بررسی اثر قارچ‌کش‌ها بر رشد میسلیومی قارچ بیمارگر *Botrytis cinerea* عامل بیماری کپک خاکستری در گوجه‌فرنگی

Investigation of the effect of fungicides on mycelium growth of *Botrytis cinerea*, the cause of gray mold disease in tomatoes

محبوبه قاسمی دامغانی[۱]، مژده ملکی[۲*] و سمیه فراهانی[۳]

دریافت: ۱۳۹۷/۱/۲۵ پذیرش: ۱۳۹۷/۶/۲۰

چکیده

گوجه‌فرنگی (*Lycopersicum esculentum* Miller) یکی از محصولات پرطرفدار در سطح جهانی می‌باشد که کشت این گیاه همواره در معرض عوامل خسارت‌زا به‌ویژه، سوختگی ناشی از قارچ *Botrytis cinerea* که در شرایط مطلوب محیطی (رطوبت زیاد و دما تا ۱۵ درجه سلسیوس) در ارقام و هیبریدهای گوجه‌فرنگی رایج است، قرار دارد. قارچ‌کش‌هایی مانند کاربندازیم با مهار جوانه‌زنی و نفوذ اسپورها می‌توانند از وقوع بیماری پیشگیری کنند؛ اما به دلیل مقاومت بیمارگر در برابر قارچ‌کش‌ها، تناوب برنامه‌های سمپاشی با دوزهای صحیح و زمان‌های مناسب الزامی می‌باشد. پژوهش حاضر به بررسی اثر چند قارچ‌کش روی رشد میسلیومی بیمارگر هدف پرداخت. بدین منظور ابتدا جدایه‌های مختلف قارچ از گلخانه‌ها و مزارع گوجه‌فرنگی جمع‌آوری گردید. خالص‌سازی و اثبات بیماری‌زایی و تعیین قدرت بیماری‌زایی جدایه‌های قارچ روی رقم حساس به بیماری با نام پتوارلی با سوسپانسیون اسپور قارچ به میزان ۲×۱۰^{۵} اسپور در میلی‌لیتر روی برگ‌ها در گلخانه انجام شد. شدت شاخص بیماری بعد از ۱۵ روز تعیین شد و برای تعیین اثر قارچ‌کش‌ها روی رشد میسلیومی از قارچ‌کش‌های کاپتان، اپیرودیون+کاربندازیم، تیرام، اگریفار و تیوفانات-متیل به میزان یک در هزار در محیط کشت استفاده شد. در بین قارچ‌کش‌های استفاده شده، به ترتیب ایپرودیون+ کاربندازیم با ۵/۸۹ درصد بازدارندگی و سپس اگریفار با ۷۶/۸۳ درصد با غلظت یک در هزار در کنترل رشد میسلیومی قارچ موفق بودند.

واژگان کلیدی: *Botrytis cinerea*، قارچ‌کش، کپک خاکستری.

۱ و ۲- به ترتیب دانشجوی سابق کارشناسی ارشد و استادیار، گروه بیماری‌شناسی گیاهی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه آزاد اسلامی واحد ورامین –پیشوا، ورامین، ایران

۳- دانشجوی سابق دکتری، گروه بیماری شناسی گیاهی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه آزاد اسلامی واحد ورامین –پیشوا، ورامین، ایران

نویسنده مسئول مکاتبات: mojdehmaleki@yahoo.com

مقدمه

قارچ *Botrytis cinerea* Pers. Fr شکل غیر جنسی *Botryotinia fuckeliana*، عامل بیماری 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 (Bi *et al.*, 2009; Van Zyl *et al.*, 2010). بررسی این عامل در تولید محصولات گلخانه‌ای از اهمیت فراوانی برخوردار است (Jarvis, 1989). این قارچ قسمت‌های مختلف گیاه بخصوص برگ‌ها و پس از آن گل‌ها و میوه‌ها را در محصولات مهم کشاورزی مورد حمله قرار می‌دهد و مسئول خسارت‌های جدی قبل و پس از برداشت محصولات است (Liu *et al.*, 2008; Suarez *et al.*, 2005).

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 (Ambethgar *et al.*, 2010; Van der Heyden *et al.*, 2012). آلودگی ساقه گیاه به عنوان یک مشکل جدی در سیستم‌های کشت داربستی گوجه‌فرنگی مطرح بوده و اغلب موجب برداشت محصول زودتر از زمان مقرر می‌گردد (بی‌نام، ۱۳۹۴؛ مجنون حسینی، ۱۳۸۷). با این حال، حتی در سیستم‌های کشت کنترل شده نیز، قارچ *Botrytis* عامل اصلی مرگ گیاه می‌باشد (Verhoeff, 1968; Chastagner *et al.*, 1977; Jarvis, 1989). میرزایی و همکاران طی بررسی جامع خود ۳۶۳ ایزوله از این قارچ را از سراسر ایران و بر روی محصولات زراعی و باغی بسیار گوناگون گزارش کردند (Mirzaei *et al.*, 2008).

کپک خاکستری یک بیماری با کنترل بسیار مشکل است که هنوز مقاومت طبیعی علیه این بیماری در ارقام گوجه‌فرنگی مشاهده نشده و کنترل شیمیایی به عنوان عمده‌ترین راه برای کاهش پیشرفت آن است (Van Zyl *et al.*, 2010). قارچ *B. cinerea* بیمارگری با پتانسیل زیاد جهت مقاومت به قارچ‌کش‌ها است که این امر به‌خاطر تنوع زنتیکی، سیکل کوتاه زندگی و تولیدمثل فراوان می‌باشد. قارچ‌کش‌ها باعث کاهش خسارت توسط قارچ می‌شوند. اما تکرار استفاده از گروه‌های محدودی از قارچ‌کش‌ها منجر به توسعه مقاومت در قارچ می‌شود (Zhao *et al.*, 2010).

مواد و روش‌ها

جداسازی و خالص‌سازی قارچ *Botrytis cinerea*

گیاهان آلوده گوجه‌فرنگی با علائم لکه‌های بیضوی یا کشیده قهوه‌ای روی ساقه و شاخه به همراه پوشش کرکی خاکستری شامل اندام قارچ از گلخانه‌های استان تهران جمع‌آوری و داخل پاکت‌های پلاستیکی به آزمایشگاه منتقل گردید. برای جداسازی قطعات ۵/۰ تا ۱ سانتی‌متر از ساقه‌های گوجه‌فرنگی در ناحیه زخم ناشی از حمله قارچ جداشده و در هیپوکلریت ۵/۰ درصد به مدت یک دقیقه گذاشته شد و بعد با آب مقطر استریل شستشو داده شدند، برای گرفتن آب اضافی در کاغذ صافی استریل قرار داده و سپس به محیط غذایی PDA (عصاره سیب زمینی+دکستروز+آگار)که با ۵۰mg/l اکسی تتراسایکلین در پتری‌های ۹ سانتی‌متر ترمیم شده منتقل و در تشتک‌ها در دمای $^{\circ}C$ ۲۲-۲۴ اتاق به مدت دو روز نگهداری شدند.کلنی‌های رشد یافته فعال قارچ به روش رقت‌سازی مکرر تک اسپور و خالص‌سازی گردید و جهت بررسی‌های بعدی به محیط PDA منتقل شدند (Martinez *et al.*, 2003).

شناسایی قارچ عامل بیماری

برای مطالعات مورفولوژیکی تمام ایزوله‌ها در پتری‌های PDA کشت شدند و خصوصیات کلنی از جمله، قطر پرگنه، رنگ، شکل قارچ مورفولوژی کنیدیوفور، کنیدیوم و شکل اسکلروت برای شناسایی قارچ بررسی گردید (Martinez *et al.*, 2003).

اثبات بیماری‌زایی

بذرهای گوجه‌فرنگی رقم پتوارلی (Peto early) حساس به این بیماری در سینی کشت کاشته شدند. پس از ۲۱ روز گیاهچه‌های گوجه‌فرنگی در مرحله ۴-۳ برگی در گلدان‌های سفالی حاوی خاک، کود، ماسه استریل شده به نسبت ۱:۱:۳ نشاء شدند. پس از استقرار گیاهچه‌ها و رشد مناسب تعداد ۱۰ بوته در پنج گلدان (ارتفاع بوته‌ها ۱۲-۱۴ سانتی‌متر)، قبل از مایه‌زنی با اسپورهای قارچ بیمارگر ابتدا با آب مقطر آب‌پاشی شده و به مدت ۲۴ ساعته در زیر پوشش پلی‌اتیلنی قرار داده شدند. برای تهیه سوسپانسیون اسپور از محیط کشت هفت روزه قارچ چند قطعه کوچک به لوله حاوی آب مقطر افزوده شد و پس از تکان دادن لوله یک سی‌سی از سوسپانسیون اسپور روی محیط PDA پخش شد. یک هفته بعد اسپور قارچ از روی محیط کشت با اسکالپل در آب مقطر جمع‌آوری وپس از عبور از پارچه ململ در ارلن مایرهای ۲۵۰ میلی‌لیتری ریخته شد؛ سپس غلظت (۲×۱۰^{۵} اسپور/ میلی‌لیتر) با لام گلبول شمار تهیه شد. سوسپانسیون اسپور فوق بر روی گیاه (برگ‌ها و شاخه‌ها) پاشیده شدند. بوته‌های مایه‌زنی شده دوباره در زیر پوشش کیسه‌های پلی‌اتیلنی قرار داده شدند. برای اطمینان از ایجاد شرایط با رطوبت بالا دیواره‌های داخلی کیسه‌ها با پنبه هیدروفیل مرطوب پوشیده شدند. ۴۸ ساعت پس از مایه‌زنی، پوشش‌های پلی‌اتیلن برداشته شد و بوته‌ها به گلخانه منتقل گردیدند. مشاهدات از پیشرفت علائم بیماری به‌طور متناوب انجام گرفت. برای شناسایی بیمارگر و اثبات بیماری‌زایی، جدایه‌های قارچ دوباره جداسازی شده و با قارچ اولیه مطابقت داده شد (Khan *et al.*, 2014).

بررسی تأثیر قارچ‌کش‌ها بر رشد مسیلومی *B. cinerea*

برای ارزیابی اثر غلظت‌های مختلف روی رشد میسلیوم قارچ عامل کپک خاکستری گوجه‌فرنگی از پنج قارچ‌کش متداول شامل: کاپتان (ارتوساید) پودر وتابل ۵۰٪ ، اپریدیون-کاربندازیم (رورال تی اس) پودر وتابل ۵۲/۵٪، تیوفانات متیل (توپسین‌ام) پودر وتابل ۷۰٪، تیرام (پومارسول) پودر وتابل ۸۰٪ و اگریفار (پایریمتانیل) سوسپانسیون ۴۰٪ استفاده شد.

کارایی قارچ‌کش‌ها در برابر *B. cinerea* در آزمایشگاه با غلظت ppm۱۰۰۰ با چهار تیمار و چهار تکرار مورد بررسی قرارگرفت. بدین منظور، مقدار ۲۰ میلی‌لیتر از غلظت مناسب ترکیب تهیه شده قارچ‌کش‌ها به همراه محیط کشت در تشتک‌های پتری ۹۰ میلی‌لیتری در دمای ۴۵-۴۰ درجه سلسیوس ریخته و پس از سرد شدن محیط، در شرایط کاملاً استریل، از حاشیه کلنی هفت روزه قارچ *B. cinerea*، یک دیسک با قطر ۵ سانتی‌متر و ارتفاع ۳ میلی‌متر برداشته و به صورت وارونه در مرکز محیط کشت PDA به عنوان شاهد و محیط کشت همراه با قارچ‌کش‌ها، در تشتک پتری قرار داده شد. سپس در انکوباتور با دمای ۲۵ درجه سلسیوس و ۱۲ ساعت روشنایی و ۱۲ ساعت تاریکی قرارگرفت. خط رشد آن‌ها بعد از چهار روز به وسیله یک خط‌کش از چهار نقطه از دیسک در پتری اندازه‌گیری شد (Hawamdeh and Ahmed, 2001). درصد بازدارندگی از رشد (I) با فرمول $I=(C-T)/C\times100$ (Meng *et al.*, 2007) محاسبه شد که در آن I درصد بازدارندگی، C قطر کلنی در شاهد و T قطر کلنی در تیمار می‌باشد. همچنین غلظت‌هایی که باعث ۵۰٪ بازدارندگی از رشد میسلیوم گردید با استفاده از نرم‌افزار Polo Plus به‌دست آمد (ماوندادی و همکاران، ۱۳۹۴). داده‌های حاصل از درصد بازدارندگی با استفاده از آنالیز واریانس یک طرفه ANOVA در سطح اعتماد ۹۵٪ و با کمک نرم افزار SPSS مورد تجزیه و تحلیل قرار گرفتند. برای ترسیم نمودار از برنامه Excel استفاده شد. سپس میانگین‌های درصد بازدارندگی با استفاده از آزمون مقایسه میانگین‌های دانکن گروه‌بندی شدند.

نتایج

تجزیه واریانس داده‌های مربوط به درصد بازدارندگی تیمارهای قارچ‌کش شامل کاپتان پودر وتابل ۵۰٪، تیرام ۸۰٪WP،

ایپریدیون + کاربندازیم ۵۲/۵٪WP، تیوفانات –متیل ۴۵٪WP و آگریفار ۴۰٪SC و شاهد محیط کشت (آب مقطر ۷۲٪) در غلظت ۱۰۰۰ پی‌پی‌ام در محیط PDA. درروز چهارم از رشد میسلیومی پرگنه قارچ *B. cinerea* جدایه BC-PY-86 در سطح یک درصد معنی‌دار شد (جدول ۱). نتایج حاصل از مقایسه میانگین‌ها با آزمون دانکن نشان داد قارچ‌کش ایپریدیون +کاربندازیم با ۸۹/۵۷درصد بازدارندگی در گروه آماری a بهترین ترکیب در جلوگیری از رشد قارچ *B. cinerea* بوده است. در مرحله دوم ترکیب جدید اگریفار با ۸۳/۷۶ درصد بازدارندگی ودر گروه آماری b قرارگرفت. سپس قارچ‌کش‌های کاپتان، تیرام وتیوفانات-متیل به ترتیب با ۷۱/۱۷، ۵۶/۱۶ و ۳۴/۷۱ درصد کم‌ترین بازدارندگی از رشد قارچ را داشتند (جدول ۲، شکل‌های ۱ و ۲).

جدول ۱-تجزیه واریانس بررسی تأثیر قارچ‌کش‌ها روی رشد میسلیومی *B. cinerea*

Table 1. Analysis of variance of the mycelial growth of *B. cinerea* under the effect of fungicides on

منابع تغییر	SOV	درجه آزادی Degree of Freedom	میانگین مربعات Mean of Squares
تکرار	Replication	3	0.034
تیمار (قارچ‌کش)	Treatment (Fungicide)	4	**1967.972
اشتباه	Error	12	0.095
درصد ضریب تغییرات	CV %		2.699

**: معنی‌دار در سطح احتمال ۱ درصد Significant at the 1% probability level

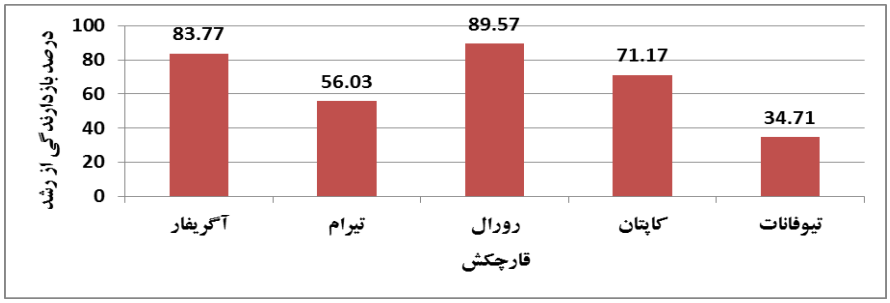
جدول ۲- مقایسه میانگین درصد بازدارندگی قارچکش ها روی رشد میسلیومی *B. cinerea*

Table 2. Comparison of the average percentage of fungal inhibition on mycelial growth of *B. cinerea*

قارچ‌کش‌ها	Fungicide	Inhibition percentage	درصد بازدارندگی
کاپتان	Captan	71.17c	
تیوفانات- متیل	Thiophanate-methyl	34.71e	
اگریفار	Agriphar	83.76b	
ایپرودیون+کاربندازیم	Iprodione-Carbendazim	89.57a	
تیرام	Thiram	56.16d	

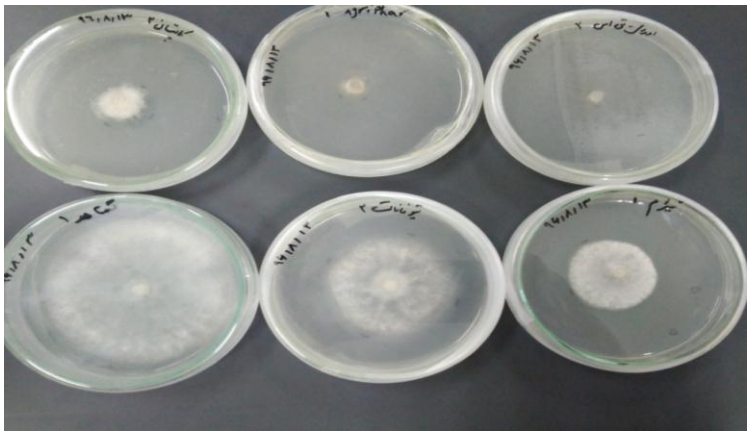
میانگین‌ها با حروف متفاوت، دارای اختلاف معنی‌دار در سطح احتمال ۱٪ دارند.

Means with different letters have a significant difference in probability level of 1%.



شکل ۱- درصد بازدارندگی از رشد میسلیومی قارچ تحت تأثیر قارچ‌کش‌ها

Fig. 1. The inhibition percentage of fungal mycelial growth under the effect of fungicides



شکل ۲- تأثیر پنج قارچ‌کش روی رشد میسلیومی *B. cinerea* در شرایط آزمایشگاهی؛ ردیف بالا از راست به چپ به ترتیب تیمار ایپرودیون+کاربندازیم، اگریفار و کاپتان، ردیف پایین از راست به چپ به ترتیب تیمار تیرام، تیوفانات متیل و شاهد.

Fig. 2. The effect of five fungicides on *B. cinerea* mycelial growth in laboratory conditions; upper row left to right: Captan, Agriphar and Iprodione-Carbendazim; bottom row, left to right: Control, Thiophanate-methyl and Thiram.

بحث

نتایج حاصله از مقایسه اثر قارچ‌کش‌ها روی رشد میسلیومی قارچ *B. cinerea* نشان داد، تیمار ایپریدیون+کاربندازیم با ۵۷/۸۹ درصد بازدارندگی بهترین ترکیب در جلوگیری از رشد قارچ *B. cinerea* بوده است. در مرحله دوم، ترکیب جدید اگریفار با ۷۶/۸۳ درصد بازدارندگی قرارگرفت؛ به ترتیب قارچ‌کش‌های کاپتان، تیرام وتیوفانات-متیل کم‌ترین بازدارندگی از رشد قارچ را داشتند. وجود تفاوت‌های زیاد در مقاومت قارچ به قارچ‌کش‌ها در این تحقیق به خوبی دیده می‌شود. تیوفانات متیل قارچ‌کشی سیستمیک ازگروه بنزیمیدازول‌ها با اثر حفاظتی و معالج از گروه تیوفانات Thiophanate که در گذشته با جلوگیری از سنتز بتا توبولین در کنترل قارچ‌های *Botrytis* و.spp *Sclerotinia* موفق بوده است؛ می‌باشد. با این وجود طبق نتایج حاصل از این تحقیق، کم‌ترین تأثیر در کنترل قارچ عامل کپک خاکستری را داشت. در تحقیق مشابهی در برزیل مشاهده شد که ۹۳ درصد ایزوله‌های *B. cinerea* جمع‌آوری شده از گلخانه‌های توت‌فرنگی نسبت به تیوفانات متیل مقاوم بوده‌اند (Lopes *et al.*, 2017). اورتونو و شنابل نیز مشاهدات مشابهی را از مقاومت ۸۴٪ ایزوله‌های *B. cinerea* در کارولینای جنوبی به تیوفانات متیل گزارش کردند (Ortuno and Schnabel, 2012). بهبود مقاومت به قارچ‌کش‌ها در بین جمعیت‌های*Botrytis* در طول دوره قارچ‌کشی مدرن ثبت شده است. متحـمل بودن قارچ *B. cinerea* به قارچ‌کش‌های نیـتروبنزن کلر chlorinated nitrobenzene توسـط ریویل Reavill (1954) گـزارش گردید؛ اما پـس از کـاربـرد اولـیه قارچ‌کش‌های سیستماتیک بنزیمیدازول علیه *Botrytis* spp، افزایش سریع مقاومت جدایه‌ها به قارچ‌کش فوق (Anonymous, 2011) اعلام شد و سپس مقاومت به قارچ‌کش‌های گروه dicarboximides گزارش گردید. رضایی‌راد و همکاران (۱۳۹۸) مقاومت سویه‌های مختلف *B. cinerea* جمع‌آوری شده از باغات انگور آذربایجان غربی را به قارچ‌کش‌های گروه بنزیمیدازول و استروبیلورین گزارش کردند. یک دهه بعد پایه مولکولی این جهش‌ها شناسایی شد (Yarden and Katan, 1993). مدیریت بیماری *Botrytis* با قارچ‌کش‌های شیمیایی همچنان به یک چالش جدی برای مشاوران کشاورزی مطرح می‌باشد (ماوندادی و همکاران، ۱۳۹۴). نتایج این تحقیق نشان داد که دو قارچ‌کش اگریفار و ایپرودیون+کاربندازیم می‌توانند جزء بهترین ترکیبات پیشنهادی برای مدیریت *B. cinerea* باشند. اعزازی و همکاران (۱۳۹۶) نیز اثر بازدارنده ترکیب ایپرودیون+کاربندازیم را بر روی باکتری‌های خاک‌زاد نشان دادند.

منابع **References**

بی‌نام ۱۳۹۴. آمار نامه کشاورزی. انتشارات وزارت جهاد کشاورزی، معاونت برنامه‌ریزی و اقتصادی مرکز فناوری و ارتباطات. جلد اول. صفحه ۱۲.

اعزازی، ر.، احمدزاده، م.، نیکخواه، م. ج.، صالحی محمدی، ر. و دوناتی، ک. ۱۳۹۶. بررسی تأثیر قارچ‌کش ایپرودیون+کاربندازیم (رورال تی سی) بر ساختار جمعیت باکتری‌های ریزوسفر خیار به روش Illumina MiSeq sequencing. مهندسی ژنتیکی و ایمنی زیستی ۶(۲): ۳۰۷-۲۹۳.

رضایی‌راد، و.، ابرین بنا، م. و رضایی، سعید. ۱۳۹۸. ردیابی جهش‌های ژنی مرتبط با مقاومت به بنزیمیدازول‌ها و استروبیلورین‌ها در جدایه‌های *Botrytis cinerea* جمع‌آوری شده از انگور در استان آذربایجان غربی. پژوهش‌های کاربردی در گیاهپزشکی ۸(۱): ۷۰-۵۷.

ماوندادی، ا.، خواجه‌علی، ج. و شریف‌نبی، ب. ۱۳۹۴. کارایی قارچ‌کش‌های رایج در کنترل کپک خاکستری گوجه‌فرنگی. علوم و فنون کشت گلخانه‌ای ۶(۲۴): ۱۸۹-۱۸۱.

مجنون حسینی، ن. ۱۳۸۷. زراعت و تولید حبوبات. انتشارات جهاد دانشگاهی. تهران. ۲۹۴صفحه.

Ambethgar, V., Swamiappan, M., Rabindra, R. J. and Rabindran. R. 2010. Effect of selected fungicides on *in vitro* vegetative growth of *Beauveria bassiana* (Balsamo) Vuillemin, a pathogen of rice leaf folders. Journal of Biological Control 24: 85-87

Anonymous. 2011. Agricultural Statistics of Pakistan 2009-10. Govt. of Pakistan, Ministry of Food, Agriculture and Livestock.Food, Agri.And Livestock Div. (Economic Wing) Islamabad: 84-85.

Bi, C. W., Qiu, J. B., Zhou, M. G., Chen C. J. and Wang. J. X. 2009. Effects of carbendazim on conidial germination and mitosis in germlings of *Fusarium graminearum* and *Botrytis cinerea*. International Journal of Pest Management 55(2): 157-163.

Chardonnet, C. O., Sams, C. E., Trigiano, R. N. and Conway, W. S. 2000. Variability of three isolates of *Botrytis cinerea* affects the inhibitory effects of calcium on this fungus. Phytopathology 90: 769-774.

Chastagner, G. A., Ogawa, J. M., Manji, B. T. and Matsumoto, T. T. 1977. *Botrytis cinerea* canker development and control in vine ripe tomatoes in California. Proceeding of American Phytopathology Society 4: 114.

Hawamdeh, A. S. and Ahmed, S. 2001. In vitro control of *Alternaria solani*, the cause of early blight of tomato. Journal of Biological Sciences 1: 948-950.

Jarvis, W. R. 1989. Managing diseases in greenhouse crops. Plant Disease 73: 190-194.

Khan, S. U., Ali, M., Shafi, J., Hussain, M., Fareed, M. I. and ur Rahman, W. 2014. Response of tomato germplasm and hybrids against *botrytis* blight and its management through chemicals. Advances in Agriculture and Biology 1(1): 8-16.

Liu, W., Leroux P. and Fillinger. S. 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 phenyl pyrrole-resistance. Fungal Genetic Biology 45: 1062-1074.

Lopes, U. P., Zambolium, L., Capobiango, N. P., Arturo, N., Gracia, O. and Feitas-Lopes, R. L. 2017. Resistance of *Botrytis cinerea* to fungicides controlling fray mold on strawberry in Brazil. Brangantia Campinas 76(2): 266-272.

Martínez, F., Blancard, D., Lecomte, P., Levis, C., Dubos, B. and Fermaud, M. 2003. Phenotypic differences between *vacuma* and *transposa* subpopulations of *Botrytis cinerea*. European Journal of Plant Pathology 109(5): 479–488.

Meng, Z., Wei, Y., Xu, D., Hao, S. and Hu. J. 2007. Effect of 2-allylphenol against *Botrytis cinerea* Pers., and its residue in tomato fruit. Crop Protection 26: 1711-1715

Mirzaei, S., Goltapeh, E. M., Shams-Bakhsh, M. and Safaie, N. 2008. Identification of *Botrytis* spp. on plants grown in Iran. Journal of Phytopathology 156(1): 21-28.

Ortuno, D. F. and Schnabel, G. 2012. First report of Thiophanate-Methyl resistance in *Botrytis cinerea* on strawberry from South Carolina. Plane Disease 96(11): 1700.

Reavill, M. J. 1954. Effect of certain chloronitrobenzenes on germination, growth and sporulation of some fungi. Annals of Applied Biology 41: 448–460.

Suarez, M. B., Walsh, K., Boonham, N., O'Neill, T., Pearson S. and Barker. I. 2005. Development of real-time PCR (TaqMan®) assays for the detection and quantification of *Botrytis cinerea* in planta. Plant Physiology and Biochemistry 43: 890-899.

Van der Heyden, H., Carisse O. and Brodeur. L. 2012. Comparison of monitoring based indicators for initiating fungicide spray programs to control *Botrytis* leaf blight of onion. Crop Protection 33: 21-28.

Van Zyl, S. A., Brink, J. C., Calitz, F. J., Coertze, S. and Fourie. P. H. 2010. The use of adjuvants to improve spray deposition and *Botrytis cinerea* control on Chardonnay grapevine leaves. Crop Protection 29: 58-67.

Verhoeff, K. 1968. Effect of soil nitrogen level and methods of deleafing upon the occurrence of *Botrytis cinerea* under commercial conditions. Netherlands Journal of Plant Pathology 74: 184-94.

Yarden, O. and Katan, T. 1993. Mutations leading to substitutions at amino acids 198 and 200 of beta-tubulin that correlate with benomyl-resistance phenotypes of field strains of *Botrytis cinerea*. Phytopathology 83: 1478-1483.

Zhao, H., Kim, Y. K., Huang L. and Xiao. C. L. 2010. Resistance to Thiabendazole and baseline sensitivity to fludioxonil and pyrimethanil in *Botrytis cinerea* populations from apple and pear in Washington State. Postharvest Biology and Technology 56: 12-18.

Investigation of the effect of fungicides on mycelium growth of *Botrytis cinerea*, the cause of gray mold disease in tomatoes

M. Ghasemi Damghani[1], M. Maleki[2*] and S. Farahani[3]

Received: 14 Apr., 2018 Accepted: 11 Sep., 2018

ABSTRACT

Tomato (*Lycopersicum esculentum* Miller) is one of the most popular crops in the world. The cultivation of this plant is always exposed to harmful factors, especially blight caused by the fungus *Botrytis cinerea*, which in favorable environmental conditions (high humidity and temperature up to 15$^{\circ C}$) in cultivars and tomato hybrids are common. Fungicides can prevent disease by controlling germination and spore infiltration, but due to the pathogen's resistance to fungicides, it is necessary to alternate spraying programs with the appropriate doses and at the appropriate times. This study examined the effect of several fungicides on the pathogenic mycelial growth.

For this purpose, various fungal isolates were collected from greenhouses and tomato farms. Purification and proof of pathogenicity and pathogenicity of fungal isolates were performed on disease-sensitive cultivars named PETOERLI with fungal spores suspension at 2×10^5 spores per ml on leaves in greenhouses. The severity of the disease index was determined after 15 days and to determine the effect of fungicides on mycelial growth, Captan, Ipirudion + Carbendazim, Thiram, Agrofar and Thiophanate -methyl fungicides were used at a rate of one per thousand in the culture medium. Among the used fungicides, Iprodione + Carbendazim with 89.5% inhibition and then Agrofar with 83.76% with a concentration of one per thousand were successful in controlling mycelial fungal growth control, respectively.

Key words: *Botrytis cinerea*, Fungicide, Gray mold

1 and 2. Former MSc. Student and Assistant Professor, respectively, Department of Plant Pathology, College of Agriculture, Varamin-Pishva Branch, Islamic Azad University, Varamin, Iran

3. Former PhD Student, Department of Plant Pathology, College of Agriculture, Varamin-Pishva Branch, Islamic Azad University, Varamin, Iran

***Corresponding author**: mojdehmaleki@yahoo.com