

گزارش جدیدی از گونه‌های *Pyrenophora* برای قارچ‌گان ایران

دریافت: ۱۴۰۲/۰۱/۳۰ / پذیرش: ۱۴۰۲/۰۴/۰۶

عبداله احمدپور✉: استادیار مرکز آموزش عالی شهید باکری، میاندوآب، دانشگاه ارومیه، ارومیه، ایران (a.ahmadpour@urmia.ac.ir)

زینب حیدریان: دانش‌آموخته دکتری گروه گیاه‌پزشکی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه تبریز، تبریز، ایران

یوبرت قوستا: دانشیار گروه گیاه‌پزشکی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه ارومیه، ارومیه، ایران

زهرا علوی: دانشجوی کارشناسی ارشد گروه گیاه‌پزشکی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه ارومیه، ارومیه، ایران

فاطمه علوی: دانشجوی کارشناسی ارشد گروه گیاه‌پزشکی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه ارومیه، ارومیه، ایران

چکیده

در راستای بررسی تاکسونومیک گونه‌های جنس *Pyrenophora* در ایران، نمونه‌های برگ‌ی آلوده از گیاهان گندمیان (*Poaceae*) طی سال‌های ۱۴۰۰–۱۳۹۷ از استان آذربایجان غربی جمع‌آوری گردید. تعداد ۲۰ جدایه از جنس *Pyrenophora* از گونه‌های مختلف گیاهان تیره مذکور جداسازی شدند. براساس داده‌های ریخت‌شناختی و مولکولی [توالی‌یابی ناحیه ITS-rDNA و بخشی از ژن گلیسرآلدهید-۳ فسفات دهیدروژناز (*GAPDH*)، سه گونه از جنس *Pyrenophora* شامل هشت جدایه *P. chaetomioides* از روی یولاف، چهار جدایه *P. catenaria* از روی *Poa* sp. و هشت جدایه *P. seminiperda* از روی جو شناسایی شدند. در مقاله حاضر، تصاویر، اهمیت اقتصادی و دامنه میزبانی آن‌ها ارائه شده است.

واژه‌های کلیدی: تاکسونومی، تبارزایی، توالی‌یابی، ریخت‌شناسی، گندمیان

New reports of *Pyrenophora* species for the funga of Iran

Received: 19.04.2023 / Accepted: 27.06.2023

Abdollah Ahmadpour✉: Assistant Prof., Higher Education Center Shahid Bakeri Miyandoab, Urmia University, Urmia, Iran (a.ahmadpour@urmia.ac.ir)

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

Youbert Ghosta: Associate Prof., Department of Plant Protection, Faculty of Agriculture and Natural Resources, Urmia University, Urmia, Iran

Zahra Alavi: MSc Student, Department of Plant Protection, Faculty of Agriculture and Natural Resources, Urmia University, Urmia, Iran

Fatemeh Alavi: MSc Student, Department of Plant Protection, Faculty of Agriculture and Natural Resources, Urmia University, Urmia, Iran

Summary

In order to study the taxonomy of *Pyrenophora* species in Iran, infected *Poaceae* specimens were obtained from West Azerbaijan province during the years 2018–21. Twenty specimens of *Pyrenophora* were isolated from *Poaceae*. Based on the morphological characteristics and molecular data [the internal transcribed spacer (ITS-rDNA) region and *GAPDH* (glyceraldehyde-3-phosphate dehydrogenase) gene], three species of *Pyrenophora* viz. eight isolates of *P. chaetomioides* on *Avena sativa*, four isolates of *P. catenaria* on *Poa* sp., and eight isolates of *P. seminiperda* on *Hordeum vulgare* were identified. In the present paper, *Pyrenophora chaetomioides* and *P. catenaria* are introduced as new records for the funga of Iran. Full descriptions and illustrations as well as the economic significance and host range of new species are provided.

Keywords: Morphology, phylogeny, *Poaceae*, sequencing, taxonomy

مقدمه

تاکسونومی جنس *Pyrenophora* به علت تغییرات مکرر نام‌گذاری مراحل جنسی و غیرجنسی، طی ۵۰ سال اخیر با مشکلاتی مواجه بوده است. جنس *Pyrenophora* از نظر ریخت‌شناختی شباهت‌های زیادی به جنس‌های *Bipolaris* Shoemaker (با مرحله جنسی *Cochliobolus* Drechsler)، *Pseudocochliobolus* Curvularia Boedijn (با مرحله جنسی *Exserohilum* K.J. Leonard & (Tsuda, Ueyama & Nishih)، *Setosphaeria* K.J. Leonard & Suggs (با مرحله جنسی *Johnalcornia* Y.P. Tan & R.G. Shivas)، *Porocercospora* Amaradasa, Amundsen, Madrid & Ellis 1971, 1976, Sivanesan 1987,) دارد (Crous Amaradasa et al. 2014, Ariyawansa et al. 2014, Manamgoda et al. 2014, Tan et al. 2014, Marin-Felix et al. 2019). همه جنس‌های مذکور به دلیل ارتباط با گیاهان گندمیان و شباهت ریخت‌شناختی به جنس *Helminthosporium* Link تحت عنوان قارچ‌هایی به همین نام در تیره مذکور (graminicolous *Helminthosporium* fungi) شناخته می‌شوند (Sivanesan 1987, Alcorn 1988,) (Amaradasa et al. 2014, Manamgoda et al. 2014, Tan et al. 2019, Marin-Felix et al. 2014). ویژگی‌های ریخت‌شناختی از جمله شکل کنیدیوم‌ها و نحوه جوانه‌زنی آن‌ها، ریخت‌شناسی هیلوم، منشا لوله تندشی در سلول پایه و موقعیت آن نسبت به محور کنیدیوم، نحوه تشکیل دیواره عرضی کاذب و ویژگی‌های جایگاه یا گره‌های کنیدی‌زایی (conidiogenous nodes) به عنوان صفات اصلی و مهم در تمایز این جنس‌ها مطرح است (Sivanesan 1987, Alcorn 1988, Amaradasa et al. 2014, Ariyawansa et al. 2014, Manamgoda et al. 2019, Tan et al. 2014, Marin-Felix et al. 2014). شناسایی گونه‌های جنس *Pyrenophora* و جنس‌های نزدیک با استفاده از روش ریخت‌شناسی به دلیل وجود شباهت زیاد، همپوشانی یا کم بودن قدرت تمایز ویژگی‌های ریخت‌شناختی، به تنهایی کافی نبوده و همراه با ابهاماتی است. به علاوه، تفاوت ریخت‌شناختی بین گونه‌ها و حتی جنس‌های مذکور (شش جنس مذکور) ممکن است بسته به شرایط کشت، میزبان و براساس نحوه زندگی متغیر باشد. لذا، روش‌های مولکولی به منظور ایجاد یک چهارچوب تاکسونومیک قوی برای جنس *Pyrenophora* و جنس‌های نزدیک مورد نیاز است. کاربرد مفهوم تبارزایی گونه برای شناسایی گونه‌های این جنس مبتنی بر توالی DNA، علاوه بر ویژگی‌های ریخت‌شناختی استفاده می‌شود (Ariyawansa et al. 2014, Marin-Felix et al. 2019, Jayawardena et al. 2023).

جنس *Pyrenophora* Fr. با گونه تیپ *Pyrenophora* *phaeocomes* (Rebent.) Fr. *Pleosporaceae* متعلق به *(Pleosporales, Dothideomycetes)* است (Ariyawansa et al. 2014, Marin-Felix et al. 2019, Jayawardena et al. 2023). گونه‌های این جنس به عنوان بیمارگرهای گیاهی روی گیاهان گندمیان (*Poaceae*)، ساپروفیت (پوده‌رُست) و یا اندوفیت (درون‌رُست) گزارش شده‌اند و به طور عمده با فرم غیرجنسی (*Drechslera* S. Ito) در طبیعت، موجب بیماری می‌شوند (Sivanesan 1987, Ariyawansa et al. 2014, Marin-Felix et al. 2019, Farr & Rossman 2023). گونه‌های جنس *Pyrenophora* در مرحله جنسی تولید آسکوستروما (از نوع پریتسیوم کاذب)، بدون پارافیز، با آسک‌های چماقی یا کیسه‌ای شکل، دو دیواره (bitunicate) قابل تفکیک و حاوی آسکوسپورهای قهوه‌ای روشن با دیواره‌های عرضی و طولی (muriform) احاطه شده با غلاف ژلاتینی بودند که در مرحله غیرجنسی تولید کنیدیوفور و کنیدیوم‌های قهوه‌ای روشن تا تیره دارای دیواره عرضی کاذب و هیلوم غیربرجسته می‌نمایند که جوانه‌زنی کنیدیوم‌ها از سلول‌های انتهایی (قطبی) و میانی صورت می‌گیرد (Sivanesan 1987, Ariyawansa et al. 2014, Marin-Felix et al. 2019, Jayawardena et al. 2023). برخی از گونه‌های *Pyrenophora* باعث بیماری‌های مهم اقتصادی روی گیاهان زراعی به ویژه گندم، جو و چاودار می‌شوند. بیماری‌های لکه‌نواری جو (barley stripe)، لکه‌توری جو (net blotch) و لکه‌خرمایی گندم (wheat tan spot) به ترتیب توسط گونه‌های *P. graminea* S. Ito & Kurib و *P. tritici-repentis* (Died.) و *P. teres* Drechsler ایجاد می‌شوند که بسته به شرایط آب و هوایی، مقاومت گیاه میزبان و منطقه جغرافیایی، میزان خسارت متفاوت است (Sivanesan 1987, Medd et al. 2003, Ariyawansa et al. 2014, Marin-Felix et al. 2019, Farr & Rossman 2023). تعدادی از گونه‌های این جنس در مهار-زیستی علف‌های هرز (mycoherbicide) به کار می‌روند. به عنوان مثال *P. semeniperda* (Brittleb. & D.B. Adam) و *Bromus tectorum* و سایر گونه‌های این جنس به کار می‌روند و برخی دیگر از گونه‌ها به دلیل تولید متابولیت‌های ثانویه، در صنعت داروسازی و بیوشیمی مورد توجه ویژه‌ای قرار دارند (Prateeksha et al. 2019, Masi et al. 2022).

دمای ۲۵ درجه سلسیوس منتقل و به مدت ۱۴-۱۰ روز نگهداری گردید (Sivanesan 1987, Ariyawansa et al. 2014, Marin-Felix et al. 2019). صفات مورد مطالعه شامل رنگ پرگنه، مشخصات کنیدیوفورها و کنیدیوم‌ها بود. حداقل ۵۰ عدد از هر کدام از اندام‌های قارچی (کنیدیوفور و کنیدیوم) در چند نمونه میکروسکوپی بررسی و اندازه‌گیری شدند. از صفات مذکور با استفاده از میکروسکوپ نوری الپوس مدل AX70 مجهز به فازکنتراست تمایزی [differential interference (DIC) contrast illumination] عکس‌برداری به عمل آمد. نمونه‌های میکروسکوپی با بهره‌گیری از منابع معتبر (Ellis 1971, 1976, Sivanesan 1987, Marin-Felix et al. 2019) شناسایی و تعیین نام گردیدند. کشت زنده جدایه‌ها در مجموعه قارچ‌شناسی گروه گیاه‌پزشکی دانشگاه ارومیه (FCCUU) و نیز در مجموعه قارچ‌های مؤسسه تحقیقات گیاه‌پزشکی کشور (IRAN...C) نگهداری می‌شوند (جدول ۱).

- واکاو‌های تبارزایی

بر مبنای ویژگی‌های ریخت‌شناختی جدایه‌ها و الگوی انگشت‌نگاری DNA با استفاده از نشانگر مولکولی ISSR (Inter Simple Sequence Repeats) (Heidarian et al. 2020)، جدایه‌های نماینده برای مطالعه تبارزایی انتخاب شدند (جدول ۱). پس از استخراج DNA ژنومی (Ahmadpour et al. 2012a, 2013)، برای تکثیر نواحی ITS1-5.8S-ITS2 rDNA هسته‌ای از ترکیب آغازگرهای ITS1 (5'- TCCGTAGGTGAACCTGCGG -3') و ITS4 (5'- TCCTCCGCTTATTGATATGC- 3') (White et al. 1990) و برای ژن *GAPDH* از آغازگرهای *gpd1* (5'- CAACGGCTTCGGTCGCATTG- 3') و *gpd2* (5'- GCCAAGCAGTTGGTTGTGC- 3') (Berbee et al. 1999)، به ترتیب به عنوان آغازگرهای مستقیم (forward) و معکوس (reverse) استفاده گردید. حجم هر واکنش زنجیره‌ای پلی‌مرز (PCR) ۳۰ میکرولیتر و حاوی ۱۰ میکرولیتر Taq DNA Polymerase 2X Master mix Red (شرکت Ampliqon، دانمارک)، یک میکرومولار از هر کدام از آغازگرها، حدود ۱۰ نانوگرم DNA و مقدار مناسب آب مقطر سترون بود. چرخه حرارتی با اعمال دمای ۹۵ درجه سلسیوس به مدت پنج دقیقه جهت واسرشته‌سازی اولیه، سپس هشت چرخه شامل دمای ۹۵ درجه سلسیوس به مدت ۴۵ ثانیه، ۶۱ درجه سلسیوس (نیم درجه سلسیوس کاهش در هر چرخه) به مدت ۴۵ ثانیه و ۷۲ درجه سلسیوس به مدت ۵۰ ثانیه و

تاکنون در سامانه *index fungorum* (www.indexfungorum.org) و میکوبانک (www.mycobank.org)، حدود ۲۱۲ گونه برای جنس *Pyrenophora* فهرست شده است. با این حال، بسیاری از گونه‌های قبلی مترادف در نظر گرفته شده‌اند و در حال حاضر ۲۸ گونه برای جنس *Pyrenophora* براساس صفات ریخت‌شناختی و توالی ناحیه ITS-rDNA، ژن‌های گلیسرالدهید-۳ فسفات دهیدروژناز (*GAPDH*)، سازه گسترش ترجمه یک آلفا (*TEF*) و زیر واحد II ژن RNA پلیمرز (*RPB2*) پذیرفته شده است (Marin-Felix et al. 2019, Jayawardena et al. 2023). براساس قوانین نام‌گذاری قارچ‌ها و تغییرات جدید، جنس *Pyrenophora* (مرحله جنسی) به جای جنس *Drechslera* به دلیل قدمت بیشتر پذیرفته شده است (Rossman et al. 2015, Marin-Felix et al. 2019). با توجه به تحقیقات پیشین، تاکنون هشت گونه از جنس *Pyrenophora* از ایران گزارش شده است (Ershad 2022). پژوهش حاضر، با هدف مطالعه و معرفی برخی گونه‌های جنس *Pyrenophora* از روی گونه‌های مختلف گیاهان گندمیان از استان آذربایجان غربی انجام شده است.

روش بررسی

- جمع‌آوری، جداسازی و شناسایی نمونه‌های قارچی

اندام‌های گونه‌های مختلف گیاهان گندمیان که نشانه‌های مشکوک به آلودگی را توسط گونه‌های مختلف جنس *Pyrenophora* داشتند، جمع‌آوری و در پاکت‌های کاغذی جداگانه به آزمایشگاه منتقل شدند. نمونه‌های مورد اشاره از حاشیه یا داخل مزارع، باغ‌ها، مراتع، مناطق باتلاقی و حاشیه رودخانه‌ها از استان آذربایجان غربی طی سال‌های ۱۳۹۷-۱۴۰۰ جمع‌آوری شدند. جداسازی و خالص‌سازی نمونه‌های قارچی مشابه با مطالعات قبلی انجام گردید (Ahmadpour et al. 2012a,b, 2013). جهت بررسی خصوصیات ریخت‌شناختی و میکروسکوپی جدایه‌ها، حلقه‌هایی به قطر پنج میلی‌متر از حاشیه در حال رشد پرگنه‌های مربوط به هر جدایه برداشته شد و به تشتک‌های حاوی محیط‌کشت‌های سیب‌زمینی-دکستروز-آگار (PDA) و آب شهری حاوی کاه گندم و آگار سترون (Tap Water - Agar + Wheat Straw: TWA) منتقل گردید. تشتک‌های حاوی محیط‌کشت‌های PDA تحت شرایط تاریکی و تشتک‌های حاوی محیط‌کشت TWA تحت شرایط نور نزدیک به فرابنفش (Near Ultra Violet: NUV) متناوب (۱۲ ساعت تاریکی و ۱۲ ساعت روشنایی) و

بیشینه درست‌نمایی (Maximum Likelihood) با نرم‌افزار Stamatakis (2014) RAxML Ver. 8.0.0 ترسیم شدند. برای اطمینان از ثبات شاخه‌های موجود در درخت تبارزایی، مقدار اعتبارسنجی (bootstrap) با ۱۰۰۰ تکرار با استفاده از این برنامه محاسبه شد. کلیه صفات فاصله (gap) مورد بررسی در توالی‌ها به عنوان اطلاعات از دست رفته (missing data) در نظر گرفته شدند، اما طی بررسی‌های تبارزایی، هیچ یک از صفات حذف نگردیدند. به علاوه، درخت‌های تبارزایی با استفاده از روش بیزین (Bayesian) و نرم‌افزار MrBayes Ver. 3.2.5 (Ronquist & Huelsenbeck 2003) ترسیم شدند. واکاوی‌های بیزین با استفاده از الگوریتم MCMC (Markov Chain Monte Carlo)، برای چهار زنجیره به طور هم‌زمان از یک درخت تبارزایی تصادفی اولیه و پارامتر گرمایی ۰/۱۵ با استفاده از احتمالات پیش‌فرض راه‌اندازی شد. برای هر ماتریس دو اجرای جداگانه به منظور دستیابی به نمونه‌های دقیقی از توزیع احتمال پسین (posterior probabilities) اجرا گردید و برای هر هزار نسل، یک درخت تبارزایی ایجاد شد. در نهایت، پس از تکمیل واکاوی‌های مربوطه، ۲۵٪ اولیه درخت‌های تبارزایی جمع‌آوری شده، حذف و درخت‌های تبارزایی ایجاد شده با استفاده از نرم‌افزار FigTree Ver. 1.4.4 (Rambaut 2019) مشاهده و سپس توسط نرم‌افزار Adobe Illustrator 2020 Ver. 24.2.3.521 ویرایش گردید. توالی‌های مربوط به جدایه‌ها در بانک ژن ثبت و شماره‌های دستیابی دریافت شدند (جدول ۱).

به دنبال آن ۳۰ چرخه شامل دمای ۹۵ درجه سلسیوس به مدت ۴۵ ثانیه، ۵۷ درجه سلسیوس به مدت ۴۵ ثانیه و ۷۲ درجه سلسیوس به مدت ۵۰ ثانیه انجام گرفت. در پایان، یک چرخه با دمای ۷۲ درجه سلسیوس به مدت هفت دقیقه جهت گسترش نهایی انجام شد. محصولات PCR جهت خالص‌سازی و توالی‌یابی به شرکت Beijing Genomics Institute (چین) ارسال شد.

کروماتوگرام مربوط به توالی‌ها با استفاده از نرم‌افزار Chromas Pro Ver. (http://www.technelysium.com.au) 1.7.6 مشاهده و در صورت لزوم ویرایش شدند. برای اطمینان از صحت توالی‌های به دست آمده از هر نمونه، هر یک از توالی‌ها با استفاده از ابزار جست‌وجوی BLAST (Altschul et al. 1997) با توالی‌های موجود در بانک ژن مقایسه شد. برای مقایسه روابط تبارزایی جدایه‌های توالی‌یابی شده، گونه‌های تیپ جنس *Pyrenophora* از بانک ژن (NCBI) اخذ شد (Ariyawansa et al. 2014, Marin-Felix et al. 2019). گونه‌های *Bipolaris* *B. oryzae* (MFLUCC 10.0715) و *maydis* (CBS 137271) نیز به عنوان آرایه‌های خارجی (outgroups) انتخاب شدند (Marin-Felix et al. 2019) (جدول ۱). توالی‌ها با استفاده از سرور آنلاین MAFFT (https://mafft.cbrc.jp/alignment/server) هم‌ردیف گردیدند (Kato et al. 2019) و سپس بهترین مدل جایگزینی نوکلئوتیدی ژن‌ها، با استفاده از نرم‌افزار MrModeltest Ver. 2.2 (Nylander 2004) تعیین شد. در نرم‌افزار مذکور برای هر دو ناحیه ITS-rDNA و ژن *GAPDH* مدل GTR+I+G محاسبه گردید. درخت‌های تبارزایی با استفاده از روش

جدول ۱- مشخصات جدایه‌های گونه‌های *Pyrenophora* استفاده شده برای واکاوی‌های تبارزایی (جدایه‌های توالی‌یابی شده در تحقیق حاضر پررنگ نشان داده شده‌اند).

Table 1. Characteristics of *Pyrenophora* spp. isolates used for phylogenetic analyses (Newly generated sequences are shown in bold.)

Taxon	Isolate ¹	GenBank accession No. ²		Reference
		ITS-rDNA	GAPDH	
<i>Bipolaris maydis</i>	CBS 137271 ^T	AF071325	KM034846	Berbee et al. (1999), Manamgoda et al. (2014)
<i>B. oryzae</i>	MFLUCC 10-0715 ^T	JX256416	JX276430	Manamgoda et al. (2012)
<i>Pyrenophora avenicola</i>	CBS 307.84 ^T	MK539972	MK540180	Marin-Felix et al. (2019)
<i>P. bisepitata</i>	CBS 307.69	MK539973	MK540181	Marin-Felix et al. (2019)
<i>P. bisepitata</i>	CBS 319.69	MK539974	MK540182	Marin-Felix et al. (2019)
<i>P. bromi</i>	CBS 311.68	MK539976	MK540184	Vu et al. (2019), Marin-Felix et al. (2019)
<i>P. bromi</i>	DAOMC 127414	JN943666	AY004839	Zhang & Berbee (2001)
<i>P. catenaria</i>	DAOM 63665 ^A	AY004802	AY004833	Zhang & Berbee (2001)
<i>P. catenaria</i>	CBS 191.29	AY004803	AY004834	Zhang & Berbee (2001)

Table 1 (contd)

جدول ۱ (ادامه)

<i>P. catenaria</i>	IRAN 3504C	-	OQ123398	Current study
<i>P. catenaria</i>	FCCUU 1251	-	OQ123399	Current study
<i>P. chaetomioides</i>	CBS 279.31 ^A	MK539977	MK540185	Marin-Felix <i>et al.</i> (2019)
<i>P. chaetomioides</i>	CBS 195.31	MK539978	MK540186	Vu <i>et al.</i> (2019), Marin-Felix <i>et al.</i> (2019)
<i>P. chaetomioides</i>	IRAN 3417C	OQ119791	OQ123396	Current study
<i>P. chaetomioides</i>	FCCUU 1252	OQ119792	OQ123397	Current study
<i>P. cynosuri</i>	CBS 127918 ^T	MK539980	MK540188	Marin-Felix <i>et al.</i> (2019)
<i>P. dactylidis</i>	DAOMC 92161	JN943667	AY004812	Zhang & Berbee (2001)
<i>P. dictyoides</i>	DAOMC 63666	JN943653	AY004836	Zhang & Berbee (2001)
<i>P. dictyoides</i>	CBS 258.80	MK539981	MK540189	Marin-Felix <i>et al.</i> (2019)
<i>P. erythrospila</i>	CBS 312.69	MK539983	MK540192	Marin-Felix <i>et al.</i> (2019)
<i>P. erythrospila</i>	CBS 108941	MK539984	MK540193	Marin-Felix <i>et al.</i> (2019)
<i>P. fugax</i>	CBS 509.77	MK539985	MK540194	Marin-Felix <i>et al.</i> (2019)
<i>P. grahamii</i>	CBS 128043	MK539987	MK540196	Vu <i>et al.</i> (2019), Marin-Felix <i>et al.</i> (2019)
<i>P. grahamii</i>	CBS 128044	MK539988	MK540197	Vu <i>et al.</i> (2019), Marin-Felix <i>et al.</i> (2019)
<i>P. leucospermi</i>	CBS 111083 ^T	JN712467	MK540198	Crous <i>et al.</i> (2011), Marin-Felix <i>et al.</i> (2019)
<i>P. leucospermi</i>	CBS 111505	MK539989	MK540199	Crous <i>et al.</i> (2011), Marin-Felix <i>et al.</i> (2019)
<i>P. lolii</i>	CBS 240.48	MK539991	MK540201	Marin-Felix <i>et al.</i> (2019)
<i>P. lolii</i>	CBS 318.69	MK539992	MK540202	Vu <i>et al.</i> (2019), Marin-Felix <i>et al.</i> (2019)
<i>P. nisikadoi</i>	CBS 190.29 ^{ET}	KM257054	KM257057	Manamgoda <i>et al.</i> (2014)
<i>P. nisikadoi</i>	CBS 119213	EU552124	MK540204	Marinowitz <i>et al.</i> (2008), Marin-Felix <i>et al.</i> (2019)
<i>P. nobleae</i>	CBS 259.80	MK539994	MK540206	Marin-Felix <i>et al.</i> (2019)
<i>P. nobleae</i>	CBS 966.87	MK539995	MK540207	Marin-Felix <i>et al.</i> (2019)
<i>P. novozelandica</i>	CBS 127934 ^T	MK539997	MK540209	Marin-Felix <i>et al.</i> (2019)
<i>P. phaecomeres</i>	DAOMC 222769	JN943649	-	Hambleton (unpublished data), James <i>et al.</i> (unpublished data)
<i>P. poae</i>	CBS 319.68 ^A	MK539998	MK540210	Marin-Felix <i>et al.</i> (2019)
<i>P. poae</i>	CBS 128045	MK539999	MK540211	Vu <i>et al.</i> (2019), Marin-Felix <i>et al.</i> (2019)
<i>P. pseudoerythrospila</i>	CBS 127931 ^T	MK540000	MK540212	Marin-Felix <i>et al.</i> (2019)
<i>P. semeniperda</i>	DAOMC 213153	JN943665	AY004826	Zhang & Berbee (2001)
<i>P. semeniperda</i>	CBS 127927	MK540001	MK540213	Marin-Felix <i>et al.</i> (2019)
<i>P. semeniperda</i>	IRAN 3506C	OQ119793	OQ123400	Current study
<i>P. semeniperda</i>	FCCUU 1253	OQ119794	OQ123401	Current study
<i>P. sieglingiae</i>	CBS 127930	MK540002	MK540214	Marin-Felix <i>et al.</i> (2019)
<i>P. teres</i>	CBS 228.76 ^T	MK540003	MK540215	Marin-Felix <i>et al.</i> (2019)
<i>P. teres</i>	CBS 281.31 ^A	MK540004	MK540216	Marin-Felix <i>et al.</i> (2019)
<i>P. tetrarrhenae</i>	DAOMC 171966	JN943663	-	Schoch <i>et al.</i> (2012)
<i>P. tetrarrhenae</i>	CBS 127915	MK540010	MK540222	Vu <i>et al.</i> (2019), Marin-Felix <i>et al.</i> (2019)
<i>P. trichostoma</i>	CBS 328.53	MK540012	MK540224	Marin-Felix <i>et al.</i> (2019)
<i>P. trichostoma</i>	CBS 392.54	MK540014	MK540226	Marin-Felix <i>et al.</i> (2019)
<i>P. triseptata</i>	CBS 128047	MK540015	MK540227	Vu <i>et al.</i> (2019), Marin-Felix <i>et al.</i> (2019)
<i>P. triseptata</i>	CBS 128048	MK540016	MK540228	Vu <i>et al.</i> (2019), Marin-Felix <i>et al.</i> (2019)
<i>P. variabilis</i>	CBS 127920 ^T	MK540020	MK540231	Marin-Felix <i>et al.</i> (2019)
<i>P. wirreganensis</i>	CBS 109896	MK540021	MK540232	Marin-Felix <i>et al.</i> (2019)

¹ BRIP: Queensland Plant Pathology Herbarium, Brisbane, Australia; CBS: Westerdijk Fungal Biodiversity Institute, Utrecht, The Netherlands; DAOMC: Plant Research Institute, Department of Agriculture (Mycology), Ottawa, Canada; IRAN: The Fungal Culture Collections of Iranian Research Institute of Plant Protection; FCCUU: The Fungal Culture Collections of Urmia University. ^A, ^{ET}, and ^T indicate authentic, ex-epitype, and ex-type isolates, respectively. ² ITS: Internal transcribed spacers and intervening 5.8S nr-DNA, *GAPDH*: Partial glyceraldehyde-3-phosphate dehydrogenase gene.

نتیجه و بحث

- واکاوای تبارزایی

تکثیر و توالی‌یابی ناحیه ITS-rDNA و ژن *GAPDH* برای شش جدایه منتخب *Pyrenophora* انجام شد (جدول 1). توالی‌یابی جدایه‌ها منجر به تولید یک قطعه به ترتیب به طول‌های ۵۸۰-۵۶۶ و ۵۹۰-۵۵۰ جفت باز از ناحیه ITS-rDNA و ژن *GAPDH* گردید. بعد از هم‌ردیف کردن و حذف فواصل، ۹۸۱ جایگاه نوکلئوتیدی (۴۵۵ جایگاه نوکلئوتیدی برای ناحیه ITS-rDNA و ۵۲۶ جایگاه نوکلئوتیدی برای ژن *GAPDH*) واکاوای شد و درخت تبارزایی با روش‌های بیشینه درست‌نمایی و بی‌زین ترسیم شد (شکل ۱). واکاوای‌های تبارزایی جدایه‌های مورد بررسی با استفاده از روش‌های بی‌زین و بیشینه درست‌نمایی، درخت‌هایی با ساختارهای مشابه را ایجاد کرد و درخت تبارزایی حاصل از روش بیشینه درست‌نمایی به عنوان مبنا قرار گرفت (شکل ۱). از ۹۸۱ نویسه (نوکلئوتید)، ۶۶۱ نویسه ثابت، ۴۳ نویسه متغیر و ناآگاهنده (variable characters are parsimony-uninformative) و ۲۷۷ نویسه آگاهنده پارسیمونی (parsimony-informative characters) بودند. براساس نتایج حاصل از آزمون مشابهت‌یابی و درخت تبارزایی رسم شده، شش جدایه منتخب *Pyrenophora* در سه دودمان جداگانه قرار گرفتند که دودمان‌ها متعلق به گونه‌های *P. chaetomioides*، *P. catenaria* و *P. seminiperda* به ترتیب با درجات اعتبارسنجی/احتمال پسین ۱۰۰ درصد/۱، ۱۰۰ درصد/۱ و ۸۹ درصد/۰/۹۱ از هم تفکیک شدند و سپس در کنار توالی معتبر گونه‌های مذکور قرار گرفتند (شکل ۱).

- تاکسونومی و ریخت‌شناسی

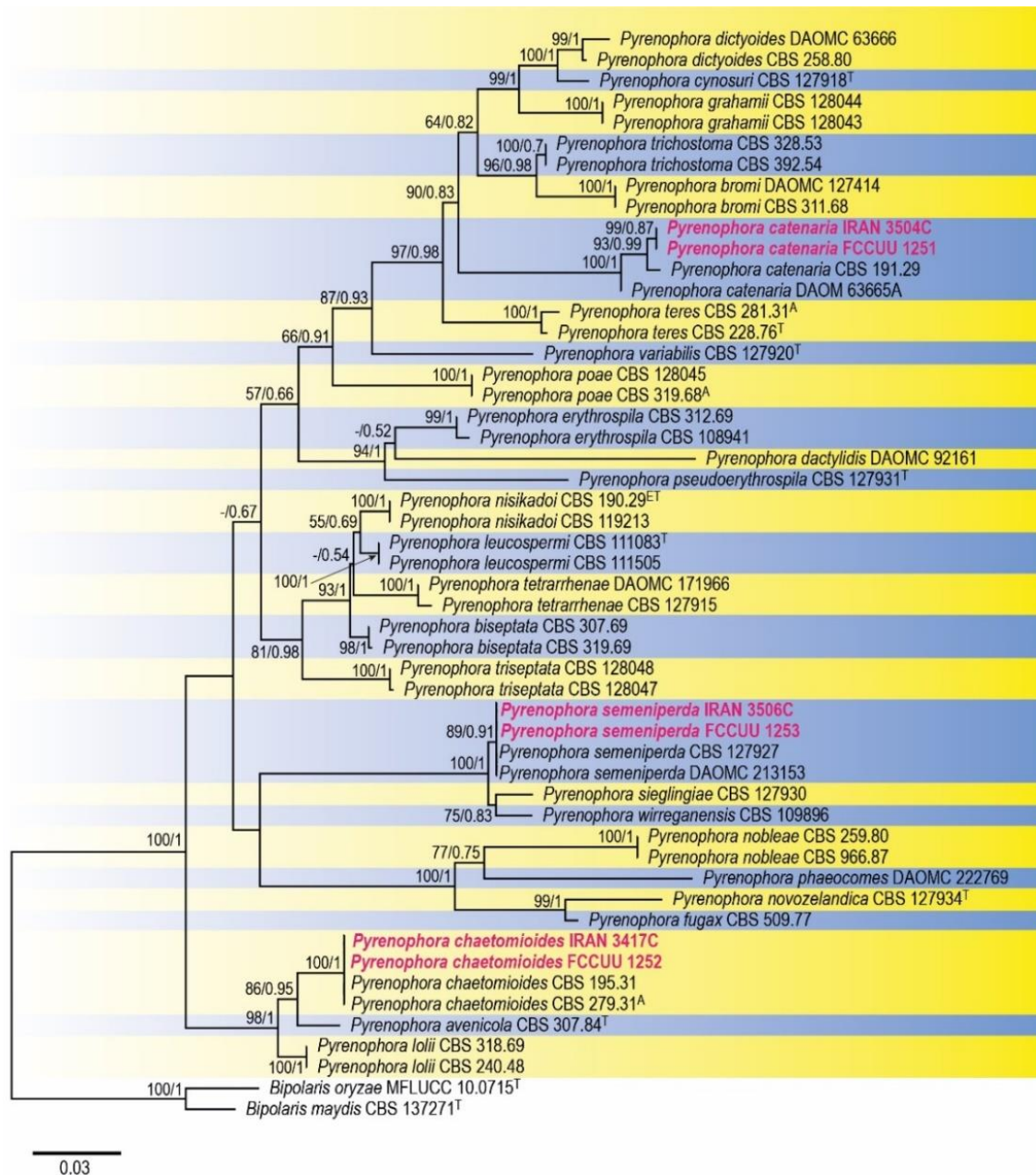
تعداد ۲۰ جدایه از جنس *Pyrenophora* از گونه‌های مختلف گیاهان گندمیان طی سال‌های ۱۴۰۰-۱۳۹۷ از استان آذربایجان غربی جداسازی گردید. براساس داده‌های ریخت‌شناختی و مولکولی (توالی‌یابی ناحیه ITS-rDNA و قسمتی از ژن *GAPDH*)، سه گونه از جنس *Pyrenophora* شامل هشت جدایه *P. chaetomioides* از روی یولاف، چهار جدایه *P. catenaria* از روی *Poa sp.* و هشت جدایه *P. seminiperda* از روی جو شناسایی شدند

(شکل ۱). گونه‌های *P. chaetomioides* و *P. catenaria* گونه‌های جدیدی برای قارچ‌گان ایران هستند. شرح کامل به همراه تصاویر برای گونه‌های جدید و اهمیت اقتصادی و دامنه میزبانی گونه‌های شناسایی شده در تحقیق حاضر ارائه شده است.

1- *Pyrenophora catenaria* (Drechsler) Rossman & K.D. Hyde, in Rossman, Crous & Hyde, IMA Fungus 6(2): 517 (2015) (Fig. 2)

نمونه‌های بررسی شده: استان آذربایجان غربی، جدایه‌های IRAN FCCUU 1260-FCCUU 1261 و FCCUU 1251, 3504C جداسازی شده از *Poa sp.*، میان‌دوآب، قطار، شهریور ۱۳۹۷.

پرگنه قارچ روی محیط کشت PDA در دمای ۲۵ درجه سلسیوس و تحت شرایط تاریکی بعد از هفت روز با حاشیه منظم و به رنگ سبز زیتونی تا زیتونی تیره و میانگین قطر رشدی پرگنه برابر با ۵۵-۵۰ میلی‌متر اندازه‌گیری شد (شکل ۲، D). استروماهای کروی (عقیم) به وفور در محیط کشت TWA تشکیل شدند (شکل ۲، E-F). ریشه‌ها منشعب، دیواره‌دار، صاف، قهوه‌ای روشن و به عرض ۲-۴ میکرومتر بودند. کنیدیوفورها منفرد، ساده، غیرمنشعب، به رنگ قهوه‌ای روشن، دارای دیواره عرضی، با خمیدگی زانویی، دارای ۳-۱ محل هاگ‌زایی انتهایی و به ابعاد ۶-۷ × ۳۳۵-۱۶۰ میکرومتر بودند (شکل ۲، G-N). کنیدیوفورهای ثانویه به وفور در محیط کشت تشکیل شدند (شکل ۲، J-K). کنیدیوم‌ها منفرد تا زنجیری (۳-۲ کنیدیوم در هر زنجیر)، چماقی وارونه (obclavate)، قهوه‌ای روشن، راست تا اندکی خمیده، ۳-۸ دیواره عرضی کاذب، سلول‌های پایه عریض‌تر با هیلوم نامشخص، به سمت سلول‌های انتهایی باریک و به ابعاد ۱۱-۱۵ × ۶۵-۱۴۲ میکرومتر بودند (شکل ۲، P-Q). جوانه‌زنی کنیدیوم‌ها از سلول‌های انتهایی مشاهده گردید (شکل ۲، O). اندام‌های جنسی و کلامیدوسپور در محیط‌های کشت مشاهده نگردید. علایم روی برگ‌های میزبان گیاهی به صورت لکه‌های قهوه‌ای روشن تا قهوه‌ای، پراکنده، مستطیلی تا دوکی شکل، گاه انتهایی برگ‌ها خشک شدند (شکل ۲، A-C).



شکل ۱- درخت تبارزایی استنباط شده براساس ترکیب توالی‌های ناحیه ITS-rDNA و ژن *GAPDH* برای جدایه‌های *Pyrenophora* به روش بیشینه درست‌نمایی (ML). اعداد بالای هر شاخه به ترتیب مقدار اعتبارسنجی و احتمال پسین (PP) از ۱۰۰۰ تکرار را در روش‌های ML/Bayesian نشان می‌دهد. طول شاخه‌ها با تعداد تغییرات باز که به صورت خط مقیاس نشان داده شده، متناسب است. گونه‌های *B. oryzae* (MFLUCC 10.0715) و *Bipolaris maydis* (CBS 137271) به عنوان گروه خارجی انتخاب شده‌اند. ^A، ^{ET} و ^T به ترتیب نشان‌دهنده جدایه‌های معتبر، اِکس-اِپی‌تیپ و اِکس-تیپ هستند [گونه‌های شناسایی شده در تحقیق حاضر پررنگ (قرمز) مشخص شده‌اند].

Fig. 1. Maximum Likelihood tree inferred from the ITS-rDNA and *GAPDH* sequences of *Pyrenophora* isolates. Numbers above the branches show the ML/Bayesian bootstrap and posterior probability (PP) values in 1000 replicates. The length of the branches is proportional to the number of substitutions, indicated by the scale bar. *Bipolaris maydis* (CBS 137271) and *B. oryzae* (MFLUCC 10.0715) were chosen as out-groups. ^A, ^{ET}, and ^T indicate authentic, ex-epitype, and ex-type isolates, respectively [species sequenced in the current study are shown in bold (red)].

دیواره‌دار، با خمیدگی زانویی، دارای ۲-۱ محل هاگ‌زایی انتهایی، سلول پایه اغلب متورم و به ابعاد ۵-۷ × ۳۰۰-۱۲۵ میکرومتر بودند (شکل ۳، E-G). کنیدیوم‌ها منفرد، استوانه‌ای تا چماقی وارونه، قهوه‌ای، راست، ۶-۳ دیواره عرضی کاذب، سلول‌های پایه با هیلوم مشخص و به ابعاد ۱۵-۲۰ × ۹۷-۶۰ میکرومتر بودند (شکل ۳، H-I). کنیدیوم‌ها از سلول‌های انتهایی جوانه زدند. اندام‌های جنسی و کلامیدوسپور در محیط‌های کشت مشاهده نگردید. علایم روی برگ‌های میزبان گیاهی به صورت لکه‌های قهوه‌ای روشن تا قهوه‌ای، اغلب در برگ‌های پایین، پراکنده، دراز و کشیده، مستطیلی با حاشیه زرد و در آلودگی‌های شدید انتها و پهنک برگ‌ها خشک شدند (شکل ۳، A-C).

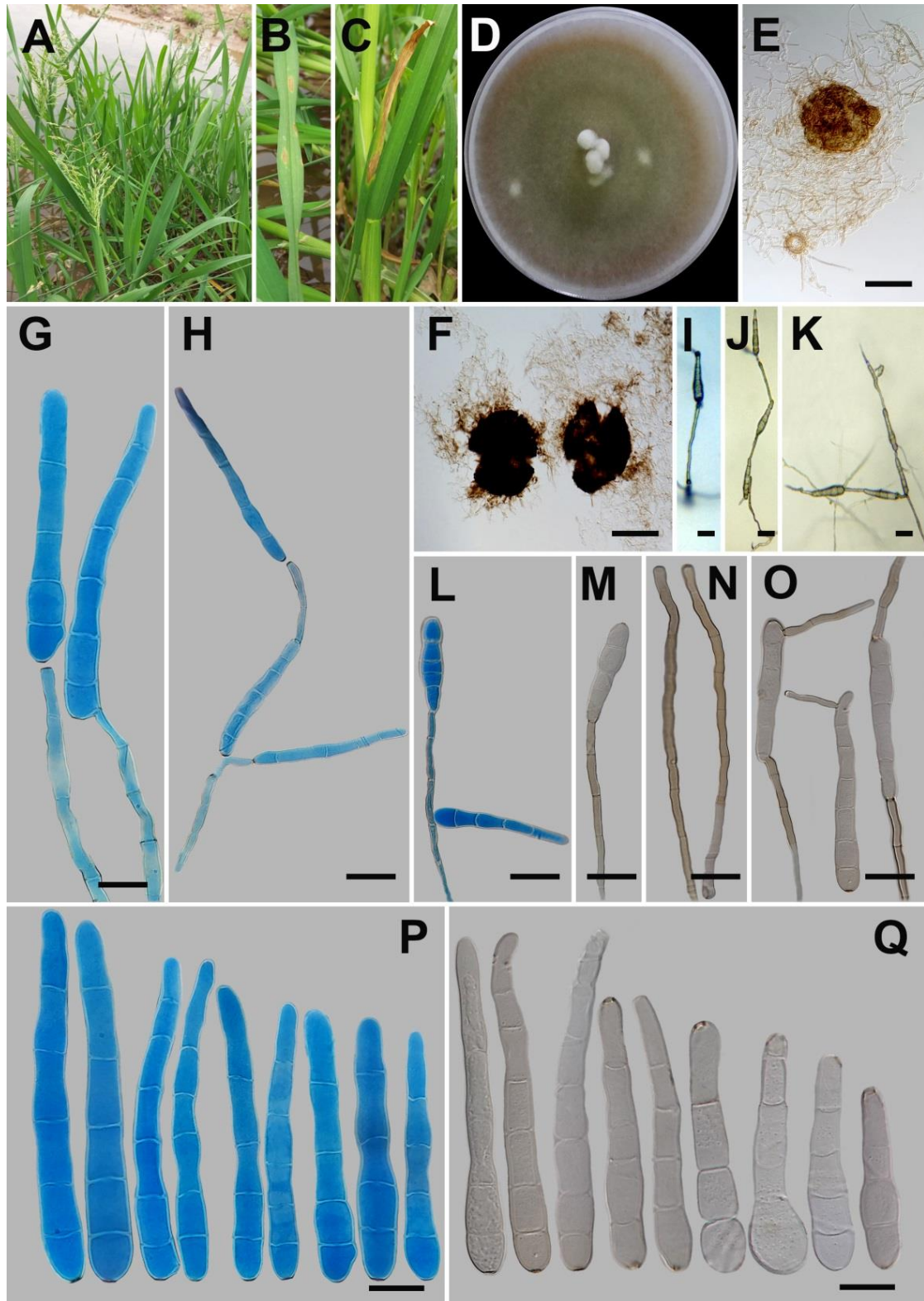
نزدیکترین گونه به گونه فوق، *P. avenicola* Y. نزدیکترین گونه به گونه فوق، *P. chaetomioides* با داشتن کنیدیوفورها و کنیدیوم‌های بزرگتر و تعداد دیواره کاذب بیشتر از گونه اخیر متمایز می‌شود (Marin-Felix et al. 2019). این گونه در درخت تبارزایی در دودمان کاملا جداگانه با درجات اعتبارسنجی/احتمال پسین ۱۰۰ درصد/۱ و نزدیک به گونه *P. avenicola* قرار گرفت (شکل ۱).

گونه *P. chaetomioides*، زهرابه (توکسین‌های پایرونوفورین (pyrenophorin)، پایرونوفورول (pyrenophorol)، دی‌هیدروپایرونوفورین (dihydropyrenophorin)، سینودونین (cynodontin) و هلمینتوسپورین (helminthosporin) تولید می‌کند (Masi et al. 2022) که باعث لکه‌های چشمی (eye spots)، مرگ قبل و بعد از ظهور گیاهچه‌ها، لکه‌برگی و سوختگی گیاهان بالغ یولاف می‌شود. این قارچ بذربرد (seed-borne) است و میزان خسارت بیماری بسته به شرایط آب و هوایی (خنک و مرطوب) ۱۰-۲ درصد در اروپا و شمال آمریکا گزارش شده است (Sivanesan 1987, Marin-Felix et al. 2019). این گونه به غیر از یولاف، از گونه‌های دیگر جنس *Paspalum*، *Lolium multiflorum*، *Triticum vulgare*، *Avena platense* و *Andropogon* sp. از کشورهای آرژانتین، نیوزلند، قبرس، بولیوی، مجارستان، رومانی، ایتالیا، استرالیا، آفریقای جنوبی، نپال، چین، آمریکا و کانادا گزارش شده است (Chen et al. 2022, Farr & Rossman 2023, Xue et al. 2023). گونه *P. chaetomioides* به عنوان پیشنهادی مهم به منظور مهار گونه‌های گیاه *Bromus* مطرح است (Lawrie et al. 1998). براساس منابع در دسترس، این نخستین گزارش از گونه فوق برای قارچ‌گان ایران است (Ershad 2009, 2022).

گونه *P. catenaria* از نظر ویژگی‌های ریخت‌شناختی شباهت بسیاری به گونه *P. graminea* S. Ito & Kurib. (مترادف گونه *P. teres*) دارد. گونه‌های فوق دارای کنیدیوفورهای ثانویه و کنیدیوم‌های زنجیری هستند، در حالی که گونه *P. catenaria* با داشتن کنیدیوم‌های چماقی وارونه و بزرگتر از گونه *P. graminea* متمایز می‌گردد (Sivanesan 1987). گونه فوق، علی‌رغم شباهت ریخت‌شناختی به گونه *P. graminea*، در مطالعه تبارزایی در دودمان کاملا جداگانه با درجات اعتبارسنجی/احتمال پسین ۱۰۰ درصد/۱ قرار گرفت (شکل ۱).

ترکیبات دارویی کریسوفانول (chrysophanol)، امودین (emodin) و کاتنارین (catenarin) از گونه *P. catenaria* جداسازی شده است (van Eijk 1974, Prateeksha et al. 2019, Masi et al. 2022). گونه مذکور روی گیاه *Agrostis palustris* سوختگی برگ و پوسیدگی تاج (crown rot) ایجاد می‌کند و در گیاه *Cinna arundinacea* باعث مرگ پیش از بلوغ بافت‌ها و سوختگی انتهایی و حاشیه برگ‌ها می‌شود. این گونه از سایر گیاهان گندمیان از جمله *Phleum pratense*، *Agrostis gigantea*، *Calamagrostis canadensis*، *Dactylis glomerata*، *Alopecurus pratensis*، *Ag. capillaris*، *Lolium* sp. و *Festuca* sp. از کشورهای دانمارک، هلند، آمریکا و کانادا گزارش شده است (Spilker & Larsen 1985, Farr & Rossman 2023). براساس منابع در دسترس، این گونه تاکنون از ایران گزارش نشده است و این نخستین گزارش از گونه فوق برای قارچ‌گان ایران است (Ershad 2009, 2022).

۲- *Pyrenophora chaetomioides* Speg., Anal. Mus. nac. Hist. nat. B. Aires 6: 285 (1898) (Fig. 3) نمونه‌های بررسی شده: استان آذربایجان غربی، جدایه‌های IRAN 3417C و FCCUU 1252-FCCUU 1258. جداسازی شده از یولاف (*Avena sativa* L.)، خوی، سلکده، خرداد ۱۴۰۰-۱۳۹۷. پرگنه قارچ روی محیط‌کشت PDA در دمای ۲۵ درجه سلسیوس و تحت شرایط تاریکی بعد از هفت روز به رنگ سبز زیتونی با ریشه‌های هوایی سفید و میانگین قطر رشدی پرگنه برابر با ۷۸-۷۰ میلی‌متر اندازه‌گیری شد (شکل ۳، D). ریشه‌ها منشعب، دیواره‌دار، صاف، قهوه‌ای روشن و به عرض ۴-۲ میکرومتر بودند. کنیدیوفورها منفرد یا در دسته‌های کوچک، ساده، غیرمنشعب، به رنگ قهوه‌ای،



شکل ۲- *Pyrenophora catenaria*: A-C. علائم بیماری روی *Poa* sp.، D. رنگ پرگنه در محیط کشت PDA، E-F. استروما (مقیاس = ۵۰ میکرومتر)، G-N. کنیدیوفورها (مقیاس = ۲۰ میکرومتر)، O. کنیدیوم‌های جوانه‌زده (مقیاس = ۲۰ میکرومتر)، P-Q. کنیدیوم‌ها (مقیاس = ۲۰ میکرومتر).

Fig. 2. *Pyrenophora catenaria*: A-C. Symptoms on *Poa* sp., D. Colony on PDA, E-F. Stroma (Bar = 50 μ m), G-N. Conidiophores (Bar = 20 μ m), O. Germinated conidia (Bar = 20 μ m), P-Q. Conidia (Bar = 20 μ m).

بسیاری از صفات ریخت‌شناختی سه گونه فوق به ویژه اندازه کنیدیوم‌ها با یکدیگر هم‌پوشانی دارند و برای تمایز آن‌ها استفاده از داده‌های مولکولی ضروری است. گونه *P. semeniperda* علی‌رغم شباهت ریخت‌شناختی بسیار زیاد به گونه‌های *P. sieglingiae* و *P. wirreganensis*، در مطالعه تبارزایی در دودمان کاملاً جداگانه با درجات اعتبارسنجی/احتمال پسیین ۸۹ درصد/۰/۹۱ قرار گرفت (شکل ۱).

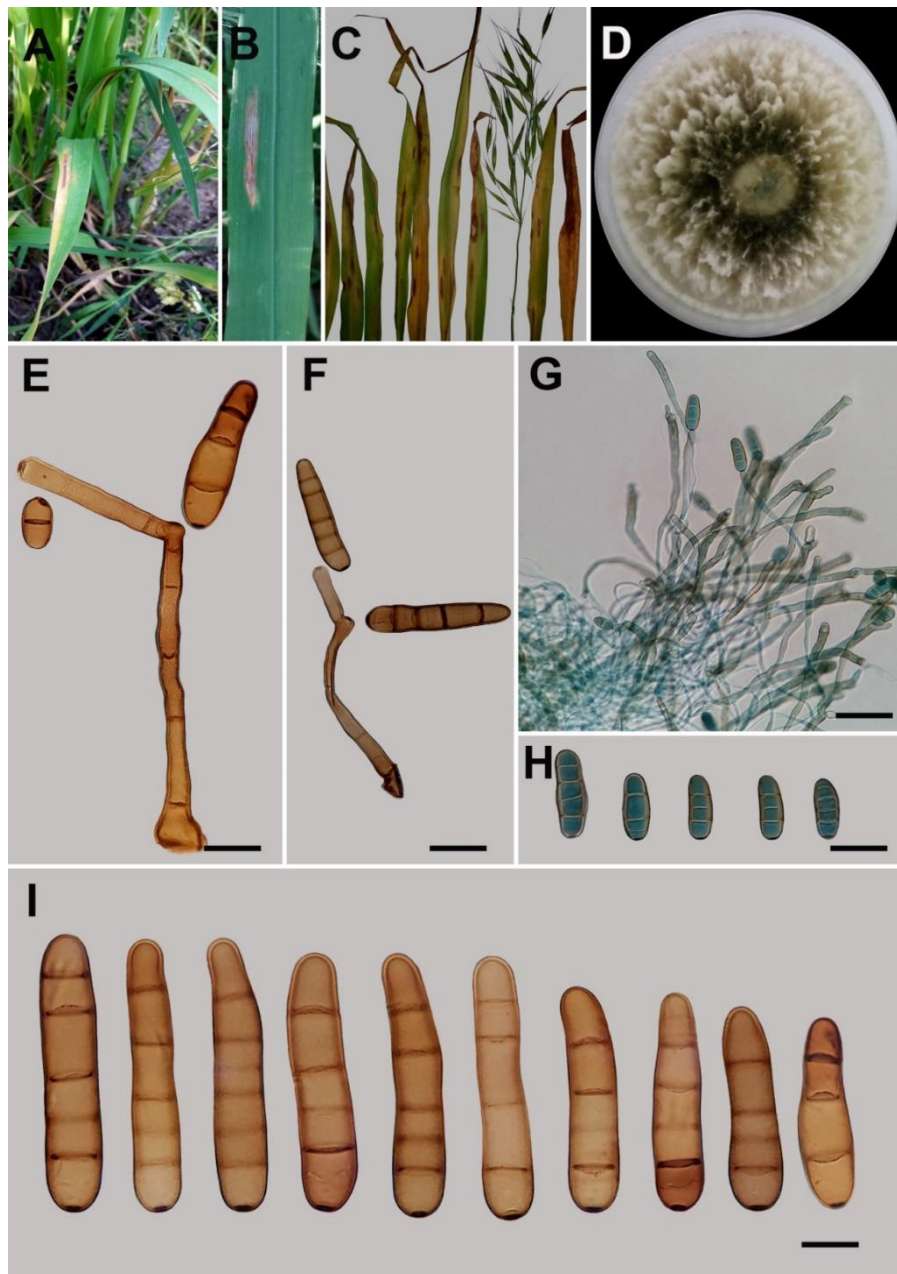
گونه *P. semeniperda* یک بیمارگر گیاهی ضعیف مرده‌پرور (necrotroph) و بذبردار است و باعث لکه‌های کوچک و مدور (ring spot) و پوسیدگی بذور در گیاهان مختلف گندمیان می‌گردد. این گونه دارای دامنه میزبانی وسیعی بوده و فاقد تخصص‌یافتگی میزبانی است که از روی بیش از ۳۶ جنس از تیره مذکور و گیاهان دولپه گزارش شده است (Medd et al. 2003, Beckstead et al. 2016, Farr & Rossman 2023). گونه *P. semeniperda* یک بیمارگر بانک بذور گیاهی شناخته می‌شود و به دلیل تولید ساختارهای استرومای سیاه‌رنگ روی بذور به نام "انگشتان سیاه مرده" (black fingers of death) نامیده شده است (Medd et al. 2003). گونه مذکور به عنوان پیشنهادی مهم برای مهار زیستی گیاه *Bromus tectorum* و سایر گونه‌های *Bromus* در آمریکا مطرح است و به دلیل تولید توکسین‌های قارچی متنوع از قبیل پائرونوفوریک اسید B (pyrenophoric acid B)، سیتوچالاسین B (cytochalasin B) و اسپیروستافیلوتریسین W (spirostaphylotrichin W) باعث مرگ بذور می‌گردد (Masi et al. 2022).

گونه *P. semeniperda* از آرایه‌های مختلف *Bromus* spp.، *Chloris*، *Avena* spp.، *Agropyron intermedium*، *Ehrharta*، *Danthonia spicata*، *Cortaderia sp. acicularis*، *Pennisetum*، *Lolium* sp.، *Hordeum vulgare longiflora*، *Sieglingia*، *Triticum aestivum clandestinum* و *Paspalum Taeniatherum caput-medusae decumbens* sp. از کشورهای آمریکا، کانادا، انگلستان، استرالیا، نیوزلند، آرژانتین، آفریقای جنوبی، مصر و ترکیه گزارش شده است (Farr & Rossman 2023). این گونه اخیراً از برگ‌های جو دارای علائم بیماری از تبریز (آذربایجان شرقی) گزارش شده است و در آزمایش‌های گلخانه‌ای باعث از بین رفتن جوانه‌زنی بذور جو (۹۵-۹۰٪) و پوسیدگی آن‌ها شده است (Dokhanchi et al. 2022).

۳- *Pyrenophora semeniperda* (Brittleb. & D.B. Adam) Shoemaker, Can. J. Bot. 44: 1451 (1966) (Fig. 4)
نمونه‌های بررسی شده: استان آذربایجان غربی، جدایه‌های IRAN 3506C و FCCUU 1253 جداسازی شده از جو، میاندوآب، خرداد ۱۳۹۷؛ جدایه‌های FCCUU 1254-FCCUU 1259 جداسازی شده از جو، خوی، خرداد و تیر ۱۳۹۸.
پرگنه قارچ روی محیط‌کشت PDA در دمای ۲۵ درجه سلسیوس و تحت شرایط تاریکی بعد از هفت روز به رنگ زیتونی تیره با ریشه‌های هوایی خاکستری و میانگین قطر رشدی پرگنه برابر با ۳۳-۳۵ میلی‌متر اندازه‌گیری شد (شکل ۴، C). استروماها استوانه‌ای، راست تا منشعب، قهوه‌ای تا قهوه‌ای تیره حاوی کنیدیوفورها، به ابعاد ۳۰۰۰-۱۷۵۰ میکرومتر به وفور در محیط‌های کشت PDA و TWA تشکیل شدند (شکل ۴، D-F). ریشه‌ها منشعب، دیواره‌دار، صاف، قهوه‌ای روشن و به عرض ۲-۴ میکرومتر بودند. کنیدیوفورها منفرد یا در دسته‌های کوچک، ساده، غیرمنشعب، به رنگ قهوه‌ای تا قهوه‌ای تیره، دیواره‌دار، با سطح زوایددار، با خمیدگی زانویی، دارای ۱-۴ محل هاگ‌زایی انتهایی یا بیشتر و به ابعاد ۱۱-۱۰ × ۳۷۵-۶۲ میکرومتر بودند (شکل ۴، G-I). کنیدیوم‌ها منفرد، سیلندری، دوکی تا چماقی وارونه، قهوه‌ای روشن تا قهوه‌ای تیره، راست یا کمی خمیده، ۳-۸ دیواره عرضی کاذب، سلول‌های پایه با هیلوم تیره و مشخص و به ابعاد ۲۰-۱۳ × ۹۷-۴۵ میکرومتر بودند (شکل ۴، J). سلول‌های انتهایی و گاه سلول‌های میانی دارای دیواره‌های تیره‌تر و ضخیم شده (cut-off) بودند. جوانه‌زنی کنیدیوم‌ها از سلول‌های انتهایی مشاهده گردید. اندام‌های جنسی و کلامیدوسپور در محیط‌های کشت مشاهده نشد. علائم روی برگ‌های میزبان گیاهی به صورت لکه‌های قهوه‌ای روشن تا قهوه‌ای تیره، اغلب در برگ‌های انتهایی، پراکنده، ریز، گرد یا به شکل‌های مختلف و در آلودگی‌های شدید انتها و پهنک برگ‌ها خشک شد (شکل ۴، A-B).

نتیجه و بحث

گونه *P. semeniperda* از نظر ویژگی‌های ریخت‌شناختی شباهت بسیاری به گونه‌های *P. sieglingiae* Y. Marín & Crous و *P. wirreganensis* (Wallwork et al.) Y. Marín & Crous دارد. همه گونه‌های فوق تولید استروماهایی با گردن دراز (آسکومای عقیم) و کنیدیوم‌های قهوه‌ای تیره می‌کنند. گونه *P. semeniperda* با داشتن کنیدیوفورهای کوچکتر از دو گونه اخیر متمایز می‌گردد (Marin-Felix et al. 2019). با این حال،



شکل ۳- *Pyrenophora chaetomioides*: A-C. علائم بیماری روی یولاف، D. رنگ پرگنه در محیط کشت PDA، E-G. کنیدیوفورها (مقیاس = ۲۰ میکرومتر)، H-I. کنیدیومها (مقیاس = ۲۰ میکرومتر).

Fig. 3. *Pyrenophora chaetomioides*: A-C. Symptoms on *Avena sativa*, D. Colony on PDA, E-G. Conidiophores (Bars = 20 μ m), H-I. Conidia (Bars = 20 μ m).

است و نوع ماده غذایی محیط‌های کشت، pH، دما و نور روی آن‌ها تأثیر می‌گذارند. در مطالعه حاضر نیز اختلاف آشکاری بین ریخت‌شناسی جدایه‌ها (رنگ پرگنه، شکل، اندازه و تعداد دیواره‌های کاذب کنیدیومها) در برخی گونه‌ها دیده شد. با توجه موارد اشاره شده، ضرورت به کارگیری روش‌های مولکولی در کنار ویژگی‌های ریخت‌شناختی و ترکیب این داده‌ها برای شناسایی دقیق گونه‌های جنس *Pyrenophora* در ایران احساس می‌گردد. علیرغم اهمیت این گروه از قارچ‌ها در ایجاد

در تحقیق حاضر، گونه *P. semeniperda* از برگ‌های جو، دارای لکه‌هایی با علائم بیماری جداسازی گردید (شکل ۴، A-B). اهمیت اقتصادی و بیماری‌زایی احتمالی روی گیاهان زراعی مهم از قبیل گندم و جو، دامنه میزبانی و پراکنش جغرافیایی قارچ *P. semeniperda* تحت شرایط آب و هوایی مختلف کشور نیازمند مطالعات بیشتر است. تغییرپذیری خصوصیات ریخت‌شناختی در گونه‌های جنس *Pyrenophora* در شرایط آزمایشگاهی گزارش گردیده

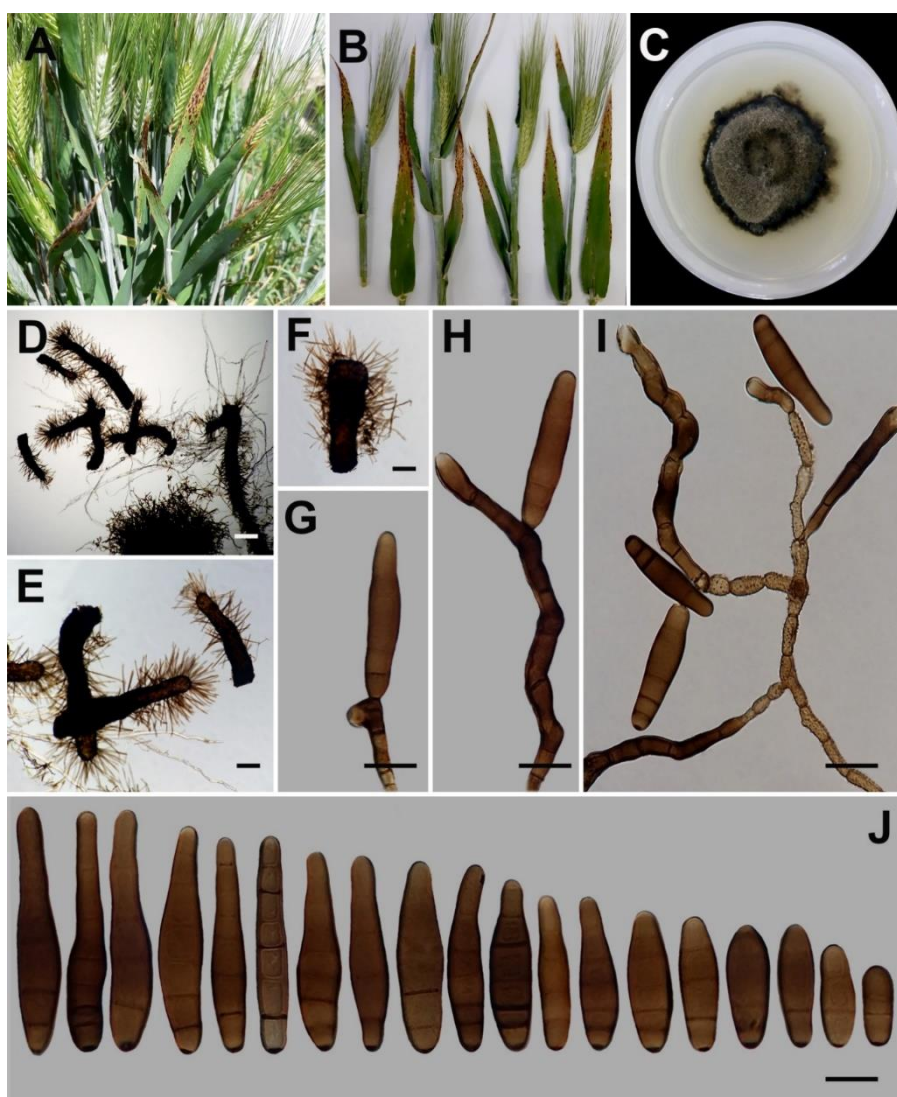
برخوردار است. لذا پیشنهاد می‌شود تنوع گونه‌ای جنس مذکور و سایر جنس‌های مشابه در دیگر مناطق مختلف ایران با شرایط اقلیمی متفاوت بررسی گردد و اهمیت بیماری زایی، دامنه میزبانی، طراحی روش‌های مولکولی برای تشخیص سریع و دقیق گونه‌ها و توان مهار زیستی گونه‌ها در مهار علف‌های هرز مدنظر قرار گیرد.

سپاسگزاری

نگارندگان از بنیاد ملی نخبگان (شماره طرح: ۱۵/۸۰۰۳۵) و دانشگاه ارومیه به خاطر فراهم کردن اعتبارات مالی این پژوهش سپاسگزاری و قدردانی می‌نمایند.

بیماری‌های مهم گیاهی و تنوع میزبانی وسیع آن‌ها، مطالعات اندکی روی آرایه‌بندی آن‌ها در ایران صورت گرفته است. نتایج این مطالعه، اطلاعات مفیدی را از وجود و فراوانی گونه‌های مختلف جنس مذکور و همچنین میزان پراکنش آن‌ها در مناطق جغرافیایی و ارتباط آن‌ها با میزبان‌های گیاهی فراهم نموده است. انجام آزمون‌های بیماری زایی نیز می‌تواند اطلاعات بسیار مفیدی را در رابطه با اهمیت اقتصادی و خسارت‌زایی گونه‌های شناسایی شده فراهم نماید.

با توجه به تنوع بی‌نظیر پوشش گیاهی استان آذربایجان غربی به ویژه گونه‌های گیاهان گندمیان، به نظر می‌رسد جنس *Pyrenophora* از تنوع گونه‌ای زیادی در این استان



شکل ۴- *Pyrenophora seminiperda*: A-B. علائم بیماری روی جو، C. رنگ پرگنه در محیط کشت PDA، D-F. استروما

(مقیاس = ۱۰۰ میکرومتر)، G-I. کنیدیوفورها (مقیاس = ۲۰ میکرومتر)، J. کنیدیومها (مقیاس = ۲۰ میکرومتر).

Fig. 4. *Pyrenophora seminiperda*: A-B. Symptoms on *Hordeum vulgare*, C. Colony on PDA, D-F. Stroma (Bar = 50 μ m), G-I. Conidiophores (Bar = 20 μ m), J. Conidia (Bar = 20 μ m).

References

- Ahmadpour, A., Donyadoost-Chelan, M., Heidarian, Z. & Javan-Nikkhah, M. 2012a. New species of *Bipolaris* and *Curvularia* on grass species in Iran. *Rostaniha* 13(1): 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.
- Ahmadpour, A., Heidarian, Z., Karami S., Pordel, A., Jabbarifar, S.M., Tsukiboshi, T., Zhang, M. & Javan-Nikkhah, M. 2013. New species of *Bipolaris* and *Curvularia* on poaceous plants in Iran (3). *Rostaniha* 14(2): 216–228.
- Alcorn, J.L. 1988. The taxonomy of *Helminthosporium* species. *Annual Review of Phytopathology* 26: 37–56.
- Altschul, S.F., Gish, W., Miller, W., Myers, E.W. & Lipman, D.J. 1990. Basic local alignment search tool. *Journal of Molecular Biology* 215: 403–410.
- Amaradasa, B.S., Madrid, H., Groenewald, J.Z., Crous, P.W. & Amundsen, K., 2014. *Porocercospora seminalis* gen. et comb. nov., the causal organism of buffalograss false smut. *Mycologia* 106: 77–85.
- Ariyawansa, H.A., Kang, J.C., Alias, S.A., Chukeatirote, E. & Hyde, K.D. 2014. *Pyrenophora*. *Mycosphere* 5: 351–362.
- Beckstead, J., Meyer, S.E., Ishizuka, T.S., McEvoy, K.M. & Coleman, C.E. 2016. Lack of host specialization on winter annual grasses in the fungal seed bank pathogen *Pyrenophora semeniperda*. *PLoS One* 11: e0151058.
- 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.
- Chen, H., Xue, L., White, J.F., Kamran, M. & Li, C. 2022. Identification and characterization of *Pyrenophora* species causing leaf spot on oat (*Avena sativa*) in western China. *Plant Pathology* 71: 566–577.
- Crous, P.W., Summerell, B.A., Swart, L., Denman, S., Taylor, J.E., Bezuidenhout, C.M., Palm, M.E., Marinowitz, S. & Groenewald, J.Z. 2011. Fungal pathogens of Proteaceae. *Persoonia* 27: 20–45.
- Dokhanchi, H., Arzanlou, M. & Abed-Ashtiani, F. 2022. First occurrence of *Pyrenophora semeniperda* a new pathogen on barley in Iran. *Cereal Research Communications* 50: 59–66.
- Ellis, M.B. 1971. Dematiaceous hyphomycetes. Commonwealth Mycological Institute, Kew, England. 608 pp.
- Ellis, M.B. 1976. More Dematiaceous Hyphomycetes. Commonwealth Mycological Institute, Kew, England. 507 pp.
- Ershad, D. 2009. Fungi of Iran. 3rd. edn. Agricultural Research, Education & Extension Organization, Publication No. 10. Tehran, Iran. 531 pp.
- Ershad, D. 2022. Fungi and Fungal Analogues of Iran. Ministry of Agriculture, Agricultural Research, Education and Extension Organization, Iranian Research Institute of Plant Protection, Iran. 695 pp.
- Farr, D.F. & Rossman, A.Y. 2023. Fungal Databases, Systematic Mycology and Microbiology Laboratory, ARS, USDA. Retrieved Mar. 13. <http://nt.arsgrin.gov/fungal-databases>.
- Heidarian, Z., Arzanlou, M. & Ahmadpour, A. 2020. New records and hosts for *Exserohilum* and *Pyrenophora* species in Iran. *Rostaniha* 21(1): 96–108.
- Jayawardena, R.S., Hyde, K.D., Wang, S., Sun, Y.R., Suwannarach, N., Sysouphanthong, P., Abdel-Wahab, M.A., Abdel-Aziz, F.A., Abeywickrama, P.D., Abreu, V.P. & Armand, A. 2023. Fungal diversity notes 1512–1610: Taxonomic and phylogenetic contributions on genera and species of fungal taxa. *Fungal Diversity* 117: 1–272.
- Katoh, K., Rozewicki, J. & Yamada, K.D. 2019. MAFFT online service: multiple sequence alignment,

- interactive sequence choice and visualization. *Briefings in Bioinformatics* 20: 1160–1166.
- Lawrie, J., Greaves, M.P. & Down, V.M. 1998. *Drechslera* sp. [*Pyrenophora chaetomioides* (Speg.)], a potential biocontrol agent for *Bromus sterilis* and other *Bromus* spp. *Biocontrol Science and Technology* 8: 479–484.
- Manamgoda, D.S., Cai, L., McKenzie, E.H.C., Crous, P.W., Madrid, H., Chukeatirote, E., Shivas, R.G., Tan, Y.P. & Hyde, K.D. 2012. A phylogenetic and taxonomic re-evaluation of the *Bipolaris-Cochliobolus-Curvularia* complex. *Fungal Diversity* 12: 131–144.
- Manamgoda, D.S., Rossman, A.Y., Castlebury, L.A., Crous, P.W., Madrid, H., Chukeatirote, E. & Hyde, K.D. 2014. The genus *Bipolaris*. *Studies in Mycology* 79: 221–288.
- Marincowitz, S., Crous, P.W., Groenewald, J.Z. & Wingfield, M.J. 2008. Microfungi occurring on Proteaceae in the fynbos. *CBS Biodiversity Series* 7: 1–166.
- Marin-Felix, Y., Hernández-Restrepo, M., Iturrieta-González, I. Garcia, D., Gene, J., Groenewald, J.Z., Cai, L., Chen, Q., Quaedvlieg, W., Schumacher, R.K., Taylor, P.W.J., Ambers, C., Bonthond, G., Edwards, J., Krueger-Hadfield, S.A., Luangsa-ard, J.J., Morton, L., Moslemi, A., Sandoval-Denis, M., Tan, Y.P., Thangavel, R., Vaghefi, N., Cheewangkoon, R. & Crous, P.W. 2019. Genera of phytopathogenic fungi: GOPHY 3. *Studies in Mycology* 94: 1–124.
- Masi, M., Zorrilla, J.G. & Meyer, S. 2022. Bioactive metabolite production in the genus *Pyrenophora* (Pleosporaceae, Pleosporales). *Toxins* 14: 588.
- Medd, R.W., Murray, G.M. & Pickering, D.I. 2003. Review of the epidemiology and economic importance of *Pyrenophora semeniperda*. *Australasian Plant Pathology* 32: 539–550.
- Nylander, J.A.A. 2004. MrModeltest v. 2. Program Distributed by the Author. Evolutionary Biology Centre, Uppsala University, Sweden.
- Prateeksha, Yusuf, M.A., Singh, B.N., Sudheer, S., Kharwar, R.N., Siddiqui, S., Abdel-Azeem, A.M., Fernandes Fraceto, L., Dashora, K. & Gupta, V.K. 2019. Chrysophanol: a natural anthraquinone with multifaceted biotherapeutic potential. *Biomolecules* 9: Doi: 10.3390/biom9020068.
- Rambaut, A. 2019. FigTree, a graphical viewer of phylogenetic trees. Available from: <http://tree.bio.ed.ac.uk/software/figtree>.
- Ronquist, F. & Huelsenbeck, J.P. 2003. MrBayes 3: Bayesian phylogenetic inference under mixed models. *Bioinformatics* 19: 1572–1574.
- Rossman, A.Y., Crous, P.W., Hyde, K.D., Hawksworth, D.L., Aptroot, A., Bezerra, J.L., Bhat, J.D., Boehm, E., Braun, U., Boonmee, S., Camporesi, E., Chomnunti, P., Dai, D., D'souza, M.J., Dissanayake, A., Jones, E.B.G., Groenewald, J.Z., Hernández-Restrepo, M., Hongsanan, S., Jaklitsch, W.M., Jayawardena, R., Jing, L.W., Kirk, P.M., Lawrey, J.D., Mapook, A., McKenzie, E.H.C., Monkai, J., Phillips, A.J.L., Phookamsak, R., Raja, H.A., Seifert, K.A., Senanayake, I., Slippers, B., Suetrong, S., Tanaka, K., Taylor, J.E., Thambugala, K.M., Tian, Q., Tibpromma, S., Wanasinghe, D.N., Wijayawardene, N.N., Wikee, S., Woudenberg, J.H.C., Wu, H., Yan, J., Yang, T. & Zhang, Y. 2015. Recommended names for pleomorphic genera in *Dothideomycetes*. *IMA Fungus* 6: 507–523.
- Schoch, C.L., Seifert, K.A., Huhndorf, S., Robert, V., Spouge, J.L., Levesque, C.A., Chen, W. 2012. Fungal Barcoding Consortium Author List. Bolchacova, E. & Voigt, K. (eds). Nuclear ribosomal internal transcribed spacer (ITS) region as a universal DNA barcode marker for Fungi.

- Proceedings of the national academy of Sciences 109: 6241–6246.
- Sivanesan, A. 1987. Graminicolous species of *Bipolaris*, *Curvularia*, *Drechslera*, *Exserohilum* and their teleomorphs. CABI International Mycological Institute. Mycological Paper 158. 261 pp.
- Spilker, D.A. & Larsen, P.O. 1985. Characterization and host range of *Drechslera catenaria*, the pathogen of leaf blight and crown rot of creeping bentgrass. Plant disease 69: 331–333.
- Stamatakis, A. 2014. RAxML version 8: a tool for phylogenetic analysis and post-analysis of large phylogenies. Bioinformatics 30: 1312–1313.
- Tan, Y.P., Madrid, H., Crous, P.W. & Shivas, R.G. 2014. *Johnalcornia* gen. et. comb. nov., and nine new combinations in *Curvularia* based on molecular phylogenetic analysis. Australasian Plant Pathology 43: 589–603.
- van Eijk, G.W. 1974. Chrysophanol and emodin from *Drechslera catenaria*. Phytochemistry 13: 650.
- Vasighzadeh, A., Sharifnabi, B. & Javan-Nikkhah, M. 2019. *Pyrenophora lolii*, new species for Iranian mycobiota. Mycologia Iranica 6: 113–118.
- Vu, D., Groenewald, M., De Vries, M., Gehrmann, T., Stielow, B., Eberhardt, U., Al-Hatmi, A., Groenewald, J.Z., Cardinali, G., Houbraken, J. & Boekhout, T. 2019. Large-scale generation and analysis of filamentous fungal DNA barcodes boosts coverage for kingdom fungi and reveals thresholds for fungal species and higher taxon delimitation. Studies in Mycology 92: 135–154.
- White, T.J., Bruns, T., Lee, S.B. & Taylor, J. 1990. Amplification and direct sequencing of fungal ribosomal RNA genes for phylogenetics. Pp. 315–322. In: Gelfand, M., Sninsky, D. & White, T. (eds). PCR Protocols: A Guide to Methods and Applications. Academic, San Diego, California.
- Xue, L., Xu, Z., Liu, J., Chen, H., White, J.F., Kamran, M. & Li, C. 2023. Differences in the characteristics and pathogenicity of *Pyrenophora* species associated with seeds of Italian Ryegrass (*Lolium multiflorum* Lam.). Plant Disease 107: 758–770.
- Zhang, G. & Berbee, M.L. 2001. *Pyrenophora* phylogenetics inferred from ITS and glyceraldehyde-3-phosphate dehydrogenase gene sequences. Mycologia 93: 1048–1063.