline (زوال شدید)	نراب	N6	6
6	12	90	Health in appearance (به ظاهر سالم)	نراب	NC1	7
4	17	70	Health in appearance (به ظاهر سالم)	نراب	NC2	8
6	0	80	Health in appearance (به ظاهر سالم)	دلفارد	D1	9
16	150	2120	Starting decline (شروع زوال)	دلفارد	D2	10
16	320	4220	Starting decline (شروع زوال)	دلفارد	D3	11
0	50	1080	Starting decline (شروع زوال)	دلفارد	D4	12
25	120	2040	Starting decline (شروع زوال)	دلفارد	D5	13
15	220	1020	Starting decline (شروع زوال)	دلفارد	D6	14

ادامه جدول ۲

0	160	1900	Starting decline (شروع زوال)	دلفارد	D7	15
0	350	1040	Starting decline (شروع زوال)	دلفارد	D8	16
0	15	320	Health in appearance (به ظاهر سالم)	دلفارد	D9	17
21	115	1800	Starting decline (شروع زوال)	دلفارد	D10	18
2	185	2100	Starting decline (شروع زوال)	دلفارد	D11	19
18	187	3000	Starting decline (شروع زوال)	دلفارد	D12	20
13.5	210	2594	(mean in infected trees) میانگین در درختان آلوده			
4	11	140	(mean in healthy trees-) میانگین در درختان سالم			



شکل ۲- مراحل لاروی (a)، نفوذ به ریشه (b) و ماده‌ی بالغ نماتد (c-e) ریشه‌ی مرکبات (*Tylenchulus semipenetrans*) جداشده از درختان مرکبات مبتلا به بیماری زوال مرکبات (اصلی).

Figure 2- Second larvae (a), root penetration (b), mature nematode (c-e) of *Tylenchulus semipenetrans* isolated from citrus declined trees (original).



جدول ۳- بررسی جمعیت نماتد ریشه‌ی مرکبات (*Tylenchulus semipenetrans*) و فیتوفترا (*Phytophthora nicotianae*) در درختان سالم و آلوده به زوال مرکبات (تابستان ۱۳۹۳).

Table 3- The comparison of population of citrus root nematode (*Tylenchulus semipenetrans*) and *Phytophthora nicotianae* in healthy and declined citrus (Summer 2014).

<u>Phytophthora propagules/1gr soil</u> تعداد پروپاگول فیتوفترا در یک گرم خاک			<u>Mean of 2<sup>nd</sup> larvae/200cm<sup>3</sup> soil</u> میانگین جمعیت لارو سن دو در ۲۰۰ cm <sup>3</sup> خاک			Location (مکان)	No. (ردیف)
Sep. (شهریور)	Aug. (مرداد)	July. (تیر)	Sep. (شهریور)	Aug. (مرداد)	July. (تیر)		
17	7	8	2000	4400	2520	نراب	1
12	17	12	1880	4640	2500	نراب	2
14	19	21	1600	2600	1600	نراب	3
9	10	10	2120	2920	4280	نراب	4
2	5	0	170	280	520	نراب (سالم)	5
9	11	8	1080	3880	3320	نراب	6
-	13	12	-	3720	4120	نراب	7
-	17	14	-	3880	5080	نراب	8
19	28	25	1880	3480	4720	نراب	9
18	7	2	1480	4120	4800	نراب	10
7	2	1	320	360	140	دلفارد (سالم)	11
8	4	11	920	2920	860	دلفارد	12
19	25	17	5200	2280	600	دلفارد	13
6	12	21	3720	2520	1460	دلفارد	14
16	9	15	3720	4120	1540	دلفارد	15
17	8	9	2680	4000	400	دلفارد	16
12	11	18	1600	2920	120	دلفارد	17
9	13	22	3720	3200	1660	دلفارد	18
-	-	12	-	-	1340	دلفارد	19
6	8	5	60	110	80	دلفارد (سالم)	20
13.2	13	14	1976	3270	2407	میانگین در درختان آلوده (mean in infected trees)	
5	5	2	183	250	246	میانگین در درختان سالم (mean in healthy trees)	

- = نمونه‌برداری انجام نشده است (در اغلب موارد به علت قطع درختان آلوده توسط باغدار امکان ادامه نمونه‌برداری نبود).

- = No sampling (mainly because of cutting infected trees by growers).



شکل ۳- اسپورانژیوم شبه‌قارچ فیتوفترا (*Phytophthora nicotianae*) جداسازی شده از ریشه‌ی درخت مرکبات دارای زوال (اصلی).  
**Figure 3- Sporangium of *Phytophthora nicotianae* isolated from root of citrus declined tree (original).**

جدول ۴. وضعیت جمعیت نماتد ریشه‌ی مرکبات *Tylenchulus semipenetrans* در برخی نهالستان‌های تولید نهال مرکبات در جیرفت.

**Table 4. The populations of citrus root nematode (*Tylenchulus semipenetrans*) in some citrus nursery growers in Jiroft.**

Code (کد نمونه)	2 <sup>nd</sup> larvae/200cm <sup>3</sup> soil (تعداد لارو سن دو در ۲۰۰ سانتی‌متر مکعب خاک)
CH/2	14100
M3	7800
B4	1870
ME/6	No infection (بدون آلودگی)
A/5	No infection بدون آلودگی
K1	No infection بدون آلودگی



شکل ۴- استقرار نماتد ریشه‌ی مرکبات روی ریشه گیاهچه بکرایی مایه‌زنی شده (سمت چپ) و مقایسه با شاهد (راست) (اصلی).

**Figure 4- Stablished citrus root nematode on Bakraee seedling (citrus local rootstock) in left side compared in to control (right) (original).**



شکل ۵- پوسیدگی ریشه و مرگ گیاهچه‌ی بکرایی ماه‌زنی شده با فیتوفترا (راست) و مقایسه با گیاهچه‌ی سالم (چپ) (اصلی).

**Figure 5- Damping-off and root rot of Bakraee seedling inoculated with *Phytophthora nicotianae* (right) in compare with control (left) (original).**

#### بحث

سایر پایه‌های موجود در منطقه مانند نارنج و لیموترش به بیماری زوال حساس‌تر است. در اکثر باغات مرکبات منطقه کوهپایه‌ای، پایه‌ی غالب که توسط باغداران استفاده می‌شود، پایه‌ی محلی بکرایی است. دلیل استفاده از این پایه، قدرت رشد این پایه در خاک‌های با عمق کم است و در اغلب مناطق کوهستانی عمق خاک کم است. نتایج تحقیقات علیان و همکاران (۱۳۹۶) نشان داده است پایه‌ی بکرایی به نماتد ریشه‌ی مرکبات حساس است. بیماری زوال مرکبات در هر دو نوع باغات با مدیریت نسبتاً عالی و مدیریت ضعیف مشاهده شد ولی شدت بیماری در باغات با مدیریت ضعیف بیشتر بود. زمان شیوع بیماری نامنظم ولی از اواسط فروردین شروع، تابستان و اوایل پاییز حداکثر و زمستان تقریباً متوقف و یا بسیار کند می‌شد. سطح زیان اقتصادی تراکم جمعیت نماتد که متوقف کننده‌ی رشد گیاهان و کاهش‌دهنده‌ی عملکرد باشد به چندین فاکتور نظیر قدرت تهاجمی نماتد، بافت خاک، حساسیت پایه و حضور سایر پاتوژن‌ها و مدیریت به‌باغی درختان دارد (Duncan and Cohn, 1990). سطح بحرانی آلودگی نماتد در کشورهای مختلف متفاوت گزارش شده است. در کالیفرنیا، جمعیت بیش از ۴۰۰ نماتد ماده در گرم ریشه در ماه‌های فوریه تا آوریل

نتایج بازدیدهای میدانی این تحقیق نشان داد بیماری جدید زوال ناگهانی مرکبات در منطقه‌ی جنوب استان کرمان شیوع نامنظم داشته و میزان وقوع بیماری از سالی به سال دیگر متفاوت و حتی در یک باغ معین نیز به صورت تصادفی پراکنش نشان می‌دهد. این بیماری روی درختان جوان مشاهده نشد و عمدتاً روی درختان بالای ۱۰ تا ۱۵ سال مشاهده شد. وقوع بیماری در مناطق کوهپایه‌ای (نراب، دلفارد و جبال بارز) در مقایسه با نواحی دشت و جلگه‌ای بیشتر بود (داده‌های جدول ۱). بررسی منابع موجود نشان داد که بیماری زوال مرکبات با علائم تیپیک ذکرشده در این تحقیق، در سایر مناطق مرکبات خیز کشور وجود نداشته و یا گزارش نشده است. بازدیدهای میدانی نشان داد شیوع زوال مرکبات در سال‌های ۱۳۹۰ تا ۱۳۹۳ شدید بود ولی در سال ۹۴ شدت زوال کاهش نشان داد. با توجه به همراهی نماتد و فیتوفترا با زوال مرکبات، اغلب باغداران برای کاهش شدت بیماری سموم نماتدکش و قارچ‌کش بکار می‌بردند. احتمالاً کاربرد سموم مذکور تا حدودی در کنترل بیماری مؤثر و شدت بیماری کاهش نشان داده است. نتایج بازدیدهای میدانی نشان داد پایه‌ی بکرایی در مقایسه با

بروز علائم تیپیک تا زمان مرگ کامل و بسته به شرایط مدیریتی باغ از حدود دو تا ۱۲ ماه طول می‌کشد. مشاهده‌ی زوال سریع در برخی باغات نمی‌تواند صرفاً ناشی از نماتد به‌تنهایی باشد. میزان کاهش محصول در درختان دارای علائم زوال در این تحقیق تعیین نگردید. ولی وقتی درختی وارد مرحله‌ی زوال شدید می‌گشت، غیرقابل‌برگشت بوده و ۱۰۰ درصد محصول آن درخت از بین می‌رفت. بررسی‌های انجام‌شده در جهرم بیانگر گسترش وسیع نماتد مرکبات بوده و میزان شیوع نماتد حدود ۸۵٪ درختان گزارش شده است (ایازپور و همکاران، ۱۳۸۸). وضعیت جمعیت نماتد در منطقه فارس و هرمزگان بررسی شده و نتایج نشان داده است که بیشترین جمعیت لارو سن دو در ماه‌های اردیبهشت، مرداد و شهریور است (تنها معافی و خیری، ۱۳۶۹; Sharafeh, 1972). نتایج این تحقیق نشان داد نماتد ریشه‌ی مرکبات در باغات آلوده به زوال گسترش وسیع داشته و جمعیت نماتد در ماه‌های اردیبهشت تا شهریور که همزمان با بروز علائم زوال مرکبات می‌باشد، بیشتر است و از این نظر با نتایج محققین قبلی (تنها معافی و خیری، ۱۳۶۹; Sherafeh, 1972) مشابهت دارد.

بیماری زوال و پوسیدگی فیتوفترایی ریشه همراه با نماتد مرکبات که منجر به کاهش ریشه‌های تغذیه‌کننده‌ی درختان، کاهش اندازه‌ی میوه، کاهش عملکرد و نهایتاً زوال درختان می‌شود از کشورهای آفریقا و ایتالیا نیز گزارش شده است (Ippolito et al., 1990; Kotzeh, 1982). تحقیقات قبلی نشان داده است که بیماری پوسیدگی طوقه و ریشه مرکبات ناشی از شبه‌قارچ فیتوفترا یکی از بیماری‌های مهم مرکبات در سراسر دنیا بوده و نهایتاً منجر به زوال درختان، کاهش عملکرد و حتی مرگ درختان می‌شود. همچنین بیان داشته‌اند گونه *Pytophyora nicotiana* var *parasitica* یک شبه‌قارچ عامل پوسیدگی ریشه در شرایط آب و هوایی گرم است و زمانی که ریشه‌ها در حال فعالیت و رشد می‌باشند این شبه‌قارچ نیز فعال است. این شبه‌قارچ ریشه‌های تغذیه‌کننده پایه‌های حساس را از بین می‌برد و باعث ایجاد زوال می‌شود (Grech and Rijkenberg, 1992).

و جمعیت ۷۰۰ نماتد ماده در گرم ریشه در ماه‌های مه و ژوئن بحرانی گزارش شده است (Westerdhal, 2000). در آفریقای جنوبی جمعیت ۱۰۰ نماتد ماده در گرم ریشه (Le Roux et al., 2000) و در قبرس جمعیت ۵۰۰۰ لارو در ۲۵۰ گرم خاک (Philis, 1989) بحرانی برای بروز علائم زوال گزارش شده است. جدول دو نشان داد صددرصد نمونه‌های آلوده به زوال که به‌صورت تصادفی از باغات دارای علائم زوال انتخاب شده بودند، آلودگی به نماتد ریشه‌ی مرکبات (*T. semipenetrans*) داشتند. متوسط تعداد نماتد ماده‌ی بالغ در یک گرم ریشه ۲۱۰ عدد شمارش گردید. متوسط تعداد لارو در ۲۰۰ سانتی‌متر مکعب خاک حدود ۲۵۹۴ عدد شمارش گردید. متوسط تعداد لارو سن دو در ۲۰۰ سانتی‌متر مکعب خاک ریزوسفر درختان به‌ظاهر سالم ۱۴۰ عدد شمارش شد. متوسط تعداد نماتد ماده‌ی بالغ در یک گرم ریشه‌ی درختان آلوده ۲۱۰ و در درختان سالم ۱۱ عدد شمارش شد. نتایج بررسی‌ها در سال ۹۳ نشان داد متوسط جمعیت نماتد لارو سن دو در درختان آلوده به زوال در ماه‌های تیر، مرداد و شهریور به ترتیب ۲۴۰۷، ۳۲۷۰ و ۱۹۷۶ و در درختان سالم به ترتیب ۲۴۶، ۲۵۰ و ۱۸۳ عدد شمارش شد. با توجه به گزارش موجود، جمعیت نماتد در باغات آلوده شمال کشور، متوسط تعداد لارو سن دو در ۲۵۰ سی‌سی خاک ۶۴۹۰ و متوسط ماده‌ی بالغ در یک گرم ریشه ۲۱۴ عدد برآورد و گزارش شده و متوسط جمعیت لارو سن دو و ماده‌ی بالغ در خاک و ریشه‌ی مرکبات شمال کشور بالاتر از سطح زیان اقتصادی است (Taanha Mafi and Damadzadeh, 2008). با توجه به نتایج این تحقیق، هرچند در برخی نمونه‌ها جمعیت نماتد در حد بحرانی نبوده و نمی‌تواند به‌عنوان عامل اصلی بروز زوال مرکبات باشد ولی با توجه به اینکه جمعیت نماتد ریشه‌ی مرکبات در اغلب نمونه‌ها بالا و نزدیک به حد بحرانی مشاهده شد، می‌تواند به‌عنوان یک عامل تشدیدکننده‌ی زوال مرکبات در کنار سایر پاتوژن‌ها باشد. ایازپور و همکاران (۱۳۸۸) گزارش نمودند، نماتد ریشه‌ی مرکبات باعث زوال تدریجی درختان و کاهش محصول می‌شود. زوال مرکبات در منطقه‌ی جیرفت از زمان

صفر و همکاران (Safdar et al., 2010) در پاکستان از ریشه و طوقه درختان دارای علائم زوال ناگهانی قارچ‌های *Phytophthora sp.* *F. solani* *Fusarium semitectum* و نماتد ریشه‌ی مرکبات را جداسازی و گزارش نموده‌اند. پوسیدگی ریشه‌ها و کاهش حجم ریشه‌های تغذیه‌کننده در درختان آلوده، از علائم تیپیک درختان مبتلا به زوال مرکبات در جبرفت است و این کاهش حجم ریشه منجر به کاهش میزان جذب آب و املاح توسط ریشه شده و می‌تواند سبب بروز زوال گردد (Wu et al., 2017). در این خصوص نتایج این تحقیق با تحقیق انجام شده در آفریقا، ایتالیا و پاکستان مشابهت دارد. متوسط جمعیت زادمایه قارچ فیتوفترا در درختان آلوده به زوال ۱۳/۵ و در درختان سالم پنج عدد در سال ۹۲ شمارش شد. در سال ۹۳ در ماه‌های تیر، مرداد و شهریور به ترتیب ۱۴، ۱۳ و ۱۳/۲ در درختان سالم دو، پنج و پنج عدد شمارش شد. تحقیقات نشان داده است که اگر تعداد زادمایه‌ی شبه قارچ فیتوفترا کمتر از پنج عدد در سانتیمتر مکعب خاک باشد، زیان اقتصادی وارد نمی‌سازد ولی جمعیت ۱۰ تا ۲۰ عدد زادمایه می‌تواند خسارت اقتصادی وارد سازد (Graham and Fitchberger, 2015). نتایج این تحقیق نشان داد جمعیت قارچ فیتوفترا و نماتد ریشه‌ی مرکبات در درختان آلوده به زوال نزدیک به حد بحرانی است و می‌تواند به‌عنوان عوامل تشدیدکننده‌ی بیماری زوال مرکبات در کنار سایر پاتوژن‌ها اثر هم‌افزایی داشته باشند.

آلودگی ریشه‌های مرکبات به نماتد ریشه‌ی مرکبات *T. semipenetrans* و شبه‌قارچ فیتوفترا *P. nicotianae* باعث آسیب ریشه‌های تغذیه‌کننده می‌شوند و به‌شدت باعث کاهش جذب آب و مواد غذایی توسط ریشه می‌شوند. کاهش جذب آب و مواد غذایی باعث ضعف درخت و کاهش قدرت تولید رویش جوانه‌های جدید و همچنین کاهش عملکرد درخت می‌شود. تحقیقات نشان داده است خسارت نماتد زمانی که با سایر عوامل محدودکننده‌ی ریشه نظیر آلودگی قارچی و تنش دمایی و آبی همراه باشد، شدیدتر است (Verdijo and

Mc Kenry, 2004). تعامل متداول که در اغلب باغات ممکن است وجود داشته باشد، بین شبه‌قارچ فیتوفترا و نماتد ریشه‌ی مرکبات است. گزارش شده است که ماهیت این تعامل خاصیت آنتاگونیستی دارد و منجر به کاهش آلودگی شبه‌قارچی می‌شود و توسعه‌ی شبه‌قارچ در ریشه کاهش می‌یابد. تخم‌های نماتد ریشه‌ی مرکبات رشد رویشی ریشه‌های شبه‌قارچ فیتوفترا و قارچ فوزاریوم را محدود می‌سازد (El Boraie et al., 2002). فاکتور مهم در این تعامل، دمای خاک است که به‌شدت اثرات شبه‌قارچ و نماتد به‌تنهایی و به‌صورت مکمل را افزایش می‌دهد زیرا نماتد و شبه‌قارچ در جمعیت بالا در اطراف ریشه‌های سالم و زوال یافته وجود دارند لذا این برهمکنش بین آن‌ها فاکتور بسیار مهم و مؤثری در ایجاد زوال مرکبات است (El Boraie et al., 2002). تحقیقات نشان داده است که دمای بالا در تابستان ممکن است عامل کاهش آلودگی ریشه‌ی مرکبات به *P. citrophthora* نباشد اما خاک‌های دارای میکروارگانیسم‌های بازدارنده می‌توانند آلودگی به فیتوفترا را کاهش دهند (Monica and Meng, 2002). در این تحقیق هیچ‌گونه بررسی در خصوص وضعیت میکروارگانیسم‌های بازدارنده‌ی نماتد و شبه قارچ فیتوفترا انجام نپذیرفت.

پوسیدگی ریشه و پژمردگی درختان، زردی برگ‌ها، بدشکلی و ریزش میوه‌ها، سرخشکیدگی شاخه‌ها و ظاهر کثیف ریشه‌ها در بیماری ویروسی مرگ ناگهانی مرکبات (CSD)<sup>۲</sup> گزارش شده است (Safdar et al., 2003; Bassanezi et al., 2008; Spina et al., 2010). بررسی‌های انجام شده نشان داده است هیچ‌گونه ویروسی تاکنون از درختان مبتلا به زوال ناگهانی در منطقه جنوب کرمان جداسازی نشده است (آزادوار و همکاران، ۱۳۹۸). نتایج تحقیقات اولیه، در خصوص جداسازی فیتوپلازما و باکتری عامل بیماری میوه‌ی سبز مرکبات از اندام‌های هوایی درختان مبتلا به زوال منفی بوده است (Najafiniya and azadvar, 2016). تحقیقات تکمیلی در خصوص همراهی دو پاتوژن *Candidatus Liberobacter asiaticus* و *Candidatus*

<sup>2</sup> Citrus Sudden Death

و مقاومت ریشه به آلودگی کاهش می‌یابد. نتایج تحقیقات نشان داده است قبل از اینکه باکتری میوه‌ی سبز در اندام‌های هوایی قابل ردیابی باشد و علائم بیماری در اندام‌های هوایی بروز نماید، با آلوده کردن ریشه و ایجاد پوسیدگی باعث بروز زوال می‌شود (Graham et al., 2013). با توجه به جداسازی عوامل بیماری میوه‌ی سبز و فیتوپلازما از ریشه برخی نمونه‌های آلوده (Alessandro et al., 2017; Alizadeh et al., 2018; آزادوار و همکاران، ۱۳۹۸) و نتایج این تحقیق که نشان داد در اغلب نمونه‌ها همراهی نماتد و قارچ فیتوفترا با درختان آلوده مثبت است، احتمال برهمکنش بین این پاتوژن‌ها قوی است. در این تحقیق هیچ‌گونه بررسی در خصوص برهمکنش احتمالی قارچ فیتوفترا و عامل بیماری میوه‌ی سبز مرکبات انجام نشده است. تحقیقات تکمیلی در این خصوص موردنیاز است.

#### سیاسگزاری

این مقاله حاصل بخشی از پروژه‌ی با شماره مصوب ۹۲۰۰۲-۹۱۵۵-۱۶-۷۰-۰۱۴ می باشد. نویسندگان از سازمان جهاد کشاورزی جنوب استان کرمان به خاطر تامین اعتبار لازم برای اجرای این پروژه و موسسه تحقیقات گیاهپزشکی کشور به خاطر حمایت لازم در اجرای پروژه تشکر و قدردانی می نمایند.

*Phytoplasma aurantifolia* اخیراً در برخی درختان مبتلا به زوال از ریشه جداسازی و به‌عنوان کاندید اصلی عامل بیماری زوال گزارش شده است (آزادوار و همکاران، Alessandro et al., 2018; Alizadeh et al., 2017; ۱۳۹۸). تحقیقات نشان داده است درختان آلوده به بیماری میوه‌ی سبز در مقایسه با درختان سالم، ۳۰ تا ۳۷ درصد کاهش حجم ریشه نشان داده‌اند (Graham et al., 2013). قارچ فیتوفترا می‌تواند به همراه باکتری *Candidatus Liberobacter asiaticus* و فیتوپلازما در بروز و تشدید بیماری زوال نقش داشته باشند. برهمکنش بین باکتری عامل بیماری میوه‌ی سبز و قارچ فیتوفترا برای اولین بار در سال ۲۰۰۴ مطرح گردید (Ann et al., 2004). تحقیقات نشان داده است اگر درختان مبتلا به بیماری میوه‌ی سبز در معرض آلودگی بعدی به فیتوفترا و سایر پاتوژن‌های خاکزی قرار گیرند، برهمکنش مثبت آن‌ها منجر به افزایش بیشتر پوسیدگی ریشه شده و درصد بیشتری از ریشه‌ها دچار پوسیدگی می‌شوند. میزان درصد ریشه‌های خسارت‌دیده ناشی از آلودگی توأم بیماری میوه‌ی سبز با فیتوفترا بیشتر از میزان خسارت در آلودگی‌های این دو بیمارگر به‌تنهایی گزارش شده است (Graham et al., 2013; Wu et al. 2017). باکتری عامل میوه‌ی سبز در واقع ریشه را در معرض آلودگی بیشتر به فیتوفترا قرار می‌دهد و این امر به خاطر جذب بیشتر ژئوسپورهای قارچ فیتوفترا به سمت ریشه ذکر شده

#### منابع

- آزادوار م، علیزاده ح، صفرنژاد م، نجفی نیا م و پیرو آتلیو برانکو، ۱۳۹۸. سبب‌شناسی بیماری زوال درختان مرکبات با پایه بکرایی در جنوب استان کرمان. نشریه دانش گیاهپزشکی ایران. جلد ۵۰ شماره ۱ صفحه‌های ۸۷ تا ۹۸.
- ایازپور ک، ابوطالبی ع و پاک‌نیت م، ۱۳۸۸. ارزیابی مقاومت برخی از پایه‌های مرکبات به نماتد مرکبات *Tylenchulus semipenetrans* در استان فارس. فصلنامه گیاهپزشکی. جلد ۱ شماره ۳ صفحه‌های ۲۸۹ تا ۲۹۷.
- باروتی ش، ۱۳۷۷. فون نماتدهای گیاهی خاک‌های زراعی آذربایجان شرقی، اردبیل و مغان. آفات و بیماریهای گیاهی. شماره ۶۶ صفحه‌های ۷۹ تا ۹۸.
- پورجم ا، و نساج حسینی م، ۱۳۸۴. پیدایش *Radopholus Thorne, 1949* در ایران. بیماریهای گیاهی. جلد ۴۱ صفحه‌های ۳۰۴ تا ۳۰۵.

- تنها معافی ز، و خیری ا، ۱۳۶۹. نماتد مرکبات (*Tylenchulus semipenetrans*) در استان هرمزگان. نشریه بیماری‌های گیاهی ایران. جلد ۳ صفحه های ۲۷ تا ۴۲.
- تنها معافی ز، ابراهیمی ز، و انوری ف، ۱۳۷۹. ارزیابی مقاومت برخی از پایه‌های مرکبات به نماتد *Tylenchulus semipenetrans* در استان مازندران. نشریه بیماری‌های گیاهی ایران. جلد ۳۶ صفحه های ۱۸۹ تا ۱۹۶.
- علیان م ی، بنی‌هاشمیان س ن، گل محمدی م، بنی‌هاشمیان س م و بشیری س، ۱۳۹۶. ارزیابی تحمل برخی پایه‌های مرکبات به نماتد مرکبات (*Tylenchulus semipenetrans*) در گلخانه. نشریه حفاظت گیاهان (علوم و صنایع کشاورزی). جلد ۳۱ شماره ۴ صفحه های ۷۰۰ تا ۷۰۵.
- قادری ر، و کارگر بیده ا، ۱۳۹۷. نماتدهای خانواده‌های Pratylenchidae. صفحه های ۴۱۹ تا ۴۵۸. در: قادری ر، کاشی نهنجی ل، و کارگر بیده ا. نماتدهای انگل گیاهی ایران. انتشارات مرجع علم با همکاری انجمن نماتدشناسی ایران.
- میناسیان و، و مؤدب ح، ۱۳۶۹. پراکنش و شیوع نماتد ریشه مرکبات *Tylenchulus semipenetrans* در خوزستان، ایران. نشریه بیماری‌های گیاهی ایران. جلد ۵ صفحه های ۶ تا ۷.
- Abivardi C, Izadpanah K, Saffarian A and Sharafeh M, 1970. Plant parasitic nematodes associated with citrus decline in southern Iran. *Plant Disease Reporter* 54: 339-342.
- Ahmad MS, Mukhtar T and 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.
- Alizadeh H, Quaglino F, Azadvar M, Kumar S, Alizadeh A and Bolboli F, 2017. First report of a new Citrus decline disease (CDD) in association with double and single infection by ‘*Candidatus Liberibacter asiaticus*’ and ‘*Candidatus Phytoplasma aurantifolia*’ related strains in Iran. *Plant Disease* 101 (12): 2145-2145.
- Alessandro P, Alizadeh H, Azadvar M, Fabio Quaglino, Alizadeh A, Paola Casati and Piero AB, 2018. Studies of microbiota dynamics reveals association of “*Candidatus Liberibacter asiaticus*” infection with Citrus (*Citrus sinensis*) decline in South of Iran. *International Journal of Molecular Sciences*. 2018, 19, 1817; doi: 10.3390/ijms19061817.
- Ann PJ, KO WH and Su HJ, 2004. Interaction between Likubin bacterium and *Phytophthora parasitica* in citrus hosts. *European Journal of Plant Pathology* 110:1-6.
- Bassanezi RB, Bergamin Filho A, Amorim L, Gimenes- Fernandes N, Gottwald TR, and Bové JM, 2003. Spatial and temporal analyses of citrus sudden death as a tool to generate hypotheses concerning its etiology. *Phytopathology* 93:502-512.
- Cobb N A, 1914. Citrus root nematode. *Journal of Agricultural Research*, 2(3): 217-230.
- Duncan LW and Cohn E, 1990. Nematode parasites of citrus. pp. 246-321 in: M. Luc., R. A, Sikora. and J. Bridge (eds). *Plant parasitic nematodes in sub tropical and tropical agriculture*. Wallingford. UK, CAB International.
- El Borai FE, Duncan LW, and Graham JH, 2002. Infection of Citrus roots by *Tylenchulus semipenetrans* reduced root infection by *Phytophthora nicotianae*. *Journal of Nematology* 34(4): 384-389.

- Graham J, and Feichtenberger E, 2015. Citrus *Phytophthora* diseases: Management challenges and successes. Journal of Citrus Pathology. iocv\_journalcitruspathology\_27203.
- Graham JH, Johnson E, Gottwald TR and Irey MS, 2013. Presymptomatic fibrous root decline in citrus trees caused by Huanglongbing and potential interaction with *Phytophthora* spp. Plant Disease 97:1195-1199.
- Grech NM and Rijkenberg FHJ, 1992. Injection of electrolytically generated chlorine into citrus microirrigation systems for control of certain water born root pathogens. Plant Disease 76: 461-457.
- Jeffers. SN, and Martin, SB, 1986. Comparison of two media selective for *Phytophthora* and *Pythium* species. Plant Disease 70: 1038-1043.
- Kotze JM, 1982. Root rot of citrus. Citrus and subtropical fruit journal 5: 583-583
- Ippolito A, Decicco V, Cicco E, and Salerno M, 1990. Role of *Phytophthora* spp. in citrus decline in Apulia and Basilicata, Italy. Bulletin EPPO 20 (1):91-94.
- Le Roux HF, Pretorius MC, and Huisman L, 2000. Citrus nematode IPM in Southern Africa. Proceeding of the International Society of Citriculture (2): 29-33.
- Machon JE, and Bridge J, 1996. *Radopholus citri* n. sp. (Tylenchida: Pratylenchidae) and its pathogenicity on citrus. Fundamental applied Nematology 19 (2): 127-133.
- Mitchell DJ, Kannwischer –Mitchell ME and Zentmyer GA, 1986. Isolation, identification, and producing inoculums of *Phytophthora* spp. In methods for evaluating pesticides for control of plant pathogens. Ed. K D Hickey. Pp –63-66APS, St. Paul, MN.
- Monica FD and Menge JA, 2002. High temperatures are not responsible for lack of infection of citrus roots by *Phytophthora citrophthora* during the summer, but suppressive soil microorganisms may inhibit infection by *P. citrophthora*. Plant and soil 241:243-249.
- Najafiniya M, and Azadvar M, 2015. Citrus J blight a new disease from Iran. Asian Mycological Congress, 7-10 October, 2015. Goa University, Goa, India. P.123.
- Najafiniya M. and Azadvar M, 2016. Citrus sudden decline disease in Iran. Indian Phytopathology 69(4s): 41-43.
- Philis J, 1989. Yield loss assessment caused by the citrus nematode on Valencia orange in Cyprus. Nematology Mediteranian 17: 5-6.
- Rehman A and Haq IU, 2012. Survey and investigation of different citrus growing areas for citrus sudden death syndrome. Pakistan Journal of Phytopathology. (2)22: 71-78
- Safdar A, Javed N, Khan SA, Khan HU, Rehman A and Haq IU, 2010. Survey and investigation of different citrus growing areas for citrus sudden death syndrome. Pakistan Journal of Phytopathology 22:71-78.
- Sharafeh M, 1972. A preliminary study on population dynamics of the citrus nematode, *Tylenchulus semipenetrans* Cobb, in Khafr an important citrus growing region of Fars. Entomologie et Phytopathologie Appliquées 33: 9-14.
- Spina S, Coco V, Gentile A, Catara A and Cirvilleri G, 2008. Association of *Fusarium solani* with rolabc and wild type *Troyer citrange*. Journal of Plant Pathology 90 (3): 479-486.



- Tanha Maafi Z, and Damadzadeh M, 2008. Incidence and control of the citrus nematode, *Tylenchulus semipenetrans* Cobb, in the north of Iran. *Nematology* 10(1): 113-122.
- Verdejo-Lucas S and Mc kenry MV, 2004. Managment of the citrus nematode *Tylenchulus semipenetrans*. *Journal of Nematology* 36: 424-43.
- Westerdahl BB, 2000. Citrus nematodes, management guidelines for nematods on citrus. <http://www.ipm.uc.davis.edu>.
- Whitehead AG and Hemming JR, 1965: A comparison of some quantitative methods of extracting some small vermiform nematodes from soil. *Annual Applied. Biology* 55: 25-38.
- Wu J, Johnson EG, Bright DB, Gerberich KM, and Graham JH, 2017. Interaction between *Phytophthora nicotianae* and *Candidatus Liberibacter asiaticus* damage to citrus fibrous roots. *Journal of Citrus Pathology* iocv\_journalcitruspathology\_35789.

## Evaluation the Population of Citrus Root Nematode (*Tylenchulus semipenetrans* Cobb, 1913) and semi fungus *Phytophthora nicotianae* (Breda de Hann, 1896) in Healthy and Declining Citrus Trees in South of Kerman Provine

M Najafiniya<sup>1\*</sup>, M Azadvar<sup>1</sup> and F Jahanshahi Afshar<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Plant Protection Research Department, South Kerman Agricultural and Natural Resources Research and Education Center, AREEO, Jiroft.

<sup>2</sup>Nematology Research Department, Iranian Research Institute of Plant Protection, AREEO, Tehran, Iran.

\*Corresponding author: [m.najafinia@areeo.ac.ir](mailto:m.najafinia@areeo.ac.ir)

Recieved: 23 June 2019

Accepted: 6 January 2020

### Abstract

Citrus production is very important in term of economical and productivity in south of Kerman province, Iran. During recent years, occuring a new decline disease caused sever threat in citrus orchards in south part of Iran. The disease symptoms starting with significant growth retardation of infected plants. Sever root rot can be seen easily on infected trees. In this research, the partial distribution of citrus declining disease, the population of citrus root nematode (*Tylenchulus semipenetrans*) and *Phytophthora nicotiana* were counted in bouth healthy and infected trees. The partial distribution of citrus decline was 76 percent. The results showed that the investigated samples were infected to citrus root nematode moderate to sever level. The mean of female nematode population per gram root of infected and healthy plant reported 210 and 11 respectively. The mean of 2<sup>nd</sup> larva populations per 200cm<sup>3</sup> soil samples of infected and healthy plants were calculated 2573 and 183 respectively. The numbers of propogules of *P. nicotiana* in one gram soil rhizosphere of infected and healthy trees reported 13.5 and four respectively. Inoculations of bakraee seedling (rootstock) with nematode and *Phyophthora* showed sever root rot and nematode infection and finally death of plants. Based on the results of this research, a complex of *Phytophthora* and citrus nematode are involved in citrus decline disease and can affect the disease severity in south of Kerman.

**Keywords:** Fungus, Jiroft, Nematode, Root rot, Sudden Decline.