نخستین گزارش از *Gliomastix murorum* برای فلور قارچی ایران

دریافت: ۱۳۹۲/۶/۲۴/ پذیرش: ۱۳۹۲/۷/۲۹

صمد جمالی: استادیار بخش گیاه‌پزشکی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه رازی، کد پستی ۶۷۱۵۶۸۵۴۳۸، کرمانشاه
(jamali454@yahoo.com)

طی سالهای ۹۲-۱۳۹۱، حضور گونه‌های آسکومیست از خاک‌های مناطق مختلف استان کرمانشاه مورد بررسی قرار گرفت. در هر مکان نمونه‌های خاک از عمق ۳۰-۰ سانتی‌متری جمع‌آوری و پس از عبور از الک دو میلی‌متری، از الک‌های شماره ۴۰ و ۶۰ نیز عبور داده شدند. با استفاده از روش تهیه رقت، ۱۰ گرم خاک در ۹۰ میلی‌لیتر آب آگار یک ۰/۱ درصد حاوی ۱۰۰ قسمت در میلیون دترجنت ریخته و سپس برای تهیه سوسپانسیون مخلوط شدند. رقت‌های 10^{-2} تا 10^{-5} تهیه و یک میلی‌لیتر از هر رقت روی محیط کشت‌های عصاره مالت- آگار و عصاره سیب‌زمینی- دکستروز- آگار ریخته شد. برای جلوگیری از رشد باکتری‌ها، به محیط‌های کشت، رز بنگال به میزان ۴۵ میکروگرم بر میلی‌لیتر و کلرامفنیکل به میزان ۲۵ میکروگرم بر میلی‌لیتر اضافه شد. محیط‌های کشت در دمای ۲۵ درجه سلسیوس به مدت سه تا پنج روز قرار گرفتند. تمام جدایه‌ها براساس کلیدهای تاکسونومیکی موجود تشخیص داده شدند که براساس خصوصیات ریخت‌شناختی فرم غیرجنسی شامل؛ طناب میسلیومی، کنیدیوفور، فیالید و کنیدیوم گونه *Gliomastix murorum* برای فلور قارچی ایران جدید بود. برای تایید تشخیص، دی. ان. ای. ژنومی قارچ استخراج و ناحیه توالی‌های ITS1+5.8S+ITS2 دی. ان. ای. ریبوزومی جدایه‌های مذکور با استفاده از واکنش زنجیره‌ای پلی‌مراز تکثیر و قطعات تکثیر یافته، تعیین توالی گردیدند. پس از توالی‌یابی این ناحیه و ذخیره آن در بانک ژن، نسبت به ارزیابی همولوژی این توالی ۶۰۰ جفت بازی با توالی‌های موجود در بانک ژن به کمک ابزار جستجوی BLAST اقدام گردید. جدایه‌های ایرانی با دیگر جدایه‌های موجود در بانک ژن شباهت ۱۰۰ درصدی نشان دادند. نمونه‌های سند در بخش گیاه‌پزشکی دانشکده کشاورزی دانشگاه رازی (کرمانشاه) نگهداری شدند.

- ویژگی گونه تشخیص داده شده

بعد از یک هفته در دمای ۲۵ درجه سلسیوس، رشد پرگنه روی محیط کشت عصاره مالت- آگار، به ۲ تا ۳ میلی‌متر می‌رسد. طناب‌های میسلیومی تیره‌رنگ و به قطر (۱۱/۶-۷/۴)۹/۷ میکرومتر، فیالیدها به رنگ روشن، مستقیم و انحنادار به طول (۲۳/۲-۱۸/۲) ۲۰/۸ میکرومتر بودند (شکل ۱). کنیدیوم‌ها بیضوی، به رنگ روشن تا نیمه‌روشن که به صورت زنجیری روی فیالید تشکیل می‌شوند. اندازه کنیدیوم‌ها (۴/۸-۳)۴ × (۲/۹-۱/۹)۲/۳ میکرومتر بود (شکل ۱).

First report of *Gliomastix murorum* for Iran mycoflora

Received: 15.09.2013/ Accepted: 21.10.2013

Samad Jamali⌧: Assistant Prof., Department of Plant Protection, Faculty of Agriculture, Razi University, Kermanshah 6715685438, Iran (jamali454@yahoo.com)

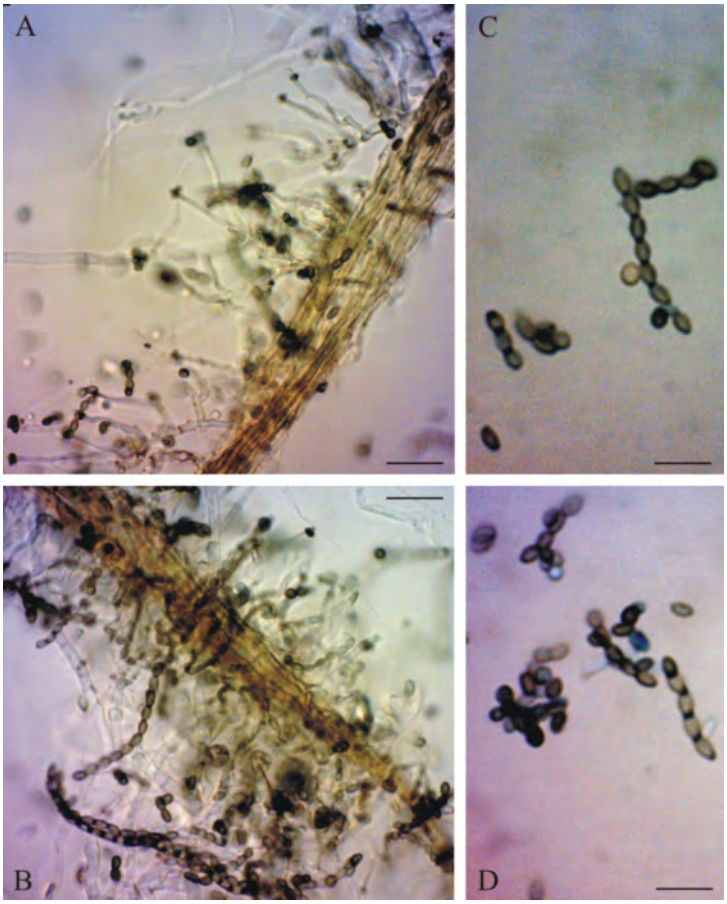
Summary

During 2012–13, the presence of ascomycetous species in soil was studied in Kermanshah province (W Iran). In each location, samples were collected from 0–30 cm depth and passed through 2 mm, 40 and 60 mesh sieves. Using soil plating method, 10 g of soil samples were placed in 90 ml of 0.1% water-agar containing 100 ppm NPX, mixed and serially diluted to 10^{-2} to 10^{-5} and 1 ml of each solution flooded on potato dextrose agar (PDA) and malt extract agar (MEA) by an L-shaped rod. These media were amended with rose bengal (45 µg/ml) and chloramphenicol (25 µg/ml). Plates were incubated at 25–27º C for 3–5 days to allow the fungi grow. Isolates were recovered from soil using malt extract agar (MEA) and potato dextrose agar (PDA) media. Anamorphic characteristics such as mycelial strands, conidiophores, phialides and conidia were investigated. Fifty measurements of each type of structure were made using BioloMICS Measure software. Radial growth of the isolates was measured on MEA and PDA after seven days at 25º C.

All *Gliomastix* isolates previously identified based on morphological and culture characters, were amplified using the primers pair ITS1 and ITS4. An amplicon of about 600 bp was obtained for all of the *Gliomastix* isolates. The amplification products of all isolates were purified with GeneJET PCR purification Kit (Fermentas, UK) and sequencing reaction performed on purified PCR products in forward and reverse orientation using the primers used for amplification. Through Blast search in GenBank all isolates were identified as *Gliomastix murorum.* All DNA sequences of *Gliomastix* isolates (Accession Nos: KC292262-KC292263) showed 100% homology with valid sequences previously identified and deposited in GenBank.

- Macroscopic and microscopic characteristics

Colonies effuse, velvety, dark fuligineous, heavily sporulating. Colony diameter on MEA 30 mm, mycelium composed of hyaline to light fuligineous, 1.2–3 µm wide hyphae. Mycelial strand dark and 9.7(7.4–11.6) µm wide. Phialides simple or branched, 20.8(18.2–23.2) µm long, 2.5–3.0 µm wide. Phialoconidia dark, forming a chain at the phialide apex, elliptical, 2.3(1.9–2.9) × 3.95(3.0–4.8) µm (Fig. 1).



شکل ۱- *Gliomastix murorum*: A و B. طناب میسلیومی و فیالیدها، C و D. هاگ‌های زنجیری تک‌یاخته‌ای (مقیاس = ۱۶ میکرومتر).

Fig. 1. *Gliomastix murorum*: Mycelial strands and Phialides (A, B), Non-septate spores (C, D) (Bars = 16 µm).

Reference

Summerbell, R.C., Gueidan, C., Schroers, H.J., Hoog, G.S., Starink, M., Arocha Rosete, Y., Guarro, J. & Scott, J.A. 2011. *Acremonium* phylogenetic overview and revision of *Gliomastix*, *Sarocladium*, and *Trichothecium*. Studies in Mycology 68: 139–162.