

DOI: 10.22092/BOTANY.2020.341742.1188

شناسایی گونه‌های پنیسیلیوم در میوه‌های مرکبات و انواع نان در شیراز

دریافت: ۱۳۹۸/۱۱/۰۸ / پذیرش: ۱۳۹۹/۰۴/۰۲

دلارام دلشاد: دانشجوی دکتری بیماری‌شناسی گیاهی، بخش گیاه‌پزشکی، دانشکده کشاورزی دانشگاه شیراز، شیراز ۷۱۴۴۱۶۵۱۸۶، ایران
رضا مستوفی‌زاده قلمفارسا: استاد بیماری‌شناسی گیاهی، بخش گیاه‌پزشکی، دانشکده کشاورزی دانشگاه شیراز، شیراز ۷۱۴۴۱۶۵۱۸۶، ایران (rmostofi@shirazu.ac.ir)

چکیده

اعضای متعلق به جنس *Penicillium* دارای پراکنش وسیعی در سراسر جهان بوده و در حال حاضر دارای ۳۵۹ گونه قابل قبول در ۲۵ گروه بوده که تاثیر اقتصادی قابل توجهی دارند. از مهم‌ترین مواد غذایی که پرده‌های فعالیتهای این جنس هستند می‌توان از نان، به عنوان عامل فساد میکروبی و مرکبات، به عنوان عامل پوسیدگی پس از برداشت، نام برد. در این مطالعه، نمونه‌هایی از میوه‌های مرکبات آلوده (پرتقال، نارنگی، نارنج، لیموشیرین، لیموخرگی، لیموترش شیرازی، ترنج، گریپ فروت، بکراپی و پورنج) و همچنین انواع نان گندم آلوده گردآوری شد. شناسایی گونه‌ها براساس ویژگی ریخت‌شناختی شامل خصوصیات میکروسکوپی (شکل، تزیینات، طول و عرض کنیدیوم، طول فیالیدها و متولا، تزیینات و عرض کنیدیوفور و نحوه انشعاب کنیدیوفورها) و خصوصیات ماکروسکوپی (شامل رشد شعاعی پرگنه، رنگ سطح و پشت پرگنه، ترشحات پرگنه، بافت پرگنه و میزان هاگ‌زایی) انجام شد. در نهایت، ۱۰ گونه براساس خصوصیات ریخت‌شناختی شناسایی شد. این آرایه‌ها شامل چهار گونه *Penicillium italicum*, *P. ulaiense*, *P. digitatum* و *P. discolor* از میوه‌های مرکبات و شش گونه *P. chrysogenum*, *P. atramentosum*, *P. atramentosum*, *P. citrinum*, *P. roqueforti*, *P. polonicum* و *P. oxalicum* از نان‌های آلوده بود. از این میان، گونه‌های *P. ulaiense*, *P. discolor* و *P. atramentosum* برای نخستین بار از ایران گزارش می‌شوند و این نخستین گزارش از جداسازی و بیماری‌زایی *P. discolor* از میوه مرکبات در دنیا است.

واژه‌های کلیدی: آسکومیکوتا، بیماری‌های انباری، فساد میکروبی، مرکبات، نان

Identification of *Penicillium* species from citrus fruits and various bread types in Shiraz (Iran)

Received: 28.01.2020 / Accepted: 22.06.2020

Delaram Delshad: PhD Candidate, Department of Plant Protection, School of Agriculture, Shiraz University, Shiraz 7144165186, Iran

Reza Mostowfizadeh-Ghalamfarsa: Prof., Department of Plant Protection, School of Agriculture, Shiraz University, Shiraz 7144165186, Iran (rmostofi@shirazu.ac.ir)

Summary

Members belonging to the genus *Penicillium* have a worldwide distribution and to date contains 359 accepted species divided among 25 sections, some of which have a considerable economic effect. The most important foodstuff which is the ecological nich of species of this genus is bread, as microbial decay agents, and citrus fruits, as postharvest pathogens. In this study, during winter 2018, spring and autumn 2019, samples were collected from infected citrus fruit (orange, tangerine, sour orange, lemon, lemon thistle, key lime, bergamot, grapefruit, bael, and kumquat) and various types of infested wheat bread from Shiraz (Iran). Species were identified based on morphological characteristics including microscopic (i.e. conidia dimensions, conidial ornamentation, phialide and metulae length, conidiophore width and ornamentation, and conidiophore branching pattern) as well as macroscopic features (including growth rate, obverse and reverse color of the colony, colony texture, and sporulation rate). Ten species were identified according to morphological features. Four species, including *Penicillium italicum*, *P. ulaiense*, *P. digitatum*, and *P. discolor*, belonging to sections *Penicillium*, *Digitata*, and *Viridicata*, were identified on citrus fruits and six species, including *P. chrysogenum*, *P. atramentosum*, *P. polonicum*, *P. roqueforti*, *P. citrinum*, and *P. oxalicum*, belonging to sections *Chrysogena*, *Viridicata*, *Roqueforti*, *Citrina*, and *Lanata-Divaricata*, were characterized from infested bread. *Penicillium ulaiense* and *P. atramentosum* are new for Iran mycobiota and it is the first world report of *P. discolors* as a citrus pathogen.

Keywords: *Ascomycota*, bread, citrus, microbial spoilage, postharvest diseases

مقدمه

است که با جنس *Talaromyces* در ارتباط است و توسط سامسون و همکاران (Samson et al. 2011) به جنس *Talaromyces* منتقل شد و نهایتاً هوبراکن و سامسون (۲۰۱۱) گونه‌های جنس *Eupenicillium* را به جنس پنسیلیوم منتقل کردند. رده‌بندی گونه‌های جنس پنسیلیوم به دلیل تنوع درون‌گونه‌ای آسان نیست و به همین علت می‌تواند سبب سردرگمی در شناسایی گونه‌های مورد نظر شود (Kim et al. 2012). براساس اظهار این قارچ‌شناسان، روش‌های سنتی برای شناسایی گونه‌های پنسیلیوم دشوار است؛ به طور مثال عدم امکان استفاده از فرم جنسی برای شناسایی گونه‌های پنسیلیوم که در مورد این جنس به خوبی شناخته نشده است. امروزه برای شناسایی گونه‌های پنسیلیوم، استفاده از روش تاکسونومی پلی‌فازی پیشنهاد می‌شود که به معنای در نظر گرفتن تمام خصوصیات میکروسکوپی، ماکروسکوپی و سایر خصوصیات زیستی و بوم‌شناختی (مانند رشد در دماهای مختلف و محیط‌کشت‌های متفاوت و یا ترشحات و رنگ تولید شده در این محیط‌کشت‌ها) است (Frisvad & Samson 2004).

برخی از گونه‌های پنسیلیوم سبب پوسیدگی پس از برداشت محصولات گیاهی و فساد مواد غذایی می‌شوند. از مهم‌ترین بیماری‌های پس از برداشت با خسارت اقتصادی قابل توجه توسط گونه‌های این جنس می‌توان به کپک سبز و کپک آبی در مرکبات اشاره نمود (Frisvad & Samson 2004, Pitt & El-Gali et al. 2014, Hocking 2009, Palou 2014). میوه‌های مرکبات به صورت عمده در بیش از ۱۰۰ کشور دنیا برای مصرف انسان‌ها تولید می‌شود. براساس آخرین آمار در دسترس، کل تولید مرکبات در یک دهه در جهان ۱۱۵ میلیون تن برآورد شده است (Palou 2014). در ایران، استان فارس بعد از استان‌های مازندران و کرمان سومین تولیدکننده بزرگ مرکبات در کشور محسوب می‌شود (Ahmadi et al. 2012). تخمین زده می‌شود خسارت‌های پس از برداشت در مرکبات توسط گونه‌های پنسیلیوم، به طور مشخص ۸۰-۶۰ درصد سبب کاهش محصول می‌شوند (El-Gali et al. 2014). از سوی دیگر، برخی از گونه‌ها سبب فساد مواد غذایی مانند نان شده و اکثر ضایعات نان به دلیل ارزان بودن به عنوان خوراک دام مصرف می‌شوند که متأسفانه بسیاری از این گونه‌ها قادر به تولید قارچ‌زهرهای خطرناکی هستند (Petzinger et al. 2002, Zöllner et al. 2006). این قارچ‌زهرها نه تنها در غذای طیور و دام‌ها وجود دارند، بلکه بعد از استفاده توسط آن‌ها در گوشت، شیر و تخم‌مرغ مصرفی برای انسان نیز وارد و تهدید بزرگی برای

اعضای متعلق به جنس *Penicillium* Link. قادر به زندگی در زیستگاه‌های متنوع شامل خاک، آب و هوا بوده و قادر به آلوده کردن محصولات گیاهی و غذایی متنوعی هستند (Visagie et al. 2009, 2014, Sang et al. 2013). گونه‌های این جنس دارای پراکنش وسیعی در سراسر جهان بوده و در حال حاضر، ۳۵۹ گونه قابل قبول در ۲۵ گروه (در این جنس) قرار دارد که در اغلب موارد تاثیرات اقتصادی قابل توجهی در زندگی انسان‌ها دارند (Visagie et al. 2014, You et al. 2014, Park et al. 2015, Perrone et al. 2015, Peterson et al. 2015, Rong et al. 2016). اعضای این جنس، نقش‌های متفاوتی را در زیست‌بوم‌های طبیعی ایفا کرده و دارای اهمیت خاصی در صنعت غذا و زیست‌فناوری هستند (Yamazaki et al. 2010, Alvarenga et al. 2014, Cakmakci et al. 2014, Ribeiro et al. 2015, Correa et al. 2015, Xiao et al. 2015).

برخی از گونه‌ها دارای اثرات مثبت بر زندگی انسان‌ها هستند و با گسترش صنعت غذا به ویژه تولید پنیرهای راکفورت، کاممبرت و تخمیر سوسیس در ارتباط هستند (Giraud et al. 2010, Ludemann et al. 2010). بزرگ‌ترین اثر گونه‌های *Penicillium* بر زندگی انسان‌ها، کشف پنسیلین برای درمان بیماری‌های باکتریایی انسان بود (Visagie et al. 2014). این در حالی است که برخی از گونه‌های این جنس دامنه متنوعی از قارچ‌زهرها را تولید می‌کنند (Frisvad et al. 2004). مهم‌ترین قارچ‌زهرهای تولید شده توسط گونه‌های این جنس شامل اوکراتوکسین، سیتترین و پاتولین است (Pitt 2002).

از زمان توصیف جنس پنسیلیوم، تاکسونومی آن بسیار دشوار و چندین کلید شناسایی برای تشخیص گونه‌های این جنس پیشنهاد شده است (Frisvad & Samson 2004). ابتدا رپر و تام (Raper & Thom 1949) جنس پنسیلیوم را به چهار زیربخش شامل *Fusiculata*, *Asymmetrica-Lanosa* و *Velutina* تقسیم نمودند و برای آن ۱۳۷ گونه را معتبر دانستند. سپس پیت (Pitt 1980) جنس پنسیلیوم را براساس نحوه انشعاب کنیدیوفور به چهار زیرجنس شامل *Furcatum*, *Biverticillium* و *Aspergilloides* و *Penicillium* تقسیم نمود و ۱۵۰ گونه را برای این جنس معتبر دانست. ولی در سال‌های اخیر با پیشرفت توالی‌یابی دی.ان.ای، طبقه‌بندی جنس پنسیلیوم دوباره بازنگری شد (Visagie et al. 2014)، به طوری که هوبراکن و سامسون (Houbraken & Samson 2011) با استفاده از چهار ژن نشان دادند که که زیرجنس *Biverticillium* از جنس پنسیلیوم یک تبار تک‌نیایی

میزان هاگ‌زایی) با استفاده از محیط‌کشت‌های MEA، CYA، YES و خصوصیات میکروسکوپی (شامل شکل، تزیینات، طول و عرض کنیدیوم، طول فیالیدها و متولا، تزیینات و عرض کنیدیوفور و نحوه انشعاب کنیدیوفورها) از طریق تهیه اسلاید از محیط‌کشت MEA حاوی اسید لاکتیک ۰.۶٪ بررسی شد (Frisvad & Samson 2004). رنگ پرگنه‌ها با استفاده از سیستم رنگ NBS/ISCC (2017) تعیین شد. برای اندازه‌گیری اندام‌های میکروسکوپی، ۵۰ عدد کنیدیوم، کنیدیوفور، متولا و فیالید با استفاده از نرم‌افزار دینوکپچر 2.0 (DinoCapture 2.0) اندازه‌گیری شد. جهت تهیه عکس‌های ماکروسکوپی، از دوربین Canon مدل 30S 650D استفاده شد. شناسایی گونه‌ها با استفاده از کلیدهای شناسایی متداول و مقالات موجود انجام گرفت (Raper & Thom 1949, Ramirez 1982, Frisvad & Samson 2004, Samson et al. 2004, Pitt & Hocking 1999, Houbraken et al. 2011, Visagie et al. 2014).

- اثبات بیماری‌زایی روی میوه‌های مرکبات

به منظور اثبات بیماری‌زایی گونه *P. discolor* که پیش از این از مرکبات گزارش نشده بود، جدایه‌های C.TAN.01 و C.TAN.07 از این گونه انتخاب و به میوه‌های سالم مرکبات شامل پرتقال، نارنگی، لیموخرگی، نارنج، لیموترش شیرازی، لیموشیرین و بکرایی مایه‌زنی شدند. ابتدا سوسپانسیون هاگ با غلظت 10^6 در میلی‌لیتر تهیه شد. میوه‌های سالم مرکبات پس از شست‌وشو با آب به وسیله محلول هیپوکلریت سدیم ۰.۵٪ حجمی به مدت پنج دقیقه ضدعفونی شده و سپس مجدداً با آب سترون، خشک و نهایتاً با الکل اتیلیک ۰.۹۶٪ گندزدایی سطحی شدند. زخم‌هایی به عمق تقریبی ۲ میلی‌متر و عرض یک میلی‌متر در پوست میوه ایجاد شد. در هر یک از زخم‌های ایجاد شده، مقدار ۱۰ میکرولیتر از سوسپانسیون هاگ به وسیله میکروپیت تزریق و برای شاهد منفی مقدار ۱۰ میکرولیتر آب مقطر سترون به جای سوسپانسیون هاگ استفاده شد. دور محل زخم را با نوار پارافیلیم پوشانده و میوه‌های مایه‌زنی شده به منظور حفظ رطوبت در ظروف یک‌بار مصرف و در ۲۵ درجه سلسیوس قرار داده شدند. نتایج پس از گذشت هفت روز بعد از مایه‌زنی با کشت بافت آلوده روی محیط‌کشت‌های YES، MEA و CYA بررسی شد. آزمایش در یک طرح کاملاً تصادفی در شش تکرار انجام شد (Tashiro et al. 2012, Lorente et al. 2013, Louw & Korsten 2015).

نتیجه و بحث

حاصل نمونه‌برداری در پژوهش حاضر، ۳۶۰ جدایه از گونه‌های جنس پنسیلیوم از میوه‌های مرکبات و نان بود که از

سلامت همگان محسوب می‌شوند (Ebrahimpzadeh et al. 2014). با توجه به اهمیت نان و مرکبات به عنوان دو پرده اصلی گونه‌های پنسیلیوم در بین مواد غذایی، در پژوهش حاضر به مطالعه و شناسایی ریخت‌شناختی گونه‌های این جنس در این دو بستره پرداخته شده است.

روش بررسی

- نمونه‌برداری و جداسازی جدایه‌ها

نمونه‌برداری از میوه‌های مرکبات آلوده شامل پرتقال [*Citrus tangerine* (L.) Osbeck]، نارنگی (*Citrus sinensis* L.)، لیموشیرین (*Citrus limon* L. Burm. f.)، لیموخرگی (*Citrus limetta* Risso)، لیموترش شیرازی (*Citrus × aurantiifolia* (Christm.) Swingle)، ترنج (*Citrus bergamia* Risso)، گریپ‌فروت (*Citrus paradise* Macfad.)، بکرایی (*Aegle marmelos* L.) و پورنج یا کامکوات (*Citrus japonica* Thunb.)، از چندین انبار نگهداری مرکبات در استان فارس و نمونه‌های آلوده میوه‌فروشی‌ها در سطح شهر شیراز در زمستان ۱۳۹۷ و نیز در بهار و پاییز ۱۳۹۸ انجام شد (جدول ۱). همچنین، در همین دوره زمانی، نمونه‌برداری از انواع نان‌های گندم آلوده (به صورت بسته‌بندی شده و ضایعات نان) شامل لواش، بربری، تافتون، سنگگ، نان تیری و انواع نان‌های فانتزی در سطح شهر شیراز صورت گرفت (جدول ۱).

به منظور جداسازی و خالص‌سازی، ابتدا قطعاتی از بافت‌های آلوده روی محیط‌کشت‌های سیب‌زمینی-آگار (PDA)، عصاره ۳۰۰ گرم سیب‌زمینی خرد شده، ۲۰ گرم گلوکز، ۱۵ گرم آگار در یک لیتر آب مقطر) کشت داده و پس از رشد پرگنه‌های مورد نظر به محیط‌کشت آب-آگار (WA)، ۲۰ گرم آگار در یک لیتر آب مقطر) منتقل و سپس به روش نوک‌ریسه خالص‌سازی شد (Raper & Thom 1949, Pitt 1988, Vanderzant & Splittstoesser 1992, Pitt & Hocking 1999).

- شناسایی گونه‌های پنسیلیوم

به منظور شناسایی گونه‌های پنسیلیوم پس از خالص‌سازی، بلوک‌هایی از پرگنه‌ها به صورت سه نقطه کشت به محیط‌کشت‌های مختلف شامل CYA (Pitt 1979)، MEA (Raper & Thom 1949) و YES (Frisvad 1981, Filtenborg et al. 1990) منتقل شد. سپس، محیط‌کشت‌ها به مدت هفت روز در ۲۵ درجه سلسیوس در انکوباتور نگهداری شدند. بعد از گذشت این مدت، خصوصیات ماکروسکوپی (شامل رشد شعاعی پرگنه، رنگ سطح و پشت پرگنه، ترشحات پرگنه، بافت پرگنه و

این تعداد، ۲۱۰ جدایه متعلق به مرکبات و ۱۵۰ جدایه مربوط به نان بود (جدول ۱). براساس مطالعات ریخت‌شناختی انجام شده، چهار گونه *Penicillium italicum* Wehmer. (بخش *Penicillium*)، *P. digitatum* (Pers.:Fr.) Sacc. (بخش *Penicillium*)، *P. ulaiense* Hsieh, Su & Tzean. (*Digitata*)، و *P. discolor* Frisvad & Samson. (بخش *Penicillium*) از میوه‌های مرکبات به دست آمد (جدول ۱). از انواع نان‌های آلوده بررسی شده نیز ۶ گونه *P. chrysogenum* Thom. (بخش *Chrysogena*)، *P. atramentosum* Thom. (بخش *Viridicata*)، *P. roqueforti* Thom. (بخش *Roqueforti*)، و *P. citrinum* Thom. (بخش *Citrina*)،

جدایه‌های گونه‌های *Penicillium* جدا شده از میوه‌های مرکبات و انواع نان در شیراز

جدول ۱- جدایه‌های گونه‌های *Penicillium* جدا شده از میوه‌های مرکبات و انواع نان در شیراز

Table 1. *Penicillium* species isolates recovered from citrus fruits and bread in Shiraz

Taxon	Isolate code	Matrix	Date of isolation	Taxon	Isolate code	Matrix	Date of isolation
<i>P. atramentosum</i>	TIR.01-TIR.11	Tiri bread	14.5.2019	<i>P. italicum</i>	C.SIN.01- C.SIN.28	<i>C. sinensis</i>	1.2.2019
	TIR.12-TIR.20	Tiri bread	19.5.2019		C-SIN-33	<i>C. sinensis</i>	1.2.2019
<i>P. chrysogenum</i>	TIR.21-TIR.31	Tiri bread	2.6.2019		C.TAN.13	<i>C. tangerine</i>	24.4.2019
	TIR.32-TIR.41	Tiri bread	10.6.2019		C.TAN.22- C.TAN.23	<i>C. tangerine</i>	24.4.2019
	FAN.01- FAN.09	Loaves bread	14.6.2019		C.AUR.08- C.AUR.10	<i>C. aurantium</i>	21.3.2019
	FAN.10- FAN.13	Loaves bread	16.6.2019		C.AUR.15- C.AUR.21	<i>C. aurantium</i>	21.3.2019
<i>P. citrinum</i>	LAV.01- LAV.18	Lavash bread	24.5.2019		C.LIME.08	<i>C. limetta</i>	15.3.2019
	SG.1- SG.5	Sangak bread	10.10.2019		C.LIME.16	<i>C. limetta</i>	15.3.2019
	SG.6-SG.8	Sangak bread	12.10.2019		C.LIME.25- C.LIME.34	<i>C. limetta</i>	18.3.2019
	BR.1- BR.14	Barbari bread	23.10.2019		C.LAT.01- C.LAT.02	<i>C. × aurantiifolia</i>	31.5.2019
<i>P. digitatum</i>	C.LIME.01	<i>C. limetta</i>	15.3.2019		C.LAT.10- C.LAT.23	<i>C. × aurantiifolia</i>	31.5.2019
	C.LIME.18 - C.LIME.23	<i>C. limetta</i>	15.3.2019		C.LIM.02- C.LIM.23	<i>C. limon</i>	16.3.2019
	C.LIME.32- CLIME.36	<i>C. limetta</i>	18.3.2019		C.PAR.01- C.PAR.02	<i>C. paradise</i>	24.3.2019
	C.LAT.24- C.LAT.32	<i>C. × aurantiifolia</i>	5.6.2019		C.PAR.17- C.PAR.21	<i>C. paradise</i>	24.3.2019
	C.LIM.24- C.LIM.25	<i>C. limon</i>	16.3.2019		C.BAR.01- C.BAR.17	<i>C. bergamia</i>	15.3.2019
	C.PAR.05- C.PAR.11	<i>C. paradise</i>	24.3.2019	<i>P. oxalicum</i>	LAV.22- LAV.32	Lavash bread	10.6.2019
	A.MAR.01- A.MAR.12	<i>Aegle marmelos</i>	20.2.2019		TF.01- TF.09	Taftoun bread	10.6.2019
	C.JAP.01- C.JAP.15	<i>C. japonica</i>	16.3.2019	<i>P. polonicum</i>	TF.10- TF.12	Taftoun bread	11.6.2019
	C.AUR.01- C.AUR.06	<i>C. aurantium</i>	25.1.2019		LAV.19- LAV.21	Lavash bread	10.6.2019
					LAV.25- LAV.29	Lavash bread	10.6.2019

جدول ۱ (ادامه) Table 1 (contd)

Table 1 (contd)		جدول ۱ (ادامه)					
<i>P. discolor</i>	C.SIN.34- C.SIN.47	<i>C. sinensis</i>	1.2.2019	FAN.14- FAN27	Lavash bread	27.6.2019	
	C.TAN.01- C.TAN.08	<i>C. tangerine</i>	25.3.2019	TIR.42- TIR.57	Tiri bread	31.10.2019	
<i>P. ulaiense</i>	C.SIN.04- C.SIN.05	<i>C. sinensis</i>	1.2.2019	C.BAR.10	<i>C. bergamia</i>	Bergamot	1.2.2019
	C.SIN.15- C.SIN.16	<i>C. sinensis</i>	1.2.2019	C.LIME.02	<i>C. limetta</i>	Lemon thistle	19.3.2019
	C-SIN-29	<i>C. sinensis</i>	1.2.2019	C.LIME.04	<i>C. limetta</i>	Lemon thistle	19.3.2019
	C.PAR.03- C.PAR.04	<i>C. paradise</i>	16.3.2019	C.LIME.07	<i>C. limetta</i>	Lemon thistle	19.3.2019
	C.PAR.12 – C.PAR.13	<i>C. paradise</i>	16.3.2019	C.LAT.04	<i>C. × aurantiifolia</i>	Key lime	9.4.2019
	C.TAN.09- C.TAN.11	<i>C. tangerine</i>	1.2.2019	C.LAT.06	<i>C. × aurantiifolia</i>	Key lime	9.4.2019
	C.AUR.11- C.AUR.13	<i>C. aurantium</i>	1.2.2019	C.LIM.01	<i>C. limon</i>	Lemon	9.4.2019
	C.BAR.02	<i>C. bergamia</i>	1.2.2019	A-MRA-11	<i>Aegle marmelos</i>	Bael	1.2.2019

گونه (Frisvad & Samson 2004) تطابق دارد. مهم‌ترین ویژگی ریخت‌شناختی این گونه، وجود کنیدیوم‌های کروی تا نیمه‌کروی با دیواره خاردار است. گونه *P. discolor* به ۲ گونه *P. cavernicola* و *P. echinulatum* شباهت دارد و از طریق عدم تولید رنگ‌دانه قرمز در محیط‌کشت از آن‌ها متمایز می‌شود (Frisvad & Samson 2004).

پیش از این، گونه *P. discolor* از کشورهای دانمارک، فرانسه، آلمان، ایتالیا، آمریکا، کانادا، هند و کره جنوبی از میزبان‌های مختلف شامل پنیر، گردو، بادام، بادام‌زمینی، میوه بلوط، شاه‌بلوط، پیاز، غده گل‌ها و سیب جداسازی شده است (Frisvad & Samson 2004, Frisvad et al. 2007). تاکنون گزارشی از جداسازی این گونه از مرکبات در دنیا و همچنین از ایران وجود ندارد و این نخستین گزارش از جداسازی *P. discolor* از مرکبات در دنیا است. آزمون بیماری‌زایی نشان داد که این گونه قادر به تولید پوسیدگی در میوه‌های پرتقال، نارنگی، لیموخرگی، نارنج، لیموترش شیرازی، لیموشیرین و بکرایبی بود.

1- Frisvad & Samson, Antonie van Leeuwenhoek 72(2): 120 (1997)

این گونه، تنها از نارنگی‌های تانجلوی آلوده جداسازی شد. پرگنه‌های آن روی محیط‌کشت CYA در ۲۵ درجه سلسیوس به رنگ سبز تیره با ترشحات شفاف و رنگ پشت پرگنه‌ها به رنگ کرم مایل به زرد بود و میانگین رشد شعاعی جدایه‌ها در محیط‌کشت CYA بین ۲۵ تا ۳۰ میلی‌متر بود و در ۳۰ درجه سلسیوس قادر به رشد نبودند. در محیط‌کشت MEA میانگین رشد شعاعی جدایه‌ها در ۲۵ درجه سلسیوس بین ۲۲ تا ۲۷ میلی‌متر و پرگنه‌ها به رنگ سبز زیتونی و دارای بافت مخملی تا کرکی بودند. در محیط‌کشت YES میانگین رشد شعاعی جدایه‌ها در ۲۵ درجه سلسیوس بین ۳۰ تا ۳۶ میلی‌متر بود و پشت پرگنه‌ها به رنگ زرد یا قهوه‌ای متمایل به قرمز مشاهده شد. جدایه‌ها دارای کنیدیوفورهای سه‌شاخه با دیواره صاف از میسیلیوم‌های زیرسطحی ۴-۳/۵ × ۲۵۰-۲۰۰ میکرومتر، متولا استوانه‌ای شکل، ۱۲ تا ۱۵ میکرومتر، فیالیدها استوانه‌ای شکل، ۸/۲ تا ۱۲ میکرومتر و کنیدیوم‌ها دارای دیواره خاردار و کروی تا نیمه‌کروی به ابعاد ۳-۳/۲ × ۳-۴ میکرومتر بودند (شکل ۱). نتایج بررسی‌های ریخت‌شناختی به دست آمده در این پژوهش با توصیف این



شکل ۱- گونه *Penicillium discolor* جدایه C.TAN.01: A-C: پراکنه‌ها روی محیط‌کشت‌های مختلف شامل CYA (A)، MEA (B) و YES (C) پس از هفت روز در ۲۵ درجه سلسیوس، D-F: پشت پراکنه‌ها روی محیط‌کشت‌های مختلف شامل CYA (D)، MEA (E) و YES (F) پس از هفت روز در ۲۵ درجه سلسیوس، G: کنیدیوم‌های کروی تا نیمه‌کروی با دیواره خاردار و کنیدیوفورهای سه‌شاخه (مقیاس = ۱۰ میکرومتر).

Fig. 1. *Penicillium discolor*, Isolate C.AUR.11: A-C. Colonies on various media including CYA (A), MEA (B) and YES (C) after seven days at 25 °C, D-F. Back view of colonies on various media including CYA (D), MEA (E) and YES (F) after seven days at 25 °C, G. Rough-walled globose to subglobose conidia and terverticillate conidiophores (Bar = 10 μm).

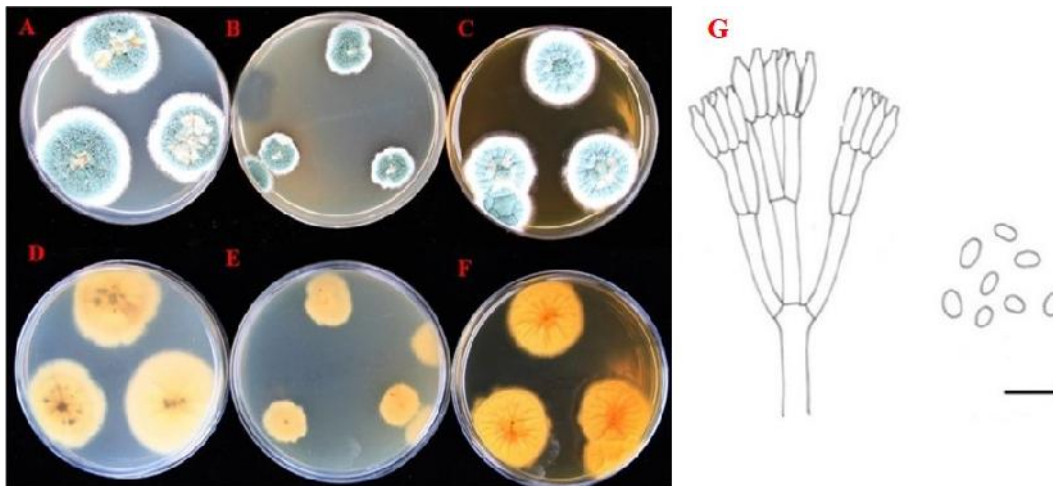
است. برخی از جدایه‌های این گونه در محیط‌کشت PDA تولید اندام کرومیای گریزی شکل، ۲ تا ۸ میلی‌متری می‌کردند (شکل ۲). طبق توصیف تاشیرو و همکاران (Tashiro *et al.* 2012) و همچنین هولمز و همکاران (Holmes *et al.* 1994)، پراکنه‌های گونه *P. ulaiense* در محیط‌کشت CYA به رنگ سبز کم‌رنگ تا سبز خاکستری و پشت پراکنه‌ها بی‌رنگ با میانگین رشد شعاعی ۱ تا ۱۵ میلی‌متر بود و در محیط‌کشت PDA تولید کرومیای ۱ تا ۸ میلی‌متر می‌کرد. همچنین، دارای کنیدیوفورها سه‌شاخه، کنیدیوم‌های با دیواره صاف و استوانه‌ای شکل، $۴-۱۱ \times ۲-۴/۵$ میکرومتر، متولا ۸ تا ۲۰ میکرومتر و فیالیدهای ۱۰ تا ۱۵ میکرومتر بودند. نتایج این پژوهش با نتایج تحقیقات تاشیرو و همکاران (۲۰۱۲) و هولمز و همکاران (۱۹۹۴) دارای تفاوت‌هایی بود. از جمله میانگین رشد جدایه‌ها در محیط‌کشت CYA در ۲۵ درجه سلسیوس در این پژوهش ۱۷ تا ۲۵ میلی‌متر بود، در حالی که در پژوهش هولمز و همکاران (۱۹۴۴) و تاشیرو و همکاران (۲۰۱۲)، ۱۵ تا ۱۸ میلی‌متر ذکر شده بود. همچنین، اندازه کنیدیوم‌ها در این پژوهش $۳-۲/۵ \times ۴/۵-۵$ میکرومتر بود، در حالی که در پژوهش نامبردگان $۴-۱۱ \times ۲-۴/۵$ میکرومتر ذکر شده بود. این گونه بسیار به گونه *P. italicum* شباهت دارد، ولی با میانگین آهنگ رشد بسیار آهسته‌تر و کندتر از *P. italicum* و همچنین با بی‌رنگ بودن پشت پراکنه در تمام محیط‌کشت‌های بررسی شده (Frisvad & Samson 2004) و

۲- *Penicillium ulaiense* Hsieh, Su & Tzean, Transactions of the Mycological Society of the Republic of China 2 (2): 161(1987)

این گونه از میوه‌های پرتقال، نارنگی، نارنج، لیموشیرین، لیموترش شیرازی، ترنج، لیموخارگی، گریپ‌فورت و بکرایی جداسازی شد. میسیلیوم‌های این گونه سفیدرنگ، کنیدیوم‌زایی آن فراوان و پراکنه‌های آن روی محیط‌کشت CYA در ۲۵ درجه سلسیوس به رنگ سبز کم‌رنگ تا سبز خاکستری و در حاشیه پراکنه‌ها به رنگ سفید و رنگ پشت پراکنه‌ها بی‌رنگ تا کرم‌رنگ بود و میانگین رشد شعاعی جدایه‌ها در محیط‌کشت CYA بین ۱۷ تا ۲۵ میلی‌متر بود و در ۳۰ درجه سلسیوس رشد نمی‌کردند. در محیط‌کشت MEA میانگین رشد شعاعی جدایه‌ها در ۲۵ درجه سلسیوس بین ۱۵ تا ۲۰ میلی‌متر بود و پراکنه‌ها به رنگ سبز زیتونی و دارای بافت مخملی بودند. در محیط‌کشت YES میانگین رشد شعاعی جدایه‌ها در ۲۵ درجه سلسیوس بین ۲۵ تا ۳۲ میلی‌متر و پشت پراکنه‌ها به رنگ کرم متمایل به زرد بود. این گونه دارای کنیدیوفورها سه‌شاخه باریک و بلند با دیواره صاف به ابعاد $۴-۵ \times ۲۰۰-۶۰$ میکرومتر از میسیلیوم‌های سطحی، فیالیدها استوانه‌ای شکل، ۹ تا ۱۲ میکرومتر و متولای استوانه‌ای شکل، ۱۰ تا ۱۵ میکرومتر و کنیدیوم‌ها دارای دیواره صاف با زنجیره نامنظم و بیضوی تا استوانه‌ای شکل، به ابعاد $۳/۵-۲/۵ \times ۴/۵-۵$ میکرومتر بودند. مهم‌ترین ویژگی ریخت‌شناختی این گونه، تولید اندام کورمیوم‌های گریزی شکل

ایتالیا، نیوزلند (Holmes *et al.* 1994)، آرژانتین (Carrillo 1995)، مصر (Youssef *et al.* 2010)، ژاپن (Tashiro *et al.* 2012) و تونس (Rouissi *et al.* 2015) از میوه‌های مرکبات (گریپ‌فورت، نارنگی، لیمو و پرتقال) گزارش شده است، ولی تاکنون گزارشی از جداسازی این گونه در ایران وجود ندارد و این نخستین گزارش از جداسازی گونه *P. ulaiense* از مرکبات در ایران است.

تولید کرومیا (Tashiro *et al.* 2012) از یکدیگر متمایز می‌شوند. گونه *P. ulaiense* به عنوان عامل بیماری‌زای کپک ریشی (whisker mold) در میوه مرکبات به ویژه پرتقال و لیمو در دنیا شناخته می‌شود (Pitt & Hocking 2009, Youssef *et al.* 2015, Tashiro *et al.* 2012, Rouissi *et al.* 2010). گونه *P. ulaiense* قبلا از تایوان (Hsieh *et al.* 1987)، ایالات متحد آمریکا (Holmes *et al.* 1993, Skaria *et al.* 1993)، استرالیا،



شکل ۲- گونه *Penicillium ulaiense*، جدایه C.AUR.11. A-C: پرگنه‌ها روی محیط‌کشت‌های مختلف شامل CYA (A)، MEA (B) و YES (C) پس از هفت روز در ۲۵ درجه سلسیوس، D-F: پشت پرگنه‌ها روی محیط‌کشت‌های مختلف شامل CYA (D)، MEA (E) و YES (F) پس از هفت روز در ۲۵ درجه سلسیوس، G: کنیدیوم‌های بیضوی تا استوانه‌ای شکل و کنیدیوفورهای سه‌شاخه (مقیاس = ۱۰ میکرومتر).

Fig. 2. *Penicillium ulaiense*, Isolate C.AUR.11. A-C: Colonies on various media including CYA (A), MEA (B) and YES (C) after seven days at 25 °C, D-F: Back view of colonies on various media including CYA (D), MEA (E) and YES (F) after seven days at 25 °C, G: Ellipsoidal to cylindrical conidia and terverticillate conidiophores (Bar = 10 μm).

(Rossman 2013 &). این گونه تاکنون از کشورهای مختلف (Frisvad & Samson 2004) گزارش شده است. در ایران، این گونه از کامکوات (Sharzei & Banihashemi 2001)، کیوی (Taheri *et al.* 2006)، میوه مرکبات (Ebrahimi & Minassian 1973)، پسته (Baradaran *et al.* 2006) و کنجد (Gooya *et al.* 2000) نیز گزارش شده است.

گونه *P. italicum* به عنوان عامل کپک آبی مرکبات شناخته می‌شود که یکی از مخرب‌ترین بیماری‌های پس از برداشت در مرکبات محسوب می‌شود (Tao *et al.* 2014). این گونه از چندین کشور و از میوه‌های پرتقال، لیموترش و لیموترش شیرازی و همچنین از سایر میزبان‌ها شامل آوآکادو، انبه، سیب‌زمینی شیرین، خربزه، گوجه‌فرنگی، گندم و میوه انگور جداسازی شده است (Hernandez-Montiel & Ochoa 2007, Farr & Rossman 2013). این گونه نیز قبلا از میوه‌های مرکبات

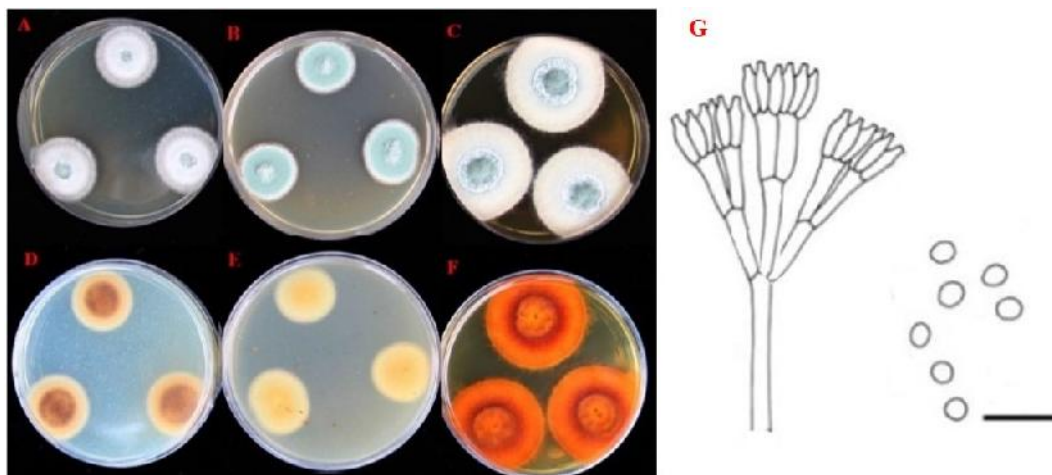
علاوه بر دو گونه ذکر شده در بالا، گونه‌های *P. digitatum* و *P. italicum* نیز از میوه‌های مرکبات آلوده در شیراز جداسازی شد. این دو گونه از نظر خصوصیات ریخت‌شناختی با توصیفات قبلی شباهت داشتند (Raper & Thom 1949, Samson *et al.* 2004, Frisvad & Samson 2004, Pitt & Hocking 2009). گونه *P. digitatum* به عنوان عامل کپک سبز مرکبات در دنیا شناخته می‌شود و تخمین زده می‌شود تا ۹۰٪ سبب خسارت اقتصادی به ویژه در مناطق نیمه‌گرمسیری می‌شود (Marcet- Houben *et al.* 2012). گونه *P. digitatum* علاوه بر میوه مرکبات شامل پرتقال، لیمو، نارنگی و گریپ‌فورت (Louw & Korsten *et al.* 2015) از فندق، پسته، دانه‌های قهوه، بادام‌زمینی، برنج، سویا، سورگوم، میوه پایاپا، چغندر، دانه ذرت، خربزه، گوجه‌فرنگی، سیب درختی و حتی گوشت نیز جداسازی شده است (Pitt & Hocking 2009, Farr & Rossman 2013).

خارج می‌شوند، متولای استوانه‌ای شکل، ۱۰ تا ۱۵ میکرومتر، فیالیدها استوانه‌ای شکل، ۷/۸۳ تا ۱۰ میکرومتر و دارای کنیدیوم‌های با دیواره صاف و کروی به قطر ۲/۶۳ میکرومتر بودند (شکل ۳). ویژگی‌های ریخت‌شناختی بررسی شده در این پژوهش با کلید شناسایی این گونه (Frisvad & Samson 2004) تطابق دارد. این گونه بسیار به گونه *P. chrysogenum* شباهت دارد و از طریق ایجاد رنگ قهوه‌ای در پشت پرگنه‌ها در محیط‌کشت CYA و YES از یکدیگر مجزا می‌شوند (Frisvad & Samson 2004). گونه *P. atramentosum* قادر به تولید قارچ‌زهر راکفورتین سی (Roquefortine C) و همچنین روگولوواسین (Rugulovasine) است (Cole & Cox 1981). این گونه، از کشورهای مختلف شامل دانمارک، نروژ، ایسلند، بریتانیا، هلند، سوییس، اسپانیا، کانادا، تانزانیا، استرالیا، نیوزلند و ژاپن از میزبان‌های متنوع مانند انواع پنیر، سوسیس، گردو و خاک (به ویژه خاک‌های گچی) گزارش شده است (Frisvad & Samson 2004). تاکنون گزارشی از این گونه در ایران منتشر نشده و این نخستین گزارش از گونه *P. atramentosum* در ایران و همچنین نخستین گزارش از جداسازی این گونه از نان گندم در دنیا است.

(Ebrahimi & Minassian 1973, Sharzei & Banihashemi 2001)، خاک (Mohammadi & Banihashemi 2006)، کیوی (Taheri et al. 2006) و پسته (Baradaran et al. 2006) از ایران گزارش شده است.

۳- *Penicillium atramentosum* Thom, U.S.D.A. Bureau of Animal Industry Bulletin 118: 65 (1910)

این گونه، از نان‌های آلوده تیری جداسازی شد. پرگنه‌های این گونه در محیط‌کشت CYA در ۲۵ درجه سلسیوس به رنگ سبز تیره در مرکز و اطراف سفید رنگ و پشت پرگنه‌ها قهوه‌ای روشن تا تیره دیده می‌شود. میانگین رشد شعاعی جدایه‌ها در محیط‌کشت CYA در ۲۵ درجه سلسیوس ۲۵ تا ۲۸ میلی‌متر بود و در ۳۰ درجه سلسیوس قادر به رشد نبودند. پرگنه‌ها در محیط‌کشت MEA به رنگ سبز خاکستری و میانگین رشد شعاعی در ۲۵ درجه سلسیوس بین ۲۵ تا ۳۲ میلی‌متر و دارای بافت مخملی بود. در محیط‌کشت YES میانگین رشد شعاعی جدایه‌ها در ۲۵ درجه سلسیوس بین ۳۴ تا ۴۰ میلی‌متر بود و پشت پرگنه‌ها به رنگ قهوه‌ای مایل به نارنجی دیده شد. دارای کنیدیوفورهای بلند، سه‌شاخه با دیواره صاف به ابعاد ۳-۴ × ۳۰۰-۵۰۰ میکرومتر از میسیلیوم‌های زیرسطحی



شکل ۳- گونه *Penicillium atramentosum*، جدایه TIR.5: A-C: پرگنه‌ها روی محیط‌کشت‌های مختلف شامل CYA (A)، MEA (B) و YES (C) پس از هفت روز در ۲۵ درجه سلسیوس، D-F: پشت پرگنه‌ها روی محیط‌کشت‌های مختلف شامل CYA (D)، MEA (E) و YES (F) پس از هفت روز در ۲۵ درجه سلسیوس، G: کنیدیوفورهای سه‌شاخه و کنیدیوم‌های کروی تا نیمه‌کروی (مقیاس = ۱۰ میکرومتر).

Fig. 3. *Penicillium atramentosum*, Isolate C.AUR.11: A-C. Colonies on various media including CYA (A), MEA (B) and YES (C) after seven days at 25 °C, D-F. Back view of colonies on various media including CYA (D), MEA (E) and YES (F) after seven days at 25 °C, G. Terverticillate conidiophores and globose to subglobose conidia (Bar = 10 µm).

جدول ۲- خصوصیات ماکروسکوپی گونه‌های پنسیلیوم جداسازی شده از مرکبات و نان در شیراز

Table 2. Macroscopic features of *Penicillium* species isolated from citrus and bread in Shiraz (Iran)

Taxon	CYA (25 °C)			CYA (30 °C)		MEA (25 °C)		YES (25 °C)	
	Colony diameter (mm)	Color obverse	Color reverse	Colony diameter (mm)	Colony diameter (mm)	Colony texture	Color obverse	Colony diameter (mm)	Color reverse
<i>P. atramentosum</i>	25-28	Dark green	Dark-brown to rosy-brown	0*	25-32	Velutinous	Grey-green	34-40	Brownish orange
<i>P. chrysogenum</i>	35-40	Blue green to pure green	Cream to yellow	22-24	20-22	Floccose to velutinous	Olive-green	37-40	Citrine-yellow
<i>P. citrinum</i>	25-27	Dark green to grey green	Pale to yellow	13-17	20-22	Velutinous	Olive-green	39-50	Yellow to orange
<i>P. digitatum</i>	37-55	Grey green to olive green	Yellow to light-brown	0	30-54	Velutinous	Olive-green	45-75	Orange to light-brown
<i>P. discolor</i>	25-30	Dark green	Cream to yellow	0	22-27	Velutinous to fasciculate	Olive-green	30-36	Yellow to brownish red
<i>P. italicum</i>	35-50	Blue to grey green	Brownish orange or reddish brown	0-8	30-40	Velutinous to fasciculate	Olive-green	55-60	Reddish brown
<i>P. oxalicum</i>	35-60	Grey green to olive green	Yellow to pale	10-12	22-25	Velutinous	Grey-green to olive-green	15-2	Pale to yellow
<i>P. polonicum</i>	25-27	Blue green	Pale to cream or yellow	10-12	30-37	Velutinous	Pure green	37-44	Yellow to orange
<i>P. roqueforti</i>	20-40	Grey green	Blue to blackish blue	7-10	30-34	Velutinous	Blue-green	39-50	Blue to blackish blue
<i>P. ulaiense</i>	17-25	Dull green to greyish green	Pale to cream	0	15-20	Velutinous	Olive-green	25-32	Cream to yellow

* 0 = No growth was observed.

جدول ۳- خصوصیات میکروسکوپی گونه‌های پنسیلیوم جداسازی شده از میوه‌های مرکبات و نان در شیراز

Table 3. Microscopic features of *Penicillium* species isolated from citrus and bread in Shiraz (Iran)

Taxon	Character									
	Conidiophore			Conidia		Phialide		Metulae		
	Branching pattern	Ornamentation	Length/width (µm)	Ornamentation	Shape	Length/width (µm)	Shape	Length (µm)	Shape	Length (µm)
<i>P. atramentosum</i>	Terverticillate	Smooth-walled	3-4 × 300-500	Smooth	Globose	2.61-2.63	Cylindrical	7.8-10	Cylindrical	10-15
<i>P. chrysogenum</i>	Bi-, ter- and quarterverticillae	Smooth-walled	4-3 × 200-300	Smooth	Globose or subglobose	3.5-3.55	Cylindrical	7-8	Cylindrical	8-12
<i>P. citrinum</i>	Birverticillate	Smooth-walled	2-3 × 150-200	Smooth	Globose or subglobose	2.2-3	Ampulliform	7-10	Whorled	15-20
<i>P. digitatum</i>	Terverticillate	Smooth-walled	5-7 × 70-150	Smooth	Ellipsoidal to cylindrical	6-3 × 7-6	Cylindrical	10-15	Cylindrical	15-20
<i>P. discolor</i>	Terverticillate	Smooth-walled	3-3.5 × 200-250	Rough-walled	Globose to subglobose	3-3.2 × 3-4	Cylindrical	8.2-12	Cylindrical	12-15
<i>P. italicum</i>	Terverticillate	Smooth-walled	3.2-5 × 150-250	Smooth	Ellipsoidal to cylindrical	3-3.2 × 4-3	Cylindrical	8.2-12	Cylindrical	14-15
<i>P. oxalicum</i>	Birverticillate	Smooth-walled	2.7-3 × 200-300	Smooth	Ellipsoidal	3.5-5 × 5-6	Cylindrical	10-15	Cylindrical	15-25
<i>P. polonicum</i>	Terverticillate and birverticillate	Smooth-walled	4-3 × 180-300	Smooth	Globose or subglobose	3-4	Flask-shaped	8-10	Cylindrical	10-12
<i>P. roqueforti</i>	Terverticillate	Rough-walled	4-5 × 150-250	Smooth	Globose	3.5-5	Cylindrical	8-10	Cylindrical	10-17
<i>P. ulaiense</i>	Terverticillate	Smooth-walled	4-5 × 60-200	Smooth	Ellipsoidal to cylindrical	2.5-3.5 × 4.5-5	Cylindrical	9-12	Cylindrical	10-15

در هنگام برداشت میوه و حین حمل و نقل و همچنین بسته‌بندی آن‌ها، از آسیب فیزیکی به پوست میوه نسبت به بروز هر گونه آلودگی جلوگیری شود.

در مورد گونه‌های به دست آمده از نان، تنوع بیشتری از گونه‌های آلوده‌کننده مشاهده شد که ممکن است این مسئله به دلیل وجود کربوهیدرات‌های قابل دسترس در نان باشد. از آن جا که بیشتر گونه‌های به دست آمده از این دو پرده‌دار قادر به تولید قارچ‌زهرهای بسیار خطرناکی هستند که سمیت آن‌ها در حیوانات و انسان‌ها به اثبات رسیده، استفاده از میوه‌ها و آمیوه‌ها و سایر فرآورده‌های به دست آمده از مرکبات آلوده و همچنین مصرف نان‌های آلوده ممکن است سبب ایجاد مسمومیت در انسان شوند. از طرف دیگر، به دلیل ارزان بودن ضایعات نان ممکن است این ضایعات به عنوان غذای طیور و دام مورد استفاده قرار گیرد که در این صورت این قارچ‌زهرها در گوشت، شیر و تخم‌مرغ تجمع یافته و بار دیگر وارد چرخه غذایی انسان‌ها می‌شوند و به این صورت تهدید بزرگی برای سلامت جامعه محسوب خواهند شد. در نهایت، با توجه به تنوع زیستی مشاهده شده، پیشنهاد می‌شود که تحقیقات بیشتری در مورد شناسایی جدایه‌های سایر ارقام مرکبات و همچنین جدایه‌های مربوط به نان‌های دیگر صورت گیرد. به علاوه، بررسی درون‌مایه تولید قارچ‌زهر در این گونه‌های پنسیلیوم از نظر نوع، کمیت و کیفیت می‌تواند به برنامه‌ریزی برای بهداشت، سلامت و جلوگیری از فساد میکروبی این دسته از مواد غذایی کمک نماید.

References

- Ahmadi, K., Gholizadeh, H., Abadzadeh, H., Hosseinpour, R., Hatami, F., Rezaei, M.M., Arab, H., Kazemi Fard, R. & Abd Shah, H. 2012. Agricultural Statistics. Ministry of Jihad-e-Agriculture, Deputy of Planning and Economics, Information and Communication Technology Center. Tehran (In Persian).
- Alvarenga, N., Birolli, W.G., Selegim, M.H. & Porto, A.L. 2014. Biodegradation of methyl parathion by whole cells of marine-derived fungi *Aspergillus sydowii* and *Penicillium decaturense*. *Chemosphere* 117: 47–52.
- Baradaran, G.H., Aminaii, M.M., Kakouii nejjhad, M. & Arjmand, N. 2006. Study on mycoflora of

علاوه بر گونه *Penicillium atramentosum* پنج گونه دیگر در این پژوهش شامل *P. chrysogenum*, *P. roqueforti* و *P. polonicum*، *P. oxalicum*، *P. citrinum* نیز از انواع نان‌های آلوده جداسازی و شناسایی شدند. تمام ویژگی‌های ریخت‌شناسی این گونه‌ها به جز تفاوت‌های اندک در اندازه اندام‌های بررسی شده با توصیفات پیشین این گونه‌ها در منابع تطابق داشت (Frisvad & Samson 2004, Pitt & Hocking 2009, Houbraken et al. 2011). به استثنای یک گونه (*P. roqueforti*)، سایر گونه‌های به دست آمده در این پژوهش تاکنون از نان‌های آلوده جداسازی و گزارش نشده‌اند و این نخستین گزارش از جداسازی این گونه‌ها از نان‌های آلوده گندم در دنیا است.

در نهایت، بررسی این پژوهش در مورد گونه‌های پنسیلیوم آلوده‌کننده میوه مرکبات و نان مشخص کرد که میان دو پرده‌دار مورد بررسی (نان و میوه مرکبات) از نظر تنوع زیستی تفاوت‌هایی مشخص وجود دارد. این امر حاکی از رفتار انتخابی گونه‌های پنسیلیوم در انتخاب بسترهای خود است. تنوع زیستی گونه‌های جداسازی شده از میوه مرکبات کم و بیش‌ترین جدایه‌های به دست آمده مربوط به دو گونه *P. italicum* و *P. digitatum* بود. در میوه مرکبات، ترکیبات فرار ترشح شده از بافت زخم شده میوه مرکبات سبب تحریک جوانه‌زنی هاگ و رشد لوله تندش می‌شود که ممکن است این امر موجب رفتار انتخابی گونه‌های آلوده‌کننده مرکبات گردد. بنابراین، بهتر است

- pistachio nuts and aflatoxin contamination in Kerman Province. Proceedings of the 17th Iranian Plant Protection Congress, 2–5 Sept., Karaj, Iran: p. 550.
- Cakmakci, S., Hayaloglu, A.A. & Dagdemir, E. 2014. Effects of *Penicillium roqueforti* and whey cheese on gross composition, microbiology and proteolysis of mould-ripened civil cheese during ripening. *International Journal of Dairy Technology* 67(4): 594–603.
- Carrillo, L. 1995. *Penicillium ulaiense* Hsieh, Su & Tzean a post-harvest pathogen of citrus fruits in northeastern Argentina. *Revista Argentina de Microbiología* 27(2): 107–113.
- Cole, R.J. & Cox, R.H. 1981. Handbook of Toxic Fungal Metabolites. Academic Press, USA, 672 pp.

- Ebrahimi, A.G.H. & Minassian, V. 1973. An index of cultivated and wild plant diseases in Khuzestan. College of Agriculture, Jundi Shapur University, Ahvaz, Iran.
- Ebrahimzadeh, A., Mohammadzadeh Rostami, F. & Salimi, A. 2014. Prevalence of fungal contamination of flours in Zahedan Bakeries in 2013. Medical Journal of Mashad University of Medical Sciences 57(5): 705–710 (In Persian with English summary).
- El-Gali, Z.I. 2014. Control of *Penicillium digitatum* on orange fruits with calcium chloride dipping. Journal of Microbiology Research and Reviews 2(6): 54–61.
- Farr, D.F. & Rossman, A.Y. 2013. Fungal Databases, Systematic Mycology and Microbiology Laboratory, ARS, USDA. Available at: <http://nt.ars-grin.gov/fungaldatabases>. Accessed: Jul. 12, 27 & Aug. 2, 7.
- Filtenborg, O., Frisvad, J.C. & Thrane, U. 1990. The Significance of Yeast Extracts Composition on Metabolite Production in *Penicillium*. Pp. 433–440. In: Modern Concepts in *Penicillium* and *Aspergillus* Classification (Samson, R.A. & Pitt, J.I., eds). Plenum Press, New York.
- Frisvad, J.C. & Samson, R.A. 2004. Polyphasic taxonomy of *Penicillium* subgenus *Penicillium*. A guide to identification of food and airborne terverticillate penicillia and their mycotoxins. Studies in Mycology 49(1): 1–174.
- Frisvad, J.C. 1981. Physiological criteria and mycotoxin production as aids in identification of common asymmetric penicillia. Applied and Environmental Microbiology 41(3): 568–579.
- Frisvad, J.C., Andersen, B. & Samson, R.A. 2007. Association of Molds to Foods. Pp. 199–240. In: Food Mycology: Multifaceted Approach to Fungi and Food (Samson, R.A. & Dijksterhuis, J., eds). Boca Raton, Francis.
- Frisvad, J.C., Smedsgaard, J. & Larsen, T.O. 2004. Mycotoxins, drugs and other extrolites produced by species in *Penicillium* subgenus *Penicillium*. Studies in Mycology 49(201): 201–241.
- Giraud, F., Giraud, T. & Aguilera, G. 2010. Microsatellite loci to recognize species for the cheese starter and contaminating strains associated with cheese manufacturing. International Journal of Food Microbiology 137(2–3): 204–213.
- Gooya, M., Ershad, D. & Riahi, H. 2000. An investigation on mycoflora of sesame seeds in Iran. Rostaniha 1: 63–85 (In Persian).
- Hernandez-Montiel, L.G. & Ochoa, J.L. 2007. Fruit rot caused by *Penicillium italicum* on lemon (*Citrus aurantifolia*) in Colima, México. Plant Disease 91(6): 767–767.
- Holmes, G.J., Eckert, J.W. & Pitt, J.I. 1993. A new postharvest disease of citrus in California caused by *Penicillium ulaiense*. Plant Disease 77: 537.
- Holmes, G.J., Eckert, J.W. & Pitt, J.I. 1994. Revised description of *Penicillium ulaiense* and its role as a pathogen of citrus fruit. Phytopathology 84(7): 719–727.
- Houbraken, J., Frisvad, J.C. & Samson, R.A. 2011. Taxonomy of *Penicillium* section *Citrina*. Studies in Mycology 70: 53–138.
- Houbraken, J. & Samson, R.A. 2011. Phylogeny of *Penicillium* and the segregation of Trichocomaceae into three families. Studies in Mycology 70: 1–51.
- Hsieh, H.M., Su, H.J. & Tzean, S.S. 1987. The genus *Penicillium* in Taiwan I. Two new taxa of synnematus *Penicillium*. Transactions of the Mycological Society of Republic of China 2(2): 157–168.
- Kim, H.Y., Park, H.M. & Lee, C.H. 2012. Mass spectrometry-based chemotaxonomic classification of *Penicillium* species (*P. echinulatum*, *P. expansum*, *P. solitum*, and *P. oxalicum*) and its correlation with antioxidant activity. Journal of Microbiological Methods 90: 327–335.

- Lorente, D., Escandell-Montero, P., Cubero, S., Gómez-Sanchis, J. & Blasco, J. 2015. Visible-NIR reflectance spectroscopy and manifold learning methods applied to the detection of fungal infections on citrus fruit. *Journal of Food Engineering* 163: 17–24.
- Louw, J. P. & Korsten, L. 2015. Pathogenicity and host susceptibility of *Penicillium* spp. on citrus. *Plant Disease* 99(1): 21–30.
- Ludemann, V., Greco, M. & Rodríguez, M.P. 2010. Conidial production by *Penicillium nalgiovense* for use as starter cultures in dry fermented sausages by solid state fermentation. *LWT-Food Science and Technology* 43(2): 315–318.
- Marcet-Houben, M., Ballester, A.R., de la Fuente, B., Harries, E., Marcos, J.F., González-Candelas, L. & Gabaldón, T. 2012. Genome sequence of the necrotrophic fungus *Penicillium digitatum*, the main postharvest pathogen of citrus. *BMC Genomics* 13(1): 646.
- Mohammadi, H. & Banihashemi, Z. 2006. Isolation and identification of *Penicillium* species from soil in Fars province. *Proceedings of the 17th Iranian Plant Protection Congress*, 2–5 Sept., University of Tehran, Karaj: p. 453.
- NBS/ISCC Color System. 2017. <http://tx4.us/nbs-iscc.htm>. Accessed: 18 Jan. 2017.
- Palou, L. 2014. *Penicillium digitatum*, *Penicillium italicum* (green mold, blue mold). Academic Press, London, 102 pp.
- Park, M.S., Fong, J.J., Oh, S.Y., Houbraken, J., Sohn, J.H., Hong, S.B. & Lim, Y.W. 2015. *Penicillium jejuense* sp. nov., isolated from the marine environments of Jeju island, Korea. *Mycologia* 107(1): 209–216.
- Perrone, G., Samson, R.A., Frisvad, J.C., Susca, A., Gunde-Cimerman, N., Epifani, F. & Houbraken, J. 2015. *Penicillium salamii*, a new species occurring during seasoning of dry-cured meat. *International Journal of Food Microbiology* 193: 91–98.
- Peterson, S.W., Jurjevi, C.Z. & Frisvad, J.C. 2015. Expanding the species and chemical diversity of *Penicillium* section *Cinnamopurpurea*. *PLoS One* 10(4): e0121987.
- Petzinger, E. & Weidenbach, A. 2002. Mycotoxins in food chain: the role of ochratoxins. *Journal of Livestock Production Science* 76(3): 245–250.
- Pitt, J.I. & Hocking, A.D. 1999. *Fungi and food Spoilage*. Aspen Publishers, London, 593 pp.
- Pitt, J.I. 2002. *Biology and Ecology of Toxicogenic Penicillium Species*. Pp. 29–41. In: *Mycotoxins and Food Safety*. Springer, Boston.
- Pitt, J. & Hocking, D.A. 2009. *Fungi and Food Spoilage*. Springer, London, 503 pp.
- Pitt, J.I. 1979. The Genus *Penicillium* and its Teleomorphic States *Eupenicillium* and *Talaromyces*. Academic Press, 412 pp., London.
- Pitt, J.I. 1980. The Genus *Penicillium* and its Teleomorphic States *Eupenicillium* and *Talaromyces*. Academic Press, London, 634 pp.
- Pitt, J.I. 1988. *A Laboratory Guide to Common Penicillium Species*. Commonwealth Scientific and Industrial Research Organization, London, 188 pp.
- Ramirez, C. 1982. *Manual and Atlas of the Penicillia*. Elsevier Biomedical Press, Amsterdam, 482 pp.
- Raper, K.B. & Thom, C. 1949. *A Manual of the Penicillia*. Williams and Wilkins, Baltimore, 700 pp.
- Ribeiro Correa, T.L., de Queiroz, M.V. & de Araujo, E.F. 2015. Cloning, recombinant expression and characterization of a new phytase from *Penicillium chrysogenum*. *Microbiological Research* 170: 205–212.
- Rong, C., Ma, Y., Wang, S., Liu, Y., Wang, L., Ma, K. & Xu, F. 2016. *Penicillium chroogomphum*, a new species in *Penicillium* section *Ramosa* isolated from fruiting bodies of *Chroogomphus rutilus* in China. *Mycoscience* 57(1): 79–84.
- Rouissi, W., Cherif, M., Ligorio, A., Ippolito, A. & Sanzani, S.M. 2015. First report of *Penicillium*

- ulaiense* causing whisker mould on stored citrus fruit in Tunisia. *Journal of Plant Pathology* 97(2): 402.
- Samson, R.A., Hoekstra, E.S. & Frisvad, J.C. 2004. Introduction to Food- and Airborne Fungi. Centralbureau voor Schimmelcultures, Utrecht, 389 pp.
- Samson, R.A., Houbraken, J. & Thrane, U. 2010. Food and Indoor Fungi. CBS Laboratory Manual, 553 pp.
- Sang, H., Kim, A.T.J., Choi, C.S., Deng, Y.P., Paul, J.X., Sung, N.C. & Yu, S.H. 2013. *Penicillium daejeonium* sp. nov., a new species isolated from a grape and schisandra fruit in Korea. *Journal of Microbiology* 51(4): 536–539.
- Sharzei, A. & Banihashemi, Z. 2001. Identification of *Penicillium* species in Shiraz area. Proceeding of the 2th Asian International Mycological Congress, 17–20 Sept., Karaj, Iran: p. 20.
- Skaria, M., Eayre, C.G. & Fucik, J. 1993. Whisker mold, a new postharvest disease of citrus in Texas caused by fungus, *Penicillium ulaiense*. *Phytopathology* 83: 1417.
- Taheri, H., Ershad, D., Gholamian, E. & Fifaee, R. 2006. Fungal agents of kiwifruit rots in cool storages in north of Iran. Proceedings of the 17th Iranian Plant Protection Congress, 2–5 Sept., Karaj, Iran: p. 295.
- Tao, N., Yang, Q.O. & Jia, L. 2014. Citral inhibits mycelial growth of *Penicillium italicum* by a membrane damage mechanism. *Food Control* 41: 116–121.
- Tashiro, N., Manabe, K. & Ide, Y. 2012. First report of whisker mold, a postharvest disease on citrus caused by *Penicillium ulaiense* (in Japan). *Journal of general plant pathology* 78(2): 140–144.
- Vanderzant, C. & Splittstoesser, D.F. 1992. Compendium of methods for the microbiological examination of foods. APHA, Washington, D.C.
- Visagie, C.M., Houbraken, J., Frisvad, J.C., Hong, S.B., Klaassen, C.H., Perrone, G., Seifert, K.A., Varga, J., Yaguchi, T. & Samson, R.A. 2014. Identification and nomenclature of the genus *Penicillium*. *Studies in Mycology* 78: 343–371.
- Visagie, C.M., Roets, F. & Jacobs, K. 2009. A new species of *Penicillium*, *P. ramulosum* sp. nov. from the natural environment. *Mycologia* 101(6): 1547–1554.
- Xiao, Y.Z., Wu, D.K., Zhao, S.Y., Lin, W.M. & Gao, X.Y. 2015. Statistical optimization of alkaline protease production from *Penicillium citrinum* YL-1 under solid-state fermentation. *Preparative Biochemistry and Biotechnology* 45(5): 447–462.
- Yamazaki, H., Koyama, N., Omura, S. & Tomoda, H. 2010. New rugulosins, anti-MRSA antibiotics, produced by *Penicillium radicum* FKI-3765-2. *Organic Letters* 12(7): 1572–1575.
- You, Y.H., Cho, H.S., Song, J., Kim, D.H., Houbraken, J. & Hong, S.B. 2014. *Penicillium koreense* sp. nov., isolated from various soils in Korea. *Journal of Microbiology and Biotechnology* 24(12): 1606–1608.
- Youssef, K., Ahmed, Y., Ligorio, A., D'Onghia, A.M., Nigro, F. & Ippolito, A. 2010. First report of *Penicillium ulaiense* as a postharvest pathogen of orange fruit in Egypt. *Plant Pathology* 59: 1174.
- Zöllner, P. & Mayer-Helm, B. 2006. Trace mycotoxin analysis in complex biological and food matrices by liquid chromatography- atmospheric pressure ionization mass spectrometry: A review. *Journal of Chromatography* 1136(2): 123–169.