



بررسی خصوصیات جدایه‌های *Dickeya zea* عامل لهیدگی باکتریایی ساقه ذرت و ارزیابی مقاومت بعضی از هیبریدهای تجاری ذرت نسبت به آن‌ها

*اسماعیل محمودی^۱، محمدجواد سلیمانی^۲، محسن تقوی^۳ و عزیر باقری^۴

^۱دانشجوی دکتری گروه گیاهپزشکی، دانشگاه آزاد اسلامی واحد خوراسگان، اصفهان، ^۲دانشیار گروه گیاهپزشکی، دانشگاه بوعلی سینا همدان، ^۳دانشیار گروه گیاهپزشکی، دانشگاه شیراز، ^۴هیأت علمی گروه آفات و بیماری‌های گیاهی، مرکز تحقیقات کشاورزی و منابع طبیعی استان همدان
تاریخ دریافت: ۸۸/۵/۱۲؛ تاریخ پذیرش: ۸۹/۷/۱۳

چکیده

از مزارع ذرت استان‌های غرب کشور نمونه‌هایی با علائم پوسیدگی نرم در محل ساقه و رنگ پریدگی و کوتولگی جمع‌آوری شدند. با کشت این نمونه‌ها روی محیط کشت ائوزین متیلن بلو ۲۰ جدایه باکتری به‌منظور انجام آزمون‌های شناسایی انتخاب و خالص گردید. براساس آزمون‌های فیزیولوژیکی و بیوشیمیایی تمام این جدایه‌ها به‌عنوان گونه *Dickeya zea* تشخیص داده شدند. برای بررسی مقاومت هیبریدهای ذرت به باکتری لهیدگی ساقه، از دو روش تزریق سوسپانسیون به ساقه در گلخانه و روش ایجاد زخم برگ در آزمایشگاه استفاده شد. در روش تزریق به ساقه هیبریدهای سینگل کراس ۶۴۷ و ۷۰۴ با بیش‌ترین درصد لهیدگی ساقه در کلاس حساس و سینگل کراس ۷۰۰ با مقاومت متوسط و هیبریدهای سینگل کراس ۱۰۸ و ۵۰۰ با کم‌ترین درصد لهیدگی ساقه به‌عنوان واریته‌های مقاوم طبقه‌بندی شدند. نتایج به‌دست آمده از روش زخم برگ همبستگی بالایی ($r=0/93$) با روش تزریق به ساقه داشتند. در این روش هیبریدهای سینگل کراس ۷۰۴ و ۶۴۷ به‌عنوان واریته‌های حساس و سینگل کراس ۱۰۸ به‌عنوان واریته مقاوم معرفی شد.

واژه‌های کلیدی: ارزیابی مقاومت، لهیدگی ساقه ذرت، *Dickeya zea*

*مسئول مکاتبه: e.mahmoudi@khuisf.ac.ir

مقدمه

بیماری لهیدگی باکتریایی ساقه از بیماری‌های مهم ذرت است که علایم آن شامل آب‌سوختگی در غلاف برگ‌ها، زرد شدن برگ‌ها، قهوه‌ای شدن گره‌های بالای خاک و پوسیدگی نرم ساقه همراه با بوی نامطبوع می‌باشد (نانینگ و آرتمیو، ۲۰۰۷). این بیماری اولین بار توسط پراساد گزارش شد. او عامل بیماری را *Phytophthora dissolvens* معرفی نمود. سپس پراساد و سینا عامل بیماری را از هند جدا کردند و با خصوصیات بیوشیمیایی، عامل بیماری را *Erwinia carotovora* f. sp. *zeae* معرفی نمودند (عبدالله، ۱۹۸۲). لویز و همکاران (۱۹۸۶) در فلوریدای امریکا عامل پوسیدگی ساقه و تاج ذرت را باکتری *Erwinia chrysanthemi* pv. *zeae* معرفی و میزان خسارت این بیماری را تا ۸۵ درصد برآورد کردند. پوسیدگی ساقه ذرت در ایران اولین بار توسط بناپور و امانی (۱۹۸۶) از دشت ناز ساری و سپس توسط ایزدپناه و معصومی (۱۹۸۸) از شیراز گزارش شد. هر دو گروه محققان یاد شده باکتری عامل بیماری را *E. chrysanthemi* گزارش نمودند. احمدوند و رحیمیان (۲۰۰۲) با بررسی‌هایی که روی این بیماری انجام دادند عامل بیماری را *Pectobacterium chrysanthemi* معرفی کردند. هدف از انجام این پژوهش (۱) شناسایی عوامل ایجادکننده پوسیدگی نرم ساقه ذرت در استان‌های غرب کشور و (۲) بررسی حساسیت و مقاومت ارقام رایج نسبت به این بیماری می‌باشد.

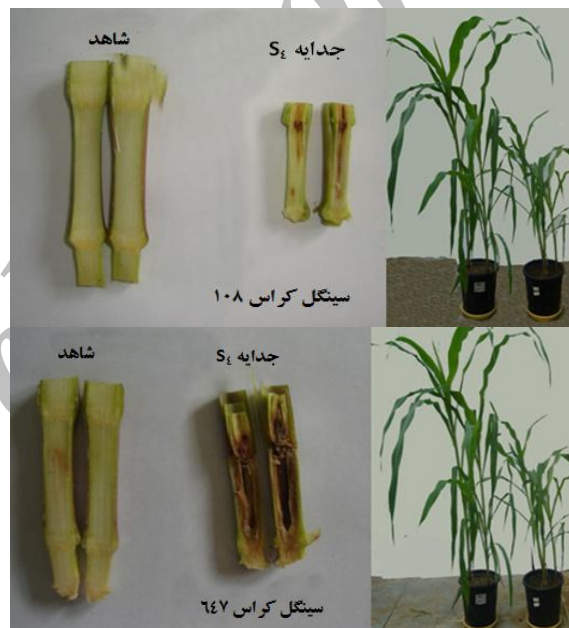
مواد و روش‌ها

- **جداسازی و شناسایی عامل بیماری:** طی بازدیدهای به‌عمل آمده از مزارع ذرت در استان‌های همدان، مرکزی و کرمانشاه بوته‌های آلوده با علایم پوسیدگی نرم در محل طوقه و کوتولگی و زردی جمع‌آوری شدند. جهت جداسازی عامل بیماری، نمونه‌ها روی محیط کشت ائوزین متیلن بلو^۱ کشت داده شدند و پس از ۷۲ ساعت انکوباسیون در دمای ۲۷ درجه سانتی‌گراد، در مجموع ۲۰ جدایه خالص‌سازی و برای شناسایی جدایه‌ها از خصوصیات فنوتیپی و بیماری‌زایی آن‌ها استفاده شد (شاد و همکاران، ۲۰۰۱؛ سامسون و همکاران، ۲۰۰۵).

- **بررسی مقاومت هیبریدهای مختلف ذرت به باکتری لهیدگی ساقه:** برای بررسی مقاومت از ۵ هیبرید ذرت به نام‌های سینگل‌کراس ۱۰۸، ۵۰۰، ۶۴۷، ۷۰۰، ۷۰۴ و دو روش تزریق سوسپانسیون باکتری درون ساقه و روش ایجاد زخم روی برگ‌های بریده ذرت استفاده شد. در روش تزریق به

1- Eosin Methylen Blue

ساقه ۵-۴ هفته بعد از کشت هیبریدهای ذرت درون گلدان، ۲۰۰ میکرولیتر سوسپانسیون باکتری جدایه S_۴ با رقت ۱۰^۶×۲ سلول زنده باکتری با سرنگ زیرپوستی به مرکز ساقه ذرت در فاصله ۲-۱/۵ سانتی متری قاعده ساقه تزریق شد. بعد از تزریق، گیاهان آلوده شده به مدت ۱۵-۱۰ روز در دمای ۳۲ درجه سانتی گراد و رطوبت نسبی ۹۰-۸۰ درصد نگهداری شدند. بعد از طی این مدت شاخص‌هایی از قبیل ارتفاع گیاه، درصد لهیدگی و نکروز شدن مقطع طولی ساقه در قسمت ۱۰ سانتی متری قاعده آن برای بیان پیشرفت بیماری تعیین شدند. در روش ایجاد زخم ۵ میکرولیتر از سوسپانسیون باکتری جدایه S_۴ با رقت ۱۰^۶ سلول زنده در میلی لیتر روی قطعات برگی ذرت درون پتری دیش گذاشته شد. برگ‌های آلوده شده فوراً به اتاقک مرطوب با دمای ۳۲ درجه سانتی گراد برای ۴۸-۲۴ ساعت منتقل شدند. در این آزمایش برای هر تیمار ۴ قطعه برگ ۱۰ سانتی متری با ۶ زخم روی هر برگ در نظر گرفته شد. بعد از طی دوره انکوباسیون، طول لکه‌های ایجاد شده برای هر تیمار اندازه‌گیری شد و تجزیه و تحلیل داده‌ها با نرم‌افزارهای آماری EXCEL و SAS انجام گرفت (ویکتوریا، ۱۹۷۷).



شکل ۲- مقایسه گیاه شاهد تزریق شده با آب مقطر سترون و گیاه بیمار تزریق شده با سوسپانسیون باکتری در سینگل کراس ۶۴۷ به عنوان رقم حساس و سینگل کراس ۱۰۸ به عنوان رقم مقاوم.
الف: مقایسه ارتفاع بوته‌ها؛ ب: مقایسه مقطع طولی ساقه (S_۴: جدایه باکتری).

نتایج و بحث

باکتری‌های جدا شده از بافت‌های آلوده ذرت، روی محیط کشت انوزین متیلن بلو پرگنه‌های گرد نامنظم، گاهی با حاشیه منظم برجسته و با درخشندگی سبز متالیک تشکیل دادند. همه جدایه‌ها گرم منفی، میله‌ای شکل، متحرک با تاژک‌های محیطی، بی‌هوازی اختیاری، کاتالاز مثبت، اکسیداز منفی و قادر به لهانیدن ورقه‌های سیب‌زمینی بودند. تمامی جدایه‌ها در دمای ۳۲-۳۰ درجه سانتی‌گراد در شرایط گلخانه قادر به ایجاد لهیدگی در ساقه ذرت و علائم دیگر بیماری از قبیل کوتولگی و زرد شدن بوته‌ها بودند. براساس نتایج به‌دست آمده از مصرف منابع کربن و ازت و همچنین آزمون‌های فیزیولوژیکی تمامی این جدایه‌ها به *Dickeya zaeae* نسبت داده شدند (اشنایدر و وان‌تیل، ۲۰۰۲؛ سامسون و همکاران، ۲۰۰۵). نتایج به‌دست آمده از زخم برگ در ارزیابی مقاومت نشان می‌دهد که هیبریدهای سینگل کراس ۶۴۷ و سینگل کراس ۷۰۴ با میانگین طول لکه لهیده روی برگ به ترتیب ۶/۶۲ و ۶/۳۵ میلی‌متر در یک گروه آماری قرار گرفته و حساس‌ترین هیبریدها در این آزمایش به حساب می‌آیند (جدول ۱). هیبریدهای سینگل کراس ۵۰۰ و ۷۰۰ با میانگین طول لکه روی برگ به ترتیب ۵/۳ و ۴/۵۲ میلی‌متر در یک گروه آماری قرار گرفته و جزء هیبریدهای با مقاومت نسبی قرار می‌گیرند. سینگل کراس ۱۰۸ با کم‌ترین میانگین طول لکه برگ‌گی که ۳/۵ میلی‌متر است و از نظر مقیاس در گروه با طول لکه کم‌تر از ۴ میلی‌متر قرار گرفته و هیبرید مقاوم به این باکتری به حساب می‌آید.

جدول ۱- مقایسه هیبریدهای ذرت از نظر واکنش به باکتری عامل لهیدگی ساقه ذرت.

واریت	زخم برگ (میلی‌متر)	شاخص ارزیابی (میلی‌متر)	کلاس	لهیدگی ساقه (درصد)	کلاس
سینگل کراس ۷۰۴	۶/۳۵ ^a	۶<	S	۴۳/۵۲ ^a	S
س.ک. ۷۰۰	۵/۳ ^b	۴-۶	MR	۳۰/۴۵ ^b	MR
س.ک. ۶۴۷	۶/۶۲ ^a	۶<	S	۴۴/۴۱ ^a	S
س.ک. ۵۰۰	۴/۵۲ ^b	۴-۶	MR	۱۹/۹۸ ^c	MR
س.ک. ۱۰۸	۳/۵ ^c	۴>	R	۱۷/۸۲ ^c	R

R: مقاوم (Resistant)؛ MR: مقاومت متوسط (Moderately Resistant)؛ S: حساس (Susceptible).

۱- طول لکه روی برگ بر حسب میلی‌متر؛ ۲- درصد لهیدگی ۱۰ سانتی‌متر پایین ساقه ذرت.

در روش تزریق سوسپانسیون به ساقه هیبریدهای سینگل کراس ۶۴۷ و ۷۰۴ به ترتیب با میانگین لهیدگی ساقه ۴۴/۴۱ و ۴۳/۵۲ درصد (شکل ۱، جدول ۱) به عنوان هیبریدهای حساس در این روش معرفی شدند. در این دو هیبرید، از نظر آماری اختلاف معنی داری بین آنها وجود ندارد و در یک گروه آماری قرار می گیرند. سینگل کراس ۷۰۰ با میانگین ۳۰/۴۵ درصد لهیدگی به عنوان هیبرید با مقاومت نسبی و سینگل کراس ۵۰۰ و ۱۰۸ به ترتیب با ۱۹/۹۸ و ۱۷/۸۲ درصد لهیدگی به عنوان هیبریدهای مقاوم در یک گروه آماری قرار می گیرند (شکل ۱). نتایج ارزیابی مقاومت در دو روش نشان می دهد که هیبریدهای سینگل کراس ۶۴۷ و ۷۰۴ دارای بیشترین حساسیت و سینگل کراس ۷۰۰ در هر دو روش وارسته با مقاومت نسبی بود. ضریب همبستگی بین نتایج دو روش بالا نشان می دهد که نتایج این دو روش با ضریب همبستگی ($r=0/93$) با احتمال ۰/۰۱ معنی دار هستند. در روش زخم برگ تفکیک بهتری میان وارسته ها در بیان مقاومت و حساسیت صورت گرفت. هر چند که این روش در شرایط طبیعی انجام نمی گیرد اما نتایج به دست آمده از این روش و مقایسه آنها با روش تزریق به ساقه بیان کننده کیفیت خوب این روش برای ارزیابی مقاومت به عوامل بیماری زا برای بیشتر محصولات می باشد (اشنایدر و وان تیل، ۲۰۰۲).

سپاسگزاری

این مقاله بخشی از پایان نامه کارشناسی ارشد نگارنده اول در دانشگاه بوعلی سینا همدان می باشد که به این وسیله از دانشگاه بوعلی سینا به خاطر فراهم کردن امکانات انجام این پژوهش سپاسگزاری می نمایم.

منابع

1. Abdullah, H. 1982. Studies of bacterial stalk rot disease of corn. *Pertanika*, 5: 84-89.
2. Ahmadvand, R. and Rahimian, H. 2002. Identification of soft rot *Erwinias* of corn in Mazandaran province. *Proceeding of 14th Iran Plant Protection Congress*, 49p.
3. Banapour, A. and Amani, G. 1986. Soft rot disease of corn stem. *Iran. J. Plant Pathol.* 22: 103-104. (In Persian)
4. Izadpanah, K. and Masoumi, M. 1988. Occurrence of bacterial soft rot of corn in Fares province. *Iran. J. Plant Pathol.* 24: 71-72. (In Persian)

5. Lopes, C.A., Stall, R.E. and Bartz, A.J.A. 1986. Bacterial stalk and top rot of Maize in Florida caused by *Erwinia chrysanthemi* pv. *zear*. Plant Disease, 70: 259. (abst)
6. Nuning, A.S. and Artemio, M.S. 2007. Diallel analysis of resistance to bacterial stalk rot (*Pectobacterium chrysanthemi* pv. *zear*) in corn (*Zea mays* L.). Indonesian J. Agric. Sci. 8: 48-52.
7. Samson, R., Legendre, J.B., Christen, R., Achouak, W. and Gardan, C. 2005. Transfer of *Pectobacterium chrysanthemi* Hauben *et al.*, 1998 and *Brenneria paradisiaca* to the genus *Dickeya* gen. nov. as *Dickeya chrysanthemi*. Comb. Nov. and *Dickeya paradisiaca* comb. Nov. and delineation of four novel species *Dickeya dadanthii* sp. Nov., *Dickeya dianthicola* sp. Nov., *Dickeya diffebachia* sp. Nov. and *Dickeya zear* sp. Nov. Inter. J. Syst. and Evol. Micro. 55: 1415-1427.
8. Schaad, N.W., Jones, J.B. and Chun, W. 2001. Laboratory Guide for Identification of plant pathogenic bacteria. APS Press. St. Paul., Minnesota, USA. 373p.
9. Snijder, R.C. and Van-Tuyt, J.M. 2002. Evaluation of tests to determine resistance of *Zantedeschia* spp. (Araceae) to soft rot caused by *Erwinia carotovora* subsp. *carotovora*. Euro. J. Plant Pathol. 108: 565-571.
10. Sutra, L., Chistan, R., Bollet, C., Simoneau, P. and Gardan, L. 2001. *Samsonia erythrinae* gen. nov., isolated from bark necrotic lesion of *Erythrina* sp. And discrimination of plant pathogenic Entrobacteriaceae by Phenotypic features. International J. Syst. and Evol. Micro. 51: 1291-1304.
11. Victoria, J.I. 1977. Resistance in corn (*Zea mays* L.) to bacterial stalk rot in relation to virulence of strains of *Erwinia chrysanthemi*. Ph.D. Dissertation, University of Wisconsin, Madison, 179p.



Gorgan University of Agricultural
Sciences and Natural Resources

J. of Plant Production, Vol. 17(3), 2010
www.gau.ac.ir/journals

Characterization of Strains of *Dickeya zae* The Causal Agent of Bacterial Stalk Rot of Maize and Evaluation of Some Maize Hybrids Resistant to These Strains

*E. Mahmoudi¹, M.J. Soleymani², M. Taghavi³ and A. Bagheri⁴

¹Ph.D. Student, Dept. of Plant Protection, Islamic Azad University, Khorasgan Branch, Isfahan,

²Associate Prof., Dept. of Plant Protection, Bu-Ali Sina University, Hamadan,

³Associate Prof., Dept. of Plant Protection, Shiraz University,

⁴Faculty of Member, Agricultural and Natural Research Center, Hamadan

Received: 3,8,2009 ; Accepted: 5,10,2010

Abstract

Samples with Stalk rot, yellowing and stunting symptoms from maize fields in western provinces of Iran were collected. After cultured of them on Eosin Methylene Blue (EMB) medium, twenty bacterial strains with metallic green color colonies on EMB medium were selected for identification tests. According to the biochemical and phenotypic characteristics, these strains were identified as *Dickeya zae*. In order to, for evaluation of maize hybrids resistance to bacterial stalk rot, two methods including pseudostem injection and leaf puncture methods were used. In pseudostem injection method two hybrids, single cross 647 and 704, with most degree of stalk rot were placed in sensitive class (S), single cross 700 with medium resistance (MR) and single cross, 108 and 500 hybrids with least stalk rot were categorized as resistance varieties (R). The result from leaf puncture method has high correlation ($r=0.93$) with pseudostem injection method. Hybrids single cross 704 and 647 as sensitive varieties and single cross 108 as resistant variety were introduced in this method.

Keywords: Bacterial stalk rot, *Dickeya zae*, Evaluation of resistance

* Corresponding Author; Email: e.mahmoudi@khuisf.ac.ir