

## بیماری لکه قهوه‌ای برنج و شناسایی قارچ‌های ایجاد کننده آن در استان گلستان

سید جواد صانعی<sup>۱\*</sup>، سید اسماعیل رضوی<sup>۱</sup> و سید محمود اخوت<sup>۲</sup>

۱- گروه گیاه‌پزشکی دانشکده تولیدات گیاهی، دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی گرگان

۲- گروه گیاه‌پزشکی دانشکده مهندسی علوم و کشاورزی، دانشگاه تهران، کرج

(تاریخ دریافت: ۱۳۹۰/۳/۸ - تاریخ پذیرش: ۱۳۹۰/۱۰/۱۴)

### چکیده

بیماری لکه قهوه‌ای، یکی از بیماری‌های بذرزاد برنج است که در کلیه مراحل رشد گیاه از خزانه تا مزرعه، روی گیاه دیده می‌شود و خساراتی را از جنبه کیفی و کمی به محصول وارد می‌کند. هر چند این بیماری در بیشتر نقاط کشور که در آنها برنج کشت می‌شود وجود دارد، ولی اطلاعات دقیقی از پراکندگی بیماری، تنوع گونه‌ها و همچنین میزان خسارت‌های وارده در استان گلستان موجود نیست. از این‌رو، مطالعاتی در زمینه شناسایی بیماری و گونه‌های قارچ‌های عامل این بیماری در این استان به عمل آمد. برای این منظور، ابتدا از ۸۳ مزرعه برنج در استان نمونه‌برداری شد. نمونه‌های گیاهی جمع‌آوری شده جهت جداسازی قارچ عامل بیماری پس از ضدعفونی سطحی روی محیط PDA قرار داده شدند و بدین ترتیب ۱۰۱ جدایه به دست آمد. بررسی صفات مورفولوژیکی کنیدی و کنیدیوفر، فرآیند تشکیل کنیدی و نحوه جوانه‌زنی آنها نشان داد که قارچ‌های عامل بیماری متعلق به جنس *Bipolaris* هستند و دو گونه *Bipolaris oryzae* و *Bipolaris spicifera* شناسایی شد. گونه *B. oryzae* ۲۵ درصد و گونه *B. spicifera* ۷۵ درصد از کل جدایه‌ها را شامل شد. آزمایش بیماری‌زایی روی نشاهای برنج ارقام دمسیاه، آمل، طارم ندا، طارم عسگری و سنگ طارم انجام گرفت که نشان داد این قارچ‌ها روی برنج، بیماری‌زا بوده و موجب بروز علائم مشخص بیماری لکه قهوه‌ای برنج می‌شوند. جدایه‌ها همچنین قادر به آلوده کردن گندم، جو و علف‌های هرز سوروف (*Echinochloa crus-gali* (L.) P.Beauv) و فالاریس (*Phalaris minor* L.) نیز بودند.

واژه‌های کلیدی: استان گلستان، برنج، لکه قهوه‌ای، *Bipolaris*

## مقدمه

برنج یکی از غلات خوراکی مهم جهان است و حدود یازده درصد زمین‌های دنیا را به خود اختصاص داده است. از این میان ۰/۳۶ درصد مربوط به کشور ایران است که در ۲۲ استان کشور کشت می‌شود و بالاترین ارزش ناخالص تولیدی را دارد. سطح کشت انواع ارقام برنج در کشور حدود ۵۲۷ هزار هکتار برآورد شده است که استان گلستان با ۱۰/۹۹ درصد از اراضی شالی کشور، رتبه سوم را داراست (Anonymous, 2009). افزایش سطح کشت این گیاه در سال‌های اخیر و استفاده از ارقام پرمحصول موجب برهم زدن تعادل همکنش عوامل بیماریزا و گیاه میزبان شده و طغیان آفات و بیماری‌ها را در منطقه به همراه داشته است. تاکنون ۵۵ عامل بیماریزای قارچی از ایران روی این محصول گزارش شده است که ۶ مورد از این عوامل قارچی در استان گلستان نیز وجود دارند (Ershad, 2009). از بین بیماری‌های قارچی مهم، بیماری بلاست و لکه‌قهوه‌ای دو بیماری مهم برنج در مناطق مختلف محسوب می‌شوند (Shoemaker, 1966; Razavi, 1994; Vleeschauwer et al., 2010).

بیماری لکه قهوه‌ای گیاه برنج یکی از بیماری‌های بذرزاد برنج است که در کلیه‌ی مراحل رشد گیاه از خزانه تا مزرعه روی برنج دیده می‌شود (Bhattachary and Mukhopudhyay, 1986). این بیماری انتشار جهانی دارد و به طور گسترده در همه کشورهای کشت‌کننده برنج در آسیا، آمریکا و آفریقا به خصوص در شرایط آب و هوایی نیمه‌خشک شایع است (Ou, 1985). بیماری باعث سوختگی نشاها، آلودگی بذر از جمله پایین آوردن کیفیت و وزن آن، کاهش رشد ساقه اصلی می‌شود و بر روی گیاهان بالغ لکه‌برگی ایجاد می‌کند (Bedi and Gill, 2000; Padasht et al., 1960). این بیماری اولین بار توسط پتراک در سال ۱۹۵۶ از سواحل خزر گزارش شد و عامل بیماری *Drechslera oryzae* (Breda & Haan) Subram. & Jain تشخیص داده شد (Ershad, 2009). هم‌اکنون گونه‌های مختلف سه جنس *Bipolaris*، *Drechslera* و *Exerohilum* به عنوان عوامل ایجاد کننده‌ی بیماری لکه‌قهوه‌ای برنج شناخته شده است

(Sivanesan, 1987). خسروی (Khosravi, 1999) عوامل ایجاد این بیماری را در مازندران *B. B. oryzae* و *sorgichola* *Bipolaris* sp. معرفی کرد. رضوی (Razavi, 1994) در تحقیقات خود روی بیماری لکه-قهوه‌ای برنج در استان‌های فارس و کهگلویه و بویراحمد به این نتیجه رسید که عوامل ایجادکننده این بیماری در این مناطق *B. oryzae*، *B. tetramera* و *Exerohilum rostratum* هستند. صفری مطلق و همکاران (Safari Motlagh et al., 2006) با شناسایی قارچ‌های ایجاد کننده بیماری لکه قهوه‌ای برنج در استان گیلان نشان داد که عوامل بیماری به گونه‌های مختلف جنس *Bipolaris* شامل *B. oryzae*، *B. victoria* و *Bipolaris* sp. مربوط هستند. صفری مطلق و جوان‌نیکخواه (Safari Motlagh and Javan Nikkhab, 1997) و صفری مطلق و کاویانی (Safari Motlagh and Kaviani, 2008) در مطالعه‌ی بعدی از عوامل ایجادکننده‌ی لکه‌قهوه‌ای برنج در این استان بیمارگرهای *B. bicolor* و *B. indica* را به عنوان عوامل ایجاد کننده بیماری به گونه‌های قبلی اضافه کردند. شمسی و همکاران (Shamsi et al., 2010) نیز وضعیت باروری و تیپ آمیزشی *Cochliobolus miabeanus* Ito & Kuribayashi (با شکل غیرجنسی *B. Oryzea*) را در استان گیلان مورد بررسی قرار دادند.

بیماری لکه‌قهوه‌ای برنج در استان گلستان از بیماری‌های مهم برنج محسوب می‌شود (Razavi and Razavi et al., 2000; Sanei, 1998). به دلیل فقدان بررسی منسجم در مورد بیماری و عدم شناخت کامل عوامل ایجاد کننده آن در استان تحقیق حاضر انجام گرفت.

## مواد و روش‌ها

**جمع‌آوری نمونه:** برای به دست آوردن جدایه‌های بیمارگر مورد نظر، جمع‌آوری نمونه‌ها در دو سال ۱۳۸۸ و ۱۳۸۹ در دو مرحله برگ و خوشه انجام گرفت و نمونه‌های برگ و خوشه (بذر) که علائم مشخص و یا مشکوک داشتند، جمع‌آوری و جهت جداسازی عوامل بیماریزای مورد نظر به آزمایشگاه منتقل شدند. نمونه‌برداری در ۸۳ مزرعه از مناطق مختلف استان گلستان شامل مینودشت،

ساعت تاریکی و ۱۲ ساعت روشنایی بوده است. آزمایش بیماریزایی: بذره‌های ارقام مختلف برنج شامل دمسیاه، طارم ندا، طارم عسگری، سنگ طارم و آمل در گلدان‌هایی با خاک استریل در شرایط گلخانه‌ای کشت شدند. خاک مورد نظر از مزرعه‌ی برنج در استان تهیه شد. آنگاه گیاهان ۳۰ روزه توسط سوسپانسیون از جدایه‌های مختلف (۴ جدایه از هر گونه) به میزان  $3 \times 10^6$  اسپور/ میلی‌لیتر، اسپورپاشی شدند (Duveiller and Altamirano, 2000). جهت تسهیل در رخنه بیمارگرها، رطوبت لازم با قرار دادن پوشش‌های پلاستیکی به مدت ۲۴ ساعت بر روی گلدان‌ها فراهم شد. علائم ایجاد شده روی برگ‌ها بررسی و قارچ‌ها مجدداً جداسازی شد. بررسی مقاومت ارقام با استفاده از مقیاس پیشنهادی کاردین و همکاران (Kardin et al., 1982) و گانگولی و پادمانابهان (Ganguly and Padmanabhan, 1959) صورت گرفت. آزمایش به صورت فاکتوریل در قالب طرح کاملاً تصادفی و ۵ تکرار بررسی شد.

**بررسی میزبان‌های دیگر:** بذور گیاه گندم (*Triticum aestivum* L.)، جو (*Hordeum vulgare* L.)، سوروف (*Echinochloa crus-gali* (L.) P.Beauv) و فالاریس (*Phalaris minor* L.) نیز به روش قبلی کشت و توسط بیمارگر مایه‌زنی شدند.

### نتایج و بحث

**پراکنش بیماری:** بیماری لکه قهوه‌ای در ۸۵ درصد از مزارع برنج استان گلستان وجود داشت. برگ‌های رقم دمسیاه در مزرعه دارای لکه‌های بیضوی یا کشیده به رنگ قهوه‌ای یا حنایی با حاشیه متمایل به قرمز بود (شکل ۱). گیاهچه‌ها گاه به شدت مورد حمله قرار گرفتند و تعداد زیادی لکه روی آنها به وجود آمد. آلودگی بذر برنج محدود و بیشتر در ارقام حساس لکه‌هایی به شکل بیضوی سیاه و یا قهوه‌ای تیره بوده است.

**صفات مورفولوژیکی و وضعیت تاکسونومیک**  
**جدایه‌های Bipolaris** از نظر شکل ظاهری پرگنه، مورفولوژی کنیدی و کنیدیوفر، فرآیند تشکیل کنیدی و نحوه جوانه زدن آنها، کنیدی‌ها در دو گروه مختلف قرار

آزادشهر، گرگان، هاشم‌آباد، حیدرآباد و کردکوی صورت گرفت. در مجموع ۱۰۱ جدایه از ارقام مختلف برنج شامل دمسیاه، طارم ندا، طارم عسگری، سنگ طارم و آمل به دست آمد (جدول ۱).

**جداسازی قارچ‌ها:** به منظور جداسازی و شناسایی قارچ‌های عامل لکه قهوه‌ای برنج از محیط کشت سیب‌زمینی، دکستروز آگار به عنوان محیط کشت عمومی قارچ‌ها استفاده شد. جداسازی قارچ‌ها با ضدعفونی سطحی بافت‌های آلوده توسط هیپوکلریت سدیم نیم درصد به مدت ۱-۲ دقیقه، شستشو با آب مقطر استریل و قرار دادن نمونه‌ها روی محیط کشت صورت گرفت.

به منظور بررسی پرگنه‌های جدایه‌های مختلف، خالص‌سازی قارچ‌ها (تک‌اسپور) و تشخیص جنس و گونه‌های قارچ عامل بیماری و هم‌چنین بررسی جوانه‌زدن اسپور جدایه‌ها از محیط سیب‌زمینی- دکستروز آگار و آب- آگار استفاده شد (Sivanesan, 1987). از محیط کشت مایع (شامل ۵۰۰ میلی لیتر آب مقطر، ۵۰ گرم سیب زمینی و ۵ گرم سوکروز) برای تهیه اسپور فراوان جهت اثبات بیماریزایی، استفاده شد (Razavi, 1994). آن‌گاه نمونه‌های خالص‌سازی شده، به لوله‌های آزمایش حاوی سیب‌زمینی، دکستروز آگار مورب انتقال یافت. نمونه‌ها پس از قرار گرفتن در انکوباتور در دمای ۲۵-۳۰ درجه سانتی‌گراد به مدت ۳-۴ روز به یخچال با درجه حرارت ۴-۵ درجه- سانتی‌گراد انتقال یافتند.

**بررسی و شناسایی قارچ‌ها:** پس از جداسازی و خالص‌سازی قارچ‌ها، خصوصیات ماکروسکوپی آنها شامل شکل و رنگ کلنی، سرعت و نحوه رشد میسلیموم‌ها و خصوصیات میکروسکوپی کنیدیوفر (منفرد یا گروهی بودن، ابعاد، رنگ)، اسپور (طول، عرض، تعداد دیواره عرضی اسپورها) و جوانه زدن اسپور (محل خروج لوله تندشی) مطالعه شد (Alcorn, 1988; Ellis, 1971; Sivanesan, 1987). برای رشد اولیه، تمام نمونه‌ها پس از کشت در محیط سیب‌زمینی- دکستروز آگار به مدت یک هفته در حرارت  $26 \pm 2$  درجه سانتی‌گراد قرار گرفتند. رشد بعدی نمونه‌ها در تشتک‌های پتری به مدت ۳ هفته در حرارت  $26 \pm 2$  درجه سانتی‌گراد در انکوباتور با تناوب نوری ۱۲

ابعاد ۹-۵×۳۴۰-۵۰ میکرومتر، **کنیديوم**: تکی به شکل بیضوی کشیده، دارای ۳ دیواره عرضی و به ابعاد (۲۷/۳-۱۵/۲) × ۲۱/۷ (۶/۳-۷/۲) میکرومتر بوده است. اسپورها به رنگ قهوه‌ای روشن بوده و جوانه‌زدن اسپورها به طور قطبی بود. تشکیل دیواره‌های عرضی شامل ایجاد اولین دیواره عرضی در وسط اسپور، دومین در سلول قاعده و سومین در سلول نوک بوده است. صفات کلی در گروه دوم مشابه گروه اول بود و با مشخصات *Bipolaris Shomeaker* مطابقت می‌کرد ولی بر اساس خصوصیات اختصاصی‌تر، گونه‌ی قارچ مورد مطالعه *Bipolaris spicifera* (Bainier) Subramanian [*Bipolaris tetramera* (Mckinney) Shoemaker] تشخیص داده شد (Alcorn, 1988; Razavi, 1994). این گونه حدود ۷۵ درصد از جدایه‌های موجود را تشکیل می‌داد (شکل ۱) و به عنوان عامل اصلی بیماری لکه‌قهوه‌ای برنج در استان پیشنهاد شد.

**بیماریزایی:** علائم روی برگ‌های برنج با لکه‌های کلروتیک حدود پنج روز پس از اسپورپاشی شروع می‌شد. سپس لکه‌ها به رنگ قهوه‌ای در آمده و از نوک به سمت پایین برگ پیشروی می‌کردند. بر اساس تفسیر کمی و کیفی مقاومت ارقام برنج مورد مطالعه به ترتیب دمسیاه، طارم‌عسگری، سنگ‌طارم، طارم ندا و آمل افزایش داشته است (جدول ۱). در ارقام حساس (به خصوص دمسیاه) گاه لکه‌هایی به طول ۲/۲ سانتی‌متر به وجود می‌آمد. به تدریج بقیه قسمت‌های برگ قهوه‌ای می‌شد. در ارقام مقاوم به خصوص آمل علائم محدود به نوک برگ‌ها بوده است. متوسط طول لکه برای ۱۰ جدایه در دامنه ۲۰-۲ میلی‌متر متغیر بود. در این رابطه فرکانس توزیع طول لکه در مورد جدایه‌ها نرمال نبود و منحنی در رقم حساس (دمسیاه) و مقاوم (آمل) به ترتیب به طرف راست (Skewness=3.22) و چپ (Skewness=1.97) متمایل بوده است (شکل ۲).

**بررسی میزبان‌های دیگر:** علائم بیماری در گیاه سوروف، گندم و جو نیز به صورت سوختگی نوک برگ‌ها بوده و لکه‌های کشیده‌ای به طول حداکثر ۱/۷ سانتی‌متر به وجود می‌آمد. در گیاهان فالاریس تنها مناطق کلروزه بسیار کوچک به وجود می‌آمد.

گرفتند که صفات هر گروه براساس مشخصات ظاهری و مورفولوژی به طور جداگانه مطالعه شد. گروه اول دارای مشخصات زیر بودند: **پرگنه:** پخش یکنواخت، ریشه‌ها با رشد هوایی زیاد و رشد سریع، خاکستری رنگ تا خاکستری تیره، **ریشه‌ها:** منشعب، پنبه‌ای، قهوه‌ای روشن تا کمرنگ، **کنیديوفور:** منفرد یا در گروه‌های کوچک، راست تا ماریچی، گاهی زانودار، قهوه‌ای تیره که به طرف نوک کمرنگ‌تر می‌شود، با دیواره عرضی به ابعاد ۷-۴×۵۸۰-۴۳۰ میکرومتر (متوسط ۵×۵۰ میکرومتر)، **کنیديوم:** کنیديوم‌ها معمولاً خمیده، قایقی‌شکل، دوکی تا گریزی وارونه، گاهی اوقات سیلندری، زرد کمرنگ تا قهوه‌ای تیره، صاف و دارای ۱۲-۵ دیواره عرضی به ابعاد ۲۶-۱۰×۱۲۵-۴۶/۵ میکرومتر (متوسط ۱۶/۵×۹۴)، هیلوم کوچک و تیره یا روشن، اغلب برآمده و به طور جزئی پاپیل‌دار هستند.

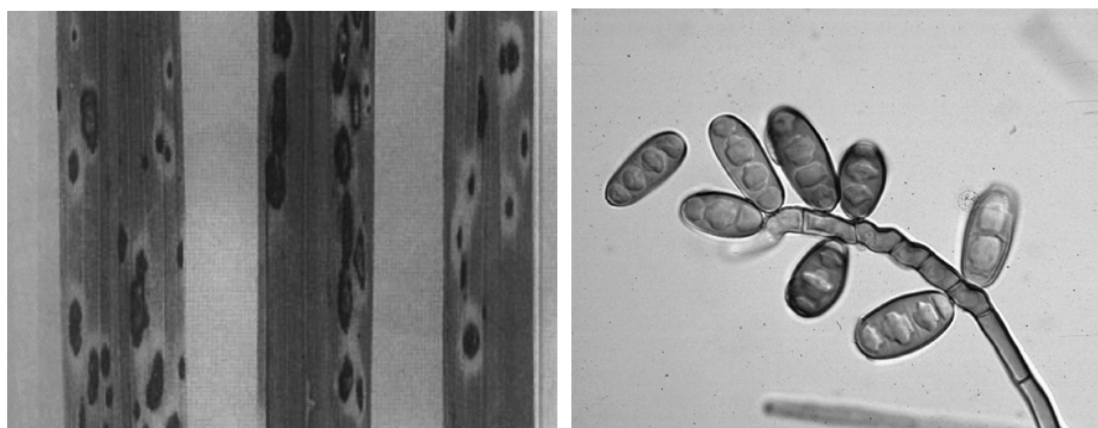
از نظر فرآیند تشکیل کنیديوم، اولین دیواره عرضی کمی پائین‌تر از وسط تشکیل شده و دومین دیواره در قسمت سلول قاعده و سومین در قسمت سلول نوک به وجود می‌آمد. در هنگام جوانه‌زدن کنیديوم، لوله تندشی از دو سلول انتهایی بطور قطبی تندشی خارج شده، شفاف و بیرنگ بوده و در جهت امتداد محور طولی کنیديوم رشد می‌کردند و انشعاب در آنها به فاصله کمی دورتر از محل خروج انجام می‌شد. صفات کلی در این گروه با جنس *Bipolaris Shoemaker* تطابق داشته است (Shoemaker, 1959; Alcorn, 1988). صفات اختصاصی‌تری همچون رنگ، شکل کلنی، شکل، ابعاد و رنگ کنیديوم و کنیديوفور به مشخصات گونه *B. oryzae* (Ellis, 1971; Cholil and Hoog, 1982; Sivanesan, 1987). لازم به ذکر است که گونه فوق‌الذکر (*B. oryzae*) ۲۵ درصد از جدایه‌های موجود را تشکیل می‌داد.

مشخصات گروه دوم جدایه‌ها: **پرگنه:** قارچ مخملی، همراه با ریشه‌های فراوان، به رنگ قهوه‌ای مایل به زیتونی، **ریشه‌ها:** منشعب، زرد کمرنگ تا قهوه‌ای خیلی روشن، **کنیديوفور:** منفرد یا در گروه‌های کوچک، راست تا نقاط رویشی جدید از ادامه رشد نوک کنیديوفور به صورت دایره‌ای و تیره مشاهده می‌شود. کنیديوفور دیواره‌دار، به

جدول ۱- مناطق نمونه برداری، ارقام و بیمارگرهای جدا شده در رابطه با مطالعه‌ی بیماری لکه قهوه‌ای برنج در استان گلستان

Table 1. Sampling regions, Varieties and disease agents isolated from Golestan Province for studying of rice brown spot disease.

عامل بیماریزا (%) Disease agent (%)		Isolate number (Sample type)	تعداد جدایه (نوع نمونه)	رقم Variety	منطقه Region
<i>B. oryzae</i>	<i>B. spicifera</i>				
2	10	12(leaves)	۲ (برگ)	Domsyah	دمسیاه Headarabad
	2	2 (seed)	۱ (بذر)		
1	2	2 (leaves)	۲ (برگ)	Taromneda	طارم‌ندا
	0	1 (seed)	۱ (بذر)		
1	2	3 (leaves)	۳ (برگ)	Amol	آمل
		0 (seed)	۰ (بذر)		
	4	4 (leaves)	۴ (برگ)	Sangtarom	سنگ‌طارم
	1	1 (seed)	۱ (بذر)		
4	1	1 (leaves)	۱ (برگ)	Domsyah	دمسیاه Minoudasht
	1	5 (seed)	۵ (بذر)		
2		1 (leaves)	۱ (برگ)	Taromneda	طارم‌ندا
		2 (seed)	۲ (بذر)		
3	3	6 (leaves)	۶ (برگ)	Tarom askari	طارم‌عسگری
	1	1 (seed)	۱ (بذر)		
3	5	5 (leaves)	۵ (برگ)	Domsyah	دمسیاه Azadshahr
	2	2 (seed)	۲ (بذر)		
	4	(leaves)	۷ (برگ)		
	1	(seed)	۱ (بذر)	Taromneda	طارم‌ندا
	5	5 (leaves)	۵ (برگ)	Domsyah	دمسیاه Gorgan
	1	1 (seed)	۱ (بذر)		
	2	(leaves)	۲ (برگ)	Taromneda	طارم‌ندا
	1	(seed)	۱ (بذر)		
	5	5 (leaves)	۵ (برگ)	Tarom askari	طارم‌عسگری
		0 (seed)	۰ (بذر)		
2	4	6 (leaves)	۶ (برگ)	Domsyah	دمسیاه Hashemabad
	1	1 (seed)	۱ (بذر)		
1	2	(leaves)	۳ (برگ)	Tarom askar	طارم‌عسگری i
	1	(seed)	۲ (بذر)		
	2	2 (leaves)	۲ (برگ)	Taromneda	طارم‌ندا
	1	1 (seed)	۱ (بذر)		
	4	4 (leaves)	۴ (برگ)	Domsyah	دمسیاه Kordkooy
	2	2 (seed)	۲ (بذر)		
2	3	5 (leaves)	۵ (برگ)	Amol	آمل
	3	3 (seed)	۳ (بذر)		
	2	2 (leaves)	۲ (برگ)	Sangtarom	سنگ‌طارم
	0	0 (seed)	۰ (بذر)		
76	25	101 75 (leaves) 26 (seed)	۱۰۱ (۷۵ برگ و ۲۶ بذر)	جمع Total	



شکل ۱- علائم لکه قهوه‌ای بر روی برگ برنج (چپ) و کنیدی و کنیدیوفور *Bipolaris spicifera* (راست). عامل اصلی بیماری لکه قهوه‌ای در استان گلستان

Figure 1. Brown spot sign on rice leaf (left) and conidium and conidiophores of *Bipolaris spicifera* (right), main agent of brown spot disease in Golestan Province.

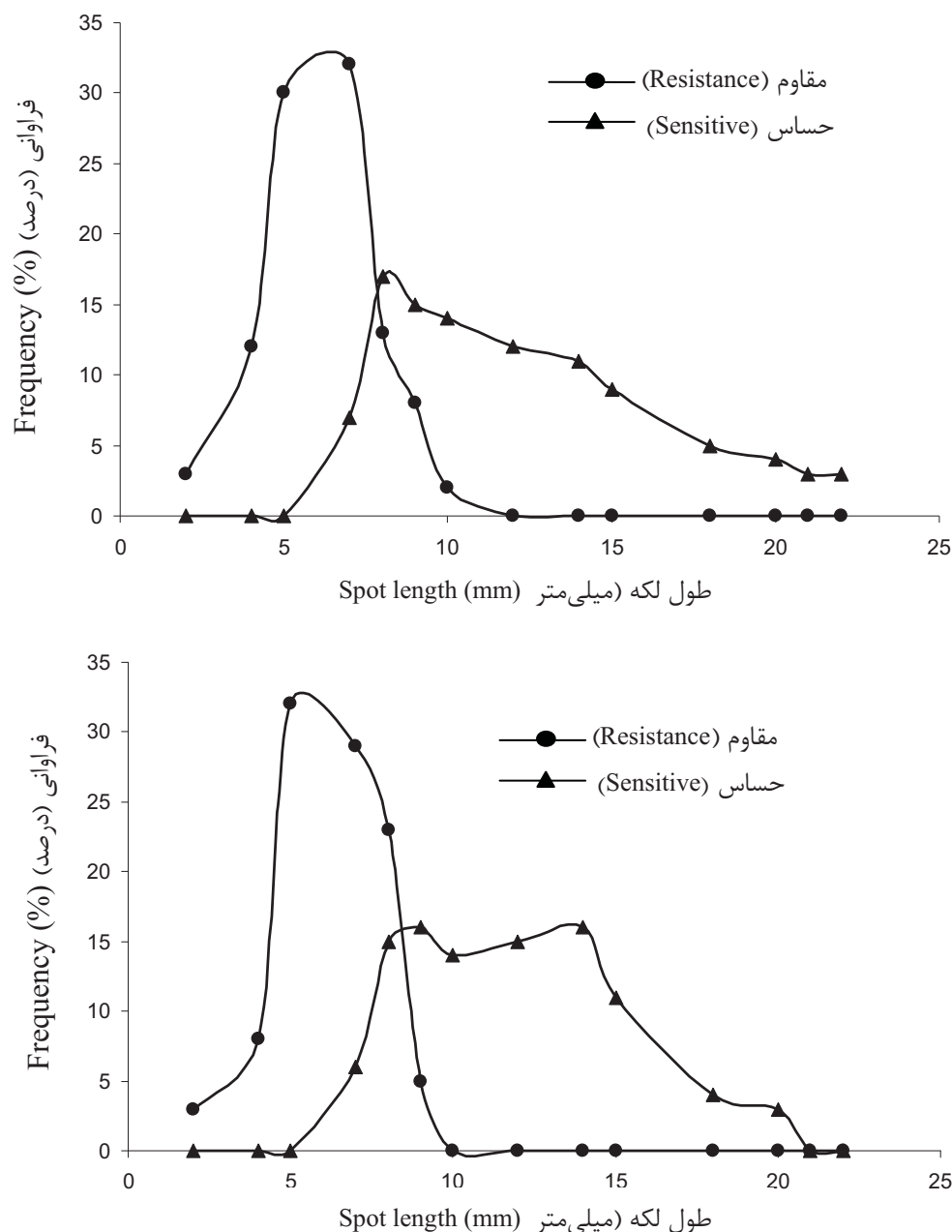
جدول ۲- تفسیر کیفی و کمی مقاومت در ارقام تجارتي برنج در مقابل عوامل بیماری لکه قهوه‌ای در استان گلستان در شرایط گلخانه

Table 2. Qualitative and quantitative interpretation of resistance in commercial rice varieties versus brown spot disease agents in Golestan Province under greenhouse condition.

تفسیر کیفی Qualitative interpretation (Kardin <i>et al.</i> , 1982)	تفسیر کمی (۱-۵) Quantitative interpretation (Ganguly and Padmanabhan, 1959)		رقم Variety
	<i>Bipolaris oryzae</i>	<i>Bipolaris spicifera</i>	
بسیار حساس High sensitive	4/2a	4/6 a	دمسیاه Domsiah
مقاومت متوسط Moderate resistance	3/4 b	3/2 b	طارم عسگری Taronaskari
مقاومت متوسط Moderate resistance	2/4 c	2/5 c	سنگ طارم Sangtarom
مقاومت متوسط Moderate resistance	2/4 c	2/2 c	طارم ندا Tarom Neda
مقاومت زیاد High resistance	1/1d	1/3 d	آمل Amol

میانگین‌های دارای حروف مشابه فاقد اختلاف معنی‌دار با آزمون دانکن در سطح احتمال ۱٪ هستند.

Means with the same letters are not significant differences by Duncans method at 1% probability level.



شکل ۲- توزیع فراوانی میانگین طول لکه در رقم حساس (دمسیاه) و مقاوم (آمل) برنج حاصل از عوامل بیماری لکه قهوه‌ای در استان گلستان توسط ۵ جدایه از *Bipolaris spicifera* (بالا) و ۵ جدایه از *Bipolaris oryzae* (پایین).

Figure 2. Frequency distribution of spot length average in sensitive variety (Domsiah) and resistance variety (Amol) of rice derived from brown spot disease agents in Golestan Province by 5 isolates *Bipolaris spicifera* (up) and 5 isolates of *Bipolaris oryzae* (below).

*spicifera* بیمارگری با دامنه میزبانی وسیع است و قادر است در شرایط مناسب درجات شدیدی از آلودگی را به وجود آورد (Marchetti and Peterson, 1984; Razavi, 1994; Sanei et al., 2000). این موضوع با پراکنش شدیدتر بیمارگر در منطقه شرق استان به دلیل رطوبت

برخلاف گزارش‌های بیماری از استان‌های دیگر که عامل اصلی بیماری را *B. oryzae* معرفی می‌کند (Padasht and Izadyar, 1998; Razavi, 1994; Safari Motlagh et al., 2006)، در این استان *B. spicifera* به عنوان عامل اصلی بیماری بوده است. قارچ *B.*

گندم در استان کشت می‌شوند ممکن است حاوی مایه-تلقیحی از بیمارگر باشند. این موضوع می‌تواند آلودگی بالای این مزارع برنج به بیماری لکه‌قهوه‌ای را توجیه نماید. به این ترتیب، اگرچه بیمارگر حالت بذری دارد، اما به علت وجود سایر منابع آلودگی، ضدعفونی بذر کافی نیست (Nelson and Kline, 1961). به این ترتیب کنترل بیماری در استان به روش مدیریت تلفیقی، از جمله مدیریت کود جهت افزایش توان دفاعی گیاه (Padasht *et al.*, 1998) نیاز دارد.

بالاتر محیط مطابقت دارد. به نظر می‌رسد وجود روزنه‌های آبی در نوک و حاشیه برگ‌ها موجب افزایش ترکیبات مترشحه در این مناطق برگ است و افزایش قدرت حمله بیمارگر را فراهم می‌کند.

مشاهدات مزرعه‌ای نشان می‌دهد که گیاهان در مرحله بلوغ به بیماری مقاوم‌ترند. از طرفی به نظر می‌رسد که با عقب انداختن کشت، مرحله حساس گیاه برنج با فعالیت بیمارگر منطبق شده و موجب شدت آلودگی می‌گردد (Sherf *et al.*, 1947). از آنجا که بیمارگر به علف‌های هرزی مانند فالاریس حمله می‌کند (Sanei *et al.*, 2000)، می‌توان تصور کرد که مزارعی که پس از گیاه

## References

- Alcorn, J. 1988. Taxonomy of *Helminthosporium* species. **Annual Review of Phytopathology** 26, 37-56.
- Bedi, K. S. and Gill, H. S. 1960. Losses caused by the brown leaf spot disease in the Punjab. **Indian Phytopathology** 13: 161-164.
- Bhattachary, D. and Mukhopudhyay, N. K. 1986. Surface adherence and penetrability of mycobacillin as affected by adjuvants. **Indian Phytopathology** 39: 390-394.
- Chidambaram, P., Mathur, S. B. and Neergard, P. 1973. Identification of seed-borne *Drechslera* species. **Fiersia** 10: 165-207.
- Cholil, A. and Hoog, G. S. 1982. Variability in *Drechslera oryzae*. **Transaction British Mycolological Society** 79: 491-496.
- Duveiller, E. and Altamirano, I. G. 2000. Pathogenicity of *Bipolaris sorokiniana* isolates from wheat roots, leaves and grains in Mexico. **Plant Pathology** 49: 235-242
- Ellis, M. B. 1971. Dematiaceous Hyphomycetis. CMI, Kew. England. 608pp.
- Ershad, D. 2009. Fungi of Iran. Ministry of Jihad-e-Agriculture. Agricultural Research, Education and Extension Organization, 531p.
- Ganguly, S. and Padmanabhan, S.Y. 1987. Breeding for Disease Resistance in Rice. Oxford and IBH Publishing Co. Calcutta. 340pp.
- Ito, S. and Kuribayashi, K. 1927. Production of the ascigerous stage in culture of *Helminthosporium oryzae*. **Annual of the Phytopathological Society of Japan** 2, 1-8.
- Kardin, M. K., Bowden, R. L., Perich, J. A. and Nickelson, L.J. 1982. Zonate, eyespot wild rice caused by *Drechslera gigantean*. **Plant Disease** 66: 737-739.
- Khosravi, V. 1999. Studies of seedborne fungal disease of rice in Mazandaran province. M.S Thesis, College of Agriculture, Tehran University.
- Leonard, K. J. and Suggs, E. G. 1963. Taxonomic Criteria in *Helminthosporium*. **Mycologia** 55: 643-674.
- Luttrell, E. S. 1977. Correlations between conidial and ascigerous state characters in *Pyrenophora, Cochliobolus* and *Setosphaeria*. **Review of Mycology** 41: 271-79.
- Marchetti, M. A. and Pterson, H. D. 1984. The role of *Bipolaris oryzae* in floral abortion and kernel discoloration in rice. **Plant Disease** 68: 288-291.
- Ministry of Jehade- Agriculture. 2009. Agriculture information for 2007. Vol. 1, Cereals. [www.agri-jehad-ir](http://www.agri-jehad-ir). (In Persian).
- Nelson, R. R. and Kline, D. M. 1961. The pathogenicity of certain species of *Helminthosporium* to species o the gramineae. **Plant Disease Reporter** 45: 644-648.



- Nisikado, Y. 1923. Effect of temperature on the growth of *Helminthosporium-oryzae* Breda de Haan. **Annals of the Phytopathological Society of Japan** 1: 20-30.
- Ou, S. H. 1985. Rice diseases. Commonwealth Mycological Institute. (2<sup>nd</sup> Ed.). 380pp.
- Padasht, F., Rouhani, H. and Mansouri, S. 2000. Rice seed treatment with some antagonists against bakana disease. Proceedings of the 14<sup>th</sup> Iranian Plant Protection Congress, 5-8 Sep., Esfahan, Iran. p. 249. (In Persian).
- Padasht, F. and Izadyar, M. 1998. Study on the rice brown spot disease in Guilan province. Proceedings of the 13<sup>th</sup> Iranian Plant Protection Congress, 23-27 Aug., Karaj, Iran. p. 84. (In Persian).
- Padasht, F., Ferdus, B. and Dareaghophthar, F. 1998. Study on relationship of rice brown spot disease with elements content in plant and soil. Proceedings of the 13<sup>th</sup> Iranian Plant Protection Congress, 23-27 Aug., Karaj, Iran. p. 84. (In Persian).
- Razavi, S. E., Jahani, M., Sanei, S.J. and Ghanbarnia, K. 2000. Relationship between illuminance and resistance of rice plant to brown spot disease. **Journal of Agriculture sciences and Natural Resources** 7: 3-10. (In Persian).
- Razavi, S. E. and Sanei, S. J. 1998. Studies on distribution and phenotypic characteristics of rice brown spot disease in Golestan, Mazandaran, Fars and Kohgiluyeh and Boierahmad provinces. Iranian Rice conference, Isfahan, p. 18 (In Persian).
- Razavi, I. 1994. Studies on distribution, phenotypic characteristics, taxonomy and virulence of different isolates of anamorph-genus: *Helminthosporium* Link ex Gray and its allies occurring on rice plant in Fars and Kohgiluyeh and Boierahmad provinces. M.Sc Thesis, College of Agriculture. Shiraz University, (In Persian).
- Safari Motlagh, M. R. and Kaviani, B. 2008. Characterization of new *Bipolaris* spp. The causal agent of rice brown spot disease in the north of Iran. **International journal of Agriculture and Biology** 10: 638-642.
- Safari Motlagh, M. R., Zamanizadeh, H. R., Hedjaroude, Gh.A. and Okhovvat, M. 2006. Identification of the causal agent fungi of rice brown spot disease in Guilan province. **Journal of Agriculture Sciences and Natural Resources** 12: 136-145. (In Persian).
- Safari motlagh, M. R., Padasht, F. and Hedjaroude, Gh. 2005. Rice Brown Spot Disease in Guilan Province and the Study of the Reaction of Some Cultivars to the Disease. **Water and Soil Science Journal of Isfahan University of Technology** 2: 171-183. (In Persian).
- Safari Motlagh, M. R. and Javan Nikkhah, M. 1997. Study of genetic variation of *Bipolaris* species, the causal agent of rice brown spot disease in Gilan province based on PCR-RFLP. **Pajohesh and Sajandegi** 70: 25-35. (In Persian).
- Sanei, S.J., Razavi, S. E., Ebrahimi, A.Gh. and Mazandarani, Sh. 2000. Introduction of the *Bipolaris* hosts from Golestan province. Proceedings of the 14<sup>th</sup> Iranian Plant Protection Congress, 5-8 Sep., Isfahan, Iran. p. 369. (In Persian).
- Shamsi, A., Elahinia, S. A., Khodaparast, S. A. and Moosanejad, S. 2010. Fertility status and mating type of *Cochliobolus miabeanus*, the causal agent of rice brown spot disease in Gilan province. **Iranian Journal of Plant Pathology** 45: 87-97. (In Persian).
- Sherf, A. F., Page, R. M., Tullis, E. C. and Morgan, T. L. 1947. Studies on factors affecting the infection of *Helminthosporium oryzae*. **Phytopathology** 37: 281-290.
- Shoemaker, R. A. 1959. Nomenclature of *Drechslera* and *Bipolaris*, grass parasites segregated from *Helminthosporium*. **Canadian Journal of Botany** 37: 879-887.
- Shoemaker, R. A. 1966. A pleomorphic parasite of cereal seed, *Pyrenophora-semeniperda*. **Canadian Journal of Botany** 44: 1451-1456.
- Sivanesan, A. 1987. Graminicolous species of *Bipolaris*, *Curvularia*, *Drechslera*, *Exserohilum* and their telemorphs. CAB. International Mycological Institute 261 pp.
- Vleeschauwer, D., Yang, Y., Cruz, C. V. and Hofte, M. 2010. Abscisic acid-induced resistance against the brown spot pathogen *Cochliobolus miyabeanus* in Rice involves MAP kinase-mediated repression of ethylene signaling. **Plant Physiology** 152: 2036-2052.

## Rice brown spot disease and identification of the causal agent fungi in Golestan province

Seyyed Javad Sanei<sup>1\*</sup>, Seyyed Esmael Razavi<sup>1</sup> and Seyyed Mohammad Okhovvat<sup>2</sup>

1. Dept. of Plant Protection, College of Plant Production, Gorgan University of Agricultural Sciences and Natural Resources, Gorgan, Iran 2. Department of Plant Protection, College of Sciences and Agricultural Engineering, University of Tehran, Karaj, Iran

(Received: May 29, 2011- Accepted: January 4, 2012)

### Abstract

The brown spot disease is one of the seed-borne diseases of rice, which is found in all stages of its growth from nursery to farm. It causes qualitative and quantitative damage on rice. Although the disease can be found in all parts of the country where rice is cultivated, there is no precise information about its dispersal and causal agents, the varieties of its species, and the amount of its damage in Golestan Province. Therefore, this study was carried out to identify the genus and species of the rice brown spot agent in the province. At first, samples were collected from 83 paddy fields in Golestan Province. To isolate the fungus from disease tissues, the collected samples were cultured on PDA, so 101 isolates were isolated and cultured for sporulation on PDA medium. Surveying of conidium and conidiophore morphology, the process of conidium formation and the pattern of its germination indicated that the present isolates belonged to *Bipolaris* which two species of it were identified, *Bipolaris oryzae* and *Bipolaris spicifera*. The total isolates contained 25% of *B. oryzae* and 75% of *B. spicifera*. Pathogenicity test of isolates in these two species was applied on seedling of Domsiah, Amol, Tarom Neda, Tarom Asgari and Sang Tarom in greenhouse, which revealed the pathogenicity of the species and their ability to cause brown spot on rice. Isolates were able to infect wheat, barley and weeds of *Echinochloa crus-gali* and *Phalaris minor* L.

**Keywords:** *Bipolaris*, Brown spot, Golestan Province, Rice

\*Corresponding author: sa\_nei@yahoo.com