Archive of SID



# Identification of *Alternaria* species from the section *Infectoriae* associated with wheat and barley black (sooty) head mold in Iran

**Alireza Poursafar[1], Youbert Ghosta[2*], Mohammad Javan-Nikkhah[3]**

[1.] M. S. Student of Plant Pathology, Department of Plant Protection, College of Agriculture and Natural Resources, University of Tehran, Karaj, Iran

[2.] Associate Professor Department of Plant Protection, College of Agriculture, Urmia University, Urmia, Iran

[3.] Professor Department of Plant Protection, College of Agriculture and Natural Resources, University of Tehran, Karaj, Iran

## Abstract

Black (sooty) head mold of wheat and barley which is commonly characterized by black discoloration of their heads, is caused by different fungi colonizing the mature and senescent heads. It seems that black head mold develop more on plants when humid conditions occurs as the crop matures, or when harvest is delayed due to wet conditions and/or when portions of plants specially heads are died prematurely. During an investigation on fungal species associated with black head mold of wheat and barley in Golestan, Alborz and Qazvin provinces in the spring and summer of 2014 and 2015, a total of 133 *Alternaria* isolates with the characteristics of the section *Infectoriae* were collected. Based on the results obtained from morphological studies and data from nucleotide sequences of the two genomic loci, ITS–nrDNA and part of *gelyceraldehyde–3–phosphate dehydrogenase* (*gpdh*), four species *Viz*. *Alternaria arbusti, A. ethzedia*, *A. incomplexa* and *A. triticimaculans* were identified. All identified species in the case of this study are reported for the first time as *Alternaria* species associated with black head mold symptoms of wheat and barley in the world. Also, except for *A. arbusti*, which was previously reported from cabbage plants in Iran, the remaining three species are new records for mycobiota of Iran. The species are fully described here.

**Key words:** Disease, Cereal, *Gelyceraldehyde–3–phosphate dehydrogenase*, Nuclear rDNA, Phylogeny, Taxonomy

* y.ghoosta@urmia.ac.ir

Copyright©2017, University of Isfahan. This is an Open Access article distributed under the terms of the Creative Commons Attribution License (http://creativecommons.org/licenses/BY-NC-ND/4.0), which permits others to download this work and share it with others as long as they credit it, but they cannot change it in any way or use it commercially.

www.SID.ir

Archive of SID

تاکسونومی و بیوسیستماتیک، سال نهم، شماره سی و سوم، زمستان ۱۳۹۶، صفحه ۳۰- ۱۳
دریافت مقاله: ۱۳۹۵/۰۹/۱۹ پذیرش نهایی: ۱۳۹۷/۰۸/۰۱

# شناسایی گونه‌های جنس *Alternaria* از بخش *Infectoriae* همراه با نشانه‌های کپک سیاه (دوده‌ای) خوشه‌های گندم و جو در ایران

علیرضا پورصفر [۱]، یوبرت قوستا [۲*]، محمد جوان نیکخواه [۳]

۱- دانشجوی کارشناسی ارشد بیماری شناسی گیاهی، پردیس کشاورزی و منابع طبیعی دانشگاه تهران، کرج، ایران
۲- دانشیار گروه گیاهپزشکی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه ارومیه، ارومیه، ایران
۳- استاد گروه گیاهپزشکی، پردیس کشاورزی و منابع طبیعی دانشگاه تهران، کرج، ایران

## چکیده

کپک سیاه (دوده‌ای) خوشه‌ها در گندم و جو معمولاً با تغییر رنگ خوشه‌های این گیاهان به سیاه مشخص می‌شود و قارچ‌های مختلف ایجادکنندهٔ آن خوشه‌های بالغ و درحال پیرشدن را کلنیزه می‌کنند. به‌نظر می‌رسد کپک سیاه خوشه‌ها روی گیاهانی که طی بلوغ آنها شرایط رطوبتی شایع می‌شود یا برداشت محصول به‌علت شرایط رطوبتی به تأخیر می‌افتد و یا در بخش‌هایی از گیاهان به‌ویژه خوشه‌هایی که پیش‌از بلوغ دچار خشکیدگی می‌شوند توسعهٔ بیشتری دارد. در مطالعهٔ حاضر و با هدف شناسایی قارچ‌های همراه با نشانه‌های کپک سیاه خوشه‌های گندم و جو در استان‌های گلستان، البرز و قزوین، طی بهار و تابستان سال‌های ۱۳۹۳ و ۱۳۹۴ تعداد ۱۳۳ جدایه متعلق به بخش *Infectoriae* از جنس *Alternaria* جمع‌آوری شد. بر اساس نتایج مطالعه‌های ریخت‌شناختی و داده‌های حاصل از توالی‌های نوکلئوتیدی دو جایگاه ژنومی شامل ITS از DNA ریبوزومی هسته‌ای و بخشی از ژن گلیسرآلدهید-۳- فسفات‌دهیدروژناز (*gpdh*) چهار گونهٔ *A. arbusti*، *A. ethzedia*، *A. incomplexa* و *A. triticimaculans* شناسایی شدند. هر چهار گونهٔ شناسایی‌شده برای نخستین‌بار به‌عنوان گونه‌های همراه با نشانه‌های کپک سیاه خوشه‌های گندم و جو در دنیا گزارش می‌شوند. همچنین به‌غیراز گونهٔ *A. arbusti* که قبلاً از گیاهان کلم در ایران گزارش شده است سه گونهٔ دیگر آرایه‌های جدیدی برای بیوتای قارچی ایران گزارش می‌شوند. توصیف کامل گونه‌ها در مقالهٔ حاضر ارائه شده است.

**واژه‌های کلیدی:** بیماری، غلات، گلیسرآلدهید -۳- فسفات‌دهیدروژناز، DNA هسته‌ای، تبارشناسی، آرایه‌بندی.

## مقدمه

جنس *Alternaria* (Nees, 1816) قارچی همه‌جازی و شامل گروه بزرگی از گونه‌های قارچی با چرخه‌های زندگی ساپروفیت، اندوفیت و بیمارگر روی طیف وسیعی از بسترها است (Woudenberg *et al.*, 2013). تولید هاگ‌های رنگی چندیاخته‌ای با بندهای عرضی و طولی به‌طور انفرادی یا زنجیری و وجود نوک (beak) یا باریک‌شدگی در قسمت انتهایی هاگ از

* y.ghoosta@urmia.ac.ir
Copyright©2017, University of Isfahan. This is an Open Access article distributed under the terms of the Creative Commons Attribution License (http://creativecommons.org/licenses/BY-NC-ND/4.0), which permits others to download this work and share it with others as long as they credit it, but they cannot change it in any way or use it commercially.

www.SID.ir

Archive of SID



صفت‌های مهم ریخت‌شناختی این جنس محسوب می‌شوند (Simmons, 2007). شناسایی گونه‌ها در این جنس، بیشتر بر صفت‌های ریخت‌شناختی ازجمله ویژگی‌های هاگ، الگوی انشعابات زنجیرها و به میزان کمتری بر تخصص‌یافتگی میزبانی متکی است؛ باوجوداین، تنوع ریخت‌شناختی زیاد، هم‌پوشانی صفت‌های ریخت‌شناختی و دامنهٔ میزبانی وسیع (شامل بیش از ۴۰۰۰ گونهٔ گیاهی) (Farr *et al.*, 1989) شناسایی گونه در این جنس را با پیچیدگی روبه‌رو کرده است. در گذشته، تلاش‌هایی برای ایجاد سهولت در تاکسونومی این جنس انجام شده است؛ بر اساس مطالعه‌های متعدد Simmons (۱۹۹۲) شرایط ویژه‌ای برای شناسایی افراد این جنس در سطح گونه ذکر شده که جامعهٔ علمی آن را به‌طور گسترده‌ای به کار برده است. باتوجه‌به شرایط یادشده اعضای این جنس بر مبنای برخی از صفت‌های مشترک ریخت‌شناختی ازجمله ویژگی‌های هاگ، الگوی تشکیل زنجیرهای هاگ و ماهیت نوک هاگ به چندین گروه گونه‌ای ریخت‌شناختی (morphological species–group) تفکیک شده‌اند و هریک از گروه‌ها با یک گونهٔ نماینده مشخص شده است. ماهیت این گروه‌بندی‌های ریخت‌شناختی بر اساس داده‌های فیزیولوژیکی، بیوشیمیایی، ژنتیکی و بیماری‌شناسی تأیید شده است (Andersen and Thrane, 1996; Roberts *et al.*, 2000; Andersen *et al.*, 2002; 2009). در سال‌های اخیر با ابداع و توسعهٔ روش‌های مولکولی در سیستماتیک قارچ‌ها، مطالعه‌های متعددی بر مبنای توالی‌یابی ژن‌ها روی افراد جنس *Alternaria* انجام و نتایج آنها تغییرات زیادی را در تاکسونومی این جنس و سایر جنس‌های مشابه سبب شده است (Pryor and Bigelow, 2003; Hong *et al.*, 2005; Runa *et al.*, 2009; Lawrence *et al.*, 2012; 2013; 2014; Woudenberg *et al.*, 2013; 2014). در پژوهش Lawrence و همکاران (۲۰۱۳) ماهیت تک‌نیایی برخی از گروه‌های گونه‌ای ریخت‌شناختی بر اساس داده‌های حاصل از توالی‌های مبتنی بر چندین مکان ژنومی تأیید و به شناسایی ۸ گروه گونه‌ای تبارشناختی منجر شده است. در مطالعهٔ یادشده، گروه‌های گونه‌ای تبارشناختی به رتبهٔ تاکسونومیکی بخش (section) ارتقا داده شده‌اند. در مطالعهٔ دیگری Woudenberg و همکاران (۲۰۱۳) ماهیت تک‌نیایی ۱۷ گروه گونه‌ای ریخت‌شناختی دیگر را نشان داده‌اند و آنها را بخش‌های جنس *Alternaria* در نظر گرفته‌اند. در آخرین بازنگری انجام‌شده روی جنس *Alternaria* بر اساس نشانگرهای مولکولی، اعضای این جنس در قالب ۲۷ بخش (section) تقسیم‌بندی شده‌اند (Lawrence *et al.*, 2016). یکی از بخش‌های مهم و بزرگی که در جنس *Alternaria* مشخص شده است بخش *Infectoriae* است که اعضای آن ازنظر ویژگی‌های ریخت‌شناختی و تبارشناختی به‌خوبی از سایر بخش‌های جنس متمایز شده‌اند. تولید پرگنه‌های سفیدرنگ در محیط‌کشت‌های غنی از قند، هاگ‌زایی فراوان به‌شکل توده‌های جوش‌مانند در محیط‌کشت‌های ضعیف ازنظر مادهٔ قندی مانند PCA، V8 و WPDA (weak PDA)، تولید زنجیرهای هاگ با انشعابات متعدد همراه با هاگبرهای ثانویهٔ (نوک کاذب) بلند در انتهای درصد درخور توجهی از هاگ‌ها ازجمله ویژگی‌های عمدهٔ ریخت‌شناختی ماکروسکوپی و میکروسکوپی مشترک بین اعضای این بخش هستند (Simmons, 1986; Pryor and Michailides, 2002; Dugan and Peever, 2002)؛ بااین‌حال ممکن است اعضای این بخش ازنظر برخی ویژگی‌های ریخت‌شناختی با اعضای

www.SID.ir

Archive of SID



سایر بخش‌ها مانند بخش *Alternaria* هم‌پوشانی داشته باشند (Lawrence *et al.*, 2013). درحال‌حاضر، این بخش از جنس *Alternaria* با گونهٔ *A. infectoria* (گونهٔ نماینده) مشخص می‌شود. در سال‌های اخیر همواره دربارهٔ تعداد گونه‌هایِ معتبری که به این بخش اختصاص داده شده‌اند تردید وجود داشته است. در بازبینی انجام‌شده روی جنس *Alternaria* تعداد ۲۵ گونه در این بخش قرار داده شده است (Lawrence *et al.*, 2016). در مطالعه‌های انجام‌شده روی افراد موجود در این بخش نیز تعداد گونه‌های موجود در این بخش به ۳۴ گونه افزایش یافته است (Gannibal and Lawrence, 2016). درحال‌حاضر، طبقه‌بندی این بخش از جنس *Alternaria* با اضافه‌شدن گونه‌های جدید (Crous *et al.*, 2016; Thambugala *et al.*, 2017) و نبود حمایت مناسب داده‌های حاصل از توالی‌های ژنومی برای تفکیک گونه‌های متفاوت ازنظر ویژگی‌های ریخت‌شناختی دچار پیچیدگی بیشتری شده است (Poursafar *et al.*, 2017). درمجموع، اغلب گونه‌های شناخته‌شده در این بخش ارتباط وسیعی با گیاهان تیرهٔ چمنیان (Poaceae) دارند و از اندام‌های مختلف گیاهانی مانند گندم، جو و یولاف گزارش شده‌اند (Simmons, 1986; Andersen *et al.*, 2002; Dugan and Peever, 2002; Andersen *et al.*, 2008)؛ باوجوداین، گونه‌های *A. ethzedia*، *A. triticina*، *A. triticimaculans* و *A. viburni* گونه‌هایی با درجه‌های متفاوت بیماری‌زایی روی میزبان‌های مختلف شناخته شده‌اند (Perelló *et al.*, 1996; Andersen *et al.*, 2008; Andersen *et al.*, 2009). مرحلهٔ جنسی تنها در اعضای بخش *Infectoriae* شناسایی شده است و در جنس *Lewia* قرار داده شده‌اند (Simmons, Barr and Simmons 1986; Lawrence *et al.*, 2016; Thambugala *et al.*, 2017). تولید اندام‌های باردهی جنسی در برخی از استرین‌های این بخش به‌شکل کشت‌های خالص (axenic) پیشنهاد می‌کند اعضای این بخش ازنظر جنسی هموتال هستند (Andersen *et al.*, 2009). همچنین اعضای این بخش به‌علت تولید برخی از متابولیت‌های ثانویه مانند اینفکتوپیرن‌ها و نوا – زالاندین‌ها از دیگر بخش‌های جنس *Alternaria* کاملاً متمایز می‌شوند (Anderson and Thrane, 1996; Andersen *et al.*, 2002; 2008; Andersen and Hollensted, 2008; Christensen *et al.*, 2005). گفته می‌شود هیچ‌یک از اعضای موجود در این بخش قادر به تولید زهرابه‌های قارچی رایج در سایر بخش‌های این جنس ازجمله آلترناریول، تنوزوئیک‌اسید و آلترسولانول نیستند (Andersen *et al.*, 2002)؛ باوجوداین، برخی مطالعه‌ها نشان می‌دهند تعدادی از گونه‌های موجود در این بخش زهرابه‌های قارچی ازجمله آلترناریول و مونومتیل‌اتر را تولید می‌کنند (Oviedo *et al.*, 2013).

بامطالعه‌های انجام‌شده طی سال‌های اخیر در زمینهٔ شناسایی گونه‌های *Alternaria* از بستره‌های مختلف در ایران (Ghosta *et al.*, 2003; 2004; Ardestani *et al.*, 2010; Hajipour Jarchelou *et al.*, 2012; 2013; Bagherabadi *et al.*, 2015) تنها سه گونه شامل *A. infectoria* (Ghosta *et al.*, 2003)، *A. arbusti* (Rahimlou and Ghosta, 2015) و *A. quercicola* (Crous *et al.*, 2016) از بخش *Infectoriae* در ایران گزارش شده‌اند. به‌غیراز مطالعهٔ Poursafar و همکاران (۲۰۱۷) مطالعهٔ جامعی برای شناسایی گونه‌های جنس *Alternaria* از بخش *Infectoriae* در ایران انجام نشده است؛ بنابراین، مطالعهٔ

www.SID.ir

Archive of SID



حاضر با هدف جداسازی و شناسایی گونه‌های جنس *Alternaria* از بخش *Infectoriae* که با نشانه‌های بیماری کپک سیاه خوشه‌های گندم و جو در استان‌های گلستان، البرز و قزوین همراه بودند انجام شد.

## روش بررسی

### نمونه‌برداری، جداسازی و خالص‌سازی جدایه‌های قارچی

طی بهار و تابستان سال‌های ۱۳۹۳ و ۱۳۹۴ از خوشه‌های گندم و جوی دارای نشانه‌های کپک سیاه در مناطق مختلف زیرکشت این محصولات در استان‌های گلستان، البرز و قزوین به‌شکل کاملاً تصادفی نمونه‌برداری شد. نمونه‌های جمع‌آوری‌شده درون پاکت‌های کاغذی جداگانه قرار داده شدند و پس‌از ثبت ویژگی‌های محل و نوع میزبان به آزمایشگاه منتقل شدند. نمونه‌ها پس‌از رطوبت‌گیری کامل تا زمان جداسازی قارچ‌ها در دمای اتاق نگهداری شدند. جداسازی قارچ‌ها از بافت‌های دارای نشانه به روش کاغذ صافی مرطوب (Blotter method) (Frisvad, 1983) و به دو شکل کشت پس‌از ضدعفونی سطحی بافت‌ها با محلول هیپوکلریت‌سدیم ۱ درصد به‌مدت ۱ دقیقه و ۳ بار شستشو با آب مقطر سترون و کشت بدون ضدعفونی سطحی انجام شد. خالص‌سازی جدایه‌های قارچی به روش کشت تک هاگ و یا کشت نوک ریسه روی محیط‌کشت‌های سیب‌زمینی‌دکستروزآگار (PDA) و آب‌آگار ۲ درصد (2% WA) انجام شد. جدایه‌های قارچی خالص‌سازی‌شده برای مطالعه‌های بعدی در لوله‌های آزمایش حاوی محیط‌کشت سیب‌زمینی‌هویج‌آگار (PCA) ذخیره شدند.

### مطالعه‌های ریخت‌شناختی

ویژگی‌های ریخت‌شناختی جدایه‌های جنس *Alternaria* مطابق روش پیشنهادی Simmons (۲۰۰۷) بررسی شدند. به این منظور، قارچ‌های خالص‌شده روی محیط‌کشت سیب‌زمینی‌هویج‌آگار (PCA) کشت شدند و به‌مدت ۵ تا ۷ روز در شرایط دمایی ۲۳ تا ۲۵ درجهٔ سلسیوس زیر نور سفید فلورسنت با دورهٔ تاریکی/روشنایی ۸/۱۶ ساعت نگهداری شدند. ویژگی‌های کلی پرگنه‌ها و الگوی هاگ‌زایی و آرایش هاگ‌ها روی هاگبرها بدون تخریب حالت طبیعی و با بینوکولر (مدل Wild Heerbrugg) بررسی شدند. لام‌های میکروسکوپی به روش نوارچسپ شفاف (Schubert *et al.*, 2007) در لاکتیک‌اسید ۲۵ درصد تهیه شدند؛ علاوه‌براین، ویژگی‌های پرگنه‌ها در جدایه‌های مطالعه‌شده در محیط‌کشت Pentachloronitrobenzene–Rose bengal–Yeast extract–Sucrose agar (PRYES) (Frisvad, 1983) و محیط‌کشت PDA (ساخت شرکت مرک آلمان) و شرایط دمایی ۲۵ درجهٔ سلسیوس و تاریکی مطلق پس‌از ۷ روز بررسی شدند؛ ویژگی‌های ثبت‌شدهٔ جدایه‌های مطالعه‌شده با توصیف‌ها و کلیدهای معتبر قارچ‌شناسی مقایسه شدند و شناسایی ریخت‌شناختی جدایه‌ها انجام شد. جدایه‌های گونه‌های شناسایی‌شده در مجموعه‌های قارچ‌شناسی دانشگاه تهران (UTFC) و پژوهشگاه زیست‌فناوری کشاورزی ایران- کرج (ABRII) نگهداری می‌شوند.

### مطالعه‌های مولکولی و ارزیابی‌های تبارشناختی

به‌منظور تهیهٔ تودهٔ میسلیومی برای استخراج DNA ژنومی، جدایه‌های قارچی روی محیط‌کشت PDA در

www.SID.ir

Archive of SID



تشتک‌های پتری ۹ سانتی‌متری کشت شدند و روش Zhong و Steffenson (۲۰۰۱) با اندکی تغییر برای استخراج DNA ژنومی از جدایه‌های قارچی استفاده شد. به‌منظور بررسی روابط تبارشناختی جدایه‌های مطالعه‌شده، ناحیهٔ ITS از DNA ریبوزومی با استفاده از آغازگرهای ITS4 و ITS5 (White *et al.*, 1990) و بخشی از ژن گلیسرآلدهید-۳-فسفات‌دهیدروژناز (*gpdh*) با استفاده از آغازگرهای gpd 1 و gpd 2 (Berbee, 1999) تکثیر شد. شرکت ماکروژن توالی‌یابی محصولات تکثیرشده را (Macrogen Inc., South Korea) انجام داد و ویرایش توالی‌های نوکلئوتیدی حاصل با نرم‌افزار BioEdit v. 7.2.5 انجام شد (Hall, 1999). عمل هم‌ردیف‌سازی چندگانهٔ توالی‌های نوکلئوتیدی جدایه‌های مطالعه‌شده به همراه توالی‌های نوکلئوتیدی دریافت‌شده از بانک ژن NCBI (جدول ۱) در نرم‌افزار تحت‌وب MAFFT v. 7.304 (Katoh and Standley, 2013) انجام شد. تبارنما با استفاده از ماتریکس داده‌ای مبتنی بر صفت‌های Maximum Parsimony (MP) به روش جستجوی تبارنمای ابتکاری (Heuristic search) شاخص random addition sequence با ۱۰۰۰ تکرار و الگوریتم TBR با نرم‌افزار PAUP v. 4.0b10 ترسیم شد (Swofford, 1999). تمام مکان‌های خالی (gaps) در این تجزیه‌وتحلیل اطلاعات ازدست‌رفته (missing data) درنظر گرفته شدند. پایداری تبارنمای حاصل با شاخص bootstrap و ۱۰۰۰ تکرار ارزیابی شد (Felsenstein, 1985). در ارزیابی‌های تبارشناختی، گونهٔ *Alternaria abundans* (CBS 534.83) آرایهٔ گروه خارجی (out group) انتخاب شد. توالی‌های نوکلئوتیدی جدایه‌های مطالعه‌شده در مجموعه داده‌های بانک ژن NCBI ذخیره و شماره‌های دسترسی آنها دریافت شد (جدول ۱).

جدول ۱- گونه‌های استفاده‌شده در تجزیه‌وتحلیل‌های تبارشناختی به همراه توالی‌های نوکلئوتیدی دریافت‌شده از بانک ژن NCBI. ترادف‌های نوکلئوتیدی به‌دست‌آمده در پژوهش حاضر پررنگ‌تر نشان داده شده‌اند.

| Species | Isolate/Strain | GenBank accession numbers | |
|---|---|---|---|
| | | *gpdh* | ITS |
| *Alternaria. abundans* | CBS 534.83 | FJ214852 | JN383485 |
| *A. alternariana* | EGS 10–193 | JQ646289 | JQ693648 |
| *A. arbusti* | EGS 91–136 | JQ646365 | JQ693644 |
| *A. arbusti* | FMD 578731–57FD | JQ693630 | JQ693671 |
| *A. arbusti* | UTFC 4–11/ ABRII 10246 | **KY290833** | **KY290828** |
| *A. caespitosa* | CBS 177.80 | KC584178 | KC584250 |
| *A. californica* | EGS 52–082 | JQ646285 | JQ693645 |
| *A. conjuncta* | EGS 37–139 | AY562401 | FJ266475 |
| *A. daucicaulis* | EGS 36–1947 | JQ646294 | JQ693653 |
| *A. ethzedia* | EGS 37–143 | AY278795 | AY278833 |
| *A. ethzedia* | UTFC 3–8/ ABRII 10247 | **KY290835** | **KY290830** |
| *A. frumenti* | EGS 44–001 | JQ646295 | JQ693654 |
| *A. graminicola* | EGS 41–139 | JQ646291 | JQ693650 |
| *A. hordeiaustralica* | EGS 44–200 | JQ646283 | JQ693641 |
| *A. hordeicola* | EGS 50–184 | JQ646284 | JQ693642 |
| *A. humuli* | EGS 47–140 | JQ646293 | JQ693652 |
| *A. incomplexa* | EGS 17–103 | JQ646287 | JQ693658 |
| *A. incomplexa* | UTFC 4–14/ ABRII 10245 | **KY290831** | **KY290827** |
| *A. incomplexa* | UTFC 4–16/ ABRII 10244 | **KY290832** | **KY290826** |
| *A. infectoria* | EGS 27–193 | AY278793 | AF347034 |

www.SID.ir

Archive of SID



| Species | Isolate/Strain | GenBank accession numbers | |
|---|---|---|---|
| | | *gpdh* | ITS |
| *A. intercepta* | EGS 49–137 | JQ646297 | JQ693656 |
| *A. merytae* | EGS 46–153 | JQ646292 | JQ693651 |
| *A. metachromatica* | EGS 38–132 | AY562404 | JQ693660 |
| *A. novae–zelandiae* | EGS 48–092 | JQ646296 | JQ693655 |
| *A. oregonensis* | EGS 29–194 | FJ266491 | FJ266478 |
| *A. slovaca* | CBS 567.66 | KC584150 | KC584226 |
| *A. triticimaculans* | EGS 41–050 | JQ646280 | JQ693657 |
| *A. triticimaculans* | UTFC 10–2/ ABRII 10248 | **KY290834** | **KY290829** |
| *A. triticina* | FMD ITEM 630 | JQ693623 | JQ693665 |
| *A. ventricosa* | EGS 52–075 | JQ646290 | JQ693649 |
| *A. viburni* | EGS 49–147 | JQ646288 | JQ693647 |

## نتیجه و بحث

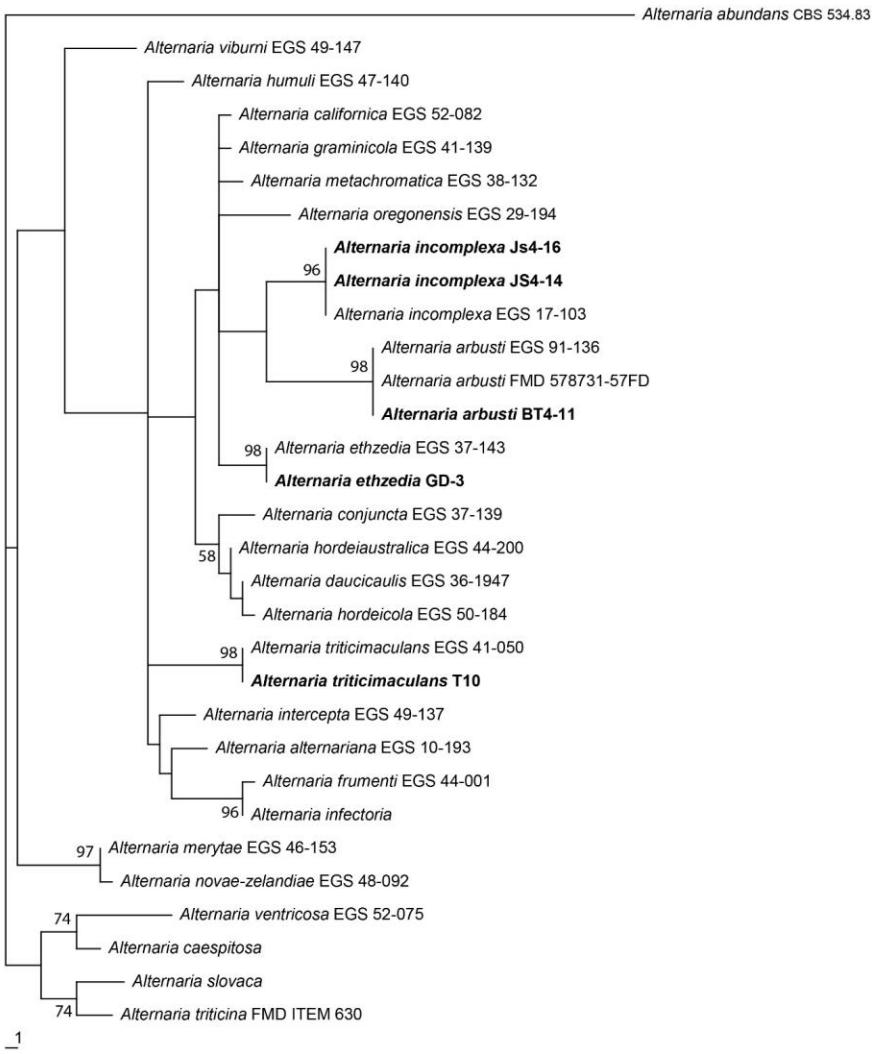
در مطالعهٔ حاضر، تعداد ۱۳۳ جدایهٔ *Alternaria* با ویژگی‌های مربوط به بخش *Infectoriae* جمع‌آوری و بررسی‌های ریخت‌شناختی اولیه روی آنها انجام شدند. تعداد ۵ جدایه از این مجموعه بر اساس شناسایی‌های ریخت‌شناختی برای تأیید شناسایی‌های ریخت‌شناختی بر مبنای داده‌های توالی‌های ناحیهٔ ITS–rDNA و بخشی از ژن *gpdh* انتخاب شدند. درمجموع، ۴ گونه شامل *A. arbusti*، *A. ethzedia*، *A. incomplexa* و *A. triticimaculans* متعلق به بخش *Infectoriae* بر اساس مجموعه ویژگی‌های ریخت‌شناختی و تبارشناختی شناسایی شدند. با مرور منابع علمی موجود، به‌غیراز گونهٔ *A. arbusti* که قبلاً از گیاهان کلم در ایران جداسازی و گزارش شده بود (Rahimlou and Ghosta, 2015) سه گونهٔ دیگر آرایه‌های جدیدی برای بیوتای قارچی ایران شناسایی شدند و در مقالهٔ حاضر به‌ترتیب حروف الفبا گزارش و توصیف شدند. تکثیر ناحیهٔ ITS از DNA ریبوزومی و بخشی از ژن گلیسرآلدهید-۳-فسفات‌دهیدروژناز (*gpdh*) در واکنش زنجیره‌ای پلیمراز جدایه‌های گونه‌های مطالعه‌شده به تولید قطعه‌های DNA به‌ترتیب ۵۷۰ تا ۶۰۰ و ۵۲۰ تا ۵۴۰ جفت بازی منجر شد. نتایج جستجوی بلاست توالی‌های ناحیهٔ ITS از DNA ریبوزومی در بانک داده‌های ژن NCBI شباهت‌های زیادی (۹۹ تا ۱۰۰ درصد) را بین گونه‌های موجود در این بخش نشان داد که گویای ناتوانی این ناحیهٔ ژنومی به‌تنهایی برای تفکیک گونه‌های موجود در این بخش است. از سوی دیگر، نتایج جستجوی بلاست توالی‌های به‌دست‌آمده از ژن گلیسرآلدهید-۳-فسفات دهیدروژناز (*gpdh*) در بانک داده‌های ژن NCBI نشان داد توالی‌های این ژن دارای تنوع کافی بین اغلب گونه‌های این بخش از جنس *Alternaria* هستند و نشانگر مناسبی برای شناسایی گونه‌های این بخش به شمار می‌آیند. ترکیب توالی‌های نوکلئوتیدی دو جایگاه ژنومی ITS از DNA ریبوزومی و *gpdh* برای گونه‌های شناسایی‌شده در مطالعهٔ حاضر به همراه توالی‌های ۲۵ گونهٔ مرجع از بخش *Infectoriae* تجزیه‌وتحلیل شدند؛ به‌این‌ترتیب، از تعداد کل ۱۰۵۶ کاراکتر استفاده‌شده در تجزیه‌وتحلیل حاضر، تعداد ۹۴۹ کاراکتر ثابت، ۵۷ کاراکتر متغیر و بدون اطلاعات پارسیمونی و ۵۰ کاراکتر دارای اطلاعات پارسیمونی بودند. در تبارنمای استنتاج‌شده (TL=157، CI=0.758، RI=0.819، HI=242) بر اساس روش Maximum Parsimony جدایه‌های بررسی‌شده BT4–11، GD–3،

www.SID.ir

Archive of SID



JS4–14، JS4–16 و T10 به‌ترتیب با مقادیر اعتبارسنجی زیاد در کلادهای مربوط به گونه‌های *A. arbusti*، *A. ethzedia*، *A. incomplexa* و *A. triticimaculans* جای گرفتند (شکل ۱).




شکل ۱- تبارنمای استنتاج‌شده از ترکیب توالی‌های نوکلئوتیدی ناحیهٔ ITS و بخشی از ژن *gpdh* به روش Maximum Pasrimony برای ۴ گونهٔ شناسایی‌شده در مطالعهٔ حاضر به همراه ۲۵ گونهٔ نماینده از بخش *Infectoriae*. مقادیر Bootstrap بیشتر از ۵۰ درصد در محل گره‌ها نشان داده شده‌اند. گونهٔ *A. abundans* CBS. 534.83 آرایهٔ گروه خارجی انتخاب شده است.

## توصیف گونه‌ها

۱- *Alternaria arbusti* E.G. Simmons, Mycotaxon 48: 103 (1993)

ویژگی‌های پرگنه: پرگنهٔ این گونه روی محیط‌کشت PRYES مسطح به رنگ زیتونی مایل به خاکستری با حاشیهٔ منظم و قطر ۵۰ میلی‌متر، روی محیط‌کشت PDA مسطح به رنگ قهوه‌ای تیره با حاشیهٔ سفید و نامنظم و قطر ۴۵ میلی‌متر و روی محیط‌کشت PCA به رنگ سفید با توده‌های هاگ به رنگ زیتونی تا زیتونی تیره و قطر رشدی ۶۵ میلی‌متر است (شکل‌های ۲A–C).

www.SID.ir

Archive of SID



توصیف: ریسه‌ها به رنگ قهوه‌ای روشن با دیواره و بندهای عرضی تیره‌تر هستند. در برخی از موارد، ریسه‌ها در کنار یکدیگر قرار می‌گیرند و دستجاتی از ریسه‌ها تولید می‌کنند که باعث ایجاد توده‌های متراکم هاگ می‌شوند. هاگبرهای اولیه کوتاه، متوسط و بلند به رنگ قهوه‌ای روشن تا تیره، دارای بندهای عرضی تیره‌تر و به طول تا ۱۲۰ میکرومتر، اغلب راست و در برخی موارد دارای خمیدگی‌های زانویی‌شکل هستند و اغلب با یک محل هاگ‌زایی و در مواردی تا ۵ محل هاگ‌زایی دیده می‌شوند. هاگ‌ها به اشکال مختلف کروی تا تخم‌مرغی، گرزی تا گرزی‌شکل وارونه و مخروطی دیده می‌شوند. هاگ‌های ابتدای زنجیر دارای هاگبرهای ثانویهٔ بلند، به اشکال کروی، بیضوی تا کشیده، به رنگ قهوه‌ای روشن تا تیره با سطح زگیل‌دار، با ۳ تا ۷ بند عرضی و ۳ تا ۵ بند طولی و مورب و به ابعاد ۲۳–۱۶×۶۰–۳۵ میکرومتر هستند. هاگ‌های میانی و انتهایی زنجیر به رنگ قهوه‌ای روشن تا تیره، به اشکال کروی، استوانه‌ای تا تخم‌مرغی و گرزی‌شکل و به ابعاد ۲۰–۱۰×۵۰–۲۰ میکرومتر هستند. هاگبرهای ثانویه راست تا دارای خمیدگی‌های زانویی‌شکل با ۱ تا ۵ محل هاگ‌زایی و در مواردی بیشتر هستند و تا ۱۲۰ میکرومتر طول دارند (شکل‌های 2D–H).

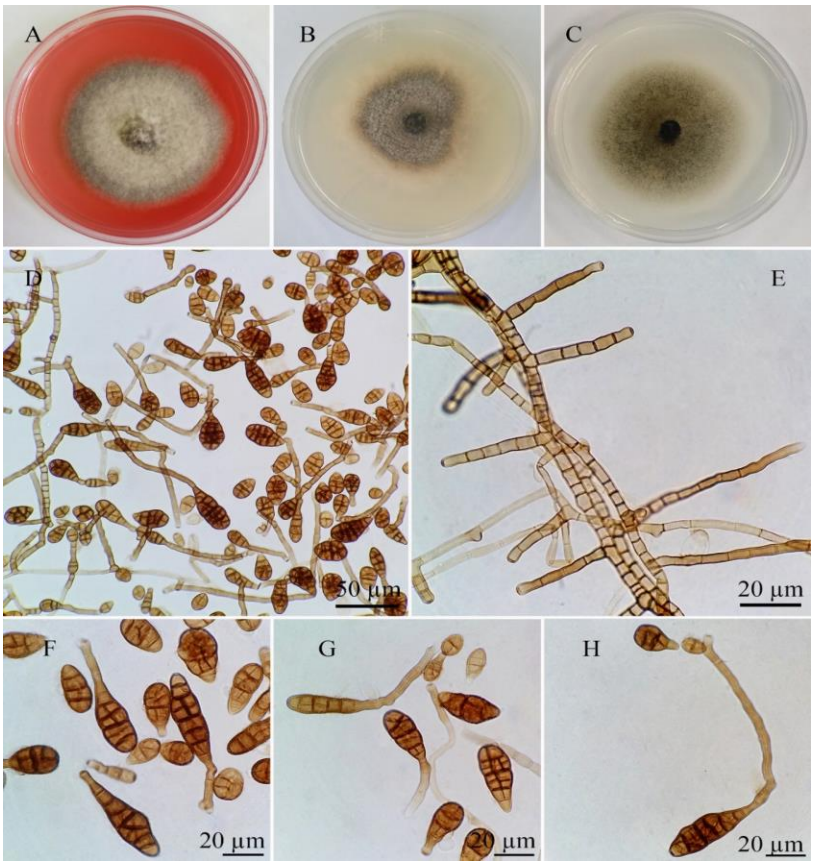
توضیحات: در پژوهش حاضر، ۷ جدایه با ویژگی‌های گونهٔ *A. arbusti* مطابقت داشتند. تولید هاگ‌های ستبر (robust) با هاگبر ثانویهٔ نسبتاً بلند و زنجیرهای کوتاه هاگ در توده‌های نسبتاً متراکم صفت ریخت‌شناختی متمایزکنندهٔ این گونه از سایر گونه‌های موجود در این بخش است (شکل ۲). این گونه برای نخستین‌بار از گیاه گلابی *Pyrus pyrifolia* و میوه‌های گیلاس *Prunus avium* L. در ایالات متحدهٔ آمریکا جداسازی و شناسایی شده است (Simmons, 1993). این گونه به‌تازگی از گیاه سیب‌زمینی در شمال‌غرب ایالات متحدهٔ آمریکا جداسازی و بر مبنای تلفیق داده‌های ریخت‌شناختی و مولکولی شناسایی شده است (Tymon *et al.*, 2016). Rahimlou و Ghosta (۲۰۱۵) این گونه را در ایران از برگ‌های گیاهان کلم دارای نشانه‌های لکه‌برگی جداسازی و گزارش کرده‌اند؛ علاوه‌براین، نتایج آزمون‌های بیماری‌زایی این گونه روی برگ‌های کلم توان بیماری‌زایی کم آن را روی کلم نشان داده است (Rahimlou and Ghosta, 2015). گونهٔ یادشده ازنظر ویژگی‌های ریخت‌شناختی و تولید هاگ در زنجیرهای کوتاه مشابه گونهٔ *A. gaisen* است؛ باوجوداین، *A. arbusti* با برخی ویژگی‌های ریخت‌شناختی میکروسکوپی هاگ‌ها ازجمله تولید هاگبرهای ثانویهٔ دراز (Simmons, 2007) و ازنظر تبارشناختی از گونهٔ *A. gaisen* متمایز می‌شود (Lawrence *et al.*, 2014).

**نمونه‌های بررسی‌شده:** جدایه‌های BT5–7 و BT4–11 (UTFC 4–11; ABRII 10246)، خوشهٔ گندم، بندر ترکمن؛ جدایه‌های JS8–2، JS8–10 و JS8–12، خوشهٔ گندم، جادهٔ ساری- گرگان، استان گلستان؛ جدایهٔ NAZ6–1، خوشهٔ گندم، نظرآباد؛ جدایهٔ H9–16، خوشهٔ گندم، هشتگرد، استان البرز. جمع‌آوری‌کننده: علیرضا پورصفر، بهار ۱۳۹۳.

www.SID.ir

Archive of SID






شکل ۲- *Alternaria arbusti*، A تا C. پرگنهٔ قارچ به‌ترتیب روی محیط‌کشت‌های PRYES، PDA و PCA پس‌از ۷ روز، D. تنوع شکل هاگ‌ها، E. هاگبرهای اولیه، F تا G. هاگ‌ها، H. هاگبر ثانویه

۲- *Alternaria ethzedia* E.G. Simmons, Mycotaxon 25(1): 300 (1986)

ویژگی‌های پرگنه: پرگنه در جدایه‌های این گونه روی محیط‌کشت PRYES مسطح به رنگ سفید متمایل به زرد با حاشیهٔ نامنظم و قطر ۵۵ میلی‌متر، روی محیط‌کشت PDA مسطح به رنگ سفید متمایل به خاکستری تیره با حاشیهٔ سفید و منظم و قطر ۷۰ میلی‌متر و روی محیط‌کشت PCA به رنگ سفید مایل به خاکستری با توده‌های هاگ‌زایی سیاه‌رنگ و قطر رشدی ۶۰ میلی‌متر است. در محیط‌کشت PCA ریسه‌ها اغلب در سطح محیط رشد می‌کنند، بی‌رنگ تا قهوه‌ای روشن و با بندهای عرضی بی‌رنگ هستند. هاگبرها اغلب از ریسه‌های موجود در سطح آگار و از ریسه‌های هوایی تشکیل می‌شوند و هاگ‌زایی در زنجیرهای راست یا منشعب در توده‌های غیرمتراکم و حلقه‌های هم‌مرکز انجام می‌شود (شکل‌های A-C۳).

توصیف: هاگبرهای اولیه دارای ابعاد کوتاه تا متوسط به طول تا ۱۰۰ میکرومتر و رنگ قهوه‌ای روشن، راست تا دارای خمیدگی‌های زانویی‌شکل و گاهی منشعب و اغلب با ۱ تا ۳ و به‌ندرت ۴ محل هاگ‌زایی هستند. هاگ‌ها به رنگ قهوه‌ای روشن با بندهای عرضی تیره، سطح صاف و به اشکال تخم‌مرغی تا تخم‌مرغی کشیده، کروی، گرزی‌شکل وارونه دیده می‌شوند و در مواردی دارای باریک‌شدگی در قسمت انتهایی هاگ هستند. هاگ‌های ابتدای زنجیر اغلب

www.SID.ir

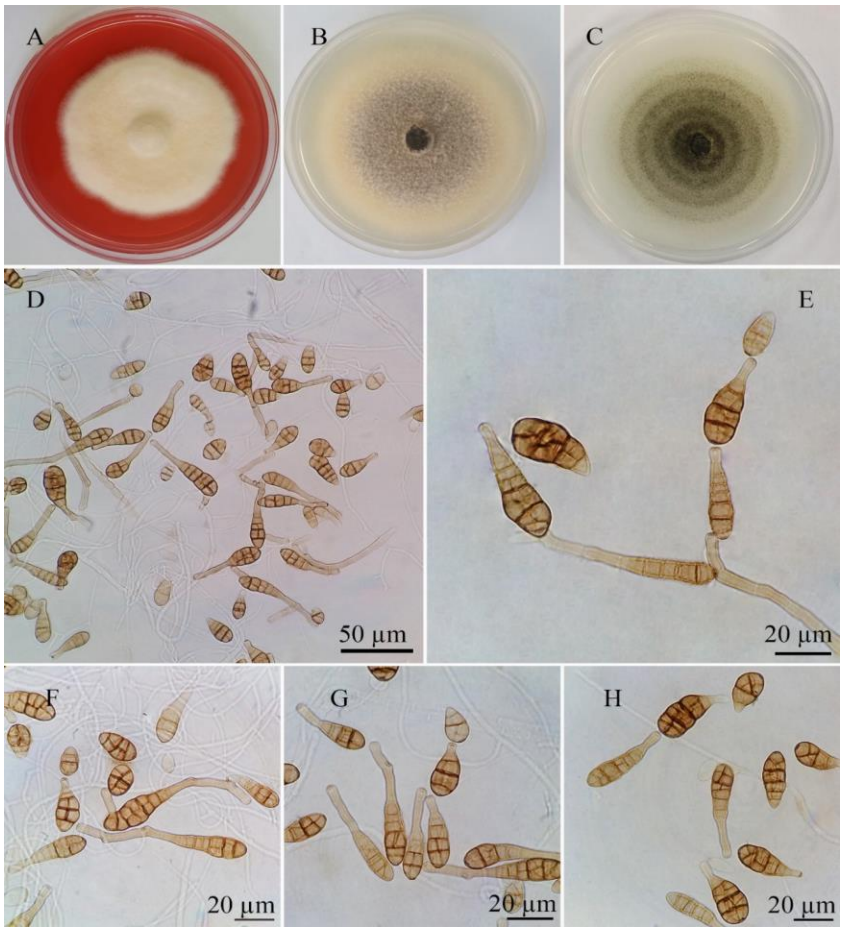
Archive of SID



بزرگ و به ابعاد ۱۷–۱۰×۷۰–۴۰ میکرومتر، راست و در مواردی دارای انحنا و دارای ۳ تا ۸ بند عرضی تیره، صفر تا ۲ بند طولی و صفر تا ۱ بند مورب هستند. هاگبرهای ثانویه در این هاگ‌ها اغلب کوتاه و به طول تا ۸۰ میکرومتر، ساده یا منشعب و دارای ۱ تا ۳ محل هاگ‌زایی هستند. هاگ‌های میانی و انتهایی زنجیر اغلب تخم‌مرغی‌شکل با ۱ تا ۴ بند عرضی، صفر تا ۲ بند طولی و صفر تا ۲ بند مورب هستند و ابعاد آنها ۱۵–۹×۴۷–۱۹ میکرومتر است. این هاگ‌ها دارای هاگبر ثانویهٔ کوتاه به طول تا ۵۰ میکرومتر هستند و یا هاگبر ندارند (شکل ۳D–H).

توضیحات: این گونه برای نخستین‌بار از گیاه کلزا (*Brassica napus* L.) در کشور سوئیس گزارش شده است و از معدود گونه‌های جنس *Alternaria* است که قادر به تولید مرحلهٔ جنسی است. در گذشته، مرحلهٔ جنسی این گونه با نام *Lewia ethzedia* شناخته می‌شد (Simmons, 1986).

**نمونه‌های بررسی‌شده:** جدایهٔ FA6–4، فاضل‌آباد، خوشهٔ گندم، استان گلستان، بهار ۱۳۹۳؛ جدایهٔ B9–12، گنبد کاووس، خوشهٔ جو، بهار ۱۳۹۳؛ جدایه GD–3 (UTFC 3–8; ABRII 10247)، خوشهٔ گندم، درود محله، گرگان، استان گلستان، بهار ۱۳۹۴. جمع‌آوری‌کننده: علیرضا پورصفر




شکل ۳– *Alternaria ethzedia*، A تا C. پرگنهٔ قارچ به‌ترتیب روی محیط کشت‌های PRYES، PDA و PCA پس‌از گذشت ۷ روز، D. تنوع شکل در هاگ‌ها، C. هاگبر اولیه و هاگ، H تا F هاگ‌ها

www.SID.ir

Archive of SID



۳- *Alternaria incomplexa* E.G. Simmons, Mycotaxon 57: 394 (1996)

ویژگی‌های پرگنه: پرگنه در جدایه‌های این گونه روی محیط‌کشت PRYES برآمده و گنبدی‌شکل به رنگ سفید با حاشیهٔ منظم و قطر ۴۰ میلی‌متر، روی محیط‌کشت PDA مسطح به رنگ قهوه‌ای تیره با حاشیهٔ سفید و منظم و قطر ۷۵ میلی‌متر و روی محیط‌کشت PCA به رنگ خاکستری تیره با توده‌های هاگ‌زایی سیاه‌رنگ و قطر رشدی ۷۰ میلی‌متر است. در محیط‌کشت PCA ریسه‌ها اغلب در سطح محیط‌کشت توسعه می‌یابند و به رنگ قهوه‌ای با بندهای عرضی بی‌رنگ هستند (شکل‌های A–C۴).

توصیف: هاگبرها اغلب از ریسه‌های موجود در سطح محیط‌کشت و از ریسه‌های هوایی تشکیل می‌شوند و هاگ‌زایی در زنجیرهای راست تا منشعب به‌شکل توده‌های متراکم و حلقه‌های متحدالمرکز انجام می‌شود. در هر انشعاب از زنجیرها ممکن است ۵ تا ۷ هاگ و در مواردی تا ۱۲ هاگ تشکیل شود. هاگبرهای اولیه دارای ابعاد متوسط تا بلند به طول تا ۱۲۰ میکرومتر و رنگ قهوه‌ای روشن تا تیره، راست تا دارای خمیدگی‌های زانویی‌شکل، اغلب با ۱ و به‌ندرت ۲ محل هاگ‌زایی هستند. هاگ‌های تشکیل‌شده در ابتدای زنجیر بزرگ و به ابعاد ۱۵–۱۰×۷۰–۳۷ میکرومتر، به رنگ قهوه‌ای روشن تا تیره با بندهای عرضی تیره‌تر و سطح زگیل‌دار هستند و به اشکال تخم‌مرغی تا تخم‌مرغی کشیده و گرزی تا گرزی‌شکل وارونه، دارای ۳ تا ۸ بند عرضی، صفر تا ۱ بند طولی و صفر تا ۲ بند مورب با قاعدهٔ کروی، باریک‌شده به‌سمت انتها و دارای فرورفتگی مشخص در محل بند عرضی میانی و یا یک‌سوم بالایی هاگ دیده می‌شوند. هاگبر ثانویه در این هاگ‌ها بلند و به طول تا ۱۰۰ میکرومتر و با ۱ تا ۳ محل هاگ‌زایی است. هاگ‌های میانی و انتهایی زنجیر به ابعاد ۱۵–۶×۴۰–۱۶ میکرومتر و اشکال تخم‌مرغی تا تخم‌مرغی کشیده و کروی تا گرزی‌شکل، به رنگ‌های قهوه‌ای تیره تا روشن، با ۱ تا ۴ بند عرضی و صفر تا ۱ بند طولی هستند. این هاگ‌ها دارای هاگبر ثانویهٔ کوتاه به طول تا ۲۰ میکرومتر هستند و یا هاگبر ندارند. از ویژگی‌های مهم این گونه تشکیل هاگ‌هایی با اندازه‌های مختلف در طول زنجیرهٔ هاگ و انشعابات آن است و هاگ‌های کوچک و بزرگ به‌تناوب در طول زنجیر تشکیل می‌شوند (شکل‌های H–D۴).

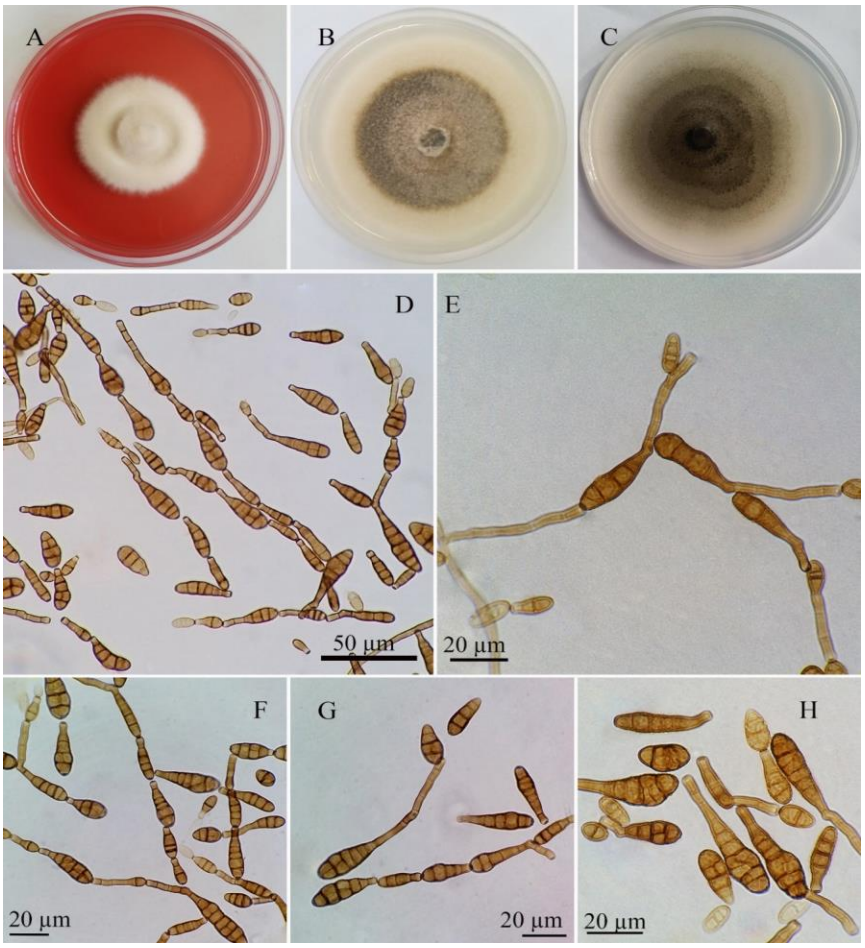
توضیحات: این گونه برای نخستین‌بار از لجن‌های جوی آب در ایالات متحدهٔ آمریکا جداسازی و گزارش شده است (Simmons, 1996).

**نمونه‌های بررسی‌شده:** جدایه‌های JS4–14 (UTFC 4–14: ABRII 10245) و JS4–16 (UTFC 4–16; ABRII 10244)، خوشهٔ گندم، جادهٔ ساری–گرگان، استان گلستان، بهار ۱۳۹۳؛ جدایهٔ KQ3–7، خوشهٔ گندم، کردکوی، استان گلستان، بهار ۱۳۹۳؛ جدایهٔ ABY4–1، خوشهٔ گندم، آبیک، استان قزوین. جمع‌آوری‌کننده: علیرضا پورصفر

www.SID.ir

Archive of SID






شکل ۴- *Alternaria incomplexa*، A تا C. پرگنهٔ قارچ به‌ترتیب روی محیط‌کشت‌های PRYES، PDA و PCA پس‌از گذشت ۷ روز، D. تنوع شکل در هاگ‌ها، E. تشکیل هاگ روی هاگبر اولیه، F. هاگ‌هایی به‌اندازه‌های مختلف در طول زنجیر، G تا H. هاگبرهای ثانویه و هاگ‌ها

۴- *Alternaria triticimaculans* E.G. Simmons and Perelló, Mycotaxon 50: 413 (1994)

ویژگی‌های پرگنه: پرگنه در جدایه‌های این گونه روی محیط‌کشت PRYES مسطح به رنگ سفید متمایل به خاکستری با حاشیهٔ منظم و قطر ۶۵ میلی‌متر، روی محیط‌کشت PDA مسطح به رنگ سفیدکرمی با حاشیهٔ منظم و قطر ۷۰ میلی‌متر و روی محیط‌کشت PCA به رنگ زیتونی تا زیتونی روشن با توده‌های هاگ‌زایی سیاه‌رنگ و قطر رشدی ۶۵ میلی‌متر است. در محیط‌کشت PCA، ریسه‌ها اغلب در سطح محیط‌کشت توسعه می‌یابند و به رنگ قهوه‌ای روشن هستند.

هاگبرهای اولیه اغلب از ریسه‌های موجود در سطح محیط‌کشت و از ریسه‌های هوایی تشکیل می‌شوند و هاگ‌زایی به فراوانی در زنجیرهای راست یا منشعب به‌شکل توده‌های متراکم و در حلقه‌های متحدالمرکز انجام می‌شود (شکل‌های ۵A-C).

توصیف: هاگبرهای اولیه کوتاه تا متوسط (تا ۱۰۰ میکرومتر)، اغلب راست، به رنگ قهوه‌ای روشن و با ۱ تا ۳ مکان هاگ‌زایی مشخص هستند. هاگ‌ها در این گونه دارای شکل و ابعاد نسبتاً یکنواختی هستند. هاگ‌های تشکیل‌شده در ابتدای زنجیر نسبتاً بزرگ‌تر،

www.SID.ir

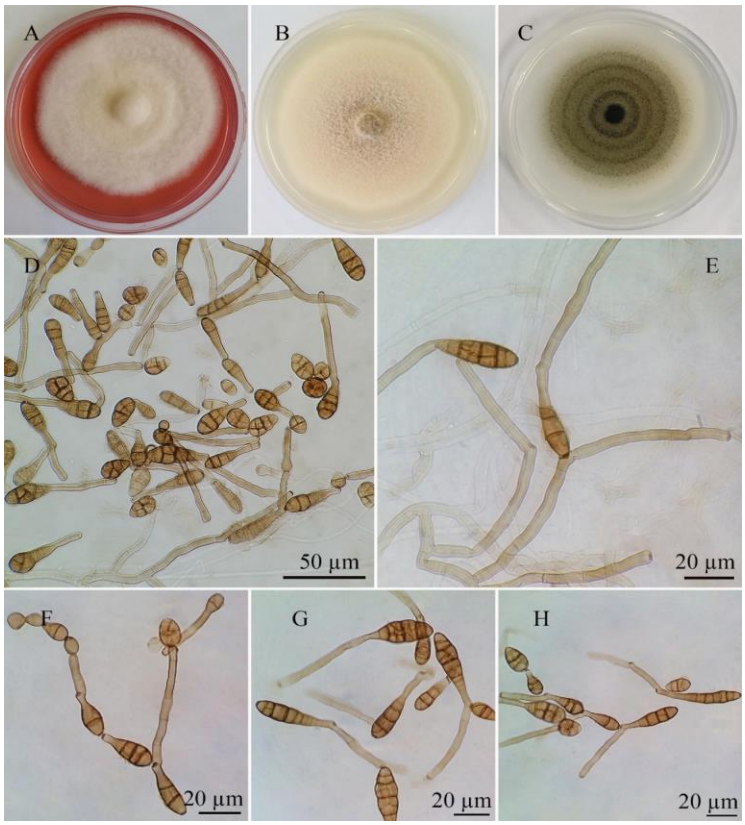
Archive of SID



به ابعاد ۱۴–۸×۷۰–۳۵ میکرومتر و به‌شکل تخم‌مرغی تا تخم‌مرغی کشیده و رنگ قهوه‌ای روشن با ۳ تا ۶ یا ۷ بند عرضی، صفر تا ۲ بند طولی و صفر تا ۲ بند مورب تیره‌تر هستند. هاگبر ثانویه در این هاگ‌ها نسبتاً بلند و به طول تا ۹۰ میکرومتر و دارای ۲–۱ محل هاگ‌زایی است. هاگ‌های موجود در میانه و انتهای زنجیر به‌شکل کروی، تخم‌مرغی تا تخم‌مرغی کشیده، گرزی تا دوکی‌شکل، اغلب با ۳ تا ۴ بند عرضی، صفر تا ۱ بند طولی و صفر تا ۱ بند مورب تیره‌تر و به ابعاد ۱۵–۸×۵۲–۱۶ میکرومتر هستند. این هاگ‌ها ممکن است دارای هاگبر ثانویهٔ کوتاه باشند و یا هاگبر نداشته باشند (شکل‌های 5D–H).

توضیحات: این گونه برای نخستین‌بار از گندم (*Triticum aestivum* L.) در کشور آرژانتین گزارش شده است (Simmons, 1994) و توانایی ایجاد آلودگی و نشانه‌های لکه‌برگی در گیاهان گندم را دارد (Perelló *et al.*, 1996). این گونه شباهت ریخت‌شناختی زیادی ازنظر الگوی انشعاب زنجیر و تولید هاگ با گونهٔ *A. infectoria* دارد (Simmons, 2007) ولی بر اساس ویژگی‌های هاگ و هاگبر ثانویه و داده‌های حاصل از توالی‌های ژنی از آن تشخیص داده می‌شود (Lawrence *et al.*, 2014).

**نمونه‌های بررسی‌شده:** جدایه‌های T10 ( UTFC 10248; ABRII 10–2) و T18–6، خوشهٔ گندم، توسکستان، استان گلستان، بهار ۱۳۹۳. جمع‌آوری‌کننده: علیرضا پورصفر




شکل ۵– *Alternaria triticimaculans*، A تا C. پرگنهٔ قارچ به‌ترتیب روی محیط‌کشت‌های PRYES، PDA و PCA پس از گذشت ۷ روز، D. تنوع شکل در هاگ‌ها، E. هاگبرهای اولیه، F.الگوی زنجیرهٔ هاگ، G تا H. هاگ‌ها و هاگبرهای ثانویه

www.SID.ir

Archive of SID



چندین جنس قارچی مختلف سیاه‌شدگی خوشه‌های گندم و جو را ایجاد می‌کنند که به نام کپک‌های سیاه خوانده می‌شوند و با رشد سبز تیره تا سیاه‌رنگ قارچ‌ها در سطح خوشه‌های بالغ گندم و جو مشخص می‌شوند. قارچ‌های عامل کپک‌های سیاه بخشی از مجموعه موجوداتی هستند که به تجزیهٔ بقایای گیاهی کمک می‌کنند و زمانی‌که آب‌وهوا طی مراحل آخر تشکیل خوشه و یا بلوغ محصول مرطوب یا خیس باشد خوشه‌های گندم و جو را کلنیزه می‌کنند (Hershman, 2011). اغلب کپک‌زدگی زمانی بسیار شدید می‌شود که برداشت محصول به تأخیر بیفتد؛ علاوه‌براین، در مواردی که سنبله‌ها کوچک، ضعیف و یا دچار رسیدگی پیش‌از بلوغ شوند و یا گیاهان دچار کمبودهای غذایی باشند و تحت‌تأثیر حشرات و دیگر بیماری‌ها قرار گرفته باشند معمولاً قارچ‌های کپک سیاه آنها را آلوده می‌کنند (Prescott *et al*., 1985)؛ باوجوداین، آلودگی به کپک‌های سیاه اغلب سطحی است و دانه به‌طور مستقیم تحت‌تأثیر قرار نمی‌گیرد و وزن آن کاهش نمی‌یابد؛ هرچند ممکن است رنگ دانه‌ها تغییر کند که به بیماری نقطهٔ سیاه معروف است (Sisterna and Sarandón, 2010). گونه‌های مختلف قارچ‌ها ازجمله گونه‌های جنس‌های *Alternaria*، *Curvularia*، *Cladosporium*، *Dreschlera*، *Epicoccum*، *Fusarium* و *Stemphylium* در ارتباط با نشانه‌های کپک سیاه خوشه‌های گندم و جو گزارش شده‌اند (Dexter and Matsuo, 1982; Perelló *et al*., 2008; Srivastava *et al*., 2014; Spurlock *et al*., 2015). گونه‌های *A. alternata*، *A. infectoria*، *A. japonica* و *A. tenuissima* در مطالعه‌های انجام‌شده روی گونه‌های *Alternaria* همراه با کپک‌های سیاه و نیز بیماری نقطهٔ سیاه گندم و جو جداسازی و گزارش شده‌اند (Mak *et al*., 2006; Bensassi *et al*., 2009). در مطالعهٔ حاضر، گونه‌های متعلق به بخش *Infectoriae* فراوانی زیادی در میان قارچ‌های جداسازی‌شده داشتند و این نتایج نشان‌دهندهٔ تنوع گونه‌ای جنس *Alternaria* مرتبط با این بیماری در مناطق بررسی‌شده در ایران هستند. به نظر می‌رسد مطالعه‌های بیشتری برای تعیین تنوع بیوتای قارچی مرتبط با کپک سیاه خوشه‌های غلات در مناطق مختلف لازم باشد تا شناخت دقیقی از عوامل قارچی مرتبط با کپک سیاه خوشه در این محصولات حاصل شود و بر اساس آن، راهکارهای مناسب برای مدیریت آن ارائه شود.

## منابع


Andersen, B. and Hollensted, M. (2008) Metabolite production by different *Ulocladium* species. International Journal of Food Microbiology 126(1): 172-179.

Andersen, B. and Thrane, U. (1996) Differentiation of *Altemaria infectoria* and *Alternaria alternata* based on morphology, metabolite profiles, and cultural characteristics. Canadian Journal of Microbiology 42(7): 685-689.

Andersen, B., Dongo, A. and Pryor, B. M. (2008) Secondary metabolite profiling of *Alternaria dauci*, *A. porri*, *A. solani* and *A. tomatophila*. Mycological Research 112(2): 241-250.


www.SID.ir

Archive of SID



Andersen, B., Krøger, E. and Roberts, R. G. (2002) Chemical and morphological segregation of *Alternaria arborescens, A. infectoria and A. tenuissima* species–groups. Mycological Research 106(2): 170-182.

Andersen, B., Sørensen, J. L., Nielsen, K. F., van den Ende, B. G. and de Hoog, S. (2009) A polyphasic approach to the taxonomy of the *Alternaria infectoria* species-group. Fungal Genetics and Biology 46(9): 642-656.

Ardestani, S. T., Sharifnabi, B., Zare, R. and Moghadam, A. A. (2010) New *Alternaria* species associated with potato leaf spot in various potato growing regions of Iran. Iranian Journal of Plant Pathology 45: 83-86 (in Persian).

Bagherabadi, S., Zafari, D. and Soleimani, M. J. (2015) A report on the *Alternaria* species and its similar genera in Hamedan province. Taxonomy and Biosystematics 7(24): 95-112 (in Persian).

Bensassi, F., Zid, M., Rhouma, A., Bacha, H. and Hajlaoui, M. R. (2009) First report of *Alternaria* species associated with black point of wheat in Tunisia. Annals of Microbiology 59(3): 465-467.

Berbee, M. L., Pirseyedi, M. and 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(6): 964-977.

Christensen, K. B., Van Klink, J. W., Weavers, R. T., Larsen, T. O., Andersen, B. and Phipps, R. K. (2005) Novel chemotaxonomic markers of the *Alternaria infectoria* species–group. Journal of Agricultural and Food Chemistry 53(24): 9431-9435.

Crous, P. W., Wingfield, M. J., Richardson, D. M., Le Roux, J. J., Strasberg, D., Edwards, J. and et al. (2016) Fungal planet description sheets: 400-468. Persoonia 36: 316-458.

Dexter, J. E. and Matsuo, R. R. (1982) Effect of smudge and black point, mildewed kernels, and ergot on durum wheat quality. Cereal Chemistry 59(1): 63-69.

Dugan, F. M. and Peever, T. L. (2002) Morphological and cultural differentiation of described species of *Alternaria* from *Poaceae*. Mycotaxon 83: 229-264.

Farr, D. F., Bills, G. F., Chamuris, G. P. and Rossman, A. Y. (1989) Fungi on plants and plant products in the United States. APS press, St. Paul, MN, USA.

Felsenstein, J. (1985) Confidence limits on phylogenies: an approach using the bootstrap. Evolution 39(4): 783-791.

Frisvad, J. C. (1983) A selective and indicative medium for groups of *Penicillium viridicatum* producing different mycotoxins in cereals. Journal of Applied Bacteriology 54(3): 409-416.

Gannibal, P. B. and Lawrence, D. P. (2016) Distribution of *Alternaria* species among sections. 3. Sections *Infectoriae* and *Pseudoalternaria*. Mycotaxon 131(4): 781-790.

Ghosta, Y., Ershad, D., Zare, R. and Goltapeh, E. M. (2003) A taxonomic study on *Alternaria* species in Iran (2). Rostaniha 4(3/4): 31-56 (in Persian).

Ghosta, Y., Ershad, D., Zare, R. and Mohammadi, G. E. (2004) A taxonomic study on *Alternaria* species in Iran. Iranian Journal of Plant Pathology 49(3): 101-104 (in Persian).

Hajipour Jarchelou, Z., Ghosta, Y. and Rezaee, S. (2012) An identification and pathogenicity study of *Alternaria* spp. of tomato and potato in West Azerbaijan Province. Iranian Journal of Plant Protection Science 43(1): 155-163 (in Persian).

Hajipour Jarchelou, Z., Ghosta, Y. and Rezaee, S. (2013) Identification and pathogenicity study of *Alternaria* spp. on potato in West Azerbaijan Province (1). Iranian Journal of Plant Pathology 49(3): 101-104.

www.SID.ir

Archive of SID



Hall, T. A. (1999) BioEdit: a user–friendly biological sequence alignment editor and analysis program for Windows 95/98/NT. Nucleic Acids Symposium Series 41: 95-98.

Hershman, D. E. (2011) Black "sooty" head mold of wheat. Plant Pathology Fact Sheet, PPFS–AG–SG–07, 2 pp.

Hong, S. G., Cramer, R. A., Lawrence, C. B. and Pryor, B. M. (2005) Alt a 1 allergen homologs from *Alternaria* and related taxa: analysis of phylogenetic content and secondary structure. Fungal Genetics and Biology 42(2): 119-129.

Katoh, K. and Standley, D. M. (2013) MAFFT multiple sequence alignment software version 7: improvements in performance and usability. Molecular Biology and Evolution 30(4): 772-780.

Lawrence, D. P., Gannibal, P. B., Dugan, F. M. and Pryor, B. M. (2014) Characterization of *Alternaria* isolates from the *infectoria* species–group and a new taxon from *Arrhenatherum*, *Pseudoalternaria arrhenatheria* sp. nov. Mycological Progress 13(2): 257-276.

Lawrence, D. P., Gannibal, P. B., Peever, T. L. and Pryor, B. M. (2013) The sections of *Alternaria*: formalizing species-group concepts. Mycologia 105(3): 530-546.

Lawrence, D. P., Park, M. S. and Pryor, B. M. (2012) *Nimbya* and *Embellisia* revisited, with nov. comb. for *Alternaria celosiae* and *A. perpunctulata*. Mycological Progress 11(3): 799-815.

Lawrence, D. P., Rotondo, F. and Gannibal, P. B. (2016) Biodiversity and taxonomy of the pleomorphic genus *Alternaria*. Mycological Progress 15(1): 1-22.

Mak, Y., Willows, R. D., Roberts, T. H., Wrigley, C. W., Sharp, P. J. and Copeland, L. E. S. (2006) Black point is associated with reduced levels of stress, disease-and defense-related proteins in wheat grain. Molecular Plant Pathology 7(3): 177-189.

Nees von Esenbeck, C. G. (1816) Das System derPilze und Schwamme. Stahelsche Buchhandlung, Wurzburg.

Oviedo, M. S., Sturm, M. E., Reynoso, M. M., Chulze, S. N. and Ramirez, M. L. (2013) Toxigenic profile and AFLP variability of *Alternaria alternata* and *Alternaria infectoria* occurring on wheat. Brazilian Journal of Microbiology 44(2): 447-455.

Perelló, A., Cordo, C. and Simón, M. R. (1996) A new disease of wheat caused by *Alternaria triticimaculans* in Argentina. Agronomie-Sciences des Productions Vegetales et de l'Environnement 16(2): 107-112.

Perelló, A., Moreno, M. and Sisterna, M. (2008) *Alternaria infectoria* species-group associated with black point of wheat in Argentina. Plant Pathology 57(2): 379-379.

Poursafar, A., Ghosta, Y., Orina, A. S., Gannibal, P. B., Javan–Nikkhah, M. and Lawrence, D. P. (2017) Taxonomic study on Alternaria sections Infectoriae and Pseudoalternaria associated with black (sooty) head mold of wheat and barley in Iran. Mycological Progress 17(3): 343-356.

Prescott, J. M., Burnett, P. A., Saari, E. E., Ransom, J., Bowman, J., de Milliano, W., Singh, R. P. and Bekele, G. (1985) Wheat diseases and pests: a guide for field identification. CIMMYT, Mexico.

Pryor, B. M. and Bigelow, D. M. (2003) Molecular characterization of *Embellisia* and *Nimbya* species and their relationship to *Alternaria*, *Ulocladium* and *Stemphylium*. Mycologia 95(6): 1141-1154.

Pryor, B. M. and Michailides, T. J. (2002) Morphological, pathogenic, and molecular characterization of *Alternaria* isolates associated with *Alternaria* late blight of pistachio. Phytopathology 92(4): 406-416.

Rahimlou, T. and Ghosta, Y. (2015) The occurrence of *Alternaria* species on cabbage in Iran. Zemdirbyste-Agriculture 102(3): 343-350.

www.SID.ir

Archive of SID



Roberts, R. G., Reymond, S. T. and Andersen, B. (2000) RAPD fragment pattern analysis and morphological segregation of small–spored *Alternaria* species and species groups. Mycological Research 104(02): 151-160.

Runa, F., Park, M. S. and Pryor, B. M. (2009) *Ulocladium* systematics revisited: phylogeny and taxonomic status. Mycological Progress 8(1): 35-47.

Schubert, K., Groenewald, J. Z., Braun, U., Dijksterhuis, J., Starink, M., Hill, C. F., Zalar, P., de Hoog, G. S. and Crous, P. W. (2007) Biodiversity in the *Cladosporium herbarum* complex (*Davidiellaceae*, *Capnodiales*), with standardisation of methods for *Cladosporium* taxonomy and diagnostics. Studies in Mycology 58: 105-156.

Simmons, E. G. (1986) *Alternaria* themes and variations (17-21). Mycotaxon 25(1): 203-216.

Simmons, E. G. (1992) *Alternaria* taxonomy: current status, viewpoint, challenge. In: *Alternaria:* biology, plant diseases, and metabolites (Eds. Chelkowski, J. and Visconti, A.) 1-35. Elsevier, Amsterdam.

Simmons, E. G. (1993) *Alternaria* themes and variations (63-72). Mycotaxon 68: 91-107.

Simmons, E. G. (1994) *Alternaria* themes and variations (106-111). Mycotaxon 50: 409-427.

Simmons, E. G. (1996) *Alternaria* themes and variations (145-149). Mycotaxon 57: 391-409.

Simmons, E. G. (2007) Alternaria. An identification manual. CBS Biodiversity Series 6. CBS Fungal Biodiversity Centre, Utrecht.

Sisterna, M. and Sarandón, S. (2010) Wheat grain discoloration in Argentina: current status. American Journal of Biochemistry and Biotechnology 3(Special Issue 1): 54-64.

Spurlock, T., Faske, T., Kirkpatrick, T., Mills, G. and Kelley, J. (2015) Important wheat diseases in Arkansas and their management. Arkansas Plant Disease Control Products Guide 7: 1-14.

Srivastava, J., Kushwaha, G. and Shukla, D. (2014) Black point disease of wheat and its implications on seed quality. Crop Research 47: 21-23.

Swofford, D. L. (1999) PAUP, Phylogenetic analysis using parsimony, version 4.0b2. Sinauer Associates, Inc, Sunderland.

Thambugala, K. M., Wanasinghe, D. N., Phillips, A. J. L., Camporesi, E., Bulgakov, T. S., Phukhamsakda, C., Ariyawansa, H. A., Goonasekara, I. D., Phookamsak, R., Dissanayake, A., Tennakoon, D. S., Tibpromma, S., Chen, Y. Y., Liu, Z. Y. and Hyde, K. D. (2017) Mycosphere notes 1-50: grass (Poaceae) inhabiting Dothideomycetes. Mycosphere 8(4): 697-796.

Tymon, L. S., Peever, T. L. and Johnson, D. A. (2016) Identification and enumeration of small-spored *Alternaria* species associated with potato in the US Northwest. Plant Disease 100(2): 465-472.

White, T. J., Bruns, T. D., Lee, S. B. and Taylor, J. W. (1990) Amplification and direct sequencing of fungal ribosomal RNA genes for phylogenetics. In: PCR protocols: a guide to methods and applications (Eds. Innis, M. A., Gelfand, D. H., Sninsky, J. J. and White, T. J.) 315-322. Academic Press, London.

Woudenberg, J. H. C., Groenewald, J. Z., Binder, M. and Crous, P. W. (2013) *Alternaria* redefined. Studies in Mycology 75: 171-212.

Woudenberg, J. H. C., Truter, M., Groenewald, J. Z. and Crous, P. W. (2014) Large-spored *Alternaria* pathogens in section *Porri* disentangled. Studies in Mycology 79: 1-47.

Zhong, S. and Steffenson, B. J. (2001) Genetic and molecular characterization of mating type genes in *Cochliobolus sativus*. Mycologia 93(5): 852-863.

www.SID.ir

Archive of SID



www.SID.ir