

تحقیقات غلات

دوره نهم / شماره سوم / پاییز ۱۳۹۸ (۲۰۶-۱۹۳)

غربال ژنوتیپ‌های برنج (*Oryza sativa* L.) برای تحمل و حساسیت به بلاست برگ تحت شرایط آلودگی مصنوعی در مزرعه

سیده سهیلا زربافی^۱، بابک ربیعی^{۲*} و علی اکبر عبادی^۳

تاریخ پذیرش: ۱۳۹۸/۰۵/۲۳

تاریخ دریافت: ۱۳۹۸/۰۲/۲۲

چکیده

بیماری بلاست که توسط قارچ *Pyricularia oryzae* ایجاد می‌شود، یکی از بیماری‌های مهم برنج است که عملکرد برنج را در بعضی از سال‌ها تا ۸۰-۷۰ درصد کاهش می‌دهد. شیوه‌های مناسب کنترل این بیماری همیشه مورد توجه محققین بوده و به‌ویژه معرفی ارقام متحمل همیشه به‌عنوان یکی از مهم‌ترین اهداف اصلاحی مدنظر به‌نژادگران برنج بوده است. هدف از اجرای تحقیق حاضر، غربال ژنوتیپ‌های برنج برای تحمل به بیماری بلاست برگ تحت شرایط آلودگی مصنوعی در مزرعه بود. در این تحقیق، تعداد ۱۲۱ ژنوتیپ برنج از مجموعه ژرم‌پلاسم‌های مؤسسه تحقیقات برنج کشور (RRII) و مؤسسه تحقیقات بین‌المللی برنج (IRRI) انتخاب و در قالب یک طرح لاتیس ۱۱×۱۱ با دو تکرار تحت شرایط آلودگی مصنوعی با قارچ عامل بیماری بلاست در مزارع تحقیقاتی مؤسسه تحقیقات برنج کشور (رشت) در سال ۱۳۹۴ کشت شدند. صفات مورد مطالعه شامل تعداد لکه‌ها، تعداد لکه‌های اسپورزا، سطح آلودگی، درصد آلودگی، تیپ آلودگی و سطح زیر منحنی پیشرفت بیماری بودند که در خزانه بلاست در گیاهان تلقیح‌یافته با قارچ عامل بیماری اندازه‌گیری شدند. نتایج نشان داد که تفاوت بسیار معنی‌داری ($P < 0.01$) بین ژنوتیپ‌ها برای همه صفات مورد بررسی وجود داشت و بیش‌تر صفات دارای وراثت‌پذیری عمومی و ضرایب تغییرات فنوتیپی و ژنوتیپی بالایی بودند. نتایج تجزیه خوشه‌ای جهت طبقه‌بندی ژنوتیپ‌ها بر اساس صفات مرتبط با بلاست برگ نشان داد که می‌توان ژنوتیپ‌های مورد مطالعه را به سه گروه متفاوت بر مبنای میزان حساسیت و تحمل به بلاست برگ تفکیک کرد. به‌طور کلی، نتایج این تحقیق نشان داد که از بین ژنوتیپ‌های مورد مطالعه، تعداد هشت ژنوتیپ متحمل به بلاست برگ بودند و ژنوتیپ‌های مهم و شاخص در بین آن‌ها ندا و خزر بودند. از ژنوتیپ‌های متحمل می‌توان جهت دستیابی به ارقام متحمل به بلاست برگ در برنامه‌های به‌نژادی آینده استفاده کرد.

واژه‌های کلیدی: سطح زیر منحنی پیشرفت بیماری، لکه‌های اسپورزا، نوع آلودگی، وارسته‌های بومی

۱- دانشجوی دکتری، گروه مهندسی تولید و ژنتیک گیاهی، دانشکده علوم کشاورزی، دانشگاه گیلان، رشت، ایران

۲- استاد، گروه مهندسی تولید و ژنتیک گیاهی، دانشکده علوم کشاورزی، دانشگاه گیلان، رشت، ایران

۳- استادیار پژوهش، مؤسسه تحقیقات برنج کشور، سازمان تحقیقات، آموزش و ترویج کشاورزی، رشت، ایران

* نویسنده مسئول: rabiei@guilan.ac.ir

مقدمه

ساله کاهش محصول به‌ویژه در ارقام محلی گزارش شده است (Majidi and Padasht, 2010).

جهت غلبه بر کاهش عملکرد ناشی از بیماری بلاست، روش‌های مدیریتی مختلفی مانند کنترل شیمیایی، کنترل زیستی، پیش‌بینی بیماری و روش‌های اصلاحی مرسوم (انتخاب عملکرد، روش شجره‌ای و اصلاح از طریق جهش) گسترش یافت. استفاده از مواد شیمیایی و آفت‌کش‌ها مؤثرترین روش جهت کنترل بیماری بلاست است، اما کشاورزان در کشورهای در حال توسعه به‌دلیل هزینه‌های بالا از مواد شیمیایی استفاده نمی‌کنند. از سوی دیگر، دلایلی هم‌چون آثار ویرانگر بر محیط زیست موجب می‌شود که استفاده از مواد شیمیایی محدود شود. هم‌چنین استفاده بیش از حد از مواد شیمیایی منجر به ایجاد نژادهای مقاوم تحت فشار انتخاب می‌شود. اگرچه تأثیر کنترل زیستی در شرایط آزمایشگاهی، مزرعه و گلخانه مثبت بوده است، اما هنوز در مقیاس تجاری مورد بررسی قرار نگرفته است (Gnanamanickam and Mew, 1992; Chatterjee et al., 1996; Krishnamurthy and Gnanamanickam, 1998). با وجود دهه‌ها تحقیق در مورد بیماری بلاست، ریشه‌کنی بیماری به‌صورت تکنیکی امکان‌پذیر نیست، اما رویکردهای تلفیقی کنترل بیماری هم‌چون استفاده از قارچ‌کش‌ها، ژنوتیپ‌های مقاوم، روش‌های زراعی متعادل و استفاده از عوامل کنترل زیستی تا حدود زیادی در کنترل این بیماری موفق بوده‌اند (Ribot et al., 2008). از بین همه روش‌ها، بهترین روش دوستدار محیط زیست جهت کنترل بیماری بلاست، استفاده از ارقام مقاوم یا متحمل و روش‌های کنترل زیستی است (Ghazanfar et al., 2009). از این‌رو، اصلاح ارقام مقاوم به بیماری بلاست، موضوع مهمی در برنامه‌های اصلاحی برنج است و مؤثرترین و اقتصادی‌ترین راه جهت کنترل این بیماری می‌باشد.

اصلاح ارقام مقاوم برنج بدون از دست دادن عملکرد واقعی آن نیازمند داشتن اطلاعات کافی از ارتباط بین مقاومت و صفات مرتبط با عملکرد می‌باشد. علاوه بر آن، انتخاب لاین‌های والدینی مناسب با تنوع ژنتیکی بالا در برنامه‌های اصلاح نباتات جهت تولید ارقام با عملکرد بالا، به‌ویژه در مناطق تحت کشت برنج که تحت تأثیر بیماری بلاست هستند، حائز اهمیت است (Fareghi et al., 2007). تجزیه خوشه‌ای از طریق گروه‌بندی ارقام در گروه‌های مختلف، فاصله ژنتیکی بین آن‌ها را مشخص کرده

از بین تنش‌های زیستی، بیماری بلاست که به وسیله قارچ *Pyricularia oryzae* (در حالت جنسی مترادف با *Magnaporthe oryzae*) ایجاد می‌شود (Rossman et al., 1990) از بیماری‌های مهم برنج است که در اغلب مناطق تحت کشت برنج عملکرد گیاه را تا میزان ۸۰-۷۰ درصد کاهش می‌دهد (Miah et al., 2013; Nasruddin and Amin, 2013).

بلاست اولین بار در چین (۱۶۳۷)، ژاپن (۱۷۰۴)، آمریکا (۱۸۷۶) و هند (۱۹۱۳) مشاهده شد (Ou, 1985). این بیماری تا کنون از ۸۵ کشور یا مناطق تولیدکننده برنج گزارش شده است. بیماری بلاست آثار مخربی بر برنج لولند در مناطق نیمه‌گرمسیری آسیا و برنج آپلند در مناطقی از آسیا، آمریکای لاتین و آفریقا دارد (IRRI, 2016). اگرچه بیماری بلاست به‌دلیل شرایط محیطی مطلوب برای وقوع بیماری و توزیع گسترده آن در جهان، مخرب‌ترین بیماری برنج در نظر گرفته شده است، اما اطلاعات کمی در مورد خسارت دقیق سالانه آن بر عملکرد برنج موجود است. میزان خسارت بیماری بلاست در جهان بین سال‌های ۱۹۷۵ تا ۱۹۹۰ به میزان ۱/۶ میلیارد دلار تخمین زده شده است (Baker et al., 1997). کاهش عملکرد به ۱۰-۵ درصد، ۸ درصد و ۱۴ درصد به‌ترتیب در هند از سال ۱۹۶۰ تا ۱۹۶۱، کره از اواسط دهه ۱۹۷۰ و چین از ۱۹۸۰ تا ۱۹۸۱ گزارش شده است (IRRI, 2016). بیش‌ترین میزان خسارت بین ۵۰ تا ۸۵ درصد از کشور فیلیپین در سال ۱۹۶۳ گزارش شده است (IRRI, 2016). میزان خسارت سالیانه برنج توسط بیماری بلاست به‌میزان تغذیه ۶۰ میلیون نفر در هر سال است (Pennisi, 2010).

این بیماری در ایران اولین بار در سال ۱۳۲۸ توسط شریف از لاهیجان گزارش شد و تا سال ۱۳۴۸ که خسارت قابل توجهی به مزارع برنج شهرستان رودسر وارد کرد، مورد توجه نبود. علت شیوع این بیماری در مزارع شمال کشور به احتمال بسیار زیاد مربوط به استفاده از کود شیمیایی نیتروژنه است که مصرف آن از حدود سال ۱۳۴۷-۱۳۴۶ در این مناطق رایج شد. خسارت این بیماری در استان گیلان در سال ۱۳۵۳ تقریباً ۱۰ درصد کل محصول برآورد شد و در اپیدمی سال ۱۳۷۳ سوختگی شدید برگ‌ها و آلودگی ۸۰ تا ۱۰۰ درصد مزارع شهرستان رودسر استان گیلان را به‌دنبال داشت. اگرچه در سال‌های بعد میزان خسارت ناشی از بیماری بلاست توسط سموم شیمیایی کنترل شد، اما هر

غربال ژنوتیپ‌های برنج برای تحمل و حساسیت به بلاست برگ و الگوی تنوع ژنتیکی ارقام را در اختیار قرار می‌دهد (Franco *et al.*, 1997).

پوری و همکاران (Puri *et al.*, 2009) میزان مقاومت ۱۸۲ لاین اصلاح‌شده برنج را در شرایط گلخانه مورد بررسی قرار دادند. آن‌ها گزارش کردند که همبستگی مثبت و معنی‌داری بین آلودگی به بلاست برگ و آلودگی به بلاست گردن خوشه وجود دارد. لاین‌های برنج حاصل از KIII/IR64, Irradiated Pusa Basmati (IPB) و Masuli/IR64 به‌عنوان منابع مقاومت به بلاست در برنامه‌های اصلاحی معرفی شدند. در مطالعه سینگ و همکاران (Singh *et al.*, 2013)، مقاومت ژنوتیپ‌ها علیه بیماری بلاست برنج به‌وسیله تلقیح مصنوعی در مزارع مورد بررسی قرار گرفت. در بررسی بلاست، هیچ کدام از واریته‌ها و هیبریدهای F₁ مقاومت بالایی نشان ندادند. از بین لاین‌های والدی، Anjali مقاوم، Vandana, HUR3022, HUR105 و BPT5204 تقریباً مقاوم و شش لاین تقریباً تا بسیار حساس بودند. از بین هیبریدها نیز تنها دو هیبرید (Vandana × BPT5204 و Anjali × BPT5204) به بیماری بلاست مقاوم بودند. کومبهار و همکاران (Kumbhar *et al.*, 2013) نیز جهت بررسی نحوه توارث مقاومت به بلاست در برنج از جمعیت F₂ حاصل از تلاقی بین ژنوتیپ حساس به بلاست EK70 و رقم مقاوم RDN98-2-3-5-14 استفاده کردند. جمعیت F₂ والدین، جهت بررسی واکنش به بلاست در طول یک فصل بارانی در سال ۲۰۱۱، تحت شرایط اپیدمی طبیعی بلاست مورد بررسی قرار گرفتند. از بین ۱۵۰ گیاه F₂ انتخاب‌شده به صورت تصادفی، تعداد ۱۱۱ گیاه مقاوم و ۳۹ گیاه حساس بودند. اطلاعات فنوتیپی بلاست نشان داد که جمعیت F₂ به نسبت ۳:۱ (مقاوم به حساس) تفرق یافته است که نشان‌دهنده این مطلب است که مقاومت در RDN98-2 توسط تک ژن غالب کنترل می‌شود.

دیویا و همکاران (Divya *et al.*, 2015) ارتباط بین صفات عملکردی و مقاومت به بلاست را مورد بررسی قرار دادند. نتایج حاصل از تجزیه همبستگی و تجزیه مسیر نشان داد که تیپ آلودگی، احتمال وقوع بیماری، تعداد لکه‌ها و سطح برگ آلوده دارای همبستگی مستقیم معنی‌دار و بیش‌ترین اثر مستقیم مثبت بر حساسیت به بلاست برگ بودند. علاوه بر این، تعداد پنجه‌های بارور دارای بیش‌ترین همبستگی ژنوتیپی با عملکرد دانه بود. فرحزادی و همکاران (Farahzadi *et al.*, 2016)، تعداد ۲۰ رقم برنج ایندیکا را

در مرحله سه تا چهار برگی با *Magnaporthe oryzae* تلقیح و سپس درجه آلودگی به بلاست را بر اساس مقیاس صفر (بدون آلودگی) تا پنج (خسارت شدید با ضایعات دوکی شکل و تخریب قسمت فوقانی برگ) ارزیابی و ارقام مورد مطالعه را با استفاده از تجزیه خوشه‌ای به روش UPGMA به سه گروه حساس، نیمه‌حساس و مقاوم تقسیم کردند. پاشا و همکاران (Pasha *et al.*, 2017) تعداد هشت ژنوتیپ برنج را به‌همراه دو رقم نعمت (شاهد مقاوم) و بی‌نام (شاهد حساس) برای مقاومت به بیماری بلاست، ارزیابی و ژنوتیپ‌ها را بر اساس صفات گلخانه‌ای شامل تیپ آلودگی و تعداد لکه‌های اسپورزا با استفاده از تجزیه خوشه‌ای به روش UPGMA و مقیاس تشابه همبستگی به دو گروه تقسیم کردند. گروه اول شامل ژنوتیپ‌های FLAGMAN, نعمت, IR1552, IRBLTA2-RE, IRBLKP-K60 و GAMMA بودند که واکنش مقاومت را نشان دادند و از این‌رو، این ژنوتیپ‌ها را به‌عنوان والد بخشنده برای اصلاح ارقام با مقاومت پایدار پیشنهاد کردند. گروه دوم شامل ژنوتیپ‌های IRBLZ5-CA, IRBLZT-T, بی‌نام و B40 بود که از لحاظ تیپ آلودگی در گروه حساس قرار داشتند و لکه‌های اسپورزا تولید کردند. قدسیا و همکاران (Qudisia *et al.*, 2017) از ۵۲ ژنوتیپ برنج که شامل یک ژنوتیپ شاهد حساس (Basmati C-622) نیز بود، جهت شناسایی منابع جدید مقاومت و دستیابی به تنوع موجود در ژرم‌پلاسم مورد مطالعه بر اساس واکنش این ارقام به قارچ *P. oryzae* استفاده کردند. ژنوتیپ‌های موجود در مطالعه پس از تلقیح با پاتوژن، به چهار گروه تقریباً مقاوم، تقریباً حساس، حساس و بسیار حساس تقسیم شدند. گروه‌بندی ژنوتیپ‌های موجود در هر گروه بر اساس واکنش مشابه آن‌ها علیه بیماری بلاست بود. اولین گروه شامل نه ژنوتیپ، به‌عنوان تقریباً مقاوم گروه‌بندی شد. آن‌ها معتقد بودند که اغلب ژنوتیپ‌های این گروه بسیار شبیه یکدیگر بودند و این شباهت احتمالاً به دلیل شباهت آن‌ها در منشأ و خاستگاه ژنوتیپ‌ها است.

با توجه به اهمیت بیماری بلاست و میزان خسارتی که هر ساله ایجاد می‌کند، این تحقیق اجرا شد که هدف از آن، غربال تعدادی از ژنوتیپ‌های برنج از نظر تحمل و حساسیت به بلاست برگ تحت شرایط آلودگی مصنوعی در خزانه بلاست بود. امید آنکه با شناسایی ژنوتیپ‌های متحمل و استفاده از آن‌ها در برنامه‌های به‌نژادی بتوان کمک ناچیزی به محیط زیست در کنترل غیرشیمیایی این بیماری کرد.

مواد و روش‌ها

مواد گیاهی و شرایط آزمایشی

مواد گیاهی این تحقیق شامل ۱۲۱ ژنوتیپ برنج بود که از مجموعه ژرم پلاسما برنج مؤسسه تحقیقات برنج کشور (RRRI) در رشت و مرکز تحقیقات بین‌المللی برنج (IRRI) فیلیپین بر مبنای وجود تنوع مناسب از نظر تحمل و حساسیت به بیماری بلاست انتخاب شد. این ژنوتیپ‌ها شامل ۳۳ رقم محلی ایرانی، ۲۶ لاین اصلاح شده ایرانی و ۶۲ لاین اصلاحی با منشأ خارجی بودند و دو رقم بین‌المللی مقاوم (TE-TEP) و حساس (IR50) به بیماری بلاست نیز همراه با سایر ارقام مورد بررسی قرار گرفتند (جدول ۱). ژنوتیپ‌های برنج مورد بررسی جهت بررسی صفات مرتبط با بلاست برگ در قالب طرح لاتیس مربع ساده ۱۱×۱۱ با دو تکرار در خزانه بلاست مؤسسه تحقیقات برنج کشور (رشت) در سال زراعی ۱۳۹۴ کشت شدند.

سوسپانسیون قارچ و تلقیح عامل بیماری

اگرچه در زمان انتخاب شده برای اجرای آزمایش، اسپوره‌های طبیعی قارچ عامل بیماری بلاست به اندازه کافی در هوا وجود داشتند، با این وجود سوسپانسیون اسپور حاصل از شستشوی برگ‌های آلوده به بیماری بلاست (جمع‌آوری شده از مزارع مختلف استان) روی خزانه پخش شد. تهیه سوسپانسیون حاوی قارچ عامل بیماریزای بلاست بر اساس روش میورا و همکاران (Miura *et al.*, 2005) و تاکاهاشی و همکاران (Takahashi *et al.*, 2009) انجام شد. در خزانه بلاست (جهت بررسی بلاست برگ)، سوسپانسیون تهیه شده هر هفته روی ژنوتیپ‌های برنج پاشیده شد و پس از مشاهده اولین علائم آلودگی، اندازه‌گیری صفات به صورت هفتگی (در مجموع پنج هفته) با فاصله زمانی هفت روز انجام شد. از هر ژنوتیپ پنج نمونه برگی (برگ‌های ماقبل برگ پرچم) مورد بررسی قرار گرفت.

صفات مورد مطالعه و تجزیه و تحلیل داده‌ها

صفات مورد مطالعه شامل تعداد لکه‌ها، تعداد لکه‌های اسپورزا، سطح آلودگی بر اساس روش پین‌اشمیت و همکاران (Pinnschmidt *et al.*, 1993) (رابطه ۱)، درصد آلودگی بر اساس رابطه ۲ (IRRI, 1996)، تیپ آلودگی بر اساس مقیاس صفر تا ۹ (IRRI, 2002) و سطح زیر منحنی پیشرفت بیماری (AUDPC) بر اساس رابطه ۳ ارائه شده توسط شانر و همکاران (Shaner *et al.*, 1978) بودند:

$$SS = \frac{SW}{15} \left\{ 6SW + \left[\frac{1}{4} (SL^2 + SW^2) \right] \right\} \quad (1)$$

که در آن، SS مساحت لکه (میلی‌متر مربع)، SW عرض لکه در عریض‌ترین ناحیه (میلی‌متر) و SL طول لکه در طویل‌ترین ناحیه (میلی‌متر) است.

$$IP = \frac{CA}{LA} \times 100 \quad (2)$$

در این رابطه، IP درصد آلودگی، CA مساحت آلودگی (میلی‌متر مربع) و LA مساحت برگ (میلی‌متر مربع) است.

$$AUDPC = \sum_{i=1}^{N-1} \frac{(y_i + y_{i+1})}{2} (t_{i+1} - t_i) \quad (3)$$

که در آن، y_i درصد آلودگی در زمان t_i ، t_i زمان i ام اندازه‌گیری و N تعداد کل زمان‌های اندازه‌گیری درصد آلودگی است.

تجزیه واریانس در قالب طرح لاتیس مربع انجام و سپس ضرایب تغییرات ژنوتیپی (GCV) و فنوتیپی (PCV) با استفاده از واریانس‌های ژنوتیپی (σ_G^2) و فنوتیپی (σ_P^2) و نیز میانگین صفات (\bar{X}) بر اساس روابط ۴ تا ۷ محاسبه شد. میزان وراثت‌پذیری عمومی (h_b^2) نیز از طریق رابطه ۸ محاسبه شد. جهت گروه‌بندی ژنوتیپ‌ها بر اساس صفات مورد مطالعه نیز از تجزیه خوشه‌ای به روش متوسط فاصله بین گروه‌ها (UPGMA) و معیار فاصله اقلیدسی بر اساس داده‌های استاندارد شده استفاده و ناحیه با بیش‌ترین فاصله بین مقادیر ادغام دو مرحله متوالی به‌عنوان بهترین ناحیه برش دندروگرام تجزیه خوشه‌ای در نظر گرفته شد.

$$GCV = \frac{\sqrt{\sigma_G^2}}{\bar{X}} \times 100 \quad (4)$$

$$PCV = \frac{\sqrt{\sigma_P^2}}{\bar{X}} \times 100, \quad \sigma_P^2 = \sigma_G^2 + \frac{\sigma_e^2}{r} \quad (5)$$

$$\sigma_G^2 (RCBD) = \frac{MS_G - MS_E}{r} \quad (6)$$

$$\sigma_G^2 (Lattice) = \frac{MS_G (Adj) - MS_E \times \frac{K+1}{K}}{r} \quad (7)$$

$$h_b^2 = \frac{\sigma_G^2}{\sigma_P^2} \times 100 \quad (8)$$

جهت تجزیه و تحلیل آماری داده‌ها از مجموعه نرم‌افزارهای SAS نسخه ۹ (SAS Institute, 2002) و SPSS نسخه ۲۴ (SPSS, 2016) استفاده شد.

جدول ۱- ژنوتیپ‌های برنج مورد استفاده در تحقیق حاضر

Table 1. Rice genotypes studied in the current research

No.	Genotypes	Attribute/ Parentage	Origin	No.	Genotypes	Attribute/Parentage	Origin
1	Binam	Landrace	Iran	31	Gardeh	Landrace	Iran
2	Anbarboo	Landrace	Iran	32	Tarom-Mahali	Landrace	Iran
3	Domsiah- Soleimandarab	Landrace	Iran	33	Tarom-Amiri	Landrace	Iran
4	Gardeh-Ramhormoz	Landrace	Iran	34	Khazar	Tanu7456/IR2071-625-252	Iran
5	Hashemi	Landrace	Iran	35	Koohsar	-	Iran
6	Shahpasand	Landrace	Iran	36	Gil 1	-	Iran
7	Domsiah	Landrace	Iran	37	Hoveizeh	-	Iran
8	Domsefid	Landrace	Iran	38	Shiroodi	Deilamani/Khazar	Iran
9	Gharib	Landrace	Iran	39	Keshvari	-	Iran
10	Mousa-Tarom	Landrace	Iran	40	Danial	-	Iran
11	Domzard	Landrace	Iran	41	Pajouhesh	-	Iran
12	Hassansaraee	Landrace	Iran	42	Jelodar	-	Iran
13	Hassani	Landrace	Iran	43	Pardis	-	Iran
14	Champa Bodar	Landrace	Iran	44	Zayanderoud	-	Iran
15	Hassansaraee Atashgah	Landrace	Iran	45	Sazandegi	-	Iran
16	Shahpasand- Mazandaran	Landrace	Iran	46	Ghaem	-	Iran
17	Hassansaraee Pichideh Ghalaf	Landrace	Iran	47	Sahel	-	Iran
18	Domsorkh	Landrace	Iran	48	Fajr	Result of line IR7328	Iran
19	Salari	Landrace	Iran	49	Sepidroud	Garmsadri/IR8//IR28	Iran
20	Gharib-Siah-Reihani	Landrace	Iran	50	Shafagh	-	Iran
21	Ali Kazemi	Landrace	Iran	51	Tabesh	Mutated line	Iran
22	Anbouri-Ahvaz	Landrace	Iran	52	Dorfak	Salari/Sepidroud	Iran
23	Champa Ahvaz	Landrace	Iran	53	Bejar	Domsiah/IR8/IR28	Iran
24	Sang-e-Tarom	Landrace	Iran	54	Nemat	Sang-e-tarom/Amol 3	Iran
25	Ahlami-Tarom	Landrace	Iran	55	Neda	Sangtarom/Amol 3//Hassansaraee	Iran
26	Tarom-Mantagheh	Landrace	Iran	56	Dasht	Amol1/IR29	Iran
27	Zireh	Landrace	Iran	57	Mohammadi- Chaparsar	Landrace	Iran
28	Tarom	Landrace	Iran	58	Kadous	Sepidroud/Salari	Iran
29	Deilamani	Landrace	Iran	59	Pooya	Mutated line	Iran
30	Ghashange	Landrace	Iran	60	IR28	IR833-6-1-1-1/IR1561-149- 1//IR1737	IRRI

Table 1. Continued				جدول ۱- ادامه			
No.	Genotypes	Attribute/Parentage	Origin	No.	Genotypes	Attribute/Parentage	Origin
61	IR36	IR1561-228-L2/IR1737/ /CR94-13	IRRI	91	Line 338	-	IRRI
62	IR50	IR2153-14-1-6-2/IR28//IR36	IRRI	92	Line 120	-	IRRI
63	IR60	IR4432-53-3-3/.Ptb 33/IR36	IRRI	93	Fujiminori	TOHOKU 25/FUJISAKA 5	Japan
64	IR67015-49-2-6	PUSA615-140-10-1/IR59645- 146-2-6-2	IRRI	94	Line 6	-	IRRI
65	IR66232-88-2-2-1	-	IRRI	95	Line 839	-	IRRI
66	Line 213	-	IRRI	96	Line 830	-	IRRI
67	IR4491-89-1	IR-2153-14-1-6-2/IR-28/IR-36	IRRI	97	Line 831	-	IRRI
68	TE-TEP	-	Vietnam	98	Line 833	-	IRRI
69	USEN	-	Egypt	99	Line 834	-	IRRI
70	NP-125	-	India	100	Line 835	-	IRRI
71	IR30	IR1541-102-6- 3//IR20*4/ <i>O.nivara</i>	IRRI	101	IR70445- 146-3-3	-	IRRI
72	Mazandaran IR50	-	IRRI	102	IR67418- 110-3-2-2-2	IR59645-146-2-6- 2/IR62873-278-4-3	IRRI
73	IR58	IR28/Kwang-Chang-Ai//IR36	IRRI	103	IR71739- 24-3-5	IR67417-174-6- 2/BASMATI 385	IRRI
74	Amol. No.30	-	IRRI	104	IR75489- 15-2-1	IR70423-170-2-3/IR74728	IRRI
75	Amol, No.229	-	IRRI	105	IR66233- 169-3-3	-	IRRI
76	IR67017-71-3-2	IR70423-170-2-3/IR66233- 234-2-1-2	IRRI	106	IR74718- 24-2-3	IR70423-170-2-3/IR66233- 234-2-1-2	IRRI
77	Restorer, No.5	-	IRRI	107	IR74721- 199-1-3	IR70423170-2-3/IR70434- 18-1-1	IRRI
78	IRON-70-7053-7	-	IRRI	108	IR70445- 86-2-1	-	IRRI
79	Canturypatna	-	IRRI	109	IR74719- 68-2-3	IR70423-170-2-3/IR67415- 11-3-2	IRRI
80	Line 304, IRON- 13-VE	-	IRRI	110	IR75481- 108-3	IR70423-170-2-3/IR74720	IRRI
81	Line 305, IRON- 13-VE	-	IRRI	111	IR75472- 112-1-2	-	IRRI
82	Norin-22	KINKI15/NORIN6	Japan	112	IR75481- 123-3	IR70423-170-2-3/IR74720	IRRI
83	IR25571	-	IRRI	113	IR74719- 145-2-3	IR70423-170-2-3/IR67415- 11-3-2	IRRI
84	Ciza-181	IR24/IR22	Egypt	114	IR74623- 136-2-1-2	-	IRRI
85	Argentina-1	-	Egypt	115	IR75481- 146-3	IR70423-170-2-3/IR74720	IRRI
86	RT1031-62	-	IRRI	116	IR71735-6- 3-3	IR7417-153-1- 5/BASMATI385	IRRI
87	DCL	-	Egypt	117	E1	-	IRRI
88	Egypt CY	-	Egypt	118	E2	-	IRRI
89	Egypt DC	-	Egypt	119	GH1	-	China
90	CN-21	-	Egypt	120	GH2	-	China
				121	GH3	-	China

نتایج و بحث

تجزیه واریانس

تجزیه و تحلیل واریانس صفات مرتبط با بلاست برگ (جدول ۲) نشان داد که کارایی نسبی طرح لاتیس ساده در مقایسه با طرح بلوک‌های کامل تصادفی (RCBD) برای همه صفات مرتبط با بلاست برگ بیش‌تر از ۱۰۰ بود. بنابراین، از طرح لاتیس برای تجزیه و تحلیل واریانس این صفات استفاده شد. میانگین مربعات ژنوتیپ‌ها برای همه صفات مورد بررسی در سطح احتمال یک درصد معنی‌دار بود که در نتیجه می‌توان گفت که تفاوت ژنتیکی بسیار معنی‌داری بین ژنوتیپ‌های موجود در این مطالعه از نظر صفات مرتبط با بلاست برگ وجود داشت.

بیش‌ترین و کم‌ترین میزان واریانس فنوتیپی و ژنوتیپی صفات مرتبط با بلاست برگ به ترتیب متعلق به صفت سطح زیر منحنی پیشرفت بیماری (AUDPC) و سطح آلودگی بود. تفاوت بین واریانس‌های فنوتیپی و ژنوتیپی برای بیش‌تر صفات بسیار ناچیز بود که ناچیز بودن تأثیر عوامل محیطی را بر صفات مورد مطالعه نشان داد. بنابراین، گزینش ژنوتیپ‌ها بر اساس این صفات و بر مبنای ویژگی‌های فنوتیپی آن‌ها می‌تواند در برنامه‌های اصلاحی مفید باشد. بیش‌ترین و کم‌ترین میزان وراثت‌پذیری عمومی صفات مرتبط با بلاست برگ به ترتیب متعلق به صفات تعداد لکه‌های اسپورزا و درصد آلودگی بود. بالا بودن وراثت‌پذیری عمومی حاکی از تأثیر بیش‌تر واریانس ژنتیکی در مقایسه با واریانس محیطی در توارث صفات می‌باشد و بنابراین برای این صفات، گزینش در نسل‌های اولیه اصلاحی می‌تواند

موفقیت‌آمیز باشد. در مقابل، برای صفاتی که وراثت‌پذیری عمومی کم‌تری دارند، نقش واریانس محیطی بیش‌تر است و انتخاب تا نسل‌های پیشرفته اصلاحی باید به تأخیر افتد. باید توجه داشت که مقدار وراثت‌پذیری بالای صفات مورد مطالعه در این تحقیق می‌تواند به دلیل اجرای آزمایش در یک‌سال و یک شرایط محیطی و برهمکنش ژنوتیپ × محیط (در صورت معنی‌دار بودن) نیز باشد.

تجزیه خوشه‌ای

نتایج حاصل از تجزیه خوشه‌ای جهت گروه‌بندی ژنوتیپ‌ها بر اساس الگوریتم UPGMA و معیار فاصله اقلیدسی در شکل ۱ ارائه شده است. با برش دندروگرام تجزیه از ناحیه با بیش‌ترین فاصله بین دو مرحله ادغام متوالی، ژنوتیپ‌ها به سه گروه اصلی با مشخصات درون گروهی مشابه و برون گروهی متفاوت تفکیک شدند. ضریب همبستگی کوفنتیک بین ماتریس فاصله اقلیدسی و ماتریس کوفنتیک حاصل از دندروگرام تجزیه خوشه‌ای، ۰/۸۶ برآورد شد و نشان داد که معیار فاصله و الگوریتم مورد استفاده در گروه‌بندی ژنوتیپ‌ها به خوبی توانسته از داده‌های مربوط به صفات اندازه‌گیری شده مرتبط با بلاست برگ استفاده و ژنوتیپ‌ها را به گروه‌های متمایز تفکیک کند. میانگین و درصد تفاوت میانگین هر گروه از میانگین کل ژنوتیپ‌ها نیز برای هر یک از صفات مورد مطالعه محاسبه شد (جدول ۳). نتایج نشان داد که تفاوت قابل توجهی بین گروه‌ها وجود دارد و بنابراین می‌توان گفت که ژنوتیپ‌ها به درستی به گروه‌های متمایز و متفاوت تفکیک شده‌اند (جدول ۳).

جدول ۲- تجزیه واریانس صفات مربوط به بلاست برگ بر اساس طرح لاتیس مربع ساده

Table 2. Analysis of variance of leaf blast characteristics based on simple square lattice

Sources of variations	df	Mean squares					
		No. of spots	No. of sporulating spots	Spot size	Infection percentage	Infection type	AUDPC
Replication (R)	1	19690**	4.79 ^{ns}	0.004 ^{ns}	18.81**	0.39 ^{ns}	7544.53**
Block into R	20	2607.88**	5.48**	0.05*	3.45**	0.70**	2897.26**
Treatment (Unadjusted)	120	1821.12**	8.41**	0.05**	2.34**	0.61**	1981.80**
Intra block error	100	646.57	1.64	0.02	0.94	0.17	751.03
RCBD error	120	973.45	2.28	0.02	1.36	0.25	1108.74
Relative efficiency to RCBD		133.79	124.46	113.41	128.71	135.13	131.40
Genotypic variance		640.66	3.69	0.02	0.76	0.24	671.33
Phenotypic variance		963.94	4.51	0.03	1.23	0.32	1046.84
Broad-sense heritability		66.46	81.81	66.67	61.78	75	64.13

^{ns}, * and **: Not-significant and significant at 5% and 1% probability levels, respectively.

Line338, Line835, IR70445-146-3-3 و IR74718-24-2-3 (TE-TEP) و چهار ژنوتیپ خارجی (GH3 و Argentina-1, USEN) بود. میانگین کلیه صفات مورد مطالعه در این گروه کم‌تر از میانگین کل و در نتیجه انحراف کلیه صفات نسبت به میانگین کل منفی و این انحراف در حدود زیرگروه دوم بود و بنابراین ژنوتیپ‌های موجود در این گروه را می‌توان به‌عنوان ژنوتیپ‌های نسبتاً مقاوم تا مقاوم معرفی کرد (جدول ۳). کاتو و همکاران (Kato *et al.*, 2004) با انجام مطالعه‌ای جهت بررسی میزان مقاومت ارقام برنج، عنوان کردند که ژنوتیپ IR60 دارای مقاومت نسبی به بیماری بلاست است که مشابه نتایج به‌دست آمده از این تحقیق بود. مؤمنی و همکاران (Moumeni *et al.*, 2008) نیز ارقام دشت، سپیدرود، فجر و بچار را در دسته ارقام مقاوم به بیماری بلاست گروه‌بندی کردند که با نتایج این تحقیق در یک راستا بود.

زیرگروه دوم: زیرگروه دوم شامل هشت ژنوتیپ بود که از بین آن‌ها هفت ژنوتیپ دارای منشأ ایرانی (گرده رامهرمز، دیلمانی، طارم محلی، خزر، شیروودی، جلودار و ندا) و یک ژنوتیپ با منشأ ژاپنی (Fujiminori) بود. همه صفات مورد بررسی در این گروه دارای انحراف منفی نسبت به میانگین کل ژنوتیپ‌ها بودند و میزان انحراف منفی آن برای بیش‌تر صفات در مقایسه با سایر گروه‌ها و زیرگروه‌ها در بالاترین مقادیر خود قرار داشت. از آن‌جا که همه صفات مورد بررسی مستقیماً به میزان حساسیت به بلاست مرتبط بودند و این زیرگروه دارای کم‌ترین میانگین برای همه صفات بود، بنابراین ژنوتیپ‌های موجود در این زیرگروه به‌عنوان ژنوتیپ‌های مقاوم معرفی می‌شوند (جدول ۳). علاوه بر نتایج حاصل از این تحقیق، ژنوتیپ‌های اصلاح شده ایرانی ندا و خزر در مقالات و گزارش‌های متعددی به‌عنوان ژنوتیپ‌های مقاوم معرفی شده‌اند. به‌نظر می‌رسد مقاومت مشاهده شده در این ارقام به‌دلیل هرمی شدن ژن‌های مقاومت احتمالی باشد که طی مراحل اصلاحی رخ داده است. مؤمنی و همکاران (Moumeni *et al.*, 2008) با انجام تجزیه خوشه‌ای بر اساس داده‌های فنوتیپی و مولکولی رقم ندا را در دسته ارقام مقاوم به بیماری بلاست گروه‌بندی کردند. عابدی و همکاران (Abedi *et al.*, 2010) نیز بیان کردند که واکنش مقاومت مشاهده شده تحت دو شرایط خزانه و گلخانه در رقم ندا، می‌تواند نشان‌دهنده وجود ژن‌های مناسب جهت مقاومت به بیماری بلاست باشد که با نتایج این تحقیق در یک راستا بود.

گروه اول: در این گروه، پنج ژنوتیپ قرار گرفتند که شامل چهار ژنوتیپ ایرانی (شاه‌پسند، زیره، گرده و کوهسار) و یک ژنوتیپ IRRI (IR70-7053-7) بود (شکل ۱). کلیه صفات مورد بررسی در این گروه به استثنای صفت تعداد لکه‌ها دارای انحراف مثبت و بسیار زیاد نسبت به میانگین کل خوشه‌ها بودند. با توجه به اینکه کلیه صفات مورد بررسی مستقیماً مرتبط با بیماری بلاست برگ هستند و میزان تفاوت‌ها به صورت مثبت و در بالاترین مقادیر خود قرار داشتند، بنابراین ژنوتیپ‌های موجود در این گروه تحت عنوان ژنوتیپ‌های حساس معرفی شدند (جدول ۳). امانزاده و همکاران (Amanzadeh *et al.*, 2008) با اجرای آزمایش در خزانه بلاست برگ، سطح زیر منحنی توسعه بیماری برای ژنوتیپ‌های مختلف برنج را در شرایط مزرعه مورد بررسی قرار دادند و همانند نتایج این تحقیق مشاهده کردند که رقم گرده دارای بالاترین میزان سطح زیر منحنی توسعه بیماری و در نتیجه بیش‌ترین میزان بیماری بود و در گروه ارقام حساس طبقه‌بندی شد.

گروه دوم: این گروه شامل ۱۴ ژنوتیپ بود که تعداد پنج ژنوتیپ شامل چمپابودار، غریب سیاه‌ریحانی، طارم منطقه، هویزه و محمدی چپرسر با منشأ ایران، تعداد هفت ژنوتیپ شامل IR4491-89-1, Canturypatna, IR70423-170-2-3/IR67415-11-3-2, Line213, IR71739-24-3-5, IR75489-15-2-1 و IR70445-86-2-1 با منشأ IRRI و دو ژنوتیپ Norin-22 و Egypt DC به‌ترتیب با منشأ ژاپن و مصر بودند (شکل ۱). مقدار انحراف از میانگین کل برای همه صفات مورد بررسی در این گروه مثبت بود و این انحرافات در مقایسه با سایر گروه‌ها در بالاترین مقادیر خود قرار داشت. از این‌رو، ژنوتیپ‌های موجود در این گروه به‌عنوان ژنوتیپ‌های حساس معرفی شدند (جدول ۳).

گروه سوم: این گروه اصلی خود از چهار زیرگروه تشکیل شده است که بر اساس میانگین و انحراف میانگین هر یک از زیرگروه‌ها از میانگین کل می‌توان آن‌ها را به‌عنوان زیرگروه‌های مقاوم تا نسبتاً حساس معرفی کرد.

زیرگروه اول: این زیرگروه از ۲۹ ژنوتیپ تشکیل شد که شامل ۱۳ ژنوتیپ ایرانی (حسن‌سرایبی، حسنی، سالاری، اهلمی طارم، دانیال، پردیس، فجر، سپیدرود، شفق، تابش، بچار، دشت و کادوس)، ۱۲ ژنوتیپ IRRI (IR60, IR50), IR66232-88-2-2-1, IR30, IR50, Mazandaran, Amol No.229, Amol No.30, RT1031-62.

نسبت به میانگین کل بودند و مقدار این انحراف نسبت به زیرگروه سوم بیش‌تر، اما نسبت به گروه‌های اول و دوم کم‌تر بود. بنابراین ژنوتیپ‌های موجود در این زیرگروه را می‌توان همانند ژنوتیپ‌های زیرگروه سوم به‌عنوان ژنوتیپ‌های نسبتاً حساس معرفی کرد (جدول ۳).

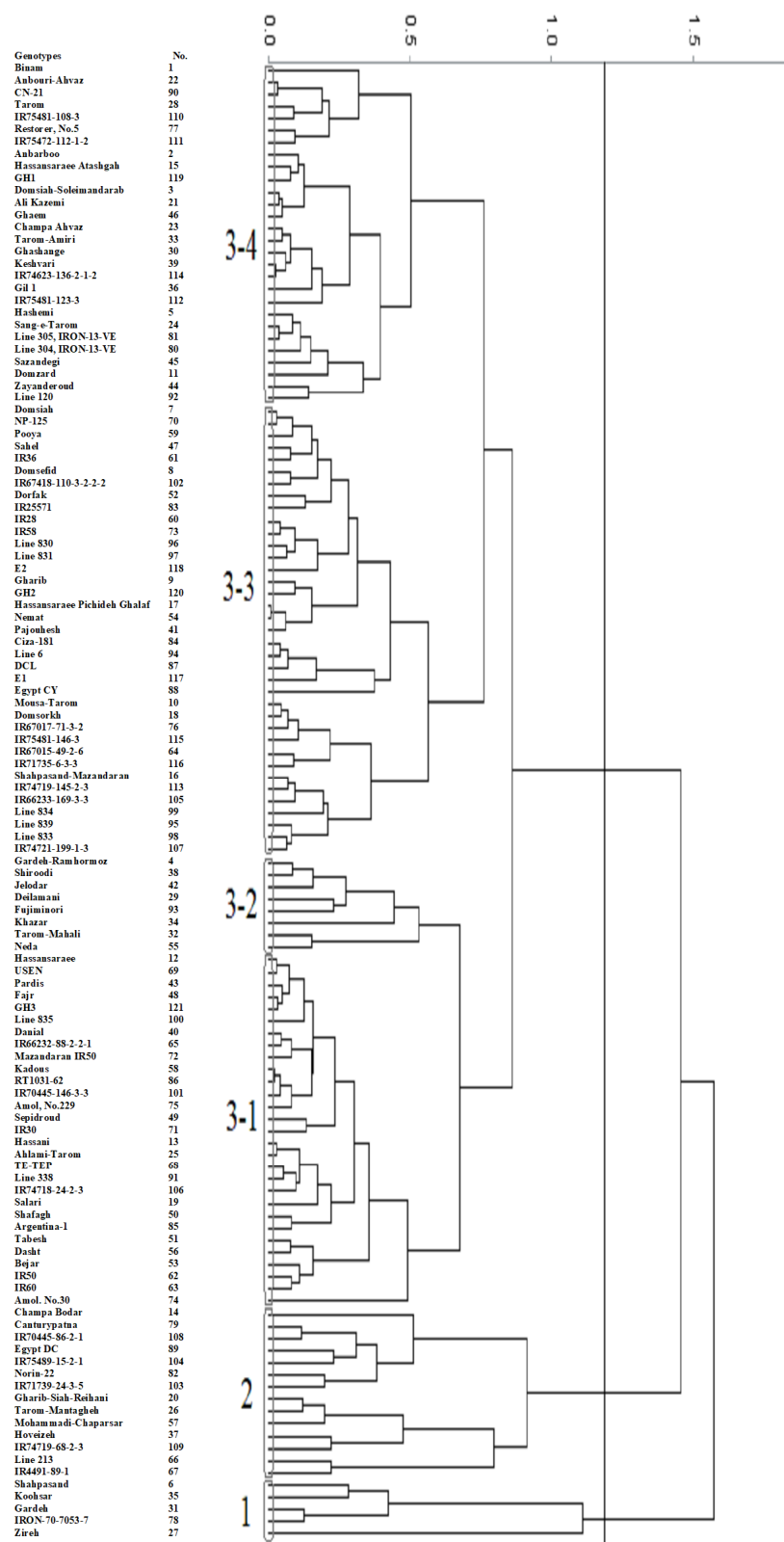
مؤمنی و همکاران (Moumeni *et al.*, 2008) در بررسی خود جهت گروه‌بندی ارقام برنج، همانند نتایج این تحقیق، ژنوتیپ‌های بینام، علی‌کاشمی و هاشمی را در دسته ژنوتیپ‌های حساس گروه‌بندی کردند. پاشا و همکاران (Pasha *et al.*, 2017) ژنوتیپ‌های برنج را بر اساس صفات گلخانه‌ای با استفاده از روش تجزیه خوشه‌ای گروه‌بندی کردند و ژنوتیپ بینام را از نظر تیپ آلودگی در گروه حساس قرار دادند که با نتایج این تحقیق در یک راستا بود.

همان‌طور که ملاحظه شد، در مجموع از ۱۲۱ ژنوتیپ مورد مطالعه، ۳۷ ژنوتیپ و از ۵۹ ژنوتیپ ایرانی نیز تعداد ۲۰ ژنوتیپ به‌عنوان ژنوتیپ‌های نسبتاً مقاوم تا مقاوم شناسایی شدند. به عبارت دیگر، در حدود ۷۰ درصد از کل ژنوتیپ‌های مطالعه شده و در حدود ۶۷ درصد از ارقام ایرانی ارزیابی شده در گروه ژنوتیپ‌های حساس و تقریباً حساس گروه‌بندی شدند که نشان می‌دهد زمینه ژنتیکی مقاومت به بیماری بلاست تا اندازه‌ای باریک (Narrow genetic background) است. این نتیجه قبلاً نیز توسط جوان نیکخواه (Javan Nikkha, 2001) برای ارقام ایرانی گزارش شده است. این موضوع اهمیت زیادی به‌ویژه در برنامه‌های به‌نژادی برنج دارد و ضروری است به‌نژادگران برنج توجه کافی به آن داشته باشند.

نتایج حاصل از این تحقیق با نتایج بسیاری از محققین همسو بود و تفاوت‌های موجود نیز می‌تواند به‌دلیل تفاوت در شرایط آزمایش، نژادهای قارچ بیماریزای موجود در منطقه، مرحله رشدی گیاه در زمان بررسی بیماری و سازگارشدن با نژادهای بیماریزای بومی موجود در منطقه باشد (Amanzadeh *et al.*, 2008; Abedi *et al.*, 2010). از سوی دیگر، در بیش‌تر مطالعات انجام شده به‌ویژه در ایران، فقط صفت کیفی تیپ آلودگی از طریق مشاهده چشمی در سطح خزانه ارزیابی می‌شود، در حالی که در این تحقیق سعی شد تعداد صفات کیفی بیش‌تری در چند مرحله زمانی اندازه‌گیری شود تا نتایج معتبری به‌دست آید.

زیرگروه سوم: در این زیرگروه ۳۷ ژنوتیپ گروه‌بندی شد که شامل ۱۲ ژنوتیپ ایرانی (دمسیاه، دم‌سفید، غریب، موسی طارم، شاه‌پسند مازندران، حسن‌سرای پیچیده‌غلاف، دم‌سرخ، پژوهش، ساحل، درفک، نعمت و پویا)، ۲۰ ژنوتیپ IRRI (IR36, IR67015-49-2-6, IR58, IR28, IR67017-71-3-2, Line839, Line6, IR25571, IR67017-71-3-2, Line830, Line831, IR67418-110-3-2-2, IR66233-169-3-3, Line833, IR74721-199-1-3, IR66233-169-3-3, Line834, IR74719-145-2-3, IR75481-146-3, IR71735-6-3-3, E1 و E2) و پنج ژنوتیپ خارجی (NP-125, Ciza-181, DCL, Egypt CY, GH2) بودند. در این گروه دو صفت تعداد لکه‌ها و سطح آلودگی دارای انحراف مثبت و سایر صفات دارای انحراف منفی جزئی نسبت به میانگین کل بودند. از این‌رو با توجه به میانگین و انحراف از میانگین صفات، ژنوتیپ‌های این گروه را می‌توان به‌عنوان نسبتاً حساس معرفی کرد (جدول ۳). رقم ایرانی بینام که در این گروه قرار گرفت و به‌عنوان یک ژنوتیپ حساس معرفی شد، قبلاً توسط عابدی و همکاران (Abedi *et al.*, 2010) نیز به‌عنوان حساس به بلاست معرفی شده بود و دارای بیش‌ترین شدت بیماری و سطح زیر منحنی توسعه بیماری بود. مؤمنی و همکاران (Moumeni *et al.*, 2008) نیز با مطالعه کارایی ژن‌های مسئول مقاومت به بلاست، بر اساس داده‌های فنوتیپی و مولکولی گزارش کردند که ژنوتیپ‌های دمسیاه و دم‌سفید در گروه ژنوتیپ‌های حساس قرار دارند که با نتایج این تحقیق مطابقت داشت.

زیرگروه چهارم: زیرگروه چهارم شامل ۲۸ ژنوتیپ بود و در آن، ۱۸ ژنوتیپ ایرانی (هاشمی، بینام، عنبربو، دمسیاه سلیمان‌داراب، دم‌زرد، حسن‌سرای آتشگاه، علی‌کاشمی، عنبروی اهواز، چمپا اهواز، سنگ طارم، طارم، قشنگه، طارم امیری، گیل ۱، کشوری، زاینده‌رود، سازندگی و قائم)، هشت ژنوتیپ IRRI (No.5, Restorer, Line304, Line305, IRON-13-VE, IRON-13-VE, IR75481-108-3, Line120, IR75472-112-1-2, IR75481-123-3, IR74623-136-2-1-2, CN-21) و دو ژنوتیپ خارجی (IR74623-136-2-1-2 و GH1) گروه‌بندی شدند. کلیه صفات مورد بررسی در این زیرگروه به استثنای صفت تعداد لکه‌ها دارای انحراف مثبت



شکل ۱- دندروگرام تجزیه خوشه‌ای حاصل از روش UPGMA برای گروه‌بندی ۱۲۱ ژنوتیپ برنج بر اساس صفات مرتبط با بلاست برگ
 Figure 1. Dendrogram of cluster analysis derived from UPGMA method for clustering 121 rice genotypes using leaf blast associated traits

جدول ۳- میانگین و درصد انحراف از میانگین کل گروه‌های حاصل از تجزیه خوشه‌ای برای صفات مرتبط با بلاست برگ

Table 4. Mean and percentage of deviation from total mean for the groups derived from cluster analysis for leaf blast associated traits

Cluster	Sub-cluster	Statistic	No. of genotypes	No. of spots	No. of sporulating spots	Spot size	Infection percentage	Infection type	AUDPC
1		Mean	5	90.028	5.663	0.617	5.759	3.638	170.876
		PDT		-16.876	127.704	59.845	78.187	23.910	83.178
2		Mean	14	161.696	5.274	0.657	4.687	3.674	133.830
		PDT		49.296	112.063	70.207	45.019	25.136	43.465
3	3-1	Mean	29	92.003	1.093	0.250	2.214	2.433	64.447
		PDT		-15.053	-56.051	-35.233	-31.498	-17.132	-30.913
	3-2	Mean	8	56.129	1.379	0.225	2.315	2.276	63.813
		PDT		-48.176	-44.552	-41.710	-28.373	-22.480	-31.593
	3-3	Mean	37	126.391	1.635	0.389	2.978	2.875	86.452
		PDT		16.698	-34.258	0.777	-7.859	-2.078	-7.324
	3-4	Mean	28	92.770	3.413	0.392	3.707	3.232	106.471
		PDT		-14.345	37.234	1.554	14.697	10.082	14.136
Total mean				108.306	2.487	0.386	3.232	2.936	93.284

PDT: Percentage of deviation from total mean

نتیجه‌گیری کلی

نتایج حاصل از تجزیه و تحلیل صفات مرتبط با بلاست برگ در این تحقیق اطلاعات مفیدی در مورد ارتباط بین این صفات با میزان مقاومت در گیاهان تلقیح‌یافته با قارچ عامل بیماری در اختیار قرار داد که جهت شناسایی ژنوتیپ‌های مقاوم به بلاست برگ به‌ویژه برای استفاده در برنامه‌های به‌نژادی آینده بسیار مفید است. از سوی دیگر، شناسایی ارقام مقاوم به بیماری بلاست برگ می‌تواند بر کمیت و کیفیت محصول برنج، به‌ویژه در مناطقی که این بیماری خسارت زیادی به محصول وارد می‌کند، سودمند باشد. نتایج حاصل از تجزیه واریانس نشان داد که تفاوت بین ژنوتیپ‌ها برای همه صفات مورد مطالعه در سطح احتمال یک درصد معنی‌دار بود. بیش‌ترین ضریب تغییرات فنوتیپی و ژنوتیپی در صفات مرتبط با بلاست برگ به تعداد لکه‌های اسپورزا تعلق داشت. ژنوتیپ‌ها بر اساس صفات مرتبط با بلاست برگ به سه گروه اصلی تفکیک شدند و گروه سوم خود به چهار زیرگروه تفکیک شد. بررسی میانگین صفات اندازه‌گیری شده و درصد انحراف هر گروه از میانگین کل نشان داد که ژنوتیپ‌های موجود در گروه‌های

اول و دوم، ژنوتیپ‌های حساس به بلاست برگ بودند. در مقابل، زیرگروه‌های اول و دوم متعلق به گروه سوم که شامل ۲۹ و ۸ ژنوتیپ بودند، به‌ترتیب به‌عنوان ژنوتیپ‌های نسبتاً مقاوم و مقاوم شناسایی شدند. واکنش مقاومت مشاهده شده در گروه ارقام مقاوم می‌تواند نشان‌دهنده وجود ژن‌های مقاوم به بیماری بلاست در این ژنوتیپ‌ها باشد که پیشنهاد می‌شود در برنامه‌های اصلاحی آینده مدنظر قرار گیرد. در این تحقیق، ۵۹ ژنوتیپ ایرانی (۳۳ رقم محلی و ۲۶ رقم اصلاح‌شده) ارزیابی شدند که از بین آن‌ها تعداد ۲۰ ژنوتیپ (۷ رقم محلی و ۱۳ رقم اصلاح‌شده) به‌عنوان ژنوتیپ‌های نسبتاً مقاوم تا مقاوم شناسایی شدند. بنابراین، در مجموع نتایج این تحقیق نشان داد که در حدود ۳۰ درصد از کل ژنوتیپ‌ها و در حدود ۳۳ درصد از ارقام ایرانی مورد مطالعه واکنش نسبتاً مقاوم تا مقاوم به بلاست برگ نشان دادند که می‌توان از این منابع ارزشمند مقاومت جهت برنامه‌های به‌نژادی استفاده کرد. ارقام ندا و خزر که جزء ارقام اصلاح‌شده ایرانی هستند، شاخص‌ترین ژنوتیپ‌هایی بودند که همانند سایر گزارش‌ها، در این مطالعه نیز به‌عنوان ژنوتیپ‌های مقاوم شناسایی شدند.

References

- Abedi, F., Babaeiyan, N., Moumeni, A. and Neemat Zadeh, Gh. 2010.** Evaluation of partial resistance to *Magnaporthe grisea* Sacc. in rice cultivars at the seedling stage under upland nursery and greenhouse conditions. **Journals of Agronomy Sciences** 2 (4): 31-42. (In Persian with English Abstract).
- Amanzadeh, M., Moumeni, A., Okhovat, M., Javan Nikkhah, M. and Khosravi, V. 2008.** Evaluation of resistance of rice (*Oryza sativa* L.) genotypes to leaf and panicle blast in Mazandaran province. **Journal of Science and Technology of Agriculture and Natural Resources** 11 (42): 209-219. (In Persian with English Abstract).
- Baker, B., Zambryski, P., Staskawicz, B. and Dinesh-Kumar, S. P. 1997.** Signaling in plant-microbe interactions. **Science** 276 (5313): 726-733.
- Chatterjee, A., Valasubramanian, R., Vachani, A., Mau, W. L., Gnanamanickam, S. S. and Chatterjee, A. K. 1996.** Biological control of rice diseases with *Pseudomonas fluorescens* 7-14: Isolation of ant mutants altered in antibiotic production, cloning of ant⁺ DNA and an evaluation of a role for antibiotic production in the control of blast and sheath blight. **Biological Control** 7: 185-195.
- Divya, B., Robin, S., Biswas, A. and John Joel, A. 2015.** Genetics of association among yield and blast resistance traits in rice (*Oryza sativa*). **Indian Journal of Agricultural Sciences** 85 (3): 354-360.
- Farahzadi, F., Ebrahimi, A., Zarrinnia, V. and Azizinezhad, R. 2016.** Evaluation of genetic diversity of Iranian rice (*Oryza Sativa* L.) cultivars in resistance to blast disease (*Magnaporthe oryzae*) using microsatellite (SSR) markers. Proceedings of the 2nd International and 14th Iranian Genetics Congress. May 21-23, 2016, Tehran, Iran. (In Persian).
- Fareghi, Sh., Farshadfar, M. and Farshadfar, E. 2007.** Study of chemical composition and nutrition value of preennial lucerne (*Medicago sativa* L.) and genetic diversity based on SDS-PAGE markers. **Iranian Journal of Rangelands and Forests Plant Breeding and Genetic Research** 15 (3): 196-210. (In Persian with English Abstract).
- Franco, J., rossa, J., Villasenor, J., Taba, S. and Eberhart, A. 1997.** Classifying Mexicana maize accession using hierarchical and density search methods. **Crop Science** 37: 972-980.
- Ghazanfar, M. U., Habib, A. and Sahi, S. T. 2009.** Screening of rice germplasm against *Pyricularia oryzae* the cause of rice blast disease. **Pakistan Journal of Phytopathology** 21: 41-44.
- Gnanamanickam, S. S. and Mew, T. W. 1992.** Biological control of blast disease of rice (*Oryza sativa* L.) with antagonistic bacteria and its mediation by a *Pseudomonas* antibiotic. **Annals of the Phytopathological Society of Japan** 58: 380-385.
- SPSS. 2016.** IBM SPSS Statistics for Windows. Version 24.0. Armonk, NY: IBM Corp.
- IRRI. 1996.** Standard evaluation system (SES) for rice. International Rice Research Institute, Manila, Philippines.
- IRRI. 2002.** Standard evaluation system (SES) for rice. International Rice Research Institute, Manila, Philippines.
- IRRI. 2016.** Rice knowledge bank. Crop health, disease: Rice blast. International Rice Research Institute, Manila, Philippines.
- Javan Nikkhah, M. 2001.** Research on genetic diversity of *Magnaporthe grisea* (Hebert) Barr., cause of rice blast disease, using molecular characteristics, pathogenicity and vegetative adaptation in Guilan province. Ph. D. Dissertation, Tehran University, Iran. (In Persian).
- Kato, H., Tsunematsu, H., Ebron L. A., Yanoria, M. J. T., Mercado, D. M. and Khush, S. 2004.** Studies on partial resistance to rice blast in the tropics. In: Kawasaki, S. (Ed.). Rice blast: Interaction with rice and control. Springer, Dordrecht, Netherlands.
- Krishnamurthy, K. and Gnanamanickam, S. S. 1998.** Biological control of rice blast by *Pseudomonas fluorescens* strain Pf7-14: Evaluation of a marker gene and formulations. **Biological Control** 13: 158-165.
- Kumbhar, S. D., Kulwal, P. L., Patil, J. V., Gaikwad, A. P. and Jadhav, A. S. 2013.** Inheritance of blast resistance and identification of SSR marker associated with it in rice cultivar RDN 98-2. **Journal of Genetics** 92: 317-321.
- Majidi, F. and Padasht, F. 2010.** Guidance for rice pests and diseases (1st Ed.). Agricultural Education. Agricultural Research, Education and Extension Organization (AREEO). (In Persian).

- Miah, G., Rafii, M. Y., Ismail, M. R., Puteh, A. B., Rahim, H. A., Asfaliza, R. and Latif, M. A. 2013.** Blast resistance in rice: A review of conventional breeding to molecular approaches. **Molecular Biology Reports** 40: 2369-2388.
- Miura, Y., Ding, C., Ozaki, R., Hirata, M., Fujimori, M., Takahashi, W., Cai, H. and Mizuno, K. 2005.** Development of EST-derived CAPS and AFLP markers linked to a gene for resistance to ryegrass blast (*Pyricularia* sp.) in Italian ryegrass (*Lolium multiflorum* Lam.). **Theoretical and Applied Genetics** 111: 811-818.
- Moumeni, A., Mousanejad, S. and Noveiriyani, N. 2008.** Study of the efficiency and diversity of genes responsible for blast resistance in Iranian rice cultivars and its diversity. Proceedings of the 10th Iranian Crop Science congress. August 18-20, 2008, Karaj, Iran. (In Persian).
- Nasruddin, A. and Amin, N. 2013.** Effects of cultivar, planting period, and fungicide usage on rice blast infection levels and crop yield. **Journal of Agricultural Science** 5 (1): 160-167.
- Ou, S. H. 1985.** Rice diseases. (2th Ed.). Commonwealth Mycological Institute, Kew, UK.
- Pasha, A., Bagheri, N., Babaeian-Jelodar, N. and Nematzadeh, G. 2017.** Evaluation of resistance to *Pyricularia oryzae* in rice genotypes. **Plant Protection (Scientific Journal of Agriculture)** 39 (4): 27-37 (In Persian with English Abstract).
- Pennisi, E. 2010.** Armed and dangerous. **Science** 327 (5867): 804-805.
- Pinnschmidt, H. O., Peng, T. S., Bonman, J. M. and Kranz, J. 1993.** A new assessment key for leaf blast (Bl). **International Rice Research Notes** 18: 145-146.
- Puri, K. D., Shrestha, S. M., Khatri Chhetri, G. B. and Joshi, K. D. 2009.** Leaf and neck blast resistance reaction in tropical rice lines under green house condition. **Euphytica** 165: 523-532.
- Qudsia, H., Riaz, A. and Akhtar, M. 2017.** Evaluation of rice germplasm for resistance against *Pyricularia oryzae* the cause of rice leaf blast. **Asian Research Journal of Agriculture** 4 (3): 1-6.
- Ribot, C., Hirsch, J., Balzergue, S., Tharreau, D., Nottoghem, J. L., Lebrun, M. H. and Morel, J. B. 2008.** Susceptibility of rice to the blast fungus, *Magnaporthe grisea*. **Journal of Plant Physiology** 165: 114-124.
- Rossman, A. Y., Howard, R. J. and Valent, B. 1990.** *Pyricularia grisea*, the correct name for the rice blast disease fungus. **Mycologia** 82 (4): 509-512.
- SAS Institute. 2002.** The SAS system for windows, Release 9.0. SAS Institute, Cary, NC.
- Shaner, G., Ohm, H. W. and Finney, R. E. 1978.** Response of susceptible and slow leaf-rusting wheats to infection by *Puccinia recondita*. **Phytopathology** 68: 471-475.
- Singh, M. K., Singh, P., Singh, R. P. and Mohapatra, C. 2013.** Association analysis for yield and quality attributes in *Indica* rice and screening of hybrids against blast disease (*Magnaporthe grisea* Barr.) **Journal of Plant Sciences** 8 (2): 45-56.
- Takahashi, W., Miura, Y. and Sasaki, T. 2009.** A novel inoculation method for evaluation of grey leaf spot resistance in Italian ryegrass. **Journal of Plant Pathology** 91 (1): 171-176.



Screening rice (*Oryza sativa* L.) genotypes for susceptibility and tolerance to leaf blast under artificial inoculation in field conditions

Seyedeh Soheila Zarbafi¹, Babak Rabiei^{2*} and Ali Akbar Ebadi³

Received: May 12, 2019

Accepted: August 14, 2019

Abstract

Blast disease caused by the *Pyricularia oryzae* is one of the major diseases of rice, which reduces the rice yield to 70-80% in some years. Appropriate methods of controlling this disease have always been of interest to the researchers, especially the introduction of tolerant cultivars has always been one of the most important breeding objectives of rice breeders. The objective of the present study was to screen rice genotypes for tolerance to leaf blast disease under field conditions. In this research, 121 rice genotypes from the germplasm collection of the Rice Research Institute of Iran (RRII) and International Rice Research Institute (IRRI) were selected and planted in a 11×11 lattice design with two replications under artificial inoculation with fungus causing the blast disease in research fields of RRII, Rasht, Iran, in 2015. The studied traits including the number of spots, number of sporulating spots, infected level, infected percentage, infected type and area under disease progressive curve (AUDPC) in inoculated plants with fungus in the blast nursery were measured. The results showed that there was a significant difference ($P < 0.01$) among genotypes for all traits and most of the studied traits had high broad-sense heritability as well as phenotypic and genotypic coefficient of variation. Cluster analysis for classification of genotypes based on leaf blast related traits showed that the studied genotypes could be divided into three different groups based on leaf blast susceptibility and tolerance. In total, the results of the current study showed that among the studied genotypes, eight genotypes were tolerant to leaf blast disease and the most important and prominent genotypes of which were Neda and Khazar. The tolerant genotypes can be used to obtain leaf blast tolerant varieties in future breeding programs.

Keywords: AUDPC, Infection type, Landrace varieties, Sporulating spots

1. Ph. D. Student, Dept. of Plant Production and Genetic Engineering, Faculty of Agricultural Sciences, University of Guilan, Rasht, Iran

2. Prof., Dept. of Plant Production and Genetic Engineering, Faculty of Agricultural Sciences, University of Guilan, Rasht, Iran

3. Research Assist. Prof., Rice Research Institute of Iran, Agricultural Research, Education and Extension Organization (AREEO), Rasht, Iran

* Corresponding author: rabiei@guilan.ac.ir