

Aspergillus medius, a new record to the mycobiota of Iran

Received: 24.10.2015 / Accepted: 06.12.2015

Leila Ebrahimi: PhD Student, Department of Plant Protection, Faculty of Agricultural Science and Engineering, College of Agriculture and Natural Resources, University of Tehran, Karaj, 31587-77871, Iran

Khalil-Berdi Fotouhifar✉: Associate Prof., Department of Plant Protection, Faculty of Agricultural Science and Engineering, College of Agriculture and Natural Resources, University of Tehran, Karaj 31587-77871, Iran (fotowhi@ut.ac.ir)

During isolation of *Venturia inaequalis* (Cooke) G. Winter from apple leaves and fruits in the laboratory, some fungi appeared as culture contaminants. From these, an isolate was identified as *Aspergillus medius* R. Meissn. (teleomorph known as *Eurotium medium* C.F.W. Meissn.), based on morphological and molecular data (sequences of ITS rDNA).

Colony on Czapek Yeast Autolysate Agar with 20% sucrose (CY20S) and malt extract 20% sucrose agar (ME20S) (Samson *et al.* 2014) reached 29 and 21 mm in diam., respectively, after seven days at 25° C in the continuous dark condition. Colony on ME20S sporulating heavily, dull green; reverse yellowish white to pale yellow; conidial heads radiate (Fig. 1b); conidiophores 115–1220(644.19) × 7.5–20(8.56) μm, thin-walled, smooth, straight or sinuous, uncolored, with one to three branches; vesicles sub-clavate, 15–66(33.19) × 13–50(33.8) μm, uniseriate; phialides flask-shaped, covering the upper 2/3 of the vesicle, with a short and distinct neck, 11–20(13.12) × 5–11(7.54) μm, sometimes elongated with the upper portion strongly swollen, producing very large, thick-walled conidia, up to 21 mm diam.; conidia globose to sub-globose, 7–14(10.72) × 6–10(7.82) μm in diam., rough-walled, mostly with a short but distinct connective (Fig. 1c-f).

Colony on CY20S wrinkled, with white mycelia; reverse deep orange at center and yellow to white at margin; conidial heads inconspicuous, rare, green (Fig. 1a). Ascospores maturing in seven days, abundant, yellow, globose to ellipsoidal, 82.5–187.5(154.7) × 100–237.5(132.2) μm in diam.; asci globose to sub-globose, 8-spored, 18–22(20.89) μm in diam.; ascospores hyaline, lenticular, rough-walled, 8–10(8.82) μm, with shallow or distinct furrow and rounded equatorial crests (Fig. 1g-i).

Morphological features of this isolate were similar to that of *A. medius* as described by Raper & Fennell (1965). A BLAST search in NCBI GenBank revealed that, the ITS sequences of our isolate (GenBank accession No. KT832076) has 99% similarity to other halophilic species of *Aspergillus* such as *A. ruber* Thom & Church, *A. glaucus* (L.) Link and *A. proliferans* G. Sm. However, this species is finely differentiated from the close relatives by different dimensions and features of conidia and ascospores. This is the first report of *A. medius* from Iran.

The pure culture of this isolate is preserved under IRAN 2411C in the Iranian Fungal Culture Collection at the Iranian Research Institute of Plant Protection (Tehran, Iran).

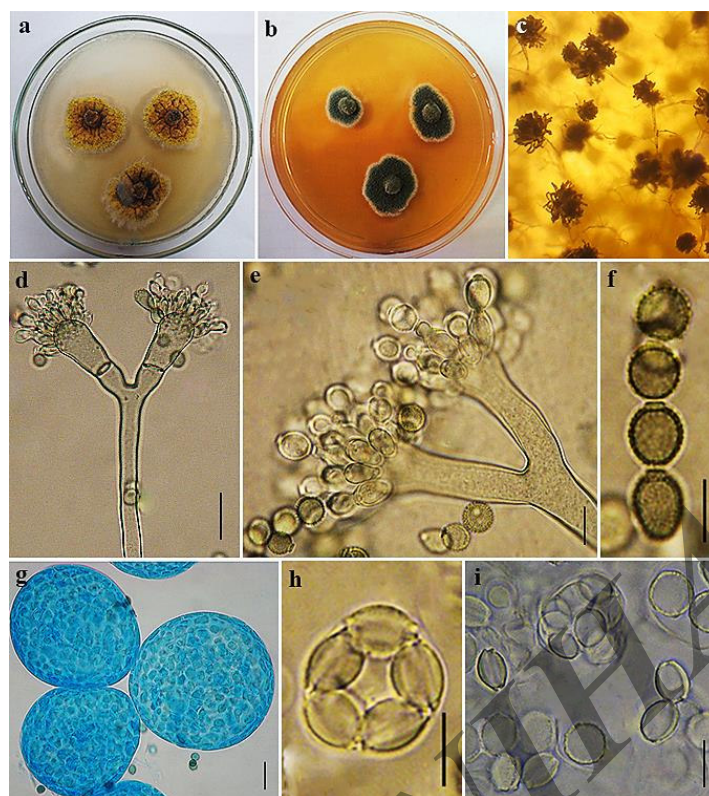


Fig. 1. *Aspergillus medius* (IRAN 2411C): a. Colony on CY20S, b. On ME20S, after seven days at 25° C in the continuous dark condition, c. Conidial heads, d, e. Branched conidiophores f. Conidia, g. Ascospores, h. Asci, i. Ascospores (Bar = 10 µm).

Aspergillus medius گونه جدیدی برای میکوبیوتای ایران

دریافت: ۱۳۹۴/۸/۲ / پذیرش: ۱۳۹۴/۹/۱۵

لیلا ابراهیمی: دانشجوی دکتری گروه گیاهپزشکی، دانشکده علوم و مهندسی کشاورزی، پردیس کشاورزی و منابع طبیعی، دانشگاه تهران، کرج ۳۱۵۸۷-۷۷۸۷۱، ایران
 خلیل بردی فتوحی✉: دانشیار گروه گیاهپزشکی، دانشکده علوم و مهندسی کشاورزی، پردیس کشاورزی و منابع طبیعی، دانشگاه تهران، کرج ۳۱۵۸۷-۷۷۸۷۱، ایران (fotowhi@ut.ac.ir)

خلاصه

طی جداسازی و خالص‌سازی قارچ *Venturia inaequalis* (Cooke) G. Winter از برگ‌ها و میوه‌های درختان سیب در شرایط آزمایشگاهی، برخی قارچ‌ها به عنوان آلوده کننده محیط کشت مورد توجه قرار گرفتند. تعدادی از این قارچ‌ها جداسازی و خالص‌سازی شده و شناسایی آن‌ها براساس ویژگی‌های ریخت‌شناختی و مولکولی انجام گرفت. از بین آن‌ها، یک جدایه از قارچ *Aspergillus medius* R. Meissn. (مرحله جنسی آن *Eurotium medium* C.F.W. Meissn.) با خصوصیات ریخت‌شناختی به شرح زیر شناسایی شد:

قطر پرگنه قارچ روی محیط کشت CYA با ۲۰٪ ساکارز (CY20S) و عصاره مالت آگار با ۲۰٪ ساکارز (ME20S) (Samson et al. 2014)، بعد از هفت روز رشد در دمای ۲۵ درجه سلسیوس و شرایط تاریکی مداوم، به ترتیب، ۲۹ و ۲۱ میلی‌متر بود. پرگنه قارچ روی محیط کشت ME20S به رنگ سبز تیره و کدر و پشت آن به رنگ سفید تا زرد کم‌رنگ بود (شکل b). روی این محیط کشت، سرهای کنیدیومی فراوان به صورت شعاعی (radiate) تشکیل شدند. کنیدیوفورها که به صورت مستقیم و یا سینوسی تشکیل شده و دارای یک تا سه انشعاب بودند، بی‌رنگ، دارای دیواره نازک و صاف و اندازه آن‌ها $(۵۶/۸) - (۷/۲۰) \times (۱۹/۶۶۴) - ۱۱۵$ میکرومتر بود. وزیکل‌ها چماقی شکل و دارای ابعاد $(۳۳/۸) - ۵۰ \times (۳۳/۱۹) - ۶۶$ میکرومتر بود. دو سوم بالایی سطح وزیکل‌ها توسط

(۸/۸۲) - ۱۰ میکرومتر و دارای دو لبه خارجی برجسته و خط رأسی میانی به صورت محدب و خاردار بودند (شکل ۱ g-i). ویژگی‌های ریخت‌شناختی این جدایه با توصیف گونه *A. medius* (با مرحله جنسی *E. medium*) ارائه شده توسط راپر و فنل (Raper & Fennell 1965) مطابقت داشت. همچنین، مقایسه توالی منطقه ITS (تکثیر شده با آغازگرهای ITS1 و ITS4) این جدایه (شماره دسترسی KT832076) با توالی‌های موجود در بانک ژن، شباهت این جدایه با سایر گونه‌های نمک-دوست (*halophile*) جنس *Aspergillus* از جمله: *A. ruber* Thom & Church و *A. glaucus* (L.) Link. را به اندازه ۹۹٪ نشان داد. این گونه از سایر گونه‌های نزدیک اغلب براساس ابعاد و ویژگی‌های کنیدی‌ها و آسکوسپورها متمایز می‌شود. این نخستین گزارش از گونه *A. medius* در ایران می‌باشد.

کشت خالص این جدایه قارچی با شماره دسترسی IRAN 2411C در کلکسیون ملی قارچ‌های زنده ایران واقع در مؤسسه تحقیقات گیاه‌پزشکی کشور (تهران) نگهداری می‌شود.

References

Raper, K.B. & Fennell, D.I. 1965. The genus *Aspergillus*. Williams & Wilkins, Baltimore. 686 p.
Samson, R.A., Visagie, C.M., Houbraken, J., Hong, S.B., Hubka, V., Klaassen, C.H.W., Perrone, G.,

فیالیدهای فلاسکی شکل با گردن کوتاه و متمایز پوشانده شده بود. ابعاد فیالیدها $(۷/۵۴) \times (۱۳/۱۲) \times ۱۱-۵$ میکرومتر بوده، برخی بلندتر و در قسمت بالایی متورم بودند و کنیدی‌های بزرگتری به اندازه ۲۱ میکرومتر تشکیل می‌دادند. کنیدی‌ها تقریباً گرد، دارای دیواره زبر (خاردار) و به ابعاد $(۷/۸۲) \times ۱۰-۶$ (۱۰/۷۲) - ۱۴ میکرومتر بودند. در پایه کنیدی‌ها اغلب زایده کوتاه پیوندی مشاهده می‌شد (شکل ۱ c-f).

روی محیط کشت CY20S میسلیم‌ها سفید رنگ و سطح پرگنه دارای چین و چروک‌هایی بود. آسکوکارپ‌های بالغ فراوان به رنگ زرد بعد از هفت روز تشکیل شدند. پشت پرگنه در مرکز به رنگ نارنجی تیره و در حاشیه زرد تا سفید رنگ بود. سرهای کنیدیومی سبز رنگ بوده و به تعداد کم روی این محیط کشت تشکیل شدند (شکل ۱ a). آسکوکارپ‌ها کروی تا بیضوی بوده و اندازه آن‌ها $(۱۳۲/۲) \times ۲۳۷-۱۰۰$ (۱۵۴/۷) - ۸۲/۵ میکرومتر بود. آسک‌ها کروی، دارای هشت آسکوسپور و به قطر $(۲۰/۸۹) \times ۱۸-۲۲$ میکرومتر بودند. آسکوسپورها شفاف، به ابعاد

Seifert, K.A., Susca, A., Tanney, J.B., Varga, J., Kocsube, S., Szigeti, G., Yaguchi, T. & Frisvad, J.C. 2014. Phylogeny, identification and nomenclature of the genus *Aspergillus*. *Studies in Mycology* 78: 141–173.