



جداسازی قارچ *Rhizoctonia solani* Kühn عامل پوسیدگی طوقه گل شب بو در گلخانه‌های اصفهان

- **صادق جلالی**، پژوهنده و عضو هیأت علمی بخش تحقیقات آفات و بیماریهای گیاهی مرکز تحقیقات کشاورزی و منابع طبیعی اصفهان
- **محمد سعید امامی**، پژوهنده و عضو هیأت علمی بخش تحقیقات آفات و بیماریهای گیاهی مرکز تحقیقات کشاورزی و منابع طبیعی اصفهان
- **بهروز انصاری پور**، کارشناس بخش تحقیقات آفات و بیماریهای گیاهی مرکز تحقیقات کشاورزی و منابع طبیعی اصفهان

تاریخ دریافت: فروردین ماه ۱۳۸۴ تاریخ پذیرش: اسفند ماه ۱۳۸۴

Email : sjalali69@yahoo.com

چکیده

استان اصفهان بعنوان یکی از مراکز مهم تولید گل شب بو (*Cheiranthus cheiri* L.) در ایران می‌باشد و در سالهای اخیر تولید آن افزایش چشمگیری داشته است به طوری که به سایر شهرها از قبیل تهران، شیراز، تبریز و همدان ارسال می‌گردد. طی بازدیدهایی که از گلخانه‌های پرورش این گیاه در شهرستان اصفهان به عمل آمد نوعی بیماری پژمردگی و پوسیدگی طوقه مشاهده شد. علائم بیماری در قسمت‌های هوایی گیاه شامل زردی و پژمردگی برگها و در ناحیه طوقه به صورت لکه‌های فرورفته و تیره مشهود بود. جهت تشخیص این عارضه نمونه‌هایی از بوته‌های بیمار جمع آوری و به آزمایشگاه منتقل گردید. بخش‌هایی از ناحیه طوقه و ریشه پس از شستشو با آب و ضد عفونی سطحی با محلول هیپوکلراید سدیم ۱٪ روی محیط PDA کشت و در دمای ۲۷ درجه سانتی‌گراد نگهداری شد. پس از دو روز از پرگنه‌های رشد نموده در اطراف بافت‌های آلوده توسط میله سترون قطعاتی از محیط کشت برداشت و مجدداً روی محیط PDA کشت شد. خالص سازی جدایه‌ها با استفاده از روش نوک ریشه انجام و شناسایی بر اساس خصوصیات ظاهری و مورفولوژیکی انجام گردید که بر اساس آن عامل بیماری پژمردگی گل شب بو قارچ *Rhizoctonia solani* جدا و تشخیص داده شد. با توجه به اینکه عامل بیماری قارچی خاک‌زاد است و کنترل شیمیایی آن در خاک‌های آلوده به راحتی امکان‌پذیر نیست، توصیه می‌گردد قبل از کشت نسبت به ضد عفونی خاک اقدام گردد.

کلمات کلیدی: شب بو، *Cheiranthus cheiri*، پوسیدگی طوقه، *Rhizoctonia solani*، اصفهان.

Pajouhesh & Sazandegi No 71 pp: 2-5

Isolation of *Rhizoctonia solani* Kühn the causal agent of wallflower foot rot in Esfahan greenhouses

By: S. Jalali, M. S. Emami and B. Ansari-poor Plant Pests and Diseases Research Dep., Agricultural Research Center of Esfahan

Esfahan province is one of the important places of wallflower (*Cheiranthus cheiri* L.) production and in recent years is exporting to other provinces such as Tehran, Shiraz and Tabriz. Foot rot and wilting of the plants were observed

in wallflower greenhouses. symptoms of the disease in above-ground of infected plants were yellowing, wilting and death of leaves, and crown region shows dark sunken lesions. In order to determine the causal agent of the disease, samples were collected from infected plants and transferred to the lab. Root and crown samples were first thoroughly rinsed with tap water and surface sterilized with 1% sodium hypochlorite. Pieces of stems and roots were cultured on PDA medium and incubated at 27°C. After 2 days, from the majority of the stem pieces, a slow growing fungus was recovered, and isolated by hyphal tip. On the basis of morphological characteristics, the fungus was identified as *Rhizoctonia solani* Kühn. As the causal agent of the disease is soilborne and its chemical control in infected soils is difficult, it is proposed to disinfect the soil before use in pots.

Keywords: Wallflower, *Cheiranthus cheiri*, Foot rot, *Rhizoctonia solani*, Esfahan.

مقدمه

یکی از عوامل مهم بیماریزا در گیاهان زینتی در گلخانه‌ها، نهالستان‌های پرورش گل و فضای سبز گونه‌های جنس *Rhizoctonia* می‌باشد. بیماری‌های ایجاد شده توسط این قارچ اغلب به صورت مرگ گیاهچه، پوسیدگی طوقه و ساقه و سوختگی برگ‌ها می‌باشد. گونه‌های این قارچ بر اساس تعداد متوسط هسته در هر سلول ریشه‌های جوان به دو گروه دو هسته‌ای و چند هسته‌ای تقسیم می‌شوند (۱۶). هر چند خسارت ناشی از گونه *R. solani* به مراتب بیشتر از گونه‌های دیگر قارچ می‌باشد (۱۱) ولی گونه‌های چند هسته‌ای و دو هسته‌ای دیگر *Rhizoctonia* spp. نیز در ایجاد این بیماریها مؤثر می‌باشند، علاوه بر بیماریهایی که توسط گونه چند هسته‌ای *R. solani* ایجاد می‌شود گونه‌های دو هسته‌ای نیز به عنوان عامل سوختگی برگ روی تعدادی از گیاهان زینتی از قبیل آزالیا و ختمی ژاپنی گزارش شده است (۱۱).

Chase (۱۲) با مطالعه ۳۰۹ جدایه از گونه‌های مختلف این جنس که از گیاهان زینتی جدا شده مشخص نموده که ۱۲۹ جدایه قارچ دو هسته و ۱۸ جدایه دیگر چند هسته‌ای بوده‌اند، ۳۳ درصد جدایه‌های چند هسته‌ای از ریشه، ۲۴ درصد از ساقه و ۴۰ درصد از برگ‌ها جدا شده است که بیشتر این جدایه‌ها متعلق به گروه AG۴ و تعداد معدودی متعلق به گروه AG۱ بوده‌اند. دامنه میزبانی گونه *R. solani* در گیاهان وسیع بوده و بالغ بر ۳۶۰ گونه مختلف از گیاهان زینتی از جمله شب بو، میخک، گلایل، انواع کلم زینتی، داودی، کوبک و زنبق می‌باشد (۱۴) و گونه دیگر که چند هسته‌ای بوده و از اندام‌های هوایی چند گیاه زینتی جدا شده

است *R. ramicola* می‌باشد (۱۱).

قارچ‌های جنس ریزوکتونیا در طبیعت به صورت اسکروت خاک و ریشه در بقایای مواد آلی زمستان‌گذاری می‌نماید. بنابراین قارچ مذکور در خاک گلخانه‌ها به دلیل بالا بودن مواد آلی آنها شیوع قابل توجهی دارد. Averre و همکاران (۸) گونه *R. solani* را از خاک‌های موجود در اطراف راهروی گلخانه‌ها و خاک‌هایی که دارای مواد آلی زیادی بوده‌اند جدا نموده است. استفاده از این خاک‌ها به صورت غیر سترون برای قلمه‌های آزالیا موجب آلودگی در ۷۵٪ از آنها شده است. بوتهمیری و پوسیدگی ریشه و طوقه ناشی از این قارچ در گیاهانی که به طریق بذر تولید می‌گردند یکی از مشکلات عمده و محدودکننده محسوب شده و گاهی خسارت ناشی از آنها تا ۶۵ درصد در تولیدات گیاهی برآورد شده است (۱۰).

در ایران گونه‌های چند هسته‌ای ریزوکتونیا از گیاهان تاج خروس، شاه پسند، گل ناز و گل حنا (۷) و گونه‌های دو هسته‌ای از گیاهان اوکالیپتوس، بادمجان، پریوش، زیتون و کنار (۷)، برنج (۳)، کاج ایرانی و سرو نقره‌ای (۲)، اسپرس (۶)، خیار، خربزه، لوبیا و گوجه فرنگی (۵) و پسته (۱) گزارش شده است.

همچنین باکتری *Xanthomonas campestris* pv. *incamae* برای اولین بار به عنوان عامل سوختگی ساقه گل شب بو توسط Kendrick و Baker (۱۵) از کالیفرنیا و توسط رحیمیان و اخوتیان (۴) از ایران گزارش شده است. با توجه به اهمیت بیماری پژمردگی گل شب بو در استان اصفهان تحقیق حاضر به منظور شناسایی عامل بیماری و راه‌های مبارزه با آن انجام گرفته است.

مواد و روش ها

۱ - جدا و خالص سازی عامل بیماری

به منظور شناسایی عامل بوته میری گل شب بو (*C. cheiri*) از بوته‌هایی که دارای برگ‌های زرد و لوله شده بود و به تدریج پژمرده و در نهایت خشک می شدند نمونه برداری انجام شد. نمونه‌ها بطور مجزا درون کیسه‌های نایلونی به آزمایشگاه منتقل و توسط آب روان شستشو گردید. در ناحیه طوقه گیاهان بیمار لکه‌های بیضی شکل و فرورفته به ابعاد ۰/۳ تا ۱/۲ سانتی‌متر مشاهده گردید که در بوته‌های خشک شده این لکه‌ها به هم پیوسته و تمامی ناحیه طوقه را آلوده نموده بود. قطعاتی از طوقه و ساقه جدا و پس از ضد عفونی با هیپوکلرید سدیم ۱٪ به مدت یک دقیقه و پس از شستشو با آب مقطر سترون توسط کاغذ صافی خشک و قطعات ریزی از عمق بافت در حاشیه زخمها جدا و روی محیط غذایی PDA کشت گردید و در انکوباتور در دمای 27 ± 1 درجه سانتیگراد نگهداری شد. پس از رشد کلنی‌های قارچ در اطراف نمونه‌ها نسبت به خالص سازی آنها با روش نوک ریشه اقدام شد.

۲ - شناسایی عامل بیماری

تشخیص جدایه قارچ بر اساس ویژگی‌های ظاهری پرگنه، تشکیل اسکروت، قطر ریشه‌ها، شکل انشعابات و تعداد هسته در هر سلول انجام گرفت. جهت رنگ آمیزی هسته‌ها از سافرانین ۵٪، درصد و هیدروکسید پتاسیم ۳ درصد استفاده شد (۹).

۳ - اثبات بیماری زایی

ابتدا بذور گیاهان شب بو (*C. cheiri*) هیبرید Red ۴۱۳۳ شرکت Nirp international هلند به مدت سه دقیقه با هیپوکلرید سدیم ۵ درصد ضد عفونی سطحی شد و پس از شستشو با آب مقطر در گلدان‌های حاوی ماسه سترون در ۳ تکرار کشت شد. پس از سبز شدن بوته‌ها در هر گلدان چهار بوته نگهداری و بوته‌های اضافه حذف گردید. برای مایه زنی گیاهان قرص‌هایی از محیط کشت با قطر ۹ میلی‌متر از حاشیه پرگنه برداشته و در ناحیه طوقه روی ساقه گیاهچه‌های ۴۵ روزه شب بو قرار گرفت. برای تأمین رطوبت گلدان‌ها از سرپوش‌های شفاف پلاستیکی استفاده گردید. محیط مرطوب مشابهی همراه با قرص‌های ۹ میلی‌متری از محیط PDA به عنوان شاهد در نظر گرفته شد (۷).

نتایج و بحث

عارضه بوته میری گل شب بو که به صورت زردی برگها و پژمردگی بوته در اغلب گلخانه‌ها مشاهده شد (شکل ۱) دارای اهمیت زیادی می باشد. با کشت قطعاتی از نمونه‌های آلوده، پرگنه‌های قارچ در محیط کشت مشاهده گردید، از حاشیه خارجی پرگنه‌های تشکیل یافته با سوزن سترون نمونه برداری و مجدداً روی محیط غذایی کشت و خالص گردید. پرگنه‌های قارچ در ابتدا به رنگ کرم مایل به

قهوه‌ای بود و با گذشت زمان به رنگ قهوه‌ای تیره در آمد. ریشه‌های قهوه‌ای روشن قارچ چند هسته‌ای، دارای دیواره عرضی و انشعابات راست (۹۰ درجه) با قطر متوسط ۷ میکرومتر بود و در محل انشعابات و در دو طرف آن فرورفتگی مشاهده گردید. در سطح محیط اندام‌های سختینه به فراوانی مشاهده شد که از هیف‌های متراکم تشکیل یافته به صورت کروی و قطر آنها بین ۱/۱ تا ۴ میلی‌متر اندازه‌گیری شد. سلولهای تسبیحی در هیچیک از جدایه‌ها مشاهده نگردید. براساس خصوصیات مورفولوژیک مانند چند هسته‌ای بودن و تشکیل اسکروت و انشعابات قائمه که مطابق توصیف جنس ریزوکتونیا بود (۱۶) عامل بیماری *Rhizoctonia solani* Kühn تشخیص داده شد. علائم بیماری بین ۵ تا ۷ روز بعد از مایه زنی در تمامی بوته‌های شب بوی آلوده شده بروز نمود و علائم مشابهی را در ناحیه طوقه ایجاد کرد و باعث پژمردگی و مرگ آنها شد (شکل ۲). با کشت نواحی آلوده روی محیط PDA عامل بیماری مجدداً جداسازی گردید. بوته‌های شاهد بدون بروز هیچگونه علائمی به رشد خود ادامه دادند. علاوه بر قارچ *R. solani*، قارچ‌های *Rhizopus* sp, *Fusarium* spp و باکتری *Erwinia* sp از نمونه‌های بیمار که بطور غیر سترون روی محیط غذایی کشت شده بود جدا گردید، اما در آزمایش بیماری‌زایی هیچکدام از آنها روی بوته‌های شب بو ایجاد بیماری نکرد.

با توجه به اینکه دامنه میزبانی قارچ در گیاهان زینتی بسیار وسیع می‌باشد، این قارچ از عوامل مهم خسارت زا در گلخانه‌ها محسوب شده و دارای اهمیت اقتصادی است (۱۴). از آنجایی که عامل بیماری قادر است در خاک‌هایی که دارای مواد آلی هستند به صورت فعال باقی بماند، ضد عفونی خاک توسط بخار آب یا اشعه خورشیدی از بروز بیماری جلوگیری می‌نماید. استفاده از خاک‌های بازدارنده شامل کمپوست به دست آمده از پوست درختان^۱ در کنترل قارچ مذکور بسیار موثر بوده است (۱۳) بطوریکه استفاده از این خاک توانسته است پوسیدگی



شکل ۱- زردی برگها و پژمردگی بوته‌های گل شب بو در مقایسه با گیاهان سالم در گلخانه

۵ - زمانی، م.ر.، بلالی، ق.، دانش، د. و رحیمیان، ح. ۱۳۶۸؛ گروه‌های آناستوموزی ریزوکتونیاهای جدا شده از چند میزبان در اصفهان. نهمین کنگره گیاهپزشکی ایران. دانشگاه فردوسی مشهد. صفحه ۱۴۱.

۶ - شریف نبی، ب. و بنی‌هاشمی، ض. ۱۳۷۴؛ نقش ریزوکتونیاهای چند هسته‌ای و دو هسته‌ای در پوسیدگی ریشه اسپرس در ایران. دوازدهمین کنگره گیاهپزشکی ایران. آموزشکده کشاورزی کرج. صفحه ۹۶.

۷ - صفایی، ن. میناسیان، و. رحیمیان، ح. و بنی‌هاشمی، ض. ۱۳۷۸؛ جداسازی، تشخیص و بررسی بیماریزایی گونه‌های ریزوکتونیا از گیاهان مختلف در استان خوزستان. نشریه بیماریهای گیاهی، جلد ۳۵، شماره ۴-۱، صفحات ۹ تا ۱.

8-Averre, C.W., R.K., Shoemaker and W.A. Skorck, 1993; Sanitizing greenhouses and plant beds. N. C.. Agric. Manual, College of Agric. and life Sciences. Univ. of Carolina. 127 pp.

9-Bandony, R.J. 1979; Safranin as rapid nuclear stain for fungi. Mycologia, 71:873-874.

10- Benson, D.M. 1991; Control of rhizoctonia foot rot of Poinsettia sp. during propagation with fungicides that prevent colonization of *Rhizoctonia solani*. Plant Dis. 75: 394-398.

11-Benson, D.M. and D.K. Cartwright, 1996; Ornamental diseases incited by rhizoctonia spp., Sneh, B. (ed) In rhizoctonia species: Taxonomy, Molecular Biology, Pathology and Disease Control. 303-314p., Kluwer Academic publisher, Netherlands.

12-Chase, A. R. 1991; Characterization of rhizoctonia spp. isolated from ornamentals in Florida. Plant Dis. 75: 234-238.

13-Chet, I. and R. Baker, 1980; Induction of suppressiveness to *Rhizoctonia solani* in soil. Phytopathology. 70 : 994-998.

14-Farr, D.F., G.F., Bills, G.P., Chamuris and A. Y. Rossman. 1989; Fungi on plants and plant products in the United States. APS press, St. Paul, Minnesota, 252pp.

15-Kendrick, J. B. and K. F. Baker. 1942; Bacterial blight of garden stocks and its control by hot water seed treatment. Univ. Calif. Agric. Exp. Sta. Bull. 663, 23pp.

16-Sneh, B., Burpee, L. L. and A. Ogoshi. 1991; Identification of rhizoctonia species. APS Press. St. Paul. Mn. 133p.



شکل ۲- پوسیدگی طوقه گل شب بو در اثر مایه زنی با قارچ *Rhizoctonia solani*

ریزوکتونیایی گیاه بنت قنسول^۲ را همانند ضد عفونی خاک با بخار آب کنترل نماید (۱۰).

سپاسگزاری

نگارندگان از کلیه همکاران در بخش تحقیقات آفات و بیماریهای گیاهی بخاطر در اختیار گذاشتن امکانات آزمایشگاهی قدر دانی می‌نمایند.

پاورقی‌ها

- 1- Composted Hardwood Bark
- 2 - Poinsettia sp.

منابع مورد استفاده

- ۱ - اشکان، م.، ابوسعیدی، د. و حمدواله زاده، ا. ۱۳۷۴؛ بررسی مرگ گیاهچه پسته بر اثر *Rhizoctonia solani* در رفسنجان. دوازدهمین کنگره گیاهپزشکی ایران. آموزشکده کشاورزی کرج. صفحه ۲۱۹.
- ۲ - ذاکری، ع. و بنی‌هاشمی، ض. ۱۳۷۲؛ قارچهای همراه پوسیدگی ریشه خزانه‌های کاج و سرو در استان فارس. یازدهمین کنگره گیاهپزشکی ایران. دانشگاه گیلان رشت. صفحه ۲۴۸.
- ۳ - رحیمیان، ح. ۱۳۶۵؛ سوختگی موحی ساقه برنج در ساری. هشتمین کنگره گیاهپزشکی ایران. دانشگاه صنعتی اصفهان. صفحه ۹۳.
- ۴ - رحیمیان، ح. و اخوتیان، ح. ۱۳۶۸؛ بلایت باکتریایی شب بو در مازندران. نشریه بیماریهای گیاهی، جلد ۲۵، شماره ۴-۱، صفحات ۲۹ تا ۳۷.

