ARPP

پژوهش‌های کاربردی در گیاه‌پزشکی ۱۰ (۱): ۲۹-۴۴ (۱۴۰۰)

DOI: 10.22034/ARPP.2021.12465

شناسایی گونه‌های *Fusarium* همراه علایم پوسیدگی ریشه کلزا در استان خوزستان

دریافت: ۹۹/۵/۴ بازنگری: ۹۹/۷/۱۱ پذیرش: ۹۹/۱۰/۱۴

عذرا نعمتی مندنی‌پور[۱]، رضا فرخی‌نژاد[۱]، مهدی مهرابی‌کوشکی[۱،۲]✉

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

چکیده

گیاه کلزا میزبان تعداد زیادی عوامل قارچی بیماری‌زا و غیربیماریزا از جمله گونه‌های جنس *Fusarium* است. در طول سال‌های ۹۸-۹۶، ۴۰ نمونه گیاهی کلزا با علایم زردی، پژمردگی و پوسیدگی ریشه در استان خوزستان جمع‌آوری گردید، از این نمونه‌ها، ۳۵ جدایه *Fusarium* روی محیط کشت سیب‌زمینی-دکستروز-آگار (PDA) بدست آمد. ده جدایه از آن‌ها بر اساس شکل پرگنه و کنیدیوم‌ها انتخاب و بر اساس تجزیه‌وتحلیل فیلوژنیکی و ویژگی‌های ریخت‌شناختی شناسایی شدند. دو ناحیه فاصله انداز رونویسی شونده داخلی (ITS-rDNA) و ژن کدکننده فاکتور تداوم ترجمه (*tef1*) توالی‌یابی و در جستجوی بلاست و تجزیه‌وتحلیل تبارزایی با استفاده از الگوریتم درست‌نمایی بیشینه و استنباط بیژین استفاده شدند. بر اساس آن *Fusarium acuminatum*، *F. clavum*، *F. gracilipes*، *F. incarnatum* و *F. tanahbumbuense* و یک گونه نماینده دودمان جدید شناسایی شدند. بر اساس دانش ما، این اولین گزارش گونه‌های *F. acuminatum*، *F. clavum*، *F. gracilipes*، *F. incarnatum* و *F. tanahbumbuense* روی کلزا در ایران است. همچنین گونه *F. gracilipes* برای میکوبیوتای ایران جدید است.

کلمات کلیدی: کمپلکس FIESC، ریخت‌شناسی، تبارزایی مولکولی، دودمان

Identification of *Fusarium* species associated with root rot symptoms of the rapeseed in Khuzestan province

Received: 25 July 2020 Revised: 2 Oct 2020 Accepted: 3 Jan 2021

Ozra Nemati Mondanipour[1], Reza Farokhinejad[1], Mehdi Mehrabi-Koushki[1, 2]✉

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

Abstract

Rapeseed is a host for a large number of pathogenic and non-pathogenic fungi, including *Fusarium* species. During 2018–2020, 40 rapeseed samples showing yellowing, wilting and rootrot symptions were collected from different areas in Khuzestan province, which led to the isolation of 35 *Fusarium* isolates on potato-dextrose-agar (PDA). Ten isolates were selected based on the shape of the colonies and conidia and identified according to phylogenetic analysis and morphological features. For molecular study, two regions including the internal transcribed spacer nuclear ribosomal DNA region (ITS) and translation elongation factor 1-α gene (*TEF1*) were amplified and sequenced. These sequences were analyzed by phylogenetic analysis using maximum likelihood and Bayesian inference algorithms. Accordingly, *F. acuminatum*, *F. clavum*, *F. gracilipes*, *F. incarnatum* and *F. tanahbumbuense*, and a representative species of the new lineage were identified. To our knowledge, this is the first report of *F. acuminatum*, *F. clavum*, *F. gracilipes*, *F. incarnatum* and *F. tanahbumbuense* on rapeseed in Iran. Moreover, *F. gracilipes* is a new record for the mycobiota of Iran.

Keywords: FIESC complex, Lineage, Molecular phylogeny, Morphology

How to cite:
Nemati Mandanipour O, Farokhinejad R, Mehrabi-Koushki M, 2021. Identification of *Fusarium* species associated with root rot symptoms of the rapeseed in Khuzestan Province. *Journal of Applied Research in Plant Protection* 10 (1): 29–44.

مقدمه

گیاه کلزا با نام علمی *Brassica napus* L. گیاهی از تیره شب بو و از جنس کلم است. این محصول، پس از سویا و نخل روغنی، سومین منبع تأمین روغن گیاهی در دنیا محسوب می‌شود و حدود ۷/۱۴ درصد کل تولید روغن گیاهی جهان را به خود اختصاص داده است (Khojehpour 2006). در سال زراعی ۹۷-۱۳۹۶، سطح زیرکشت کلزا در کشور حدود ۱۹۰ هزار هکتار برآورد شده که حدود ۱۸ هزار هکتار از آن مربوط به استان خوزستان است (Ahmadi *et al.* 2019).

از بیماری‌های مهم قارچی کلزا در جهان می‌توان به پوسیدگی اسکلروتینیایی (*Sclerotinia sclerotiorum* (Lib.) de Bary)، ریشه گرزی (*Plasmodiophora brassicae* Woronin)، ساق سیاه (*Plenodomus lingam* (Tode) Höhn.)، لکه برگی آلترناریایی (*Alternaria brassicae* (Berk.) Sacc. و *A. brassicicola* (Schwein.) Wiltshire)، زنگ سفید (*Albugo candida* (Pers. ex JF Gmel.) Roussel) و سفیدک دروغی (*Hyaloperonospora parasitica* (Pers.) Constant.) اشاره کرد (Neik *et al.* 2017). پوسیدگی‌اسکلروتینیایی ساقه با عامل قارچی *S. sclerotiorum* یکی از خسارت‌زاترین بیماری‌های کلزا به ویژه در استان‌های شمال کشور است. در ایران Larki & Farokhinejad (2015) چندین گونه از جنس *Fusarium* از جمله گونه‌های *F. equiseti* (Corda) Sacc.، *F. solani* (Mart.) Sacc، *F. semitectum* Berk & Ravenel، *F. chlamidosporum* Wollenw & Reinking، *F. nygamai* LW Burgess & Trimboli، *F. heterosporum* Nees & T Nees، *F. oxysporum* Schltdl. و *F. verticillioides* (Sacc) Nirenberg را از ریشه و طوقه کلزای خوزستان جداسازی و شناسایی کردند. Nasrisfahani *et al.* (2009) پنج گونه متعلق به جنس *Fusarium* شامل *F. solani*، *F. heterosporum*، *F. lateritium* Ness، *F. oxysporum* و *F. culmorum* (Wm G. Sm.) Sacc. و *Rhizoctonia solani* JG Kühn را از مزارع کلزای اصفهان جداسازی کردند. Nouran *et al.* (2008) گونه *Alternaria raphani* JW Groves & Skolko را از برگ کلزا در استان‌های خوزستان و آذربایجان‌غربی جداسازی و گزارش کردند. Naseripour *et al.* (2008) گونه‌های *A. alternata* (Fr.) Keissl.، *A. brassicicola*، *A. arborescens* EG Simmons، *A. infectoria* EG Simmons، *A. japonica* Yoshii و *A. tenuissima* (Kunze) Wiltshire را از برگ گیاه کلزا در مزارع خوزستان و کرمانشاه جداسازی کردند. Lange & Mclaren (2000) دو گونه *F. oxysporum* و *F. avenaceum* (Fr.) Sacc. را بعنوان عوامل ایجادکننده پژمردگی کلزا در کانادا گزارش کردند. Gaetan (2005) گونه *F. oxysporum* f. sp. *conglutinans* WC Snyder & HN Hansen را از ریشه گیاهان بیمار کلزا در آرژانتین جداساز کرد و علائم بیماری را بافت‌مردگی نکروتیک، زردی، کوتولگی، پژمردگی و عدم رشد ریشه بیان کرد. Li *et al.* (2007) گونه *F. acuminatum* Ellis & Everh. را به عنوان بیمارگر کلزا در استرالیا، که به ریشه‌های گیاهچه و گیاه بالغ کلزا حمله کرده و خسارت وارد می‌کند، گزارش کردند. بر اساس داده‌های گردآوری شده دردسترس از میزبان‌های قارچی (Farr & Rossman 2020)، تا کنون گونه‌های *F. acuminatum*، *F. avenaceum*، *F. culmorum*، *F. equiseti* (FIESC)، *F. oxysporum*، *F. oxysporum* f. sp. *conglutinans*، *F. redolens* Wollenw، *F. roseum* Link، *F. solani* و *F. torulosum* (Berk. & MA Curtis) Nirenberg از گیاه کلزا گزارش شده است.

با افزایش سطح کشت کلزا در کشور و ازجمله استان خوزستان (Ahmadi *et al.* 2019) و از آن جایی که این گیاه مورد حمله بیمارگرهای زیادی قرار می‌گیرد، این مطالعه جهت تشخیص گونه‌های مختلف *Fuarium* همراه علایم مختلف گیاه کلزا در استان خوزستان صورت گرفت. در این بررسی، گونه‌های *Fusarium* با استفاده از روش‌های مبتنی بر تجزیه و تحلیل ناحیه‌های ژنی و مقایسه ریخت‌شناختی شناسایی شدند.

مواد و روش‌ها

جمع‌آوری نمونه، جداسازی و خالص‌سازی جدایه‌های قارچی

طی سال‌های ۱۳۹۸-۱۳۹۶، در مراحل مختلف رشدی کلزا از مزارع کلزای استان خوزستان (شامل شهرستان‌های امیدیه، اندیمشک، اهواز، ایذه، الهایی، بستان، بهبهان، جایزان، خرمشهر، دارخوین، دزفول، سوسنگرد، شادگان، شبیشیه، شوش، شوشتر، شیبان، صفی‌آباد، گتوند، لالی، مسجدسلیمان، ملاثانی و ویس) بازدید شد و اندام‌های برگ، ساقه، ریشه و گل با علایم مشکوک به بیماری‌ها جمع‌آوری گردید. جداسازی قارچ‌ها بر اساس روش‌های متداول انجام شد (Heidari *et al.* 2018a; Larki *et al.* 2019). قطعاتی از مرز بافت آلوده و سالم

تهیه و با هیپوکلریت سدیم یک درصد بسته به نوع بافت بین یک تا دو دقیقه ضدعفونی سطحی شدند؛ در ادامه با آب مقطر سترون سه مرحله شستشو داده شده و روی کاغذ صافی خشک شدند. قطعات روی محیط کشت سیب‌زمینی-دکستروز- آگار (Potato Dextrose Agar, PDA) حاوی ۵۰-۳۰ میلی‌گرم در لیتر آنتی‌بیوتیک سولفات استرپتومایسین قرار داده شد و در دمای ۰/۵ ± ۲۸ در داخل انکوباتور نگهداری شدند. پس از حداکثر ده روز، جدایه‌های *Fusarium* رشدیافته به محیط جدید منتقل و به روش تک اسپور کردن خالص-سازی شدند (Ainsworth 1971; Babaahmadi *et al.* 2018). جدایه‌های قارچی در مجموعه کشت‌های زنده قارچی در دانشگاه شهید چمران اهواز (SCUA) ذخیره شدند.

شرایط رشدی و بررسی‌های ریخت‌شناختی

مشخصات پرگنه‌ها روی محیط‌کشت PDA و برگ میخک-آگار (Carnation Leaf Agar, CLA) در دمای ۰/۵ ± ۲۸ درجه سلسیوس و تناوب نوری ۱۲ ساعت روشنایی و ۱۲ ساعت تاریکی، به مدت حداکثر هشت روز بررسی شدند (Wang *et al.* 2019; Xia *et al.* 2019). شکل و اندازه کنیدیوم‌ها و کلامیدوسپورها با استفاده از یک میکروسکوپ نوری (مدل Leitz Wetzalar, SM-LUX) بررسی شدند. اندازه‌گیری‌ها در یک دامنه کمینه – بیشینه، ۹۵ درصد حدود اطمینان و میانگین اندازه‌ها با انحراف معیار برای هر ساختار تعیین شدند. کشت‌های روی اسلایدهای میکروسکوپی (Slide Culture جهت تهیه تصاویر مناسب بر اساس دستورالعمل Beneke & Rogers (1996) انجام شد. تصاویر با استفاده از یک میکروسکوپ نوری (OLYMPUS BX51) متصل به یک دوربین دیجیتال (OLYMPUS DP12) تهیه شد.

تولید زیست‌توده، استخراج DNA و تکثیر ناحیه‌های ژنی

جدایه‌های مورد مطالعه داخل فلاسک‌های ارلن مایر حاوی محیط کشت مایع سیب‌زمینی- دکستروز بروث (Potato Dextrose Broth, PDB) در دمای ۲۸-۲۵ درجه سلسیوس و تاریکی مطلق شیکرانکوباتور رشد یافتند. زیست‌توده میسیلیومی پس از فیلتراسیون با کاغذ صافی جمع‌آوری و در دستگاه فریزدرایر (Freez-Dryer, Alpha 1-2LD Plus, Christ) خشک‌انجمادی گردید، سپس در ازت مایع پودر و تا هنگام استخراج DNA در فریزر ۲۰- نگهداری شدند. استخراج DNA با استفاده از روش Reader & Broda (1985) با اندکی تغییر انجام شد (Ahmadpour *et al.* 2017).

برای تکثیر ناحیه ITS از جفت‌آغازگر عمومی ITS1 و ITS4 (White *et al.* 1990) استفاده شد. تکثیر بخشی از ژن کدکننده فاکتور تداوم ترجمه (*tef1*) برای جدایه‌های *Fusarium* با استفاده از از جفت آغازگر Tef71-F و Tef997-R (Shoukouhi & Bissett 2008) انجام شد. مخلوط واکنش زنجیره‌ای پلی‌مراز (PCR)، چرخه و رژیم حرارتی جهت تکثیر این ناحیه‌های ژنی بر اساس مطالعات قبلی انجام شد (Mehrabi-Koushki *et al.* 2016; Heidari *et al.* 2018b).

توالی‌یابی و تجزیه و تحلیل تبارزایی

محصولات PCR با استفاده از آغازگرهای مورد استفاده در تکثیر توسط آزمایشگاه ژنتیک نرگس (اهواز) و کدون- ژنتیک (تهران) توالی‌یابی شدند. ویراستاری و رجبندی توالی‌های پیشرو و معکوس با استفاده از نرم‌افزارهای BioEdit ver 4.0.6.2 (Hall 1999) و DNA Baser ver3.5.0 (www.DnaBaser.com) انجام شد. توالی‌های به‌دست آمده در این مطالعه تحت شماره‌های دسترسی ذکر شده در جدول ۱ در بانک ژن NCBI ثبت شدند.

درخت تبارزایی دوژنی بر اساس ترکیب دو ناحیه ITS و *tef1* (ITS-*tef1*) با استفاده از الگوریتم درست‌نمایی بیشینه با کمک نرم‌افزار raxmlGUI 2.0 beta (Edler *et al.* 2019) تحت مدل جانشینی نوکلئوتیدی GTR + G رسم شدند. برای تعیین ارزش کلادها در این نرم‌افزار ۱۰۰۰ بار نمونه‌گیری کاذب جهت بدست آوردن شاخص‌های بوت استرپ (BS) انجام شد. برای درختان دوژنی، تجزیه و تحلیل الگوریتم استنباط بیژین (Bayesian inference) با کمک نرم‌افزار MrBayes v.3.2.6 (Ronquist *et al.* 2012) بصورت یک بسته نوکلئوتیدی دو ناحیه‌ای اما خردشده (Partitioned analysis) انجام شد. بهترین مدل جانشینی نوکلئوتیدی برای هر ناحیه با استفاده از نرم‌افزار jModelTest 2 (Darriba *et al.* 2012) تعیین شد.

جهت تجزیه و تحلیل بسته ITS-*tef1*، بهترین مدل برای ITS و *tef1* به ترتیب TrNef + I (SYM + I) و TIM2ef + I (GTR + I + G) + G بود. شاخص‌های Bayesian Posterior Probability (BPP) بر اساس یک تنظیم پیش‌فرض بعد از حذف ۲۵ درصد درختان اولیه محاسبه شد.

جدول ۱. شماره دسترسی به توالی‌های ITS و *tef1α* جدایه‌های مورد بررسی در بانک ژن NCBI.

Table 1. Accession numbers of the ITS and *tef1α* sequences in GenBank (NCBI) belonging to the isolates under survey.

Species	Culture accession no.	GenBank accession no.	
		ITS	*tef1α*
Fusarium acuminatum	SCUA-Nem-H4	MN633385	MN635674
Fusarium sp. (FIESC)	IRAN 3498C; SCUA-Nem-A10	MN633379	MN633379
F. clavum (FIESC 5)	SCUA-Nem-JA	MN633387	MN635675
F. clavum (FIESC 5)	SCUA-Nem-JB	MN633386	MN635676
F. gracilipes (FIESC 13)	SCUA-Nem-B3	MN633380	MN633380
F. incarnatum (FIESC 23)	SCUA-Nem-F1	MN633381	MN635670
F. incarnatum (FIESC 23)	SCUA-Nem-F2	MN633382	MN635672
F. incarnatum (FIESC 23)	SCUA-Nem-F8	MN633383	MN635673
F. incarnatum (FIESC 23)	SCUA-Nem-F12	MN633384	MN635671
F. tanahbumbuense (FIESC 24)	SCUA-Nem-A6	MN633378	MN635668

نتایج و بحث

۴۰ نمونه گیاهی کلزا با علایم زردی، پژمردگی و پوسیدگی ریشه در استان خوزستان جمع‌آوری گردید، از این نمونه‌ها، ۳۵ جدایه *Fusarium* روی PDA بدست آمد که شامل ۳۰ درصد از کل جدایه‌های قارچی بدست آمده بود. تعداد ۱۰ جدایه از آن‌ها بر اساس شکل پرگنه و کنیدیوم‌ها انتخاب و بر اساس تجزیه‌وتحلیل تبارزایی و ریخت‌شناختی شناسایی شدند. واکنش زنجیره‌ای پلی‌مراز با جفت آغازگرهای ITS1/ITS4 و Tef71-F/Tef997-R به ترتیب منجر به ایجاد قطعات تکثیری حدود ۵۰۰ و ۹۰۰ جفت باز شدند. طول توالی همراستا شده جهت ترسیم درخت تبارزایی (شکل ۱) با احتساب گپ‌ها ۱۰۳۰ جفت‌باز (ITS: ۴۴۵ جفت باز و *tef1*: ۵۸۵ جفت‌باز) بود. در این مطالعه، *F. acuminatum* و پنج گونه تبارزایی در کمپلکس *Fusarium incarnatum-equiseti* species complex (FIESC)، شناسایی شدند. جزئیات بررسی ریخت‌شناسی و مولکولی هرگونه به تفکیک آورده شده است.

۱- گونه *Fusarium acuminatum* Ellis & Everh., Proceedings of the Academy of Natural Sciences of Philadelphia 47: 441 (1895)

جدایهSCUA-Nem-H4 از ریشه گیاهچه کلزا (شوشتر) با علایم پژمردگی و پوسیدگی ریشه و طوقه جداسازی شد (شکل ۲). قطر پرگنه روی PDA در تاریکی و دمای ۰/۵ ± ۲۸ درجه سلسیوس بعد از هشت روز ۳۲ میلی‌متر اندازه‌گیری شد. سطح رویی پرگنه آلبالویی روشن و پنبه‌ای شکل با ریسه‌های سفید رنگ نیمه‌هوایی است. سطح پشتی پرگنه آلبالویی با حاشیه سفید و منظم است. روی PDA، تولید تعداد کمی ماکروکنیدیوم می‌کند اما روی CLA تولید اسپوردوخیوم نارنجی با ماکروکنیدیوم فراوان و تعداد کمی میکروکنیدیوم می‌کند. کنیدیوفورها به صورت منوفیالید تشکیل می‌شوند. ماکروکنیدیوم‌ها بی‌رنگ، خمیده با ۵-۳ دیواره عرضی، سلول پایه‌ای پاشنه‌ای و سلول انتهایی باریک و منقاری شکل و خمیده است. ماکروکنیدیوم‌ها ۴/۳۲–۲/۱۶ × ۳۳/۴۸–۱۷/۲۸ میکرومتر، میانگین با انحراف معیار ۰/۷ ± ۳/۰۷ × ۴/۳۳ ± ۲۵/۰۴ میکرومتر و بازه اطمینان ۹۵ درصد ۳/۶۷–۳/۲۹ × ۲۶/۳–۲۳/۸ میکرومتر است. میکروکنیدیوم‌ها ۳/۲۴–۲/۱۶ (-۱/۶۲) × ۱۶/۲–۴/۳۲ (-۱/۸) میکرومتر، میانگین با انحراف معیار ۰/۲۵ ± ۲/۰۲ × ۳/۳۳ ± ۱۰/۹۸ میکرومتر و بازه اطمینان ۹۵ درصد ۲/۰۹–۱/۹۵ × ۱۱/۹۴–۱۰/۰۲ میکرومتر است (شکل ۲). در درخت تبارزایی مبتنی بر ترکیب دو ناحیه ITS و *tef1* (شکل ۱)، این جدایه با چهار جدایه از گونه *F. acuminatum* خوشه‌بندی شد (BS 97 %, BPP 1.00).

گونه *F. acuminatum* نخستین بار از سیب‌زمینی جداسازی و توصیف شده است (Ellis & Everhart 1895). بیماری‌زایی این قارچ از روی کدوتنبل از امریکا گزارش شده است (Elmer 1996). Li *et al.* (2007) برای اولین بار این گونه را به عنوان بیمارگر کلزا در استرالیا گزارش کردند و اذعان کردند که به ریشه‌های گیاهچه و گیاه بالغ کلزا حمله کرده و

خسارت وارد می‌کند. Lazreg *et al.* (2013) برای اولین بار این قارچ را از نهال کاج مدیترانه (*Pinus halepensis* Mill.) دارای علایم پوسیدگی طوقه از الجزایر جداسازی و اثبات بیماری‌زایی نمودند. Ignjatov *et al.* (2017) برای اولین بار این گونه را از سیرهای انبارشده (با علایم پوسیدگی نرم) در صربستان جداسازی کردند. این گونه در ایران از خربزه (قزوین)، خیار (خرم‌آباد)، آفتابگردان (اصفهان)، گلرنگ (کرمانشاه) و چغندر و یونجه (خراسان) گزارش شده است (Ershad 2009). همچین توسط Irani & Ravanlou (2006) از ریشه و طوقه گندم در استان آذربایجان‌غربی، Sharifi *et al.* (2016) از دو استان گلستان و مازندران از خوشه‌های گندم دارای علائم بلایت و Khezrinejad & Reza-Danesh (2017) از ریشه و طوقه گندم و جو از ارومیه و میاندوآب جداسازی گردید. این اولین گزارش جداسازی گونه *F. acuminatum* روی کلزا از ایران است.

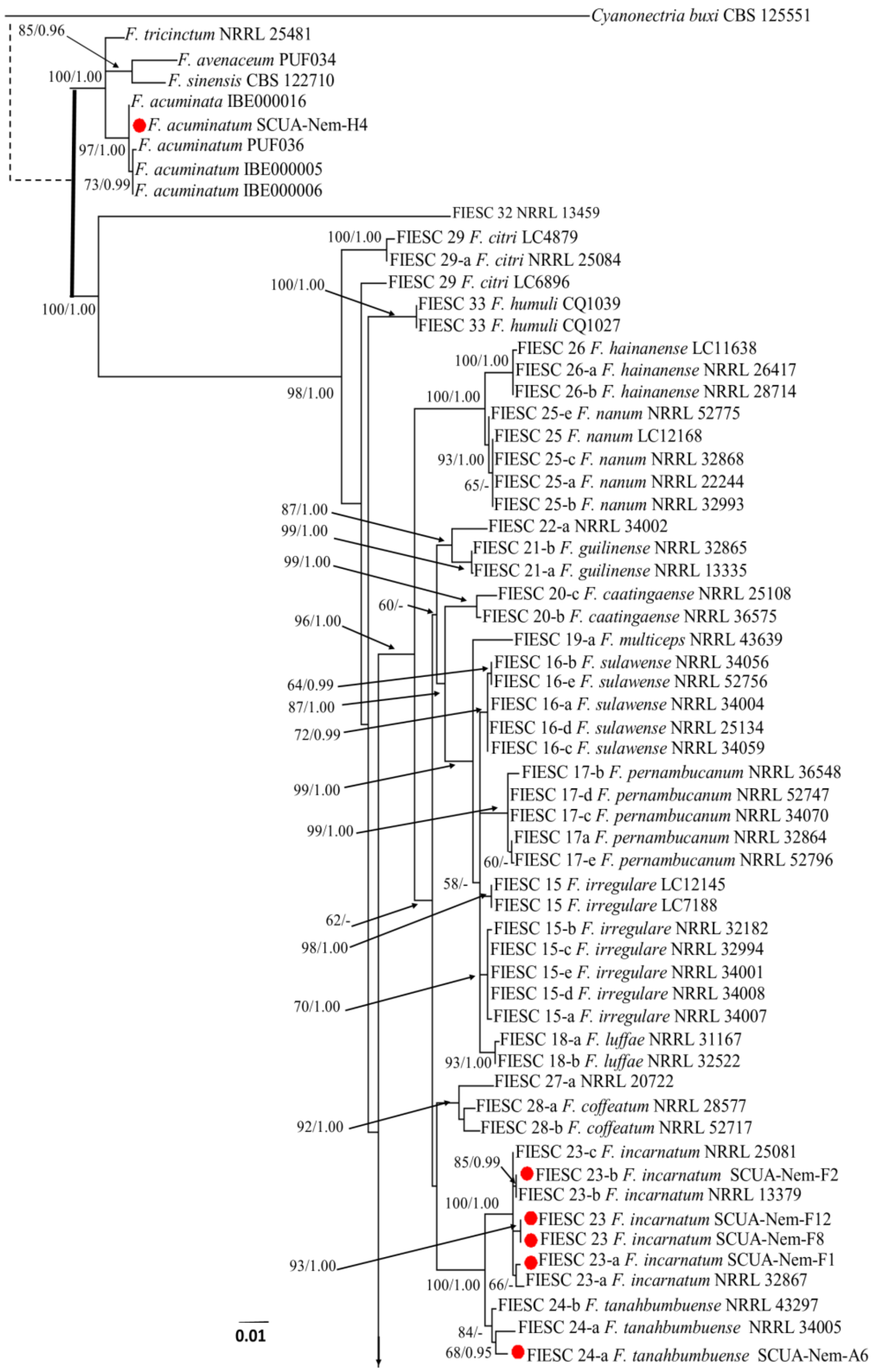
۲--*Fusarium clavum* JW Xia, L Lombard, Sand-Den., XG Zhang & Crous, Persoonia 43: 199

دو جدایه از این گونه با نام‌های SCUA-Nem-JB و SCUA-Nem-JA از ریشه گیاهچه کلزا با علایم زردی برگ‌ها و پوسیدگی ریشه از جایزان جداسازی شدند (شکل ۳). قطر پرگنه‌ها روی PDA در تاریکی و دمای ۰/۵ ± ۲۸ درجه سلسیوس بعد از چهار روز ۷۲ میلی‌متر اندازه‌گیری شد. سطح رویی پرگنه‌ها سفید با حاشیه منظم و سطح زیری کرم مایل به زرد است. رشد ریسه‌ها نیمه هوایی است و حالت کرکی دارند. ریسه‌های هوایی کلامیدوسپورهای فراوانی تولید می‌کنند. روی PDA فقط تولید کلامیدوسپور می‌کنند. کلامیدوسپورها فراوان، کروی، بی‌رنگ، انتهایی یا میانی، انفرادی یا به صورت زنجیره‌ای است. روی CLA به سرعت تولید ماکروکنیدیوم و کلامیدوسپور می‌کند. ماکروکنیدیوم‌ها توسط سلول‌های کنیدیوم‌زایی منوفیالید تولید می‌شوند. ماکروکنیدیوم‌ها بی‌رنگ، دارای ۳-۱ دیواره عرضی و معمولاً ۴ سلولی با دیواره صاف و نازک، داسی شکل، سلول انتهایی دارای لبه ضخیم و سلول پایه دارای شکاف می‌باشد، در این گونه میکروکنیدیوم مشاهده نشد. ماکروکنیدیوم‌ها دارای ابعاد (۴/۳۲-) ۳/۲۴–۲/۱۶ × ۲۹/۱۶–۱۴/۰۴ میکرومتر، میانگین با انحراف معیار ۰/۵۵ ± ۲/۷۶ × ۴/۱۹ ± ۲۰/۷۱ میکرومتر و بازه اطمینان ۹۵ درصد ۲/۹۲–۲/۶ × ۲۱/۹–۱۹/۵۲ میکرومتر است. کلامیدوسپورها (۲۳/۹۴-) ۱۵/۹۶–۷/۹۸ × (۲۶/۶-) ۱۷/۲۹–۱۰/۱ میکرومتر، میانگین با انحراف معیار ۲/۶۲ ± ۱/۱۸ × ۲/۴۸ ± ۱۴/۲۴ میکرومتر و بازه اطمینان ۹۵ درصد ۱۲/۵۵–۱۱/۰۶ × ۱۴/۹۴–۱۳/۵۳ میکرومتر است (شکل ۳). در درخت تبارزایی مبتنی بر ترکیب دو ناحیه ITS و tef1 (شکل ۱)، جدایه‌های تحت‌مطالعه با پنج زیرگروه تبارزایی گونه *F. clavum* خوشه‌بندی شدند (BS 98 %, BPP 1.00).

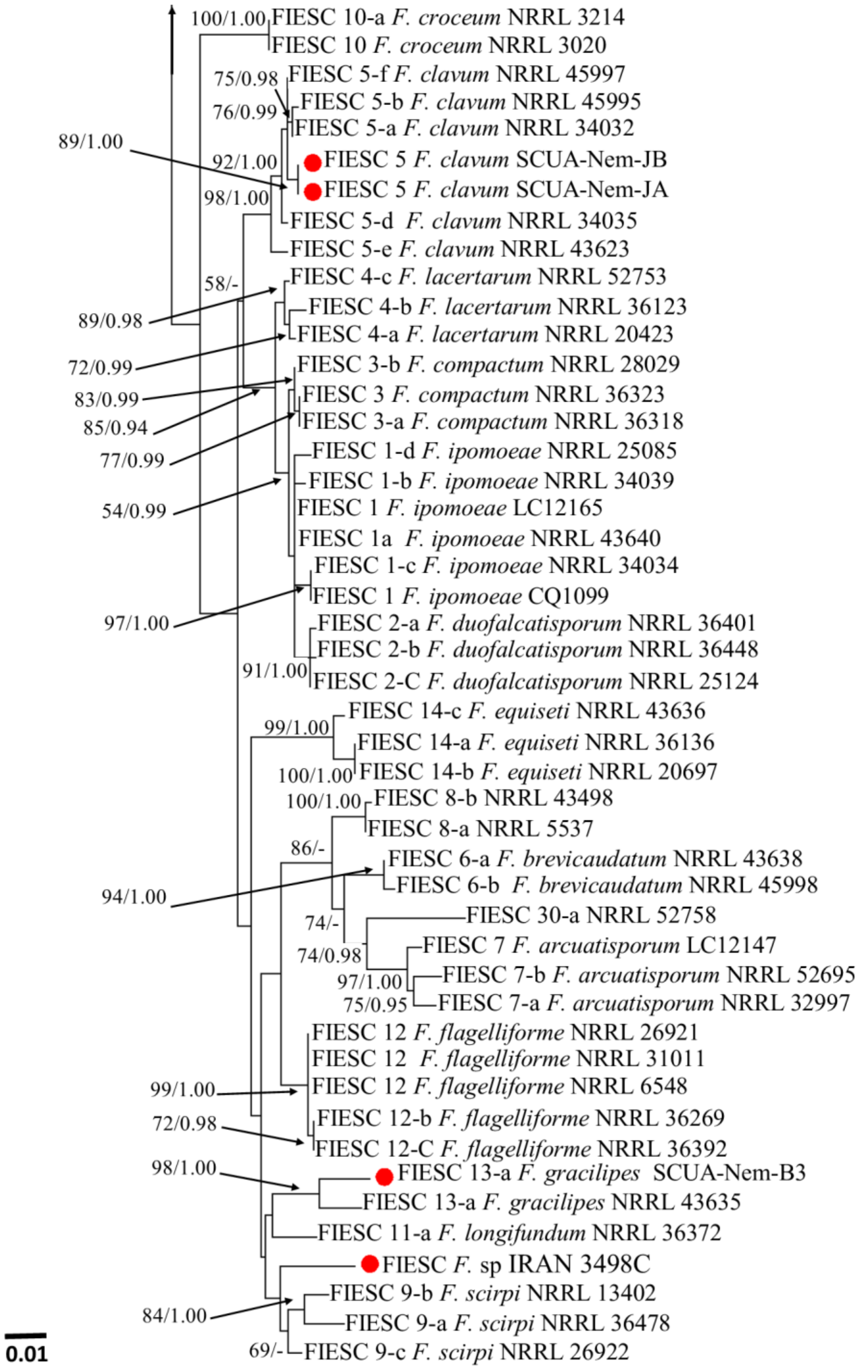
گونه *F. clavum* در سال ۲۰۱۹ برای دودمان FIESC 5 معرفی و از نمونه‌های محیطی، گیاهان و انسان جداسازی شده است ازجمله خاک بیابانی در نامیبیا، گیاهان *Diplotaxis tenuifolia* (L.) DC.، *Lactuca sativa* L.، *Spinacia oleracea* L. و *Valerianella locusta* L. در ایتالیا، بذر *Disphyma crassifolium* L.Bolus در آلمان، برگ *Solanum tuberosum* L. در روسیه و آبسه انسان در آمریکا (Xia et al. 2019; Farr & Rossman 2020). در ایران، این گونه از *Leucopoa sclerophylla* (Boiss. ex Bisch.) VI Krecz. & Bobrov، *Phalaris minor* Retz.، *Secale montanum* Guss. و *Triticum* sp. گزارش شده است (Xia *et al.* 2019). این گونه برای اولین بار از کلزا گزارش می‌شود.

۳- گونه *Fusarium incarnatum* (Desm.) Sacc., Syll. Fung. 4: 712. 1886

چهار جدایه از این گونه با کدهای SCUA-Nem-F1 (مسجدسلیمان)، SCUA-Nem-F2 (لالی) و SCUA-Nem-F8 و SCUA-Nem-F12 (دزفول) از ریشه گیاهچه کلزا با علایم زردی، پژمردگی و پوسیدگی ریشه جداسازی شدند (شکل ۴). قطر پرگنه روی PDA در تاریکی و دمای ۰/۵ ± ۲۸ درجه سلسیوس بعد از چهار روز ۶۸ میلی‌متر اندازه گیری شد. در مراحل اولیه رشد رنگ پرگنه در سطح رویی سفید با حاشیه منظم و با افزایش سن سفید مایل به نارنجی است. روی CLA ماکروکنیدیوم‌های فراوان تولید کرد. روی PDA و CLA تولید کلامیدوسپور نکردند. سلول‌های کنیدیوم‌زایی به صورت منوفیالید و پلی‌فیالید نوک تیز تا استوانه‌ای است. ماکروکنیدیوم‌ها بی‌رنگ با دیواره صاف و نازک، داسی و خمیده که به سمت دو انتها باریک می‌شوند، سلول انتهایی صاف و سلول پایه شکاف دار و به صورت پاشنه‌پا است. ماکروکنیدیوم‌ها ۶-۴ سلولی، معمولاً پنج‌سلولی و ابعاد آن‌ها ۴/۳۲–۲/۱۶ × (۳۶/۷۲-)۳۱/۳۲–۱۴/۰۴ (-۱۲/۹۶) میکرومتر، میانگین با انحراف معیار ۰/۴۳ ± ۳/۴۲ × ۴/۸ ± ۲۰/۷۴ میکرومتر و بازه اطمینان ۹۵ درصد ۳/۵۵–۳/۳ × ۲۲/۱۱–۱۹/۳۶ میکرومتر

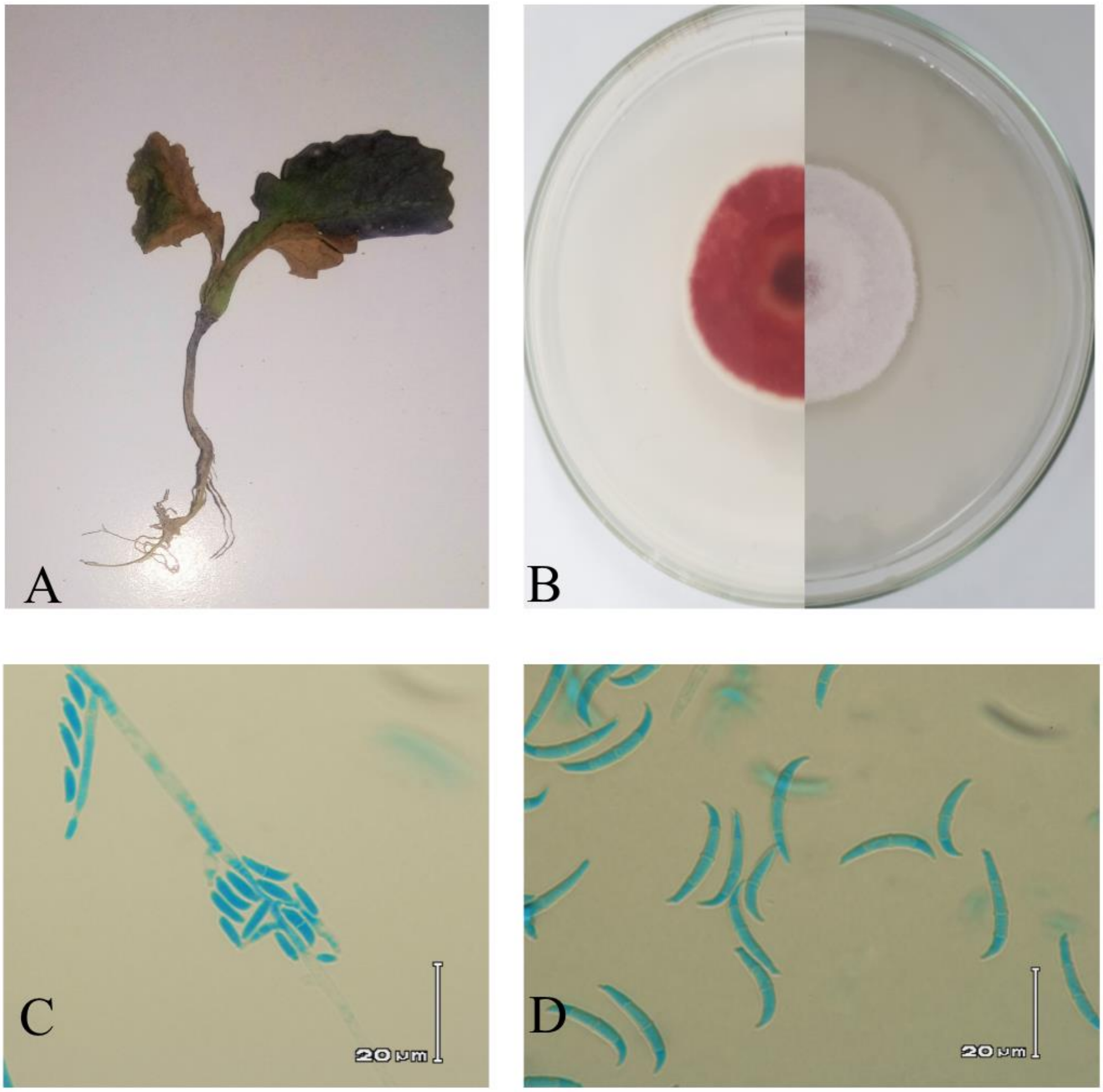


Cyanonectria buxi CBS 125551
F. tricinctum NRRL 25481
F. avenaceum PUF034
F. sinensis CBS 122710
F. acuminata IBE000016
F. acuminatum SCUA-Nem-H4
F. acuminatum PUF036
F. acuminatum IBE000005
F. acuminatum IBE000006
FIESC 32 NRRL 13459
FIESC 29 F. citri LC4879
FIESC 29-a F. citri NRRL 25084
FIESC 29 F. citri LC6896
FIESC 33 F. humuli CQ1039
FIESC 33 F. humuli CQ1027
FIESC 26 F. hainanense LC11638
FIESC 26-a F. hainanense NRRL 26417
FIESC 26-b F. hainanense NRRL 28714
FIESC 25-e F. nanum NRRL 52775
FIESC 25 F. nanum LC12168
FIESC 25-c F. nanum NRRL 32868
FIESC 25-a F. nanum NRRL 22244
FIESC 25-b F. nanum NRRL 32993
FIESC 22-a NRRL 34002
FIESC 21-b F. guilinense NRRL 32865
FIESC 21-a F. guilinense NRRL 13335
FIESC 20-c F. caatingaense NRRL 25108
FIESC 20-b F. caatingaense NRRL 36575
FIESC 19-a F. multiceps NRRL 43639
FIESC 16-b F. sulawense NRRL 34056
FIESC 16-e F. sulawense NRRL 52756
FIESC 16-a F. sulawense NRRL 34004
FIESC 16-d F. sulawense NRRL 25134
FIESC 16-c F. sulawense NRRL 34059
FIESC 17-b F. pernambucanum NRRL 36548
FIESC 17-d F. pernambucanum NRRL 52747
FIESC 17-c F. pernambucanum NRRL 34070
FIESC 17a F. pernambucanum NRRL 32864
FIESC 17-e F. pernambucanum NRRL 52796
FIESC 15 F. irregulare LC12145
FIESC 15 F. irregulare LC7188
FIESC 15-b F. irregulare NRRL 32182
FIESC 15-c F. irregulare NRRL 32994
FIESC 15-e F. irregulare NRRL 34001
FIESC 15-d F. irregulare NRRL 34008
FIESC 15-a F. irregulare NRRL 34007
FIESC 18-a F. luffae NRRL 31167
FIESC 18-b F. luffae NRRL 32522
FIESC 27-a NRRL 20722
FIESC 28-a F. coffeatum NRRL 28577
FIESC 28-b F. coffeatum NRRL 52717
FIESC 23-c F. incarnatum NRRL 25081
FIESC 23-b F. incarnatum SCUA-Nem-F2
FIESC 23-b F. incarnatum NRRL 13379
FIESC 23 F. incarnatum SCUA-Nem-F12
FIESC 23 F. incarnatum SCUA-Nem-F8
FIESC 23-a F. incarnatum SCUA-Nem-F1
FIESC 23-a F. incarnatum NRRL 32867
FIESC 24-b F. tanahbumbuense NRRL 43297
FIESC 24-a F. tanahbumbuense NRRL 34005
FIESC 24-a F. tanahbumbuense SCUA-Nem-A6
0.01



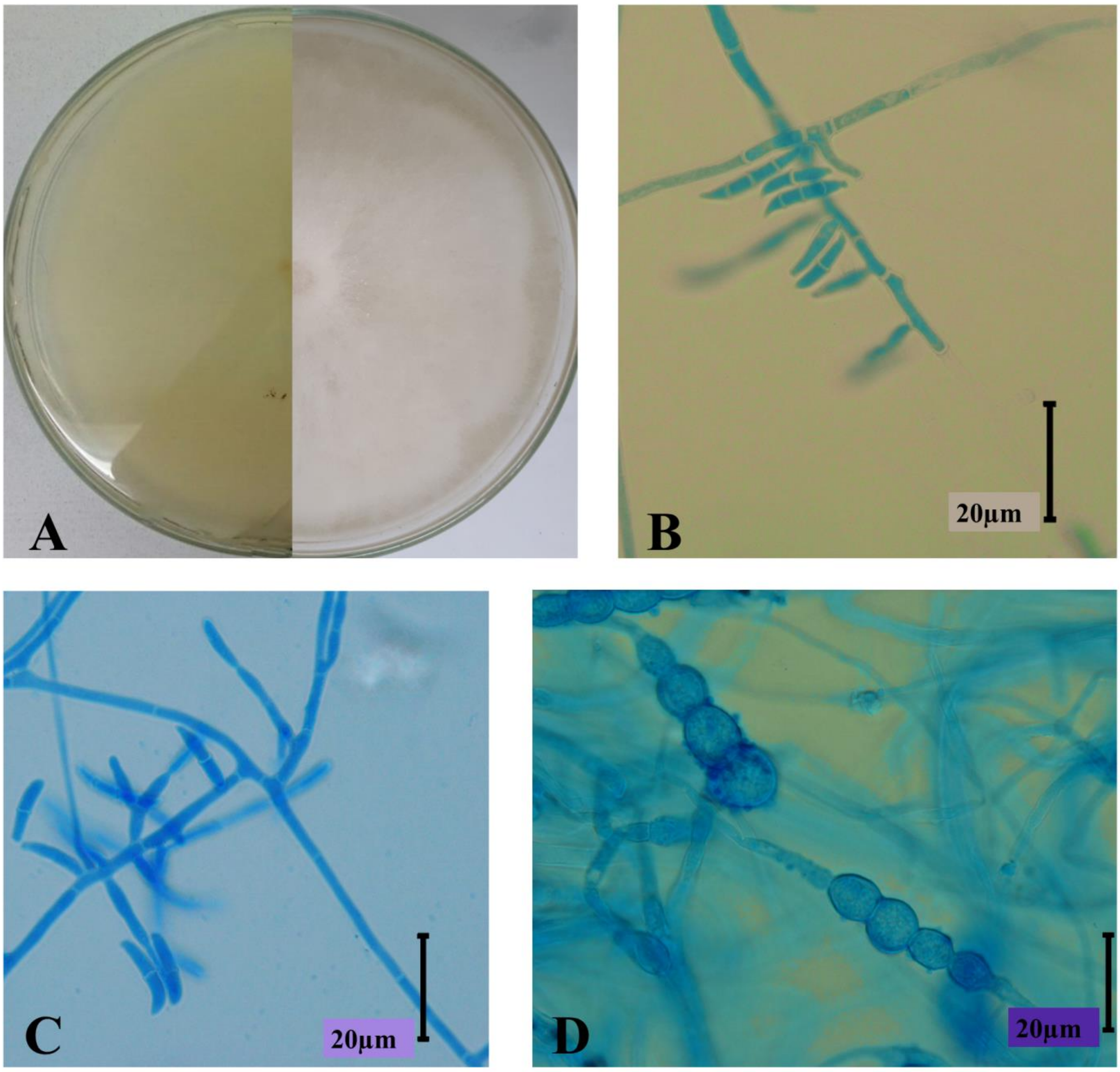
شکل ۱. درخت تبارزایی دو ژنی بر اساس توالی ناحیه ITS و ژن *tef1* جدایه‌های مورد مطالعه و انتخاب شده *Fusarium* از بانک ژن، ترسیم شده با استفاده از دو الگوریتم درست‌نمائی بیشینه و استنباط بیژین. جدایه‌های مورد بررسی با دایره توپر قرمز نشان داده شده است. ارزش بوت استرپ زیر ۵۰٪ و شاخص BPP کمتر از ۰/۹۵ حذف شده است. درخت با استفاده از سویه *Cyanonectria buxi* CBS 125551 ریشه‌دار شده است.

Figure 1. Two-locus phylogenetic tree based on ITS and *tef1* sequences of *Fusarium* isolates under study and selected from GenBank, constructed usiدg two maximum likelihood and Bayesian inference algorithms. The isolates under survey were indicated with red-color filled circles. Bootstrap values lower than 50% and Bayesian posterior probability values lower than 0.95 have been deleted. The tree was rooted with *Cyanonectria buxi* CBS 125551.



شکل ۲. گونه *Fusarium acuminatum*. **A**. علایم پوسیدگی ریشه گیاهچه کلزا، **B**. پرگنه هشت روزه رشدیافته روی PDA، **C**. کنیدیوفورها، فیالیدها و میکروکنیدیوم‌ها، **D**. ماکروکنیدیوم‌ها.

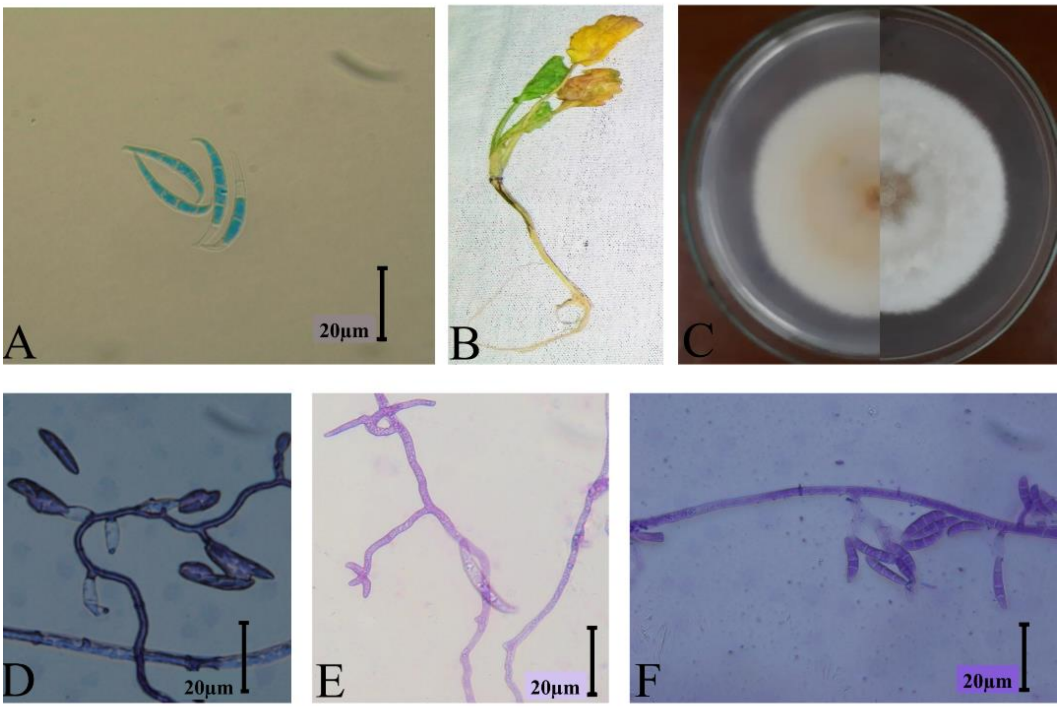
Figure 2. *Fusarium acuminatum*. **A**. Root rot symptoms of the canola seedling, **B**. 8-days colony grown on PDA, **C**. Conidiophores, phialides and microconidia, **D.** Macroconidia.



شکل ۳. گونه *Fusarium clavum*. **A.** پرگنه پنج‌روزه رشدیافته روی PDA، **B–C.** کنیدیوفورها، فیالیدها و ماکروکنیدیوم‌ها، **D.** کلامیدوسپورهای زنجیره‌ای.

Figure 3. *Fusarium clavum*. **A.** 5-days colony grown on PDA, **B-C.** Conidiophores, phialides and conidia, **D.** Catenulate chlamydospores.

است (شکل ۴). در درخت تبارزایی مبتنی بر ترکیب دو ناحیه ITS و *tef1* (شکل ۱)، جدایه‌های SCUA-Nem-F1 و SCUA-Nem-F2 به ترتیب با دو زیرگروه تبارزایی FIESC 23-a (BS 66 %) و FIESC 23-b (BS 85 %, BPP 0.99) همراه شده و در شاخه تکاملی گونه *F. incarnatum* قرار گرفتند (BS 100 %, BPP 1.00). در این شاخه تکاملی، جدایه‌های SCUA-Nem-F8 و SCUA-Nem-F12 یک زیرگروه تبارزایی جدید ایجاد کردند (BS 93 %, BPP 1.00) ولی تفاوت ریخت‌شناختی خاصی بین این زیرگروه‌ها مشاهده نشد.گونه *F. incarnatum* در سال 1886 معرفی شد و اخیرا بعنوان نماینده دودمان FIESC 23 شناخته می‌شود (Xia *et al.* 2019). گونه *F. incarnatum* از گیاهان مختلف در جهان جداسازی شده است که از آن‌جمله می‌توان به گیاهان *Oryza sativa* L. در هند، *Trichosanthes dioica* Roxb. در فرانسه، *Tagetes erecta* L. در مالاوی و *Triticum* sp. در ایران اشاره کرد (Xia *et al.* 2019; Farr & Rossman 2020). این گونه همچنین از گونه‌های مختلف جنس *Brassica* (شامل *B. campestris* L.، *B. juncea* (L.) Czern. و *B. oleracea* L.) جداسازی شده ولی تا کنون از گیاه کلزا (*B. napus*) گزارش نشده است.



شکل ۴.گونه *Fusarium incarnatum*. **A**. ماکروکنیدیوم‌ها، **B**. علایم پوسیدگی ریشه گیاهچه کلزا، **C**. پرگنه چهارروزه رشدیافته روی PDA، **F**-**D**. کنیدیوفورها، فیالیدها و میکروکنیدیوم‌ها.

Figure 4. *Fusarium incarnatum*. **A**. Macroconidia, **B**. Root rot symptoms of the canola seedling, **C**. 4-days colony grown on PDA, **D**- **F**. Conidiophores, phialides and microconidia.

۴- گونه *Fusarium gracilipes* JW Xia, L Lombard, Sand.-Den., XG Zhang & Crous, Persoonia 43: 205

جدایه SCUA-Nem-B3 از ریشه کلزا (جایزان) با علایم خشکیدگی جداسازی شد (شکل ۵). قطر پرگنه‌ها روی PDA در تاریکی و دمای ۰/۵ ± ۲۸ درجه سانتی‌گراد بعد از پنج روز، ۷۱ میلی‌متر اندازه گیری شد. پرگنه در سطح رویی سفید با حاشیه منظم و در سطح پشتی تشتک پتری کرم رنگ است. ریسه‌ها رشد هوایی و حالت پنبه‌ای دارند ولی در حاشیه فرورفته در محیط هستند. روی PDA، هیچ نوع کنیدیومی تولید نکردند اما کلامیدوسپور فراوان تشکیل دادند. کلامیدوسپورها گرد تا نیمه کروی، انتهایی یا میانی و به صورت تکی یا زنجیری است. در محیط CLA به وفور تولید اسپوردوخیوم نارنجی می‌کنند. ماکروکنیدیوم‌ها روی منوفیالیدهای نوک تیز تا نوک سیلندری با یک شعله کوتاه تولید می‌شوند. ماکروکنیدیوم‌ها بی‌رنگ، بلند که به سمت دو انتها باریک می‌شوند. سلول انتهایی باریک و شکاف‌دار و سلول پایه به شکل پاشنه پا است. ماکروکنیدیوم‌ها دارای ۶-۳ دیواره عرضی و عمدتاً با ۵ دیواره عرضی با ابعاد ۴/۳–۲/۱۶ × ۳۲/۴– ۱۵/۲ (-۹/۲۷) میکرومتر، میانگین با انحراف معیار ۰/۶۲ ± ۳/۴۵ × ۴/۴ ± ۲۳/۶۱ میکرومتر و بازه اطمینان ۹۵ درصد ۳/۲۸–۳/۶۲ × ۲۲/۳۸–۲۴/۸ میکرومتر است (شکل ۵). در درخت تبارزایی مبتنی بر ترکیب دو ناحیه ITS و *tef1* (شکل ۱)، این جدایه در یک شاخه تکاملی با گونه *F. gracilipes* (FIESC 13) خوشه‌بندی شد (BS 93 %, BPP 1.00).

گونه *F. gracilipes* در سال ۲۰۱۹ فقط بر اساس بررسی یک سویه که نماینده دودمان FIESC 13 بود، معرفی شد. این گونه تا کنون فقط از اسب جداسازی شده است و این اولین گزارش آن از یک گیاه است و همچنین برای اولین بار برای میکوبیوتای ایران گزارش می‌شود.

۵- گونه *Fusarium sp.*

جدایه IRAN 3498C از ریشه کلزا (امیدیه) با علایم پوسیدگی جداسازی شد (شکل ۶). قطر پرگنه روی PDA در تاریکی و دمای ۰/۵ ± ۲۸ درجه سانتی‌گراد بعد از پنج روز، ۶۵ میلی‌متر اندازه‌گیری شد. پرگنه در سطح رویی سفید و در سطح پشتی کرم رنگ است. روی محیط کشت PDA تولید

ریسه‌های با دیواره عرضی و تعداد کمی کلامیدوسپر می‌کند. روی محیط CLA تولید ماکروکنیدیوم‌ها با ۳-۱ دیواره عرضی می‌کند. ماکروکنیدیوم‌ها بی‌رنگ، صاف و با انحنای کم، سلول انتهایی نسبتاً ضخیم و سلول پایه دارای فرورفتگی و ضخیم است. ماکروکنیدیوم‌ها ۳/۲۴–۱/۰۸ × ۱۸/۳۶–۴/۳۲ (-۲/۱۶) میکرومتر، میانگین با انحراف معیار ۰/۰۲ ± ۰/۳۲ × ۰/۳۳ ± ۳/۴۱ میکرومتر و بازه اطمینان ۹۵ درصد ۲/۱۷–۲/۰۸ × ۱۱/۰۸–۹/۷۵ میکرومتر است (شکل ۶). در درخت تبارزایی مبتنی بر ترکیب دو ناحیه ITS و *tef1* (شکل ۱)، این جدایه متفاوت از سایر گونه‌های تبارزایی کمپلکس FIESC خوشه‌بندی شد و در مجاورت گونه‌های *F. gracilipes*، *F. longifundum* JW Xia, L Lombard, Sand-Den., XG Zhang & Crous و *F. scirpi* Lambotte & Fautrey قرار گرفت. این جدایه با کمپلکس FIESC 13 به دلیل تولید نکردن کنیدی و کنیدیوفور روی محیط PDA دارای شباهت و به دلیل شکل ماکروکنیدی‌های تولیدی روی محیط CLA متفاوت است. همچنین با کمپلکس FIESC 9 به دلیل تولید ماکروکنیدیوم و کنیدیوفور روی محیط PDA و شکل ماکروکنیدیوم‌ها کاملاً متفاوت می‌باشد.

۶- گونه *Fusarium tanahbumbuense* N. Maryani *et al.*, Persoonia 43: 63. 2019

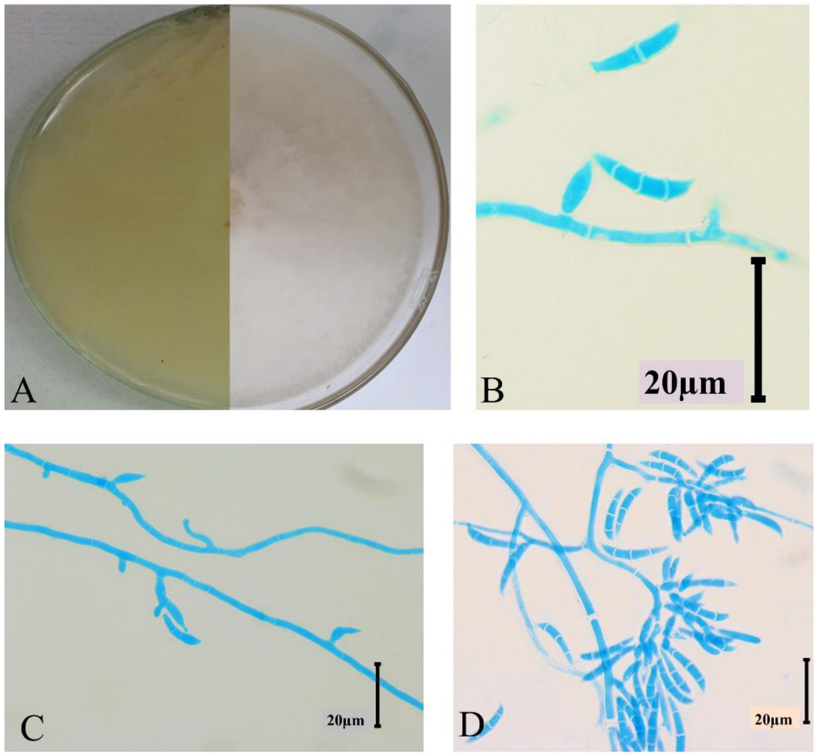
جدایه SCUA-Nem-A6 از ریشه کلزا (ویس) با علایم پوسیدگی جداسازی شد (شکل ۷). قطر پرگنه‌ها روی محیط کشت PDA در تاریکی و دمای ۰/۵± ۲۸ درجه سانتی‌گراد بعد از هفت روز، ۷۰ میلی‌متر اندازه‌گیری شد. پرگنه در سطح رویی سفید رنگ و در سطح پشتی تشتک پتری صورتی مایل به نارنجی با حاشیه کرم و نامنظم است. روی PDA، تولید ماکروکنیدیوم و میکرروکنیدیوم کردند. سلول کنیدیوم‌زایی به صورت منوفیالید و پلی‌فیالید است. ماکروکنیدیوم‌ها بی‌رنگ دارای ۵-۳ دیواره عرضی، صاف با انحنای کم تا داسی شکل، سلول انتهایی مخروطی و سلول پایه نامشخص یا به شکل پا می‌باشد. میکروکنیدیوم‌ها ۲-۰ دیواره عرضی و به تعداد کم تشکیل شدند. در این گونه کلامیدوسپور تشکیل و مشاهده نشد. ماکروکنیدیوم‌ها ۵/۴ – ۳/۲۴ (-۲/۱۶) × ۲۸/۷ – ۱۵/۲ میکرومتر، میانگین با انحراف معیار ۰/۹۵ ± ۲/۹۹ × ۷/۹ ± ۱۸/۵۵ میکرومتر و بازه اطمینان ۹۵ درصد ۳/۹۱ – ۳/۵۸ × ۲۲/۵۷ – ۲۰/۸۴ میکرومتر است. میکروکنیدیوم‌ها ۲/۷ – ۱/۰۸ × ۱۲/۹۶ – ۲/۱۶ میکرومتر، میانگین با انحراف معیار ۰/۳۳ ± ۱/۹۴ × ۲/۵۶ ± ۷/۸۸ میکرومتر و بازه اطمینان ۹۵ درصد ۲/۰۴ – ۱/۸۵ × ۸/۶۱ – ۷/۱۶ میکرومتر است (شکل ۷). در درخت تبارزایی مبتنی بر ترکیب دو ناحیه ITS و *tef1* (شکل ۱)، این جدایه با دو زیرگروه تبارزایی گونه *F. tanahbumbuense* خوشه‌بندی شد (BS 84 %).

گونه *F. tanahbumbuense* در سال ۲۰۱۹ برای دودمان FIESC 24 معرفی و از ساقه‌های کاذب Musa acuminate Colla و Musa sp. از اندونزی و Triticum sp. از ایران گزارش شده است (Farr & Rossman 2020). این اولین گزارش این گونه از روی کلزا در جهان است.

در این مطالعه، چهارگونه *F. clavum*، *F. gracilipes*، *F. incarnatum* و *F. tanahbumbuense* (از کمپلکس FIESC) گزارش شد که همگی همراه علایم پوسیدگی ریشه گیاه کلزا بودند. بر اساس داده‌های گردآوری شده دردسترس از میزبان‌های گونه‌های کمپلکس FIESC (Farr & Rossman 2020)، تنها گونه *F. equiseti* از کلزا گزارش شده است. اعضای کمپلکس FIESC هم بصورت ساپرفیتی روی بقایای آلی رشد می‌کنند و هم تعدادی از آن‌ها بعنوان بیمارگرها یا مهاجمین ثانویه گیاهان، انسان و حیوانات شناخته می‌شوند (Wang *et al.* 2019; Xia *et al.* 2019). برخی گونه‌ها سبب آلودگی‌های سطحی روی پوست و ناخن می شوند و سلامتی عمومی را به مخاطره می‌اندازند (Wang *et al.* 2019; Xia *et al.* 2019). برخی از آن‌ها تولیدکننده میکوتوکسین روی غلات هستند.

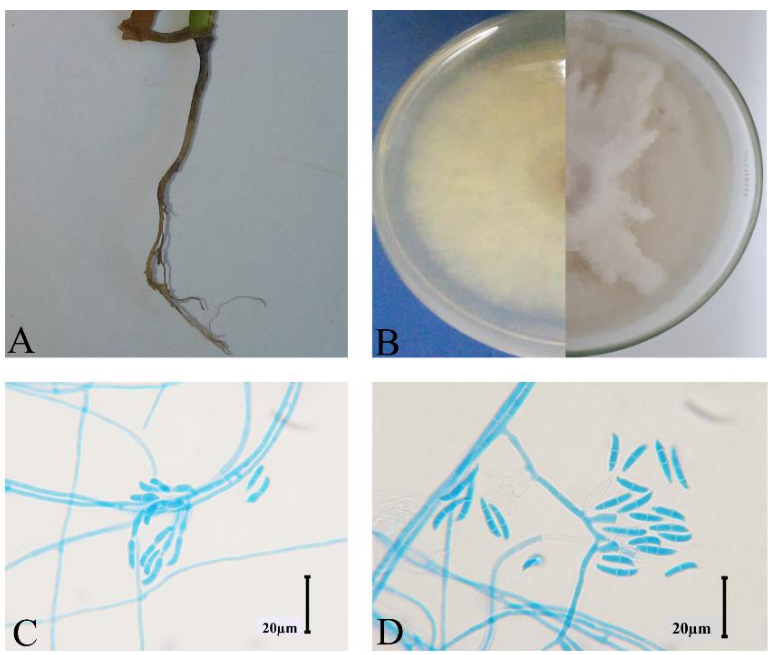
کمپلکس چندگونه‌ای FIESC بر اساس تجزیه و تحلیل چندژنی در سال ۲۰۰۹ پیشنهاد شد (O'Donnell *et al.* 2009). در بین ۲۳ کمپلکس گونه‌ای شناخته‌شده در جنس *Fusarium*، کمپلکس FIESC دارای گونه‌های ناشناخته و مخفی بیشتری است (O'Donnell *et al.* 2010). در ابتدا این کمپلکس حاوی ۲۸ گونه تبارزایی بود (O'Donnell *et al.* 2009) ولی در حال حاظر ۳۴ دودمان تکاملی در این کمپلکس شناخته شده است که برای بیشتر آن‌ها نام علمی معرفی شده

است (O'Donnell *et al.* 2012; Villani *et al.* 2016; Santos *et al.* 2019, Wang *et al.* 2019; Xia *et al.* 2019). O'Donnell *et al.* (2009) بر اساس تجزیه‌وتحلیل تبارشناسی مبتنی بر چند ناحیه ژنی، ۲۸ دودمان تبارزایی برای این این کمپلکس معرفی کردند و بعدا به آن دو دودمان دیگر FIESC 29 (*F. citri* MM Wang, Qian Chen & L Cai) و FIESC 30 (*F. mucidum* JW Xia, L Lombard, Sand.-Den., XG Zhang & Crous) را افزودند (O' Donnell *et al.* 2012). در ادامه این تحقیقات، گونه تبارزایی FIESC 31 (F Kotabaruense N Maryani *et al.*) برای چند سویه از این کمپلکس که تولیدکننده میکوتوکسین روی غلات بودند، معرفی شد (Villani *et al.* 2016). Torbati *et al.* (2019) دو گونه تبارزایی FIESC 29 و FIESC 30 برای سویه‌های جداسازی شده از قارچ‌های Basidiomycetes معرفی کردند که این سویه‌ها توسط Wang *et al.* (2019) بعنوان گونه تبارزایی FIESC 32 (*F. persicinum* JW Xia, L Lombard, Sand-Den, XG Zhang & Crous) در نظر گرفته شد. Maryani *et al.* (2019) در تحقیقات مشابه دو گونه تبارزایی FIESC 33 (*F. humuli* MM Wang, Qian Chen & L Cai) و FIESC 34 را به این کمپلکس افزودند. تعدادی دیگر از گونه‌های تبارزایی معرفی‌شده در این کمپلکس شامل *F. arcuatisporum* MM Wang, Qian Chen & L Cai برای دودمان FIESC 7، *F. caatingaense* ACS Santos, CS Lima, PV Tiago & NT Oliveira برای دودمان FIESC 20، *F. compactu*m (Wollenw.) WL Gordon برای دودمان FIESC 3، *F. equiseti* برای دودمان FIESC 14، *F. hainanense* MM Wang, Qian Chen & L Cai برای دودمان FIESC 26، *F. ipomoeae* MM Wang, Qian Chen & L Cai برای دودمان FIESC 1، *F. irregulare* MM Wang, Qian Chen & L. Cai برای دودمان FIESC 15، F. lacertarum Subrahm. برای دودمان FIESC 4، *F. luffae* MM Wang, Qian Chen & LCai برای دودمان FIESC 18، *F. pernambucanum* ACS Santos, CS Lima, PV Tiago & NT Oliveira برای دودمان FIESC 17، *F. nanum* MM Wang, Qian Chen & L. Cai برای دودمان FIESC 25، *F. scirpi* برای دودمان FIESC 9 و *F. sulawense* Maryani, Sand-Den, L Lombard, Kema & Crous برای دودمان FIESC 16 (O'Donnell *et al.* 2012; Villani *et al.* 2016; Santos *et al.* 2019; Wang *et al.* 2019) هستند. در این مطالعه، جدایه IRAN 3498C با هیچ‌کدام از دودمان‌های تبارزایی موجود در این کمپلکس خوشه‌بندی نشد و نیاز به بررسی ناحیه‌های ژنی دیگر دارد تا به عنوان یک گونه جدید تبارزایی معرفی شود.



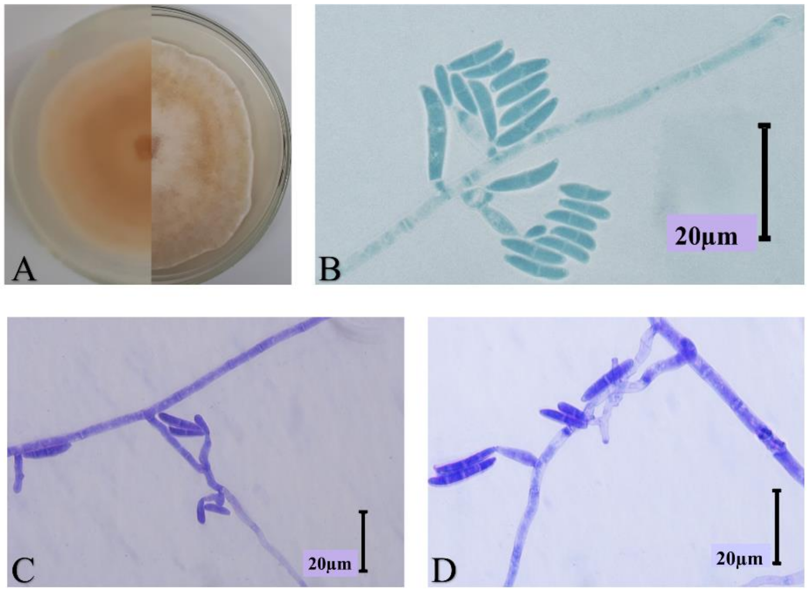
شکل ۵. گونه *Fusarium gracilipes*. **A**. پرگنه شش‌روزه رشدیافته روی PDA، **B-D**. کنیدیوفورها، فیالیدها و ماکروکنیدیوم‌ها.

Figure 5. *Fusarium gracilipes*. **A**. 6-days colony grown on PDA, **B**-**D**. Conidiophores, phialides and macroconidia.



شکل ۶. گونه *Fusarium* sp. (IRAN 3498C). **A**. علایم پوسیدگی ریشه گیاهچه کلزا، **B**. پرگنه شش‌روزه رشدیافته روی PDA، **C**. فیالیدها، **D**. ماکروکنیدیوم‌ها.

Figure 6. *Fusarium* sp. (IRAN 3498C)**. A**. Root rot symptoms of the canola seedling, **B**. 6-days colony grown on PDA, **C**. Phialides, **D**. Macroconidia.



شکل ۷. گونه *Fusarium tanahbumbuense*. **A**. پرگنه هفت‌روزه رشدیافته روی PDA، **B–D**. فیالیدها و ماکروکنیدیوم‌ها.

Figure 7. *Fusarium tanahbumbuense*. **A.** 7-days colony grown on PDA, B-D. Phialides and macroconidia.

References

Ahmadi K, Ebadzadeh H, Hatami F, Abdeshah H, Kazemian A, 2019. Agricultural statistics of the crop year 2017-2018, Volume 1: crops. Ministry of Jihad Agriculture Publications, Tehran. 87 pp.

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

Ainsworth GC, 1971. Ainsworth and Bisby’s Dictionary of the Fungi. 6th ed. Commonwealth Mycological Institute, Kew, Surrey, England. 663 pp.

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

Beneke ES, Rogers AL, 1996. Medical mycology and human mycoses. Star Publishing Company, Belmont. 239 pp.

Darriba D, Taboada GL, Doallo R, Posada D, 2012. jModelTest 2: more models, new heuristics and parallel computing. *Nature Methods* 9: 772.

Edler D, Klein J, Antonelli A, Silvestro, 2019. raxmlGUI 2.0 beta: a graphical interface and toolkit for phylogenetic analyses using RAxMl. bioRxiv doi: 10.1101/800912.

Ellis JB, Everhart BM, 1895. New species of fungi from various localities. *Proceedings of the Academy of Natural Sciences of Philadelphia* 47: 413–441.

Elmer WH, 1996. *Fusarium* fruit rot of pumpkin in Connecticut. *Plant Disease* 80: 131–135.

Ershad D, 2009. Fungi of Iran, 3rd edn. Iranian research institute of plant protection, Tehran.

Farr DF, Rossman AY, 2020. Fungal databases, U.S. National Fungus Collections, ARS, USDA. Retrieved November 12, 2020, from https://nt.ars-grin.gov/fungaldatabases/

Gaetan S, 2005. Occurrence of *Fusarium* wilts on canola caused by *Fusarium oxysporum* f. sp. *conglutinans* in Argentina. *Plant Disease* 89: 432.

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

Heidari K, Farokhinejad R, Mehrabi-Koushki M, 2018a. Occurrence of purslane leaf spot caused by *Dichotomophthora lutea* in Iran. *Australasian Plant Disease Notes* 13 (1): 1–4.

Heidari K, Farokhinejad R, Mehrabi-Koushki M, 2018b. Detection and molecular identification of *Colletotricum* species causing anthracnose disease of some plants in Khuzestan province (Iran). *Rostaniha* 19(1): 19-32 (in Persian with English abstract).

Ignjatov M, Bjelić D, Nikolić Z, Milošević D, Gvozdanović-Varga J, *et al.*, 2017. First report of *Fusarium acuminatum* causing garlic bulb rot in Serbia. *Plant Disease* 101 (6): 1047–1048.

Irani H, Ravanlou A, 2006. Etiology and distribution of fungal crown and root rot of wheat in west Azarbaidjan Province. *Journal of Agricultural Science* (University of Tabriz) 16 (2): 45–56 (in Persian with English abstract).

Khezrinejad N, Rezae Danesh Y, 2017. Identification of *Fusarium* species associated with wheat, barley and corn in West Azarbaijan Province, *Iran. Agroecology Journal* 12 (4): 47– 60 (in Persian with English abstract).

Khojehpour MR, 2006. Industrial plants. Academic Press. 564 pp.

Lange R, Mclaren DA, 2000. New *Fusarium* wilt of canola in Alberta. *1th Canadian Phytopathology Society AGM* 3: 72–83.

Larki R, Mehrabi-Koushki M, Farokhinejad R, 2019. *Ectophoma iranica* sp. nov. and new hosts and records of *Allophoma* spp. in Iran. *Journal of Phytopathology* 167: 538–545.

Larki Z, Farokhinejad R, 2015. Identification of the *Fusarium* species associated with canola crown and root rot in Khuzestan Province. *Journal of Microbial World* 8 (2): 168-172 (in Persian with English abstract).

Lazreg F, Belabid L, Sanchez J, Gallego E, Garrido-Cardenas J A, *et al.*, 2013. First report of *Fusarium acuminatum* causing damping-off disease on aleppo pine in Algeria. *Plant Disease* 97 (4): 557.

Li M, Murray GM, Ash GJ, 2007. New root diseases of canola in Australia. *Australasian Plant Disease* 2: 93-94.

Maryani N, Sandoval-Denis M, Lombard L, Crous PW, Kema GHJ, 2019. New endemic *Fusarium* species hitch-hiking with pathogenic *Fusarium* strains causing Panama disease in small-holder banana plots in Indonesia. *Persoonia* 43: 48–69.

Mehrabi-Koushki M, Bavarsad M, Farrokhinejad R, Jamshid M, Alimohammadi A, 2016. The comparison of ITS-rDNA and *tef1*α genomic regions for phylogenetic study of some *Trichoderma* species. *Iranian Journal of Plant Protection Science* 47 (1): 61–70.

Naseripour T, Farokhinejad R, Sharif nabi B, 2008. Investigation of morphological, pathogenical and molecular aspects of *Alternaria* isolated from canola in Khuzestan and Kermanshah province. MSc Thesis, Plant Pathology, Shahid Chamran University, Ahvaz.

Nasrisfahani M, Sanieirad A, Nasrollahi N, 2009. Identification of some pathogenic fungal agents of crown and roots of rapeseed in Isfahan. *Plant Protection Journal* 1 (2): 112-227 (in Persian with English abstract).

Neik TX, Martin J, Barbetti MJ, Batley J, 2017. Current status and challenges in identifying disease resistance genes in *Brassica napus. Frontiers in Plant Science* 8: 30.

Nouran SL, Minasian V, Safarei N, 2008. Identification, pathogenicity and distribiution of *Alternaria* spp. of canola in Iran. *Iranian Journal of Plant Pathology* 44 (2): 137–154 (in Persian with English abstract).

O'Donnell K, Humber RA, Geiser DM, Kang S, Park B, *et al.*, 2012. Phylogenetic diversity of insecticolous fusaria inferred frommultilocus DNA sequence data and their molecular identification via *FUSARIUM*-ID and *Fusarium* MLST. *Mycologia* 104: 427–445.

O'Donnell K, Sutton DA, Rinaldi MG, Gueidan C, Crous PW, *et al.*, 2009. Novel multilocus sequence typing scheme reveals high genetic diversity of human pathogenic members of the *Fusarium incarnatum-F. equiseti* and *F. chlamydosporum* species complexes within the United States. *Journal of Clinical Microbiology* 47: 3851–3861.

O'Donnell K, Sutton DA, Rinaldi MG, Sarver BAJ, Balajee SA, *et al.*, 2010. Internet-accessible DNA sequence database for identifying fusaria from human and animal infections. *Journal of Clinical Microbiology* 48: 3708–3718.

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

Ronquist F, Teslenko M, Van Der Mark P, Ayres DL, Darling A, *et al.*, 2012. MrBayes 3.2: efficient Bayesian phylogenetic inference and model choice across a large model space. *Systematic Biology* 61: 539–542.

Santos ACS, Trindade JVC, Lima CS, Barbosa RN, Costa AF, *et al.*, 2019. Morphology, phylogeny, and sexual stage of *Fusarium caatingaense* and *Fusarium pernambucanum*, new species of the *Fusarium incarnatum-equiseti* species complex associated with insects in Brazil. *Mycologia* 111(2): 244–259.

Sharifi K, Zare R, Zamanizadeh HR, Mirabolfathy M, Rezaee S, 2016. Identification of *fusarium* species associated with *fusarium* head blight of wheat in the north of Iran and phylogenetic analysis of the dominant species. *Rostaniha* 17(2): 173–187.

Shoukouhi E, Bissett J, 2008. Preferred primers for sequencing the 50 end of the translation elongation factor 1-alpha gene (EF1-a1) and subunit 2 of the RNA polymerase B gene (RPB2). ISTH available from: http://www.isth.info/methods.

Torbati M, Arzanlou M, Sandoval-Denis M, Crous PW, 2019. Multigene phylogeny reveals new fungicolous species in the *Fusarium tricinctum* species complex and novel hosts in the genus *Fusarium* from Iran. *Mycological Progress* 18: 119–133.

Villani A, Moretti A, Saeger S, Han Z, Mavungu JD, *et al.*, 2016. A polyphasic approach for characterization of a collection of cereal isolates of the *Fusarium incarnatum-equiseti* species complex. *International Journal of Food Microbiology* 234: 24–35.

Wang MM, Chen Q, Diao YZ, Duan WJ, Cai L, 2019. *Fusarium incarnatum-equiseti* complex from China. *Persoonia* 43:70–89.

White TJ, Bruns T, Lee S, Taylor J, 1990. Amplification and direct sequencing of fungal ribosomal RNA genes for phylogenetics. In: Innis MA, Gelfand DH, Sninsky JJ and White TJ. (eds) PCR protocols: a guide to methods and applications. Academic Press, New York. pp 315–322.

Xia JW, Sandoval-Denis M, Crous PW, Zhang XG, Lombard L, 2019. Numbers to names – restyling the *Fusarium incarnatum-equiseti* species complex. *Persoonia* 43: 186 – 221.