

معرفی آرایه‌های جدید از رده‌های *Sordariomycetes* و *Dothideomycetes* همراه با میزبان‌های درختی

برای فونگای ایران*

دریافت: ۱۴۰۰/۰۴/۱۳ / پذیرش: ۱۴۰۰/۰۵/۱۹

عباس آتشی خلیل‌آباد: دانشجوی دکتری بیماری‌شناسی گیاهی، گروه گیاه‌پزشکی، دانشکده علوم و مهندسی کشاورزی، دانشکدگان کشاورزی و منابع طبیعی، دانشگاه تهران، کرج، ۳۱۵۸۷-۷۷۸۷۱، ایران
 خلیل‌بردی فتوحی فر: دانشیار قارچ‌شناسی، گروه گیاه‌پزشکی، دانشکده علوم و مهندسی کشاورزی، دانشکدگان کشاورزی و منابع طبیعی، دانشگاه تهران، ۳۱۵۸۷-۷۷۸۷۱، ایران (fotowhi@ut.ac.ir)

چکیده

به منظور شناسایی برخی قارچ‌های همراه با علائم شانکر و لکه‌برگی، طی فصول تابستان و پاییز سال ۱۳۹۹، از باغ‌ها و جنگل‌های استان‌های البرز و گیلان بازدید به عمل آمد و از درختان کیوی (*Actinidia deliciosa*)، زالزالک (*Crataegus monogyna*)، مو (*Vitis vinifera*) و نمدار (*Tilia cordata*)، دارای علائم شانکر و لکه‌برگی نمونه‌برداری انجام گرفت. پس از جداسازی و خالص‌سازی جدایه‌های قارچی، شناسایی گونه‌های قارچی براساس ویژگی‌های ریخت‌شناختی و مولکولی آرایه‌ها با استفاده از توالی‌یابی نواحی ژنومی آی.تی.اس انجام گرفت. براساس تلفیق داده‌های حاصل، در نهایت، پنج گونه قارچی متعلق به دو رده *Dothideomycetes* شامل گونه‌های *Neosetophoma guiyangensis* از درخت زالزالک و *Scolecobasidium cordanae* از درخت نمدار و رده *Sordariomycetes* شامل گونه‌های *Corynascus sepedonium* از درخت مو، *Harzia palmara* از درخت کیوی و *Sordaria arctica* از درخت زالزالک شناسایی و معرفی می‌شوند. در تحقیق حاضر، تمام آرایه‌های شناسایی شده به جز *C. sepedonium*، برای فونگای ایران جدید هستند. همچنین، درختان کیوی، زالزالک، مو و نمدار به عنوان میزبان جدید برای آرایه‌های قارچی مربوطه در دنیا گزارش می‌شوند.

واژه‌های کلیدی: تاکسونومی، ریخت‌شناسی، فیلوژنی، گونه، میزبان گیاهی

Introduction of new taxa of *Dothideomycetes* and *Sordariomycetes* associated with trees for funga of Iran

Received: 04.07.2021 / Accepted: 10.08.2021

Abbas Atashi Khalilabad: PhD 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 fungi associated with canker and leaf spot symptoms of plants, the gardens and forests of Alborz and Guilan provinces were surveyed and infected plant samples were collected from kiwifruit (*Actinidia deliciosa*), hawthorn (*Crataegus monogyna*), grapevine (*Vitis vinifera*) and linden (*Tilia cordata*) trees, during the summer and autumn of 2020. After isolation and purification of fungal strains, morphological and molecular identification were performed using the sequences of ITS rDNA region. Based on combined data, finally, five fungal species belonging to the class Dothideomycetes including *Neosetophoma guiyangensis* from hawthorn and *Scolecobasidium cordanae* from linden and the class Sordariomycetes including *Corynascus sepedonium* from grapevine, *Harzia palmara* from kiwifruit and *Sordaria arctica* from hawthorn were identified and reported. In the present study, all identified taxa except *C. sepedonium*, are new for the funga of Iran. Also, kiwifruit, hawthorn, grapevine and linden trees are reported as new hosts (matrix nova) for respective fungal taxa in the world.

Keywords: Host plant, morphology, phylogeny, species, taxonomy

مقدمه

جنس *Pseudocercospora* Sp. را به عنوان عامل لکه‌برگی درختان مو (*Vitis vinifera* L.) در کشور چین مورد بررسی قرار دادند. نتایج حاصل از آزمون بیماری‌زایی نشان داد که تنها گونه *Pseudocercospora vitis* (Lév.) Sp. به عنوان عامل اصلی لکه‌برگی می‌تواند خسارت ایجاد نماید. واینیو و همکاران (Vainio et al. 2017) گونه *Apiognomonina errabunda* (Roberge ex Desm.) Höhn را به عنوان قارچ عامل ریزش برگ‌های درخت نمدار در کشور فنلاند معرفی نمودند. کیم و کوه (Kim & Koh 2018) نیز به مطالعه مهم‌ترین بیماری‌های لکه‌برگی درختان کیوی در کشور کره پرداختند که در این پژوهش، آرایه‌های قارچی *Phyllactinia*، *Botrytis cinerea* Pers.، *Pseudocercospora actinidiae* actinidiae (Jacz.) Bunkina، *Pseudocercospora hangzhouensis* X.J. Liu & Deighton، *Glomerella cingulata* Phomopsis (Sacc.) Bubák، Y.L. Guo، *Alternaria alternata* (G.F. Atk.) Spauld. & H. Schrenk (Fr.) Keissl. و *Pestalotiopsis* Steyaert و همکاران (Borcean et al. 2019)، گونه *Diplocarpon mespili* (Sorauer) B. Sutton را به عنوان قارچ عامل لکه‌برگی درخت زالزالک (*Crataegus monogyna*) گزارش کردند. سالازار-سرزو و همکاران (Salazar-Cerezo et al. 2020) به مطالعه عوامل قارچی مرتبط با علائم لکه‌برگی درخت زالزالک (*Crataegus* sp.) پرداختند و جنس‌های *Alternaria* Nees، *Drechslera* S.، *Aureobasidium* Viala & G. Boyer و *Paecilomyces* Bainier، *Fusarium* Link. Ito و *Ulocladium* Preuss را جداسازی کردند. در نهایت، پس از انجام آزمون بیماری‌زایی و داده‌های حاصل از توالی‌یابی نواحی ژنومی (آی.تی.اس.)، دو گونه *Fusarium equiseti* (Corda) و *Alternaria arborescens* E.G. Simmons و Sacc. به عنوان عامل لکه‌برگی گزارش شدند. راجپوت و همکاران (Rajput et al. 2020) گونه *Curvularia verruculosa* Tandon & Bilgrami را به عنوان عامل لکه‌برگی درختان مو در کشور افغانستان گزارش نمودند. وانگ و همکاران (Wang et al. 2021) نیز گونه *Botryosphaeria dothidea* (Moug.) Ces. & De Not. را به عنوان عامل پوسیدگی میوه کیوی در کشور چین گزارش کردند. در ایران، موسی‌خواه و همکاران (Mousakhah et al. 2014) در مطالعه‌ای، به بررسی عوامل قارچی همراه با علائم لکه‌برگی، سوختگی و پوسیدگی میوه کیوی در استان گیلان پرداختند، که در آن گونه‌های *Alternaria alternata*، *Diaporthe actinidiae* N.F. Sommer & Beraha

سرزمین ایران از نظر تنوع اقلیمی، کشوری منحصر به فرد محسوب می‌شود و به لحاظ غنای گیاهی و تنوع زیستی دارای اهمیت زیادی است. از ۶۴ راسته گیاهی ارایه شده در چهارمین و آخرین نسخه سیستم رده‌بندی مبتنی بر مطالعات جامع تبارشناختی گیاهی (Angiosperm Phylogeny Group, APG IV)، ۳۹ راسته دارای اعضای در ایران هستند؛ به این معنی که حدود ۶۱٪ از راسته‌های گیاهی دنیا، دارای نماینده‌هایی در ایران هستند. در مجموع، فلور ایران به طور تقریبی دارای ۸۶۲۸ گونه گیاهی است. با توجه به این که بررسی‌های دقیق جنس‌های مختلف اغلب منجر به شناسایی گونه‌های جدیدی برای ایران شده است، لذا تخمین زده می‌شود که حدود ۱۰٪ از فلور ایران هنوز ناشناخته است. به عبارت دیگر، تعداد واقعی کورموفیت‌های ایران احتمالاً بین ۹۵۰۰ تا ۱۰۰۰۰ گونه است (Ghahremaninejad & Nejad Falatoury 2016).

بیش از ۱۹۰۰۰ گونه قارچی در سراسر جهان باعث ایجاد بیماری در گیاهان مختلف می‌شوند. این گونه‌ها ممکن است به صورت غیرفعال اما زنده، روی بافت میزبان زندگی کنند و به محض فراهم شدن شرایط مساعد، شروع به تکثیر نمایند و از طریق خاک، آب، باد، حشرات و غیره سریعاً در محیط پراکنده شوند (Jain et al. 2019). از طرفی، در ایران با توجه به موقعیت جغرافیایی و شرایط متنوع اقلیمی، کشت و پرورش انواع درختان به ویژه درختان میوه در مناطق معتدل، سردسیر، نیمه‌گرمسیر و گرمسیر امکان‌پذیر است. محققان متعدد، گونه‌های قارچی متنوعی را از درختان مختلف گزارش کرده‌اند. مونته‌چیو و کازین (Montecchio & Causin 2002)، عوامل ایجادکننده شانکر شاخه‌های درخت زالزالک (*Crataegus monogyna* Jacq.) را در کشور ایتالیا مورد بررسی قرار دادند. از بین گونه‌های مختلف قارچی جداسازی شده از بافت شاخه، تنها دو گونه *Coniothyrium sporulosum* (W. Gams & Domsch) Aa و *Fusarium solani* (Mart) Sacc. بیشترین فراوانی را به خود اختصاص داده و در نهایت پس از آزمون بیماری‌زایی، گونه *Coniothyrium sporulosum* به عنوان عامل ایجادکننده شانکر در شاخه درخت زالزالک معرفی گردیده است. ایوانوا و برنادوویکوا (Ivanová & Bernadovi ová 2006) گونه‌های *Gloeosporium tiliae* و *Cercospora microsora* Sacc. را به عنوان قارچ‌های عامل لکه‌برگی درخت نمدار (*Tilia cordata* Mill.) در کشور اسلواکی گزارش کردند. لیانگ و همکاران (Liang et al. 2015) نیز گونه‌های مختلف قارچی از

رشد نموده از حاشیه بافت‌های گیاهی به طور جداگانه و با روش نوک ریشه و توسط سوزن‌های ظریف و سترون برداشته و داخل تشتک‌های پتری جدید حاوی محیط کشت سیب‌زمینی- دکستروز-آگار (PDA) حاوی آنتی‌بیوتیک جنتامایسین و سولفات استرپتومایسین، در انکوباتور با دمای ۲۵ درجه سلسیوس نگهداری شدند.

- شناسایی قارچ‌ها

شناسایی جدایه‌های قارچی در شرایط استاندارد و براساس ویژگی‌های ریخت‌شناختی و با استفاده از کلیدهای معتبر شناسایی نظیر الیس (Ellis 1976)، دووری (Doveri 2016) و هاید و همکاران (Hyde et al. 2018) و همچنین، با استفاده از داده‌های حاصل از توالی‌یابی ناحیه ITS1-5.8S-ITS2 انجام گرفت. به منظور بررسی ویژگی‌های میکروسکوپی و اندازه‌گیری ابعاد ساختارهای تکثیری قارچی، نمونه میکروسکوپی هر نمونه بسته به قارچ و ویژگی‌های اندام قارچی در محلول لاکتوفنول، اسید لاکتیک ۹۰٪ و کاتن بلو-لاکتوفنل تهیه گردید. سپس اندام‌های قارچی به کمک میکروسکوپ نوری المپوس (Olympus, Japan) مدل BH2 مجهز به چشمی مدرج اندازه‌گیری شدند (حداقل ۲۵ مورد از هر یک از اندام‌های قارچی مورد نظر) و دامنه تغییرات اندازه آن‌ها محاسبه گردید. ویژگی‌های ریخت‌شناختی جدایه‌های قارچی با استفاده از دوربین مدل DSC-H9 متصل به میکروسکوپ عکس‌برداری شد. جدایه‌های قارچی با استفاده از منابع معتبر شناسایی و تعیین نام شدند. در بررسی‌های مولکولی، به منظور تهیه توده میسلیومی مورد نیاز برای استخراج دی.ان.ای، از محیط کشت سیب‌زمینی-دکستروز-آگار (PDA) استفاده شد. جهت استخراج دی.ان.ای، ژنومی از میسلیوم‌های هر جدایه، از روش ژانگ و استفنسون (Zhong & Steffenson 2001) با اندکی تغییرات استفاده شد. برای تکثیر نواحی ITS1-5.8S-ITS2 از rDNA هسته‌ای از ترکیب آغازگرهای ITS1 به همراه ITS4 استفاده شد (White et al. 1990). مخلوط هر واکنش PCR با حجم ۲۵ میکرولیتر شامل ۱۱ میکرولیتر آب دیونیزه سترون، ۱۰ میکرولیتر بافر آماده واکنش، ۰/۲ پیکومول از هر آغازگر و ۱۰ تا ۳۰ نانوگرم/میکرولیتر دی.ان.ای تهیه شد. واکنش PCR در دستگاه ترموسایکلر (Eppendorf, Germany) و با ۳۵ چرخه تحت شرایط واسرشت‌سازی اولیه در دمای ۹۴ درجه سلسیوس به مدت پنج دقیقه، واسرشت‌سازی در دمای ۹۴ درجه سلسیوس به مدت ۳۰ ثانیه، اتصال در دمای ۵۶ درجه سلسیوس به مدت ۴۵ ثانیه، بسط در دمای ۷۲ درجه سلسیوس به مدت ۳۰ ثانیه و بالاخره بسط نهایی در دمای ۷۲ درجه سلسیوس به مدت ۱۰

Colletotrichum gloeosporioides (Penz.) Penz. & Sacc. *Pestalotiopsis longiseta* (Speg.) K. Dai و *Botrytis cinerea* & Tak. Kobay. به ترتیب فراوانی، از بافت‌های دارای علائم جداسازی و معرفی شدند. در سال‌های اخیر، با کاربرد داده‌های توالی چندژنی برای مطالعه عوامل لکه‌برگی در کشور، آرایه‌های جدیدی همراه با لکه‌برگی درختان برای دنیا و ایران شناسایی و معرفی شده‌اند (Bakhshi & Arzanlou 2017, Bakhshi et al. 2019, Braun et al. 2020).

پژوهش حاضر، با هدف بررسی و گزارش برخی گونه‌های قارچی جدید همراه با علائم شانکر و لکه‌برگی از برخی میزبان‌های درختی در دو استان البرز و گیلان انجام گرفت.

روش بررسی

- نمونه‌برداری و جداسازی قارچ‌ها

به منظور جمع‌آوری، جداسازی و شناسایی برخی جدایه‌های قارچی، نمونه‌برداری‌ها در تابستان و پاییز سال ۱۳۹۹ از جنگل‌ها و باغ‌های استان گیلان و همچنین تعدادی از باغ‌های انگور در استان البرز (شهرستان کرج)، از درختان دارای علائم شانکر سرشاخه و لکه‌برگی توسط نگارنده نخست انجام گرفت. نمونه‌های گیاهی جمع‌آوری شده با ثبت مشخصات مربوط به مکان، نام میزبان، تاریخ جمع‌آوری و موقعیت جغرافیایی (GPS)، درون پاکت‌های کاغذی قرار داده شدند و پس از انتقال به آزمایشگاه در دمای چهار درجه سلسیوس نگهداری گردیدند. برای جداسازی استرین‌های قارچی از نمونه‌های آلوده گیاهی، از روش رفایی و همکاران (Refaei et al. 2011)، با اندکی تغییرات استفاده شد. برای این منظور، جهت ضدعفونی کردن سطحی با هدف زدودن قارچ‌های اپیفیت، نمونه‌های آلوده گیاهی به صورت جداگانه، ابتدا در جریان ملایم آب زیر شیر به مدت ۱۰ دقیقه شستشو داده شدند. قطعات گیاهی چوب به ابعاد ۰/۵ × ۰/۵ بریده شده و به مدت دو دقیقه در اتانول ۷۰٪ و سپس به مدت دو دقیقه در هیپوکلریت سدیم ۲٪ و در نهایت به مدت دو دقیقه در آب مقطر سترون قرار داده شدند. برای ضدعفونی بافت برگ، مدت این مراحل به ۳۰ ثانیه کاهش پیدا کرد. در نهایت، نمونه‌های آلوده گیاهی بین کاغذ صافی سترون خشک شدند و به تشتک‌های پتری حاوی محیط کشت آب-آگار (WA) ۲٪ منتقل شدند. به این ترتیب، دو تشتک پتری از هر نمونه آلوده گیاهی کشت شد که هر تشتک حاوی پنج قطعه چوب یا برگ بود. سپس تشتک‌های پتری تلقیح شده به انکوباتور با دمای ۲۵ درجه سلسیوس منتقل شدند. قارچ‌های

به زرد روشن دیده شد. بعد از گذشت پنج روز، اندام‌های باردهی جنسی و غیرجنسی قارچ به فراوانی و از مرکز به سمت حاشیه پرگنه تشکیل شدند. این قارچ، آسکوکاریی از نوع کلیستوتسیوم تولید می‌کند. کلیستوتسیوم‌ها کروی تا تخم‌مرغی شکل، به رنگ قهوه‌ای تا قهوه‌ای تیره و قطر آن‌ها ۱۲۰-۵۰ میکرومتر است که به فراوانی در سطح پرگنه تشکیل می‌شوند. سطح کلیستوتسیوم صاف و براق (glabrous) است. بافت پریدرم نازک و از نوع *textura epidermoidea* (بافت دارای سلول‌های طویل و غیرموازی بوده و حرکت آن‌ها به تمام جهات است و همچنین فضایی بین آن‌ها وجود ندارد) و ضخامت آن ۷-۵ × ۱۴-۸ میکرومتر است. پارافیز دیده نشد. در این جنس، آسک‌ها با عمری کوتاه دارای هشت آسکوسپور بوده و معمولا بیضوی می‌باشند. ابعاد آن‌ها (۲۱/۵)۱۸-۲۵ × (۳۰)۲۶-۳۴ میکرومتر بود. آسکوسپورها تک‌سلولی و دارای سطح صاف، بیضوی تا دوکی شکل، به رنگ قهوه‌ای تیره و به ابعاد (۸)۷/۵-۸/۵ × (۱۵)۱۳-۱۷ میکرومتر بودند. در دو انتهای آسکوسپور، منفذ تندشی وجود دارند. در مرحله غیرجنسی، کنیدیوم‌برهایی از نوع ماکرونماتوس تولید می‌کند که به صورت منفرد و یا راست و به ابعاد (۲/۷۵)۵-۲/۳ × (۲۲/۵)۱۵-۳۰ میکرومتر هستند. کنیدیوم‌ها از نوع هولوبلاستیک، کروی، به رنگ زرد طلایی و به قطر ۱۲-۶ میکرومتر هستند که به صورت منفرد در انتهای کنیدیوم‌بر تشکیل می‌شوند. سطح کنیدیوم‌ها دارای زواید خار مانند (echinulate) است (شکل ۲).

ویژگی‌های ریخت‌شناختی این جدایه با توصیف گونه *Corynascus sepedonium* (Doveri 2016) مطابقت داشت. گونه‌های *C. verrucosus* و *C. fumimontanus* از نظر ریخت‌شناختی به گونه *C. sepedonium* نزدیک هستند. گونه *C. sepedonium* تا حدودی به دلیل عرض بیشتر آسکوسپورها و وجود دو منفذ تندشی در دو انتهای آسکوسپور از گونه *C. verrucosus* (آسکوسپور باریک‌تر و وجود شکاف تندشی مورب در دو انتهای آسکوسپور) متمایز است (Sharma et al. 2013). همچنین، گونه *C. fumimontanus* آسکومایی با سطح زگیلی (verrucose) دارد (Marin-Felix et al. 2015)، در حالی که سطح آسکومای گونه *C. sepedonium* صاف است.

این گونه در ایران، نخستین بار توسط نجات‌سالاری و ارشاد در سال ۱۳۷۳ از گیاه جو در شهرستان تبریز جداسازی و گزارش شده است (Ershad 2009).

دقیقه انجام شد. پس از اتمام واکنش، به منظور ارزیابی محصولات تکثیر شده در PCR از ژل آگاروز ۱٪ به همراه نشانگر اندازه‌دی.ان.ای. ۱۰۰ بازی (ladder mix) ساخت شرکت SMOBIO و رنگ‌آمیزی با اتیدیوم بروماید ۱٪ انجام شد. خالص‌سازی و تعیین توالی نواحی تکثیر شده توسط مرکز تحقیقات کاردیوژنتیک (مرکز آموزشی تحقیقاتی بیمارستان شهید رجایی-تهران) انجام گردید. پس از اخذ توالی‌ها و ویرایش آن‌ها، توالی‌ها با استفاده از ابزار جستجوی BLAST در بانک ژن (NCBI)، مورد مقایسه قرار گرفتند (Altschul et al. 1990). توالی‌های حاصل از این تحقیق به همراه توالی‌های معتبر اخذ شده از بانک ژن (NCBI) (جدول ۱)، با استفاده از نرم‌افزار MEGA Ver. 6.0 (Tamura et al. 2013) هم‌ردیف‌سازی شد. ارزیابی و مقایسه توالی‌ها و ترسیم تبارنمای فیلوژنتیکی با استفاده از روش Maximum Likelihood (ML) انجام گردید. ارزیابی پایداری تبارنماها با استفاده از شاخص اعتبارسنجی (bootstrap) و با ۱۰۰۰ تکرار انجام گردید (Felsenstein 1985). تمام توالی‌های به دست آمده در این تحقیق، در بانک ژن (NCBI) ثبت و راس‌شمار برای آن‌ها اخذ گردید. نتایج حاصله با شناسایی ریخت‌شناختی جدایه‌ها مورد مقایسه قرار گرفت و تعیین نام گونه‌ها تایید گردید. تمام جدایه‌ها در بانک میکروبی پژوهشکده بیوتکنولوژی کشاورزی (ABRII)، کرج، نگهداری می‌شوند.

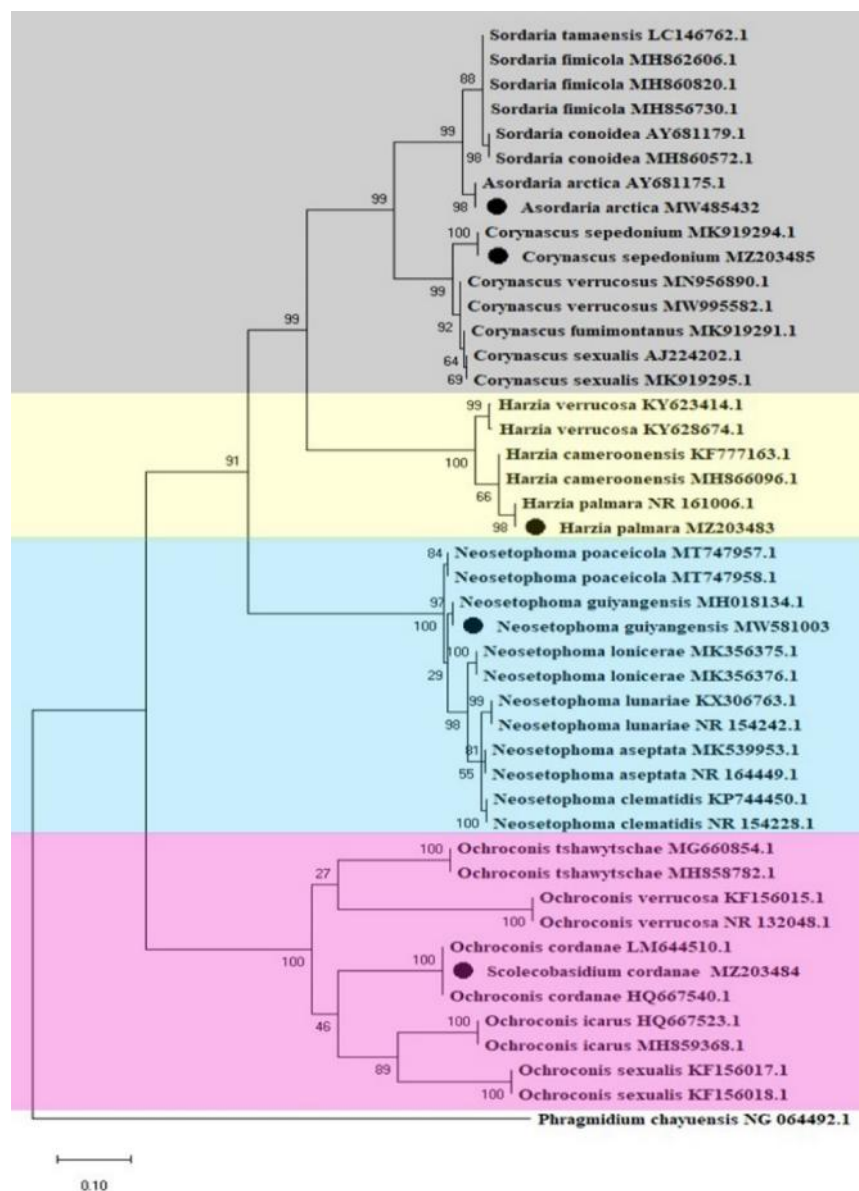
نتیجه

در این تحقیق، پنج گونه قارچی براساس ویژگی‌های ریخت‌شناختی و مولکولی (شکل ۱) مورد شناسایی قرار گرفتند که ویژگی‌های هر یک از آن‌ها به شرح زیر است:

۱- *Corynascus sepedonium* (C.W. Emmons) Arx, Proc. K. Ned. Akad. Wet., Ser. C, Biology and Medical Science 76(3): 292 (1973) نمونه بررسی شده: جدایه MSRT-R5، به دست آمده از علائم لکه‌برگی درخت مو (*Vitis vinifera* L.)، استان البرز، شهرستان کرج، تابستان ۱۳۹۹.

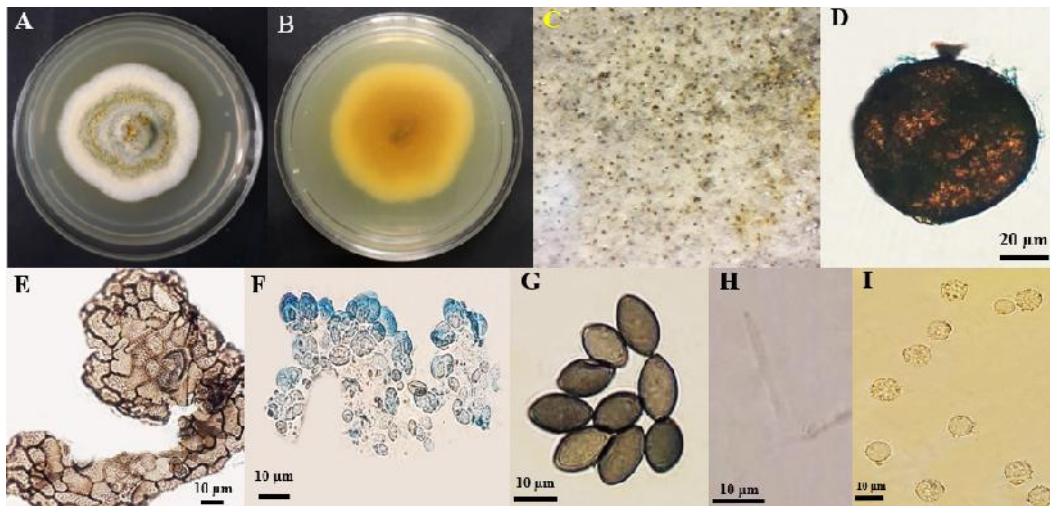
قطر پرگنه قارچ روی محیط کشت PDA در دمای ۲۵ درجه سلسیوس و تحت شرایط تناوب نوری ۱۲ ساعت تاریکی و ۱۲ ساعت نور نزدیک به ماورای بنفش پس از هفت روز، ۴۵ میلی‌متر بود. پرگنه قارچ به صورت فشرده و پنبه‌ای، در ابتدا سفید رنگ و به مرور به رنگ خاکستری روشن با حاشیه‌ای به رنگ سفید تغییر نمود. سطح پشتی پرگنه به رنگ متمایل

در این پژوهش، درخت مو به عنوان میزبان جدیدی در این قارچ در دنیا گزارش می‌شود. جدایه MSRT-R5 در کلکسیون ذخایر میکروبی پژوهشکده بیوتکنولوژی کشاورزی (ABRIICC 10341)، کرج، نگهداری می‌شود.



شکل ۱- تبارنمای فیلوژنتیکی ترسیم شده با استفاده از توالی نوکلئوتیدی ناحیه ITS1-5.8S-ITS2 در ۴۵ آرایه براساس روش Maximum Likelihood در نرم‌افزار MEGA 6.0. اعداد بالای هر شاخه مقدار اعتبارسنجی از ۱۰۰۰ تکرار را نشان می‌دهد. گونه *Phragmidium chayuensis* (NG_064492.1) به عنوان گروه خارجی استفاده شده است. جدایه‌های مورد مطالعه در این تحقیق با دایره توپُر مشخص شده‌اند.

Fig. 1. A Maximum Likelihood tree inferred from nucleotide sequence of ITS1-5.8S-ITS2 region in 45 taxa generated using MEGA 6.0 software. The numbers on the branches are the bootstrap values of 1000 replications. *Phragmidium chayuensis* (NG_064492.1) was used as out group. Recovered isolates in this research are marked with black circles.



شکل ۲- گونه *Corynascus sepedonium*، جدایه MSRT-R5: A-B: سطح رویی و پشتی پرگنه قارچ روی محیط کشت PDA پس از گذشت هفت روز، C-D: کلیستوتسیوم‌ها، E: بافت پریدیوم در کلیستوتسیوم، F: آسک‌ها، G: آسکوسپورها، H: کنیدیوم‌بر منفرد، I: کنیدیوم‌هایی با سطح خاردار.

Fig. 2. *Corynascus sepedonium*, isolate MSRT-R5: A-B. Upper and reverse sides of colony on PDA after seven days, C-D. Cleistothecia, E. Peridium of cleistothecium, F. Asci, G. Ascospores, H. Solitary conidiophore, I. Conidia with echinulate surface.

به صورت منفرد در انتهای کنیدیوم‌بر تشکیل می‌شوند. رنگ آن‌ها زرد طلایی تا نارنجی متمایل به قهوه‌ای و به شکل‌های تخم‌مرغی وارونه و یا گلابی شکل و با سطح چین‌دار تا زگیل‌دار هستند. ابعاد کنیدیوم‌ها $(۳۳/۵) \times (۲۲-۴۵) \times (۴۰) \times (۲۵-۵۵)$ میکرومتر اندازه‌گیری شد. سلول پایه کنیدیوم به رنگ زرد کم‌رنگ، کوچک بوده و ممکن است دارای سطح صاف تا چین‌دار باشد. قاعده کنیدیوم‌ها ممکن است دارای قسمت کوچک به جا مانده از کنیدیوم‌بر باشد. در نوع دیگری از تولید مثل غیرجنسی در این گونه به نام آسپرفیلی-فرم (asperfilli-form)، پایه (stipe) بی‌رنگ تا قهوه‌ای کم‌رنگ، دارای ۱-۳ دیواره عرضی با سطح صاف و یا چین‌دار و به ابعاد $(۳/۵) \times (۲-۵) \times (۱۲-۴)$ میکرومتر اندازه‌گیری شدند. قطر وزیکل‌ها ۱۶-۵ میکرومتر بوده و در انتها دارای فیالیدهایی از نوع آمپولی شکل هستند. ابعاد فیالیدها $(۳/۴-۵/۵) \times (۸/۷۵) \times (۱۰-۷)$ میکرومتر بود. کنیدیوم‌ها تک‌سلولی و تخم‌مرغی تا بیضوی، اغلب در قسمت پایه تخت، بی‌رنگ، دارای سطح صاف، به ابعاد $(۲) \times (۲/۵-۱/۵) \times (۳-۴)$ میکرومتر و به صورت زنجیری در انتهای فیالیدها تشکیل می‌شوند (شکل ۳).

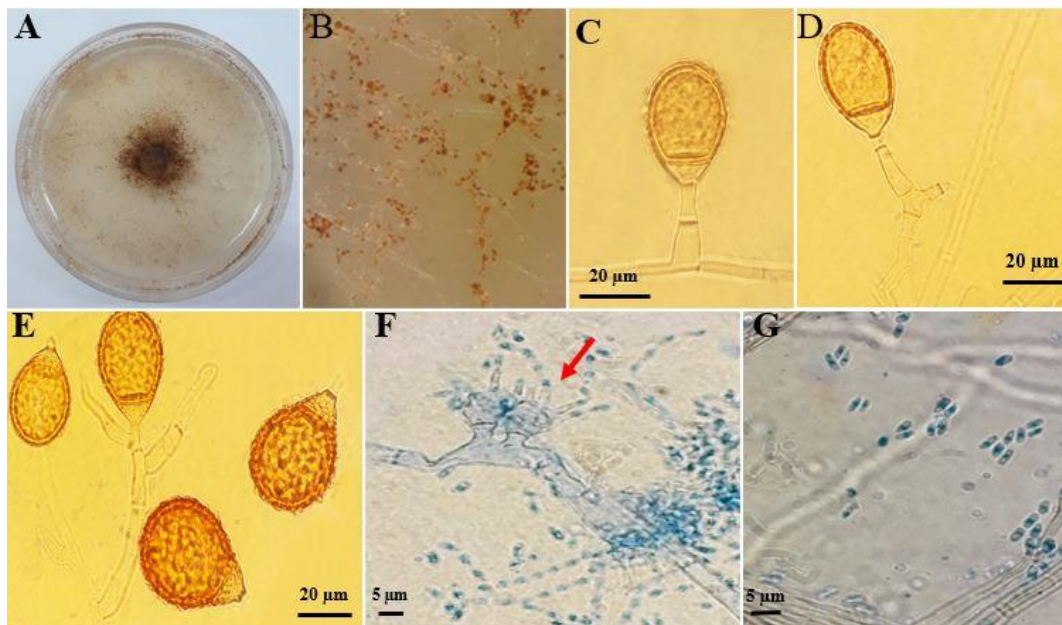
ویژگی‌های ریخت‌شناختی این جدایه با توصیف گونه *Harzia palmara* (Ellis 1976) مطابقت

۲- *Harzia palmara* (Cooke) D.W. Li & N.P. Schultes, in Schultes, Murtishi & Li, Fungal Biology 121(10): 897 (2017) نمونه بررسی شده: جدایه UTSM-G1، به دست آمده از شاخه‌های چندساله و دارای علایم شانکر درخت کیوی (*Actinidia deliciosa* L.)، استان گیلان، شهرستان رودسر، پاییز ۱۳۹۹.

پرگنه قارچ سریع‌الرشد بوده و قطر آن‌ها روی محیط کشت PDA در دمای ۲۵ درجه سلسیوس و تحت شرایط تاریکی مداوم بعد از هفت روز، ۶۵ میلی‌متر بود. پرگنه روی محیط کشت PDA به رنگ قهوه‌ای تیره دیده شد. رشد قارچ روی بستر کشت به صورت پراکنده و نامنظم بود. در این جدایه کنیدیوم‌زایی بسیار اتفاق می‌افتد و کنیدیوم‌ها بیشتر به صورت توده‌هایی به رنگ قهوه‌ای روشن در سطح محیط کشت قابل مشاهده هستند (شکل ۳-B). در این گونه، ریشه‌ها دارای سطحی صاف، بی‌رنگ، دارای دیواره‌های عرضی بوده و قطر آن‌ها ۴-۷ میکرومتر بود. کنیدیوم‌برها بی‌رنگ، اغلب کوتاه، راست و به صورت منفرد و یا منشعب با ۲-۴ دیواره عرضی تشکیل شدند. ابعاد کنیدیوم‌برها $(۳/۵-۵) \times (۴/۲۵) \times (۲۰-۴۵)$ میکرومتر اندازه‌گیری شد. در این جنس، کنیدیوم‌زایی از نوع مونوبلاستیک است. کنیدیوم‌ها دارای یک دیواره عرضی بوده و

در استان گلستان گزارش شده است. در این پژوهش، درخت کیوی به عنوان میزبان جدید برای این قارچ در دنیا گزارش می‌شود و آرایه جدیدی برای فونگای ایران است. جدایه UTSM-G1 در کلکسیون ذخایر میکروبی پژوهشکده بیوتکنولوژی کشاورزی (ABRIICC 10343)، کرج، نگهداری می‌شود.

این جنس قارچی همه‌جازی بوده و از بیشتر اقلیم‌های دنیا گزارش شده است. این گونه به وفور از بذور، خاک، کود دامی و نیز از تعداد زیادی از بستره‌های دیگر گیاهی گزارش شده است (Vitoria *et al.* 2020). در ایران، گونه *H. verrucosa* توسط احمدی و صدروی (Ahmadi & Sadravi 2008) از بذور گیاه جو در استان گلستان و گونه *H. acremonioides* نیز توسط پورصفر و همکاران (Poursafar *et al.* 2017) از سنبله گیاه جو



شکل ۳- گونه *Harzia palmara*، جدایه UTSM-G1: A. پرگنه قارچ روی محیط کشت PDA پس از گذشت هفت روز در شرایط تاریکی مداوم، B. الگوی کنیدیوم‌زایی در سطح محیط کشت، C-E. کنیدیوم‌برها و کنیدیوم‌ها، F. وزیکل‌ها و فیالیدها، G. کنیدیوم‌های حاصل از کنیدیوم‌زایی نوع آسپرفیلی-فرم (asperfilli-form).

Fig. 3. *Harzia palmara*, isolate UTSM-G1: A. Colony on PDA after seven days in continuous dark conditions, B. Sporulation pattern on the surface of culture medium, C-E. Conidiophores and conidia, F. Vesicles and phialides, G. Conidia from asperfilli-form conidiogenesis.

پشتی پرگنه به رنگ زرد متمایل به قهوه‌ای دیده شد. در این گونه، آسکوکارپ از نوع سودوتسیوم است که در محیط کشت PDA به فراوانی و به صورت منفرد و یا در دسته‌های چندتایی در زیر ریشه‌های هوایی تشکیل می‌شوند. سودوتسیوم‌ها بعد از دو هفته بالغ می‌شوند. آسکوکارپ کروی و قطر آن‌ها ۲۵۰-۱۴۰ میکرومتر بود. بافت پریدیوم از نوع *textura angularis*، به رنگ قهوه‌ای تیره و ضخامت آن‌ها ۱۶-۱۲ میکرومتر اندازه‌گیری شد. آسک‌ها به شکل استوانه‌ای تا چماقی شکل، دو جداره، در انتها گرد و دارای هشت آسکوسپور هستند. اندازه آسک‌ها ۸(۱۰)-۱۲ × (۶۳/۵)-۷۲ میکرومتر بود. آسکوسپورها دوکی شکل، راست تا کمی خمیده، در دو انتها نوک تیز، دارای ۳-۵ دیواره عرضی هستند. آسکوسپورها دارای سطح صاف، در ابتدا بی‌رنگ و در

۳- *Neosetophoma guiyangensis* J.F. Zhang, J.K. Liu, K.D. Hyde & Z.Y. Liu, in Hyde *et al.*, *Mycosphere* 9(2): 331 (2018)

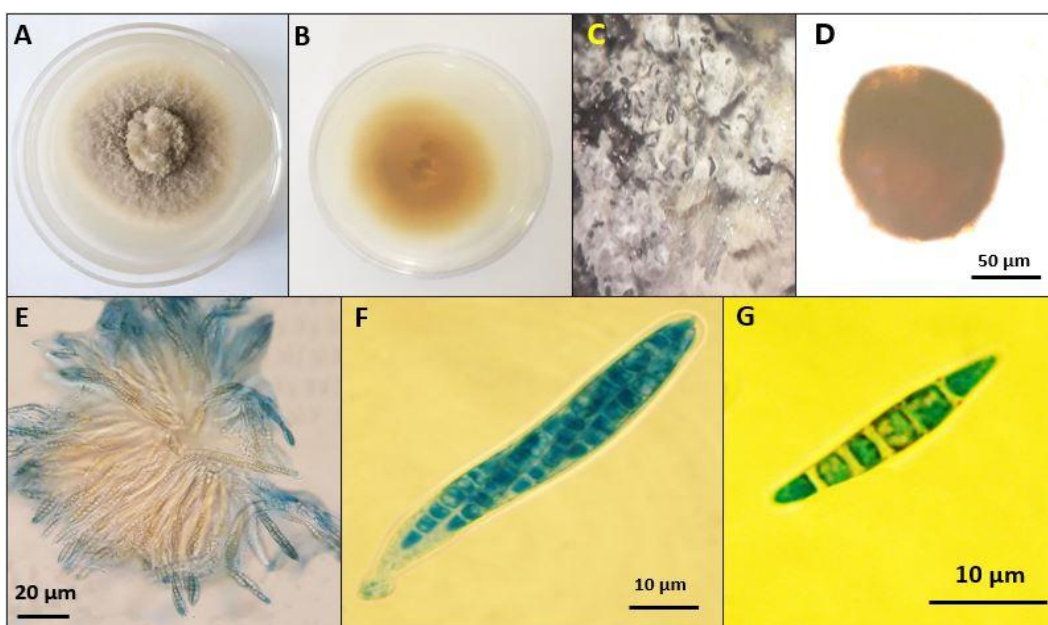
نمونه بررسی شده: جدایه UTFS W-R، به دست آمده از شاخه‌های چندساله و دارای علایم شانکر درخت زالزالک (*Crataegus monogyna* Jacq.)، استان گیلان، شهرستان اسالم، تابستان ۱۳۹۹.

قطر پرگنه قارچ روی محیط کشت PDA در دمای ۲۵ درجه سلسیوس و تحت شرایط تناوب نوری ۱۲ ساعت تاریکی و ۱۲ ساعت نور نزدیک به ماورای بنفش پس از ۱۰ روز، ۴۵ میلی‌متر بود. پرگنه قارچ به صورت پنبه‌ای و در ابتدا به رنگ سفید و به مرور، به رنگ خاکستری روشن تغییر نمود. سطح

N. iranianum (۲۰۱۸) گزارش شده است. در ایران، گونه *N. poaceicola* توسط ابراهیمی و فتوحی‌فر (Ebrahimi & Fotouhifar 2021) گزارش گردید. در این پژوهش، درخت زالزالک به عنوان میزبان جدیدی برای این قارچ در دنیا گزارش می‌شود و این گونه آرایه جدیدی برای فونگای ایران است. جدایه UTFS W-R در کلکسیون ذخایر میکروبی پژوهشکده بیوتکنولوژی کشاورزی (ABRIICC 10317)، کرج، نگهداری می‌شود.

مرحله بلوغ به رنگ قهوه‌ای کم‌رنگ دیده می‌شوند. ابعاد آسکوسپورها $(۲۳) \times (۲۰-۲۶)$ میکرومتر بود. در این جدایه مرحله غیرجنسی مشاهده نشد (شکل ۴).

ویژگی‌های ریخت‌شناختی این جدایه با توصیف گونه *Neosetophoma guiyangensis* (Hyde et al. 2018) مطابقت داشت. گونه‌های این جنس به صورت بیمارگر (لکه‌برگی)، اندوفیت و پوده‌رست از میزبان‌های گیاهی مختلف در دنیا گزارش شده‌اند. گونه *N. guiyangensis* نخستین بار از شاخه گیاهی ناشناس به صورت ساپروفیت در کشور چین توسط هاید و همکاران



شکل ۴- گونه *Neosetophoma guiyangensis* جدایه UTFS W-R: A-B. سطح رویی و پشتی پرگنه قارچ روی محیط کشت PDA پس از ۱۰ روز در شرایط ۱۲/۱۲ ساعت تاریکی و نور نزدیک به ماورای بنفش و دمای ۲۵ درجه سلسیوس، C. الگوی تشکیل سودوتسیوم در سطح محیط کشت، D. سودوتسیوم، E-F. آسکها و آسکوسپورها، G. آسکوسپور.

Fig. 4. *Neosetophoma guiyangensis*, isolate UTFS W-R: A-B. Upper and reverse sides of colony on PDA after 10 days at 25 °C in 12/12 dark/nUV condition, C. Pseudothecium formation pattern at the surface of culture medium, D. Pseudothecium, E-F. Asci and ascospores, G. Ascospore.

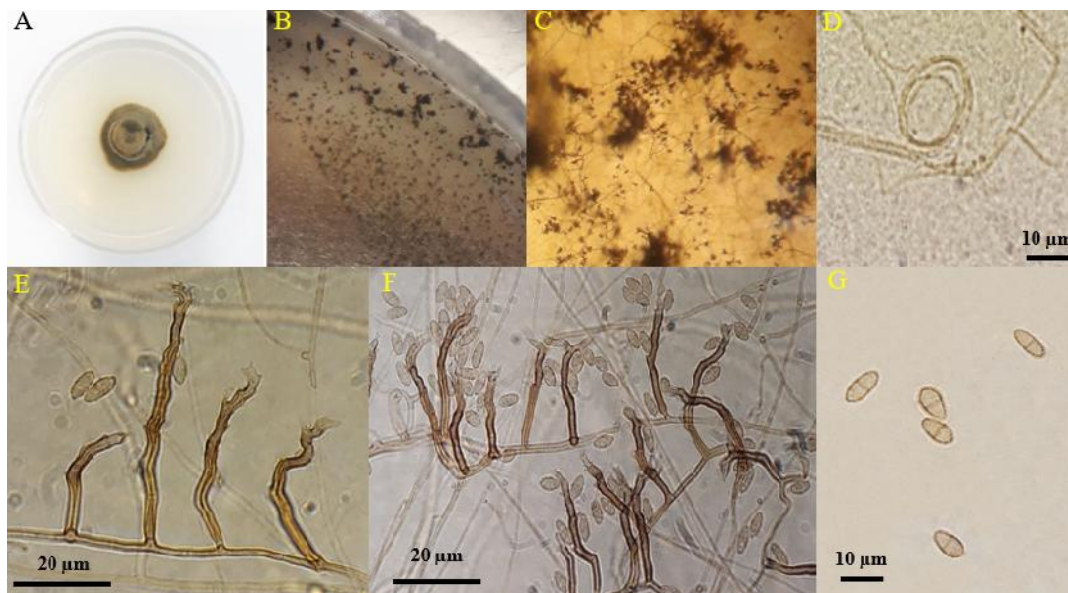
جدایه قارچی روی محیط کشت PDA رشد کندی داشت، به طوری که قطر پرگنه قارچ روی محیط کشت PDA در دمای ۲۵ درجه سلسیوس و تحت شرایط تاریکی مداوم بعد از هفت روز، ۳۳ میلی‌متر بود. پرگنه به رنگ قهوه‌ای تا خاکستری تیره مشاهده شد. ریشه‌ها به رنگ قهوه‌ای روشن، منشعب و دارای دیواره عرضی نازک بودند. قطر ریشه‌ها ۲/۵-۲ میکرومتر بود.

Scolecobasidium cordanae (Samerp., Crous & de Hoog) Crous, M. Shen & Y. Zhang ter, Studies in Mycology 96: 210 (2020) نمونه بررسی شده: جدایه UTOS-G2، به دست آمده از شاخه‌های چندساله و دارای علائم شانکر درخت نمدار (*Tilia cordata* Mill.)، استان گیلان، شهرستان اسالم، پاییز ۱۳۹۹.

هستند و اندازه آن‌ها $(۸) \times (۱۰-۶)$ میکرومتر بود (شکل ۵).

ویژگی‌های ریخت‌شناختی این جدایه با توصیف گونه *Ochroconis cordanae* (Samerpitak et al. 2014) مطابقت داشت و اخیراً نام گونه به *Scolecobasidium cordanae* (Shen et al. 2020) در ایران، قاری‌زاده و همکاران (Gharizadeh et al. 2004) آرایه *Scolecobasidium* sp. را از گیاهان *Araucaria araucana* (Molina) C. Koch. و *Cupressus* sp. از لاهیجان گزارش کرده‌اند. در این پژوهش، درخت نمدار به عنوان میزبان جدیدی برای این قارچ در دنیا گزارش می‌شود و این گونه قارچی، آرایه جدیدی برای فونگای ایران است. جدایه UTOS-G2 در کلکسیون ذخایر میکروبی پژوهشکده بیوتکنولوژی کشاورزی (ABRIICC 10344)، کرج، نگهداری می‌شود.

مرحله غیرجنسی قارچ با تولید کنیدیوم و کنیدیوم‌بر بعد از ۱۰ روز شروع شد. کنیدیوم‌برها از ریشه‌ها به خوبی قابل تمایز بودند و به صورت راست یا خمیده از ریشه‌ها منشأ می‌گیرند. کنیدیوم‌برها به رنگ قهوه‌ای تیره، غیرمنشعب و دارای ۴-۰ دیواره عرضی ضخیم بودند. ابعاد کنیدیوم‌برها $(۳۲/۵) \times (۲/۵-۳/۲)$ میکرومتر بود. در قسمت میانی و انتهایی کنیدیوم‌برها دندانک‌ها (denticles) به فراوانی تشکیل می‌شوند که محل تولید کنیدیوم‌ها هستند. طول دندانک‌ها تا ۰/۵ میکرومتر اندازه‌گیری شد. در این جنس قارچی، حلقه‌های ریشه‌ای (hyphal coils) به فراوانی تشکیل می‌شوند و ممکن است کنیدیوم روی آن‌ها نیز تشکیل شود. کنیدیوم‌ها دارای یک دیواره عرضی، بیشتر تخم‌مرغی تا دوکی شکل هستند. رنگ آن‌ها قهوه‌ای روشن تا قهوه‌ای تیره و به صورت منفرد از محل دندانک‌ها تولید می‌شوند. کنیدیوم‌ها دارای سطح زگیل‌دار



شکل ۵- گونه *Scolecobasidium cordanae*، جدایه UTOS-G2: A. پراگنه قارچ روی محیط کشت PDA پس از هفت روز در شرایط تاریکی مداوم و دمای ۲۵ درجه سلسیوس، B-C. تشکیل کنیدیوم‌ها در سطح محیط کشت بعد از ۳۰ روز، D. حلقه ریشه‌ای، E-F. کنیدیوم‌برها و کنیدیوم‌ها، G. کنیدیوم‌ها.

Fig. 5. *Scolecobasidium cordanae*, isolate UTOS-G2: Colony on PDA after seven days at 25 °C in continuous dark conditions, B-C. Sporulation on the surface of culture medium after 30 days, D. Hyphal coil, E-F. Conidiophores and conidia, G. Conidia.

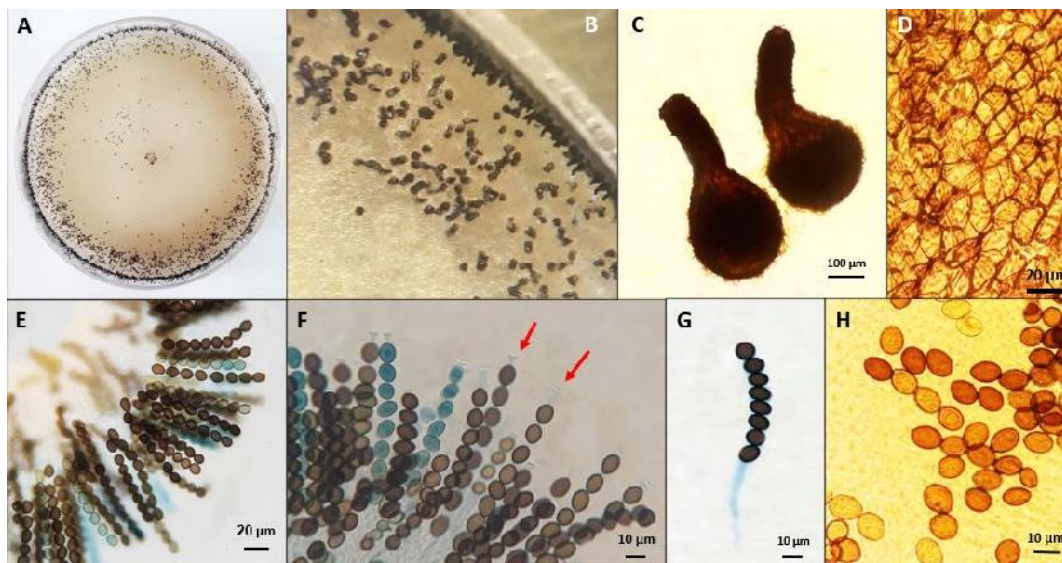
در این گونه، پراگنه بسیار سریع‌الرشد بوده و قطر آن روی محیط کشت PDA بعد از گذشت چهار روز، تحت شرایط ۱۲ ساعت تاریکی و ۱۲ ساعت نوری به ۹۰ میلی‌متر رسید. رنگ پراگنه در ابتدا سفید و سپس به رنگ قهوه‌ای روشن دیده شد. ریشه‌ها با تراکم خیلی کم به رنگ سفید تا قهوه‌ای روشن در

۵- *Sordaria arctica* Cain, Canadian Journal of Botany 35(3): 262 (1957) نمونه بررسی شده: جدایه UTFS15، به دست آمده از شاخه‌های چندساله و دارای علایم شانکر درخت زالزالک، استان گیلان، شهرستان اسالم، تابستان ۱۳۹۹.

داشت. این گونه هموتال بوده و فاقد کنیدیوم و یا نرهاگ است. ویژگی‌های ریخت‌شناختی این جدایه با توصیف گونه *S. arctica* آرایه شده توسط کاین (۱۹۵۷) مطابقت داشت. گونه *S. arctica* به لحاظ ابعاد و شکل آسکوسپورها از دو گونه *S. fimicola* (Roberge ex Desm.) Ces. & De Not. و *S. tamaensis* Ts. متمایز می‌گردد، به طوری که ابعاد آسکوسپورها در گونه *S. fimicola* بزرگ‌تر بوده، اغلب بیضوی و دارای عرض کم‌تری هستند (Guarro & von Arx 1987). همچنین، ابعاد آسکوسپور در گونه *S. tamaensis* بزرگ‌تر بوده و از لحاظ شکل شبیه آسکوسپورهای گونه *S. arctica* (تخم‌مرغی تا بیضوی) هستند (Watanabe 1989). ون‌گیل و همکاران (van Geel et al. 2011) بیان کردند که این گونه به فراوانی از روی فضولات حیوانات گوشت‌خوار مثل گرگ یافت می‌شود. این گونه قارچی، برای نخستین بار به عنوان قارچ همراه با علایم شانکر شاخه از درختان زالزالک در دنیا گزارش می‌شود و آرایه جدیدی برای فونگای ایران است. جدایه UTFS15 در کلکسیون ذخایر میکروبی پژوهشکده بیوتکنولوژی کشاورزی (ABRIICC 10318)، کرج، نگهداری می‌شود.

سطح و هم داخل محیط کشت رشد کردند. پریتسیوم‌ها گلابی تا فلاسکی شکل که از روز پنجم به بعد به صورت پراکنده و انبوه در سطح محیط تشکیل شدند. رنگ آن‌ها قهوه‌ای تیره تا سیاه بوده و گردن نسبتا بلندی داشتند. همچنین، دیواره پریتسیوم‌ها مات و غیرشفاف بود. ابعاد پریتسیوم‌ها (۳۲۵) × ۳۰۰-۳۵۰ (۶۵۰) میکرومتر اندازه‌گیری شد. بافت پریدیوم از نوع *textura angularis* (یاخته‌ها کوچک، چندوجهی تقریبا هم‌اندازه و فضایی بین آن‌ها وجود ندارد) و ضخامت آن ۸-۱۴ میکرومتر بود. آسک‌ها استوانه‌ای شکل، بی‌رنگ، تک‌جداره، در انتها تخت (*truncate*) و به ابعاد (۱۲/۵) × ۱۳-۱۲ (۱۳۷/۵) × ۱۲۰-۱۵۵ میکرومتر بودند. آسکوسپورها به تعداد هشت عدد در یک ردیف در داخل آسک تشکیل شدند. آسکوسپورها تک‌سلولی، بیشتر تخم‌مرغی تا بیضوی و دارای سطح صاف بودند. آسکوسپورها در مراحل اولیه تشکیل بی‌رنگ بودند و سپس به رنگ زرد نارنجی و در مرحله بلوغ قهوه‌ای تیره تا سیاه دیده شدند. ابعاد آسکوسپورها (۱۳/۷۵) × ۱۴-۱۳ (۱۳/۷۵) × ۱۸-۱۵ میکرومتر هستند (شکل ۶).

ویژگی‌های ریخت‌شناختی این جدایه با توصیف گونه *Sordaria arctica* آرایه شده توسط کاین (Cain 1957) مطابقت



شکل ۶- گونه *Sordaria arctica* جدایه UTFS15: A. پرگنه قارچ روی محیط کشت PDA پس از گذشت هفت روز، B-C. پریتسیوم‌ها، D. پریدیوم، E-G. بافت پریدیوم، آسک‌ها و آسکوسپورها، H. آسکوسپورها.

Fig. 6. *Sordaria arctica*, isolate UTFS15: A. Colony on PDA after seven days, B-C. Perithecia, D. Peridium, E-G. Asci and ascospores, H. Ascospores.

جدول ۱- توالی‌های استفاده شده در این مطالعه برای ترسیم تبارنمای فیلوژنتیکی براساس توالی نوکلئوتیدی نواحی آی.تی.اس.

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

آرایه Taxon	جدایه Isolate	رس‌شمار در بانک ژن GenBank accession number ITS	منبع Reference
<i>Sordaria tamaensis</i>	NBRC 32552	LC146762.1	Ban <i>et al.</i> (2016)
<i>S. fimicola</i>	CBS 508.50	MH856730.1	Vu <i>et al.</i> (2019)
	CBS 911.73	MH860820.1	Vu <i>et al.</i> (2019)
	CBS 723.96	MH862606.1	Vu <i>et al.</i> (2019)
<i>S. conoidea</i>	CBS 563.72	MH860572.1	Vu <i>et al.</i> (2019)
	CBS 563.72	AY681179.1	Cai <i>et al.</i> (2006)
<i>S. arctica</i>	ABRIICC 10318	MW485432	This study
	CBS 143.68	AY681175.1	Cai <i>et al.</i> (2006)
<i>Corynascus sexualis</i>	CBS 827.96	MK919295.1	Wang <i>et al.</i> (2019)
	Unknown	AJ224202.1	Stchigel <i>et al.</i> (2000)
<i>C. sepedonium</i>	ABRIICC 10341	MZ203485	This study
	CBS 101936	MK919294.1	Wang <i>et al.</i> (2019)
<i>C. verrucosus</i>	WN18_2_11	MN956890.1	Zhao <i>et al.</i> (2021)
	F478	MW995582.1	Kago <i>et al.</i> (2021)
<i>C. fumimontanus</i>	CBS 137294	MK919291.1	Wang <i>et al.</i> (2020)
<i>Harzia verrucosa</i>	CBS 113456	KY628674.1	Schultes <i>et al.</i> (2017)
	CBS 101.24	KY623414.1	"
<i>H. palmara</i>	ABRIICC 10343	MZ203483	This study
	CBS 158.49	NR_161006.1	Schultes <i>et al.</i> (2017)
<i>H. cameroonensis</i>	CBS 136420	MH866096.1	Vu <i>et al.</i> (2019)
	CPC 22065	KF777163.1	Crous <i>et al.</i> (2013)
	18 JFER 2.2	MT747958.1	Cardoso <i>et al.</i> (2020)
<i>Neosetophoma poaceicola</i>	17 JFER 2.1	MT747957.1	"
	ABRIICC 10317	MW581003	This study
	GZCC 18-0111	MH018134.1	Zhang <i>et al.</i> (2018)
<i>N. lonicerae</i>	KUMCC 18-0156	MK356376.1	Phookamsak <i>et al.</i> (2019)
	KUMCC 18-0155	MK356375.1	"
<i>N. lunariae</i>	CPC 26671	NR_154242.1	Hernandez Restrepo <i>et a.</i> (2016)
		KX306763.1	"
<i>N. clematidis</i>	MFLUCC 13-0734	NR_154228.1	Liu <i>et al.</i> (2015)
		KP744450	"
<i>N. aseptata</i>	Unknown	NR_164449.1	Marin-Felix & Crous (2019)
	CBS 145363	MK539953.1	"
<i>Ochroconis verrucosa</i>	CBS 383.81	NR_132048.1	Samerpitak <i>et al.</i> (2015)
	CBS 383.81	KF156015.1	"
<i>O. tshawytschae</i>	CBS 228.66	MH858782.1	Vu <i>et al.</i> (2019)
	ZH23-2016	MG660854.1	De Marchi <i>et al.</i> (2017)
<i>O. cordanae</i>	UTHSC 10-1875	LM644510.1	Giraldo <i>et al.</i> (2014)
	CBS: 412.51	HQ667540.1	Samerpitak <i>et al.</i> (2010)
<i>O. sexualis</i>	PPRI 12991	KF156018.1	Samerpitak <i>et al.</i> (2014)
	dH 22953	KF156017.1	"
<i>O. icarus</i>	CBS 536.69	MH859368.1	Vu <i>et al.</i> (2019)
	CBS: 423.64	HQ667523.1	Samerpitak <i>et al.</i> (2010)
<i>Scoleobasidium cordanae</i>	ABRIICC 10344	MZ203484	This study
<i>Phragmidium chayuensis</i>	BJFCR 02532	NG_064492.1	Tian <i>et al.</i> (2019)

بحث

در گروه سه، جدایه‌های متعلق به گونه‌های *Neosetophoma N. lunariae*، *N. loniceriae*، *N. guiyangensis*، *poaceicola N. aseptata* و *N. clematidis* قرار گرفتند. این گروه دارای حمایت اعتبارسنجی ۱۰۰٪ بوده و اعضای آن متعلق به راسته *Pleosporales* از رده *Dothideomycetes* هستند. در گروه چهار، جدایه‌های متعلق به گونه‌های *Ochroconis tshawtytschae*، *Scolecobasidium O. sexualis* و *O. icarus*، *O. verrucosa cordanae* قرار گرفتند. این دودمان دارای حمایت اعتبارسنجی ۱۰۰٪ بوده و اعضای آن متعلق به راسته *Venturiales* از رده *Dothideomycetes* هستند.

در این پژوهش، علاوه بر صفات ریخت‌شناختی جدایه‌های قارچی مورد بررسی، توالی نوکلئوتیدی نواحی آی.تی.اس. نیز کارآیی لازم را برای تفکیک گونه‌های قارچی شناسایی شده در سطح گونه داشت و بر این اساس، جدایه‌های مورد بررسی در کنار جدایه‌های معتبر از گونه‌های مربوطه قرار گرفتند که سازگار با شناسایی ریخت‌شناختی گونه‌ها و همچنین نشان‌دهنده ارتباط آن‌ها با یکدیگر است. در نهایت براساس مجموع صفات مورد بررسی در جدایه‌های قارچی به دست آمده، چهار گونه جدید برای فونگای ایران معرفی می‌شود. همچنین، همه میزبان‌های گیاهی مورد بررسی نیز، میزبان گیاهی جدید (matrix nova) برای آرایه‌های قارچی شناسایی شده در دنیا می‌باشند. بنابراین، نتایج حاصل از این تحقیق، اطلاعات جدیدی را در مورد آرایه‌های قارچی ایران ارائه می‌نماید.

سپاسگزاری

نگارندگان از مسئولان محترم مربوطه در دانشگاه تهران به خاطر فراهم کردن امکانات و محیط مناسب برای انجام این پژوهش سپاسگزاری می‌نمایند.

References

- Ahmadi, M. & Sadravi, M. 2008. Six new fungi for Iran from barley grains in Golestan province (N. Iran). *Rostaniha* 9(1): 113–124.
- 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.
- Bakhshi, M. & Arzanlou, M. 2017. Multigene phylogeny and morphotaxonomy of *Septoria* spp. from Iran along with a checklist of septoria-like taxa. *Rostaniha* 18(2): 122–141.
- Bakhshi, M., Arzanlou, M., Zare, R., Groenewald, J.Z. & Crous, P.W. 2019. New species of *Septoria*

در این تحقیق، بررسی تعدادی از قارچ‌های همراه علایم شانکر و لکه‌برگی برخی درختان مد نظر قرار گرفت. پس از شناسایی ریخت‌شناختی جدایه‌های قارچی حاصل، ارزیابی فیلوژنتیکی براساس تعیین توالی ناحیه ژنومی ITS1-5.8S-ITS2 انجام شد. در این تحقیق، تبارنمای فیلوژنتیکی با استفاده از روش Maximum Likelihood و براساس توالی نواحی آی.تی.اس. در پنج جدایه مورد بررسی و ۴۰ جدایه حاصل از بانک ژن و یک جدایه به عنوان گروه خارجی از بانک ژن ترسیم شد. طول ناحیه ژنومی ITS1-5.8S-ITS2 در جدایه‌های مختلف از ۵۰۰ تا ۶۰۰ جفت باز متغیر بود.

در تبارنمای فیلوژنتیکی ترسیم شده با استفاده از توالی نواحی آی.تی.اس. براساس نحوه انشعاب، جدایه‌ها در چهار گروه مجزا قرار گرفتند. تمام اعضای گروه داخلی تبارنما به شاخه *Ascomycota* تعلق داشتند. گونه *Phragmidium chayuensis* (NG_064492.1) از شاخه *Basidiomycota* به عنوان گروه خارجی در نظر گرفته شده است. در گروه یک، جدایه‌های متعلق به گونه‌های *S. conoidea*، *S. fimicola*، *Sordaria tamaensis*، *S. arctica*، *Corynascus sepedonium*، *C. verrucosus*، *C. sexualis* و *C. fumimontanus* قرار گرفتند. این گروه دارای حمایت اعتبارسنجی ۹۹٪ بوده و اعضای آن متعلق به راسته *Sordariales* از رده *Sordariomycetes* هستند. در این گروه گونه *Corynascus sepedonium* به خوبی از گونه‌های نزدیک از نظر ریخت‌شناختی، نظیر گونه‌های *C. verrucosus* و *C. fumimontanus* تفکیک شده است. همچنین در این گروه، گونه *Sordaria arctica* از دو گونه نزدیک از نظر ریخت‌شناسی شامل *S. tamaensis* و *S. fimicola* نیز تفکیک شده است. در گروه دو، جدایه‌های متعلق به گونه‌های *Harzia verrucosa*، *H. palmaria* و *H. cameroonensis* قرار گرفتند. این گروه دارای حمایت اعتبارسنجی ۱۰۰٪ بوده و اعضای آن متعلق به راسته *Melanosporales* از رده *Sordariomycetes* هستند.

- associated with leaf spot diseases in Iran. *Mycologia* 111(6): 1056–1071.
- Borcean, A., Cotuna, O., Mircov, V., Mihut, C. & Okros, A. 2019. Leaf spots, one of the most common diseases of hawthorn (*Crataegus monogyna*) on the south-western part of Romania. *International Multidisciplinary Scientific GeoConference: SGEM* 19(6.1): 785–790.
- Braun, U., Nakashima, C., Bakhshi, M., Zare, R., Shin, H.D., Alves, R.F. & Sposito, M.B. 2020. Taxonomy and phylogeny of cercosporoid ascomycetes on *Diospyros* spp. with special emphasis on *Pseudocercospora* spp. *Fungal Systematics and Evolution* 6: 95–127.
- Cai, L., Jeewon, R. & Hyde, K.D. 2006. Phylogenetic investigations of Sordariaceae based on multiple gene sequences and morphology. *Mycological Research* 110(2): 137–150.
- Cain, R.F. 1957. Studies of coprophilous Ascomycetes: VI. Species from the Hudson Bay area. *Canadian Journal of Botany* 35(3): 255–268.
- Crous, P.W., Wingfield, M.J., Guarro, J., Cheewangkoon, R., van der Bank, M., Swart, W.J., Stchigel, A.M., Cano-Lira, J.F., Roux, J., Madrid, H., Damm, U., Wood, A.R., Shuttleworth, L.A., Hodges, C.S., Munster, M., de Jesus Yanez-Morales, M., Zuniga-Estrada, L., Cruywagen, E.M., de Hoog, G.S., Silvera, C., Najafzadeh, J., Davison, E.M., Davison, P.J.N., Barrett, M.D., Barrett, R.L., Manamgoda, D.S., Minnis, A.M., Kleczewski, N.M., Flory, S.L., Castlebury, L.A., Clay, K., Hyde, K.D., Mause-Sitoe, S.N.D., Chen, S., Lechat, C., Hairaud, M., Lesage-Meessen, L., Pawlowska, J., Wilk, M., Sliwinska-Wyrzychowska, A., Metrak, M., Wrzosek, M., Pavlic-Zupanc, D., Maleme, H.M., Slippers, B., Mac Cormack, W.P., Archuby, D.I., Grunwald, N.J., Telleria, M.T., Duenas, M., Martin, M.P., Marincowitz, S., de Beer, Z.W., Perez, C.A., Gene, J., Marin-Felix, Y. & Groenewald, J.Z. 2013. Fungal Planet description sheets: 154–213. *Persoonia* 31: 188–296.
- De Marchi, R., Koss, M., Ziegler, D., De Respinis, S. & Petri, O. 2018. Fungi in water samples of a full-scale water work. *Mycological Progress* 17(4): 467–478.
- Doveri, F. 2016. Description of *Chaetomium aureum*, *Corynascus sepedonium* and *Coniochaeta hanseni* newly recorded from Italy and a key to coprophilous Chaetomiaceae and Coniochaetaceae. *Ascomycete.org* 8(1): 7–24.
- Ebrahimi, L. & Fotouhifar, K.B. 2021. First report of *Neosetophoma poaceicola* on apple leaf from Iran. *Journal of Crop Protection* 10(2): 350–357.
- Ellis, M.B. 1976. *More Dematiaceous Hyphomycetes*. Commonwealth Mycological Institute, Kew, England. 507 pp.
- Ershad, D. 2009. *Fungi of Iran*. 3rd ed. Iranian Research Institution of Plant Protection. 531 pp.
- Felsenstein, J. 1985. Confidence limits on phylogenies an approach using the bootstrap. *Evolution* 39: 783–791.
- Gharemaninejad, F. & Nejad Falatoury, A. 2016. An update on the flora of Iran: Iranian angiosperm orders and families in accordance with APG IV. *Nova Biologica Reperta* 3(1): 80–107.
- Gharizadeh, Kh., Khodaparast, S.A., Abbasi, M. & Elahinia, S.A. 2004. A study on the identification of wood inhabiting Hyphomycetes in Gilan Province, Iran (II). *Rostaniha* 5: 123–145 (In Persian) & 55–57 (In English).
- Giraldo, A., Sutton, D.A., Samerpitak, K., de Hoog, G.S., Wiederhold, N.P., Guarro, J., Gene, J., Hernandez Restrepo, M., Groenewald, J. & Crous, P. 2016. *Fungal Systematics and Evolution: FUSE 2*. *Sydowia* 68: 193–230.
- Guarro, J. & von Arx, J.A. 1987. The ascomycete genus *Sordaria*. *Persoonia* 13: 301–303.
- Hyde, K.D., Chaiwan, N., Norphanphoun, C., Boonmee, S., Camporesi, E., Chethana, K.W.T., Dayarathne, M.C., de Silva, N.I., Dissanayake, A.J.,

- Ekanayaka, A.H., Hongsanan, S., Huang, S.K., Jayasiri, S.C., Jayawardena, R.S., Jiang, H.B., Karunarathna, A., Lin, C.G., Liu, J.K., Liu, N.G., Lu, Y.Z., Luo, Z.L., Maharachchimbura, S.S.N., Manawasinghe, I.S., Pem, D., Perera, R.H., Phukhamsakda, C., Samarakoon, M.C., Senwana, C., Shang, Q.J., Tennakoon, D.S., Thambugala, K.M., Tibpromma, S., Wanasinghe, D.N., Xiao, Y.P., Yang, J., Zeng, X.Y., Zhang J.F., Zhang, S.N., Bulgakov, T.S., Bhat, D.J., Cheewangkoon, R., Goh, T.K., Jones, E.B.G., Kang, J.C., Jeewon, R., Liu, Z.Y., Lumyong, S., Kuo, C.H., McKenzie, E.H.C., Wen, T.C., Yan, J.Y. & Zhao, Q. 2018. Mycosphere notes 169–224. *Mycosphere* 9(2): 271–430.
- Ivanová, H. & Bernadovicová, S. 2006. Leaf spot disease on lindens caused by the fungi *Cercospora microsora* Sacc. and *Gloeosporium tiliae* Oudem. *Folia Oecologica* 33(1): 27–36.
- Jain, A., Sarsaiya, S., Wu, Q., Lu, Y. & Shi, J. 2019. A review of plant leaf fungal diseases and its environment speciation. *Bioengineered* 10(1): 409–424.
- Karunarathna, A., Papizadeh, M., Senanayake, I.C., Jeewon, R., Phookamsak, R., Goonasekara, I.D., Wanasinghe, D.N., Wijayawardene, N.N., Amoozegar, M.A., Shahzadeh, Fazeli, S.A., Camporesi, E., Hyde, K.D., Weerahewa, L.D., Lumyong, S. & McKenzie, E.H.C. 2017. Novel fungal species of Phaeosphaeriaceae with an asexual/sexual morph connection. *Mycosphere* 8: 1818–1834.
- Kim, G.H. & Koh, Y.J. 2018. Diagnosis and control of major leaf diseases on kiwifruit in Korea. *Research in Plant Disease* 24(1): 1–8.
- Liang, C., Jayawardena, R.S., Zhang, W., Wang, X., Liu, M., Liu, L., Zang, C., Xinran, X., Hyde, K.D., Yan, J., Xinghong, L. & Zhao, K. 2016. Identification and characterization of *Pseudocercospora* species causing grapevine leaf spot in China. *Journal of Phytopathology* 164(2): 75–85.
- Liu, J., Hyde, K.D., Jones, E.B.G., Ariyawansa, H., Bhat, D.J., Boonmee, S., Maharachchikumbura, S.S.N., McKenzie, E.H.C., Phookamsak, R. & Phukhamsakda, C. 2015. Fungal Diversity Notes 1-110: Taxonomic and phylogenetic contributions to fungal species. *Fungal Diversity* 72: 1–197.
- Marin-Felix, Y., Stchigel, A.M., Miller, A.N., Guarro, J. & Cano-Lira, J.F. 2015. A re-evaluation of the genus *Myceliophthora* (Sordariales, Ascomycota): its segregation into four genera and description of *Corynascus fumimontanus* sp. nov. *Mycologia* 107(3): 619–632.
- Montecchio, L., Causin, R. & Vettorazzo, M. 2002. A twig canker on English hawthorn caused by *Coniothyrium sporulosum* in Italy. *Plant Disease* 86(12): 1403–1403.
- Mousakhah, M., Jamali, A., Khodaparast, S.A. & Olia, M. 2014. Incidences of leaf spots, blights and fruit rots of kiwifruit (*Actinidia deliciosa*) in Guilan province, Iran. *Iranian Journal of Plant Pathology* 50(4): 173–181.
- Phookamsak, R., Hyde, K.D., Jeewon, R., Bhat, D.J., Jones, E.B.G., Maharachchikumbura, S.S.N., Raspe, O., Karunarathna, S.C., Wanasinghe, D.N., Hongsanan, S., Doilom, M., Tennakoon, D.S., Machado, A.R., Firmino, A.L., Ghosh, A., Karunarathna, A., Meši, A., Dutta, A.K., Thongbai, B., Devadatha, B., Norphanphoun, C., Senwana, C., Wei D.P., Pem, D., Ackah, F.K., Wang, G.N., Jiang, H.B., Madrid, H., Lee H.B., Goonasekara, I.D., Manawasinghe, I.S., Kušan, I., Cano, J., Gene, J., Li, J.F., Das, K., Acharya, K., Raj, K.N.A., Latha K.P.D., Chethana, K.W.T, He, M.Q., Duenas, M., Jadan, M., Martin, M.P., Samarakoon, M.C., Dayarathne, M.C., Raza, M., Park, M.S., Telleria, M.T., Chaiwan, N., Mato ec, N., de Silva, N.I., Pereira, O.L., Singh, P.N., Manimohan, P., Uniyal, P., Shang, Q.J., Bhatt,

- R.P., Perera, R.H., Alvarenga, R.L.M., Nagal-Prata, S., Singh, S.K., Vadthananat, S., Oh, S.Y., Huang, S.K., Rana, S., Konta, S., Paloi, S., Jayasiri, S.C., Jeon, S.J., Mehmood, T., Gibertoni, T.B., Nguyen, T.T.T., Singh U., Thiyagaraja, V., Sarma, V.V., Dong, W., Yu, X.D., Lu, Y.Z., Lim, Y.W., Chen, Y., Tkalcic, Z., Zhang, Z.F., Luo, Z.L., Daranagama, D.A., Thambugala, K.M., Tibpromma, S., Camporesi, E., Bulgakov, T.S., Dissanayake, A.J., Senanayake, I.C., Dai, D.Q., Tang, L.Z., Khan, S., Zhang, H., Promputtha, I., Cai, L., Chomnunti, P., Zhao, R.L., Lumyong, S., Boonmee, S., Wen, T.C., Mortimer, P.E. & Xu, J.C. 2019. Fungal diversity notes 929–1035: taxonomic and phylogenetic contributions on genera and species of fungi. *Fungal Diversity* 95: 1–273.
- Pitman, T.L., Philbrook, R., Vetterli, M. & Warren, J. 2020. First report of *Pythium ultimum* causing crown rot in greenhouse-grown *Cannabis sativa* in California. *Plant Disease* 100: 1202.
- Poursafar, A., Ghosta, Y. & Javan-Nikkhah, M. 2017. *Harzia acremonioides*, new species for mycobiota of Iran. *Rostaniha* 18(1): 104–106.
- Rajput, N.A., Hussainullah, Huo, Ch., Cao, J., Atiq, M., Atif, R.M., Lodhi, A.M., Rehana, N.S., Sohaib, S., Akhtar, H. & Zhao, Z. 2020. First report of *Curvularia verruculosa* causing leaf spot disease of grape (*Vitis vinifera*) in Afghanistan. *Journal of Plant Pathology* 102(4): 1337 (Published online).
- Refaei, J., Jones, E.B.G., Sakayaroj, J. & Santhanam, J. 2011. Endophytic fungi from *Rafflesia cantleyi*: species diversity and antimicrobial activity. *Mycosphere* 2(4): 429–447.
- Salazar-Cerezo, S., Meneses-Sánchez, M.D.L.C., Martínez-Contreras, R.D. & Martínez-Montiel, N. 2020. Unraveling the fungal community associated with leaf spot on *Crataegus* sp. *Microorganisms* 8(3): 459. <https://doi.org/10.3390/microorganisms8030459>.
- Samerpitak, K., van der Linde, E., Choi, H.-J., Gerrits van den Ende, A.H.G., Machouart, M., Gueidan, C. & de Hoog, G.S. 2014. Taxonomy of *Ochroconis*, genus including opportunistic pathogens on humans and animals. *Fungal Diversity* 65: 89–126.
- Schultes, N.P., Murtishi, B. & Li, D.W. 2017. Phylogenetic relationships of *Chlamydomyces*, *Harzia*, *Olpitrichum*, and their sexual allies, *Melanospora* and *Sphaerodes*. *Fungal Biology* 121(10): 890–904.
- Shen, M., Zhang, J.Q., Zhao, L.L., Groenewald, J.Z., Crous, P.W. & Zhang, Y. 2020. Venturiales. *Studies in Mycology* 96: 185–308.
- Sharma, R., Kulkarni, G. & Shouche, Y.S. 2013. *Corynascus verrucosus*, second record for science and new for India. *Nova Hedwigia* 97(3–4): 485–494.
- Stchigel, A.M., Sagues, M., Cano, J. & Guarro, J. 2000. Three new thermotolerant species of *Corynascus* from soil, with a key to the known species. *Mycological Research* 104(7): 879–887.
- 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.
- Vainio, E.J., Velmala, S.M., Salo, P., Huhtinen, S. & Müller, M.M. 2017. Defoliation of *Tilia cordata* trees associated with *Apiognomonina errabunda* infection in Finland. *Silva Fennica* 51(4): 1–10.
- van Geel, B., Guthrie, R.D., Altmann, J.G., Broekens, P., Bull, I.D., Gill, F.L., Jansen, B., Nieman, A.M. & Gravendeel, B. 2011. Mycological evidence of coprophagy from the feces of an Alaskan late glacial mammoth. *Quaternary Science Reviews* 30(17–18): 2289–2303.
- Vitoria, N.S., Fortes, N.G.S., dos Santos, M.A.L. & Barbosa, R.L. 2020. Mycota (Ascomycota) of *Syagrus coronata* (Mart.) Becc., Raso da Catarina Ecological Station, Brazil: new records. *Acta Brasiliensis* 4(2): 110–120.

- 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.
- Wang, L., Hou, H., Zhou, Z., Tu, H. & Yuan, H. 2021. Identification and detection of *Botryosphaeria dothidea* from kiwifruit (*Actinidia chinensis*) in China. *Plants* 10(2): 401. <https://doi.org/10.3390/plants10020401>.
- Watanabe, T. 1989. Three species of *Sordaria*, and *Eudarlucia biconica* from cherry seeds. *Transactions of the Mycological Society of Japan* 30: 395–400.
- White, T.J., Bruns, T., Lee, S.J.W.T. & Taylor, J. 1990. Amplification and Direct Sequencing of Fungal Ribosomal RNA Genes for Phylogenetics. Pp. 315–322. *In*: Innis, M.A., Gelfand, D.H., Sninsky, J.J. & White, T.J. (eds). *PCR protocols: A Guide to Methods and Applications*. Academic Press, San Diego, USA.
- Zhong, S. & Steffenson, B.J. 2001. Virulence and molecular diversity in *Cochliobolus sativus*. *Phytopathology* 91: 469–476.