University of Guilan
Faculty of Agricultural Sciences

Cereal Research
Vol. 13, No. 2, Summer 2023 (163-174)
doi: 10.22124/CR.2023.24978.1778
pISSN: 2252-0163 eISSN: 2538-6115

RESEARCH PAPER OPEN ACCESS

# Screening of late maturing maize hybrids against the pathogenic fungus *Fusarium verticillioides* (Sacc.) Nirenberg

**Parisa Hemmati[1], Mohammad Ali Tajick Ghanbary[2*], Vahid Rahjoo[3], Behzad Ahmadi[3] and Valiollah Babaeizad[4]**

1. Ph.D. Student, Department of Plant Protection, Sari Agricultural Siences and Natural Resources University, Sari, Iran
2. Associate Professor, Department of Plant Protection, Sari Agricultural Siences and Natural Resources University, Sari, Iran ([*] Corresponding author: m.tajick@gmail.com)
3. Research Assistant Professor, Department of Maize and Forage Plants Research, Seed and Plant Improvement Institute, Agricultural Research, Education and Extension Organization (AREEO), Karaj, Iran
4. Associate Professor, Department of Plant Protection, Sari Agricultural Siences and Natural Resources University, Sari, Iran

**Comprehensive abstract**

**Introduction**

*Fusarium verticillioides* (Sacc.) Nirenberg causes maize ear rot in all maize-growing regions of the world and produces mycotoxins that contaminate maize grains. Therefore, it is considered an important species in terms of food health for both animal and human in the world. One of the best approaches to address this disease is to identify highly tolerant or resistant genotypes that can be used for genetic improvement. In this experiment, the resistance of 16 late maturing maize hybrids was evaluated for ear resistance, silk channel resistance, and resistance in the germination stage using three inoculation methods. The objective of the current study was to select the genotypes with high resistance in all three developmental stages.

**Materials and methods**

The seeds of 16 late maturing maize hybrids were obtained from the Maize and Forage Crops Research Depatment (MFCRD), Seed and Plant Improvement Institute (SPII), Karaj, Iran, and were planted in a randomized complete block design with three replications in the research field of MFCRD, in 2021. To inoculate the plants, the Kj7 isolate collected from infected maize ears in the field of MFCRD was used. Maize hybrids were screened with three methods. In the first method, the resistance of the studied hybrids was evaluated by the rolled paper method at the germination stage. In the second method, the ear resistance was assesed by creating a wound in the middle of the ear and injecting spore suspension, and in the third method, silk channel resistance was investigated by injecting spore suspension into the silk channel seven days after the appearance of silks. Data statistical analysis was done by analysis of variance and comparison of means with Duncan's test using SAS software.

**Research findings**

The results of analysis of variance and comparison of means showed that there was a significant difference among the studied 16 maize hybrids in terms of disease resistance with all three methods of artificial contamination. According to disease severity measurement in all three evaluated methods, the hybrids H3, H8, H11, H12 and H13 were selected as hybrids with high resistance against pathogenic fungus. These hybrids showed suitable resistance against all main methods of fungal infection and were superior hybrids compared to the other hybrids evaluated in this study in terms of resistance to

CC BY

maize ear rot caused by *F. verticillioides*. The implementation of these screening assays in maize breeding programs can be effective for classifying the degree of flexibility of maize genotypes to fusarium ear rot.

## Conclusion

The results of this experiment indicated that to evaluate the fusarium ear rot resistance of maize genotypes, the cob resistance method can be used as the main evaluation method especially in dry regions. Silk channel resistance can be used as a control method to evaluate the possible sensitivity of resistant or semi-resistant genotypes in humid areas where contamination with this method is important. Also, due to the different reaction of a number of hybrids investigated at the germination stage in this study and the possibility of the fungus growing as an endophyte in the plant, it is recommended to evaluate the new cultivars being introduced at this growth stage. Finally, hybrids should be introduced as resistant to this disease, which have shown a suitable reaction to the fungus in all three methods.

**Keywords:** Maize breeding, Mycotoxin, Resistant genotype, *Zea mays* L.

Received: Maech 7, 2023 Accepted: July 18, 2023

**Cite this article:**

**Hemmati, P., Tajick Ghanbary, M.A., Rahjoo, V., Ahmadi, B. and Babaeizad, V. 2023.** Screening late maturing maize hybrids against the pathogenic fungus *Fusarium verticillioides* (Sacc.) Nirenberg. *Cereal Research*, 13(2), pp. 163-174.

تحقیقات غلات
دوره سیزدهم، شماره دوم، تابستان ۱۴۰۲ (۱۷۴-۱۶۳)
doi: 10.22124/CR.2023.24978.1778
دانشگاه گیلان
دانشکده علوم کشاورزی
مقاله پژوهشی
دسترسی آزاد

# غربال هیبریدهای دیر رس ذرت در برابر قارچ بیمارگر *Fusarium verticillioides* (Sacc.) Nirenberg

**پریسا همتی[۱]، محمد علی تاجیک قنبری[۲]، وحید رهجو[۳]، بهزاد احمدی[۳] و ولی‌اله بابائی‌زاد[۴]**

۱- دانشجوی دکتری، گروه گیاهپزشکی، دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی ساری، ساری، ایران
۲- دانشیار، گروه گیاهپزشکی، دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی ساری، ساری، ایران (* نویسنده مسئول: m.tajick@gmail.com)
۳- استادیار پژوهش، بخش تحقیقات ذرت و گیاهان علوفه‌ای، موسسه تحقیقات اصلاح و تهیه نهال و بذر، سازمان تحقیقات، آموزش و ترویج کشاورزی، کرج، ایران
۴- دانشیار، گروه گیاهپزشکی، دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی ساری، ساری، ایران

## چکیده جامع

**مقدمه:** قارچ *Fusarium verticillioides* (Sacc.) Nirenberg عامل پوسیدگی بلال در تمامی مناطق ذرت‌کاری دنیا است و مواد سمی تولید می‌کند که دانه‌های ذرت را آلوده می‌کنند و به‌همین دلیل، یک گونه مهم از نظر بهداشت غذایی دام و انسان در جهان محسوب می‌شود. یکی از بهترین راهکارها برای مقابله با این بیماری، شناسایی ژنوتیپ‌های بسیار مقاوم است که می‌توانند برای بهبود ژنتیکی مورد استفاده قرار گیرند. در این آزمایش، مقاومت ۱۶ هیبرید دیررس ذرت از نظر مقاومت بلال، کانال سیلک و مقاومت در مرحله جوانه‌زنی با استفاده از سه روش مایه‌زنی ارزیابی شد. هدف از اجرای آزمایش نیز انتخاب ژنوتیپ‌های با مقاومت بالا در هر سه مرحله رشدی بود.

**مواد و روش‌ها:** بذر ۱۶ هیبرید دیررس ذرت از بخش تحقیقات ذرت و گیاهان علوفه‌ای موسسه تحقیقات اصلاح و تهیه نهال و بذر کرج تهیه و در قالب طرح بلوک‌های کامل تصادفی با سه تکرار در مزرعه بخش تحقیقات ذرت و گیاهان علوفه‌ای در سال زراعی ۱۴۰۰ کشت شد. برای مایه‌زنی گیاهان، از جدایه Kj7 جمع‌آوری شده از بلال‌های آلوده ذرت در مزرعه تحقیقاتی بخش تحقیقات ذرت و گیاهان علوفه‌ای در کرج استفاده شد. غربال‌گری هیبریدهای ذرت با سه روش انجام شد. در روش اول، مقاومت هیبریدهای مورد مطالعه با روش کاغذ رول شده در مرحله پس از جوانه‌زنی ارزیابی شد. در روش دوم، مقاومت بلال با روش ایجاد زخم در وسط بلال و تزریق سوسپانسیون اسپور مورد بررسی قرار گرفت و در روش سوم، مقاومت کانال سیلک با روش تزریق سوسپانسیون اسپور به کانال سیلک هفت روز بعد از ظهور سیلک‌ها ارزیابی شد. تجزیه و تحلیل آماری داده‌ها با روش تجزیه واریانس و مقایسه میانگین‌ها با آزمون دانکن با استفاده از نرم‌افزار SAS انجام شد.

**یافته‌های تحقیق:** نتایج حاصل از تجزیه واریانس و مقایسه میانگین‌ها نشان داد که تفاوت بسیار معنی‌داری در بین ۱۶ هیبرید ذرت مورد مطالعه از نظر مقاومت به بیماری با هر سه روش آلودگی مصنوعی وجود داشت. با توجه به اندازه‌گیری شدت بیماری در هر سه روش ارزیابی شده، هیبریدهای H3، H8، H11، H12 و H13 به‌عنوان هیبریدهای با مقاومت بالا در برابر قارچ بیمارگر انتخاب شدند. این هیبریدها، مقاومت مناسبی در مقابل تمامی مسیرهای اصلی آلودگی قارچ از خود نشان دادند و

از نظر مقاومت به بیماری پوسیدگی بلال ذرت ناشی از *F. verticillioides* نسبت به سایر هیبریدهای بررسی شده در این مطالعه برتری داشتند. اجرای این سنجش‌های غربال‌گری در برنامه‌های اصلاح نژاد ذرت می‌تواند برای طبقه‌بندی درجه انعطاف‌پذیری ژنوتیپ‌های ذرت به پوسیدگی فوزاریومی بلال موثر باشد.

**نتیجه‌گیری:** نتایج این آزمایش نشان داد که برای ارزیابی مقاومت ژنوتیپ‌های ذرت به پوسیدگی فوزاریومی بلال ذرت به‌ویژه در مناطق خشک، می‌توان از روش ارزیابی مقاومت بلال به‌عنوان روش اصلی استفاده کرد. ارزیابی مقاومت کانال سیلک می‌تواند به‌عنوان یک روش کنترلی برای ارزیابی حساسیت احتمالی ژنوتیپ‌های مقاوم و یا نیمه‌مقاوم در مناطق مرطوب که آلودگی با این روش اهمیت دارد، استفاده شود. همچنین، با توجه به واکنش متفاوت تعدادی از هیبریدهای بررسی شده در این مطالعه در مرحله جوانه‌زنی و امکان رشد قارچ به‌صورت اندوفیت در گیاه، توصیه می‌شود رقم‌های جدید در حال معرفی در این مرحله رشدی هم ارزیابی شوند. در مجموع هیبریدهایی به‌عنوان مقاوم به بیماری معرفی شوند که در هر سه روش واکنش مناسبی به قارچ نشان داده‌اند.

**واژه‌های کلیدی:** اصلاح نژاد ذرت، ژنوتیپ مقاوم، مایکوتوکسین، *Zea mays* L.

---

تاریخ دریافت: ۱۴۰۱/۱۲/۱۶ تاریخ پذیرش: ۱۴۰۲/۰۴/۲۷

**نحوه استناد به این مقاله:**

**همتی، پریسا، تاجیک قنبری، محمدعلی، رهجو، وحید، احمدی، بهزاد و بابائی‌زاد، ولی‌اله. ۱۴۰۲.** غربال هیبریدهای دیررس ذرت در برابر قارچ بیمارگر *Fusarium verticillioides* (Sacc.) Nirenberg. *تحقیقات غلات*، ۱۳(۲): ۱۷۴-۱۶۳.

**مقدمه**

ذرت (*Zea mays* L.) یکی از مهم‌ترین محصولات زراعی در جهان است که با توجه به تقاضای بالای آن به‌عنوان یک منبع غذایی ارزشمند برای انسان و حیوانات و یک ماده خام برای استفاده در صنعت و سوخت‌های زیستی (Ranum *et al*., 2014)، تولید آن با سرعت بیش‌تری نسبت به سایر غلات در حال افزایش است (Roman *et al*., 2020). با این‌حال، کشت تک‌محصولی ذرت و یکنواختی ژنتیکی آن (به‌دلیل کم بودن منابع ژنتیکی متنوع در ارقام تجاری ذرت) امکان استقرار عوامل بیماری‌زا را فراهم می‌کند (Power, 1987; Liu *et al*., 2003). قارچ‌ها اصلی‌ترین عوامل بیماری‌زای گیاهی در تولید ذرت هستند که در بین آن‌ها، گونه‌های مختلف قارچ فوزاریوم (*Fusarium* spp.) به‌دلیل توانایی بالا در آلوده‌سازی ریشه‌ها، ساقه‌ها، بذرها و بلال‌ها اهمیت بالایی دارند (Munkvold, 2003). این قارچ‌ها علاوه بر کاهش عملکرد گیاه، با تولید مایکوتوکسین‌های فومونیزین که بر روی پستانداران قابلیت سرطان‌زایی دارند، کیفیت و سلامت محصول تولید شده را تهدید می‌کنند (Holbert *et al*., 1924; Munkvold, 2003).

در ایران، پوسیدگی فوزاریومی بلال ذرت به‌وسیله سه گونه خویشاوند *Fusarium* یعنی *F. verticillioides* (Sacc) Nirenberg، *F. proliferatum* (Matsush) Nirenberg و *F. subglutinans* (Wollenw and Reinking) P.E. Nelson, Toussoun ایجاد می‌شود که *F. verticillioides* غالب‌ترین گونه جدا شده از دانه‌های آلوده است (Rahjoo *et al*., 2008). بیماری تا زمان کشف ارتباط بین مایکوتوکسین‌های فومونیزین با *F. verticillioides* و *F. proliferatum* از اهمیت عمده‌ای برخوردار نبود (Mesterházy *et al*., 2012). جنس فوزاریوم می‌تواند ذرت را در هر مرحله رشدی از گیاه آلوده کند (Duncan *et al*., 2010; Gai *et al*., 2018). فوزاریوم‌ها از انواع انگل‌های همی‌بایوتروف (Hemibiotroph) هستند، به این معنی که یک مرحله بایوتروف روی میزبان زنده و سپس یک مرحله نکروتروف روی بافت مرده دارند (Duncan, 2010). نکته مهم این است که پس از برداشت محصول، قارچ می‌تواند در بقایای باقی‌مانده در مزارع، زمستان‌گذرانی و گیاهان را دوباره در چرخه زراعی بعدی آلوده کند (Dorn *et al*., 2011).

استفاده از ژنوتیپ‌های ذرت مقاوم یا نیمه‌مقاوم به بیماری در تمام مراحل رشدی گیاه می‌تواند به کاهش حضور عامل بیماری‌زا در گیاه و کاهش فومونیزین تولید شده کمک کند (Zila *et al*., 2011). با این‌حال، برنامه‌های اصلاحی عمدتاً برای پوسیدگی بلال انتخاب می‌شوند، زیرا ساده‌ترین علامت قابل مشاهده فوزاریوم برای تمایز بین ژنوتیپ‌ها در مزرعه است (Stagnati *et al*., 2019). این انتخاب تنها زمانی امکان‌پذیر است که شرایط محیطی برای بیمارگر مساعد باشد تا علائم قابل مشاهده را ایجاد کند. مقاومت بلال در کاهش ایجاد بیماری پوسیدگی فوزاریومی بلال ذرت اهمیت دارد، اما منابع این مقاومت در مقایسه با منابع مقاومت سیلک بسیار محدود است (Presello *et al*., 2005).

اولین قدم برای انتخاب ژنوتیپ‌های مقاوم در برابر *Fusarium* spp. در یک برنامه اصلاحی، ایجاد یک پروتکل موثر برای تمایز بین ژنوتیپ‌ها در مراحل رویشی و زایشی است. تکنیک‌های مایه‌زنی باید دارای سطوح پاسخ کافی برای ایجاد تغییرات قابل اندازه‌گیری یا ایجاد آسیب در گیاه باشند تا توانایی تمایز افراد مقاوم را داشته باشند (Mesterházy *et al*., 2012). اندازه‌گیری مقاومت یا حساسیت به بیماری معمولاً از طریق مقایسه شدت بیماری بین گیاهانی که با مقدار مساوی زادمایه و روش آلوده‌سازی یکسان مایه‌زنی شده‌اند، امکان‌پذیر است (Singh and Singh, 2005; Eller *et al*., 2008). با توجه به وجود سه مسیر اصلی برای آلوده شدن گیاه ذرت توسط *F. verticillioides* (فرود کنیدی‌ها روی سیلک و تولید میسلیوم آلوده کننده بلال، ایجاد زخم توسط حشرات و آلوده شدن بلال و سیستمیک شدن بیماری در نتیجه آلودگی بذرزاد یا آلودگی از طریق ساقه)، توصیه می‌شود تا ارزیابی مقاومت بر اساس روش غالب آلوده شدن گیاهان در منطقه مورد بررسی انجام شود. در این آزمایش، واکنش هیبریدهای دیررس ذرت در برابر بیماری پوسیدگی فوزاریومی بلال، از طریق هر سه مسیر اصلی آلوده کننده قارچ ارزیابی شد. هدف از اجرای این آزمایش نیز شناسایی و معرفی هیبریدهایی بود که واکنش مقاومت مناسبی در برابر هر سه روش داشته باشد.

**مواد و روش‌ها**

بذر ۱۶ هیبرید دیررس ذرت (جدول ۱) از بخش تحقیقات ذرت و گیاهان علوفه‌ای موسسه تحقیقات اصلاح

و تهیه نهال و بذر کرج تهیه و در قالب طرح بلوک‌های کامل تصادفی با سه تکرار در مزرعه تحقیقات ذرت و گیاهان علوفه‌ای در سال زراعی ۱۴۰۰ کشت شدند. جهت ممانعت از ایجاد آلودگی سیستمیک در گیاهان قبل از اعمال روش‌های آلوده‌سازی مصنوعی، بذرها با قارچ‌کش متالاکسیل-ام (۱۰ گرم در لیتر) ضدعفونی شدند. برای مایه‌زنی گیاهان، از جدایه Kj7 جمع‌آوری شده از بلال‌های آلوده ذرت در مزرعه تحقیقاتی بخش تحقیقات ذرت و گیاهان علوفه‌ای استفاده شد. پس از اثبات گونه قارچ با استفاده از روش‌های مورفولوژیک (Leslie and Summerell, 2006)، بیماری‌زا بودن جدایه روی ساقه‌هی ذرت کاشته شده در گلخانه با روش هوکر و همکاران ارزیابی شد. سوسپانسیون اسپور با روش کشت جدایه‌های قارچ *F. verticillioides* روی محیط کشت PDA و نگهداری کشت‌ها به‌مدت پنج روز در دمای ۲۸ درجه سلسیوس، تهیه شد. سوسپانسیون کنیدی با اضافه کردن آب مقطر استریل جدا شده و با کشیدن یک لام روی سطح محیط کشت، جمع‌آوری شدند (Clements *et al.*, 2003). در نهایت با استفاده از یک لام هموسیتومتر و شمارش کنیدی‌ها، سوسپانسیون کنیدی با غلظت $10^6$ کنیدی در میلی‌لیتر تهیه شد (Löffler *et al.*, 2010).

غربال‌گری هیبریدهای ذرت با سه روش انجام شد. در روش اول مقاومت هیبریدهای دیررس در مرحله پس از جوانه‌زنی (VE, Seed rot) و با روش کاغذ رول شده (The rolled paper technique) ارزیابی شد (Warham *et al.*, 1996). برای هر ژنوتیپ هفت بذر ضدعفونی شده روی کاغذ کرفت استریل (۳۲×۱۹ سانتی‌متر) مرطوب شده با آب مقطر استریل قرار گرفت. بذرها با ۱۰۰ میکرولیتر سوسپانسیون اسپور جدایه Kj7 مایه‌زنی شدند. کاغذها در نایلون زیپ‌دار قرار داده شد و در اتاقک رشد با فتوپریود ۱۶:۸ ساعت روشنایی:تاریکی و ۷۰ درصد رطوبت به‌مدت هفت روز قرار گرفتند. برای هر ژنوتیپ، آزمایش سه مرتبه تکرار شد. بعد از این مدت، هیبریدها با مقیاس ۵-۱ نمره‌دهی شدند (Eller *et al.*, 2011). به اختصار نمره ۵ به بذرهای کاملاً کلنیزه شده توسط میسلیوم قارچ، نمره ۴ به گیاهچه‌های دارای ۷۵ درصد نکروز در ریشه، نمره ۳ به گیاهچه‌های دارای ۷۴-۲۰ درصد نکروز در ریشه‌ها، نمره ۲ به گیاهچه‌های دارای ۱-۱۹ درصد نکروز ریشه و نمره ۱ به گیاهچه‌های سالم و فاقد علامت اختصاص یافت.

در روش دوم، مقاومت بلال (Kernal resistance) با روش ایجاد زخم با استفاده از Nail punch (شامل یک میخ به قطر ۲/۴ میلی‌متر است که حدود ۱/۵ سانتی‌متر آن در دسته چوبی فرو رفته است) در وسط بلال و تزریق سوسپانسیون اسپور ارزیابی شد (Reid *et al.*,2009). آلوده‌سازی بلال‌ها هفت تا ده روز بعد از گرده‌افشانی و زمانی که سیلک‌ها شروع به قهوه‌ای شدن کردند، انجام شد (Reid *et al.*, 2003). دو میلی‌لیتر از سوسپانسیون اسپور با غلظت $10^6$ کنیدی در میلی‌لیتر به داخل زخمی به‌طول دو سانتی‌متر که در وسط بلال ایجاد شده بود، تزریق شد. در روش سوم، مقاومت کانال سیلک (Silk channel resistance) با روش تزریق سوسپانسیون اسپور هفت روز بعد از ظهور سیلک‌ها به کانال سیلک ارزیابی شد (Presello *et al.*, 2008). در هر دو روش اخیر، حدود دو ماه بعد از مایه‌زنی (مرحله فنولوژیک $R_6$)، تعداد ۱۰ بلال مایه‌زنی شده از هر ژنوتیپ برداشت و شدت بیماری بر اساس مقیاس ۷-۱ اندازه‌گیری شد که در آن، ۱- عدم مشاهده آلودگی روی سطح بلال‌ها، ۲- آلوده شدن ۳-۱ درصد از دانه‌های اطراف محل مایه‌زنی، ۳- آلوده شدن ۱۰-۴ درصد از دانه‌های اطراف محل مایه‌زنی، ۴- آلودگی ۲۵-۱۱ درصد از دانه‌های اطراف محل مایه‌زنی، ۵- آلوده شدن ۵۰-۲۶ درصد از دانه‌های اطراف محل مایه‌زنی، ۶- آلوده شدن ۷۵-۵۱ درصد از دانه‌های اطراف محل مایه‌زنی، ۷- آلوده شدن ۱۰۰-۷۶ درصد از دانه‌های بلال (Reid and Zhu, 2005) می‌باشد. مقاومت به پوسیدگی فوزاریومی بلال ذرت بر اساس شدت بیماری نیز به‌شرح زیر تعیین شد. ژنوتیپ‌های فاقد هر گونه آلودگی فوزاریومی به‌عنوان بسیار مقاوم به بیماری (Highly resistant)، ژنوتیپ‌های با نمره ۲ و ۳ که بین یک تا ۱۰ درصد آلودگی نشان دادند به‌عنوان مقاوم، بلال‌های دارای ۲۵-۱۱ درصد آلودگی به‌عنوان نیمه‌مقاوم (Moderately resistant)، ژنوتیپ‌های با نمره ۵ به‌عنوان نیمه‌حساس (Moderately susceptible)، آلودگی بین ۵۱-۷۵ درصد به‌عنوان حساس و ژنوتیپ‌های با نمره ۷ به‌عنوان شدیداً حساس (Highly susceptible) در نظر گرفته شدند.

برای داده‌های هر روش، تجزیه و تحلیل واریانس انجام شد و سپس میانگین عوامل و اثرات متقابل معنی‌دار با استفاده از آزمون دانکن با نرم‌افزار SAS مقایسه شد.

**نتایج**

تمامی هیبریدهای دیررس بررسی شده در این مطالعه، پاسخ‌های متغیری را به هر سه روش ارزیابی مقاومت به بیماری نشان دادند. روش کاغذ صافی مرطوب به‌عنوان یک روش آزمایشگاهی برای ارزیابی مقاومت بذرها و گیاهچه‌ها در برابر آلودگی بذر در نتیجه تماس با زادمایه خاکزاد قارچ یا میسلیوم اندوفیت قارچ در داخل بذر استفاده شد. روش ایجاد زخم در بلال و تزریق سوسپانسیون اسپور برای بررسی مقاومت بلال و روش تزریق سوسپانسیون اسپور به سیلک برای ارزیابی واکنش هیبریدها به مقاومت کانال سیلک استفاده شدند. در بین ژنوتیپ‌های بررسی شده از نظر مقاومت به بیماری با هر سه روش آلودگی مصنوعی اختلاف معنی‌داری ($P<0.01$) وجود داشت (جدول ۱).

شاخص شدت بیماری ارزیابی شده در مرحله پیش از جوانه‌زنی (پوسیدگی بذر) با روش کاغذ صافی مرطوب بین ۱/۳ تا ۴ درصد متغیر بود. هیبریدهای H1 و H15 با بالاترین شاخص شدت بیماری، حساس‌ترین ژنوتیپ‌ها به پوسیدگی فوزاریومی در مرحله جوانه‌زنی بذر بودند. بعد از آنها، هیبریدهای H4، H9 و H16 به پوسیدگی فوزاریومی در نتیجه تماس بذر با زادمایه خاکزاد حساس هستند. در مقابل هیبریدهای H5، H6 و H12 با بیش‌ترین بذر جوانه زده و کم‌ترین میزان نکروز ریشه‌چه توسط ریسه‌های قارچ، مقاوم‌ترین ژنوتیپ‌ها به بیماری در مرحله بذری ارزیابی شدند (جدول۲). سایر هیبریدهای بررسی شده در این مرحله رویشی، نیمه‌مقاوم به بیماری ناشی از قارچ *F. verticillioides* بودند. کلونیزاسیون کامل بذر و عدم جوانه‌زنی یا عدم آلوده شدن بذر با قارچ در هیچ‌یک از هیبریدها مشاهده نشد.

هیبریدهای بررسی شده در این مطالعه، از نظر مقاومت به آلودگی کانال سیلک واکنش متنوعی از خود نشان دادند (جدول ۱) ولی هیچ‌کدام از هیبریدهای ارزیابی شده، کاملا مقاوم به بیماری نبودند (جدول ۲). تنوع مشاهده شده بین هیبریدها از نظر واکنش به آلودگی از طریق کانال سیلک، بسیار کم بود و ژنوتیپ‌ها در دو گروه نیمه مقاوم و حساس دسته‌بندی شدند. ۱۳ هیبرید از مجموع ۱۶ هیبرید دیررس بررسی شده با روش تزریق سوسپانسیون اسپور به کانال سیلک، شدت بیماری بین ۱۲ تا ۲۳ درصد داشتند که بر اساس شاخص تعریف شده توسط رید و ژو (Reid and Zhu, 2005) جزو ژنوتیپ‌های نیمه‌مقاوم دسته‌بندی می‌شوند. تنها سه هیبرید H6، H7 و H9 شاخص بیماری بین ۲۶ تا ۵۰ درصد داشتند و این هیبریدها از نظر مقاومت کانال سیلک جزء هیبریدهای حساس به بیماری پوسیدگی فوزاریومی بلال ذرت قرار می‌گیرند.

تنوع موجود بین هیبریدهای دیررس از نظر مقاومت بلال بسیار بالاتر از مقاومت کانال سیلک بود. هیبریدهای مطالعه شده از نظر واکنش به آلودگی ناشی از ایجاد زخم در بلال، از نظر مقاومت در سه گروه کاملاً مقاوم، نیمه‌مقاوم و مقاوم دسته‌بندی شدند. هیچ‌کدام از هیبریدهای آلوده شده از طریق ایجاد زخم در بلال، حساس به بیماری نبودند و شاخص شدت بیماری در این روش زیر ۲۶ درصد محاسبه شد. از مجموع ۱۶ هیبرید بررسی شده از نظر مقاومت بلال، دو هیبرید H8 و H11 با شاخص شدت بیماری زیر چهار درصد به‌عنوان هیبریدهای کاملاً مقاوم به بیماری گزارش می‌شوند. نه هیبرید (H1، H4، H5، H6، H7، H10، H12، H13 و H14) با شاخص شدت بیماری ۴ تا ۱۰ درصد، هیبریدهای مقاوم به بیماری هستند. پنج هیبرید باقی مانده هم با شدت بیماری ۱۱ تا ۲۴ درصد در گروه هیبریدهای نیمه‌مقاوم به بیماری دسته‌بندی می‌شوند.

**بحث**

از آنجایی‌که گونه‌های فوزاریوم همی‌بایوتروف هستند (Ma *et al*., 2013) و می‌توانند ذرت را در هر مرحله از رشد آلوده کنند، غربال‌گری برای انتخاب ژنوتیپ مقاوم به بیماری در مراحل رویشی و زایشی ضروری است. در این مطالعه، مقاومت هیبریدهای ذرت به سه مسیر اصلی آلودگی گیاه توسط قارچ مورد ارزیابی قرار گرفت تا امکان غربال ژنوتیپ‌های ذرت از نظر تحمل/مقاومت یا حساسیت به پوسیدگی فوزاریومی بلال ذرت فراهم شود. از آنجایی‌که شدت آلودگی طبیعی ناشی از *F. verticillioides* در سال‌های متفاوت ثابت نیست، محققان ذرت از روش‌های مایه‌زنی مصنوعی ژنوتیپ‌ها با اسپور قارچ برای آلوده‌سازی گیاهان مورد ارزیابی استفاده می‌کنند (Schafsma *et al*., 1997). همچنین برای اطمینان از توزیع یکسان بیمارگر برای همه گیاهان در مزرعه، مایه‌زنی مصنوعی مورد نیاز است (Munkvold and Desjardins, 1997). در حال حاضر، تنها راه برای غربال‌گری مقاومت در برابر پوسیدگی فوزاریومی بلال ذرت، ارزیابی در مزرعه است.

جدول ۱- تجزیه واریانس شدت بیماری هیبریدهای دیررس ذرت

Table 1. Analysis of variance for disease severity of late-maturing maize hybrids

| Source of variation | df | Ear resistance | Silk resistance | Pre-germination resistance |
|---|---|---|---|---|
| Replication | 2 | 1.28$^{ns}$ | 25.27$^{ns}$ | |
| Genotype | 15 | 86.07** | 140.37** | 1.94** |
| Error | 30 | 3.99 | 29.75 | 0.39 |

$^{ns}$ and * Not-significant and significant at 1% probability level, respectively.

جدول ۲- خلاصه رفتار هیبریدهای ذرت در مقابل قارچ *F. verticillioides* در غربالگری با سه روش مایه‌زنی

Table 2. Summary of the behavior of maize hybrids against *F. verticillioides* in screening with three inoculation methods

| Code | Hybrid | Silk resistance† | Kernal resistance† | VE stage resistance† |
|---|---|---|---|---|
| H1 | KLM91005/3-1-2-2-2-1×B73 | 21.66bc (MR) | 10de (R) | 4a (S) |
| H2 | KLM91001/2-2-2-1-2-2×B73 | 21.66bc (MR) | 14bc (MR) | 2cde (MR) |
| H3 | KLM91001/2-2-2-2-1-1×B73 | 12.33c (MR) | 11cd (MR) | 2cde (MR) |
| H4 | KLM91001/2-2-2-2-1-2×B73 | 14c (MR) | 6.33ef (R) | 3abc (S) |
| H5 | KLM8918/1-4-1-1-2-1-2-1×B73 | 23bc (MR) | 10de (R) | 1.3e (R) |
| H6 | KLM8915/1-3-1-8-2-2-1-1×B73 | 35a (S) | 6.6ef (R) | 1.6de (R) |
| H7 | KLM8917/1-8-1-1-1-1-1-1×B73 | 35a (S) | 6.3ef (R) | 2.6bcd (MR) |
| H8 | K47/2-2-1-4-1-1-1×K3640/3 | 16.6bc (MR) | 3.5fg (HR) | 2.3bcde (MR) |
| H9 | K47/2-2-1-4-2-1-1-1×K1264/5-1 | 27ab (S) | 11cd (MR) | 3abc (S) |
| H10 | K74/1×K1264/5-1 | 20bc (MR) | 9de (R) | 2.6bcd (MR) |
| H11 | KLM76004/3-5-1-2-2-1-1-1×K1264/5-1 | 14c (MR) | 2.33g (HR) | 2.6bcd (MR) |
| H12 | K18×2-CHTHIY,2002/90/77-3×K3640/3 | 16.6bc (MR) | 7.33de (R) | 1.3e (R) |
| H13 | K47/2-2-1-2-2-1-1-1×K3640/3 | 15c (MR) | 6.66ef (R) | 2.3bcde (MR) |
| H14 | KLM82010/1×K3640/3 | 22.6bc (MR) | 6.33ef (R) | 2.6bcd (MR) |
| H15 | KSC704 | 17.3bc (MR) | 16.3b (MR) | 4a (S) |
| H16 | KSC706 | 18.3bc (MR) | 24.3a (MR) | 3.3ab (S) |

† VE, post-germination stage; R, resistant; MR, moderately resistant; HR, highly resistant; S, susceptible.

سطح رضایت‌بخشی از آلودگی و تمایز ژنوتیپی قابل اعتماد در شرایط گلخانه‌ای به‌دست نیامده است و هیچ روش آزمایشگاهی یا آزمایش گیاهچه‌ای وجود ندارد که بتوان از آن برای غربال‌گری مقاومتی که در یک گیاه کاملاً بالغ نشان داده می‌شود، استفاده کرد (Reid *et al.*,1996). آلوده‌سازی بلال از طریق دانه‌ها و سیلک بهترین روش‌ها برای ارزیابی مقاومت ژنتیکی به بیماری هستند (Munkvold and Desjardins, 1997; Robertson *et al.*, 2006). این روش‌ها بر اساس دو روش معمول آلودگی طبیعی در مزرعه پیشنهاد شده‌اند. روش اول، مایه‌زنی مکانیکی شامل روش‌های ایجاد زخم در بلال است که معمولاً حمله حشرات را شبیه‌سازی می‌کنند، زیرا بسیاری از موانع مورفولوژیک گیاه را دور می‌زند. روش دوم، مایه‌زنی از طریق پخش سوسپانسیون اسپورها روی کانال سیلک یا تزریق به درون کانال سیلک که مشابه شرایط آلوده شدن طبیعی یک گیاه میزبان غیرزخمی است. مطالعاتی در ارتباط با مقایسه همبستگی بین مقاومت بلال و کانال سیلک انجام شده است که نتایج آن‌ها نشان‌دهنده همبستگی متفاوت بین دو روش بود (Chungu *et al.*, 1996; Lemmens, 2010; Loffer *et al.*, 2010). لمنس (Lemmens, 2010) همبستگی پایینی (r=0.12) را بین دو نوع مقاومت گزارش کرد. همچنین واکنش ژنوتیپ‌های مختلف به هر دو نوع مقاومت با یکدیگر متفاوت بود و ژنوتیپ‌های کمی به هر دو روش، واکنش مناسبی نشان دادند (Loeffer *et al.*, 2010). با در نظر گرفتن واکنش متفاوت ژنوتیپ‌ها به هر دو روش آلودگی طبیعی و اهمیت ارتباط بین مقاومت کانال سیلک و بلال به‌عنوان دو روش موازی هم، توصیه می‌شود تا از هر دو روش برای ارزیابی مقاومت منابع گیاهی مورد بررسی استفاده شود (Mesterhazy *et al.*, 2011) و در نهایت ژنوتیپ‌های دارای واکنش مناسب در هر دو روش به‌عنوان مقاوم معرفی شوند.

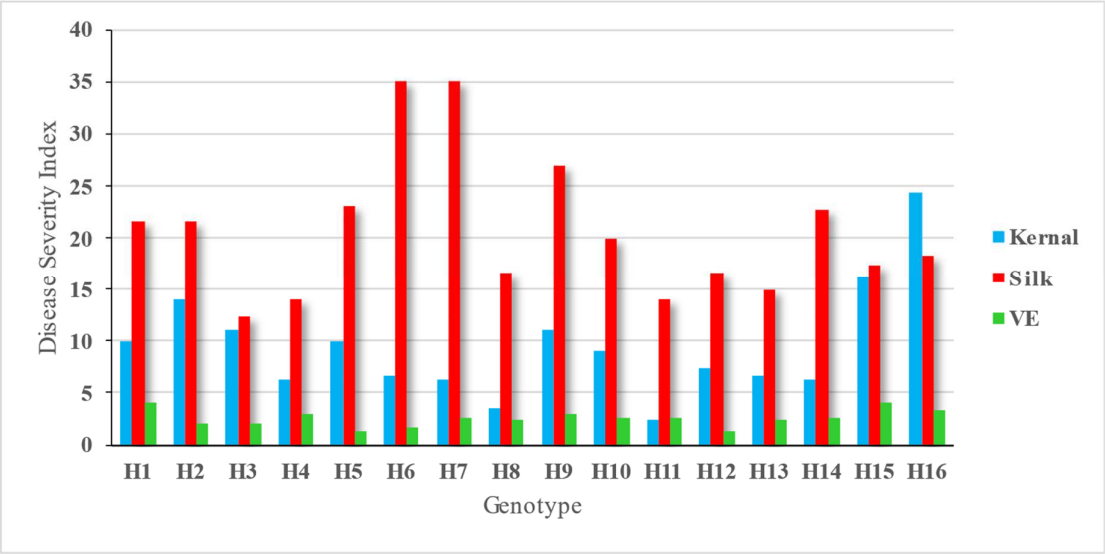
نتایج حاصل از مقایسه مقاومت ۱۶ هیبرید دیررس ذرت با هر دو روش آلوده‌سازی، نشان داد که بیش‌تر آن‌ها سطح مقاومت نسبتاً یکسانی را در هر دو روش از یکدیگر نشان دادند و تنها سه ژنوتیپ با سطح مقاومت متفاوت در برابر هر دو روش ورود قارچ وجود داشت (جدول۲). به‌عنوان مثال، در روش تزریق کانال سیلک، هیبریدهای H6، H7 و H9 حساس به بیماری بودند، در حالی‌که از نظر مقاومت نوع اول (مقاومت بلال)، این ژنوتیپ‌ها به‌عنوان هیبریدهای مقاوم/ نیمه‌مقاوم معرفی شدند. این نتایج نشان می‌دهد که این هیبریدها که در روش ارزیابی مزرعه‌ای از طریق ایجاد زخم در بلال به‌عنوان ژنوتیپ مقاوم معرفی شده است، اگر در شرایط طبیعی مزرعه در محیط با آلودگی بالای کنیدی‌های هوابرد کشت شوند، ممکن است واکنشی کاملاً متفاوت از خود نشان دهند و کاملاً حساس به بیماری ارزیابی شوند.

کاربرد روش ارزیابی ژنوتیپ‌ها با روش تزریق اینوکلوم به‌داخل کانال سیلک، در مقایسه با روش ایجاد زخم در بلال، تمایز کم‌تری بین ژنوتیپ‌ها از نظر مقاومت به بیماری ایجاد کرد. به‌طوری‌که ژنوتیپ‌ها از نظر مقاومت به بیماری به دو گروه نیمه‌مقاوم، نیمه‌مقاوم و حساس دسته‌بندی شدند. به استثنای سه هیبرید حساس به بیماری با این روش اختلاف چندانی بین سایر ژنوتیپ‌ها مشاهده نشد و تمامی آنها در گروه نیمه‌مقاوم قرار گرفتند. این در حالی است که تمایز ایجاد شده بین ژنوتیپ‌ها از نظر واکنش به بیماری در روش ارزیابی مقاومت نوع اول (بلال)، بسیار متنوع‌تر بود و هیبریدها در سه گروه کاملاً مقاوم، مقاوم و نیمه‌مقاوم قرار گرفتند. شدت بیماری ایجاد شده در روش ارزیابی مقاومت سیلک، بسیار بالاتر از روش ایجاد زخم در بلال بود، به‌طوری‌که در روش تزریق کانال سیلک، نیمه‌مقاوم‌ترین هیبرید (H3)، شدت بیماری ۱۲/۳ درصد و حساس‌ترین هیبریدها (H6, H7) شدت بیماری ۳۵ درصد داشتند. عدد شدت بیماری در روش ایجاد زخم برای هیبرید نیمه‌مقاوم (H16) ۲۴/۳ درصد و برای هیبرید بسیار مقاوم (H11) ۲/۳ بود.

از آنجایی‌که ممکن است آلودگی ذرت به قارچ فوزاریوم در هفته‌های اول پس از کاشت بذر اتفاق بیفتد، ایجاد پروتکلی برای ارزیابی این مرحله از گیاه برای انتخاب ژنوتیپ‌های نیمه‌مقاوم مهم است (Roman *et al*., 2020). بنابراین، علاوه بر دو روش ذکر شده، واکنش هیبریدهای دیررس به قارچ *F. verticillioides* در مرحله پس از جوانه‌زنی بذر (مرحله VE) هم ارزیابی شدند. هیبریدها با این روش در سه گروه حساس، نیمه‌مقاوم و مقاوم دسته‌بندی شدند. هیبریدهایی از قبیل H1، H4، H12، H15 و H16 که در مرحله زایشی (R6) از نظر مقاومت سیلک و بلال به‌عنوان هیبریدهای مقاوم یا نیمه‌مقاوم گزارش شده بودند، در مرحله رویشی جزء هیبریدهای حساس دسته‌بندی شدند. هیبرید H9 هم که در مرحله رویشی واکنش حساسیت از خود نشان داده بود، از نظر مقاومت سیلک به‌عنوان هیبرید حساس دسته‌بندی شد، ولی از نظر مقاومت بلال جزء هیبریدهای نیمه‌مقاوم بود (شکل ۱).

مایه‌زنی بلال‌ها توسط ایجاد زخم ثابت کرد که یک روش با کارایی بالا است که قادر به غربال‌گری جمعیت‌ها در مرحله تولیدمثل ذرت در برنامه‌های اصلاحی است و می‌تواند توسعه ژنوتیپ‌های ذرت با مقاومت بالا به *F. verticillioides* را تسهیل کند. مانکولد و دسجاردین (Munkvold and Desjardin, 1997) با توجه به نقش انواع مقاومت، استدلال کردند که *F. verticillioides* بیش‌تر از طریق سیلک ذرت‌ها را آلوده می‌کند. بنابراین، مایه‌زنی سیلک روش مناسبی برای ارزیابی مقاومت است که علت کاربرد گسترده آن در بررسی مقاومت ژنوتیپ‌ها را توضیح می‌دهد. با این‌حال، مطالعات زیادی وجود دارد که ارزیابی مقاومت بلال به‌دلیل پایداری بالاتر را مفیدتر می‌دانند (Chungu *et al*., 1996; Löffler *et al*., 2009; Löffler *et al*., 2010; Lanubile *et al*., 2014; Szabo *et al*., 2018). بیش‌تر ژنوتیپ‌هایی که با دو روش ارزیابی شده‌اند، واکنش مشابهی را به آلودگی ناشی از هر دو روش نشان داده‌اند (Eller *et al*., 2008). بیش‌تر مطالعات انجام شده در این زمینه، این نتیجه را تأیید کردند که همبستگی‌های بین دو جزء مقاومت اغلب با هم هم‌پوشانی دارند و تعداد زیادی از هیبریدها به‌طور مشابه به هر دو روش آلودگی واکنش نشان می‌دهند (Chungu *et al*., 1996; Löffler *et al*., 2010; Lanubile *et al*., 2014). با توجه به نتایج ارایه شده می‌توان نتیجه‌گیری کرد که مقاومت بلال به‌ویژه در مناطق خشک که تأثیر مایه‌زنی کانال سیلک بسیار کم‌تر به‌نظر می‌رسد، اهمیت بیش‌تری دارد. به‌عبارت بهتر، در روش ارزیابی مقاومت ژنوتیپ‌های ذرت به پوسیدگی فوزاریومی بلال ذرت، می‌توان از روش ارزیابی مقاومت بلال به‌عنوان روش اصلی استفاده کرد. ارزیابی مقاومت

کانال سیلک می‌تواند به‌عنوان یک روش کنترلی برای ارزیابی حساسیت احتمالی ژنوتیپ‌های مقاوم/ نیمه مقاوم در مناطق مرطوب که آلودگی با این روش اهمیت دارد، استفاده شود. همچنین تا کنون مطالعه‌ای در زمینه مقاومت ژنوتیپ‌های ذرت در مرحله جوانه‌زنی صورت نگرفته بود. با توجه به واکنش متفاوت تعدادی از هیبریدهای بررسی شده در این مطالعه در مرحله پیش-جوانه‌زنی و امکان رشد قارچ به‌صورت اندوفیت در گیاه، توصیه می‌شود رقم‌های جدید در حال معرفی در این مرحله رشدی هم ارزیابی شوند. در نهایت هیبریدهایی به‌عنوان مقاوم به بیماری معرفی شوند که در هر سه روش واکنش مناسبی به قارچ نشان داده‌اند.




شکل ۱- مقایسه واکنش ۱۶ هیبرید ذرت به سه روش ارزیابی مقاومت به بیماری *F. verticillioides* ستون‌های آبی، قرمز و سبز به‌ترتیب مقاومت مقاومت بلال، مقاومت کانال سیلک و مقاومت مرحله پس از جوانه‌زنی را نشان می‌دهند.

Figure 1. Comparison of reaction of the 16 maize hybrids to three evaluated methods of disease resistance to *F. verticillioides*. Blue, red and green columns represent the kernal resistance, silk chanel resistance and VE stage resistance, respectively.

## نتیجه‌گیری کلی

با توجه به مقایسه واکنش هیبریدها با سه روش ذکر شده، هیبریدهای KLM91001/2-2-2-2-1-1×B73، (H3) K47/2-2-1-4-1-1-1×K3640/3، (H8)، (H11) KLM76004/3-5-1-2-2-1-1-1×K1264/5-1، (H12) K18×2-CHTHIY2002/90/77-3×K3640/3 و (H13) K47/2-2-1-2-2-1-1-1×K3640/3 به‌عنوان هیبریدهای دارای مقاومت مناسب به هر سه روش ارزیابی شده معرفی می‌شوند. این هیبریدها نسبت به سایر هیبریدهای بررسی شده در این مطالعه، مقاومت مناسبی در مقابل تمامی مسیرهای اصلی آلودگی قارچ از خود نشان دادند و از نظر مقاومت به بیماری پوسیدگی فوزاریومی بلال ذرت ناشی از *F. verticillioides* به سایر هیبریدهای بررسی شده برتری داشتند. این هیبریدها در صورتی‌که واجد سایر صفات زراعی و عملکردی مطلوب باشند و برتری آن‌ها نسبت به شاهد تجاری در آزمایشات سازگاری اثبات شود، می‌توانند به‌عنوان هیبریدهای تجاری برای کشت در مناطق مختلف ایران معرفی شوند.

## سپاسگزاری

این تحقیق بر اساس یک پروژه تحقیقاتی با کد مصوب ۰۸۸-۰۰۰۹۴۹ - ۰-۰۳-۰۳ در موسسه تحقیقات اصلاح و تهیه نهال و بذر کرج انجام شد بدین‌وسیله نگارندگان از مدیریت و معاونت محترم بخش تحقیقات ذرت و گیاهان علوفه‌ای موسسه تحقیقات اصلاح و تهیه نهال و بذر کرج و همچنین از زحمات آقای دکتر مجید غلامحسینی برای کمک در تجزیه داده‌ها سپاسگزاری می‌کنند.

**تضاد منافع**

نویسنده (گان) تایید می‌کنند که این تحقیق در غیاب هر گونه روابط تجاری یا مالی که می‌تواند به‌عنوان تضاد منافع بالقوه تعبیر شود، انجام شده است.

**رعایت اخلاق در نشر**

نویسنده (گان) اعلام می‌کنند که در نگارش این مقاله به‌طور کامل از اخلاق نشر از جمله سرقت ادبی، سوء رفتار، جعل داده‌ها و یا ارسال و انتشار دوگانه، پیروی کرده‌اند. همچنین این مقاله حاصل یک کار تحقیقاتی اصیل بوده و تا کنون به‌طور کامل به هیچ زبانی و در هیچ نشریه یا همایشی چاپ و منتشر نشده و هیچ اقدامی نیز برای انتشار آن در هیچ نشریه یا همایشی صورت نگرفته و نخواهد گرفت.

**اجازه انتشار مقاله**

نویسنده (گان) با چاپ این مقاله به صورت دسترسی باز موافقت کرده و کلیه حقوق استفاده از محتوا، جدول‌ها، شکل‌ها، تصویرها و غیره را به ناشر واگذار می‌کنند.

**References**


**Chungu, C., Mather, D.E., Reid, L.M., Hamilton, R.I. 1996.** Comparison of techniques for inoculating maize silk, kernel, and cob tissues with *Fusarium graminearum*. *Plant Disease*, 80(1), pp. 81-84. https://dor.org/10.1094/PD-80-0081.

**Clements, M.J., Kleinschmidt, C.E., Maragos, C.M., Pataky, J.K. and White, D.G. 2003.** Evaluation of inoculation techniques for Fusarium ear rot and fumonisin contamination of corn. *Plant Disease*, 87(2), pp. 147-153. https://dor.org/10.1094/PDIS.2003.87.2.147.

**Dorn, B., Forrer, H.R., Jenny, E., Wettstein, F.E., Bucheli, T.D. and Vogelgsang, S. 2011.** Fusarium species complex and mycotoxins in grain maize from maize hybrid trials and from grower's fields. *Journal of Applied Microbiology*, 111, pp. 693-706. https://dor.org/10.1111/j.1365-2672.2011.05091.x.

**Duncan, K.E. and Howard, R.J. 2010.** Biology of maize kernel infection by Fusarium verticillioides. *Molecular Plant Microbe Interaction*, 23(1), pp. 6-16. https://dor.org/10.1094/MPMI-23-1-0006.

**Eller, M., Holland, J.B. and Payne, G. 2008.** Breeding for improved resistance to fumonisin contamination in maize. *Toxin (Basel)*, 27, pp. 371-389. https://dor.org/10.3390/toxins12070431.

**Gai, X., Dong, H., Wang, S., Liu, B., Zhang, Z., Li, X. and Gao, Z. 2018.** Infection cycle of maize stalk rot and ear rot caused by *Fusarium verticillioides*. *PLoS ONE*, 13, e0201588. https://dor.org/10.1371/journal.pone.0201588.

**Holbert, J.R., Burlison, W.L., Koehler, B., Woodworth, C.M. and Dungan, G.H. 1924.** Corn Root, Stalk, and Ear Rot Diseases, and Their Control thru Seed Selection and Breeding. University of Illinios Press, Urbana, IL, USA.

**Lanubile, A., Maschietto, V. and Marocco, A. 2014.** Breeding Maize for Resistance to Mycotoxins. In: Leslie, J.F. and Logrieco, F. (Eds.). Mycotoxin Reduction in Grain Chains. John Wiley and Sons, Ltd. https://doi.org/10.1002/9781118832790.ch4.

**Lemmens, M. 2010.** *Fusarium* ear rot resistance testing in maize: Natural infection versus artificial inoculation. In: Mesterha´zy, A. (Ed.). Workshop for Variety Registration in Cereals for *Fusarium* Resistance. 23-24 March 2010, Szeged, Hungary.

**Leslie, J.F. and Summerell, B.A. 2006.** Fusarium laboratory workshops: A recent history. *Mycotoxin Research*, 22(2), pp. 73-74. https://doi.org/10.1007/BF02956766.

**Liu, K.J., Goodman, M., Muse, S., Smith, J.S., Buckler, E. and Doebley, J. 2003.** Genetic structure and diversity among maize inbred lines as inferred from DNA microsatellites. *Genetics*, 165(4), pp. 2117-2128. https://doi.org/10.1093/genetics/165.4.2117.

**Löffler, M., Kessel, B., Ouzunova, M. and Miedaner, T. 2009.** Population parameters for resistance to *Fusarium graminearum* and *Fusarium verticillioides* ear rot among large sets of early, mid-late and late maturing European maize (*Zea mays* L.) inbred lines. *Theoretical and Applied Genetics*, 120(5), pp. 1053-1062. https://doi.org/10.1007/s00122-009-1233-9.

**Löffler, M., Miedaner, T., Kessel, B. and Ouzunova, M. 2010.** Mycotoxin accumulation and corresponding ear rot rating in three maturity groups of European maize inoculated by two *Fusarium* species. *Euphytica*, 174, pp. 153-164. https://doi.org/10.1007/s10681-009-0080-8.

**Ma, L.J., Geiser, D.M., Proctor, R.H., Rooney, A.P., O'Donnell, K., Trail, F., Gardiner, D.M., Manners, J.M. and Kazan, K. 2013**. *Fusarium* pathogenomics. *Annual Review Microbiology*, 67, 399–416. https://doi.org/10.1146/annurev-micro-092412-155650.

**Mesterházy, Á., Lemmens, M. and Reid, L.M. 2012.** Breeding for resistance to ear rots caused by *Fusarium* spp. in maize: A review. *Plant Breeding*, 131, pp. 1-19. https://doi.org/10.1111/j.1439-0523.2011.01936.x.

**Munkvold, G.P. 2003.** Epidemiology of *Fusarium* diseases and their mycotoxins in maize ears. *Europian Jurnal of Plant Pathology*, 109, pp. 705-713. https://doi.org/10.1023/A:1026078324268.

**Munkvold, G.P. and Desjardins, A.E. 1997.** Fumonisins in Maize. Can we reduce their occurrence? *Plant Disease*, 81(6), pp. 556-565. https://doi.org/10.1094/PDIS.1997.81.6.556.

**Power, A.G. 1987.** Plant community diversity, herbivore movement and an insect-transmitted disease of maize. *Ecology*, 68, pp. 1658-1669. https://doi.org/10.2307/1939858.

**Presello, D.A., Botta, G., Iglesias, J. and Eyherabide, G.H. 2008.** Effect of disease severity on yield and grain fumonisin concentration of maize hybrids inoculated with *Fusarium verticillioides*. *Crop Protection*, 27, pp. 572-576. https://doi.org/10.1016/j.cropro.2007.08.015.

**Ranum, P., Pena-Rosas, J.P. and Garcia-Casal, M.N. 2014.** Global maize production, utilization and consumption. *Annual of the New York Academy of Sciences*, 1312, pp. 105-112. https://doi.org/10.1111/nyas.12396.

**Reid, L.M., Hamilton, R.E. and Mather, D.E. 1996.** Screening maize for resistance to *Gibberella* ear rot. Agriculture and Agri-Food Canada, Technical Bulletin 1996-5E, Ottawa, Ontario, Canada.

**Reid, L.M., McDiarmid, G., Parker, A.J. and Woldemariam, T. 2003.** CO441 corn inbred line. *Canadian Journal of Plant Science*, 83, pp. 79-80. https://doi.org/10.4141/P02-058.

**Reid L.M. and Zhu, X. 2005.** Screening corn for resistance to common diseases in Canada. Agriculture and Agri-Food Canada, Technical Bulletin 2005-SE, Ottawa, Ontario, Canada.

**Reid, L.M., Zhu, C.X., Parker, C.A. and Yan, C.W. 2009.** Increased resistance to *Ustilago zeae* and *Fusarium verticillioides* in maize inbred lines bred for *Fusarium graminearum* resistance. *Euphytica*, 165, pp. 567-578. https://doi.org/10.1007/s10681-008-9782-6.

**Robertson, L.A., Kleinschmidt, C.E., White, D.G., Payne, G.A., Maragos, C.M. and Holland, J.B. 2006.** Heritability and correlations of *Fusarium* ear rot resistance and fumonisin contamination resistance in two maize populations. *Crop Science*, 46(1), pp. 353-361. https://doi.org/10.2135/cropsci2005.0139.

**Román, S.G., Quiroz-Chávez, J., Villalobos, M., Urías-Gutiérrez, V., Nava-Pérez, E., Ruíz-May, E., Singh, R.K., Sharma, L. and Quiroz-Figueroa, F.R. 2020.** A global screening assay to select for maize phenotypes with a high tolerance or resistance to *Fusarium verticillioides* (Sacc.) Nirenberg rots. *Agronomy*, 10(12), 1990. https://doi.org/10.3390/agronomy10121990.

**Schaafsma, A.W., Nicol, R.W. and Reid, L.M. 1997.** Evaluating commercial maize hybrids for resistance to *Gibberella* ear rot. *European Journal Plant Pathology*, 103, pp. 737-746. https://doi.org/10.1023/A:1008629629069.

**Stagnati, L., Lanubile, A., Samayoa, L.F., Bragalanti, M., Giorni, P., Busconi, M., Holland, J.B. and Marocco, A. 2019.** A genome wide association study reveals markers and genes associated with resistance to *Fusarium verticillioides* infection of seedlings in a maize diversity panel. *G3 (Bethesda)*, 9(2), pp. 571-579. https://doi.org/10.1534/g3.118.200916.

**Szabó, B., Tóth, B., Toldiné, É.T., Varga, M., Kovacs, N., Varga, J., Kocsubé, S., Palágyi, A., Bagi, F., Budakov, D., Stojšin, V., Lazić, S., Bodroža-Solarov, M., Čolović, R., Bekavac, G., Purar, B., Jocković, D. and Mesterházy, A. 2018.** A new concept to secure food safety standards against *Fusarium* species and *Aspergillus flavus* and their toxins in maize. *Toxins (Basel)*, 10(9), 372. https://doi.org/10.3390/toxins10090372.

**Warham, E.J., Butler, L.D. and Sutton, B.C. 1996.** Seed testing of maize and wheat: A laboratory guide. CIMMYT, Mexico City, Mexico. pp. 1-84.

**Zila, C.T., Ogut, F., Romay, M.C., Gardner, C.A., Buckler, E.S. and Holland, J.B. 2014.** Genome-wide association study of Fusarium ear rot disease in the U.S.A. maize inbred line collection. *BMC Plant Biology*, 14, 372. https://doi.org/10.1186/s12870-014-0372-6.