مجلة جامعة تشرين للبحوث والدراسات العلمية _ سلسلة العلوم البيولوجية المجلد (35) العدد (6) 2013
Tishreen University Journal for Research and Scientific Studies - Biological Sciences Series Vol. (35) No. (6) 2013

تأثير درجة الحرارة، pH، الإضاءة، والمستنبتات في نمو *Colletotrichum gloeosporioides* المسبب لمرض الأنثراكنوز في ثمار الحمضيات

الدكتور محمود حسن*
الدكتور عصام علّاف**
ليلى منيف زيدان***

(تاريخ الإيداع 21 / 5 / 2013. قبل للنشر في 12 / 8 / 2013)

ملخّص

دُرس في المختبر تأثير درجات مختلفة من الحرارة، مستويات مختلفة من pH، فترات مختلفة من الإضاءة وأربعة مستنبتات غذائية هي (CzA، MEA، OMA،PDA) في نمو الفطر *C.gloeosporioides* المسبب لمرض الأنثراكنوز في ثمار الحمضيات، وأشارت النتائج إلى أنّ نمو الفطر كان أعظمياً في درجة الحرارة 30°م، و pH = (5.5، 6، 6.5) ، وأنّ الإضاءة غير ضرورية لنمو هذا الفطر .

أعطى المستنبتان PDA، OMA من بين المستنبتات المختبرة أقصى نمو للفطر *C.gloeosporioides* .

الكلمات المفتاحيّة: أنثراكنوز، *C.gloeosporioides*، درجة الحرارة، pH، إضاءة، مستنبتات غذائية، ثمار الحمضيات.

* أستاذ – قسم وقاية النبات– كلية الزراعة– جامعة تشرين– اللاذقية– سورية.
** أستاذ مساعد – قسم وقاية النبات– كلية الزراعة– جامعة تشرين– اللاذقية– سورية.
*** طالبة دراسات عليا (ماجستير)– قسم وقاية النبات– كلية الزراعة– جامعة تشرين– اللاذقية– سورية .

مجلة جامعة تشرين للبحوث والدراسات العلمية _ سلسلة العلوم البيولوجية المجلد (35) العدد (6) 2013
Tishreen University Journal for Research and Scientific Studies - Biological Sciences Series Vol. (35) No. (6) 2013

Influence of Temperature, pH, Light, and Media in The Growth of *Colletotrichum gloeosporioides* Causing Anthracnose Disease of Citrus Fruits

Dr. Mahmoud Hasan*
Dr. Isam Allaf**
Laila Zidan***

(Received 21 / 5 / 2013. Accepted 12 / 8 /2013)

□ ABSTRACT □

Effect of different degrees of temperature, different levels of pH , different periods of light and four media (PDA, OMA, MEA, CzA) was studied *in vitro* against the growth of *C. gloeosporioides* causing anthracnose disease of citrus fruits. The results indicated that the growth of fungus was maximum at temperature 30°C and at pH = (5.5,6,6.5), and Light was unnecessary for the growth of *C. gloeosporioides***.** Among the different media tested PDA and OMA supported the maximum growth of fungus**.**

Keywords: Anthracnose, *C.gloeosporioides,* temperature, pH, light, media, citrus fruits.

***Professor, Department of Plant Protection, Faculty of Agriculture, Tishreen University, Lattakia, Syria.**
****Associate Professor, Department of Plant Protection, Faculty of Agriculture, Tishreen University, Lattakia, Syria.**
*****Postgraduate Student, Department of Plant Protection, Faculty of Agriculture, Tishreen University, Lattakia, Syria.**

مقدّمة:

يُعدّ الفطر .Colletotrichum gloeosporioides (Penz.)Sacc من الممرضات الفطرية الأكثر تردّداً في العالم ؛ إذ يُصيب على الأقل 470 عائلاً نباتياً من أجناس مختلفة في المناطق الإستوائية وشبه الإستوائية والمعتدلة، طوره الجنسي *Glomerella cingulata* (Stoneman) Spauld (Hyde *et al.*, 2009) and H. Schrenk، وهو المسبب المرضي لأنثراكنوز الحمضيات (Brown *et al.*, 1996; Afanador-Kafuri *et al.*, 2003)، ويُهاجم الفطر السابق الأوراق والثمار في مراحل مختلفة من التطوّر ؛ إذ يتشكل على الأوراق المصابة بقعاً صغيرة غير منتظمة صفراء، بنية أو بنية داكنة يمكن أن تتسع هذه البقع مع تقدم الإصابة (Jiang *et al.*, 2012)، ويسبب أيضاً موتاً رجعياً للأفرع (Freeman *et al.*, 1998) وذبولاً اعتباراً من القمة (Agostini *et al.*, 1992)، وتساقطاً للثمار بعد العقد (Lima *et al.*, 2011)، وأنثراكنوز الثمار بعد الجني (Timmer *et al.*,1998; Lahey *et al.*, 2004) ويظهر على الثمار المصابة بقعاً بنية إلى سوداء اللون ذات قطر يتراوح من 5-10 mm ، تصبح هذه البقع جافة وقاسية وأحياناً منقطة بأسيرفولات صغيرة سوداء تُنتج في الجو الرطب عدداً كبيراً من الأبواغ الكونيدية الوردية (أجريوس، 1994)، وقد يكون المسبب المرضي الفطر *C.acutatum* J.H. Simmonds الذي يُصيب الأوراق، الأفرع، الأزهار، والثمار الحديثة وتتفاوت الأعراض على الأوراق من جروح نكروزية إلى بقع صغيرة، ويُسبب لفحة الأزهار والأفرع الحديثة (Peres *et al.*, 2005)، وبالتالي يُؤدّي إلى تساقط الثمار بعد العقد (Chung *et al.*, 2003; Lahey *et al.*, 2004)

أهمية البحث وأهدافه :

تأتي أهمّية هذا البحث من الأهمية الإمراضية للفطر *C.gloeosporioides* ؛ إذ يُصيب عدداً كبيراً من العوائل النباتية في مختلف مناطق العالم، ويهدف إلى تحديد بعض العوامل غير الحية المناسبة لنمو الفطر *C.gloeosporioides* (المستنبتات الغذائية، درجة الحرارة، pH، الإضاءة).

طرائق البحث ومواده:

• **جمع العينات:** تمّ جمع العينات عام 2012 من ثمار الليمون الحامض التي ظهرت عليها أعراض الإصابة بمرض الأنثراكنوز من قرية ناحوت في محافظة طرطوس.

• **العزل والتنقية:** تمّ العزل من ثمار الليمون الحامض المصابة ؛ إذ أُخذت قطع قطر كل منها حوالي5 mm من حواف الأنسجة المصابة وعُقّمت باستخدام محلول هيبوكلوريت الصوديوم التجاري % 10 لمدة 3 دقائق تقريباً ثمّ غُسلت بالماء المقطّر المعقّم 2- 3 مرّات، تمّ التخلص من الماء الزائد بوضعها على ورق نشّاف ووُزّعت كل عينة على حده على مستنبت بطاطا_ديكستروز_آجار (PDA) مُدعّم بالستريبتومايسين 0.5 g/l (Choi *et al.*, 1999) بمعدّل 5 قطع في الطبق الواحد، حُضّنت الأطباق في الظلام لمدّة أسبوع على حرارة 30°م (Photita *et al.*, 2005)، تمّت تنقية عزلات الفطر عدّة مرّات بطريقة طرف الخيط الفطري للحصول على مستعمرات نقيّة (Shi *et al.*, 1996).

تمّ دراسة تأثير بعض الشروط البيئية في نمو الفطر *C.gloeosporioides* على الشكل الآتي:

1. **دراسة تأثير درجة الحرارة:** دُرس تأثير درجات الحرارة 25°م ،30°م و35°م في نمو الفطر *C.gloeosporioides* واستُعمل في هذه التجربة مستنبت PDA ؛ إذ تمّ تلقيح أطباق بتري تحتوي PDA بأقراص

أقطارها 5 mm مأخوذة من حواف مستعمرات فتية بعمر 7 أيّام وحضّنت في الحرارة المطلوبة لمدّة 7 أيّام في الظلام، كررت كل معاملة 3 مرّات، وتمّ حساب متوسط قطر المستعمرات وسُجّلت النتائـج (Yee and Sariah, 1993) .

2. **دراسة تأثير مستويات pH:** دُرس تأثير مستويات مختلفة من pH (4، 4.5، 5، 5.5، 6، 6.5، 7،7.5، 8) في نمو الفطر *C. gloeosporioides* على مستنبت PDA، عُدّل pH الوسط إلى المستوى المطلوب بإضافة NaOH أو HCl، تمّ تلقيح أطباق بتري تحتوي PDA بأقراص 5 mm مأخوذة من حواف مستعمرات فتية بعمر 7 أيّام وحُضّنت الأطباق بالدرجة 30°م لمدّة 7 أيّام في الظلام، كُررت كل معاملة 3 مرّات، ثمّ قيست أقطار المستعمرات وسُجّلت الملاحظات (Kuberan *et al.*, 2012).

3. **دراسة تأثير الإضاءة:** تمّ تلقيح أطباق بتري تحتوي PDA بأقراص مأخوذة من حواف مستعمرات فتية بعمر 7 أيّام وعُرّضت إلى:

a) إضاءة مستمرّة

b) ظلام مستمر.

c) 17ساعة إضاءة متناوبة مع 7 ساعات ظلام (Akhtar *et al.*, 1999).

حُضّنت الأطباق في الدرجة 30°م لمدة 7 أيام، كُررت كل معاملة 3 مرّات، ثمّ تمّ حساب متوسط قطر المستعمرات الفطرية ومقارنتها وتسجيل الملاحظات.

4. **دراسة تأثير بعض المستنبتات الغذائية:**

تمّت دراسة تأثير4 مستنبتات في نمو الفطر *C. gloeosporioides* منها 3 مستنبتات طبيعية هي:

i. مستنبت بطاطا _ ديكستروز_ آجار   Potato dextrose agar (PDA)

ii. مستنبت دقيق_ الشوفان_ آجار   Oat meal agar (OMA)

iii. مستنبت مستخلص المالت _ آجار   Malt extract agar (MEA)

ومستنبت تركيبي هو: مستنبت تشابك (دوكس) _ آجار   Czapek (Dox) agar (CzA)

كانت جميع المستنبتات جاهزة وتمّ تحضيرها بحسب ما أوصت به الشركة المصنّعة وكما هو مدوّن على العبوة:

PDA : تمّ أخذ 39 غ بودرة وإذابتها في ليتر من الماء المقطر.

OMA : تمّ أخذ 72.5 غ بودرة وإذابتها في ليتر من الماء المقطر.

MEA : تمّ أخذ 31.28 غ بودرة وإذابتها في ليتر من الماء المقطر.

CzA : تمّ أخذ 49 غ بودرة وإذابتها في ليتر من الماء المقطر.

سُخّنت المحاليل السابقة حتى انحلت بالكامل ووُزّعت في دوارق مخروطية، ثمّ عُقّمت بالأوتوغلاف في درجة الحرارة 121°م لمدّة 15 دقيقة، برّدت إلى 45°م، ثمّ أُضيف لها المضاد الحيوي ستريبتومايسين Streptomycin بتركيز 0.5 g/l لتقليل التلوث بالبكتيريا (Choi *et al.*, 1999)، صُبّت بعد ذلك في أطباق بتري تحت شروط التعقيم وتُركت لتتصلّب، ولتنفيذ الدراسة لقّحت الأطباق باستخدام أقراص أقطارها 5 mm مأخوذة من حواف مستعمرات الفطر بعمر 7 أيّام منمّاة على المستنبت الغذائي PDA، وحُضّنت في الدرجة 25°م في الظلام وبمعدل 3 أطباق لكل معاملة. تمّ حساب متوسط أقطار المستعمرات على هذه المستنبتات ومقارنتها مع بعضها وأخذت االصّور التي تظهر نمو الفطر عليها (Tasiwal and Benagi, 2009) .

التحليل الإحصائي: تم تحليل النتائج إحصائياً باستخدام برنامج التحليل الإحصائي 12 -Genstat، وتمت مقارنة الفروق بين المتوسطات باستخدام اختبار أقل فرق معنوي (L.S.D) عند مستوى احتمال (0.05) واختبار دانكان (L.S.R).

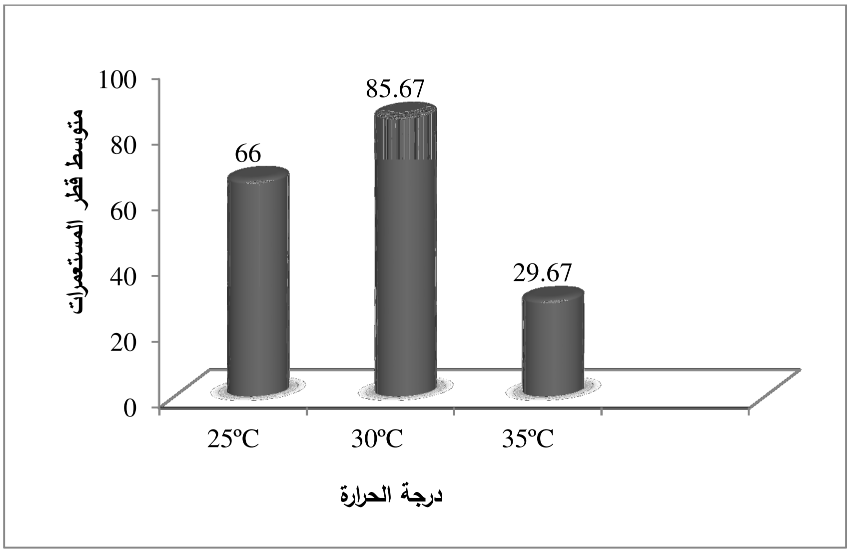
النتائج والمناقشة:

- **تأثير درجة الحرارة في نمو الفطر *C.gloeosporioides*:**

تمّت دراسة تأثير ثلاث درجات حرارة هي 25°م، 30°م، 35°م في نمـو الفطر *C.gloeosporioides* على مستنبت PDA بعد 7 أيّام من الزراعة وقد بيّنت الدراسة أن الفطر أعطى أفضل نمو في درجة الحرارة 30°م ؛ إذ تفوّقت هذه الدرجة على الدرجتين 25°م و 35°م وتليها درجة الحرارة 25°م والتي تفوّقت على الدرجة 35°م، والنتائج مبينة في الجدول (1) الشكل (1)، وتتفق النتائج السابقة مع دراسات عديدة وجدت أنّ أفضل درجة حرارة لنمو *C.gloeosporioides* على مستنبت PDA هـي 30°م (Yee and Sariah, 1993; Adaskaveg and Hartin, 1997)، كمـا وجد Tasiwal و Benagi (2009) أنّ درجة الحرارة المثالية لنمو هذا الفطر هي 30°م على مستنبت ريتشارد آجار، أمّا Pandey وآخرون (2012a) فقد وجدوا أنّ هذا الفطر ينمو على حـرارة مـن (15-35)°م والحرارة المثلى (25-30)°م، وهناك دراسة أخرى وجدت أنّ الفطر *C.gloeosporioides* المعزول من الرمان ينمو على نحو جيد في درجات الحرارة التي تقع ضمـن (15-35)°م لكن المثلى هي 28°م، كما ورد في دراسة أخرى أن الحـرارة المثاليـة للفطر كانـت 29°م (Sangeetha and Rawal, 2010)، قد يعزى سبب الاختلاف في درجة حرارة النمو المثالية بين عزلات النوع نفسه إلى عدم دراسة درجات الحرارة المدروسة نفسها في تلك الأبحاث أو إلى اختلاف شروط المناخ للمناطق التي يوجد فيها المرض ومن الممكن أن يكون الفطر متكيّفاً للعيش في ذلك المناخ المعيّن (Sangeetha and Rawal, 2010) وهذا ما وجده Pandey وآخرون (2012b) أنّ عزلات مختلفة من الفطر *C.gloeosporioides* من المانجو مأخوذة من مناطق مناخية مختلفة في الهند أظهرت اختلافًا تجاه درجات الحرارة المختلفة.

جدول(1): متوسط أقطار مستعمرات الفطر *C. gloeosporioides* علـى مستنبـت PDA بعـد 7 أيّام من التحضين في درجات حرارة مختلفة.

درجة الحرارة	متوسط أقطار مستعمرات الفطر *C. gloeosporioides* بـ mm
25°م	66 b
30°م	85.67 a
35°م	29.67 c
(L.S.D 5%)	3.194



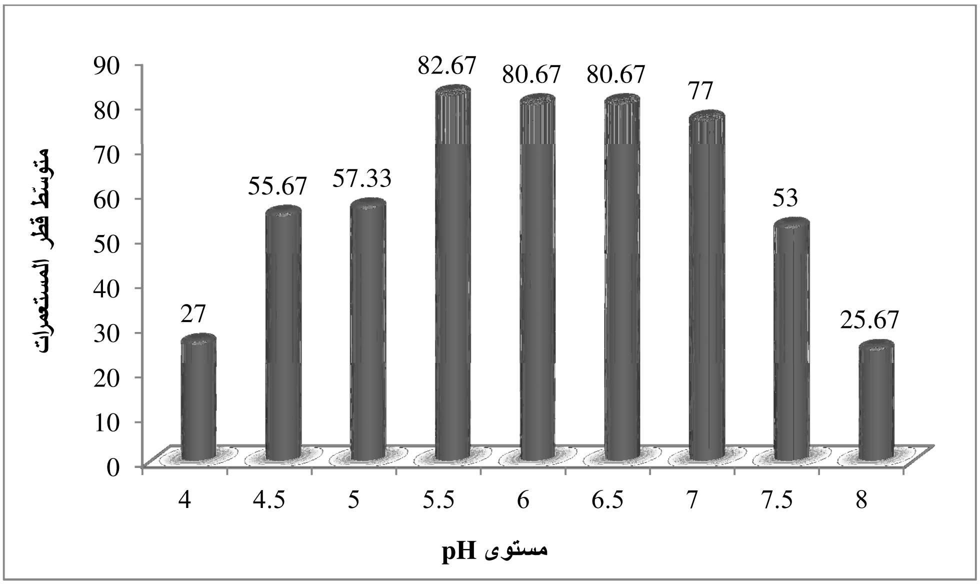
الشكل (1): متوسط قطر مستعمرات الفطر *C. gloeosporioides* بـ mm على مستنبت PDA بعد7 أيّام من التحضين في درجات حرارة مختلفة.

- **تأثير مستوى pH في نمو الفطر *C.gloeosporioides***

دُرس تأثير مستويات مختلفة من pH (4، 4.5، 5، 5.5، 6، 6.5، 7، 7.5، 8) في نمو الفطر *C. gloeosporioides* وقد أظهرت نتائج الدراسة والمبينة في الجدول (2) الشكل (2) أنّ أفضل نمو حصلنا عليه للفطر كان عند pH=5.5، pH=6 ، pH = 6.5، يليهم المستوى pH = 7 الذي بيّن نموّاً أفضلاً مما هو مع المستويات (4، 4.5، 5، 7.5، 8) ؛ إذ لم يُلحظ وجود فروق معنوية بين المستويات السابقة وقد تفوّقت على المستويات الأخرى، كما لُوحظ عدم وجود فرق معنوي بين المستويين pH=4 و pH=8 وأنّ النمو فيهما أقل على نحو ملحوظ من النمو في المستويات الأخرى. لقد اعتبر Lilly and Barnett (1951) pH الوسط بين 5 و 6 مناسباً لمعظم الفطور وتتحمّل الفطور الوسط الحمضي أكثر من تحمّلها للوسط القلوي، وقد أكّد العديد من الباحثين ذلك في دراساتهم لأنواع مختلفة من الفطر *Colletotrichum*، وبالنسبة للنوع *C.gloeosporioides.* فقد وُجد أنّه يعطي أقصى نمو على pH = 5، يليها pH = 6 ، ثمّ pH = 7 و أنّ النمو في الدرجتين 4 و 8 كان متشابهاً وأقل على نحو ملحوظ من النمو في المستويات الأخرى (Kumara and Rawal, 2008)، وبحسب Akhtar وآخرين (1999) فإنّ أفضل نمو للميسيليوم كان عند pH=7، أمّا حسب Pandey وآخرون (2012 a,b) يحدث النمو على مدى واسع من pH لكن القيمة المثلى هي pH = 6 . قد يعزى سبب الاختلاف في قيمة الـ pH المثالية لنمو الفطر إلى اختلاف العائل الذي تمّ العزل منه أو إلى اختلاف شروط المناخ للمناطق التي يوجد فيها المرض وهذا ما وجده Pandey وآخرون (2012b) بأنّ عزلات مختلفة من الفطر *C.gloeosporioides* من المانجو مأخوذة من مناطق مناخية مختلفة في الهند أظهرت اختلافًا تجاه مستويات الـ pH المختلفة.

الجدول(2): متوسط قطر مستعمرات الفطر *C. gloeosporioides* على مستنبت PDA بعد7 أيّام من التحضين في مستويات مختلفة من pH

درجة pH	متوسط قطر مستعمرات الفطر *C. gloeosporioides* بـ mm
4	27 e
4.5	55.67 cd
5	57.33 c
5.5	82.67 a
6	80.67 a
6.5	80.67 a
7	77 b
7.5	53 d
8	25.67 e
(L.S.D 5%)	3.026



الشكل(2): متوسط قطر مستعمرات الفطر *C.gloeosporioides* بـ mm على مستنبت PDA بعد7 أيّام من التحضين في مستويات مختلفة من pH.

- **تأثير الإضاءة في نمو الفطر *C.gloeosporioides*:**

لُوحظ نتيجة دراسة تأثير ثلاث فترات مختلفة من الإضاءة (إضاءة مستمرّة، ظلام مستمر، 17ساعة إضاءة متناوبة مع 7 ساعات ظلام) في نمو الفطر*C.gloeosporioides* عدم وجود فروق معنوية بين فترات الإضاءة المختلفة أي أنّ النمو لم يتأثّر على نحو واضح عند تعريض الفطر لفترات إضاءة مختلفة تتفق هذه النتيجة مـــــع (Pandey *et al,* 2012) ؛ إذ وجدوا أنّ الإضاءة غير ضرورية لنمو الفطر *C.gloeosporioides* والنتائج مبينة في الجدول (3).

الجدول(3): متوسط قطر مستعمرات الفطر *C. gloeosporioides*
على مستنبت PDA بعد7 أيّام من التحضين عند تعريضها لفترات مختلفة من الإضاءة.

المعاملة	متوسط قطر المستعمرات للفطر *C. gloeosporioides* بـ mm
إضاءة مستمرة	84.33 a
ظلام مستمر	84 a
تناوب17ساعة إضاءة مع 7 ساعات ظلام	82.33 a
(L.S.D 5%)	2.492
P	0.190

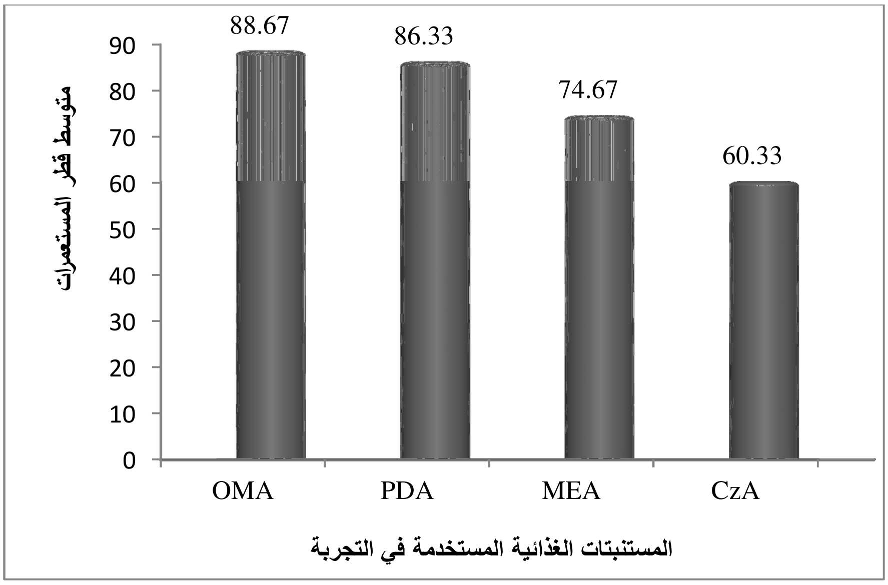
- **تأثير بعض المستنبتات في نمو الفطر *C. gloeosporioides*:**

تمّ أخذ قياسات أقطار المستعمرات الفطرية المتشكلة للفطر المدروس وبحُسب متوسط قطر المستعمرات على كل مستنبت من المستنبتات الأربعة السابقة بـ mm (بعد 10 أيام من الزراعة في حرارة 25°م في الظلام) والنتائج مبينة في الجدول (4) والشكل (3)، وقد بيّنت هذه الدراسة أنّ مستنبت دقيق الشوفان_ آجار OMA أعطى أقصى نمو للفطر وقد كان متوسط قطر المستعمـــــرة (88.67) mm وأنّ مستنبت مستنبت تشابك(دوكس)_آجارCzA أعطى أقل نمو (60.33) mm يأتي بعد مستنبت دقيق_الشوفان_آجار OMA مستنبت بطاطا_ديكستروز_آجار PDA (86.33) mm ثمّ مستنبت مستخلص المالت_آجار MEA (74.67) mm، وقد أظهرت نتائج التحليل الإحصائي عدم وجود فروقات معنوية بين مستنبتي OMA و PDA أي لا يختلفان في تأثيرهما في نمـو الفطر *C. gloeosporioides* وأنّهما الأفضل في إعطاء أقصى نمو للفطر ؛ إذ تفوّق كل منهما على كل من مستنبتي MEA و CzA، كما بيّنت النتائج أيضاً أنّ MEA كان أفضل من CzA، هذا وقد لوحظ وجود اختلاف في النتائج التي حصل عليها الباحثون في تحديد المستنبت الأفضل لنمو هذا الفطر ؛ إذ وجد Mello وآخرون (2004) أنّ *C.gloeosporioides* أعطى أقصى نمو على OMA، أمّا Pandey وآخرون (2012b) فقد وجدوا أنّ PDA كان وسطاً مثالياً لنمو *C.gloeosporioides*، وبحسب Yee و Sariah (1993) فإنّ أفضل وسط لنمو الميسيليوم هو OMA يليه PDA ثمّ MEA وأخيراً CzA، كما وجد Tasiwal و Benag (2009) أنّ OMA يعطي أقصى نمو للفطر *C.gloeosporioides* وأنّ CzA يعطي أقل نمو له لكنهما وجدا أنّ مستنبت MEA أفضل من مستنبت PDA، قد يعود هذا الاختلاف في النتائج التي توصّل إليها الباحثون إلى اختلاف العائل الذي عزل منه الفطر أو إلى اختلاف المناطق المناخية التي تمّ العزل منها.

جدول(4): متوسط أقطار مستعمرات الفطر *C. gloeosporioides* على بعض المستنبتات الغذائية بعد 10 أيام من الزراعة.

المستنبت الغذائي	متوسط أقطار مستعمرات الفطر *C. gloeosporioides* بـ mm
دقيق الشوفان آجار (OMA)	88.67 a
البطاطا والديكستروز آجار (PDA)	86.33 a

مستخلص المالت آجار (MEA)	74.67 b
(دوكس) تشابك آجار (CzA)	60.33 c
(L.S.D 5%)	3.272



الشكل(3): متوسط قطر مستعمرات الفطر *C. gloeosporioides* على بعض المستنبتات (بعد 10 أيام من الزراعة)

الاستنتاجات والتوصيات:

الاستنتاجات:

- ينمو الفطر *C.gloeosporioides* على المستنبتات OMA ، PDA ، MEA ، CzA ، لكن يُعدّ OMA و PDA المستنبتين المفضّلين لنموه .
- يستطيع الفطر المدروس النمو في درجات الحرارة (35 , 30 , 25)°م لكن تُعدّ الدرجة 30°م هي المثالية لنموه.
- تُعدّ درجات pH (5.5، 6 ،6.5) الأفضل لنمو هذا الفطر .
- لا تؤثر الإضاءة في نمو *C.gloeosporioides* .

التوصيات:

- دراسة تأثير مستنبتات غذائية ودرجات حرارة إضافية في نمو الفطر المدروس .
- دراسة تأثير الشروط البيئية المدروسة في هذا البحث في تبوّغ الفطر *C.gloeosporioides*

المراجع:

1. أجريوس، جورج. أمراض النبات، ترجمة موسى أبو عرقوب، منشورات جامعة قاريونس، الجماهيرية العربية الليبية، 1994. 1451.
2. ADASKAVEG, J.E., and HARTIN, R.J. *Characterization of Colletotrichum acutatum isolates causing anthracnose of almond and peach in California*. Phytopathology, 87 , 1997, 979-987.
3. AFANADOR -KAFURI, L., MINZ, D., MAYMON, M. and FREEMAN, S. *Characterization of Colletotrichum isolates from tamarillo, passiflora, and mango in Colombia and identification of a unique species from the genus*. Phytopathology, 93, 2003, 579-587.
4. AGOSTINI, J.P., TIMMER, L.W. and MITCHELL, D.J. *Morphological and pathological characteristics of strains of Colletotrichum gloeosporioides from citrus*. Phytopathology,82, 1992, 1377-1382.
5. AKHTAR, K,P., JASKANI, M.J., ASIF, M., KHAN, A. *Physiological Studies on Colletotrichum gloeosporioides Penz. Causing Anthracnose of Mango and its Chemical Control*. Pakistan Journal of Biological Sciences, 2(2), 1999, 382-385.
6. BROWN, A.E., SREENIVASAPRASAD, S. and TIMMER, L.W. *Molecular characterization of slow-growing orange and Key lime anthracnose strains of Colletotrichum from citrus as C. acutatum*. Phytopathology, 86, 1996, 523-527.
7. CHOI, Y.W., HYDE, K.D. and HO, W.H. *Single spore isolation of fungi*. Fungal Diversity,3, 1999, 29-38.
8. CHUNG, K-R., SHILT, T., ERTURK, U., TIMMER, L.W., UENG,P.P. *Indole derivatives produced by the fungus Colletotrichum acutatum causing lime anthracnose and postbloom fruit drop of citrus*. FEMS Microbiology Letters, 226, 2003, 23-30.
9. FREEMAN, S., KATAN, T. and SHABI. Characterization of *Colletotrichum species responsible for anthracnose Diseases of various fruit*. Plant Disease,82 (6), 1998, 596-605.
10. HYDE, K.D., CAI, L., CANNON, P.F., CROUCH, J.A., CROUS, P.W., DAMM, U., GOODWIN, P.H., CHEN, H., JOHNSTON, P.R., JONES, E.B.G., LIU, Z.Y., MCKENZIE, E.H.C., MORIWAKI, J., NOIREUNG, P., PENNYCOOK, S.R., PFENNING, L.H., PRIHASTUTI, H., SATO, T., SHIVAS, R.G., TAN, Y.P., TAYLOR, P.W.J., WEIR, B.S., YANG, Y.L. and ZHANG, J.Z. *Colletotrichum – names in current use.* Fungal Diversity ,39, 2009, 147-182.
11. JIANG, Y.L., TAN, P., ZHOU, X.Y., HOU, X.L., WANG, Y. *Colletotrichum gloeosporioides، the causal agent of citrus anthracnose in Guizhou Province.* Plant Pathology & Quarantine, 2(1), 2012, 25–29.
12. KUBERAN, T., BALAMURUGAN،A., NEPOLEAN, P.S., VIDHYAPALLAVI, R-S THANGARAJ Beulah, T. and PREMKUMAR, R. *Effect of nutritional and abiotic factors on Glomerella cingulata causing brown blight disease in tea* (*Camellia sinensis*). Journal of Agricultural Technology, 8(5), 2012, 1703-1726.
13. KUMARA, K.L.W.and RAWAL, R.D. *Influence of carbon، nitrogen، temperature and pH on the growth and sporulation of some Indian isolates of C.gloeosporioides causing anthracnose disease of papaya (Carrica papaya L.).* Tropical Agricul. Res. Extension, 11, 2008, 7-12.

14. LAHEY, K.A., YUAN, R., BURNS, J.K.، UENG, P.P., TIMMER, L.W. and CHUNG, K-R. *Induction of Phytohormones and Differential Gene Expression in Citrus Flowers Infected by the Fungus Colletotrichum acutatum.* MPMI , 17(12), 2004, 1394-1401.
15. LILLY, V.G. and BARNETT, H.L. *Physiology of the Fungi.* McGraw Hill Book Company, Inc., New York, 1951, pp. 464.
16. LIMA, W.G., SPÓSITO, M.B., AMORIM, L., GONÇALVES, F.P., FILHO, P.A. *Colletotrichum gloeosporioides، a new causal agent of citrus post-bloom fruit drop.* Eur J Plant Pathol, 131, 2011, 157–165.
17. MELLO, A.F.S., MACHADO, A.C.Z. and BEDENDO, I.P. *Development of C. gloeosporioides isolates from green papper in different culture media، temperature and light regimes.* Scientia Agricola،(Piracicaba،Brazil). 61, 2004, 542-544.
18. PANDEY, A., YADAVA, L.P., MISHRA, R. K., PANDEY, B. K., MUTHUKUMAR, M., CHAUHAN, U.K. *Studies on The Incident and Pathogenesis of Colletotrichum gloeosporioides Penz. Causes Anthracnose of mango.* I.J.S.N, 3(2), 2012a, 220-232.
19. PANDEY, S., YADAVA, L.P., MANOHARAN, M., CHAUHAN, U.K. and. PANDEY. B.K. *Effectiveness of cultural parameters of the growth and sporulation of Colletotrichum gloeosporioides causing anthracnose disease of mango(Mangifera indica* L.). OnLine Journal of Biological Sciences, 12(4), 2012b, 123-133.
20. PERES, N.A., TIMMER, L.W., ADASKAVEG, J.E. and CORRELL, J.C. *Life styles of Colletotrichum acutatum.* Plant Disease .89 (8), 2005,:784-796.
21. PHOTITA, W., TAYLOR, P.W.J., FORD, R., Hyde, K.D. and LUMYONG, S. *Morphological and molecular characterization of Colletotrichum species from herbaceous plants in Thailand.* Fungal Diversity, 18, 2005, 117-133.
22. SANGEETHA, C.G., RAWAL, R.D. *Temperature requirement of different isolates of Colletotrichum gloeosporioides isolated from mango* .African Journal of Biotechnology، 9 (21), 2010, 3086 –3090.
23. SHI, Y., CORRELL, J.C., GUERBER, J.C. and ROM, C.R. *Frequency of Colletotrichum species causing bitter rot of apple in the southeastern United States.* Plant Dis, 80,1996, 692-696.
24. TASIWAL, V. and BENAGI, V.I. *Studies on the cultural and nutritional characteristics of Colletotrichum gloeosporioides، the causal organism of papaya anthracnose.* Karnataka J. Agricul. Sci, 22, 2009, 787-789.
25. TIMMER, L.W., BROWN, G.E. and ZITKO, S.E. *The role of Colletotrichum* spp. *in postharvest anthracnose of citrus and survival of C. acutatum on fruit.* Plant Dis, 82, 1998, 415-418.
26. YEE, M.F and SARIAH, M. *Comparative Morphology and Characterization of Colletotrichum Isolates Occurring on Cocoa in Malaysia.* Perlanika J. Of Trop. Agric. Sci, 16(1), 1993, 45-51.