

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

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

- 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](mailto:h.rabbani@areeo.ac.ir)

تاریخ پذیرش: ۹۶/۴/۳

تاریخ دریافت: ۹۵/۳/۳۰

### 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 و تولید مثل جنسی قارچ بر روی آن صورت می‌پذیرد. در برخی مناطق که یوردیوسپور ها امکان بقا در زمستان را ندارند، بوته‌های زرشک بازیدیوسپوره‌های تولیدشده توسط تلیوسپوره‌های 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. integririma* × *cartingia*، *B. integririma* × *vulgaris*، *B. orthobotrys* و *B. integririma* از زرشک به عنوان 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.

## مقدمه

اطراف بوته‌های زرشک روئیده 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 جمع‌آوری شده 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 گیاه‌شناسی موسسه تحقیقات گیاهپزشکی کشور انجام شد.

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 می‌شود 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 اعضای 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 (۱۹۸۳ و ۱۹۸۴) کشور آذربایجان، ایران و خاور نزدیک را به‌عنوان خاستگاه زنگ سیاه معرفی نموده‌اند. 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

## اثبات بیماری‌زایی

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 اسپورسپورها و همچنین تعداد و نحوه‌ی استقرار منافذ تندشی اوردینوسپورها علاوه بر بررسی اسلایدهای میکروسکوپی تهیه‌شده با سیستم میکروسکوپی صفحه روشن<sup>۱</sup> از تکنیک‌های میکروسکوپی شامل DIC<sup>۲</sup> و نومارسکی<sup>۳</sup> و فاز کنتراست<sup>۴</sup> بهره گرفته شد. در مورد نام مراحل مختلف زنگ‌ها و اسپورهای مراحل مختلف همچنین تزئینات سطح اسپورها و نحوه‌ی استقرار منافذ تندشی در سطح اوردینوسپورها 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 علائم بسیار مختلف و متنوع بود. مثلاً 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 ۱ تا 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.

مایه‌زنی اسیدیوسپورها طبق روش کاستیک (۱۹۶۲) و استالتیک 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 اسیدیوم‌ها 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 مرغ (*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

<sup>1</sup>Bright field<sup>2</sup>Differential interference contrast<sup>3</sup>Nomarski<sup>4</sup>Phase contrast



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



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



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

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 جدایه‌ها علائم آلودگی به زنگ سیاه را روی گندم ایجاد نکردند.

### شناسایی میزبان

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

### اثبات بیماری زایی

علائم آلودگی مربوط به اوردینیوم فقط روی برخی نمونه‌های گندم مایه‌زنی شده مشاهده گردید. بررسی

جدول ۱ - گونه‌ها و هیبریدهایی شناسایی شده زرشک در استان‌های مختلف

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

## 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 اسیدی 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 اسیدی زنگ سیاه روی زرشک بدین شرح است:

اسپریموگونیوم‌ها 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 اسپریموگونیوم‌ها از عسلی تا قهوه‌ای تیره متغیر است. اسپیوم‌ها به‌صورت گروهی در قسمت زیرین برگ و به‌ندرت در سطح فوقانی برگ تشکیل شده و حالت فنجانی تا استوانه‌ای دارند. دسته‌های اسپیوم ها گاهی در امتداد رگبرگ اصلی برگ تشکیل می‌گردد. علاوه بر سطح برگ، دم برگ‌ها، میوه‌ها و دم میوه‌های زرشک نیز توسط دسته‌های اسپیوم آلوده می‌گردند. تشکیل اسپیوم ها روی میوه باعث عدم رسیدن میوه‌ها، خشک شدن خوشه‌ها، چروکیدگی و تیره‌رنگی میوه‌ها و بالاخره ریزش آن‌ها می‌گردد. اسپیوم‌ها دارای پریدیوم سفیدرنگ هستند که ارتفاع آن تا ۲/۴ میلی‌متر می‌رسد. اسپوسپورها 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 اسپوسپورها، اسپیوم زنگ سیاه را از دیگر زنگ‌های هتروماکروسیکلیک گندمیان که مرحله ی اسیدی خود را روی زرشک تشکیل می‌دهند، متمایز می‌سازد. دیواره های اسپوسپورها دارای زگیل‌های ظریف است و بعضاً در بین زگیل‌های ظریف و یکدست، زگیل‌های درشت با اندازه‌های متفاوت به چشم می‌خورند. ابعاد اسپوسپورها 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 اسپریموگونیوم‌ها 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 اسپریموگونیوم 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. اسپوسپورها در این نمونه کم‌وبیش گرد، بیضوی یا به اشکال نامنظم و غالباً گوشه‌دار بودند. دیواره

در غالب موارد تمامی اسپرموگونیم‌ها توسط قارچ هیپرپارازیت *Darlucal filum* به شدت آلوده شده و روی برگ تنها پیکنیدیوم‌های این هیپرپارازیت دیده می‌شود. اسپیوم‌های فنجان‌ی کوتاه در سطح زیرین برگ تشکیل شده، حالت متراکم داشته و اغلب تمام سطح زیرین برگ را آلوده می‌کنند. در مواردی هم البته اسپیوم‌ها به صورت دسته‌های بزرگ دیده می‌شوند. اسلایدهای متعددی از این نمونه تهیه شد و غیر از اسپیوسپوره‌های زنگ سیاه، اسپیوسپورهایی 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 اسپیوسپوره‌های *P. magelhaenica* ابعاد در این نمونه از اطلاعات ارائه شده در منابع در مورد *P. magelhaenica* کوچک‌تر است. هرچند با توجه به تیپ آلودگی به‌ویژه آرایش اسپیوم‌ها 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* جمع‌آوری شده از خراسان جنوبی، بیرجند، خرداد ماه ۱۳۸۹، در این نمونه هم فقط برگ‌های جوان آلوده بودند. اسپرموگونیم‌های سیستمیک در هر دو سطح برگ به صورت متراکم دیده شد. در برخی برگ‌ها آلودگی اسپرموگونیم‌ها به قارچ هیپرپارازیت *D. filum* دیده شد. اسپیوم‌ها در سطح زیرین برگ به صورت متراکم و سیستمیک با پریدیوم کوتاه دیده شدند. برخی اسپیوم‌ها توسط گونه‌ای هیفومیست ناشناخته‌ای به شدت آلوده شده بودند. اسپیوسپورها کم‌وبیش کروی، بیضوی و یا کشیده و مستطیلی که در تمام حالات فوق وضعیت چندوجهی در آن‌ها دیده می‌شد. دیواره اسپیوسپورها بی‌رنگ و به‌طور ظریف و متراکم زگیل‌دار با ضخامت ۱-۱/۵ میکرومتر بود. ابعاد اسپیوسپورها ۲۰-۱۵ × ۳۰-۱۹ میکرومتر که اسپوره‌های با

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 اسپیومی زنگ سیاه این نمونه فاقد ضخامت انتهایی بود و دیواره‌ای با ضخامت یکسان داشت. ابعاد اسپیوسپورها ۲۱-۱۶(-۱۳) × ۳۵(-۲۷)-۱۹(-۱۶) میکرومتر اندازه‌گیری شد. با توجه به حالت شایع جاروی جادوگر در نمونه‌های بررسی شده و اسیدی‌های سیستمیک در سطح زیرین برگ‌ها، این نمونه‌ها تحت گونه *P. magelhaenica* قرار می‌گیرد. مقایسه‌ی توالی ITS یکی از نمونه‌های بررسی شده 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 انجام شده 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 شناسایی شده تحت گونه *P. magelhaenica* دارای ملاحظات به شرح ذیل بودند.

الف) در نمونه بررسی شده روی *Berberis vulgaris* جمع‌آوری شده از خراسان جنوبی (محل دقیق نامشخص)، تیر ۱۳۸۸، برخی برگ‌های آلوده به اسپیوم‌های *P. magelhaenica* به‌طور هم‌زمان به اسپیوم‌های زنگ سیاه هم آلوده بودند. اسپرموگونیم‌های *P. magelhaenica* در این نمونه اغلب تمام سطح فوقانی و گاهی هر دو سطح برگ را به صورت متراکم پوشانده بودند. در مواردی اسپرموگونیم‌ها به صورت لکه‌ای دیده شدند. در این نمونه

نوع دوم با پریدیوم بلند که کل برگ را نپوشانده و توده‌ای هستند و اسپوره‌های بزرگ‌تر با ابعاد  $۱۶-۲۲ \times ۲۰-۳۵$  میکرومتر دارند. در این اسپورهای بلند به نظر می‌رسد که اسپوره‌های در قاعده اسپور 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* نامبرندگان در گونه‌ی فوق اسپورهای سیستمیک را روی بخش‌های جاروی جادوگر و اسپورهای دسته‌ای را روی برگ سایر بخش‌های گیاه زرشک گزارش کرده‌اند.

نکته‌ی جالب دیگر در این نمونه، آلودگی برگ‌های آلوده به زنگ به قارچ هیپرپارازیت *Eudarlucacaricis* است به طوری که پیکنیدیوم‌های قارچ روی سطح برگ در میان اسپورهای دیده می‌شود. پیکنیدیوم‌ها درون اسپورهای تشکیل نشده‌اند بلکه اسپرموگونوم‌ها و ریشه‌های سیستمیک قارچ در داخل برگ را آلوده کرده‌اند.

(و) روی *Berberis* sp. خراسان شمالی، قلعه حسن، ۱۳۹۱/۲/۱۹، اسپورهای سیستمیک روی تمام و یا قسمت اعظم سطح زیرین برگ‌های کوچک و جوان زرشک تشکیل شده‌اند. پریدیوم اسپورهای کوتاه فنجان‌ی و از اسپورهای با پریدیوم بلند در این نمونه خبری نیست. اسپورهای ۲۱- $۱۶ \times ۱۷-۲۶$  میکرومتر اندازه‌گیری شدند. نمونه به *Darlucafilum* 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* اسپورهای سیستمیک با پریدیوم کوتاه روی تمام سطح زیرین برگ و همچنین حالت جاروی جادوگر دیده نشد. در عوض نمونه‌ی مذکور دارای اسپورهایی در هر دو سطح برگ به‌ویژه در سطح زیرین هستند. اسپورهای تمام سطح برگ را نپوشانده و غالباً در نواحی اطراف رگبرگ میانی به صورت طولی در امتداد رگبرگ گسترش یافته‌اند. پریدیوم

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 ذکر شده در منابع است.

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

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

(ه) روی *Berberis* sp. خراسان شمالی، سد بارزو، در این نمونه اسپورهای به دو وضعیت سیستمیک و موضعی دیده می‌شوند. اسپورهای پراکنده در کل سطح زیر و بعضاً روی برگ با پریدیوم کوتاه‌تر و اسپورهای کوچک‌تر به ابعاد  $۱۷-۲۱ \times ۲۰-۲۷$  میکرومتر و اسپورهای

های موسمی (جبهه سودانی) عمدتاً از مناطق غرب و جنوب غربی وارد ایران می‌شوند 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* در اغلب ارقام گندم مورد کشت در ایران وجود دارد، که باعث عدم ظهور زنگ سیاه در اغلب مناطق ایران شده است. بر اساس بررسی‌های انجام شده، زمانی زرشک می‌تواند به عنوان یک مشکل مستقیم برای گندم محسوب می‌شود که فاصله بین مزارع و گیاهچه‌های زرشک کمتر از ۱۰۰ متر باشد (رولفز، ۱۹۸۵). زرشک بایستی در فاصله بسیار کمی از منبع فراوان تلپوسپوره‌های فعال قرار داشته باشد چرا که مدت زنده ماندن بازیدیوسپورها بسیار کوتاه بوده و نمی‌توانند در فواصل طولانی زنده بمانند. همچنین مزارع گندم بایستی از زرشک‌های آلوده به زنگ قرار داشته باشند تا آلودگی گندم توسط اسیدیوسپورها شروع شود. گرچه اسیدیوسپورها به فراوانی و با قدرت آزاد می‌شوند ولی اصولاً در یک مسافت کوتاه حدود صد متر پخش می‌شوند (رولفز، ۱۹۸۵). در این تحقیق اغلب بوته‌های زرشک در ارتفاعات و دور از ارقام حساس گندم وجود داشتند که احتمالاً دلیلی بر نقش ضعیف بوته‌های زرشک‌های 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 می‌تواند شروع کننده‌ی 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.

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 گونه‌های مختلف زرشک در ایران بیشتر توسط چندین گونه از *Puccinia* ایجاد می‌شود که به جز یک گونه سایر گونه‌ها در گندم بیماریزا نیستند و احتمالاً اختصاصی گونه میزبان خود هستند ولی این امر نیاز به بررسی‌های بیشتری دارد. آنچه مسلم است از تعداد ۲۸۷ نمونه‌ی 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 نمونه‌های بررسی شده، بیانگر این مطلب است که علی‌رغم پراکنش وسیع بوته‌های زرشک در مناطق مختلف کشور، اغلب این بوته‌ها میزبان گونه‌های مختلف زنگ می‌باشند که در روی گندم بیماریزا نیستند و احتمالاً نقش مهمی در بروز اپیدمی زنگ سیاه گندم ندارند. اما اثبات این ادعا نیاز به بررسی‌های تکمیلی دارد. به نظر می‌رسد که وقوع اپیدمیهای زنگ‌های غلات علاوه بر وجود میزبان حساس و شرایط مناسب آب و هوایی متأثر از اوردوسپورهایی است که توسط جریان باد

#### 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.



- 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 *Sr31* 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.

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

H Rabbani Nasab<sup>1\*</sup>, M Razavi<sup>2</sup>, MA Aghajani Nasab<sup>1</sup>, M Abbasi<sup>2</sup>, S Sajedi<sup>2</sup>, MR Mirzaee<sup>3</sup>, M Zakeer<sup>4</sup>, A Dehghani<sup>5</sup>, S Rajaei<sup>6</sup> and M Aldaghi<sup>7</sup>

<sup>1</sup>Plant Protection Research Division, Golestan Agricultural and Natural Resources Research and Education Center, Agricultural Research, Education and Extension Organization (AREEO), Gorgan, Iran.

<sup>2</sup>Iranian Research Institute of Plant Protection, Agricultural Research, Education and Extension Organization (AREEO), Tehran, Iran.

<sup>3</sup>Plant Protection Research Division, South khorasan Agricultural and Natural Resources Research and Education Center, Agricultural Research, Education and Extension Organization (AREEO), Birjand, Iran.

<sup>4</sup>Plant Protection Research Division, Shahrood Agricultural and Natural Resources Research Center of Semnan Province, Agricultural Research, Education and Extension Organization (AREEO), Shahrood, Iran.

<sup>5</sup>Plant Protection Research Division, Lorestan Agricultural and Natural Resources Research and Education Center, Agricultural Research, Education and Extension Organization (AREEO), Khorram Abad, Iran.

<sup>6</sup>Plant Protection Research Division, Fars Agricultural and Natural Resources Research and Education Center, Agricultural Research, Education and Extension Organization (AREEO), Shiraz, Iran.

<sup>7</sup>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 Morocco and Local Red. A total of five hybrids and species of barberry 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.