فصلنامه بوم‌شناسی گیاهان زراعی
جلد ۱۲، شماره ۴، صفحات ۸۰ – ۷۱
(زمستان ۹۵)

اثر کودهای شیمیایی و آلی بر رشد *Sclerotinia minor* قارچ عامل پوسیدگی ریشه و طوقه آفتابگردان در شرایط آزمایشگاه و گلخانه

درنا علیلو
دانش آموخته کارشناسی ارشد
رشته بیماری‌شناسی گیاهی
واحد ورامین و پیشوا
دانشگاه آزاد اسلامی
ورامین، ایران
نشانی الکترونیک ✉:
durna.alilu@gmail.com

سلیمان جمشیدی*
باشگاه پژوهشگران جوان و نخبگان
واحد میانه
دانشگاه آزاد اسلامی
میانه، ایران
نشانی الکترونیک ✉:
s.jamshidi@m-iau.ac.ir
(مسؤل مکاتبات)

محمد ترابی
گروه گیاهپزشکی
واحد ورامین و پیشوا
دانشگاه آزاد اسلامی
ورامین، ایران
نشانی الکترونیک ✉:
m_torabi28@yahoo.com

چکیده قارچ *Sclerotinia minor* از عوامل مهم بیماری شایع پوسیدگی طوقه و ریشه آفتابگردان در جهان و ایران است. در این مطالعه، جداسازی، خالص‌سازی و شناسایی قارچ عامل بیماری از مزارع آفتابگردان شهرستان خوی و نیز اثبات بیماریزایی، انبوه‌سازی اسکلروت با روش کوهن انجام شد. اثر کودهای متداول شیمیایی اوره و فسفره با مقادیر ۱، ۵ و ۱۰ و حیوانی شامل گوسفندی، گاوی و مرغی با مقادیر مقدار ۱۰، ۱۵ و ۲۰ گرم در لیتر از محیط کشت سیب زمینی دکستروز آگار بر رشد اسکلروت و میسلیوم قارچ عامل بیماری در شرایط آزمایشگاهی انجام شد. همچنین، اثر هر یک از کودهای مذکور بر توسعه بیماری و صفات مورفولوژیک گیاهچه‌های آفتابگردان در شرایط گلخانه بررسی شد. با وجود بازدارندگی رشد قارچ توسط کودهای شیمیایی به ویژه اوره در محیط کشت، این کودها تشدیدکنندهٔ بیماری اسکلروتینیایی در گیاهچه‌های آفتابگردان در شرایط گلخانه بودند. بنابراین، کودهای شیمیایی اوره و فسفره در تشدید بیماری پوسیدگی اسکلروتینیایی نقش عمده‌ای دارند. بنابراین، جایگزینی آنها با کودهای حیوانی و به ویژه کودهای گاوی و گوسفندی توصیه می‌شود.

شناسه مقاله:
نوع مقاله: **پژوهشی**
تاریخ پژوهش: **۱۳۹۲**
تاریخ دریافت: **۹۴/۱۲/۰۲**
تاریخ پذیرش: **۹۵/۱۰/۱۵**

واژه‌های کلیدی:
- **پوسیدگی اسکلروتینیایی**
- **پوسیدگی ریشه آفتابگردان**
- **کشاورزی پایدار**
- **کود حیوانی**
- **کود فسفره**
- **کود نیتروژنه**

مقدمه بوته‌میری و پوسیدگی ریشه و طوقه آفتابگردان از مهم‌ترین بیماری‌های آفتابگردان در ایران می‌باشد[۲،۱۴] که موجب ایجاد زخم روی ریشه و طوقه و در نهایت منجر به خشک شدن سریع و ناگهانی قسمت‌های هوایی و مرگ گیاه می‌شود.[۸] وقوع همه‌گیری این بیماری بارها از کشورهای مختلف گزارش شده[۱۶] و خسارت آن در ایران بین ۳ تا ۵۰٪ گزارش شده است.[۱۴] کاهش عملکرد در آفتابگردان در اثر بیماری پوسیدگی اسکلروتینیایی، بستگی به مرحله‌ای از رشد گیاه دارد که پژمردگی در آن اتفاق می‌افتد. آلودگی در مراحل گل‌دهی، بلوغ و یا در چهارهفتگی گل‌دهی، عملکرد دانه را تا ۷۰٪ کاهش می‌دهد.[۲۶] این بیماری در آذربایجان‌غربی برای اولین بار توسط *آل آقا (۱۹۷۱)* گزارش شده[۲] و در حال حاضر نیز در این استان که به عنوان قطب تولید آفتابگردان کشور مطرح است، شایع بوده و شدت بیماری در مرحله نزدیک برداشت در مناطق ماکو، خوی، سلماس و ارومیه به ترتیب ۲۱/۵، ۳۶، ۳۸ و ۳۰/۵٪ برآورد شده است[۱۴] دو گونه *Sclerotinia sclerotiurum* و *Sclerotinia minor* عوامل مهم این بیماری در آفتابگردان به شمار می‌روند.[۷]

مهار این بیماری با روش‌های زراعی و شیمیایی مشکل بوده و تا کنون استفاده از ارقام مقاوم هم در مقابله با این بیماری اثربخشی چندانی نداشته است.[۲۰] توان تولید اندام مقاوم و بقای طولانی‌مدت قارچ در خاک[۵] و نیز تنوع ژنتیکی در جدایه‌های قارچ عامل بیماری،[۲۱] این قارچ را در زمرهٔ یکی از مشکل‌ترین بیمارگرهای گیاهی از لحاظ مبارزه، قرار داده است. تعدادی از قارچ‌ها و باکتری‌ها به عنوان عوامل آنتاگونیستی گونه‌های جنس اسکلروتینیا گزارش شده‌اند که در غالب موارد هم اثرگذاری آنها، تنها در سطح آزمایشگاهی بررسی شده است.[۶،۲۹] *عبداله زاده و همکاران (۲۰۰۶)* با استفاده از گونه‌های قارچ تریکودرما کاهش ۵۰ درصدی شدت بیماری ناشی از *S. minor* در شرایط گلخانه را گزارش نموده‌اند.[۱]

مصرف صحیح و متناسب کودهای شیمیایی، حیوانی، کمپوست گیاهی یا کود سبز و غیره مهم‌ترین و اساسی‌ترین راه حفظ و اصلاح شرایط حاصلخیزی خاک و افـزایش میـزان عملکـرد محصولات کشاورزی می‌باشد.[۴] در تولید آفتابگردان از کودهای شیمیایی متداول به ویژه ازته و فسفره و نیز از کودهای متداول حیوانی مانند کود مرغی، گاوی و گوسفندی استفاده می‌شود[۱۴] که علاوه بر تأمین عناصر غذایی، باعث افزایش فعالیت میکروارگانیسم‌های خاک می‌شوند و به لحاظ ملاحظات زیست محیطی و نیز اقتصادی، می‌توانند به عنوان جایگزین کودهای شیمیایی مطرح شوند.[۹] کودهای آلی فارغ از نقش تغذیه‌ای، می‌توانند با افزایش زیست توده میکروبی خاک، و افزایش تولید تنظیم‌کننده‌های رشد گیاهی نیز نقش‌آفرین باشند.[۱۱] کودهای حیوانی علاوه بر اثرات مثبت بیولوژیک و اصلاح خصوصیات فیزیکی و شیمیایی خاک، به علت این که به آهستگی آزاد شده و در اختیار گیاه قرار می‌گیرند، آلودگی کمتری در محیط زیست ایجاد کرده و نیاز کشاورزان به کودهای گران‌قیمت را برطرف می‌کنند.[۱۵] به طور ویژه، کود مرغی بازدارندهٔ قارچ‌های بیماریزا بوده و تحریک میکروارگانیسم‌های رقیب و همچنین ایجاد مقاومت در گیاهان علیه بیماری‌های گیاهی را نیز سبب می‌شود.[۱۰]

حاصلخیزی بالای خاک، به ویژه با استفاده از کودهای آلی و شیمیایی غنی از نیتروژن، برای توسعه پوسیدگی اسکلروتینیایی مساعد است. این نوع کودها سبب رشد سریع و انبوه و ترد بخش های رویشی و تاخیر در ورود به مرحله زایشی گیاه می‌شوند.[۲۶،۳۰] استفاده از

کود کلسیم سیانامید دارای ۱۰۰ کیلوگرم در هکتار نیتروژن برای کاهش ۹۵-۸۰٪ آپوتسیوم‌های تولیدی با از بین بردن اسکلروت‌های *S. sclertiorum* به عنوان یک تیمار مؤثر گزارش گردید.[۲۰]

شارما و همکاران (۱۹۸۳) نشان دادند که مالچ خاک با برگ کاج یا باقیمانده گلاذین آفتابگردان، باعث کاهش اسکلروت قارچ عامل پوسیدگی ساقه و افزایش عملکرد در گل‌کلم می‌شود.[۲۷] همچنین، خاک اصلاح شده با کود مرغی و یا یونجه خشک به طور مؤثری بروز زوال کاهو ناشی از *S. sclerotiorum* را کاهش می‌دهد.[۳] استفاده از تناوب دو سال و بیشتر، افزودن کود پتاسیم در مهار *S. sclerotiorum* و افزایش عملکرد در آفتابگردان مؤثر بود.[۱۲] اثر تناوب زراعی و استفاده از کود کمپوست شهری و کودهای شیمیایی بر قارچ *S. sclerotiorum* در سویا نشان داد که کمپوست شهری در بازداری بیماری مؤثر است.[۲۳] *یانگ و همکاران (۲۰۱۱)* اثر قارچ *Coniothyrium minitans* با کود ترکیبی نیتروژن، فسفر پتاسیم در کاهش جمعیت اسکلروت‌های بیماری اسکروتینیایی *S. sclerotiorum* مورد مطالعه قرار داده و آن را در صورت اعمال در زمان کاشت کلزا مؤثر یافتند. کاربرد این قارچ همراه با کود ترکیبی فوق‌الذکر توانست در کاهش هزینه کارگری و بهبود کارایی محصول نیز تأثیرگذار باشد.[۳۱]

در یک مطالعه مزرعه ای چهار ساله اثر اصلاح خاک با دو محصول تجاری کلسیم سیانامید[1] و یک ترکیب فرموله شده تجاری با نام مخلوط اس-اچ[2] روی *S. sclerotiorum* نشان داد که اصلاح خاک با کلسیم سیانامید در غلظت ۳ گرم بر متر مربع یا مخلوط اس-اچ در مقدار ۶۰ گرم در متر مربع در کاهش جوانه‌زنی اسکلروت‌ها و در نتیجه تولید آپوتیسیوم‌ها مؤثر بود.[۱۳] *لی و همکاران (۲۰۱۳)* کارآیی کودهای نیتروژن، پتاسیم و فسفر را برای مهار بیماری پوسیدگی ساقه اسکلروتینیایی در شرایط مزرعه ای در کلزا بررسی و نتیجه گرفتند که کاربرد کود نیتروژنه، فسفره و پتاسه به ترتیب سبب افزایش، کاهش و کاهش بیماری گردید.[۱۸]

هدف از این آزمایش تعیین اثر کودهای شیمیایی و حیوانی بر رشد میسلیومی اسکلروتی قارچ *S. minor* در شرایط آزمایشگاه و گلخانه بود.

[1] Perlka® (calcium cyanamide)
[2] S–H mixture

مواد و روش‌ها

جمع‌آوری قارچ عامل بیماری

طی تابستان سال ۱۳۹۲، نمونه‌های اسکلروت سیاه رنگ قارچ *S. minor* از مزارع آفتابگردان آلوده و دارای علایم پوسیدگی طوقه و ریشه آفتابگردان و طوقه و یا از بقایای گیاهی سال زراعی قبلی از منطقه کلوانس شهرستان خوی واقع در طول جغرافیایی ۳۸ درجه و ۴ دقیقه و ۷۱ ثانیه شرقی و عرض جغرافیایی ۴۲ درجه و ۸۵ دقیقه و ۱۵ ثانیه شمالی با ارتفاع ۱۸۵۰ متر از سطح دریا جمع‌آوری و به آزمایشگاه گیاهپزشکی دانشگاه آزاد اسلامی واحد میانه منتقل شد. اسکلروت‌های جمع‌آوری شده درون هر ظرف پتری جداگانه ریخته شده و با محلول ۰/۵٪ هیپوکلریت سدیم به مدت ۲ دقیقه ضدعفونی سطحی شده و دوبار با آب مقطر سترون شستشو و روی کاغذ صافی سترون خشک و به ظروف پتری حاوی محیط کشت سیب زمینی دکستروز آگار[3] منتقل شدند. جدایه‌ها در دمای ۲۲ درجه سلسیوس به مدت چهار روز نگهداری شدند. خالص‌سازی قارچ از پرگنهٔ چهار روزه به روش نوک ریسه روی آب آگار ۲٪ انجام

[1] Potato Dextrose Agar (PDA)

شد. برای تشخیص قارچ عامل بیماری پوسیدگی طوقه و ریشه آفتابگردان از کلید کوهن *(۱۹۷۹)* استفاده شد.[۱۶]

انبوه‌سازی اسکلروت

برای تولید انبوه اسکلروت در آزمایشگاه از دو روش *کوهن (۱۹۷۹)*[۱۶] و *پوردی (۱۹۷۹)*[۲۳] استفاده شد. در روش کوهن، ۱۰۰ گرم هویج به صورت حلقه‌های ۵-۳ میلی‌متری همراه با ۲۵ میلی‌لیتر آب مقطر داخل ارلن ۵۰۰ میلی لیتر ریخته شده و به مدت ۲۰ دقیقه در حرارت ۱۲۱ درجه سلسیوس و فشار ۱ اتمسفر سترون شد. پنج قرص ۵ میلی‌متری از کشت چهارروزه از جدایه قارچی روی محیط کشت سیب زمینی دکستروز آگار به هر کدام از ارلن‌ها اضافه شده و به مدت ۴ هفته در دمای ۲۲-۲۰ درجه سلسیوس در شرایط تاریکی نگهداری و پس از پنج هفته تعداد و قطر اسکلروت‌ها ثبت شد. در روش پوردی، ۱۰ میلی‌لیتر از محیط کشت سیب زمینی دکستروز آگار (۳۹ گرم در لیتر) در تشتک پتری ریخته شده و قرص ۵ میلی‌متری از کشت قارچ روی آن منتقل و تعداد و اندازه اسکلروت‌ها پس از نگهداری به مدت ۷ هفته در دمای ۲۵ درجه سلسیوس ثبت شد.

اثبات بیماری‌زایی

برای اثبات بیماری‌زایی از روش *سینگلتون و همکاران (۱۹۹۲)* استفاده شد.[۲۸] این آزمون از اسکلروت تولید و انبوه‌سازی شده با روش پوردی انجام شد. رقم آفتابگردان رکورد به عنوان رقم حساس به بیماری پوسیدگی طوقه آفتابگردان برای این آزمون استفاده شد. کاشت بذور ضدعفونی شده با مانکوزب ۲ در هزار و جوانه‌دار شده آفتابگردان روی آگار ۲٪، در خاک سترون به نسبت حجمی ۱:۳:۱خاک رس، خاک برگ و ماسه در گلدان‌های سترون کاشته شد. در کنار هر بذر جوانه‌دار شده، ۵۰ اسکلروت ریز قرارداده در عمق ۲ سانتیمتری خاک قرار داده شد.گلدان‌ها در گلخانه با نور روزانه ۱۴ ساعته و دمای ۲۲ درجه سلسیوس و رطوبت ۴۰٪ نگهداری و سه روز یک بار آبیاری شدند. طی زمان، صفاتی از جمله پژمردگی برگ‌ها، زردی طوقه و پژمردگی بوته بررسی شد. چهارده روز بعد گیاهچه‌ها از خاک بیرون آورده شده و پس از شستشو به قطعاتی حدود ۳ میلی‌متری بریده شده و پس از ضدعفونی سطحی با هیپوکلریت سدیم ۱٪ به مدت ۱ دقیقه صافی روی محیط کشت سیب‌زمینی دکستروز آگار جداسازی قارچ و شناسایی آن با *کلید کوهن (۱۹۷۹)* انجام شد.[۱۶]

اثر کودهای آلی بر رشد اسکلروت و میسلیوم قارچ عامل بیماری

در این آزمایش اثر کودهای نیتروژن، فسفره، کود مرغی، کود گاوی و کود گوسفندی بر جوانه‌زنی و رشد میسلیومی اسکلروت قارچ عامل بیماری بررسی شد. یک عدد اسکلروت و یا دیسک میسلیومی ۵ میلی‌متری روی ظروف پتری حاوی محیط کشت سیب زمینی دکستروز آگار غنی شده با کودهای شیمیایی در مقادیر ۱، ۵ و ۱۰ و کود حیوانی در مقادیر ۱۰، ۱۵ و ۲۰ گرم در لیتر قبل از سترون‌سازی محیط کشت، در سه تکرار قرار گرفتند. پس از نگهداری تشتک‌ها در دمای ۲۰ الی ۲۲ درجه سلسیوس به ۱۴ روز، تعداد اسکلروت تولید شده و همچنین قطر پرگنه اندازه‌گیری شد. محیط کشت بدون عصاره کودی به عنوان شاهد در نظر گرفته شد.
آزمایش در قالب طرح کاملاً تصادفی با سه تکرار انجام شد. یک و دو هفته بعد از کشت اندازه‌گیری قطر پرگنه، تعداد و اندازه اسکلروت‌ها انجام شد.

اثر کودهای شیمیایی و آلی بر پیشگیری از وقوع بیماری

خاک گلدان‌ها قبل از استفاده به فاصله ۲۴ ساعت دو بار در دمای

۱۲۱ درجه سلسیوس به مدت ۲۰ دقیقه در اتوکلاو سترون شد. تیمارها قبل از کاشت در اندازه‌های ۳۰ گرم کود گاوی، ۲۰ گرم کود گوسفندی، ۱۰ گرم کود مرغی، ۱۰۰ میلی‌گرم کود اوره و ۷۵ میلی‌گرم کود فسفره با خاک گلدان‌ها مخلوط شد و سپس بذور پس از ضدعفونی با هیپوکلریت سدیم، جوانه‌دار شده و کنار هر بذر جوانه زده، چهار عدد اسکلروت قارچ قرار داده شده و ۲ سانتیمتر از خاک سترون روی آن‌ها ریخته شد. گلدان‌ها در گلخانه با نور روزانه ۱۴ ساعته و دمای ۲۰ الی ۲۵ درجه سلسیوس قرار گرفته و یک روز در میان آبیاری شدند. پس از ۱۴ روز صفاتی از قبیل شاخص آلودگی، ارتفاع بوته، وزن تر و خشک گیاهچه، میزان ریشه زایی، ایجاد زخم در طوقه و ساقه، ارزیابی شد. این آزمایش در قالب طرح کاملاً تصادفی با سه تکرار انجام شد. گیاهان شاهد، تنها با قارچ عامل بیماری مایه‌زنی شدند.

در شاخص آلودگی گیاهان از مقیاس ابداعی زیر استفاده شد که در آن ۳: از بین رفتن کامل بوته‌ها، ۲: بوته تا حدودی پژمرده است، ۱: سالم. همچنین، در مورد ریشه‌زایی از مقیاس زیر استفاده شد. ۰: فاقد ریشه فرعی، ۱: ریشه‌زایی ضعیف، ۲: ریشه‌زایی متوسط، ۳: ریشه‌زایی زیاد. در مورد آلودگی طوقه از این مقیاس استفاده شد که در آن ۳: پوسیدگی کامل طوقه، ۲: طوقه نیمه پوسیده و زخمی، ۱: طوقه سالم.

نتایج و بحث متوسط تعداد اسکلروت‌های تولید شده در پایان هفته چهارم در روش پوردی ۳۰۰ عدد در هر تشتک پتری بود. قطر اسکلروت‌ها به طور متوسط ۰/۹ میلی‌متر بود. در روش کوهن تا پایان هفته چهارم جدایه قارچی موفق به تولید اسکلروت نشد. بنابراین برای تولید اسکروت از قارچ *S. minor* استفاده از روش پوردی توصیه می‌گردد.

در آزمون بیماریزایی، علایم اولیه بیماری ۱۴ روز پس از کاشت، نمایان شد. ابتدا گیاهچه‌ها از نظر ظاهری ضعیف شده و بوته‌ها پژمرده شده و برگ‌های پایینی خشک و قسمت طوقه حالت رنگ پریده پیدا کرده و یک شکاف نسبتاً عمیق در طوقه به طرف بالا ایجاد شد و بوته از نظر جثه نسبت به گیاهچه شاهد کوچک‌تر و به مرور توده میسلیومی سفید زیر قسمت طوقه و نزدیک به ریشه مشاهده شد. طی ۲۰ روز گیاهچه‌ها کاملاً خشک شده و از بین رفتند.

اثر کودهای شیمیایی و آلی بر قطر پرگنه جدایه قارچی و تعداد سکلروت تولید شده ۱۴ روز بعد از مایه‌زنی با دیسک میسلیومی و اسکلروت قارچی در سطح ۱٪ معنی‌دار بود (جدول ۱).

جدول ۱) تجزیه واریانس قطر پرگنه و تعداد اسکلروت *Sclerotinia minor* تولید شده از دیسک میسلیومی و اسکلروت، تحت تأثیر افزودن کودهای شیمیایی و آلی به محیط کشت

Table 1) Variance analysis of colony diameter and sclerotia number produced from myclelial disc and sclerotium of *Sclerotina minor* affected by chemical and organic fertilizer adding to growth medium

Source of variation	df	mean of squares			
		colony diameter produced by		sclerotia number produced by	
		mycelial disc	slcerotium	mycelial disc	slcerotium
Treatments	15	19.150 **	48388.889 **	11.950 **	47746.528 **
Experimental error	32	0.000	208.333	0.833	781.250
Total	47				

ns: non-significant and ** significant in 1% probablity level

ns غیرمعنی‌دار و ** معنی‌دار در سطح احتمال ۱٪

جدول ۲) قطر پرگنه و تعداد اسکلروت *Sclerotinia minor* تولید شده از دیسک میسلیومی و اسکلروت، تحت تأثیر افزودن کودهای شیمیایی و آلی به محیط کشت

Table 1) Colony diameter and sclerotia number produced from myclelial disc and sclerotium of *Sclerotina minor* affected by chemical and organic fertilizer adding to growth medium

Fertilizer type	dose (g/L)	mean of squares			
		colony diameter (cm) produced by		sclerotia number produced by	
		mycelial disc	slcerotium	mycelial disc	slcerotium
	1	1	0 g	3 d	0 h
Urea	5	0	0 g	5 c	0 h
	10	0.2	333 b	2 e	0 h
	1	8	183 e	8 a	333 b
Phosphorus	5	8	117 f	8 a	300 c
	10	8	300 c	8 a	167 f
	10	8	300 c	8 a	117 g
Sheep manure	15	8	200 d	8 a	300 c
	20	8	300 c	8 a	300 c
	10	8	300 c	8 a	300 c
Cow manure	15	8	117 f	8 a	233 e
	20	8	300 c	8 a	267 d
	10	8	300 c	8 a	333 b
Chicken manure	15	8	300 c	8 a	267 d
	20	8	0 g	7 b	117 g
Control		8	350 a	8 a	300 c

در هر ستون داشتن حرف مشابه به معنی عدم اختلاف معنی‌دار در سطح احتمال ۵٪ می‌باشد.

Similar letter in each column is indicating insignificancy in 5% probability level.

در صورت تلقیح محیط با میسلیوم و اسکلروت، قطر پرگنه در تیمار اوره به شدت کاهش داشت ولی در سایر تیمارهای کودی شیمیایی و حیوانی اختلاف معنی داری با شاهد مشاهده نشد. اوره تقریبا به طور کامل از رشد قارچ جلوگیری نمود. تنها در صورت تلقیح با اسکروت، اضافه کردن کود مرغی به اندازه ۲۰ گرم در لیتر، قطر پرگنه را حدود ۱ سانتی‌متر نسبت به شاهد کاهش داد.

همچنین، تعداد اسکلروت تولیدی با تلقیح محیط کشت با دیسک میسلیومی و اسکلروت در اثر اعمال تیمارهای کودی متفاوت بود (جدول ۱). در تلقیح با دیسک میسلسومی، کود اوره در مقادیر پایین بر تولید اسکروت قارچ اثر بازدارنده داشت اما در مقدار ۱۰ گرم در لیتر تعداد اسکلروت قابل توجهی تولید کرد که البته نسبت به شاهد از کاهش معنی‌داری برخودار بود. در تلقیح محیط کشت با اسکلرووت، کود اوره بر تولید اسکلروت در تمامی مقادیر بازدارنده بود. کود فسفره و نیز کودهای حیوانی نیز در کلیه مقادیر بر تعداد اسکلروت تولیدی اثر کاهنده داشت. این جدایه قارچی بیشترین اثر از لحاظ تولید اسکلروت را از کود اوره داشت در حالی که کودهای دیگر به این اندازه نتوانستند از تولید اسکلروت این قارچ جلوگیری نمایند کودهای مرغی و گاوی تولید اسکلروت در قارچ را با تأخیر مواجه نمودند. کود گوسفندی روی تولید اسکلروت این جدایه کم‌اثرترین تیمار بود که در نهایت هم فقط مقدار ۲۰ گرم در لیتر آن بر تولید اسکلروت این جدایه اثر کاهنده معنی‌داری داشتند. ک.د مرغی در مقدار حداکثر، بر تولید اسکلروت بازدارنده بود (جدول ۲).

اثر کودهای شیمیایی و آلی بر تولید در صورت تلقیح محیط کشت با اسکلروت در سطح ۱٪ معنی‌دار یود (جدول ۲). کود اوره توانست رشد میسلیومی این جدایه را شدیداً تحت تأثیر منفی قرار دهد. (شکل ۲). تولید اسکلروت نیز به شدت تحت تأثیر کود اوره قرار گرفته و در هیچ یک از مقادیر آن اسکلروتی تولید نشد در حالی که تولید بیش از ۳۰۰

جدول ۳) اثر کودهای شیمیایی و آلی بر شاخص بیماری، آلودگی طوقه، ریشه زایی، ارتفاع و وزن تر و خشک گیاهچه آفتابگردان تلقیح شده با *Sclerotinia minor*

Table 3) The effect of chemical and organic manure on disease index, crown infection, rooting, plant height, fresh and dry weight of sunflower seedling inoculated by *Sclerotinia minor*

Fertilizer type	Plant traits					
	disease index*	crown infection**	rooting***	plant height	plant fresh weight	plant dry weight
Urea	2	2	1	10.42 e	1.33 c	0.11 d
Phosphorus	2	1	2	15.22 d	1.61 b	0.12 c
Sheep manure	1	1	3	23.54 a	3.28 a	0.16 a
Cow manure	1	1	2	22.30 b	3.32 a	0.16 a
Chicken manure	2	2	2	24.17 a	3.51 a	0.16 a
Control	1	1	2	20.00 c	3.30 a	0.15 b

* ۱) بوته سالم، ۲): بوته تا حدودی پژمرده، ۳) از بین رفتن کامل بوته

* 1) healthy 2) slightly wilted 3) completely wilted plant

** ۱) طوقه سالم، ۲) طوقه نیمه پوسیده و زخمی، ۳) طوقه کاملاً پوسیده

** 1) rotted, 2) semi-rotted and 3) completely rotted crown

*** ۱) ریشه‌زایی ضعیف، ۲) ریشه‌زایی متوسط، ۳) ریشه‌زایی قوی

*** 1) weak 2) mild and 3) strong rooting

اسکلروت در شاهد، مشاهده شد. مقادیر ۲۰ گرم در لیتر کود گاوی و گوسفندی به طور معنی‌داری بعد از ۱۴ روز از تولید اسکلروت کاستند (شکل ۳).

بیماری در گیاهچه‌های آفتابگردان تیمار شده با کود اوره، فسفره و مرغی با شدت بیشتری در مقایسه با شاهد و سایر کودها حادث گردید. بوته‌ها در این گیاهان به طور نسبی از پژمردگی برخوردار بود. طوقه در گیاهان تیمار شده با کود اوره و مرغی نیمه پوسیده و زخمی و در سایرین سالم بود. ریشه زایی گیاهان در کود اوره در ضعیف ترین حالت قرار داشت. در حالی که استفاده از کود گوسفندی سبب ریشه‌زایی بیشتر نسبت به شاهد گردید. کوتوله‌ترین گیاهان در استفاده از کود اوره تولید شد. در حالی که استفاده از کود مرفی و گوسفندی و گاوی گیاهان بلندتری را نسبت به شاهد سبب شدند. وزن تر و خشک گیاهچه‌های کوددهی شده با اوره در کمترین مقدار ممکن بود. همچنین، وزن تر گیاهان کوددهی شده با کود فسفره به طور معنی‌داری کمتر از شاهد بود اما اختلافی از این نظر بین شاهد و کودهای حیوانی مشاهده نشد ولی وزن خشک آنها بیشتر از شاهد بود (جدول ۳).

استفاده از کود اوره به سبب ترد شدن و حساسیت بیشتر شاخ و برگ در ابتلا به بیماری سبب تشدید آن می‌گردد. آزمون‌های دقیق حاصلخیزی خاک که بریک اساس منظم استوار باشد می‌توان از کوددهی بیش از حد در مزارعی که سابقه پوسیدگی اسکلروتینیایی در آن باشد، اجتناب کرده و تنها مقادیر مورد نیاز از کودها و به ویژه کود نیتروژنه به خاک صورت گیرد.[۲۲]

نتیجه گیری کلی کودهای شیمیایی اوره و فسفره در تشدید بیماری پوسیدگی اسکلروتینیایی نقش عمده‌ای دارند. بنابراین، جایگزینی آنها با کودهای حیوانی و به ویژه کودهای گاوی و گوسفندی توصیه می‌شود.

References

1. Abdollahzadeh E, Mohammadi Goltapeh E, Rouhani H (2006) Biological control of sclerotinia stem rot (*S. minor*) on sunflower using *Trichoderma* species. Plant Pathology Journal 5(2): 228-232.
2. Al-e Agha N (1971) Crown rot of sunflower. Final Report of Research Project. Faculty of Agriculture, Tehran University 83-89.
3. Asirifi KN, Morgan WC, Parbery DG, 1994. Suppression of sclerotinia soft rot of lettuce with organic soil amendments. Australian Journal of Experimental Agriculture 34(1): 131-136.
4. Astaraei A, Kouchaki A (1998) Application of Biological Fertilizers in Agriculture. Jahad-e Daneshgahi of Mashhad Publication: Mashhad.
5. Bardin SD, Huang HC (2001) Research on biology and control of sclerotinia disease in Canada. Canadian Journal of Plant Pathology 23(1): 88–98.
6. Chet I (1987) *Trichoderma* – application, mode of action, and potential as biocontrol agent of soilborne plant pathogenic fungi. In: Innovative Approaches to Plant Disease Control, (Chet I (ed.), John Wiley & Sons: New York 137-160.
7. Clarke RG, Porter IJ, Woodroofe (1990) Potential strategies for control of sclerotinia stem rot in sunflowers. Proceedings of Australian Sunflower Association. The 7th Workshop, Moama, Australia: Australian Sunflower Association, Queensland.
8. Dorrell DG, Huang HC (1978). Influence of sclerotinia wilt on seed yield and quality of sunflower wilted at different stages of development. Crop Science 18(6): 974-976.
9. Fathollah Taleghani D, Sadeghzadeh S, Noushad H, Dehghanshoar M, Touhidlu G, Hamdi F (2007) Effect of different rate of manure fertilizer on quantitative and qualitative traits of sugar beet in rotation with wheat and sugar beet. Sugar Beet Journal 22(2): 62-78.
10. Ghorbani R, Wilcockson S, Leifert C (2005) Alternative treatments for late blight control in organic potato: Antagonistic micro-organisms and compost extracts for activity against *Phytophthora infestance*. Potato Research 48(3-4): 181-189.
11. Goldstein J (1998) Compost suppresses disease in the lab and on the fields. BioCycle 39(11): 62-64.
12. Hua ZF, Liu XM, Li Y, Li H, Zhang GJ, Zhang JH, Wang CB, Lu YX (1994) Study on integrated control of *Sclerotinia sclerotiorum* of sunflower in Jilin Province. Acta Phytophylacica Sinica 21(2): 127-134.
13. Huang HC, Erickson RS, Phillippe LM, Huang JW (2006) Control of apothecia of *Sclerotinia sclerotiorum* by soil amendment with S-H mixture or Perlka® in bean, canola and wheat fields. Soil Biology and Biochemistry 38(6): 1348-1352.
14. Irani H (1999) Etiology of sunflower crown and root rot in West Azarnaijan Province. Proceedings of the 13th Iranian Congress of Plant Protection. Karaj, Iran. 110.
15. Khademi Z, Rezaei H, Malakouti MJ, Mohajer Milani B (2001) Rapeseed Optimum Nutrition (An Efficient Step in Quantity and Quality of Oil). Neshr-e Amouxesh-e Keshavarzi Publication: Tehran.
16. Kohn LM (1979) A monographic revision of the genus Sclerotinia. Mycotaxon 9(2): 365-444.
17. Kolte SJ (1985) Diseases of Annual Edible Oil Seed Crops. CRS Inc.: Florida.
18. Li YS, Yu CB, Liao X, Hu XJ, Xie LH, Zhang SJ, Che Z, Liao XS (2013) Influence analysis of application of NPK fertilizer on epidemics of rapeseed Sclerotinia stem rot. Chinese Journal of Crop Science 35(3): 290-294.
19. Lumsden RD (1979) Histology and physiology of pathogenesis in plant diseases caused by *Sclerotinia* species. Phytopathology 69(8): 890-895.
20. Mattusch P (1984) Elimination of the apothecia of *Sclerotinia sclerotiorum* under field and glasshouse conditions. Acta Horticulrae 152: 49-56.
21. Mobasher Aghdam A, Babae Ahari A, Sokhandan N, Torabi E (2006) Study on genetics of *Sclerotinia sclerotiorum* isolates collected from different hosts and regions. Proceedings of the 17th Plant Protection Congress. Karaj, Iran.
22. Peltier AJ, Bradley CA, Chilvers MI, Malvick DK, Mueller DS, Wise KA, Esker PD (2012) Biology, Yield loss and Control of Sclerotinia Stem Rot of Soybean. Journal of Integrated Pest Management 3(2): 1-7.
23. Purdy LH (1979) *Sclerotinia sclerotiorum*: History, diseases and symptomatology, host range, geographical distribution and impacts. Phytopathology 69(8): 875-880.

24. Rousseau G, Rioux S, Dostaler D (2007) Effect of crop rotation and soil amendments on Sclerotinia stem rot on soybean in two soils. Canadian Journal of Plant Science 87(3): 605-614.
25. Saharan GS, Mehta N (2008) Sclerotinia Diseases of Crop Plants: Biology, Ecology and Disease Management. LXII. Springer-Verlag GmbH: Heidelberg.
26. Schmidt JP, Lamb JA, Schmitt MA, Randall GW, Orf JH, Gollany HT (2001) Soybean varietal response to liquid swine manure application. Agronomy Journal 93: 358 –363.
27. Sharma SL, Sharma RC, Sharma I (1983) Cellulase activity of *Sclerotinia sclerotiorum* causing stalk rot of cauliflower. Indian Journal of Mycology Plant Pathology 13(3): 286–289.
28. Singelton L, Mihail J, Andrush C (1992) Methods for Research on Soil-Borne Phytopathogenic Fungi. The American Phytopathogenical Society, Minnesota.
29. Steadman JR (1979) Control of plant diseases caused by Sclerotinia species. Phytopathology 69: 904-907.
30. Wallace SU, Blanchet R, Bounlols A, Gelfi N (1990) Influence of nitrogen fertilization on morphological development of indeterminate and determinate soybeans. Journal of Plant Nutrition 13: 1523–1537.
31. Yang L, Li G, Zhang J, Jiang D, Chen W (2011) Compatibility of *Coniothyrium minitans* with compound fertilizer in suppression of *Sclerotinia sclerotiorum*. Biological Control 59(2): 221–227.

The effect of chemical fertilizer and animal manure on *Sclerotinia minor*, causal agent of sunflower root and crown rot in laboratory and greenhouse conditions

Agroecology Journal
Volume 12, Issue 4, Pages 71-80
winter, 2017

Dorna Alilou
Master of plant pathology
Plant Protection Department
Varamin and Pishva Branch
Islamic Azad University
Miyaneh, Iran
Email ✉:
dorna.alilu@gmail.com

Soleiman Jamshidi*
Young Researchers and Elite Club
Miyaneh Branch
Islamic Azad University
Miyaneh, Iran
E-mail ✉:
s.jamshidi@m-iau.ac.ir
(corresponding author)

Mohammad Torabi
Plant Protection Department
Varamin and Pishva Branch
Islamic Azad University
Miyaneh, Iran
Email ✉:
m_torabi29@yahoo.com

Received: 02 March 2016 **Accepted:** 04 January 2017

ABSTRACT Sclerotinia minor is one of the most important causal agents of sunflower root and crown rot in the world Iran. In current study, isolation, purification and identification of the fungus was carried out from sunflower farms at Khoy city, Iran and pathogenicity test and sclerotia propagation was done using Köhn method. The effect of 1, 5 and 10 g/L of urea and phosphorous fertilizer and 10, 15 and 20 g/L of animal manure including chicken, sheep and cow manure was studied on growth of mycelial disc and sclerotium on potato dextrose agar medium. Also, the effect of mentioned fertilizers was evaluated on disease development and some morphological traits of sunflower in greenhouse condition. Despite inhibitive effect of chemical fertilizer especially urea in laboratory conditions on fungus mycelial growth and sclerotium production, they caused higher sclerotinia disease index in greenhouse conditions. Therefore, chemical fertilizers such as urea and phorphorus fertilizer are synergic on sclerotinia disease in sunflower and replacement of animal manure specially cow and sheep manures are recommending.

Keywords:
- chicken manure
- cow manure
- phosphorus fertilizer
- sclerotinia rot
- sheep manure
- sustainable agriculture
- urea