مجله حفاظت گیاهان (علوم و صنایع کشاورزی)
جلد ۲۳، شماره ۱، نیمسال اول ۱۳۸۸، ص ۸-۱

Journal of Plant Protection
Vol. 23, No. 1, Spring-Summer 2009, p.1-8

معرفی قارچ‌های بیماریزای اسکلرت‌دار برنج در استان گیلان

سمیه جانی پور[۱] - سید اکبر خداپرست[۲*] - سید علی الهی نیا[۳] - فریدون پاداشت[۴]

تاریخ دریافت: ۸۵/۴/۲۵
تاریخ پذیرش: ۸۷/۱۰/۲۵

چکیده

قارچ‌های اسکلرت‌دار یک گروه از بیمارگرهای مهم برنج هستند. گونه *Rhizoctonia solani* عامل سوختگی غلاف برنج از نظر اقتصادی یکی از مهمترین قارچها است که به دامنه وسیعی از گیاهان حمله می‌کند. پوسیدگی ساقه ناشی از *Magnaporthe salvinii* نیز با شدت‌های متفاوتی در استان گیلان رخ می‌دهد. در این تحقیق از مناطق مختلف استان گیلان ۱۴۱ نمونه مشکوک به آلودگی به بیماری‌های منتسب به قارچ‌های اسکلرت‌دار برنج جمع‌آوری و مورد بررسی قرار گرفتند و در نهایت چهار گونه قارچ به نام‌های *Magnaporthe salvinii* (Catt.) Krause & Webster (با آنامورف *Nakataea sigmoidea* (Cavara) Hara)، *Sclerotium hydrophilum* Sacc.، *Rhizoctonia solani* Kühn، و *Rhizoctonia oryzae- sativae* (Saw.) Mordue شناسایی شدند که گونه *S. hydrophilum* به‌عنوان گونه جدید برای فلور قارچ‌های ایران و گونه *R. oryzae- sativae* به‌عنوان گونه جدید بیماریزا از گیلان گزارش می‌شوند. *R. solani* و *Magnaporthe salvinii* قبلا از استان گیلان گزارش شده بودند. اگرچه گونه *S. hydrophilum* در برخی مناطق برنج خیز دنیا به عنوان بیمارگر روی برنج معرفی شده است اما توان بیماریزایی آن با مایه‌زنی بوته‌ها بر اساس اصول کخ و در شرایط آزمایشگاه توسط این قارچ اثبات نشد. نتایج آزمون‌های بیماریزایی برای سه گونه دیگر، بیماریزایی آنها را روی برنج به اثبات رساند.

واژه‌های کلیدی: قارچ، اسکلرت، برنج، عامل بیماریزا، *Sclerotium* ، *Rhizoctonia*

مقدمه

تعدادی ازقارچ‌های اسکلرت‌دار جزء قارچ‌های مهم بیماریزا در برنج می‌باشند. سوختگی غلاف برگ برنج ناشی از قارچ *Rhizoctonia solani* Kühn یکی از این بیماری‌ها است که از نظر بیماریزایی و زیان اقتصادی در درجه دوم اهمیت بعد از بلاست قرار دارد. این بیماری به عنوان یک عامل بازدارنده در توسعه ارقام پر محصول محسوب شده و خسارت بیماری در استان گیلان قابل توجه می باشد (۱).

بیماری سوختگی غلاف برگ برنج اولین بار از ژاپن گزارش شد ولی به دنبال آن از کشورهایی نظیر فیلیپین، سریلانکا عامل بیماری معرفی شد و سریع در بسیاری از کشورهای آسیایی استقرار یافت (۱۶، ۲۱). این بیماری ابتدا به طور پراکنده در مازندران و سپس در گیلان دیده شد (۱، ۳). با توسعه کشت ارقام پر محصول برنج که حساسیت زیادی به این بیماری دارند به تدریج میزان آلودگی بیماری در مزارع بالا رفت به طوری که در سال ۱۳۶۱ در مزارع برنج حومه بابل و آمل بیماری اهمیت ویژه‌ای پیدا کرد و به عنوان یک بیماری مهم برنج در ایران به حساب آمد (۳).

بیماری لکه موجی برنج (*Rhizoctonia oryzae- sativae* (Saw.) Mordue))، یکی دیگر از بیماری‌های اسکلرت‌دار برنج است که اولین بار توسط ساوادا در سال ۱۹۲۲ از تایوان گزارش گردید و قارچ عامل آن *Sclerotium oryzae- sativae* نامیده شد، ولی قبلا از ژاپن، ویتنام، چین گزارش شده بود (۱۷). اوگوشی و همکاران (۱۴) این بیماری را تحت نام بیماری اسکلرت دار

۱و۲و۳- به ترتیب دانشجوی سابق کارشناسی ارشد، استادیار، استاد، گروه گیاهپزشکی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه گیلان
(*- نویسنده مسئول Email: khodaparast@guilan.ac.ir)
۴- محقق موسسه تحقیقات برنج کشور ، رشت ، ایران

Archive of SID
www.SID.ir

قهوه‌ای یا لکه موجی گزارش کردند.

این بیماری در ایران برای اولین بار در سال ۱۹۸۶ از ساری گزارش شده است (۱۸). فروتن و رحیمیان (۵) با نمونه برداری از مناطق مختلف مازندران میزان گسترش این گونه را با گونه *Rhizoctonia solani* Kühn مقایسه کرده‌اند. بر این اساس گونه *R. oryzae- sativae* در بعضی از مناطق نمونه برداری شده پراکنده بوده در حالیکه *R. solani* در همه مناطق نمونه برداری مشاهده شده است.

یکی دیگر از بیماری‌های مهم برنج، پوسیدگی ساقه با عامل *Magnaporthe salvinii* (Catt.) Krause & Webster است، که یکی از شایع ترین عوامل قارچی بیماریزا در اکثر کشورهای تولید کننده برنج و از عوامل مهم کاهش دهنده محصول می‌باشد (۶). این بیماری با شدت‌های مختلف در اکثر مزارع استان گیلان وجود دارد و باعث بروز خسارت روی ارقام محلی و ارقام اصلاح شده می‌گردد (۴). بهروزین و اسدی (۲) در سال ۱۳۷۲ وجود این قارچ را از مزارع آذربایجان شرقی گزارش نمودند. این قارچ به علت تولید سختینه فراوان در سطح محیط غذایی و درون ساقه برنج، تحت نام *Sclerotium oryzae* Catt. نیز گزارش شده است (۱۶).

گونه دیگری از قارچهای اسکلرت‌دار به نام *Sclerotium hydrophilum* Sacc. برای اولین بار از ژاپن روی برنج گزارش شد. علاوه بر برنج (*Oryza sativa* L.)، برنج وحشی (*Zizania aquatica* L.) هم توسط این قارچ آلوده می‌شود (۱۳).

تحقیقات زیادی در سال‌های اخیر در ارتباط با این قارچها به ویژه گونه *R. solani* انجام شده است (۸، ۹،۱۱،۲۰،۲۱ و ۲۳). گولریا و همکاران (۸) تنوع مورفولوژیکی و بیماریزایی ۱۹ جدایه از *R. solani* را بررسی کرده‌اند و نتیجه گرفته‌اند که ارتباطی بین جدایه‌ها با شباهت مورفولوژیک و بیماریزایی آنها وجود ندارد. جانسون و همکاران (۹) با توجه به وجود مشکلاتی که در ارتباط با تشخیص دقیق مجموعه گونه‌های عامل سوختگی غلاف برنج شامل *R. solani*، *R. oryzae* و *R. oryzae- sativae* وجود دارد اقدام به طراحی پیرایمرهای اختصاصی برای تشخیص دقیق نموده‌اند که این پرایمرها توانسته‌اند به خوبی این گونه‌ها را از هم متمایز سازند. یکی از تحقیقات جامع در این ارتباط مطالعه شارون و همکاران (۲۱) است که اقدام به طبقه‌بندی تعدادی از گونه‌های *Rhizoctonia* با استفاده از توالی یابی دی ان آی ریبوزومی کرده‌اند و بر اساس آن نتیجه گرفته‌اند که بین گروه‌های آناستوموزی و توالی دی ان آی ریبوزومی ارتباط مناسبی وجود دارد. علایم ایجاد شده توسط برخی از این قارچها به ویژه در مراحل اولیه ممکن است با هم شباهت زیاد داشته باشند و تشخیص را مشکل سازد. اگرچه تشخیص مورفولوژیکی بیمارگرهای مرتبط با این بیماری‌ها نیز مشکل است اما در صورت توصیف دقیق و دسترسی به خواص میکروسکوپی امکان‌پذیر است. نظر به اهمیت و فراوانی قارچ‌های اسکلرت‌دار در مزارع برنج و عدم دسترسی به اطلاعات جامع از پراکندگی و اهمیت گونه‌ها و همچنین بازنگری تاکسونومیک گونه‌ها این مطالعه در استان گیلان انجام شده است.

مواد و روش‌ها

جمع‌آوری نمونه و جداسازی قارچها

جهت بررسی قارچهای بیماریزای برنج، در تابستان سال‌های ۱۳۸۳و ۱۳۸۴ ضمن بازدید از مزارع برنج استان گیلان، ۱۴۱ نمونه شامل غلاف برگ و ساقه از ارقام مختلف برنج که علائم مشکوک به بیماری‌های منتسب به قارچهای اسکلرت‌دار را نشان می‌دادند، از روی ارقام مختلف برنج جمع آوری و به آزمایشگاه منتقل گردیدند. قسمت‌های آلوده گیاهان که علائم مشکوک به بیماری‌های اسکلروتیومی را نشان می‌دادند در زیر شیر آب کاملا شسته شده، به قطعاتی به اندازه ۱– ۰/۵ سانتی‌متر بریده شدند. این قطعات به مدت ۳–۲ دقیقه در محلول وایتکس ۱۰ درصد (محلول تجارتی ۰/۵ درصد هیپو کلریت سدیم) ضد عفونی سطحی شدند و در محیط کشت آب آگار دو در صد (WA) و PDA و در انکوباتور با دمای ۲۵ $^{\circ}$c قرار گرفتند. برای جلوگیری از رشد باکتری‌ها از آنتی‌بیوتیک سولفات استرپتومایسین به میزان ۱۰mg/lit و یا اسید لاکتیک ۲۵ درصد (به میزان یک قطره به ازای ۲۰ml از محیط کشت) استفاده گردید. پس از چند روز قطعات مورد بررسی قرار گرفتند تا در صورت مشاهده اندام‌های قارچی، خالص سازی شوند. نمونه‌های جداشده در دمای ۲۷ $^{\circ}$c به‌مدت ۳ تا ۵ روز نگهداری شدند. از قارچهای رشد یافته، کشت نوک ریسه تهیه و روی سطح محیط غذائی مصنوعی PDA کشت داده شد.

شناسایی قارچها

قارچهای جدا شده در دمای ۲۷ $^{\circ}$c رشد داده شدند و سپس بررسی مرفولوژی پرگنه، مشخصات اسکلرت شامل شکل، ساختار داخلی و ابعاد اسکلروت، شمارش هسته، اندازه گیری قطر ریسه انجام گرفت. در مورد قارچ *Magnaporthe salvinii* با استفاده از تیغه اسکالپل به آرامی روی قسمت سطحی محیط خراش داده شد و اسکلروت‌هایی را که در سطح محیط تشکیل شده بودند جمع آوری گردیدند. این اسکلروت‌ها به منظور خشک شدن به مدت ۴۸ ساعت در معرض هوای آزاد قرار گرفتند. برای وادار نمودن قارچ به اسپوردهی اسکلروت‌های قارچ به مدت ۲ تا ۳ دقیقه در محلول

Archive of SID

www.SID.ir

هیپوکلریت سدیم ۰/۵ درصد ضد غفونی سطحی شده و سپس با آب مقطر سترون شستشو و روی کاغذ صافی سترون خشک شدند. اسکلروت‌ها آنگاه روی محیط کشت آب آگار ۲ ٪ حاوی آنتی بیوتیک‌های سولفات استرپتومایسین و پنیسیلین G به میزان ppm ۳۰۰ از هر کدام، درون تشتک پتری کشت شدند. تشتک‌ها تحت شرایط نور ثابت لامپ‌های مهتابی ۴۰ وات (ارتفاع ۳۰ سانتی‌متر) و دمای اتاق، به مدت ۱۴ روز قرار گرفتند. بعد از این کنیدیوم و کنیدیوفور قارچ در سطح اسکلرت‌ها ظاهر شده، با روش تک اسپور کردن، قارچ خالص گردید (۱۰).

اندازه گیری ابعاد اسکلرت‌های تشکیل شده در محیط کشت با کمک میکروسکوپ یا استریو میکروسکوپ مجهز به عدسی مدرج و در بعضی مواقع به علت بزرگی آنها با خط کش تعیین شد. تعداد هسته‌ها پس از رنگ آمیزی با محلول رنگی سافرانین- او انجام گرفت (۱۹). سایر خصوصیات با استفاده از میکروسکوپ نوری المپیوس مدل BH2 بررسی گردیدند. شناسایی قارچ‌های به دست آمده با مقایسه مشخصات مورفولوژیک آنها با شرح این قارچ‌ها در منابع قابل دسترس شامل اسنه و همکاران (۱۹)، موردو (۱۲)، پانتر و همکاران (۱۷)سدونو و همکاران (۷)، کراس و وبستر (۱۰) و اونیکی و همکاران (۱۵) انجام گرفت.

بررسی بیماریزایی

ارزیابی توان بیماریزایی گونه‌ها با پیروی از اصول کخ انجام شد. برای این منظور، ابتدا اسکلروت‌های قارچ‌ها به میزان فراوان با استفاده از محیط کشت برنج- پوسته برنج طبق روش کراوس و وبستر (۱۰) و نیز محیط غذایی PDA تولید شدند. در این روش قارچ روی ترکیبی شامل پوسته برنج (سه قسمت)، دانه برنج (یک قسمت) رشد داده شد. برای تهیه نشاهای برنج، بذور دو رقم بینام و هاشمی، پس از شستشو به مدت یک شبانه روز در آب خیسانده شده، سپس با وایتکس تجارتی (به غلظت ۲۰٪) به‌مدت ۱۰ دقیقه ضدعفونی و مجددا شستشو شدند. بذور داخل پارچه مرطوب و در انکوباتور با دمای ۲۸°c به مدت ۳-۲ روز نگهداری شدند. بذرهای جوانه زده در سطح خاک گلدان‌های پلاستیکی به حجم تقریبی ۱ لیتر که حاوی مخلوطی از خاک زراعی (مخلوط خاک غیر مزرعه برنج و ماسه به نسبت ۱:۱) بودکشت گردیدند. نشاهای ۲۵ روزه به سطل‌های پلاستیکی با قطر دهانه ۲۶ و ارتفاع ۲۱ سانتی‌متر که ۲/۳ حجم آن‌ها با مخلوطی از خاک زراعی (مخلوط خاک غیر مزرعه برنج و ماسه به نسبت۱:۱) پر شده بودند منتقل شدند. در هر سطل ۶ نشا سالم کشت شد. یک هفته پس از انتقال، نشاهای ضعیف حذف و ۴ نشا در هر گلدان باقی ماند. برای ایجاد شرایط ماندابی ته هیچ‌کدام از سطل‌ها برای ایجاد زهکش سوراخ نگردید. کود دهی در دو مرحله، یکی در مرحله نشا و دیگری در مرحله شروع پنجه زنی، هر بار به میزان ۰/۵ گرم کود اوره در هر سطل انجام شد. برای مایه زنی ۵ گرم از مایه تهیه شده (مخلوط پوسته، دانه برنج و ریسه قارچ) داخل گاز استریل به ابعاد ۱۵ × ۱۵ سانتی‌متر بسته‌بندی شد و سپس در بین پنجه‌های گیاه در مرحله حداکثر پنجه‌زنی قرار داده شد. برای هر روش مایه زنی تعداد ۸ عدد سطل در نظر گرفته شد که ۴ عدد شاهد و ۴ عدد به‌عنوان تیمار بودند. در صورت ظهور علایم، مجددا بافت‌های آلوده کشت داده شدند و نسبت به جداسازی قارچ ایجاد کننده علایم اقدام شد. در صورتی که قارچ مایه‌زنی شده اولیه از بافت‌های آلوده به دست آمدند قدرت بیماریزایی آن گونه مثبت ارزیابی شد.

نتایج و بحث

شناسایی گونه‌ها

در این تحقیق نمونه‌های آلوده به بیماری‌های منتسب به قارچ‌های اسکلرت‌دار از مناطق مختلف استان گیلان و از روی برنج مورد بررسی قرار گرفتند و چهار گونه قارچ به نام‌های *Magnaporthe salvinii* (Catt.) Krause & Webster (با آنامورف *Sclerotium orysae* Catt. یا Hara (Cavara) *Nakataea sigmoidea*)، *Sclerotium hydrophilum* Sacc.، *Rhizoctonia solani* Kühn و *Rhizoctonia oryzae- sativae* (Saw.) Mordue شناسایی شدند، که گونه *S. hydrophilum* به‌عنوان گونه جدید برای فلور قارچ‌های ایران و گونه *R. oryzae-sativae* به‌عنوان گونه جدید بیماریزا از گیلان گزارش می‌شوند. *R. solani* و *Magnaporthe salvinii* قبلا از استان گیلان گزارش شده بودند. در ادامه ضمن توضیح مختصر در مورد هر گونه یک کلید تشخیص برای شناسایی گونه‌های اسکلرت دار روی برنج تهیه شده است.

***Rhizoctonia solani* Kühn**

رنگ کلنی در ابتدا بیرنگ بوده و بعدا به رنگ کرم مایل به قهوه‌ای تا قهوه‌ای تغییر می یابد. اسکلرت‌ها به فراوانی هم در سطح محیط کشت و هم در سطح زیرین درب تشتک پتری تشکیل می‌شوند. رنگ اسکلرت‌ها در ابتدا سفید بوده و سریعا به رنگ قهوه‌ای تا قهوه‌ای تیره در می‌آیند. اسکلرت‌ها غالبا به‌صورت منفرد تشکیل می‌شوند ولی در مواردی تعدادی از آن‌ها به‌هم چسبیده بوده و اجتماعات اسکلروتی را در مرکز و در اطراف مایه اولیه و یا در اطراف تشتک پتری تشکیل می دهند که قطر آنها تا یک سانتی‌متر نیز می‌رسد. شکل اسکلرت‌ها غالبا کروی بوده ولی در بعضی از موارد بیضی شکل و یا بدون شکل مشخص نیز دیده شدند. قطر اسکلروت‌ها در جدایه‌های مختلف متفاوت و تقریبا ۴/۴-۰/۱۲ میلیمتر

Archive of SID

www.SID.ir

می‌باشد.

هیف‌های قارچ به رنگ روشن تا قهوه‌ای بوده و فاصله دیواره عرضی از محل فرورفتگی در انشعابات ۲۲-۲ میکرومتر و طول سلول‌های هیف ۴۰۰-۱۰ میکرومتر اندازه گیری گردید. تعداد هسته در سلول‌های هیف ۱۴-۳ عدد متغیر بود. قطر هیف‌ها ۱۲-۳ میکرومتر و میانگین آن در جدایه‌های مختلف متفاوت بود. سلول‌های مونیلیوئید به‌صورت زنجیره‌های ساده و یا منشعب به رنگ قهوه‌ای روشن تا قهوه‌ای تشکیل می شوند. سلول‌های مونیلیوئید غالبا بشکه‌ای شکل بوده و در مواردی بیضی شکل یا بدون شکل مشخص دیده شده که اندازه آن‌ها ۴۰-۱۴×۲۱-۹ میکرومتراست (شکل ۱).

علایم بیماری به صورت سوختگی‌هایی به شکل بیضوی کشیده تا نامنظم به طول ۳-۱ سانتی‌متر و به رنگ خاکستری مایل به سبز ظاهر می‌شود. مرکز لکه‌ها به تدریج سفید مایل به خاکستری شده و حاشیه آنها قهوه‌ای می‌گردد. در مراحل پیشرفته تعداد زیادی از پنجه‌ها آلوده شده و سوختگی آنها را فرا می‌گیرد (شکل ۳).

این گونه از سراسر استان گیلان شامل: شالیزارهای حومه رشت، صومعه سرا، شفت، تالش، فومن، آستارا، آستانه، لاهیجان، لنگرود، املش، رودسر، رودبار جمع آوری شده است. از مجموع جدایه های به دست آمده در دو سال زراعی متوالی، حدود ۶۸ ٪ جدایه‌ها به این گونه تعلق داشتند. از اینرو این گونه بیشترین فراوانی را در بین قارچهای اسکلرت دار برنج در استان گیلان دارد.

***Rhizoctonia oryzae- sativae* (Sawada) Mordue**

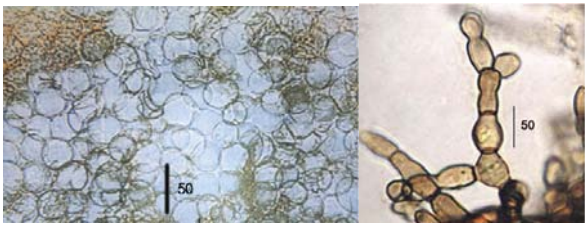
کلنی قارچ در محیط کشت PDA ابتدا کمرنگ، سپس خاکستری و سرانجام قهوه‌ای روشن است. قطر پرگنه بعد از ۴ روز در حدود ۵۱-۳۴ میلی‌متر تعیین شد. میسلیوم‌ها اغلب در سطح محیط کشت رشد می کنند و میسلیوم‌های هوایی کمی تشکیل می‌شوند. بعد از ۶-۴ روز اسکلرت‌ها تشکیل می شوند که در ابتدا سفید بوده و بعدا به رنگ قهوه‌ای مایل به خاکستری در می‌آیند. اسکلرت‌ها در بیشتر مواقع پخش بوده ولی گاهی به صورت مجتمع در مرکز یا لبه‌های تشتک پتری تشکیل و توسط میسلیوم‌های آزاد پوشیده می شوند. شکل اسکلرت‌ها کروی تا بیضوی نامنظم بوده و اندازه آنها ۲/۱۲-۰/۲۵ میلی‌متر متغیر است. در برش عرضی اسکلرت‌ها از سلول‌های تقریبا کروی به عرض ۳۵-۱۵ میکرومترتشکیل می شوند که در بین آنها هیف‌های متمایز نشده ای وجود دارد (شکل ۱). هیف-های قارچ در ابتدا بی رنگ بوده و بعدا قهوه ای می شوند. انشعابات هیف ها با زاویه حاده و هم با زاویه قائمه بوده، انشعابات جانبی از نیمه انتهایی سلول منشأ گرفته، درمحل انشعاب فرو رفتگی مشخص وجود داشته و کمی بالاتر از آن دیواره عرضی وجود دارد. فاصله دیواره عرضی از محل انشعابات ۱۴-۳ میکرومتر و طول سلولهای هیف ۲۴۰-۴۰ میکرومتر اندازه گیری گردید. سلولهای مونیلیوئید به صورت زنجیره های ساده و یا منشعب در محیط کشت تشکیل می شوند. رنگ آنها قهوه ای روشن و شکل آنها بشکه ای، گرزی و بدون شکل مشخص است. اندازه سلولهای مونیلیوئید ۳۷×۱۷- ۱۲×۶/۸ میکرومترتعیین شد. تعداد هسته در اغلب سلول‌های هیف دو عدد بوده، ولی در بعضی موارد سلولهایی با یک تا سه هسته هم دیده می شوند. قطر هیف ها ۳-۳/۵ میکرو مترتعیین شد .

علایم بیماری به صورت لکه های تخم مرغی تا بیضوی به رنگ سبز خاکستری با مرکز کاهی رنگ که توسط حاشیه قهوه ای تا ارغوانی رنگی احاطه می شود در غلاف برگ‌های آلوده دیده می‌شوند. نوارهای نکروتیکی که به سمت پایین و به مرکز لکه ها تمایل دارند ممکن است دیده شوند. ارتفاع لکه‌ها در آغاز در حدود ۱-۰/۵ سانتی‌متر است ولی بعدا ممکن است بزرگتر شوند (شکل ۳).

علاوه بر برنج این قارچ از روی علف هرز سوروف (*Echinocolae crus- galli*) نیز جدا شد.

از مجموع کل جدایه های به دست آمده حدود ۹/۲ ٪ به این گونه تعلق داشتند. اگرچه این گونه قبلا از استان مازندران گزارش شده است اما این اولین گزارش از وجود این گونه در استان گیلان می‌باشد.

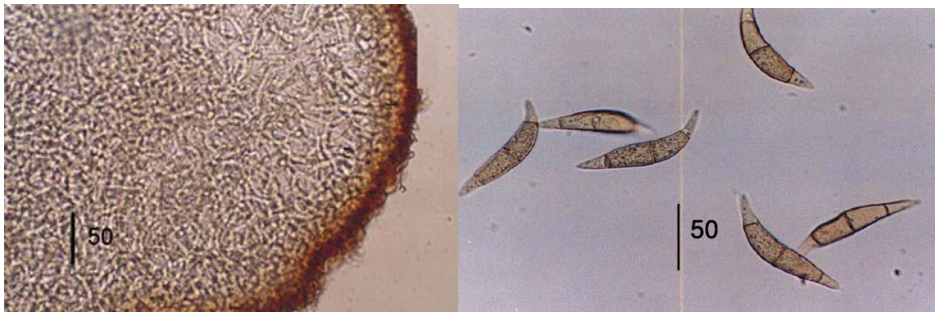
این گونه از رشت، تالش، لاهیجان، املش، صومعه سرا جمع آوری شده است.



(شکل۱) – سلول‌های مونیلیوئید قارچ *R. solani* (راست)، سلول‌های مونیلیوئید قارچ *R. oryzae-sativae* (چپ)
(مقیاس = ۵۰µm)

Archive of SID

www.SID.ir



(شکل۲) – شکل کنیدیوم‌ها در قارچ*M. salvinii* (راست)، برش عرضی اسکلرت در قارچ *S. hydrophilum* (چپ) (مقیاس = ۵۰µm)

(شکل ۳)– علایم ناشی از *R. solani* (بالا، چپ)، *R. oryzae-sativae* (بالا، راست)، *M. salvinii* (پایین) روی برنج

***Magnaporthe salvinii* (Catt.) Krause & Webster**

کلنی قارچ روی محیط غذایی PDA گسترده، رنگ کلنی در ابتدا سفید و سپس خاکستری تا تیره و در سطح زیرین تشتک پتری به رنگ قهوه‌ای تیره دیده می شوند. میسلیوم‌ها قسمتی داخل محیط کشت و بخشی به‌طور سطحی روی آن گسترش یافته، فاقد انشعابات هوایی، منشعب و دارای قطر ۶-۳ میکرومتر هستند. اسکلروت‌ها کروی یا نیمه کروی، سیاه، با قطر ۳۰۰-۲۰۰ میکرومتر روی بستر طبیعی و در محیط کشت مصنوعی تشکیل می‌شوند. این مرحله از شکل رویشی قارچ اغلب با نام *Sclerotium oryzae* (Cav.) Hara نامیده شده است. اگرچه این قارچ در شرایط معمولی به صورت فرم اسکلرتی وجود دارد اما امکان تولید کنیدیوم در شرایط آزمایشگاهی به روشی که قبلا توضیح داده شد وجود دارد. کنیدیوفورها مشخص بوده، منفرد، یک شاخه یا ندرتا منشعب، قهوه‌ای، صاف، سلول‌های کنیدیوم‌زا پلی بلاستیک، سمپودیال، دندانه‌ای، دندانه‌ها با دیواره نازک، استوانه‌ای یا مخروطی پهن، و به‌صورت میانی یا انتهایی روی کنیدیوفور قرار داشته و با یک دیواره عرضی قطع شده و تشکیل یک سلول جدا کننده را می دهند.کنیدیومها منفرد، داسی شکل، اغلب سیگموئید، صاف، در انتها و به صورت جانبی بوجود می آیند. کنیدیومها تقریبا همیشه سه جداره، با طول ۸۳-۴۰ میکرومتر، عرض ۱۴-۱۱ میکرومتر در پهن ترین قسمت، در دو انتها باریک شده، سلول‌ها رنگ غیر یکنواختی داشته، دو سلول انتهایی شفاف یا خیلی روشن، سلول‌های میانی روشن تا قهوه ای نیمه روشن هستند (شکل ۲).

Archive of SID

www.SID.ir

این قارچ ابتدا به غلاف خارجی حمله کرده و باعث پوسیدگی سیاه‌رنگ آن می‌شود. پوسیدگی به طرف داخل گسترش یافته و ممکن است اسکلرت‌های ریز قارچ داخل ساقه تشکیل شوند. این گونه از رشت، شفت، لاهیجان، املش، لنگرود صومعه سرا، آستارا جمع آوری شده است. حدود ۱۶/۶ درصد از جدایه های به دست آمده به این گونه تعلق داشتند.

***Sclerotium hydrophilum* Sacc.**

پرگنه قارچ روی محیط کشت PDA و درجه حرارت ۲۵ درجه سانتیگراد و نور متناوب سفید رنگ است و سرعت رشد آن بعد از ۴ روز به ۸۵-۵۴ میلیمتر می رسد. میسلیوم‌های قارچ اغلب در سطح محیط کشت رشد می کنند، میسلیوم‌های هوایی در بعضی مواقع رشد زیادی داشتند. هیف ها موقعی که جوانند به رنگ سفید هستند، به سرعت رشد می کنند و به رنگ خرمایی روشن در می آیند. تعداد هسته در اغلب سلولهای هیف دو عدد بود، ولی در بعضی از موارد سلولهایی با یک یا سه هسته نیز دیده شد. قطر هیف ها ۸- ۲ میکرومتر تعیین شد. بعد از ۵-۴ روز اسکلرت‌ها تشکیل می شوند که در ابتدا سفید رنگ بوده، سپس قرمز متمایل به قهوه ای می شوند. این اسکلرتها بعدا قهوه ای تیره و سرانجام سیاه می شوند. اسکلرت‌ها اگر چه به طور طبیعی نیمه کروی هستند ولی ممکن است به خاطر چسبیدن به یکدیگر شکل نامنظم پیدا کنند و کشیده تر شوند. اسکلرت‌های کروی و یا گلابی شکل هم در میان آنها دیده می شود. اسکلرت‌ها به صورت منظم و به صورت دوایر متحدالمرکز از وسط تشتک به سمت لبه آن رشد کردند، اندازه آنها ۸۵۰-۲۵۰ میکرومتر بود. در برش اسکلرت سه ناحیه مشخص شامل پوست، کرتکس[1] و مدولا[2] دیده می شود (شکل ۲). پوسته به رنگ قهوه ای تیره، به قطر ۴۹-۱۰ میکرومتر، دارای سلولهای به عرض ۱۶-۳ میکرومتر است. رنگ قهوه‌ای اسکلرتها مربوط به این قسمت می باشد. کرتکس از سلولهایی با اشکال نیمه کروی و یا کشیده تشکیل شده است و مدولا نیز بافتی شفاف و زرد رنگ دارد که ریسه های تشکیل دهنده آن تقریبا موازی یکدیگر قرار گرفته اند. هیف های آزاد آن بسیار شاخه شاخه می‌شوند. قطر این بخش ۱۵۰-۱۱۰ میکرومتر و اندازه سلولهای تشکیل دهنده آن ۱۰-۲ میکرومتراست.

این گونه از رشت، تالش، صومعه سرا، رودسر جمع آوری شده است. ۶/۲ درصد از جدایه ها نیز به این گونه تعلق داشتند.

کلید شناسایی قارچ های اسکلرت‌دار برنج در استان گیلان

۱- پرگنه قارچ روی PDA ابتدا سفید و سپس خاکستری تا تیره است، اسکلرت ها کروی تا نیمه کروی، سیاه رنگ، به قطر ۲۰۰-۳۰۰ میکرومتر، دارای بافت یکنواخت *Magnaporthe salvinii*

'۱- پرگنه متغیر، به رنگهای قهوه ای روشن، تیره تا خردلی، اسکلرتها معمولا بزرگتر از ۳۰۰ میکرومتر ۲

۲-تعداد هسته در سلولهای هیف اساسا بیش از دو عدد، پرگنه به رنگهای قهوه ای روشن تا تیره، اسکلرتها به اشکال و اندازه های مختلف، نامنظم، اندازه آنها ممکن است حداکثر تا ۱ سانتی متر نیز باشد *R. solani*

'۲-تعداد هسته ۱-۳ عدد در هر سلول ریسه (معمولا دو عدد) ۳

۳-پرگنه به رنگ سبز خردلی تا قهوه ای روشن، اسکلرتها کروی، تقریبا کروی تا نامنظم، به قطر ۵/. تا ۱/۹ میلی متر، بافت آن از سلولهای کروی تا تقریبا کروی تشکیل می‌شود*R. oryzae- sativae*

'۳- پرگنه سفید، اسکلرتها به رنگ قهوه ای، کروی تا تقریبا کروی، و در برش عرضی از سه بخش متمایز تشکیل می‌شود و به قطر ۲۰۰ تا ۵۰۰ میکرومتر است *Sclerotium hydrophilum*

بررسی بیماریزایی گونه‌ها

بررسی نتایج بیماریزایی چهار گونه قارچ به دست آمده نشان داد که از میان این گونه‌ها سه گونه *M. salvinii*، *R. solani*، و *R. oryzae- sativae* بر روی برنج بیماری ایجاد می‌کنند و عامل سوختگی یا پوسیدگی غلاف روی برنج هستند. پس از مایه زنی در گلخانه نشانه‌های ناشی از قارچ *R. solani*، *R. oryzae- sativae* و *M. salvinii* به صورت علایمی کم و بیش مشابه آنچه که در طبیعت وجود دارد ظاهر شد.

در این بررسی گونه *S. hydrophilum* همراه با لکه های زرد تیره، تا قهوه ای – سیاه از سطح غلاف برگ جدا شده است. در طبیعت تولید اسکلرت‌های قهوه‌ای تا سیاه رنگ در سطح غلاف می‌نماید. دو بار مایه زنی بوته‌ها توسط این قارچ صورت گرفت. در بار اول در شرایط گلخانه مایه‌زنی صورت گرفت و بوته‌های مایه زنی شده علائم نشان دادند، اما همراه با برخی از لکه ها گونه *R. solani* نیز مجددا جدا گردید. ولی بار دوم مایه زنی در شرایط آزمایشگاه صورت گرفت و بوته های مایه زنی شده هیچ گونه علائمی از خود نشان ندادند. فقط داخل گلدان مملو از اسکلرت‌های قارچ گردید.

گونه *S. hydrophilum* از ژاپن، چین، کانادا، امریکا، بلغارستان (۱۶) و ونزوئلا (۷) گزارش گردیده است. علاوه بر آن، این گونه از روی برنج وحشی (*Zizania latifolia* Turcz.) نیز گزارش شده است (۱۷). سدنو و همکاران (۷) این گونه را معمولا همراه با *R. solani* و *R. oryzae-sativa* روی برنج در ونزئولا یافته‌اند که سبب ایجاد لکه های قهوه‌ای تیره کوچک روی غلاف برگ می‌شود و در آزمون بیماریزایی به تنهایی نیز علایم مشابهی ایجاد کرده است.

1- cortex
2- medulla

Archive of SID

www.SID.ir

سپاسگزاری

بخشی از این تحقیق در موسسه تحقیقات برنج کشور (رشت) انجام شده است که نویسندگان بر خود لازم می دانند از مسئولین محترم موسسه تحقیقات برنج کشور(رشت) بخصوص بخش گیاهپزشکی آن موسسه به خاطر همکاری‌های بی‌دریغ در تمام مراحل تحقیق و در اختیار قرار دادن امکانات کمال تشکر و سپاسگزاری را اعلام نمایند. انجام این تحقیق با حمایت مالی قطب علمی برنج کشور امکان‌پذیر شده است که بدینوسیله از مدیریت محترم قطب علمی برنج کشور قدردانی می‌شود.

منابع

۱- ایزدیار م. و برادران پ. ۱۳۷۲. ارزیابی اثر چند قارچکش در کنترل بیماری سوختگی غلاف برگ برنج. مجله بیماریهای گیاهی ۲۹ (۲-۱): ۸۵-۹۰.

۲- بهروزین م. و اسدی پ. ۱۳۷۲. گزارشی از بیماری‌های مهم برنج در استان آذربایجان شرقی. خلاصه مقالات یازدهمین کنگره گیاهپزشکی ایران. صفحه ۱۰۹.

۳- ترابی م. و بینش ح. ۱۳۶۳. بیماری شیت بلایت برنج- بررسی در مورد عامل بیماری، پراکندگی و حساسیت چند رقم برنج در استانهای شمالی ایران. مجله بیماریهای گیاهی ۲۰ (۴-۱): ۳۰-۳۹.

۴- جوان نیکخواه م. ۱۳۷۴. اتیولوژی بیماری پوسیدگی ساقه برنج در گیلان. پایان نامه کارشناسی ارشد، دانشکده کشاورزی دانشگاه تهران. ۱۲۰ صفحه.

۵- فروتن ع. و رحیمیان ح. ۱۳۷۰. پراکندگی و مقایسه سواشده‌های دوگونه *Rhizoctonia solani* و *R. oryzae- sativae* عوامل بیماری‌های سوختگی غلاف و سوختگی موجی ساقه برنج در مازندران. مجله بیماری‌های گیاهی ۲۷ (۴-۱): ۵۰-۴۵.

6- Ali Z., and Singh R.A. 1993. Variation in appresoria and infection process of *Sclerotium oryzae* which causes stem rot of rice. International Rice Research Notes, 18(2): 29- 30.

7- Cedeno L., Nass H., Carrero C., Cardona R., Rodriguez H., and Aleman L. 1997. *Sclerotium hydrophilum* on rice in Venezuela. Fitopatol. Venez., 10:9-12.

8- Guleria S., Aggarwal R., Thind T.S., and Sharma R. 2007. Morphological and pathogenecity variability in rice isolates of *Rhizoctonia solani* and molecular analysis of their genetic variability. J. Phytopathology, 155: 654-661.

9- Johanson A., Turner H.C., McKay G.J., and. Brown A.E. 1998. A PCR-based method to distinguish fungi of the rice sheath-blight complex, *Rhizoctonia solani*, *R. oryzae* and *R. oryzae-sativae*. FEMS Microbiology Letters, 162: 289-294.

10- Krause R.A., and Webster R.K. 1972. The morphology, taxonomy and sexuality of the rice stem rot fungus, *Magnaporthe salvinii* (*Leptosphaeria salvinii*). Mycologia, 64: 103- 114.

11- Lübeck M. 2004. Molecular characterization of *Rhizoctonia solani*. Applied Mycology and Biotechnology,4: 205-224.

12- Mordue J.E. 1974. *Rhizoctonia oryzae-sativae*. CMI Description of Fungi and Bacteria no. 409.

13- Morrison R.H., and King T.H. 1971. Stem rot of wild rice in Minnesota. Pl. Dis. Reporter, 55: 498- 500.

14- Ogoshi A., Oniki M., Sakai R., and Ui T. 1979. Anastomosis grouping among isolates of binucleate *Rhizoctonia*. Trans. Mycol. Soc. Jpn., 20: 33- 39.

15- Oniki M. Ogoshi A., and Araki T. 1979. Formation of the perfect state of *Sclerotium oryzae-sativae*, the causal fungus of brown sclerotium disease of rice plants. Ann. Phytopathol. Soc. Japan 45:520-528.

16- Ou S.H. 1985. Rice disease (2nd ed). Commonwealth Mycological Institute. 380pp.

17- Punter D., Reid J., and Hopkin A.A. 1984. Notes on sclerotium- forming fungi from *Zizania aquatica* (wild rice) and other hosts. Mycologia, 76: 722- 732.

18- Rahimian H. 1986. Occurrence of aggregate sheath spot in Iran. J. Phytopathology, 125: 41-46.

19- Sneh B., Burpee L., and Ogoshi A. 1991. Identification of *Rhizoctonia* species., APS. 133 pp.

20- Sharon M., Kuninaga S., Hyakumachi M., Sneh B. 2006. The advancing identification and classification of *Rhizoctonia* spp. Using molecular and biotechnological methods compared with the classical anastomosis grouping. Mycoscience, 47:299–316

21- Sharon M., Kuninaga S., Hyakumachi M., Naito S., and Sneh B. 2008. Classification of *Rhizoctonia* spp. using rDNA-ITS sequence analysis supports the genetic basis of the classical anastomosis grouping. Mycoscience, 49:93-114.

22- Webster R.K., and Gunnell P.S. 1992. Compendium of rice diseases. APS press.

23- Yong Xiao Y., Liu L., Li G., Zhou Z., Wang W., Tang J., Tan F., Zheng A., and Li P. 2008. Genetic diversity and pathogenicity variation in *Rhizoctonia solani* isolates from rice in Sichuan Province, China. Rice Science, 15 (2): 137-134.

Archive of SID

www.SID.ir

Journal of Plant Protection
Vol. 23, No. 1, Spring-Summer 2009, p.1-8

مجله حفاظت گیاهان (علوم و صنایع کشاورزی)
جلد ۲۳، شماره ۱، نیمسال اول ۱۳۸۸، ص ۸-۱

A survey of sclerogenic fungal pathogens of rice plant (*Oryza sativa* L.) in Guilan Province

S. Janipoor - S. A. Khodaparast[*] - S. A. Elahinia - F. Padasht[1]

Abstract

Sclerogenic fungal pathogens, are among the most important diseases of rice plant. Sheath blight caused by *Rhizoctonia solani* is one of the economically important diseases that attack a wide range of hosts. Stem rot (*Magnaporthe salvinii*) has also been found with different severity in most fields of Guilan province. To determine sclerogenic fungal pathogens of rice plant, 141 isolates around Guilan province were collected and taxonomically studied. Four species viz *R. solani* Kuehn, *R. oryzae- sativae* (Mordue) Sawada, *Sclerotium hydrophilum* Saccardo and *Magnaporthe salvinii* (Catt.) Krause and Webster (*Sclerotium oryzae* Catt.) were identified. *Sclerotium hydrophilum* Saccardo and *R. oryzae- sativae* (Mordue) Sawada are new for Iran and Guilan province mycoflora, respectively. Although *S. hydrophilum* was reported as a pathogen on rice, we could not be able to verify pathogencity of this species in laboratory conditions according to Kokh's postulate. Pathogenecity tests showed that the other three species are pathogen on rice plant.

Key words: Fungi, *Sclerotium*, Rice, Pathogen, *Rhizoctonia*

Archive of SID

(* - Corresponding author Email: khodaparast@guilan.ac.ir)
1- Former Graduate Student & Assistant Professor & Professor from Dept. of Plant Protection, Faculty of Agriculture, University of Guilan & Rice Research Institue, Rasht, Iran respectively.

www.SID.ir