

شناسایی گونه‌های *Ramularia* روی برخی گیاهان دارویی در استان کهگیلویه و بویراحمد

سید یوسف بهروز^۱، محمد سالاری^۲، مهدی پیرنیا^{۳*} و سید کاظم صباغ^۴

۱، ۲، ۳، ۴. دانشجوی کارشناسی ارشد، دانشیار و استادیاران بیماری‌شناسی گیاهی، گروه گیاه‌پزشکی،

دانشکده کشاورزی، دانشگاه زابل

(تاریخ دریافت: ۱۳۹۳/۱۰/۱ - تاریخ تصویب: ۱۳۹۴/۴/۲۳)

چکیده

به منظور شناسایی گونه‌های *Ramularia* روی گیاهان دارویی، نمونه‌های دارای علائم لکه‌برگی از نقاط مختلف استان کهگیلویه و بویراحمد طی فصول بهار، تابستان و اوایل پاییز سال‌های ۹۲-۱۳۹۱ جمع‌آوری و از لحاظ خصوصیات ریخت‌شناسی تحت مطالعه قرار گرفتند. بر اساس ویژگی‌های ریختی مربوط به کنیدیوفور و کنیدیوم، نه گونه شناسایی شدند. از این میان گونه‌های *R. winteri* و *R. veronicae* برای اولین بار از ایران گزارش می‌شوند. به علاوه این اولین بار است که در ایران گونه‌های *R. beccabungae*، *R. marrubii* و *R. variabilis* به ترتیب از گیاهان *Veronica anagallis-aquatica*، *Sideritis montana* و *Verbascum sinuatum* جداسازی و شناسایی می‌شوند.

واژه‌های کلیدی: تاکسونومی، قارچ، گونه، لکه‌برگی.

مقدمه

جنس *Ramularia* Unger از قارچ‌های آنامورفیک محسوب می‌شود. گونه‌های این جنس مولد لکه‌برگی‌اند و میزبان‌هایی از تیره‌های مختلف گیاهی را آلوده می‌کنند. لکه‌ها با اندازه‌های متفاوت به اشکال گرد تا نامنظم بوده و رنگ آنها قهوه‌ای روشن یا متمایل به خاکستری است. گاهی لکه‌ها به هم می‌پیوندند و بخش زیادی از سطح پهنک را اشغال می‌کنند. گسترش لکه‌ها به میزان رطوبت نسبی محیط بستگی دارد و در شرایط مساعد چندین چرخه تولیدمثل غیرجنسی در یک فصل ایجاد می‌شود. این لکه‌ها باعث کاهش سطح فتوسنتزکننده می‌شوند و اگر روی دم‌برگ ایجاد شوند، ریزش برگ‌ها اتفاق می‌افتد که کاهش شدید محصول را در پی دارد. کنیدیوم‌ها عامل اصلی ایجاد آلودگی و پراکنش قارچ محسوب می‌شوند که بعد از جوانه زدن، عمده‌تاً از طریق اپیدرم به برگ‌ها نفوذ می‌کنند. چند روز بعد از نفوذ، لکه‌ها ظاهر می‌شود و روی لکه‌ها،

دسته‌های کنیدیوفور که از استرومای کروی تا نیمه‌کروی منشأ می‌گیرند، ظاهر می‌شوند. در نهایت از نقاط کنیدیوم‌زایی موجود روی کنیدیوفور، کنیدیوم‌های فراوان تولید می‌شوند (Braun, 1998). در تکنگاره ارائه‌شده برای جنس *Ramularia* ۳۲۸ گونه تشریح شده‌اند (Braun, 1998). گزارش‌های پراکنده از گونه‌های *Ramularia* روی گیاهان دارویی از قبیل *R. geranii* (Hedjaroude & Abbasi, 2000) روی سوزن چوپان (*Geranium pyrenaicum*)، *R. rubicola* (Ershad, 2000) روی تمشک (*Rubus caesius*)، *R. simplex* و *R. anchusae* (Moaven et al., 2003) به ترتیب روی آلاله (*Ranunculus oxyspermus*) و گاوزبان بدل (*Anchusa italica*) و *R. inaequale* و *R. pratensis* (Pirnia et al., 2012d) به ترتیب روی همیشه‌بهار (*Calendula persica*) و ترشک موج (*Rumex crispus*) برای اولین بار از ایران منتشر شده‌اند. همچنین نام گونه‌های متعددی از جنس

کمک برنامه PixelINK uScope که مختص دوربین روی میکروسکوپ مدل مذکور بود، در چند اسلاید میکروسکوپی اندازه‌گیری شد. به کمک نرم‌افزار CorelDraw Graphics Suite X3 اندام‌های مختلف صورت پذیرفت و در نهایت با مراجعه به منابع معتبر، شناسایی در سطح گونه انجام گرفت.

نتایج و بحث

در این تحقیق نه گونه از جنس *Ramularia* شناسایی شدند. از بین آنها دو گونه *R. winteri* و *R. veronicae* برای اولین بار از ایران گزارش می‌شوند که در ادامه شرح و ترسیم آنها آمده است. نام گونه‌های دیگر در فهرست قارچ‌های ایران (Ershad, 2009) ذکر شده، لذا در این نوشتار شرح و ترسیمی از آنها ارائه نشده است. به علاوه، این اولین گزارش از آرایه‌های *Ramularia marrubii* (روی *Sideritis montana*)، *R. variabilis* (روی *Verbascum sinuatum*) و *R. beccabungae* (روی *Veronica anagallis-aquatica*) در ایران محسوب می‌شود. نمونه‌ها در هرباریوم مجموعه قارچ‌های مؤسسه تحقیقات گیاه‌پزشکی کشور نگهداری می‌شوند و شماره ثبت آنها درون پراتنز بعد از ذکر شناسه "IRAN" آمده است.

Ramularia veronicae Fuckel, Jahrbücher des Nassauischen Vereins für Naturkunde 23-24:361 (1870)

نمونه بررسی شده

روی *Veronica anagallis-aquatica* L. (سیزاب آبی)، استان کهگیلویه و بویراحمد، یاسوج، ۱۳۹۱/۴/۲۰، جمع‌آوری کننده: بهروز (IRAN 16564 F).

لکه‌های روی برگ گیاه گرد تا بیضی کشیده بوده و به رنگ کرم تا خاکستری و عرض ۱۰-۳ میلی‌متر اند؛ دسته‌های کنیدیوفور متراکم‌اند و در هر دو سطح برگ تشکیل می‌شوند و از استروما منشأ می‌گیرند. اندازه استروما بین ۸ تا ۳۵ میکرومتر است. کنیدیوفورها بی‌رنگ و راست و استوانه‌ای شکل‌اند و دیواره نازک و صاف دارند. کنیدیوفورها فاقد بند یا دارای یک بند اند. ابعاد آنها (۴-) ۳-۲×۵۰-۱۵ میکرومتر تعیین شد.

مذکور روی گیاهان دارویی در فهرست قارچ‌های ایران (Ershad, 2009) گردآوری شده است؛ اما هنوز تعداد زیادی از گونه‌ها شناسایی نشده‌اند. علاوه بر گونه‌های *Ramularia* گونه‌هایی از دیگر جنس‌ها از قبیل جنس *Cercospora* (Bicharanlou et al., 2013a; Pirnia, 2014)، *Pseudocercospora* (Pirnia et al., 2012b)، *Ulocladium* و *Stemphylium Alternaria* (Pirnia & Bicharanlou, 2013 a,b) نیز از برخی گیاهان دارویی شناسایی شده‌اند. با توجه به اهمیت گیاهان دارویی در علم داروسازی و درمان بیماری‌ها، شناسایی عوامل بیماری‌زای این گیاهان و کاهش خسارت آنها از اهمیت خاصی برخوردار است. در سال‌های اخیر در زمینه شناسایی آنامورف‌های هیفومیستی مرتبط با جنس تئومورفی *Mycosphaerella Johanson* شامل گونه‌های سرکوسپوروتید و رامولاریوتید در ایران مطالعاتی صورت گرفته که منجر به معرفی گونه‌های جدید شده است (Pirnia et al., 2010, 2012a-d; Hesami et al., 2011; Khodaparast et al., 2012; Bicharanlou et al., 2013a-c; Pirnia, 2014; Behrooz et al., 2015).

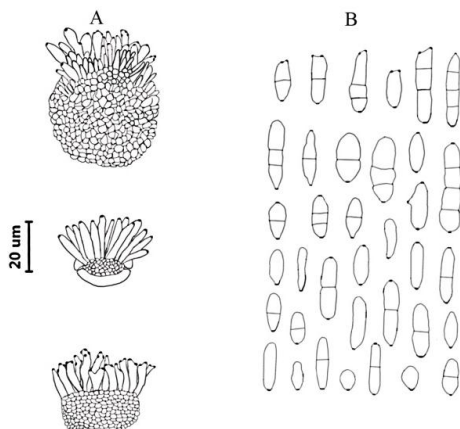
مواد و روش‌ها

جمع‌آوری نمونه و جداسازی قارچ‌ها

از گیاهان دارای علائم لکه‌برگی از مناطق مختلف استان کهگیلویه و بویراحمد طی چند مرحله در فصول بهار، تابستان و اوایل پاییز سال‌های ۹۲-۱۳۹۱ نمونه‌برداری گردید. با استفاده از استریومیکروسکوپ شکل، رنگ، میزان توسعه لکه‌ها و محل قرار گرفتن اندام‌های قارچی در سطح بالایی یا تحتانی برگ‌ها و تراکم دسته‌های کنیدیوفور روی لکه‌ها بررسی شد و اطلاعات مربوط به هر نمونه ثبت گردید. با استفاده از سوزن تیز، از اندام‌های قارچ در اسید لاکتیک ۵۰ درصد اسلایدهای میکروسکوپی تهیه شدند. با استفاده از میکروسکوپ نوری مدل *Olympus BH2* خصوصیات رنگ، شکل و ابعاد اندام‌های مختلف قارچی شامل استروما، کنیدیوفور، کنیدیوم، یاخته کنیدیوم‌زا، میزان تیرگی و ضخامت محل تولید کنیدیوم و قاعده کنیدیوم در حداقل ۵۰ مورد از این اندام‌ها بررسی و ابعاد آنها به

می‌گیرند. استروما بی‌رنگ تا زرد کم‌رنگ است و اندازه آن بین (۸۵-) ۲۵-۷۵ میکرومتر متغیر است. کنیدیوفورها بی‌رنگ بوده و استوانه‌ای شکل و غیرمنشعب اند. کنیدیوفورها بدون بند اند و دیواره آنها نازک و صاف است. ابعاد آنها (۴-) ۲-۳ × (۳۵-) ۸-۳۰ (-۶) میکرومتر اندازه‌گیری شد. محل تولید کنیدیوم مشخص است و به صورت زخم‌های سیاه‌رنگ کوچک انتهایی قابل مشاهده است. کنیدیومها بی‌رنگ بوده و به اشکال تخم‌مرغی تا بیضی کشیده یا استوانه‌ای دیده می‌شوند. کنیدیومها بدون بند اند یا تا پنج بند دارند و به صورت زنجیری تشکیل می‌شوند. در محل برخی بندها، فرورفتگی به سمت داخل مشاهده می‌شود. دو انتهای کنیدیوم گرد تا نیمه‌تیز است. ابعاد کنیدیومها (۹/۵-) ۴-۸ × (۳۲-) ۱۰-۲۷ (-۵) میکرومتر تعیین شد. هیلوم تا حدودی ضخیم و تیره است (شکل ۲).

خصوصیات ریخت‌شناختی نمونه بررسی شده با شرح *R. winteri* در تک‌نگاره (Braun, 1998) مطابقت دارد. در این گونه کنیدیومها عریض اند و در محل بند برخی از آنها فرورفتگی به داخل وجود دارد. گونه مذکور برای اولین بار از ایران گزارش می‌شود.



شکل ۲. *Ramularia winteri* روی *Ononis spinosa* (A) کنیدیوفورها (B) کنیدیومها

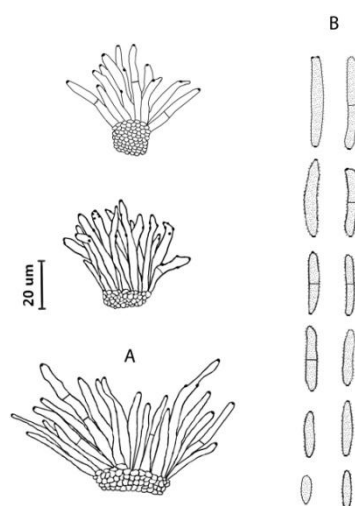
Ramularia beccabungae Fautrey: 10, (1892)

نمونه‌های بررسی شده

روی *Veronica anagallis-aquatica* (سیزاب آبی)، استان کهگیلویه و بویراحمد، گچساران (شام برکان)، ۱۳۹۲/۱/۲۴، جمع‌آوری کننده: بهروز (IRAN 16566 F).

محل تولید کنیدیوم مشخص است و به صورت زخم‌های سیاه‌رنگ کوچک انتهایی و جانبی قابل مشاهده است. کنیدیومها بی‌رنگ‌اند و به صورت زنجیری تشکیل می‌شوند و به اشکال نیمه‌استوانه‌ای تا دوکی یا بیضوی بوده و سطح آنها زبر است. کنیدیومها بدون بند بوده یا دارای یک بند اند. در قاعده تخت و نوک آنها گرد است. ابعاد کنیدیوم ۴-۳×۳۵-۱۲ میکرومتر اندازه‌گیری شد. هیلوم ضخیم و تیره است (شکل ۱).

پیش از این گونه *R. beccabungae* از روی گیاه *Veronica beccabungae* (سیزاب جویباری) در ایران معرفی شده است (Ershad, 2009). در گونه اخیر، کنیدیوفورها بلندند و در دسته‌های متراکم تشکیل می‌شوند. به علاوه، کنیدیومها نیمه‌استوانه‌ای تا دوکی شکل اند و تا ۳ بند دارند و با این خصوصیات از گونه *R. veronicae* متمایز می‌شود.



شکل ۱. *Ramularia veronicae* روی *Veronica anagallis-aquatica* (A) کنیدیوفورها (B) کنیدیومها

Ramularia winteri Thüm., Hedwigia 20: 57 (1881)

نمونه بررسی شده

روی *Ononis spinosa* L. (شصت انگشت، خار خر)، استان کهگیلویه و بویراحمد، سی سخت (کوهخدان)، ۱۳۹۲/۶/۲۰، جمع‌آوری کننده: بهروز (IRAN 16565 F).

دسته‌های کنیدیوفور به صورت متراکم در تمام سطح برگ تشکیل می‌شوند و از استروما منشأ

نمونه‌های بررسی شده

روی *Plantago lanceolata* L. (بارهنگ سرنیزه‌ای)، استان کهگیلویه و بویراحمد، گچساران (شام برکان)، ۱۳۹۲/۱/۲۴، جمع‌آوری‌کننده: بهروز (IRAN 16572 F)، استان کهگیلویه و بویراحمد، سی سخت (کوهخندان)، ۱۳۹۱/۷/۲۱، جمع‌آوری‌کننده: بهروز (IRAN 16573 F). این آرایه اولین بار در ایران با نام *R. plantaginea* Sacc. معرفی شده است (Esfandiari, 1948)، اما در تک‌نگاره (Braun, 1998) نام مذکور به عنوان مترادف *R. rhabdospora* در نظر گرفته شده است.

***Ramularia rubella* (Bonord.) Nannf., Fungi Exsiccati Suecici, Fasc. 39-40: p. 33, (1950)**

نمونه بررسی شده

روی *Rumex conglomeratus* Murr. (ترشک خوشه‌ای)، استان کهگیلویه و بویراحمد، یاسوج، ۱۳۹۱/۴/۲۰، جمع‌آوری‌کننده: بهروز (IRAN 16574 F). در مطالعات قبلی گیاه *Rumex conglomeratus* به عنوان میزبان جدیدی برای گونه *R. rubella* در ایران معرفی شده بود (Pirmia et al., 2012d). این گونه با داشتن کنیدیوم‌های منفرد عریض و فاقد بند از دیگر گونه‌های معرفی‌شده روی *Rumex* متمایز می‌شود (Braun, 1998).

***Ramularia rumicis* Kalchbr. & Cooke, Grevillea 9 (49): 23 (1880)**

نمونه بررسی شده

روی *Rumex* sp. استان کهگیلویه و بویراحمد، یاسوج، ۱۳۹۱/۴/۲۰، جمع‌آوری‌کننده: بهروز (IRAN 16575 F). داشتن کنیدیوم‌های منفرد یا تشکیل شده در زنجیره با یک تا سه بند این گونه را از دیگر گونه‌های معرفی‌شده روی *Rumex* متمایز می‌کند (Braun, 1998).

***Ramularia variabilis* Fuckel, Jahrbücher des Nassauischen Vereins für Naturkunde 23-24: 361 (1870)**

نمونه‌های بررسی شده

روی *Verbascum blattaria* L. (گل ماهور)، استان کهگیلویه و بویراحمد، گچساران (اسپر)، ۱۳۹۲/۱/۲۴، جمع‌آوری‌کننده: بهروز (IRAN 16576 F). روی

استان کهگیلویه و بویراحمد، چرام (چشمه بلقیس)، ۱۳۹۲/۱/۲۵، جمع‌آوری‌کننده: بهروز (IRAN 16567 F). در این گونه کنیدیوفورها بلند و در دسته‌های مترکم بوده و کنیدیوم‌ها نیمه‌استوانه‌ای تا دوکی‌شکل اند که بدون بند بوده یا تا سه بند دارند. گیاه *Veronica anagallis-aquatica* میزبان جدیدی برای گونه مذکور در ایران است.

***Ramularia marrubii* C. Massal.: 114 (1889)**

نمونه بررسی شده

روی *Sideritis montana* L. استان کهگیلویه و بویراحمد، یاسوج (دشت روم)، ۱۳۹۱/۴/۱۹، جمع‌آوری‌کننده: بهروز (IRAN 16568 F).

جنس‌های گیاهی *Marrubium* و *Sideritis* از لحاظ ریخت‌شناختی خیلی به هم شباهت دارند. در تک‌نگاره (Braun, 1998)، گونه *Ramularia marrubii* روی دو میزبان مذکور معرفی شده است که خصوصیات آن با نمونه بررسی‌شده در ایران مطابقت دارد. گیاه *Sideritis montana* میزبان جدیدی برای گونه مذکور است.

***Ramularia pratensis* Sacc.: tab. 998, (1881)**

نمونه‌های بررسی شده

روی *Rumex crispus* L. (ترشک موج)، استان کهگیلویه و بویراحمد، کاکان (آبشار مارگون)، ۱۳۹۱/۴/۲۱، جمع‌آوری‌کننده: بهروز (IRAN 16569 F)، استان کهگیلویه و بویراحمد، باشت (کمربندی)، ۱۳۹۱/۷/۲۲، جمع‌آوری‌کننده: بهروز (IRAN 16570 F)، روی *Rumex* sp. استان کهگیلویه و بویراحمد، یاسوج (دشت روم)، ۱۳۹۱/۴/۱۹، جمع‌آوری‌کننده: بهروز (IRAN 16571 F).

در این گونه کنیدیوم‌ها به صورت زنجیره تشکیل می‌شوند و عرض آنها کمتر از دیگر گونه‌های معرفی‌شده روی *Rumex* spp. مثل *R. rubella* و *R. rumicis* است و پیش از این از ایران گزارش شده است (Pirmia et al., 2012d).

***Ramularia rhabdospora* (Berk. & Broome) Nannf., Fungi Exsiccati Suecici Fasc. 39-40: p. 32 (1950)**

کنیدیوفورهای نسبتاً کوتاه و کنیدیوم‌های تشکیل شده در زنجیره است که در زنجیره‌های ساده تا منشعب تشکیل می‌شوند (Braun, 1998).

سپاسگزاری

نگارندگان از آقایان دکتر احمدرضا خسروی، عزیزالله جعفری، احمد حاتمی و سرکار خانم مهندس مریم صیادیان برای تشخیص میزبان‌های گیاهی تشکر می‌کنند.

Verbascum sinuatum L. (گل ماهور)، استان کهگیلویه و بویراحمد، یاسوج، ۱۳۹۱/۴/۲۰، جمع‌آوری‌کننده: بهروز (IRAN 16577 F).

پیش از این گونه مذکور از گیاه *Verbascum blattaria* از استان مازندران گزارش شده است (Bicharanlou *et al.*, 2013b)، اما گیاه *Verbascum sinuatum* میزبان جدیدی برای این گونه در ایران محسوب می‌شود. از ویژگی‌های بارز این گونه وجود

REFERENCES

- Behrooz, S. Y., Salari, M., Pirnia, M. & Sabbagh, S. K. (2015). Two new records of cercosporoid (Mycosphaerellaceae) from Iran. *Journal of Crop Protection*, 4 (1), 109-112.
- Bicharanlou, B., Pirnia, M. & Asadi, G. (2013a). Additions to the knowledge of cercosporoid fungi from Iran. *Iranian Journal of Plant Pathology*, 49(4), 439-446. (in Farsi)
- Bicharanlou, B., Pirnia, M. & Asadi, G. (2013b). New species of *Passalora* and *Ramularia* from Iran. *Applied Entomology and Phytopathology*, 81(2), 191-194. (in Farsi)
- Bicharanlou, B., Pirnia, M. & Asadi, G. (2013c). Three new species of *Pseudocercospora* for mycobiota of Iran. *Rostaniha*, 14(2), 238-243. (in Farsi)
- Braun, U. (1998). A monograph of *Cercospora*, *Ramularia* and allied genera (phytopathogenic hyphomycetes). vol. 2. (IHW-Verlag: Eching).
- Ershad, D. (2009). Fungi of Iran. Iranian Research Institute of Plant Protection, Tehran. 531 P.
- Ershad, D. (2000). Two new species of mitosporic fungi. *Rostaniha*, 1, 1-9. (in Farsi)
- Esfandiari, E. (1948). Troisième liste des fungi ramassés en Iran. *Applied Entomology and Phytopathology*, 8, 1-15.
- Hedjaroude, Gh. A. & Abbasi, M. (2000). Study of micromycetes flora in Karaj region, Iran (1). *Rostaniha*, 1, 103-130. (in Farsi)
- Hesami, S., Khodaparast, S. A. & Zare, R. (2011). New reports on *Cercospora* and *Cercospora*-like fungi from Guilan Province. *Iranian Journal of Plant Pathology*, 47(4), 379-387. (in Farsi)
- Khodaparast, S.A., Taheryian, V. & Zahedi, M. (2012). Two new records of anamorphic *Mycosphaerella s.l.* species on *Eucalyptus* from Guilan Province, Iran. *Journal of Crop Protection*, 1(4), 331-336.
- Moaven, E., Abbasi, M. & Soleimani, M.J. (2003). A new record of *Ramularia* species on Iran. *Rostaniha*, 4, 149.
- Pirnia, M. (2014). Additions and corrections to names published in *Cercospora* in Iran. *Mycologia Iranica*, 1(2), 65-74.
- Pirnia, M. & Bicharanlou, B. (2013a). Identification of *Alternaria* species in northern provinces of Iran. 1th Iranian Mycological Congress, Rasht, Iran. p. 76.
- Pirnia, M. & Bicharanlou, B. (2013b). Primary study of the genera *Stemphylium* and *Ulocladium* in Iran. 1th Iranian Mycological Congress, Rasht, Iran. p. 77.
- Pirnia, M., Zare, R., Zamanizadeh, H. R. & Khodaparast, S. A. (2010). Contribution to the identification of *Cercospora* species in Iran. *Rostaniha*, 11(2), 183-189.
- Pirnia, M., Zare, R., Zamanizadeh, H. R. & Khodaparast, S. A. (2012a). New records of cercosporoid hyphomycetes from Iran. *Mycotaxon*, 120, 159-167.
- Pirnia, M., Zare, R., Zamanizadeh, H. R., Khodaparast, S. A. & Javadi, B. (2012b). Contribution to the identification of *Pseudocercospora* species in Iran. *Iranian Journal of Plant Pathology*, 48(3), 319-327. (In Farsi).
- Pirnia, M., Zare, R., Zamanizadeh, H. R., Khodaparast, S. A. & Javadi Estahbanati, A. (2012c). Contribution to the identification of the genus *Passalora* in Iran. *Applied Entomology and Phytopathology*, 80(1), 61-68. (in Farsi)
- Pirnia, M., Zare, R., Zamanizadeh, H. R., Khodaparast, S. A. & Javadi Estahbani, A. R. (2012d). Taxonomic study of the genus *Ramularia* and *Ramularia*-like genera in Iran. *Rostaniha*, 13(1), 11-20. (in Farsi)