Archive of SID

"نهال و بذر"
جلد ۲۱، شماره ٤، سال ۱۳۸٤

مقایسه واکنش تعدادی از ارقام و لاین‌های برگزیده ذرت نسبت به بیماری لکه برگی ذرت *Bipolaris maydis* (Nisikado) Shoem

Comparison of the Reaction of some Selected Maize Lines and Cultivars to Southern Corn Leaf Blight, *Bipolaris maydis* (Nisikado) Shoem

مجید زمانی و فهمیده مهریان

مؤسسه تحقیقات اصلاح و تهیه نهال و بذر و مؤسسه تحقیقات آفات و بیماری‌های گیاهی

تاریخ دریافت: ۸۳/۹/۳۰

چکیده

زمانی، م.، و مهریان، ف. ۱۳۸٤. مقایسه واکنش تعدادی از ارقام و لاین‌های برگزیده ذرت نسبت به بیماری لکه برگی ذرت *Bipolaris maydis* (Nisikado) Shoem. **نهال و بذر** ۲۱: ٥٤٥-٥۳۱.

به منظور تعیین واکنش تعدادی از ارقام و لاین‌های برگزیده ذرت نسبت به بیماری لکه برگی، هفده لاین و رقم ذرت در قالب طرح بلوک‌های کامل تصادفی با دو تکرار در سال ۱۳۷۸ و چهار تکرار در سال ۱۳۷۹ در ایستگاه قراخیل ساری در شرایط مزرعه مورد ارزیابی قرار گرفتند. در این بررسی تک تک بوته‌ها در دو مرحله ٤-۳ برگی با سوسپانسیون اسپور قارچ عامل بیماری *(Bipolaris maydis)* به غلظت Spore/ml ۳×۱۰^{٤} با سرنگ به میزان ۲- ۱ میلی‌لیتر و یک بار نیز در مرحله ۸-٦ برگی با رها کردن دانه‌های سورگوم آغشته به قارچ عامل بیماری به میزان ۱۵-۱۰ دانه آلوده در قیف هر بوته با وسیله بازوکا (Bazooka) مایه‌زنی شدند. ارزیابی ارقام مختلف در دو مرحله گرده افشانی و دو هفته بعد از آن به عنوان شاخص شدت بیماری (100-0) و هم چنین با استفاده از سیستم امتیاز دهی 5-0 تعیین شد. نتایج حاصل نشان داد که اختلاف معنی‌داری از نظر حساسیت به بیماری بین لاین‌ها و هیبریدها وجود دارد و مقاومت هیبریدها از لاین‌ها بیشتر است. لاین K 3547/212 مقاوم‌ترین و لاین K 3653/111 حساس‌ترین لاین‌ها نسبت به بیماری بودند. در بین ارقام نیز K3547/212 x MO 17 و K SC 604 جزء ارقام مقاوم بودند. سه لاین تجاری K 18, MO17 و K 19 جزء لاین‌های نیمه‌مقاوم و لاین B 73 جزء لاین‌های حساس به بیماری شناسائی شدند.

واژه‌های کلیدی: ذرت، بیماری لکه برگی، *Bipolaris maydis*، مقاومت.

این مقاله بر اساس نتایج به دست آمده ا زاجرای طرح‌های تحقیقاتی شماره ۷۸۲۵٦-۱۲-۱۰۰ و ۷۸۲۵۵-۱۲-۱۰۰ مؤسسه تحقیقات اصلاح و تهیه نهال و بذر تهیه گردیده است.

www.SID.ir

Archive of SID

مقدمه

یکی از عوامل محدودکننده در کشت ذرت، بیماری‌های لکه برگی ذرت می‌باشد که باعث کاهش عملکرد کمی و کیفی محصول می‌شود. مؤثرترین روش کنترل این بیماری استفاده از ارقام مقاوم توصیه شده است. بیماری‌های ناشی از لکه برگی در سراسر جهان در مناطق ذرت‌کاری وجود دارد. دو گونه قارچی به اسامی *Bipolaris maydis* (Nisikado Shoem.) و *Exerohilum turcicum* (Pass.) جزء عوامل مهم لکه برگی در ذرت می‌باشند و خسارات عمده‌ای به محصول وارد می‌سازند (Shurtleff,1980). گونه *B. maydis* در نواحی نیمه‌مرطوب و نیمه‌گرمسیری و گونه *E. turcicum* در مناطق مرطوب و گرمسیری جهان یافت می‌شوند (White, 1999؛ Leonard *et al*., 1989). در ایران گونه *B. maydis* شایع‌تر از گونه‌های دیگر می‌باشد و در مناطق مرطوب از استان‌های مازندران، گیلان و گرگان جمع‌آوری و گزارش شده است. بیماری‌های لکه برگی علاوه بر کاهش محصول، ارزش غذائی علوفه را نیز کاهش می‌دهد (مهریان و بامدادیان، ۱۳٦٤؛ مهریان و همکاران، ۱۳۷۹).

در مورد خسارت عوامل لکه برگی می‌توان به گونه *Bipolaris maydis* با نژاد T اشاره کرد که در سال ۱۹۷۰ باعث از بین رفتن تمامی هیبریدهای ذرت در منطقه آمریکا شد. برای تولید این هیبریدها از لاین‌های نرعقیم سیتوپلاسمی (T.cms) Texas cytoplasm male sterile استفاده شده بود. در اثر این اتفاق خسارات شدیدی به محصول ذرت وارد شد (Shurtleff *et al*., 1985). خسارت نژاد T به خاطر توانائی تولید یک توکسین (T-toxin) پلی‌کتاید (Polyketide) در هیبریدهای حساس T.cms بود که بعد از آن اپیدمی، این نژاد در شمال امریکا به یک سطح خیلی پایین رسید. (Leonard, 1977).

این بیماری به عنوان یکی از مهم‌ترین بیماری‌های بذرزاد ذرت به حساب می‌آید و خسارت زیادی به محصول ذرت وارد می‌سازد و با نام Southern corn leaf blight (SCLB) معروف است. SCLB توسط قارچ آسکومیست *Cochliobolus heterostrophus* Drechs. با آنامورف *Bipolaris maydis* ایجاد می‌شود این قارچ دارای سه نژاد می‌باشد که نژاد O رایج‌ترین نژاد در بیشتر مناطقی است که SCLB به وقوع می‌پیوندد (White, 1999). علائم بیماری ناشی از گونه *B. maydis* ابتدا به صورت لکه‌های کوچک و الماسی شکل روی برگ ظاهر می‌شود و سپس بزرگ‌تر شده و به طول دو تا سه سانتی‌متر می‌رسد. رشد این لکه‌ها محدود به آوندهای مجاور بوده ولی در مواردی که آلودگی شدید باشد لکه‌ها به هم پیوسته و در ناحیه وسیعی از برگ سوختگی ایجاد می‌کنند (McGee, 1988).

www.SID.ir

Archive of SID

قارچ عامل بیماری در مزارع از فصلی به فصل دیگر در بقایای محصول باقی می‌ماند و این بقایا معمولاً منبع مایهٔ اولیه قارچ محسوب می‌شود و آلودگی‌های ثانویه مربوط به کنیدی‌های آن‌ها می‌باشد که بعد از آلودگی‌های برگی تولید می‌شوند. درجه حرارت و رطوبت نسبی از مهم‌ترین عوامل گسترش این بیماری به حساب می‌آیند. در حرارت ۳۰ درجه سانتی‌گراد و هوای اشباع از رطوبت، آلودگی‌های شدید اتفاق می‌افتد (Shurtleff *et al.,* 1985). تخمین کاهش عملکرد به واسطه بیماری لکه برگی ذرت بستگی به نژاد و محیط دارد و می‌تواند کاملاً پایدار باشد، در این موردکاهش عملکرد بالای ٤٠ درصد یا بیشتر در آزمایش‌هائی که با نژاد O مایه‌زنی شده است گزارش شده است (Fisher *et al*., 1976 ؛ Byrne *et al.,* 1989).

برای مقابله با این بیماری می‌توان از اقدامات زراعی مانند رعایت تناوب، از بین بردن بقایای گیاهی و کاشت بذر سالم استفاده کرد. کنترل بیولوژیکی نیز یکی از راه‌های مقابله با این بیماری است که ابتدا در گلخانه و سپس در مزرعه صورت می‌گیرد. ولی مهم‌ترین راه کنترل این بیماری استفاده از ارقام مقاوم است. برای تعیین مقاومت ارقام نسبت به این بیماری، گزارش‌های متعددی وجود دارد که مقاومت به *B. maydis* از نوع پلی‌ژنیک است. این مقاومت به صورت کمی با توجه به اندازه لکه بروز می‌کند و با درصد بافت برگ آلوده همبستگی دارد (Hoocker, 1978). مؤثرترین و اقتصادی‌ترین روش کنترل وکاهش خسارت به بیماری لکه برگی ذرت استفاده از هیبریدهای مقاومی است که به طور ژنتیکی مقاوم باشند (Carson *et al*., 2004).

اسمیت‌وهوکر (Smith and Hooker,1973) در آزمایش‌هائی که در مزرعه و گلخانه در مرحله گیاهچه‌ای انجام دادند نشان دادند که مقاومت لکه کلروتیک به بیماری لکه برگی توسط یک ژن مغلوب به ارث می‌رسد و علامت اختصاری *rhm* را برای این نوع مقاومت پیشنهاد دادند. تامپیون و برگ کویست (Thompson and Bergquist, 1984) بیان داشتند که مقاومت توسط ژن *rhm* در مراحل اولیه رشد گیاهچه‌ای، کافی و مؤثر است ولی بعد از ظهور کاکل‌ها، اثر آن محدود می‌شود.

اسمیت‌وهوکر (Smith and Hooker,1973) گزارش دادند که وراثت مقاومت به نژاد O ممکن است به صورت ساده و تک ژنی با نام (*rhm1*) باشد. چنگ و پیترسون (Chang and Peterson, 1995) اظهار داشتند که وراثت مقاومت به بیماری لکه برگی SCLB توسط دو ژن مغلوب پیوسته به نام‌های (*rhm*1 and *rhm*2) برروی کروموزوم شماره شش کنترل می‌گردد. تعداد بسیاری از محققین بر این باورند که بسیاری از ژن‌ها که اغلب اثر افزایشی دارند موجب کنترل بیماری لکه برگی ذرت می‌شوند (Burnette and white, 1985 ؛ Scotte and Futrell, 1975 ؛ Lim, 1975).

www.SID.ir

Archive of SID

پیت و هاروی (Pate and Harvey, 1954) در آزمایش‌های خود بر روی وراثت مقاومت به SCLB نشان دادند که تنوع مقاومت به صورت پیوسته بوده و این مسئله دلالت بر وجود فاکتورهای ژنتیکی متعددی در این زمینه می‌باشد، اگرچه مشخص کردن تعداد معینی از این فاکتورها امکان‌پذیر نمی‌باشد و به طور کلی مقاومت به صورت غالبیت نسبی کنترل می‌شود. آن‌ها هم چنین بیان کردند که لاین‌های حساس و نیمه‌حساس، حامل فاکتورهای مختلفی برای مقاومت بودند در حالی که لاین‌های مقاوم احتمالاً حامل فاکتورهای مشابهی برای مقاومت هستند.

کریج و دانیل کالیو (Craig and Daniel-Kalio, 1968) در آزمایش‌های خود، محدود شدن لکه‌ها را بر روی برگ‌های ذرت مشاهده کردند و مقاومت لکه‌لکروتیک (Chlortic Lesion Resistance) را نسبت به این بیماری گزارش دادند و بیان کردند که این نوع مقاومت، اندازه لکه را محدود می‌کند و هم‌چنین در نکروتیک شدن لکه و اسپورزائی عامل بیماریزا تأخیر ایجاد می‌کند، این نوع مقاومت توسط دو ژن مغلوب با یک نوترکیبی با فرکانس ۱٦/۸۳٪ کنترل می‌شود.

جیانگ و همکاران (Jiang *et al.*, 1999) اظهار داشتند که یک QTL منفرد برای مقاومت به SCLB بر روی کروموزوم ۳ از تلاقی بین اینبرد لاین مشتق از جمعیت گرمسیری (Lowland) و اینبرد لاین مشتق از جمعیت گرمسیری (Highland) حاصل شده است.

کارسن و همکاران (Carson *et al.*, 2004) با آزمایش‌های خود به منظور تهیه نقشه Quanitative Trait Loci (QTL) برای مقاومت به SCLB نشان دادند که هیچ گونه اثر متقابل افزایشی X افزایشی در کنترل بیماری SCLB مشاهده نشده است و نتایج آن‌ها ثابت کرد که توارث‌پذیری مقاومت به SCLB ذرت پلی‌ژنیک بوده و با گزارش‌های قبلی که توارث به این بیماری را پلی‌ژنیک می‌دانستند مطابقت دارد. سی بالوس و همکاران (Ceballos *et al.*, 1991). در مورد بیماری لکه برگی ذرت با قارچ *Exserohilum turcicum* بیان کردند که مقاومت به این بیماری پلی‌ژنیک است و قابلیت توارث بسیار بالائی برای این بیماری وجود دارد.

در ایران، در سال‌های قبل به طور پراکنده آزمایش‌هائی جهت ارزیابی مقاومت لاین‌ها و هیبریدهای ذرت در شرایط طبیعی نسبت به این بیماری انجام شده است که گزارش‌های آن‌ها نشان داده که در واکنش به این بیماری بین ارقام و لاین‌ها اختلاف معنی‌داری وجود دارد (گزارش‌های منتشر نشده نگارندگان)، ولی این آزمایش‌ها به طور یکنواخت و با استفاده از آلودگی مصنوعی نبوده است. هدف اساسی در این تحقیق استفاده از آلودگی مصنوعی و تکنیک‌هائی که در مرکز بین‌المللی تحقیقات

www.SID.ir

Archive of SID

ذرت و گندم (CIMMYT) متداول است، برای ارزیابی لاین‌ها و هیبریدهای ذرت نسبت به این بیماری و شناسائی لاین‌ها و هیبریدهای مقاوم به بیماری بود تا در برنامه‌های اصلاحی ذرت مورد استفاده قرار گیرد.

مواد و روش‌ها

بررسی‌های آزمایشگاهی

جمع‌آوری و جداسازی عامل بیماری

تعدادی نمونه آلوده در سال ۱۳۷۷ از مزارع مختلف اصلاحی و تولیدی بذر ذرت در ساری که علائم بیماری لکه برگی داشتند، جمع‌آوری و به آزمایشگاه بخش تحقیقات ذرت و گیاهان علوفه‌ای مؤسسه تحقیقات اصلاح و تهیه نهال و بذر منتقل گردید. برای کشت و جداسازی اولیه قارچ‌ها از برگ‌های آلوده، از محیط کشت P.D.A و C.M.A استفاده شد. به منظور جداسازی عوامل لکه برگی، از ناحیه لکه‌ها که حدفاصل بین قسمت‌های نسوج آلوده و سالم بود برش‌های کوچکی تهیه و با محلول کلراکس یک در هزار به مدت یک تا دو دقیقه ضدعفونی سطحی شدند. قطعات سه بار با آب مقطر سترون شسته و بر روی کاغذ صافی سترون منتقل شدند و نهایتاً بعد از خشک شدن آب سطحی، چهار تا پنج قطعه داخل تشتک روی محیط کشت قرار داده شدند و به مدت ۱۰-۷ روز در انکوباتور با دمای ۲۸-۲۵ درجه سانتی‌گراد نگهداری شدند. برای شناسائی و انجام آزمایش‌های بیماریزائی ابتدا خالص‌سازی قارچ‌ها با روش تک اسپور انجام شد. اکثریت گونه‌های قارچی جدا شده *B. maydis* تشخیص داده شدند. تشخیص گونه براساس کلید سیوانسن (Sivanesan, 1987) با توجه به مشخصات مورفولوژیکی و میکروسکوپی در مؤسسه تحقیقات آفات و بیماری‌های گیاهی تهران صورت گرفت که پس از تشخیص گونه‌ها، نمونه‌های *B. maydis* با نژاد O برای استفاده در این آزمایش انتخاب شدند.

آزمون بیماریزائی

جهت آزمون بیماریزائی از گیاهچه‌های لاین B 73 که نسبت به بیماری حساس بود، استفاده شد. بدین ترتیب که تعداد چهار بذر از این لاین در گلدان کاشته شد و در شرایط گلخانه ای مورد بررسی قرار گرفت. در این آزمایش از ۲۴ گلدان جهت بیماریزائی هشت جدایه استفاده شد. وقتی که بوته‌ها در مرحله سه تا چهار برگی بودند با استفاده از سرنگ، به میزان ۲-۱ میلی‌لیتر از سوسپانسیون اسپور با غلظت ۳×۱۰^{۴} در قیف بوته‌ها تزریق شد و بعد از سه تا پنج روز علائم بیماری در برگ‌های گیاهچه مشاهده شد. در نهایت پنج جدایه از هشت جدایه که تعداد لکه بیشتری در سطح برگ‌ها ایجاد کردندو بیماریزائی بیشتری نشان دادند به عنوان جدایه‌های بیماریزا جهت بررسی مقاومت لاین‌ها انتخاب شدند.

تهیه مایه قارچ و مایه‌زنی

مایه‌زنی بوته‌ها با دو روش تزریق سوسپانسیون اسپور و روش بازوکا انجام شد.

www.SID.ir

Archive of SID

برای تهیه سوسپانسیون قارچ عامل بیماری، از برگ‌های تمیز و سالم ذرت برای بستر مایه قارچ استفاده شد (Bajet and Renfro, 1994). بدین منظور برگ‌های ذرت پس از شستشو با آب سرد به قطعات پنج تا ده سانتی‌متری خرد شده و در ارلن مایر ریخته و دوبار به مدت نیم ساعت به فاصله ۲٤ ساعت اتوکلاو گردیدند. این قطعات با چندین برش‌های کوچک (Plug) از پنج جدایه قارچ عامل بیماری که از محیط کشت PDA گرفته شده بودند آغشته شده و مدت سه هفته در انکوباتور در دمای ۲۵ درجه سانتی‌گراد نگهداری شدند. بعد از این مدت با شستن برگ‌ها، اسپورهای آن‌ها جمع‌آوری و سوسپانسیون با غلظت 3×10^4 در میلی‌لیتر تهیه گردید. در مرحله سه تا چهار برگی روش اول (تزریق سوسپانسیون اسپور) انجام شد. بدین ترتیب که سوسپانسیون تهیه شده با سرنگ به میزان ۲-۱ میلی‌لیتر در قیف هر بوته تزریق شد. در روش دوم (روش بازوکا)، از دانه‌های سورگوم به عنوان بستر مایه قارچ استفاده شد. بدین طریق که دانه‌های سورگوم پس از شستشو و اتوکلاو کردن در ارلن مایر ریخته شدند و چندین برش کوچک قارچ عامل بیماری از پنج جدایه به آن اضافه گردید و ارلن مایرها در انکوباتور به مدت چهار هفته نگهداری شدند. دانه‌های سورگوم آغشته به قارچ *B. maydis* سپس خشک و جدا شدند. با استفاده از دستگاه بازوکا، عمل مایه‌زنی به طور یکنواخت انجام شد. با زدن شاسی بازوکا، تعداد ۱۵-۱۰ دانه سورگوم آغشته به قارچ در قیف گیاه رها شد. مایه‌زنی در هر دو مرحله اوائل صبح تا قبل از ظهر انجام شد تا مایه قارچ تبخیر نشود (Jeffers, 1994).

بررسی‌های مزرعه‌ای

ارقام مورد مطالعه

تعداد ٦۵ لاین و ۵۱ هیبرید ذرت در سال ۱۳۷۸ در دو تکرار و ده لاین و هفت هیبرید در سال ۱۳۷۹ در چهار تکرار مورد بررسی قرار گرفتند. آزمایش سال اول در ایستگاه قراخیل در قالب طرح بلوک‌های کامل تصادفی در اوایل اردیبهشت ماه کاشته شد. در سال دوم، به منظور مطالعات تکمیلی تعداد ده لاین به اسامی K 3653/111، K 722، K 1259، K 1264/1، MO 17، K 3547/212، K 18، K 19، K 74/1 و B 73 که لاین‌های تجاری می‌باشند همراه هفت رقم به اسامی MO 17 × K 1259، B 73 × K 18، KSC 604، K 1264/1 × K 3547/212، MO 17 × K 3547/212، K 1264/1 × K 111، K 3640/111 و K 1264/1 × K 1263/14-2 که واکنش‌های متفاوتی از نظر حساسیت در سال ۱۳۷۸ نشان داده بودند مجدداً مورد ارزیابی قرار گرفتند. شاهد حساس در این آزمایش لاین B 73 بود که در آزمون بیماریزائی نیز از آن استفاده گردید. بذر ارقام و لاین‌ها هر کدام در یک خط با چهار تکرار در قالب طرح بلوک‌های کامل تصادفی در اواخر فروردین ماه کاشته شد. فاصله ردیف کاشت از یک دیگر ۷۵ سانتی‌متر

www.SID.ir

Archive of SID

و طول هر خط ۲/۵ متر با تعداد ۱۱ کپه به فاصله ۲۵ سانتی‌متر با مساحت ۱/۸۷ مترمربع برای هر لاین یا رقم در نظر گرفته شد. در زمان کاشت تعداد سه بذر در هر کپه کاشته شد و پس از تنک کردن، تنها یک بوته در هر کپه نگهداری شد. در طول فصل رشد کلیه عملیات زراعی طبق عرف محل انجام و یادداشت‌برداری‌های لازم انجام شد.

ارزیابی ارقام و لاین‌های ذرت

ارزیابی در دو مرحله گرده‌افشانی و دو هفته بعد از گرده‌افشانی بر حسب پیشرفت آلودگی بر روی ده بوته در هر ردیف انجام شد. در سال ۱۳۷۸ برای ارزیابی ٦٥ لاین و ٥١ هیبرید، از سیستم امتیازدهی (٥-٠) استفاده شد و براساس میزان آلودگی سطح برگ‌ها به عنوان شاخص بیماری امتیاز داده شد (Elliott and Jenkins, 1946). بدین ترتیب که امتیاز صفر برای بوته‌های سالم و بدون آلودگی، امتیاز ۱ برای بوته‌های با یک یا دو لکه پراکنده در برگ‌های پائین، امتیاز ۲ برای بوته‌های با کمی لکه در برگ‌های پائین، امتیاز ۳ برای بوته‌های با لکه‌های فراوان در برگ‌های پائین و تعداد کمی لکه در برگ‌های بالا، امتیاز ٤ برای بوته‌هائی با لکه‌های فراوان در برگ‌های پائین و وسط بوته و تعداد کمی در برگ‌های بالا و امتیاز ٥ برای بوته‌هائی با تعداد زیادی از لکه‌های نکروتیک در تمامی برگ‌های بالا و پائین در نظر گرفته شد. در سال ۱۳۷۹ نیز برای مطالعات تکمیلی و تعیین مقاومت تعدادی از لاین‌ها و هیبریدها از یک مقیاس خطی برحسب درصد نواحی آلوده شده برگ از امتیاز صفر تا صد (۱۰۰-۰) برحسب درصد به عنوان شاخص شدت بیماری استفاده شد (Pataky *et al.*, 1998). ارزیابی و امتیازدهی برای هر ردیف کاشت در دو زمان، تعیین گردید تا روند پیشرفت بیماری مشخص گردد. سپس ارزیابی مرحله دوم به عنوان امتیاز نهائی ثبت شد. داده‌ها از نظر توزیع نرمال و یکنواختی واریانس، آزمون گردیدند و براساس Arecsinx تبدیل داده‌ها انجام شد. تجزیه آماری با استفاده از نرم‌افزار MSTAT-C و مقایسه میانگین‌ها از روش آزمون چند دامنه‌ای دانکن استفاده شد.

نتایج و بحث

به طور کلی ،توسعه بیماری بر روی لاین‌ها و ارقام در هر دو سال آزمایش رضایت‌بخش بود به طوری که در سال ۱۳۷۸ وضعیت آلودگی در لاین حساس B 73 به عنوان شاهد، با امتیاز ۳/۸٥ مشخص گردید و دامنه شدت بیماری در بین مواد از امتیاز ۱/٦٥ تا ٤/٧٥ متغیر بود. در بررسی واکنش ٦٥ لاین نسبت به بیماری لکه برگی در سال ۱۳۷۸ مشخص گردید که بین لاین‌ها از نظر حساسیت به بیماری اختلاف معنی‌داری در سطح ۱٪ وجود دارد (جدول درج نشده است). در سال ۱۳۷۸، ۱۲/٤ درصد از لاین‌ها نسبت به عامل بیماری حساسیت بسیار بالائی نشان دادند، به طوری که روی تمامی برگ‌های بوته‌ها لکه‌های نکروتیک فراوان

www.SID.ir

Archive of SID

تشکیل شده بود و از نظر امتیازدهی، امتیاز ٤ تا ٥ را داشتند. لاین K 3653/111 جزء حساس‌ترین‌ها بود که امتیاز آلودگی آن ٤/٧٥ بود. در این سال ۳۲/٤٪ از لاین‌ها در گروه حساس با امتیاز ٤-۳، ٥۰/۷ درصد در گروه نیمه‌مقاوم با امتیاز ۲ تا ۳ و ٤/٦ درصد در گروه مقاوم بودند که مقاوم‌ترین آن‌ها لاین K 722 بود که میانگین امتیاز ۱/٦٥ را به خود اختصاص داد. در جدول ۱ واکنش تعدادی از لاین‌ها و ارقام آزمایشی نسبت به بیماری لکه برگی در آزمایش سال اول نشان داده شده است.

جدول ۱- مقایسه میانگین شاخص بیماری ارقام و لاین‌های مختلف ذرت در مقابل قارچ *Bipolaris maydis* در سال ۱۳۷۸

Table 1. Mean comparison of disease index of different maize cultivars and lines to *Bipolaris maydis*

ژنوتیپ های ذرت Genotypes	میانگین شاخص بیماری (٥-۰) Mean disease index (0-5)	واکنش Reaction
K 3653/111	4.75	HS
K 1264/1	4.15	HS
K 74/1	3.90	S
B 73	3.85	S
K 1259	3.70	S
K 1263/14-2 x K 1264/1	3.65	S
K 3640/111 111 x K 1264/1	3.55	S
K 3547/212 x K 1264/1	2.80	MR
B 73 x K 18	2.70	MR
K 19	2.70	MR
K 18	2.65	MR
MO 17	2.35	MR
K 1259 x MO 17	1.95	R
K SC 604	1.80	R
K 3347/212 x MO 17	1.65	R
K 722	1.65	R
K 3547/212	1.65	R

HS: highly susceptible MR: moderately resistant
S: susceptible R: resistant

در بررسی واکنش ٥۱ هیبرید نسبت به بیماری لکه برگی در سال ۱۳۷۸ مشخص گردید اختلاف معنی‌دار در سطح ۱٪ بین هیبریدها وجود دارد (جدول منعکس نشده است). در بین هفت هیبرید انتخابی در سال ۱۳۷۸، ۱۱/۸ درصد از هیبریدها نسبت به عامل بیماری از حساسیت بالائی برخوردار بودند که در بین آن‌ها هیبرید K 2782/2-1 × S 61 با امتیاز ۳/۸ حساس‌ترین ترکیبات بود. در این آزمایش، ٦۰/۸ درصد از هیبریدها در گروه

www.SID.ir

Archive of SID

نیمه‌مقاوم با امتیاز ۲ تا ۳ و ۲۷/٤ درصد در گروه مقاوم قرار گرفتند، که مقاوم‌ترین آن‌ها، هیبرید (K 3493/211 × MO 17) بود. واکنش این هیبرید نسبت به عامل بیماری با امتیاز ۱/۲ مشخص گردید. در این آزمایش همچنین مشخص شد که مقاومت هیبریدها از لاین‌ها بیشتر است، به طوری که بیش از ۸۰ درصد هیبریدها در گروه نیمه‌مقاوم و مقاوم قرار گرفتند در حالی که درصد لاین‌های مقاوم و نیمه‌مقاوم حدود ۵۰ بود.

در بررسی واکنش ده لاین و هفت هیبرید نسبت به بیماری لکه برگی در سال ۱۳۷۹ به استناد جدول تجزیه واریانس داده‌ها، بین مواد مورد بررسی از نظر حساسیت به بیماری اختلاف معنی‌داری در سطح احتمال ۱٪ مشاهده شد (جدول ۲). در سال ۱۳۷۹ نیز توسعه بیماری بر روی لاین‌ها و ارقام رضایت‌بخش بود به طوری که میانگین شدت آلودگی در لاین حساس B 73 که به عنوان شاهد در نظر گرفته شده بود، ٤۷ درصد و دامنه شدت آلودگی بیماری در بین ارقام و لاین‌ها از ۵ درصد تا ۸۳ درصدمتغیر بود.

جدول ۲- تجزیه واریانس درصد شدت آلودگی بیماری لکه‌برگی (*Bipolaris maydis*) در ارقام و لاین‌های مختلف ذرت در سال ۱۳۷۹

Table 2. Analysis of variance for disease severity of *Bipolaris maydis* on different maize lines and cultivars in 2000

S. O. V.	منبع تغییرات	درجه آزادی df.	مربع میانگین MS
Replication	تکرار	3	64.250
Treatment	تیمار	16	2335.939 **
Error	اشتباه	48	46.052
Total	کل	67	
C. V.	درصد ضریب تغییرات	19.90%	

**: Significant of the 1% level. **: معنی‌دار در سطح ۱٪.

براساس درصد آلودگی سطح برگ‌ها به بیماری لکه‌برگی، ارقام و لاین‌های ذرت در سطح ۱٪ گروه‌بندی شدند که نتایج آن در جدول ۳ درج گردیده است.

همان طور که از جدول ۳ استباط می‌شود از بین ارقام و لاین‌های مورد بررسی، دو لاین K 722 و K 3547/212 و سه هیبرید K SC 604، K 3457/212 × MO 17 و K 1259 × MO 17 در گروه مقاوم (R) قرار گرفتند که میانگین درصدآلودگی‌برگ‌های آن‌ها از ۵ تا ۱۰ درصد متغیر بود. در این گروه فقط تعداد اندکی لکه روی برگ‌های پائین بوته‌ظاهر شده بود. سه لاین K 74/1، B 73 و K 1259 و دو هیبرید K 1264/1 × K 1263/14-2 و

www.SID.ir

Archive of SID

K 1264/1 × K 111 و K 3640/111 در گروه حساس (S) قرار گرفتند که میانگین آلودگی در برگ‌ها از ۳۹ تا ٦۱ درصد متغیر بود. در این گروه، برگ‌های قسمت پائین و میانی بوته‌ها و تعداد کمی از برگ‌های بالائی حاوی لکه‌های نکروتیک بودند.

جدول ۳- مقایسه میانگین درصد شدت بیماری سطح برگ‌های ارقام مختلف ذرت نسبت به قارچ *Bipolaris maydis* در سال ۱۳۷۹

Table 3. Mean comparison of percentage of disease severity on leaves of different maize lines and cultivar to *B. maydis* in 2000

ژنوتیپ‌های ذرت Genotypes of maize	میانگین شدت بیماری (۱۰۰-۰) Mean of disease severity (0-100)	واکنش Reaction
K 3653/111	83.00 a	HS
K 1264/1	75.75 a	HS
K 74/1	61.00 b	S
K 1259	50.75 bc	S
K 3640/111 111 x K 1264/1	49.00 bc	S
B 73	47.00 c	S
K 1263/14-2x K 1264/1	39.00 cd	S
K 3547/212 x K 1264/1	32.25 de	MR
B 73 x K 18	30.00 de	MR
K 18	26.25 de	MR
K 19	26.25 de	MR
MO 17	20.50 ef	MR
K 1259 x MO 17	10.00 fg	R
K SC 604	9.75 fg	R
K 35472/212 x MO 17	7.75 fg	R
K 722	6.75 fg	R
K 3547/212	5.00 g	R

میانگین‌ها با آزمون چند دامنه‌ای دانکن مقایسه شده‌اند و میانگین‌ها با حروف مشابه در هر ستون فاقد اختلاف معنی‌دار در سطح ۱٪ می‌باشند.

Means comparison with Dancan's multiple range test, means with similar letters in each column are not significantly diffeent at 1% level.
HS: highly susceptible S: susceptible MR: moderately resistant R: resistant

سه لاین K 18، K 19 و MO 17 که لاین‌های تجاری می‌باشند و دو هیبرید K 1264/1 × K 3547/212 و B 73 × K 18 در گروه نیمه‌مقاوم (MR) قرار گرفتند که میانگین درصد آلودگی آن‌ها از ۲۰/۵۰ تا ۳۲/۲۵ درصد بود.

در این آزمایش، دو لاین بسیار حساس به این بیماری به اسامی K 1264/1 و K 3653/111 شناسائی شد که آلودگی در برگ‌های آن‌ها از ۷۵/۷۵ تا ۸۳ درصد متغیر بود و آلودگی در کلیه برگ‌ها و در تمامی قسمت‌های بوته‌های آن‌ها دیده می‌شد.

www.SID.ir

Archive of SID

جفـرز (Jeffers, 1994) بیان می‌کند که در روش تزریق سوسپانسیون اسپور کـه در مرحلـه ٤-٣ برگی انجام مـی‌شـود احتمـال از بـین رفـتن مایه قارچ بر اثر تابش نور خورشـید وجـود دارد ولی در روش بازوکا کـه از دانـه‌هـای سـورگوم جهت آلوده‌سازی اسـتفاده مـی‌شـود. ایـن عیـب برطرف شـده اسـت و باعـث مـی‌شـود کـه ایـن دانه‌ها در مدت زمان زیادی با برگ‌ها در تمـاس باشـند و آلـودگی بیـشتری ایجـاد کننـد. در آزمایش اخیـر دامنـه شـدت بیمـاری از ٥ تـا ٨٣ درصد متغیر بود و توسعه بیماری به خوبی انجـام گرفته بود. در ضمن ضریب همبـستگی ارزیـابی مقایسه میانگین شـدت بیمـاری ارقـام و لایـن‌هـا نسبت به بیماری با مقیاس(5-0) در سـال ١٣٧٨و (100-0) در سـال ١٣٧٩ بـسیار بـالا و بـه میـزان $r = ٩٧/٦^{**}$ بود که نشان داد این دو نـوع مقیـاس مـی‌توانـد جـایگزین یکـدیگر باشـد. در هـر دو روش، ژنوتیپ‌های ذرت واکنش یکسانی از نظر حساسیت به بیماری لکه برگی نشان دادند.

امروزه در خصوص این بیماری جهت غربال ژرم پلاسم‌های ذرت، تحقیقـات گـسترده‌ای در مراکز بین‌المللی از جمله CIMMYT انجام شده اسـت و روش‌هـای مختلفـی بـرای آلـوده‌سـازی گیاهان ارائه داده است در ایـن تحقیـق نیـز از دو روش تزریقی سوسپانسیون اسـپور و رهـا کـردن دانه‌های آلوده سورگوم به قارچ در قیـف گیـاه، در دو زمـان متفـاوت از مرحلـه فنولـوژی گیـاه، استفاده شد و آلودگی به طـور یکنواخـت انجـام شد. مزیت این روش‌ها در این است کـه در ایـن روش‌هـا ازخـصوصیات سـاختمانی بافـت گیـاه حفاظـت مـی‌شـود. بـا اسـتفاده از ایـن روش‌هـا سیمیت (CIMMYT) توانسته است جمعیت‌های مقاومی نسبت به‌این بیماری ازجمله جمعیت‌های ٢١-٢٢ (Population 21-22) بـه دسـت آورد (Jeffers, 1994).

باجت‌و رینفرو (Bajet and Renfro, 1994) بـر اسـاس میـزان درصـد پیـشرفت بیمـاری در سـطوح بـرگ‌هـا میـزان حـساسیت و مقاومـت لاین‌های ذرت را نـسبت بـه یکـدیگر بررسـی و بیان کردند که در روش بازوکا احتمال آلودگی بیـشتر اسـت و مـی‌تـوان مـواد را نـسبت بـه ایـن بیماری غربال کرد.

هـوکر (Hooker, 1978) گـزارش داد کـه بیماری لکه برگی با عامـل *B. maydis* مقاومـت پلی‌ژنیک دارد و این مقاومت با درصد آلودگی بافـت بـرگ بـستگی دارد، در ایـن آزمـایش مـشخص شـد کـه هـر چـه تعـداد و انـدازه لکـه (Lesion) در برگ‌ها بیشتر باشـد حـساسیت آن نسبت به بیماری بیشتر است. در لاین K 1264/1 کلیه برگ‌ها در قسمت‌های پائین، میانی و بالای بوتـه، آلـودگی شـدیدی نـشان مـی‌دادنـد و اکثـراً لکـه‌هـا بـه هـم پیوسـته شـده و در ناحیـه وسیعی از برگ، سوختگی (Blight) ایجاد شده بـود. نتـایج آزمـایش‌هـای هالـست و همکـاران (Halseth *et al.*, 1991) جهت بررسی بیمـاری لکـه برگـی هلمنتوسـپوریمی و میـزان مقاومـت ارقام با استفاده از آلودگی مـصنوعی در طـی دو فصل نشان داد که اثر افزایشی مقاومت معنـی‌دار

www.SID.ir

Archive of SID

بوده و جزء افزایش مهم‌ترین فاکتور بوده است. این آزمایش نیز که در شرایط مزرعه‌ای انجام پذیرفت نشان داد که اگر دو لاین حساس و مقاوم در یک هیبرید شرکت کنند به خاطر اثر افزایشی مقاومت در گروه متحمل (MR) قرار می‌گیرند. به عنوان مثال هیبرید حاصل از لاین حساس K 1264/1 و مقاوم K 3547/211 در گروه (MR) قرار داشت که نشان‌دهنده نقش اثر افزایشی مقاومت است. در آزمایشی که تامسون و برگ کویست (Thompson and Bergquist, 1984) نیزانجام دادند، نتیجه گرفتند که برای واکنش به این بیماری عمدتاً اثر افزایشی دخالت دارند. آن‌ها همچنین گزارش نمودند که مقاومت به این بیماری به وسیله ژن‌های مغلوب کنترل می‌شود که اثر افزایشی روی هم دارند. نامبردگان در همان آزمایش چندین لاین از جمله لاین B 73 را در دو مرحله گیاهچه و گیاه کامل نسبت به این بیماری ارزیابی و لاین B 73 را لاین حساس نسبت به بیماری گزارش کردند. کارسن و همکاران (Carson *et al.*, 2004) بیان کردند که لاین B 73 یک لاین حساس به تعدادی از عوامل بیماریزای لکه برگی است در حالی که لاین MO 17 سطح بالائی از مقاومت نسبی به بیماری لکه برگی را داراست. آن‌ها هفت مکان ژنی QTL را شناسائی کردند که شش تای آن‌ها بر روی کروموزوم‌های 1، 2، 3، 4، 7 و 10 قرار دارد که از لاین MO 17 به دست آمده و یک QTL اضافی برای مقاومت را بر روی کروموزوم 1 مشخص کردند که از لاین B 73 ایجاد می‌شود. به طور کلی QTL بر روی کروموزوم به شماره 1، 2 و 3 بیشترین اثر را داشت.

آزمایش اخیر نیز نشان داد که هیبریدهائی که از تلاقی با لاین MO 17 حاصل شده‌اند نسبت به این بیماری مقاومت دارند. در سال ۱۳۷۸ که لاین MO 17 به عنوان تستر در بیشتر ترکیبات موجود بود، اکثر هیبریدها در گروه متحمل تا مقاوم درجه‌بندی شدند. مقاوم‌ترین هیبرید نسبت به بیماری هیبرید K 3547/212 × MO 17 با امتیاز ۱/۲ بود. در سال ۱۳۷۹ نیز لاین MO 17 که با دو لاین حساس K 1259 و مقاوم K 3547/212 با میزان ۵۰/۷۵ و ۵ درصد آلودگی تلاقی داده شده بودند، اثر افزایشی مقاومت را در هیبریدهای خود نشان دادند و آلودگی به میزان ۱۰ درصد آلودگی در هیبرید MO 17 × K 1259 و ۵ درصد آلودگی در هیبرید K 3547/212 × MO 17 نشان‌دهنده این افزایش می‌باشد. زمانی و چوکان (۱۳۷۹) در ارزیابی ٦۰ ترکیب هیبرید ذرت نسبت به بیماری‌های مهم قارچی از جمله لکه برگی با روش بازوکا (Bazooka method) ترکیب MO17 × K 1250 را مقاوم‌ترین ترکیب به این بیماری (SCLB) شناسائی کردند. کارسن و همکاران (Carson *et al.*, 2004) بیان داشتند که کنترل بیماری لکه برگی در بسیاری از هیبریدها، ناشی از برخی اشکال مقاومت نسبی

www.SID.ir

Archive of SID

پلی‌ژنیک می‌باشد و این نوع مقاومت عمدتاً دارای وراثت متوسط تا بالا بوده و به آسانی در برنامه‌های اصلاحی قابل اجرا می باشد.

با انجام این آزمایش تأیید گردید که روش مایه زنی بازوکا (Bazooka method) روش مناسبی برای ایجاد آلودگی در گیاه ذرت می‌باشد و با استفاده از آن می‌توان میزان حساسیت و مقاومت ارقام و لاین‌های ذرت را به خوبی تعیین نمود. در روش‌هائی که از آلودگی طبیعی استفاده می‌شود طبق گزارش باجت و رینفرو (Bajet and Renfro, 1994)، درصد آلودگی در سطح پایین باقی می‌ماند و دامنه آلودگی حدود ۸ تا ۲۵ درصد است در حالی که با روش آلودگی مصنوعی به خصوص با روش بازوکا می‌توان میزان آلودگی را تا ۷۵ درصد بالا برد و به طور یکنواخت تمام بوته را آلوده‌کرد، لذا بهتر است در برنامه‌های‌اصلاحی، به‌نژادگران جهت غربال ژرم‌پلاسم ذرت نسبت به بیماری‌ها مواد را با آلودگی مصنوعی مورد ارزیابی قرار دهند تا به راحتی بتوانند لاین‌ها و هیبریدهای مقاوم نسبت به بیماری‌ها را در بین مواد آزمایشی خود شناسائی نمایند.

منابع مورد استفاده **References**

زمانی، م.، و چوکان، ر. ۱۳۷۹. ارزیابی مقاومت واکنش ترکیبات هیبرید ذرت نسبت به مهمترین عوامل بیماریزای قارچی ذرت. چکیده مقالات ششمین کنگره زراعت و اصلاح نباتات ایران. دانشگاه مازندران- بابلسر. صفحه ۲۰۱.

مهریان، ف.، و بامدادیان، ع. ۱۳٦٤. بیماری‌های مهم نباتات علوفه‌ای در ایران. انتشارات مؤسسه تحقیقات آفات و بیماری‌های گیاهی تهران. ٦٤ ص.

مهریان، ف.، زاد، س. ج.، حجارود، ق. ع.، و شریفی تهرانی، ع. ۱۳۷۹. بررسی بیماری لکه برگی ذرت در استان‌های مازندران، گیلان و گلستان. بیماری‌های گیاهی ۳٦ (۱ و ۲): ۱۱۳-۹۹.

Bajet. N. B., and Renfro, B. L. 1994. Inoculation Methods for Maize Diseases. CIMMYT, Mexico.

Burnette, D. C., and White, D. G. 1985. Inheritance of resistance to *Bipolaris maydis* race 0 in crosses derived from nine resistant inbred lines of maize. Phytopathology 75: 1195-1200.

Byrnes, K. J., Pataky, J. K., and White, D. G. 1989. Relationships between yield of three maize hybrids and severity of southern leaf blight caused by race 0 of *Bipolaris maydis*. Plant Disease 73: 834-840.

www.SID.ir

Archive of SID

Carson, M. L., Stuber, C. W., and Senior, M. L. 2004. Identification and mapping of quantitative trait loci conditioning resistance to southern leaf blight of maize caused by *Cochliobolus heterustrophus* race 0. Phytopathology 94: 862-867.

Ceballos, M., Deutch, J. A., and Gutievrez. H. 1991. Recurrent selection for resistance to *Exserohilum turcicum* in eight subtropical maize population. Crop Science 31: 964-971.

Chang, R. Y., and Peterson, P. A. 1995. Genetic control of resistance to *Bipolaris maydis:* one gene or two genes? Journal Heredity 86: 94-97.

Craig, J., and Daniel-Kalio, L. A. 1968. Chlorotic lesion resistance to *Helminthosporium maydis* in maize. Plant Disease Rep. 52: 134-136.

Elliott, C., and Jenkins, M. T. 1946. *Helminthosporium turcicum* leaf blight of corn. Phytopathology 36: 660-666.

Fisher, D. A., Hooker, A. L., Lim. S. M., and Smith, D. R. 1976. Leaf infection and yield loss caused by four Helminthosporium leaf diseases of corn. Phytopathology 66: 942-944.

Halseth, D. H., Pardee, W. D., and Viands, D. R. 1991. Inheritance of resistance *Helminthosporium carbonum* race3 in maize. Crop Science 31: 612-617.

Hooker, A.L. 1978. Genetics of disease resistance in maize, pp. In: Walken, D. (ed.). Maize Breeding Genetics. John Wiley and Sons, New York.

Jeffers, D. 1994. Maize Pathology Research for the Subtropics and Highlands. The Subtropical, Midaltitude and Highland Maize Subprogram. Maize Program Special Report. Mexico. CIMMYT.

Jiang, C., Edmeades, G. O., Armstead, I., Lafitte, H. R., Hayward, M. D., and Hoisington, D. 1999. Genetic analysis of adaptation differences between highland and lowland tropical maize using molecular markers. Theoretical and Applied Genetics 99: 1106-1119.

Leonard, K. J. 1977. Virulence, temperature optima, and competitive abilities of isolines of races T and O of *Bipolaris maydis.*Phytopathology 67: 1273-1279.

Leonard, K. J., Levy, Y., and Smith, D. R. 1989. Proposed nomenclature for Pathogenic races of *Exserohilum turcicum* on corn. Plant Disease 73: 776-777.

Lim, S. M. 1975. Heterotic effects of resistance in maize to *Helminthosporium maydis* race O. Phytopathology 65: 1117-1120.

www.SID.ir

Archive of SID

McGee, D. C. 1988. Maize Diseases: A Reference Source for Seed Technologist. The American Phytopathological Society st. Paul. MN.

Pataky, J. K., Raid, R. N., du Toit, L. J., and Sehueneman, T. J. 1998. Disease severity and yield of sweet corn hybrids with resistance to northern leaf blight. Plant Disease 82: 57-63.

Scott, G. E., and Futrell, M. C. 1975. Reaction of diallel crosses of maize in T and N cytoplasms to *Bipolaris maydis* race T. Crop Science 15: 779-782.

Pate, J. R., and Harvey, P. H. 1954. Studies on the inheritance of resistance in corn to *Helminthosporium maydis* leaf spot. Agronomy Journal 46: 442-445.

Shurtleff, M. C., 1980. Compendium of Corn Diseases. 2nd ed. American Phytopathological Society. st Paul, MN. 105 pp.

Shurtleff, M. C., Wort, G. L., Wysong, D. S., Wood, L. S., and Weihing, J. L. 1985. Disease resistance and tolerance. pp. 259-326. In: Jugenheimer, R. W. (ed.). Corn Improvement, Seed Production, and Uses. John Wiley and Sons, New York.

Sivanesan, A. 1987. Graminicolous species of Bipolaris, Curvalaria, Drechslera, Exserohilum and their telemorphs. C. A. B. International Mycological Institute. 261pp.

Smith, D. R., and Hooker, A. L. 1973. Monogenic chlorotic-lesion-resistance in corn to *Helminthosporium maydis*. Crop Science 13: 330-331.

Thomson, D. L., and Bergquist, R. R. 1984. Inheritance of mature plant resistance to H*elminthosporium maydis* Race 0 in maize. Crop Sceince 24: 807-811.

White, D. G., 1999. Compendium of Corn Diseases. 3 rd. ed. The American Phytopathological Society. St. Paul. MN.

آدرس نگارندگان:

مجید زمانی- بخش تحقیقات ذرت و گیاهان علوفه‌ای، مؤسسه تحقیقات اصلاح و تهیه نهال و بذر، صندوق پستی ٤١١٩، کرج ٣١٥٨٥.

فهمیده مهریان- بخش تحقیقات بیماری‌های قارچی، مؤسسه تحقیقات آفات و بیماری‌های گیاهی، صندوق پستی ١٤٥٤، تهران ١٩٣٩٥.

www.SID.ir