

شناسایی چند گونه *Exserohilum* و *Curvularia Bipolaris* همراه با گندمیان در برخی مناطق ایران

دریافت: ۱۳۹۵/۰۲/۰۸ / پذیرش: ۱۳۹۵/۰۳/۱۶

زهرا نعمتی: دانشجوی دکتری بیماری‌شناسی گیاهی، بخش گیاه‌پزشکی دانشکده کشاورزی دانشگاه شیراز، شیراز ۷۱۴۴۱۶۵۱۸۶، ایران
رضا مستوفی‌زاده قلم‌فارسا✉: استاد بیماری‌شناسی گیاهی، بخش گیاه‌پزشکی دانشکده کشاورزی دانشگاه شیراز، شیراز ۷۱۴۴۱۶۵۱۸۶، ایران (rmostofi@shirazu.ac.ir)

چکیده

نمونه‌هایی از بافت آلوده ریشه و برگ گندمیان و نمونه‌هایی از خاک فراریشه آن‌ها از استان‌های اصفهان، خراسان رضوی، خراسان شمالی، سمنان، فارس، گلستان و مازندران جمع‌آوری شد. براساس صفات ریخت‌شناختی و کلیدهای شناسایی موجود، چهار گونه از جنس *Bipolaris* شامل *B. indica*، *B. australiensis*، *B. micropus* و *B. spicifera* و چهار گونه از جنس *Curvularia* شامل *E. gedarefense*، *C. heteropogoncola*، *C. protuberata* و *C. verruculosa* و دو گونه از جنس *Exserohilum* شامل *E. pedicellatum* و *E. pedicellatum* شناسایی شدند. گونه‌های *B. australiensis* و *B. spicifera* دارای بیش‌ترین فراوانی در جداسازی از مناطق مختلف بودند. گونه‌های *B. micropus*، *C. protuberata*، *C. akaiiensis*، *E. pedicellatum* و *E. gedarefense* برای مایکوبیوتای ایران جدید هستند.

واژه‌های کلیدی: جنس‌های graminicolous، خاک‌برد، گندمیان، قارچ‌های ناقص

Identification of some grass-associated species of *Bipolaris*, *Curvularia* and *Exserohilum* in selected regions of Iran

Received: 27.04.2016 / Accepted: 05.06.2016

Zahra Nemati: PhD Student, Department of Plant Protection, School of Agriculture, Shiraz University, Shiraz 7144165186, Iran

Reza Mostowfizadeh-Ghalamfarsa✉: Prof., Department of Plant Protection, School of Agriculture, Shiraz University, Shiraz 7144165186, Iran (rmostofi@shirazu.ac.ir)

Summary

Infected tissues of roots and leaves of various grasses as well as soil around their rhizosphere were sampled from Fars, Golestan, Isfahan, Khorasan Shomali, Khorasan Razavi, Mazandaran and Semnan provinces (Iran). Based on morphological characteristics and available keys, four species of *Bipolaris* including *B. austreliensis*, *B. indica*, *B. micropus* and *B. spicifera*, four species of *Curvularia* including *C. akaiiensis*, *C. heteropogoncola*, *C. protuberata* and *C. verruculosa* and two species of *Exserohilum* including *E. gedarefense* and *E. pedicellatum* were identified. *Bipolaris austreliensis* and *B. spicifera* widely distributed in Iran. *Bipolaris micropus*, *C. protuberata*, *C. akaiiensis*, *E. pedicellatum* and *E. gedarefense* are new to Iran mycobiota.

Keywords: Graminicolous species, imperfect fungi, *Poaceae*, soil born

مقدمه

قارچ‌های ناقص از آن دسته از قارچ‌هایی هستند که مرحله جنسی آن‌ها به طور معمول در طبیعت یافت نشده، تنها با ویژگی‌های ریخت‌شناختی مرحله رویشی و تکثیری خود مورد شناسایی قرار می‌گیرند. یکی از مهم‌ترین گروه قارچ‌های ناقص، بیمارگرهای هلمنتوسپوریومی هستند که موجب سوختگی برگ‌ها، پوسیدگی طوقه و ریشه در تیره گندمیان می‌شوند (Shoemaker 1959, Alcorn 1988). در این گروه از قارچ‌ها، مرحله غیرجنسی، مرحله بیمارگری است که تولید ساختارهای آزاد به صورت کنیدیوم و هاگ‌بر می‌کند. این گروه براساس ویژگی‌های ریخت‌شناختی کنیدیوم تحت عنوان جنس‌های graminicolous رده‌بندی می‌شوند. براساس شکل کنیدیوم، منشأ جوانه‌زنی و موقعیت محور جوانه‌زنی، نوع ساختار پاشنه، هستی‌زایی (ontogeny) دیواره کنیدیوم و تعیین حدود سلول پایه و نوع گره کنیدی‌زایی، تا کنون چهار جنس *Bipolaris*، *Curvularia*، *Drechslera* و *Exserohilum* از یکدیگر تفکیک شده‌اند (Sivanesan 1987, Goh et al. 1998).

جنس‌های *Bipolaris* و *Curvularia* از نظر فرم جنسی و بعضی ویژگی‌های ریخت‌شناختی بسیار شبیه هم هستند و فقط براساس بعضی صفات ریخت‌شناختی کنیدیوم مثلاً اندازه، رنگ، شکل، تعداد دیواره‌های عرضی کنیدیوم، حضور یا غیاب سلول متورم نامتقارن (disproportionately swollen) و وجود یا عدم وجود انحنا در کنیدیوم‌ها، می‌توان آن‌ها را از یکدیگر تفکیک کرد. گونه‌های جنس *Curvularia* دارای تورم نامتقارن در سلول یکی مانده به آخر خود هستند. سلول متورم نامتقارن نسبت به سایر سلول‌ها رنگدانه‌ی زیادی دارد و کنیدیوم اغلب به خاطر این سلول خمیده شده است. با این حال تورم نامتقارن ممکن است در برخی گونه‌های *Bipolaris* هم مشاهده شود، اما مقدار تورم کمتر است و سلول متورم نسبت به سایر سلول‌ها تغییر رنگی ندارد. جوانه‌زنی کنیدیوم در گونه‌های *Bipolaris* و *Curvularia* به صورت لوله تندشی اولیه و یا وزیکول‌های کروی با دیواره نازک، از یک یا هر دو سلول قطبی صورت می‌گیرد (Alcorn 1983). برخی از محققان، این دو جنس را به دلیل داشتن مرحله جنسی مشترک (Sivanesan 1987, Alcorn 1998, Goh et al. 1998) و شواهد مولکولی موجود (Berbee et al. 1999) مترادف می‌دانند. اما برای تغییر در تاکسونومی این جنس‌ها بررسی‌های بیشتر در زمینه متابولیت‌های ثانویه و دستیابی به خصوصیات ژنتیکی با استفاده از ابزار جدید مولکولی نیاز است (Sivanesan 1987, Alcorn 1988, Nakada 1999).

روش بررسی

طی سه سال (۹۴-۱۳۹۲)، نمونه‌هایی از بافت آلوده ریشه، ساقه و برگ گیاهان تیره گندمیان و علف‌های هرز و همچنین خاک اطراف آن‌ها از استان‌های اصفهان، خراسان رضوی (شهرستان‌های مشهد و نیشابور)، خراسان شمالی (شهرستان بجنورد)، سمنان، فارس (شهرستان‌های آباد، زرین دشت، شیراز، فیروزآباد و مرودشت)، گلستان (شهرستان گرگان و شهرهای مینودشت، کردکوی و آزادشهر) و استان مازندران (شهر چالوس) جمع‌آوری و در پاکت‌های کاغذی جداگانه به

شد. به منظور تعیین گونه در شبه‌جنس‌های *Bipolaris*، *Curvularia* و *Exserohilum* از پرگنه‌های قارچ، اسلاید میکروسکوپی تهیه شد و خصوصیات مورد نظر برای شناسایی در ۵۰ عدد از هر یک از اندام‌های قارچی مورد بررسی قرار گرفت و تشخیص‌ها با استفاده از کلید شناسایی سیوانسن (Sivanesan 1987) و آلکورن (Alcorn 1988) انجام گردید.

نتیجه و بحث

چهار گونه از جنس *Bipolaris* شامل *B. australiensis* (چمن، گندم)، *B. indica* (چمن، مرغ)، *B. micropus* (چمن، ریشه و خاک چمن)، *C. heteropogoncola* (ریشه و خاک چمن)، *C. akaiensis* (چمن و برنج) و *C. protuberata* (چمن و برنج) و *C. verruculosa* (چمن و برنج) و دو گونه از جنس *Exserohilum* شامل *E. gedarefense* (ریشه و خاک چمن) و *E. pedicellatum* (ریشه و خاک چمن) بافت‌های آلوده، دارای نشانه‌های زردی و کم رشدی در اندام هوایی بودند. پس از خارج کردن بوته مورد نظر، نشانه‌های پوسیدگی و تغییر رنگ در طوقه و ریشه و کاهش حجم ریشه در آن‌ها مشاهده شد. گونه‌های *B. micropus*، *C. akaiensis*، *C. protuberata*، *E. gedarefense* و *E. pedicellatum* برای مایکوبیوتای ایران جدید هستند. گونه‌های *B. australiensis* و *B. spicifera* به دفعات زیاد در نمونه‌گیری از چمن مناطق مختلف جداسازی شدند. در نمونه‌برداری‌های انجام شده، گونه *B. australiensis* غالب بود. همچنین، جداسازی *B. indica* از ریشه و خاک گندم و جداسازی *C. heteropogoncola* و *E. gedarefense* از ریشه و خاک چمن براساس منابع موجود، برای نخستین بار در دنیا گزارش می‌شود (Sivanesan 1987, Alcorn 1988, Sun et al. 2012, Ahmadpour et al. 1997). توصیف کامل گونه‌هایی که برای نخستین بار از ایران گزارش می‌شوند، در ذیل ارائه می‌گردد:

Bipolaris micropus (Drechsler) Shoemaker 1959

نمونه‌های بررسی شده از برگ و ریشه چمن در استان فارس جدا شدند (جدول ۱). پرگنه قارچ روی محیط کشت PDA مخملی، به رنگ زیتونی مایل به خاکستری تیره بود. هاگ‌برها به رنگ قهوه‌ای تا قهوه‌ای تیره، دیواره‌دار، به صورت انفرادی، طول تقریبی هاگ‌برها ۱۵۰ تا ۲۰۰ میکرومتر با قطر ۷ تا ۹ میکرومتر مشاهده شد. کنیدیوم‌ها به رنگ قهوه‌ای، استوانه‌ای تا دوکی شکل (کنیدیوم با سه بند کاذب تقریباً

آزمایشگاه منتقل گردید. نسوج آلوده با آب جاری به مقدار کافی شست‌وشو داده شد و با استفاده از فیچی ضدعفونی شده، قطعه قطعه گردید. ضد عفونی سطحی قطعات آلوده با هیپوکلریت سدیم ۰/۵ درصد به مدت دو دقیقه انجام شد و پس از چند بار شست و شو در آب مقطر و رطوبت‌گیری با دستمال کاغذی خشک و اتوکلاو شده، روی محیط کشت PDA (potato dextrose agar) عصاره ۳۰۰ گرم سیب‌زمینی، ۲۰ گرم دکستروز، ۱۶ گرم آگار، آب مقطر تا یک لیتر) کشت گردید. تشک‌های پتری در انکوباتور ۲۵ درجه سلسیوس نگهداری شدند.

جدایه‌های مورد نظر به روش تک‌هاگ روی محیط کشت WA (water agar)؛ ۲۰ گرم آگار در لیتر) دو درصد خالص‌سازی شد. به منظور جداسازی از خاک، روش رقت‌های مکرر استفاده گردید. یک گرم خاک با نه میلی‌لیتر آب مخلوط و کاملاً هم زده شد و سوسپانسیون به دست آمده با آب مقطر سترون، دو تا سه مرحله رقیق گردید. رقت‌های مورد نظر روی محیط کشت PDA حاوی ۲۰ میلی‌لیتر اسید لاکتیک یک درصد و چند دانه پودر لباس‌شویی برای جلوگیری از رشد سریع جدایه‌ها، ریخته شد. پس از ظهور پرگنه‌ها روی محیط کشت، هر پرگنه به محیط کشت جدید منتقل گردید. پرگنه‌های مشکوک پس از رشد مناسب و انتقال به محیط کشت WA دو درصد با استفاده از روش نوکریشه خالص گردیدند.

برای بررسی خصوصیات ریخت‌شناختی و میکروسکوپی جدایه‌ها، حلقه‌هایی به قطر پنج میلی‌متر از حاشیه پرگنه‌های در حال رشد برداشته و به تشک‌های پتری حاوی محیط کشت PDA و TWA (tap water agar + wheat straw) منتقل شدند (Sivanesan 1987). برای بررسی ریخت‌شناسی پرگنه، تشک‌های PDA در شرایط تاریکی و در ۲۵ درجه سلسیوس به مدت ۱۰ روز نگهداری شدند (Sivanesan 1987). برای بررسی صفات میکروسکوپی، تشک‌های TWA تحت شرایط نوری متناوب ۱۲ ساعت روشنایی و ۱۲ ساعت تاریکی در ۲۵ درجه سلسیوس به مدت هفت روز قرار گرفتند تا به هاگ‌زایی تحریک شوند (Sivanesan 1987). صفات مورد مطالعه شامل رنگ پرگنه، ریخت‌شناسی کنیدیوم و هاگ‌بر و نحوه جوانه‌زنی کنیدیوم‌ها بود (Sivanesan 1987, Alcorn 1988). برای بررسی جوانه‌زنی کنیدیوم‌ها، پرگنه‌هایی از هر جدایه در داخل لوله‌های آزمایش حاوی ۲۰ میلی‌لیتر آب مقطر سترون انداخته و سپس ۲ تا ۳ میلی‌لیتر از سوسپانسیون هاگ حاصل روی محیط کشت WA دو درصد ریخته و در ۲۵ درجه سلسیوس نگهداری و بعد از یک تا سه روز نحوه جوانه‌زنی کنیدیوم با میکروسکوپ بررسی

***Curvularia akaiensis* Sivan. 1987**

نمونه‌های بررسی شده از خاک و ریشه چمن در شیراز جدا شدند (جدول ۱). پرگنه قارچ روی محیط کشت PDA، کرک‌دار و به رنگ قهوه‌ای مایل به خاکستری بود. هاگ‌برها ساده، دیواره‌دار، پیچ و خم‌دار، به صورت انفرادی، در انتها زانوئی، به رنگ قهوه‌ای به طول تقریبی ۳۰۰ تا ۶۰۰ میکرومتر و قطر ۳ تا ۵ میکرومتر مشاهده شدند. سلول‌های قاعده هاگ‌بر معمولا دارای تورم هستند. کنیدیوم‌ها تخم‌مرغی، راست تا خمیده، به رنگ قهوه‌ای تیره که در یک یا دو انتهای خود شفاف‌تر بودند. سلول سوم از قاعده دارای اندکی تورم است و تا حدی بزرگ‌تر از سایر سلول‌ها دیده می‌شود. پاشنه کاذب در قاعده کنیدیوم کاملا مشخص و اندازه تقریبی آن ۱ تا ۲ میکرومتر بود. کنیدیوم‌ها دارای دو تا سه بند کاذب بودند، یک یا هر دو بند کاذب در انتهای کنیدیوم تیره‌تر از سایر بندها مشاهده می‌شدند. اندازه تقریبی کنیدیوم‌ها ۲۷-۲۰ × ۱۶-۱۰ میکرومتر بود. جوانه‌زنی کنیدیوم‌ها از سلول‌های قطبی و به صورت وزیکول‌های کروی با دیواره نازک صورت می‌گرفت (شکل ۲).

بیضوی) به صورت مستقیم یا با مقداری خمیدگی مشاهده شدند. عرض کنیدیوم‌های دوکی شکل در وسط و یا نزدیک به آن زیاد و در دو انتها به آرامی کم می‌شود. برجستگی کوچک در سلول پایه (پاشنه کاذب) مشاهده شد. کنیدیوم‌ها دارای ۳ تا ۹ بند کاذب بوده و نخستین بند کاذب در نزدیک قاعده تشکیل شده بود. اندازه کنیدیوم‌ها ۸۰-۳۲ × ۲۰-۱۰ بود. جوانه‌زنی کنیدیوم‌ها از سلول‌های قطبی و به صورت وزیکول‌های کروی با دیواره نازک صورت می‌گرفت (شکل ۱).

از صفات برجسته در این جنس، تشکیل شدن نخستین بند کنیدیوم در نزدیکی قاعده بود و این ویژگی شبیه به گونه‌های *Exserohilum* است. گونه *B. micropus* بسیار شبیه گونه‌های *B. hawaiiensis* و *B. cynodontis* است، ولی صفت کلیدی پاشنه برجسته در آن، وجه تشخیص این گونه‌هاست. گونه *B. micropus* تا کنون از هند، ژاپن و ایالات متحده آمریکا و از میزبان‌های *Leptochloa* sp. و *Paspalum* sp. گزارش شده است (Sivanesan 1987). این گونه برای نخستین بار است که از ایران گزارش می‌شود و همراه با چمن (ترکیبی از بذرها *L. Agropyron cristatum*، *Festuca rubra* subsp. *rubra* L. و *Lolium perenne* L.) بوده است.

جدول ۱- جدایه‌های graminicolous جمع‌آوری شده در این بررسی

Table 1. Graminicolous isolates collected in this study

Species	Isolate	Matrix	Location	Date Isolated*	Frequency (%)
<i>Bipolaris australiensis</i>	B1-1 (GC1001 [†])	turf grass ^a (leaves)	Fars, Shiraz	2013.05	28.3
	B1-2 (GC1002)	turf grass (leaves)	Fars, Shiraz	2013.05	
	B1-3 (GC1003)	turf grass (leaves)	Fars, Bajgah	2013.07	
	B1-4 (GC1004)	turf grass (roots)	Fars, Abadeh	2014.03	
	B1-5 (GC1005)	turf grass (roots)	Semnan, Semnan	2014.03	
	B1-6 (GC1006)	turf grass (roots)	Khorasan Razavi, Neyshabur	2014.03	
	B1-7 (GC1007)	turf grass (roots)	Khorasan Razavi, Mashhad	2014.03	
	B1-8 (GC1008)	turf grass (roots)	Khorasan Shomali, Bojnurd	2014.03	
	B1-9 (GC1009)	turf grass (roots)	Golestan, Gorgan	2014.03	
	B1-10 (GC10010)	turf grass (roots)	Golestan, Kordkuy	2014.03	
	B1-11 (GC10011)	turf grass (roots)	Mazandaran, Chalus	2014.03	
<i>B. spicifera</i>	B2-1 (GC10012)	turf grass (roots)	Fars, Shiraz	2013.05	18
	B2-2 (GC10013)	common couch ^b (roots)	Fars, Shiraz	2013.05	
	B2-3 (GC10014)	turf grass (roots)	Fars, Shiraz	2013.07	

Table 1 (contd)

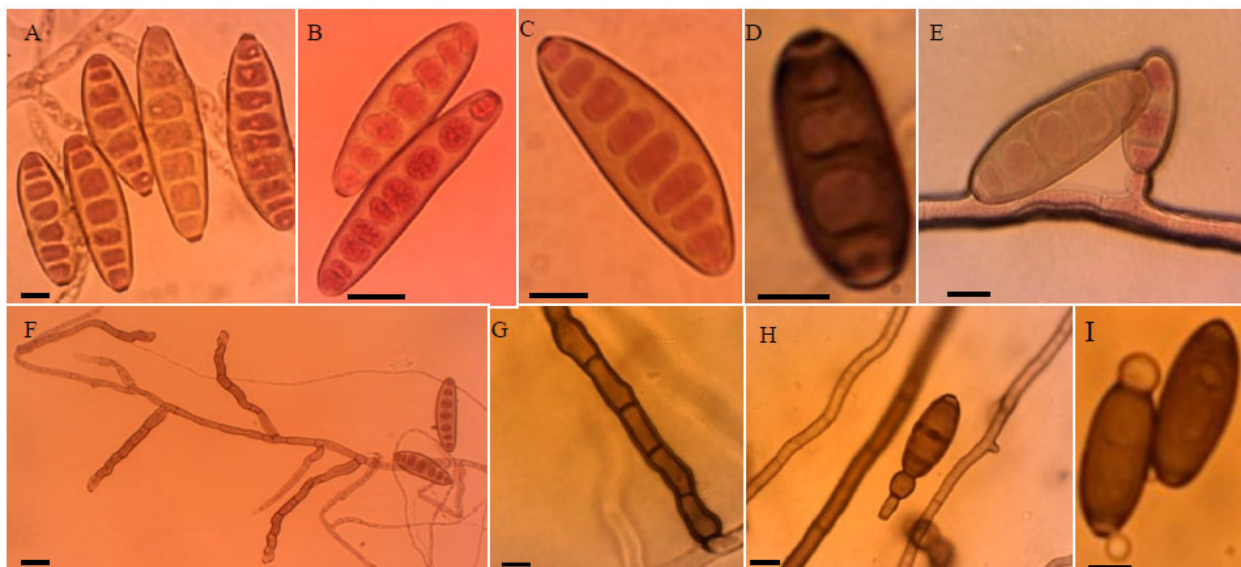
جدول ۱ (ادامه)

<i>B. micropus</i>	B2-4 (GC10015)	turf grass (soil)	Fars, Bajgah	2013.07	10.3
	B2-5 (GC10016)	turf grass (roots)	Fars, Shiraz	2013.07	
	B2-6 (GC10017)	turf grass (roots)	Fars, Shiraz	2013.07	
	B2-7 (GC10018)	turf grass (roots)	Isfahan, Isfahan	2014.03	
<i>B. indica</i>	B3-1 (GC10019)	turf grass (leaves)	Fars, Shiraz	2013.05	5.2
	B3-2 (GC10020)	turf grass (roots)	Fars, Shiraz	2013.05	
	B3-3 (GC10021)	turf grass (leaves)	Fars, Zarrindasht	2013.06	
	B3-4 (GC10022)	turf grass (roots)	Fars, Zarrindasht	2013.06	
<i>Curvularia akaiensis</i>	B4-1 (GC10023)	wheatc (roots)	Golestan, Azadshahr	2014.03	5.2
	B4-2 (GC10024)	wheat (soil)	Golestan, Azadshahr	2014.03	
<i>C. protuberata</i>	C1-1 (GC10025)	turf grass (roots)	Fars, Shiraz	2013.05	10.3
	C1-2 (GC10026)	turf grass (soil)	Fars, Shiraz	2013.05	
	C2-3 (GC10029)	turf grass (leaves)	Golestan, Minudasht	2013.06	
	C2-4 (GC10030)	turf grass (roots)	Golestan, Minudasht	2013.06	
<i>C. verruculosa</i>	C2-1 (GC10027)	riced (roots)	Fars, Firuzabad	2014.03	5.2
	C2-2 (GC10028)	rice (soil)	Fars, Firuzabad	2014.03	
	C3-1 (GC10031)	rice (roots)	Fars, Marvdasht	2013.07	
	C3-2 (GC10032)	rice (roots)	Fars, Marvdasht	2013.07	
<i>C. heteropogoncola</i>	C4-1 (GC10033)	turf grass (roots)	Fars, Shiraz	2013.05	7.7
	C4-2 (GC10034)	turf grass (soil)	Fars, Shiraz	2013.05	
	C4-3 (GC10035)	turf grass (roots)	Fars, Shiraz	2013.05	
<i>Exserohilum gedarefense</i>	E1-1 (GC10036)	turf grass (roots)	Golestan, Minudasht	2014.03	5.2
	E1-2 (GC10037)	turf grass (soil)	Golestan, Minudasht	2014.03	
<i>E. pedicellatum</i>	E2-1 (GC10038)	rice (roots)	Fars, Firuzabad	2013.06	5.2
	E2-2 (GC10039)	rice (soil)	Fars, Firuzabad	2013.06	

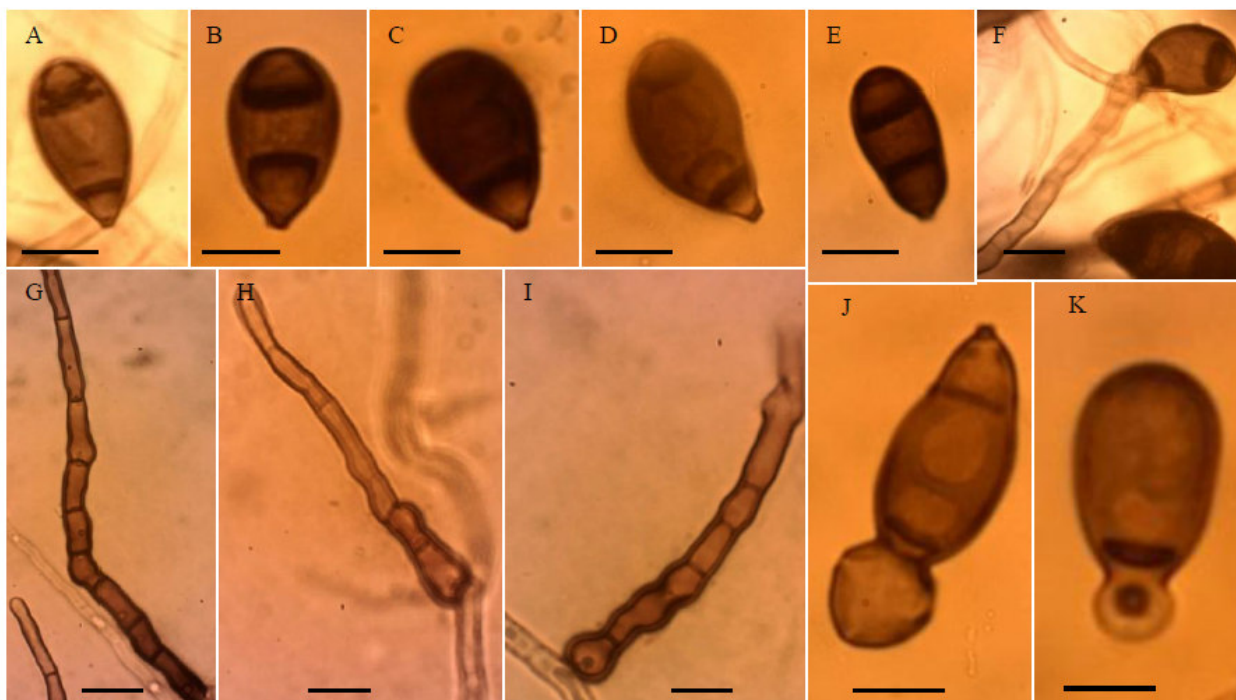
* All isolates were isolated by Z. Nemati

† Codes for the Mycological Collections of the Department of Plant Protection, Shiraz University, Shiraz (Iran)

^a A combination of *Lolium perenne*, *Agropyron cristatum* and *Festuca rubra* subsp. *rubra* ^b *Elymus repens* ^c *Triticum aestivum* ^d *Oryza sativa*



شکل ۱- *Bipolaris micropus*: A-E. کنیدیوم، F, G. هاگ‌بر، H, I. جوانه‌زنی قطبی کنیدیوم (مقیاس = ۱۰ میکرومتر).
 Fig. 1. *Bipolaris micropus*: A-E. Conidia, F, G. Conidiophores, H, I. Bipolar germinating conidia (Bars = 10 µm).



شکل ۲- *Curvularia akaiensis*: A-F. کنیدیوم، G-I. هاگ‌بر، J-K. جوانه‌زنی قطبی کنیدیوم (مقیاس = ۱۰ میکرومتر).
 Fig. 2. *Curvularia akaiensis*: A-F. Conidia, G-I. Conidiophores, J-K. Bipolar germinating conidia (Bars = 10 µm).

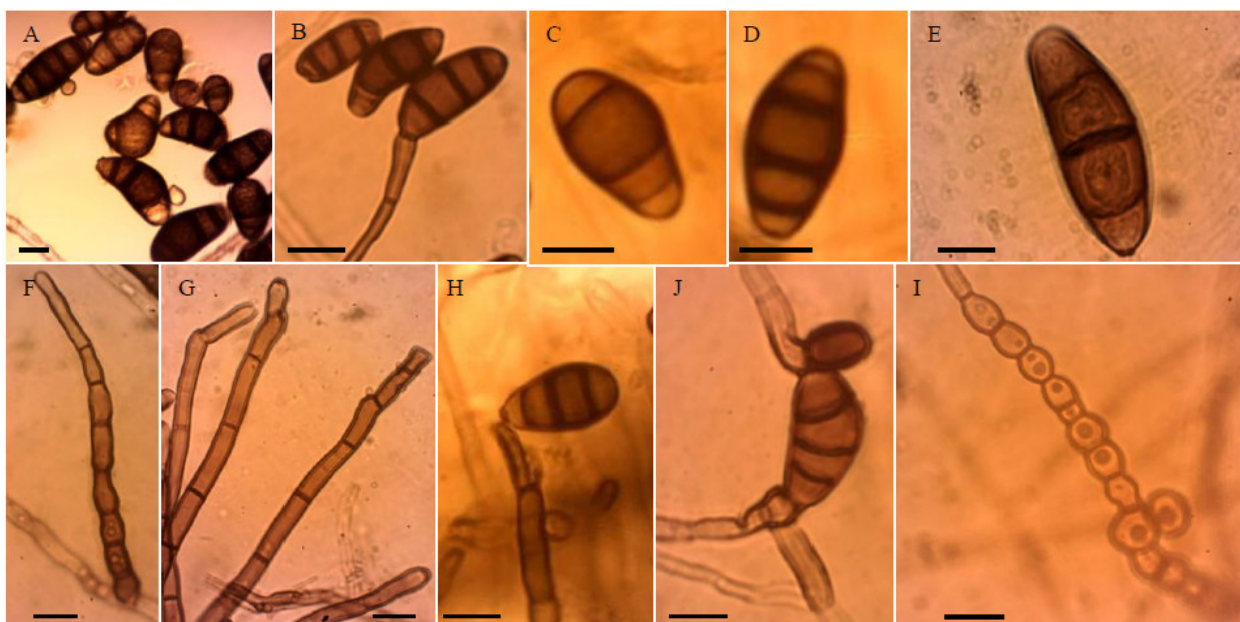
(Sivanesan 1987, Manamgoda *et al.* 2011). این گونه برای نخستین بار از ایران و همراه با میزبان چمن گزارش می‌شود.

Curvularia protuberata R.R. Nelson & Hodges 1965 نمونه‌های بررسی شده از ریشه و خاک برنج از فیروزآباد استان فارس و از برگ و ریشه چمن از مینودشت استان گلستان جدا شدند (جدول ۱). پرگنه‌های قارچ روی محیط کشت PDA مخملی، به رنگ قهوه‌ای مایل به خاکستری بود. سلول‌های

کنیدیوم‌های این گونه تا حدی شبیه به *C. akaii* است، اما از نظر اندازه، کنیدیوم‌های این گونه کوچک‌تر، عریض‌تر و منورم‌تر هستند. این گونه در حال حاضر براساس خصوصیات ریخت‌شناختی و واکاوی فیلوژنتیکی، به عنوان یک گونه مجزا و مستقل از سایر گونه‌ها و در ارتباط با آن‌ها، تأیید شده است (Manamgoda *et al.* 2011). گونه *C. akaiensis* تا کنون از هند گزارش شده است، ولی میزبانی برای آن معرفی نشده است.

۴ بند کاذب بودند. جوانه‌زنی کنیدیوم‌ها از سلول‌های قطبی و با تولید لوله تندشی صورت می‌گرفت (شکل ۳). از صفات مهم در این گونه، صاف بودن دیواره کنیدیوم است، در حالی‌که در گونه *C. verruculosus* که بسیار شبیه به این گونه است، دیواره کنیدیوم زگیل‌دار و زبر است. این گونه تاکنون از انگلستان، کانادا، ایالات متحد آمریکا و نیوزلند و از میزبان‌های *Avena* sp.، *Deschampsia* sp.، *Phleum* sp. و *Sorghum* sp. گزارش شده است (Sivanesan 1987). این گونه برای نخستین بار از ایران و همراه با برنج و چمن گزارش می‌شود.

متورم با قطر تقریبی ۸ میکرومتر به وفور در بین ریشه‌های قارچ مشاهده می‌شد. هاگ‌برها ساده، دیواره‌دار، راست (به ندرت در انتها به حالت زانویی)، به صورت انفرادی یا گروهی و قهوه‌ای رنگ مشاهده می‌شدند. طول تقریبی هاگ‌برها ۳۵۰ تا ۴۵۰ میکرومتر با قطر ۳ تا ۵ میکرومتر است. کنیدیوم‌ها صاف، راست یا مقداری خمیده به صورت استوانه‌ای تا بیضوی با سلول‌های انتهایی به رنگ قهوه‌ای روشن و سلول‌های میانی به رنگ قهوه‌ای تا قهوه‌ای تیره دیده می‌شدند. کنیدیوم‌ها، به دلیل وجود سلول نامتقارن، گاه به صورت متورم و شکم‌دار (ventricose) مشاهده می‌شدند. پاشنه کاذب کوچکی در سلول پایه کنیدیوم مشاهده می‌شد. اندازه کنیدیوم‌ها ۳۸-۲۰ × ۱۵-۹ میکرومتر و دارای ۳ تا



شکل ۳- *Curvularia protuberata*: A-E. کنیدیوم، F، G. هاگ‌بر، H. پاشنه کاذب در قاعده کنیدیوم، J. جوانه‌زنی قطبی کنیدیوم، I. سلول‌های متورم بین‌سلولی (مقیاس = ۱۰ میکرومتر).

Fig. 3. *Curvularia protuberata*: A-E. Conidia, F, G. Conidiophores, H. Protuberant hilum at the base, J. Bipolar germinating conidia, I. Swollen intercalary cells (Bars = 10 μ m).

می‌شدند. کنیدیوم‌ها راست، دوکی شکل، دارای یک باریک‌شدگی در قاعده (دنباله پایه مانند (pedicel like)، قهوه‌ای تا قهوه‌ای تیره و دارای ۴ تا ۹ (اغلب ۴ تا ۶) بند کاذب بودند. اندازه کنیدیوم‌ها ۸۵-۴۵ × ۳۰-۱۰ میکرومتر می‌باشد. پاشنه کوتاه و برجسته در قاعده کنیدیوم مشخص است. جوانه‌زنی کنیدیوم‌ها از سلول‌های قطبی و با تولید لوله تندشی صورت می‌گرفت (شکل ۴).

Exserohilum pedicellatum (A.W. Henry) K.J. Leonard & Suggs 1974

نمونه‌های بررسی شده از ریشه و خاک برنج از استان فارس جداسازی شدند (جدول ۱). پرگنه‌های قارچ روی محیط کشت PDA کرک‌دار و به رنگ خاکستری تیره بودند. هاگ‌برها ساده، دیواره‌دار، پیچ و خم‌دار و به رنگ قهوه‌ای به طول تقریبی ۲۰۰ تا ۳۰۰ میکرومتر و قطر ۴ تا ۷ میکرومتر مشاهده



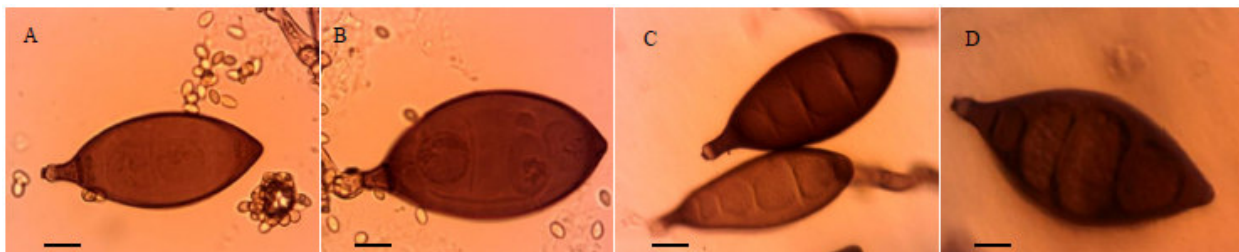
شکل ۴- *Exserohilum pedicellatum*: A-E. کنیدیوم، F-H. هاگ‌بر، I. جوانه‌زنی قطبی کنیدیوم (مقیاس = ۵۰ میکرومتر)، J-K. جوانه‌زنی قطبی کنیدیوم (مقیاس = ۱۰ میکرومتر).

Fig. 4. *Exserohilum pedicellatum*: A-E. Conidia, F-H. Conidiophores, I. Bipolar germinating conidia (Bars = 50 μm), J.K. Bipolar germinating conidia (Bars = 10 μm).

تنها از جهت دنباله پایه مانند شبیه به گونه *E. pedicellatum* بودند. جدایه‌ها مورد نظر دارای ۳ تا ۵ بند کاذب، کاملاً دوکی شکل و عریض‌تر از گونه فوق به نظر می‌رسد. متوسط اندازه کنیدیوم‌ها ۶۵-۵۵ × ۴۰-۲۵ میکرومتر بود. با توجه به این که چنین گونه‌ای در کلیدهای موجود توصیف نشده است، این امکان وجود دارد که این جدایه‌ها گونه‌ای جدید از این جنس باشند. بررسی‌های بیش‌تر روی این جدایه‌ها در دست انجام است (شکل ۵).

صفت متمایز کننده گونه *E. pedicellatum* وجود دنباله پایه مانند (پایک) در قاعده کنیدیوم است. این گونه تا کنون از کشورهای مصر، هندوستان، پاکستان و افریقای جنوبی و ایالات متحد آمریکا و از میزبان‌های *Echinochloa* sp. برنج، گندم و ذرت جداسازی شده است (Sivanesan 1987). این گونه برای نخستین بار در ایران و همراه با ریشه و خاک برنج از استان فارس گزارش می‌شود.

جدایه‌های دیگری از همان منطقه و میزبان جداسازی شدند که با سایر گونه‌های *Exserohilum* شباهتی نداشتند و



شکل ۵- *Exserohilum* sp.: A-D. کنیدیوم (مقیاس = ۱۰ میکرومتر).

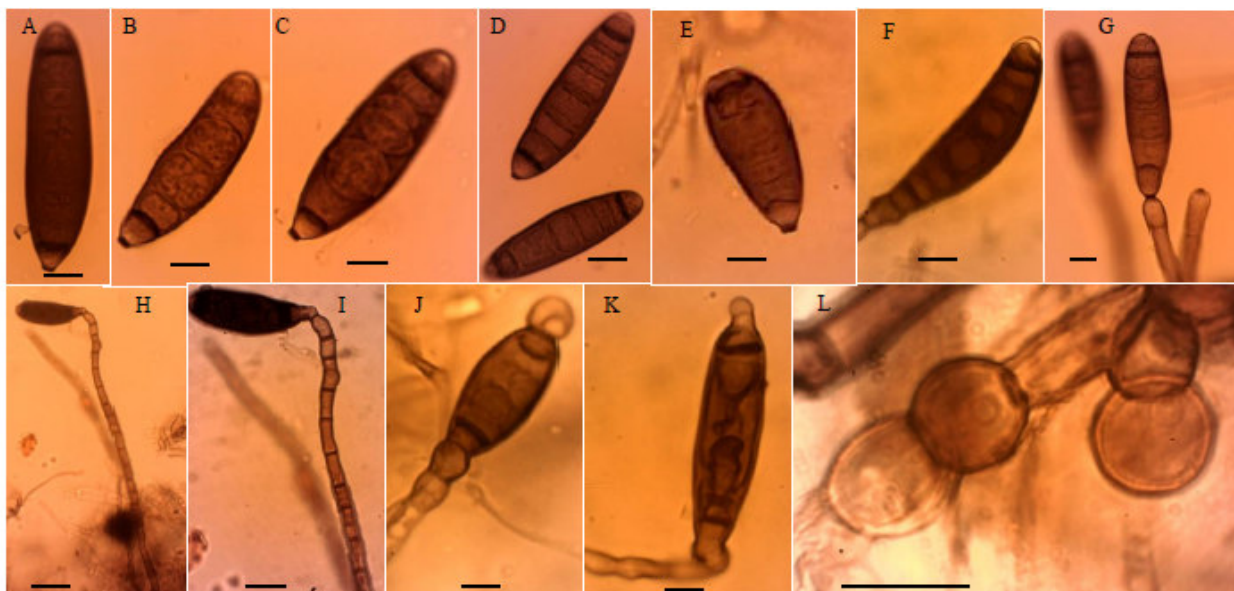
Fig. 5. *Exserohilum* sp.: A-D. Conidia (Bars = 10 μm).

Exserohilum gedarefense (El Shafie) Alcorn 1983

کنیدیوم‌ها ۳۰-۹۰ × ۱۳-۲۵ میکرومتر بود. برجستگی پاشنه کنیدیوم کاملاً مشخص و به اندازه ۱ × ۲ میکرومتر مشاهده شد. جوانه‌زنی کنیدیوم‌ها به حالت دو قطبی بود (شکل ۶). از صفات مهم این گونه، وجود پاشنه کاملاً مشخص در کنیدیوم و وجود بندهای کاذب ضخیم و تیره دو سلول انتهایی است. این گونه از سودان و مصر، به ترتیب از میزبان *Sorghum bicolor* و *Oryza sativa* گزارش شده است (Sivanesan 1987). این گونه برای نخستین بار از ایران و همراه با چمن گزارش می‌شود.

علاوه بر گونه‌های فوق که همراه با بستره‌های خود برای نخستین بار از ایران جداسازی شدند، گونه‌های دیگری نیز در این پژوهش جداسازی و شناسایی شدند.

نمونه‌های بررسی شده از ریشه و خاک چمن از استان گلستان جداسازی شدند (جدول ۱). پرگنه قارچ روی محیط کشت PDA مخملی و به رنگ قهوه‌ای تیره مایل به خاکستری بودند. ریشه‌ها به وفور تشکیل سلول‌های متورم به قطر ۹ تا ۱۳ میکرومتر دادند. هاگ‌برها ساده، دیواره‌دار، به صورت انفرادی مستقیم، در انتها زانویی، به رنگ قهوه‌ای، به طور تقریبی ۴۰۰ تا ۶۰۰ میکرومتر و قطر ۲ تا ۴ میکرومتری مشاهده شدند. کنیدیوم‌ها صاف، مستقیم، قهوه‌ای، استوانه‌ای تا دوکی شکل که گاهی در وسط و یا نزدیک به یک انتها عریض شده (گرزی شکل) و سلول پایه آن دارای مقداری تورم بود و دارای ۳ تا ۱۰ (اغلب ۸) بند کاذب بودند. دو سلول انتهایی کنیدیوم شفاف‌تر از سایر سلول‌ها دیده می‌شد و معمولاً بندهای کاذب انتهایی نسبت به سایر بندها ضخیم‌تر و تیره‌تر بودند. متوسط اندازه



شکل ۶- *Exserohilum gedarefense*: A-G. کنیدیوم، H, I. هاگ‌بر، J, K. جوانه‌زنی قطبی کنیدیوم، L. سلول‌های متورم بین‌سلولی (مقیاس = ۱۰ میکرومتر).

Fig. 6. *Exserohilum gedarefense*: A-G. Conidia, H, I. Conidiophores, J, K. Bipolar germinating conidia, L. Swollen intercalary cells (Bars = 10 μm).

گونه تا کنون در ایران از استان‌های البرز، زنجان، سمنان، خراسان رضوی، فارس و کرمان و از میزبان‌های گندم، جو، برنج، ذرت خوشه‌ای، خرما، سیب و چمن گزارش شده است (Abbasi & Aliabbadi 2009, Ershad 2009, Barzegar & Banhashemi 2011). در این پژوهش، این گونه از روی چمن از استان‌های خراسان شمالی، گلستان و مازندران گزارش می‌شود.

Bipolaris australiensis (Bugnic. ex M.B. Ellis) Tsuda & Ueyama 1981

این گونه به دفعات زیاد از نمونه‌برداری چمن در مناطق مختلف ایران جداسازی شد (جدول ۱). گونه *B. australiensis* از گونه‌های غالب در اکثر مناطق ایران است، که پراکنش وسیعی روی گندمیان از جمله چمن داشت. همچنین، در نمونه‌برداری انجام شده از چمن در امارات متحده عربی، در مرزهای جنوبی ایران نیز گونه *B. australiensis* جداسازی شد و از نظر ویژگی‌های ریخت‌شناختی با جدایه ایرانی تفاوتی نداشت. این

***Exserohilum heteropogonicola* Sivan. 1984**
نمونه‌های بررسی شده از خاک و ریشه چمن در شیراز جداسازی شدند (جدول ۱). گونه *C. heteropogonicola* قبلا در جنس *Exserohilum* و با نام *E. heteropogonicolai* معرفی شده بود (Alcorn 1991). این گونه تا کنون از ایران و از میزبان‌های *Sorghum halepense*، *Digitaria* sp. و *Cynodon dactylon* گزارش شده است (Ahmadpour et al. 2011, 2012).

***Curvularia verruculosa* Tandon & Bilgrami 1962**
نمونه‌های بررسی شده از ریشه برنج از استان فارس جداسازی شدند (جدول ۱). این گونه تا کنون از استان‌های شمالی ایران و از میزبان‌های ذرت، ذرت خوشه‌ای و سورگوم جداسازی شده است (Ershad 2009).

با توجه به بررسی انجام شده و پژوهش‌های گذشته، به نظر می‌رسد که جنس‌های مورد مطالعه در ایران گستره جغرافیایی وسیعی دارند و همراه با میزبان‌های متفاوتی مشاهده می‌شوند. تاکنون، تعداد محدودی از گونه‌های جنس‌های graminicolous در ایران شناسایی شده‌اند. احتمال می‌رود که تعداد بیش‌تری از این گونه‌ها در ایران موجود باشند که نیازمند تحقیقات وسیع‌تر و نمونه‌برداری‌های گسترده‌تری است. لازم به ذکر است که با توجه به منابع موجودی که جداسازی گونه‌های این جنس‌ها را از میزبان‌های مختلف گزارش داده‌اند (Ershad 2009)، جنس‌های مورد مطالعه مختص به گیاهان تک‌لپه‌ای نبوده و ممکن است همراه با گیاهان دولپه‌ای نیز مشاهده گردند. همچنین، وجود صفات کلیدی مشابه در بین دو گونه و یا حتی دو جنس، الزام به مطالعات مولکولی و متابولیتی را افزایش می‌دهد تا در نتیجه بتوان مرز مشخصی بین جنس‌های این گروه و حتی الامکان گونه‌های آن‌ها در نظر گرفت.

***Bipolaris indica* (J.N. Rai) Wadhvani & Tewari 1970**
این گونه از ریشه و خاک گندم در شهرستان آزادشهر، استان گلستان جداسازی شد. جدایه‌های به دست آمده بسیار شبیه به گونه توصیف شده در کلید (Sivanesan 1987) است. این جدایه‌ها دارای کنیدیوم‌های چماغی شکل، قهوه‌ای تیره با ۳ تا ۷ (معمولا ۳ تا ۵) بند کاذب بودند. پاشنه کاذب در اغلب کنیدیوم‌ها مشاهده شد. همچنین، در بین ریشه‌های این جدایه‌ها سلول‌های متورم به صورت زنجیری و با قطر تقریبی ۸ میکرومتر مشاهده شد. این گونه تاکنون از مناطق مختلف دنیا و از میزبان‌های مختلف گزارش شده است، اما در بین میزبان‌های درج شده در کلید در دسترس (Sivanesan 1987)، جداسازی از گندم تا کنون گزارش نشده است. جدایه‌های این گونه برای نخستین بار از برنج در استان گیلان شناسایی شدند، که موجب بیماری لکه قهوه‌ای برنج در شالیزارهای استان گیلان می‌شوند (Safari Motlagh et al. 2006).

***Bipolaris spicifera* (Bainier) Subram. 1971**
نمونه‌های بررسی شده از خاک، ریشه چمن و ریشه مرغ (*Elymus repens*) در شیراز جداسازی شدند (جدول ۱). این گونه به همراه گونه *B. australiensis* دارای بیش‌ترین فراوانی در جداسازی از روی چمن مناطق مختلف بودند. گونه *B. spicifera* دارای دامنه میزبانی وسیعی در دنیا است و در ایران از میزبان‌های مختلف از جمله، چمن بارها گزارش شده است (Ershad 2009, Abbasi & Aliabadi 2009, Mirabolfathi & Ershad 2006, Barzegar & Banihashemi 2011).

References

- Abbasi, M. & Aliabadi, F. 2009. The List of Fungi Reported in Proceedings of 12th to 18th Iranian Plant Protection Congress. Elm-o-Honar Publication, 272 pp., Tehran.
- Ahmadpour, A., Donyadoost-Chelan, M., Heidarian, Z. & Javan-Nikkhah, M. 2011. New species of *Bipolaris* and *Curvularia* on grass species in Iran. Rostaniha 12: 39–49.
- Ahmadpour, A., Heidarian, Z., Karami, S., Tsukiboshi, T., Zhang, M. & Javan-Nikkhah, M. 2012. New species of *Bipolaris* and *Curvularia* on grass species in Iran. Rostaniha 13(1): 69–82.
- Alcorn, J.L. 1983. Generic concepts in *Drechslera*, *Bipolaris* and *Exserohilum*. Mycotaxon 17: 1–86.
- Alcorn, J.L. 1988. The taxonomy of *Helminthosporium* species. Annual Review of Phytopathology 26: 37–56.

- Barzegar, F. & Banihashemi, Z. 2011. Identification and Pathogenicity of turfgrass infecting fungi in Shiraz landscape. Iranian Journal of Plant Pathology 47: 361–377.
- Berbee, M.L., Pirseyedi, M. & Hubbard, S. 1999. *Cochliobolus* phylogenetics and the origin of known, highly virulent pathogens, inferred from ITS and glyceraldehyde-3-phosphate dehydrogenase gene sequences. Mycologia 91: 964–977.
- Ershad, D. 2009. Fungi of Iran. 3rd ed. Agricultural Research, 531 pp., Tehran.
- Goh, K.T., Hyde, K.D. & Lee K.L.D. 1998. Generic distinction in *Helminthosporium* complex based on restriction analysis of the nuclear ribosomal RNA gene. Fungal Diversity 1: 85–107.
- Leonard, K.J. & Suggs, E.G. 1974. *Setosphaeria prolata*, the ascigerous state of *Exserohilum prolatum*. Mycologia 66: 197–281.
- Manamgoda, D.S., Cai, L., Bahkali, A.H., Chukeatirote, E. & Hyde, K.D. 2011. *Cochliobolus*: an overview and current status of species. Fungal Diversity 51: 3–42.
- Mirabolfathi, M. & Ershad, D. 2006. *Bipolaris*, *Curvularia*, *Drechslera* and *Exserohilum* diseases of turfgrass in Iran. Iranian Journal of Plant Pathology 42: 257–274.
- Nakada, M., Tanaka, C., Tsunewaki, K. & Tsuda, M. 1994. RFLP analysis for species separation in the genera *Bipolaris* and *Curvularia*. Mycoscience 35: 271–278.
- Safari Motlagh, M.R., Zamanizadeh, H.R., Hedjaraude, G.H.A. & Okhovvat, M. 2006. Identification of the causal agent fungi of rice brown spot disease in Guilan province. Journal of Agricultural Sciences and Natural Resources 12: 136–145.
- Sivanesan, A. 1987. Graminicolous species of *Bipolaris*, *Curvularia*, *Drechslera*, *Exserohilum* and their teleomorphs. CABI International Mycological Institute, Mycological Papers, 261 pp., UK.
- Shoemaker, R.A. 1959. Nomenclature of *Drechslera* and *Bipolaris*, grass parasites segregated from *Helminthosporium*. Canadian Journal Botany 37: 879–887.
- Sun, G.Y., Zhang, R., Zhu, M.Q. & Zhang, T.Y. 1997. A new species of *Exserohilum* from China. Mycological Research 101: 776–779.