

بیماری لکه قهوه‌ای (سوختگی ریزوکتونیایی) النا در مازندران

محمد علی آقاجانی^۱

تاریخ دریافت: ۹۱/۱/۱۸ تاریخ پذیرش: ۹۱/۶/۲۲

چکیده

در تابستان ۱۳۷۷ و ۷۸، در یک باغ مرکبات واقع در منطقه بابل‌کنار در جنوب شهرستان بابل، علائم بیماری لکه قهوه‌ای یا سوختگی ریزوکتونیایی بر روی یک گراس وحشی به نام النا یا ارزن جنگلی (*Oplismenus hirtellus*) مشاهده گردید. علائم بیماری شامل لکه‌های تقریباً مدور با قطر متوسط ۲۰ تا ۱۰۰ سانتی‌متر بود که در آن لکه، تمام گیاهان موجود پس از نشان دادن لکه‌های سوخته کوچک روی برگ و غلاف، به‌گونه کامل سوخته و خشکیده شده، سختی‌های قهوه‌ای تیره رنگ قارچ به فراوانی روی بافت‌های سالم و سوخته و خاک تشکیل گردید. گیاهان در اواخر تابستان با سرد شدن هوا از مرکز لکه شروع به بهبود کردند و یک الگوی حلقوی ایجاد کردند. در تمام جداسازی‌ها، یک ریزوکتونیای چندهسته‌ای از بافت‌های سوخته جدا شد. بر اساس ویژگی‌های پرگنه و میلسیوم، قارچ به عنوان *Rhizoctonia solani* شناسایی شد و گروه آناتوموزی آن AG 1 تعیین گردید. بر اساس ویژگی‌های کشت سختینه، زیرگروه جدایه‌ها به عنوان AG 1-IA تعیین شد. قطر متوسط ریشه ۷ میکرومتر و تعداد متوسط هسته‌ها در هر سلول ریشه‌ای ۶/۴ عدد بود. پرگنه‌ی قارچ بعد از دو هفته رشد روی محیط کشت سیب زمینی، دکستروز آگار (PDA) قهوه‌ای روشن بود و تعداد زیادی سختینه‌ی قهوه‌ای تیره با ابعاد $4-0/7 \times 1-4/5$ میلی‌متر روی محیط کشت تولید شد. درجه حرارت بهینه آن برای رشد ۲۸ و دماهای کمینه و بیشینه به ترتیب ۱۰ و ۳۵ درجه سانتی‌گراد بود. نرخ رشد خطی قارچ در دمای بهینه ۳۴ میلی‌متر در روز بود. بیماری‌زایی قارچ با قرار دادن قرص‌های ۸ میلی‌متری از حاشیه پرگنه بر روی برگ‌ها و غلاف‌های گیاهان و تولید علائم سوختگی به اثبات رسید و قارچ مجدداً از بافت‌های بیمار جدا گردید. این نخستین گزارش از وجود بیماری لکه قهوه‌ای (سوختگی ریزوکتونیایی) چمن‌ها در ایران می‌باشد و گیاه النا به عنوان میزبان جدیدی برای قارچ *R. solani* در ایران معرفی می‌گردد.

واژه‌های کلیدی: النا، *Oplismenus hirtellus*، ریزوکتونیا، *Rhizoctonia solani* AG 1-IA، سوختگی ریزوکتونیایی

^۱ - استادیار پژوهش، بخش تحقیقات گیاه‌پزشکی، مرکز تحقیقات کشاورزی و منابع طبیعی استان گلستان، گرگان، ایران.

* نویسنده مسئول مقاله: maaghajanina@yahoo.com

مقدمه

شبه‌جنس *Rhizoctonia* شامل گروه‌های متنوعی از قارچ‌هاست که از نظر ویژگی‌های ریخت‌شناسی، فیزیولوژیکی، بیماری‌زایی و نیز خصوصیات شکل جنسی با یکدیگر تفاوت دارند (Vilgalys and Cubeta, 1994). قارچ‌های موجود در این جنس، بر اساس تعداد هسته در سلول‌های ریشه رویشی، به دو گروه دو و چند هسته‌ای تقسیم می‌شوند. شکل جنسی اعضای دو هسته‌ای *Ceratobasidium spp.* و شکل جنسی اعضای چند هسته‌ای دو گونه‌ی *Thanatephorus cucumeris* Frank (Donk) و *Waitea circinata* Warcup & Talbot می‌باشد (Sneh et al., 1991; Vilgalys and Cubeta, 1994). جدایه‌های گوناگون ریزوکتونیا بر اساس وقوع پیوند ریشه‌ای با جدایه‌های استاندارد، به چندین گروه آناستوموزی تقسیم شده‌اند. شکل‌های غیر جنسی *Ceratobasidium spp.*، *T. cucumeris* و *W. circinata* به ترتیب در ۲۱ (AG-A تا AG-S) به علاوه Rr.1 و Rr.2، ۱۳ (AG 1 تا AG 13) و دو گروه آناستوموزی (WAG-O و WAG-Z) قرار می‌گیرند (Burpee and Martin, 1996; Carling et al., 2002a; Sneh et al., 1991).

جدایه‌های گروه آناستوموزی AG 1 از گونه‌ی *Rhizotonia solai* (شکل غیر جنسی *T. cucumeris*)، بر اساس تفاوت‌های موجود در خصوصیات ریخت‌شناسی پرگنه و سختینه‌ها، به چهار تیپ کشتی یا زیرگروه آناستوموزی تقسیم می‌شود. این زیرگروه‌ها که IA، IB، IC و ID نامیده می‌شوند و بر اساس آزمون آناستوموز قابل تمیز نمی‌باشند (Ogoshi, 1987; Priyamojo et al., 2001; Sherwood, 1969).

جدایه‌های زیرگروه AG 1-IA که بیمارگرهای اندام‌های هوایی هستند، بیماری‌های بسیار شدیدی را در انواع گوناگون گیاهان ایجاد می‌کنند. از مهم‌ترین این بیماری‌ها می‌توان به سوختگی غلاف برنج (Kim et al., 1994)، سوختگی نواری ذرت و سورگوم (Fredriksen, 1989; Shurtleff, 1992)، سوختگی هوایی سویا (Jones and Belmar, 1989)، لکه قهوه‌ای یا سوختگی ریزوکتونیایی چمن‌ها (Smiley et al., 1992) و سوختگی اندام‌های هوایی انواع بسیار زیادی از گیاهان اشاره نمود. لکه قهوه‌ای یا سوختگی ریزوکتونیایی، یکی از مهم‌ترین بیماری‌های چمن‌ها در مناطق گرمسیری و معتدله دنیاست (Burpee and Martin, 1992). این بیماری حداقل در ۱۲ گونه از چمن‌ها مشاهده شده است. عامل و علائم بیماری در چمن‌های فصول گرم و سرد با هم تفاوت دارد. در چمن‌های فصول سرد، عامل اصلی بیماری گروه‌های AG 1-IA، AG 2-2 IIIB و AG 4 از *R. solani* بوده، در چمن‌های فصول گرم، عامل اصلی بیماری گروه‌های AG 2-2 IV و AG 2-2 LP از *R. solani* و گروه AG-Q از ریزوکتونیاهای دوهسته‌ای می‌باشد (Burpee and Martin, 1992; Burpee and Martin, 1996).

در تابستان ۱۳۷۷، علائم بیماری لکه قهوه‌ای چمن‌ها بر روی یک گراس وحشی به نام النا یا ارزن جنگلی (*Oplismenus hirtellus* (Ard.) P.Beauv) در باغ‌های مرکبات روستایی واقع در منطقه‌ی بابل‌کنار در جنوب شهرستان بابل مشاهده گردید. گزارش ذیل، نتیجه بررسی‌هایی است که جهت تشخیص عامل بیماری و تعیین گونه و گروه آناستوموزی آن صورت پذیرفته است. گزارش کوتاهی درباره این موضوع قبلاً به چاپ رسیده است (Aghajani et al. 2000a).

مواد و روش‌ها

گیاهان النا با علائم بیماری سوختگی ریزوکتونیایی از باغات مرکبات جمع‌آوری و پس از کشت و خالص‌سازی به روش نوک ریشه، قارچ به تشتک‌های پتری ۹ سانتی متری محتوی ۲۰ میلی لیتر محیط کشت سیب زمینی، دکستروز آگار (PDA¹) انتقال داده شد و در دمای ۲۵ درجه سانتی‌گراد تا سه هفته نگهداری گردید. طی این مدت مشخصاتی از قبیل ظاهر و

¹. Potato dextrose agar

رنگ پرگنه، تولید منطقه‌بندی^۱، تولید ریشه‌های هوایی و سختینه یادداشت گردید. رنگ آمیزی هسته‌ها با استفاده از محلول قلیایی سافرانین او^۲ (Bandoni, 1979)، انجام شد و تعداد هسته‌ها با شمارش هسته‌های موجود در ۱۰ سلول ریشه و قطر ریشه با اندازه‌گیری قطر از ۵۰ نقطه در زاویه‌ی عمود بر ریشه تعیین گردید. جهت تعیین دماهای اصلی رشد، قرص‌های میسلیمی ۵ میلی‌متری به مرکز تشتک‌های پتری ۹ سانتی متری محتوی ۲۰ میلی لیتر PDA منتقل شد و در تاریکی و دماهای ۷ تا ۴۰ درجه با فواصل ۳-۵ درجه نگهداری شد. ۱۲ ساعت را به عنوان دوره انس^۳ در نظر گرفته و حاشیه‌ی پرگنه‌ها علامت زده شد. بعد از ۲۴ ساعت مقدار افزایش طولی پرگنه در ۸ جهت اندازه‌گیری گردید. جهت تعیین گروه آناستوموزی، با روش لام پوشیده از آگار، جدایه‌های ناشناخته با جدایه‌های استاندارد گروه‌های آناستوموزی جفت شدند و بر اساس وقوع امتزاج ریشه-ای به آن گروه نسبت داده شدند. جهت اثبات بیماری‌زایی نیز قرص‌های میسلیمی ۸ میلی‌متری قارچ بر روی برگ‌ها و غلاف‌النا قرار گرفت و گلدان‌ها در شرایط گل‌خانه (دما ۲۵-۲۸ درجه و رطوبت نسبی بالای ۹۰ درصد) تا یک هفته نگهداری شدند (Kim et al., 1994; Sherwood, 1969; Sneh et al., 1991).

نتایج و بحث

پس از جداسازی، در مجموع ۱۴ جدایه از یک قارچ عقیم با مشخصات میکروسکوپی میسلیم ریزوکتونیا به دست آمد. علایم اولیه بیماری عبارت بود از لکه‌های سوخته منفرد به ابعاد کمتر از ۵ میلی‌متر بر روی غلاف و برگ گیاه که روی برگ، لکه‌ها عمدتاً به صورت دوایر متحدالمرکز، که از مشخصه‌های لکه برگی‌های ریزوکتونیایی است، ظاهر می‌شوند (شکل 1a). سوختگی به سرعت توسعه یافته، تمام سطوح سبز گیاه را فرا می‌گیرد (شکل 1b) و از راه تماس با گیاهان سالم مجاور، به آنها منتقل می‌شود و در نهایت منطقه‌ای دایره‌ای شکل به قطر ۲۰ تا ۵۰ سانتی متر را در بر می‌گیرد (شکل 1d). این لکه‌ها در شرایط مساعد تا قطر یک متر هم توسعه می‌یابند. سختینه‌های قارچ به فراوانی روی برگ‌های سالم و خشکیده در منطقه‌ی سوخته دیده می‌شود که ابتدا سفید رنگ بوده، به سرعت به رنگ قهوه‌ای تیره در می‌آیند (شکل 1c). در شرایط آب و هوایی بسیار مرطوب یا صبح زود که شب‌نم در سطح گیاه فراوان است، یک هاله‌ی چند سانتی‌متری شامل بافت‌های آب سوخته در حاشیه لکه‌ها دیده می‌شود که حلقه‌ی دودی^۴ نامیده می‌شود و با گرم شدن هوا، این هاله محو می‌گردد. در اواخر فصل گرما، گیاهان منطقه‌ی سوخته ابتدا از وسط لکه شروع به بهبود یافتن می‌کنند و به لکه شکل خاصی تحت عنوان چشم قورباغه‌ای^۵ می‌بخشند. لکه‌ی سوخته به تدریج به گونه کامل محو می‌شود.

پرگنه‌ی جدایه‌های عامل بیماری روی محیط کشت PDA پس از دو روز رشد، بی‌رنگ تا کمی سفید بوده، بعد از دو هفته به رنگ قهوه‌ای روشن در آمدند (شکل 2a). سختینه‌های قارچ که در روز سوم تا ششم تولید شدند، ابتدا سفید رنگ بوده، دو روز بعد به رنگ قهوه‌ای و در نهایت به قهوه‌ای تیره تبدیل گردیدند (شکل 3a و b). سختینه‌ها کروی، بیضوی یا به شکل نامنظم (به ابعاد ۴/۵ (۲) × ۱ (۱/۷) × ۰/۷ میلی‌متر) بوده، به صورت منفرد یا چسبیده به هم از پهلو دیده شدند (شکل 2b).

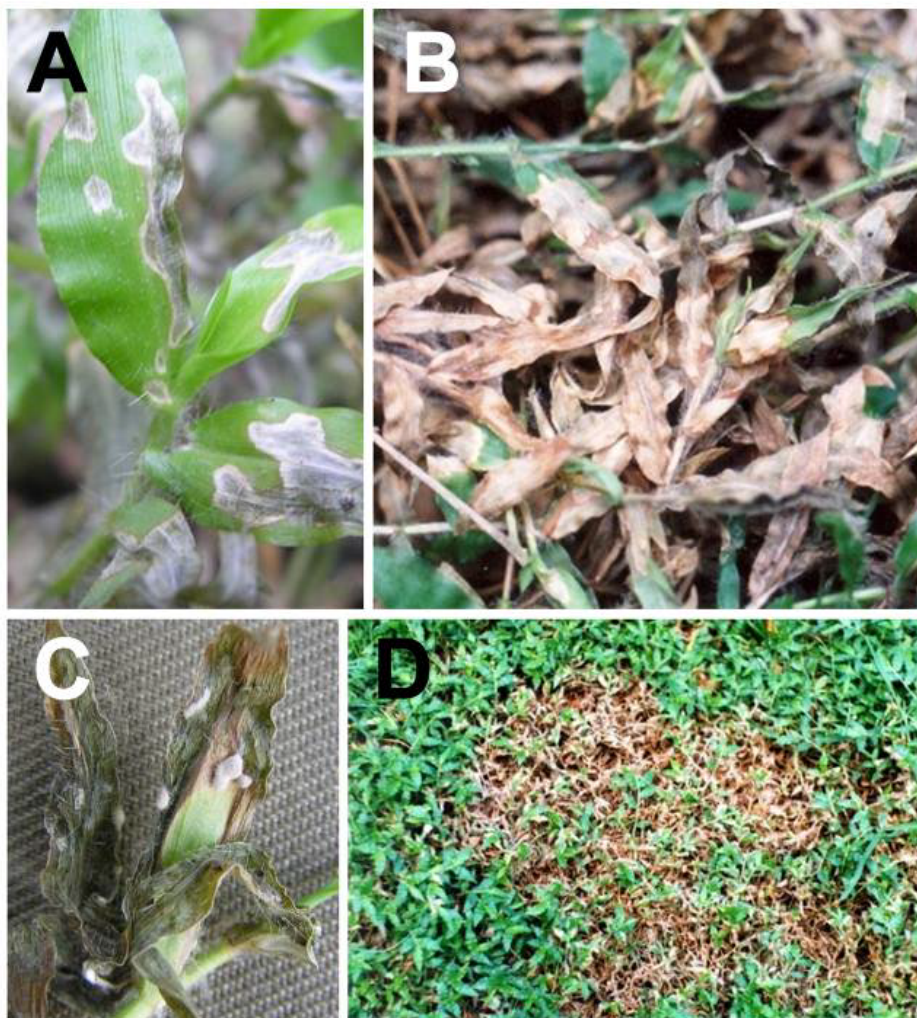
¹. Zonation

². Safranin O

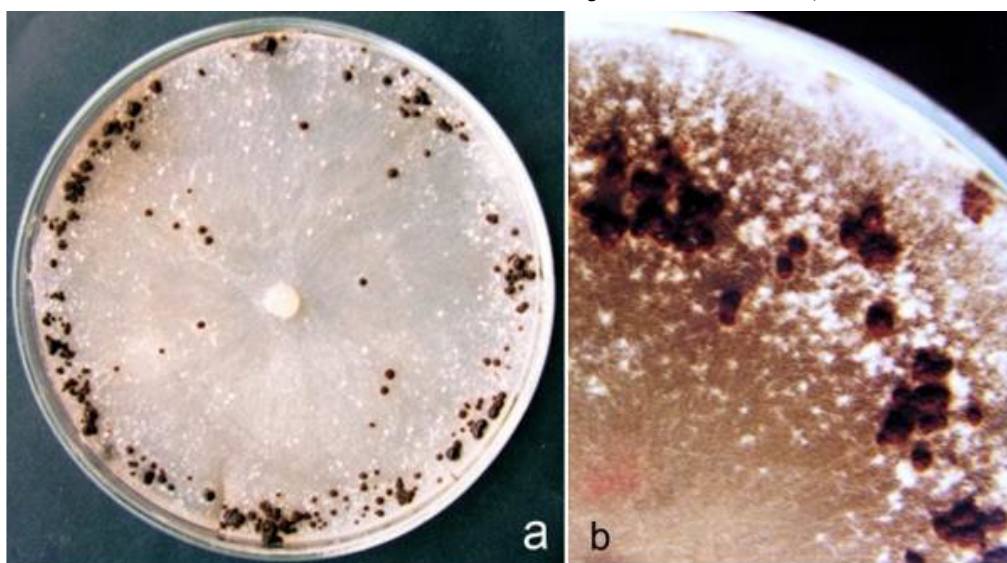
³. Acclimatization period

⁴. Smoke ring

⁵. Frog eye

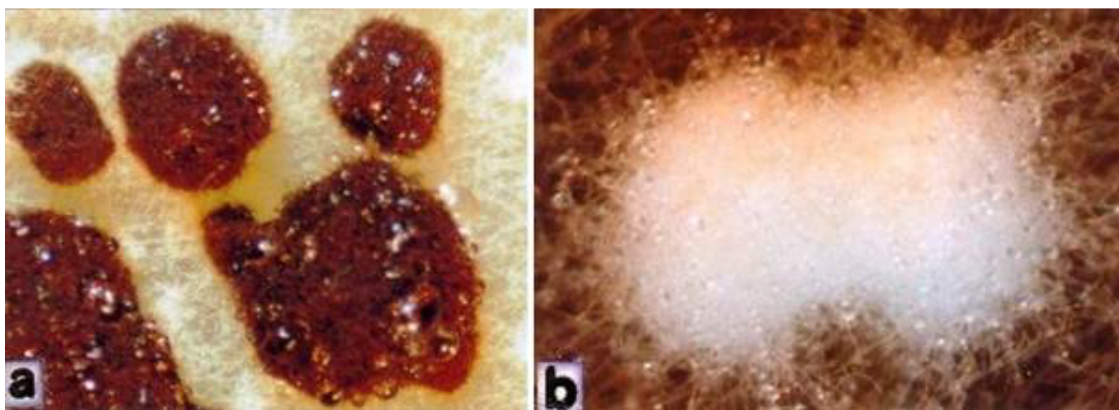


شکل ۱- علائم بیماری سوختگی ریزوکتونیایی النا: A- لکه‌های سوخته روی برگ که علامت اولیه‌ی بیماری هستند، B- سوختگی شدید برگ‌ها و غلاف‌ها در ادامه‌ی پیشرفت بیماری، C- تشکیل سختینه بر روی بافت‌های آلوده و D- یک لکه سوخته (patch).

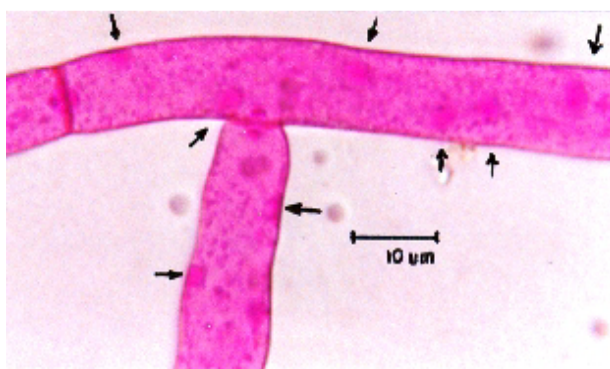


شکل ۲- قارچ عامل بیماری سوختگی ریزوکتونیایی النا: a- پرگنه‌ی قارچ (*Rhizoctonia solani* AG 1-IA) بعد از دو هفته رشد بر روی محیط کشت PDA و b- تصویر نزدیک‌تری از سطح همان پرگنه.

تعداد هسته در سلول‌های ریشه، ۴ تا ۱۰ (متوسط ۶/۴) عدد بوده و قطر ریشه از ۵/۵ تا ۱۱ (میانگین ۷) میکرومتر در تغییر بود (شکل ۴). دمای بهینه رشد قارچ ۲۸ درجه و دماهای کمینه و بیشینه به ترتیب ۱۰ و ۳۵ درجه سانتی‌گراد اندازه‌گیری شد. در دمای بهینه، میانگین رشد روزانه قارچ ۳۴ میلی‌متر بوده است (شکل ۵).



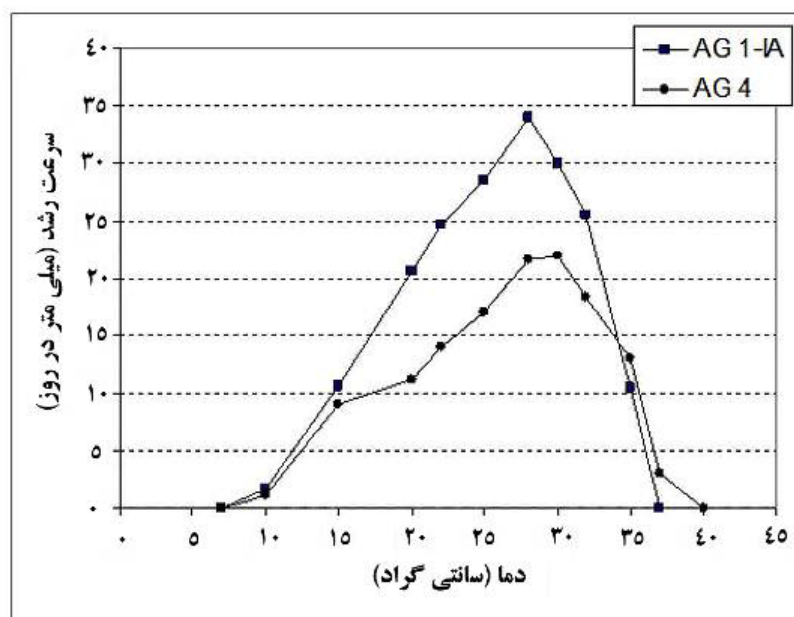
شکل ۳- سختینه‌های قارچ عامل بیماری سوختگی ریزوکتونیایی النا: a- سختینه‌های بالغ و b- سختینه‌های نابالغ (×۱۵).



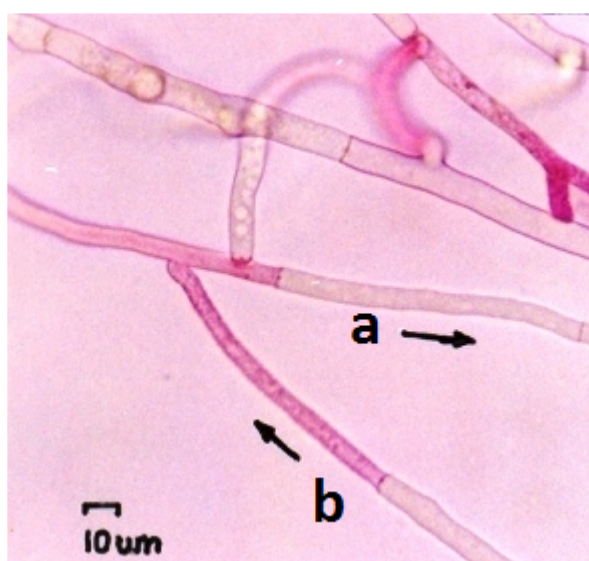
شکل ۴- ریشه‌های چندهسته‌ای قارچ عامل بیماری سوختگی ریزوکتونیایی النا در زیر میکروسکوپ. پیکان‌ها، هسته‌های موجود در سلول را نشان می‌دهند.

با توجه به خصوصیات یاد شده، این قارچ تحت عنوان *Rhizoctonia solani* شناسایی شد. جدایه‌های این قارچ قادر به برقراری پیوند ریشه‌ای با جدایه‌های استاندارد گروه AG1 بوده، همگی بر این اساس در گروه آناستوموزی AG1 قرار گرفتند (شکل ۶). با توجه به خصوصیات پرگنه و سختینه‌ها، تمام جدایه‌ها در زیرگروه آناستوموزی AG1-IA جای می‌گیرند (Kim *et al.*, 1994; Sherwood, 1969).

بیماری‌زایی جدایه‌های نماینده، با روش قرص آگار و تولید علائم سوختگی ظرف ۳ تا ۷ روز به اثبات رسید و روی گیاهان مایه‌زنی شده با قرص PDA بدون قارچ (به عنوان شاهد)، هیچ گونه علائمی مشاهده نشد. قارچ عامل بیماری، از علائم ظاهر شده، مجدداً جداسازی گردید.



شکل ۵- نمودار سرعت رشد قارچ عامل بیماری سوختگی ریزوکتونیایی النا (*Rhizoctonia solani* AG1-IA) در مقایسه با گروه دیگری از همین گونه (AG 4).



شکل ۶- وقوع امتزاج ریشه‌ای (آناستوموز) بین جدایه‌ی سوختگی ریزوکتونیایی النا (a) و جدایه‌ی استاندارد (b) *R. solani* AG1-IA.

علائم مشاهده شده با علائم بیماری لکه قهوه‌ای چمن‌ها (که به تازگی به نام سوختگی ریزوکتونیایی تغییر کرده است) مطابقت دارد (Burpee and Martin, 1996; Smiley *et al.*, 1992). توصیف ویژگی‌های پرگنه و سختینه‌ها، تعداد هسته، قطر ریشه، دماهای اصلی رشد و سرعت رشد با توصیف محققان گذشته تقریباً به گونه کامل مطابقت دارد (Kim *et al.*, 1994; Ogoshi, 1987; Sherwood, 1969).

با توجه به نتایج آزمون‌های بیماری‌زایی انجام شده در پژوهش‌های دیگر (Aghajani *et al.*, 2000b)، مشخص گردید که این زیرگروه از قارچ *R. solani*، یکی از قوی‌ترین بیمارگرهای گیاهی در مناطق معتدل و مرطوب است که تقریباً هیچ‌گونه تخصص میزبانی نشان نمی‌دهد و در انواع و اقسام گیاهان ایجاد سوختگی در اندام‌های هوایی می‌کند. جدایه‌های الننا در آزمون‌های بیماری‌زایی، روی گیاهان دیگری نظیر برنج، سویا، ذرت، سورگوم و تعدادی از علف‌های هرز مزارع برنج بیماری‌زا بودند و این مطلب نشان می‌دهد که جدایه‌های *R. solani* AG1-IA الننا شباهت زیادی با جدایه‌های عامل سوختگی غلاف برنج (Torabi and Binesh, 1984) و سوختگی هوایی سویا (Aghajani *et al.*, 2000c) نشان می‌دهند و از طیف میزبانی بسیار گسترده‌ای برخوردارند. این نکته در مدیریت بیماری‌های یاد شده بایستی مدنظر قرار گیرد.

لکه قهوه‌ای یا سوختگی ریزوکتونیایی، یکی از مهم‌ترین بیماری‌های چمن‌ها در دنیاست که روی گونه‌های گوناگون خانواده گندمیان ایجاد خسارت می‌کند (Aghajani *et al.*, 2000b). این نخستین گزارش از وجود این بیماری در ایران است و گیاه الننا یا ارزن جنگلی به عنوان میزبان جدیدی برای گونه *R. solani* در دنیا معرفی می‌گردد.

References:

1. Aghajani M A, Alizadeh A and Rahimian H. 2000a. Occurrence of brown patch (*Rhizoctonia* blight) of slender panic grass in Iran. Paper presented at: 14th Plant Protection Congress; 9–14 September; Isfahan, Iran.
2. Aghajani M A, Alizadeh A and Rahimian H. 2000b. Anastomosis groups of *Rhizoctonia solani* pathogen on monocotyledonous plants in central Mazandaran. Paper presented at: 14th Plant Protection Congress; 9–14 September; Isfahan, Iran.
3. Aghajani M A, Rahimian H and Alizadeh A. 2000c. Occurrence of *Rhizoctonia* aerial blight of soybean in Iran. Paper presented at: 14th Plant Protection Congress; 9–14 September; Isfahan, Iran.
4. Bandoni R J. 1979. Safranin as a rapid nuclear stain for fungi. *Mycologia* 71: 873–874.
5. Burpee L and Martin B. 1992. Biology of *Rhizoctonia* species associated with turfgrasses. *Plant Disease* 76: 112–117.
6. Burpee L and Martin S B. 1996. Biology of turfgrass diseases incited by *Rhizoctonia* species. pp 359-367, *In* B Sneh, S Jabaji-Hare, S Neate and G Dijst (eds). *Rhizoctonia* Species: Taxonomy, Molecular Biology, Ecology, Pathology and Disease Control. Dordrecht, The Netherlands: Kluwer Academic Publisher.
7. Carling D E, Baird R E, Gitaitis R D, Brainard K A and Kuninaga S. 2002. Characterization of AG-13, a newly reported anastomosis group of *Rhizoctonia solani*. *Phytopathology* 92: 893–899.
8. Carling D E, Pope E J, Brainard K A and Carter D A. 1998. Characterization of isolates of *Rhizoctonia solani*, inducing a new AG, that are mycorrhizal on an orchid in Australia. *Phytopathology* 88: S13.
9. Carling D E, Rothrock C S, MacNish G C, Sweetingham M W, Brainard K A and Winters S W. 1994. Characterization of anastomosis group 11 (AG-11) of *Rhizoctonia solani*. *Phytopathology* 84: 1387–1393.
10. Fredriksen R A. 1989. *Compendium of Sorghum Diseases*. 82p. APS Press, USA.
11. Herr L J and Roberts D L. 1970. Characterization of *Rhizoctonia solani* for populations obtained from sugar beet fields with different soil textures. *Phytopathology* 70: 479–480.
12. Jones R K and Belmar S B. 1989. Characterization and pathogenicity of *Rhizoctonia* spp. isolated from rice, soybean, and other crops grown in rotation with rice in Texas. *Plant Disease* 73: 1004–1010.
13. Kim W G, Cho W D and Lee Y H. 1994. Anastomosis groups and cultural characteristics of *Rhizoctonia solani* isolates from crops in Korea. *The Korean Journal of Mycology* 22: 309–324.
14. Lee F N and Rush M C. 1983. Rice sheath blight: a major rice disease. *Plant Disease* 67: 829–832.
15. Naito S and Kanematsu S. 1994. Characterization and pathogenicity of a new anastomosis subgroup AG-2-3 of *Rhizoctonia solani* Kuhn isolated from leaves of soybean. *Annals of the Phytopathological Society of Japan* 60: 681–690.
16. Ogoshi A. 1987. Ecology and pathogenicity of anastomosis and intraspecific groups of *Rhizoctonia solani*. *Annual Review of Phytopathology* 25: 125–143.
17. Priyamojo A, Escopalao V E, Tangonan N G, Pascual C B, Suga H, Kageyama K and Hyakumachi M. 2001. Characterization of a new subgroup of *Rhizoctonia solani* anastomosis group 1 (AG-1-ID), causal agent of a necrotic leaf spot on coffee. *Phytopathology* 91: 1054–1061.

18. Sherwood R T. 1969. Morphology and physiology in four anastomosis groups of *Thanatephorus cucumeris*. *Phytopathology* 59: 1924–1929.
19. Shurtleff M C. 1992. *Compendium of Corn Diseases*. 2nd ed. New York: APS Press. 105 p.
20. Smiley R W, Demoden P H and Clarke B B. 1992. *Compendium of Turfgrass Diseases*. 2nd ed. New York: APS Press.
21. Sneh B, Burpee L and Ogoshi A. 1991. *Identification of Rhizoctonia Species*. New York: APS Press. 133 p.
22. Torabi M and Binesh H. 1984. Sheath blight disease of rice, study on causal organism, distribution and susceptibility of some rice cultivars in north provinces of Iran. *Iranian Journal of Plant Pathology* 20: 21–35.
23. Vilgalys R and Cubeta M A. 1994. Molecular systematics and population biology of *Rhizoctonia*. *Annual Review of the Phytopathology* 32: 135–155.

