

مقاله‌ی کوتاه علمی

شناسایی و پراکنش گونه‌های *Paecilomyces* جدا شده از سرشاخه‌های درختان پسته

فاطمه خسروی مقدم^{۱*}✉، سید کاظم صباغ^۲، محمد مهدی امینایی^۳ و سمیه ابراهیمی^۱

۱- دانش‌آموخته کارشناسی ارشد بیماری شناسی گیاهی، گروه گیاهپزشکی، دانشگاه زابل؛ ۲- استادیار گروه گیاه پزشکی و پژوهشکده زیست فناوری کشاورزی، دانشگاه زابل؛ ۳- مربی پژوهشی مرکز تحقیقات کشاورزی و منابع طبیعی کرمان (تاریخ دریافت: بهمن ۱۳۹۲؛ تاریخ پذیرش: دی ۱۳۹۳)

چکیده

طی سال‌های ۱۳۸۹-۱۳۹۱ از سرشاخه‌های درختان پسته باغ‌های استان‌های کرمان و یزد و خراسان رضوی نمونه‌برداری شد. تعداد ۳۰۵ جدایه متعلق به جنس *Paecilomyces* جداسازی، خالص‌سازی و با استفاده از کلیدهای معتبر مورد شناسایی و تأیید قرار گرفت. با توجه به ویژگی‌های ریخت‌شناسی و مشاهدات میکروسکوپی، از ۳۰۵ جدایه مطالعه شده، ۲۷۸ جدایه (۹۱/۱٪) متعلق به گونه *P. variotii*، ۲۴ جدایه (۷/۹٪) متعلق به گونه *P. marquandii* و ۳ جدایه (۱٪) متعلق به گونه *P. viridis* تشخیص داده شد. گونه *P. viridis* برای اولین بار از ایران (کرمان) و برای نخستین بار در جهان از میزبان پسته گزارش می‌شود.
واژه‌های کلیدی: سرخشکیدگی، پسته، پراکنش، *Paecilomyces*.

Short Communication

Identification and distribution of *Paecilomyces* species isolated from the branches of pistachio trees in Iran

F. KHOSRAVI MOGHADAM¹✉, S. K. SABBAGH², M. M. AMINAEI³ and S. EBRAHIMI¹

1- MSc graduate of Plant Pathology, Department of Plant Protection, University of Zabol, Zabol; 2- Assistance Prof. of Plant Biotechnology, Department of Plant Protection and Institute of Plant Biotechnology, University of Zabol, Zabol; 3- Staff of research center of agriculture and natural resources of Kerman

Abstract

Sampling was performed during 2010-2012 from the branches of pistachio in Kerman, Yazd and Khorasan-Razavi provinces. 305 isolates belonging to the genus *Paecilomyces* were isolated, purified and then identified and confirmed using the valid related mycology keys. According to morphological features and microscopic observation, of 305 studied isolates, 278 isolates (91.1%) belonging to *P. variotii*, 24 isolates (7.9%) belonging to *P. marquandii* and 3 isolates (1%) belonging to *P. viridis*. Based on our knowledge, *P. viridis* is being reported for the first time from Iran (Kerman) and for the first time from pistachio host in the world.

Key words: Die back, Pistachio, Distribution, *Paecilomyces* spp.

* این مقاله بخشی از پایان نامه نویسنده اول با راهنمایی نویسنده دوم می‌باشد که در پژوهشکده زیست فناوری دانشگاه زابل (بیوسنتر) انجام شده است.

✉ Corresponding author: fatemeh.khosravimoghadam@gmail.com

مقدمه

جنس *Paecilomyces* ابتدا توسط بینیر (Bainier) در سال ۱۹۰۷ که از جگن‌های تجزیه شده جدا شده بود، با گونه تیپ *P. variotii* معرفی و توصیف شد (Bainier, 1907). سپس سامسون در سال ۱۹۷۴ تک نگاره‌ایی در مورد این جنس نوشت. این شخص ۳۱ گونه تشخیص داد که به دو بخش *Paecilomyces* و *Isarioidea* تقسیم می‌شوند. گونه *P. variotii* در بخش *Paecilomyces* قرار دارد و گونه تیپ این بخش است. گونه‌های *P. viridis* و *P. marquandii* در بخش *Isarioidea* قرار داده شدند (Samson, 1974). جنس *Paecilomyces* در طبقه‌بندی قارچ‌ها در راسته Eurothiales از آسکومیسیت‌های رشته‌ای قرار می‌گیرد. حالت‌های کنیدیایی شامل گونه‌های زیادی می‌شود که نوعاً سلول‌های کنیدیوم‌زای فیالییدی مانند *Aspergillus* و *Penicillium* دارند. (Sarami *et al.*, 2005). با توجه به فیلوژنی ناحیه 18s در DNA ریبوزومی ثابت شده است که جنس *Paecilomyces* یک جنس چند نیایی است و اعضای آن در دو زیر رده Sordariomycetidae و Eurotiomycetidae قرار می‌گیرند (Luangsa-ard *et al.*, 2004). گونه *P. marquandii* برای اولین بار با نام *Verticillium* *marquandii* توصیف و مطرح شد (Hughes, 1951) ولی بعداً به عنوان گونه *P. marquandii* معرفی گردید (Samson, 1974). گونه *P. marquandii* برای اولین بار در ایران از نمونه‌های خاک مزارع استان فارس گزارش شد که با توجه به خصوصیات ریخت‌شناسی و تعیین توالی نواحی rDNA وجود این گونه تأیید شد (Jamali and Banihashemi, 2012). این گونه برای اولین بار در جهان از باغ‌های استان کرمان به عنوان اندوفیت گیاه پسته گزارش شد (Shokuhi and Zafari, 2012). گونه *P. viridis* برای اولین بار از همه اندام‌ها به‌ویژه کبد و طحال و از خون آفتاب پرست (*Chamaeleo lateralis*) گزارش شد (Segretain and Segretain, 1971). مطالعه اثرات آنتی‌بیوتیک‌ها روی تفاوت این گونه در شرایط آزمایشگاهی نشان داد که رشد مخمر مانند این قارچ به‌وسیله

آنتی‌بیوتیک‌های سیانین و آزالومایسین القا می‌شود (Betina *et al.*, 1966; Barathová *et al.*, 1972).

روش بررسی

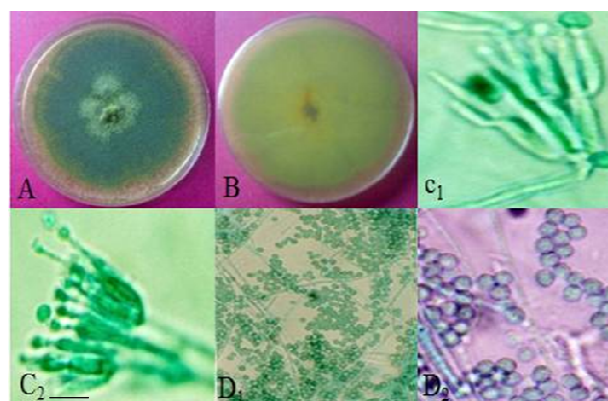
نمونه‌برداری از سرشاخه‌های خشکیده در باغ‌های پسته استان‌های کرمان، یزد و خراسان رضوی از درختان آلوده در سال‌های ۱۳۹۱-۱۳۸۹ انجام شد. برای جداسازی جدایه‌های قارچی از سرشاخه‌های خشکیده، بعد از ضدعفونی سطح نمونه با اتانول ۷۵ درصد در شرایط سترون، از مرز بین قسمت بافت آلوده و سالم قطعاتی به ابعاد ۵/ سانتی‌متر روی محیط کشت PDA کشت گردید و در انکوباتور با دمای ۲۵ درجه سلسیوس به مدت یک هفته نگهداری شد. خالص‌سازی جدایه‌های قارچی با روش نوک ریشه کردن انجام شد و بعد از شناسایی گونه‌های مختلف قارچی، جدایه‌های مربوط به جنس *Paecilomyces* جهت مطالعات میکروسکوپی به تشک پتری حاوی محیط کشت آب-آگار (WA) منتقل و مورد ارزیابی قرار گرفتند. شناسایی گونه‌های مربوط به جنس *Paecilomyces* براساس کلید قارچ‌شناسی (Samson, 1974) و با توجه به خصوصیات میکروسکوپی و حضور فرم جنسی و رنگ پرگنه و مشخصات میکروسکوپی شامل اندازه سلول کنیدیوم‌زا، نحوه انشعابات اندازه و اشکال کنیدیوم‌ها می‌باشد.

نتیجه و بحث

از مجموع ۳۰۵ جدایه به‌دست آمده از گونه‌های مختلف جنس *Paecilomyces* در تمامی مناطق نمونه‌برداری شده، تعداد ۲۷۸ جدایه (۹۱/۱٪) مربوط به گونه *P. variotii*، تعداد ۲۴ جدایه (۷/۹٪) مربوط به گونه *P. marquandii* و ۳ جدایه (۱٪) مربوط به گونه *P. viridis* تعیین گردید. گونه *P. viridis* برای اولین بار از ایران (کرمان) گزارش می‌شود (جدول ۱).

جدول ۱- فراوانی جدایه‌های قارچ *Paecilomyces* از مناطق نمونه‌برداری شدهTable 1. Abundance of *Paecilomyces* spp. isolates from the sampling regions

Number of Isolate			Number of Sample	Region	Province
<i>P. viridis</i>	<i>P. marquandii</i>	<i>P. variotii</i>			
-	-	20	32	Zarand	
-	-	26	38	Ravar	
-	-	18	32	Sirjan	
1	2	15	30	Rafsanjan	Kerman
2	1	21	32	Kerman	
-	-	9	16	Bardsir	
-	5	7	18	Tharood	
3	8	116		The total number of each species	
-	2	8	10	Ardakan	
-	4	12	15	Ali abade e Chehl gazi	
-	1	10	17	Rostagh	
-	6	55	63	Abarkooh	Yazd
-	2	20	25	Bahadoran	
-	1	12	20	Dehshir e Taft	
-	-	23	25	Tabas	
•	16	140		The total number of each species	
-	-	22	30	Khorasan razavi (feyz abad)	
3	24	278		Total	

شکل ۱- سطح رویی (A) و زیرین (B) پرگنه *P. viridis* در محیط کشت MEA، فیالید (C1-C2)، کنیدیومها (D1-D2)Fig. 1. A: The colony surface (A) and bottom (B) of *P. viridis* in MEA medium, phialide (C1-C2), conidia (D1-D2). Scale bar (10µm)

مورد مطالعه، وجود دارد در حالیکه گونه *P. marquandii* در استان‌های کرمان و یزد و گونه *P. viridis* فقط در استان کرمان وجود داشت.

References

- BAINIER, G. 1907. Mycotheque de I,Ecole de pharmacie. XI. *Paecilomyces*, genera nouveau de Mucedinees, Bulletin Société Mycologique de France. 23: 26-275.
- BARATHOVA, H., Z. BARATH and V. BETINA, 1972. Dimorphism of *Paecilomyces viridis* controlled by antibiotics in vitro. I. Growth patterns, macromolecular composition and conversion of yeast-like to mycelial form. *Biología, Bratisl.* 27: 469-478.
- BETINA, V., M. BETINOVA and M. KUTKOVA, 1966. Effects of cyanidin on growth and morphology of pathogenic fungi, *Arch. Mikrobiol.* 55: 1-16.
- HUGHES, S. J. 1951. Studies on micro-fungi. XI. Some Hyphomycetes, which produce phialides, *Mycologia.* 45: 1-36
- JAMALI, S. and Z. BANIHASHEMI, 2012. First report of *Paecilomyces marquandii* from Iran, *Rostaniha (Short Article).* 13(2): 207-210.
- LUANGSA-ARD, J., N. L. HYWEL-JONES and R. A. SAMSON, 2004. The polyphyletic nature of *Paecilomyces sensulato* based on 18S-generated rDNA phylogeny. *Mycologia,* 96: 773-780.
- SAMSON, R.A. 1974. *Paecilomyces* and some allied Hyphomycetes, *Studies in Mycology.* 6: 1-119.
- SARAMI, H., A. PEYGHAMI and M. PAZHOHANDEH, 2005. Principles of Mycology (Translation), Second edition. Mashhad University Press. Pp. 256-267.
- SEGRETAIN, G. L. G. and G. M. M. H. SEGRETAIN, 1971. *In vitro* yeast form of *Paecilomyces viridis*, a fungus pathogenic for *Chamaeleo lateralis*, Abstract of 2th International Congress of Mycology, 8-15 September 1971, Exeter, Devon, U.K, p. 86.
- SHOKUHI, M. and D. ZAFARI, 2012. *Paecilomyces marquandii*, a new endophytic species isolated from *Pistacia vera*, 20th Iranian Plant Protection Congress, 25-28 August 2012. P. 473.
- ویژگی‌های گونه *Paecilomyces viridis* به شرح: متوسط قطر پرگنه رشد کرده این گونه بعد از گذشت ۱۴ روز روی محیط کشت مالت آگار ۲٪ در دمای ۲۵±۲ درجه سلسیوس حدود ۴cm تعیین گردید که شامل یک بخش پایه نازک بود که تعداد زیادی از کنیدیوفورها با ظاهر مخملی روی آن ایجاد شد و در ابتدا کرم رنگ بوده و بلافاصله رنگ زرد-سبز به خود گرفت. رنگ پشت پرگنه زرد و در نهایت زرد-قهوه‌ای بود. هیف‌های رویشی دیواره صاف و روشن و عرض ۲/۷-۱/۵ میکرومتر داشتند (شکل ۱: A-B). کنیدیوفورها به صورت راست و قائم، حالت تک فیالید^۱ داشتند، گاهی اوقات به عنوان انشعابات جانبی از هیف‌های هوایی منشعب شده بودند و تا ۱۲۰ میکرومتر طول و ۲/۴-۱/۲ میکرومتر عرض داشتند و حاوی انشعابات جارویی با حلقه‌های ۲-۴ تایی از فیالیدها بودند و یا اینکه فیالیدها به طور مستقیم روی کنیدیوفورها به وجود آمدند. فیالیدها با ابعاد ۳-۵/۲×۸/۵-۴/۸ میکرومتر شامل یک بخش پایه‌ای گرد بودند که به تدریج به سمت گردن باریک می‌شد و گردن فیالید عرض ۱-۵/۰ میکرومتر داشت (شکل ۲: C₁-C₂). کنیدیوم‌ها دارای اشکال کروی تا گوی مانند بودند که گاهی اوقات نوک‌دار و تیز و دارای دیواره صاف، روشن و در حالت انبوه سبز رنگ بودند و ۲/۲-۳/۷ میکرومتر قطر داشتند. کلامیدیوسپور در محیط کشت مشاهده نشد (شکل ۱: D₁, D₂). رنگ سبز پرگنه *P. viridis* یک رابطه را با جنس *Penicillium* مشخص می‌کند اما ویژگی‌های فیالیدهای گرد با یک گردن مجزا و کنیدیوفور با انشعابات جارویی این گونه را در جنس *Paecilomyces* قرار می‌دهد. این گونه به وسیله داشتن رنگ سبز پرگنه، اجزای مخمر مانند و کنیدیوم‌های کروی تا گوی مانند از سایر گونه‌های *Paecilomyces* تفکیک می‌شود (Samson, 1974).
- بررسی ریخت‌شناسی گونه‌های این جنس نشان داد که فقط گونه *P. variotii* با شدت و ضعف مختلف در ۳ استان