

## نخستین گزارش گونه *Aquanectria penicillioides* از ایران

دریافت: ۱۳۹۶/۰۳/۱۷ / پذیرش: ۱۳۹۶/۰۵/۲۳

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

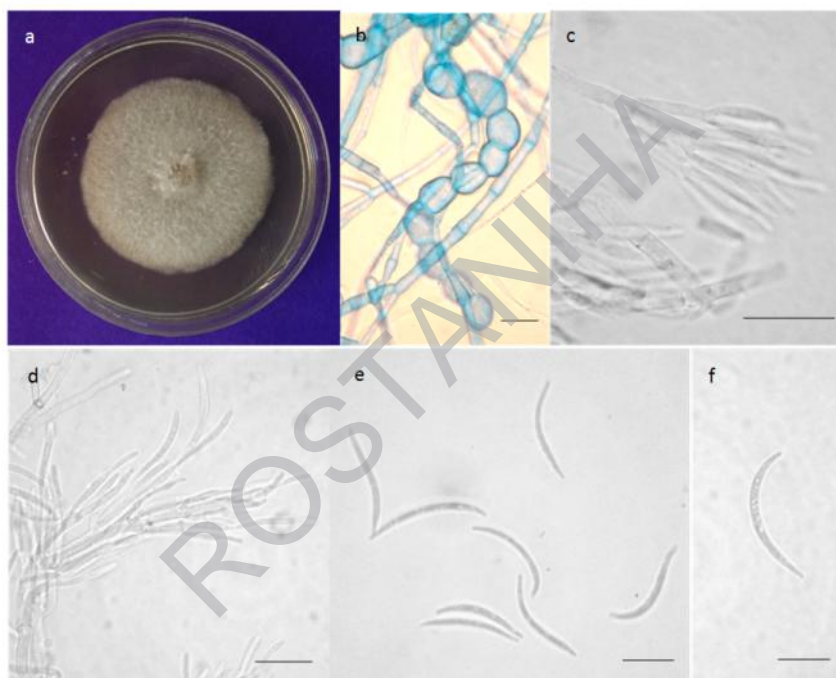
طی سال‌های ۹۵-۱۳۹۴، حضور میکرومیست‌های آبی در اکوسیستم‌های آبی ایران مورد بررسی قرار گرفت. نمونه‌ها از حاشیه برخی رودخانه‌ها، دریاچه‌ها و تالاب‌های مناطق مختلف اقلیمی جمع‌آوری شدند. به منظور جداسازی قارچ‌ها، قرص‌هایی از محیط کشت آب-آگار (WA) به تشتک‌های پتری حاوی نمونه‌های آب منتقل شدند و به مدت ۲۱ روز در شرایط نور متناوب (۱۲ ساعت نور/۱۲ ساعت تاریکی) و دمای ۲۵ الی ۲۷ درجه سلسیوس قرار داده شدند. سپس از میسلیم‌های رشد کرده روی قرص‌های مذکور، پرگنه خالص تهیه شدند. از بین گونه‌های به دست آمده، یک جدایه از قارچ *Aquanectria penicillioides* (Ingold) L. Lombard & Crous مورد شناسایی قرار گرفت. براساس منابع موجود، این نخستین گزارش از جنس *Aquanectria* L. Lombard & Crous در ایران می‌باشد. این گونه به عنوان آرایه جدیدی برای مایکوبیوتای ایران به شرح زیر گزارش و توصیف می‌شود:

قطر پرگنه قارچ روی محیط کشت سیب‌زمینی دکستروز آگار (PDA) بعد از ۱۴ روز رشد در دمای ۲۵ درجه سلسیوس و شرایط تاریکی، ۵۰ میلی‌متر می‌باشد و پرگنه قارچ به رنگ سفید دیده می‌شود (شکل a). کلامیدوسپورها به صورت زنجیری و به رنگ قهوه‌ای تشکیل می‌شوند و ابعاد آن‌ها  $1.4-1.6 \times 2.0-2.8$  میکرومتر می‌باشد (شکل b). روی این محیط کشت، اندام‌های کنیدیوم‌زا به ندرت تشکیل می‌شوند، اما اگر قرص میسلیمی حاصل از این قارچ به آب مقطر سترون منتقل شود و تحت هوادهی قرار گیرد، پس از دو روز تعداد زیادی کنیدیوفور به همراه کنیدیوم تشکیل می‌شوند. کنیدیوفورها بی‌رنگ بوده و انشعابات مشابه کنیدیوفورهای قارچ *Penicillium* می‌باشد (شکل c و d). فیالیدها بی‌رنگ و استوانه‌ای شکل بوده و طول آن‌ها  $1.8-2.1$  و عرض آن‌ها نیز  $0.5-0.7$  میکرومتر می‌باشند. طول کنیدیوم‌ها (فیالوسپورها)  $3.9-4.8$  میکرومتر و عرض آن‌ها  $2.3-2.5$  میکرومتر و کنیدیوم‌ها خمیده یا سیگمویید هستند. این هاگ‌ها بی‌رنگ بوده و معمولاً بدون دیواره عرضی می‌باشند، اما گاهی توسط یک دیواره عرضی به دو سلول کم و بیش برابر تقسیم می‌شوند (شکل e، f و g).

نمونه بررسی شده: استان لرستان، رود کاکارضا، ۱۳۹۴/۷/۲۶، راضیه پورسعید (شماره جدایه IRAN 2794C).

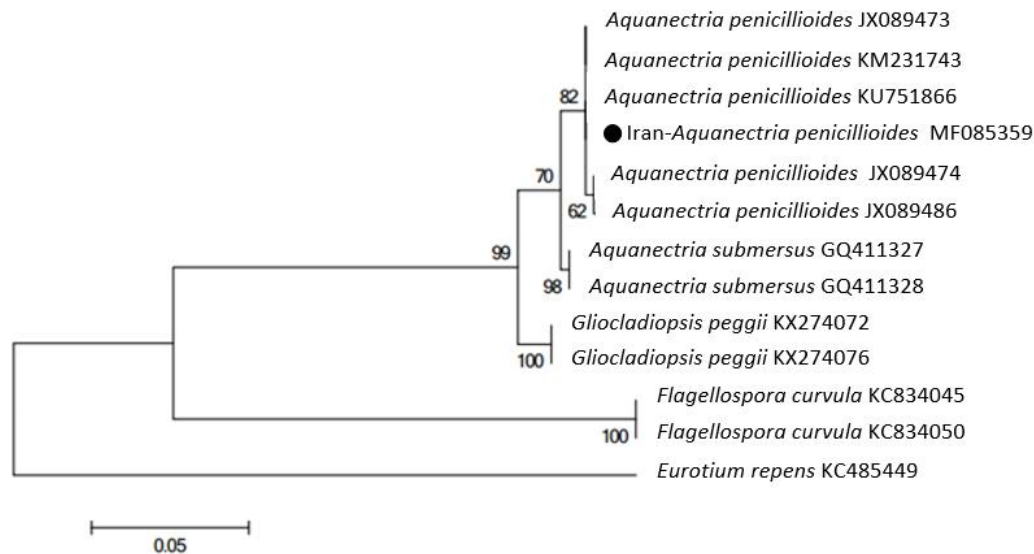
توالی شد. توالی به دست آمده (شماره دسترسی MF085359)، با توالی‌های معتبر ثبت شده از این گونه در بانک ژن (NCBI) ۹۹ درصد شباهت داشت و تبارنمای فیلوژنتیکی ML ترسیم شده براساس ناحیه ITS نشان داد که نمونه مورد بررسی با نمونه‌های معتبر مربوط به این گونه در یک گروه با مقدار آزمون اعتبارسنجی بالا قرار می‌گیرد. همچنین در این تبارنما، موقعیت گونه ثبت شده *Aquanectria submersa* (H.J. Huds.) L. Lombard & Crous به عنوان نزدیک‌ترین گونه و جنس *Gliocladiopsis* S.B. Saksena به عنوان گروه خواهری جنس *Aquanectria* با نتایج لومبارد و همکاران (Lombard et al. 2015) با تطابق دارد (شکل ۲).

خصوصیات ریخت‌شناختی این جدایه با توصیف گونه *A. penicillioides* (Ingold 1944) ارایه شده توسط اینگولد (Ingold 1944) مطابقت دارد. این گونه هیفومیست آبی تا سال ۲۰۱۵ با نام *Flagellospora penicillioides* Ingold شناخته می‌شد که بعد از مطالعات چندژنی انجام شده توسط لومبارد و همکاران (Lombard et al. 2015) از جنس *Flagellospora* Ingold در راسته *Helotiales* جدا شد و به همراه گونه *Heliscus submersus* H.J. Huds تحت جنس *Aquanectria* طبقه‌بندی گردید. بنابراین، در تحقیق حاضر نیز به منظور مقایسه فیلوژنتیکی جدایه مورد بررسی با گونه‌های نزدیک و تایید تشخیص آن، ناحیه ITS1-5.8S-ITS2 تکثیر و تعیین



شکل ۱- *Aquanectria penicillioides*: a. پرگنه قارچ روی محیط کشت PDA پس از ۱۴ روز در دمای ۲۵ درجه سلسیوس و شرایط تاریکی مداوم، b. کلامیدوسپورها، c و d. کنیدیوفورها و فیالیدهای شبیه به جنس *Penicillium* و فیالوسپورها، e و f. فیالوسپورها (کنیدیومها) (مقیاس = ۲۰ میکرومتر).

Fig. 1. *Aquanectria penicillioides*: a. Colony on PDA after 14 days in continuous dark condition, b. Chlamydospores, c & d. Penicillium-like conidiophores, phialides and phialospores. e & f. Phialospores (conidia) (Bars = 20  $\mu$ m).



شکل ۲- تبارنمای فیلوژنتیکی ترسیم شده به روش ML در نرم افزار MEGA 6.0 براساس توالی نوکلئوتیدی ناحیه ITS1-5.8S-ITS2 علامت دایره توپر نشان دهنده جدایه به دست آمده در این تحقیق می باشد. اعداد روی انشعابات نشان دهنده مقادیر آزمون اعتبارسنجی با ۱۰۰۰ تکرار هستند. جدایه ای از گونه *Eurotium repens* de Bary (KC485449) نیز به عنوان گروه خارجی انتخاب شده است.

Fig. 2. Phylogenetic tree inferred by ML method in MEGA 6.0 using nucleotide sequences of ITS1-5.8S-ITS2 region. Solid circle indicates the obtained isolate in the present study. Numbers on branches are bootstrap values of 1000 replicates. *Eurotium repens* (KC485449) was used as an out-group.

### First report of *Aquanectria penicillioides* from Iran

Received: 07.06.2017 / Accepted: 14.08.2017

**Razieh Poursaeid:** PhD Student in Mycology, Department of Plant Protection, Faculty of Agricultural Science and Engineering, College of Agriculture and Natural Resources, University of Tehran, Karaj, Iran

**Khalil-Berdi Fotouhifar**✉: Associate Prof. of Mycology, 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 2015–16, the presence of micromycetes species in aquatic ecosystems was studied in Iran. Samples were collected from rivers, lakes and wetlands. For isolation, agar disks were transferred to plates containing water samples. The plates were incubated at 25–27° C for 21 days in 12 h light/12 h dark condition. Then from the mycelium grown on the agar disks, pure cultures were obtained. Finally, an isolate was identified as *Aquanectria penicillioides* (Ingold) L. Lombard & Crous, based on morphological and molecular data (sequences of ITS rDNA). Based on available literatures, this species is reported as new taxon for mycobiota of Iran and is described below:

Colony on PDA reached 50 mm in diam., after 14 days at 25° C in continuous dark condition. The hyphae are colorless (Fig. 1a). Chlamydospores were formed in moniliform chain, brown in color and 15–28(20) × 10–16(14) μm in diameter (Fig. 1b). The colony on PDA forms few or no conidiophores but, if a small mycelial disc is cut off and submerged in water, numerous submerged conidiophores will be produced within two days. The submerged conidiophores are hyaline and penicillium-like (Fig. 1c, d); apical phialides are 15–21(18) μm long, 2–2.5 μm wide.

Conidia (phialospores) are 31–48(39.5)  $\mu\text{m}$  long, 2–2.5(2.3)  $\mu\text{m}$  wide and each conidium is curved or sigmoid. The hyaline conidia may be aseptate or divided by a single septum into two, more or less equal cells (Fig. 1e, f).

Specimen examined: Iran: Lorestan province, Kaka Reza river, 18.10.2015, Raziéh Poursaeid (IRAN 2794C).

Morphological features of this isolate were similar to that of *A. penicillioides* described by Ingold (1944). Lombard *et al.* (2015) showed that, the aquatic genus

*Aquanectria* was established to accommodate two fungal species previously treated as members of the genera *Flagellospora* and *Heliscus* (Ingold 1942, Ranzoni 1956). In the present study, the sequence of *Aquanectria* (accession number: MF085359) showed 99% homology with valid sequences of previously identified and deposited data in the GenBank. Phylogenetic trees constructed based on ITS regions sequences showed that, the Iranian specimen is placed in the same clade with *A. penicillioides* reported from other authors (Fig. 2).

### References

- Ingold, C.T. 1942. Aquatic *Hyphomycetes* of decaying alder leaves. Transactions of the British Mycological Society 25(4): 339–417.
- Ingold, C.T. 1944. Some new aquatic *Hyphomycetes*. Transactions of the British Mycological Society 27: 35–47.
- Lombard, L., van der Merwe, N.A., Groenewald, J.Z. & Crous, P.W. 2015. Generic concepts in *Nectriaceae*. Studies in Mycology 80: 189–245.
- Ranzoni, F.V. 1956. The perfect stage of *Flagellospora penicillioides*. American Journal of Botany 43: 13–17.