"نهال و بذر"

جلد ۲۴ ، شماره ۱، سال ۱۳۸۷

بررسی نحوه توارث مقاومت به سیاهک معمولی در ذرت
Study on Heritance of Resistance to Common Smut in Maize

رجب چوکان[۱]، مجید زمانی[۲] و مهناز قائد رحمت[۲]

۱ و ۲- به ترتیب استادیار و مربی، مؤسسه تحقیقات اصلاح و تهیه نهال و بذر، کرج

تاریخ دریافت: ۱۳۸۶/۵/۲۸ تاریخ پذیرش: ۱۳۸۶/۶/۲۹

چکیده

چوکان، ر.، زمانی، م.، و قائدرحمت، م. ۱۳۸۷. بررسی نحوه توارث مقاومت به سیاهک معمولی در ذرت. **نهال و بذر ۲۴:** ۳۲-۱۷.

به منظور مطالعه کنترل ژنتیکی مقاومت به سیاهک معمولی (Common smut) در ذرت، هشت لاین شامل دو لاین مقاوم K1264/1 و K47/2-2-1-21-2، دو لاین نیمه مقاوم K74/1 و K47/2-2-1-4-1، دو لاین حساسK19/1 و K19 و دو لاین بسیار حساس K3304/1-2 و K47/2-2-1-3-3-1-1 در سال ۱۳۸۴به صورت دی‌آلل دو طرفه تلاقی داده شدند و در سال ۱۳۸۵ در شرایط آلودگی مصنوعی در طرح بلوک های کامل تصادفی در سه تکرار مورد بررسی قرار گرفتند. برای ایجاد آلودگی ۱۰-۷ روز بعد از ظهور تارهای ابریشمی (Silking) با ایجاد زخم در نوک بلال (روشTip injection) سوسپانسیون اسپوریدی قارچ به غلظت 10^6 توسط سرنگ تزریق شد. در زمان رسیدگی فیزیولوژیکی دانه ها، شدت آلودگی در هر بلال تعیین گردید. نتایج تجزیه دی آلل نشان داد که اثر افزایشی و غالبیت در کنترل ژنتیکی مقاومت به این بیماری نقش دارند. لاین های K1264/1 و K74/1 با بالاترین ترکیب پذیری عمومی منفی، حداقل آلودگی را دارا بودند و لاین K3304/1-2 با بالاترین ترکیب پذیری عمومی مثبت، آلودگی بالائی را به این بیماری نشان داد. وراثت سیتوپلاسمی معنی داری برای کنترل این بیماری دیده شد. آلل های مغلوب در جهت افزایش آلودگی و آلل های غالب در جهت کاهش بیماری نقش داشتند. نحوه پراکنش والدین در اطراف خط رگرسیون Wr/Vr نشان داد که لاین K47/2-2-1-3-3-1-1 بیشترین تعداد آلل‌های مغلوب و لاین های K1264/1 و K74/1 بیشترین تعداد آلل های غالب را دارند.

واژه‌های کلیدی: ذرت ، سیاهک معمولی، غالبیت، افزایشی، دی‌آلل.

نویسنده مسئول: r_choukan@yahoo.com

مقدمه

یکی از شایع‌ترین بیماری‌های ذرت، سیاهک معمولی (Common smut) است که به آن سیاهک جوشان(Boil smut) یا سیاهک تاول(Blister smut) نیز گفته می‌شود. عامل بیماری قارچ *Ustilago maydis* است که باعث کاهش کمی وکیفی محصول می‌شود (Shurtleff, 1980؛ Ullstrup, 1978). میزان خسارت بیماری در ارقام حساس تا ۵۰ درصد نیز گزارش شده است (Shurtleff, 1980). اقدامات انجام شده در کشورهای توسعه یافته و حتی برخی از کشورهای در حال توسعه در رابطه با کنترل این بیماری تهیه ارقام مقاوم بوده است، بطوری که با استفاده از ارقام مقاوم، علی‌رغم شرایط آب و هوایی مساعد جهت ایجاد آلودگی وگسترش بیماری، میزان خسارت در بسیاری از این کشورها به ندرت از ده درصد تجاوز می‌کند (Renfro, 1983).

برنامه اصلاح مقاومت به سیاهک نیاز به روش‌های مایه‌زنی دارند که درصد بالایی از بیماری را ایجاد کند (Pope and McCarter, 1992). تلاش‌هایی به منظور القاء گال‌های سیاهک در قسمت‌های مختلف گیاه ذرت با تلیواسپورها و اسپوریدی به وسیله روش‌های مختلف مایه‌زنی صورت گرفته است.، اما ترزیق با استفاده از سوزن، روش معمول و موفقی برای مایه‌زنی اینوکلوم در بافت‌های مریستمیک بوده است (Pope and McCarter, 1992). پراکندگی گال‌ها با روش‌های مختلف مایه‌زنی متفاوت است.در روش Cut silk تجمع گال‌ها در یک سوم قسمت بالایی بلال است و در روش Cut cob به صورت خوشه‌ای گال‌ها در نوک بلال تشکیل می‌شوند و در روش Cob injection گال‌ها به طور نامساوی در کل بلال توسعه می‌یابند (Pataky *et al.*, 1995). کریستنس (Christansen, 1963) بیان کرده است که در برنامه اصلاحی جهت تعیین ارقام مقاوم به سیاهک بهتر است که ارزیابی ژنوتیپ‌های مختلف ذرت با استفاده از روشی صورت گیرد که محل تشکیل گال در بلال و ساقه باشد زیرا این طریق آلودگی در مزرعه بیشتر مشاهده شده و نسبت به خسارت برگی از اهمیت بیشتری برخوردار است.

عملیات آلودگی وقتی تارهای ابریشمی حداقل به اندازه ۱۰-۵ سانتی متر بیرون آمده و هنوز خشک نشده‌اند (۶۰-۵۶ روز بعد از کاشت با ۷ روز بعد از ظهور اولین گل تاجی) انجام می‌شود(Pope and McCarter, 1992) . پانزده تا بیست روز بعد از مای‌زنی پوست بلال‌ها با دست کنده شده و درصد بیماری(Incidence of disease) و شدت بیماری(Severity of disease) برپایه مقیاس درجه‌بندی بر اساس میزان پیشروی ایجاد گال در بلال ارزیابی می‌شوند

(Toit and Pataky, 1999b). زمان دقیق آلودگی مصنوعی بسته به مرحله رشد تارهای ابریشمی و گرده افشانی، ممکن است توانایی غربال کردن ژرم پلاسم ذرت را برای مقاومت بهبود بخشد (Pataky *et al.*, 1995).

عملی نبودن کنترل شیمیائی برای بعضی بیماری‌ها باعث گردیده است تا مقاومت ژنتیکی به عنوان امیدبخش‌ترین استراتژی مطرح شود (Toit and Pataky, 1999a).

برای مقاومت به این بیماری، تعداد ۲۵ هیبرید ذرت در طول سال‌های ۹۱-۱۹۸۹ برای مقاومت عمومی (در همه اندام‌های گیاه) و مقاومت فیزیولوژیکی (در بلال‌ها) آزمون شدند. بیشتر هیبریدها، مقاومت عمومی و تعداد کمتری مقاومت فیزیولوژیکی نشان دادند. بعضی هیبریدها نیز ترکیبی از هر دو نوع مقاومت را داشتند (Bogachev, 1992).

کوستاندی و گیسلر (Kostandi and Geisler, 1989) گزارش کردند که از بررسی واکنش ۱۷ اینبرد لاین و ۱۷ هیبرید ذرت برای تعیین مقاومت به سیاهک در شرایط آلودگی مصنوعی در سال‌های ۸۴-۱۹۸۲ تعداد پنج هیبرید و هشت اینبردلاین مقاومت بالایی به این بیماری نشان دادند.

بررسی‌های انجام شده نشان می‌دهد که از نظر توارثی مقاومت به سیاهک چند ژنی (Polygenic) است و توصیه شده است که در برنامه اصلاحی از روش‌های تلاقی لاین‌های مقاوم با یک محک حساس استفاده شده و ارزیابی هیبریدهای حاصل از این تلاقی‌ها در نسل‌های F_1 و F_2 دنبال گردد (Pope and McCarter, 1992).

مقاومت ذرت به سیاهک معمولی علی‌رغم تفاوت‌های موجود در بررسی‌های انجام شده در این زمینه، از نوع چند ژنی یا غیر اختصاصی است که توسط تعداد نسبتاً زیادی ژن که بر روی کروموزوم‌های شماره ۱ و ۲ ذرت قرار دارند، با اثر افزایشی و غیرافزایشی این ژن‌ها کنترل می‌شود. از محاسن این مقاومت پایداری آن برای چندین سال در رابطه با همه بیوتیپ‌ها است، اما از آن‌جا که فاکتورهائی از قبیل ایجاد زخم روی قسمت‌های هوایی گیاه توسط عوامل مختلف، حاصلخیزی خاک و تغییرات آب و هوایی میزان آلودگی را تحت تاثیر قرار می‌دهند، مطالعه مکانیزم مقاومت پیچیده است (Renfro, 1983). .

بالاشوا و همکاران (Balashova *et al.*, 1988) از تلاقی دای‌آلل کراس هفت لاین حساس تا مقاوم و تاپ کراس چهار لاین به عنوان تستر برای ارزیابی مقاومت ژنتیکی به سیاهک معمولی استفاده کردند. نتایج نشان داد که ترکیب‌پذیری عمومی بالایی برای مقاومت وجود دارد.مقاومت مزرعه‌ای و فیزیولوژیکی پایداری برای دو سال (۸۴-۱۹۸۳) در بعضی هیبریدها دیده شد . در بعضی لاین‌ها غالبیت برای ژن‌های غالب و در بعضی غالبیت برای ژن‌های

مغلـــوب بـــرای مقاومـــت وجـــود داشـــت. مـــارتن و همکـــاران (Marton *et al.*, 1985) بـــا مطالعـــه انـــواع مختلـــف هیبریـــدهای سینگل کراس، تـری پـل کـراس و بـک کـراس ذرت از نظر مقاومت به سیاهک معمـولی ذرت، اعلام کردند کـه مقاومـت بـه بیمـاری بـه طـور نزدیکی به والد ماده بستگی دارد.

کـائو و همکـاران (Cao *et al.*, 1986) بـا استفاده از تلاقـی دای آلـل ۶×۶ اینبـرد لاین‌هـا بـرای مقاومـت بـه سـیاهک بـلال ذرت اعـلام کردند مقاومـت بـه طـور عمـده توسـط ژن‌هـای افزایشی کنترل می‌شود. و لاین‌های مورد بررسی تفـاوت معنـی‌داری در ترکیـب‌پـذیری عمـومی برای مقاومت نشان می‌دهند.

برنـارد و همکـاران(Bernard *et al.*, 1992) با استفاده از تجزیه میانگین نسل‌هـا اثـر افزایـشی برای کنترل بیماری سـیاهک بـلال دریافتنـد کـه در کنترل این بیماری اثر افزایـشی مهـم اسـت و اثـر غالبیـت و اپـی‌سـتازی از اهمیـت کمتـری برخوردارند.

علی و باگت (Ali and Baggett, 1990) بـا استفاده از تجزیه میـانگین نـسل‌هـای بـین لایـن مقـاوم N6 ذرت سـخت و لایـن حـساس ذرت شیرین (SU)، وراثت مقاومت به سـیاهک بـلال را مورد بررسی قرار دادند. نتایج نشان داد که در سطوح بالای آلودگی اثر افزایـشی و در سـطوح پایین آلودگی اثر غالبیت اهمیت داشته و در هـر دو مورد اثر اپی ستازی نیز دیده شد.

بوجانووسـکی (Bojanowski, 1969) بـا استفاده از تجزیـه میـانگین نـسل‌هـا هـر دو اثـر افزایـشی و غیـر افزایـشی را بـرای مقاومـت بـه سـیاهک معمـولی اعـلام وگـزارش کـرد کـه مقاومت به صـورت پلـی ژنیـک بـوده و اصـلاح بـرای مقاومـت را بـر پایـه تلاقـی بـا یـک تـستر حساس خاص پیشنهاد کرد.

به طـور کلـی راجـع بـه ماهیـت مقاومـت در ذرت نسبت به سـیاهک اطلاعـات کمـی وجـود دارد و لازم اسـت کـه در هـر شـرایط آب و هوایی، تهیه ارقام مقاوم و متحمل بـه بیمـاری بـه طور مستقل انجام و ارقام تولید شده، مخـصوص آن شـــرایط جهـــت کـــشت توصـــیه شـــوند (Christansen, 1963).

نتـــایج یـــک بررســـی در ایـــران نـــشان داد کـــه هـــشت اینبـــرد لایـــن مقاومـــت فیزیولـــــوژی بـــــالایی داشـــــتند (Zamani and Estakhr, 2004)..اخـوت (Okhovat, 2003) اعـلام کـرد کـه رقـم۷۰۴ کمتـرین و رقـم ۷۰۹ بیـشترین آلـودگی را بـه سیاهک معمولی ذرت در ایران نشان داداند.

مطالعه حاضر با هدف تعیـین کنتـرل ژنتیکـی مقاومـت بـه سـیاهک معمـولی ذرت و وضـعیت والدین موجود از نظر توزیع آلل‌های مقاومـت و حساسیت به اجرا درآمد.

مواد و روش‌ها

بـه منظـور بـررسی نحـوه تـوارث و کنتـرل

ژنتیکی مقاومت به بیماری سیاهک معمولی ذرت (*Ustilago maydis*)، در سال ۱۳۸۴ تعداد هشت لاین شامل (دولاین مقاوم (L1) K1264/1 و (L2) K47/2-2-1-21-2، دولاین نیمه مقاوم (L3) K74/1 و(L4) K47/2-2-1-4-1، دو لاین حساس(L5)K19/1 و (L6)K19 و دو لاین بسیار حساس (L7)K3304/1-2 و(L8) K47/2-2-1-3-3-1-1 که بر اساس مطالعات قبلی انتخاب شده بودند، در مزرعه موسسه تحقیقات اصلاح و تهیه نهال و بذر به صورت دی‌آلل دو طرفه تلاقی داده شدند. بدین منظور، هر یک از جفت والدین مورد تلاقی در یک ردیف ده متری در کنار هم کاشته شدند، به طوری که هر ردیف متشکل از ۲۶ کپه دو بوته‌ای بود که فاصله کپه‌ها از یکدیگر ۴۰ سانتی‌متر و فاصله ردیف‌ها ۷۵ سانتی‌متر بود. در زمان مناسب قبل از ظهور گرده و کاکل و با مشاهده جوانه‌های کاکل، گل‌های نر و ماده هر والد با پاکت مخصوص پوشانده شده و با انتقال مصنوعی دانه گرده هر ردیف به کاکل ردیف مقابل، دورگ‌گیری دو طرفه انجام شد. در سال ۱۳۸۵، ۵۶ ترکیب حاصله (با احتساب تلاقی‌های متقابل) به همراه والدین (جمعاً ۶۴ تیمار) در یک طرح بلوک‌های کامل تصادفی در سه تکرار کاشته شدند هر کرت شامل دو ردیف شش متری بود که در آن فاصله ردیف‌ها ۷۵ سانتی‌متر و فاصله بوته‌های روی ردیف ۲۰ سانتی‌متر بود.

به منظور حفظ یکنواختی داخل بلوک و حذف رقابت بین کرتی لاین‌ها با هیبریدها، در کرت‌های مربوط لاین‌ها، دو ردیف حاشیه در طرفین دو خط کاشت در نظر گرفته شده و بین هر کرت یک ردیف نکاشت در نظر گرفته شد که این امر برای هیبریدهای مجاور این کرت‌ها نیز مد نظر قرار گرفت و هر تکرار نیز به دو بلوک شکسته شد. در زمان مناسب، در هر کرت ۲۰ بوته تصادفی با استفاده از سوسپانسیون اسپوریدی قارچ آلوده شد.

به منظور انجام آلودگی مصنوعی، در سال ۱۳۸۴، نمونه‌های آلوده به سیاهک معمولی از مزارع ذرت از چندین منطقه جمع آوری شد. برای جداسازی عامل بیماری، گال‌هایی را که بر روی بلال‌ها بودند جدا کرده و پس از ضد عفونی با محلول سولفات مس ۰/۵ درصد، به مدت ۱۶ ساعت در تکاندهنده‌های افقی (Horizantal shaker) نگهداری و سپس دوبار با آب مقطر استریل شستشو شدند. گال‌ها روی دو محیط کشت P.D.A و C.M.A به مدت پنج روز در دمای ۲۵-۲۳ درجه سانتی‌گراد در انکوباتور نگهداری شدند تا تولید اسپوریدی کنند. به منظور تهیه سوسپانسیون اسپوریدی از گال‌های سیاهک، اسپوریدی‌های تولید شده از تلیوسپورها با آب مقطر استریل شستشوداده شده و سوسپانسیونی به غلظت 1×10^{6} تهیه شد (Thakur *et al.*, 1989) تا در مرحله مناسب (ظهور تارهای ابریشمی) مورد استفاده

قرارگیرد.

برای اعمال یکنواختی بیشتر آلوده سازی گیاهان به صورت مصنوعی انجام گردید. بدین صورت که با سوسپانسیون اسپور به غلظت $10^6 \times 1$ در هر میلی لیتر که از قبل در آزمایشگاه تهیه شده بودند عمل مایه زنی در قسمت نوک بلال با روش Tip injection انجام شد. به این منظور، ۱۰-۷ روز بعد از ظهور تارهای ابریشمی (Silking) سرنگ حاوی ۳ میلی‌لیتر از سوسپانسیون اسپوریدی را در قسمت نوک بلال فرو برده تا ضمن ایجاد زخم، سوسپانسیون در بلال نیز جاری شود. بعد از انجام مایه‌زنی روی بلال‌ها، هر هفته با سرکشی به مزرعه پیشرفت بیماری روی بلال‌ها کنترل شد. پس از گذشت دو ماه از زمان مایه‌زنی بلال‌ها، در زمان رسیدن فیزیولوژیکی ارزیابی بلال‌ها انجام شد. برای تعیین شدت بیماری، براساس پیشرفت بیماری (ایجاد گال در بلال) امتیاز بندی صورت گرفت. بدین ترتیب که هر بلال به صورت جداگانه از نظر پیشرفت بیماری (صفر تا صد) درجه‌بندی شد، سپس شدت بیماری (DS) در هر کرت با فرمول زیر محاسبه شد:

$$\text{شدت بیماری} = \sum(1\times\%.0)+(2\times\%.10)+(3\times\%.25)+(40\times\%.50)+(5\times\%.75)+(6\times\%.100) / \text{total}\times\%.100$$

داده‌های حاصل با استفاده از اصول پیشنهادی هیمن (Hayman, 1954a,b) و مدر و جینکز (Mather and Jinks, 1971) مورد تجزیه قرار گرفت تا نوع عمل ژن های کنترل کننده مقاومت، توزیع آلل‌ها در والدین، نسبت ژن‌های غالب و مغلوب و نهایتاً وجود یا عدم وجود اثر مادری مشخص شود. پارامترهای موردنظر بر اساس مدل ثابت متد ۱ گریفینگ (Griffing, 1956 a,b) و همچنین روش هیمن (Hayman, 1954a,b) با استفاده از نرم‌افزارهای Diallel و Dial98 تجزیه شد و اثر ترکیب‌پذیری عمومی و خصوصی، نوع عمل ژن و هتروزیس برآورد و مورد تجزیه و تحلیل قرار گرفت. جهت برآورد ترکیب پذیری‌ها از مدل ثابت روش پیشنهادی گریفینگ (Griffing, 1956 a,b) استفاده شد. به منظور برآورد اجزاء تعییرات ژنتیکی، روش هیمن به کار گرفته شد (Hayman, 1954a,b) و با استفاده از معادلات مدر و جینکز (Mather and Jinks, 1971) مقادیر قابلیت‌پذیری عمومی و خصوصی برآورد گردید.

نتایج و بحث

قبل از انجام تجزیه دی‌آلل به روش گریفینگ ((Griffing ,1956 a,b) و روش هیمن (Hayman,1954 a,b) داده‌های حاصل پس از انجام تبدیل ($\text{Arc}\sin\sqrt{x}$) مقدماتی مورد تجزیه واریانس بر اساس طرح بلوک‌های کامل تصادفی قرارگرفتند. نتایج نشان داد که بین ژنوتیپ‌ها اختلاف معنی‌داری در سطح احتمال ۱٪ برای شدت آلودگی وجود دارد، لذا

تجزیه واریانس ترکیب‌پذیری‌ها برای این صفت انجام شد و اثر ژنوتیپ‌ها به اثر ترکیب‌پذیری عمومی و خصوصی و نیز تلاقی‌های متقابل تفکیک گردید (جدول ۱).

میانگین این صفت در والدها از ۱۸/۶ برای والد L1 تا ۳۸/۲۵ برای والد L8 و در تلاقی‌ها از ۱۹/۷ برای L5 × L3 تا ۳۸/۸ برای تلاقی L7× L8 متغییر بود (جدول ۱). میانگین شدت آلودگی در والدها ۲۷/۰۹ و در هیبریدها ۲۶/۸ به دست آمد.

نتایج حاصل از تفکیک اثر ژنوتیپ‌ها (جدول ۱) حاکی از معنی‌دار بودن هر دو نوع ترکیب‌پذیری عمومی و خصوصی و نیز اثر معنی‌دار تلاقی‌های متقابل برای این صفت در سطح احتمال ۱٪ بود که بیان‌کننده نقش ژن‌های با اثر افزایشی و غیر افزایشی در کنترل و تظاهر این صفت است. با توجه به معنی‌داربودن GCA و SCA، نسبت MS_{GCA}/MS_{SCA} می‌تواند اهمیت نسبی هر کدام از این دو جزء را مشخص کند. با توجه به معنی‌دار شدن این نسبت برای صفت مذکور، به نظر می‌رسد ژن‌های با اثر افزایشی نقش بیشتری در کنترل این صفت دارند. در بررسی‌های دیگری هم نقش اثر افزایشی ژن‌ها در کنترل بیماری سیاهک معمولی ذرت و عدم وجود ترکیب‌پذیری خصوصی معنی‌داری برای این بیماری گزارش شده است از جمله کائو و همکاران (Cao *et al.*, 1986) با استفاده از تلاقی دی‌آلل شش لاین برای مقاومت به سیاهک بلال اعلام کردند که ترکیب‌پذیری عمومی معنی‌داری برای این بیماری وجود دارد.

در بررسی ترکیب‌پذیری عمومی، لاین‌های L1 و L3 دارای بالاترین ترکیب‌پذیری عمومی منفی و معنی‌دار (۴/۴- ،۳/۷۴-) و والد L7 دارای بالاترین مقدار ترکیب‌پذیری عمومی مثبت و معنی‌دار (۵/۴۶) بود (جدول ۲) که نشانگر نقش بیشتر اثر افزایشی ژن‌ها در لاین مزبور است.در بررسی میانگین شدت آلودگی به بیماری نیز کمترین شدت بیماری را لاین‌ها L1 و L3 و بیشترین شدت بیماری را لاین L۷ بعد از لاین L۸ نشان دادند که به ترتیب نشان‌دهنده مقاومت و حساسیت این لاین‌ها است (جدول ۳). در بررسی میانگین شدت بیماری در ترکیبات مختلف (جدول۳)، حداقل شدت بیماری در ترکیب L3×L5 (DS=۹/۷۴) ترکیب L1×L3 (DS=۱۳/۳۴) و ترکیب L3× L8 (DS=۱۳/۹۷) و حداکثر آن در ترکیب L7× L8 (DS=۳۷/۷۳) مشاهده شد. بطور کلی لاین‌های L3 و L1 در ترکیب با سایر لابن‌ها شدت بیماری نسبتاً کمتری را در مقایسه با سایر ترکیبات داشتند و این امر نشان می‌دهد که لاین‌ها ی L1 و L3 می توانند منبع مناسبی برای ایجاد ترکیبات هیبرید مقاوم یا متحمل به بیماری سیاهک معمولی باشند. با توجه به نقش بیشتر اثر افزایشی در کنترل این بیماری می‌توان از لاین‌های L1 و L3 برای ایجاد تلاقی با سایر لاین‌ها و سپس گزینش در جهت ایجاد

جدول ۱- تجزیه واریانس شدت بیماری در لاین‌های ذرت در تلاقی‌های دی‌آلل

Table 1. Analysis of variance for disease severity in diallel crosses of maize lines

منابع تغییرات S.O.V.		درجه آزادی df.	شدت آلودگی Disease severity
Block	بلوک	2	10.76
Genotype	ژنوتیپ	63	152.80 **
General combining ability	ترکیب‌پذیری عمومی	7	542.25 **
Specific combining ability	ترکیب‌پذیری خصوصی	28	97.42 **
Reciprocals	تلاقی‌های متقابل	28	115.31 **
Error	خطا	126	33.76
MS_{GCA}/MS_{SCA}			5.38 **
Average heterosis	متوسط هتروزیس		-0.30

* و **: به ترتیب معنی‌دار در سطح احتمال ۵ درصد و ۱ درصد

* and **: Significant at 5% and 1% probability levels, respectively.

جدول۲- ترکیب پذیری عمومی (قطر اصلی) و خصوصی (خارج قطر) لاین‌های ذرت برای شدت بیماری سیاهک معمولی

Table 2. General(diagonal) and specific(above diagonal) combining ability of maize lines for disease severity of common smut

Parent	L1	L2	L3	L4	L5	L6	L7	L8
L1	-4.40 *	3.57 **	1.52 ns	-0.59 ns	0.26 ns	1.13 ns	-0.83 ns	-5.13 *
L2		-1.10 ns	2.76 ns	2.89 ns	4.28 *	-10.68 ns	4.37 *	-4.12 *
L3			-3.74 **	-1.30 ns	-1.38 ns	2.45 ns	-3.83 ns	-4.24 *
L4				2.74 **	3.90 ns	4.50 *	-0.63 ns	-0.1 ns
L5					1.28 ns	-1.79 ns	-1.19 ns	0.44 ns
L6						-1.29 ns	-0.26 ns	1.04 ns
L7							5.46 **	4.91 *
L8								1.06 ns

L1: K1264/1 L2: K47/2-2-1-21-2 L3: K74/1 L4: K47/2-2-1-4-1

L5: K19/1 L6: K19 L7: K3304/1-2 L8: K47/2-2-1-3-3-1-1

ns، * و **: به ترتیب غیرمعنی‌دار، معنی‌دار در سطح احتمال ۵ درصد و ۱ درصد

ns, * and **: Not significant, significant at 5% and 1%probability levels respectively.

جدول ۳- شدت بیماری سیاهک معمولی در ۸ والد (قطر)، ۵۶ تلاقی مستقیم (بالای قطر) و متقابل (پائین قطر) در ذرت

Table 3. Disease severity of common smut in eight parents (diagonal), 56 crosses (above diagonal) and reciprocals (below diagonal) in maize

Parent	L1	L2	L3	L4	L5	L6	L7	L8
L1	18.62	22.47	13.34	20.35	24.82	16.28	22.53	16.68
L2	27.33	21.54	29.68	31.23	32.35	12.83	30.77	17.45
L3	27.08	19.82	23.37	26.00	09.74	28.57	22.65	13.97
L4	28.80	31.50	23.05	24.02	32.35	27.81	34.21	35.60
L5	22.80	30.25	36.24	37.35	25.33	25.62	36.10	25.03
L6	28.25	14.67	19.92	36.86	24.40	30.39	29.91	27.83
L7	31.59	40.35	26.78	34.60	28.70	31.58	35.23	37.73
L8	20.03	27.87	25.85	25.41	34.20	23.27	38.80	38.25

L1: K1264/1 L2: K47/2-2-1-21-2 L3: K74/1 L4: K47/2-2-1-4-1
L5: K19/1 L6: K19 L7: K3304/1-2 L8: K47/2-2-1-3-3-1-1

لاین‌های خالص و مقاوم استفاده کرد. اثر ترکیب‌پذیری خصوصی برای تلاقی‌های L2 ×L6 و L1 ×L8 بالاترین ترکیب‌پذیری خصوصی منفی و معنی‌دار بود و جزء هیبریدهای مقاوم در این آزمایش از نظر صفت مورد بررسی بودند. مقاوم‌ترین لاین‌ها (لاین‌های L1 و L3) و حساس‌ترین لاین (L7)، به ترتیب بیشترین ترکیب‌پذیری عمومی منفی (۴/۴- ،۳/۷۴-) و مثبت (۵/۴۶) را دارا بودند (جدول ۲). با توجه به میانگین شدت بیماری و ترکیب‌پذیری خصوصی (جدول‌های ۲و۳) تلاقی‌های حاصل از لاین‌های مقاوم L1و L3 به طور کلی کاهش شدت آلودگی را نشان دادند که در ترکیب L3× L8 کاملاً مشهود است.

تغییرات میانگین شدت آلودگی، در تلاقی‌های مختلف لاین‌های L1 و L3 (جدول۳) بین ۹/۷۴ تا ۲۸/۵۷ متغییر بود. احتمالاً این تغییرات بایستی تابع تفاوت نوع عمل ژن‌های دخیل در دو والد مورد تلاقی باشد به عبارت دیگر بایستی ژن‌های موجود در دو والد با یکدیگر تفاوت داشته باشند به طوری که احتمالاً والد حساس نیز بایستی تعدادی از ژن‌های مقاومت را داشته باشد که بسته به نوع والد دومی که در تلاقی با این دو لاین به کار رفته است تغییراتی در شدت آلودگی آن‌ها مشاهده شده است. به طور کلی می‌توان نتیجه گرفت که بالاترین تجمع ژن‌های مقاوم در تلاقی L3× L5 وجود داشته باشد. با توجه به این امر که تلاقی L2× L6 دارای

ترکیب‌پذیری خصوصی منفی قابل توجه و دارای شدت بیماری نسبتاً پایینی بوده همچنین با توجه به تفاوت شدت بیماری در تلاقی‌های L3× L8 و L3× L7 به نظر می رسد که اثر غیرافزایشی نیز احتمالاً نقش قابل توجهی را در کنترل این بیماری داشته باشد.

در بررسی اثر تلاقی متقابل، بیشترین تفاوت معنی‌دار بین تلاقی‌های L1× L3 و L3× L5 بود. بین تلاقی L1× L6، L1× L7، L2× L3، L2 × L7، L3× L8، L4× L6، L4× L8 و L5× L8 اختلاف معنی‌دار در سطح احتمال ۵٪ مشاهده شد و برای بقیه تلاقی‌ها اختلافی بین تلاقی‌های مستقیم و متقابل دیده نشد (جدول‌های ۴ و ۵). این مطلب نشان‌دهنده این است که در کنترل مقاومت یا حساسیت به این بیماری نقش اثر متقابل بین والدین اهمیت دارد و واکنش به بیماری به هر دو والد پدری و مادری بستگی دارد. میزان هتروزیس نسبت به میانگین والدین برای این صفت از ۰/۳۱ مربوط به تلاقی L1× L7 تا ۱۲/۲۱- برای تلاقی L2× L6 متغییر بود. متوسط هتروززیس ۰/۳- برآورد شد. منفی بودن متوسط هتروزیس بیانگر این است که دورگ‌ها به طرف والد واجد مقدار کمتر صفت گرایش داشته‌اند. دامنه هتروزیس نسبت به والد برتر از ۰/۰۲ برای تلاقی L7 ×L8 تا ۱۹/۹- مربوط به تلاقی L1 ×L8 در نوسان بود (جدول ۴). با توجه به معنی‌دار بودن تلاقی‌های متقابل در روش گریفینگ (Griffing, 1956 a,b)، اثر تلاقی‌های معکوس به اثر پایه مادری و اثر غیر مادری تفکیک شد. در جدول ۶ نتایج حاصل از تجزیه واریانس بر اساس روش پیشنهادی هیمن (Hayman, 1954a,b) و مدر و جینکز (Mather and Jinks, 1971) نشان داده شده است. جزء a که برآوردی از واریانس افزایشی است برای صفت مورد بررسی در سطح احتمال ۱٪ معنی‌دار بود و جزء b که مربوط به تفاوت‌های بین هیبریدها و والدین و ناشی از اثر غیر افزایشی ژن‌ها (غالبیت و اپی‌ستازی) است نیز در سطح احتمال ۱٪ معنی‌دار بود. بر اساس این روش، این جزء واریانس به اجزاء b1، b2 و b3 تفکیک شد. جزء b1 مقایسه بین والدها در برابر تلاقی‌ها است که معنی‌دار نشد و به عبارت دیگر این جزء بیان‌کننده متوسط اثر هتروزیس است. جزء b2 غالبیت یا هتروزیس خاص مرتبط، هر والد را نشان می‌دهد. معنی‌دار شدن این جزء بیان‌کننده این است که آلل‌های غالب و مغلوب در والدین متفاوت است. جزء b3 بیشترین جزء غالبیت است. با توجه به جدول ۶ ملاحظه می‌شود که مقادیر b1 و b3 در سطح احتمال ۱٪ معنی‌دار هستند. دو جزء c و d که به ترتیب متوسط اثر پایه مادری و اثر غیر مادری (باقیمانده) هستند نیز در سطح احتمال ۱٪ معنی‌دار شدند. مجموع این دو جزء معادل مجموع مربعات تلاقی‌های معکوس در روش ۱

جدول۴- میزان هتروزیس شدت بیماری سیاهک سیاهک معمولی نسبت به متوسط والدین (بالای قطر) و نسبت به والد برتر (پایین قطر) در هیبریدهای ذرت

Table 4. Heterosis for disease severity of common smut to mid-parent(above diagonal) and better parent (below diagonal) in maize hybrids

Parent	L1	L2	L3	L4	L5	L6	L7	L8
L1		4.81	-0.79	3.25	1.47	2.24	0.13	-10.80
L2	3.35		2.30	8.58	7.87	-12.21	7.18	-7.23
L3	-3.16	1.38		0.83	-1.36	-2.64	-4.78	-10.90
L4	0.55	7.34	0.50		10.17	5.12	-4.78	-0.60
L5	-1.8	5.97	-2.34	9.52		-2.83	2.11	-2.17
L6	-8.13	-16.64	-6.15	1.94	-5.36		-2.06	-8.76
L7	-8.17	0.34	-10.50	-0.82	-2.83	-4.48		1.53
L8	-19.90	-15.58	-18.34	-7.70	-8.63	-12.69	0.20	

L1: K1264/1 L2: K47/2-2-1-21-2 L3: K74/1 L4: K47/2-2-1-4-1
L5: K19/1 L6: K19 L7: K3304/1-2 L8: K47/2-2-1-3-3-1-1

جدول ۵ – اثر متقابل والدین برای صفت شدت بیماری (DS) در ذرت

Table 5. Reciprocal effects of parents for disease severity in maize

Parent	L1	L2	L3	L4	L5	L6	L7	L8
L1		-2.43	-6.87 **	-4.23	1.37	-6.00 *	-4.52 *	-1.67
L2			4.93 **	-0.14	1.05	-0.92	-4.79 *	-5.21 *
L3				1.47	-13.25 **	4.32	-2.60	-5.94*
L4					-2.49	-4.52	-0.19	5.12*
L5						0.59	3.62	-4.58 *
L6							-0.84	2.28
L7								-0.54

L1: K1264/1 L2: K47/2-2-1-21-2 L3: K74/1 L4: K47/2-2-1-4-1
L5: K19/1 L6: K19 L7: K3304/1-2 L8: K47/2-2-1-3-3-1-1

* و **: به ترتیب معنی‌دار در سطح احتمال ۵ درصد و ۱ درصد

* and **: Significant at 5% and 1% probability levels, respectively.

گریفینگ است. معنی‌دار شدن این دو جزء نشاندهنده وجود اثر سیتوپلاسمی و اثر مادری و تفاوت بین تلاقی‌ها و تلاقی‌های معکوس است. اجزاء ژنتیکی تنوع شامل D، H_1، H_2، F و E برای این صفت محاسبه شد (جدول ۷). مقدار دو جزء واریانس غالبیت نسبت به مقدار واریانس افزایشی بیشتر بود که بیانگر اثر غالبیت یا فوق غالبیت در کنترل ژنتیکی این صفت است. شاخص F (میانگین کوواریانس اثر افزایشی و اثر غلبه) در این بررسی مثبت بود که بیانگر این است که در والدهای مورد بررسی فراوانی آلل‌های غالب بیشتر از فراوانی آلل‌های مغلوب است. h^2 ، مجموع انحراف غالبیت روی تمام مکان‌های ژنی بیانگر اثر غالبیت در تمام مکان‌های ژنی است که علامت منفی این پارامتر مبین اثر افزایشی آلل‌های مغلوب است.

میانگین درجه غالبیت $(H1/D)^{0.5}$ برای این صفت ۱/۱۹ برآورد شد و چون بیشتر از یک است بیانگر کنترل صفت به صورت فوق غالبیت است. تفاوت بین اجزاء غالبیت (H1-H2) عددی مثبت بود که بیانگر عدم برابری آلل‌های غالب و مغلوب کنترل‌کننده صفت در کلیه مکان‌های ژنی است. همچنین پارامتر UV (نسبت ژن‌های دارای اثر مثبت به ژن‌های با اثر منفی در والدین) نیز مؤید این مطلب است، زیرا مقدار آن کمتر از ۰/۲۵ یعنی ۰/۱۶ برآورد شد. همبستگی بین جهت غلبه والدین و مقدار والدین {r(Wr+Vr)/Yr] برای این صفت ۰/۸۷ برآورد شد. مثبت بودن این ضریب بیانگر این است که ژن‌های کاهنده صفت، عمدتاً غالب هستند. به عبارت دیگر والدینی که ژن‌های افزاینده بیشتری دارند دارای ژن‌های مغلوب بیشتری هستند . اگر همبستگی خیلی کم باشد با اطمینان کمی می‌توان در رابطه با مثبت یا منفی بودن ژن‌های مغلوب در افزایش صفت بحث کرد. به منظور مقایسه سهم نسبی اجزاء واریانس در کنترل این صفت نسبت هر کدام از اجزاء D، H1 و E به مجموع آن‌ها (D+H1+E) محاسبه شد. مشخص شد که در کنترل این صفت اثر غالبیت ۶۱/۸٪ از واریانس را به خود اختصاص داده است. بنابراین با تولید هیبریدهای مناسب و هتروزیس می‌توان مقاومت را افزایش داد. اثر افزایشی ژن‌ها ۲۹/۴٪ از کل واریانس ژنتیکی را به خود اختصاص داده بود. سهم واریانس محیطی در تظاهر این صفت ۸/۸٪ برآورد شد.

وایت و گویس (Whythe and Geveis, 1988) با استفاده از تلاقی دی‌آلل ۸ لاین در بررسی مقاومت به سیاهک بلال ذرت اعلام کردند که واریانس افزایشی نقش عمده‌ای در کنترل ژنتیکی این بیماری دارد. مقادیر وراثت‌پذیری عمومی و خصوصی به ترتیب ۰/۷۵٪ و ۰/۴۷٪ برآورد شد. شکل ۱ پراکنش والدین در امتداد خط رگرسیون Wr روی Vr و همچنین سهمی محدود کننده Wr^2 را برای این صفت نشان داد. قطع محور عمودی (Wr)

جدول ۶ - تجزیه واریانس آزمایش دی آلل به روش هیمن برای شدت بیماری سیاهک معمولی در ذرت
Table 6. Analysis of variance based on Hayman's method for disease severity of ommon smut in maize

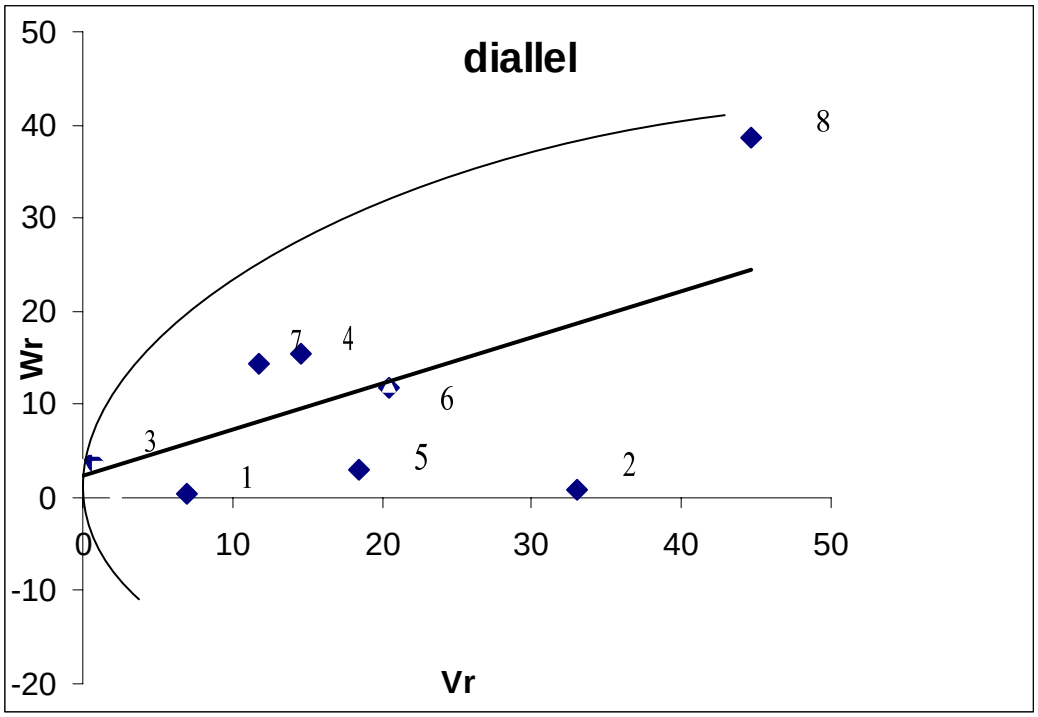
منابع تغییرات S.O.V.		درجه آزادی df.	شدت آلودگی Disease severity
Block	بلوک	2	10.76
Genotype	ژنوتیپ	63	152.80 **
a		7	534.16**
b		28	104.50 **
b1		1	0.73 ns
b2		7	145.12**
b3		20	95.47 **
c		7	119.99 **
d		21	113.83 **
Error	خطا	126	76.33

ns و **: به ترتیب غیرمعنی‌دار و معنی‌دار در سطح یک احتمال درصد.

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

جدول ۷ - پارامترهای ژنتیکی در تجزیه دی آلل برای صفت شدت بیماری در ذرت
Table 7. Genetic parameters for disease severity in diallel analysis in maize

پارامتر Parameters	شدت آلودگی Disease severity (%)
D±SE	36.23±17.95
H1±SE	76.19±18.26
H2±SE	48.37±16.22
F±SE	22.59±26.87
h^2	-4.33±6.36
E	10.82±1.34
$(H1/D)^{0.5}$	1.45
KD/KR	0.61
UV	0.16
h^2_b	0.75
h^2_n	0.47
r	0.87
b	0.47



شکل۱- نمودار W_r/V_r برای شدت آلودگی به سیاهک معمولی ذرت

Fig. 1. Wr/Vr for disease severity of maize common smut

توسط خط رگرسیون در قسمت مثبت و بالای مبداء مختصات بیانگر وجود اثر غالبیت نسبی در کنترل این صفت است.

نحوه پراکنش والدها در اطراف خط رگرسیون بیانگر این است که والد L8 که در قسمت بالای خط رگرسیون قرار گرفته دارای حداکثر ژن های مغلوب و والد L1 و L3 که در پائین‌ترین نقطه خط رگرسیون واقع شده دارای حداکثر فراوانی ژن‌های غالب است.

با مراجعه به جدول ۳ مشاهده می‌شود که والد L8 دارای بیشترین مقدارشدت آلودگی و والدهای L1 و L3 دارای کمترین میزان شدت آلودگی بودند. بنابراین می‌توان گفت شدت زیاد آلودگی، توسط گروهی از ژن‌های مغلوب و شدت کم آلودگی توسط گروهی از ژن‌های غالب کنترل می‌شود. به عبارت دیگر شدت کم آلودگی بر شدت زیاد آلودگی غالب و یا آلل‌های کاهنده صفت غالب هستند که این نتیجه با مقدار همبستگی بین جهتغلبه والدینی و مقدار والدین کاملاً مطابقت می‌کند بالاشوا و همکاران (Balashova, *et al.*, 1988) با استفاده از تلاقی دی‌آلل هفت لاین در بررسی کنترل ژنتیکی مقاومت به سیاهک معمولی، کنترل مقاومت را توسط هر دو گروه ژنی غالب و مغلوب اعلام کردند.

References

Ali, A., and Baggett, J.R. 1990. Inheritance of resistance to head smut disease in corn. Journal of Americn Society of Horticultural Science115: 668-670.

Balashova, N. N., lazu, M. N., and Yurku, A. I. 1988. Inheritance of resistance to common smut in maize hybrids under irrigated condition.Sel Genetika-USSR 24 (2): 682-688.

Bernard, R., Bourrier, M., and Olivier, J.L. 1992. Generation means analysis of resistance to head smut in maize.Agronomie 12: 303-306.

Bogachev, Y. I. 1992. Immunity characterization for resistance to *Ustilago zeae*. Kukuruza i Sorgo. 2: 44-45.

Bojanowski, H. 1969. Studies of inheritance of resistance to common smut in corn.Theoretical and Applied Genetics 39: 32-42.

Cao, R. H., Renu, J.H., and Wany, X.L. 1986. A study on the inheritance of resistance to maize head smut.Acta-Phyto-Patologica-Sinica.16 (2): 93-98.

Christansen, J. J. 1963. Corn Smut Caused by *Ustilago maydis*.American Phytopathological Societly,Monograph No. 241.

Griffing, B. 1956a. A generalized treatment of the use of diallel crosses in quantitative inheritance. Heredity 10: 31-50.

Griffing, B. 1956b. Concept of general and specific combining ability in relation to diallel crossing systems. Australian Journal of Biological Science 9: 463-493.

Hayman, B.I. 1954a. The analysis of variance of diallel tables. Biometrics. 10: 235-244.

Hayman, B.I. 1954b. The theory and analysis of diallel crosses. Genetics. 39: 789-80.

Kostandi, S.F., and Geisler, G. 1989. Maize smut induced by *Ustilago maydis* (D.C)Corda specific effect of smut intensity and location of galls on yield losses. Journal of Agronomy and Crop Science 163: 62-68.

Marton. C. H., Sundi, T., and Kovach, I. 1985. Resistance to common smut in two and three line and back cross hybrids and their parental components.Informatsionnyi-Byulleten'-po-Kukuruza 4:29-42.

Mather, K., and Jinks, J. L. 1971. Biometrical Genetics the Study of Continuous Variation. Cornell University Press. New York. 382 pp.

Okhovat, M. 2003. Cereal Diseases. University of Tehran Publications. 475 pp.

Pataky, J. K., Nankam. C. and Kerns, M.R. 1995. Evalution of a silk inoculation technique to differentiate reaction of sweet corn hybrids to common smut.Phytopathology 85: 1323-1328.

Pope, D. D., and McCarter, S. M. 1992. Evalution of inoculation methods for inducing common smut on corn ears. Phytopathology 82: 950-955.

Renfro, B. L. 1983. Genetic of resistance to disease in maize. CIMMYT, Mexico DF.

Shurtleff, M.C. 1986. Compendium of Corn Disease. American Phytopathological Society. 39 pp.

Thakur, R. P., Leonard, K. J., and Pataky, J. K. 1989. Smut gall development in adult corn plants inoculated with *ustilago maydis*. Plant Disease 73: 921-925.

Toit, L. J., and Pataky, J. K. 1999a. Effects of silk maturity and pollination on infection of maize ears by *Ustilago maydis*. Plant Disease 83: 621-626.

Toit, L. J., and Pataky, J. K. 1999b. Variation associated with silk channel inoculation for common smut of sweet corn.Plant Disease 83: 727-732.

Ullstrup, A. J. 1978. Corn diseases in the United State and their control, Agricultaral. Hand Book, No. 199. 21pp.

Whythe, I. V., and Gevers, H.O. 1988. Diallel analysis of resistance of eight maize inbred line to *Sphacelotheca reilianae*.Phytopathology 78: 65-68.

Zamani, M., and Estakhr, A. 2004. Reactions of different maize genotypes to Ustilago maydis, the causal agent of maize common smut. Proceedings of the 8th Iranian Congress of Agronimy and Plant Breeding. University of Guilan, Rasht. Page 273.