مقاله علمی پژوهشی
مجله دوفصل نامه
مهندسی ژنتیک و ایمنی زیستی
ISSN 2588-5073 چاپی
ISSN 2588-5081 الکترونیکی online
دوره ۱٤، شماره ۱، بهار و تابستان ۱٤۰٤
صفحه ۱۱۰-۱۰۲

Research Article
Genetic Engineering and Biosafety Journal 2025
Volume 14, Number 1, Pages: 102-110

http://gebsj.ir/

https://ecc.isc.ac/showJournal/23064

10.61882/gebsj.14.1.8

شناسایی گونه‌های دو جنس *Aspergillus* و *Penicillium* همراه کشمش در برخی مناطق استان آذربایجان شرقی

Identification of *Aspergillus* and *Penicillium* species associated with raisins in some areas of East Azerbaijan province

فاطمه محمدی[۱]، مهدی داوری[۲*]، پریسا گنج‌پور[۳]، مریم یوسفی[٤]، مهین پوراسمعیل[٥]، هدیه برنجی‌زاده[٦]

Fatemeh Mohammadi[1], Mahdi Davari[2*], Parisa Ganjpour[3], Maryam Yousefi[4], Mahin Pouresmaeil[5], Hedieh Berenjizade[6]

۱- دانشجوی کارشناسی ارشد بیماری‌شناسی گیاهی، ۲- استاد بیماری‌شناسی گیاهی گروه گیاهپزشکی، دانشکده کشاورزی و منابع طبیعی دانشگاه محقق اردبیلی، اردبیل، ایران. ۳- کارشناسی ارشد بیماری‌شناسی گیاهی، اداره گمرگ شهرستان بناب، ٤- دکتری علوم باغبانی، مدیریت جهاد کشاورزی شهرستان عجب‌شیر، ٥- پژوهشگر پسادکتری، دانشکده کشاورزی و منابع طبیعی، دانشگاه محقق اردبیلی، ٦- دانش‌آموخته کارشناسی ارشد بیماری‌شناسی گیاهی گروه گیاهپزشکی، دانشکده کشاورزی و منابع طبیعی دانشگاه محقق اردبیلی

1. Master of Science student in Plant Pathology, 2. Professor of Plant Pathology, Department of Plant Protection, Faculty of Agriculture and Natural Resources, University of Mohaghegh Ardabili, Ardabil, Iran. 3. Master of Science in Plant Pathology, Customs Department Bonab, East Azerbaijan Province, 4. PhD Horticultural Science, Management of Agricultural Jihad of Ajabshir City, 5. Postdoctoral Researcher, Faculty of Agriculture and Natural Resources, University of Mohaghegh Ardabili. 6. Master of Science in Plant Pathology, Department of Plant Protection, Faculty of Agriculture and Natural Resources, University of Mohaghegh Ardabili

*Corresponding Author, Email: * نویسنده مسئول مکاتبات، پست الکترونیکی:
mdavari@uma.ac.ir

(تاریخ دریافت: ۱۴۰۴/۸/۱۶ - تاریخ پذیرش: ۱۴۰۴/۱۰/۲۷- تاریخ انتشار: ۱۴۰۴/۱۰/۲۷)
Received: 2025/11/07 | Accepted: 2026/01/17 | Published: 2026/01/17

چکیده

رفرانس دهی این مقاله Citation

Mohammadi F, Davari M, Ganjpour P, Yousefi M, Pouresmaeil M, Berenjizade H. (2025). Identification of Aspergillus and Penicillium species associated with raisins in some areas of East Azerbaijan province. Genetic Engineering and Biosafety Journal, 14 (1) :102-110
Doi: 10.61882/gebsj.14.1.8

URL: https://gebsj.ir/article-1-532-en.html

Abstract

Raisins pose a significant challenge to food safety due to their susceptibility to contamination by mycotoxigenic fungi. This research was conducted to achieve species-level identification within the *Aspergillus* and *Penicillium* genera and to characterize the fungal community composition of processed raisins from packaging facilities in Bonab, Maragheh, and Ajabshir counties, East Azerbaijan province, Iran. One hundred and two samples were collected from 17 aforementioned facilities and local orchards. Fungal isolation was performed on Potato Dextrose Agar (PDA) and Malt Extract Agar (MEA). Preliminary identification was based on morphological criteria, with final confirmation obtained through sequencing of the *β-tubulin* gene region and phylogenetic analysis. Among all samples, 86 (84.3%) exhibited fungal contamination. From a total of 198 purified isolates, 95 (47.9%) belonged to the genus *Aspergillus* and 75 (37.9%) to the genus *Penicillium*. Among the Aspergillus isolates, *Aspergillus tubingensis* was identified as the dominant species. Also, *Talaromces atroroseus* was detrmined as raisin mycoflora that has reprted in Iran previously but based on available literature, *Penicillium rubens* is reported from raisin samples in Iran for first time. The infection amount and fungal community of raisins underscore the imperative for continuous monitoring and effective post-harvest management to mitigate mycotoxin contamination risks in this strategic product.

Keywords: *Aspergillus, Penicillium,* Molecular identification, Mycotoxin, Food safety, *β-tubulin.*

[Downloaded from gebsj.ir on 2026-06-01]

[DOI: 10.61882/gebsj.14.1.8]

Genetic Engineering and Biosafety Journal
Volume 14, Number 1, 2025

خلاصه

کشمش به دلیل قابلیت آلودگی به قارچ‌های مولّد مایکوتوکسین، یک چالش جدّی در ایمنی مواد غذایی به شمار می‌رود. این پژوهش با هدف تعیین هویّت گونه‌ای در جنس‌های *Aspergillus* و *Penicillium* و توصیف ترکیب جامعه قارچی کشمش‌های فرآوری شده در واحدهای بسته‌بندی شهرهای بناب، مراغه و عجب‌شیر از استان آذربایجان شرقی اجرا شد. تعداد ۱۰۲ نمونه از ۱۷ واحد مذکور و باغات منطقه جمع‌آوری گردید. جداسازی جدایه‌های قارچی بر روی محیط‌های کشت PDA و MEA انجام شد. تشخیص مقدماتی بر مبنای شاخص‌های ریخت‌شناختی صورت گرفت و تأیید نهایی از طریق تعیین توالی ناحیه ژنی *β-tubulin* و تجزیه و تحلیل فیلوژنتیک حاصل شد. از میان کل نمونه‌ها، ۸٦ مورد (۸٤/۳ درصد) آلودگی قارچی نشان دادند. از مجموع ۱۹۸ جدایه تخلیص شده، ۹۵ جدایه (٤۷/۹ درصد) متعلّق به جنس *Aspergillus* و ۷۵ جدایه (۳۷/۹ درصد) متعلّق به جنس *Penicillium* بودند. در بین جدایه‌های آسپرژیلوس، *Aspergillus tubingensis* به عنوان گونه غالب شناسایی شد. گونه *Talarmces atroroseus* نیز در میکوفلور کشمش مورد شناسایی قرار گرفت که قبلاً نیز از ایران گزارش شده است ولی بر اساس منابع در دسترس، گونه *Penicillium rubens* برای نخستین بار از کشمش در ایران گزارش می‌شود. میزان آلودگی و تنوع قارچی مشاهده شده روی کشمش، ضرورت پایش مستمر و مدیریت مؤثر مراحل پس از برداشت را به منظور کاهش خطر آلودگی مایکوتوکسینی این محصول به عنوان راهبردی جدّی مورد تأکید قرار می‌دهد.

واژه‌های کلیدی: آسپرژیلوس، پنی‌سیلیوم، شناسایی مولکولی، مایکوتوکسین، ایمنی غذایی، *β-tubulin*

مقدمه Introduction

انگور با نام علمی *Vitis vinifera* از خانواده *Vitaceae* است (Parihar and Sharma, 2021). میوه انگور حاوی چربی پایینی است و دارای انواع ویتامین‌ها و عناصر مختلف مورد نیاز برای بدن می‌باشد. انگور خشک (کشمش)، یک محصول قابل توجه با کاربردهای مختلف در صنایع غذایی است. کشمش به روش‌های مختلفی از جمله روش خورشیدی، سایه و روش اسیدی خشک می‌شود. ایران با تولید سالانه ۱۲۳۰۰۰ تن کشمش و صادرات ۳۳۰۰۰ تن به ۷۰ کشور جهان، پس از ترکیه و آمریکا سومین تولید کننده کشمش در جهان است (Elhami *et al.,* 2019). کشمش ایران تقریبا به صد کشور جهان صادر می‌شود که در این بین، بیشترین صادرات کشمش از گمرگ ایران مربوط به استان آذربایجان شرقی (شهرهای بناب، تبریز و مراغه) می‌باشد (Najatiyan, 2018). سی تا چهل درصد از انگور تولیدی در جهان هر ساله به دلایل مختلف از جمله نارس بودن و عدم کنترل مناسب عوامل پوسیدگی از بین می‌روند (Prusky, 2011). این محصول ممکن است حتی با وجود ذخیره‌سازی در شرایط مناسب، توسط برخی قارچ‌ها مانند کپک سیاه (*Aspergillus* spp.)، کپک آبی (*Penicillium* spp.)، پوسیدگی آلترناریایی (*Alternaria alternata*) کپک خاکستری (*Botrytis cinerea*) و پوسیدگی ریزوپوسی (*Rhizopus stolonifera*) آلوده گردد (Romanazzi *et al.,* 2012). جنس‌های *Botrytis*، *Alternaria*، *Penicillium*، *Aspergillus*، *Cladosporium* و *Rhizopus* در رطوبت بالا و دمای ۳۰-۲۰ ℃، متداول‌ترین جنس‌های قارچی‌اند که می‌توانند در انگور ایجاد پوسیدگی نمایند (Bellı *et al.,* 2004). جنس‌های *Aspergillus* ، *Botrytis* و *Penicillium* از جمله عوامل قارچی هستند که اغلب می‌توان آنها را از حبه‌های فاقد علایم خاص هم جداسازی کرد، این بدین معنی است که قارچ‌های مذکور در باغ و قبل از برداشت موجب آلودگی خوشه‌ها می‌شوند (Battilani and Pietri, 2002). مطالعات نشان داده است که در هنگام برداشت انگور، خشک کردن، جابجایی، حمل و نقل و قرار گرفتن در معرض سایر محصولات در بازار، کشمش به عنوان یکی از فراورده‌های انگور، به میکروارگانیسم‌های مختلف آلوده می‌شود. قارچ‌های *Aspergillus*، *Fusarium* و *Penicillium* جنس‌های اصلی

[Downloaded from gebsj.ir on 2026-06-01]
[DOI: 10.61882/gebsj.14.1.8]

عامل تولید مایکوتوکسین در غذا و میوه‌های خشک محسوب می‌شوند (Dawar *et al.*, 2017). عموماً انگورهایی که برای تولید کشمش انتخاب می‌شوند دارای سطحی خشک، غیر روغنی و غیر چسبنده هستند. در طول فرآیندِ از انگور تا کشمش، آلودگی‌های قارچی و باکتریایی به طور کلی یا در تاکستان‌ها رخ می‌دهد و یا در انبارها به راحتی آلوده می‌شوند که از جمله این قارچ‌ها می‌توان به *Aspergillus niger*، *A. flavus*، *A. ocharaceous* و گونه‌های جنس‌های *Mucor*، *Fusarium*، *Rhizopus* و *Penicillium* اشاره کرد (Uravakonda, 2021).

در مطالعه‌ای که بر روی کشمش در کشور یمن انجام شد، ۲۱ گونه قارچی به نام‌های *Alternaria alternate*، *Aspergillus flavus*، *A. fumigatus*، *A. niger*، *A. ochraceus*، *A. terreus*، *A. versicolor*، *Cladosporium cladosporioides*، *Fusarium oxysporum*، *Gibberella fujikuroi*، *Nectria haematococca*، *Nigrospora oryzae*، *Penicillium chrysogenum*، *P. citrinum*، *P. funiculosum*، *P. oxalicum*، *Rhizopus stolonifer* و *Scopulariopsis brevicaulis* شناسایی شد (Alghalibi and Shater, 2004). میر ابوالفتحی و همکاران (۱۳۹۱)، قارچهای عامل تولید اکراتوکسین در کشمش را در مناطقی از ایران مورد بررسی قرار دادند و نتیجه گرفتند که تمامی جدایه‌ها متعلّق به *Aspergillus carbonarius* بودند (Mirabolfathi and Karami Asboo, 2012) .

تولید انگور در استان آذربایجان‌شرقی (از جمله شهرهای بناب، مراغه و عجب‌شیر) با توجه به سطح زیرکشت آن در منطقه و کارخانجات فرآوری موجود از نظر کشاورزی و اقتصادی جایگاه ویژه دارد و با در نظر گرفتن اینکه انگور و فرآورده‌های حاصل از آن نظیر کشمش، مستعدّ برای رشد قارچ‌های بیمارگر مختلف می‌باشند و در بعضی از سال‌ها صادرات آن را به دلیل آلودگی به قارچ‌های توکسین‌زا با مشکلات عمده در بازارهای جهانی مواجه می‌نماید، بررسی جامع و پایش مستمرّ وضعیت آلودگی و نیز گونه‌های قارچی روی کشمش این منطقه ضروری به نظر می‌رسد. این پژوهش با هدف رصد آلودگی و بررسی تنوع زیستی گونه‌های قارچی روی انواع کشمش‌های فرآوری شده در کارخانجات منطقه جنوب آذربایجان‌شرقی انجام شد.

مواد و روش‌ها
Materials and Methods

نمونه‌برداری: نمونه‌برداری از صنایع سورتینگ بسته‌بندی کشمش شهرستان‌های عجب‌شیر، بناب و مراغه با روش خوشه‌ای تصادفی انجام گرفت و نمونه‌ها به صورت مجزّا داخل پاکت‌های کاغذی به آزمایشگاه منتقل و تا زمان بررسی در یخچال با دمای ٤ درجه سلسیوس نگهداری شدند. در مجموع، ۱۰۲ نمونه کشمش جمع‌آوری و در پاکت‌های کاغذی استریل به آزمایشگاه منتقل شدند.

جداسازی قارچ‌ها و شناسایی ریخت‌شناختی: برای این منظور، کشمش‌ها بعد از ضدعفونی با محلول هیپوکلریت سدیم ۰/۵ درصد به مدت ۳-۵ دقیقه برای حذف ساپروفیت‌های سطحی، بر روی محیط کشت PDA (سیب‌زمینی دکستروز آگار) کشت شدند. همچنین کشت مستقیم کشمش‌ها بدون ضدعفونی (با دم و شسته نشده) در هفت تکرار بر روی محیط کشت PDA حاوی ۰/۵ گرم در ۱۰۰۰ سی‌سی آموکسی‌سیلین انجام گرفت. تشتک‌های پتری حاوی کشمش‌ها در انکوباتور با دمای ۲±۲۵ درجه سلسیوس به مدت یک هفته قرار داده شدند و روزانه مورد بررسی قرار گرفتند. بعد از رشد قارچ‌ها با استفاده از سوزن سترون، جدایه‌های قارچی به محیط کشت جدید حاوی PDA انتقال داده شدند و سپس به روش تک‌اسپور خالص‌سازی شدند. به منظور شناسایی ریخت‌شناختی، هر کدام از جدایه‌های قارچی به تشتک‌های پتری حاوی محیط کشت MEA (عصاره مالت–آگار) منتقل و در دمای ۲±۲۵ درجه سلسیوس و در شرایط تاریکی به مدت یک هفته قرار داده شدند. بعد از گذشت یک هفته، ویژگی‌های ماکروسکوپی و میکروسکوپی جدایه‌های قارچی، مطالعه و گروه‌بندی اولیه جدایه‌های جنس *Aspergillus* با استفاده از کلید Samson و همکاران (۲۰۰٤) و کلید Klich (۲۰۰۲) و گروه‌بندی اولیه جنس *Penicillium* با استفاده از کلید Visagie و همکاران (۲۰۱٤) انجام شد.

[Downloaded from gebsj.ir on 2026-06-01]
[DOI: 10.61882/gebsj.14.1.8]

شناسایی مولکولی جدایه‌های قارچی: به‌منظور شناسایی مولکولی جدایه‌های منتخب، استخراج DNA با استفاده از روش CTAB انجام شد. سپس ارزیابی کیفیّت و کمیّت DNA استخراج شده به روش الکتروفورز و توسط اسپکتروفتومتر نانودراپ (مدل NanodropOne_C-AZY1706749, USA) انجام شد. پس از اطمینان از صحت DNA استخراج شده، واکنش PCR برای تکثیر ژن *β–tubulin* با حجم نهایی ۲۵ میکرولیتر با استفاده از کیت (Amplicon 2x kit, Denmark) در دستگاه ترموسایکلر مدل PeQlab PCR System با استفاده از آغازگرهای BT2-F (′3- GGTAACCAAATCGGTGCTGCTTTC -′5) و BT2-R (′3- ACCCTCAGTGTAGTGACCCTTGGC -′5) انجام شد. چرخه‌های حرارتی مورد نیاز برای هر کدام از آغازگرها مطابق جدول ۱ تنظیم شد و در نهایت، فرآورده‌های PCR روی ژل آگارز یک درصد در بافر TBE X1 توسط دستگاه عکسبرداری از ژل تحت نور ماورا بنفش (documentation Gel) مشاهده و بررسی شد. طول قطعه حاصل ٤٥٠ جفت باز بود. نمونه‌ها برای توالی‌یابی سنگر (ABI3730xl) توسط شرکت سلول کاوشگر ژن‌پژوه به شرکت BGI کشور چین ارسال شد. اطلاعات خام حاصل از توالی‌یابی نوکلئوتیدی به‌صورت جدا برای هریک از نمونه‌ها دریافت شد و به‌وسیله نرم‌افزار Chromas pro v 2.1.9 ویرایش و سپس با توالی‌های موجود در بانک ژن NCBI مقایسه شدند. رج‌بندی و ویرایش توالی‌های حاصل از هر ژن به‌صورت جداگانه با استفاده از نرم‌افزار آنلاین maftt انجام شد و تبارنما طبق روش استنتاج بیزی و به‌وسیله نرم افزار MrBayes ver.3.1.2 رسم شدند (Ronquist and Huelsenbeck, 2003).

جدول ۱- چرخه‌های حرارتی استفاده شده برای تکثیر آغازگرهای *β-tubulin*

Table 2. Thermal cycling conditions for PCR amplification using *β-tubulin* primers.

Step	Temperature	Duration	Number of Cycles
Initial denaturation	95°C	5 min	1
Denaturation	94°C	30 sec	35
Annealing	58°C	30 sec	35
Extension	72°C	90 esc	35
Final extension	72°C	5 min	1

نتایج و بحث
Results and Discussion

میزان آلودگی قارچی نمونه‌های کشمش: نتایج حاصل از بررسی نمونه‌های جمع‌آوری شده نشان داد که از مجموع ۱۰۲ نمونه کشمش، ۸٦ نمونه (۸٤/۳ درصد) آلوده به قارچ بودند. در بین قارچ‌های جداسازی شده، جنس‌های *Penicillium* و *Aspergillus* بیشترین فراوانی را داشتند. میانگین درصد نمونه‌های آلوده در شهرستان‌های بناب، عجب‌شیر و مراغه به ترتیب برابر با ۸٦/۱۱، ۷۷/۷ و ۸۳/۳ درصد بود. از کل نمونه‌های آلوده (۸٦ نمونه)، در مجموع، ۱۹۸ جدایه قارچی خالص‌سازی شد. شیوع بالاتر آلودگی در بناب (۱۱۸ جدایه) را می‌توان به تراکم بیشتر باغات با روش کشت سنتی نسبت داد، چرا که در این روش، خوشه‌ها نزدیک به سطح خاک قرار گرفته و مستعدّ آلودگی هستند (Cozzi *et al.*, 2009). توزیع این جدایه‌ها بین جنس‌های اصلی به این شرح بود: ۹۵ جدایه (٤۸ درصد) متعلّق به جنس *Aspergillus*، ۷۵ جدایه (۳۷/۹ درصد) متعلّق به جنس *Penicillium* و ۲۸ جدایه (۱٤/۱ درصد) مربوط به سایر قارچ‌ها (جدول ۲).

جدول ۲- اطلاعات مربوط به جدایه‌های جنس‌های Penicillium و Aspergillus در سه شهرستان مورد مطالعه

Table 2. The Number of Penicillium and Aspergillus isolates in the three studied cities.

	Raisins				Fungal isolates		
	Infected		No Infected		*Aspergillus*	*Penicillium*	Other Fungi
	Number	%	Number	%	Number		
Bonab	62	86/11	10	13/88	63	36	19
Maragheh	10	83/3	2	16/7	15	24	3
Ajabshir	14	77/7	4	22/3	17	15	6
Total	86	84/32	16	15/68	95	75	28

[Downloaded from gebsj.ir on 2026-06-01]
[DOI: 10.61882/gebsj.14.1.8]

در ایران عمدتا" از انواع روش‌های سنتی جهت خشک کردن انگور و تهیه کشمش فله استفاده می‌شود، این روش‌ها شامل روش تیزابی (۷۰٪)، روش آفتابی (۲۰٪) و روش کالیفرنی یا انگوری (۵٪) و روش سایه خشک (۵٪) می‌باشد. در سال‌های اخیر برخی روش‌های نوین از جمله روش طبقات توری، روش داربستی و خشک کردن بر روی تاک نیز در حال اجرا می‌باشد (Salehi, 2013). همان‌طوری که جدول ۳ نشان می‌دهد، از تعداد ۱۹۸ جدایه قارچی، تعداد ۱٦۰ جدایه برابر با ۸۰/۸ درصد از کشمش آفتابی، تعداد ۲۸ جدایه برابر با ۱٤/۱ درصد از کشمش تیزابی و تعداد ۱۰ جدایه برابر با ۵/۱ درصد از کشمش نوع انگوری جداسازی شده است. در کشمش آفتابی، ۷٤ جدایه مربوط به جنس *Aspergillus*، ٦۷ جدایه متعلق به جنس *Penicillium* و ۱۹ جدایه مربوط به سایر جنس‌های قارچی بود. در کشمش تیزابی ۱٦ جدایه از جنس *Aspergillus*، ۵ جدایه از جنس *Penicillium* و ۷ جدایه از سایر قارچ‌ها بود. در کشمش انگوری ۵ جدایه از جنس *Aspergillus*، ۳ جدایه از جنس *Penicillium* و ۲ جدایه از سایر قارچ‌ها بود. این نتایج نشان می‌دهد که فراوانی جنس *Penicillium* در کشمش‌های تیزابی و انگوری به طور قابل توجهی کاهش می‌یابد که احتمالاً به دلیل تأثیر فرآیندهای شیمیایی (در روش تیزابی) و تدخین با دی‌اکسید گوگرد (در روش انگوری) است.

جدول ۳- تعداد جدایه‌های جنس‌های Penicillium و Aspergillus بر حسب روش خشک شدن کشمش

Table 3. Number of Penicillium and Aspergillus isolates by drying method.

Type of raisins	*Aspergillus*	*Penicillium*	Other Fungi	*Total*
Sundried raisin	74	67	19	160
Sultana raisin	16	5	7	28
Golden raisin	5	3	2	10
	95	75	28	198

اختلاف در میزان آلودگی نمونه‌های کشمش که در جدول ۳ مشاهده می‌شود، بی‌شک می‌تواند به دو دلیل عمده باشد: اول روش فرآوری و نوع کشمش و دوم به دلیل تیمار یا عدم تیمار کشمش با دود حاصل از سوزاندن گوگرد در تهیه انواع کشمش‌های فرآوری شده. استفاده از گوگرد جهت جلوگیری از آلودگی‌های قارچی می‌تواند بسیار مفید باشد. به طور معمول میوه خشک شده ارقام مختلف انگور که با دود گوگرد (دی اکسید گوگرد) تدخین شده و در سایه خشک شده باشد کشمش انگوری یا کالیفرنی گفته می‌شود (Najatiyan, 2018). مطابق جدول ٤، از ۷۲ جدایه قارچی که اطلاعات روش کشت برای آنها موجود بود، ٤۲ عدد مربوط به روش سنتی و ۳۰ عدد مربوط به روش روسیمی بود که نشان‌دهنده آلودگی بالاتر در محصول باغات با روش کشت سنتی است. همان‌طور که Cozzi و همکاران (۲۰۰۹) نیز نشان دادند، در سیستم سنتی در مقایسه با سیستم‌های کوردن (روسیمی)، خوشه‌ها نزدیک به سطح خاک قرار گرفته‌اند که منجر به آلودگی بیشتر می‌گردد.

جدول ٤- جدایه‌های قارچی به‌دست آمده از کشمش در روش‌های کشت مختلف

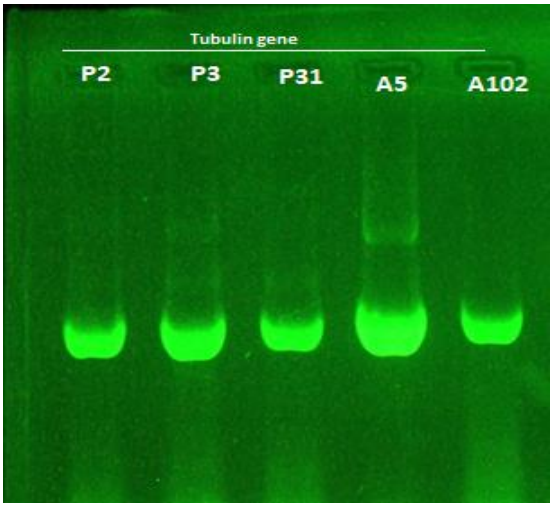
Table 4. Fungal isolates extracted from samples in different cultivation methods.

	Aspergillus	Penicillium	Other Fungi	Total
Cordon systems	17	10	3	30
Traditional Method	19	18	5	42

شناسایی جدایه‌های قارچی بر اساس داده‌های مولکولی: واکنش زنجیره‌ای پلیمراز (PCR) با استفاده از آغازگرهای اختصاصی ژن رمزکننده *β-tubulin* با موفقیت، محصولی با اندازه مورد انتظار را تولید کرد (شکل ۱). محصول PCR پنج جدایه منتخب (یک جدایه از *Aspergillus*، سه جدایه از *Penicillium* و یک جدایه *Talaromyces*) به عنوان نماینده گروه‌های ریخت‌شناختی با منشاء جغرافیایی مختلف توالی‌یابی شدند. نتایج توالی‌یابی و مقایسه در پایگاه NCBI نشان داد که جدایه *Aspergillus* متعلّق به گونه *Aspergillus tubingensis* بود. با توجه به

[Downloaded from gebsj.ir on 2026-06-01]
[DOI: 10.61882/gebsj.14.1.8]

تشابه ریخت‌شناختی این جدایه به عنوان نماینده جدایه‌های مشابه، می‌توان نتیجه گرفت که *A. tubingensis* گونه غالب در منطقه است. در بین جدایه‌های منتخب توالی‌یابی شده دیگر، سه جدایه متعلّق به گونه *P. rubens* و یک جدایه متعلّق به *T. atroroseus* بودند. درخت فیلوژنتیک رسم شده (شکل ۲) صحّت این شناسایی را با مقادیر احتمال پسین بالا تأیید کرد.



شکل ۱- الکتروفورز محصول PCR با آغازگرهای β-tubulin برای جدایه‌های آسپرژیلوس (A5) و پنی‌سیلیوم (P2, P3, P31, A102) در ژل آگاروز (۱٪).

Fig 1. Agarose gel (1%) electrophoresis of PCR product with β-tubulin primers for Aspergillus (A5) and Penicillium isolates (P2, P3, P31, A102).

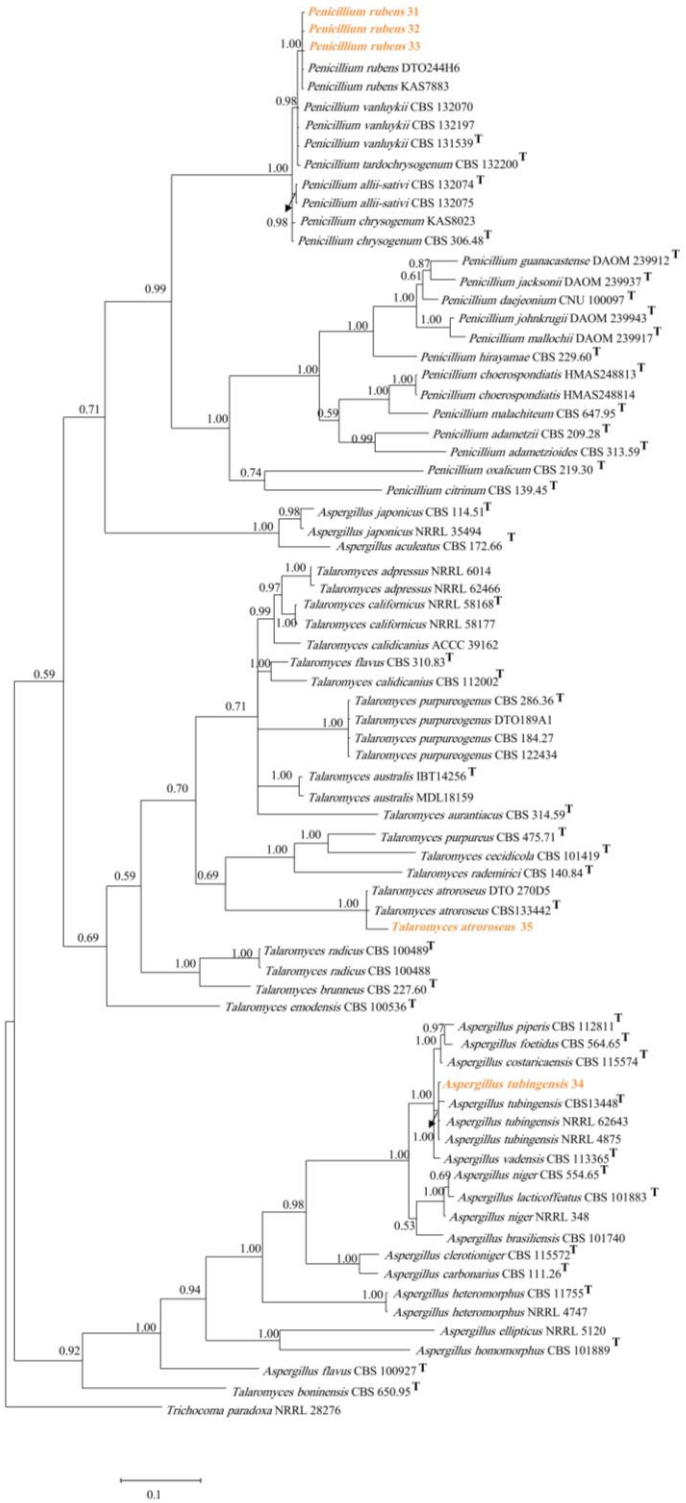
برای بررسی رابطه فیلوژنتیکی بین جدایه‌ها، تبارنما با استفاده از نرم‌افزار MrBayes ver 3.1.2. و طبق روش استنتاج بیزی رسم شد. مقیاس خطی ۰/۱ تغییر مورد انتظار در هر مکان را نشان می‌دهد (شکل ۲). به استناد نتایج تحقیقات معتبر علمی معلوم شده است که *Talaromyces* spp. و شکل‌های غیرجنسی آن‌ها در جنس *Penicillium* (زیرجنس *Biverticillium*) از سه زیرجنس دیگر جنس *Penicillium* مجزّا بوده و یک گروه تبارزایی مجزّایی را تشکیل می‌دهند (Heredia *et al.,* 2001).

در مطالعه صورت گرفته در کشمش‌های کشور عربستان مشخص شده است که *Aspergillus*، *Alternaria*، *Cladosporium*، *Epicoccum* و *Rhizopus* شایع‌ترین جنس‌های جدا شده از نمونه‌های کشمش بودند (Gashgari *et al.,* 2011). در مطالعه‌ای که روی کشمش‌های مناطق استان‌های آذربایجان شرقی و غربی شامل شهرستان‌های آذرشهر، بناب، عجب شیر، مراغه، ملکان و میاندوآب بر اساس داده‌های توالی ژن *β-tubulin* انجام شد، گونه‌های *A. tubingensis*، *A. niger*، *A. welwitschiae* و *A. uvarum* شناسایی گردید (Khodaei *et al.,* 2014). همچنین Khodaei و همکاران، پنج گونه متعلّق به *Penicillium* و *Talaromyces* به نام‌های *P. crocicola*، *P. olsonii*، *P. sumatrense*، *T. atroroseus* و *T. minioluteus* را از کشمش‌های برخی مناطق استان آذربایجان شرقی گزارش کردند (Khodaei *et al.,* 2015). Abdi و همکاران (۲۰۱۹) مطالعه‌ای را در خصوص آفلاتوکسین‌های کشمش‌های موجود در بازار ارومیه انجام دادند و مشخص گردید که ٥٦ درصد نمونه‌های کشمش دارای آلودگی قارچی بودند و در بین قارچ‌های عامل، غالبیّت با *Aspergillus flavus* بود.

مقایسه نتایج این مطالعه با تحقیقات انجام شده در سایر کشورهای تولیدکننده کشمش حائز اهمیت است. در ترکیه (دومین تولید کننده کشمش جهان) همانند مطالعه حاضر، گونه‌های مجموعه *A. niger* به‌ویژه *A. tubingensis* به عنوان عوامل غالب گزارش شده‌اند. در عراق نیز *A. tubingensis* همراه با گونه‌های *Penicillium* شناسایی شدند (Khalaf and Saadon, 2023). در عربستان برخلاف یافته‌های ما، گونه غالب *A. flavus* گزارش گردید که از نظر خطر آفلاتوکسین حائز اهمیت است (Gashgari *et al.,* 2011). در یمن، تنوّع پنی‌سیلیوم

[Downloaded from gebsj.ir on 2026-06-01]
[DOI: 10.61882/gebsj.14.1.8]

پایین‌تر بوده و گونه‌های *P. rubens* و *P. rolfsii* مشاهده نشدند (Alghalibi and Shater, 2004). این تفاوت‌ها ناشی از شرایط اقلیمی متنوّع و روش‌های متفاوت فرآوری در کشورهای مختلف است. در مطالعه دیگری، Chen و همکاران (۲۰۲۵) نشان دادند که ۹۲ درصد نمونه‌های خوراکی–دارویی در چین دارای آلودگی قارچی بوده و جنس‌های *Aspergillus* و *Penicillium* غالب بودند. آنان همچنین *A. tubingensis* را به عنوان گونه غالب در نمونه‌ها گزارش کردند که با یافته‌های ما همخوانی کامل دارد.



شکل ۲– استنتاج بیزی ناحیه β-tubulin برای جدایه‌های آسپرژیلوس و پنی‌سیلیوم با استفاده از نرم‌افزار MrBayes نسخه ۳.۱.۲.

[Downloaded from gebsj.ir on 2026-06-01]

[DOI: 10.61882/gebsj.14.1.8]

Fig 2. Bayesian inference of the β-tubulin region for Aspergillus and Penicillium isolates using MrBayes version 3.1.2.

در مطالعه‌ای دیگر بر روی کشمش سفید بی‌دانه با استفاده از توالی‌یابی rDNA-ITS و آنالیزهای ریخت‌شناختی، *A. tubingensis*، *A. niger* و *P. steckii* را به عنوان عوامل اصلی پوسیدگی شناسایی کردند (Yaxin *et al.,* 2025). Miliordos و همکاران در مرور جامع میکوفلور میوه‌های خشک، نقش حشرات انباری را در انتقال قارچ‌های مایکوتوکسین‌زا به ویژه *Aspergillus* و *Penicillium* در مرحله انبارداری برجسته دانسته و تأکید کردند که شرایط اقلیمی و مدیریت نامناسب پس از برداشت، خطر آلودگی را افزایش می‌دهد (Miliordos *et al.,* 2025). این یافته‌ها نشان‌دهنده توزیع جهانی *A. tubingensis* به عنوان یکی از مهم‌ترین قارچ‌های آلوده‌کننده کشمش است. مطالعه ما نشان داد که *A. tubingensis* فراوان‌ترین گونه در بین جدایه‌های *Aspergillus* در منطقه بود. همچنین بر اساس داده‌های در دسترس، گونه *P. rubens* برای اولین بار از ایران گزارش می‌شود.

نتیجه‌گیری کلی: با توجه به خطرات زهرابه‌های قارچی در سلامتی، مطالعه آلودگی محصولات غذایی به قارچ‌های مولّد زهرابه‌های قارچی در سال‌های اخیر مورد توجه زیاد قرار گرفته است. انگور خشک (کشمش) ممکن است در حین کشت انگور، روش‌های پردازش پس از برداشت و فرایند خشک کردن، آلوده به انواع قارچ‌ها شود. با توجه به اهمیت و موارد متعدّد استفاده کشمش در صنایع غذایی، این مطالعه با هدف شناسایی قارچ‌های عامل بیماری کشمش در شهرهای مهم تولید کننده کشمش در جنوب استان آذربایجان شرقی انجام شد. تنوّع جدایه‌های جنس *Aspergillus* جداسازی شده از کشمش مناطق مورد مطالعه بالا نبود و گونه غالب این جنس *A. tubingensis* بود. جدایه‌های جنس *Penicillium* به‌دست آمده از کشمش منطقه مورد مطالعه دارای تنوع گونه‌ای بالایی بود. از بین جدایه‌های متعلّق به جنس‌های *Penicillium* و *Talaromyces* که در این تحقیق جداسازی گردید، گونه *T. atroroseus* قبلاً از روی کشمش در ایران گزارش شده است ولی گونه *P. rubens* بر اساس داده‌های در دسترس، برای نخستین بار از کشمش ایران گزارش می‌شوند. به‌نظر می‌رسد این یافته‌ها با تامین اطلاعات ضروری برای تولیدکنندگان کشمش، آنها را در اجرای شیوه‌های نگهداری و بسته‌بندی بهتر برای به حداقل رساندن آلودگی قارچی و حفظ سلامت محصول راهنمایی کند.

منابع

References

Abdi, S., Ayaseh, O., & Badbadak, S. (2019). A study of contamination of raisins supplied in Urmia County with aflatoxin-producing fungi. The 3rd International and 26th National Congress of Food Science and Technology of Iran. https://doi.org/10.22067/ifstrj.v9i1.22967. (In Persian).

Alghalibi, S. M., & Shater, A. R. M. (2004). Mycoflora and mycotoxin contamination of some dried fruits in Yemen Republic. Ass Univ Bull Environ Res, 7(2), 19-25. https://doi.org/10.59167/tujnas.v1i1.1248.

Battilani, P., & Pietri, A. (2002). Ochratoxin A in grapes and wine. *European Journal of Plant Pathology*, *108*(7), 639-643.

Bellı, N., Marın, S., Sanchis, V., & Ramos, A. J. (2004). Influence of water activity and temperature on growth of isolates of *Aspergillus* section Nigri obtained from grapes. International journal of food microbiology, 96(1), 19-27. https://doi.org/10.1016/j.ijfoodmicro.2004.03.004.

Chen, L., Wu, J., Zhang, S., Liu, X., Zhao, M., Guo, W., & Wu, Q. (2025). Occurrence and diversity of fungi and their mycotoxin production in common edible and medicinal substances from China. Journal of Fungi, 11(3), 212. https://www.mdpi.com/2309-608X/11/3/212#.

Cozzi, G., Haidukowski, M., Perrone, G., Visconti, A., & Logrieco, A. (2009). Influence of *Lobesia botrana* field control on black aspergilli rot and ochratoxin A contamination in grapes. Journal of food protection, 72(4), 894-897. https://doi.org/10.4315/0362-028x-72.4.894.

Dawar, S., Tariq, M., & Aslam, S. (2017). Mycoflora associated with raisins (*vitis vinifera* L.) collected across Pakistan. Pak. J. Bot, 49(5), 1975-1979.

Elhami, B., Raini, M. G. N., & Soheili-Fard, F. (2019). Energy and environmental indices through life cycle assessment of raisin production: A case study (Kohgiluyeh and Boyer-Ahmad Province, Iran). Renewable Energy, 141, 507-515. https://doi.org/10.1016/j.renene.2019.04.034.

[Downloaded from gebsj.ir on 2026-06-01]
[DOI: 10.61882/gebsj.14.1.8]

Gashgari, R. M., Shebany, Y. M., & Gherbawy, Y. A. (2011). Molecular characterization of ochratoxigenic fungi associated with raisins. Foodborne Pathogens and Disease, 8(11), 1221-12https://doi.org/10.1089/fpd.2011.0920.

Heredia, G., Reyes, M., Arias, R. M., & Bills, G. F. (2001). *Talaromyces ocotl* sp. *nov*. and observations on *T. rotundus* from conifer forest soils of Veracruz State, Mexico. Mycologia, 93(3), 528-540. https://doi.org/10.2307/3761738.

Khalaf, T. J., & Saadon, A. A. S. (2023). Isolation and Identification of Fungi Contaminated with Some Local and Imported Raisins and the Possibility of Controlling One of the Toxin-Producing Fungi by Using *Ganoderma Lucidium* Filtrate and Calcium Carbonate Treatments. Central Asian Journal of Medical and Natural Science, 4(3), 573-581.https://doi.org/10.51699/cajmns.v4i3.1567.

Khodaei, A., Arzanlou, M., Babai-Ahari, A., & Houbraken, J. (2015). Five new species of *Penicillium* and *Talaromyces* for mycobiota of Iran. Rostaniha, 16(2): 186-199. https://doi.org/10.22092/botany.2016.105987. (In Persian).

Khodaei, A., Arzanlou, M., Babaiahari, A., & Darvishi, F. (2014). Identification of black *Aspergilli* species on grape and raisin in Southern regions of East and West Azerbaijan Provinces. Journal of Applied Research in Plant Protection, 3(1): 49-64. (In Persian).

Klich, M. A. (2002). Identification of common *Aspergillus* species. Centraalbureau voor schimmelcultures.

Mirabolfathi, M., Karami, Asboo. R. A. (2012). Investigation of ochratoxin A and its producing fungi in Iranian raisins. Abstracts of the 20th Iranian Plant Protection Congress. Shiraz University. (In Persian).

Miliordos, D. E., Baliota, G. V., Athanassiou, C. G., & Natskoulis, P. I. (2025). Review on the Occurrence of Mycotoxigenic Fungi in Dried Fruits and the Role of Stored-Product Insects. Toxins, 17(7), 313. https://doi.org/10.3390/toxins17070313.

Najatiyan, M. (2018). Modern warehouses for production of hygienic raisins. Publications of the Applied-Scientific and Vocational Higher Education Institute of Jihad-e Agriculture. (In Persian)

Parihar, S., & Sharma, D. (2021). A brief overview on *Vitis Vinifera*. Sch Acad J Pharm, 12(12), 231-9. https://doi.org/10.36347/sajp.2021.v10i12.005.

Prusky, D. (2011). Reduction of the incidence of postharvest quality losses, and future prospects. Food security, 3(4), 463-474. https://doi.org/10.1007/s12571-011-0147-y.

Romanazzi, G., Lichter, A., Gabler, F. M., & Smilanick, J. L. (2012). Recent advances on the use of natural and safe alternatives to conventional methods to control postharvest gray mold of table grapes. Postharvest Biology and Technology, 63(1), 141-147. https://doi.org/10.1016/j.postharvbio.2011.06.013.

Ronquist, F., & Huelsenbeck, J. P. (2003). MrBayes 3: Bayesian phylogenetic inference under mixed models. Bioinformatics, 19(12), 1572-1574. https://doi.org/10.1093/bioinformatics/btg180.

Salehi, A. (2013). Report of the third year of the green and raisin cluster development project of Bonab, Maragheh, and Malekan (University of Tabriz Project Report). University of Tabriz, 447 pages. (In Persian).

Samson, R. A., Seifert, K. A., Kuijpers, A. F., Houbraken, J. A. M. P., & Frisvad, J. C. (2004). Phylogenetic analysis of Penicillium subgenus *Penicillium* using partial *β-tubulin* sequences. Stud Mycol, 49(1), 175-200.

Uravakonda, A. D. (2021). Studies on Mycotoxins of Raisins (*Vitis vinifera.* L) KY Narayana Lecturer in Botany, Govt Degree College. International Journal of Multidisciplinary Educational Research, 10(11): 119-123.

Visagie, C. M., Houbraken, J., Frisvad, J. C., Hong, S. B., Klaassen, C. H. W., Perrone, G., & Samson, R. A. (2014). Identification and nomenclature of the genus *Penicillium*. Studies in mycology, 78(1), 343-371.https://doi.org/10.1016/j.simyco.2014.09.001.

Yaxin, L. E. I., Huang, S., Zhang, Q., Qian, L. I. U., Meihui, J. I. A., Zhang, M., ... & Jing, W. A. N. G. (2025). Isolation, identification and biological characterization of spoilage mold in seedless white raisins. *Shipin gongye ke-ji*, *46*(8), 164-172. https://doi.org/10.13386/j.issn1002-0306.2024050216.

[Downloaded from gebsj.ir on 2026-06-01]

[DOI: 10.61882/gebsj.14.1.8]

[Downloaded from gebsj.ir on 2026-06-01]

[DOI: 10.61882/gebsj.14.1.8]