

بازیابی پیروکیلن در بوته برنج پس از گرانول پاشی در خاک و ارتباط آن با کنترل بیماری بلاست برنج

عبدالحسین جمالی زواره^۱، عباس شریفی تهرانی^۲، منوچهر ایزدیاری^۳ و اقبال طاهری^۴

چکیده

بیماری بلاست برنج از بیماری‌های پر خسارت این محصول بوده و یکی از راه‌های کنترل آن استفاده از ترکیبات قارچ‌کش است. در این بررسی قارچ‌کش پیروکیلن به صورت گرانول در پای بوته برنج مصرف گردید، سپس به فواصل زمانی مختلف، نمونه‌هایی از بافت ساقه و برگ بوته‌ها گرفته و پیروکیلن در آنها با روش گاز کروماتوگرافی بازیابی شد. همچنین در زمان‌های مختلف پس از کاربرد پیروکیلن، بوته‌ها در خزانه بلاست در معرض آلودگی به بیماری قرار گرفتند و پس از یک هفته شدت بیماری بررسی شد. پیروکیلن در بافت برگ یک روز پس از کاربرد، قابل بازیابی بود، حداکثر میزان آن حدود هفت روز پس از کاربرد بازیابی شد و سپس به تدریج کاهش یافت تا پس از حدود ۲۸ روز تقریباً به حد غیرقابل بازیابی رسید. در بافت ساقه روند تغییرات میزان ترکیب، مشابه بافت برگ ولی میزان ترکیب بازیابی شده بسیار کمتر بود. با آلوده‌سازی بوته‌های تیمار شده، بیماری دو روز پس از کاربرد پیروکیلن تا ۶۰٪ و چهار روز پس از کاربرد بیش از ۹۰٪ کنترل شد. کنترل بیماری تا چهار هفته ادامه داشت و پس از آن، تاثیر ترکیب کاهش یافت.

نتایج نشان داد که پیروکیلن پس از گرانول پاشی پای بوته، توسط ریشه جذب شده و به برگ‌ها انتقال یافت. میزان کنترل بیماری، ارتباط خوبی با تغییرات غلظت پیروکیلن در بافت برگ نشان داد ($R^2 = 0/93$) و وجود 2ppm از ترکیب در بافت برگ، بیماری را تا ۹۰٪ کنترل کرد. بین میزان کنترل بیماری و غلظت ترکیب در بافت ساقه، وابستگی قابل توجهی وجود نداشت ($R^2 = 0/30$).

واژه‌های کلیدی: بلاست برنج، پیروکیلن، ویژگی‌های سیستمیکی، بازیابی

۱. استادیار علوم زراعی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه شهرکرد

۲. استاد گیاه‌پزشکی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه تهران، کرج

۳. محقق مؤسسه تحقیقات آفات و بیماری‌های گیاهی، سازمان تحقیقات کشاورزی، تهران

۴. محقق و مدیر بخش سم‌شناسی آزمایشگاه کنترل غذا و دارو، تهران

مقدمه

بیماری بلاست برنج که توسط قارچ *Pyricularia grisea* (Cooke) Sacc. ایجاد می‌شود، از مهم‌ترین بیماری‌های این محصول در بسیاری از کشورهای برنج‌خیز دنیا از جمله ایران است. این بیماری اگر در مرحله پنجه‌زنی شدید باشد تمام بوته‌ها را از بین می‌برد و آلودگی زیاد گردن خوشه باعث کاهش مقدار قابل توجهی از محصول می‌شود و بدین ترتیب خسارت زیادی ایجاد می‌کند (۱). برای مبارزه با این بیماری علاوه بر بهره‌گیری از ارقام مقاوم و روش‌های مناسب زراعی، بهره‌گیری از ترکیبات قارچ‌کش نیز توصیه شده است. نیاز به ترکیبات قارچ‌کش که در کنترل بیماری تأثیر بیشتر و آثار سوء جانبی کمتری داشته باشند از یک طرف و مقاوم شدن عوامل بیماری‌زا در مقابل برخی ترکیبات از طرف دیگر، بررسی‌های مکرر برای معرفی ترکیبات جدید را الزامی می‌سازد.

ترکیبات قارچ‌کش بسیاری تاکنون برای کنترل بلاست برنج معرفی شده‌اند. جدیدترین گروه ترکیبات معرفی شده، ترکیبات ضدنفوذ (Antipenetrant) هستند که در شرایط آزمایشگاه (*In vitro*) ویژگی قارچ‌کشی قابل توجه ندارند، ولی وقتی روی گیاه به‌کار روند آلودگی و یا شدت بیماری را کم می‌کنند (۹). پیروکیلن (pyroquilon) از ترکیبات این گروه است که روی رشد رویشی قارچ *P. grisea* تأثیری ندارد ولی بر اسپورزایی و رفتار آلوده‌سازی اسپورها اثر می‌گذارد و با جلوگیری از بیوسنتز ملانین در اپرسوریم‌ها، از نفوذ قارچ به بافت گیاه ممانعت می‌کند. چنان‌که در پژوهش‌های یوهارا و همکاران (۱۱)، در روی محیط کشت حاوی پیروکیلن، از رشد ریشه رویشی قارچ *P. grisea* جلوگیری نشد ولی از تشکیل اسپور به‌میزان قابل توجهی ممانعت گردید. اسپورهای تشکیل شده روی محیط کشت حاوی پیروکیلن وقتی به درون غلاف برگ برنج تلقیح شدند، اپرسوریم‌های قرمز قهوه‌ای تشکیل شد و در مقایسه با شاهد، از نفوذ اپرسوریم و رشد ریشه‌ها درون سلول‌های میزبان ممانعت گردید. بررسی‌های ولوشوک و همکاران (۱۲) نیز نشان داد که پیروکیلن در غلظت

۵۰ میکروگرم بر میلی‌لیتر یا غلظت‌های کمتر، اثری بر رشد شعاعی قارچ *P. grisea* در محیط کشت نداشت ولی از ملانین‌سازی قارچ، حتی در غلظت یک میکروگرم بر میلی‌لیتر به‌طور کامل جلوگیری کرد. هم‌چنین ولوشوک و سیسلر (۱۳) گزارش کردند که پیروکیلن در غلظت‌هایی که برای قارچ *P. grisea* سمی نیست، بیوسنتز ملانین را متوقف کرده و از نفوذ قارچ به اپیدرم جلوگیری می‌کند. کارآیی این قارچ‌کش در کنترل بیماری بلاست به‌صورت پوشش بذر و گرانول در خاک ثابت شده است. فیلیپی و پرابو (۴ و ۵) گزارش کردند که تیمار بذر با این قارچ‌کش (به میزان ۴ گرم ماده مؤثر بر هر کیلوگرم بذر) در همه آزمایش‌ها بر بلاست برگ مؤثر بود. در پژوهش‌های سیفا... (۹) نیز کاربرد پیروکیلن [به فرم گرانول کوراتوپ (Coratop)] در مرحله پنجه‌زنی برنج، بلاست برگ را تا ۵۵٪ کنترل کرد و عملکرد را تا ۶۳٪ افزایش داد.

در مورد جذب، انتقال و سایر ویژگی‌های سیستمیکی پیروکیلن در بوته برنج پس از کاربرد در خاک بررسی‌های محدودی صورت گرفته است (۳ و ۱۰). در این پژوهش برخی از ویژگی‌های سیستمیکی این ترکیب و ارتباط آن با کنترل بیماری بلاست برنج بررسی شد.

مواد و روش‌ها

۱. بوته‌های برنج در گلخانه و در گلدان‌های پلاستیکی متوسط (به قطر ۲۱ سانتی‌متر) پرورش یافتند. خاک مورد استفاده، مرکب از دو قسمت رس و یک قسمت کود آلی بود و کود شیمیایی به میزان ۰/۴ گرم اوره و ۰/۲ گرم فسفات برای هر گلدان مصرف شد. پس از پرکردن گلدان‌ها و مرطوب کردن خاک، بذر رقم حسن‌سرای که به بیماری بلاست حساس است و قبلاً به‌مدت ۴۸ ساعت خیسانده شده بود، در آنها کشت شد. پس از جوانه‌زنی هر روز آبیاری صورت گرفت تا بوته‌ها به مرحله چهاربرگی رسیده و آماده تیمار شدند. شمار ۸۰ گلدان برای کاربرد پیروکیلن و ۷۰ گلدان به‌عنوان شاهد در نظر گرفته شد.

شد. گاز حامل ازت خالص با سرعت ۳۰ میلی لیتر در دقیقه و حساسیت (Attenuator) دستگاه $10^{-11} \times 8$ بود. در هر تزریق نسبتی از سطح زیر منحنی کروماتوگرام که مربوط به ترکیب پیروکیلن بود محاسبه و میانگین آن برای هر نمونه گیاهی مشخص شد.

۴. محاسبه مقدار پیروکیلن در بافت گیاه: در هر مرحله که کروماتوگرافی محلول های استخراج شده از نمونه های گیاهی انجام می شد، در کنار آن غلظت های ۱، ۲، ۵، ۱۰ و ۲۰ قسمت در میلیون (ppm) از پیروکیلن خالص (دریافت شده از سیباگایگی) در دی کلرومتان نیز تهیه و به دستگاه گاز کروماتوگراف تزریق شد. نسبت سطح زیر منحنی کروماتوگرام برای هر یک از غلظت های پیروکیلن محاسبه شده و براساس آن رابطه بین لگاریتم غلظت پیروکیلن در محلول و سطح زیرمنحنی مربوط به آن (به صورت خط استاندارد) محاسبه گردید (شکل ۱). سپس با بهره گیری از این رابطه و نتایج بازیابی پیروکیلن در بافت، غلظت پیروکیلن در بافت گیاه در زمان های مختلف برآورد شد.

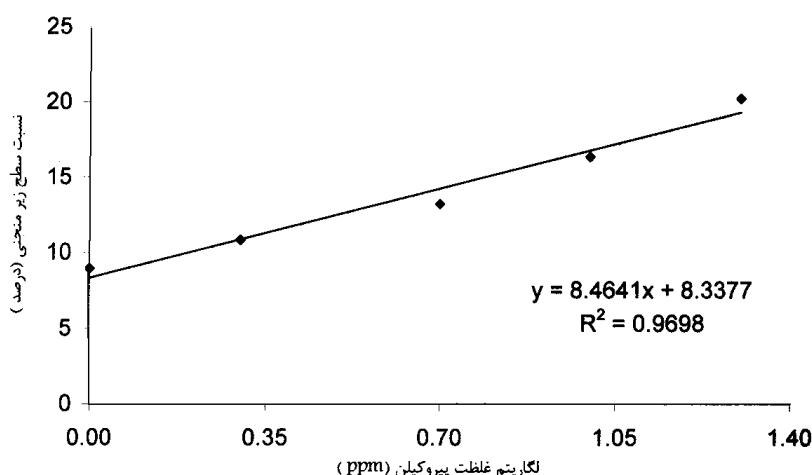
۵. خزانه بلاست برای تهیه مایه تلقیح: برای تولید انبوه اسپور قارچ *P. grisea* از خزانه بلاست بهره گیری شد. بدین صورت که در یک قطعه زمین مناسب، برنج رقم بی نام (حساس به بیماری بلاست) کشت و پس از رشد بوته ها، اسپور قارچ روی آنها تلقیح شد. پس از این که بیماری در خزانه مستقر و اسپور قارچ روی لکه های بیماری تولید شد، خزانه بلاست آماده بود تا برای آلوده سازی گلدان ها بهره گیری شود.

۶. آلوده سازی بوته های تیمار شده و شاهد هم زمان با کاربرد پیروکیلن در گلدان ها و نیز در فواصل زمانی ۱، ۲، ۴، ۷، ۱۴، ۲۱، ۲۸، ۳۵، ۴۲ و ۴۹ روز پس از کاربرد صورت گرفت. گلدان هایی که برای تلقیح در هر زمان در نظر گرفته شده بود، یک شب در خزانه بلاست مانده و سپس به گلخانه انتقال یافت. یک دستگاه مه پاش رطوبت نسبی نزدیک به اشباع را در فضای گلخانه فراهم می کرد تا شرایط مطلوب برای استقرار بیماری فراهم شود. پس از یک هفته شمار لکه های بیماری

۲. کاربرد پیروکیلن در گلدان ها: برای تیمار گلدان ها از کوراتوپ (گرانول دارای ۵٪ پیروکیلن) بهره گیری شد. براساس میزان ۴۰ کیلوگرم ماده تجارتي در هکتار، برای هر گلدان ۱۳۸ میلی گرم کوراتوپ توزین و پای بوته ها پخش گردید.

۳. بازیابی پیروکیلن در بافت ساقه و برگ: تعداد ۴۵ گلدان تیمار شده با پیروکیلن و ۳۵ گلدان شاهد برای بازیابی ترکیب در بافت گیاه اختصاص یافت. در فواصل زمانی ۱۲ ساعت و ۱، ۲، ۴، ۷، ۱۴، ۲۱، ۲۸، ۳۵، ۴۲ و ۴۹ روز پس از کاربرد پیروکیلن، نمونه گیری از ساقه و برگ بوته ها انجام شد. بوته از یک سانتی متر بالاتر از سطح آب گلدان قطع و سپس تا محل نخستین برگ به عنوان ساقه و بالاتر از آن به عنوان برگ ها منظور گردید. نمونه های گرفته شده در هر زمان به وزن سه گرم و در سه تکرار بود. از گلدان های شاهد نیز هم زمان با ۱، ۴، ۷، ۱۴، ۲۸ و ۴۲ روز پس از کاربرد پیروکیلن نمونه گیری شد.

برای بازیابی پیروکیلن در نمونه ها، نمونه سه گرمی بافت تازه گیاه همراه با ۱۵ میلی لیتر متانول در یک هاون دستی له و هموژن شد. ۵/۲ گرم از این مخلوط جدا و ۲۵ میلی لیتر متانول بر آن اضافه گردید و به مدت ۱۴ ساعت در دمای ۸۰ درجه سانتی گراد جوشانیده و برگردان (Reflux) شد. سپس از صافی شیشه ای شماره سه عبور داده شد و حجم نهایی با افزودن متانول، به ۵۰ میلی لیتر رسید. بر ۲۰ میلی لیتر از این محلول، ۴۰ میلی لیتر آب مقطر، ۳۰ میلی لیتر متانول و ۱۰ میلی لیتر محلول ۳۰٪ نمک طعام افزوده شد و توسط دی کلرومتان، سه مرتبه و هر بار ۲۵ میلی لیتر، استخراج انجام گردید. به منظور جذب رنگدانه ها و مواد گیاهی مقداری ذغال اکتیو به محلول حاصل اضافه و با استفاده از سولفات سدیم بدون آب، آب گیری و تصفیه شد. سپس محلول حاصل تا ۱/۵ حجم اولیه تغلیظ و برای تفکیک اجزا، به دستگاه گاز کروماتوگراف تزریق گردید (هر نمونه چهار بار). دستگاه مورد استفاده "Varian 6000" با شناسنده TSD (Detector) و ستون مورد استفاده ۳٪ OV-101 بود و دمای تزریق، ستون و شناسنده به ترتیب در ۲۵۰، ۲۴۰ و ۳۰۰ درجه سانتی گراد تنظیم



شکل ۱. رابطه بین لگاریتم غلظت پیروکلین در محلول و نسبت سطح زیر منحنی کروماتوگرام مربوط به آن در روش گاز کروماتوگرافی

ساقه ۲۸ روز و در بافت برگ ۳۵ روز پس از کاربرد، قابل بازیابی نبوده است. با توجه به نتایج بازیابی پیروکلین در بافت، می‌توان برخی از ویژگی‌های سیستمیکی پیروکلین در بوته برنج را مشخص کرد:

۱. پیروکلین، پس از گرانول‌پاشی در خاک، سریعاً به درون گیاه جذب شده، به‌طوری‌که ۱۲ ساعت پس از کاربرد در بافت برگ‌ها و یک روز پس از کاربرد در بافت ساقه قابل بازیابی بود. از روز دوم، غلظت آن در بافت‌های برگ و ساقه قابل برآورد کمی بود و حداکثر مقدار آن در بافت‌ها ۷-۴ روز پس از کاربرد دیده شد.

۲. میزان پیروکلین جذب شده در طول زمان تغییر کرد. در بافت برگ در روز دوم غلظت به حدود ۱ ppm رسید و حداکثر میزان تجمع در روزهای ۷-۴ صورت گرفت که بیش از ۵ ppm بود. در بافت ساقه پس از دو روز حدود ۰/۵ ppm قابل بازیابی بود و حداکثر تجمع حدود روز هفتم اتفاق افتاد که ۲/۶ ppm بود. دلیل این‌که ترکیب در بافت برگ زودتر و بیشتر از ساقه بازیابی شده، آن است که ساقه محل عبور و برگ محل تجمع ترکیب است. بنابراین در بافت برگ زودتر به غلظت قابل بازیابی رسیده است. در طول دوره بررسی همیشه میزان ترکیب در بافت برگ بیشتر از ساقه بوده که نشان می‌دهد که تجمع عمدتاً در برگ‌ها صورت گرفته و در ساقه کمتر بوده است.

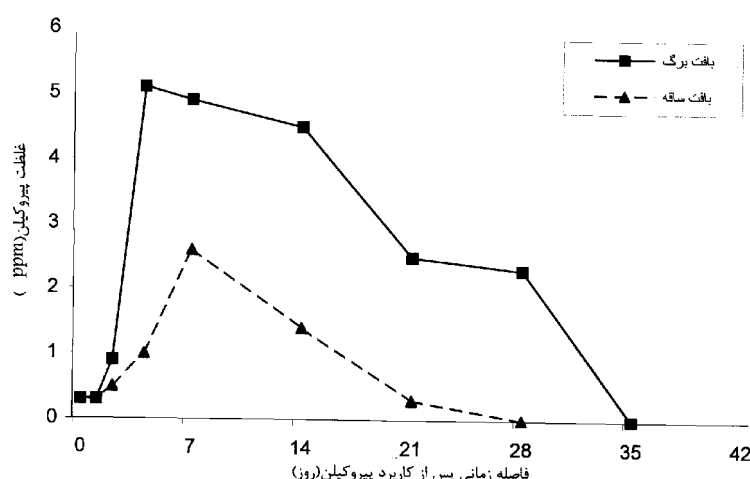
روی بوته‌ها شمارش شده، میانگین شمار لکه روی یک بوته و میزان کنترل بیماری در بوته‌های تیمار شده نسبت به شاهد محاسبه گردید.

نتایج و بحث

الف) بازیابی پیروکلین در بافت

در جدول ۱ نسبت سطح زیر منحنی کروماتوگرام مربوط به پیروکلین استخراج شده از نمونه‌های گیاهی در زمان‌های مختلف پس از کاربرد ترکیب ذکر شده است.

فرمول خط استاندارد بین لگاریتم غلظت‌های مشخص پیروکلین در محلول و سطح زیر منحنی کروماتوگرام در مراحل مختلف بازیابی پیروکلین محاسبه شد. نمونه‌ای از این فرمول در شکل ۱ آمده است و نشان می‌دهد که وابستگی بسیار نزدیک ($R^2 = 0.97$) بین این متغیر و تابع وجود دارد و برآورد کمی پیروکلین در بافت گیاه با این فرمول قابل اعتماد خواهد بود. با بهره‌گیری از فرمول خط استاندارد و داده‌های جدول ۱، غلظت پیروکلین در بافت گیاه در زمان‌های مختلف پس از کاربرد آن محاسبه گردید. شکل ۲ روند تغییر غلظت ترکیب در بافت ساقه و برگ را نشان می‌دهد. مشاهده می‌شود که غلظت پیروکلین در بافت گیاه تا حدود ۷ روز پس از کاربرد آن افزایش و سپس به تدریج کاهش یافته، به‌طوری‌که در بافت



شکل ۲. روند تغییرات غلظت پیروکیلن در بافت بوته برنج پس از کاربرد آن در خاک

بررسی‌های محققین دیگر در زمینه جذب و انتقال پیروکیلن در بافت گیاه این نتایج را تأکید می‌کند. بهات و همکاران (۳) نشان دادند که پس از غوطه‌ور کردن بذرها برنج در محلول پیروکیلن، این ترکیب به سرعت توسط بذرها جذب گردید و پس از جوانه‌زدن بذر، قارچ‌کش به درون ریشه‌ها و برگ‌ها برده شد. غلظت کلی قارچ‌کش در گیاهچه از ۷ تا ۳۴ روز پس از کاربرد کم و بیش ثابت ماند که مشابه نتایج پژوهش حاضر است. در بررسی‌های تسودا و همکاران (۱۰) نیز ترکیب پیروکیلن که به صورت گرانول در خاک به کار رفت از طریق ریشه‌ها جذب گردید. غلظت آن در بافت برگ ظرف سه روز به حداکثر خود رسید و تا چهار هفته پس از کاربرد بالاتر از ۰/۱ ppm بود که از نظر زمان جذب و دوام در بافت، هم‌آهنگ با نتایج این پژوهش است.

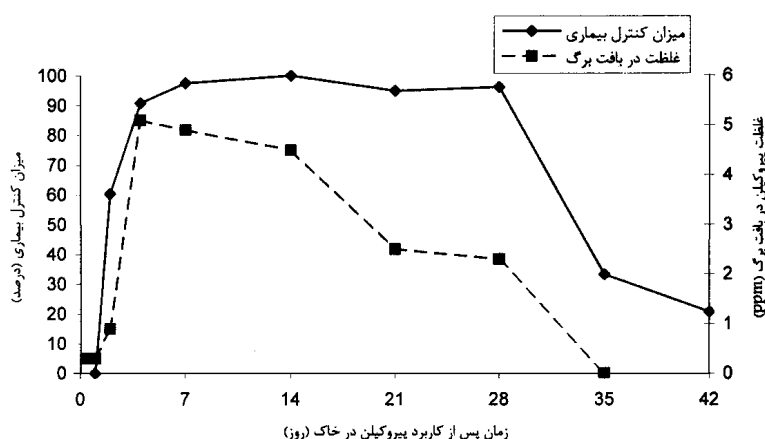
ب) اثر پیروکیلن در کنترل بیماری

میزان کنترل بیماری در زمان‌های مختلف پس از کاربرد پیروکیلن در شکل ۳ نشان داده شده است. با کاربرد پیروکیلن در خاک، بیماری پس از دو روز تا ۶۰٪ کاهش یافت و پس از چهار روز به خوبی کنترل شد. کنترل بیماری تا چهار هفته ادامه داشت و پس از آن تأثیر ترکیب به تدریج کاهش یافت.

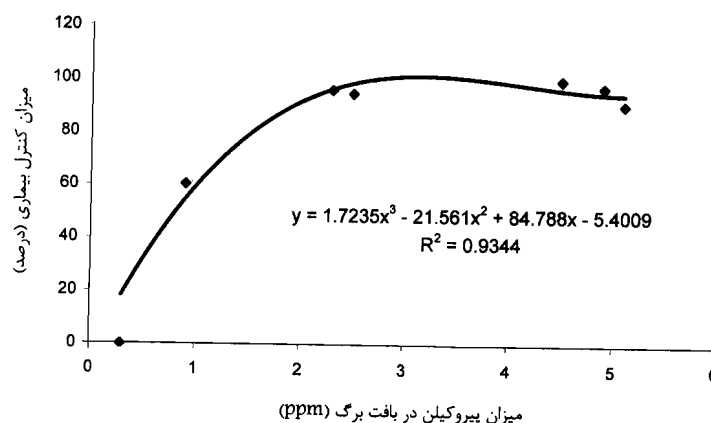
جدول ۱. نسبت سطح زیرمنحنی کروماتوگرام (درصد) مربوط به پیروکیلن استخراج شده از نمونه‌های گیاهی در زمان‌های مختلف

فاصله زمانی پس از کاربرد پیروکیلن در خاک	استخراج شده از برگ	استخراج شده از ساقه
۱۲ ساعت	<۱	
۱ روز	<۱	<۱
۲ روز	۳/۷۹	۱/۳۶
۴ روز	۱۰/۰	۴/۱۵
۷ روز	۲/۳۴	۷/۵۱
۱۴ روز	۹/۵۷	۵/۲۳
۲۱ روز	۷/۴۲	<۱
۲۸ روز	۷/۰۲	
۳۵ روز		

۳. از نظر دوام در گیاه، پیروکیلن تا حدود ۲۸ روز پس از کاربرد در بافت برگ به میزان قابل توجهی (۲/۳ ppm) وجود داشت، گرچه در این زمان در بافت ساقه قابل بازیابی نبود. ۳۵ روز پس از کاربرد در بافت برگ نیز به حد غیرقابل بازیابی رسید.



شکل ۳. میزان کنترل بیماری بلاست برنج و ارتباط آن با غلظت پیروکیلین در بافت برگ



شکل ۴. رابطه رگرسیون بین غلظت پیروکیلین در بافت برگ و میزان کنترل بیماری

ریشه در مزرعه، شدت بلاست برگ را در رقم حساس تا ۳۸ روز پس از کاشت کمتر از ۵٪ نگه داشت. هم‌چنین در بررسی دیگری در زمینه جذب و انتقال پیروکیلین در گیاه (۲)، اثر ترکیب در کنترل بیماری تا هفته پنجم ثابت ماند. در تحقیق تسودا و همکاران (۱۰) نیز دوام اثر پیروکیلین در کنترل بیماری تا ۴۰ روز گزارش شده است. در پژوهش حاضر میزان بیماری تا ۲۸ روز پس از کاربرد پیروکیلین کمتر از ۵٪ بود و پس از آن افزایش کمی نشان داد. این اختلاف نتایج می‌تواند ناشی از اختلاف شرایط در آزمایش مزرعه‌ای و گلخانه‌ای باشد. به‌علاوه تسودا و همکاران (۱۰) در آزمایش خود از فرمولاسیون خاصی استفاده کرده‌اند که طول مدت جذب و تأثیر ترکیب را افزایش می‌دهد.

کاهش زیاد درصد کنترل بیماری در روز ۳۵ که در شکل ۳ دیده می‌شود، به‌طور عمده ناشی از کاهش طبیعی آلودگی در کل بوته‌ها از جمله بوته‌های شاهد است که سبب کم شدن اختلاف میزان آلودگی در دو تیمار شده است.

در بررسی‌های شیبیا و همکاران (۸) کاربرد پیروکیلین به‌صورت تیمار ریشه سه روز قبل از تلقیح اسپور، از ایجاد بیماری روی برگ به‌خوبی جلوگیری کرد که با نتایج کنترل بیماری در روز دوم تا چهارم در پژوهش حاضر هم‌آهنگی دارد. از نظر طول مدت کنترل بیماری، در پژوهش بهات و همکاران (۳) غلظت قارچ‌کش در گیاه در طول ۴ هفته برای کنترل آلودگی کافی بود که مشابه نتایج این پژوهش است. در گزارش پرابو و فیلیپی (۶) کاربرد پیروکیلین به‌صورت تیمار

میزان کنترل بیماری و غلظت ترکیب در بافت ساقه وابستگی قابل توجهی وجود ندارد ($R^2 < 0.3$).

سپاسگزاری

از کارکنان آزمایشگاه بیماری‌های گیاهی دانشکده کشاورزی دانشگاه تهران-کرج، کارشناسان و تکنسین‌های آزمایشگاه بررسی آفات و بیماری‌های گیاهی بندر انزلی و کارشناسان و تکنسین‌های بخش سم‌شناسی آزمایشگاه کنترل غذا و داروی تهران که در انجام این پژوهش نهایت همکاری را نمودند، تشکر می‌شود.

انطباق منحنی تغییرات غلظت پیروکیلن در بافت برگ برمنحنی کنترل بیماری (شکل ۳) هم‌آهنگی روند تغییرات آنها را نشان می‌دهد. چهار روز پس از کاربرد ترکیب، هم‌زمان با افزایش غلظت آن در بافت گیاه، بیماری به‌خوبی کنترل شده‌است. در طول چهار هفته غلظت ترکیب در گیاه در حدی بوده که بیماری را به‌خوبی کنترل کرده و سپس به میزانی کاهش یافته که قادر به کنترل مؤثر بیماری نبوده است. به سخی دیگر دوام مؤثر پیروکیلن در گیاه چهار هفته بوده است. محاسبه وابستگی میزان کنترل بیماری با غلظت ترکیب در بافت نشان می‌دهد که میزان کنترل بیماری تابع خوبی از میزان ترکیب در بافت برگ بوده (شکل ۴) و با وجود ۲ppm پیروکیلن در بافت برگ، بیماری تا ۹۰٪ کنترل شده است. بین

منابع مورد استفاده

۱. اخوت، م. ۱۳۶۷. بررسی امکانات مبارزه تلفیقی با بیماری بلاست برنج (*P. oryzae* Cav.) در شمال ایران. رساله دکتری، دانشکده کشاورزی، دانشگاه تهران، ۲۵۳ صفحه.
2. Anonymous. 1981. Summary on study of the relationship between the controlling effect of leafblast by CGA-49104 2% granules and it's fate in rice plant. Ciba Geigy, Agrochemicals Research Institute, Sankyo Company, Limited 8pp.
3. Bhatt, J.C., R.A. Singh and U.S. Singh. 1994. Uptake, translocation and persistence of pyroquilon in rice plant after seed treatment. Indian Phytopathol. 47(3): 260-262.
4. Filippi, M.C. and A.S. Prabhu. 1997a. Effect of leaf blast control by pyroquilon seed treatment on panicle blast progress and grain yield. Fitopatologia Brasileira 22(2): 164-170.
5. Filippi, M.C. and A.S. Prabhu. 1997b. Integrated effect of host plant resistance and fungicidal seed treatment on rice blast control in Brazil. Plant Dis. 81(4): 351-355.
6. Prabhu, A.S. and M.C. Filippi. 1993. Seed treatment with pyroquilon for the control of leaf blast in Brazilian upland rice. Int. J. Pest. Manag. 39(3): 347-353.
7. Saifulla, M. 1994. Evaluation of granular fungicides against rice blast disease. Plant Protection Bulletin (Faridabad), 46(1):22-23.
8. Shiba, Y., J. Tokousbalides, M. Hata and T. Nagata. 1983. The Properties of 1, 2, 5, 6- tetrahydro- 4H-pyrrolo-(3, 2, 1-i,j)- quinolin-4-one (CG- 114) for the control of rice blast. J. Pest. Sci. 8(2): 167-171.
9. Sisler, H.D. and N.N. Ragsdale. 1985. Mode of action and selectivity of fungicides. PP. 175-188. In: J. L. Hiltone (Ed.), Agricultural Chemicals of the Future Rowman and Allanheld, Totowa.
10. Tsuda, M., H. Ohta, Y. Takahi, K. Tanizawa, A. Kunitomo, A. Tsujino, H. Tanaka, T. Miura and S. Kalo. 1998. Rice blast control with a throw-in packed formulation containing pyroquilon. J. Pest. Sci. 23(3): 230-234.
11. Uehara, T., S. Arase, Y. Honda, M. Nozu and K. Tsujimoto. 1995. Effect of pyroquilon, an inhibitor of melanin synthesis, on sporulation and secondary infection of *Magnaporthe grisea*. J. phytopathol. 143(10): 573-576.
12. Woloshuk, C.P. and H.D. Sisler. 1982. Tricyclazole, pyroquilon, tertachlorophthalide, PCBA, coumarin and related compounds inhibit melanization and epidermal penetration by *Pyricularia oryzae*. J. Pest. Sci. 7(2): 161-166.
13. Woloshuk, C.P., P.M. Wolkow and H.D. Sisler. 1981. The effect of three fungicides, specific for the control of rice blast disease, on the growth and melanin biosynthesis by *Pyricularia oryzae*. Pest. Sci. 12(1): 86-90.