Identification of fungal postharvest agents of date fruit in cold storages of Saravan County

Adel Pordel[1]✉, Kaghobad Kikavosi[2], Azam Amiri[3], Khashayar Rigi[2]

1. Baluchestan Agricultural and Natural Resources Research and Education Center, AREEO, Iranshahr, Iran.
2. Agronomy and Horticulture crops research Department, Baluchestan Agricultural and Natural Resources Research and Education Center, AREEO, Iranshahr, Iran
3. Date Palm and Tropical Fruits Research Center, Horticultural Science Research Institute, Agricultural Research Education and Extension Organization (AREEO), Ahvaz, Iran.

Received Date:2026.01.02 Accepted Date:2026.02.07

Abstract

Every year, date fruits stored in cold storage suffer significant damage from various factors. Among these factors, storage pests and post-harvest diseases are particularly detrimental to the quality of date fruits. To assess the presence of fungal agents, five samples weighing one kilogram each were randomly collected from each cold storage every two weeks (ten cold storages) in Saravan County, Sistan and Baluchestan province. The samples were then transported to the plant protection research laboratory of Baluchestan Agriculture and Natural Resources Research and Education Center. After sampling, infected samples were cultured on general and special culture media to identify pathogenic agents. Pure culture of fungi was prepared using the single spore method and transferred in potato-dextrose-agar (PDA) medium. A total of one hundred fourteen isolates from the fungal genera *Penicillium*, *Aspergillus*, and *Alternaria* were isolated and identified by morphological criteria. To validate the morphological identification, sequencing of the genomic region ITS-rDNA was employed. The examination of samples from cold storages in Saravan city revealed that *Alternaria alternata* fungal species had the highest level of contamination. The findings from this study indicated that under cold storage conditions, pathogenic fungi can potentially contaminate a significant portion of the date fruits due to high temperatures, inadequate ventilation (resulting in relative humidity exceeding 70% in certain areas), and poor sanitation practices (including the presence of previous year's date fruit and waste in some cold storage facilities).

Keyword: Cold storage, Date, *Alternaria*, Sistan and Baluchestan

.

✉ a_pordel@areeo.ac.ir

[Downloaded from mail.amfi.ir on 2026-06-09]

EXTENDED ABSTRACT

Introduction: The date-producing area in Iran covers 286393 ha with a production of 1971444 tons in 2020. The main date palm plantations in Iran are located often in south, southeast and southwest which Sistan and Baluchestan by having seventeen percent of producing area and production of 242093 ton are in top of the list. High sensitivity of date fruit to physical damage and microbial contamination has made the marketing risk of this product very high over a long period of time, especially over long distances. Identifying microorganisms that cause spoilage and decay of fresh date fruit, it will be possible to access appropriate methods for storing and packaging this fruit. Some varieties of date fruit is perishable in the wet stage and is more susceptible to microbial spoilage compared to dry and semi-dry varieties. Every year, date fruits stored in cold storage suffer significant damage from various factors. Among these factors, storage pests and post-harvest diseases are particularly detrimental to the quality of date fruits. Date diseases have been increasing in recent decades, which has caused concern among date producers. It is crucial to monitor and detect these pests and diseases early on in order to prevent and manage outbreaks in post-harvest conditions.

Materials and Methods: To assess the presence of fungal agents, five samples weighing one kilogram each were randomly collected from each cold storage every two weeks (ten cold storages). The samples were then transported to the plant protection research laboratory of Baluchestan Agriculture and Natural Resources Research and Education Center. Sampling, infected samples were cultured on general and special culture media to identify pathogenic agents. Pure culture of fungi was prepared using the single spore method and threading in potato-dextrose-agar (PDA) medium. To identify the morphological characteristics of the species, after examining the macroscopic and microscopic characteristics, descriptions available in reputable mycological sources and articles were used based on colony characteristics, shape and type of conidiophore and conidium, and presence or absence of spodocium. For sporulation of fungal species and observation of colony characteristics, specific culture media and growth conditions specific to each species were used. Identification was based on available books, keys, and authoritative articles. Phylogenetic analysis, generated and published sequences of ITS-rDNA were used. Sequences downloaded from Genbank originated. DNA extraction was done and PCR amplification for ITS gene was conducted. The sequences were edited by CLC Genomic workbench 10.1 software, and then aligned using sequence alignment program MUSCLE. Phylogenetic analyses were performed with MEGA v. 6 software. A phylogenetic tree was constructed by the maximum likelihood method based on the Kimura two parameter model.

Results and Discussion: A total of one hundred and fourteen isolates from the fungal genera *Penicillium*, *Aspergillus*, and *Alternaria* were isolated and identified by morphological criteria. These genus are reported from some date storage in other province of Iran. Subsequently, twelve isolates with distinct morphological characteristics were chosen for DNA extraction and determination of nucleotide synonyms. To validate the morphological identification, sequencing of the genomic region ITS-rDNA was employed and the sequences obtained from amplifying a part of the genomic region were compared with the sequences in the gene bank using the BLASTn search tool. The phylogenetic analyses were performed as well. Finally, the species including *Penicillium digitatum, Penicillium* sp., *Aspergillus niger, Alternaria alternata* and *A. atra* were identified. The species could infect date fruits in garden and then transfer to cold storage which in suitable condition for the mentioned species cause economic losses.

Conclusion: Annually, date fruits stored in cold storage suffer significant damage from various factors that cause effect losses to date producers. The lack of suitable temperature and humidity conditions for storing dates has caused cold storage to be seriously damaged by various factors including fungi, bacteria and pests. Fungal species are important causal agent of infecting of date fruits in cold storage. Saravan city is one of the important areas for date-producing in Sistan and Baluchestan province. Due to the low price of dates during the harvest season and the lack of market and demand during this season, a large portion of the date crop is stored in cold storage of Saravan city. The examination of samples from cold storages in Saravan city revealed *Alternaria alternata* fungal species had the highest level of contamination. The findings from this study indicated under cold storage conditions, pathogenic fungi can potentially contaminate a significant portion of the date fruit due to high temperatures, inadequate ventilation (resulting in relative humidity exceeding 70% in certain areas), and poor sanitation practices (including the presence of previous year's date fruit and waste in some cold storage facilities).

[Downloaded from mail.amfi.ir on 2026-06-09]

شناسایی عوامل قارچی پس از برداشت در سردخانه‌های خرما شهرستان سراوان

عادل پردل[1*]، کی‌قباد کیکاوسی[2]، اعظم امیری[3]، خشایار ریگی[2]

۱. بخش تحقیقات گیاه‌پزشکی، مرکز تحقیقات و آموزش کشاورزی و منابع طبیعی بلوچستان (ایرانشهر)، سازمان تحقیقات، آموزش و ترویج کشاورزی، ایرانشهر، ایران

۲. بخش تحقیقات علوم زراعی و باغی، مرکز تحقیقات و آموزش کشاورزی و منابع طبیعی بلوچستان، ایرانشهر، ایران

۳. پژوهشکده خرما و میوه‌های گرمسیری، موسسه تحقیقات علوم باغبانی، سازمان تحقیقات، آموزش و ترویج کشاورزی، اهواز، ایران.

تاریخ دریافت:۱۴۰۴/۱۰/۱۲ تاریخ پذیرش:۱۴۰۴/۱۱/۱۸

چکیده

میوه خرما نگهداری شده در سردخانه‌ها همه‌ساله توسط عوامل مختلفی مورد آسیب‌های جدی قرار می‌گیرد. بیمارگرهای قارچی پس از برداشت یکی از مهم‌ترین عوامل طبیعی خسارت‌زا در سردخانه‌های میوه خرما می‌باشد. برای پیش‌آگاهی، پیشگیری و مدیریت طغیان بیماری‌های گیاهی در شرایط پس از برداشت، نیاز به پایش قارچ‌های بیمارگر است. به منظور بررسی قارچ‌های بیمارگر، حداقل ۵ نمونه یک کیلویی رقم مضافتی (هر دو هفته یکبار از ۱۰ سردخانه در شهرستان سراوان از) از هر سردخانه بصورت تصادفی برداشته شده و به آزمایشگاه تحقیقات گیاهپزشکی مرکز تحقیقات و آموزش کشاورزی و منابع طبیعی بلوچستان منتقل گردید. به منظور شناسایی عوامل بیمارگر پس از برداشت، اقدام به کشت نمونه‌های آلوده روی محیط‌های کشت عمومی و اختصاصی شد. در مجموع ۱۱۴ جدایه متعلق به سه جنس قارچی پنی‌سیلیوم، آسپرژیلوس و آلترناریا از خرماهای جمع‌آوری شده از سردخانه‌های سطح شهرستان، جداسازی و به روش ریخت شناختی مورد شناسایی قرارگرفت. در نهایت دوازده جدایه از جدایه‌های دارای ویژگی‌های ریخت‌شناختی متفاوت به منظور انجام استخراج دی ان ای و تعیین ترادف نوکلئوتیدی ناحیه ژنومی ITS1-5.8S-ITS2 انتخاب شدند. بررسی نمونه‌های جمع‌آوری شده از سردخانه‌ها نشان داد بیشترین میزان آلودگی متعلق به گونه قارچی آلترناریا می‌باشد. قارچ‌های بیمارگر در شرایط سردخانه توانایی آلودگی بخش زیادی از محصول خرما را در دمای بالا (دمای بالای ۱۰ درجه سلسیوس)، عدم تهویه مناسب (در برخی مناطق رطوبت نسبی به بالای ۷۰ درصد می‌رسید) و عدم بهداشت سردخانه (در برخی از سردخانه‌ها میوه خرما سال قبل و همچنین در یک قسمت سردخانه ضایعات خرما نگهداری می‌شد) را دارا می‌باشند.

واژه‌های کلیدی: سردخانه خرما، سراوان، *Alternaria*، سیستان و بلوچستان

* a_pordel@areeo.ac.ir

[Downloaded from mail.amfi.ir on 2026-06-09]

مقدمه

خرما (*Phoenix dactylifera* L.) گیاهی دو پایه گرمسیری و نیمه‌گرمسیری از تیره Palmaceae یا Arecaceae است. سطح زیر کشت نخلستان‌های ایران با احتساب درختان پراکنده در سال ۱۴۰۰حدود ۳۶۵۱۴۰ هزار هکتار برآورد گردیده است (آمارنامه جهادکشاورزی، ۱۴۰۳). بیشترین سطح بارور خرما در کشور با ۱۷ درصد به استان سیستان و بلوچستان تعلق دارد و استان‌های بوشهر، هرمزگان، منطقه جیرفت و کهنوج در جنوب کرمان، خوزستان، کرمان و فارس در رده‌های بعدی قرار می‌گیرند. سطح برداشت خرما در کشور ۲۸۶۳۹۳ هکتار و میزان تولید خرما در ایران ۱.۹۷ میلیون تن در سال ۲۰۲۴ می‌باشد (آمارنامه جهادکشاورزی، ۱۴۰۳). میزان سطح زیر کشت خرما در استان سیستان و بلوچستان و کرمان به ترتیب ۶۲۶۸۹ و ۴۳۸۳۹ هکتار و میزان تولید آن ۳۲۹۲۲۰ و ۲۶۷۶۲۶ تن است (۱). حساسیت زیاد میوه خرما به آسیب‌های فیزیکی و آلودگی‌های میکروبی سبب گردیده تا ریسک بازاررسانی این محصول در مدت زمان طولانی و به خصوص در فواصل دور بسیار بالا باشد. با جداسازی و شناسایی میکروارگانیسم‌های عامل فساد و پوسیدگی میوه خرمای تازه، دسترسی به روش‌های مناسب انبارداری و بسته‌بندی این میوه امکانپذیر خواهد بود. بیماری‌های خرما در دهه‌های اخیر در حال افزایش است که این مساله باعث نگرانی تولید کنندگان خرما شده است. بیمارگرهای قارچی درخت خرما به عنوان عوامل مشکل‌زا در نظر گرفته می‌شوند که منجر به کاهش معنی‌داری در رشد و توسعه و همچنین تولید محصول خرما در کل دنیا می‌گردند (۲و ۳). میوه خرما در مرحله رطب فسادپذیر بوده و در مقایسه با ارقام خشک و نیمه‌خشک بیشتر در معرض فساد میکروبی قرار دارند. روی سطح خرماهای تازه و انبار شده، در محیط کارخانه بسته‌بندی و بازار خرده فروشی، میکروارگانیسم-هایی از قبیل باکتری‌ها و قارچ‌ها مشاهده می‌شود، به خصوص وقتی عملیات ضدعفونی به شکل مناسب اعمال نگردد انواع آلودگی میکروبی جداسازی شده از میوه‌های خرما شامل مخمرها، کپک‌ها، باکتری‌های هستند (۴). خرماهای حاوی رطوبت بالای ۲۵ درصد در دماهای بالا به طور طبیعی تحت تاثیر میکروارگانیسم‌ها قرار می‌گیرند. مقدار pH میوه‌های خرما معمولاً بین ۶-۵/۵ و رشد قارچ‌ها را میسر می‌سازد (۵). رشد قارچ‌ها بر روی خرما را می‌توان از روی رشد ریسه‌ها، تغییر رنگ یا طعم و بوی خرما تشخیص داد. این میکروارگانیسم‌ها بطور معمول قبل از آن که خرما چروکیده یا خشک شود، روی آن گسترش می‌یابند، زیرا قادر به رشد و تکثیر روی خرماهای چروکیده نمی‌باشند. از مهمترین بیمارگرهای قارچی در سردخانه خرما می توان به مخمرها و قارچ‌های *Aspergillus*، *Penicillium*، *Alternaria*، *Cladosporium*و *Phomopsis* اشاره کرد. این قارچ‌ها ممکن است در خرماهایی که محتوی آب بیشتری دارند ظهور پیدا کنند. اگر در زمان برداشت، هوا بارانی یا مرطوب باشد میزان این آلودگی‌ها به مراتب بیشترخواهند بود و علاوه بر اینکه تأثیرات نامطلوبی روی بازارپسندی محصول دارد، استفاده‌ی آن را برای مصرف کننده خطرناک می‌کند (۶). گونه‌هایی از قارچ *Aspergillus*، *Penicillium*، *Fusarium*، *Alternaria* و *Rhizopus* با تولید مایکوتوکسین‌ها به عنوان عوامل ایجاد پوسیدگی در خرما شناخته شده‌اند (۷). برخی پژوهشگران، گونه‌های قارچ *Aspergillus* و *Alternaria* را عمومی‌ترین عوامل فساد در خرما گزارش کرده‌اند (۸ و۹). بررسی کیفیت میکروبی برخی ارقام خرمای مراکش حاکی از وجود کپک *Aspergillus niger* به عنوان فراوانترین گونه قارچی بود (۱۰).

به دلیل پایین بودن قیمت خرما در فصل برداشت و همچنین نبود بازار و تقاضا در این فصل، بخش زیادی از محصول خرما در سردخانه‌های استان سیستان و بلوچستان نگهداری می‌گردد. نبود شرایط مناسب دمایی و رطوبتی برای نگهداری خرما باعث شده تا سردخانه‌های استان سیستان و

[Downloaded from mail.amfi.ir on 2026-06-09]

بلوچستان همه‌ساله توسط عوامل مختلفی مورد آسیب‌های جدی قرار گیرد. بیمارگرهای قارچی نیز یکی از مهم‌ترین این عوامل هستند که در سطوح وسیعی خسارت‌های زیادی را به میوه خرما وارد می‌کنند. به دلیل نبود سیستم پایش هوشمند و مستمر در سطح سردخانه‌های خرما معمولاً پس از بروز طغیان آفات و بیماری‌ها و ایجاد خسارت گسترده، متولیان اقدامات مورد نیاز را آغاز می‌کنند که در این مرحله خسارت وارده شده و هزینه‌های تحمیل شده بسیار بالا بوده و میزان موفقیت کنترل نیز بسیار پایین می‌باشد. تحقیق حاضر با هدف جداسازی و شناسایی قارچ‌های پس از برداشت خرما از سردخانه‌های خرما در استان سیستان و بلوچستان انجام شد.

مواد و روش‌ها

نمونه‌برداری در سال‌های ۱۴۰۱ تا ۱۴۰۳ از رقم مضافتی در برخی از سردخانه‌های شهرستان سراوان صورت پذیرفت. در طی نمونه برداری بخش زیادی از خرماهای بسته بندی شده مورد ارزیابی و نمونه‌های دارای علائم به آزمایشگاه منتقل گردید. نمونه‌های مورد بررسی دارای علائم پوسیدگی و لهیدگی بود و همچنین در برخی از نمونه‌های بررسی شده مراحل مختلف رشدی آفات مشاهده گردید. خرمای آلوده ضد عفونی سطحی با و بدون محلول هیپوکلرید سدیم رقیق شد (دارای دو درصد ماده موثر) و متعاقب آن سه بار شستشو با آب مقطر استریل و آب گیری با کاغذ صافی استریل انجام گرفت. جهت جداسازی قارچ از خرمای دارای علایم لهیدگی، از روش محیط‌های کشت آب – آگار دو درصد استفاده شد. جهت خالص‌سازی، جدایه‌های به دست آماده تک اسپور گردید و به محیط آب آگار دو درصد انتقال یافت. پس از ۴۸ تا ۷۲ ساعت اسپورها جوانه‌زده و با استفاده از روش نوک هیف کردن[2] به محیط کشت عمومی (Potato Dextrose Agar, PDA) منتقل شدند (۱۱). جهت شناسایی ریخت شناختی گونه‌ها، پس از بررسی ویژگی‌های ماکروسکوپی و میکروسکوپی، از توصیف‌های موجود در منابع معتبر قارچ شناسی و مقالات بر اساس خصوصیات پرگنه، شکل و تیپ کنیدیوفور و کنیدیوم، حضور یا عدم حضور اسپودوکیوم استفاده شد. جهت اسپورزایی گونه‌های قارچی و مشاهده خصوصیات پرگنه ازمحیط‌های کشت اختصاصی و شرایط رشدی مخصوص هر گونه استفاده گردید. شناسایی بر اساس کتاب‌ها، کلیدها و مقالات معتبر موجود انجام شد (۱۲، ۱۳، ۱۴ ، ۱۵).

واکاوی فیلوژنتیکی جدایه‌های بدست آمده از میوه‌های دارای علائم آلودگی

جدول ۱- قارچ‌های جدا شده از میوه خرما در سردخانه‌های سراوان

ردیف	نام بیمارگر	خسارت	محل جمع آوری	تعداد جدایه
۱	*Penicillium* sp.	لهیدگی و اضمحلال میوه و تولید توکسین های پاتولین و نورتوکسین	سراوان	۳۵
۲	*Penicillium digitatum*	لهیدگی و اضمحلال میوه	سراوان	۱۶
۳	*Alternaria alternata*	لهیدگی و اضمحلال میوه	سراوان	۵۰
۴	*Aspergillus niger*	لهیدگی و اضمحلال میوه	سراوان	۱۰
۵	*Alternaria atra*	لهیدگی و اضمحلال میوه	سراوان	۳

[2] Hyphal tip method

[Downloaded from mail.amfi.ir on 2026-06-09]

برای واکاوی فیلوژنتیکی جدایه‌های جنس *Alternaria*، *Aspergillus* و *Penicillium* از ناحیه ژنی ITS-rDNA استفاده شد. برای این منظور ابتدا DNA ژنومی استخراج شد. سپس ناحیه هدف براساس نوشته گایزر و همکاران تکثیر شد (۱۶). خالص‌سازی و توالی‌یابی محصولات به دست آمده توسط شرکت کدون ژنتیک تهران انجام گردید. همردیف سازی توالی‌ها با برنامه MUSCLE در نرم افزار (Molecular Evolutionary Genetics Analysis, v 6.0) MEGA6.0 انجام شد (۱۸، ۱۷). روابط فیلوژنتیکی میان جدایه‌های بدست آمده همراه با توالی تعداد دیگری از جدایه‌های تیپ گرفته شده از مقالات معتبر به روش حداکثر صرفه‌جویی (Maximum Parsimony) مورد تجزیه و تحلیل قرار گرفت و تبارنمای مربوط به آنها رسم شد. اعتبار شاخه‌ها با انجام اعتبارسنجی (Bootstrap) در ۱۰۰۰ تکرار مورد سنجش قرار گرفت و ارزش بیشتر از ۹۰ روی درخت فیلوژنتیکی نشان داده شد.

نتایج و بحث

پس از بررسی سردخانه‌های شهرستان سراوان، برخی از بیماری‌ها و آفات مهم در این سردخانه‌ها ردیابی و پایش گردید که در جدول ۱ ذکر شده است. طی بررسی تعداد ۱۰ سردخانه در سطح شهرستان سراوان و حومه، تعداد ۱۰۰ نمونه یک کیلویی از این سردخانه‌ها جمع آوری گردید که پس از بررسی آزمایشگاهی به منظور پایش بیماری‌های سردخانه خرما، بیشترین تعداد جدایه قارچی بدست آمده متعلق به گونه *Alternaria alternata* (۵۰ جدایه) و کمترین متعلق به گونه *Alternaria atra* بود. با بررسی نمونه‌های جمع آوری شده از سردخانه‌های خرما بیشتر فراوانی را گونه *Alternaria alternata* در سردخانه‌های پایش شده دارد.

***Alternaria alternata* (Fr.) Keissl.**, Beih. bot. Zbl., Abt. 2 **29**: 434 (1912)

محل جمع آوری: سراوان در استان سیستان و بلوچستان.
زمان جمع آوری: تیرماه، مردادماه، شهریور ماه، آبان ماه و آذرماه ۱۴۰۲.

مشخصات ریخت شناسی: پرگنه جدایه‌های این گونه روی محیط کشت PCA بعد از گذشت هفت روز در دمای ۲۲-۲۵ درجه سلسیوس و دوره‌ی نوری/ تاریکی به مدت ۱۶/۸ ساعت، به رنگ قهوه‌ای زیتونی تا قهوه‌ای تیره و دارای قطر رشدی برابر با ۷۰ میلی‌متر بود. رشد پرگنه این گونه بصورت حلقه‌های متحدالمرکز واضح بود. ریسه‌ها در سطح و داخل محیط کشت رشد کرده و به رنگ زرد روشن با بندهای عرضی روشن بودند. هاگ‌برهای اولیه اغلب از ریسه‌های موجود در سطح محیط کشت حاصل شده و و به رنگ قهوه‌ای روشن، کوتاه تا متوسط، صاف و گاهی دارای خمیدگی‌های زانویی شکل و به ابعاد ۴-۳ × ۹۰-۲۰ میکرومتر بودند. هاگ‌ها به رنگ قهوه‌ای روشن تا قهوه‌ای متمایل به طلایی، با بندهای عرضی تیره، به اشکال بیضوی تا بیضوی کشیده، تخم مرغی، چماقی شکل و در مواردی کروی بودند. سطح هاگ‌ها دارای تزییناتی بودند. هاگ‌ها به ابعاد ۱۶-۸ × ۵۰-۱۴ میکرومتر و دارای ۸-۱ بند عرضی، ۰-۲ بند طولی و ۲-۰ بند مورب بودند. هاگ‌برهای ثانویه در برخی از هاگ‌ها تشکیل شده و تا ۲۸ میکرومتر نیز طول داشتند.

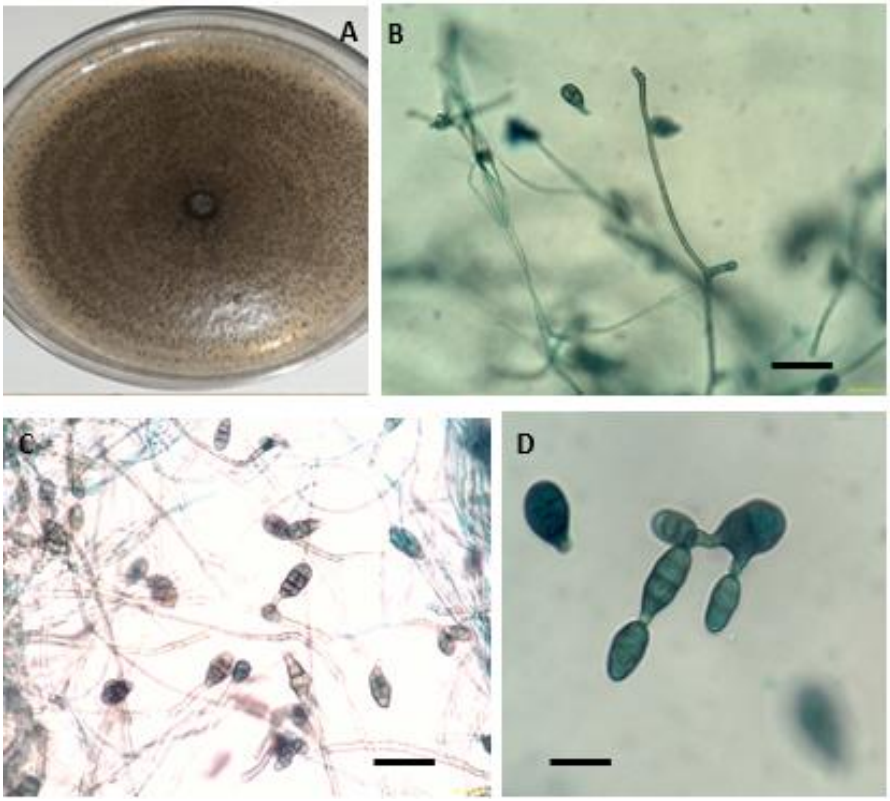
***Alternaria atra* (Preuss) Woudenb. & Crous**, comb. nov. MycoBank MB803717.

محل جمع آوری: سراوان در استان سیستان و بلوچستان.
زمان جمع آوری: آبان ماه ۱۴۰۲.

مشخصات ریخت شناسی: پرگنه این گونه روی محیط کشت PCA بعد از گذشت هفت روز در دمای۲۵-۲۲ درجه سلسیوس و دوره‌ی نوری/ تاریکی به مدت ۱۶/۸ ساعت به رنگ زیتونی تیره و به قطر ۶۰ میلی‌متر بودند. جدایه‌های این گونه هاگ‌زایی فراوان بوده و اغلب از ریسه های هوایی بصورت مجتمع صورت می گیرد (شکل ۱). ریسه‌های قارچ به رنگ قهوه‌ای روشن بودند. هاگ‌برها به رنگ روشن راست تا خمیدگی‌های زانویی شکل، کوتاه تا متوسط، با ۸-۰ بند عرضی و دارای ابعاد ۶۵-۲۰ × ۵-۳ میکرومتر بودند. در روی هریک از هاگ‌برها ممکن است ۸-۳ هاگ تشکیل شدند. تشکیل هاگ‌ها بصورت منفرد از هاگ‌بر اولیه اغلب

[Downloaded from mail.amfi.ir on 2026-06-09]

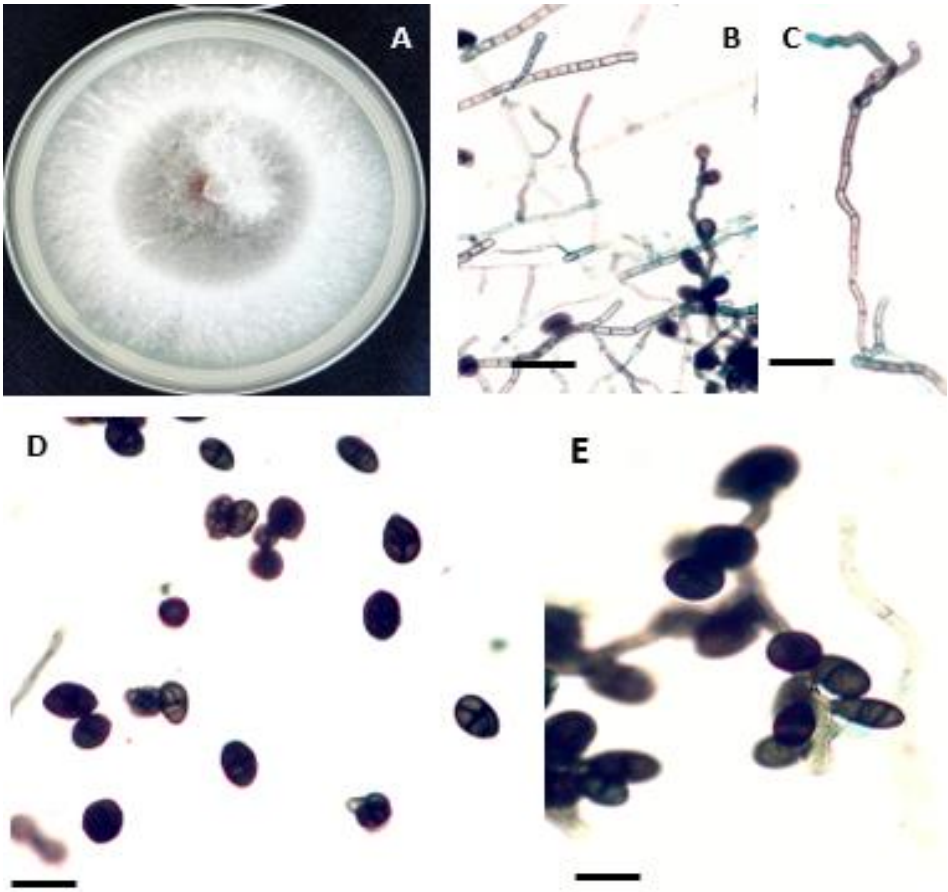
از ریسه‌های هوایی صورت می‌گیرد که در زیر بینوکولار بصورت مجتمع مشاهده شدند. هاگ‌ها به رنگ قهوه‌ای روشن تا تیره، اغلب به اشکال کروی تا تخم مرغی تا کروی کشیده و دارای بندهای عرضی صلیبی شکل بودند. در مواردی نیز هاگ‌ها کاملا کشیده مشاهده می‌شدند. هاگ‌ها دارای تزییناتی زگیل مانند در سطح خود بودند (شکل ۲). هاگ‌ها دارای ابعاد ۲۵-۱۳ × ۱۹-۹ میکرومتر و با ۴-۱ بند عرضی و نیز در مواردی دارای ۳-۱ بند طولی و ۲-۰ بند مورب بودند. این گونه در ایران از میزبان‌های مختلفی جداسازی و شناسایی شده است (۸).



شکل ۱- گونه *Alternaria alternata*، A) پرگنه، B) کنیدیوفور، C-D) کنیدیوم (مقیاس =۱۰ میکرومتر).

ناحیه rDNA-ITS هسته‌ای با استفاده از جفت آغازگرهای ITS4و ITS5 تکثیر و ترادف‌یابی گردید (White et al. 1990). ترادف‌های به دست آمده تحت شماره به منظور ثبت در بانک ژن NCBI در حال اصلاح می‌باشد.. جستجوی بلاست ترادف‌های نوکلئوتیدی به دست آمده در بانک ژن NCBI، شباهت بالایی (۱۰۰ درصد) را با گونه *Alternaria alternata* EG 34-016 نشان داد. برای تایید شناسایی ریخت‌شناختی گونه *Alternaria atra*، جدایه‌های Aa1 و Aa2 با استفاده از جفت آغازگرهای ITS4 و ITS5 تکثیر و ترادف‌یابی گردید. جستجوی بلاست ترادف‌های نوکلئوتیدی به دست آمده در بانک ژن NCBI ،شباهت بالایی (۹۹ درصد) را با استرین ACC 18040 از گونه *Alternaria atra* نشان داد.

[Downloaded from mail.amfi.ir on 2026-06-09]



شکل ۲- *Alternaria atra* A) پرگنه، B-C) کنیدیوفورهای اولیه و D-E) کنیدی‌های قارچ (مقیاس= ۱۰ میکرومتر).

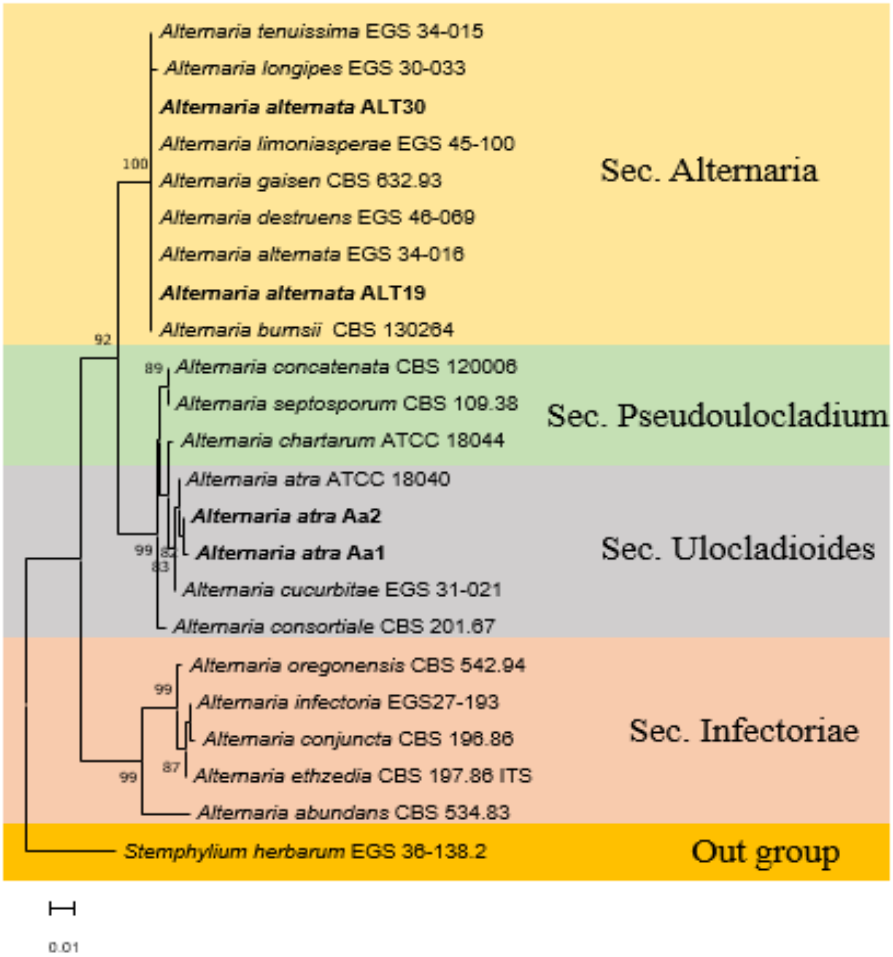
[Downloaded from mail.amfi.ir on 2026-06-09]

نتایج حاصـــل از تجزیه و تحلیل‌های فیلوژنتیکی ترادف‌های نوکلئوتیدی ناحیه ITS-rDNA هســـته‌ای با اســـتفاده از روش Maximum Parsimony برای جدایه‌های جنس *Alternaria* نشـــان داد که اطلاعات بدســـت آمده از ترداف‌های این ناحیه ژنومی با مقادیر اعتبار سنجی بالایی قادر به تفکیک بخش‌های درون جنس *Alternaria* می‌باشـد اما امکان تفکیک گونه‌های این جنس را ندارد. بر اســـاس تجزیه و تحلیل انجام شـــده، جدایه‌های مختلف مورد بررســـی در این تحقیق از بالا به پایین در شـــجره فیلوژنتیکی به ترتیب در بخش‌های *Alternaria* با مقـدار اعتبـار ســـنجی ۱۰۰ درصـــد، Ulocladioides و Pseudocladium بـا مقـدار اعتبـار ســـنجی ۹۹ درصـــد و Infectoriae با اعتبار سنجی ۹۹ درصد در کنار سایر بخش‌ها قرار گرفتند (شـــکل ۳). نتایج حاصـــل از تجزیه و تحلیل‌های ترادف‌های نواحی ژنومی مذکور، تایید کننده گروه‌بندی‌های ابتدایی انجام شـده بر اسـاس صـفات ریخت شـناختی از قبیل الگوی کنیدیوم‌زایی (گروه‌های گونه‌ای) می‌باشـد. نتایج این تجزیه تحلیل با نتایج سایر مطالعات تاکسونومی مولکولی انجام شده در زمینه تعیین بخش‌های درون جنس *Alternaria*، مطابق می‌باشـــد (۱۹). در نهایت با توجه به نتایج بررســـی ریخت شناختی، جستجو در بلاست ترادف‌های نوکلئوتیدی و درخت فیلوژنی ترســـیم شـــده (جدایه‌ها در بخش مربوط به خود قرار گرفتند) جدایه‌ها شناسایی شدند.

Aspergillus niger sensu auct. pro parte, pre 2007; fide Kirk (in litt.)

. محل جمع‌آوری: سراوان در استان سیستان و بلوچستان. زمان جمع‌آوری: بهمن ماه، ۱۴۰۱ و اردیبهشـــت ماه، خردادماه، شهریورماه و مهرماه ۱۴۰۲.

[Downloaded from mail.amfi.ir on 2026-06-09]

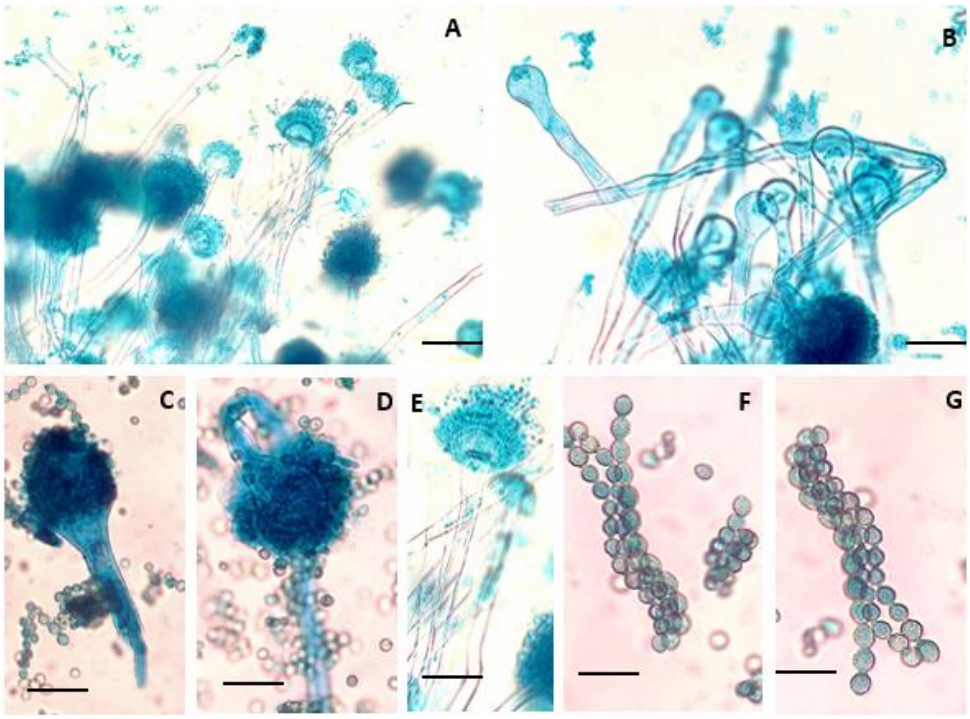


شکل ۳- درخت فیلوژنتیکی استنباط شده از ناحیه ITS-rDNA هسته‌ای برای ۲۳ جدایه از جنس *Alternaria* با روش Maximum Parsimony. اعداد بالای هر شاخه مقدار اعتبارسنجی از ۱۰۰۰ تکرار را نشان می‌دهد.

مشخصات ریخت شناسی: قطر رشدی پرگنه قارچ روی محیط کشت CYA بعد از گذشت ۷ روز در شرایط تاریکی و دمای ۹۷ درجه سلسیوس برابر ۷۱ میلی‌متر بود. پرگنه قارچ سریع الرشد بوده، به رنگ قهوه‌ی تیره مایل به سیاه، با بافت مخملی دانه‌ای درشت، پودری، خشک، صاف، مسطح؛ پرگنه از پشت به رنگ خاکستری مایل به سیاه، صاف و فاقد شیار است و به دلیل تولید رنگدانه زرد به ویژه روی یک نوار در حد فاصل بین مرکز و حاشیه پرگنه، متمایل به زرد دیده می‌شد. میسلیوم‌ها بی‌رنگ، در داخل به‌ویژه نزدیک به سطح و درسطح محیط کشت رشد کرده و پرگنه فاقد میسلیوم‌های هوایی بود. میسلیوم‌های داخلی نزدیک به سطح و در سطح محیط کشت به صورت بسیار متراکم و سفت رشد کردند. اسپورزایی سریع و زیاد، کنیدیوفورها ایستاده و بی رنگ، سرهای کنیدیومی به رنگ قهوه‌ای تیره، کروی، متراکم، درشت و به تعداد فراوان در کل سطح پرگنه قارچ تشکیل می‌شدند که به هنگام بلوغ به صورت ستون‌های شعاعی در چندین جهت شکافته می‌شدند. قطرات ترشحی شفاف به تعداد زیاد در سطح کنیدیوفورها و سرهای کنیدیومی در زیر استریومیکروسکوپ دیده می‌شد (شکل ۴) .

[Downloaded from mail.amfi.ir on 2026-06-09]

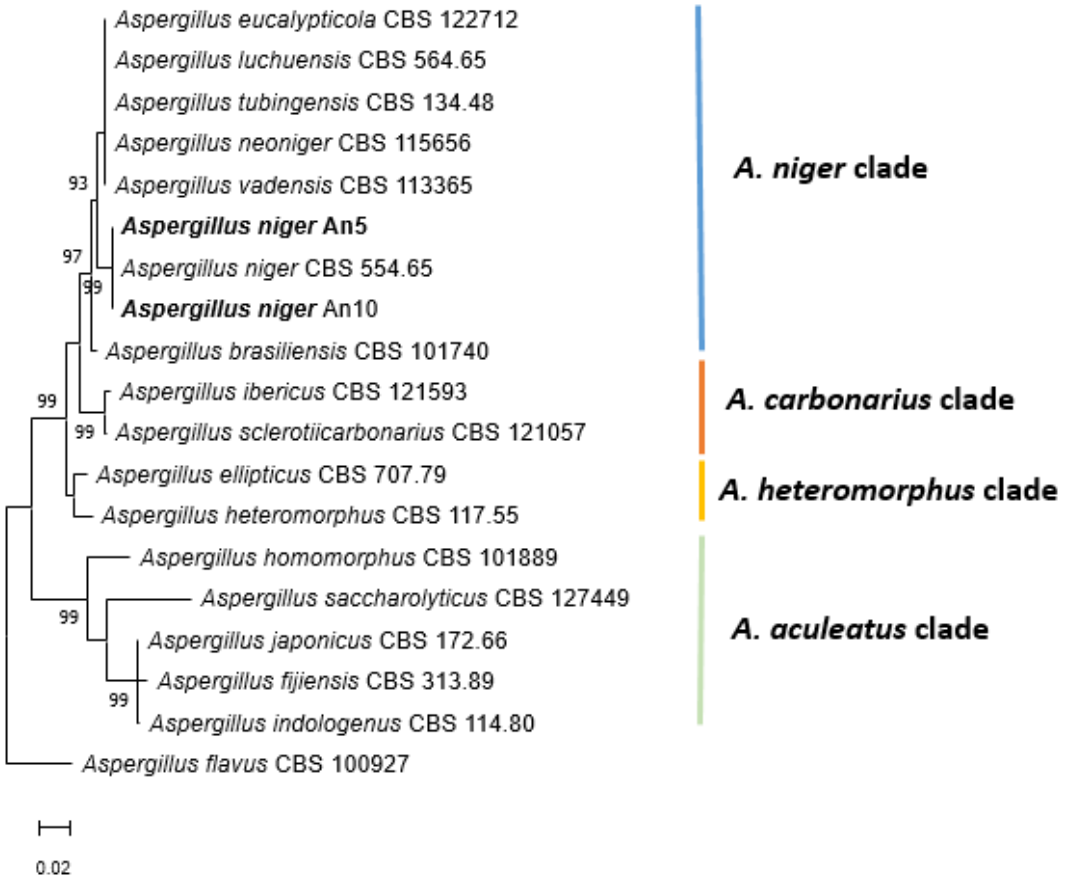
برای تایید شناسایی ریخت‌شناختی ناحیه rDNA-ITS هسته‌ای با استفاده از جفت آغازگرهای ITS4 و ITS5 تکثیر و ترادف‌یابی گردید (۲۰). جستجوی بلاست ترادف‌های نوکلئوتیدی به دست آمده در بانک ژن NCBI ،شباهت بالایی (۱۰۰ درصد) را با استرین CMV005H55 و CMV005415 از گونه *Aspergillus niger* نشان داد.



شکل ٤-گونه *Aspergillus niger*، A-B) کنیدیوفور، C-D) وزیکل و فیالید، F-G) کنیدیوم (مقیاس =۱۰ میکرومتر).

نتایج حاصل از تجزیه و تحلیل‌های فیلوژنتیکی ترادف‌های نوکلئوتیدی ناحیه ITS-rDNA هسته‌ای با استفاده از روش Maximum Parsimony نشان می‌دهد که اطلاعات بدست آمده از ترداف‌های این ناحیه ژنومی با مقادیر اعتبار سنجی بالایی قادر به تفکیک گروه‌های درون جنس *Aspergillus* می‌باشد. بر اساس تجزیه و تحلیل انجام شده، جدایه‌های مختلف مورد بررسی در این تحقیق از بالا به پایین در شجره فیلوژنتیکی به ترتیب در گروه‌های *A. niger* با مقدار اعتبار سنجی ۹۷ درصد، گروه *A. carbonarius* و *A. heteromorphus* با مقدار اعتبار سنجی ۹۹ درصد و *A. aculeatus* با اعتبار سنجی ۹۹ درصد در کنار یکدیگر قرار گرفتند (شکل ۵). نتایج این تجزیه تحلیل با نتایج سایر مطالعات تاکسونومی مولکولی انجام شده در زمینه تعیین بخش‌های درون جنس *Aspergillus*، مطابق می‌باشد (۲۱).

[Downloaded from mail.amfi.ir on 2026-06-09]



شکل ۵- درخت فیلوژنتیکی استنباط شده از ناحیه ITS-rDNA هسته‌ای برای ۱۹ جدایه از جنس *Aspergillus* با روش Maximum Parsimony. اعداد بالای هر شاخه مقدار اعتبارسنجی از ۱۰۰۰ تکرار را نشان می‌دهد.

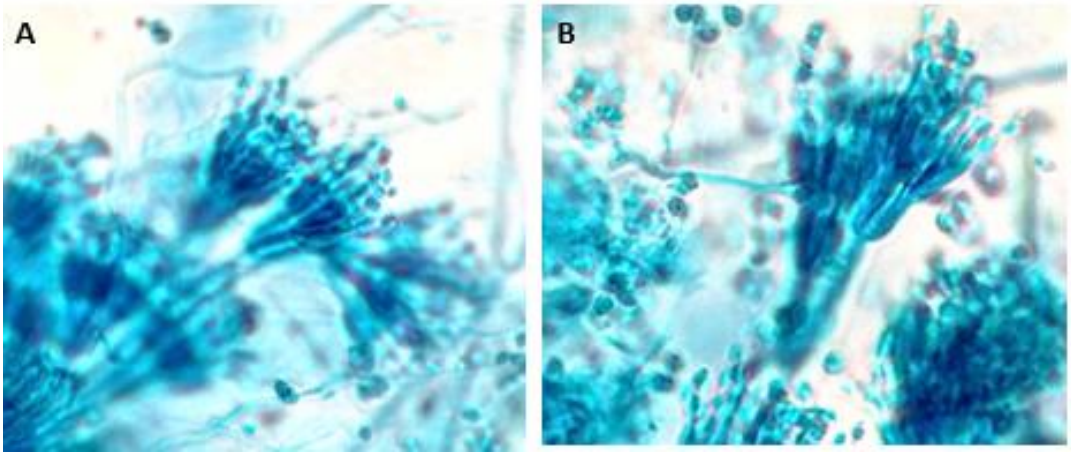
***Penicillium* sp.**

محل جمع‌آوری: سراوان در استان سیستان و بلوچستان. زمان جمع‌آوری: تیرماه، خردادماه، شهریور ماه ، مهرماه و آذر ماه، ۱۴۰۲.

مشخصات ریخت شناسی: قطر رشدی پرگنه قارچ روی محیط کشت MEA بعد از گذشت ۷ روز در شرایط تاریکی و دمای ۱۵ درجه ۱۸میلی متر بود. پرگنه قارچ به رنگ سبز آبی مایل به خاکستری و در حاشیه سفید رنگ بود که به دلیل وجود میسلیوم‌های سفید رنگ و اسپورهای نابالغ بود. حاشیه پرگنه صاف و در قالب یک نوار باریک حاشیه ای، میسلیوم‌ها در داخل محیط کشت رشد کردند. ریسه‌ها نزدیک به سطح محیط کشت و یا در سطح محیط کشت و به میزان کمتری به صورت پراکنده در برخی نقاط پرگنه به صورت هوایی رشد کردند. ارتفاع پرگنه در بخش مرکزی بیشتر بوده و به سمت حاشیه از ارتفاع آن کاسته می‌شد. اسپور زایی سریع و به میزان بسیار زیاد در کل سطح پرگنه قارچ و در سطح ریسه‌های موجود در سطح محیط کشت و نیز به میزان کمتری در سطح ریسه‌های هوایی صورت گرفت (شکل ۶). قطرات ترشحی شفاف تا مایل به زرد در لا به لای کنیدیوفورها و کنیدیوم‌ها به ویژه در ابعاد بزرگتر در مرکز پرگنه دیده می‌شد. زنجیرهای کنیدیومی در ابتدای تشکیل

[Downloaded from mail.amfi.ir on 2026-06-09]

کوتاه و منظم بوده و به تدریج بلندتر و نامنظم‌تر می‌شـد. ریسـه‌ها باریک، منشـعب، دارای دیواره عرضـی و بی رنگ بودند. کنیدیوفور ها بی‌رنگ، راسـت، مسـتقیم، واجد دیواره‌های عرضـی، با سـطح زبر، در انتها منشـعب، انشـعابات اغلب متقارن، گاهی اوقات نامتقارن و اغلب به صـورت Biverticillateو ندرتاً Treverticillate بود (شکل ۶).



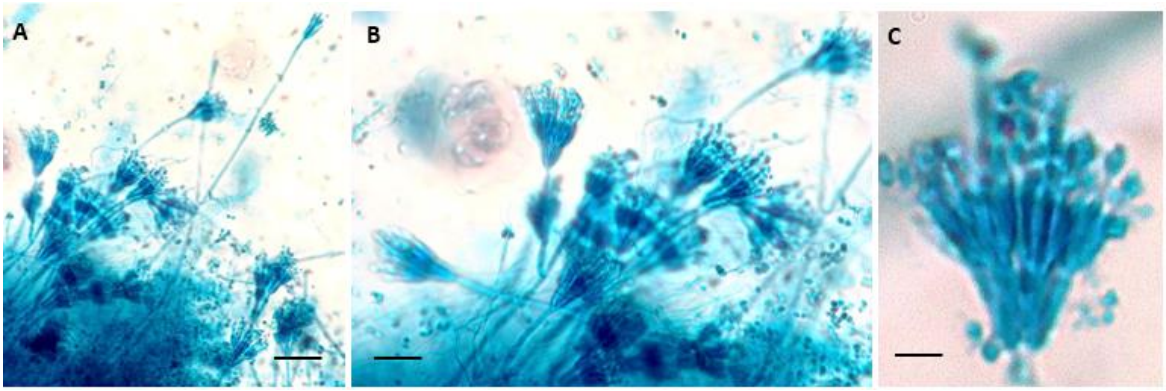
شکل ٦- کنیدیوفور و کنیدیوم گونه *Penicillium* sp. (مقایس= ۱۰ میکرومتر)

***Penicillium digitatum* (Pers.) Sacc.**, Fungi italica autogr. del. 17-28: tab. 894 (1881)

جدایه‌های بررسی شده: PD1، PD2، PD3، PD4، PD5، PD21، PD22، PD23، PD24، PD25، PD26، PD27، PD28، PD29، PD30، PD31. محل جمع‌آوری: سـراوان در استان سیستان و بلوچستان. زمان جمع‌آوری: تیرماه، خردادماه، شهریور ماه ، مهرماه و آذر ماه و دی ماه ۱۴۰۲.

مشخصات ریخت شناسی: قطر رشدی پرگنه قارچ روی محیط کشت MEA بعد از گذشت ۷ روز در شرایط تاریکی و دمای ۱۵ درجه سیلسیوس ۲۰ میلی‌متر است. پرگنه قارچ به رنگ سـبز آبی مایل به خاکسـتری و در حاشـیه سـفید رنگ است که به دلیل وجود میسلیوم‌های سفید رنگ و اسپورهای نابالغ بود. حاشـیه پرگنه صـاف و در قالب یک نوار باریک حاشـیه‌ای، میسـلیوم‌ها در داخل محیط کشـت رشـد می‌کنند. ریسـه‌ها نزدیک به سـطح محیط کشـت و یا در سـطح محیط کشـت و به میزان کمتری به صـورت پراکنده در برخی نقاط پرگنه به صـورت هوایی رشـد کردند. ارتفاع پرگنه در بخش مرکزی بیشتر بوده و به سـمت حاشـیه از ارتفاع آن کاسته می شـد. اسـپور زایی سـریع و به میزان بسـیار زیاد در کل سـطح پرگنه قارچ و در سـطح ریسـه‌های موجود در سـطح محیط کشـت و نیز به میزان کمتری در سـطح ریسـه‌های هوایی صـورت گرفت. قطرات ترشـحی شـفاف تا مایل به زرد در لا به لای کنیدیوفورها و کنیدیوم‌ها به ویژه در ابعاد بزرگتر در مرکز پرگنه دیده می‌شـد. زنجیرهای کنیدیومی در ابتدای تشـکیل کوتاه و منظم بوده و به تدریج بلندتر و نامنظم‌تر می‌شـد. ریسـه‌ها باریک، منشـعب، دارای دیواره عرضـی و بی رنگ بودند. کنیدیوفورها بی رنگ، راسـت، مسـتقیم، واجد دیواره‌های عرضـی، با سـطح زبر، در انتها منشـعب، انشـعابات اغلب متقارن، گاهی اوقات نامتقارن و اغلب به صـورت Biverticillate بودند (شکل ۷).

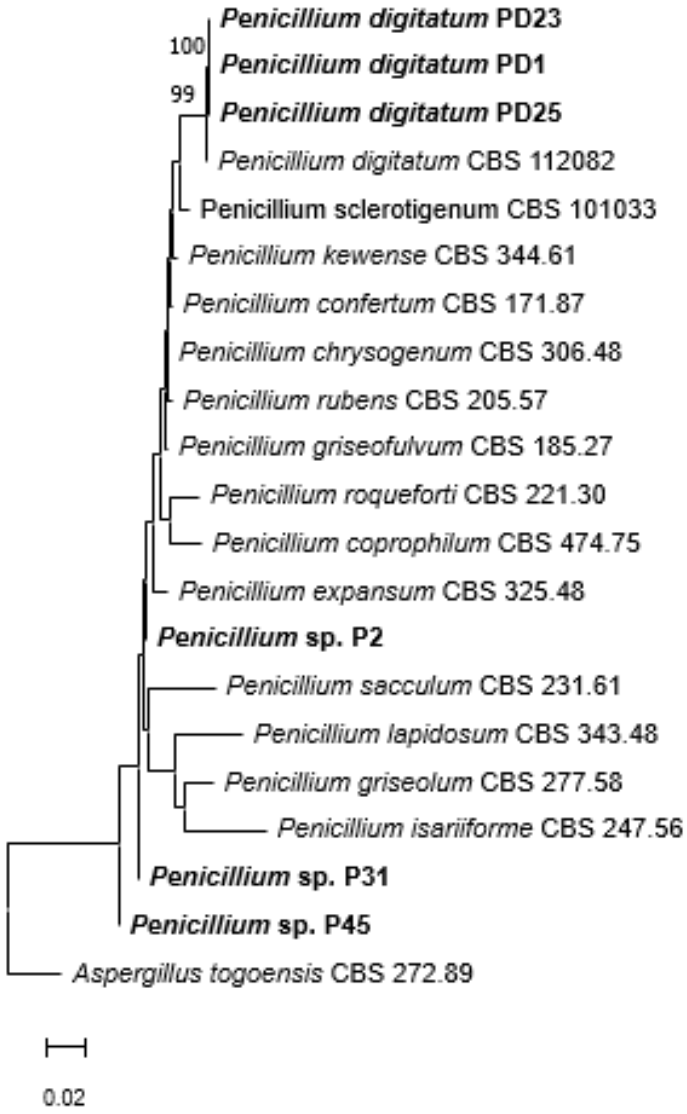
[Downloaded from mail.amfi.ir on 2026-06-09]



شکل ۷- گونه *Penicillium digitatum*، A-B) کنیدیوفور، C)، فیالید و کنیدیوم (مقایس = ۱۰ میکرومتر)

برای تایید شناسایی ریخت‌شناختی، جدایه‌های PD1، PD23، PD25، P2، P13 و P45 ناحیه rDNA-ITS با استفاده از جفت آغازگرهای ITS4 و ITS5 تکثیر و ترادف‌یابی گردید (۲۰). جستجوی بلاست ترادف‌های نوکلئوتیدی به دست آمده در بانک ژن NCBI ،شباهت بالایی (۹۹ درصد) را با استرین های CBS 112082 از گونه *Penicillium digitatum* نشان داد. در درخت فیلوژنی رسم شده به روش Maximum parsimony نیز جدایه‌های بدست آمده با جدایه تیپ (CBS 112082) در یک گروه قرار گرفت. جدایه P2، P13 و P45 در هیچ گروهی از *Penicillium* قرار نگرفت. به طور کلی ناحیه ژنی ITS-rDNA قادر به تفکیک گونه‌های جنس *Penicillium* نمی‌باشد (شکل ۸).

[Downloaded from mail.amfi.ir on 2026-06-09]



شـکل ۸- درخت فیلوژنتیکی اسـتنباط شـده از ناحیه ITS-rDNA هسـته‌ای برای ۲۲ جدایه از جنس *Penicillium* با روش Maximum Parsimony. اعداد بالای هر شاخه مقدار اعتبارسنجی از ۱۰۰۰ تکرار را نشان می‌دهد.

[Downloaded from mail.amfi.ir on 2026-06-09]

نتیجه‌گیری

در این بررسی تعداد پنج گونه قارچی با اطلاعات ریخت شناختی و مولکولی شناسایی شد که متعلق به جنس‌های *Penicillium*، *Aspergillus* و *Alternaria* هستند. در بین جدایه‌های قارچی بدست آمده، گونه *Alternaria alternata* بیشترین فراوانی و گونه *Alternaria atra* کمترین فراوانی را داشتند که از سردخانه‌های قدیمی با انباشت خرمای سال قبل بدست آمد.

سپاسگزاری

بدین وسیله از مرکز تحقیقات و آموزش کشاورزی و منابع طبیعی بلوچستان و شرکت شهرک‌های صنعتی استان سیستان و بلوچستان (خوشه کسب و کار خرما) جهت تامین منابع مالی برای انجام این تحقیق، تشکر و قدردانی می‌شود. مقاله حاضر از نتایج پروژه تحقیقاتی به شماره مصوب " ۳۴-۶۵-۰۱۰۶۷۷-۰۷۱-۱۶۰۳" بدست آمده است.

[Downloaded from mail.amfi.ir on 2026-06-09]

منابع

۱. آمارنامه کشاورزی ۱۴۰۳ (محصولات باغبانی). وزارت جهادکشاورزی، معاونت برنامه‌ریزی و اقتصادی، مرکز فناوری اطلاعات و ارتباطات.

2. El Hassni M, El Hadrami A, Daayf F, Chérif M, Ait Barka E, El Hadrami I. Biological control of bayoud disease in date palm: Selection of microorganisms inhibiting the causal agent and inducing defense reactions. Environmental and Experimental Botany. 2007 Mar 1;59(2):224-34.

3. Abass MH, Hameed MA, Alsadoon AH. Survey of fungal leaf spot diseases of date palm (phoenix dactylifera.) In shaat-alarab orchards/basrah and evaluation of some fungicides. Basrah Journal For Date Palm Research. 2007;6

۴. نجفی مرغملکی سلاله، مرتضوی سیدمحمدحسن، معتمدی حسین. بررسی اثر ضد میکروبی ده اسانس گیاهی بر عوامل باکتریایی و مخمر ایجاد کننده فساد میوه خرما در مرحله رطب. میکروبیولوژی کاربردی در صنایع غذایی۱۳۹۸؛۵(۱-۱۴)

5. Escott C, Del Fresno JM, Loira I, Morata A, Suárez-Lepe JA. Zygosaccharomyces rouxii: Control strategies and applications in food and winemaking. Fermentation. 2018 Aug 22;4(3):69.

6. Ebrahimi H, Mortazavi SM, Khorasani Ferdavani ME, Mehrabi Koushki M. The impact of two-sided ultraviolet radiation and long-term freezing on quality of date fruit at rutab stage. Journal of Food Processing and Preservation. 2019 Oct;43(10):e14128.

7. Anjili S, Chimbekujwo FC. Fungi associated with post-harvest spoilage of date palm (Phoenix dactylifera L.) in Yola, Adamawa State. International Journal of Research. 2015 Nov 11;14.

8. Irshad Ahmed IA, Muhammad Abid MA, Faisal Hussain FH, Abbas SQ, Rao TA. Pathogenic fungi associated with date palm trees in Turbat, Balochistan.

9. Colman S, Spencer TH, Ghamba PE, Colman E. Isolation and identification of fungal species from dried date palm (Phoenix dactylifera) fruits sold in Maiduguri metropolis. African Journal of Biotechnology. 2012;11(57):12063-

10. Hasnaoui A, ElHoumaizi MA, Asehraou A, Sindic M, Deroanne C, Hakkou A. Chemical composition and microbial quality of dates grown in Figuig oasis of Morocco.

11. Pordel A, Javan-Nikkhah M, Khodaparast SA. Revision of Pyricularia oryzae and occurrence of new hosts for the pathogen in Iran.

12. Crous PW, Braun U, Schubert K, Groenewald JZ. Delimiting Cladosporium from morphologically similar genera. Studies in Mycology. 2007 Jun 1;58(1):33-56.

13. Asgari B, Zare R, Zamanizadeh HR, Rezaee S. Aspergillus osmophilus sp. nov., and a new teleomorph for A. proliferans. Mycoscience. 2014;55(1):53-62.

14. Tavakol Noorabadi M, Babaeizad V, Zare R, Asgari B, Haidukowski M, Epifani F, Stea G, Moretti A, Logrieco AF, Susca A. Isolation, Molecular identification, and mycotoxin production of Aspergillus species isolated from the rhizosphere of sugarcane in the South of Iran. Toxins. 2020 Feb 14;12(2):122.

15. Ellis MB. Dematiaceous Hyphomycetes. Commonwealth Mycological Institute, Kew, Surrey, England. Ellis MB (1976). More Dematiaceous, Hyphomycetes, Commonwealth Mycological Institute, Kew, Surrey, England. 1971.

16. Geiser DM, Klich MA, Frisvad JC, Peterson SW, Varga J, Samson RA. The current status of species recognition and identification in Aspergillus. Studies in mycology. 2007 Sep 1;59(1):1-0.

[Downloaded from mail.amfi.ir on 2026-06-09]

17. Edgar RC. MUSCLE: a multiple sequence alignment method with reduced time and space complexity. BMC bioinformatics. 2004 Aug 19;5(1):113.
18. Tamura K, Peterson D, Peterson N, Stecher G, Nei M, Kumar S. MEGA5: molecular evolutionary genetics analysis using maximum likelihood, evolutionary distance, and maximum parsimony methods. Molecular biology and evolution. 2011 Oct 1;28(10):2731-9.
19. Woudenberg JH, Groenewald JZ, Binder M, Crous PW. Alternaria redefined. Studies in mycology. 2013 Jun 1;75(1):171-212.
20. White C, Del Fresno JM, Loira I, Morata A. Suárez-Lepe J.A. Zygosaccharomyces rouxii: Control Strategies and Applications in Food and Winemaking. Fermentation 1990. 4(3): 1-69.
21. Varga J, Juhász Á, Kevei F, Kozakiewicz Z. Molecular diversity of agriculturally
22. Important Aspergillus species. European Journal of Plant Pathology. 2004 Jun;110(5):627-40.

[Downloaded from mail.amfi.ir on 2026-06-09]