

## \* گزارشی از برخی قارچ‌های همراه با علائم لکه‌برگی گیاهان خود رو در استان چهارمحال و بختیاری

دریافت: ۱۳۹۹/۰۲/۱۴ / پذیرش: ۱۳۹۹/۰۵/۲۹

سمیرا کریم‌زاده: دانش‌آموخته کارشناسی ارشد بیماری‌شناسی گیاهی، گروه گیاه‌پزشکی، دانشکده علوم و مهندسی کشاورزی، پردیس کشاورزی و منابع طبیعی، دانشگاه تهران، کرج، ۳۱۵۸۷-۷۷۸۷۱، ایران  
 خلیل پردی فتوحی فر: دانشیار گرایش قارچ‌شناسی، گروه گیاه‌پزشکی، دانشکده علوم و مهندسی کشاورزی، پردیس کشاورزی و منابع طبیعی، دانشگاه تهران، کرج، ۳۱۵۸۷-۷۷۸۷۱، ایران (fotowhi@ut.ac.ir)

## چکیده

به منظور شناسایی قارچ‌های همراه با علائم لکه‌برگی، طی فصول بهار و تابستان ۱۳۹۷، از مزارع، باغ‌ها و رویشگاه‌های طبیعی مناطق مختلف استان چهارمحال و بختیاری بازدید به عمل آمد و از گیاهان خود رو و دارای علائم لکه‌برگی نمونه‌برداری انجام گرفت. پس از جداسازی و خالص‌سازی، شناسایی ریخت‌شناختی و مولکولی آرایه‌ها با استفاده از توالی‌یابی نوکلئوتیدی یک یا چند ناحیه ژنومی (بسته به جنس مورد مطالعه) انجام گرفت. براساس تلفیق داده‌های حاصل، در نهایت، ۱۱ گونه قارچی متعلق به نه جنس مختلف شامل *Calophoma complanata*, *Nothophoma gossypicola*, *Gnomoniopsis idaeicola*, *F. equiseti*, *Fusarium acuminatum*, *Didymella pisi*, *Colletotrichum lini*, *Petriella sordida*, *Pyrenophora seminiperda*, *Sporormiella intermedia* و *S. similis* از میزبان‌های گیاهی جدید شناسایی و معرفی می‌شوند. در تحقیق حاضر، از میان آرایه‌های شناسایی شده، چهار گونه *C. complanata* از *Falcaria vulgaris*، *N. gossypicola* از *Euphorbia*، *S. intermedia* از *Mentha pulegium* و *S. similis* از *Euphorbia helioscopia* برای بیوتای قارچی ایران جدید هستند.

واژه‌های کلیدی: بیماری، تنوع زیستی، تاکسونومی، ریخت‌شناسی، فیلوژنی

### Report on some fungi associated with leaf spot symptoms of self-growing plants in Chaharmahal and Bakhtiari province (Iran)

Received: 03.05.2020 / Accepted: 19.08.2020

**Samira Karimzadeh:** Graduated MSc Student in Plant Pathology, Department of Plant Protection, Faculty of Agricultural Science and Engineering, College of Agriculture and Natural Resources, University of Tehran, Karaj, 31587-77871, Iran

**Khalil-Berdi Fotouhifar:** Associate Prof. in Mycology, Department of Plant Protection, Faculty of Agricultural Science and Engineering, College of Agriculture and Natural Resources, University of Tehran, Karaj, 31587-77871, Iran (fotowhi@ut.ac.ir)

## Summary

In order to identify some fungi associated with leaf spot symptoms of some self-growing plants, infected plant samples were collected from fields, gardens and natural habitats in different regions of Chaharmahal and Bakhtiari province of Iran during the spring and summer of 2018. After isolation and purification of fungal strains, morphological and molecular investigations were performed using the nucleotide sequences of one or few genomic regions (depending on the studied fungal genus). Based on combined data, finally, 11 different fungal species belonging to nine different genera including *Calophoma complanata*, *Colletotrichum lini*, *Didymella pisi*, *Fusarium acuminatum*, *F. equiseti*, *Gnomoniopsis idaeicola*, *Nothophoma gossypicola*, *Petriella sordida*, *Pyrenophora seminiperda*, *Sporormiella intermedia*, and *S. similis* are identified and introduced from new host plants. In the present study, among the identified taxa, four species including *C. complanata* from *Falcaria vulgaris*, *N. gossypicola* from *Euphorbia helioscopia*, *S. intermedia* from *Mentha pulegium*, and *S. similis* from *Euphorbia helioscopia* are reported for the first time as new records for mycobiota of Iran.

**Keywords:** Disease, biodiversity, taxonomy, morphology, phylogeny

## مقدمه

استان چهارمحال و بختیاری با مرکزیت شهرکرد، در میان کوه‌های زاگرس واقع شده است که جزو استان‌های مرتفع و مناطق سردسیر و پر باران ایران محسوب می‌شود. این منطقه، به دلیل تنوع آب و هوایی نواحی همجوار و تغییرات بسیار زیاد ارتفاع در قلمرو استان، از تنوع اقلیم و غنای گونه‌های گیاهی بسیار خوبی برخوردار است (Mozaffarian 2017).

از نظر تاریخی، گیاهان اهمیت فراوانی در توسعه جوامع مختلف داشته‌اند. در این راستا، استفاده از برخی گیاهان خود رو با ماهیت دارویی به صورت سنتی مرسوم بوده و هنوز هم رواج دارد (Khosravipoor et al. 2015). یکی از عوامل کاهش عملکرد محصولات گیاهی، آفات و بیماری‌ها هستند که در این میان بیماری‌های قارچی از اهمیت زیادی برخوردارند (Bhandari et al. 2014). برخی از گونه‌های قارچی نیز بیمارگر مهم حیوانات و گیاهان هستند (Mueller et al. 2004) و قارچ‌ها از مهم‌ترین عوامل بیماری‌زای گیاهان محسوب می‌شوند (Safaei et al. 2013).

تا کنون، تحقیقات بسیاری برای شناسایی قارچ‌های مرتبط با گیاهان انجام شده است. لی و همکاران (Li et al. 2001) گونه *Phomopsis longicolla* را از گیاه گاوپنبه (*Abutilon theophrasti* Medik.) که از جمله علف‌های هرز مزارع سویا در کشور کرواسی است، گزارش کرده‌اند. چاندل و همکاران (Chandel et al. 2014)، در هندوستان پژوهشی را در راستای بررسی بیماری‌های گیاهان دارویی و معطر انجام دادند که بعد از مشاهده علائمی نظیر سوختگی، پژمردگی، لکه‌برگی‌ها و زخم، قارچ‌هایی نظیر *Phyllosticta*, *Alternaria*, *Colletotrichum*, *Curvularia*, *Cercospora*, *Septoria* و *Stagonospora* را از برخی گیاهان گزارش نموده‌اند. گونه *Phomopsis longicolla* نیز براساس خصوصیات ریخت‌شناختی، مولکولی و آزمون بیماری‌زایی، به عنوان عامل لکه‌برگی گیاه سویا (*Glycine max* L.) در چین گزارش شده است (Xue et al. 2015). براساس پژوهشی دیگر در گیاه جو (*Hordeum secale* var. *Wintmalt*) دارای علائم لکه‌برگی، پس از بررسی‌های ریخت‌شناختی و مولکولی، گونه *Drechslera gigantea* به عنوان عامل این بیماری در آمریکا معرفی شده است (Isakeit et al. 2017). هو و همکاران (Hu et al. 2018)، پس از بررسی گیاه *Lolium perenne* L. دارای علائم لکه‌برگی، براساس ویژگی‌های ریخت‌شناختی و مولکولی مبتنی بر توالی نوکلئوتیدی نواحی ITS و GAPDH و آزمون بیماری‌زایی، گونه

*Drechslera andersenii* را به عنوان عامل لکه‌برگی در چین معرفی کرده‌اند. مارین-فلیکس و همکاران (Marin-Felix et al. 2019)، به معرفی برخی از گونه‌های قارچی مختلف در گیاهان پرداخته‌اند که از آن میان می‌توان به قارچ *Allophoma pterospermicola* از گیاه *Pterospermum xylocarpum* (Gaertn.) Oken و گونه *Nothophoma quercina* از گیاهان *Jasminum mesnyi* Hance. و *Osmanthus fragrans* Lour. اشاره کرد. گاریبالدی و همکاران (Garibaldi et al. 2020)، پس از بررسی گیاه *Alcea rosea* دارای علائم نکروز در برگ‌ها، براساس ویژگی‌های ریخت‌شناختی و همچنین تعیین توالی نواحی ژنومی ITS، *rpb2*، *endoPG*، *tefl* و OPA10-2 و براساس آزمون بیماری‌زایی، گونه *Alternaria alternata* را به عنوان عامل علائم گزارش کرده‌اند. در بنگلادش، گونه قارچی *Colletotrichum siamense* به عنوان عامل لکه‌برگی گیاه *Aloe vera* (L.) Burm.f. گزارش شده است (Azad et al. 2020). عسگری و زارع (Asgari & Zare 2010)، طی تحقیقی، دو گونه جدید *Preussia persica* و *P. polymorpha* را از برگ‌های خشک شده جو از دو منطقه سراب و اسکو در استان آذربایجان شرقی گزارش نموده‌اند. رزاقی و ظفری (Razaghi & Zafari 2012) نیز در پژوهشی از گیاهان خود رو دارای علائم لکه‌برگی در استان همدان، آرایه‌های مختلف قارچی را شناسایی کرده‌اند که از این میان گونه‌های *Embellisia astragali*، *Phoma herbicola* E. tellustris و *Septoria sonchi* برای فلور قارچی ایران جدید بوده‌اند. به منظور شناسایی گونه‌های جنس *Ramularia*، نمونه‌های گیاهی دارای علائم لکه‌برگی از نقاط مختلف استان کهگیلویه و بویراحمد جمع‌آوری شدند و قارچ‌های حاصل از آن‌ها مورد مطالعه ریخت‌شناختی قرار گرفتند که به شناسایی گونه‌های *R. veronicae*، *R. winteri*، *R. variabilis* و *R. beccabungae* منجر شده است (Behrooz et al. 2015).

ارزنلو و همکاران (Arzanlou et al. 2015)، براساس تجزیه و تحلیل‌های چندژنی، گونه‌هایی از جنس *Colletotrichum* شامل *C. salicis* از بید، *C. fuscum* از بنفشه و *C. fruticola* از پرتقال، سیب، افاقایای خزر و آقطی را شناسایی کرده‌اند که همگی برای بیوتای قارچی ایران جدید بوده‌اند. از بین ۱۶ جدایه *Colletotrichum* به دست آمده از برگ‌های دارای علائم لکه‌برگی و آنترائونوز، از ۱۲ گونه گیاهی وحشی، اهلی و زینتی از استان‌های گیلان، مازندران و گلستان در شمال ایران، پنج گونه *C. aenigma*، *C. gigasporum*،

مداوم نگهداری شدند. جهت خالص‌سازی جدایه‌های قارچی، از روش نوک ریشه (hyphal tip) و محیط‌کشت سیب‌زمینی-دکستروز-آگار (PDA)، استفاده شد.

- شناسایی و ریخت‌شناختی قارچ‌ها

پس از شناسایی جدایه‌های قارچی در سطح جنس، از حاشیه پرگنه‌های خالص و هفت روزه در حال رشد، قرص‌های میسلیمی به قطر ۵ میلی‌متر برداشته و به تشتک‌های پتری حاوی محیط‌کشت متناسب با نوع جنس قارچی مورد مطالعه، منتقل گردیدند. تعیین گونه جدایه‌های مربوط به دو جنس *Nothophoma* و *Calophoma* روی محیط‌کشت‌های آرد-یولاف-آگار (OMA) و عصاره مالت-آگار (MEA) با شرایط دمایی ۲۵ درجه سلسیوس و تناوب نوری ۱۲ ساعت تاریکی و ۱۲ ساعت نور نزدیک به ماورای بنفش (nUV) به مدت ۱۴ روز انجام شد (Valenzuela-Lopez et al. 2018). از محیط‌کشت‌های PDA، OMA و SNA برای تعیین گونه جدایه جنس *Colletotrichum* در دمای ۲۰ درجه سلسیوس و شرایط تناوب نوری ۱۲ ساعت تاریکی و ۱۲ ساعت نور نزدیک به ماورای بنفش به مدت ۱۰ تا ۱۴ روز استفاده شد (Damm et al. 2012). همچنین، به منظور هاگ‌زایی بیش‌تر، کاغذ صافی سترون روی محیط‌کشت SNA، قرار داده شد (Nirenberg 1976). برای تعیین گونه جدایه جنس *Didymella* از محیط‌کشت‌های PDA و OMA در شرایط دمایی ۲۵ درجه سلسیوس و تناوب نوری ۱۲ ساعت تاریکی و ۱۲ ساعت نور نزدیک به ماورای بنفش، به مدت هفت تا ۱۴ روز استفاده شد (رزاقی و ظفری ۲۰۱۷).

به منظور تعیین گونه جدایه‌های مربوط به جنس *Fusarium*، از دو محیط‌کشت PDA برای ارزیابی صفات ماکروسکوپی در شرایط دمایی ۲۵ درجه سلسیوس و تاریکی مطلق به مدت هفت تا ۱۴ روز و همچنین محیط‌کشت برگ میخک-آگار (CLA) برای ارزیابی صفات میکروسکوپی در شرایط دمایی ۲۵ درجه سلسیوس و ۱۲ ساعت تاریکی و ۱۲ ساعت نور نزدیک به ماورای بنفش استفاده شد (Leslie & Summerell 2006). تعیین گونه جدایه جنس *Gnomoniopsis* نیز روی محیط‌کشت PDA در دمای ۲۴ درجه سلسیوس و شرایط نوری ۱۲ ساعت تاریکی و ۱۲ ساعت روشنایی به مدت ۱۰ تا ۱۴ روز انجام گرفت (Stevanovic et al. 2019). از محیط‌کشت‌های PDA، MEA و OMA برای تعیین گونه جدایه جنس *Petriella* در دمای ۲۵ درجه سلسیوس و شرایط نوری مداوم نزدیک به نور ماورای بنفش و به مدت ۱۴ روز استفاده شد (Crous et al.

*C. musae* و *C. karstii*، *C. godetiae* براساس ویژگی‌های ریخت‌شناختی و مولکولی شناسایی شده‌اند (Alizadeh et al. 2015). امیردهی و همکاران (Amirdehi et al. 2017) به مطالعه ریخت‌شناختی و مولکولی جنس *Phoma* و آرایه‌های وابسته به آن حاصل از گیاهان دارای علائم و به دست آمده از مناطقی از ایران پرداخته‌اند که از این میان، آرایه‌های *Didymella bellidi*، *D. acetosellae* و *P. destructiva* var. *destructiva* برای نخستین بار برای بیوتای قارچی ایران معرفی شده‌اند. اخیراً، رزاقی و ظفری (Razaghi & Zafari 2017)، گونه‌های قارچی *Allophoma zantedeschiae* *Ascochyta pisi* و *Neodidymelliopsis longicolla* را به عنوان عامل سوختگی شقایق وحشی (*Papaver dubium* L.) معرفی کرده‌اند.

با توجه به ارزش پوشش گیاهی در ایران و استان چهارمحال و بختیاری که به دلیل مرتفع بودن و داشتن اقلیم‌های آب و هوایی متنوع، از غنای گیاهی زیادی برخوردار بوده و از طرفی با افزایش گیاهان، تعداد و شدت بیماری‌های گیاهی نیز رو به افزایش است که در نهایت سلامت کلی گیاه را تحت تأثیر قرار می‌دهد. لذا هدف از انجام این پژوهش، مطالعه برخی قارچ‌های همراه علائم لکه‌برگی تعدادی از گیاهان خود رو بوده است.

## روش بررسی

- نمونه‌برداری و جداسازی قارچ‌ها

به منظور جداسازی برخی قارچ‌های همراه با علائم لکه‌برگی گیاهان خود رو، نمونه‌های گیاهی دارای علائم به طور تصادفی طی فصول بهار و تابستان سال ۱۳۹۷ از مناطق مختلف استان چهارمحال و بختیاری توسط نگارنده نخست جمع‌آوری شدند. نمونه‌های جمع‌آوری شده درون پاکت‌های کاغذی جداگانه با ثبت تاریخ و محل نمونه‌برداری، به آزمایشگاه قارچ‌شناسی گروه گیاه‌پزشکی دانشگاه تهران منتقل شدند. شناسایی گونه‌های گیاهی براساس نظر متخصص گیاه‌شناسی انجام گرفت. به منظور جداسازی قارچ‌ها، از نمونه‌های گیاهی، قطعات کوچک  $0.5 \times 0.5$  سانتی‌متری از بخش‌های آلوده گیاهان بریده شدند. ضدعفونی سطحی قطعات آلوده به مدت ۳۰ ثانیه با محلول هیپوکلریت سدیم ۱٪ و متعاقباً سه بار شست و شو با آب مقطر سترون و آبگیری با کاغذ صافی سترون صورت گرفت. سپس، قطعات برگ آلوده به روی محیط‌کشت آب-آگار (WA) ۲٪ منتقل شدند. تشتک‌های پتری تلقیح شده در دمای ۲۵ درجه سلسیوس و به مدت سه تا پنج روز در شرایط تاریکی

آغازگرهای T1 (O'Donnell & Cigelink 1997) و Bt-2b (Glass & Donaldson 1995)، استفاده گردید. جهت تکثیر ناحیه *EF-1* نیز از ترکیب آغازگرهای EF1 و EF2 (O'Donnell et al. 2000) استفاده شد. واکنش PCR در دستگاه ترموسایکلر (Thermal cyler)، مدل Peqlab ساخت شرکت CLEMENS کشور آلمان با ۳۵ چرخه تحت شرایط واسرشت‌سازی اولیه در دمای ۹۴ درجه سلسیوس به مدت دو دقیقه، واسرشت‌سازی در دمای ۹۴ درجه سلسیوس به مدت ۳۰ ثانیه، اتصال آغازگرها در دمای ۵۷ درجه سلسیوس به مدت ۴۵ ثانیه، بسط در دمای ۷۲ درجه سلسیوس به مدت ۳۰ ثانیه و بسط نهایی در دمای ۷۲ درجه سلسیوس به مدت ۱۰ دقیقه انجام شد. برای تکثیر تمامی نواحی ژنومی، برنامه مذکور استفاده شد، با این تفاوت که برای تکثیر ناحیه بتا توپولین با ترکیب آغازگرهای TUB2Fd و TUB4Rd، دمای اتصال ۶۴ درجه سلسیوس و تعداد ۴۰ چرخه انتخاب گردید. پس از اتمام واکنش، به منظور ارزیابی محصولات تکثیر شده در PCR از ژل آگاروز ۱٪ به همراه نشانگر اندازه DNA ۱۰۰ بازی (Ladder Mix) ساخت شرکت SMOBIO و رنگ‌آمیزی با اتیدیوم بروماید (۱٪) استفاده شد. خالص‌سازی و تعیین توالی نواحی تکثیر شده توسط شرکت‌های بیومجیک ژن، چین و بایونیر، کره جنوبی انجام گردید. پس از اخذ توالی‌ها و ویرایش آن‌ها، جهت اطمینان از صحت داده‌ها، توالی‌ها با استفاده از ابزار جستجوی BLAST (Altschul et al. 1990)، با توالی‌های موجود در بانک ژن (NCBI) مقایسه شدند. توالی‌ها با استفاده از نرم‌افزار MEGA (Tamura et al. 2013) Ver. 6.0 مرتب و هم‌ردیف‌سازی و در ارزیابی توالی‌ها از روش مقایسه توالی‌ها و ترسیم تبارنامی فیلوژنتیکی با روش maximum-likelihood (ML) استفاده شد. ارزیابی پایداری تبارنامها با استفاده از شاخص اعتبارسنجی (bootstrap) و با ۱۰۰۰ تکرار انجام گردید (Felsenstein 1985). تمام توالی‌های به دست آمده در این تحقیق در پایگاه بانک ژن (NCBI) ثبت و رس‌شمار برای آن‌ها اخذ گردید.

### نتیجه و بحث

– نمونه‌برداری و جداسازی قارچ‌ها  
طی نمونه‌برداری از مناطق مختلف استان چهارمحال و بختیاری، ۱۶ نمونه گیاهی مختلف آلوده و دارای علائم لکه‌برگی، جمع‌آوری شدند. تعداد ۱۹ جدایه قارچی از نمونه‌های گیاهی جداسازی شدند که از آن میان، ۱۱ گونه براساس خصوصیات ریخت‌شناختی و داده‌های مولکولی شناسایی

(2019). تعیین گونه جدایه جنس *Pyrenophora* نیز روی محیط‌کشت‌های PDA، MEA و TWA (آب شیر-آگار + ساقه گندم) و شرایط روشنایی مداوم و دمای اتاق به مدت ۱۴ روز انجام گرفت (Noori Gandok 2016). از محیط‌کشت PDA در شرایط تاریکی مطلق و دمای ۲۵ درجه سلسیوس به مدت ۱۴ روز، برای تعیین گونه جدایه‌های جنس *Sporormiella* استفاده شد (Asgari & Zare 2010). پس از گذشت زمان آزمون برای جدایه‌های هر جنس قارچی، صفات ماکروسکوپی نظیر رنگ و قطر پرگنه‌ها مورد بررسی قرار گرفتند. همچنین، به منظور بررسی صفات میکروسکوپی شامل وجود و یا عدم وجود آسکوکارپ، آسک، آسکوسپور، کنیدیوم، ویژگی‌های کنیدیوفور، سلول‌های کنیدیوم‌زا و ریخت‌شناسی کنیدیوم‌ها، اسلایدهای میکروسکوپی با استفاده از محلول‌های لاکتوفنل و لاکتوفنل-کاتن بلو تهیه شدند. اندازه‌گیری ۵۰ مورد از هر اندام قارچی، با استفاده از میکروسکوپ نوری آلیمپوس (Olympus)، مدل BH2 انجام گرفت. عکس‌برداری از اندام‌های قارچی نیز با استفاده از دوربین سونی مدل DSC-H9 نصب شده روی میکروسکوپ نوری آلیمپوس انجام گردید. جدایه نماینده هر یک از گونه‌های شناسایی شده در مجموعه قارچ‌های زنده "ایران" واقع در مؤسسه تحقیقات گیاه‌پزشکی کشور (تهران) ذخیره شده‌اند.

### – بررسی فیلوژنتیکی

جدایه‌هایی برای مطالعات فیلوژنتیکی انتخاب شدند. به منظور تهیه توده میسلیمی از محیط‌کشت PDA در شرایط تاریکی با دمای ۲۵ درجه سلسیوس به مدت هفت تا ۱۰ روز استفاده شد. پس از رشد پرگنه‌ها، توده میسلیمی قارچ به طور مستقیم از سطح محیط‌کشت تراشیده شد و به درون هاون چینی سترون منتقل گردید. استخراج DNA به روش ژانگ و استفنسون (Zhong & Steffenson 2001)، انجام گرفت. جهت اطمینان از صحت استخراج DNA و نیز تعیین غلظت آن، DNA حاصل، از ژل آگاروز ۰/۸٪ طی الکتروفورز عبور داده شد. سپس ژل آگاروز به مدت ۲۰ الی ۳۰ دقیقه در محلول اتیدیوم بروماید ۱٪ قرار داده شد. برای مشاهده باندهای DNA از دستگاه Gel Documentation مدل IMAGO (سیستم B & L) استفاده شد. به منظور ارزیابی فیلوژنتیکی گونه‌های قارچی، نواحی ژنومی مختلفی انتخاب و تکثیر شدند. جهت تکثیر نواحی ITS (شامل ITS1-5.8S-ITS2) از rDNA هسته‌ای، از ترکیب آغازگرهای ITS1 و ITS4 استفاده شد (White et al. 1990). برای تکثیر ناحیه ژنی بتا توپولین، از ترکیب آغازگرهای TUB2Fd و TUB4Rd (Woudenberg et al. 2009) و همچنین، از ترکیب

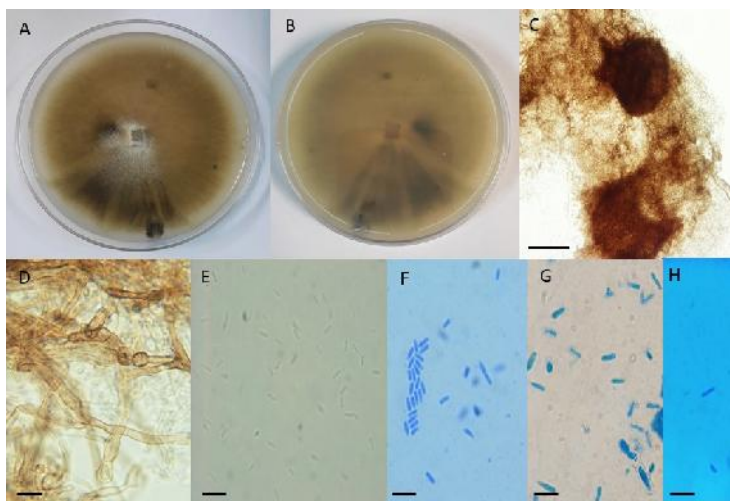
۹-۱۳ میکرومتر نیز در این گونه قارچی مشاهده شدند. ریشه‌ها، کلامیدوسپورهای معدود و تک‌سلولی با ابعاد (۸/۵)-۱۱ میکرومتر تولید کردند (شکل ۱).

این گونه که در گذشته با نام *Phoma complanata* شناخته می‌شد، به عنوان عامل لکه‌برگی و زخم ریشه در هویج وحشی (*Daucus carota* L.) گزارش شده است (Boerema et al. 2004). زیموسکا و همکاران (Zimowska et al. 2017)، این گونه را از گیاه *Archangelica officinalis* Hoffm. از لهستان، گافوروف (Gafforov 2017)، آن را از گیاه *Ferula korovin* از جنوب ازبکستان و اوسکمپ و همکاران (Aveskamp et al. 2010)، آن را از گیاهان *Heracleum sphondylium* و *Angelica sylvestris* از هلند گزارش کرده‌اند. گونه همراه با علائم لکه‌برگی از گیاه میزبان غازیاغی دارای لکه‌های قهوه‌ای رنگ با هاله‌ای به رنگ خاکستری در حاشیه برگ‌ها در دنیا گزارش می‌شود و آرایه جدیدی برای بیوتای قارچی ایران است. جدایه BahPa2-3 در مجموعه قارچ‌های زنده "ایران" واقع در مؤسسه تحقیقات گیاه‌پزشکی کشور نگهداری می‌شود (IRAN 3652C).

گردیدند. گونه‌های *Calophoma complanata*, *Nothophoma gossypicola*, *Sporormiella intermedia* و *S. similis* برای فلور قارچی ایران جدید هستند. گونه‌های شناسایی شده به شرح زیر می‌باشند:

**Calophoma complanata (Tode) Qian Chen & L. Cai, -1**  
Stud. Mycol. 82: 194 (2015)

جدایه‌های بررسی شده: جدایه‌های BahPa2-3 و BahPa2-5 از گیاه غازیاغی یا پازاغی (*Falcaria vulgaris* Bernh.)، شهر کوهرنگ، کیلومتر ۲ جاده بهمن‌آباد به مصصامی، ۱۳۹۷/۴/۱۵. میانگین قطر پرگنه قارچ روی محیط‌کشت‌های OMA و MEA در تناوب نوری ۱۲ ساعت نور نزدیک به ماورای بنفش و ۱۲ ساعت تاریکی، ۷۰ میلی‌متر است. رنگ پرگنه قارچ قهوه‌ای است که با گذشت زمان قسمت‌هایی از آن به رنگ خاکستری درآمد و ریشه‌های هوایی سفیدی تولید می‌شوند که در بین آن‌ها پیکنیدیوم‌ها به وضوح دیده می‌شوند. پیکنیدیوم‌های منفرد کروی و دارای یک منفذ می‌باشند. ابعاد پیکنیدیوم‌ها ۲۵۰-۱۲۰ میکرومتر است. کنیدیوم‌ها بی‌رنگ، تک‌سلولی و به ندرت دوسلولی و استوانه‌ای شکل بوده و دو انتهای آن‌ها گرد است. ابعاد کنیدیوم‌ها  $1/5-2(1/75) \times 4/7-5(5/75)$  میکرومتر می‌باشد. کنیدیوم‌های دوسلولی نیز با ابعاد  $3-4(3/5) \times (11)$



**شکل ۱- گونه *Calophoma complanata*, جدایه BahPa2-3: A-B.** به ترتیب سطح رویی و پشتی پرگنه قارچ روی محیط‌کشت OMA پس از ۱۴ روز در شرایط ۱۲/۱۲ ساعت نور نزدیک به ماورای بنفش و تاریکی و دمای ۲۵ درجه سلسیوس، C. پیکنیدیوم (مقیاس = ۱۰۰ میکرومتر)، D. کلامیدوسپور (مقیاس = ۲۰ میکرومتر)، E-H. کنیدیوم‌ها (مقیاس = ۱۰ میکرومتر).

**Fig. 1.** *Calophoma complanata*, isolate BahPa2-3: A-B. Upper and reverse sides of colony on OMA after 14 days at 25 °C in 12/12 nUV/dark condition, C. Pycnidium (Bar = 100 μm), D. Chlamydospores (Bar = 20 μm), E-H. Conidia (Bar = 10 μm).



جدایه‌های بررسی شده: جدایه KhPi1-10 از گیاه پیچک صحرایی (*Convolvulus arvensis* L.)، شهرکرد، کیلومتر ۲ جاده روستای خوی به وانان، ۱۳۹۷/۵/۱۰ و جدایه BurEs3-6 از گیاه اسفرزه، شهر بروجن، کیلومتر ۷ جاده بروجن به فرادنبه، ۱۳۹۷/۵/۱۴

گونه *F. equiseti* برای نخستین بار در دنیا به عنوان قارچ همراه با علائم لکه‌برگی به رنگ قهوه‌ای تا سیاه در مرکز و در حاشیه برگ‌ها با هاله‌ای به رنگ زرد در گیاهان پیچک صحرایی و اسفرزه گزارش می‌شود. جدایه KhPi1-10 در مجموعه قارچ‌های زنده "ایران" واقع در مؤسسه تحقیقات گیاه‌پزشکی کشور نگهداری می‌شود (IRAN 3657C).

۶- *Gnomoniopsis idaeicola* (P. Karst.) D.M. Walker, Mycologia 102(6): 1490 (2010)  
جدایه‌های بررسی شده: جدایه NaTa3-1 از گیاه تمشک معمولی (*Rubus vulgaris* Weihe & Nees)، شهر ناغان، کیلومتر ۱۵ جاده ناغان به اردل، ۱۳۹۷/۴/۱۶ و جدایه LurTa3-2 از گیاه تمشک معمولی، شهر لردگان، کیلومتر ۴۰ جاده لردگان به مال خلیفه، ۱۳۹۷/۴/۱۷.

براساس پژوهش حاضر، گونه *G. idaeicola* برای نخستین بار به عنوان قارچ همراه علائم لکه‌برگی به شکل گرد و با حاشیه منظم و قهوه‌ای تیره و با مرکز سفید مایل به زرد در سطح برگ‌های تمشک معمولی در ایران گزارش می‌شود. گیاه تمشک معمولی، میزبان جدیدی برای این گونه قارچی در ایران است.

۷- *Nothophoma gossypicola* (Gruyter) Qian Chen & L. Cai, Stud. Mycol. 82: 213 (2015)  
جدایه مورد بررسی: جدایه SaFr11 از گیاه فرفیون (*Euphorbia helioscopia* L.) از شهر سامان، کیلومتر ۱۵ جاده سامان به روستای هوره، ۱۳۹۷/۴/۱۲

میانگین قطر پرگنه قارچ روی محیط‌کشت‌های OMA و MEA پس از ۱۴ روز در شرایط تناوب نوری ۱۲/۱۲ ساعت تاریکی و نور نزدیک به ماورای بنفش و دمای ۲۵ درجه سلسیوس، ۷۳ میلی‌متر بود. رنگ پرگنه قارچ خاکستری بود که با آغاز تشکیل پیکنیدیوم‌های بزرگ و تیره، پرگنه قارچ به رنگ سیاه در آمد. پیکنیدیوم‌ها کوزه‌ای شکل و به رنگ قهوه‌ای تیره بودند که یک روزنه مشخص در رأس خود داشتند. پیکنیدیوم‌ها به دو حالت منفرد و مرکب دیده شدند و اندازه آن‌ها ۲۵۰-۱۰ میکرومتر بود. کنیدیوم‌ها تک‌سلولی و بی‌رنگ بوده و

۲- *Colletotrichum lini* Manus & Bolley, Bull. N. Dak. agric. Exp. Sta. 259: 35 (1932)  
جدایه‌های بررسی شده: جدایه‌های KhEs2-9 و KhEs7-1 از گیاه اسفرزه (*Plantago ovata* L.)، شهرکرد، کیلومتر ۲ جاده روستای خوی به وانان، ۱۳۹۷/۵/۱۰.

براساس پژوهش حاضر، این گونه برای نخستین بار به عنوان قارچ همراه با علائم لکه‌برگی اسفرزه دارای لکه‌های برگ‌ی به شکل گرد و به رنگ قهوه‌ای تا سیاه و با هاله‌ای زرد رنگ در دنیا گزارش می‌شود. جدایه KhEs2-9 در مجموعه قارچ‌های زنده "ایران" واقع در مؤسسه تحقیقات گیاه‌پزشکی کشور نگهداری می‌شود (IRAN 3659C).

۳- *Didymella pisi* Chilvers, J.D. Rogers & Peever, Mycol. Res. 113(3): 396 (2009)  
جدایه‌های بررسی شده: جدایه‌های MoKhol3-2 و MoKhol4-1 از گیاه خلر (*Lathyrus sativus* L.)، شهرکرد، کیلومتر ۱۰ جاده مرغملک به سودجان، ۱۳۹۷/۵/۱۰.

گونه *D. pisi* برای نخستین بار از گیاه خلر به عنوان قارچ همراه با علائم لکه‌برگی به شکل‌های گرد تا بیضوی و کمی فرورفته و به رنگ قهوه‌ای تیره تا سیاه گزارش می‌شود. گیاه خلر، میزبان جدیدی برای این گونه قارچی در ایران است.

۴- *Fusarium acuminatum* Ellis & Everh., Proc. Acad. nat. Sci. Philad. 47: 441 (1895)  
جدایه‌های بررسی شده: جدایه RSB از گیاه ریواس (*Rheum ribes* L.)، شهر کوهرنگ، کیلومتر ۳۰ جاده چلگرد به صمصامی، ۱۳۹۷/۳/۱۷، جدایه KTS از گیاه ترشک (*Rumex acetosella* L.)، شهر کوهرنگ، کیلومتر ۱۰ جاده روستای دیمه به چلگرد، ۱۳۹۷/۳/۱۷، جدایه SurT5-6 از گیاه ترشک، شهر سورشجان، کیلومتر ۱۰ جاده سورشجان به فارسان، ۱۳۹۷/۵/۷ و جدایه ShahT3-5 از گیاه ترشک، شهرکرد، کیلومتر ۵ جاده شهرکرد به سورشجان، ۱۳۹۷/۵/۱۲.

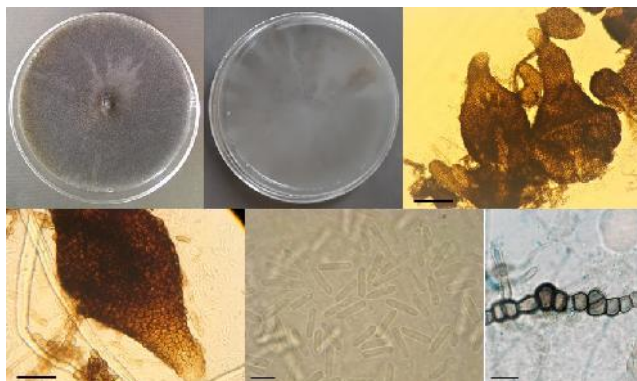
براساس پژوهش حاضر، این گونه برای نخستین بار به عنوان قارچ همراه با علائم لکه‌برگی به شکل‌های گرد تا بیضوی و به رنگ قهوه‌ای که با گذشت زمان سبب خشک شدن گیاهان ریواس و ترشک می‌شوند، در دنیا گزارش می‌شود. جدایه RSB در مجموعه قارچ‌های زنده "ایران" واقع در مؤسسه تحقیقات گیاه‌پزشکی کشور نگهداری می‌شود (IRAN 3658C).

۵- *Fusarium equiseti* (Corda) Sacc., Syll. fung. (Abellini) 4: 707 (1886)

همکاران ۲۰۱۵). در پژوهش حاضر، این گونه قارچی برای نخستین بار به عنوان قارچ همراه با علائم لکه‌برگی به شکل گرد و به رنگ قهوه‌ای در سطح برگ گیاه فرفیون در دنیا گزارش می‌شود. همچنین، گونه *N. gossypicola* آرایه جدیدی برای بیوتای قارچی ایران است. جدایه SaFr11 در مجموعه قارچ‌های زنده "ایران" واقع در مؤسسه تحقیقات گیاه‌پزشکی کشور نگهداری می‌شود (IRAN 3661C).

استوانه‌ای شکل دیده شدند. کنیدیوم‌ها دارای قطره‌های چربی بودند و اندازه آن‌ها  $2-3(2/5) \times 13-9(11)$  میکرومتر بود. در این گونه، کلامیدوسپورهای تک‌سلولی و یا زنجیری به قطر  $8-12(10)$  میکرومتر و طول زنجیره  $150-300(225)$  میکرومتر تشکیل شدند (شکل ۲).

نام این گونه در گذشته *Phoma gossypicola* (بویما و همکاران ۲۰۰۴) بود. گونه *Nothophoma gossypicola* برای نخستین بار از گیاه *Gossypium* sp. گزارش شده است (چن و



شکل ۲- گونه *Nothophoma gossypicola* جدایه SaFr11: A. پرگنه قارچ روی محیط کشت OMA پس از ۱۴ روز در شرایط ۱۲/۱۲ ساعت تاریکی و نور نزدیک به ماورای بنفش و دمای ۲۵ درجه سلسیوس، C-D. پیکنیدیوم‌ها (مقیاس = ۱۰۰ میکرومتر)، E. کنیدیوم‌ها (مقیاس = ۱۰ میکرومتر)، F. کلامیدوسپور (مقیاس = ۲۰ میکرومتر).

**Fig. 2.** *Nothophoma gossypicola*, isolate SaFr11: A-B. Colony on OMA after 14 days at 25 °C in 12/12 dark/nUV condition, C-D. Pycnidia (Bar = 100 μm), E. Conidia (Bar = 10 μm), F. Chlamydospore (Bar = 20 μm).

براساس پژوهش حاضر، گونه *P. seminiperda* برای نخستین بار به عنوان قارچ همراه با علائم لکه‌برگی نامنظم در حاشیه برگ‌ها و به رنگ قهوه‌ای روشن با مرکزی به رنگ سفید و با هاله‌ای زرد رنگ در گیاه شاهدانه در دنیا گزارش می‌شود. جدایه SaSha3-2 در مجموعه قارچ‌های زنده "ایران" واقع در مؤسسه تحقیقات گیاه‌پزشکی کشور نگهداری می‌شود (IRAN 3655C).

۱- *Sporormiella intermedia* (Auersw.) S.I. Ahmed & Cain ex Kobayasi, in Kobayasi, Hiratsuka, Otani, Tubaki, Udagawa & Soneda, Bull. natn. Sci. Mus., Tokyo 12: 339 (1969)

جدایه بررسی شده: جدایه KPn3-1 از گیاه پونه (*Mentha pulegium* L.)، شهرستان بن، کیلومتر ۱۰ جاده کرسنگ به بارده، ۱۳۹۷/۴/۱۲.

میانگین قطر پرگنه قارچ روی محیط کشت PDA پس از ۱۴ روز در دمای ۲۵ درجه سلسیوس و شرایط تاریکی، ۳۰ میلی‌متر بود و پرگنه قارچ به رنگ کرم دیده شد و حالت چرمی

۸- *Petriella sordida* (Zukal) G.L. Barron & J.C. Gilman, Can. J. Bot. 39: 839 (1961)

جدایه بررسی شده: جدایه SurT5-7 از گیاه ترشک (*Rumex acetosella* L.)، شهر سورشجان، کیلومتر ۱۰ جاده سورشجان به فارس، ۱۳۹۷/۵/۷.

براساس تحقیق حاضر، گونه *Petriella sordida* برای نخستین بار به عنوان قارچ همراه با علائم لکه‌برگی به شکل گرد و در مرکز سفید رنگ و در حاشیه به رنگ سیاه در برگ گیاه ترشک در دنیا گزارش می‌شود. ترشک میزبان جدیدی برای این گونه قارچی در دنیا است.

۹- *Pyrenophora seminiperda* (Brittleb. & D.B. Adam) Shoemaker [as 'seminiperda'], Can. J. Bot. 44: 1451 (1966)

جدایه بررسی شده: جدایه SaSha3-2 از گیاه شاهدانه (*Cannabis sativa* L.)، شهر سامان، کیلومتر ۳۰ جاده سامان به بن، ۱۳۹۷/۴/۱۵.

داشتند. آسکوسپورها استوانه‌ای شکل و چهارسلولی بوده و در دو انتها گرد هستند که در ابتدا بی‌رنگ، اما در زمان بلوغ، به رنگ قهوه‌ای دیده شدند. ابعاد آسکوسپورها  $(۱۰/۵) \times ۹-۱۲$  (۵۴)  $\times$  ۶۰-۴۸ میکرومتر بود. هر یک از سلول‌های آسکوسپور دارای یک شیار جوانه‌زنی می‌باشد که به صورت مورب قرار گرفته است. سلول‌های آسکوسپور از هم جدا می‌شوند. هر آسکوسپور نیز توسط یک غلاف ژلاتینی احاطه شده است (شکل ۳).

و چروکیده داشت. این قارچ آسکوکاری از نوع سودوتسیوم تولید می‌کند. سودوتسیوم‌ها کروی تا کمی گلابی شکل با گردنی کوتاه و دارای زواید مو مانند کوتاه در سطح خود بودند و ابعاد آن‌ها  $(۲۵۰) \times ۲۰۰-۳۰۰$  میکرومتر بود. آسک‌های قارچ از نوع دو جداره بوده و استوانه‌ای شکل است. اندازه آسک‌ها  $(۳۰) \times ۲۵-۳۵$   $\times$   $(۱۵۰/۵) \times ۱۶۳-۱۳۸$  میکرومتر و طول پایه آن‌ها  $(۷/۵) \times ۵-۱۰$  میکرومتر می‌باشد. آسکوسپورها در دو ردیف درون آسک قرار



**شکل ۳-** گونه *Sporormiella intermedia* جدایه KPn3-1: A. سطح رویی (بالا) و پشتی (پایین) پرگنه قارچ روی محیط کشت PDA پس از ۱۴ روز در شرایط تاریکی و دمای ۲۵ درجه سلسیوس، B. سودوتسیوم و آسک‌ها (مقیاس = ۵۰ میکرومتر)، C. آسک و آسکوسپورها (مقیاس = ۲۰ میکرومتر)، D. آسکوسپور (مقیاس = ۱۰ میکرومتر).

**Fig. 3.** *Sporormiella intermedia*, isolate KPn3-1: A. Upper (top) and reverse (bottom) sides of colony on PDA after 14 days at 25 °C in continuous dark condition, B. Pseudothecium and asci (Bar = 50 μm), C. Ascus and ascospores (Bar = 20 μm), D. Ascospore (Bar = 10 μm).

برگ گیاه پونه در دنیا گزارش می‌شود و آرایه جدیدی برای بیوتای قارچی ایران است. جدایه KPn3-1 در مجموعه قارچ‌های زنده "ایران" واقع در مؤسسه تحقیقات گیاه‌پزشکی کشور نگهداری می‌شود (IRAN 3662C).

۱۱- *Sporormiella similis* R.S. Khan & Cain, Can. J. Bot. - (1979)

57(10): 1178 (1979)

جدایه بررسی شده: جدایه PFr2-1 از گیاه فرفیون (*Euphorbia helioscopia* L.)، شهرستان بن، کیلومتر ۲۰ جاده پهنابن، ۱۳۹۷/۴/۱۲.

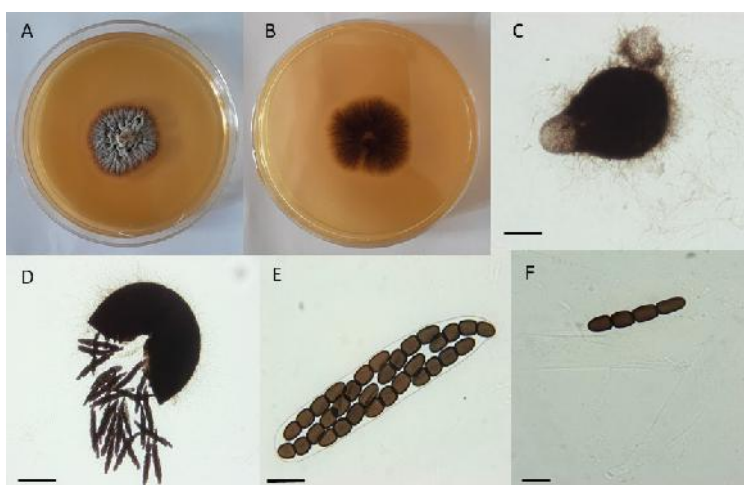
میانگین قطر پرگنه قارچ روی محیط کشت PDA و پس از ۱۴ روز در شرایط تاریکی و دمای ۲۵ درجه سلسیوس، ۳۰ میلی‌متر بود. پرگنه قارچ به رنگ خاکستری دیده شد و حالت چرمی و چروکیده داشت. آسکوکارپ از نوع سودوتسیوم، کروی تا کمی گلابی شکل و دارای زواید مو مانند کوتاه در سطح خود

ویژگی‌های جدایه مورد بررسی با توصیف گونه *Sporormiella intermedia* (Mungai et al. 2012) مطابقت داشت. این گونه به عنوان قارچ درون‌رست از گیاهان *Forsythia suspensa* (Sun et al. 2006) و *Vitis vinifera* L. (Gonzalez & Tello 2011) گزارش شده است. دو گونه *S. intermedia* و *S. similis*، از نظر ریخت‌شناختی بسیار به هم شبیه هستند و فقط از نظر شکل آسک و آسکوسپور تا حدودی قابل تمایز هستند، به این صورت که در گونه *S. intermedia*، آسک و پایه آسک کوتاه‌تر بوده و آسکوسپورهای بزرگ‌تری دارد که دو سلول وسطی تقریباً برابر هستند و دو انتهای آن‌ها در مقایسه با آسکوسپورهای گونه *S. similis* گردتر است. براساس پژوهش حاضر، گونه *S. intermedia* برای نخستین بار به عنوان قارچ همراه با علائم لکه‌برگی به رنگ قهوه‌ای تیره با هاله زرد رنگ در



گونه *Sporormiella similis* به عنوان قارچ درون‌رُست از ریشه گیاه *Globularia alypum* L. گزارش شده است (Noumeur et al. 2017). این گونه قارچی، برای نخستین بار به عنوان قارچ همراه با علائم لکه‌برگی به رنگ قهوه‌ای روشن تا تیره و به شکل نامنظم در حاشیه برگ و با هاله‌ای به رنگ سیاه در گیاه فرقیون در دنیا گزارش می‌شود و آرایه جدیدی برای بیوتای قارچی ایران است. جدایه PFr2-1 در مجموعه قارچ‌های زنده "ایران" واقع در مؤسسه تحقیقات گیاه‌پزشکی کشور نگهداری می‌شود (IRAN 3663C).

و دارای گردن کوتاه است. اندازه سودوتسیوم‌ها (۲۱۵) × ۲۵۰-۱۸۰ میکرومتر است. آسک‌ها دو جداره و استوانه‌ای شکل بوده و ابعاد آن‌ها (۲۵) × ۳۰-۲۰ × (۱۶۰) × ۱۷۰-۱۵۰ میکرومتر و طول پایه آن‌ها (۱۰/۲۵) × ۱۳-۷/۵ میکرومتر اندازه‌گیری شدند. آسکوسپورها استوانه‌ای شکل و چهارسلولی بوده که در ابتدا بی‌رنگ، اما پس از بلوغ، به رنگ قهوه‌ای دیده می‌شوند. ابعاد آسکوسپورها (۱۰/۵) × ۹-۱۲ میکرومتر بود. هر یک از سلول‌های آسکوسپور دارای یک شیار جوانه‌زنی می‌باشد که به صورت مورب قرار دارد. سلول‌های آسکوسپور از هم جدا می‌شوند. هر آسکوسپور نیز توسط یک غلاف ژلاتینی احاطه شده است (شکل ۴).



شکل ۴- گونه *Sporormiella similis*، جدایه PFr2-1. A-B. سطح رویی و پشتی پرگنه قارچ روی محیط‌کشت PDA پس از ۱۴ روز در دمای ۲۵ درجه سلسیوس و شرایط تاریکی، C-D. سودوتسیوم و آسک‌ها (مقیاس = ۵۰ میکرومتر)، E. آسک و آسکوسپورها (مقیاس = ۲۰ میکرومتر)، F. آسکوسپور (مقیاس = ۱۰ میکرومتر).

**Fig. 4.** *Sporormiella similis*, isolate PFr2-1: A-B. Upper and reverse sides of colony on PDA after 14 days at 25 °C in continuous dark condition, C-D. Pseudothecium and Asci (Bar = 50 μm), E. Ascus and ascospores (Bar = 20 μm), F. Ascospore (Bar = 10 μm).

در تبارنمای فیلوژنتیکی ترسیم شده با استفاده از توالی ناحیه ITS (جدول ۱)، براساس نحوه انشعاب، جدایه‌ها در دو کلاد و چهار گروه A، B، C و D قرار گرفتند. تمام اعضای تبارنما متعلق به شاخه *Ascomycota* و دو رده *Dothideomycetes* و *Sordariomycetes* هستند. جدایه‌های از گونه *Eremothecium gossypii* به عنوان گروه خارجی انتخاب شد (شکل ۵). در گروه A که شامل هشت جدایه است، جدایه‌های گونه *Didymella pisi* (جدایه‌های MoKhol3-2، CBS 122750 و CBS 108.26) با حمایت اعتبارسنجی ۹۶٪ و جدایه‌های گونه *Pyrenophora seminiperda* (جدایه‌های SaSha3-2 و SMCD 23) با حمایت اعتبارسنجی ۱۰۰٪ کنار یکدیگر قرار گرفتند.

پس از شناسایی ریخت‌شناختی جدایه‌ها، مطالعات فیلوژنتیکی با استفاده از برخی جدایه‌های منتخب انجام شد. در مجموع، ۱۱ جدایه برای مطالعه مولکولی انتخاب شدند. در تحقیق حاضر، ناحیه ژنومی ITS برای شش جدایه، ناحیه ژنی بتا توبولین برای سه جدایه و ناحیه ژنی *EF-1* برای دو جدایه تعیین توالی گردید. طول ناحیه ژنومی ITS در جدایه‌های مختلف از ۵۰۰ تا ۶۵۰ جفت باز متغیر بود. طول ناحیه بتا توبولین با استفاده از آغازگر TUB2Fd، ۳۰۰ تا ۴۰۰ جفت باز و با استفاده از آغازگر T1، ۵۰۰ تا ۶۰۰ جفت باز و طول نوکلئوتیدی ناحیه ژنومی *EF-1* نیز حدود ۶۰۰ تا ۷۰۰ جفت باز بود.

اعضای تبارنما به شاخه *Ascomycota* رده *Dothideomycetes* و راسته *Pleosporales* تعلق داشتند. جدایه‌ای از گونه *Pyrenochaeta nobilis* به عنوان گروه خارجی انتخاب شد (شکل ۷). تبارنما براساس نحوه انشعاب، دارای دو گروه A و B است که در گروه A، جدایه‌های گونه *Nothophoma gossypicola* (جدایه‌های SaFr11، CBS 377.67 و FMR 13787) با حمایت اعتبارسنجی ۹۹٪ و *Calophoma complanata* (جدایه‌های CBS 268.92 و BahPa3-2) با حمایت اعتبارسنجی ۹۹٪ کنار یکدیگر قرار گرفتند.

در تبارنمای فیلوژنتیکی ترسیم شده با استفاده از توالی ناحیه *EF-1* (جدول ۴)، براساس نحوه انشعاب، دو گروه A و B شناسایی شدند. تمام اعضای این تبارنما متعلق به شاخه *Ascomycota* رده *Sordariomycetes* و راسته *Hypocreales* هستند. جدایه‌ای از گونه *Nectria aquifolii* به عنوان گروه خارجی انتخاب گردید (شکل ۸). در گروه A، نه جدایه قرار دارد که جدایه‌های گونه *Fusarium acuminatum* (جدایه‌های RSB، R-6678 و M7) با حمایت اعتبارسنجی ۱۰۰٪ کنار یکدیگر قرار گرفتند. گروه B نیز شامل نه جدایه است که جدایه‌های گونه *F. equiseti* (جدایه‌های KhPi1-10، Feq12-14 و NRRL 13405) با حمایت اعتبارسنجی ۹۹٪ کنار یکدیگر قرار گرفتند.

گروه B که شامل شش جدایه است، جدایه‌های گونه *Sporormiella intermedia* (جدایه‌های KPn3-2 و S4) و جدایه‌های گونه *Sporormiella similis* (جدایه‌های PFr2-1 و CBS 804703) با حمایت اعتبارسنجی ۹۷٪ کنار یکدیگر قرار گرفتند. در گروه C که شامل سه جدایه است، جدایه‌های گونه *Petriella sordida* (جدایه‌های SurT5-7 و CBS 145121) با حمایت اعتبارسنجی ۱۰۰٪ کنار یکدیگر قرار گرفتند. گروه D شامل چهار جدایه است، جدایه‌های گونه *Gnomoniopsis idaeicola* (جدایه‌های LurTa3-2 و CBS 125675) با حمایت اعتبارسنجی ۹۹٪ کنار یکدیگر قرار گرفتند.

در تبارنمای فیلوژنتیکی ترسیم شده با استفاده از توالی ناحیه بتا توبولین (آغازگر T1) (جدول ۲)، براساس نحوه انشعاب، دو کلاد و سه گروه A، B و C شناسایی گردیدند. تمام اعضای تبارنما متعلق به شاخه *Ascomycota* رده *Sordariomycetes* و راسته *Glomerellales* هستند. جدایه‌ای از گونه *Monilochaetes infuscans* به عنوان گروه خارجی انتخاب شده است (شکل ۶). گروه A در این تبارنما شامل ۱۵ جدایه است که جدایه‌های گونه *Colletotrichum lini* (جدایه‌های KhEs2-9، CBS 136856، CBS 117156 و CBS 112.21) با حمایت اعتبارسنجی ۹۷٪ کنار یکدیگر قرار گرفتند.

در تبارنمای فیلوژنتیکی ترسیم شده با استفاده از توالی ناحیه بتا توبولین (آغازگر TUB2Fd) (جدول ۳)، تمام

جدول ۱- توالی‌های استفاده شده در این مطالعه برای ترسیم تبارنمای فیلوژنتیکی براساس نواحی ITS

Table 1. Used sequences in this study for construction of phylogenetic tree based on ITS regions

منبع Reference	مکان Locality	رس‌شمار Accession No.	جدایه Isolate	آرایه Taxon
Chen <i>et al.</i> (2015)	China	KT389479.1	CBS 237.37	<i>Ascochyta rabiei</i>
"	"	KT389477.1	CBS 122750	<i>Didymella pisi</i>
Vu <i>et al.</i> (2019)	Netherlands	MH854853.1	CBS 108.26	<i>D. pisi</i>
<b>In this study</b>	<b>Iran</b>	<b>MT351037</b>	<b>MoKhol3-2</b>	<b><i>D. pisi</i></b>
Kurtzman & Robnett (2003)	USA	AY046216.1		<i>Eremothecium gossypii</i>
Sogonov <i>et al.</i> (2008)	"	EU254824.1	AR4275	<i>Gnomoniopsis fructicola</i>
Walker <i>et al.</i> (2010)	"	GU320829.1	CBS 125678	<i>G. occulta</i>
Vu <i>et al.</i> (2019)	Netherlands	MH863620.1	CBS 125675	<i>G. idaicola</i>
<b>In this study</b>	<b>Iran</b>	<b>MT358919</b>	<b>LurTa3-2</b>	<b><i>G. idaicola</i></b>
Crous <i>et al.</i> (2019)	Netherlands	MK442609.1	CBS 145121	<i>Petriella sordida</i>
<b>In this study</b>	<b>Iran</b>	<b>MT355156</b>	<b>SurT5-7</b>	<b><i>P. sordida</i></b>
Rainer & De Hoog (2006)	Austria	AY882350.1	CBS 745169	<i>P. setifera</i>
Asgari & Zare (2010)	Iran	GQ292750.1	IRAN 844	<i>P. persica</i>
Arenal <i>et al.</i> (2005)	Spain	AY510418.1	S17	<i>P. africana</i>
Marin-Felix <i>et al.</i> (2019)	Netherlands	MK539972.1	CBS 307.84	<i>Pyrenophora avenicola</i>
"	"	MK539973.1	CBS 307.69	<i>P. biseptata</i>
Mavragani <i>et al.</i> (2011)	Canada	FJ907539.1	SMCD 23	<i>P. seminiperda</i>
<b>In this study</b>	<b>Iran</b>	<b>MT355157</b>	<b>SaSha3-2</b>	<b><i>P. seminiperda</i></b>
Arenal <i>et al.</i> (2005)	Spain	AY510416.1	S4	<i>Sporormiella intermedia</i>
<b>In this study</b>	<b>Iran</b>	<b>MT358920</b>	<b>KPn3-1</b>	<b><i>S. intermedia</i></b>
Platas <i>et al.</i> (2007)	Spain	DQ468026.1	CBS 804703	<i>S. similis</i>
<b>In this study</b>	<b>Iran</b>	<b>MT355158</b>	<b>PFr2-1</b>	<b><i>S. similis</i></b>

جدول ۲- توالی‌های استفاده شده در این مطالعه برای ترسیم تبارنمای فیلوژنتیکی براساس ناحیه بتا توبولین (T1)

Table 2. Used sequences in this study for construction of phylogenetic tree based on beta tubulin region (T1)

منبع Reference	مکان Locality	رس‌شمار Accession No.	جدایه Isolate	آرایه Taxon
Damm <i>et al.</i> (2014)	Japan	KM105470.1	CBS 128508	<i>Colletotrichum higginsianum</i>
"	"	KM105472.1	AR3-5	<i>C. higginsianum</i>
"	Nigeria	KM105463.1	CBS 501.97	<i>C. vignae</i>
"	"	KM105462.1	IMI334960	<i>C. vignae</i>
"	New Zealand	KM105460.1	CBS 102189	<i>C. antirrhinicola</i>
"	Netherlands	KM105456.1	CBS 133704	<i>C. fuscum</i>
"	"	KM105458.1	CBS135827	<i>C. fuscum</i>
"	"	KM105482.1	CBS 135827	<i>C. utrechtense</i>
"	"	KM105483.1	CBS 135828	<i>C. utrechtense</i>
"	USA	KM105505.1	CBS 136855	<i>C. americanae-borealis</i>
"	"	KM105504.1	CBS 136232	<i>C. americanae-borealis</i>
"	"	KM105513.1	CBS 136856	<i>C. lini</i>
"	"	KM105511.1	CBS 117156	<i>C. lini</i>
"	"	KM105509.1	CBS 112.21	<i>C. lini</i>
<b>In this study</b>	<b>Iran</b>	<b>MT364363</b>	<b>KhEs2-9</b>	<b><i>C. lini</i></b>
"	Greece	KM105499.1	CBS 114801	<i>C. destructivum</i>
"	Italy	KM105493.1	CBS 167.58	<i>C. destructivum</i>
Tao <i>et al.</i> (2013)	China	KC244157.1	CGMCC 3.15167	<i>C. guizhouensis</i>
"	"	JX625185	CGMCC 3.15112	<i>C. guizhouensis</i>
"	Netherlands	JQ005864.1	CBS 869.96	<i>Monilochaetes infuscans</i>

جدول ۳- توالی‌های استفاده شده در این مطالعه برای ترسیم تبارنمای فیلوژنتیکی براساس ناحیه بتا توبولین (TUB2)

**Table 3.** Used sequences in this study for construction of phylogenetic tree based on beta tubulin region (TUB2)

منبع Reference	مکان Locality	رس‌شمار Accession No.	جدایه Isolate	آرایه Taxon
Aveskamp <i>et al.</i> (2010)	Netherlands	GU237630.1	CBS 316.90	<i>Ascochyta medicaginicola</i>
"	"	GU237629.1	CBS 404.65	<i>A. medicaginicola</i>
"	"	GU237637.1	CBS 116.96	<i>A. nigripyncnidia</i>
"	"	GU237531.1	CBS 126.54	<i>A. pisi</i>
Chen <i>et al.</i> (2015)	China	KT389778.1	CBS 451.68	<i>A. viciae</i>
Aveskamp <i>et al.</i> (2010)	Netherlands	GU237581.1	CBS 107.96	<i>Calophoma aquilegiicola</i>
Aveskamp <i>et al.</i> (2009)	"	FJ427100.1	CBS 108.79	<i>C. clematidina</i>
Aveskamp <i>et al.</i> (2010)	"	GU237594.1	CBS 100311	<i>C. complanata</i>
Woudenberg <i>et al.</i> (2009)	"	FJ515626.1	CBS 268.92	<i>C. complanata</i>
<b>In this study</b>	<b>Iran</b>	<b>MT364361</b>	<b>BahPa2-3</b>	<b><i>C. complanata</i></b>
Aveskamp <i>et al.</i> (2010)	Netherlands	GU237610.1	CBS 112.96	<i>C. glaucii</i>
Chen <i>et al.</i> (2017)	China	KY742292.1	LC:8119	<i>C. rosae</i>
Chen <i>et al.</i> (2015)	China	KT389791.1	CBS 173.53	<i>C. vodakii</i>
Aveskamp <i>et al.</i> (2009)	Netherlands	FJ427166.1	CBS 539.66	<i>Didymella pomorum</i>
"	"	FJ427163.1	CBS 285.76	<i>D. pomorum</i>
Aveskamp <i>et al.</i> (2010)	"	GU237658.1	CBS 249.92	<i>D. subherbarum</i>
"	"	GU237659.1	CBS 250.92	<i>D. subherbarum</i>
Chen <i>et al.</i> (2015)	China	KT389829.1	CBS 256.77	<i>Neodidymelliopsis achlydis</i>
Aveskamp <i>et al.</i> (2010)	Netherlands	GU237523.1	CBS 234.37	<i>N. cannabis</i>
Chen <i>et al.</i> (2015)	China	KT389831.1	CBS 168.70	<i>N. xanthina</i>
Aveskamp <i>et al.</i> (2010)	Netherlands	GU237580.1	CBS 381.91	<i>N. anigozanthi</i>
"	"	GU237611.1	CBS 377.67	<i>N. gossypicola</i>
Valenzuela-Lopez <i>et al.</i> (2018)	Spain	LT593012.1	FMR 13787	<i>N. gossypicola</i>
<b>In this study</b>	<b>Iran</b>	<b>MT364362</b>	<b>SaFr11</b>	<b><i>N. gossypicola</i></b>
Aveskamp <i>et al.</i> (2010)	Netherlands	GU237609.1	CBS 633.92	<i>N. quercina</i>
"	"	GU237585.1	CBS 627.97	<i>Phomatodes aubrietiae</i>
"	"	GU237633.1	CBS 117.93	<i>P. nebulosa</i>
Chen <i>et al.</i> (2015)	China	KT389839.1	CBS 740.96	<i>P. nebulosa</i>
Valenzuela-Lopez <i>et al.</i> (2018)	Spain	LT623276.1	CBS:407.76	<i>Pyrenochaeta nobilis</i>
Aveskamp <i>et al.</i> (2010)	Netherlands	GU237589.1	CBS 357.84	<i>Vacuiphoma bulgarica</i>
Valenzuela-Lopez <i>et al.</i> (2018)	Spain	LT593023.1	FMR 13801	<i>V. oculihominis</i>

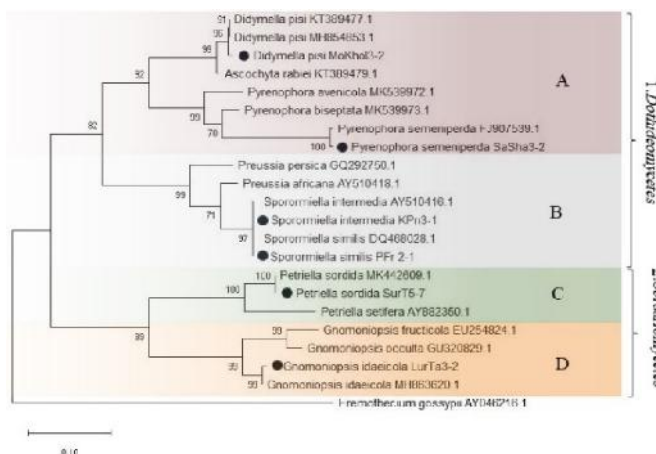
جدول ۴- توالی‌های استفاده شده در این مطالعه برای ترسیم تبارنمای فیلوژنتیکی براساس ناحیه EF-1

**Table 4.** Used sequences in this study for construction of phylogenetic tree based on EF-1 region

منبع Reference	مکان Locality	رس‌شمار Accession No.	جدایه Isolate	آرایه Taxon
Nalim <i>et al.</i> (2009)	USA	FJ154737.1	R-6678	<i>Fusarium acuminatum</i>
Wang <i>et al.</i> (2015)	China	KP325409.1	M7	<i>F. acuminatum</i>
<b>In this study</b>	<b>Iran</b>	<b>MT364359</b>	<b>RSB</b>	<b><i>F. acuminatum</i></b>
Stefanczyk <i>et al.</i> (2016)	Poland	KP674208.1	Z172B	<i>F. avenaceum</i>
"	"	KP674212.1	Z161	<i>F. avenaceum</i>
"	"	KP400695.1	M169	<i>F. oxysporum</i>
Proctor <i>et al.</i> (2013)	USA	KF466420.1	FRC O-1890	<i>F. oxysporum</i>
Wulff <i>et al.</i> (2010)	Denmark	FN252396.1	34ALH	<i>F. proliferatum</i>
Wang <i>et al.</i> (2015)	China	KP313249.1	PT5	<i>F. proliferatum</i>
Proctor <i>et al.</i> (2009)	USA	GQ915504.1	NRRL 13381	<i>F. camptoceras</i>
Watanabe <i>et al.</i> (2013)	Japan	AB820706.1	CBS 193.65	<i>F. camptoceras</i>

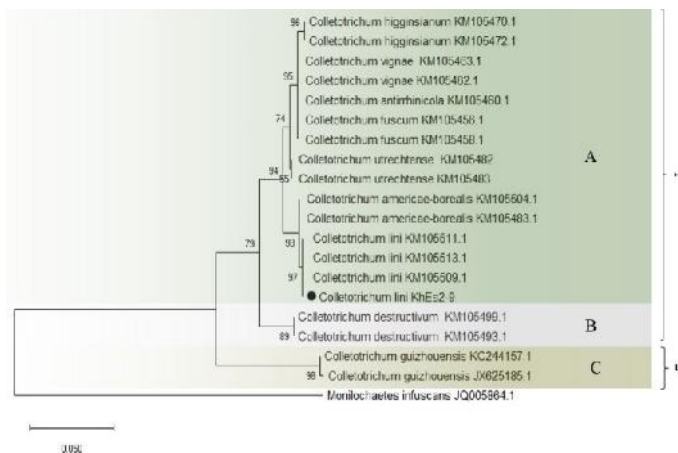
**Table 4 (contd)** **جدول ۴ (ادامه)**

"	"	AB674267.1	MAFF 236521	<i>F. incarnatum</i>
Elmer <i>et al.</i> (2011)	USA	GQ856964.1	CaesSaMA8	<i>F. incarnatum</i>
"	"	GQ856974.1	CaesSaVA3	<i>F. incarnatum</i>
"	"	GQ856980.1	NRRL 34176	<i>F. langsethiae</i>
Garibaldi <i>et al.</i> (2016)	Italy	KT149290.1	Feq12-14	<i>F. equiseti</i>
Proctor <i>et al.</i> (2009)	USA	GQ915507.1	NRRL 13405	<i>F. equiseti</i>
<b>In this study</b>	<b>Iran</b>	<b>MT364360</b>	<b>KhPi1-10</b>	<b><i>F. equiseti</i></b>
Hirooka <i>et al.</i> (2011)	USA	HM484522.2	A.R. 4108	<i>Nectria aquifolii</i>



**شکل ۵-** تبارنمای فیلوژنتیکی ترسیم شده براساس نواحی ITS (ITS1-5.8S-ITS2) به روش maximum likelihood در نرم‌افزار MEGA 6.0. دایره توپُر نشان‌دهنده جدایه‌های به دست آمده در این تحقیق می‌باشند. اعداد روی انشعابات نشان‌دهنده مقادیر آزمون اعتبارسنجی با ۱۰۰۰ تکرار هستند. جدایه *Eremothecium gossypii* (AY046216.1) به عنوان گروه خارجی استفاده شده است.

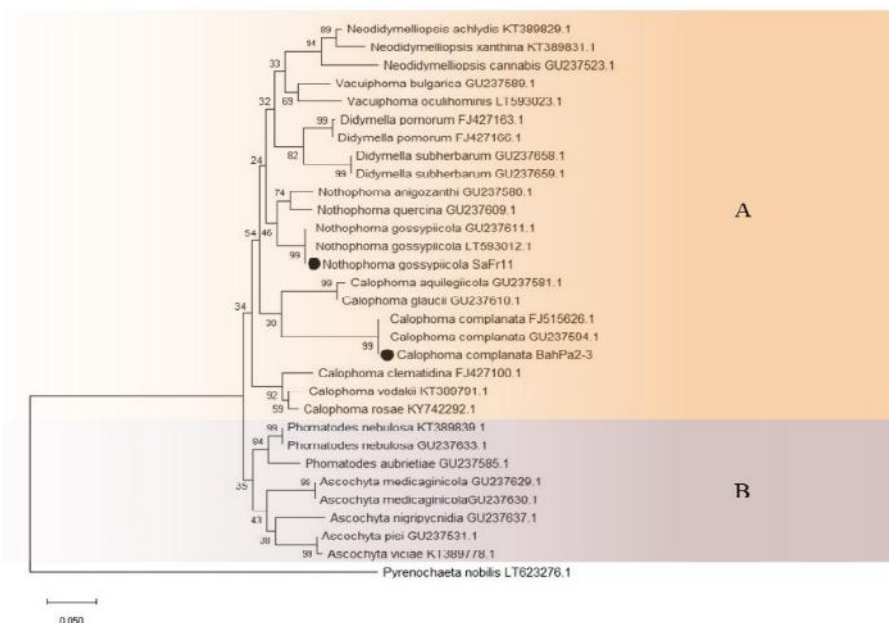
**Fig. 5.** Phylogenetic tree inferred from ITS regions (ITS1-5.8S-ITS2) using maximum likelihood method in MEGA 6.0. Solid circles indicate the obtained isolates in the present study. Numbers on the branches are bootstrap values of 1000 replicates. *Eremothecium gossypii* (AY046216.1) was used as outgroup.



**شکل ۶-** تبارنمای فیلوژنتیکی ترسیم شده برای گونه‌های جنس *Colletotrichum* و براساس ناحیه بتا توبولین (T1) به روش maximum likelihood در نرم‌افزار MEGA 6.0. دایره توپُر نشان‌دهنده جدایه به دست آمده در این تحقیق می‌باشد. اعداد روی انشعابات نشان‌دهنده مقادیر آزمون اعتبارسنجی با ۱۰۰۰ تکرار هستند. جدایه *Monilochaetes infuscans* (JQ005864.1) به عنوان گروه خارجی استفاده شده است.

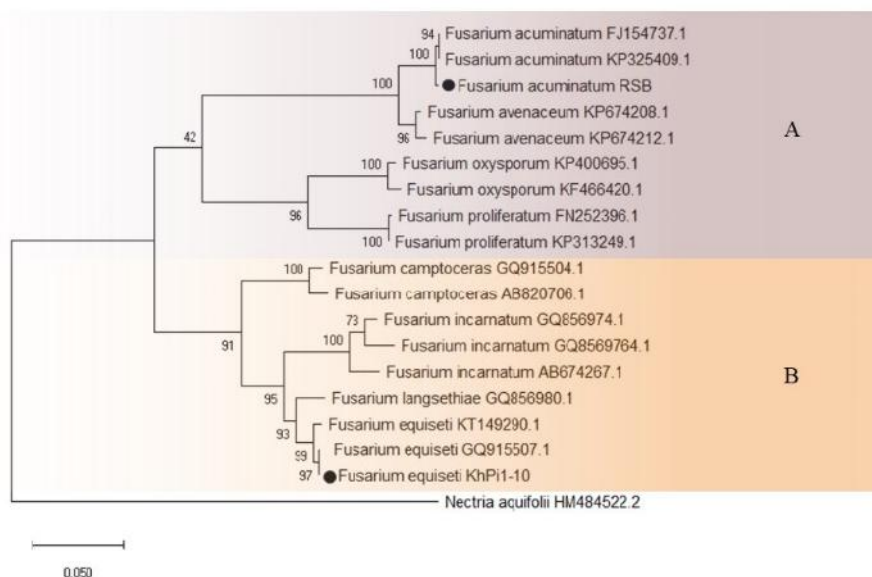
**Fig. 6.** Phylogenetic tree for *Colletotrichum* species inferred from beta tubulin region (T1) using maximum likelihood method in MEGA 6.0. Solid circle indicates the obtained isolate in the present study. Numbers on branches are bootstrap values of 1000 replicates. *Monilochaetes infuscans* (JQ005864.1) was used as outgroup.





شکل ۷- تبارنمای فیلوژنتیکی ترسیم شده براساس ناحیه بتا توبولین (TUB2) به روش maximum likelihood در نرم‌افزار MEGA 6.0. دایره توپُر نشان‌دهنده جدایه به دست آمده در این تحقیق می‌باشند. اعداد روی انشعابات نشان‌دهنده مقادیر آزمون اعتبارسنجی با ۱۰۰۰ تکرار هستند. جدایه *Pyrenochaeta nobilis* (LT623276.1) به عنوان گروه خارجی استفاده شده است.

**Fig. 7.** Phylogenetic tree inferred from beta tubulin region (TUB2) using maximum likelihood method in MEGA 6.0. Solid circles indicate the obtained isolates in the present study. Numbers on branches are bootstrap values of 1000 replicates. *Pyrenochaeta nobilis* (LT623276.1) was used as an outgroup.



شکل ۸- تبارنمای فیلوژنتیکی ترسیم شده برای گونه‌های جنس *Fusarium* و براساس ناحیه *EF-1* به روش maximum likelihood در نرم‌افزار MEGA 6.0. دایره توپُر نشان‌دهنده جدایه به دست آمده در این تحقیق می‌باشند. اعداد روی انشعابات نشان‌دهنده مقادیر آزمون اعتبارسنجی با ۱۰۰۰ تکرار هستند. جدایه گونه *Nectria aquifolii* (HM484522.2) به عنوان گروه خارجی استفاده شده است.

**Fig. 8.** Phylogenetic tree for *Fusarium* species inferred from *EF-1* region using maximum likelihood method in MEGA 6.0. Solid circles indicate the obtained isolate in the present study. Numbers on branches are bootstrap values of 1000 replicates. *Nectria aquifolii* (HM484522.2.1) was used as outgroup.

صورت گرفته، ناحیه ژنی بتا توپولین انتخاب شد و در تحقیق حاضر، برای جدایه‌های مورد بررسی به خوبی عمل کرد. در مورد جنس *Fusarium*، از توالی ناحیه ژنی *EF-1*، استفاده گردید (Geiser et al. 2004) که این ناحیه ژنی نیز در پژوهش حاضر گونه‌های مورد بررسی را به خوبی تفکیک نمود. در تمام موارد، شناسایی ریخت‌شناختی و مولکولی برهم منطبق بودند. پس از تایید ریخت‌شناختی و مولکولی گونه‌ها در پژوهش حاضر، مشخص شد که از ۱۱ جدایه، چهار گونه برای بیوتای قارچی ایران جدید هستند. این گونه‌ها برای نخستین بار از میزبان‌های ذکر شده گزارش می‌شوند و همه گیاهان مورد بررسی به جز گیاه خلر، میزبان جدیدی برای گونه‌های قارچی شناسایی شده در این تحقیق در دنیا است. این نخستین مطالعه نسبتاً فراگیر به منظور معرفی برخی قارچ‌های همراه با علائم لکه‌برگی گیاهان خود رو در استان چهارمحال و بختیاری است.

#### سپاسگزاری

نگارندگان از حمایت‌های مالی دانشگاه تهران و همچنین از فراهم کردن محیطی مناسب برای انجام این تحقیق سپاسگزار هستند.

اطلاعات توالی DNA در حال حاضر، معمولاً برای مرور مفاهیم ریخت‌شناختی گونه‌ها و سایر فرضیه‌های طبقه‌بندی مورد استفاده قرار می‌گیرد (Hunter et al. 2006). تجزیه و تحلیل توالی‌های DNA پایدار هستند، زیرا تحت تأثیر شرایط محیطی قرار نمی‌گیرند (Moralejo et al. 2008). با توجه به نوع جنس قارچ، به طور عمومی از توالی نوکلئوتیدی نواحی ژنومی ITS و بعد از مطالعات صورت گرفته برای تعدادی از جدایه‌ها که با توالی نوکلئوتیدی نواحی ITS به خوبی قابل تفکیک نبودند، از توالی نوکلئوتیدی نواحی ژنی توپولین و *EF-1* استفاده شد. دام و همکاران (۲۰۱۴) با استفاده از تجزیه و تحلیل فیلوژنتیکی براساس توالی هشت ناحیه ژنومی (*GS*، *TUB2*، *ITS-rDNA*)، *GAPDA*، *CHS-1*، *CAL* و *ACT*)، به مطالعه جامع و بازنگری گونه مرکب *Colletotrichum destructivum* پرداختند. از بین نواحی ژنومی مورد استفاده، ناحیه ژنی بتا توپولین، بهترین عملکرد را در شناسایی گونه‌ها داشته است. امیردهی و همکاران (۲۰۱۷)، با استفاده از توالی‌یابی نواحی ژنومی ITS، اکتین و بتا توپولین به مطالعه فیلوژنتیکی گونه‌های جنس *Phoma* و آرایه‌های وابسته به آن در ایران پرداخته‌اند که ناحیه بتا توپولین قادر به تفکیک گونه‌های قارچی بوده است. براساس مطالعات

#### References

- Amirdehi, E., Fotouhifar, K.B. & Javan-Nikkhah, M. 2017. Morphological and molecular study on some species of *Phoma* and related taxa in Iran. *Rostaniha* 18(1): 59–76.
- Alizadeh, A., Javan-Nikkhah, M., Zare, R., Fotouhifar, K.B., Damm, U. & Stukenbrock, E.H. 2015. New records of *Colletotrichum* species for the mycobiota of Iran. *Mycologia Iranica* 2(2): 94–108.
- 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.
- Arenal, F., Platas, G. & Pelaez, F. 2005. *Preussia africana* and *Preussia pseudominima*, two new *Preussia* species defined based on morphological and molecular evidences. *Fungal Diversity* 20: 1–15.
- Arzanlou, M., Groenewald, J.Z., Gams, W. Braun, U., Shin, H.-D & Crous, P.W. 2007. Phylogenetic and morphotaxonomic revision of *Ramichloridium* and allied genera. *Studies in Mycology* 58: 57–93.
- Arzanlou, M., Bakhshi, M., Karimi, K. & Torbati, M. 2015. Multigene phylogeny reveals three new records of *Colletotrichum* spp. and several new host records for the mycobiota of Iran. *Journal of Plant Protection Research* 55(2): 198–211.
- Asgari, B. & Zare, R. 2010. Two new species of *Preussia* from Iran. *Nova Hedwigia* 90: 533–548.
- Aveskamp, M.M., Verkley, G.J., de Gruyter, J., Murace, M.A., Perello, A., Woudenberg, J.H., Groenewald, J.Z. & Crous, P.W. 2009. DNA phylogeny reveals polyphyly of *Phoma* section *Peyronellaea* and multiple taxonomic novelties. *Mycologia* 101(3): 363–382.
- Aveskamp, M.M., de Gruyter, J., Woudenberg, J.H., Verkley, G.J. & Crous, P.W. 2010. Highlights of the Didymellaceae: A polyphasic approach to characterise *Phoma* and related pleosporalean genera. *Studies in Mycology* 65: 1–60.

- Azad, R., Hamza, A., Khatun, M.M., Nasrin, Sh., Tanny, T., Chandra Das, K., Salimullah, M. & Alam, I. 2020. First report of *Colletotrichum siamense* causing leaf spot in *Aloe vera* in Bangladesh. Plant Disease. <https://doi.org/10.1094/PDIS-04-20-0857-PDN>.
- Behrooz, S.Y., Salari, M., Pirnia, M. & Sabbagh, S.K. 2015. Identification of *Ramularia* species on some medicinal plants in Kohgiluyeh and Boyerahmad Province. Iranian Journal of Plant Protection Science 46(1): 113–117.
- Bhandari, S., Harsh, N.S.K., Sharma, A.K., Puni Mao, L. & Thakur, S. 2014. A database of diseases of medicinal plants in Uttarakhand. The Indian Forester 140(5): 518–527.
- Boerema, G.H., De Gruyter, J., Noordeloos, M.E. & Hamers, M.E.C. 2004. *Phoma* identification manual, differentiation of specific and infraspecific taxa in culture. CABI Publishing, London, United Kingdom, 470 pp.
- Chandel, S., Dubey K. & Kaushal, P. 2014. Major diseases of medicinal and aromatic plants recorded in Himachal Pradesh-India. Plant Disease Sciences 9(2): 145–153.
- Chen, Q., Jiang, J.R., Zhang, G.Z., Cai, L. & Crous, P.W. 2015. Resolving the *Phoma* enigma. Studies in Mycology 82: 137–217.
- Chen, Q., Hou, L.W., Duan, W.J., Crous, P.W. & Cai, L. 2017. Didymellaceae revisited. Studies in Mycology 87: 105–159.
- Crous, P.W., Schumacher, R.K., Akulov, A., Thangavel, R., Hernandez-Restrepo, M., Carnegie, A.J., Cheewangkoon, R., Wingfield, M.J., Summerell, B.A., Quaedvlieg, W., Coutinho, T.A., Roux, J., Wood, A.R., Giraldo, A. & Groenewald, J.Z. 2019. New and interesting fungi 2. Fungal Systematics and Evolution 3: 57–134.
- Damm, U., Cannon, P.F., Woudenberg, J.H.C. & Crous, P.W. 2012. The *Colletotrichum acutatum* species complex. Studies in Mycology 73: 37–113.
- Damm, U., O'Connell, R.J., Groenewald, J.Z. & Crous, P.W. 2014. The *Colletotrichum destructivum* species complex-hemibiotrophic pathogens of forages and field crops. Studies in Mycology 79: 49–84.
- Elmer, W.H. & Marra, R.E. 2011. New species of *Fusarium* associated with dieback of *Spartina alterniflora* in Atlantic salt marshes. Mycologia 103(4): 806–819.
- Felsenstein, J. 1985. Confidence limits on phylogenies an approach using the bootstrap. Evolution 39: 783–791.
- Gafforov, Y.S. 2017. A preliminary checklist of Ascomycetous microfungi from Southern Uzbekistan. Mycosphere 8(4): 660–696.
- Garibaldi, A., Gilardi, G., Ortu, G. & Gullino, M.L. 2016. First report of leaf spot of lettuce (*Lactuca sativa*) caused by *Fusarium equiseti* in Italy. Plant Disease 100(2): 531.
- Garibaldi, A., Gilardi, G., Matic, S., Luongo, I. & Gullino, M.L. 2020. First report of leaf spot of *Alcea rosea* caused by *Alternaria alternata* in Italy. Plant Disease 104(2): 588.
- Geiser, D.M., del Mar Jimenez-Gasco, M., Kang, S., Makalowska, I., Veeraraghavan, N., Ward, T.J., Zhang, N., Kuldán, G.A. & O'Donnell, K. 2004. *FUSARIUM-ID* v. 1.0: A DNA sequence database for identifying *Fusarium*. European Journal of Plant Pathology 110: 473–479.
- Glass, N.L. & Donaldson, G. 1995. Development of primer sets designed for use with PCR to amplify conserved genes from filamentous ascomycetes. Applied and Environmental Microbiology 61: 1323–1330.
- Gonzalez, V. & Tello, M.L. 2011. The endophytic mycota associated with *Vitis vinifera* in central Spain. Fungal Diversity 47: 29–42.
- Hirooka, Y., Rossman, A.Y. & Chaverri, P. 2011. A morphological and phylogenetic revision of the *Nectria cinnabarina* species complex. Studies in Mycology 68: 35–56.

- Hunter, G.C., Wingfield, B.D., Crous, P.W. & Wingfield, M.J. 2006. A multi-gene phylogeny for species of *Mycosphaerella* occurring on Eucalyptus leaves. *Studies in Mycology* 55: 147–161.
- Hu, J., Yang, J.Y., Li, J., Gao, T., Yang, G.W. & Ren, H.Y. 2018. First report of *Drechslera andersenii* causing leaf spot on perennial ryegrass in Jiangsu China. *Plant Disease* 102(6): 1174.
- Isakeit, T., Commer, B., Shaw, B.D., Brown, M. & Neely, C. 2017. First report of leaf spot of barley caused by *Drechslera gigantea* in the United States. *Plant Disease* 101(8): 1548.
- Jiang, Y.L., Wu, Y.M., Xu, J.J., Kong, J.H. & T.Y., Zhang. 2018. *Endophragmiella terricola*, *Gliomastix verrucipes*, and *Radulidium guttiforme* spp. nov. from soil in China. *Mycotaxon* 133: 301–305.
- Khosravipoor, B., Siahpoosh, A. & Mahmadi Karbalaee, Z. 2015. The Importance of Cultivating Medicinal Plants and Producing their Products in Agriculture. The First Conference on Medicinal Plants and Herbal Medicines, Tehran. Farzin Center for Sustainable Development of Science and Technology.
- Kurtzman, C.P. & Robnett, C.J. 2003. Phylogenetic relationships among yeasts of the 'Saccharomyces complex' determined from multigene sequence analyses. *FEMS Yeast Research* 3(4): 417–432.
- Leslie, J. & Summerell, B. 2006. The *Fusarium* Laboratory Manual. Blackwell Publishing Professional, Ames, IA, USA, 388 pp.
- Li, S., Bradley, C.A., Hartman, G.L. & Pedersen W.L. 2001. First report of *Phomopsis longicolla* from Velvetleaf causing stem lesions on inoculated soybean and Velvetleaf plants. *Plant Disease* 85: 1031.
- Marin-Felix, Y., Hernandez-Restrepo, M., Iturrieta-Gonzalez, 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.
- Mavragani, D., Hamel, C. & Vujanovic, V. 2011. Species-specific PCR-DGGE markers to distinguish *Pyrenophora* species associated to cereal seeds. *Fungal Biology* 115(2): 169–175.
- Moralejo, E., Clemente, A., Descals, E., Belbahri, L., Calmin, G., Lefort, F., Spies, C.F. & McLeod, A. 2008. *Pythium recalcitrans* sp. nov. revealed by multigene phylogenetic analysis. *Mycologia* 100(2): 310–319.
- Mozaffarian, V. 2017. Flora of Chaharmahal and Bakhtiari Province. Publications of Meemarkhaneh Bagh Nazar, Isfahan, 1224 pp. (In Persian).
- Mueller, G.M., Bills, G.F. & Foster, M.S. 2004. Biodiversity of Fungi: Inventory and Monitoring Methods. Elsevier Academic Press, Burlington, USA, 777 pp.
- Mungai, P.G., Njogu, J.G., Chukeatirote, E. & Hyde, K.D. 2012. Coprophilous ascomycetes in Kenya: *Sporormiella* from wildlife dung. *Mycology* 3(4): 234–251.
- Nalim, F.A., Elmer, W.H., McGovern, R.J. & Geiser, D.M. 2009. Multilocus phylogenetic diversity of *Fusarium avenaceum* pathogenic on lisanthus. *Phytopathology* 99(4): 462–468.
- Nirenberg, H.I. 1976. Untersuchungen über die morphologische und biologische Differenzierung in der *Fusarium*-Sektion *Liseola*. *Mitteilungen aus der Biologischen Bundesanstalt für Land- und Forstwirtschaft Berlin-Dahlem*, 169: 1–117.
- Noori Gandok, M. 2016. Isolation and Identification of endophytic fungi from Moldavian balm, Pennyroyal and Peppermint in Urmia. MSc thesis in Plant Pathology. Urmia University, 156 pp.
- Noumeur, S.R., Helaly, S.E., Jansen, R., Gereke, M., Stradal, T.E.B., Harzallah, D. & Stadler, M. 2017.

- Preussilides A-F, bicyclic polyketides from the endophytic fungus *Preussia similis* with antiproliferative activity. *Natural Products* 80: 1531–1540.
- O'Connell, R.J., Thon, M.R., Hacquard, S., Amyotte, S.G., Kleemann, J., Torres, M.F., Damm, U., Buiate, E.A., Epstein, L., Alkan, N., Altmuller, J., Alvarado-Balderrama, L., Bauser, C.A., Becker, C., Birren, B.W., Chen, Z., Choi, J., Crouch, J.A., Duvick, J.P., Farman, M.A., Gan, P., Heiman, D., Henrissat, B., Howard, R.J., Kabbage, M., Koch, C., Kracher, B., Kubo, Y., Law, A.D., Lebrun, M.H., Lee, Y.H., Miyara, I., Moore, N., Neumann, U., Nordstrom, K., Panaccione, D.G., Panstruga, R., Place, M., Proctor, R.H., Prusky, D., Rech, G., Reinhardt, R., Rollins, J.A., Rounsley, S., Schardl, C.L., Schwartz, D.C., Shenoy, N., Shirasu, K., Sikhakolli, U.R., Stuber, K., Sukno, S.A., Sweigard, J.A., Takano, Y., Takahara, H., Trail, F., van der Does, H.C., Voll, L.M., Will, I., Young, S., Zeng, Q., Zhang, J., Zhou, S., Dickman, M.B., Schulze-Lefert, P., van Themaat, E.V., Ma, L.J. & Vaillancourt, L.J. 2012. Lifestyle transitions in plant pathogenic *Colletotrichum* fungi deciphered by genome and transcriptome analyses. *Nature Genetics* 44: 1060–1065.
- O'Donnell, K. & Cigelnik, E. 1997. Two divergent intragenomic rDNA ITS2 types within a monophyletic lineage of the fungus *Fusarium* are nonorthologous. *Molecular Phylogenetics and Evolution* 7: 103–116.
- O'Donnell, K., Kistler, H.C., Tacke, B.K. & Casper, H.H. 2000. Gene genealogies reveal global phylogeographic structure and reproductive isolation among lineages of *Fusarium graminearum*, the fungus causing wheat scab. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* 97: 7905–7910.
- Platas, G., Arenal, F. & Pelaez, F. 2007. A new endophytic species of *Preussia* (Sporormiaceae) inferred from morphological observations and molecular phylogenetic analysis. *Fungal Diversity* 25: 1–17.
- Proctor, R.H., McCormick, S.P., Alexander, N.J. & Desjardins, A.E. 2009. Evidence that a secondary metabolic biosynthetic gene cluster has grown by gene relocation during evolution of the filamentous fungus *Fusarium*. *Molecular Microbiology* 74(5): 1128–1142.
- Proctor, R.H., Van Hove, F., Susca, A., Stea, G., Busman, M., van der Lee, T., Waalwijk, C., Moretti, A. & Ward, T.J. 2013. Birth, death and horizontal transfer of the fumonisin biosynthetic gene cluster during the evolutionary diversification of *Fusarium*. *Molecular Microbiology* 90(2): 290–306.
- Razaghi, P. & Zafari, D. 2012. Mycobiota of volunteer plants in Hamedan province. *Rostaniha* 13(1): 57–68.
- Razaghi, P. & Zafari, D. 2017. Characterization of fungi causing lesion blight on *Papaver dubium* in Iran. *Antonie van Leeuwenhoek* 111(3): 437–455.
- Rainer, J. & De Hoog, G.S. 2006. Molecular taxonomy and ecology of *Pseudallescheria*, *Petriella* and *Scedosporium prolificans* (Microasceae) containing opportunistic agents on humans. *Mycological Research*, 110: 151–160.
- Safaei, N., Mehdizadeh, V., Ebadi, M.T. & Saeedi, A. 2013. *Medicinal Plant Diseases*. Agricultural Education and Promotion, Tehran, 382 pp.
- Sogonov, M.V., Castlebury, L.A., Rossman, A.Y., Mejia, L.C. & White, J.F. 2008. Leaf-inhabiting genera of the Gnomoniaceae, Diaporthales. *Studies in Mycology* 62: 1–77.
- Stevanovic, M., Ristic, D., Zivkovic, S., Aleksic, G., Stankovic, I., Krstic, B. & Bulajic, A. 2019. Characterization of *Gnomoniopsis idaeicola*, the causal agent of canker and wilting of blackberry in Serbia. *Plant Disease* 103(2): 249–258.
- Stefanczyk, E., Sobkowiak, S., Brylinska, M. & Sliwka, J. 2016. Diversity of *Fusarium* spp. associated



- with dry rot of potato tubers in Poland. *European Journal of Plant Pathology* 145: 871–884.
- Summerell, B.A., Leslie, J.F., Liew, E.C.Y., Laurence, M.H., Bullock, S., Petrovic, T. & Burgess, L.W. 2010. *Fusarium* species associated with plants in Australia. *Fungal Diversity* 46(1): 1–27.
- Sun, J.Q., Guo, L.D., Zang, W., Li, W.C. & Chi, D.F. 2006. Endophytic fungi IV. Two new records of the genus *Sporormiella* in China. *Mycosystema* 25: 688–690.
- Tamura, K., Stecher, G., Peterson, D., Filipski, A. & Kumar, S. 2013. MEGA 6: molecular evolutionary genetics analysis version 6.0. *Molecular Biology and Evolution* 30: 2725–2729.
- Tao, G., Liu, Z.Y., Liu, F., Gao, Y.H. & Cai, L. 2013. Endophytic *Colletotrichum* species from *Bletilla ochracea* (Orchidaceae), with descriptions of seven new species. *Fungal Diversity* 61: 139–164.
- Valenzuela-Lopez, N., Cano-Lira, J.F., Guarro, D.A., Sutton, N., Wiederhold, P.W., Crous, P.W. & Stchigel, A.M. 2018. Coelomycetous *Dothideomycetes* with emphasis on the families Cucurbitariaceae and Didymellaceae. *Studies in Mycology* 90: 1–69.
- Vu, D., Groenewald, M., de Vries, M., Gehrman, T., Stielow, B., Eberhardt, U., Al-Hatmi, A., Groenewald, J.Z., Cardinali, G., Houbraken, J., Boekhout, T., Crous, P.W., Robert, V. & Verkley, G.J.M. 2019. Large-scale generation and analysis of filamentous fungal DNA barcodes boosts coverage for kingdom fungi and reveals thresholds for fungal species and higher taxon delimitation. *Studies in Mycology* 92: 135–154.
- Walker, D.M., Castlebury, L.A., Rossman, A.Y., Sogonov, M.V. & White, J.F. 2010. Systematics of genus *Gnomoniopsis* (Gnomoniaceae, Diaporthales) based on a three gene phylogeny, host associations and morphology. *Mycologia* 102: 1479–1496.
- Wang, C.W., Ai, J., Fan, S.T., Lv, H.Y., Qin, H.Y., Yang, Y.M. & Liu, Y.X. 2015. *Fusarium acuminatum*: A new pathogen causing postharvest rot on stored Kiwifruit in China. *Plant Disease* 99(11): 1644.
- Wang, Y., Wang, C.W. & Gao, J. 2015. First report of *Fusarium proliferatum* causing fruit rot on grape (*Vitis vinifera*) in China. *Plant Disease* 99(8): 1180.
- Watanabe, M., Yonezawa, T., Lee, K.I., Kumagai, S., Sugita-Konishi, Y., Goto, K. & Hara-Kudo, Y. 2011. Molecular phylogeny of the higher and lower taxonomy of the *Fusarium* genus and differences in the evolutionary histories of multiple genes. *Evolutionary Biology* 11(1): 322.
- Watanabe, M., Yonezawa, T., Sugita-Konishi, Y. & Kamata, Y. 2013. Utility of the phytoalexin relationships among trichothecene-producing *Fusarium* species for predicting their mycotoxin-producing potential. *Food Additives and Contaminants* 30: 1370–1381.
- White, T.J., Bruns, T., Lee, S.J.W.T. & Taylor, J.W. 1990. Amplification and direct sequencing of fungal ribosomal RNA genes for phylogenetics. *PCR protocols: a guide to methods and applications* 18(1): 315–322.
- Woudenberg, J.H.C., Aveskamp, M.M., Gruyter, J.de, Spiers, A.G. & Crous, P.W. 2009. Multiple *Didymella* teleomorphs are linked to the *Phoma clematidina* morphotype. *Persoonia* 22: 56–62.
- Wu, Y.M., Xu, J.J., Wang, H.F. & Zhang, T.Y. 2013. *Radulidium xigazense* sp. nov., *Rhinochlaidiella tibetensis* sp. nov., and three new records of *Ramichloridium* from China. *Mycotaxon* 125: 123–130.
- Wulff, E.G., Sorensen, J.L., Lubeck, M., Nielsen, K.F., Thrane, U. & Torp, J. 2010. *Fusarium* spp. associated with rice Bakanae: ecology, genetic diversity, pathogenicity and toxigenicity. *Environmental Microbiology* 12(3): 649–657.
- Xue, C.S., Lu, Y.Y., Xiao, S.Q. & Duan, Y.X. 2015. First report of *Phomopsis longicolla* causing

- leaf spot on soybean in China. *Plant Disease* 99(2): 290.
- Zhong, S. & Steffenson, B.J., 2001. Genetic and molecular characterization of mating type genes in *Cochliobolus sativus*. *Mycologia* 93: 852–863.
- Zimowska, B., Zalewska, E.D., Krol, E.D. & Furmanczyk, A. 2017. Morphological and Molecular Characterization of *Phoma complanata*, a new causal agent of *Archangelica officinalis* Hoffm. in Poland. *Polish Journal of Microbiology* 66(2): 281–285.

\*\*\*\*\*