

گونه‌های جدیدی از قارچ‌های سینماتادر برای بیوتای قارچی ایران

یوبرت قوستا^{۱*}، رازمیگ عزیزی^۱ و علیرضا پورصفر^۲

^۱ ایران، ارومیه، دانشگاه ارومیه، دانشکده کشاورزی، گروه گیاه‌پزشکی

^۲ ایران، کرج، دانشگاه تهران، پردیس کشاورزی و منابع طبیعی، گروه گیاه‌پزشکی

تاریخ پذیرش: ۹۸/۶/۵ تاریخ دریافت: ۹۷/۱۰/۲۵

چکیده

قارچ‌ها به عنوان تجزیه‌کنندگان اصلی اجزاء پیچیده‌ی بقایای گیاهی و حیوانی، در بازچرخه‌ی مواد غذایی در تمام زیست‌بوم‌ها نقش اساسی دارند. آن‌ها همچنین به دلیل ایجاد بیماری‌های خسارت‌زا در گیاهان و حیوانات، تنشکیل ارتباطات همزیستی با طیف وسیعی از موجودات، استفاده‌ی گسترده در صنایع غذایی، دارویی و زیست‌فن‌آوری و نیز تهیی سوخت‌های زیستی و زیست‌پالایی نواحی آلوده دارای اهمیت بسیار زیادی هستند. استفاده از توانایی‌های قارچ‌ها برای بهبود زندگی انسان‌ها نیازمند جداسازی و شناسایی درست گونه‌های قارچی است. در این مطالعه، تنوع گونه‌ای قارچ‌ها از بسترها متنوع شامل غده‌های پوسیده‌ی سیب‌زمینی، شاخه‌های خشکیده درختان سیب، بقایای برگ‌های درختان چنار، زبان‌گنجشک و سیب و نیز بقایای ساقه‌های نی که از مناطق مختلفی در شهرستان ارومیه جمع‌آوری شده بودند، مورد بررسی قرار گرفت. تعداد ۲۵ جدایه از قارچ‌های تولید کننده اندام بارده‌ی غیرجنسی از نوع سینماتا جداسازی و خالص‌سازی شدند. مطالعات شناسایی این جدایه‌ها بر مبنای ویژگی‌های ریخت‌شناختی اندام‌های بارده‌ی غیرجنسی و نیز توالی‌های بدست‌آمده از نواحی ژئومی ITS-ITS-rDNA و β -tubulin برای جدایه‌های جنس *Cephalotrichum* و *Volutella* برای جدایه‌های جنس *Volutella* انجام گرفت. سه گونه شامل *Cephalotrichum asperulum* (J.E. Wright & S. Seifert) و *Cephalotrichum citrinella* (Cooke & Massee) و *Cephalotrichum nanum* (Ehrenb.) S. Hughes شناسایی شدند. جدایه‌های گونه *Volutella citrinella* از غده‌های سیب‌زمینی دارای نشانه‌های پوسیدگی و جدایه‌های گونه‌های جنس *Cephalotrichum* از شاخه‌های خشکیده و یا بقایای گیاهان مورد مطالعه جداسازی شدند. بر اساس اطلاعات نگارندگان، مشخص شد که این سه گونه برای بیوتای قارچی ایران جدید بوده و توصیف کامل آن‌ها ارائه می‌شود.

واژه‌های کلیدی: تاکسونومی، ریخت‌شناسی، تجزیه و تحلیل تبارشناختی، سینماتا، قارچ

*نویسنده مسئول، تلفن: ۰۴۴۳۱۹۴۳۲۶۲، پست الکترونیکی: y.ghoosta@urmia.ac.ir

مقدمه

موجودات منجر به تجزیه مواد سرسخت طبیعی و ساخته‌ی دست بشر از جمله مواد پلیمری، سلولزی، کیتین و لیکنین شده و از این‌باشت آن‌ها در طبیعت بازداری می‌کند (۱۲ و ۴۶). برآورده از تعداد گونه‌های پذیرفته شده در سلسله قارچ‌ها نشان می‌دهد که تا کنون، بین ۱۱۵۰۰۰ تا ۱۴۰۰۰۰ گونه تشخیص داده شده است (۳۵)، هر چند رقم ۱۲۰۰۰۰ گونه، قابل استناد ذکر شده است (۲۴). این در حالی است

قارچ‌ها یکی از بزرگ‌ترین و متنوع‌ترین گروه‌های موجودات یوکاریوت هستند که نقش‌های کلیدی را در چرخه کربن و مواد غذایی در زیست‌بوم‌های مختلف بازی می‌کنند. آن‌ها در تمامی محیط‌ها، خشکی یا آبی، وجود دارند و در زندگی پوده‌زیستی، روی انواعی از مواد با منشأ گیاهی، حیوانی و انسانی که در هر زیست‌بوم یافت شوند، رشد و تکثیر می‌کنند. فعالیت زیست‌تجزیه‌ای این

تبارشناختی دیگری از ریزقارچ‌های پوده‌زیست از چوب‌های در حال تجزیه شدن، بقایای گیاهان علفی و خاک در نواحی مختلف جنوب اروپا، بیش از ۵۰ گونه‌ی قارچی شناسایی شد (۲۵) که در بین آن‌ها، ۹ جنس و ۱۴ گونه برای اولین بار برای بیوتای قارچ‌های گیاهان تیره توصیف شدند. در مطالعه‌ای روی قارچ‌های گیاهان تیره گلسرخیان (Rosaceae) و برخی میزان‌های دیگر، ۱۳۱ آرایه شامل ۱۷ جنس و ۹۳ گونه جدید برای بیوتای قارچی دنیا گزارش گردید (۶۰). با توجه به مطالعات گسترده‌ای که در سایر مناطق دنیا و با هدف بررسی تنوع گونه‌ای قارچ‌ها از بسترهای مختلف و کمتر مطالعه شده انجام می‌گیرد و مطالعات محدودی در این زمینه در ایران و به ویژه در استان آذربایجان غربی انجام گرفته است و از طرف دیگر، استفاده از توانایی‌های بالقوه‌ی قارچ‌ها نیازمند جداسازی و شناسایی صحیح آن‌ها است، لذا ضرورت این گونه مطالعات بیش از پیش احساس می‌شود. هدف از این مطالعه جمع‌آوری و شناسایی گونه‌های قارچ‌ها مبتنی بر روش‌های کشت از بسترهای مختلف و کمتر بررسی شده در نواحی مختلف شهرستان ارومیه و با تأکید بر ترکیبی از ویژگی‌های ریخت‌شناختی و داده‌های بدست آمده از توالی‌های DNA ژنومی است. بر اساس نتایج بدست آمده، سه گونه از قارچ‌های سینماتادر که برای بیوتای قارچی ایران جدید می‌باشند، معرفی و توصیف می‌شوند.

مواد و روش‌ها

جداسازی و خالص‌سازی قارچ‌ها: نمونه‌های متنوعی از بافت‌های مختلف گیاهی شامل غده‌های سیب‌زمینی دارای نشانه‌های پوسیدگی، شاخه‌های خشکیده و نیز شاخه‌ها و برگ‌های زمستان‌گذران افتاده در پای درختان از مناطق مختلف شهرستان ارومیه جمع‌آوری شدند. هر کدام از نمونه‌ها در پاکت کاغذی تازه و جداگانه‌ای قرار داده شد و بعد از ثبت مشخصات هر نمونه، به آزمایشگاه انتقال یافتند. نمونه‌ها یا بالافصله برای جداسازی قارچ‌ها مورد عمل قرار

که برآورد غنای گونه‌های قارچی در سطح کره زمین از ۱/۵ تا حدود ۱۰ میلیون گونه (۸، ۹، ۲۳ و ۴۴) و در آخرین برآورد به تعداد ۲/۲-۳/۸ میلیون گونه ذکر گردیده است (۲۶). اختلاف زیاد در تعداد گونه‌های شناسایی شده و گونه‌هایی که نیازمند شناسایی هستند، مستلزم تلاش‌های مستمر محققین قارچ‌شناس، بررسی بسترهای کمتر کاوش شده، اصلاح و بهبود روش‌های جداسازی و شناسایی گونه‌های قارچی و استفاده از فن‌آوری‌های نوین مولکولی است (۲۵، ۲۹ و ۴۱). در ایران هم علیرغم مطالعات نسبتاً گسترده قارچ‌شناسی در طی چند دهه اخیر، زیستگاه‌های زیادی نیازمند مطالعه دقیق‌تر و گسترده‌تر هستند تا تنوع گونه‌ای واقعی قارچ‌ها در آن‌ها مشخص شود. امروزه مطالعات شناسایی و آرایه‌بندی قارچ‌ها با ترکیب داده‌های ریخت‌شناختی و مولکولی استوار و مورد تاکید قرار گرفته است تا تأمین‌کننده آرایه‌بندی استوار و بهروز قارچی، تسهیل کننده تبادلات آرایه‌بندی و کمک کننده در شناسایی درست آرایه‌های قارچی باشد (۱۸، ۳۰، ۳۶، ۳۸، ۵۴ و ۵۹). بسیاری از مطالعات اخیر آرایه‌بندی نشان داده‌اند که بررسی مجموعه‌ها و بسترهای بیشتر و متنوع‌تر، منجر به کشف و معرفی گونه‌های بیشتری از قارچ‌ها شده است. در مطالعه‌ای، اجتماعات قارچی در بقایای برگ‌های سوزنی درختان نراد و برگ‌های درختان غان مورد بررسی قرار گرفت (۴۵). در مجموع، ۳۵ و ۴۲ گونه قارچی به ترتیب از بقایای برگی این دو گیاه جداسازی شدند. در طی بررسی تنوع زیستی قارچ‌ها از خاک‌های زمین‌های زراعی در کره جنوبی، گونه *Volutella ciliata* (Alb. & Schwein.) Fr. جداسازی و معرفی گردید (۶). در بررسی بیوتای قارچی قابل کشت از غارها در کشور چین، و با استفاده از کشت رقیق‌شده خاک، ۲۴۶ گونه‌ی قارچی متعلق به ۱۱۶ جنس شناسایی شد (۶۴). در این مطالعه، بیشترین تعداد گونه‌های شناسایی شده (۸۵/۸ درصد) به شاخه آسکومیکوتا تعلق داشتند و ۲۰ گونه جدید برای بیوتای قارچی دنیا معرفی و توصیف گردید. در مطالعه

میکرومتری) اندازه‌گیری شد و میانگین اندازه‌ها محاسبه گردید. جدایه‌های نماینده هر یک از گونه‌های شناسایی شده در کلکسیون قارچ‌های زنده ایران واقع در مؤسسه تحقیقات گیاه‌پزشکی کشور (تهران) (IRAN)، کلکسیون میکروبی پژوهشگاه بیوتکنولوژی کشاورزی (ABRIICC) و کلکسیون قارچ‌شناسی گروه گیاه‌پزشکی دانشگاه ارومیه (UUFC) نگهداری می‌شوند.

شناسایی مولکولی جدایه‌ها: برای تهیه توده‌های میسلیومی PDA، جدایه‌ها روی محیط کشت در تشک‌های پتری پلاستیکی هشت سانتی‌متری کشت و در دمای ۲۵ درجه سلسیوس برای مدت پنج روز نگهداری گردیدند. عمل استخراج DNA ژنومی بر اساس روش internal transcribed spacer of nuclear ribosomal DNA (ITS-rDNA)، با استفاده از آغازگرهای ITS4 و ITS5 (۶۱) با استفاده از آغازگرهای fRPB2-5F و fRPB2-7cR (۳۵) و بخشی از ژن β-tubulin تکثیر گردید. خالص‌سازی و توالی‌بایی Macrogen نواحی تکثیر شده توسط شرکت ماکروژن (Macrogen Inc., South Korea) انجام گرفت. توالی‌های بدست آمده با استفاده از نرم‌افزار BioEdit v. 7.2.5 (۲۲) ویرایش شدند. توالی‌ها به کمک موتور جستجوی Basic BLAST با Local Alignment Search Tool با توالی‌های موجود در بانک داده‌های ژنی NCBI مورد مقایسه قرار گرفتند و توالی‌های با شباهت بالا، از بانک داده‌های ژنی NCBI اخذ شدند (جدول ۱). هم‌دیف‌سازی چندگانه توالی‌های نوکلئوتیدی در نرم‌افزار تحت وب MAFFT v. 7.304 (۳۳) انجام گرفت. ترسیم تبارنمای ابتکاری (heuristic search) بهروش جستجوی تبارنمای ابتکاری (TBR) با random addition sequence شاخص PAUP v. 4.0b4a (۵۶) به وسیله نرم‌افزار

گرفتند و یا حداکثر تا ۹۶ ساعت در یخچال با دمای ۴ درجه سلسیوس نگهداری و سپس اقدام به جداسازی قارچ‌ها گردید. جداسازی قارچ‌ها با استفاده از روش محفظه مرتبط (۱۰ و ۱۳)، هم با انجام ضدغونی سطحی نمونه‌ها (به مدت ۵ دقیقه در محلول هیبوکلریت سدیم ۱ درصد و سپس سه بار شستشو با آب مقطر سترون)، با هدف حذف قارچ‌های سریع‌الرشد، و هم بدون ضدغونی سطحی نمونه‌ها انجام گرفت. نمونه‌ها در دمای اطاق و شرایط نور طبیعی نگهداری و در فواصل ۴۸ ساعته به کمک بینوکولار (المپیوس، مدل SZH) مورد بررسی قرار گرفتند. قارچ‌های رشد کرده از سطح نمونه‌های گیاهی با استفاده از سوزن ظریف و سترون برداشته شدند و به تشک‌های پتری حاوی محیط کشت سیب‌زمینی-هویج-آگار (PCA) (شامل ۲۰ گرم سیب‌زمینی، ۲۰ گرم هویج، ۲۰ گرم آگار و یک لیتر آب مقطر) انتقال یافتند. خالص‌سازی جدایه‌ها با استفاده از کشت نوک ریسه‌ها و یا تک‌های کردن انجام گرفت و نمونه‌ها داخل لوله‌های آزمایش حاوی محیط کشت PCA به همراه تکه‌ای از کاغذ صافی کشت شدند و بعد از رشد کامل و برای ادامه مطالعات، در یخچال با دمای ۴ درجه سلسیوس نگهداری شدند.

شناسایی ریخت‌شناختی جدایه‌ها: جدایه‌های قارچی ابتدا روی محیط کشت سیب‌زمینی-دکستروز-آگار (PDA) Merck, Germany, 39 g⁻¹ کشت شدند و در انکوپاتور با دمای ۲۵±۱ درجه سلسیوس و شرایط تاریکی نگهداری شدند. بر اساس ویژگی‌های ریخت‌شناختی اندام‌ها و مراحل غیرجنسی، ابتدا جدایه‌ها در سطح جنس شناسایی شدند و سپس بر اساس منابع معتبر توصیف گونه‌های هر جنس (۲۱، ۵۵ و ۶۲)، از شرایط ذکر شده برای شناسایی گونه‌ها تعیین شد. لام‌های میکروسکوپی از نمونه‌ها در محلول‌های لاكتوفل و اسید لاكتیک تهیه شدند. برای تعیین ابعاد اندام‌های مختلف، تعداد ۳۰ مورد توسط میکروسکوپ المپیوس (مدل AX70 و مجهز به لام

و روش بایزین و با استفاده از تجزیه و تحلیل MCMC نسل در نرم‌افزار MrBayes v. 3.2.1 انجام گرفت (۲۷ و ۴۸). مکان میزبان/بسترین و با تعداد یک میلیون (Markov Chain Monte Carlo) استفاده شده برای تجزیه و تحلیل‌های تبارشناختی بهمراه توالی‌های نوکلئوتیدی دریافت شده از بانک داده‌های ژن NCBI.

جدول ۱- گونه‌های جنس *Cephalotrichum* استفاده شده برای تجزیه و تحلیل‌های تبارشناختی بهمراه توالی‌های نوکلئوتیدی دریافت شده از بانک داده‌های ژن NCBI. ترداد فرازهای نوکلئوتیدی به دست آمده در این مطالعه پررنگ‌تر نشان داده شده‌اند.

نام گونه	جداهه/استرین	میزبان/بسترین	مکان	شماره دستیابی بانک داده‌های	
				ITS	β -tubulin
<i>Cephalotrichum asperulum</i>	CBS 127.22	بذر	هلند	LN850959	LN851113
	CBS 215.49	نامشخص	اندونزی	KY249250	KY249291
	CBS 582.71 ^{IT}	خاک	آرژانتین	LN850960	LN851114
<i>ABRIICC 10147</i>	Bacillus brevisporus	آفریقای جنوبی	ایران	MK357059	MK357061
<i>C. brevistipitatum</i>	CBS 157.57 ^T	سیب زمینی	هلند	LN850984	LN851138
<i>C. colmunare</i>	CBS 159.66	پهن خرگوش صحرایی	آفریقای جنوبی	LN850963	LN851117
<i>C. cylindricum</i>	UAMH 1348 ^{ET}	بذر سورگوم	آمریکا	LN850965	LN851119
<i>C. dendrocephalum</i>	CBS 528.85 ^{IT}	خاک زراعی	عراق	LN850966	LN851120
<i>C. domesticum</i>	CBS 142035 ^T	هوای داخل ساختمان	هلند	KY249280	KY249318
<i>C. gorgonifer</i>	CBS 368.53	چوب تیمار شده	آفریقای جنوبی	LN850976	LN851130
<i>C. hinnuleum</i>	CBS 289.66 ^T	پهن آهو	استرالیا	LN850985	LN851139
<i>C. lignatile</i>	CBS 209.63 ^T	چوب داخل غار	بلژیک	KY249269	KY249309
<i>C. microsporum</i>	UAMH 9365 ^T	هوای داخل ساختمان	کانادا	LN850968	LN851122
<i>C. nanum</i>	UAMH 9126	پهن گاویش	کانادا	LN850970	LN851124
<i>ABRIICC 10146</i>	CBS 191.61 ^{ET}	پهن آمو	انگلستان	LN850969	LN851123
	Bacillus brevisporus	پوست درخت سیب	ایران	MK357060	MK357062
<i>C. purpureofuscum</i>	CBS 174.68	دانه ذرت	نامشخص	KY249281	KY249319
<i>C. stemonitis</i>	CBS 103.19 ^{NT}	بذر	هلند	LN850951	LN850954
<i>C. telluricum</i>	CBS 180.35	نامشخص	نامشخص	LN850972	LN851126
	CBS 336.32 ^T	خاک	قبرس	KY249287	KY249325
<i>C. tenuissimum</i>	CBS 127792 ^T	خاک	آمریکا	KY249286	KY249324
<i>C. transvaalense</i>	CBS 448.51 ^T	<i>Eucalyptus saligna</i>	آفریقای جنوبی	LN850964	LN851118
<i>C. verrucisporum</i>	CBS 187.78	خاک ساحل	هلند	LN850986	LN851140
<i>Wardomyces inflatus</i>	CBS 367.62 ^{NT}	خاک گلخانه	بلژیک	LN850994	LN851153

ET = epitype; IT = isotype; T = type; NT = neotype

ITS؛ مدل GTR+I+G برای داده‌های توالی ITS- rDNA و مدل GTR+G برای داده‌های مربوط به بخشی از ژن β -tubulin در جنس *Cephalotrichum* تعیین شدند (۴۳). تبارنمایهای ترسیم شده با استفاده از نرم‌افزار FigTree (۴۷). گونه‌های *Wardomyces* v. 1.4.4 مشاهده شدند (۴۷). گونه‌های *inflatatus* (Marchal) Hennebert (CBS 367.62) *Neonectria ditissima* (Tul. & C. Tul.) Samuels & Rossman (CBS 125486) به ترتیب به عنوان آرایه‌های گروه خارجی (outgroup) برای گونه‌های جنس‌های *Volutella* و *Cephalotrichum* انتخاب شدند. توالی‌های نوکلئوتیدی بدست آمده در این مطالعه، در مجموعه داده‌های بانک ژن NCBI ذخیره و شماره‌های دسترسی برای آن‌ها دریافت گردید (جداول ۱ و ۲).

جدول ۲- گونه‌های جنس *Volutella* استفاده شده برای تجزیه و تحلیل‌های تبارنمایه از بانک داده‌های NCBI. تراکم نوکلئوتیدی بدست آمده در این مطالعه پررنگ‌تر نشان داده شده‌اند.

نام گونه	جدايه/استرين	میزبان/بستر	مکان	شماره دستیابی بانک داده‌های	
				NCBI ITS	NCBI <i>rpb2</i>
<i>Volutella aeria</i>	CGMCC3.17945 ^T	غار	چین	KU746708	-
<i>Pseudonectria buxi</i>	CBS 324.53	شمشد جنگلی	هلند	KM231778	KM232353
<i>V. ciliata</i>	DAOM 226718	خاک زراعی	کانادا	HQ897802	HQ897736
<i>V. citrinella</i>	DAOM 226720	سیب زمینی	کانادا	HQ897821	HQ897770
<i>V. citrinella</i>	IRAN 2766C	غده سیب زمینی	ایران	MK357063	MK357064
<i>V. consors</i>	CBS 139.79	پیاز در حال فساد ارکیده	هلند	KM231768	HQ897715
<i>V. lini</i>	IMI92688	میزبان ناشناس	هنگ	JQ693169	JQ647452
<i>V. rosea</i>	CBS 128258	خاک	آمریکا	KM231769	KM232348
<i>V. roseola</i>	CBS 377.55	نامشخص	کانادا	MH857521	MH869058
<i>V. ramkumarii</i>	IMI 136704	دمبرگ‌های مدفون شده	گینه نو	JQ647453	-
<i>Neonectria ditissima</i>	CBS 125486	شاخه راش آمریکایی	کانادا	HQ897824	HQ897774

T = type

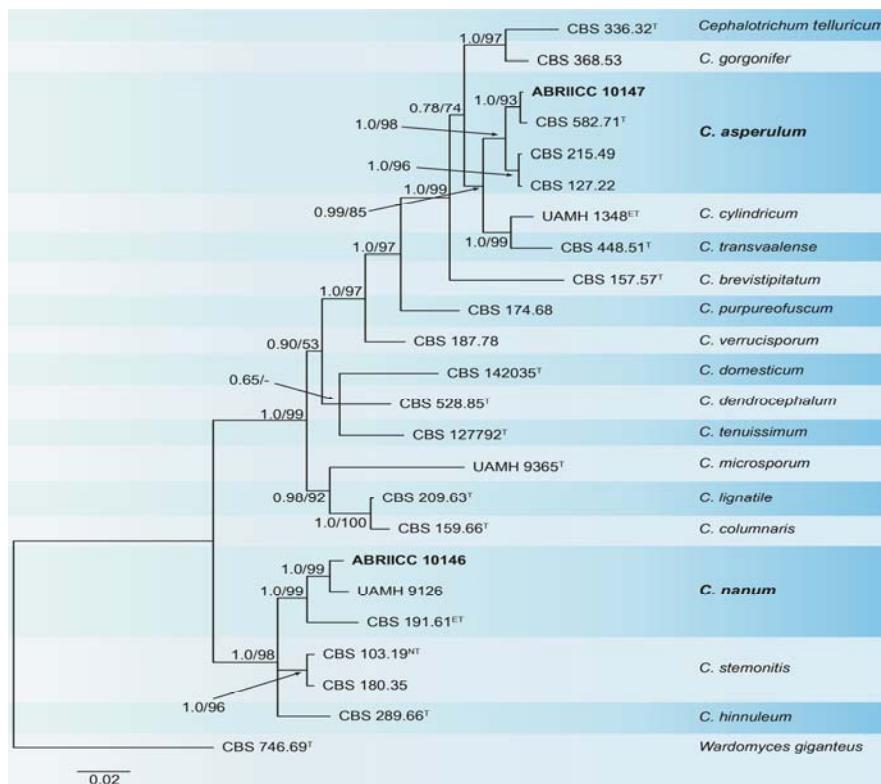
حالص‌سازی شدند. بررسی‌های ریخت‌شناختی نشان داد که جدايه‌های مورد مطالعه به دو جنس *Volutella* (با تعداد ۸ جدايه) و *Cephalotrichum* (با تعداد ۱۷ جدايه) تعلق داشتند. نتایج ریخت‌شناختی جدايه‌های جنس

نتایج

از نمونه‌های گیاهی مورد بررسی، تعداد ۲۵ جدايه با تشکیل اندام باردهی غیرجنسي سینماتا جداسازی و

نتایج شناسایی ریخت‌شناختی جدایه‌های جنس *Volutella* نشان داد که تمامی جدایه‌ها متعلق به گونه‌ی *Volutella citrinella* می‌باشند و این جدایه‌ها از غده‌های سیب‌زمینی دارای نشانه‌های پوسیدگی جداسازی شدند. نتایج جستجوی بلاست توالی‌های ناحیه‌ی ITS-rDNA و بخشی از ژن *rpb2* در بانک داده‌های ژنی NCBI معلوم کرد که توالی جدایه‌ی بررسی شده در این مطالعه، شباهت ۹۹ درصدی با توالی جدایه شاخص این گونه (DAOM 226720) دارد. همچنین نتایج همردیف‌سازی مجموع توالی‌های ناحیه ITS-rDNA و بخشی از ژن *rpb2* برای *Volutella* ۱۱ استرین قارچی از جنس‌های *Nectria* و *Pseudonectria* داده‌ای با ۱۳۹۵ صفت گردید. از بین صفات مورد ارزیابی در مجموع، تعداد ۱۰۰۸ صفت ثابت، ۱۷۷ صفت متغیر و فاقد اطلاعات پارسیمونی و ۲۱۰ صفت متغیر با اطلاعات پارسیمونی محاسبه گردید. بهترین تبارنمای حاصل از روش Maximum parsimony (با امتیاز ۵۶۰ و شاخص‌های CI برابر با ۰/۸۴۳؛ RI برابر با ۰/۷۳۰ و HI برابر با ۰/۱۵۷) از نظر شکل کلی تبارنمای و مکان آرایه‌ها در تبارنمای مشابه با تبارنمای حاصل از روش بازیزن بود. تبارنمای حاصل از روش بازیزن به عنوان مبنا برای نشان دادن روابط تبارشناختی بین گونه‌های مورد مطالعه استفاده شد و مقادیر احتمال پسین و اعتبارسنجی (PP/MP) بالاتر از ۵۰ درصد در محل گره‌ها نشان داده شده است (شکل ۴). در درخت تبارنمای ترسیم شده، جدایه‌ی مربوط به گونه‌ی *Volutella citrinella* در این مطالعه، با مقادیر اعتبارسنجی ۹۹-۱۰۰ این گونه قرار گرفت و شناسایی ریخت‌شناختی آن تایید گردید. این گونه‌ها به ترتیب و بر اساس حروف الفبا به شرح زیر توصیف می‌شوند.

نشان داد که جدایه‌ها به دو گونه *Cephalotrichum nanum* و *Cephalotrichum asperulum* تعلق دارند، هر چند فراوانی جدایه‌های گونه‌ی *C. nanum* (۱۰ جدایه) بیشتر از گونه‌ی *C. asperulum* (۷ جدایه) بود. نتایج جستجوی بلاست توالی نواحی ITS-rDNA و بخشی از ژن β -tubulin در بانک داده‌های ژنی NCBI مشخص کرد که توالی جدایه‌های مربوط به این مطالعه، شباهت ۹۹ درصدی را با توالی جدایه‌های شاخص گونه‌های *C. nanum* و *C. asperulum* دارا هستند. علاوه بر آن، همردیف‌سازی مجموع توالی‌های ناحیه ITS-rDNA و بخشی از ژن β -tubulin برای ۲۴ استرین قارچی از جنس‌های *Wardomyces* و *Cephalotrichum* منجر به ایجاد یک مجموع داده‌ای با ۱۰۵۰ صفت گردید. از بین مجموع صفات مورد ارزیابی، تعداد ۸۱۲ صفت ثابت، ۱۰۵ صفت متغیر و فاقد اطلاعات پارسیمونی و ۱۳۳ صفت متغیر با اطلاعات پارسیمونی محاسبه گردید. بهترین تبارنمای حاصل از روش maximum parsimony (با امتیاز ۰/۸۴۰ و شاخص‌های CI برابر با ۰/۷۵۴؛ RI برابر با ۰/۸۴۸ و HI برابر با ۰/۲۴۶) از نظر شکل کلی و مکان آرایه‌ها در تبارنمای مشابه با تبارنمای حاصل از روش بازیزن بود. لذا تبارنمای حاصل از روش بازیزن به عنوان مبنا برای نشان دادن روابط تبارشناختی گونه‌های مورد مطالعه استفاده شد و مقادیر احتمال پسین و اعتبارسنجی (PP/MP) بالاتر از ۵۰ درصد در محل گره‌ها نشان داده شد (شکل ۱). در درخت تبارنمای ترسیم شده، جدایه‌های مربوط به گونه‌های *C. asperulum* و *Cephalotrichum nanum* در این مطالعه با مقادیر اعتبارسنجی ۹۹-۱۰۰ درصدی و ۱۰۰-۹۸ درصدی (بترتیب) در کنار جدایه‌های شاخص این گونه‌ها قرار گرفتند و شناسایی ریخت‌شناختی آن‌ها تأیید گردید.



شکل ۱- تبارنامی جدایه‌های گونه‌های جنس *Cephalotrichum*. استنتاج شده از ترکیب توالی‌های نوکلئوتیدی ناحیه ITS-rDNA و بخشی از maximum parsimony tree بر اساس روش بازیزن. مقادیر احتمال پسین در تجزیه و تحلیل بازیزن و اعتبارسنجی در تجزیه و تحلیل β -tubulin با بالاتر از ۵ درصد در محل گره‌ها نشان داده شده است. گونه‌ی *Wardomyces inflatus* (CBS 367.62) به عنوان آرایه‌ی گروه خارجی انتخاب شده است.

روی محیط کشت PDA در مقایسه با محیط‌های کشت OA و PCA بسیار کمتر است. هاگبرهای مونونماتوس به فراوانی روی ریسه‌های موجود در سطح محیط کشت OA تشکیل شده و دارای انشعابات مونو یا بی‌ورتیسیلیت هستند. سینماتا به طول $1000-500$ میکرومتر، با پایه قهقهه‌ای مایل به سیاه، به عرض $15-30$ میکرومتر، غیر منشعب، با بخش بارده بیضی شکل، بهرنگ خاکستری تا قهقهه‌ای، ریسه‌ها در بخش پایه موازی هم، به قطر $1/5-2/5$ میکرومتر، به رنگ قهقهه‌ای تیره و بدون زوائد مومنند در متولاها از هم جدا شده، به ابعاد $2/5-10 \times 6-8$ میکرومتر؛ یاخته‌های هاگزا آمپولی شکل، با سطح صاف، به طول $7-5$ میکرومتر و به قطر 3 میکرومتر در عریض‌ترین بخش،

آرایہ بندی

- *Cephalotrichum asperulum* (J.E. Wright & S. Marchand) Sandoval-Denis, Guarro & Gené, in Sandoval-Denis, Guarro, Cano-Lira, Sutton, Wiederhold, de Hoog, Abbott, Decock, Sigler & Gene, *Studies in Mycology* 83: 201 (2016). (شكل ٢)

قطر رشدی پرگنه بعد از گذشت ۱۴ روز در محیط‌های کشت آرد یولاف-آگار (OA) (شامل ۶۰ گرم آرد یولاف، ۲۰ گرم آگار و یک لیتر آب شیر) و PCA برابر با ۴۲ میلی‌متر و در محیط کشت PDA برابر با ۳۸ میلی‌متر است. پرگنه در محیط‌های کشت OA و PCA به رنگ خاکستری روشن و با حاشیه نامنظم و در محیط کشت PDA به رنگ خاکستری، با حاشیه سفید رنگ و نامنظم و دارای شیارهای شعاعی است (شکل‌های ۲a-c). هاگزایی از بخش مرکزی پرگنه آغاز شده و به حاشیه‌ها گسترش می‌یابد. هاگزایی

جنس *Cephalotrichum* به عنوان نام درست انتخاب گردید (۵۵ و ۶۲).

جستجو در پایگاه نمایه‌ی قارچ‌ها یا Index Fungorum (Sept. 2018; www.indexfungorum.org) نام ۸۱ (۵۲ و ۶۲) در این جنس نمایان می‌سازد که از بین آن‌ها، ۳۹ نام گونه‌ای به عنوان گونه‌های معتبر مشخص شده‌اند. گونه‌های این جنس از بقایای گیاهی، خاک، پهنه، چوب و دیگر بسترهای جداسازی شده‌اند (۳۱، ۵۲ و ۶۲). در ایران نیز تا کنون گونه *Cephalotrichum microsporum* (با نام *Doratomyces microsporus*) به عنوان قارچ درون‌رست از درختان سیب گزارش شده است (۵). این گونه از خاک‌های غنی از مواد آلی، بذر و نمونه‌های کلینیکی انسانی در دنیا جداسازی و گزارش شده است. البته به دلیل عدم رشد جدایه‌های بدست آمده از نمونه‌های کلینیکی در دمای ۳۷ درجه سلسیوس، احتمال داده می‌شود که جدایه‌های بدست آمده از نمونه‌های کلینیکی نمایانگر آلوگیک‌های محیطی باشند (۵۵). در درخت تبارشناختی ترسیم شده، گونه *C. asperulum* به همراه گونه‌های *C. transvaalense* و *C. cylindricum* در یک دودمان، ولی کاملاً متمایز از هم قرار گرفته‌اند. دو گونه اخیر به دلیل تولید زوائد مومنند در بخش سر هاگزای سینماتا از گونه *C. asperulum* متمایز می‌شوند (۶۲). در این مطالعه، جدایه‌های این گونه از بقایای برگ‌های زمستان‌گذران درختان سیب، بقایای ساقه‌های گیاهان نی و همچنین از بقایای برگ‌های درختان چتار جمع‌آوری شده است.

نمونه‌های بررسی شده:

جدایه‌های UUFCC 181 (= ABRIICC 10147)، UUFCC 182، UUFCC 183، UUFCC 184، و بقایای برگ‌های سیب، باغ تحقیقاتی دانشگاه ارومیه، ارومیه، آذربایجان غربی، ۹ فروردین ۱۳۹۷؛ جدایه‌های Pald-19، Pald-12 و Pald-6، بقایای ساقه‌های نی، روستای لک، ارومیه، آذربایجان غربی، ۱۷ فروردین ۱۳۹۷؛ جدایه Sld-

که به نوک استوانه‌ای و به عرض ۱-۱/۵ میکرومتر ختم می‌شوند. هاگ‌ها تخم مرغی تا بیضی شکل با قاعده تخت و انتهای نوک تیز، به رنگ قهوه‌ای کمرنگ، به ابعاد ۴×۵/۵-۷ میکرومتر، با دیواره ضخیم و سطح ناصاف و در زنجیره‌های بن‌سو تشکیل می‌شوند (شکل‌های ۲d-h). مرحله جنسی قارچ تشکیل نشد.

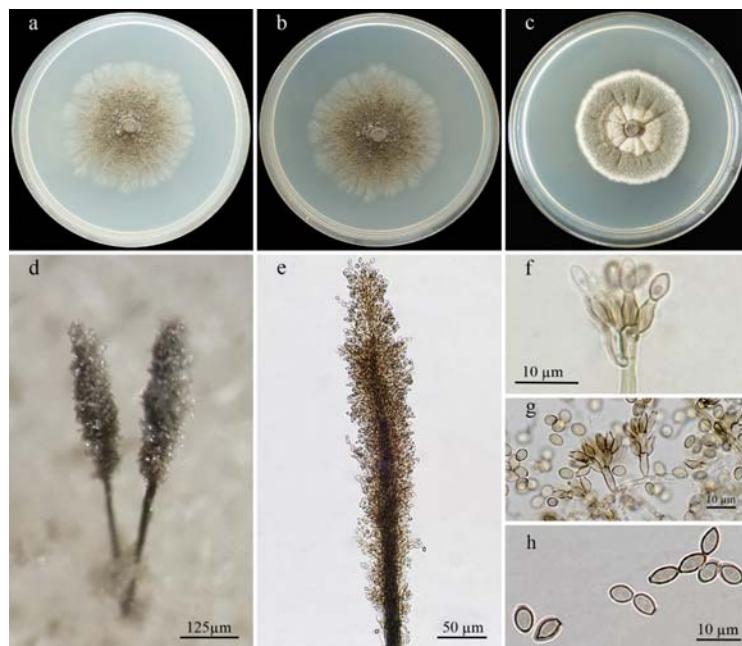
توضیحات: جنس *Cephalotrichum* با تولید هاگ‌های خشک در زنجیره‌های بن‌سو از یاخته‌های هاگزای حلقه‌دار و رشد یابنده در طول محور اصلی (percurrent)، که در بخش بالایی سینماتای سیاهرنگ تشکیل می‌شوند، مشخص می‌شود. این جنس برای اولین بار توسط لینک در سال ۱۹۰۸ با دو گونه معروفی شد که گونه *S. stemonitis* به عنوان نمونه لکتوپر در سال ۱۹۵۸ برگزیده شد (۲۸). بعدها جنس‌های *Doratomyces* با گونه تیپ *D. neesii* و *S. sysanus* با گونه تیپ *S. stemonitis* معرفی شدند که بر اساس مطالعات انجام شده روی نمونه‌های تیپ و لکتوپر این سه جنس معرفی شده، نتیجه گرفته شد که هر سه *Isaria stemonitis*، توسط یک قارچی که قبلاً به نام *T. cylindricus* توصیف شده بود، انتخاب تیپ شده‌اند (۴ و ۴۰). مجدداً جنس جدیدی به نام *Trichurus* با گونه تیپ *T. cylindricus* معرفی شد که از جنس‌های توصیف شده قبلی تنها به دلیل داشتن زوائد مو مانند روی سینماتا متمایز می‌شد (۱۱). به دلیل عدم اطلاع از کاربرد نام جنس *Cephalotrichum*، این نام به عنوان نام مترادف *Doratomyces* انتخاب و معرفی شد (۴۰). با این حال محققین دیگر، نام جنس *Cephalotrichum* را به عنوان نام صحیح مدنظر قرار دادند (۵۲ و ۵۸). همچنین مطالعات دقیق ریزساختاری از ریخت‌زایی سینماتا در این گروه از قارچ‌ها دلالت بر آن داشت که وجود زوائد مو مانند نمی‌تواند صفت تشخیصی متمایز کننده در سطح جنس باشد. همچنین مطالعات مولکولی بر مبنای توالی نواحی ITS-18S rDNA و بخش ITS-rDNA مترادف بودن جنس‌های مذکور را تایید نمود و نام

انشعابات از نوع مونو و ندرتاً بی‌ورتیسیلیت هستند. سینماتا به طول تا $1500-650$ میکرومتر، با پایه‌ی قهقهه‌ای تیره مایل به سیاه، به عرض $22/5-12/5$ میکرومتر، غیر منشعب، با بخش انتهایی بارده بیضی تا بیضی شکل کشیده، به رنگ قهقهه‌ای، ریسه‌ها در بخش پایه موازی هم، به قطر $1/5-2/5$ میکرومتر، به رنگ قهقهه‌ای تیره مایل به سیاه، بدون زوائد مومناند در بخش پایه، هاگ‌برها در سینماتا اغلب از نوع بی‌ورتیسیلیت، ندرتاً مونوورتیسیلیت، متولاها از هم جدا شده و به ابعاد $2/5-3 \times 6/5-10$ میکرومتر هستند. یاخته‌های هاگ‌زا آمپولی شکل، با سطح صاف، به طول $5-7/5$ میکرومتر و به قطر 3 میکرومتر در عریض‌ترین بخش که به نوک باریک استوانه‌ای شکل و به عرض $1/5-2/5$ میکرومتر ختم می‌شوند. هاگ‌ها نسبتاً کروی تا تخم‌مرغی شکل، با زگیل‌های کاملاً مشخص در سطح، با قاعده تخت و انتهای گرد، به ابعاد $4/5-6 \times 5-8$ میکرومتر، با دیواره ضخیم و در زنجیره‌های بن‌سو تشکیل می‌شوند (شکل‌های ۳d-h). مرحله جنسی فارج تشکیل نشد.

۲۹، ۶۷، Sld-30 و Sld-28، بقایای برگ‌های درختان چنار، فروردین ۱۳۹۷، روستای وزیرآباد، ارومیه، آذربایجان غربی؛ جمع‌آوری کننده: یویرت قوستا.

- *Cephalotrichum nanum* (Ehrenb.) S. Hughes, Can. J. Bot. 36: 744. 1958. (شکل ۳)

قطر رشدی پرگنه بعد از گذشت ۱۴ روز در محیط‌های کشت OA برابر با 42 میلی‌متر؛ در محیط کشت PCA برابر با 34 میلی‌متر و در محیط کشت PDA برابر با 33 میلی‌متر است. پرگنه در محیط‌های کشت OA و PCA به رنگ سفید، با میسلیوم هوایی بسیار کم و با حاشیه نامنظم و در محیط کشت PDA به رنگ سفید، با پوشش میسلیومی متراکم و حاشیه نامنظم است. هاگ‌زایی روی محیط کشت PDA در مقایسه با محیط‌های کشت OA و PCA بسیار کمتر است (شکل‌های ۳a-c). هاگ‌زایی از بخش مرکزی پرگنه شروع شده و به حاشیه‌ها گسترش می‌یابد و موجب تغییر رنگ پرگنه به قهقهه‌ای تیره تا سیاه می‌شود. هاگ‌برهای مونونماتوس به فراوانی در ریسه‌های موجود در سطح محیط کشت OA تشکیل شده و اغلب دارای

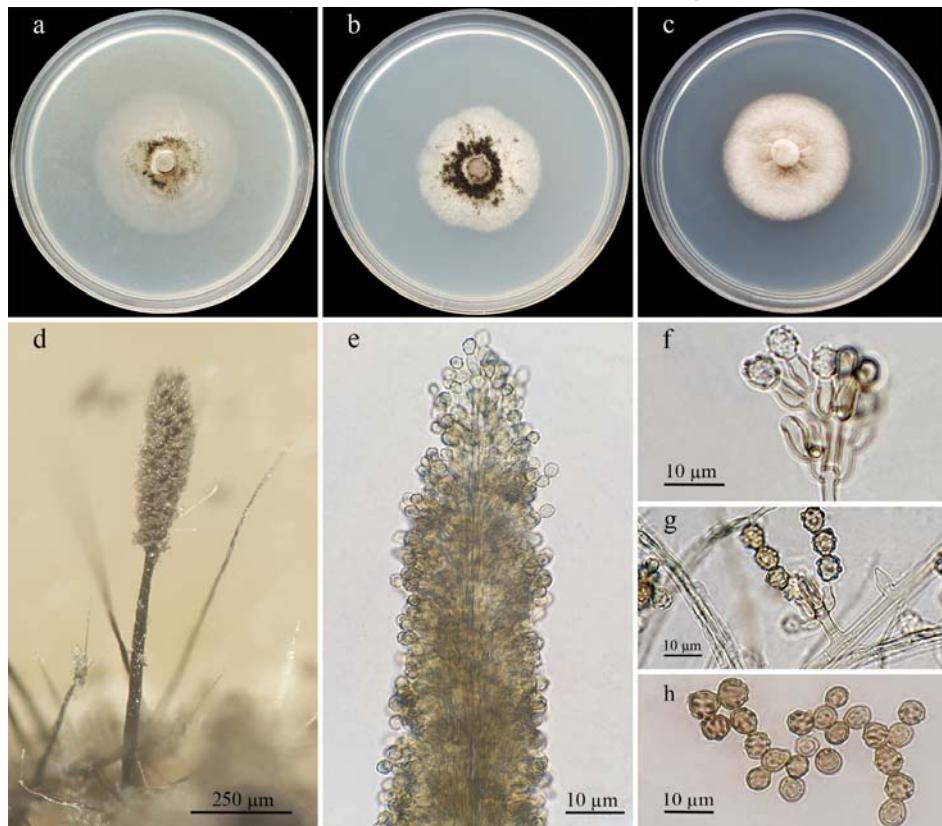


شکل ۲- گونه Cephalotrichum asperulum (d-e .(c) PDA و (b) PCA، (a) OA) پرگنه ۱۴ روزه فارج به ترتیب روی محیط‌های کشت (a-c). سینماتا. (f) هاگ‌بر و یاخته‌های هاگ‌زا از اندام سینماتا. (g) هاگ‌برهای انفرادی (مونونماتوس) و (h) هاگ‌ها.

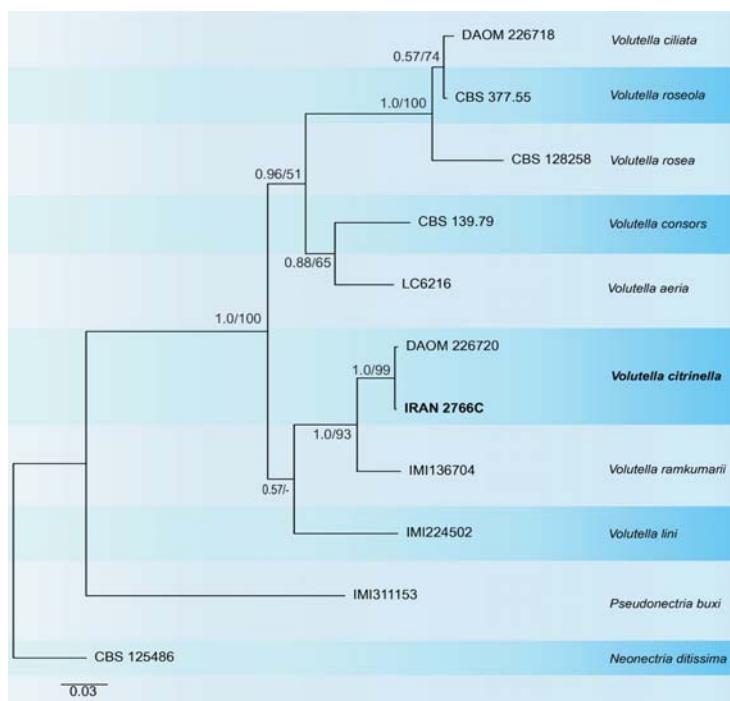
همچنین، بر اساس ابعاد کوچکتر هاگ‌های گلابی‌شکل زگیل‌دار در گونه *C. hinnuleum* نسبت به گونه *C. stemonitis*، این دو گونه از هم متمایز می‌شوند (۵۵). نمونه‌های بررسی شده:

جدایه‌های UUFCC 180 (= ABRIICC 10146) و UUFCC 179 و 178، شاخه سیب، رostتای بالانج، ارومیه، آذربایجان غربی، ۲۵ اسفند ۱۳۹۶، جمع‌آوری کننده: رازمیگ عزیزی؛ جدایه‌های 39 و 42، بقایای برگ‌های سیب، رostتای پر، ارومیه، آذربایجان غربی، ۲۱ فروردین ۱۳۹۷؛ جدایه‌های Frld-4 و Frld-21، بقایای برگ‌های زبان‌گنجشک، رostتای نازلو، ارومیه، آذربایجان غربی، ۱۱ فروردین ۱۳۹۷؛ جمع‌آوری کننده: یوبرت قوستا.

توضیحات: گونه *Cephalotrichum nanum* که در منابع قبلی با نام *Doratomyes nanus* (Ehrenb. ex Link) شناخته می‌شد، از پست و چوب‌های Morton & Smith مرده گیاهان، برگ‌ها، ساقه‌های علفی، پهنه، خاک، غده‌های سیب‌زمینی در حال پوسیدن و همچنین بذرهای غلات زراعی در اروپا، آفریقای مرکزی، ژاپن، کانادا و آمریکا گزارش شده است (۱۵، ۱۶، ۴۰، ۵۱ و ۵۵). این گونه در تبارنما با گونه‌های *C. hinnuleum* و *C. stemonitis* در یک دورمان قرار می‌گیرد. گونه‌های اخیر تها گونه‌های این جنس هستند که گاهی اوقات به دلیل تشکیل سین‌آنامورف‌های با هاگ‌های گلابی‌شکل و زگیل‌دار (echinobotryum-like) از بقیه گونه‌ها متمایز می‌شوند. در این دو گونه، هاگ‌ها اغلب با سطح صاف بوده ولی در گونه *C. nanum* هاگ‌ها مشخصاً دارای سطح زگیل‌دار می‌باشند.



شکل ۳- گونه *Cephalotrichum nanum* (a-c) پرگنه ۱۴ روزه قارچ به ترتیب روی محیط‌های کشت PCA و OA. (d) سینماتا. (e) هاگبر و یاخته‌های هاگزا از اندام سینماتا. (f) هاگبرهای انفرادی (مونونماتوس) و (g) هاگ‌ها. (h) سینماتا.



شکل ۴- تبارنمای جدایه‌های گونه‌های جنس *Volutella*. استنتاج شده از ترکیب توالی‌های نوکلئوتیدی ناحیه ITS-rDNA و بخشی از ژن *rpb2* بر اساس روش بازبین. مقادیر احتمال پسین در تجزیه و تحلیل بازبین و اعتبارسنجی در تجزیه و تحلیل maximum parsimony بالاتر از ۵۰ درصد در محل گره‌ها نشان داده شده است. گونه *Neonectria ditissima* (CBS 125486) به عنوان آرایه‌ی گروه خارجی انتخاب شده است.

۷۵-۲۵ میکرومتر؛ ریسه‌های تشکیل دهنده پایه به عرض ۱/۵-۷۵ میکرومتر، با دیواره صاف، هاگ برها دارای انشعابات نوع ورتیسیلیت یا دو ردیف ورتیسیلیت، متولاها با دیواره صاف، به ابعاد $۱/۲-۲/۲ \times ۱۰-۲۰$ میکرومتر، فیالیدها استوانه‌ای شکل تا نوک تیز و با دیواره صاف، در حلقه‌های مرکب از ۳-۶ فیالید، به ابعاد $۱-۲/۵ \times ۱-۴۰$ میکرومتر؛ تودهای هاگ زرد رنگ، به قطر $۱۱-۲۸$ میکرومتر، هاگ‌ها بیضی تا بیضی شکل کشیده و دوکی شکل، گاهی تخم مرغی، به ابعاد $۲ \times ۴-۵$ میکرومتر و اغلب هر هاگ دارای دو قطره روغنی است (شکل‌های ۵k).

توضیحات: جنس *Volutella* که با گونه *V. ciliata* تعیین تیپ شده است، با تشکیل کنیدیومای نوع اسپورودوکیومی پایه‌دار یا بدون پایه و یا سینماتا، با زوائد مشخص مو مانند، بی‌رنگ، با دیواره ضخیم و غیرمنشعب در اطراف سینماتا، یاخته‌های هاگزا از نوع فیالیدی که از هاگبرهای

- *Volutella citrinella* (Cooke & Massee) Seifert, in Gräfenhan, Schroers, Nirenberg & Seifert, *Stud. Mycol.* 68: 110 (2011). (٥) شكل

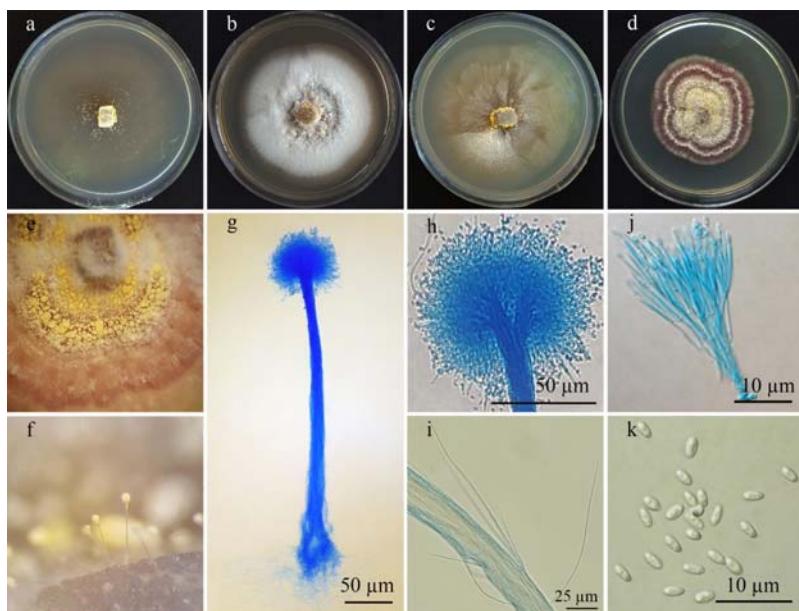
قطر رشدی پرگنه بعد از گذشت ۱۴ روز در محیط‌های کشت OA، MEA و PCA برابر با ۵۸ میلی‌متر و در محیط کشت PDA برابر با ۴۵ میلی‌متر است. پرگنه روی محیط کشت OA به رنگ قهوه‌ای روشن تا کهربایی و با حاشیه نامنظم؛ روی محیط کشت MEA به رنگ سفید، با پوشش ریسه‌ای پنبه‌ای و با بخش حاشیه‌ای کهربایی؛ روی محیط کشت PCA به رنگ قهوه‌ای کرمی کم رنگ و با حاشیه نامنظم و روی محیط کشت PDA به رنگ بنفش، با حاشیه نامنظم و با حلقه‌های رشدی هم‌مرکز است (شکل‌های a-5d). سینماتا به صورت پراکنده یا مجتمع و عموماً به صورت حلقه‌های هم‌مرکز از بخش مرکزی پرگنه تشکیل شده و زرد رنگ می‌باشند (شکل ۵e)، سینماتا غیرمنشعب، گاهی اوقات دارای زوائد مومنند در حاشیه‌های بخش پایه، سفید رنگ، به طول ۱۰۰۰-۸۰۰ میکرومتر و عرض

ریسه‌ها در بخش پایه‌ی سینماتا در این گونه اندکی ضخیم شده و از سینماتا بیرون می‌زنند و تا حدودی به شکل زوائد مو مانند درمی‌آیند که این زوائد مو مانند به فراوانی در گونه‌های با کنیدیوماتای اسپورودوکیومی هم تشکیل می‌شوند. در تبارانما، این گونه در کنار گونه‌های دلیل تشکیل کنیدیوماتای اسپورودوکیومی در دو گونه اخیر (۴۲ و ۵۰)، از آن‌ها تفکیک می‌شود. این گونه دارای انتشار جهانی بوده و از آمریکای شمالی و مرکزی، اروپا و آسیا و از خاک، ریشه‌ها و میوه‌ها، پهنه و گاهی از پوست و چوب گیاهان جداسازی و گزارش شده است (۴۹ و ۵۱).

همچنین، این گونه به عنوان عامل مهارزیستی قارچ *Pythium ultimum* و *Rhizoctonia solani* که عوامل ایجاد کننده مرگ گیاهچه‌های گیاهان مختلف هستند، معروفی شده است (۳۴). در این مطالعه، این گونه از غده‌های سیبزمینی دارای نشانه‌های پوسیدگی جداسازی شده است.

کم و بیش منشعب شده به طور پنیسیلیت ایجاد می‌شوند و هاگ‌های یک‌یاخته‌ای انباشته شده در یک لعاب بی‌رنگ و متراکم، مشخص می‌شود (۱۵، ۲۱ و ۳۷). با وجود اینکه بیش از ۱۲۰ نام گونه‌ای در این جنس توصیف شده است، اما تعداد بسیار کمی از آن‌ها مورد بازنگری قرار گرفته‌اند و بیشتر گونه‌ها بعد از توصیف اولیه، مجدداً گزارش نشده‌اند (۲۱). در بررسی پایگاه نمایه‌ی قارچ‌ها یا Index Fungorum (Sept. 2018; www.indexfungorum.org) ۱۴ نام گونه‌ای در این جنس دیده می‌شود که از بین آن‌ها، تنها ۲۸ نام گونه‌ای به عنوان گونه‌های معتبر مشخص شده‌اند. گونه *V. citrinella* به دلیل داشتن کنیدیوماتی سینماتایی مشخص می‌شود که قبلاً به نام (*Stilbum citrinellum* *Stilbum aciculosum* بازیونیم) شناخته می‌شد. مطالعات تبارشناختی، خویشاوندی نزدیک این گونه را با گونه *V. ciliata* مشخص نمود و لذا نام گونه‌ای به ترکیب جدید *Volutella citrinella* تغییر یافت.

بر طبق مطالعات سیفرت (۵۱)، گاهی دیواره‌ی برخی از



شکل ۵- گونه ۱۴ روزه قارچ به ترتیب روی محیط‌های کشت (a-d) *Volutella citrinella*. (a) OA، (b) MEA، (c) PCA و (d) PDA. (e) سینماتای تشکیل شده به صورت هم‌مرکز با توده لعابی هاگ‌ها. (f-g) سینماتا. (h) بخش انتهایی سینماتا. (i) زوائد نوک تیز و مو مانند در حاشیه سینماتا. (j) هاگ‌برها و فیالیدها و (k) هاگ‌ها.

جنس *Volutella* و یک گونه از جنس *Cephalotrichum* بر اساس ویژگی‌های ریخت‌شناختی شناسایی شدند و مطالعات مولکولی بر مبنای توالی برخی نوامی ژنومی، نتایج مطالعات ریخت‌شناختی را تایید نمود. گونه‌های جنس *Cephalotrichum* جداسازی شده در این مطالعه از قارچ‌های متدالوی ساکن خاک و بقایای گیاهی هستند که از مکان‌های مختلفی در سرتاسر دنیا جداسازی و گزارش شده‌اند (۳۱ و ۵۲). در مطالعه انجام شده روی تنوع گونه‌های جنس *Cephalotrichum* از خاک در کشور چین، دوازده گونه جدید از این جنس جداسازی و تنها بر اساس ویژگی‌های ریخت‌شناختی توصیف شدند (۳۲). در مطالعه جامع‌تر انجام شده روی جدایه‌های این گونه و بر اساس ترکیبی از ویژگی‌های ریخت‌شناختی و داده‌های حاصل از توالی‌بایی چندین‌تایی، نتایج نشان داد که تعداد زیادی از گونه‌های ریخت‌شناختی توصیف شده، در مفهوم کلی یک گونه قرار می‌گیرند و لذا باید به عنوان اسمی متراffد یک گونه مذکور شوند (۶۲). این نتایج نشان از اهمیت استفاده از داده‌های مولکولی در شناسایی گونه‌ها و تعیین حدود آن‌ها دارد. در این مطالعه نیز شناسایی گونه‌ها بر اساس ترکیب ویژگی‌های ریخت‌شناختی و داده‌های حاصل از توالی‌های دو ناحیه ژنومی انجام گرفت. گزارش شده است که برخی از گونه‌های این جنس توانایی تجزیه سلولز، چوب، زایلان و مواد کراتینی را دارا هستند (۱۵ و ۲۰) و لذا وفور این قارچ‌ها در این بسترها می‌تواند به این توانایی آن‌ها نسبت داده شود. گونه *Volutella citrinella* نیز دارای انتشار جهانی بوده و از بسترها می‌تواند به این جداسازی شده است (۵۱). در این مطالعه، جدایه‌های این گونه از غده‌های سیب‌زمینی دارای نشانه‌های پوسیدگی جداسازی شدند. آزمون‌های مایه‌زنی غده‌های سالم اسیب‌زمینی با جدایه‌های این قارچ، نشانه‌های پوسیدگی را ایجاد نکرد (داده‌ها نشان داده نشده‌اند)، و لذا به‌نظر می‌رسد رشد قارچ در سطح غده‌های پوسیده یا مربوط به تماس غده آلووده با خاک و انتقال قارچ از خاک به سطح

VC-101 (= IRAN 2766C) VC-102 و VC-103، غده‌های پوسیده سیب‌زمینی، روستای بالانج، ارومیه، استان آذربایجان غربی، ۲۵ بهمن ۱۳۹۶؛ جدایه‌های Pt-25 و Pt-31، غده‌های پوسیده سیب‌زمینی، بازار میوه و ترهبار ارومیه، آذربایجان غربی، ۱۴ اسفند ۱۳۹۶؛ جمع‌آوری کننده: رازمیگ عزیزی؛ جدایه‌های Pt-76، Pt-78 و Pt-81، غده‌های سیب‌زمینی، نوشین شهر، ارومیه، آذربایجان غربی، ۲۰ اردیبهشت ۱۳۹۷، جمع‌آوری کننده: یوبرت قوستا.

بحث

قارچ‌ها به عنوان یکی از بزرگترین و متنوع‌ترین گروه‌های موجودات زنده، با تمامی اجزا زیست‌بوم موجود در زمین (زنده و غیر زنده) برهمکنش دارند. آن‌ها از بازیگران مهم در زیست‌بوم‌های خشکی و آبی (آب‌های شیرین و سور دریابی) بوده و در تشكیل و حاصلخیزی خاک از طریق تجزیه بقایای گیاهی و حیوانی و نیز بازچرخه مواد غذایی نقش مهمی دارند (۱۴). علاوه بر آن، قارچ‌ها به دلیل تشکیل ارتباطات همزیستی با طیف وسیعی از موجودات مختلف، به خصوص گیاهان، و استفاده در صنایع دارویی و غذایی و نیز استفاده گسترده از آن‌ها در زیست‌پالایی نوامی آلووده دارای اهمیت بسیار زیادی هستند (۱، ۲، ۳، ۲۶، ۳۹، ۵۳ و ۶۳). به دلیل انعطاف‌پذیری ویژگی‌های ریخت‌شناختی قارچ‌ها تحت تاثیر متغیرهای محیطی، فن‌آوری‌های مولکولی به طور گسترده‌ای برای کشف و تعیین حدود دقیق‌تر گونه‌ها و نیز درک روابط بین گونه‌ها و تغییرات در ترکیب و غنای گونه‌ها در محیط‌های مختلف استفاده شده‌اند (۷ و ۵۷). در این مطالعه، گونه‌های قارچی دارای اندام‌های بارده‌ی غیرجنSSI سینماتا از بسترها کمتر مطالعه شده شامل بقایای گیاهی زمستان‌گذران و نیز شاخه‌ها و غده‌های دارای نشانه‌های خشکیدگی و پوسیدگی جداسازی و بر مبنای تلفیق ویژگی‌های ریخت‌شناختی و مولکولی شناسایی شدند. دو گونه از

زمان‌های متفاوت، می‌تواند تنوع واقعی‌تر گونه‌های قارچی در این بسترها را نمایان سازد.

غده بوده و یا ناشی از رشد درون‌رسنی (اندوفیتی) قارچ در نواحی پوسیده باشد. بررسی بسترها مشابه از مکان‌های مختلف با شرایط آب و هوایی متفاوت و نیز در

منابع

- قارچ‌های میکوریز آربوسکولدار در شرایط طبیعی زیستگاه دشت تبریز. مجله پژوهش‌های گیاهی، جلد ۳۰، شماره ۴، صفحات ۷۶۴-۷۷۵.
- ۳- محسن‌زاده، ف. و خدابنده‌لو، س. ۱۳۹۷. زیست‌پالایی خاک‌های آلوده به روغن موتور مصرف شده با استفاده از گیاه آلهه *Ranunculus arvensis* L. و برخی قارچ‌های ریزوسفری. مجله پژوهش‌های گیاهی، جلد ۳۱، شماره ۱، صفحات ۴۵-۵۶.
- 4- Abbott, S.P. 2000. Holomorph studies of the Microsaceae. Ph.D. dissertation. Department of Biological Sciences, University of Alberta, Canada.
- 5- Alijani, N., Ghosta, Y. and Rezaie Danesh, Y. 2016. Biodiversity of endophytic fungi from apple trees in west Azarbaijan province. Proceedings of the 22th Iranian Plant Protection Congress, 28-31 August, College of Agriculture and Natural Resources, University of Tehran, Karaj, Iran. P. 156.
- 6- Babu, A.G., Kim, S.W., Yadav, D.R., Adhikari, M., Kim, C., Lee, H.B. and Lee, Y.S. 2015. A new record of *Volutella ciliata* isolated from crop field soil in Korea. Mycobiology, 43:71-74.
- 7- Balint, M., Bahram, M., Eren, A.M., Faust, K., Fuhrman, J.A., Lindahl, B., O'Hara, R.B., Öpik, M., Sogin, M.L., Unterseher, M. and Tedersoo, L. 2016. Millions of reads, thousands of taxa: microbial community structure and associations analyzed via marker genes. FEMS Microbiology Reviews, 40:686-700.
- 8- Blackwell, M. 2011. The fungi: 1, 2, 3 ... 5.1 million species? American Journal of Botany, 98:426-438.
- 9- Cannon, P.F. 1997. Diversity of the Phyllachoraceae with special reference to the tropics. Pp.255-278 In: Hyde, K.D. (Ed.), Biodiversity of Tropical Microfungi. Hong Kong University Press, Hong Kong.
- 10- Castañeda-Ruiz, R.F., Heredia, G., Gusmão, L.F.P. and Li, D.-W. 2016. Fungal diversity of central and south America. Pp.197-218 In: Li, A. (Ed.), Biology of Microfungi. Springer International Publishing, Switzerland.
- 11- Clements, F.E. and Pound, R. 1896. New species of fungi. Botanical Survey of Nebraska, 4:4-23.
- 12- Cosgrove, L., McGeechan, P.L., Robson, G.D. and Handley, P.S. 2007. Fungal communities associated with degradation of polyester polyurethane in soil. Applied and Environmental Microbiology, 73:5817-5824.
- 13- Crous, P.W., Verkley, G.J.M., Groenewald, J.Z. and Samson, R.A. 2009. Fungal Biodiversity, CBS Laboratory Manual Series. CBS-KNAW Fungal Biodiversity Centre, Utrecht, the Netherlands. 269 pp.
- 14- Dighton, J. 2016. Fungi in Ecosystem Processes. 2nd Ed. Boca Raton, FL, CRC Press, Taylor & Francis. 360 pp.
- 15- Domsch, K.H., Gams, W. and Anderson, T.H. 2007. Compendium of soil fungi, 2nd Ed. IHW Verlag, Eching, Germany. 672 pp.
- 16- Ellis, M.B. 1971. Dematiaceous Hyphomycetes. Commonwealth Mycological Institute, Kew, England. 608 pp.
- 17- Felsenstein, J. 1985. Confidence limits on phylogenies: an approach using the bootstrap. Evolution, 39:783-791.
- 18- Geiser, D.M., Gueidan, C., Miadlikowska, J., Lutzoni, F., Kauff, F., Hofstetter, V., Fraker, E., Schoch, C.L., Tibell, L., Untereiner, W.A. and Aptroot, A. 2006. Eurotiomycetes: Eurotiomycetidae and Chaetothyriomycetidae. Mycologia, 98:1053-1064.

- 19- Glass, N.L. and Donaldson, G. 1995. Development of primer sets designed for use with PCR to amplify conserved genes from filamentous ascomycetes. *Applied and Environmental Microbiology*, 61:1323–1330.
- 20- Gradišar, H., Kern, S. and Friedrich, J. 2000. Keratinases of *Doratomyces microspores*. *Applied Microbiology and Biotechnology*, 53:196–200.
- 21- Gräfenhan, T., Schroers, H.-J., Nirenberg, H.I. and Seifert, K.A. 2011. An overview of the taxonomy, phylogeny, and typification of necriaceous fungi in *Cosmospora*, *Acremonium*, *Fusarium*, *Stilbella*, and *Fusarium*. *Studies in Mycology*, 68:79–113.
- 22- Hall, T.A. 1999. BioEdit: a user-friendly biological sequence alignment editor and analysis program for Windows 95/98/NT. *Nucleic Acids Symposium Series*, 41:95–98.
- 23- Hawksworth, D.L. 1991. The fungal dimension of biodiversity: magnitude, significance, and conservation. *Mycological Research*, 95:641–655.
- 24- Hawksworth, D.L. and Lücking, R. 2017. Fungal diversity revisited: 2.2 to 3.8 million species. *Microbiology Spectrum* 5: FUNK-0052-2016.
- 25- Hernández-Restrepo, M., Gené, J., Castañeda-Ruiz, R.F., Mena-Portales, J., Crous, P.W. and Guarro, J. 2017. Phylogeny of saprobic microfungi from southern Europe. *Studies in Mycology*, 86:53–97.
- 26- Hofrichter, M. 2010. The Mycota X. Industrial Applications. 2nd ed. Springer-Verlag Berlin Heidelberg. 485 pp.
- 27- Huelsenbeck, J.P. and Ronquist, F. 2001. MRBAYES: Bayesian inference of phylogenetic trees. *Bioinformatics*, 17(8):754–755.
- 28- Hughes, S. J. 1958. Revisiones Hyphomycetum aliquot cum appendice de nominibus rejiciendis. *Canadian Journal of Botany*, 36:727–836.
- 29- Hyde, K.D. 2001. Where are the missing fungi? Does Hong Kong have any answers? *Mycological Research*, 105:1514–1518.
- 30- Hyde, K.D., Jones, E.B.G., Liu, J.K., Ariyawansa, H., Boehm, E., Boonmee, S., Braun, U., Chomnunti, P., Crous, P.W., Dai, D.Q., Diederich, P., Dissanayake, A., Doilom, M., Doveri, F., Hongsanan, S., Jayawardena, R., Lawrey, J.D., Li, Y.M., Liu, Y.-X., Lucking, R., Monkai, J., Muggia, L., Nelsen, M.P., Pang, K.L., Phookamsak, R., Senanayake, I.C., Shearer, C.A., Suetrong, S., Tanaka, K., Thambugala, K.M., Wijayawardene, N.N., Wikee, S., Wu, H.X., Zhang, Y., Aguirre-Hudson, B., Alias, S.A., Aptroot, A., Bahkali, A.H., Bezerra, J.L., Bhat, D.J., Camporesi, E., Chukeatirote, E., Gueidan, C., Hawksworth, D.L., Hirayama, K., De Hoog, S., Kang, J.C., Knudsen, K., Li, W.J., Li, X.H., Liu, Z.Y., Mapook, A., McKenzie, E.H.C., Miller, A.N., Mortimer, P.E., Phillips, A.J.L., Raja, H.A., Scheuer, C., Schumm, F., Taylor, J.E., Tian, Q., Tibpromma, S., Wanasinghe, D.N., Wang, Y., Xu, J.C., Yacharoen, S., Yan, J.Y. and Zhang, M. 2013. Families of Dothideomycetes. *Fungal Diversity*, 63:1–313.
- 31- Jiang J.-R., Cai, L. and Liu, F. 2017. Oligotrophic fungi from a carbonate cave, with three new species of *Cephalotrichum*. *Mycology*, 8:164–177.
- 32- Jiang, Y.-L., Xu, J.-H., Wu, Y.-M., Zhang, Y.-L., Liu, H.-M., Pan, H.-Q. and Zhang, T.-Y. 2011. Studies on *Cephalotrichum* from soils in China—twelve new species and two new combinations. *Mycotaxon*, 117:207–225.
- 33- Katoh, K. and Standley, D.M. 2013. MAFFT multiple sequence alignment software version 7: improvements in performance and usability. *Molecular Biology and Evolution*, 30:772–780.
- 34- Lewis, J.A. and Papavizas, G.C. 1993. *Stilbella aciculosa*: a potential biocontrol fungus against *Rhizoctonia solani*. *Biocontrol Science and Technology*, 3:3–11.
- 35- Liu, Y.J., Whelen, S. and Hall, B.D. 1999. Phylogenetic relationships among ascomycetes: evidence from an RNA polymerase II subunit. *Molecular Biology and Evolution*, 16:1799–1808.
- 36- Lücking, R. and Hawksworth, D.L. 2018. Formal description of sequence-based voucherless Fungi: promises and pitfalls, and how to resolve them. *IMA Fungus* 9:143–166.
- 37- Luo, J. and Zhuang, W.-Y. 2012. *Volutellonectria* (Ascomycota, Fungi), a new genus with *Volutella* anamorphs. *Phytotaxa*, 44:1–10.
- 38- McLaughlin, D.J., Hibbett, D.S., Lutzoni, F., Spatafora, J.W. and Vilgalys, R. 2009. The search for the fungal tree of life. *Trends in Microbiology*, 17:488–497.
- 39- Mohammadi Golatapeh, E., Rezaee Danesh, Y. and Varma, A. 2013. *Fungi as Bioremediators, Soil Biology* 32. Springer-Verlag Berlin Heidelberg. 489 pp.

- 40- Morton, F.J. and Smith, G. 1963. The genera *Scopulariopsis* Bainier, *Microascus* Zukal, and *Doratomyces* Corda. Mycological Papers, 86:1–96.
- 41- Mueller, G.M. and Schmit, J.P. 2007. Fungal biodiversity: what do we know? What can we predict? *Biodiversity Conservation*, 16:1–5.
- 42- Mukerji, K.G., Tewari, J.P. and Raj, J.N. 1968. *Volutella lini* sp. nov. from India. *Transactions of the British Mycological Society*, 51:337–339.
- 43- Nylander, J.A.A. 2004. MrModeltest 2.3. Computer program and documentation distributed by the author. Evolutionary Biology Centre, Uppsala University, Uppsala.
- 44- O'brien, H.E., Parrent, J.L., Jackson, J.A., Moncalvo, J.-M. and Vilgalys, R. 2005. Fungal community analysis by large-scale sequencing of environmental samples. *Applied and Environmental Microbiology*, 71:5544–5550.
- 45- Osono, T. and Takeda, H. 2007. Microfungi associated with *Abies* needles and *Betula* leaf litter in a subalpine coniferous forest. *Canadian Journal of Microbiology*, 53:1–7.
- 46- Peay, K.G., Kennedy, P.G. and Talbot, J.M. 2016. Dimensions of biodiversity in the earth mycobiome. *Nature Reviews in Microbiology*, 14:434–447.
- 47- Rambaut, A. 2007. FigTree, a graphical viewer of phylogenetic trees. Available at: <http://tree.bio.ed.ac.uk/software/figtree>.
- 48- Ronquist, F. and Huelsenbeck, J.P. 2003. MrBayes 3: Bayesian phylogenetic inference under mixed models. *Bioinformatics*, 19:1572–1574.
- 49- Samuels, G.J. and Seifert, K.A. 1991. Two new species of *Nectria* with *Stilbella* and *Mariannaea* anamorphs. *Sydowia*, 43:249–263.
- 50- Sarbhoy, A.K. 1967. A new species of *Volutella* from India. *Transactions of the British Mycological Society*, 50:156–157.
- 51- Seifert, K.A. 1985. A monograph of *Stilbella* and some allied Hyphomycetes. *Studies in Mycology*, 27:1–235.
- 52- Seifert, K.A., Morgan-Jones, G., Gams, W. and Kendrick, B. 2011. The genera of Hyphomycetes. CBS Biodiversity Series 9. CBS-KNAW Fungal Biodiversity Centre, Utrecht, the Netherlands. 997 PP.
- 53- Shahabivand, S., Tayebnia, V. and Aliloo, A.S. 2018. Impact of endophyte fungus *Serendipita indica* on fungus-assisted phytostabilization and performance of *Carthamus tinctorius* in a lead polluted soil. *Journal of Plant Research*, 131(4):812–825.
- 54- Stielow, J.B., C.A. Lévesque, C.A., Seifert, K.A., Meyer, W., Irinyi, L., Smits, D., Renfurm, R., Verkley, G.J.M., Groenewald, M., Chaduli, D., Lomascolo, A., Welti, S., Lesage-Meessen, L., Fave, A., Al-Hatmi, A.M.S., Damm, U., Yilmaz, N., Houbraken, J., Lombard, L., Quaedvlieg, W., Binder, M., Vaas, L.A.I., Vu, D., Yurkov, A., Begerow, D., Roehl, O., Guerreiro, M., Fonseca, A., Samerpitak, K., van Diepeningen, A.D., Dolatabadi, S., Moreno, L.F., Casaregola, S., Mallet, S., Jacques, N., Roscini, L., Egidi, E., Bizet, C., Garcia-Hermoso, D., Martín, M.P., Deng, S., Groenewald, J.Z., Boekhout, T., de Beer, Z.W., Barnes, I., Duong, T.A., Wingfield, M.J., de Hoog, G.S., Crous, P.W., Lewis, C.T., Hambleton, S., Moussa, T.A.A., Al-Zahrani, H.S., Almaghrabi, O.A., Louis-Seize, G., Assabgui, R., McCormick, W., Omer, G., Dukik, K., Cardinali, G., Eberhardt, U., de Vries, M. and Robert, V. 2015. One fungus, which genes? Development and assessment of universal primers for potential secondary fungal DNA barcodes. *Persoonia*, 35:242–263.
- 55- Sandoval-Denis, M., Guarro, J., Cano-Lira, J.F., Sutton, D.A., Wiederhold, N.P., de Hoog, G.S., Abbott, S.A., Decock, C., Sigler, L. and Gene, J. 2016. Phylogeny and taxonomic revision of *Microascaceae* with emphasis on synnematosus fungi. *Studies in Mycology*, 8:193–233.
- 56- Swofford, D.L. 2002. PAUP: Phylogenetic Analysis Using Parsimony (and other methods), version 4.0b4a. Sinauer Associates, Sunderland, Massachusetts.
- 57- Tedersoo, L., Sánchez-Ramírez, S., Köljalg, U., Bahram, M., Döring, M., Schigel, D., May, T., Ryberg, M. and Abarenkov, K. 2018. High-level classification of the Fungi and a tool for evolutionary ecological analyses. *Fungal Diversity*, 90:135–159.
- 58- von Arx, J.A. 1981. The Genera of Fungi Sporulating in Pure Culture. 3rd ed. Vaduz, Germany: Cramer. 424 pp.
- 59- Wang, X.W., Lombard, L., Groenewald, J.Z., Li, J., Videira, S.I.R., Samson, R.A., Liu, X.Z. and Crous, P.W. 2016. Phylogenetic reassessment of the *Chaetomium globosum* species complex. *Persoonia*, 36:83–133.
- 60- Wanasinghe, D.N., Phukhamsakda, C., Hyde, K.D., Jeewon, R., Lee, H.B., Gareth Jones, E.B., Tibpromma, S., Tennakoon, D.S., Dissanayake,

- A.J., Jayasiri, S.C., Gafforov, Y., Camporesi, E., Bulgakov, T.S., Ekanayake, A.H., Perera, R.H., Samarakoon, M.C., Goonasekara, I.D., Mapook, A., Li, W.-J., Senanayake, I.C., Li, J., Norphanphoun, C., Doilom, M., Bahkali, A.H., Xu, J., Mortimer, P.E., Tibell, L., Tibell, S. and Karunarathna, S.C. 2018. Fungal diversity notes 709–839: taxonomic and phylogenetic contributions to fungal taxa with an emphasis on fungi on Rosaceae. *Fungal Diversity*, 89:1–236.
- 61- White, T.J., Bruns, T.D., Lee, S.B. and Taylor, J.W. 1990. Amplification and direct sequencing of fungal ribosomal RNA genes for phylogenetics. Pp. 315–322 In: Innis, M., Gelfand, D., Sninsky, J. and White, T. (eds.). PCR protocols: a guide to methods and applications. Academic Press, New York.
- 62- Woudenberg, J.H.C., Sandoval-Denis, M., Houbraken, J., Seifert, K.A. and Samson, R.A. 2017. *Cephalotrichum* and related synnematosous fungi with notes on species from the built environment. *Studies in Mycology*, 88:137–159.
- 63- Wu, Q.-S. 2017. Arbuscular Mycorrhizas and Stress Tolerance of Plants. Springer Nature Singapore Pte Ltd. 327 pp.
- 64- Zhang, Z.F., Liu, F., Zhou, X., Liu, X.Z., Liu, S.J. and Cai, L. 2017. Culturable mycobiota from Karst caves in China, with descriptions of 20 new species. *Persoonia*, 39:1–31.
- 65- Zhong, S. and Steffenson, B.J. 2001. Virulence and molecular diversity in *Cochliobolus sativus*. *Phytopathology*, 91:469–476.

New Species of Synnematosous Fungi for Iran Mycobiota

Ghosta Y.¹, Azizi R.¹ and Poursafar A.²

¹ Dept. of Plant Protection, Faculty of Agriculture, University of Urmia, Urmia, I.R. of Iran.

² Dept. of Plant Protection, College of Agriculture and Natural Resources, University of Tehran, Karaj, I.R. of Iran.

Abstract

Fungi, as the dominant decomposers of plant and animal debris have vital roles in recycling of nutrients in all ecosystems. They, because of causing economically important diseases in plants and animals, formation of symbiotic interactions with a wide array of organisms, their widespread uses in food and pharmaceutical industries, biotechnology, production of biofuels and bioremediation in polluted areas, are of great importance. Using of fungal capabilities for improvement of human life, requires their isolation and accurate identification at species level. In this study, the species diversity of fungi from diverse substrates, including rotted potato tubers, dried shoots of apple trees, leaf debris of apple, ash and sycamore and stem debris of reed plants collected from different locations of Urmia, West Azarbaijan province, were evaluated. 25 isolates with synnematosous asexual fruiting bodies were isolated and purified. Identification of the isolates was done based on the combination of morphological characteristics of asexual fruiting bodies as well as sequences obtained from ITS-rDNA and β -tubulin genomic regions for *Cephalotrichum* isolates and ITS-rDNA and *rpb2* genomic regions for *Volutella* isolates. Three species Viz.: *Cephalotrichum asperulum* (J.E. Wright & S. Marchand) Sandoval-Dennis, Guarro & Gené, *Cephalotrichum nanum* (Ehrenb.) S. Hughes and *Volutella citrinella* (Cooke & Massee) Seifert were identified. *Volutella citrinella* isolates were isolated from potato tubers with decaying symptoms, while those of *Cephalotrichum* species were isolated from different plant debris. These species, to the best of our knowledge, are new records to Iran mycobiota and complete description of them is provided here.

Key words: Taxonomy, Morphology, Phylogenetic analysis, Synnemata, Fungus