بررسی ژنوتیپ‌های مختلف برنج از نظر مقاومت به بیمارگر *Pyricularia oryzae*

آرام پاشا[1]*، نادعلی باقری[2]، نادعلی بابائیان جلودار[3] و قربانعلی نعمت‌زاده[3]

۱-*نویسنده مسوول: دانشجوی سابق کارشناسی ارشد رشته اصلاح نباتات، دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی ساری، ساری، ایران
(arampasha@yahoo.com)

۲- استادیار گروه اصلاح نباتات، دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی ساری، ساری، ایران

۳- استادان گروه اصلاح نباتات، دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی ساری، ساری، ایران

تاریخ دریافت: ۹۱/۰۴/۰۷ تاریخ پذیرش: ۹۵/۰۵/۰۵

چکیده

بیماری بلاست (*Pyricularia grisea* Sacc) تهدید جدی برای تولید برنج می‌باشد. تعداد هشت ژنوتیپ برنج به همراه دو رقم نعمت (شاهد مقاوم) و بی‌نام (شاهد حساس) برای مقاومت به بیماری بلاست در سال ۱۳۹۰ مورد ارزیابی قرار گرفتند. آزمایش تحت شرایط مزرعه و گلخانه انجام گرفت. نتایج آزمایش مزرعه‌ای بر اساس صفات تیپ آلودگی، شدت بلاست خوشه، پیشرفت بیماری بلاست برگی و خوشه نشان داد که ژنوتیپ‌های B40، بی‌نام و IRBLZT-T از نظر بیماری بلاست حساس هستند و سه ژنوتیپ برنج (IRBLKP-K60، IRBLZ5-CA و نعمت) سطح بالاتری از مقاومت به بلاست برگی و خوشه را دارا بودند. هم‌چنین ژنوتیپ‌های FLAGMAN و GAMMA که بیشترین آلودگی خوشه را داشتند به‌طور معنی‌داری بلاست برگی کمتری را نشان دادند. گروه‌بندی ژنوتیپ‌های برنج مورد مطالعه بر اساس صفات گلخانه‌ای (تیپ آلودگی و تعداد لکه اسپورزا) از طریق تجزیه خوشه‌ای با استفاده از الگوریتم UPGMA و مقیاس تشابه همبستگی، ژنوتیپ‌ها را به دو گروه تقسیم‌بندی نمود. گروه اول شامل ژنوتیپ‌های FLAGMAN، نعمت، IR1552، IRBLTA2-RE، IRBLKP-K60 و GAMMA بوده که این ژنوتیپ‌ها از نظر تیپ آلودگی بین صفر تا ۲ قرار گرفته و واکنش مقاومت را نشان دادند. این ژنوتیپ‌ها را می‌توان به‌عنوان والد بخشنده برای اصلاح ارقام با مقاومت پایدار مورد استفاده قرار داد. گروه دوم شامل ژنوتیپ‌های IRBLZT-T،IRBLZ5-CA، بی‌نام و B40 بوده که این ژنوتیپ‌ها از لحاظ تیپ آلودگی در گروه حساس قرار داشته و تولید لکه‌های اسپورزا نمودند.

کلید واژه‌ها: بلاست برنج، مقاومت، ارزیابی گلخانه‌ای و مزرعه‌ای، تجزیه خوشه‌ای

مقدمه

هر ساله عوامل خسارت‌زای متعددی نظیر آفات، بیماری‌ها، علف‌های هرز و تنش‌های محیطی طی مراحل مختلف رشدی، برداشت و دوره ذخیره خسارت زده و سبب کاهش زیادی در عملکرد محصول برنج می‌شوند. بیماری بلاست (*Pyricularia oryzae*) یکی از مخرب‌ترین بیماری‌های برنج در دنیا است (Chaudhary and Sah, 1998؛ Koutroubas et al., 2009). بیمارگر بلاست عموماً روی برگ‌ها، سبب بلاست برگی طی مرحله رویشی می‌شود یا روی گره گردن خوشه و روی خوشچه‌ها طی مرحله زایشی سبب بلاست گردن می‌شود (Bonman, 1992a). لکه‌های بلاست برگی میزان فتوسنتز برگ‌ها را تا حدودی بسته به درصد آلودگی برگ کاهش می‌دهند (Bastiaans, 1991). بلاست گردن مرحله مخرب‌تری از بیماری است و می‌تواند بدون آلودگی قبلی توسط بلاست برگی رخ دهد (Zhu et al., 2005). به‌طورکلی این بیماری سبب کاهش عملکرد به میزان ۲۰-۱۰ درصد در ارقام

برنج حساس می‌شود اما در حالت شدید کاهش عملکرد ممکن است تا ۸۰ درصد برسد (Chaudhary, 1999؛ Koutroubas et al., 2009).

بلاست یکی از مهم‌ترین بیماری‌های برنج در ایران است که سبب کاهش شدید عملکرد در ارقام برنج حساس می‌شود (Mousanejad et al., 2010). بیماری بلاست سبب از بین رفتن کامل نشاءها در خزانه برنج (Chaudhary et al., 1994) و یا اپیدمی آن در سطح مزرعه می‌شود (Teng et al., 1991). تیمار بذور برنج با قارچ‌کش‌های سیستمیک در کاهش بیماری مؤثر است (Chaudhary and Sah, 1998؛ Chaudhary, 1999). با وجود معرفی ارقام مقاوم برنج به این بیماری و توسعه کشت این ارقام در سال های اخیر، به علت کیفیت و بازارپسندی بسیار مناسب ارقام بومی، هر ساله سطح وسیعی از اراضی هنوز به کشت این ارقام اختصاص می‌یابد. نظر به حساسیت شدید این ارقام به بیماری بلاست و وجود اپیدمی بیماری، کشاورزان مجبور به استفاده مکرر و بی‌رویه از سموم قارچ کش در هنگام بروز این بیماری هستند (Mousanejad et al., 2010) که این موضوع منجر به آلودگی‌های زیست‌محیطی می‌شوند. استفاده از مقاومت میزبان بهترین راه برای مدیریت بیماری است اما مقاومت به بلاست عمدتاً توسط ژن‌های اصلی صورت گرفته که اغلب تحت شرایط مزرعه‌ای این مقاومت شکسته می‌شود (Bonman, 1992b؛ Bonman et al., 1992). بنابراین شناسایی منابع جدید مقاومت به‌ویژه مقاومت‌های نسبی و استفاده از آن‌ها برای مدیریت بعدی ضروری می‌باشد.

هدف از این مطالعه ارزیابی مقاومت کیفی و کمی به بلاست در ژنوتیپ‌های مختلف برنج تحت شرایط مزرعه‌ای و گلخانه‌ای می‌باشد.

مواد و روش‌ها

ارزیابی مزرعه‌ای

در این تحقیق تعداد هشت ژنوتیپ برنج همراه با دو رقم نعمت و بی‌نام به‌ترتیب به‌عنوان شاهد مقاوم و حساس جهت مقاومت به بلاست در سال ۱۳۹۰ در دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی ساری مورد ارزیابی قرار گرفتند (جدول ۱). آزمایش در قالب طرح بلوک‌های کامل تصادفی با سه تکرار در شرایط مزرعه‌ای انجام گرفت. هر ژنوتیپ در ردیف‌های نیم متری کشت گردید و در هر ردیف حدود ۵ گرم بذر از هر یک از ژنوتیپ‌های مورد آزمایش کشت شده و به‌عنوان واحد آزمایشی در نظر گرفته شده است. مخلوطی از واریته‌های حساس به بیماری بلاست (ارقام طارم نوک سیاه، دیلمانی و طارم محلی) به‌عنوان پخش‌کننده اسپور یک هفته قبل از کاشت بذور آزمایشی در حاشیه کرت‌های آزمایشی در دو ردیف کشت شدند. آبیاری روزانه دو مرتبه در طی ساعات ۹ تا ۱۰ صبح و ۳ تا ۴ بعد از ظهر در سطح خزانه به‌صورت بارانی آبپاشی انجام گردید. به‌طوری‌که خاک خزانه همیشه مرطوب بود. کودها به میزان ۱۰۰ کیلوگرم در هکتار به صورت سولفات آمونیوم، بدین شکل که نیمی از آن در مرحله بذرپاشی و نیمی دیگر ۱۵ روز بعد از بذرپاشی به‌صورت سرک مورد استفاده قرار گرفت. هم‌چنین مقدار ۵۰ کیلوگرم در هکتار سوپر فسفات تریپل (P_2O_5) قبل از بذرپاشی مورد استفاده قرار گرفت. هر چند در زمان انتخاب شده برای اجرای آزمایش، اسپورهای طبیعی قارچ عامل بیماری به اندازه کافی در هوا وجود داشت با این وصف ۱۵ روز پس از بذرپاشی به تدریج برگ‌های برنج آلوده به بیماری بلاست از مزارع اطراف مزرعه آزمایشی جمع‌آوری و به قطعات ۳-۶ سانتی‌متری خرد شده و به‌طور یکنواخت در سطح خزانه پاشیده شد (IRRI, 2002). ارزیابی بیماری ۳۰ روز پس از کاشت گیاهان به فواصل زمانی ۷ روز برای درصد سطح برگ آلوده و تیپ آلودگی (مقاومت کیفی به بلاست) بر اساس مقیاس صفر تا ۵ اندازه‌گیری شد که صفر تا ۲=مقاوم (R)، ۲/۱ تا ۳=نیمه مقاومت (MR) و ۳/۱ تا ۵=حساس (S) تلقی شدند (IRRI, 2002). هم‌چنین سطح زیر منحنی توسعه بیماری

محاسبه[1] و منحنی توسعه بیماری (مقاومت کمی به بلاست) ترسیم گردید (Shaner and Finney, 1977).

جهت ارزیابی مقاومت به بلاست خوشه، ژنوتیپ‌ها در کرت‌هایی به ابعاد ۴×۳ متر به فاصله کاشت ۲۰×۲۰ سانتی متر در قالب طرح بلوک‌های کامل تصادفی با سه تکرار تحت شرایط مزرعه‌ای مورد ارزیابی قرار گرفتند. در هر کرت نصف کود اوره (۷۵ کیلوگرم در هکتار) و تمامی کود فسفات (۵۰ کیلوگرم در هکتار) قبل از نشاء کاری و نصف دیگر کود اوره (۷۵ کیلوگرم در هکتار)، ۲۵ روز بعد از نشاکاری مورد استفاده قرار گرفت. ارزیابی بیماری ۸۵ روز پس از کاشت گیاهان به فواصل زمانی ۱۰ روز برای درصد خوشه آلوده، بر اساس روش استاندارد مورد استفاده در ایری و ارزیابی بلاست خوشه ۷ روز قبل از برداشت برای درصد شدت بلاست خوشه[2] طبق فرمول زیر صورت گرفت (IRRI, 2002).

$$PBS=\frac{(10\times N_1)+(20\times N_3)+(40\times N_5)+(70\times N_7)+(100\times N_9)}{Total\ number of\ \ panicles observed}$$

که N_1-N_9 تعداد خوشه با امتیاز ۹ - ۱ (۱=کمتر از ۵ درصد، ۳=۵–۱۰ درصد، ۵=۱۱–۲۵ درصد، ۷=۲۶–۵۰ درصد و ۹=بیش از ۵۰ درصد خوشه آلوده به بیماری بلاست بوده است) می‌باشند. شدت بلاست خوشه (PBS) بر حسب صفر تا ۱۰۰ به‌صورت؛ ۱۰- صفر=R (مقاوم)، ۲۵-۱۱=MR (مقاوم نسبی) و ۱۰۰- ۲۵=S (حساس) گروه‌بندی شدند (IRRI, 2002).

جهت مقایسه سطوح نسبی از مقاومت ژنوتیپ‌های برنج به بلاست در مزرعه، داده‌های شدت بلاست برگی و خوشه به سطح زیر منحنی پیشرفت بیماری یا AUDPAC بر اساس فرمول تغییر یافته بیان شده توسط شانر و فینی (Shaner and Finney, 1977) تبدیل شد؛

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

که X_i = شدت بلاست در مشاهده i ام و t_i زمان مشاهده i ام و k تعداد کل مشاهدات می‌باشد. تجزیه واریانس برای این اجزاء بعد از تبدیل لگاریتمی، جهت مقایسه سطوح مقاومت بین ژنوتیپ‌ها انجام گرفت.

تجزیه واریانس صفات توسط نرم‌افزار SPSS و بعد از انجام تبدیل لگاریتمی جهت مقایسه ژنوتیپ‌ها برای تیپ آلودگی و درصد میزان خسارت خوشه انجام و رسم نمودار با استفاده از Excel و مقایسه میانگین‌ها از روش آزمون چند دامنه‌ای دانکن انجام گرفت. به‌منظور گروه‌بندی ژنوتیپ‌های مورد مطالعه، تجزیه خوشه‌ای با استفاده از الگوریتم UPGMA و مقیاس تشابه همبستگی بر اساس صفات تیپ آلودگی، شدت بلاست خوشه، سطح زیر منحنی پیشرفت بیماری بلاست برگی و خوشه صورت گرفت.

ارزیابی گلخانه‌ای

تعداد لکه‌های اسپورزا به‌عنوان سنجشی برای ارزیابی مقاومت کمی در ارزیابی گلخانه‌ای مورد بررسی قرار گرفت (Roumen, 1992a؛ Roumen, 1992b). بذور آزمایشی در جعبه‌های پلاستیکی و به ابعاد ۱۵×۲۰× ۴۵ سانتی‌متر حاوی خاک نرم زراعی شامل مخلوطی از کودها به میزان ۲۴ گرم ازت، ۳ گرم فسفر و ۳ گرم پتاسیم به ازای هر ۱۰۰ کیلوگرم خاک، در قالب طرح پایه بلوک‌های کامل تصادفی با سه تکرار و به تعداد ۱۰ بذر در هر ردیف کشت شدند. بذور بعد از سبز شدن در مرحله ۴ الی ۵ برگی (۲۱ روز پس از کاشت) مایه‌زنی گردیدند. تهیه مایه قارچ و مایه زنی به صورتی که قبلا توسط Chaudhary (2001) بیان شد انجام گرفت.

نژادهای مورد استفاده و مایه‌زنی

سه جدایهٔ بلاست که متعلق به کلون‌های مختلف و با قابلیت و ثبات بیماری‌زایی بالا بوده‌اند و به‌طور معمول در معاونت مؤسسه تحقیقات برنج در آمل مورد استفاده قرار می‌گیرند شامل جدایه IA-25, IA-82 و Iran-47 برای آزمایش‌های گلخانه‌ای جهت مایه‌زنی انتخاب گردیدند. مایهٔ قارچ[3] به‌صورتی که قبلاً توسط

1- Area Under Disease Progress Curve (AUDPAC)
2- Panicle Blast Severity (PBS)
3- Inoculum

Mackill and Bonman (1986) بیان شد روی محیط کشت پرون–آگار (آلو ۳ عدد، لاکتوز ۵ گرم، عصارهٔ مخمر ۱ گرم، آگار ۱۷ گرم، آب ۱ لیتر) و در طی دو هفته تهیه شد. غلظت سوسپانسیون اسپور در حدود 10^5 کنیدیوم در میلی لیتر قبل از مایه‌زنی تنظیم گردید. گیاهان آزمایشی در گلخانه و به‌طور جداگانه برای هر یک از نژادهای بلاست و به میزان ۵۰ میلی‌لیتر برای هر جعبه پلاستیکی، مایه‌زنی شدند. گیاهان مایه‌زنی شده در اطاقک بخار در دمای ۱±۲۶ سانتی‌گراد به مدت ۲۴ ساعت نگهداری و پس از انتقال به اطاقک مرطوب، در رطوبت اشباع و دمای ۲۷ درجه سانتی‌گراد به مدت یک هفته نگهداری گردیدند.

اندازه‌گیری اجزای مقاومت به بیماری بلاست

اجزای مقاومت به بیماری ۱۰ روز بعد از مایه‌زنی برای صفات تیپ آلودگی بر اساس مقیاس صفر تا ۵ ارائه شده توسط Mackill and Bonman (1992) (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 دوکی شکل با طول ۳ میلی متر یا طویل‌تر با تعدادی و یا بدون لکه‌های بهم پیوسته و ۵= مانند حالت ۴ اما نیمی از یک یا بیش از یک برگ از طریق بهم پیوستگی لکه‌ها از بین رفته‌اند) و تعداد لکه‌های اسپورزا به ازای هر بوته (تیپ ۳ و بالاتر) و روی برگ ماقبل آخر از بالا برآورد گردید (IRRI, 2002). گروه‌بندی ژنوتیپ‌های مورد مطالعه با استفاده از تجزیه خوشه‌ای با استفاده از الگوریتم UPGMA و مقیاس تشابه همبستگی بر اساس صفات تیپ آلودگی و تعداد لکه‌های اسپورزا صورت گرفت.

نتایج و بحث

ارزیابی مزرعه‌ای

در آزمایش خزانه بلاست، ژنوتیپ‌های برنج مورد مطالعه از نظر تیپ آلودگی (مقاومت کیفی به بلاست) متفاوت بودند (جدول ۱). میانگین تیپ آلودگی از ۱/۳۳ تا ۵ بوده و ژنوتیپ B40 و بینام (شاهد حساس) بیشترین میزان آلودگی را داشتند. پنج تا از ۱۰ ژنوتیپ برنج مورد مطالعه (ژنوتیپ‌های IRBLKP-K60، IRBLZ5-CA، FLAGMAN، GAMMA و رقم نعمت) تیپ آلودگی صفر تا ۲/۰ داشته و واکنش R (مقاومت) را به بلاست نشان دادند. ژنوتیپ‌های IRBLTA2-RE، IR1552، IRBLZT-T واکنش MR (نیمه مقاوم) و بقیه تحت شرایط مزرعه‌ای به بیماری بلاست حساس بودند.

ژنوتیپ‌های برنج برای مقاومت به بلاست خوشه نیز متفاوت بودند (جدول ۱). شدت آلودگی بلاست خوشه از ۷/۶۷ تا ۳۵/۷۳ درصد متغیر بود. ژنوتیپ GAMMA بیشترین میزان آلودگی بلاست خوشه را نشان داده بود و ژنوتیپ‌های B40 و FLAGMAN نیز درصد بالایی از بلاست خوشه را نشان دادند در حالی‌که ژنوتیپ‌های IRBLZ5-CA، IR1552 و IRBLZT-T کمترین میزان آلودگی بلاست خوشه را نسبت به شاهد مقاوم (نعمت) نشان دادند. لذا این ژنوتیپ‌ها خسارت خوشه کمتری نسبت به بیماری بلاست داشته‌اند (کمتر از ۱۰ درصد).

مقادیر سطح زیر منحنی پیشرفت بیماری (AUDPAC) از ۲/۸ تا ۹۵/۲۶ درصد برای بلاست برگ متغیر بود. لذا تفاوت معنی‌داری بین ژنوتیپ‌ها از این لحاظ وجود داشته و بیشترین مقدار آن به رقم بی‌نام (شاهد حساس) و ژنوتیپ‌های B40، IRBLZT-T و IR1552 تعلق داشته است. لذا این ژنوتیپ‌ها بالاترین سطح از حساسیت را نسبت به بلاست برگی از خود را نشان داده‌اند (جدول ۱). در این میان رقم نعمت با ۲/۸ کمترین مقدار AUDPAC را در مقایسه با بی‌نام (۹۵/۲۶) داشته است. سایر ژنوتیپ‌ها (ژنوتیپ‌های GAMMA، IRBLZ5-CA و IRBLKP-K60) به‌طور معنی‌داری AUDPAC کمتری از بی‌نام را نشان دادند که موید این موضوع است که این ژنوتیپ‌ها سطح بالایی از مقاومت به بلاست برگی را دارند (جدول ۱). هم‌چنین مقادیر AUDPAC برای بلاست خوشه از ۱۴/۳۳ تا

۵۵/۳۷ متغیر بود. بنابراین اختلاف معنی‌داری از لحاظ این شاخص بین ژنوتیپ‌ها وجود داشت (جدول ۱). ژنوتیپ‌های FLAGMAN و GAMMA دارای بیشترین مقدار بودند که این امر نشان می‌دهد این ژنوتیپ‌ها سطح بالاتری از حساسیت به بلاست خوشه را دارا باشند. ژنوتیپ IR1552 با ۱۴/۳۳ کمترین مقدار AUDPAC را داشته و ژنوتیپ‌های IRBLZ5-CA، IRBLZT-T و رقم نعمت، AUDPAC معنی‌دار و کمتری نسبت به بی‌نام داشتند که این امر نشان می‌دهد این ژنوتیپ‌ها سطح بالاتری از مقاومت نسبت به بلاست خوشه را دارا باشند. این ژنوتیپ‌ها می‌توانند به‌عنوان والد بخشنده جهت اصلاح ارقام مقاوم به بلاست پایدار مورد استفاده قرار گیرند.

ژنوتیپ‌های برنج به‌طور معنی‌داری از لحاظ شدت بیماری بلاست برگی برای تمام زمان‌ها متفاوت بودند (شکل ۱). ابتدا تفاوت‌ها در شدت آلودگی به بلاست بین ژنوتیپ‌های برنج مشخص نبود اما با گذشت زمان شدت بیماری بلاست برگی در ژنوتیپ‌های B40، IRBLZT-T و بی‌نام در مقایسه با سایر ژنوتیپ‌ها به سرعت پیشرفت داشته است. پیشرفت بیماری بلاست در ژنوتیپ‌های FLAGMAN، IR1552 و IRBLTA2-RE نسبت به ژنوتیپ‌های B40، IRBLZT-T و بی‌نام کمتر بوده اما در مقایسه با سایر ژنوتیپ‌ها سریع‌تر بود، که این امر سبب شده مقادیر AUDPAC این ژنوتیپ‌ها نسبت به ژنوتیپ‌های B40، IRBLZT-T و بی‌نام کمتر و نسبت به سایر ژنوتیپ‌ها بیشتر باشد (جدول ۱). ژنوتیپ‌های GAMMA، IRBLKP-K60 و IRBLZ5-CA پیشرفت بیماری متوسطی را نشان دادند. رقم نعمت کمترین پیشرفت بیماری را در تمام زمان‌ها داشته است. رقم نعمت و ژنوتیپ‌های IRBLZ5-CA، GAMMA و IRBLKP-K60 کمتر از ۵ درصد، شدت بیماری انتهایی داشته که نشان دهنده سطح بالایی از مقاومت در این ژنوتیپ‌ها می‌باشد.

شدت بلاست خوشه بین ژنوتیپ‌های برنج متفاوت بوده و با گذشت زمان این تفاوت مشخص‌تر شد به‌طوری‌که ژنوتیپ‌های IR1552، IRBLZ5-CA، IRBLZT-T و نعمت در مقایسه با سایر ژنوتیپ‌ها از شدت بیماری بلاست خوشه کمتری برخوردار بودند. در مقابل ژنوتیپ‌های GAMMA، B40 و FLAGMAN از بیشترین شدت بلاست خوشه برخوردار بودند (شکل ۲ و جدول ۱) و این امر سبب شده مقادیر AUDPAC این ژنوتیپ‌ها نیز بیشتر باشد.

جدول ۱- تیپ آلودگی (بلاست برگی)، شدت بلاست خوشه (PBS) و سطح زیر منحنی پیشرفت بیماری (AUDPC) بلاست برگی و خوشه برای ژنوتیپ‌های برنج در شرایط مزرعه‌ای

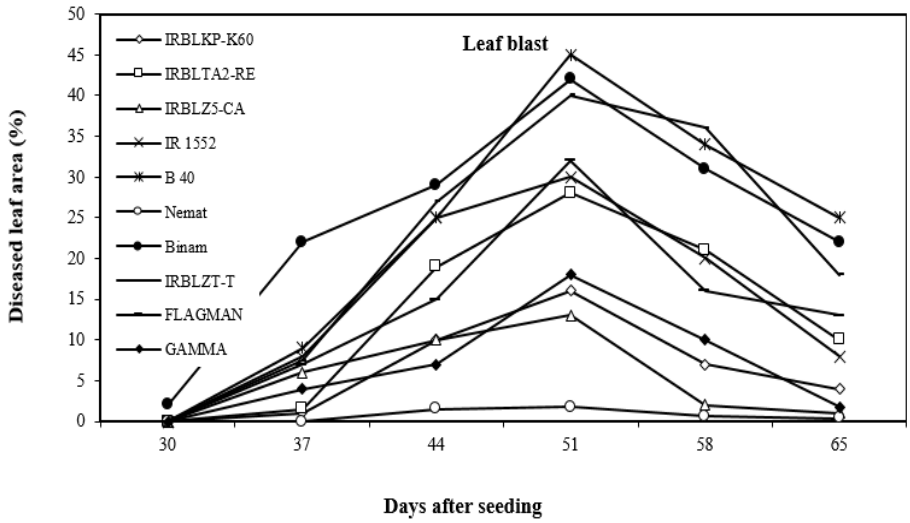
Table 1. Lesion type (leaf blast), panicle blast severity (PBS) and area under disease progress curve (AUDPAC) of leaf and panicle blast for rice genotypes in field conditions

Genotype	Origin	Leaf blast		Panicle blast		AUDPC	
		Lesion type* (Mean±SE)	Reaction	PBS** (Mean±SE)	Reaction	Leaf (Mean±SE)	Panicle (Mean±SE)
IRBLKP-K60	IRRI	2.00±0.57[bcd***]	R	11.2±0.25[e]	MR	25.1±2.01[fg]	28.4±2.65[c]
IRBLTA2-RE	IRRI	2.67±0.48[b]	MR	10.0±0.50[f]	R	52.4±2.36[e]	30.2±2.97[c]
IRBLZ5-CA	IRRI	1.33±0.35[d]	R	9.33±0.35[f]	R	22.0±1.06[g]	17.5±2.16[d]
IR1552	IRRI	2.40±0.55[bc]	MR	7.67±0.57[g]	R	59.3±5.67[d]	14.3±2.50[d]
B40	Indonesia	5.00±0.00[a]	S	25.5±0.51[c]	S	87.9±4.00[b]	47.2±3.11[b]
IRBLZT-T	IRRI	2.34±0.50[bc]	MR	9.55±0.09[f]	R	83.3±2.22[c]	18.5±2.35[d]
FLAGMAN	Russia	1.67±0.27[cd]	R	28.4±0.51[b]	S	53.6±2.25[e]	55.3±2.65[a]
GAMMA	Russia	2.00±0.00[bcd]	R	35.7±0.25[a]	S	27.9±2.15[f]	55.0±1.00[a]
Nemat	Iran	1.33±0.69[d]	R	9.73±0.26[f]	R	2.80±0.70[h]	18.6±1.40[d]
Binam	Iran	4.30±0.52[a]	S	15.1±0.29[d]	MR	95.2±3.30[a]	27.8±1.93[c]

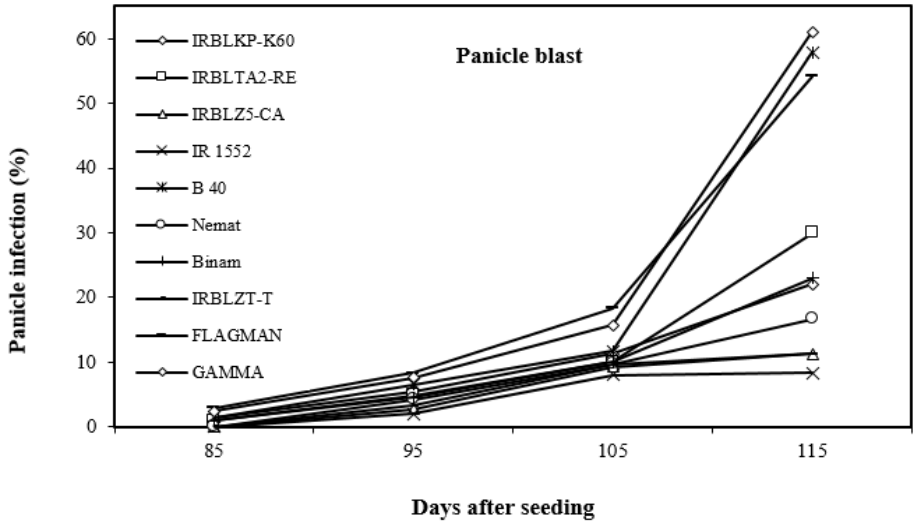
* Lesion type was measured based on a 0-5 scale; 0-2=Resistant (R), 2.1-3= Moderately resistant MR and 3.1-5=Susceptible (S).

** PBS was measured based on a 0-100 scale; 0-10=R, 11-25=MR and 26-100=S.

*** Means within a column followed by the same letters are not significantly different; P> 0.05, according to Duncan's multiple range test.

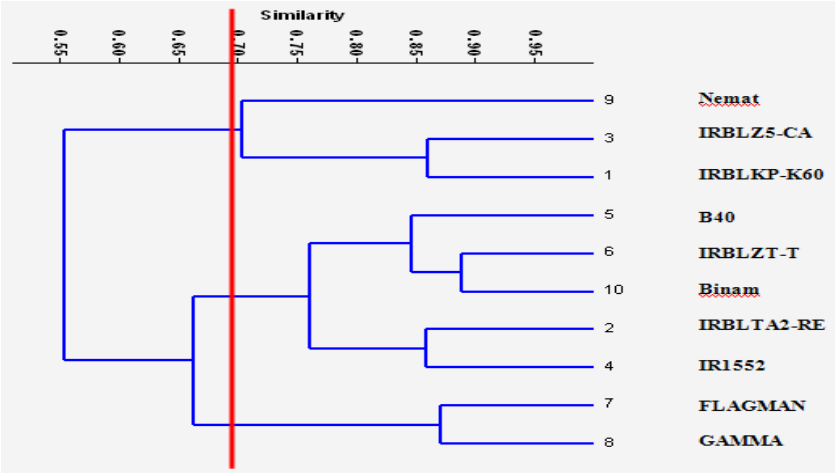


شکل ۱- منحنی پیشرفت بلاست برگی برای ژنوتیپ‌های برنج تحت شرایط مزرعه‌ای
Figure 1. Leaf blast progress curve for rice genotypes under field conditions



شکل ۲- منحنی پیشرفت بلاست خوشه برای ژنوتیپ‌های برنج تحت شرایط مزرعه‌ای
Figure 2. Panicle blast progress curve for rice genotypes under field conditions

گروه‌بندی ژنوتیپ‌های برنج مورد مطالعه بر اساس صفات مزرعه‌ای (تیپ آلودگی، شدت بلاست خوشه، پیشرفت بیماری بلاست برگی و خوشه) از طریق تجزیه خوشه‌ای با ضریب تشابه حدود ۷۰ درصد، ژنوتیپ‌ها را به سه گروه تقسیم‌بندی نمود (شکل ۳). به‌طوری‌که ژنوتیپ‌های نعمت (شاهد مقاوم)، IRBLZ5-CA و IRBLKP-K60 در گروه اول قرار گرفتند. این ژنوتیپ‌ها از نظر بلاست برگی و خوشه بیشترین مقاومت را دارا بودند. گروه دوم به دو زیر گروه تقسیم شدند به‌طوری‌که ژنوتیپ‌های B40، IRBLZT-T و بی‌نام (شاهد حساس) در زیر گروه اول قرار داشته و از نظر بلاست برگی و خوشه حساس بودند. هم‌چنین ژنوتیپ‌های IRBLTA2-RE و IR1552 در زیر گروه دوم قرار گرفتند. این ژنوتیپ‌ها از نظر بلاست برگی حساس و از نظر بلاست خوشه نیمه مقاوم بودند. ژنوتیپ‌های FLAGMAN و GAMMA در گروه سوم قرار گرفتند. این ژنوتیپ‌ها از نظر بلاست برگی نیمه مقاوم بوده اما از نظر بلاست خوشه حساس بودند.



شکل ۳- دندروگرام حاصل از تجزیه خوشه‌ای ژنوتیپ‌ها بر اساس صفات مزرعه‌ای

Figure 3. Dendrogram of cluster analysis for rice genotypes based on field characteristics

نتایج آزمایش مزرعه‌ای نشان داد که ژنوتیپ‌های B40، بی‌نام و IRBLZT-T از نظر بیماری بلاست حساس بودند. هم‌چنین سه ژنوتیپ برنج (IRBLKP-K60، IRBLZ5-CA و نعمت) سطح بالاتری از مقاومت به بلاست برگی و خوشه را دارا بودند. ژنوتیپ‌هایی که مقادیر بالاتری از بلاست برگی را داشتند (IRBLZT-T، B40 و بی‌نام) هم‌چنین درصد بالاتری از بلاست خوشه را دارا بودند که این امر نشان‌دهنده این موضوع است که آلودگی از بلاست برگ می‌تواند به آلودگی بلاست خوشه کمک نماید. یافته‌های مشابهی توسط Chaudhary et al. (2005) بیان گردید. اما استثناهایی نیز وجود داشت به عنوان مثال ژنوتیپ‌های FLAGMAN و GAMMA که بیشترین آلودگی خوشه را دارا بودند به‌طور معنی‌داری بلاست برگی کمتری را نشان دادند. این امر نشان می‌دهد که مقاومت به بلاست خوشه ممکن است در بعضی از ژنوتیپ‌های برنج مستقل از مقاومت به بلاست برگی باشد. Chaudhary et al. (2005) نیز نتایج مشابهی را گزارش کردند. از این رو قبل از معرفی رقم، ارزیابی ژنوتیپ‌ها برای بلاست برگی و خوشه در شرایط مزرعه‌ای ضروری است.

ارزیابی گلخانه‌ای

نژادهای بیماری‌زای بلاست را می‌توان برای ارزیابی مقاومت کیفی و کمی به بلاست در نسل‌های اولیه در گلخانه به کار برد. به‌طوری‌که این امر می‌تواند حجم کار را در آینده برای ارزیابی بلاست کاهش دهد.

ژنوتیپ‌های برنج مورد مطالعه برای صفات تیپ آلودگی و تعداد لکه اسپورزا در داخل و بین نژادهای مورد بررسی متفاوت بودند (جدول ۲). سه ایزوله در ژنوتیپ‌های IRBLZ5-CA، B40، IRBLZT-T و رقم بی‌نام لکه‌های اسپورزا تولید کردند. در مقایسه با رقم بی‌نام، ژنوتیپ‌های IRBLKP-K60، IRBLTA2-RE، IR1552، FLAGMAN، GAMMA و نعمت به‌طور پیوسته تعداد لکه اسپورزای کمتری داشتند. لذا این ژنوتیپ‌ها سطح خوبی از مقاومت به بلاست خوشه را دارند که این موضوع نشان می‌دهد ارزیابی گلخانه‌ای در شناسایی یا بررسی سطحی از مقاومت به بلاست ژنوتیپ‌ها می‌تواند به کار رود.

از بین ژنوتیپ‌های مورد مطالعه، IRBLKP-K60، IRBLTA2-RE، IR1552، FLAGMAN، GAMMA و نعمت واکنش فوق حساسیت به هر سه ایزوله مورد مطالعه نشان دادند که بیانگر این است که این ژنوتیپ‌ها، ژن‌های اصلی مقاومت به بیمارگر بلاست را دارا می‌باشند. هر سه ایزوله مورد مطالعه روی بوته‌های ژنوتیپ‌های IRBLZ5-CA، B40، IRBLZT-T و رقم بی‌نام تولید لکه‌های اسپورزا نمودند. این امر نشان می‌دهد که این ژنوتیپ‌ها مقاومت کمتری داشتند. همان‌طورکه Chaudhary et al. (2005) نیز گزارش

نمودند واریته‌های با مقاومت کمتر، واکنش مشابهی را در برابر ایزوله‌ها از خود نشان دادند. انتخاب برای مقاومت نسبی می‌تواند به افزایش مقاومت ژنوتیپ‌های برنج به بلاست کمک نماید (Mousanejad et al., 2010).

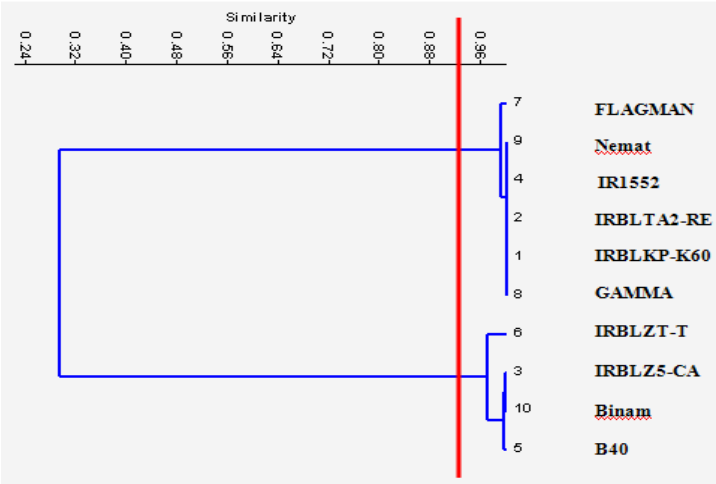
گروه‌بندی ژنوتیپ‌های برنج مورد مطالعه بر اساس صفات گلخانه‌ای (تیپ آلودگی و تعداد لکه اسپورزا) از طریق تجزیه خوشه‌ای با ضریب تشابه بیش از ۹۵ درصد، ژنوتیپ‌ها را به دو گروه تقسیم‌بندی نمود (شکل ۴). گروه اول شامل ژنوتیپ‌های FLAGMAN، نعمت، IR1552، IRBLTA2-RE، IRBLKP-K60 و GAMMA بود که این ژنوتیپ‌ها از نظر تیپ آلودگی بین صفر تا ۲ قرار گرفته و واکنش مقاومت (R) را نشان داده و هم‌چنین تولید لکه‌های اسپورزا ننمودند. گروه دوم شامل ژنوتیپ‌های IRBLZ5-CA،IRBLZT-T، بی‌نام و B40 بود که این ژنوتیپ‌ها از لحاظ تیپ آلودگی در گروه MR (نیمه مقاوم) یا S (حساس) قرار داشته و تولید لکه‌های اسپورزا نمودند.

جدول ۲- ارزیابی مقاومت به بلاست در ژنوتیپ‌های برنج با اندازه گیری تیپ آلودگی با سه ایزوله *Pyricularia grisea* در شرایط گلخانه‌ای

Table 2. Evaluation of resistance to blast in rice genotypes measured by lesion type with three isolates of *Pyricularia grisea* in greenhouse conditions

Genotype	IA-25		IA-82		Iran-47	
	Lesion type*	Number of sporulating lesion (Mean±SE)	Lesion type	Number of sporulating lesion (Mean±SE)	Lesion type	Number of sporulating lesion (Mean±SE)
IRBLKP-K60	2	0.0±0.0	2	0.0±0.0	1	0.0±0.0
IRBLTA2-RE	1	0.0±0.0	1	0.0±0.0	1	0.0±0.0
IRBLZ5-CA	4	11.0±1.31	5	22.6±1.10	4	18.6±0.16
IR1552	2	0.0±0.0	1	0.0±0.0	1	0.0±0.0
B40	5	24.0±1.06	5	28.1±0.86	5	25.7±0.57
IRBLZT-T	3	4.7±0.27	4	10.2 ±1.03	3	5.4±0.06
FLAGMAN	2	0.0±0.0	2	0.5±0.39	1	0.0±0.0
GAMMA	2	0.0±0.0	2	0.0±0.0	1	0.0±0.0
Nemat	1	0.0±0.0	1	0.0±0.0	0	0.0±0.0
Binam	3	7.0±0.94	4	13.4±0.48	5	22.5±1.01

* Lesion type measured based on a 0-5 scale; 0-2=R, 2.1-3=MR and 3.1-5=S.



شکل ٤- دندروگرام حاصل از تجزیه خوشه‌ای ژنوتیپ‌ها بر اساس صفات گلخانه‌ایی

Figure 4. Dendrogram of cluster analysis for rice genotypes based on greenhouse characteristics

این نتایج نشان می‌دهد که ارزیابی برای مقاومت در برنج نسبت به بلاست می‌تواند با مایه‌زنی یک ایزوله بیماری‌زا انجام گیرد. نتایج مشابهی توسط Imbe et al. (2000) گزارش شده است. به واسطه ارتباط بین مقاومت نسبی و پایدار به بلاست (Mackill and Bonman, 1992)، انتخاب برای مقاومت نسبی می‌تواند به افزایش مقاومت ژنوتیپ‌های برنج به بلاست کمک نماید.

سپاس گزاری

بدین وسیله از همکاری آقایان مهندس افخمی و مهندس صالحیان در اجرای این طرح پژوهشی تشکر می گردد.

REFERENCES

Bastiaans, L. 1991. Ratio between virtual and visual lesion size as a measure to describe reduction in leaf photosynthesis of rice due to leaf blast. Phytopathology, 81: 611-615.

Bonman, J.M, Khush, G.S., and Nelson, R.J. 1992. Breeding rice for resistance to pests. Annual Review of Phytopathology, 30: 507-528.

Bonman, J.M. 1992a. Blast. In: Webster, R.K. and Gunnel, P.S. (eds), Compendium of rice diseases. The American Phytopathological Society, St. Paul, Minnesota, USA, pp: 14-16.

Bonman, J.M. 1992b. Durable resistance to rice blast-environmental influences. Euphytica, 63: 115-123.

Bonman, J.M., and Mackill, D.J. 1988. Durable resistance to rice blast. Oryza, 25: 103-110.

Chaudhary, B. 1999. Effect of blast disease on rice yield. Nepal Agriculture Research Journal, 3: 8-13.

Chaudhary, B. 2001. Rice blast disease: Pathogenic variability and host resistance. Master Thesis. Institute of Agriculture and Animal Sciences, Rampur, Nepal, pp: 1-98.

Chaudhary, B., and Sah, D.N. 1998. Efficacy of beam 75 WP in controlling leaf blast disease at the seedling stage of rice. Nepal Agriculture Research Journal, 2: 42-47.

Chaudhary, B., Karki, B.P., and Lal, K.K. 1994. Neck blast resistant lines of radha-17 isolated. International Rice Research Notes, 19(11): 1-38.

Chaudhary, B., Shrestha, S.M., and Sharma, R.C. 2005. Resistance in rice breeding lines to the blast fungus in Nepal. Nepal Agriculture Research Journal, 6: 49-56.

Imbe, T., Tsunematsu, H., Kato, H., and Khush, G.S. 2000. Genetic analysis of blast resistance in IR varieties and resistant breeding strategy. In Tharreau, D., Lebrun, M.H., Talbot, N.J, and Notteghem, J.L. (eds), Advances in rice blast research. Kluwer Academic Publishers, Amsterdam the Netherlands, pp: 1-364.

IRRI. 2002. Standard evaluation system for rice (SES). Manila, the Philippines, pp: 1-56.

Koutroubas, S.D., Katsantonis, D., Ntanos, D.A., and Lupotto, E. 2009. Blast disease influence on agronomic and quality traits of rice varieties under Mediterranean conditions. Turkish Journal of Agriculture and Forestry, 33: 487-494.

Mackill, A.O., and Bonman, J.M. 1986. New hosts of *Pyricularia oryzae*. Plant Disease, 70: 123-129.

Mackill, D.J., and Bonman, J.M. 1992. Inheritance of blast resistance in near-isogenic lines of rice. Phytopathology, 82: 746-749.

Mousanejad, S., Alizadeh, A., and Safaie, N. 2010. Assessment of yield loss due to rice blast disease in Iran. Journal of Agricultural Science and Technology, 12: 357-364.

Roumen, E.C. 1992a. Effect of leaf age on partial resistance in rice to leaf blast. Euphytica, 63: 271-279.

Roumen, E.C. 1992b. Small differential interactions for partial resistance in rice cultivars to virulent isolates of the blast pathogen. Euphytica, 64: 143-148.

Shaner, G., and Finney, R.E. 1977. The effect of nitrogen fertilization on expression of slow-mildewing resistance in Knox wheat. Phytopathology, 76: 1051-1056.

Teng, P.S., Klein-Gebbinck, H., and Pinnschmidt, H. 1991. An analysis of the blast pathosystem to guide modeling and forecasting. In: Blast Modeling and Forecasting. IRRI, Manila, Philippines, pp: 1-30.

Zhu, Y.Y., Fang, H., Wang, Y.Y., Fan, J.X., Yang, S.S., Mew, T.W., and Mundt, C.C. 2005. Panicle blast and canopy moisture in rice cultivar mixtures. Phytopathology, 95: 433-438.

Evaluation of resistance to *Pyricularia oryzae* in rice genotypes

A. Pasha[1]*, N. Bagheri[2], N. Babaeian-Jelodar[3] and G. Nematzadeh[3]

1. ***Corresponding Author**: Former M.Sc. Student, Department of Plant Breeding, Sari Agricultural Sciences and Natural Resources University, Sari, Iran (arampasha@yahoo.com)
2. Assistant Professor, Department of Plant Breeding, Sari Agricultural Sciences and Natural Resources University, Sari, Iran
3. Professors, Department of Plant Breeding, Sari Agricultural Sciences and Natural Resources University, Sari, Iran

Received: 27 June 2012 Accepted: 26 July 2016

Abstract

Rice blast, caused by *Pyricularia grisea* Sacc, has been a continuous threat to rice production. Eight rice genotypes along with two checks (Nemat as resistance check and Binam as susceptible check) were evaluated for resistance to blast in 2011. The experiments were conducted under field and greenhouse inoculated conditions. The results of field experiments based on lesion type, panicle blast severity and AUDPC data for leaf and panicle blast showed that B40, Binam and IRBLZT-T genotypes are sensitive and three rice genotypes (IRBLKP-K60, IRBLZ5-CA and Nemat) possess a higher level of resistance to leaf and panicle blast. Also, FLAGMAN and GAMMA genotypes with the highest panicle infection showed significantly lower leaf blast. Grouping of rice genotypes based on greenhouse traits (lesion type and Number of sporulating lesion) by cluster analysis with Ward's method and Euclidean distance criteria classified genotypes to two groups. The first group including FLAGMAN, Nemat, IR1552, IRBLTA2-RE, IRBLKP-K60 and GAMMA genotypes had lesion type between 0.0 to 2.0, and showed resistance reaction. These genotypes could be utilized as donor parents for breeding durable blast resistant varieties. The second group including IRBLZT-T, IRBLZ5-CA, Binam and B40 genotypes had lesion type more than 2.0, showed sensitive reaction and also generated sporulating lesion.

Keywords: Rice blast, Resistance, Field and greenhouse assay, Cluster analysis