شیوع گونه‌های *Penicillium* روی انگور و کشمش در استان‌های آذربایجان‌شرقی، غربی و قزوین

علی خدایی[۱*]، اسداله بابای اهری[۲] و مهدی ارزنلو[۲]

۱- فارغ‌التحصیل دکترای بیماری‌شناسی‌گیاهی، گروه گیاه‌پزشکی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه تبریز.
۲- استاد و دانشیار بیماری‌شناسی گیاهی، گروه گیاه‌پزشکی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه تبریز.
* مسئول مکاتبه: khd_l@yahoo.com

تاریخ دریافت: ۹۴/۷/۱۵ تاریخ پذیرش: ۹۵/۳/۲۲

چکیده

اعضای جنس پنیسیلیوم محصولات کشاورزی را در طی مراحل قبل و بعد از برداشت آلوده نموده و باعث کاهش کیفیت و کمیت محصول می‌گردند. اطلاعات زیادی در مورد شیوع گونه‌های این جنس در روی انگور و کشمش در ایران وجود ندارد. در این تحقیق شیوع گونه‌های پنیسیلیوم همراه انگور و کشمش در تاکستان‌های استان‌های آذربایجان‌شرقی، غربی و قزوین مورد بررسی قرار گرفت. طی فصل‌های رویشی ۱۳۹۲-۱۳۹۰ تعداد ۶۳ جدایه متعلق به جنس پنیسیلیوم از روی انگور و کشمش در استان‌های مورد مطالعه جداسازی گردید. میانگین درصد کل آلودگی ۲۳٪ و میانگین آلودگی در نمونه‌های کشمش و انگور به‌ترتیب ۱٪ و ۳۳٪ بود. بررسی ویژگی‌های ریخت‌شناختی جدایه‌ها براساس کلیدهای شناسایی گونه‌های پنیسیلیوم، جدایه‌های پنیسیلیوم همراه انگور و کشمش در این منطقه را در نه گونه‌ی پنیسیلیوم و تالارومیسس قرار داد. هویت گونه‌ها با استفاده از داده‌های توالی ژن بتاتوبولین تایید گردید. نتایج این بررسی نشان داد که گونه‌ی *Penicillium expansum* با فراوانی ۳۵٪ (۲۲ جدایه) بیشترین تعداد جدایه‌ها را به خود اختصاص داد. شناسایی گونه‌های پنیسیلیوم همراه انگور و کشمش در تاکستان‌های منطقه شمال‌غرب ایران می‌تواند راهکار مناسب مدیریت در تولید محصول عاری از آلودگی را فراهم نماید.

واژه‌های کلیدی: انگور، ایران، پنیسیلیوم، تالارومیسس، کشمش.

مقدمه

انگور و فراورده‌های آن نقش به‌سزایی را در اقتصاد ملی ایران ایفا می‌کنند. مطابق گزارش فائو (۲۰۱۵) سطح زیر کشت تاک در دنیا در سال ۲۰۱۳ حدود ۷۲ هزار کیلومتر مربع بوده و سهم ایران از این سطح زیر کشت، ۲۰۷۵ کیلومتر مربع بوده است که از نظر میزان تولید، با تولید حدود ۲۰۴۶ هزار تن انگور در سال در مقام دهم دنیا قرار گرفته است.

پوسیدگی خوشه‌ی انگور یکی از عوارض خسارت‌زای مهم انگور به شمار می‌رود. عوامل قارچی مختلفی در ایجاد پوسیدگی خوشه‌ی انگور دخیل هستند. این عوامل انگور را در طی زمان رسیدگی و انبارداری مورد حمله قرار داده و باعث کاهش کیفیت و کمیت انگور و فرآورده‌های آن می‌گردند. گونه‌های جنس پنیسیلیوم یکی از گروه‌های قارچی عمده در ایجاد پوسیدگی خوشه‌ی انگور به شمار می‌روند.

جنس پنیسیلیوم، یک جنس همه‌جازی است و دارای بیش از ۲۵۵ گونه‌ی پذیرفته شده می‌باشد. نام عمومی *Penicillium* Link (در لاتین Penicillus به مفهوم برس کوچک) اولین بار در سال ۱۸۰۹ منتشر گردید (تام ۱۹۳۰، راپر و تام ۱۹۴۹، پیت ۱۹۷۹، شات ۱۹۹۲). یکی از اولین گونه‌های توصیف شده در جنس پنیسیلیوم، *P. expansum* بوده است. گونه‌های *Penicillium* بارها از مواد غذایی جداسازی شده و بنابر این دارای اهمیت

اقتصادی زیادی هستند. چندین گونه از جنس پنیسیلیوم در بین عمومی‌ترین عوامل بیماری‌زای پس از برداشت قرار داشته و روی دامنه‌ی وسیعی از میوه‌ها و سبزیجات، بیماری از نوع پوسیدگی ایجاد می‌نمایند. گونه‌ی *P. expansum*، عامل اصلی کپک آبی سیب، گلابی و میوه‌های سایر درختان میوه‌ی دانه‌ریز، از بیمارگرهای بسیارمخرب پس از برداشت است که قسمت اعظم خسارت‌های اقتصادی را در طی انبارداری و بازه زمانی فروش مواد غذایی به‌وجود می‌آورد (بارکای – گولان ۲۰۰۸). تعداد زیادی از گونه‌های پنیسیلیوم که با فساد پس از برداشت خیلی از میوه‌ها و سبزیجات مرتبط هستند، علاوه بر خسارت روی آن‌ها، ممکن است طی چرخه‌ی زیستی خود در میوه‌های پوسیده تعدادی از زهرابه‌های زیان‌آور برای انسان و حیوانات از جمله پاتولین و اکراتوکسین آ را تولید نمایند.

پیت (۱۹۷۹) پایه و اساس رده‌بندی جنس پنیسیلیوم را در حد زیرجنس، الگوی انشعاب کنیدیفورها قرار داد و بر این اساس چهار زیرجنس *Aspergilloides* (در برگیرنده‌ی گونه‌های با کنیدیفورهای بدون انشعاب)، *Biverticillium* (در برگیرنده‌ی گونه‌های با کنیدیفورهای یک و یا دوبار منشعب و دارای فیالیدهای نازک)، *Penicillium* (دارای کنیدیفورهای با انشعابات سه مرحله‌ای و یا بیشتر) و *Furcatum* (شامل گونه‌های با کنیدیفورهای عمدتاً یک‌بار منشعب، با یک قسمت غیرمنشعب) را در این جنس پذیرفت.

شناسایی تاکسون‌های موجود در زیرجنس *Penicillium* به‌دلیل تشابه زیاد در ریزریخت‌شناختی[1] جدایه‌ها مشکل است و اغلب علاوه‌بر ساختارها و طریقه‌ی انشعاب کنیدیفورها، شکل و تزئینات روی کنیدی‌ها، استفاده از خصوصیات کلنی‌ها از جمله میزان رشد، رنگ کنیدی‌ها و رنگ پشت کلنی آن‌ها مفید می‌باشد (فریزواد و سامسون ۲۰۰۴).

وُن و همکاران (۲۰۰۷) تنوع زیستی گونه‌های جنس پنیسیلیوم را روی انگورهای انبار شده در نواحی مختلف کشور کره با استفاده از خصوصیات ریخت‌شناختی و توالی‌یابی ژن رمزکننده‌ی پروتئین بتاتوبولین مورد بررسی قرار دادند. سِرّا و پِترسون (۲۰۰۷) انگورهای آلوده به پنیسیلیوم در پرتغال را با استفاده از تفاوت‌های مورفولژیکی و تبارزایی بررسی نمودند.

اطلاعات دقیقی از پراکنش گونه‌های پنیسیلیوم در ایران و به‌ویژه در روی انگور و فرآورده‌های آن در دسترس نمی‌باشد. مطالعات پراکنده‌ای در زمینه‌ی شناسایی گونه‌های پنیسیلوم دخیل در پوسیدگی انگور در ایران بر برپایه‌ی معیارهای ریخت‌شناختی صورت گرفته است (زکی و همکاران ۱۹۹۵، دولتی بانه و همکاران ۲۰۰۰، رحمانی و همکاران ۲۰۱۲) و دو گونه‌ی *P. expansum* و *P. brevicompactum* از انگور در ایران گزارش شده است. با توجه به اینکه فرآورده‌های انگور به‌ویژه کشمش از نظر صادرات برای کشور و منطقه مهم می‌باشند و بحث آلودگی به زهرابه‌های قارچی (مانند اکراتوکسین آ و پاتولین) یک فاکتور مهم در صادرات این محصول می‌باشد، لذا بررسی شیوع گونه‌های پنیسیلیوم روی این محصول در منطقه از اهمیت به‌سزایی برخوردار می‌باشد. این تحقیق با هدف شناسایی و بررسی فراوانی گونه‌های پنیسیلیوم شایع در روی انگور و کشمش در منطقه‌ی شمال‌غرب ایران انجام گرفت.

مواد و روش‌ها

نمونه‌برداری، جداسازی و شناسایی جدایه های قارچی

نمونه‌برداری از باغات انگور و کارخانه‌های فرآوری کشمش در چهار نوبت مهر و آبان ماه سال ۱۳۹۰، فروردین ماه۱۳۹۱، مهر و آبان ماه سال ۱۳۹۱ و مهر ماه سال ۱۳۹۲ انجام گرفت. برای جداسازی، خالص‌سازی و شناسایی جدایه‌های *Penicillium* از محیط‌کشت‌های آب آگار[2]، سیب‌زمینی دکستروز آگار[3]، عصاره‌ی مالت آگار[4]،

[1]Micromorphology

[2]Water agar
[3]Potato dextrose agar
[4]Malt extract agar

زاپک عصاره‌ی مخمر اتولایز آگار[1] (پیت ۱۹۷۹) و عصاره‌ی مخمر ساکارز آگار[2] (فریزواد ۱۹۸۱؛ فیلتنبورگ و همکاران ۱۹۹۰) استفاده شد و تمامی محیط‌های‌کشت با استفاده از اتوکلاو و در دمای ۱۲۱ درجه‌ی سلسیوس و به مدت ۱۵ دقیقه سترون شدند.

جداسازی جدایه‌های قارچی با استفاده از یکی از روش‌های اتاقک مرطوب (دسیکاتور سترون شده و حاوی آب مقطر استریل)، کاغذ صافی مرطوب و کشت روی محیط‌کشت صورت پذیرفت (شارما و گارج ۱۹۷۹). بعد از یک هفته نگه‌داری نمونه‌ها در انکوباتور، با استفاده از سوزن سترون مقداری از کلنی‌های قارچی رشد یافته در روی حبه‌ها و یا روی محیط‌کشت، به یک پتری حاوی محیط‌کشت PDA انتقال داده شده و سپس مجدداً به مدت ۳-۲ روز در دمای ۲± ۲۵ درجه‌ی سلسیوس نگه‌داری گردیدند. خالص‌سازی جدایه‌های قارچی با روش کشت نوک ریسه انجام گرفت.

نگهداری کوتاه‌مدت جدایه‌های قارچی خالص‌سازی شده در لوله‌ی آزمایش حاوی محیط‌های کشت PDA و MEA و در یخچال با دمای چهار درجه‌ی سلسیوس و در داخل کیسه‌های نایلونی صورت گرفت و برای نگه‌داری بلندمدت، جدایه‌های قارچی خالص‌سازی شده بعد از انتقال آن‌ها به درون ویال‌های ۱/۵ میلی لیتری حاوی محیط کشت‌های PDA و MEA در فریزر با دمای ۲۰- درجه‌ی سلسیوس قرار داده شدند.

برای گروه‌بندی جدایه‌های پنیسیلیوم برپایه‌ی خصوصیات ریخت‌شناختی از کلید ارائه شده توسط فریزواد و سامسون (۲۰۰۴) شامل شکل و اندازه‌ی کنیدی‌ها، وضعیت دیواره‌ی کنیدی‌ها از نظر صاف یا خاردار بودن، طول ساقه‌ی کنیدی‌بر و وضعیت دیواره‌ی آن، اندازه و شکل فیالیدها استفاده گردید.

استخراج DNA، توالی‌یابی و آنالیز تبارزایی

کلیه‌ی جدایه‌ها بر روی محیط کشت عصاره‌ی مالت آگار به‌مدت هشت روز و در دمای ۲۵ درجه‌ی سلسیوس در تاریکی رشد داده شدند و پس از رشد کافی جهت استخراج DNA مورد استفاده قرار گرفتند. بدین منظور از روش مولر و همکاران (۱۹۹۲) استفاده شد. پس از اتمام عملیات استخراج، کمیت و کیفیت DNA استحصالی به روش اسپکتروفتومتری مورد بررسی قرار گرفت.

برای آنالیز تبارزایی از توالی داده‌ی ژن بتاتوبولین استفاده گردید. برای این کار بخشی از ژن بتاتوبولین با استفاده از دو آغازگر رفت‌وبرگشت T1 (5´AACATGCGTGAGATTGTAAGT3´) (اُ دونل و سیگل نیک ۱۹۹۷) و Bt2b (5´ACCCTCAGTGTAGTGACCCTTGGC3´) (گلاس و دونالدسون ۱۹۹۵) تکثیر و توالی‌یابی گردید. مخلوط واکنش زنجیره‌ای پلی‌مراز شامل یک میکرولیتر (۱۵-۱۰ نانوگرم بر میکرولیتر) DNA الگو، ۱/۲۵ میکرولیتر بافر PCR 10X، ۰/۶ میکرولیتر مخلوط dNTPs به غلظت یک میلی‌مول، ۰/۳۷۵ میکرولیتر (۱/۵ میلی‌مول) کلرید منیزیم[3]، ۰/۲ میکرولیتر (۰/۲ پیکومول) از هرکدام از آغازگرهای رفت‌وبرگشت، ۰/۵ میکرولیتر دی‌متیل سولفوکسید[4] و نیم واحد آنزیم Taq Polymerase بود که حجم نهایی با آب مقطر دوبار استریل به ۱۲/۵ میکرولیتر رسانده شد. واکنش با استفاده از ترموسیکلر GeneAmp PCR System 9700 (Applied Biosystems, Foster City, CA) انجام گرفته و چرخه‌های حرارتی اعمال شده شامل یک واکنش واسرشت‌سازی اولیه در دمای ۹۶ درجه‌ی سلسیوس به‌مدت پنج دقیقه، ۴۰ چرخه‌ی تکثیر شامل واسرشت‌سازی در دمای ۹۴ درجه‌ی سلسیوس به‌مدت ۳۰ ثانیه، اتصال آغازگرها در دماهای ۵۶ درجه‌ی سلسیوس به‌مدت ۳۰ ثانیه و بسط در ۷۲ درجه‌ی سلسیوس به‌مدت ۶۰ ثانیه و بالاخره یک چرخه‌ی بسط نهایی به‌مدت هفت دقیقه در

[1] Czapek yeast autolysate agar
[2] Yeast extract sucrose agar
[3] $MgCl_2$
[4] Dimethyl sulfoxide (DMSO)

دمای ۷۲ درجه‌ی سلسیوس بود. محصول واکنش زنجیره‌ای پلی‌مراز با استفاده از کیت تجاری بیگ‌دای (BigDye Terminator v3.1 (Applied Biosystems, Foster City, CA)) و مطابق دستورالعمل کارخانه‌ی سازنده و در موسسه قارچ‌شناسی فرهنگستان علوم کشور هلند (CBS) توالی‌یابی شد و داده‌های خام توالی با استفاده از نرم‌افزار SeqMan™II (DNASTAR, Madison, Wisconsin, USA) مورد بررسی قرار گرفت. پس از ویرایش داده‌های توالی نوکلئوتیدی، توالی‌های برآیند در فرمت فایل فاستا[1] ذخیره شدند. زیرهم‌چینی[2] داده‌های توالی ایجاد شده در این تحقیق با داده‌های توالی بانک ژن با استفاده از نرم‌افزار Mega V. 5 (تامورا و همکاران ۲۰۱۱) انجام و الگوی هم‌ترازی چندگانه تعیین گردید. درخت تبارزایی به‌روش پیوست همسایه با استفاده از نرم‌افزار MEGA6 و با شاخص بوت استرپ[3] برابر ۱۰۰۰ ترسیم گردید.

نتایج و بحث

نتایج حاصل از نمونه‌برداری در جدول ۱ آورده شده است. بر اساس جدول فوق از مجموع ۲۷۰ نمونه (۱۸۷ نمونه انگور و ۸۳ نمونه کشمش)، ۶۳ نمونه‌ی انگور دارای آلودگی به قارچ *Penicillium* بودند. میانگین درصد آلودگی کل ۲۳٪ بوده و میانگین آلودگی در نمونه‌های کشمش و انگور به‌ترتیب ۱٪ و ۳۳٪ بوده است. همان‌طوری که در جدول یاد شده مشاهده می‌گردد درصد آلودگی در نمونه‌های انگور به گونه‌های پنیسیلیوم در شهرستان‌های آذرشهر، بناب، تاکستان، سردشت، عجب‌شیر، مراغه، ملکان و میاندوآب به‌ترتیب ۲۳، ۲۷، ۱۷، ۷، ۳۷، ۶۷، ۶۸ و ۱۹ درصد بود. دلیل پایین‌تر بودن درصد آلودگی نمونه‌های انگور در برخی از شهرستان‌ها نسبت به شهرستان‌های دیگر را می‌توان به سه فاکتور عمده نسبت داد: الف- سال نمونه‌برداری، زیرا نمونه‌برداری از شهرستان‌های مذکور در سال‌های دوم و سوم انجام گرفت. ب- مصادف بودن زمان رسیدگی انگور با بارندگی‌های زودرس پاییزه، زیرا در سال اول زمان رسیدگی انگور مصادف با بارندگی‌های اوایل فصل پاییز بوده و در زمان نمونه‌برداری هنوز آثار بارندگی در باغات مورد نظر کاملاً قابل مشاهده بود، حتی در شهرستان ملکان به‌دلیل مصادف شدن برداشت با بارندگی، آلودگی نمونه‌ها کاملاً مشهود بود. ج- شرایط آبیاری و کشت انگور، زیرا در شهرستان تاکستان در یکی از باغات نمونه‌برداری شده، کشت به‌روش کرتی بوده و آبیاری به‌روش غرق‌آبی انجام می‌گرفت که همین امر سبب گردید که از پنج جدایه‌ی به‌دست آمده سه جدایه متعلق به آن باغ باشد.

تعداد نمونه‌های انگور و کشمش بررسی شده و تعداد جدایه‌های *Penicillium* جداسازی شده و درصد آلودگی آن‌ها نیز در جدول ۱ آورده شده است. همان‌طوری که مشاهده می‌گردد، بدون در نظر گرفتن تعداد نمونه‌های اخذ شده، شهرستان‌های سردشت و ملکان به‌ترتیب با یک و ۱۹ جدایه، کم‌ترین و بیش‌ترین تعداد جدایه را به‌خود اختصاص داده‌اند. این امر ناشی از همان وضعیتی است که در بالا به آن اشاره شد یعنی در سال ۱۳۹۰ شدت آلودگی در باغات انگور شهرستان ملکان به‌دلیل هم‌زمانی رسیدگی محصول با بارندگی‌های زودرس در اوایل پاییز بسیار بالا بوده است. همان‌طوری که در جدول ۱ مشاهده می‌گردد فقط یک جدایه از جنس پنیسیلیوم از نمونه‌های کشمش جداسازی گردید، شاید به‌توان این‌طور استنباط نمود که عملیات فرآوری انگور که منجر به تولید کشمش می‌گردد، منجر به حذف جنس پنیسیلیوم از محصول شده است.

همان‌گونه که در بخش مواد و روش‌ها اشاره گردید در گروه‌بندی جدایه‌های پنیسیلیوم برپایه‌ی خصوصیات ریخت‌شناختی از کلیدهای ارائه شده توسط فریزواد و سامسون (۲۰۰۴) استفاده گردید. نتایج به‌دست آمده از مطالعات ریخت‌شناختی در نمودارهای ۱ و ۲ آورده شده است. با توجه به نمودار ۱، تمامی جدایه‌های پنیسیلیوم بدست آمده در این تحقیق (۶۳ جدایه) در سه گروه کلی

[1] FASTA
[2] Alignment
[3] Bootstrap

قرار گرفتند، لازم به یادآوری است که اصلی‌ترین معیار این گروه‌بندی انشعاب یا عدم انشعاب کنیدیفور و نحوه انشعاب آن و شکل فیالید بود. بر این اساس جدایه‌هایی که دارای کنیدیفور ساده یا غیرمنشعب بودند در زیرجنس آسپرژیلوئیدس (با ۱۵ جدایه و با فراوانی ٪۲۴)، جدایه‌های با کنیدیفور یک‌بار منشعب و دارای فیالیدهای اکروز[1] در زیرجنس بی‌ورتیسیلیوم (با ۲۳ جدایه و با فراوانی ٪۳۶) و جدایه‌های دارای کنیدفورهای دو یا چندبار منشعب در زیرجنس پنیسیلیوم (با ۲۵ جدایه و با فراوانی ٪۴۰) قرار گرفتند. لازم به ذکر است که جدایه‌هایی از پنیسیلوم که دارای کنیدیفورهای یک‌بار منشعب و فیالیدهای آمپولی‌شکل باشند، در زیرجنس فورکاتوم قرار می‌گیرند که هیچ‌کدام از جدایه‌های این تحقیق در زیرجنس مزبور قرار نگرفتند و نیز با توجه به نمودار دو و با مقایسه داده‌های ریخت‌شناختی جدایه‌های این تحقیق با گونه‌های تایید شده استنباط گردید که حدود ٪۲ از جدایه‌ها (یک جدایه) متعلق به گروه G1، ٪۵ از آن‌ها (سه جدایه) متعلق به گروه G2 و ٪۳۸ از آن‌ها (۲۴ جدایه) متعلق به گروه G3 است که با این توصیف گروه G3 دارای بیش‌ترین فراوانی بود. گروه‌های G4 تا G9 به ترتیب دارای ۹، ۱۵، ۲، ۵، ۳ و ۱ جدایه بودند. بعضی از خصوصیات ریخت‌شناختی گروه‌های نه گانه جدایه‌های پنیسیلیوم در جدول ۲ بیان شده است.

لیست جدایه‌های تائید شده‌ی مولکولی جدا شده از انگور و کشمش در این تحقیق در جدول ۳ ارائه گردیده است. داده‌های این مطالعه آشکار نمود که گونه‌های پنیسیلیوم شایع در روی انگور و کشمش در منطقه مورد مطالعه در سه زیرجنس به‌نام‌های *Aspergilloides*، *Biverticilum* (*Talaromyces*) و *Penicillium*، پنج سکشن به‌نام‌های *Aspergilloides*، *Brevicompacta*، *Citrina*، *Fasciculata* و *Penicillium* و ۹ گونه شامل *Penicillium expansum*، *P. brevicompactum*، *P. crocicola*، *P. crustosum*، *P. glabrum*، *P. olsonii*، *P. sumatrense*، *P. atroroseus* *Talaromyces* و *T.minioluteus* قرار می‌گیرند.

مطابق جدول ۳ هشت جدایه‌ی تائید شده‌ی مولکولی متعلق به گونه *P. expansum* بوده و بنابراین گونه‌ی مذکور دارای بیش‌ترین فراوانی بوده است. بعد از گونه‌ی *P. expansum*، گونه‌های *Talaromyces atroroseus*، *T. minioluteus*، *P. sumatrense*، *P. crocicola*، *P. glabrum*، *P. brevicompactum*، *P. crustosum* و *P. olsonii* به‌ترتیب با چهار، چهار، سه، دو، دو، دو، یک، یک و یک جدایه، سایر گونه‌های جداسازی شده در این تحقیق می‌باشند. مقایسه ویژگی‌های ریخت‌شناختی جدایه‌های تائید شده‌ی مولکولی و سایر جدایه‌های پنیسیلیوم جداسازی شده در این مطالعه نشان داد که کلیه جدایه‌های این تحقیق به سه زیرجنس از جنس پنیسیلیوم متعلق بوده و زیرجنس‌های پنیسیلیوم با ۲۵ جدایه دارای فراوانی ٪۴۰، آسپرژیلوئیدس با ۱۵ جدایه دارای فراوانی ٪۲۴ و بی‌ورتیسیلیوم (تالارومیسس) با ۲۳ جدایه دارای فراوانی ٪۳۶ می‌باشد. بنابراین هیچ‌کدام از جدایه‌های این تحقیق در زیرجنس چهارم جنس پنیسیلیوم (فورکاتوم) قرار نمی‌گیرند.

درخت تبارزایی ترسیم شده برپایه‌ی توالی ژن بتاتوبولین برای زیرجنس‌های پنیسیلیوم، آسپرژیلوئیدس و تالارومیسس در شکل‌های ۱، ۲ و ۳ نشان داده شده است. مطابق شکل‌های مذکور برپایه‌ی توالی ژن بتاتوبولین، جدایه‌های پنیسیلیوم جداسازی شده در این تحقیق که متعلق به زیرجنس‌های پنیسیلیوم و آسپرژیلوئیدس می‌باشند، در یک گروه قرار می‌گیرند جدایه‌هایی که قبلاً در زیرجنس بی‌ورتیسیلیوم قرار می‌گرفتند و بعد از سال ۲۰۱۱ به جنس تالارومیسس منتقل گردیده‌اند (سامسون و همکاران ۲۰۱۱) در گروه جداگانه‌ای جای گرفته‌اند. براساس نتایج تحقیقات اخیر گونه‌های تالارومیسس و مرحله غیرجنسی آنها در جنس پنیسیلیوم (زیرجنس بی‌ورتیسیلیوم) از اعضای دو زیرجنس دیگر این جنس جدا بوده و یک گروه تبارزایی جداگانه‌ای را تشکیل می‌دهند (بربی و همکاران ۱۹۹۵،

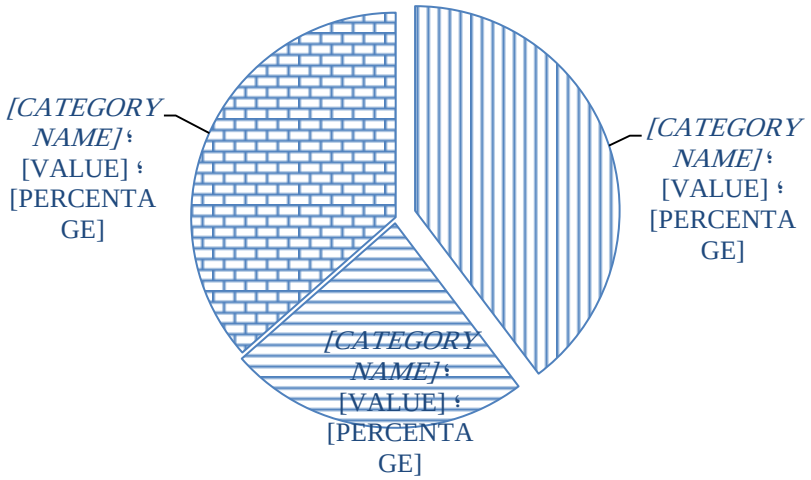
[1]Acrose

هردیا و همکاران ۲۰۰۱). این یافته‌ها پیشنهاد نمودند که زیرجنس بی‌ورتیسیلیوم احتمالاً یک جنس تک‌نیایی جداگانه‌ای را تشکیل خواهد داد (سیفرت و همکاران ۲۰۰۴).

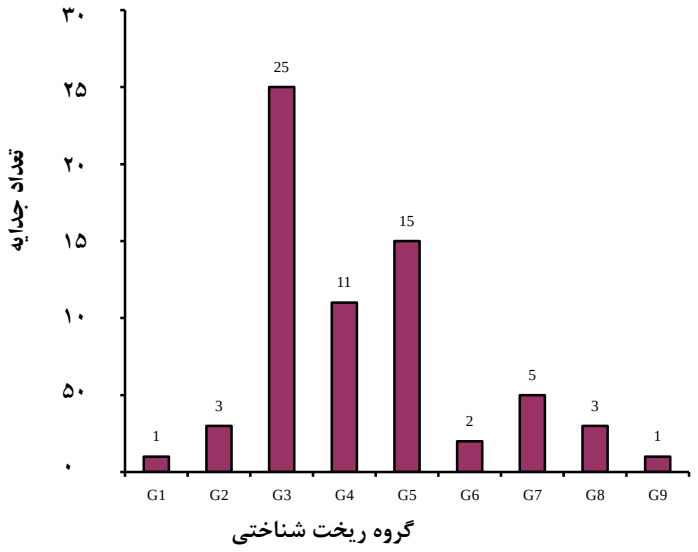
مطالعات کمی در مورد تنوع زیستی گونه‌های پنیسیلیوم در روی انگور و کشکش در دنیا و بخصوص ایران انجام گرفته است. وُن و همکاران (۲۰۰۷) پنج گونه از جنس پنیسیلیوم شامل *P. brevicompactum*، *P.citrinum*، *P. echinulatum*، *P. expansum* و *P. solitum* را از انگورهای انبار شده در نواحی مختلف کشور کره جداسازی نمودند که در بین آن‌ها *P. expansum* و *P. bialowiezense* از بیشترین فراوانی برخوردار بودند. سِرّا و پِترسون (۲۰۰۷) با بررسی انگورهای آلوده به پنیسیلیوم در کشور پرتغال با استفاده از تفاوت‌های مورفولژیکی و تبارزایی، دو گونه‌ی جدید از پنیسیلیوم (*P. neocrassum* و *P. astrolabium*) را معرفی کردند. گونه‌ی *P. expansum* دارای دامنه میزبانی وسیع بوده است و در ایران تاکنون از بستره‌های مختلفی از قبیل خاک (محمدی و بنی‌هاشمی ۲۰۰۶؛ صمدی و همکاران ۱۳۹۲)، میوه‌ی زیتون با علایم پوسیدگی (تربتی و همکاران ۱۳۹۱)، بذر سویا (مدنی و همکاران ۱۳۹۲)، میوه‌ی سیب، مرکبات، انگور (زکی و ارشاد ۱۹۸۶، زکی و همکاران ۱۹۹۵، روح‌بخش و ارشاد ۱۹۹۷، رحمانی و همکاران ۲۰۱۲)، پنیر (شارضایی و بنی‌هاشمی ۲۰۰۱) و جو (عسگری و همکاران ۲۰۰۴) گزارش گردیده است. گونه‌ی *P. brevicompactum* از بستره‌هایی از قبیل محیط کشت، بادام زمینی، کنجد و انگور (شارضایی و بنی‌هاشمی ۲۰۰۱، پورعبداله و ارشاد ۱۹۹۷، گویا و همکاران ۲۰۰۰، دولتی بانه و همکاران ۲۰۰۰) گزارش شده است. شاکری و ارشاد (۲۰۰۰) گونه‌ی *P. glabrum* را از روی انار و هوبراکن و همکاران (۲۰۱۴) گونه‌های *P. glabrum* و *P. crocicola* را از ایران و از روی انگورهای شهرستان‌های عجب‌شیر و ملکان در استان آذربایجان‌شرقی گزارش نمودند.

جدول ۱– تعداد نمونه‌های انگور و کشمش بررسی شده و تعداد جدایه‌های *Penicillium* جداسازی شده و درصد آلودگی آن‌ها.

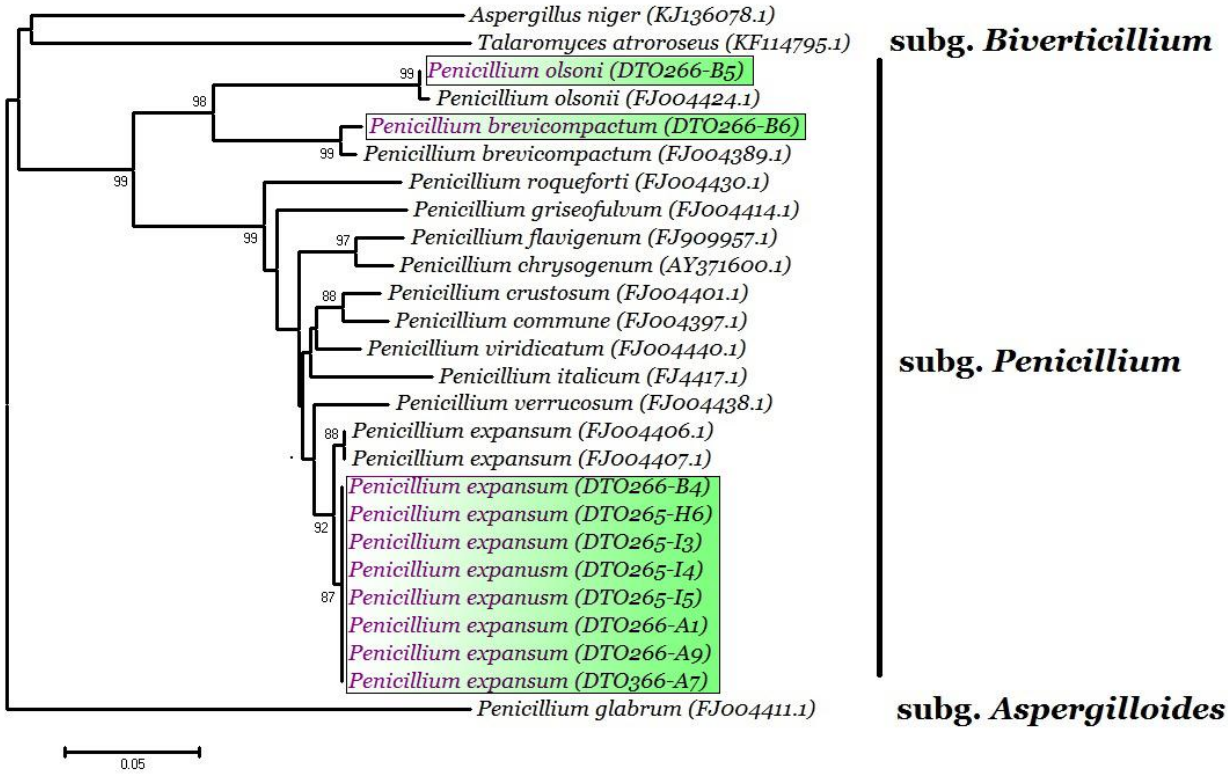
شهرستان	انگور				کشمش				جمع کل		
	تعداد نمونه	تعداد جدایه	درصد آلودگی	تعداد نمونه	تعداد جدایه	درصد آلودگی	تعداد نمونه	تعداد جدایه	درصد آلودگی
آذرشهر	۳۰	۷	۲۳	۰	۰	۰	۳۰	۷	۲۳
بناب	۳۰	۸	۲۷	۴۸	۱	۲	۷۸	۹	۱۱
تاکستان	۲۴	۴	۱۷	۰	۰	۰	۲۴	۴	۱۷
سردشت	۱۵	۱	۷	۰	۰	۰	۱۵	۱	۷
عجب‌شیر	۲۴	۹	۳۷	۰	۰	۰	۲۴	۹	۳۷
مراغه	۱۵	۱۰	۶۷	۲۰	۰	۰	۳۵	۱۰	۲۹
ملکان	۲۸	۱۹	۶۸	۱۵	۰	۰	۴۳	۱۹	۴۴
میاندوآب	۲۱	۴	۱۹	۰	۰	۰	۲۱	۴	۱۹
مجموع	۱۸۷	۶۲	۳۳	۸۳	۱	۱	۲۷۰	۶۳	۲۳



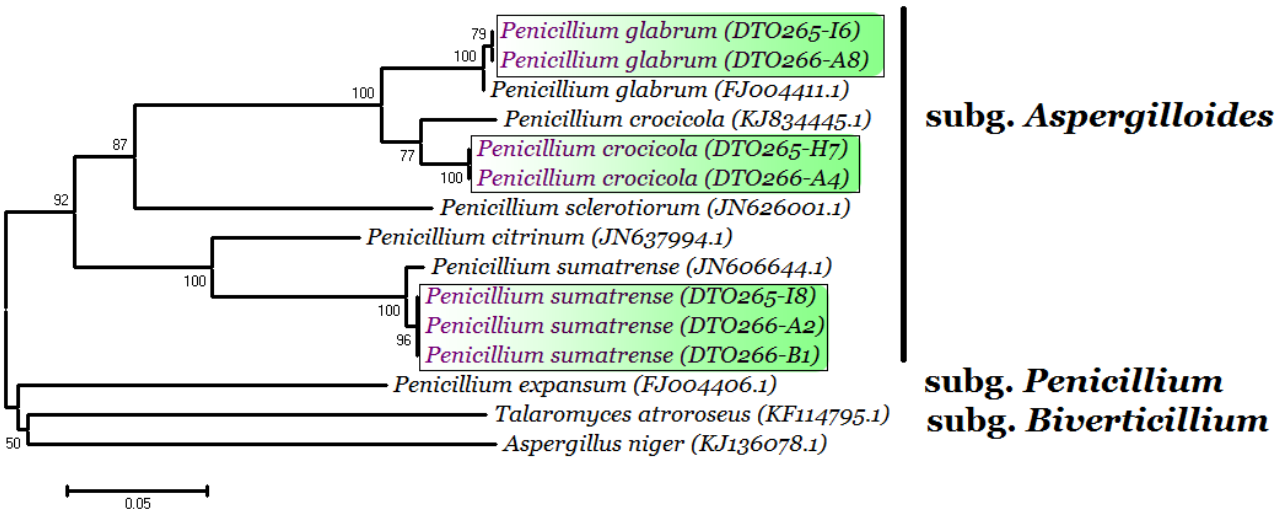
شکل ۱- گروه‌بندی جدایه‌های پنیسیلیوم جداسازی شده از انگور و کشمش در سطح زیرجنس بر اساس ویژگی‌های ریخت‌شناختی.



شکل ۲- نتایج گروه بندی جدایه‌های پنیسیلیوم در سطح گروه‌های ریخت‌شناختی بر اساس خصوصیات ریخت‌شناختی.



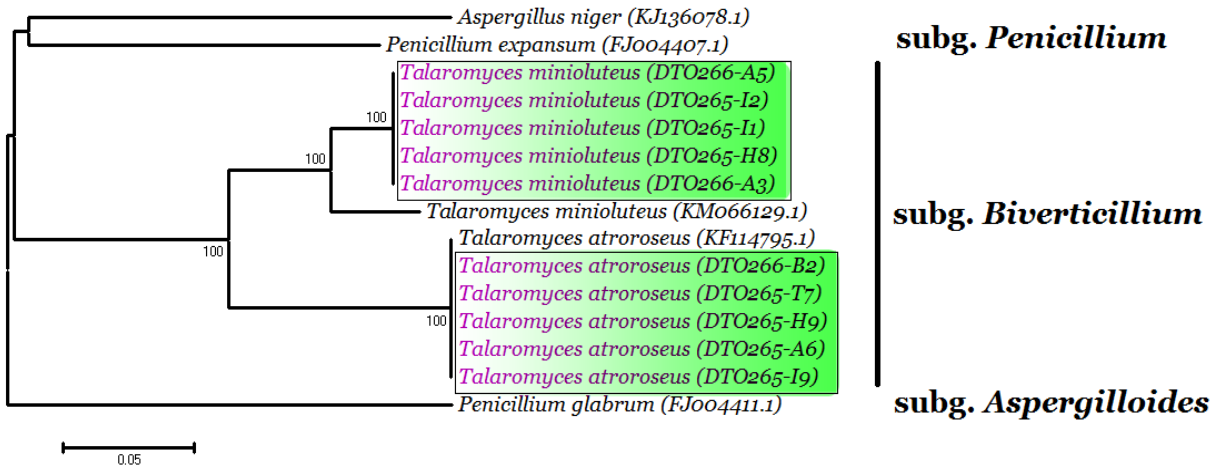
شکل ۳- درخت تبارزایی ترسیم شده بر اساس توالی ژن بتاتوبولین برای گونه‌های زیرجنس ***Penicillium*** به‌روش پیوست همسایه با استفاده از نرم‌افزار **MEGA6**، با شاخص بوت استرپ برابر ۱۰۰۰- ارزش‌های عددی کمتر از ۶۵٪ نشان داده نشده‌اند. (جدایه‌های با پیشوند **DTO** و داخل کادر سبز مربوط به این تحقیق می‌باشند). مقیاس ۰/۰۵ تغییر مورد انتظار در هر مکان را نشان می‌دهد.



شکل ۴- درخت تبارزایی ترسیم شده بر اساس توالی ژن بتاتوبولین برای گونه‌های زیرجنس ***Aspergilloides*** به‌روش پیوست همسایه با استفاده از نرم‌افزار **MEGA6**، با شاخص بوت استرپ برابر ۱۰۰۰- ارزش‌های عددی کمتر از ۵۰٪ نشان داده نشده‌اند. (جدایه‌های با پیشوند **DTO** و داخل کادر سبز مربوط به این تحقیق می‌باشند). مقیاس ۰/۰۵ تغییر مورد انتظار در هر مکان را نشان می‌دهد.

جدول ۲- بعضی از خصوصیات ریخت‌شناختی گروه‌های نه گانه جدایه‌های پنیسیلیوم.

گروه	کنیدی					تعداد انشعاب کنیدیفور	قطر کلنی (mM) در ۲۵ درجه سانتی‌گراد روی			عرض کنیدیفور (µM)	فیالید	
	شکل	تزئینات سطح	طول (µM)	عرض (µM)			CYA	MEA	YES		عرض (µM)	طول (µM)
G1	کروی تا بیضوی	صاف	۳/۳۱ ± ۰/۲۶	۲/۴ ± ۰/۱۷		دو	۱۵ ± ۱	۱۳/۳ ± ۲/۳	۴۵/۳ ± ۱/۲	۳/۴۶ ± ۰/۳	۲/۸۳ ± ۰/۳۱	۱۲/۹۶ ± ۱/۳۱
G2	تخم مرغی	خاردار	۳/۰۳ ± ۰/۲۲	۲/۰۵ ± ۰		یک	۱۲ ± ۱	۲۵ ± ۰	۲۳/۷ ± ۰/۶	۲/۹۵ ± ۰/۳	۲/۴۵ ± ۰/۱۱	۱۲/۱۹ ± ۰/۵
G3	کروی تا بیضوی	خاردار	۳/۰۷ ± ۰/۴۶	۲/۸۳ ± ۰/۳۱		دو	۱۹/۳ ± ۳/۲	۷/۳ ± ۰/۶	۲۳/۷ ± ۱/۵	۳/۱۷ ± ۰/۵	۳/۲۲ ± ۰/۲۷	۹/۷۴ ± ۰/۸۸
G4	کروی تا نیم کروی	صاف	۲/۸۸ ± ۰/۴۵	۲/۲۶ ± ۰/۱۳		۰	۲۲/۳ ± ۷/۵	۲۳ ± ۱	۳۹/۳ ± ۱/۲	۳/۰۷ ± ۰/۳	۲/۷۴ ± ۰/۳۲	۹/۵ ± ۰/۵
G5	کروی تا بیضوی	خاردار	۳/۹۴ ± ۰/۴۷	۲/۸۸ ± ۰/۲۹		یک	۲۴ ± ۱	۲۸ ± ۱	۳۱ ± ۱	۲/۶۴ ± ۰	۲/۴ ± ۰/۲۹	۱۱/۹ ± ۱/۰۳
G6	کروی	صاف	۲/۷۲ ± ۰/۳۳	۲/۷۲ ± ۰/۳۳		۰	۱۸/۷ ± ۳	۳۵/۳ ± ۲/۱	۲۰/۷ ± ۰/۶	۲/۸۸ ± ۰/۳	۳/۲ ± ۰/۴۹	۱۰/۶۴ ± ۰/۸۳
G7	کروی تا نیم کروی	صاف	۳/۲ ± ۰/۲۵	۲/۹ ± ۰/۳		یک، دو یا سه	۳۴/۵ ± ۳/۷	۳۱/۵ ± ۰/۶	۵۰/۲ ± ۱	۳/۵ ± ۰/۶	۲/۴ ± ۰/۳	۸ ± ۰/۸۵
G8	کروی	خاردار	۲/۲۱ ± ۰/۲	۲/۲۱ ± ۰/۲		دو	۲۵ ± ۲/۶	۱۵ ± ۱/۷	۴۴ ± ۲	۲/۷۸ ± ۰/۴	۲/۵۴ ± ۰/۱۳	۹/۷۹ ± ۰/۹۸
G9	بیضوی	خاردار	۳/۲۲ ± ۰/۲۱	۲/۵۴ ± ۰/۲۱		یک	۲۶/۷ ± ۱/۲	۲۶ ± ۱	۸ ± ۱	۲/۴۵ ± ۰/۴	۲/۳ ± ۰/۱۳	۱۳/۹۷ ± ۰/۸۹



شکل ۵- درخت تبارزایی ترسیم شده بر اساس توالی ژن بتاتوبولین برای گونه‌های زیرجنس *Biverticillium (Talaromyces)* به‌روش پیوست همسایه با استفاده از نرم‌افزار MEGA6، با شاخص بوت استرپ برابر ۱۰۰۰- ارزش‌های عددی کمتر از ۶۵٪ نشان داده نشده‌اند. (جدایه‌های با پیشوند DTO و داخل کادر سبز مربوط به این تحقیق می‌باشند). مقیاس ۰/۰۵ تغییر مورد انتظار در هر مکان را نشان می‌دهد.

از جدول ۱ این چنین استنباط می‌شود که از مجموع ۶۳ جدایه‌ی به‌دست آمده از جنس *Penicillium*، تعداد ۶۲ جدایه از نمونه‌های انگور و فقط یک جدایه از نمونه‌های کشمش بوده است در نتیجه، عملیات فرآوری انگور که منجر به تولید کشمش می‌گردد، منجر به حذف جنس پنیسیلیوم از محصول شده و شاید یکی از دلایل این‌که پاتولین از فرآورده‌های الکلی انگور کم‌تر گزارش گردیده، همین امر بوده باشد، هرچند یکی از دلایل مهم این امر وجود فرایند تخمیر در تولید فرآورده‌های الکلی انگور است که باعث تجزیه پاتولین می‌گردد (لینگلای و همکارن ۲۰۰۰). قابل ذکر است که همه ساله مقادیر متنابهی از کشمش تولیدی ایران به خارج از کشور صادر می‌شود و مطابق گزارش اُیو (۲۰۱۲) ۶۷٪ از کشمش تولیدی ایران در سال ۲۰۰۷ به خارج از ایران صادر شده است. همچنین بنا به گزارش موسسه استاندارد و تحقیقات صنعتی ایران در پایان سال ۱۳۸۹ میزان کشمش صادراتی ایران حدود ۹۰ هزار تن بوده است (مکاتبه شخصی). با عنایت به مطالب بالا این امر که کشمش‌های فرآوری شده ایران فاقد آلودگی به قارچ‌هایی مثل پنیسیلیوم که اتفاقاً تولید کننده زهرابه‌های خطرناک برای انسان است، نویدبخش می‌باشد.

با توجه به تمامی نتایج مذکور به‌نظر می‌رسد که سیستم‌های نوین کشت مو نقش کلیدی در جلوگیری از آلودگی خوشه انگور به بیمارگرهای گیاهی از جمله بیمارگرهای قارچی دارد چرا که اکثر جدایه های بازیافت شده از انگور در این تحقیق از باغات دارای سیستم کشت سنتی جداسازی گردیده بود. به‌علاوه جلوگیری از شیوع بیماری‌هایی نظیر سفیدک سطحی که از رشد پریکارپ میوه ممانعت نموده و در نتیجه باعث ترکیدن آن در زمان رسیدن میوه به‌دلیل بالا رفتن فشار داخلی می‌گردد و نیز ممانعت از شیوع آفاتی از جمله کرم خوشه‌خوار انگور می‌تواند در کاهش آلودگی حبه‌های انگور به انواع بیمارگرها و از جمله بیمارگرهای پس از برداشت مانند آسپرژیلوس و پنیسیلیوم، با ممانعت از ایجاد محل ورود آن‌ها، موثر باشد (کوزی و همکاران، ۲۰۰۶، بِلّی و همکاران، ۲۰۰۷) و در نهایت دقت در برداشت و حمل و نقل نیز به عنوان راه‌کاری برای حفاظت محصول توصیه شده است.

تحقیق حاضر اولین گزارش در زمینه مطالعه شیوع گونه‌های پنیسیلیوم روی انگور و کشمش در شمال‌غرب ایران می‌باشد. نتایج این بررسی نشان می‌دهد که گونه

Penicillium expansum با دارا بودن حدود ۳۵٪ جدایه‌ها (۲۲ جدایه) دارای بیشترین فراوانی بوده است. با شناسایی گونه‌های پنیسیلیوم همراه انگور و کشمش در تاکستان‌های منطقه شمال‌غرب ایران امکان اتخاذ راهکارهای مناسب مدیریت آلودگی فراهم خواهد گردید.

سپاسگزاری

نویسندگان مقاله مراتب قدردانی خود را از معاونت محترم پژوهشی دانشگاه تبریز به خاطر تامین بودجه لازم برای انجام این پژوهش ابراز می‌نمایند.

جدول ۳- لیست جدایه‌های تائید شده‌ی مولکولی از گونه‌های پنیسیلیوم و تالارومیسس جدا شده از انگور و کشمش در این تحقیق.

شماره نمونه	شماره DTO*	نام گونه	رده‌بندی	محل جداسازی شده
A1119	DTO 265-H6	*Penicillium expansum*	*Penicillium* subgenus *Penicillium* sect. *Penicillium*	Ajabshir, Iran
A2214	DTO 265-H7	*Penicillium crocicola*	*Penicillium* subgenus *Aspergilloides* sect *Aspergilloides*	Ajabshir, Iran
A3112	DTO 265-H8	*Talaromyces minioluteus*	*Talaromyces*	Ajabshir, Iran
A3115	DTO 265-H9	*Talaromyces atroroseus*	*Talaromyces*	Ajabshir, Iran
A4119	DTO 265-I1	*Talaromyces minioluteus*	*Talaromyces*	Ajabshir, Iran
B1119	DTO 265-I2	*Talaromyces minioluteus*	*Talaromyces*	Bonab, Iran
B2113	DTO 265-I3	*Penicillium expansum*	*Penicillium* subgenus *Penicillium* sect. *Penicillium*	Bonab, Iran
B3112	DTO 265-I4	*Penicillium expansum*	*Penicillium* subgenus *Penicillium* sect. *Penicillium*	Bonab, Iran
B3119	DTO 265-I5	*Penicillium expansum*	*Penicillium* subgenus *Penicillium* sect. *Penicillium*	Bonab, Iran
B4111	DTO 265-I6	*Penicillium glabrum*	*Penicillium* subgenus *Aspergilloides* sect *Aspergilloides*	Bonab, Iran
C114	DTO 265-I7	*Talaromyces atroroseus*	*Talaromyces*	Ceylab,Iran
C212	DTO 265-I8	*Penicillium sumatrense*	*Penicillium* subgenus *Aspergilloides* sect. *Citrina*	Ceylab,Iran
K1112	DTO 265-I9	*Talaromyces atroroseus*	*Talaromyces*	Malekan, Iran
K1113	DTO 266-A1	*Penicillium expansum*	*Penicillium* subgenus *Penicillium* sect. *Penicillium*	Malekan, Iran
K3115	DTO 266-A2	*Penicillium sumatrense*	*Penicillium* subgenus *Aspergilloides* sect. *Citrina*	Malekan, Iran
K3121	DTO 266-A4	*Penicillium crocicola*	*Penicillium* subgenus *Aspergilloides* sect *Aspergilloides*	Malekan, Iran
K3141	DTO 266-A5	*Talaromyces minioluteus*	*Talaromyces*	Malekan, Iran
L812	DTO 266-A6	*Talaromyces atroroseus*	*Talaromyces*	Malekan, Iran
M1115	DTO 266-A7	*Penicillium expansum*	*Penicillium* subgenus *Penicillium* sect. *Penicillium*	Maragheh, Iran
M1116	DTO 266-A8	*Penicillium glabrum*	*Penicillium* subgenus *Aspergilloides* sect *Aspergilloides*	Maragheh, Iran
M2115	DTO 266-A9	*Penicillium expansum*	*Penicillium* subgenus *Penicillium* sect. *Penicillium*	Maragheh, Iran
S212	DTO 266-B1	*Penicillium sumatrense*	*Penicillium* subgenus *Aspergilloides* sect. *Citrina*	Shiramin, Iran
S214	DTO 266-B3	*Penicillium crustosum*	*Penicillium* subgenus *Penicillium* sect. *Fasciculata*	Shiramin, Iran
Y1112	DTO 266-B4	*Penicillium expansum*	*Penicillium* subgenus *Penicillium* sect. *Penicillium*	Miyandoab, Iran
Y1113	DTO 266-B5	*Penicillium olsonii*	*Penicillium* subgenus *Penicillium* sect. *Brevicompacta*	Miyandoab, Iran
Y1115	DTO 266-B6	*Penicillium brevicompactum*	*Penicillium* subgenus *Penicillium* sect. *Brevicompacta*	Miyandoab, Iran

*Applied and Industrial Mycology Department (DTO)

منابع

تربتی م، ارزنلو م، جعفری ح و بابای اهری الف، ۱۳۹۱. شناسایی مورفولوژیکی و مولکولی عوامل قارچی همراه با میوه‌ی زیتون در استان زنجان. جلد دوم. صفحه ۳۵۱. خلاصه مقالات بیستمین کنگره گیاه‌پزشکی ایران.

صمدی ر، گوستا ی، ارزنلو م، بابای اهری الف و صمدی ع، ۱۳۹۲. بررسی تنوع زیستی هیفومیست‌ها در خاک‌های حوزه‌ی دریاچه‌ی ارومیه. رستنی‌ها، جلد ۱۴ شماره ۲، صفحه‌های ۲۱۵-۱۹۸.

مدنی س، آقاجانی م ح و زارع ر، ۱۳۹۲. شناسایی قارچ‌های همراه بذر سویا در مزرعه و انبارهای استان گلستان. صفحه ۵۷. خلاصه مقالات اولین کنگره قارچ شناسی ایران.

Asghari B, Zare R and Payghami E, 2004. Hyphomycetous fungal community of barley phylloplane in East Azarbaijan Province with emphasis on new taxa for Iranian fungal flora. Rostaniha 5: 67–70.

Barkai-Golan R, 2008. *Penicillium* Mycotoxins, Pp 153-183. In: Barkai-Gola R and Paster N (eds.) Mycotoxins in Fruits and Vegetables. Elsevier Academic Press, USA.

Bellí N, Marín S, Coronas I, Sanchis V and Ramos AJ, 2007. Skin damage, high temperature and relative humidity as detrimental factors for *Aspergillus carbonarius* infection and ochratoxin A production in grapes. Food Control 18: 1343- 1349.

Berbee ML, Yoshimura A, Sugiyama J and Taylor JW, 1995. Is *Penicillium* monophyletic? An evaluation of phylogeny in the family *Trichomaceae* from 18S, 5.8S and ITS ribosomal DNA sequence data. Mycologia 87: 210- 222.

Cozzi G, Pascale M, Perrone G, Visconti A, and Logrieco A, 2006. Effect of *Lobesia botrana* damages on black aspergilli rot and ochratoxin A content in grapes. International Journal of Food Microbiology 111: S88- S92.

Doulaty Baneh A, Okhovat M and Babalar M, 2000. Identification of grape rot fungi in cold room. P. 323. Proceedings of the 14th Iranian Plant Protection Congress, Esfahan, Iran.

Food and Agriculture Organization, 2015. Statistical databases.

Filtenborg O, Frisvad JC and Thrane U, 1990. The significance of yeast extract composition on metabolite production in *Penicillium*, Pp 433-440. In: Samson RA and Pitt JI (eds.) Modern concepts in *Penicillium* and *Aspergillus* classification. Plenum Press, New York, USA.

Frisvad JC, 1981. Physiological criteria and mycotoxin production as aids in identification of common asymmetric Penicillia. Applied and Environmental Microbiology 41: 568- 579.

Frisvad JC and Samson RA, 2004. Polyphasic taxonomy of *Penicillium* subgenus *Penicillium*. A guide to identification of food and air-borne terverticillate Penicillia and their mycotoxins. Studies in Mycology 49: 1- 173.

Glass NL and Donaldson GC, 1995. Development of primer sets designed for use with the PCR to amplify conserved genes from filamentous ascomycetes. Applied Environmental Microbiology 61:1323- 1330.

Gooya M, Ershad D and Riahi H, 2000. An investigation on mycoflora of sesame seeds in Iran. Rostaniha 1: 27–31.

Heredia G, Reyes M, Arias RM and Bills GF, 2001. *Talaromyces ocotl* sp. nov. and observations on *T. rotundus* from conifer forest soils of Veracruz State, Mexico. Mycologia 93: 528- 540.

Houbraken J, Visagie CM, Meijer M, Frisvad JC, Busby PE, Pitt JI, Seifert KA, Louis-Seize G, Demirel R, Yilmaz N, Jacobs K, Christensen M and Samson RA, 2014. A taxonomic and phylogenetic revision of *Penicillium* section *Aspergilloides*. Studies in Mycology 78: 373–451.

Linglai C, You M. and Yang CD, 2000. Detection of mycotoxin patulin in apple juice. Journal of Food and Drug Analysis 8: 85- 96.

Mohammadi H and Banihashemi Z, 2006. Isolation and identification of *Penicillium* species from soil in Faars Province. P. 453. Proceedings of the 17th Iranian Plant Protection Congress, Karaj, Iran.

Moller EM, Bahnweg G, Sandermann H and Geiger HH, 1992. A simple and efficient protocol for isolation of high molecular weight DNA from filamentous fungi, fruit bodies and infected plant tissues. Nucleic Acids Research 20: 6115- 6116.

OIV, International Organisation of the Vine and Wine, 2012. World statistics. Supplement to the oiv report. Paris, France.

O'Donnell K and Cigelnik E, 1997. Two divergent intragenomic rDNA ITS2 types within a monophyletic lineage of the fungus *Fusarium* are nonorthologous. Molecular Phylogenetics and Evolution 7:103- 116.

Pitt JI, 1979. The Genus *Penicillium* and its Teleomorphic States *Eupenicillium* and *Talaromyces*. Academic Press, London, UK.

Pourabdollah Sh and Ershad D, 1997. An investigation on mycoflora of peanut seeds in Iran. Iranian Journal of Plant Pathology 33: 64–68.

Rahmani R, Sedaghati E, Khodaygan P, Saberi R and Moradi M, 2012. Prevalence of *Aspergillus* species in vineyards in West Azarbayjan Province. First international symposium on mycotoxins in nuts and dried fruits. Damghan, Iran.

Raper KB and Thom C, 1949. A manual of the penicillia. Baltimore: The Williams and Wilkins Company.

Roohibakhsh A. and Ershad D, 1997. An investigation on mycoflora of citrus necrotic leaf spots in western part of Mazenderan. Iranian Journal of Plant Pathology 33:34–37.

Sharzaei A and Banihashemi Z, 2001. Identification of *Penicillium* species in Shiraz area. Rostaniha, Supplement No. 2, P. 20. Proceedings of the Asian International Mycological Congress, Karaj, Iran.

Schutte AL, 1992. An overview of *Penicillium* (Hyphomycetes) and associated teleomorphs in southern Africa. Bothalia 22: 77- 9.

Shahkeri M and Ershad D, 2000. Pomegranate storage fungi. P. 335. Proceedings of the 14th Iranian Plant Protection Congress, Esfahan, Iran.

Sharma PD and Garg AP, 1979. Phylloplane mycoflora of non-infected and powdery mildew-infected barley. Acta Botanica Indica 7 : 64–71.

Samson RA, Yilmaz N, Houbraken J, Spierenburg H, Seifert KA, Peterson SW, Varga J and Frisvad JC, 2011. Phylogeny and nomenclature of the genus *Talaromyces* and taxa accommodated in *Penicillium* subgenus *Biverticillium*. Studies in Mycology 70: 159- 183.

Seifert KA, Hoekstra ES, Frisvad JC and Louis-Seize G, 2004. *Penicillium cecidicola*, a new species on cynipid insect galls on *Quercus pacifica* in the western United States. Studies in Mycology 50: 517- 523.

Serra R and Peterson SW, 2007. *Penicillium astrolabium* and *Penicillium neocrassum*, two new species isolated from grapes and their phylogenetic placement in the *P. olsonii* and *P. brevicompactum* clade. Mycologia 99: 78- 87.

Tamura K, Peterson D, Peterson N, Stecher G, Nei M and Kumar S, 2011. MEGA v5: molecular evolutionary genetics analysis using maximum likelihood, evolutionary distance, and maximum parsimony methods. Molecular Biology and Evolution 28: 2731- 2739.

Thom C, 1930. The penicillia. Baltimore: The Williams and Wilkins Company.

Won KK, Hyun KS, Sung KW, Myung SP, Narayan CP and Seung HY, 2007. Six Species of *Penicillium* Associated with Blue Mold of Grape. Mycobiology 35: 180- 185.

Zakii Z, Ashkan M and Sharafatian D, 1995. Postharvest pathogenic fungi of grapes. P. 236. Proceedings of the 12th Iranian Plant Protection Congress, Karaj, Iran.

Zakii Z and Ershad D. 1986, Storage fungal diseases of apple. P. 61. Proceedings of 8th Iranian Plant Protection Congress, Esfahan, Iran.

Incidence of *Penicilllium* Species on Grape and Raisin in East-, West Azarbaijan and Gazvin Provinces

A khodaei[1*], A Babai-Ahari[2] and M Arzanlou[2]

[1]PhD Student, Faculty of Agriculture, University of Tabriz, Tabriz, Iran.
[2]Professor.and Associate Professor., Department of Plant Protection, Faculty of Agriculture, University of Tabriz, Tabriz, Iran.
*Corresponding author: Ali khodaei, khd_l@yahoo.com

Received: 7 Oct 2016 Accepted: 6 June 2016

Abstract

Members of *Penicillium* species contaminate agricultural products during both pre-harvest and post-harvest conditions, which result in crop yield reduction and quality. There is a huge paucity of knowledge on the prevalence of fungal species occurring on grape and raisin in Iran. The present study was aimed to characterize *Penicillium* species occurring on grapes and raisins in vineyards of East- and West Azarbaijan and Gazvin provinces. During 2011-2013 growing seasons, a total of 63 *Penicillium* isolates were recovered from berry and raisin samples of the surveyed provinces. The average of total contamination was 23% and the average of contamination in raisins and grapes samples were 1% and 33%, respectively. Determination of morphological properties of *Penicillium* isolates according to standard protocols were placed *Penicillium* species on grapes and raisins in studied areas in nine species of *Penicillium* and *Talaromyces*. The identity of species was confirmed using *Beta-tubulun* gene sequence data. The results of this study showed that *Penicillium expansum* with a frequency of 35% (22 isolates) was the most frequently occurring species Identification of *Penicillium* species associated with grape and raisin in vineyards of northwest regions of Iran will provide the possibility of adopting pollution control strategies.

Keywords: Grape, Iran, *Penicillium*, Raisin, *Talaromyces*..