گیاه‌پزشکی (مجله علمی کشاورزی)
جلد ٤٥، شماره ٤، زمستان ١٤٠١
10.22055/ppr.2023.17997

تأثیر ضدعفونی بذر بر روی شاخص‌های کیفی جوانه‌زنی و وقوع بیماری سیاهک آشکار جو

نیما خالدی[1*]، لیلا زارع[2] فرشید حسنی [1] و کبری مسلم خانی[3]

۱-* **نویسنده مسوول**: استادیار، موسسه تحقیقات ثبت و گواهی بذر و نهال، سازمان تحقیقات، آموزش و ترویج کشاورزی، کرج، ایران (n_khaledi@areeo.ac.ir)

۲- کارشناس آزمایشگاه، موسسه تحقیقات ثبت و گواهی بذر و نهال، سازمان تحقیقات، آموزش و ترویج کشاورزی، کرج، ایران

۳-دانشیار، موسسه تحقیقات ثبت و گواهی بذر و نهال، سازمان تحقیقات، آموزش و ترویج کشاورزی، کرج، ایران

تاریخ دریافت: ۱۴۰۱/۰۷/۲۰ تاریخ پذیرش: ۱۴۰۱/۱۰/۱۱

چکیده

آسان‌ترین و به صرفه‌ترین روش جلوگیری از خسارت بیماری سیاهک آشکار جو کاربرد بذر سالم و ضدعفونی با قارچکش‌های شیمیایی است. هدف از این پژوهش بررسی آلودگی مزارع جو به بیماری سیاهک آشکار و تأثیر آلودگی بذر و ضدعفونی با قارچکش‌های ایپرودیون-کاربندازیم و کاربوکسین تیرام روی صفات مرتبط با جوانه‌زنی، وقوع بیماری و پاسخ‌های سیستم دفاع آنتی اکسیدانی است. نمونه‌های بذری از مزارع استان‌های اصفهان، مرکزی، زنجان، تهران، البرز، آذربایجان غربی، همدان، خراسان رضوی، قزوین، قم، سمنان، فارس، خراسان جنوبی، خراسان شمالی، سیستان و بلوچستان، کهگیلویه و بویراحمد، خوزستان و ایلام جمع‌آوری و از نظر آلودگی به سیاهک آشکار بررسی شدند. در مجموع، حدود ۱۳ درصد از مزارع در دامنه ۱/۱ - ۰/۰۵ درصد به بیمارگر سیاهک آشکار آلوده بودند. آلودگی بذر بدون تأثیر روی درصد جوانه‌زنی به‌طور قابل‌توجهی موجب کاهش شاخص‌های بنیه شد. ضدعفونی با قارچکش‌های شیمیایی موجب بهبود شاخص وزنی بنیه، ضریب سرعت و متوسط زمان لازم برای جوانه‌زنی بذور سالم و آلوده شد. به طور کلی، کارایی قارچکش‌های شیمیایی روی میزان وقوع بیماری بر اساس نوع قارچکش و میزان آلودگی بذر متفاوت بود. ضدعفونی بذر با ایپرودیون-کاربندازیم در مقایسه با کاربوکسین تیرام به‌طور معنی‌داری موجب بهبود خصوصیات کیفی بذر و کاهش میزان وقوع بیماری شد. بررسی سازوکارهای بیوشیمیایی نشان داد که سطح فعالیت آنتی اکسیدانت‌های آنزیمی (آنزیم‌های سوپراکسید دیسموتاز، کاتالاز و پلی فنل اکسیداز) و محتوای ترکیبات فنلی در سنبله‌های حاصل از بذر آلوده و ضدعفونی شده بالاتر از شاهد سالم بود. همچنین، ضدعفونی با قارچکش‌های شیمیایی موجب افزایش محتوای پروتئین کل و کاهش شاخص پراکسیداسیون غشای سلولی در مقایسه با شاهد شد. این پژوهش یافته‌های جدیدی را درباره تأثیر آلودگی بذرزاد در بروز تنش اکسیداتیو و نقش قارچکش‌های شیمیایی در تحریک سیستم دفاع آنتی‌اکسیدانی در مقاومت پایه جو ارائه می‌دهد که می‌توانند در مدیریت مؤثر بیماری مورد استفاده قرار گیرند.

کلیدواژه‌ها: بذرزاد، جوانه‌زنی، سلامت بذر، سیستم دفاع آنتی‌اکسیدانی

دبیر تخصصی: دکتر مهدی مهرابی کوشکی

Citation: Khaledi, N., Zare, L., Hassani, F. & Moslemkhani, C. (2023). Effect of seed disinfection on the quality indicators of germination and the incidence of Loose smut disease of barley. *Plant Protection (Scientific Journal of Agriculture)*, *45*(4), 53-76. https://doi.org/10.22055/ppr.2023.17997.

مقدمه

جو زراعی با نام علمی *Hordeum vulgare* L. از مهمترین گیاهان زراعی است و نقش مهمی در تامین امنیت غذایی ایفا می‌کند. طبق آمارنامه کشاورزی در سال زراعی ۹۹-۱۳۹۸ در ایران، سطح زیر کشت این محصول حدود ۱/۶ میلیون هکتار و میزان تولید آن در حدود ۳/۶ میلیون تن برآورد شده است (Ahmadi et al., 2021). به دلیل افزایش جمعیت جهان و نیاز روزافزون به محصولات کشاورزی و همچنین محدودیت سطح زیر کشت توجه به افزایش عملکرد در واحد سطح و دستیابی به پتانسیل واقعی عملکرد ژنوتیپ گیاهی حائز اهمیت می باشد. استفاده از بذر سالم یکی از مهم‌ترین عوامل دستیابی به پتانسیل واقعی عملکرد و بهبود کیفیت محصول می‌باشد (Nourmohammadi et al., 2001). بیماری‌های بذرزاد از عوامل محدودکننده کشت گیاهان زراعی محسوب می‌شوند و عملکرد محصول را کاهش می‌دهند. بسیاری از بیماری‌های بذرزاد به دلیل عدم ظهور علایم در مراحل ابتدایی رشد، خسارت خود را به صورتی نامحسوس از طریق کاهش عملکرد ، ورود و گسترش بیماری به مناطق دیگر، جلوگیری از استقرار گیاهچه، کاهش شاخص‌های بنیه و جوانه‌زنی به محصولات گیاهی وارد می‌کنند (Clear & Patrick, 1993). بیماری سیاهک آشکار با عامل *Ustilago* (Jens.) Rostr. *nuda* یکی از مهمترین بیماری‌های بذرزاد جو می‌باشد که در کشورهای در حال توسعه تهدیدی جدی برای تولید بذر به شمار می آید (Quijano et al., 2016). میزان خسارت ناشی از سیاهک آشکار تقریباً برابر با درصد سنبله‌های آلوده در نظر گرفته می‌شود (Semeniuk & Ross, 1942; Green et al., 1968).

بذرهای آلوده تنها منبع آلودگی به سیاهک آشکار جو هستند که بی‌توجهی به ارزیابی سلامت آن‌ها موجب انتقال بیماری به نسل بعد و همچنین انتقال بیماری از یک منطقه جغرافیایی به مناطق دیگر می‌شود. بذرهای آلوده به طور کامل قابلیت جوانه‌زنی را دارند اما در مقایسه با بذر سالم میزان بنیه گیاهچه‌ی حاصل از آن‌ها کمتر و ممکن است از نظر اندازه نیز کوچکتر باشند (Doling, 1968). میزان خسارت ناشی از سیاهک آشکار جو از ۳ تا ۵ درصد گزارش شده است اما در صورت عدم استفاده از روش‌های مناسب مدیریت مزرعه، میزان خسارت می‌تواند در محدوده ۱۵ تا ۲۵ درصد افزایش یابد (Menzies et al., 2005; Menzies, 2008). میزان آلودگی مزارع جو در استان‌های تهران، اصفهان، زنجان، کرمانشاه، کردستان، لرستان و ایلام به سیاهک آشکار بین ۲۰ تا ۳۵ درصد برآورد شده است (Poormansuri et al., 2012). آلودگی مزارع جو به سیاهک آشکار در استان‌های آذربایجان شرقی و اردبیل حدود ۰/۲ درصد گزارش شده است (Babadoost, 1995).

نظارت و کنترل مزارع و ارزیابی سلامت بذر نقش مهمی را در کاهش اثرات مخرب بیماری در مزرعه و افزایش میزان عملکرد محصول دارد. بهترین راه مدیریت این بیماری استفاده از ارقام مقاوم، بذر سالم و ضدعفونی بذر با قارچکش‌های سیستمیک است (Murray et al., 2009). حفظ و بهبود سلامت بذر به‌عنوان یکی از مهم‌ترین اجزای کیفیت بذر نقش مهمی در افزایش بنیه گیاهچه‌ها و استقرار گیاهان در مزرعه دارد (Harris et al., 2001). پیش تیمار بذر با قارچکش‌های شیمیایی ضمن بهبود کیفیت بذر و محافظت از آنها در برابر بیمارگرهای قارچی موجود در بذر و خاک، موجب افزایش توانایی استقرار و بنیه گیاهچه در

شرایط متغیر محیطی می‌شود (Lamichhane et al., 2020). ضدعفونی بذر جو با قارچکش‌های شیمیایی از جمله کاربوکسین موجب بهبود رشد گیاهچه و کاهش وقوع بیماری سیاهک آشکار می‌شوند (Murphy et al., 2017).

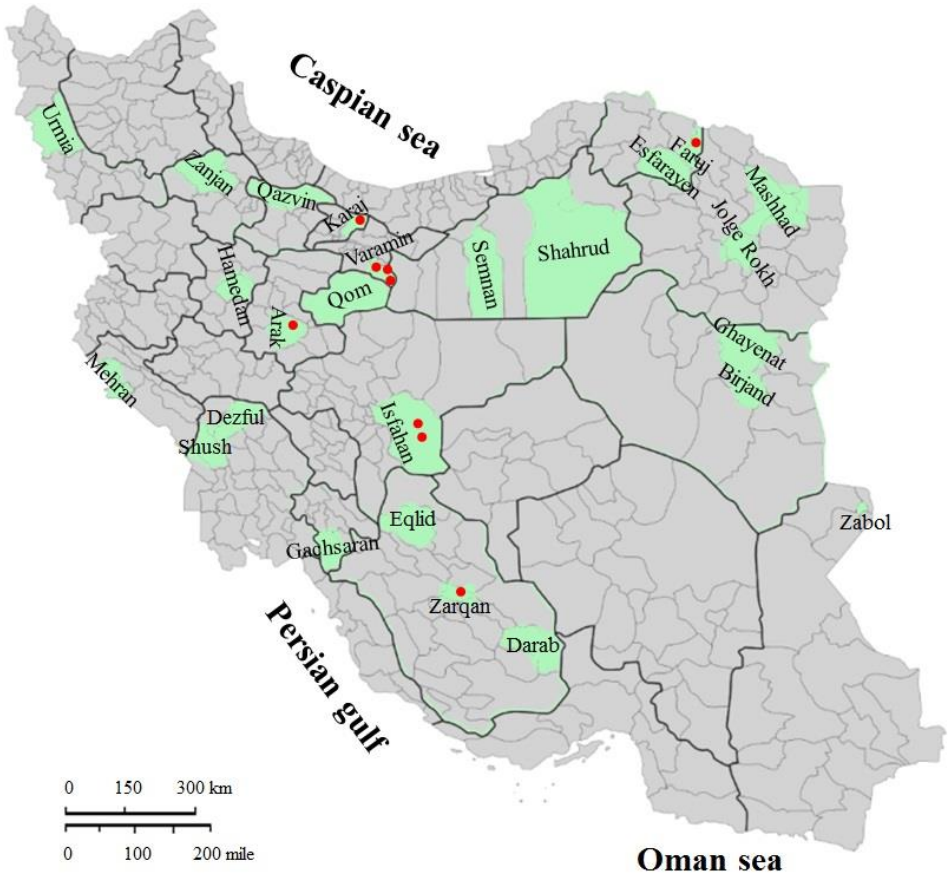
گیاهان پیوسته در معرض تنش‌های زیستی و غیر زیستی دارند و برای مقابله با آنها از راهبردهای مختلفی از جمله شناسایی بیمارگر، فعال‌سازی مسیرهای انتقال سیگنال و تولید پروتئین‌ها و متابولیت موثر در دفاع گیاهی استفاده می‌کنند (Adom & Liu, 2002). پس از شناسایی بیمارگر توسط میزبان، پاسخ‌های دفاعی منجر به فعال شدن چندین مکانیسم مقاومت از جمله تولید گونه‌های فعال اکسیژن (Desmond et al., 2008)، افزایش سطح فعالیت آنتی‌اکسیدانت‌های آنزیمی و غیر آنزیمی (Zhang et al., 2015)، تقویت دیواره سلولی گیاه از طریق تولید ترکیبات فنلی (Bollina & Kushalappa 2011) و لیگنین (Kang et al., 2008) می‌شوند. اهمیت تولید و تجمع ترکیبات فنلی به عنوان آنتی اکسیدانت غیرآنزیمی قوی در گیاهان در پاسخ به آسیب اکسیداتیو ناشی از تنش‌های مختلف مشخص شده است (Pereira et al., 2009). ارتباط معنی‌داری بین تحمل گیاهان به آسیب‌های اکسیداتیو با افزایش فعالیت آنتی‌اکسیدانت‌های آنزیمی و غیر آنزیمی در آن‌ها وجود دارد (Sairam & Srivastava, 2002). میزان محتوای مالون دی آلدئید به‌عنوان شاخص پراکسیداسیون غشای سلولی و ارزیابی میزان صدمه به آن در اثر تجمع گونه‌های فعال اکسیژن استفاده می‌شود (Grob et al., 2013). میزان فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانت‌های آنزیمی و غیر آنزیمی و غلظت مالون دی آلدئید در گیاهان می تواند معیارهای مناسبی در ارزیابی مقاومت گیاهان علیه تنش‌های مختلف باشند. در نتیجه با اندازه‌گیری فعالیت این نشانگرهای زیستی میتوان میزان مقاومت گیاهان به تنش‌های مختلف را ارزیابی نمود (Atanasova-Penichon et al., 2016).

با وجود تحت تأثیر قرار گرفتن توان ژنتیکی بذر توسط عوامل بیماریزای بذرزاد، اطلاعات ما در مورد تأثیر سیاهک آشکار جو روی صفات مرتبط با جوانه‌زنی و فعال سازی سیستم دفاع آنتی اکسیدانی بسیار محدود است. بنابراین، هدف از این پژوهش (الف) بررسی وضعیت سلامت نمونه‌های بذری جمع آوری شده از مزارع جو به بیماری سیاهک آشکار، (ب) ارزیابی تأثیر بیماری و کارایی تیمار بذر با قارچکش‌های شیمیایی رایج روی برخی از خصوصیات کیفی بذر، (ج) بررسی و مقایسه میزان فعالیت آنتی‌اکسیدانت‌های آنزیمی (آنزیم‌های سوپراکسید دیسموتاز، کاتالاز و پلی فنل اکسیداز)، شاخص خسارت (میزان مالون دی آلدئید) و همچنین سطح محتوای ترکیبات فنلی و پروتئینی در سنبله‌های گیاهان تحت تأثیر تیمارهای بذری مختلف می‌باشد.

مواد و روش‌ها

نمونه‌برداری

نمونه‌برداری براساس شیوه نامه‌ی انجمن بین المللی آزمون بذر (Anonymous, 2017) در طی سال‌های زراعی ۱۴۰۰-۱۳۹۸ از مزارع جو در استان‌های اصفهان، مرکزی، زنجان، تهران، البرز، آذربایجان غربی، همدان، خراسان رضوی، قزوین، قم، سمنان، فارس، خراسان جنوبی، خراسان شمالی، سیستان و بلوچستان، کهگیلویه و بویراحمد، خوزستان و ایلام انجام و همراه ثبت مشخصات در پاکت‌های کاغذی به آزمایشگاه سلامت بذر موسسه تحقیقات ثبت و گواهی بذر و نهال منتقل شد (شکل ۱، جدول ۱).



شکل ۱- مناطق جغرافیایی نمونه برداری شده از مزارع جو شهرهای ایران. مناطق نمونه برداری روی نقشه با زمینه سبز و تعداد نمونه آلوده با علامت دایره توپر (●) مشخص شده است.

Figure 1. Geographic areas sampled from Barley fields in the cities of Iran. Sampling areas are marked on the map with green background and the number of infected samples is marked with a solid circle (●)

آزمون سلامت بذر

ردیابی بذرهای آلوده به بیماری سیاهک آشکار جو با استفاده از آزمون جنین براساس شیوه نامه‌ی انجمن بین المللی آزمون بذر (Anonymous, 2022) انجام شد. براساس شیوه نامه‌ی از هر نمونه جو ۲ تکرار و هر کدام شامل ۴۰۰۰-۲۰۰۰ عدد بذر (حدود ۱۲۰-۱۰۰ گرم) به طور تصادفی انتخاب و در فلاسک حاوی ۱ لیتر محلول ۵ درصد هیدروکسید سدیم در دمای ۲۰ درجه سلسیوس به مدت ۲۴ ساعت خیسانده شد. سپس بسته به وزن نمونه میزان ۶۰-۵۰ گرم سدیم کلرید جهت جداسازی جنین از پوسته بذر اضافه شد. سه عدد الک را به ترتیب با اندازه سوراخ‌هایی به قطر ۱، ۲ و ۳/۳۵ میلی‌متری روی هم قرار داده و بذرهای خیس خورده روی غربال‌ها با جریان ملایم آب گرم شستشو داده شد تا زمانی که اکثر جنین‌ها روی الک ۱ میلی‌متری انتقال یافت. جنین‌ها را به بشر حاوی ۵۰ میلی لیتر محلول اسید لاکتیک به همراه ۰/۱۵ گرم متیل بلو منتقل نموده و به مدت ۵ دقیقه جوشانده شد. سپس نمونه‌ها را صاف نموده و جنین‌ها استخراج شده را به محلول گلیسرول منتقل نمودیم. سپس از محلول گلیسرول حاوی جنین در شیارهای

خاص ورقه آزمون جنین که قبلاً در کف تشتک پتری دیش قرار داده شده بود، ریخته شد و در زیر استریومیکروسکوپ میسلیوم های رنگ آمیزی شده جنین‌های آلوده مورد بررسی قرار گرفت. تعداد کل جنین‌ها و تعداد جنین‌های آلوده هم زمان و با استفاده از یک شمارش‌گر مکانیکی شمارش و درصد آلودگی در نمونه بذر مشخص شد. میسلیوم سیاهک آشکار تقریباً ۳ میکرومتر ضخامت داشته و به رنگ قهوه‌ای طلایی قابل ردیابی بود. در موارد مشکوک یا آلودگی کم ریسه با تهیه اسلاید میکروسکوپی مشاهده دقیق‌تر میسلیوم قارچ با میکروسکوپ انجام شد.

آزمون جوانه‌زنی استاندارد

برای این منظور تعداد ۴۰۰ بذر (چهار تکرار با ۱۰۰ عدد بذر) از نمونه‌های بذری به صورت تصادفی انتخاب و به روش حوله کاغذی کشت و به اتاقک‌های رشد تحت شرایط استاندارد در دمای ۱±۲۰ و با ۱۶ ساعت روشنایی و ۸ ساعت تاریکی و رطوبت نسبی ۵±۶۵ درصد منتقل شدند. شمارش بذرهای جوانه‌زده در هر روز به‌صورت روزانه و بر اساس خروج ریشه‌چه دو میلیمتری بود. ارزیابی جوانه‌زنی روزانه بذرها به طور مرتب ادامه یافت، تا زمانی که دیگر جوانه‌زنی رخ نداد.

اندازه‌گیری برخی از صفات جوانه‌زنی

صفات مرتبط با جوانه‌زنی و رشدی شامل متوسط زمان لازم برای جوانه‌زنی[1]، متوسط جوانه‌زنی روزانه[2]، سرعت جوانه‌زنی روزانه [3]، ضریب سرعت جوانه‌زنی[4] و درصد جوانه‌زنی[5] به شرح زیر مورد ارزیابی قرار گرفت:

رابطه (۱): متوسط زمان لازم برای جوانه‌زنی

$$MTG = \frac{\sum(nd)}{\sum n}$$

رابطه (۲): متوسط جوانه‌زنی روزانه

$$MDG = \frac{FGP}{TD}$$

رابطه (۳): سرعت جوانه‌زنی روزانه

$$DGS = \frac{1}{MDG}$$

رابطه (۴): ضریب سرعت جوانه‌زنی

$$CVG = \frac{G_1 + G_2 + G_3 + \ldots + G_n}{(1\times G_1) + (2\times G_2) + (3\times G_3) + \ldots + (n\times G_n)}$$

رابطه (۵): درصد جوانه‌زنی

$$GP = (\frac{n}{N}) \times 100$$

n: تعداد بذر جوانه زده درطی d روز، d: تعداد روزها از ابتدای جوانه‌زنی، $\sum n$: کل تعداد بذرهای جوانه زده، FGP: درصد جوانه‌زنی نهایی، TD: تعداد روز تا رسیدن به حداکثر جوانه‌زنی نهایی، G_1: تعداد بذر جوانه زده در روز نخست، G_n: تعداد بذر جوانه زده در روز n، n: تعداد کل بذرهای جوانه زده، N: تعداد کل بذرهای کاشته شده.

در پایان آزمون جوانه‌زنی استاندارد، تعداد گیاهچه‌های عادی به‌عنوان قابلیت جوانه‌زنی تعیین شد. همچنین میانگین درصد گیاهچه‌های غیرعادی، میانگین ارتفاع ساقه‌چه و ریشه‌چه، میانگین وزن‌تر و وزن خشک اندازه‌گیری شد. وزن خشک هر گیاهچه را با قرار دادن در آون به مدت ۴۸ ساعت در دمای ۷۵ درجه سانتی گراد و توزین با ترازوی دقیق با دقت ۰/۰۰۱ ± گرم اندازه گیری شد. همچنین تعداد ۱۰ گیاهچه عادی به طور تصادفی از هر واحد آزمایشی انتخاب و شاخص‌های بنیه گیاهچه که شامل شاخص

1- Mean times germination; MTG
2- Mean daily germination; MDG
3- Daily germination speed; DGS
4- Coefficient of velocity of germination; CVG
5- Germination percentage; GP

طولی بنیه گیاهچه[1] و شاخص وزنی بنیه گیاهچه[2] می‌شود با استفاده از رابطه‌های زیر محاسبه گردید (Nautiyal, 2009):

رابطه (۶): شاخص طولی بنیه گیاهچه

$$SLVI=GR\times(SL+RL)$$

رابطه (۷): شاخص وزنی بنیه گیاهچه

$$SWVI=GR\times SW$$

GR: درصد گیاهچه‌های عادی (قابلیت جوانه‌زنی)، SL: میانگین طول ساقه‌چه، RL: میانگین طول ریشه‌چه، SW: وزن خشک گیاهچه.

اندازه گیری میزان ظهور گیاهچه در مزرعه و برخی از ویژگی‌های مرتبط با آن

به منظور تعیین میزان ظهور گیاهچه در مزرعه و ویژگی‌های مرتبط از هر کرت یک خط کاشت در نظر گرفته شده و به طور روزانه مورد بازدید قرار گرفت. تعداد گیاهچه های ظاهر شده تا ۱۴ روز پس از کاشت ثبت شد. سپس متوسط زمان ظهور گیاهچه‌ها[3]، سرعت ظهور گیاهچه‌ها در مزرعه [4]، سرعت ظهور تجمعی[5]، شاخص ظهور گیاهچه در مزرعه[6] و درصد سبز نهایی مزرعه[7] با استفاده از رابطه‌های زیر محاسبه گردید:

رابطه (۸): متوسط زمان ظهور گیاهچه‌ها

$$MET=\frac{\sum fx_i}{F}$$

رابطه (۹): سرعت ظهور گیاهچه ها در مزرعه

$$FER=\frac{FFE}{D}$$

رابطه (۱۰): سرعت ظهور تجمعی

$$CER=\frac{F_1}{D}+\ldots+\frac{F_i}{D}$$

رابطه (۱۱): شاخص ظهور گیاهچه در مزرعه

$$FEI=\frac{FFE}{GR}\times 100$$

رابطه (۱۲): درصد سبز نهایی مزرعه

$$FEP=\frac{SE}{N}\times 100$$

fx_i: تعداد گیاهچه ظاهر شده در میانه دوره ظهور گیاهچه‌ها، F: حداکثر تعداد گیاهچه¬ی ظاهر شده، FFE: درصد نهایی ظهور گیاهچه‌ها در مزرعه، D: تعداد روز از کاشت تا پایان یادداشت برداری، F_1: تعداد گیاهچه های شمارش شده در شمارش نخست، F_i: تعداد گیاهچه های شمارش شده در شمارش i، D_1: تعداد روز تا شمارش نخست، D_i: تعداد روز تا شمارش i، GR: درصد گیاهچه‌های عادی (قابلیت جوانه‌زنی)، SE: تعداد بذر سبز شده، N: تعداد کل بذرهای کاشته شده.

ارزیابی میزان وقوع بیماری

با توجه به نتایج آزمون سلامت بذر، نمونه‌های بذری رقم ریحان (کدهای FZR186، AKR183، KFR187 و TVR185) که دارای سطوح مختلف آلودگی بودند و همچنین نمونه‌ی فاقد آلودگی (کد KMR184) به عنوان شاهد، برای ارزیابی میزان وقوع بیماری در مزرعه از روش شرح داده شده توسط Menzies و همکاران (۲۰۱۴) استفاده شد. برای این منظور، تعداد ۱۰۰ بذر از هر نمونه، به فاصله چهار سانتیمتر از هم با عمق ۳ سانتیمتر در هر کرت با ابعاد ۱×۱ متر به صورت دستی کاشته شد و فاصله کرتها از یکدیگر نیز یک متر در نظر گرفته شد. چهار تکرار از هر نمونه روی پشته‌های مجزا به فاصله ۲۵ سانتی‌متری از هم کشت شد. عملیات زراعی تهیه زمین شامل شخم و کوددهی قبل از کاشت (کودهای شیمیایی اوره به میزان ۱۵ گرم و

1- Seedling length vigor index; SLVI
2- Seedling weight vigor index; SWVI
3- Mean emergence time; MET
4- Field emergence rate; FER
5- Cumulative emergence rate; CER
6- Field emergence index; FEI
7- Final emergence percentage in field; FEP

سوپر فسفات ساده به میزان ۱۰ گرم در هر کرت) انجام شد. کلیه عملیات زراعی مورد نیاز جهت رشد و نمو مطلوب این گیاه در طول فصل کشت انجام گرفت. آبیاری با استفاده از تیپ و به‌صورت قطره‌ای صورت گرفت. آزمایش در مزرعه در قالب طرح بلوکهای کامل تصادفی در چهار تکرار در اجرا شد. جهت ارزیابی بیماری سیاهک آشکار بازدید از مزرعه و یاداشت برداری از زمان ظهور سنبله‌ها تا رسیدگی فیزیولوژیکی انجام و درصد بوته‌های سالم، درصد بوته‌های بیمار ثبت و درصد وقوع بیماری در مزرعه با استفاده از فرمول زیر محاسبه گردید (Zegeye et al., 2015):

$$\text{درصد وقوع بیماری} = \frac{\text{تعداد گیاهان بیمار}}{\text{تعداد کل گیاهان ارزیابی شده}} \times 100$$

سپس نتایج مربوط به میزان آلودگی بذر در آزمون جنین با درصد وقوع بیماری در مزرعه با یکدیگر مقایسه گردید و روند انتقال بیماری از آزمایشگاه به مزرعه تعیین شد.

ارزیابی تأثیر قارچکش‌های شیمیایی

کارایی قارچ‌کش‌های پیشنهاد شده ایپرودیون- کاربندازیم (نام تجاری (Rovral-TS® (WP 52.5%) در غلظت ۲ در هزار و کاربوکسین تیرام (نام تجاری (Vitavax thiram® (WP 75%) در غلظت ۲/۵ در هزار به صورت پودر وتابل ساخت شرکت گیاه مورد ارزیابی قرار گرفت. سازمان حفظ نباتات کشور این قارچ کش‌ها را برای کنترل بیماری‌های بذرزاد جو از جمله سیاهک آشکار به‌صورت ضدعفونی بذر قبل از کاشت توصیه نموده است (Nourbakhsh, 2022). برای ضدعفونی بذر با قارچکش‌های شیمیایی، بذر به‌صورت دستی با افزودن سوپانسیون‌های تهیه شده از هر قارچکش در نسبت‌های مورد نظر بر حسب میلی‌گرم به ازای هر کیلوگرم بذر، به ۱۰۰ گرم بذر افزوده و به صورت یکنواخت بذر با قارچکش‌های مورد بررسی به مدت ۱۰ دقیقه آغشته شدند. سپس، بذرهای تیمار شده روی کاغذهای سترون قرار گرفته و در زیر هود لامینار فلو خشک شدند. میزان کارایی ضدعفونی بذر با این قارچکش‌ها در غلظت توصیه شده روی برخی از خصوصیات کیفی بذر با استفاده آزمون جوانه‌زنی استاندارد، میزان ظهور گیاهچه در مزرعه و شاخص‌های مرتبط با آن و همچنین میزان وقوع بیماری در شرایط مزرعه مورد بررسی قرار گرفت. هر تیمار دارای چهار تکرار در هر بار انجام آزمایش بود. میزان تأثیر قارچ‌کش‌ها روی درصد کاهش وقوع بیماری با استفاده از رابطه‌ی زیر محاسبه گردید:

$$\text{RDI} = \left(\frac{CDI - TDI}{CDI}\right) \times 100$$

RI: درصد کاهش وقوع بیماری، CDI: میزان وقوع بیماری در شاهد آلوده و TDI: میزان وقوع بیماری در تیمار

استخراج عصاره و سنجش آنزیم‌های دفاعی

نمونه‌برداری از سنبله‌های جو در مراحل گلدهی در ابتدای مرحله گلدهی انجام شد. نمونه‌ها در ۲۰- درجه سانتی‌گراد نگهداری و جهت بررسی‌های بعدی مورد استفاده قرار گرفتند. استخراج عصاره آنزیمی با توجه به روش شرح داده شده توسط Gapinska et al. (2008) انجام شد. برای هر نمونه، ۵۰۰ میلی‌گرم از بافت گیاهی در نیتروژن مایع با هاون کوبیده شد. سپس ۳ میلی‌لیتر بافر سدیم فسفات (pH ۶/۸) ۱۰۰ میلی مولار به هر نمونه اضافه شد. نمونه‌ها به مدت ۱۵ دقیقه در دمای ۴ درجه سلسیوس در $g\times$ ۱۷۰۰۰ سانتریفیوژ شدند. مایع رویی (عصاره آنزیمی) برای سنجش فعالیت آنزیم‌ها استفاده شد. استخراج و ارزیابی فعالیت آنزیم سوپراکسید دیسموتاز با استفاده از روش شرح داده شده توسط Yu and Rengel (1999)، آنزیم پلی فنل اکسیداز با استفاده از روش شرح داده شده توسط Kar and Mishra (1976) و آنزیم کاتالاز با استفاده از روش شرح داده شده توسط Marschner (1992)

Cakmak and انجام شد. ارزیابی تغییرات پروتئین کل در هر نمونه با استفاده از روش Bradford (1976) انجام شد. آزمایش برای هر آنزیم دارای چهار تکرار بود و آزمایش دو بار تکرار شد.

ارزیابی میزان پراکسیداسیون لیپیدهای غشا و ترکیبات فنلی

اندازه‌گیری محتوای مالون دی آلدئید به‌عنوان شاخص پراکسیداسیون لیپید با استفاده از تیوباربیتوریک اسید و به روش Hodges et al. (1999) اندازه‌گیری و بر حسب نانو مول در هر گرم بافت تازه بیان شد. محتوای کل فنلی با استفاده از معرف فولین سیکالتیو بر اساس روش Li et al. (2007) اندازه‌گیری و برحسب میلی‌گرم گالیک اسید در هر گرم بافت تازه بیان شد. هر تیمار دارای چهار تکرار در هر بار انجام آزمایش بود و آزمایش دو بار تکرار شد.

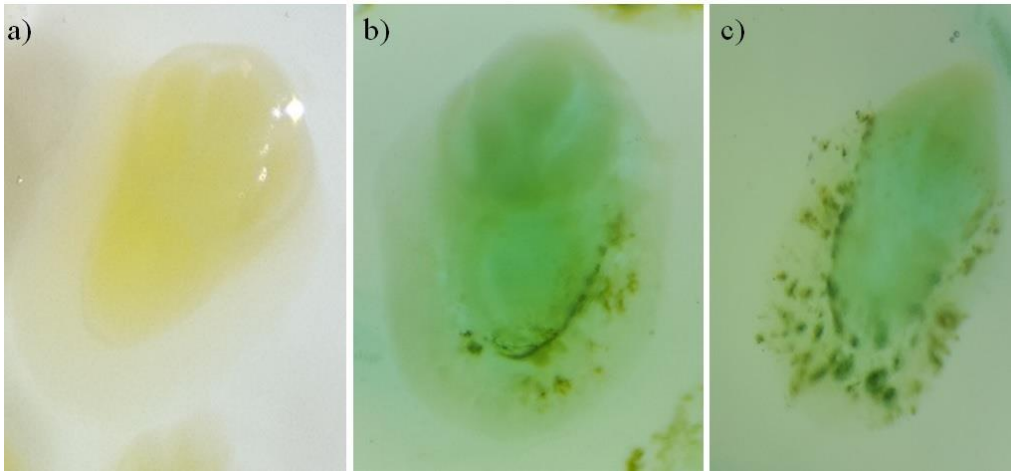
تجزیه و تحلیل داده‌ها

واکاوی آماری داده‌های حاصل از آزمایش‌های مختلف با استفاده از نرم‌افزار SAS (version 9.4) انجام و مقایسه میانگین‌ها با آزمون حداقل تفاوت معنی دار سطح احتمال پنج درصد ($P \leq 0.05$) مورد ارزیابی قرار گرفت. برای رسم نمودارها از نرم‌افزار Microsoft Office Excel 2013 استفاده گردید.

نتایج

نتایج حاصل از ارزیابی آلودگی به قارچ عامل بیماری سیاهک آشکار در نمونه‌های بذری مزارع جو نشان داد که فقط در نمونه‌های بذری نمونه برداری شده از مناطق ورامین، اصفهان، اراک، فاروج، کرج و زرقان آلودگی ردیابی شده است. در این پژوهش بر اساس مشاهدات انجام شده فقط در ۹ نمونه از ۶۸ نمونه‌ی بذری مورد بررسی آلودگی جنین به قارچ سیاهک آشکار مشاهده شد (شکل ۲).

آلودگی در نمونه‌های بذری رقم گوهران کد TVG062 (ورامین) به میزان ۰/۰۵ درصد، رقم انصار کدهای IIN011 (اصفهان) و MAN012 (اراک) هر دو به میزان ۰/۰۵ درصد، رقم بهرخ کدهای IIH052 (اصفهان) و TVH054 (ورامین) به ترتیب ۰/۱ درصد و ۰/۰۵ درصد و همچنین رقم ریحان با کدهای TVR185 (ورامین)، KFR187 (فاروج)، AKR183 (کرج) و FZR186 (زرقان) به ترتیب ۱/۱ درصد، ۰/۴ درصد، ۰/۱ درصد و ۰/۰۵ درصد مشاهده شد.



شکل ۲- جنین سالم (a) در مقایسه با جنین آلوده (b, c) به *Ustilago nuda* عامل بیماری سیاهک آشکار. بزرگنمایی ۵۰ میکرومتر.

Figure 2. Healthy embryo (a) compared to embryo infected by *Ustilago nuda* (b, c) as the causal agent of loose smut disease. 50 µm magnification.

جدول ۱- مشخصات نمونه‌های بذری جو بر اساس رقم، محل نمونه‌برداری و میزان آلودگی به *Ustilago nuda*

Table 1. Characteristics of Barley seed samples based on cultivar, sampling site and rate of infected with *Ustilago nuda*

Sample code	Cultivar	Sample site	Seed infection*	Sample code	Cultivar	Sample site	Seed infection*
IIA001	Abidar	Isfahan	ND	AKT102	Mahtab	Karaj	ND
MAA002	Abidar	Arak	ND	KJT101	Mahtab	Jolge Rokh	ND
ZZN011	Ansar	Zanjan	ND	QQT103	Mahtab	Qazvin	ND
MAN012	Ansar	Arak	0.05	FZR111	Mehr	Zarqan	ND
IIN011	Ansar	Isfahan	0.05	KBR112	Mehr	Birjand	ND
AKM021	Armaghan	Karaj	ND	AKN121	Nik	Karaj	ND
IIM022	Armaghan	Isfahan	ND	KMN122	Nik	Mashhad	ND
AAZ031	Azaran	Arak	ND	FDN131	Nimrooz	Darab	ND
AKZ032	Azaran	Karaj	ND	KSN132	Nimrooz	Shush	ND
AUZ033	Azaran	Urmia	ND	SZN133	Nimrooz	Zabol	ND
AAB041	Bahman	Arak	ND	IMZ142	Norooz	Mehran	ND
HHB042	Bahman	Hamedan	ND	KDZ141	Norooz	Dezful	ND
KMB043	Bahman	Mashhad	ND	KSZ143	Norooz	Shush	ND
QQB044	Bahman	Qazvin	ND	SZZ144	Norooz	Zabol	ND
SSB045	Bahman	Semnan	ND	TVO151	Nosrat	Varamin	ND
SSB046	Bahman	Shahrud	ND	AKS163	Oksin	Karaj	ND
ZZB047	Bahman	Zanjan	ND	FDS161	Oksin	Darab	ND
FQH051	Behrokh	Eqlid	ND	IMS164	Oksin	Mehran	ND
IZH052	Behrokh	Zarqan	ND	KDS162	Oksin	Dezful	ND
KMH053	Behrokh	Mashhad	ND	KSS165	Oksin	Shush	ND
IIH052	Behrokh	Isfahan	0.1	SZO166	Oksin	Zabol	ND
TVH054	Behrokh	Varamin	0.05	AUQ172	Qaflan	Urmia	ND
AKG061	Goharan	Karaj	ND	HHQ171	Qaflan	Hamedan	ND
FZG063	Goharan	Zarqan	ND	KBR181	Reihan	Birjand	ND
TVG062	Goharan	Varamin	0.05	KGR182	Reihan	Ghayenat	ND
KBN071	Golshan	Birjand	ND	AKR183	Reihan	Karaj	0.1
AAJ081	Jolgeh	Arak	ND	KMR184	Reihan	Mashhad	ND
HHJ083	Jolgeh	Hamedan	ND	TVR185	Reihan	Varamin	1.1
KEJ082	Jolgeh	Esfarayen	ND	FZR186	Reihan	Zarqan	0.05
KMJ084	Jolgeh	Mashhad	ND	KFR187	Reihan	Faruj	0.4
QQJ085	Jolgeh	Qazvin	ND	AKY192	Yosef	Karaj	ND
FZJ086	Jolgeh	Zarqan	ND	TVY191	Yosef	Varamin	ND
FZM093	Mahoor	Zarqan	ND	QQY193	Yosef	Qom	ND
KGM091	Mahoor	Gachsaran	ND	SZZ201	Zahak	Zabol	ND

*ND: Not detected

نتایج حاصل از مقایسه میانگین برخی صفات مرتبط با جوانه‌زنی نشان داد که درصد جوانه‌زنی بذر در تیمارهای شاهد دارای سطوح مختلف آلودگی و تیمارهای بذری ضدعفونی شده با قارچکش‌های شیمیایی (ایپرودیون-کاربندازیم و کاربوکسین تیرام) از ۹۱/۵۰ تا ۹۰/۰۰ درصد متغیر بوده و تفاوت معنی‌داری نداشت (جدول ۲). متوسط زمان لازم برای جوانه‌زنی در تیمارهای شاهد دارای سطوح مختلف آلودگی بیشتر از تیمارهای بذری ضدعفونی شده می‌باشد. ضریب سرعت جوانه‌زنی در تیمارهای بذری ضدعفونی شده بیشتر از تیمارهای شاهد دارای سطوح مختلف آلودگی می‌باشد (جدول ۲).

تفاوت معنی‌داری در بین تیمارهای شاهد مورد بررسی تا ۰/۱ درصد آلودگی بذری از نظر میزان متوسط جوانه‌زنی روزانه و ضریب سرعت جوانه‌زنی تیمارها مشاهده نگردید اما از نظر متوسط زمان لازم برای

جوانه‌زنی و سرعت جوانه‌زنی روزانه در تیمارهای شاهد دارای سطوح مختلف آلودگی تفاوت معنی داری مشاهده شد. سرعت جوانه‌زنی روزانه در تیمارهای شاهد بیشتر از تیمارهای بذری ضدعفونی شده با قارچکش‌های شیمیایی (بجز ۰/۱ و ۰/۴ درصد سطوح آلودگی بذری) بود. در میزان متوسط جوانه‌زنی روزانه ضدعفونی شده با قارچکش‌های شیمیایی در تیمارهای بذری دارای درصد آلودگی مشابه تفاوت معنی داری مشاهده نشد. کمترین سرعت جوانه‌زنی روزانه و بیشترین متوسط جوانه‌زنی روزانه مربوط به تیمار شاهد دارای ۱/۱ درصد آلودگی بذری بود (جدول ۲). میانگین درصد گیاهچه های غیرعادی تغییر شکل یافته با افزایش میزان آلودگی در تیمارهای شاهد افزایش یافته بود. ضدعفونی بذر با قارچکش ایپرودیون-کاربندازیم در سطح آلودگی ۱/۱ بذری موجب کاهش گیاهچه‌های غیرعادی در مقایسه با تیمار شاهد و تیمار ضدعفونی‌شده با قارچکش کاربوکسین تیرام شد. ضدعفونی بذر با قارچکش‌های شیمیایی تأثیر معنی‌داری روی درصد قوه نامیه نداشت اما با در تیمارهای شاهد با افزایش میزان آلودگی میزان آن کاهش یافت.

نتایج حاصل از آزمون استاندارد جوانه‌زنی نشان داد که در تیمارهای شاهد شاخص‌های بنیه گیاهچه از جمله شاخص طولی بنیه از ۴۰۳۰/۶ تا ۳۷۵۲/۲ و شاخص وزنی بنیه از ۲۳/۱۳ تا ۱۷/۳۷ متغیر بود. میزان شاخص طولی بنیه در بذر ضدعفونی شده با قارچکش‌های شیمیایی از ۴۳۰۲/۸ تا ۳۸۲۳/۷ و شاخص وزنی بنیه از ۲۳/۶۵ تا ۱۸/۹۴ متغیر بود (جدول ۲). در تیمارهای شاهد میانگین طول ساقه‌چه از ۲۳/۴ تا ۱۸/۱ سانتی‌متر و طول ریشه‌چه از ۲۵/۹ تا ۱۹/۵ سانتی‌متر متغیر بود. همچنین در تیمارهای ضدعفونی شده با قارچکش‌های شیمیایی میانگین طول ساقه‌چه از ۱۸/۷ تا ۲۳/۳ سانتی‌متر و میانگین طول ریشه‌چه از ۲۱/۵ تا ۲۸/۹ سانتی‌متر متغیر بود (جدول ۲). در تیمارهای شاهد وزن‌تر گیاهچه از ۲/۵۱ تا ۱/۹۰ گرم و وزن خشک از ۰/۲۵۳ تا ۰/۱۹۸ گرم متغیر بود. همچنین در گیاهچه‌های حاصل از بذر ضدعفونی‌شده با قارچکش‌های شیمیایی میانگین وزن‌تر از ۲/۶۲ تا ۲/۰۹ گرم و وزن خشک از ۰/۲۵۸ تا ۰/۲۱۵ گرم متغیر بود (جدول ۲). نتایج حاصل از ارزیابی شاخص‌های مورد بررسی در مزرعه نشان داد که با افزایش میزان آلودگی در تیمارهای شاهد آلوده متوسط زمان ظهور گیاهچه‌ها و سرعت ظهور تجمعی افزایش یافت اما سرعت ظهور گیاهچه‌ها و درصد سبز نهایی در مزرعه روندی کاهشی داشت. در تیمار بذر با قارچکش‌های شیمیایی از نظر شاخص ظهور گیاهچه در مزرعه در مقایسه با تیمارهای شاهد تفاوتی معنی‌داری مشاهده نشد. ضدعفونی بذر با قارچکش ایپرودیون-کاربندازیم در مقایسه با قارچکش کاربوکسین تیرام و شاهد در تمامی سطوح مختلف آلودگی موجب بهبود متوسط زمان ظهور گیاهچه‌ها و سرعت ظهور تجمعی شده بود اما تأثیر قابل توجه روی سرعت ظهور گیاهچه‌ها، شاخص ظهور گیاهچه و درصد سبز نهایی در مزرعه نداشته بود (جدول ۲).

میزان وقوع بیماری در گیاهان حاصل در نمونه‌های بذری رقم ریحان با کدهای KMR184 (فاقد آلودگی)، FZR186 (۰/۰۵ درصد آلودگی بذری)، AKR183 (۰/۱ درصد آلودگی بذری)، KFR187 (۰/۴ درصد آلودگی بذری) و TVR185 (۱/۱ درصد آلودگی بذری) به ترتیب به میزان صفر درصد، ۰/۳ درصد، ۲/۲ درصد، ۵/۴ درصد و ۱۲/۵ درصد متغیر بود.

جدول ۲- مقایسه میانگین برخی صفات مرتبط با جوانه‌زنی در نمونه‌های بذری آلوده رقم ریحان (در سطوح مختلف آلودگی به *Ustilago nuda*) ضدعفونی شده با قارچکش‌های شیمیایی

Table 2. Means comparison of some traits related to germination in infected seed samples of Reihan cultivar (at different levels of infestation of *Ustilago nuda*) with disinfection with chemical fungicides

Parameter											
Sample name	Treatments*	Level of seed infected (%)	GP	DS	SV	SL	RL	FW	DW	SWVI	SLVI
KMR184	C	0	91.50 a	0 c	91.50 a	18.1 h	25.9 c	2.51 b	0.253 b	23.13 a	4030.6 b
	VT	0	91.50 a	0 c	91.50 a	18.7 efg	27.4 b	2.60 a	0.257 ab	23.52 a	4222.7 a
	RTS	0	91.50 a	0 c	91.50 a	19.0 de	28.9 a	2.62 a	0.258 a	23.65 a	4302.8 a
FZR 186	C	0.05	90.75 a	0 c	90.75 ab	18.4 gh	23.9 e	2.27 c	0.234 d	21.90 b	3838.7 ef
	VT	0.05	91.00 a	0 c	91.00 ab	18. 7 fg	25.2 d	2.47 b	0.239 c	21.82 cd	3997.1 bc
	RTS	0.05	91.25 a	0 c	91.25 a	18.8 de	25.4 d	2.48 b	0.240 c	21.28 de	4044.6 b
AKR 183	C	0.1	91.00 a	0.50 bc	90.50 ab	19.3 d	23.0 f	2.25 cd	0.232 d	21.11 d	3825.9 efg
	VT	0.1	91.00 a	0.50 bc	90.50 ab	19.2 d	23.0 f	2.25 cd	0.233 d	21.09 d	3823.7 efg
	RTS	0.1	90.75 a	0.25 c	90.50 ab	19.0 de	23.3 f	2.26 c	0.233 d	20.99 d	3830.4 efg
KFR 187	C	0.4	90.50 a	1.00 b	89.50 bc	21.3 c	20.6 j	1.98 f	0.206 f	18.46 g	3752.2 g
	VT	0.4	90.50 a	1.00 b	89.50 bc	21.2 c	22.0 h	2.22 d	0.218 e	19.55 e	3868.6 de
	RTS	0.4	90.50 a	1.00 b	89.50 bc	21.1 c	22.5 g	2.22 d	0.219 e	19.65 e	3904.4 de
TVR 185	C	1.1	90.00 a	2.25 a	87.75 d	23.4 b	19.5 k	1.90 g	0.198 g	17.37 h	3764.3 fg
	VT	1.1	90.00 a	2.00 a	88.00 cd	23.3 ab	21.5 i	2.09 e	0.215 e	18.94 ef	3944.6 cd
	RTS	1.1	90.50 a	1.00 b	89.50 bc	23.0 b	22.2 gh	2.09 e	0.216 e	19.31 fg	4047.6 b

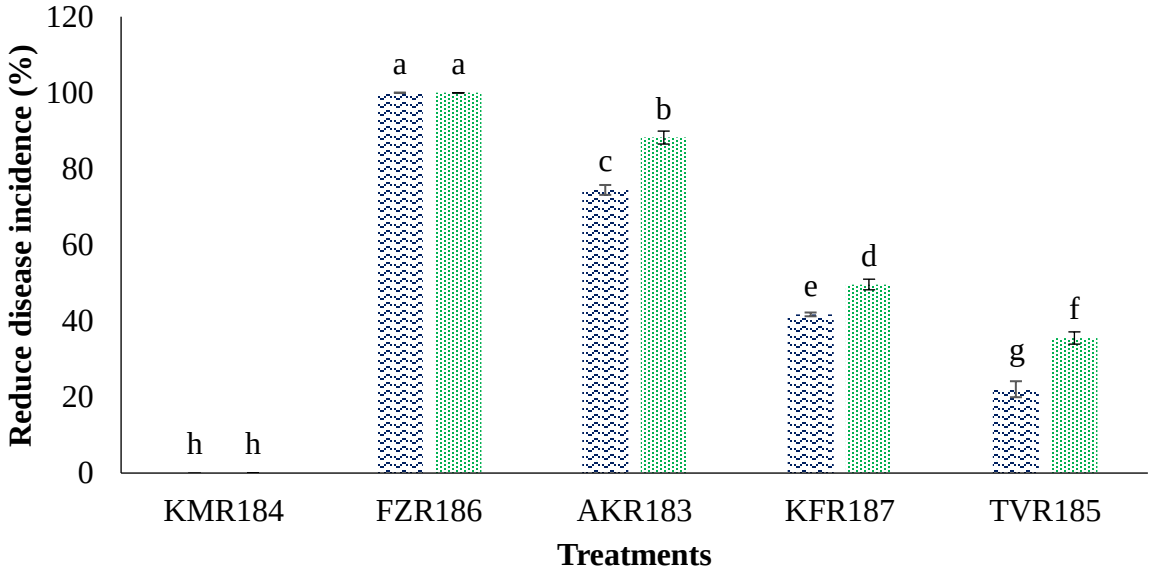
ادامه جدول ۲:

Sample name	Treatments*	Level of seed infected (%)	MTG	CVG	MDG	DGS	MET	FER	CER	FEI	FEP
KMR184	C	0	3.33 a	0.30 j	13.07 d	0.08 a	0.39 i	6.53 a	13.16 k	100.00 a	91.50 a
	VT	0	2.97 b	0.33 i	15.25 c	0.06 b	0.41 i	6.53 a	14.24 j	100.00 a	91.50 a
	RTS	0	2.94 b	0.34 i	15.25 c	0.06 b	0.46 h	6.53 a	15.14 i	100.00 a	91.50 a
FZR186	C	0.05	2.95 b	0.34 i	12.96 d	0.08 a	0.48 gh	6.45 abc	15.32 hi	99.45 a	90.25 abc
	VT	0.05	2.80 c	0.35 h	15.17 c	0.06 b	0.50 g	6.50 ab	15.84 h	100.00 a	91.00 ab
	RTS	0.05	2.75 c	0.36 h	15.20 c	0.06 b	0.49 gh	6.52 ab	16.68 g	100.00 a	91.25 ab
AKR183	C	0.1	2.60 d	0.38 g	15.17 c	0.06 b	0.53 f	6.39 abc	16.46 g	98.89 a	89.50 abc
	VT	0.1	2.54 d	0.39 g	15.17 c	0.06 b	0.56 f	6.39 abc	17.35 f	98.44 a	89.50 abc
	RTS	0.1	2.40 e	0.41 f	15.12 c	0.06 b	0.63 de	6.39 abc	18.64 e	99.32 a	90.00 abc
KFR187	C	0.4	2.44 e	0.41 f	18.10 b	0.05 c	0.62 e	6.28 cd	19.18 e	98.32 a	88.00 cd
	VT	0.4	2.24 f	0.44 e	18.10 b	0.05 c	0.63 e	6.32 bcd	20.03 d	98.87 a	88.50 bcd
	RTS	0.4	2.16 g	0.46 d	18.10 b	0.05 c	0.72 b	6.32 bcd	22.04 b	98.89 a	88.50 bcd
TVR185	C	1.1	1.98 h	0.50 c	22.50 a	0.04 d	0.68 c	6.16 d	21.93 c	98.30 a	86.25 d
	VT	1.1	1.89 i	0.53 b	18.00 b	0.05 c	0.66 cd	6.17 d	21.14 c	98.29 a	86.50 d
	RTS	1.1	1.78 j	0.56 a	18.10 b	0.05 c	0.77 a	6.32 bcd	23.46 a	98.88 a	88.50 bcd

GP: Germination percentage, DS: the average percentage of deformed seedling, SV: Seed viability, SL: the average shoot length (cm), RL: average root length (cm), FW: fresh weight (g), DW: dry weight (g), SLVI: seedling length vigor index, SWVI: seedling weight vigor index, MTG: Mean times germination, CVG: Coefficient of velocity of germination, MDG: Mean daily germination, DGS: Daily germination speed, MET: Mean emergence time, FER: Field emergence rate, CER: Cumulative emergence rate, FEI: Field emergence index, FEP: Final emergence percentage in field. Means within a column indicated by the same letter were not significantly different according to the least significant difference (LSD) test at the level $P \leq 0.05$.

*C: control treatment, VT: seed treatment with carboxin thiram (Vitavax thiram®), RTS: seed treatment with iprodione-carbendazim (Rovral-TS®).

نتایج حاصل از بررسی کارایی ضدعفونی بذر با قارچکش‌های شیمیایی ایپرودیون-کاربندازیم و کاربوکسین تیرام نشان داد که قارچ‌کش ایپرودیون-کاربندازیم در مقایسه با کاربوکسین تیرام (بجز نمونه‌های بذری با کد FZR186 و KMR184) به میزان بیشتری موجب کاهش درصد وقوع بیماری سیاهک آشکار می‌شود. میزان وقوع بیماری در گیاهان حاصل از بذر ضدعفونی شده با قارچکش‌های شیمیایی در نمونه‌های بذری با کدهای AKR186 و KMR184 به ترتیب دارای ۰/۰۵ درصد و صفر درصد آلودگی تفاوت معنی داری مشاهده نشد (شکل ۳). بیشترین کاهش وقوع و ظهور بیماری سیاهک آشکار در نسل بعد مربوط به نمونه‌ی بذری کد FZR186 (دارای ۰/۰۵ درصد آلودگی بذر) ضدعفونی شده با قارچکش‌های شیمیایی به میزان ۱۰۰ درصد مشاهده شد. میانگین درصد وقوع بیماری سیاهک آشکار در نمونه‌ی بذری کد AKR183 (دارای ۰/۱ درصد آلودگی بذر) ضدعفونی شده با قارچکش ایپرودیون-کاربندازیم و کاربوکسین تیرام در مقایسه با تیمار بذری بدون ضدعفونی به ترتیب به میزان ۸۸/۲ درصد و ۷۴/۴ درصد کاهش یافت (شکل ۳).



شکل ۳- تأثیر ضدعفونی بذر با قارچکش‌های شیمیایی روی درصد کاهش شاخص وقوع بیماری سیاهک آشکار (میانگین ± خطای استاندارد) ناشی از *Ustilago nuda* در نمونه‌های بذری جو رقم ریحان. تیمار بذر با کاربوکسین تیرام، تیمار بذر با ایپرودیون-کاربندازیم. اعدادی که با حروف مختلف نشان داده شده‌اند با توجه به آزمون حداقل اختلاف معنی دار (LSD) در سطح ۵ درصد تفاوت معنی دار داشتند.

Figure 3. Effect of seed disinfection with chemical fungicides on percentage reduce disease incidence of loose smut (mean ± standard error) caused by *Ustilago nuda* in Barley samples of Reihan cultivar. seed treatment with carboxin thiram, seed treatment with iprodione-carbendazim. Different letters indicate significant differences according to the least significant difference (LSD) test at the level $P \leq 0.05$.

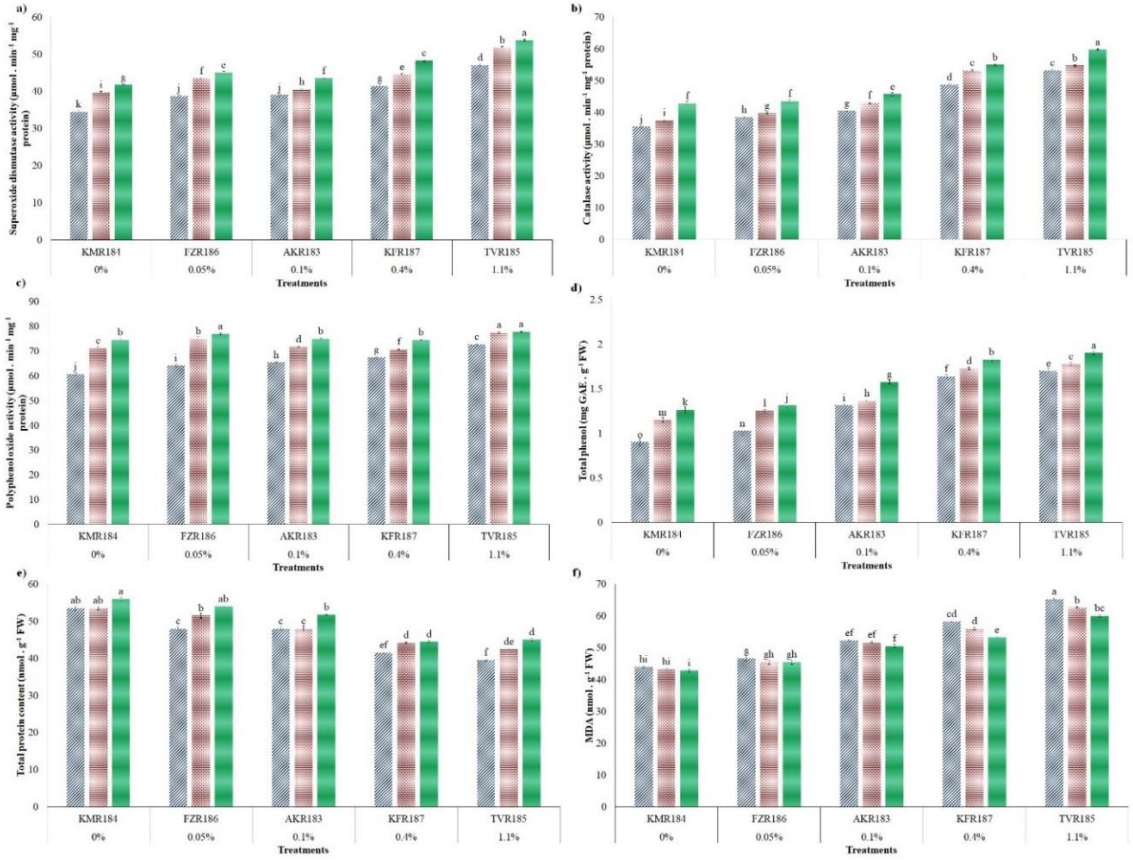
فعالیت آنزیم‌های دفاعی از جمله سوپراکسید دیسموتاز، کاتالاز و پلی فنل اکسیداز در سنبله‌های گیاهان حاصل از بذر دارای سطوح مختلف آلودگی تیمار شده و نشده با قارچکش‌های شیمیایی برای بررسی و نقش این آنزیم‌ها در مقاومت پایه جو علیه قارچ عامل بیماری سیاهک آشکار مورد ارزیابی قرار گرفت. در سنبله‌های گیاهان حاصل از تیمارهای شاهد با افزایش میزان آلودگی بذر، سطوح فعالیت آنزیم‌های دفاعی (شکل ۴a-۴c) افزایش و محتوای پروتئین کل (شکل ۴e) کاهش یافته بود. سطوح فعالیت آنزیم‌های دفاعی و محتوای پروتئین کل در سنبله‌های گیاهان حاصل از بذر ضدعفونی شده با قارچکش‌های شیمیایی در مقایسه با تیمارهای شاهد آلوده بالاتر و از نظر آماری تفاوت معنی دار داشت. سطح فعالیت آنزیم‌های دفاعی مورد بررسی و محتوای پروتئین کل در سنبله‌های گیاهان حاصل از بذر تیمارشده با قارچکش ایپرودیون-کاربندازیم در مقایسه با بذر تیمار با قارچکش کاربوکسین تیرام بالاتر بود (شکل ۴). از نظر میزان کل ترکیبات فنلی در بین تیمارهای شاهد و تیمار بذر با قارچکش‌های شیمیایی تفاوت معنی داری مشاهده گردید. میزان کل ترکیبات فنلی در سنبله‌های گیاهان حاصل از بذر تیمارشده با قارچکش ایپرودیون-کاربندازیم در مقایسه با بذر تیمار با قارچکش کاربوکسین تیرام بالاتر بود (شکل ۴d). نتایج ارزیابی محتوای مالون دی آلدئید در سنبله‌های گیاهان حاصل از تیمارهای شاهد نشان داد که سطح محتوای مالون دی آلدئید با افزایش میزان آلودگی بذر افزایش یافته است. تفاوت معنی داری از نظر میزان محتوای مالون دی آلدئید در سنبله‌های گیاهان حاصل از بذر ضدعفونی شده در مقایسه با تیمارهای شاهد مورد بررسی تا ۰/۱ درصد آلودگی بذری مشاهده نگردید هرچند که در سطوح آلودگی‌های بذری بالاتر از آن بین گیاهچه‌های حاصل از تیمارهای بذری ضدعفونی شده با تیمارهای بذری شاهد تفاوت معنی داری مشاهده شد (شکل ۴f).

بحث

در این پژوهش متوسط میزان آلودگی بذر به بیمارگر سیاهک آشکار در نمونه‌های بذری جمع آوری شده از مزارع استان‌های مختلف ۰/۲ درصد می‌باشد. نتایج نشان داد که هیچگونه آلودگی به قارچ عامل بیماری سیاهک آشکار جو در بیش از ۸۶ درصد از نمونه‌های بذری جمع آوری شده مشاهده نشد. در پژوهش‌های قبلی در استان مرکزی میزان آلودگی بذر در طبقه بذری گواهی شده از ۰/۶ درصد (منطقه فراهان) تا ۶/۵ درصد (منطقه اراک) متغییر بود (Haghshenas et al., 2010) اما میزان آلودگی ردیابی شده در منطقه اراک در این پژوهش از صفر تا ۰/۰۵ درصد مشاهده شد. نتایج حاصل از این بررسی نشان داد که نمونه‌های بذری نمونه برداری شده از مزارع جو در ورامین، اصفهان، اراک، فاروج، کرج و زرقان آلوده می‌باشند. در مزارع جو بذری رقم کارون در استان‌های تهران و قم میزان آلودگی مزارع به بیماری سیاهک آشکار به ترتیب ۱۰ و ۱۱/۵ درصد گزارش شده بود که با بررسی جنین بذر نمونه‌های حاصل از این مزارع میزان آلودگی به این قارچ از ۳/۲ تا ۵/۵ درصد ثبت شد (Naderpour, 2004).

نتایج حاصل از مقایسه میانگین صفات جوانه‌زنی نشان داد که تفاوت در میزان آلودگی بذر در نمونه‌های بذری رقم ریحان جمع آوری شده از مناطق مختلف موجب تفاوت معنی‌داری در شاخص‌های بنیه شده بود. همچنین کاربرد ضدعفونی بذر با قارچکش‌های شیمیایی موجب بهبود برخی از خصوصیات کیفی بذر به‌ویژه وزن خشک و

تر، طول ریشه‌چه، شاخص وزنی بنیه، متوسط زمان لازم برای جوانه‌زنی و ضریب سرعت جوانه‌زنی در مقایسه با تیمارهای بذری شاهد می‌شود. نتایج این پژوهش با مشاهدات Taye و همکاران (۲۰۱۳) مطابقت داد. آن‌ها گزارش کردند که تیمار بذر با قارچ‌کش شیمیایی موجب کاهش متوسط زمان لازم برای جوانه‌زنی و افزایش ضریب سرعت جوانه‌زنی می‌شود. تنش موجب افزایش متوسط زمان لازم برای جوانه‌زنی و کاهش شاخص بنیه و صفات مرتبط با جوانه‌زنی جو از جمله متوسط جوانه‌زنی روزانه و طول ساقه‌چه شده بود (Sharafizad, 2017).



شکل ٤- فعالیت آنزیم‌های سوپراکسید دیسموتاز (a)، کاتالاز (b) و پلی فنل اکسیداز (c) و محتوای ترکیبات فنلی (d)، پروتئینی (e) و مالون دی آلدئید (f) در سنبله‌های گیاهان تحت تأثیر تیمارهای بذری نمونه‌های جو رقم ریحان (در سطوح مختلف آلودگی به *Ustilago nuda*) با قارچکش‌های شیمیایی، میانگین داده‌ها ± خطای استاندارد ارائه شده‌اند، آزمایش دو بار با نتایج مشابه تکرار شد. تیمار شاهد؛ تیمار بذر با کاربوکسین تیرام؛ تیمار بذر با ایپرودیون-کاربندازیم. اعدادی که با حروف مختلف نشان داده شده‌اند با توجه به آزمون حداقل اختلاف معنی دار (LSD) در سطح ۵ درصد تفاوت معنی دار داشتند.

Figure 4. Activities of the antioxidant enzymes of superoxide dismutase (a), catalase (b), polyphenol oxidase (c) and also content of phenolic compounds (d), total protein (e) and malondialdehyde (f) in the spikes plants as affected by seed treatments of Barley samples of Reihan cultivar (at different levels of infestation of *Ustilago nuda*) with chemical fungicides, Data are means ± standard error, the experiment was repeated two times with similar results. control treatment, seed treatment with carboxin thiram, seed treatment with iprodione-carbendazim. Different letters indicate significant differences at the 5% level according to the least significant difference (LSD) test.

آلودگی بذرهای جو به قارچ‌های بذرزاد موجب کاهش تولید گیاهچه های عادی و بنیه بذر می‌شود (Yari et al., 2018) که با مشاهدات این پژوهش مطابقت دارد.

تیمار بذر با قارچکش‌های شیمیایی در مقایسه با نمونه-های شاهد موجب بهبود شاخص‌های بنیه گیاهچه می‌شود. محققان گزارش کردند که شاخص‌های بنیه با افزایش آلودگی بذر به قارچ‌های بذرزاد کاهش یافته است (Pant, 2011; Fatima & Khot, 2015; Turner et al., 2020) که با مشاهدات این پژوهش مطابقت دارد. تیمار بذر با قارچکش‌های شیمیایی در مقایسه با تیمارهای شاهد موجب بهبود شاخص طولی بنیه، طول ساقه‌چه و ریشه‌چه می‌شود. نتایج این پژوهش مشابه با نتایج گزارش‌شده توسط سایر محققان در مورد افزایش میزان درصد جوانه‌زنی، میانگین طول ساقه‌چه و ریشه‌چه در تیمار بذر با قارچکش‌های شیمیایی در مقایسه با تیمار شاهد می‌باشد (Soomro et al., 2020; Kgatle et al., 2020). ضدعفونی بذر با قارچکش به‌طور معنی‌داری موجب بهبود طول ریشه‌چه را در مقایسه با بذرهای تیمارنشده شده بود (Kumar & Agarwal, 1998). ضدعفونی بذر فلفل با قارچ‌کش‌های شیمیایی در مقایسه با بذرهای تیمارنشده موجب افزایش شاخص وزنی بنیه و وزن خشک شده بود (Manoharapaladagu et al., 2017). نتایج نشان داد که در تیمارهای شاهد آلوده با افزایش میزان آلودگی میانگین طول ساقه‌چه افزایش اما میزان شاخص طولی بنیه کاهش یافت. ضدعفونی با قارچکش‌های شیمیایی در مقایسه با تیمارهای شاهد موجب بهبود شاخص وزنی بنیه، وزن خشک و تر گیاهچه می‌شود. نتایج نشان داد که در تیمارهای شاهد آلوده با افزایش میزان آلودگی میانگین وزن خشک و شاخص وزنی بنیه کاهش یافت.

نتایج مقایسه آزمون جوانه‌زنی در بذور ضدعفونی شده نشان داد که تیمار بذری با قارچکش‌های شیمیایی به‌طور قابل‌توجهی روی صفات مرتبط با شاخص‌های بنیه از جمله طول ساقه‌چه و ریشه‌چه، وزن خشک و تر تأثیر گذاشته و موجب بهبود گیاهچه‌های حاصل از آن می‌شوند. وزن خشک گیاهچه یکی از بهترین معیارهای ارزیابی میزان شاخص وزنی بنیه برای پیش‌بینی میزان خروج گیاهچه ها در مزرعه است (Steiner et al., 1989). ضدعفونی بذر با قارچکش کاربوکسین تیرام در غلظت ۲ در هزار موجب بهبود درصد جوانه‌زنی نهایی، متوسط زمان و سرعت جوانه‌زنی روزانه، شاخص طولی و وزنی بنیه، وزن خشک، طول ساقچه و ریشه چه می‌شود (Haghanifar et al., 2018). نتایج این پژوهش نشان داد که ضدعفونی با قارچکش‌های شیمیایی در مقایسه با بذر شاهد موجب افزایش میزان سبزشدن گیاهچه‌ها می‌شود. نتایج این پژوهش مشابه با نتایج گزارش‌شده توسط سایر محققان در مورد تأثیر ضدعفونی بذر با قارچکش کاربوکسین تیرام روی افزایش درصد جوانه‌زنی، بنیه و سبزشدن گیاهان مختلف از جمله برنج (Arsego et al., 2006; Lobo, 2008)، بادام زمینی (Bittencourt et al., 2007)، جو (Yari et al., 2020)، گشنیز (Khaledi & Assareh, 2021) و کرچک (Tropaldi et al., 2010) مطابقت دارد.

ضدعفونی با قارچکش‌ها موجب کاهش وقوع و ظهور بیماری سیاهک آشکار در نسل بعد شده بود. تیمار بذر با قارچکش شیمیایی موجب کاهش درصد سنبله‌های آلوده به بیماری سیاهک آشکار جو و کپک برفی گندم می‌شود (Bänziger et al., 2022) که با مشاهدات این پژوهش مطابقت دارد. ضدعفونی بذر با قارچکش کاربوکسین تیرام پس از قارچکش‌های دیوی‌دند استار، سومی آیت و رئال بیشترین تأثیر را در کنترل بیماری سیاهک آشکار جو در استان‌های اصفهان و تهران دارد (Jalali et al., 2010).

ضدعفونی بذر با قارچکش کاربوکسین موجب کاهش وقوع بیماری سیاهک آشکار جو و گندم می‌شود (Menzies, 2008). ضدعفونی بذر با قارچکش کاربوکسین در طی سال ۲۰۲۰-۲۰۱۴ به طور میانگین موجب کاهش ۶۴/۱ درصد وقوع بیماری سیاهک آشکار جو می‌شود (Jevtić et al. 2022) که با مشاهدات این پژوهش مطابقت دارد. نتایج این پژوهش با مشاهدات Nasrisfahani و همکاران (۲۰۰۸) مطابقت داد. آن‌ها گزارش کردند که ضدعفونی با قارچکش کاربوکسین تیرام به میزان حدود ۳۹/۲ درصد موجب کاهش میزان وقوع بیماری سیاهک آشکار جو می‌شود.

نتایج حاصل از ارزیابی میزان فعالیت آنتی اکسیدانت-های آنزیمی (آنزیم‌های سوپراکسید دیسموتاز، کاتالاز و پلی فنل اکسیداز) و ترکیبات فنلی در سنبله‌های گیاهان حاصل از نمونه‌های بذری دارای درصدهای مختلف آلودگی مشاهده شد که با افزایش میزان آلودگی بذر و همچنین پیش تیمار بذر با قارچکش‌ها سطوح فعالیت این آنزیم‌های دفاعی و میزان محتوای ترکیبات فنلی افزایش یافت. میزان فعالیت و بیان آنتی اکسیدانت‌های آنزیمی سوپراکسید دیسموتاز، کاتالاز و آسکوربات پراکسیداز با افزایش تنش افزایش یافت (Pérez-López et al., 2009) که با مشاهدات این پژوهش مطابقت دارد. سطح فعالیت سوپراکسید دیسموتاز، کاتالاز و آسکوربات پراکسیداز در ارقام جو با افزایش میزان تنش شوری افزایش یافته بود (Rahimi Darabad et al., 2021). همچنین میزان فعالیت کاتالاز با افزایش تنش‌های غیرزنده افزایش یافته بود (Kacienė et al., 2015) که با مشاهدات این پژوهش مطابقت دارد. محققان ضمن بررسی فعالیت آنزیمهای آنتی اکسیدانتی جو طی تنش شوری بیان کردند با افزایش سطوح تنش شوری سطح محتوای پروتئین کل کاهش و میزان فعالیت کاتالاز، آسکوربات پراکسیداز و پلی فنل اکسیداز افزایش یافته بود (Fahmideh et al., 2022). میزان فعالیت سوپراکسید دیسموتاز وسطح محتوای پروتئین کل با افزایش تنش به‌ترتیب افزایش و کاهش یافت (Qingming et al., 2010). تیمار بذر موجب افزایش سطح فعالیت آنزیم‌های دفاعی و محتوای پروتئینی می‌شود (Ahmadpour dehkordi & Balouchi, 2012). در شرایط تنش میزان محتوای پروتئینی به شدت کاهش می‌یابد که می‌تواند ناشی از کاهش فراوانی پیش ماده‌های تولیدکننده پروتئین‌ها (مواد معدنی و آلی) و کاهش بیان ژن‌های آن‌ها باشد (Ghorbani Javid et al. 2007). میزان کل ترکیبات فنلی در سنبله‌های گیاهان حاصل از بذرهای ضدعفونی شده با قارچکش‌های شیمیایی در مقایسه با تیمارهای شاهد آلوده بالاتر و از نظر آماری تفاوت معنی دار داشت. به نظر می‌رسد افزایش ترکیبات فنلی در گیاهچه‌های حاصل از بذر تیمارشده با قارچکش‌های شیمیایی نوعی اقدام پیشگیرانه علیه عوامل بیماریزای گیاهی و مقابله با تنش شیمیایی ناشی قارچکش‌ها می‌باشد. میزان ترکیبات فنلی در گیاهچه‌های حاصل از بذرهای تیمارشده با قارچکش‌های شیمیایی در مقایسه شده با تیمارهای شاهد تفاوت معنی‌داری داشت (Zaman & Siddiqui, 2004) که با مشاهدات این پژوهش مطابقت دارد. Ahmadpour dehkordi و Balouchi (۲۰۱۲) گزارش کردند که با افزایش تنش میزان محتوای پروتئینی در گیاهچه‌ها کاهش اما میزان مالون دی آلدئید افزایش یافته بود. تیمار بذر ضمن افزایش فعالیت آنتی‌اکسیدانی و محتوای پروتئینی موجب کاهش میزان پراکسیداسیون لیپیدها می‌شود (Iseri et al., 2014). بررسی‌ها نشان داد که در میزان فعالیت آنزیم‌های دفاعی و همچنین سطح محتوای پروتئین

کل و ترکیبات فنلی در سنبله‌های گیاهان حاصل از بذرهای ضدعفونی شده با قارچکش‌های شیمیایی در مقایسه با تیمارهای شاهد دارای سطوح مختلف آلودگی تفاوت معنی داری وجود دارد.

به طور کلی نتایج این پژوهش نشان داد که افزایش میزان آلودگی بذر جو به سیاهک آشکار ضمن عدم تأثیر بر روی درصد جوانه‌زنی بذر موجب افزایش درصد گیاهچه‌های غیرعادی، طول ساقه‌چه، متوسط جوانه‌زنی روزانه، ضریب سرعت جوانه‌زنی، متوسط زمان ظهور گیاهچه ها، سرعت ظهور تجمعی و شاخص ظهور گیاهچه در مزرعه می‌شود. همچنین میزان قوه نامیه، وزن‌تر و خشک، طول ریشه‌چه و شاخص طولی و وزنی بنیه، متوسط زمان لازم برای جوانه‌زنی، سرعت جوانه‌زنی روزانه، سرعت ظهور گیاهچه ها در مزرعه و درصد سبز نهایی مزرعه با افزایش میزان آلودگی بذر کاهش داشت. تیمار بذر با قارچکش‌های شیمیایی موجب کاهش درصد گیاهچه‌های غیرعادی، متوسط زمان لازم برای جوانه‌زنی و سرعت جوانه‌زنی روزانه می‌شود. نتایج نشان داد که با افزایش میزان آلودگی بذر میزان قوه نامیه، طول ریشه‌چه و ساقچه، وزن‌تر و خشک، شاخص طولی و وزنی بنیه، ضریب سرعت جوانه‌زنی، متوسط جوانه‌زنی روزانه، متوسط زمان ظهور گیاهچه ها و سرعت ظهور تجمعی افزایش یافت. همچنین ضدعفونی با قارچکش‌های شیمیایی بر روی درصد سبز نهایی مزرعه، شاخص ظهور گیاهچه و سرعت ظهور گیاهچه ها در مزرعه تاثیری نداشته است. کارایی قارچکش‌های شیمیایی در میزان وقوع بیماری سیاهک آشکار به نوع قارچکش و میزان آلودگی بذر بستگی دارد. نتایج نشان داد که کارایی قارچکش‌های شیمیایی در کاهش میزان وقوع بیماری سیاهک آشکار جو با افزایش میزان آلودگی بذر کاهش می‌یابد. ضدعفونی با قارچکش‌ها نشان داد که کارایی قارچکش ایپرودیون-کاربندازیم از قارچکش کاربوکسین تیرام در کاهش میزان وقوع بیماری بیشتر است. افزایش محتوای پروتئین کل و ترکیبات فنلی و همچنین میزان فعالیت آنزیم‌های دفاعی در سنبله‌های گیاهان حاصل از بذر ضدعفونی شده با قارچکش‌های شیمیایی می‌تواند نشاندهنده نقش مهمی این قارچکش‌های شیمیایی در القای مقاومت علیه قارچ عامل بیماری سیاهک آشکار جو باشد. اگرچه مزارع جو مورد بررسی در کشور از نظر میزان آلودگی به سیاهک آشکار در سطح قابل قبولی قرار دارند اما توجه به حفظ و حتی کاهش این میزان آلودگی جهت بهبود سطح کیفیت و سلامت بذر تولیدی با مدیریت مناسب مزرعه با انجام ضدعفونی بذر با قارچکش‌های شیمیایی توصیه شده و بازرسی مزارع به منظور بررسی سلامت مزرعه و در صورت نیاز پیشنهاد اقدام بهداشتی الزامی می‌باشد. پژوهش حاضر دیدگاه‌های جدیدی در مورد کارایی قارچکش‌های شیمیایی و تأثیر قارچ عامل بیماری سیاهک آشکار جو بر روی برخی از خصوصیات کیفی بذر و میزان وقوع بیماری ارائه می‌دهد.

سپاس‌گزاری

نگارندگان از موسسه تحقیقات ثبت و گواهی بذر و نهال برای حمایت مالی از این پژوهش با شماره پروژه ۲-۰۸-۰۸-۰۰۰۳۵۶-۰۰۴ تشکر و قدرانی می‌نمایند.

REFERENCES

Adom, K. K., & Liu, R. H. (2002). Antioxidant activity of grains. *Journal of agricultural and food chemistry*, *50*(21), 6182-6187.

Ahmadi, K., Ebadzadeh, H. R., Hatami, F., Mohammadnia-Afrozi, S., Esfandiarpour, E., & Abbasi Taleghani, R. (2021). *Agricultural Statistics*. Ministry of Agriculture-Jahad.

Ahmadpour dehkordi, S., & Baluchi, H. R. (2012). The effect of antioxidant enzymes on seed priming and seedling cell membrane lipids peroxidation (*Nigella sativa* L) under drought and salt stress. *Journal of Crop Production, 5*, 63–85.

Anonymous. (2017). International Seed Testing Association (ISTA); International Rules for Seed Testing. Proceedings of the international seed testing association. In Bassersdorf. Switzerland: Seed Science and Technology. 333 pp.

Anonymous. (2022). International Seed Testing Association (ISTA); International Rules for Seed Testing. Chapter 7: Validated Seed Health Testing Methods. 7-013a: Detection of *Ustilago nuda* in *Hordeum vulgare* subsp. *vulgare* (barley) seed by embryo extraction. Bassersdorf, Switzerland: International Seed Testing Association; 2022. Available from: https://www.seedtest.org/api/rm/TT74P4C725A2QMV/7-013a-detection-of-ustilago-nuda-in-hordeum-vulga-1.pdf

Arsego, O., Baudet, L., Amaral, A. S., Hölbig, L., & Peske, F. (2006). Coating rice seeds with synthetic solution of giberrellic acid, fungicides and polymer. *Revista Brasileira de Sementes, 28*, 201–206.

Atanasova-Penichon, V., Barreau, C., & Richard-Forget, F. (2016). Antioxidant secondary metabolites in cereals: potential involvement in resistance to fusarium and mycotoxin accumulation. *Frontiers in Microbiology, 7*, 566.

Babadoost, M. (1995). Incidence of seed-borne fungal diseases of barley in East Azarbaijan and Ardebil provinces. *Iranian Journal of Plant Pathology, 31*, 77–79.

Bänziger, I., Kägi, A., Vogelgsang, S., Klaus, S., Hebeisen, T., Büttner-Mainik, A., & Sullam, K. E. (2022). Comparison of thermal seed treatments to control snow mold in wheat and loose smut of barley. *Frontiers in Agronomy, 3*, 775243.

Bittencourt, S. E. M., Mentem, J. O. M., Araki, C. A. S., Moraes, M. H. D., Rugai, A. D., Dieguez, M. J., & Vieira, R. D. (2007). Eficiency of the fungicide carboxin + thiram in peanut seed treatment. *Revista Brasileira de Sementes, 29*, 214–222.

Bollina, V., Kumaraswamy, G.K., Kushalappa, A.C., Choo, T.M., Dion, Y., Rioux, S., Faubert, D., & Hamzehzarghani, H. (2010). Mass spectrometry-based metabolomics application to identify quantitative resistance-related metabolites in barley against Fusarium head blight. *Molecular Plant Pathology, 11*, 769–782.

Bradford, M. (1976). A rapid and sensitive method for the quantification of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein dye binding. *Analytical Biochemical, 72*, 248–254.

Cakmak, I., & Marschner, H. (1992). Magnesium deficiency and high light intensity enhance activities of superoxide dismutase, ascorbate peroxidase, and glutathione reductase in Bean leaves. *Plant Physiology, 98*, 1222–1227.

Clear, R. M., & Patrick, S. K. (1993). Prevalence of some seedborne fungi on soft white winter wheat seed from Ontario, Canada. *Canadian Plant Disease Survey, 73*, 143–149.

Desmond, O.J., Manners, J.M., Stephens, A.E., MacLean, D.J., Schenk, P.M., Gardiner, D.M., Munn, A.L., & Kazan, K. (2008). The Fusarium mycotoxin deoxynivalenol elicits hydrogen peroxide production, programmed cell death and defence responses in wheat. *Molecular Plant Pathology, 9*, 435–445.

Doling, D. A. (1968). Effects of infection with *Ustilago nuda* and of seed size on the vigour of barley plants. *Transactions of the British Mycological Society, 51*, 179–183.

Fahmideh, L., Mazarie, A., Madadi, S., & Pahlevan, P. (2022). Comparing the antioxidant enzymes, osmotic regulators and photosynthetic pigments activities of two barley cultivars in Sistan region under salinity-stress conditions. *Environmental Stresses in Crop Sciences, 15*, 485–499.

Fatima, S., & Khot, Y. C. (2015). Studies on fungal population of cumin (*Nigella sativa* L.) from different parts of Marathwada. *International Journal of Multidisciplinary Research, 2*, 25–31.

Gapinska, M., Sklodowska, M., & Gabara, B. (2008). Effect of short- and long-termsalinity on the activities of antioxidative enzymes and lipid peroxidation in tomatoroots. *Acta Physiologia Plantarum, 30*, 11–18.

Ghorbani Javid, M., Moradi, F., Akbari, G., & Allahdadi, A. (2007). Some metabolite role in osmotic regulation mechanism of medic *Medicago laciniata* (L.) Mill under drought stress. *Iranian Journal of Crop Sciences, 8*, 90–105. (In Persian).

Green, G. J., Nielsen, J. J., Cherewick, W. J., & Samborski, D. J. (1968). The experimental approach in assessing disease losses in cereals: rusts and smuts. *Canadian Plant Disease Survey, 48*, 61–64.

Grob, F., Durner, J., & Gaupels, F. (2013). Nitric oxide, antioxidants and prooxidants in plant defence responses. *Frontiers in Plant Science, 4*, 419.

Haghanifar, S., Hamidi, A., & Ilikaee, M. N. (2018). Effect of treatment by Carboxin-Thiram fungicide and Imidacoloroprid pesticide on some indicators of seed germination and vigor of maize (*Zea mays* L.) single cross hybrid704. *Iranian Journal of Seed Science and Technolog, 7*, 65–83.

Haghshenas, M., Karami, S., Zare, L., Aminkhaki, S., Shamirzai M. A., & Mazaheri, H. (2010). Investigation on rate of infection of certificated Makouee barley seed to loose smut (*Ustilago nuda*) disease in Markazi province. *Proceedings of the 19th Iranian Plant Protection Congress*. pp. 239.

Harris, D., Pathan, A. K., Gothkar, P., Joshi, A., Chivasa, W., & Nyamudeza, P. (2001). On-farm seed priming: using participatory method srevive and refine a key technology. *Agricultural Systems Journal, 69*, 151–164.

Hodges, D. M., Delong, J. M., Forney, C. F., & Prange, R. K. (1999). Improving the thiobarbituric acid-reactive-substances assay for estimating lipid peroxidation in plant tissues containing anthocyanin and other interfering compounds. *Planta, 207*, 604–611.

Iseri, O. D., Sahin, F., & Hberal, M. (2014). Sodium chloride priming improves salinity responses of tomato at seedling stage. *Journal of Plant Nutrition, 37*, 374–392.

Jalali, S., Mahlooji, M., & Poormansouri, T. (2010). Evaluation and comparison of systemic fungicides to control of barley true loose smut in Esfahan and Tehran provinces. *Proceedings of the 19th Iranian Plant Protection Congress*. pp. 822.

Jevtić, R., Župunski, V., Lalošević, M., Brbaklić, L., & Orbović, B. (2022). Co-occurrence patterns of *Ustilago nuda* and *Pyrenophora graminea* and fungicide contribution to yield gain in barley under fluctuating climatic conditions in Serbia. *Journal of Fungi, 8*, 542.

Kacienė, G., Žaltauskaitė, J., Milčė, E., & Juknys, R. (2015). Role of oxidative stress on growth responses of spring barley exposed to different environmental stressors. *Journal of Plant Ecology*, 1–12.

Kang, Z., Buchenauer, H., Huang, L., Han, Q., & Zhang, H. (2008). Cytological and immunocytochemical studies on responses of wheat spikes of the resistant Chinese cv. Sumai 3 and the susceptible cv. Xiaoyan 22 to infection by *Fusarium graminearum*. European Journal of Plant Pathology, 120, 383–396.

Kar, M., & D. Mishra. (1976). Catalase, peroxidase and polyphenol oxidase activities during rice leaf senescence. *Plant Physiology, 578*, 315–319.

Kgatle, M., Flett, B., Truter, M., & Aveling, T. (2020). Control of Alternaria leaf blight caused by *Alternaria alternata* on sunflower using fungicides and *Bacillus amyloliquefaciens*. *Crop Protection, 132*, 1–7.

Khaledi, N., & Assareh, M. H. (2021). The efficiency of chemical fungicides in the improvement of seed quality and control of Alternaria leaf spot disease of coriander. *Journal of Plant Protection, 44*, 119–133.

Kumar, M., & V.K. Agarwal. (1998). Effect of fungicidal seed treatment on seed borne fungi, germination and seedling vigour of maize. *Seed Science Research, 26*, 147–151.

Lamichhane, J. R., You, M. P., Laudinot, V., Barbetti, M. J., & Aubertot, J. N. (2020). Revisiting sustainability of fungicide seed treatments for field crops. *Plant Disease, 104*, 610–623.

Li, H. B., Cheng, K. W., Wong, C. C., Fan, K. W., Chen, F., & Jiang, Y. (2007). Evaluation of antioxidant capacity and total phenolic content of different fractions of selected microalgae. *Food Chemistry, 102*, 771–776.

Lobo, V. L. S. (2008). Effects of chemical treatment of rice seeds on leaf blast control and physiological and sanitary quality of treated seeds. *Tropical Plant Pathology, 33*, 162–166.

Manoharapaladagu, P. V., Rai, P. K., Srivastava, D. K. & Kumar, R. (2017). Effects of polymer seed coating, fungicide seed treatment and packaging materials on seed quality of chilli (*Capsicum annuum* L.) during storage. *Journal of Pharmacognosy and Phytochemistry, 6*, 324–327.

Menzies, J. G. (2008). Carboxin tolerant strains of *Ustilago nuda* and *Ustilago tritici* in Canada. *Canadian Journal of Plant Pathology, 30*, 498–502.

Menzies, J. G., McLeod, R., Tosi, L., & Cappelli, C. (2005). Occurrence of a carboxin-resistant strain of *Ustilago nuda* in Italy. *Phytopathologia Mediterranea, 44*, 216–219.

Menzies, J. G., Thomas, P. L., & Woods, S. (2014). Incidence and severity of loose smut and surface-borne smuts of barley on the Canadian prairies from 1972 to 2009. *Canadian Journal of Plant Pathology, 36*, 300–310.

Murphy, B. R., Doohan, F. M., & Hodkinson, T. R. (2017). A seed dressing combining fungal endophyte spores and fungicides improves seedling survival and early growth in barley and oat. *Symbiosis, 71*, 69–76.

Murray, T. D., Parry, D. W., & Cattlin, N. D. (2009). *Diseases of small grain cereal crops*. Manson Publishing Ltd.

Naderpour, M. (2004). Incidence of fungi in seed production fields of Hordeum vulgare cv. Karoon x Kavir in Qom and Tehran Provinces. *Proceedings of the 16th Iranian Plant Protection Congress*. pp. 75.

Nasrisfahani, M., Gharibi, M. J., & Jalali, S. (2008). The effect of some systemic fungicids against Barley loose smut. *Journal of Novel Researches on Plant Protection, 3*, 309–299.

Nautiyal, P. C. (2009). Seed and seedling vigor traits in groundnut (*Arachis hypogaea* L.). *Seed Science and Technology, 37*, 721–735.

Nourbakhsh, S. (2022). *List of important pests, diseases and weeds of major agricultural products, chemicals and recommended ways for their control*. Plant Protection organization, Ministry of Jihad-e Agriculture.

Nourmohammadi, G., Siadat, S. A. & Kashani, A. (2001). Cereal Agronomy. Publicatio of Shahid Chamran, Ahwaz, Ahwaz, Iran. p. 183–187.

Pant, R. (2011). Seed mycoflora of coriander and effect of some fungal metabolite on seed germination and seedling growth. *Asian Journal of Experimental Biological Sciences, 2*, 127–130.

Pereira, D. M., Valentao, P., Pereira, J. A., & Andrade, P. B. (2009). Phenolics: from chemistry to biology. *Molecules, 14*, 2202–2211.

Pérez-López, U., Robredo, A., Lacuesta, M., Sgherri, C., Muñoz-Rueda, A., Navari-Izzo, F., & Mena-Petite, A. (2009). The oxidative stress caused by salinity in two barley cultivars is mitigated by elevated CO_2. *Physiologia Plantarum, 135*, 29–42.

Poormansuri, T., Jalali, S., Nasrollahi, M., & Golkar, K. (2012). The effect of Rovral TS, Carboxinthiram and their mixtures for simultaneous control of barley loose smut and leaf stripe by seed treatment. *Proceedings of the 20th Iranian Plant Protection Congress*. pp. 215.

Qingming, Y., Xianhui, P., Weibao, K., Hong, K., Yidan, S., Li, Z., Yanan, Z., Yuling, Z., Lan, D., & Guoan, L. (2010). Antioxidant activities of malt extract from barley (*Hordeum vulgare* L.) toward various oxidative stress *in vitro* and *in vivo*. *Food Chemistry, 118*, 84–89.

Quijano, C. D., Wichmann, F., Schlaich, T., Fammartino, A., Huckauf, J., Schmidt, K., Unger, C., Broer, I., & Sautter, C. (2016). KP4 to control *Ustilago tritici* in wheat: Enhanced greenhouse resistance to loose smut and changes in transcript abundance of pathogen related genes in infected KP4 plants. *Biotechnology Reports*, *11*, 90–98.

Rahimi Darabad, J., Rashidi, V., Shahbazi, H., Moghaddam vahed, M., & Khalilvand Behrouzyar, E. (2021). Evaluation of activity of antioxidant enzymes and grain yield in barley (*Hordeum vulgare* L.) cultivars under salinity stress. *Environmental Stresses in Crop Sciences*, *14*, 783–791.

Sairam, R.K., Rao, K.V., & Srivastava, G.C. (2002). Differential response of wheat genotypes to long term salinity stress in relation to oxidative stress, antioxidant activity and osmolyte concentration. *Plant Science, 163*, 1037–1046.

Semeniuk, W. and Ross, J. G. (1942). Relation of loose smut to yield of barley. *Canadian Journal of Research Section C, 20*, 491–500.

Sharafizad, M. (2017). Effect of salicylic acid and drought stress on germination and activity of antioxidant enzymes of barely. *Iranian Journal of Seed Science and Technology, 6*, 161–169.

Siddiqui, Z. S., & Zaman, A. U. (2004). Effect of Benlate systemic fungicide on seed germination, seedling growth, biomass and phenolic contents cultivars of *Zea mays* L. *Pakistan Journal of Botany, 36*, 577–582.

Soomro, T. A., Ismail, M., Anwar, S. A., Memon, R. M., & Nizamani, Z. A. (2020). Effect of *Alternaria* sp. on seed germination in rapeseed, and its control with seed treatment. *Journal of Cereals and Oilseeds, 11*, 1–6.

Steiner, J. J. Grabe, D. F., & Tulo, M. (1989). Single and multiple vigour tests for predicting seedling emergenceof wheat. *Crop Science, 27*, 782–789.

Taye, W., Laekemariam, F., & Gidago, G. (2013). Seed germination, emergence and seedling vigor of maize as influenced by pre-sowing fungicides seed treatment. *Journal of Agricultural Research and Development, 3*, 35–41.

Tropaldi, L., Camargo, J. A., Smarsi, R. C., Kulczynski, S. M., Mendonça, C. G., & Barbosa, M. M. M. (2010). Physiological and sanitary quality of castor been seeds under different chemical treatments. *Pesquisa Agropecuária Tropical, 40*, 89–95.

Turner, R. E., Ebelhar, M. W., Wilkerson, T., Bellaloui, N., Golden, B. R., Irby, J. T., & Martin, S. (2020). Effects of purple seed stain on seed quality and composition in soybean. *Plants, 9*, 1–10.

Yari, L., Hashemi Fasharaki, S., & Zareian, A. (2020). Evaluating the fungicide kind and storage duration on vigor in registered seed of three barley (*Hordeum vulgare* L.) cultivars. *Iranian Journal of Seed Science and Research, 7*, 117–128.

Yari, L., Hashemi Fesharaki, S., & Zareian, A. (2018). Effect of storage temperature on seed-borne fungi infestation and seeds vigor on barley (*Hordeum vulgare* L.) cultivars. *Iranian Journal of Seed Science and Technology, 7*, 13–24.

Yu, Q., & Rengel, Z. (1999). Micronutrient deficiency influences plant growth and activities of superoxide dismutases in narrow-leafed lupines. *Annals of Botany, 83*, 175–182.

Zegeye, W., Dejene, M., & Ayalew, D. (2015). Importance of Loose Smut [*Ustilago nuda* (Jensen) Rostrup] of Barley (*Hordeum vulgare* L.) in Western Amhara region, Ethiopia. *East African Journal of Sciences, 9*, 31–40.

Zhang, Z.Q., Xiang, J.J., & Zhou, L. M. (2015). Antioxidant activity of three components of wheat leaves: ferulic acid, flavonoids and ascorbic acid. *Journal of Food Science and Technology*, *52*, 7297–7304.

© 2023 by the authors. Licensee SCU, Ahvaz, Iran. This article is an open access article distributed under the terms and conditions of the Creative Commons Attribution-NonCommercial 4.0 International (CC BY-NC 4.0 license) (http://creativecommons.org/licenses/by-nc/4.0/

Plant Protection (Scientific Journal of Agriculture)

45(4), Winter, 2023

10.22055/ppr.2023.17997

Effect of seed disinfection on the quality indicators of germination and the incidence of Loose smut disease of barley

N. Khaledi[1*], L. Zare[2], F. Hassani[1], C. Moslemkhani[3]

1. ***Corresponding Author:** Assistant professor, Seed and Plant Certification and Registration Research Institute, Agricultural Research, Education and Extension Organization (AREEO), Karaj, Iran (n_khaledi@areeo.ac.ir)
2. Laboratory technician, Seed and Plant Certification and Registration Research Institute, Agricultural Research, Education and Extension Organization (AREEO), Karaj, Iran
3. Associate professor, Seed and Plant Certification and Registration Research Institute, Agricultural Research, Education and Extension Organization (AREEO), Karaj, Iran

Received: 12 October 2022 Accepted: 1 January 2023

Abstract

Background and Objective

Loose smut caused by *Ustilago nuda* is one of the barley's critical seed-borne diseases, causing crop yield to decrease. Using a healthy seed disinfected with chemical fungicides is the simplest and most cost-effective way to prevent the damage caused by loose smut disease of barley. The purpose of this study was to investigate the health status of barley fields concerning Loose smut disease and assess the effect of seed infection. It also sought to examine the effectiveness of seed disinfection with Iprodione-carbendazim (Rovral-TS®) and Carboxin thiram (Vitavax-thiram®) fungicides on traits related to germination, disease incidence, and antioxidant defense system responses.

Materials and Methods

The fields of Isfahan, Markazi, Zanjan, Tehran, Alborz, West Azerbaijan, Hamedan, Razavi Khorasan, Qazvin, Qom, Semnan, Fars, South Khorasan, North Khorasan, Sistan and Baluchestan, Kohgiluyeh and Boyer-Ahmad, Khuzestan, and Ilam provinces of Iran were sampled according to the International Rules for Seed Testing to investigate the health status of barley seeds. Detecting the seed infected with the agent of the Loose smut disease was carried out using the embryo test. Then, the activity level of antioxidant enzymes (superoxide dismutase, catalase, and polyphenol oxidase enzymes), the oxidative damage index malondialdehyde, and the content level of phenolic compounds and total protein were investigated.

Results

In the range of 1.1% to 0.05%, approximately 13% of the barley seed samples collected from various fields were infected with loose smut disease. Infected barley seeds can significantly reduce vigor indices without affecting germination percentage. The results showed that seed disinfection with chemical fungicides improved the dry and fresh weight, average root

length, seedling weight vigor index, coefficient of germination velocity, and mean times germination. Chemical fungicides' effectiveness in reducing disease incidence varied depending on the type of fungicide and the infection level of the seed. Compared to Carboxin thiram fungicide, seed disinfection with Iprodione-carbendazim fungicide significantly improved some quality characteristics in seed germination and reduced disease incidence. The findings of the biochemical mechanisms investigating revealed that the activity level of antioxidant enzymes (superoxide dismutase, catalase, and polyphenol oxidase enzymes) and the content of phenolic compounds in spikes obtained from infected and non-infected seeds were higher than the control. In addition, seed disinfection with chemical fungicides increased total protein content while decreasing the membrane peroxidation index compared to the control.

Discussion

The current study found that chemical fungicides seed disinfection increased the levels of defensive enzymes and the content of phenolic and protein compounds, which may help to limit infection and improve the level of defense-related antioxidant enzymes in barley. These findings shed new light on the effect of seed infection levels and seed disinfestations on the stimulation of the antioxidant defense system in barley basal resistance, which can be used to manage loose smut disease effectively.

Keywords: Seed-borne, Germination, Seed health, Antioxidant defense system

Associate editor: M. Mehrabi-Koushki (Ph.D.)

Citation: Khaledi, N., Zare, L., Hassani, F. & Moslemkhani, C. (2023). Effect of seed disinfection on the quality indicators of germination and the incidence of Loose smut disease of barley. *Plant Protection (Scientific Journal of Agriculture)*, *45*(4), 53-76. https://doi.org/10.22055/ppr.2023.17997.