واکنش ژنوتیپ‌های زودرس ذرت نسبت به بیماری لکه برگی (*Bipolaris maydis*)

Response of some early maturing maize genotypes to southern corn leaf blight *(Bipolaris maydis)*

سمانه حسینخانی[۱]، وحید رهجو[۲] و مجید زمانی [۲]

دریافت: ۱۳۹۳/۳/۲۹ پذیرش: ۱۳۹۴/۸/۲۸

چکیده

بیماری لکه برگی ذرت (سوختگی جنوبی برگ ذرت) که توسط قارچ *Bipolaris maydis* ایجاد می‌شود از مهم‌ترین بیماری‌های ذرت است و خسارت عمده‌ای از نظر کمی وکیفی به محصول ذرت وارد می‌سازد. مهم‌ترین راه کنترل این بیماری استفاده از ارقام مقاوم می‌باشد. به منظور ارزیابی و تعیین مقاومت ۱۵ ژنوتیپ زودرس ذرت (شش هیبرید و نه لاین) همراه شاهد حساس، آزمایشی به صورت طرح کرت‌های خرد شده در قالب بلوک‌های کامل تصادفی در دو منطقه ساری و کرج در سه تکرار اجرا شد. برای آلودگی مصنوعی، مخلوطی از پنج جدایه برتر بیماری‌زا در دو مرحله فنولوژیک گیاه (تزریق سوسپانسیون اسپور در مرحله ۴-۳ برگی در قیف گیاه و رها کردن دانه‌های سورگوم آغشته به قارچ در مرحله ۸-۶ برگی در قیف گیاه) استفاده شد. ارزیابی ژنوتیپ‌ها دو هفته پس از زمان گل‌دهی با توجه به درصد شدت بیماری (Disease severity) روی برگ‌ها انجام شد. نتایج حاصل از تجزیه واریانس مرکب ارزیابی ژنوتیپ‌ها نشان داد که بین ژنوتیپ‌های مورد آزمایش ازنظر شدت بیماری اختلاف معنی‌داری در سطح احتمال ۱٪ وجود داشت، به طوری که از نظر واکنش به بیماری، ژنوتیپ‌ها در چهار گروه قرار گرفتند. در گروه حساس (S) سه لاین K1263/17، K615/1 و S 61 و دو هیبرید KSC201 و KSC301، در گروه نیمه حساس (MS) چهار لاین K1264/5-1، KE75039، K1263/1 و K1728/8 و یک هیبرید KSC260، در گروه نیمه مقاوم (MR) دو لاین OH43/1-42 و KE 72012/12 و دو هیبرید KSC 250 و KSC 340 قرار گرفتند. هیبرید KSC 400 تنها ژنوتیپی بود که در هر دو منطقه با داشتن لکه‌های کلروتیک در برگ‌های پایین در گروه مقاوم (R) قرار گرفت. به دلیل وجود شرایط مناسب محیطی شدت بیماری در منطقه ساری، درصد ژنوتیپ‌های حساس، (۵۳/۳۳ درصد) نسبت به منطقه کرج (۲۶/۶۹ درصد) بیش‌تر بود.

واژگان کلیدی: ذرت، لاین‌ها و هیبریدها، *Bipolaris maydis*، روش بازوکا، مقاومت.

۱- دانشجوی سابق کارشناسی ارشد، دانشگاه آزاد اسلامی، واحد ورامین- پیشوا، دانشکده کشاورزی، گروه بیماری شناسی گیاهی، ورامین

۲- استادیار، مؤسسه تحقیقات اصلاح و تهیه نهال و بذر، کرج، ایران.

نویسنده مسئول مکاتبات: vrahjoo@yahoo.com

مقدمه

از مهم‌ترین بیماری‌های لکه برگی در ذرت، بیماری سوختگی جنوبی برگ ذرت (Southern Corn Leaf Blight) می‌باشد. این بیماری در اکثر نقاط جهان به ویژه در مناطق معتدل و گرم و مرطوب روی ارقام ذرت مشاهده می‌شود (مهریان و همکاران، ۱۳۷۹). بیماری لکه برگی ذرت توسط قارچ Shomemaker (Nisikado & Miyake) *Bipolaris maydis* ایجاد می‌شود (Lumbsch and Hundorrf, 2007). این بیماری یکی از مهم‌ترین بیماری‌های بذرزاد ذرت به حساب می‌آید و خسارت عمده‌ای به محصول ذرت وارد می‌سازد (White, 1999). گونه *Bipolaris maydis* با نژاد T در سال ۱۹۷۰ باعث از بین رفتن تمامی هیبریدهای ذرت در منطقه آمریکا شد (Ullstrap, 1978). برای تولید این هیبریدها از لاین‌های نر عقیم سیتوپلاسمی Texas cytoplasm male sterile(T-cms) استفاده شده بود. در اثر این اتفاق خسارات شدیدی به محصول ذرت وارد شد و بیش از ۱۵٪ از محصولات ذرت در آمریکا را نابود کرد. خسارت نژاد T به خاطر توانایی عامل بیماری در تولید یک توکسین (T-toxin) از خانواده پلی کتاید (Poly ketied) در هیبریدهای حساس T-cms بود که بعد از آن اپیدمی هیبریدهای حساس، این نژاد در شمال آمریکا به سطح خیلی پایین رسید (Ullstrap ,1978). موثرترین و اقتصادی‌ترین روش کنترل و کاهش خسارت به بیماری لکه برگی ذرت استفاده از هیبریدهای مقاوم است (Carson *et al.*, 2004). مقاومت به نژاد O قارچ *Bipolaris maydis* از دو طریق پلی‌ژنیک و الیگو ژنیک به ارث می‌رسد. مقاومت پلی ژنیک نژاد O در یک مورد، نشان داده شده که دارای غالبیت جزئی است (Pate and Harvey, 1954). در موارد دیگر عمل افزایشی ژن خیلی بیش‌تر از اثر غیرافزایشی بود (Lim and Hooker, 1976) و اثر افزایشی ژن‌ها از اثر غالبیت آن‌ها بزرگ‌تر و اثر اپیستازی اهمیت کم‌تری داشت (White, 1985). مقاومت الیگوژنیک که توسط دو ژن مغلوب به هم پیوسته کنترل می‌شود گزارش شده است (Craig and Daniel- Kalio, 1968). از نمونه‌های بذری یک ژن مغلوب منفرد جدا شد و با علامت اختصاری *rhm* مشخص شد. بیان مقاومت در ذرت به نژاد O قارچ *B. maydis* به طورمعمول می‌تواند در کاهش تعداد لکه و کاهش اندازه لکه، موثر باشد که می‌تواند پلی‌ژنیک باشد در حالی که لکه‌های نکروتیک که به طور چشم‌گیری اسپورزایی درون لکه‌ها را کاهش می‌دهد مربوط به مقاومت الیگوژنیک است (Smith, 1975). مقاومت به این بیماری از نوع پلی‌ژنیک است و به صورت کمی بیان و یا با توجه به اندازه لکه بروز می‌کند (Hooker, 1978).

وراثت مقاومت به بیماری سوختگی جنوبی برگ ذرت می‌تواند به صورت کمی (QTL) نیز کنترل گردد (Balint-Kurti *et al*., 2008; Zwonitzer *et al*., 2009). اسمیت و هوکر (Smith and Hooker, 1973) در آزمایشی 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 که آن ژن *rhm* نامگذاری شد. پس از آن ژن *rhm* به بسیاری از لاین‌های خالص ذرت منتقل شد و به عنوان منبع اصلی مقاومت به سوختگی جنوبی برگ ذرت شناخته شد (Cai *et al*., 2003). کریج و دانیل کالیو (Craig, and Daniel_Kalio, 1968) در آزمایش‌های خود، محدود شدن لکه‌ها را روی برگ ذرت مشاهده کردند و مقاومت لکه کلروتیک را نسبت به این بیماری گزارش و بیان کردند که این مقاومت، اندازه لکه‌ها را محدود و در اسپور زایی عامل بیماری تاخیر ایجاد می‌کند. از آن جایی که بیماری سوختگی جنوبی برگ ذرت از بیماری‌های مهم بذرزاد ذرت است و در مناطق شمالی کشور گسترش دارد، لازم بود تحقیقی با اهداف بررسی تنوع بیماری‌زایی جدایه‌های عامل بیماری و هم چنین شناسایی هیبریدهای حساس و مقاوم ذرت به بیماری انجام شود.

مواد و روش

به منظور نمونه‌برداری از برگ‌های آلوده به قارچ عامل بیماری، از مزارع تولید بذر و کشاورزان مناطق مختلف ساری و کرج درسال ۱۳۹۲ بازدید به عمل آمد. نمونه‌های مشکوک به بیماری جمع‌آوری شد. هر نمونه در پاکت جداگانه

نگهداری و مشخصات مربوط به نمونه‌ها روی پاکت‌ها یادداشت شد. برای جداسازی قارچ عامل از حاشیه بافت آلوده برگ، قطعات کوچک برش داده شده و در محلول کلراکس نیم درصد (محلول کلراکس دارای ۵٪ کلر فعال) ضد عفونی سطحی شدند و پس از شستشو با آب مقطر استریل، روی محیط کشت PDA و کاغذ صافی مرطوب (Blutter) قرار داده شدند. پس از پنج روز پرگنه‌های قارچ رشد کرده مورد بررسی قرار گرفتند که پس از تک اسپور و خالص‌سازی آن‌ها شناسایی گونه به کمک کلیدهای معتبر انجام گردید(Sivanesan, 1987). پس از آزمون بیماری‌زایی جدایه‌های این قارچ، پنج جدایه که شدت بیماری‌زایی بالایی داشتند برای ارزیابی مقاومت ژنوتیپ‌ها انتخاب شدند.

آزمون بیماری‌زایی در گلخانه

برای آزمون بیماری‌زایی در گلخانه، از گیاهچه‌های لاین B73 با سیتوپلاسم نرمال (rfc) که نسبت به بیماری حساس است استفاده شد. سه بذر از این لاین در گلدان کاشته شد. این آزمون گلخانه‌ای در قالب طرح کاملا تصادفی با ۱۸ تیمار شامل ۱۶ جدایه قارچ *Bipolaris maydis* و دو تیمار به عنوان شاهد با آب مقطر استریل و شاهد بدون مایه‌زنی، در سه تکرار انجام شد. وقتی که بوته‌ها در مرحله ۳ تا ۴ برگی بودند با استفاده از سرنگ به میزان ۵-۳ میلی‌لیتر از سوسپانسیون اسپور با غلظت ۳×۱۰^{۴} اسپور در میلی‌لیتر روی برگ-ها اسپری شد. ضمناً به ازای هر ۱۰۰ میلی‌لیتر سوسپانسیون اسپور، ۲ قطره توئین۲۰ (Tween 20) اضافه شد تا اسپورها به راحتی روی سطح برگ قرار بگیرند. روی گلدان‌ها برای حفظ رطوبت به مدت ۴۸ تا ۷۲ ساعت با پلاستیک پوشانده و مرتب کف گلخانه و سکوها آب‌پاشی شد تا شرایط لازم برای ایجاد بیماری فراهم شود. پس از گذشت ۷ تا ۱۰ روز گیاهچه‌ها از نظر علائم ایجاد شده روی برگ‌ها مورد بررسی قرار گرفتند و شدت بیماری روی گیاهان بر اساس درصد آلودگی برگ‌ها برای هر تیمار یادداشت‌برداری گردید.

ارزیابی مقاومت ژنوتیپ‌های ذرت در مزرعه

به منظور ارزیابی مقاومت ۱۵ ژنوتیپ زودرس ذرت (شش هیبرید و نه لاین) همراه شاهد حساس، آزمایشی به صورت طرح کرت‌های خرد شده در قالب بلوک‌های کامل تصادفی در دو منطقه ساری و کرج با سه تکرار اجرا شد. فاصله‌های ردیف کاشت ۷۵ سانتی‌متر، طول هر خط ۲/۵ متر و با تعداد ۱۱ کپه با فاصله ۲۵ سانتی‌متر بود. برای آلودگی مصنوعی، مخلوطی از پنج جدایه برتر بیماری‌زا در دو مرحله فنولوژیکی گیاه (تزریق سوسپانسیون اسپور در مرحله ۴-۳ برگی در قیف گیاه و رها کردن دانه‌های سورگوم آغشته به قارچ در مرحله ۸-۶ برگی با دستگاه بازوکا در قیف گیاه) استفاده شد. برای تهیه سوسپانسیون اسپور قارچ عامل بیماری از برگ‌های تمیز و سالم ذرت برای بستر مایه قارچ استفاده شد. بدین منظور برگ‌های سبز ذرت پس از شستشو با آب سرد به قطعات ۵ تا ۱۰ سانتی‌متری خرد شده و در ارلن مایر ریخته و دو بار به مدت ۳۰ دقیقه به فاصله ۲۴ ساعت اتوکلاو شدند. بعد از اتوکلاو، برگ‌های ذرت با برش‌های کوچک (plug) جدایه‌های قارچ عامل بیماری مایه‌زنی و به مدت سه هفته در انکوباتور در دمای ۲۵ درجه سانتی‌گراد نگهداری شدند. بعد از این مدت با شستن برگ‌ها، اسپورهای آن‌ها جمع‌آوری و سوسپانسیون اسپور با غلظت ۳×۱۰^{۴} اسپور در میلی‌لیتر تهیه و در مرحله ۴-۳ برگی به میزان ۲-۱ میلی‌لیتر در قیف هر بوته تزریق شد.

در مرحله دوم برای مایه‌زنی از بذر سورگوم استفاده شد، بدین طریق که دانه‌های سورگوم پس از چندین بار شستشو درون ارلن‌های یک لیتری ریخته شده و به اندازه تعداد جدایه‌ها ارلن تهیه و بذرها داخل آن‌ها ریخته و دو بار اتوکلاو شدند. سپس تکه‌هایی از کلنی رشد یافته هر جدایه را درون ارلن ریخته و ارلن‌های مایه‌زنی شده در شرایط ۲۵ درجه سانتی‌گراد داخل ژرمیناتور زیر نور NUV قرار گرفتند. بعد از ۲۵-۲۰ روز دانه‌های سورگوم آلوده را خشک کرده، و مایه‌زنی بوته‌ها با بذرهای آلوده سورگوم به هر جدایه با استفاده از دستگاه بازوکا در قیف گیاه (Whorl) در مرحله ۸-۶

برگی، به طور یکنواخت انجام شد. به منظور تهیه زادمایه قارچ *B. maydis* برای آزمون واکنش ارقام، در چندین ارلن مایر دو لیتری حدود ۳۰۰-۲۵۰ گرم بذر سورگوم ریخته و بعد از ۲۴ ساعت خیس کردن و شستن، در دو روز متوالی اتوکلاو گردیدند. بعد از اتوکلاو شدن ارلن‌ها و خنک شدن آن‌ها، با مخلوطی از پنج جدایه خالص مهاجم مایه‌زنی شدند سپس اسپورهای آن‌ها جمع‌آوری و سوسپانسیون اسپوری با غلظت ۳×۱۰۴ اسپور در میلی‌لیتر تهیه شد.

مایه‌زنی در هر دو مرحله (تزریق سوسپانسیون، رها کردن دانه‌های سورگوم آغشته به قارچ با دستگاه بازوکا) اوایل صبح تا قبل از ظهر انجام شد تا مایه قارچ تبخیر نشود.

ارزیابی واکنش ژنوتیپ‌ها با استفاده از شدت بیماری (Disease severity) دو هفته بعد از گرده‌افشانی بر حسب پیشرفت آلودگی روی ده بوته در هر ردیف انجام شد. برای یادداشت‌برداری از شدت بیماری روی ژنوتیپ‌ها از سیستم درجه‌بندی (۷-۱) با اندکی تغییرات به شرح زیراستفاده شد (Reid and Zhu, 2004):

درجه ۱: شدت آلودگی صفر درصد - برای بوته‌های سالم و بدون آلودگی

درجه ۲: شدت آلودگی کم‌تر از ۱٪- برای بوته‌های سالم با یک یا دو لکه پراکنده در برگ‌های پایین

درجه ۳: شدت آلودگی ۱۰-۱٪ - برای بوته‌هایی با لکه‌های پراکنده در برگ‌های پایین و تعداد کمی لکه در برگ‌های بالا

درجه ۴ : شدت آلودگی ۲۰-۱۱٪- برای بوته‌هایی با لکه‌های فراوان در برگ‌های پایین و تعداد کمی لکه در برگ‌های بالا

درجه ۵ : شدت آلودگی ۵۰-۲۱٪- برای بوته‌هایی با لکه‌های فراوان در برگ‌های پایین، وسط بوته و تعداد کمی لکه در برگ‌های بالا

درجه۶ : شدت آلودگی بیش‌تراز ۵۰ درصد- برای بوته‌هایی با تعداد زیادی لکه‌های نکروتیک در برگ‌های پایین، وسط بوته و تعداد زیادی لکه در برگ‌های بالایی

درجه ۷: شدت آلودگی ۱۰۰ ٪ - بوته‌هایی با تعداد زیادی از لکه‌های نکروتیک در تمامی برگ‌های بالا و پایین

بر اساس درجات تعیین شده برای هر ژنوتیپ، واکنش آن‌ها به بیماری به صورت زیر ارزیابی شد:

مقاوم (R): درجه‌های ۱ و ۲

نیمه مقاوم (MR): درجه ۳

نیمه حساس(MS): درجه ۴

حساس (S): درجه ۵

خیلی حساس (HS) : درجه‌های ۶ و ۷

داده‌ها ی مربوط به شدت بیماری برای هر ژنوتیپ ثبت و پس از توزیع نرمال و یکنواختی آن تجزیه واریانس شدند. مقایسه میانگین‌ها با استفاده از آزمون چند دامنه دانکن انجام شد.

نتایج و بحث

آزمون بیماری‌زایی در گلخانه

اولین علائم بیماری چهار الی پنج روز بعد از مایه‌زنی ظاهر گردید. علائم اولیه به صورت لکه‌های کوچک و خاکستری در سطح برگ ظاهر شدند. پس از گذشت یک هفته از مایه‌زنی لکه‌ها به صورت بیضوی و مستطیلی شکل به آسانی قابل رویت بودند، در نهایت ۱۴-۱۰ روز بعد از مایه‌زنی، برخی از لکه‌ها به هم پیوسته و ایجاد لکه‌های کشیده و باریک کردند. نتایج تجزیه واریانس شدت بیماری جدایه‌های قارچ عامل بیماری روی لاین حساس (rfc) B73 توسط جدایه‌های *B. maydis* (جدول ۱) نشان داد که بین جدایه‌ها از نظر شدت بیماری ایجاد شده اختلاف معنی‌دار در سطح احتمال ۱٪ وجود داشته و جدایه‌ها از این نظر با هم متفاوت بودند.

مقایسه میانگین شدت بیماری ایجاد شده توسط جدایه‌های قارچ عامل بیماری نشان داد که شدت بیماری ایجاد شده بین ۴/۶۶ تا ۴۵/۶۶ درصد در جدایه‌ها متفاوت بود (شکل ۱). هفت جدایه اول (شماره ۱ تا ۷) بیش‌ترین شدت بیماری را داشتند و میزان آلودگی آن‌ها از ۳۰٪ بالاتر بود. از بین این هفت جدایه، پنج جدایه (H6، H7، H12، H15 و H16) به عنوان جدایه‌های برتر انتخاب و به صورت مخلوط برای ارزیابی مقاومت ژنوتیپ‌ها استفاده شدند.

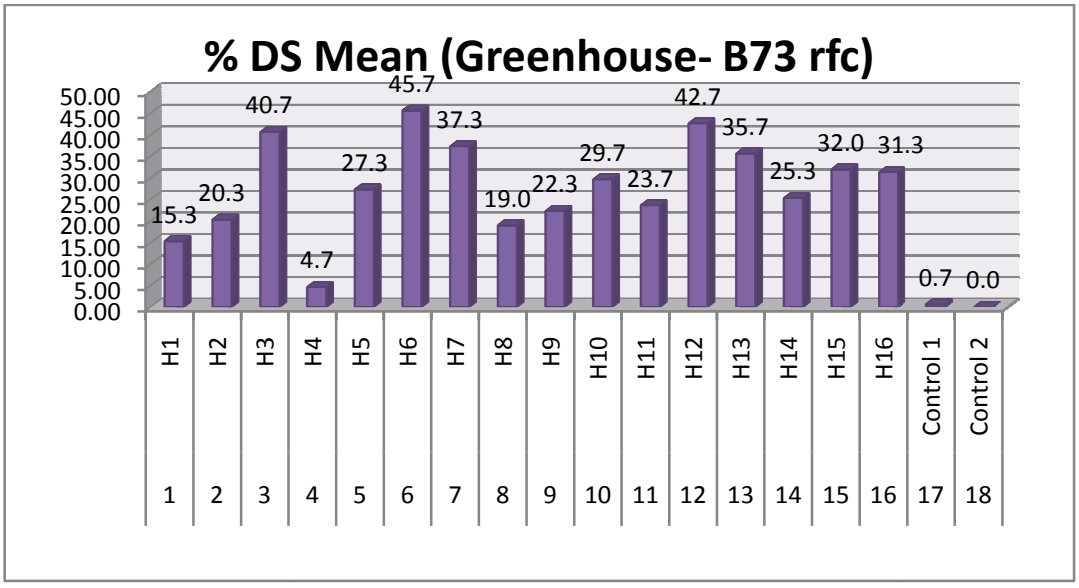
جدول ۱- تجزیه واریانس شدت بیماری جدایه‌های *Bipolaris maydis* روی رقم حساس B73 (rfc) ذرت در گلخانه

Table 1. Analysis of variance for disease severity of *B. maydis* isolates on susceptible line B73 (rfc) of maize in greenhouse

S.O.V.	منابع تغییرات	درجه آزادی df.	میانگین مربعات Mean squares
Isolate	جدایه	17	557.10**
Error	خطا آزمایش	36	12.38
Total	کل	53	-
CV%	ضریب تغییرات		13.96

**: Significant at 1% probability level .

** :معنی‌دار در سطح احتمال ۱٪ .



شکل ۱- مقایسه میانگین شدت بیماری جدایه‌های *Bipolaris maydis* روی گیاهچه‌های رقم حساس (rfc) B73 در گلخانه

Fig. 1. Mean comparison of disease severity of *Bipolaris maydis* isolates on susceptible line B73 (rfc) of maize in greenhouse

ارزیابی مقاومت ژنوتیپ‌های ذرت نسبت به بیماری لکه برگی

نتایج حاصل از تجزیه واریانس داده‌های شدت بیماری در ژنوتیپ‌ها در جدول ۲ نشان داد که بین ژنوتیپ‌های مورد آزمایش از نظر شدت بیماری اختلاف معنی‌داری در سطح ۱٪ وجود داشت. با توجه به نتایج و داده‌های به دست آمده در دو منطقه ساری و کرج همبستگی بین دو منطقه وجود داشت اما در ساری شدت بیماری بالاتر از کرج بود، به طوری که در لاین B73 (rfc) که به عنوان تیمار شاهد در نظر گرفته شده بود دامنه شدت بیماری از۵۳/۶۶ درصد در کرج تا ۸۵/۳۳ درصد در ساری متغیر بود که این می‌تواند نشان از شرایط مناسب آب و هوایی در ساری باشد. نتایج این آزمون نشان داد که از نظر شدت بیماری بین دو منطقه کرج و ساری همبستگی مثبت و معنی‌داری (r=./۹۲) وجود داشت.

جدول ۲- تجزیه واریانس مرکب شدت بیماری در ژنوتیپ‌های ذرت دردو منطقه کرج و ساری
Table 2. Combined analysis of variance disease severity in maize genotypes in Karaj and Sari

S.O.V.	منابع تغییرات	درجه آزادی df.	میانگین مربعات (MS) Mean Squares
Location	مکان	1	1906.38**
Rep. (Location)	تکرار (مکان)	3	23.97 ns
Genotype	ژنوتیپ	15	1882.14**
Location × Genotype	مکان× ژنوتیپ	15	183.19**
Error	اشتباه آزمایشی	60	16.29
CV%	درصد ضریب تغییرات		18.22

ns و**: به ترتیب غیر معنی‌دار و معنی‌دار در سطح ۱ درصد.

ns and **: Not significant and significant at 1% probability level, respectively.

نتایج حاصل از مقایسه میانگین شدت بیماری واکنش ژنوتیپ‌ها در دو منطقه کرج و ساری (جدول ۳) نشان داد که دو لاین OH43/1-42 و KE72012/12 و دو هیبرید KSC250 (k1728/8×K1263/1) و KSC340 (K28/6×K1263/1) در گروه نیمه مقاوم (MR) قرار گرفتند که میانگین شدت آلودگی برگ‌های آن‌ها از۳۳ /۶ تا ۸/۳۳ درصد متغیر بود. در گروه نیمه مقاوم (MR) فقط در صد کمی از لکه‌ها روی برگ‌های پایین بوته ظاهر شده بود و لکه‌ها نیز بر روی برگ‌های پایین ژنوتیپ‌ها به ویژه در لاین شماره ۵ با شجره KE72012/12 بود. لاین شماره۵ احتمالا می‌تواند منبع خوبی برای مقاومت به لکه برگی باشد و همان طورکه مشخص است این لاین، والد مادری هیبرید KSC 400 است که به عنوان هیبرید مقاوم در این بررسی شناسایی شد. این می‌تواند ناشی از اثر عمل افزایشی ژن باشد زیرا در مکانیسم مقاومت به این بیماری، در بسیاری ازموارد عمل افزایشی ژن خیلی بیش‌تر از اثر غیر افزایشی است (Lim, 1975; Lim and Hooker, 1976). در بین ژنوتیپ‌های تحت آزمایش تنها هیبرید شماره ۱۴ با شجره KSC 400 (KE72012/12 * K1263/1) در هر دو منطقه تحت آزمایش در گروه مقاوم (R) قرار گرفت که می‌تواند هیبرید مناسب و مقاومی به بیماری لکه برگی باشد. در ژنوتیپ‌های مقاوم به این بیماری تعداد کمی لکه کلروتیک روی برگ‌های پایین بوته ظاهرمی‌شود (Hooker, 1987).

جدول ۳- مقایسه میانگین شدت بیماری و واکنش ژنوتیپ‌های ذرت نسبت به بیماری لکه برگی ذرت در دو منطقه کرج و ساری

Table 3. Mean comparison of disease severity and response of maize genotypes to southern corn leaf blight in Karaj and Sari

ردیف No.	ژنوتیپ Genotype	میانگین شدت بیماری در کرج Disease severity in Karaj(%)	میانگین شدت بیماری در ساری Disease severity in Sari(%)	میانگین شدت بیماری در دو منطقه Disease severity in two locations(%)	واکنش Response
1	OH43/1-42	6.33 hi	7. 66 gh	7. 00fg	MR
2	K 1264/5-1	15. 00 efg	23. 00 e	19. 00de	MS
3	K 615/1	37. 66 b	44. 66 c	41.16b	S
4	K 1263/1	8. 00 ghi	28. 00 e	18. 00de	MS
5	KE 72012/12	8. 00 ghi	5. 66g	8. 33fg	MR
6	KE 75039	17. 33 def	22.66 e	20.00de	MS
7	K 1728/8	10. 00 fgh	15.66 f	12.83ef	MS
8	K 1263/17	23. 33 cd	27.33 e	25.33cd	S
9	S 61	26. 66 c	64.00 b	45.33b	S
10	KSC 250 (K1728/8 × K1263/1)	5. 66 hi	7. 00 gh	6. 33fg	MR
11	KSC 201 (K1263/17 × S 61)	18. 33 de	24. 00 e	21. 16d	S
12	KSC 340 (K28/6 × K1263/1)	6. 66 hi	8. 66 g	7. 66fg	MR
13	KSC 260 (K615/1 × K1264/5-1)	16.66 def	23.33 e	20.00de	MS
14	KSC 400 (KE 72012/12 × K1263/1)	0.66 i	0.93h	0.8g	R
15	KSC 301	29.00 c	34.66 d	31.83c	S
16	B73 (rfc)	53.66 a	85.33 a	69.50 a	HS

میانگین‌ها با حروف مشابه در هر ستون فاقد اختلاف معنی‌دار در سطح احتمال ۱٪ هستند.

Means with similar letters in each column are not significantly different at 1% probability level.

HS: Highly Susceptible; S: Susceptible; MS: Moderately Susceptible; MR: Moderately Resistant; R: Resistant

در این آزمایش این نوع لکه‌ها (لکه کلروتیک) روی برگ‌های پایین به میزان بسیار کم در این هیبرید مشاهده شد، در این مورد کریج و دانیل و کالیر (۱۹۶۱) در آزمایش‌های خود، محدود شدن لکه‌ها را روی برگ ذرت مشاهده کردند و مقاومت لکه کلروتیک را نسبت به این بیماری گزارش دادند و بیان کردند که این مقاومت، اندازه لکه‌ها را محدود و در اسپورزایی عامل بیماری تاخیر ایجاد می‌کند.

در هیبرید KSC 400 که در این آزمایش به عنوان هیبرید مقاوم شناسایی شد نیز این نوع لکه‌ها به وضوح مشاهده شد. اگر به والدین این رقم هیبرید نیز توجه شود والد مادری آن لاین KE72012/12 می‌باشد که یک لاین نیمه مقاوم است در نتیجه می‌توان مقاوم بودن این رقم KSC 400 (KE 72012/12 × K1263/1) را به والد مادری آن ارتباط داد. در مورد نحوه توارث‌پذیری اسمیت و هوکر (Smith and Hooker, 1973) در آزمایشی 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 که آن ژن را *rhm* نامگذاری کردند. پس از آن ژن *rhm* به بسیاری از لاین‌های خالص ذرت منتقل شد و به عنوان منبع

اصلی مقاومت به SCLB شناخته شد (Cai *et al.*, 2003). هوکر(Hooker, 1987) گزارش کردکه بیماری لکه برگی با عامل *B. maydis* مقاومت پلی‌ژنیک دارد و این مقاومت با درصد آلودگی بافت برگ بستگی دارد، در این آزمایش مشخص شد که هر چه تعداد و اندازه لکه بیش‌تر باشد حساسیت نسبت به بیماری بیش‌تر است. در آزمایشی که تامپسون و برگکویست (Thompson and Bergquist, 1984) نیز انجام دادند، نتیجه گرفتند که برای واکنش به این بیماری عمدتا 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.

در گروه نیمه حساس (MS) چهار لاین K1264/5-1، K1263/1، KE75039 و K1228/8 و هیبرید KSC260 (K615/1*K1264/5-1) قرار گرفتند که میانگین شدت آلودگی در برگ آن‌ها از ۱۲/۸۳ تا ۲۰ درصد متغیر بود. در این گروه، برگ‌های قسمت پایینی و میانی بوته‌ها و تعداد کمی از برگ‌های بالائی حاوی لکه‌های نکروتیک بودند.

در گروه حساس (S) سه لاین K615/1، K1263/17 و S61 و دو هیبرید KSC201(K1263/17*S61) و KSC 301 (K721 *S61) قرار گرفتند که میانگین شدت آلودگی در برگ آن‌ها از ۳۳/ ۲۵ تا ۴۵/۳۳ درصد متغیر بود. در این گروه، کلیه برگ‌ها اعم از قسمت پایینی و میانی و بالایی بوته‌ها حاوی لکه‌های نکروتیک بودند. دراین گروه همان طورکه مشاهده می‌شود در دو هیبرید حساس شماره ۱۱ و ۱۵، لاین حساس S61 به عنوان والد پدری می‌باشد که می‌توان نقش موثر والد پدری را در میزان حساسیت به این لاین نسبت داد. در ایران در سال‌های قبل به طور پراکنده آزمون‌های معدودی برای ارزیابی مقاومت لاین‌ها و هیبریدها در شرایط طبیعی انجام شده است. زمانی و مهریان (۱۳۸۴) در بررسی ۱۷ لاین و هیبرید دیررس ذرت به این بیماری، لاین K3547/212 را مقاوم‌ترین و لاین K3653/111 را جز حساس‌ترین ژنوتیپ به این بیماری معرفی کردند و در بین ارقام نیز K3547/212 X Mo17 و KSC604 جزو ارقام مقاوم بودند. سه لاین تجاری K18، K19 و MO17 جزو لاین‌های نیمه مقاوم و لاین B73 جزو لاین‌های حساس به بیماری شناسایی شدند. آن‌ها نشان دادند که اختلاف معنی‌داری از نظر حساسیت به بیماری بین لاین‌ها و هیبریدها وجود دارد و مقاومت هیبریدها از لاین‌ها بیش‌تر ا ست. از آن جا که لاین B73، یک لاین حساس می‌باشد در این تحقیق به عنوان شاهد در نظر گرفته شد. در تحقیقی دیگر زمانی (۱۳۷۷) در بررسی واکنش لاین‌های برگزیده ذرت نسبت به بیماری لکه برگی بیان کرد که عکس‌العمل های متفاوتی از نظر مقاومت به بیماری وجود دارد و نتایج حاصل از آن نشان داد که از بین ۵۰ لاین انتخابی آزمایش شده، شش لاین حساس (S)، ده لاین نیمه حساس (MS)، ۲۷ لاین متحمل (MR) و هفت لاین مقاوم (R) بودند. یکی از مهم‌ترین فاکتورها در واکنش ژنوتیپ‌های ذرت نسبت به بیماری لکه برگی درجه حرارت و رطوبت می‌باشد. این آزمایش در دو منطقه کرج و ساری انجام شدکه در منطقه ساری به دلیل وجود شرایط مناسب محیطی نظیر درجه حرارت و رطوبت، گیاهان شدت بیماری بیش‌تری نسبت به منطقه کرج نشان دادند به همین دلیل در کرج ۲۶/۶۹ درصد ژنوتیپ‌ها در گروه حساس ولی در ساری ۵۳/۳۳ درصد در این گروه قرارگرفتند و این می‌تواند نشان ازشرایط مناسب آب وهوایی در ساری باشد. در مجموع با توجه به نتایج این بررسی می‌توان نتیجه گرفت که در صورت استفاده از روش آلودگی مصنوعی مناسب، زمان انجام آلودگی مناسب و شرایط آلودگی مناسب، می‌توان مقاومت ژنوتیپ‌های مختلف ذرت در مقابل بیماری لکه برگی را در مزرعه ارزیابی و ژنوتیپ‌های مقاوم یا نیمه مقاوم را برای استفاده در برنامه‌های بعدی به نژادی انتخاب کرد.

سپاسگزاری

این مقاله بخشی از پایان نامه کارشناسی ارشد نگارنده اول می‌باشد که با استفاده از اعتبارات طرح تحقیقاتی مصوب موسسه تحقیقات اصلاح و تهیه نهال و بذر با کد ۹۱۰۳۶-۰۳-۰۳-۰۰ انجام شد. بدینوسیله از همکاران بخش تحقیقات ذرت و گیاهان علوفه‌ای موسسه قدردانی می‌گردد.

منابع **References**

زمانی، م. ۱۳۷۷. بررسی عکس‌العمل لاین‌های برگزیده ذرت نسبت به بیماری لکه برگی هلمینتوسپوریومی. خلاصه مقالات پنجمین کنگره زراعت و اصلاح نباتات ایران، موسسه تحقیقات اصلاح و تهیه نهال و بذر، کرج. صفحه ۱۷۱.

زمانی، م. و مهریان، ف.۱۳۸۴. مقایسه واکنش ارقام و لاین‌های برگزیده ذرت نسبت به بیماری لکه برگی ذرت *Bipolaris maydis*. نهال و بذر ۲۱: ۵۴۵-۵۳۱.

مهریان، ف.، زاد، س.ج.، حجارود، ق و شریفی‌تهرانی، ع. ۱۳۷۹. بررسی بیماری لکه برگی در استان‌های مازندران، گیلان، وگلستان. بیماری‌های گیاهی ۳۶ :۱۱۳-۹۹.

Balint-Kurti, P. J., Zwonitzer, J. C., Wisser, R. J., Carson, M. L., Oropeza- Rosas, M., Holland, J. B. and Szalma, S. J. 2007. Precise mapping of quantitative trait loci for resistance to southern leaf blight, caused by *Cochliobolus heterostrophus* race O, and flowering time using advanced intercross maize lines. Genetics 176: 645-657.

Cai, H. W., Gao, Z. S., Yuyama, N. and Ogawa, N. 2003. Identification of AFLP markers closely linked to the rhm gene for resistance to southern corn leaf blight in maize by using bulked segregant analysis. Molecular Genetics and Genomics 269: 299–303.

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 heterostrophus* race O Phytopathology 94: 862-867.

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

Hooker, A.J. 1987. Genetics of disease resistance in maize. In: Walken, D. (ed.) Maize Breeding Genetics . John Wiley and Sons, New York, USA.

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

Lim, S. M. and Hooker, A. L. 1976. Estimates of combining ability for resistance to *Helminthosporium maydis* race O in a maize population.
Maydica 21:121-128.

Lumbsch, H. T. and Hundorf, S.M. 2007. Outline of Ascomycota. Myconet.13:1-58.

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.

Reid, L. M., and Zhu, X. 2002. Screening corn for resistance to common diseases in Canada. [Online]. Available at: http://res2.agr.ca/ecorc/corn-mais/resistance/resistance. Agriculture and Agri-Food Canada, Central Experimental Farm.

Sivanesan, A. 1987. Graminicolous species of Bipolaris, Curvularia, Drechslera, Exserohilum and their teleomorphs. Mycological Papers 158: 1–261.

Smith, D. R. 1975. Expression of monogenic chlorotic –lesion resistance to *Helminthosporium maydis* in corn, Phytopathology 65:1160-1165.

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 *Helminthosporium maydis* Race O in maize. Crop science 24:807-811.

Ullstrup, A. 1978. Corn Diseases in the United States and their control. United States Department of Agriculture, Washington DC., USA.

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

Zwonitzer, J., Bubeck, D., Bhattramakki, D., Goodman, M., Arellano, C. and Balint-Kurti, P. 2009. Use of selection with recurrent backcrossing and QTL mapping to identify loci contributing to southern leaf blight resistance in a highly resistant maize line. Theory. Appl. Genetics 118: 911–925.