مجله پژوهش‌های تولید گیاهی
جلد هفدهم، شماره سوم، ۱۳۸۹
www.gau.ac.ir/journals

گزارش کوتاه علمی

بررسی خصوصیات جدایه‌های *Dickeya zeae* 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]**

[۱]دانشجوی دکتری گروه گیاهپزشکی، دانشگاه آزاد اسلامی واحد خوراسگان، اصفهان، [۲]دانشیار گروه گیاهپزشکی، دانشگاه بوعلی‌سینا همدان، [۳]دانشیار گروه گیاهپزشکی، دانشگاه شیراز، [۴]هیأت 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 علایم 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 zeae* 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 سینگل‌کراس ٦٤٧ و ٧٠٤ با بیش‌ترین درصد لهیدگی ساقه در کلاس حساس و سینگل‌کراس ۷۰۰ با مقاومت متوسط و هیبریدهای سینگل‌کراس ۱۰۸ و ۵۰۰ با کم‌ترین درصد لهیدگی ساقه به‌عنوان واریته‌های مقاوم طبقه‌بندی شدند. نتایج به‌دست آمده از روش زخم برگ همبستگی بالایی (r=۰/۹۳) با روش تزریق به ساقه داشتند. در این روش هیبریدهای سینگل‌کراس ٧٠٤ و ٦٤٧ به‌عنوان واریته‌های حساس و سینگل‌کراس ۱۰۸ به‌عنوان واریته مقاوم معرفی شد.

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

* 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 *Phytomonas 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). لوپز و همکاران (۱۹۸٦) 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 (۱۹۸٦) 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.

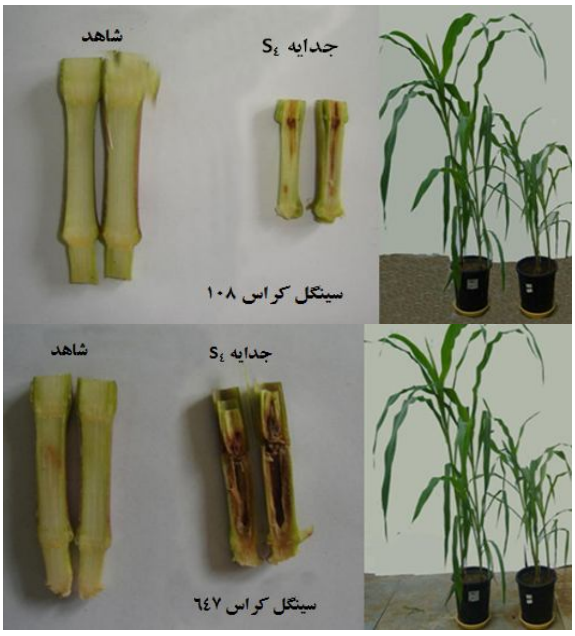
مواد و روش‌ها

- **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[1] 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، ٦٤٧، ۷۰۰، ۷۰٤ 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 ۵-٤ هفته بعد از کشت هیبریدهای ذرت درون گلدان، ۲۰۰ میکرولیتر سوسپانسیون باکتری جدایه S_4 با رقت ۲×۱۰^{۶} سلول زنده باکتری با سرنگ زیرپوستی به مرکز ساقه ذرت در فاصله ۲-۱/۵ سانتی‌متری قاعده ساقه تزریق شد. بعد از تزریق، گیاهان آلوده شده به‌مدت ۱۵-۱۰ روز در دمای ۳۲ درجه سانتی‌گراد 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 سانتی‌متری قاعده آن برای بیان پیشرفت بیماری تعیین شدند. در روش ایجاد زخم ۵ میکرولیتر از سوسپانسیون باکتری جدایه S_4 با رقت $۱۰^{۶}$ سلول زنده در میلی‌لیتر روی قطعات برگی ذرت درون پتری‌دیش گذاشته شد. برگ‌های آلوده شده فوراً به اتاقک مرطوب با دمای ۳۲ درجه سانتی‌گراد برای ٤٨-٢٤ ساعت منتقل شدند. در این آزمایش برای هر تیمار ٤ قطعه برگ ۱۰ سانتی‌متری با ٦ 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 سینگل‌کراس ٦٤٧ به‌عنوان رقم حساس و سینگل‌کراس ۱۰۸ به‌عنوان رقم مقاوم.
الف: مقایسه ارتفاع بوته‌ها؛ ب: مقایسه مقطع طولی ساقه (S_4: جدایه باکتری).

نتایج و بحث

باکتری‌های جدا شده از بافت‌های آلوده ذرت، روی محیط کشت ائوزین 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 علایم 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 zaea* نسبت داده شدند (اشنایدر و وان‌تیل، ۲۰۰۲؛ سامسون و همکاران، ۲۰۰۵). نتایج به‌دست آمده از زخم برگ در ارزیابی مقاومت نشان می‌دهد که هیبریدهای سینگل‌کراس ٦٤٧ و سینگل‌کراس ۷۰٤ با میانگین طول لکه لهیده روی برگ به‌ترتیب ٦/٦٢ و ٦/۳۵ میلی‌متر در یک گروه آماری قرار گرفته و حساس‌ترین هیبریدها در این آزمایش به حساب می‌آیند (جدول ۱). هیبریدهای سینگل‌کراس ۵۰۰ و ۷۰۰ با میانگین طول لکه روی برگ به‌ترتیب ٤/۵۲ و ۵/۳ میلی‌متر در یک گروه آماری قرار گرفته و جزء هیبریدهای با مقاومت نسبی قرار می‌گیرند. سینگل‌کراس ۱۰۸ با کم‌ترین میانگین طول لکه برگی که ۳/۵ میلی‌متر است و از نظر مقیاس در گروه با طول لکه کم‌تر از ٤ 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.

واریته	زخم برگ (میلی‌متر)	شاخص ارزیابی (میلی‌متر)	کلاس	لهیدگی ساقه (درصد)	کلاس
سینگل‌کراس ۷۰٤	[1]٦/۳۵[a]	٦<	S	[2]٤۳/۵۲[a]	S
س.ک. ۷۰۰	۵/۳[b]	٤-٦	MR	۳۰/٤۵[b]	MR
س.ک. ٦٤٧	٦/٦۲[a]	٦<	S	٤٤/٤۱[a]	S
س.ک. ۵۰۰	٤/۵۲[b]	٤-٦	MR	۱۹/۹۸[c]	R
س.ک. ۱۰۸	۳/۵[c]	٤>	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 سینگل‌کراس ٦٤٧ و ٧٠٤ به‌ترتیب با میانگین لهیدگی ساقه ٤٤/٤١ و ٤٣/٥٢ درصد (شکل ١، جدول ١) به‌عنوان هیبریدهای حساس در این روش معرفی شدند. در این دو هیبرید، از نظر آماری اختلاف معنی‌داری بین آن‌ها وجود ندارد و در یک گروه آماری قرار می‌گیرند. سینگل‌کراس ٧٠٠ با میانگین ٣٠/٤٥ درصد لهیدگی به‌عنوان هیبرید با مقاومت نسبی و سینگل‌کراس ٥٠٠ و ١٠٨ به‌ترتیب با ١٩/٩٨ و ١٧/٨٢ درصد لهیدگی به‌عنوان هیبریدهای مقاوم در یک گروه آماری قرار می‌گیرند (شکل ١). نتایج ارزیابی مقاومت در دو روش نشان می‌دهد که هیبریدهای سینگل‌کراس ٦٤٧ و ٧٠٤ دارای بیش‌ترین حساسیت و سینگل‌کراس ٧٠٠ در هر دو روش واریته با مقاومت نسبی بود. ضریب همبستگی بین نتایج دو روش بالا نشان می‌دهد که نتایج این دو روش با ضریب همبستگی (r=٠/٩٣) با احتمال ٠/٠١ معنی‌دار هستند. در روش زخم برگ تفکیک بهتری میان واریته‌ها در بیان مقاومت و حساسیت صورت گرفت. هر چند که این روش در شرایط طبیعی انجام نمی‌گیرد اما نتایج به‌دست آمده از این روش و مقایسه آن‌ها با روش تزریق به ساقه بیان‌کننده کیفیت خوب این روش برای ارزیابی مقاومت به عوامل بیماری‌زا برای بیشتر محصولات می‌باشد (اشنایدر و وان‌تیل، ٢٠٠٢).

سپاسگزاری

این مقاله بخشی از پایان‌نامه کارشناسی‌ارشد نگارنده اول در دانشگاه بوعلی‌سینا همدان می‌باشد که به این وسیله از دانشگاه بوعلی‌سینا به‌خاطر فراهم کردن امکانات انجام این پژوهش سپاسگزاری می‌نمائیم.

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 chryasnthemi* pv. *zeae*. 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. *zeae*) 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 *Dikeya chrysanthemi*. Comb. Nov. and *Dickeya paradisiaca* comb. Nov. and delineation of four novel species *Dickeya dadanthii* sp. Nov., *Dickeya dianthicola* sp. Nov., *Dickeya diffenbachia* sp. Nov. and *Dickeya zaea* 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-Tuyl, J.M. 2002. Evaluation of tests to determine resistance of *Zantedechia 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 (*Zeae 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 zeae* The Causal Agent of Bacterial Stalk Rot of Maize and Evaluation of Some Maize Hybrids Resistant to These Strains

***E. Mahmoudi[1], M.J. Soleymani[2], M. Taghavi[3] and A. Bagheri[4]**

[1]Ph.D. Student, Dept. of Plant Protection, Islamic Azad University, Khorasgan Branch, Isfahan,
[2]Associate Prof., Dept. of Plant Protection, Bu-Ali Sina University, Hamadan,
[3]Associate Prof., Dept. of Plant Protection, Shiraz University,
[4]Faculty 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 Methylen 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 zeae*. 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 zeae*, Evaluation of resistance

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