تقويم كفاءة بعض عزلات الفطر *Drechslera state of Cochliobolus bicolor* المرافقة للمجموع الخضري للحلفا وتحديد التغيير باستخدام تقانة الترحيل الكهربائي للبروتينات الذائبة الكلية

جنان خزعل عبد الرزاق كامل سلمان جبر

الملخص

نفذت هذه الدراسه لتقويم كفاءة الفطريات المرافقة للمجموع الخضري للحلفا *Imperata cylindrica* والكشف عن اسباب التغيير في امراضية بعض العزلات بدراسة الصفات المزرعية والترحيل الكهربائي للبروتينات الذائبة على هلام متعدد الاكريلامايد. اظهرت اختبارات القدره الامراضية تباين القدرة الامراضية لخمس عزلات للفطر *Drechslera* state of *Cochliobolus bicolor* عزلت من خمسة مواقع موزعة على ثلاث محافظات هي بغداد ،ديالى وبابل. وقد تفوقت العزلة GD_{11} على العزلات جميعها في اصابة نباتات الحلفا فقد احدثت اعلى شدة اصابة 83.12% وتلتها العزلة GD_{13} 81.82 % بينما احدثت العزلة GD_{14} اقل شدة اصابة 26.18 % تحت ظروف البيت الزجاجي وبدرجة حرارة 25± 3 واتضح من دراسة الكشف عن مصادر التغيير بين خمس عزلات للفطر *Drechslera* state of *Cochliobolus bicolor*. اختلفت العزلات فيما بينها في معدل النمو وطبيعته فضلاً عن الكثافة اللقاحية، اذ تفوقت العزلة GD_{48} في معدل عدد الابواغ على العزلات الاخرى فكان معدل عدد الابواغ في معاملتها 96.57 ×10^5 بوغ / مل. في حين انتجت العزلة GD_{13} اقل عدداً من الابواغ 6.14×10^5 بوغ/مل. واظهرت نتائج الترحيل الكهربائي للبروتينات الذائبة الكلية على هلام متعدد الاكريلامايد اختلافاً واضحاً بين العزلات في عدد ونوع البروتينات، وقد اظهرت العزلتان GD_{11} وGD13 تشابهاً وراثياً عالياً بمقدار 89.88 اضافة الى وجود البروتين ذي الوزن الجزيئي 21 كيلو دالتون فيهما وعدم وجوده في العزلات الاخرى الذي قد يكون له ارتباط وثيق بالامراضية العالية لهاتين العزلتين.

المقدمة

تعد الحلفا الدغل الاول في العراق، لانها تهدد الاراضي الزراعية كافة وتؤدي الى خفض كمية الانتاج ونوعيته للمحاصيل الحقلية والخضراوات والحمضيات وباقي اشجار الفاكهة (1). اشارت الابحاث الى اصابة الحلفا بالعديد من المسببات المرضية التي يمكن تقويمها واستعمالها في برامج المكافحة الاحيائية (6، 9) وقد ازداد اهتمام علماء امراض النبات في السنوات الاخيرة بالتباين الوراثي في افراد المسبب المرضي (14). واشار البايولوجيون الى مبدأين اساسين في التغيير هما النمط الوراثي genotype والنمط المظهريphenotype وعرف النمط الوراثي genotype هوالشفرة الجينية للاحياء .والشفرة وجدت في نواة كل خلية ويتألف التركيب الوراثي من عدد كبير من الجينات التي لها مواقع متعددة (loci) في الكروموسومات. الجينات هي المسؤولة عن حجم وشكل الكائن الحي والعمليات الفسيولوجية والصفات السلوكية والتكاثرية والتحمل للظروف البيئية المتطرفة والانتشار والقدرة على الاستعمار والدورات السنوية ومقاومة الامراض وسمات اخرى كثيرة (18) وتجاهل التغيير الوراثي في علم البيئة هو تجاهل واحدا من القوى الاساس التي تمثل حياتية الكائنات. اما

كلية الزراعة_ جامعة بغداد–بغداد،العراق.

النمط المظهري فهو تعبير عن هذه الجينات. الفطريات معرضة للتغيير المظهري بسبب التنوع الجيني genetic variability والتغيير الجيني يمكن ان يحدث عن طريق التكاثر الجنسي Sexual reproduction، شبه الجنسي Parasexual reproduction وتباين النوى Hetrokaryosis وHeteroploids والتكاثر اللاجنسي Asexual reproduction فضلاً عن الطفرات (11،21). يقود اكتشاف تغيير المسبب المرضي تقليدياً الى التعريف بتغيير الضراوة virulence في افراد المسبب المرضي عن طريق التلقيح بعينه من عزلات المسبب المرضي في سلسلة من العوائل مع تحديد جينات المقاومة وملاحظة نتيجة التوافق او عدم التوافق عن طريق الشكل المظهري للمرض. هذا النهج في مراقبة افراد المسبب المرضي ذو قيمة كبيرة في تطور وانتشار مقاومة العائل (4). يمكن ان يتغير تركيب المسبب المرضي مع مرور الوقت وهذا أيضاً يتطلب الاستبدال الكامل لاحد التراكيب الوراثية السائد بآخر، وان هذه التغييرات يجب ان تؤخذ بنظر الاعتبار في تصميم برامج المقاومة وهذا يتطلب رصد المسبب المرضي بصورة منتظمة لتحديد فيما اذا كان هناك تركيب وراثي جديد قد دخل الى المنطقه أم حصل تغيير للمسبب المرضي الموجود في المنطقة بمرور الزمن (16) وقد ادرك مربو النبات وعلماء امراضه منذ وقت مبكر اهمية تغيير المسبب المرضي على فعالية مقاومة العائل واستمراريتها.

اشار Aly وMohamed (3) الى كفاءة تقانة الترحيل الكهربائي للبروتينات على هلام متعدد الاكريلامايد في تصنيف خمسة انواع من الجنس *Fusarium* المعزولة من نباتات القطن المزروعة في مصر اذ بينت النتائج وجود علاقة منخفضة بين الموقع الجغرافي للعزلات والاختلاف الوراثي اضافة الى وجود مستويات من التغييرات الوراثية بين وداخل انواع *Fusarium*، واستعملت تقانة الترحيل الكهربائي في تحديد التباين بين االعزلات المأخوذة من الرز والعزلات المأخوذة من غير الرز للفطر *Pyricularia oryzae* (13) وتمكن Mandeel وجماعته (15) من فصل ثماني عزلات عائدة للانواع *F. oxysporum* و*F.solani* ,*F.culmorum* بواسطة الترحيل الكهربائي لبروتينات هذه العزلات على هلام متعدد الاكريلامايد، وذكر ان كل عزلة امتازت بخصائص فريدة عن غيرها من العزلات .ولاهمية الحلفا كأحد الادغال المؤثرة في الانتاج الزراعي ومحاولة مكافحته باستخدام عوامل المكافحة الإحيائية، هدفت هذه الدراسه لتقويم كفاءة عزلات مختلفة من الفطر*Drechslera state of bicolor* *Cochliobolus* وتحديد التباين في عزلاته أعتماداً على الصفات المزرعية وتقانة الهجرة الكهربائية للبروتينات الذائبة الكلية.

المواد وطرائق البحث

تقويم كفاءة بعض عزلات الفطر Drechslera state of Cochliobolus bicolor في اصابة المجموع الخضري للحلفا باستعمال طريقة الرش بالعالق البوغي

استخدم في هذه الدراسه خمس عزلات تعود الى الفطر *Drechslera* هي GD_{11}-GD_{14} وGD_{48} التي عزلت من عينات نباتات الحلفا المجموعة من خمسة مواقع موزعة على ثلاث محافظات هي بغداد – ديالى – بابل للمدة من 2004/9/1 لغاية 2004/10/25، وقد شملت العينات المجموع الخضري ، اخذت من النباتات التي ظهرت عليها اعراض مرضية متمثلة باصفرار الاوراق وجفاف وموت بعض اجزائها اوموت النبات بكامله. حضر لقاح العزلات باضافة 10 مل ماء معقم إلى مزرعة الفطر النامية على الوسط PSA وبعمر سبعة أيام وأزيلت الأبواغ باستعمال فرشاة ناعمة ورشح العالق من خلال طبقتين من قماش الشاش المعقم وضبط التركيز إلى 1×10^6 بوغ / مل باستخدام شريحة العد Haemocytometer والتخفيف بالماء المعقم. رشت نباتات الحلفا في 2006/3/25 بالعالق البوغي بعد

21 يوماً من الإنبات (7، 8) باستعمال مرشة يدوية معقمة ومنفصلة لكل فطر، وبحجوم متساوية لكل معاملة مع معاملة مقارنة رشت بالماء المعقم. غلفت الأصص جميعها بأكياس البولي إثلين المثقب ووضعت في البيت الزجاجي التابع لقسم وقاية النبات تحت درجة حرارة 25±3°م وفق التصميم تام التعشية واستعملت أربعة مكررات لكل معاملة، ولقد إعيد الرش بالعالق البوغي بعد مرور 2 يومين لضمان حدوث الإصابة (20) وبعد خمسة أيام رفعت الأكياس وتمت متابعة النباتات وسجلت نتائج الإصابة بعد 14 يوما من العدوى باتباع الدليل المرضي التالي: 0 = لا توجد إصابة. 1= 1-20% من المجموع الخضري متأثراً بالمرض و2= 21-40% من المجموع الخضري متأثر بالمرض.

و3= 41-60% من المجموع الخضري متأثراً بالمرض و4= 61-80% من المجموع الخضري متأثراً بالمرض و5= 81-100% من المجموع الخضري (10).

وحسبت النسبة المئوية لشدة الإصابة وفق المعادلة التالية:

$$\text{لشدة الإصابة (\%)} = \frac{\text{عدد النباتات من الدرجة 0} \times 0 + \ldots\ldots + \text{عدد النباتات من الدرجة 5} \times 5}{\text{العدد الكلي للنبات} \times 5} \times 100 \quad \ldots\ldots\ldots\ldots \quad (17)$$

أعيد عزل الفطريات من النباتات المصابة للتأكد من أن الإصابة ناتجة عن الفطر المستعمل في التجربة. شخصت الفطريات من قبل الدكتور كامل سلمان جبر الى مستوى النوع باستخدام المفاتيح التصنيفية المعتمدة (10،11،17).

الصفات المزرعية لبعض عزلات الفطر *Drechslera* state of *Cochliobolus bicolor* على الوسط PSA

نميت عزلات الفطر GD_{11} ـ GD_{14} وGD_{48} على الوسط الزرعي PSA في أطباق بتري معقمة قطر 9 سم وذلك بتلقيح مركز الطبق بقرص قطر 5 ملم اخذ من مزارع الفطريات النامية على الوسط PSA لمدة سبعة أيام تحت درجة حرارة 25 ± 1، وتمت ملاحظة شكل ولون المزرعة لكل المستعمرات بعد 3و6 أيام من الزراعة فضلاً على تقدير الكثافة اللقاحية لكل عزلة بعد 7 أيام من الزراعة بإضافة 10 مل ماء مقطر معقم لكل مزرعة وإزالة الأبواغ باستعمال فرشاة ناعمة وتمرير العالق عبر طبقتين من قماش الشاش المعقم للحصول على العالق البوغي، قدر التركيز في 1 مل من العالق باستعمال شريحة العد Haemocytometer وكررت كل معاملة ثلاث مرات.

الهجرة الكهربائية لبروتينات عزلات الفطر *Dreschslera* state of *Cochliobolus biocolor*

نفذت الهجرة الكهربائية على العزلات الخمسة التي ذكرت في الاختبار السابق في مركز البحوث الزراعية فرع الجيزة في جمهورية مصر العربية حسب طريقة Laemmili (12) مع بعض التحويرات تضمنت تقليل TEMED (Tetra Methyle Ethylene Diamine) من 30 مايكروليتر إلى 25 مايكروليتر ومادة APS من 1.5 مل إلى 1.3 مل.

استخلاص البروتينات

جرى الأستخلاص حسب طريقة Nir Osherov وGrejory (18) حضرت دوارق سعة 300 مل تحوي على الوسط الزرعي السائل لمستخلص البطاطا والسكروز PSB (200 غم بطاطا، 10 غم سكروز، 1 لتر ماء)

المعقم ولقحت بإضافة قرص واحد قطر 5 ملم اخذ من قرب حواف مـزارع العـزلات المنتخبـة GD_{11}، GD_{12}، GD_{13}، GD_{14}، GD_{48} المنماة على الوسط الزرعي PSA بعمر سبعة أيام وحضت بدرجة حرارة 25 ± 1 م لمـدة سبعة أيام. أخذ 1 غم من المستعمرة الفطرية المنماة على الوسط الزرعي السائل ثم سحقت جيداً في هاون خزفي معقـم بإضافة النايتروجين السائل. وضع 0.2 غم من هذا المسحوق في أنبوبة اختبار وأضيف لها 200 مايكروليتر من محلـول بفـر الاسـتخلاص (50 مـل M-tris-HCL buffer، Cyceteine ،Glycerol 10% w/v hydrochloride 0.1 w/v، Ascorbic acid 0.1%)، وأخضع المزيج إلى عملية انتبـاذ بسـرعة 18.000 دورة / دقيقة لمدة 30 دقيقة. تم تقدير محتوى البروتين في الراسب حسب طريقة Bradford (1976) باسـتخدام (bovine serum albumin) كبروتين قياسي بمعدل 2 ملغم / مل عينة.

طريقة الترحيل الكهربائي

1ـ تحضير الهلام حسب طريقة Laemmili (12)

2 ـ تحضير العينات

أ-اخذ 1 غم من البروتين النقي وأضيف اليه 4 ملغم من SDS ومـن ثم سـحب 50 مـايكروليتر مـن مـادة 2- mercapto ethanol لكل 950 مل عينه وبعدها سخن الخليط في حمام مائي بدرجة حرارة 100 م لمـدة 3-5 دقيقة.

ب-صب هلام الفصل والرص. سكب هلام الفصل بين اللـوحين الزجـاجيين باسـتخدام المنظومـه العلميـة (San Francisco CA, USA, Model Xpo77 Hoefer) وترك لمدة 30 دقيقة لاتمام عملية البلمرة وبعدها صب هلام الرص فوق هلام الفصل.

جـ-تحميل العينات

استخدم 20 مايكروليتر من مستخلص البروتين النقي وخلط مع 1مل من محلـول صـبغة Bromophenol blue وتحميله في حفر هلام الرص وبعدها غطيت بمحلول دارىء الترحيل.

ترحيل العينات على الهلام Gel running .

تم الترحيل الكهربائي في قالب اللوح العمودي (Hoefer scientific instruments, san Francisco, CA, USA, model LKB 2001, measuring 16x (18 x 0.15 cm.) ، وقد جهز بقدرة مقدارها 30 ملي أمبير تحت درجة حرارة 10م لمدة ثلاث ساعات.

صبغ الهلام بصبغة Silver nitrate وفقاً للطريقة التي وصفها Sammons وجماعته (22).

النتائج والمناقشة

تقويم كفاءة بعض عزلات الفطر *Drechslera state of Cochliobolus bicolor* في اصابة المجموع الخضري للحلفا باستعمال طريقة الرش بالعالق البوغي اظهرت النتائج (جدول 1) قدرة عزلات الفطر المختـبرة علـى اصابـة نباتات الحلفا واحداث المرض فيها. تميزت الأعراض التي أحدثتها العزلة GD_{11} بظهور بقع منفصلة ذات لون بني إلى أسود محمر متطاولة مع وسط باهت يتراوح طول البقع 1-2 ملم وعرضها 0.5 ملم، تتحد البقع مع بعضـها بتقدم الإصابة مشكلة لفحة، إذ يموت مركز البقع مع التفاف قمة وحواف الأوراق الصغيرة المصـابة الـتي اصـبحت خضراء داكنة أو بنية اللون وعند تقدم الإصابة اصبحت جافة وانطوت حوافها للأعلى. ظهرت الأعراض بصورة أشد على الأوراق الكبيرة بالعمر التي كانت على شكل بقع ميتة كبيرة الحجم مع حواف صفراء تبعتها لفحة شملت معظـم

نصل الورقة بدأت بحافة وقمة الورقة لوحظت أثناء خمسة ايام بعد العدوى، اختلفت العزلات الفطرية فيما بينها من حيث شدة امراضيتها لنباتات الحلفا، وقد كانت شدة الاصابة بهذه العزلات بين 83.12-26.80. وقد تفوقت العزلة GD_{11} على العزلات جميعها واحدثت اعلى شدة اصابة 83.12% ولم تختلف معنوياً عن العزلة GD_{13} 82.81% بينما احدثت العزلة GD_{14} اقل شدة اصابة 26.8%. يعود التباين في شدة الاصابة بهذه العزلات الى الاختلاف الوراثي فيما بينها. تتفق هذه النتائج مع ما اشار اليه **Charudattan** (8). و**Yandoc** (20) من ان التلقيح بعزلات الفطر ***Drechslera*** اعطت مستويات مختلفة من شدة المرض، وهذا قد يعزى الى اختلاف مقدرتها على افراز بعض الانزيمات او السموم الفعالة اللازمة لتحطيم النسيج النباتي وتطور الاصابة.

جدول 1: تأثير الرش بعالق ابواغ 5عزلات للفطر ***Drechslera*** في النسبة المئوية لشدة اصابة نباتات الحلفا

رمز العزلة	شدة الاصابة بعد 14 يوماً (%)
GD_{11}	83.12
GD_{12}	35.62
GD_{13}	82.81
GD_{14}	26.80
GD_{48}	51.56
مقارنة	0.00
L.S.D تحت مستوى معنوية 5%	12.57

*كل رقم يمثل معدل4 مكررات.

الصفات المزرعية لبعض عزلات الفطر ***Drechslera*** state of ***Cochliobolus bicolar*** على الوسط الزرعي PSA

أظهرت النتائج (جدول 2). أن العزلات الفطرية العائدة للفطر ***Drechslera*** قد اختلفت فيما بينها في معدل النمو وشكله فضلاً عن الكثافة اللقاحية لكل عزلة عند نموها على الوسط الزرعي PSA، إذ تفوقت العزلتان GD_{11}, GD_{13} معنوياً في معدل نموها بمعدل 9 سم و 8.8سم على التوالي تلتهما العزلة GD_{12} بمعدل نمو 7.8سم، ولم يكن هناك فرق معنوي في معدل نمو العزلتين GD_{48} وGD_{14}، وفي معدل عدد الأبواغ تفوقت العزلة GD_{48} على العزلات الأخرى، إذ كان معدل عدد الأبواغ في معاملتها 96.57×10^5 بوغ/ مل، وكان اقل معدلاً لعدد الأبواغ في معاملة العزله GD_{11} 6.4×10^5 بوغ / مل. واختلفت العزلات في طبيعة نموها إذ كونت العزلة GD_{11} مستعمرات ذات ملمس مخملي أخضر ذي حواف بيضاء غير منتظم يرتفع كثيراً عن سطح الوسط الزرعي PSA، ومن ثم يتحول إلى اللون الرمادي ذي المظهر القطني الكثيف جداً في حين كان نمو العزلة GD_{12} ذا لون قديفي أخضر وحواف بيضاء النمو لا يرتفع كثيراً عن سطح الوسط الغذائي، ومن ثم يتحول إلى اللون الأسود ولا يتكون النمو القطني. أما العزلة GD_{48} فكان النمو فيها مخملياً ذا لون أخضر غامق وحواف بيضاء منتظمه يرتفع عن سطح الوسط الغذائي ولكن اقل من العزلة GD_{11} وفي النهاية لا يتكون النمو القطني.

الكشف عن مصادر التغير بين عزلات الفطر ***Drechslera*** state of ***Cochliobolus bicolor*** بأستخدام تقانة الترحيل الكهربائي للبروتينات الذائبة الكلية على هلام متعدد الأكريلاميد.

جدول 2: االصفات المزرعية لعزلات *Drechslera state of Cochliobolus bicolor*

رمز العزلة	معدل النمو بعد 6 أيام (سم)	معدل عدد الأبواغ في 1 مل من العالق البوغي× 10^5
GD_{11}	9	6.41
GD_{12}	7.8	31.9
GD_{13}	8.8	6.56
GD_{14}	7.1	31.56
GD_{48}	7.4	96.57
LSD عند مستوى معنوية 5%	0.66	6.28

* كل رقم يمثل معدل ثلاثة مكررات.

انتج التعامل بتحليل UPGMA (Un Weighted pair- group Mean arithmetic) حزمتين كبيرتين كل حزمة تتألف من حزم عدة (شكل 1 و2). الحزمة الرئيسة تتضمن كل من العزلات GD_{11}، GD_{12}، GD_{13} وGD_{14} لها تشابه وراثي مقداره 67.98 داخل هذه الحزمة. كما بينت العزلتان GD_{11} وGD_{13} تشابهاً وراثياً عالياً جداً 89.88 وأظهرت العزلات GD_{11}، GD_{12} وGD_{13} تشابهاً وراثياً عالياً 87.98 . الحزمة الثانية تتألف من العزلات GD_{11}، GD_{12}، GD_{13}، GD_{14} وGD_{48} بتشابه وراثي منخفض 13.69.

يتضح من جدول (3) أن العزلة GD_{14} قد تفوقت على باقي العزلات، لانها قد احتوت على 28 بروتيناً بأوزان جزيئية مختلفة تلتها العزلة GD_{12} باحتوائها على 24 بروتينا في حين كانت العزلة GD_{48} أقل العزلات احتواءً على البروتين (14 بروتيناً) تلتها العزلة GD_{13} (15 بروتينا)، ثم العزلة GD_{11} (16 بروتينا).

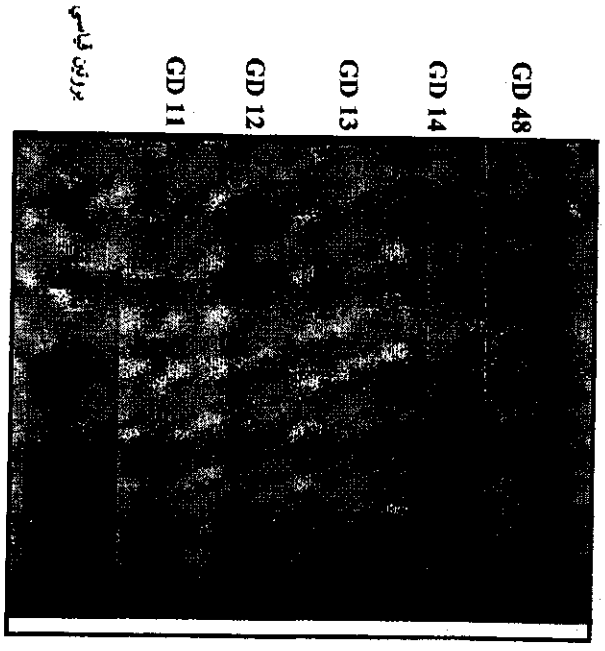
أن وجود البروتين ذو الوزن الجزيئي 21 كيلو دالتون في العزلتين GD_{11} وGD_{13} وعدم وجوده في العزلات الأخرى قد يكون له ارتباط وثيق بالإمراضية العالية لهاتين العزلتين، وهذا جاء ليدعم التقارب الموجود في إمراضية هاتين العزلتين. يعود الاختلاف بين العزلات في عدد ونوع البروتينات الموجودة بالنهاية إلى الاختلاف في التركيب الوراثي لهذه العزلات ونوع الجينات التي تحملها كل عزلة إذ أن أي بروتين ينتج في الخلية مسؤول عنه جين معين أو مجموعة من الجينات، وأن العديد من هذه البروتينات قد تكون أنزيمات، أو سموم فطرية تسهم في إمراضية الفطريات وهذا ما أكدته دراسات كثيرة في هذا المجال (2،5).

يعود سبب استخدامنا طريقة فصل البروتينات بطريقة الهجرة الكهربائية على هلام متعدد الأكريلامايد إلى إنها مباشرة وسهلة ورخيصة ويمكن تحليل عدد من العينات في وقت واحد إضافة إلى إنها تقلل الحاجة إلى المزارع أو العينات الكبيرة علاوة على ان النتائج التي نحصل عليها تشتمل على بروتين الخلايا جميعها ويمكن تمييزه بمستوى أكبر، وهذا يتفق مع ما جاء به Priest و Austin (19).

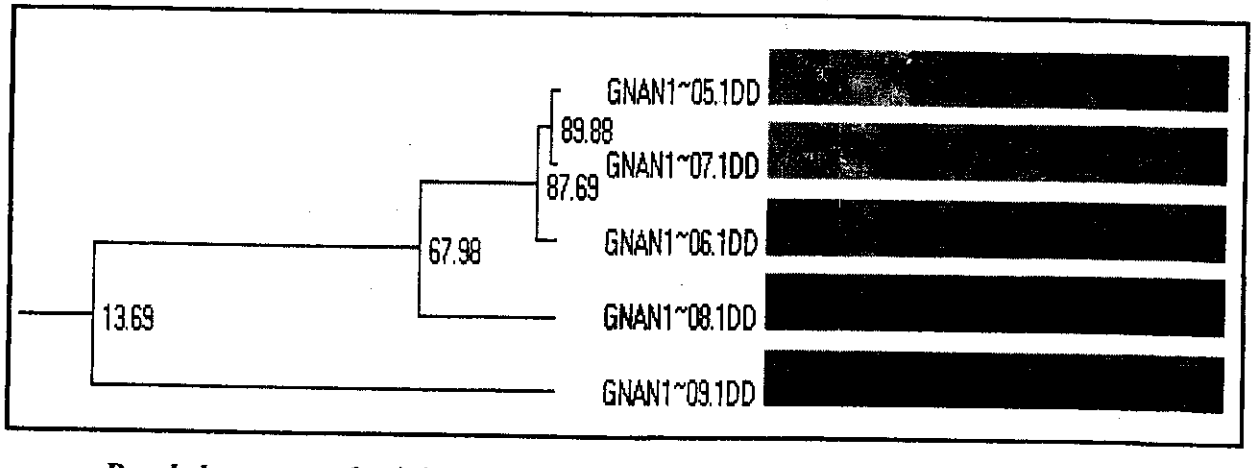
جدول 3: البروتينات المعزولة بطريقة الترحيل الكهربائي لعزلات الفطر ***Drechslera state of Cochliobolus bicolor***

GD_{48}	GD_{14}	GD_{13}	GD_{12}	GD_{11}	الوزن الجزيئي للبروتين kd
-	-	+	+	+	81
-	+	-	-	-	80
+		-	-	-	77
-		-	-	+	75
+		-	-	-	74
-		-	+	-	71
+		-	-	-	65
-		-	+	-	63
+		-	-	-	60
-		-	+	+	59
-		-	-	-	58
-		-	+	-	57
-		-	+	-	54
+		-	-	-	53
-		+	+	-	52
+		+	+	+	50
-		+	+	-	49
+		-	-	-	47
-		+	+	-	45
+		-	-	+	42
-		-	-	-	41
-		-	-	-	40
+		+	+	+	39
-		-	-	-	38
-		+	+	-	37
-		+	+	+	36
-		+	+	+	35
+		-	-	-	34
-		+	+	+	33
-		-	-	-	32
-		-	+	+	31
+		-	-	-	30
-		-	+	+	29
-		+	+	+	28
-		-	-	+	27
+		+	+	-	26
-		+	+	+	25
-		+	-	+	24
+		-	+	-	23
-		-	+	-	22
-		+	-	+	21
-		+	+	-	20
+		+	+	+	18

*الأوزان الجزيئية للبروتين القياسي (66,42,31) KD



شكل1: الترحيل الكهربائي للبروتينات الذائبة الكلية لعزلات الفطر ***Drechslera state of Cochliobolus bicolor*** على جل متعدد الاكريلمايد.



شكل 2: تحليل UPGMA الكشف عن التشابه الوراثي بين عزلات الفطر ***Drechslera state of Cochliobolus bicolor***.

المصادر

1- حساوي، غانم سعد الله؛ قاسم محمد علي الخطيب وفائق توفيق الچلبي (1975). مكافحة الحلفا باستخدام العازقات الدورانية، زراعة محصول منافس أو مبيدات الأدغال الكيمياوية. مؤتمر استخدام الأساليب العلمية في تطوير الزراعة وتحقيق الثورة الاشتراكية في الريف العراقي. بغداد،العراق.

2- **Abadi, R. and T.R. Perl (1996). Molecular variability among *Exerohilum turcicum* isolates using RAPD (random amplified polymorphic DNA). Canadian Journal of Plant pathology, 18 (1): 29-30.**

3- **Aly, N. and A. Mohamed (2003). Comparison of multi-locus enzyme and protein gel electrophoresis in the discrimination of five *Fusarium* species isolated from Egyptian cottons. African Journal of Bio., 2(7): 206-210.**

4- Andrivon, D. and C. Devallavieille-Pope (1993). Racial diversity and complexity in regional populations of *Erysiphe graminis* f.sp. *horde* in France over a 5-year period. Plant Pathology, 42: 443-464.
5- Ayala, E.V.; O.K. Seiji; N.S. Jesus and S.I. Sergio (1997). Pathogenic variability of *Exerohilum (Helminthosporium* pass.) *turcicum (Setosphaeria turcica)* on Sorghum in the Bajio Mexico. Agrociencia, 31(2): 197-201.
6- Barton, J. (2004). How good we at predicting the field host_range of fungal pathogens used for classical biological control of weeds? Biol control 31:99_122.
7- Bradford, M.M. (1976). A rapid and sensitive method for the quantification of protein utilizing the principle of protein dye binding. Analytical Biochemistry, 72: 248-254.
8- Breeyen, Alana Den (2007). Biological control of Imperatus 9ylindrical in west of Africa. Using fungal pathogen Ph.D,University of florida.
9- Charudattan, R. (1996). Biological control of Noxious weed species using plant pathogen. Florida Department of transportation Environmental management workshop Orlando, Florida. October 8-10, 1996.
10- Charudattan, R. (2005). Ecological-practical and political inputs into selection of weed targets :what makes agood biological control target? Bio control 35:183-196.
11- Delsseron, P. and L. Fornasari (1995). Host range and evaluation of an isolate of *Exerohilum turcicum* on some population of Johnson grass *(sorghum halepens)*. In: E.S. Delfoseand R.R. Scott (eds), Proceedings of the 8th International symposium on Biological control of Weeds, February 1992, Caterbury, Newzealand. DSIRO/CSIRO, Melbourne, Australia., PP. 487-492.
12- Hartl, D.L. and A.G. Clark (1997). Principles of population Genetics, 3rd ed. Sinauer Associates Inc., Sundeland, MA.
13- Laemmili, U.K. (1970). Cleavage of structural proteins during the assembly of the head of Bacteriophage T4. Nature, 227: 680-685.
14- Leung, H. and H.W. Paul (1985). Genetic analyses of electrophoretic enzyme variants mating type and hermaphrodistism in *Pyricularia oryzae* cavara. Can. J. Genet. Cytol. 27: 697-704.
15- Majer, D. (1996). The use of AFLP finger printing for the detection of variation in fungi. Mycological Res., 100: 1107-1111.
16- Mandeel, Q.A.; A.Y. El-din and S.A. Mohammed (1994). Analysis of SDS-dissociated proteins of pathogenic *Fusarium* species. Mycopathologia, 127:159-166.
17- McDonald, B.A. and J.M. McDermott (1993). Population genetics of plant pathogenic fungi. Bio., 43: 311-319.
18- Nir, O. and S. Gregory (2002). Optimization of protein extraction from *Aspergillus nidulaus* for gel electrophoresis. May-department of cell biology, Baylor collage of medicine, Huston, Texas, 77030 USA. (inter.)
19- Priest, D.M. and B. Austin (1993). Modem Bacterial Taxonomy (2nd ed.) Chapman α Hall-London.

20- **Raven, J.K.M.; S.B. Goodwin; J.M. Matuszak and A. Drenth (1986). Genetic variation in pathogen populations and its implications for adaptation to host resistance, P. 41-56.**

21- **Sammons, D.W.; L.D. Adams and E.E. Nishizawa (1981). Ultra- sensitive silver based color staining of polypeptides in polyacrylemide gels. Electrophoresis, 2: 135.**

EVALUATION THE EFFICIENCY OF SOME *Drechslera* STATE OF *Cochliobolus bicolor* ISOLATES WHICH ASSOCIATED WITH COGONGRASS FOLIAGE AND DETERMINATION THE VARIATION BY USING GEL ELECTROPHORESIS FOR THE TOTAL SOLUBLE PROTEINS

J.K. Abd-Al-Razak K.S. Juber

ABSTRACT

The study has been conducted to evaluate the efficiency of five isolates that associated with cogongrass foliage and study the variation in virulence among certain fungal isolates by using gel electrophoresis technique for the total soluble protein on the polyacrylamide gel and cultural characteristic. The results of the pathogenicity tests under glass house condition (25 ± 3°C) show The isolate GD_{11} has recorded the highest rate of cogongrass infection with 83.12% followed by the isolate GD_{13} with 82.81%, while the lowest rate have been caused by the isolates GD_{14} with 26.18%. isolates belong to *Drechslera* have been isolated from five location selected from three governorates (Baghdad, Babylon and Diala). The detection for variation resources between five isolates of *D.* state of *Cochliobolus bicolar* indicated the isolate were differ between each other in the nature and mean growth rate in addition to inoculum density, with the superior of the GD_{48} isolate in the mean number of the spores over all the other isolates.The mean number of spores in its treatment was 96.57 x 10^5 spore / ml, while the isolate GD_{13} produced clear difference between the isolates in the type and number of proteins. The two isolates GD_{11} and GD_{13} revealed 89.88% genetic similarity in addition to the protein with molecular weight 21 kd which were found in both the isolates and it was not found in the others and this may be related with high virulence of the two isolates.

College of Agric.- Univ. of Baghdad - Baghdad, Iraq.