

## مقاله کوتاه

### شناسایی نژادهای فیزیولوژیک *Magnaporthe grisea* عامل بلاست برنج در استان‌های گیلان و مازندران\*

## IDENTIFICATION OF THE PHYSIOLOGICAL RACES OF BLAST CAUSAL AGENT IN GUILAN AND MAZANDARAN PROVINCES\*

صدیقه موسی نژاد<sup>۱\*</sup>، علی مؤمنی<sup>۱</sup>، وحید خسروی<sup>۱</sup> و محمد جوان نیکخواه<sup>۲</sup>

(تاریخ دریافت: ۱۳۸۶/۱۲/۲۰؛ تاریخ پذیرش: ۱۳۸۸/۸/۲)

### چکیده

جدایه‌های عامل بلاست از استان‌های گیلان و مازندران به هشت رقم افتراقی بین‌المللی شامل *Usen*، NP-125، *Zenith*، *Raminad str.3*، *Caloro* و *Sha-tiao-tsao-s*، Kanto 51، *Dular*، پنج لاین ایزوژنیک حاوی ژن‌های اصلی مقاومت و والد آنها مایه‌زنی شدند و حساسیت و مقاومت ارقام مورد بررسی قرار گرفت. نژادهای IA-89، IA-90، IA-25، IC-25 برای استان گیلان و نژادهای IA-90 و IA-25 برای استان مازندران شناسایی شدند.

واژه‌های کلیدی: برنج، بلاست، *Pyricularia grisea*، نژاد فیزیولوژیک، ارقام افتراقی

### مقدمه

قارچ را علت اساسی شکسته شدن مقاومت ارقام می‌دانند. بنابراین شناسایی نژادهای فیزیولوژیک قارچ کمک بزرگی به اصلاح ارقام و معرفی ارقام مقاوم در مقابل بیماری خواهد نمود.

متخصصین ژاپنی و آمریکایی هشت رقم 3 *Raminad str.*، *Usen*، *Zenith*، NP-125، *Dular*، Kanto51، *Sha-tiao-tsao-S*

بیماری بلاست برنج با عامل *Pyricularia grisea* (Cooke) Sacc. از مهم‌ترین بیماری‌های برنج می‌باشد. استفاده از ارقام مقاوم مؤثرترین روش کنترل بیماری است. ولی مشکل اساسی شکست مقاومت ارقام می‌باشد. محققین پیدایش نژادهای بیماری‌زایی جدید در جمعیت

\*: بخشی از طرح پژوهشی شماره ۸۳۰۰۱-۸۳۰۰۱-۱۱-۱۳۰۰۰۰-۱۰۰-۰ ارائه شده به مؤسسه تحقیقات برنج کشور

\*\* : مسئول مکاتبات، پست الکترونیکی: smousanejad@yahoo.com

۱. به ترتیب استادیار، استادیار و مربی پژوهش مؤسسه تحقیقات برنج کشور

۲. دانشیار بیماری‌شناسی گیاهی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه تهران

نژاد بیماری‌زای جدید به‌اسامی IA-66، IC-27 و IC-2 را در مازندران شناسایی نمودند. بر پایه مطالعات انجام‌شده توسط جوان‌نیکخواه (۱۳۸۰)، ۵۰ جدایه مورد آزمایش در شش نژاد فیزیولوژیک متعلق به سه گروه نژادی IA، IC و IF قرار گرفتند.

### روش بررسی

نمونه‌های برگ و گردن خوشه آلوده طی سال‌های زراعی ۸۵-۱۳۸۳ از شالیزارهای استان‌های گیلان و مازندران جمع‌آوری شدند. برای جداسازی و نگهداری قارچ از روش معرفی شده توسط بونمن و همکاران (Bonman et al. 1987) استفاده شد (جدول ۱). برای تعیین نژاد از ۸ رقم افتراقی بین‌المللی شامل Kanto51، Dular، Usen، NP-125، Zenith، Raminadstr.3 و Sha-tiao-tsao-s و Caloro و ۵ لاین ایزوژنیک حاوی ژن‌های اصلی مقاومت به‌بلاست به‌همراه والد آنها (از تیپ ایندیکا) استفاده گردید. برای کشت ارقام از تشتک‌های پلاستیکی و خاک مخلوط شامل ۵ قسمت خاک مزرعه برنج، یک قسمت ماسه‌بادی و یک قسمت کود دامی و مقداری کود سولفات آمونیوم یا اوره (به ازای هر کیلوگرم، ۱ گرم) استفاده شد. بذور جوانه‌زده ارقام افتراقی روی خطوطی به‌فاصله دو سانتی‌متر در گلدان‌ها کشت شدند. گلدان‌ها جهت سبزشدن و رشد نشاها به‌گلخانه منتقل گردیدند. نشاها در مرحله ۴-۵ برگی برای اسپورپاشی مورد استفاده قرار گرفتند. به‌ازای هر جدایه سه تکرار از ارقام مایه‌زنی شدند.

هر جدایه به‌منظور اسپورزایی روی محیط PDA کشت شد. پرگنه‌های جوان خراش داده شدند و خراش‌ها زیر نور فلورسنت قرار گرفتند. سوسپانسیون اسپور با غلظت  $10^5 \times 5-1$  اسپور در میلی‌لیتر تهیه گردید. گلدان‌ها بعد از

و Caloro را به‌عنوان ارقام افتراقی استاندارد بین‌المللی انتخاب و معرفی کردند (Atkins et al. 1967). سپس کوشش‌هایی به‌منظور تولید لاین‌های NILs (near isogenic lines) که هر کدام در یک ژن مقاومت اصلی با هم تفاوت داشتند انجام گرفت، به‌طوری‌که ماکیل و بونمن در سال ۱۹۹۲ (Mackil and Bonman 1992) در زمینه ژنتیکی رقم حساس Co39 از گروه برنج‌های تیپ ایندیکا (Indica) پنج لاین NILs را معرفی کردند. به‌کمک این‌لاین‌ها و والد آنها، اینوکائی و همکاران در سال ۱۹۹۴ (Inukai et al. 1994) بین ۴۶ جدایه جمع‌آوری شده در فیلیپین هفت نژاد را شناسایی نمودند. اسامی پنج لاین NILs و ژن مقاومت آنها شامل  $C101LAC(Pi-1(t))$ ،  $C101PKT(Pi-ta)$ ،  $C104PKT(Pi-3(t))$ ،  $C101A51(Pi-2(t))$  و  $C105TTP-4L23$  هستند. هم‌چنین دسته دیگری از لاین‌های NILs در زمینه ژنتیکی رقم حساس Ligangxintuanheigu از تیپ برنج‌های جاپونیکا (Japonica) ایجاد و معرفی شد (Ling et al. 1995). اسم لاین‌ها و ژن مقاومت آنها شامل  $F98-7(Pi-k^*)$ ،  $F129-$ ،  $F145-2(Pi-b)$ ،  $F128-1(Pi-ta)$ ،  $F124-1(Pi-ta)$  و  $1(Pi-k^p)$  و  $F80-1(Pi-k)$  هستند.

در ایران /یزدیار (۱۳۶۱) در آزمایشی روی ۲۳ جدایه از استان گیلان، دوازده نژاد متعلق به گروه‌های بین‌المللی IA و IG را گزارش نمود. نیکبخت و فاطمی (۱۳۷۲) ۱۴ نژاد متعلق به گروه‌های نژادی IA، IC، ID و IE را از روی جدایه‌های مناطق برنج‌کاری جنوب کشور شناسایی کردند. یزدیاری و پاداشت (۱۳۷۷) چهار نژاد جدید را در گیلان گزارش نمودند. در مازندران، بهرامی و فروتن (۱۳۷۲) با مورد آزمایش قرارداد ۱۵ جدایه، دو نژاد IA-81 و IC-17 را تشخیص دادند. هم‌چنین بهرامی و یزدیاری (۱۳۷۷) سه

جدول ۱. مشخصات جدایه‌های عامل بلاست از استان‌های گیلان و مازندران که برای تعیین نژاد مورد استفاده قرار گرفتند

**Table 1. The characteristics of blast isolates from Guilan and Mazandaran provinces, used for identification of races**

Isolate code	Rice cultivar	Isolate origin	Date of collection	Location
515	Tarom mahali	Un known	7/23/2004	East Bandpey, Nayvaran
529	Tarom	Un known	8/11/2004	Ghaemshahr to Savadkooh, Balatalarposht
563	Tarom deylamani	Un known	8/20/2004	Chaparsar
608	Tarom	Un known	8/13/2004	Sari, Zarin abad
609	Tarom	Un known	8/18/2004	Sari, Sourk
616	Tarom deylamani	Un known	8/24/2004	Tonekabon, Dohezar
620	Tarom	Un known	8/24/2004	Tonekabon, Dohezar
621	Tarom	Un known	8/29/2004	Amol, Rice Research Institute
630	Tarom hashemi	Un known	9/3/2004	Ramsar, Daryaposhti
661	Hashemi	Leaf	5/24/2004	Shaft
664	Hashemi	Leaf	5/24/2004	Shaft
667	Hashemi	Leaf	6/3/2004	Amlash to Shalman, Ostadkelayeh
668	Hashemi	Leaf	6/3/2004	Amlash to Shalman, Ostadkelayeh
670	Hashemi	Leaf	6/3/2004	Amlash to Shalman, Ostadkelayeh
675	Hashemi	Leaf	6/3/2004	Amlash to Shalman, Ostadkelayeh
678	Hashemi	Leaf	6/18/2004	Rostam abad, Shamam
682	Binam	Leaf	6/18/2004	Rostam abad, Shamam
683	Binam	Leaf	6/18/2004	Rostam abad, Shamam
688	Hashemi	Leaf	6/18/2004	Rostam abad, Golsarak
689	Hashemi	Leaf	6/18/2004	Rostam abad, Golsarak
690	Hashemi	Leaf	6/18/2004	Rostam abad, Golsarak
692	Hashemi	Leaf	6/18/2004	Rostam abad, Golsarak
695	Hashemi	Leaf	6/18/2004	Rostam abad, Eskalak
696	Ali kazemi	Leaf	6/18/2004	Rostam abad, Eskalak
697	Ali kazemi	Leaf	6/18/2004	Rostam abad, Eskalak
701	Hashemi	Leaf	6/18/2004	Sangar, Darre posht
709	Hashemi	Leaf	7/4/2004	Shaft, Moaf mahaleh
713	Hashemi	Leaf	7/4/2004	Shaft, Markhal
715	Hashemi	Leaf	7/4/2004	Shaft, Markhal
716	Hashemi	Leaf	7/4/2004	Shaft, Markhal
721	Hashemi	Leaf	7/4/2004	Shaft, Markhal
813	Ali kazemi	Panicle neck	8/23/2004	Khoshke bijar to Lashte nesha

بیماری‌زایی جدایه‌ها روی ارقام مختلف و واکنش متفاوت حساسیت یا مقاومت ارقام به جدایه‌ها، کمک زیادی به گروه بندی جدایه‌ها خواهد نمود و از نژادهای شناسایی شده می‌توان برای ارزیابی واکنش ارقام و لاین‌های در دست اصلاح استفاده نمود و با مقایسه واکنش ارقام با ارقام افتراقی، حضور ژن‌های مقاومت و نوع آن ژن‌ها را مورد بررسی قرار داد.

*ایزدیاری* (۱۳۶۱) در آزمایشی روی ۲۳ جدایه از نقاط مختلف استان گیلان، دوازده نژاد بیماری‌زای مختلف متعلق به گروه‌های بین‌المللی IA و IG را گزارش نمود. نیکبخت و فاطمی (۱۳۷۲) تعداد ۱۴ نژاد متعلق به گروه‌های نژادی IA، IC، ID و IE را از روی جدایه‌های مناطق برنج کاری جنوب کشور شناسایی کردند. از میان آنها فراوان‌ترین نژادها متعلق به گروه نژادی IA بودند. *ایزدیاری و پاداشت* (۱۳۷۷) چهار نژاد فیزیولوژیک جدید را برای قارچ در گیلان گزارش نمودند. در مازندران، *بهرامی و فروتن* (۱۳۷۲) با مورد آزمایش قراردادن ۱۵ جدایه، دو نژاد IA-81 و IC-17 را تشخیص دادند. هم‌چنین *بهرامی و ایزدیاری* (۱۳۷۷) سه نژاد بیماری‌زای جدید به‌اسامی IA-66، IC-27 و IC-2 را در مازندران شناسایی نمودند. بر پایه مطالعات انجام‌شده توسط *جوان‌نیکخواه* (۱۳۸۰)، ۵۰ جدایه مورد آزمایش در شش نژاد متعلق به سه گروه نژادی IA، IC و IF با اسامی IA-89، IA-81، IC-25، IC-26، IC-29 و IF-1 قرار گرفتند. در بین این نژادها دو نژاد IA-89 و IC-25 با دربرگرفتن ۸۸ درصد از کل جدایه‌ها غالب بودند و مابقی جدایه‌ها (۱۲ درصد) متعلق به چهار نژاد دیگر بودند. از بین شش نژاد شناسایی‌شده، دو نژاد IA-89 و IA-81 در سال‌های قبل در گیلان شناسایی شده بودند، ولی چهار نژاد دیگر برای اولین بار در گیلان و ایران شناسایی شدند.

مایه‌زنی به‌اتاقک مرطوب با رطوبت صد درصد و دمای ۲۶°C-۲۴ منتقل شدند. بعد از ۲۴ ساعت نشاها به‌درون اتاقک گلخانه با رطوبت حدود ۹۵ درصد و دمای ۲۸°C-۲۶ منتقل شدند. درون اتاقک گلخانه، روی نشاها با جعبه پلاستیکی پوشانده شد. ارزیابی نشاها از روز سوم پس از آلودگی به‌منظور بررسی واکنش حساسیت یا مقاومت ارقام نسبت به هر جدایه شروع گردید. برای تشخیص تیپ آلودگی و حساسیت یا مقاومت ارقام از مقیاس‌های تعریف‌شده توسط *اتکینز و همکاران و بونمن و همکاران* (Atkins et al. 1967; Bonman et al. 1987) و برای تشخیص و نام‌گذاری نژادها نیز از روش *اتکینز و همکاران و لینگ و او* (Atkins et al. 1967; Ling and Ou 1969) استفاده شد.

## نتیجه

طی این تحقیق، ۳۲ جدایه (۲۳ جدایه از استان گیلان و نه جدایه از استان مازندران) برای شناسایی نژادهای فیزیولوژیک انتخاب و به‌ارقام مایه‌زنی شدند. از مجموع ۲۳ جدایه مورد آزمایش از استان گیلان، شش جدایه به‌نژاد IA-89، ۱۰ جدایه به‌نژاد IA-90، دو جدایه به‌نژاد IA-25 و پنج جدایه به‌نژاد IC-25 تعلق داشتند. از مجموع نه جدایه مورد آزمایش از استان مازندران، شش جدایه به‌نژاد IA-90 و سه جدایه به‌نژاد IA-25 تعلق داشتند (جدول ۲).

## بحث

شناسایی نژادهای فیزیولوژیک یکی از قدیمی‌ترین و در عین حال کارآترین روش‌های تعیین تنوع ژنتیکی قارچ‌های بیماری‌زای گیاهی به‌شمار می‌رود. اطلاع از میزان

جدول ۲. تعیین نژاد جدایه‌های عامل بلاست از استان‌های گیلان و مازندران

Table 2. The physiological races of blast isolates from Guilan and Mazandaran provinces

				Isolate code	Cultivar
678, 697, 701, 715, 721	515, 563, 620, 688, 690	529, 608, 609, 616, 621, 630, 661, 664, 667, 683, 682, 692, 695, 709, 713, 716	668, 670, 675, 689, 696, 813		
R	S	S	S	Raminad str.3	
R	S	R	R	Zenith	
S	S	S	S	NP-125	
R	R	R	R	Usen	
R	R	R	R	Dular	
S	S	S	S	Kanto-51	
S	S	S	S	Sha-tiao-tsao-s	
S	S	R	S	Caloro	
R	R	R	R	C101LAC	
R	R	R	R	C101A51	
R	R	R	R	C101PKT	
R	R	R	R	C104PKT	
R	R	R	R	C105 TTP-4L23	
R	R	R	R	Co39	
IC-25	IA-25	IA-90	IA-89	Race	

بودند (خسروی، منتشر نشده). وجود نژادهای فیزیولوژیک مشترک در جمعیت عامل بلاست در دو استان گیلان و مازندران را می‌توان با وجود نزدیکی جغرافیایی این دو استان و انتقال اسپورهای هوازاد عامل بلاست توسط باد و جابجایی کاه و کلش و بذرها ارقام مختلف برنج بین دو استان توجیه نمود.

نتایج تحقیق حاضر نشان‌دهنده نژادهایی است که طی سال‌های اجرای طرح در منطقه فعالیت می‌نمودند. با توجه به امکان ظهور نژادهای فیزیولوژیک جدید عامل بلاست طی سال‌های متمادی، به نظر می‌رسد این آزمایشات و شناسایی نژادهای جدید بایستی به‌طور مستمر انجام شوند. هم‌چنین شناسایی نژادها به‌کمک ارقام مورد استفاده در این تحقیق به‌علاوه لاین‌های ایزوژن از تیپ جاپونیکا نیز می‌تواند مفید بوده و به شناسایی نژادهای جدید، خصوصاً نژادهایی با جمعیت کم کمک نماید.

در این تحقیق نژادهای IA-25، IA-90، IA-89 و IC-25 به‌ترتیب با تعداد ۶، ۱۰، ۲ و ۵ جدایه برای جمعیت عامل بلاست در استان گیلان شناسایی شدند که سه نژاد IA-90، IA-89 و IC-25 از فراوانی بالاتری نسبت به نژاد IA-25 برخوردار بودند. نتایج این تحقیق تا حدودی در توافق با نتایج یزدی‌یار (۱۳۶۱)، نیکبخت و فاطمی (۱۳۷۲) و جوان‌نیکخواه (۱۳۸۰) می‌باشد که نژادهایی مشابه را برای جمعیت عامل بلاست در استان گیلان گزارش نمودند. هم‌چنین در این تحقیق نژاد IA-25 برای اولین بار در استان گیلان شناسایی شد. این نژاد توسط مجری طرح در استان مازندران برای آن استان، شناسایی شده بود (خسروی منتشر نشده). در این تحقیق هم‌چنین نه جدایه متعلق به استان مازندران نیز در دو نژاد IA-90 و IA-25 گروه‌بندی شدند که به‌ترتیب از فراوانی بیشتر و کمتری برخوردار بودند. این دو نژاد در تحقیقات گذشته نیز برای جمعیت عامل بلاست در استان مازندران شناسایی شده

## سپاسگزاری

مؤسسه فوق تأمین شده است.

نگارندگان از مسئولین محترم مؤسسه تحقیقات برنج کشور به خاطر فراهم آوردن امکانات لازم صمیمانه تشکر می نمایند. هزینه انجام این تحقیق از محل اعتبارات طرح شماره ۸۳۰۰۱-۸۳۰۱-۱۱-۱۳۰۰۰۰-۱۰۰-۰

## منابع

جهت ملاحظه به صفحات (73-74) متن انگلیسی مراجعه شود.

Archive of SID