شناسایی برخی قارچ‌های تجزیه کننده آلاینده‌های نفتی در شمال‌غرب ایران

Identification of some fungal species involved in biodegradation of petroleum pollutants in Northwest of Iran

دریافت: ۱۳۸۹/۶/۳/ پذیرش: ۱۳۹۰/۱/۱۶

Received: 25.08.2010 / Accepted: 05.04.2011

مهدی داوری✉: مربی گروه گیاه‌پزشکی، دانشگاه محقق اردبیلی، اردبیل، صندوق پستی ۱۷۹
(E-mail: mdavari@uma.ac.ir)
مهدی ارزنلو: استادیار گروه گیاه‌پزشکی، دانشگاه تبریز، تبریز
اسداله بابای اهری: استاد گروه گیاه‌پزشکی، دانشگاه تبریز، تبریز

چکیده

به دلیل اهمیت قارچ‌های متعلق به گروه "مخمرهای سیاه" در محیط زیست به خصوص نقش آن‌ها در تجزیه آلاینده‌های نفتی و عدم اطلاع کافی از قارچ‌های مزبور در ایران، تنوع زیستی این گروه از قارچ‌ها در دو منطقه تبریز و ارومیه به عنوان مناطق عمده صنعتی و پالایشگاهی شمال‌غرب کشور بررسی گردید. بدین منظور، نمونه‌برداری از خاک‌های آلوده به مواد نفتی محوطه انبارهای نفت تبریز و ارومیه در تابستان ۱۳۸۸ انجام گرفت. جداسازی مطابق روش شناورسازی در روغن معدنی با اندکی تغییرات روی محیط کشت اختصاصی میکوسل انجام گردید و در مجموع تعداد ۳۸ جدایه با پرگنه‌های تیره‌رنگ جداسازی شد. جدایه‌های قارچی بعد از خالص‌سازی به روش مخطط نمودن مکرر، از روی مشخصات ریخت‌شناختی و با استفاده از کلیدهای معتبر، تا سطح گونه شناسایی شدند. براساس نتایج به دست آمده، گونه‌های *Exophiala heteromorpha*، *E. spinifera*، *E. xenobiotica*، *Cadophora malorum*، *Alternaria malorum*، *Cladosporium cladosporioides* و *Aureobasidium pullulans* شناسایی شدند که از بین آن‌ها گونه‌های *E. heteromorpha*، *E. spinifera*، *E. xenobiotica*، *A. pullulans* و *C. malorum* برای نخستین بار از ایران گزارش می‌شوند و گزارش بقیه قارچ‌ها از خاک‌های آلوده به مواد نفتی برای ایران جدید می‌باشند.

واژه‌های کلیدی: آلاینده‌های نفتی، تنوع زیستی، زیست‌سالم‌سازی، مخمر سیاه

M. Davari✉: Instructor, Department of Plant Protection, University of Mohaghegh Ardebili, P.O. Box 179, Ardebil, Iran
(E-mail: mdavari@uma.ac.ir)

M. Arzanlou: Assistant Prof., Department of Plant Protection, Faculty of Agriculture, University of Tabriz, Tabriz, Iran

A. Babai-Ahari: Prof., Department of Plant Protection, University of Tabriz, Tabriz, Iran

Black yeast fungi play critical role in degradation of petroleum polluted soils. Little attention has been paid to the biodiversity of black yeast fungi in Iran. In this paper, diversity of black yeast fungi was studied in petroleum polluted soils in Tabriz and Urmia regions. Soil samples were collected from petroleum polluted areas in vicinity of oil storage tanks in Tabriz and Urmia cities (East and West Azarbaijan provinces) in summer 2009. Isolation was carried out by using "floatation in mineral oil" method with minor modifications on Mycosel medium. In total, 38 isolates with melanized colonies were recovered and then purified using repeated streaking method. Fungal isolates were identified based on morphological charactersitics to species level as *Exophiala heteromorpha*, *E. spinirera*, *E. xenobiotica*, *Cadophora malorum*, *Alternaria malorum*, *Cladosporium cladosporioides* and *Aureobasidium pullulans*; of those *Exophiala heteromorpha*, *E. pinifera*, *E. xenobiotica*, *urobasidium pullulans* and *Cadophora malorum* represent new records for mycobiota of Iran and the rest are new reports from petroleum polluted soils in Iran.

Keywords: Biodiversity, bioremediation, black yeast, petroleum pollutants

Archive of SID

www.SID.ir

مقدمه

اهمیت قارچها به عنوان موجودات همه‌جازی در زوایای مختلف زندگی بشر بر کسی پوشیده نیست. گستره حضور و نقش بیماری‌زایی آن‌ها در گیاهان، حیوانات و انسان از یک طرف و فواید بسیار آن‌ها در صنایع دارویی و غذایی و اکوسیستم طبیعی، جایگاه مهم این موجودات را در بین موجودات زنده آشکار می‌سازد. گروهی از قارچها که تحت عنوان مخمرهای سیاه (black yeasts) معروف هستند، به دلیل توانایی در تجزیه آلاینده‌های نفتی، تخریب سنگ‌ها و بیماری‌زایی در انسان از گروه‌های مهم قارچی به شمار می‌روند و در علوم زمین‌شناسی، عمران، باستان‌شناسی، موزه‌داری و پزشکی جایگاه ویژه‌ای دارند (De Hoog *et al*. 2000, Gadd 2008). به طور کلی، قارچهای متعلق به گروه مخمرهای سیاه و خویشاوندان آن‌ها سه نقش اساسی در محیط زیست دارند:

۱- نقش مثبت مخمرهای سیاه در زیست-سالم‌سازی (bioremediation)، تجزیه آلاینده‌های نفتی و انواع هیدروکربن‌های آروماتیک چند حلقه‌ای آلوده کننده خاک و سایر بسترهای زیستی (Prenafeta-Boldú *et al*. 2006, Gadd 2001).

۲- نقش منفی این قارچها در ایجاد فرسایش زیستی (bioweathering)، دگرگونی‌های بیوشیمیایی و تخریب صخره‌ها، سنگ‌های معدنی، بتون، سنگ‌های زینتی، شیشه‌های طبیعی و مصنوعی، آثار باستانی، عتیقه‌ها، فلزات و آلیاژهای آن‌ها (Gorbushina *et al*. 1994, Gadd 2008).

۳- نقش منفی آن‌ها از طریق ایجاد بیماری‌های مهم در انسان مخصوصا عفونت‌زایی در مغز و سایر اندام‌ها در افراد با سیستم ایمنی ضعیف که گاهی می‌توانند کشنده نیز باشند (De Hoog *et al*. 2000, Arzanlou 2010).

اصطلاح مخمرهای سیاه اصطلاح رایجی در آرایه‌شناسی قارچها نیست و معمولا برای توصیف قارچهای تولید کننده رنگدانه ملانین که علاوه بر فاز میسلیومی دارای یک فاز مخمری در محیط کشت می‌باشند، اطلاق می‌شود (De Hoog *et al*. 2000). اکثر مخمرهای سیاه تجزیه کننده هیدروکربن‌های آروماتیک به تیره *Herpotrichiellaceae*، راسته *Chaetothyriales*، زیررده *Chaetothyriomycetidae*، رده *Eurotiomycetes* تعلق دارند و از جمله آن‌ها می‌توان به جنس *Capronia* اشاره کرد که فرمهای غیرجنسی آن به اسامی *Cladophialophora*، *Exophiala* و *Rhinocladiella* به عنوان بیمارگرهای فرصت‌طلب، آلودگی‌های مغزی و پوستی را در انسان ایجاد می‌کنند. با این وجود تعدادی از قارچهای موسوم به مخمرهای سیاه در راسته‌های دیگر آسکومیست‌ها قرار دارند. در جدول ۱ موقعیت تاکسونومیک تعدادی از قارچهای متعلق به مخمرهای سیاه ذکر شده است (De Hoog & Yurlova 1994, Haase *et al*. 1995, Prenafeta-Boldú *et al*. 2006, Arzanlou *et al*. 2007, Arzanlou 2010).

تخلیه ضایعات صنعتی درون خاک و منابع آبی، منجر به انباشت مواد شیمیایی سمی و رادیواکتیو خطرناک در سطح زمین و زیر زمین می‌شود. از طرفی رشد قابل توجه صنعت نفت و صنایع جانبی آن به تولید و انتشار هر چه بیشتر این مواد منتهی شده و هیدروکربن‌های نفتی را در ردیف گسترده‌ترین آلاینده‌های محیط زیست قرار داده است. در میان هیدروکربن‌های نفتی، هیدروکربن‌های آروماتیک چند حلقه‌ای (Poly Aromatic Hydrocarbons = PAHs) به دلیل دارا بودن خواص سمی، جهش‌زایی و سرطان‌زایی از اهمیت زیست‌محیطی خاصی برخوردارند (Charles & Bonnie 1992). روش‌های متداول حرارتی، شیمیایی و فیزیکی برای پاکسازی این نوع آلاینده‌ها بویژه در خاک که محیطی جامد، معدنی و متخلخل می‌باشد، به دلیل ویژگی‌هایی از قبیل حلالیت، غیرقطبی و آب‌گریز بودن همواره با مشکلاتی مواجه بوده است. به همین دلیل محققان بهبود محیط زیست، همواره به دنبال روش‌های اثربخش، اقتصادی، ساده و سریع برای پاکسازی این نوع آلاینده‌ها در خاک بوده‌اند. در روش زیست‌سالم‌سازی یا سمیت‌زدایی بیولوژیکی از ریزسازواره‌ها بویژه قارچها به منظور تخریب زیستی (biodegradation) یا تجزیه بیولوژیکی آلاینده‌های آلی و در نتیجه پاکسازی محیط استفاده می‌شود و یک روش ساده و اقتصادی و با تاثیر دراز مدت برای پاکسازی آب و خاک از آلاینده‌های آلی بویژه در فیلترهای زیستی (biofilters) صنعتی به شمار می‌رود. در واقع این نوع قارچها، هیدروکربن‌های حلقوی فرار را به عنوان منبع منحصر به فرد کربن و انرژی جذب می‌کنند (Prenafeta-Boldú *et al*. 2006). بدیهی است که شناسایی قارچهای موثر نخستین و مهم‌ترین قدم در راستای پاکسازی محیط زیست به شمار می‌رود. همچنین با شناسایی تنوع زیستی و پراکنش آن‌ها، منشاء و بسترهای رشد قارچهای بیماری‌زای انسان نیز در طبیعت شناسایی می‌شوند. با عنایت به فعالیت‌های گسترده صنعتی و پالایشگاهی در دو استان آذربایجان‌شرقی و آذربایجان‌غربی بویژه شهرهای تبریز و ارومیه و عدم وجود شناخت مناسب از وضعیت این گروه قارچی در ایران و بویژه شمال‌غرب، تنوع زیستی عوامل قارچی دخیل در سمیت‌زدایی بیولوژیکی در پژوهش حاضر مورد مطالعه قرار گرفت.

Archive of SID

www.SID.ir

جدول ۱- موقعیت تاکسونومیک مخمرهای سیاه تجزیه کننده هیدروکربن‌های آروماتیک در بین قارچها
Table 1. Taxonomic position of black yeasts involved in aromatic hydrocarbons degradation between fungi

ردیف No.	جنس Genus	تیره Family	راسته Order	رده Class	منبع Reference
۱	*Capronia* (آنامورف: *Cladophialophora*، *Exophiala*، *Ramicloridium* و *Rhinocladiella*)	*Herpotrichiellaceae*	*Chaetothyriales*	*Eurotiomycetes*	Prenafeta-Boldú *et al.*, 2006, De Hoog *et al.*, 2006, Arzanlou *et al.* 2007
۲	*Pseudeurotium* (آنامورف: *Teberdinia*)	*Pseudeurotiaceae*	*Eurotiales*	*Eurotiomycetes*	Sogonov *et al.* 2005
۳	آنامورف‌های *Aspergillus*, Paecilomyces, *Penicillium*	*Trichocomaceae*	*Eurotiales*	*Eurotiomycetes*	Prenafeta-Boldú *et al.* 2006
۴	*Bionectria ochroleuca* (آنامورف: *Clonostachys rosea*)	*Bionectriaceae*	*Hypocreales*	*Sordariomycetes*	Cox *et al.* 1996
۵	*Ophiostoma* (آنامورف: *Sporothrix*)	*Ophiostomataceae*	*Ophiostomatales*	*Sordariomycetes*	Cox 1995
۶	*Davidiella* (آنامورف: *Cladosporium*)	*Mycosphaerellaceae*	*Dothideales*	*Dothideomycetes*	Prenafeta-Boldú *et al.* 2006
۷	آنامورف *Aureobasidium*	*Dothideaceae*	*Dothideales*	*Dothideomycetes*	De Hoog & Yurlova 1994

روش بررسی

۱- جمع‌آوری نمونه‌های خاک آلوده به مواد نفتی

نمونه‌برداری از خاک‌های آلوده به مواد نفتی محوطه‌های انبار نفت تبریز و ارومیه در تابستان ۱۳۸۸ انجام گرفت. بدین ترتیب که با بیلچه عاری از خاک و شسته شده، از عمق صفر تا ۱۰ سانتی‌متری، نمونه‌هایی از خاک آلوده برداشته شده و در کیسه‌های پلاستیکی استفاده نشده قرار داده شدند. نمونه‌ها بعد از انتقال به آزمایشگاه تا زمان جداسازی در دمای چهار درجه سلسیوس نگهداری شدند و در مدت یک ماه برای جداسازی مورد استفاده قرار گرفتند.

۲- جداسازی قارچهای متعلق به مخمرهای سیاه

جداسازی قارچهای متعلق به مخمرهای سیاه مطابق روش ایواتسو و همکاران (Iwatso *et al.* 1981) از طریق شناورسازی در روغن (oil floatation) با اعمال کمی تغییرات انجام شد. بدین ترتیب که حدود ۲۰ گرم از نمونه‌های خاک جمع‌آوری شده را در فلاسک ارلن ۲۵۰ میلی‌لیتری حاوی ۱۰۰ میلی‌لیتر محلول آنتی‌بیوتیک (پنی‌سیلین۲۰۰ میکروگرم بر میلی‌لیتر، استرپتومایسین ۲۰۰ میکروگرم بر میلی‌لیتر، کلرامفنیکل ۲۰۰ میکروگرم بر میلی‌لیتر، سیکلوهگزیمید ۵۰۰ میکروگرم بر میلی‌لیتر) اضافه کرده و پس از هموژنیزه کردن محلول، به مدت ۳۰ دقیقه در دمای ۲۲-۲۰ درجه سلسیوس نگهداری شدند. سپس ۲۰ میلی‌لیتر گازوییل (به جای روغن معدنی) به هر کدام از فلاسک‌های ارلن اضافه نموده و به مدت پنج دقیقه با ورتکس به شدت تکان داده شدند. پس از ساکن ماندن ارلن‌ها به مدت ۲۰ دقیقه، مقدار ۱۵۰ میکرولیتر از سوسپانسیون حاصل را (از فاز میانی گازوییل/ محلول) برداشته (شکل ۱) و در تشتک‌های پتری حاوی محیط کشت میکوسل (Mycosel) (سابورود دکستروز آگار، استرپتومایسین ۲۰۰ میکروگرم بر میلی‌لیتر، کلرامفنیکل ۲۰۰ میکروگرم بر میلی‌لیتر، مزو- اریتریتول ۵۰۰ میکروگرم بر میلی‌لیتر) کشت داده شدند. تشتک‌های پتری در دمای ۳۰ درجه سلسیوس به مدت ۲۰ روز نگهداری شده و طی این مدت، با مشاهده پرگنه‌های سیاه در محیط کشت، از خارجی‌ترین قسمت پرگنه‌ها، مقداری از ریسه‌ها را با سوزن سترون برداشته و به روش مخطط کردن به محیط کشت عصاره مالت آگار (Malt-extract Agar) دو درصد و یا سیب‌زمینی دکستروز آگار (Potato Dextrose Agar) منتقل گردید و در دمای ۲۸ درجه سلسیوس به مدت دو هفته نگهداری و این عمل برای خالص‌سازی جدایه‌ها تکرار گردید.

Archive of SID

www.SID.ir

شکل ۱- جداسازی مخمرهای سیاه از خاک با روش شناورسازی در گازوییل.
Fig. 1. Isolation of black yeasts from soil by floatation in gas oil method.

۳- شناسایی جدایه‌ها بر مبنای ریخت شناختی و مشخصات رشدی در محیط کشت برای این منظور جدایه‌های قارچی روی محیط عصاره مالت آگار و سیب زمینی دکستروز آگار کشت داده و به مدت ۱۴ روز در دمای ۲۸ درجه سلسیوس نگهداری شدند و ویژگی‌های ماکروسکوپی جدایه‌ها شامل رنگ و نرخ رشد پرگنه، شکل پرگنه و تولید یا عدم تولید رنگدانه و دیگر خصوصیات مشاهده شده یادداشت گردید. به منظور مطالعه ویژگی‌های میکروسکوپی جدایه‌ها شامل رنگ و قطر ریسه، ساختارهای هاگ‌زایی قارچ (کنیدیوم‌بر، کنیدیوم) و خصوصیات میکروسکوپی دیگر از تکنیک کشت لام استفاده گردید (Gams *et al.* 2007). برای مشاهده قارچها و عکسبرداری، از میکروسکوپ نوری مدل BX-41 و دوربین دیجیتال Olympus مدل E-420 استفاده شد.

نتیجه

در این بررسی در مجموع، ۳۸ جدایه متعلق به گروه مخمرهای سیاه به دست آمد. اسامی و مشخصات گونه‌های قارچی مهم شناسایی شده به شرح زیر است:

۱- *Exophiala heteromorpha* (Nannf.) de Hoog & Haase, J. Clin. Microbiol. 41: 4777, 2003

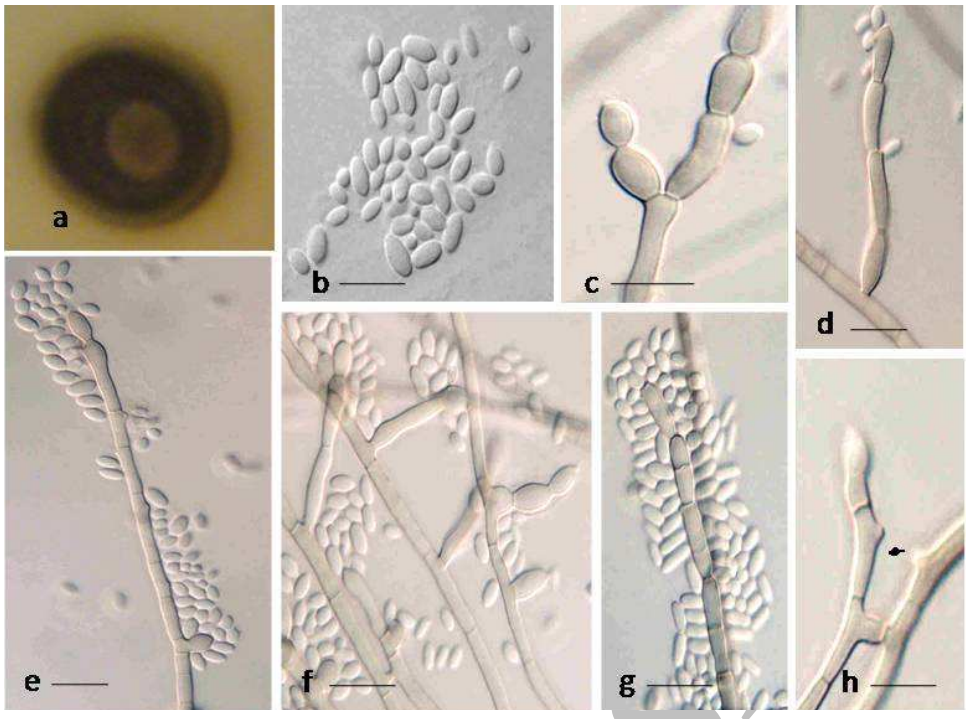
قطر پرگنه بعد از دو هفته روی محیط کشت MEA در دمای ۲۸ درجه سلسیوس به حدود ۲۷-۱۳ میلی‌متر می‌رسد که ابتدا لزج بوده و به سرعت مخملی (velvety) و پنبه‌ای (woolly) شده و به رنگ خاکستری مایل به سبز تا قهوه‌ای تیره در می‌آید و از پشت تشتک پتری سیاه زیتونی دیده می‌شود. ریسه‌های رویشی به رنگ قهوه‌ای با عرض ۲/۵ میکرومتر و با دیواره صاف و اغلب با خمیدگی‌های زانو مانند مشخص و گاهی آماس کرده و تسبیحی شکل است. کنیدیوم‌ها روی برآمدگی‌های کناری یاخته‌های میانی یا روی یاخته‌های کنیدیوم‌زای کمی تیره باریک (به عرض ۳-۲ × ۱۵-۶ میکرومتر) یا روی برآمدگی‌های ۲-۱ میکرومتری کنیدیوم‌برهای ۴-۲ یاخته‌ای تشکیل می‌شوند. کنیدیوم‌های بی‌رنگ با دیواره صاف، چماقی‌شکل یا تخم‌مرغی وارونه با یک زایده (hilum) پایه‌ای نامشخص و به اندازه ۳/۵-۵ × ۱/۵-۲/۲ میکرومتر تولید می‌شوند.

جنس *Exophiala* از تیره *Herpotrichiellaceae* راسته *Chaetothyriales* می‌باشد. گونه *Exophiala heteromorpha* در کشورهای مختلف از ورم‌های زیرپوستی یا عفونت‌های قارچی انسان (De Hoog *et al.* 2006)، کاغذ، خرده‌های چوب کاج، گل و لای جویبارها، لجن‌زار کودهای گیاهی و خاک گزارش شده است (Domsch *et al.* 2007).

در بررسی حاضر مجموعا هفت جدایه از این قارچ به دست آمد و مشخصات این گونه با توصیف دهوخ و همکاران (De Hoog *et al.* 2003) مطابقت دارد. براساس بررسی‌های به عمل آمده و طبق فهرست ارشاد (۲۰۰۹)، این گونه برای فلور قارچی ایران جدید می‌باشد. دو جدایه از این قارچ با شماره‌های IRAN 1735C و IRAN 1737C در مجموعه قارچهای زنده مؤسسه تحقیقات گیاه‌پزشکی کشور (IRAN) نگهداری می‌شوند.

Archive of SID

www.SID.ir



شکل ۲- *Exophiala heteromorpha*: a. پرگنه روی MEA پس از ۱۴ روز، b. کنیدیوم‌ها، c. یاخته‌های کنیدیوم‌زا، e-g. کنیدیوم‌برها و کنیدیوم‌ها، h. خمیدگی‌های زانو مانند روی ریسه‌های رویشی (مقیاس= ۱۰ میکرومتر).

Fig. 2. *Exophiala heteromorpha*: a. Colony on MEA after 14 days, b. Conidia, c. Conidiogenous cells, e-g. Conidiophores and conidia, f. Geniculation on hyphae (Bar =10 µm).

۲- *Exophiala xenobiotica* De Hoog, Zeng, Harrak & D.A. Sutton, Antonie van Leeuwenhoek 90: 264, 2006

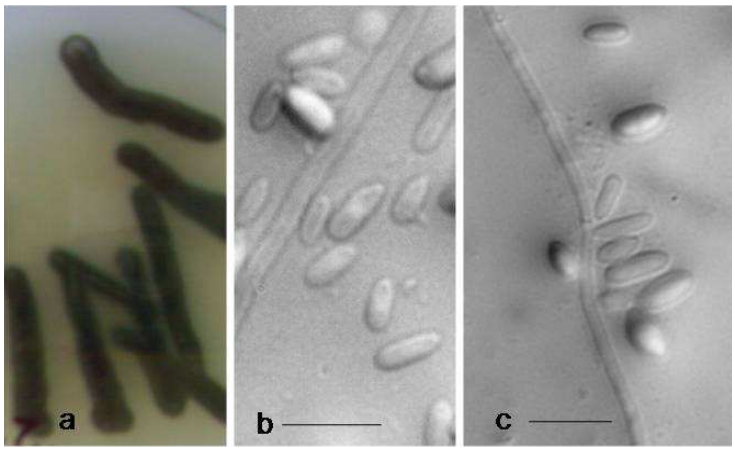
پرگنه در محیط کشت PDA با رشد محدود (قطر ۱۰ میلی‌متر بعد از ۱۴ روز) و ابتدا صاف، لزج، نرم به رنگ سیاه زیتونی و بعد از دو هفته به صورت سیاه زیتونی با مرکز مایل به قهوه‌ای دیده می‌شود. هیچ رنگدانه‌ای از این قارچ روی محیط کشت تولید نمی‌شود. ریسه‌پیوندی در بین ریسه‌ها به فراوانی دیده می‌شود. رنگ ریسه‌ها زیتونی کمرنگ تا قهوه‌ای و با عرض ۲-۱/۳ میکرومتر و دارای دیواره‌های نامنظم هستند. کنیدیوم‌برهای ۷-۱ یاخته‌ای به صورت عمود یا زاویه‌دار روی ریسه‌ها به وجود می‌آیند و رنگی مشابه ریسه‌ها دارند. یاخته‌های کنیدیوم‌زا لیمویی یا دوکی شکل با نواحی آنلیدی نامنظم هستند و این یاخته‌ها برخلاف سایر گونه‌ها رنگی نیستند (De Hoog *et al.* 2006). کنیدیوم‌ها اغلب به هم چسبیده، کم‌رنگ و تخم‌مرغی شکل و به اندازه ۲/۰-۱/۶ × ۴/۰- ۳/۳ میکرومتر هستند (شکل ۳b).

گونه *E. xenobiotica* به عنوان یک مخمر سیاه تجزیه کننده هیدروکربن‌ها در کمپلکس *Exophiala jeanselmei* قرار گرفته است (De Hoog *et al.* 2006). این گونه از لحاظ ریخت‌شناختی بسیار مشابه گونه *E. jeanselmei* می‌باشد و وجه تمایز آن از سایر گونه‌ها رنگی بودن کمتر یاخته‌های کنیدیوم‌زا نسبت به سایر گونه‌هاست، ولی براساس روابط خویشاوندی حاصل از اطلاعات مولکولی به راحتی از گونه مذکور متمایز می‌شود. همچنین گونه *E. xenobiotica* عامل عفونت‌های پوستی (cutaneous infections) در انسان می‌باشد، در حالی که گونه *E. jeanselmei* با ورم‌های زیرپوستی (subcutaneous abscesses) در انسان مرتبط است. این گونه به عنوان قارچ مهم بیماری‌زا در ماهی نیز شناسایی شده است (Munchan *et al.* 2009). جدایه‌های محیطی *E. xenobiotica* نیز به وفور در مکان‌های غنی از هیدروکربن‌های تک‌حلقوی و آلکان‌ها یافت می‌شود (De Hoog *et al.* 2006).

مشخصات این قارچ که حاصل بررسی پنج جدایه از انبار نفت تبریز می‌باشد، با توصیفی که توسط دهوخ و همکاران (۲۰۰۶) ارایه شده است، مطابقت دارد. براساس بررسی‌های به عمل آمده و طبق فهرست ارشاد (۲۰۰۹)، این گونه برای فلور قارچی ایران جدید می‌باشد. دو جدایه از این قارچ با شماره‌های IRAN 1734C و IRAN 1736C در مجموعه قارچ‌های زنده مؤسسه تحقیقات گیاه‌پزشکی کشور (IRAN) نگهداری می‌شوند.

Archive of SID

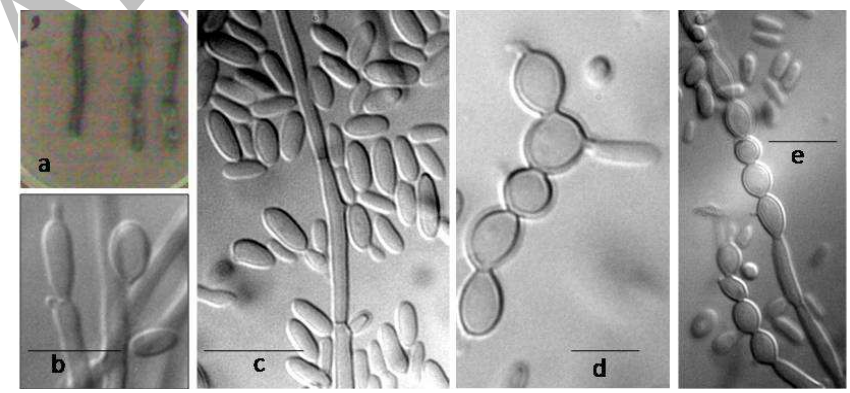
www.SID.ir



شکل ۳- *Exophiala xenobiotica*: *a*. پرگنه روی PDA پس از هفت روز، b, c. کنیدیوم‌ها (مقیاس= ۱۰ میکرومتر).
Fig. 3. *Exophiala xenobiotica*: a. Colony on PDA after seven days, b, c. Conidia (Bar =10 µm).

۳- *Exophiala spinifera* (H.S. Nielsen & Conant) McGinnis, Mycotaxon 5: 337, 1977

پرگنه ابتدا حالت لعابی، شبه‌مخمری و سیاه داشته و به تدریج ریسه‌های هوایی روی پرگنه ظاهر می‌شوند و در نهایت بافت پرگنه کرکی شکل می‌شود. پرگنه‌ها از پشت تشتک پتری هم به رنگ سیاه زیتونی دیده می‌شوند. قطر پرگنه بعد از دو هفته روی محیط کشت PDA، ۱۰ میلی‌متر است. کنیدیوم‌برها ساده یا منشعب با انتهای تخت یا نیمه‌تخت با دیواره‌های ضخیم‌تر و با رنگدانه‌های قهوه‌ای دیده می‌شوند. کنیدیوم‌ها به صورت توالی‌های بن‌سو (basipetal) روی برآمدگی‌های جانبی به صورت انتهایی یا جانبی در زاویه‌های راست یا تند از کنیدیوم‌برهای خارمانند (spine-like) یا از ریسه‌های غیرمتمایز تشکیل می‌شوند. برآمدگی‌های کنیدیوم‌بر به طول ۳-۱ میکرومتر بوده و به طور واضحی باریک‌تر شده و به صورت آنلید در می‌آید (شکل ۴b). کنیدیوم‌ها تک‌یاخته، کمرنگ، صاف با دیواره نازک، نیمه‌کروی تا تخم‌مرغی شکل و به اندازه ۳/۰-۱/۰ × ۲/۵-۱/۸ میکرومتر هستند و به صورت خوشه‌هایی در انتهای آنلید جمع می‌شوند. در این قارچ معمولا ریسه‌های زنجیرمانند (شبیه گردنبند) و یاخته‌های شبه‌مخمری با کنیدیوم‌های ثانویه نیز به وجود می‌آیند (شکل ۴d,e). این گونه عامل عفونت قارچی در انسان و برخی جانوران می‌باشد که تحت عنوان فئوهیفومیکوزیس (phaeohyphomycosis) معروف می‌باشد (De Hoog *et al*. 2003). ضمنا خاصیت تجزیه سلولز و پوساندن چوب هم برای این گونه گزارش شده است (Jurgens *et al*. 2010). دو جدایه به دست آمده از انبار نفت تبریز با توصیف دهوخ و همکاران (۲۰۰۳) برای این قارچ مطابقت نشان داد. طبق فهرست ارشاد (۲۰۰۹) و سایر منابع موجود، این گونه برای نخستین بار از ایران گزارش می‌شود. یک جدایه از این قارچ با شماره IRAN 1738C در مجموعه قارچ‌های زنده مؤسسه تحقیقات گیاه‌پزشکی کشور (IRAN) نگهداری می‌شود.



شکل ۴- *Exophiala spinifera*: *a*. پرگنه روی PDA پس از ۱۴ روز، b. برآمدگی‌های انتهای کنیدیوم‌بر، c. کنیدیوم‌ها و کنیدیوم‌برها، d, e. زنجیرهای شبیه گردنبند در ریسه‌ها (مقیاس b و c = ۱۰ و d و e = ۵ میکرومتر).
Fig. 4. *Exophiala spinifera*: a. Colony on PDA after 14 days, b. Vegetative hyphae, c. Conidia and conidiophores, e, d. chain-like swelling on hyphae (Bar: b, c =10 µm and d, e = 5 µm).

Archive of SID

www.SID.ir

۴- *Aureobasidium pullulans*

(De Bary) Arnaud ex Cif., Ribaldi & A.M. Corte, Atti Ist. bot. Univ. Lab. crittog. Pavia, Ser. 5 14: 85, 1957

پرگنه‌ها روی محیط کشت MEA تیره‌رنگ و قطر آن بعد از یک هفته در دمای ۲۸ درجه سلسیوس به حدود ۴۰ میلی‌متر می‌رسد. عرض ریسه‌های رویشی حدود ۱۲-۴ میکرومتر بوده و ریسه‌های رنگی به طور مشخصی در محل دیواره‌ها باریک شده اند. کنیدیوم‌ها تک‌یاخته بی‌رنگ و اغلب به شکل تخم‌مرغی و صاف هستند ولی اغلب در شکل‌ها و اندازه‌های متنوع دیده می‌شوند و معمولا زایده مشخصی در پایه دارند. اندازه کنیدیوم‌ها در محدوده ۵/۵-۴/۰ × ۱۱-۹ میکرومتر متغیر است. این کنیدیوم‌ها جوانه‌زده و کنیدیوم‌های ثانویه مشابه خود را با اندازه کوچک‌تر تولید می‌کنند. این گونه همانند سایر گونه‌های *Aureobasidium* یک پوده‌رست همه‌جازی به شمار می‌رود و نخستین بار از لکه‌های طلایی روی مو در فرانسه توصیف شد و وجود آن در سطح برگ گیاهان مختلف رایج است. این گونه تاکنون از خاک‌های مختلف زراعی، جنگلی، زمین‌های بایر، صخره‌ها و نیز آب رودخانه‌ها، دریاها و فاضلاب‌ها گزارش شده است. این قارچ به عنوان عامل بیماری‌زا روی برگ برخی گیاهان از جمله نخود، بلوط، فندق، صنوبر، افرا و کاج نیز جداسازی شده است. همچنین در ریزوسفر گندم، جو، گراس‌ها، ذرت، چغندرقند، کلم و کاج مورد شناسایی قرار گرفته است. این گونه به عنوان قارچ اندوفیت از پوست، چوب و طوقه افرا، بید و چند درخت جنگلی دیگر جداسازی شده است. از بسترهای دیگری که این قارچ جداسازی شده است، می‌توان به اسیوسپور زنگ *Cronartium comandrae*، کندوی زنبور عسل، لانه پرندگان، لنزهای چشمی، گره‌های لنفی و پوست انسان اشاره کرد (Domsch *et al.* 2007). این گونه در تهیه پلیمری به نام پلولان به کار می‌رود که این پلیمر و مشتقات آن کاربردهای دارویی، غذایی و صنعتی فراوانی دارد (قزلباش و همکاران ۲۰۰۷). فرم جنسی این قارچ هنوز شناسایی نشده ولی روابط خویشاوندی حاصل از داده‌های مولکولی، آن را در تیره *Dothioraceae* راسته *Dothideales* قرار داده است (De Hoog & Yurlova 1994). بررسی روی دو جدایه به دست آمده از انبار نفت تبریز نشان داد که مشخصات این قارچ با توصیف هرمانیدز- نیژوف (Hermanides-Nijhof 1977) مطابقت دارد. یک جدایه از این قارچ با شماره IRAN 1741C در مجموعه قارچ‌های زنده مؤسسه تحقیقات گیاه‌پزشکی کشور (IRAN) نگهداری می‌شود.

شکل ۵- *Aureobasidium pullulans*: a. پرگنه روی PDA پس از هفت روز، b-d. کنیدیوم‌ها، e. ریسه‌های رویشی (مقیاس= ۱۰ میکرومتر).
Fig. 5. *Aureobasidium pullulans*: a. Colony on PDA after seven days, b-d. Conidia, e. Vegetative hyphae (Bar = 10 µm).

۵- *Cladosporium cladosporioides*

(Fresen.) G.A. de Vries, Contrib. Knowledge of the Genus *Cladosporium*: 57, 1952

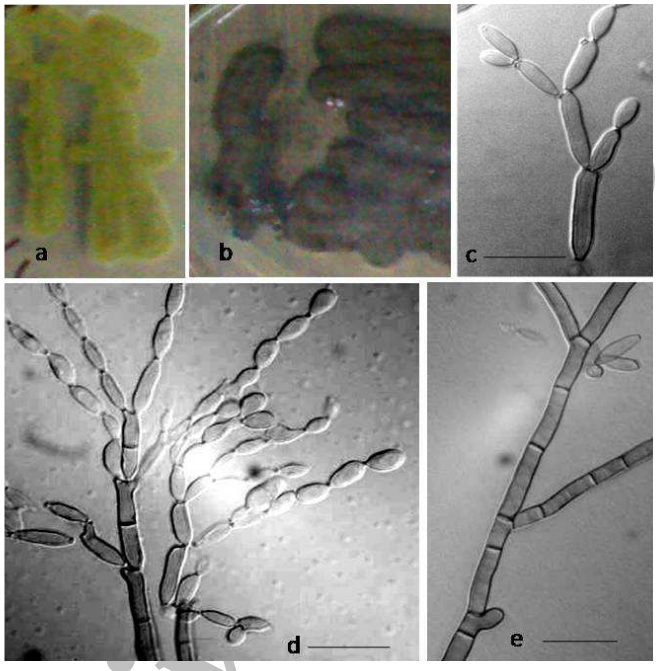
قطر پرگنه‌ها پس از ۱۴ روز روی محیط کشت MEA در دمای ۲۸ درجه سلسیوس به حدود ۳۰-۲۰ میلی‌متر می‌رسد. پرگنه‌ها نرم و به رنگ سبز زیتونی تا قهوه‌ای زیتونی هستند. عرض کنیدیوم‌برها بین ۶-۲ میلی‌متر متغیر بوده و در انتها منشعب می‌شوند و کنیدیوم‌های زنجیری فراوانی را از دیواره داخلی ایجاد می‌کنند ولی حالت آماس و سمپودیال در آن‌ها دیده نمی‌شود. کنیدیوم‌ها تک‌یاخته، تخم‌مرغی تا لیمویی شکل و با سطح صاف و به رنگ قهوه‌ای زیتونی و به اندازه ۴-۲ × ۷-۳ میکرومتر هستند. مشخصات سه جدایه از انبار نفت تبریز مطابق توصیف بنچ و همکاران (Bensch *et al.* 2010) و الیس (Ellis 1971) با این قارچ مطابقت نشان داد.

جنس *Cladosporium* از تیره *Davidiellaceae* و راسته *Capnodiales* می‌باشد و گونه *C. cladosporioides* نیز همانند گونه *C. herbarum* گونه رایجی از جنس *Cladosporium* روی گیاهان و خاک است. در حال حاضر، براساس مطالعات مولکولی حاصل از توالی‌یابی چند ژنی، این قارچ تحت عنوان گونه

Archive of SID

www.SID.ir

کمپلکس *Cladosporium cladosporioides* به چند گونه جدید تقسیم شده است (Bensch *et al.* 2010). کنیدیوم این قارچ هوازاد بوده و در نواحی معتدل به فراوانی از خاک انواع جنگل‌ها، چمنزارها، مزارع و حتی سواحل دریا جداسازی شده است. حضور این قارچ در آب جویبارهای تمیز و آلوده، دریاچه‌ها، مزارع کود داده شده با فاضلاب شهری و فاضلاب استخرها نیز گزارش شده است. همچنین این گونه از فراریشه برخی درختان مانند کاج و صنوبر، پر و لانه پرندگان، علوفه خشک و برخی فرآورده‌های غذایی گزارش شده است (Domsch *et al.* 2007). در ایران این گونه از برخی میزبان‌های گیاهی از جمله مرکبات، فندق، انگور، پنبه و سیب‌زمینی و نیز نماتد سیست سیب‌زمینی گزارش شده است (ارشاد ۲۰۰۹). این نخستین گزارش از وجود این قارچ در خاک‌های آلوده به مواد نفتی در ایران می‌باشد. یک جدایه از این قارچ با شماره IRAN 1740C در مجموعه قارچ‌های زنده مؤسسه تحقیقات گیاه‌پزشکی کشور (IRAN) نگهداری می‌شود.



شکل ۶- *Cladosporium cladosporioides*: a, b. پرگنه روی PDA پس از هفت و ۱۴ روز، c, d. کنیدیوم‌برها و کنیدیوم‌ها، e. ریسه‌های رویشی (مقیاس= ۱۰ میکرومتر).

Fig. 6. *Cladosporium cladosporioides*: a, b. Colony on PDA after seven and 14 days, c, d. Conidiophores and Conidia, e. Vegetative hyphae (Bar = 10 µm).

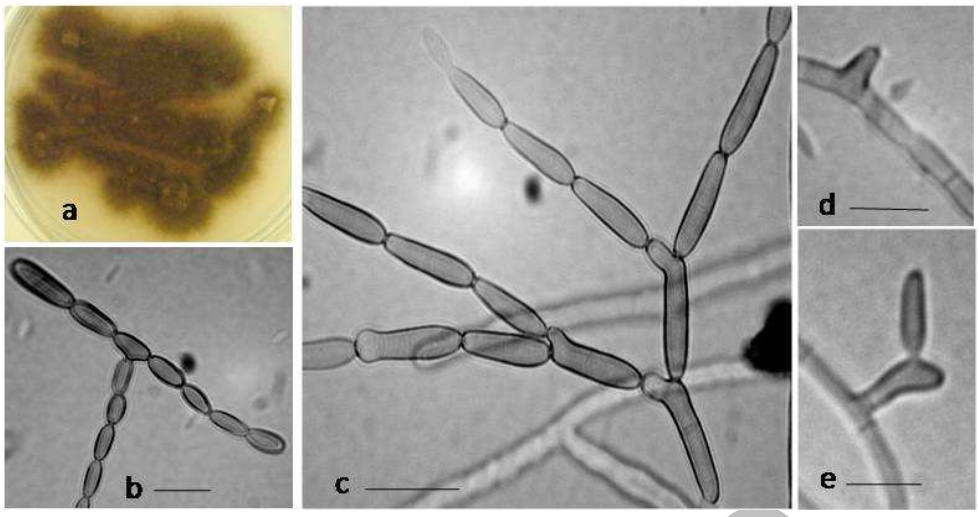
۶- *Alternaria malorum* (Ruehle) U. Braun, Crous & Dugan, Mycol. Progr. 2: 5, 2003

میزان رشد پرگنه روی MEA پس از یک هفته ۵۵ میلی‌متر است. پرگنه‌ها شامل ریسه‌های فشرده و ظاهری مخملی و به رنگ سبز مایل به خاکستری تا زیتونی هستند. کنیدی‌برها کوتاه تا بلند، بدون دیواره عرضی و روی ریسه‌هایی که معمولا تولید طناب‌های میسلیومی مشخص می‌کنند، تولید شده و دارای اندازه ۴-۳ × ۱۲-۵ میکرومتر هستند. کنیدی‌ها تک‌یاخته زنجیری با انتهای بریده به رنگ قهوه‌ای زیتونی کم‌رنگ روی کنیدی‌برها تولید شده و اندازه آن‌ها ۴-۲/۵ × ۱۸-۱۰ میکرومتر می‌باشد. دو جدایه به دست آمده از انبار نفت تبریز با توصیف ارایه شده توسط دوگان و همکاران (Dugan *et al.* 1995) و براون و همکاران (Braun *et al.* 2003) مطابقت نشان داد.

گونه *Alternaria malorum* یک هیفومیست شبه-کلادوسپوریوم است که در سالهای اخیر، اطلاعات مولکولی حاصل از توالی نواحی ITS و 18S، DNA ریبوزومی، متابولیت‌های تولید شده و نیز محل‌های کنیدیوم‌زایی که شامل تورم‌های کوتاه تا کنیدیوم‌برهای بلند است، این گونه را از جنس *Cladosporium* خارج و در جنس *Alternaria* قرار داده است (Goetz & Dugan 2006). این گونه، بیمارگر فرصت‌طلبی است که روی برخی میوه‌های رسیده یافت می‌شود و تاکنون از سیب، مو، کاج، گندم، گندمیان وحشی و از خاک‌های کشاورزی برخی کشورها گزارش شده است (Goetz & Dugan 2006). در ایران این گونه قبلا تحت عنوان *Cladosporium malorum* توسط عسگری و همکاران (۲۰۰۴) از برگ جو گزارش شده است و این نخستین گزارش از وجود گونه *A. malorum* در خاک‌های ایران است.

Archive

www.SID.ir



شکل ۷- *Alternaria malorum*: a. پرگنه روی PDA پس از هفت روز، b-c. کنیدیوم‌ها و کنیدیوم‌برها، d-e. محل کنیدی‌زایی به صورت تورم کوتاه تا کنیدیوم‌بر بلند (مقیاس= ۱۰ میکرومتر).

Fig. 7. *Alternaria malorum*: a. Colony on PDA after seven days, b, c. Conidiophores and conidia, d, e. conidiogenous loci with small swelling to longer conidiophores (Bar = 10 µm).

۷- *Cadophora malorum* (Kidd & Beaumont) W. Gams, Stud. Mycol. 45: 188, 2000

پرگنه قارچ به رنگ زیتونی سیاه و با مرکز پنبه‌ای و با ریسه‌های هوایی کم روی محیط کشت MEA تشکیل می‌شود و رشد آن در دمای ۲۸ درجه سلسیوس روی این محیط بعد از ۱۰ روز حدود ۲۰ میلی‌متر است. وجود فیالیدهای بی‌رنگ و بطری شکل انفرادی یا چندتایی و کنیدیوم‌های تک‌یاخته، بی‌رنگ و بیضوی یا استوانه‌ای دارای زایده به ابعاد ۷-۴ × ۲/۵-۱/۵ میکرومتر از مشخصات مهم میکروسکوپی این گونه قارچی به شمار می‌رود. جنس *Cadophora* جزو قارچ‌های شبه فیالوفورا (*Phialophora*-like) به شمار می‌رود و گونه‌های مختلف این جنس تاکنون به عنوان عوامل بیماری‌زای گیاهی از گیاهان مختلف از جمله مو گزارش شده است. تجزیه و تحلیل روابط خویشاوندی، این جنس را در راسته *Helotiales* قرار داده است (Harrington & McNew 2003). این گونه علاوه بر جداسازی از خاک، آب فاضلاب و چوب‌های پوسیده به عنوان عامل پوسیدگی میوه و چوب در سیب و کیوی، بیماری‌زا در مارچوبه، عامل پوسیدگی و تخریب انواع چوب در برخی کشورها شناخته شده است (Di Marco *et al.* 2004, Jurgens *et al.* 2010, Frisullo 2002) و همچنین گزارش‌هایی مبنی بر پارازیته شدن سیست‌های برخی نماتدها توسط این قارچ وجود دارد (Domsch *et al.* 2007). دو جدایه به دست آمده از انبار نفت ارومیه با این مشخصات شناسایی شدند که با توصیف گمس (Gams 2000) مطابقت دارد. این گونه براساس بررسی‌های به عمل آمده و طبق فهرست ارشاد (۲۰۰۹)، برای فلور قارچی ایران جدید می‌باشد.

یک جدایه از این قارچ با شماره IRAN 1739C در مجموعه قارچ‌های زنده مؤسسه تحقیقات گیاه‌پزشکی کشور (IRAN) نگهداری می‌شود.

بحث

در سالهای اخیر به دلیل اهمیت زیست‌سالم‌سازی محیط زیست و پالایش آن از آلاینده‌های نفتی و شیمیایی مختلف با استفاده از ریزسازواره‌ها و قارچها شناسایی مخمرهای سیاه دخیل در این امر به موضوع قابل توجهی تبدیل شده است.

اعضای جنس *Exophiala* بویژه گونه *E. jeanselmei* به عنوان تجزیه‌کننده‌های غالب انواع مختلفی از مواد زنوبیوتیک آلی (organic xenobiotics) (ترکیبات شیمیایی خارجی در سیستم های زنده) شناخته شده‌اند. جداسازی این گونه از کشت مایع غنی شده با هیدروکربن نیز گزارش شده است (Prenafeta-Boldú *et al.* 2006). در میان مخمرهای سیاه بیشترین و رایج‌ترین گونه قارچی دخیل در ایجاد بیماری‌های انسانی *E. jeanselmei* است (De Hoog *et al.* 2006) که در سال ۱۹۷۷ توسط دهوخ براساس برخی ویژگی‌های ریختی و رشدی به سه واریته تحت عناوین: *E. jeanselmei* var. *heteromorpha*، *E. j.* var. *lecanii-corni* و *E .j.* var. *jeanselmei* تقسیم‌بندی شده بود، ولی بعدا نتایج به دست آمده از اطلاعات مولکولی، این سه واریته را به سه گونه مستقل تحت عناوین: *E. heteromorpha*، *E. lecanii-corni* و

Archive of SID

www.SID.ir

E. jeanselmei ارتقاء داد (De Hoog *et al.* 2006). براساس نتایج تحقیقات، این جنس را می‌توان مهم‌ترین جنس متعلق به مخمرهای سیاه دخیل در تجزیه هیدروکربن‌های حلقوی و آلاینده‌های نفتی محسوب نمود (Prenafeta-Boldú *et al.* 2006, De Hoog *et al.* 2006).

طبق نتایج این تحقیق، قارچ *E. heteromorpha* گونه غالب در بین جدایه‌های محوطه انبار نفت ارومیه و قارچ *E. xenobiotica* گونه غالب در بین جدایه‌های انبار نفت تبریز بود. از بین قارچ‌های شناسایی شده در تحقیق حاضر، خاصیت تجزیه‌کنندگی هیدروکربن‌های نفتی در مورد قارچ‌های *E. heteromorpha*، *E. xenobiotica* و *Aurobasidium pullulans* در مقالات مختلف گزارش شده است (De Hoog *et al.* 2006, De Hoog & Yurlova 1994). همچنین اهمیت گونه‌های متعلق به جنس *Exophiala* در ایجاد عفونت‌های مغزی و پوستی به عنوان بیمارگرهای فرصت‌طلب در پژوهش‌های مختلف علم پزشکی مورد تاکید قرار گرفته است (De Hoog *et al.* 2003). اهمیت قارچ‌های جداسازی شده از سایر جنبه‌ها نیز در توضیحات مربوط به هر کدام اشاره شده است. البته در این پژوهش، قارچ‌های رایج دیگری از جمله *Penicillium*، *Aspergillus*، *Fusarium*، *Alternaria* و *Ulocladium* نیز از این خاک‌ها جداسازی شد که به دلیل عدم تعلق به گروه مخمرهای سیاه و حضور آن‌ها در اکثر خاک‌ها از توضیح آن‌ها خودداری شد.

تاکنون در تمام پژوهش‌های مربوط به جداسازی مخمرهای سیاه از بسترهای مختلف، روغن معدنی به منظور جذب و شناورسازی قارچ‌های متعلق به این گروه مورد استفاده قرار گرفته است (Satow *et al.* 2008, Zhao *et al.* 2010) ولی در این تحقیق از گازوییل به جای روغن معدنی برای نخستین بار استفاده شد و نتایج نشان داد که گازوییل نیز می‌تواند همانند روغن معدنی با جذب قارچ‌های گروه مخمرهای سیاه به سمت هیدروکربن‌های تک‌حلقوی در جداسازی این قارچ‌ها از خاک مورد استفاده قرار گیرد. علاوه بر جذب مخمرهای سیاه به سمت هیدروکربن‌های نفتی فرضیه دیگر در مورد نقش روغن معدنی این است که یاخته‌های مخمرهای سیاه و خویشاوندان آن‌ها آب‌گریز هستند و روی محلول روغن- فاز میانی باقی مانده و به راحتی قابل جداسازی از فاز میانی آب و روغن می‌شوند (Satow *et al.* 2008) که در مورد گازوییل نیز این فرضیه می‌تواند صادق باشد. با این وجود میزان کارایی گازوییل در جذب مخمرهای سیاه با روغن معدنی مورد مقایسه واقع نگردید. جهت حصول اطمینان از کارایی یکسان گازوییل و روغن معدنی در جذب مخمرهای سیاه، میزان بازیافت مخمرهای سیاه در حضور این ماده در آزمایش‌های مجزا باید بررسی شود.

به نظر می‌رسد با شناسایی تنوع زیستی قارچ‌های متعلق به مخمرهای سیاه درخاک‌های ایران و بویژه مناطق صنعتی و نفتی، امکان بررسی پتانسیل این قارچ‌ها در امر سم‌زدایی بیولوژیک و سالم‌سازی محیط زیست فراهم می‌شود.

References

Arzanlou, M., Groenewald, J.Z., Gams, W., Braun, U., Shin, H-D. & Crous, P.W. 2007. Phylogenetic & morphotaxonomic revision of *Ramichloridium* and allied genera. Studies in Mycology 58: 57–93.

Arzanlou, M. 2010. Taxonomic and phylogenetic position of *Ramichloridium mackenziei*, causal agent of cerebral abscission in human. Journal of Ardabil University of Medical Sciences and Health Services 10(2): 95–105.

Asgari, B., Zare, R. & Payghami, E. 2004. Hyphomycetous fungal community of barley phylloplane in East Azarbaijan province with emphasis on new taxa for Iranian fungal flora. Rostaniha 5(2): 171–197.

Bensch, K., Groenewald, J.Z., Dijksterhuis, J., Starink-Willemse, M., Andersen, B., Summerell, B.A., Shin, H.D., Dugan, F.M., Schroers, H.J., Braun, U. & Crous, P.W. 2010. Species and ecological diversity within the *Cladosporium cladosporioides* complex (*Davidiellaceae*, *Capnodiales*). Studies in Mycology 67: 1–94.

Charles, A.M. & Bonnie, B.P. 1992. Exposure to carcinogenic PAHs in the environment. Environmental Science & Technology 26: 1278–1284.

Braun, U., Crous, P.W., Dugan, F., Groenewald, J.Z. & De Hoog, G.S. 2003. Phylogeny and taxonomy of *Cladosporium*-like *Hyphomycetes*, including

Archive of SID

www.SID.ir

Davidiella gen. nov., the teleomorph of *Cladosporium* s. str. Mycological Progress 2: 3–18.

Cox, H.H.J. 1995. Styrene removal from waste gas by the fungus *Exophiala jeanselmei* in a biofilter. PhD Thesis, University of Groningen, Groningen, The Netherlands.

Cox, H.H.J., Faber, B.W., Van Heiningen, W.N.M., Radhoe, H., Doddema, H.J. & Harder, W. 1996. Styrene metabolism in *Exophiala jeanselmei* and involvement of a cytochrome P-450-dependent styrene monooxygenase. Applied and Environmental Microbiology 62: 1471–1474.

De Hoog, G.S. & Hermanides-Nijhof, E.J. 1977. The black yeasts and allied *Hyphomycetes*. Studies in Mycology 15: 1–222.

De Hoog, G.S. & Yurlova, N.A. 1994. Conidiogenesis, nutritional physiology and taxonomy of *Aureobasidium* and *Hormonema*. Antonie van Leeuwenhoek 65: 41–54.

De Hoog, G.S., Queiroz-Telles, F. & Haase, G. 2000. Black fungi: clinical and pathogenic approaches. Medical Mycology 38 (Suppl. 1): 243–250.

De Hoog, G.S., Vicente, V., Caligiorne, R.B., Kantargliocu, S., Tintelnot, K., Gerrits Van Den Ende, A.H.G. & Haase, G. 2003. Species diversity and polymorphism in the *Exophiala spinifera* clade containing opportunistic black yeast-like fungi. Journal of Clinical Microbiology 41(10): 4767–4778.

De Hoog, G.S., Zeng, J.S. & Harrak, M.J. 2006. *Exophiala xenobiotica* sp. nov., an opportunistic black yeast inhabiting environments rich in hydrocarbons. Antonie van Leeuwenhoek 90: 257–268.

Di Marco, S., Calzarano, F., Osti, F. & Mazzullo, A. 2004. Pathogenicity of fungi associated with a decay of kiwifruit. Australasian Plant Pathology 33: 337–342.

Domsch, K.H., Gams, W. & Anderson, T-A. 2007. Compendium of Soil Fungi. IHW-Verlag, Eching, Germany. 672 pp.

Dugan, F.M., Roberts, R.G. & Hanlin, R.T. 1995. New and rare fungi from cherry fruits. Mycologia 87(5): 713–718.

Ellis, M.B. 1971. Dematiaceous *Hyphomycetes*. Commonwealth Mycological Institute, Kew, Surrey, England. 608 pp.

Ershad, D. 2009. Fungi of Iran. (3rd. ed.). Iranian Research Institute of Plant Protection, Tehran, 531+17 pp.

Frisullo, S. 2002. First report of *Cadophora malorum* on *Asparagus officinalis* in Italy. Phytopathologia Mediterranea 41(2): 148–151.

Gadd, G.M. 2001. Fungi in Bioremediation. Cambridge University Press. 481pp.

Gadd, G.M. 2008. Geomycology: biogeochemical transformations of rocks, minerals, metals and radionuclides by fungi, bioweathering and bioremediation. Mycological Research 111: 3–49.

Gams, W. 2000. *Phialophora* and some similar morphologically little-differentiated anamorphs of divergent *Ascomycetes*. Studies in Mycology 45: 187–199.

Gams, W., Verkley, G.J.M. & Crous, P.W. 2007. CBS Course of Mycology (5th ed.). Centraalbureau voor Schimmelcultures, Utrecht, the Netherlands. 242 pp.

Ghezelbash, G.H., Nahvi, I., Tavassoli, M. & Emtiazi, G.H. 2007. Optimization and production of pullulan by *Auerobasidium pullulans*. Journal of Science 33: 15–23 (in Persian with English Abstract).

Goetz, J. & Dugan, F.M. 2006. *Alternaria malorum*: a mini-review with new records for hosts and pathogenicity. Pacific Northwest Fungi 1(3): 1–8.

Gorbushina, A.A, Krumbein, W.E., Hamman, C.H., Panina, L., Soukharjevski, S. & Wollenzien, U. 1994. Role of black fungi in color change

Archive of SID

www.SID.ir

and biodeterioration of antique marbles. Geomicrobiology Journal 11: 205–220.

Haase, G., Sonntag, L., Peer, Y., Van Der, Uijthof, J.M.J., Odbielski, A. & Melzerkrick, M. 1995. Phylogenetic analysis of ten black yeast species using nuclear small subunit rRNA gene sequences. Antonie van Leeuwenhoek 68: 19–33.

Harrington, T.C. & McNew, D.L. 2003. Phylogenetic analysis places the *Phialophora*-like genus *Cadophora* in the *Helotiales*. Mycotaxon 87: 141–151.

Hermanides-Nijhof, E.J. 1977. *Aureobasidium* and allied genera. Studies in Mycology 15: 141–222.

Iwatsu, T., Miyagi, M. & Okamoto, S. 1981. Isolation of *Phialophora verrucosa* and *Fonsecaea pedrosi* from nature in Japan. Mycopathologia 75: 149–158.

Jurgens, J.A. 2010. Fungal biodiversity in extreme environments and wood degradation potential. PhD thesis. The University of Waikato. 263 pp.

Munchan, C., Kurata, O., Wada, S., Hatai, K., Sano, A. Kamei, K. & Nakaoka, N. 2009. *Exophiala xenobiotica* infection in cultured striped jack, *Pseudocaranx dentex* (Bloch & Schneider) in Japan. Journal of Fish Diseases 32: 893–900.

Prenafeta-Boldú, F.X., Summerbell, R. & De Hoog, G.S. 2006. Fungi growing on aromatic hydrocarbons: biotechnology's unexpected encounter with biohazard. FEMS Microbiological Reviews 30: 109–130.

Satow, M.M., Attili-Angelis, D., De Hoog, G.S., Angelis, D.F. & Vicente, V.A. 2008. Selective factors involved in oil floatation isolation of black yeasts from the environment. Studies in Mycology 61: 157–163.

Schol-Schwarz, M.B. 1970. Revision of the genus *Phialophora* (*Moniliales*). Persoonia 6: 59–94.

Sogonov, M.V., Schroers, H.J., Gams, W., Dijksterhuis, J. & Summerbell, R.C. 2005. The hyphomycete *Teberdinia hygrophila* gen. nov., sp. nov. and related anamorphs of *Pseudeurotium* species. Mycologia 97: 695–709.

Zhao, J., Zeng, J., De Hoog, G.S., Attili-Angelis, D. & Prenafeta-Boldú, F.X. 2010. Isolation and identification of black yeasts by enrichment on atmospheres of monoaromatic hydrocarbons. Microbial Ecology 60: 149–156.

Archive of SID

www.SID.ir