بررسی مقاومت نسبی برخی از ژنوتیپ‌های برنج ایرانی در برابر نژادهای مختلف بیماری بلاست (*Pyricularia grisea Sacc.*) در مرحله گیاهچه‌ای

فاطمه عابدی[1*]، نادعلی بابائیان[2]، علی مؤمنی[3]، قربانعلی نعمت‌زاده[2]

۱- دانشجوی کارشناسی ارشد بیوتکنولوژی، دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی ساری

۲- استاد دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی ساری

۳- استادیار پژوهش مؤسسه تحقیقات برنج کشور- معاونت مازندران (آمل)

*sama6365@gmail.com

چکیده

به‌منظور مطالعه وضعیت ژن‌های شناخته شده مقاومت به بیماری بلاست و درجه مقاومت نسبی ارقام برنج نسبت به قارچ *Pyricularia grisea Sacc.* عامل بیماری بلاست برنج و تعیین منحنی پیشرفت بیماری، تعداد ۵۸ ژنوتیپ شامل ارقام محلی و لاین امیدبخش مورد ارزیابی فنوتیپی و مولکولی قرار گرفتند. در بررسی فنوتیپی که در شرایط خزانه و گلخانه صورت گرفت، ژنوتیپ‌ها برای ارزیابی در مقابل نژادهای محلی بلاست در خزانه در بستر خشک در قالب طرح بلوک‌های کامل تصادفی با دو تکرار کشت شدند. همچنین کلیه ژنوتیپ‌ها برای بررسی وضعیت مقاومت در برابر دو نژاد IA-82 و IA-90 در گلخانه در قالب طرح کاملاً تصادفی با دو تکرار کشت و برای صفات درصد سطح آلوده برگ و تیپ آلودگی (در خزانه و گلخانه) و اندازه‌ی لکه و تعداد لکه (در گلخانه) مورد ارزیابی قرار گرفتند. در نتایج حاصل از خزانه بلاست رقم IR24 و لاین‌های F_{125} و F_{120-2} کمترین شدت بیماری (IT= ۱-۳) و سطح زیر منحنی توسعه بیماری (AUDPC= ۲۰-۳۰) را نشان دادند. ارقام و لاین‌هایی نظیر دم‌سیاه، حسنی، F_{35-1} و F_{63-3} بیشترین شدت بیماری (IT=۳-۵) و سطح زیرمنحنی توسعه بیماری (AUDPC= ۵۰-۶۰) را دارا بودند. نتایج حاصل از ارزیابی گلخانه‌ای، نشان داد که واکنش ژنوتیپ‌ها در مقابل دو نژاد عامل بلاست متفاوت بوده است. به‌طورکلی، ژنوتیپ‌ها در سه دسته مقاوم، متحمل و حساس دسته‌بندی گردیدند که برای حصول مقاومت پایدار، ارقام با مقاومت متحمل توصیه می‌گردد.

کلمات کلیدی: بیماری بلاست، اجزای مقاومت، سطح زیر منحنی توسعه بیماری، برنج

مقدمه

برنج دومین غله مهم دنیا است و از لحاظ سطح زیرکشت بعد از گندم رتبه دوم ولی از لحاظ تولید در مرتبه اول در میان گیاهان زراعی می‌باشد. تقریباً تمامی برنج تولید شده به‌مصرف غذایی انسان می‌رسد و غذای اصلی بیش از یک سوم مردم جهان محسوب می‌شود و همچنین بیش از ۹۰٪ برنج دنیا در آسیا تولید و مصرف می‌گردد (ارزانی، ۱۳۸۰). با توجه به اهمیت این محصول زراعی، بیماری‌های آن نیز از اهمیت ویژه‌ای برخوردار می‌باشد. تولید برنج همواره با تنش‌های مختلف زنده و غیرزنده همراه می‌باشد که در این میان بیماری بلاست از مهم‌ترین عامل ایجاد خسارت در تولید برنج در مناطق معتدل و مرطوب دنیا از جمله ایران می‌باشد. بیماری بلاست که توسط قارچ بیماری‌زای *Magnaporthe grisea* (Hebert) Barr با فرم غیرجنسی *Pyricularia grisea* (Cook) Sacc ایجاد می‌شود، یکی از مخرب‌ترین بیماری‌های برنج در سراسر جهان است که در تمام مراحل رشد رویشی گیاه ظاهر شده و عملکرد و کیفیت دانه را به‌شدت کاهش می‌دهد (ویلارئال و همکاران، ۱۹۸۱). بر اساس بخشی از گیاه که تحت‌تأثیر قرار می‌گیرد این بیماری به نام‌های بلاست برگ، گردن خوشه و بلاست خوشه نامیده می‌شود (اخوت، ۱۳۷۸). علاوه بر مقاومت نژاد- اختصاصی که توسط ژن‌های اصلی ایجاد می‌شود، مقاومت عمومی که به تولید تعداد کم لکه و یا لکه‌های کوچک‌تر می‌انجامد به عنوان عاملی جهت ایجاد مقاومت با دوام بیشتر شناسایی شده است (ارزانی،۱۳۸۰). استفاده از قارچ‌کش‌ها و به‌کارگیری ارقام مقاوم از راه‌های مهم کنترل بیماری بلاست می‌باشد ولی با توجه به اثرات نامطلوب زیست‌محیطی استفاده از قارچ‌کش‌ها و هزینه زیاد استعمال آن‌ها، استفاده از ارقام مقاوم بیشتر از سایر روش‌ها مورد توجه می‌باشد (اخوت، ۱۳۷۸).

در ایران فعالیت‌هایی جهت شناسایی نژادهای عامل بیماری بلاست صورت گرفته است. شریف ابتدا در سال ۱۳۲۸ این بیماری را در لاهیجان مشاهده نمود و سپس از سایر مناطق ساحل دریای خزر، اصفهان، قصر شیرین، گیلان غرب، میناب، رامهرمز و سایر نواحی گزارش شده است. فاطمی و رحیمیان (۱۹۷۵) در بررسی که روی انتشار بیماری در ایران انجام دادند، قارچ عامل بیماری را از روی ۱۰ واریته از بین ۱۵ واریته ای که مطالعه نمودند، جدا کردند (اخوت، ۱۳۷۸).

تلاش‌ها در جهت استفاده از ژن‌های مقاومت اختصاصی جهت کنترل بیماری بلاست با موفقیت دایمی و پایداری همراه نبوده است. ویلارئال و همکاران (۱۹۸۱) راهبردهای اصلاحی دیگر از جمله استفاده از مقاومت کاهنده بلاست، که سبب کاهش میزان آلودگی می‌گردد، را مورد توجه قرار دادند. آن‌ها در ۶ رقم برنج نشان دادند که ارقام مورد بررسی دارای سطح متفاوتی از مقاومت کاهنده بلاست بودند و مقاومت حاصل به مقدار کاهش اندازه لکه، قابلیت اسپورزایی و راندمان بیماری نسبت داده شد. مطالعه مقاومت نسبی شش رقم برنج به بلاست در آزمایش‌های گلخانه‌ای و خزانه بلاست توسط یه و

بونمن (۱۹۸۶) نشان داد که واریته‌های مقاوم‌تری که دارای آلودگی نسبتاً کمتری در شرایط مزرعه‌ای و برای چندین سال بوده‌اند دارای راندمان بیماری نسبی پایین‌تر و لکه‌های کوچک‌تر با قابلیت اسپورزایی کمتری نسبت به ارقام حساس بوده‌اند. مطالعه هوانگ و همکاران (۱۹۸۷) روی ۸ رقم برنج حاکی است که بلاست در ارقام مختلف به‌طور معنی‌داری توسعه می‌یابد و حداکثر آلودگی به بلاست برگ بر اساس میزان سطح زیرمنحنی توسعه بیماری، ۶۳ روز بعد از نشاءکاری مشاهده می‌گردد و شدت آن با افزایش سن گیاه کاهش می‌یابد. مؤمنی و همکاران (۱۳۸۲) در یک بررسی روی تعدادی ارقام برنج ایرانی و همچنین ارقام مربوط به برنامه‌های مختلف اصلاحی در آسیا برای تعیین اجزای مقاومت نسبی به بلاست نشان دادند که بین ارقام مختلف از حیث اجزای مختلف مقاومت و وضعیت توسعه بیماری تفاوت معنی‌داری وجود دارد. همچنین آن‌ها وجود اثر متقابل قوی بین میزبان- پاتوژن را در ارقام ایرانی گزارش کردند. به‌طورکلی اطلاعات کمی در مورد چگونگی توسعه بیماری بلاست در رابطه با ارقام ایرانی در دسترس می‌باشد، لذا هدف از این تحقیق عبارت بودند از ۱- تعیین چگونگی توسعه بیماری بلاست برنج روی ارقام انتخابی با سطوح مختلف مقاومت با استفاده از جمعیت مزرعه‌ای عامل قارچ *Pyricularia grisea* ۲- شناسایی عوامل مؤثر در کاهش نرخ توسعه بیماری و ۳- ارزیابی و اندازه‌گیری اجزای مقاومت نسبی با استفاده از نژادهای غیراختصاصی *Pyricularia grisea* در گلخانه می‌باشد.

مواد و روش‌ها

مواد گیاهی مورد استفاده

مواد گیاهی مورد استفاده در این تحقیق شامل ۵۸ رقم و لاین‌های امید بخش بود که اسامی و مشخصات آن‌ها در جدول ۱ نشان داده شده است.

وضعیت توسعه بیماری در خزانه بلاست

به‌منظور بررسی واکنش ارقام و لاین‌های امیدبخش در مقابل جمعیت مزرعه‌ای عامل بیماری در خزانه بلاست در بستر خشک این آزمایش در قالب طرح بلوک‌های کامل تصادفی با دو تکرار اجرا گردید. مخلوطی از ارقام حساس شامل طارم دیلمانی و طارم محلی به‌عنوان پخش‌کننده اسپور یک هفته قبل از کاشت بذور آزمایشی در اطراف خزانه کاشته شدند. گیاهان از روز ۲۲ (بر اساس میزان رشد) و به‌فواصل زمانی ۷ روز و برای حداقل ۵ بار برای دو صفت در صد آلودگی برگ و تیپ آلودگی، بر اساس روش استاندارد بین‌المللی [Standard Evaluation System for Rice (SES)] مورد ارزیابی قرار گرفتند. منحنی توسعه بیماری و سطح زیرمنحنی توسعه بیماری بر اساس فرمول هوانگ و همکاران (۱۹۸۷) محاسبه گردید.

مایه زنی برای بلاست برگ در گلخانه

بذور آزمایشی در آزمایش‌های گلخانه‌ای در جعبه‌های پلاستیکی حاوی خاک نرم زراعی شامل مخلوطی از کودها، در قالب طرح کاملاً تصادفی با دو تکرار و به تعداد ۱۰ الی ۱۵ بذر در هر ردیف کاشته شدند. بذور بعد از جوانه‌دارشدن و سبزشدن در مرحله ۴ الی ۵ برگی (دو هفته بعد از بذرکاری) مایه‌زنی گردیدند.

نژادهای مورد استفاده و مایه زنی

دو جدایه بلاست که متعلق به کلون‌های مختلف و با قابلیت و ثبات بیماری‌زایی بالا بوده‌اند شامل: ایزوله IA-82 از مؤسسه تحقیقات برنج آمل و ایزوله IA-90 از مؤسسه تحقیقات برنج رشت که به طور معمول مورد استفاده قرار می‌گیرند، به‌کار گرفته شد. مایه قارچ به‌صورتی‌که قبلاً توسط مک گیل و بونمن (۱۹۹۲) بیان شده‌اند روی محیط کشت آلو- آگار و در طی دو هفته تهیه شد. غلظت سوسپانسیون اسپور در حدود 10^5 کنیدیوم در میلی‌لیتر قبل از مایه‌زنی تنظیم گردید (مک گیل و بونمن، ۱۹۹۲). گیاهان آزمایشی در گلخانه و به طور جداگانه برای هر یک از نژاد های بلاست و توسط اسپری و به میزان ۵۰ میلی لیتر برای هر جعبه پلاستیکی، مایه‌زنی شدند. گیاهان مایه‌زنی شده در اطاقک بخار در دمای ۲۵ سانتی‌گراد به مدت ۲۴ ساعت نگهداری و پس از انتقال به اطاقک مرطوب، در رطوبت اشباع و دمای ۲۴ تا ۲۸ درجه سانتی‌گراد به مدت یک هفته نگهداری گردیدند.

اندازه گیری اجزای مقاومت به بیماری بلاست

اجزای مقاومت به بیماری ۷ روز بعد از مایه‌زنی و برای صفات تیپ آلودگی، تعداد لکه، سطح آلوده برگ و مساحت لکه در گلخانه اندازه‌گیری شده‌اند. اجزای مقاومت به بیماری ۲۲ روز بعد از کاشت ارقام و پیشرفت بیماری نیز در خزانه بلاست ارزیابی گردید. تیپ آلودگی بر اساس مقیاس ۰ تا ۵ توسط مک گیل و بونمن (۱۹۹۲) به‌صورت زیر ارائه شد: صفر= بدون علایم آلودگی؛ ۱= لکه‌های قهوه‌ای با قطر کمتر از ۰/۵ میلی‌متر ؛ ۲= لکه‌های قهوه‌ای با قطر حدود ۰/۵ تا ۱ میلی‌متر؛ ۳= لکه‌های مدور تا بیضوی با قطر حدود ۱ تا ۳ میلی‌متر و با مراکز خاکستری و حاشیه‌ای قهوه‌ای؛ ۴= لکه‌های تیپیک دوکی‌شکل با طول ۳ میلی‌متر یا طویل‌تر با تعدادی و یا بدون لکه‌های بهم‌پیوسته؛ ۵= مانند حالت ۴ اما نیمی از یک یا بیش از یک برگ از طریق بهم پیوستگی لکه‌ها از بین رفته‌اند.

تجزیه های آماری

تجزیه آماری کلیه صفات توسط نرم‌افزار SPSS و رسم نمودارها با استفاده از صفحه‌گستر Excel انجام گرفت. قبل از تجزیه‌های آماری، تبدیل داده‌ها به روش جذری ($\sqrt{x + 0/5}$) برای صفاتی که از شمارش حاصل شده‌اند و یا به‌صورت درصدی و پایین‌تر از ۳۰ بوده‌اند و برای داده‌هایی که به‌صورت درصدی (بین صفر تا ۱۰۰) بوده‌اند، تبدیل زاویه‌ای ($\arcsin x$) انجام گرفت.

نتایج

بررسی خزانه بلاست

در آزمایش خزانه بلاست پیشرفت بیماری به‌طور قابل‌ملاحظه‌ای در بین ارقام مورد بررسی متفاوت بود. لاین‌های امیدبخش IR_{24} , F_{45} F_{125} F_{35-1} , F_{76-2} , F_{79-2} , F_{79-1} و F_{14} حداقل شدت بیماری را نشان دادند. در این لاین‌ها تعداد معدودی لکه اسپورزا بعد از روز بیست و نهم مشاهده شد که نشان‌دهنده‌ی سازگار بودن با نژادهای بیماری‌زا می‌باشد. همچنین ارقام دم‌سیاه و حسنی و لاین‌های F_{120}, F_{35-1} و F_2 بیشترین سطح زیرمنحنی پیشرفت بیماری را در خزانه بلاست داشتند و لاین‌های امیدبخش F_{125}, F_{45} , IR_{24} و F_{135-2} کمترین سطح زیرمنحنی توسعه بیماری را نشان دادند (شکل ۱).

بررسی گلخانه‌ای

همبستگی صفات مورد بررسی در شرایط گلخانه و مزرعه

نتایج همبستگی صفات مورد بررسی برای جمعیت ارقام و لاین‌های امیدبخش در گلخانه با استفاده از دو نژاد بلاست و همچنین در مزرعه در جدول ۲ نشان شده است. نتایج حاصل از تجزیه و تحلیل همبستگی "پیرسون" و رتبه‌ای "اسپیرمن"، نشان داد که در هر آزمایش بین اجزای مقاومت به بیماری بلاست همبستگی بسیار بالا و معنی‌داری در سطح احتمالی ۱٪ وجود داشت، ولی بین اجزای مقاومت اندازه‌گیری شده برای دو نژاد در گلخانه هیچ‌گونه همبستگی دیده نشد. اجزای مقاومت به بیماری برای دو نژاد IA-82 و IA-90 با درصد سطح آلودگی برگ در مزرعه غیرمعنی‌دار بود (جدول ۲).

مقایسه میانگین

مقایسه میانگین‌ها که به روش دانکن انجام شد برای صفت درصد برگ آلوده ارقام نسبت به جدایه IA-82 به ۴ دسته و برای جدایه IA-90 به ۶ دسته تقسیم شده‌اند. در این رابطه ارقام برای صفت تعداد لکه، نسبت به جدایه IA-82 به ۳ دسته و در مقابل جدایه IA-90 به ۵ دسته گروه بندی گردیدند. مقایسه میانگین همین‌طور برای صفت اندازه لکه نیز صورت گرفت که در آن ارقام به ترتیب در مقابل جدایه های IA-82 و IA-90 به ۳ و ۶ دسته تفکیک شده‌اند. همان‌طور که در جدول نشان داده شد، برای صفت درصد سطح برگ آلوده، لاین‌های F_{79-2}, F_{45}, F_6 و F_5 و ارقام طارم محلی، سپیدرود و دم‌سیاه نسبت به جدایه های IA-82 و IA-90 دارای واکنش حساس بوده‌اند و در گروه حساس قرار گرفتند. ارقام سنگ طارم و ندا و لاین باسماتی ۳۷۰ واکنش حساسیت متوسط به بیماری

را نشان دادند و لاین‌های F_{28-1}, F_{66-1}, F_{135-2}, F_{66-2}, F_{128}, F_{55}, F_{120-1}, F_{11}, F_{125}, F_{79-3}, F_{129} و رقم خزر۱- خزر۲ در گروه مقاوم قرار گرفتند. به طور کلی با توجه به جدول مقایسه میانگین می‌توان واکنش ارقام و لاین‌های امیدبخش را در برابر دو جدایه IA-82 و IA-90 به صورت زیر تفکیک کرد که بر اساس آن لاین‌های F_5, F_{45} و F_6 و ارقام دم‌سیاه ، طارم محلی و سپیدرود در گروه حساس قرار گرفتند و ارقام ندا و سنگ طارم و بسماتی ۳۷۰ در گروه متحمل یا متوسط و لاین‌های F_{55}, F_{120-1}, F_{11}, F_{125}, F_{79-3}, F_{28-1}, F_{135-2}, F_{66-2}, F_{128} و F_{129} و ارقام نعمت، عنبربو، خزر۱- خزر۲ و اوندا دارای واکنش مقاوم نسبت به دو جدایه مورد استفاده بودند (جدول ۳).

بحث

بررسی حاضر اطلاعاتی را در مورد واکنش ارقام برنج ایرانی در مقابل دو نژاد فراهم آورد. همچنین واکنش این ارقام در شرایط خزانه بلاست در مقابل نژادهای موجود در منطقه نیز مورد مطالعه قرار گرفت. واریته‌های مورد بررسی در این تحقیق در شرایط گلخانه ای در برابر دو جدایه بلاست IA-82و IA-90 به طور معنی داری در صفات تیپ آلودگی، سطح برگ آلوده، اندازه لکه و تعداد لکه متفاوت بودند. نتیجه مطالعات محققان دیگر از جمله ویلارئال و همکاران (۱۹۸۱)، اهسن و او (۱۹۸۲) و مؤمنی و همکاران (۲۰۰۳) نیز نتایج این تحقیق را تأیید می‌کنند. بدین ترتیب صفات تعداد لکه های اسپورزا و درصد سطح آلوده برگ از مهم‌ترین و معمول‌ترین اجزای مقاومت نسبی به بیماری بلاست، حداقل در طی رشد رویشی گیاه محسوب می‌شوند. مؤمنی و همکاران (۲۰۰۳) همچنین بیان داشتند که اندازه لکه کاهش یافته به عنوان شکلی از مقاومت میزبان سبب ظهور تنها لکه های کوچک در گیاهان مقاوم و کاهش میزان رشد و توسعه لکه‌ها در تیپ مقاوم در مقایسه با تیپ‌های حساس شد، به طوری که این امر کاهش درصد سطح آلوده برگ در گیاهان مقاوم را در پی داشت. در این بررسی لاینهایی با مقاومت نسبی بالا شامل F_{45}, F_{125} و رقم IR24 از نظر صفات تیپ آلودگی و درصد سطح آلوده برگ کمترین میزان را نشان دادند و ارقامی نظیر دم‌سیاه، عنبربو و دشت و همچنین لاین‌های F_{63-3} و F_{120-2} بیشترین مقدار را در درصد سطح آلوده برگ (۵۵- ۶۵ ٪) و برای تیپ آلودگی (۴-۵) داشتند و سطحی از حساسیت را نسبت به بیماری بلاست نشان دادند. سطوح متفاوت مقاومت به بلاست در ارقام را می‌توان بر پایه سازگار شدن ارقام به نژادهای بومی شایع در منطقه و یا وجود ژن‌های مقاومت احتمالی در ارقام اصلاح شده، دانست. همچنین حساس بودن برخی از ارقام نسبت به بلاست را می‌توان بر تغییرات فیزیولوژیکی گیاه و قابلیت بیماری‌زایی نژادهای موجود در منطقه به حساب آورد. در آزمایش گلخانه‌ای نیز ارقام دارای واکنش متفاوتی بودند. واکنش ارقام و لاین‌های امیدبخش مقابل دو جدایه IA-82 و IA-90 در مقایسه با واکنش آن‌ها در خزانه بلاست نسبت به

ایزوله‌های بومی منطقه حاکی از ایجاد تغییرات در عامل بیماری‌زا و در نتیجه بازگشت خاصیت بیماری‌زایی برای پاتوژنهایی بوده که در گذشته خاصیت بیماری‌زایی خود را در برابر برخی از واریته ها از دست داده بودند. همچنین می‌توان از دست رفتن برخی منابع ژنتیکی (فرسایش ژنتیکی) یا غیر فعال شدن برخی از ژن‌های مقاومت در ارقام و لاین‌های امیدبخش که در جریان انتخاب در حین اصلاح آن‌ها صورت گرفته است را علت این امر دانست.

واکنش مقاومت مشاهده شده تحت دو شرایط خزانه و گلخانه در ارقام ساحل، ندا، عنبربو و اوندا و لاین‌های F_{120-1} ،F_{125} و F_{28-1} نیز می‌تواند نشان از وجود ژن‌های مقاومت مختلف به بیماری بلاست کارا و مناسب در این ژنوتیپ ها باشد. دوشکلی نیز می‌تواند در نتیجه اثر متقابل یک یا تعدادی ژن مقاومت در هر رقم بوده باشد. با بررسی روند اصلاحی ارقام برنج در ایران مشخص گردید برای انتخاب ارقام و نتاج مقاوم به بلاست تنها به بررسی آن‌ها در خزانه بلاست و منحصراً در یک محل و تنها برای یک صفت کیفی، همان تیپ آلودگی، اقدام می‌گردد و لذا گزینش تنها برای ژن‌های اصلی مقاومت به بلاست در ارقام و نتاج انجام می‌گیرد. با توجه به تغییر پذیری بالای قارچ عامل بلاست، شکسته شدن مقاومت در طی زمان کوتاهی رخ خواهد داد، این مطالب با نتایج مؤمنی و همکاران (۱۳۸۲) مطابقت دارد. مقایسه نتایج حاصل از آزمایش‌های گلخانه ای با آزمایش مزرعه ای (خزانه بلاست) دلالت بر عدم تطابق آن‌ها در دو آزمایش و واکنش متفاوت برخی ارقام در آزمایش‌های گلخانه ای و مزرعه ای دارد. با این تفاوت که تنوع نژادهای عامل بیماری در شرایط مزرعه ای بیشتر و سازگاری ارقام با نژادها در مزارع بوده است. در صورتی که نژادهای مورد استفاده در گلخانه بر اساس خصوصیت غیر اختصاصی انتخاب شده بودند. عدم تطابق نتایج آزمایش‌های مزرعه ای و گلخانه ای نشان می‌دهد که اختصاصی بودن نژاد در مزرعه در تعیین درجه بندی ارقام برای حساسیت و مقاومت حائز اهمیت می‌باشد. در این حالت، کاشت ارقام دارای ژن‌های پایدار مقاومت به بیماری بلاست، توصیه و مقرون به صرفه می‌باشد. همچنین استفاده از ارقام سازگار شده با محیط و یا ارقامی که مقاومت نسبی را نسبت به بلاست، در این تحقیق، نشان دادند و کاشت آن‌ها در نواحی موجود در منطقه مورد بررسی و همین طور به‌کارگیری آن‌ها در برنامه های اصلاحی و بررسی‌های مولکولی برای رسیدن به اطلاعات دقیق‌تر و پی بردن به وجود چگونگی سیستم‌های مقاومت در این ارقام، پیشنهاد می‌شود.

سپاسگزاری

از مسئولین محترم مؤسسه تحقیقات برنج کشور به جهت فراهم نمودن فرصت انجام تحقیق در این مؤسسه، تشکر می‌گردد. همچنین از مسئولین محترم پژوهشکده ژنتیک و زیست‌فناوری کشاورزی طبرستان دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی ساری جهت ایجاد امکانات لازم برای انجام آزمایشات گلخانه‌ای، تشکر و قدردانی می‌گردد.

منابع

۱. اخوت، م. (۱۳۷۸). بیماری‌های غلات. انتشارات و چاپ دانشگاه تهران. صفحه ۵۱۹.

۲. ارزانی، ا. ۱۳۸۰. اصلاح گیاهان زراعی (ترجمه). انتشارات دانشگاه صنعتی اصفهان. ۶۰۶ ص.

۳. مؤمنی، ع.، ب. یزدی صمدی.، و ه. لئونگ. ۱۳۸۲. مطالعه و ارزیابی مقاومت نسبی به بیماری بلاست در ارقام مختلف برنج. مجله علوم کشاورزی ایران. ۳۴(۲): ۴۸۳-۴۹۳ .

۴. مؤمنی، ع.، م، جوان نیک‌خواه.، ف، پاداشت دهکایی و ص، موسی نژاد. (۱۳۸۵). تعیین اجزای مقاومت کاهنده بلاست در ارقام منتخب برنج. مجله دانش کشاورزی تبریز. ۱۶ (۳) : ۱۳۵- ۱۴۴.

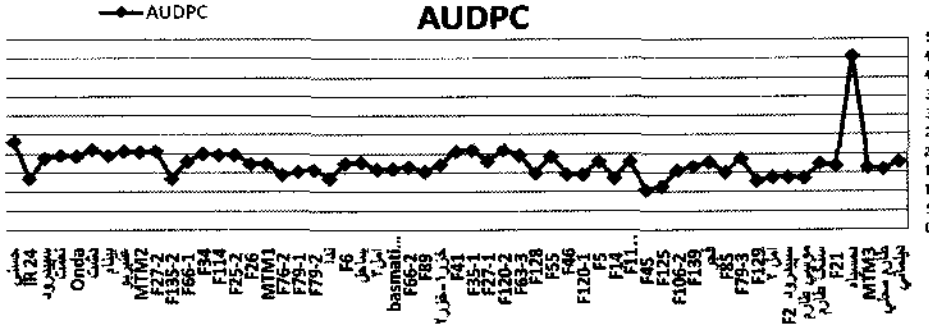
5. Garris, A.J., T. H. Tai., J. Colburn., S. Kresovich, and S. R. McCouch. 2005. Genetic structure and diversity in *Oryza sativa* L. Genetics. 169: 1631-1638.
6. Han, S. S. 2001. Improvement of disease evaluation system and classification of rice blast isolates. In: Proc 1st Workshop Rice Blast. Milyang, pp 1-19
7. Hittalmani, S., A. Parco., T. V. Mew, and R. S. Zeigler. 2000. Fine mapping and DNA marker-assisted pyramiding of the three major genes for blast resistance in rice. *Theoretical and Applied Genetics*. 100: 1121-1128
8. Hittalmani, S., M. R. Foolad, and T. New. 1995. Development of PCR-based markers to identify rice blast resistance gene *pi-2(t)* in a segregating population. *Theoretical and Applied Genetics*. 91: 9-14.
9. Hong, L., A. Marrc., R. Coburn., J. Neil Rutgar., R. Mccouch, and T. H. Tai. 2005. Population structure and Breeding Patterns of 145 U.S.Rice Cultivars Based on SSR Marker Analysis. Crop Science. 45: 66-76.
10. Hwang, B. K. Y. J. Koh & H.S. Chung. 1987. Effects of adult-plant resistance on blast severity and yield of rice. *Plant Disease*. 71: 1035-1038.
11. Imbe, T., S. Ora., M. J. Yanoria, and H. Tsunematsu. 1997. A new gene for blast resistance in rice cultivar, IR24. *Rice Genetics Newsletter*. 14: 60-62.
12. International Rice Research Institute. 1986. Rice genetic. Proceeding of the International Ricr Genetic Symposium IRRI. Philippins pp 27-33, 887-897.
13. Jia, Y. 2003. Determination of host responses to *Magnaporthe grisea* on detached rice leaves using Aspot Inoculation Method. 1125-01R.

14. Jiang, J., and S. Wang. 2002. Identification of a 118-kb DNA fragment containing the locus of blast resistance gene *Pi2* (t) in rice. *Molecular Genetics* and *Genomics*. 268: 249-252.
15. Li, W., C. Lei., Z. Cheng., Y. Jia., D. Huang., J. Wang., X. Zhang., N. Su., X. Guo., H. Zhai, and J. Wan. 2008. Identification of SSR markers for a broad-spectrum blast resistance gene *Pi20 (t)* for marker-assisted breeding. *Molecular Breeding*. 22:141-149.
16. Liu, G., G. Lu., L. Zeng, and G. L. Wang. 2002. Two broad-spectrum blast resistance genes, *Pi9 (t)* and *Pi20 (t)*, are physically linked on rice chromosome 6. *Molecular Genetics* and *Genomics*. 267: 472-480.
17. Liu, X., Q. Yang., F. Lin., L. Hua., C. Wang., L. Wang, and Q. Pan. 2007. Identification and fine mapping of *Pi39 (t)*, a major gene conferring the broad-spectrum resistance to *Magnaporthe oryzae*. *Molecular Genetics* and *Genomics*. 278: 403-410.
18. Mackill. D.J., J. M. Bonman. 1992. Inheritance of blast resistance line of rice. Phytopathology. 82: 746-749.
19. McCouch, S. R., G. Kochert., Z. H. Yu., Z. Y. Wang., G. S. KHush., W. R. Coffman, and S. D. Tanksley. 1988. Molecular mapping of rice chromosomes. *Theoretical and Applied Genetics*. 76: 815-829.
20. Moumeni, A., and H. Leung. 2003. Genetic and molecular dissection of blast resisstance in rice using RFLP, simple repeats and defense-related candidate gene markers. Iranian Jornal of Biotechnology. 1:47-54.
21. Moumeni, A., Yazdi Samadi, B., Wu, J., and Leung, H. 2003. Genetic diversity and relatedness of selected Iranian rice cultivars and disease resistance donors assayed by simple sequence repeats and candidate defense gene marker. Euphytica 131: 275-28. Murray, M. G., and W. F. Thompson. 1980. Rapid isolation of high molecular weght plant DNA. *Nucleic Acids Research*. 8: 4321-4325.
22. Naqvi, N.I., J. M. Bonman., D. J. Mackill., R. J. Nelson, and B. B. Chatoo.1995. Identification of RAPD markers linked to a major blast resistance gene in rice. Molecular Breeding. 1:341-348.
23. Nguyen, T.T., S. Koizumi., T. N. La., K. S. Zenbayashi., T. Ashizawa., N. Yasuda., I. Imazaki, and A. Miyasaka. 2006. Pi35 (t), a new gene conferring partial resistance to leaf blast in the rice cultivars Hokkai 188. *Theoretical and Applied Genetics*. 113: 697-704.

24. Nikkhah, M. J., G. H. Hedjaroude., A. Sharifi-Tehrani., S. M. Okhovvat, and M. Mohammadi. 2002. Investigation on genetic diversity of population of *Magnaporthe grisea* (Hebert) Barr, the rice blast fungus, using molecular, pathogenecity and vegetative compatibility characters in Guilan provience, Iran. Ph.D. Thesis, Plant Pathology, University of Tehran.
25. Ou, S. H. 1985. Rice Diseases. Common wealth Agric. Bureaux. Slough, England, 380p
26. Pan, Q.H., Z. D. Hu., T. Takotoshi, and L. Wang. 2003. Fine mapping of the rice blast resistance gene *Pi15* linked to *Pii*, on rice chromosome 9. *Acta Botanica Sinica.* 45: 871-877
27. Qu, S., G. Liu., B. Zhou., M. Bellizzi., L. Zeng., L. Dai., B. Han, and G. L. Wang. 2006. The broad-spectrum blast resistance gene Pi9 encodes a nucleotide-binding site-leucine-rich repeat protein and is member of a multigene family in rice. Genetics. 172: 1901-1914.
28. Villareal, R. L., D. R. Mackenzie, R. R. Nelson & W. R. Cffman. 1981. Some components of slow-blasting resistance in rice. Phytopathology. 71: 608-611.
29. Wang, G.L., D. J. Mackill., M. Bonman., S. R. MacCouch., M. C. Champoux, and R. J. Nelson. 1994. RFLP mapping of genes conferring complete and partial resistance to blast in a durably resistant rice cultivar. Genetics. 136: 1421-1434.
30. Yeh, W. H. & Bonman, J. M. 1986. Assessment of partial resistance to *Pyricularia oryzae* in six rice cultivars Plant Pathology. 35: 319-323.

جدول ۱- اسامی ارقام و لاین‌های امیدبخش مورد مطالعه

ژنوتیپ	والد پدری	والد مادری	ژنوتیپ	والد پدری	والد مادری
دیلمانی	رقم محلی		F6	فجر	نوک سیاه
طارم محلی	رقم محلی		F79-2	حسنی	IRRI-2
MTM3	لاین موتانت طارم	محلی	F79-1	حسنی	IRRI-2
دم‌سیاه	رقم محلی		F76-2	سنگ طارم	دیلمانی
F21	سنگ طارم	ساحل	MTM1	لاین موتانت طارم	محلی
F2	سپیدرود	IR58025A×IR-9	F26	دائی شستک	دیلمانی
F129	سپیدرود	IR58025A×IR-2	F25-2	حسنی	IRRI-2
F79-3	حسنی	IRRI-2	F114	لاین موتانت سنگ	طارم ۱
F85	ندا	IR58025A×IR-9	F34	لاین موتانت سنگ	طارم ۲
F139	سنگ طارم	IR58025A×IR-2	F66-1	سنگ طارم	دیلمانی
F106-2	سنگ طارم	دیلمانی	F135-2	سنگ طارم	دیلمانی
F125	ندا کشت بافت ۲		F27-2	دیلمانی	فجر
F45	ندا	IR58025A×IR-9	F28-1	سنگ طارم	دیلمانی
F11	سپیدرود	IR58025A×IR-9	MTM2	لاین موتانت طارم	محلی
F14	ندا کشت بافت ۳		سنگ طارم	رقم محلی	
F5	نوک سیاه	فجر	موسی طارم	رقم محلی	
F120-1	سنگ طارم	دیلمانی	آمل ۲	تایچونگ	سونا
F46	لاین موتانت طارم		فجر	رقم معرفی شده	
F55	سنگ طارم	ساحل	آمل ۳	رقم معرفی شده	
F128	ندا کشت بافت ۱		ساحل	رقم معرفی شده	
F63-3	حسنی	IRRI-2	ندا	آمل۳	سنگ طارم
F120-2	سنگ طارم	دیلمانی	عنبربو	رقم محلی	
F27-1	دیلمانی	فجر	بینام	رقم محلی	
F35-1	ندا	IR58025A×IR-19	دشت	رقم معرفی شده	
F41	سنگ طارم	ساحل	نعمت	آمل۳	سنگ طارم
خزر۱ -خزر۲	رقم معرفی شده		سپیدرود	رقم معرفی شده	
F89	ندا	IR58025A×IR-9	Onda	رقم معرفی شده	
F66-2	سنگ طارم	دیلمانی	حسنی	رقم محلی	
Basmati370	رقم محلی				



شکل ۱- سطح زیر منحنی توسعه بیماری بلاست برگ ارقام برنج در خزانه بلاست

جدول۲- آزمون همبستگی اجزای مختلف مقاومت به بیماری بلاست برنج در مقابل نژادهای مختلف در شرایط گلخانه و خزانه بلاست

صفات		DLA ۱	LD ۲	IT ۳	LS ۴	DLA ۵	LD ۶	IT ۷	LS ۸	DLA ۹
	S	۱/۰								
۲	P	۰/۸۴۵**	۱/۰							
	S	۰/۷۴۸**	۱/۰							
۳	P	۰/۹۴۸**	۰/۸۲۵**	۱/۰						
	S	۰/۹۳۵**	۰/۷۳۳**	۱/۰						
۴	P	۰/۹۰۲**	۰/۸۳۷**	۰/۹۷**	۱/۰					
	S	۰/۹۲۸**	۰/۷۲۲**	۰/۹۹**	۱/۰					
۵	P	-۰/۰۳۵ns	-۰/۱۰۲ns	-۰/۰۲۴ns	-۰/۰۷۱ns	۱/۰				
	S	۰/۰۸۲ns	-۰/۰۷۸ns	۰/۰۱۱ns	۰/۰۰۱ns	۱/۰				
۶	P	-۰/۰۳۵ns	-۰/۰۶۹ns	-۰/۰۳۱ns	-۰/۰۷۴ns	۰/۸۹۴**	۱/۰			
	S	۰/۰۶۹ns	-۰/۰۵۶ns	۰/۰ns	-۰/۰۱۷ns	۰/۷۸۷**	۱/۰			
۷	P	-۰/۰۶۳ns	-۰/۰۵۴ns	۰/۰۰۱ns	-۰/۰۴۲ns	۰/۹۶۷**	۰/۹۱۶**	۱/۰		
	S	۰/۰۸۹ns	-۰/۰۵۲ns	۰/۰۲۳ns	۰/۰۱۴ns	۰/۹۸۵**	۰/۸۰۸**	۱/۰		
۸	P	-۰/۰۱۷ns	-۰/۰۹ns	۰/۰۳۶ns	۰/۰۶۸ns	۰/۹۲۹**	۰/۸۸۵**	۰/۹۶۶**	۱/۰	
	S	-۰/۰۴۶ns	-۰/۰۸۶ns	-۰/۰۲۱ns	-۰/۰۳۶ns	۰/۹۶۰**	۰/۷۶۹**	۰/۹۸۲**	۱/۰	
۹	P	۰/۱۶۵ns	۰/۱۱۸ns	۰/۱۷۶ns	۰/۱۸۹ns	-۰/۱۷۱ns	-۰/۱۴۵ns	-۰/۱۶۸ns	-۰/۱۱۳ns	۱/۰
	S	-۰/۰۱۱ns	-۰/۰۳۶ns	-۰/۰۱ns	۰/۰۳۸ns	-۰/۱۵۵ns	-۰/۴۲۸ns	-۰/۱۵۳ns	-۰/۱۱۹ns	۱/۰

P= مقادیر ضریب همبستگی پیرسون، S= مقادیر ضریب همبستگی اسپیرمن، DLA= درصد سطح برگ آلوده شده، LD= تعداد لکه، IT = تیپ آلودگی، LS= اندازه لکه، ns مقادیر غیرمعنی‌دار، * معنی‌دار در سطح احتمال ۵٪ ، ** معنی‌دار در سطح احتمال ۱٪