اثر تراکم اسپر بر روی قدرت جوانه زدن در زنگ قهوه‌ای جو*

ماهـرخ فلاح رستـگـار[1]

نتیجه حاصله از این آزمایش نشان دادکه کثرت یامعدود بودن تعداد اسپر زنگ قهوه‌ای جو درواحد سطح‌در قدرت جوانه زدن اسپرهای زنگ تاثیر داشته و در مواقعی که اسپر در واحـد سطح بسیارکم باشدقدرت جوانه زدن‌کم و بتدریج که تعدادزیاد میگردد این قدرت افزایش یافته و سپس وقتی‌تراکم‌بحد معینی برسد دوباره کاهش مییابد. حداکثر در صد جوانه زدن اسپـر این‌زنگ درتراکم ۴۰۰۰ تا ۵۰۰۰ اسپردر واحد سطح‌بدست‌آمد، که‌معادل‌با۴ اسپر در حوزه میکروسکپ بابزرگنمائی۴۰۰ میباشد.

مقـدمـه:

تا بحال بررسی یا تحقیقی در مورد چگونگی رابطه تعداد اسپر در واحدسطح میزبان و اثر آن در تقلیل یا شدت قدرت بیماریزائی درزنگ‌قهوه‌ای‌جو *Puccinia hordei* Otth انجام نشده است. زنگ قهوه‌ای جو از نظر اقتصادی یکی از بیماریهای مهم‌این گیاه میباشد بهمین علت لازم شد که‌جهت بدست آوردن یک تراکم‌استاندارد و روشن شدن علت تفاوت در صد جوانه زدن اسپر در تراکمهای متفاوت اقدام به این آزمایش گردد.

زنگهای‌غلات بطورکلی نسبت به تغییرات محیطی‌خیلی‌حساس بوده ونتیجتا" بایستی آنها رادر محیطهای کنترل شده و تحت شرایط‌استاندارد موردبررسی ومطالعه قرار داد تا بتوان نتایج حاصله از این آزمایشها را مشخص و از آنها بهره برداری و نتیجه گیری نمود. بعد از اینکه Allen (۱) نقش مواد استخراج شده از اسپرها واثر این‌ترکیبات را در تغییر قدرت جوانه زدن اسپرها عنوان نمود، عده‌ای از دانشمندان درصدد برآمدند که این ترکیبات را از اسپرها خارج نموده و ماهیت آنها را شناسائی

---

* تاریخ دریافت ۵۸/۸/۱۶، تاریخ پذیرش ۵۹/۲/۲۳

۱ــ استادیار گروه بیولوژی دانشکده علوم، دانشگاه جندی شاپور، اهواز

نمایند(۲ ، ۳ ، ۴ ، ۶ ، ۸)،این محققین مقداری‌اسپر را در آب خیس نموده و بعد از مدتی اسپرها را صاف و مایع حاوی مواد استخراج شده را با محیط‌کشت آگار آگار داغ مخلوط کرده و بعد از سرد شدن ، همان نوع اسپر را برروی این محیط، کشت دادند . حتی‌در غلظت های بسیار پائین ، سموم‌موجود در محیط‌کشت مانع جوانه زدن اسپرها گردیدند. White(۱۱)پیشنهاد نمودکه ممکنست دوسری عوامل زیر مانع جوانه زدن اسپر زنگها گردند : ۱ــ عوامل مربوط به خوداسپر ،۲ــ عوامل مربوط به میزبان .

Petersen (۷) رقم گندم Little club را با نژاد خالص زنگ زرد *Puccinia striiformis* West بطور یکنواخت تلقیح کرد و مشاهده نمود که با اضافه شدن تعداد اسپر در واحد سطح میزبان ، تعداد اوردوسپورهای[1] حاصله بر روی میزبان نیز اضافه میگردد و وقتی تعداد اسپر به ۴×۱۰^{۳} / $cm^{۲}$ ــ ۲ رسید دیگر تفاوت‌فاحشی در تعداداوردوسپور بدست آمده درسطح میزبان حاصل نمیشود .نامبرده تعداد اسپر رابه $۵/۲\times۱۰^{۳}$ / $cm^{۲}$ ــ ۴ افزایش داده ومشاهده نمود که تعداد اوردوـ سپورهای حاصله نیزدو برابر گردیدند ، اما از این به بعد هر چه تعداد اسپر در واحد سطح را بالا برد ، دیگر به تعداد اوردوسپور ها اضافه نگردید .

Tollenaar و Huston (۹) در صدد بر آمدند اثر اسپر را درقدرت جوانه زدن وقتی که تعداد اسپر در واحد سطح میزبان معدودباشد آزمایش نمایند . برای این منظور از دو زنگ زرد گندم وزنگ‌سیاه‌گندم *Puccinia graminis* Var.*tritici* استفاده‌نموده و متوجه‌شدندکه دراسپرهای جمع‌آوری شده از مزرعه ،تراکم ۱۰۰ / $cm^{۲}$ تا ۵۱۰۰ برای زنگ زرد و تراکم ۱۰۰ / $cm^{۲}$ تا ۵۹۰۰ برای زنگ سیاه گندم باعث تحریک و افزایش قدرت جوانه زدن این زنگها گردیده و اسپرهای بدست آمده تحت شرایط کنترل شده درتراکم بین ۱۰۰ / $cm^{۲}$ تا ۷۱۰۰ برای‌زنگ زرد و تراکم ۱۰۰/ $cm^{۲}$ تا ۸۰۰۰ برای زنگ سیاه نقشی‌در تحریک یا تقلیل قدرت جوانه زدن خود نداشته ولی تراکم بالاتر از این مقدار باعث کاهش قدرت جوانه زدن خود گردیدند .

مواد و روش آزمایش:

دراین آزمایش زنگ‌نژادF و بذرمیزبان‌جو Proctorتوسط Cliffordازموءسسه بررسی‌بیمارینهای گیاهی Aberystwythانگلستان فراهم گردید . بذور در خاک شماره۲

۱ــ Uredospores

John inn که شامل دو قسمت خاک ـ یک قسمت شن و یک قسمت خاک برگ[۱] میباشد به تعداد ۳ بذر در هر گلدان پلاستیکی به قطر ۲۰ سانتیمترکشت‌گردید. سپس گلدانها را درگلخانه ای با حرارت $19 \pm {}^{\circ}C$ و نورمصنوعی حدود $5500\ Lumens/m^2$ باتناوب ۸ ساعت تاریکی و ۱۶ ساعت روشنائی نگهداری شدند. موقعی که دومین برگها ظاهر گردیدند، اسپرنژاد F به نسبت $\frac{1}{5}$ با پودر تالک مخلوط وتوسط قلم موی ضدعفونی شده بطورخیلی پراکنده به میزبان منتقل گردید. هرگلدان پس از آبیاری، بمدت ۴۸ ساعت در کیسه پلاستیکی در تاریکی و در حرارت $20\ {}^{\circ}C$ قرار داده شد. بعد از این مدت گلدانها به گلخانه منتقل شده وبمجرد ظهور آثار تاولهای زنگ (قبل از رسیدن‌و پاره شدن) چند قطعه از گیاه میزبان که حاوی یک تاول بود جدا گردید. هر قطعه به طور جداگانه بر روی محلول ۴۰ قسمت در میلیون (پی پی ام) Benzimidazole در داخل‌پتریهای پلاستیکی قرار داده شد (۱۱). ظروف پتری هر کدام به شش خانه مجزا تقسیم‌شده بودند ودرنتیجه قطعات حاوی تاول زنگ هیچ ارتباطی با یکدیگر نداشتند. سپس پتریها به انکوباتوربا شرایطی مشابه آنچه که در مورد گلخانه ذکر گردید منتقل شدند. بمجردپاره شدن تاول و آزاد شدن اسپرها یکی از قطعات‌را برداشته و تعدادی از اسپرهای آن توسط کاردک تمیزی به گلدانی که حاوی دو گیاه جوان جو بود منتقل گردید و مطابق آنچه قبلا" ذکر شد کشت داده و بدین ترتیب یک کشت خالص تهیه گردید. البته باید در نظر گرفت که اسپرهای حاصله از این میزبان را میبایستی برای تلقیح کردن چندین‌میزبان دیگر نیز بکاربرد تا سرانجام باندازه کافی اسپر تازه‌جهت آزمایش در اختیار داشت. شب قبل از آزمایش باید میزبان آلوده را بآهستگی تکان داده و اسپرهای‌آنراجمع‌آوری نمودو این اسپرها را دور ریخت. این عمل باعث‌میشود که اسپرهای جمع آوری شده در نوبت بعدی همه تقریبا" هم سن باشند. فردای آنروز یک قطعه کاغذ آلومینیم‌تمیز زیر برگ میزبان قرارداده شد و آهسته به برگها ضربه زده و اسپرها جمع آوری گردیدند. اسپر ها بلافاصله برروی محیط‌کشت ۱/۵ درصد آگار آگار تازه که حدود نیمساعت قبل بمقدار ۱۰ cc درهر ظرف پتری ریخته شده و خنک گردیده بود با تراکم $85/cm^2$ تا ۱۹۰۰۰ کشت داده و بمدت ۲۴ ساعت در انکوباتور تاریک $20\ {}^{\circ}C$ نگهداری گردید. برای بدست‌آوردن تراکم‌بین ۸۵ تا ۱۰۰۰۰ از یکدستگاه پخش اسپر[۲] استفاده گردیدو برای ایجاد تراکم ۱۰۰۰۰ تا ۱۹۰۰۰ از قلم مو استفاده

۱ـ Peat

۲ـ Settling tower

شد . ۲۴ ساعت بعد پتریها به آزمایشگاه منتقل و زیرمیکروسکوپ مطالعه گردیدند . برای هر تراکم سه پتری و از هر پتری ۱۰۰ حوزه میکروسکپی با بزرگنمائی ۴۰۰ مورد بررسی قرار گرفته و تعداد اسپرهای جوانه زده و جوانه نزده هر حوزه یادداشت گردید . این آزمایش پنج بار تکرار و سپس ارقام حاصله تجزیه آماری شد .

نتیجه :

همانطوریکه جدول ۱ نشان میدهد با افزایش تعداد اسپر از ۸۵ تا ۵۳۳۰ قدرت جوانه زدن اسپر زنگ قهوه‌ای جو نیز افزایش یافته و سپس هر چه تعداد اسپر در واحد سطح زیادتر گردد بتدریج قدرت جوانه زدن کاهش یافته و موقعی که تعداد اسپر به ۱۹۵۰۷ برسد درصد جوانه زدن به حداقل یعنی به حدود هفت درصد کاهش میابد .

جدول ۱ــ تراکم اسپر زنگ قهوه‌ای جو در قدرت جوانه زدن آن

درصد جوانه زدن	تعداد اسپر	درصد جوانه زدن	تعداد اسپر
۷۸/۸ ± ۱۰/۴	۳۵۰۶/۷ ± ۱۲۸/۶	۳۸/۷ ± ۲/۴	۸۵/۰ ± ۱/۳
۸۰/۵ ± ۱۲/۱	۴۴۷۱/۱ ± ۱۳۶/۴	۴۵/۱ ± ۵/۵	۱۲۸/۳ ± ۵/۹
۸۱/۷ ± ۱۵/۲	۵۳۳۰/۷ ± ۸۳/۳	۴۵/۳ ± ۵/۱	۳۲۲/۱ ± ۱۶/۶
۷۸/۲ ± ۱۴/۱	۷۳۲۱/۴ ± ۲۸/۱	۵۵/۷ ± ۶/۳	۴۲۲/۸ ± ۱۵/۵
۷۴/۵ ± ۴/۵	۷۸۴۰/۰ ± ۷۸/۸	۵۷/۸ + ۷/۱	۵۲۹/۸ ± ۳/۹
۵۰/۰ ± ۷/۸	۱۰۷۲۶/۱ ± ۵۳/۱	۵۹/۲ ± ۳/۹	۷۳۹/۶ ± ۱۸/۲
۴۰/۱ ± ۹/۳	۱۱۸۵۶/۹ ± ۴۰۲/۳	۶۶/۷ ± ۷/۱	۸۵۵/۰ ± ۲۹/۴
۲۳/۵ ± ۳/۹	۱۴۵۱۸/۸ ± ۸۴۷/۹	۶۷/۲ ± ۳/۹	۱۹۰۲/۱ ± ۷۵/۴
۷/۰ ± ۴/۰	۱۹۵۰۷/۸ ± ۳۰۸۵/۰	۷۰/۴ ± ۱۳/۴	۲۳۱۳/۶ ± ۹۸/۱

معمولا" در شرایط مناسب درصد جوانه زدن اسپر زنگ قهوه‌ای جو نسبت به زنگ زرد گندم بسیار بالاتر بوده و در این آزمایش حداکثر جوانه زدن اسپر این قارچ در تراکم مابین ۴۰۰۰ تا ۵۰۰۰ اسپر در واحد سطح و برابر با ۸۱ درصد بدست آمد . تراکم ۴۰۰۰ برابر است با تعداد ۴ اسپر در هر حوزه میکروسکپ با بزرگنمائی ۴۰۰ .

بحـــث :

بنظر میرسد که قدرت جوانه زدن اسپر زنگها خود یکی از عوامل بسیار مهم و اساسی در شدت و انتقال بیماری باشد . جهت مطالعه هر بیماری لازم است که تمام شرایط موردنیاز را برای عوامل موثر درچگونگی رویش آن عامل بیماری تا سر حدامکان تحت‌کنترل در آورد تا بتوان بکمک آزمایشها پدیده های پیچیده وناشناخته مربوط به چگونگی قدرت بیماریزائی عامل بیماری و ارتباط آن را با میزبان و محیط مشخص کرد . این‌آزمایش نشان داد که بهترین وبالاترین درصد جوانه زدن اسپردرتراکم بین۴۰۰۰ تا ۵۰۰۰ اسپر در واحد سطح بدست میآید . در نتیجه برای هر عامل بیماری لازم به نظرمیرسد که قبل از شروع هر آزمایش که در آن از قدرت جوانه زدن اسپر بمنظور حل یا توضیح یا پیدا کردن جوابی جهت هر مسئله استفاده میشود باید مطالعات زیر را انجام داد . ابتدابایستی اثر تراکم جمعیت اسپر در سطح میزبان رامطالعه نموده ویک تراکم استاندارد را که حداکثر قدرت جوانه زدن راتولید نماید بدست‌آورد و از آن‌در آزمایشات استفاده نمود . در غیر اینصورت عامل تراکم که خود یکی از علل کاهش در صدجوانه زدن درهر دو حالت زیاد و کم میباشدممکنست‌بامسائل دیگری که درآزمایش بایستی روشن گردد اشتباه شده و فرد محقق را گمراه نماید .

در این آزمایش نشان داده شد که وقتی تعداد اسپر بحداقل یعنی حدود ۸۵ اسپر در واحد سطح برسد قدرت جوانه زدن اسپر نیز پائین و حدود ۳۸ درصد بوده و بتدریج که تعداد اسپر در واحد سطح افزایش مییابد در صد جوانه زدن نیز بالامیرود . بنابراین‌ترکیبات حاصله ازاسپرها در تراکم معینی باعث تحریک وافزایش قدرت جوانه زدن یکدیگر میگردند ولی‌وقتی تراکم اسپر از حدی زیادتر گردد این ترکیبات نتیجه عکس داشته و از جوانه زدن اسپر جلوگیری مینمایند . نکته جالب این است که اثر مضر تراکم‌های بالا در کاهش قدرت جوانه زدن بمراتب شدیدتر ازموقعی است که‌تعداداسپر در واحد سطح معدود باشد .

Manners (۵) اولین کسی بود که پدیده دوجانبه اثر تراکم اسپر درشدت و کاهش قدرت جوانه زدن آنرا ارائه داد . وی‌ضمن‌بررسی‌زنگ‌زرد گندم متوجه‌شد که با اضافه شدن تعداد اسپر در واحد سطح قدرت جوانه زدن این زنگ نیز افزایش مییابد . نتیجه حاصله از آزمایش حاضر که بر روی زنگ قهوه‌ای جو انجام گرفت با آنچه که Van der Plank (۱۰) و Manners(۵) بدست آوردند مطابقت میکند . علت افزایش

در صد جوانه زدن ممکنست مربوط به موادی باشد که از اسپر خارج گردیده و در تراکم کم باعث تحریک جوانه زدن اسپرمیگردند . گرچه نتیجه این آزمایش با نتیجه Manners مطابقت دارد ولی مقایسه این دو آزمایش به دلائل زیر صحیح نمیباشد .

۱ــ Mannersعامل بیماری زنگ زرد غلات را بررسی نمود .

۲ــ مقدار محیط کشت مصرف شده درهرظرف پتری درآزمایش نامبرده مشخص نبوده وهم چنین پخش اسپر توسط دستگاه و بطور یکنواخت انجام نگرفت . در نتیجه تراکم اسپر درسطح یک ظرف پتری متفاوت بوده که این خود ممکنست باعث نفوذ سموم حاصله از قسمتهای محیط کشت حاوی اسپر با تراکم زیادتر به سایر بخشهای محیط کشت گردیده و بر نتیجه گیری نهائی آزمایش تاثیر گزارده باشد .

منابع مورد استفاده

1. Allen, P. J. 1955. The role of a self-inhibitor in the germination of rust uredospores. Phytopathology 42: 259-266.

2. Bell, A. A. and J. M. Daly. 1962. Assay and partial purification of self-inhibitors of germination from uredospores of bean rust fungus. Phytopathology 52: 261-266.

3. Forsyth, F. R. 1955. The nature of inhibiting substance emitted from germinating uredospores of *Puccinia graminis* Var. *tritici*. Can J. Bot. 33: 363-373.

4. Hoyer, H. 1962. Ein Beitrage zur Eenntnis der Selbsthemmung der Uredosporen bei *Puccinia triticina* Erikss. Und anderen Rosarten. Zentr. Bakteriol. Parasitenk. Abs. II. 115: 363-379.

5. Manners, J. G. 1950. Studies on the physiologic specialization of yellow rust in Great Britain. Ann. Appl. Biol. 36: 187-214.

6. Natto, N. T. 1959. Self-inhibition in the uredospore germination of *Puccinia coronata*. Ann. phytopathol. Soc. Japan. 24: 234-238.

7. Peterson, J. L. 1959. Relations between inoculation density and infection of wheat by uredospores of *Puccinia graminis* Var. *tritici*. Phytopathology. 46: 607-614.

8. Schroder, J. 1964. Untersuchungen uber die Keimung der Uredosporen des Gelbrostes. Zentr. Bakteriol. Parasitenk. Abs. II. 118: 622-657.

9. Tollenaar and Huston 1966. In Vitro germination of uredospores of *Puccinia graminis* and *Puccinia striiformis* at low spore densities. phytopathology. 56: 1036-1039.

10- Van der Plank. J. E. 1968. Pathogenic races, host resistance and an analysis of pathogenicity. Neth. J. Pl. Path. 75: 45-52.

11. Wang, Mao and Waygood. 1961. Effect of Benzimidazole analogues on stem rust and chlorophyll metabolism. Can. J. Bot. 39: 1029-1039.

12- White, N. H. 1964. Quantitative histological studies of interactions between leaf pathogens and susceptible and resistant cereal hosts. Proc. Cereal Rusts Conference, Cambridge, pp: 108-117.

EFFECT OF SPORE DENSITY ON SPORE GERMINATION IN BARLEY BROWN RUST

M. F. Rastegar

College of Agriculture, Jundi Shapur Univ., Ahvaz, Iran.

SUMMARY

Prior to the assessment of spore germination, a spore density test must be carried out to find a standard density with maximum germination ability to be used for the subsequent germination experiments.

Uredospores of race F collected from barley seedlings grown in 20°C cabinet were dusted on 10 ml of 1.5 per cent water agar at a density range of 85-10000 spores/cm^2 . Densities from 10000 to 19000 were obtained by using a paint brush. An increase density resulted in higher percentage of spore germination up to a certain density and then it started decreasing. Spore germination percentage increased up to 81% at density of 5330 spores/cm^2 and then gradually dropped to 7% at density of 19507. The maximum germination percentage was obtained at density range between 4000 to 5000 spore/cm^2