مجله به‌نژادی نهال و بذر
جلد ۱-۲۹، شماره ۲، سال ۱۳۹۲

ارزیابی مقاومت ارقام و لاین‌های پیشرفته جو به بیماری سیاهک سخت *(Ustilago hordei)* و مقایسه روش‌های مایه‌زنی برای ایجاد آلودگی مصنوعی در مزرعه

Evaluation of Resistance of some Barley Cultivars and Advanced Lines to Covered Smut (*Ustilago hordei*) and Comparison of Inoculation Methods for Artificial Infection in Field

سیدطه دادرضایی[۱]، محمد ترابی[۲]، ایرج لک‌زاده[۳]، سیدنصرالله طباطبایی[۴] و محمدرضا اصلاحی[۵]

۱، ۳، ۴ و ۵- به ترتیب استادیار، مربی، کارشناس و استادیار، مرکز تحقیقات کشاورزی و منابع طبیعی خوزستان، اهواز
۲- استاد، مؤسسه تحقیقات اصلاح و تهیه نهال و بذر، کرج

تاریخ دریافت: ۱۳۹۱/۹/۱۸ تاریخ پذیرش: ۱۳۹۲/۳/۹

چکیده

دادرضایی، س.ط.، ترابی، م.، لک‌زاده، ا.، طباطبایی، س. ن. و اصلاحی، م. ر. **۱۳۹۲.** ارزیابی مقاومت ارقام و لاین‌های پیشرفته جو به بیماری سیاهک سخت *(Ustilago hordei)* و مقایسه روش‌های مایه‌زنی برای ایجاد آلودگی مصنوعی در مزرعه. **مجله به‌نژادی نهال و بذر ۱-۲۹:** ۳۸۴ - ۳۶۹.

با توجه به حساسیت بسیاری از ارقام جو خصوصا ارقام بدون پوشینه به بیماری سیاهک سخت و با توجه به این که ایجاد آلودگی مصنوعی بذر با عامل بیماری برای ارزیابی مقاومت بسیار دشوار است و روش‌های به کار رفته مانند اسپور پاشی سطح بذر کارائی لازم را ندارند، در این پژوهش مقاومت ارقام تجاری و لاین‌های امید بخش جو با سه روش آلودگی طی سه سال مورد ارزیابی قرار گرفت. به منظور تامین بذر آلوده برای این آزمایش، در سال اول (۱۳۸۴) ۲۷ ژنوتیپ جو بدون پوشینه و پوشینه‌دار در مرحله گرده‌افشانی در مزرعه به روش اسپورپاشی روی سنبله مایه‌زنی شدند. سال دوم و سوم این آزمایش به صورت فاکتوریل در قالب طرح بلوک‌های کامل تصادفی در سه تکرار اجرا شد. سه روش مایه‌زنی (آلوده سازی فقط در مزرعه به روش اسپورپاشی روی سنبله، آلوده‌سازی فقط در آزمایشگاه با سوسپانسیون اسپور و آلوده‌سازی در مزرعه + آلوده سازی در آزمایشگاه) و شاهد بدون مایه‌زنی به عنوان عامل اول و ۲۷ لاین پیشرفته و رقم جو به عنوان عامل دوم در نظر گرفته شد. پس از ظهور بیماری تعداد و درصد سنبله‌های آلوده در هر تیمار شمارش شد.اطلاعات به دست آمده پس از تجزیه واریانس به روش دانکن مقایسه شدند. نتایج این پژوهش نشان داد که تیمارهای روش آلوده‌سازی ارقام در مزرعه + آلوده‌سازی در آزمایشگاه موثرترین روش آلوده سازی ارقام بود و پس از آن تیمار آلوده‌سازی فقط در آزمایشگاه آلودگی بالا و قابل قبولی ایجاد کرد. روش آلوده‌سازی فقط در مزرعه آلودگی مناسبی را ایجاد نکرد. در این آزمایش لاین MOLA/SHYRI//ARUPO*2/JET/3/... مقاوم‌ترین و رقم جو جنوب حساس‌ترین ژنوتیپ‌ها بودند.

واژه‌های کلیدی: جو، سیاهک سخت، مقاومت، روش‌های مایه‌زنی، سوسپانسیون تلیوسپور.

نویسنده مسئول: tahareza2000@yahoo.com تلفن: ۰۹۳۵۰۲۴۹۶۷۴

Archive of SID
www.SID.ir

مقدمه

جو پس از گندم، ذرت و برنج چهارمین غله مهم در جهان است (Akar *et al.*, 2004). بیماری سیاهک پنهان(پوشیده) یا سیاهک سخت جو با عامل *Ustilago hordei* (Pers.) Lagerh. یکی از بیماری‌های مهم جو است که خسارت شدیدی به این محصول وارد می کند. متوسط خسارت سالیانه آن در سطح دنیااز ۳ تا ۵ درصد گزارش شده است. بیماری سیاهک سخت جو علاوه بر کاهش محصول در واحد سطح، از ارزش غذایی و علوفه‌ای آن نیز می کاهد و سبب آلودگی بذرهای سالم با تلیوسپورهای تیره رنگ و کاهش کیفیت ظاهری آن‌ها می‌شود (Weise, 1987). در نواحی خاورمیانه و آفریقا که کشاورزان بذر ضدعفونی نشده را می کارند سیاهک‌هابه خصوص سیاهک سخت خسارت اقتصادی قابل توجهی به محصول وارد می کنند (Mather, 1997). این بیماری در بیشتر از ۸۲ درصد مزارع جو کانادا وجود داشته و در بعضی سال‌ها منجر به کاهش عملکرد ۰/۲ تا ۰/۸درصد محصول می‌شود، به طوری که در سال ۱۹۸۱ خسارت اقتصادی این بیماری در کانادا حدود ۱۷/۶ میلیون دلار آمریکا تخمین زده شد (Thomas and Menzies, 1997).

سیاهک سخت جو در سال ۱۳۲۶ توسط اسفندیاری از ایران گزارش شد (Ershad, 1995). در بررسی های انجام شده در استان زنجان ۳۱/۲۱ درصد مزارع با میانگین آلودگی ۳/۷۲ درصد به بیماری سیاهک سخت جو آلودگی نشان دادند (Moeeni, 1995). در سال‌های ۱۳۶۹ تا ۱۳۷۱ آلودگی مزارع کرج و زابل بین صفر تا ۹۰ درصد گزارش شد (Salari *et al.*, 1993). در بررسی میکوفلور پانزده نمونه بذر از نقاط مختلف کشور از جمله خوزستان، ده نمونه از بذرها آلوده به تلیوسپورهای *Ustilago hordei* بودند (Salari and Ershad, 1994). مطالعات بابادوست (Babadost, 1995) حاکی از آلودگی ۵۰ درصد از مزارع استان‌های آذربایجان شرقی و اردبیل به این بیماری بود. این بیماری یکی از بیماری‌های مهم جو در استان لرستان بوده و در ۶۲/۵ درصد از مزارع جو مورد بررسی دیده شده است (Darvishnia, 2004). در سال‌های اخیر آلودگی مزارع جو در شهرهای قم و ورامین به سیاهک سخت افزایش یافته و در بیشتر مزارع آلودگی بیش از ۶۰ درصد مشاهده می‌شود (ترابی، مشاهدات شخصی).

سیاهک سخت جو مهم‌ترین بیماری سنبله جو در استان خوزستان است. در دهه ۸۰ شمسی این بیماری در اغلب مزارع جو شرق استان با فراوانی بسیار بالا مشاهده شد. در شهرهای دیگری همچون خرمشهر و اهواز نیز به طور میانگین آلودگی مزارع حدود ۵۰ درصد برآورد شد. به نظر می‌رسد که این بیماری در طی سالیان اخیر به علت استفاده از بذر سال قبل، عدم ضدعفونی بذر و عدم رعایت تناوب در

Archive of SID

www.SID.ir

ایـن اسـتان افـزایش یافتـه اسـت (دادرضـایی، اطلاعـات منتـشر نـشده). مقاومـت ارقـام جـو نـسبت بـه سـیاهک سـخت، بـرای اولـین بـار توسـط دادرضـایی و همکـاران (Dadrezaei *et al*., 2006) در ایـران مـورد ارزیابی قرارگرفت.

گرچه ضدعفونی بذر با قـارچ‌کش‌هـا مـوثر است اما نه تنها باعث افـزایش هزینـه‌هـای تولیـد مـی شـود، بلکـه سـبب مقاومـت بیمـارگر بـه قـارچ‌کش نیـز مـی‌شـود خـصوصاً در سـیاهک سخت جو به علت وجود پوشینه بذر، ضدعفونی بذر بسیار مشکل است و سم در هنگام جوانه‌زنی بذر دارای دز کافی جهت کنترل بیماری نیست، به همین دلیل لازم است مقدار بیشتری سم بـرای ضدعفونی به کـار بـرده شـود. بـذرهائی کـه در عمق بیشتری از خاک قرار مـی‌گیرنـد کلئوپتیـل طویل‌تری تولیـد مـی‌کننـد کـه در نتیجـه مـدت تماس گیاه با عامل بیماری بیشتر می‌شود غلظـت سـموم موجـود در بافـت بـه دلیـل رشـد بیـشتر کاهش مـی‌یابـد و ایـن وضـعیت باعـث افـزایش احتمـال پیـدایش مقاومـت بـه سـموم مصرفی مـی‌شـود (Ben-yephet *et al*., 1975؛ Henry *et al*., 1987؛ Leroux and Berthier, 1988). در مطالعـه‌ای نتـایج نـشان داد جدایـه‌هـائی کـه جهـش در آن‌هـا القـا شـده بـود متحمـل بـه چهـار قـارچ‌کـش مختلـف شـدند و تیمـار بـذر بـا قـارچکش در آن‌هـا غیـر مـوثر بـود (Henry *et al*., 1987؛ Ben-yephet *et al*. 1975). بـه طور کلی استفاده از ارقام مقاوم اقتصادی‌ترین و بهترین روش کنترل این بیماری است.

بیمـارگر *U. hordei* قـارچی دو شـکلی (Dimorphe) است. مرحله انگلی این قارچ کـه با تولیـد هیـف دو هـسته‌ای آلـوده‌کننـده همـراه اسـت در گیـاه میزبـان آغـاز مـی‌شـود. آمیـزش بازیدیوسپورها با سیستم آمیزشی دوقطبی کنترل مـی‌شـود. اسـپوریدی‌هـای هاپلوئیـد *U. hordei* موادی با وزن مولکـولی کـم تولیـد می‌کنند که فرایندهای آمیزشی را آغاز می‌کننـد (Martinez-Espinoza *et al*., 1993). ایـن قارچ گیاهچه را آلوده می‌کند و بدون هیچ‌گونه علائم قابل مشاهده تا زمان گلدهی، بـه صـورت هیف دو هسته‌ای درون گیاه رشد می‌کنـد. امـارا و فریک (Emara and Freak, 1981) محیط و ژنوتیپ و اثـر متقابـل آن‌هـا را بـر بیمـاری‌زایـی سـیاهک سـخت جـو بررسـی کردنـد. درایـن بررسی بیماری‌زایی هفده جدایـه *U. hordei* در شرایط کنترل شده گلخانـه و در شـرایط مزرعـه روی رقـم Hannchen بـا شـمارش درصـد پنجه‌های بـارورآلوده انـدازه‌گیـری شـد. تجزیـه واریانس نشان داد که قدرت بیماری‌زایـی قـارچ درمحیط‌ها، ماه‌ها و سال‌های مختلف متفـاوت و قدرت بیماری‌زایی قارچ نسبت به محیط حساس و متغیر است.

در هنـد مقاومـت ۸۹ رقـم جـو نـسبت بـه نژادهای ۵، ۷، ۸، ۱۴ و ۱۵ قارچ *U. hordie* در سال‌های ۷۱ ـ ۱۹۶۹ بررسی شـد. ده رقـم نـسبت بـه کلیـه نژادهـا مـصون، هـشت رقـم مقـاوم (بـا آلودگی ۵-۱ درصد)، شش رقم مصون یا مقاوم

Archive of SID

www.SID.ir

به همه نژادها به جز نژاد ۵ بودند، رقم EB798 به همه نژادها به جز نژاد ۷ مصون، سه رقم مقاوم به همه نژادها به جز ۱۵ و رقم K69 به همه نژادها به جز نژاد ۱۴ مقاوم بودند (Shrivastava and Srivastava,1976). در کانادا عکس‌العمل ارقام جو نسبت به نوترکیبی میان دو ژن بیماری‌زای سیاهک سخت جو مطالعه شد. در هفده رقم مورد مطالعه سه رقم Conquest, Himalaya و Keystone نسبت به ژن‌های بیماری‌زای *Uhv*1 و *Uhv*2 که به ترتیب در دو قارچ منفرد قرار داشتند مقاوم بودند اما بقیه یا به *Uhv*1 یا به *Uhv*2 و یا به هر دو ژن حساس بودند. پس از نوترکیبی بین دو قارچ تمام هفده رقم نسبت به تمام نتاج حاصله که دارای دو ژن *Uhv*1 و *Uhv*2 به صورت همزمان بودند حساسیت نشان دادند. این بررسی نشان داد که اجتماع دو لوکوس در یک قارچ باعث افزایش دامنه حساسیت ارقام می‌شود (Thomas, 1973). در شوروی سابق (Maslenkova and Paderina, 1980) و در قزاقستان (Gryaznov, 1981) مقاومت ارقام جو به سیاهک ارزیابی شد و رقم‌های مقاوم مناسب برای استفاده در به‌نژادی معین شدند.

در مصر عبدالحق و همکاران (Abdel Hak *et al.*, 1975) از ۴۶ جدایه جمع‌آوری شده به کمک هشت رقم استاندارد ۱۶ نژاد فیزیولوژیک تشخیص دادند. در بررسی دیگری از ۱۹ جدایه سیاهک سخت، که از دوازده استان مختلف مصر جمع‌آوری شده بود ۴ نژاد جدید تشخیص داده شد، و رقم Gatami نسبت به همه جدایه‌ها بیشترین مقاومت را داشت (Ghobrial, 1977). براساس نتایج به دست آمده از پژوهش دادرضایی و همکاران (Dadrezaei *et al.*, 2006) از بین ۱۸۶ رقم و لاین مورد بررسی، ۵۷ رقم و لاین مصون، ۲۴ رقم مقاوم، ۲۱ رقم نیمه مقاوم، ۱۹ رقم نیمه حساس، ۱۰ رقم حساس و ۳۲ رقم خیلی حساس ارزیابی شدند. رقم کارون و جنوب به این بیماری خیلی حساس، ایذه تقریباً مصون به بیماری بود و رقم تروپی نیمه حساس ارزیابی شد. نامبردگان با تغییر دادن تاریخ کاشت ارقام آلوده شده از شش آذر به ۱۸ آذر، مشاهده کردند که با تاخیر در تاریخ کاشت میزان آلودگی در مزرعه حدود ۴۰ درصد افزایش یافت بنا بر این پیشنهاد شد برای حذف عوامل نا مساعد سال و ارزیابی دقیق‌تر مقاومت ارقام، آزمایش‌های بررسی مقاومت به صورت تکراردار و دو ساله انجام شود.

قارچ *U. hordei* یک انگل اجباری-اختیاری است. تلیوسپورها از سنبله آلوده منتشر می‌شوند و بذرها را موقع تشکیل بذر و یا خرمن‌کوبی آلوده می‌کنند. این اسپورها معمولاً در زیر پوسته بذر تابستان‌گذرانی می‌کنند. بعد از کاشت، هم بذر و هم تلیوسپورها جوانه می‌زنند. جوانه‌زنی تلیوسپور *U. hordei* در خاک با رطوبت متوسط و دمای خنک خاک (۱۰-۱۵°C) افزایش می‌یابد (Tapke, 1948).

Archive of SID

www.SID.ir

در آزمایشی به منظور آلوده‌سازی بذرهای جو به سیاهک سخت، ابتدا بذرها به وسیله کلراکس ۱۰ درصد به همراه توین ۲۰ به مدت ۳ دقیقه تیمار شده و سپس سه مرتبه با آب مقطر استریل شستشو و پس از خشک کردن در دمای ۴ درجه سانتی‌گراد تا زمان مایه‌زنی نگهداری شدند. بذرها ابتدا پوست‌گیری شده و روی کاغذ واتمن درون تشتک پتری که مرنب با آب مقطر استریل خیس می‌شد، قرار داده شدند. بلافاصله پس از قرار دادن بذرها در روی کاغذ واتمن تلیوسپورهای قارچ در محلول ۰/۱ درصد توین ۲۰ به وسیله بورس نقاشی در انتهای جنین بذر مالیده شد و تشتک‌ها پس از پوشیده شدن با کاغذ آلومینیومی در دمای ۲۰ درجه قرار داده شدند (Hu *et al.*, 2002؛ Gaudet *et al.*, 2010).

در بررسی‌های مقدماتی دادرضایی و همکاران (۲۰۰۶) مشخص شد که بسیاری ارقام و لاین‌های امیدبخش جو خصوصاً جوهای بدون پوشینه (جو لخت) به این بیماری حساس هستند. با توجه به اهمیت جو به خصوص جو لخت و ضرورت توسعه آن در استان خوزستان، بررسی مقاومت ارقام و لاین‌های پیشرفته جو بدون پوشینه و پوشینه‌دار و معرفی ارقام مقاوم بسیار حائز اهمیت است و در صورت کاشت و توسعه جو بدون پوشینه حساس در مزارع آلوده، خسارت آن سنگین خواهد بود. همچنین چون ایجاد آلودگی مصنوعی عامل بیماری در جو به منظور ارزیابی مقاومت لاین‌ها و ارقام آزمایشی بسیار دشوار است و آلوده‌سازی مصنوعی بی‌ثبات و ناپایدار بوده و روش‌های به کار رفته هر کدام دارای ایراداتی هستند (Dadrezaei *et al.*, 2006)، دست‌یابی به روش مناسب، سریع و آسان برای مطالعه عکس‌العمل ارقام نسبت به سیاهک سخت امری اجتناب‌ناپذیر است. بر این اساس در این مطالعه ضمن بررسی سه روش آلودگی مصنوعی بذر به طور همزمان مقاومت ارقام تجاری و لاین‌های امیدبخش مورد بررسی قرار گرفت.

مواد و روش‌ها

این پژوهش به مدت سه سال در استان خوزستان انجام شد. در سال اول (۱۳۸۴) تنها به منظور تامین بذر سالم بدون آلودگی و بذر آلوده شده به اسپور سیاهک سخت آزمایشی در مزرعه اجرا شد تا بذر مورد نیاز تیمارهای پیش بینی شده این پژوهش تامین شود. به همین منظور ۲۷ ژنوتیپ شامل ارقام تجاری و امیدبخش جو بدون پوشینه و پوشینه‌دار، در دو گروه جداگانه در دو ایستگاه شاوور و اهواز کاشته شدند. گروه اول بذرها بدون هیچ گونه آلودگی و با ضدعفونی بذر در ایستگاه شاوور (به عنوان منبع بذر سالم شاهد و همچنین برای تیمار آلودگی فقط درآزمایشگاه در نظر گرفته شد) و گروه دوم بذرها نیز برای تامین بذر آلوده شده در مزرعه در اهواز کاشته شد. در اهواز پس از مرحله گرده‌افشانی ۵۰ سنبله اصلی از هر رقم انتخاب و اندام پوششی گلچه‌ها حذف و بر

Archive of SID

www.SID.ir

روی سنبله‌ها پاکت کراس قرار داده شد. آلوده‌سازی ارقام در دو مرحله در زمان تشکیل دانه (مرحله خمیری نرم و خمیری سفت) در بعد از ظهر انجام شد. سنبله‌ها به روش گردپاشی با اسپور سیاهک سخت (جدایه باغملک جمع‌آوری شده در همان سال زراعی) مایه‌زنی شدند. در پایان فصل این منابع بذری سالم و آلوده شده در مزرعه از دو ایستگاه ذکر شده به صورت دستی برداشت و کوبیده شدند تا در پاییز سایر تیمارهای پیش‌بینی شده بر آن‌ها اعمال شود.

از بذرهای آلوده شده با اسپور در اهواز و بذرهای سالم شاوور برای استفاده در تیمارهای سال دوم(۱۳۸۵) و سوم (۱۳۸۶)استفاده شد.

برای آلوده‌سازی مصنوعی ارقام در آزمایشگاه به شرح زیر عمل شد:

۱- دو ظرف استوانه‌ای پلاستیکی درب دار به قطر ۳ و ارتفاع ۸ سانتی‌متر برای هر رقم تهیه شد.

۲- یکی از ظرف‌های پلاستیکی در قسمت ته و بدنه آن توسط یک سوزن داغ سوراخ گردیده (سوراخ یک میلی متری) و ظرف دیگر سالم نگهداری شد.

۳- ۴۰ گرم بذر(۱۰- ۷/۵ گرم برای دو خط یک متری در مزرعه)از هر رقم در هر ظرف استوانه‌ای سالم برای آلوده کردن ریخته شد.

۴- برای تهیه سوسپانسیون اسپور، سنبله‌های خشک شده سیاهک سخت ابتدا آسیاب و سپس الک شد، ۱۰ گرم از پودر سیاهک سخت الک شده را در ۱۸۰۰ میلی‌لیتر آب مقطر استریل به همراه دو قطره توین ۸۰ (Tween 80) برای ۱۰ دقیقه بهم زده شد. این سوسپانسیون برای آلوده‌سازی ۳۰ رقم کافی بود .

۵- حدود ۶۰ میلی‌لیتر از سوسپانسیون تهیه شده در استوانه‌های بذر هر یک از ارقام ریخته شد.

۶- ظرف‌های حاوی بذر و سوسپانسیون اسپور در یک دیسکاتور دارای پمپ مکش (واکیوم) قرار داده و به مدت ۳۰ دقیقه با قدرت مکش حدود .Torr 200 در داخل دیسیکاتور نگهداری شدند. (این عمل به نفوذ سوسپانسون اسپور در پوشینه جوهای پوشینه دار و به قرار گرفتن اسپور روی پریکارب بذر کمک می‌کند) پس از آن سوسپانسیون به مدت ۳۰ دقیقه دیگر به حال خود رها شد تا سوسپانسیون ته‌نشین شود.

۷- محتویات استوانه‌های سالم به استوانه‌های سوراخ شده ظرف به ظرف گردید تا سوسپانسیون اضافی خارج شود. سپس محتویات استوانه‌ها به ظروف پتری حاوی دستمال کاغذی منتقل و به مدت ۲۴ ساعت در مقابل پنکه قرار داده شدند تا بذرها کاملاً خشک شوند.

۸- مراحل ۵، ۶ و ۷ دو بار تکرار شد.

در سال‌های دوم و سوم آزمایشی به صورت فاکتوریل در قالب طرح بلوک‌های کامل تصادفی در سه تکرار اجرا شد. سه روش مایه‌زنی ۱- آلوده‌سازی فقط در مزرعه

Archive of SID

www.SID.ir

(اسپورپاشی در مزرعه)، ۲- آلوده سازی فقط در آزمایشگاه با سوسپانسیون اسپور و ۳- آلوده‌سازی در مزرعه + آلوده‌سازی در آزمایشگاه (ترکیب دو روش فوق) همراه با یک تیمار شاهد بدون مایه‌زنی (بذر به دست آماده از ایستگاه شاوور) به عنوان عامل اول و ۲۷ لاین و رقم پیشرفته جو به عنوان عامل دوم در نظر گرفته شد.

به منظور ارزیابی مقاومت ارقام جو و روش‌های آلوده‌سازی تمام تیمارها در نیمه دوم آذرماه سال‌های ۱۳۸۵ و ۱۳۸۶ در ایستگاه تحقیقاتی کشاورزی اهواز کشت و بررسی شدند.هر کدام از ژنوتیپ‌های آزمایشی روی دو خط یک متری و روی یک پشته با فاصله یک متر از رقم بعدی کشت شدند

میزان کود بر اساس آزمون خاک و توصیه‌های بخش آب و خاک مصرف شد. در طول دوره رشد یاداشت‌برداری‌های لازم شامل زمان ظهور بیماری و شمارش تعداد سنبله‌های آلوده و سالم انجام و درصد آلودگی تعیین شد.

برای تعیین واکنش ارقام از روش گروال و همکاران (Grewal *et al.*, 2006) با کمی تغییر به شرح زیر استفاده شد:

صفر تا ۱ درصد سنبله آلوده : مقاوم

۱ تا ۵ درصد سنبله آلوده : نیمه مقاوم

۵ تا ۱۰ درصد سنبله آلوده : نیمه حساس

۱۰ تا ۲۰ درصد سنبله آلوده : حساس

و بیش از ۲۰ درصد سنبله آلوده به عنوان خیلی حساس در نظر گرفته شد.

داده‌های به دست آمده پس از تبدیل، بر اساس موازین طرح بلوک‌های کامل تصادفی تجزیه واریانس شد و میانگین‌ها از بر اساس آزمون چند دامنه‌ای دانکن با یک‌دیگر مقایسه شدند. در پایان سال سوم نیز تجزیه مرکب دو ساله(۱۳۸۵ و ۱۳۸۶) بر اساس آزمایش فاکتوریل در قالب طرح بلوک‌های کامل تصادفی انجام شد.

نتایج و بحث

نتایج تجزیه واریانس در سال ۱۳۸۵ (جدول ۱) نشان داد که تفاوت بین روش‌های مختلف ایجاد آلوده‌سازی و ژنوتیپ‌ها در سطح احتمال یک درصد معنی‌دار بود. با توجه به مقایسه میانگین‌ها (جدول ۲) روش آلوده‌سازی در مزرعه + آلوده‌سازی در آزمایشگاه (ترکیب دو روش) و آلوده‌سازی فقط در آزمایشگاه بیشترین درصد سنبله آلوده را تولید کردند و درصد سنبله آلوده میزان مربوط به روش آلوده‌سازی فقط در مزرعه و شاهد بدون مایه‌زنی بود. در بین ژنوتیپ‌ها، رقم جنوب و لاین‌های شماره ۱۸ و ۱۳ به ترتیب بیشترین و لاین شماره ۲۴ کمترین درصد سنبله آلوده را داشتند. پس از آن لاین‌های شماره ۱۵، ۱۴، رقم ایذه و لاین شماره ۷ به ترتیب کمترین درصد سنبله آلوده را داشتند (نام ارقام و لاین‌ها در جدول ۵ نشان داده شده است).

نتایج تجزیه واریانس داده‌های سال ۱۳۸۶ نیز مشابه نتایج سال ۱۳۸۵ بود.

Archive of SID

www.SID.ir

جدول ۱- تجزیه واریانس ساده درصد سنبله های آلوده به سیاهک سخت در روش‌های آلوده سازی و ژنوتیپ‌های جو در سال‌های ۱۳۸۵ و ۱۳۸۶

Table 1. Analysis of variance for percentage of infected heads with covered smut in different inoculation methods and genotypes of barley in 2006 and 2007

S.O.V.	منابع تغییرات	درجه آزادی df.	میانگین مربعات MS ۱۳۸۵ 2006	۱۳۸۶ 2007
Replication	تکرار	2	2.88^{ns}	3.69^{ns}
Inoculation	آلوده سازی	3	331.43**	294.34**
Genotype	ژنوتیپ	26	14.10**	13.93**
Inoculation ×Genotype	اثر آلوده‌سازی × ژنوتیپ	78	5.51**	5.10**
Error	خطا	214	0.30	0.29
CV%	ضریب تغییرات	---	20.40	19.60

ns و **: به ترتیب غیر معنی دار و معنی دار در سطح احتمال ۱٪.

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

جدول ۲- مقایسه میانگین درصد سنبله‌های آلوده به سیاهک سخت در روش‌های آلوده‌سازی و ژنوتیپ‌های جو در سال‌های ۱۳۸۵ و ۱۳۸۶

Table 2. Mean comparison of percentage of infected heads with covered smut in different inoculation methods and genotypes of barley in 2006 and 2007

Treatments	درصد سنبله های آلوده Percentage of infected heads ۱۳۸۵ 2006	۱۳۸۶ 2007
Inoculation in field + laboratory	23.91a	23.43a
Inoculation only in laboratory	19.54a	20.54a
Inoculation only in field	3.03b	2.93b
Control	0.55c	0.89c

میانگین‌ها با حروف مشترک در هر ستون بر اساس آزمون چند دامنه دانکن در سطح احتمال ۵٪ درصد تفاوت معنی‌داری ندارند.

Means in each column followed by similar letters are not significantly different at the 5% probability level, using Duncan's multiple range test.

نتایج تجزیه واریانس مرکب دو ساله بر اساس آزمایش فاکتوریل در قالب طرح بلوک‌های کامل تصادفی (جدول ۳) نشان داد که تفاوت بین روش‌های مختلف آلوده‌سازی در سطح احتمال یک درصد معنی‌دار بود و با توجه به نتایج مقایسه میانگین‌ها (جدول ۴)، روش آلوده‌سازی در مزرعه + آلوده‌سازی در آزمایشگاه بیشترین درصد سنبله آلوده را داشت. درصد سنبله آلوده در روش آلوده‌سازی تنها در آزمایشگاه کمی کمتر از روش آلوده‌سازی در

Archive of SID

www.SID.ir

جدول ۳ – تجزیه واریانس مرکب داده‌های دو ساله مربوط به درصد سنبله های آلوده به سیاهک سخت در روش‌های آلوده‌سازی و ژنوتیپ‌های جو

Table 3. Combined analysis of variance for percentage of infected heads with covered smut in different inoculation methods and genotypes of barley for two years

S.O.V.	منابع تغییرات	درجه آزادی df.	مجموع مربعات MSS	میانگین مربعات MS
Year (Y)	سال	1	0.003	0.003**
Year × Replication	سال ×تکرار	4	13.151	3.288
Inoculation (I)	آلوده‌سازی	3	1874.798	624.933**
Y × I	سال × آلوده‌سازی	3	2.528	0.843^{ns}
Genotype (G)	رقم	26	725.729	27.913**
Y × G	سال × ژنوتیپ	26	2.963	0.114^{ns}
G × I	اثر ژنوتیپ ×آلوده‌سازی	78	820.66	10.521**
G × I × Y	سال × ژنوتیپ ×آلوده‌سازی	78	6.964	0.089^{ns}
Error	خطا	428	149.064	0.348

ns و **: به ترتیب غیر معنی دار و معنی دار در سطح احتمال ۱٪.

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

جدول ۴- مقایسه میانگین دو ساله درصد سنبله‌های آلوده ژنوتیپ‌های جو به سیاهک سخت در روش‌های آلوده‌سازی

Table 4. Two years mean comparison of percentage of infected heads of barley genotypes with covered smut in different inoculation methods

Treatments	میانگین Mean
Inoculation in field + laboratory	23.69a
Inoculation only in laboratory	18.91b
Inoculation only in field	2.97c
Control	0.71d

میانگین‌ها با حروف مشترک بر اساس آزمون چند دامنه دانکن در سطح احتمال ۵٪ درصد تفاوت معنی‌داری ندارند.

Means followed by similar letters are not significantly different at the 5% probability level, using Duncan's multiple range test.

مزرعه + آزمایشگاه بود. در تیمارهای آلوده‌سازی تنها در مزرعه و شاهد درصد سنبله‌های آلوده بسیار کم بود (جدول ۴).

نتایج تجزیه واریانس مرکب (جدول ۳) همچنین نشان داد بین ژنوتیپ‌های جو از نظر درصد سنبله آلوده تفاوت معنی‌داری در سطح احتمال یک درصد وجود داشت. نتایج مقایسه میانگین درصد سنبله آلوده در ژنوتیپ‌های مختلف (جدول ۵) مشخص کرد که به ترتیب رقم جو جنوب و لاین‌های شماره ۱۸، ۱۳، ۲۶ و

Archive of SID

www.SID.ir

جدول ۵- مقایسه میانگین دو ساله درصد سنبله‌های آلوده ژنوتیپ‌های جو به سیاهک سخت و واکنش‌ها آن‌ها به بیماری

Table 5. Two years mean comparison of percentage of infected heads of barley genotypes with covered smut and their response to the disease

Genotype No.	Pedigree/name	میانگین درصد سنبله آلوده Mean percentage of infected heads	Response	واکنش
1	Jonoob	24.26a	VS	خیلی حساس
18	CABUYA/MJA//PETUNIA 1	20.60ab	VS	خیلی حساس
13	ICNB93-369	20.32ab	VS	خیلی حساس
26	E-M-82-14 BF891M-592	20.08ab	VS	خیلی حساس
23	BF891M-612	16.97bcd	S	حساس
4	Poa/hjo//qjina	15.41cd	S	حساس
16	Rubikon	14.24de	S	حساس
17	ND155.77//MATNAN/EH165/3/POLEO//BREA/DL70/4/…	13.82def	S	حساس
22	BF891M-592	11.79efg	S	حساس
11	Scotia/Wa1356.70//Wa1245...	11.22efgh	S	حساس
3	79W40762/pueblade Guzman//Gloria "S" /Copal "S"	10.65efghi	S	حساس
20	CABYUA/MJA//PETUNIA 1	10.14ghi	S	حساس
9	Comino	9.93ghi	MS	نیمه حساس
5	ARIZONA5908/ATHS//LIGNEE640/6/LIGNEE527/5/AS54/	9.16ghi	MS	نیمه حساس
10	Beecher-Sel//Gloria"S"/Copal"S"	8.63hij	MS	نیمه حساس
25	ICNB93-328	7.75ijk	MS	نیمه حساس
19	ZAV/PEUNIA 1//CABUYA	6.45jjkl	MS	نیمه حساس
12	FLORIPONDIO/ALDE/4/CEDRO//MATNAN/EH165/...	5.54kl	MS	نیمه حساس
2	Nimrooz	5.17lm	MS	نیمه حساس
21	BF891M-609(Sel;1AP)	4.84lm	MR	نیمه مقاوم
6	CIN-B/80.5138//BLORIA-BAR/EOPAL3.	4.4lm	MR	نیمه مقاوم
8	GLORIA-BAR/COPAL//ABN-B/3/SHYRI/4/...	4.29lm	MR	نیمه مقاوم
7	Lignee 527/Chn-01//Gustoe/4/Rhn-08/3/Deir Alla 106//	3.39mn	MR	نیمه مقاوم
27	Izeh	2.45no	MR	نیمه مقاوم
14	MOLA/BERMEJO//NISPRO/3/ALISO/C13909.2/4HIGO	2.70no	MR	نیمه مقاوم
15	CEN-B/2 CALI92//CERRAJA/3/CLN-B/80.5138…	1.00op	R	مقاوم
24	MOLA/SHYRI//ARUPO*2/JET/3/CONDOR-BAR/4/…	0.81p	R	مقاوم

۲۳ بیشترین درصد سنبله آلوده را داشتند و با توجه به آلودگی بالای ۲۰٪ به عنوان بسیار حساس ارزیابی شدند. این ژنوتیپ‌ها جهت تکثیر جدایه‌های قارچ عامل بیماری و یا بررسی اثر سموم مناسب هستند. لاین شماره ۲۴ کمترین درصد سنبله آلوده را داشت و پس از آن

Archive of SID

www.SID.ir

لاین‌های شماره ۱۵ و ۱۴، رقم ایذه و لاین شماره ۷ قرار گرفتند. با توجه به میزان آلودگی کمتر از ۵ درصد در این ژنوتیپ‌ها، آن‌ها به عنوان ژنوتیپ‌های نیمه مقاوم ارزیابی شدند (Grewal *et al.*, 2006).

نتایج تجزیه واریانس مرکب دو ساله نشان داد تفاوت بین سال‌ها و نیز اثر متقابل سال × تکرار نیز در سطح یک درصد معنی‌دار بود که این مطلب نشان‌دهنده آن است که آلوده‌سازی تحت تاثیر شرایط محیطی قرار گرفته و شدیداً متاثر از محیط است. در سال ۱۳۸۶به دلیل عدم وجود شرایط محیطی مساعد در مجموع میزان آلودگی ۱۱ درصد کاهش نشان داد.

بر اساس جدول تجزیه واریانس مرکب دو ساله، اثر متقابل سال × روش‌های آلودگی، سال × ژنوتیپ و سال × روش‌های آلودگی و ژنوتیپ معنی‌دار نبود اما بین روش‌های مختلف آلودگی و ژنوتیپ‌ها در سطح ۱٪ تفاوت معنی‌داری وجود داشت. به عبارت دیگر تحت هر شرایطی روش آلوده‌سازی در مزرعه + آلوده‌سازی در آزمایشگاه موثرترین روش آلوده‌سازی بود و در هر دو سال بهترین نتایج را داشت. لاین شماره ۲۴ مستقل از اثر سال در هر دو سال مقاوم‌ترین و رقم جو جنوب حساس‌ترین ژنوتیپ‌ها بودند. در تمامی این شرایط چه در سال ۱۳۸۵ که بیماری بیشتر بوده و چه در سال ۱۳۸۶ که کمتر بود جایگاه روش‌های آلودگی و یا جایگاه مقاومت و حساسیت ژنوتیپ‌ها تغییری نیافته بود.

تعداد سنبله‌های آلوده به دست آمده در روش‌های مختلف آلوده سازی متفاوت بود (جدول ۶) بیشترین تعداد سنبله‌های آلوده مربوط به روش آلوده‌سازی در مزرعه + آلوده‌سازی در آزمایشگاه با ۵۰۹۸ سنبله آلوده و پس از آن روش آلوده‌سازی فقط در آزمایشگاه با ۳۹۹۲ سنبله آلوده بود وکمترین تعداد سنبله آلوده مربوط به روش آلودگی فقط در مزرعه با ۸۱۹ سنبله بود.

جدول ۶ – تعداد سنبله‌های آلوده به سیاهک سخت در روش‌های مختلف آلوده‌سازی در دو سال
Table 6. Number of infected heads with covered smut in different inoculation methods in two years

	Inoculation method			
	آلودگی فقط در مزرعه	آلودگی در مزرعه + آزمایشگاه	آلودگی فقط در آزمایشگاه	شاهد بدون آلودگی
Year	Inoculation only in field	Inoculation in field + laboratory	Inoculation only in laboratory	Control
First year	433	2677	2125	9
Second year	386	2421	1867	61
Total	819	5098	3992	70

Archive of SID

www.SID.ir

روش آلوده‌سازی فقط در مزرعه نسبت به آلوده‌سازی فقط در آزمایشگاه حدود ۸۰ درصد سنبله آلوده کمتر ایجاد کرده بود در حالی که روش آلوده‌سازی فقط در آزمایشگاه نسبت به روش آلوده‌سازی در مزرعه + آلوده‌سازی در آزمایشگاه حدود ۲۲ درصد سنبله آلوده کمتر ایجاد کرده بود. ضمن این که مجموع دو روش آلودگی فقط در مزرعه و فقط در آزمایشگاه از مجموع روش توام آلودگی در مزرعه و آزمایشگاه کمتر بوده وکاهش ۶ درصدی نشان داد.

نتایج این بررسی نشان داد روش آلوده‌سازی در مزرعه، به تنهایی میزان آلودگی مناسبی را برای ارزیابی مقاومت ارقام به بیماری سیاهک سخت در ارقام جو ایجاد نمی‌کند همچنین بیانگر اثر بالای روش آلوده‌سازی در آزمایشگاه نسبت به مزرعه بود. این روش شرایط مناسبی ایجاد می‌کند تا تلیوسپورها تندش کرده و هیف‌های دو هسته‌ای که عامل ایجاد آلودگی در بذر هستند از قبل تشکیل و بر روی مریستم انتهایی گیاه مستقر شوند (Hu *et al.*, 2002). ایجاد آلودگی بیشتر باعث می‌شود که حساسیت یا مقاومت یک رقم به طور دقیق‌تری ارزیابی شود. به طورکلی، آلودگی موفق زمانی اتفاق می‌افتد که هیف‌های *U. hordei* به گیاهچه‌های در حال جوانه‌زنی جو نفوذ کند. بسیاری از سیاهک‌های دو قطبی آلوده کننده غلات دانه ریز، پس از جوانه‌زنی بذر فرصت بسیار کوتاهی دارند تا گیاهچه را آلوده کنند (Hu *et al.*, 2002). در روش‌های متعددی که قبلاً به کار برده می‌شد اسپورها در سطح بذر با پوسته بذر مایه‌زنی می‌شوند و همین امر ممکن بود همزمانی ایجاد میسلیوم آلوده‌کننده را در محیط و خروج کلئوپتیل را از بذر دچار اختلال کند و قارچ فرصت آلوده‌کنندگی خود را از دست بدهد. اما در روش‌هایی که اخیراً برای آلوده‌سازی استفاده می‌شود با بدون پوشش کردن بذرها و قرار دادن تلیوسپورها در انتهای جنین این مشکل حل شده است.

در این بررسی بیشترین درصد آلودگی در تیمار ترکیب دو روش آلوده‌سازی در آزمایشگاه و آلوده‌سازی در مزرعه به دست آمد. روش آلوده‌سازی در آزمایشگاه نیز منجر به ایجاد آلودگی بالائی در ژنوتیپ‌ها شد به طوری که از نظر درصد سنبله‌های آلوده ایجاد شده بین این روش با ترکیب دو روش آلوده‌سازی در آزمایشگاه + آلوده‌سازی در مزرعه اختلاف چندانی وجود نداشت. با توجه به سختی کار و زمان بر بودن روش آلوده‌سازی در مزرعه (برداشتن پوشینه‌های بذر قبل از گرده‌افشانی که احتیاج به کار و کارگر ماهر دارد ضمن این که امکان آسیب رساندن به بذرها نیز هنگام برداشتن پوشینه‌ها وجود دارد) و نیز استفاده از ترکیب دو روش آلوده‌سازی مزرعه‌ای و آزمایشگاهی دشوار و نیاز به کار و کارگر ماهر و وقت زیاد است. بنابراین روش آلوده‌سازی در آزمایشگاه که به راحتی قابل اجرا است و احتیاج به کار و کارگر ماهر و

Archive of SID

www.SID.ir

صرف وقت برای آلوده‌سازی و اسپورپاشی ندارد، بهترین و کاربردی‌ترین روش آلوده‌سازی شناخته شد و برای ایجاد آلودگی مصنوعی در ارزیابی مقاومت ارقام قابل توصیه است. علاوه بر روش آلوده‌سازی عوامل دیگری در ایجاد آلودگی مصنوعی برای سیاهک سخت جو وجود دارد. تاریخ کاشت دیرتر به دلیل پائین بودن نسبی دما و رشد کندتر کلئوپتیل و خروج دیرتر آن از خاک و از طرفی رشد سریع تر عامل بیماری (در دمای پائین‌تر رشد بیشتر و سریع‌تری دارد) باعث ایجاد آلودگی بیشتری می‌شود. تاریخ کاشت زودتر به علت سرعت بیشتر رشد کلئوپتیل و خروج سریع‌تر آن از خاک باعث فرار گیاه از آلودگی می‌شود. در واقع زمان و مرحله مناسب برای آلوده شدن گیاه به سیاهک سخت بسیار کوتاه است باشد (آلودگی از طریق کلئوپتیل و قبل از خروج گیاهچه از خاک انجام می‌شود). هر عاملی که باعث شود این زمان طولانی‌تر شود امکان آلودگی بیشتر را فراهم خواهد کرد. بر اساس بررسی‌های انجام شده توسط دادرضایی و همکاران (۲۰۰۶) در مناطق شمالی استان خوزستان مانند ایذه، باغملک و سردشت شدت و گسترش بیماری نسبت به مناطق جنوبی استان که درجه حرارت در زمان کاشت بالاتر بوده و معمولاً جو زودتر از مناطق شمالی استان کشت می‌شود بسیار بیشتر است، به همین دلیل با توجه به شرایط آب و هوایی کشور بهتر است برای اجرای آزمایش‌های ارزیابی مقاومت به این بیماری به تاریخ مناسب کاشت و دمای زمان کاشت و عمق کاشت بذر توجه شود. تاریخ مناسب‌تر کاشت را بر اساس تاخیر در خروج کلئوپتیل و رشد سریع عامل بیماری تخمین زده و اقدام به کاشت مواد آزمایشی شود. باید به این نکته توجه خاص کرد که ایجاد آلودگی مصنوعی در بیماری سیاهک سخت بسیار دشوار بوده و اثر آن نیز ناپایدار و بی‌ثبات است (Anderson *et al.*, 1999) و شدیداً تحت تاثیر شرایط محیطی قرار می‌گیرد به همین دلیل این گونه آزمایش‌ها باید در چند تکرار انجام شود و با توجه به تحت تاثیر قرار گرفتن میزان آلودگی از شرایط محیطی بیشترین میزان آلودگی میزان قضاوت و ملاک مقاومت یا حساسیت ارقام قرار گیرد نه میانگین آلودگی.

توجه به دمای محیط که تندش اسپورها را تحت تاثیر قرار می‌دهد در آلوده شدن گیاه مهم است محدوده درجه حرارت محیط برای تندش تلیوسپورها ۵ الی ۳۵ درجه سانتی‌گراد و حرارت مناسب ۲۴ ـــ ۱۵ درجه است. بهترین درجه حرارت برای ایجاد آلودگی در گیاه ۲۰-۱۸ درجه سانتی‌گراد است (Kozar, 1969). علاوه بر دما، تاریکی هم در جوانه‌زنی اسپورها موثر است. در تحقیقی که توسط هو و همکاران (۲۰۰۲) و گادت و همکاران (۲۰۱۰) انجام شد، پس از مایه‌زنی قارچ، ظرف بذرهای مایه‌زنی شده با فویل آلومینیومی پوشانده شده و بعد از ۴۸ ساعت بذرها کاشته شدند. میزان جوانه‌زنی اسپور روی

Archive of SID

www.SID.ir

کلئوپتیل جو ۸ ساعت پس از مایه‌زنی ۸ تا ۱۲ درصد برآورد شد و بعد از ۴۸ ساعت به بالاترین مقدار خود یعنی ۹۰ تا ۹۵ درصد رسید. این نشان‌دهنده اثر تاریکی در جوانه‌زنی اسپورها و بالا رفتن میزان آلودگی تلقی می‌شود. در این پاتو سیستم قدرت بیماریزایی قارچ به شدت تحت تاثیر عوامل محیطی بوده و با توجه به مکان و زمان متغیر است. تاریخ کاشت نیز بر روی ظهور و شدت آلودگی تاثیرگذار است. در خوزستان نتایج تحقیقات دادرضایی و همکاران(۲۰۰۶) نشان داد که تاریخ کاشت ۳۰-۱۵ آذر که دما بین ۱۵ تا ۲۰ درجه سانتی‌گراد است، بهترین زمان برای ایجاد آلودگی بوده و برای غربال ارقام نسبت به سیاهک سخت این تاریخ کاشت توصیه می‌شود. برای غربال ارقام در هر منطقه باید تاریخ مناسب کشت که باعث ظهور حداکثر بیماری می‌شود را شناسایی کرد. برای مبارزه و در حقیقت فرار از بیماری نیز می‌توان از تغییر و تنظیم تاریخ کاشت استفاده نمود.

References

Abdel Hak, T., Ghobrial, E., and Sabet, T. 1975. Physiologic races of *Ustilago hordei* (Pers.) Lagerh., the causal organism of covered smut of barley in A.R.E. Agricultural Research Review, Egypt 53(2): 9-14.

Akar, T., Avci, M., and Dusunceli, F. 2004. Barley: Post harvest operations. Available at: http://www.fao.org/inpho/content/compend/text/ch31/ch31.htm.

Anderson, C. M., Willits, D. A., Kosted, P. J., Ford, E. J., Martinez-Espinoza, A. D., and Sherwood, J. E. 1999. Molecular analysis of the pheromone and pheromone receptor genes of *Ustilago hordei*. Genetics 240: 89-97.

Babadoost, M. 1995. Incidence of seed-borne fungal diseases of barley in East Azarbaijan and Ardebil provinces. Iranian Journal of Plant Pathology31 (1-4): 77-79 (in Persian).

Ben-yephet, Y., Henis, Y., and Dinoor, A. 1975. Inheritance of tolerance of carboxin and benomyl in *Ustilago hordei*. Phytopathology 64: 51–56.

Dadrezaei, S. T., Torabi, M., and Lakzadeh, I. 2006. Study of resistance in some advanced hulless and hulled barley lines to covered smut (*Ustilago hordei*) in Khuzestan province. Proceedings of the 17th Iranian Plant Protection Congress, Karaj, Iran. page 57 (in Persian).

Archive of SID

www.SID.ir

Darvishnia, M. 2004. A study on distribution and infection rate of barley smuts in Lorestan province. Proceedings of the 16th Iranian Plant Protection Congress, Tabriz, Iran. page 72 (in Persian).

Emara, Y. A., and Freake, G. W. 1981. Effects of environment and genotype and their interaction on pathogenicity of *Ustilagc hordei*. 1. Parasite-environment effects. Journal of Heredity 72(4): 261 – 263.

Ershad, D. 1995. Fungi of Iran. Agricultural Research, Education and Extension Organization, Tehran, Iran. 874 pp. (in Persian).

Gaudet, D. A., Wang, Y., Penniket, C., Lu, Z. X., Bakkeren, G., and Laroche, A. 2010. Morphological and molecular analysis of host and nonhost interactions involving barley and wheat and the covered smut pathogen *Ustilago hordei*. Molecular Plant-Microbe Interactions 23: 1619-1634.

Ghobrial, E. 1977. Physiologic races of *Ustilago hordei* (Pers.) Lagerh., the causal organism of barley covered smut in A.R.E. Agricultural Research Review, Egypt 55(2): 23-29.

Grewal, T. S., Rossnagel, B. G., and Scoles, G. J. 2006. Inheritance of resistance to covered smut **[***Ustilago hordei* (Pers.) Lagerh.] in barley. Canadian Journal of Plant Science 86: 829–837.

Gryaznov, A. A. 1981. Study of smut fungi under artificial conditions of infection – an important link in barely breeding. CAB: OP Plant Breeding- Abstract.

Henry, C. E., Gaines, V., Bullock, B., and Schaefer, R. W. 1987. Genetics of *Ustilago hordei*: fungicide resistant mutants. Botanical Gazette 148: 501–506.

Hu, G. G., Linning, R., and Bakkeren, G. 2002. Sporidial mating and infection process of the smut fungus, *Ustilago hordei*, in susceptible barley. Canadian Journal of Botany 80: 1103–1114.

Kozar, F. 1969. The pathway of infection of *Ustilago hordei*. Canadian Journal of Genetics and Cytology 11: 977-986.

Leroux, P., and Berthier, G. 1988. Resistance to carboxin and fenfuram in *Ustilago nuda* (Jens.) Rostr., the causal agent of barley loose smut. Crop Protection 7: 16–19.

Martinez-Espinoza, A. D., Gerhardt, S.A., and Sherwood, J. E. 1993. Morphological and mutational analysis of mating in *Ustilago hordei*. Experimental Mycology 17: 200-214.

Archive of SID

www.SID.ir

Maslenkova, L. I., and Paderina, E. V. 1980. Immunity study of a barley collection in order to breed for resistance to smut diseases. Nauch.-tekhn. Byul. Sib. NII S. Kh. 53: 18-19.

Mathre, D. E. 1997. Compendium of Barley Diseases, 2nd ed. The American Phytopathological Society, St. Paul, Minnesota, USA.78pp.

Moeini, M. R. 1995. Infected ratio and distribution area of 3 fungal diseases of barley in Zanjan province. Proceedings of the 12th Iranian Plant Protection Congress, Karaj, Iran. page 56 (in Persian).

Salari, A., and Ershad, D. 1994. An investigation on mycoflora of barley-seeds in Iran. Iranian Journal of Plant Pathology 30 (1-4): 23-28 (in Persian).

Salari, M., Sharifi Tehrani, A., Okhovat, M., and Zad, J. 1993. Evaluation of some fungicides on *Ustilago hordei*. Proceedings of the 11th Iranian Plant Protection Congress, Rasht, Iran. page 44 (in Persian).

Shrivastava, S. N., and Srivastava, D. P. 1976. Resistance of barley varieties to covered smut. Indian Phytopathology 29(3): 319 – 320.

Tapke, V. F. 1948. Environment of the cereal smuts. Botanical Review 14: 359-412.

Thomas, P. L. 1973. Response of barley varieties to recombination between to virulence loci of *Ustilago hordei*. Canadian Journal of Genetics and Cytology 15(3): 563-566.

Thomas, P. L., and Menzies, J.G. 1997. Cereal smuts in Manitoba and Saskatchewan, 1989-95. Canadian Journal of Plant Pathology 19: 161-165.

Weise, M. V. 1987. Compendium of Wheat Diseases, 2nd ed. American Phytopathological Society Press, St. Paul, Minnesota, USA. 112pp.

Archive of SID

www.SID.ir