

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

جعفر جعفرزاده^۱، اسداله بابای اهری^۱، محمد مقدم واحد^۱، مصطفی ولیزاده^۱، حمداله کاظمی^۱ و حبیب‌الله قزوینی^۲

^۱گروه گیاهپزشکی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه تبریز؛ 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 ۱۹ مزرعه مختلف جو استانهای آذربایجان تهیه شده بود، پژوهشی در گلخانه گروه گیاهپزشکی دانشگاه تبریز در سال ۱۳۷۹ با استفاده از رقم حساس زرگو صورت پذیرفت. در این راستا ۲۶ جدایه‌ی قارچی بعد از جداسازی، از طریق نوک ریشه خالص‌سازی شد. آلوده‌سازی بذرها به روش ساندویچ صورت گرفت. ارزیابی شدت بیماری در گیاهان به روش ماتور و بتنگار انجام شد. بر اساس نتایج حاصل ۸ جدایه‌ی مرند ۳، بستان آباد، خاصه بان تیره، عجب شیر ۲، اهر ۲، اسکو آقه‌وه‌ای، مرند ۲/۱ و آذرشهر با ۱۰۰-۵۰/۱ درصد بوته‌های آلوده در کلاس جدایه‌های با قدرت بیماری‌زایی بسیار قوی، ۷ جدایه‌ی خوی، اسکو سفید، میانه ۲، اسکو سفید، میانه ۱، مرند ۲/۲، عجب شیر ۱ 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 زمینه ارزیابی ارقام جو و توده‌های بومی به‌منظور گزینش ژنوتیپ‌های مقاوم 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 علائم 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 (۱۳۵۴) اولین بار بیماری لکه نواری جو در ایران را گزارش کرد. سپس بابادوست (۱۳۶۷) 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 (۱۳۷۴) طی مطالعه‌ای در استان آذربایجان شرقی، آلودگی مزارع دیم را ۴۰ و مزارع



حاوی آب مقطر یک بار سترون قرار داده شدند. بعد از گذشت حدود ۶-۵ روز کنیدیوفرها و کنیدیومها بر روی قطعات آلوده مشاهده شدند البته بسته به جدایه قارچی این مدت می‌تواند متغیر باشد (محمدی، ۱۳۷۴).

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 عصاره 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 برگگی 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 ۶-۵ 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 تهیه این نوع محیط کشت برای هر کدام از جدایه‌ها 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 به مدت ۲۰-۱۵ دقیقه جوشانده شد، سپس به ۲۵۰ میلی‌لیتر عصاره حاصل ۵ گرم دکستروز و ۵ گرم 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*

آبی را ۳۴ درصد برآورد کردند. آنها وزن هزار دانه سالم و آلوده را بترتیب ۴۸ و ۱۶/۵ 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 (۱۳۶۷) 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 آلوده مزارع اطراف ۱۹ شهر و روستای استانهای آذربایجان جمع‌آوری شده بودند.

برای کنیدیوم‌زایی جدایه‌های جمع‌آوری شده، از محیط‌های کشت مرطوب، عصاره کاه جو- دکستروز- آگار^۱ (BSEDA) و عصاره کاه گندم- دکستروز- آگار^۲ (WSEDA) 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



ارزیابی بوته‌های آلوده و تعیین قدرت بیماری‌زایی جدایه‌ها ۴۵ روز بعد از انتقال گیاهچه‌ها از ظروف پتری به گلدانها به روش ماتور و بتنگار (۱۹۹۲) انجام گرفت. شاخص ارزیابی مقاومت ماتور و بتنگار (۱۹۹۲) به شرح جدول ۱ استفاده شد:

جدول ۱- شاخص ارزیابی مقاومت ماتور و بتنگار.

قدرت بیماری‌زایی	درصد آلودگی
عدم آلودگی	غیر بیماری‌زا
آلودگی	۱-۵ درصد بوته‌ها
آلودگی	۵/۱-۱۰ درصد بوته‌ها
آلودگی	۱۰/۱-۲۵ درصد بوته‌ها
آلودگی	۲۵/۱-۵۰ درصد بوته‌ها
آلودگی	بیشتر از ۵۰ درصد بوته‌ها

همچنین تجزیه خوشه‌ای جدایه‌های قارچی بر اساس قدرت بیماری‌زایی به روش ستروئید 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 (جدول ۲).

جدول ۲- تجزیه واریانس قدرت بیماری‌زایی جدایه‌های قارچ *P. graminea* بر روی رقم زرجو.

منابع تغییر	درجه آزادی	میانگین مربعات
تکرار	۳	۱۱۸۵/۸۹**
جدایه	۲۵	۳۳۳/۲۴**
خطا	۷۵	۱۳۱/۴۱
ضریب تغییرات	۲۹/۸۸	

** معنی‌دار در سطح احتمال ۱ درصد می‌باشد

با توجه به شاخص ارزیابی ملاحظه گردید که جدایه‌های مرند ۳، بستان آباد، خاصه بان تیره، عجب شیر ۲، اهر ۲، اسکوا قهوه‌ای، مرند ۲ و آذرشهر در زمرة جدایه‌های بسیار قوی قرار دارند و بقیه جدایه‌ها از نوع

با توجه به اینکه تعداد کنیدیوم‌های تولید شده توسط جدایه‌ها کم بود، برای خالص‌سازی جدایه‌ها روش نوک ریشه و محیط کشت آب آگار^۱ 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 ۵ میلی‌متر از محیط کشت حاوی جدایه خالص شده عامل بیماری در مرکز ظرف پتری حاوی PDA^۲ قرار داده شد و در دمای ۲۵-۲۰ درجه 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 لایه PDA حاوی ریشه عامل بیماری گذاشته شدند. همچنین تعدادی بذر در داخل دو لایه 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 ۴ تکرار و با ۲۶ 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 به عنوان شاهد لحاظ گردید. دمای گلخانه ۱۶-۱۲ درجه سانتی‌گراد بود و طول دوره نوری به ۱۲ ساعت در روز تنظیم گردید.

1- Water Ager
2- Potato Dextrose Agar



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 رشد میزبان، دما، تغییرات نور و نوع 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 جدایه‌های مورد مطالعه وجود دارد. بنابراین، می‌توان با استفاده از واریته‌های محک، نژادهای فیزیولوژیک متفاوت را در بین ۲۶ جدایه مورد مطالعه مشخص کرد. از بین ۲۶ جدایه مورد نظر، ۴ جدایه مرند ۳، بستان آباد، خاصه بان تیره و عجب‌شیر ۲ به‌عنوان جدایه‌های برخوردار از قدرت بیماری‌زایی بالا می‌باشند. از این جدایه‌ها می‌توان برای ارزیابی تفاوت ارقام و توده‌های بومی جو استفاده نمود.

قوی، نیمه‌قوی و ضعیف بودند (جدول ۳). تجزیه خوشه ۲۶ جدایه مورد مطالعه سه خوشه را تشکیل داد. خوشه یک شامل ۶ جدایه مرند ۳، بستان آباد، خاصه بان تیره، عجب‌شیر ۲، اهر ۲ و اسکوا ۱ قهوه‌ای بود که با میانگین قدرت بیماری‌زایی برابر ۸۰/۸۵ درصد عمدتاً از جدایه‌های بسیار قوی تشکیل شده است. خوشه دوم را ۷ جدایه مرند ۲/۱، آذرشهر، خوی، اسکوا ۲ سفید، میانه ۲، اسکوا ۱ سفید و میانه ۱ تشکیل داد که با میانگین قدرت بیماری‌زایی برابر با ۴۷/۵۳ درصد غالباً از در گروه قوی واقع شد. ۱۳ جدایه مرند ۲/۲، عجب شیر ۱، علمدار، بارانلو، اهر ۱، شبستر، نمین، خاصه بان قهوه‌ای، اردبیل مرند ۱، اسفهان، ایلخچی قهوه‌ای خوشه سوم را تشکیل دادند که با میانگین قدرت بیماری‌زایی برابر با ۱۳/۸۲ اکثراً جدایه‌های ضعیف بود (شکل ۲). 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 در ۳ دسته غیر بیماری‌زا، بیماری‌زای متوسط و بیماری‌زا گروه‌بندی نمودند.

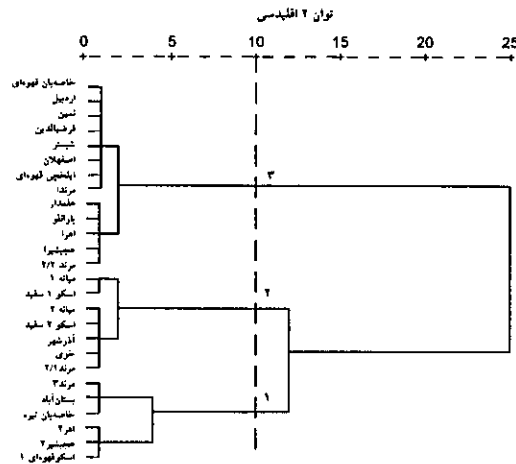
سمدگارد و جورجنسن (۱۹۸۲) طی آزمایشی واکنش ۲۸ رقم جو را نسبت به ۱۵ جدایه مطالعه کردند و اظهار

جدول ۳- میانگین قدرت بیماری‌زایی جدایه‌های قارچ *Pyrenophora graminea* بر روی رقم زرچو.

ردیف	نام جدایه	درصد بوته‌های آلوده	ردیف	نام جدایه	درصد بوته‌های آلوده
۱	مرند ۳	۹۳/۷۵	۱۴	مرند ۲/۲	۲۸/۹۶
۲	بستان آباد	۹۰/۶۳	۱۵	عجب شیر ۱	۲۵
۳	خاصه بان تیره	۸۷/۰۵	۱۶	علمدار	۱۹/۶۹
۴	عجب شیر ۲	۷۷/۸۰	۱۷	بارانلو	۱۹/۶۴
۵	اهر ۲	۷۱/۸۸	۱۸	اهر ۱	۱۷/۵۶
۶	اسکوا ۱ قهوه‌ای	۶۷/۲۴	۱۹	شبستر	۱۲/۵
۷	مرند ۲/۱	۵۷/۴۱	۲۰	نمین	۹/۳۸
۸	آذرشهر	۵۱/۷۸	۲۱	خاصه بان قهوه‌ای	۹/۳۸
۹	خوی	۵۰/۰۰	۲۲	اردبیل	۹/۳۸
۱۰	اسکوا ۲ سفید	۴۷/۹۲	۲۳	قره ضیالدین	۹/۳۸
۱۱	میانه ۲	۴۷/۷۷	۲۴	مرند ۱	۶/۲۵
۱۲	اسکوا سفید	۴۱/۶۷	۲۵	اسفهان	۶/۲۵
۱۳	میانه ۱	۳۶/۱۶	۲۶	ایلخچی قهوه‌ای	۶/۲۵

Isd5% = ۱۵/۹۹۷





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

منابع

۱. ارشاد، ج. ۱۳۷۴. فارچهای ایران. سازمان تحقیقات، آموزش و ترویج کشاورزی. ۸۷۴ صفحه.
۲. بابا دوست، م. ۱۳۶۷. بیماری لکه نواری جو. دانشگاه تبریز. ۲۶ صفحه.
۳. بهروزین، م.، و پ.، اسدی. ۱۳۷۴. بررسی بیماری لکه‌نواری جو در استان آذربایجان شرقی. مجله نهال و بذر، جلد ۱۱، شماره ۴، ص ۵۳-۶۱.
۴. پیغامی، ا. ۱۳۷۸. اصول مبارزه با بیماری‌های گیاهی. انتشارات جهاد دانشگاهی مشهد. ۹۲ صفحه.
۵. محمدی گل تپه، ا.ع، علیزاده و ا.، پورجم. ۱۳۷۴. بیماری‌های مهم غلات دانه‌ریز. انتشارات دانشگاه تربیت مدرس. ۳۰۵ صفحه.
۶. 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 diversity in a population of *Drechslera graminea*. Journal Genet. Breed. 46: 179-186.
9. Mathur, D.E. 1985. Compendium of Barley Disease. The American Phytopathological 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.



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

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

¹Department of plant protection, Tabriz University; ²Seed 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, Khaseban-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

