

معرفی گونه‌های جدیدی از جنس‌های *Bipolaris* و *Curvularia* روی گندمیان در ایران (۳)

دریافت: ۱۳۹۲/۳/۲۸ / پذیرش: ۱۳۹۲/۹/۲۵

عبداله احمدپور: دانشجوی دکتری گروه گیاه‌پزشکی، پردیس کشاورزی و منابع طبیعی دانشگاه تهران، کرج
زینب حیدریان: دانشجوی دکتری گروه گیاه‌پزشکی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه تبریز، تبریز
سعدی کریمی: دانشجوی کارشناسی ارشد گروه گیاه‌پزشکی، پردیس کشاورزی و منابع طبیعی دانشگاه تهران، کرج
عادل پردل: دانشجوی کارشناسی ارشد گروه گیاه‌پزشکی، پردیس کشاورزی و منابع طبیعی دانشگاه تهران، کرج
سید مصطفی جباری‌فر: دانشجوی کارشناسی ارشد گروه گیاه‌پزشکی، پردیس کشاورزی و منابع طبیعی دانشگاه تهران، کرج
تاکائو تسوکیبوشی: محقق موسسه بین‌المللی علوم دامی و گیاهان علفی، ژاپن
منک ژنگ: محقق دانشکده بیماری‌شناسی گیاهی، دانشگاه کشاورزی هنان، جمهوری خلق چین
محمد جوان نیکخواه: استاد گروه گیاه‌پزشکی، پردیس کشاورزی و منابع طبیعی دانشگاه تهران، کرج (jnikkhah@ut.ac.ir)

چکیده

در این مطالعه، چهار گونه از جنس *Bipolaris* شامل *B. maydis*, *B. ellisii*, *B. coicis* و *B. salkadehensis* و دو گونه از جنس *Curvularia* شامل: *Curvularia tuberculata* و *C. comoriensis* روی گیاهان گرامینه شناسایی شدند. گونه‌های *B. coicis* (روی *Zea mays*)، *B. ellisii* (روی *Coix lacryma-jobi*)، *C. comoriensis* (روی *Oryza sativa*) و *B. salkadehensis* (روی *Sorghum bicolor*)، *C. comoriensis* (روی *Oryza sativa*) گونه‌های جدیدی برای میکروبیوتای ایران هستند. همچنین، گونه *B. salkadehensis* از روی *Sparganium erectum* و *Cladium mariscus* برای نخستین بار از ایران گزارش می‌شود. علاوه بر این، به مطالعه روابط فیلوژنتیکی تعدادی از گونه‌های *Bipolaris* و *Curvularia* براساس توالی‌یابی ناحیه rDNA-ITS پرداخته شده است.

واژه‌های کلیدی: تاکسونومی، فیلوژنی، مورفولوژی، میزبان، *Cochliobolus*، rDNA-ITS

New species of *Bipolaris* and *Curvularia* on poaceous plants in Iran (3)

Received: 18.05.2013/ Accepted: 16.12.2013

Abdollah Ahmadpour: PhD Student, Department of Plant Protection, University College of Agriculture and Natural Resources, University of Tehran, Karaj, Iran

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

Sadi Karami: MSc Student, Department of Plant Protection, University College of Agriculture and Natural Resources, University of Tehran, Karaj, Iran

Adel Pordel: MSc Student, Department of Plant Protection, University College of Agriculture and Natural Resources, University of Tehran, Karaj, Iran

Seyyed Mostafa Jabbarifar: MSc Student, Department of Plant Protection, University College of Agriculture and Natural Resources, University of Tehran, Karaj, Iran

T. Tsukiboshi: Researcher, National Institute of Livestock and Grassland Science, Senbonmatsu 768, Nasushiobara, Tochigi 329-2793, Japan

M. Zhang: Researcher, College of Plant Protection, Hennan Agriculture University, 95 Wenhua Road, Zhengzhou, Henan, The People's Republic of China

Mohammad Javan-Nikkhah: Prof., Department of Plant Protection, University College of Agriculture and Natural Resources, University of Tehran, Karaj, Iran (jnikkhah@ut.ac.ir)

Summary

In the present study, four species of *Bipolaris* viz. *B. salkadehensis*, *B. coicis*, *B. ellisii*, and *B. maydis* and two species of *Curvularia* viz. *C. tuberculata* and *C. comoriensis* were isolated and identified from different poaceous species. *Bipolaris coicis* on *Coix lacryma-jobi*, *B. ellisii* on *Zea mays*, *C. tuberculata* on *Oryza sativa*, *Sorghum bicolor*, *Cyperus rotundus* and *C. comoriensis* on *Oryza sativa* are new records for mycobiota of Iran. Moreover, *B. salkadehensis* species is first report on *Sparganium erectum* and *Cladium mariscus* in Iran. Phylogenetic relationships of some *Bipolaris* and *Curvularia* species were studied based on sequencing of rDNA-ITS region.

Keywords: *Cochliobolus*, host, morphology, phylogeny, rDNA-ITS, taxonomy

مقدمه

در دو گروه مختلف قرار می‌گیرند. در گروه اول گونه‌هایی با تعداد بند کاذب بیشتر (بیش از هفت بند کاذب) و بیمارگرهای مهم گیاهان زراعی (از جمله *B. sorokiniana*، *B. oryzae*، *B. maydis*، *B. victoriana* و *B. sorghicola*) قرار می‌گیرند و در گروه دوم گونه‌هایی با تعداد بند کاذب کمتر (کمتر از هفت بند کاذب) از جمله *B. hawaiiensis*، *B. australiensis*، *B. spicifera*، *B. australis*، *B. ravenelli* و غیره) به همراه گونه‌هایی از جنس *Curvularia* قرار می‌گیرند (Berbee et al. 1999, Kodsueb et al. 2006). گونه‌های مختلفی از چهار جنس مذکور به عنوان عوامل لکه برگ، پوسیدگی ریشه، طوقه و ساقه روی انواع گونه‌های گیاهان گرامینه شناخته می‌شوند. برخی گونه‌ها از جمله *B. sorokiniana*، *B. maydis* و *B. oryzae* خسارت شدیدی را به ترتیب روی گیاهان گندم، ذرت و برنج وارد می‌کنند (Sivanesan 1987). با توجه به اهمیت این گروه از قارچ‌ها، تعداد معدودی از گونه‌های این چهار جنس در ایران گزارش شده است. ارشاد (2009) ۱۳ گونه از جنس *Bipolaris* و ۱۰ گونه از جنس *Curvularia* را در کتاب قارچ‌های ایران ذکر نموده است. با این حال، در بسیاری موارد فقط نام گونه‌ها در نوشته‌های مربوط به ایران درج شده و هیچ توصیفی از آن‌ها ارائه نگردیده است. این پژوهش با هدف مطالعه و معرفی برخی گونه‌های جنس‌های *Bipolaris* و *Curvularia* از روی گونه‌های مختلف گیاهان گرامینه از مناطق مختلف کشور انجام شده است.

روش بررسی

- جمع‌آوری، جداسازی و شناسایی نمونه‌های قارچی اندام‌های گیاهی گونه‌های مختلف گیاهان گرامینه که نشانه‌های مشکوک به آلودگی توسط گونه‌های مختلف جنس‌های *Bipolaris* و *Curvularia* را داشتند، جمع‌آوری گردید و هرکدام در پاکت‌های کاغذی جداگانه به آزمایشگاه منتقل شد. جداسازی و خالص‌سازی نمونه‌های قارچی به مشابه مطالعات قبلی انجام گردید (Ahmadpour et al. 2012a, b, Ahmadpour et al. 2011). نمونه‌های میکروسکوپی با بهره‌گیری از منابع معتبر (Sivanesan 1987, Ellis 1971, 1976) شناسایی و تعیین نام گردید.

گونه‌های جنس‌های *Bipolaris*، *Curvularia*، *Exserohilum* و *Drechslera* روی گیاهان گرامینه توسط سیوانسان مورد مطالعه جامع قرار گرفته و به صورت مشروح گزارش گردیدند (Sivanesan 1987) و از آن سال به بعد، چندین گونه جدید از جنس‌های مذکور گزارش گردیده است. ویژگی‌هایی از جمله شکل کنیدیوم‌ها و نحوه جوانه‌زنی آن‌ها، مورفولوژی هیلوم، منشأ لوله تندشی در یاخته پایه و موقعیت آن نسبت به محور کنیدیوم، نحوه تشکیل بند کاذب و ویژگی‌های جایگاه یا گره کنیدیوم‌زایی (conidiogenous nodes) به عنوان صفات اصلی و مهم در تمایز جنس‌های *Bipolaris*، *Exserohilum* و *Drechslera* مطرح شده‌اند (Alcorn 1982a, b, 1983, 1990, 1991). مراحل جنسی این سه جنس نیز براساس شکل و وضعیت دیواره‌های آسکوسپورها به راحتی قابل تشخیص می‌باشند (Sivanesan 1987). جنس *Curvularia* براساس متورم بودن یاخته‌های میانی و پررنگ بودن آن‌ها نسبت به یاخته‌های انتهایی و با مرحله جنسی *Cochliobolus* از سه جنس قبلی متمایز می‌گردد (Ellis 1971, 1976, Sivanesan 1987). جنس‌های *Bipolaris* و *Curvularia* دارای مرحله جنسی مشترکی هستند. برخی محققان بیان می‌کنند که جنس *Bipolaris* باید به عنوان مترادف جنس *Curvularia* در نظر گرفته شود (Sivanesan 1987, Alcorn 1988). با این حال سیوانسان (1987) بیان می‌کند که هر چند این دو جنس در اغلب موارد دارای صفات مورفولوژیکی یکسانی هستند، اما تا زمانی که اطلاعات بیشتر از طریق مطالعات بیوشیمیایی متابولیت‌های ثانویه و ژنتیکی تعداد زیادی از گونه‌های این دو جنس حاصل نشده است، بایستی به عنوان جنس‌های مجزا در نظر گرفته شوند. اخیراً جهت تمایز چهار جنس ذکر شده و گونه‌های مربوط به آن‌ها، از روش‌های مولکولی از جمله ترادف‌یابی بخش‌هایی از rDNA (ITS1, 5.8S, ITS2)، ژن گلیسرآلدهید-۳ فسفات دهیدروژناز (*gpd*) و ژن *Brn1* (ژن مسئول در فرآیند سنتز ملاتین) استفاده شده است (Berbee et al. 2003, Turgeon et al. 1999, Kodsueb et al. 2006, Sun et al. 1998, Manamgoda et al. 2011). بر این اساس، سه جنس *Bipolaris*، *Exserohilum* و *Drechslera* از نظر ژنتیکی از یکدیگر متمایزند، اما گونه‌های مختلف جنس *Bipolaris*

تجزیه و تحلیل‌های فیلوژنتیک

نتیجه

تعدادی از جدایه‌های گونه‌های جنس‌های *Bipolaris* و *Curvularia* در تحقیق حاضر و قبلی (Ahmadpour et al. 2011, Ahmadpour et al. 2012a, b) جهت مطالعات فیلوژنتیکی انتخاب شدند (جدول ۱). پس از استخراج DNA ژنومی (Ahmadpour et al. 2012a, b)، برای تکثیر نواحی ITS1-5.8S-ITS2 rDNA هسته‌ای از ترکیب آغازگرهای ITS1 (5'-TCCGTAGGTGAACCTGCGG-3') و ITS4 (5'-TCCTCCGCTTATTGATATGC-3') به ترتیب به عنوان آغازگرهای مستقیم (forward) و معکوس (reverse) استفاده گردید (White et al. 1990). واکنش PCR و توالی‌یابی محصولات تکثیر شده مشابه مطالعات قبلی انجام گردید (Ahmadpour et al. 2012a, b).

برای مقایسه روابط فیلوژنتیکی جدایه‌های توالی‌یابی شده، ۱۷ گونه از جنس *Bipolaris*، پنج گونه از جنس *Curvularia*، چهار گونه از جنس *Exserohilum* و چهار گونه از جنس *Drechslera* از بانک ژن NCBI اخذ شد و گونه *Alternaria alternata* (Fr.) Keissler نیز به عنوان آرایه outgroup انتخاب گردید (جدول ۱) (Berbee et al. 1999, Tsukiboshi et al. 2005, Manamgoda et al. 2011). توالی‌ها با استفاده از نرم‌افزار Clustal X ver 2.0.12 هم‌ردیف گردیدند (Thompson et al. 1997). آنالیزهای فیلوژنتیکی با استفاده از روش فاصله (Distance method) انجام گردید. ماتریکس فاصله توالی‌های مرتب شده با روش دو پارامتری کیمورا (Kimura's two parameter) محاسبه شد (Kimura 1980) و درخت فیلوژنتیکی با استفاده از روش NJ (Neighbor-Joining) (Saitou & Nei 1987) و با نرم‌افزار MEGA 4.0 (Molecular Evolutionary Genetics Analysis, ver. 4.0) (Tamura et al. 2007) رسم گردید. برای اطمینان از ثبات شاخه‌های موجود در درخت فیلوژنتیکی، مقدار Bootstrap با ۱۰۰۰ تکرار با استفاده از این برنامه محاسبه شد. توالی‌های مربوط به جدایه‌های مختلف گونه‌های *Bipolaris* در بانک ژن NCBI ثبت شدند و شماره دستیابی اخذ شد (جدول ۱).

در این تحقیق، چهار گونه از جنس *Bipolaris* و دو گونه از جنس *Curvularia* شناسایی شدند. توصیف کامل گونه‌های جدید برای میکوبیوتای ایران به شرح زیر آرایه می‌گردد:

Bipolaris salkadehensis Ahmadpour & Heidarian, Mycotaxon 120: 302 (2012) (Fig. 1)

نمونه‌های بررسی شده روی *Sparganium erectum* L. و *Cladium mariscus* (L.) Pohl شهرستان خوی (استان آذربایجان غربی)، ۱۳۸۹؛ *Sparganium erectum* شهرستان رشت (استان گیلان)، ۱۳۹۱ پرگنه قارچ روی محیط کشت PDA به رنگ قهوه‌ای زیتونی می‌باشد. کنیدیوفورها به رنگ قهوه‌ای روشن تا قهوه‌ای با پایه متورم، به ابعاد $5-8/5 \times 225-590$ میکرومتر و به صورت منفرد و یا در دسته‌های کوچک تشکیل می‌شوند (شکل‌های A۱-B۱). کنیدیومها غالباً راست، به ندرت خمیده، سیلندری تا دوکی شکل و گاهی به صورت چماقی معکوس (obclavate) تا چماقی (clavate) شکل، به رنگ قهوه‌ای روشن تا قهوه‌ای تیره دیده می‌شوند (شکل‌های C۱-J۱). تعداد بند کاذب در هر کنیدیوم ۱۰-۴ (غالباً ۸-۶) عدد بوده و ابعاد آنها $12-15 \times 32-93$ (غالباً ۸۰-۵۳) میکرومتر می‌باشد. گاهی یک یا دو یاخته انتهایی کنیدیومها دارای بند تیره‌تر و ضخیم‌تر شده هستند (شکل‌های C۱-J۱). نزدیک‌ترین گونه‌ها به گونه *B. salkadehensis* گونه‌های *B. sesuvii*، *B. setariae*، *B. cynodontis* و *B. fusca* می‌باشند. در گونه‌های *B. cynodontis*، *B. setariae* و *B. sesuvii* یاخته‌های انتهایی کنیدیومها فاقد بند تیره‌تر و ضخیم‌تر شده هستند و براساس این ویژگی این گونه‌ها از گونه *B. salkadehensis* متمایز می‌گردند (Ahmadpour et al. 2012 b). گونه *B. fusca* نیز با داشتن کنیدیومهای کوتاه‌تر و عریض‌تر (به ابعاد $11-20 \times 31-67$ میکرومتر) از گونه *B. salkadehensis* متمایز می‌گردد.

این گونه اخیراً توسط نگارندگان از ایران گزارش شده و این دومین گزارش از آن روی میزبان‌های جدید از کشور است.

جدول ۱- مشخصات جدایه‌های قارچی استفاده شده در آنالیزهای فیلوژنتیکی

Table 1. Characterization of fungal isolates included in phylogenetic analyses

Species	Isolate/Strain	Source	GenBank accession number
<i>Alternaria alternata</i> (Fr:Fr) Keissler	Simmons 34-016	Berbee <i>et al.</i> ^a	AF071346
<i>Bipolaris australiensis</i> (M.B. Ellis) Tsuda & Ueyama	Alcorn 8320b	Berbee ^a	AF081450
<i>B. australiensis</i>	Bi-22	Ahmadpour <i>et al.</i>	JQ517489
<i>B. australis</i> Alcorn	Turgeon 77139	Berbee ^a	AF081448
<i>B. coicis</i> (Y. Nisik.) Shoemaker	CBS 192.29	Berbee ^a	AF081447
<i>B. coicis</i>	Bc-1	This study	KC315945
<i>B. cynodontis</i> (Marignoni) Shoemaker	BRIP16821	Goh & Hyde ^b	AF163093
<i>B. cynodontis</i>	Bi-11	Ahmadpour <i>et al.</i>	JQ517485
<i>B. ellisii</i> Alcorn	81154-1	Berbee <i>et al.</i> ^a	AF071323
<i>B. ellisii</i>	ZG-9	This study	KC315947
<i>B. eleusines</i> Alcorn & R.G. Shivas	Alcorn 8749c	Berbee ^a	AF081451
<i>B. hawaiiensis</i> (M.B. Ellis) J.Y. Uchida & Aragaki	Alcorn 7612(b)-6	Berbee <i>et al.</i> ^a	AF071324
<i>B. hawaiiensis</i>	Bi-5	Ahmadpour <i>et al.</i>	JQ517484
<i>B. heveae</i> (Petch) Arx	Zoy-7	Tsukiboshi <i>et al.</i> ^c	AB179832
<i>B. heveae</i>	Bi-6	Ahmadpour <i>et al.</i>	JQ517477
<i>B. maydis</i> (Y. Nisik. & C. Miyake) Shoemaker	Yoder HAW288	Berbee <i>et al.</i> ^a	AF158108
<i>B. maydis</i>	BM	This study	KC315946
<i>B. oryzae</i> (Breda de Haan) Shoemaker	Bi-4	Ahmadpour <i>et al.</i>	JQ517483
<i>B. perotidis</i> Alcorn	Alcorn 7846-2	Berbee <i>et al.</i> ^a	AF071320
<i>B. prieskaensis</i> W.Q. Chen & W.J. Swart	Bi-2	Ahmadpour <i>et al.</i>	JQ517482
<i>B. sacchari</i> (E.J. Butler) Shoemaker	Macko HS4	Berbee <i>et al.</i> ^a	AF071318
<i>B. salkadehensis</i> Ahmadpour & Heidarian	Bi-1	Ahmadpour <i>et al.</i>	AB675490
<i>B. salkadehensis</i>	Bi-4	Ahmadpour <i>et al.</i>	AB675491
<i>B. sorghicola</i> (Lefebvre & Sherwin) Alcorn	MAFF 511378	Berbee <i>et al.</i> ^a	AF071332
<i>B. sorghicola</i>	Bi-15	Ahmadpour <i>et al.</i>	JQ517487
<i>B. sorokiniana</i> (Sacc.) Shoemaker	Tinline A20	Berbee <i>et al.</i> ^a	AF071329
<i>B. spicifera</i> (Bainier) Subram.	BRIP12529	Goh & Hyde ^b	AF163076
<i>B. stenospila</i> (Drechsler) Shoemaker	CBS 156.36	Tsukiboshi <i>et al.</i> ^c	AB179837
<i>B. urochloae</i> (V.A. Putterill) Shoemaker	DAOMC 171970	Berbee <i>et al.</i> ^a	AF071334
<i>B. victoriae</i> (F. Meehan & H.C. Murphy) Shoemaker	Macko HVW	Berbee <i>et al.</i> ^a	AF158109
<i>Curvularia clavata</i> B.L. Jain	DAOM 148084	Berbee <i>et al.</i> ^a	AF071336
<i>C. cymbopogonis</i> (C.W. Dodge) J.W. Groves & Skolko	Alcorn 88109-1	Yun <i>et al.</i> ^a	AF071351
<i>C. gudauskasii</i> Morgan-Jones & Karr	DAOM 165085	Berbee <i>et al.</i> ^a	AF071338
<i>C. lunata</i> (Wakker) Boedijn	UAMH9 1349	Berbee <i>et al.</i> ^a	AF071339
<i>C. tuberculata</i> B.L. Jain	CBS 146.63	Manamgoda <i>et al.</i> ^d	JX256433
<i>C. tuberculata</i>	Cu-1	This study	KC315948
<i>Exserohilum minor</i> Alcorn	ATCCf 62323	Berbee <i>et al.</i> ^a	AF071341
<i>E. monoceras</i> (Drechsler) K.J. Leonard & Suggs	DAOM 208988	Berbee <i>et al.</i> ^a	AF071340
<i>E. rostratum</i> (Drechsler) K.J. Leonard & Suggs	ATCCf 32197	Berbee <i>et al.</i> ^a	AF071342
<i>E. turcicum</i> (Pass.) K.J. Leonard & Suggs	94/1823	Goh & Hyde ^c	AF163067
<i>Drechslera bisepitata</i> (Sacc. & Roum.) M.J. Richardson & E.M. Fraser	CBS 108940	Zhang & Berbee ^a	AY004788
<i>D. erythrospila</i> (Drechsler) Shoemaker	CBS 10894	Zhang & Berbee ^a	AY004782
<i>D. tritici-repentis</i> (Died.) Shoemaker	DAOM 208990	Berbee <i>et al.</i> ^a	AF071348
<i>D. tuberosa</i> (G.F. Atk.) Shoemaker	DAOM 169286	Berbee <i>et al.</i> ^a	AF071347

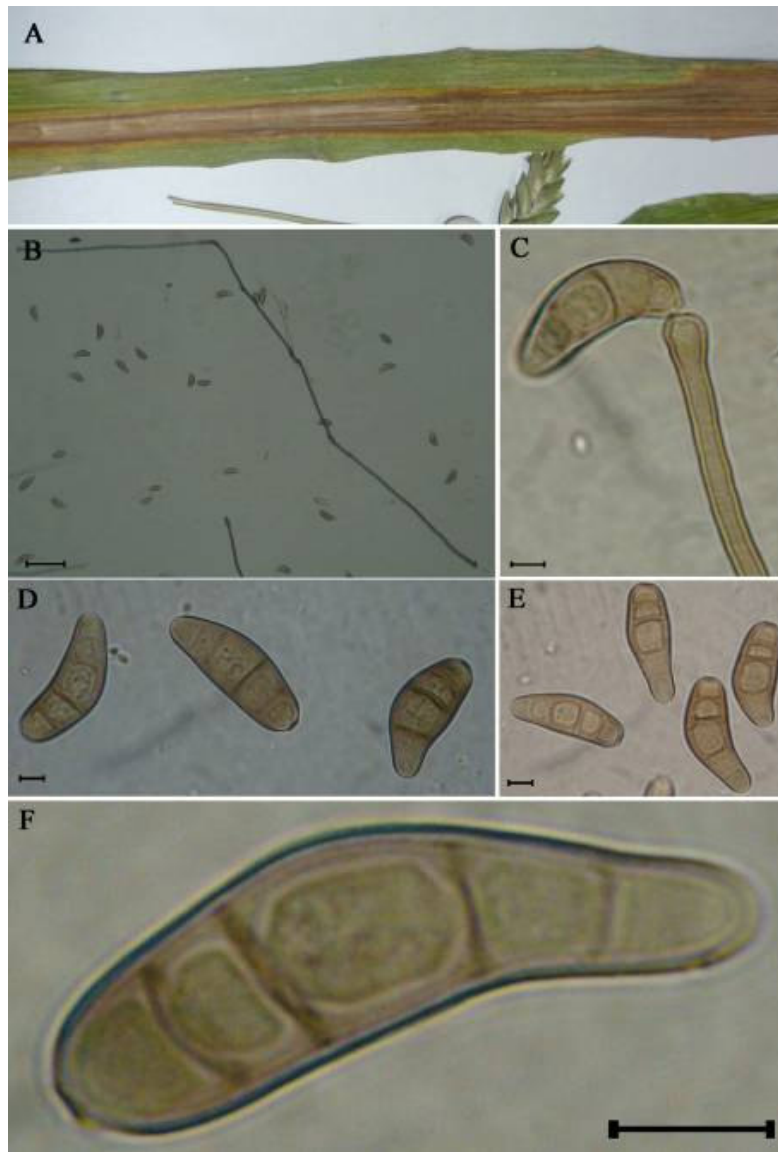
^a Dept. Botany, University of British Columbia, 6270 University Blvd, Vancouver, BC V6T 1Z4, Canada^b Dept. Ecology & Biodiversity, The University of Hong Kong, Pokfulam Road, Hong Kong SAR, China^c National Institute of Floricultural Science, Laboratory of Plant Pathology; Fujimoto 2-1, Tsukuba, Ibaraki 305-8519, Japan^d Dept. Microbiology, Chinese Academy of Sciences, North 4th Ring Road West, Beijing, China



شکل ۱- *Bipolaris salkadehensis*: A-B. Conidiophores, C-G. Conidia, H-J. Germinating conidia (Bar = 10 μ m).
 شکل ۱- *Bipolaris salkadehensis*: A-B. کنیدیوفورها، C-G. کنیدیوم‌ها، H-J. کنیدیوم‌های جوانه‌زده (مقیاس = ۱۰ میکرومتر).

این گونه شباهت زیادی به گونه‌های *B. ellisii* و *B. kusanoi* دارد. در گونه *B. ellisii*، کنیدیوم‌ها به شکل گلابی تا قایقی و به رنگ قهوه‌ای تا قهوه‌ای تیره دیده می‌شوند که براساس این مشخصات از گونه *B. coicis* متمایز می‌گردد. در گونه *B. kusanoi* کنیدیوم‌ها راست، تخم‌مرغی تا چماقی و دو یاخته انتهایی روشن‌تر از یاخته‌های میانی هستند و براساس این ویژگی‌ها، گونه مذکور از گونه *B. coicis* قابل تفکیک است (Sivanesan 1976, Ellis 1971, 1987). براساس منابع در دسترس، این نخستین گزارش از گونه فوق در ایران است (Abbasi & Aliabadi 2009, Ershad 2009).

Bipolaris coicis (Y. Nisik.) Shoemaker, Can. J. Bot. 37(5): 883 (1959) (Fig. 2)
 Teleomorph: *Cochliobolus nisikadoi* (Tsuda, Ueyama & Nishih.) Alcorn, Mycotaxon 16: 373 (1983)
 نمونه بررسی شده روی *Coix lacryma-jobi* L. شهرستان آمل (استان مازندران)، ۱۳۹۱
 پرگنه قارچ روی محیط کشت PDA به رنگ خاکستری می‌باشد. کنیدیوفورها منفرد تا دسته جمعی، سیلندری و به رنگ قهوه‌ای بوده و طول آن‌ها ۱۲۰۰-۶۰۰ میکرومتر می‌باشد (شکل‌های B۲). کنیدیوم‌ها راست، گاهی خمیده و بیضوی، چماقی معکوس و به رنگ قهوه‌ای روشن تا قهوه‌ای دیده می‌شوند. کنیدیوم‌ها دارای ۴ و گاهی ۳ بندکاذب و به ابعاد ۹-۱۶ × ۲۵-۴۰ میکرومتر می‌باشند (شکل‌های C۲-F۲).



شکل ۲- *Bipolaris coicis*: A. علائم بیماری روی *Coix lacryma-jobi*. B. کنیدیوفور (مقیاس = ۱۰۰ میکرومتر)، C-F. کنیدیومها (مقیاس = ۱۰ میکرومتر).

Fig. 2. *Bipolaris coicis*: A. Disease symptom on *Coix lacryma-jobi*, B. Conidiophore (Bar = 100 μm), C-F. Conidia (Bar = 10 μm).

گلابی تا قایقی شکل و به ندرت چماقی، به رنگ قهوه‌ای تا قهوه‌ای تیره، با ۳ بند کاذب و به ندرت با ۲ بند کاذب، به ابعاد $10-15 \times 12-38$ میکرومتر دیده می‌شوند (شکل‌های C۳-E۳).

این گونه شباهت زیادی به گونه‌های *B. coicis* و *B. kusanoi* دارد. در گونه *B. coicis* کنیدیومها اندکی خمیده، بیضوی و چماقی معکوس و به رنگ قهوه‌ای روشن دیده می‌شوند، که براساس این مشخصات از گونه *B. ellisii*

Bipolaris ellisii (Danquah) Alcorn, Trans. Br.

Mycol. Soc. 81(1): 174 (1983) (Fig. 3)

Teleomorph: *Cochliobolus ellisii* Alcorn, Trans. Br.

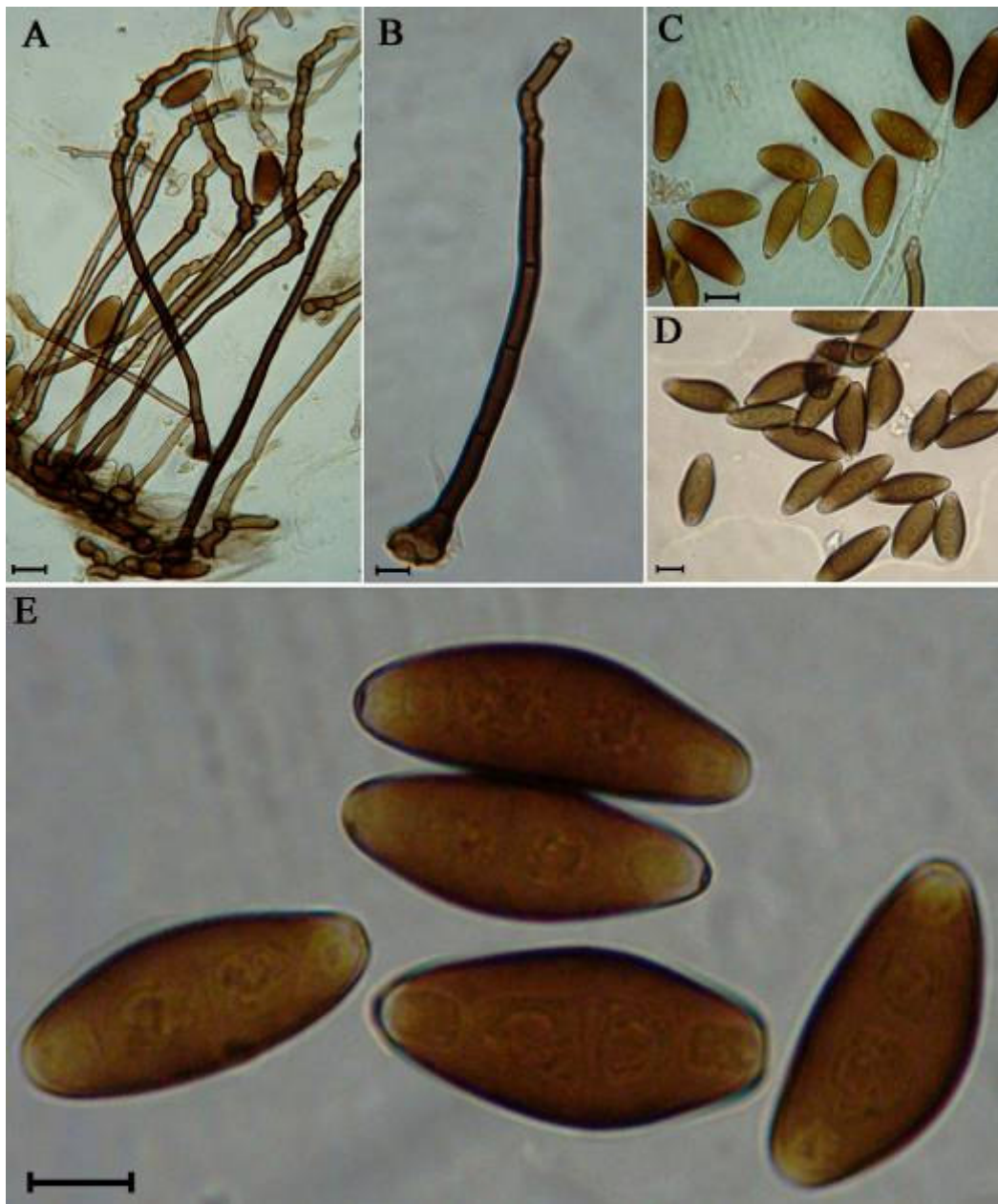
Mycol. Soc. 81(1): 172 (1983)

نمونه بررسی شده روی *Zea mays* L. شهرستان اینچه‌برون (استان گلستان)، ۱۳۹۰

پرگنه قارچ روی محیط کشت PDA به رنگ قهوه‌ای تیره می‌باشد. کنیدیوفورها منفرد، به رنگ قهوه‌ای تیره، به طول ۴۵۰-۱۱۵ و عرض ۵-۸ میکرومتر با قاعده متورم می‌باشند (شکل‌های A۳-B۳). کنیدیومها راست یا خمیده،

از استرالیا (Sivanesan 1987, Hyde & Alcorn 1993)،
 Tokumasu *et al.* 1990،) از تایلند (*Pinus khasya*
 (Sivanesan 1987) و خاک (Manamgoda *et al.* 2011)
 گزارش شده است. براساس منابع در دسترس
 (Abbasi & Aliabadi 2009, Ershad 2009)، این نخستین
 گزارش از گونه فوق در ایران است.

متمایز می‌گردد. گونه *B. kusanoi* با کنیدیوم‌ها راست،
 تخم‌مرغی تا چماقی و دو یاخته انتهایی روشن‌تر از
 یاخته‌های میانی از گونه *B. ellisii* قابل تفکیک است
 (Sivanesan 1987, Ellis 1971, 1976). گونه مذکور در
 دنیا تاکنون از روی *Crotalaria pseudospartium* از
 کنیا (Caretta *et al.* 1999)، *Dactyloctenium aegyptium*



شکل ۳- *Bipolaris ellisii*: A-B. کنیدیوفورها، C-E. کنیدیوم‌ها (مقیاس = ۱۰ میکرومتر).

Fig. 3. *Bipolaris ellisii*: A-B. Conidiophores, C-E. Conidia (Bar = 10 μ m).

غالباً دارای ۳ (به ندرت ۲) بند، به ابعاد $۱۲-۲۰ \times ۳۲-۵۰$ میکرومتر و با هیلوم غیرمشخص می‌باشند. یاخسته‌های میانی تیره‌تر از یاخسته‌های انتهایی بوده و گاهی کنیدیوفور ثانویه نیز دیده می‌شود (شکل‌های C۴-F۴)

نزدیک‌ترین گونه به گونه فوق، گونه *C. verruculosa* می‌باشد. گونه *C. verruculosa* با داشتن کنیدیوم‌های خمیده و خاردار (verrucose) از گونه *C. tuberculata* متمایز می‌گردد (Sivanesan 1987, Ellis 1971, 1976). براساس منابع در دسترس، این گونه برای نخستین بار در ایران گزارش می‌شود (Abbasi & Aliabadi 2009, Ershad 2009).

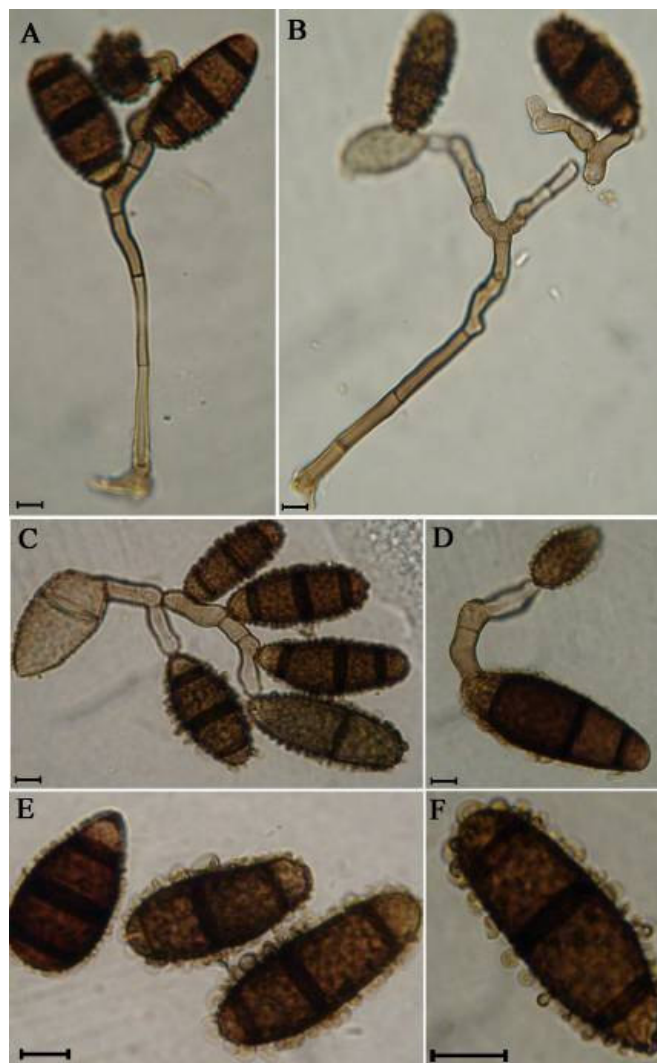
Curvularia tuberculata B.L. Jain, Trans. Br. Mycol. Soc. 45(4): 539 (1962) (Fig. 4)

Teleomorph: *Cochliobolus tuberculatus* Sivan, Trans. Br. Mycol. Soc. 84(3): 548 (1985)

نمونه بررسی شده روی *Oryza sativa* L.، شهرستان رشت (استان گیلان)؛ *Sorghum bicolor* (L.) Moench

rotundus L.، شهرستان گرگان (استان گلستان)، ۱۳۹۱

پرگنه‌های قارچ روی محیط کشت PDA به رنگ قهوه‌ای تیره تا قهوه‌ای زیتونی دیده می‌شوند. کنیدیوفورها به صورت منفرد تا گروهی، در انتها گاهی منشعب و به رنگ قهوه‌ای روشن تا قهوه‌ای به ابعاد $۸۰-۱۵۰$ میکرومتر می‌باشند (شکل‌های A۴-B۴). کنیدیوم‌ها راست، بیضوی تا چماقی معکوس به رنگ قهوه‌ای تیره و زگیل‌دار (tuberculate) بوده و



شکل ۴- *Curvularia tuberculata*: A-B. کنیدیوفورها، C-F. کنیدیوم‌ها (مقیاس = ۱۰ میکرومتر).

Fig. 4. *Curvularia tuberculata*: A-B. Conidiophores, C-F. Conidia (Bar = 10 μ m).

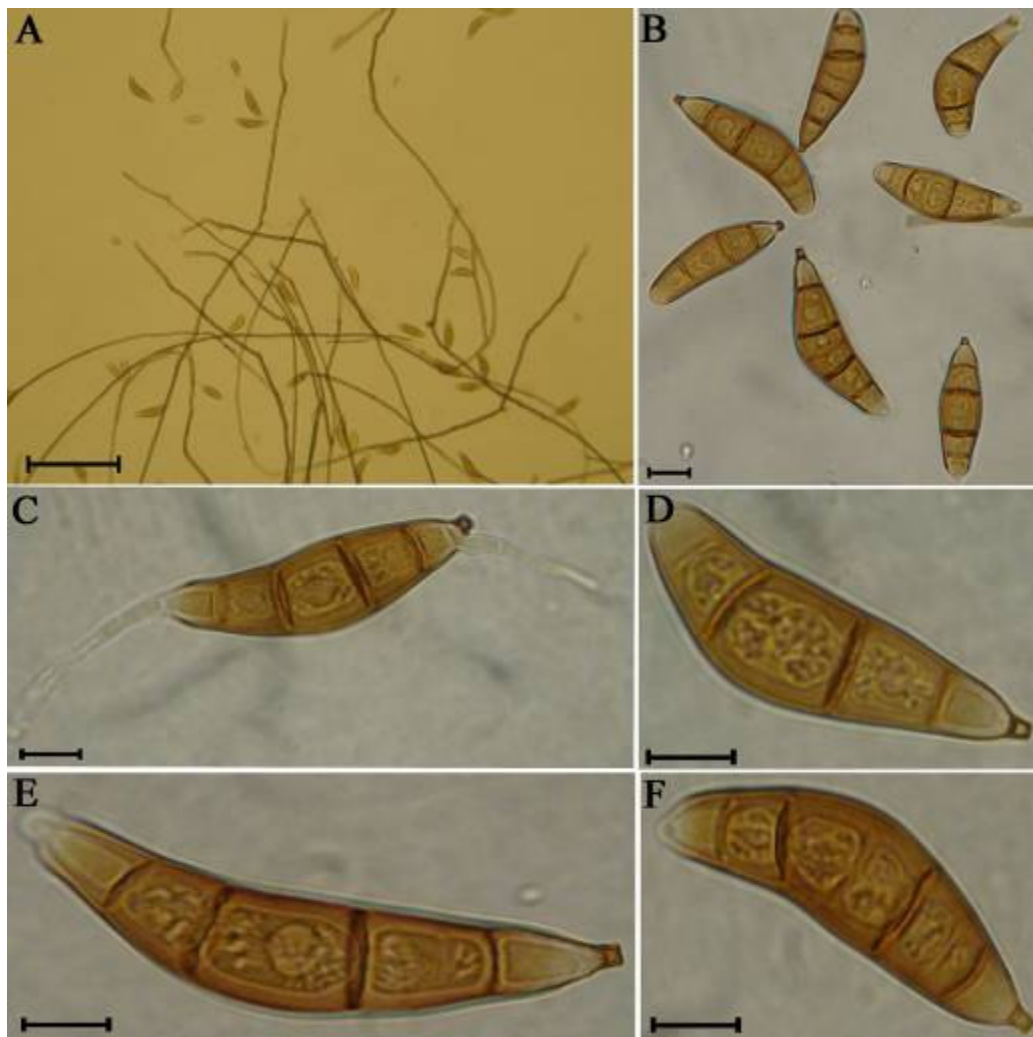
تیره می‌باشد و یاخته‌های انتهایی روشن‌تر از یاخته‌های میانی هستند (شکل‌های B۵-F۵).

این گونه شباهت زیادی به گونه *C. cymbopogonis* دارد. گونه *C. cymbopogonis* با داشتن کنیدیوم‌هایی به شکل چماقی، گاهی بیضوی، با ۴ بند، کنیدیوفورهای به طول ۳۰۰ میکرومتر و هموتال بودن از گونه *C. comoriensis* متمایز می‌گردد (Sivanesan 1987, Ellis 1976, 1971). براساس منابع در دسترس (Abbasi & Aliabadi 2009, Ershad 2009) این نخستین گزارش از گونه فوق در ایران است.

***Curvularia comoriensis* Bouriquet & Jauffret ex M.B. Ellis, Mycol. Pap. 106: 16 (1966) (Fig. 5)**

نمونه بررسی شده روی *Oryza sativa* L. شهرستان رشت (استان گیلان)، ۱۳۹۱

پرگنه قارچ روی محیط کشت PDA به رنگ قهوه‌ای تیره می‌باشد. کنیدیوفورها راست تا خمیده، گاهی زانویی، به رنگ قهوه‌ای روشن، به طول حدود ۱۰۰۰ میکرومتر دیده می‌شوند (شکل A۵). کنیدیوم‌ها راست یا خمیده، به اشکال دوکی، چماقی معکوس، بیضوی یا تخم‌مرغی، با ۵-۲ (اغلب ۴) بند، به ابعاد ۱۵-۱۰ × ۶۰-۲۸ میکرومتر و با هیلوم برجسته دیده می‌شوند. رنگ کنیدیوم‌ها قهوه‌ای تا قهوه‌ای



شکل ۵- *Curvularia comoriensis*: A. کنیدیوفورها (مقیاس = ۱۰۰ میکرومتر)، B-F. کنیدیوم‌ها (مقیاس = ۱۰ میکرومتر).

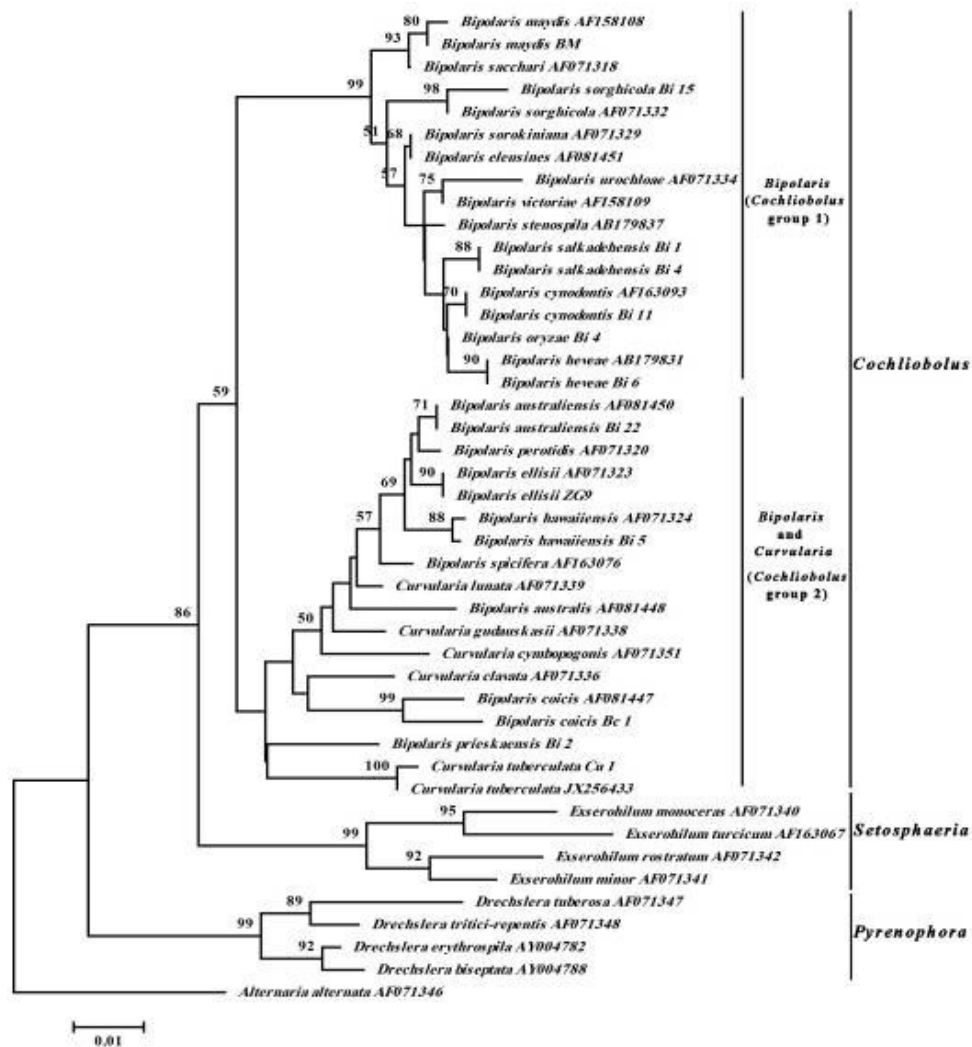
Fig. 4. *Curvularia comoriensis*: A. Conidiophores (Bar = 100 μm), B-F. Conidia (Bar = 10 μm).

معرفی شده‌اند (Hooker *et al.* 1970). هر دو نژاد از نظر ریخت‌شناسی مشابه هستند، اما از لحاظ آل‌های لوکوس توکسین میزبان اختصاصی (*Tox 1*) متفاوت هستند (Klittich & Bronson 1986). استرین‌هایی با آل *TOX-1* (نژاد T) تولید T- توکسین کرده و سبب ایجاد لکه‌های دوکی شکل بزرگ روی برگ‌های ذرت هیبرید T-cms (Texas cytoplasmic male-sterile = Tcms) می‌گردد، در حالی که استرین‌هایی با آل *tox-1* (نژاد O) و سبب ایجاد لکه‌های کوچک موازی روی برگ‌های ذرت هیبرید T-cms می‌شوند (Klittich & Bronson 1986).

Bipolaris maydis (Y. Nisik. & C. Miyake) Shoemaker, Can. J. Bot. 33: 882 (1959)
Teleomorph: *Cochliobolus heterostrophus* (Drechsler) Drechsler, Phytopathology 24: 973 (1934)

نمونه بررسی شده روی *Zea mays* L. شهرستان قائم شهر (استان مازندران)، ۱۳۹۱

گونه *B. maydis* جزو عوامل مهم لکه برگی ذرت در نواحی نیمه‌مرطوب و نیمه‌گرمسیری جهان می‌باشد (White 1999). این گونه در ایران از استان‌های مازندران، گیلان و گلستان گزارش شده‌است (Abbasi & Aliabadi 2009, Ershad 2009). دو نژاد از قارچ *B. maydis* به نام نژاد T و نژاد O



شکل ۶- درخت فیلوژنتیکی استنتاج شده از ناحیه ITS و 5.8SrDNA از ۴۴ آرایه با روش NJ (neighbor-joining). اعداد بالای هر شاخه مقدار bootstrap از ۱۰۰۰ تکرار را نشان می‌دهد. طول شاخه‌ها با تعداد تغییرات باز که به صورت مقیاس بار نشان داده شده است، متناسب می‌باشد. گونه *Alternaria alternata* (AF071346) به عنوان out-group انتخاب شده است.

Fig. 6. A neighbor-joining tree inferred from the ITS regions and 5.8S rDNA sequences from 42 taxa. Numbers above the branches show the bootstrap values in 1000 bootstrap replicates. The length of branches is proportional to the number of base changes, indicated by the scale bar. *Alternaria alternata* (AF071346) was chosen as out-group.

بحث و نتیجه‌گیری

می‌گیرند دارای کنیدیوم‌های راست (به ندرت خمیده)، کوتاه و با تعداد بند کاذب کمتر از هفت می‌باشند که در مجموع نشان داد نتایج این مطالعه با نتایج محققان دیگر مطابقت دارد (Berbee *et al.* 1999, Kodsueb *et al.* 2006, Manamgoda *et al.* 2011). همچنین در این گروه، گونه‌های *B. prieskaensis*، *B. australiensis*، *B. hawaiiensis* و *Bipolaris* اخذ شده از بانک ژن NCBI نیز قرار گرفتند (شکل ۶). گونه‌های *Bipolaris* که در گروه اول *Cochliobolus* قرار می‌گیرند بیمارگرهای مهم گیاهان زراعی محسوب می‌شوند و در گروه دوم *Cochliobolus* هم تعدادی از گونه‌های *Bipolaris* و گونه‌های *Curvularia* قرار می‌گیرند که جزو بیمارگرهای متوسط طبقه‌بندی شده‌اند. این گروه‌بندی براساس مطالعات مربوط به توالی‌یابی نواحی *ITS*، *TEF*، *GPD*، *Brn1* و *MAT* نیز دیده می‌شود (Berbee *et al.* 1999, Kodsueb *et al.* 2006, Sun *et al.* 2003, Turgeon 1998, Manamgoda *et al.* 2011).

سپاسگزاری

نگارندگان از معاونت محترم پژوهشی دانشگاه تهران به خاطر فراهم کردن اعتبارات مالی این تحقیق کمال تشکر را دارند.

References

- Abbasi, M. & Aliabadi, F. 2009. The list of fungi reported in proceedings of 12th to 18th Iranian Plant Protection Congress. Elm & Honar Publication, 272 pp., Tehran.
- Ahmadpour, A., Donyadoost-Chelan, M., Heidarian, Z. & Javan-Nikkhah, M. 2011. New species of *Bipolaris* and *Curvularia* on grass species in Iran. *Rostaniha* 12: 39–49.
- Ahmadpour, A., Donyadoost-Chelan, M., Heidarian, Z. & Javan-Nikkhah, M. 2012a. New species of *Bipolaris* and *Curvularia* on grass species in Iran. *Rostaniha* 13: 69–82.
- Ahmadpour, A., Heidarian, Z., Donyadoost-Chelan, M., Javan-Nikkhah, M. & Tsukiboshi, T. 2012b. A new species of *Bipolaris* from Iran. *Mycotaxon* 120: 301–307.
- Alcorn, J.L. 1982a. New *Cochliobolus* and *Bipolaris* species. *Mycotaxon* 15: 1–19.
- Alcorn, J.L. 1982b. Ovaricolous *Bipolaris* species on *Sporobolus* and other grasses. *Mycotaxon* 15: 20–48.
- Alcorn, J.L. 1983. Generic concepts in *Drechslera*, *Bipolaris* and *Exserohilum*. *Mycotaxon* 17: 1–86.
- Alcorn, J.L. 1988. The taxonomy of *Helminthosporium* species. *Annual Review of Phytopathology* 26: 37–56.
- Alcorn, J.L. 1990. Additions to *Bipolaris*, *Cochliobolus* and *Curvularia*. *Mycotaxon* 39: 361–392.

طول توالی نوکلئوتیدی ناحیه ITS1-5.8S-ITS2 rDNA توالی‌یابی شده در جدایه‌های مختلف مورد مطالعه در گونه‌های *Bipolaris* و *Curvularia* بین ۶۰۷–۵۴۹ جفت باز متغیر بود. جدایه‌های توالی‌یابی شده از گونه‌های *B. salkadehensis* (با مقدار Bootstrap ۸۸ درصد) و *B. maydis* (با مقدار Bootstrap ۸۰ درصد و ۹۹ درصد تشابه نوکلئوتیدی با *B. maydis* AF158108) در گروه یک *Cochliobolus* قرار گرفتند (شکل ۶). هر دو گونه مذکور دارای کنیدیوم‌های خمیده، دوکی شکل و با تعداد بیش از هفت بند کاذب می‌باشند. همچنین در این گروه، جدایه‌هایی از گونه‌های *B. cynodontis*، *B. oryzae*، *B. sorghicola*، *B. heveae* و گونه‌های دیگری از جنس *Bipolaris* اخذ شده از بانک ژن NCBI نیز قرار گرفتند (شکل ۶). به علاوه، جدایه‌های توالی‌یابی شده از گونه‌های *B. coicis* (با مقدار Bootstrap ۹۹ درصد و ۹۸ درصد تشابه نوکلئوتیدی با *B. coicis* AF081447)، *B. ellisii* (با مقدار Bootstrap ۹۰ درصد و ۹۹ درصد تشابه نوکلئوتیدی با *B. ellisii* AF071323) و *C. tuberculata* (با مقدار Bootstrap ۱۰۰ درصد و ۹۹ درصد تشابه نوکلئوتیدی با *C. tuberculata* JX256433) در گروه دو *Cochliobolus* قرار گرفتند (شکل ۶) و گونه‌هایی که در گروه مذکور قرار

- Alcorn, J.L. 1991. New combinations and synonymy in *Bipolaris* and *Curvularia*, and a new species of *Exserohilum*. *Mycotaxon* 41: 329–343.
- Berbee, M.L., Pirseyedi, M. & Hubbard, S. 1999. *Cochliobolus* phylogenetics and the origin of known, highly virulent pathogens, inferred from ITS and glyceraldehyde-3-phosphate dehydrogenase gene sequences. *Mycologia* 91: 964–977.
- Caretta, G., Piontelli, E., Picco, A.M. & Del Frate, G. 1999. Some filamentous fungi on grassland vegetation from Kenya. *Mycopathologia* 145: 155–169.
- Ellis, M.B. 1971. Dematiaceous *Hyphomycetes*. Commonwealth Mycological Institute, 608 pp., Kew, England.
- Ellis, M.B. 1976. More Dematiaceous *Hyphomycetes*. Commonwealth Mycological Institute, 507 pp., Kew, England.
- Ershad, D. 2009. Fungi of Iran. 3rd ed. Agricultural Research, Education & Extension Organization. Publication No. 10, 531 pp., Tehran.
- Hooker, A.L., Smith, D.R., Lim, S.M. & Becktt, J.B. 1970. Reaction of corn seedlings with male-sterile cytoplasm to *Helminthosporium maydis*. *Plant Disease Reporter* 54: 708–712.
- Hyde, K.D. & Alcorn, J.L. 1993. Some disease-associated microorganisms on plants of Cape York Peninsula and Torres Strait Islands. *Australasian Plant Pathology* 22: 73–83.
- Kimura, M. 1980. A simple method for estimating evolutionary rate of base substitutions through comparative studies of nucleotide sequences. *Journal of Molecular Evolution* 16: 111–120.
- Klittich, C.J.R. & Bronson, C.R. 1986. Reduced fitness associated with TOX 1 of *Cochliobolus heterostrophus*. *Phytopathology* 76: 1294–1298.
- Koduseb, R., Dhanasekaran, V., Aptroot, A., Lumyong, S., Mckenzie, E.H.C., Hyde, K.D. & Jeewon, R. 2006. The family *Pleiosporaceae*: intergeneric relationships and phylogenetic perspectives based on sequence analyses of partial 28S rDNA. *Mycologia* 98: 571–583.
- Manamgoda, D.S., Cai, L., Bahkali, A.H., Chukeatirote, E. & Hyde, K.D. 2011. *Cochliobolus*: an overview and current status of species. *Fungal Diversity* 51: 3–42.
- Saitou, N. & Nei, M. 1987. The neighbor-joining method: a new method for reconstructing phylogenetic trees. *Molecular Biology Evolution* 4: 406–425.
- Sivanesan, A. 1987. Graminicolous species of *Bipolaris*, *Curvularia*, *Drechslera*, *Exserohilum* and their teleomorphs. CABI International Mycological Institute. Mycological Paper 158, 261 pp.
- Sun, G.Y., Oide, S., Tanaka, E., Shimizu, K., Tanaka, C. & Tsuda, M. 2003. Species separation in *Curvularia* “*geniculata*” group inferred from *Bm1* gene sequences. *Mycoscience* 44: 239–244.
- Tamura, K., Dudley, J., Nei, M. & Kumar, S. 2007. MEGA4: Molecular Evolutionary Genetics Analysis (MEGA) software version 4.0. *Molecular Biology and Evolution* 24: 1596–1599.
- Thompson, J.D., Gibson, T.J., Plewniak, F., Jeanmougin, F. & Higgins, D.G. 1997. The Clustal X windows interface: flexible strategies for multiple sequence alignment aided by quality analysis tools. *Nucleic Acids Research* 25: 4876–4882.
- Tokumasu, S., Tubaki, K. & Manoch, L. 1990. A preliminary list of *Hyphomycetes* isolated from pine leaf litter of Thailand. Report of the Tottori Mycological Institute 28: 185–190.
- Tsukiboshi, T., Chung, W.H. & Yoshid, S. 2005. *Cochliobolus heveicola* sp. nov. (*Bipolaris*

- heveae*) causes brown stripe of bermudagrass and zoysia grass. *Mycoscience* 46: 17–21.
- Turgeon, B.G. 1998. Application of mating type gene technology to problems in fungal biology. *Annual Review of Phytopathology* 36: 115–137.
- White, D.G. 1999. *Compendium of corn diseases*. 3th ed. The American Phytopathological Society. St. Paul. MN. 78 pp.
- ribosomal RNA genes for phylogenetics. *In*: Gelfand, M., Sninsky, D. & White, T. (eds). *PCR protocols: a guide to methods and applications*. Academic, San Diego, California, pp. 315–322.