

## انتقال ژنهای مقاوم به بلاست Pi-1 و Pi-2 به برنج رقم طارم دیلمانی

ص.ع. مهدیان<sup>۱</sup>

### چکیده

برنج رقم طارم دیلمانی از نظر عطر، طعم، پخت و بازار پسندی جزء برنجهای کیفی ایران است. این رقم در مقابل بیماری بلاست (*Magnaporthe grisea*) حساسیت بالایی دارد. یکی از مشکلات مهم تولید کنندگان برنج رقم دیلمانی مبارزه شیمیایی با بیماری بلاست و در نتیجه آن آلودگی زیست محیطی می باشد. بهترین روش کنترل این بیماری و جلوگیری از خسارت آن تهیه و کشت رقم مقاوم می باشد. برای تهیه رقم مقاوم در این پژوهش از روش ژنتیک کلاسیک (مندلی) استفاده شد. والد پدری لاینهای ایزوژن C101LAC و C101A51 به ترتیب حامل ژنهای غالب مقاوم به بلاست Pi-1، Pi-2 و والد مادری رقم کیفی طارم دیلمانی بودند. بذور والدین تهیه، کشت و تکثیر شد. زمانی که گیاه برنج وارد مرحله گلدهی شد رقم حساس با گرده لاینهای مقاوم تلاقی داده شد. بذور دورگهای حاصله در سال بعد کشت شدند. گیاهان رشد یافته براساس مشخصات مورفولوژیکی و آزمون بیماریزایی انتخاب شدند. تلاقی برگشتی طی چهار سال تا تولید نسل BC4 ادامه داشت. مایه زنی گیاهان با نژاد غالب قارچ عامل بلاست در ایستگاه تحقیقات گیاهان زراعی دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی ساری انجام شد. در نتیجه این پژوهش دو ژن مقاومت به رقم حساس طارم دیلمانی منتقل شدند. رقم ترمیم شده در مقابل جدایه های قارچ عامل بلاست در منطقه مقاومت نشان داد. تیپ آلودگی درجه ۴ و ۵ (حساسیت) که قبل از انجام پژوهش وجود داشت به تیپ آلودگی درجه ۱ و ۲ (مقاومت) تبدیل شد. مورفولوژی گیاه و کیفیت آن تغییر جزئی نمود اما جلوگیری از خسارت ناشی از بلاست و در نتیجه افزایش محصول رضایتبخش بود.

واژه های کلیدی: برنج، بیماری بلاست، تهیه رقم مقاوم، *P. grisea*

## مقدمه

بیماری بلاست برنج که به وسیله قارچ (*Magnaporthe grisea* (Herbert) Barr (Anamorph: *Pyricularia grisea* Cooke in Cooke et Ellis ex Sacc. = *P. oryzae* Cav.) به وجود می‌آید یکی از مهمترین بیماریهای تولید محصول برنج محسوب می‌شود (۱۷). مبارزه شیمیایی با این بیماری از معضلات مهم شالیکاران و محیط زیست می‌باشد. کشاورزان تمایل زیادی به کاشت ارقام کیفی مانند طارم دیلمانی دارند که از نظر عطر، طعم، پخت و بازار پسندی درجه مطلوبی دارد اما در مقابل بلاست حساس می‌باشد. میزان دقیق خسارت بیماری بلاست برنج در ایران مشخص نمی‌باشد اما خسارت به اندازه‌ای است که مبارزه شیمیایی علیه آن هر سال انجام می‌گیرد و دهها تن از سموم تریسیکلازول (با نام تجاری: بیم) و ادیفنفوس (با نام تجاری: هینوزان) و کارپروپامید (با نام تجاری: وین) برای مبارزه با این بیماری بین کشاورزان توزیع می‌شود (۱). هزینه مبارزه شیمیایی بسیار زیاد بوده و اثرات زیان باری روی محیط زیست به همراه دارد. اما کنترل ژنتیکی و استفاده از رقم مقاوم به دلیل ارزانی و عدم ایجاد آلودگی در محیط زیست نسبت به سایر روشها ارجحیت دارد. بنابراین در حال حاضر بهترین روش مبارزه با بلاست تهیه و کشت رقم مقاوم می‌باشد. به منظور تهیه و تولید رقم مقاوم، بهترین راه انتقال بیش از یک ژن به رقم مطلوب زراعی (هرمی کردن ژنها) است. معمولاً ارقام زراعی برنج که فقط یک ژن مقاومت اصلی در مقابل بلاست دارند، بعد از چند سال مقاومت خود را از دست می‌دهند. به عبارت دیگر مقاومت آنها به علت تغییرات

بیماریزایی در بیمارگر شکسته می‌شود. اما انتقال و تلفیق توأم چند ژن مقاوم موجب بروز طیف گسترده مقاومت در مقابل انواع نژادهای بلاست می‌شود. پایداری اینگونه مقاومتها طولانی است و با تغییرات بیماریزایی قارچ به راحتی از بین نمی‌رود (۲). در بین ژنهای مقاوم اصلی Pi-1، Pi-2، Pi-ta، Pi-33، Pi-3، Pi-4a، Pi-4b، Pi-k، Pi-b، Pi-a، Pi-sh، Pi-t، Pi-z، ...، ترکیب ژنهای Pi-1 و Pi-2 که به ترتیب به لاینهای ای-زوزن C101LAC و C101A51 انتقال داده شده‌اند، گسترده ترین طیف مقاومت در مقابل اغلب نژادهای *P. grisea* را تشکیل می‌دهند (۳، ۴، ۱۱ و ۱۸). در مورد استفاده از ارقام مقاوم و هرمی کردن ژنهای مقاوم به بلاست بیشترین تحقیقات در موسسه بین‌المللی تحقیقات برنج (IRRI) انجام شده است. به منظور هرمی کردن ژنهای مقاوم به بلاست در هند، گنانامانیکام و همکاران (۱۰) ابتدا در بین جمعیت عامل بیماری بلاست (*M. grisea*) تعداد ۲۹ گروه نژادی<sup>۱</sup> شناسایی نمودند. تعیین گروه‌های نژادی نشان داد که ترکیبی از ژنهای Pi-1 و Pi-2 برای مقاومت به بلاست می‌تواند از بیماریزایی کلیه گروه‌های نژادی ممانعت کند. بر این اساس در رقم Co39 که حساس به بلاست است هرم بندی Pi-1/Pi-2+Pi-1 بنا کردند. Co39 هرم بندی شده به عنوان دهنده مقاومت جهت انتقال ژنهای Pi-1+Pi-2 به داخل ارقامی مانند جیوتی (Jyothi) و IR50 که ارقامی پر محصول اما حساس به بلاست هستند، استفاده شد که در آزمایشات گلخانه‌ای و مزرعه‌ای مقاوم بودند. در این تحقیق برای شناسایی گروه‌های نژادی از

است. هیتالمانی و همکاران (۱۱، ۱۲ و ۱۳) امکان تولید نشانگر PCR را که بتواند ژن مقاوم به بلاست Pi-2 و ژنوتیپهای حساس را تشخیص دهد بررسی نمودند. آنها کلون ژنی RG64 که با ژن مقاومت Pi-2 همبستگی محکمی دارد را ردیف یابی نمودند و اطلاعات حاصل از توالی را جهت تعیین جفتهای اختصاصی آغازگر استفاده نمودند تا برای تکثیر دی. ان. ای (DNA) ژنومی ارقام حامل حساسیت‌های متفاوت به کار رود. محصول تولید شده که به عنوان نقاط نشانمند از توالی (STS) شناخته شد، در بین سه رقم مورد آزمایش چند شکلی نشان نداد، اما پس از هضم محصول تولید شده با آنزیم محدودگر *HaeIII*، قطعات چند شکلی تولید شد که به عنوان قطعه قابل تکثیر ویژه (SAP) در بین ژنوتیپهای مقاوم و حساس شناخته شد. به منظور آزمایش توان تشخیص نشانگر SAP در بیان ژنوتیپهای حامل جایگاه Pi-2، ژنوتیپ افراد F2ی حامل این جایگاه از نظر بروز عکس العمل در مقابل بیماری با انجام آزمون نتاج در نسل F3، بررسی شدند. نتایج نشان داد که با دقت بیش از ۹۵٪ گیاهانی که به عنوان مقاوم تعیین شده بودند، مشابه آنهایی بودند که از طریق RG64 نیز به عنوان ردیابی تلاقی شناسایی شده بودند. چن و همکاران (۳ و ۴) معتقدند ژن مقاومت Pi-2 در بین ژنهای مقاوم به بلاست گسترده ترین طیف مقاومت را دارد. و اگر با ژن Pi-1 ترکیب شود طیف مقاومت کاملی علیه اغلب نژادهای قارچ عامل بلاست بوجود می‌آورد. یو و همکاران (۱۹) به منظور نشانمند کردن ژن‌های مقاوم به بلاست، با

روش Pot2-based rep-PCR که ابزار سریعی است استفاده شد. سیواراژ و همکاران (۱۸) نشان دادند که در هند جدایه‌هایی از قارچ *M. grisea* وجود دارند که روی ژنهای Pi-1 و Pi-2 به تنهایی بیماریزا هستند اما روی ترکیب این دو ژن هیچ جدایه بیماریزا وجود نداشته است. گیریش کومار و همکاران (۹) به منظور انتقال ژنهای مقاوم به سه رقم معمول برنج (IR64، IR72 و IR36) لاینهای ایزوژن حامل دو ژن مقاومت را با ارقام مورد آزمایش تلاقی دادند. جهت ردیابی ژنهای مقاومت در F2، F1 و در والدین، از نشانگرهای همبسته با این دو ژن یعنی C481 برای Pi-1 و RG64 و Pi-2 استفاده نمودند. پس از انجام PCR گیاهانی که واجد نشانگرهای فوق بودند به عنوان مقاوم شناخته شدند و سپس جهت شناسایی آنها یکباره قرابت بیشتری با والد دوره‌ای داشتند از ۲۰ آغازگر رپید (RAPD) استفاده نمودند. در نتیجه ژن اصلی مقاوم به بلاست از طریق دورگ‌گیری و استفاده از نشانگرهای کاملاً پیوسته به سه رقم برنج منتقل شدند و طیف مقاومت بالایی بوجود آوردند. چن و همکاران (۲) به منظور تعیین چگونگی پایداری مقاومت به بلاست در رقم Moroberekan که مقاومت آن بیش از ۲۰ سال در آفریقای جنوبی ثابت مانده است، به این نتیجه رسیدند که در پایداری مقاومت این رقم حداقل ۶ ژن اصلی و ۱۰ جایگاه دخیل در صفات کمی (QTL) دخالت دارند. شواهد تفصیلی قوی وجود دارد که ترکیب ژنهای مقاومت اصلی (کیفی) با ژنهای مقاومت جزئی (کمی) سبب دوام مقاومت در این رقم شده

نموده و با استفاده از روش PBR و یک جفت آغازگر اختصاصی به نام PTA248 (که دارای پیوستگی به فاصله کمتر از یک سانتی مورگان از ژن مقاومت *Xa21* می باشد) ردیف بازی دی. ان. ای منظور را تکثیر و پس از جداسازی آنها روی ژل آگارز، وجود یا عدم وجود آلل مقاومت را مورد ارزیابی قرار دادند. نتایج نشان داد، هیچ یک از ارقام ایرانی آلل مقاومت را دارا نبودند اما دو آلل جدید بین آنها کشف گردید که در ارقام برنج مجموعه‌های دیگر گزارش نشده بود. نعمت زاده (۱۶) اشاره کرده است که نشانگر RFLP هنگامی مفید خواهد بود که همراه نشانگرهای کلاسیک به کار گرفته شود و کاربرد آن در انتخاب غیر مستقیم صفات مورد نظر می‌باشد. وی افزوده است که گردآوری چند ژن در یک لاین مورد نظر یا هرمی کردن ژن<sup>۱</sup> از طریق نشانگرهای فنوتیپی بسیار دشوار، وقت گیر و پرهزینه خواهد بود، در حالی که با استفاده از روش انتخاب به کمک نشانگر (MAS) این کار به آسانی انجام پذیر است. نظر به اهمیت برنج به عنوان یک محصول اصلی و نقش آن در زنجیره اقتصاد کشور، دستیابی به ارقامی از برنج که دارای عملکرد و کیفیت مطلوب و مناسب با شرایط منطقه از جمله مقاومت به بلاست را توأماً داشته باشند، جزء اهداف اساسی این تحقیق بوده است.

#### مواد و روشها

##### الف) تهیه و کاشت بذور والدین و هیبریدها

بذور والدین شامل برنج رقم طارم دیلمانی به عنوان والد مادری و لاینهای ایزوژن C101A51 و C101LAC به ترتیب حامل

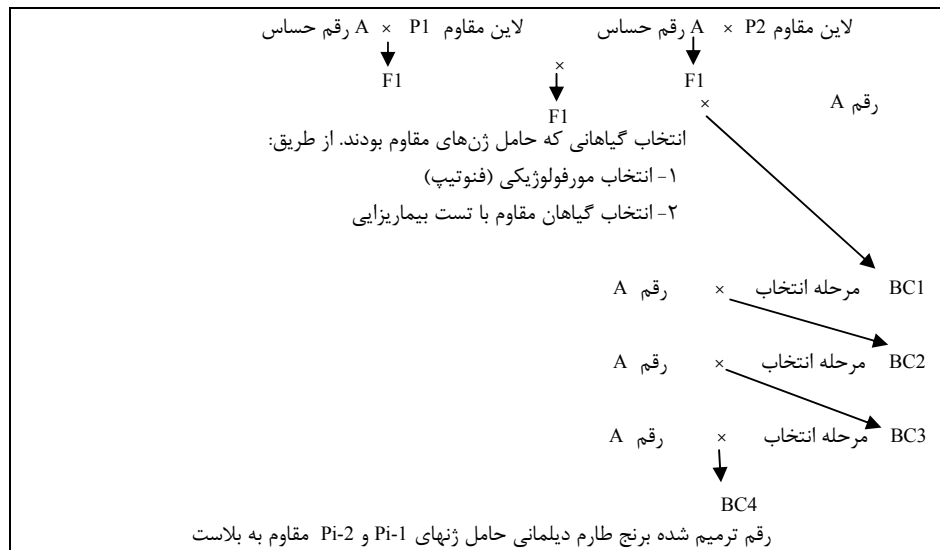
آزمایش کلون ۱۴۲ ژنوم برنج بعلاوه دی. ان. ای جفت لاینهای تقریباً ایزوژن (NIL) (همراه با ژنهای نشانه یا بدون آنها)، نشانگرهای دی. ان. ای پیوسته با ژنهای Pi-2 و Pi-4 را شناسایی نمودند. قطعات کروموزومی منتقل شده از ژنوم دهنده در بین NILها به وسیله چند شکلی طولی قطعات برشی (RFLP) شناسایی شدند. رابطه پیوستگی کلونها با Pi-2 و Pi-4 با استفاده از واکنش مشخص جمعیت‌های در حال تفرق F3 در مقابل بلاست تأیید شد. تفرق همزمان ژنوتیپ مقاوم و آلل مشتق شده از گیاه دهنده، وجود پیوستگی بین نشانگر DNA و ژن مقاوم به بلاست را نشان داد. تجزیه RFLP نشان داد که Pi-2 به نسخه ای از دی. ان. ای کلون RG64 روی کروموزوم شماره ۶ با فاصله  $2/8 + 1/4$  (SE) سانتی مورگان تقریباً پیوسته است و ژن Pi-4 با فاصله  $15/3 + 4/2$  (SE) سانتی مورگان از کلون دی. ان. ای RG869 روی کروموزوم شماره ۱۲ است. قره یاضی (۸) به منظور انتقال ژنهای خارجی از گیاهان وارخته به ارقام زراعی برنج، ژنهای کیتیناز (CH1) از جو و *Cry1A(b)* از باکتری *Bacillus turingiensis* را به سه رقم برنج ایرانی انتقال داد. وی اشاره کرده است که این ژنها به ترتیب مقاومت گیاه را در مقابل بیماریهایی مانند: شیت بلاست و بلاست و آفاتی مانند کرم ساقه خوار و کرم سبز برگ خوار افزایش می‌دهند. قره‌یاضی و همکاران (۵، ۶ و ۷) به منظور بررسی مقاومت به بیماری بـه بـاکتریایی برنج (*Xanthomonas oryzae*) دی. ان. ای ۱۲۰ رقم برنج ایرانی را استخراج

محل انجام شد. با توجه به اینکه گیاهان مورد کشت در تاریخهای متفاوت از هم به مرحله گلدهی می‌رسیدند بنابراین در سه تاریخ مختلف اقدام به کشت آنها شد تا در موقع دو رگ‌گیری زمان طولانی‌تری بوته‌های در حال گلدهی در اختیار وجود داشته باشد. این پژوهش از سال ۱۳۸۲ الی ۱۳۸۷ انجام شده است.

**ب) شمای اصلاحی و نحوه دورگ‌گیری**

در این پژوهش تلاقی‌ها مطابق دیاگرام شکل ۱ انجام گرفتند.

ژنهای مقاوم  $Pi-1$  و  $Pi-2$  به عنوان والد پدری از موسسه تحقیقات برنج کشور تهیه شدند. بذور این گیاهان و دورگ (هیبرید) های آنها ابتدا داخل تشتک پتری در آزمایشگاه وادار به جوانه زنی شدند و سپس در خزانه بذریاشی شدند. پس از آنکه گیاهچه‌ها به مرحله ۳ الی ۴ برگ‌ی رسیدند به زمین اصلی واقع در ایستگاه تحقیقات گیاهان زراعی دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی ساری انتقال و به صورت تک بوته نشاء شدند. عملیات آماده‌سازی زمین، آبیاری، کوددهی، مبارزه با علفهای هرز و مبارزه با کرم ساقه خوار و برگ خوار برنج مطابق عرف



شکل ۱- تلاقی‌های انجام شده و دیاگرام آنها: لاین مقاوم= والد پدری،  $Pi-1$  و  $Pi-2$  ژنهای مقاوم به بلاست موجود در دو لاین والد پدری، رقم حساس= والد مادری طارم دیلمانی،  $F1$ = گیاهان هیبرید یا دورگ،  $BC$ = تلاقی برگشتی می‌باشد.

آزمایشگاه منتقل شدند. برگ پرچم خوشه‌ها قطع شد و بطور متوسط ۱۰۰ گلچه در روی هر خوشه نگهداری شد. هر یک از گلچه‌ها با استفاده از قیچی، دستگاه وکیوم و لوله پاستور اخته شدند. و روی آنها پاکت

برای انجام تلاقی ابتدا والد مادری و سپس والد پدری آماده سازی شدند. بدین منظور تعدادی از تک بوته‌های والد مادری که در مرحله پیش از گرده افشانی بودند، انتخاب شدند و در داخل سطل‌های پلاستیکی به

به مرحله ۴ الی ۵ برگی رسیدند با مخلوطی از اسپوره‌های جدایه‌های قارچ *P. grisea* از منطقه ساری مایه‌زنی شدند. مایه‌زنی در زیر سرپوش نایلونی و در شب انجام گرفت و تا ۴۸ ساعت بعد محیط مرطوب نگهداری شد تا قارچ بتواند بداخل بافت نفوذ کند. تعداد سه جدایه جمع‌آوری شده پس از خالص‌سازی رشد داده شدند و از قسمت انتهایی رشد میسلیم آنها یک قطعه از محیط PDA همراه با میسلیم برداشته شد و بصورت معکوس روی محیط جدید PDA حاوی سبوس برنج منتقل شد تا ضمن اختلاط در این محیط اسپور تولید نمایند. بعد از آنکه تشتک پتری با میسلیم و اسپور قارچ پر شد، سوسپانسیون اسپور با رقت حدود  $10^5$  اسپور در میلی لیتر تهیه و با آبپاش روی گیاهان آماده شده مایه‌زنی گردید. لکه‌های بلاست روی ارقام حساس بعد از گذشت ۱۰ الی ۱۲ روز ظاهر شدند. در مزرعه گیاهان مورد آزمایش مطابق معمول کاشته شدند و در مرحله قبل از پنجه‌زنی نشانه‌های بلاست روی آنها یادداشت گردید. ارزیابی عکس‌العمل گیاهان مایه‌زنی شده در گلخانه و در مزرعه با مقیاس ۰ الی ۵ و با استفاده از روش مک ایل و بونمن (۱۵) انجام گرفت. در این روش درجه بندی عکس‌العمل ارقام به این شرح می‌باشد، ۰: فقدان آلودگی، ۱: نقاط قهوه‌ای به قطر کمتر از ۰/۵ میلی متر، ۲: نقاط قهوه‌ای به قطر حدود ۱-۰/۵ میلی متر، ۳: لکه‌های گرد یا بیضوی با قطر حدود ۳-۱ میلی متر، ۴: لکه بلاست دوکی شکل مشخص، ۵: مشابه ۴ است اما نیمی از برگ و یا بیشتر از

برای تهیه والد پدری تعدادی خوشه که در حال خروج از غلاف و در حال گرده‌دهی بودند، انتخاب و از قسمت ۲۰ سانتی متری زیر گره خوشه قطع و به آزمایشگاه منتقل شدند. خوشه‌ها از داخل برگ پرچم بیرون آورده شدند و در داخل آب لیوان، زیر نور لامپ معمولی، در اتاقک گرم و رطوبت بالا قرار دادند تا پرچمها از داخل گل بیرون آمده و آماده گرده افشانی شدند.

به منظور عمل گرده افشانی مصنوعی، خوشه‌های آماده شده والد پدری در اتاقک گرم، مرطوب و با کمترین جریان هوا، به آرامی روی والد مادری اخته شده تکان داده شدند. خوشه‌های گرده افشانی شده با پاکت کاغذی پوشانده شدند. بذور تشکیل شده پس از گذشت حدود ۲۰ روز برداشت شدند.

#### ج) ارزیابی عکس‌العمل گیاهان هیبرید

۱- فنوتیپ گیاه: به منظور شناسایی گیاهان هیبرید، ابتدا با استفاده از فنوتیپ ظاهری آنها ارزیابی و شناسایی انجام شد. صفات مورد نظر عمدتاً شامل لکه‌های کوچک میلیمتری با حاشیه سبزدی یا لکه‌های میلیمتری بدون حاشیه سبزدی (نشانه مقاومت) روی برگها بود. ارتفاع بوته، تعداد پنجه، رنگ بوته و سایر مشخصات ظاهری بوته نیز برای کمک به تشخیص گیاهان مقاوم در نظر گرفته شد.

۲- آزمون بیماری‌زایی: این آزمون روی والدین و هیبریدها، در شرایط گلخانه و در شرایط مزرعه انجام شد (۱۴ و ۲۰). در گلخانه هر یک از ارقام در تشتک جداگانه‌ای به ابعاد ۲۰ در ۳۰ سانتیمتر کاشته شدند. گیاهچه‌ها پس از آنکه

جلوگیری از خسارت ناشی از بلاست و در نتیجه افزایش محصول رضایتبخش بود. در این پژوهش نتایج حاصل از تلاقی‌ها (BC1، F1، BC2، BC3 و BC4) هم در شرایط گلخانه و هم در شرایط مزرعه در مقابل بلاست مقاوم بوده‌اند. مشاهده فنوتیپ گیاهان در مزرعه نشان داد که رنگ بوته‌های مقاوم تیره‌تر از بوته‌های حساس بوده و لکه‌های روی برگ کوچک و کمتر از یک میلی‌متر بوده‌اند. در آزمایشات بیماری‌زایی، بوته‌های مقاوم درجه ۰ تا ۳ را گرفتند که نشان‌دهنده مقاومت آنها بوده است. اما والد مادری (طارم دیلمانی) با درجه ۵ و حساسیت کامل در مقابل قارچ عامل بلاست و حساسیت کامل داشت (شکل ۲).



نصف برگها بخاطر به هم پیوستن لکه‌ها مرده‌اند. گیاهان با درجات ۳-۰ مقاوم و گیاهان حساس دارای درجات ۵-۴ هستند.

### نتایج و بحث

در نتیجه این پژوهش دو ژن مقاوم به بلاست برنج (Pi-1 و Pi-2) به رقم حساس طارم دیلمانی منتقل شدند. رقم ترمیم شده طارم دیلمانی در مقابل جدایه‌های قارچ عامل بلاست در منطقه مقاومت نشان داد. تیپ آلودگی درجه ۴ و ۵ (حساسیت) که قبل از انجام پژوهش وجود داشت به تیپ آلودگی درجه ۱ و ۲ (مقاومت) تبدیل شد. مورفولوژی گیاه و کیفیت آن تغییر جزئی نمود اما



شکل ۲- نمایش لکه‌های دوکی شکل حساسیت (بالا) مربوط به والد مادری و لکه‌های کوچک میلی‌متری مقاومت (پائین) مربوط به لاینهای اصلاح شده.

پدیده عدم ثبات ژن (های) منتقل شده به آنها بوده است. سایر هیبریدها لکه‌های مقاوم و فوق حساسیت را تا سال آخر نشان دادند که نشان‌دهنده ثبات ژنهای مقاوم منتقل شده به

این پژوهش طی شش سال اجرا شد. برخی از هیبریدها در سالهای سوم، چهارم یا پنجم لکه‌های حساسیت نشان دادند و از بین گیاهان آزمایشی حذف شدند. به نظر می‌رسد علت این

آنها بوده است.

شالیکاران و محیط زیست می باشد. هدف این پژوهش تهیه برنج مقاوم به بلاست بوده است. نوعی برنج که بدون استفاده از سموم شیمیایی بتواند در مقابل بلاست مقاومت نشان دهد و آلوده به بیماری بلاست نگردد یا اگر آلودگی ایجاد شد خسارت آن در حد کمینه باشد. در این پژوهش با انباشته کردن ژنهای مقاوم به بلاست به عبارت دیگر با هرمی کردن ژنهای مقاومت در رقم طارم دیلمانی، طیف مقاومت بالایی حاصل شد و با مقاومت در مقابل جدایه های قارچ عامل بلاست، موجب کاهش خسارت آنها شد. در نتیجه با جلوگیری از خسارت و کاهش محصول ناشی از خسارت بلاست، موجب بالا نگه داشتن میزان محصول شد.

### تشکر و قدردانی

نگارنده از حمایت های دفتر آموزش و پژوهش استانداری مازندران، و دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی ساری که در تصویب، تامین اعتبار و اجرای این پروژه همکاری نموده اند و از زحمات مهندس عطا... شاهسواری تشکر و قدردانی می نماید.

لاینه های ایـزوزن C101LAC و C101A51 به ترتیب حامل ژنهای غالب مقاوم به بلاست Pi-1 و Pi-2 (والد پدری) به عنوان رقم کیفی یا کمی کاشته نمی شوند. این لاینها به عنوان دهنده مقاومت به بلاست در کشورهای مختلف مورد استفاده قرار می گیرند. بذر حاصل از آنها بسیار ریز و از نظر خوراکی کمینه کیفیت را دارد. در این پژوهش از لاینهای فوق الذکر به عنوان والد پدری استفاده شد و سپس با تلاقی های برگشتی و انتخاب مورفولوژیکی و بیماریزایی گیاهانی انتخاب شدند که ضمن دارا بودن مقاومت به خصوصیات والد مادری (طارم دیلمانی) نزدیک تر بودند. رقم کیفی طارم دیلمانی (والد مادری) در مقابل بیماری بلاست خیلی حساس است به طوریکه در برخی از مراکز تحقیقاتی به عنوان اسپریدر در اطراف قطعات آزمایشی کاشته می شود اما از نظر خوراکی کیفیت بالایی دارد، بذر آن درشت و عطر و طعم خوبی دارد. بلاست به عنوان مهمترین بیماری تولید محصول برنج محسوب می شود و مبارزه شیمیایی با این بیماری یکی از معضلات مهم

## منابع

1. Agriculture jihad organization of Mazandaran province. 2004. Annual executive report of agricultural jihad organization of Mazandaran (2004), 247 pp.
2. Chen, D.H., R.J. Nelson, G.L. Wang, T. Inukai, D.J. Mackill and P.C. Ronald. 2000. Characterization of blast resistance in the durably resistant rice cultivar Moroberekan, pp:17-27, In: D. Tharreau, M.H. LebbBrun, N.J. Talbot and J.L. Notteghem, Eds. Advances in Rice Blast Research, Kluwer Academic Publishers, Printed in the Netherlands.
3. Chen, D.H., R.S. Zeigler, S.W. Ahn and R.J. Nelson. 1996. Phenotypic characterization of the rice blast resistance gene Pi- 2(t) Plant dis., 80: 52- 56.
4. Chen, D.H., R.S. Zeigler, H. Leung, and R.J. Nelson. 1995. Population structure of *pyricularia grisea* at two screening sites in the Philippines. Phytopathology, 85: 1011- 1020.
5. Ghaneyazie, B., N. Huang, G. Second, J. Bennett and G.S. Khush. 1994. Abundance of PCR-based RFLP for marker aided selection in rice. Rice Genet. New. 11: 140-142.
6. Ghaneyazie, B., N. Huang, G. Second, J. Bennett and G. S. Khush. 1993. Comparison between PCR-based RFLP and Southern-based RFLP as DNA markers for germplasm classification in rice. Rice Genet New. 10: 129- 132.
7. Ghaneyazie, B., N. Huang, G. Second, J. Bennett and G.S. Khush. 1995. Classification of rice germplasm. I. Analysis using ALP and PCR-based RFLP. Theor. Appl. Genet., 91: 218- 227.
8. Ghareyazie, B. 1996. Transformation of indica and other rices (*Oryza sativa* L.): genetic integration, inheritance and enhanced insect resistance. Thesis (Ph.D.), University of Philippines, Los Banos, Philippines. 217 pp.
9. Girish Kumar, K., S. Hittalmani, C. Sriniva and H.E. Shashidharhe. 2000. Marker assisted backcross gene introgression of major genes for blast resistance in rice, p: 43-53, In D. Tharreau, M.H. LebbBrun, N.J. Talbot and J.L. Notteghem, eds. Advances in Rice Blast Research, Kluwer Academic Publishers, Printed in the Netherlands.
10. Gnanamanickam, S., S. Lavanya Babujee, V. Brindha Priyadarisini, B.V. Dayakar, D. Leenakumari, R. Sivaraj, M. Levy and S.A. Leong. 2000. Lineage-exclusion resistance breeding: Pyramiding of blast resistance genes for management of rice blast in India, p: 172-179 In: D. Tharreau, M.H. LebbBrun, N.J. Talbot and J.L. Notteghem, eds. Advances in Rice Blast, Kluwer Academic Publishers, Printed in the Netherlands.
11. Hittalmani, S., M. Foolad, T. Mew, R.L. Rodriguez and N. Huang. 1995a. Identification of blast resistance gene Pi-2(t) in rice plants by flanking DNA markers. Rice Gent Newslett. 11: 144-146.
12. Hittalmani, S., M. Foolad, T. Mew, R.L. Rodriguez and N. Huang. 1995b. Development of PCR based on markers to identify blast resistance gene Pi- 2(t) in a segregation population. Theor. Appl. Genet., 91: 9-14.
13. Hittalmani, S., T.V. Mew, G.S. Khush and N. Huang. 1995. DNA marker assisted breeding for disease resistance in rice, In: Fragile lives in fragil ecosystems. Proceeding of the International Rice Research Conference, 13-17 Feb., 1995. Los

- Banos, Philippines. Manila (Philippines) International Rice Research Institute P. 949-961.
14. IRRI, (International Rice Research Institute), 1996. Standard Evaluation System For Rice 4<sup>th</sup>. Edition, 52 pp.
  15. Mackill, D.J. and M.J. Bonman. 1992. Inheritance of blast resistance in near-isogenic lines of rice, *Phytopathology*, 82: 746-749.
  16. Nematzadeh, GH., G.S. Kush and H. Ning. 1995. Gene tagging for quality characters using RAPD and RFLP markers. Thesis (Ph.D.), University of Philippines, Los Banos, Philippines. 99 pp.
  17. Ou, S.H. 1985. Rice Diseases, Sec. edi. CAB Publications. 380 pp.
  18. Sivaraj, R., S.S. Gnanamanikam and M. Levy. 2000. Lineage-exclusion tests for blast resistance in southern India, p: 154-161, In: D. Tharreau, M.H. Lebb Brun, N.J. Talbot and J.L. Nottoghem, eds. *Advances in Rice Blast Research*, Kluwer Academic Publishers, Printed in the Netherlands.
  19. Yu, Z. H., D.J. Mackill, J.M. Bonman and S.D. Tanksley. 1991. Tagging genes for blast resistance in rice via-linkage to RFLP markers, *Theor. Appl. Genet.*, 81: 471-476.
  20. Zeigler, R.S., S.A. Leong and P.S. Teng. 1994. Rice Blast Disease, CAB International and IRRI, 625 pp.

## Transferring of Resistance Genes Pi-1 and Pi-2 to Blast in Tarom Dailamani Rice Cultivar

S.A. Mahdian<sup>1</sup>

### Abstract

Rice cultivar Tarom Dilamani becauded a fragrance, flavor, cooking and marketing is a qualitative rice in Iran. This cultivar have high susceptibility against blast disease (*Magnaporthe grisea*). One of the important trouble producers of the Dilamani's rice cultivar is chemical control against blast disease and cause poisonous pollution of natural environment. The best manner in order to control this disease and avoid its damage is preparation and cultivation resistant cultivar. In this research we used classical breeding method to developing resistance cultivar. Female parent was qualitative Tarom Dilamani cultivar and male parent was near isogenic lines C101LAC and C101A51 that carry dominant resistant genes to blast Pi-1 and Pi-2, respectively. Parents' seeds prepared, cultivated and propagated. When rice plant entered flowering stage, sensitive cultivar was conflucned with resistant lines' pollen. Hybrid seeds would cultivated next year. Plants cause selected according to morphological characters and virulences tests. Back cross was accomplished until four years until Bc4 generation. Plant inoculation was accomplished with dominant race of fungus cause blast at Agricultural Research Station of Sari Agricultural sciences and Natural Research university. Results of this research was transferred two resistance genes in sensitive Tarom Dilamani cultivar. The recovered cultivar showed resistance to races of fungus cause blast on region. Infection type of sensitivity (4 and 5) that was prior of accomplished of this research have converted to infection type of resistance (1 and 2). Morphology and quality of plant changed slightly, but was satisfactory prevention of damage due blast and increase grain yield.

**Keywords:** Rice, Rice blast disease, Preparation of resistance cultivar, *P. grisea*

---

1- Assistant Professor, Sari Agricultural Sciences and Natural Resource University