Archive of SID
Rostaniha 21(1): 96–108 (2020)

رستنیها ۲۱(۱): ۱۰۸–۹۶ (۱۳۹۹)

DOI: 10.22092/BOTANY.2020.342375.1196

گزارش‌ها و میزبان‌های جدید از گونه‌های *Exserohilum* و *Pyrenophora* در ایران*

دریافت: ۱۳۹۹/۰۱/۲۶ / پذیرش: ۱۳۹۹/۰۴/۱۸

زینب حیدریان: فارغ‌التحصیل دکتری گروه گیاه‌پزشکی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه تبریز، تبریز، ایران

مهدی ارزنلو✉: استاد گروه گیاه‌پزشکی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه تبریز، تبریز، ایران (arzanlou@tabrizu.ac.ir)

عبداله احمدپور: استادیار مرکز آموزش عالی شهید باکری، میاندوآب، دانشگاه ارومیه، ارومیه، ایران

چکیده

در راستای تاکسونومی گونه‌های جنس‌های *Exserohilum* و *Pyrenophora*، نمونه‌های برگی آلوده گیاهی طی سال‌های ۹۴-۱۳۹۲ از استان‌های مختلف کشور (آذربایجان غربی و شرقی، مازندران، گیلان، اصفهان و خوزستان) جمع‌آوری گردید. تعداد ۴۸ جدایه از جنس‌های *Exserohilum* (۲۶ جدایه) و *Pyrenophora* (۲۲ جدایه) از گونه‌های مختلف گیاهی جداسازی گردید. جدایه‌ها براساس ویژگی‌های ریخت‌شناختی و توالی‌یابی ناحیه rDNA ITS1-5.8S-ITS2 و ژن *GPDH* (Glyceraldehyde-3-phosphate dehydrogenase) شناسایی شدند. براساس داده‌های ریخت‌شناختی و مولکولی، چهار گونه از جنس *Exserohilum* شامل *E. monoceras* (سه جدایه)، *E. oryzicola* (پنج جدایه)، *E. rostratum* (۱۲ جدایه)، *E. turcicum* (شش جدایه) و سه گونه از جنس *Pyrenophora* شامل *P. graminea* (۱۹ جدایه)، *P. dictyoides* (یک جدایه) و *P. lolii* (دو جدایه) شناسایی شدند. گزارش گونه *E. oryzicola* برای مایکوبویتای ایران جدید می‌باشد. شرح کامل به همراه تصاویر برای گونه جدید و همچنین میزبان‌های جدید برای دو گونه *E. rostratum* و *P. lolii* معرفی می‌گردد.

واژه‌های کلیدی: تاکسونومی، ریخت‌شناسی، فیلوژنی، ITS، *GPDH*

New records and hosts for *Exserohilum* and *Pyrenophora* species in Iran

Received: 14.04.2020 / Accepted: 08.07.2020

Zeinab Heidarian: PhD Student (graduated), Plant Protection Department, Faculty of Agriculture, University of Tabriz, Tabriz, Iran

Mahdi Arzanlou✉: Prof., Plant Protection Department, Faculty of Agriculture, University of Tabriz, Tabriz, Iran (arzanlou@tabrizu.ac.ir)

Abdollah Ahmadpour: Assistant Prof., Higher Education Center Shahid Bakeri Miyandoab, Urmia University, Urmia, Iran

Summary

In a taxonomic study of *Exserohilum* and *Pyrenophora* species in Iran, infected plant materials were obtained from different provinces (West and East Azerbaijan, Guilan, Mazandaran, Isfahan and Khuzestan), during the years 2013–16. A total number of fourty eight isolates including 26 *Exserohilum* and 22 *Pyrenophora* isolates were obtained from various plants. The internal transcribed spacer (ITS) region and *GPDH* (Glyceraldehyde-3-phosphate dehydrogenase) gene were amplified and sequenced for representative isolates. Based on a combination of morphological characteristics and sequence data, six species of *Exserohilum viz*., *E. monoceras* (three isolates), *E. oryzicola* (five isolates), *E. rostratum* (12 isolates), *E. turcicum* (six isolates), and *Pyrenophora viz*., *P. dictyoides* (one isolate) *P. graminea* (19 isolates), and *P. lolii* (two isolates) were identified. Among the species, *E. oryzicola* is new species for the mycobiota of Iran. Full description and illustration for the new species are provided herewith. New hosts are also reported for *E. rostratum*, and *P. lolii*.

Keywords: *GPDH*, ITS, morphology, phylogeny, taxonomy

* مستخرج از رساله دکترای نگارنده نخست به راهنمایی دکتر مهدی ارزنلو ارایه شده به دانشگاه تبریز

www.SID.ir

Archive of SID

مقدمه

گونه‌های *Helminthosporium* Link روی گیاهان گرامینه (graminicolous Helminthosporium) به چهار جنس *Bipolaris* Shoemaker، *Curvularia* Boedijn، *Drechslera* S. Ito و *Exserohilum* K.J. Leonard & Suggs به ترتیب با مراحل جنسی *Cochliobolus* Drechsler، *Pseudocochliobolus* Tsuda, Ueyama & Nishih، *Pyrenophora* Fr. و *Setosphaeria* K.J. Leonard & Suggs تقسیم شده‌اند (Sivanesan 1987, Alcorn 1988, Manamgoda *et al.* 2011, 2012, 2014, 2015). گونه‌های *Helminthosporium* روی گیاهان گرامینه (graminicolous plants) توسط نیسیکادو (Nisikado 1929) براساس ریخت‌شناسی کنیدیوم‌ها و نحوه جوانه‌زنی به دو زیرجنس تقسیم گردیدند. گونه‌هایی با کنیدیوم‌های صاف و سیلندری که جوانه‌زنی آن‌ها از طریق ایجاد یک یا چند لوله تندشی (germ tube) از هر سلول کنیدیوم انجام می‌گیرد، در زیرجنس *Cylindro-Helminthosporium* و گونه‌هایی با کنیدیوم‌های دوکی شکل (fusoid) و اغلب خمیده با جوانه‌زنی دو قطبی (bipolar) در زیرجنس *Eu-Helminthosporium* گروه‌بندی شدند. متعاقبا ایتو (Ito 1930) زیرجنس *Cylindro-Helminthosporium* را به جنس *Drechslera* با مرحله جنسی *Pyrenophora* و شوماکر (Shoemaker 1959) زیرجنس *Eu-Helminthosporium* را به جنس *Bipolaris* با مرحله جنسی *Cochliobolus* ارتقاء دادند. خصوصیات دیگر از قبیل محل خروج لوله تندشی و جهت رشد آن، تشکیل دیواره عرضی کاذب و رنگ کنیدیوم‌ها برای تشخیص جنس‌های *Bipolaris* و *Drechslera* پیشنهاد گردید (Luttrell 1963, 1964, 1977). شوماکر (Shoemaker 1966) هیلوم کنیدیوم را به عنوان یک صفت مهم دیگر برای تمایز این دو جنس مطرح کرد. پس از آن لئونارد و ساجس (Leonard & Suggs 1974) گونه‌هایی از جنس *Bipolaris* را که هیلوم برجسته داشتند، به جنس *Exserohilum* با مرحله جنسی *Setosphaeria* منتقل کردند. با این حال، الیس (Ellis 1971, 1976) جنس‌های *Bipolaris* و *Exserohilum* را به عنوان مترادف‌های جنس *Drechslera* در نظر گرفت. آلکورن (Alcorn 1982a, 1982b, 1983) تحقیقات وسیعی را روی تعداد زیادی از گونه‌های کمپلکس *Drechslera* از گیاهان گرامینه انجام داد و پیشنهاد کرد که نام‌های *Bipolaris*، *Exserohilum* و *Drechslera* بایستی دوباره ابقاء گردند. سیوانسان (Sivanesan 1987) نیز *Bipolaris* و *Exserohilum* را به عنوان جنس‌های مجزا پذیرفت. به این ترتیب، تفکیک گونه‌های کمپلکس *Drechslera* به جنس‌های *Bipolaris*، *Exserohilum* و *Drechslera* با داشتن مراحل جنسی متفاوت و مجزا حمایت گردید. آلکورن (1983)، با مطالعات وسیع روی گونه‌های مختلف سه جنس فوق روی گیاهان تیره یاد شده، ویژگی‌هایی از جمله شکل کنیدیوم‌ها و نحوه جوانه‌زنی، ریخت‌شناسی هیلوم، منشا لوله تندشی در سلول پایه و موقعیت آن نسبت به محور کنیدیوم، نحوه تشکیل دیواره عرضی کاذب و ویژگی‌های جایگاه یا گره کنیدی‌زایی (conidiogenous nodes) را به عنوان صفات اصلی و مهم در تمایز این سه جنس مطرح کرد. مراحل جنسی این سه جنس نیز براساس شکل و وضعیت دیواره‌های آسکوسپورها به راحتی قابل تشخیص می‌باشند (Sivanesan *l.c.*). نامبرده گونه‌های جنس‌های *Bipolaris*، *Curvularia*، *Drechslera* و *Exserohilum* را روی گیاهان گرامینه مورد مطالعه جامع قرار داد. از آن سال به بعد، چندین گونه جدید از جنس‌های مذکور گزارش گردیده است (Hernández-Restrepo *et al.* 2018, Marin-Felix *et al.* 2019)، ولی اخیرا پیشنهاد گردیده که به جای جنس *Drechslera* از *Pyrenophora* استفاده شود (Rossman *et al.* 2015).

تاکنون در سامانه index fungorum (www.indexfungorum.org)، ۴۰ گونه برای جنس *Exserohilum* و ۱۳۹ گونه برای جنس *Drechslera* فهرست شده است. در سال‌های اخیر، آرایه‌بندی گونه‌های جنس‌های مذکور دستخوش تغییرات زیادی شده‌اند. هرناندز-رسترپو و همکاران (Hernández-Restrepo *et al.* 2018)، ۱۱ گونه برای جنس *Exserohilum* و مارین-فلیکس و همکاران (Marin-Felix *et al.* 2019)، ۲۷ گونه برای جنس *Pyrenophora* براساس صفات ریخت‌شناسی و توالی ناحیه rDNA، ژن‌های ژن گلیسرآلدهید-۳ فسفات دهیدروژناز (*GPDH*)، فاکتور گسترش رونویسی (*TEF*) و RNA پلیمراز II (*RPB2*) پذیرفته‌اند. بسیاری از گونه‌های قبلی مترادف در نظر گرفته شده‌اند و برخی گونه‌ها به عنوان گونه‌های مشکوک (نبود توالی‌های معتبر از نمونه‌های تیپ) قلمداد شده‌اند. با این وجود، علیرغم اهمیت این قارچ‌ها در ایجاد بیماری‌های مهم گیاهی و تنوع میزبانی وسیع آن‌ها، مطالعات اندکی روی آرایه‌بندی طبیعی این قارچ‌ها در ایران صورت گرفته است. با توجه به تحقیقات گذشته تاکنون، هفت گونه از جنس *Pyrenophora* و دو گونه از جنس *Exserohilum* از ایران گزارش شده است (Ershad 2009).

www.SID.ir

Archive of SID

این پژوهش، با هدف مطالعه و معرفی برخی گونه‌های جنس‌های مذکور از روی گونه‌های مختلف گیاهان گرامینه از مناطق مختلف کشور انجام شده است.

روش بررسی

- جمع‌آوری، جداسازی و شناسایی نمونه‌های قارچی

اندام‌های گیاهی گونه‌های مختلف گیاهان گرامینه که نشانه‌های مشکوک به آلودگی توسط گونه‌های مختلف جنس‌های *Exserohilum* و *Pyrenophora* را داشتند، جمع‌آوری و هر کدام در پاکت‌های کاغذی جداگانه به آزمایشگاه منتقل شد. نمونه‌ها از گیاهان گرامینه حاشیه یا داخل مزارع، باغ‌ها، مراتع، مناطق باتلاقی و حاشیه رودخانه‌ها از استان‌های آذربایجان غربی (اغلب جدایه‌ها از این استان به دست آمدند)، خوزستان، گیلان و کهگیلویه و بویراحمد جمع‌آوری شدند. جداسازی و خالص‌سازی نمونه‌های قارچی به مشابه مطالعات قبلی انجام گردید (Ahmadpour *et al.* 2011, 2012a,b, 2013). جهت بررسی خصوصیات ریخت‌شناختی و میکروسکوپی جدایه‌ها، حلقه‌هایی به قطر ۵ میلی‌متر از حاشیه در حال رشد پرگنه‌های مربوط به هر جدایه برداشته شد و به تشتک‌های حاوی محیط‌کشت‌های سیب‌زمینی-دکستروز-آگار (PDA) و آب شیر شهری حاوی کاه گندم-آگار سترون (tap water agar+wheat straw: TWA) منتقل گردید. تشتک‌های حاوی محیط‌کشت‌های PDA تحت شرایط تاریکی و تشتک‌های حاوی محیط‌کشت TWA تحت شرایط نور نزدیک به ماورابنفش (Near Ultra Violet: NUV) متناوب (۱۲ ساعت تاریکی و ۱۲ ساعت روشنایی) و دمای ۲۵ درجه سلسیوس منتقل شدند و به مدت ۱۴-۱۰ روز نگهداری گردید (Sivanesan 1987, Ariyawansa *et al.* 2014, Hernández-Restrepo *et al.* 2018, Marin-Felix *et al.* 2019).

صفات مورد مطالعه شامل رنگ پرگنه، مشخصات کنیدیوفورها و کنیدیوم‌ها بود. حداقل ۵۰ عدد از هر کدام از اندام‌های قارچی (کنیدیوفور و کنیدیوم) در چند نمونه میکروسکوپی بررسی و اندازه‌گیری شدند. تصاویر مورد نظر از صفات مذکور با استفاده از میکروسکوپ نوری الیمپوس (Olympus) مدل BX41 تهیه گردید. نمونه‌های میکروسکوپی با بهره‌گیری از منابع معتبر (Ellis 1971, 1976, Sivanesan 1987, Ariyawansa *et al.* 2014, Hernández-Restrepo *et al.* 2018, Marin-Felix *et al.* 2019) شناسایی و تعیین نام گردیدند. تمامی جدایه‌ها در مجموعه قارچ‌های مؤسسه تحقیقات گیاه‌پزشکی کشور (تهران) (IRAN…C) و کلکسیون قارچ‌شناسی گروه گیاه‌پزشکی دانشگاه تبریز (CCTU) نگهداری می‌شوند (جدول ۱).

- تجزیه و تحلیل‌های فیلوژنتیک

بر مبنای ویژگی‌های ریخت‌شناختی ۴۸ جدایه جداسازی شده از جنس‌های *Exserohilum* (۲۶ جدایه) و *Pyrenophora* (۲۲ جدایه) و انگشت‌نگاری DNA با استفاده از نشانگر مولکولی ISSR (Inter Simple Sequence Repeats)، به ترتیب ۱۵ و هفت جدایه منتخب از جنس‌های *Exserohilum* و *Pyrenophora* برای مطالعه فیلوژنتیکی انتخاب شد (جدول ۱). پس از استخراج DNA ژنومی (Ahmadpour *et al.* 2012a)، برای تکثیر نواحی ITS1-5.8S-ITS2 rDNA هسته‌ای از ترکیب آغازگرهای ITS1 (5’-TCCGTAGGTGAACCTGCGG-3’) و ITS4 (5’-TCCTCCGCTTATTGATATGC-3’) (White *et al.* 1990) و تکثیر *GPDH* از آغازگرهای gpd1 (5’-CAACGGCTTCGGTCGCATTG-3’) و gpd2 (5’-GCCAAGCAGTTGGTTGTGC-3’) (Berbee *et al.* 1999)، به ترتیب به عنوان آغازگرهای مستقیم (forward) و معکوس (reverse) استفاده گردید. واکنش PCR و توالی‌یابی محصولات تکثیر شده مشابه مطالعات قبلی انجام گردید (Ahmadpour *et al.* 2012a, 2013).

کروماتوگرام مربوط به توالی‌ها با استفاده از نرم‌افزار Pro Ver. 1.7.6 (http://www.technelysium.com.au) Chromas و نرم‌افزار EditSeq Ver. 1.7.6 مشاهده و در صورت لزوم ویرایش شدند. برای اطمینان از صحت توالی‌های به دست آمده از هر نمونه، هر یک از توالی‌ها با استفاده از ابزار جستجوی BLAST (Altschul *et al.* 1997) با توالی‌های موجود در بانک ژن مقایسه شد. برای مقایسه روابط فیلوژنتیکی جدایه‌های توالی‌یابی شده، گونه‌های تیپ جنس‌های *Exserohilum* و *Pyrenophora* از بانک ژن (NCBI) اخذ شد (Ariyawansa *et al.* 2014, Hernández-Restrepo *et al.* 2018, Marin-Felix *et al.* 2019). گونه *Bipolaris maydis* (CBS 137271) نیز به عنوان آرایه خارجی (outgroup) انتخاب گردید (Hernández-Restrepo *et al.* 2018, Marin-Felix *et al.* 2019) (جدول ۱). توالی‌ها با استفاده از نرم‌افزار MAFFT هم‌ردیف گردیدند (Katoh *et al.* 2019). پس از هم‌ردیف کردن توالی‌ها، بهترین مدل جایگزینی نوکلئوتیدی ژن‌ها، با استفاده از نرم‌افزار MrModeltest Ver. 2.2 (Nylander 2004) تعیین شد. در نرم‌افزار مذکور برای ناحیه ITS و ژن *GPDH* به ترتیب مدل‌های GTR+I و GTR+I+G محاسبه گردید. درخت‌های فیلوژنتیکی با استفاده از روش MP (Maximum parsimony) با

www.SID.ir

Archive of SID

نرم‌افزار PAUP 4.0b10 (Swofford 2002) رسم گردید. برای اطمینان از ثبات شاخه‌های موجود در درخت فیلوژنتیکی، مقدار اعتبارسنجی (Bootstrap) با ۱۰۰۰ تکرار با استفاده از این برنامه محاسبه شد. سایر اندازه‌گیری‌ها مانند شاخص‌های طول شجره (TL)، مقیاس استحکام (CI)، هماهنگی شجره (HI) و بازداری (RI) اندازه‌گیری شد. کلیه صفات مورد بررسی در توالی‌ها به عنوان اطلاعات از دست رفته (missing data) در نظر گرفته شدند، اما طی بررسی‌های فیلوژنتیکی، هیچ یک از صفات حذف نگردیدند. به علاوه، درخت‌های فیلوژنتیکی با استفاده از روش بیژین (Bayesian) و نرم‌افزار MrBayes Ver. 3.2.5 (Ronquist & Huelsenbeck 2003) ترسیم شدند. آنالیزهای بیژین با استفاده از الگوریتم MCMC (Markov Chain Monte Carlo)، برای چهار زنجیره به طور هم‌زمان از یک درخت فیلوژنتیکی تصادفی اولیه و پارامتر گرمایی ۰/۱۵ با استفاده از احتمالات پیش‌فرض راه‌اندازی شد. برای هر ماتریس دو اجرای جداگانه به منظور دستیابی به نمونه‌های دقیقی از توزیع احتمال پسین (posterior probabilities) اجرا شد و هر هزار نسل، یک درخت فیلوژنتیکی نمونه‌برداری شد. در نهایت، پس از تکمیل تجزیه و تحلیل‌های مربوطه، ۲۵٪ اولیه درخت‌های فیلوژنتیکی جمع‌آوری شده، سوزانده شدند و درخت‌های فیلوژنتیکی ایجاد شده با استفاده از نرم‌افزارهای Geneious Ver. 8.1.4 (Kearse *et al.* 2012) و TreeView Ver. 1.6.6 (Page 1999) مشاهده گردیدند. توالی‌های مربوط به جدایه‌های مختلف گونه‌های توالی‌یابی شده در بانک ژن ثبت گردیدند و شماره‌های دستیابی اخذ شد (جدول ۱).

نتیجه و بحث

تعداد ۴۸ جدایه از جنس‌های *Exserohilum* (۲۶ جدایه) و *Pyrenophora* (۲۲ جدایه) از گونه‌های مختلف گیاهی جداسازی گردید. براساس داده‌های ریخت‌شناسی و مولکولی، هفت گونه از جنس‌های *Exserohilum* و *Pyrenophora* شامل *E. oryzicola* (پنج جدایه)، *E. monoceras* (سه جدایه)، *E. rostratum* (۱۲ جدایه)، *E. turcicum* (شش جدایه)، *P. graminea* (۱۹ جدایه)، *P. dictyoides* (یک جدایه) و *P. lolii* (دو جدایه) شناسایی شدند. در بین گونه‌های شناسایی شده، گونه *E. oryzicola* برای مایکوبیوتای ایران جدید می‌باشد. با توجه به این که شرح و توصیف کامل برای اغلب گونه‌های شناسایی شده در این تحقیق قبلا ارایه گردیده (Heidarian *et al.* 2015) لذا، در این بررسی گونه *E. oryzicola* که برای مایکوبیوتای ایران جدید می‌باشد و همچنین گونه *P. dictyoides* که توصیف و شرح کامل گونه در دسترس نمی‌باشد، براساس صفات ریخت‌شناختی و مولکولی توصیف می‌شود. در مورد سایر گونه‌هایی که در مطالعات قبلی شرح و توصیف آن‌ها ارایه گردیده، به ذکر نمونه‌های بررسی شده، دامنه میزبانی و پراکنش جغرافیایی آن‌ها اکتفا گردیده است.

۱- *Exserohilum oryzicola* Sivan., Trans. Brit. Mycol. Soc. 83: 325. 1984 (Fig. 1)

نمونه‌های بررسی شده: جدایه SHE15 جداسازی شده از *Echinochloa* sp.- شهرستان شوط (استان آذربایجان غربی)، شهریور ۱۳۹۴؛ جدایه AE1 جداسازی شده از *Oryza sativa* L.- شهرستان رشت (استان گیلان)، مرداد ۱۳۹۴؛ جدایه‌های CCTU 110، 111 CCTU و 112 CCTU جداسازی شده از *Echinochloa* sp.- شهرستان رشت (استان گیلان)، مرداد ۱۳۹۴.

پرگنه قارچ روی محیط‌کشت PDA در دمای ۲۵ درجه سلسیوس بعد از هفت روز با حاشیه منظم و به رنگ زیتونی تیره است (شکل ۱، A). کنیدیوفورها ساده، منفرد یا در گروه‌های کوچک به رنگ قهوه‌ای تا قهوه‌ای تیره تشکیل می‌شوند و تا ۱۲۰۰ میکرومتر اندازه‌گیری شدند (شکل ۱، B و C). کنیدیوم‌ها دوکی، قهوه‌ای روشن، راست تا اندکی خمیده، اغلب سلول پایه به سمت هیلوم باریک می‌شود، دارای ۹-۶ دیواره عرضی کاذب و به ابعاد ۲۲-۱۴ × ۱۶۱-۹۰ می‌باشند (شکل ۱، D).

گونه *E. oryzicola* از نظر ویژگی‌های ریخت‌شناسی شباهت بسیاری به گونه‌های *E. monoceras* (Drechsler) K.J. Leonard & Suggs و *E. echinochloae* Sivan. دارد. گونه‌های فوق همگی دارای کنیدیوم‌های راست تا خمیده، اغلب دارای ۹-۶ دیواره عرضی کاذب هستند که سلول پایه کنیدیوم به سمت هیلوم باریک می‌شود. اما گونه *E. monoceras* با کنیدیوم‌های تیره‌تر، عریض‌تر و با خمیدگی کم‌تر، گونه *E. echinochloae* با کنیدیوم‌های تیره‌تر و با ابعاد بزرگ‌تر (۳۵-۲۵ × ۲۱۰-۱۵۰) میکرومتر از گونه فوق متمایز می‌گردند (Alcorn 1991). هرناندز-رسترپو و همکاران (2018) براساس مطالعات فیلوژنی، گونه *E. fusiforme* را مترادف گونه *E. oryzicola* در نظر گرفته‌اند. گونه فوق، علی‌رغم شباهت ریخت‌شناسی بسیاری که به گونه *E. monoceras* دارد، در مطالعه فیلوژنتیکی، در دودمان کاملا جداگانه با درجه اعتبارسنجی/ احتمال پسین ۹۵/۰/۹۹ قرار گرفت (شکل ۳).

این گونه، از روی گیاهان سوروف (*E. colona* (L.) Link)، *E. crus-galli* (L.) Beauv) و برنج (*Oryza sativa*) و از

www.SID.ir

Archive of SID

کشورهای استرالیا، بنگلادش و کلمبیا گزارش شده است (Alcorn 1991, Farr & Rossman 2020, Hernández-Restrepo *et al.* 2018). براساس منابع در دسترس، این گونه تاکنون از ایران گزارش نشده و این نخستین گزارش از گونه فوق برای فلور قارچی ایران می‌باشد (Ershad 2009).

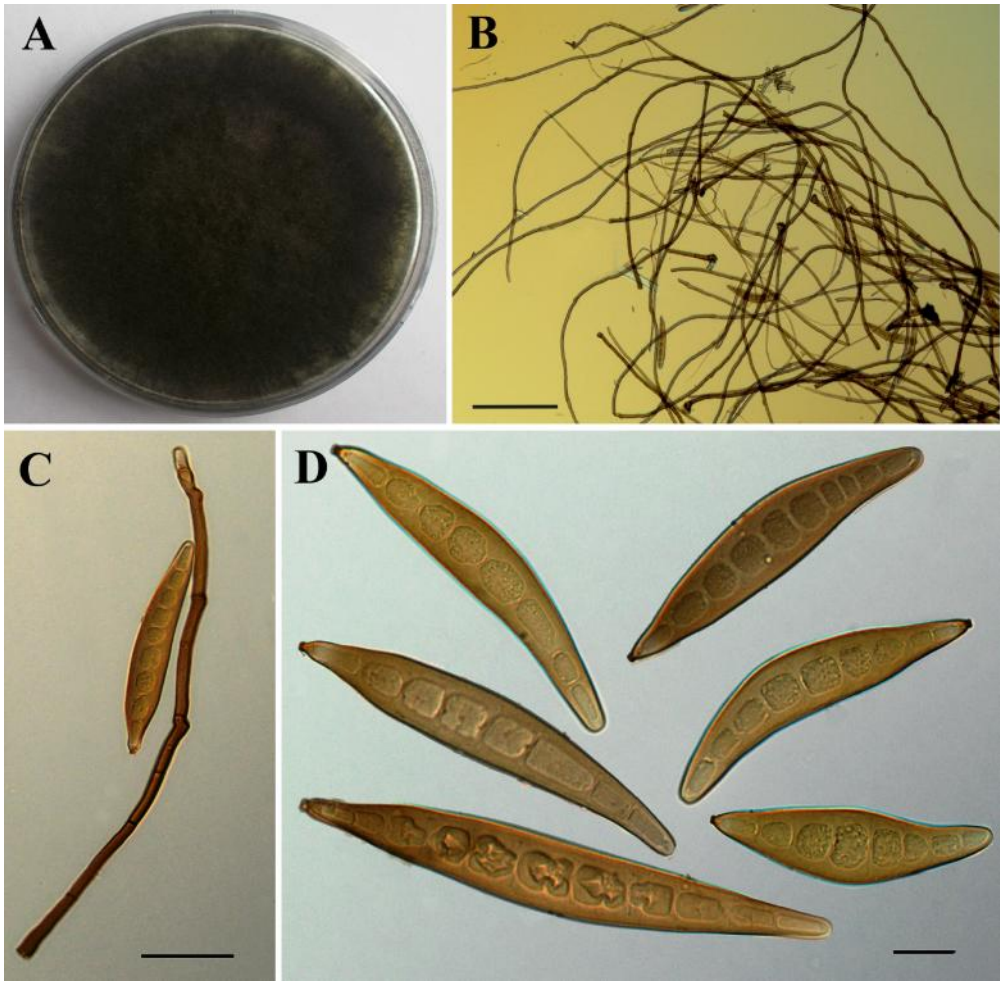
جدول ۱– مشخصات جدایه‌های قارچی از جنس *Exserohilum* و *Pyrenophora* استفاده شده برای آنالیزهای فیلوژنتیکی در تحقیق حاضر

Table 1. List of *Exserohilum* and *Pyrenophora* isolates, used for phylogenetic analyses in the present study

Taxon	Strain No.	Host	GenBank accession number	
			ITS	*GPDH*
Exserohilum monoceras	MkE18; IRAN 3502C	*Echinochloa* sp.	MT193477	MT193112
E. monoceras	YE7	Unknown	-	-
E. monoceras	YE8	Unknown	-	-
E. oryzicola	ShE15; IRAN 3409C	*Echinochloa* sp.	MT193479	MT193116
E. oryzicola	CCTU 110	*Echinochloa* sp.	MT193480	-
E. oryzicola	CCTU 111	*Echinochloa* sp.	-	MT193113
E. oryzicola	CCTU 112	*Echinochloa* sp.	-	MT193115
E. oryzicola	AE1; IRAN 3410C	*Oryza sativa*	MT193478	MT193114
E. rostratum	ME1; IRAN 3411C	*Arundo donax*	MT193483	MT193117
E. rostratum	EX1; CCTU 113; IRAN 2458C	*Saccharum officinarum*	KC198082	-
E. rostratum	ME5; CCTU 114	*Hordeum vulgare*	MT193484	-
E. rostratum	MoE11; CCTU 115	*H. vulgare*	MT193485	-
E. rostratum	BE21	Unknown	-	-
E. rostratum	ME2	*Cynodon dactylon*	-	-
E. rostratum	ME3	*Digitaria* sp.	-	-
E. rostratum	ME4	*Digitaria* sp.	-	-
E. rostratum	ME6	Unknown	-	-
E. rostratum	UE9	*Arundo donax*	-	-
E. rostratum	ME10	Unknown	-	-
E. rostratum	ShE16	*Paspalum* sp.	-	-
E. turcicum	ShE14 CCTU 117	*Sorghum halepens*	MT193482	-
E. turcicum	KhE20; CCTU 118	*S. halepense*	MT193481	MT193118
E. turcicum	EX2; CCTU 119; IRAN 2460C	*S. halepense*	KR263032	-
E. turcicum	EX 3; CCTU 120	*S. halepense*	KR263033	-
E. turcicum	EX 4; CCTU 121	*S. halepense*	KR263034	-
E. turcicum	KhE19	*S. halepense*	–	-
Pyrenophora dictyoides	MB4; IRAN 3505C	Unknown	MT193486	MT193119
P. graminea	BD8; CCTU 123	*Hordeum vulgare*	MT193487	–
P. graminea	MoD27; CCTU 124	*Secale* sp.	MT193489	–
P. graminea	ND35; IRAN 3412C	*Lolium* sp.	MT193490	MT193120
P. graminea	MD13; CCTU 125	*Hordeum vulgare*	MT193488	-
P. graminea	MhD32	*H. vulgare*	-	-
P. graminea	MhD33	*H. vulgare*	-	-
P. graminea	MhD34	*H. vulgare*	-	-
P. graminea	ND36	*Lolium* sp.	-	-
P. graminea	MoD24	*Hordeum vulgare*	-	-
P. graminea	MoD25	*H.vulgare*	-	-
P. graminea	MoD26	*H. vulgare*	-	-
P. graminea	MoD24	*H. vulgare*	-	-
P. graminea	MD15	*H. vulgare*	-	-
P. graminea	BD12	*H. murinum*	-	-
P. graminea	BD9	*H. vulgare*	-	-
P. graminea	BD3	*H. vulgare*	-	-
P. graminea	BD5	*H. vulgare*	-	-
P. graminea	BD6	*H. vulgare*	-	-
P. graminea	BD7	*H. vulgare*	-	-
P. lolii	MD14; IRAN 3413C	*Alopecurus* sp.	MT193491	MT193121
P. lolii	MhD31; IRAN 3414C	*Lolium* sp.	MT193492	MT193122

www.SID.ir

Archive of SID



شکل ۱- *Exserohilum oryzicola*: A. رنگ پرگنه در محیط‌کشت PDA، B-C. کنیدیوفورها (مقیاس = ۵۰ میکرومتر)، D. کنیدیوم‌ها (مقیاس = ۲۰ میکرومتر).

Fig. 1. *Exserohilum oryzicola*: A. Colony on PDA, B-C. Conidiophores (Bar = 50 µm), D. Conidia (Bar = 20 µm).

۲- *Pyrenophora dictyoides* A.R. Paul & Parbery, Trans. Brit. Mycol. Soc. 51: 708. 1968. (Fig. 2)

نمونه بررسی شده: جدایه MB4 جداسازی شده از گیاه گرامینه ناشناخته- شهرستان میاندوآب (استان آذربایجان غربی)، تیر ۱۳۹۲.

این گونه، قبلا از روی چمن (*Agrostis tenuis* L.) از ایران گزارش شده است (Ershad 2009). با این وجود، شرح کاملی برای گونه در دسترس نبود و در تحقیق حاضر هویت این گونه براساس داده‌های مولکولی و ویژگی‌های ریخت‌شناختی براساس کشت زنده توصیف گردید.

پرگنه قارچ روی محیط‌کشت PDA در دمای ۲۵ درجه سلسیوس بعد از هفت روز دارای حاشیه منظم و به رنگ کرم با مرکز خاکستری است (شکل ۲، A). میسیلیوم‌ها قهوه‌ای روشن، کنیدیوفورها ماکرونماتوس، دارای دیواره عرضی، منفرد، راست، در انتها زانویی، قهوه‌ای و به ابعاد ۷-۳ × ۳۰۰-۱۰۰ میکرومتر است (شکل ۲، C-D). کنیدیوم‌ها راست، اغلب چماقی وارونه، گاه سیلندری، قهوه‌ای تا قهوه‌ای متوسط، دارای ۸-۴ دیواره عرضی کاذب و با ابعاد ۱۸-۱۱ × ۱۳۰-۶۸ می‌باشند. گونه فوق در محیط‌کشت TWA کنیدیوفور ثانویه تشکیل می‌دهد (شکل ۲، D-E). این گونه، همچنین استروما تولید می‌کند (شکل ۲، B).

نزدیک‌ترین گونه به گونه فوق، *P. cynosure* Y. Marín & Crous است. گونه *P. dictyoides* با داشتن کنیدیوم‌های بزرگ‌تر، تعداد دیواره کاذب بیش‌تر و کنیدیوفور کوتاه از گونه اخیر متمایز می‌شود (Marin-Felix *et al.* 2019). مارین-فلیکس و همکاران (۲۰۱۹) براساس مطالعات فیلوژنتیکی، گونه

www.SID.ir

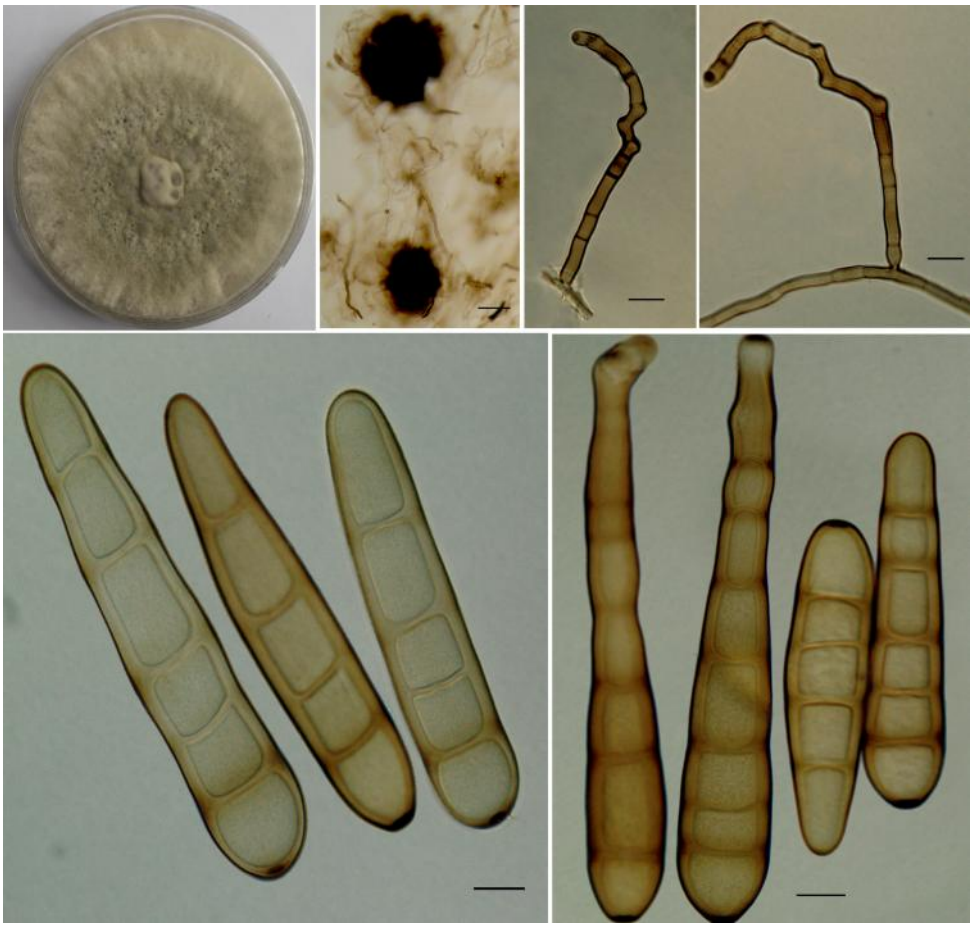
Archive of SID

Drechslera andersenii A. Lam را مترادف گونه *P. dictyoides* در نظر گرفته‌اند. گونه *P. dictyoides* عامل بیماری سوختگی برگی گیاهان *Festuca* و *Lolium* می‌باشد و از گونه‌های مختلفی از گیاهان گرامینه گزارش شده است (Farr & Rossman 2020).

۳- *Exserohilum monoceras* (Drechsler) K.J. Leonard & Suggs, Mycologia 66(2): 291 (1974)

نمونه‌های بررسی شده: جدایه‌های YE7، YE8 جداسازی شده از گیاهان گرامینه ناشناخته- شهرستان یاسوج (استان کهگیلویه و بویراحمد)، مهر ۱۳۹۲؛ جدایه MkE18 جداسازی شده از *Echinochloa* sp.- شهرستان ماکو (استان آذربایجان غربی)، شهریور ۱۳۹۴.

این گونه، قبلا از سوروف (*Echinochloa colona*) و *Setaria* sp. از شهرستان خوی (استان آذربایجان غربی) گزارش شده است (Heidarian *et al.* 2015). این گونه، تاکنون از گیاهان *Dichanthelium clandestinum* (L.) Gould، گونه‌های مختلف سوروف (*Echinochloa colona*، *Echinochloa crus-galli* (Vasinger) Vasinger (E As.)، *Echinochloa oryzicola* (All.) Vign. ex Janchen، *Eragrostis cilianensis* (Michx.) Nees ex Steud.، *Eragrostis pectinacea* (L.) P.Beauv.، *Eragrostis pilosa* (L.) P.Beauv.، *Oplismenus compositus* (L.) P. Beauv. و *Oryza sativa* خاک و از کشورهای آمریکا، استرالیا، آرژانتین، فلوریدا، کره، اسراییل، نیویورک، ترکیه، ژاپن، چین و کوبا گزارش شده است (Farr & Rossman 2020).



شکل ۲- *Pyrenophora dictyoides*: A. رنگ پرگنه در محیط‌کشت PDA، B. استروما (مقیاس = ۲۰ میکرومتر)، C-D. کنیدیوفور (مقیاس = ۲۰ میکرومتر)، E–F. کنیدیوم‌ها (مقیاس = ۱۰ میکرومتر).

Fig. 2. *Pyrenophora dictyoides*: A. Colony on PDA, B. Stroma (Bar = 20 µm), C-D. Conidiophore (Bar = 20 µm), E-F. Conidia (Bar = 10 µm).

www.SID.ir

Archive of SID

۴- *Eserohilum rostratum* (Drechsler) K.J. Leonard & Suggs, Mycologia 66(2): 290 (1974)

نمونه‌های بررسی شده: جدایه ME1 جداسازی شده از *Arundo donax*- شهرستان میاندوآب (استان آذربایجان غربی)، اردیبهشت ۱۳۹۳؛ جدایه ME2 جداسازی شده از *Cynodon dactylon* (L.) Pers.- شهرستان میاندوآب (استان آذربایجان غربی)، اردیبهشت ۱۳۹۳؛ جدایه‌های ME3، ME4 جداسازی شده از *Digitaria* sp.- شهرستان میاندوآب (استان آذربایجان غربی)، اردیبهشت ۱۳۹۴؛ جدایه ME5 جداسازی شده از *Hordeum vulgare* L.- شهرستان میاندوآب (استان آذربایجان غربی)، خرداد ۱۳۹۴؛ جدایه UE9 جداسازی شده از *Arundo donax* L.- شهرستان ارومیه (استان آذربایجان غربی)، مهر ۱۳۹۳؛ جدایه MOE11 جداسازی شده از *Hordeum vulgare*- شهرستان محمدیار (استان آذربایجان غربی)، خرداد ۱۳۹۴؛ جدایه ShE16 جداسازی شده از *Paspalum* sp.- شهرستان شوط (استان آذربایجان غربی)، شهریور ۱۳۹۴؛ جدایه BE21 جداسازی شده از گیاه گرامینه ناشناخته- شهرستان بوکان (استان آذربایجان غربی)، آبان ۱۳۹۳؛ جدایه‌های ME6 و ME10 جداسازی شده از گیاه گرامینه ناشناخته- شهرستان میاندوآب (استان آذربایجان غربی)، مهر ۱۳۹۳؛ جدایه EX1 جداسازی شده از *Saccharum officinarum* L.- شهرستان اهواز (استان خوزستان)، شهریور ۱۳۹۱.

این گونه، قبلا از *Saccharum officinarum* و *Sorghum bicolor* (L.) Moench شهرستان اهواز (استان خوزستان)، *Sorghum halepense* (L.) Pers. و *Aloe vera* (L.) Burm.f. شهرستان کرج (استان البرز) و *Oryza sativa* شهرستان رشت (استان گیلان) گزارش شده است (Heidarian *et al.* 2015). *E. rostratum* دامنه میزبانی زیادی دارد و از مناطق مختلف دنیا گزارش شده است (Farr & Rossman 2020). گونه فوق در ایران از گیاهان مختلفی گزارش شده، اما تاکنون از گیاهان پاسپالوم، قمیش، پنجه‌انگشتی و جو گزارش نشده که در بررسی حاضر، این گیاهان به عنوان میزبان‌های جدید برای گونه فوق گزارش می‌شوند (Ershad 2009). هرناندز-رستریو و همکاران (۲۰۱۸) براساس مطالعات فیلوژنی گونه‌های *E. antillanum*، *E. prolatum*، *E. longirostratum*، *E. gedarefense* و *Helminthosporium leptochloae* را مترادف گونه *E. rostratum* در نظر گرفته‌اند.

۵- *Exserohilum turcicum* (Pass.) K.J. Leonard & Suggs, Mycologia 66(2): 291 (1974)

نمونه‌های بررسی شده: جدایه ShE14 جداسازی شده از *Sorghum halepense*- شهرستان شوط (استان آذربایجان غربی)، شهریور ۱۳۹۴؛ جدایه‌های EX3، KhE19، KhE20 جداسازی شده از *Sorghum halepense*- شهرستان خوی (استان آذربایجان غربی)، شهریور ۱۳۹۴؛ جدایه‌های EX2 و EX4 جداسازی شده از *Sorghum halepense*- شهرستان رودبار (استان گیلان)، شهریور ۱۳۹۲.

این گونه، قبلا از میزبان‌های مختلف شامل *Sorghum halepense* از شهرستان رودبار (استان گیلان)، خوی (استان آذربایجان غربی)، *Paspalum dilatatum* Poir. رشت (استان گیلان) و *Zea mays* L. از ساری (استان مازندران) در ایران گزارش شده است (Heidarian *et al.* 2015). گونه *E. turcicum* عامل بیماری بلایت شمالی برگ ذرت می‌باشد. همچنین، به ذرت خوشه‌ای (*Sorghum vulgare* (L.) Moench)، قیاق (*Sorghum halepense*)، اوکلنا (*Euchlaena mexicana* (Schrad.) و سایر گرامینه‌ها حمله می‌کند. این گونه، در مناطق گرمسیری و نیمه‌گرمسیری انتشار دارد (Sivanesan 1987, Hernández-Restrepo *et al.* 2018).

۶- *Pyrenophora graminea* S. Ito & Kurib., J. Fac. agric., Hokkaido Imp. Univ., Sapporo 29: 85–123 (1931)

نمونه‌های بررسی شده: جدایه‌های BD3، BD5، BD6، BD7، BD8، BD9 جداسازی شده از *Hordeum vulgare*- شهرستان بوکان (استان آذربایجان غربی)، خرداد ۱۳۹۴؛ جدایه‌های MOD24، MOD25، MOD26 جداسازی شده از *Hordeum vulgare*- شهرستان محمدیار (استان آذربایجان غربی)، خرداد ۱۳۹۴؛ جدایه‌های MhD32، MhD33، MhD34، MhD35، MhD36 جداسازی شده از *Hordeum vulgare*- شهرستان مهاباد (استان آذربایجان غربی)، خرداد ۱۳۹۴؛ جدایه‌های MD15، MD13 جداسازی شده از *Hordeum vulgare*- شهرستان میاندوآب (استان آذربایجان غربی)، خرداد ۱۳۹۴؛ جدایه‌های BD11، BD12 جداسازی شده از *Hordeum murinum* L.- شهرستان بوکان (استان آذربایجان غربی)، اردیبهشت ۱۳۹۴؛ جدایه MOD27 جداسازی شده از *Secale cereale* L.- شهرستان محمدیار (استان آذربایجان غربی)، خرداد ۱۳۹۴.

این گونه، عامل بیماری لکه نواری جو می‌باشد که در گیاه به صورت سیستمیک رشد می‌کند و باعث آلودگی بذر می‌گردد. این بیماری گسترش زیادی دارد و بذرهایی که آلودگی شدید دارند باریک، خالدار و به رنگ قهوه‌ای تیره یا قهوه‌ای-

www.SID.ir

Archive of SID

صورتی می‌باشند (Sivanesan 1987). گونه فوق، تاکنون از روی جو (*Hordeum vulgare*) از مناطق مختلف دنیا گزارش شده است. همچنین، از گیاهان بیدگیاه *Agropyron repens* (L.) P.Beauv.، جو دو سر (*Avena sativa*)، علف‌باغی (*Dactylis glomerata*)، گندم (*Triticum aestivum* L.)، *Alopecurus pratensis* L. (L.) P.Beauv. ex J.Presl & C.Presl، *Arrhenatherum elatius* (L.) Roth، *Avena fatua*، *Calamagrostis epigeios* (L.) Roth، *Critesion murinum*، *Cynosurus cristatus* L.، *Holcus lanatus* L.، *Hordeum distichon*، *Hordeum sativum* var. *hexastichon*، *Hordeum vulgare* var. *nudum*، *Lolium perenne* sp. از کشورهای نیوزلند، اسکاتلند، چین، تایوان، انگلیس، لهستان و سایر کشورها گزارش شده است (Farr & Rossman 2020).

۷- *Pyrenophora lolii* Dovaston, Trans. Br. mycol. Soc. 31(3–4): 251 (1948)

نمونه‌های بررسی شده: جدایه MD14 جداسازی شده از *Alopecurus* sp.- شهرستان میاندوآب (استان آذربایجان غربی)، اردیبهشت ۱۳۹۴؛ جدایه MahD31 جداسازی شده از *Lolium* sp.- شهرستان مهاباد (استان آذربایجان غربی)، اردیبهشت ۱۳۹۴.

این گونه، روی *Lolium multiflorum* (Lam.) Husnot و *L. perenne* L. معمول می‌باشد و لکه‌های کشیده به رنگ قهوه‌ای تیره روی برگ ایجاد می‌کند که ممکن است لکه‌ها با هم ادغام شده و مناطق آبسوخته پهن و قهوه‌ای رنگ را به وجود آورند. همچنین، این قارچ به گیاه *Festuca pratensis* Huds. حمله می‌کند و در بذور *Dactylis glomerata* L.، *Festuca pratensis*، *F. rubra*، *Lolium multiflorum*، *L. perenne* و *Poa trivialis* L. مشاهده شده است. این گونه در اصل بذرزاد است (Sivanesan 1987) و براساس منابع در دسترس، تاکنون از کشورهای آرژانتین، انگلیس، سودان، استرالیا، اسکاتلند، دانمارک، ایرلند و لهستان و از گیاهان یولاف (*Avena sativa* L.)، *Hordeum* sp.، *Festuca pratensis*، *Lolium italicum*، *Lolium multiflorum* و *Lolium perenne* گزارش شده است (Farr & Rossman 2020). اخیرا، این گونه از ایران از یولاف گزارش شده است (Vasighzadeh *et al.* 2020). همچنین، این گونه تاکنون از گیاه *Alopecurus* sp. گزارش نشده و این نخستین گزارش از این گونه روی این میزبان می‌باشد.

- تجزیه و تحلیل‌های فیلوژنتیکی

تکثیر و توالی‌یابی ناحیه ITS و ژن *GPDH* به ترتیب برای ۱۵ و ۷ جدایه منتخب جنس‌های *Exserohilum* و *Pyrenophora* انجام شد. توالی‌یابی جدایه‌ها منجر به تولید یک قطعه به ترتیب به طول‌های ۵۸۰-۵۴۸ و ۵۴۰-۵۱۵ جفت باز از ناحیه ITS و ژن *GPDH* گردید. بعد از هم‌ردیف کردن و حذف فواصل، ۹۱۶ جایگاه نوکلئوتیدی برای ناحیه ITS و ژن *GPDH* مورد تجزیه و تحلیل قرار گرفت و درخت فیلوژنتیکی با روش‌های Bayesian/MP رسم شد (شکل ۳). شاخص‌های TL، CI، HI و RI به ترتیب ۵۱۸، ۰/۶۵۸، ۰/۳۴۲ و ۰/۸۹۸ محاسبه شدند. از ۹۱۶ کاراکتر (نوکلئوتید)، ۶۷۶ کاراکتر ثابت، ۶۰ کاراکتر متغیر و غیرآگاهی‌دهنده (variable characters are parsimony-uninformative) و ۱۸۰ کاراکتر آگاهی‌دهنده پارسیمونی (parsimony-informative characters) بودند. براساس نتایج حاصل از آزمون مشابهت‌یابی و همچنین درخت فیلوژنتیکی رسم شده، ۱۵ جدایه از جنس *Exserohilum* در چهار دودمان جداگانه قرار گرفتند که دودمان‌ها متعلق به گونه‌های *E. rostratum*، *E. turcicum*، *E. monoceras* و *E. oryzicola* به ترتیب با درجات اعتبارسنجی/ احتمال پسین ۹۸/۰/۹۶، ۹۹/۱، ۱۰۰/۱ و ۹۵/۰/۹۹ از هم تفکیک شدند و در کنار نمونه تیپ گونه‌های مذکور قرار گرفتند (شکل ۳). جدایه‌های جنس *Pyrenophora* در سه دودمان جداگانه قرار گرفتند که متعلق به گونه‌های *P. dictyoides*، *P. graminea* و *P. lolii* می‌باشند (شکل ۳). در آزمون مشابهت‌یابی در پایگاه اطلاعاتی NCBI توالی جدایه‌های BD8، MD13، ND35 و MOD27 با توالی‌های گونه‌های *P. graminea* و *P. teres* موجود در بانک ژن ۱۰۰-۹۸٪ شباهت داشتند و در درخت فیلوژنتیکی رسم شده جدایه‌های فوق در کنار گونه *P. graminea* گونه قرار گرفتند (۱۰۰/۰/۹۸) (شکل ۳). جدایه‌های MD14 و MahD31 با درجه اعتبارسنجی/ احتمال پسین ۱۰۰/۰/۸۲ و جدایه MB4 (۱۰۰/۱) به ترتیب در کنار نمونه تیپ گونه‌های *P. lolii* و *P. dictyoides* قرار گرفتند (شکل ۳).

برای تمایز گونه‌های جنس‌های *Exserohilum* و *Pyrenophora* از ترادف‌یابی بخش‌هایی از ITS، ژن‌های *GPDH* و ژن *TEF* استفاده شده است (Ariyawansa *et al.* 2014, Berbee *et al.* 1999, Hernández-Restrepo *et al.* 2018, Marin-Felix *et al.* 2019, Zhang & Berbee 2001). تغییرپذیری خصوصیات ریخت‌شناسی در گونه‌های جنس‌های مذکور در شرایط آزمایشگاهی گزارش شده است (Alcorn 1983, 1988). در مطالعه حاضر نیز اختلاف آشکاری

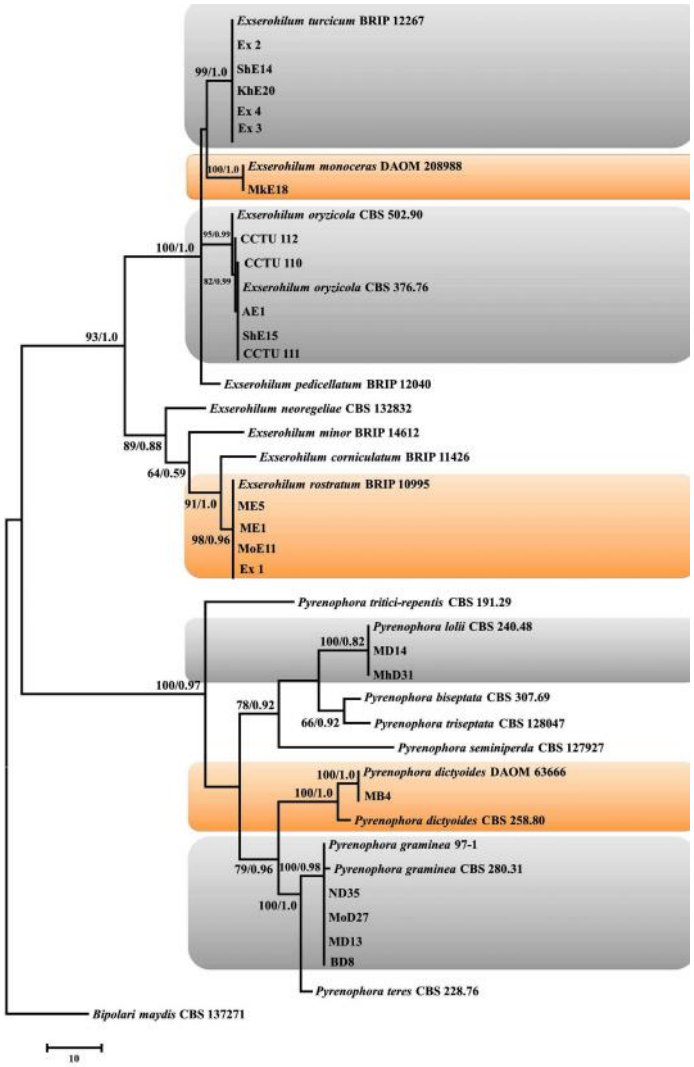
www.SID.ir

Archive of SID

بین صفات ریخت‌شناسی جدایه‌ها (رنگ پرگنه، شکل، اندازه و تعداد دیواره‌های کاذب کنیدیوم‌ها) در برخی گونه‌ها دیده شد. در محیط‌های کشت نوع ماده غذایی، pH، دما و نور روی خصوصیات ریخت‌شناسی گونه‌ها تاثیر می‌گذارند. بنابراین، برای تعیین دقیق حدود و ثغور گونه‌های جنس‌های مذکور نیاز به روش‌های مولکولی می‌باشد. برای مقایسه بهتر و دقیق‌تر جدایه‌های ناشناخته و مشکوک با گونه‌های جنس‌های اخیر، توالی‌یابی نواحی ITS، *GPDH* و *TEF* ضروری می‌باشد.

سپاسگزاری

نگارندگان از بنیاد ملی نخبگان و دانشگاه تبریز به خاطر فراهم کردن اعتبارات مالی این پژوهش سپاسگزاری و قدردانی می‌نمایند.



شکل ۳- درخت فیلوژنتیکی استنباط شده براساس ترکیب توالی‌های ناحیه ITS و ژن *GPDH* برای جدایه‌های *Exserohilum* و *Pyrenophora* به روش‌های MP و Bayesian. اعداد بالای هر شاخه به ترتیب مقدار اعتبارسنجی / احتمال پسین (PP) از ۱۰۰۰ تکرار را در روش‌های MP/Bayesian نشان می‌دهد (مقیاس نشان‌دهنده تعداد جایگزینی به ازای هر نوکلئوتید می‌باشد). گونه *Bipolaris maydis* (CBS 137271) به عنوان برون گروه انتخاب شده است.

Fig. 3. Maximum Parsimony and Bayesian trees inferred from the ITS and *GPDH* sequences of *Exserohilum* and *Pyrenophora* isolates. Numbers above the branches show the MP/Bayesian bootstrap and posterior probability (PP) values in 1000 replicates (Scale bar indicates the average number of substitutions per site). *Bipolaris maydis* (CBS 137271) was chosen as outgroup.

www.SID.ir

Archive of SID

References

Ahmadpour, A., Donyadoost-Chelan, M., Heidarian, Z. & Javan-Nikkhah, M. 2011. New species of *Bipolaris* and *Curvularia* on grass species in Iran. Rostaniha 12: 39–49.

Ahmadpour, A., Donyadoost-Chelan, M., Heidarian, Z. & Javan-Nikkhah, M. 2012a. New species of *Bipolaris* and *Curvularia* on grass species in Iran. Rostaniha 13: 69–82.

Ahmadpour, A., Heidarian, Z., Donyadoost-Chelan, M., Javan-Nikkhah, M. & Tsukiboshi, T. 2012b. A new species of *Bipolaris* from Iran. Mycotaxon 120: 301–307.

Ahmadpour, A., Heidarian, Z., Karami S., Pordel, A., Jabbarifar, S.M., Tsukiboshi, T., Zhang, M. & Javan-Nikkhah, M. 2013. New species of *Bipolaris* and *Curvularia* on poaceous plants in Iran (3). Rostaniha 14: 216–228.

Alcorn, J.L. 1982a. New *Cochliobolus* and *Bipolaris* species. Mycotaxon 15: 1–19.

Alcorn, J.L. 1982b. Ovaricolous *Bipolaris* species on *Sporobolus* and other grasses. Mycotaxon 15: 20–48.

Alcorn, J.L. 1983. Generic concepts in *Drechslera*, *Bipolaris* and *Exserohilum*. Mycotaxon 17: 1–86.

Alcorn, J.L. 1988. The taxonomy of *Helminthosporium* species. Annual Review of Phytopathology 26: 37–56.

Alcorn, J.L. 1991. New combinations and synonymy in *Bipolaris* and *Curvularia*, and a new species of *Exserohilum*. Mycotaxon 41: 329–343.

Altschul, S.F., Gish, W., Miller, W., Myers, E.W. & Lipman, D.J. 1990. Basic local alignment search tool. Journal of Molecular Biology 215: 403–410.

Ariyawansa, H.A., Kang, J.C., Alias, S.A., Chukeatirote, E. & Hyde, K.D. 2014. *Pyrenophora.* Mycosphere 5: 351–362.

Berbee, M.L., Pirseyedi, M. & Hubbard, S. 1999. *Cochliobolus* phylogenetics and the origin of known, highly virulent pathogens, inferred from ITS and glyceraldehyde-3-phosphate dehydrogenase gene sequences. Mycologia 91: 964–977.

Ellis, M.B. 1971. Dematiaceous hyphomycetes. Commonwealth Mycological Institute, Kew, England, 608 pp.

Ellis, M.B. 1976. More Dematiaceous Hyphomycetes. Commonwealth Mycological Institute, Kew, England, 507 pp.

Ershad, D. 2009. Fungi of Iran. 3rd ed. Agricultural Research. Education & Extention Organization, Publication No. 10. Tehran, Iran, 531 pp.

Farr, D.F. & Rossman, A.Y. 2020. Fungal Databases, Systematic Mycology and Microbiology Laboratory, ARS, USDA. Retrieved March 13. From http://nt.arsgrin.gov/fungaldatabases.

Heidarian, Z., Arzanlou, M., Babaei-Ahari, A. & Ahmadpour, A. 2016. Phenotypic and molecular characterization of *Exserohilum* species from Iran. Nova Hedwigia 103: 327–338.

Hernandez-Restrepo, M., Madrid, H., Tan, Y.P., Cunha, K.C.Da., Gené, J., Guarro, J. & Crous, P.W. 2018. Multi-locus phylogeny and taxonomy of *Exserohilum*. Persoonia 41: 71–108.

Ito, S. 1930. Study on some new ascigenous stages of the *Helminthosporium* parasitic on cereal. Proceedings of the Imperial Academy 6: 355–359.

Katoh, K., Rozewicki, J. & Yamada, K.D. 2019. MAFFT online service: multiple sequence alignment, interactive sequence choice and visualization. Briefings in Bioinformatics 20: 1160–1166.

Kearse, M., Moir, R., Wilson, A., Stones-Havas, S., Cheung, M., Sturrock, S., Buxton, S., Cooper, A., Markowitz, S., Duran, C., Thierer, T., Ashton, B., Mentjies, P. & Drummond, A. 2012. Geneious Basic: an integrated and extendable desktop software platform for the organization and analysis of sequence data. Bioinformatics 28: 1647–1649.

Leonard, K.J. & Suggs, E.G. 1974. *Setosphaeria prolata*, the ascigerous state of *Exserohilum prolatum*. Mycologia 66: 197–281.

www.SID.ir

Archive of SID

Luttrell, E.S. 1963. Taxonomic criteria in *Helminthosporium*. Mycologia 55: 643–674.

Luttrell, E.S. 1964. Systematics of *Helminthosporium* and related genera. Mycologia 56: 119–132.

Luttrell, E.S. 1977. Correlations between conidial and ascigerous state characters in *Pyrenophora*, *CochlioboIus* and *Setosphaeria*. Revue de mycoloie 41: 271–279.

Manamgoda, D.S., Cai, L., Bahkali, A.H., Chukeatirote, E. & Hyde, K.D. 2011. *Cochliobolus*: an overview and current status of species. Fungal Diversity 51: 3–42.

Manamgoda, D.S., Cai, L., McKenzie, E.H.C., Crous, P.W., Madrid, H., Chukeatirote, E., Shivas, R.G., Tan, Y.P. & Hyde, K.D. 2012. A phylogenetic and taxonomic re-evaluation of the *Bipolaris-Cochliobolus-Curvularia* complex. Fungal Diversity 12: 131–144.

Manamgoda, D.S., Rossman, A.Y., Castlebury, L.A., Chukeatirote, E. & Hyde, K.D. 2015. A taxonomic and phylogenetic re-appraisal of the genus *Curvularia* (*Pleosporaceae*): human and plant pathogens. Phytotaxa 212: 175–198.

Manamgoda, D.S., Rossman, A.Y., Castlebury, L.A., Crous, P.W., Madrid, H., Chukeatirote, E. & Hyde, K.D. 2014. The genus *Bipolaris*. Studies in Mycology 79: 221–288.

Marin-Felix, Y., Hernández-Restrepo, M., Iturrieta-González, I. Garcia, D., Gene, J., Groenewald, J.Z., Cai, L., Chen, Q., Quaedvlieg, W., Schumacher, R.K., Taylor, P.W.J., Ambers, C., Bonthond, G., Edwards, J., Krueger-Hadfield, S.A., Luangsa-ard, J.J., Morton, L., Moslemi, A., Sandoval-Denis, M., Tan, Y.P., Thangavel, R., Vaghefi, N., Cheewangkoon, R. & Crous, P.W. 2019. Genera of phytopathogenic fungi: GOPHY 3. Studies in Mycology 94: 1–124.

Nisikado, Y. 1929. Studies on the Helminthosporium diseases of gramineae in Japan. Berichte Des Ohara Institute Landwirtschaftliche Forschungen 4: 111–126.

Nylander, J.A.A. 2004. MrModeltest v. 2. program distributed by the author. Evolutionary Biology Centre, Uppsala University, Sweden.

Page, R.D.M. 1996. Treeview: An application to display phylogenetic trees on personal computers. Computer Applications in the Biosciences 12: 357–35.

Ronquist, F. & Huelsenbeck, J.P. 2003. Mrbayes 3: Bayesian phylogenetic inference under mixed models. Bioinformatics 19: 1572–1574.

Rossman, A.Y., Crous, P.W., Hyde, K.D., Hawksworth, D.L., Aptroot, A., Bezerra, J.L., Bhat, J.D., Boehm, E., Braun, U., Boonmee, S., Camporesi, E., Chomnunti, P., Dai, D., D'souza, M.J., Dissanayake, A., Jones, E.B.G., Groenewald, J.Z., Hernández-Restrepo, M., Hongsanan, S., Jaklitsch, W.M., Jayawardena, R., Jing, L.W., Kirk, P.M., Lawrey, J.D., Mapook, A., McKenzie, E.H.C., Monkai, J., Phillips, A.J.L., Phookamsak, R., Raja, H.A., Seifert, K.A., Senanayake, I., Slippers, B., Suetrong, S., Tanaka, K., Taylor, J.E., Thambugala, K.M., Tian, Q., Tibpromma, S., Wanasinghe, D.N., Wijayawardene, N.N., Wikee, S., Woudenberg, J.H.C., Wu, H., Yan, J., Yang, T. & Zhang, Y. 2015. Recommended names for pleomorphic genera in *Dothideomycetes*. IMA Fungus 6: 507–523.

Shoemaker, R.A. 1959. Nomenclature of *Drechslera* and *Bipolaris*, grass parasites segregated from *Helminthosporium*. Canadian Journal of Botany 37: 879–887.

Shoemaker, R.A. 1966. A pleomorphic parasite of cereal seeds, *Pyrenophora semeniperda*. Canadian Journal of Botany 44: 1451–56.

Sivanesan, A. 1987. Graminicolous species of *Bipolaris*, *Curvularia*, *Drechslera*, *Exserohilum* and their teleomorphs. CABI International Mycological Institute. Mycological Paper 158, 261 pp.

Swofford, D.L. 2002. PAUP*. Phylogenetic analysis using parsimony (*and other methods). Sinauer, Sunderland.

www.SID.ir

Archive of SID

Vasighzadeh, A., Sharifnabi, B. & Javan-Nikkhah, M. 2020. *Pyrenophora lolii*, new species for Iranian mycobiota. Mycologia Iranica (In Press).

White, T.J., Bruns, T., Lee, S.B. & Taylor, J. 1990. Amplification and direct sequencing of fungal ribosomal RNA genes for phylogenetics. Pp. 315–322. *In*: Gelfand, M., Sninsky, D. & White, T. (eds). PCR protocols: a guide to methods and applications. Academic, San Diego, California.

Zhang, G. & Berbee, M.L. 2001. *Pyrenophora* phylogenetics inferred from ITS and glyceradehyde-3-phosphate dehydrogenase gene sequences. Mycologia 93: 1048–1063.

Zhang, W. & Watson, A.K. 1997. Efficacy of *Exserohilum monoceras* for the control of *Echinochloa* species in rice (*Oryza sativa* L.). Weed Science 45: 144–150.

Zhang, W. & Watson, A.K. 2000. Isolation and partial characterization of phytotoxins produced by *Exserohilum monoceras*, a potential bioherbicide for control of *Echinochloa* species. Proceedings of the Xth International Symposium on Biological Control of Weeds. Montana State University. Bozeman, Montana USA, Pp. 125–130.

Zhang, W., Moody, K. & Watson, A.K. 1996. Response of *Echinochloa* species and rice (*Oryza sativa* L.) to indigenous pathogenic fungi. Plant Disease 80: 1053–1058.

www.SID.ir