پژوهش‌های کاربردی در گیاه‌پزشکی ۱۱ (۱): ۷۹-۶۱ (۱۴۰۱)- مقاله پژوهشی

Journal of Applied Research in Plant Protection 11 (1): 61-79 (2022)-*Research Article*

DOI: https://dx.doi.org/10.22034/arpp.2021.1351

گزارش‌های جدید از گونه‌های قارچی همراه حشرات در ایران

حمیده اغیل[۱]، مهدی مهرابی‌کوشکی[۱، ۲]✉، مهدی اسفندیاری[۱]

[۱] گروه گیاه‌پزشکی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه شهید چمران اهواز، اهواز، ایران. [۲] مرکز تحقیقات بیوتکنولوژی و علوم زیستی، دانشگاه شهید چمران اهواز، ایران. mhdmhrb@scu.ac.ir ✉

دریافت: ۱۴۰۰/۱/۱۲ بازنگری: ۱۴۰۰/۳/۲۴ پذیرش: ۱۴۰۰/۵/۲۵

چکیده

قارچ‌های بیماری‌زا و غیربیماری‌زای مرتبط با حشرات حشرات می‌توانند روی زیست‌شناسی و جمعیت آنها اثر بگذارند. در طول سال‌های ۱۳۹۶-۱۳۹۷ با هدف شناسایی قارچ‌های همراه حشرات، مراحل زیستی شامل لارو، شفیره و حشرات کامل (زنده، مرده و سالم) از زیستگاه‌های متنوع در استان‌های خوزستان و گلستان جمع‌آوری و قارچ‌های همراه آنها پس از ضد غفونی سطحی جداسازی شدند. در این بررسی، ۱۳ جدایه مختلف بر اساس ویژگی‌های ریخت‌شناختی و مولکولی تشخیص داده شدند. برای تشخیص مولکولی، توالی ناحیه ITS-nrDNA و ژن‌های *tef1α*، *tub2* و *gapdh* بسته به گونه هدف، بدست آمد. بر اساس داده‌های حاصل از توالی‌های مولکولی، ۱۲ گونه شامل *Auxarthron kuehnii*، *Biscogniauxia* sp.، *Cladosporium halotolerans*، *Curvularia mosaddeghii*، *Fusarium brachygibbosum*، *Lasiodiplodia mediterranea*، *Metarhizium brunneum*، *Nigrospora gorlenkoana*، *N. oryzae*، *N. osmanthi*، *Petriella guttulata* و *Phascolomyces articulosus* شناسایی شدند. در این مطالعه، جنس *Phascolomyces* (*P. articulosus*) و گونه‌های *A. kuehnii*، *L. mediterranea*، *N. gorlenkoana* و *N. osmanthi* برای اولین بار از ایران گزارش می‌شوند.

کلمات کلیدی: آسکومیست، بیمارگرهای حشرات، تنوع زیستی، تبارزایی مولکولی

New records of fungal species associated with insects in Iran

Hamideh Aghyl[1], Mehdi Mehrabi-Koushki[1, 2]✉, Mehdi Esfandiari[1]

[1]Department of Plant Protection, Faculty of Agriculture, Shahid Chamran University of Ahvaz, Iran. *[2]Biotechnology and Bioscience Research Center, Shahid Chamran University of Ahvaz, Iran.* ✉mhdmhrb@scu.ac.ir

Received: 1 Apr 2021 Revised: 14 Jun 2021 Accepted: 16 Aug 2021

Abstract

Pathogenic and non-pathogenic fungi growing on insect’s body can significantly affect their biology and population. To identify insect-associated fungi, the life stages of the insects, including larva, pupa and adults (alive or dead and helthy), were collected from different habitats in Golestan and Khuzestan Provinces during 2017-2018 and their associated fungi were isolated after surface-sterilization. In this study, 13 various isolates were identified according to morphological and molecular analysis. For molecular detection, ITS-nrDNA, *tef1a*, *tub2* and *gapdh* sequences were obtained depending on the target species. Accordingly, twelve species were identified as follow: *Auxarthron kuehnii*, *Biscogniauxia* sp., *Cladosporium halotolerans*, *Curvularia mosaddeghii*, *Fusarium brachygibbosum*, *Lasiodiplodia mediterranea*, *Metarhizium brunneum*, *Nigrospora gorlenkoana*, *N. oryzae*, *N. osmanthi*, *Petriella guttulata* and *Phascolomyces articulosus*. In this study, the genus *Phascolomyces* (*P. articulosus*) and the species *A. kuehnii*, *L. mediterranea*, *N. gorlenkoana* and *N. osmanthi* are reported from Iran for the first time.

Keywords: Ascomycetes, Biodiversity, Enthomopathogens, Molecular Phylogeny

How to cite:
Aghyl H, Mehrabi-Koushki M, Esfandiari M, 2022. New records of fungal species associated with insects in Iran. *Journal of Applied Research in Plant Protection* 11 (1): 61–79.

مقدمه

حشرات و قارچ‌ها دو شاخه بزرگ از موجودات زنده در طبیعت هستند که در کشاورزی و زندگی انسان تاثیر می‌گذارند. تکامل توام قارچ‌ها و حشرات در صدها میلیون‌ها سال گذشته منجر به توسعه انواع روابط همزیستی بین آن‌ها شده است (Joop & Vilcinskas 2016). این دو گروه از موجودات در برهمکنش با یکدیگر انواع ارتباطات همزیستی مفید تا آنتاگونیستی را به نمایش می‌گذارند (Nicoletti & Becchimanzi 2022). قارچ‌های بیمارگر حشرات جهت آلوده‌کردن مراحل زیستی طیف وسیعی از حشرات در ریزبوم‌های مختلف تکامل یافته‌اند (Kaczmarek et al. 2021). در یک گزارش در سال ۲۰۰۱ اذعان شد که بیش از ۹۱۵ میکروارگانیسم بیماری‌زا روی حشرات شناسایی شده است که در میان آن‌ها، ۲۵ گونه باکتری، ۴۲۰ گونه ویروس و ریکتسیا، ۲۲۵ گونه قارچ، ۲۰۰ گونه تک یاخته‌ای و ۱۵ گونه نماتد وجود دارد (Lacey *et al.* 2001). در مطالعه‌ای دیگر، حدود ۱۰۰۰ گونه از ۱۰۰ جنس قارچی شناخته شد که از عوامل کلیدی تنظیم کننده جمعیت حشرات به شمار می‌روند (Charnley 2003). قارچ‌ها اولین میکروارگانیسم‌هایی بودند که به عنوان عوامل بیماری‌زای حشرات شناخته شدند (Lacey *et al.* 2001). بعضی قارچ‌های بیمارگر حشرات پس از تماس با کوتیکول و ایجاد آپرسوریوم به درون حشرات نفوذ می‌کنند و با کلونیزه کردن بافت‌های حشره و تولید توکسین، حشرات را می‌کشند (Gul *et al.* 2014). این توکسین‌ها باعث افزایش بیماریزایی و حشره‌کشی قارچ‌ها می‌شوند از این بین می‌توان به destruxin در *Metarhizium* Sorokin و beauvericin ، isarolide، bassianolide و beauverolide در *Beauveria* Vuill. اشاره کرد. تاکنون توسعه و استفاده از عوامل بیماری‌زای حشرات، به عنوان عامل کنترل زیستی، شامل موفقیت‌ها و برخی شکست‌ها در ۱۵ سال گذشته بوده است. امروزه، بسیاری از بیمارگرهای قارچی حشرات به‌عنوان اندوفیت، آنتاگونیست بیمارگرهای گیاهی، کلونیزه‌کننده فراریشه و محرک رشد گیاهی شناخته شده‌اند (Lacey *et al.* 2015).

از شاخه‌های مختلف قارچی، گونه‌های متنوعی به‌عنوان بیمارگر یا همراه حشرات گزارش شده است. بعضی از اعضای شاخه شبه‌قارچی Oomycota (از سلسله Stramenopila) از جمله جنس‌های *Couchia* W.W. Martin، *Aphanomyces* de Bary، *Crypticola* Lagenidium Humber, Frances & A.W.، *Leptolegnia* de Bary، Sweeney و *Pythium* Nees مراحل مختلف رشدی را در طیف گسترده‌ای از میزبان‌های حشره‌ای آلوده می‌کنند (از جمله لاروهای آبزی پشه‌ها و حشرات بالغ در جنگل‌های گرمسیری تا مناطق بیابانی) و میزبان آن‌ها در میان ۲۰ تا ۳۱ راسته از حشرات قرار دارند (Araujo & Hughes 2016). از زیگومیست‌ها (Zygomycetes *sensu lato*)، گونه‌هایی از جنس‌های *Entomophaga* A. Batko، *Conidiobolus* Bref.، *Erynia* Nowak.، *Massospora* Peck، *Neozygites* Witlaczil و *Sporodiniella* Boedijn به‌عنوان بیمارگر یا همراه حشرات جداسازی و شناسایی شده اند (Wang & Wang 2017). از شاخه Ascomycota، گونه‌های مختلفی از جنس‌های *Ascosphaera* L.S. Olive & Spiltoir، *Cordyceps* Fr.، *Hypocrella* Sacc.، *Torrubiella* Boud.، *Paecilomyces* Bainier، *Paraisaria* Samson & B.L. Brady، *Tolypocladium* W. Gams، *Beauveria*، *Verticillium* Nees و *Trichoderma* Pers. به‌عنوان بیمارگر از حشرات گزارش شده است (Samson & Brady 1983; Samson *et al.* 1988; Kouvelise *et al.* 1999; Wang & Wang 2017). از شاخه Chytridiomycota، گونه‌های قارچی آبزی متعلق به جنس‌های *Culicinomyces* Couch, Romney & B. Rao و *Coelomomyces* Keilin از حشرات آبزی از جمله لارو پشه‌ها جداسازی و شناسایی شده است (Kaczmarek & Boguś 2021).

قارچ‌های موجود در بدن حشرات (بیماری‌زا و غیربیماری‌زا) می‌توانند روی زیست‌شناسی و جمعیت آنها در هر زیست‌بوم اثر بگذارند. شناسایی قارچ‌های همراه حشرات می‌تواند در بهبود راهکارهای مدیریتی جهت کنترل حشرات مضر و توسعه حشرات مفید مورد استفاده قرار گیرد. در این بررسی با هدف شناسایی قارچ‌های همراه حشرات، ۱۳ جدایه قارچی از شاخه‌های مختلف که از بدن حشرات (به‌ویژه دستگاه گوارش) جداسازی شده بود با استفاده از روش‌های مبتنی بر ریخت شناختی و تبارزایی مولکولی شناسایی شد.

مواد و روش‌ها

جمع‌آوری حشرات

در بازدیدهایی که طی سال‌های ۹۷-۱۳۹۶ از پارک‌ها، بلوارها، فضای سبز دانشگاه‌ها، ادارات شهرهای اهواز (استان خوزستان)، آزادشهر، گرگان، گنبدکاووس و گالیکش (استان گلستان) انجام گرفت، مراحل زیستی زنده و مرده حشرات (شامل پنج عدد لارو، سه عدد شفیره، یک عدد کپسول تخم و ۳۰ عدد حشره کامل) جمع‌آوری شد. نمونه‌ها در ظروف پلاستیکی و شیشه‌ای ۵۰ میلی‌لیتری جداگانه با درج کد محل به آزمایشگاه قارچ‌شناسی (گروه گیاهپزشکی، دانشگاه شهید چمران اهواز) منتقل شدند و تا

انجام مراحل کشت، درون شیشه در دمای محیط و یخچال (اجساد مرده) نگه‌داری شدند.

جداسازی، خالص‌سازی و نگهداری جدایه‌ها

جهت جداسازی قارچ‌های همراه حشرات، اندام‌های مختلف قطعات بدن حشرات با استفاده از هیپوکلریت سدیم ۲٪ به مدت یک تا دو دقیقه (بر اساس اندازه) ضد عفونی سطحی گردید و سپس با آب مقطر سترون سه بار شستشو شد. این قطعات پس از خشک شدن به‌وسیله کاغذ صافی سترون، روی محیط غذایی سیب‌زمینی-دکستروز- آگار (PDA, Alexopoulos & Beneke, 1962) قرار داده شدند (Gouli *et al.* 2013). پنج تا ده روز پس از نگهداری تشتک‌های پتری در انکوباتور با دمای ۲۸ درجه سلسیوس و تاریکی مطلق، پرگنه‌های ظاهر شده روی محیط کشت به تشتک‌های جدید منتقل شدند. خالص‌سازی به روش Babaahmadi *et al.* (2018) انجام شد. جدایه‌ها به‌صورت قطعات کشت داخل تیوب یا مخلوط سوسپانسیون اسپور با ماسه سترون در داخل تیوب در مجموعه قارچ‌های زنده گروه گیاه‌پزشکی (دانشکده کشاورزی) دانشگاه شهید چمران اهواز نگهداری شدند. علاوه بر این، تعدادی از جدایه‌ها در کلکسیون ملی قارچ‌های زنده ایران (IRAN) واقع در مؤسسه تحقیقات گیاه‌پزشکی کشور (تهران) ذخیره شدند.

مطالعات ریخت‌شناختی

ریخت‌شناسی اولیه جدایه‌ها با بررسی شکل پرگنه و کنیدیوم‌ها انجام شد و بر اساس آن چند جدایه با ریخت‌شناسی متفاوت جهت بررسی دقیق انتخاب شد. برای بررسی‌های ریخت‌شناختی، از حاشیه پرگنه در حال رشد، یک قرص به قطر یک سانتی‌متر در مرکز تشتک‌های پتری حاوی PDA قرار داده شد. ظروف کشت در دمای ۰/۵ ± ۲۸ درجه سلسیوس و تاریکی مطلق داخل انکوباتور قرار داده شدند و رشد شعاعی پرگنه روزانه ثبت شد. شکل ظاهری پرگنه و رنگ آن، ویژگی‌های رشدی پرگنه، نحوه کنیدیوم‌زایی، ریخت‌شناسی اندام‌های تولیدمثلی، کنیدیوم‌ها و کلامیدوسپورها مورد ارزیابی قرار گرفت. کشت قارچ روی لام به روش Beneke & Rogers (1996) انجام شد. برای تهیه اسلایدهای میکروسکوپی از محلول‌های رنگ‌آمیزی لاکتوفنل، کاتن بلو، آبی‌لاکتیک و یا لاکتوفنل-کاتن‌بلو استفاده شد. به منظور مشاهده و اندازه‌گیری ساختارهای قارچی، از میکروسکوپ نوری Leitz Wetzlar استفاده شد و عکس‌برداری با استفاده از میکروسکوپ نوری مدل OLYMPUS BX51 مجهز به دوربین عکسبرداری مدل OLYMPUS DP12 انجام شد. برای شناسایی و تطبیق خصوصیات ریخت‌شناختی جدایه‌های مورد بررسی با توصیف معتبر این گونه‌ها، ترجیحا از توصیف آن‌ها در محل انتشار و در صورت عدم دسترسی از بانک اطلاعات قارچ‌ها (http://www.mycobank.org) استفاده شد.

استخراج DNA و تکثیر ناحیه‌های ژنی

جدایه‌های قارچی منتخب در محیط کشت مایع سیب زمینی –دکستروز- براث (PDB, Alexopoulos & Beneke 1962) در شرایط تاریکی، دمای ۲۸ درجه سلسیوس و همراه با تکان دادن در شیکر انکوباتور رشد یافتند. زیست‌توده میسیلیومی با استفاده از پمپ خلأ، قیف و کاغذ صافی سترون جمع‌آوری و در دستگاه فریزدرایر (Freeze Dryer, Alpha 1-2 LDplus, Christ, Germany) خشک – انجمادی شد. توده میسیلیومی خشک شده به هاون چینی سترون منتقل و با استفاده از ازت مایع در هاون چینی پودر گردید. پودر ایجاد شده تا زمان استخراج DNA در دمای ۲۰- درجه سلسیوس نگهداری شد (Nemati Mandanipour *et al.* 2021). استخراج DNA به روش Raeder & Broda (1985) با اندکی تغییر (Ahmadpour *et al.* 2017) انجام شد. برای تکثیر توام حدود ۱۲۰۰ جفت‌باز از نواحی 18S، ITS1، 5.8S، ITS2 و 28S مربوط به rDNA هسته‌ای، از جفت‌آغازگر عمومی ITS1-F و NL4-R (White *et al.* 1990; O'Donnell 1993) برای تمامی جدایه‌ها بغیر از *Fusarium brachygibbosum* Padwick استفاده شد. برای تکثیر حدود ۶۰۰ و ۵۰۰ جفت‌باز از ژن‌های *gapdh* و *tub2*، به ترتیب از جفت آغازگرهای gpd1/gpd2 برای جدایه *Curvularia* Boedijn (Berbee *et al.* 1999) و Btub2Fd/Btub4Rd برای جدایه‌های *Cladosporium* Link و *Petriella* Curzi (Woudenberg *et al.* 2009) استفاده شد. برای تکثیر حدود ۵۰۰ و ۹۰۰ جفت باز از ژن *tef1α* به ترتیب از از جفت آغازگرهای EF1-688F/EF1-986R برای جدایه‌های *Lasiodiplodia* Ellis & Everh. (Carbone & Kohn 1999) و Tef-71F/Tef997R برای جدایه *Fusarium* Link (Shoukouhi & Bissett 2008) استفاده شد. واکنش زنجیره‌ای پلیمراز (PCR) با استفاده از ترموسایکلر مدل‌های Biometra (Analytik-Jena, Germany) و Biorad (Bio-Rad, USA) و با سیکل‌های حرارتی مناسب انجام شد (Babaahmadi *et al.* 2018; Mehrabi-Koushki *et al.* 2017, 2018; Khodadadi-pourarpanei *et al.* 2019). برنامه حرارتی برای تکثیر ناحیه‌های ژنی شامل یک مرحله ذوب

اولیه در دمای ۹۴ درجه سلسیوس به مدت سه دقیقه، ۳۵ چرخه (شامل یک مرحله ۳۰ ثانیه‌ای در دمای ۹۴ درجه سلسیوس برای واسرشته‌سازی؛ ۳۰ ثانیه در دمای ۵۴ (ITS-LSU)، ۵۶ (*gapdh*)، ۶۰ (*tub2*) و ۵۷ (*tef1α*) درجه سلسیوس برای اتصال آغازگرها و ۹۰ ثانیه‌ای در دمای ۷۲ درجه سلسیوس برای بسط آغازگرها) و یک مرحله بسط نهائی در ۷۲ درجه سلسیوس به مدت پنج دقیقه بود.

توالی‌یابی، جستجوی بلاست و تبارزایی مولکولی

محصولات PCR تعدادی از نمونه‌ها، که دارای باند غیرهدف نیز بود، با استفاده از کیت استخراج از ژل GF-1 AmbiClean (Vivantis, Malaysia) برابر دستورالعمل ارایه شده خالص‌سازی گردید. توالی‌یابی با استفاده از آغازگرهای رفت یا برگشت (یا هر دو در مواردی که خوانش اولیه مناسب نبود) به‌وسیله شرکت‌های ماکروژن (Humanizing Genomics, Macrogen, South Korea)، نرگس (اهواز، ایران) و کدون‌ژنتیک (تهران، ایران) انجام شد. توالی‌ها با استفاده از نرم‌افزار BioEdit ver 4.0.6.2 ویراستاری شدند (Hall 1999). خوانش‌های پیش‌رو و معکوس هر ژن برای هر جدایه با استفاده از نرم‌افزار DNABaser ver 3.5.0 (www. DNABaser.com) مونتاژ شد. توالی‌های به‌دست آمده از نواحی تکثیری به پایگاه اطلاعات ژنوم NCBI معرفی و با استفاده از الگوریتم جستجوی بلاست برای شناسایی هیت‌های بلاست و توالی‌های شناخته شده نزدیک جستجو شد. توالی ناحیه هدف از سویه تیپ (در صورت عدم دسترسی، سویه غیرتیپ) گونه‌های مورد بررسی و خویشاوند آنها از بانک ژن NCBI دانلود شد. روابط تبارزایی میان گونه‌های مورد مطالعه در این پژوهش و سایر گونه‌های موجود در پایگاه داده NCBI، فیلوگرام‌ها با استفاده از الگوریتم‌های درست‌نمایی بیشینه (ML) و صرفه‌جویی بیشینه (MP) با کمک نرم‌افزار MEGA ver6.0 ساخته شدند (Tamura *et al.* 2013). اعتبار شاخه‌های تکاملی درختان تبارزایی در آزمون بوت‌استراپ (BS) با ۱۰۰۰ بار نمونه‌گیری کاذب در تجزیه و تحلیل تبارزایی انجام شده به‌وسیله این نرم افزار به‌دست آمد.

نتایج و بحث

در این پژوهش، ۹۲ نمونه از مراحل زیستی حشرات (زنده و مرده) از تیره‌های *Acrididae*، *Cerambycidae*، *Hesperiidae*، *Miridae*، *Noctuidae*، *Papilionidae*، *Reduviidae*، *Scarabeidae*، *Tenebrionidae* و *Tetrigidae* از شهرهای اهواز، آزادشهر، گرگان، گنبدکاووس و گالیکش جمع‌آوری و ۱۰۰ جدایه قارچی از آنها بدست آمد. بر اساس تنوع ریخت‌شناسی اولیه (شکل پرگنه و کنیدیوم‌ها)، تنها ۱۳ جدایه، شامل یک جدایه از جنس‌های *Auxarthron* G.F. Orr & Kuehn، *Biscogniauxia* Kuntze، *Metarhizium*، *Petriella*، *Phascolomyces* Boedijn، *Cladosporium*، *Curvularia* و *Fusarium* و دو جدایه از *Lasiodiplodia* و سه جدایه از جنس *Nigrospora* Zimm.، برای ریخت‌شناسی دقیق و تبارزایی مولکولی انتخاب و در این بررسی شناسایی شدند (جدول ۱). از بین این قارچ‌ها، جنس *Phascolomyces* و گونه‌های *A. kuehnii kuehnii* (Arx) M. Solé, Cano & Guarro، *L. mediterranea* Linaldeddu, Deidda & Berraf-Tebbal، *N. gorlenkoana* Novobr. و *N. osmanthi* Mei Wang & L. Cai برای اولین بار از ایران گزارش می‌شوند. جزئیات شناسایی این گونه‌ها و توصیف گونه‌های جدید برای میکوبیوتای ایران در ادامه به تفکیک آورده شده است.

جدول ۱. جدایه‌های مورد مطالعه و شماره‌های دسترسی توالی‌های نوکلئوتیدی آنها در بانک ژن NCBI.

Table 1. The isolates under study and their accession number of the nucleotide sequences in NCBI GenBank.

Species name	Isolate numbers	Accession numbers in NCBI GenBank				
		ITS	28S	*gapdh*	*tub2*	***tef1α***
Auxarthron kuehnii	IRAN 3378C; SCUA-Agh-18	MN518371	-	-	-	-
Biscogniauxia sp.	IRAN 3377C; SCUA-Agh-12	MN518367	-	-	-	-
Cladosporium halotolerans	SCUA-Agh-41	MN518375	-	-	MN520424	-
Curvularia mosaddeghii	CBS 144685; IRAN 3873C; SCUA-Agh-04	MN518365	MN517547	MN520425	-	-
Lasiodiplodia mediterranea	IRAN 3875C; SCUA-Agh-25	MN519702	-	-	-	**MN520430**
L. mediterranea	IRAN 3876C; SCUA-Agh-44	MN519703	-	-	-	**MN520431**
Metarhizium brunneum	IRAN 3877C; SCUA-Agh-46	MN518376	-	-	-	-
Nigrospora gorlenkoana	SCUA-Agh-03	MN518364	MN517546	-	-	-
N. oryzae	IRAN 3380C; SCUA-Agh-27	MN518373	-	-	-	-
N. osmanthi	IRAN 3381C; SCUA-Agh-28	MN518374	-	-	-	-
Fusarium brachygibbosum	SCUA-Agh-13	-	-	-	-	**MN520429**
Phascolomyces articulosus	SCUA-Agh-11	MN518378	-	-	-	-
Petriella guttulata	IRAN 3874C; SCUA-Agh-15	MN518369	-	-	MN520432	-

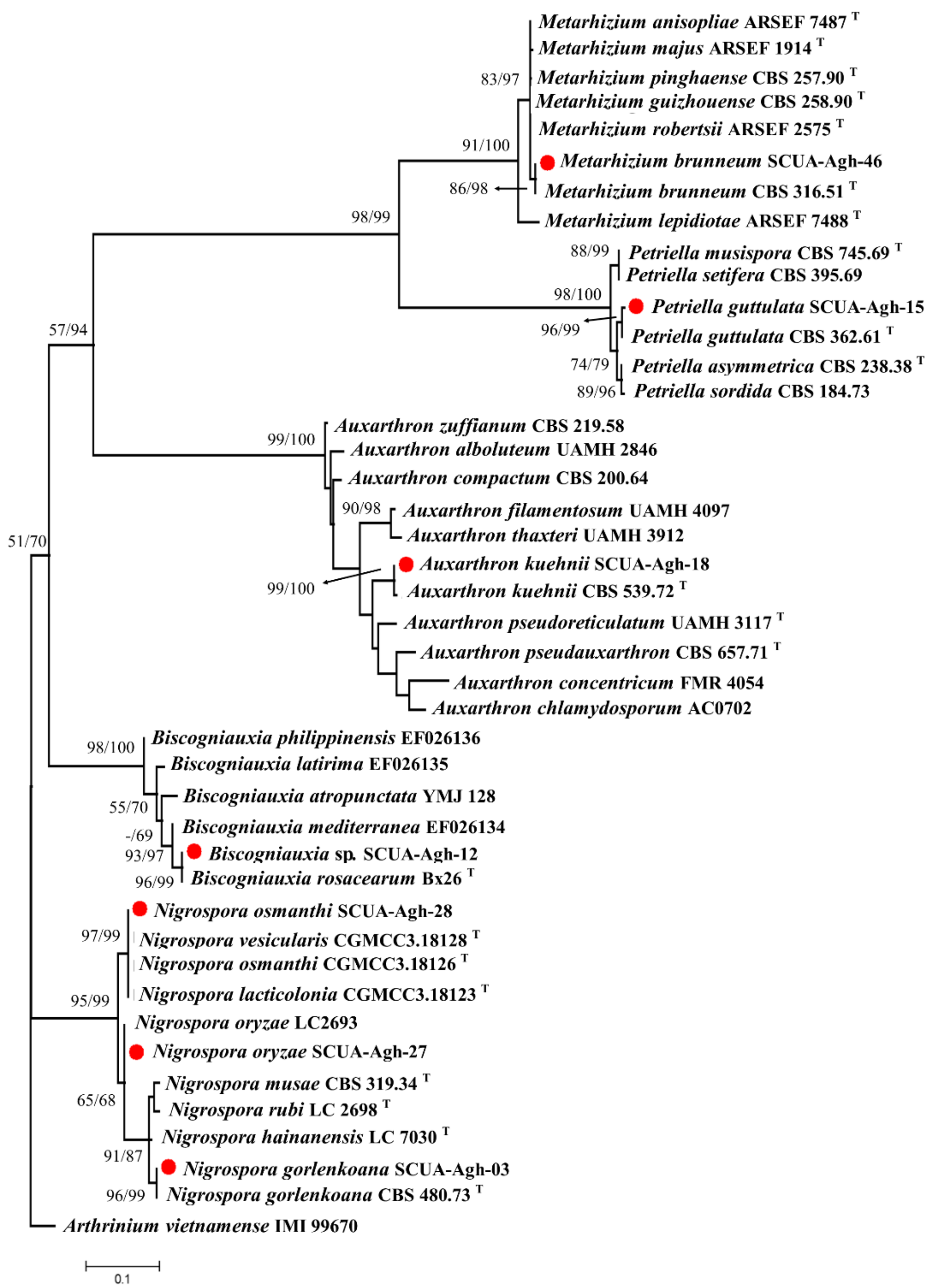
واکنش زنجیره‌ای پلی‌مراز با جفت آغازگرهای ITS1/NL4 (برای تمام جدایه‌ها) و Btub2Fd/Btub4Rd (برای جدایه‌های *Cladosporium* و *Petriella*) به ترتیب منجر به ایجاد قطعات تکثیری حدود ۱۲۰۰ و ۵۰۰ جفت باز شد. تکثیر بخش‌هایی از ژن *tef1α* با استفاده از جفت آغازگرهای EF1-688F/EF1-986R (برای جدایه‌های *Lasiodiplodia*) و Tef-71F/Tef997R (برای جدایه‌های *Fusarium*) به ترتیب منجر به ظهور باندهای حدود ۴۵۰ و ۹۵۰ جفت باز در ژل آگارز شد. همچنین تکثیر بخش‌هایی از ژن *gapdh* با استفاده از جفت آغازگر اختصاصی gpd-2/gpd-1 منجر به ظهور باندهای حدود ۶۰۰ جفت باز برای جدایه‌های *Curvularia* در ژل آگارز شد. توالی‌های تولید شده در این مطالعه تحت شماره‌های دسترسی ذکر شده در جدول ۱ در بانک ژن NCBI ثبت شدند. درختان تک‌ژنی مبتنی بر ناحیه ITS برای گونه‌های *Auxarthron*، *Biscogniauxia*، *Metarhizium*، *Nigrospora* و *Petriella* ساخته شدند (شکل ۱). برای گونه *Fusarium* درخت تک‌ژنی مبتنی بر ناحیه *tef1a* به‌دست آمد (شکل ۲). درختان دو ژنی مبتنی بر ترکیب ناحیه‌های ITS و *gpdh* برای گونه *Curvularia* (شکل ۳)، ITS و *tef1a* برای گونه *Lasiodiplodia* (شکل ۴) و ITS و *tub2* برای گونه *Cladosporium* (شکل ۵) نیز ساخته شدند. توپولوژی درختان تبارزایی به‌دست‌آمده از تجزیه و تحلیل دو الگوریتم درست‌نمایی بیشینه و صرفه جویی بیشینه تقریبا مشابه بود و بر اساس آن درختان درست‌نمایی بیشینه در مقاله ارایه شدند اما اعداد اعتبارسنجی بوت‌استراپ هر دو الگوریتم (MLBP و MPBP) در محل ریشه‌ها درج شدند.

۱- گونه *Auxarthron kuehnii* (Arx) M. Solé, Cano & Guarro, Mycological Research 106 (4): 393 (2002)

نمونه بررسی شده: استان گلستان (شهر آزادشهر)، کپسول تخم سوسری (راسته Blattodea)، ۹۶/۹/۱۲، حمیده اغیل (جدایه IRAN 3378C).

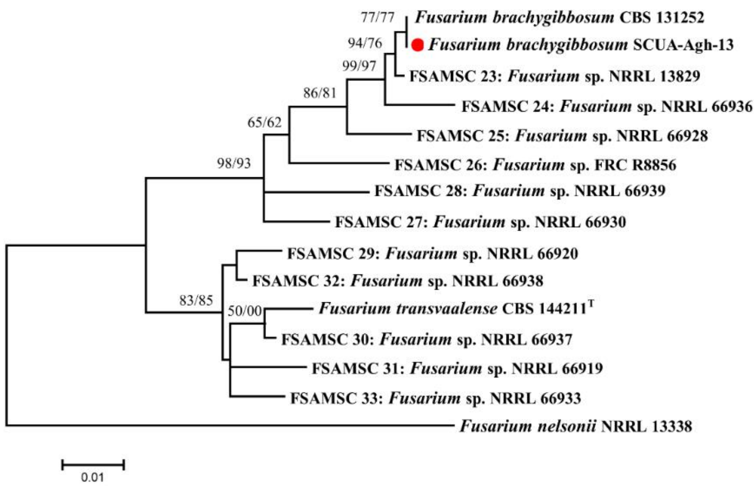
قطر پرگنه روی محیط کشت PDA پس از هفت روز در شرایط دمایی ۰/۵ ± ۲۸ درجه سلسیوس، ۲۲ میلی‌متر، پرگنه سفید و با گذشت زمان در مرکز کرمی و شیری رنگ؛ ریسه‌ها منشعب، سطحی یا فرورفته در محیط غذایی، تشکیل دهنده کلاف‌های در هم پیچیده دایره‌ای شکل روی سطح پرگنه و کنیدیوم‌ها از نوع آرتروسپور، استوانه‌ای، گاهی تا کمی‌خمیده، به ابعاد ۲/۳-۱/۱ × (۸/۶-) ۷/۵-۴/۱ (-۳/۲) میکرومتر مشاهده گردید (شکل ۶).

در جستجوی بلاست مبتنی بر توالی ITS، این جدایه با سویه تیپ *A. kuehnii* CBS 539.72 ۹۹/۴ درصد شباهت نوکلئوتیدی نشان داد. در درخت تبارزایی ترسیم شده بر اساس ناحیه ITS (شکل ۱)، جدایه مورد تحقیق با سویه فوق خوشه‌بندی شد و یک شاخه تکاملی با اعتبار بالا ایجاد کردند (MLBP: 99%, MPBP: 100%). این گونه در سال ۱۹۷۱ با نام *Amauroascus kuehnii* Arx توصیف شد ولی در سال ۲۰۰۲ به جنس *Auxarthron* منتقل شد (Sole *et al.* 2002a). جنس *Auxarthron* شامل یک گروه نسبتا همگن از گونه‌هایی با ژیمنوتسیوم‌ها، ویژگی‌های ظاهری و آسکوسپورهای مشابه است و تمایز بین گونه‌ها بر اساس زائده‌های پیرامونی است (Currah 1985; Sole *et al.* 2002b). قارچ *Auxarthron* یکی از جنس‌های متعلق به راسته Onygenales و رده Eurotiomycetes می‌باشد که در محیط محتوی پروتئین کراتین زندگی می‌کنند (Guarro *et al.* 2002). گونه‌های *Auxarthron* آسکوکارپ ژیمنوتسیوم (gymnothecium) که از ریسه‌های درهم تنیده شده با دیواره ضخیم تشکیل شده است، ایجاد می‌کند و احتمالا این ساختار جنسی در پراکندگی این قارچ به واسطه بندپایان نقش دارد (Greif & Currah 2003). از این جنس، *A. alboluteum* Sigler, Hambl. & Flis از سیست نماتد *Heterodera filipjevi* Madzhidov در ایران گزارش شده است (Karimpour *et al.* 2021). گونه *A. kuehnii* برای اولین بار از ایران گزارش می‌شود. در تحقیقات گذشته گونه‌های دیگر این جنس، شامل *A. brunneum* (Rostrup) Orr & Kuehn، *A. umbrinum* (Boudier) Orr & Plunkett و *A. conjugatum* (Kuehn) Orr & Kuehn، به دفعات از حشرات به‌عنوان بیمارگر جداسازی و شناسایی شده است (Majchrowicz 2004).



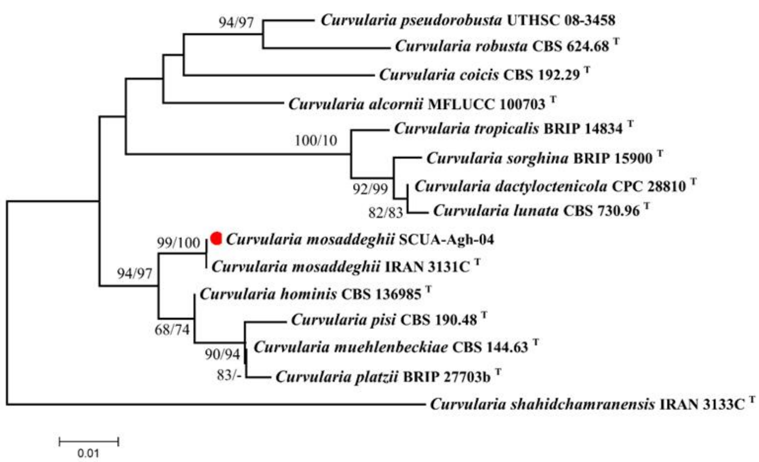
شکل ۱. درخت تبارزایی تک‌ژنی برای جدایه‌های *Auxarthron*، *Biscogniauxia*، *Metarhizium*، *Nigrospora* و *Petriella* که در تجزیه و تحلیل درست نمائی بیشینه بر اساس توالی ناحیه ITS با استفاده از مدل K2 + G به‌دست آمده است. آرایه‌های بررسی شده در این تحقیق با دایره توپر نشان داده شده است. اعداد بوت‌استراپ MLBP و MPBP بالاتر از ۵۰ درصد به ترتیب در محل گره‌ها آورده شده است. درخت تبارزایی با *Arthrinium vietnamense* IMI 99670 به عنوان آرایه خارجی ریشه‌دار شده است. سویه‌های تیپ با حرف T نشان داده شده است.

Figure 1. Single-locus phylogenetic tree of *Auxarthron*, *Biscogniauxia*, *Metarhizium*, *Nigrospora* and *Petriella* isolates, constructed using a maximum likelihood analysis, based on ITS region under K2+G model. The taxa under study are shown with filled circles. BS values at the nodes indicate MLBP and MPBP greater than 50 %, respectively. Phylogenetic tree was rooted with *Arthrinium vietnamense* IMI 99670 as outgroup taxon. Ex-Type strains indicated with T letter.



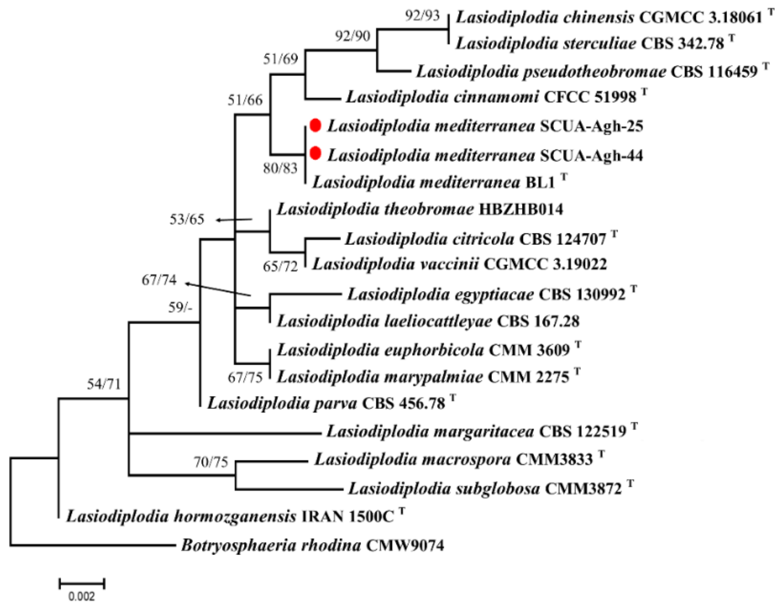
شکل ۲. درخت تبارزایی تک‌ژنی برای اعضای شاخه‌تکاملی Brachygibbosum در کمپلکس گونه‌ای FSAMSC که در تجزیه و تحلیل درست نمائی بیشینه بر اساس توالی *tef1a* با استفاده از مدل K2 + G به‌دست آمده است. آرایه بررسی‌شده در این تحقیق با دایره توپر نشان داده شده است. اعداد بوت‌استراپ MLBP و MPBP بالاتر از ۵۰ درصد به‌ترتیب در محل گره‌ها آورده شده است. درخت تبارزایی با *Fusarium nelsonii* NRRL 13338 به عنوان آرایه خارجی ریشه‌دار شده است. سویه‌های تیپ با حرف T نشان داده شده است.

Figure 2. Single-locus phylogenetic tree for mambers of Brachygibbosum clade whithin FSAMSC complex constructed, using a maximum likelihood analysis, based on *tef1a* region under K2+G model. The taxon under study is shown with filled circles. BS values at the nodes indicate MLBP and MPBP greater than 50 %, respectively. Phylogenetic tree was rooted with *Fusarium concolor* NRRL 13994 as outgroup taxon. Ex-Type strains indicated with T letter.



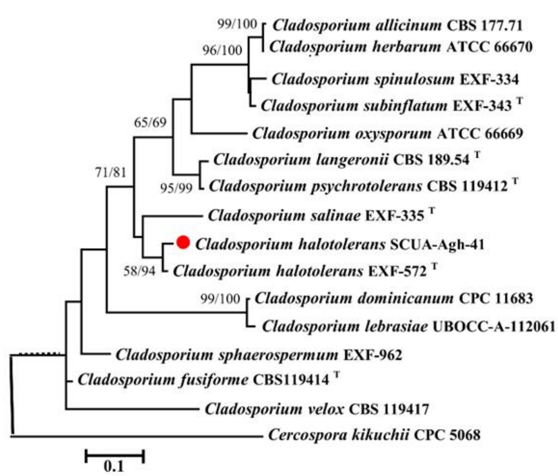
شکل ۳. درخت تبارزایی دو ژنی برای جدایه‌های *Curvularia* که در تجزیه و تحلیل درست نمائی بیشینه بر اساس ترکیب ناحیه‌های ITS و *gpdh* با استفاده از مدل K2+G به‌دست آمده است. آرایه بررسی‌شده در این تحقیق با دایره توپر نشان داده شده است. اعداد بوت‌استراپ MLBP و MPBP بالاتر از ۵۰ درصد به‌ترتیب در محل گره‌ها آورده شده است. درخت تبارزایی با *Curvularia shahidchamranensis* IRAN 3133C به عنوان آرایه خارجی ریشه‌دار شده است. سویه‌های تیپ با حرف T نشان داده شده است.

Figure 3. Two-locus phylogenetic tree of *Curvularia* isolate constructed, using a maximum likelihood analysis, based on combined sequences of ITS and *gpdh* regions under K2 + G model. The taxon under study is shown with filled circles. BS values at the nodes indicate MLBP and MPBP greater than 50 %, respectively. Phylogenetic tree was rooted with *Curvularia shahidchamranensis* IRAN 3133C as outgroup taxon. Ex-Type strains indicated with T letter.



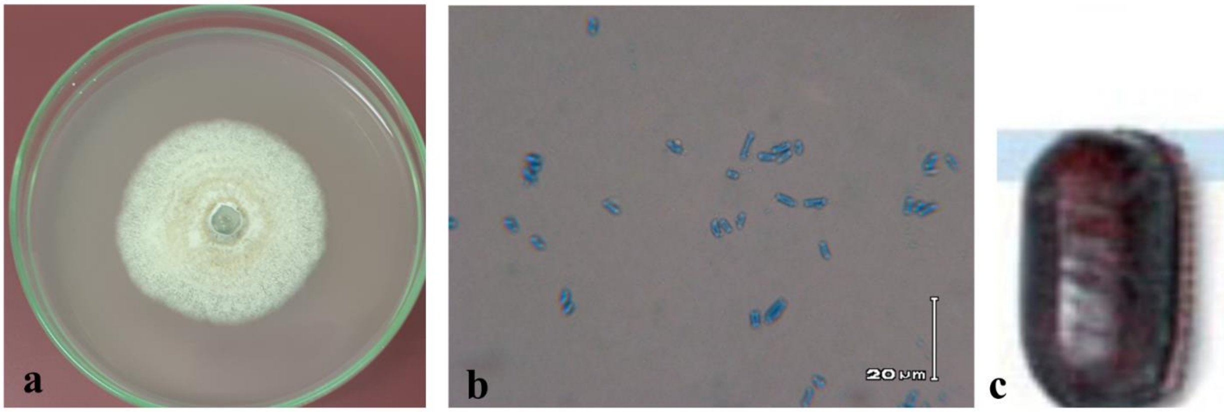
شکل ۴. درخت تبارزایی دو ژنی برای جدایه‌های *Lasiodiplodia* که در تجزیه و تحلیل درست نمائی بیشینه بر اساس ترکیب ناحیه‌های ITS و *tef1a* با استفاده از مدل K2 + G به‌دست آمده است. آرایه بررسی‌شده در این تحقیق با دایره توپر نشان داده شده است. اعداد بوت‌استراپ MLBP و MPBP بالاتر از ۵۰ درصد به‌ترتیب در محل گره‌ها آورده شده است. درخت تبارزایی با *Botryosphaeria rhodina* CMV 9074 به عنوان آرایه خارجی ریشه‌دار شده است. سویه‌های تیپ با حرف T نشان داده شده است.

Figure 4. Two-locus phylogenetic tree of *Lasiodiplodia* isolate constructed, using a maximum likelihood analysis, based on combined sequences of ITS and *tef1a* regions under K2 + G model. Taxon under study are shown with filled circles. BS values at the nodes indicate MLBP and MPBP greater than 50 %, respectively. Phylogenetic tree was rooted with *Botryosphaeria rhodina* CMV 9074 as outgroup taxon. Ex-Type strains indicated with T letter.



شکل ۵. درخت تبارزایی دو ژنی برای جدایه‌های *Cladosporium* که در تجزیه و تحلیل درست نمائی بیشینه بر اساس ترکیب ناحیه‌های ITS و *tub2* با استفاده از مدل TN93 + G به‌دست آمده است. آرایه بررسی‌شده در این تحقیق با دایره توپر نشان داده شده است. اعداد بوت‌استراپ MLBP و MPBP بالاتر از ۵۰ درصد به‌ترتیب در محل گره‌ها آورده شده است. درخت تبارزایی با *Cercospora kikuchii* CPC 5068 به‌عنوان آرایه خارجی ریشه‌دار شده است. سویه‌های تیپ با حرف T نشان داده شده است.

Figure 5. Two-locus phylogenetic tree of the *Cladosporium* isolate constructed, using a maximum likelihood analysis, based on combined sequences of ITS and *tub2* regions under TN93+G model. Taxon under study are shown with filled circles. BS values at the nodes indicate MLBP and MPBP greater than 50 %, respectively. Phylogenetic tree was rooted with *Cercospora kikuchii* CPC 5068 as outgroup taxon. Ex-Type strains indicated with T letter.



شکل ۶. ویژگی‌های ریخت شناختی گونه *Auxarthron kuehnii* (جدایه IRAN 3378C). **a.** پرگنه ۱۴ روزه روی محیط PDA در دمای ۲۸ درجه سلسیوس، **b.** کنیدیوم‌ها، **c.** حشره‌میزبان (Blattaria).

Figure 6. *Auxarthron kuehnii* (IRAN 3378C). **a.** 14 d old colony, **b.** Conidia, **c.** Host insect (Coleoptera).

۲- *گونه* *Biscogniauxia* sp.

نمونه بررسی شده: استان گلستان، گرگان (پارک ملی گلستان)، حشره کامل گونه‌ای سوسک (راسته Coleoptera، تیره Cerambycidae)، ۹۶/۶/۲۸، حمیده اغیل (جدایه IRAN 3377C).

در جستجوی بلاست، توالی ITS این جدایه با سویه‌های *Biscogniauxia mediterranea* (De Not.) Kuntze و *B. rosacearum* Bx26 ۱۰۰ درصد شباهت نوکلئوتیدی دارد. در درخت تبارزایی مبتنی بر ناحیه ITS (شکل ۱)، جدایه مورد بررسی با سویه *B. rosacearum* Bx26 خوشه‌بندی شد و یک شاخه تکاملی ایجاد کردند (MLBP: 96%, MPBP: 99%). گونه *B. rosacearum* با بررسی تعدادی جدایه از شانکر ساقه درختان *Cydonia oblonga* Mill.، *Prunus domestica* L. و *Pyrus communis* L. از خانواده *Rosaceae* معرفی و توصیف شده است (Raimondo *et al.* 2016). این گونه در آزمون بیماری‌زایی روی ساقه میزبان‌هایی که از آن جداسازی شده بود، تولید استروما کرده است (Raimondo *et al.* 2016). بررسی ریخت‌شناختی جدایه مورد بررسی نشان داده که طول کنیدیوم‌ها از سویه تیپ این گونه کوچکتر است (۳/۱-۵/۷ در مقابل ۵/۷-۶/۳). نزدیک‌ترین خویشاوند به *B. rosacearum* گونه *B. mediterranea* (De Not.) Kuntze است که در آن اندازه آسک و آسکوسپور بزرگتر است (Raimondo *et al.* 2016). در ایران، گونه *B. rosacearum* از درختان بادام جداسازی شده است (https://www.ncbi.nlm.nih.gov). گونه *B. mediterranea* از بیشتر مناطق دنیا از گیاهان مختلف، از جمله جنس‌های گیاهی *Castanea* Miller، *Carpinus* L.، *Corylus* L.، *Eucalyptus* L'Hér، *Fagus* L.، *Fraxinus* L.، *Juglans* L.، *Lithocarpus* Blume، *Pisonia* L. و *Quercus* L.، جداسازی و شناسایی شده است (Zibarova & Kout 2017). گونه *B. mediterranea* یکی از شایع‌ترین بیمارگرهای قارچی در حوزه مدیترانه بوده و به‌عنوان عامل بیماری شانکر ذغالی درخت بلوط شناخته شده است (Santos 2003). این بیمارگر به‌عنوان عامل نکروز روی ساقه‌ها و شاخه‌های درخت بلند مازو (*Quercus castaneifolia* C. A. Mey)، بلوط ایرانی (*Q. brantii* Lindl.) و درخت آزاد [*Zelkova carpinifolia* (Pall.) K.Koch] از ایران گزارش شده است (Mirabolphathi 2013). در مطالعات قبلی (Henriques *et al.* 2014)، برخی حشرات به‌عنوان ناقل گونه‌های *Biscogniauxia* شناخته شده‌اند که از آن جمله می‌توان به جنس‌های *Agrilus* Curtis، *Platypus* Herbst و *Tropideres* Schönherr اشاره کرد.

۳- *گونه* *Cladosporium halotolerans* Zalar, de Hoog & Gunde-Cim., Studies in Mycology 58: 172 (2007)

نمونه بررسی شده: استان خوزستان، شهرستان اهواز (شهرک نفت)، حشره کامل گونه‌ای سن (راسته Hemiptera، تیره Miridae)، ۹۶/۹/۱۱، حمیده اغیل (جدایه SCUA-Agh-41).

در جستجوی بلاست مبتنی بر ناحیه ITS، این جدایه با سویه‌های تیپ *C. halotolerans* CBS 119416 (= EXF 572) و *C. endophyticum* MFLUCC 17-0599 به ترتیب ۹۹/۴ و ۱۰۰٪ شباهت نوکلئوتیدی نشان داد. همچنین بر اساس توالی *tub2*، این جدایه ۱۰۰٪ با سویه *C. halotolerans* dH12991 (EF101423) تشابه نشان داد. در درخت تبارزایی دو ژنی مبتنی بر ناحیه‌های ITS و *tub2* (شکل ۵)، این جدایه با سویه‌ی تیپ *C. halotolerans* EXF 572 خوشه‌بندی شد و یک شاخه تکاملی با ارزش ناکافی ایجاد کرد (MLBP: 58, MPBP: 94). گونه *C. halotolerans* با توصیف سویه تیپ *C. halotolerans* CBS 119416، جداسازی شده از آب فوق‌العاد شور نمک‌زارهای نامیبیا، معرفی شده است (Zalar *et al.* 2007). این گونه با داشتن راموکنیدیوم‌های ثانویه ۲-۱ یاخته‌ای، ضخامت زیاد دیواره عرضی کنیدیوم‌برها و کنیدیوم‌ها و ریخت سنجی کنیدیوم‌ها و راموکنیدیوم‌ها از گونه‌های خویشاوند همچون *C. dominicanum* Zalar, de Hoog & Gunde-Cimerman و *C. lebrasiae* قابل تفکیک است (Zalar *et al.* 2007). سویه‌های دیگر این قارچ از آب‌های شور در مناطق نیمه‌استوایی، یخ قطبی، زخم‌های انسان و دام، تخته سنگ‌ها و گیاهان جداسازی شده است (Zalar *et al.* 2007). در ایران، این گونه از سطوح داخلی در محیط‌های پزشکی و گیاه *Citrullus colocynthis* Schrad. جداسازی شده است (Ershad 2009). برخی گونه‌های *Cladosporium* عامل بیماری‌های گیاهی، حیوانی و حشرات هستند (De Hoog *et al.* 2000). در دو تحقیق از دستگاه گوارش سوسری‌های آلمانی و آمریکایی، جنس *Cladosporium* نیز مشاهده شده است (Pai *et al.* 2004; Saichua *et al.* 2008).

۴- *گونه* *Curvularia mosaddeghii* Mehrabi-Koushki & Farokhinejad, Mycosphere 9(4): 641 (2018)

نمونه بررسی‌شده: استان خوزستان، شهرستان اهواز (محوطه دانشگاه شهید چمران)، حشره کامل گونه‌ای پروانه (راسته Lepidoptera، تیره Hesperiidae)، ۹۶/۷/۲۰، حمیده اغیل (جدایه CBS 144685).

نتایج حاصل از جستجوی بلاست مبتنی بر هر دو ناحیه ITS و *gpdh*، نشان داد که این جدایه با سویه تیپ *C. mosaddeghii* IRAN3131C، به ترتیب ۹۹/۵ و ۱۰۰ درصد شباهت نوکلئوتیدی دارد. این جدایه در درخت تبارزایی دو ژنی مبتنی بر ترکیب ناحیه‌های ITS و *gpdh* (شکل ۳)، با سویه تیپ *C. mosaddeghii* IRAN3131C خوشه بندی شد و یک شاخه تکاملی با اعتبار کافی ایجاد کردند (MLBP: 99%, MPBP: 100%). گونه *C. mosaddeghii* اولین بار از برگ درخت جامبو (*Syzygium cumini* (L.) Skeels) و لوبیا چشم‌بلبلی (*Vigna unguiculata* (L.) Walp.) در ایران جداسازی و توصیف شد (Heidari *et al.* 2018). مهم‌ترین ویژگی آن، داشتن کنیدیوم‌های چهار یاخته‌ای است که در سومین یاخته به‌صورت نابرابر متورم شده و باعث خمیدگی آن می‌شود. این گونه از نظر ریخت‌شناسی از سه گونه خویشاوند خود، شامل *C. hominis* Da Cunha, Madrid, Gené & Cano، *C. muehlenbeckiae* Madrid, Da Cunha, Gené, Guarro & Crous و *C. pisi* Y. Marin & Crous، با داشتن کنیدیوم‌های باریک‌تر متمایز می‌شود. چند گونه جنس *Curvularia* در آلودگی‌های فرصت طلبانه مهره‌داران دخیل هستند (Hoog *et al.* 2005). تعدادی از گونه‌های *Curvularia* در طبیعت به عنوان اندوفیت یافت می‌شوند (Tadych *et al.* 2012; Gautam *et al.* 2013; Jena & Tayung 2013; Heidari *et al.* 2018). تعدادی از گونه‌ها نیز اپی‌فیت، گندروی و بیمارگر هستند (Manamgoda *et al.* 2015). جنس‌های *Curvularia* و *Penicillium* به‌عنوان قارچ‌های فرصت‌طلب از راسته‌های مختلف حشرات در کشور گینه جداسازی شده است (Ferial *et al.* 2017). در این مطالعه، قارچ‌های *Alternaria* Nees، *Bipolaris* Shoemaker، *Cladosporium*، *Mucor* Fresen.، *Phytophthora* de Bary، *Pyricularia* و *Rhizopus* Ehrenb. به‌عنوان قارچ‌هایی که حشرات حامل آنها هستند، شناسایی شدند.

۵- *گونه* *Fusarium brachygibbosum* Padwick, Mycological Papers 12: 11 (1945)

نمونه بررسی شده: استان گلستان، شهرستان گالیکش (منطقه نیل کوه)، حشره کامل گونه‌ای ملخ شاخک کوتاه (راسته Orthoptera، تیره Acrididae)، ۹۶/۷/۱۲، حمیده اغیل (جدایه SCUA-Agh-13).

نتایج حاصل از جستجوی بلاست این جدایه نشان داد که توالی *tef1α* آن با سویه *F. brachygibbosum* CBS 131252 (JX118981)، ۱۰۰ درصد شباهت نوکلئوتیدی دارد. در درخت

تبارزایی مبتنی بر ناحیه *tef1α* (شکل ۲)، جدایه مورد بررسی با این سویه خوشه‌بندی شد و یک شاخه تکاملی ایجاد کرد (MLBP: 77%, MPBP: 77%). گونه *F. brachygibbosum* در سال ۱۹۴۵ معرفی و توصیف شد (Padwick 1945). این گونه متعلق به شاخه تکاملی Brachygibbosum در کمپلکس *F. sambucinum* Fuckel (FSAMSC) است. کمپلکس گونه‌ای FSAMSC شاخه‌های تکاملی Brachygibbosum، Graminearum، Longipes، Sambucinum، Sporotrichioides و یک دودمان جدید را شامل می‌شود (Laraba *et al.* 2021). در شاخه تکاملی Brachygibbosum، تاکنون ۱۳ دودمان تبارزایی (گونه تبارزایی) کشف شده است و تنها برای دو دودمان نامگذاری و توصیف گونه (شامل گونه‌های *F. brachygibbosum* و *F. transvaalense* Sand.-Den., Crous & W.J. Swart) ارایه شده است (Laraba *et al.* 2021). این گونه با داشتن کلامیدوسپور و ماکروکنیدیوم‌های بلندتر از گونه خویشاوند *F. avenaceum* (Fr.) Sacc. متمایز می‌شود. در ایران، این گونه از برخی گیاهان از جمله *Avena* sp. ، *Citrus unshiu* Marcow.، *Mentha piperita* L.، *Nerium oleander* L. و *Zea mays* L. جداسازی و شناسایی شده است (https://www.ncbi.nlm.nih.gov; Mirhosseini *et al.* 2014; Habibi *et al.* 2018). گونه‌های جنس *Fusarium* قارچ‌های مهم بیمارگر گیاهی، انسانی و تولیدکننده مایکوتوکسین‌هایی هستند که برای سلامتی انسان و حیوانات از جمله برخی حشرات خطرناک هستند. تعدادی از گونه‌های جنس *Fusarium* از مراحل زیستی حشرات، به‌عنوان بیمارگر یا همراه غیربیمارگر، جداسازی شده است، مانند *Fusarium javanicum* (Fr.) Sacc.، *F. moniliforme* J. Sheld. ، *F. solani* (Mart.) Appel & Wollenw.، *Fusarium roseum* Link و *F. oxysporum* Schltdl. (Sharma & Marques 2018). در یک بررسی در ایران (Asadalapour *et al.* 2010)، ۱۲ گونه قارچی از جمله *F. verticillioides* (Sacc.) Nirenberg از حشرات مختلف جداسازی و شناسایی شده است.

۶- *گونه* *Lasiodiplodia mediterranea* Linaldeddu, Deidda & Berraf-Tebbal, Fungal Diversity 71: 207 (2014)

نمونه‌های بررسی شده: استان گلستان، (آزادشهر)، حشره کامل گونه‌ای سوسک (راسته Coleoptera، تیره Scarabeidae)، ۹۶/۷/۱۲، حمیده اغیل (جدایه‌های IRAN 3876C و IRAN 3875C).

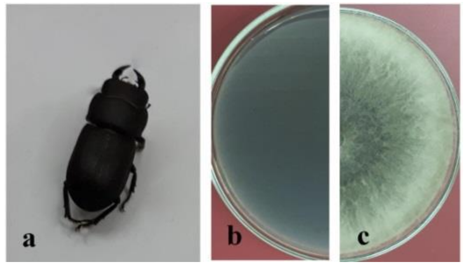
قطر پرگنه روی محیط کشت PDA پس از سه روز در شرایط دمایی ۰/۵ ± ۲۸ درجه سلسیوس، ۷۱ میلی‌متر، ابتدا سفید رنگ، به تدریج تیره‌تر به رنگ سبز تیره مایل به خاکستری با حاشیه خاکستری؛ میسیلیوم‌ها به صورت کرکی و منشعب، رشد یافته در مرکز به صورت هوایی. هیچ اندام باردهی روی محیط PDA تشکیل نشد (شکل ۷).

نتایج حاصل از جستجوی بلاست جدایه‌های مورد بررسی نشان داد که توالی ITS و *tef1α* آنها با سویه تیپ *L. mediterranea* CBS 137783 (= BL1)، ۱۰۰ درصد شباهت نوکلئوتیدی دارد. در درخت تبارزایی دو ژنی ساخته‌شده بر اساس ناحیه‌های ITS و *tef1a* (شکل ۴)، این جدایه‌ها با سویه تیپ خوشه‌بندی شدند و یک شاخه تکاملی با ارزش ناکافی ایجاد کردند (MLBP: 80%, MPBP: 83%). گونه *L. mediterranea* و *L. pseudotheobromae* A.J.L. Phillips, A. Alves & Crous سه جفت باز در ناحیه ITS و ۹ جفت باز در ناحیه *tef1α* تفاوت دارند (Linaldeddu *et al.* 2014). ویژگی‌های ریخت‌شناختی که گونه *L. mediterranea* را از سایر گونه‌ها متمایز می‌کند شامل کنیدیوم‌های بزرگ‌تر، اندازه دیواره عرضی و پارافیزهای منشعب است (Linaldeddu *et al.* 2014). در تحقیقات گذشته، حشرات به‌عنوان ناقل و انتشاردهنده گونه *Lasiodiplodia theobromae* معرفی شده است (Nago *et al.* 1997). همراهی گونه‌های *Lasiodiplodia* با حشرات چوبخوار و شاخه‌های آسیب‌دیده از آنها گزارش شده است (Mohammadi & Sharifi 2016). این گونه برای اولین بار از ایران گزارش می‌شود.

۷- *گونه* *Metarhizium brunneum* Petch, Transactions of the British Mycological Society 19 (3): 189 (1935)

نمونه بررسی شده: استان گلستان (گنبدکاووس)، شفیره گونه‌ای پروانه (راسته Lepidoptera، تیره Papilionidae)، ۹۶/۷/۱۲، حمیده اغیل (جدایه IRAN 3877C).

در جستجوی بلاست مبتنی بر توالی ITS، این جدایه با سویه تیپ *M. brunneum* CBS 316.51، ۹۹/۷ درصد شباهت نوکلئوتیدی دارد. در درخت تبارزایی ترسیم شده مبتنی برتوالی ITS (شکل ۱)، جدایه مورد بررسی با این سویه خوشه‌بندی شد و یک شاخه تکاملی با ارزش بوت‌استراپ ناکافی ایجاد کردند (MLBP: 86%, MPBP: 98%). این گونه با توصیف سویه تیپ *M. brunneum* CBS 316.51، جداسازی شده از یک حشره تیره Cicadellidae در فیلیپین، معرفی شد (Petch 1935).



شکل ۷. گونه *Lasiodiplodia mediterranea* (جدایه IRAN 3876C). **a**. حشره میزبان از تیره Scarabaeidae، **b-c**. پرگنه ۱۰ روزه روی محیط PDA در دمای ۲۸ درجه سلسیوس در سطح رویی و پشتی.

Figure 7. *Lasiodiplodia mediterranea* (IRAN 3876C). **a.** Host insect from the family Scarabaeidae, **b-c.** 10 d old colony on PDA in top and reverse sides.

گونه *M. brunneum* با شکل و رنگ فیالیدها از گونه *Metarrhizium anisopliae* متمایز می‌شود. در ایران این گونه از خاک (به روش طعمه‌گذاری خاک با لارو *Galleria mellonella*) در شاهرود جداسازی شده است (Farokhy *et al.* 2018).

گونه‌های *Metarhizium* و *Beauveria* از عوامل قارچی فرصت‌طلب هستند که مرحله زندگی انگلی را در میزبان زنده و مرحله ساپروفیتی را روی اجساد حشرات طی می‌کنند. اختصاصی بودن میزبان در آلودگی بوسیله *M. anisopliae* (Metschnikoff) Sorokin به توانایی اتصال اسپورها به کوتیکول لارو پشه‌ها و سوسک‌های اسکارابیده ارتباط دارد (Zebold *et al.* 1979).

۸- *گونه* *Nigrospora oryzae* (Berk. & Broome) Petch, Journal of the Indian Botanical Society 4: 24 (1924)

نمونه بررسی شده: استان خوزستان، شهرستان اهواز (منطقه-پارک ساحلی کیانپارس)، حشره‌کامل گونه‌ای ملخ شاخک کوتاه (راسته Orthoptera، تیره Acrididae)، ۹۶/۹/۱۱، حمیده اغیل (جدایه IRAN 3380C).

در جستجوی بلاست، توالی ITS این جدایه با سویه *N. oryzae* Jc-3 (MN317342)، ۹۹/۸ درصد شباهت نوکلئوتیدی دارد. در درخت تبارزایی مبتنی بر ناحیه ITS (شکل ۱)، این جدایه با سویه *N. oryzae* LC2693 (Yuanyuan *et al*. 2020) و سویه‌هایی از گونه‌های خویشاوند در یک شاخه تکاملی قرار گرفتند (MLBP: 65%, MPBP: 68%). گونه *N. oryzae* اولین بار با نام *Monotospora oryzae* Berk. & Broome توصیف شد ولی بعدا به جنس *Nigrospora* منتقل شد (Kirk *et al.* 2001). جنس *Nigrospora* جزو قارچ‌های آسکومیستی با توزیع جهانی و دامنه میزبانی گسترده است که در تحقیقات مختلف به‌عنوان اندوفیت از برگ و ساقه گیاهان مختلف و یا به‌عنوان ساپروفیت از لارو مرده حشرات و برگ جداسازی شده است (Mason 1927; Wu *et al.* 2009; Thalavaipandian *et al.* 2011). ماده فومالکتون (Phomalactone) تولید شده توسط گونه *N. spherical* (Sacc.) E.W. Mason روی پشه‌ها تاثیر کنترلی دارد (Meepagala *et al.* 2015). (Doroodgar *et al.* (2005) گونه‌های *Nigrospora* را از سطح خارجی بدن سوسری آلمانی جداسازی کرده‌اند. در ایران، گونه *N. oryzae* از گیاهانی همچون چای، نارنج، نارنج سه‌برگ، ذرت، ذرت خوشه‌ای، لیموترش، نارنگی، پرتقال، انشیو، سوروف، پنبه آمریکایی، جو و برنج در مناطق مختلف ایران از جمله گیلان و مازندران (عباس‌آباد، نوشهر، رامسر، چالوس و تنکابن) گزارش شده است (Ershad 2009).

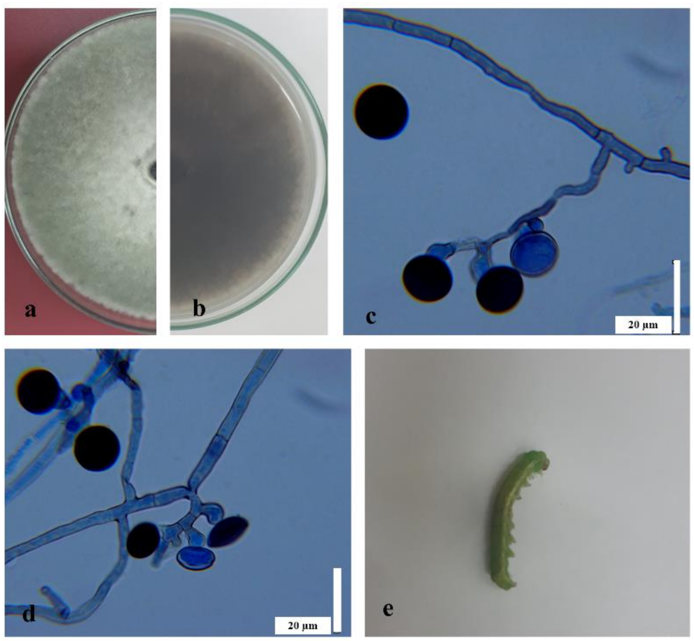
۹- *گونه* *Nigrospora osmanthi* Mei Wang & L. Cai, Persoonia 39: 135 (2017)

نمونه بررسی شده: استان خوزستان، شهرستان اهواز (محوطه مجتمع خوابگاهی)، لارو گونه‌ای شب‌پره (راسته Lepidoptera،

تیره Noctuidae)، ۹۶/۹/۱۲، حمیده اغیل (جدایه IRAN 3381C).

قطر پرگنه روی محیط کشت PDA پس از چهار روز در شرایط دمایی ۰/۵ ± ۲۸ درجه سلسیوس، ۷۲ میلی‌متر است. پرگنه با رشد پنبه‌ای، رنگ آن در ابتدا سفید و به تدریج تیره و در سطح پشتی سبز تیره است. ریسه‌ها قهوه‌ای مایل به زرد، به قطر ۴/۵-۲/۵ میکرومتر؛ یاخته‌های کنیدیوم‌زا قهوه‌ای، مونوبلاستیک، به ابعاد ۱۰/۶-۵/۳ (-۳/۳) × (-۱۴) ۱۱/۸-۵/۶ میکرومتر و کنیدیوم‌ها منفرد، کروی، صاف، به ابعاد ۱۶/۹-۱۱/۳ (-۹) × ۱۱/۱۶-۳/۹ میکرومتر اندازه گیری شد (شکل ۸).

جستجوی بلاست این جدایه نشان داد که توالی ITS آن با سویه تیپ *N. osmanthi* CGMCC 3.18126، ۱۰۰ درصد شباهت نوکلئوتیدی دارد. در درخت تبارزایی مبتنی بر ناحیه ITS (شکل ۱)، این جدایه با سویه‌های تیپ از گونه‌های *N. lacticolonia* Mei Wang & L. Cai، *N. osmanthi* و *N. vesicularis* Mei Wang & L. Cai یک شاخه تکاملی تشکیل داد (MLBP: 97%, MPBP: 99%). گونه *N. osmanthi* با توصیف سویه تیپ آن (CGMCC3.18126) که از گیاه *Osmanthus* sp. در چین جداسازی شده بود، معرفی شد (Wang *et al.* 2017). این گونه همچنین از گیاهان *Hedera nepalensis* K. Koch، *Stenotaphrum secundatum* (Walter) Kuntze، *Rudbeckia hirta* L. و تعدادی از گیاهان دیگر جداسازی شده است (Wang *et al.* 2017). این مطالعه برای اولین بار گونه *N. osmanthi* را برای میکوبیوتای ایران گزارش می‌دهد.



شکل ۸. گونه *Nigrospora osmanthi* (جدایه IRAN 3381C). **a-b.** پرگنه هشت‌روزه روی محیط PDA در دمای ۲۸ درجه سلسیوس، سطح رویی (a) و پشتی (b)، **c-d.** یاخته‌های کنیدیوم‌زا و کنیدیوم‌ها، **e.** لارو حشره میزبان (Noctuidae).

Figure 8. *Nigrospora osmanthi* (IRAN 3381C). **a–b.** 8 d old colony in top (a) and reverse sides (b), **c-d.**, Conidiogenous cells and conidia, **e.** Larva of host insect (Noctuidae).

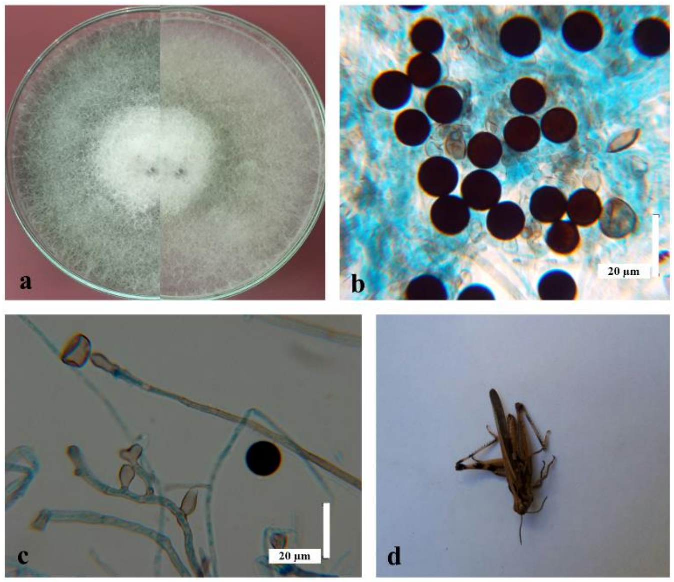
۱۰- گونه *Nigrospora gorlenkoana* Novobr., Novosti Sistematiki Nizshikh Rastenii 9: 180 (1972)

نمونه بررسی شده: استان خوزستان، شهرستان اهواز (بلوار ساحلی)، حشره کامل گونه‌ای ملخ (راسته Orthoptera، تیره Tetrigidae)، ۹۶/۹/۱۱، حمیده اغیل (جدایه SCUA-Agh-03).

قطر پرگنه روی محیط کشت PDA پس از پنج روز در شرایط دمایی ۰/۵ ± ۲۸ درجه سلسیوس، ۷۰ میلی‌متر است. رنگ پرگنه در سطح رویی خاکستری تا سبز و در سطح پشتی پرگنه تیره‌تر مشاهده شد؛ ریسه‌ها حالت کرکی و هوایی داشته و رنگ آنها قهوه‌ای‌است؛ یاخته‌های کنیدیوم‌زا مونوبلاستیک، به ابعاد -۷/۷

۳/۸(۲/۶-) × (۱۲/۹-) ۶/۱۱-۵/۲ میکرومتر و کنیدیوم‌ها بصورت منفرد، صاف، به ابعاد ۱۵/۴۸-۱۲/۹ × ۱۵/۴۸-۱۲/۹ میکرومتر اندازه گیری گردید (شکل ۹).

نتایج حاصل از جستجوی بلاست این جدایه نشان داد که توالی ITS آن با سویه تیپ *N. gorlenkoana* CBS 480.73، ۹۹/۷ درصد شباهت نوکلئوتیدی دارد. در درخت تبارزایی مبتنی بر ناحیه ITS (شکل ۱)، جدایه SCUA-Agh-03 با سویه تیپ این گونه خوشه‌بندی شد و یک شاخه تکاملی تشکیل دادند (MLBP: 96%, MPBP: 99%). گونه *N. gorlenkoana* در سال ۱۹۷۲ از میوه و برگ تاک (*Vitis vinifera* L.) در قزاقستان جداسازی و توصیف شد (Wang *et al.* 2017).



شکل ۹. گونه *Nigrospora gorlenkoana* (جدایه SCUA-Agh-03). **a.** پرگنه شش روزه (راست) و ده روزه (چپ) روی محیط PDA در دمای ۲۸ درجه سلسیوس. **b-c.** یاخته‌های کنیدیوم‌زا و کنیدیوم‌ها، **d.** حشره میزبان (Tetrigidae)،

Figure 9. *Nigrospora gorlenkoana* (SCUA-Agh-03). **a.** 6 d old (right) and 10 d old (left) colony **b-c.** Conidiogenous cells and Conidia, **d.** Host insect (Tetrigidae).

این گونه از برگ گیاه *Cirsium setosum* (Willd.) در چین، که دارای علایم لکه‌برگی بود، بعنوان بیمارگر یا اندوفیت گزارش شده است (Hao *et al.* 2020). این گونه همچنین از گیاه *Excoecaria agallocha* L. گزارش شده است (https://www.ncbi.nlm.nih.gov). در دو گونه *N. oryzae* و *N. osmanthi*، اندازه کنیدیوم‌ها تقریبا مشابه هستند ولی در کنیدیوم‌برها با هم تفاوت دارند (Wang *et al.* 2017). در *N. oryzae*، کنیدیوم‌برها منشعب، خوشه‌ای و مشخص هستند در صورتیکه در گونه *N. osmanthi*، کنیدیوم‌برها محدود به سلول‌های کنیدیوم‌زایی روی ریسه شده است. در گونه *N. gorlenkoana*، کنیدیوم‌برها بر خلاف گونه *N. oryzae* منفرد و گروهی نیست و کنیدیوم‌های آن نیز روشن‌تر است (Wang *et al.* 2017). این گونه برای اولین بار از ایران گزارش می‌شود.

۱۱- گونه *Petriella guttulata* G.L. Barron & Cain, Canadian Journal of Botany 39 (4): 837 (1961)

نمونه بررسی شده: استان گلستان، گرگان (پارک شهری)، حشره کامل گونه‌ای سوسک (راسته Coleoptera، تیره Tenebrionidae)، ۹۶/۷/۱۰، حمیده اغیل (جدایه IRAN 3874C).

با انجام جستجوی بلاست مبتنی بر ناحیه ITS و *tef1a*، این جدایه با سویه تیپ *P. guttulata* CBS 362.61، ۹۹ درصد شباهت نوکلئوتیدی نشان داد. در درخت تبارزایی مبتنی بر ناحیه ITS (شکل ۱)، جدایه مورد بررسی با سویه تیپ فوق خوشه‌بندی شد و یک شاخه تکاملی ایجاد کردند (MLBP: 96%, MPBP: 99%). جنس *Petriella* شامل هشت گونه شناخته شده می‌باشد. گونه مورد مطالعه با توصیف سویه تیپ *P. guttulata* TRTC 33681 (CBS 362.61)، جداسازی شده از

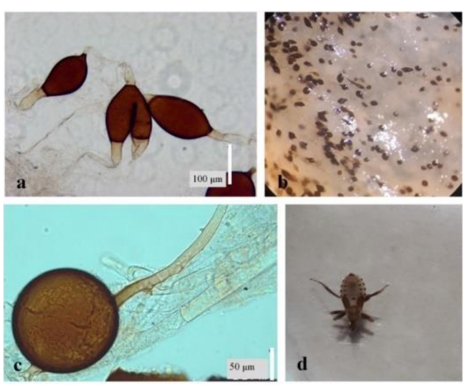
سرگین گوزن در کانادا، معرفی شد (Barron *et al.* 1961). گونه *P. guttulata* از نظر کنیدیوم‌ها و مشخصات رشدی شبیه گونه *P. sordida* (Zukal) Barron & Gilman است ولی به‌واسطه پاپیل پریتسیوم و آسکوسپورها از آن متمایز می‌شود. این گونه به دلیل دارا بودن آسکوسپورهایی که واجد قطره‌های بزرگ روغن هستند از سایر گونه‌ها تفکیک می‌شود. قطره‌های روغنی در آسکوسپورهای بالغ به شکل حباب به‌نظر می‌رسند (Kirk *et al.* 2001) که در جدایه مورد مطالعه مشاهده شد. مراحل غیرجنسی مشاهده شده مرتبط با این گونه شامل جنس‌های *Sporotrichum* و *Graphium* است ولی در این مطالعه تنها فرم شبه‌گرافیوم مشاهده شد. در ایران گونه‌های *P. guttulate* و *P. sordida* از گیاه بلوط جداسازی شده است (Hajizadeh *et al.* 2015; Alidadi *et al.* 2018). اکثر گونه‌های جنس *Petriella* (تیره Microascaceae) ساپروفیت هستند، تعدادی از گونه‌ها بیمارگر بالقوه انسانی می‌باشند. گونه‌های *Petriella* تمایل دارند روی مدفوع حیوانات از جمله مدفوع اسب، پرنده، انسان، کمپوست، گیاهان در حال تجزیه و سایر بسترهای غنی از مواد مغذی رشد کنند (Kirk *et al.* 2001). قارچ‌های تیره Microascaceae (*Microascus* و *Petriella*) گروهی از قارچ-های انگل پستانداران هستند که ظاهرا به‌وسیله حشرات انتشار پیدا می‌کنند (Blackwell & Jones 1997).

۱۲- گونه *Phascolomyces articulosus* Boedijn, Sydowia 12 (1-6): 349 (1958)

نمونه بررسی شده: استان خوزستان، اهواز (بلوار ساحلی)، حشره کامل گونه‌ای سن (راسته Hemiptera، تیره Reduviidae)، ۹۶/۹/۱۱، حمیده اغیل (جدایه SCUA-Agh-11).

پرگنه روی محیط کشت PDA، ابتدا به رنگ سفید سپس به رنگ کرمی و دارای ظاهر کرکی؛ کلامیدوسپورها به فراوانی تشکیل شده، قهوه‌ای‌رنگ، میانی و منفرد، گه‌گاهی زنجیره کوتاه، کروی، نیمه‌کروی، بیضوی و حتی استوانه‌ای کشیده، به ابعاد (۱۹۵/۵-)۱۵۲-۶۵/۲ × (۴۵۶/۱۲-)۳۷۲/۵-۱۱۹/۵ (۱۰۸/۶-) میکرومتر اندازه‌گیری گردید (شکل ۱۰).

در جستجوی بلاست مبتنی بر ناحیه ITS، این جدایه با سویه شناخته‌شده *Phascolomyces articulosus* CBS 113.76، ۹۹/۵ درصد شباهت نوکلئوتیدی نشان داد. جنس *Phascolomyces* (گونه *Ph. articulosus*) همراه با جنس‌های *Cunninghamella* و *Thamnocephalis* ابتدا در تیره Cunninghallaceae قرار داده شد (Boedijn 1958). سپس، گونه *Ph. articulosus* به این دلیل که دیواره مقاوم اسپورانژیوم به آسانی از اسپورانژیوفور جدا می‌شود، به تیره Thamnidiaceae منتقل شد (Benny & Benjamin 1976). اعضای این تیره از خاک و مدفوع حیوانات جداسازی شده‌اند و بیشتر گونه‌ها کود دوست و در دمای سرد و معتدل رشد می‌کنند. یکی از ویژگی‌های مهم ریخت‌شناختی این قارچ تولید کلامیدوسپورهای کروی، تخم‌مرغی، چماقی، گلابی، و گاهی اوقات نامنظم است و همیشه قطر آنها بیشتر از قطر ریسه‌هایی است که از آن رشد می‌یابند. قارچ *Phascolomyces articulosus* به‌عنوان یکی از قارچ‌های همراه حشرات تولید کننده کیتین است و این ظرفیت در برهمکنش احتمالی این قارچ با حشرات و بیماری‌زایی روی آنها نقش دارد (Balasubramanian & Manocha 1992). این جنس (گونه *P. articulosus*) برای اولین بار از ایران گزارش می‌شود.



شکل ۱۰. گونه *Phascolomyces articulosus* (جدایه SCUA-Agh-11): **a-c**. کلامیدوسپورها. **d**. حشره میزبان (Reduviidae).

Figure 10. *Phascolomyces articulosus* (SCUA-Agh-11): **a-c.** Chlamydospores, **d.** Host insect (Reduviidae).

سپاسگزاری

به این وسیله از معاونت پژوهشی دانشگاه شهید چمران اهواز به جهت پوشش مالی این تحقیق قدردانی می‌شود.

Rferences

Ahmadpour SA, Mehrabi-Koushki M, Farokhinejad R, 2017. *Neodidymelliopsis farokhinejadii*, a new fungal species from dead branches of trees in Iran. *Sydowia* 69: 171–182.

Alexopoulos, CJ, Beneke ES, 1962. Laboratory Manual for Introductory Mycology. Burgess Pub. Co, Minneapolis. 199 pp.

Alidadi A, Javan-Nikkhah MJ, Kowsari M, Karami S, 2018. Some species of fungi associated with declined Persian oak trees in Ilam province with emphasis on new records to mycobiota of Iran. *Rostaniha* 19 (2): 75–91. (In Persian with English abstract).

Araujo JPM, Hughes DP, 2016. Diversity of Entomopathogenic Fungi: Which Groups Conquered the Insect Body. Genetics and Molecular Biology of Entomopathogenic Fungi. Elsevier, Cambridge. 94 pp.

Asadalapour M, Zafari D, Zare R, 2011. Hyphomycetous fungi isolated from insects and their pathogenic effect on colorado beetle in Hamedan province. *Iranian Journal of Plant Protection* 24 (4): 447–465.

Babaahmadi G, Mehrabi-Koushki M, Hayati J, 2018. *Allophoma hayatii* sp. nov., an undescribed pathogenic fungus causing dieback of *Lantana camara* in Iran. *Mycological Progress* 17 (3): 365–379.

Barron GL, Cain RF, Gilman JC, 1961. A revision of the genus *Petriella*. *Canadian Journal of Botany* 39(4): 837–845.

Balasubramanian R, Manocha MS, 1992. Cytosolic and membrane-bound chitinases of two mucoraceous fungi: a comparative study. *Canadian Journal of Microbiology* 38 (4): 331–338.

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

Benny GL, Benjamin RK, 1976. Observations on Thamnidiaceae (Mucorales). *Chaetocladium*, *Cokeromyces*, *Mycotypha* and *Phascolomyces*. *Aliso* 8: 391–424.

Beneke ES, Rogers AL, 1996. Medical Mycology and Human Mycoses. Star Publishing Company, Belmont. 239 pp.

Blackwell M, Jones K, 1997. Taxonomic diversity and interactions of insect-associated ascomycetes. *Biodiversity and Conservation* **6:** 689–699.

Boedijn KB, 1958. Notes on the Mucorales of Indonesia. *Sydowia* 12: 321–362.

Carbone I, Kohn LM, 1999. A method for designing primer sets for speciation studies in filamentous ascomycetes. *Mycologia* 91: 553–556.

Charnley AK, 2003. Fungal pathogens of insects: Cuticle degrading enzymes and toxin. *Advances in Botanical Research* 40: 241–321.

Currah RS, 1985. Taxonomy of the Onygenales: Arthrodermataceae, Gymnoascaceae, Myxotrichaceae and Onygenaceae. *Mycotaxon* 24: 1–216.

de Hoog GS, Guarro J, Gene J, Figueras MJ, 2000. Atlas of Clinical Fungi. [2]nd edition, Centraalbureau voor Schimmelcultures, Utrecht, The Netherlands. 1126 pp.

Doroodgar A, Khorshidi A, Shajari GR, Tashakkor Z, 2005. Bacterial infection of cockroaches in Kashan hospitals. *Feyz* 8(4): 30–38.

Ershad D, 2009. Fungi of Iran. [3]rd edition, Iranian Research Institute of Plant Protection, Tehran. 531 pp.

Farokhy N, Jokar M, Parsaeiyan M, Derakhshan-Shadmehri A, Masoudi A, 2018. Identification of 30 isolates of the *Metarhizium* spp. via ITS1-5 / 8S-ITS2 sequence. *Applied Biology* 31 (1): 228–256.

Ferial P, Elford L, Subramanian G, Abdullah A, 2017. Investigation of entomopathogenic fungi from insects at University of Guyana Turkeyen Campus. *Current Trends in Biomedical Engineering & Biosciences* 5 (2): 30–34.

Gautam AK, Kant M, Thakur Y, 2013. Isolation of endophytic fungi from *Cannabis sativa* and study their antifungal potential. *Archive of Phytopathology and Plant Protection* 46: 627–635.

Gouli V, Gouli S, Marcelino JAP, Skinner M, Parker BL, 2013. Entomopathogenic fungi associated with exotic invasive insect pests in northeastern forests of the USA. *Insects* 4: 631–645.

Greif MD, Currah RS, 2003. A functional interpretation of the role of the reticuloperidium in whole-ascoma dispersal by arthropods. *Mycology Reserches* 107: 77–81.

Guarro J, Summerbell RC, Samson RA, 2002. Onygenales: the dermatophytes, dimorphics and keratin degraders in their evolutionary context. *Studies in Mycology* 47: 1–220.

Gul HT, Saeed S, Khan FZA, 2014. Entomopathogenic fungi as effective insect pest management tactic: A review. *Applied Sciences and Business Economics* 1: 10–18.

Habibi A, Mansouri SM, Sadeghi B. 2018. *Fusarium* species associated with medicinal plants of Lamiaceae and Asteraceae. *Mycologia Iranica* 5: 91–101.

Hajizadeh A, Jahanshir A, Abdollahzadeh J, 2015. New records of endophytic fungi isolated from oak trees in Kurdistan province (Iran). *Rostaniha* 16 (1): 109–122.

Hall TA, 1999. BioEdit: a user-friendly biological sequence alignment editor and analysis program for windows 95/98/NT. *Nucleic Acids Symposium Series* 41: 95–98.

Hao Y, Aluthmuhandiram JVS, Chethana KWT, Manawasinghe IS, Li X, *et al.,* 2020. *Nigrospora* species associated with various hosts from Shandong Peninsula, China. *Mycobiology* 48(3): 169–183.

Heidari K, Mehrabi-Koushki M, Farokhinejad R, 2018. *Curvularia mosaddeghii* sp. nov., a novel species from the family Pleosporaceae. *Mycosphere* 9: 635–646.

Henriques J, Barrento MJ, Bonifácio L, Gomes AA, Lima A, *et al.,* 2014. Factors affecting the dispersion of *Biscogniauxia mediterranea* in Portuguese cork oak stands. *Silva Lusitana* 22 (1): 83–97.

Hoog GS, 2005. Hortaeaacidophila a new acid-to lerant black yeast fromlignite. *Antonie Van Leeuwenhoek* 86: 287–294.

Jena SK, Tayung K, 2013. Endophytic fungal communities associated with two ethno-medicinal plants of Similipal Biosphere Reserve, India and their antimicrobial prospective. *Journal of Applied Pharmaceutical Science* 3: 7.

Joop G, Vilcinskas A, 2016. Coevolution of parasitic fungi and insect hosts. *Zoology* 119: 350–358.

Karimpour E, Niknam G, Khodaei S, Arzanlou M, 2021. Morphology and DNA phylogeny differentiate several anamorphic ascomycetes associated with a cereal cyst nematode, *Heterodera filipjevi*, and new records for the mycobiota of Iran. *Nova Hedwigia* 113: 429–451.

Kaczmarek A, Boguś MI, 2021. Fungi of entomopathogenic potential in Chytridiomycota and Blastocladiomycota, and in fungal allies of the Oomycota and Microsporidia. *IMA Fungus* 12: 29.

Khodadadi-pourarpanei S, Mehrabi-Koushki M, Farokhinejad R, 2019. Contribution to identification of some fungal endophytes associated with the harsh ecosystems of Abadan and Ahvaz. *Journal of Applied Research in Plant Protection* 8: 49–64.

Kirk PM, Cannon PF, David JC, Stalpers JA, 2001. Ainsworth & Bisby's Dictionary of the Fungi. 9th edition, CABI Publishing, Wallingford. 655 pp.

Kouvelise VN, Zare R, Bridge PD, Typas MA, 1999. Differentiation of mitochondrial subgroup in the *Verticillium lecanii* species complex. *Letters in Applied Microbiology* 28: 263–268.

Lacey LA, Frutos R, Kaya HK, Vail P, 2001. Insect pathogens as biological control agents: do they have a future. *Biological Control* 21 (3): 230–248.

Lacey LA, Grzywacz D, Shapiro-Ilan DI, Frutos R, Brownbridge M, *et al.,* 2015. Insect pathogens as biological control agents: back to the future. *Journal of Invertebrate Pathology* 132: 1–41.

Laraba I, McCormick SP, Vaughan MM, Geiser DM, O'Donnell K, 2021. Phylogenetic diversity, trichothecene potential, and pathogenicity within *Fusarium sambucinum* species complex. *PLoS ONE* 16: e0245037.

Linaldeddu BT, Deidda A, Scanu B, Franceschini A, Serra S, *et al.,* 2014. Diversity of Botryosphaeriaceae species associated with grapevine and other woody hosts in Italy, Algeria and Tunisia, with descriptions of *Lasiodiplodia exigua* and *Lasiodiplodia mediterranea* sp. nov. *Fungal Diversity* 71: 201–214.

Majchrowicz I, 2004. Species of fungi of the genus *Auxarthron* on insects. *Journal of Invertebrate Pathology* 8: 431–432.

Manamgoda DS, Rossman AY, Castlebury LA, Chukeatirote E, Hyde KD, 2015. Taxonomic and phylogenetic re-appraisal of the genus

Curvularia (Pleosporaceae): human and plant pathogens. *Phytotaxa* 212: 175–198.

Mason EW, 1927. On species of the genus *Nigrospora* Zimmermann recorded on monocotyledons. *Transactions of the British Mycological Society* 12: 152–165.

Meepagala KM, Becnel JJ, Estep AS, 2015. Phomalactone as the active constituent against mosquitoes from *Nigrospora spherica*. *Agricultural Sciences* 6: 1195.

Mehrabi-Koushki M, Bavarsad M, Farokhinejad R, Jamshidi M, Alimohamadi A, 2017. The comparison of ITS-rDNA and *tef1α* genomic regions for phylogenetic study of some *Trichoderma* species. *Iranian Journal of Plant Protection Science* 47: 67–77. (In Persian with English abstract).

Mehrabi-Koushki M, Pooladi P, Eisvand P, Babaahmadi G, 2018. *Curvularia ahvazensis* and *C. rouhanii* spp. nov. from Iran. *Mycosphere* 9: 1173–1186.

Mirabolphathi M, 2013. Outbreak of charcoal disease on *Quercus* spp. and *Zelkova carpinifolia* trees in forest of Zagros and Alborz Mountains in Iran. *Iranian Journal Plant Pathology* 49: 257–263.

Mirhosseini HA, Babaeizad V, Hashemi L, 2014. First report of *Fusarium brachygibbosum* causing leaf spot on oleander in Iran. *Journal of Plant Pathololog*y 96 (2): 431.

Mohammadi H, Sharifi S, 2016. Association of *Botryosphaeriaceae* and *Phaeoacremonium* species with insect-damaged quince shoots. *Journal of Plant Pathololog*y 98: 35–42.

Nago H, Matsumoto M, Johnson GI, Highley E, Jouce DC, 1997. *Lasiodiplodia theobromae* and the roles of insects in dispersal of the fungi. *An International Workshop*, May 18-21, Chiang Mai, Thailand. P. 208–216.

Nemati Mandanipour O, Farokhinejad R, Mehrabi-Koushki M, 2021. Identification of *Fusarium* species associated with root rot symptoms of the rapeseed in Khuzestan Province. *Journal of Applied Research in Plant Protection* 10: 31–47.

Nicoletti R, Becchimanzi A, 2022. Ecological and molecular interactions between Insects and Fungi. *Microorganisms* 10: 96.

O'Donnell K, 1993. *Fusarium* and ITS near relatives. In: Reynolds DR, Taylor JW (eds). The Fungal Holomorph: Mitotic, Meiotic and Pleomorphic Speciation in Fungal Systematics. CABI Publishing, Wallingford. Pp. 225–233.

Padwick GW, 1945. Notes on Indian fungi III. *Mycological Papers* 12: 1–15.

Pai HH, Chen WC, Peng CF, 2004. Cockroaches as potential vectors of nosocomial infections. *Infection Control Hospital Epidemiology* 25: 979–984.

Petch T, 1935. Notes on entomogenous fungi. *Transactions of the British Mycological Society* 19 (3): 161–194.

Raeder U, Broda P, 1985. Rapid preparation of DNA from filamentous fungi. *Letters in Applied Microbiology* 1: 17–20.

Raimondo ML, Lops F, Carlucci A, 2016. Charcoal canker of pear, pulm, and quince trees caused by *Biscogniauxia rosacearum* sp. nov. in southern Italy. *Plant Diseases* 100: 1813–1822.

Saichua P, Pinmai K, Somrithipol S, Torudom S, 2008. Isolation of medically important fungi from cockroaches trapped at Thammasat Chalermprakiat Hospital. *Thammasat Medical Journal* 8 (3): 345–351.

Samson RA, Brady BL, 1983. *Paraisaria*, a new genus for *Isaria dubia*, the anamorph of *Cordyceps gracilis*. *Transactions of the British Mycological Society* 81 (2): 285–290.

Samson RA, Evans HC, Latgé J.P, 1988. Taxonomy of entomopathogenic fungi. *In*: *Atlas of entomopathogenic fungi*. Springer, Berlin, Heidelberg, Pp. 5–16.

Santos MNS, 2003. Contribution towards the knowledge of the relationship Quercus suber *Biscogniauxia mediterranea* (syn. *Hypoxilon mediterraneum*). *Silva Lusitana* 11 (1): 21–29.

Sharma L, Marques G, 2018. *Fusarium*, an Entomopathogen-A Myth or Reality? *Pathogens* 7 (4): 93.

Shoukouhi E, Bissett J, 2008. *Preferred primers for sequencing the end of the translation elongation factor 1-alpha gene (EF1-a1) and subunit 2 of the RNA polymerase B gene (RPB2)*. ISTH, from: http://www.isth.info/methods.

Solé M, Cano J, Guarro J, 2002a. Molecular phylogeny of *Amauroascus*, *Auxarthron*, and morphologically similar onygenalean fungi. *Mycological Research* 106: 388–396.

Sole M, Cano J, Stchigel AM, Guarro J, 2002b. Two new species of *Auxarthron* morphologically and genetically close to *A. kuehnii*. *Studies in Mycology* 47: 103–110.

Thalavaipandian A, Ramesh V, Bagyalakshmi V, 2011. Diversity of fungal endophytes in medicinal plants of *Courtallam hills*, Western Ghats, India. *Mycosphere* 2: 575–582.

Tadych M, Bergen M, Johnson JC, Polashock J, Vorsa N, 2012. Endophytic and pathogenic fungi of developing cranberry ovaries from flower to mature fruit: diversity and succession. *Fungal Diversity* 54: 101–116.

Tamura K, Stecher G, Peterson D, Filipski A, Kumar S, 2013. MEGA6: molecular evolutionary genetics analysis version 6.0. *Molecular Biology and Evolution* 30: 2725–2729.

Wang C, Wang S, 2017. Insect pathogenic fungi: genomics, molecular interactions and genetic improvements. *Annual Review of Entomology* 62: 73–90.

Wang M, Liu F, Crous PW, Cai L, 2017. Phylogenetic reassessment of *Nigrospora*: Ubiquitous endophytes, plant and human pathogens. *Persoonia* 39: 118–142.

White TJ, Bruns T, Lee S, Taylor JL, 1990. Amplification and direct sequencing of fungal ribosomal RNA genes for phylogenetics. In: Innis MA, Gelfand DH, Sninsky JJ, White TJ (eds). PCR Protocols: A Guide to Methods and Applications. Academic Press, New York. Pp. 315–322.

Woudenberg JHC, Aveskamp MM, de Gruyter J, Spiers AG, Crous PW, 2009. Multiple *Didymella* teleomorphs are linked to the *Phoma clematidina* morphotype. *Persoonia* 22: 56–62.

Wu SH, Che, YW, Sha, SC, 2009. Two new solanapyrone analogues from the endophytic fungus *Nigrospora* sp. YB-141 of *Azadirachta indica*. *Chemistry & Biodiversity* 6: 79–85.

Yuanyuan H, Aluthmuhandiram JVS, Chethana KWT, Manawasinghe IS, Li X, Liu M, *et al.*, 2020. *Nigrospora* species associated with various hosts from shandong peninsula, China. *Mycobiology* 48: 169–183.

Zalar P, de Hoog GS, Schroers HJ, Crous PW, Groenewald JZ, *et al.,* 2007. Phylogeny and ecology of the ubiquitous saprobe *Cladosporium sphaerospermum*, with descriptions of seven new species from hypersaline environments. *Studies in Mycology* 58: 157–183.

Zebold SL, Whisler HC, Shemanchuk J, Travland LB, 1979. Host specificty and penetration in the mosquito pathogen *Coelomomyces psorophorae*. *Canadian Journal of Botany* 57(24): 2766–2770.

Zibarova L, Kout J, 2017. Xylariaceous pyrenomycetes from Bohemia: species of *Biscogniauxia* and *Hypoxylon* new to the Czech Republic, and notes on other rare species. *Czech Mycology* 69 (1): 77–108.