

شناسایی قارچ‌هایی از تیره‌های Chaetomiaceae و Didymellaceae همراه با علائم بیماری‌های برگ و

تنه درختان جنگلی در ناحیه زاگرس

سعید ارتند^۱، مهدی مهرابی‌کوشکی^۱✉، سعید تابعین^۱^۱گروه گیاه‌پزشکی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه شهید چمران اهواز، اهواز/ایران. ✉mhdmhbr@scu.ac.ir

دریافت: ۱۴۰۱/۰۴/۱۴ بازنگری: ۱۴۰۱/۰۹/۲۷ پذیرش: ۱۴۰۱/۰۹/۲۹

چکیده

کوه‌های شاهیون و سالندکوه (دزفول، خوزستان)، کبیرکوه (آبدانان، ایلام) و زوزوماهرو (الیگودرز، لرستان) بخش‌های بسیار کوچکی از جنگل‌های زاگرس در ایران را تشکیل می‌دهند. در فاصله سال‌های ۱۴۰۰-۱۳۹۸، تعداد ۵۰ نمونه بیمار از درختان جنگلی شامل زالزالک، افرا، بلوط، بنه، بادام کوهی و کنار دارای علائم سوختگی برگ، لکه‌برگی، پوسیدگی میوه، خشکیدگی، زوال و مرگ سرشاخه‌ها جمع‌آوری گردید. تعداد ۱۵۳ جدایه قارچی روی محیط کشت سیب‌زمینی-دکستروز-آگار (PDA) بدست آمد که ۱۷ جدایه از آن‌ها بر اساس تلفیق ویژگی‌های ریخت‌شناختی و توالی ژن‌های نشانگر مورد شناسایی قرار گرفتند. ویژگی‌های ریخت‌شناختی و شاخص‌های رشدی جدایه‌ها روی محیط‌های کشت آرد یولاف-آگار (OA) و PDA بررسی شدند. ناحیه ITS-rDNA (در بعضی جدایه‌ها) و بخش‌هایی از ژن‌های *tub2* (تمام جدایه‌ها) و *rpb2* (در بعضی جدایه‌ها) تکثیر و توالی‌یابی شدند. توالی‌های به دست آمده با استفاده از الگوریتم جستجوی بلاست در بانک داده‌های ژنی NCBI مقایسه شدند و تجزیه و تحلیل تبارشناختی آن‌ها بر اساس یک یا چند ناحیه ژنی انجام گرفت. بر اساس نتایج حاصله در تحقیق حاضر، گونه‌های *Chaetomium anastomosans*، *C. ascotrichoides*، *C. subglobosum*، *Didymella pomorum*، *D. prolaticolla* و *Paramicrosphaeropsis iranica* از میزبان‌های دارای علائم بیماری شناسایی شدند. با توجه به منابع موجود، این اولین گزارش از گونه‌های *C. anastomosans*، *C. subglobosum* و *D. prolaticolla* برای میکوبیوتای ایران است. همچنین، میزبان‌های جدیدی برای گونه‌های *C. anastomosans* (بنه، بلوط و زالزالک)، *C. ascotrichoides* (افرا)، *C. subglobosum* (بلوط) و *P. iranica* (بادام کوهی و بنه) گزارش شد.

کلمات کلیدی: تبارزایی مولکولی، تنوع قارچی، *Chaetomium*، *Didymella*، *Paramicrosphaeropsis*

Identification of some fungal species in Chaetomiaceae and Didymellaceae families associated with foliar and trunk diseases symptoms on forest trees in the Zagrosian region

Saeid Artand¹, Mehdi Mehrabi-Koushki²✉ and Saeid Tabein³

¹Department of Plant Protection, Faculty of Agriculture, Shahid Chamran University of Ahvaz, Ahvaz, Iran. ²Department of Plant Protection, Faculty of Agriculture, Shahid Chamran University of Ahvaz, Ahvaz, Iran. ³Department of Plant Protection, Faculty of Agriculture, Shahid Chamran University of Ahvaz, Ahvaz, Iran. ✉mhdmhbr@scu.ac.ir

Received: 4 July 2022

Revised: 18 December 2022

Accepted: 20 December 2022

Abstract

Mountains of Shahiyoon and Salandkooh (Dezful, Khuzestan), Kabirkoooh (Abdanan, Ilam) and ZazoMahroo (Aligoodarz, Lorestan) constitute small parts of the Zagrosian forests in Iran. During 2020-2022, 50 symptomatic samples from forest trees including *Acer* sp., *Amygdalus scoparia*, *Crataegus* sp., *Pistacia atlantica*, *Quercus brantii* and *Ziziphus* sp., showing leaf blight, leaf spot, fruit rot, decline and dieback, were collected. Totally, 153 fungal isolates were obtained on potato-dextrose-agar medium (PDA), of which 17 were identified at species level based on combination of morphological characteristics and sequence data of marker genes. Morphological characteristics and growth rate were evaluated on oat-meal-agar (OA) and PDA. The ITS-rDNA region (in some isolates) and part of the *tub2* (in all isolates) and *rpb2* (in some isolates) genes were amplified and sequenced. The obtained sequences were compared using BLASTn search algorithm in NCBI database and their phylogenetic analyses were performed based on single or multiple genomic regions. Accordingly, the isolates were identified as follow: *Chaetomium anastomosans*, *C. ascotrichoides*, *C. subglobosum*, *Didymella pomorum*, *D. prolaticolla*, and *Paramicrosphaeropsis iranica*. Based on literature, this is the first record of *C. anastomosans*, *C. subglobosum* and *D. prolaticolla* for the mycobiota of Iran. In addition, new hosts for *C. anastomosans* (*P. atlantica*, *Q. brantii* and *Crataegus* sp.), *C. ascotrichoides* (*Acer* sp.), *C. subglobosum* (*Q. brantii*) and *P. iranica* (*A. scoparia* and *P. atlantica*) are reported.

Keywords: *Didymella*, *Chaetomium*, Fungal Diversity, Molecular Phylogeny, *Paramicrosphaeropsis*.

How to cite:

Artand S, Mehrabi-Koushki M, Tabein S, 2023. Identification of some fungal species in Chaetomiaceae and Didymellaceae families associated with foliar and trunk diseases symptoms on forest trees in the Zagrosian region. *Journal of Applied Research in Plant Protection* 12 (3): 239-256.

مقدمه

اکوسیستم‌های جنگلی از پیچیده‌ترین اکوسیستم‌های حیات هستند که در یک دوره چند هزار ساله بعد از کنش‌ها و واکنش‌های فراوان که معمولاً موجب ظهور و یا انقراض گونه‌های مختلف شده است، شکل گرفته‌اند (Sabernasab et al. 2019). زاگرس منطقه‌ای کوهستانی در غرب آسیا است که از شمال غربی به جنوب شرقی در فلات ایران و تقریباً در امتداد مرز غربی ایران گسترش می‌یابد. پوشش گیاهی اصلی شامل جنگل‌های باز و استپی است که درخت بلوط در آن غالب است (Ghobad-Nejad 2016). جنگل‌های زاگرس یکی از نواحی رویشی پنج‌گانه ایران است که با داشتن سطحی معادل پنج میلیون هکتار، تقریباً ۴۰٪ جنگل‌های کشور را تشکیل می‌دهد (Sabernasab et al. 2019). مناطق جنگلی زاگرس رویشگاه بسیاری از گونه‌های درختی از جمله افرا (*Acer sp.*)، بادام وحشی (*Amygdalus scoparia*)، بلوط ایرانی (*Quercus brantii* Lindl.)، بته (*Pistacia atlantica* Desf.)، دافنه (*Daphne sp.*)، زالزالک (*Crataegus sp.*) و کلخنگ (*P. khinjuk* Stocks) هستند (Ghobad-Nejad 2016).

درختان جنگلی میزبان بسیاری از قارچ‌های بیماری‌زا، اندوفیت و ساپروفیت هستند. از بلوط ایرانی، بیماری‌های مختلفی همچون لکه‌برگی ناشی از (*Lee et al. Tubakia sp.*) (2018)، شانکر و پوسیدگی تنه ناشی از (*Inonotus krawtzevii*) (Pilát 2016) (Ghobad-Nejad 2016)، (*Libertella quercina*) (Grove 2013) (Mehrabi & Hemati 2013) و (*Cytospora intermedia* Sacc. (Fotouhifar et al. 2010))، زوال شاخه‌ها ناشی از (*Neoscytalidium dimidiatum* (Penz.) Crous & Slippers 2013) (Mirabolfathy, Ju, Hsieh & Slippers 2019) و پوسیدگی ذغالی ناشی از (*Alidadi et al. 2019*) و پوسیدگی ذغالی ناشی از (*Biscogniauxia mediterranea* (De Not.) Kuntze (Arzanlou et al. 2016)) گزارش شده است. در یک مطالعه، ۲۵ گونه قارچ اندوفیت از سرشاخه‌های بلوط در جنگل ارسباران جداسازی و شناسایی شده است (Ghasemi-Esfahlan et al. 2019). از بادام وحشی، قارچ‌های مختلفی همراه علائم مرگ سرشاخه‌ها و زوال گزارش شده است که از آن می‌توان به (*Wilsonomyces carpophilus* (Lév.) Adask, J.M. Ogawa & .E.E. Butler 2019) (*Thyrostroma cornicola* Crous & H.D. Shin) و (*Collophorina paarla* (Damm & Crous) Damm & Crous 2019) (*B. mediterranea* Rostamian et al.) از جنگل‌های لرستان و (*Eremothecium coryli* (Peglion) Kurtzman 2016; Mirabdolahi-shamsi et al. 2016) و (Ershad 2016) از رفسنجان اشاره کرد.

(2022). از گونه‌های مختلف زالزالک بیماری‌هایی همچون لکه غربالی ناشی از (*W. carpophilus* (Ahmadpour et al. 2011))، آنتراکوز ناشی از (*Colletotrichum gloeosporioides* (Penz.) Penz. & Sacc. 2018) (Nieto-López et al. 2018) و مرگ سرشاخه‌ها و شانکر ناشی از قارچ (*Neofusicoccum luteum* (Pennycook & Samuels) Crous, Slippers & A.J.L. Phillips 2013) (Adesemoye et al. 2013) گزارش شده است. همچنین از این گیاه لکه برگ‌ی ناشی از (*Alternaria arborescens* E.G. Simmons & G. Farl. 2013) (*Fusarium equiseti* (Corda) Sacc. و *Gymnosporangium globosum* (Farl.) Farl. 2013) و پوسیدگی میوه ناشی از (*Monilinia johnsonii* (Ellis & Everh.) Honey 2020) (Salazar-Cerezo et al. 2020). همچنین، قارچ‌های (*Acaulospora* Gerdemann & Trappe 2014) (Mirzaei et al. 2014) از گیاه افرا، قارچ‌های (*Valsaria insitiva* (Tode) Ces. & De Not. 2014) (Voglmayr & Jaklitsch 2011, 2014; Jiang et al. 2018) از درخت بته، قارچ‌های متعدد از جمله (*Alternaria alternata* (Fries) Keissler 2018) (*Botryosphaeria obtusa* (Schwein.) Shoemaker 1992; Swart et al. 1995; Ozkilinc et al. 2017) گزارش شده است.

کوه‌های شهبون و سالندکوه (دزفول، خوزستان)، کبیرکوه (آبدانان، ایلام) و ززو ماهرو (الیگودرز، لرستان) بخش بسیار کوچکی از جنگل‌های کوهستانی زاگرس در ایران را تشکیل می‌دهند. در سال‌های اخیر، علائم بیماری‌های مختلف از جمله لکه‌برگی، سوختگی برگ، خشکیدگی، زوال و مرگ سرشاخه‌ها روی درختان جنگلی این مناطق مشاهده شده است ولی اطلاعات چندانی از نوع گونه‌های قارچی مرتبط با این علائم وجود ندارد. جداسازی و شناسایی عوامل قارچی همراه با این علائم می‌تواند به شناسایی بیمارگرها، تنوع گونه‌ای قارچ‌ها و در نتیجه مدیریت و حفاظت از پوشش گیاهی این مناطق کمک کند. لذا در این

مطالعه، قارچ‌های همراه با علائم ذکر شده در گیاهان افرا، بلوط ایرانی، بنه، زالزالک و کنار جداسازی و اعضای متعلق به تیره‌های Chaetomiaceae و Didymellaceae بر اساس تلفیق ویژگی‌های ریخت‌شناختی و توالی‌های ژن‌های نشانگر شناسایی شدند.

مواد و روش‌ها

نمونه برداری، جداسازی و خالص سازی قارچ‌ها

در فاصله سال‌های ۱۴۰۰-۱۳۹۸، ۵۰ نمونه بیمار از گیاهان جنگلی با علائم سوختگی برگ، لکه‌برگی، خشکیدگی، زوال و مرگ سرشاخه‌ها جمع‌آوری و تا زمان جداسازی در یخچال با دمای چهار درجه سانتی‌گراد نگهداری شدند. جهت جداسازی عوامل قارچی مرتبط، از حد فاصل بخش‌های آلوده و سالم بافت در هر نمونه گیاهی قطعاتی به اندازه‌ی تقریبی 5×5 میلی‌متر بریده شدند و بعد از ضدعفونی سطحی با استفاده از هیپوکلریت سدیم دو درصد به مدت ۱-۲ دقیقه، سه بار با آب مقطر سترون شست و شو شدند. پس از خشک کردن نمونه‌ها لای کاغذ صافی سترون، قطعات گیاهی روی محیط غذایی سیب‌زمینی- دکستروز-آگار (PDA؛ Potato Dextrose Agar) کشت شدند (Alexopoulos & Beneke 1962; Paripour et al. 2023). سه تا ده روز پس از نگهداری تشتک‌های پتری در انکوباتور با دمای ۲۸ درجه سانتی‌گراد، پرگنه‌های قارچی ظاهر شده به محیط کشت جدید منتقل شدند. خالص‌سازی به روش انتقال نوک ریشه به محیط کشت جدید انجام شد.

بررسی ریخت‌شناختی جدایه‌های قارچی

ویژگی‌های ریخت‌شناختی جدایه‌ها روی محیط کشت آرد یولاف-آگار (OA؛ Oatmeal Agar) و PDA بررسی شد. از محلول‌های رنگ‌آمیزی لاکتوفنل یا لاکتوفنول کاتن بلو برای تهیه اسلایدهای میکروسکوپی استفاده شد. شکل ظاهری پرگنه و رنگ آن، ویژگی‌های رشدی پرگنه، نحوه کنیدیوم‌زایی، ریخت‌شناسی اندام‌های تولیدمثلی و کنیدیوم‌ها بررسی شدند. برای تعیین سرعت رشد، از حاشیه پرگنه در حال رشد، یک قرص به قطر یک سانتی‌متر در مرکز تشتک‌های پتری حاوی OA قرار داده شد. تشتک‌های پتری در دمای 25 ± 0.5 درجه سانتی‌گراد و تاریکی مطلق داخل انکوباتور قرار داده شدند و رشد شعاعی پرگنه تا هشت روز ثبت شد.

استخراج DNA و تکثیر ناحیه‌های ژنی

زیست توده میسلیمی از سطح پرگنه‌های رشد یافته روی محیط کشت PDA با استفاده از لام‌های سترون

جمع‌آوری و در هاون چینی حاوی ازت مایع پودر شدند. استخراج DNA به روش (Raeder & Broda 1985) با اندکی تغییر (Ahmadpour et al. 2017a) انجام شد. برای تکثیر بخش‌هایی از ژن 18S، کل ناحیه ITS1، 5.8S، ITS2 و بخشی از ژن 28S مربوط به rDNA هسته‌ای (ناحیه ITS-rDNA؛ در بعضی جدایه‌های Didymellaceae)، از آغازگرهای ITS1 (White et al. 1990) و NL4 (O'Donnell 1993) استفاده شد. برای تکثیر بخش‌هایی از ژن بتاتوبولین از جفت آغازگرهای T1/Btub4Rd (جدایه‌های جنس Chaetomium Kunze) و Btub2Fd/T2 (جدایه‌های جنس‌های Didymella و Paramicrosphaeropsis) استفاده شد (O'Donnell & Cigelnik 1997; Groenewald et al. 2013). برای تکثیر بخشی از زیرواحد دوم بزرگ RNA پلی مرارز II (یک جدایه Paramicrosphaeropsis L.W. Hou، از آغازگرهای RPB2-5F2 و fRPB2-7cR (Liu et al. 1999; Sung et al. 2007) استفاده شد. برنامه دمایی واکنش زنجیره‌ای پلی‌مرارز (PCR؛ chain reaction) شامل یک مرحله واسرشت‌سازی اولیه در دمای ۹۴ درجه سانتی‌گراد به مدت سه دقیقه، ۳۵ چرخه (شامل یک مرحله ۳۰ ثانیه‌ای در دمای ۹۴ درجه سانتی‌گراد برای واسرشت‌سازی؛ ۳۰ ثانیه در دمای ۵۶ (ITS)، ۵۸ (tub2) و ۵۴ (rpb2) درجه سانتی‌گراد برای اتصال آغازگرها و ۷۰ ثانیه در دمای ۷۲ درجه سانتی‌گراد برای بسط آغازگرها و یک مرحله بسط نهایی در دمای ۷۲ درجه سانتی‌گراد به مدت سه دقیقه بود (Safi et al. 2020, 2021; Aghyl et al. 2022; Ahmadpour et al. 2022b). محصولات PCR با استفاده از الکتروفورز روی ژل آگارز بررسی شدند. نمونه‌هایی که فاقد اسمیر یا باند اضافه بودند مستقیماً جهت توالی‌یابی با استفاده از آغازگرهای پیشرو و پسرو به شرکت کدون ژنتیک (تهران، ایران) ارسال شدند. سایر نمونه‌ها با استفاده از کیت استخراج از ژل (Geneall biotechnology، کره جنوبی) خالص‌سازی و سپس ارسال شدند. ویرایش و رجبندی توالی‌های پیشرو و معکوس با استفاده از نرم‌افزارهای BioEdit ver 4.0.6.2 (Hall 1999) و DNA Baser ver3.5.0 (www.DnaBaser.com) انجام شد.

بررسی تبارزایی جدایه‌های قارچی

ارتباط تبارزایی جدایه‌های این مطالعه با توالی‌های مربوط به گونه‌های تایید شده و مرجع با استفاده از الگوریتم درست‌نمایی

نمونه‌گیری کاذب و در آزمون احتمال پسین پنج میلیون نمونه‌گیری کاذب (با حذف نتایج نمونه‌گیری ۲۵٪ اولیه) تنظیم شد. ارزش‌های آزمون بوت‌استرپ (BS) مساوی و بالاتر از ۵۰٪ و احتمال پسین (BPP) مساوی و بالاتر از ۹۵٪ در محل گره‌ها در تبارنما درج شده است.

نتایج و بحث

در این پژوهش، از ۵۰ نمونه گیاهی مورد بررسی، تعداد ۱۵۳ جدایه قارچی بدست آمد که بر اساس مطالعات ریخت‌شناختی، ۱۷ جدایه از آن‌ها به تیره‌های Chaetomiaceae و Didymellaceae تعلق داشتند. این جدایه‌ها به گونه‌های *C. Chaetomium anastomosans* M. Raza & L. Cai، *C. subglobosum* Wang et al.، *ascotrichoides* Calviello D.، *Didymella pomorum* (Thum) Chen & L. Cai و *prolaticolla* L.W. Hou, L. Cai & Crous تعلق *Paramicrosphaeropsis iranica* Ahmadpour et al. داشتند.

بیشینه (ML, Maximum likelihood)، حداکثر بهینگی (MP, Maximum parsimony) و استنباط بیژین (BI, Bayesian inference) مورد ارزیابی قرار گرفت. توالی‌های مرجع *Chaetomium* (Asgari & Zare 2011; Wang et al. 2016a,)، *Didymella* (b; Aghyl et al. 2021) و *Paramicrosphaeropsis* (Chen et al. 2015, 2017; Hou et al. 2020; Ahmadpour et al. 2022a) از پایگاه اطلاعات ژنوم NCBI اخذ شد. برای الگوریتم درست‌نمایی بیشینه از نرم افزار RAxMLGUI 2.0 (Edler et al. 2021)، حداکثر بهینگی از نرم افزار MEGA (Tamura et al. 2013) و برای الگوریتم استنباط بیژین از نرم افزار MrBayes v.3.2.6 (Ronquist et al. 2012) استفاده شد. انتخاب بهترین مدل تکاملی برای الگوریتم استنباط بیژین با کمک نرم افزار jModelTest 2 (Darriba et al. 2012) انجام شد. ارزش و اعتبار شاخه‌های تکاملی در الگوریتم درست‌نمایی بیشینه و حداکثر بهینگی با انجام آزمون بوت‌استرپ (Bootstrapping, BS) و در استنباط بیژین با آزمون احتمال پسین (Posterior probability, BPP) محاسبه و در محل گره‌ها درج شد. در آزمون بوت‌استرپ ۱۰۰۰ بار

جدول ۱. اطلاعات جدایه‌های مورد مطالعه و شماره دسترسی توالی‌های نوکلئوتیدی استفاده شده در بانک داده‌های ژن NCBI.

Table 1. Data of the isolates under study and their accession numbers in NCBI GenBank.

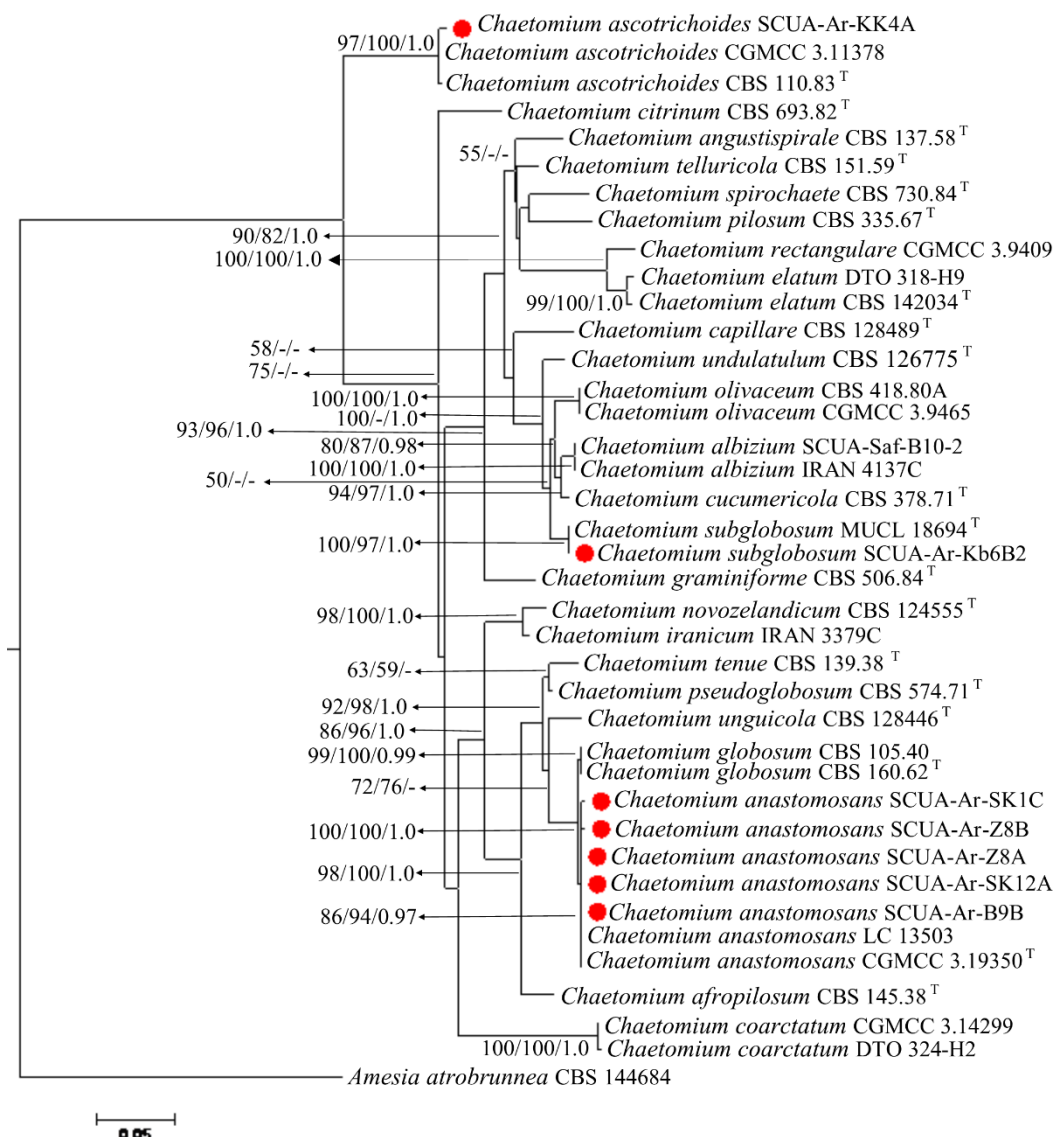
Species name	Isolate numbers	Isolation source	origin	accession numbers in NCBI		
<i>Chaetomium anastomosans</i>	SCUA-Ar-B9B	<i>Quercus brantii</i>	Zaz and Mahroo	-	ON383186	-
<i>C. anastomosans</i>	SCUA-Ar-SK1C	<i>Pistacia atlantica</i>	Dezful-Sardasht	-	ON383187	-
<i>C. anastomosans</i>	SCUA-Ar-SK12A	<i>Pistacia atlantica</i>	Dezful-Sardasht	-	ON383188	-
<i>C. anastomosans</i>	SCUA-Ar-Z8A	<i>Crataegus</i> sp.	Zaz and Mahroo	-	ON383189	-
<i>C. anastomosans</i>	SCUA-Ar-Z8B	<i>Crataegus</i> sp.	Zaz and Mahroo	-	ON383190	-
<i>C. subglobosum</i>	SCUA-Ar-Kb6B2	<i>Quercus brantii</i>	Abdanan-Kaberkooch	-	ON383192	-
<i>C. ascotrichoides</i>	SCUA-Ar-KK4A	<i>Acer</i> sp.	Abdanan-Kaberkooch	-	ON383191	-
<i>Didymella pomorum</i>	SCUA-Ar-S4B	<i>Ziziphus</i> sp.	Dezful-Sardasht	ON847318	ON383195	-
<i>D. prolaticolla</i>	SCUA-Ar-S9A	Unknown plant	Dezful-Sardasht	ON847319	ON383196	-
<i>Paramicrosphaeropsis iranica</i>	SCUA-Ar-K11A	<i>Pistacia atlantica</i>	Zaz and Mahroo	-	MZ747189	-
<i>P. iranica</i>	SCUA-Ar-KS6-7	<i>Quercus brantii</i>	Dezful-Shahiyoan	-	MZ747191	-
<i>P. iranica</i>	SCUA-Ar-K12C	<i>Pistacia atlantica</i>	Zaz and Mahroo	MZ746104	MZ747185	MZ747198
<i>P. iranica</i>	SCUA-Ar-B7DA	<i>Quercus brantii</i>	Zaz and Mahroo	-	MZ747188	-
<i>P. iranica</i>	SCUA-Ar-SB5B	<i>Quercus brantii</i>	Dezful-Sardasht	-	MZ747192	-
<i>P. iranica</i>	SCUA-Ar-KB1A	<i>Amygdalus scoparia</i>	Abdanan-Kaberkooch	-	MZ747190	-
<i>P. iranica</i>	SCUA-Ar-B2F2	<i>Quercus brantii</i>	Zaz and Mahroo	-	MZ747187	-
<i>P. iranica</i>	SCUA-Ar-B2A1	<i>Quercus brantii</i>	Zaz and Mahroo	-	MZ747186	-

ژن NCBI ثبت شدند. تبارنما برای جدایه‌های *Chaetomium* مبتنی بر ناحیه‌های *tub2* و *rpb2* (شکل ۱) و جدایه‌های

توالی‌های نوکلئوتیدی به دست آمده در این مطالعه تحت شماره‌های دسترسی ذکر شده در جدول ۱ در بانک داده‌های

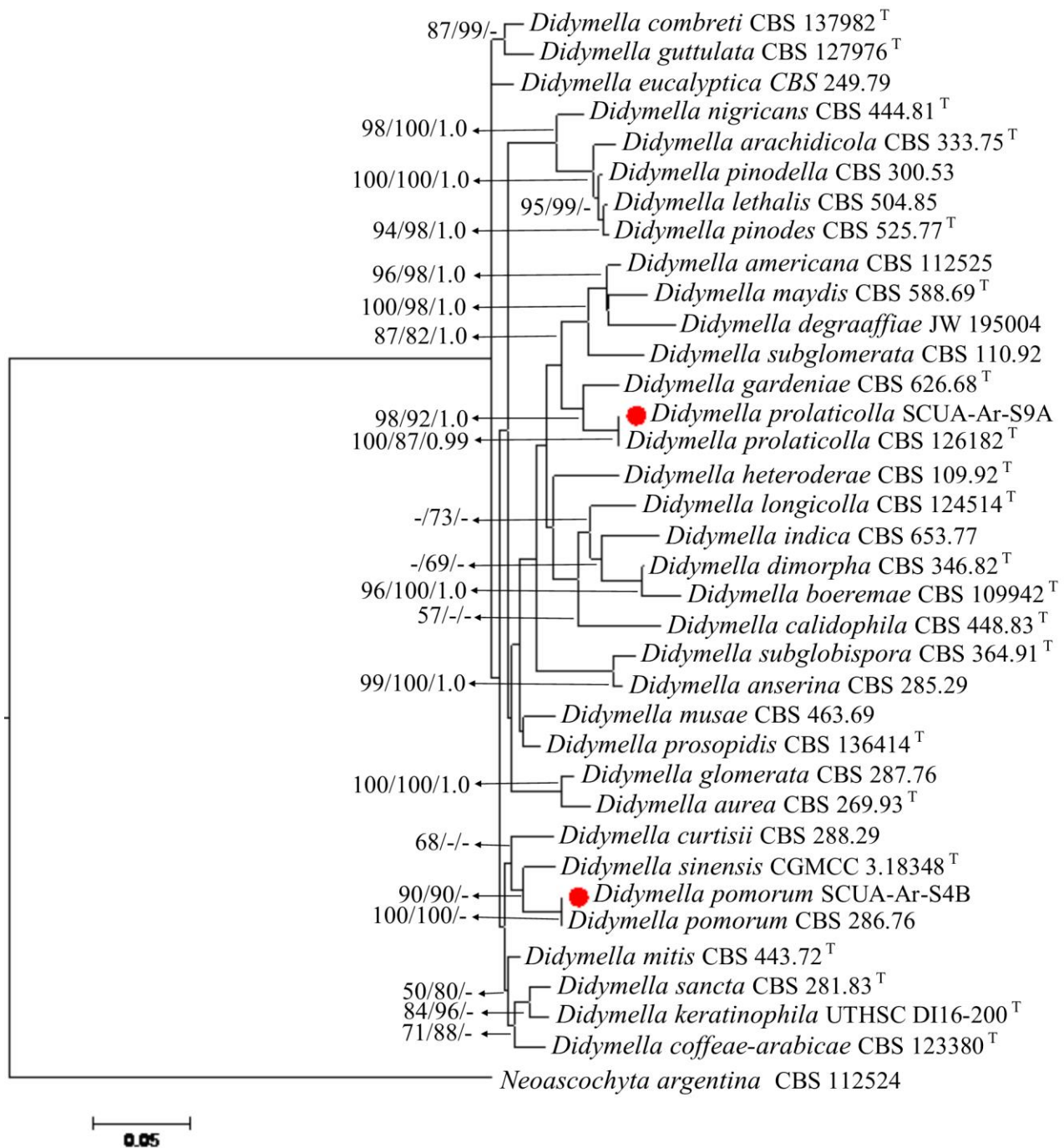
شدند. جزئیات شناسایی هر گونه و توصیف گونه‌های جدید برای میکوبیوتای ایران به تفکیک آورده شده است.

Didymella Sacc. و *Paramicrosphaeropsis* مبتنی بر ناحیه ITS و بخشی از ژن‌های *tub2* و *rpb2* (شکل‌های ۲ و ۳) ترسیم



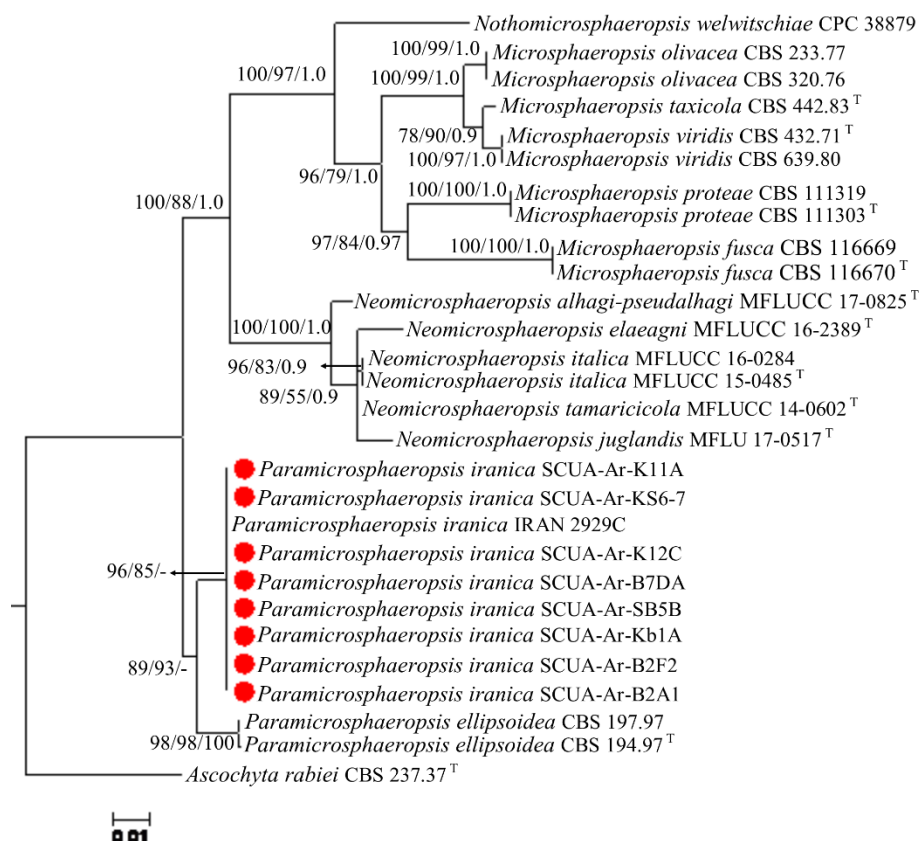
شکل ۱. تبارنمای مربوط به جدایه‌های گونه‌های جنس *Chaetomium* بر اساس تلفیق توالی‌های *tub2* و *rpb2*. جدایه‌های مورد بررسی با دایره توپر قرمز نشان داده شده است. مقادیر آزمون بوت‌استرپ $\geq 50\%$ در تجزیه و تحلیل درست‌نمایی بیشینه (ML) و صرفه‌جویی بیشینه (MP) و مقادیر ≥ 0.95 در آزمون احتمال پسین (BPP) به ترتیب در محل ریشه شاخه‌های تکاملی درج شده است. تبارنما با استفاده از گونه *Amesia atrobrunnea* ریشه‌دار شده است. حرف T نشان دهنده سویه تیپ است.

Figure 1. Phylogenetic tree constructed for *Chaetomium* isolates based on combination of *tub2* and *rpb2* sequences. The isolates in this study are indicated with red-color filled circles. Bootstrap values obtained in maximum likelihood (ML) and maximum parsimony (MP) analyses $\geq 50\%$ and Bayesian posterior probability values (BPP) ≥ 0.95 are shown at the nodes, respectively. The tree was rooted with *Amesia atrobrunnea*. Letter T indicates the type strain.



شکل ۲. تبارنمای جدایه‌های جنس *Didymella* بر اساس تلفیق توالی‌های ITS، *tub2* و *rpb2*. جدایه‌های مورد بررسی با دایره توپر قرمز نشان داده شده است. مقادیر آزمون بوت‌استرپ ≥ 0.50 در تجزیه و تحلیل درست‌نمایی بیشینه (ML) و صرفه‌جویی بیشینه (MP) و مقادیر ≥ 0.95 در آزمون احتمال پسین (BPP) به ترتیب در محل ریشه شاخه‌های تکاملی درج شده است. تبارنما با استفاده از گونه *Neoascochyta argentina* ریشه‌دار شده است. حرف T نشان دهنده سویه تیپ است.

Figure 2. Phylogenetic tree constructed for *Didymella* isolates based on ITS, *tub2* and *rpb2* sequences. The isolates in this study are indicated with red-color filled circles. Bootstrap values obtained in maximum likelihood (ML) and maximum parsimony (MP) analyses $\geq 50\%$ and Bayesian posterior probability values (BPP) ≥ 0.95 are shown at the nodes, respectively. The tree was rooted with *Neoascochyta argentina*. Letter T indicates the type strain.



شکل ۳. تبارنمای مربوط به جدایه‌های جنس *Paramicrosphaeropsis* بر اساس تلفیق توالی‌های ITS، *tub2* و *rpb2*. جدایه‌های مورد بررسی با دایره قرمز نشان داده شده است. مقادیر آزمون بوت‌استرپ $\geq 50\%$ در تجزیه و تحلیل درست‌نمایی بیشینه (ML) و صرفه‌جویی بیشینه (MP) و مقادیر ≥ 0.95 در آزمون احتمال پسین (BPP) به ترتیب در محل ریشه شاخه‌های تکاملی درج شده است. درخت با استفاده از گونه *Ascochyta rabiei* ریشه‌دار شده است. حرف T نشان دهنده سویه تیپ است.

Figure 3. Phylogenetic tree constructed for *Paramicrosphaeropsis* isolates based on ITS, *tub2* and *rpb2* sequences. The isolates in this study are indicated with red-color filled circles. Bootstrap values obtained in maximum likelihood (ML) and maximum parsimony (MP) analyses $\geq 50\%$ and Bayesian posterior probability values (BPP) ≥ 0.95 are shown at the nodes, respectively. The tree was rooted with *Ascochyta rabiei*. Letter T indicates the type strain.

احتساب پایه به ابعاد $11-10 \times 35-25$ میکرومتر؛ آسکوسپورها در ابتدا روشن و پس از بالغ شدن قهوه‌ای روشن، کروی تا لیموئی یا بادامی شکل، با یک سوراخ تندش انتهایی و به ابعاد $7/7-5/8 \times 3/5-8/9$ میکرومتر می‌باشند (شکل ۴).

نمونه‌های بررسی شده: جدایه‌های SCUA-Ar-SK1C و SCUA-Ar-SK12A از برگ بنه با علائم لکه‌برگی، SCUA-Ar-B98 از میوه بلوط با علائم پوسیدگی میوه و SCUA-Ar-Z8A و SCUA-Ar-Z8B از میوه زالزالک با علائم پوسیدگی میوه (جدول ۱ و شکل ۴).

در جستجوی بلاست، توالی بخشی از ژن *tub2* در جدایه‌های مورد بررسی با سویه تیپ این گونه (*C. anastomosans* CGMCC3.19350)، ۱۰۰ درصد همسانی نوکلئوتیدی داشتند. در تبارنمای ترسیم شده بر اساس تلفیق بخش‌هایی از ژن‌های *tub2* و *rpb2* (شکل ۱)، جدایه‌های به دست آمده در این مطالعه

گونه *Chaetomium anastomosans* M. Raza & L. Cai, *Fungal Diversity* 99: 78 (2019)

قطر پرگنه در جدایه‌های این گونه روی محیط کشت OA در شرایط تاریکی مطلق و دمای 25 ± 1 درجه سانتی‌گراد پس از گذشت هفت روز برابر ۷۲ میلی‌متر است. رنگ پرگنه در سطح رویی تشک پتری در مرکز سبز زیتونی با حاشیه کرم متمایل به سفید و منظم و در سطح زیرین زیتونی متمایل به قهوه‌ای روشن؛ آسکوکارپ از نوع پریسیوم، اغلب به صورت پراکنده، منفرد، نیمه فرورفته و یا در سطح و پوشیده با یک لایه نازک کرکی میسلیمی، معمولاً بیضوی، گاهی کروی، قهوه‌ای سوخته، دارای موهای فراوان، فشرده و موج‌دار تا فنری شکل در قاعده و موهای کمتر (صاف تا موج دار) در اطراف منفذ، به ابعاد $(213-187-80) \times (267-107-293)$ میکرومتر؛ آسک‌ها با دیواره ناپایدار، گریزی‌شکل، دارای هشت آسکوسپور، بدون

گونه برای اولین بار از گیاه نیشکر (Raza *et al.* 2019) و نیز از چشم انسان در آلمان (Walther *et al.* 2021) جداسازی و شناسایی شده است. بر اساس دانش ما، این اولین ثبت *C. anastomosans* برای میکوبیوتای ایران است و گیاهان بنه، بلوط و زالزالک به عنوان میزبان‌های جدید برای این گونه در دنیا معرفی می‌شوند.

در کنار سویه‌های تیپ و مرجع این گونه (LC 13503 و CGMCC 3.19350) به صورت یک دودمان متمایز مشخص شدند (MLBP: 86%, MPBP: 94%, BPP: 0.97). ریخت‌شناسی جدایه‌های مورد بررسی با توصیف سویه تیپ این گونه (CGMCC 3.19350) کمی تفاوت دارد و طول و عرض آسکوکارپ در جدایه‌های مورد بررسی کمتر از سویه تیپ (۲۰۰-۱۵۰ × ۲۷۵-۲۱۵ میکرومتر) است (Raza *et al.* 2019).



شکل ۴. گونه *Chaetomium anastomosans* (جدایه SCUA-Ar-SK1C): A-C. میزبان‌ها (بنه، بلوط و زالزالک)، D-E. پرگنه هشت روزه روی محیط کشت OA در سطح روئی و پشتی، F. آسکوکارپ‌ها، G. آسکوسپورها (مقیاس‌ها: F = ۲۰۰ میکرومتر، G = ۲۰ میکرومتر).

Figure 4. *Chaetomium anastomosans* (SCUA-Ar-SK1C): A-C. Substrates (*Pistacia atlantica*, *Quercus brantii* and *Crataegus* sp.), D-E. Colony on OA after 8 days from above and below, F. Ascocarps, G. Ascospores (Scale bars: F = 500 μ m, G = 20 μ m).

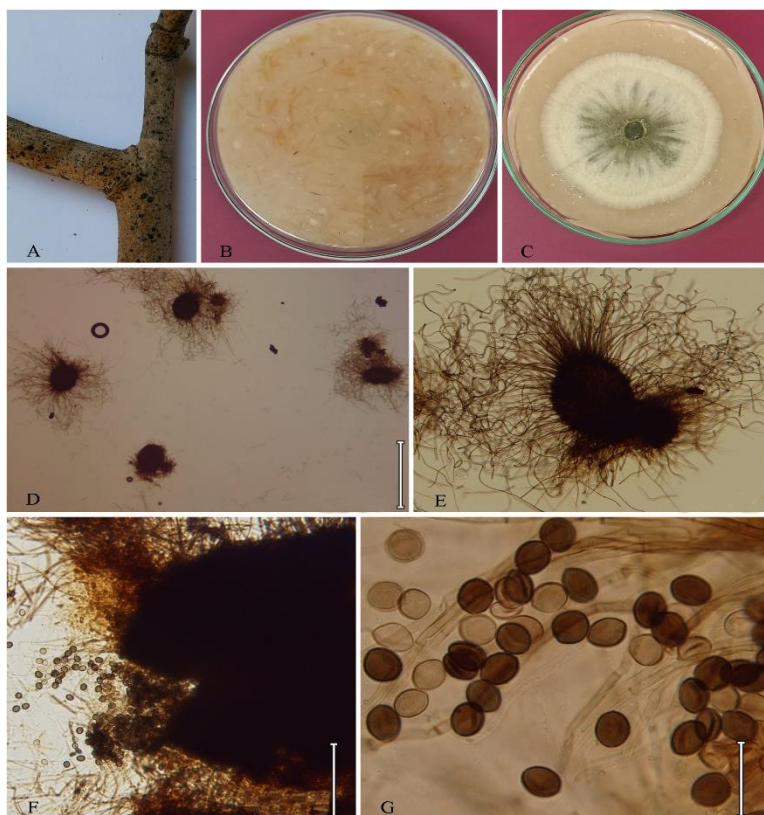
شناختی جدایه مورد بررسی با سویه تیپ (CBS 113.83) تطابق دارد اما طول آسکوکارپ‌ها (۱۱۲-۲۲۹ میکرومتر) و عرض آسکوسپورها (۵/۷-۸/۸ میکرومتر) در جدایه مورد بررسی کوچک‌تر از سویه تیپ (طول آسکوکارپ ۲۹۰-۱۷۰ میکرومتر و عرض آسکوسپورها ۸/۵-۹/۵ میکرومتر) است (Wang *et al.* 2016b). همچنین موهای اطراف آسکوکارپ در جدایه مورد بررسی نسبت به سویه تیپ دارای فراوانی بیشتر و پیچ‌خوردگی بیشتری هستند.

گونه *Chaetomium ascotrichoides* Calviello, Bernardino Rivadavia 3: 372 (1972)

در جستجوی بلاست، توالی بخشی از ژن *tub2* جدایه مورد بررسی با سویه تیپ این گونه (CBS 113.83)، ۹۹/۳۷ درصد همسانی نوکلئوتیدی داشت. در تبارنمای ترسیم شده بر اساس تلفیق بخش‌هایی از ژن‌های *tub2* و *rpb2* (شکل ۱)، این جدایه با سویه‌های مرجع این گونه (CGMCC 3.11378 و CBS 110.83) در کنار هم به عنوان یک تبار متمایز قرار گرفتند (MLBP: 97%, MPBP: 100%, BPP: 1.0). ویژگی‌های ریخت

Wang et al. 2016b) و گل اطلسی در ایران گزارش شده است (Larki et al. 2019). بر اساس دانش ما، این اولین گزارش از گونه *C. ascotrichoides* روی گیاه افرا است.

نمونه بررسی شده: جدایه SCUA-Ar-KK4A از شاخه مرده افرا (جدول ۱ و شکل ۵).
گونه *C. ascotrichoides* از گیاهان پنبه در آرژانتین



شکل ۵. گونه *Chaetomium ascotrichoides* (جدایه SCUA-Ar-KK4A): A. میزبان (افرا)، B-C. رشد هشت روزه پرگنه در سطح روئی و پشتی روی محیط کشت OA، D-F. آسکوکارپ‌ها، G. آسکوسپورها (مقیاس‌ها: D = ۵۰۰ میکرومتر، E = ۲۰۰ میکرومتر، F = ۱۰۵ میکرومتر، G = ۲۰ میکرومتر).

Figure 5. *Chaetomium ascotrichoides* (SCUA-Ar-KK4A): A. Host (*Acer* sp.), B-C. Colony on OA after 8 days from above and below, D-F. Ascomata, G. Ascospores (Scale bars: D = 500 μ m, E = 200 μ m, F = 105 μ m, G = 20 μ m).

گونه *Chaetomium subglobosum* Wang et al, *Perssonia* 36: 83-133 (2016)

منفذ، به ابعاد (۲۶۸-۱۳۰-۳۵۰) × (۴۰۱-۲۱۰-۴۸۱) میکرومتر؛ آسک‌ها گریزی‌شکل با پایه‌های مشخص، دیواره آسک‌ها نازک، کریستالی و ناپایدار، حاوی هشت آسکوسپور، بدون احتساب پایه به ابعاد ۱۴-۱۹ × ۳۴-۴۳ میکرومتر؛ آسکوسپورها در ابتدا کریستالی و با افزایش سن به رنگ قهوه‌ای روشن تا تیره، لیموئی، بیضوی و بادامی شکل، با یک سوراخ تندش انتهایی و به ابعاد ۸-۱۰/۵ × ۱۰/۱۳-۳/۳ (۱۴/۴) میکرومتر می‌باشند (شکل ۶). نمونه بررسی شده: جدایه SCUA-Ar-Kb6B2 از شاخه پوسیده بلوط (جدول ۱ و شکل ۶).

قطر رشدی پرگنه در جدایه مورد بررسی روی محیط کشت OA در شرایط تاریکی مطلق و دمای 25 ± 1 درجه سانتی‌گراد پس از گذشت هشت روز برابر با ۶۶ میلی‌متر است. در مراحل اولیه رشد، رنگ پرگنه در سطح رویی کرم مایل به سفید با حاشیه نامنظم و با گذشت زمان به قهوه‌ای تیره با پوششی از میسلیم‌های هوایی سفید تا خاکستری (رشد پنبه‌ای شکل) تغییر می‌یابد، در سطح زیرین تشک پتری، رنگ پرگنه کرم رنگ است؛ آسکوکارپ از نوع پرتیسیوم، به رنگ قهوه‌ای تیره، کروی و بیضوی (اغلب کروی)، با موهای فراوان، فشرده و صاف تا موج‌دار در قاعده و موهای کمتر (صاف تا موج‌دار) در اطراف



شکل ۶. گونه *Chaetomium subglobosum* (SCUA-Ar-Kb6B2): A-B. میزبان (بلوط)، پرگنه هشت روزه روی محیط کشت OA در سطح روئی و پشتی، E-G. آسکوکارپ‌ها، H. آسکوسپورها، I. آسک (مقیاس‌ها: E-F = ۵۰۰ میکرومتر، G = ۲۰۰ میکرومتر، H-I = ۲۰ میکرومتر).

Figure 6. *Chaetomium subglobosum* (SCUA-Ar-Kb6B2): A-B. Host (*Quercus brantii*), C-D. Colony on OA after 8 days from above and below, E-G. Ascomata, H. Ascospores, I. Ascus (Scale bars: E-F = 500 μ m, G = 200 μ m, H-I = 20 μ m)

گونه *Didymella pomorum* (Thum) Chen & L. Cai, Studies in Mycology 82: 179 (2015)

برای دیدن توصیف این گونه به (Boerema et al. 2004) مراجعه شود. در جستجوی بلاست، توالی ناحیه ITS و بخشی از ژن *tub2* این جدایه با سویه CBS 286.76 *D. pomorum* به ترتیب ۹۹/۸ و ۱۰۰ درصد همسانی نوکلئوتیدی داشت. در تبارنمای ترسیم شده بر اساس تلفیق ناحیه ITS و بخش‌هایی از ژن‌های *tub2* و *rpb2* (شکل ۲)، این جدایه با سویه مرجع این گونه (CBS 286.76) در کنار هم و به عنوان یک دودمان متمایز قرار گرفتند (MLBP: 100%, MPBP: 100%). ویژگی‌های ریخت‌شناختی این جدایه با سویه CBS 539.66 تطابق دارد (Boerema et al. 2004). نمونه مورد بررسی: جدایه SCUA-Ar-S4B از برگ کنار با علائم لکه‌برگی (جدول ۱ و شکل ۷). لکه‌ها پراکنده در پهنک برگ، گه‌گاهی در حاشیه بصورت سوختگی، بیضوی، مستطیلی‌شکل و نامنظم، به ابعاد حداکثر ۸ میلی‌متر، به رنگ قهوه‌ای تیره با مرز باریک سیاه مایل به قهوه‌ای مشاهده می‌شود (شکل ۷).

گونه *D. pomorum* در ابتدا با نام *Phoma Pomorum*

در جستجوی بلاست، توالی بخشی از ژن *tub2* در جدایه مورد بررسی با سویه تیپ این گونه (*C. subglobosum* MCUL 18694) ۱۰۰ درصد همسانی نوکلئوتیدی داشت. در تبارنمای ترسیم شده بر اساس تلفیق بخش‌هایی از ژن‌های *tub2* و *rpb2* (شکل ۱)، این جدایه با سویه تیپ این گونه (MCUL 18694) در کنار هم قرار گرفتند و یک تبار متمایزی را ایجاد نمودند (MLBP: 100%, MPBP: 97%, BPP: 1.0). ویژگی‌های ریخت‌شناختی جدایه مورد بررسی با سویه تیپ (*C. subglobosum* MCUL 18694) تطابق دارد اما عرض آسکوکارپ‌ها و آسکوسپورها در سویه تیپ بزرگ‌تر است (عرض آسکوکارپ‌ها در سویه تیپ ۳۵۵-۲۶۵ میکرومتر و عرض آسکوسپورها ۱۲-۱۰/۵ میکرومتر گزارش شده است). این قارچ برای نخستین بار از ساقه علفی مرده در اطاقک مرطوب (جهت اسپورزایی) در روسیه جداسازی و توصیف گردید (Wang et al. 2016b). بر اساس دانش ما، این اولین ثبت از گونه *C. subglobosum* برای میکوبیوتای ایران و گزارش آن روی بلوط ایرانی است.

روی کنار است. گونه *D. pomorum* به عنوان عامل شانکر و مرگ سرشاخه‌ها در درختان سیب (*Malus spp.*) و رز (*Rosa spp.*) شناخته شده است (Havenga et al. 2019; Ilyukhin 2022). با توجه به عدم انجام آزمون بیماری‌زایی در این مطالعه، این قارچ احتمالا دارای ارتباط از نوع اندوفیت یا بیمارگر با درخت کنار است.

Thüm. توصیف شد (Boerema et al. 2004) و سپس به جنس *Didymella* انتقال یافت (Chen et al. 2015). این قارچ از گیاهان مختلف از جمله گلپر در روسیه، گندم در آفریقای جنوبی و سوئیس و علف هفت‌بند از هلند، (Chen et al. 2015) از چای سیاه در گیلان و مازندران، از خیار در جیرفت و از نماتد سیستمی چغندر در کهکلوپه و بویراحمد جداسازی و گزارش شده است (Ershad 2022). بر اساس دانش ما این اولین گزارش از این گونه



شکل ۷. گونه *Didymella pomorum* (جدایه SCUA-Ar-S4B): A-B. میزبان (کنار)، C-D. پرگنه هشت روزه روی محیط کشت OA در سطح روئی و پشتی، E-F. پیکنیدیوم‌ها، G. کنیدیوم‌ها (مقیاس‌ها: E = ۲۰۰ میکرومتر، F = ۵۰ میکرومتر، G = ۲۰ میکرومتر).

Figure 7. *Didymella pomorum* (SCUA-Ar-S4B): A-B. Host (*Ziziphus* sp.), C-D. Colony on OA after 8 days from above and below, E-F. Pycnidia, G. Conidia (Scale bars: E = 200 μ m, F = 50 μ m, G = 20 μ m).

قهوه‌ای روشن، به ابعاد (۲۱۴-۸۰-۱۶۰) × (۵۳-۲۹۴) × ۲۱۴-۸۰ (۵۳-۸۰) میکرومتر؛ سلول‌های کنیدیوم‌زا آمپولی شکل یا گلابی شکل؛ کنیدیوم‌ها تک سلولی، بی‌رنگ، با دیواره صاف و نازک، کروی، نیمه‌کروی، استوانه‌ای یا بیضوی شکل و به ابعاد ۲-۴ × ۳/۹-۶ (۲/۴-۲) میکرومتر هستند (شکل ۸).

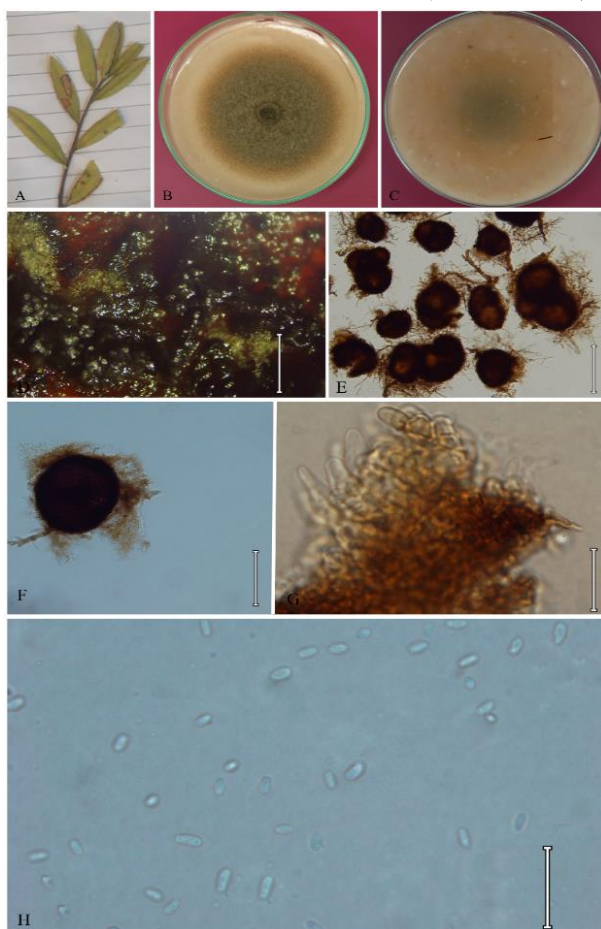
نمونه بررسی شده: جدایه SCUA-Ar-S9A از برگ دافنه با علائم لکه‌برگی (جدول ۱ و شکل ۸). لکه‌ها بصورت نواحی نکروزه در پهنک و حاشیه، کروی، مستطیلی شکل و بلند و گه‌گاهی نامنظم، به ابعاد حداکثر ۸ میلی‌متر و به رنگ قهوه‌ای روشن با مرز مشخص قهوه‌ای سوخته مشاهده می‌شود (شکل ۸).

گونه *Didymella prolaticolla* L.W. Hou, L. Cai & Crous, *Studies in Mycology* 82: 357 (2020)

قطر رشدی پرگنه در جدایه مورد بررسی از این گونه روی محیط کشت OA در شرایط تاریکی مطلق و دمای 25 ± 1 درجه سانتی‌گراد پس از گذشت هشت روز برابر با ۷۰ میلی‌متر است. پرگنه در سطح رویی خاکستری تیره با حاشیه کرمی و در سطح زیرین قهوه‌ای تیره است؛ اندام بارده غیرجنسی از نوع پیکنیدیوم؛ پیکنیدیوم‌ها به صورت انفرادی یا مجتمع، فرورفته یا نیمه فرورفته، گاهی در سطح محیط کشت زیر توده میسلیمی، دارای زوائد میسلیمی، کروی، نیمه کروی، بیضوی و تخم‌مرغی،

۱۷۵ × ۱۰۰-۱۹۰ میکرومتر) کمی بیشتر از جدایه مورد بررسی (۲۱۳-۸۰ × ۱۶۰-۸۰) است (Hou et al. 2020). این گونه تنها از خاک رس در کشور نامیبیا جداسازی و توصیف شده است (Hou et al. 2020). بر اساس دانش ما، این اولین گزارش گونه *D. prolaticolla* از یک گیاه (برگ دافنه) و ثبت آن برای میکوبیوتای ایران است. بدون اطلاعات کافی مخصوصا بیماریزایی، این قارچ احتمالا اندوفیت یا بیمارگر گیاه فوق است.

در جستجوی بلاست، توالی‌های ناحیه ITS و بخشی از ژن *tub2* در جدایه مورد بررسی با سویه تیپ این گونه (*D. prolaticolla* CBS 126182)، ۱۰۰ درصد همسانی نوکلئوتیدی داشت. در تبارنمای ترسیم شده بر اساس تلفیق ناحیه ITS و بخش‌هایی از ژن‌های *tub2* و *rpb2* (شکل ۲)، این جدایه با سویه تیپ (CBS 126182) در کنار هم قرار گرفتند و یک تبار متمایز را تشکیل دادند (MLBP: 100%, MPBP: 87%, BPP: 0.99). ویژگی‌های ریخت‌شناسی جدایه بررسی شده با ویژگی‌های کلی گونه مطابقت دارد اما اندازه پیکنیدیوم‌ها در سویه تیپ (۲۷۵-



شکل ۸. گونه *Didymella prolaticolla* (SCUA-Ar-S9A): A. میزبان (دافنه)، B-C. پرگنه هشت روزه روی محیط کشت OA در سطح روئی و پشتی، D-F. پیکنیدیا، G. سلول‌های کنیدیوم‌ها، H. کنیدیوم‌ها. مقیاس‌ها: D = 500 μ m، E = 200 μ m، F = 105 μ m، G-H = 20 μ m.

Figure 8. *Didymella prolaticolla* (SCUA-Ar-S9A): A. Host (*Daphne* sp.), B-C. Colony on OA after 8 days from above and below, D-F. Pycnidia, G. Conidiogenous cells, H. Conidia. Scale bars: D = 500 μ m, E = 200 μ m, F = 105 μ m, G-H = 20 μ m.

متمایز را تشکیل دادند (MLBP: 96%, MPBP: 85%). ویژگی‌های ریخت‌شناسی جدایه‌های بررسی شده با توصیف سویه تیپ این گونه (IRAN 2929C) مطابقت دارد. جدایه‌های بررسی شده: جدایه‌های SCUA-Ar-K12C و SCUA-Ar-K11A از گیاه بنه به ترتیب با علائم لکه‌برگی و

گونه *Paramicrosphaeropsis iranica* Ahmadpour et al, *Mycological Progress* 21:28 (2022) در تبارنمای ترسیم شده بر اساس تلفیق ناحیه ITS و بخش‌هایی از ژن‌های *tub2* و *rpb2* (شکل ۳)، این جدایه‌ها با سویه تیپ (IRAN 2929C) در کنار هم قرار گرفتند و یک تبار

گونه‌های *Paramicrosphaeropsis* از جوانه‌های پوسیده *Quercus ilex* L. در اسپانیا و علائم مختلف در درختان جنگلی همچون پوسیدگی میوه *Crataegus* sp.، لکه‌برگی در *Nerium*، *P. khinjuk*، *Pistacia atlantica*، *oleander* L.، *brantii* و *Ziziphus* sp. و شانکر ساقه در *Amygdalus* شده است (Hou et al. 2020; Ahmadpour et al. 2022a; Artand et al. 2022). با توجه به عدم وجود اطلاعات کافی مخصوصاً ویژگی‌های بیماری‌زایی، این قارچ احتمالاً اندوفیت یا بیمارگر گیاهان فوق است.

شانکر، SCUA-Ar-B2A1، SCUA-Ar-B2F2، SCUA-Ar- B7DA و SCUA-Ar-KS6-7 از بلوط با علائم پوسیدگی و خشکیدگی سرشاخه، SCUA-Ar-Kb1A از بادام کوهی با علائم شانکر و SCUA-Ar-SB5B از بلوط با علائم لکه‌برگی (جدول ۱ و شکل ۹).

گونه *Paramicrosphaeropsis iranica* با بررسی و توصیف جدایه‌هایی از درخت بلوط معرفی شد (Ahmadpour et al. 2022a). از ویژگی‌های این گونه می‌توان به رشد کند پرگنه و پیکنیدیوم‌های با دیواره نسبتاً روشن اشاره کرد. بر اساس دانش ما این اولین گزارش از این گونه روی بنه و بادام کوهی است.



شکل ۹. گونه *Paramicrosphaeropsis iranica* (جدایه SCUA-Ar-K12C): A-C. میزبان‌ها (بادام، بلوط و بنه)، D-G. پرگنه هشت روزه روی محیط OA (D-E) و PDA (F-G) در سطح روئی و پشتی، H-I. پیکنیدیوم‌ها، J. کنیدیوم‌ها. مقیاس‌ها: H = ۵۰۰ میکرومتر، I = ۲۰۰ میکرومتر، J = ۲۰ میکرومتر.

Figure 9. *Paramicrosphaeropsis iranica* (SCUA-Ar-K12C): A-C. Hosts (*Amygdalus scoparia*, *Quercus brantii* and *Pistacia atlantica*), D-G. Colony on OA (D-E) and PDA (F-G) after 8-days from above and below, H-I. Pycnidia, J. Conidia. Scale bars: H = 500 μ m, I = 200 μ m, J = 20 μ m

2020) و برخی گونه‌ها به عنوان اندوفیت جداسازی و معرفی شده‌اند (Fatima et al. 2016). همچنین بعضی گونه‌های جنس *Chaetomium* در برابر چندین عامل بیماری‌زای گیاهی تأثیرات آنتاگونیستی نشان داده‌اند (Soytong et al. 2001). در ایران از این جنس گونه‌های *C. cavielloi*، *C. ascotrichoides*، *C. crispatum* (Fuckel) Fuckel، *circinatum* Chivers، *C. globisporum*، *C. elatum* Kunze، *cruentatum* Söregel

در این مطالعه، گونه‌های *C. anastomosans*، *C. Didymella pomorum*، *C. subglobosum*، *ascotrichoides*، *Dprolaticolla* و *P. iranica* از اندام‌های مختلف گیاهی با علائم متفاوت جداسازی و شناسایی شدند. گونه‌های *Chaetomium* دارای پراکنش وسیعی بوده و معمولاً از خاک، هوا، بقایای گیاهی و کمپوست آلی جداسازی می‌شوند. برخی از گونه‌های این جنس اخیراً از مرجان، مرجان نرم و جلبک‌های دریایی (Kamat et al.

کمپلکس جنس چندنیایی *Microsphaeropsis* یکی از دودمان‌های مهم در تیره *Didymellaceae* است. جنس *Microsphaeropsis* در سال ۱۹۷۱ معرفی شد. این جنس ابتدا در تیره *Montagnulaceae* قرار داده شد، سپس به تیره *Microsphaeropsidaceae* انتقال یافت (Chen et al. 2015). در مطالعات بعدی، تجزیه و تحلیل تبارزایی مبتنی بر چند ناحیه ژنی روی تعداد سویه بیشتری از این جنس ثابت کرد که گونه های جنس *Microsphaeropsis* به تیره *Didymellaceae* تعلق دارند و ارتباط خویشاوندی با جنس‌های *Neomicrosphaeropsis* Thambug., Camporesi & K.D. Hyde و *Paramicrosphaeropsis* دارند (Hou et al. 2020). این سه جنس از نظر ویژگی‌های ریخت‌شناختی در تولید کنیدیوم‌های کریستالی که با افزایش سن قهوه‌ای می‌شوند، مشابه هستند. جنس *Paramicrosphaeropsis* در سال ۲۰۲۱ بر اساس ایجاد یک دودمان تبارزایی جدید (در شاخه تکاملی کمپلکس جنس *Microsphaeropsis* Sousa da Câmara, Oliveira & Luz در تیره *Didymellaceae* و نیز بر اساس تفاوت‌های ریخت‌شناختی معرفی شد (Hou et al. 2020). خصوصیت بارز این جنس داشتن پیکنیدیوم‌های با دیواره نازک و روشن در هنگام خروج کنیدیوم‌ها است. در حال حاضر، جنس *Paramicrosphaeropsis* دارای شش گونه توصیف شده شامل *P. amygdalus* M. Mehrabi-Koushki, S. Artand, K.D. P. *ellipsoidea* L.W. Hou, L. Cai & Hyde & Jayaward. *P. pistacicola* M. Mehrabi-Koushki, *P. iranica*, Crous *P. salandica* M. S. Artand, K.D. Hyde & Jayaward و Mehrabi-Koushki, S. Artand, K.D. Hyde & Jayaward *P. zagrosensis* M. Mehrabi-Koushki, S. Artand, K.D. Hou et al. 2020; Ahmadpour et al. است (Hyde & Jayaward 2022a; Artand et al. 2022). همه این گونه‌ها (به غیر از *P. ellipsoidea*) از درختان جنگلی در بخش‌هایی از زاگرس در ایران گزارش شده است (Hou et al. 2020).

شناخت جامعه میکروبی اندوفیت و بیماری‌زا به حفاظت از درختان جنگلی در ناحیه زاگرس کمک خواهد کرد. گزارش و شناسایی گونه‌های فوق برای میکوبیوتای ایران باعث درک بهتری از تنوع قارچی و میزبانی در جنگل‌های زاگرس خواهد شد. قارچ‌های فوق بعنوان عوامل همراه علایم بیماری گزارش شدند؛ لذا ضروری است تا مطالعات اثبات بیماری‌زایی و بررسی پراکنش و شیوع علایم ذکر شده در زیست‌بوم زاگرس انجام شود تا بیمارگر یا اندوفیت بودن آن‌ها مشخص شود.

C. grande Asgari & Zare, *C. globosum* Kunze, Lodha *C. interruptum* Asgari & *C. hispanicum* Guarro & Arx *C. iranicum* M. Mehrabi-Koushki, Aghyl & M. Zare *C. megalocarpum*, *C. madrasense* Natarajan, Esfand *C. C. osmaniae* P. Rama Rao & Ram Reddy, Bainier *C. C. spiralotrichum* Lodha, *rectangulare* Asgari & Zare Aghyl *C. undulatulum* Asgari & Zare (Aghyl et al. 2021; Ershad 2022). اگرچه جدایه‌های *Chaetomium* بررسی شده در این مطالعه از بافت‌های گیاهی دارای علائم بیماری بدست آمدند ولی با توجه به تحقیقات گذشته احتمالاً اندوفیت هستند. تا کنون اکثر گونه‌های شناخته شده جنس *Chaetomium* در دمای ۲۵-۲۸ درجه سانتی‌گراد رشد مناسب داشته‌اند (Piontelli 2006)، هر چند برخی از گونه‌ها که در برابر حرارت و گرما مقاوم هستند در دمای ۴۰ درجه سانتی‌گراد رشد بهینه‌ای دارند (Di Pietro et al. 1992).

جنس *Didymella* اولین بار توسط ساکاردو در سال ۱۸۸۰ با توصیف گونه *D. exigua* (Niessl) Sacc. به عنوان گونه تیپ معرفی شد (Holm 1975; Corlett 1981). این جنس از نظر جایگاه آرایه‌بندی ابتدا در تیره *Mycosphaerellaceae* قرار داده شد و سپس به تیره‌های *Pleosporaceae*, *Phaeosphaeriaceae* و *Venturiaceae* انتقال یافت یا به عنوان آرایه با جایگاه نامشخص در راسته *Pleosporales* در نظر گرفته شد. در حال حاضر این جنس در تیره *Didymellaceae*، راسته *Pleosporales* و رده *Dothideomycetes* قرار گرفته است. جنس *Didymella* دارای پراکنش جهانی است و گونه‌های این جنس از طیف متنوعی از بسترها (خاک، هوا، گیاهان، حیوانات و حتی انسان‌ها) جداسازی شده است (Aveskamp et al. 2008, 2010). در ایران از این جنس گونه‌های *D. acetosellae* (A.L. Sm. & Qian Chen & L. Cai *D. azollae* E. Shams, F. Ramsb.) *D. Dehghanizadeh*, A. Pordel & M. Javan-Nikkhah *D. cousiniae* Petr. *bellidis* (Neerg.) Qian Chen & L. Cai *D. cylindrica* S.A. Ahmadp., M. Mehrabi-Koushki, *D. glomerata* (Corda) Qian Farokhinejad & Asgari *D. microchlamydospora*, *D. iranica* Petr. Chen & L. Cai *D. (Aveskamp & Verkley) Qian Chen & L. Cai D. pisi*, *pinodella* (L.K. Jones) Qian Chen & L. Cai *D. tanacetii* (R.G. Chilvers, J.D. Rogers & Peever Shivas, S.J. Pethybr. & S.J. Jones) T.L. Pearce, J.B. Scott, Crous, S.J. Pethybr. & F.S. Hay گزارش شده است (Ahmadpour et al. 2017b, 2022a; Ershad 2022).

سیاسگزاری

به این وسیله از معاونت پژوهشی دانشگاه شهید چمران اهواز

به جهت پوشش مالی این تحقیق (پرداخت پژوهانه به شماره SCU.AP1400.294) قدردانی می‌شود.

References

- Adesemoye A, Mayorquin J, Eskalen A, 2013. *Neofusicoccum luteum* as a pathogen on Tejocote (*Crataegus mexicana*). *Phytopathologia Mediterranea* 52(1): 123–129.
- Aghyl H, Mehrabi-Koushki M, Esfandiari M, 2021. *Chaetomium iranicum* and *Collariella capillcompacta* spp. nov. and notes to new hosts of *Amesia* species in Iran. *Sydowia* 71: 21–30.
- 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. (In Persian with English abstract).
- Artand S, Mehrabi-Koushki M, Tabein S, Hyde KD, Jayawardena RS, 2022. Revision of the *Microsphaeropsis* complex with addition of four new *Paramicrosphaeropsis* L.W. Hou, L. Cai & Crous species from Zagrosian forest trees in Iran. *Cryptogamie Mycologie* 43 (7): 159–175.
- Asgari B, Zare R, 2011. The genus *Chaetomium* in Iran, a phylogenetic study including six new species. *Mycologia* 103: 863–882.
- Ahmadpour A, Ghosta Y, Javan Nikkhah M, Fattahi R, Ghazanfari K, 2011. A study on specificity and host range of *Wilsonomyces carpophilus*, the causal agent of shot hole disease of stone fruit trees and evaluation of relative resistance of some peach cultivars. *Iranian Journal of Plant Protection Science* 4: 251–259. (In Persian with English summary).
- Ahmadpour SA, Farokhinejad R, Mehrabi-Koushki M, 2017a. Further characterization and pathogenicity of *Didymella microchlamydospora* causing stem necrosis of *Morus nigra* in Iran. *Mycosphere* 8(7): 835–852.
- Ahmadpour SA, Mehrabi-Koushki M, Farokhinejad R, 2017b. *Neodidymelliopsis farokhinejadii*, a new fungal species from dead branches of trees in Iran. *Sydowia* 69: 171–182.
- Ahmadpour SA, Mehrabi-Koushki M, Farokhinejad R, Asgari B, 2022a. New species of the family Didymellaceae in Iran. *Mycological Progress* 21(2): 28.
- Ahmadpour SA, Mehrabi-Koushki M, Farokhinejad R, Asgari B, 2022b. *Xenodidymella iranica* sp. nov. and new hosts of *X. glycyrrhizicola* in Iran. *Tropical Plant Pathology* 47: 430–441.
- Alexopoulos CJ, Benneke ES, 1962. Laboratory Manual for Introductory Mycology. Burgess Pub. Co, Minneapolis. 199 pp.
- Alidadi A, Kowsari M, Javan-Nikkhah M, Karami S, Ariyawansa H, et al., 2019. *Deniquelata quercina* sp. nov.; a new endophyte species from Persian oak in Iran. *Phytotaxa* 405 (4): 187–194.
- Arzanlou M, Ghasemi-esfahlan S, Khodaei S, Tavakoli M, Babai-ahari A, 2016. Molecular diagnostics of *Biscogniauxia mediterranea*, the causal agent of charcoal rot disease on oak using species-specific primers. *Journal of Applied Research in Plant Protection* 5(2): 175–186. (In Persian with English abstract).
- Aveskamp MM, De Gruyter J, Crous PW, 2008. Biology and recent developments in the systematics of *Phoma*, a complex genus of major quarantine significance. *Fungal Diversity* 31: 1–18.
- Aveskamp MM, De Gruyter J, Woudenberg JHC, Verkley GJM, Crous PW, 2010. Highlights of the Didymellaceae: a polyphasic approach to characterise *Phoma* and related pleosporalean genera. *Studies in Mycology* 65: 1–60.
- Boerema GH, de Gruyter J, Noordeloos ME, Humers MEC, 2004. *Phoma* identification manual. Differentiation of specific and infra-specific taxa in culture. CABI Publishing, Wallingford, UK. 470 pp.
- Chen Q, Jiang JR, Zhang GZ, Cai L, Crous PW, 2015. Resolving the *Phoma* enigma. *Studies in Mycology* 82: 137–217.
- Chen Q, Hou LW, Duan WJ, Crous PW, Cai L, 2017. *Didymellaceae* revisited. *Studies in Mycology* 87: 105–159.
- Corlett M, 1981. A taxonomic survey of some species of *Didymella* and didymella-like species. *Canadian Journal of Botany* 59: 2016–2042.
- Darriba D, Taboada GL, Doallo R, Posada D, 2012. jModelTest 2: more models, new heuristics and

- parallel computing. *Nature Methods* 9: 772.
- Di Pietro, A, GutRella M, Pachlatco JP, Schwinn FJ, 1992. Role of antibiotics produced by *Chaetomium globosum* in biocontrol of *Pythium ultimum*, a causal agent of damping off. *Phytopathology* 82 (2): 131–135.
- Edler D, Klein J, Antonelli A, Silvestro D, 2021. raxmlGUI 2.0 beta: a graphical interface and toolkit for phylogenetic analyses using RAxML. *Methods in Ecology & Evolution* 12: 373–377.
- Ershad D, 2022. Fungi and fungal analogues of Iran. 4rd ed. Iranian Research Institute of Plant Protection, Tehran. 695 pp.
- Fatima N, Muhammad SA, Khan I, Qazi MA, Shahzadi I et al., 2016. *Chaetomium* endophytes: a repository of pharmacologically active metabolites. *Acta Physiologiae Plantarum* 38: 136–153.
- Fotouhifar Kh, Hedjaroude Gh, Leuchtamann A, 2010. ITS rDNA phylogeny of Iranian strains of *Cytospora* and associated teleomorphs. *Mycologia* 102(6): 1369–1382.
- Ghasemi-Esfahlan S, Arzanlou M, Babai-Ahari A, Torbati M, Narmani A, 2019. Morphological and molecular characterization of endophytic fungi from oak trees in Arasbaran forests. *Journal of Applied Research in Plant Protection* 8(1): 1–16. (In Persian with English abstract).
- Ghobad-Nejad M, 2016. *Inonotus krawtzevii* causes noteworthy damage to oak stands in Zagros, western Asia, with a key to morphologically similar species worldwide. *Nordic Journal of Botany* 34(4): 001–005.
- Groenewald JZ, Nakashima C, Nishikawa J, Shin HD, Park JH, Jama AN, Groenewald M, Braun U, Crous PW, 2013. Species concepts in *Cercospora*: spotting the weeds among the roses. *Studies in Mycology* 75: 115–70.
- 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.
- Havenga M, Gatsi GM, Halleen F, Spies CFJ, van der Merwe R, Mostert L, 2019. Canker and wood rot pathogens present in young apple trees a propagation material in the Western Cape of South Africa. *Plant Disease* 103(12): 3129–3141.
- Holm L, 1975. Nomenclatural notes on Pyrenomycetes. *Taxon* 24: 475–488.
- Hou LW, Groenewald JZ, Pfenning LH, Yarden O, Crous PW et al., 2020. The phoma-like dilemma. *Studies in Mycology* 96: 309–396.
- Ilyukhin E, 2022. First report of stem canker of *Rosa* spp. caused by *Didymella pomorum* in Canada. *Journal of Plant Pathology* 104(1): 443.
- Jiang N, Li J, Pia CG, Guo MW, Tian CM, 2018. Identification and characterization of chestnut branch-inhabiting melanocratic fungi in China. *Mycosphere* 9(6): 1268–1289.
- Kamat S, Kumari M, Taritla S, Jayabaskaran C, 2020. Endophytic fungi of marine alga from Konkan Coast, India: a rich source of bioactive material. *Frontiers in Marine Science* 7: 31.
- Larki R, Mehrabi-Koushki M, Farokhinejad R, 2019. Identification of *Chaetomium* and *Amesio* species associated with different diseases of some herbaceous ornamentals in Ahwaz. *Biological Journal of Microorganism* 31: 33–50. (In Persian with English abstract).
- Lee DH, Seo ST, Lee SK, Lee SK, 2018. Leaf spot disease on seedlings of *Quercus acutissima* caused by *Tubakia dryina* in Korea. *Australasian Plant Disease Notes* 13(14): 1–3.
- Liu YJ, Whelen S, Hall BD, 1999. Phylogenetic relationships among ascomycetes: evidence from an RNA polymerase II subunit. *Molecular Biology & Evolution* 16: 1799–1808.
- Mehrabi M, Hemati R, 2013. First report of the genus *Libertella* in Iran. *Iranian Journal of Plant Pathology* 49(3): 119. (In Persian with English abstract).
- Mirabdollahi-Shamsi M, Akbarnia M, Mirabolfathy M, Manzari Sh, Ahmadikhan A, 2019. Dieback and decline of wild almond (*Amygdalus scoparia* Spach) in the Harat protected forest of Yazd Province, Iran. *Forest Pathology* 49(5): 1–14.
- Mirzaei J, Noorbakhsh N, Karamshahi A, 2014. Identification of arbuscular mycorrhizal fungi associated with *Crataegus pontica* C. Koch from Ilam Province, Iran. *Ecopersia* 2(4): 767–777.
- Morgan DP, Epstein L, Ferguson L, 1992. *Verticillium* wilt resistance in *pistachio* rootstock cultivars assays and an assessment of two interspecific hybrids. *Plant Disease* 76(3): 310–313.

- Nieto-López EH, Everhart SE, Ayala-Escoba V, Camacho-Tapia M, Lima NB *et al.*, 2018. First report of *Colletotrichum gloeosporioides* causing anthracnose of tejocote (*Crataegus gracilior*) fruits in Mexico. *Plant Disease* 5(4): 1–2.
- 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.
- O'Donnell K, Cigelnik E, 1997. Two divergent intragenomic rDNA ITS2 types within a monophyletic lineage of the fungus *Fusarium* are nonorthologous. *Molecular Phylogenetics & Evolution* 7: 103–116.
- Ozkilinc H, Sarpkaya K, Kurt S, Can C, Polatbilek H, *et al.*, 2017. Pathogenicity, morpho-species and mating types of *Alternaria* spp. causing *Alternaria* blight in *Pistacia* spp. in Turkey. *Phytoparasitica* 45(6): 719–728.
- Paripour Z, Davari M, Asgari B, 2023. Characterization and pathogenicity of fungal species associated with dieback and decline of ash trees in Ardabil and Namin County (Iran). *Journal of Applied Research in Plant Protection*. 12(2):123–42.
- Piontelli EL, Cruz RC, Toro MA, 2006. Coprophilous fungal community of wild rabbit in park of a hospital (chile): a taxonomic approach. *Boletín Micológico* 21: 1–17.
- Raeder U, Broda P, 1985. Rapid preparation of DNA from filamentous fungi. *Letters in Applied Microbiology* 1: 17–20.
- Raza M, Zhang ZF, Hyde KD, Diao YZ, Cai L, 2019. Culturable plant pathogenic fungi associated with sugarcane in southern China. *Fungal Diversity* 99: 1–104.
- Ronquist F, Teslenko M, Van Der Mark P, Ayres DL, Darling A *et al.*, 2012. MrBayes 3.2: efficient Bayesian phylogenetic inference and model choice across a large model space. *Systematic Biology* 61: 539–542.
- Rostamian M, Kavosi M, Bazgir A, Babanezhad M, 2016. First report of *Biscogniauxia mediterranea* causing canker on wild almond (*Amygdalus scoparia*). *Australasian Plant Disease Notes* 11: 30.
- Sabernasab M, Jamali S, Marefat A, Abbasi S, 2019. Morphological and molecular characterization of *Neoscytalidium novaehollandiae*, the cause of *Quercus brantii* dieback in Iran. *Phytopathologia Mediterranea* 58(2): 347–357.
- Safi A, Mehrabi-koushki M, Farokinejad R, 2020. *Amesia khuzestanica* and *Curvularia iranica* spp. nov. from Iran. *Mycological Progress* 19: 935–945.
- Safi A, Mehrabi-koushki M, Farokinejad R, 2021. *Plenodomus dezfulensis* sp. nov. causing leaf spot of Rapeseed in Iran. *Phytotaxa* 523: 141–154.
- Salazar-Cerezo S, Meneses-Sánchez M, Martínez-Contreras R, Martínez-Montiel N, 2020. Unraveling the fungal community associated with leaf spot on *Crataegus* sp. *Microorganisms* 8(459): 1–12.
- Soytong K, Kanokmedhakul S, Kukongviriyapa V, Isobe M, 2001. Application of Chaetomium species (Ketomium) as a new broad spectrum biological fungicide for plant disease control: a review article. *Fungal Diversity* 7: 1–5.
- Sung GH, Sung JM, Hywel-Jones NL, Spatafora JW, 2007. A multigene phylogeny of Clavicipitaceae (Ascomycota, Fungi): identification of localized incongruence using a combinational bootstrap approach. *Molecular Phylogenetics & Evolution* 44: 1204–1223.
- Swart W, Lecturer S, Botes WM, 1995. First report stem canker caused by *Botryosphaeria obtus* of *Pistachio*. *Plant Disease* 79(10): 1036–1038.
- Tamura K, Stecher G, Peteson D, Filipski A, Kumar S, 2013. MEGA6: molecular evolutionary genetics analysis version 6.0. *Molecular Biology & Evolution* 30: 2725–2729.
- Voglmayr H, Jaklitsch WM, 2011. Molecular data reveal high host specificity in the phylogenetically isolated genus *Massaria* (Ascomycota, Massariaceae). *Fungal Diversity* 46: 133–170.
- Voglmayr H, Jaklitsch WM, 2014. Stilbosporaceae resurrected: generic reclassification and speciation. *Persoonia* 33: 61–82.
- Walther G, Zimmermann A, Theuersbacher J, Kaerger K, Lilienfeld-Toal M, *et al.*, 2021. Eye Infections Caused by Filamentous Fungi: Spectrum and Antifungal Susceptibility of the Prevailing Agents in Germany. *Journal of Fungi* 7(7): 511.
- Wang XW, Houbraken J, Groenewald JZ, Meijer M, Andersen B, *et al.*, 2016a. Diversity and taxonomy of

Chaetomium and chaetomium-like fungi from indoor environments. *Study in Mycology* 84: 145–224.

Wang XW, Lombard L, Groenewald JZ, Li J, Videira, SIR, 2016b. Phylogenetic reassessment of the *Chaetomium globosum* species complex. *Persoonia* 36: 83–133.

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.



This is an open access article under the CC BY NC license (<https://creativecommons.org/licenses/by-nc/2.0/>)