Archive of SID

ارزیابی بیماری‌زایی چند گونه *Fusarium* جدا شده از بذر برنج در آزمایشگاه و ردیابی میزان انتقال بیماری پوسیدگی طوقه برنج توسط بذر*

وحید خسروی[1]**، محمد جوان‌نیکخواه[2]، حسین صارمی[2] و شهرام نعیمی[3]

(تاریخ دریافت: ۱۳۹۷/۱۱/۸؛ تاریخ پذیرش: ۱۳۹۸/۷/۲۳)

چکیده

آلودگی قارچی بذر برنج به گونه‌های فوزاریوم مشکل بزرگی برای کشاورزان در دنیا و ایران می‌باشد. شناخت قدرت تهاجمی گونه‌های فوزاریوم مزارع برنج برای توسعه استراتژی مدیریت بیماری‌های ناشی از آنها مفید و موثر است. در این پژوهش بیماری‌زایی ٤٧ جدایه از گونه‌های *Fusarium fujikuroi*، *F. incarnatum*، *F. proliferatum*، *F. thapsinum*، *F. andyazi*، *F. oxysporum*، *F. graminearum* و *F. merismoides* که از بذور برنج استان‌های مازندران، گیلان، گلستان، خوزستان و فارس جداسازی شدند، مورد بررسی قرار گرفت. بیماری‌زایی به روش آغشتگی بذر برنج به سوسپانسیون کنیدیوم‌ها در آزمایشگاه، خزانه و مزرعه برنج بررسی گردید. درصد گیاهچه‌های سالم، بیمار و مرده، مشاهده و ثبت شدند و درصد وقوع بیماری تعیین شد. همچنین میزان انتقال بیماری پوسیدگی طوقه توسط بذر به خزانه و مزرعه برنج تعیین شد. نتایج نشان داد که همه جدایه‌های مورد بررسی، روی گیاهچه برنج بیماری‌زا بودند و درصد جوانه‌زنی را در مقایسه با شاهد کاهش دادند و فقط تک جدایه *F. merismoides* غیر بیماری‌زا بود. جدایه‌های *F. fujikuroi* بالاترین شاخص وقوع بیماری را داشتند. همچنین بین گونه‌های *Fusarium*، جدایه‌های درون هر گونه و جدایه‌های به دست آمده از پنج استان از نظر شاخص وقوع بیماری اختلاف معنی‌داری در سطح یک درصد وجود داشت. بر اساس میزان وقوع بیماری، ۲/۱ درصد جدایه‌ها در گروه غیر بیماری‌زا، ۲۵/٦ درصد جدایه‌ها در گروه بیماری‌زای ضعیف،۳٤/۱ درصد بیماری‌زا و ۳۸/۲ درصد در گروه بیماری‌زای شدید قرار گرفتند. در این پژوهش، میزان انتقال بیماری توسط بذر به خزانه، ۳۸ درصد بود. اما پس از ضد عفونی بذر با قارچکش، میزان انتقال بیماری به خزانه از ۳۸ به ۳/٦ درصد کاهش یافت. این نتایج اهمیت ضد عفونی بذر برنج با قارچکش مناسب برای مبارزه با بیماری پوسیدگی طوقه را نشان می‌دهد.

کلیدواژه: آزمون بیماری‌زایی، برنج، بذرزاد، بیمارگر، فوزاریوم.

---

* بخشی از پایان‌نامه دکتری نگارنده اول ارایه شده در پردیس کشاورزی و منابع طبیعی دانشگاه تهران، کرج می‌باشد.

** مسئول مکاتبات، پست الکترونیکی: vahidkhosravi@ut.ac.ir

۱. عضو هیات علمی موسسه تحقیقات برنج کشور، معاونت مازندران، سازمان تحقیقات، آموزش و ترویج کشاورزی، آمل.

۲. استاد گروه گیاهپزشکی، پردیس کشاورزی و منابع طبیعی دانشگاه تهران، کرج

۳. استادیار بخش تحقیقات کنترل بیولوژیک، مؤسسه تحقیقات گیاهپزشکی کشور، سازمان تحقیقات، آموزش و ترویج کشاورزی، تهران

www.SID.ir

Archive of SID

Evaluation of the pathogenicity of several *Fusarium* species isolated from rice seed in laboratory and tracing of seeds transmission of rice bakanae disease*

V. Khosravi[1], M. Javan-Nikkhah[2], H. Saremi[2], and S. Naeimi[3]**

(Received: 28.1.2018; Accepted: 15.10.2019)

Abstract

The fungal infection of rice seeds with *Fusarium* species, is a major problem for farmers in Iran and the world. Determining the pathogenicity of *Fusarium* species in rice fields might be helpful in development of strategies for management of the relevant diseases. In this research, the pathogenicity of forty seven isolates of *Fusarium* belonged to *Fusarium fujikuroi*, *F. incarnatum*, *F.prolifratum*, *F. thapsinum*, *F. andyazi*, *F. oxysporum*, *F. graminearum* and *F. merismides* obtained from rice seeds in Mazandaran, Guilan, Golestan, Khuzestan and Fars provinces were investigated. The pathogenicity test was performed by rice seed dressing method using spore suspension as inoculum in *invitro*, nursery and the paddy field. Percentage of healthy, unhealthy and dead seedlings recorded and percentage of disease incidence was determined. Also, the transmission rate of bakanae disease by seeds from the laboratory to the nursery and the paddy was determined. The results showed that all isolates were pathogenic on rice seedling and reduced germination percentage compared to control, and only one isolate of *F. merismoides* was non-pathogenic. *F. fujikuroi* isolates had the highest disease incidence rate. In addition, there was a significant difference among *Fusarium* species, isolates of each species and the five provinces in terms of disease incidence. Based on the disease incidence, 2.1% of the isolates placed in the non-pathogenic group, 25.6% of the isolates were in the moderate pathogenic, 34.1% of the isolates were pathogenic and 38.2% considered as severe pathogenic group. In this research, the rate of disease transmission from contaminated seeds to the nursery was 38%., but after seed disinfection, with fungicide, the transmission rate of the disease dropped from 38% to 3.6%. These results show the importance of rice seed treatment with fungicides for the control of bakanae disease.

Keywords: *Fusarium*, Pathogen, Pathogenicity test, Rice, Seedborne

---

* A Part of Ph.D Thesis of the First Author.

**Corresponding author's E-mail: vahidkhosravi@ut.ac.ir

1. Faculty member of Rice Research Institute, Mazandaran Branch, Agricultural Research, Education and Extension Organization (AREEO), Amol, Iran.
2. Prof., Department of Plant Protection, College of Agriculture and Natural Resources,University of Tehran, Karaj, Iran.
3. Assistant Prof., Department of Biological Control Research, Iranian Research Institute of Plant Protection, Agricultural Research, Education and Extension Organization (AREEO), Tehran, Iran.

www.SID.ir

Archive of SID

مقدمه

در ایران پس از گندم، برنج (*Oryza sativa* L.) بیشترین نقش را در تغذیه مردم دارد. پنج استان مازندران، گیلان، خوزستان، گلستان و فارس دارای ۹۲/۹۶ درصد از اراضی برنج‌خیز کشور می‌باشند (Ahmadi *et al.* 2016). حدود ۹۰ درصد از محصولات غذایی دنیا به وسیله بذر تکثیر می‌شوند (Diekmann, 1993). بذر با کیفیتِ خوب به عنوان یکی از محصولات کشاورزی مصرفی شناخته شده است، و یکی از جنبه‌های مهم کیفیت بذر علاوه بر درصد جوانه‌زنی و خلوص، عاری بودن از عوامل بیماری‌زای بذرزاد می‌باشد. از طرف دیگر عوامل بیماری-زای بذرزاد می‌توانند موجب نقصان و کاهش در جوانه‌زنی بذر گردند (Agarwal & Sinclair, 1997). در منابع علمی حدود هفتاد نوع بیماری مختلف برای برنج ذکر شده است که عمده آنها با بذر منتقل می‌شوند. جنس *Fusarium* در بردارنده گونه های بیمارگر گیاهان، حیوانات و انسان‌ها و به عنوان تولید کننده زهرابه‌های قارچی (mycotoxins) معروف و شناخته شده است که باعث مسمومیت ناشی از مصرف غذای آلوده در انسان‌ها و حیوانات دیگر می‌شود (Leslie & Summerell, 2013). در بررسی دین و همکاران (Dean *et al.* 2012) جنس فوزاریوم در بین بیمارگرهای قارچی، در گروه "۱۰ قارچ اول" بر اساس اهمیت علمی/ اقتصادی قرار می‌گیرد. اعضای این جنس فراوان هستند و به عنوان بیمارگر، اندوفیت و گندروی در همه نقاط جهان یافت می‌شوند. گونه‌های *Fusarium* و سایر قارچ‌های بذرزاد برنج، توسط محققین زیادی از کشورهای مختلف گزارش شده‌اند (Nath *et al.* 1970, Zianun & Nik 1977, Supriama *et al.* 1980, Saponaro *et al.* 1986, Jeyanandarajah & Seneviratne 1991, Islam *et al.* 2000, Mew & Gonzales, 2002, Butt *et al.* 2011, Islam *et al.* 2012).

در آزمون بیماری‌زایی ۱۴۶ جدایه *Fusarium* spp. از گیاه و بذر برنج ایتالیا که توسط آماتولیا و همکاران (Amatullia *et al.* 2010) انجام شد، فقط جدایه‌های *Fusarium fujikuroi* Nirenberg پوسیدگی طوقه را با شدت‌های متفاوت ایجاد کردند. گیاهان به شدت آلوده در طی ۲۸ روز پس از جوانه‌زنی مردند. ۸۸٪ جدایه‌های *F. fujikuroi* بیماری‌زا، ۵٪ بیماری‌زای ضعیف و ۷٪ غیر بیماری‌زا بودند. چندین جدایه *F. fujikuroi* نشانه‌های بیماری پوسیدگی طوقه را نداشتند، اما باعث زرد شدن گیاه شدند که با مشاهدات او (Ou, 1985) و زین‌الدین و همکاران (Zainudin *et al.* 2008) تطبیق داشت. چهار گونه *Fusarium andiyazi* Marasas, Rheeder, Lampr., K.A. Zeller & J.F. Leslie، *F. fujikuroi* *Fusarium* و *proliferatum* (Matsush.) Nirenberg *Fusarium* *verticillioides* (Sacc.) Nirenberg از نمونه‌های بذر برنج از آسیا و آفریقا توسط ولف و همکاران (Wulff *et al.* 2010) جداسازی و شناسایی شدند. بیماریزایی جدایه‌های گونه‌های فوق روی برنج به صورت جلوگیری از جوانه‌زنی و علایم روی نشاها مشاهده گردید. در آزمون بیماری‌زایی تمام جدایه‌ها باعث کاهش جوانه‌زنی بذر شده و توانایی متفاوتی برای ایجاد علائم بیماری پوسیدگی طوقه بر روی برنج داشتند، جدایه‌های *F. fujikuroi* و *F. andiyazi* به ترتیب بیشترین و کمترین بیماری‌زایی را نشان دادند. درصد بذرهای جوانه‌زده تیمار شده با جدایه‌های مختلف از ۲۷ تا ۸۰ درصد متغیر بود. جون و همکاران (Jeon *et al.* 2013) نمونه‌های بذر برنج ده کشور آسیایی را از نظر آلودگی به گونه مرکب *G. fujikuroi*، ویژگی‌های مولکولی و بیماری‌زایی مورد بررسی قرار دادند. چهار گونه *F. fujikuroi*، *F. concentricum* Nirenberg & ÓDonell، *F. proliferatum*، و *F.*

www.SID.ir

Archive of SID

verticillioides همراه با بذر برنج یافت شدند که *F. fujikuroi* گونه غالب بود. نتایج آزمون بیماری‌زایی نشان داد که تمام جدایه‌ها در مقایسه با تیمار شاهد، باعث کاهش جوانه‌زنی بذر شدند و میزان جوانه‌زنی از ۵۲/۵ تا ۸۱/۳ درصد متغیر بود، هر چند از نظر آماری با همدیگر اختلاف معنی‌داری نداشتند. گونه‌های *F. fujikuroi* و *F. concentricum* باعث علائم شاخص بیماری پوسیدگی طوقه شامل افزایش طول برگ و زردی شدند، در حالی که *F. proliferatum* و *F. verticillioides* تنها باعث توقف رشد نشاها شدند. باشیال و همکاران (Bashyal *et al.*2016) ۱۲۶ جدایه فوزاریوم از برنج باسماتی دارای علایم بیماری پوسیدگی طوقه در هند را جداسازی کردند. در آزمایش بیماری‌زایی بر اساس مایه‌زنی بذر، طویل شدن ساقه و پوسیدگی نشاها در ۱۵ و ۳۰ روز پس از مایه‌زنی، به عنوان درصد وقوع بیماری ثبت گردید. هر دو نوع علائم در نشاهای آلوده شده با جدایه‌های *F. fujikuroi* مشاهده شد در حالیکه گونه‌های *F. verticillioides* و *F. proliferatum* تنها علائم پوسیدگی را تولید نمودند. نتایج نشان داد که ۳۷/۳٪ جدایه در گروه متوسط بیماری‌زای ضعیف، ۳۴/۱٪ بیماری‌زا و ۲۸/۶٪ بیماری‌زای زیاد قرار گرفتند. یک جدایه هم در گروه بیماریزای خیلی ضعیف قرار گرفت. همچنین درجات مختلفی از بیماری‌زایی در میان جدایه‌های *F. fujikuroi* از یک منطقه کشت و یک رقم برنج، مشاهده شد. این نشان دهنده تاثیر احتمالی ویژگی‌های ژنتیکی جدایه‌ها و نه دخالت عوامل محیطی بود.

در ایران میزان آلودگی بذر برنج از مناطق مختلف به *Fusarium* توسط محققین مختلف گزارش شده است (Damadzadeh & Hassanpoor 1987, Zakeri & Zad 1987, Padasht 1993,Khosravi 1999& Khosravi *et al.* 2014). همچنین بیماری‌زا بودن گونه‌های *F. fujikuroi*، *F. proliferatum*، *F. verticillioides* و *Fusarium graminearum* Schwabe جدا شده از برنج توسط محققین مختلف اثبات گردید (Padasht 1993, Khosravi1999, Naeimi 2002, Alian 2008, Khosravi *et al.* 2014, Vardasbi 2016 & Effati Lakeh 2018). با توجه به اهمیت برنج در امنیت غذایی کشور و اهمیت جنس *Fusarium*، شناخت تنوع بیماری‌زایی گونه‌های آن در زیست‌بوم شالیزارهای کشور برای مدیریت بیماری‌های ناشی از گونه‌های بیماری‌زا در مزارع برنج و قرنطینه داخلی و خارجی ضروری می‌باشد. بهره‌گیری از مقاومت ارقام جهت کنترل بیماری نه تنها ازخسارت زیست‌محیطی ناشی از مبارزه شیمیایی می‌کاهد، بلکه بدلیل کنترل آسان و اقتصادی بیماری مورد توجه محققان می‌باشد. هدف از اجرای این پژوهش شناسایی پاتوتیپ‌های غالب و دارای قدرت تهاجمی بالاتر در مناطق اصلی برنج‌خیز کشور بود تا در تولید ارقام مقاوم مورد استفاده قرار گیرند. در ضمن اطلاعات جامع‌تری از وضعیت بیماری‌زایی گونه‌های *Fusarium* همراه با بذر برنج، تنوع و پتانسیل بیماری‌زایی جدایه‌های مربوط به گونه‌های مختلف را ارایه خواهد نمود. همچنین هدف دیگر این پژوهش، تعیین میزان انتقال بیماری پوسیدگی طوقه با عامل *F. fujikuroi* توسط بذر به خزانه و سپس مزرعه و تاثیر ضد عفونی بذر برنج با قارچکش شیمیایی در میزان این انتقال بود.

مواد و روش‌های بررسی

ارزیابی بیماری‌زایی گونه‌های *Fusarium* به دست آمده از بذر برنج روی گیاهچه در آزمایشگاه

در این پژوهش از ۴۷ جدایه جنس*Fusarium* به دست آمده از بذر برنج استان‌های مازندران، گیلان، گلستان،

www.SID.ir

Archive of SID

خوزستان و فارس استفاده شد. جدایه‌ها بر اساس ویژگی‌های ریخت‌شناختی و با استفاده از کلیدها و منابع معتبر (Gerlach & Nirenberg 1982; Nelson *et al.* 1983; Leslie & Summerell, 2006) و تجزیه و تحلیل فیلوژنتیکی توالی نواحی *TEF1-α* و ITS-rDNA به عنوان گونه‌های *Fusarium incarnatum* ،*F. fujikuroi* (Roberge) Sacc. ،*Fusarium proliferatum* *thapsinum* Klittich, J.F. Leslie, P.E. Nelson & *Fusarium oxysporum* Schltdl. ،*F. andyazi* ،Marasas و یک جدایه *Fusarium* ،*F. graminearum* *merismoides* Corda شناسایی شده بودند (Khosravi 2018, Khosravi *et al.* 2019). آزمون اثبات بیماری‌زایی گونه‌های شناسایی شده به روش آغشتگی بذر به سوسپانسیون اسپور آنها انجام شد (Wada *et al.* 1990). تعداد شصت بذر برنج در محلول یک درصد هیپوکلریت سدیم به مدت سه دقیقه غوطه‌ور گردید و سپس سه بار با آب مقطر سترون شسته شدند. پس از یک روز خیساندن بذرها در آب مقطر سترون، با سوسپانسیون کنیدیوم‌های هر جدایه با غلظت ۱×۱۰^{۶} کنیدیوم در میلی‌لیتر به نسبت ۱۸۰ میلی‌لیتر سوسپانسیون برای هر کیلوگرم بذر بطور مجزا مخلوط شدند. سپس به مدت ۴۸ ساعت در انکوباتور با دمای ۲۵ درجه سلسیوس و تاریکی قرار داده شدند (Wada *et al.* 1990, Padasht1993). شمارش کنیدیوم‌ها و تنظیم جمعیت آن‌ها با استفاده از لام هماسیتومتر انجام شد. پس از آن، بذورآغشته به کنیدیوم‌های هر جدایه در سه تشتک پتری مجزا (هر تشتک حاوی ۲۰ بذر) روی کاغذ صافی مرطوب سترون قرار داده شدند (Wada *et al.* 1990, Alian 2008, Wulff *et al.* 2010). در سه تشتک پتری شاهد، بذور سالم و مایه‌زنی نشده با بیمارگر گذاشته شدند و به عنوان شاهد مورد استفاده قرار گرفتند. این آزمایش در قالب طرح کاملاً تصادفی و با سه تکرار اجرا شد. تشتک‌ها در ژرمیناتور با دمای ۲± ۲۶ درجه سلسیوس و شرایط تناوب نوری (۸ ساعت تاریکی و ۱۶ ساعت روشنایی) نگهداری شدند. در صورت کاهش رطوبت کاغذهای صافی، آب‌دهی صورت می‌گرفت. نتایج شامل درصد گیاهچه‌های سالم، بیمار و مرده، بعد از دو هفته مشاهده و ثبت شدند. همچنین درصد وقوع بیماری (Disease incidence) مطابق فرمول زیر تعیین گردید (Zainudin *et al.* 2008).

$$\text{Disease Incidence (\%)} = \frac{\text{تعداد گیاهچه بیمار}}{\text{تعداد کل گیاهچه}} \times 100$$

گروه‌بندی جدایه‌ها با مقایسه میانگین درصد وقوع بیماری بر اساس آزمون چند دامنه‌ای دانکن و به روش باشیال و همکاران (Bashyal *et al.*2016) و با اندکی تغییرات انجام شد.

آزمون بیماری‌زایی به روش آغشتگی بذر در خزانه برنج

این آزمایش به منظور ردیابی میزان انتقال بیماری از طریق بذر (Seed transmission) به نشای برنج در خزانه انجام شد. به این منظور یک جدایه پر آزار (F152) از گونه *F. fujikuroi* که در آزمون روی کاغذ صافی مرطوب بیشترین بیماری‌زایی را نشان داد، انتخاب گردید. ابتدا بذور رقم خزر با قارچ عامل بیماری *F. fujikuroi* به روش آزمون اول آلوده‌سازی گردید. رقم خزر به عنوان یکی از ارقام پرمحصول، با کیفیت مطلوب و مقاوم به بیماری بلاست توسط موسسه تحقیقات برنج کشور در سال ۱۳۶۲ معرفی گردید. این رقم به بیماری پوسیدگی طوقه خیلی حساس می‌باشد (Alinia *et al.* 2015). دو تیمار آزمایش روی رقم خزر در قالب طرح بلوک‌های کامل تصادفی و با سه تکرار به شرح زیر در خزانه اجرا گردید.

www.SID.ir

Archive of SID

- ضد عفونی بذر آلوده به *F. fujikuroi* با محلول ۳ در هزار قارچ‌کش کاربوکسین تیرام ۷۵٪
- بذر شاهد (آلوده به *F. fujikuroi*)

کاربوکسین‌تیرام (ویتاواکس تیرام® ۷۵٪) ، قارچ‌کشی سیستمیک و تماسی با طیف وسیع تاثیر در ضدعفونی بذور می‌باشد. سازمان حفظ نباتات کشور این قارچ‌کش را برای مبارزه با بیماری‌های بذرزاد برنج شامل لکه قهوه‌ای، پوسیدگی طوقه و سیاهک دروغین به صورت ضدعفونی بذر قبل از کاشت توصیه نموده است (Anonymous 2018). بذرهای دو تیمار در شش کرت به ابعاد ۱×۱ متر، بطور مجزا پاشیده شدند.در هر کرت ۱۵۰ گرم بذر پاشیده شد. مسیر ورود و خروج آب در کرت‌های فوق مجزا بود (مرزها با پلاستیک‌کشی مسدود شدند). آماربرداری تصادفی در خزانه، بعد از سه هفته انجام شد. نشاهای تیمارها بررسی و درصد نشای سالم، بیمار، مرده، برای هر کرت ثبت شد. همچنین درصد وقوع بیماری پوسیدگی طوقه در خزانه تعیین گردید.

بعد از ارزیابی آزمون‌های بیماری‌زایی، نشاهای دارای علایم بیماری برای انجام اصول کخ انتخاب شدند و پس از شستشو و ضدعفونی با محلول هیپوکلریت سدیم تجاری یک درصد، روی محیط غذایی PDA کشت شدند. سپس با جداسازی و شناسایی مجدد عامل بیماری، صحت اثبات بیماری‌زایی تعیین شد.

ردیابی میزان انتقال بیماری از خزانه به مزرعه

بعد از نمونه‌برداری از خزانه (آزمون دوم)، نشاهای باقیمانده (نشای ۲۵ روزه) کنده شدند و هر کدام در کرت مربوط به خودشان نشاکاری شدند. در هر کرت ۱۸ کپه از نشاها (هر کدام ۲-۳ نشا) کشت گردید. عملیات آبیاری، کوددهی و نگهداری مطابق عرف و دستورالعمل موسسه تحقیقات برنج کشور انجام گرفت و در مرحله شیری شدن دانه، درصد بوته سالم، درصد بوته بیمار، درصد بوته مرده و درصد وقوع بیماری پوسیدگی طوقه در مزرعه ثبت گردید. نتایج مربوط به بیماریزایی این جدایه پر آزار *F. fujikuroi* در سه محیط کاغذ صافی مرطوب (آزمایشگاه)، خزانه و مزرعه با یکدیگر مقایسه گردید و روند انتقال بیماری از آزمایشگاه به خزانه و مزرعه تعیین گردید.

تبدیل داده‌ها به روش جذری $\sqrt{x+0.5}$ انجام گرفت و سپس تجزیه آماری بر روی آنها به کمک نرم‌افزار آماری SAS 9.4 (Statistical Analysis Software) انجام شد. برای تعیین اختلاف بیماری‌زایی بین جدایه‌های گونه‌ها و استان‌های مختلف، تجزیه واریانس یک‌طرفه مورد استفاده قرار گرفت. مقایسه میانگین‌ها به روش آزمون چند دامنه‌ای دانکن و در سطح آماری ۵ درصد انجام گرفت.

نتایج و بحث

ارزیابی بیماری‌زایی هشت گونه *Fusarium* در شرایط آزمایشگاه

تجزیه واریانس درصد نشای سالم، مرده، بیمار و وقوع بیماری نشان داد که بین ۴۷ جدایه *Fusarium* برای صفات فوق اختلاف معنی‌داری در سطح یک درصد وجود داشت. بنابراین، جدایه‌های *Fusarium* مورد بررسی از نظر توانایی بیماری‌زایی با همدیگر اختلافات مشخص و معنی‌دار دارند و از این جنبه بین جدایه‌ها تنوع قابل ملاحظه‌ای وجود دارد. وجود دانش و اطلاعات در مورد قدرت بیماری‌زایی گونه‌های فوزاریوم در مزارع برنج استان‌های برنج‌خیز کشور برای درک و توسعه راهبردهای مبارزه با وقوع بیماری‌های ناشی از آنها خیلی مفید و موثر است.

با مقایسه میانگین درصد وقوع بیماری ۴۷ جدایه

www.SID.ir

Archive of SID

جدول ۱. گروه‌بندی ٤٧ جدایه متلق به هشت گونه ***Fusarium*** بر اساس میانگین وقوع بیماری روی گیاهچه برنج

Table 1. Grouping of Forty seven *Fusarium* isolates belonged to eight species based on the disease incidence mean on rice seedlings

Pathogenicity group	Disease incidence(%)	Number of isolates	Province	Species
Non virulent	0	1	Fars (1) *	*F.merismoides*(1) *
Moderately virulent	1-20	12	Mazandaran (1), Khuzestan (4), Guilan (4), Golestan (2), Fars (1)	*F. fujikuroi* (3), *F. incarnatum* (8), *F. andyazi* (1)
Virulent	21-50	15	Mazandaran (8), Khuzestan (2), Guilan (4), Fars (1)	*F. fujikuroi* (4), *F. incarnatum* (5), *F. prolifratum* (2), *F. andyazi* (2), *F. oxysporum* (1), *F. thapsinum* (1)
Highly virulent	51-100	19	Mazandaran (9), Khuzestan (3), Guilan (2), Golestan (1), Fars (4)	*F. fujikuroi* (13), *F. incarnatum* (3), *F.graminearum* (2), *F. andyazi* (1)

* The numbers in parentheses are the number of isolates

Fusarium روی گیاهچه برنج بر اساس آزمون دانکن، جدایه‌ها در چهار گروه غیر بیماریزا (وقوع بیماری صفر)، بیماری‌زای ضعیف (وقوع بیماری ۲۰-۱٪)؛ بیماری‌زای متوسط (وقوع بیماری ۵۰-۲۱٪)؛ و بیماری‌زای شدید (وقوع بیماری ۱۰۰-۵۱٪) قرار گرفتند (Bashyal *et al.*2016). وقتی در آزمون بیماری‌زایی با روش بذرمالی، فراوانی گیاهچه‌های سالم کمتر از ۸۰ درصد باشد آن جدایه بیماری‌زا محسوب می‌شود (Guerrero *et al.*1972 & Osroush 2008). بر این اساس، ۲۵/۶ درصد جدایه‌ها در گروه بیماری‌زای ضعیف قرار گرفتند. همچنین ۳۴/۱ درصد جدایه‌ها در گروه بیماری‌زا،۳۸/۲ درصد جدایه‌ها در گروه بیماری‌زای شدید و۲/۱ درصد جدایه‌ها در گروه غیر بیماری‌زا قرار گرفتند (جدول ۱). همچنین بین جدایه‌های درون یک گونه تنوع و اختلاف قابل توجه از نظر میزان وقوع بیماری وجود داشت. به عنوان مثال جدایه‌های گونه‌های *F. fujikuroi* و *F. incarnatum* که بیشترین فراوانی را در نمونه‌های بذر برنج مورد بررسی در این پژوهش داشتند، درگروه‌های مختلف بیماری‌زای ضعیف و شدید حضور دارند (جدول ۱).

تجزیه واریانس صفت بیماری‌زایی ۴۷ جدایه *Fusarium* از پنج استان اصلی برنج‌خیز نشان داد که جدایه‌های استان‌های مورد بررسی از نظر شاخص بیماری‌زایی اختلاف معنی‌دار در سطح یک درصد دارند و از این جنبه بین جدایه‌ها از نظر خاستگاه، تنوع زیادی وجود داشت. در جدول مقایسه میانگین میزان وقوع بیماری و درصد گیاهچه سالم ۴۷ جدایه *Fusarium* روی کاغذ صافی مرطوب، جدایه‌های *Fusarium* پنج استان از نظر شاخص وقوع بیماری با همدیگر اختلاف دارند اما از نظر آماری در گروه مشترک (a) در مقایسه با شاهد قرار گرفتند. جدایه‌های *Fusarium* مازندران و گیلان به ترتیب بیشترین و کمترین شاخص وقوع بیماری را نشان دادند (جدول ۲). همچنین از نظر تعداد گیاهچه‌های سالم و بیمار بین جدایه‌های مناطق مختلف اختلافی نبود. هر چند که از نظر تعداد گیاهچه‌های بیمار، مازندران اندکی بیشتر و گلستان کمتر بود، که مشابه نتیجه باشیال و همکاران (Bashyal *et al.*2016) است. با توجه به اینکه جدایه‌های

www.SID.ir

Archive of SID

جدول ۲. مقایسه میانگین میزان وقوع بیماری ٤٧ جدایه متعلق به هشت گونه *Fusarium* به دست آمده از پنج استان روی گیاهچه برنج در آزمایشگاه

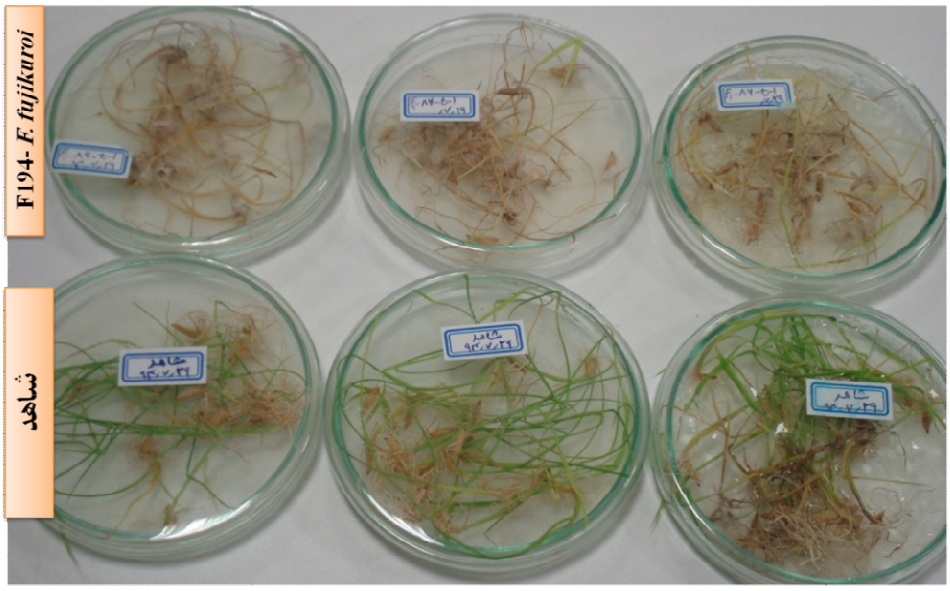
Table 2. Comparison of mean of pathogenicity of 47 *Fusarium* isolates obtained from five provinces on rice seedling *invitro*

Provinces	Disease incidence(%)*	Healthy seedlings(%)	Dead seedlings(%)	Unhealthy seedlings(%)
Guilan	29b	71a	15.83b	13.17b
Golestan	44.44ab	53.75ab	35a	9.44b
Fars	46.79ab	53.21ab	27.62ab	19.17ab
Khuzestan	47.04ab	53.15ab	19.07b	27.78a
Mazandaran	57.18a	42.82b	27.96ab	29.21a

* There is no significant difference between means having the same letters

بیماری‌زا در همه مناطق مورد مطالعه حضور دارند، بنابراین، افزایش وقوع بیماری در برخی مناطق ممکن است به دلیل کشت ارقام حساس در این مناطق و تنوع آب و هوایی باشد.

تجزیه واریانس صفات مربوط به بیماری‌زایی هشت گونه *Fusarium* نشان داد که گونه‌های مورد بررسی از نظر صفات درصد گیاهچه سالم، درصد گیاهچه مرده، درصد گیاهچه بیمار و شاخص وقوع بیماری اختلاف معنی‌دار دارند و از این جنبه بیانگر وجود تنوع در بین گونه‌ها می‌باشد. مقایسه میانگین صفات درصد گیاهچه سالم، درصد گیاهچه مرده، درصد گیاهچه بیمار و شاخص وقوع بیماری هشت گونه *Fusarium* نشان داد که جدایه‌های *F. fujikuroi* بالاترین شاخص وقوع بیماری و کم‌ترین درصد گیاهچه سالم را داشتند (شکل ۱)، و از نظر شاخص وقوع بیماری، بقیه گونه‌ها به ترتیب *F. graminearum*، *F. andiyazi*، *F. proliferatum*،



شکل ۱.ارزیابی بیماری‌زایی جدایه F194 گونه *Fusarium fujikuroi* روی گیاهچه برنج در مرحله جوانه‌زنی بذر بعد از دو هفته

Figure 1. Evaluation of pathogenicity of *Fusarium fujikuroi* F194 on rice seedling at germination stage after two weeks

www.SID.ir

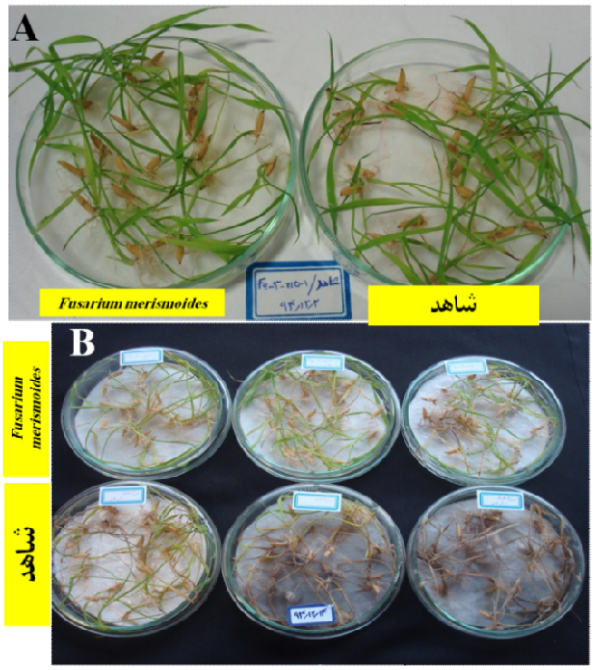
Archive of SID

جدول ۳. مقایسه میانگین میزان بیماری‌زایی هشت گونه *Fusarium* روی گیاهچه برنج در آزمایشگاه

Table 3. Comparison of mean of pathogenicity of eight *Fusarium* species on rice seedling in the laboratory

Species	Disease incidence(%)*	Healthy seedlings(%)	Dead seedlings(%)	**Unhealthy seedlings(%)**
F. fujikuroi	62.5a	37.50c	34.21a	**28.29a**
F. incarnatum	32.86a	67.18abc	12.92abc	**19.84a**
F. andiyazi	45.83a	54.17bc	22.92ab	**22.92a**
F. thapsinum	25ab	75abc	11.67abc	**13.33ab**
F. proliferatum	40.42a	59.58abc	20.42ab	**20a**
F.merismoides	0c	100a	0c	**0b**
F.graminearum	54.17a	45.83c	39.17a	**15ab**
F. oxysporum	30a	70abc	18.33ab	**11.67ab**
Control	0c	100a	0c	**0b**

* There is no significant difference between means having the same letters



شکل ۲.ارزیابی بیماری‌زایی جدایه F5 گونه *Fusarium merismoides* در مرحله جوانه‌زنی بذر برنج در آزمایشگاه بعد از ۲۱ روز (A) و ۳٤ روز (B)

Fig 2. Evaluation of the pathogenicity of *Fusarium merismoides* F5 at the germination stage of rice seed in the laboratory after 21 days (A) and 34 days (B)

شاهد دچار مرگ و میر شدند اما گیاهچه‌ها در تشتک‌های تلقیح شده با اسپورهای *F. merismoides* بعد از ۳۴ روز سالم بودند و بنابراین می‌توان این جدایه را به عنوان یک عامل اندوفیت کنترل بیولوژیک (Leslie & Summerell

F. oxysporum، *F. incarnatum* و *F. thapsinum* قرار گرفتند، هر چند در یک گروه مشترک قرار داشتند (جدول ۳). آزمون بیماری‌زایی جدایه‌های *F. fujikuroi*، *F. proliferatum*، *F. verticillioides*، *F. anthophilum*، *F.culmorum*، *F. incarnatum*، *F. globosum*، *F. solani* و *F. oxysporum* با تزریق سوسپانسیون اسپور با غلظت 10^6 اسپور در هر میلی‌لیتر روی طوقه گیاهچه‌های برنج توسط ورداسبی (Vardasbi 2016) انجام شد. پنج گونه اول به عنوان بیماریزای برنج معرفی شدند اما چهار گونه دیگر، بیماری‌زایی خفیف روی ساقه برنج داشتند. اما در پژوهش حاضر، همه گونه‌های *Fusarium* جدا شده از بذر برنج روی گیاهچه برنج بیماری‌زا بودند. این یافته از جنبه مدیریت بیماری‌های بذرزاد برنج، ضد عفونی بذر با قارچ‌کش مناسب و تولید نشای سالم در خزانه اهمیت زیادی دارد.

در آزمایش بیماری‌زایی برای تک جدایه *F. merismoides*، ۱۰۰ درصد نشاها سالم بودند و شاخص وقوع بیماری صفر بود. حتی وضع ظاهری گیاهچه‌ها (از نظر میزان شادابی و سبز بودن گیاهچه‌ها) در این تیمار بعد از ۲۱ و ۳۴ روز بهتر از شاهد بود (شکل ۲). همانگونه که در شکل مشاهده می‌شود گیاهچه‌ها در تشتک‌های پتری

www.SID.ir

Archive of SID

2006, Zakaria *et al.* 2010, Khalmuratova *et al.* 2015,) و بهبود دهنده رشد گیاهچه برنج دانست که نیازمند بررسی بیشتر می‌باشد.

جدایه‌های هشت گونه *Fusarium* مورد بررسی در آزمون بیماری‌زایی باعث افزایش شاخص وقوع بیماری و کاهش درصد نشای سالم (درصد جوانه‌زنی) در مقایسه با شاهد شدند. با توجه به این نتایج، حدود ۳۸/۲ درصد جدایه‌های مورد بررسی دارای قدرت تهاجمی و بیماری‌زایی شدید (شاخص وقوع بیماری آنها بین ۱۰۰-۵۱ درصد) بودند (جدول ۱). با توجه به کشت متوالی و درازمدت ارقام بومی در کشور، تبادل بذر بین مناطق مختلف، تنوع شرایط اقلیمی استان‌های برنج‌خیز و تنوع‌پذیری ژنتیکی در گونه‌های *Fusarium*، ایجاد تنوع در بیماری‌زایی و ظهور جدایه‌های پرآزارتر در شالیزارهای کشور ممکن خواهد بود. بررسی‌ها نشان داده است که کشت متوالی گندم سبب افزایش قدرت ویرولانس جدایه‌های *Fusarium* می‌شود (Akinsanmi *et al.* 2004). رضوی و همکاران (Razavi *et al.* 2016) در بررسی بیماری‌زایی فوزاریوم‌های عامل پوسیدگی طوقه و ریشه مزارع گندم بیان داشتند که تفاوت معنی‌داری بین جدایه‌ها از نظر قدرت تهاجمی وجود داشت و احتمالا جدایه‌هایی که از قدرت بیماری‌زایی بالاتری برخوردار هستند از مزارعی نمونه‌برداری شده‌اند که چندین سال به طور متوالی گندم کشت گردیده‌اند و این موضوع را نیاز به بررسی‌های دقیق‌تر دانستند. از نتایج پژوهش حاضر می‌توان در شناسایی منابع مقاومت به پوسیدگی طوقه برنج استفاده نمود. در واقع، از بین جدایه‌های با قدرت بیماری‌زایی خیلی شدید و متعلق به مناطق جغرافیایی مختلف، می‌توان برای شناسایی منابع مقاومت به این بیماری استفاده نمود. با توجه به وجود تنوع و تفاوت در قدرت بیماری‌زایی جدایه‌ها لازم است در هر گونه برنامه به‌نژادی و اصلاحی مقاومت به *F. fujikuroi* طیف زیادی از جدایه‌ها استفاده شود و ارقام مقاوم بایستی به طیف وسیعی از جدایه‌ها مقاوم باشند و در صورت استفاده از یک جدایه، مقاومت ارقام به زودی شکسته می‌شود لذا از جدایه‌هایی که در این بررسی بیشترین قدرت تهاجمی را داشتند و از مناطق جغرافیایی مختلف بوده می‌توان در شناسایی منابع مقاومت به پوسیدگی طوقه با عامل *F. fujikuroi* استفاده نمود و انجام این پژوهش راه را برای شناسایی منابع مقاومت به این بیماری هموار نمود. جدایه‌های مختلف از نظر میزان مرگ و میر گیاهچه‌های برنج (شاخص وقوع بیماری) و درصد جوانه‌زنی بذور تنوع و تفاوت داشتند. این تنوع بین گونه‌های مختلف، بین اعضای هر گونه و بین استان‌های خاستگاه جدایه‌ها مشاهده شد. جدایه‌های *F. fujikuroi*، درصد شاخص بیماری را بیشتر از جدایه‌های *F. incarnatum* افزایش دادند و باعث افزایش گیاهچه‌های بیمار برنج شدند. در نشاهای بیمار علائم قهوه‌ای و تیره شدن ریشه، طوقه، ساقه، کم حجم و نخی شدن ریشه مشاهده شد. این ریشه‌ها پوشیده از میسلیوم‌های سفید تا کمی صورتی رنگ بودند. اما ریشه‌ها در نشاهای شاهد، سفید، افشان و پرحجم بودند. در گونه‌های متعلق به گونه مرکب *G. fujikuroi* کاغذ صافی در محل قرارگیری بذر بنفش رنگ شد. روی برخی از بذور اسپورودوشیوم نارنجی به فراوانی تشکیل شد که مملو از ماکروکنیدیوم بود. همچنین بین جدایه‌های *F. incarnatum* تنوع و اختلاف قابل توجه از نظر درصد شاخص بیماری وجود داشت و درگروه‌های مختلف بیماری‌زای ضعیف و خیلی شدید حضور داشتند. اما حدود ۵۰ درصد جدایه‌های این گونه در گروه بیماری‌زای ضعیف قرار گرفتند که درصد شاخص بیماری بین ۲۰-۱ بود (جدول ۱). اگر چه گزارش‌های بسیاری از دخیل بودن

www.SID.ir

Archive of SID

F. incarnatum در بیماری‌های مختلف وجود دارد اما اغلب به عنوان یک بیمارگر مهم گیاهی در نظر گرفته نشده است (Leslie & Summerell 2006). این گونه باعث کاهش جوانه‌زنی بذر و رشد گیاهچه ذرت خوشه‌ای گردیده است (Gopinath *et al.*1985) و یکی از قارچ‌های غالب دانه ارزن است و می‌تواند دلیلی بر همراهی مکرر این گونه با کپک زدگی خوشه و دانه این دو میزبان باشد (Leslie & Summerell2006). کلیچ (Klich 1986) فقدان همبستگی بین نسبت بذرهای آلوده به *Fusarium semitectum* Berk & Ravenel در توده بذرهای پنبه و ظهور علائم در آزمایشات بیماری‌زایی بذر را مربوط به میزان زادمایه در پوشش بذر دانست، که این میزان به شرایط آب و هوایی در طول مرحله زایشی بستگی دارد. با توجه به اینکه برای اولین بار بیماری‌زا بودن جدایه‌های *F. incarnatum* روی برنج گزارش می‌شود و با توجه فراوانی این گونه روی بذر برنج (Mew & Gonzales 2002; Khosravi 2018) بررسی‌های بیشتر در این زمینه ضروری به نظر می‌رسد. در این پژوهش گونه *F. graminearum* باعث کاهش ۵۴٪ جوانه‌زنی بذر گردید اما در بررسی آماتولیا و همکاران (Amatullia *et al.* 2010) بذور آغشته شده با *F. graminearum* ۱۵٪ کاهش جوانه‌زنی داشتند. گونه *F. merismoides* بیماری‌زا روی نشای برنج نبود و هیچگونه علایم بیماری مشاهده نشد و نشاها سالم بودند. اما در تشتک‌های پتری شاهد چند نشای بیمار در اثر آلودگی به قارچ‌های تیره بعد از سه هفته ثبت گردید. تشتک‌های پتری این آزمایش در شرایط آزمایشگاه نگهداری شدند و بعد از ۳۴ روز نشاهای حاصل از بذور تیمار شده با *F. merismoides* همچنان سالم و سبز بودند، اما نشاهای شاهد اکثرا از بین رفته بودند. این جدایه باعث بهبود وضع رشدی گیاهچه‌ها نسبت به شاهد گردید و تاثیر بازدارندگی در مقابل قارچ‌های همراه بذر داشت. بنابراین بررسی پتانسیل بهبود دهندگی رشد نشای برنج توسط این جدایه و تاثیر بازدارندگی در مقابل قارچ‌های بیمارگر برنج ضروری می‌باشد. لزلی و سامرل (Leslie & Summerell 2006) *F. merismoides* را به عنوان ساپروفیت در نظر گرفتند، اما بیان داشتند که این قارچ، پتانسیل ایجاد برخی از بیماری‌های گیاهی در شرایط آب و هوایی مناسب را دارد. دامادزاده و عابدی (Damadzadeh & Abedi 1998) واکنش بیست رقم برنج نسبت به هفت جدایه قارچ عامل بیماری پوسیدگی طوقه برنج را در اصفهان مورد بررسی قرار دادند. نتایج آزمایش روی کاغذ صافی درون تشتک پتری نشان داد که فوزاریوم روی درصد جوانه‌زنی بذور تأثیر دارد و در این خصوص جدایه‌ها در چهار گروه و ارقام در پنج گروه مختلف قرار گرفتند. تأثیر متقابل بین جدایه‌ها و لاین‌ها وجود نداشت، لیکن بعضی از جدایه-های قارچ، شدت بیشتری در ایجاد آلودگی داشتند و بعضی از لاین‌ها حساسیت و یا تحمل بیشتری نسبت به مجموعه جدایه‌ها از خود نشان دادند. با توجه به پتانسیل، تنوع بیماری‌زایی و فراوانی جدایه‌های *F. fujikuroi* از بذر استانهای برنج‌خیز کشور که با نتایج پژوهش های آمواه و همکاران (Amoah *et al.* 1996)، آماتولیا و همکاران (Amatulli *et al.* 2010)، ولف و همکاران (Wulff *et al.* 2010)، کروز و همکاران (Cruz *et al.* 2013) و باشیال و همکاران (Bashyal *et al.*2016) تطبیق دارد، از نتایج پژوهش حاضر می‌توان در شناسایی منابع مقاومت به پوسیدگی طوقه و ارایه راهبردهای مناسب و کاربردی برای مدیریت تلفیقی بیماری پوسیدگی طوقه استفاده نمود. تنوع در بیماریزایی، کنترل چند ژنی میزان تهاجم *F. fujikuroi* در برنج را نشان می‌دهد که مشابه سایر بیماری‌های ناشی از گونه‌های فوزاریوم مانند *F. graminearum* می‌باشد

www.SID.ir

Archive of SID

(Cumagun & Miedaner 2004). تغییر در درجه وقوع بیماری در *F. graminearum* نشان می‌دهد که بیش از یک ژن در میزان تهاجم بیمارگر دخالت دارند (Cumagun & Miedaner 2004).آزمون بیماری‌زایی با روش آغشتگی بذر را به دلیل اینکه نیاز به نشاکاری ندارد، در فضای محدودتری با تعداد زیاد جدایه قابل انجام است، زمان کمتری برای حصول نتیجه لازم دارد، روش تلقیح راحت‌تری دارد، شرایط کنترل شده‌تری در مورد آن می توان اعمال کرد و اینکه انواع علایم بیماری را به خوبی نشان می‌دهد، مناسب‌تر از روش تزریق سوسپانسیون است. اما برای مشاهده علایم تیپ مزرعه‌ای، روش تزریق سوسپانسیون به بوته‌های ۷۰-۵۰ روزه مناسب‌تر می‌باشد (Alian 2005).

بررسی انتقال عامل بیماری پوسیدگی طوقه توسط بذر برنج از آزمایشگاه به خزانه و مزرعه

تجزیه واریانس صفات مربوط به بیماری‌زایی عامل بیماری جدایه F152 (*F. fujikuroi*) در سه محیط آزمایشگاه (کاغذ صافی مرطوب)، خزانه و مزرعه نشان داد که محیط‌های فوق روی همه صفات مورد بررسی تاثیر معنی‌دار در سطح یک درصد داشتند. همچنین دو تیمار آزمایش و اثر متقابل تیمار × محیط روی صفات فوق تاثیر معنی‌دار داشتند. بنابراین میزان انتقال عامل بیماری پوسیدگی طوقه برنج از بذر آلوده در آزمایشگاه تا مزرعه تحت تاثیر محیط و شرایط کشت و مدیریت اعمال شده خواهد بود. آموا و همکاران (Amoah *et al.* 1995) نشان دادند که بیماری‌زایی اعضای گونه مرکب *G. fujikuroi* روی میزبان‌های مختلف ممکن است وابسته به سویه بیمارگر، محیط و وضعیت تغذیه‌ای گیاه و تعادل سموم و تنظیم کننده‌های رشد بیمارگر باشد. نتایج مشابهی از تغییرات بیمارزایی نیز توسط آماتولی و همکاران گزارش شده است (Amatulli *et al.* 2010). او (Ou, 1985) توسعهٔ علائم بیماری پوسیدگی طوقه را وابسته به سویه قارچ عامل بیماری و شرایط محیطی از جمله دما و رطوبت می‌داند. مقایسه میانگین صفات مربوط به بیماری‌زایی عامل بیماری پوسیدگی طوقه برنج در سه محیط آزمایشگاه، خزانه و مزرعه نشان داد که دو صفت درصد نشای سالم و شاخص وقوع بیماری در سه گروه مجزا قرار گرفتند. میزان شاخص وقوع بیماری از آزمایشگاه به خزانه کاهش معنی‌دار یافت اما از خزانه به مزرعه مجددا کمی افزایش یافت (جدول ۴). این نتیجه بیانگر این موضوع مهم است که در صورت آلودگی بذر برنج به عامل بیماری پوسیدگی طوقه برنج و عدم ضد عفونی صحیح بذر، میزان انتقال بیماری از بذر آلوده به خزانه، بیش از ۶۰ درصد کاهش می‌یابد. اما انتقال این نشاهای حامل آلودگی و فاقد علایم به مزرعه، و ایجاد شرایط آب و هوایی مناسب در مزرعه (افزایش دمای هوا در شمال کشور بعد از نشاکاری) فرصت بروز بیماری را فراهم خواهد نمود و شاخص وقوع بیماری از خزانه

جدول ٤- مقایسه میانگین نتایج بیماری‌زایی جدایه F152 گونه *Fusarium fujikuroi* در سه محیط آزمایشگاه، خزانه و مزرعه

Table 4. Comparison of mean of pathogenicity of *Fusarium fujikuroi* F152 in *invitro*, nursery and field

	Healthy plants (%)*	Dead plants (%)	Unhealthy plants (%)	Disease incidence (%)
laboratory	0.0c	100a	0.0c	100a
nursery	61.92a	11.57b	26.52b	38.09c
paddy field	54.88b	13.03b	32.12a	45.15b

* There is no significant difference between means having the same letters

www.SID.ir

Archive of SID

جدول ۵- مقایسه میانگین داده‌های اثر متقابل تیمارها روی صفات بیماری‌زایی جدایه F152 گونه *Fusarium fujikuroi* در سه محیط آزمایشگاه، خزانه و مزرعه

Table 5. Comparison of mean of interaction data of treatments on pathogenicity traits of *Fusarium fujikuroi* F152 in *invitro*, nursery and field.

Treatment		Healthy plants (%)*	Dead plants (%)	Unhealthy plants (%)	Disease incidence(%)
Laboratory	Artificial contaminated control	0.0c	100a	0.0b	100a
	Treated with Carboxin Thiram	83.33a	16.67b	0.0b	16.67c
Nursery	Artificial contaminated control	61.92b	11.57b	26.52a	38.09b
	Treated with Carboxin Thiram	94.49a	2.27c	3.23b	3.56d
Paddy field	Artificial contaminated control	54.88b	13.03b	32.12a	45.15b
	Treated with Carboxin Thiram	78.61a	1.96c	19.43a	21.39b

* There is no significant difference between means having the same letters

به مزرعه روند افزایشی نشان خواهد داد.

مقایسه میانگین اثر متقابل تیمارها روی صفات مربوط به بیماری‌زایی عامل بیماری پوسیدگی طوقه برنج در سه محیط آزمایشگاه، خزانه و مزرعه نشان داد که تیمار شاهد آلوده، روی محیط کاغذ صافی مرطوب بیشترین شاخص بیماری را داشت و در گروه اول (a) قرار گرفت و تیمار ضد عفونی بذر آلوده با قارچکش سیستمیک تماسی کاربوکسین تیرام در خزانه کمترین شاخص بیماری را نشان داد و در گروه آخر قرار گرفت (d). بنابراین میزان بروز بیماری در خزانه شالیزاری نسبت به شرایط آزمایشگاه کاهش معنی‌دار یافت (جدول ۵). همچنین درصد نشای سالم در تیمارهای ضد عفونی با قارچکش کاربوکسین تیرام در سه محیط آزمایشگاه، خزانه و مزرعه در گروه اول (a) قرار گرفت. این موضوع اهمیت ضد عفونی بذر برنج با قارچکش مناسب و موثر، برای مدیریت بیماری‌های بذرزاد را نشان میدهد.

بیماری‌زایی *F. fujikuroi* در خاک خزانه نسبت به شرایط کنترل شده روی کاغذ صافی کاهش یافت. بعبارت دیگر شرایط نامناسب برای بیمارگر در خزانه از رشد و توسعه آن جلوگیری کرده است. یافته های دیگر محققین این موضوع را تایید می‌نمایند که میزان انتقال بیماری از بذر آلوده به خزانه و بعد زمین اصلی روند کاهشی دارد و حتی در مورد برخی از قارچ های بذرزاد به صفر می رسد (Mew & Gonzales, 2002). در این پژوهش میزان انتقال بیماری از بذر (با ۱۰۰ درصد آلودگی) به خزانه، ۳۸٪ و به مزرعه ۴۵٪ برآورد گردید (جدول ۵). اما با ضد عفونی همان بذر (با ۱۰۰ درصد آلودگی) با قارچکش مناسب میزان انتقال بیماری به خزانه از ۳۸ به ۴ درصد کاهش می‌یابد. این نتایج اهمیت ضد عفونی بذر برنج با قارچکش مناسب را نشان می‌دهد. بیش از ۸۰ گونه قارچ همراه با بذور برنج معرفی شده است، که حدود ۲۰ گونه، بیمارگر روی برنج هستند. البته همه آنها باعث بیماری‌های قابل توجه در مزرعه نمی‌شوند و راندمان انتقال آنها هم مشخص نیست. به جز عامل بیماری پوسیدگی طوقه، زادمایه بذرزاد عوامل بیماری‌زای دیگر، ممکن است به عنوان یک منبع مهم از مایه تلقیح در مزرعه عمل نکنند (Mew & Gonzales, 2002). *F. fujikuroi* فراوان‌ترین گونه فوزاریوم در برنج است (Mew & Gonzales 2002, Amatulli *et al.* 2012, Vardasbi 2016, Khosravi 2018). آلودگی قارچی نمونه‌های بذر برنج با گونه‌های مختلف فوزاریوم و از جمله *F. fujikuroi* عامل بیماری پوسیدگی طوقه مشکل بزرگی برای کشاورزان در بسیاری

www.SID.ir

Archive of SID

از کشورهای در حال توسعه و کشورمان می‌باشد (Desjardins *et al.* 2000; Mathur & Manandhar 2003, Mew & Gonzales 2002; Khosravi 2018). بذرهای آلوده برنج منبع اولیه زادمایه هستند. هرچند میزان انتقال عامل بیماری پوسیدگی طوقه از بذر آلوده به خزانه و مزرعه روند کاهشی معنی‌داری دارد اما بهترین راهبرد برای مدیریت این بیماری استفاده از بذرهای سالم و عاری از آلودگی است (Dodan *et al.* 1994,Mew & Gonzales 2002) . همچنین برای تولید و پرورش نشای سالم، ضد عفونی بذر برنج با قارچکش مناسب برای کنترل زادمایه عوامل بیماری‌های بذرزاد ضروری می‌باشد.

منابع

Agarwal V.K. and Sinclair J.B. 1997. Principles of seed pathology. 2nded. CRC Press, Inc. Pp 539.

Ahmadi K., Gholizadeh H., Ebadzadeh H., Hoseinpour R., Hatami F., Fazli B., Kazemian A. and Rafiei M. 2016. Agricultural Statistics Crop Year Book for 2014-2015, Vol. 1. Ministry of Agriculture-Jahad Publishing, Planning and Economic Deputy, Information and Communication Technology Center. Pp. 169. (in Persian)

Akinsanmi O.A., Mitter V., Simpfendorfer S., Backhouse D. and Chakraborty S. 2004. Identity and pathogenicity of *Fusarium* spp. isolated from wheat fields in Queensland and northern New South Wales. Australian Journal of Agricultural Research 55: 99-107.

Alian A., Javan-Nikkhah M., Aminian H. and Khosravi V. 2008. Investigation on mating populations and mating types of *Gibberella fujikuroi*, the causal agent of rice bakanae disease in mazandaran province. Iranian Journal of Plant Pathology. 44: 121-136.

Alinia F., Nouri M.Z. and Hoseini M. 2015. Developments in the production of rice by introducing high yielding cultivars. Agricultural Research, Education and Extension Organization (AREEO) Publishing. Pp. 62. (in Persian)

Amatulli M.T., Spadaro D., Gullino M.L. and Garibaldi A. 2010. Molecular identification of *Fusarium* spp. associated with bakanae disease of rice in Italy and assessment of their pathogenicity. Plant Pathology 59: 839–844.

Amatulli M.T., Spadaroa D., Gullinoa M.L. and Garibald A. 2012. Conventional and real-time PCR for the identification of *Fusarium fujikuroi* and *Fusarium proliferatum* from diseased rice tissues and seeds. EuropeanJournal of Plant Pathology 134:401–408.

Amoah B.K., Rezanoor H.N., Nicholson P., and Macdonald M.V. 1995. Variation in the *Fusarium* section Liseola: pathogenicity and genetic studies of *Fusarium moniliforme* Sheldon from different hosts in Ghana. Plant Pathology 44,563–572.

Anonymous. ۲۰۱۸. List of pests, diseases and weeds of major agricultural crops, pesticides and recommended methods for their control. Deputy of Plant Pest Control of Plant Protection Organization Publishing (Editor: Saeedeh Nourbakhsh) . Pp. 214. (in Persian)

Bashyal B.M., Aggarwal R., Sharma S., Gupta S., Rawat K., Singh D., Singh A.K. and Krishnan S.G. 2016. Occurrence, identification and pathogenicity of *Fusarium* species associated with bakanae disease of basmati rice in India. European Journal of Plant Pathology144: 457-466.

Butt A.R., Yaseen S.I. and Javaid A. 2011. Seed-borne mycoflora of stored rice grains and its chemical control. The Journal of Animal & Plant Sciences 21: 193-196.

Cruz A., Marĺn P., González-Jaén M.T., Aguilar K.G.I., andCumagun C.J.R. 2013. Phylogenetic analysis, fumonisin production and pathogenicity of *Fusarium fujikuroi* strains isolated from rice in the Philippines.Journal of the Science of Food and Agriculture93: 3032–3039.

Cumagun C.J.R. and Miedaner T. 2004. Segregation for aggressiveness and deoxynivalenol production of a population of *Gibberella zeae* causing head blight of wheat. European Journal of Plant Pathology110:789–799.

Damadzadeh M. and Abedi H. 1998. Final report of the study on the reaction of rice cultivars to the fungus causing bakanae rice disease in Isfahan. Isfahan Agricultural Research Center Publishing. No. 77 /365. Pp 14.

www.SID.ir

Archive of SID

Damadzadeh M. and Hassanpoor H. 1987. Rice foot rot and its chemical control in Esfahan. Iranian Journal of Plant Pathology 23: 49- 61.

Dean R., Van Kan Jan A.L., Pretorius Z.A., Hammond-Kosack K.E., Di Pietro A., Spanu P.D., Rudd J.J., Dickman M., Kahmann R., Ellis J. and Foster G.D. 2012. The top 10 fungal pathogens in molecular plant pathology. Molecular Plant Pathology 13: 414–430.

Desjardins A.E., Manandhar H.K., Plattner R.D., Manandhar G.G., Poling S. M. and Maragos C.M. 2000. *Fusarium* species from Nepalese rice production of mycotoxins and gibberellic acid by selected species. Applied and Environmental Microbiology 66: 1020 –1025.

Diekmann M. 1993. Epidemiology and geophytopathology of selected seedborne disease. ICARDA, ALEPPO, Syria. Pp 1-15.

Dodan D., Ram S. and Sunder S.1994. Survival of *Fusarium moniliforme* in infected rice grains and its chemical control. Indian Journal of Mycology and Plant Pathology 24: 135–8.

Efati-Lakeh S., Padasht-Dehkaei F. and Saremi H. 2018. Diversity between different *Gibberella fujikuroi* isolates on their gibberellins hormone production and disease severity in rice plant. Iranian Journal of Plant Protection Science49: 81-90.

Gerlach W. and Nirenberg, H. 1982. The genus *Fusarium*. A Pictorial Atlas. Mitteilungen aus der Bioloischen Bundesansalt für Land-und Forstwirschaft, Berlin-Dahlem. Pp 406.

Gopinath A., Prakash H.S. and Shetty H.S. 1985. Grain mold of sorghum: Role of associated fungi on the health and viability of seeds. International Journal ofTropical Plant Diseases3: 177-182.

Guerrero F.G., Mathur S.B. and Neergaard P. 1972. Seed health Testing of rice. V. seed- borne fungi associated with abnormal seedlings of rice. ProcedureInternational Seed Testing Association37:985-997.

Islam M.Sh., Jahan Q.S.A., Bunnarith K., Viangkum S. and Merca S.D. 2000. Evaluation of seed health of some rice varieties under different conditions. Botanical Bulletin of Academia Sinica 41: 293-297.

Islam M.S., Rahman H., Pervez Z., Mahmud M.R. and Alam A. 2012. Studies on seed borne fungi in rice cultivars grown in non saline tidal zones of patuakhali and their effect on seed germination. Bangladesh Research Publications Journal6: 286-290.

Jeon Y.A., Yu S.H., Lee Y.Y., Park H.J., Lee S., Sung J.S., Kim Y.G. and Lee H.S.2013. Incidence, Molecular Characteristics and Pathogenicity of *Gibberella fujikuroi* Species Complex Associated with Rice Seeds from Asian Countries. Mycobiology 41: 225-233.

Jeyanandarajah SN. and Seneviratne De.S. 1991. Fungi seedborne in rice *(Oryzae sativa*) in Sri Lanka. Seed Sci. & Technol. 19:561-569.

Khalmuratova I., Kim H., Nam Y.J., Oh Y., Jeong M.J., Choi H.R., You Y.H., Choo Y.S., Lee I.J., Shin J.H., Yoon H. and Kim J.G. 2015. Diversity and Plant Growth Promoting Capacity of Endophytic Fungi Associated with Halophytic Plants from the West Coast of Korea. Mycobiology, 43: 373-383.

Khosravi V. 1999. Investigation on important seedborn fungal disease of dominant rice cultivars in Mazandaran region. M.Sc. Thesis, College of Agriculture, Tehran University, Karaj, Iran,102p. (in Persian)

Khosravi V. 2018. Biodiversity of *Fusarium* species associated with seeds on rice panicle in Iran. Phd. Thesis, College of Agriculture,Tehran University, Karaj, Iran,143p. (in Persian)

Khosravi, V., Javan-Nikkhah, M., Saremi, H., Naeimi, Sh. and Zare, R. 2019. *Fusarium* species associated with rice seed in Fars and Khuzestan provinces, Iran. Iranian Journal of Plant Protection Science. 50(1): 61-73

Khosravi V., Naeimi S., Rostami M., Bahrami M., Zare L. and Ghalandari M. 2014.Study of the fungal causal agents of rice panicle discoloration in Mazandaran. In: Proceedings of *21th Iranian Plant Protection Congress*, 23-26 Aug., Urmia University, Iran. p. 100.

Klich M.A. 1986.Mycoflora of cotton seed from the Southern United States:A three year study of distribution and frequency. Mycologia 78:706-712.

Leslie J.F. and Summerell B.A. 2006. The *Fusarium* laboratory manual. Blackwell Publishing, Oxford, Uk. Pp. 388.

Leslie J.F. and Summerell B.A. 2013. An overview of *Fusarium*. In: *Fusarium*, genomics, molecular and cellular biology. Brown D.W. and Proctor, R.H. eds. Caister Academic Press, Norfolk, UK,Pp. 1–9.

Mew T.W. and Gonzales P.2002. A handbook of rice seedborne fungi. International Rice Research Institute, Science Publishers, Inc. Pp.83.

www.SID.ir

Archive of SID

Nath R., Neergaard P. and Mathur S.B. 1970. Identification of *fusarium* species on seed as they occur in blotter test . Procedure of International Seed Testing Association. 35:121-144.

Nelson P.E., Toussoun, T.A. and Marasas, W.F.O. 1983. *Fusarium* species*:* an illastrated manual for identification. Pennsylvania State University Press. USA. Pp. 193.

Osroush S. 2008. Rice Seed Control and Certification Instructions. Seed and Plant Certification and Registration Institute Publishing. Pp.25. (in Persian)

Ou S.H. 1985. Rice diseases. Commonwelth. Mycological Inistitue, Kew, Surrey. Uk. Pp. 380.

Padasht F. 1993. Studies on Rice Bakanae Disease (*Gibberella fujikuroi*) in Guilan province . M.Sc. Thesis. College of agriculture. Tehran University. Iran. 123p.

Razavi M. Sari E. and Zare R. 2016. Genetic diversity of *Fusarium* species, causal agents of wheat root and crown rots using molecular markers and pathogenicity tests. Iranian Journal of Plant Pathology 52: 519–534.

Saponaro A., Porta- Puglia A.and Montorsi F. 1986. Some important seedborn pathogenic fungi on rice. (Abstr.) Informatore Fitopatologico 36:40.

SAS Institute. 2013. SAS/STAT user's guide, version 9.4. SAS Institute Inc., Cary, NC. USA.

Supriama J., and Palmer, L.T. 1980. Seedborne fungi of rice in Indonesia. Contributions central research Institute for Agricultural Bogor. No.57: Pp. 12.

Vardasbi H. 2016. Taxonomy and phylogeny of *Fusarium* species associated with root, foot, stem and leaf sheath of rice. M.Sc. Thesis, College of Agriculture, Tehran University, Karaj, Iran,150p.

Wada T., Kuzuma S., and Takenaka M.1990. Sensitivity of *Fusarium moniliforme* isolates to pefurazoate. Annuals of the Phythopathological Society of Japan 4: 449-456.

Webster R.K., and Gunnell P.S. 1992. Compendium of rice diseases. The American Phytopathological Society Press, St. Paul, Minn.62 pp.

Wulff E.G., Sorensen J.L., Lubeck M., Nielsen K.F., ThraneU. and Torp J. 2010. *Fusarium* spp. associated with rice Bakanae: ecology, genetic diversity, pathogenicity and toxigenicity. Environmental Microbiology12:649–657.

Zainudin N.I.M., Razak A.A. and salleh B. 2008. Bakanae disease of rice in malaysia and indonesia: etiology of the causal agent based on morphological, physiological and pathogenicity characteristics. Journal of Plant Protection Research 48: 475-485.

Zakaria L., Yaakop A.S., Salleh B. and Zakaria M. 2010. Endophytic Fungi from Paddy (short communication). Tropical Life Sciences Research, 21: 101–107.

Zakeri Z. and Zad J. 1987. Investigating the causes of abnormal and anomalous rice seedlings caused by seedborne fungi.Iranian Journal of Plant Pathology 23: 19-27.

Zianun W. and Nik H.W. 1977. A survey of seedborne fungi of rice in Malaysia. (abstr) Malaysian Applied Biology 6: 67.

www.SID.ir