

Epidemiology and Integrated Management of *Stemphylium botryosum* Walr. Causing Blight of Lentil (*Lens culinaris* Medik)

ABSTRACT

Name: Subash Subedi

Semester and year of admission: First, 2010

Major Subject: Plant Pathology

Major Advisor: Prof. Sundarman Shrestha, PhD

Id. No.: R-2010-PLP-B-01P

Degree: Doctor of Philosophy in Agriculture

Department: Plant Pathology

Series of on-station and on-farm research activities including disease survey, pathogen variability and epidemiological study along with integrated disease management approaches were attempted for lentil blight caused by *Stemphylium botryosum* Walr during 2011-2015 at Grain Legumes Research Program (GLRP), Rampur, Chitwan, for on-station experiments and in farmers field of five major lentil growing districts of Nepal for technology verification study. Most of the laboratory experiments were organized with Completely Randomized Design (CRD) maintaining 3 replications while field experiments were done in Randomized Complete Block Design (RCBD) with 4 replications in different plot sizes for different experiments. A field survey for *Stemphylium* blight of lentil was done during crop season of 2011-2013 (December – March) covering 10 farmers field each of Bara, Parsa, Rautahat, Makwanpur, Lalitpur, Chitwan, Nawalparasi, Rupandehi, Kapilbastu, Dang, Banke, Bardiya, Surkhet and Salyan districts. Lentil crop showed highly susceptible reaction to the disease at Parsa, Bara, Chitwan, Rupandehi, Kapilbastu and Banke district while susceptible reaction was marked in Dang, Nawalparasi, Bardiya, Rautahat and Makawanpur. The disease effect was mild and crop was found resistant to the disease at Salyan, Surkhet and Lalitpur respectively. The cultural and morphological variability of *Stemphylium botryosum* Walr was studied with five isolates viz. isolate 1 (Stb-I1), isolate 2 (Stb-I2), isolate 3 (Stb- I3), isolate 4 (Stb-I4) and isolate 5 (Stb-I5) collected from Parsa, Rautahat, Dang, Banke and Chitwan districts of Nepal, respectively, during 2011-2012 crop season. Single spore isolation technique was followed to isolate the pathogen. The pathogen was grow on Potato Dextrose Agar (PDA) with different temperatures and photoperiod regimes. The calibrated ocular micrometer was used to measure the length and breadth of the conidia while conidial count with sporulation intensity was attempted with hemocytometer. The mycelium color of the different isolates were varied from white, grey, brown and brownish black in peripheral part while mostly black pigmentation was

noticed in lateral part of the culture plate. The shape and texture was regular and velvety for most isolates and, in some isolate, roughly irregular shape with cottony texture was found. The higher colony diameter of 7.66 cm and conidial dimension of $29.42 \times 18.12 \mu\text{m}$ (L/B ratio-1.62) with profuse sporulation intensity (46.67 conidia /0.01 ml) was observed at 25 °C after 15 days of incubation on PDA. However, 2.84 cm diameter, $19.58 \times 9.81 \mu\text{m}$ (L/B ratio-2.00) with poor conidial density (7.60 conidia /0.01 ml) was noticed at 10 °C. The observations at 10 °C and 35 °C were at par in case of mycelia growth, conidial features and sporulation intensity. Mostly conidia of all isolates were brown in color at lower incubation temperature but they became dark grey brown at 25 °C and 30 °C and grey color was noticed when incubated at 35 °C on PDA after 15 days of incubation. The luxuriant mycelial growth of 7.87 cm, higher conidial dimension of $28.44 \times 18.68 \mu\text{m}$ (L/B ratio-1.52) and profuse conidial sporulation (52.33 conidia/0.01 ml) of *Stemphylium botryosum* Walr was recorded at alternating cycle of 8 hour light and 16 hour dark for all studied isolates while mycelial growth, conidial dimension and density of all isolates were retarded at continuous dark cycle. The color of the conidia were recorded mostly dark brown at alternating cycle of 8 hour light and 16 hour dark for all studied isolates while brownish grey at continuous dark cycle. The experiment conducted for epidemiological study during 2012-2014 showed that lentil seeds sown up to middle of November escaped the disease severity and also resulted higher yield compared to other dates. Disease severity increased with the advancement of sowing date from November 1 to December 21 with decreased yields. The trends of disease development were similar in both years. The maximum and minimum temperatures, total rainfall and sunshine hour ranging from 22.42-24.23°C (mean 23.32°C), 4.12-13.00°C (mean 8.56°C), 9.6-30.5mm (mean 24.85mm) and 200.05-309.85 hour (mean 254.95 hour) respectively were favorable for disease development. A multiple linear regression model with temperature, rainfall and sunshine hours was developed and validated to predict stemphylium blight disease severity on lentil plants. Management of plant disease successfully achieved through application of botanicals, chemicals, bio-control agents, host resistance and other different cultural control methods. Over years (2011-2013), botanicals *Acorus calamus* L. and *Xanthoxylum armatum* DC, fungicides Rovral (Iprodione 42% WP), Secure 600 (Fenamidone 10% + Mancozeb 50% WP) and Dithane M-45 (Mancozeb 75% WP) and antagonist *Trichoderma viridae* pers were effective for disease control and yield increment. From the result of poisoned food technique, extract of *A. calamus* at higher dose (8% W/V) from botanicals and Rovral and Krilaxyl (Metalaxyl 8%+ Mancozeb 64%

WP) from fungicides at lower dose (500 ppm) checked the pathogen growth completely *invitro*. On 5th day of incubation period, mycelium growth of the pathogen was collapsed due to fungal antagonist *T. viridae* in dual culture technique. The percent mycelial growth inhibitions by *X. armatum* (8% W/V) and Secure 600 (2000 ppm) on PDA was 31.17 % and 93.03%, respectively. In field, botanicals and bio-control agents were sparingly effective for a short period. Percent disease control (PDC) was higher in *A.calamaus* (46.60%) and *X. armatum* (46.26%) at (8% W/V) compared to unsprayed plot. Higher percent yield increase (PYI) was obtained from Rovral (91.21%), Secure 600 (71.28%) and Dithane M- 45 (69.05%) @ 2 g/l of water over control. The lower Percent Disease Index (PDI) was also observed in Rovral (29.70%), Secure 600 (33.03%) and Dithane M-45 (36.00%). The PDC and PYI were higher in soil applied *T. viridae* (PPD isolate) @ 150 gm/6m² plot i.e. 42.14% and 58.80% respectively. Out of 72 lentil genotypes screened, Black masuro, Bari Masoor-4, ILL 1704, Bari Masoor-6, RL-79, RL-62 and X 94543 were found highly resistant to the disease. Early shown lentil (November 1, 6 and 11) escaped the incidence of Stemphylium blight with the increase in yield. The higher percent disease control of lentil stemphylium blight (52.77%) along with increase in lentil yield (125.75%) were recorded from the plot practiced with recommended seed rate (30 kg/ha) with hydro priming (8 hour) of seed and fertilizer doze of (20:40:20 NPK Kg/ha plus 1 kg/ha Boron as a basal doze) as compared to farmers' practice (Higher seed rate 90 kg/ha only). From the technology verification study, the higher crop yield (1142.50 kg/ha) with lower disease index (34.95%) and higher benefit cost ratio of 2.42 were recorded in the farmers' fields of Banke district who followed recommended practice of cultivation which included recommended seed rate (30 kg/ha) of 8 hour primed improved variety (Black lentil) cultivated with fertilizer doze of (20:40:20 NPK Kg/ha + 1 kg/ha B basal doze) and subsequent 3 sprays of Dithane M-45 @ 2.5 gm/liter of water at 10 days interval during vegetative stage in second year of experimentation while farmers' fields from same district were recorded with higher disease index (73.57%) with lower crop yield (260.00 kg/ha) and lower benefit cost ratio of 0.97 who followed their own practice of cultivation during first year of experimentation.

**मसुरोमा स्टेमफाइलीयम बोट्रायोजम वालर्ल मार्फत लाग्ने डहुवा रोगको माहामारी र सो को एकीकृत रोग व्यवस्थापन
सम्बन्धी अध्ययन
शोध सार**

नाम : सुवाश सुवेदी
सत्रान्त तथा भर्ना वर्ष : पहिलो, २०१०
मुख्य बिषय : वाली रोग बिज्ञान
मुख्य सल्लाहकार : प्रा.डा. सुन्दरमान श्रेष्ठ

परिचय पत्र नः आर.-२०१०-पी.एल.पी.-बी.-०१-पी.
उपाधि : कृषि विधावारिधि
बिभाग : वाली रोग बिज्ञान

मसुरोमा स्टेमफाइलीयम बोट्रायोजम वालर्ल नामक दुसी वाट लाग्ने डहुवा रोगको माहामारी साथै एकीकृत रोग व्यवस्थापन सम्बन्धी अध्ययन गर्ने हेतु सन् २०११ देखि २०१५ सम्म अनुसन्धान केन्द्रहरूमा गरिने परिक्षण चितवनको कोसेवाली अनुसन्धान कार्यक्रम, रामपुरमा र प्रविधि प्रमाणिकरण सम्बन्धी अनुसन्धानका कार्यहरू नेपालका मुख्य मसुरो उत्पादन हुने पाँच वटा जिल्लाका कृषकहरूको खेतवारीमा सम्पन्न गरिएको थियो। प्रायजसो प्रयोगशालासम्बन्धि परिक्षणहरू पूर्ण रेडमाइज्ड ढाँचा (सी.आर.डी.) मा ३ पटक दोहोर्‍याइ साथै खेतवारीमा सम्पन्न गरिएका परिक्षणहरूको हकमा भने परिक्षण पिच्छे, फरक फरक प्लट आकारहरूमा पूर्ण रेडमाइज्ड ब्लक ढाँचा (आर.सी.बी.डी.) मा ४ पटक दोहोर्‍याइ गरिएको थियो। सन् २०११ देखि २०१३ को डिसेम्बर देखि मार्च सम्म नेपालका चौध जिल्लाका प्रत्येक १० जना कृषकहरूको खेतवारीमा लगाएको २ सीजन मसुरो खेतिमा गरिएको स्टेमफाइलीयम डहुवा रोगको सर्वेक्षणको नतिजा अनुसार पर्सा, वाराणसी, चितवन, रुपन्देहि, कपिलवस्तु र बाँके जिल्लाका कृषकहरूको खेतवारीमा लगाएको मसुरो खेतिमा उक्त डहुवा रोगको माहामारी भयावह रूपमा भएको पाइयो भने दाङ्ग, नवलपरासी, बर्दिया, रौतहट र मकवानपुरमा कमशः मसुरोको विरुवाहरू उल्लेख्य रूपमा रोगको प्रकोपबाट संक्रमित भएको पाइयो। सल्यान, सुर्खेत र ललितपुरको हकमा भने रोगको प्रभाव कम भएको पाइयो। रोग कारक दुसीको संरचनात्मक र शुष्म शारीरिक बनावट अध्ययनको नतिजा अनुसार दुसीको प्रारम्भिक संरचना (माइसेलियम)को रङ्ग विभिन्न प्रजाति अनुसार सेतो, धुमिलो, खैरो देखि खैरो कालो मिश्रित भएको पाइयो। धेरैजसो दुसीहरू वृद्धि गरिएको प्लेटको पछाडिको भागमा कालोरङ्गको पीगमेन्ट देखा परेको थियो। प्रायजसो प्रजातिको माइसेलियमको आकृति र बनावट नियमित साथै मखमली प्रकारको भएको पाइयो भने केहि प्रजातिको वृद्धि अनियमित साथै कपास जस्तो रूपमा पाइयो। विभिन्न तापक्रमहरू मध्ये, इन्कुबेटरमा २५ डिग्री सेन्टिग्रेड तापक्रममा, १५ दिनको अवधिसम्म पी.डी.ए. मा वृद्धि गरि हेर्दा स्टेमफाइलीयम बोट्रायोजम दुसीको सवैजसो प्रजातिहरूको माइसेलियमको वृद्धि बढि (औषत कोलोनी व्यास ७.६६ से.मी.) भएको पाइयो साथै सवैजसो प्रजातिहरूको कोनीडियाको अधिकतम औषत आयाम (लम्बाइ × चौडाइ - २९.४२ × १८.१२ माइक्रोन) साथै कोनीडियाको अधिकतम औषत घनत्व (४६.६७ कोनीडिया/०.०१ एम.एल.) भएको पाइयो। तर इन्कुबेटरमा १० डिग्री सेन्टिग्रेड तापक्रममा, सोही अवधिसम्म पी.डी.ए. मा वृद्धि गरि हेर्दा, उक्त दुसीको सवैजसो प्रजातिहरूको माइसेलियमको वृद्धि उल्लेख्य रूपमा कम (औषत कोलोनी व्यास २.८४ से.मी.) भएको पाइयो साथै सवैजसो प्रजातिहरूको कोनीडियाको न्यूनतम औषत आयाम (लम्बाइ × चौडाइ - १९.५८ × ९.८१ माइक्रोन) साथै कोनीडियाको न्यूनतम औषत घनत्व (७.६० कोनीडिया/०.०१ एम.एल.) भएको पाइयो। इन्कुबेटरमा १५ दिनको अवधिसम्म पी.डी.ए. मा वृद्धि गरि हेर्दा, न्यूनतम तापक्रममा दुसीको सवैजसो प्रजातिहरूको कोनीडियाको रङ्ग खैरो देखियो भने २५ र ३० डिग्री सेन्टिग्रेड तापक्रममा कडा धुमिलो-खैरो र ३५ डिग्री सेन्टिग्रेड तापक्रममा धुमिलो रङ्ग देखियो। दुसीको संरचनात्मक र शुष्म शारीरिक बनावटमा विभिन्न प्रकाश अवधिमा दुसीको प्रजातिहरूको वृद्धि गर्दा हुने प्रभाव सम्बन्धि अध्ययनको नतिजा अनुसार, विभिन्न प्रकाश अवधिहरू मध्ये, इन्कुबेटरमा ८ घण्टा उज्यालो र १६ घण्टा अंधारोको प्रकाश-अवधि चक्रमा, २५ डिग्री सेन्टिग्रेड तापक्रममा, १५ दिनको अवधिसम्म पी.डी.ए. मा वृद्धि गरि हेर्दा स्टेमफाइलीयम बोट्रायोजम दुसीको सवैजसो प्रजातिहरूको माइसेलियमको वृद्धि बढि (औषत कोलोनी व्यास ७.८७ से.मी.) भएको पाइयो साथै सवैजसो प्रजातिहरूको कोनीडियाको अधिकतम औषत आयाम (लम्बाइ × चौडाइ - २८.४४ × १८.६८ माइक्रोन), साथै कोनीडियाको अधिकतम औषत घनत्व (५३.३३ कोनीडिया/०.०१ एम.एल.) भएको पाइयो। तर अंधारोमा मात्र वृद्धि गरिएका दुसीको प्रजातिहरूको हकमा भने माइसेलियमको आकार, कोनीडियाको आयाम र घनत्वमा उल्लेख्य रूपमा कम भएको पाइयो। सन् २०१२ देखि २०१४ सम्म संचालित स्टेमफाइलीयम डहुवा रोगको माहामारीमा मसुरो छर्ने समय र वातावरणीय कारक तत्वहरूको प्रभाव सम्बन्धि अध्ययनको नतिजा अनुसार, अन्य समयमा छरेको मसुरोमा भन्दा नोभेम्बर महिनाको १५ गते सम्म छरेको मसुरोमा रोगको संक्रमण कम भएको पाइयो भने उत्पादन पनि बढेको पाइयो। नोभेम्बर १ देखि डिसेम्बर २१ को अन्तरालमा विभिन्न अवधीमा छरेको मसुरोमा हेर्दा छर्ने समयमा जति ढिला हुँदै गयो, रोगको प्रकोप पनि बढ्ने र उत्पादन पनि संगसंगै घटेको देखियो। मसुरोमा लाग्ने स्टेमफाइलीयम डहुवा रोगको प्रकोपको भविष्यमा आंकलन गर्ने उद्देश्यले मसुरो छर्ने समय (रोगको प्रकोप देखा पर्ने अवधि) र वातावरणीय कारक तत्वहरू (तापक्रम, वर्षा र सूर्यको प्रकाश अवधि) को प्रभाव सम्बन्धि अध्ययनको तथ्यांकिय आंकडाको प्रयोग गरि रोगको अभिसुचक प्रतिशत आंकलन गर्ने एउटा गणीतिय मल्टीपल लिनियर रीग्रेसन मोडेलको विकास गरी यसको वैधता सम्बन्धि अध्ययन गर्दा उक्त मोडेलले सन्तोषजनक रूपमा काम गरेको पाइयो। वानस्पतिक, रसायनिक विषादी, जैविक दुसि, रोग अवरोधक अनुज्ञातहरूको खेति साथै अन्य कृषि कर्मको माध्यमबाट मसुरोमा लाग्ने स्टेमफाइलम डहुवा रोगको एकीकृत व्यवस्थापन हेतु संचालीत विभिन्न अनुसन्धानात्मक कृयाकलापहरूको नतिजालाई हेर्दा वनस्पति तर्फ बोभो (वैज्ञानिक नाम : एकोरस कालामस एल.) र टीमुर (वैज्ञानिक नाम : ज्यान्थोजाइलम अर्माटम डी.सी.), रसायनिक विषादी तर्फ रोभरल (इप्रोडियोन ४२ % डब्लु.पी.), सेक्युर ६०० (फेनामीडोन १०% + म्यान्कोजेब ५०% डब्लु.पी.) र डाइथेन एम. ४५ (म्यान्कोजेब ७५%

डब्लु.पी.) साथैजैविक हुसि तर्फ ट्राइकोडर्मा भिरिडी पर्स. रोग व्यवस्थापन संगसंगै उत्पादन वृद्धिको हिसावले प्रभावकारी सिद्ध भएको पाइयो । प्रयोगशालामा गरीएको (विशाक्त खाद्य प्रविधि) परिक्षणमा वनस्पति तर्फबाट वोभोको पानी मिश्रित सार तत्व को अधिकतम मात्रा (८ %डब्लु./भी.) र रसायनिक विषादीको तर्फबाट रोभरल र क्रिल्याक्सिल (मेटलएक्सिल ८% + म्यान्कोजेव ६४% डब्लु.पी.)को न्यूनतम मात्रा(५०० पी.पी.एम.) ले रोग कारक हुसिकोवृद्धि पूर्ण रुपमा रोकी हुसिलाइ मारेको पाइयो । जैविक हुसि र रोग कारक हुसि एकैसाथवृद्धि गर्ने प्रविधि (ड्यूल कल्चर टेक्निक) को नतिजा अनुसार उष्मायन अवधिको पांचौ दिनमानै जैविक हुसि ट्राइकोडर्मा भिरिडी पर्स. ले रोग कारक हुसिस्टेमफाइलीयम बोट्रायोज्म वाल्कोमाइसेलियम लाइ पूर्ण रुपमा छोपी हुसिको वृद्धि रोक्न सफल भएको पाइयो । विशाक्त खाद्य प्रविधि परिक्षणमा वनस्पति तर्फबाट प्रयोग भएको टीमुरको पानी मिश्रित सार तत्व को अधिकतम मात्रा (८ %डब्लु./भी.) कोहुसिको माइसेलियम वृद्धि निसेध प्रतिशत ३१.१७% पाइयो भने रसायनिक विषादी तर्फ सेक्युर ६००को अधिकतम मात्रा (२००० पी.पी.एम.) को ९३.०३ % पाइयो । खेतवारीमा गरिएको परिक्षणमा, वानस्पतिक विषादीहरु र जैविक हुसिहरु रसायनिक विषादी भन्दा मसुरोको डडुवा रोग विरुद्ध सामान्य रुपमा मात्रै प्रभावकारी सिद्ध भएको पाइयो । केहि उपचार नगरिएको प्लटमा भन्दा वोभो र टिमुर (८ %डब्लु./भी.) द्वारा उपचारित प्लटमा सवैभन्दा बढि (क्रमशः ४६.६०% र ४६.२६ %) रोग नियन्त्रण प्रतिशत रहेको पाइयो ।त्यसैगरी रसायनिक विषादीको हकमा, उत्पादनमा वृद्धि प्रतिशत भने, रोभरल (इप्रोडियोन ४२ % डब्लु.पी.), सेक्युर ६०० (फेनामीडोन १०% + म्यान्कोजेव ५०% डब्लु.पी.) र डाइथेन एम. ४५ (म्यान्कोजेव ७५% डब्लु.पी.) १ लीटर पानीमा २ ग्राम विषादी राखी उपचार गरेको प्लटहरुमा केही पनि नछरेको (कन्ट्रोल प्लट) मा भन्दा क्रमशः ९१.२१, ७१.२८ र ६९.०५ % बढी भएको पाइयो भने सवैभन्दा कम रोगको अभिसुचक प्रतिशत पनि उक्त रसायनिक विषादीहरु छरेको प्लटमाक्रमशः २९.७०, ३३.०३ र ३६.०० % भएको पाइयो । जैविक हुसिको हकमा,ट्राइकोडर्मा भिरिडि (पि.पि.डी. आइसोलेट) १५० ग्राम प्रति ६ वर्ग मिटर प्लटमा मसुरोको विउ लगाउने समयमा माटोमा मिसाइ उपचारित प्लटमा रोग नियन्त्रण प्रतिशत र उत्पादनमा वृद्धि प्रतिशत दुवै सवैभन्दा बढि(क्रमशः ४२.१४% र ५८.८० %)भएको पाइयो । रामपुरको स्टेमफाइलीयम डडुवा रोगको छनौट नर्सरीमा समावेश गरिएका ७२ अनुजातहरु मध्ये सितललाई रोग सहन नसक्ने र आइ. एल. एल. ७९६४ लाई रोग अवरोधकको रुपमा प्रयोग गरिएको थियो । नतिजालाई हेर्दा रोग अवरोधक अनुजातमा क्रमशः कालो मसुरो, बारी मुसुरो ४,आइ.एल.एल १७०४, बारी मुसुरो ६,आर.एल. ७९ र आर.एल. ६२ भएको पाइयो । त्यस्तै अर्को एक अनुसन्धानमा, नोभेम्बर महीनाको सुरुवाती समय (नोभेम्बर १, ६ र ११) मा छरेको मसुरोमा डडुवा रोगको संक्रमण कम साथै उत्पादनमा पनि वृद्धि भएको पाइयो ।विभिन्न खेति गर्ने अभ्यास र कृषि कर्मको माध्यमबाट मसुरोमा लाग्नेस्टेमफाइलीयम डडुवा रोगको व्यवस्थापन हेतु सम्पन्न गरिएको परिक्षणको नतिजा अनुसार, सिफारिस विउ दर (३० के.जी. प्रति हेक्टर)+ ८ घण्टा पानीमा भिजाइ छांयामा सुकाएको विउ + सिफारिस मलखादको मात्रा (२०:४०:२० नाइट्रोजन फस्फोरस पोटासके.जी. प्रति हेक्टर+ १ के.जी. वोरोन प्रति हेक्टर) ले उपचारीत प्लटमा किसानले खेति गर्ने अभ्यास (वढी विउ दर ९० के.जी. प्रति हेक्टर)को प्रयोग मात्र गरेको प्लटमा भन्दा रोग नियन्त्रण प्रतिशत र उत्पादनमा वृद्धि प्रतिशत दुवै सवैभन्दा बढि(क्रमशः ५२.७७% र १२५.७५ %)भएको पाइयो । प्रविधि प्रमाणिकरण परिक्षणको नतिजा अनुसार बाँके जिल्लाका कृषकहरु जसले सिफारिस गरिएको मसुरो खेति प्रविधि (सिफारिस विउ दर ३० के.जी. प्रति हेक्टर+ ८ घण्टा पानीमा भिजाइ छांयामा सुकाएको विउ + सिफारिस मलखादको मात्रा २०:४०:२० नाइट्रोजन फस्फोरस पोटासके.जी. प्रति हेक्टर+ १ के.जी. वोरोन प्रति हेक्टर + हुसिनासक विषादी डाइथेन एम. ४५ (म्यान्कोजेव ७५% डब्लु.पी.) १ लीटर पानीमा २.५ ग्राम विषादी राखीमसुरोमा डडुवा रोग देखिएको प्रारम्भिक समयदेखि लगातार १० दिनको फरकमा ३ पटक छर्ने) अनुसार खेति गरे उनीहरुको खेतवारीमा प्रविधि प्रमाणिकरण परिक्षणको दोश्रो वर्षमा सवैभन्दा बढिमसुरोको उत्पादन (११४२.५० के.जी. प्रति हेक्टर), सवैभन्दा कम रोग अभिसुचक प्रतिशत (३४.९५%) र उच्च नाफा खर्चको अनुपात (२.४२) पाइयो ।