بررسی نقش بوته‌های زرشک در انتقال عامل بیماری زنگ سیاه گندم به فصل دیگر

حجت اله ربانی نسب[۱*]، محمد رضوی[۲]، محمدعلی آقاجانی[۱]،مهرداد عباسی[۲]، سپیده ساجدی[۲]، محمدرضا میرزایی[۳]، مسعود ذاکر[۴]، علی دهقانی[۵]، ساسان رجایی[۶] و مجید الداغی[۷]

۱- بخش تحقیقات گیاهپزشکی، مرکز تحقیقات و آموزش کشاورزی و منابع طبیعی استان گلستان، سازمان تحقیقات آموزش و ترویج کشاورزی گرگان، ایران.

۲- موسسه ی تحقیقات گیاه‌پزشکی کشور ، سازمان تحقیقات آموزش و ترویج کشاورزی، تهران، ایران.

۳- بخش تحقیقات گیاهپزشکی، مرکز تحقیقات و آموزش کشاورزی و منابع طبیعی استان خراسان جنوبی، سازمان تحقیقات آموزش و ترویج کشاورزی بیرجند، ایران.

۴- بخش تحقیقات گیاهپزشکی، مرکز تحقیقات و آموزش کشاورزی و منابع طبیعی شاهرود، سازمان تحقیقات آموزش و ترویج کشاورزی شاهرود، ایران.

۵-بخش تحقیقات گیاهپزشکی، مرکز تحقیقات و آموزش کشاورزی و منابع طبیعی استان لرستان، سازمان تحقیقات آموزش و ترویج کشاورزی خرم آباد، ایران.

۶- بخش تحقیقات گیاهپزشکی، مرکز تحقیقات و آموزش کشاورزی و منابع طبیعی استان فارس، سازمان تحقیقات آموزش و ترویج کشاورزی شیراز، ایران.

۷-بخش تحقیقات گیاهپزشکی، مرکز تحقیقات و آموزش کشاورزی و منابع طبیعی استان مازندران، سازمان تحقیقات آموزش و ترویج کشاورزی ساری، ایران.

* مسئول مکاتبه h.rabbani@areeo.ac.ir

تاریخ دریافت: ۹۵/۳/۳۰ تاریخ پذیرش: ۹۶/۴/۳

چکیده

قارچ *Puccinia graminis* f.sp. *tritici* عامل بیماری زنگ سیاه گندم است. این زنگ، دوپایه با سیکل کامل است که میزبان واسط آن گیاه زرشک (*Berberis* spp.) بوده وتولید مثل جنسی قارچ بر روی آن صورت می‌پذیرد. در برخی مناطق که یوردیوسپور ها امکان بقا در زمستان را ندارند، بوته‌های زرشک بازیدیوسپورهای تولیدشده توسط تلیوسپورهای زمستان گذران را پذیرفته و باعث انتقال زنگ سیاه به فصل بعد می‌گردند. در این تحقیق، نمونه‌های آلوده‌ی برگ زرشک به جوش‌های مشکوک به اسیدیوم قارچ عامل زنگ سیاه گندم از استان‌های خراسان شمالی، مازندران، گلستان، سمنان، فارس، لرستان و خراسان جنوبی، جمع‌آوری و گونه‌ی میزبان و همچنین ارتباط اسیدیوم ها به زنگ سیاه گندم مورد بررسی قرار گرفت. در مجموع پنج گونه و هیبرید *Berberis vulgaris*، *B. integerrima* × *vulgaris*، *B. integerrima* × *cartingia*، *B. orthobotrys* و *B. integerrima* از زرشک به‌عنوان میزبان شناسایی شدند. از مایه‌زنی اسیدیوسپورها روی ارقام گندم حساس، فقط دو مورد زنگ سیاه شناسایی شد. با مطالعات میکروسکوپی سه گونه‌ی *Puccinia magelhaenica*، *P. brachypodi.* و *Aecidium berberidis* شناسایی شدند که هیچکدام عامل زنگ‌های غلات و به‌ویژه زنگ سیاه نیستند؛ بنابراین جز در موارد بسیار نادر، رابطه‌ی مشخصی بین جوش‌های اسیدیوم روی درختچه زرشک و بیماری زنگ سیاه گندم در استان‌های مورد بررسی در این پروژه وجود نداشت.

واژه‌های کلیدی: زرشک، زنگ سیاه، گندم، میزبان واسط.

Archive of SID

www.SID.ir

مقدمه

بیماری زنگ سیاه گندم یکی از بیماری‌های مهم گندم است. عامل بیماری قارچ بازیدیومیست *Puccinia graminis f.sp. tritici Erikss. & Henning* است. این بیماری در شرایط اپیدمی خسارت جبران‌ناپذیری را در مناطق آلوده ایجاد می‌کند. در برخی مناطق که یوردوسپورها قابلیت زیادی برای بقا در زمستان را ندارند، زمستانگذرانی توسط تلیوسپورها انجام شده و از جوانه زنی این اسپورها، بازیدیوسپور تولید می شود که بوته‌های زرشک را آلوده نموده باعث انتقال قارچ به فصل بعد می‌گردند. گونه *Puccinia graminis*، یک زنگ با چرخه‌ی کامل و دوپایه با دامنه‌ی میزبانی شامل اعضایی از تیره‌های گیاهی Berberidaceae به‌عنوان میزبان‌های اسیدیومی و Poaceae به‌عنوان میزبان‌های تلیومی می‌باشد. تولید مثل جنسی قارچ بر روی گیاه زرشک صورت می‌پذیرد. کومینز (۱۹۷۱)، تعداد ۷۷ گونه از تیره‌ی گندمیان را به‌عنوان میزبان‌های تلیومی این گونه گزارش کرده است. همچنین عباسی و همکاران (۲۰۰۵) بر اساس بررسی منابع متعدد، تعداد ۷۰ گونه از جنس‌های *Berberis* و *Mahonia* را به‌عنوان میزبان‌های اسیدیومی این زنگ ذکر کرده‌اند. اوربان و مارکوا (۱۹۸۳و ۱۹۸۴) کشور آذربایجان، ایران و خاور نزدیک را به‌عنوان خاستگاه زنگ سیاه معرفی نموده اند. با توجه به وضعیت فعلی تیپ‌های رویشی در ایران، آن‌طور که به‌وسیله‌ی زهاری (۱۹۶۳) ارائه گردیده است به نظر می‌رسد ایران یکی از مراکز تکامل و توسعه‌ی زنگ سیاه باشد. تاکنون زنگ سیاه روی چهار گونه از جنس *Berberis* و ۴۰ گونه متعلق به ۱۷ جنس از تیره ی گندمیان در ایران دیده شده است (عباسی و همکاران، ۲۰۰۲). آلودگی بوته‌های زرشک به مرحله‌ی اسیدیومی زنگ سیاه نیز در ارتفاعات مختلف مشاهده گردیده است. بر اساس بررسی‌های به‌عمل‌آمده نمونه‌های زرشک آلوده به زنگ سیاه از ارتفاع ۶۵۰ تا ۲۳۸۰ متر از سطح دریا مشاهده گردیدند. نکته‌ی قابل‌توجه ارتباط نزدیک برخی از بوته‌های زرشک آلوده به مرحله‌ی اسیدیومی زنگ سیاه با گندمیان آلوده به مرحله تلیومی این زنگ است که در سایه‌انداز و اطراف بوته‌های زرشک روییده بودند. با توجه به وجود بوته‌های متعدد زرشک آلوده به اسیدیوم زنگ سیاه در ارتفاعات بالا و همچنین گندمیان آلوده به مرحله تلیومی این زنگ در همان ارتفاعات به‌ویژه در نواحی کوهستانی البرز به نظر می‌رسد چنین جوامع گیاهی نقش مهمی در تکامل و ایجاد نژادهای جدید زنگ سیاه دارا باشند (عباسی و همکاران، ۲۰۰۲). هدف از این تحقیق بررسی میزان ارتباط بین جوش‌های موجود بر روی برگ‌های گیاه زرشک با زنگ سیاه گندم است.

مواد و روش‌ها

نمونه‌برداری

به‌منظور نمونه‌برداری از اسیدیوم‌های مشکوک به زنگ سیاه گندم روی زرشک، از اوایل فروردین ماه سال ۱۳۸۹ از مناطق مختلف استان‌های خراسان شمالی، مازندران، سمنان، خراسان جنوبی، گلستان و فارس بازدیدهای متعددی به عمل آمد. نمونه‌برداری‌ها با توجه به شرایط اقلیمی استان‌های محل اجرای پروژه تا اواسط تیرماه ادامه یافت. از زمان ظهور یا مشاهده‌ی اولین علائم مشکوک به اسیدیوم بر روی زرشک هر ده تا ۲۰ روز نمونه‌برداری تکرار شد. نمونه‌برداری از تمام جهات درختچه و همچنین ارتفاع متفاوت انجام گردید. برگ‌های دارای اسیدیوم جمع‌آوری‌شده پس از خشک شدن به صورتی که شکل برگ و اسیدی دستخوش تغییرات زیاد نشود برای مطالعات میکروسکوپی و آزمون بیماری‌زایی در یخچال نگهداری شدند.

شناسایی میزبان

از درختان و درختچه‌های آلوده به اسیدیوم نمونه‌هایی از شاخه‌های جدید و دوساله، گل‌آذین و میوه برای شناسایی میزبان جمع‌آوری و در سایه خشک شد. شناسایی میزبان بر اساس کلیدهای گیاه‌شناسی در بخش گیاه شناسی موسسه تحقیقات گیاهپزشکی کشور انجام شد.

Archive

www.SID.ir

اثبات بیماری‌زایی

مایه‌زنی اسیدیوسپورها طبق روش کاستیک (۱۹۶۲) واستالتیک و همکاران (۲۰۰۴) همراه با تغییراتی انجام شد. بدین منظور برگ‌های آلوده به اسیدیوم را به مدت ۲۴ ساعت در تشتک پتری حاوی کاغذ مرطوب قرار داده تا اسیدیوم ها بارور و اسیدیوسپورها آزاد شوند. مایه‌زنی بر اساس روش نظری و همکاران (۲۰۰۸) روی ارقام حساس و همچنین ارقام حامل ژن *Sr31* انجام گردید. این ارقام شامل لاین‌های تک ژنی حامل *Sr31* (Federation×4/Kavkaz و Line E/ Kavkaz) و همچنین دو رقم حساس بین‌المللی موروکو و Local Red بودند. علاوه بر این‌ها اسیدیوسپورها روی ارقام تجاری گندم حامل ژن *Sr31* مانند فلات و شیرودی نیز مایه‌زنی شدند. چهارده روز پس از مایه‌زنی تیپ آلودگی گیاهچه‌ای بر اساس روش مکینتاش و همکاران (۱۹۹۵) و در مقیاس ۴-۰ یادداشت‌برداری شد. اسیدیومهای میزبان *Plantago lanceolata* نیز به‌عنوان شاهد روی میزبان مَرغ (*Cynodon dactylon*) مایه‌زنی گردید. تیمار شاهد آب مقطر بدون اسیدیوسپور با سه تکرار اعمال شد.

شناسایی میکروسکوپی جوش‌ها

با توجه به خصوصیات شکل شناسی، اسیدی‌ها و اسیدیوسپورها مورد شناسایی قرار گرفتند. نمونه‌های مورد بررسی در این تحقیق شامل برخی نمونه‌های جدید جمع‌آوری‌شده از استان‌های مختلف و نمونه‌های هرباریومی موجود در مجموعه قارچ‌های وزارت جهاد کشاورزی بودند. در خصوص بررسی نمونه‌ها، مورفولوژی جوش‌ها توسط استریومیکروسکوپ بررسی گردید. اسلایدهای میکروسکوپی از جوش‌ها در زیر استریومیکروسکوپ تهیه شدند. جهت تهیه اسلایدهای میکروسکوپی از اسید لاکتیک ۳۰ درصد و لاکتوفنل استفاده گردید. برای مطالعه‌ی ساختار درونی جوش‌ها برش‌های متعددی با تیغ جراحی و با دست از جوش‌ها تهیه و پس از تهیه‌ی اسلاید میکروسکوپی در لاکتوفنل از برش‌های تهیه‌شده، آناتومی جوش‌ها توسط میکروسکوپ بررسی گردیدند. در مورد اندازه‌گیری ابعاد اسپورها، طول و عرض تعداد ۷۰ اسپور در نمونه‌های بررسی‌شده اندازه‌گیری شد. در تمامی نمونه‌های بررسی‌شده، ابعاد اسپورها در پرپاراسیون‌های تهیه‌شده در لاکتوفنل اندازه‌گیری شدند. جهت مطالعه‌ی تزئینات سطح اسیوسپورها و همچنین تعداد و نحوه‌ی استقرار منافذ تندشی اوردینیوسپورها علاوه بر بررسی اسلایدهای میکروسکوپی تهیه‌شده با سیستم میکروسکوپی صفحه روشن[1] از تکنیک‌های میکروسکوپی شامل DIC[2] و نومارسکی[3] و فاز کنتراست[4] بهره گرفته شد. در مورد نام مراحل مختلف زنگ‌ها و اسپورهای مراحل مختلف همچنین تزئینات سطح اسپورها و نحوه‌ی استقرار منافذ تندشی در سطح اوردینیوسپورها از مجموعه‌ی اصطلاحات ارائه‌شده توسط کومینز و هیراتسوکا (۱۹۸۳) استفاده شد. واژه‌های مربوط به شرح زنگ‌ها از رینر (۱۹۷۰) اقتباس گردید.

نتایج

در مجموع ۲۸۷ نمونه طی سه سال از استان‌های خراسان شمالی، خراسان جنوبی، سمنان (شاهرود)، مازندران، فارس، لرستان و گلستان جمع‌آوری و نمونه‌های باکیفیت و حتی‌الامکان متفاوت مورد بررسی قرار گرفتند. در طی سالهای اجرای پروژه شدت و زمان ظهور علایم بسیار مختلف و متنوع بود. مثلا علائم مشکوک به اسیدیوم زنگ سیاه در استان‌های مختلف از اواسط فروردین‌ماه (در خراسان جنوبی) تا اواخر تیرماه در خراسان شمالی قابل مشاهده بودند (شکل‌های ۱تا ۳). در استان مازندران تعداد جوش‌های اسیدیوم روی برگ‌ها از ۵ تا ۱۹ جوش روی هر برگ متفاوت بود. در استان سمنان شدت آلودگی در سال ۱۳۸۹ بیشتر از سال‌های بعد بود.

[1]Bright field
[2]Differential interference contrast
[3]Nomarski
[4]Phase contrast

Archive of SID

www.SID.ir

شکل ۱- برگهای کاملا آلوده زرشک به اسیدیوم (خراسان شمالی)

شکل ۲- مرحله تابستانگذرانی زیر برگ زرشک (لرستان).

شکل ۳- اسیدیوم زنگ بر روی برگ زرشک (خراسان جنوبی).

شناسایی میزبان

گونه‌ها و هیبریدهایی شناسایی‌شده زرشک در استان‌های مختلف مطابق جدول یک بود.

اثبات بیماری‌زایی

علائم آلودگی مربوط به اوردینیوم فقط روی برخی نمونه‌های گندم مایه‌زنی‌شده مشاهده گردید. بررسی نمونه‌های گندم مایه کوبی شده مشخص نمود که به‌جز دو مورد (دو جدایه از چهل چشمه‌ی شیراز و یک جدایه از شهرستان ازنا در استان لرستان) هیچ‌یک از سایر جدایه ها علائم آلودگی به زنگ سیاه را روی گندم ایجاد نکردند.

جدول ۱ - گونه ها و هیبریدهای شناسایی شده زرشک در استان‌های مختلف

استان	گونه یا هیبرید میزبان
خراسان شمالی	*Berberis vulgaris* *B. integerrima* × *vulgaris* *B. B. integerrima* × *cartingia* *B. orthobotrys* *B. integerrima*
خراسان جنوبی	*Berberis vulgaris*
سمنان (شاهرود)	*B. integerrima* × *vulgaris* *B. integerrima*
مازندران	*Berberis spp.*
فارس	*B. integerrima* × *vulgaris* *B. integerrima*
لرستان	*Berberis integerimma*
گلستان	*Berberis sp.*

Archive of SID

www.SID.ir

شناسایی میکروسکوپی جوش‌ها

بر اساس تحقیقات انجام‌شده و بررسی نمونه‌های متعدد از جنس *Aecidium* روی زرشک، گونه‌های زنگ ذیل روی این جنس گیاهی شناسایی شد. گونه‌های شناسایی‌شده به شرح زیر بود:

***Puccinia graminis* Pers., Neues Mag. Bot. 1: 119 (1794)**
Syn. *Aecidium berberidis* Pers., in Gmelin, Systema Naturae, Edn 13 2: 1473 (1792)

مرحله ی اسیدمی زنگ سیاه (*Aecidium berberidis*) روی گونه‌های متعددی از زرشک جمع‌آوری‌شده از سراسر کشور مطالعه شد. بدون شک این‌گونه شایع‌ترین زنگ آلوده‌کننده ی زرشک در کشور است و بر اساس گزارش‌های قبلی کریمی و همکاران (۱۹۹۸) و همچنین شواهد به‌دست‌آمده در این تحقیق در موارد متعددی خسارت چشمگیری به بوته‌های زرشک وارد می‌سازد. مشخصات مرحله ی اسیومی زنگ سیاه روی زرشک بدین شرح است:

اسپرموگونیوم‌ها زیر اپیدرمی و کروی بوده و معمولاً در سطح فوقانی برگ و گاهی در سطح زیرین برگ‌های زرشک روی لکه‌های قهوه‌ای‌رنگ به‌صورت دسته‌های مشخص تشکیل می‌شوند. رنگ اسپرموگونیوم‌ها از عسلی تا قهوه‌ای تیره متغیر است. اسیوم‌ها به‌صورت گروهی در قسمت زیرین برگ و به‌ندرت در سطح فوقانی برگ تشکیل شده و حالت فنجانی تا استوانه‌ای دارند. دسته‌های اسیوم ها گاهی در امتداد رگبرگ اصلی برگ تشکیل می‌گردد. علاوه بر سطح برگ، دم برگ‌ها، میوه‌ها و دم میوه‌های زرشک نیز توسط دسته‌های اسیوم آلوده می‌گردند. تشکیل اسیوم ها روی میوه باعث عدم رسیدن میوه‌ها، خشک شدن خوشه‌ها، چروکیدگی و تیره‌رنگی میوه‌ها و بالاخره ریزش آن‌ها می‌گردد. اسیوم‌ها دارای پریدیوم سفیدرنگ هستند که ارتفاع آن تا ۲/۴ میلی‌متر می‌رسد. اسیوسپورها غالب چندوجهی دارای دیواره بی‌رنگ با ضخامت حدود یک میکرومتر می‌باشند. ضخامت دیواره در قسمت رأس یا متمایل به رأس اسپور بیش از طرفین بوده و ۷-۴/۵ میکرومتر می‌باشد. وجود این ضخامت انتهایی در اسیوسپورها، اسیوم زنگ سیاه را از دیگر زنگ‌های هتروماکروسیکلیک گندمیان که مرحله ی اسیومی خود را روی زرشک تشکیل می‌دهند، متمایز می‌سازد. دیواره های اسیوسپورها دارای زگیل‌های ظریف است و بعضاً در بین زگیل‌های ظریف و یکدست، زگیل‌های درشت با اندازه‌های متفاوت به چشم می‌خورند. ابعاد اسیوسپورها در نمونه‌های بررسی‌شده ۲۰-۱۵ × ۲۴-۱۶ میکرومتر اندازه‌گیری شدند.

***Puccinia magelhaenica* J. Peyritsch, In P. Magnus, Ber. Naturwiss. -Med. Vereins Innsbruck 21: 41 (1894)**
Syn. *Puccinia brachypodii* var. *arrhenatheri* (Kleb.) Cummins & H.C. Greene, Mycologia 58(5): 709 (1966)
***Puccinia arrhenatheri* (Kleb.) Erikss., in Cohn, Beitr. Biol. Pfl. 8: 1 (1898)**

نمونه‌های آلوده به این زنگ از سه استان کشور روی دو گونه از جنس *Berberis* جمع‌آوری و شناسایی شدند. نمونه‌های بررسی‌شده به‌شدت توسط اسپرموگونیوم‌ها و دسته‌های اسیدی آلوده شده بودند. حالت شدید جاروی جادوگر روی سرشاخه‌های آلوده دیده می‌شد و برگ‌های آلوده ضمن این‌که از لحاظ اندازه کوچک شده بودند در هر دو سطح تقریباً به‌طور کامل توسط دسته‌های سیستمیک اسپرموگونیوم پوشانده شده بودند. دسته‌های کم‌وبیش سیستمیک اسیدی در ناحیه‌ی زیرین برگ‌ها قابل مشاهده بودند که سطح زیرین برگ را کاملاً پوشانده بودند. اسیدی‌ها فنجانی شکل بودند و با پریدیوم معمولاً کوتاه و کم‌وبیش سفیدی احاطه شده بودند. محتویات اسیدی‌ها در نمونه‌های تازه جمع‌آوری‌شده کاملاً نارنجی‌رنگ بودند. سلول‌های پریدیومی با دیواره ی خارجی به ضخامت ۱۰-۷ میکرومتر و دیواره‌ی داخلی زگیل‌دار به ضخامت ۵-۴ میکرومتر بودند. اسیوسپورها در این نمونه کم‌وبیش گرد، بیضوی یا به اشکال نامنظم و غالباً گوشه‌دار بودند. دیواره

Archive of SID

www.SID.ir

به‌طور ظریف و متراکم زگیل‌دار بود و حدود ۱/۵-۱ میکرومتر ضخامت داشت. در قسمت‌های گوشه‌دار دیواره به‌طور اندکی ضخامت بیشتری دیده می‌شد ولی در قیاس با مرحله اسیومی زنگ سیاه این نمونه فاقد ضخامت انتهایی بود و دیواره‌ای با ضخامت یکسان داشت. ابعاد اسیوسپورها ۲۱-۱۶(-۱۳) × (۳۵-)۲۷-۱۹(-۱۶) میکرومتر اندازه‌گیری شد. با توجه به حالت شایع جاروی جادوگر در نمونه‌های بررسی‌شده و اسیدی‌های سیستمیک در سطح زیرین برگ‌ها، این نمونه‌ها تحت گونه *P. magelhaenica* قرار می‌گیرد. مقایسه‌ی توالی ITS یکی از نمونه‌های بررسی‌شده از زنگ فوق با توالی‌های موجود در بانک ژن نشان داده است که این گونه دارای قرابت با گونه‌ی مرکب *P. brachypodii* s.lat. است (عباسی، اطلاعات منتشرنشده) .جایروم (۱۹۸۶) این گونه را به ترتیب به نام‌های *P. arrhenatheri* و *P. brachypodii* var. *arrhenateri* از ایران گزارش کرده است. هرچند بر اساس نظر اوربان و ماراکوا (۱۹۹۴) بهترین اسم برای این آرایه *P. magelhaenica* است. طبق مشاهدات انجام‌شده در تحقیق حاضر، زنگ مذکور در سال‌های اخیر و به‌ویژه در بخش‌های مختلف خراسان بزرگ (خراسان شمالی و جنوبی) باعث اپیدمی شدیدی شده و خسارات زیادی به باغ‌های زرشک وارد کرده است. اطلاعات بیشتر در مورد پراکنش و دامنه‌ی میزبانی این زنگ و همچنین میزبان‌های تلیومی آن توسط اوربان و ماراکوا (۱۹۹۴) ارائه شده است. برخی از نمونه‌های شناسایی‌شده تحت گونه *P. magelhaenica* دارای ملاحظاتی به شرح ذیل بودند.

الف) در نمونه بررسی‌شده روی *Berberis vulgaris*، جمع‌آوری‌شده از خراسان جنوبی (محل دقیق نامشخص)، تیر ۱۳۸۸، برخی برگ‌های آلوده به اسیوم‌های *P. magelhaenica* به‌طور هم‌زمان به اسیوم‌های زنگ سیاه هم آلوده بودند. اسپرموگونیوم‌های *P. magelhaenica* در این نمونه اغلب تمام سطح فوقانی و گاهی هر دو سطح برگ را به‌صورت متراکم پوشانده بودند. در مواردی اسپرموگونیوم‌ها به‌صورت لکه‌ای دیده شدند. در این نمونه در غالب موارد تمامی اسپرموگونیوم‌ها توسط قارچ هیپرپارازیت *Darluca filum* به‌شدت آلوده شده و روی برگ تنها پیکنیدیوم‌های این هیپرپارازیت دیده می‌شد. اسیوم‌های فنجانی کوتاه در سطح زیرین برگ تشکیل شده، حالت متراکم داشته و اغلب تمام سطح زیرین برگ را آلوده می‌کنند. در مواردی هم البته اسیوم‌ها به‌صورت دسته‌های بزرگ دیده می‌شوند. اسلایدهای متعددی از این نمونه تهیه شد و غیر از اسیوسپورهای زنگ سیاه، اسیوسپورهایی با دیواره ی دارای ضخامت یکسان، اغلب چندوجهی به‌طور متراکم زگیل‌دار دیده شدند. در یک اسلاید اسپورها ۱۹-۱۵ × ۲۴-۱۸ میکرومتر و در اسلاید دیگر ۲۰-۱۳ × (۲۸-)۲۵-۱۶ میکرومتر بود. طبق اطلاعات مندرج در منابع در مورد ابعاد اسیوسپورهای *P. magelhaenica* ابعاد در این نمونه از اطلاعات ارائه‌شده در منابع در مورد *P. magelhaenica* کوچک‌تر است. هرچند با توجه به تیپ آلودگی به‌ویژه آرایش اسیوم‌ها و وجود حالت جاروی جادوگر که کم‌وبیش در این نمونه دیده شد، نمونه تحت نام *P. magelhaenica* قرار داده شد. نکته‌ی جالب در مورد این نمونه آلودگی هم‌زمان برخی برگ‌های میزبان به سه قارچ *P. graminis* + *P. magelhaenica* + *D. filum* بود.

ب) روی *Berberis vulgaris*، جمع‌آوری‌شده از خراسان جنوبی، بیرجند، خرداد ماه ۱۳۸۹، در این نمونه هم فقط برگ‌های جوان آلوده بودند. اسپرموگونیوم‌های سیستمیک در هر دو سطح برگ به‌صورت متراکم دیده شد. در برخی برگ‌ها آلودگی اسپرموگونیوم‌ها به قارچ هیپرپارازیت *D. filum* دیده شد. اسیوم‌ها در سطح زیرین برگ به‌صورت متراکم و سیستمیک با پریدیوم کوتاه دیده شدند. برخی اسیوم‌ها توسط گونه‌ای هیفومیست ناشناخته‌ای به‌شدت آلوده شده بودند. اسیوسپورها کم‌وبیش کروی، بیضوی و یا کشیده و مستطیلی که در تمام حالات فوق وضعیت چندوجهی در آن‌ها دیده می‌شد. دیواره اسیوسپورها بی‌رنگ و به‌طور ظریف و متراکم زگیل‌دار با ضخامت ۱/۵-۱ میکرومتر بود. ابعاد اسیوسپورها ۲۰-۱۵ × ۳۰-۱۹ میکرومتر که اسپورهای با

Archive of SID

www.SID.ir

ابعاد ۳۰ و ۲۹ میکرومتر کمتر دیده شده و بیشتر اسپورها بین ۲۵-۲۰ میکرومتر قطر داشتند. هرچند طول اسپورها به آن‌چه کومینز (۱۹۷۱) ذکر کرده نزدیک است ولی پهنای اسپورها در این نمونه نیز کم‌تر از ابعاد ذکرشده در منابع است.

ج) روی *Berberis* sp.، خراسان شمالی، گدوکانلو، ۱۳۹۱/۲/۱۹، حالت جاروی جادوگر روی نمونه کم‌وبیش دیده شد. اسیوم‌ها در سطح زیرین برگ‌های جوان به‌صورت فراگیر همه سطح برگ را پوشانده بود. اسیوسپورها دارای تنوع در ابعاد بودند در برخی اسلایدهای تهیه‌شده اسپورهای چندوجهی، گوشه‌دار با دیواره بی‌رنگ و زگیل‌دار با محتویات زرد-نارنجی و ابعاد ۱۹-۱۷ × ۲۳-۱۸ میکرومتر دیده شد. همچنین در اسلایدهای دیگری از همین نمونه و از اسیوم‌های کاملاً رسیده اسیوسپورها کمی بزرگ‌تر و معادل ۲۰-۱۶ × ۲۷-۲۱ میکرومتر بودند. مشخص نیست که آیا این اسیوم‌های سیستمیک فراگیر دو گروه هستند و یا این‌که تنوع در اندازه به رشد و بلوغ اسیوم‌ها مربوط می‌شود. درهرصورت با توجه به تیپ آلودگی و یکنواختی در ضخامت دیواره‌ی اسیوسپورها نمونه تحت گونه *P. magelhaenica* قرار داده شد.

د) روی *Berberis* sp.، خراسان شمالی، بالاتر از گدوکانلو، ۹۱/۲/۱۹، تیپ آلودگی اسیوم‌ها شبیه نمونه‌ی بحث‌شده در بخش (ج) است. نکته‌ی جالب این‌که ابعاد اسیوسپورها ۲۰-۱۷ × ۲۹-۱۹ میکرومتر اندازه‌گیری شد و اسپورها در مجموع ابعادی بزرگ‌تر از نمونه (ج) داشتند. سلول پریدیوم در قسمت ضخیم‌ترشیار با ۹-۷ میکرومتر ضخامت بود. در قسمت نازک دیواره‌ی این سلول‌ها به‌طور ظریف زگیل‌دار و ۴-۳ میکرومتر ضخامت داشت.

ه) روی *Berberis* sp.، خراسان شمالی، سد بارزو، در این نمونه اسیوم‌ها به دو وضعیت سیستمیک و موضعی دیده می‌شوند. اسیوم‌های پراکنده در کل سطح زیر و بعضاً روی برگ با پریدیوم کوتاه‌تر و اسیوسپورهای کوچک‌تر به ابعاد ۲۱-۱۷ × ۲۷-۲۰ میکرومتر و اسیوم‌های نوع دوم با پریدیوم بلند که کل برگ را نپوشانده و توده‌ای هستند و اسپورهای بزرگ‌تر با ابعاد ۲۲-۱۶ × ۳۵-۲۰ میکرومتر دارند. در این اسیوم‌های بلند به نظر می‌رسد که اسپورهای در قاعده اسیوم بزرگ‌ترند.

وجود دو نوع اسیدی سیستمیک و دسته‌ای در نمونه‌ی سد بارزو کاملاً با شرح کومینز و گرین (۱۹۶۶) از گونه‌ی *P. brachypodii var. arrhenatheri* منطبق است. نامبردگان در گونه ی فوق اسیوم‌های سیستمیک را روی بخش‌های جاروی جادوگر و اسیوم‌های دسته‌ای را روی برگ سایر بخش‌های گیاه زرشک گزارش کرده‌اند.

نکته‌ی جالب دیگر در این نمونه، آلودگی برگ‌های آلوده به زنگ به قارچ هیپرپارازیت *Eudarluca caricis* است به‌طوری‌که پیکنیدیوم های قارچ روی سطح برگ در میان اسیوم‌ها دیده می‌شود. پیکنیدیوم ها درون اسیوم تشکیل نشده‌اند بلکه اسپرموگونیوم‌ها و ریسه‌های سیستمیک قارچ در داخل برگ را آلوده کرده‌اند.

و) روی *Berberis* sp.، خراسان شمالی، قلعه حسن، ۱۳۹۱/۲/۱۹، اسیوم‌های سیستمیک روی تمام و یا قسمت اعظم سطح زیرین برگ‌های کوچک و جوان زرشک تشکیل شده‌اند. پریدیوم اسیوم‌ها کوتاه فنجانی و از اسیوم‌های با پریدیوم بلند در این نمونه خبری نیست. اسیوسپورها ۲۱-۱۶ × ۲۶-۱۷ میکرومتر اندازه‌گیری شدند. نمونه به *Darluca filum* هم آلوده بود.

***Puccinia brachypodii* sensu lato.**

روی *Berberis* sp.، خراسان جنوبی، زهان قاین، اردیبهشت ماه ۱۳۹۱، در این نمونه برخلاف نمونه‌های تعیین نام شده تحت *P. magelhaenica* اسیوم‌های سیستمیک با پریدیوم کوتاه روی تمام سطح زیرین برگ و همچنین حالت جاروی جادوگر دیده نشد. در عوض نمونه‌ی مذکور دارای اسیوم‌هایی در هر دو سطح برگ به‌ویژه در سطح زیرین هستند. اسیوم‌ها تمام سطح برگ را نپوشانده و غالباً در نواحی اطراف رگبرگ میانی به‌صورت طولی در امتداد رگبرگ گسترش یافته‌اند. پریدیوم

Archive of SID

www.SID.ir

اسیوسپورها بلند است و تا یک میلی‌متر یا اندکی بلندتر هم می‌رسد. اسیوسپورها همیشه گوشه‌دار و در محل کنج یا گوشه‌ها دیواره اندکی ضخیم‌تر به نظر می‌آید. ضخامت دیواره در قسمت‌های بدون کنج بین ۱/۵-۱ میکرومتر است. دیواره بی‌رنگ به‌طور ظریف زگیل‌دار و محتویات اسپورها اغلب زرد-نارنجی است. ابعاد اسیوسپورها ۲۱-۱۸(۱۵) × ۲۷-۲۰ میکرومتر است. با توجه به عدم وجود حالت جاروی جادوگر در نمونه و همچنین عدم وجود اسیوم‌های سیستمیک با پریدیوم کوتاه به نظر می‌رسد نمونه مذکور به یکی از اعضای گونه کمپلکس *P. brachypodii*. با اسیوم‌های غیر سیستمیک تعلق داشته باشد.

نتایج این تحقیق نشان داد که آلودگی گونه های مختلف زرشک در ایران بیشتر توسط چندین گونه از *Puccinia* ایجاد می شود که به جز یک گونه سایر گونه ها در گندم بیماریزا نیستند و احتمالا اختصاصی گونه میزبان خود هستند ولی این امر نیاز به بررسی های بیشتری دارد. آنچه مسلم است از تعداد ۲۸۷ نمونه ی بررسی شده فقط دو نمونه قادر به تولید اوردوسپورهای زنگ سیاه در ارقام حساس گندم (موروکو و لوکال رد) بودند که با در نظر گرفتن تعداد کل نمونه های بررسی شده، بیانگر این مطلب است که علی‌رغم پراکنش وسیع بوته های زرشک در مناطق مختلف کشور، اغلب این بوته ها میزبان گونه های مختلف زنگ می باشندکه در روی گندم بیماریزا نیستند و احتمالا نقش مهمی در بروز اپیدمی زنگ سیاه گندم ندارند. اما اثبات این ادعا نیاز به بررسی های تکمیلی دارد. به نظر می رسد که وقوع اپیدمیهای زنگهای غلات علاوه بر وجود میزبان حساس و شرایط مناسب آب و هوایی متاثر از اردوسپورهایی است که توسط جریان باد های موسمی (جبهه سودانی) عمدتا از مناطق غرب و جنوب غربی وارد ایران می شوند و این فرضیه در مورد اپیدمی زنگ زرد در سالهای ۱۳۷۱ و ۱۳۸۲ و احتمال گسترش زنگ سیاه گندم نژاد UG99 توسط محققین مختلف مورد تاکید قرار گرفته است (سینگ و همکاران، ۲۰۱۱) از طرفی وجود ژن‌های مقاوم نظیر *Sr31* دراغلب ارقام گندم مورد کشت در ایران وجود دارد، که باعث عدم ظهور زنگ سیاه در اغلب مناطق ایران شده است. بر اساس بررسی های انجام شده، زمانی زرشک می تواند به عنوان یک مشکل مستقیم برای گندم محسوب می شود که فاصله بین مزارع و گیاهچه های زرشک کمتر از ۱۰۰ متر باشد (رولفز، ۱۹۸۵). زرشک بایستی در فاصله بسیار کمی از منبع فراوان تلیوسپورهای فعال قرار داشته باشد چرا که مدت زنده ماندن بازیدیوسپورها بسیار کوتاه بوده و نمی توانند در فواصل طولانی زنده بمانند. همچنین مزارع گندم بایستی از زرشک های آلوده به زنگ قرار داشته باشند تا آلودگی گندم توسط اسیدیوسپورها شروع شود. گرچه اسیدیوسپورها به فراوانی و با قدرت آزاد می شوند ولی اصولاً در یک مسافت کوتاه حدود صد متر پخش می شوند (رولفز، ۱۹۸۵). در این تحقیق اغلب بوته های زرشک در ارتفاعات و دور از ارقام حساس گندم وجود داشتند که احتمالا دلیلی بر نقش ضعیف بوته های زرشک های آلوده در وقوع بیماری زنگ سیاه باشد. هرچند وجود یک بوته زرشک آلوده در مجاورت یک مزرعه حساس در صورتیکه شرایط محیطی نیز مساعد باشد می تواند شروع کننده ی یک اپیدمی بزرگ باشد. جریان‌های هوا و کشت ارقام حساس همچنان یک خطر بالقوه برای ظهور زنگ سیاه می‌باشند. با توجه به افزایش میانگین دما در سال‌های اخیر این احتمال نیز افزایش یافته است.

منابع مورد استفاده

Abbasi M, Hedjaroude GhA, Ershad D and Termeh F, 2002. On the taxonomy of *Puccinia graminis* Pers. and some remarks on the ecology of the rust in Iran. Journal of Plant Pathology 38: 9-42.

Archive of SID

www.SID.ir

Abbasi M, Goodwin SB, and Scholler M, 2005. Taxonomy, Phylogeny and distribution of *Puccinia graminis*, the black stem rust: new insights based on rDNA sequence data. Mycoscience 46: 241-247.

Cummins GB, 1971. The Rust Fungi of Cereals and Grasses. Springer, Berlin, Heidelberg, New York.

Cummins GB, and Greene HC, 1966. A review of the grass rust fungi that have uredial paraphyses and aecia on Berberis-Mahonia. Mycologia 58 (5): 702-721.

Cummins GB, and Hiratsuka Y, 1983. Illustrated genera of rust fungi. Revised. American Phytopathological Society (Ed)., Minneapolis.

Gjaerum HB, 1986. Rust fungi (Uredinales) from Iran and Afghanistan. Sydowia 39: 68-100

Karimi MR, Abbasi M and Jafari A, 1998. Incidence of barberry rust (*Aecidium berberidis*) in south of Khorassan. Applied Entomology and Phtopathology 66: 142- 143.

Kostić B, 1962. Fiziološke rase *Puccinia graminis tritici* Erikss. et Henn. u jugoistočnom delu FNRJ. Zaštita bilja 69-70.

Mcintosh RA, Wellings CR and Park RF,1995. Wheat Rusts: An Atlas of Resistance Genes. CSIRO Publications, Victoria, Australia.

Nazari K, Mafi M, Nasrollahi M, Chaychi M, Afshari F and Hasan bayat Z, 2008. Detection of Isolates of *Puccinia graminis* f. sp. *tritici* Virulent to *Sr*31 Resistance Gene in Western Provinces of Iran. Seed and Plant 24 (1): 207-213. (in Farsi)

Rayner RW, 1970. A mycological colour chart. Commonwealth Mycological Institute, Kew: 34 pp + charts.

Roelfs AP, 1985. Epidemiology in North America. In the cereal rusts, PP. In: W.R. Bushnell and A.P.Roelfs (eds)., 2: 3-37. Orlando Florida: Academic Press, Inc.

Singh RP, Hodson D, Huerta-Espino PJ, Jin Y, Bhavani Njau S, Herrera-Foessel PS, Singh PK, Singh S and Govindan V,2011. The Emergence of Ug99 Races of the Stem Rust Fungus is a Threat to World Wheat Production. Annual Review of Phytopathology 49: 1–13.

Staletić M, Stojanović S, And Marković A, 2004. The virulence spectrum of *Puccinia graminis* f.sp. *tritici* from different Berberis species. Kragujevac Journal of Science 26, 65-74.

Urban Z, and Markova J, 1983. On the taxonomy and ecology of *Puccinia graminis.* Cereal Rusts Bulletin, 11: 12-16.

Urban Z, and Markova J, 1984. Ecology and Evolution of *Puccinia graminis* Pers. Česká Mykology 38: 65-95.

Urban Z, and Markova J, 1994. The rust fungi of grasses in Europe. 2. *Puccinia brachypodii* Otth and its allies. Acta University of Carroll - Biology 38: 13-57.

Zohary M, 1963.On the Geobotanical Structure of Iran. Bulletin of the Research Council. Botany, Supplement, 11D: 1-113.

Archive of SID

www.SID.ir

Study of Barberry Shrubs Role in Transferring Wheat Stem Rust Disease Agent to the Next Season

H Rabbani Nasab[1*], M Razavi[2], MA Aghajani Nasab[1], M Abbasi[2], S Sajedi[2], MR Mirzaee[3], M Zakeer[4], A Dehghani[5], S Rajaee[6] and M Aldaghi[7]

[1]Plant Protection Research Division, Golestan Agricultural and Natural Resources Research and Education Center, Agricultural Research, Education and Extension Organization (AREEO), Gorgan, Iran.
[2]Iranian Research Institute of Plant Protection, Agricultural Research, Education and Extension Organization (AREEO), Tehran, Iran.
[3]Plant Protection Research Division, South khorasan Agricultural and Natural Resources Research and Education Center, Agricultural Research, Education and Extension Organization (AREEO), Birjand, Iran.
[4]Plant Protection Research Division, Shahrood Agricultural and Natural Resources Research Center of Semnan Province, Agricultural Research, Education and Extension Organization (AREEO), Shahrood, Iran.
[5]Plant Protection Research Division, Lorestan Agricultural and Natural Resources Research and Education Center, Agricultural Research, Education and Extension Organization (AREEO), Khorram Abad, Iran.
[6]Plant Protection Research Division, Fars Agricultural and Natural Resources Research and Education Center, Agricultural Research, Education and Extension Organization (AREEO), Shiraz, Iran.
[7]Plant Protection Research Division, Mazandaran Agricultural and Natural Resources Research and Education Center, Agricultural Research, Education and Extension Organization (AREEO), Sari, Iran.

*Corresponding author: h.rabbani@areeo.ac.ir

Received: 19 june 2016 Accepted: 24 May 2017

Abstract

Puccinia graminis f. sp. *tritici* is the causal agent of wheat stem rust disease. This fungus is heteroecious with complete life cycle that its intermediate host plant is barberry (*Berberis* spp.) In some areas that urediniospores cannot survive in winter conditions, basidiospores produced from teliospores in feat barberry which result in the survival of the fungus and its transmission to the next season. In this research, samples of barberry leaves showing symptoms of rust disease were collected from North Khorasan, Mazandaran, Golestan, Semnan, Fars, Lorestan and South Khorasan provinces. Host plant species and infecting fungal species were determined based on their morphological characteristics. In addition, the relationship of these fungal species to stem rust of wheat was investigated by inoculating them on two susceptible wheat cultivars Moroco and Local Red. A total of five hybrids and species of barbery as *Berberis vulgaris, B. integerrima* × *vulgaris, B. integerrima* × *cartingia, B. orthobotrys* and *B. integerrima* were identified as the host. According to morphological characteristics, three fungal species were identified as: *Puccinia magelhaenica, P. brachypodii* s.lat. And *Aecidium berberidis*, where none of these species are known as wheat stem rust disease agent.

Inoculation of aecidiospores obtained from Barberry species on the susceptible wheat cultivars showed that only two samples produced stem rust symptoms indicating most barberry shrubs in Iran are the host for rust species that are not pathogenic on wheat and may not have significant impact on epidemic of stem rust in the region.

Keywords: Barberry, Intermediate host, Stem rust, Wheat.

Archive of SID

www.SID.ir