مجله دانش گياهپزشكي ايران
دوره ۴۰, شماره ۲، ۱۳۸۸ (۱۰۸-۹۹)

بهينه‌سازي روش آلوده‌سازي در بيماري سوختگي غلاف به منظور تفكيك واكنش‌هاي واقعي ارقام برنج در مزرعه

فريدون پاداشت دهكايي[1]*، سيد محمود اخوت[2]، محمد جوان نيكخواه[3] و سيد باقر محمودي[4]
۱، ۲، ۳، دانشجوي دكتري، استاد و دانشيار، پرديس كشاورزي و منابع طبيعي دانشگاه تهران
۴، استاديار، موسسه تحقيقات اصلاح و تهيه بذر چغندرقند ـ كرج
(تاريخ دريافت: ۸۷/۴/۱۷ – تاريخ تصويب: ۸۸/۵/۷)

چكيده

بيماري سوختگي غلاف برنج كه در اثر گروه آناستوموزي AG1-IA از قارچ *Rhizoctonia solani* به وجود مي‌آيد، يكي از مهمترين بيماري‌هاي قارچي برنج در دنيا مي‌باشد. مقاومت گياه برنج نسبي است و عكس‌العمل آن در مقابل اين بيماري به دليل پيچيدگي توارثي و ناپايداري محيطي ثابت نيست به‌طوريكه تخمين صحيح بيماري مشكل است. براي تشخيص واكنش واقعي برنج در سطح بالايي از توسعه بيماري، يك روش آلوده‌سازي جديد، با توليد توده ميسليومي در محيط كشت مايع سيب‌زميني دكستروز (PDBroth) و يك سيستم افشانه آب، طراحي گرديد. نشاهاي برنج از سه رقم بومي (عنبربو ايلام، قصرالدشتي و اهلمي طارم) و دو رقم اصلاح شده (خزر و بهار) در مزرعه نشاكاري گرديدند. پس از ۴۵ روز پنجه‌هاي هر بوته به كمك يك باند پلاستيكي بسته شدند، سپس با يك جدايه پرآزار بيمارگر و به سه روش شامل، توده ميسليومي (MM)، مخلوط بذر و پوسته برنج كلنيزه شده (RG) و قطعات ساقه تازه آلوده شده برنج (FI) آلوده‌سازي شدند. بوته‌هاي آلوده‌سازي شده با راه‌اندازي يك سيستم افشانه آب در بالاي بوته‌ها و در ارتفاع ۱۶۰ سانتي‌متري از سطح خاك تا آخرين مرحله ارزيابي، مرطوب نگه داشته شدند. ميزان توسعه بيماري ۱۵ و ۲۵ روز پس از آلوده‌سازي و انتهاي مرحله خميري شدن دانه به روش RLH (Lesion Height Relative) اندازه‌گيري گرديد. سنجش داده‌هاي بيماري نشان داد كه در روش آلوده‌سازي FI بيماري با توسعه كم و با نتايج بسيار متغير ظاهر شد. اما نتايج در روش‌هاي آلوده‌سازي MM و RG داراي تغييرات كمتري در بين ارقام در مراحل مختلف ارزيابي بودند. بيشترين توسعه عمودي بيماري در همه ارقام مورد آزمايش در دومين مرحله ارزيابي و انتهاي مرحله خميري شدن دانه (حساس‌ترين مرحله رشدي برنج) در روش MM مشاهده شد. به‌طوريكه آنها به‌ترتيب در سه و دو گروه قرار گرفتند كه متفاوت از گروه بندي در روش‌هاي RG و FI بودند (DMRT 5%). بنابراين در شرايط استفاده از سيستم افشانه آب، آلوده‌سازي به روش توده ميسليومي را مي‌توان براي سنجش عكس‌العمل واقعي ارقام برنج در مقابل بيماري سوختگي غلاف در مزرعه به كار گرفت. ارقام عنبربو، قصرالدشتي، اهلمي طارم و بهار در آزمايش غربال‌گيري اوليه به‌عنوان ارقام نيمه مقاوم در يك گروه آماري مشابه تشخيص داده شدند، اما در اين مطالعه آنها در گروه‌هاي متفاوتي قرار گرفتند و تحمل واقعي آنها بعد از بهينه‌سازي شرايط آزمايش و با توسعه بيماري ظاهر شد به‌طوريكه اهلمي طارم به‌شدت حساسيت نشان داد.

واژه‌هاي كليدي: خالص‌سازي، زادمايه، سوختگي غلاف برنج، جداسازي، مايه‌زني، *Rhizoctonia solani*، *Thanatephorus cucumeris*.

* نويسنده مسئول: فريدون پاداشت دهكايي تلفن: ۰۹۱۱-۹۲۹۱۲۱۵ E-mail: padashtf@yahoo.com

مقدمه

بیماري سوختگي غلاف برنج اولین بار توسط Miayke در سال ۱۹۱۰ از ژاپن گزارش شد(Ou, 1985) و سپس در بسیاري از کشورهاي شرقي مستقر شد. این بیماري که در اثر گروه آناستوموزي AG1-IA از قارچ *Rhizoctonia solani* Kühn و با فرم جنسي *Thanatephorus cucumeris* (Frank) Donk به‌وجود مي‌آید تقریباً از همه کشورهاي تولید کننده برنج گزارش شده است ولي در مناطق پرباران و گرم خسارت بیشتري وارد مي‌نماید (Hori, 1980) به طوریکه خسارت آن را در ارقام حساس تا ۵۰ درصد نیز پیش‌بیني کرده‌اند (Marchetti, 1983). بروز بیماري سوختگي غلاف برنج به عنوان یك بیماري مهم و اقتصادي مربوط به تداوم سیستم کشت برنج و توسعه کاشت واریته‌هاي جدید پاکوتاه، پرینجه، پرمحصول، کشت متراکم و افزایش مصرف نیتروژن مي‌باشد که به‌عنوان یك عامل مهم محدود کننده کشت برنج در دو دهه اخیر شده است(Banniza *et al*., 1999). روش‌هاي معدودي براي کنترل این بیماري ارائه شده است که به جز روش شیمیایي عمدتاً قابلیت اجرا ندارند. از بین بردن مایه آلوده‌کننده بیماري از طریق سوزاندن کلش در از بین بردن سختینه ها و یا غیرفعال‌کردن آنها به‌قدرکافي موثر نیست و تناوب طولاني مدت با محصولات دیگر نیز از نظر اقتصادي عملي نیست. به‌علاوه به‌دلیل اینکه بیمارگر، میزبان‌هاي زیادي دارد و مایه آلوده‌کننده بیماري در بسیاري از علف‌هاي هرز و محصولات بعدي در مزرعه باقي مي‌ماند، تناوب غیرموثر است (Lee & Rush, 1983)، به‌عنوان مثال تناوب برنج با سویا سبب افزایش بیماري مي‌شود، چون AG-1 IA *R. solani* عامل بلایت اندام‌هاي هوایي سویا نیز مي‌باشد (Damicone *et al*., 1993). بعلاوه گزارش شده است که قارچ عامل بیماري مذکور روي برنج، گیاهان متعلق به ۲۷ خانواده شامل تك‌لپه‌اي و دولپه‌اي را آلوده مي‌نماید(Premalatha Dath, 1990). تولید سختینه ها مي‌تواند با کشت ارقام مقاوم کاهش یابد و کاربرد قارچکش‌ها علاوه بر کاهش مستقیم خسارت به محصول، سبب کاهش اساسي تولید سختینه نیز مي‌شود (Lee & Rush, 1983). اما به دلیل اثرات سوء سموم در محیط زیست، اکثر کشورها به دنبال روش‌هاي جایگزین و یا مکمل در جهت کنترل این بیماري مي‌باشند. کنترل بیولوژیك و تهیه ارقام مقاوم و نیمه مقاوم به روش‌هاي کلاسیك و ترانس ژنیك از عمده‌ترین الگوهاي تحقیقاتي مي‌باشند. براي تهیه ارقام مقاوم تحقیقات زیادي در دنیا صورت گرفته است. Hashiba (1984) گزارش کرد که از ارزیابي ۶۰۰۰ رقم برنج از ۴۰ کشور جهان هیچ رقمي با ژن مقاومت بزرگ اثر نسبت به این بیماري تشخیص داده نشده است و تا کنون فقط مقاومت نسبي در بعضي از ارقام برنج تشخیص داده شده است (Vidhyasekaran *et al*., 1997; Hashioka, 1991; Hashiba, 1984). تشخیص مقاومت‌هاي کم مشکل بوده و نیاز به روش هاي قابل اعتماد براي آلوده سازي و نمره‌گذاري بیماري مي‌باشد. تاکنون از روش‌ها و شکل‌هاي مختلفي از مایه‌آلوده‌کننده از بیمارگر براي آلوده‌سازي گیاه برنج شامل، سختینه، بذر و پوسته برنج کلنیزه شده توسط بیمارگر، محیط کشت حاوي میسلیوم بیمارگر، قطعات ساقه برنج تازه آلوده شده، مخلوط پوسته برنج و آرد ذرت و بذر برنج کلنیزه شده براي اهداف مختلف تحقیقاتي استفاده شده است (Ou, 1985; Mew & Rosales, 1986; Cu *et al*., 1996; Munish & Singh, 2000; Eizenga *et al*., 2002). اما در تعیین و تفکیک میزان حساسیت و مقاومت ارقام، مشکل ایجاد آلودگي یکنواخت در یک رقم حتي در بوته‌هاي مجاور هم و بي‌ثباتي واکنش رقم در تکرارآزمایش، از سالي به سال دیگر و از محلي به محل دیگر (Pinson *et al*., 2005) از مسایلي است که تعیین عکس‌العمل واقعي رقم را دچار تردید مي‌نماید. توسعه نامنظم و ضعیف بیماري در خزانه‌هاي باز و گسترده ناشي از رطوبت نسبي کم مي‌باشد، چون توسعه بیماري به رطوبت و حرارت اطراف حساس است. همچنین وراثت‌پذیري کم و ارتباط مقاومت با برخي صفات مرفولوژیکي گیاه مانند تاریخ خوشه‌دهي، دیر رسي و قد بلندي بوته از دیگر مشکلات مي‌باشند (Groth & Nowick, 1992; Zou *et al*., 2000). به همین دلیل در این تحقیق روش‌هاي مختلف تهیه مایه‌آلوده کننده بیمارگر و آلوده‌سازي در چهار رقم نسبتًا مقاوم (پا کوتاه و پا بلند) و یک رقم حساس، انتخابي از آزمایش غربالگري قبلي (Padasht- Dehkaaei *et al*., 2007)، با

طراحي يک سيستم افشانه آب براي تامين رطوبت در مزرعه و به‌هم بستن پنجه‌هاي هر بوته، به منظور يافتن بهترين روش آلوده‌سازي براي دستيابي به نتايج قابل اعتمادتر در تفکيک و شناسايي عکس‌العمل واقعي ارقام مورد مطالعه قرار گرفت.

مواد و روش‌ها

جداسازي، خالص سازي و نگهداري بيمارگر: در فصل تابستان تعدادي از مزارع برنج در حومه شهرستان‌هاي رشت، آستانه اشرفيه، سياهکل، لنگرود، رودسر، صومعه‌سرا و انزلي در استان گيلان مورد بازديد قرار گرفت. ساقه‌هاي گياه برنج که داراي علايم مشخص بيماري روي غلاف بودند جمع‌آوري شده و به آزمايشگاه منتقل شدند. نمونه هاي آلوده پس از ضد عفوني سطحي و کشت روي محيط آگار، جدايه‌هاي قارچ عامل بيماري (*Rhizoctonia solani*) با برداشت نوک ريسه، جداسازي و خالص‌سازي شدند. سپس براي نگهداري طولاني مدت، هريک از جدايه‌ها روي محيط غذايي PDA کشت شده و در انکوباتور با دماي ۲۸°C به مدت ۱۰ الي ۱۵ روز نگهداري شدند، سختينه‌هاي زيادي که در اين فاصله تشکيل شدند از روي محيط کشت و در زير هود جمع‌آوري شده و به مدت دو ساعت در همان شرايط خشک شدند. سختينه‌ها داخل ميکروتيوب‌ها منتقل شده و در فريزر دماي ۲۰°C- نگهداري شدند.

روش تهيه زادمايه (مايه‌آلوده کننده): در اين آزمايش سه روش براي تهيه مايه آلوده کننده مورد استفاده و ارزيابي قرار گرفت.

مخلوط پوسته و بذر برنج (Rice grain/Rice hull=RG): پوسته و بذر برنج به نسبت دو به يک حجمي با هم مخلوط شده و در آب معمولي به مدت ۲۴ ساعت خيس داده شدند. سپس مخلوط مذکور از آب خارج شده و در ظرف‌هاي ارلن ۵۰۰ ميلي‌ليتري ريخته و سه مرتبه (سه روز متوالي) و هر مرتبه به مدت يک ساعت در اتوکلاو در حرارت ۱۲۰°C سترون شدند. قارچ عامل بيماري (*R. solani*) را روي محيط غذايي PDA در تشتک‌هاي پتري به قطر ۹ سانتي‌مترکشت داده، دو روز بعد نصف کشت آن زير مخلوط پوسته و بذر در داخل هر ارلن قرار داده شد. حرارت ارلن به مدت ۱۵ روز در شرايط آزمايشگاه و در حرارت مناسب و در تاريکي نگهداري شدند. در اين فاصله قارچ مذکور به‌سرعت رشد نموده و تمام محيط داخل ارلن‌ها را فراگرفت (Groth & Nowick, 1992). پنج گرم از مخلوط پوسته و بذر کلنيزه شده توسط قارچ بيمارگر را در يک تکه پارچه توري بسته و براي آلوده‌سازي هر بوته، يک بسته از آن مورد استفاده قرار گرفت.

توده ميسليومي (Mycelial mass=MM): در اين روش که براي اولين بار معرفي و استفاده مي‌گردد قرص‌هايي به قطر ۸/۵ ميلي‌متر از قسمت حاشيه پرگنه قارچ عامل بيماري روي محيط غذايي PDA تهيه گرديد. ده عدد از قرص‌هاي مذکور را در هر ظرف ارلن حاوي ۱۲۵ ميلي‌ليتر محيط غذايي سيب‌زميني دکستروز مايع (Potato Dextrose Broth) کشت داده، به مدت ٤٠ ساعت در حرارت ۳۰°C داخل انکوشيک (با سرعت ۱۰۰ rpm) نگهداري شدند. پس از اين مدت هر قرص تبديل به يک پرگنه يا توده ميسليومي گوي شکل شد که هر يک از آن‌ها را داخل يک برگ دستمال کاغذي پيچيده و براي آلوده‌سازي، يک بسته از آن براي هر بوته استفاده گرديد.

ساقه تازه آلوده شده برنج (Freshly infected rice stem=FI): قبل از اجراي آزمايش در مزرعه، نشاهاي به‌دست آمـــــده از برنج رقم خزر در شرايط گلخانه را در سطل‌هاي پلاستيکي با ابعاد ۳۰×۲۰ cm حاوي خاک مزرعه کشت نموده و در همان شرايط گلخانه نگهداري شدند. پس از اينکه بوته‌ها به مرحله رشدي انتهاي پنجه‌زني رسيدند با مايه آلوده کننده تهيه شده به روش ۲-۲ آلوده‌سازي شدند. براي فراهم نمودن رطوبت مناسب، به کمک مه‌پاش رطوبت داخل گلخانه تامين گرديد. پس از يک هفته، کليه ساقه‌ها در همه گلدان‌ها کف بر شده و قسمت‌هاي آلوده ساقه به طول ۷ سانتي‌متر قطعه قطعه گرديدند. از اين قطعات براي آلوده‌سازي استفاده شدند.

انتخاب جدايه پرآزار بيمارگر: برنج اصلاح شده رقم سپيدرود که در آزمايش‌ها به عنوان رقم حساس مورد استفاده قرار مي‌گرفت را در سطل‌هاي پلاستيکي با ابعاد ۳۰×۲۰ cm حاوي خاک مزرعه کشت کرده و در گلخانه نگهداري شد. همزمان ۹ جدايه از قارچ عامل بيماري که

از مزارع برنج مناطق مختلف استان گیلان جداسازي شده بودند، مطابق بند ۲-۱ به‌طور جداگانه کشت و تکثیر شدند. براي آلوده‌سازي پس از اینکه بوته‌ها به مرحله رشدي انتهاي پنجه‌زني رسیدند پنج گرم از مخلوط پوسته و بذر برنج کلنیزه شده از هر یک از جدایه‌هاي بیمارگر به‌طور جداگانه در میان پنجه‌هاي برنج رقم سپیدرود قرار داده شدند. هر جدایه در ۵ بوته و در ۵ سطل مایه زني شد و کلیه سطل‌ها در گلخانه نگهداري شده و به منظور تامین رطوبت روزانه ۳-۲ بار به‌صورت باراني آبیاري شدند. میزان بیماري دو هفته پس از ظهور خوشه ها در هر پنجه و در کلیه بوته‌هاي اندازه‌گیري شد. داده‌ها براساس طرح بلوك‌هاي کامل تصادفي، با پنج تکرار و به کمك نرم‌افزار IRRISTAT مورد تجزیه و تحلیل آماري قرار گرفتند. به این ترتیب بیماري‌زاترین جدایه براي ادامه آزمایشات انتخاب شدند.

کشت ارقام در مزرعه: ارقام اصلاح شده خزر و بهار (هیبرید) و ارقام بومي عنبربو، قصرالدشتي و اهلمي طارم در هر روش آلوده‌سازي در چهار تکرار و در هر تکرار در دو ردیف ۹ بوته‌اي کشت شدند دور تا دور هر تکرار از ارقام پابلند در سه ردیف و به‌صورت متراکم کشت گردیدند.

سیستم تامین رطوبت در مزرعه: آب کانال آبیاري توسط یك پمپ برقي شناور به یك مخزن ۲۰۰۰ لیتري منتقل و از آنجا توسط یك پمپ دیگر با فشار ثابت به‌طور اتوماتیك وارد شبکه لوله‌هاي نصب شده در محل آزمایش وارد مي‌شد. براي ایجاد مه در سطح مزرعه محل آزمایش انشعاباتي به فواصل ۴ متر از یکدیگر در شاخه اصلي و به ارتفاع ۱۶۰ سانتي‌متر از سطح خاك و در بالاي بوته‌هاي برنج نصب شد. روي انشعابات فرعي افشانه‌هاي $\frac{1}{2}$ اینچي به فواصل ۳/۵ متر از یکدیگر نصب شدند که پس از فعال شدن سیستم، قدرت پرتاب آب به صورت قطرات بسیار ریز هر افشانه به شعاع ۲/۵ متر حول محور خود بود. بدین‌ترتیب تمام سطح محل آزمایش با قطرات بسیار کوچك آب و به‌صورت تقریباً مه پوشش داده شد

آلوده‌سازي بوته‌ها در مزرعه: پس از انتخاب بیماریزاترین جدایه از میان جدایه‌هاي مورد آزمایش، مایه آلوده کننده آن براساس سه روش ارایه شده در بند ۲ تهیه و تکثیر گردید.

۴۵ روز پس از نشاکاري کلیه پنجه‌هاي هر بوته به کمك یك رشته کش پلاستیکي (rubber band) از فاصله ۱۰ سانتي‌متري از سطح خاك مزرعه دور هم جمع و بسته شدند. براي آلوده‌سازي بوته‌ها در هر روش به‌ترتیب، یك بسته ۵ گرمي از مخلوط پوسته و بذر کلنیزه شده در یك قطعه پارچه توري، یك توده میسلیومي پیچیده شده در یك برگ دستمال کاغذي و یك قطعه از ساقه آلوده در میان پنجه‌ها بالاي محل بسته شده، قرار گرفتند. بوته‌هاي آلوده شده روزانه با توجه به شرایط آب و هوایي، چندین بار به کمك سیستم تامین رطوبت تا آخرین مرحله نمونه‌برداري مه‌پاشي شدند.

سنجش میزان توسعه بیماري: اندازه‌گیري میزان توسعه بیماري در همه ارقام آلوده شده در هر سه روش، در سه مرحله و به فواصل زماني ۱۵ و ۲۵ روز پس از آلوده‌سازي و انتهاي مرحله خمیري شدن دانه صورت گرفت. براي نمونه‌برداري در هر مرحله، در هر روش، ۳ بوته از هر رقم کف برگردید و درصد ارتفاع نسبي آلودگي به کمك فرمول زیر تعیین شد (Sharma *et al.*, 1990b):

$$\%\text{Relative Lesion Height} = \frac{\text{ارتفاع آلودگي در هر پنجه}}{\text{ارتفاع هر پنجه}} \times ۱۰۰$$

آنالیزهاي آماري: داده‌ها در هر مرحله به کمك نرم‌افزار IRRISTAT و در قالب طرح بلوك‌هاي کامل تصادفي تجزیه و تحلیل شد. سایر مقایسات توصیفي نیز با استفاده از نرم افزار SPSS ver.12 و Excel انجام شد.

نتایج و بحث

ارزیابي شدت بیماریزایي ۹ جدایه از قارچ عامل بیماري که از مناطق مختلف استان گیلان جمع‌آوري شده بود نشان داد که جدایه R87 داراي توانایي بیشتري در ایجاد بیماري روي برنج رقم سپیدرود نسبت به سایر جدایه‌ها بوده و با میانگین ارتفاع نسبي آلودگي ۷/۸۳ درصد در گروه اول قرار گرفت (جدول۱). از این رو جدایه براي روشهاي مختلف تهیه مایه آلوده‌کننده و آلوده‌سازي ارقام برنج در شرایط مزرعه انتخاب و مورد استفاده قرار گرفت.

جدول ۱- مقايسه ميانگين ارتفاع نسبي بيماري (RLH%) سوختگي غلاف در اثر جدايه‌هاي *Rhizoctonia solani* روي برنج رقم سپيدرود

شماره جدايه	محل جداسازي	ميانگين*
R 129	رودسر	۱/۸۷ c**
R 85	كولاچاي خشكبيجار	۴/۸۷ b
R 87	خشكبيجار	۷/۸۳ a
R 95	نوشهر خشكبيجار	۵/۹۸ ab
R 64	ديوشل لنگرود	۳/۴۵ bc
R 110	لنگرود	۳/۳۵ bc
R 43	سياهكل	۵/۶۰ ab
R 144	صومعه‌سرا	۲/۲۱ c
R 131	انزلي	۲/۱۵ c

*: ميانگين در صد ارتفاع نسبي بيماري (ميانگين ۵ تكرار).
**: ميانگين‌هايي كه داراي حرف مشترك هستند در سطح ۵% تفاوت معني‌داري با يكديگر ندارند (DMRT).

نتايج جدول تجزيه واريانس داده‌ها در هر سه مرحله از ارزيابي ميزان بيماري نشان داد كه در روش‌هاي آلوده‌سازي و در ارقام مورد آزمايش تفاوت‌هاي معني داري از نظر آماري وجود دارد. تعداد نمونه‌هايي از هر رقم كه ميزان پيشرفت بيماري در آنها اندازه‌گيري شده است، ميانگين آنها، انحراف معيار، خطاي استاندارد، ضريب تغييرات و دامنه تغييرات در هر رقم، در هر يك از روش‌هاي آلوده‌سازي و در سه مرحله ارزيابي، يعني ۱۵ و ۲۵ روز پس از آلوده‌سازي و انتهاي مرحله خميري شدن دانه در جدول ۲ آمده است. ميانگين ميزان آلودگي ارقام در سه روش آلوده‌سازي در مرحله اول ارزيابي كه به روش آزمون چند دامنه دانكن (5%) با هم مقايسه شدند (جدول ۲) تقريباً نتايج مشابهي در دو روش RG (بذر و پوسته برنج كلنيزه شده) و MM (توده ميسليومي بيمارگر) داشتند، اما نتايج گروه‌بندي اين ارقام در روش FI (ساقه تازه آلوده شده) با ميانگين آلودگي كمترگروه‌هاي متفاوتي را نشان داد، ضمن اينكه انحراف معيار و ضريب تغييرات آنها نيز بسيار بالاتر از دو روش ديگر بود. بنابراين در اين مرحله از ارزيابي روش FI با توجه به نتايج، نمي‌تواند روش صحيحي براي تفكيك واكنش ارقام مورد آزمايش باشد.

ميزان توسعه بيماري در مرحله بعد يعني ۲۵ روز پس از زمان آلوده‌سازي با نمونه‌برداري مجدد مورد اندازه‌گيري قرار گرفت. نتايج در اين مرحله (جدول۲) نشان داد كه تمامي ارقام در آلوده‌سازي با استفاده از ساقه‌هاي تازه آلوده شده (FI) در يك گروه قرار دارند، ضمن اينكه ضريب تغييرات در اين روش كلاً بالاتر از دو روش ديگر است. در حاليكه رقم اهلمي طارم كه در دو روش RG و MM به‌ترتيب با ميانگين آلودگي ۳۰/۹۵ و ۳۱/۵ در گروه اول قرار دارد، ضريب تغييرات آن نيز به‌ترتيب با ۱۶/۰۳ و ۱۶/۷۶ در مقايسه با روش FI (۶۳/۵۷) بسيار كمتر است و اين در واقع تغيير شديد نتايج در روش FI را نشان مي‌دهد. در همين مرحله از آزمايش نتايج دو روش RG و MM از يكديگر تفكيك مي‌شوند. همه ارقام در روش MM با ميانگين آلودگي بيشتر نسبت به روش RG و با ضريب تغييرات كمتر در گروه‌هاي متفاوتي قرار گرفتند در حاليكه در روش RG فقط به دو گروه تقسيم شدند. بنابراين روش MM ضمن اينكه آلودگي بيشتري در همه ارقام ايجاد كرده است، يكنواختي آلودگي آن در هر رقم نيز بهتر از دو روش ديگر بوده است. بدين ترتيب در اين روش تفاوت نوع و ميزان عكس‌العمل ارقام بهتر آشكار شده است. اما حساس‌ترين مرحله رشدي گياه برنج در مقابل بيماري سوختگي غلاف، پس از ظهور خوشه‌ها و زمان شروع فرآيند پر شدن دانه ها است. يعني وقتي كه كربوهيدرات به طرف بالا و به سمت دانه‌هاي در حال توسعه حركت مي‌كند، چنانچه اين مرحله مصادف با شرايط محيطي مساعد باشد، بيماري خيلي شديد خواهد بود (Pinson *et al*., 2005). بنابراين، نتايج مرحله سوم اين آزمايش كه از نمونه برداري در مرحله انتهاي خميري شدن دانه به‌دست آمده است مي تواند معيار خوبي براي قضاوت روش‌هاي آلوده‌سازي و در پي آن روي نتايج ناشي از آن‌ها در گروه بندي ارقام باشد. گروه‌بندي ارقام مورد آزمايش در مرحله انتهاي خميري شدن دانه نشان داد كه بيشترين ميزان توسعه بيماري در ارقام مذكور به روش استفاده از توده ميسليومي (MM) ظاهر شده است و نتايج گروه‌بندي و تفكيك آنها نيز در اين روش متفاوت از دو روش ديگر بوده است. به‌عنوان مثال رقم خزر در روش RG پس از رقم اهلمي طارم در گروه دوم از نظر حساسيت به بيماري قرار دارد در حاليكه در روش MM با آلودگي بيشتر به همراه رقم مذكور در يک گروه قرار گرفته است ضمن اينكه ضريب تغييرات آن نيز كمتر بوده است (۲۹/۰۴). در جدول ۳

وضعيت گروه‌بندي هر رقم از نظر ميانگين توسعه بيماري در سه روش آلوده‌سازي نشان داده شده است. همانطور كه ملاحظه مي‌گردد، همه ارقام در هر سه مرحله از ارزيابي از نظر ميزان پيشرفت بيماري در روش توده ميسليومي در گروه اول قرار دارند هر چند كه اين روش در بسياري از موارد با دو روش RG و FI تفاوت معني‌داري نشان نداده است. وضعيت گروه‌بندي ارقام مذكور در روش MM متغير نبوده است و به عبارت ديگر روش آلوده‌سازي MM متاثر از رقم نبود. نهايتاً در جدول ۴ آمار توصيفي هر سه روش آلوده‌سازي از نظر ميزان توسعه بيماري در سه مرحله رشدي گياه برنج آمده است. ميانگين داده‌ها از كليه ارقام در هر روش نشان مي‌دهد كه ميانگين ميزان آلودگي در روش MM در مراحل دوم و سوم ارزيابي، بيشتر از دو روش ديگر بوده است ضمن اينكه ضريب تغييرات آن در مرحله دوم كمتر از دو روش ديگر است. در حاليكه گروه‌بندي آن در همين مرحله (جدول۲) متنوع‌تر از دو روش ديگر است يعني آلودگي در كليه ارقام بيشتر و با گروه‌بندي متنوع تر از دو روش ديگر، ولي با ضريب تغييرات كمتر، به‌عبارت ديگر پراكندگي داده‌ها كمتر بوده و آلودگي در هر رقم از يكنواختي بيشتري برخوردار بوده است.

مقايسه اين موضوع در جداول ۴ و ۲ براي مرحله سوم نيز تقريباً داراي توجيه مشابهي است. اين موضوع در تشخيص مقاومت كم و تفكيك ارقام با مقاومت‌هاي كم و ارقام بدون مقاومت، در بيماريي كه مقاومت كامل يا ژن غالب در آن وجود ندارد بسيار با اهميت و اساسي است. چون تاكنون فقط مقاومت نسبي در مقابل اين بيماري شناسايي شده است (Hashioka, 1991; Bonman *et al*., 1992; Xie *et al*., 1992; Pinson *et al*., 2005).

تاكنون روش‌هاي مختلفي براي آلوده سازي نشاها و بوته‌هاي برنج در شرايط گلخانه و مزرعه به كار گرفته شده است. مخلوط پوسته و بذر كلنيزه شده نيز به صورت پاشيدن در اندازه‌هاي معين در واحد سطح كرت‌هاي آزمايشي و يا بين رديف‌هاي كشت (Marchetti, 1983; Marchetti & Bollich, 1991)، و يا به اندازه‌هاي دو تا پنج گرم به ازاي هر بوته استفاده شده است. اما در هر دو روش مقدار مايه آلوده‌كننده براي هر بوته نمي‌تواند يكسان باشد. در روش پاشيدن مايه‌آلوده كننده، بوته‌ها به‌طور تصادفي در معرض آلودگي قرار مي‌گيرند و در روش بعدي هم بالا آمدن آب مي‌تواند سبب رها شدن پوسته‌هاي كلنيزه شده از داخل پنجه‌ها در سطح آب مزرعه شود.

جدول ۲ - آمار توصيفي روش‌هاي آلوده‌سازي به بيماري سوختگي غلاف برنج در نمونه‌هاي داخل هر رقم طي سه مرحله ارزيابي در شرايط مزرعه

روش‌هاي آلوده‌سازي و زمان ارزيابي	ارقام	تعداد نمونه	ميانگين (RLH%) *	انحراف معيار	خطاي استاندارد	ضريب تغييرات	دامنه تغييرات
S1 ** RG ***	خزر	۱۰۲	۲۱/۲۳ ab	۵/۴۵	۰/۵۴	۲۵/۶۷	۳۲/۸
	عنبربو	۱۱۵	۱۸/۵۲ b	۴/۰۸	۰/۳۸	۲۲/۰۳	۲۵/۳
	بهار	۱۵۶	۲۳/۱۱ a	۵/۲۱	۰/۴۲	۲۲/۵۴	۳۳/۷
	قصرالدشتي	۱۱۰	۲۰/۵۵ ab	۳/۶۳	۰/۳۵	۱۷/۶۶	۲۳/۷
	اهلمي طارم	۱۴۶	۲۱/۴ ab	۴/۸	۰/۴	۲۲/۴۳	۳۸/۹
S1 MM	خزر	۱۱۳	۲۲/۳۳ a	۴/۹	۰/۴۶	۲۱/۹۴	۳۵/۷
	عنبربو	۱۰۵	۱۷/۳۲ b	۵/۹۴	۰/۵۸	۳۴/۳	۳۶/۸
	بهار	۱۵۴	۲۳/۰۶ a	۵/۰	۰/۴	۲۱/۶۸	۳۲/۸
	قصرالدشتي	۱۱۲	۱۹/۲۳ ab	۴/۹۵	۰/۴۷	۲۵/۷۴	۳۲/۸
	اهلمي طارم	۱۲۸	۲۰/۶۶ ab	۴/۰۷	۰/۳۶	۱۹/۷	۲۶/۵
S1 FI	خزر	۷۷	۱۷/۳۲ a	۹/۱۳	۱/۰۴	۵۲/۷۱	۳۲/۸
	عنبربو	۸۹	۱۴/۱۸ bc	۸/۳۵	۰/۸۹	۵۸/۸۹	۳۱/۴
	بهار	۱۲۵	۱۳/۲۵ bc	۱۰/۱۴	۰/۹۱	۷۶/۵۳	۳۴/۹
	قصرالدشتي	۷۲	۱۱/۲ c	۱۰/۰۴	۱/۱۸	۸۹/۶۴	۲۸/۳
	اهلمي طارم	۱۰۷	۱۴/۷ ab	۷/۸۸	۰/۷۶	۵۳/۶۱	۳۱/۳

ادامه جدول ۲

	خزر	۸۹	۲۲/۱۷ b	۶/۱۸	۰/۶۶	۲۷/۸۸	۳۴/۴
S2	عنبربو	۱۰۲	۲۳/۸۵ b	۶/۴۶	۰/۶۴	۲۷/۰۹	۳۸/۵
RG	بهار	۱۳۹	۲۰/۲۳ b	۷/۷۴	۰/۶۶	۳۸/۲۶	۳۸/۴
	قصرالدشتي	۱۰۶	۲۴/۰۶ b	۶/۱۱	۰/۵۹	۲۵/۴	۴۲/۴
	اهلمي طارم	۱۳۲	۳۰/۹۵ a	۴/۹۶	۰/۴۳	۱۶/۰۳	۲۹/۰
	خزر	۱۰۲	۲۵/۴۳ bc	۵/۴۱	۰/۵۴	۲۱/۲۷	۲۱/۲
S2	عنبربو	۱۱۸	۲۸/۵ ab	۶/۶۲	۰/۶۱	۲۳/۲۳	۳۴/۲
MM	بهار	۱۵۲	۲۲/۷۲ c	۷/۲۳	۰/۵۹	۳۱/۸۲	۵۰/۷
	قصرالدشتي	۱۰۲	۲۵/۴۹ bc	۵/۵	۰/۵۵	۲۱/۵۸	۲۲/۱
	اهلمي طارم	۱۱۲	۳۱/۵ a	۵/۲۸	/۵۰	۱۶/۷۶	۳۱/۷
	خزر	۸۲	۲۳/۴۶ a	۵/۹۱	۰/۶۵	۲۵/۱۹	۳۵/۹
S2	عنبربو	۸۵	۲۰/۹۹ a	۱۰/۹۱	۱/۱۸	۵۱/۹۸	۴۱/۲
FI	بهار	۱۳۶	۲۲/۴۷ a	۷/۶۴	۰/۶۶	۳۴/۰	۴۷/۵
	قصرالدشتي	۱۰۲	۲۳/۴۷ a	۸/۰۶	۰/۸۰	۳۴/۳۴	۳۹/۶
	اهلمي طارم	۹۵	۲۱/۶۶ a	۱۳/۷۷	۱/۴۱	۶۳/۵۷	۴۶/۸
	خزر	۸۶	۴۱/۷۲ b	۱۴/۱۵	۱/۵۳	۳۳/۹۲	۵۵/۱
S3	عنبربو	۱۱۵	۳۵/۵۲ bc	۸/۳۰	۰/۷۷	۲۳/۳۷	۴۱/۴
RG	بهار	۱۰۷	۲۸/۶۰ c	۱۹/۱۸	۱/۵۶	۶۷/۰۶	۶۹/۹
	قصرالدشتي	۱۶۳	۳۳/۶۹ bc	۱۲/۷۶	۱	۳۷/۸۷	۶۹/۷
	اهلمي طارم	۱۳۹	۵۲/۸۵ a	۸/۹۵	۰/۷۶	۱۶/۹۳	۴۶/۲
	خزر	۱۰۱	۴۸/۳۱ a	۱۴/۰۳	۱/۴	۲۹/۰۴	۴۹/۹
S3	عنبربو	۱۱۷	۳۹/۰۶ b	۸/۳۴	۰/۷۷	۲۱/۳۵	۴۲/۸
MM	بهار	۱۵۷	۲۹/۹۲ c	۱۹/۰۴	۱/۵۲	۶۳/۶۴	۷۲/۲
	قصرالدشتي	۱۷۲	۳۴/۶۱ bc	۱۲/۹۰	۰/۹۸	۳۷/۲۷	۷۰/۳
	اهلمي طارم	۱۲۹	۵۴/۴۵ a	۹/۴۳	۰/۸۳	۱۷/۳۲	۴۸/۵
	خزر	۱۰۰	۴۶/۶۹ ab	۱۵/۳۸	۱/۵۴	۳۲/۹۴	۵۰/۳
S3	عنبربو	۱۱۴	۳۸/۴۲ bc	۸/۰۳	۰/۷۵	۲۰/۹	۴۹/۴
FI	بهار	۱۳۷	۲۹/۵۸ d	۱۸/۴۴	۱/۵۸	۶۲/۳۴	۶۹/۶
	قصرالدشتي	۱۶۹	۳۳/۲۳ cd	۱۳/۹۲	۱/۰۷	۴۱/۸۹	۷۹/۶
	اهلمي طارم	۱۳۳	۴۸/۲۱ a	۸/۵۷	۰/۷۴	۱۷/۷۸	۴۷/۱

*: RLH%= درصد ارتفاع نسبي آلودگي ساقه برنج به بيمارگر

**: S1، S2 و S3 به‌ترتيب نمونه‌برداري و تعيين ميزان بيماري در مراحل ۱۵ و ۲۵ روز پس از آلوده سازي و انتهاي مرحله خميري شدن دانه.

***: RG= يك بسته ۵ گرمي از مخلوط پوسته و بذر برنج كلنيزه شده توسط قارچ *Rhizoctonia solani* در يك قطعه پارچه توري.

MM= يك توده ميسليومي از بيمارگر، پيچيده شده در يك برگ دستمال كاغذي.

FI = يك قطعه ۷ سانتي متري از ساقه برنج تازه آلوده شده به بيمارگر.

در هر روش آلوده‌سازي، در هر ستون ميانگين‌هاي با حروف مشترك اختلاف معني‌داري با يكديگر ندارند (DMRT 5%).

جدول ۳- مقايسه ميانگين ارتفاع نسبي آلودگي چند رقم برنج به بيماري سوختگي غلاف در روش‌هاي مختلف آلوده‌سازي

روش‌هاي آلوده‌سازي و زمان ارزيابي		ارقام				
		خزر	عنبربو	بهار	قصرالدشتي	اهلمي طارم
**S1	*RG	۲۱/۲۶ ab	۱۸/۴۷ a	۲۳/۱۸ a	۲۰/۵۳ a	۲۱/۴۰ a
	MM	۲۲/۴۰ a	۱۷/۰۸ a	۲۳/۰۴ a	۱۹/۲۰ a	۲۰/۵۸ a
	FI	۱۸/۰۸ b	۱۳/۶۲ b	۱۳/۳۰b	۱۱/۰۹ b	۱۴/۹۹ b
S2	RG	۲۱/۹۷ a	۲۳/۸۷ ab	۲۰/۳۴ a	۲۴/۱ a	۳۰/۹۹ a
	MM	۲۵/۳۴ a	۲۸/۲۵ a	۲۲/۶۳ a	۲۵/۲۹ a	۳۱/۵۲ a
	FI	۲۳/۲۱ a	۲۲/۰۶ b	۲۲/۸۴ a	۲۳/۵۹ a	۲۱/۱۹ a
S3	RG	۴۰/۹۱ b	۳۴/۹۹ a	۲۸/۰۱ a	۳۳/۳۲ a	۵۲/۸۴ ab
	MM	۴۷/۷۰ a	۳۸/۶۳ a	۲۹/۸۲ a	۳۵/۱ a	۵۴/۵۳ a
	FI	۴۵/۹۰ ab	۳۸/۵۱ a	۲۹/۳۶ a	۳۳/۰۵ a	۴۸/۱۴ b

*: RG= يك بسته ۵ گرمي از مخلوط پوسته و بذر برنج كلنيزه شده توسط قارچ *Rhizoctonia solani* در يك قطعه پارچه توري.

MM= يك توده مسيليومي از بيمارگر، پيچيده شده در يك برگ دستمال كاغذي.

FI= يك قطعه ۷ سانتي متري از ساقه برنج تازه آلوده شده به بيمارگر

**: S1، S2 و S3 به ترتيب نمونه‌برداري و تعيين ميزان بيماري در مراحل ۱۵ و ۲۵ روز پس از آلوده‌سازي و انتهاي مرحله خميري شدن دانه.

در هر روش آلوده‌سازي در هر ستون ميانگين‌هاي با حروف مشترك اختلاف معني‌داري با يكديگر ندارند (DMRT 5%).

جدول ۴- آمار توصيفي روش‌هاي آلوده‌سازي به بيماري سوختگي غلاف برنج در بين ارقام مختلف در سه مرحله ارزيابي در مزرعه

پارامترهاي آماري	۱۵ روز پس از آلوده‌سازي			۲۵ روز پس از آلوده‌سازي			انتهاي مرحله خميري شدن دانه		
	RG*	MM	FI	RG	MM	FI	RG	MM	FI
تعداد نمونه	۶۲۹	۶۱۲	۴۷۰	۷۱۴	۵۸۶	۵۰۰	۶۵۵	۶۶۷	۶۵۳
ميانگين (RLH)**	۲۱/۱۲	۲۰/۷۴	۱۴/۱۱	۲۳/۷۸	۲۶/۵۲	۲۲/۴۳	۳۷/۹۵	۴۰/۱۲	۳۸/۴۸
خطاي استاندارد	۰/۱۹۷	۰/۱۲۷	۰/۴۲۹	۰/۲۶۶	۰/۲۸۵	۰/۴۲۷	۰/۶۲۴	۰/۶۲۶	۰/۶۰۲
انحراف معيار	۴/۹۴	۵/۳۷	۹/۲۹	۷/۱	۶/۸۹	۹/۵۵	۱۵/۹۷	۱۶/۲۹	۱۵/۳۷
ضريب تغييرات	۲۳/۳۹	۲۵/۸۹	۶۵/۸۴	۲۹/۸۶	۲۵/۹۸	۴۲/۵۸	۴۲/۰۸	۴۰/۶	۳۹/۹۴
دامنه تغييرات	۴۲/۴۰	۴۱/۸۰	۳۴/۹۰	۴۶/۷۰	۵۱/۷۰	۴۷/۵۰	۷۸/۶	۷۶/۷	۷۹/۶

*: RG = آلوده سازي با يك بسته ۵ گرمي از مخلوط پوسته و بذر برنج كلنيزه شده با قارچ عامل بيماري *Rhizoctonia solani* در يك قطعه پارچه توري.

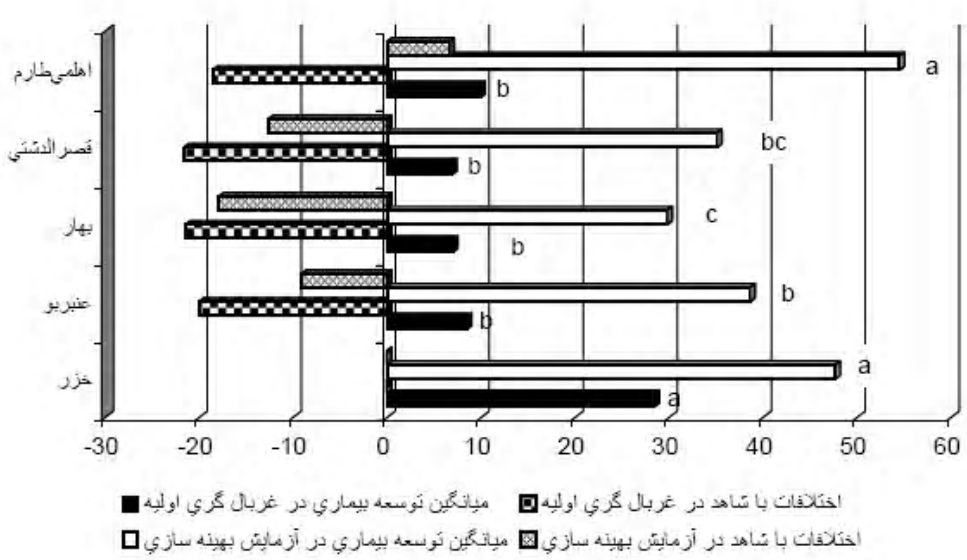
MM= آلوده سازي با يك توده ميسليومي از بيمارگر، پيچيده شده در يک برگ دستمال كاغذي.

FI= آلوده سازي با يك قطعه ۷ سانتي متري از ساقه برنج تازه آلوده شده به بيمارگر.

**: RLH%= ميانگين درصد ارتفاع نسبي آلودگي ساقه برنج به بيمارگر (ميانگين كليه تيمارها).

بنابراين قرار دادن و بستن مقدار معيني از مخلوط پوسته و بذر كلنيزه شده در يک قطعه پارچه توري و گذاشتن آن در داخل پنجه‌ها مي‌تواند در ايجادآلود گي يكنواخت بوته‌هاي برنج در هر رقم بسيار موثرتر باشد و نتايج واقعي‌تري از عكس‌العمل آن‌ها بدست آيد. سختينه، قرص‌هاي PDA حاوي ميسليوم بيمارگر، قطعات ساقه آلوده برنج و سختينه‌هاي جوان و همچنين قطعات چوبي كلنيزه شده از ديگر روشهاي تهيه زادمايه است كه در تحقيقات مختلفي بكار گرفته شده است (Ou, 1985; Sharma *et al*., 1990a; Cu *et al*., 1996; Sing *et al*., 2002). اما استفاده از هر كدام ازآن‌ها در شرايط خاصي به‌كار گرفته شده‌اند و محدوديت‌هايي هم دارند. بطور مثال به‌دست آوردن سختينه‌هاي هم اندازه و قرار دادن و ثابت ماندن آن‌ها در غلاف برگ‌ها و مخصوصاً همطراز قرار گرفتن آن‌ها در روي ساقه‌ها از سطح مزرعه يا گلدان از دشواري‌هاي آن مي‌باشد. قرص‌هاي PDA حاوي ميسليوم بيمارگر بيشتر در محيط آزمايشگاه و روي برگ‌هاي جدا شده و يا در نشاهاي برنج در گلدان كوچک كاربرد دارد. Prasad & Eizenga (2008) هم كاربرد اين روش را براي آلوده‌سازي نشاهاي برنج در گلدان مناسب و آسان تشخيص دادند، اما تامين رطوبت براي ايجاد آلودگي نقش اساسي دارد. قطعات ساقه تازه آلوده شده برنج نيز نياز به فراهم نمودن شرايط و تداركات براي ايجاد آلودگي به منظور استفاده از آن براي آلوده‌سازي بعدي دارد. ضمن اينكه معمولاً نتايج مناسبي از آن حاصل نمي‌شود. در اين تحقيق نيز نتايج بدست آمده از اين روش علاوه بر اينكه در بيشتر موارد پراكندگي داده‌ها نسبت به دو روش ديگر زياد بود، ميزان توسعه بيماري نيز كمتر از دو روش ديگر بوده است. نتايج تحقيقات Sharma *et al*. (1990b) در مقايسه كاربرد قرص‌هاي ميسليومي (PDA)، سختينه‌ها، مخلوط پوسته و بذر كلنيزه شده و ساقه‌هاي تازه آلوده شده برنج نيز نشان داد كه كمترين توسعه بيماري در استفاده از ساقه‌هاي تازه آلوده ظاهر گرديد. Singh *et al*. (2002) اثر نوع مايه‌آلوده كننده، سن و مقدار مايه‌آلوده كننده را روي توسعه بيماري مورد بررسي قرار دادند. آنها گزارش كردند كه با قرار دادن يك سختينه كوچك و جوان (كامل نشده) ٤ روزه در داخل غلاف برگ دوم (از بالا) آلودگي و توسعه يكنواختي از بيماري سوختگي غلاف حاصل مي‌شود. در تحقيق حاضر بيشترين توسعه بيماري با استفاده از توده ميسليومي به دست آمد، ضمن اينكه سهولت در تكثير، اطمينان از عدم آلودگي آن و يكسان بودن وزن توده ها از ديگر مزاياي اين روش مي‌باشد. اين روش هم اكنون با اضافه كردن عصاره گياه برنج به محيط كشت توليد آن از اين نوع مايه آلوده كننده به طور معمول در تعيين نوع عكس العمل ارقام برنج در موسسه تحقيقات برنج كشور در رشت استفاده مي‌شود. اما در غربال كردن ارقام و تشخيص مقاومت‌هاي كم و كوچک مي‌بايست شرايطي را فراهم نمود تا توسعه بيماري در هر رقم در حداكثر ممكن ظاهر شود. همچنين در هر رقم بيماري به صورت يكنواخت توسعه يابد كه چنين شرايطي شامل موارد زير مي‌باشد: ۱- فراهم بودن حرارت و رطوبت مطلوب در

طول اجراي آزمايش، ۲- استفاده از نوع مايه آلوده‌كننده مناسب، ۳- كاهش اثر شرايط مرفولوژيكي گياه مانند قد بلندي و باز بودن پنجه‌هاي رقم در بر آورد ميزان مقاومت رقم، ٤- ميزان مايه آلوده‌كننده يكسان براي هر بوته و ٥- قرار دادن مايه آلوده‌كننده در ارتفاع مناسب و يكسان در همه بوته‌ها از سطح مزرعه. اين تحقيق بر اساس نكات فوق طراحي و اجرا گرديد و نتايج قابل توجهي از آن بدست آمد چنانكه سه رقم بومي عنبربو، قصرالدشتي و اهلمي طارم و رقم اصلاح شده بهاركه در بررسي‌هاي قبلي به عنوان ارقام نيمه مقاوم شناسايي شده بودند (Padasht- Dehkaei *et al*., 2007) در اين مطالعه وضعيت متفاوتي از نظر گروه بندي پيدا كردند به طوريكه واكنش اهلمي طارم با اختلاف ۱۸/۵۳- نسبت به رقم خزر (شاهد حساس) در بررسي قبل، به اختلاف مثبت ۶/۶۳ نسبت به همين رقم در تحقيق حاضر تغيير جايگاه داده و به‌شدت حساسيت نشان داد (شكل۱). در اين مطالعه رقم بهار با كمترين تغيير اختلاف با شاهد، جايگاه ثابتي در بين ارقام مذكور داشته و مقاومت نسبي آن نسبت به ارقام ديگر از پايداري بيشتر برخوردار بود و به عبارت ديگر ارقامي كه قبلا با واكنش‌هاي نزديك به هم در مقابل بيماري سوختگي غلاف برنج در يك گروه قرار داشتند در اين تحقيق از هم تفكيك شدند. بنابراين روش اجراي اين تحقيق با توجه به نتايج بدست آمده مي‌تواند مبناي احداث خزانه سوختگي غلاف برنج با مايه آلوده‌كننده توده ميسليومي توليد شده در محيط سيب‌زميني دكستروز مايع همراه با عصاره برگ وغلاف برنج و با حفظ ساير شرايط آزمايش براي غربالگري ارقام و لاينهاي برنج در مزرعه مورد استفاده قرارگيرد، همچنانكه در موسسه تحقيقات برنج كشور در رشت ظرف دو سال بطور موفقيت‌آميزي در حال اجرا مي‌باشد.



شكل ۱- مقايسه ميانگين آلودگي ارقام مورد آزمايش در غربالگري اوليه و روش بهينه سازي شده (توده ميسليومي) و اختلاف آن‌ها با رقم خزر (LSD) در آزمايش‌هاي جداگانه

سپاسگزاري

لازم است از موسسه تحقيقات برنج كشور (رشت) و گروه گياهپزشكي دانشكده علوم باغباني و گياهپزشكي دانشگاه تهران كه اين تحقيق با همكاري و حمايت مالي آن‌ها اجرا شد كمال تشكر و قدرداني را داشته باشم. همچنين از همكاري‌هاي صميمانه آقاي مهندس ابراهيم دودابي نژاد، آقاي حسن پورفرهنگ و خانم حميدزاده و همه همكاراني‌كه هركدام به نوعي در اجراي اين تحقيق مساعدت داشته‌اند سپاسگزاري مي‌شود.

REFERENCES

1. Banniza, S., Sy, A. A., Bridge, P. D., Simons, S. A. & Holderness, M. (1999). Characterization of populations of *Rhizoctonia solani* in paddy rice fields in Cote d' Ivoire. *Phytopathology*, 89, 414-20.
2. Bonman, J. M., Ghush, G. S. & Nelson, R. J. (1992). Breeding rice for resistance to pests. *Annual Review Phytopathol*, 30, 507-528.
3. Cu, R. M., Mew, T. W. Cassman, K. G. & Teng, P. S. (1996). Effect of sheath blight on yield in tropical, intensive rice production system. *Plant Disease*, 80, 1103-1108.
4. Damicone, J. P., Patel, M. V. & Moor, W. F. (1993). Density of sclerotia of *Rhizoctonia solani* and incidence of sheath blight in rice fields in Mississippi. *Plant Disease*, 77, 257-60.
5. Eizenga, G. C., Lee, F. N. & Rutger, J. N. (2002). Screening *Oryza* species plants for rice sheath blight resistance. *Plant Disease*, 86, 808-812.
6. Groth, D. E. & Nowick, E. M. (1992). Selection for resistance to rice sheath blight through number of infection cushions and lesion type. *Plant Disease*, 76, 721-723.
7. Hashiba, T. (1984). Estimating method of severity and yield loss rice sheath blight disease. *Bulletin of the Hokuriku National Agriculral Experiment Station*, 26, 115-164.
8. Hashioka, Y. (1991). Inheritance of resistance to sheath blight in rice varieties. *Annual of the Phytopsthological Society of Japan*, 15, 21-26.
9. Hori, M. (1980). Sheath blight of rice. In: *Rice protection in Japan*, Part 1. Plant Pathology. PP. 80-87.
10. Lee, F. N. & Rush, M. C. (1983). Rice sheath blight: A major rice disease. *Plant Disease*, 67, 829-32.
11. Marchetti, M. A. (1983). Potential impact of sheath blight on yield and milling quality of short-statured rice lines in the southern united states. *Plant Disease*, 67, 162-65.
12. Marchetti, M. A. & Bollich, C. N. (1991). Quantification of the relationship between sheath blight severity and yield loss in rice. *Plant Disease*, 75, 773-775.
13. Mew, T. W. & Rosales, M. C. (1986). Bacterization of rice plants for control of sheath blight caused by *Rhizoctonia solani*. *Phytopathology*, 76, 1260-1264.
14. Munish, G. D. & Singh, M. (2000). Development of sheath blight of rice in relation to plant growth stages. *Plant Disease*, 15(2), 182-185.
15. Ou, S. H. (1985). *Rice Diseases*. 2nd ed., C. A. B. 380 p.
16. Padasht-Dehkaei, F., Okhovvat, S. M. & Javan-Nikkha, M. (2007). Investigation of the resistance source to sheath blight disease in some Iranian rice cultivars. In: Proceedings of *59th International Symposium on Crop Protection*. Belgium. P. 288.
17. Pinson, S. R. M., Capdevelle, F. M. & Oard, J. H. (2005). Confirming QTLs and finding additional loci conditioning sheath blight resistance in rice using recombinant inbred lines. *Crop Science*, 45, 503-510.
18. Prasad, B. & Eizenga, G. C. (2008). Rice sheath blight disease resistance identified in *Oryza* ssp. accessions. *Plant Disease*, 92, 1503-1509.
19. Premalatha Dath, A. (1990). *Sheath Blight Disease of Rice and Its Management*. Associated Publishing Company, New Delhi, India.
20. Sharma, N. R., Teng, P. S. & Olivares, F. M. (1990a). Comparison of assessment methods for rice sheath blight disease. Philipp. *Phytopathology*, 26, 20-24.
21. Sharma, N. R., Teng, P.S. & Olivares, F. M. (1990b). Effect of inoculum source on sheath blight (ShB) development. *IRRN*, 15(6), 18-19.
22. Singh, A., Rohilla, R., Singh, U. S., Savary, S., Willocquet, L. & Duviller, E. (2002). An improved technique for sheath blight of rice caused by *Rhizoctonia solani*. *Canadian Journal of Plant Pathology*, 24, 65-68
23. Vidhyasekaran, P., Roby Ponmalar, T., Samiyappan, R., Velazhan, R., Vimala, R., Ramanathan. A., Paranidharan, V. & Muthukrishnan, S. (1997). Host-Speciffic toxin production by *Rhizoctonia solani* , the rice sheath blight pathogen. *Phytopathology*, 87, 1258-1263.
24. Xie, Q. J., Linscombe, S. D., Rush, D. C. & Jodari-karimi, F. (1992). Registration of LSBR-33 and LSRB-5 sheath blight resistant germplasm lines of rice. *Crop Science*, 32, 507.
25. Zou, J. H., Pan, X. B., Chen, Z. X., Xu, J. Y. & Lu, J. F. (2000). Mapping quantitative trait loci controlling sheat blight resistance in two rice cultivars (*Oryza sativa* L.). *Theoritical and Applied Genetics*, 101, 569-573.