



بررسی وضعیت آلودگی قارچی بذرهاي برنج در استان‌های برنج خیز ایران

وحید خسروی^{۱*}، محمد جوان نیکخواه^۲، حسین صارمی^۲، شهرام نعیمی^۳ و ترانه اسکو^۴

۱- دانشجوی دکتری گروه گیاهپزشکی، پردیس کشاورزی و منابع طبیعی دانشگاه تهران، کرج و عضو هیات علمی بخش تحقیقات گیاهپزشکی، موسسه تحقیقات برنج کشور، معاونت مازندران، سازمان تحقیقات، آموزش و ترویج کشاورزی، آمل Email: vahidkhosravi@ut.ac.ir

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

۴- استادیار بخش تحقیقات گیاهپزشکی، موسسه تحقیقات برنج کشور، معاونت مازندران سازمان تحقیقات، آموزش و

ترویج کشاورزی، آمل

چکیده

برای مدیریت صحیح بیماری‌های بذرزاد پوسیدگی طوقه، لکه قهوه‌ای و بلاست برنج اطلاع از میزان مایع تلقیح بذرزاد در یک نمونه بذر اهمیت زیادی دارد. در این تحقیق، میزان آلودگی ۲۱۲ نمونه بذر ارقام غالب برنج پنج استان مازندران، گیلان، خوزستان، گلستان و فارس به عوامل قارچی با استفاده از دو روش کشت با ضد عفونی و بدون ضد عفونی روی محیط غذایی اختصاصی PPA بررسی گردید. نمونه‌های کشت شده در انکوباتور با دمای 26 ± 1 درجه سانتی‌گراد قرار داده و از روز هفتم به بعد بطور روزانه قارچ‌های رشد یافته در اطراف بذرهاي بررسی، خالص‌سازی و با استفاده از کلیدهای معتبر شناسایی شدند. از بذور مورد بررسی قارچ‌های *Fusarium*، *F. fujikuroi*، *F. semitectum*، *Penicillium spp.*، *Aspergillus spp.*، *Cheatomium sp.*، *Alternaria spp.*، *Bipolaris spp.*، *Bipolaris oryzae* spp.، *Paecilomyces sp.* و *Epicoccum sp.* جدا سازی و شناسایی گردید. بیشترین جدایه‌ها مربوط به سه جنس قارچی *Bipolaris*، *Fusarium* و *Alternaria* بود. بذرهاي استان خوزستان و گلستان به ترتیب بیشترین (۳۸٪) و کمترین (۷/۵٪) درصد آلودگی قارچی را داشتند. با توجه به کمترین میزان آلودگی بذر در گلستان، این استان برای تولید بذر گواهی شده مناسب می‌باشد. نظر به میزان بالای آلودگی در اکثر نمونه‌ها (۳۸-۷/۵ درصد)، برای کنترل اینوکولوم بذرزاد و تولید نشای سالم، ضد عفونی بذر برنج برای همه مناطق کشور توصیه می‌گردد.

واژه‌های کلیدی: برنج، بیماری بذرزاد، ضد عفونی و مازندران

مقدمه

برنج پس از گندم، مهم‌ترین محصول کشاورزی است و نقش بسیار بارز و چشم‌گیری در تغذیه مردم جهان و نیز کشور ما دارد. ایران دارای ۵۶۴ هزار هکتار سطح زیرکشت برنج در سال زراعی ۹۳-۱۳۹۲ بود. پنج استان مازندران، گیلان، خوزستان، گلستان و فارس جمعاً ۹۳/۹ درصد از سطح اراضی برنج خیز کشور را به خود اختصاص داده‌اند و سایر استان‌های برنج خیز کشور ۶/۱ درصد می‌باشد (احمدی و همکاران، ۱۳۹۴). تقریباً ۹۰ درصد از محصولات غذایی دنیا به وسیله بذر تکثیر می‌شوند (Diekmann, 1993). بذر با کیفیت بالا به‌عنوان یکی از محصولات کشاورزی مصرفی شناخته شده است و یکی از جنبه‌های مهم کیفیت بذر علاوه بر درصد جوانه‌زنی و خلوص بذر، عاری بودن از عوامل بیماری بذرزاد می‌باشد. طبق توصیف سینکлер (۱۹۷۹)، بذر دنیای کوچک میکروپها است که توانایی حمل انواع گسترده‌ای از قارچ‌ها، باکتری‌ها، ویروس‌ها و نماتدها را دارد و قادرند باعث ایجاد بیماری‌هایی در گیاهچه‌ها



یا گیاهان گردند (سرمدنیا، ۱۳۷۵). در سال‌های اخیر، افزایش داد و ستد و همچنین تبادلات بین‌المللی بذر در قالب بذر تجارتي و نیز ژرم‌پلاسم، موجب افزایش ریسک انتشار عوامل بیماری‌زای گیاهی شده است. قارچ‌های همراه با بذر برنج، باعث کاهش قدرت جوانه‌زنی بذر، مرگ نشای برنج در خزانه، ایجاد بیماری‌هایی نظیر پوسیدگی طوقه، ریشه برنج، تغییر رنگ خوشه، بذر و تولید زهرابه‌های قارچی که ممکن است به انسان و حیوانات اهلی آسیب بزنند و نیز ممکن است باعث کاهش وزن هزار دانه بذر شوند (Neergaard, 1986). بیش از ۸۰ گونه قارچ همراه با بذرهای برنج معرفی شده است که حدود ۲۰ گونه، بیمارگر روی برنج هستند. البته همه آن‌ها باعث بیماری‌های قابل‌توجه در مزرعه نمی‌شوند و راندمان انتقال آن‌ها هم مشخص نیست. به‌جز *Fusarium moniliforme* (عامل بیماری پوسیدگی طوقه و ریشه برنج)، مایه تلقیح بذرزاد عوامل بیماری‌زای دیگر، ممکن است به‌عنوان یک منبع مهم از مایه تلقیح در مزرعه عمل نکنند (Mew and Gonzales, 2002). در مناطق برنج‌کاری کشور بیماری‌های مهم برنج مانند بلاست، لکه قهوه‌ای، پوسیدگی طوقه و سوختگی غلاف، همه ساله خساراتی قابل توجه وارد می‌کنند (خسروی، ۱۳۷۸) و در بعضی سال‌ها در صورت مساعد بودن شرایط محیطی به صورت اپیدمی محلی و یا منطقه‌ای درآمد و خسارات غیر قابل جبرانی را وارد می‌کنند. به عنوان مثال بیماری پوسیدگی طوقه برنج، که مهم‌ترین راه انتقال و گسترش آن از طریق بذر می‌باشد، به‌عنوان یکی از عوامل بازدارنده در توسعه و ترویج کشت رقم پرمحصول خزر بود (پاداشت، ۱۳۷۲). قارچ‌های بذرزاد برنج، توسط محققین زیادی از کشورهای مختلف گزارش شده‌اند. در این زمینه سوپریاما و همکاران (۱۹۸۰) در اندونزی، ساپونارو و همکاران (Saponaro, et al., 1986) در ایتالیا، بوت و همکاران (Butt, et al., 2011) در پاکستان، اسلام و همکاران (Islam, et al., 2012) در بنگلادش گزارش‌هایی ارائه دادند. آزمون سلامت بذر در بیش از پانصد هزار نمونه بذر، مطابق دستورالعمل ۱۹۸۵، انجمن بین‌المللی آزمون بذر (ISTA) انجام شده است و در مجموع بیش از ۸۰ گونه قارچ تشخیص داده شد، که حدود ۲۰ گونه، بیمارگر روی برنج بودند. در ایران، خوارزمی (۱۳۴۵) اولین مطالعات بیماری‌شناسی بذر برنج را انجام داده است، که مهم‌ترین قارچ‌های جدا شده، *Drechslera oryzae*، *Pyricularia oryzae* و *F. moniliforme* بود. نتایج بررسی خسروی (۱۳۷۸) روی بذرهای برنج استان مازندران نشان داد که در روش کشت روی کاغذ صافی مرطوب ۲۱/۷ درصد و روی محیط غذایی PDA ۳۴/۴ درصد به قارچ‌های مهم بیماری‌زا آلوده بودند. در تحقیق فوق ۱۷/۵ درصد بذور برنج مازندران به گونه‌های مختلف فوزاریوم آلوده بودند. این تحقیق با توجه به اهمیت برنج در امنیت غذایی کشور و اهمیت شناخت قارچ‌های بذرزاد برنج و میزان آلودگی قارچی بذر مناطق مختلف کشور، انجام شد تا از نتایج آن برای مدیریت بیماری‌های ناشی از گونه‌های بیماری‌زا در خزانه، مزارع برنج، قرنطینه داخلی، خارجی و جلوگیری از تولید زهرابه‌های قارچی ناشی از گونه‌های تولید کننده آنها استفاده گردد.

مواد و روش‌ها

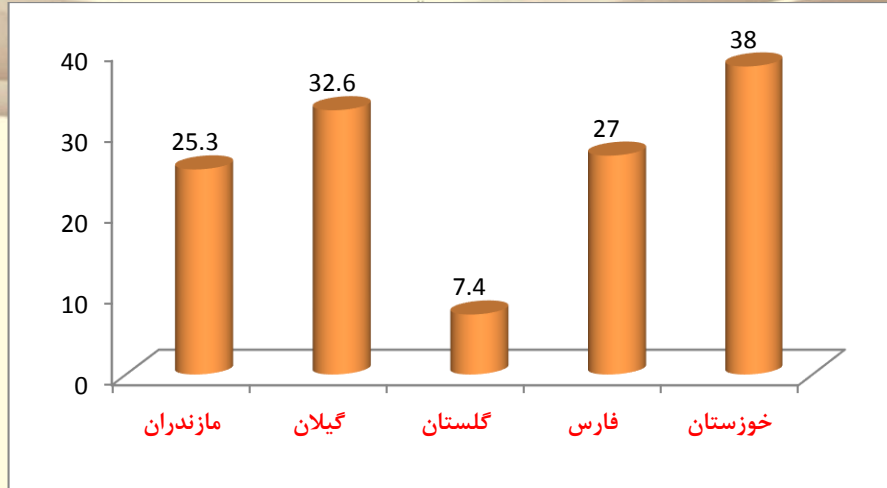
برای تهیه نمونه، بازدید و نمونه‌برداری از مزارع برنج مناطق مختلف استان‌های اصلی برنج‌خیز کشور همچون مازندران، گیلان، گلستان، فارس و خوزستان در مرحله سفت شدن دانه‌ها انجام شد. از نقاط مختلف هر مزرعه تعداد ۲۰-۵۰ خوشه بطور تصادفی برداشت گردیده و در پاکت کاغذی قرار داده و پس از ثبت مشخصات شامل رقم، محل و تاریخ نمونه‌برداری به آزمایشگاه منتقل و در شرایط خشک و خنک برای ادامه بررسی‌ها نگهداری گردید. در آزمایشگاه، شلتوک‌ها از خوشه‌ها جدا و مجدداً به داخل پاکت‌های خودشان منتقل شدند. تعداد ۱۰۰ عدد بذر به طور تصادفی از هر نمونه انتخاب شد و به دو روش روی محیط غذایی Peptone PCNB و PPA Agar کشت گردیدند. در روش ضدعفونی، ابتدا بذرهای برنج به مدت ۳۰ دقیقه با آب بطور سطحی شسته شده و سپس به‌وسیله محلول هیپوکلرید سدیم رقیق شده به مدت ۳ دقیقه ضدعفونی و بعد از ۳ مرحله شستشو با آب مقطر، ۵۰ عدد بذر در سه تشتک پتری کشت داده شدند و در انکوباتور با دمای 26 ± 1 درجه سانتی‌گراد و نور متناوب (۱۲ ساعت روشنایی و ۱۲ ساعت تاریکی) نگهداری شدند. برای جلوگیری از رشد باکتری‌ها، به محیط کشت آنتی‌بیوتیک سولفات استرپتومایسین اضافه گردید. همچنین در



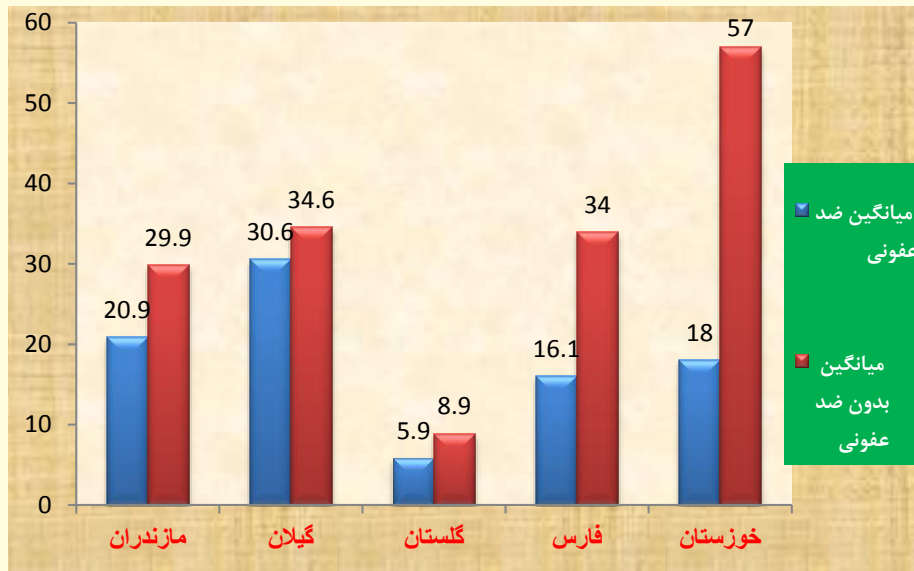
روش بدون ضد عفونی، ۵۰ عدد بذر خشک و بدون ضد عفونی و هیچگونه تیماری روی محیط PPA در سه تشک پتری کشت گردید. قارچ‌های به دست آمده به روش تک اسپور و یا نوک هیف خالص شدند. بررسی تشک‌های پتری از روز هفتم پس از کشت، شروع شد. بررسی پرگنه قارچ‌های رشد یافته با استفاده از میکروسکوپ با بزرگنمایی ۴X و ۱۰X، بینوکولر با بزرگنمایی ۵۰X و تهیه پرپاراسیون میکروسکوپی انجام شد. جداسازی و ثبت درصد آلودگی بذرها و خصوصیات مورفولوژیک پرگنه‌ها نیز انجام شد. برای بررسی و شناسایی جدایه‌ها از محیط‌های کشت سیب زمینی دکستروز آگار (PDA)، آب آگار دو درصد (Water Agar) WA، برگ میخک آگار (Carnation Leaf Agar) CLA استفاده گردید. برای نگهداری طولانی مدت قارچ‌ها از روش نگهداری قارچ روی کاغذ صافی سترون و ماسه بادی استفاده شد. پس از جداسازی و خالص‌سازی قارچ‌ها، ضمن بررسی خصوصیات ماکروسکوپی هر یک از جدایه‌ها از نظر شکل، رنگ پرگنه (سطح رویی و تحتانی پرگنه)، نحوه رشد، سرعت رشد، شکل و رنگ در حاشیه پرگنه روی محیط غذایی PDA، در دمای 25 ± 1 درجه سانتی‌گراد در تاریکی، خصوصیات میکروسکوپی آن‌ها نیز با تهیه اسلاید میکروسکوپی روی بسترهای آب مقطر، و کاتن بلو+ لاکتوفنل بررسی گردید. سپس با استفاده از کلیدهای شناسایی معتبر گونه‌های مربوطه شناسایی شدند (Nelson et al., 1983; Ellis, 1971; Sivanesan, 1987; Leslie and Summerell, 2006).

نتایج و بحث

در این تحقیق از ۲۱۲ نمونه بذر برنج جمع‌آوری شده از مزارع استان‌های مورد مطالعه، قارچ‌های *F. fujikuroi*, *F. semitectum*, *Paecilomyces sp.* و *Epicoccum sp.* جداسازی و شناسایی گردید. بیشترین جدایه‌ها مربوط به سه جنس *Bipolaris*, *Fusarium* و *Alternaria* بود. خسروی و همکاران (۱۳۹۳) با بررسی عوامل قارچی بیماری تغییر رنگ خوشه برنج نشان دادند. سه جنس *Alternaria*, *Bipolaris* و *Fusarium* از عوامل اصلی ایجاد بیماری هستند و بیشترین فراوانی را هنگام جداسازی از بذرها تغییر رنگ یافته داشتند. در صد آلودگی نمونه‌های مورد بررسی از ۰-۱۰۰ درصد بود و با توجه به میزان بالای آلودگی در اکثر نمونه‌ها (شکل ۱) و تأثیر مثبت ضد عفونی در کاهش درصد آلودگی بذر (شکل ۲)، ضد عفونی بذر برنج برای همه مناطق کشور اجتناب‌ناپذیر می‌باشد. همچنین نگهداری بذرها در شرایط انبارداری مناسب ضروری می‌باشد. همان‌طور که در شکل ۱ مشاهده می‌گردد بذرها استان خوزستان و گلستان به ترتیب بیشترین و کمترین درصد آلودگی قارچی را داشتند. بنابراین با توجه به کمترین میزان آلودگی بذر در استان گلستان، این منطقه می‌تواند برای تولید بذر گواهی شده بسیار مناسب باشد. سلامت بذر یک عامل شناخته‌شده در علم مدرن کشاورزی برای جمعیت گیاهی مورد نظر و عملکرد خوب است. ضد عفونی بذر با مواد شیمیایی بهترین راه، از نظر زیست‌محیطی نسبتاً کم‌خطر، و مقرون به صرفه اقتصادی برای حفظ وضعیت سلامت بذر و تولید نشای سالم و قوی است، چرا که در این روش مدیریتی، عمدتاً دز بسیار پایین (۱/۵-۱ گرم/کیلوگرم) از مواد شیمیایی در مقایسه با محلول‌پاشی (در سطح وسیع مزرعه) استفاده خواهد شد. گوررو و همکاران (۱۹۷۲) اظهار داشتند اگر ۲۰ درصد کاهش در جوانه‌زنی را به‌عنوان حد تحمل بپذیریم، در نتیجه باید نمونه‌های بذر با جوانه‌زنی کمتر از ۸۰ درصد را حذف کنیم. بنابراین، نتایج حاصل از این تحقیق، آلودگی‌های قارچی قابل توجه بذر ارقام مورد بررسی را نشان داد. لذا تحقیقات بیشتری در زمینه بیماری‌شناسی بذر برنج و یافتن روشی مناسب برای کنترل اینوکولوم بذرزاد ضروری به نظر می‌رسد.



شکل ۱- میانگین درصد آلودگی کلی قارچی بذور برنج استان‌های مورد مطالعه



شکل ۲- میانگین درصد آلودگی قارچی بذور برنج استان‌های مورد مطالعه در دو روش کشت

با توجه به نتایج حاصل از این پژوهش و مطالعات انجام شده پیشنهادات زیر جهت مدیریت و کنترل بیماری‌های بذرزاد برنج صورت می‌گیرد:

- ۱- تهیه بذر از مناطق با آلودگی کمتر مانند گلستان انجام گردد. همچنین در سایر مناطق، بذریگیری از مزارع فاقد آلودگی صورت گیرد.
- ۲- مدیریت صحیح بیماری‌های بذرزاد مانند پوسیدگی طوقه، بلاست و لکه قهوه‌ای در مزارع تهیه بذر گواهی شده اعمال گردد.
- ۳- ضد عفونی بذر برنج با قارچکش مناسب برای کنترل اینوکولوم بذرزاد صورت گیرد.
- ۴- مبارزه با بیماری‌های مهم در مرحله خزانه در صورت ظهور علائم، ضروری می‌باشد.



منابع مورد استفاده

- احمدی، ک. قلی زاده، ح. عبادزاده، ح. حسین پور، ر. حاتمی، ف. فضلی، ب. کاظمیان، آ. و رفیعی، م. ۱۳۹۴. آمارنامه کشاورزی سال زراعی ۹۳-۱۳۹۲، جلد اول، محصولات زراعی. انتشارات وزارت جهاد کشاورزی، معاونت برنامه ریزی و اقتصادی، مرکز فناوری اطلاعات و ارتباطات. ۱۶۹ صفحه.
- پاداشت، ف. ۱۳۷۲. بررسی بیماری پوسیدگی طوقه برنج (*Gibberella fujikuroi*) در گیلان. پایان نامه کارشناسی ارشد در رشته بیماری شناسی گیاهی. دانشکده کشاورزی دانشگاه تهران. ۱۲۳ صفحه.
- خسروی، و. ۱۳۷۸. بررسی مهمترین بیماریهای قارچی بذرزاد برنج در ارقام غالب منطقه مازندران. پایان نامه کارشناسی ارشد در رشته بیماری شناسی گیاهی. دانشکده کشاورزی دانشگاه تهران. ۱۰۲ صفحه.
- خسروی، و.، نعیمی، ش.، رستمی، م.، بهرامی، م.، زارع، ل. و م. قلندری. ۱۳۹۳. بررسی عوامل قارچی بیماری تغییر رنگ خوشه های برنج در مازندران. بیست و یکمین کنگره گیاهپزشکی. ارومیه.
- خوارزمی، ا. ۱۳۴۵. بررسی بیماریهای بذرزاد برنج. پایان نامه فوق لیسانس در رشته دفع آفات. دانشکده کشاورزی دانشگاه کرج. ۹۹ صفحه.
- سرمندیا، غ. ۱۳۷۵. تکنولوژی بذر. انتشارات جهاد دانشگاهی مشهد. ۲۸۸ صفحه. (ترجمه).
- 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(2), 193-196.
- Diekmann, M.** 1993. Epidemiology and geophytopathology of selected seedborne disease. ICARDA, ALEPPO, Syria. Pp 1-15.
- Ellis, M. B.** 1971. Dematiaceous Hyphomycetes. Commonwealth Mycological Institute, KEW. 608 pp.
- Esuruoso, O. F., C.O. Komolafe, and M. O. Aluko.** 1975. Seedborne fungi of rice (*Oryza sativa* L.) in Nigeria. (abstr.) seed sci and Technd. 3 (3/4): 661.
- Guerrero., F. G., S. B. Mathur., and Neergaard, P.** 1972. Seed health Testing of rice. V. seed- borne fungi associated with abnormal seedlings of rice. Proc. Int. seed Test. Ass. 37 (3):985-997.
- 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 Journal, 6 (3): 286-290.
- Leslie, J. F. and Summerell, B. A.** 2006. The Fusarium laboratory manual. Blackwell Publishing, Oxford, Uk, Pp. 388.
- Mew, T.W. and Gonzales, P.** 2002. A handbook of rice seedborne fungi. International Rice Research Institute, Science Publishers, Inc. 83 p.
- Neergaard, P.** 1986. Seed Pathology. S. Chand & Company Ltd. New Delhi.
- Saponaro, A. A. Porta- Puglia, and F, Montorsi.** 1986. Some important seedborn pathogenic fungi on rice. (Abstr.) Informatore Fitopatologico. 36(1):40.
- Sivanesan, A.** 1987. Graminicolous species of *Bipolaris*, *Curvularia*, *Derchhslera*, *Exserohilum* and their teleomorphs. Mycological Papers, 158-261.
- Nelson PE, Toussoun TA and Marasas WFO.** 1983. *Fusarium* Species: An Illastrated Manual for Identification. Pennsylvania, USA: Pennsylvania State University Press. 193 p.