

مطالعه مقاومت ژنوتیپ‌های برنج (*Oryza sativa L.*) به بیماری بلاست در مرحله گیاهچه و خوشه در مازندران

محمد امانزاده^۱، علی مؤمنی^{۲*}، محمود اخوت^۱، محمد جوان نیکخواه^۱ و وحید خسروی^۳

(تاریخ دریافت: ۱۷/۱۱/۸۴؛ تاریخ پذیرش: ۲۴/۱۱/۸۵)

چکیده

به منظور تعیین وضعیت توسعه *Magnaporthe grisea* (Hebert) Barr. عامل بیماری بلاست برنج، ارزیابی برخی اجزای مقاومت به این بیماری در مرحله گیاهچه و خوشه، و همچنین مطالعه امکان وجود همبستگی بلاست برگ و خوشه، تعدادی ارقام برنج مورد مطالعه قرار گرفتند. ژنوتیپ‌های برنج شامل ۲۳ رقم برنج از ایران، ۵ لاین نزدیک به ایزوژن برای صفت مقاومت به بیماری بلاست و رقم حساس مادری آنها به همراه ۱۱ ژنوتیپ برنج از مؤسسه تحقیقات بین‌المللی برنج، هند و چین بودند. ارقام برنج در آزمایش‌های گلخانه‌ای و در مقابل تعدادی تک جدایه از نژادهای مختلف عامل بیماری و همچنین در خزانه بلاست مزرعه‌ای آن مورد مطالعه قرار گرفتند. صفات مورد مطالعه شامل تعداد گره گردن خوشه آلوده، اندازه طول لکه در بلاست گردن خوشه و درصد سطح آلوده برگ، تیپ آلودگی، تعداد لکه اسپورزا، اندازه لکه در مرحله گیاهچه و خزانه بلاست بودند. نتایج نشان داد که ارقام محلی ایرانی و لاین‌های C104-PKT و Co-39 از لحاظ سطح زیر منحنی توسعه بیماری، تیپ آلودگی در خزانه بلاست برگ و تعداد گره گردن آلوده در گروه حساس قرار گرفتند. در حالی که ارقام اصلاح شده ایرانی و لاین‌های ارسالی از مؤسسه تحقیقات بین‌المللی برنج و لاین‌های نزدیک به ایزوژن، به جز لاین C104-PKT، دارای واکنش نوع مقاوم بودند. در این مطالعه ارقامی مانند فوجی‌مینوری، اوندا و حسن‌سرایی از لحاظ سطح زیر منحنی توسعه بیماری و تیپ آلودگی در خزانه بلاست میزان متوسطی از بیماری را نشان دادند و ارقامی نیمه حساس بودند. نتایج همچنین نشان داد که همبستگی بین اجزای مقاومت مورد مطالعه در مرحله خوشه دهی و برگ در گلخانه و مزرعه در سطح $\alpha=0.01\%$ معنی دار بوده است. در تعدادی از ارقام مانند هراز واکنش آنها به بلاست در مرحله گیاهچه و خوشه دهی متفاوت بود. این نتایج می‌تواند حاکمی از کنترل مقاومت به این بیماری توسط ژن‌های متفاوت در دو مرحله رشدی باشد.

واژه‌های کلیدی: بیماری بلاست، *Magnaporthe grisea*، سطح زیر منحنی توسعه بیماری، برنج، مازندران

مقدمه

کشور جهان کشت می‌گردد و حدود ۹۰٪ برنج دنیا در قاره آسیا

تولید می‌شود (۷). این گیاه زراعی از لحاظ سطح زیر کشت و

برنج یکی از محصولات مهم زراعی است که در بیش از ۱۱۰

۱. به ترتیب دانشجوی سابق کارشناسی ارشد، استاد و استادیار گیاه‌پزشکی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه تهران، کرج

۲. استادیار پژوهش مؤسسه تحقیقات برنج کشور، رشت

۳. مریبی پژوهش مؤسسه تحقیقات برنج کشور، مازندران

*: مسئول مکاتبات، پست الکترونیکی: alimoumeni@yahoo.com

ایزدیار (۱) در آزمایشی با جمع آوری ۲۳ جدایه عامل بیماری بلاست از نقاط مختلف استان گیلان ۱۲ نژاد بیماری‌زای متعلق به گروه‌های نژادی IA و IG را شناسایی نمود. نیکبخت و فاطمی (۸) نیز با مطالعه روی جدایه‌های جمع آوری شده عامل بیماری ۲۴ نژاد فیزیولوژیک متعلق به گروه‌های نژادی IA، ID، IA-81، IC و IE را شناسایی نمودند. بهرامی و فروتن (۳) دو نژاد IC-27 و IC-2، و بهرامی و ایزدیار (۲) سه نژاد IA-66، IA-67 و IC-2 را در مازندران گزارش کردند. جوان‌نیکخواه و همکاران (۴) با مطالعه روی ۲۲۱ جدایه جمع آوری شده از نقاط مختلف استان‌های گیلان و مازندران به کمک تکنیک rep-PCR، شش دودمان کلونی (Clonal lineage) شامل BA, C, D, E, F و RA را شناسایی نمودند. خسروی (۵) نیز با جمع آوری جدایه‌های عامل بیماری دو نژاد ۸۹-IA و ۲۵-IC را از مازندران گزارش کردند، که نژاد ۲۵-IC برای اولین بار از ایران گزارش گردید. با شناسایی نژادهای فیزیولوژیک و رفتار بیماری‌زایی آنها در رابطه با عامل بیماری بلاست، مطالعه روابط عامل بیماری - میزان وارد مرحله تازه‌ای گردیده است، در این بین مطالعه مقاومت میزان و اجزای آن در مبحث اصلاح برنج و جهت حصول مقاومتی بادوام مورد توجه جدی قرار گرفته است.

ویارئال و همکاران (۱۸) با مطالعه اجزای مقاومت نسبی (Partial resistance) روی پنج رقم برنج گزارش نمودند که ارقام مورد بررسی دارای سطوح مختلفی از مقاومت به بلاست بودند. آنها این مقاومت را ناشی از کاهش قابلیت توسعه بیماری، اندازه لکه و قابلیت اسپورزایی بیان کردند. یه و بونمن (۱۹) در تحقیقی روی شش رقم برنج در خزانه بلاست و با هدف مطالعه مقاومت نسبی آنها، اجزای مختلف مقاومت و میزان پیشرفت بیماری را مورد بررسی قرار دادند. آنها گزارش نمودند که راندمان آلوودگی نسبی (Relative Infection Efficiency (RIE)) مهم‌ترین جزء مقاومت نسبی بود که در مرحله رشد سیزینه‌ای با افزایش سن بوته در مرحله برگی تغییر می‌کند و هر چه سن گیاه افزایش می‌یابد، مقاومت به بلاست برگ افزایش می‌یابد، لذا RIE کمتر می‌گردد؛ در مطالعه آنها هم‌چنین اندازه لکه

تأمین کالری در رتبه دوم بعد از گندم قرار دارد. سطح زیر کشت این محصول در ایران بالغ بر ۶۰۰ هزار هکتار بوده، عملکرد متوسط آن $4\frac{4}{5}$ تن شلتونک در هکتار است (۶). تولید برنج همواره با انواع تنش‌های زنده و غیر زنده (Biotic and abiotic stresses) مواجه می‌باشد و یکی از مهم‌ترین این تنش‌ها بیمارگرهای گیاهی می‌باشند (۶). بیماری *Magnaporthe grisea* (Hebert) Barr با فرم غیرجنسی *Pyricularia grisea* (Cooke) Sacc ایجاد می‌شود از مهم‌ترین بیماری‌های قارچی (Fugal diseases) در مناطق گرمسیری و معتدل دنیا و هم‌چنین ایران می‌باشد (۵). این بیماری در اغلب مراحل رشدی برنج از گیاهچه تا تشکیل دانه آن را مورد حمله قرار می‌دهد و علائم مختلفی را ایجاد می‌کند که سبب بلاست برگ، گره و خوش می‌گردد (۱۵). هر چند برآورده قابل اعتمادی از کاهش محصول توسط این بیماری در ایران صورت نگرفته است، ولی سالیانه درصد بالایی از محصول تولیدی برنج کشور به علت کاشت ارقام حساس که عمدتاً از دسته ارقام محلی کیفی و معطر می‌باشند از بین می‌رود (۶). میزان متوسط خسارت سالانه بلاست برنج در سطح جهانی به ۱۱ تا ۳۰ درصد بالغ می‌گردد (۱۳). کاربرد قارچ‌کش‌ها و کاشت ارقام مقاوم از راههای مهم کنترل بیماری بلاست برنج محسوب می‌گردد، ولی با توجه به اثرات نامطلوب قارچ‌کش‌ها روی محیط زیست، کاربرد ارقام مقاوم بیشتر از سایر روش‌ها مورد توجه می‌باشد (۶).

مقاومت ارقام برنج به علت قابلیت زیاد جهش پذیری قارچ عامل بلاست که منجر به تولید نژادهای جدید بیماری‌زا می‌گردد همواره با چالش روبرو می‌باشد، لذا جهت موفقیت در اصلاح و به کارگیری ارقام مقاوم، شناسایی نژادهای فیزیولوژیک اولین بار در سال ۱۹۶۲ صورت پذیرفت (۱۷). تفاوت بین نژادهای فیزیولوژیک عامل بیماری ناشی از تفاوت در بیماری‌زایی آنها بر روی ارقام مختلف برنج است. در ایران فعالیت‌هایی جهت شناسایی نژادهای عامل بیماری بلاست صورت گرفته است.

لاین‌های برنج شامل تعداد ۲۶ رقم، ۶ لاین نزدیک به ایزوژن برای مقاومت به بیماری بلاست، که در مؤسسه تحقیقات بین‌المللی برنج توسعه داده شده‌اند، و ۸ لاین امیدبخش، مجموعاً ۴۰ ژنوتیپ برنج، بوده‌اند که از مؤسسه تحقیقات برنج کشور در مازندران - آمل تهیه گردیدند. تعدادی از ویژگی‌های آنها در جدول ۱ آمده است.

وضعیت توسعه بیماری در خزانه بلاست

ژنوتیپ‌های مورد مطالعه به منظور بررسی واکنش آنها در مقابل جمعیت مزرعه‌ای عامل بیماری در خزانه بلاست و در قالب طرح بلوک کامل تصادفی با سه تکرار ارزیابی گردیدند، هر ژنوتیپ در دو ردیف با طول ۶۰ سانتی‌متر و با فاصلهٔ ردیف‌های ۱۰ سانتی‌متر کشت گردیدند. مخلوطی از ارقام حساس شامل طارم دیلمانی و طارم محلی به عنوان پخش‌کنندهٔ اسپور در دو ردیف و در اطراف خزانه کاشته شدند. قبل از بذرکاری بستر خزانه، کودپاشی به نسبت ۱۲۰ کیلوگرم در هکتار نیتروژن به صورت سولفات آمونیوم، ۳۰ کیلوگرم در هکتار فسفر به صورت سویر فسفات تریپل و ۳۰ کیلوگرم در هکتار K₂O به صورت سولفات دو پتانس انجمام گرفت. برای بالا بردن میزان رطوبت، هر روز در طی ساعات ظهر خزانه آب‌فشنایی صورت گرفت. ارزیابی برای اجزای بیماری در دو خزانه جدا از هم برای بلاست برگ و بلاست گره گردن و براساس روش‌های مورد استفاده توسط مؤمنی و همکاران (۶) انجام گردید.

در خزانه بلاست گردن خوش، ردیف‌های پخش‌کنندهٔ اسپور در خزانه بلاست برگ، ردیف‌های پخش‌کنندهٔ اسپور ۱۰ روز قبل از کاشت ارقام و لاین‌های مورد مطالعه بذرکاری مورد مطالعه، بذرکاری شدند. از آنجا که ظهور خوش برای ارقام و لاین‌های مورد مطالعه هم‌زمان نبود ارزیابی برای صفات تعداد گره گردن آلوه و طول لکه از ۹۰ تا ۱۱۰ روز پس از بذرکاری انجام گردید.

در خزانه بلاست برگ، ردیف‌های پخش‌کنندهٔ اسپور ۱۰ روز قبل از کاشت ارقام و لاین‌های مورد مطالعه بذرکاری گردیدند و یک هفته تا ۱۰ روز بعد گیاهچه‌های برنج

بستر خشک (Lesion size) به عنوان دومین جزء مهم از اجزای مقاومت گزارش گردید و ارقامی با مقاومت پایدارتر از مقاومت نسبی بالاتری برخوردار بودند. لای و همکاران (۱۴) در ارزیابی بیماری روی ۲۰۰ لاین و رقم برنج در کشت‌های آپلندر (آبیاری با باران در بستر خشک) و غرقابی به این نتیجه رسیدند که تعداد ارقامی که واکنش مقاومت از خود نشان داده‌اند، در شرایط غرقابی به مراتب بیش از شرایط آپلندر (بستر خشک) بوده است، هم‌چنین در این رابطه سطح زیر منحنی توسعه بیماری در شرایط آپلندر و غرقابی هم‌بستگی بسیار بالای داشته‌اند. لانگ و همکاران (۱۵) با بررسی هشت رقم برنج با درجهٔ حساسیت متفاوت اظهار داشته‌اند که بلاست برگ در ابتدای فصل و مرحلهٔ رشد رویشی در سطح پایین، در اواسط فصل و مرحلهٔ رشد تمایز خوش، در بالاترین سطح و در انتهای فصل و در مرحلهٔ رشد زایشی به تدریج کاهش یافت که علت را به مقاومت در مرحلهٔ گیاه بالغ دانسته‌اند، آنها این تغییرات را با استفاده از منحنی توسعهٔ بیماری (Disease Progress Curve) به خوبی نشان دادند. مؤمنی و همکاران (۶) با هدف مطالعه درجهٔ مقاومت نسبی ارقام برنج به قارچ عامل بلاست، تعدادی ارقام ایرانی محلی و اصلاح‌شده را برای صفات تیپ آلوه‌گی، اندازهٔ لکه، درصد سطح آلوهه برگ، دورهٔ کمون و قابلیت اسپورزایی مورد ارزیابی قرار دادند. نتایج آنها حاکی از وجود تفاوت معنی‌دار بین ارقام انتخابی برای کلیه صفات مورد مطالعه بود. اهداف این تحقیق شامل (الف) تعیین وضعیت توسعهٔ بیماری بلاست برنج روی ارقام و لاین‌های انتخابی در مقابل جمعیت‌های مزرعه‌ای عامل بیماری در خزانه بلاست؛ (ب) ارزیابی برخی اجزای مقاومت نسبی با استفاده از نزدیکی اختصاصی قارچ عامل بیماری در گلخانه برای بلاست برگ و گردن خوش؛ و (ج) تعیین هم‌بستگی و روابط بین اجزای مختلف مقاومت برای بلاست برگ و خوش در مزرعه و گلخانه بود.

مواد و روش‌ها

مواد گیاهی

مواد گیاهی مورد استفاده در این تحقیق گروه متنوعی از ارقام و

جدول ۱. ارقام و لاین‌های برنج مورد استفاده در بررسی مقاومت در مقابل عامل بیماری بلاست در مازندران
در شرایط گلخانه‌ای و خزانه بلاست

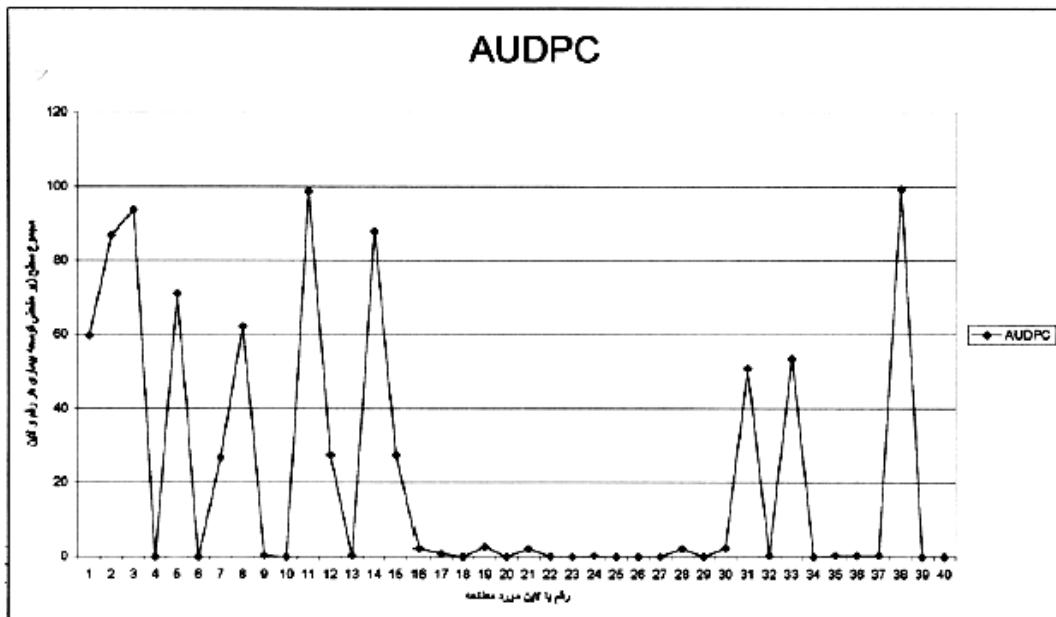
منشأ	نام رقم و لайн	ردیف	منشأ	نام رقم و لайн	ردیف
ایران	آمل ۳	۲۱	ایران	رشتی	۱
IRRI	IR66233-151-1-1-1	۲۲	ایران	طارم محلی	۲
IRRI	شفق	۲۳	ایران	موسی طارم	۳
هند	JJ92(ADT41)	۲۴	ایران	نعمت	۴
IRRI	IR-72	۲۵	ایران	طارم اهلمنی	۵
IRRI	IR66233-643-3	۲۶	IRRI	آمل ۲	۶
IRRI	ساحل	۲۷	ایتالیا	اوندا	۷
ایران	خرز	۲۸	ایران	طارم دیلمانی	۸
ایران و	دشت	۲۹	IRRI	کادوس	۹
ایران	تابش	۳۰	IRRI	IR70422-152-1-1	۱۰
هند	CO-39	۳۱	ایران	چمپا	۱۱
IRRI	C101-LAC	۳۲	ایران	حسن سرائی	۱۲
IRRI	C104-PKT	۳۳	IRRI	هراز	۱۳
IRRI	IR71743-322-1	۳۴	ایران	طارم رمضانعلی	۱۴
IRRI	C101-PKT	۳۵	ژاپن	فوجی مینوری	۱۵
IRRI	C101-A51	۳۶	ایران	ندا	۱۶
IRRI	C105-TTP	۳۷	IRRI	فجر	۱۷
ایران	گرده	۳۸	IRRI	IR70445-5-2-2	۱۸
IRRI	IR65610-382-4-2-6-3	۳۹	ایران	جهش	۱۹
ایران	سنگ طارم	۴۰	چین	سان‌هوان‌ژان ۲-	۲۰

که: جمع کل مشاهدات = k ; زمان مشاهده‌نم (روز) = ti ; سطح برگ آلوهه در مشاهده نام = x_i می‌باشند.

مایه‌زنی برای بلاست برگ در گلخانه بذرهای هر یک از ارقام و لاین‌های مورد مطالعه در جعبه‌های پلاستیکی به ابعاد $10 \times 20 \times 40$ سانتی‌متر در یک ردیف و در هر ردیف با 20 بذر جوانه‌دار شده، در آزمایشی بدون تکرار، کاشته شدند. نزادهای عامل بیماری بلاست شامل IA-81، IA-89، IC-25، IC-29 و IFI برای ارزیابی صفات تیپ آلوهه، درصد سطح برگ بیمارشده، اندازه لکه و تعداد لکه اسپورزا به طور جداگانه در آزمایش‌های مختلف مورد استفاده قرار گرفتند. از این نزادهای طور جداگانه سوسپانسیون اسپورها با

آلوده به بیماری بلاست و جهت بالا بردن میزان آلودگی در ژنوتیپ‌های مورد مطالعه در بین ردیف‌های حاشیه نشا کاری شدند. گیاهان از روز نوزدهم و به فواصل زمانی ۵ روز و تا روز چهل و ششم برای درصد سطح آلوهه برگ، تیپ آلوهه بر اساس معیار ارزیابی استاندارد بین‌المللی (Standard Evaluation system for Rice (SES)) مورد ارزیابی قرار گرفتند و منحنی توسعه بیماری و سطح زیر منحنی توسعه بیماری (Area Under Disease Progress Curve (AUDPC)) براساس فرمول ۱ ارایه شده توسط هوانگ و همکاران (۱۲) محاسبه گردیدند.

$$AUDPC = \sum_{i=1}^K [(X_{i+1} + X_i)/20][t_{i+1} - t_i] \quad [1]$$



شکل ۱. میزان سطح زیر منحنی توسعه بیماری برای ارقام و ژنوتیپ‌های مورد مطالعه برنج در خزانه بلاست، آمل - مازندران ۱۳۸۲

ژنوتیپ‌ها برای صفات تعداد گره گردن آلووده و اندازه لکه آلووده در زمان مناسب مورد ارزیابی قرار گرفتند.

تجزیه‌های آماری

تجزیه‌های آماری کلیه صفات بر اساس مدل آماری طرح بلوک‌های تصادفی و توسط نرم افزار SAS 6.12 (مؤسسه SAS، Cari، NC، ۱۹۹۶) و بعد از انجام تبدیل‌های مناسب شامل تبدیل جذری برای تعداد لکه و زاویه‌ای برای درصد سطح برگ آلووده صورت گرفت. رسم نمودارها در برنامه Excel ۹۷ انجام گردید (۶).

نتایج آزمایش‌های مزرعه‌ای

در آزمایش خزانه بلاست برگ، سطح زیر منحنی توسعه بیماری برای ژنوتیپ‌های مختلف برنج مورد استفاده بررسی گردید (شکل ۱). همان‌گونه که در شکل ۱ ملاحظه می‌گردد ارقام نعمت، آمل ۲، سان‌هوان‌زان ۲، شفق، دشت، سنگ‌طارم، ساحل و لاین‌های IR70445-5-2-2، IR0422 -152-1-1 با AUDPC حدود ۱۰۵ عدد در میلی لیتر تهیه گردید و به حجم ۷۵ تا ۸۵ میلی لیتر بر روی ارقام و لاین‌های مورد مطالعه با استفاده از مه‌پاش مایه‌زنی شدند. گیاهان مایه‌زنی شده در اتاقک‌های پلاستیکی در دمای ۲۲-۲۸ درجه سانتی‌گراد و رطوبت نسبی بالای ۹۵ درصد به مدت ۷ تا ۱۰ روز نگهداری شدند و سپس برای صفات مورد مطالعه، ارزیابی گردیدند.

غاظت حدود 10^5 عدد در میلی لیتر تهیه گردید و به حجم ۷۵ تا ۸۵ میلی لیتر بر روی ارقام و لاین‌های مورد مطالعه با استفاده از مه‌پاش مایه‌زنی شدند. گیاهان مایه‌زنی شده در اتاقک‌های پلاستیکی در دمای ۲۲-۲۸ درجه سانتی‌گراد و رطوبت نسبی بالای ۹۵ درصد به مدت ۷ تا ۱۰ روز نگهداری شدند و سپس برای صفات مورد مطالعه، ارزیابی گردیدند.

مایه‌زنی گره گردن خوشه در گلخانه

گیاهچه‌های ژنوتیپ‌های مورد مطالعه در مرحله ۳ تا ۴ برگی به سطلهای پلاستیکی بزرگ و به تعداد ۶ تا ۷ بوته منتقل شدند. ژنوتیپ‌ها در قالب طرح بلوک کامل تصادفی با سه تکرار مورد مطالعه قرار گرفتند. از نژاد IA-89 عامل بیماری بلاست سوسپانسیون با غاظت حدود 10^3 اسپور در میلی لیتر تهیه گردید و در مرحله‌ای که حدود ۷۰٪ از هر خوشه از غلاف مربوط خارج شدند عمل مایه‌زنی روی گره گردن خوشه که توسط فویل آلومینیومی احاطه شده بودند، صورت پذیرفت. بوته‌های مایه‌زنی شده در فضای گلخانه با دمای ۲۴-۳۱ درجه سانتی‌گراد و رطوبت نسبی بیش از ۹۵ درصد نگهداری شدند.

جدول ۲. تجزیه واریانس اجزای مقاومت به بیماری بلاست در مرحله گیاهچه و خوشه در خزانه بلاست و گلخانه

منابع تغییرات	درجه آزادی	میانگین مربعات صفات	خزانه بلاست	گلخانه		
			سطح زیر منحنی توسعه بیماری (AUDPC)	تعداد گره گردن خوشه آلوده	اندازه لکه	تعداد گره گردن
تکرار	۲		۰/۰۰۴	۰/۰۳	۰/۰۰۲	۰/۳۲
ژنوتیپ	۳۹		۳۵/۸۸**	۸/۶۶**	۱/۱۰**	۱۶/۶۴**
خطا	۷۸		۰/۰۰۱۶	۰/۰۶	۰/۰۰۵	۰/۴۶
CV			۱۱/۹۶	۲/۸۹	۳/۶۰	۵/۵۵

آزمایش‌های گلخانه‌ای

نتایج به دست آمده از ارزیابی واکنش ارقام و لاین‌های مورد مطالعه برنج در مقابل نژادهای بیماری شامل IA-81، IA-29، IC-25، IC-89 و IF-1 حاکی است که واکنش‌های هر رقم و لاین در مقابل نژادهای مختلف مشابه بوده است، با توجه به این‌که ژنوتیپ‌ها در یک تکرار مورد مطالعه قرار گرفتند، تجزیه و تحلیل‌های آماری میسر نگردید ولی از آنجا که به تعداد حدود ۳۰ بوته از هر ژنوتیپ در مقابل هر نژاد عامل بیماری مورد ارزیابی قرار گرفتند مطالعه روابط بین اجزای مختلف از طریق تجزیه و تحلیل همبستگی‌ها صورت گرفت. مطالعه همبستگی‌های بین اجزای مختلف مقاومت در گلخانه شامل تیپ آلودگی، تعداد لکه اسپورزا، اندازه لکه و درصد سطح برگ آلوده شده با سطح زیر منحنی توسعه بیماری بلاست در خزانه نشان داد که همبستگی معنی‌داری بین دو شرایط آزمایشی جهت اجزای مقاومت وجود داشته است (جدول ۴). این نتایج حاکی از آن می‌تواند باشد که کترول ژنتیکی مقاومت در دو مرحله گیاهچه‌ای و زایشی، خوشه، برای اغلب ارقام مورد مطالعه یکسان باشد، هم‌چنین با توجه به نوع واکنش‌های مشاهده شده که اغلب یا کاملاً مقاوم و یا حساس بودند و میزان تنوع برای اجزای کترول کننده مقاومت در ژنوتیپ‌های مورد بررسی در مقابل نژادهای مورد استفاده چندان نبوده است ممکن است اثر تعدادی از ژن‌ها که مقاومت را به طور جداگانه در مراحل رویشی و زایشی کنترل کنند توسط ژن‌های مقاومت

IR71743-32-2-1 و IR65610-38-2-4-2-6-3 دارای کمترین میزان سطح زیر منحنی توسعه بیماری بوده‌اند، به‌طوری‌که هیچ‌گونه لکه تیپیک بلاست در طی ارزیابی‌های متوالی روی این ارقام و لاین‌ها مشاهده نگردید ولی ارقام طارم محلی، موسی طارم، چمپا، رمضانعلی طارم و گرده دارای بالاترین میزان سطح زیر منحنی توسعه بیماری و در نتیجه بیشترین میزان بیماری بودند. ارقام آمل ۲، نعمت، سنگ طارم و ساحل به شدت نقاط نکروزه ته سنجاقی (واکنش فوق حساسیت) بروز دادند.

در آزمایش خزانه بلاست برای بلاست گردن خوشه، ارقام و لاین‌های مورد مطالعه از لحاظ تعداد گردن آلوده و اندازه لکه دارای واکنش متفاوت و معنی‌داری بوده‌اند (جدول ۲). ارقام طارم دیلمانی، حسن‌سرایی، سنگ طارم، طارم اهلیمی، رشتی، رمضانعلی طارم، موسی طارم، چمپا، گرده، CO-39، C104-PKT و تابش آلودگی برای بلاست گردن خوشه را نشان دادند. در بین ارقام یادشده اختلاف معنی‌داری از لحاظ تعداد گردن خوشه آلوده و اندازه لکه وجود داشت در صورتی که گردن خوشه در بقیه ارقام و لاین‌ها در مزرعه آلوده نگردید (جدول ۳). در این میان وجود آلودگی گره گردن خوشه در رقم سنگ طارم و عدم وجود هرگونه علایم بلاست در مرحله برگی جالب توجه بود و فقط در این حالت نقاط نکروزه ته سنجاقی، فوق حساسیت، مشاهده گردید.

جدول ۳. مقایسه میانگین اجزای مقاومت به بیماری بلاست در مرحله گیاهچه و خوش در خزانه بلاست

ردیف	ژنوتیپ	سطح زیر منحنی توسعه بیماری(AUDPC)	تعداد گره گردن خوش آلوده	اندازه لکه گردن خوش آلوده
۱	رشتی	۵۹/۸۰ ^f	۸/۰۹ ^{ab}	۲/۹۷ ^a
۲	طارم محلی	۸۶/۹۰ ^c	۶/۱۶ ^{cd}	۰/۸۲ ^{de}
۳	موسی طارم	۹۳/۷۶ ^b	۷/۰۰ ^{bc}	۰/۹۵ ^{cd}
۴	نعمت	۰/۰۰ ^p	۰/۰۰ ^j	۰/۰۰ ^g
۵	طارم اهلی	۷۱/۱۳ ^d	۸/۳۳ ^{ab}	۱/۰۳ ^c
۶	آمل	۰/۰۰ ^p	۰/۰۰ ^j	۰/۰۰ ^g
۷	اوندا	۲۶/۷۶ ⁱ	۰/۰۰ ^j	۰/۰۰ ^g
۸	طارم دیلمانی	۶۲/۳۳ ^c	۹/۶۶ ^a	۰/۹۵ ^{cd}
۹	کادوس	۰/۴۰ ^o	۰/۰۰ ^j	۰/۰۰ ^g
۱۰	IR70422-152-1-1	۰/۰۰ ^p	۰/۰۰ ^j	۱/۳۸ ^b
۱۱	چمپا	۹۸/۸۶ ^a	۵/۶۶ ^{de}	۰/۷۱ ^e
۱۲	حسن سرائی	۲۷/۵۳ ⁱ	۵/۶۶ ^{de}	۰/۰۰ ^g
۱۳	هراز	۰/۴۰ ^o	۰/۰۰ ^j	۰/۰۰ ^g
۱۴	طارم رمضانعلی	۸۸/۰۳ ^c	۸/۱۶ ^{ab}	۰/۵۰ ^f
۱۵	فوچی مینوری	۲۷/۴۳ ⁱ	۰/۰۰ ^j	۰/۰۰ ^g
۱۶	ندا	۲/۷۳ ^l	۰/۰۰ ^j	۰/۰۰ ^g
۱۷	فجر	۰/۹۰ ⁿ	۰/۰۰ ^j	۰/۰۰ ^g
۱۸	IR70445-5-2-2	۰/۰۰ ^p	۰/۰۰ ^j	۰/۰۰ ^g
۱۹	جهش	۲/۸۳ ^k	۰/۰۰ ^j	۰/۰۰ ^g
۲۰	سانهوان زان-۲	۰/۰۰ ^p	۰/۰۰ ^j	۰/۰۰ ^g
۲۱	آمل	۲/۲۰ ^m	۰/۰۰ ^j	۰/۰۰ ^g
۲۲	IR66233-15-1-1-1	۰/۱۰ ^o	۰/۰۰ ^j	۰/۰۰ ^g
۲۳	شفق	۰/۰۰ ^p	۰/۰۰ ^j	۰/۰۰ ^g
۲۴	JJ92(ADT41)	۰/۳۷ ^o	۰/۰۰ ^j	۰/۰۰ ^g
۲۵	IR-72	۰/۰۰ ^p	۰/۰۰ ^j	۰/۰۰ ^g
۲۶	IR66233-643-3	۰/۰۰ ^p	۰/۰۰ ^j	۰/۰۰ ^g
۲۷	ساحل	۰/۰۰ ^p	۰/۰۰ ^j	۰/۰۰ ^g
۲۸	خرز	۲/۲۰ ^m	۰/۰۰ ^j	۰/۰۰ ^g
۲۹	دشت	۰/۰۰ ^p	۰/۰۰ ^j	۰/۰۰ ^g
۳۰	تابش	۲/۴۰ ^l	۱/۶۶ ⁱ	۰/۱۳ ^f
۳۱	CO-39	۵۰/۹۰ ^h	۳/۰۰ ^{gh}	۰/۶۶ ^e
۳۲	C101-LAC	۰/۴۷ ^o	۰/۰۰ ^j	۰/۰۰ ^g
۳۳	C104-PKT	۵۳/۵۳ ^g	۲/۳۳ ^h	۰/۷۵ ^e
۳۴	IR71743-322-1	۰/۰۰ ^p	۰/۰۰ ^j	۰/۰۰ ^g
۳۵	C101-PKT	۰/۴۰ ^o	۰/۰۰ ^j	۰/۰۰ ^g
۳۶	C101-A51	۰/۴۰ ^o	۰/۰۰ ^j	۰/۰۰ ^g
۳۷	C105-TTP	۰/۴۰ ^o	۰/۰۰ ^j	۰/۰۰ ^g
۳۸	گردد	۹۹/۴۰ ^a	۴/۶۶ ^{ef}	۰/۷۵ ^e
۳۹	IR65610-382-4-2-6-3	۰/۰۰ ^p	۰/۰۰ ^j	۰/۰۰ ^g
۴۰	سگ طارم	۰/۰۰ ^p	۲/۶۶ ^{fg}	۱/۴۰ ^b

- حروف مشترک عدم معنی داری و حروف غیر مشترک تفاوت‌های معنی دار را نشان می‌دهد (روش دانکن).

- داده‌های جدول میانگین مقادیر واقعی تبدیل نشده می‌باشند.

جدول ۴. آزمون همبستگی اجرای مختلف مقاومت به بیماری بالاست برخ در مقابل نزادهای مختلف عامل بیماری در گلخانه و جمعیت مزدھای آن در دو مرحله گیاهچهای (برگ) و خوشه

عنوان	IT1	LN1	DLA1	SRD1	IT2	LN2	DLA2	SRD2	IT3	LN3	DLA3	SRD3	IT4	LN4	DLA4	SRD4	IT5	LN5	DLA5	SRD5	AUDPC	INN1	NLS	INN2		
IT1	۱/۰۰																									
LN1	/A**	۱/۰۰																								
DLA1	/A**	/A**	۱/۰۰																							
SRD1	/A**	/A**	/A**	۱/۰۰																						
IT2	/A**	/A**	/A**	/A**	۱/۰۰																					
LN2	/A**	/A**	/A**	/A**	/A**	۱/۰۰																				
DLA2	/A**	/A**	/A**	/A**	/A**	/A**	۱/۰۰																			
SRD2	/A**	۱/۰۰																								
IT3	/A**	۱/۰۰																								
LN3	/A**	۱/۰۰																								
DLA3	/A**	۱/۰۰																								
SRD3	/A**	۱/۰۰																								
IT4	/A**	۱/۰۰																								
LN4	/A**	۱/۰۰																								
DLA4	/A**	۱/۰۰																								
SRD4	/A**	۱/۰۰																								
IT5	/A**	۱/۰۰																								
LN5	/A**	۱/۰۰																								
DLA5	/A**	۱/۰۰																								
SRD5	/A**	۱/۰۰																								
AUDPC	/A**	/A**	/A**	/A**	/A**	/A**																				
INN1	/A**	/A**	/A**	/A**	/A**	/A**																				
NLS	/A**	/A**	/A**	/A**	/A**	/A**																				
INN2	/A**	/A**	/A**	/A**	/A**	/A**																				

IT: تیپ آلوگی ، LN: تعداد لکه اسپردا ، DLA: درصد آلوگی سطح برگ (٪) ، SRD: قطر ناحیه اسپردا ، ۱: نژاد ۲۹، ۲: نژاد ۸۱، ۳: نژاد ۲۵، ۴: نژاد ۸۹، ۵: نژاد ۸۹، IF-۱: تعداد گره خوشه آلوه در آزمایش خزانه بالاست خوشه . معنی دار در سطح احتمال ۰/۵٪، * معنی دار در سطح احتمال ۰/۰۵٪ و ns غیرمعنی دار

AUDPC: سطح زیر منحنی توسعه بیماری در خزانه بالاست برگ ، INN1: تعداد گردن آلوه در آزمایش گلخانه ای ، NLS: اندازه طول لکه گره خوشه در آزمایش خزانه بالاست خوشه . معنی دار در سطح احتمال ۰/۰۵٪، * معنی دار در سطح احتمال ۰/۰۰۵٪ و ns غیرمعنی دار

مورد استفاده عامل بیماری باشد. در آزمایش گلخانه‌ای برای بلاست برگ، واکنش سازگار و حساسیت تمام نژادهای بلاست مورد استفاده روی ارقام محلی، که بعضًا ارقامی با کیفیت پخت بالا هستند، مشاهده گردید. با توجه به واکنش این نژادها در مقابل مجموعه ارقام افتراقی استاندارد بین‌المللی، این موضوع را تأیید می‌کند که زمینه ژنتیکی ارقام محلی برای مقاومت به این بیماری شاید تا اندازه‌ای باریک (Narrow genetic background) بوده و با توجه به طبیعت واکنش این ارقام احتمالاً دارای ژن‌های مقاومت $Pi-K$ و $Pi-K^t$ می‌باشند (جوان نیکخواه و همکاران، ۴)، ضمناً نوع واکنش رقم C104-PKT در مقابل جدایه IA-81 هم حاکی از این می‌تواند باشد که این نژاد با ژن $Pi-3(t)$ سازگار است (جوان نیکخواه و همکاران، ۴)، لذا مقاومت هر یک از ارقام محلی در مقابل این نژاد ممکن است به سبب وجود ژن یاد شده در ارقام محلی مقاوم باشد که باید در برنامه‌های اصلاحی آینده وجود این ژن اثبات گردد تا در صورت لزوم در برنامه هرمی کردن ژن‌ها مورد استفاده قرار گیرد. هم‌چنین واکنش فوق حساسیت ارقام نعمت، هراز، آمل، سنگ‌طارم، ساحل و برخی از لاین‌های ایزوژنیک در مقابل جمعیت جدایه‌های مزرعه‌ای و نژادهای مورد استفاده در گلخانه می‌تواند دلالت بر وجود ژن‌های اصلی (major genes) مقاومت در این ارقام داشته باشد (۶)، البته اصلاح بر پایه ژن یا ژن‌های اصلی برای مقاومت به بلاست با توجه به تغییرپذیری بالای قارچ عامل بیماری می‌تواند باعث شکسته شدن سریع مقاومت در طی مدت زمان کوتاهی گردد که با تغییر نژادهای عامل بیماری و یا تغییر ژن‌های مقاومت اصلی در اثر جهش حادث گردد (۶). بروز بیماری در لاین C104-PKT در خزانه بلاست برگ و خوشه می‌تواند نشان‌دهنده این موضوع باشد که نژادهای غالب منطقه قادر به ایجاد واکنش سازگار با ارقام حامل ژن $Pi-3(t)$ باشد.

در این تحقیق مقاومت رقم سنگ‌طارم به بلاست برگ در خزانه و گلخانه و حساسیت به بلاست گرۀ گردن خوشه در خزانه و گلخانه نشان داد که مقاومت به بلاست گرۀ گردن

اصلی دیگر پوشیده (Mask) شده باشند. در مطالعه گلخانه‌ای و خزانه بلاست ارقام رشتی، طارم محلی، موسی طارم، طارم اهلی، طارم دیلمانی، چمپا، حسن سرایی، طارم رمضانعلی و گرده از لحاظ تیپ آلودگی در گروه حساس، نمره ۴ یا بالاتر بر اساس مقیاس مک‌گیل و بونمن (۱۶)، و سایر ارقام و لاین‌های CO-39 و C104-PKT در این رابطه کاملاً متفاوت بود. نتایج آزمایش گلخانه‌ای برای واکنش ارقام و لاین‌ها از لحاظ تعداد گردن خوشه آلوده شده در مقابل نژاد IA-89 در مرحله خوشه نشان داد که هم‌بستگی معنی‌داری با نتایج حاصل در خزانه بلاست برگ وجود داشت (جدول ۴). تنها استثنا واکنش مثبت رقم هراز به این نژاد در شرایط گلخانه‌ای بود. در ارزیابی برای بلاست گردن خوشه زمان ظهور لکه روی گردن خوشه ارقام حساس ۷ تا ۸ روز پس از مایه‌زنی و زمان اسپوردهی ۱۰ تا ۱۲ روز پس از مایه‌زنی بوده است و واکنش رقم هراز در این خصوص مستثنا بود که در آن لکه بلاست ۱۴ روز پس از تلقیح در روی گرۀ گردن خوشه ظاهر شد ولی از این لکه‌ها در شرایط گلخانه‌ای اسپوری تولید نگردیده است.

بحث

تحقیق حاضر اطلاعات مفیدی را در مورد چگونگی واکنش تعدادی از ارقام و لاین‌های برنج مورد مطالعه در مقابل عامل بیماری بلاست در شرایط گلخانه‌ای در مقابل نژادهای عامل بیماری و هم‌چنین جمعیت مزرعه‌ای آن در مرحله گیاهچه برای بلاست برگ و هم‌چنین بلاست خوشه روشن نمود، بهویژه در مورد ارقامی که در سطح وسیع در منطقه کشت و کار می‌گردند و هم‌چنین لاین‌هایی که در برنامه‌های اصلاحی مورد استفاده قرار می‌گیرند. مطالعات جوان نیکخواه و همکاران (۴)، یه و بونمن (۱۹)، هوانگ و همکاران (۱۲) و مؤمنی و همکاران (۶) نتایج این تحقیق را تأیید می‌کنند و اختلافات مشاهده شده در این تحقیق می‌تواند به علت وجود تفاوت در شرایط آزمایش و نژادهای

مزروعه می‌تواند حاکی از کترل ژنتیکی یکسان برای مقاومت به بلاست برگ و گردن خوش در اغلب ارقام به جز موارد استثنای ذکر شده باشد (۶) و در مواردی که واکنش‌ها در مقابل عامل بیماری بلاست در مرحله برگ و خوش متفاوت بوده است حاکی از کترل ژنتیکی متفاوت مقاومت در دو مرحله رشدی یادشده بوده و در برنامه اصلاحی این ارقام بایستی این موضوع مورد لحاظ قرار گیرد.

سپاسگزاری

از مؤسسه تحقیقات برنج کشور به ویژه معاونت محترم مؤسسه در مازندران - آمل به جهت فراهم نمودن امکانات لازم برای اجرای تمامی مراحل آزمایش و تأمین هزینه‌های آن، هم‌چنین از راهنمایی‌های ارزشمند محققین محترم آن مؤسسه در پیشبرد این تحقیق کمال تشکر می‌گردد. محل انجام همه آزمایش‌ها در مؤسسه تحقیقات برنج در مازندران - آمل و ایستگاه تحقیقات برنج چپرسر بوده است.

خوبه ممکن است در بعضی ژنوتیپ‌های برنج با مقاومت به بلاست برگ متفاوت باشد و یا این‌که ممکن است گیاه در مراحل مختلف رشد از نظر حساسیت و یا مقاومت حالات مختلفی را نشان دهد که این امر می‌تواند حاکی از کترل مقاومت در مرحله گیاهچه‌ای و خوش توسط ژن(های) متفاوت باشد، این حالت نیز در رقم هراز مشاهده گردید با این تفاوت که آلدگی گره‌گردن خوش در خزانه در بلاست مشاهده نگردید، تحقیقات هوانگ و همکاران (۱۲)، آساگا و یوشیمورو (۹) و چانگ و کوه (۱۰) نتایج فوق را تأیید می‌کنند.

واکنش سازگار رقم هراز در گلخانه به نژاد IA-89 از لحاظ آلدگی گره‌گردن خوش و عدم آلدگی این رقم در ارزیابی خزانه بلاست گره‌گردن خوش، نشان‌دهنده این موضوع است که فراوانی نژاد IA-89 در جمعیت مزرعه‌ای قارچ عامل بلاست برنج بسیار ناچیز بوده و یا این‌که وجود نداشته است. حساسیت بالای ارقام چمپا و گرده می‌تواند یکی از دلایل محدود شدن سطح زیر کشت این ارقام در منطقه مازندران باشد، نتایج آزمایش‌های گلخانه‌ای نیز تأیید‌کننده این امر است.

وجود همبستگی بین صفات مورد بررسی در گلخانه و

منابع مورد استفاده

- ایزدیار، م. ۱۳۶۱. معرفی تعدادی از نژادهای فیزیولوژیک قارچ بلاست برنج، بیماری‌های گیاهی (۱-۴): ۵۲-۵۸.
- بهرامی، م. و م. ایزدیار. ۱۳۷۷. معرفی نژادهای فیزیولوژیک جدید *Pyricularia oryzae* عامل بیماری بلاست برنج در مازندران خلاصه مقالات سیزدهمین کنگره گیاه‌پزشکی ایران، کرج.
- بهرامی، م. و ع. فروتن. ۱۳۷۲. شناسایی نژادهای فیزیولوژیک قارچ عامل بیماری بلاست برنج در مازندران خلاصه مقالات یازدهمین کنگره گیاه‌پزشکی ایران، رشت.
- جوان‌نیک‌خواه، م. ح. حجارود و ج. زاد. ۱۳۸۰. تحقیق روی تنوع ژنتیکی جمعیت قارچ *Magnaporthe grisea* (Hebert) Barr. عامل بیماری بلاست برنج، با استفاده از خصوصیات مولکولی، بیماری‌زایی و سازگاری رویشی در استان گیلان. پایان‌نامه دکتری رشته بیماری‌شناسی گیاهی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه تهران.
- خسروی، و. ۱۳۸۰. شناسایی نژادهای جدید عامل بیماری بلاست برنج در مازندران. گزارش پژوهشی سالیانه، انتشارات معاونت مؤسسه تحقیقات برنج، مازندران.
- مؤمنی، ع. ب. یزدی صمدی و ه. لثونگ. ۱۳۸۲. مطالعه و ارزیابی مقاومت نسبی به بیماری بلاست در ارقام مختلف برنج. مجله علوم کشاورزی ایران ۴۸۳-۴۹۳: (۲)(۳۴).

۷. نعیمی، ش. ۱۳۸۱. اتیولوژی بیماری پوسیدگی غلاف برنج در استان‌های مازندران و گیلان. پایان‌نامه کارشناسی ارشد بیماری‌شناسی گیاهی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه تهران.
۸. نیک‌بخت، م. و ج. فاطمی. ۱۳۷۲. وقوع نژادهای فیزیولوژیکی *Pyricularia oryzea* در جنوب در سال‌های ۱۳۶۷-۶۹. خلاصه مقالات یازدهمین کنگره گیاه‌پزشکی ایران، رشت.
9. Asaga, K. and S. Yoshimure. 1970. Field resistance of sister line crosses to leaf and panicle blast. (Abstr.) Proc. Kanto- Tosan Plant Prot. Soc. 17:7.
10. Chung , H. S. and Y. I. Koh. 1981. Epidemiological studies on slow blasting of rice cultivars to leaf blast in paddy field. ORD, AIC 81-23 , off. Rural Dev. Suwan , Korea.
11. Ford,T.L., J.T. Cooley and P. Chrstu. 1994.Current status for gene transfer into for utilizing variety-independent delivery system. PP: 195 -208. In: Zeigler, R.S., S.A. Leong and P.S. Teng, (Ed.), Rice Blast Disease, CAB International, IRRI.
12. Hwang,B.K., Y.J. Koh and H.S. Chung. 1987. Effects of adult-Plant resistanc on blast Severity and yield of rice. Plant Dis.71:1035-1038.
13. International rice blast project statement of Intent. NCSU.<http://www.cals.ncsu.edu/fungal-genomics/int-rice.html>.
14. Lai,H.X., M.A. Marchetti and H.D. Peterson. 1999. Comperative slow blasting in rice grown under upland and flooded blast nursery culture. Plant Dis.83:681-684.
15. Long ,D.H., F.N. Lee and D.O. TeBeest. 2000. Effect of nitrogen fertilization on disease progress of rice blast on susceptible and resistance cultivars. Plant Dis. 84:403-409.
16. Mackill, D.J. and J.M. Bonman. 1992. Inheritance of blast resistance in near-isogenic lines of rice. Phytopathol. 82:746-749.
17. Ou,S.H. 1985. Rice Disease. 2nd edition, CAB Pub., London
18. Villareal,R.L., D.R. Mackenzie, R.R., Nelson and W.R Coffman. 1981. Some Components of slow-blasting resistance in Rice. Phytopathol.71:608-611
19. Yeh,W.H.and J.M. Bonman. 1986. Assessment of partial resistance to *pyricularia oryzea* in six rice cultivars. Plant Pathol. 35:319-323.