



## مقاله پژوهشی

معرفی گونه‌ی جدیدی از جنس *Sphaerulina* در ایرانحسین عظیمی<sup>۱</sup>، مهرداد عباسی<sup>۲</sup>، لیا لون اسیپیان<sup>۳</sup>

۱، ۲- به‌ترتیب استادیار، دانشیار، موسسه تحقیقات گیاه‌پزشکی کشور، سازمان تحقیقات، آموزش و ترویج کشاورزی، تهران، ایران؛

۳- استاد اکادمسین، دانشگاه دولتی ایروان، ایروان، جمهوری ارمنستان

(تاریخ دریافت: شهریور ۱۴۰۰؛ تاریخ پذیرش: آبان ۱۴۰۰)

## چکیده

در راستای مطالعات تاکسونومیک قارچ‌های سپتوریا و شبه‌سپتوریا در ایران، گونه‌ی جدیدی از جنس *Sphaerulina* روی میزبان *Populus* sp. بر اساس توالی یابی ناحیه ITS از rDNA و بررسی‌های مورفولوژیک تحت نام *Sphaerulina osipyanae* sp. nov. Azimi توصیف شد. مقایسه توالی نمونه مورد مطالعه با توالی *Mycosphaerella populi* (= *Sphaerulina frondicola*) از بانک ژن نشان داد که گونه *Sphaerulina* روی *Populus* در ایران گونه‌ی جدیدی برای این جنس است. لکه‌ها در هر دو سطح رویی و زیری برگ، گرد تا کشیده به رنگ خاکستری روشن با حاشیه مشخص به رنگ قهوه‌ای تیره، با قطر ۲-۵ میلی‌متر بودند. لکه‌ها گاهی به هم پیوسته و لکه‌هایی نامنظم با اندازه بزرگ‌تر را تشکیل می‌دادند. کنیدیوم‌ها از نوع پیکنیدیوم، نسبتاً گرد، به‌رنگ قهوه‌ای تیره تا سیاه، در لکه‌های هر دو سطح رویی و زیری برگ بصورت جدا از هم و پراکنده تشکیل شده بودند. قطر پیکنیدیوم‌ها (۱۵۰-۲۰۰) ۱۶۰ میکرومتر و دارای دهانه منفرد انتهایی بودند. کنیدیوم‌ها داسی شکل، برخی در انتها دارای خمیدگی، نیمه شفاف، دارای یک بند، با قاعده گرد و در راس گرد تا کمی باریک شده بودند. طول کنیدیوم‌ها ۳۵-۴۶ میکرومتر و عرض آن ۳-۴ میکرومتر اندازه‌گیری شد.

واژه‌های کلیدی: تنوع زیستی، رده‌بندی، قارچ‌های آنامورفیک، مورفولوژی

New species of *Sphaerulina* from IranH. AZIMI<sup>1</sup>✉, M. ABBASI<sup>2</sup>, L.L. OSIPYAN<sup>3</sup>

1, 2. Assistant Professor, Associate Professor, of Iranian Research Institute of Plant Protection, Agricultural Research, Education and Extension Organization (AREEO), Tehran, Iran; 3. Professor, of Yerevan State University, Yerevan, Armenia

## Abstract

In the framework of study on *Septoria* and *Septoria*-like species in Iran, a new species *Sphaerulina osipyanae* sp. nov. Azimi on *Populus* sp. is described based on morphological and rDNA ITS sequencing data. DNA extraction, amplification and sequencing were performed. The resulting 511-bp sequence obtained from isolate 52935 was deposited in GenBank (Accession No. MB 805915). The sequence shared 99% identity with *Mycosphaerella populi* (= *Sphaerulina frondicola*) sequences available in GenBank. NJ tree generated using TreeView Display Option in NCBI BLAST, supported *Sphaerulina* species on *Populus* from Iran as a distinct species from all other *Sphaerulina* species sequences on *Populus*. This study revealed that the species of *Sphaerulina* on *Populus* is a new species for this genus. The studied isolate named in honor of Academician Prof. Lia Levonevna Osipyan, Armenian mycologist, and honorary head of Chair of Botany and Mycology in Yerevan State University as *Sphaerulina osipyanae* Azimi, sp. nov. - MycoBank MB 805915 and described as: Leaf spots amphigenous, scattered on both sides of leaf, circular to oval sometimes coalesce and covered large irregular area of the leaf, 2.0-5.0 mm in diam, ash gray in color with distinct dark brown margins, pycnidia amphigenous, erumpent, scattered, subglobose, dark brown to black, 160(150-200) μm in diam., ostiole single, apical, conidia falcate, subhyaline, relatively rounded apex, attenuated towards a truncate base, 35-46 × 3.0-4 μm, medianly 1-septate. Specimen examined: Iran, Ardabil province, Nir, on leaves of *Populus* sp. (Salicaceae), 19. August. 2013, leg. H. Azimi (Holotype IRAN16450F).

Keywords: Anamorphic fungi, biodiversity, morphology, taxonomy

✉ E-mail: hazimi61@yahoo.com

## مقدمه

مفهوم جنس *Septoria* Sacc. از زمان توصیف آن توسط ساکاردو در سال ۱۸۸۴ پیوسته در حال تکامل بوده است. این جنس شامل بیش از ۳۰۰۰ نام منتشر شده‌ی گونه‌ای و بین گونه‌ای و مترادف می‌باشد (Verkley and Priest, 2000). اگرچه در برخی دیگر منابع تعداد گونه‌ها بین ۱۰۰۰ (Kirk et al., 2008) و ۲۰۰۰ (Markevicius and Sutton, 1980) برآورد شده است. جنس *Septoria* عوامل بیماری‌زای گیاهی بسیاری را شامل می‌شود که علائم لکه‌برگی و نیز علائم لکه روی میوه را در بسیاری از محصولات کشاورزی ایجاد می‌کنند (Halliday, 1989). عظیمی (۲۰۱۱) اطلاعات جامعی در مورد این جنس در ایران شامل تاریخچه، کلیدهای شناسایی چک لیست قارچ - میزبان و شرح گونه‌ها ارائه نموده است. بر اساس اطلاعات ارائه شده وسیله عظیمی (۲۰۱۱) و عظیمی و همکاران (۲۰۱۱) تاکنون ۴ گونه از جنس *Septoria* شامل *Se. botuliformis*, *Se. davatchii*, *Se. candida* و *Se. populi* در ایران روی جنس *Populus* گزارش شده‌اند. بررسی‌های اخیر ورکلی و همکاران (Verkley et al. 2013) نشان داده است بر اساس آنالیز حاصل از توالی یابی DNA جنس *Septoria* s. lat. به ۳ جنس *Septoria* s. str. و *Sphaerulina*, *Caryophylloseptoria* است. بر اساس این تحقیق گونه *Se. populi* در گروه *Sphaerulina* قرار گرفته و نامبرندگان آن را تحت ترکیب *Sp. frondicola* به جنس *Sphaerulina* منتقل کرده‌اند. تحقیق حاضر نشان داد نمونه بررسی شده روی *Populus* از ایران ضمن دارا بودن قرابت با جنس *Sphaerulina* به گونه جدیدی تعلق دارد.

## مواد و روش‌ها

این بررسی بر اساس مطالعه نمونه‌های هرباریومی در مجموعه مرجع قارچ‌های وزارت جهاد کشاورزی (IRAN) واقع در بخش تحقیقات رستنی‌های موسسه تحقیقات گیاهپزشکی کشور و نیز نمونه‌های جدید جمع‌آوری شده انجام

گردید. مطالعه نمونه‌ها بر اساس روش‌های ارائه شده توسط عظیمی (۲۰۱۱) و عظیمی و همکاران (۲۰۱۱) انجام شد. جهت استخراج و توالی یابی DNA قطعات ۵ میلی‌متری واجد علائم از نمونه‌های جدید جمع‌آوری شده تهیه و در اتانول ۷۵ درجه به مدت ۲ دقیقه ضدعفونی و سپس روی کاغذ صافی سترون خشک شدند. نمونه‌ها در ظروف پتری واجد کاغذ صافی سترون و خیس شده با آب مقطر دو بار سترون قرار گرفتند. ظروف پتری در حرارت اطاق به مدت ۲۰ الی ۶۰ دقیقه نگهداری شدند تا پیکنیدیوسپورها همراه با ماده زمینه‌ای به صورت اوز از دهانه پیکنیدیوم خارج شوند. سوزن اتاله حشرات سترون با اوز خارج شده از دهانه هر پیکنیدیوم زیر استرئومیکروسکپ مایه زنی و اوز محتوی پیکنیدیوسپورها به لوله محتوی ۲۰ میلی‌لیتر آب مقطر دو بار سترون منتقل شد. پس از بهم زدن لوله، مقدار یک میلی‌لیتر از سوسپانسیون پیکنیدیوسپور به ظرف پتری محتوی محیط YMSA<sup>۱</sup> همراه با آنتی‌بیوتیک کانامایسین<sup>۲</sup> به مقدار ۰/۰۰۱ گرم در هر لیتر محیط کشت منتقل شد. سوسپانسیون روی سطح محیط کشت با حرکت دادن ظرف پتری پخش و ظروف پتری در دمای ۲۰±۲ درجه سلسیوس درون انکوباتور قرار گرفتند. جوانه‌زنی پیکنیدیوسپورها و تشکیل کلنی‌های اولیه به صورت روزانه کنترل شد. تک کلنی‌های تشکیل شده به صورت مجزا به محیط کشت YMSA منتقل و در حرارت ۲۰±۲ درجه سلسیوس درون انکوباتور قرار گرفتند. پس از رشد جدایی با استفاده از اسکالپل سترون، کلنی رشد کرده جمع‌آوری و به محیط کشت مایع YMA<sup>۳</sup> منتقل و درون شیکر در حرارت ۲۰±۲ درجه سلسیوس درون انکوباتور به مدت ۸ هفته قرار گرفتند. اندام‌های قارچی به صورت مخمر، هیف و پیکنید یوم با استفاده از کاغذ صافی جدا و دو بار با استفاده از آب مقطر دو بار سترون شستشو شدند. نمونه‌ها به مدت ۴۸ ساعت در فریز خشک شده و سپس در نیتروژن مایع درون هاون چینی پودر شدند (Azimi 2011).

<sup>۱</sup> - Yeast extract Malt extract Sucrose Agar

<sup>۲</sup> - Kanamycin

<sup>۳</sup> - Yeast extract Malt extract Sucrose

*Sphaerulina osipyaniae* Azimi, sp. nov. –Mycobank MB 805915. لکه‌ها در هر دو سطح رویی و زیری برگ دیده شدند و گرد تا کشیده به رنگ خاکستری روشن با حاشیه مشخص به رنگ قهوه‌ای تیره، با قطر ۲-۵ میلی‌متر بودند. لکه‌ها گاهی به هم پیوسته و لکه‌هایی نامنظم و با اندازه بزرگتر را تشکیل می‌دادند. کنیدیوم‌ها از نوع پیکنیدیومی، نسبتاً گرد، به رنگ قهوه‌ای تیره تا سیاه، در لکه‌های هر دو سطح رویی و زیری برگ به صورت جدا از هم و پراکنده تشکیل شده بودند. قطر پیکنیدیوم‌ها (۲۰۰-۱۵۰) ۱۶۰ میکرومتر و دارای دهانه منفرد انتهایی بودند. کنیدیوم‌ها داسی شکل (هلالی شکل) که برخی در انتها دارای خمیدگی بودند، نیمه شفاف و دارای یک بند که اسپور را به دو حجره مساوی تقسیم می‌کند. کنیدیوم‌ها دارای قاعده گرد و در راس گرد تا کمی باریک شده بودند. طول کنیدیوم‌ها ۳۵-۴۶ میکرومتر و عرض آن ۳-۴ میکرومتر اندازه‌گیری شد (شکل ۱). هولوتیپ: روی *Populus* sp. جمع‌آوری شده در ۱۹ اگوست سال ۲۰۱۳ توسط حسین عظیمی (۵۲۹۳۵) از استان اردبیل، شهرستان نیر (IRAN 16450 F).

وجه تسمیه نام‌گذاری: به افتخار خانم پروفیسور لیا لون اسیپیان (Lia Levon Osipyan) قارچ‌شناس جمهوری ارمنستان و عضو آکادمی علوم ارمنستان نام‌گذاری شد.

جدول ۱- مقایسه توالی *Sphaerulina osipyaniae* sp. nov. MB 805915

به طول ۵۱۱ جفت باز شامل جزئی از ژن 18S، ITS1+5.8S+ ITS2 و جزئی از ژن 28S، جدایه اردبیل 52935 با نزدیک‌ترین جدایه‌های بانک ژن.

**Table 1.** Comparison of *Sphaerulina osipyaniae* sp. nov. sequence accession no. MB 805915, 511 bp including 18S ribosomal RNA gene, partial sequence; internal transcribed spacer 1, 5.8S ribosomal RNA gene, and internal transcribed spacer 2, complete sequence; and 28S ribosomal RNA gene, partial; with closest sequences in GebBank.

GenBank Accession No.	Taxonomic name	Identities 99%
AY549473.1	<i>Mycosphaerella populi</i>	492/495
AY549474.1	<i>Mycosphaerella populi</i>	490/495
KF251625.1	<i>Sphaerulina populi</i>	487/492
JX901818.1	<i>Mycosphaerella populi</i>	483/487
DQ029120.1	<i>Mycosphaerella populi</i>	475/477
DQ029121.1	<i>Mycosphaerella populi</i>	474/477

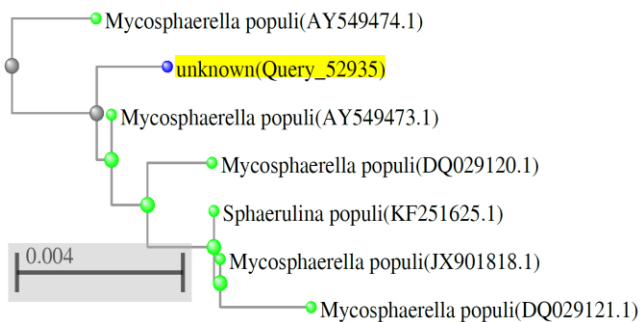
استخراج DNA با استفاده از کیت DNP™ انجام و ناحیه ITS با استفاده از آغازگرهای اختصاصی ITS1 (5'-TCCGTAGGTGAACCTGCGG-3') و ITS4 (5'-TCCTCCGCTTATTGATATGC-3') تکثیر شد (White *et al.*, 1990). هم‌ردیف‌سازی توالی‌های و آنالیز آن‌ها به کمک گزینه Tree View option در بانک ژن NCBI Web BLAST و بر اساس روش (Neighbor Joining) (Saitou and Nei 1987) انجام گردید.

### نتیجه و بحث

در این بررسی نمونه آلوده به قارچ شبه سپتوریا جمع‌آوری شده از اردبیل ۵۲۹۳۵ توالی‌یابی شد. توالی نمونه مورد بررسی به طول ۵۱۱ باز شامل جزئی از ژن 18S، ITS2+5.8S+ ITS1 و جزئی از ژن 28S با شماره MB 805915 در بانک ژن ثبت گردید. مقایسه این توالی با توالی‌های موجود در بانک ژن نشان داد توالی مذکور ۹۹ درصد با توالی‌های موجود از *Sphaerulina frondicola* که با نام‌های *Sphaerulina populi* و *Mycosphaerella populi* ثبت شده‌اند، شباهت داشت. مقایسه نزدیک‌ترین توالی‌های موجود در بانک ژن با توالی جدایه ۵۲۹۳۵ در (جدول ۱) آمده است. بر اساس درخت NJ tree رسم شده (شکل ۲) جدایه ۵۲۹۳۵ بررسی شده در این تحقیق مجزای از سایر توالی‌های متعلق به *Sp. frondicola* موجود در بانک ژن قرار گرفت. به‌ویژه جدایی توالی جدایه ۵۲۹۳۵ از توالی KF251625.1 که بر اساس آن ترکیب *Sp. frondicola* معرفی شده است (Verkley *et al.* 2013)، حائز اهمیت است. درخت مذکور همچنین نمایانگر تفاوت موجود بین جدایه‌های ثبت شده از *Sp. frondicola* در بانک ژن بود. بر اساس درخت مذکور، توالی‌یابی دی ان آر بیوزومی تفاوت‌های مرفولوژیک مشاهده شده در جدایه اردبیل را تأیید و بر تعلق این جدایه به گونه‌ای جدید صحه گذارد.

در نهایت این مطالعات منجر به توصیف گونه‌ی جدید از جنس *Sphaerulina* روی میزبان *Populus* sp. به شرح زیر شد.

- ۲-کنیدیوم‌های غالباً داسی شکل .....  
*Sphaerulina osipyaniae* sp.nov. ....
- ۳-کنیدیوم‌ها با ۲-۰ معمولاً ۱ دیواره عرضی، غالباً استوانه‌ای  
*Sphaerulina frondicola* .....
- ۳-کنیدیوم‌ها غالباً با ۳ دیواره عرضی ..... ۴
- ۴-کنیدیوم‌ها غالباً داسی شکل .....  
*Septoria davatchii* .....
- ۴-کنیدیوم‌ها غالباً میله ای شکل .....  
*Septoria candida* .....



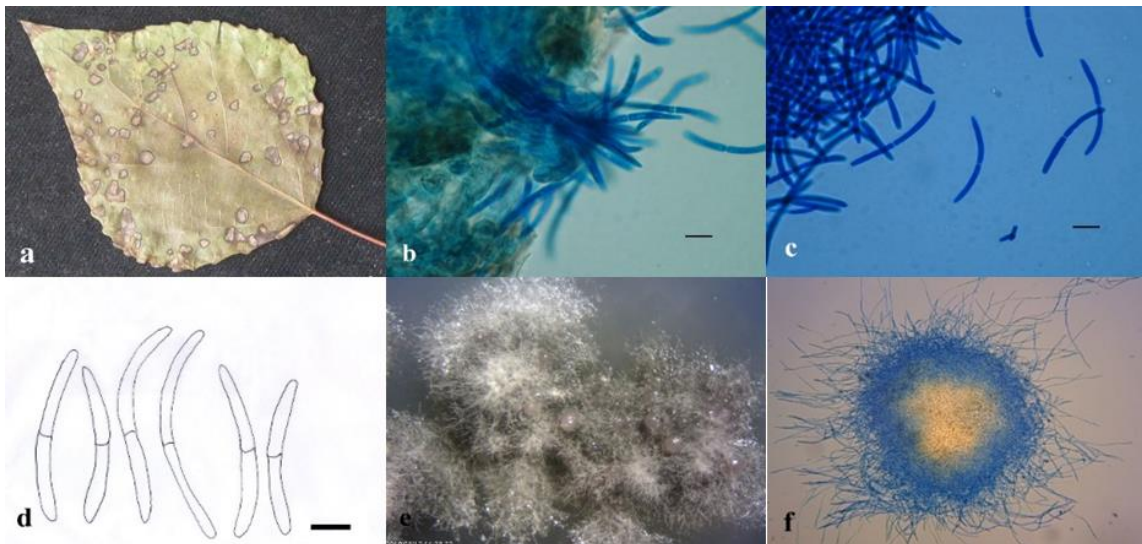
شکل ۲- موقعیت جدایه توالی‌یابی شده *Sphaerulina osipyaniae* sp. nov. Azimi (ایزوله ۵۲۹۳۵) در شجره NJ نسبت به نزدیکترین توالی‌های موجود در بانک ژن.

**Fig. 2.** NJ tree showing position of *Sphaerulina osipyaniae* sp.nov. (Isolate 52935) comparing with closest sequences available in GenBank

بر اساس منابع در دسترس تا کنون ۱۲ گونه از جنس سپتوریا و ۳ گونه از جنس *Sphaerulina* روی جنس میزبانی *Populus* توصیف شده است (جدول ۲). ترونیکوا-بابایان (Teterevnikova-Babayan, 1976) گونه‌های سپتوریا را روی جنس میزبانی *Populus* L. در اتحاد جماهیر شوروی سابق توصیف نموده است. وی رنگ لکه‌ها همراه با مشخصه‌های طول، عرض و تعداد بند کنیدیوم را برای تهیه کلید شناسایی استفاده کرده است. گونه‌ی *Sphaerulina osipyaniae* sp. nov. به واسطه دارا بودن کنیدیوم‌های داسی شکل و یک دیواره عرضی که کنیدیوم را به دو حجره مساوی تقسیم می‌کند، از سایر گونه‌های جنس *Sphaerulina* و همچنین گونه‌های جنس *Septoria* روی گونه‌های *Populus* مجزا می‌گردد (جدول ۲).

گونه‌های *Septoria* و *Sphaerulina* روی جنس *Populus* در ایران بر اساس کلید زیر از یکدیگر قابل تفکیک هستند:

- ۱-کنیدیوم‌ها با یک دیواره عرضی ..... ۲
- ۱-کنیدیوم‌ها با بیش از یک دیواره عرضی ..... ۳
- ۲-کنیدیوم‌ها سوزنی-بطری شکل .....  
*Septoria botuliformis* .....



شکل ۱- گونه‌ی *Sphaerulina osipyaniae* sp. nov. روی *Populus* sp. a: علائم، b: خروج کنیدی از پیکنیدیوم (مقیاس ۵۰ میکرومتر)، c و d: کنیدیوم‌ها

(مقیاس ۱۰ میکرومتر)، e: تشکیل میسلیم و اوز محتوی کنیدیوم روی محیط کشت YMSA، f: تشکیل پیکنیدیوم روی محیط کشت YMSA.

**Fig. 1.** *Sphaerulina osipyaniae* sp. nov. on *Populus* sp., a. symptoms.; b. Conidia extruding from pycnidium. - Scale bars = 50 μm.; c. & d. conidia. - Scale bars 10 μm.; e. mycelia and conidia oozing on YMSA medium.; f. pycnidial formation on YMSA medium.

جدول ۲- ویژگی‌های گونه‌های گزارش شده سپتوریا و سفرویلینا روی جنس *Populus* L.  
 Table 2. Overview of reported species of *Septoria* (Se.) and *Sphaerulina* (Sp.) on *Populus* L.

Species (Reference)	Symptoms	Conidia			
		Length $\mu\text{m}$	width $\mu\text{m}$	Septation	Shape
<i>Se. atrosanguinea</i> Bubák & Serebrian. (Teterevnikova-Babayan, 1987)	Dark purple	70-95	2.5-3.0	4-6	long filiform
<i>Se. candida</i> (Fuckel) Sacc. (Teterevnikova-Babayan, 1987)	White	22-30	2.0-3.0	3	straight
<i>Se. marmorata</i> Kabát & Bubák (Teterevnikova-Babayan, 1987)	marble pale yellowish	25-65	1.5-2.5(3.0)	1-3	filiform
<i>Se. meridionalis</i> Jacz. (Teterevnikova-Babayan, 1987)	Grey-Brown	40-60	2.5-3	3-5	cylindrical
<i>Sp. musiva</i> (Peck) Quaedvl., Verkley & Crous (= <i>Se. musiva</i> Peck.) (Teterevnikova-Babayan, 1987)	Brown with whitish center	26-35	2.0-3.0	3	cylindrical
<i>Sp. frondicola</i> (Fr.) Verkley, Quaedvl. & Crous (= <i>Se. populi</i> Desm.) (Teterevnikova-Babayan, 1987)	Grey-Brown	30-72	4-5	0-2	cylindrical
<i>S. tianshanica</i> Kravtzev (Teterevnikova-Babayan, 1987)	White	31-48	2.7-4.0	0-2	Rounded of ends
<i>Se. tremulae</i> Pass. (Teterevnikova-Babayan, 1987)	Grey-Brown	45-48	1.5-2	1-5	filiform
<i>Se. turangae</i> Nevod. & Kravtzev. (Teterevnikova-Babayan, 1987)	White	16-46	2.5-4	1-3	Rounded of ends
<i>Se. botuliformis</i> Bubák & Serebrian. (Azimi et al. 2011)	pale-gray	35-43	3-3.5	1	botuliform
<i>Se. rhabdocarpa</i> Ellis & Barthol. (Ellis and Bartholomew 1896)	Not forming spots	15-20	2.5-3	1	Straight
<i>Sp. populicola</i> (Peck) Quaedvl., Verkley & Crous (= <i>Se. populicola</i> Peck) (Peck 1887)	brownish-red	63.5-76	3-4	2-4	filiform
<i>Se. aegirina</i> Pass. (Saccardo, 1884)	*	25-38	2.5	*	filiform
<i>Se. osteospora</i> Briard (Briard, 1890)	*	10-12	2-2.5	0	cylindrical
<i>Se. davatchii</i> Esfand. (Esfandiari and Petrak, 1950)	Grey-Brown	18-42	2.5-5	1-4	sickle-shaped
<i>Sp. osipyanae</i> sp. nov. (current research)	Pale grey	35-46	3-3.5(-4)	1	falcate

تحقیقات گیاه‌پزشکی کشور به‌جهت فراهم نمودن امکانات و شرایط اجرای این پژوهش صمیمانه سپاسگزاری می‌گردد.

تشکر و قدردانی  
 بدین‌وسیله از بخش تحقیقات بیماری‌های گیاهی مؤسسه

## References

- AZIMI, H. 2011. Investigation of the genus *Septoria* in Iran. PhD thesis, Botany and Mycology, Yerevan State University. Armenia. 228 pp.
- AZIMI, H., M. ABBASI, L.L. OSIPYAN and A.R. Javadi-Estahbanati, 2011. Introducing some new species of *Septoria* for the Iranian mycobiota. Iranian Journal of Plant Pathology, 47(4): 341-351.
- BRIARD, P.A. 1890. Champignons nouveaux II. Revue Mycologique Toulouse. 12: 177-178.
- ELLIS, J.B. and E. BARTHOLOMEW, 1896. New Kansas fungi. Erythea 4 (2): 23-29.
- ESFANDIARI, E. and F. PETRAK, 1950. Pilze aus Iran. Sydowia 4: 11-38.
- HALLIDAY, P.A. 1989. Dictionary of Plant Pathology. Cambridge University Press, Cambridge, 369 pp.
- KIRK, P.M., P.F. CANNON, and D.W. MINTER, 2008. Ainsworth and Bisby's Dictionary of the Fungi. 10th edition. CAB International., Wallingford, UK.-772 p.

- MARKEVICIUS, V. and A. TREIGIENE, 2003. Mycota Lithuaniae X. Sphaeropsidales. Genus Septoria, 200 pp.
- PECK, C.H. 1887. Report of the Botanist (1886). Annual Report on the New York State Museum of Natural History. 40: 39-77.
- SACCARDO, P.A. 1884. Sylloge Fungorum 3: 502-503.
- SAITOU, N. and M. NEI, 1987. The neighbor-joining method: a new method for reconstructing phylogenetic trees. Molecular Biology and Evolution, 1987 Jul;4(4): 406-25
- SUTTON, B.C. 1980. The Coelomycetes – Fungi Imperfecti with pycnidia, acervuli and stromata. Commonwealth Mycological Institute, Kew, Surrey, England, 696 pp.
- TETEREVNIKOVA–BABAYAN, D.N. 1976. A survey of *Septoria* Fr. parasiting on *Salicaceae* Mirbel plants. II. Biological Journal of Armenia, 29 (2): 53-61. (in Russian.)
- TETEREVNIKOVA–BABAYAN, D.N. 1987. Fungi of the genus *Septoria* in the USSR. Akademiya Nauk Armyanskoi SSR, Yerevan, 478 pp. (in Russian.)
- VERKLEY, G.J. M and M.J. PRIEST, 2000. *Septoria* and similar coelomycetous anamorphs of *Mycosphaerella*. Studies in Mycology 45: 123–128.
- VERKLEY, G.J.M., W. QUAEDVLIEG, H.D. SHINhin and P.W. CROUS, 2013. A new approach to species delimitation in *Septoria*. Studies in Mycology 75: 213–305.
- WHITE, T.J., T. BRUNS, S. LEE and J. TAYLOR, 1990. Analysis of phylogenetic relationships by amplification and direct sequencing of ribosomal RNA genes in PCR Protocols: A Guide to Methods and Applications, INNIS, M.A., D.H. GELFAND, J.J. SNINSKY and T.J. WHITE eds. New York. P. 3 15–322.