بسم الله الرحمن الرحیم

دانشکده کشاورزی

گروه گیاه‌پزشکی

پایان نامه برای دریافت درجه کارشناسی ارشد در رشته بیماری شناسی گیاهی

عنوان

بررسی توزیع آلل‌های تیپ‌آمیزشی بین جدایه‌های *Rhynchosporium commune* عامل بیماری اسکالد جو در استان کردستان

استاد راهنما

دکتر مهدی ارزنلو

استاد مشاور

دکتر اسدالله بابای اهری

پژوهشگر

فریبا میرابی

شماره : **بهمن ماه ۱۳۹۳**

تقدیم به

پدر و مادر مهربان و دلسوزم

آن دو فرشته‌ای که از خواسته‌هایشان گذشتند، سختی‌ها را به جان خریدند و خود را سپر بلای مشکلات و ناملایمات کردند تا من به جایگاهی که اکنون در آن ایستاده‌ام برسم.

و

خواهرم که وجودش شادی‌بخش و صفایش مایه آرامش من است.

و

برادرانم که همواره در طول تحصیل متحمل زحماتم بوده و تکیه‌گاه من در مواجهه با مشکلات، و وجودشان مایه دلگرمی من می‌باشد.

تقدیر و تشکر

سپاس بی کران پروردگار یکتا را که هستی مان بخشید و به طریق علم و دانش رهنمونمان شد و به همنشینی رهروان علم و دانش مفتخرمان نمود و خوشه چینی از علم و معرفت را روزیمان ساخت، و سلام و درود بر حضرت محمد (ص) و خاندان پاک او.

نمی توانم معنایی بالاتر از تقدیر و تشکر بر زبانم جاری سازم و سپاس خود را در وصف استادان خویش آشکار نمایم، که هرچه گویم و سرایم، کم گفته ام. جناب آقای دکتر مهدی ارزنلو و دکتر اسداله بابای اهری، اساتید راهنما و مشاورم، شما که روشنایی بخش تاریکی جان هستید و ظلمت اندیشه را نور می بخشید. چگونه سپاس گویم مهربانی و لطفتان را که سرشار از عشق و یقین است. چگونه سپاس گویم تاثیر علم آموزیتان را که چراغ روشن هدایت را بر کلبه ی محقر وجودم فروزان ساخته است. آری در مقابل این همه عظمت و شکوه تان مرا نه توان سپاس است و نه کلام وصف.

از استاد محترم جناب آقای دکتر نعمت سخندان که داوری پایان نامه را عهده دار بودند قدردانی میکنم.

از جناب آقای مهندس کیوان کریمی به دلیل یاریها و راهنماییها، از اساتید محترم گروه گیاهپزشکی، از مسئولین محترم آزمایشگاه ها جهت همکاری ایشان جهت پیشبرد این پایان نامه سپاسگزارم.

در پایان از دوستان مهربان و تمامی بزرگوارانی که ذکر اسامی تک تک آنها در این فرصت نمی گنجد، نهایت تشکر و سپاس را دارم.

نام خانوادگی: میرابی نام: فریبا

عنوان پایان نامه: بررسی توزیع آلل‌های تیپ‌آمیزشی بین جدایه‌های *Rhynchosporium commune* عامل بیماری اسکالد جو در استان کردستان

استاد راهنما: دکتر مهدی ارزنلو

استاد مشاور: دکتر اسداله بابای اهری

مقطع تحصیلی: کارشناسی ارشد گرایش: بیماری شناسی گیاهی دانشگاه: تبریز

دانشکده: کشاورزی تاریخ فارغ التحصیلی: بهمن ۱۳۹۳ تعداد صفحات: ۷۲

کلید واژه ها: جو زراعی، توزیع، استان کردستان، تیپ‌های آمیزشی، *Rhynchosporium commune*

چکیده:

جو یکی از غلات مهم جهان است که به عنوان غذا مورد استفاده بشر و حیوانات قرار می‌گیرد. بیماری اسکالد جو که توسط قارچ *Rhynchosporium commune* ایجاد میشود، یکی از مخربترین بیماری‌های جو در مناطق با شرایط آب و هوایی خنک و مرطوب می‌باشد. میزان کاهش محصول در اثر این بیماری بین ۱۰ الی ۴۵ درصد گزارش شده است. اگرچه تاکنون وقوع مرحله جنسی این قارچ در طبیعت و بررسی‌های متعدد مشاهده نشده است اما تنوع ژنتیکی قابل توجهی در داخل و بین جمعیت‌های این بیمارگر گزارش شده است. یک راه برای اثبات وقوع مرحله جنسی، ردیابی تیپ‌های آمیزشی و بررسی فرآوانی آنها می‌باشد. در این مطالعه، در طول ماه‌های اردیبهشت تا تیر سال ۱۳۹۲، برگ‌های آلوده گیاه جو مزارع جو شهرستان‌های مریوان، کامیاران و دهگلان متعلق به استان کردستان جمع‌آوری شده و به آزمایشگاه منتقل گردیدند. بعد از جداسازی جدایه‌های قارچی و استخراج DNA، تعداد ۹۶ نمونه با استفاده از تکنیک واکنش زنجیره پلی مراز چندگانه (multiplex PCR) و آغازگرهای اختصاصی مرتبط با ایدیومورف‌های تیپ آمیزشی جنس *Rhynchosporium* برای تعیین توزیع تیپ‌های آمیزشی در میان جمعیت‌های بیمارگر *R. commune* مورد بررسی قرار گرفتند. از ۹۳ جدایه مورد بررسی، ۴۹ جدایه متعلق به شهرستان مریوان بصورت MAT1-1 و ۲۱ جدایه از ۲۳ جدایه متعلق به شهرستان دهگلان بصورت تیپ آمیزشی MAT1-2 و بقیه MAT1-1 تعیین شدند. در شهرستان کامیاران هر دو نوع تیپ آمیزشی در میان ۱۸ جدایه مورد بررسی وجود داشت. نتایج حاصل از این تحقیق توزیع مساوی آلل های تیپ آمیزشی را رد می کند. به نظر می‌رسد ساختار جمعیتی *R. commune* در مریوان و دهگلان در نتیجه اثر بنیان‌گذار یا بذور آلوده شکل گرفته باشد اما حضور هر دو نوع تیپ آمیزشی MAT 1-1 (۶۱/۱٪) و MAT1-2 (۳۸/۹٪) برای جمعیت کامیاران نشان می‌دهد که ظاهرا تولیدمثل جنسی براساس انتخاب وابسته به فراوانی به ندرت و یا اصلا اتفاق نمی‌افتد. در این حالت، احتمالا غالب بودن تیپ آمیزشی MAT1-1 نسبت به MAT1-2 به علت برازندگی تیپ آمیزشی MAT1-1 و به خاطر بیماریزایی بالا یا سازگارتر بودن آن با محیط می‌باشد.

فهرست مطالب

عنوان | صفحه

مقدمه ۱

فصل اول: بررسی منابع

۱-۱- معرفی میزبان(جو) ۴

۱-۱-۱- جو و اهمیت آن ۴

۱-۱-۲- گیاهشناسی ۴

۱-۱-۳- اهمیت اقتصادی ۵

۱-۲- بیماری‌های جو ۵

۱-۲-۱- بیماری اسکالد جو ۶

۱-۳-۱- علایم بیماری ۶

۱-۳-۲- عامل بیماری ۷

۱-۳-۳- نحوه توسعه بیماری ۷

۱-۳-۴- دامنه میزبانی ۹

۱-۳-۵- روشهای شناسایی عامل بیماری ۹

۱-۳-۶- مدیریت بیماری ۱۰

۱-۴- تاکسونومی و فیلوژنی گونه‌های جنس *Rhynchosporium* ۱۲

۱-۵- تنوع ژنتیکی در قارچها ۱۳

۱-۶- اهمیت تولیدمثل جنسی در قارچ ها ۱۵

۱-۷- اساس ژنتیکی تولیدمثل جنسی در قارچ ها ۱۵

۱-۷-۱- اساس ژنتیکی تولیدمثل جنسی در آسکومیست ها ۱۶
۱-۷-۱-۱- تولیدمثل جنسی در *Rhynchosporium* ۱۹
۱-۸- تنوع در جمعیت‌های قارچ *Rhynchosporium commone* ۱۹
۱-۸-۱- تنوع ریخت شناختی ۱۹
۱-۸-۱-۱- تنوع ژنتیکی ۲۰
۱-۹- راه‌های سنجش پتانسیل تولید مثل جنسی ۲۲

فصل دوم: مواد و روش‌ها

۲-۱- نمونه برداری ۲۴
۲-۲- جداسازی عامل بیماری ۲۵
۲-۳- شناسایی ریخت‌شناختی جدایه‌ها ۳۴
۲-۴- مطالعات مولکولی ۳۴
۲-۴-۱- استخراج DNA ژنومی ۳۴
۲-۴-۱-۱- استخراج DNA بر اساس CTAB ۳۴
۲-۴-۱-۲- بررسی کمیت استخراج DNA ۳۶
۲-۴-۲- انجام واکنش زنجیره پلی مراز مربوط به ناحیه ITS ۳۶
۲-۴-۳- ارزیابی محصولات واکنش زنجیره پلی مراز با استفاده از تکنیک الکتروفورز ۳۷
۲-۴-۴- بررسی توزیع آلل‌های تیپ آمیزشی داخل جمعیت‌های *Rhynchosporium commune* ۳۸
۲-۴-۴-۱- توزیع تیپ‌های آمیزشی در مقیاس کوچک (زخم و برگ) ۳۸
۲-۴-۴-۲- توزیع تیپ‌های آمیزشی در مقیاس بزرگ (مزارع و نواحی) ۳۸
۲-۴-۴-۳- آغازگرهای تکثیر ناحیه تیپ آمیزشی ۳۸
۲-۴-۴-۴- انجام واکنش زنجیره پلی مراز به طور جداگانه ۳۹
۲-۴-۴-۴-۱- تکثیر آلل MAT1-1 ۳۹

۲-۲-۴-۴-۴- تکثیر آلل MAT1-2 ..... ۴۰
۲-۴-۴-۵- انجام واکنش زنجیره پلیمراز به صورت مولتی‌پلکس ۴۰
۲-۴-۵- تجزیه و تحلیل داده‌های حاصل از فراوانی تیپ‌های آمیزشی در مزارع مختلف ۴۰

فصل سوم: نتایج

۳-۱- نتایج مشاهدات مزرعه ای ۴۲
۳-۲- جداسازی و کشت نمونه‌های برگی ۴۴
۳-۲-۱- مشخصات کلنی ۴۵
۳-۲-۱-۱- مشخصات میکروسکوپی ۴۶
۳-۳- مطالعات مولکولی ۴۷
۳-۳-۱- استخراج DNA ۴۷
۳-۳-۲- انجام واکنش زنجیره پلی مراز مربوط به ناحیهITS-rDNA ۴۸
۳-۳-۳- نتایج واکنش زنجیره ای پلی مراز با آغازگرهای RsMAT1-1-Fو RsMAT1-1-R **Error! Bookmark not defined.**
۳-۳-۳-۱-۲- نتایج واکنش زنجیره پلی مراز با آغازگرهای RsMAT1-2-F و RsMAT1-2-R ۴۹
۳-۳-۳-۲- نتایج واکنش زنجیره پلی مراز به صورت چندگانه (مولتی‌پلکس) ۵۰
۳-۳-۳-۳- بررسی توزیع آلل‌های تیپ آمیزشی ۵۲
۳-۴-۳- تجزیه و تحلیل داده‌های حاصل از فراوانی تیپ‌های آمیزشی مزارع مختلف ۵۲

فصل چهارم: بحث

بحث ۵۷
نتیجه گیری کلی ۶۳

فصل پنجم: منابع

منابع ۶۸

فهرست جداول

عنوان **صفحه**

جدول ۱-۱- بیماریهای مهم جو ۶

جدول ۲-۲- آغازگرهای مورد استفاده جهت تکثیر ناحیه تیپ آمیزشی به همراه توالی نوکلئوتیدی آنها ... ۳۹

جدول۲-۳- فراوانی تیپ‌های آمیزشی جدایه‌های شهرستان مریوان و تجزیه و تحلیل آماری توزیع تیپ‌های آمیزشی در داخل و بین زخم ها، در داخل و بین مزارع ۵۳

جدول ۳-۳- فراوانی تیپ‌های آمیزشی جدایه‌های شهرستان دهگلان و تجزیه و تحلیل آماری توزیع تیپ‌های آمیزشی در داخل و بین زخم ها، در داخل و بین مزارع ۵۵

جدول۳-۴- فراوانی تیپ‌های آمیزشی جدایه‌های شهرستان کامیاران و تجزیه و تحلیل آماری توزیع تیپ‌های آمیزشی در داخل و بین زخم ها، در داخل و بین مزارع ۵۶

فهرست اشکال

عنوان **صفحه**

شکل۲-۱- نمایی از مزرعه آلوده به بیماری اسکالد جو ۲۵

شکل ۲-۲- نمایی از برگهای دارای علایم اسکالد و کلنی و کنیدی‌های رشد کرده قارچ در سطح برگ‌های جو ۲۶

شکل ۲-۳- جدایه‌های مخطط شده بر روی محیط کشت PDA، به منظور خالص سازی و استخراج DNA ۲۷

جدول ۲-۱- لیست جدایه‌های *Rhynchosporium commune* جمع آوری شده در این تحقیق ۲۷

شکل ۳-۱- مزارع آلوده به *Rhynchosporium commune* ۴۳

شکل۳-۲- علایم لکه‌برگی ناشی از *Rhynchosporium commune* ۴۴

جدول۳-۱- نرخ رشد کلنی جدایه‌های *Rhynchosporium commune* جدا شده از گیاه جو در محیط کشت PDA/LBA ۴۵

شکل۳-۳- ویژگی‌های ظاهری کلنی جدایه‌های *Rhynchosporium commune* بررسی شده در این تحقیق. ۴۶

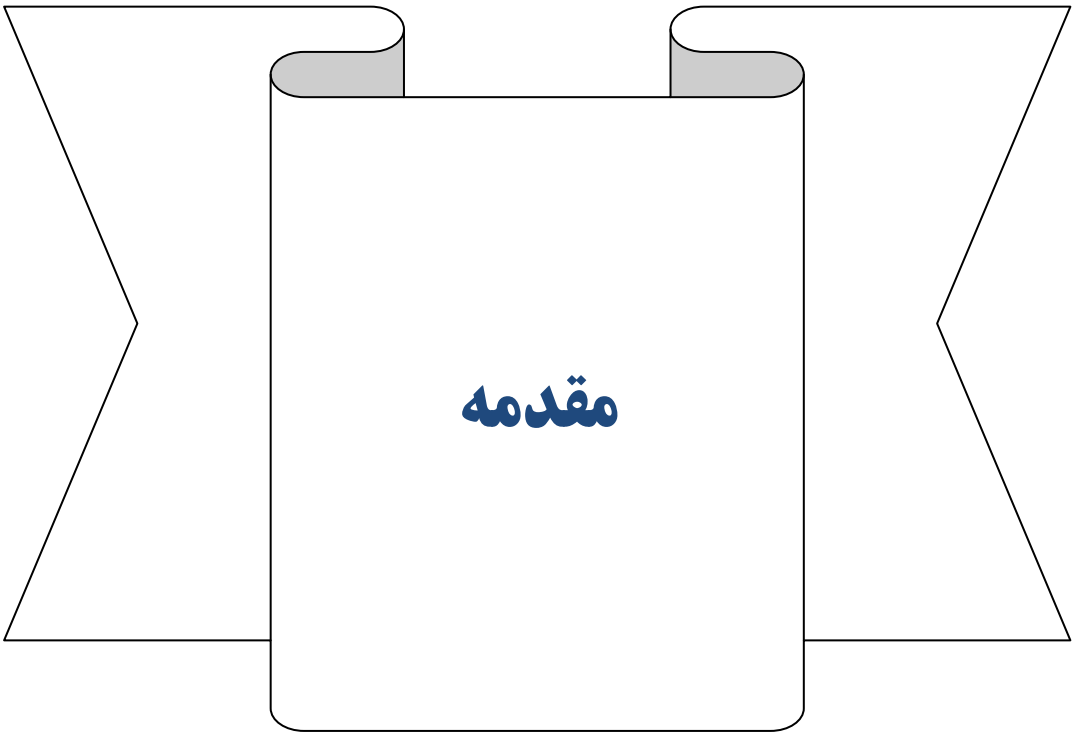
شکل۴-۳- کنیدی‌های *Rhynchosporium commune* در محیط کشت PDA ۴۷

شکل۵-۳- الگوی باندی تکثیر شده با آغازگرهای ناحیه ITS- rDNA ۴۸

شکل۶-۳- الگوی باندهای تکثیر شده با استفاده از آغازگرهای MAT1-1F/R ۴۹

شکل۷-۳- الگوی باندهای تکثیر شده با استفاده از آغازگرهای MAT1-2F/R ۵۰

شکل ۸-۳- الگوی باندهای تکثیر شده در واکنش زنجیره پلی مراز به صورت چندگانه. ۵۱


مقدمه

مقدمه

جو زراعی (*Hordeum vulgare* L.) متعلق به خانواده (*Gramineae*) *Poaceae* بوده و بعد از گندم، ذرت و برنج چهارمین محصول مهم در بین ۱۰ گیاه زراعی به شمار میرود (Akar, & Dusunceli, 2004). جو یک محصول زراعی با ارزش در دنیا به شمار می‌رود که علاوه بر ارزش تغذیه ای، پتانسیل مقاومت در برابر آفات و بیماری‌ها را نیز دارا می‌باشد (Badr *et al.*, 2000). بیماری اسکالد که عامل آن گونه *Rhynchosporium commune* می‌باشد یکی از بیماری‌های مهم و شایع‌ترین بیماری قارچی گیاه جو می‌باشد. عامل بیماری از طریق ایجاد لکه هایی روی برگ و اندام‌های هوایی گیاه باعث کاهش سطح فروغ آمایی گیاه شده و عملکرد محصول را کاهش می‌دهد. گسترش بیمارگر از گیاهی به گیاه دیگر از طریق پخش توسط قطرات آب و باران صورت میگیرد. انتقال بیماری از یک فصل به فصل دیگر از طریق دانه‌های آلوده، بقایای گیاهی آلوده و علف‌های هرز صورت میگیرد (Caldwell, 1937; Skoropad, 1959).

سطح بالایی از تنوع بیماریزایی در جمعیت‌های عامل بیماری گزارش گردیده است. عامل بیماری از تنوع ریخت‌شناختی و ژنتیکی قابل توجهی برخوردار می‌باشد. مکانیسم‌های متعددی همچون جهش، جریان ژنی، نوترکیبی غیر جنسی، چرخه شبه جنسی و همچنین امکان وقوع چرخه جنسی به عنوان مکانیسم‌های دخیل در تنوع ژنتیکی در میان جمعیت‌های مختلف *R. commune* بیان شده است (Arabi *et al.*, 2012; Newman & Owen, 1985).

در قارچ ها، آگاهی از نحوه توزیع تیپ‌های آمیزشی در داخل و در بین جمعیت‌ها یک جزء مهم از درک زیست‌شناسی آنها می‌باشد. تولید مثل قارچ هاپلوئید *Rhynchopsorium* در طبیعت بصورت غیر جنسی می‌باشد و مرحله جنسی یا تلئومورف آن مشاهده نشده است. تعیین تیپ‌های آمیزشی برای این قارچ با استفاده از آزمون‌های تلاقی در شرایط آزمایشگاه و یا گلخانه امکان پذیر نمی‌باشد، اما با استفاده از تکنیک-های مولکولی مبتنی بر واکنش زنجیره‌ای پلی‌مراز، امکان تکثیر ژن‌های تیپ آمیزشی میسر بوده و از این طریق می‌توان توزیع و فراوانی تیپ‌های آمیزشی را در داخل جمعیت‌ها بررسی نمود.

با توجه به اهمیت و خسارت زا بودن این بیماری، به نظر می‌رسد شناخت و فهم درست‌تر از زیست‌شناسی بیمارگر، بررسی امکان وجود چرخه جنسی در داخل جمعیت‌ها و دیگر عوامل دخیل در پویایی جمعیت، در کنترل و مدیریت این بیماری موثر واقع شود. در این بررسی تلاش گردید با استفاده از آغازگرهای اختصاصی مبتنی بر تیپ‌های آمیزشی قارچ *R. commune*، توزیع و فراوانی تیپ‌های آمیزشی جمعیتهای جمع‌آوری شده از مزارع جو شهرستان‌های مریوان، دهگلان و کامیاران متعلق به استان کردستان مورد بررسی قرار بگیرد. علاوه بر این، تنوع ریخت‌شناختی جدایه‌ها از قبیل نرخ رشد، رنگ کلنی و ویژگیهای ریخت‌شناختی مورد بررسی واقع شد.

فصل اول:

بررسی منابع

۱-۱- معرفی میزبان(جو)

۱-۱-۱- جو و اهمیت آن

جـو زراعـی بـا نـام علمـی *Hordeum vulgare* و از خـانواده گرامینـه (*Triticeae*) مـی‌باشـد. جـو در تغذیـه انـواع دام، تـامین غـذای بشـر و صـنایع تبـدیلی مـورد اسـتفاده قـرار مـی‌گیـرد (Akar, & Dusunceli, 2004). این گیاه بـه عنـوان محصـولی بـا اهمیـت در رژیـم غـذایی روزانـه بشـر، در تهیـه انواع نوشـیدنی و چـای، نـان، بیسـکوئیت و کیـک بـه کـار مـی‌رود. جوشـانده جـو داروی خـوبی بـرای مبتلایان به تب، کـم خـونی و سـوء هاضـمه بـوده و از سـرطان جلـوگیری مـی‌کنـد (Ahmad, *et al.*, 2009). از نظـر کیفیـت برتـر تغذیـه‌ای در میـان غـلات مهـم پـس از گنـدم، ذرت، بـرنج و ده گیـاه زراعـی در جهـان، چهـارمین محصـول بـه شـمار مـی‌رود (Akar *et al.*, 2004). از لحـاظ تـاریخی، جو منبع غـذایی مهمـی در بسـیاری از نقـاط جهـان از جملـه، آفریقـا، شـمال شـرق اروپـا و آسـیا بـه شمار می‌رود. بسـیاری از محققـین، خاسـتگاه ایـن گیـاه را کـوه‌هـای زاگـرس در غـرب ایـران، آنـاتولی جنوبی و فلسطین می‌دانند (Würsch, 1997).

۱-۱-۲- گیاهشناسی

گیاه جو نسـبت بـه گنـدم سـازگارتر بـوده و در همـه نـواحی معتـدل و در بسـیاری از نقـاط سردسـیر هم به عمل مـی آیـد. سـاقه آن ماننـد دیگـر گنـدمیان، توخـالی بـوده و ارتفـاع آن بـر حسـب شـرایط محیطی، بین ۳۰ تا ۱۲۰ سانتی متر اسـت. ایـن سـاقه بـین ۵ تـا ۱۰ بـرگ دارد کـه بـه طـور متنـاوب در دو طرف سـاقه قـرار گرفتـه انـد. بـرگ جـو، دارای غـلاف، پهنـک، زبانـک و گوشـواره اسـت. غـلاف عـلاوه بـر انجـام فعالیـت فـروغ اُمـایی (فتوسـنتزی)، در اسـتحکام سـاقه هـم نقـش دارد. در امتـداد ساقه، محور سنبله قرار دارد. سنبله از مجمـوع سـنبلچه‌هـا و هـر سـنبله از یـک گلچـه تشـکیل یافتـه است. دانه، داخل گلچه تشـکیل مـی گـردد. پوشـینک‌هـای داخلـی و خـارجی گلچـه، هنگـام رسـیدن

دانه به آن چسبیده و حتی موقع برداشت هم جدا نمی شوند. زمانی که دانه به تدریج رطوبت خود را از دست می دهد، حجم آن کم شده و پوشینک داخلی چین می خورد. میزان این چین خوردگی، مرغوبیت محصول جو را نشان می دهد، بدین ترتیب که هر چه چین‌ها بیشتر باشد به همان اندازه پوشینک نازک تر است و در نتیجه بهتر می توان از این نوع دانه جو در صنایع تخمیر استفاده نمود.

۳-۱-۱- اهمیت اقتصادی

این گیاه نسبت به گندم در برابر خشکی مقاوم تر است و بنابراین در آب و هوایی که آب، سبب محدود کردن تولید غلات می‌شود، جو می‌تواند بیشترین محصول را تولید کند. در شرایط دیم هم عملکرد جو بهتر از گندم و چاودار می‌باشد. جو از لحاظ مقاومت به سرما، نسبت به گندم در ردیف پایین تری قرار می‌گیرد. در صورتی که مهندسین ژنتیک بتوانند ارزش غذایی این دانه خوراکی را بهبود بخشند، این محصول می‌تواند به عنوان یکی از غلات مهم همچون گندم در تهیه ی انواع غذاها و نان‌ها به کار رود (Akar & Dusunceli, 2004).

۲-۱- بیماری‌های جو

بیشتر بیماریهای جو توسط عوامل قارچی و ویروسی ایجاد می‌شوند. با این حال، جو نسبت به بیماری‌های قارچی فوق العاده حساس است. در جدول زیر تعدادی از بیماری‌های مهم جو ارائه شده‌اند (Walters *et al.*, 2012).

جدول ۱-۱- بیماریهای مهم جو

نام بیماری	عامل بیماری
اسکالد جو	*Rhynchosporium commune*
سفیدک سطحی	*Blumeria graminis* f. sp. *hordei*
لکه توری **توری شکل** **لکه یا خال شکل**	*Pyrenophora teres* *P. teres* f. sp. *teres* *P. teres* f. sp. *maculata*
زنگ قهوه‌ای جو	*Puccinia hordei*
زنگ زرد جو	*Puccinia striiformis* f. sp. *hordei*
لکه‌برگی رامولاریایی	*Ramularia collo- cygni*

۲-۲-۱- بیماری اسکالد جو

بیماری اسکالد جو با عامل *Rhynchosporium commune* Zaffarano, B.A. McDonald & Linde در بسیاری از جوکاری‌های دنیا بویژه مناطق معتدل با زمستان‌های خنک و مرطوب مشاهده می‌گردد (Linde *et al.*, 2003). اسکالد بیماری غالب جو در مناطق با آب و هوای خنک و نیمه مرطوب به شمار می‌رود (Walters *et al.*, 2012). عامل بیماری اسکالد جو یک بیمارگر چند چرخه‌ای می‌باشد و در صورت فراهم بودن شرایط مناسب برای توسعه بیماری، میزان کاهش عملکرد محصول تا ۴۰٪ نیز گزارش شده است (McDonald *et al.*, 1999).

۱-۳-۱- علایم بیماری

علایم بارز بیماری اغلب به صورت لکه یا خال‌هایی به شکل غالبا دوکی و نامنظم ایجاد می‌شود و بیشتر علائم در حد فاصل ساقه و برگ دیده می‌شود که احتمالا به دلیل به دام افتادن آب در این نواحی می‌باشد. لکه‌ها به صورت نواحی آب‌گزیده در مرکز به رنگ خاکستری و در حاشیه قهوه‌ای رنگ دیده

میشوند. هنگام وقوع شدید بیماری، لکه‌ها تمام برگ را فرا گرفته و برگ‌ها به طور کامل از بین می‌روند. تشکیل رنگ خاکستری در مرکز لکه‌ها در اثر به وجود آمدن و تجمع کنیدهای بیمارگر می‌باشد که تقریبا به طور کامل در تمام بخش‌های لکه ایجاد شده و در هنگام بلوغ در سطح قرار می‌گیرند. کنیدی‌ها احتمال دارد در هر دو طرف برگ تشکیل شوند (Brooks, 1928).

۲-۳-۱- عامل بیماری

بیمارگر اسکالد برای اولین بار توسط Oudemans در سال ۱۸۹۷ از گیاه چاودار در هلند جداسازی گردید و تحت عنوان *Marsonia seclais* Oud. توصیف و نامگذاری گردید. در سال ۱۹۰۱، در یک ارزیابی مجدد توسط Heinsen، به خاطر وجود شکل تیپیک کنیدی (وجود یک دیواره عرضی و منقار (beak) عامل بیماری در جنس جدید *Rhynchosporium* طبقه‌بندی و تحت عنوان *R. graminicola* Heinsen نامگذاری گردید و در ادامه در سال ۱۹۱۹ و ۱۹۲۱ در ایالات متحده آمریکا Davis مطابق قوانین بین المللی نامگذاری، نام ترکیبی جدید *R. secalis* (Oud.) J.J. Davis را پیشنهاد کرد.

کلنی قارچ مخمر مانند (چرمی) و در رنگ‌های متنوع قهوه‌ای تیره، قهوه‌ای روشن، سیاه و سفید، کرم و صورتی رنگ دیده می‌شود (Mcdermot *et al.*, 1989). انواع مختلف رنگ برای استروما نیز سیاه و سفید، زرد، نارنجی، صورتی، قهوه‌ای تیره و قهوه‌ای روشن مشاهده شده است. کنیدی‌ها بدون هیچ حد فاصله‌ای بر روی قطعات کوچک هیفی تشکیل شده و کنیدهای بالغ برافراشته و قائم پس از ترک خوردن کوتیکول در جاهای متفاوت بصورت برافراشته بر روی زخم‌ها دیده می‌شوند.

۳-۳-۱- نحوه توسعه بیماری

زادمایه اولیه احتمالا از بقایای آلوده گیاهی در مزارع یا بذور آلوده نشأت می‌گیرد (Avorora & Knogge, 2012). در مناطقی که سابقه کشت جو وجود ندارد، توسعه علائم در مزارع می‌تواند در اثر کشت بذور آلوده و یا از طریق آسکوسپور فرضی صورت پذیرد، به محض اینکه آلودگی در مزرعه مستقر شد، آلودگی

ثانویه از طریق کنیدی یا آسکوسپور فرضی به راحتی از طریق ضربات قطرات باران و یا باد گسترش می-یابد (Fountaine *et al.*, 2010).

درجه حرارت بهینه برای جوانه‌زنی کنیدی بیمارگر ۱۵ درجه سانتی‌گراد و در حضور رطوبت آزاد صورت می‌پذیرد. بعد از قرار گرفتن کنیدی بر روی برگ‌ها و تولید یک یا دو لوله تندش بوسیله اکثر کنیدی‌ها که تعدادی از آنها اندکی متورم شده و اندام‌های آپرسوریوم و پاپیل را تشکیل می‌دهند. بعد از نفوذ، هیف آلوده کننده بزرگ شده و بین کوتیکول و اپیدرم رشد می‌کند و باعث جدا شدن کوتیکول و اپیدرم از هم شده، سپس هیف ها به طور گسترده منشعب می‌گردد. سلول‌های اپیدرمی مجاورت هیف زیر کوتیکولی متورم شده و ورقه ورقه می‌گردند (Ayesu-offei & Clare, 1970). در این حالت تغییرات تراوایی سلول-های اپیدرم در مجاورت هیف آلوده کننده رخ می‌دهد بطوریکه محتوای غذایی درون این سلول‌ها به طرف میسلیوم قارچی نشت می‌کند (Davis *et al.*, 1994). هیف‌های احاطه کننده منافذ روزنه‌ای به هم رسیده و سلول‌های نگهبان را پوشش می‌دهند. انشعابات هیف‌های بزرگ ما بین تورفتگی‌های سلول‌های اپیدرمی رشد کرده و لابه لای اتصالات کناری این سلول‌ها نفوذ می‌کنند. انشعابات هیف‌های بزرگ ما بین تورفتگی‌های سلول‌های اپیدرمی رشد کرده و لابه لای اتصالات کناری این سلول‌ها نفوذ می‌کند و وارد مزوفیل می‌شود. میسلیوم زیر کوتیکولی نیز به رشد خود ادامه داده و در نهایت با متراکم شدن تجمعات هیفی نزدیک هیف استرومای قارچی تشکیل می‌شود (Ayesu-offei & Clare, 1970). کنیدی‌ها بدون فاصله بر روی قطعات کوچک هیفی تشکیل شده و کنیدهای بالغ برافراشته و قائم پس از ترک خوردن کوتیکول در جاهای متفاوت بصورت برافراشته بر روی زخم‌ها دیده می‌شوند. استروماهای زیر روزنه‌ای نیز تولید کنیدی کرده که از طریق روزنه‌ها رها می‌گردند. پاره نشدن کوتیکول تا زمان تولید کنیدی بر روی استروما از لحاظ اپیدمیولوژی حائز اهمیت می‌باشد چون تا زمانی که شرایط لازم برای تولید کنیدی‌زایی فراهم نگردد استروما به طور موثری محافظت می‌گردد (Ayesu-offei & Clare, 1970). با توجه به تولید کنیدی‌های جدید، تولید نسل‌های متعدد و تکمیل سیکل زندگی از طریق اسپورزایی قبل از ظهور علائم و ارتباط تغذیه‌ای در مراحل اولیه آلودگی پیشنهاد شده است که بیمارگر