

## جداسازی گونه حدواسط فوزاریوم لانگستیه و فوزاریوم اسپوروترایکیوئیدس

### و شناسایی برخی از خصوصیات ریختی و مولکولی آن

محمدحسین یادگاری<sup>۱\*</sup> PhD، رضا کچوئی<sup>۱</sup> PhD، ساسان رضایی<sup>۲</sup> PhD،

عبدالمیر علامه<sup>۳</sup> PhD، ناصر صفایی<sup>۴</sup> PhD، فریده زینی<sup>۲</sup> PhD

\* آدرس مکاتبه: گروه قارچ‌شناسی پزشکی، دانشکده علوم پزشکی، دانشگاه تربیت مدرس، تهران، ایران  
yadegarm@modares.ac.ir

تاریخ اعلام قبولی مقاله: ۱۳۸۸/۶/۲۱

تاریخ اعلام وصول: ۱۳۸۷/۹/۲۶

### چکیده

**اهداف.** گونه‌های فوزاریوم از مهم‌ترین قارچ‌ها هستند که مایکوتوکسین‌ها، به‌ویژه تریکوتسن‌ها، را تولید می‌کنند و سبب آلودگی مواد غذایی می‌شوند. هدف از مطالعه حاضر، شناسایی گونه‌ای از فوزاریوم از دسته اسپوروترایکیلا بود که مولد سم T-2 است و اخیراً از گندم انباری استان تهران جدا شده است.

**روش‌ها.** این گونه به روش "فریز بلاتر" از گندم جدا و سپس به روش کشت تک اسپور، خالص شد. برای شناسایی از محیط‌های کشت SNA، CLA، PDA و PSA استفاده گردید. همه خصوصیات میکروسکوپی و ماکروسکوپی گونه فوزاریوم جدا شده مورد بررسی قرار گرفت. DNA قارچ از طریق PCR با استفاده از پرایمرهای اختصاصی فوزاریوم اسپوروترایکیوئیدس و فوزاریوم لانگستیه مورد ارزیابی قرار گرفت. در DNA ریبوزومی قارچ مورد نظر، نواحی ITS1 و ITS2 با استفاده از پرایمرهای جهانی ITS4 و ITS5 و همچنین قطعه‌ای از ژن TEF-1 $\alpha$  این قارچ، با استفاده از پرایمرهای جهانی بیرونی (EF1 و EF2) و درونی تکثیر، خالص‌سازی و تعیین توالی شد.

**یافته‌ها.** از نظر ریخت‌شناسی و توالی، ژن ITS کاملاً مشابه فوزاریوم لانگستیه بود (گونه‌ای که اخیراً از اروپا گزارش شده است). لیکن بر اساس توالی، ژن TEF-1 $\alpha$  با فوزاریوم اسپوروترایکیوئیدس گروه‌بندی شد.

**نتیجه‌گیری.** این گونه برای اولین بار در ایران جدا شده و تاکنون موردی از جداسازی این گونه از آسیا گزارش نشده است. بنابراین، بررسی وسیعی روی غلات ایران از نظر وجود این دسته فوزاریوم‌ها و سم T-2 ضروری است.

**کلیدواژه‌ها:** فوزاریوم لانگستیه، فوزاریوم اسپوروترایکیوئیدس، گندم

۱- گروه قارچ‌شناسی پزشکی، دانشکده علوم پزشکی، دانشگاه تربیت مدرس، تهران، ایران

۲- گروه انگل‌شناسی و قارچ‌شناسی پزشکی، دانشکده بهداشت، دانشگاه علوم پزشکی تهران، تهران، ایران

۳- گروه بیوشیمی، دانشکده علوم پزشکی، دانشگاه تربیت مدرس، تهران، ایران

۴- گروه بیماری‌های گیاهی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه تربیت مدرس، تهران، ایران

## مقدمه

گونه‌های فوزاریوم به دلیل اهمیت‌شان در پزشکی، بهداشت و کشاورزی از مهم‌ترین گروه‌های قارچی محسوب می‌شوند. آنها طیفی از مایکوتوکسین‌ها را تولید می‌کنند که سبب آلودگی غذا و مواد غذایی می‌شوند. زیان‌های ناشی از تأثیر مایکوتوکسین‌ها به صنایع خوراک دام و دامپروری ایالات متحده و کانادا، سالانه پنج میلیارد دلار برآورد شده است [۱]. مایکوتوکسین‌های مهم آفلاتوکسین‌ها، تریکوتسن‌ها، فومونیسین‌ها، ززالنون و اکراتوکسین A هستند. تریکوتسن‌ها بزرگ‌ترین گروه از مایکوتوکسین‌ها را تشکیل می‌دهند. آنها را بر اساس خواص شیمیایی و قارچ مولدشان به ۴ تیپ A, B, C و D طبقه‌بندی می‌کنند. تریکوتسن‌های تیپ A به‌ویژه T-2 و HT-2 سمی‌ترین تریکوتسن‌ها هستند [۲].

طی سال‌های ۴۷-۱۹۴۲، هزاران نفر در روسیه به‌دنبال مصرف غلات آلوده و شیوع بیماری ATA (Alimentary Toxic Aleukia) رنج بردند [۳، ۴، ۵]. بیش‌ترین گونه‌های قارچی سمی جداسازی شده از آن غلات، فوزاریوم اسپوروتراکیوئیدس و فوزاریوم پوئه گزارش شده و مشخص گردیده که به میزان خیلی زیاد سم T-2 تولید می‌کنند [۴]. وانگ و همکاران مواردی از مسمومیت انسانی به‌دلیل مصرف برنج کپکی آلوده با فوزاریوم و سم T-2 را در چین گزارش نموده‌اند [۶]. مواردی از بیماری نیز در حیوانات گزارش شده است. مسمومیت شدید اسب‌ها با پوست باقالی آلوده به قارچ مولد سم T-2 در ژاپن گزارش شده است. در این بررسی قارچ مولد سم، فوزاریوم اسپوروتراکیوئیدس بوده است [۷، ۸].

فوزاریوم اسپوروتراکیوئیدس، فوزاریوم پوئه و فوزاریوم تریسینکتوم گونه‌هایی از جنس فوزاریوم هستند که از نظر مورفولوژی واجد میکروکونی‌های کروی، گلابی- یا شلغمی‌شکل بوده و بر این اساس، از سال ۱۹۶۸ که سیمولر آنها را در دسته اسپوروتریکیلا معرفی نمود، تاکنون در این دسته قرار داشته‌اند. در دهه اخیر بر پایه مطالعات توالی DNA و تولید متابولیت‌های ثانویه، برخی دانشمندان فوزاریوم پوئه را از دسته دیسکلر و فوزاریوم تریسینکتوم را از دسته روزنوم می‌دانند [۹، ۱۰]. فوزاریوم کایوشوتس گونه جدیدی است که در سال ۱۹۹۸ معرفی شد و بر پایه توالی DNA در دسته اسپوروتریکیلا قرار گرفته است [۱۱]. اخیراً گونه جدیدی از فوزاریوم به نام فوزاریوم لانگستیه کشف و شناسایی شده که بر اساس خصوصیات مورفولوژی و مولکولی در دسته اسپوروتریکیلا قرار گرفته است. این تک‌سلولی خصوصیات مورفولوژی شبیه فوزاریوم پوئه داشته و به‌عنوان شکل پودری فوزاریوم پوئه شناخته شده است. اما از نظر تولید مایکوتوکسین مشابه فوزاریوم اسپوروتراکیوئیدس است، به‌طوری‌که تریکوتسن‌های تیپ A مثل T-2 را تولید می‌کند [۹، ۱۲].

فوزاریوم لانگستیه از غلاتی چون گندم، جو و جوی دوسر در شمال، مرکز و شرق اروپا از کشورهای نروژ، اتریش، آلمان، هلند، جمهوری چک، دانمارک، انگلستان، ایتالیا، لهستان و اسلواکی

به‌صورت موردی جدا و گزارش شده است [۹، ۱۳، ۱۴، ۱۵، ۱۶]. لیکن گزارشی مبنی بر جداسازی آن در آسیا منتشر نشده است. هدف از مطالعه حاضر، معرفی و شناسایی گونه‌ای از فوزاریوم از دسته اسپوروتریکیلاست که مولد سم T-2 بوده و در بررسی انجام‌شده توسط ما روی ۷۴ نمونه گندم انباری استان تهران طی سال‌های ۸۷-۱۳۸۶ جدا شده است.

## روش‌ها

جداسازی و شناسایی مورفولوژی: قارچ مورد نظر به روش فریز بلاتر از گندم جدا شد [۱۷]. به روش کشت تک‌اسپور روی محیط کشت آبی آگار ۲٪ خالص و سپس به‌منظور شناسایی از محیط‌های کشت (Spezieller SNA و (Carnation Leaf Agar) CLA (Nahrstoffarmer) محتوی کاغذ صافی استریل PDA (Potato Dextrose Agar) و (Potato Sucrose Agar) PSA استفاده شد [۱۸، ۱۹]. انکوباسیون در دمای ۲۵°C تحت شرایط ۱۲ ساعت تاریکی و ۱۲ ساعت نور UV با طول موج ۳۶۰ نانومتر به‌طور متوالی صورت گرفت. همه خصوصیات میکروسکوپی (وجود اسپورودوجیا یا ماکروکونی‌ها، شکل و اندازه میکروکونی‌ها، وجود مونوفیالاید یا پلی‌فیالاید و وجود کلامیدوکونی‌ها) و ماکروسکوپی (کلنی پودری روی PDA، قطر کلنی روی PSA و PDA در دو شرایط دمایی ۲۵°C و ۲۰°C) فوزاریوم جداسازی شده مورد بررسی قرار گرفت [۹، ۱۲].

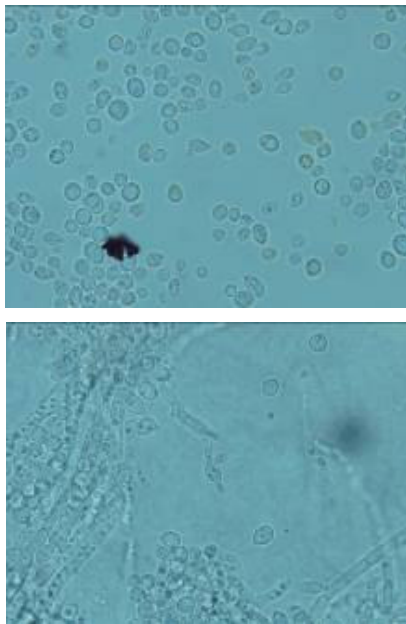
شناسایی مولکولی: استخراج DNA به روش فنل/کلروفرم مطابق با روش چوئی و همکاران [۲۰] و رضایی و همکاران [۲۱] (البته با کمی تغییر) صورت گرفت. DNAی این‌گونه از طریق PCR با پرایمرهای اختصاصی فوزاریوم اسپوروتراکیوئیدس مطابق روش کولیک و همکاران [۲۲] و با پرایمرهای اختصاصی فوزاریوم لانگستیه و فوزاریوم اسپوروتراکیوئیدس مطابق روش ویلسون و همکاران [۲۳] تکثیر شد. نواحی ITS1 و ITS2 در DNA ریپوزومی قارچ موردنظر با استفاده از پرایمرهای جهانی ITS4 و ITS5 معرفی شده توسط وایت و همکاران [۲۴]، که توالی آنها در جدول ۱ مشخص شده تکثیر شد.

جدول ۱) توالی پرایمرهای ITS4 و ITS5

پرایمر	توالی
ITS4	5' TCC TCC GCT TAT TGA TAT GC 3'
ITS5	5' GGA AGT AAA AGT CGT AAC AAG G 3'

نحوه انجام PCR: واسرشت ابتدایی در ۹۴°C به‌مدت ۲ دقیقه، ۳۵ دور از واسرشت (۹۴°C، ۳۰ ثانیه)، اتصال (۵۸°C، ۳۰ ثانیه) و گسترش (۷۲°C، یک دقیقه) و در ادامه، گسترش نهایی (۷۲°C، ۷ دقیقه) انجام شد. سپس محصول PCR به‌دست آمده (تقریباً ۵۷۰ bp) از روی ژل استخراج و تعیین توالی شد.

مشاهدات میکروسکوپی: قارچ موردنظر، حتی تحت نور UV ماکروکونیدیا و اسپورودوچیا ایجاد نمود. در عوض، میکروکونیدیاهای کروی و شلغمی شکل در اندازه  $4/6-3/8 \mu\text{m} \times 4/9-1/5 \mu\text{m}$  با میانگین و انحراف معیار  $1 \pm 0.6 \times 1 \pm 0.6$  تولید نمود (طول و عرض حدود ۴۰ میکروکونیدیا اندازه گیری شد). هیچ کلامیدو کونیدیایی مشاهده نشد؛ اما، کونیدوفور کوتاه و منشعب داشت و واجد مونوفیالاید منشعب و پلی فیالاید و همچنین فیالایدهای متورم و آمپولی شکل بود (شکل ۲).



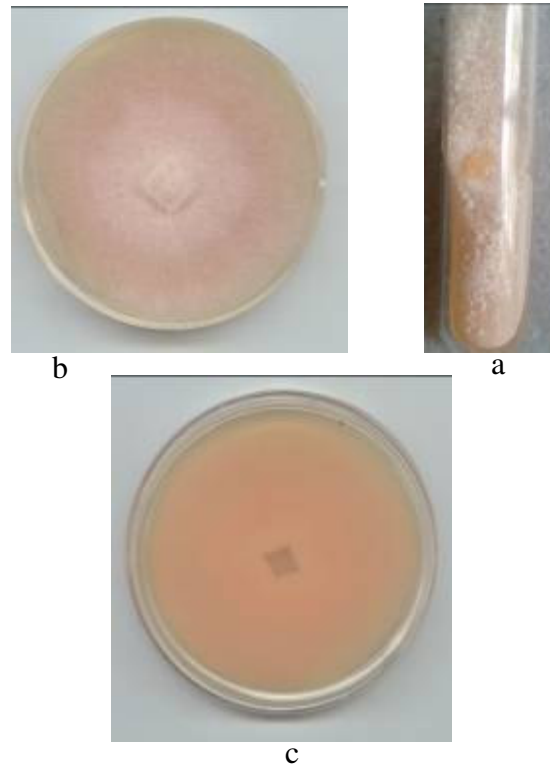
شکل ۲) فوزاریوم لانگستیه. میکروکونیدیای کروی و شلغمی شکل به همراه فیالاید متورم و آمپولی شکل (×۱۰۰)

خواص مولکولی: نتیجه تعیین توالی قطعه ژن به طول ۵۶۸ bp که حاصل پرایمرهای جهانی ITS4 و ITS5 بود با رکوردهای ثبت شده در بانک اطلاعات ژنی مربوط به ژن ITS1 و ITS2 فوزاریوم لانگستیه به شماره‌های دسترسی EF526078 و AY680864 ۱۰۰٪ مطابقت داشت. گونه موردنظر به پرایمر اختصاصی فوزاریوم اسپوروتراپیکوتیدیس معرفی شده توسط کولیک و همکاران [۲۲] پاسخ نداد (شکل ۳)؛ اما به پرایمر اختصاصی فوزاریوم اسپوروتراپیکوتیدیس معرفی شده توسط ویلسون و همکاران [۲۳] پاسخ داد (شکل ۴). همچنین به پرایمر اختصاصی فوزاریوم لانگستیه معرفی شده توسط ویلسون پاسخ نداد (شکل ۵). نتیجه تعیین توالی محصول PCR خالص شده مربوط به پرایمرهای بیرونی (EF1، EF2) و پرایمرهای درونی (EF15، EF16) ژن TEF-1α با رکورد ثبت شده در بانک اطلاعات ژنی به شماره دسترسی AJ427272 فوزاریوم لانگستیه ۹۹٪ مطابقت داشت (شکل ۶). همچنین با رکوردهای ثبت شده به شماره‌های دسترسی EF521146، AY337442، AJ420840 و AJ420820 مربوط به فوزاریوم اسپوروتراپیکوتیدیس ۹۹٪ تشابه داشت.

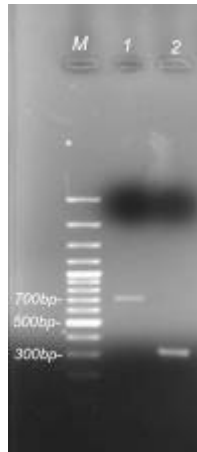
همچنین قطعه‌ای (تقریباً ۷۰۰ bp) از ژن TEF-1αی این قارچ با استفاده از پرایمرهای خارجی EF1 و EF2 مطابق روش اودونل و همکاران [۲۵] و پروتکل شرح داده شده توسط کربن و همکاران [۲۶] (با این تفاوت که به جای ۲۰ میکرولیتر از ۵۰ میکرولیتر نتیجه واکنش PCR استفاده شد) تکثیر گردید. هم‌چنین از پرایمرهای داخلی رفتی EF15 و برگشتی EF16 مطابق روش کنتوسن و همکاران [۲۷] قطعه‌ای (تقریباً ۳۰۰ bp) از محصول PCR قبلی حاصل شد. هر دو قطعه از روی ژل استخراج و تعیین توالی شدند. در پایان، توالی‌های به دست آمده با استفاده از نرم افزار Mega 3 بررسی شد.

## نتایج

مشاهدات ماکروسکوپی: در کشت اولیه روی PDA، رنگ صورتی، رشد کند همراه با میسلیم هوایی کم مشاهده شد. در اثر پاساژ مجدد روی این محیط، رنگ سفید با ظاهر پودری دیده شد (شکل ۱). قارچ موردنظر روی محیط کشت PSA رشد سریعی داشت و میسلیم هوایی زیادی تولید نمود. میزان رشد شعاعی قارچ روی محیط‌های کشت PSA و PDA در دمای ۲۵°C در شرایط کاملاً تاریک به ترتیب ۸/۵ و ۷/۵ میلی‌متر در روز بود. هم‌چنین روی محیط کشت PDA در دمای ۲۰±۵°C، میزان رشد شعاعی ۶/۴ میلی‌متر در روز بود. روی محیط PSA، رنگدانه قرمز در پشت کلنی مشاهده نشد.

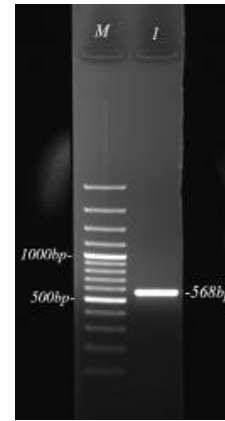


شکل ۱) فوزاریوم لانگستیه. a: کشت اولیه روی PDA بعد از ۷ روز در ۲۵°C؛ b: منظره پشت کلنی تحت همین شرایط؛ c: کشت مجدد روی PDA بعد از ۵ روز در ۲۵°C (مشاهده نمای پودری)

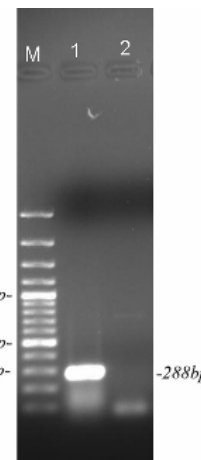


شکل ۶) محصول PCR با پرایمرهای جهانی ژن TEF-1 $\alpha$  با DNAی گونه حاضر روی ژل آگارز ۱٪.

خط M: مارکر استاندارد؛ خط ۱: محصول پرایمرهای بیرونی (EF1، EF2)؛ خط ۲: محصول پرایمرهای لانه گرفته

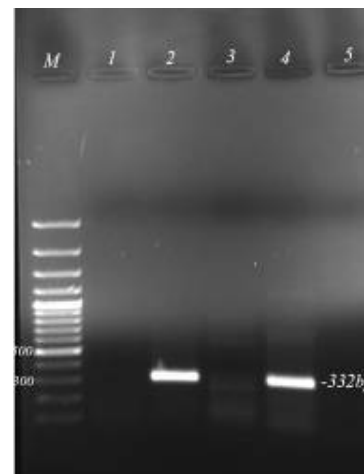


شکل ۳) محصول PCR با پرایمرهای جهانی ITS4 و ITS5 و DNAی گونه حاضر روی ژل آگارز ۱٪. خط M: مارکر استاندارد



شکل ۴) محصول PCR با پرایمرهای اختصاصی فوزاریوم اسپوروتراکیوئیدس روی ژل آگارز ۱٪

خط M: مارکر استاندارد، خط ۱: فوزاریوم اسپوروتراکیوئیدس استاندارد (VTT D-72014)، خط ۲: گونه حاضر



شکل ۵) محصول PCR با پرایمرهای اختصاصی فوزاریوم لانگستیه و فوزاریوم اسپوروتراکیوئیدس مطابق با ویلسون و همکاران روی ژل آگارز ۱٪. خط M: مارکر استاندارد، فوزاریوم اسپوروتراکیوئیدس استاندارد (VTT D-72014) با پرایمرهای اختصاصی فوزاریوم لانگستیه (خط ۱) و فوزاریوم اسپوروتراکیوئیدس (خط ۲). گونه حاضر با پرایمرهای اختصاصی فوزاریوم لانگستیه (خط ۳) و فوزاریوم اسپوروتراکیوئیدس (خط ۴) و کنترل منفی (خط ۵)

### بحث

گونه‌های فوزاریوم اسپوروتراکیوئیدس، فوزاریوم پوئه و فوزاریوم لانگستیه از جمله فوزاریوم‌های مهم مولد توکسین هستند که در دسته اسپوروتریکیلا قرار دارند. فوزاریوم لانگستیه هر چند که طی سال‌های اخیر شناسایی و معرفی شده، لیکن گزارشاتی مبنی بر جداسازی آن در سال‌های قبل به نام فرم پودری فوزاریوم پوئه یا فوزاریوم اسپوروتراکیوئیدس ارایه شده است [۱۳، ۲۸].

فوزاریوم لانگستیه گونه‌ای از فوزاریوم است که کونیدیاهای کروی تا شلغمی شکل تولید می‌نماید و فاقد اسپورودوچیا یا ماکروکونیدیا است که مشخصه‌های مورفولوژی جنس فوزاریوم هستند. البته بر اساس نوع متابولیت تولیدی و خصوصیات مولکولی، این قارچ را در جنس فوزاریوم طبقه‌بندی نموده‌اند و بررسی‌ها نشان داده که این گونه، ارتباط نزدیکی با فوزاریوم اسپوروتراکیوئیدس دارد [۲۷، ۲۹، ۳۰، ۳۱]. از نظر مورفولوژی، فوزاریوم لانگستیه برخلاف فوزاریوم اسپوروتراکیوئیدس دارای خصوصیتی چون عدم تولید ماکروکونیدیا، فاقد کلامیدوکونیدیا، عدم تولید رنگدانه قرمز در پشت کلنی در محیط کشت PSA و واجد رشد آهسته‌تر روی محیط کشت PDA در مقایسه با محیط PSA و غیره است [۹]. این خصوصیات و دیگر یافته‌ها که در قسمت نتایج اشاره شد، کاملاً در گونه جدا شده در بررسی حاضر مشاهده شد و بهتر است بگوییم که گونه جدا شده از نظر مورفولوژی فوزاریوم لانگستیه است.

نواحی ITS ریبوزومی به‌طور گسترده برای مطالعات فیلوژنتیکی فوزاریوم‌ها و اعضای دسته اسپوروتریکیلا مثل فوزاریوم اسپوروتراکیوئیدس، فوزاریوم پوئه و فوزاریوم لانگستیه به کار رفته است [۲۹، ۳۲، ۳۳]. هم‌چنین EF-1 $\alpha$  که پروتئینی بسیار محافظت شده است، در فرآیند ترجمه سلول نقش داشته و برای مطالعه تغییرات بین گونه‌ای و درون گونه‌ای و طبقه‌بندی طیف وسیعی از یوکاریوت‌ها

یاری نمودند به‌ویژه از سرکار خانم دکتر فاطمه نوربخش، آقای محمدرضا صفری و سرکار خانم مریم رازقی کمال سپاسگزاری را داریم.

## منابع

- 1- Food and Agriculture Organization of the United Nations. Manual on the application of the HACCP System in mycotoxin prevention and control. Food and Nutrition paper. 2001;73:1-48.
- 2- Marasas WFO, Nelson PE, Toussoun TA. Toxicogenic *Fusarium* species: Identity and mycotoxicology. Pennsylvania: University Park; 1983.
- 3- Ueno Y. Trichothecenes in food. In: Krogh P, editor. Mycotoxins in food. London: Academic Press; 1987.
- 4- Joffe AZ. *Fusarium poae*: Sporotrichioides as principal causal agents of alimentary toxic aleukia. In: Wyllie RD, Morehouse LG, editors. Mycotoxic fungi, mycotoxins, mycotoxicoses: An encyclopedic handbook. New York: Marcel Dekker; 1978.
- 5- Beardall JM, Miller JD. Diseases in humans with mycotoxins as possible causes. In: Miller JD, Trenholm HL, editors. Mycotoxins in grain: Compounds other than aflatoxin. Portland: Eagan Press; 1994.
- 6- Wang ZG, Feng JN, Tong Z. Human toxicosis caused by moldy rice contaminated with *Fusarium* and T-2 toxin. Biomed Environ Sci. 1993;6:65-70.
- 7- Ueno Y, Ishii K, Kanaeda S, Tsunoda H, Tanaka T, Enomoto M. Toxicological approaches to the metabolites of *Fusaria*. Microbial survey on bean-hulls poisoning of horses with the isolation of toxic trichothecenes, neosolanol and T-2 toxin of *Fusarium solani* M-1-1. Japan J exp Med. 1972;42:187-203.
- 8- Yazar S, Omurtag GZ. Fumonisin, Trichothecenes and Zearalenone in cereals. Int J Mol Sci. 2008;9:2062-90.
- 9- Torp M, Nirenberg HI. *Fusarium langsethiae* sp. nov. on cereals in Europe. Int J Food Microbiol. 2004;95:247-56.
- 10- Yli-Mattila T, Paavanan-Huhtala S, Bulat SA, Alekhina IA, Nirenberg HI. Molecular, morphological and phylogenetic analysis of the *F. avenaceum*, *F. arthrosporioides*, *F. tricinctum* species complex: A polyphasic approach. Mycol Res. 2002;106(6):655-69.
- 11- Aoki T, O'Donnell K. *Fusarium kyushuense* sp. nov. from Japan. Mycoscience. 1998;39:1-6.
- 12- Torp M, Langseth W. Production of T-2 toxin by a *Fusarium* resembling *Fusarium poae*. Mycopathology. 1999;147:89-96.
- 13- Torp M, Adler A. The European Sporotrichiella project: A polyphasic approach to the biology of a new *Fusarium* species. Int J Food Microbiol. 2004;95(3):241-5.
- 14- Lukanowski A, Lenc L, Sadowski C. First report on the occurrence of *Fusarium langsethiae* isolated from kernels in Poland. Plant Dis. 2008;92(3):488-90.
- 15- Infantino A, Pucci N, Conca G, Santori A. First report of *Fusarium langsethiae* on Durum Wheat Kernels in Italy. Plant Dis. 2007;91:1362-7.
- 16- Hudec K, Rohacik T. The occurrence and predominance of *Fusarium* species on Barley Kernels in Slovakia. Cereal Res Commun. 2009;37(1):101-9.
- 17- Mathur SB, Kongsdal O. Common laboratory seed health testing methods for detecting fungi. Denmark: International Seed Testing Association Copenhagen; 2003.
- 18- Leslie JF, Summerell BA. The *Fusarium* laboratory manual. Oxford: Blackwell Publishing; 2006.
- 19- Nelson PE, Toussoun TA, Marasas WFO. *Fusarium* species: An illustrated manual for identification. Pennsylvania: The Pennsylvania State University Park; 1983.

شامل قارچ‌ها، فوزاریوم‌ها و هم‌چنین دسته اسپوروتراپیکولا به‌کار گرفته شده است [۲۵، ۲۷، ۳۴، ۳۵]. در بررسی حاضر نیز، برای شناسایی مولکولی قارچ مورد نظر از این دو ژن استفاده شد.

از نظر مولکولی، بررسی توالی قطعه ژن 18S rRNA-ITS1-5.8S rRNA-ITS2-28S rRNA از DNAی گونه حاضر با تمام رکوردهای ثبت‌شده فوزاریوم لانگستیه در بانک اطلاعات ژنی NCBI مطابقت داشت. به عبارتی، گونه جداشده از این نظر نیز مشابه فوزاریوم لانگستیه بود. بررسی قطعه‌ای از توالی ژن TEF-1 $\alpha$  این گونه با اکثر رکوردهای ثبت‌شده فوزاریوم لانگستیه در بانک اطلاعات ژنی NCBI مطابقت نداشت و تنها با رکورد ثبت‌شده فوزاریوم لانگستیه به شماره دسترسی AJ427272 که مربوط به فوزاریوم لانگستیه با کد IBT9959 است، مطابقت داشت. هم‌چنین با اکثر رکوردهای ثبت‌شده فوزاریوم اسپوروتراپیکوئیدس مطابقت داشت. به عبارتی، گونه حاضر از نظر توالی ژن TEF-1 $\alpha$  مشابه فوزاریوم اسپوروتراپیکوئیدس بود. کریستنسن و همکاران [۲۶] گونه فوزاریوم لانگستیه با کد IBT9959 را بر اساس مورفولوژی به‌عنوان *F. cf. langsethiae* و بر اساس ژن TEF-1 $\alpha$  با گونه‌های فوزاریوم اسپوروتراپیکوئیدس گروه‌بندی نمودند. گونه حاضر تفاوتی نیز از جنبه مورفولوژی با IBT9959 داشت. میزان رشد گونه حاضر روی محیط PSA در مقایسه با PDA همانند گونه‌های لانگستیه بیش‌تر بود، اما در فوزاریوم لانگستیه با کد IBT9959 برعکس، رشد قارچ روی محیط PDA بیشتر از PSA گزارش شده است [۱۲]. با توجه به خصوصیات ذکرشده، گونه حاضر حدواسط فوزاریوم لانگستیه و فوزاریوم اسپوروتراپیکوئیدس بوده و می‌تواند به‌عنوان *F. cf. langsethiae* (cf در سیستم نام‌گذاری ۲اسمی به معنی این است که گونه موردنظر به احتمال فراوان همان گونه شناخته‌شده است، اما نه به‌طور قطعی) معرفی شود. البته بهتر است بررسی‌های مولکولی بیشتری مثل آنالیز IGS-RFLP روی گونه جداشده صورت گیرد که نیازمند مطالعات بعدی است.

## نتیجه‌گیری

این گونه، برای اولین بار در ایران جدا شده است. طبق مطالعات تاکنون گزارشی از جداسازی این گونه در آسیا ارایه نشده است. فوزاریوم لانگستیه و فوزاریوم اسپوروتراپیکوئیدس و گونه‌های حدواسط به‌عنوان گونه‌های اصلی مولد سم T-2 شناخته شده‌اند [۱۲]. از آنجاکه گونه حاضر نیز مولد سم T-2 است، توصیه می‌شود که مطالعاتی در سطح وسیع روی غلات ایران از نظر وجود این دسته فوزاریوم‌ها و متابولیت‌های سمی آنها صورت گیرد.

## تشکر و قدردانی: از آقایان دکتر پال نیکلسون و دکتر رالف

کریستنسن که ما را در شناسایی فوزاریوم لانگستیه راهنمایی نمودند، تشکر می‌کنیم. هم‌چنین از تمامی افرادی که ما را در این تحقیق

- 28- Bateman GL, Kwasna H, Ward E. Relationships among *Fusarium* spp. Estimated by comparing polymerase chain reaction amplified nuclear rDNA. *Can J Microbiol.* 1996;42:1232-40.
- 29- Yli-Mattila T, Mach RL, Alekhina IA, Bulat SA, Koskinen S, Kullnig-Gradinger CM, et al. Phylogenetic relationship of *Fusarium langsethiae* to *Fusarium poae* and *F. sporotrichioides* as inferred by IGS, ITS,  $\beta$ -tubulin sequences and UP-PCR hybridization analysis. *Int J Food Microbiol.* 2004;95:267-85
- 30- Thrane U, Adler A, Clasen PE, Galvano F, Langseth W, Lew H, et al. Diversity in metabolite production by *Fusarium langsethiae*, *Fusarium poae* and *Fusarium sporotrichioides*. *Int J Food Microbiol.* 2004;95:257-66.
- 31- Schmidt H, Niessen L, Vogel RF. AFLP analysis of *Fusarium* species in the section *Sporotrichiella*: Evidence for *F. langsethiae* as a new species. *Int J Food Microbiol.* 2004;95:305-19.
- 32- Suga H, Hasegawa T, Mitsui H, Kageyama K, Hyakumachi M. Phylogenetic analysis of the phytopathogenic fungus *Fusarium solani* based on the rDNA-ITS region. *Mycol Res.* 2000;104:1175-83.
- 33- Lee YM, Choi YK, Min BR. Molecular characterization of *Fusarium solani* and its formal special's based on sequences analysis of the Internal Transcribed Spacer (ITS) region of ribosomal DNA. *Mycobiology.* 2000;28:82-8.
- 34- Kristensen R, Torp M, Kosiak B, Holst-Jensen A. Phylogeny and toxigenic potential is correlated in *Fusarium* species as revealed by partial translation elongation factor 1 alpha gene sequences. *Mycol Res.* 2005;109(2):173-86.
- 35- Roger AJ, Sandbloom O, Doolittle WF, Philippe H. An evaluation of elongation factor 1 $\alpha$  as a phylogenetic marker for eukaryotes. *Mol Biol Evol.* 1999;16:218-33.
- 20- Choi GH, Marek ET, Schardl CL, Richey MG, Chang S, Smith DA. A stress-responsive gene in *Fusarium* spp. *J Bacteriol.* 1990;72:4522-8.
- 21- Rezaie S, Ban J, Mildner M, Poitschek C, Brna C, Tschachler E. Characterization of a cDNA clone, encoding a 70 kDa heat shock protein from the dermatophyte pathogen *Trichophyton rubrum*. *Gene.* 2000;241:27-33.
- 22- Kulik T, Fordon G, Pszczo lkowska A, Plodzien K, Lapin M. Development of PCR assay based on ITS2 rDNA polymorphism for the detection and differentiation of *Fusarium sporotrichioides*. *FEMS Microbiol Lett.* 2004;239:181-6.
- 23- Wilson A, Simpson D, Chandler E, Jennings P, Nicholson P. Development of PCR assays for the detection and differentiation of *Fusarium sporotrichioides* and *Fusarium langsethiae*. *FEMS Microbiol Lett.* 2004;233:69-76.
- 24- White TJ, Bruns T, Lee S, Taylor JW. Amplification and direct sequencing of fungal ribosomal RNA genes for phylogenetics. In: Innis MA, Gelfand DH, Sninsky JJ, White TJ, editors. *PCR protocols: A guide to methods and applications.* New York: Academic Press;1990.
- 25- O'Donnell K, Kistler HC, Cigelnik E, Ploetz RC. Multiple evolutionary origins of the fungus causing Panama disease of banana: Concordant evidence from nuclear and mitochondrial gene genealogies. *Proc Natl Acad Sci USA.* 1998;95:2044-9.
- 26- Carbone I, Anderson JB, Kohn LM. Patterns of descent in clonal lineages and their multilocus fingerprints are resolved with combined gene genealogies. *Evolution.* 1999;53:11-21.
- 27- Knutsen AK, Torp M, Holst-Jensen A. Phylogenetic analyses of the *Fusarium poae*, *F. sporotrichioides* and *F. langsethiae* species complex based on partial sequences of the translation elongation factor-1 alpha gene. *Int J Food Microbiol.* 2004;95:287-95.