

شناسایی گونه‌های *Pyrenophora*, *Bipolaris*, *Curvularia* و *Exserohilum* مرتبط با بیماری‌های لکه برگی جو در استان آذربایجان شرقی با استفاده از داده‌های ریخت‌شناختی و مولکولی

هاله دخانچی، اسدالله بابای اهری، مهدی ارزنلو[✉]، فarnaz عابد آشتیانی

گروه گیاه‌پزشکی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه تبریز. arzanlou@tabrizu.ac.ir

پذیرش: ۹۹/۱۱/۲۰

بازنگری: ۹۹/۱۰/۹

دریافت: ۹۹/۹/۲۶

چکیده

بیماری‌های برگ از مهمترین بیماری‌های جو در دنیا به‌شمار می‌روند و باعث ایجاد خسارت اقتصادی در مناطق کشت و پرورش این محصول می‌شوند. تحقیق حاضر با هدف شناسایی گونه‌های *Pyrenophora*, *Bipolaris*, *Curvularia* و *Exserohilum* مرتبط با بیماری‌های لکه برگی جو در استان آذربایجان-شرقی با استفاده از مفهوم تلفیقی گونه انجام گرفت. در مجموع ۴۶۲ جدایه قارچی از گیاهان جو دارای علائم لکه برگی طی سال‌های ۹۵-۹۶ جداسازی و خالص‌سازی گردید. بر اساس تلفیق داده‌های ریخت‌شناختی با داده‌های توالی ناحیه ITS-rDNA و ژن گلیسرآلدهید-۳-فسفات دهیدروژناز (*gpdh*) تنوع قابل توجهی در گونه‌های قارچی مرتبط با بیماری‌های لکه برگی جو مشاهده گردید. در این تحقیق گونه‌های *Pyrenophora graminea*, *P. teres*, *Bipolaris sorokiniana*, *B. salkadehensis*, *Curvularia inaequalis*, *C. spicifera*, *C. nicotiae* و *Exserohilum rostratum* شناسایی گردیدند. دو گونه *P. graminea* و *P. teres* به ترتیب با فراوانی ۶۸/۴ و ۲۵/۵۴ درصد، به عنوان گونه‌های قارچی غالب مرتبط با بیماری‌های لکه برگی جو بودند. با شناسایی گونه‌های قارچی مرتبط با این بیماری‌ها، اعمال راهکارهای مناسب برای مدیریت آنها در این منطقه امکانپذیر خواهد شد.

کلمات کلیدی: بیماری لکه نواری، *Pyrenophora*, *Bipolaris*, *Curvularia*, *Exserohilum*

species associated with *Exserohilum* and Characterization of *Pyrenophora*, *Bipolaris*, *Curvularia* leaf spot diseases on barley in East Azerbaijan province, using morphological and molecular data

Haleh Dokhanchi, Asadollah Babai-Ahari, Mahdi Arzanlou[✉], Farnaz Abed-Ashtiani

Department of Plant Protection, Faculty of Agriculture, University of Tabriz, Tabriz, Iran. arzanlou@tabrizu.ac.ir

Received: 16 Dec 2020

Revised: 29 Dec 2020

Accepted: 8 Feb 2021

Abstract

Foliar diseases are considered among important barely diseases worldwide, causing economic crop losses in barely industry worldwide, including Iran. Present study was aimed to characterize *Pyrenophora*, *Bipolaris*, *Curvularia* and *Exserohilum* species associated with leaf spot diseases of barley in East Azerbaijan province, using consolidated species concept. Totally 462 fungal isolates were isolated and purified from barley plants with leaf spot symptoms during 2016-2017. Based on morphological and sequence data of ITS-rDNA and Glyceraldehyde-3-Phosphate Dehydrogenase gene (*gpdh*) regions. A considerable diversity was observed among the fungal species associated with leaf spot diseases on barley. In this study, *Pyrenophora graminea*, *P. teres*, *Bipolaris sorokiniana*, *B. salkadehensis*, *Curvularia inaequalis*, *C. spicifera*, *C. nicotiae* and *Exserohilum rostratum* were identified. *Pyrenophora graminea* and *P. teres* were dominant species associated with brown leaf spot symptoms, with isolation frequencies of 68.4 and 25.54 percent, respectively. With the identification of fungal species associated with leaf spot diseases on barley, it will be possible to practice suitable management strategies for these diseases.

Keywords: *Bipolaris*, *Curvularia*, *Exserohilum*, Leaf stripe disease, *Pyrenophora*

How to cite:

Dokhanchi H, Babai-Ahari A, Arzanlou M, Abed-Ashtiani F, 2022. Characterization of *Pyrenophora*, *Bipolaris*, *Curvularia* and *Exserohilum* species associated with leaf spot diseases on barley in East Azerbaijan province, using morphological and molecular data. *Journal of Applied Research in Plant Protection* 11 (1): 1–18.

مقدمه

جو *Hordeum vulgare* L. ssp. *vulgare* در برابر طیف وسیعی از عوامل بیماری‌زای گیاهی از قبیل باکتری‌ها، ویروس‌ها، نماتودها و قارچ‌ها حساس می‌باشد. شایع‌ترین بیماری‌های قارچی جو شامل سفیدک سطحی، زنگ، سیاهک، پوسیدگی بذر و ریشه، سوختگی برگ، لکه نواری، لکه برگ‌ریز، رامولاریایی، اسکالد جو و لکه توری می‌باشد (Gangwar et al. 2018). بیمارگرهای اندام‌های هوایی جو از مهمترین عوامل مخرب تولید محصول جو می‌باشند. این بیمارگرها نواحی سبز برگ را تخریب کرده و باعث محدود شدن توانایی گیاه جو در تشکیل و پر شدن دانه می‌گردند (Gangwar et al. 2018). از جمله آنها می‌توان به *Pyrenophora Rhynchosporium graminea* Ito & Kuribayashi، *graminicola* Heinsen ex A.B. Frank، *Wochenschr. Ramularia collo-* و *P. teres* f. sp. *teres* Drechsler، *Brauerei Walters et al.* (cygni B. Sutton & J.M. Waller) اشاره کرد (2012).

گونه‌های جنس *Pyrenophora* در اغلب مناطق کشت و پرورش جو از جمله ایران، باعث ایجاد خسارت اقتصادی می‌شوند. بیماری لکه نواری جو با عامل *P. graminea* به عنوان یکی از مهمترین بیماری‌های جو، باعث کاهش میزان تولید محصول در اکثر نقاط جهان می‌گردد. این بیماری در ایران، برای اولین بار در سال ۱۳۴۵ توسط شریف و ارشاد گزارش شده است (Ershad 2009). بیماری لکه نواری جو یک بیماری بذرزاد و تک چرخه‌ای می‌باشد و تقریباً در تمامی مناطق زیرکشت جو با ارقام زراعی متفاوت مشهود است (Gangwar et al. 2018). این بیماری در مزارعی که درصد بذرهای آلوده در آنها بالا می‌باشد باعث کاهش شدید محصول می‌گردد (Si et al. 2019). بیماری لکه برگ‌ریز (بلاچ برگ‌ریز) جو توسط گونه *P. teres* ایجاد می‌شود. این گونه دارای دارای دو فرم مخصوص به نام‌های *P. teres* f. sp. *teres* و *P. teres* f. sp. *maculata* می‌باشد که بر اساس ویژگی‌های ریخت‌شناختی از یکدیگر قابل تفکیک نمی‌باشند ولی از نظر ژنتیکی متمایز بوده و همچنین علائم متفاوتی روی میزبان ایجاد می‌کنند و بر اساس علائم روی میزبان قابل تشخیص هستند (Lammari et al. 2020). علائم ایجاد شده توسط *P. teres* f. sp. *teres* به فرم لکه‌های توری شکل می‌باشد (Net Form Net Blotch) و علائم ایجاد شده توسط *P. teres* f. sp. *maculata* به فرم لکه‌های می‌باشد (Spot Form Net).

Blotch). بیماری لکه توری اصولاً در جوهای پاییزه و در ارقام زراعی حساس تحت شرایط محیطی دیده می‌شود و در بسیاری از مناطق جهان گسترش دارد. این بیماری در مناطقی با آب و هوای مرطوب و بارانی (رطوبت ۱۰ ساعته یا بیشتر و دمای متوسط ۲۰-۱۵ درجه سلسیوس)، به فراوانی مشاهده می‌شود و باعث کاهش ۴۴-۱۰ درصدی محصول جو می‌گردد (Al-Daoude et al. 2012). دامنه میزبانی این گونه به طور کامل مورد بررسی قرار نگرفته است (Liu et al. 2011). عامل بیماری لکه قهوه‌ای جو قارچ *B. sorokiniana* به عنوان مهمترین پاتوژن قارچی بر روی جو توصیف شده است (Arabi & Jawhar 2004). این پاتوژن دامنه میزبانی وسیعی دارد و دارای توان بیمارگری متغیر در شرایط محیطی متفاوت می‌باشد. پاتوژنی بذرزاد و خاک‌زاد می‌باشد. باعث بلایت و سوختگی خوشه، بلایت دانه، بلایت و سوختگی ساقه، لکه برگ‌های قهوه‌ای به صورت نقطه‌ای، پوسیدگی معمولی ریشه و نقاط سیاه در دانه‌های گندم و جو و سایر گرامینه‌های وحشی می‌گردد (Kumar et al. 2002). این قارچ در مناطق گرم و مرطوب از تهدیدهای جدی بر روی محصولات زراعی از جمله گندم و جو محسوب می‌شود (Bovill et al. 2010). کاهش عملکرد ناشی از این بیماری بین ۱۶ تا ۳۳ درصد گزارش شده است (Gangwar et al. 2018; Iftikhar et al. 2009). قارچ عامل بیماری، ساپروفیت ضعیف در خاک بوده، بقایای گیاهی را مورد حمله قرار می‌دهد و به فراوانی در آنها اسپورزایی می‌کند. علاوه بر بیمارگرهای فوق، گونه‌های متعددی از جنس-های *Bipolaris*، *Curvularia* و *Exserohilum* از روی جو و دیگر گرامینه‌ها گزارش شده اند، با این وجود اهمیت اقتصادی این بیمارگرها ناشناخته باقی مانده است (Ahmadpour et al. 2012; Heidarian et al. 2016, 2020).

در سال‌های اخیر، بیماری‌های لکه برگ‌ریز جو مخصوصاً بیماری-های لکه نواری و لکه توری جو در مزارع استان آذربایجان شرقی شیوع بیشتری داشته است. با این وجود هویت گونه‌های قارچی مرتبط با این بیماری‌ها با استفاده از مفهوم تلفیقی گونه تعیین نشده است و اغلب گزارش‌ها تنها با اتکا به داده‌های ریخت‌شناختی می‌باشد. مطالعه حاضر با هدف ردیابی و شناسایی گونه‌های *Pyrenophora*، *Bipolaris*، *Curvularia* و *Exserohilum* مرتبط با لکه-برگی‌های جو در مزارع جو مناطق مختلف استان آذربایجان شرقی با استفاده از روش‌های ریخت‌شناختی و مولکولی اجرا گردید.

مواد و روش‌ها

نمونه‌برداری

نمونه‌برداری با توجه به تمرکز مزارع جو در استان آذربایجان- شرقی در سال‌های زراعی ۱۳۹۵ و ۱۳۹۶ به روش سلسله مراتبی (Hierarchical method) از مزارع جو دارای علائم لکه برگی صورت گرفت (McDonald *et al.* 1999). تعداد ۴۸۰ نمونه برگی جو از ۱۶ شهرستان استان (شامل آذرشهر، اسکو، اهر، بستان آباد، بناب، تبریز، جلفا، خداآفرین، شبستر، عجب شیر، کلیبر، مرند، ملکان، میانه، ورزقان و هریس) نمونه‌برداری صورت گرفت. اندام‌های گیاهی جمع‌آوری شده هرکدام در پاکت کاغذی جداگانه به آزمایشگاه منتقل شدند.

جداسازی و خالص‌سازی قارچ

جهت کشت و جداسازی عوامل بیماری از روش کشت مستقیم و روش اتاقک مرطوب استفاده شد. در روش کشت مستقیم، قطعاتی به ابعاد حدود 0.5×0.5 سانتی‌متر از بخش‌های آلوده بریده شد و در اتانول ۷۰ درصد به مدت ۱۵ ثانیه و سپس محلول هیپوکلریت سدیم یک درصد به مدت ۳۰ ثانیه قرار گرفت و سپس سه بار با آب مقطر سترون شستشو داده شد و با کاغذهای صافی سترون خشک شدند (Al-Daoude *et al.* 2012). تشک‌های پتری در تاریکی و در دمای ۲۵ درجه سلسیوس نگهداری و روزانه مورد بررسی قرار گرفتند. در روش اتاقک مرطوب نمونه‌های برگی با یا بدون ضدعفونی سطحی، در تشک‌های پتری حاوی کاغذ صافی استریل مرطوب شده با آب مقطر استریل قرار گرفتند و در تاریکی یا نور نزدیک به فرابنفش و در دمای ۲۵ درجه سلسیوس نگهداری شدند. نمونه‌ها بعد از ۲۴ ساعت جهت رشد عوامل بیماری مورد ارزیابی قرار گرفتند (Aminnejad *et al.* 2009).

جهت خالص‌سازی جدایه‌های قارچی، هیف‌های رشد کرده از قطعات بافتی، در داخل تشک‌های پتری حاوی PDA (Potato Dextrose Agar)، دوباره کشت داده شد و با روش تک کنیدیوم و یا روش نوک‌ریسه خالص‌سازی شدند. در این تحقیق تعداد ۴۶۲ جدایه قارچی نمونه‌های دارای لکه برگی با استفاده از کشت محل- های بین بافت سالم و آلوده برگ‌ها جداسازی گردید. جهت تحریک کنیدیوم‌زایی قارچ عامل بیماری لکه نواری جو، از روش‌های اتاقک مرطوب، محیط کشت BSEA (Barley Straw Extract Agar) و محیط کشت آگاردار استفاده شد (Aminnejad *et al.* 2009).

جدایه‌های خالص شده جهت انجام مراحل بعدی (شناسایی و تشخیص) به میکروتیوب‌های حاوی محیط کشت‌های آگاردار فقیر از نظر کربوهیدرات مانند آب-آگار با مقدار بسیار جزئی دکستروز و یا محیط PCA (Potato Carrot Agar) انتقال داده و در انکوباتور با دمای ۲۵ درجه سلسیوس نگهداری شدند. بعد از چند روز، لوله- های آزمایش با پارافیلیم مسدود شده و در یخچال با دمای حدود چهار درجه سلسیوس نگهداری شدند. کشت‌های خالص در کلکسیون کشت‌های زنده دانشگاه تبریز واقع در گروه گیاه‌پزشکی CCTU) نگهداری گردیدند.

شناسایی جدایه‌ها بر اساس صفات ریخت‌شناختی

برای بررسی ریخت‌شناختی و تاکسونومیکی جدایه‌ها، صفات ماکروسکوپی و میکروسکوپی از جمله رنگ و شکل پرگنه، ابعاد و رنگ کنیدیوم‌بر و منفرد یا مجتمع بودن آنها، طول، عرض و تعداد دیواره‌های عرضی کنیدیوم‌ها و نحوه جوانه‌زنی کنیدیوم‌ها مورد بررسی قرار گرفت (Sivanesan 1987; Ariyawansa *et al.* 2014; Marin-Felix *et al.* 2019; Marin-Felix *et al.* 2020). شکل و رنگ پرگنه بر اساس کشت‌های هفت روزه جدایه‌های قارچی بر روی محیط کشت PDA نگهداری شده در شرایط تاریکی و دمای ۲۴ درجه سلسیوس تعیین شد. از هرکدام از ساختارهای قارچی (کنیدیوم‌بر و کنیدیوم)، حداقل ۶۰-۵۰ عدد در چند نمونه مورد بررسی میکروسکوپی قرار گرفت. با استفاده از دوربین دیجیتال Olympus مدل DP 25 نصب شده روی میکروسکوپ Olympus-BX41 از صفات مذکور، عکس تهیه شد. همچنین از کلیدها و مقالات معتبر جهت شناسایی جدایه‌ها، مورد استفاده شد (Ellis 1971, 1976; Sivanesan 1987; Manamgoda *et al.* 2012; 2014, 2015; Marin-Felix *et al.* 2019; Marin-Felix *et al.* 2020).

شناسایی مولکولی جدایه‌ها

جدایه‌های قارچی در تشک‌های پتری حاوی محیط کشت PDA کشت شده و در تاریکی در دمای ۲۵ درجه سلسیوس به مدت هفت روز نگهداری شدند و پس از رشد کافی جهت استخراج DNA مورد استفاده قرار گرفتند. استخراج DNA با استفاده از روش Rapid Mini-Preparation انجام گردید (Zhong & Steffenson 2001). برای درک صحیح‌تر روابط بین گونه‌ها از اطلاعات تعیین توالی دو ناحیه ITS-rDNA با آغازگرهای ITS1

افزارهای MrBayes و (Nylander 2004) MrModeltest v.2.3 و (Ronquist & Huelsenbeck 2003) ver. 3.2.2 انجام گرفت.

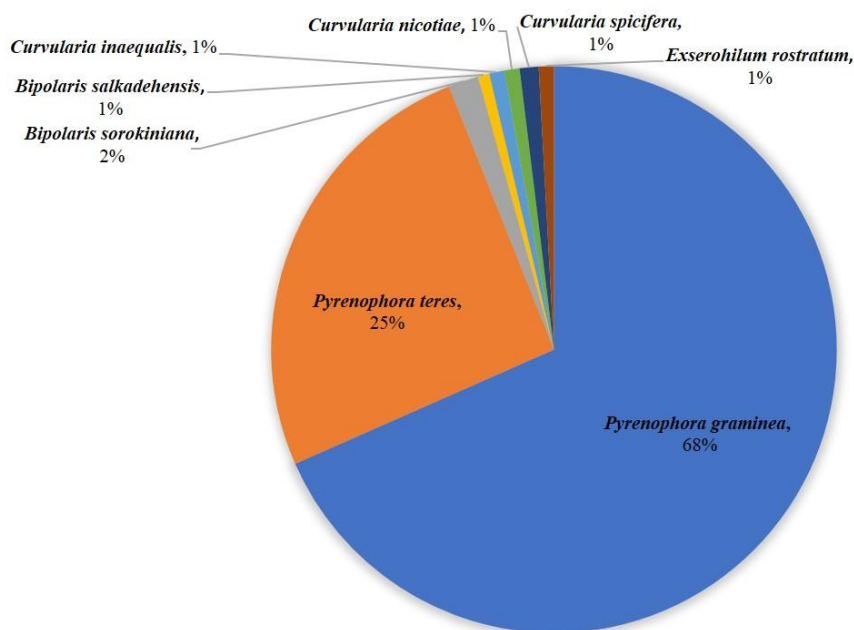
نتایج و بحث

در این تحقیق از تعداد ۴۸۰ نمونه جمع‌آوری شده، تعداد ۴۶۲ جدایه از جنس‌های *Pyrenophora*، *Bipolaris*، *Curvularia* و *Exserohilum* از مزارع جو استان آذربایجان شرقی مورد جداسازی و شناسایی قرار گرفتند. در برخی از نمونه‌های گیاهی هر دو گونه *P. teres* و *P. graminea* به صورت همزمان، جداسازی گردیدند. درصد فراوانی گونه‌های قارچی مرتبط با بیماری‌های لکه برگی جو شناسایی شده در این مطالعه در شکل ۱ نشان داده شده است. پراکنش گونه‌های قارچی جداسازی شده در این تحقیق در شکل ۲ نشان داده شده است، چنانکه در شکل دیده می‌شود، دو گونه *P. teres* و *P. graminea* پراکنش جغرافیایی گسترده‌تری دارند و در اغلب مناطق نمونه‌برداری شده حضور داشتند.

تجزیه و تحلیل فیلوژنتیکی جنس *Pyrenophora*

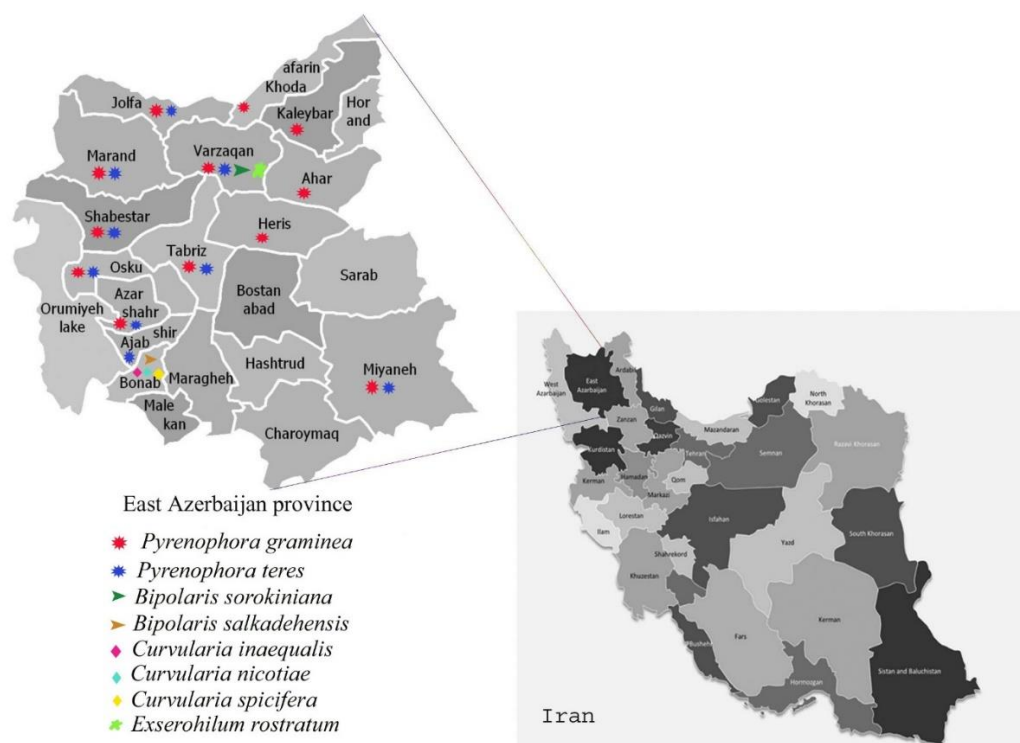
از مجموع ۴۶۲ جدایه بدست آمده، تعداد ۴۳۴ جدایه متعلق به جنس *Pyrenophora* بود. این جدایه‌ها بر اساس مطالعات ریخت‌شناختی، فیلوژنتیکی و استفاده از آغازگرهای اختصاصی گونه‌ها، به سه گونه تفکیک شدند. پس از شناسایی و گروه‌بندی ریخت‌شناختی جدایه‌ها، تعداد ۱۵ جدایه از تحقیق حاضر به عنوان جدایه‌های نماینده برای تکثیر و توالی‌یابی ناحیه ITS-rDNA و ناحیه ژنی *gpdh* برای تجزیه و تحلیل فیلوژنتیکی استفاده شد. درخت فیلوژنتیکی رسم شده بر اساس توالی ناحیه ژنی ITS به همراه ناحیه ژنی *gpdh* (با بهترین مدل جایگزینی GTR + G)، قادر به تفکیک گونه‌های *P. teres* و *P. graminea* نبود (شکل ۳). در تحقیق حاضر از صفات ریخت‌شناختی جهت شناسایی این دو گونه استفاده شد.

ITS4 و (TCCGTAGGTGAACCTGCGG) و (TCCTCCGCTTATTGATATGC) (White *et al.* 1990) و ژن *gpdh1* با آغازگرهای (CAACGGCTTCGGTTCGCATTG) و (GCCAAGCAGTTGGTTGTGC) (Berbee *et al.* 1999) استفاده شد. واکنش زنجیره پلی‌مرز جهت تکثیر ناحیه ITS-rDNA و *gpdh* در حجم نهایی ۵۰ میکرولیتر و در غلظت‌های استاندارد از اجزای واکنش شامل ۱۸ میکرولیتر آب دیونیزه، ۲۵ میکرولیتر مخلوط واکنش (Taq DNA Polymerase 2x Master Mix Red)، ۱/۵ میکرولیتر آغازگر مستقیم، ۱/۵ میکرولیتر آغازگر معکوس و چهار میکرولیتر DNA ژنومی، انجام شد. چرخه‌های حرارتی شامل یک چرخه واسرشت‌سازی اولیه به مدت دو دقیقه در ۹۴ درجه سلسیوس، ۳۵ چرخه واسرشت‌سازی در ۹۴ درجه سلسیوس به مدت ۶۰ ثانیه، اتصال آغازگر به ناحیه هدف در دمای اتصال مربوطه (۵۶-۵۷ درجه سلسیوس) به مدت ۴۰ ثانیه و گسترش در ۷۲ درجه سلسیوس به مدت ۵۰ ثانیه و نهایتاً یک چرخه بسط نهایی به مدت ۱۰ دقیقه در ۷۲ درجه سلسیوس را شامل شد. برای ارزیابی محصول واکنش زنجیره‌ای پلی‌مرز از تکنیک الکتروفرورز در ژل آگارز یک درصد استفاده شد. تعیین توالی نواحی حاصل از تکثیر ناحیه ژنی ITS-rDNA و *gpdh* توسط موسسه‌ی تحقیقاتی انستیتو پاستور ایران با استفاده از دستگاه Genetic Analyzer ساخت کمپانی ABI آمریکا صورت گرفت. توالی‌های نوکلئوتیدی با نرم‌افزار (Lasergene package, SeqMan DNASTar, Madison, USA) بررسی و ویرایش شد و سپس با استفاده از نرم‌افزار برخط بلاست با توالی‌های موجود در بانک ژن مقایسه شدند (<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/blast>). رج‌بندی توالی‌ها با استفاده از نرم‌افزار (MEGA7 Molecular Evolutionary Genetics Analysis) و (MAFFT Multiple Alignment using Fast Fourier Transform) انجام شد (Katoh & Standley 2013; Kumar *et al.* 2016). تعیین مدل و سپس ترسیم درخت تبارزایی به ترتیب با استفاده از نرم



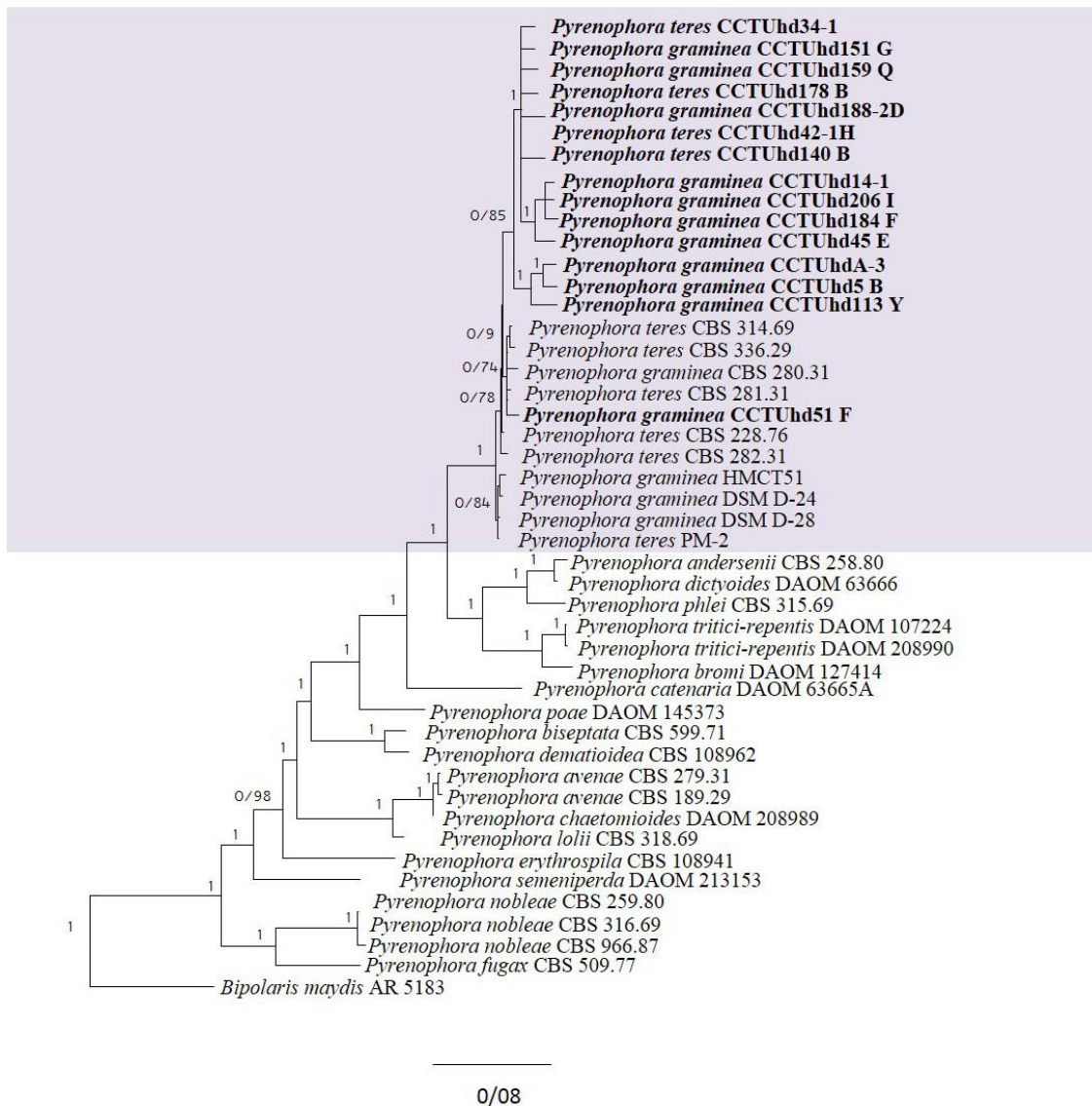
شکل ۱. درصد فراوانی گونه‌های قارچی مرتبط با بیماری‌های لکه برگ‌ی جو در استان آذربایجان شرقی.

Figure 1. Percentage frequency of fungal species associated with leaf spot diseases on barley in East Azerbaijan province.



شکل ۲. پراکنش گونه‌های قارچی مرتبط با بیماری‌های لکه برگ‌ی جو در مناطق مختلف استان آذربایجان شرقی.

Figure 2. Geographical distribution of fungal species associated with leaf spot diseases on barley in different regions of the East Azerbaijan province.



شکل ۳. تبارنمای حاصل از الحاق ناحیه ITS و ژن *gpdh* برای گونه‌های جنس *Pyrenophora*. مقیاس ۰/۰۸ تغییر مورد انتظار در هر مکان را نشان می‌دهد. گونه *Bipolaris maydis* (AR 5183) به عنوان آرایه استفاده شده است.

Figure 3. Phylogenetic tree based on a combined dataset of ITS and *gpdh* by Bayesian method for *Pyrenophora* species. The scale bar shows 0.08 expected changes per site. *Bipolaris maydis* (AR 5183) is used as outgroup.

دست شکل یا متراکم بوده و حاشیه آنها صاف و در بعضی از جدایه‌ها، حالت گل سرخی داشت. رنگ پرگنه قارچی در جدایه‌های مختلف بر روی محیط کشت PDA متفاوت بود و به رنگ‌های سفید مایل به خاکستری، خاکستری، سفید مایل به زیتونی، زیتونی، سفید مایل به قرمز، قهوه‌ای و قهوه‌ای مایل به سیاه بود. رنگ پرگنه در بیشتر جدایه‌های مورد بررسی ابتدا خاکستری تا زیتونی رنگ بود ولی به تدریج تیره‌تر شدند. کنیدیوم‌ها مستقیم و در بعضی موارد با خمیدگی‌های زانویی در قسمت انتها بود که به صورت منفرد

توصیف گونه‌های جنس *Pyrenophora*

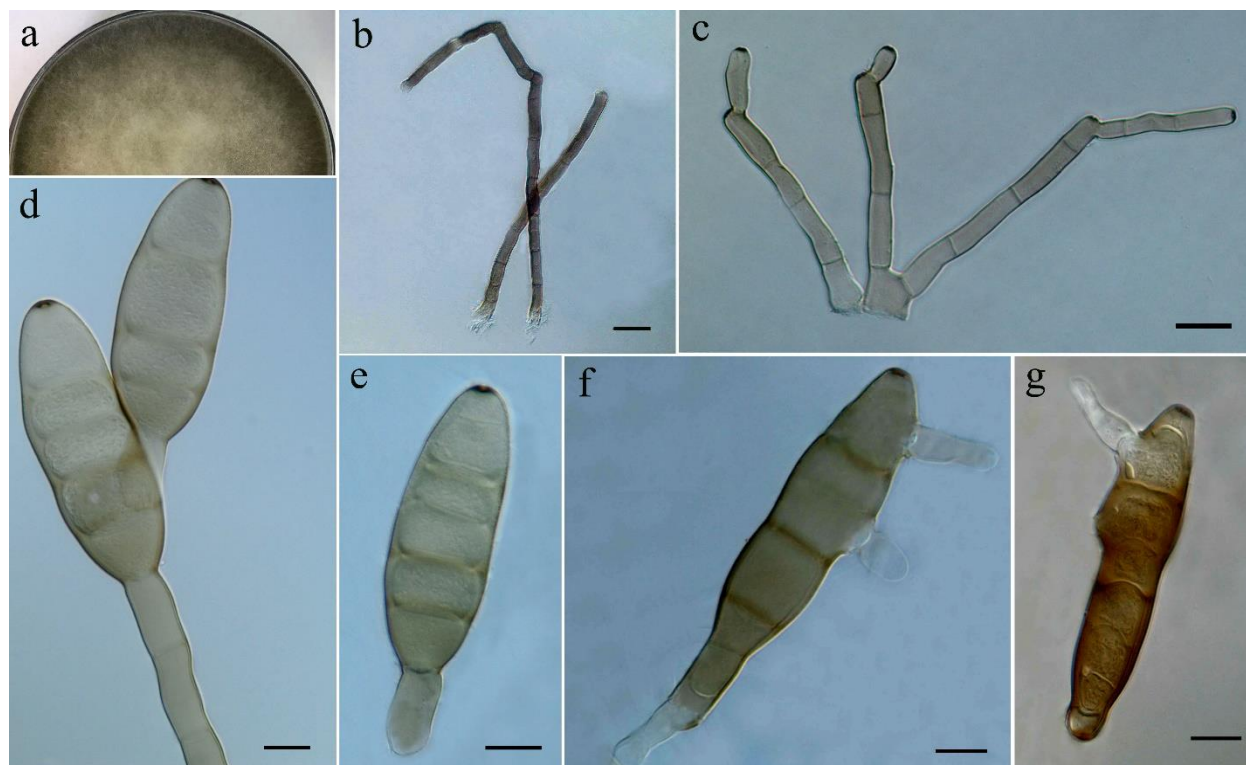
Pyrenophora graminea Ito & Kuribayashi 1931 [anamorph *Drechslera graminea* (Rabenh. Ex Schlecht.) Shoemaker 1930].

جدایه‌های این گونه به خوبی بر روی محیط غذایی PDA رشد کرد، اما ریخت‌شناختی پرگنه در جدایه‌های مختلف، متفاوت بود. میزان رشد پرگنه در جدایه‌های مختلف بر روی محیط کشت PDA بعد از هفت روز، در دمای ۲۵ درجه سلسیوس و شرایط تاریکی، به ۵-۹ سانتی‌متر رسید. پرگنه‌ها شامل میسلیم‌های هوایی یک

Calamagrostis epigeijs (L.) *A. sativa* L. *Avena fatua* L. *Cynosurus cristatus* L. *Critesion murinum* L. Roth *Hordeum* *Holcus lanatus* L. *Dactylis glomerata* L. *perenne* L. *Lolium* *H. sativum* K. Jess. *distichon* L. و *Triticum aestivum* L. از اکثر کشورهای جهان از جمله کشورهای نیوزلند، اسکاتلند، چین، تایوان، انگلیس، ازبکستان، دانمارک، مصر، لهستان و ایران گزارش شده است (Farr & Rossman 2020). این گیاهان وحشی ممکن است که به عنوان مخازنی برای حفظ و زنده مانی *P. graminea* در بازه‌های زمانی عدم دسترسی به گیاه جو تلقی شوند. این گونه از اکثر نقاط ایران نیز گزارش شده است (Ershad 2009). از تعداد ۳۱۶ جدایه بررسی شده در این مطالعه متعلق به گونه *P. graminea* بودند که از ۱۲ شهرستان استان آذربایجان شرقی شامل جلفا، کلبر، اهر، اسکو، خداآفرین، ورزقان، هریس، میانه، تبریز (مناطق سهلان، بارانلو و آریا دره‌سی)، شبستر، مرند، آذرشهر جمع‌آوری شدند.

یا در گروه‌های ۵-۲ تایی تشکیل شدند. کنیدیوم‌ها به طول تا ۲۵۰ میکرومتر و عرض ۹-۷ میکرومتر، به رنگ قهوه‌ای روشن تا قهوه‌ای تیره و دارای سلول پایه متورم بودند. کنیدیوم‌های ثانویه کوتاهی از سلول‌های انتهایی و جانبی کنیدیوم‌ها به وجود آمد که بر روی آنها کنیدیوم‌های ثانویه تشکیل شد و گاهی نیز به صورت زنجیره‌های کوتاهی بود. کنیدیوم‌ها مستقیم و به ندرت اندکی خمیده، استوانه‌ای با دو انتهای گرد یا بیضوی، به رنگ قهوه‌ای روشن تا قهوه‌ای طلایی و به صورت منفرد تا زنجیری تشکیل شدند. کنیدیوم‌ها دارای ۷-۱ دیواره عرضی کاذب بود و به طول ۷۰-۳۱ میکرومتر و عرض ۲۳-۶ میکرومتر بود (شکل ۴).

این گونه در گیاه جو عامل بیماری لکه نواری جو بوده و به صورت سیستمیک رشد می‌کند. یک بیماری بذرزاد و تک چرخه‌ای می‌باشد که باعث کاهش میزان تولید محصول در اکثر نقاط جهان می‌گردد. گونه *P. graminea* علاوه بر جو، بر روی سایر میزبان‌ها از جمله: *Alopecurus* L. *Agropyron repens* (L.) P. Beauv. *Arrhenatherum elatius* (L.) J. Presl & C. Presl *pratensis*



شکل ۴. ویژگی‌های ریخت‌شناختی گونه *Pyrenophora graminea*. a. پرگنه ۱۴ روزه بر روی محیط PDA، b-c. کنیدیوفورها، d-g. کنیدیوم‌ها (مقیاس b-c = ۲۰ میکرومتر، d-g = ۱۰ میکرومتر).

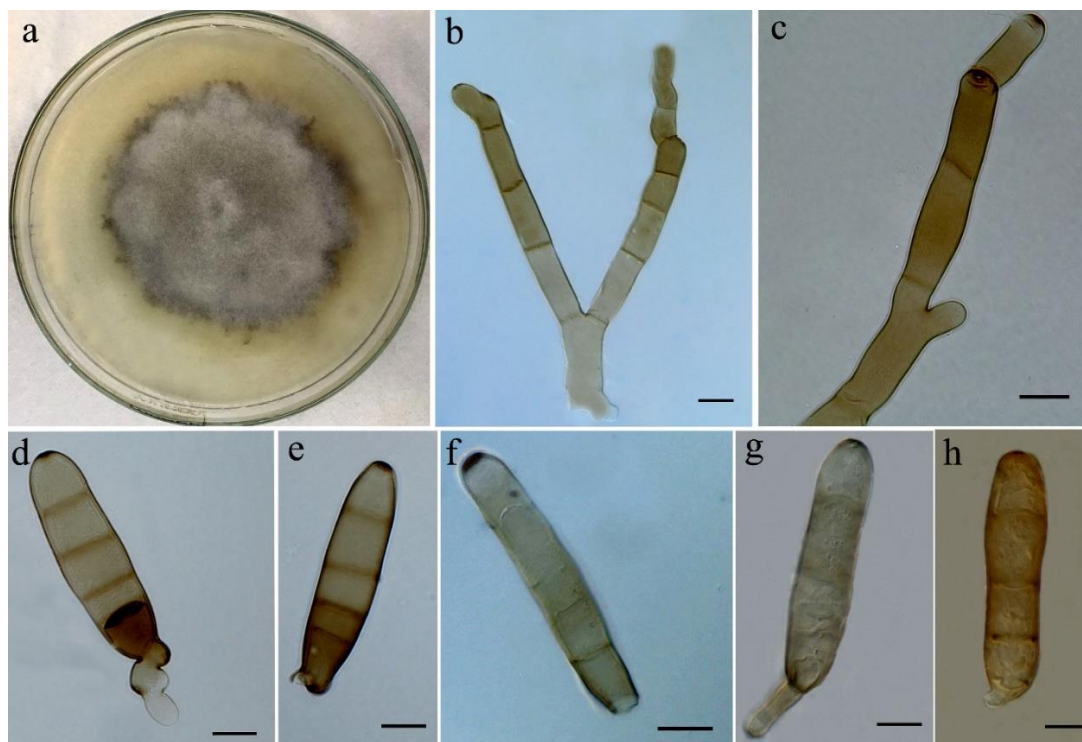
Figure 4. Morphological characteristics of *Pyrenophora teres*. a. Fourteen-day-old Colony on PDA, b-c. Conidiophores, d-g. Conidia (Scale Bars b-c= 20 µm, d-g=10µm).

این گونه، یک بیماری بذرزاد و چندچرخه‌ای می‌باشد که کنیدیوم و آسکوسپوره‌های آن توسط باد و ذرات آب انتقال می‌یابند. این گونه تاکنون از روی جو، همچنین از گیاهان *Avena sativa*، *Bromus*، *T. vulgare* (L.) Salisb.، *Triticum aestivum* H.، *Hordeum distichon*، *Critiesion murinum*، *diandrus* Roth H.، *H. leporinum* Link H.، *glaucum* Steud.، *sativum* H.، *murinum* Huds. و *Lolium multiflorum* Lam. از کشورهایی از جمله نیوزلند، اسکاتلند، استرالیا، کره، روسیه، کانادا، برزیل، کانادا، پاکستان و آرژانتین گزارش شده است (Farr & Rossman 2020). این گونه در ایران از دزفول، آذربایجان، تهران، قم، گرگان، ایلام، خراسان و مسجد سلیمان گزارش شده است (Ershad 2009). در تحقیق حاضر تعداد ۱۱۸ جدایه متعلق به *P. teres* بود. گونه *P. teres* از شهرستان‌های تبریز (مناطق بارانلو و سهلان)، شبستر (مناطق کندرود و کوزه کنان)، جلفا (منطقه اصلاندوز)، اسکو (منطقه خاصبان)، میانه، عجب شیر، ورزقان (سیلاب)، مرند (مناطق یامچی و باروج) و آذرشهر (منطقه ممقان) جداسازی گردید.

Pyrenophora teres Drechsler (anamorph *Drechslera teres* [Sacc.] Shoem.).

میزان رشد پرگنه بر روی محیط کشت PDA پس از هفت روز در دمای ۲۵ درجه سلسیوس و شرایط تاریکی، به ۷-۸ سانتی‌متر رسید. پرگنه‌ها شامل میسلیم‌های هوایی خاکستری رنگ، یک دست یا متراکم و حاشیه پرگنه صاف بود. رنگ پرگنه قارچی بر روی محیط کشت PDA سفید مایل به خاکستری رنگ تا خاکستری رنگ، قهوه‌ای روشن تا تیره رنگ بود. کنیدیوم‌برها راست تا موج‌دار و در بعضی موارد با خمیدگی‌های زانویی کوچک در قسمت انتها بود که به صورت منفرد یا در گروه‌های ۲-۳ تایی تشکیل شدند. کنیدیوم‌برها به طول ۱۵۰ میکرومتر و عرض ۷-۹ میکرومتر و به رنگ قهوه‌ای روشن تا قهوه‌ای مایل به زرد و دارای سلول پایه متورم بودند. کنیدیوم‌ها راست و استوانه‌ای با دو انتهای گرد یا بیضی، به رنگ قهوه‌ای روشن یا زیتونی تا قهوه‌ای مایل به زرد و گاهی، به صورت منفرد و در قسمت قاعده تا حدی متورم تشکیل شدند. کنیدیوم‌ها دارای ۷-۱ دیواره عرضی کاذب به طول ۹۰-۴۰ میکرومتر و عرض ۱۸-۸ میکرومتر و اندازه هیلوم ۳-۴ میکرومتر بود (شکل ۵).

دو گونه *P. teres* و *P. graminea* از نظر ویژگی‌های ریخت-شناختی شباهت دارند. گونه *P. teres* به دلیل عدم تولید زنجیره کنیدیومی و داشتن کنیدیوم‌های درازتر از *P. graminea* جدا می‌گردد.

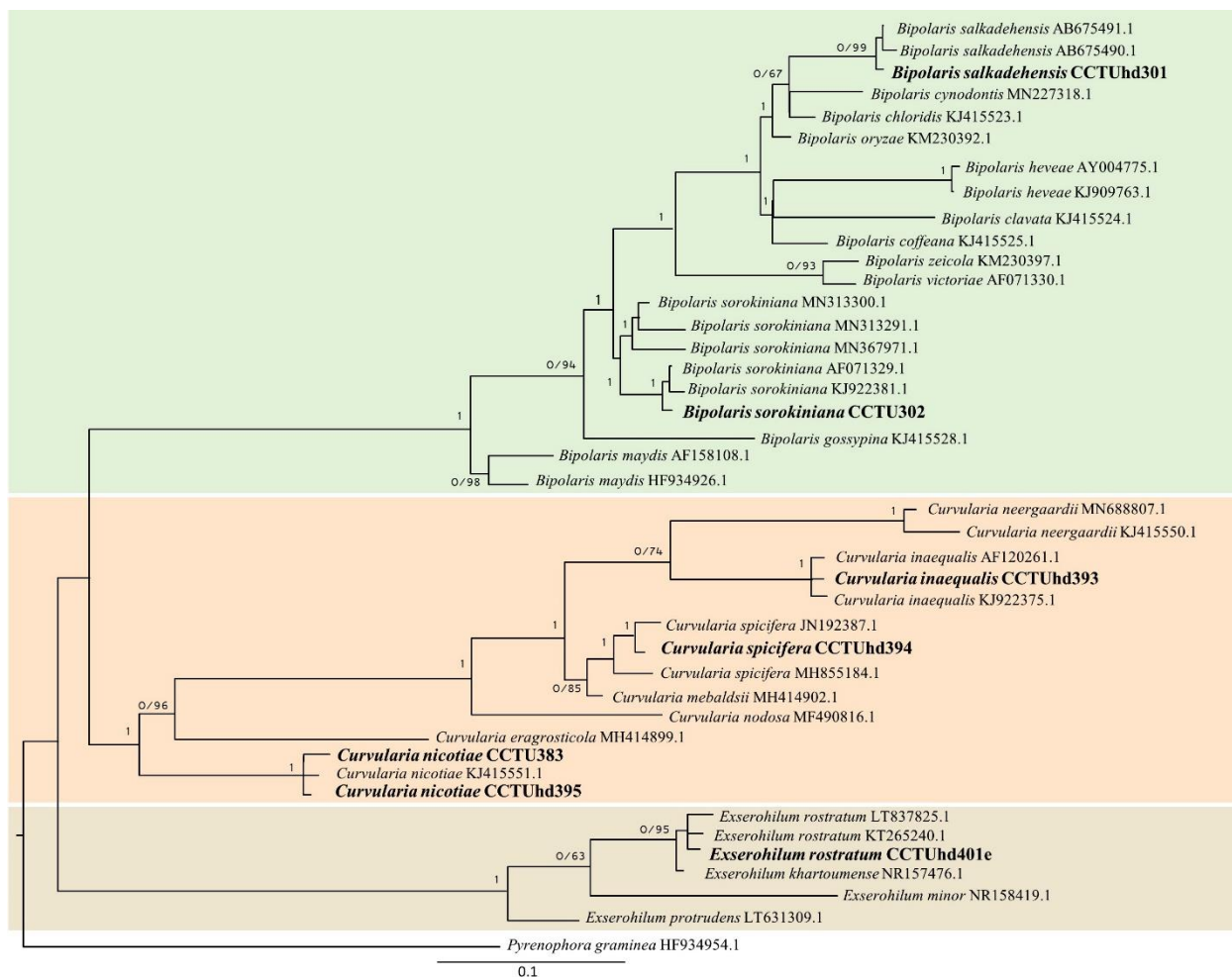


شکل ۵. ویژگی‌های ریخت‌شناختی گونه *Pyrenophora teres*: a. پرگنه ۱۴ روزه بر روی محیط PDA، b-c. کنیدیوفورها، d-h. کنیدیوم‌ها (مقیاس b= ۲۰ میکرومتر، c-h= ۱۰ میکرومتر).

Figure 5. Morphological characteristics of *Pyrenophora teres*. a. Fourteen-day-old Colony on PDA, b-c. Conidiophores, d-h. Conidia (Scale Bars b= 20 μ m, c-h=10 μ m).

بیژین صورت گرفت. بر اساس نتایج نرم‌افزار مدل تست، بهترین مدل جایگزینی JC + G بود. بر اساس نتایج حاصل از آزمون مشابهت یابی و درخت فیلوژنتیکی جدایه‌های جنس *Bipolaris* این تحقیق در دو گونه شناخته شده *B. sorokiniana* و *B. salkadehensis* جدایه‌های جنس *Curvularia* در سه گونه شناخته شده *C. inaequalis*، *C. spicifera* و *C. nicotiae* و جدایه جنس *Exserohilum* در گونه *E. rostratum* قرار گرفتند (شکل ۶).

تجزیه و تحلیل فیلوژنتیکی جنس *Bipolaris* و *Curvularia* در تحقیق حاضر، از تعداد ۴۶۲ جدایه به دست آمده ۱۱ جدایه متعلق به جنس *Bipolaris*، ۱۳ جدایه متعلق به جنس *Curvularia* و چهار جدایه متعلق به جنس *Exserohilum* بود که بر اساس نتایج حاصل از تلفیق مطالعات ریخت‌شناختی و فیلوژنتیکی مورد شناسایی قرار گرفتند. تکثیر و توالی‌یابی ناحیه ITS-rDNA برای دو جدایه منتخب جنس *Bipolaris*، چهار جدایه منتخب جنس *Curvularia* و یک جدایه منتخب جنس *Exserohilum* انجام شد. رسم درخت فیلوژنتیکی با روش



شکل ۶. تبارنمای رسم شده بر اساس توالی ناحیه ITS به روش بیژینی برای گونه‌های جنس *Bipolaris*، *Curvularia* و *Exserohilum* مقیاس ۰/۱ تغییر مورد انتظار در هر مکان را نشان می‌دهد. گونه *Pyrenophora graminea* (HF 93495.1) به عنوان آرایه خارجی استفاده شده است.

Figure 6. Phylogenetic tree based on nucleotide sequences of ITS region by Bayesian method for *Bipolaris*, *Curvularia* and *Exserohilum* species. The scale bar shows 0.1 expected changes per site. *Pyrenophora graminea* (HF 93495.1) is used as outgroup.

گونه *B. sorokiniana* عامل سوختگی برگ، پوسیدگی طوقه، پژمردگی گیاهچه، سوختگی میان‌گره‌ها و سنبله و نیز عامل نقطه سیاه دانه گندم می‌باشد (Duveiller & Gilchrist 1994). این بیمارگر در مناطق مختلف گرمسیری مانند شرق بنگلادش، برزیل، هند و نپال به عنوان مهم‌ترین عامل بیمارگر گندم شناخته شده است (Kumar et al. 2002). این گونه عامل پوسیدگی ریشه و طوقه گندم در ایران می‌باشد و خسارت قابل توجهی را به این محصول وارد می‌کند (Ershad 2009; Abbasi & Aliabadi 2009). این گونه دارای دامنه میزبانی وسیع و قدرت بیماری‌زایی و تهاجمی متنوعی بر روی میزبان‌های مختلف می‌باشند. جداسازی این گونه از روی

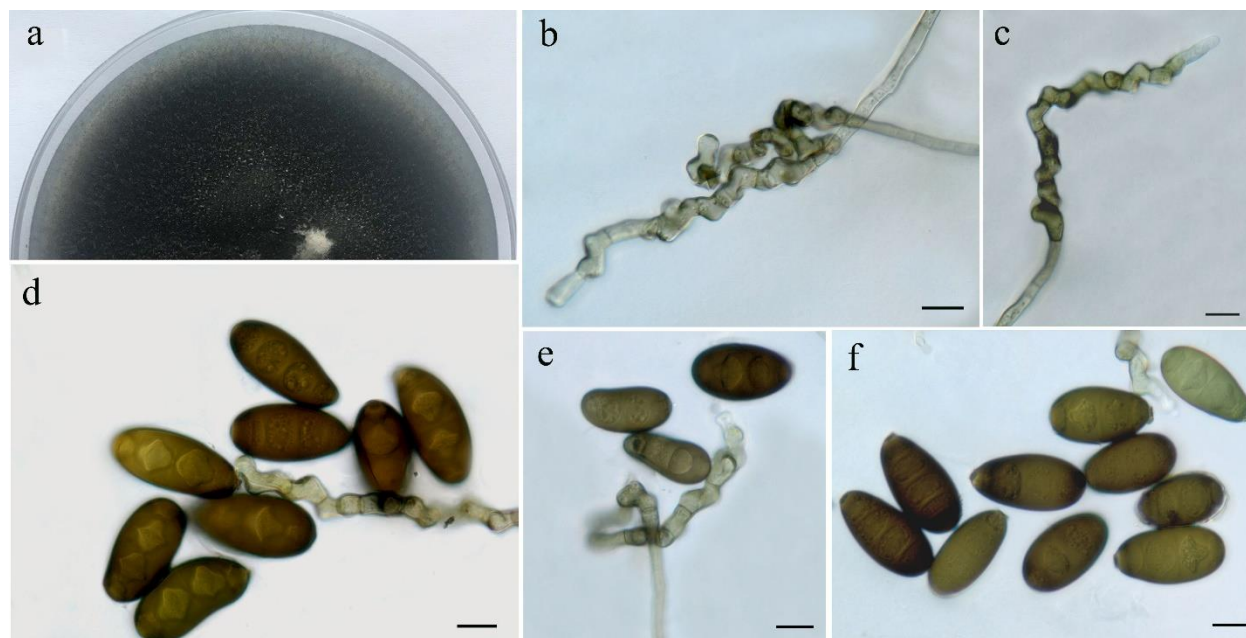
توصیف گونه‌های جنس *Bipolaris*

Bipolaris sorokiniana (Sacc.) Shoemaker, Canadian Journal of Botany 37 (5): 884 (1959).

پرگنه قارچ در محیط کشت PDA و دمای ۲۵ درجه سلسیوس بعد از گذشت هفت روز به صورت نامنظم و دارای حاشیه موج‌دار و به رنگ قهوه‌ای تیره بود. کنیدیوم‌ها بدون انشعاب، غالباً منفرد و گاهی در دسته‌های کوچک، به صورت زانویی شکل و به طول ۲۰۰-۵۰ و عرض ۷-۴ میکرومتر بود. کنیدیوم‌ها کشیده، اغلب راست و یا نسبتاً خمیده، دوکی شکل تا بیضوی دارای نوک باریک، به رنگ قهوه‌ای تیره، دارای ۸-۴ دیواره عرضی کاذب به طول ۱۱۰-۶۰ و عرض ۲۹-۱۵ میکرومتر بودند (شکل ۷).

حاضر هشت جدایه از گونه *B. sorokiniana* از مزارع جو از منطقه خاراوانا ورزقان جداسازی شد.

گیاهان میزبان دو لپهای نیز گزارش شده است (Abbasi & Aliabadi 2009). این گونه بر روی جو از کشورهای مختلفی از جمله استرالیا، کالیفرنیا، کانادا، آلمان، هند، چین، نیوزلند، برزیل و مصر گزارش شده است (Farr & Rossman 2020). در تحقیق



شکل ۷. ویژگی‌های ریخت‌شناختی گونه *Bipolaris sorokiniana*: a. پرگنه ۱۴ روزه در محیط کشت PDA، b-c. کنیدیوفور، d-f. کنیدیوم‌ها. (مقیاس b-f = ۱۰ میکرومتر).

Figure 7. Morphological characteristics of *Bipolaris sorokiniana*. a. Fourteen-day-old Colony on PDA, b-c. Conidiophores, d-f. Conidia (Scale Bars b-f= 10µm).

به *B. salkadehensis* می‌باشد. در گونه‌های *B. cynodontis* و *B. setariae* یاخته‌های انتهایی کنیدیوم‌ها فاقد دیواره تیره‌تر و ضخیم‌تر هستند و گونه *B. fusca* با داشتن کنیدیوم‌های کوتاه‌تر و عریض‌تر از گونه *B. salkadehensis* متمایز می‌گردد (Ahmadpour et al. 2012).

این گونه اولین بار در ایران از استان آذربایجان غربی و از روی گیاهان *Cladium mariscus* و *Sparganium erectum* Wahlenb. (L.) Pohl گزارش شده است و همچنین از سایر گونه‌های گیاهی شامل *Echinochloa*، *Festuca* sp.، *Sorghum halepense* Pers.، *Setaria* sp.، *Phleum* sp.، *Carex* sp.، *Bromus* sp.، *Arundo* و *Phalaris canariensis* Brot.، *Hordeum vulgare* Ahmadpour et al. 2012;) گزارش شده است (Heidarian 2017). در تحقیق حاضر تعداد سه جدایه از گونه *B. salkadehensis* از مزارع جو از منطقه بناب، جداسازی شد.

Bipolaris salkadehensis Ahmadpour & Heidarian, Mycotaxon 120: 302 (2012).

پرگنه قارچ در محیط کشت PDA در دمای ۲۵ درجه سلسیوس و پس از گذشت هفت روز به رنگ قهوه‌ای زیتونی تا خاکستری تیره بود. کنیدیوم‌ها در پایه متورم، به صورت منفرد یا دسته‌ای و به رنگ قهوه‌ای روشن تا قهوه‌ای تیره به طول ۳۶۰-۲۵۰ و عرض ۶-۴ میکرومتر بود. کنیدیوم‌ها به شکل استوانه‌ای تا دوکی‌شکل و گاهی چماقی معکوس تا چماقی شکل، اغلب راست و به ندرت خمیده، دارای ۴-۸ دیواره عرضی کاذب بود. کنیدیوم‌ها به طول ۵۵-۳۲ و عرض ۱۴-۱۰ میکرومتر و به رنگ قهوه‌ای روشن تا تیره بود. یک یا دو یاخته انتهایی کنیدیوم‌ها گاهی دارای دیواره تیره‌تر و ضخیم‌تر بود (شکل ۸).

گونه‌های *B. (Marignoni)* Shoemaker, Canad. J. Bot.، *B. setariae* (Sawada) Shoemaker, Canad. J. Bot.، *B. cynodontis* و *B. fusca* Y.L. Jiang & T.Y. Zhang نزدیکترین گونه‌ها



شکل ۸. ویژگی‌های ریخت‌شناختی گونه *Bipolaris salkadehensis*: a. پرگنه ۱۴ روزه در محیط کشت PDA، b. کنیدیوفر، c-f. کنیدیوم‌ها (مقیاس ۱۰=۵-۶ میکرومتر).

Figure 8. Morphological characteristics of *Bipolaris salkadehensis*. a. Fourteen-day-old Colony on PDA, b. Conidiophores c-f. Conidia (Scale Bars b-f = 10µm).

C. geniculata تقریباً یکسان بوده اما کنیدیوم‌ها در *C. geniculata* خمیده و زانویی و در *C. inaequalis* راست یا اندکی خمیده می‌باشند. کنیدیوم‌های *C. inaequalis* نسبت به *C. affinis* عریض‌تر و نسبت به دوگونه *C. fallax* و *C. senegalensis* درازتر می‌باشند. کنیدیوم‌های راست یا اندکی خمیده و با سلول میانی درازتر از ویژگی‌های ریخت‌شناختی گونه *C. inaequalis* می‌باشد (Sun et al. 2003; Heidarian 2017; Marin-Felix et al. 2020).

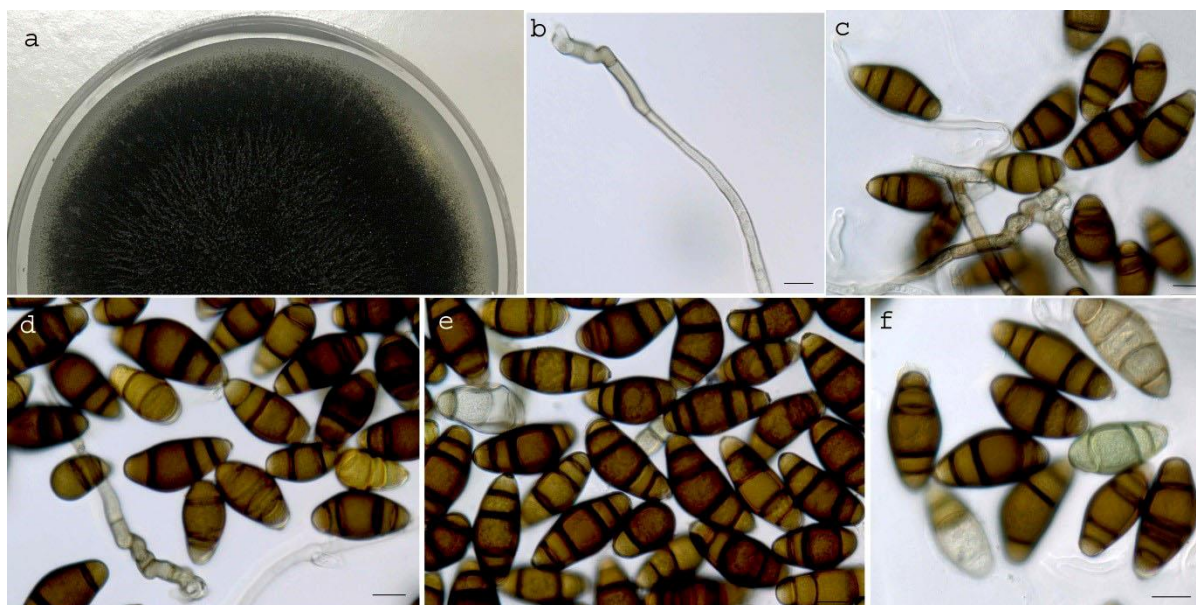
این گونه دامنه میزبانی وسیعی دارد و از مناطق مختلفی از دنیا گزارش شده است. این گونه در ایران از روی گیاهان *Oryza sativa*, *Festuca elatior* Ucria, *Hordeum vulgare*, *Secale cereale* M.Bieb., *Pistacia vera* Mill., Hochst., *Agropyron repens*, *Zea mays* L., *Gossypium hirsutum* Cav., *Lolium*, *Phalaris minor* Retz., *Arachis hypogaea* L. گزارش شده است (Ershad 2009; Ahmadpour et al. 2011). در تحقیق حاضر تعداد چهار جدایه از گونه *C. inaequalis* از مزارع جو از منطقه بناب جداسازی شد.

توصیف گونه‌های جنس *Curvularia*

Curvularia inaequalis (Shear) Boedijn, Bulletin of the Torrey Botanical Club 34: 305 (1907).

پرگنه قارچ در محیط کشت PDA، دمای ۲۵ درجه سلسیوس و پس از گذشت هفت روز به رنگ قهوه‌ای اغلب متحدالمرکز با حاشیه موج‌دار بود. کنیدیوم‌ها به صورت منفرد یا گروهی، در قسمت پایه متورم، ساده یا دارای انشعاب، اغلب در انتها زانویی و به رنگ قهوه‌ای به طول تا ۲۰۰ میکرومتر و عرض ۴-۵ میکرومتر بود. کنیدیوم‌ها راست یا کمی خمیده و اغلب دارای چهار دیواره عرضی (به ندرت سه دیواره عرضی) به رنگ قهوه‌ای تا قهوه‌ای تیره به طول ۲۰-۳۳ و عرض ۱۵-۱۰ میکرومتر بود. سلول میانی کنیدیوم‌ها درازتر از سایر سلول‌ها، دو سلول انتهایی روشن‌تر بود (شکل ۹).

گونه *C. inaequalis* از لحاظ ویژگی‌های ریخت‌شناختی به گونه‌های *C. geniculata*, *C. affinis* Boedijn, *C. fallax* Boedijn (Tracy et Earle) و *C. senegalensis* (Speg.) C.V. شباهت بسیاری دارد. تمام این گونه‌ها دارای کنیدیوم‌هایی با چهار دیواره عرضی (به ندرت پنج دیواره عرضی) و با سلول میانی تیره‌تر می‌باشند. ابعاد کنیدیوم در دو گونه *C. inaequalis* و



شکل ۹. ویژگی‌های ریخت‌شناختی گونه *Curvularia inaequalis*: a. پرگنه ۱۴ روزه در محیط کشت PDA، b. کنیدیوم‌بر، c-f. کنیدیوم‌ها (مقیاس b-f = ۱۰ میکرومتر).

Figure 9. Morphological characteristics of *Curvularia inaequalis*. a. Fourteen-day-old Colony on PDA, b. Conidiophore c-f. Conidia (Scale Bars b-f = 10μm).

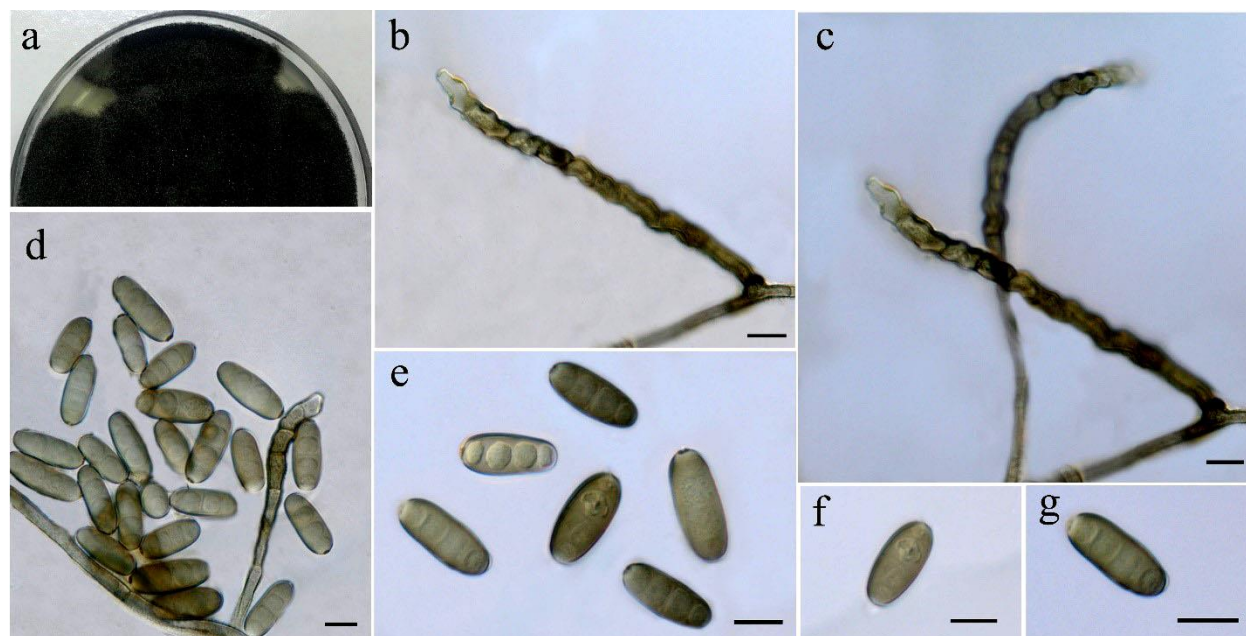
کنیدیوم‌ها (۶-۱۱ میکرومتر) از گونه *C. spicifera* متمایز می‌گردد (Sivanesan 1987).

این گونه دامنه میزبانی وسیعی دارد که از میزبان‌های گیاهی مختلف، هوا و خاک جداسازی شده است. گونه‌ای همه جازی بوده و دارای فراوانی و گسترش زیادی در کشورهای گرمسیری و نیمه گرمسیری می‌باشد. این گونه تاکنون در مناطق مختلفی از جمله آمریکا (مکزیک و آرژانتین)، اروپا (یونان)، آسیا (هند، عراق، پاکستان، چین و ایران) و آفریقا (مصر و مراکش) گزارش شده است (Farr & Rossman 2020) و به عنوان عامل سوختگی برگ و ایجاد لکه برگی روی برخی میزبان‌ها و همچنین پوسیدگی نرم روی برخی میوه‌ها شناخته می‌شود. در تحقیق حاضر تعداد پنج جدایه از گونه *C. spicifera* از مزارع جو از منطقه بناب، جداسازی شد.

Curvularia spicifera (Bainier) Boedijn, Bull. Soc. Mycol. Fr. 24: 81 (1909)

پرگنه قارچ در محیط کشت PDA در دمای ۲۵ درجه سلسیوس و پس از گذشت هفت روز به رنگ زیتونی تیره بود. کنیدیوم‌برها منفرد و یا به صورت گروهی و در دسته‌های کوچک به رنگ قهوه‌ای تا قهوه‌ای تیره، به طول ۸۲-۲۱۰ و عرض ۳-۶ میکرومتر بود. کنیدیوم‌ها راست، استوانه‌ای به رنگ قهوه‌ای تیره و دارای سه دیواره عرضی کاذب (به ندرت دارای دو دیواره عرضی کاذب) به طول ۱۷-۳۰ و عرض ۷-۱۱ میکرومتر بود (شکل ۱۰).

نزدیکترین گونه به *C. spicifera* گونه *C. australiensis* (Bugnic. ex M.B. Ellis) Manamgoda, L. Cai & K.D. Hyde با توجه به رنگ روشن، تعداد دیواره عرضی کاذب (۳) و عرض



شکل ۱۰. ویژگی‌های ریخت‌شناختی گونه *Curvularia spicifera*: a. پرگنه ۱۴ روزه در محیط کشت PDA، b-d. کنیدی‌فر، e-g. کنیدیوم‌ها (مقیاس b-g= ۱۰ میکرومتر).

Figure 10. Morphological characteristics of *Curvularia spicifera*. a. Fourteen-day-old Colony on PDA, b-d. Conidiophores, e-g. Conidia (Scale Bars b-g= 10μm).

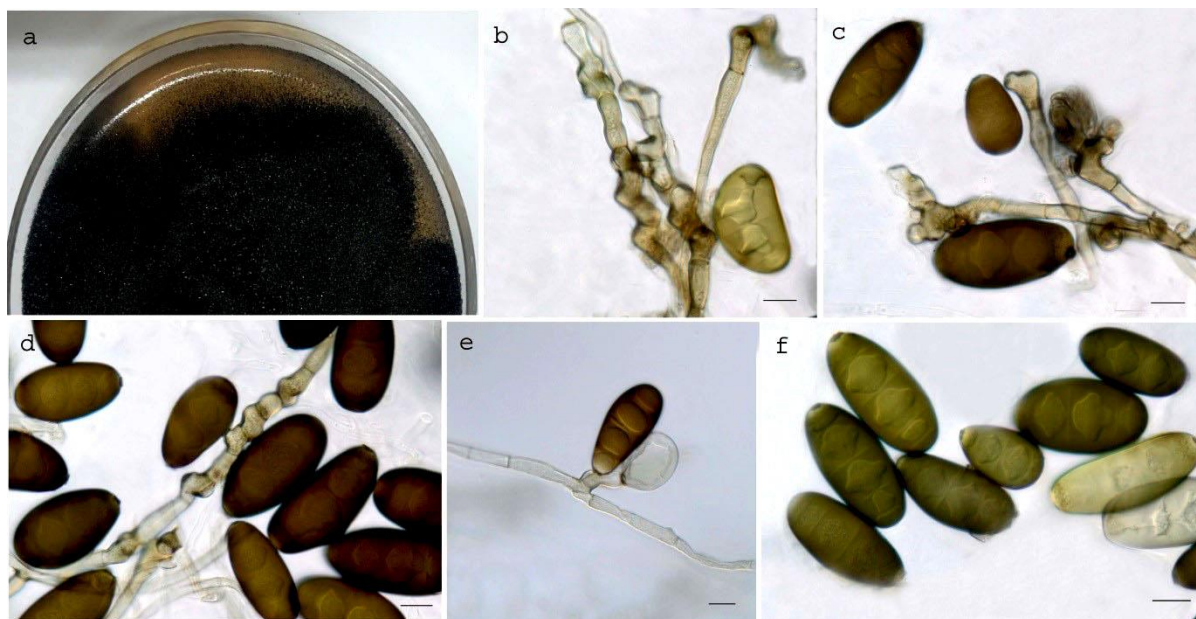
کوتاه‌تر و باریک‌تر (به طول ۳۰-۱۹ و عرض ۱۸-۱۵ میکرومتر) و همچنین تعداد دیواره عرضی کاذب کمتر (۳-۲ دیواره عرضی کاذب) از گونه *C. nicotiae* قابل تمایز است (Sivanesan 1987; Manamgoda et al. 2015; Heidarian et al. 2020).

این گونه تاکنون از چین و الجزایر از خاک و گیاه *Malva sylvestris* گزارش شده است (Farr & Rossman 2020). این گونه در ایران از روی گیاه *Sorghum halepense*، *Glycine max*، *Oryza sativa*، *Hordeum vulgare* و خاک گزارش شده است (Ershad 2009; Heidarian et al. 2020). در تحقیق حاضر تعداد چهار جدایه از گونه *C. nicotiae* از مزارع جو از منطقه بناب، جداسازی شد.

Curvularia nicotiae (Mouch.) Y.P. Tan & R.G. Shivas, Australasian Plant Pathology 43 (6): 600 (2014).

پرگنه قارچ در محیط کشت PDA در دمای ۲۵ درجه سلسیوس پس از گذشت هفت روز به رنگ قهوه‌ای تیره تا قهوه‌ای زیتونی بود. کنیدیوم‌ها به صورت منفرد و گروهی در دسته‌های کوچک به طول تا ۲۳۰ میکرومتر و عرض ۴-۵ میکرومتر بود. رنگ کنیدیوم‌ها قهوه‌ای رنگ که به طرف انتها کم‌رنگ‌تر بود. کنیدیوم‌ها راست، بیضی شکل یا استوانه‌ای به رنگ قهوه‌ای روشن تا قهوه‌ای به طول ۴۴-۲۲ و عرض ۲۱-۱۵ میکرومتر بود. دارای ۴-۳ دیواره عرضی کاذب و هیلوم مشخص بود (شکل ۱۱).

نزدیکترین گونه از لحاظ ریخت‌شناختی به گونه *C. nicotiae* گونه *C. neergaardii* (Danquah) Y.P. Tan & R.G. Shivas. می‌باشند. گونه *C. neergaardii* از لحاظ دارا بودن کنیدیوم‌های



شکل ۱۱. ویژگی‌های ریخت‌شناختی گونه *Curvularia nicotiae*: a. پرگنه ۱۴ روزه در محیط کشت PDA، b-e. کنیدیوم‌ها، f. کنیدیوم‌ها (مقیاس ۱۰= میکرومتر).

Figure 11. Morphological characteristics of *Curvularia nicotiae*. a. Fourteen-day-old Colony on PDA, b-e. Conidiophores, f. Conidia (Scale Bars b-f = 10μm).

این گونه نخستین بار توسط Drechsler در سال ۱۹۳۲ به عنوان عامل لکه برگ *Eragrostis major* Hack. گزارش شده است. گونه *E. rostratum* باعث لکه برگ و پوسیدگی پایه گندم، پوسیدگی بذر مرغ، پوسیدگی ساقه ذرت، لکه برگ موز و بیماری‌های زیادی بر روی گیاهان مختلف می‌شود (Hernández- Restrepo et al. 2018). این گونه دامنه میزبانی زیادی دارد و توسط Heidarian et al. (2016) از روی *Aloe vera* (L.) Burm.f. و *Sorghum halepense* (L.) Moench، *Oryza sativa* و *Saccharum officinarum* L. و *Hordeum vulgare* به عنوان میزبان‌های جدید این گونه از ایران شناسایی شده است. در تحقیق حاضر تعداد چهار جدایه از گونه *E. rostratum* از مزارع جو از منطقه خاراوانا، ورزقان، جداسازی شد.

بحث

در این تحقیق با در نظر گرفتن علایم لکه برگ در مزارع جو، از مناطق تحت کشت جو در استان آذربایجان شرقی نمونه‌برداری صورت گرفت. خالص‌سازی بر اساس روش‌های نوک ریشه و تک اسپور صورت گرفت. برای شناسایی جدایه‌ها، ویژگی‌های ریخت-شناختی و داده‌های توالی ناحیه ITS1-5.8S-ITA2 و *gpdh* (در

توصیف گونه‌های جنس *Exserohilum*

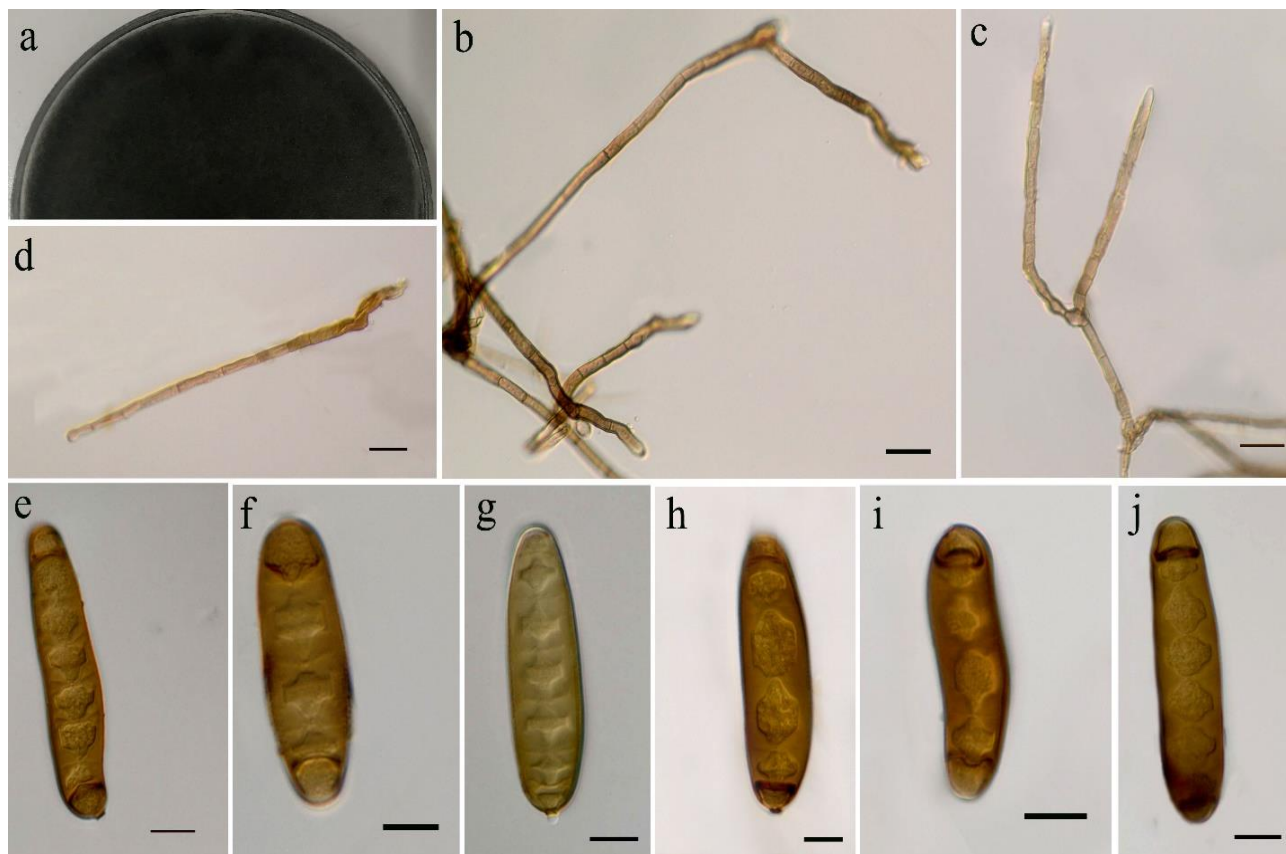
Exserohilum rostratum (Drechsler) K.J. Leonard & Suggs, Mycologia 66: 290 (1974).

پرگنه قارچ در محیط کشت PDA در دمای ۲۵ درجه سلسیوس پس از گذشت هفت روز به رنگ زیتونی و با حاشیه منظم بود. کنیدیوم‌ها ساده و دارای پایه متورم، به صورت منفرد تا گروهی بود. رنگ کنیدیوم‌ها قهوه‌ای تیره که به سمت انتها روشن‌تر شده و به طول ۵۰۰-۲۵۰ و عرض ۸-۳ میکرومتر بود. کنیدیوم‌ها بیضوی شکل تا چماقی معکوس، منقاری، راست تا کمی خمیده به رنگ قهوه‌ای یا قهوه‌ای روشن، دارای ۱۰-۷ دیواره عرضی کاذب بود. سلول انتهایی کنیدیوم دارای دیواره ضخیم و تیره و به طول ۸۰-۴۴ و عرض ۱۲-۸ میکرومتر بود (شکل ۱۲).

بر اساس مطالعات فیلوژنتیکی اخیرا گونه‌های *E. antillanum*، *E. gedarefense* (El Shafie), R.F. Castañeda, Guarro & Cano، *E. longirostratum* (Subram.) Sivan., Trans. Brit.، Alcorn، *E. prolatum* K.J.، *E. macginnisii* A.A. Padhye & Ajello، *Helminthosporium leptochloae* Y. و Leonard & Suggs، *E. rostratum* به عنوان مترادف Nisik. & C. Miyake, Ber. معرفی شده است (Hernández-Restrepo et al. 2018).

جدایه های مورد شناسایی از گیاه جو شامل *Bipolaris C. Curvularia inaequalis*, *B. salkadehensis*, *sorokinana* و *C. nicotiae*, *spicifera* با فراوانی کمتر گزارش گردید.

مورد جدایه‌های متعلق به جنس *Pyrenophora* مورد استفاده قرار گرفت. در نهایت ۸ گونه قارچی متعلق به جنس‌های *Pyrenophora*، *Curvularia*، *Bipolaris* و *Exserohilum* مورد شناسایی قرار گرفت. از مجموع ۴۶۲ جدایه شناسایی شده، *P. graminea* با ۳۱۶ جدایه و *P. teres* با ۱۱۸ جدایه از فراوانی بیشتری برخوردار بودند. سایر



شکل ۱۲. ویژگی‌های ریخت‌شناختی گونه *Exserohilum rostratum*: a. پرگنه ۱۴ روزه در محیط کشت PDA، b-d. کنیدی‌بر، e-j. کنیدیوم‌ها (مقیاس-b=۲۰ میکرومتر، e-j=۱۰ میکرومتر).

Figure 12. Morphological characteristics of *Exserohilum rostratum*. a. Fourteen-day-old Colony on PDA, b-c. Conidiophores, e-j. Conidia (Scale Bars b-d= 20μm, e-j= 10 μm).

Jalli et al. (2011) در مطالعه‌ای به منظور ارزیابی فراوانی عوامل لکه برگی جو، طی ۴۰ سال (۱۹۷۱-۲۰۰۹) در مزارع فنلاند، سه پاتوژن قارچی *P. teres*، *B. sorokiniana* و *R. graminicola* را به عنوان عوامل لکه برگی با بیشترین میزان فراوانی گزارش نمودند. به‌طوری که میزان آلودگی مزارع جو به *P. teres* طی ۴۰ سال از ۶۰ درصد به ۸۶ درصد، *B. sorokiniana* از ۳۰ درصد به ۹۰ درصد و *R. graminicola* از ۳۰ درصد به ۵۲ درصد افزایش یافته بود. درمقابل فراوانی گونه *P. graminea* در طی ۴۰ سال از

از میان گونه‌های شناسایی شده، گونه *P. graminea* به عنوان عامل بیماری لکه نواری جو شناخته می‌شود و از این جهت می‌توان به عنوان مهمترین عامل تهدیدزا در کاهش محصول و افزایش خسارت در مزارع جو در استان آذربایجان شرقی تلقی کرد. دو گونه *P. graminea* و *P. teres* به ترتیب با فراوانی ۶۸/۴ و ۲۵/۵۴ درصد، به عنوان گونه‌های قارچی غالب مرتبط با بیماری لکه قهوه‌ای جو در مناطق نمونه‌برداری شده بود.

نتایج تحقیق حاضر، اطلاعات مفیدی را از وجود و فراوانی عوامل قارچی مرتبط با بیماری لکه قهوه‌ای جو و همچنین میزان پراکنش آن در استان آذربایجان شرقی فراهم نموده است. با این-حال، جهت مدیریت موثر یک بیماری اطلاعات کافی از بیمارگر از قبیل طیف میزبانی (به خصوص گرامینه‌های وحشی)، شناسایی دقیق راه‌های بقا، بررسی تنوع ژنتیکی و شناسایی مرحله جنسی عامل بیماری امری مهم و ضروری می‌باشد.

سپاسگزاری

نویسندگان مقاله مراتب سپاس و قدردانی خود را از معاونت محترم پژوهشی دانشگاه تبریز به خاطر تامین بودجه لازم برای انجام این پژوهش ابراز می‌نمایند.

References

- Abbasi M, Aliabadi F, 2009. The list of fungi reported in proceedings of 12th to 18th Iranian plant protection congress. *Elm & Honar Publication* 272 p.
- Ahmadpour A, Donyadoost-Chelan M, Heidarian Z, Javan-Nikkhah M, 2011. New species of *Bipolaris* and *Curvularia* on Grass species in Iran. *Rostaniaha* 13: 69–82.
- Ahmadpour A, Heidarian Z, Donyadoost-Chelan M, Javan-Nikkhah M, Tsukibosh T, 2012. A new species of *Bipolaris* from Iran. *Mycotaxon* 120: 301–307.
- Al-Daoude A, Arabi MIE, Nabulsi I, MirAli N, 2012. Molecular phylogeny of *Pyrenophora graminea* as determined by RAPD and ISSR fingerprints. *Journal of Plant Biology Research* 1 (2): 25–35.
- Aminnejad M, Babai-Ahari A, Javan-Nikkhah M, Hejazi MS, 2009. Molecular and Pathogenic Variation Within Iranian *Pyrenophora graminea* Population; More Polymorphism in IGS Region. *American-Eurasian Journal of Agricultural and Environmental Science* 6 (6): 697–704.
- Arabi MIE, Jawhar M, 2004. Identification of *Cochliobolus sativus* (Spot Blotch) isolates expressing differential virulence on barley genotypes in Syria. *Journal of Phytopathology* 152: 461–464.
- Ariyawansa HA, Kang JC, Alias SA, Chuakeatirote E, Hyde KD, 2014. *Pyrenophora*. *Mycosphere* 5 (2): 351–362.
- Asqari B, Zare B, Payghami E, 2005. Hyphomycetous fungal community of barley phylloplane in East Azarbaijan province with emphasis on new taxa for Iranian fungal flora. *Rostaniha* 5 (2): 171–197.
- ۳۰ درصد به صفر درصد رسیده بود، که دلیل آن را استفاده از بذور ضدعفونی شده و اصلاح شده بیان نمودند (Jalli et al. 2011).
- در مطالعه Asqari et al. (2005)، به منظور شناسایی هیفومیست‌های برگ و ساقه جو، گونه‌های *Acremonium sclerotigenum*, *egyptiacum* (J.F.H.Beyma) W.Gams, *Arthrrium* (Moreau & R. Moreau ex Valenta) W. Gams, *Phaeospermum arundinis* (Corda) Dyko & B. Sutton, *Cladosporium malorum* Ruehle, (Corda) M.B. Ellis, *Periconia igniaria*, *Penicillium frequentans* Westling, *Scytalidium dimidiatum* (Penz.) E.W. Mason & M. B. Ellis و *P. teres* و B. Sutton & Dyko را از استان آذربایجان شرقی گزارش شدند؛ که از تعداد ۳۷۴ جدایه قارچ‌های هیفومیست، تعداد ۱۰ جدایه (فراوانی ۲/۶ درصد) مربوط به *P. teres* بود؛ که این گونه را از شهرستان‌های اهر و کلیبر برای اولین بار در استان آذربایجان-شرقی گزارش کردند.
- Berbee ML, Pirseyedi M, Hubbard S, 1999. *Cochliobolus* phylogenetics and the origin of known highly virulent pathogens Inferred from ITS and glyceraldehydes-3-dehydrogenase gene sequence. *Mycologia* 91: 964–977.
- Bovill J, Lehmensiek A, Sutherland MW, Platz GJ, Usher T, Franckowiak J, 2010. Mapping spot blotch resistance genes in four barley populations. *Molecular breeding* 26 (14): 653–666.
- Duveiller E, Gilchrist L, 1994. Production constraints due to *Bipolaris sorokiniana* in wheat: Current situation and future prospects. In: Sounders D.A., Hettel G.P. (eds). *Wheat in Heat-stressed Environments: Irrigated, Dry Areas and Rice-Wheat Systems* 343–352.
- Ellis MB, 1971. *Dematiaceous Hyphomycetes*. Commonwealth Mycological Institute, Kew, England Pp. 608.
- Ellis MB, 1976. *More dematiaceous hyphomycetes*. Commonwealth Mycological Institute, Kew, England Pp. 507.
- Ershad D, 2009. *Fungi of Iran*. 3rd ed. *Iranian Research Institute of Plant Protection*.
- Farr DF, Rossman AY, 2020. Fungal Databases, U.S. National Fungus Collections, ARS, USDA. Retrieved December 12, 2020. Available from: <https://nt.ars-grin.gov/fungaldatabases/>.
- Gangwar OP, Bhardwaj SC, Singh GP, Prasad P, Kumar S, 2018. Barley disease and their management: An Indian perspective. *Wheat and Barley Research* 10(3): 138–150.
- Heidarian Z, Arzanlou M, Babaei-ahari A, Ahmadpour A, 2016. Phenotypic and molecular characterization of

- Exserohilum* species from Iran. *Nova Hedwigia* 103: 327–338.
- Heidarian Z, 2017. Study on diversity of *Cochliobolus* and allied genera on graminicolous plants based on morphological and molecular methods in West Azerbaijan province. PhD thesis, Plant Pathology, Tabriz University, Iran.
- Heidarian Z, Arzanlou M, Ahmadpour A, 2020. Molecular phylogeny and morphology differentiate several new records and novel hosts for *Curvularia* species in Iran. *Nova Hedwigia* 111: 151–171.
- Hernández-Restrepo M; Madrid H; Tan YP; Cunha KC Da, Gené J; et al., 2018. Multi-locus phylogeny and taxonomy of *Exserohilum*. *Persoonia* 41: 71–108.
- Iftikhar S, Asad S, Munir A, Sultan A, Ahmad I, 2009. Host of *Bipolaris sorokiniana*, the major pathogen of spot blotch of wheat in Pakistan. *Pakistan Journal of Botany* 41(3): 1433–1436.
- Jalli M, Laitinen P, Latvala S, 2011. The emergence of cereal fungal diseases and the incidence of leaf spot diseases in Finland. *Agricultural and food science* 20: 62–73.
- Katoh K, Standley DM, 2013. MAFFT multiple sequence alignment software version 7: improvements in performance and usability. *Molecular Biology and Evolution* 30: 772–780.
- Kumar J, Schafer P, Huckelhoven R, Langen G, Baltruschat H et al., 2002. *Bipolaris sorokiniana*, a cereal pathogen of global concern: cytological and molecular approaches towards better control. *Molecular Plant Pathology* 3: 185–195.
- Kumar S, Stecher G, Tamura K, 2016. MEGA7: Molecular Evolutionary Genetics Analysis Version 7.0 for Bigger Datasets. *Molecular Biology and Evolution* 33 (7): 1870–1874.
- Lammari HI, Rehfus A, Stammler G, Fellahi ZE, Benbelkacem A, et al., 2020. Occurrence and frequency of spot form and net form of net blotch disease of barley in Algeria. *Journal of Plant Diseases and Protection* 127 (1): 35–42.
- Liu D, Coloe S, Baird R, Pederson J, 2000. Rapid mini-preparation of fungal DNA for PCR. *Journal of Clinical Microbiology* 38 (1): 471.
- Liu Z, Ellwood SR, Oliver RP, Friesen TL, 2011. *Pyrenophora teres*: Profile of an increasingly damaging barley pathogen. *Molecular Plant Pathology* 12 (1): 1–19.
- Manamgoda DS, Cai L, McKenzie EHC, Crous PW, 2012. A phylogenetic and taxonomic re-evaluation of the *Bipolaris*, *Cochliobolus*, *Curvularia* Complex. *Fungal Diversity* 56: 131–144.
- Manamgoda DS, Rossman AY, Castlebury LA, Chukeatirote E, Hyde KD, 2015. A taxonomic and phylogenetic re-appraisal of the genus *Curvularia* (Pleosporaceae): human and plant pathogens. *Phytotaxa* 212: 175–198.
- Marin-Felix Y, Hernández-Restrepo M, Iturrieta-Gonzalez I, Gaecia D, Gene JZ, et al., 2019. Genera of Phytopathogenic Fungi: GOPHY 3. *Studies in Mycology* 94: 1–124.
- Marin-Felix Y, Hernández-Restrepo M, Crous PW, 2020. Multi-locus phylogeny of the genus *Curvularia* and description of ten new species. *Mycological Progress* 19:559–588.
- McDonald BA, Zhan J, Burdon JJ, 1999. Genetic structure of *Rhynchosporium secalis* in Australia. *Phytopathology* 89: 639–645.
- Nylander JAA, 2004. MrModeltest v2. Program distributed by the author. Evolutionary Biology Centre, Uppsala University.
- Ronquist F, Huelsenbeck JP, 2003. MRBAYES 3: Bayesian phylogenetic inference under mixed models. *Bioinformatics* 19:1572–1574.
- Si E, Meng Y, Ma X, Li B, Wang J, et al., 2019. Development and characterization of microsatellite markers based on whole-genome sequences and pathogenicity differentiation of *Pyrenophora graminea*, the causative agent of barley leaf stripe. *European Journal of Plant Pathology* 154: 227–241.
- Sivanesan A, 1987. Graminicolous species of *Bipolaris*, *Curvularia*, *Drechslera*, *Exserohilum* and their teleomorphs. *Mycological Papers* 158: 1–261.
- Sun G, Oide S, Tanaka E, Shimizu K, Tanaka C, et al., 2003. Species separation in *Curvularia* “geniculata” group inferred from Brn1 gene sequences. *Mycoscience* 44:239–244.
- Walters DR, Avrova A, Bingham IJ, Burnett FJ, Fountaine J, et al., 2012. Control of foliar diseases in barley: towards an integrated approach. *European Journal of Plant Pathology* 133: 33–73.
- White TJ, Bruns TD, Lee SB, Taylor JW, 1990. Amplification and direct sequencing of fungal ribosomal RNA Genes for phylogenetics. In: PCR protocols: a guide to methods and applications. Innis, M.A., Gelefang, D.H., Sninsky, J.J. and Sussman, A.S. (eds.). Academic Press. New York. Pp. 315–322.
- Zhong S, Steffenson BJ, 2001. Virulence and molecular diversity in *Cochliobolus sativus*. *Phytopathology* 91: 469–476.



This is an open access article under the CC BY NC license (<https://creativecommons.org/licenses/by-nc/2.0/>)