

Identification, Phylogenetic Position, and Pathogenicity Assessment of Ascomycetes Associated with Invasive Water Hyacinth

1. Sadeq Jaafar Salih Salih^{ID}: Department of Plant Protection, School of Agriculture, Shiraz University, Shiraz, Iran
 2. Fatemeh Salmaninezhad^{ID}: Department of Plant Protection, School of Agriculture, Shiraz University, Shiraz, Iran
 3. Hossein Masigol^{ID}: Bermuda Institute of Ocean Sciences, Arizona State University 17 Biological Station, St. George's, Bermuda
 4. Reza Mostowfizadeh-Ghalefarsa^{*ID}: Department of Plant Protection, School of Agriculture, Shiraz University, Shiraz, Iran
- *Corresponding Author's Email Address: rmostofi@shirazu.ac.ir

Article Type:

Original Research

How to Cite: Salih, S. J. S., Salmaninezhad, F., Masigol, H., & Mostowfizadeh-Ghalefarsa, R. (2025). Identification, Phylogenetic Position, and Pathogenicity Assessment of Ascomycetes Associated with Invasive Water Hyacinth. *Iranian Journal of Plant Pathology*, 61(3-4), 197-226.

DOI: 10.22034/IJPP.2026.2021889.509

Abstract:

Water hyacinth (*Pontederia crassipes* Mart.) is one of the most important invasive weeds from *Pontederiaceae* in aquatic ecosystems, whose rapid spread severely affects ecological balance, water quality, and the functioning of aquatic systems. The present study was conducted to identify the fungi associated with this plant, determine their phylogenetic position, and assess the pathogenicity of selected isolates in the Tigris River ecosystem in the Nasiriya region of Dhi Qar Governorate, Iraq. For this purpose, samples were collected from infected or suspected infected tissues of water hyacinth, together with surrounding water and sediments. The fungal isolates were purified and identified based on morphological characteristics. Following ecological analyses and pathogenicity assays, the pathogenic species were also phylogenetically examined using the ITS region through Bayesian inference, Maximum Likelihood, and Minimum Evolution methods. In total, nine fungal taxa were identified, including *Alternaria alternata*, *Bipolaris* sp., *Colletotrichum truncatum*, *Curvularia lunata*, *Cu. spicifera*, *Fusarium chlamydosporum*, *Stemphylium botryosum*, *Stilbocrea* sp., and *Ulocladium chartarum*. Among them, four fungi, namely *Bipolaris* sp., *Co. truncatum*, *Cu. spicifera*, and *F. chlamydosporum*, caused brown lesions and reduced the fresh and dry weight of the plant in pathogenicity tests. Among these taxa, *Bipolaris* sp. showed the greatest ability to weaken water hyacinth, while *Co. truncatum* and *Cu. spicifera* also exhibited distinct pathogenic behavior. In contrast, *Ste. botryosum*, despite its relative abundance, was not pathogenic. The results of this study indicated that water hyacinth in the Tigris River ecosystem hosts a diverse spectrum of fungi with different ecological roles, some of which may be considered as potential candidates for the biological control of this invasive weed. However, the use of these fungi in biological control requires evaluation of their host range and biosafety.

Keywords: Ascomycota, Ecology, Morphology, Pathogenicity, Phylogeny



© 2025 the authors. Published by Maher Publishing Institute. This is an open access article under the terms of the Creative Commons Attribution 4.0 International (CC BY 4.0) License.

Extended Abstract

Introduction

Water hyacinth (*Pontederia crassipes* [Mart.] Solms) is considered one of the most problematic invasive aquatic weeds worldwide because of its rapid spread, prolific vegetative growth, and strong capacity to alter aquatic habitats (Villamagna & Murphy, 2010). Dense infestations of this weed reduce water flow, interfere with irrigation and navigation systems, decrease native biodiversity, and negatively affect water quality and ecosystem functioning. In addition to these ecological impacts, the dense plant mats formed by *P. crassipes* create favorable microhabitats for a wide range of associated microorganisms, including fungi with pathogenic, endophytic, or saprotrophic lifestyles (Téllez et al., 2008). Although water hyacinth has been extensively studied in many tropical and subtropical regions, information on the fungal communities associated with this invasive host in Iraqi freshwater ecosystems remains limited. Such knowledge is important not only from the standpoint of fungal biodiversity, but also because naturally occurring pathogenic fungi may contribute to environmentally compatible management strategies for this invasive species. In plant pathology and weed biocontrol research, the discovery of native or naturally associated fungal pathogens is often regarded as an important first step toward developing biological control options, provided that host specificity and biosafety are carefully verified (Charudattan, 2001; Dagno et al., 2012). The present study was conducted to identify fungi associated with water hyacinth in the Tigris River ecosystem in the Nasiriyah region of Dhi Qar Governorate, Iraq, to determine their phylogenetic position using ITS sequence data, and to evaluate the pathogenicity of selected isolates on water hyacinth. The work also aimed to provide a preliminary assessment of the fungal assemblage associated with infected host tissues and the surrounding aquatic environment.

Materials and Methods

Samples were collected from water hyacinth plants growing in the Tigris River ecosystem in the Nasiriyah region, Dhi Qar Governorate, Iraq. Isolation was performed from symptomatic or suspected infected tissues, including leaves, stems, and roots, as well as from the surrounding water and sediments. This sampling strategy was designed to recover fungi occupying both host tissues and adjacent substrates, as commonly recommended in studies of aquatic and plant-associated fungal diversity (Hyde et al., 2014). Recovered isolates were purified and initially identified using morphological and cultural characteristics. Colony morphology and microscopic structures were examined according to standard mycological procedures (Alcorn, 1988; Crous, Lombard, et al., 2021; Ellis, 1971; Leslie & Summerell, 2006; Sivanesan, 1987). Pathogenicity tests were carried out under controlled conditions. Following inoculation, plants were monitored for symptom development. In addition, reductions in root wet and dry weight, foliage wet and dry weight, biomass wet and dry weight, and tissue (root, stem, and leaf) colonization were recorded as indicators of disease impact and plant weakening. The pathogenic species were selected for molecular confirmation, using the internal transcribed spacer (ITS) region of ribosomal DNA. The obtained sequences were compared with reference sequences available in GenBank. Phylogenetic relationships were inferred using Bayesian inference, Maximum Likelihood, and Minimum Evolution methods (Salmaninezhad et al., 2024). In addition to taxonomic identification, ecological analyses were performed to characterize the fungal assemblage associated with water hyacinth. The frequency and abundance of recovered taxa were determined, and community structure was evaluated using rank–abundance patterns and alpha-diversity indices, including species richness, Shannon diversity, Simpson diversity, and Pielou's evenness (Oksanen et al., 2025).

Results

Morphological examination of the recovered isolates identified nine fungal taxa associated with water hyacinth and related samples from the study area. These taxa were *Alternaria alternata*, *Bipolaris* sp., *Colletotrichum truncatum*, *Curvularia lunata*, *Cu. spicifera*, *Fusarium chlamydosporum*, *Stemphylium botryosum*, *Stilbocrea* sp., and *Ulocladium chartarum*. These fungi were recovered from infected plant parts, including leaves, petioles, stems, and roots, as well as from the surrounding water and sediment. This study also represents the first report of *Ste. botryosum*, *Stilbocrea* sp., and *U. chartarum* in association with water hyacinth. Pathogenicity tests showed that four taxa, namely *Bipolaris* sp., *Co. truncatum*, *Cu. spicifera*, and *F. chlamydosporum*, caused disease symptoms on water hyacinth. The inoculated plants developed brown necrotic lesions, and infection by these fungi reduced both fresh and dry plant weight. Among the pathogenic isolates, *Bipolaris* sp. produced the most severe symptoms and the greatest reduction in host vigor. *Colletotrichum truncatum* and *Cu. spicifera* also caused clear disease symptoms, whereas *F. chlamydosporum* showed a weaker but measurable pathogenic effect. In contrast, *Ste. botryosum* did not induce significant disease symptoms under the experimental conditions. Based on the results of the pathogenicity assays, the four pathogenic taxa were selected for molecular confirmation. Internal transcribed spacers of rDNA (ITS) sequence analysis, together with phylogenetic reconstruction using Bayesian inference, Maximum Likelihood, and Minimum Evolution methods, confirmed the identity and phylogenetic position of *Bipolaris* sp., *Co. truncatum*, *Cu. spicifera*, and *F. chlamydosporum*. The ecological analysis was based on 108 fungal isolates recovered from water hyacinth and associated samples. Abundance and rank–abundance analyses showed differences among the identified taxa in relative abundance and dominance, while the Whittaker plot indicated a gently sloping distribution pattern. In addition, alpha diversity analysis based on species richness, Shannon index, Simpson index, and Pielou's evenness showed that the ascomycetous

community had moderate diversity and a relatively even species distribution.

Discussion

The recovery of nine fungal taxa from water hyacinth and associated samples shows that *P. crassipes* supports a diverse fungal community in the Tigris River ecosystem. Similar studies have shown that aquatic and semi-aquatic plants can harbor complex fungal assemblages shaped by host tissues and surrounding environmental conditions (Hyde et al., 2014). In this study, *Ste. botryosum*, *Stilbocrea* sp., and *U. chartarum* were recorded from water hyacinth for the first time, expanding current knowledge of the fungi associated with this invasive weed. The pathogenicity of *Bipolaris* sp., *Co. truncatum*, *Cu. spicifera*, and *F. chlamydosporum* is consistent with the known role of these genera as plant-associated fungi that include important pathogens (Adikaram & Yakandawala, 2020; Aneja et al., 2013). Among them, *Bipolaris* sp. was the most aggressive isolate, indicating greater potential to damage host tissues and reduce plant vigor. By contrast, *Ste. botryosum* was relatively abundant but non-pathogenic under the test conditions, showing that isolation frequency did not necessarily reflect pathogenic importance. This agrees with previous observations that plant-associated fungi may differ markedly in ecological function, ranging from pathogenic to saprotrophic or opportunistic lifestyles (Ray & Hill, 2012; Waipara et al., 2006). From an applied perspective, the pathogenic taxa identified here may be considered candidates for further evaluation in the biological management of water hyacinth. However, pathogenicity alone is not sufficient for practical use, and any candidate fungus must be assessed for host range, specificity, and biosafety before field application (Morin, 2020; Talhinhos & Baroncelli, 2021).

Conflict of Interest

There is no conflict of interest in conducting the present study.

Ethical Considerations

All ethical principles and standards were fully observed in the conduct of this research.

Funding

This study was funded by Shiraz University.

Author Contribution

Conceptualization, R.M.-G.; methodology, F.S., and R.M.-G.; validation, S.J.S.S., F.S., H.M., and R.M.-G.; formal analysis, F.S.; investigation, S.J.S.S., F.S., and H.M.; resources, R.M.-G.; data curation, S.J.S.S.; writing—original draft preparation, F.S., and R.M.-G.; writing—review and editing, S.J.S.S., F.S., H.M., and R.M.-G.; visualization, F.S.; supervision, R.M.-G.; project administration, R.M.-G.; funding acquisition, H.M., and R.M.-G.

Data availability

The data used to support the results of this study are available from the corresponding author upon reasonable request.

شناسایی، جایگاه فیلوژنتیکی و توان بیماری‌زایی آسکومیست‌های همراه سنبل آبی مهاجم

۱. صادق جعفر صالح ^{id}: دانشگاه شیراز، دانشکده کشاورزی، بخش گیاه‌پزشکی

۲. فاطمه سلمانی‌نژاد ^{id}: دانشگاه شیراز، دانشکده کشاورزی، بخش گیاه‌پزشکی

۳. حسین مسیگل ^{id}: دانشگاه ایالتی آریزونا، مؤسسه علوم اقیانوسی برمودا، ایستگاه زیست‌شناسی ۱۷، سنت جورج، برمودا

۴. رضا مستوفی‌زاده قلفمرسا ^{id}: دانشگاه شیراز، دانشکده کشاورزی، بخش گیاه‌پزشکی

*پست الکترونیک نویسنده مسئول: rmostofi@shirazu.ac.ir

نوع مقاله:

چکیده

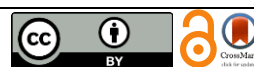
پژوهشی اصیل

سنبل آبی (*Pontederia crassipes* Mart.) یکی از مهم‌ترین علف‌های هرز مهاجم از تیره *Pontederiaceae* در زیست‌بوم‌های آبی است که با گسترش سریع خود، تعادل زیست‌بوم‌شناختی، کیفیت آب و کارکرد سامانه‌های آبی را به شدت تحت تأثیر قرار می‌دهد. پژوهش حاضر با هدف شناسایی قارچ‌های همراه این گیاه، تعیین جایگاه فیلوژنتیکی آن‌ها و بررسی توان بیماری‌زایی برخی از جدایه‌ها در زیست‌بوم رود دجله در منطقه‌ی ناصریه‌ی استان ذی‌قار عراق انجام شد. بدین منظور، نمونه‌برداری از اندام‌های آلوده یا مشکوک به آلودگی سنبل آبی به همراه آب و رسوبات همراه با آن انجام و جدایه‌های قارچی پس از خالص‌سازی، بر اساس ویژگی‌های ریخت‌شناختی شناسایی شدند. پس از انجام واکاوی‌های زیست‌بوم‌شناختی و آزمون بیماری‌زایی، گونه‌های بیماری‌زا از نظر فیلوژنتیکی نیز با ناحیه‌ی ITS با استفاده از روش‌های استنتاج بیزی، درست‌نمایی بیشینه و کمینه تکامل بررسی شدند. در مجموع، نه آرایه‌ی قارچی شامل *Bipolaris*, *Alternaria alternata*, *Fusarium chlamydosporum*, *Cu. spicifera*, *Curvularia lunata*, *Colletotrichum truncatum*, *sp.*, *Stemphylium botryosum*, *Stilbocrea sp.* و *Ulocladium chartarum* شناسایی شدند. از میان آن‌ها، چهار قارچ *Bipolaris sp.*, *Co. truncatum*, *Cu. spicifera* و *F. chlamydosporum* در آزمون بیماری‌زایی موجب ایجاد لکه‌های قهوه‌ای و کاهش وزن تر و خشک گیاه شدند. در این میان، آرایه‌ی *Bipolaris sp.* بیشترین توان تضعیف سنبل آبی را نشان داد و *Co. truncatum* و *Cu. spicifera* نیز رفتار بیماری‌زایی مشخصی از خود بروز دادند. در مقابل، *S. botryosum* با وجود فراوانی نسبی، بیماری‌زا نبود. نتایج این پژوهش نشان داد که سنبل آبی در زیست‌بوم رود دجله میزبان طیف متنوعی از قارچ‌ها با نقش‌های بوم‌شناختی متفاوت است و برخی از این قارچ‌ها می‌توانند به‌عنوان گزینه‌های بالقوه در مهار زیستی این علف هرز مهاجم مورد توجه قرار گیرند. با این حال، استفاده از این قارچ‌ها در مهار زیستی نیازمند بررسی دامنه‌ی میزبانی و ایمنی زیستی است.

نحوه استناددهی: صالح، صادق جعفر صالح، سلمانی‌نژاد، فاطمه، مسیگل، حسین، و مستوفی‌زاده قلفمرسا، رضا. (۱۴۰۴). شناسایی، جایگاه فیلوژنتیکی و توان بیماری‌زایی آسکومیست‌های همراه سنبل آبی مهاجم. بیماری‌های گیاهی، ۶۱(۳-۴)، ۱۹۷-۲۲۶.

DOI:

10.22034/IJPP.2026.2021889.509



مجوز و حق نشر: © ۱۴۰۴ تمامی حقوق انتشار این مقاله متعلق به نویسنده است. انتشار این مقاله توسط انتشارات ماهر به‌صورت دسترسی آزاد مطابق با گواهی (CC BY 4.0) صورت گرفته است.

کلیدواژگان: آسکومیکوتا، بوم‌شناسی، بیماری‌زایی، ریخت‌شناسی، فیلوژنی

مقدمه

زیست‌بوم‌های آبی از جمله رودخانه‌ها، تالاب‌ها و دریاچه‌ها، از ارزشمندترین و در عین حال آسیب‌پذیرترین زیست‌بوم‌های کره زمین به‌شمار می‌روند. این زیست‌بوم‌ها خدمات بوم‌شناختی بی‌بدیلی از جمله تأمین آب شیرین، تصفیه طبیعی آلاینده‌ها، مهار سیلاب و ذخیره‌سازی کربن ارائه داده، همچنین زیستگاه تعداد بی‌شماری از گونه‌های گیاهی، جانوری و میکروارگانیسم‌ها را نیز فراهم می‌سازند (Dudgeon et al., 2006). با این حال، ورود گونه‌های گیاهی مهاجم به این زیست‌بوم‌ها، به‌عنوان یکی از مهم‌ترین چالش‌های زیست‌محیطی قرن حاضر، پایداری و کارکرد این بوم‌سازگان‌ها را به‌طور جدی تهدید می‌کند (Vilà et al., 2010). سنبل آبی با نام علمی *Pontederia crassipes* (Mart.) Solms، به‌عنوان یکی از خطرناک‌ترین و تهاجمی‌ترین گیاهان آبی شناور در جهان شناخته می‌شود. این گیاه که بومی حوضه آمازون در آمریکای جنوبی است، امروزه دامنه‌ی پراکنش خود را به مناطق گسترده‌ای از جنوب شرقی آسیا، آفریقا، استرالیا، خاورمیانه و جنوب ایالات متحد آمریکا گسترش داده است (Villamagna & Murphy, 2010). ویژگی‌های منحصربه‌فرد زیستی از جمله تکثیر رویشی و جنسی فوق‌العاده سریع (قابلیت دوبرابر شدن توده زیستی در مدت ۵ تا ۱۵ روز)، تحمل دامنه وسیعی از شرایط محیطی و فقدان دشمنان طبیعی در زیست‌بوم‌های جدید، این گیاه را به تهدیدی جدی برای منابع آبی تبدیل کرده است (Téllez et al., 2008). پیامدهای بوم‌شناختی هجوم سنبل آبی شامل جلوگیری از جریان طبیعی آب، کاهش چشم‌گیر اکسیژن محلول در آب، ممانعت از نفوذ نور خورشید به لایه‌های زیرین و در نتیجه اختلال در زنجیره غذایی، افزایش قابل توجه تبخیر سطحی (تا سه برابر سطح آزاد آب)، انسداد مسیرهای کشتیرانی و کاهش تنوع زیستی بومی است (Patel, 2012).

تاکنون روش‌های مختلفی برای مهار و مدیریت سنبل آبی به‌کار گرفته شده است که عمده آن‌ها به سه دسته مکانیکی (برداشت فیزیکی)، شیمیایی (کاربرد علف‌کش‌ها) و زیستی (استفاده از دشمنان طبیعی) تقسیم می‌شوند (Malik, 2007). از میان این روش‌ها، روش مهار زیستی با بهره‌گیری از دشمنان طبیعی گیاه مهاجم، به‌عنوان راهکاری پایدار، کم‌هزینه و سازگار با محیط زیست، توجه فزاینده‌ای را به خود معطوف داشته است (Charudattan, 2001). در این میان، قارچ‌های بیمارگر گیاهی به‌عنوان عوامل مهار زیستی بالقوه، به‌ویژه از طریق ایجاد بیماری لکه‌برگی، پژمردگی و پوسیدگی، پتانسیل قابل توجهی در کاهش توان رقابتی و مهار جمعیت سنبل آبی از خود نشان داده‌اند (Dagno et al., 2012). شایان ذکر است که رویکردهای مدیریت تلفیقی، با ترکیب عوامل مهار زیستی قارچی نظیر گونه‌های جنس *Alternaria* و حشراتی مانند سرخرطومی سنبل آبی (*Neochetina* spp.)، نتایج امیدوارکننده‌ای را در مهار این علف هرز مهاجم به همراه داشته است (Julien, 2000). نخستین و اساسی‌ترین گام در طراحی هر برنامه مهار زیستی مبتنی بر قارچ‌ها، شناسایی دقیق و جامع میکروارگانیسم‌های ساکن در بافت‌های گیاه میزبان و محیط اطراف آن شامل آب و رسوبات است. این شناسایی، نه‌تنها گنجینه‌ی عوامل بیمارگر بالقوه را آشکار می‌سازد، بلکه امکان ارزیابی تنوع، فراوانی، و ارتباط گونه-بستر را نیز فراهم می‌آورد.

شاخه *Ascomycota* بزرگ‌ترین و متنوع‌ترین شاخه در سلسله‌ی قارچ‌ها را تشکیل می‌دهد که در زیستگاه‌های متنوعی از جمله آب‌های شیرین، خاک، بقایای گیاهی و به‌عنوان هم‌زیست یا بیمارگر در بافت‌های گیاهان زنده حضور دارند (Hibbett et al., 2007; Hyde et al., 2014). بسیاری از گونه‌های آسکومیستی در چرخه‌ی زندگی خود عمدتاً مرحله غیرجنسی را نشان می‌دهند که این امر شناسایی ریخت‌شناختی آن‌ها را با چالش مواجه می‌سازد (Seifert & Gams, 2011). از منظر بیماری‌شناسی گیاهی، شمار قابل

جدایه‌های گونه‌های بیمارگر با استفاده از توالی ناحیه‌ی فاصله‌ی ترانوسی‌شده‌ی داخلی (ITS)، شاخص‌های تنوع زیستی، غلبه گونه‌ای و الگوهای ارتباط گونه-بستر را مورد ارزیابی قرار داده است. در نهایت، توان بیماری‌زایی جدایه‌های منتخب بر روی سنبل آبی در شرایط گلخانه‌ای سنجیده شد تا پتانسیل آن‌ها به‌عنوان عوامل مهار زیستی این علف هرز مهاجم ارزیابی گردد.

مواد و روش‌ها

نمونه‌برداری، جداسازی و شناسایی ریخت‌شناختی

نمونه‌برداری از گیاهان سنبل آبی دارای علائم بیماری به‌صورت دوره‌ای و هر دو ماه یکبار از مناطق آلوده در رود دجله، واقع در منطقه‌ی ناصریه از استان ذی‌قار عراق، انجام شد. شناسایی این گیاه در این مطالعه بر اساس ویژگی‌های ریخت‌شناختی و صفات ظاهری (شامل وجود برگ‌های ضخیم و براق، دمبرگ‌های متورم و اسفنجی، و گل‌آذین خوشه‌ای با گل‌های بنفش مایل به آبی) انجام شد و با توجه به ماهیت مهاجم آن، شماره‌ی هرباریوم مرجع برای نمونه مورد بررسی در دسترس نبود. با وجود این، تشخیص گونه بر اساس کلید شناسایی (Pellegrini et al., 2018) و ویژگی‌های ظاهری شاخص، به‌صورت معتبر انجام پذیرفت. در این بررسی، بخش‌های مختلف گیاه شامل برگ، دمبرگ، ریشه و ساقه‌ی دارای نشانه‌های آلودگی به همراه نمونه‌هایی از آب و رسوبات مجاور گیاهان آلوده جمع‌آوری شدند. نمونه‌های حاصل پس از شست‌وشوی اولیه با آب جاری به مدت یک دقیقه در الکل ۷۰ درصد و یک دقیقه در محلول هیپوکلریت سدیم نیم درصد غوطه‌ور گردیدند. پس از دو مرتبه شست‌وشوی مجدد نمونه‌ها با آب مقطر سترون، قطعات حاصل با دستمال کاغذی سترون خشک شدند. پس از آماده‌سازی نمونه‌ها، قطعاتی در حدود دو میلی‌متر از مرز بین بافت سالم و آلوده جدا و روی محیط کشت سیب‌زمینی-دکستروز-آگار (عصاره‌ی ۳۰۰ گرم سیب‌زمینی

توجهی از مهم‌ترین عوامل بیماری‌زای گیاهی در این شاخه جای می‌گیرند. جنس‌هایی نظیر *Bipolaris*, *Colletotrichum*, *Alternaria*, *Fusarium*, *Stemphylium* و *Curvularia* همگی از اعضای شاخه‌ی *Ascomycota* هستند که به‌عنوان عوامل پوسیدگی ریشه، لکه‌برگی، بلایت و پژمردگی در طیف وسیعی از گیاهان، از جمله گیاهان آبی، شناخته شده‌اند (Hyde et al., 2014; Jayawardena et al., 2019; Wijayawardene et al., 2022). برخی از این جنس‌ها، به‌ویژه گونه‌های *Alternaria alternata* (Fr.) Keissl.، اخیراً در مطالعات متعددی به‌عنوان عوامل مؤثر در مهار زیستی و حتی لیگنین‌زدایی توده‌ی زیستی سنبل آبی مورد توجه قرار گرفته‌اند (Virefu et al., 2017).

رود دجله به‌عنوان یکی از مهم‌ترین شریان‌های آبی خاورمیانه، در سال‌های اخیر با هجوم گسترده سنبل آبی مواجه شده که پیامدهای بوم‌شناختی و اقتصادی نگران‌کننده‌ای را برای منطقه به همراه داشته است (Bachmann et al., 2019). مهار این علف هرز مهاجم به‌دلیل آهنگ بالای رشد، تکثیر رویشی سریع، تشکیل توده‌های متراکم و شناور، و توانایی اشغال سریع پهنه‌های آبی، به‌ویژه در سامانه‌های رودخانه‌ای گرمسیری و نیمه‌گرمسیری، بسیار دشوار و پرهزینه بوده است. افزون بر این، محدودیت کارایی روش‌های مکانیکی و شیمیایی، همراه با هزینه‌های تکرار عملیات، خطر انتشار قطعات گیاهی و پیامدهای زیست‌محیطی احتمالی، ضرورت ابداع راهبردهای پایدارتر و سازگارتر با زیست‌بوم، از جمله بهره‌گیری از عوامل مهار زیستی، را برجسته ساخته است. با وجود این تهدید جدی، دانش ما از تنوع قارچ‌های آسکومیستی بومی همراه با سنبل آبی و توان بالقوه آن‌ها به‌عنوان عوامل مهار زیستی در این منطقه، بسیار اندک است. پژوهش حاضر با هدف پر کردن این خلاء، به شناسایی ریخت‌شناختی و مولکولی قارچ‌های آسکومیستی همراه با بخش‌های مختلف سنبل آبی (برگ، دمبرگ، ریشه و ساقه) و همچنین آب و رسوبات اطراف آن در رود دجله پرداخته و ضمن واکاوی جایگاه فیلوژنتیکی

جوشانده شده، ۲۰ گرم دکستروز و ۱۶ گرم آگار در یک لیتر آب مقطر) کشت داده شدند. تست‌های پتری تا زمان ظهور پرگنه‌های قارچی در ۲۵ درجه‌ی سلسیوس نگهداری شدند. خالص‌سازی جدایه‌ها با استفاده از روش نوک‌ریسه روی محیط‌کشت آب-آگار (۱۶ گرم آگار در یک لیتر آب مقطر) سه مرتبه صورت گرفت و نگهداری جدایه‌ها روی کاغذ صافی سترون در ۲۰- درجه‌ی سلسیوس انجام شد. همه‌ی جدایه‌های به‌دست‌آمده بر اساس ویژگی‌های پرگنه در تست‌های پتری و مطالعه‌ی ساختار میکروسکوپی به صورت اولیه گروه-بندی شدند.

برای بررسی ویژگی‌های ریخت‌شناختی، جدایه‌های قارچی پس از خالص‌سازی روی محیط‌های کشت مختلف قرار داده شدند. ویژگی‌های پرگنه‌ای مانند رنگ، بافت، حاشیه و سرعت رشد روی محیط کشت عصاره‌ی سیب‌زمینی-دکستروز-آگار (PDA؛ عصاره ۳۰۰ گرم سیب‌زمینی، ۲۰ گرم دکستروز و ۱۶ گرم آگار در یک لیتر آب مقطر) بررسی شد. برای القای تشکیل ساختارهای کنیدیومی و مشاهده دقیق‌تر صفات میکروسکوپی در برخی جدایه‌ها، از محیط‌کشت عصاره‌ی هویج و سیب‌زمینی-آگار (PCA؛ ۲۰ گرم هویج، ۳۰۰ گرم سیب‌زمینی و ۱۶ گرم آگار در یک لیتر آب مقطر) استفاده شد. برای بررسی تشکیل ماکروکنیدیوم، میکروکنیدیوم و نیز کلایدوسپور، جدایه‌های مربوطه روی محیط‌کشت برگ میخک (CLA؛ ۲ درصد آگار آب همراه با قطعات برگ میخک سترون‌شده) و نیز محیط‌کشت SNA (۱ گرم KH_2PO_4 ، ۱ گرم KNO_3 ، ۰/۵ گرم $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ ، ۰/۵ گرم KCl ، ۰/۲ گرم گلوکز، ۰/۲ گرم سوکروز و ۱۶ گرم آگار در یک لیتر آب مقطر) کشت داده شدند. در این محیط‌کشت‌ها، تشکیل و آرایش کنیدیوم‌ها و نیز ایجاد کلایدوسپورها مورد بررسی قرار گرفت. برای القای تشکیل پیکنیدیوم در جدایه‌های پیکنیدیوم‌ساز، از محیط‌کشت سوزن کاج-آگار (PNA؛ آگار آب ۲ درصد حاوی قطعات برگ‌های سوزنی کاج سترون‌شده) استفاده شد. برای بررسی تشکیل آسروول و توده‌های کنیدیومی در جدایه‌های مربوطه، کشت‌ها

روی PDA نگهداری و ساختارهای زایشی تشکیل‌شده روی سطح پرگنه مشاهده شد. ویژگی‌های مختلفی از جمله ریخت‌شناسی پرگنه، رنگ و نوع میسلیم‌های هوایی، وجود یا عدم وجود ساختارهای جنسی و غیرجنسی بررسی شد. شناسایی جنس‌ها و گونه‌ها بر اساس کلیدهای شناسایی معتبر صورت گرفت (Alcorn, 1988; Barnett & Hunter, 1998; Crous, 2006; Ellis, 1971; Leslie & Summerell, 2006; Lombard, et al., 2021; Sivanesan, 1987). تعداد ۵۰ ساختار مختلف جنسی و غیرجنسی از هر گروه قارچی برای اندازه‌گیری‌های ریخت‌سنجی انتخاب شدند.

آزمون‌های بیماری‌زایی و واکاوی‌های آماری

برای ارزیابی بیماری‌زایی جدایه‌های قارچی، ابتدا سوسپانسیون اسپور جدایه‌های منتخب تهیه شد. بدین منظور، یک بلوک سه میلی‌متری از حاشیه پرگنه فعال هر جدایه قارچی به‌طور جداگانه روی محیط‌های کشت عصاره سیب‌زمینی-دکستروز-آگار و عصاره مالت-آگار قرار داده شد و کشت‌ها در ۲۰ درجه سلسیوس به‌مدت دو هفته در انکوباتور نگهداری شدند. پس از رشد کافی پرگنه‌ها، سه بلوک با قطر شش میلی‌متر از حاشیه فعال هر کشت برداشته و به فلاسک‌های ارلن‌مایر ۲۵۰ میلی‌لیتری حاوی ۱۰۰ میلی‌لیتر محیط‌کشت مایع عصاره سیب‌زمینی-دکستروز منتقل شد. فلاسک‌ها به مدت ۴۸ ساعت روی دستگاه لرزان قرار گرفتند تا رشد قارچی و اسپورزایی تحریک شود. پس از تشکیل اسپور، سوسپانسیون حاصل با استفاده از کاغذ صافی سترون صاف شد و تراکم اسپورها با لام گلبول‌شمار تعیین گردید. سپس غلظت نهایی سوسپانسیون در محدوده‌ی 10^5 تا 10^7 اسپور در میلی‌لیتر تنظیم و برای مایه‌زنی گیاهان استفاده شد (Bolboli et al., 2022).

به‌منظور تهیه گیاهان مورد استفاده در آزمون بیماری‌زایی، اندام‌های رویشی سنبل آبی ابتدا به گلدان‌های پلاستیکی با ابعاد 28×25 سانتی‌متر حاوی هشت لیتر آب منتقل شدند. تکثیر گیاهان به‌صورت غیرجنسی و از طریق تولید ساقه‌های رونده‌ی افقی انجام گرفت؛ به این ترتیب که پس از دو

میانگین مربعات خطای تجزیه‌ی واریانس محاسبه شد و همه آزمون‌ها در سطح معنی‌داری ۰/۰۵ انجام شدند.

استخراج دی‌ان‌ای، فزون‌سازی و واکاوی‌های فیلوژنتیکی

برای انجام مطالعات مولکولی، ابتدا DNA ژنومی جدایه‌های بیمارگر طبق شیوه‌نامه‌ی میرسلیمانی و مستوفی‌زاده قلمفرسا (Mirsoleimani & Mostowfizadeh-Ghalefarsa, 2013) استخراج شد و کیفیت و کمیت DNA حاصل برای استفاده در واکنش زنجیره‌ای پلیمرز با دستگاه نانودراپ ارزیابی گردید. به‌منظور شناسایی مولکولی جدایه‌ها، ناحیه‌ی فاصله‌ی ترانویسی داخلی (ITS) با استفاده از آغازگرهای عمومی ITS1 و ITS4 تکثیر گردید (White et al., 1990). واکنش PCR در حجم ۲۵ میکرولیتر و با استفاده از مسترمیکس (آمپلیکون، دانمارک) در شرایط دمایی استاندارد (واسرشتگی اولیه در ۹۵ درجه، ۳۰ چرخه شامل ۹۵، ۵۵ و ۷۲ درجه‌ی سلسیوس و گسترش نهایی ۷۲ درجه‌ی سلسیوس) انجام شد. پس از تأیید کیفیت و اندازه قطعات روی ژل آگارز یک درصد، محصولات جهت توالی‌یابی به شرکت کدون ژنتیک (تهران، ایران) ارسال شدند. در نهایت، توالی‌های حاصل جهت تعیین هویت مولکولی و واکاوی‌های فیلوژنتیکی مورد استفاده قرار گرفتند. در این راستا، توالی‌های ITS جدایه‌های مورد مطالعه با توالی‌های مرجع موجود در وبگاه NCBI با جست‌وجوی BLAST (<https://blast.ncbi.nlm.nih.gov>) مقایسه شدند و روابط خویشاوندی میان جدایه‌ها و گونه‌های نزدیک بر اساس واکاوی‌های فیلوژنتیکی ارزیابی گردید. توالی‌های به‌دست‌آمده با استفاده از نرم‌افزار Geneious Prime ویرایش و هم‌ردیف‌سازی شدند (جدول ۱). گونه‌ی *Alternaria alternata* (Fr.) Keissl. جدایه‌ی CBS 916.95 به عنوان گروه خارجی در نظر گرفته شد. درخت فیلوژنتیکی حاصل از واکاوی استنتاج بیزی بر روی ناحیه‌ی مورد بررسی در این پژوهش با استفاده از نرم‌افزار MrBayes v.3.1 (Ronquist & Huelsenbeck, 2003) با به کارگیری مدل جانشینی GTR

هفته، گیاهان دختری از محل اتصال به ساقه رونده از گیاه مادری جدا شده و به گلدان‌های پلاستیکی شفاف یک‌لیتری حاوی آب مقطر منتقل شدند. گلدان‌ها در شرایط گلخانه‌ای شامل رطوبت نسبی ۸۰ درصد، دوره نوری حدود ۱۶ ساعت، میانگین دمای شبانه ۲۳ درجه سلسیوس و میانگین دمای روزانه ۲۵ درجه سلسیوس نگهداری شدند (Singh et al., 2016). آزمون بیماری‌زایی جدایه‌های قارچی روی گیاه کامل سنبل آبی و در شرایط گلخانه انجام شد (Dutta, 2021; Dutta et al., 2023; Singh et al., 2016). هر تیمار شامل سه تکرار زیستی بود و برای تیمار شاهد، بلوک‌هایی از محیط کشت عصاره سیب‌زمینی-دکستروز-آگار فاقد قارچ به گیاهان اعمال شد. برای مایه‌زنی، ۱۰ میلی‌لیتر از سوسپانسیون اسپور با غلظت 10^5 تا 10^7 اسپور در میلی‌لیتر با استفاده از سمپاش دستی روی برگ‌ها و سایر بخش‌های هوایی گیاهان سنبل آبی افشانه شد (Ray & Hill, 2012). پس از مایه‌زنی، گیاهان تیمارشده و شاهد در ۲۵ تا ۳۰ درجه‌ی سلسیوس و رطوبت نسبی ۸۰ درصد نگهداری شدند. گیاهان به‌صورت روزانه و به‌مدت یک ماه در گلخانه پایش شدند و علائم ایجادشده با دقت ثبت گردید (Ray & Hill, 2012; Waipara et al., 2006).

واکاوی‌های آماری با استفاده از نرم‌افزار R نسخه‌ی ۴.۵.۱ انجام شد. داده‌های هر صفت به‌صورت جداگانه با تجزیه واریانس یک‌طرفه و تابع aov بررسی شدند. پیش از تجزیه، نرمال بودن باقیمانده‌ها با آزمون شاپیرو-ویلک و نمودارهای Q-Q، و همگنی واریانس‌ها با آزمون لوین بررسی شد. در صورت نقض مفروضه‌های آماری، تبدیل لگاریتم طبیعی بر داده‌ها اعمال گردید. در مواردی که اثر تیمار معنی‌دار بود ($p < 0.05$)، مقایسه‌ی میانگین‌ها با آزمون توکی و تابع TukeyHSD انجام شد. آماده‌سازی و خلاصه‌سازی داده‌ها با بسته‌های tidy, broom و dplyr صورت گرفت (Robinson et al., 2025; Wickham et al., 2019). ضریب تغییرات بر اساس

با فراسنجه گاما و نسبت ناحیه‌ی غیرمتغیر برای تطبیق میزان متغیرها بین
 نواحی با به‌کارگیری نرم‌افزار همگام TrEase (Mishra et al., 2023) ۱۰
 میلیون نسل با الگوی جایگزینی GTR Gamma + I برآورد شد. میزان نسل‌ها
 در گزینه‌ی Burn-in برابر ۲۵ درصد در نظر گرفته شد (Salmaninezhad
 et al., 2024). همچنین برای برآورد درخت فیلوژنتیکی از رهیافت درست-
 نمایی بیشینه نیز استفاده گردید. بدین منظور، از راهبرد RAXML با نرم‌افزار

جدول ۱- فهرست جدایه‌های همراه سنبلی آبی به‌دست‌آمده از رود دجله در منطقه‌ی ناصریه، عراق.

Table 1. List of isolates associated with water hyacinth collected from the Tigris River in Nasiriyah, Iraq.

Species	Isolate	Matrix	Location	Longitude	Latitude	GenBank
						Accession no.
ITS						
<i>Alternaria alternata</i>	SS06	Water	1402/06/01	46.1785 E	31.0732 N	-
	SS19	Stem	1402/06/04	46.1791 E	31.0737 N	-
	SS44	Leaf	1402/06/07	46.1797 E	31.0741 N	-
	SS79	Sediment	1402/06/10	46.1803 E	31.0746 N	-
	SS80	Root	1402/06/13	46.1809 E	31.0751 N	-
	SS86	Root	1402/06/16	46.1815 E	31.0756 N	-
	SS100	Leaf	1402/06/19	46.1821 E	31.0761 N	-
	SS114	Leaf	1402/06/22	46.1827 E	31.0766 N	-
	SS213	Leaf	1402/06/25	46.1833 E	31.0771 N	-
	SS221	Sediment	1402/06/28	46.1839 E	31.0776 N	-
	SS631	Water	1402/07/01	46.1845 E	31.0781 N	-
	SS111	Water	1402/07/04	46.1851 E	31.0786 N	-
	SS11	Water	1402/07/07	46.1857 E	31.0791 N	-
	SS15	Water	1402/07/10	46.1863 E	31.0796 N	-
	SS18	Water	1402/07/13	46.1869 E	31.0801 N	-
	SS88w	Water	1402/07/16	46.1875 E	31.0806 N	-
	SS34	Water	1402/07/19	46.1881 E	31.0811 N	-
	SS77	Water	1402/07/22	46.1887 E	31.0816 N	-
	SS661	Water	1402/07/25	46.1893 E	31.0821 N	-
	SS28	Water	1402/08/01	46.1905 E	31.0831 N	-
	SS45s	Stem	1402/08/04	46.1911 E	31.0836 N	-
<i>Bipolaris</i> sp.	SS75	Stem	1402/08/10	46.1923 E	31.0846 N	-
	SS94s	Stem	1402/08/13	46.1929 E	31.0851 N	PZ014421
	SS127	Stem	1402/08/16	46.1935 E	31.0856 N	-
	SS217	Stem	1402/08/19	46.1941 E	31.0861 N	-
	SS661	Root	1402/08/22	46.1947 E	31.0866 N	-
<i>Colletotrichum truncatum</i>	SS73	Leaf	1402/02/05	46.1208 E	31.0459 N	PX973505
	SS33	Leaf	1402/02/09	46.1283 E	31.0424 N	-
	SS54	Leaf	1402/02/14	46.1237 E	31.0492 N	-
	SS99	Stem	1402/02/20	46.1261 E	31.0471 N	-
	SS119	Stem	1402/02/25	46.1117 E	31.0389 N	-
	SS115	Stem	1402/03/02	46.1149 E	31.0402 N	-
	SS249	Stem	1402/04/02	46.1423 E	31.0664 N	-
	SS222	Sediment	1402/04/07	46.1451 E	31.0682 N	-

صالح و همکاران: شناسایی، جایگاه فیلوژنتیکی و توان بیماری‌زایی آسکومیست‌های...

	SS12	Sediment	1402/04/11	46.1486 E	31.0699 N	-
	SS43	Water	1402/04/16	46.1509 E	31.0715 N	-
	SS45	Water	1402/04/20	46.1520 E	31.0723 N	-
<i>Fusarium chlamydosporum</i>						
	SS2	Leaf	1402/03/05	46.0953 E	31.0287 N	-
	SS52	Leaf	1402/03/07	46.0986 E	31.0301 N	-
	SS60	Leaf	1402/03/10	46.1029 E	31.0335 N	-
	SS61	Leaf	1402/03/13	46.1062 E	31.0299 N	-
	SS89	Leaf	1402/03/17	46.1125 E	31.0368 N	-
	SS90L	Leaf	1402/03/20	46.1178 E	31.0413 N	-
	SS91	Leaf	1402/03/23	46.1210 E	31.0426 N	-
	SS101	Leaf	1402/03/26	46.1244 E	31.0459 N	-
	SS55	Leaf	1402/03/29	46.1288 E	31.0483 N	-
	SS76	Leaf	1402/04/03	46.1332 E	31.0551 N	-
	SS321	Sediment	1402/04/07	46.1387 E	31.0585 N	-
	SS652	Sediment	1402/04/10	46.1409 E	31.0613 N	-
	SS666	Stem	1402/04/15	46.1422 E	31.0621 N	-
	SS81	Stem	1402/01/15	46.0852 E	31.0221 N	-
	SS193	Stem	1402/01/18	46.0897 E	31.0254 N	-
	SS131	Stem	1402/01/21	46.0929 E	31.0278 N	-
	SS90	Stem	1402/01/23	46.0965 E	31.0302 N	PX973507
	SS329	Stem	1402/01/26	46.0994 E	31.0339 N	-
	SS921	Stem	1402/01/29	46.1037 E	31.0368 N	-
	SS110	Stem	1402/02/02	46.1078 E	31.0391 N	-
	SS21	Stem	1402/02/05	46.1109 E	31.0419 N	-
	SS28s	Stem	1402/02/08	46.1143 E	31.0442 N	-
	SS29	Stem	1402/02/11	46.1186 E	31.0465 N	-
	SS196	Stem	1402/02/18	46.1254 E	31.0519 N	-
<i>Curvularia lunata</i>						
	SS98	Root	1402/02/22	46.1291 E	31.0543 N	-
	SS91w	Water	1402/02/26	46.1328 E	31.0566 N	-
	SS92	Water	1402/03/01	46.1365 E	31.0592 N	-
	SS95	Water	1402/03/05	46.1401 E	31.0608 N	-
	SS97	Water	1402/03/09	46.1427 E	31.0620 N	-
	SS112	Sediment	1402/03/14	46.1459 E	31.0634 N	-
	SS109	Sediment	1402/03/20	46.1492 E	31.0642 N	-
	SS102	Sediment	1402/04/10	46.1524 E	31.0653 N	-
	SS181	Sediment	1402/04/25	46.1550 E	31.0658 N	-
	SS130	Sediment	1402/03/05	46.1312 E	31.0617 N	-
	SS531	Root	1402/03/11	46.1338 E	31.0632 N	-
	SS348	Stem	1402/03/15	46.1361 E	31.0650 N	-
	SS458	Stem	1402/03/20	46.1377 E	31.0665 N	-
	SS444	Stem	1402/03/25	46.1390 E	31.0681 N	-
<i>Stemphylium botryosum</i>						
	SS76r	Root	1402/05/01	46.1602 E	31.0731 N	-
	SS87	Root	1402/05/06	46.1628 E	31.0742 N	-
	SS89w	Water	1402/05/11	46.1650 E	31.0755 N	-
	SS32	Water	1402/05/15	46.1667 E	31.0764 N	-
	SS34s	Stem	1402/05/19	46.1682 E	31.0770 N	-
	SS23	Stem	1402/05/23	46.1695 E	31.0782 N	-
	SS65	Stem	1402/05/25	46.1700 E	31.0790 N	-
	SS13	Stem	1402/06/02	46.1740 E	31.0800 N	-
	SS03	Stem	1402/06/08	46.1763 E	31.0816 N	-
	SS08	Stem	1402/06/14	46.1781 E	31.0831 N	-
	SS10	Stem	1402/06/20	46.1798 E	31.0848 N	-
<i>Stilbocrea sp.</i>						
	SS03l	Leaf	1402/07/03	46.1825 E	31.0862 N	-

<i>Curvularia spicifera</i>	SS49	Leaf	1402/07/10	46.1841 E	31.0876 N	-
						-
	SS126	Sediment	1402/07/15	46.1863 E	31.0888 N	PX973506
	SS134	Sediment	1402/07/22	46.1880 E	31.0902 N	-
	SS124	Sediment	1402/08/04	46.1905 E	31.0916 N	-
	SS05	Stem	1402/08/06	46.1920 E	31.0932 N	-
	SS118	Stem	1402/08/11	46.1938 E	31.0946 N	-
<i>Ulocladium chartarum</i>	SS123	Stem	1402/08/17	46.1952 E	31.0959 N	-
	SS56	Root	1402/08/22	46.1966 E	31.0971 N	-
	SS88	Leaf	1402/11/28	46.1977 E	31.0983 N	-
	SS94	Leaf	1402/12/02	46.1985 E	31.0990 N	-
	SS24	Leaf	1402/09/05	46.1990 E	31.0994 N	-
	SS41	Leaf	1402/09/15	46.2005 E	31.0999 N	-
	SS120	Leaf	1402/09/22	46.2031 E	31.1011 N	-

واکاوی فراوانی، تنوع زیستی، غلبه گونه‌ای و ارتباط گونه-بستر در جدایه‌های آسکومیستی به‌دست‌آمده از سنبل آبی مهاجم

برای واکاوی فراوانی، تنوع، غلبه و ارتباط گونه-بستر در جدایه‌های آسکومیستی به‌دست‌آمده از سنبل آبی و آب اطراف آن، ابتدا تعداد جدایه‌های هر گونه در صفحه‌ی گسترده‌ی نرم‌افزار Microsoft Excel وارد شد. داده‌ها شامل تعداد جدایه‌های هر گونه در نمونه‌های برگرفته از بخش‌های مختلف سنبل آبی شامل برگ، ساقه، ریشه، رسوبات و آب اطراف گیاه، و نیز دوره‌های نمونه‌برداری انجام‌شده در سال‌های ۲۰۲۳ تا ۲۰۲۴ بود. سپس داده‌ها با استفاده از بسته‌ی readxl در نرم‌افزار R نسخه ۴.۵.۱ (R Core Team 2025) وارد محیط آماری شدند و در قالب ماتریس‌های جامعه، شامل فراوانی گونه‌ها در نمونه‌ها یا دوره‌های نمونه‌برداری، سازمان‌دهی گردیدند. برای برآورد تنوع زیستی، شاخص‌های رایج تنوع آلفا شامل غنای گونه‌ای، شاخص شانون، شاخص سیمپسون، شاخص جینی-سیمپسون و یکنواختی پیلو محاسبه شدند. این محاسبات با استفاده از بسته‌ی vegan نسخه ۲.۷.۱ در R انجام گرفت (Oksanen et al., 2025). برای بررسی الگوی فراوانی گونه‌ها، گونه‌های آسکومیستی بر اساس تعداد جدایه‌ها از بیشترین تا کمترین مرتب شدند. فراوانی نسبی هر گونه از تقسیم تعداد جدایه‌های آن گونه بر تعداد کل جدایه‌ها محاسبه شد و برای نمایش تصویری، نمودار دایره‌ای با استفاده از

بسته‌ی ggplot2 نسخه ۳.۵.۲ ترسیم گردید (Wickham, 2016). به‌منظور بررسی الگوهای غلبه و یکنواختی جامعه، منحنی رتبه-فراوانی یا نمودار ویتاکر برای آسکومیست‌ها ترسیم شد. در این واکاوی، گونه‌ها بر اساس فراوانی جدایه‌ها از بیشترین تا کمترین رتبه‌بندی شدند و فراوانی‌ها به مقیاس لگاریتمی ($\log_{10}$) تبدیل گردیدند تا تفاوت میان گونه‌های غالب و گونه‌های نادر با وضوح بیشتری مشخص شود. سپس رتبه‌ی گونه‌ها در محور افقی و لگاریتم فراوانی آن‌ها در محور عمودی نمایش داده شد. برای ارزیابی غلبه‌ی گونه‌ای، علاوه بر فراوانی نسبی، شاخص برگ-پارکر نیز محاسبه شد. این شاخص به‌صورت نسبت فراوانی گونه‌ی غالب به کل جدایه‌ها محاسبه گردید و سهم گونه‌ی غالب را در ساختار جامعه نشان می‌دهد. ارتباط بین گونه‌ها و بسترها (شامل برگ، ساقه، ریشه، رسوبات و آب اطراف سنبل آبی) با استفاده از آزمون مربع کای و تابع chisq.test در محیط R بررسی شد. با توجه به پایین بودن مقادیر مورد انتظار در برخی سلول‌ها، آزمون مربع کای با شبیه‌سازی مونت‌کارلو با ۱۰۰۰۰ تکرار انجام شد و برای افزایش دقت، آزمون دقیق فیشر نیز مورد استفاده قرار گرفت. در نهایت، برای بررسی روابط میان شاخص‌های تنوع زیستی، هم‌بستگی بین شاخص‌ها با استفاده از ضریب هم‌بستگی پیرسون محاسبه شد و معنی‌داری ضرایب با آزمون‌های دوطرفه ارزیابی گردید. به‌منظور نمایش بصری این روابط، ماتریس نمودارهای پراکنش

شد (شکل ۱). تعداد ۱۰۸ جدایه‌ی آسکومیستی از نمونه‌برداری‌های متعدد از گیاه سنبل آبی مهاجم، آب اطراف گیاه و رسوبات زیر گیاه در رود دجله به دست آمد (جدول ۱) که از نظر ریخت‌شناختی به سه گروه ریخت‌شناختی مختلف تقسیم شدند. شناسایی ریخت‌شناختی منجر به تشخیص آرایه‌های *Bipolaris* sp. *Alternaria alternata* (Fr.) Keisl. *Colletotrichum truncatum* (Schwein.) Andrus & Moore *Curvularia lunata* (Wakker) Boedijn *Fusarium chlamydosporum* Wollenw. & Reinking *Stilbocrea* sp. *Stemphylium botryosum* *Ulocladium* و *chartarum* (Preuss) E.G. Simmons شد. ویژگی‌های ریخت‌شناختی هر یک از این گروه‌ها به تفکیک در ذیل بیان شده است.

دوتایی با استفاده از تابع GGally::ggpairs در محیط R ترسیم شد. در این ماتریس، توزیع چگالی هسته‌ای هر شاخص روی قطر، نمودارهای پراکنش همراه با خطوط رگرسیون خطی و فاصله اطمینان ۹۵ درصد در بخش پایینی، و ضرایب هم‌بستگی همراه با کدهای معنی‌داری در بخش بالایی نمایش داده شدند.

نتایج

گونه‌های آسکومیستی به دست آمده از گیاه سنبل آبی مهاجم

گیاهان جمع‌آوری شده همگی دارای علائم لکه‌برگی و پژمردگی اندام‌های هوایی بودند. این علائم به صورت لکه‌های بافت‌مرده با اندازه و شدت متفاوت روی برگ‌ها و نیز زردی، ضعف عمومی و پژمردگی بخش‌های هوایی مشاهده



شکل ۱- علائم پژمردگی و تغییررنگ سنبل آبی به‌دست‌آمده از نمونه‌برداری رود دجله، ناصریه، عراق. A: قهوه‌ای شدن و پژمردگی ساقه و ریشه؛ B: سبزدی کل گیاه.

Figure 1. Symptoms of wilting and discoloration in water hyacinth collected from Nasiriyah, Iraq. A: Browning and wilting of the stem and root; B: Chlorosis of the whole plant.

***Alternaria alternata* (Fr.) Keissl.**

پرگنه‌ها بر روی محیط‌کشت عصاره‌ی سیب‌زمینی-دکستروز-آگار رشدی نسبتاً سریع نشان دادند و معمولاً دارای بافتی مخملی تا پنبه‌ای کوتاه بودند. رنگ پرگنه در مراحل اولیه رشد خاکستری روشن تا خاکستری مایل به سبز مشاهده شد، اما با افزایش سن کشت به تدریج به قهوه‌ای تیره تا سیاه زیتونی تغییر یافت. حاشیه‌ی پرگنه‌ها اغلب منظم تا کمی موج‌دار بوده و در بسیاری از جدایه‌ها ناحیه‌بندی متحدالمرکز مشخصی در سطح پرگنه دیده شد. سطح زیرین پرگنه‌ها معمولاً قهوه‌ای تیره تا سیاه مایل به سبز بوده و در برخی موارد تیرگی بیشتری در مرکز پرگنه مشاهده گردید. ریشه‌ها قهوه‌ای روشن تا قهوه‌ای تیره، به پهنای ۳ تا ۶ میکرومتر، دارای رشد سریع تا متوسط ۴ تا ۷ میلی‌متر در روز، دارای دیواره‌های عرضی منظم و دیواره نسبتاً ضخیم بودند و به صورت سطحی و هوایی رشد کردند. کنیدیوفورها منفرد یا به صورت دسته‌های کوچک، ساده یا گاهی منشعب، راست تا اندکی خمیده و به رنگ قهوه‌ای روشن تا قهوه‌ای زیتونی بودند. این ساختارها کوتاه تا متوسط بوده و معمولاً از ریشه‌های سطحی یا هوایی منشأ می‌گرفتند. دیواره‌ی کنیدیوفورها صاف تا کمی زبر و اغلب دارای چند دیواره‌ی عرضی بود. کنیدیوم‌ها قهوه‌ای تا قهوه‌ای تیره، بیضوی، با ابعاد $۱۸-۷ \times ۸۳-۱۸$ میکرومتر گلابی‌شکل تا چماقی بودند و دیواره‌های عرضی و طولی متعدد داشتند (شکل A۲-C). در انتهای رأسی بسیاری از کنیدیوم‌ها منقار کوتاه یا شبه‌منقار مشاهده شد (شکل A۲-C). کنیدیوم‌ها معمولاً به صورت منفرد یا در زنجیره‌های کوتاه تشکیل شدند و سطح آن‌ها صاف تا کمی زبر بود. تشکیل کنیدیوم‌ها به صورت هم‌پایه انجام شد، به طوری که پس از تولید هر کنیدیوم، نقطه رشد کنیدیوفور به طور جانبی جابه‌جا شده و الگوی زنجیره‌ای کوتاهی از کنیدیوم‌ها ایجاد می‌گردید.

***Bipolaris* sp.**

پرگنه‌ی این گونه روی محیط‌کشت عصاره‌ی سیب‌زمینی-دکستروز-آگار به رنگ خاکستری متمایل به قهوه‌ای تا سبز زیتونی بود. پرگنه‌ها با آهنگ رشد

متوسط ۵ تا ۶ میلی‌متر در روز رشد کردند. قطر ریشه‌ی اصلی بین ۴ تا ۷ میکرومتر بود. کنیدیوم‌ها بسیار بزرگ با ابعاد بیش از ۱۲۰ در ۵۰ میکرومتر (با دامنه‌ی $۹۰-۴۰ \times ۱۲۰-۱۸۰$ میکرومتر) پس از دو ماه مشاهده شدند (شکل F-D۲). کنیدیوم‌ها به صورت نسبتاً دوکی تا صاف و کشیده با چهار تا شش دیواره عرضی و دیواره بسیار ضخیم با ضخامت ۴ تا ۸ میکرومتر بودند. کنیدیوفورها به صورت منفرد یا خوشه‌ای مشاهده شدند. سلول‌های کنیدیوم‌ها از نوع پلی‌ترتیک بوده و تولید کنیدیوم‌ها به صورت هم‌پایه انجام شد. این گونه به هیچ‌یک از گونه‌های موجود در کلیدهای شناسایی ریخت‌شناختی شباهت نداشت.

***Colletotrichum truncatum* (Schwein.) Andrus & W.D.**

Moore

جدایه‌های این گونه روی محیط‌کشت عصاره‌ی سیب‌زمینی-دکستروز-آگار به رنگ قهوه‌ای متمایل به شیری تشکیل شدند. میسیلیوم‌ها پنبه‌ای، فشرده و گاه با تجمع‌های دایره‌ای شکل مرتبط با آسروول تشکیل می‌شدند. کنیدیوم‌ها بی‌رنگ، شفاف و یک‌سلولی و فاقد هرگونه تقسیم عرضی داخلی بودند. کنیدیوم‌ها به شکل استوانه‌ای کوتاه تا کمی انحنادار و گاهی با یک یا هر دو انتهای گرد یا اندکی باریک مشاهده شدند (شکل ۲). میانگین طول کنیدیوم‌ها حدود پنج تا شش میکرومتر و نسبت طول به عرض در حدود یک‌ونیم محاسبه شد. دیواره‌ی کنیدیوم‌های نازک و صاف بوده، هیچ‌گونه زبری یا تزیین سطحی مشاهده نگردید. کنیدیوم‌ها عموماً از کنیدیوفورهای کوتاه و ساده منشأ گرفته بودند. خارها در جدایه‌های مورد مطالعه، به رنگ قهوه‌ای روشن تا قهوه‌ای تیره، راست یا اندکی خمیده و با جداره‌ی ضخیم مشاهده شدند (شکل I-G۲). طول آن‌ها متغیر و در محدوده‌ی تقریباً ۸۰ تا ۱۷۰ میکرومتر قرار داشت. این ساختارها دو تا پنج بند داشتند و رأس آن‌ها تیز نبود. چنگک‌ها به صورت اندام‌های چسبی تمایز یافته و تیره‌رنگ تشکیل می‌شدند و اشکال نسبتاً متغیری از بیضوی تا نامنظم و لوب‌دار از خود نشان

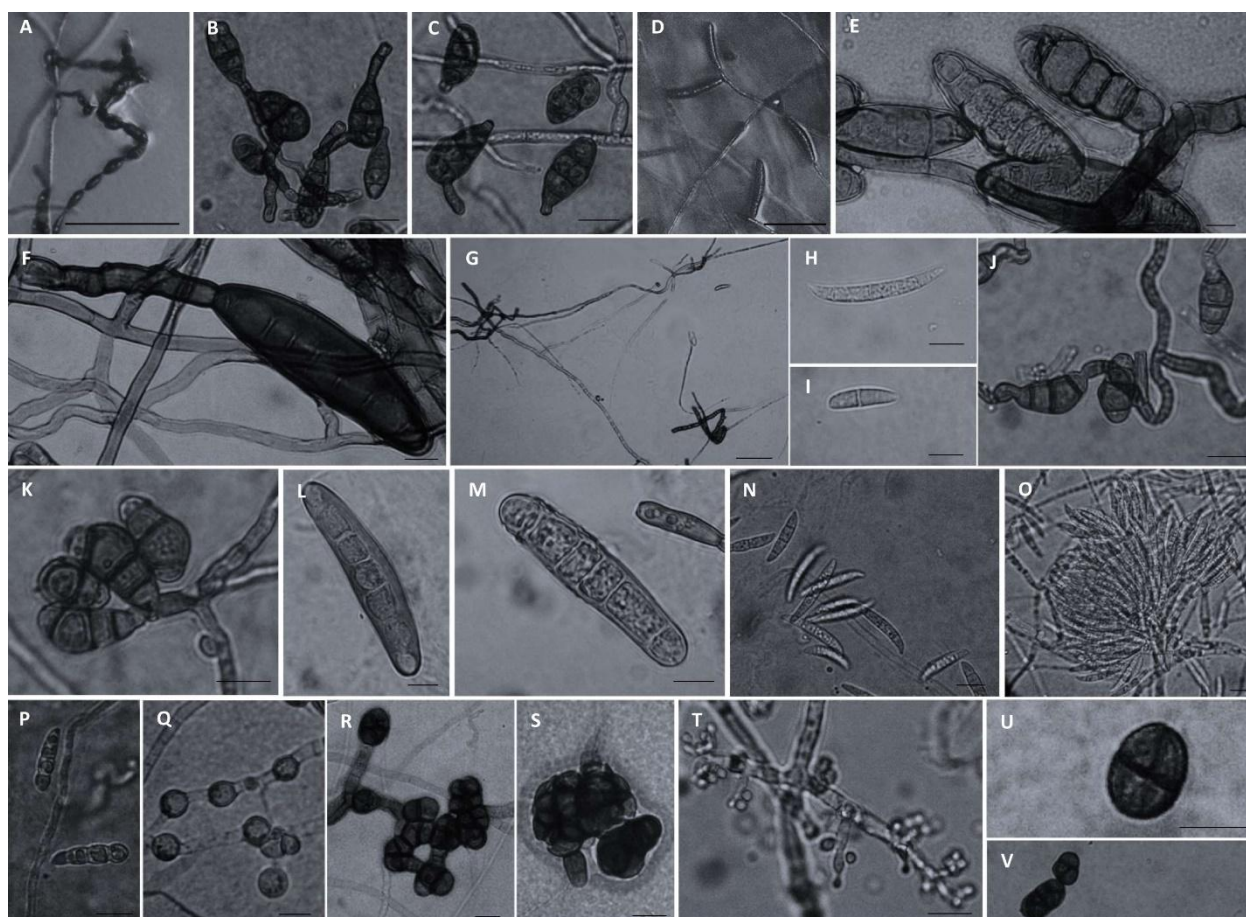
Curvularia spicifera (Bainier) Boedijn

پرگنه‌ی قارچ بر روی محیط‌کشت عصاره‌ی سیب‌زمینی-دکستروز-آگار پس از هفت روز رشد از خاکستری تا قهوه‌ای مایل به زیتونی متغیر بوده، با گذشت زمان به تدریج تیره‌تر شد. رشد پرگنه در این گونه سریع بود و به صورت شعاعی از مرکز به محیط گسترش می‌یافت، با این حال سطح آن معمولاً صاف و فاقد چین‌خوردگی محسوس، باقی می‌ماند. کنیدیوفورها به رنگ قهوه‌ای روشن یا قهوه‌ای بودند، به صورت راست یا اندکی خمیده از سطح ریشه‌ها خارج می‌شدند و معمولاً بدون انشعاب و دارای دیواره‌های عرضی بودند. سطح کنیدیوفورها دندان‌دار بود و طولی معادل ۲۷/۴ تا ۱۰۸ میکرومتر با پهنایی معادل ۲/۴ تا ۴/۹ میکرومتر داشتند و معمولاً به صورت منفرد یا به شکل گروه‌های پراکنده مشاهده شدند. سلول‌های کنیدیوم‌زا در این گونه قهوه‌ای‌رنگ، با شکل تقریباً استوانه‌ای، نامنظم یا گاه اندکی برجسته و دارای سطح زبر با طولی بین ۸ تا ۱۹/۶ میکرومتر بودند. کنیدیوم‌ها از طریق جوانه‌زدن متوالی از این سلول‌ها به وجود می‌آمدند. کنیدیوم‌ها به رنگ قهوه‌ای تیره، با سه دیواره و با جداره صاف بودند، کنیدیوم‌ها صاف و نسبتاً بیضی پهن دیده شدند. میانگین اندازه کنیدیوم‌ها $9/7 \times 19/8$ میکرومتر بود. درون هر کنیدیوم سه دیواره عرضی مشخص وجود داشت که سلول‌های بخش میانی معمولاً بزرگ‌تر و تیره‌تر از دو انتهای آن بودند (شکل M-L۲). جوانه‌زنی کنیدیوم‌ها بیشتر از ناحیه‌ی رأس صورت می‌گرفت. هیچ‌کدام از جدایه‌ها قادر به تولید کلامیدوسپور یا میکروکنیدیوم و تولید اندام جنسی نبودند.

می‌دادند. رنگ آن‌ها از قهوه‌ای متوسط تا قهوه‌ای تیره متغیر بوده و سطح‌شان صاف تا اندکی ناهموار بود. چنگک‌ها یا به صورت منفرد از انتهای کنیدیوم‌ها و ریشه‌ها پدید می‌آمدند و یا به شکل تجمعات کوچک چندسلولی ایجاد شدند.

Curvularia lunata (Wakker) Boedijn

پرگنه‌ها بر روی محیط‌کشت عصاره‌ی سیب‌زمینی-دکستروز-آگار رشدی سریع تا نسبتاً سریع نشان دادند و معمولاً دارای بافتی مخملی تا پنبه‌ای کوتاه بودند. رنگ پرگنه‌ها در مراحل اولیه رشد خاکستری روشن تا خاکستری مایل به قهوه‌ای مشاهده شد، اما با افزایش سن کشت به تدریج به قهوه‌ای تیره، زیتونی تیره تا تقریباً سیاه تغییر کرد. سطح زیرین پرگنه‌ها معمولاً قهوه‌ای تیره تا سیاه بوده، در مرکز پرگنه تیرگی بیشتری مشاهده شد. ریشه‌ها قهوه‌ای روشن تا قهوه‌ای تیره، با پهنای ۴ تا ۸ میکرومتر، دارای دیواره‌ی عرضی و دیواره‌ی نسبتاً ضخیم بودند. کنیدیوفورها ساده، منفرد یا به صورت دسته‌های کوچک، راست تا کمی خمیده، دارای دیواره‌ی عرضی و به رنگ قهوه‌ای روشن تا قهوه‌ای متوسط بودند. این ساختارها معمولاً کوتاه تا متوسط بوده، از ریشه‌های سطحی یا هوایی منشأ گرفته بودند. دیواره‌ی کنیدیوفورها صاف تا کمی زبر بود و در محل تشکیل کنیدیوم، اغلب انحنا‌ی مشخصی مشاهده شد. کنیدیوم‌ها معمولاً منفرد، قهوه‌ای تا قهوه‌ای تیره، دوکی‌شکل تا بیضوی کشیده، با ابعاد ۲۰-۳۰ × ۸-۱۲ میکرومتر بودند (شکل K-J۲). کنیدیوم‌ها غالباً دارای سه دیواره‌ی عرضی مشخص بوده، سلول میانی آن‌ها به طور واضح متورم‌تر و تیره‌تر از سایر سلول‌ها بود که موجب ایجاد انحنا‌ی مشخص و ظاهر هلالی‌شکل در کل کنیدیوم می‌شد (شکل K-J۲). انتهای رأسی و قاعده‌ای کنیدیوم‌ها اغلب گرد تا کمی باریک و دیواره آن‌ها صاف تا اندکی زبر بود (شکل K-J۲).



شکل ۲- ویژگی‌های ریخت‌شناختی گونه‌های آسکومیستی به دست آمده در این پژوهش. A-C: *Alternaria alternata*: A: تشکیل کنیدیوم‌ها به صورت هم‌پایه. B-C: کنیدیوم‌ها با دیواره طولی و عرضی. D-F: *Bipolaris* sp.: D: جوانه زدن کنیدیوم‌ها. E: کنیدیوم‌های با دیواره‌ی عرضی. F: کنیدیوم کشیده با هفت دیواره‌ی عرضی. G-I: *Colletotrichum truncatum*: G: خار. H: کنیدیوم‌های کشیده. I: کنیدیوم‌های کوچک دوسلولی. J-K: *Curvularia lunata*: J: تشکیل کنیدیوم‌ها. K: کنیدیوم‌ها با سه دیواره‌ی عرضی. L-M: *Curvularia spicifera*: L: کنیدیوم‌های تقریباً خمیده با شش دیواره‌ی عرضی. M: کنیدیوم کاملاً راست با پنج دیواره‌ی عرضی. N-Q: *Fusarium chlamydosporum*: N: ماکروکنیدیوم‌های دوکی و کشیده. O: اجتماع کنیدیوم‌ها به بر روی کنیدیوفور. P: ماکروکنیدیوم‌ها با سه دیواره‌ی عرضی. Q: کلامیدوسپورهای زنجیری. R-S: *Stemphylium botryosum*: R: تشکیل کنیدیوم‌ها بر روی کنیدیوفور. S: کنیدیوم‌ها با دیواره طولی و عرضی. T: تشکیل کنیدیوم‌ها روی کنیدیوفور در *Stilbocrea* sp.: U-V: *Ulocladium chartarum*: U: کنیدیوم سه سلولی. V: کنیدیوم‌ها با دیواره طولی و عرضی. (خط مقیاس در تمامی موارد = ۲۰ میکرومتر به جز مورد A، D و G که خط مقیاس = ۱۰۰ میکرومتر است).

Figure 2. Morphological characteristics of the ascomycetous species recovered in this study. A–C: *Alternaria alternata*. A: catenate conidial formation. B–C: conidia with transverse and longitudinal septa. D–F: *Bipolaris* sp. D: germinating conidia. E: conidia with transverse septa. F: elongated conidium with seven transverse septa. G–I: *Colletotrichum truncatum*. G: seta. H: elongated conidia. I: small two-celled conidia. J–K: *Curvularia lunata*. J: conidial formation. K: conidia with three transverse septa. L–M: *Curvularia spicifera*. L: slightly curved conidia with six transverse septa. M: straight conidium with five transverse septa. N–Q: *Fusarium chlamydosporum*. N: fusiform and elongated macroconidia. O: aggregation of conidia on the conidiophore. P: macroconidia with three transverse septa. Q: chains of chlamydospores. R–S: *Stemphylium botryosum* R: conidial formation on the conidiophore. S: conidia with transverse and longitudinal septa. T: conidial formation on the conidiophore in *Stilbocrea* sp. U–V: *Ulocladium chartarum*. U: three-celled conidium. V: conidia with transverse and longitudinal septa. (Scale bars = 20 μ m in all panels except A, D, and G, where scale bars = 100 μ m).

Fusarium chlamydosporum Wollenw. & Reinking

پرگنه‌ها روی محیط‌کشت عصاره‌ی سیب‌زمینی-دکستروز-آگار رشدی نسبتاً سریع (۷ تا ۹ میلی‌متر در روز) داشته، میسلیومی متراکم، پنبه‌ای تا نیمه‌پنبه‌ای ایجاد کردند. رنگ پرگنه‌ها در مراحل اولیه معمولاً سفید تا سفید مایل به کرم بود، اما با افزایش سن کشت به تدریج به کرم مایل به صورتی یا قهوه‌ای بسیار روشن تغییر کرد. سطح زیرین پرگنه اغلب رنگ‌پریده تا کمی صورتی یا زرد کم‌رنگ نشان داد. ریشه‌ها شفاف، با پهنای ۴ تا ۷ میکرومتر، با دیواره نازک طولی و دیواره عرضی بودند و به صورت هوایی نیز رشد کردند. کنیدیوفورها ساده یا به‌ندرت منشعب، کوتاه تا متوسط، شفاف تا کم‌رنگ و اغلب از ریشه‌های هوایی یا سطحی منشأ می‌گرفتند. فیالیدها معمولاً به‌صورت مونوفیالیدی و گاهی پلی‌فیالیدی تشکیل می‌شدند. تشکیل ماکروکنیدیوم و میکروکنیدیوم در این گونه به ندرت انجام می‌شد. میکروکنیدیوم‌ها بی‌رنگ، یک‌سلولی یا گاه دوسلولی، بیضوی، تخم‌مرغی تا استوانه‌ای کوتاه بودند. این میکروکنیدیوم‌ها اغلب به‌صورت تجمعی در سرهای دروغین در انتهای فیالیدها مشاهده شدند. ماکروکنیدیوم‌ها دوکی‌شکل تا داس‌مانند، نسبتاً خمیده، ۳ تا ۵ میکرومتر، بی‌رنگ و با دیواره نازک و معمولاً دارای سه تا پنج دیواره‌ی عرضی بودند (شکل P-N۲). سلول قاعده‌ای ماکروکنیدیوم‌ها اغلب دارای پایه‌ای مشخص و اندکی پاشنه‌دار بوده، سلول انتهایی به‌صورت تدریجی باریک و نوک‌تیز می‌شد. کلامیدوسپورها به میزان فراوان با دیواره ضخیم، به شکل کروی تا نسبتاً کروی، بی‌رنگ تا قهوه‌ای روشن، به صورت منفرد، دوتایی یا زنجیره کوتاه تشکیل می‌شدند (شکل Q۲).

Stemphylium botryosum Wallr.

پرگنه‌های این گونه بر روی محیط‌کشت عصاره‌ی سیب‌زمینی-دکستروز-آگار رشد متوسط تا نسبتاً سریع (۴ تا ۶ میلی‌متر در روز) داشته و بافتی مخملی، پنبه‌ای کوتاه یا گاهی پودری ایجاد کردند. رنگ پرگنه‌ها در مراحل اولیه اغلب خاکستری روشن تا قهوه‌ای روشن بود، اما با افزایش سن کشت

به تدریج به قهوه‌ای تیره، زیتونی یا تقریباً سیاه تغییر می‌یافت. سطح زیرین پرگنه‌ها معمولاً تیره‌رنگ بود و در بسیاری از جدایه‌ها ناحیه‌بندی متحدالمرکز یا تغییرات رنگی مشخص دیده شد. ریشه‌ها با پهنای ۴ تا ۷ میکرومتر، دارای دیواره‌ی عرضی، دارای دیواره نسبتاً ضخیم و به رنگ قهوه‌ای روشن تا تیره بودند و به‌صورت سطحی و هوایی رشد کردند. کنیدیوفورها منفرد، ساده یا به‌ندرت منشعب، راست یا کمی خمیده و قهوه‌ای‌رنگ بودند. تورم یا پهن‌شدگی بخش انتهایی کنیدیوفور در محل تشکیل کنیدیوم مشاهده شد که ظاهری گره‌مانند یا زانویی ایجاد کرد. کنیدیوم‌ها بزرگ، تیره‌رنگ، با ابعاد ۲۰-۵۰ × ۱۵-۲۵ میکرومتر و دارای دیواره ضخیم بوده و معمولاً شکلی بیضوی، بیضوی پهن تا مستطیلی با انتهای گرد داشتند. دیواره‌های عرضی و طولی متعدد در کنیدیوم‌ها مشاهده شد (شکل S-R۲). این ساختارها دارای انقباض مشخص در محل دیواره‌ی عرضی بودند. کنیدیوم‌ها معمولاً به‌صورت منفرد در انتهای کنیدیوفورها تشکیل شده و به‌ندرت به‌صورت زنجیره‌ای مشاهده شدند.

Stilbocrea sp.

پرگنه‌ها روی محیط‌کشت عصاره‌ی سیب‌زمینی-دکستروز-آگار به رنگ تیره تا زیتونی بودند. کنیدیوم‌ها در این گونه فراوان، کوچک، صاف، روشن و تک‌سلولی بودند. کنیدیوم‌ها کروی تا تقریباً کروی بوده و ابعادی در حدود ۲/۹ تا ۳/۶ در ۲/۸ تا ۳/۱ میکرومتر داشتند. سلول فیالیدها به‌صورت فراوان بر روی میسلیوم هوایی تشکیل شدند (شکل T۲) و به‌طور انتهایی و جانبی بر روی کنیدیوفورها قرار گرفتند. این ساختارها اغلب منشعب، ورتیسیلیوئید، و دارای شکل استوانه‌ای تا قمقمه‌ای بودند. طول فیالیدها متغیر بود و نمونه‌های کوتاه و بلند به‌طور همزمان در کشت مشاهده شدند. کنیدیوفورها معمولاً طویل، منشعب و چندشاخه بودند و نقش اصلی در تولید انبوه کنیدیوم‌ها ایفا کردند. این گونه از نظر ریخت‌شناختی به هیچ‌یک از گونه‌های موجود در

مقالات توصیفی گونه‌های *Stilbocrea* شباهت نداشت و به همین خاطر جدایه‌های این گونه تنها تا سطح جنس شناسایی شدند.

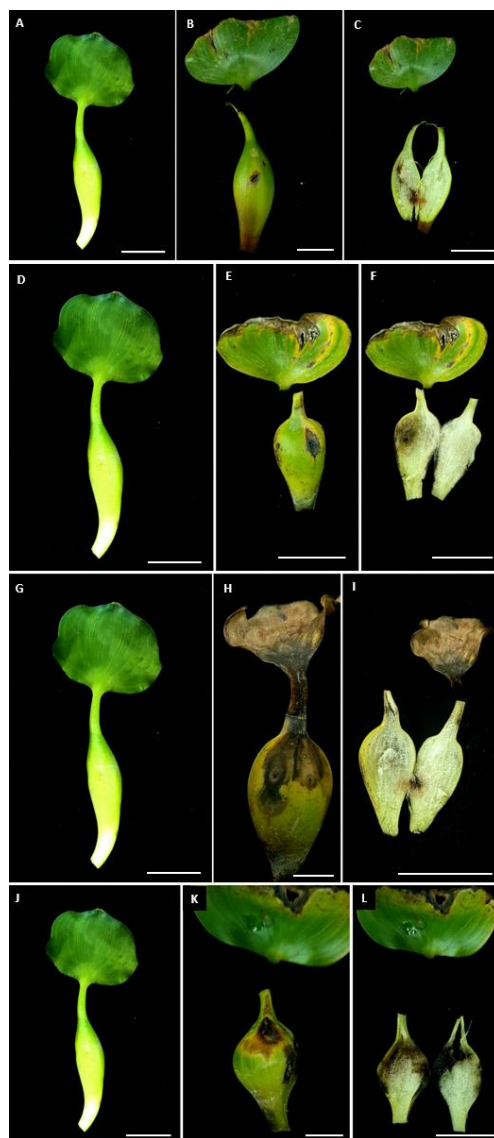
Ulocladium chartarum (Preuss) E.G. Simmons

پرگنه‌ها روی محیط‌کشت عصاره‌ی سیب‌زمینی-دکستروز-آگار رشدی نسبتاً سریع تا متوسط (۴ تا ۶ میکرومتر در روز) نشان دادند و در مراحل اولیه رشد دارای بافتی مخملی تا پودری بودند. رنگ پرگنه‌ها در ابتدا خاکستری روشن تا زیتونی روشن بود، اما با افزایش سن به تدریج به زیتونی تیره، قهوه‌ای تیره تا تقریباً سیاه تغییر یافت. سطح پرگنه‌ها اغلب نامنظم بوده، در برخی جدایه‌ها ناحیه‌بندی متحدالمرکز ضعیف مشاهده شد. حاشیه‌ی پرگنه‌ها نامنظم تا دنداندار بوده، سطح زیرین آن‌ها معمولاً قهوه‌ای تیره تا سیاه‌رنگ بود که با گذشت زمان شدت تیرگی افزایش می‌یافت. ریشه‌ها قهوه‌ای روشن تا قهوه‌ای تیره، با پهنای ۴ تا ۶ میکرومتر، دارای دیواره‌ی عرضی و دارای دیواره‌ی طولی ضخیم بودند و به‌صورت سطحی و هوایی رشد می‌کردند. کنیدیوفورها کوتاه تا متوسط، ساده یا به‌ندرت منشعب، راست تا کمی خمیده، دارای دیواره و قهوه‌ای‌رنگ بودند. این ساختارها معمولاً به‌صورت منفرد از ریشه‌های سطحی منشأ می‌گرفتند و دیواره‌ی آن‌ها صاف تا اندکی زبر بود. کنیدیوم‌ها فراوان، منفرد یا به‌صورت زنجیره‌های کوتاه، قهوه‌ای تیره تا سیاه، با دیواره‌ی ضخیم، با ابعاد $15-40 \times 8-15$ میکرومتر و دارای سطحی زبر تا خشن بودند (شکل ۷-۲۰). شکل کنیدیوم‌ها متغیر بوده و از بیضوی و تخم‌مرغی تا نامنظم و زاویه‌دار متغیر بود. کنیدیوم‌ها معمولاً دارای دیواره‌های عرضی و طولی متعدد

بودند (شکل ۲). تعداد دیواره متغیر بوده و در نمونه‌های بالغ، تقسیمات داخلی پیچیده‌ای مشاهده شد (شکل ۲).

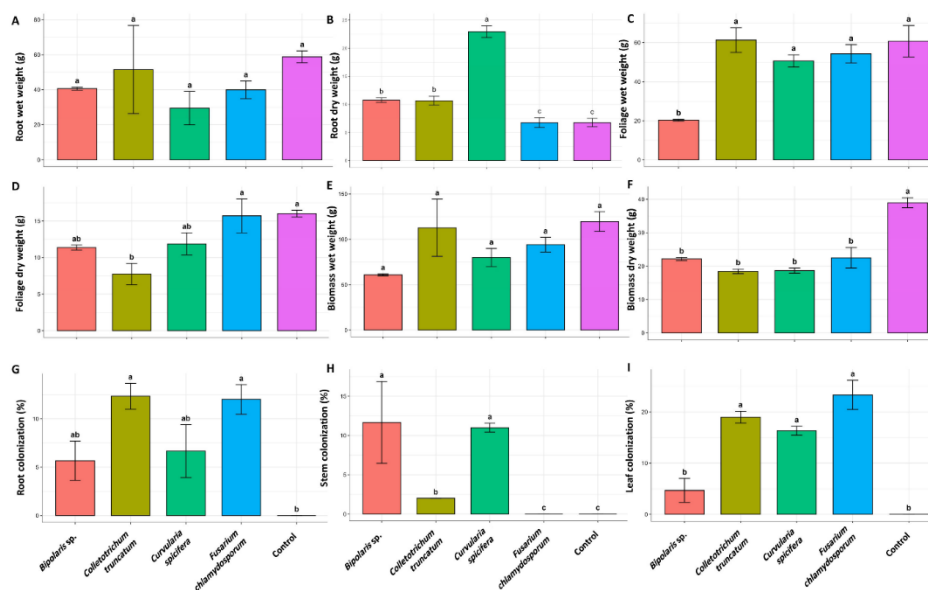
آزمون بیماری‌زایی

نتایج حاصل از آزمون‌های بیماری‌زایی گونه‌های آسکومیستی به دست آمده نشان داد که گونه‌های *Bipolaris sp.*، *Co. truncatum*، *Cu. spicifera* و *F. chlamydosporum* روی گیاه سنبل آبی مهاجم بیماری‌زا هستند. گونه‌ی *Bipolaris sp.* قادر به ایجاد لکه‌های قهوه‌ای، کاهش معنی‌دار وزن تر و خشک اندام‌های هوایی گیاه سنبل آبی مهاجم شد (شکل ۳ و ۴). این گونه همچنین قادر به کلونیزاسیون بافت ریشه، ساقه و برگ در گیاه مورد بررسی شد (شکل ۴). همچنین گونه‌ی *Co. truncatum* نیز قادر به ایجاد لکه‌های قهوه‌ای، کاهش معنی‌دار وزن تر و خشک اندام‌های هوایی سنبل آبی شد و بافت‌های ریشه، طوقه و برگ را کلونیزه کرد (شکل ۳ و ۴). گونه‌ی *Cu. spicifera* نیز قادر به ایجاد لکه‌های قهوه‌ای، کاهش معنی‌دار وزن تر و خشک اندام‌های هوایی سنبل آبی شد و بافت‌های ریشه، طوقه و برگ را کلونیزه کرد (شکل ۳ و ۴). گونه‌ی *F. chlamydosporum* نیز قادر به ایجاد لکه‌های قهوه‌ای، کاهش معنی‌دار وزن تر و خشک اندام‌های هوایی سنبل آبی شد (شکل ۳ و ۴) اما قادر به کلونیزاسیون بافت طوقه نبود و تنها توانست بافت‌های ریشه و برگ را کلونیزه کند (شکل ۴). برای اثبات اصول کخ، جدایه‌ها از بافت‌های مایه‌زنی شده با بیمارگر مجدداً جداسازی شد و هویت آن‌ها بر اساس خصوصیات ریخت‌شناختی تأیید گردید.



شکل ۳- ایجاد لکه‌های قهوه‌ای بر روی ساقه سنبل آبی به همراه پیشروی نسبی در داخل بافت گیاه ۲۰ روز پس از مایه‌زنی با گونه‌های آسکومیستی به‌دست‌آمده از این پژوهش در شرایط گلخانه. A, D, G, و J: گیاه شاهد سالم. B: نمای بیرونی گیاه مایه‌زنی شده با *Bipolaris sp.*: C: مقطع طولی برش خورده از ناحیه‌ی مایه‌زنی شده و پیشرفت بیمارگر *Bipolaris sp.*: E: نمای بیرونی گیاه مایه‌زنی شده با *Colletotrichum truncatum*: F: مقطع طولی برش خورده از ناحیه‌ی مایه‌زنی شده و پیشرفت بیمارگر *Colletotrichum truncatum*: H: نمای بیرونی گیاه مایه‌زنی شده با *Curvularia spicifera*: I: مقطع طولی برش خورده از ناحیه‌ی مایه‌زنی شده و پیشرفت بیمارگر *Curvularia spicifera*: K: نمای بیرونی گیاه مایه‌زنی شده با *Fusarium chlamydosporum*: L: مقطع طولی برش خورده از ناحیه‌ی مایه‌زنی شده و پیشرفت بیمارگر *Fusarium chlamydosporum* (خط مقیاس = ۱۰ میلی‌متر).

Figure 3. Development of brown lesions on the stem of water hyacinth, with relative progression into the plant tissue, 20 days after inoculation with the ascomycetous species obtained in this study under greenhouse conditions. A, D, G, and J: healthy uninoculated control plant. B: external view of the plant inoculated with *Bipolaris sp.* C: longitudinal section cut from the inoculated area, showing the progression of *Bipolaris sp.* E: external view of the plant inoculated with *Colletotrichum truncatum*. F: longitudinal section cut from the inoculated area, showing the progression of *Colletotrichum truncatum*. H: external view of the plant inoculated with *Curvularia spicifera*. I: longitudinal section cut from the inoculated area, showing the progression of *Curvularia spicifera*. K: external view of the plant inoculated with *Fusarium chlamydosporum*. L: longitudinal section cut from the inoculated area, showing the progression of *Fusarium chlamydosporum* (scale bar = 10 mm).



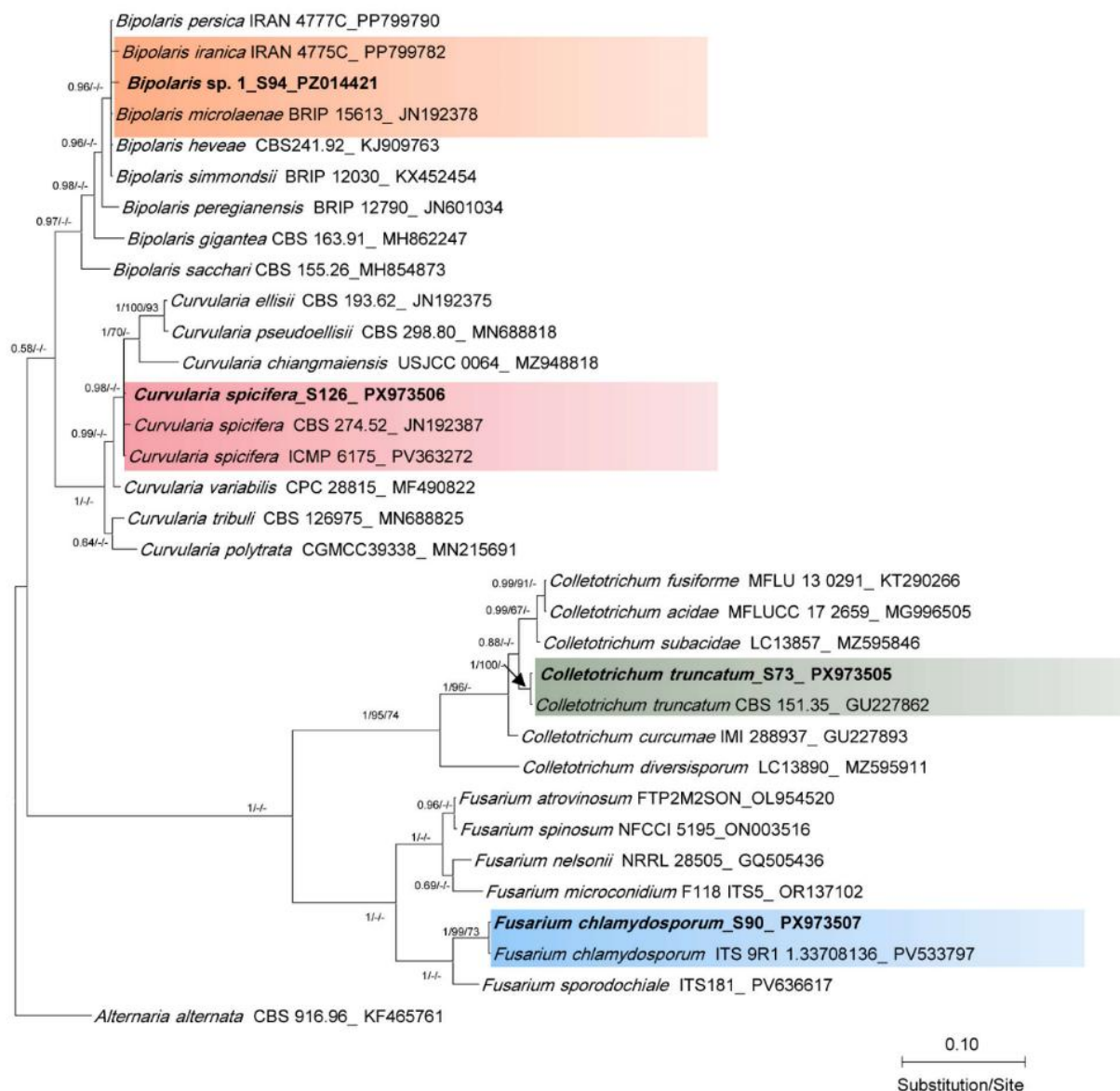
شکل ۴- اثر بیماری‌زایی گونه‌های مختلف آسکومیستی جداشده از سنبل آبی در رود دجله، عراق، روی نه ویزگی بیماری‌زایی و شاخص رشدی گیاه. A: وزن تر ریشه؛ B: وزن خشک ریشه؛ C: وزن تر شاخساره؛ D: وزن خشک شاخساره؛ E: وزن تر زیست‌توده؛ F: وزن خشک زیست‌توده؛ G: درصد کلونیزاسیون ریشه؛ H: درصد کلونیزاسیون ساقه؛ I: درصد کلونیزاسیون برگ.

Figure 4. Pathogenic effects of different ascomycete species isolated from water hyacinth in the Tigris River, Iraq, on nine pathogenicity traits and plant growth indices. A: Root wet weight; B: Root dry weight; C: Foliage wet weight; D: Foliage dry weight; E: Biomass wet weight; F: Biomass dry weight; G: Root colonization percentage; H: Stem colonization percentage; I: Leaf colonization percentage.

واکاوای فیلوژنتیکی جدایه‌های بیمارگر

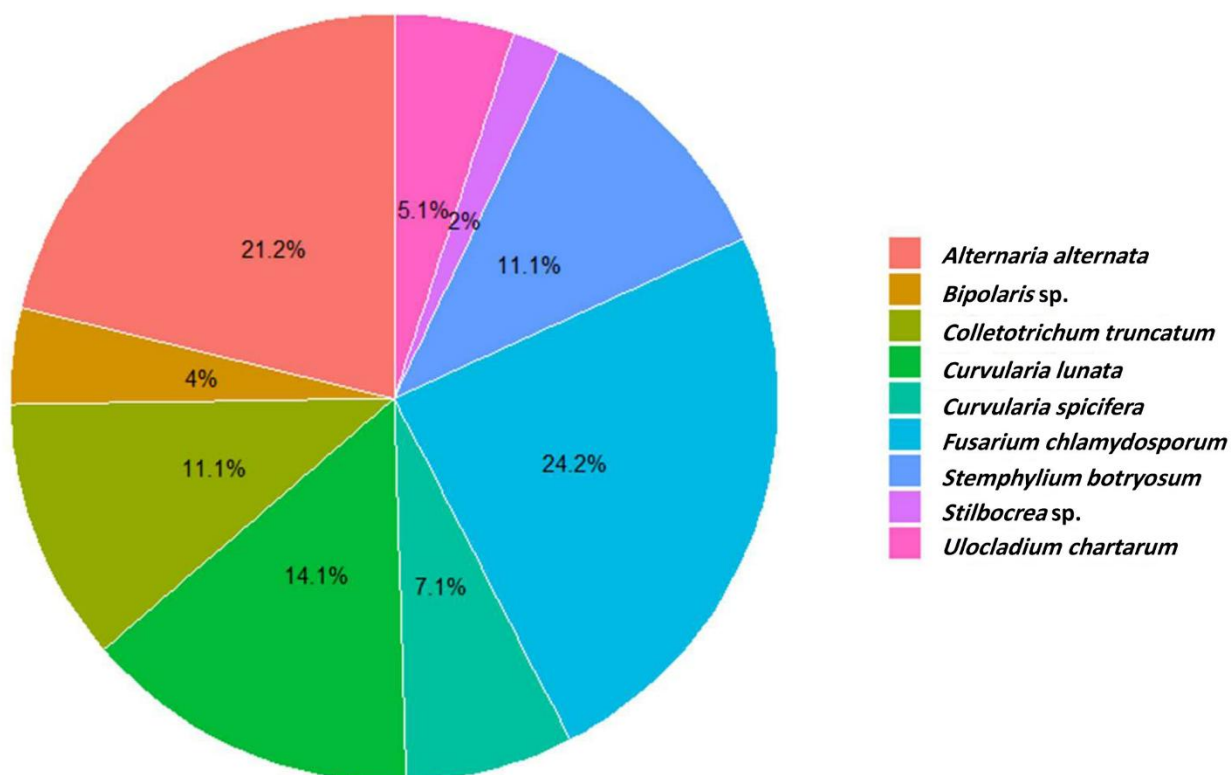
به منظور تأیید شناسایی گونه‌هایی که قادر به ایجاد علائم در گیاه سنبل آبی مهاجم بودند، توالی‌یابی ناحیه‌ی فاصله ترانویسی داخلی (آی‌تی‌اس) صورت گرفت و مشخص شد که توالی این ناحیه در گونه‌ی *Bipolaris* sp. با ۱۰۰ درصد هم‌پوشانی و ۹۹/۴۹ درصد شباهت به گونه‌ی *B. persica* (PP799789) نزدیک است. در درخت ترسیم‌شده بر اساس رهیافت بیزی، احتمال پسین بیزی از پدیدآمدن تبار حاوی این آرایه برابر با ۰/۹۶ بود (شکل ۵). همچنین با جست‌وجوی توالی آی‌تی‌اس گونه‌ی *Co. truncatum* در پایگاه اطلاعاتی بانک ژن مشخص شد که این توالی با ۱۰۰ درصد هم‌پوشانی و ۱۰۰ درصد شباهت به گونه‌ی *Co. truncatum* (GU227862) نزدیک است. در واکاوی فیلوژنتیکی، بر اساس آزمون بوت‌استرپ میزان اطمینان از

پدیدآمدن این تبار برابر با ۱۰۰ درصد و احتمال پسین بیزی برابر با ۱ بود (شکل ۵). با جست‌وجوی توالی آی‌تی‌اس گونه‌ی *Cu. spiculifera* در پایگاه اطلاعاتی بانک ژن مشخص شد که این توالی در گونه‌ی *Cu. spiculifera* با ۱۰۰ درصد هم‌پوشانی و ۱۰۰ درصد شباهت به گونه‌ی *Cu. spiculifera* (PV363272) نزدیک است. بر اساس آزمون بیزی میزان احتمال پسین بیزی از پدیدآمدن این تبار برابر با ۰/۹۶ بود (شکل ۵). با جست‌وجوی توالی آی‌تی‌اس در پایگاه اطلاعاتی بانک ژن مشخص شد که توالی گونه‌ی *F. chlamydosporum* با ۱۰۰ درصد هم‌پوشانی و ۱۰۰ درصد شباهت به گونه‌ی *F. chlamydosporum* (PV533797) نزدیک است. بر اساس آزمون بوت‌استرپ میزان اطمینان از پدیدآمدن این تبار برابر با ۹۹ درصد و احتمال پسین بیزی برابر با ۱ بود (شکل ۵).



شکل ۵- موقعیت فیلوژنتیکی جدایه‌های آسکومیستی به دست آمده از سنبل آبی در رود دجله، عراق در بین ۲۹ گونه‌ی آسکومیستی بر اساس مقایسه‌ی توالی نوکلئوتیدی ناحیه‌ی ترانوسی داخلی دی‌ان‌ای ریبوزومی (آی‌تی‌اس) در درخت بیزی. اعداد روی محل انشعاب شاخه‌ها نشان‌دهنده‌ی احتمال پسین بیزی، درصد مقادیر بوت‌استراپ بزرگ‌تر و یا مساوی ۵۰ درصد برای روش‌های درست‌نمایی پیشینه و کمینه‌ی تکامل است. جدایه‌های مربوط به این پژوهش با فونت ضخیم نشان داده شده‌اند.

Figure 5. Phylogenetic position of the ascomycetous isolates obtained from water hyacinth in the Tigris River, Iraq, among 29 ascomycetous species based on comparison of nucleotide sequences of the internal transcribed spacer region of ribosomal DNA (ITS) in a Bayesian tree. Numbers at the branch nodes indicate Bayesian posterior probabilities and bootstrap percentages greater than or equal to 50% for the maximum likelihood and minimum evolution methods. Isolates obtained in the present study are shown in bold.



شکل ۶- نمودار دایره‌ای فراوانی نسبی (%) گونه‌های آسکومیستی جداشده از سنبل آبی در رود دجله، ا عراق بر اساس تعداد جدایه‌ها. هر بخش از نمودار سهم درصدی هر گونه را از کل جامعه قارچی نشان می‌دهد.

Figure 6. Pie chart of the relative abundance (%) of ascomycete species isolated from water hyacinth in the Tigris River, Iraq. Each sector represents the percentage contribution of each species to the total fungal community.

مجموع نزدیک به نیمی از کل جدایه‌های به‌دست‌آمده را شامل شدند (جدول

۲، شکل ۶). سایر گونه‌ها از جمله *Co. truncatum*، *Cu. lunata* و *Ste.*

botryosum فراوانی متوسطی داشته و هر یک سهمی بین حدود ۱۱ تا ۱۴

درصد از کل جدایه‌ها را به خود اختصاص دادند (شکل ۶). در مقابل،

گونه‌هایی نظیر *Cu. spicifera*، *U. chartarum* و *Bipolaris sp.*

با *Stilbocrea sp.* فراوانی کمتر مشاهده شدند. نمودار ویتاکر یا رتبه-

فراوانی، تصویر دقیق‌تری از ساختار جامعه و نحوه توزیع فراوانی گونه‌ها ارائه

داد (شکل ۷). در این نمودار، گونه‌ها بر اساس رتبه فراوانی از فراوان‌ترین تا

نادرترین مرتب شده و فراوانی نسبی آن‌ها در مقیاس لگاریتمی نمایش داده

شد. نتایج واکاوی تنوع آلفا نشان داد که جامعه‌ی قارچی آسکومیستی جداشده

ساختار فراوانی، غلبه و الگوهای تنوع آلفای جامعه‌ی قارچی

آسکومیستی جداسازی‌شده از سنبل آبی

نتایج به‌دست‌آمده از واکاوی فراوانی نسبی گونه‌های قارچی آسکومیستی

در این پژوهش نشان داد که جامعه‌ی قارچی جداشده از منطقه مورد مطالعه

دارای ساختاری نسبتاً متعادل، اما با غلبه‌ی چند گونه‌ی مشخص است. در

مجموع، نه آرایه‌ی قارچی بر اساس داده‌های به دست آمده از جدایه‌های قابل

کشت آسکومیستی شناسایی شد که در بین آن‌ها گونه‌ی *F.*

chlamydosporum با اختصاص حدود ۲۴/۲ درصد از کل جدایه‌ها،

غالب‌ترین گونه‌ی جامعه به شمار می‌آمد (جدول ۲). پس از آن، گونه‌ی *A.*

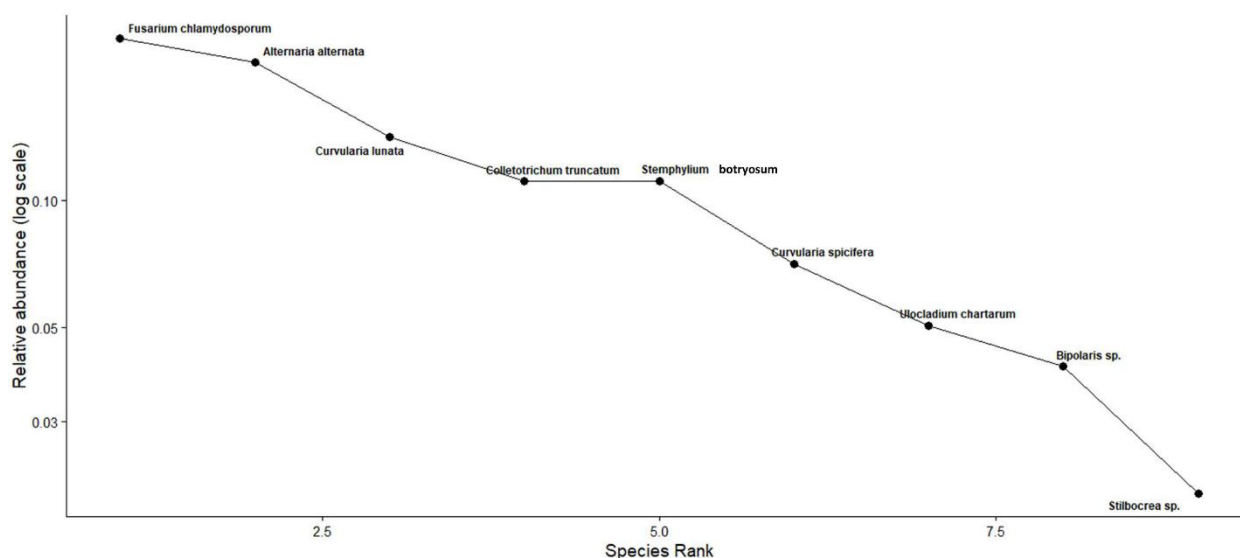
alternata با حدود ۲۱ درصد در رتبه دوم قرار گرفت. این دو گونه در

از سنبل آبی در رود دجله، عراق دارای تنوع گونه‌ای متوسط همراه با جدایه‌های آسکومیستی، غنای گونه‌ای برابر با ۹ گونه محاسبه شد که بیانگر یکنواختی بالا در توزیع فراوانی گونه‌ها است (شکل ۸). بر اساس داده‌های تعداد آرایه‌های شناسایی شده در کل جامعه است.

جدول ۲- فراوانی، فراوانی نسبی و رتبه غلبه گونه‌های آسکومیست جدا شده از سنبل آبی در رود دجله، عراق. شاخص غلبه برگر-پارکر به عنوان نسبت فراوانی گونه غالب به کل جدایه‌ها محاسبه شده است.

Table 2. Abundance, relative abundance, and dominance rank of ascomycete species isolated from water hyacinth in the Tigris River, Iraq. The Berger–Parker dominance index was calculated as the ratio of the abundance of the most dominant species to the total number of isolates.

Species	Isolate counts	Relative abundance (%)	Dominance rank
<i>Fusarium chlamydosporum</i>	24	24.24	1
<i>Alternaria alternata</i>	21	21.21	2
<i>Curvularia lunata</i>	14	14.14	3
<i>Colletotrichum truncatum</i>	11	11.11	4
<i>Stemphylium botryosum</i>	11	11.11	4
<i>Curvularia spicifera</i>	7	7.07	6
<i>Ulocladium chartarum</i>	5	5.05	6
<i>Bipolaris</i> sp.	4	4.04	8
<i>Stilbocrea</i> sp.	2	2.02	9
Total	108	100	—



شکل ۷- نمودار ویتاکر (رتبه-فراوانی) گونه‌های آسکومیستی شناسایی شده از سنبل آبی در رود دجله، عراق. در این نمودار، گونه‌ها بر اساس رتبه‌ی فراوانی مرتب شده و فراوانی نسبی آن‌ها در مقیاس لگاریتمی نمایش داده شده است. شیب ملایم منحنی نشان‌دهنده یکنواختی بالا و تنوع متوسط جامعه قارچی مورد مطالعه است.

Figure 7. Whittaker (rank–abundance) plot of ascomycete species identified from water hyacinth in the Tigris River, Iraq. In this plot, species are ordered by their abundance rank, and their relative abundances are presented on a logarithmic scale. The gentle slope of the curve indicates high evenness and moderate diversity in the studied fungal community.

بحث

این پژوهش نشان داد که سنبل آبی در رود دجله، واجد یک جامعه‌ی قارچی نسبتاً متنوع اما از نظر عملکردی ناهمگن است؛ به‌طوری‌که از میان نه آرایه‌ی شناسایی‌شده، تنها چهار آرایه شامل *Bipolaris* sp. Co. *truncatum*، *Cu. spicifera* و *F. chlamydosporum* بیماری‌زایی خود را در آزمون‌های بیماری‌زایی نشان دادند. تمامی این چهار آرایه، که از بافت‌های آلوده جداسازی شده بودند، پس از مایه‌زنی، مجدداً از بافت میزبان جداسازی و شناسایی ریخت‌شناختی شدند. گزارش‌هایی از جداسازی این آرایه‌ها از سنبل آبی مهاجم وجود دارد (Adikaram & Yakandawala, 2020; Aneja et al., 2013; Babu et al., 2003; Praveena, 2003; Praveena & Naseema, 2004). با این حال، تا زمان مطالعه‌ی حاضر، بیماری‌زایی *Cu. spicifera* و *Co. truncatum* روی سنبل آبی مهاجم در جهان گزارش نشده است. از میان سایر آرایه‌های به‌دست‌آمده از سنبل آبی، سه آرایه‌ی *Ste. botryosum*، *Stilbocrea* sp. و *U. chartarum* همگی برای نخستین بار در جهان از روی گیاه سنبل آبی گزارش می‌شوند اما هیچ‌یک از این قارچ‌ها توانایی ایجاد بیماری روی گیاه سنبل آبی را نداشتند. این تمایز آشکار میان فراوانی در جامعه قارچی و توان بیماری‌زایی یکی از مهم‌ترین یافته‌های مطالعه حاضر است و نشان می‌دهد که استنباط نقش بیماری‌زایی قارچ‌ها صرفاً بر پایه فراوانی جدایه‌ها یا حضور آن‌ها در بافت‌های آلوده می‌تواند گمراه‌کننده باشد. چنین برداشتی با دیدگاه‌های مطرح در مطالعات بیماری‌های قارچی گیاهان مهاجم هم‌خوان است که تأکید دارند تنها قارچ‌هایی باید به‌عنوان گزینه‌های بالقوه مهار زیستی در نظر گرفته شوند که علاوه بر ارتباط بوم‌شناختی با میزبان، توان ایجاد علائم پایدار و کاهش زی‌توده گیاه را نیز نشان دهند (Ray & Hill, 2012; Waipara et al., 2006). این یافته با مشاهدات سایر پژوهشگران در زیست‌بوم‌های مشابه

هم‌خوانی دارد. مثلاً در بررسی قارچ‌های همراه با سنبل آبی گزارش شد که اگرچه گونه‌های متعددی از جنس‌های *Fusarium* و *Alternaria* به‌طور گسترده از بافت‌های گیاهی جداسازی شدند، اما تنها جدایه‌های خاصی از *F. chlamydosporum* توانایی ایجاد همه‌گیری و کاهش معنی‌دار زی‌توده را داشتند (Dutta, 2021; Dutta et al., 2023). همچنین گزارش شده است که گونه‌های *Curvularia* و *Bipolaris* علیرغم فراوانی کمتر در پایش‌های میدانی نسبت به پوده‌رُست‌های عمومی، به دلیل تخصص میزبانی بالا و قدرت تهاجمی بیشتر، توان بالاتری برای مهار زیستی از خود نشان می‌دهند (Singh et al., 2016). همچنین، در مطالعات انجام‌شده روی علف‌های هرز آبی مهاجم در نیوزیلند تأکید شده است که بسیاری از قارچ‌های جداسازی شده از لکه‌های برگ، در واقع کلونیزه‌کننده‌های ثانویه یا درون‌رُست‌های فرصت‌طلب هستند که تأثیر معنی‌داری بر پویایی جمعیت میزبان ندارند (Waipara et al., 2006). در این مطالعه، غلبه‌ی *F. chlamydosporum* (۲۴/۲٪) و *A. alternata* (۲۱٪) در بین جدایه‌های به‌دست‌آمده، بیانگر آن است که این دو آرایه در زیستگاه مورد مطالعه به‌خوبی با شرایط فیزیکی و زیستی میزبان سازگار شده‌اند. با این حال، تنها *F. chlamydosporum* در میان گونه‌های غالب، بیماری‌زایی معنی‌دار خود را نیز نشان داد. این نتیجه از نظر بوم‌شناسی بیماری مهم است، زیرا نشان می‌دهد فراوانی بالای یک قارچ الزاماً به معنای نقش برجسته آن در آغاز بیماری نیست. در مورد *A. alternata*، اگرچه فراوانی بالا می‌تواند نشان‌دهنده سازگاری مناسب با بافت‌های سنبل آبی یا نقش آن به‌عنوان کلونیزه‌کننده ثانویه باشد، اما نبود شواهد کافی از بیماری‌زایی در این مطالعه، تفسیر آن را به‌عنوان یک عامل مهار زیستی بالقوه محدود می‌کند. این الگو با گزارش‌های پیشین نیز سازگار است، زیرا *A. alternata* در بسیاری از سامانه‌های گیاهی، هم به‌عنوان بیمارگر ضعیف و هم به‌عنوان پوده‌رُست یا بیمارگر فرصت‌طلب گزارش شده

است (Bolboli et al., 2022). بنابراین، مطالعه‌ی حاضر بار دیگر اهمیت تفکیک قارچ غالب از قارچ مؤثر در سرکوب میزبان را برجسته می‌سازد.

از میان قارچ‌های بیماری‌زا، *F. chlamydosporum* جایگاه ویژه‌ای دارد، زیرا هم از نظر فراوانی و هم از نظر اثر بیماری‌زایی در زمهری مهم‌ترین آرایه‌های این مطالعه قرار گرفت. بیماری‌زایی این گونه در سنبل آبی با یافته‌های پیشین هم‌راستا است (Dutta, 2021; Dutta et al., 2023). این مطالعات نیز *F. chlamydosporum* را به‌عنوان یکی از قارچ‌های دارای توان بیماری‌زایی علیه سنبل آبی معرفی کرده‌اند. با این حال، مطالعه‌ی حاضر یک نکته‌ی تفسیری مهم را نیز آشکار کرد که این گونه اگرچه موجب ایجاد علائم و کاهش زی‌توده شد، اما فقط از ریشه و برگ مجدداً جداسازی گردید و در طوقه‌ی گیاه مشاهده نشد. این الگوی کلونیزاسیون احتمالاً بیانگر آن است که شدت اثر *F. chlamydosporum* در این سامانه بیشتر با اختلال در عملکرد اندام‌های جذب و فتوسنتز مرتبط است تا اشغال یکنواخت همه‌ی بافت‌ها. در مقایسه با گزارش‌های قبلی، این یافته نشان می‌دهد که حتی در صورت تأیید بیماری‌زایی یک گونه در چند مطالعه‌ی مستقل، الگوی فضایی استقرار آن در گیاه می‌تواند متغیر باشد و همین مسئله باید در ارزیابی کارایی نهایی آن به‌عنوان عامل مهار زیستی در نظر گرفته شود (Dutta, 2021; Dutta et al., 2023). با این حال، فراوانی جداسازی یا بازیابی مجدد این گونه به‌تنهایی برای تعیین جایگاه آن به‌عنوان درون‌رُست، قارچ‌انگل یا قارچ آب‌برد کافی نیست. بنابراین، در این مطالعه تنها می‌توان آن را به‌عنوان گونه‌ای با توان بیماری‌زایی قابل توجه علیه سنبل آبی در نظر گرفت، در حالی که تعیین دقیق نقش بوم‌شناختی آن مستلزم بررسی‌های تکمیلی است.

گونه‌های متعلق به جنس *Colletotrichum* به‌دلیل انطباق‌پذیری ژنتیکی بالا و سازگاری با طیف گسترده‌ای از میزبان‌ها، از مهم‌ترین و تهاجمی‌ترین عوامل بیماری‌زای گیاهی در سطح جهانی محسوب می‌شوند (Talhinhas & Barancelli, 2021). مطالعات اخیر نشان داده‌اند که این جنس نه تنها از

طریق راهبردهای پیچیده‌ی نیمه‌زیواپروری، بلکه با ترشح مجموعه‌ای از عملگرهای پروتئینی برای سرکوب سامانه‌ی ایمنی گیاه، باعث ایجاد لکه‌های بافت‌مردی وسیع و اُفت شدید زی‌توده در گیاهان می‌شود (Joshi, 2018). در این میان، گونه‌های عضو گونه‌ی مرکب *Co. truncatum* به‌ویژه با داشتن توان تهاجمی بالا و دامنه‌ی میزبانی متنوع، تهدیدی جدی برای علف‌های هرز به‌شمار می‌روند که این ویژگی، اهمیت شناسایی دقیق آن‌ها را برای به‌کارگیری راهبردهای مهار زیستی دوچندان می‌کند (Ray & Hill, 2015; Squizzato et al., 2012). با این حال، تأیید بیماری‌زایی *Co. truncatum* در جدایه‌های بومی حاصل از سنبل آبی در رود دجله نشان می‌دهد که این قارچ می‌تواند در شرایط خاص رود دجله نیز در ایجاد علائم بیماری نقش داشته باشد. این نکته از آن جهت مهم است که کارایی قارچ‌های بیماری‌زا، به‌ویژه در کاربردهای مرتبط با مهار زیستی، معمولاً تحت تأثیر عوامل محیطی مانند دما، رطوبت و نیز وضعیت رشدی و ویژگی‌های جمعیت میزبان قرار می‌گیرد (Morin, 2020; Cordeau et al., 2016). بنابراین، بررسی جدایه‌های بومی می‌تواند به ارزیابی دقیق‌تر ظرفیت واقعی آن‌ها در همان بستر زیست‌بوم کمک کند و از تعمیم ساده نتایج به‌دست‌آمده از سایر مناطق جلوگیری نماید.

در مورد *Cu. spicifera*، نتایج حاضر با مطالعاتی هم‌خوانی دارد که اعضای این جنس و به‌ویژه این گونه را از میزبان‌های گیاهی مختلف، از جمله گندمیان، ذرت، سورگوم و برخی گیاهان علفی، به‌عنوان عوامل لکه‌برگی و بافت‌مردگی گزارش کرده‌اند (Manamgoda et al., 2012; Marin-Felix et al., 2020; Singh et al., 2016). تأیید توان بیماری‌زایی *Cu. spicifera* روی سنبل آبی در این مطالعه نشان می‌دهد که این گونه دارای دامنه‌ی میزبانی قابل توجهی است و می‌تواند در میزبان‌های متفاوت، از جمله علف‌های هرز آبی، بیماری‌زا باشد. با این حال، از منظر به‌کارگیری عامل مهار زیستی، این ویژگی دو پیامد متفاوت دارد: از یک سو، نشان‌دهنده‌ی توان

تهاجمی مناسب قارچ است اما از سوی دیگر، لزوم بررسی دقیق دامنه‌ی میزبانی و خطر برای گیاهان غیرهدف را برجسته می‌کند. به همین دلیل، اگرچه یافته‌ی حاضر *Cu. spicifera* را در زمره نامزدهای نویدبخش قرار می‌دهد، اما هرگونه نتیجه‌گیری کاربردی درباره آن باید به داده‌های تکمیلی مربوط به اختصاصی بودن میزبانی وابسته باشد (Singh et al., 2016).

مطالعه حاضر تأیید کرد که آرایه‌ی *Bipolaris* sp. یکی از قارچ‌های واجد توان بیماری‌زایی قطعی بر روی سنبل آبی در مناطق مورد مطالعه است. این نتیجه از منظر بیماری‌شناسی گیاهی دور از انتظار نیست. چراکه گونه‌های متعلق به جنس *Bipolaris* از دیرباز به‌عنوان عوامل تهاجمی لکه‌برگی و سوختگی در طیف وسیعی از میزبان‌های تک‌لپه‌ای و دولپه‌ای شناخته شده‌اند و توان آن‌ها در برنامه‌های مهار زیستی علف‌های هرز بارها مورد تأکید قرار گرفته است (Ray & Hill, 2012; Voglmayr & Jaklitsch, 2017; Waipara et al., 2006). با این حال، آنچه این بخش از یافته‌های ما را به چالشی تاکسونومیک بدل می‌کند، عدم انطباق ویژگی‌های ریخت‌شناختی جدایه‌های مورد مطالعه با هیچ‌یک از گونه‌های توصیف‌شده در کلیدهای شناسایی کلاسیک و یا بازنگری‌های سیستماتیک اخیر در این جنس است (Alcorn, 1988; Manamgoda et al., 2014; Voglmayr & Jaklitsch, 2017). اگرچه واکاوی‌های فیلوژنتیکی مبتنی بر ناحیه‌ی ITS، این آرایه را در نزدیکی گونه‌ی *B. persica* قرار داد، اما باید اذعان داشت که ناحیه‌ی ITS به‌تنهایی قدرت تفکیک کافی برای تمایز میان گونه‌های نزدیک در کمپلکس‌های گونه‌ای این جنس را ندارد (Crous Osieck, et al., 2021; Dean et al., 2012). از این‌رو، پرهیز از انتساب قطعی نام گونه در این مرحله، واکنشی علمی به همپوشانی صفات ریخت‌شناختی و نارسایی داده‌های تک‌زنی است. براین‌اساس، برای تعیین جایگاه دقیق سیستماتیک و توصیف رسمی این آرایه به‌عنوان یک گونه‌ی احتمالاً جدید، انجام واکاوی‌های فیلوژنتیکی چندزنی با استفاده از نشانگرهایی با تواتر حفاظتی

کمتر و قدرت تفکیک بالاتر الزامی است. چنین رویکردی نه تنها ابهامات موجود در شناسایی این بیمارگر را مرتفع می‌سازد، بلکه زیربنای لازم برای ارزیابی‌های دقیق‌تر در پروژه‌های مهار زیستی را فراهم خواهد آورد.

ترکیب شواهد ریخت‌شناختی، داده‌های توالی ITS، واکاوی‌های فیلوژنتیکی و آزمون‌های بیماری‌زایی در این مطالعه، امکان تفسیر دقیق‌تری از هویت و نقش زیستی قارچ‌های همراه سنبل آبی فراهم کرد. در مطالعات مربوط به قارچ‌های همراه علف‌های هرز آبی، اتکا به یک سطح واحد از داده‌ها، خواه داده‌های ریخت‌شناختی و خواه داده‌های مولکولی، ممکن است به برداشت‌های ناقص از جایگاه تاکسونومیک یا اهمیت بیماری‌زایی جدایه‌ها منجر شود. در پژوهش حاضر، استفاده از ناحیه‌ی ITS و واکاوی توالی‌ها در کنار داده‌های ریخت‌شناختی، تفکیک مناسب آرایه‌های شناسایی‌شده را امکان‌پذیر ساخت. به‌طوری‌که گونه‌هایی مانند *Cu. Co. truncatum* و *spicifera* و *F. chlamydosporum* با شباهت ۱۰۰ درصدی به توالی‌های مرجع و با پشتیبانی فیلوژنتیکی بالا بازایی شدند و آرایه‌ی *Bipolaris* sp. نیز در نزدیکی *B. persica* قرار گرفت. این نتایج نشان داد که ITS در سطح شناسایی اولیه و تفکیک عملی آرایه‌های بازایی‌شده در این مطالعه کارایی مناسبی داشته است. با این حال، مطالعات جدید در تاکسونومی قارچ‌ها تأکید دارند که موفقیت این ناحیه در تفکیک اولیه‌ی گونه‌ها لزوماً به‌معنای کفایت آن برای تعیین نهایی مرزهای گونه‌ای و روابط درون‌دودمانی نیست؛ به‌ویژه در گروه‌هایی که دارای گونه‌های مرکب نزدیک به هم، تنوع نهفته یا همپوشانی صفات ریخت‌شناختی هستند (Crous, Lombard, et al., 2021; Maharachchikumbura et al., 2016; Stielow et al., 2015). بنابراین، اگرچه داده‌های ITS در این پژوهش شناسایی گونه‌های بازایی‌شده را به‌خوبی پشتیبانی کرد، واکاوی دقیق‌تر جایگاه دودمانی برخی جدایه‌ها، به‌ویژه در گروه‌هایی مانند *Bipolaris* و *Curvularia*، نیازمند بهره‌گیری از نشانگرهای مکمل و واکاوی دودمان‌های چندزنی، از جمله *tef1-α*، *tub2*

ویژگی‌های جمعیت میزبان می‌تواند شدت بیماری را به‌طور چشم‌گیری تغییر دهد. این ملاحظات پیش‌تر نیز در مطالعات مربوط به بیمارگرهای گیاهان مهاجم مطرح شده‌اند و در مورد سنبل آبی نیز کاملاً صادق‌اند (Hallett, 2005; Ray & Hill, 2012; Waipara et al., 2006). افزون بر این، بسیاری از آرایه‌های شناسایی‌شده در این مطالعه به جنس‌ها یا گونه‌هایی تعلق دارند که پیش‌تر به‌عنوان بیمارگر یا قارچ‌های همراه بیماری در گیاهان مختلف گزارش شده‌اند. بنابراین، بیماری‌زایی مشاهده‌شده روی سنبل آبی، هرچند از نظر غربالگری اولیه اهمیت دارد، برای معرفی مستقیم این جدایه‌ها به‌عنوان عوامل مهار زیستی کافی نیست. با توجه به دامنه‌ی میزبانی نسبتاً گسترده‌ی برخی از این جنس‌ها، به‌ویژه *Curvularia*, *Colletotrichum*, *Bipolaris* و *Fusarium*، ارزیابی اختصاصیت میزبانی، اثر بر گیاهان غیرهدف و پایداری بیماری‌زایی در شرایط طبیعی باید پیش‌شرط هرگونه پیشنهاد کاربردی باشد (Cordeau et al., 2016; Harding & Raizada, 2015; Marin-Felix et al., 2020; Morin, 2020; Talhinhos & Baroncelli, 2021).

تعارض منافع

در انجام مطالعه حاضر، هیچ‌گونه تضاد منافع‌ی وجود ندارد.

حمایت مالی

این پژوهش با حمایت مالی دانشگاه شیراز انجام شده است.

دسترسی به داده‌ها

داده‌های مورد استفاده برای پشتیبانی از یافته‌های این پژوهش، با درخواست از نویسنده مسئول، در دسترس هستند.

موازن اخلاقی

در انجام این پژوهش تمامی موازن و اصول اخلاقی رعایت گردیده است.

gapdh و *rpb2* خواهد بود. چنین رویکردی می‌تواند در مطالعات آینده به استحکام بیشتر تعیین حدود گونه‌ای و ارزیابی دقیق‌تر ظرفیت این قارچ‌ها به‌عنوان عوامل بالقوه مهار زیستی کمک کند.

در ارزیابی قارچ‌های بیماری‌زای مرتبط با علف‌های هرز، علائم ظاهری مانند لکه‌های برگ، سبزدی و بافت‌مردگی معمولاً شواهد اولیه‌ای از برهم‌کنش قارچ و میزبان فراهم می‌کنند. با این حال، تفسیر کاربردی‌تر چنین برهم‌کنشی مستلزم بررسی پیامدهای آن بر شاخص‌های کمی رشد گیاه است. از دیدگاه مهار زیستی، جدایه‌ای که علاوه بر ایجاد علائم موضعی موجب کاهش رشد یا زی‌توده میزبان شود، از نظر عملکردی اهمیت بیشتری دارد. در این مطالعه، کاهش معنی‌دار وزن تر و وزن خشک در گیاهان مایه‌زنی‌شده، همراه با جداسازی مجدد قارچ‌ها و تأیید اصول کخ، نشان داد که اثر گونه‌های بیماری‌زا با کاهش قابل اندازه‌گیری رشد سنبل آبی همراه بوده است. چنین تفسیری با دیدگاه‌های جدید در به‌کارگیری عوامل میکروبی مهار زیستی سازگار است که بر سنجش پیامدهای کمی بیماری، کاهش زی‌توده میزبان و پایداری اثر در شرایط محیطی مختلف تأکید دارند (Cordeau et al., 2016; Harding & Raizada, 2015; Morin, 2020). بنابراین، این داده‌ها می‌توانند به‌عنوان شواهد اولیه برای ارزیابی ظرفیت عملکردی جدایه‌های قارچی در مهار رشد سنبل آبی در نظر گرفته شوند.

با وجود این نقاط قوت، یافته‌های این تحقیق باید در بستر محدودیت‌های ذاتی آن تفسیر شوند. نخست، جامعه‌ی قارچی گزارش‌شده بر پایه‌ی جدایه‌های قابل کشت است و بنابراین، ممکن است بخشی از تنوع قارچی غیرقابل کشت یا کم‌رقابت در محیط‌های کشت را منعکس نکند. دوم، برخی آرایه‌ها در سطح جنس باقی مانده‌اند و این موضوع، به‌ویژه برای مقاصد کاربردی، لزوم بررسی‌های تکمیلی مولکولی را گوشزد می‌کند. سوم، کارایی قارچ‌ها در شرایط گلخانه‌ای لزوماً به معنای کارایی مشابه در محیط طبیعی نیست؛ زیرا برهم‌کنش با میکروبیوم بومی، نوسانات دما و رطوبت، تابش، و

تشکر و قدردانی

از تمامی کسانی که در طی این پژوهش یاری رساندند، تشکر و قدردانی

می‌گردد.

References

- Adikaram, N. K. B., & Yakandawala, D. M. D. (2020). A checklist of plant pathogenic fungi and Oomycota in Sri Lanka. *Ceylon Journal of Science*, 49(1), 1-14. [Link]
- Alcorn, J. L. (1988). The taxonomy of "*Helminthosporium*" species. *Annual Review of Phytopathology*, 26(1), 37-56. [Link]
- Aneja, K. R., Kumar, V., Jiloha, P., Kaur, M., Sharma, C., Surain, P., & Aneja, A. (2013). Potential bioherbicides: Indian perspectives. In R. C. Sobti, N. K. Arora, & R. Kothari (Eds.), *Biotechnology: prospects and applications* (pp. 197-215). Springer India. [Link]
- Babu, R. M., Sajeena, A., & Seetharaman, K. (2003). Bioassay of the potentiality of *Alternaria alternata* (Fr.) Keissler as a bioherbicide to control water hyacinth and other aquatic weeds. *Crop Protection*, 22(8), 1005-1013. [Link]
- Bachmann, A., Tice, V., Al-Obeidi, L. A., & Kılıç, D. T. (2019). Tigris-Euphrates River ecosystem: a status report. Mesopotamia Water Forum, April 2019, The Hague, The Netherlands,
- Barnett, H. L., & Hunter, B. B. (1998). *Illustrated genera of imperfect fungi*. APS Press.
- Bolboli, Z., Tavakolian, B., Mostowfizadeh-Ghalamfarsa, R., Jafari, M., & Cacciola, S. O. (2022). *Stilbocrea banihashemiana* sp. nov., a new fungal pathogen causing stem cankers and twig dieback of fruit trees. *Journal of Fungi*, 8(7), 694. [Link]
- Charudattan, R. (2001). Biological control of weeds by means of plant pathogens: significance for integrated weed management in modern agro-ecology. *BioControl*, 46(2), 229-260. [Link]
- Cordeau, S., Triolet, M., Wayman, S., Steinberg, C., & Guillemain, J. P. (2016). Bioherbicides: dead in the water? A review of the existing products for integrated weed management. *Crop Protection*, 87, 44-49. [Link]
- Crous, P. W., Lombard, L., Sandoval-Denis, M., Seifert, K. A., Schroers, H. J., Chaverri, P., Gené, J., Guarro, J., Hirooka, Y., Bensc, K., Kema, G. H. J., Lamprecht, S. C., Cai, L., Rossman, A. Y., Stadler, M., Summerbell, R. C., Taylor, J. W., Ploch, S., Visagie, C. M., . . . Thines, M. (2021). Fusarium: more than a node or a foot-shaped basal cell. *Studies in Mycology*, 98, 100116. [Link]
- Crous, P. W., Osieck, E. R., Jurjević, Ž., Boers, J., van Iperen, A. L., Starink-Willemse, M., Dima, B., Balashov, S., Bulgakov, T. S., Johnston, P. R., Morozova, O. V., Pinruan, U., Sommai, S., Alvarado, P., Decock, C. A., Lebel, T., McMullan-Fisher, S., Moreno, G., Shivas, R. G., . . . Groenewald, J. Z. (2021). Fungal Planet description sheets: 1284-1382. *Persoonia*, 47, 178-374. [Link]
- Dagno, K., Lahlali, R., Diourte, M., & Jijakli, H. (2012). Present status of the development of mycoherbicides against water hyacinth: successes and challenges. A review. *Biotechnologie, Agronomie, Société et Environnement*, 16(3), 360-368.
- Dean, R., van Kan, J. A. L., Pretorius, Z. A., Hammond-Kosack, K. E., Di Pietro, A., Spanu, P. D., Rudd, J. J., Dickman, M., Kahmann, R., & Foster, G. D. (2012). The Top 10 fungal pathogens in molecular plant pathology. *Molecular Plant Pathology*, 13(4), 414-430. [Link]
- Dudgeon, D., Arthington, A. H., Gessner, M. O., Kawabata, Z. I., Knowler, D. J., Lévêque, C., Naiman, R. J., Prieur-Richard, A. H., Soto, D., Stiassny, M. L. J., & Sullivan, C. A. (2006). Freshwater biodiversity: importance, threats, status and conservation challenges. *Biological Reviews*, 81(2), 163-182. [Link]
- Dutta, W. (2021). *Exploring the possibilities of enhancing enzymatic activities of phytopathogenic fungi for their utility in biological control of water hyacinth* [Presidency University]. Kolkata, India.
- Dutta, W., Misra, D., Chowdhury, P., Prieto, J. C. G., Das, A., Marimuthu, C., & Ray, P. (2023). The mycobiota associated with the weed water hyacinth *Pontederia crassipes* in Kolkata, India, with emphasis on biological control of the macrophyte. *Biocontrol Science and Technology*, 33, 344-365. [Link]
- Ellis, M. B. (1971). *Dematiaceous Hyphomycetes*. Commonwealth Mycological Institute. [Link]
- Hallett, S. G. (2005). Where are the bioherbicides? *Weed Science*, 53(3), 404-415. [Link]
- Harding, D. P., & Raizada, M. N. (2015). Controlling weeds with fungi, bacteria and viruses: a review. *Frontiers in Plant Science*, 6, 659. [Link]
- Hibbett, D. S., Binder, M., Bischoff, J. F., Blackwell, M., Cannon, P. F., Eriksson, O. E., Huhndorf, S., James, T., Kirk, P. M., Lücking, R., Lumbsch, H. T., Lutzoni, F., Matheny, P. B., McLaughlin, D. J., Powell, M. J., Redhead, S., Schoch, C. L., Spatafora, J. W., Stalpers, J. A., . . . Zhang, N. (2007). A higher-level phylogenetic classification of the Fungi. *Mycological Research*, 111(5), 509-547. [Link]
- Hyde, K. D., Nilsson, R. H., Alias, S. A., Ariyawansa, H. A., Blair, J. E., Cai, L., de Cock, A. W. A. M., Dissanayake, A. J., Gockling, S. L., Goonasekara, I. D., Gorczak, M., Hahn, M., Jayawardena, R. S., van Kan, J. A. L., Laurence, M. H., Lévesque, C. A., Li, X., Liu, J. K., Maharachchikumbura, S. S. N., . . . Zhou, N. (2014). One stop shop: backbone trees for important phytopathogenic genera: I. *Fungal Diversity*, 67(1), 21-125. [Link]
- Jayawardena, R. S., Hyde, K. D., Jeewon, R., Ghobad-Nejhad, M., Wanasinghe, D. N., Liu, N. G., Phillips, A. J. L., Oliveira-Filho, J. R. C., da Silva, G. A., Gibertoni, T. B., Abeywikrama, P., Carris, L. M., Chethana, K. W. T., Dissanayake, A. J., Hongsanan, S., Jayasiri, S. C., McTaggart, A. R., Perera, R. H., Phuththacharoen, K., . . . Kang, J. C. (2019). One stop shop II: taxonomic update with molecular phylogeny for important phytopathogenic genera: 26-50. *Fungal Diversity*, 94(1), 41-129. [Link]
- Joshi, R. (2018). A review on *Colletotrichum* spp. virulence mechanism against host plant defensive factors. *Journal of Medicinal Plants Studies*, 6(6), 64-67. [Link]

- Julien, M. H. (2000). Biological control of water hyacinth with arthropods: a review to 2000. Proceedings of the First Meeting of the Global Working Group for the Biological and Integrated Control of Water Hyacinth, 16-19 November 1998, Harare, Zimbabwe, Canberra, Australia.
- Kumar, S., Stecher, G., Suleski, M., Sanderford, M., Sharma, S., & Tamura, K. (2024). MEGA12: molecular evolutionary genetic analysis version 12 for adaptive and green computing. *Molecular Biology and Evolution*, 41(12), msae263. [Link]
- Leslie, J. F., & Summerell, B. A. (2006). *The Fusarium laboratory manual*. Blackwell Publishing. [Link]
- Maharachchikumbura, S. S. N., Hyde, K. D., Jones, E. B. G., McKenzie, E. H. C., Bhat, J. D., Dayarathne, M. C., & Wijayawardene, N. N. (2016). Families of Sordariomycetes. *Fungal Diversity*, 79(1), 1-317. [Link]
- Malik, A. (2007). Environmental challenge vis à vis opportunity: the case of water hyacinth. *Environment International*, 33(1), 122-138. [Link]
- 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*, 56(1), 131-144. [Link]
- 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(1), 221-288. [Link]
- Marin-Felix, Y., Hernández-Restrepo, M., & Crous, P. W. (2020). Multi-locus phylogeny of the genus *Curvularia* and description of ten new species. *Mycological Progress*, 19(6), 559-588. [Link]
- Mirsoleimani, Z., & Mostowfizadeh-Ghalamfarsa, R. (2013). Characterization of *Phytophthora pistaciae*, the causal agent of pistachio gummosis, based on host range, morphology and ribosomal genome. *Phytopathologia Mediterranea*, 52(3), 501-506.
- Mishra, B., Ploch, S., Weiland, C., & Thines, M. (2023). The TrEse web service: inferring phylogenetic trees with ease. *Mycological Progress*, 22(12), 84. [Link]
- Morin, L. (2020). Progress in biological control of weeds with plant pathogens. *Annual Review of Phytopathology*, 58(1), 201-223. [Link]
- Oksanen, J., Simpson, G., Blanchet, F., Kindt, R., Legendre, P., Minchin, P., O'Hara, R., Solymos, P., Stevens, M., Szoecs, E., Wagner, H., Barbour, M., Bedward, M., Bolker, B., Borcard, D., Borman, T., Carvalho, G., Chirico, M., De Caceres, M., & Weedon, J. (2025). vegan: community ecology package. *R package version 2.7-1*. [Link]
- Patel, S. (2012). Threats, management and envisaged utilizations of aquatic weed *Eichhornia crassipes*: an overview. *Reviews in Environmental Science and Biotechnology*, 11(3), 249-259. [Link]
- Pellegrini, M. O., Horn, C. N., & Almeida, R. F. (2018). Total evidence phylogeny of Pontederiaceae (Commelinales) sheds light on the necessity of its recircumscription and synopsis of Pontederia L. *PhytoKeys*, 108, 25. [Link]
- Praveena, R. (2003). *Management of water hyacinth [Eichhornia crassipes (Mart.) Solms] using fungal pathogens* Kerala Agricultural University. India.
- Praveena, R., & Naseema, A. (2004). Fungi occurring on water hyacinth [*Eichhornia crassipes* (Mart.) Solms] in Kerala. *Journal of Tropical Agriculture*, 42, 21-23.
- Ray, P., & Hill, M. P. (2012). Impact of feeding by Nechoetina weevils on pathogenicity of fungi associated with water hyacinth in South Africa. *Journal of Aquatic Plant Management*, 50, 79-84.
- Robinson, D., Hayes, A., & Couch, S. (2025). broom: convert statistical objects into tidy tibbles. *R package*. [Link]
- Ronquist, F., & Huelsenbeck, J. P. (2003). MrBayes 3: Bayesian phylogenetic inference under mixed models. *Bioinformatics*, 19(12), 1572-1574. [Link]
- Salmaninezhad, F., Mostowfizadeh-Ghalamfarsa, R., & Cacciola, S. O. (2024). *Pythium banihashemianum* sp. nov. and *Globisporangium izadpanahii* sp. nov.: two new oomycete species from rice paddies in Iran. *Journal of Fungi*, 10(6), 405. [Link]
- Seifert, K. A., & Gams, W. (2011). The genera of Hyphomycetes-2011 update. *Persoonia*, 27(1), 119-129. [Link]
- Singh, U. B., Malviya, D., Singh, S., Imran, M., Pathak, N., Alam, M., & Sharma, P. K. (2016). Compatible salt-tolerant rhizosphere microbe-mediated induction of phenylpropanoid cascade and induced systemic responses against Bipolaris sorokiniana (Sacc.) Shoemaker causing spot blotch disease in wheat (*Triticum aestivum* L.). *Applied Soil Ecology*, 108, 300-306. [Link]
- Sivanesan, A. (1987). *Graminicolous species of Bipolaris, Curvularia, Drechslera, Exserohilum and their teleomorphs* (Vol. 158). CAB International Mycological Institute.
- Squizzato, V., Yucel, Y. H., Richardson, S. E., Alkhotani, A., Wong, D. T., Nijhawan, N., & Chan, C. C. (2015). *Colletotrichum truncatum* species complex: treatment considerations and review of the literature for an unusual pathogen causing fungal keratitis and endophthalmitis. *Medical Mycology Case Reports*, 9, 1-6. [Link]
- Stielow, J. B., 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., Favel, A., Al-Hatmi, A. M. S., Damm, U., Yilmaz, N., Houbaken, J., Lombard, L., . . . Robert, V. (2015). One fungus, which genes? Development and assessment of universal primers for potential secondary fungal DNA barcodes. *Persoonia*, 35(1), 242-263. [Link]
- Talhinhas, P., & Baroncelli, R. (2021). *Colletotrichum* species and complexes: geographic distribution, host range and conservation status. *Fungal Diversity*, 110(1), 109-198. [Link]
- Téllez, T. R., López, E. M. D. R., Granado, G. L., Pérez, E. A., López, R. M., & Guzmán, J. M. S. (2008). The water hyacinth, *Eichhornia crassipes*: an invasive plant in the Guadiana River Basin (Spain). *Aquatic Invasions*, 3(1), 42-53. [Link]
- Vilà, M., Basnou, C., Pyšek, P., Josefsson, M., Genovesi, P., Gollasch, S., Nentwig, W., Olenin, S., Roques, A., Roy, D., & Hulme, P. E. (2010). How well do we understand the impacts of alien species on ecosystem services? A pan-European, cross-taxa assessment. *Frontiers in Ecology and the Environment*, 8(3), 135-144. [Link]
- Villamagna, A. M., & Murphy, B. R. (2010). Ecological and socio-economic impacts of invasive water hyacinth (*Eichhornia crassipes*): a review. *Freshwater Biology*, 55(2), 282-298. [Link]

- Voglmayr, H., & Jaklitsch, W. M. (2017). *Corynespora*, *Exosporium* and *Helminthosporium* revisited-new species and generic reclassification. *Studies in Mycology*, 87(1), 43-76. [Link]
- Waipara, N. W., Bourdot, G. W. A., & Hurrell, G. A. (2006). *Sclerotinia sclerotiorum* shows potential for controlling water lettuce, alligator weed and wandering jew. *New Zealand Plant Protection*, 59, 23-27. [Link]
- White, T. J., Bruns, T., Lee, S., & Taylor, J. (1990). Amplification and direct sequencing of fungal ribosomal RNA genes for phylogenetics. In M. A. Innis, D. H. Gelfand, J. J. Sninsky, & T. J. White (Eds.), *PCR protocols: a guide to methods and applications* (pp. 315-322). Academic Press. [Link]
- Wickham, H. (2016). Programming with ggplot2. In *ggplot2: elegant graphics for data analysis* (pp. 241-253). Springer International Publishing. [Link]
- Wickham, H., Averick, M., Bryan, J., Chang, W., McGowan, L. D., François, R., Grolemund, G., Hayes, A., Henry, L., Hester, J., Kuhn, M., Pedersen, T. L., Miller, E., Bache, S. M., Müller, K., Ooms, J., Robinson, D., Seidel, D. P., Spinu, V., . . . Yutani, H. (2019). Welcome to the tidyverse. *Journal of Open Source Software*, 4(43), 1686. [Link]
- Wijayawardene, N. N., Hyde, K. D., Dai, D. Q., Sanchez-Garcia, M., Goto, B. T., Saxena, R. K., Erdogdu, M., Selcuk, F., Rajeshkumar, K. C., Aptroot, A., Błaszowski, J., Boonyuen, N., da Silva, G. A., de Souza, F. A., Dong, W., Ertz, D., Haelewaters, D., Jones, E. B. G., Karunaratna, S. C., . . . Thines, M. (2022). Outline of Fungi and fungus-like taxa-2021. *Mycosphere*, 13(1), 53-453. [Link]
- Yirefu, F., Struik, P. C., Lantinga, E. A., & Tessema, T. (2017). Control of water hyacinth with *Neochetina* spp. and *Alternaria alternata* in the Rift Valley of Ethiopia. *International Journal of Pest Management*, 63(2), 108-117. [Link]