آفات و بیماری‌های گیاهی
جلد ۸۷، شماره ۲، اسفند ۱۳۹۸
DOI: 10.22092/jaep.2020.115191.1184

بررسی ارتباط بین شدت بیماری‌زایی قارچ *Gibberella fujikuroi* و جیبرلیک اسید تولید شده توسط آن در برنج رقم سپیدرود

سارا عفتی لاکه[۱]✉، فریدون پاداشت دهکایی[۲]

۱- دانشجوی کارشناسی ارشد بیماری شناسی گیاهی، دانشکده کشاورزی دانشگاه زنجان

۲- استادیار پژوهش بخش گیاه‌پزشکی، مؤسسه تحقیقات برنج کشور، رشت، ایران

(تاریخ دریافت: اردیبهشت ۱۳۹۸؛ تاریخ پذیرش: بهمن ۱۳۹۸)

چکیده

بیماری پوسیدگی طوقه برنج *Gibberella fujikuroi* (Sawada) یکی از بیماری‌های بذرزاد برنج می‌باشد که از علائم بارز آن ایجاد گیاهچه‌های بلند، باریک و رنگ‌پریده از بذور آلوده و تولید هورمون جیبرلیک اسید توسط جدایه‌های بیمارگر در آنها می‌باشد. تعیین شدت بیماری‌زایی قارچ *G. fujikuroi* و ارتباط آن با میزان کمّی جیبرلیک اسید تولید شده توسط قارچ در برنج رقم سپیدرود از اهداف تحقیق حاضر می‌باشد. به این منظور نمونه‌برداری از گیاهچه‌های آلوده، جداسازی و خالص‌سازی قارچ انجام شد. هر یک از جدایه‌ها در محیط اختصاصی تولید جیبرلیک اسید کشت و مقدار کمّی هورمون تولید شده توسط جدایه‌های بیمارگر بوسیله دستگاه HPLC تعیین شد. سوسپانسیون بیمارگر در مرحله انتهایی آبستنی و ابتدای مرحله ظهور خوشه در ساقه رقم سپیدرود تزریق و علائم بیماری بررسی شد. طبق نتایج این تحقیق ارتباط معنا-داری بین شدت بیماری‌زایی قارچ *G. fujikuroi* و میزان کمّی جیبرلیک اسید تولید شده توسط آن در برنج رقم سپیدرود مشاهده نشد.

واژه‌های کلیدی: برنج ، شدت بیماری، ، رقم سپیدرود، کروماتوگرافی مایع با کارایی بالا

The relationship between Bakanae disease severity and gibberellic acid produced by the fungus causal agent (*Gibberella fujikuroi*) on Sepidroud cultivar rice

Sara Efati Lakeh[1]✉, Fereidoun Padasht Dehkaei[2]

1. Sara Efati Lakeh , M.Sc. student of plant pathology, Faculty of Agriculture, University of Zanjan
2. Assistant Professor of Plant protection Research Department, Rice Research Institute, Rasht, Iran

Abstract

Bakanae disease and foot rot of rice is one of the seed-borne diseases with conspicuous symptoms: elongated, narrow and pale seedlings from contaminated seeds caused by *Gibberella fujikuroi* (Sawada) fungal agent. The aim of the present investigation is determination of disease severity index (DSI) of the fungus *G. fujikuroi* and its relationship with rate of gibberllic acid production by the fungus on Sepidroud cultivar rice. Infected plants, isolation and purification of fungus were done. All of isolates cultivated in a specific medium for production of gibberellic acid. Amount of the hormone produced by isolates of pathogen was evaluated by HPLC. Plant stems were inoculated by injection of conidial suspension of pathogen at the end of booting and the beginning of panicle exertion stages on Sepidroud rice cultivar and disease severity was evaluated. According to the results of this study, significant correlation was not found between the disease severity of *G. fujikuroi* and the amount of gibberellic acid produced in rice Sepidroud cultivar.

Keywords: Disease severity, HPLC, rice, Sepidroud cultivar

✉ efati_sara85@yahoo.com

مقدمه

بیماری پوسیدگی طوقه و ریشه برنج با عامل *G. fujikuroi* یکی از مهم‌ترین بیماری‌های این محصول در تمام مناطق برنج کاری دنیا می‌باشد. عامل بیماری با تولید مقادیر متفاوتی جیبرلین در شرایط محیطی اسیدی سبب قد کشیدگی نشاء و بوته‌های برنج در خزانه و مزرعه شده و در نهایت منجر به مرگ آنها می‌شود. هم‌زمان با جوانه‌زنی بذور، قارچ عامل بیماری نیز توسط بذور آلوده شروع به رشد می‌نماید. در خزانه قد کشیدگی و پوسیدگی نشاءها و در مزرعه قد کشیدگی پنجه‌های آلوده همراه با رنگ پریدگی از علائم بیماری است. این بیمارگر قادر به‌تولید مقادیر زیاد هورمون جیبرلین (جیبرلیک اسید) است.

در یک گیاه سالم، جیبرلین سبب افزایش فاصله میانگره، القاء گلدهی، حمایت از تقسیم سلولی و القاء آنزیم‌ها بویژه آنها که در سنتز دیواره سلولی دخیلند، می‌شود. در منابع گذشته، معدودی از قارچهای مولد جیبرلین‌ها شناسایی شده بودند، بیماری باکانه برنج و افزایش رشد بیش از حد کاساوا تنها بیماری‌های گیاهی توصیف شده ناشی از تولید جیبرلین در بیمارگرهای قارچی هستند (Carroll and Tudzynski, 1997; Yang *et al*., 2008)، اگرچه بیماری باکانه بیش از ۱۰۰ سال پیش توصیف شده اما نقش جیبرلین‌ها در فیزیولوژی بیماری پوسیدگی طوقه در برنج به‌درستی مشخص نشده است (Hedden and Thomas, 2016). مطالعات Wiemann *et al.* (2013) در زمینه تولید و بیان ژن مولد جیبرلین به وضوح نشان داد که این توانایی به‌گونه‌های فوزاریوم محدود شده و ممکن است یک مزیت انتخابی در طول آلودگی میزبان ترجیحی برنج باشد. حضور خوشه ژنی جیبرلین فعال برای کلنیزه کردن سلول‌های ریشه برنج ضروری نیست اما به‌نظر می‌رسد در هجوم بیشتر به بافت برنج مشارکت داشته باشد (Wiemann *et al*., 2013)، همچنین محققان معتقدند که جهش یافته‌های قارچی فاقد GA (جیبرلیک اسید) بر نرخ رشد قارچ اثر نمی‌گذارند و اشاره به این موضوع دارد که GAهای قارچی تولید شده به‌وسیله بیمارگرهای قارچی ممکن است در بیماری‌زایی روی گیاهان نقش داشته باشند (Chanclud and Morel, 2016; Yang *et al*., 2008). از سوی دیگر بررسی‌ها نشان داده است که بین سوش‌های بیمارگر که قدرت توانایی تهاجم (Aggressiveness) متنوعی دارند و سوش‌های غیر بیماری‌زا، تقریباً تفاوتی در پتانسیل سنتز GA وجود ندارد (Chanclud and Morel, 2016; Frankenberger and Arshad, 1995)، و یا طبق نظر Desjardins *et al*. (2000)، بوته‌های برنج با سوش‌های غیر تولید کننده جیبرلین (Mating Population D) و سوش‌های تولید کننده جیبرلین (Mating Population C)، آلوده می‌شوند. هدف از انجام این تحقیق، تعیین شدت بیماری قارچ *G. fujikuroi* در برنج رقم سپیدرود که یکی از ارقام پر محصول برنج در استان‌های گیلان و مازندران است و ارتباط آن با میزان کمّی هورمون جیبرلیک اسید تولید شده توسط جدایه‌های بیمارگر روی آن بود.

روش بررسی

نمونه‌برداری و جداسازی عامل بیماری: در سال زراعی ۱۳۹۱ تعداد ۳۹ نمونه دارای علائم آلودگی به‌بیماری پوسیدگی طوقه برنج از خزانه و مزارع برنجکاری استان گیلان و از اندام‌های بیمار گیاه در مرحله نشاء (در خزانه) و گیاه برنج (مراحل پنجه‌زنی، خوشه‌دهی و رسیدن در زمین اصلی) جمع‌آوری شد. از محیط کشت‌های عمومی سیب‌مینی دکستروز آگار (PDA) و آب آگار (WA) حاوی سولفات استرپتومایسین جهت جداسازی و خالص‌سازی قارچ و از محیط کشت‌های PDA و CLA در شرایط ۱۲ ساعت روشنایی و تاریکی متناوب با نور نزدیک به ماوراء بنفش در دمای ۲۵ درجه سلسیوس جهت تحریک اسپورزایی استفاده شد (Saremi 2004). شناسایی گونه‌های فوزاریوم با بهره‌گیری از کلید شناسایی Leslie and Summerell (2006) و شرح گونه‌های Gerlach and Nirenberg (1982) انجام گردید. به‌منظور تهیه زاد مایه قارچ جهت تزریق به گیاه، از کشت شش روزه جدایه‌های

مختلف بیمارگر در محیط کشت PDA، سوسپانسیون کنیدیوم به غلظت 10^6 کنیدیوم در هر میلی‌لیتر استفاده شد.

مایه‌زنی: بذور برنج رقم سپیدرود بعد از خیساندن به‌مدت ۲٤ ساعت، در گلدان کشت شدند. برای آزمون بیماری‌زایی از روش تزریق سوسپانسیون کنیدیوم بیمارگر در ساقه و بالای طوقه به‌جهت دستیابی سریع‌تر و قابل رؤیت‌تر به‌نتایج استفاده شد. در این روش ۵۰۰ میکرولیتر از زاد مایه قارچ در مرحله انتهایی آبستنی و ابتدای مرحله ظهور خوشه در بالای بند اول ساقه برنج رقم سپیدرود و همین مقدار آب مقطر سترون به تیمار شاهد تزریق گردید. میزان بروز علائم بیماری تا رسیدن محصول برنج، هر پنج روز یک‌بار بررسی و یادداشت گردید. همچنین به‌علت مایه‌زنی دیرهنگام، علاوه بر تعیین شدت بیماری امکان بررسی آلودگی خوشه نیز فراهم گردید. برای تعیین شاخص شدت بیماری جدایه‌های بیمارگر، علائم مشهود در گیاهان مایه‌زنی شده بر حسب مقیاس‌های به‌کار رفته توسط Zainudin *et al.* (2008) با کمی تغییر و اصلاح به‌شرح زیر نمره-گذاری شد:

جدول ۱- نمره‌گذاری علائم بیماری در برنج رقم سپیدرود بر حسب مقیاس‌های بیماری.

Table 1. Scoring of the disease symptoms on rice Sepidroud cultivar

Disease scale	Disease symptoms
0	healthy and uninfected plants (no external symptoms)
1	normal growth but leaves beginning to show yellowish-green (spot length: 0.5-1 cm)
2	chlorotic, abnormal growth, thin and yellowish-green leaves (spot length: 1-5 cm)
3	chlorotic, thin and brownish leaves
4	seedlings with fungal mass on the surface of infected plants or died

سپس با استفاده از فرمول زیر، شاخص شدت بیماری (DSI) هر جدایه از بیمارگر محاسبه گردید:

$$DSI = \frac{\text{مقیاس بیماری} \times \text{تعداد گیاهان موجود در مقیاس مشخص}}{\text{کل گیاهان}}$$

استخراج هورمون جیبرلیک اسید از جدایه‌های *G. fujikuroi*: به این منظور و تولید حداکثر جیبرلیک اسید، جدایه‌های شش روزه‌ی قارچ *G. fujikuroi* از محیط PDA به بستر مناسب در محیط کشت اختصاصی Czapek-Dox (CD) broth منتقل شدند. در فرمولاسیون این محیط مایع، موادی مانند سدیم نیترات (به‌عنوان تنها منبع نیتروژن غیرآلی) و ساکارز (به‌عنوان تنها منبع کربن) برای رشد بیمارگر وجود داشت. نمونه‌ها به‌مدت ۱۰ روز در دستگاه تکان دهنده گرمایشی[1] و با سرعت ۱۲۰rpm[2] قرار داده شدند و سپس استخراج هورمون جیبرلیک اسید از روش تغییر یافته Ergun *et al.* (2002) استفاده شد. در این روش محلول محتوی متانول، کلروفرم و آمونیوم هیدروکسید (v/v ۱۲:۵:۳) و ۲۵ میلی‌لیتر آب مقطر به عصاره قارچ در محیط کشت مایع اضافه شد. حلال‌های کلروفرم و متانول توسط قیف جدا کننده از محلول خارج گردیدند. اسیدیته محلول حاصل روی pH ۲/۵ تنظیم و سه بار با ٤۵ میلی‌لیتر اتیل استات (هر بار ۱۵ میلی‌لیتر) استخراج شد. به‌منظور دستیابی به ماده خشک (جیبرلیک اسید)، محلول در دستگاه تبخیر کننده دوّار[3] (Rotary evaporator) تبخیر شد. در نهایت ماده حاصله در پنج میلی‌لیتر از اتانول مطلق حل گردید (Rangaswamy, 2012).

تعیین مقدار کمّی جیبرلیک اسید تولید شده توسط جدایه‌های *G. fujikuroi* با دستگاه کروماتوگرافی مایع با کارایی بالا (HPLC): برای تجزیه کمّی جیبرلیک اسید از دستگاه کروماتوگرافی مایع با کارایی بالا بهره گرفته شد (Rangaswamy, 2012). در این روش دستگاه HPLC مدل Shimadzu 501a ساخت کشور ژاپن مجهز به یک پمپ مدل Shimadzu LC-10AD، یک آشکارساز فلورسانس مدل YL9120 و یک شیر تزریق مدل CTO-10AC استفاده شد. فاز متحرک (متانول – آب با نسبت (v/v)۲۵ :۷۵)، با سرعت جریان ۱ میلی‌لیتر در دقیقه از ستون (C18 کارخانه

[1] ThermoShaker
[2] Revolutions per minute
[3] Rotary evaporator

Teknokroma، با ابعاد ۵ µm × ٤/٦ mm × ۲۰۰ mm) عبور داده شده و میزان جذب استانداردها و نمونه‌ها در طول موج ۲۲۰ نانومتر در دمای ۳۰ درجه سلسیوس اندازه‌گیری گردید. در فاز اسیدی از بافر فسفات استفاده شد. استانداردها با مقادیر ۱۰۰ mg/L، ۱۰، ۵، ۱ با رقیق‌سازی مکرر از محلول استاندارد هورمون جیبرلین خالص (شرکت Sigma) تهیه شد (Bhalla *et al.*, 2010). همه نمونه‌ها از طریق فیلتر ۰/٤٥ میکرومتر عبور داده شده و با سرنگ ۵۰ میکرولیتری (Hamilton) به دستگاه HPLC تزریق شد. با استفاده از نرم‌افزار مربوطه اطلاعات داده‌ها به اکسل منتقل شد. برای به‌دست آوردن معادله خط رگرسیون از نمودار منحنی استاندارد، ابتدا میانگین سطح زیر پیک (area) غلظت‌های متفاوت از استانداردهای تزریق شده به دستگاه محاسبه و به‌همراه غلظت‌های مربوطه در یک جدول مجزا وارد گردید. با انتخاب نوع منحنی، تنظیمات محورها انجام و معادله خط رگرسیون به‌دست آمد. با استفاده از شیب خط معادله، غلظت جیبرلیک اسید تولید شده توسط هر جدایه از قارچ *G. fujikuroi* مشخص شد.

اعتبار سنجی روش آزمون: کمترین غلظت یک آنالیت (ماده مورد تجزیه یا مواد شیمیایی تشکیل دهنده آن) که در این تحقیق جیبرلیک اسید می‌باشد در یک ماتریکس قابل تشخیص است ولی به‌دقت قابل اندازه‌گیری نیست (غلظتی که مساحت پیک آن سه برابر مساحت noise باشد) به‌عنوان LOD (Limit of Detection) و کمترین غلظتی که با دقت و صحت قابل قبول، قابل اندازه‌گیری باشد به‌عنوان LOQ (Limit of Quantitation) تعریف می‌شود. حساسیت روش برای استانداردهایی که به دستگاه تزریق گردید با تعیین دو عامل LOD و LOQ با استفاده از نسبت سیگنال به noise و یا از میانگین انحراف استاندارد خط رگرسیون (SD_{xy}) و انحراف استاندارد خط رگرسیون (SD_a) معادله خط y=ax+b با فرمول‌های زیر سنجیده شد:

$$LOD = 3.3 \times (STEYX/slope)$$

$$LOQ = 10 \times (STEYX/slope)$$

در این روش STEYX معادله بازگرداندن خطای استاندارد Y پیش‌بینی شده (area) به ازای هر X (concentration) در منحنی کالیبراسیون می‌باشد.

آنالیز آماری: تحقیق حاضر در قالب طرح بلوک کامل تصادفی با ٢٤ تیمار و سه تکرار در گلخانه انجام گرفت. به‌منظور گروه‌بندی جدایه‌های مورد بررسی از نظر غلظت جیبرلیک اسید تولید شده، از تجزیه خوشه‌ای به روش UPGMA بر مبنای فاصلهٔ اقلیدسی و با استفاده از نرم‌افزار NTSYS version 2.02e بهره گرفته شد. برای تعیین ارتباط بین شدت بیماری قارچ *G. fujikuroi* روی برنج رقم سپیدرود و میزان جیبرلیک اسید تولید شده توسط جدایه‌های قارچ، تجزیه همبستگی بین شاخص شدت بیماری (DSI) هر جدایه و غلظت هورمون جیبرلیک اسید تولید شده با استفاده از روش پیرسون به کمک نرم‌افزار آماری SAS Ver 9.1 ارزیابی شد.

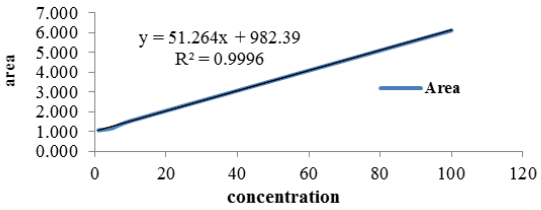
نتیجه و بحث

در تحقیق حاضر، علی‌رغم رشد قارچ‌های زیادی از جنس‌های مختلف در محیط کشت، از مجموع ۳۹ نمونه جمع‌آوری شده از شالیزارهای استان گیلان تعداد ٢٤ نمونه به‌عنوان *G. fujikuroi* شناسایی شدند. نتایج نشان داد که مایه‌زنی سوسپانسیون کنیدیوم بیمارگر به ساقه رقم سپیدرود، علائم سریع و شدیدی را در گیاهچه‌ها بویژه در نزدیکی محل تزریق ایجاد کرد. از جمله علائم ایجاد شده می‌توان به پوسیدگی ناحیهٔ طوقه و توده میسلیومی مملو از کنیدی قارچ عامل بیماری، ایجاد ریشک‌های نابجا در گره‌های بالایی طوقه و مرگ گیاهچه اشاره کرد. علائم آلودگی در خوشه‌های بوته‌های بیمار به‌صورت پوک شدن دانه و در برخی موارد صورتی شدن خوشه بعلت حضور میسلیوم قارچی بروز نمود.

نتایج تعیین شاخص شدت بیماری قارچ *G. fujikuroi* براساس علائم ایجاد شده در بوته‌های رقم سپیدرود به گونه‌ای بود که تعداد چهار تیمار با DSI=۱، شش تیمار با DSI=۲، شش تیمار با DSI=۳ و هشت تیمار با DSI=٤ مشاهده

شد و این بیانگر این است که تمام جدایه‌های بیمارگر قادر به ایجاد بیماری در تیمارهای رقم سپیدرود مایه‌زنی شده بودند و در نتیجه از نظر شدت بیماری‌زایی، متنوع بودند.

منحنی کالیبراسیون نمونه‌های استاندارد با معادله خط y=51.26x+982.3 و ضریب همبستگی r^2=0.999 به‌دست آمد (شکل ۱). بعد از اعمال فاکتور پیش تغلیظ (Preconcentration factor) حد تشخیص (LOD) و حد تعیین (LOQ) برای اندازه‌گیری کمّی جیبرلیک اسید به‌ترتیب ۰/۰۲ mg/L و ۰/۰۶ mg/L به‌دست آمد. محدوده خطی شدن (Linear range) منحنی کالیبراسیون غلظت ۱۰۰–۰/۰۲ mg/L و محدوده دینامیکی (Dynamic range) غلظت ۱۰۰–۰/۰۶ mg/L بود.

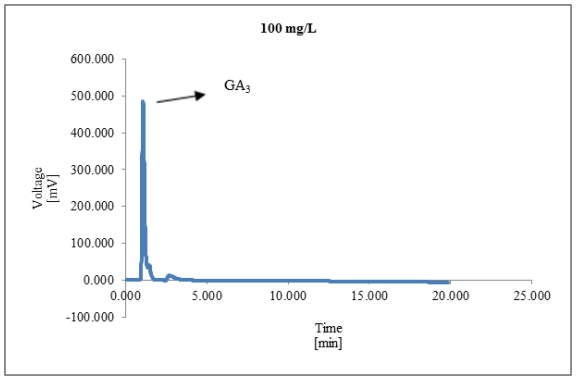


شکل ۱– نمودار منحنی مقادیر استاندارد برای جیبرلیک اسید (mg/L) براساس غلظت و سطح زیر پیک.

Fig. 1. Standard curve of gibberellic acid (mg/L) based on concentration and area below peak.

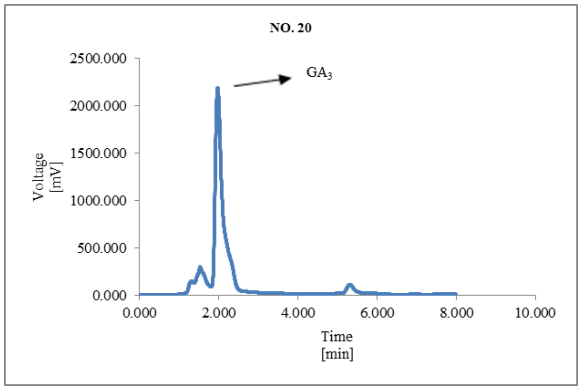
در روش تعیین کمّی غلظت جیبرلیک اسید با استفاده از دستگاه HPLC، آنالیت در شرایط ذکر شده در زمان ۲ دقیقه از ستون خارج شد. نتایج علاوه بر تعیین کمّی مقدار دقیق جیبرلیک اسید تولید شده توسط جدایه‌های بیمارگر، نشان داد که همه جدایه‌های قارچ *G. fujikuroi* قادر به‌تولید جیبرلیک اسید می‌باشند. جدایه‌های بیمارگر در تولید این هورمون توانا بودند هرچند که در کمّیت با یکدیگر متفاوت هستند (شکل ۲،۳،٤).

با توجه به‌نتایج این آزمون مشخص شد که گروه‌بندی خوشه‌ای جدایه‌های قارچ *G. fujikuroi* از نظر مقدار کمّی جیبرلیک اسید تولید شده، با توجه به‌خط برش در فاصله ۰/۷۵، به‌چهار گروه تقسیم شدند. گروه اول دامنه تولید جیبرلیک اسید آن ppm ۲۰۸–۳۵، گروه دوم ppm ۵٦۰–۳۰۱، گروه سوم ppm ۷۷۱–۵۸۷ و گروه چهارم ppm ۹۸۳ بود (شکل ۵).



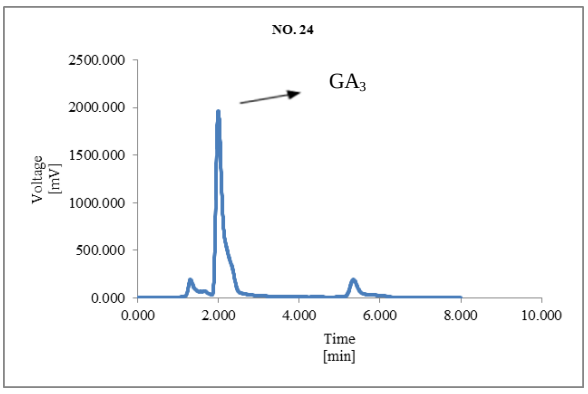
شکل ۲– کروماتوگرام استاندارد جیبرلیک اسید در غلظت ۱۰۰ mg/L.

Fig. 2. Chromatogram of standard gibberellic acid at concentration of 100 mg/L.



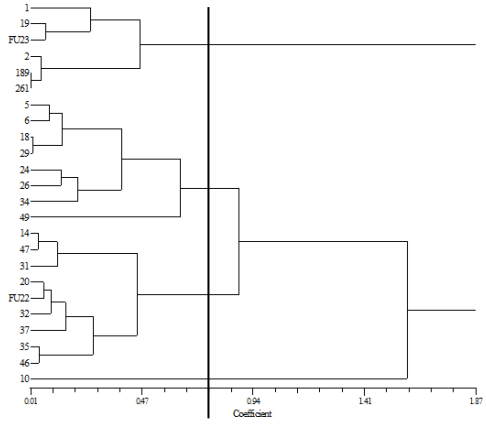
شکل ۳– کروماتوگرام غلظت جیبرلیک اسید در جدایه شماره ۲۰.

Fig. 3. Chromatogram of gibberellic acid concentration in isolate No. 20.



شکل ٤– کروماتوگرام غلظت جیبرلیک اسید در جدایه شماره ۲٤.

Fig. 4. Chromatogram of gibberellic acid concentration in isolate No. 24.



شکل ۵- تجزیهٔ خوشه‌ای تولید کمّی جیبرلیک اسید توسط جدایه‌های قارچ *Gibberella fujikuroi*.

Fig. 5.. Cluster analysis of gibberellic acid amounts produced by *Gibberella fujikuroi* isolates.

آزمون همبستگی بر اساس گروه‌بندی تجزیه خوشه‌ای داده‌های کمّی جیبرلیک اسید با شاخص شدت بیماری قارچ *G. fujikuroi* انجام شد که در این راستا همبستگی معناداری در گروه‌ها مشاهده نشد و در گروه‌های اول و دوم ارتباط ناهمسو بین مقدار کمّی جیبرلیک اسید تولید شده توسط جدایه‌های *G. fujikuroi* و شدت بیماری زایی حاصل ازآنها مشاهده شد.

جدول ۲- ضریب همبستگی بین شاخص شدت بیماری (DSI) چهار گروه جدایه *Gibberella fujikuroi* و مقدار کمّی جیبرلیک اسید.

Table 2. Correlation coefficient between Disease Severity Index (DSI) of four group of *Gibberella fujikuroi* isolates and their gibberellic acid production

index	Group I	Group II	Group III	Group IV
DSI	-0.67164	-0.33768	0.39567	0
	P. 0.2144	*P.* 0.4133	*P.* 3319	*P.* 0

شایان ذکر است که در تعاملات گیاه و بیمارگر، نقش GAها در مقایسه با نقش دیگر هورمون‌های گیاهی کمتر مورد مطالعه قرار گرفته است. سوشهای مختلفی از *G. fujikuroi* برای تولید GAها بررسی شده‌اند، که بین مقدار GA تولید شده و شدت بیماری‌زایی و سوش قارچ همبستگی معناداری وجود داشته است (Desjardins *et al.*, 2000; Studt *et al.*, 2013). اما به‌استناد نتایج به‌دست آمده می‌توان احتمال داد که شدت بیماری‌زایی جدایه‌های قارچ *G. fujikuroi* در مرحله آبستنی و ابتدای مرحله خوشه با مقدار کمّی جیبرلیک اسید سنتز شده توسط جدایه‌ها بعد از تزریق به‌برنج رقم سپیدرود ارتباط معناداری وجود ندارد. در گروه‌های اول و دوم شدت بیماری در تیمارها ناهمسو با میزان جیبرلیک اسید تولید شده در جدایه‌ها بود بدین ترتیب که با افزایش شدت بیماری میزان جیبرلیک اسید کاهش نشان داد. با توجه به‌این‌که علائم ایجاد شده بیماری بر حسب سطح آلودگی قارچی تفاوت می‌کند می‌توان احتمال داد که گسترش بیش از حد بیمارگر در گیاه برنج ناشی از بالا بودن میزان زاد مایه اولیه بوده که گیاهان آلوده را به‌سوی مرگ سوق داده است، بنابراین در چنین شرایطی ممکن است بیماری‌زایی بیمارگر بر تولید جیبرلیک اسید مقدم شده و یا اصلاً این هورمون تولید نشده باشد. در تحقیق مشابه Manka (1980) نیز در مطالعه خود رابطه آشکاری بین تولید GAها و بیماری‌زایی *Fusarium* مشاهده نکرد (Manka, 1980).

نتایج تحقیق حاضر نشان داد که هیچ کدام از تیمارها علائم قدکشیدگی و باریک شدن طول ساقه و افزایش رشد بوته‌ها که از اثرات آشکار جیبرلیک اسید می‌باشد را نشان ندادند و می‌توان احتمال داد که اگر قدرت بیماری‌زایی بیمارگر در حد بالایی باشد، این فاکتور بر تاثیر جیبرلیک اسید غالب گردیده و باعث سرکوبی آن شده و یا مانع از سنتز آن در گیاه می‌شود. قارچ‌ها شمار زیادی از متابولیت‌های ثانویه را تولید می‌کنند که برای زندگی چندان ضروری نیستند، لیکن می‌توانند تحت شرایط طبیعی مانند تعاملات میزبان و قارچ بعنوان یک مزیت محسوب شوند. در مجموع از نتایج این مطالعه می‌توان استنباط کرد که قارچ *G. fujikuroi* عامل بیماری باکانه برنج علاوه بر تولید جیبرلین‌ها، در تولید مایکوتوکسین‌ها نیز توانا می‌باشد که نقش آن‌ها در تعامل قارچ با برنج ناشناخته باقی مانده است. علاوه بر این آنالیز جامع متابولیت‌های ثانویه نشان داده که تولید جیبرلین محدود به این گونه است و یک مزیت انتخابی

در طول آلودگی میزبان ترجیحی گیاه برنج را فراهم می‌کند (Hedden and Thomas, 2016). با توجه به‌نتایج این تحقیق پیشنهاد می‌شود که در تحقیقات تکمیلی میزان جیبرلیک اسید تولید شده در نسج گیاهان مایه‌زنی شده با سوش‌های مختلف بیمارگر با درجات مختلف بیماری‌زایی، جداسازی شده و مورد ارزیابی کمّی قرار گیرد.

سپاسگزاری

این تحقیق با حمایت مؤسسه تحقیقات برنج کشور در رشت انجام شده است، بدین وسیله نگارندگان از همکاری‌های مسئولین محترم آن اداره قدردانی به‌عمل می‌آورند. همچنین از جناب دکتر مجتبی‌سلیمانی استادیار شیمی تجزیه دانشگاه زنجان جهت راهنمایی امور مربوط به‌دستگاه کروماتوگرافی مایع با کارایی بالا نهایت تشکر به‌عمل می‌آید.

References

BHALLA, K., S. B. SINGH and R. AGARWAL. 2010. Quantitative determination of gibberellins by high performance liquid chromatography from various gibberellins production *Fusarium* strains. Environmental Monitoring and Assessment, No. 167: 515-520.

CARROLL, G. C. and P. TUDZYNSKI. 1997. Plant Relationships Part 1, 253 pp. *In*: The Mycota A comprehensive treatise of fungi as experimental systems for basic and applied research. Springer-Verlag Berlin Heidelberg Publication, Vol. 5.

CHANCLUD, E. and J. B. MOREL. 2016. Plant hormones: a fungal point of view. Molecular Plant Pathology, No. 17(8): 1289-1297.

DESJARDINS, A. E., H. K. MANADHAR, R. D. PLATTNER, G. G. MANADHAR, S. M. POLING and C. M. MARAGOS. 2000. *Fusarium* species from Nepalse rice production of mycotoxins and gibberellic acid by selected species. Applied and Environmental Microbiology, No. 66: 1020-1025.

ERGUN, N., F. TOPCUGLU and A. YILDIZ. 2002. Auxin (Indole-3-acetic acid), Gibberellic acid (GA_3), Abscisic acid (ABA) and Cytokinin (Zeatin) production by some species of mosses and lichens. Turkish Journal of Botany, No. 26: 13-18.

FRANKENBERGER, J. R. and M. ARSHAD. 1995. Phytohormones in soils: Microbial production and function. Marcel Dekker, Inc. Publication, All Rights Reserved. 396 pp.

GERLACH, W. and H. I. NIRENBERG. 1982. The Genus Fusarium-a Pictorial atlas. Berlin-Dahlem Publications. 406 pp.

HEDDEN, P. and S. G. THOMAS. 2016. Annual Plant Reviews, The Gibberellins, No. 49. Wiley Blackwell Publication, 451 pp.

LESLIE, J. F. and A. B. SUMMERELL. 2006. The Fusarium Laboratory Manual. Blackwell Publishing, 388 pp.

MANKA, M. 1980. Auxin and gibberellin-like substances synthesis by Fusarium isolates. Acta Microbiologica Polpnica, No. 29: 365-374.

RANGASWAMY, V. 2012. Improved production of Gibberellic acid by *Fusarium moniliforme*. Journal of Microbiology Research, No. 2(3): 51-55.

SAREMI, H. 2004. Fusarium: Biology, Ecology and Taxonomy. Nashr-e-Jahad daneshgahi, Ferdossy Mashhad Publications, 164 pp. (in Persian with English summary).

STUDT, L., F. J. SCHIMDT, L. JAHN, C. M. K, SIEBER, L. R. CONNOLLY, E. M. NIEHAUS, M. FREITAG, H. U. HUMPF and B. TUDZYNSKI. 2013. Two histone deacetylases, FfHda1 and FfHDA2, are important for *Fusarium fujikuroi* secondary metabolism and virulence. Applied Environmental Microbiology, No. 79: 7719-7734.

WIEMANN, P., C. M. K. SIEBER, K. W. BARGEN, L. STUDT, E. M. NIEHAUS, J. J. ESPINO, K. HUSS, C. B. MICHIELS, S. ALBERMANN, D. WANGER, S. V. BERGNER, L. R. CONNOLY, A. FISCHER, G. REUTER, K. KLEIGREWE, T. BALD, B. D.

WINGFIELD, R. OPHIR, S. FREEMAN, M. HIPPLER, K. M. SMITH, D. W. BROWN, R. H. PROCTOR, M. MUNSTERKOTTER, , M. FREITAG, H. U. HUMPF, U. GULENDER and B. TUDZYNSKI. 2013. Deciphering the cryptic genome: genome-wide analyses of the rice pathogen *Fusarium fujikuroi* reveal complex regulation of secondary metabolism and novel metabolites. PLOS Pathogens, No. 9 (6), e1003475.

YANG, D. L., Q. LI, Y. W. DENG, Y. G. LOU, M. Y. WANG, G. X. ZHOU, Y. Y. ZHANG and Z. H. HE. 2008. Altered disease development in the *eui* mutants and *Eui* overexpressors indicates that gibberellins negatively regulate rice basal disease resistance. Molecular plant, No. 1 (3): 528-537.

ZAINUDIN, N. A. I. M., A. A. RAZAK and B. SALLEH. 2008. Bakanae disease of rice in Malaysia and Indonesia: Etiology of the causal agent based on morphological, physiological and pathogenicity characteristics. Journal of Plant Protection Research, No. 48 (4): 475-485.