جهت تهیه فایل WORD این مقاله به سایت DaneshResan.com مراجعه نمایید و عنوان مقاله را جستجو کنید
بیش از ۲ میلیون مقاله فارسی در این سایت موجود میباشد

مجله علوم کشاورزی و منابع طبیعی
سال یازدهم ـ شماره اول ـ بهار ۱۳۸۳
www.magiran.com/jasnr

ارزیابی قدرت بیماری زایی جدایه‌های *Pyrenophora graminea* تهیه شده از مزارع جو منطقه آذربایجان

جعفر جعفرزاده[1]، اسداله بابای اهری[1]، محمد مقدم واحد[1]، مصطفی ولیزاده[1]، حمداله کاظمی[1] و حبیب‌الله‌قزوینی[2]

[1]گروه گیاهپزشکی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه تبریز؛ [2]مؤسسه تحقیقات اصلاح و تهیه نهال و بذر کرج

تاریخ دریافت: ۸۱/۶/۲۰ ؛ تاریخ پذیرش: ۸۲/۱۰/۲۹

چکیده

به‌منظور ارزیابی قدرت بیماری‌زایی جدایه‌های *Pyrenophora graminea* عامل بیماری لکه نواری جو که در سال ۱۳۷۹ از ۱۹مزرعه مختلف جو استانهای آذربایجان تهیه شده بود، پژوهشی در گلخانهٔ گروه گیاهپزشکی دانشگاه تبریز در سال ۱۳۷۹ با استفاده از رقم حساس زرجو صورت پذیرفت. در این راستا ۲۶ جدایه‌ی قارچی بعد از جداسازی، از طریق نوک ریسه خالص‌سازی شد. آلوده‌سازی بذرها به روش ساندویچ صورت گرفت. ارزیابی شدت بیماری در گیاهان به‌روش ماتور و بتنگار انجام شد. بر اساس نتایج حاصل ۸ جدایه‌ی مرند۳، بستان آباد، خاصه بان تیره، عجب شیر۲، اهر۲، اسکو ۱قهوه‌ای، مرند۲/۱ و آذرشهر با ۱۰۰-۵۰/۱ درصد بوته‌های آلوده در کلاس جدایه‌های با قدرت بیماری‌زایی بسیار قوی، ۷ جدایه‌ی خوی، اسکو۲ سفید، میانه۲، اسکو۱سفید، میانه۱، مرند۲/۲، عجب شیر۱ با ۵۰-۲۵/۱ درصد بوته‌های آلوده در کلاس جدایه‌های با قدرت بیماری‌زایی قوی و بقیه در کلاس‌های نیمه‌قوی، ضعیف و بسیار ضعیف قرار گرفتند نظر به اینکه بیشتر جدایه‌های جمع‌آوری شده از قدرت بیماری‌زایی بالایی برخوردار بوده و همه ساله با ایجاد آلودگی در مزارع می‌توانند خسارات قابل ملاحظه‌ای به کشاورزان وارد نمایند، بنابراین لازم است پژوهشهایی در زمینهٔ ارزیابی ارقام جو و توده‌های بومی به‌منظور گزینش ژنوتیپ‌های مقاومت به بیماری لکه نواری جو انجام شود.

واژه‌های کلیدی: تنوع ژنتیکی، روش ساندویچ، قدرت بیماری‌زایی، میزان خسارت

مقدمه

بیماری لکه نواری جو یک بیماری بذرزاد تک چرخه‌ای است. تلومورف عامل بیماری *Pyrenophora graminea* lto kurib و آنامورف *Drechslera graminea*(Rab) Shem می‌باشد. بارزترین علایم بیماری بوجود آمدن لکه‌های نواری زرد یا قهوه‌ای نکروزه بر روی برگهای مصرفی و چنانچه آلودگی بذر شدید باشد بوته‌ها به حالت روزت باقی مانده و به سنبله نمی‌روند. این بیماری اغلب در مناطقی که میزان بارندگی و رطوبت بالایی دارند شیوع پیدا می‌کند.

ارشاد (۱۳۵٤) اولین بار بیماری لکه نواری جودر ایران را گزارش کرد. سپس بابادوست (۱۳٦۷) حضور این بیماری را در اکثر مناطق ایران از جمله آذربایجان شرقی و غربی، اردبیل، تهران، خوزستان، همدان، ورامین، کرج و اطراف دریای خزر گزارش نمود. به‌علاوه نامبرده در گزارش خود شیوع این بیماری را در بسیاری از مناطق کشت جو از جمله هندوستان، کشورهای مستقل مشترک‌المنافع (شوروی سابق)، نروژ، ایتالیا، دانمارک نیز اعلام کرد. بهروزین و اسدی (۱۳۷٤) طی مطالعه‌ای در استان آذربایجان شرقی، آلودگی مزارع دیم را ٤۰ و مزارع

جهت تهیه فایل WORD این مقاله به سایت DaneshResan.com مراجعه نمایید و عنوان مقاله را جستجو کنید
بیش از ۲ میلیون مقاله فارسی در این سایت موجود میباشد

آبی را ۳٤ درصد برآورد کردند. آنها وزن هزار دانه سالم و آلوده را بترتیب ٤۸ و ۱٦/۵ گرم برآورد نمودند. همچنین در گزارش خود بیماری روی تمام اندام‌های هوایی گیاه اعم از طول بوته، طول سنبله، تعداد سنبله و دانه اثر می‌گذارد. بابادوست (۱۳٦۷) و ماتور (۱۹۸۵) خسارت این بیماری را در سطح جهان ۷۰ تا ۱۰۰ درصد تخمین زدند. با توجه به گزارشات مبنی بر شیوع بیماری لکه‌نواری جو در اکثر مزارع استانهای آذربایجان این پژوهش برای ارزیابی وضعیت بیماری مزبور در استان صورت گرفته تا با جمع‌آوری نمونه‌هایی از مزارع آلوده قدرت بیماری‌زایی جدایه‌های قارچ مورد بررسی قرار گیرد.

مواد و روشها

آزمایش در سال ۱۳۷۹ در واحدی از گلخانه‌های گروه گیاهپزشکی دانشکده کشاورزی دانشگاه تبریز انجام شد. مواد بیماری‌زا در این آزمایش عبارت از جدایه‌های مختلف قارچ *P. graminea* بود که از بوته‌های آلودهٔ مزارع اطراف ۱۹ شهر و روستای استانهای آذربایجان جمع آوری شده بودند.

برای کنیدیوم‌زایی جدایه‌های جمع آوری شده، از محیط‌های کشت مرطوب، عصاره کاه جو- دکستروز- آگار (BSEDA[1]) و عصاره کاه گندم- دکستروز- آگار (WSEDA[2]) استفاده شد. ابتدا قطعاتی به طول یک سانتی‌متر از برگهای آلوده تهیه شده این قطعات بعد از ضدعفونی با هیپوکلریت سدیم نیم درصد و دوباره شستشو با آب مقطر یک بار سترون، در ظرف پتری حاوی آب مقطر یک بار سترون قرار داده شدند. بعد از گذشت حدود ٦-۵ روز کنیدیوفرها و کنیدیوم‌ها بر روی قطعات آلوده مشاهده شدند البته بسته به جدایه قارچی این مدت می‌تواند متغیر باشد (محمدی، ۱۳۷٤).

به‌منظور تهیه محیط‌کشت BSEDA، ابتدا ۸/۵ گرم پودر کاه و کلش جو در ۳۵۰ میلی‌لیتر آب مقطر به مدت ۲۰-۱۵ دقیقه جوشانده شد، سپس به ۱۰۰ میلی‌لیتر از عصارهٔ حاصل، ۲ گرم دکستروز و ۲ گرم آگار افزوده شد و بعد از اتوکلاو نمودن در دمای ۱۲۰°درجه سانتی‌گراد و فشار ۱ اتمسفر، محیط کشت حاصل در ظروف پتری ریخته شد. سپس قطعات برگی آلوده بعد از ضدعفونی سطحی با هیپوکلریت سدیم نیم درصد و دو بار شستشو با آب مقطر یک بار سترون روی محیط کشت قرار داده شدند. بعد از ٦-۵ روز کنیدیوفرها و کنیدیومها بر روی برگهای آلوده به وجود آمدند. لازم به ذکر است که با استفاده از این روش کلیه جدایه‌ها کنیدیوم زایی انجام نمی‌دهند و بهتر است به‌منظور موفقیت بیشتر در هنگام تهیهٔ این نوع محیط کشت برای هر کدام از جدایه ها از کاه و کلش رقمی استفاده شود که جدایه روی آن از شدت بیماری‌زایی بالاتری برخوردار است. برای تهیه محیط کشت WSEDA، ۱۰ گرم از کاه گندم پودر شده در ۳۵۰ میلی‌لیتر آب مقطر به‌مدت ۲۰-۱۵ دقیقه جوشانده شد، سپس به ۲۵۰ میلی‌لیتر عصاره حاصل ۵ گرم دکستروز و ۵گرم آگار اضافه شد. بقیه مراحل مانند مراحل آماده سازی محیط کشت BSEDA اجرا گردید.شکل ۱ تصویری از کنیدیوم همراه با کنیدیوم‌های ثانویه را نشان می‌دهد.

شکل ۱- کنیدیوم همراه با کنیدیوم‌های ثانویه قارچ *P.graminea*

1- Barley Straw Extract Dextrose
2- Wheat Straw Extract Dextrose Agar

جهت تهیه فایل WORD این مقاله به سایت DaneshResan.com مراجعه نمایید و عنوان مقاله را جستجو کنید
بیش از ۲ میلیون مقاله فارسی در این سایت موجود میباشد

با توجه به اینکه تعداد کنیدیوم‌های تولید شده توسط جدایه‌ها کم بود، برای خالص‌سازی جدایه‌ها روش نوک ریسه و محیط کشت آب آگار[1] به کار رفت و جدایه‌ها از نظر تفاوت در رنگ جداسازی شدند. برای آلوده‌سازی بذرها از روش ساندویچ محمد و محمود (۱۹۷۳) استفاده شد. در این روش ابتدا حلقه‌هایی به قطر ۵میلی‌متر از محیط کشت حاوی جدایه خالص شده عامل بیماری در مرکز ظرف پتری حاوی PDA[2] قرار داده شد و در دمای ۲۵-۲۰ درجهٔ سانتی‌گراد نگهداری گردید تا جدایه به حد کافی رشد کند و سطح PDA ظرف پتری را بپوشاند. از طرف دیگر یک روز قبل از گذاشتن بذرها بر روی قارچ تعدادی بذر از رقم زرجو (رقم حساس به بیماری)، با هیپوکلریت سدیم نیم درصد ضدعفونی سطحی شد و بعد از سه نوبت شستشو با آب مقطر یک بار سترون، داخل ظروف پتری حاوی کاغذ صافی سترون مرطوب گذاشته شد تا بذرها فعالیت خود را آغاز و شروع به جوانه‌زنی نمایند. روز بعد بذرها داخل دو لایهٔ PDA حاوی ریسه عامل بیماری گذاشته شدند. همچنین تعدادی بذر در داخل دو لایهٔ PDA غیر آلوده به قارچ به عنوان شاهد قرار داده شدند. سپس ظروف پتری ۱۲ روز در دمای ۱۰ درجه سانتی‌گراد در تاریکی و در داخل انکوباتور قرار داده شده تا در طی این مدت عمل آلودگی بذرها صورت پذیرد. بعد از این مرحله گیاهچه‌ها به گلدانهای حاوی خاک ضد عفونی شده به روش پیغامی (۱۳۷۸) با فرمالدئید ۲ درصد انتقال داده شدند.

آزمایش ارزیابی قدرت بیماری‌زایی جدایه‌ها در قالب طرح بلوکهای کامل تصادفی با ٤ تکرار و با ٢٦ جدایه قارچی به عنوان تیمار بر روی رقم حساس زرجو در گلخانه اجرا شد. در این آزمایش برای هر واحد آزمایشی یک گلدان، که دارای ۸ گیاهچه بود،در نظر گرفته شد و در هر تکرار یک گلدان با ۸ بوته غیر آلوده به‌عنوان شاهد لحاظ گردید. دمای گلخانه ١٦-١٢ درجه سانتی‌گراد بود و طول دوره نوری به ۱۲ ساعت در روز تنظیم گردید.

1- Water Ager
2- Potato Dextrose Agar

ارزیابی بوته‌های آلوده و تعیین قدرت بیماری‌زایی جدایه‌ها ٤٥ روز بعد از انتقال گیاهچه‌ها از ظروف پتری به گلدانها به روش ماتور و بتنکار (۱۹۹۲) انجام گرفت. شاخص ارزیابی مقاومت ماتور و بتنگار (۱۹۹۲) به شرح جدول ۱ استفاده شد:

جدول۱- شاخص ارزیابی مقاومت ماتور و بتنگار.

درصد آلودگی		قدرت بیماری‌زایی
عدم آلودگی		غیر بیماری زا
آلودگی	۵-۱ درصد بوته‌ها	بسیار ضعیف
آلودگی	۱۰-۵/۱ درصدبوته‌ها	ضعیف
آلودگی	۲۵-۱۰/۱درصدبوته‌ها	نیمه قوی
آلودگی	۵۰-۲۵/۱درصدبوته‌ها	قوی
آلودگی	بیشتر از ۵۰ درصد بوته‌ها	بسیار قوی

همچنین تجزیه خوشه‌ای جدایه‌های قارچی بر اساس قدرت بیماری‌زایی به روش سنتروئید انجام گرفت(۱۳۷۳).

نتایج و بحث

تجزیه واریانس آزمایش ارزیابی قدرت بیماری‌زایی جدایه‌ها اختلاف معنی‌داری را در سطح احتمال ۱ درصد نشان داد. بنابراین، از نظر بیماری‌زایی در بین جدایه‌ها تفاوت وجود داشت (جدول۲).

جدول۲-تجزیهٔ واریانس قدرت بیماری‌زایی جدایه‌های قارچ *P.graminea* بر روی رقم زرجو.

منابع تغییر	درجهٔ آزادی	میانگین مربعات
تکرار	۳	۱۱۸۵/۸۹**
جدایه	۲۵	۳۳۳۳/۲٤**
خطا	۷۵	۱۳۱/٤۱
ضریب تغییرات	۲۹/۸۸	

** معنی‌دار در سطح احتمال ۱درصد می‌باشد

با توجه به شاخص ارزیابی ملاحظه گردید که جدایه‌های مرند۳، بستان آباد، خاصه بان تیره، عجب شیر۲، اهر۲، اسکو۱ قهوه‌ای، مرند۲ و آذرشهر در زمرهٔ جدایه‌های بسیار قوی قرار دارند و بقیه جدایه‌ها از نوع

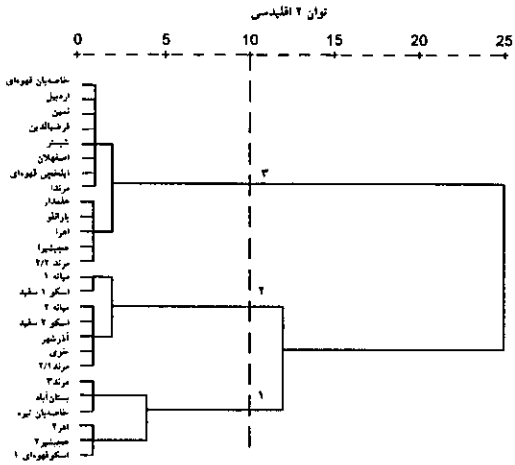
قوی، نیمه‌قوی و ضعیف بودند (جدول۳). تجزیه خوشه ۲۶ جدایه مورد مطالعه سه خوشه را تشکیل داد. خوشه یک شامل ٦ جدایه مرند۳، بستان آباد، خاصه بان تیره، عجب‌شیر۲، اهر۲ و اسکو۱ قهوه‌ای بود که با میانگین قدرت بیماری‌زایی برابر۸۰/۸۵ درصد عمدتاً از جدایه‌های بسیار قوی تشکیل شده است. خوشه دوم را ۷ جدایه مرند۲/۱، آذرشهر، خوی، اسکو۲ سفید،میانه ۲، اسکو ۱ سفید و میانه ۱ تشکیل داد که با میانگین قدرت بیماری‌زایی برابر با ٤٧/٥٣ درصد غالباً از در گروه قوی واقع شد.۱۳ جدایه مرند۲/۲، عجب شیر۱، علمدار،بارانلو، اهر۱، شبستر، نمین، خاصه‌بان قهوه‌ای، اردبیل مرند۱، اسفهلان، ایلخچی قهوه‌ای خوشه سوم را تشکیل دادند که با میانگین قدرت بیماری‌زایی برابر با ۱۳/۸۲ اکثراً جدایه‌های ضعیف بود (شکل۲). گاتی و همکاران (۱۹۹۲) تنوع در جمعیت *P.graminea* را با استفاده از ۱۲ جدایه که از مناطق مختلف جوخیز ایتالیا جمع‌وری شده بود. آنها ۱۹ رقم جو را با این جدایه‌ها آلوده کردند. جدایه‌ها را در۳ دستهٔ غیر بیماری‌زا، بیماری‌زای متوسط و بیماری‌زا گروه‌بندی نمودند.

سمدگارد و جورجنسن(۱۹۸۲) طی آزمایشی واکنش ۲۸ رقم جو را نسبت به ۱۵ جدایه مطالعه کردند و اظهار داشتند که جدایه‌ها نه تنها از لحاظ قدرت بیماری‌زایی بر روی یک رقم خاص، بلکه از لحاظ ایجاد آلودگی بر روی کلیه ارقام مورد استفاده در آزمایش متفاوت هستند. دویاسی و همکاران (۱۹۹۸) واکنش ارقام و لاین‌های جو را نسبت به جدایه‌های *Pyrenophora teres* بررسی کردند. بنا به اظهار آنها عواملی مانند مرحله رشدمیزبان، دما، تغییرات نور ونوع واریته می‌تواند بر روی بیماری‌زایی جدایه‌ها مؤثر باشد. با توجه به اینکه در بین جدایه‌های قارچی از لحاظ قدرت بیماری‌زایی اختلاف معنی‌دار وجود داشت و همچنین با در نظر گرفتن نتایج حاصل از تجزیه خوشه‌ای می‌توان اظهار داشت که تنوع بالایی از نظر قدرت بیماری‌زایی در بین جدایه های مورد مطالعه وجود دارد. بنابراین، می‌توان با استفاده از واریته‌های محک، نژادهای فیزیولوژیک متفاوت را در بین ۲٦ جدایه مورد مطالعه مشخص کرد. از بین ۲٦ جدایه مورد نظر، ٤ جدایه مرند ۳، بستان آباد، خاصه‌بان تیره و عجب‌شیر۲ به‌عنوان جدایه‌های برخوردار از قدرت بیماری‌زایی بالا می‌باشند. از این جدایه‌ها می‌توان برای ارزیابی تفاوت ارقام و توده‌های بومی جو استفاده نمود.

جدول۳- میانگین قدرت بیماری‌زایی جدایه‌های قارچ *Pyrenophora graminea* بر روی رقم زرجو.

ردیف	نام جدایه	درصد بوته‌های آلوده	ردیف	نام جدایه	درصد بوته‌های آلوده
۱	مرند۳	۹۳/۷۵	١٤	مرند۲/۲	۲۸/۹٦
۲	بستان آباد	۹۰/٦۳	۱۵	عجب شیر۱	۲۵
۳	خاصه بان تیره	۸۷/۰۵	١٦	علمدار	۱۹/٦۹
٤	عجب شیر۲	۷۷/۸۰	۱۷	بارانلو	۱۹/٦٤
۵	اهر۲	۷۱/۸۸	۱۸	اهر۱	۱۷/۵٦
٦	اسکو۱ قهوه‌ای	٦۷/۲٤	۱۹	شبستر	۱۲/۵
۷	مرند۲/۱	۵۷/٤۱	۲۰	نمین	۹/۳۸
۸	آذرشهر	۵۱/۷۸	۲۱	خاصه بان قهوه‌ای	۹/۳۸
۹	خوی	۵۰/۰۰	۲۲	اردبیل	۹/۳۸
۱۰	اسکو۲ سفید	٤۷/۹۲	۲۳	قره ضیالدین	۹/۳۸
۱۱	میانه۲	٤۷/۷۷	۲٤	مرند۱	٦/۲۵
۱۲	اسکو۱ سفید	٤۱/٦۷	۲۵	اسفهلان	٦/۲۵
۱۳	میانه ۱	۳٦/۱٦	۲٦	ایلخچی قهوه‌ای	٦/۲۵

lsd5% =۱۵/۹۹۷



شکل ۲- دندروگرام حاصل از تجزیه خوشه ۲۶ جدایه قارچ *P.graminea* بر اساس درصد بوته‌های آلوده بر روی رقم زرجو

منابع

۱.ارشاد، ج. ۱۳۷٤. قارچهای ایران. سازمان تحقیقات، آموزش و ترویج کشاورزی. ۸۷٤ صفحه.

۲.بابا دوست، م.۱۳٦۷.بیماری لکه نواری جو.دانشگاه تبریز. ۲٦ صفحه.

۳.بهروزین، م.، و پ.، اسدی. ۱۳۷٤. بررسی بیماری لکه‌نواری جو در استان آذربایجان شرقی. مجله نهال و بذر، جلد ۱۱، شماره ٤، ص ٦۱-۵۳.

٤.پیغامی، ا. ۱۳۷۸. اصول مبارزه با بیماری‌های گیاهی. انتشارات جهاد دانشگاهی مشهد. ۹۲ صفحه.

۵.محمدی گل تپه، ا، ع، علیزاده و ا، پورجم. ۱۳۷٤. بیماری‌های مهم غلات دانه‌ریز. انتشارات دانشگاه تربیت مدرس. ۳۰۵ صفحه.

٦.مقدم، م.، س، ا، محمدی شوطی و م، آقایی سربرزه. ۱۳۷۳. آشنایی با روشهای آماری چند متغیره. انتشارات پیشتاز علم. ۲۰۸ صفحه.

7.Douyssi, A., D.C. Rasmusson, and A.P.Roelfs.1998. Responses of barley cultivars and lines to isolates of Pyrenophora *teres*. Plant Disease, 82: 316-321

8.Gatti,A., F.Rizza, G.Delogu, V.Terzi, A.Porta-Puglia, and G. Vannacci.1992. Physiological and biochemical lity in a population of *Drechslera graminea*.Journal Geneti.Breed. 46:179-186.

9.Mathur, D.E. 1985. Compendium of Barley Disease.The American Phytopathlogical Society, in cooperation with the Department of Plant Pathology Montana State University, C.

10.Mathur, A.K., and G.C. Bhatanagar.1992. Sources of resistance in barley against stripe disease caused by *Helminthosporium graminea*.Indian Phytopathology, 45(1):115-116.

11.Mohammad, A., and M.Mamood. 1973.Resistance to *Helminthosporium* stripe in barley cultivars in India, Plant Dis.Rep.57.495-498.

12.Pecchioni, N., P. Faccioli, H. Tuobia-Rahme, G.Vale, and V. Terzi.1996. Quantitative resistance to barley leaf stripe is dominated by one major locus.Theor. Appl.Genet. 93:97-101.

13.Smedegaard-Petersen,V., and J. Jorgensen.1982. Resistance to barley leaf stripe caused by *Pyrenophora graminea*. Phytopath. Z. 105:183-191.

J. Agric. Sci. Natur. Resour., Vol. 11(1), Spring 2004
www.magiran.com/jasnr

Evaluation of virulence of *Pyrenophora gramina* isolates collected from barley fields of Azarbaijan region

[1]J.Jafarzadeh, [1]A.Babai- Ahari, [1]M.Moghaddam, [1]M.Valizadeh, [1]H. Kazemi and [2]H.Ghazvini

[1]Department of plant protection, Tabriz University; [2]Seed and plant improvement Research Institute, Karaj, Iran.

Abstract

In order to study the virulence of *Pyrenophora graminea* isolates from 19 barley fields of Azarbaijan Provinces, a research program was conducted in the Plant Protection Department, Faculty of Agriculture, University of Tabriz, Iran, in 2000, using the susceptible variety of Zarjo.After isolation, 26 isolates were purified via hyphal-tip culture. The Sandwich method was used to inoculate the seeds. Isolates were rated according to the method of Mathur and Bhatangar.Results showed that 8 isolates Marand 3, Bostonabad, Khasseban-Tirre, Ajabshir 2, Ahar 2, Osku 1 Ghahveie, Marand 2/1 and Azarshahr with more than 50% (50-100%) infected plants were very virulent, 7 isolates Khoy, Osku 2- Sefeed, Mianeh 1, Marand 2/2 and Ajabshir 1 with 25-50% infected plants were virulent, the others were classified as intermediate, weak and very weak. Since many isolates were highly virulent and could cause substantial yield loss in each growing season, it is necessary to conduct studies to evaluate barley varieties and landraces in order to select genotypes resistant to leaf stripe of barley.

Keywords: Genetic variation; Sandwich method; Virulence; Yield loss