بیماری‌های مهم بذرزاد برنج
ارزیابی در مزرعه و ردیابی در آزمایشگاه

فاطمه خلقتی بناء
عضو هیئت علمی مؤسسه تحقیقات ثبت و گواهی بذر و نهال

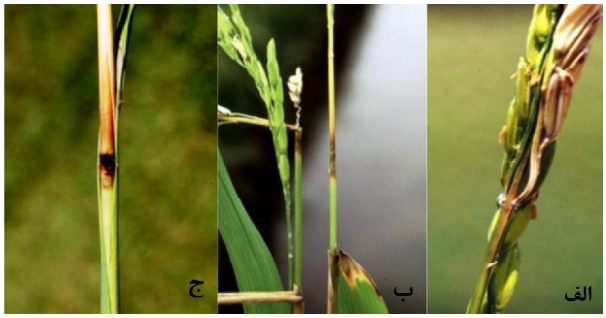
مقدمه

برنج (*Oryzae sativa*) یکی از مهمترین محصولات زراعی است که غذای اصلی بیش از نیمی از جمعیت جهان را تشکیل می‌دهد. سالانه در حدود ۱۲۲ میلیون هکتار از اراضی کشاورزی به زیر کشت این محصول می‌رود. غذای میلیون‌ها نفر در آسیا به طور کامل به برنج وابسته است، به‌طوری که بیش از ۹۰ درصد برنج دنیا در این قاره پهناور تولید و مصرف می‌شود. سطح زیر کشت این محصول در ایران بالغ بر ۶۰۰ هزار هکتار و عملکرد متوسط آن ۴ تا ۴/۵ تن شلتوک در هکتار است (آمارنامه کشاورزی ۱۳۹۳). تولید بذر گواهی شده برنج در کشور محدود به استان های مازندران و گیلان است. در سال ۱۳۹۵ میزان تولید بذر گواهی شده برنج در مازندران ۸۵۶ تن و در گیلان ۵۳۸ تن برآورد می‌شود. بیشتر از ۵۰ گونه قارچی در آزمون سلامت بذر برنج شناسایی می‌شود که از این میان ۱۳ گونه قارچی توانایی ایجاد بیماری در ریشه، ساقه، غلاف برگ و گل‌آذین برنج را دارند. بر اساس استانداردهای ملی مصوب، تنها سه بیماری بلاست برنج ،پوسیدگی طوقه فوزاریومی و سیاهک دروغی، در ارزیابی و تعیین سلامت مزارع و توده‌های بذری برنج مهم شمرده می‌شوند. هر یک از این بیماری‌ها در یک یا مراحل سه‌گانه رویشی، گلدهی و پرشدن دانه ظاهر شده و در آزمایشگاه و مزرعه قابل ردیابی و ارزیابی هستند. در این گفتار به معرفی، ردیابی آزمایشگاهی و ارزیابی این بیماری‌ها در مزرعه پرداخته می‌شود.

بلاست برنج

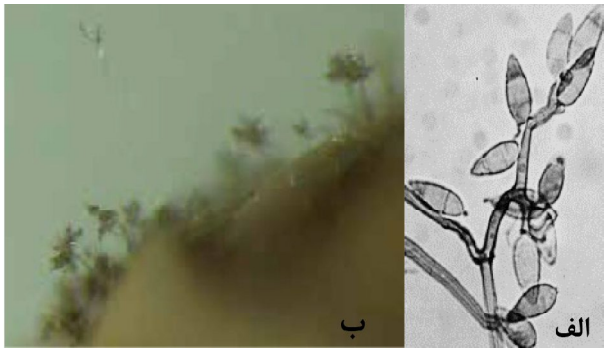
بلاست برنج مهمترین بیماری بذرزاد برنج و مخربترین بیماری این محصول در دنیا است. عامل این بیماری *Pyricularia oryzae*، دارای کنیدیوفورهای استوانه‌ای و کنیدیوم‌های گلابی شکل به رنگ سبز زیتونی است (شکل ۱). مرحله جنسی این قارچ در طبیعت به ندرت تشکیل می شود. بیماری روی برگ ها، گره، خوشه و غلاف برگ به صورت لکه های دوکی شکل سفید تا خاکستری مشاهده می شود. بروز علائم شدید بیماری روی گره ها به ویژه گره‌های پایینی و پوسیدگی آنها، ورس بوته‌های برنج را به همراه دارد. شدیدترین حالت بیماری حمله قارچ بیمارگر به گردن خوشه است. پوسیدگی گردن خوشه جریان شیره غذایی از ساقه به خوشه را قطع کرده و دانه در خوشه تشکیل نمی‌شود (شکل ۱). سه ژن مقاومت در برنج برای این بیماری شناسایی شده‌است. تحقیقات نشان می‌دهد که جدایه‌های مختلف بیمارگر بلاست بسیار از نظر ژنتیک بیماری‌زایی

متنوعند وجود چنین تنوعی از عوامل مهم افزایش دینامیک بیماری زایی و موفقیت بیمارگر در پیروزی بر واریته‌های مقاوم است. بر اساس استاندارد ملی سلامت بذر برنج در مزرعه بذری گواهی شده، حداکثر آلودگی مجاز به بلاست ۲ بوته آلوده در هر ۱۰۰۰۰ بوته و در مزرعه مادری ۱ بوته آلوده در هر ۱۰۰۰۰ بوته می‌باشد. همچنین مزرعه بذری پایه باید بطور کامل عاری از آلودگی به بلاست باشد.



شکل۱- الف) خوشه برنج آلوده به بیماری بلاست خوشه، ب) خوشه برنج آلوده به بلاست شدید ج) بلاست گره

آزمون ردیابی آلودگی بذور به بلاست : جهت تشخیص آلودگی بذر بر اساس روش استاندارد انجمن بین المللی آزمون بذر (ISTA) از آزمون بلاتر استفاده می‌شود. بذور مورد آزمون در شرایط نوری توصیه شده نگهداری شده و پس ازطی دوره ۷ روزه کنیدیوفورها و کنیدیوم‌های رشد کرده روی گلوم ها به کمک استرئومیکروسوپ (۵۰x – ۲۵) در مقایسه با نمونه شاهد آلوده مشاهده و شناسایی می شود(شکل ۲).



شکل۲- الف) کنیدیوفورها و کنیدیوم های قارچ *Pyricularia oryzae* ب) کنیدیوفورها و کنیدیوم‌های رشد کرده روی گلوم پس از آزمون بلاتر

ارزیابی بلاست برگی در مزرعه: برای تعیین شاخص آلودگی به بلاست برگی در مزرعه در مرحله تورم غلاف برگ پرچم، ۲۵ بوته از هر مزرعه به طور تصادفی انتخاب و درصد آلودگی سطح برگ ، تیپ آلودگی برگ و از ادغام این دو فاکتور درجه آلودگی برگ تعیین می شود .

درجات مختلف آلودگی از ۰ تا ۹ در شکل ۳ نشان داده شده است. سپس با تعیین درصد شاخص بلاست بر اساس فرمول زیر میزان آلودگی در مزرعه تعیین می شود.

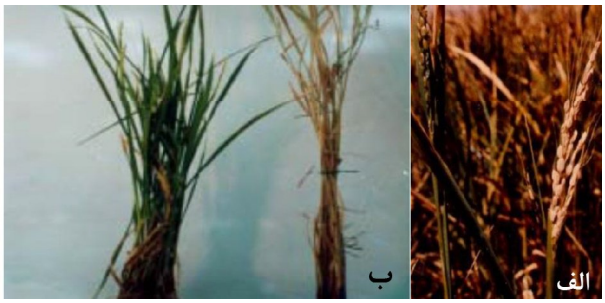
شکل۳-درجات آلودگی برگ برنج به بیماری بلاست بر اساس مقیاس بین المللی ایری

پوسیدگی طوقه برنج

عامل این بیماری قارچ *Gibberella fujikuroi* با شکل غیر جنسی *Fusarium moniliforme* است (شکل ۴). این بیماری در همه مناطق برنج کاری دنیا وجود دارد و خسارت آن گاه تا ۹۵ درصد برآورد می‌شود . خسارت این بیماری در ایران تا ۷۵ درصد گزارش شده است. آلودگی شدید بذر، جوانه‌زنی را به شدت کاهش می دهد گیاهچه‌های حاصل از این بذور معمولاً در مرحله یک یا دو برگی به دلیل پوسیدگی می میرند. در خزانه گیاهچه های بیمار ضعیف و در مقایسه با گیاهچه های سالم بلندترند (شکل ۴).

در مزرعه این بیماری در تمام مراحل رشد گیاه، به صورت پوسیدگی قهوه‌ای رنگ در ناحیه طوقه و بندهای مجاور ظاهر می‌شود. تعداد پنجه در بوته‌های آلوده کم و برگ‌های آن یکی پس از دیگری از پایین به رنگ قهوه‌ای در آمده، لوله‌ای شده و می میرند. میکوتوکسین های قارچ بیمارگر از عوامل اصلی در بروز علائم تغییر رنگ ، درازی و در مواردی کوتولگی بوته‌های بیمار است.

بر اساس استاندارد ملی و مصوب سلامت بذر برنج، حد مجاز آلودگی در مزرعه برای تمام طبقات بذری صفر است. در آزمایشگاه حد مجاز آلودگی به این بیماری در طبقات بذری پایه و مادری صفر و برای بذر گواهی شده ۱ بذر آلوده در هر ۱۰۰۰۰ بذر برنج تعیین شده است.



شکل۴-الف) سفید شدگی خوشه برنج در اثر بیماری پوسیدگی طوقه ب) درازشدگی بوته بیمار در مقایسه با بوته سالم.

آزمون ردیابی آلودگی بذور به بلاست : جهت تشخیص آلودگی بذر بر اساس روش استاندارد انجمن بین المللی آزمون بذر (ISTA) از آزمون بلاتر استفاده می‌شود. بذور مورد آزمون در شرایط نوری توصیه شده نگهداری شده و پس ازطی دوره ۷ روزه کنیدیوفورها و کنیدیوم‌های رشد کرده روی گلوم‌ها به کمک استرئو میکروسوپ (X ۵۰- ۲۵) در مقایسه با نمونه شاهد آلوده مشاهده و شناسایی می‌شود (شکل ۵).

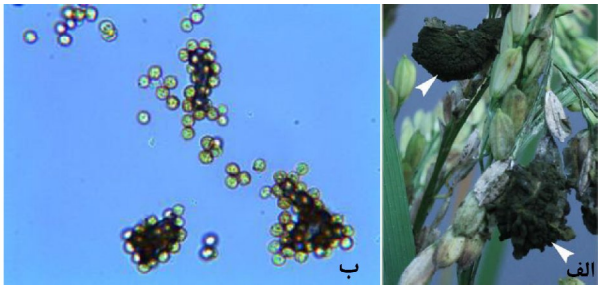
شکل۵-الف) میکروکنیدی های زنجیری *F. moniliforme* ب) میکروکنیدی وماکروکنیدی‌های قارچ *F. moniliforme* .

تعیین درجه آلودگی در مزرعه: درجه آلودگی و واکنش ارقام برنج بر اساس درصد گیاهان آلوده (تعداد گیاهان آلوده به کل گیاهان ارزیابی شده) به شش گروه صفر- بسیار مقاوم بدون آلودگی، ۱- مقاوم با درصد آلودگی کمتر از یک، ۳- نیمه مقاوم با درصد آلودگی یک تا پنج، ۵- نیمه حساس با درصد آلودگی شش تا ۲۵، ۷- حساس با درصد آلودگی۲۶ تا ۵۰ و ۹- بسیار حساس با درصد آلودگی ۵۱ تا ۱۰۰ درصد تفکیک می شوند.

سیاهک دروغی برنج

عامل بیماری سیاهک دروغی برنج به عنوان یک بیماری بذرزاد رو به گسترش، قارچی به نام *Ustilaginoidea virens* با کنیدیوم های کروی تا تخم مرغی زیتونی رنگ معرفی شده است. مرحله جنسی قارچ وجود دارد خسارت این بیماری در برخی مناطق تا ۳۵ درصد گزارش شده است. بیماری معمولاً در اوایل مرحله گل‌دهی آغاز شده ولی علائم آن در زمان رسیدن بذر مشاهده می‌شود. دانه های آلوده در خوشه تغییر شکل داده و به صورت اندامی گرد پوشیده از اسپور در می آیند،که قطر آن پس از رشد ممکن است به یک سانتی متر یا بیشتر برسد.

سیاهک دروغی برنج در ایران از سال ۱۳۷۶ ابتدا در مازندران و سپس از گیلان گزارش شده و به دلیل تغییرات اقلیمی، افزایش سطح زیر کشت هیبریدهای پرمحصول و همچنین افزایش مصرف کودهای ازته رو به گسترش است. این بیماری علاوه بر کاهش کمی، کیفی و اجبار محدودیت‌های قرنطینه‌ای، با تولید سمی خطرناک سلامت انسان و دام را تهدید می کند. با توجه به ظهور این بیماری درمزارع بذری مادری و گواهی شده و حساسیت اغلب واریته‌های هیبرید وکولتیوارهای پرمحصول به این بیماری، استفاده از بذر سالم یکی از ارکان اصلی در مدیریت تلفیقی این بیماری شمرده می‌شود. بر اساس استاندارد ملی سلامت بذر برنج، میزان مجاز آلودگی به سیاهک دروغی در مزرعه و آزمایشگاه در همه طبقات بذری صفر است.



شکل۶-الف) خوشه آلوده به سیاهک دروغی ب) توده اسپورقارچ *Ustilaginoidea virens*

آزمون ردیابی آلودگی بذور به سیاهک دروغی : جهت تشخیص آلودگی بذر بر اساس روش استاندارد انجمن بین المللی آزمون بذر (ISTA) از شستشو استفاده می‌شود. در آزمایشگاه‌های پیشرفته از روش PCR اختصاصی جهت ردیابی آلودگی در بذور برنج استفاده می شود.

تعیین درجه آلودگی در مزرعه: در مرحله رسیدگی دانه با شمارش گیاهان سالم و آلوده، درصد آلودگی تعیین می‌شود و بر اساس آن درجه آلودگی و واکنش ارقام برنج به شش گروه صفر- بسیار مقاوم بدون آلودگی، ۱- مقاوم با درصد آلودگی کمتر از یک، ۳- نیمه مقاوم با درصد آلودگی یک تا پنج، ۵- نیمه حساس با درصد آلودگی شش تا ۲۵، ۷- حساس با درصد آلودگی۲۶ تا ۵۰ و ۹- بسیار حساس با درصد آلودگی ۵۱ تا ۱۰۰ تفکیک می شوند.

انتقال بیماری از بذر به مزرعه

درصد انتقال آلودگی بذرزاد در شرایط مختلف بسته به گونه بیمارگر

و حساسیت میزبان متفاوت است. بافت خاک، روش آبیاری، دمای محیط و شرایط میکروکلیما ، نوع تیمار ضدعفونی بذر دخالت دارد. اگرچه تمامی بیمارگرهای یادشده بذر زادند و با بذر منتقل می‌شوند ولی آنچه مسلم است از دیدگاه بیماری‌شناسی گیاهی اطلاعات اندکی در مورد اپیدمیولوژی این بیمارگرها و ارتباط درصد آلودگی بذر با شدت آلودگی در مزرعه و نیز آستانه تحمل آلودگی توده بذری موجود است. در تحقیقی تنها ۴ درصد از گیاهچه‌های حاصل از بذور آلوده به بلاست با آلودگی اولیه ۲۱ درصد به بیماری مبتلا شدند. نتایج این تحقیق نشان داد که انتقال آلودگی بذری به گیاهچه درصورت غرق آب کامل برنج بسیار اندک است. تیپ رشدی گیاه در برخی موارد ممکن است به فرار از بیمارگر کمک کند برای نمونه وقوع بیماری سیاهک دروغی برنج در ارقام افراشته نسبت به ارقام خمیده و نیمه افراشته بطور معنی‌داری بیشتر بوده است. اکثر بیمارگرهای بذرزاد مانند *Fusarium* spp. از اجزاء دائمی میکروفلور بذرمی‌باشند. بنابراین، علاوه بر اعمال مدیریت تلفیقی جهت کاهش زادمایه اولیه در مزرعه، ضد غفونی بذر با سموم مؤثر از اهمیت ویژه‌ای در کاهش این بیماری برخوردار است.

منابع

- پاداشت دهکایی، ف.، نوربخش گیگلو، ل.، الهی‌نیا، ع.داریوش، س. و پورفرهنگ، ح.۱۳۹۳. ارزیابی مزرعه‌ای چند قارچ کش در کنترل بیماری سیاهک دروغی برنج. تحقیقات غلات. ۲۷۲-۲۹۲.

- Abdullah, A.B., Ito, S. and Adhana, K., 2006, March. Estimate of rice consumption in Asian countries and the world towards 2050. In Proceedings for Workshop and Conference on Rice in the World at Stake (Vol. 2, pp. 28-43).

- Baruah, B.P., D. Senapaty and M.S. Ali. 1992. False smut : A threat to rice growers in Assam. Indian Journal Mycology and Plant Pathology, 22: 274-277.

- Cartwright, R.D. and F.N. Lee. 2001. Rice Production Handbook. MP 192. N.A. Slaton (Ed.), Cooperative Extensive Service, University of Arkansas. (p. 94).

- Chuwa, C.J., Mabagala, R.B. and Reuben, M.S., 2013. Pathogenic Variation and Molecular Characterization of Pyricularia oryzae, Causal Agent of Rice Blast Disease in Tanzania. International Journal of Science and Research (IJSR), 4(11), pp.1131-1139.

- Dean, R., Van Kan, J. A., Pretorius, Z. A., Hammond-Kosack, K. E., Di Pietro, A.,Spanu, P. D. 2012. The Top 10 fungal pathogens in molecular plant pathology. Mol. Plant Pathol. 13, 414–430. doi: 10.1111/j.1364-3703.2011.00783.x

- Hosseyni-Moghaddam, M., and Soltani, J. 2013. An investigation on the effects of photoperiod, aging and culture media onvegetative growth and sporulation of rice blast pathogen pyricularia oryzae. Prog. Biol. Sci. 3, 135–143.

- IRRI, I., 2002. Standard evaluation system for rice. International Rice Research Institute, Philippine.

- Lui, B.L., S.Q. Chen, D. Dong, L. Qian and Z.J. Xu. 2009. Study on the relationship between rice plant type and false smut of rice. Hubei Agricultural Sciences, Available: http:// en. cnki. com. cn/ journal_en/D-D000-HBNY-2009-01.htm.

- Manandhar, H.K., Jorgensen, H.L., Smedegaard-Petersen, V. and Mathur, S.B., 1998. Seedborne infection of rice by Pyricularia oryzae and its transmission to seedlings. Plant disease, 82(10), pp.1093-1099.

- Mew, T.W. and Gonzales, P., 2002. A handbook of rice seedborne fungi. Int. Rice Res. Inst.

- Ovule, R., 2013. Rice False Smut Fungus, Ustilaginoidea virens, Inhibits Pollen Germination and Degrades the Integuments of. American Journal of Plant Sciences, 4, pp.2295-2304.

- Saremi H, Ammarellou A,Marefat A, Okhovat SM. 2008. Binam a rice cultivar,resistant for root rot disease on rice caused by Fusarium moniliforme in North-West,Iran. Intern J Bot 4: 383-389.

- Singh, R. 2012.Foot rot and bakanae of rice: an overview. Rev. Plant Pathol. Vol:5 565-604.

- Zhou, X. 2012. Field evaluation of fungicides for management of rice false smut and kernel smut. In APS Annual Meeting. Poster Session: Chemical Control. August 4-8, 2012. Providence, IR. 192.