

DOI: 10.22092/BOTANY.2021.355951.1273

تنوع زیستی گونه‌های *Penicillium* و *Talaromyces* در ریزوسفر نیشکر در استان خوزستان*

دریافت: ۱۴۰۰/۰۶/۲۴ / پذیرش: ۱۴۰۱/۰۱/۱۶

لاله انصاری: دانشجوی دکتری گروه گیاه‌پزشکی، واحد علوم و تحقیقات، دانشگاه آزاد اسلامی، تهران، ایران

بی‌تا عسگری✉: استادیار پژوهش بخش تحقیقات رستنی‌ها، مؤسسه تحقیقات گیاه‌پزشکی کشور، سازمان تحقیقات، آموزش و ترویج کشاورزی، تهران، ایران (bita_asgari@yahoo.com)

رسول زارع: استاد پژوهش بخش تحقیقات رستنی‌ها، مؤسسه تحقیقات گیاه‌پزشکی کشور، سازمان تحقیقات، آموزش و ترویج کشاورزی، تهران، ایران
حمیدرضا زمانی‌زاده: استاد گروه گیاه‌پزشکی، واحد علوم و تحقیقات، دانشگاه آزاد اسلامی، تهران، ایران**چکیده**

به منظور بررسی تنوع زیستی جنس‌های *Penicillium* و *Talaromyces* در ریزوسفر نیشکر در استان خوزستان، تعداد ۶۴ نمونه خاک جمع‌آوری شده از هشت کشت و صنعت نیشکر مورد بررسی قرار گرفت که از این تعداد، ۱۸۷ جدایه از جنس *Penicillium* و هشت جدایه از جنس *Talaromyces* به دست آمد. بیش‌ترین تعداد جدایه *Penicillium* به دست آمده در این تحقیق، به ترتیب مربوط به کشت و صنعت‌های نیشکر کارون (۳۹ جدایه)، امیرکبیر (۳۳ جدایه) و هفت تپه (۳۰ جدایه) بود. به منظور انتخاب نماینده‌هایی از جدایه‌ها جهت انجام مطالعات ریخت‌شناختی، روش PCR-RFLPs براساس فرآورده تکثیر یافته ژن β -tubulin کلیه جدایه‌های به دست آمده مورد استفاده قرار گرفت. براساس مطالعات ریخت‌شناختی و مولکولی مبتنی بر ژن β -tubulin گونه *T. pinophilus* و ۱۱ گونه *Penicillium* شامل *P. restrictum*, *P. polonicum*, *P. parvulum*, *P. palitans*, *P. oxalicum*, *P. crustosum*, *P. crocicola*, *P. citrinum* و *P. chrysogenum* برای *P. simile* و *P. rubens* شناسایی شدند که در این میان، گونه‌های *P. parvulum* و *P. simile* برای نخستین بار از ایران گزارش می‌شوند. گونه *P. citri* فراوان‌ترین گونه (۶۴/۶۱٪) شناسایی شده در این تحقیق بود که از تمامی کشت و صنعت‌های نیشکر جداسازی شد. بیشترین تنوع گونه‌ای *Penicillium* مربوط به کشت و صنعت سلمان فارسی بود. اعضای جنس *Talaromyces* هم با فراوانی و تنوع بسیار کم و تنها از کشت و صنعت‌های امیرکبیر، دعبل خزاعی، سلمان فارسی و کارون شناسایی شدند.

واژه‌های کلیدی: تاکسونومی، ژن‌های تک‌نسخه‌ای، میکروبیولوژی خاک، *Trichocomaceae*, *Saccharum officinarum*, *Aspergillaceae***Biodiversity of *Penicillium* and *Talaromyces* species from sugarcane rhizosphere in Khuzestan province (Iran)**

Received: 15.09.2021 / Accepted: 05.04.2022

Laleh Ansari: PhD Student, Department of Plant Protection, Science and Research Branch, Islamic Azad University, Tehran, Iran**Bitā Asgari**✉: Research Assistant Prof., Department of Botany, Iranian Research Institute of Plant Protection, Agricultural Research, Education and Extension Organization (AREEO), Tehran, Iran (bita_asgari@yahoo.com)**Rasoul Zare:** Research Prof., Department of Botany, Iranian Research Institute of Plant Protection, Agricultural Research, Education and Extension Organization (AREEO), Tehran, Iran**Hamid Reza Zamanizadeh:** Prof., Department of Plant Protection, Science and Research Branch, Islamic Azad University, Tehran, Iran**Summary**

Members of *Penicillium* and *Talaromyces* that are among the most frequent fungi in sugarcane (*Saccharum officinarum* L.) rhizosphere, gain attention from various research fields such as agriculture, medicine, biotechnology and food industry. To evaluate the species diversity of these fungi in sugarcane rhizosphere in Khuzestan province of Iran, 64 samples were collected from eight sugarcane agro-industrial plantations, from which 187 isolates of *Penicillium* and eight isolates of *Talaromyces* were obtained. *Penicillium* isolates were recovered largely from the sugarcane cultivation areas Karoon (39 isolates), Amir Kabir (33 isolates) and Hafttappeh (30 isolates), respectively. To select representative isolates for morphological studies, the amplified parts of the β -tubulin gene of all strains were subjected to PCR-RFLPs. Based on morphological and molecular data (sequences of β -tubulin gene), *Talaromyces pinophilus* and 11 species of *Penicillium* including *P. chrysogenum*, *P. citrinum*, *P. crocicola*, *P. crustosum*, *P. oxalicum*, *P. palitans*, *P. parvulum*, *P. polonicum*, *P. restrictum*, *P. rubens*, and *P. simile* were identified. Among these, *P. parvulum*, and *P. simile* are new to the Iranian fungi. The results indicate that, *Penicillium citrinum*, isolated from all examined sugarcane cultivation areas, was the most frequent species (64.61%). Species diversity of *Penicillium* was highest in Salman Farsi sugarcane agro-industry plantation while members of *Talaromyces* were less frequent and diverse as they were only recovered from Amir Kabir, Debel Khazaei, Salman Farsi and Karoon sites.

Keywords: *Aspergillaceae*, *Saccharum officinarum*, single-copy genes, soil microbiology, taxonomy, *Trichocomaceae*

* مستخرج از رساله دکتری نگارنده نخست به راهنمایی دکتر بی‌تا عسگری و دکتر حمیدرضا زمانی‌زاده ارائه شده به واحد علوم و تحقیقات دانشگاه آزاد اسلامی

مقدمه

نیشکر (*Saccharum officinarum* L.) گیاهی زراعی و تک‌لپه‌ای متعلق به تیره گندمیان (*Poaceae*) است که در مناطق گرمسیری و نیمه‌گرمسیری جهان و عمدتاً به دلیل توانایی ذخیره غلظت‌های زیادی از ساکارز یا قند در ساقه‌های خود کشت می‌شود (Cox et al. 2000). این گیاه در حال حاضر، اساس اقتصاد بیش از ۱۰۰ کشور جهان را تشکیل داده و بیش از ۲۵ میلیون هکتار از اراضی زیر کشت جهان را به خود اختصاص داده است (Romão-Dumaresq et al. 2017). علاوه بر شکر، چندین فرآورده مهم دیگر از قبیل کاغذ، اتانول، خوراک دام، کودهای زیستی، مواد شیمیایی مشتق شده از الکل، انواع آنتی‌بیوتیک و مواد خام برای تولید برق از نیشکر تهیه می‌شود (Allen et al. 1997, Mackintosh 2000). قسمت عمده سطح زیر کشت و تولید این محصول زراعی در ایران مربوط به استان خوزستان است، به نحوی که سطح زیر کشت آن در سال زراعی ۹۸-۱۳۹۷، ۶۹،۳۲۴ هکتار، میزان تولید ۴،۵۶۸،۶۲۲ تن و عملکرد ۶۵،۹۰۳ کیلوگرم در هکتار بوده است (Ahmadi et al. 2020).

جنس *Penicillium* Link نخستین بار توسط لینک (Link 1809) معرفی شد. دیرکس (Dierckx 1901) نخستین محقق بود که سیستم طبقه‌بندی زیرجنس (*subgeneric*) را برای این قارچ ارایه نمود و زیرجنس‌های *Aspergilloides*، *Biverticillium* و *Eupenicillium* را معرفی کرد. بیورگ (Biourge 1923) با پیروی از سیستم طبقه‌بندی دیرکس (۱۹۰۱)، اعضای جنس *Penicillium* را به دو بخش (*sections*)، چهار سری (*series*) و شش زیربخش (*subsections*) تقسیم کرد. تام (Thom 1930) سیستم طبقه‌بندی دیرکس (۱۹۰۱) و بیورگ (۱۹۲۳) را نپذیرفت و سیستم جدیدی را با چهار زیرجنس، ۱۲ بخش و ۱۸ سری معرفی نمود. طبقه‌بندی وی عمدتاً براساس ویژگی‌های پرگنه و انشعابات کنیدیوفور بود و اساس چندین سیستم طبقه‌بندی بعدی ارایه شده در مورد این جنس از جمله تک‌نگاره‌های راپر و تام (Raper & Thom 1949) و رامیرز (Ramírez 1982) را تشکیل داد. هوبراکن و سامسون (Houbraken & Samson 2011) ارتباط تبارزایی اعضای تیره *Trichocomaceae* را با استفاده از تجزیه و تحلیل چهار ژن *Tsr1*، *Rpb1*، *Rpb2* و *Cct8* بررسی کردند و سیستم جدیدی را برای طبقه‌بندی جنس *Penicillium* پیشنهاد نمودند. آن‌ها اعضای این جنس را در دو زیرجنس *Aspergilloides* و *Penicillium* و ۲۵ بخش طبقه‌بندی کردند و تیره *Trichocomaceae* را به سه تیره مستقل شامل *Aspergillaceae*، *Thermoascaceae* و

Trichocomaceae تقسیم نمودند. در این تحقیق، جنس *Penicillium* در تیره *Aspergillaceae* و جنس *Talaromyces* در تیره *Trichocomaceae* گروه‌بندی شد.

ویساجی و همکاران (Visagie et al. 2014) اعضای سایر جنس‌ها شامل *Chromocleista* Yaguchi & Udagawa، *Eladia*، *Torulomyces* Delitsch، *Eupenicillium* F. Ludw.، G. Sm.، *Penicillium* که همگی با جنس *Thysanophora* W.B. Kendr. یک گروه تک‌نیایی را تشکیل می‌دادند را در این جنس ترکیب کردند. آن‌ها ضمن ارایه روش‌های استاندارد برای شناسایی و توصیف گونه‌های جنس *Penicillium*، فهرستی از کلیه گونه‌های پذیرفته شده از این قارچ (۳۵۴ گونه) را تا سال ۲۰۱۴ به همراه اطلاعات مرتبط ارایه دادند. در جدیدترین مطالعه انجام شده توسط هوبراکن و همکاران (Houbraken et al. 2020)، روابط میان تیره‌ها و جنس‌های راسته *Eurotiales* براساس تجزیه و تحلیل‌های تبارزایی داده‌های توالی نُه ژن در ترکیب با داده‌های ریخت‌شناختی، فیزیولوژیکی و اکسترولیت‌ها مورد ارزیابی مجدد قرار گرفت. بر این اساس، سیستم طبقه‌بندی جدید بر پایه سری (*series*) برای جنس *Penicillium* معرفی شد و کلیه گونه‌های پذیرفته شده از این جنس (۴۸۳ گونه) در دو زیرجنس، ۳۲ بخش و ۸۹ سری گروه‌بندی شدند.

جنس *Talaromyces* توسط بنجامین (Benjamin 1955) به منظور قرار دادن گونه‌های جنسی مربوط به جنس *Penicillium* که دارای آسکوکارپ‌های نرم به رنگ سفید یا مایل به زرد هستند و توسط چندین لایه از ریشه‌های به هم تنیده پوشانده می‌شوند، معرفی شد. مطالعات تبارزایی نشان دادند که جنس *Penicillium* چندنیایی است و گونه‌های جنس *Talaromyces* و اعضای زیر جنس *Biverticillium* از جنس *Penicillium sensu stricto* در یک کلاد مجزا از *Penicillium* در نظر گرفته می‌شوند. بنابراین با در نظر گرفتن مفهوم اولویت نامگذاری و همچنین نامگذاری تک‌اسمی، سامسون و همکاران (Samson et al. 2011) تمامی گونه‌های پذیرفته شده در زیرجنس *Biverticillium* از جنس *Penicillium* را به جنس *Talaromyces* منتقل کردند. ایلماز و همکاران (Yilmaz et al. 2014) تاکسونومی جنس *Talaromyces* را با جزییات کامل و براساس تاکسونومی پلی‌فازی مورد مطالعه قرار دادند. بر این اساس، ۸۸ گونه در این جنس پذیرفته شد که در هفت بخش شامل *Purpurei*، *Islandici*، *Helici*، *Bacillispori*، *Subinflati* و *Trachyspermi* گروه‌بندی شدند. سان و همکاران (Sun et al. 2020) اخیراً یک بخش جدید تحت

جنبه‌های اهمیت این قارچ‌ها می‌توان به ایجاد پوسیدگی‌های خسارت‌زا روی محصولات کشاورزی (Samson et al. 2010)، تولید دامنه وسیعی از میکوتوکسین‌ها (Frisvad et al. 2004)، کاربردهای متعدد در صنایع غذایی (Karahadian et al. 1985، Ludemann et al. 2010) و استخراج انواع آنزیم‌ها (Terrasan et al. 2010) اشاره داشت. جنس *Talaromyces* هم شامل گونه‌هایی است که از نظر ایجاد بیماری‌های انسانی مهم (Yilmaz et al. 2014)، فساد انواع فرآورده‌های تهیه شده از میوه‌ها (Dijksterhuis 2007) و تولید انواع میکوتوکسین‌ها روی محصولات غذایی (Sakai et al. 2005، Oh et al. 2008) حایز اهمیت هستند. گونه *T. flavus* (Klöcker) Stolk & Samson یکی از مهم‌ترین قارچ‌های آنتاگونیست است که در حال حاضر جهت کنترل بیولوژیکی انواع بیماری‌های خاکزاد مورد استفاده می‌باشد (Fahima & Henis 1997، Gohel et al. 2006، Naraghi et al. 2010a, 2010b, 2012).

اصطلاح ریزوسفر نخستین بار توسط هیلتنر (Hiltner 1904) توصیف شد. به این ترتیب که ریزوسفر منطقه‌ای در اطراف ریشه است که جمعیت میکروارگانیسم‌های ساکن آن تحت تاثیر مواد شیمیایی آزاد شده از ریشه گیاه می‌باشد. جمعیت میکروارگانیسم‌ها در ریزوسفر از نظر کمی و کیفی متفاوت است و گونه‌های گیاهی مختلف میزبان جوامع قارچی اختصاصی هستند (Berendsen et al. 2012). گونه‌های جنس *Penicillium* به عنوان فراوان‌ترین قارچ‌های موجود در ریزوسفر محصولات زراعی مختلف از جمله آفتابگردان (Souza-Motta et al. 2003) و خربزه (Coutinho et al. 2010) و خاک‌های زراعی (Gomez et al. 2007، Fraga et al. 2010) گزارش شده‌اند. همچنین، این قارچ‌ها جزو فراوان‌ترین قارچ‌های موجود در ریزوسفر نیشکر از سودان (Al-Nur & Abdulmoneim 2007)، هند (Deshmukh et al. 2013) و کنیا (Juma et al. 2018) گزارش شده‌اند. در ایران نیز عسگری و همکاران (Asgari et al. 2019) طی بررسی وضعیت تنوع زیستی قارچ‌های غیر میکوریزی مرتبط با ریزوسفر نیشکر در استان خوزستان، جنس *Penicillium* را به عنوان سومین قارچ از نظر فراوانی در مناطق مورد مطالعه گزارش کردند. با در نظر گرفتن اهمیت گونه‌های جنس *Penicillium* و *Talaromyces* در حوزه‌های مختلف به ویژه کشاورزی، صنعت، پزشکی، صنایع غذایی، زیست فناوری و بیوشیمی و پیچیدگی‌های تاکسونومیکی اعضای این جنس‌ها که موجب افزایش چشمگیر مطالعات مرتبط در سراسر جهان شده است، تحقیق حاضر برای نخستین بار در کشور و به منظور افزایش دانش از وضعیت تنوع

نام *Tenuus* را در جنس *Talaromyces* معرفی کردند. این جنس در حال حاضر، دارای ۱۷۷ گونه پذیرفته شده است (Houbraken et al. 2020، Sun et al. 2020).

طی سال‌های اخیر، تحقیقات قابل ملاحظه‌ای در ایران روی تاکسونومی اعضای جنس *Penicillium* و *Talaromyces* به انجام رسیده است. به عنوان مثال، قائم مقامی و بلالی (Ghaemmaghami & Balali 2012) کارایی روش پکتیک زیموگرام را برای شناسایی ۱۱ گونه جنس *Penicillium* مورد ارزیابی قرار دادند. سایر محققان بیشتر از ترکیب ویژگی‌های ریخت‌شناختی و داده‌های توالی ژن β -tubulin جهت شناسایی گونه‌های جنس *Penicillium* و *Talaromyces* استفاده کرده‌اند. به این ترتیب که صمدی و همکاران (Samadi et al. 2016) طی مطالعه تنوع زیستی گونه‌های جنس *Penicillium* در خاک‌های پارک ملی دریاچه ارومیه، هشت جدایه متعلق به بخش *Citrina* را در سه گونه قرار دادند. خدایی و همکاران (Khodaei et al. 2015، 2017) تنوع زیستی و شیوع گونه‌های جنس *Penicillium* و *Talaromyces* را روی میوه انگور و کشمش در تاکستان‌های استان‌های آذربایجان‌های شرقی و غربی و قزوین بررسی کردند و هفت گونه از جنس *Penicillium* و دو گونه از جنس *Talaromyces* را شناسایی کردند. عباس تبار و همکاران (Abbastabar et al. 2016) تنوع زیستی گونه‌های جنس *Penicillium* را در محیط‌ها و بسترهای مختلف در استان‌های مازندران و تهران بررسی کردند و تعداد ۱۰ گونه را گزارش کردند. عباسی و همکاران (Abbasi et al. 2019) طی بررسی تنوع زیستی قارچ‌های درون‌رست درختان گلابی در ارومیه، نه گونه از جنس *Penicillium* و یک گونه از جنس *Talaromyces* را شناسایی کردند. پنج گونه از جنس *Talaromyces* هم توسط ورداسبی و همکاران (Vardasbi et al. 2020) به عنوان قارچ‌های درون‌رست زعفران در مناطق اصلی کشت آن در ایران گزارش شد. با این وجود، دلشاد و مستوفی‌زاده قلمفرسا (Delshad & Mostowfizadeh-Ghalamfarsa 2020) چهار گونه جنس *Penicillium* را از میوه‌های مرکبات و شش گونه را از نان‌های آلوده صرفاً براساس ویژگی‌های ریخت‌شناختی گزارش کردند.

گونه‌های جنس *Penicillium* از نظر کشاورزی، صنعت و پزشکی حایز اهمیت هستند. بزرگترین تاثیر این قارچ و در حقیقت دلیل مشهور بودن آن تولید پنی‌سیلین است که تحول اساسی در علوم پزشکی به دلیل مقابله با بیماری‌های باکتریایی ایجاد کرد (Fleming 1929). از آن زمان به بعد ترکیبات متعددی از این قارچ به دست آمده است که هر یک مصارف خاصی دارند. از سایر

قبل از آغاز مراحل جداسازی قارچ‌ها از خاک ریزوسفر، ابتدا نمونه خاک با رد کردن از الک دو میلی‌متری همگن شد. سپس، مقدار ۹۰ سی‌سی آب مقطر سترون به مقدار ۱۰ گرم از نمونه خاک ریزوسفر در داخل ارلن سترون (حجم ۲۵۰ سی‌سی) اضافه شد و به مدت ۳۰ دقیقه به طور کامل (توسط همزن) هم زده شد. مقدار یک سی‌سی از سوسپانسیون موجود در ارلن به داخل لوله‌های آزمایش حاوی ۹ سی‌سی محیط کشت آب-آگار (WA) ۱۲٪ (۰/۱۲) به منظور تهیه سوسپانسیون یکنواخت منتقل شد و سپس رقت‌های مختلف به نسبت‌های ۱:۱۰۰، ۱:۱۰۰۰ و ۱:۵۰۰۰ تهیه شد. مقدار یک سی‌سی از رقت‌های ۱:۱۰۰ و ۱:۵۰۰۰ به داخل تشتک‌های پتری سترون منتقل شد و سپس مقدار ۱۲-۱۰ سی‌سی محیط کشت سیب زمینی-هویج-آگار (PCA; Domsch *et al.* 2007) حاوی ۱/۵٪ آگار و ۱٪ اکسگال (oxgall) که از قبل ذوب شده و به اندازه کافی خنک شده بود (دمای ۴۵ درجه سلسیوس) به آن افزوده شد. تشتک‌ها به مدت ۱۰ روز در شرایط تاریکی و دمای ۱۷ درجه سلسیوس نگهداری شدند. کشت‌ها در زیر بینوکولر نیکون مدل SMZ645 مورد بررسی قرار گرفت و بخش کوچکی از کنیدیوم‌های قارچ با سوزن‌های کشت مناسب به تشتک‌های پتری حاوی محیط کشت عصاره مالت آگار (MEA) (Merck, Germany; 2%) منتقل شد. خالص‌سازی جدایه‌های به دست آمده با استفاده از روش تک هاگ (Gams *et al.* 1998) انجام شد. جدایه‌های به دست آمده تا زمان مطالعه در دمای ۱۰-۷ درجه سلسیوس نگهداری شد. تعدادی از جدایه‌های منتخب گونه‌های شناسایی شده در این تحقیق جهت نگهداری به کلکسیون ملی قارچ‌های زنده ایران (IRAN) واقع در مؤسسه تحقیقات گیاه‌پزشکی کشور (تهران) تحویل داده شد.

- مطالعات مولکولی

به منظور استخراج DNA از جدایه‌های به دست آمده در این تحقیق، از روش سنیس (Cenis 1992) با اعمال برخی تغییرات استفاده شد. به این ترتیب که بعد از شستشوی میسلیم‌های جمع‌آوری شده با بافر TE (10 mM Tris-Base, 1 mM EDTA; pH 8) و قبل از افزودن بافر استخراج، خرد کردن میسلیم‌های خشک شده با استفاده از مته‌های مخروطی در نیتروژن مایع انجام شد. جهت تعیین کیفیت DNA به دست آمده از الکتروفورز در ژل آگارز ۱٪ تهیه شده در بافر 1× TBE (89 mM Tris-Base, pH 8.3; 89 mM Boric acid; 2 mM EDTA) استفاده شد. به منظور انتخاب نماینده‌هایی از جدایه‌های به دست آمده در این تحقیق جهت انجام مطالعات ریخت‌شناختی، روش PCR-RFLP با استفاده از فرآورده تکثیر شده ژن β -tubulin

زیستی این گروه مهم از قارچ‌ها در ارتباط با ریزوسفر یکی از محصولات استراتژیک کشت شده در مناطق گرمسیری کشور انجام پذیرفت.

روش بررسی

- نمونه‌برداری و جداسازی جدایه‌ها

نمونه‌برداری از مزارع نیشکر جدید (بدون سابقه کاشت) و چند ساله (دارای سیستم تک‌کشتی نیشکر) استان خوزستان در فصول بهار و زمستان طی سال‌های ۱۳۹۲ تا ۱۳۹۴، توسط همکاران مؤسسه تحقیقات و آموزش توسعه نیشکر و صنایع جانبی خوزستان، آقایان دکتر کوروش طاهرخانی و دکتر حسین مؤذن انجام شد. از هشت کشت و صنعت نیشکر در استان خوزستان شامل امیرکبیر، امام خمینی، دهخدا، دعبل خزاعی، سلمان فارسی، کارون، میرزا کوچک خان و هفت تپه که پنج رقم CP73-21 و SP70-1143، CP69-1062، CP57-614، CP48-103 در آن‌ها کشت شده بود، نمونه‌برداری به عمل آمد. از هر مزرعه، ۲۵ نمونه پس از حرکت در مسیریابی به شکل W یا Z به صورت تصادفی جمع‌آوری شد (Singleton *et al.* 1992). نمونه‌های ریشه و خاک از عمق ۲۵-۲ سانتی‌متری پس از کنار زدن خاک سطحی نمونه‌برداری شدند. ریشه‌های گیاه (۳۱۵-۴۵ روزه) پس از این که با احتیاط از خاک خارج گردیدند، تکان داده شدند، تا جایی که فقط خاک چسبیده به ریشه یا همان خاک ریزوسفری (حداکثر به فاصله ۱۰ میلی‌متر از سطح ریشه) باقی بماند. ریشه‌ها و خاک چسبیده به آن‌ها داخل پاکت‌های کاغذی مناسب قرار داده شدند و پس از درج اطلاعات محل‌های نمونه‌برداری، به آزمایشگاه منتقل گردیدند. در آزمایشگاه، ابتدا خاک ریزوسفر توسط برس‌های نرم از ریشه گیاه جدا شد و یک زیرنمونه خاک به وزن تقریبی ۳۰۰ گرم تهیه گردید. نمونه‌ها پس از نگهداری در مدت زمان لازم (۲۴-۴۸ ساعت بسته به میزان رطوبت خاک) در شرایط سایه، تحت شرایط تهویه مناسب و ترجیحاً دمای ۲۰-۱۵ درجه سلسیوس هوادهی شدند. نمونه‌های خاک ریزوسفر آماده شده به ترتیب فوق پس از کدگذاری مناسب، تا زمان مطالعه داخل پاکت‌های کاغذی و در دمای ۱۵-۱۰ درجه سلسیوس نگهداری شدند.

جداسازی جدایه‌های جنس‌های *Penicillium* و *Talaromyces* از خاک ریزوسفر با فاصله زمانی حداکثر دو هفته تا یک ماه پس از نمونه‌برداری و با استفاده از روش تهیه سری رقت از سوسپانسیون خاک (Johnson *et al.* 1960) که تا حدی هم توسط وارکوپ (Warcup 1950) اصلاح شده است، انجام شد.

نماینده‌هایی از گونه‌های شناسایی شده در این تحقیق، در ناحیه ژن *BenA* تحت تکثیر و توالی‌یابی قرار گرفتند. خالص‌سازی و توالی‌یابی فرآورده‌های PCR توسط شرکت میکروسینت (Microsynth Company, Switzerland) انجام شد. توالی‌های *BenA* به دست آمده در این تحقیق توسط نرم‌افزار FinchTV Ver. 1.4.0 (Geospiza Inc.) ویرایش شدند. به منظور شناسایی گونه‌ها براساس توالی‌های ژن *BenA*، مقایسه توالی‌های نوکلئوتیدی با توالی‌های موجود در بانک ژن جهانی (NCBI; <http://www.ncbi.nlm.nih.gov>) توسط ابزار جستجوی بلاست (BLAST search tool; Altschul *et al.* 1990) انجام شد. توالی‌های به دست آمده در این تحقیق به بانک ژن جهانی ارسال و شماره دسترسی آن‌ها در این بانک به دست آمد.

- مطالعات ریخت‌شناختی

به منظور شناسایی جدایه‌های به دست آمده در این تحقیق براساس روش‌های استاندارد ارایه شده توسط ویساجی و همکاران (۲۰۱۴)، ابتدا مطالعات ماکروسکوپی جدایه‌ها روی محیط‌های کشت استاندارد شامل CYA (Czapek Yeast Malt Extract agar; Pitt 1979)، MEA (Autolysate agar; Samson *et al.* 2010) و YES (Yeast Extract Sucrose agar; Frisvad 1981) و در صورت لزوم محیط‌های CREA (Creatine CYA with 5%) و Sucrose agar (Frisvad 1981) انجام شد. محیط‌های کشت در NaCl; Visagie *et al.* 2014) انجام شد. محیط‌های کشت در تشک‌های پتری ۹۰ میلی‌متری با حجم ۲۰ سی‌سی تهیه شد. تلقیح قارچ‌ها روی تشک‌های پتری از طریق تهیه سوسپانسیون هاگ در یک محلول آگار نیمه‌جامد (Pitt 1979) حاوی ۰/۲٪ آگار و ۰/۰۵٪ توین ۸۰ (Tween 80) و با روش تلقیح سه نقطه‌ای با استفاده از میکروپیپت (در هر نقطه ۱-۰/۵ میکرولیتر) روی محیط‌های کشت فوق‌الذکر انجام شد. تمامی تشک‌ها در دمای استاندارد ۲۵ درجه سلسیوس و شرایط تاریکی به مدت هفت روز نگهداری شدند. در مورد CYA، نگهداری در دماهای ۱۵، ۳۰ و ۳۷ درجه سلسیوس نیز انجام شد. پس از هفت روز ویژگی‌های ریخت‌شناختی مهم از جمله رنگ، بافت، شیارهای سطحی و چین و چروک‌ها، سطح پشتی پرگنه‌ها، سختینه و آسکوکارپ‌ها، قطرات ترشح شده در پرگنه‌ها، میزان رشد پرگنه‌ها و قابلیت رشد در دمای ۳۷ درجه سلسیوس و همچنین وضعیت سرهای کنیدیومی ثبت شد. تعیین رنگ پرگنه‌ها با مراجعه به چارت رنگ ریجوی (Ridgeway 1912) انجام شد.

(*BenA*) کلیه جدایه‌های به دست آمده در این تحقیق استفاده شد. به این منظور، ابتدا تکثیر ژن *BenA* با استفاده از جفت آغازگر Bt2a/Bt2b (Glass & Donaldson 1995) و به کمک دستگاه‌های MWG (MWG, AG, Biotech, Germany) و BioRad (Bio-Rad Laboratories, Inc., USA) انجام شد. اجزای واکنش PCR برای تکثیر بخش‌هایی از ژن *BenA* در حجم ۲۵ میکرولیتر از مخلوط واکنش شامل ۱۲ میکرولیتر مسترمیکس (Taq DNA Polymerase MasterMix, Ampliqon; Pishgam Biotech Co., Iran)، ۱۰ میکرولیتر آب دو بار تقطیر سترون، یک میکرولیتر از هر یک از پرایمرها (۰/۴ پیکومول) و یک میکرولیتر DNA الگو (۵۰ نانوگرم) بود. برنامه تکثیر نیز شامل سه دقیقه واسرشت اولیه (۹۴ °C)، ۳۵ چرخه شامل یک دقیقه واسرشت‌سازی (۹۴ °C)، یک دقیقه اتصال آغازگر (۶۰ °C) و دو دقیقه بسط (۷۲ °C) و ۱۰ دقیقه بسط نهایی (۷۲ °C) بود.

برای اجرای روش RFLP روی فرآورده تکثیر یافته از ژن *BenA*، ابتدا چندین آنزیم برشی جهت انتخاب مناسب‌ترین آنزیم‌ها از نظر تشخیص حداکثر چندشکلی آزمایش شدند. برای این منظور، آنزیم‌های *HaeIII*، *BsuRI* و *HinfI* (MspI و *TaqI* (Fermentas, Germany) و *TaqI* (Vivantis, Malaysia) روی تعداد معدودی فرآورده تکثیر یافته مورد آزمایش قرار گرفتند. دو آنزیم *BsuRI* (توالی برشی GG:CC) و *HinfI* (توالی برشی G:ANTG) چندشکلی خوبی را نشان دادند و بنابراین، به عنوان آنزیم‌های مناسب جهت برش دادن تمامی فرآورده‌های تکثیر یافته ژن *BenA* مورد استفاده قرار گرفتند. جهت برش با آنزیم‌های برشی، مقدار ۶-۱۰ میکرولیتر از فرآورده‌های PCR (بسته به کیفیت فرآورده) به مدت چهار ساعت تا یک شب در دمای ۳۷ درجه سلسیوس در معرض مخلوط واکنش شامل ۱۰ واحد از آنزیم‌های برشی و ۱/۷ میکرولیتر از بافر ۱۰ برابر همراه آن‌ها (تامین‌کننده توسط شرکت سازنده) که حجم نهایی آن توسط آب دو بار تقطیر سترون به ۲۰ میکرولیتر رسانده شده بود، قرار گرفت. قطعات حاصل از هضم آنزیم‌های برشی در ژل آگارز ۱/۸٪ با جریان ولتاژ ۶۵-۸۵ به مدت سه ساعت (Apellex PS 1006 P) از یکدیگر تفکیک شدند. مقدار سه میکرولیتر از نشانگر ۱۰۰ جفت بازی اندازه DNA (0.1 µg/µl, Fermentas) در دو چاهک کناری هر ژل جهت تخمین اندازه باندها بارگذاری شد. تجزیه و تحلیل داده‌های به دست آمده از روش PCR-RFLP، براساس مقایسه ظاهری الگوهای باندهای متعلق به بخش‌های مختلف انجام شد.

به منظور انجام مطالعات ریزریخت‌شناختی، اسلایدهای میکروسکوپی از پرگنه‌های رشد کرده روی محیط کشت MEA (۷-۱۰ روز پس از کشت) تهیه شد. تهیه اسلایدها با استفاده از محلول اسید لاکتیک ۶۰٪ انجام شد که برای خارج کردن حباب‌های هوا و نیز کنیدیوم‌های اضافی یک قطره الکل ۷۰٪ به آن اضافه گردید (Samson et al. 2010). اسلایدهای میکروسکوپی با استفاده از میکروسکوپ الیمپوس مدل BX51 مورد مطالعه قرار گرفتند که استفاده هم‌زمان از تکنیک‌های PH، BF و DIC را امکان‌پذیر می‌نمود. عکس‌های میکروسکوپی با استفاده از سیستم میکروفوتوگرافی Olympus DP25 سازگار با این میکروسکوپ تهیه شد. اندازه‌گیری اندام‌های میکروسکوپی با استفاده از نرم‌افزار BioMICS (ارایه شده توسط Dr. V. Robert, BioAware, S.A. 2003, Ver. 1.0.2 انجام شد.

نتیجه

به منظور بررسی وضعیت تنوع زیستی گونه‌های جنس *Penicillium* و *Talaromyces* مرتبط با ریزوسفر نیشکر در استان خوزستان، تعداد ۶۴ نمونه خاک ریزوسفر جمع‌آوری شده از هشت کشت و صنعت نیشکر در استان خوزستان طی سال‌های ۱۳۹۲ تا ۱۳۹۴، مورد بررسی قرار گرفتند. از میان نمونه‌های خاک ریزوسفر مورد بررسی، تعداد ۵۶ نمونه حاوی اعضای قارچ‌های مورد مطالعه در این تحقیق بودند که از آن‌ها تعداد ۱۸۷ جدایه از جنس *Penicillium* و هشت جدایه *Talaromyces* (مجموع ۱۹۵ جدایه) جداسازی و خالص‌سازی شد. به منظور انتخاب نماینده‌هایی از جدایه‌های منتسب به گونه‌های مختلف جهت انجام مطالعات ریخت‌شناختی استاندارد، انگشت‌نگاری ژنومی انجام شد، به این ترتیب که چندشکلی از طریق اجرای روش RFLP با استفاده از فرآورده تکثیر یافته از ژن *Bena* مورد بررسی قرار گرفت. متأسفانه، در مورد *Penicillium* و بسیاری از جنس‌های آسکومیستی، ناحیه ITS rDNA جهت تمایز گونه‌های نزدیک به هم کاربرد ندارد (Skouboe et al. 1999, Seifert et al. 2007).

و *RPB2* توصیه می‌شود (Visagie et al. 2014).
براساس توضیحات فوق‌الذکر، تکثیر ژن *Bena* کلیه جدایه‌های به دست آمده در این مطالعه با استفاده از جفت آغازگر Bt2a/Bt2b انجام شد. این جفت آغازگر موجب تکثیر یک بخش کوتاه ۵۵۰ جفت بازی از ژن *Bena* در اعضای *Penicillium* و *Talaromyces* شد. براساس مقایسه چشمی الگوهای بانندی حاصل از عملکرد آنزیم‌های برشی، تعداد ۴۰ گروه RFLP براساس برش با آنزیم *BsuRI* (*HaeIII*) تشخیص داده شد. آنزیم *HinfI* نیز منجر به تعیین حدود ۲۰ گروه شد. در نهایت پس از انطباق عملکرد هر دو آنزیم برشی، تعداد ۵۹ نماینده از این گروه‌های RFLP انتخاب شد که تحت مطالعات ریخت‌شناختی تکمیلی قرار گرفتند.

جدول ۱- طبقه‌بندی گونه‌های جنس *Penicillium* و *Talaromyces* شناسایی شده در این تحقیق براساس هوبراکن و همکاران (۲۰۲۰)
Table 1. Classification of *Penicillium* and *Talaromyces* species identified in this study according to Houbraken et al. (2020)

Subgenus	Section	Series	Taxon
<i>Aspergilloides</i>	<i>Aspergilloides</i>	<i>Thomiorum</i>	<i>Penicillium crocicola</i>
<i>Aspergilloides</i>	<i>Cinnamopurpurea</i>	<i>Cinnamopurpurea</i>	<i>P. parvulum</i>
<i>Aspergilloides</i>	<i>Citrina</i>	<i>Citrina</i>	<i>P. citrinum</i>
<i>Aspergilloides</i>	<i>Exilicaulis</i>	<i>Restricta</i>	<i>P. restrictum</i>
<i>Aspergilloides</i>	<i>Lanata-Divaricata</i>	<i>Oxalica</i>	<i>P. oxalicum</i>
<i>Penicillium</i>	<i>Chrysogena</i>	<i>Chrysogena</i>	<i>P. chrysogenum</i> <i>P. rubens</i>
<i>Penicillium</i>	<i>Fasciculata</i>	<i>Camembertiorum</i> <i>Viridicata</i>	<i>P. crustosum</i> <i>P. palitans</i> <i>P. polonicum</i>
<i>Penicillium</i>	<i>Ramosum</i>	<i>Raistrickiorum</i>	<i>P. simile</i>
-	<i>Talaromyces</i>	-	<i>Talaromyces pinophilus</i>

دارند. یک گونه هم از جنس *Talaromyces pinophilus* شناسایی شد که به بخش *Talaromyces* تعلق دارد (جدول ۱). به منظور تایید نتایج به دست آمده از مطالعات ریخت‌شناختی، توالی‌یابی ناحیه ژنی *BenA* در نماینده‌هایی از جدایه‌های منتسب به گونه‌های شناسایی شده انجام شد. براساس مقایسه توالی‌های به دست آمده در این تحقیق (جدول ۲) با توالی‌های مرجع موجود در بانک ژن جهانی با استفاده از ابزار جستجوی بلاست، نتایج به دست آمده از مطالعات ریخت‌شناسی مورد تایید قرار گرفت.

براساس مطالعات ریخت‌شناختی، تعداد ۱۱ گونه از جنس *Penicillium* شامل *P. chrysogenum* Thom، *P. crocicola* W. Yamam، *P. citrinum* Thom، *P. oxalicum* Currie & Thom، *P. crustosum* Thom، *P. parvulum* S.W. Peterson & *P. palitans* Westling، *P. restrictum*، *P. polonicum* K.W. Zaleski، B.W. Horn و *P. rubens* Biourge، J.C. Gilman & E.V. Abbott و *P. simile* Davolos، Pietri، Persiani & Maggi که به پنج بخش (شامل پنج سری) از زیرجنس *Aspergilloides* و سه بخش (شامل چهار سری) از زیرجنس *Penicillium* تعلق

جدول ۲- اطلاعات توالی‌های گونه‌های جنس *Penicillium* و *Talaromyces* شناسایی شده در این تحقیق

Table 2. Sequence data of *Penicillium* and *Talaromyces* species identified in this study

Taxon	Isolate	Substrate	Locality	GenBank accession No. (<i>BenA</i>)
<i>Penicillium chrysogenum</i>	IRAN 4045C (S28-3; LA52)	Rhizosphere of <i>Saccharum officinarum</i>	Amir Kabir Sugarcane Agro-industry Plantation	OK245357
<i>P. citrinum</i>	IRAN 4036C (S7-6; LA8)	"	Dehkhoda Sugarcane Agro-industry Plantation	OK245352
<i>P. crocicola</i>	IRAN 4039C (S13-25; LA23)	"	Imam Khomeini Sugarcane Agro-industry Plantation	OK245362
<i>P. crustosum</i>	IRAN 4069C (S19-9; LA215)	"	Debel Khazaei Sugarcane Agro-industry Plantation	OK245360
<i>P. oxalicum</i>	IRAN 4053C (S45-41; LA100)	"	Salman Farsi Sugarcane Agro-industry Plantation	OK245353
<i>P. palitans</i>	IRAN 4057C (S48-33; LA110)	"	Salman Farsi Sugarcane Agro-industry Plantation	OK245359
<i>P. parvulum</i>	IRAN 4061C (S58-23; LA156)	"	Hafttappéh Sugarcane Agro-industry Plantation	OK245354
<i>P. polonicum</i>	IRAN 4055C (S46-24; LA105)	"	Salman Farsi Sugarcane agro-industry Plantation	OK245358
<i>P. restrictum</i>	IRAN 4040C (S16-15; LA24)	"	Imam Khomeini Sugarcane Agro-industry Plantation	OK245355

جدول ۲ (ادامه)

Table 2 (contd)				
<i>P. rubens</i>	IRAN 4037C (S9-18-1; LA12)	"	Imam Khomeini Sugarcane Agro- industry Plantation	OK245356
<i>P. simile</i>	IRAN 4049C (S38-19; LA79)	"	Amir Kabir Sugarcane Agro- industry Plantation	OK245361
<i>Talaromyces pinophilus</i>	IRAN 4044C (S23-3; LA35)	"	Debel Khazaei Sugarcane Agro- industry Plantation	OK245363

جداسازی شد. پس از آن، گونه‌های *P. simile* (فراوانی ۰/۱۰/۲۵) و *P. rubens* (فراوانی ۰/۹/۲۳) در رتبه‌های دوم و سوم از نظر فراوانی قرار گرفتند. سایر گونه‌ها دارای فراوانی بسیار کم در مناطق مورد مطالعه بودند. در این مطالعه، اعضای جنس *Talaromyces* با فراوانی (۰/۴/۱) و تنوع بسیار کم و تنها از کشت و صنعت‌های امیر کبیر، دعبل خزاعی، سلمان فارسی و کارون جداسازی شدند (جدول ۳).

بیشترین تعداد جدایه *Penicillium* به دست آمده در این تحقیق، به ترتیب مربوط به کشت و صنعت‌های نیشکر کارون (۳۹ جدایه)، امیر کبیر (۳۳ جدایه) و هفت تپه (۳۰ جدایه) بود (جدول ۴). همچنین، بیشترین تنوع گونه‌های *Penicillium* مربوط به کشت و صنعت سلمان فارسی بود (جدول ۴). گونه *P. citri* فراوان‌ترین گونه شناسایی شده در این تحقیق (فراوانی ۰/۶۴/۶۱) بود که از تمامی کشت و صنعت‌های نیشکر استان خوزستان

جدول ۳- گونه‌های جنس *Penicillium* و *Talaromyces* شناسایی شده از ریزوسفر نیشکر در استان خوزستان و فراوانی آن‌هاTable 3. Identified *Penicillium* and *Talaromyces* species from sugarcane rhizosphere in Khuzestan province and their frequencies

Taxon	No. of isolate	Isolate	Frequency (%)	Sugarcane agro-industry plantation
<i>Penicillium chrysogenum</i>	4	LA2, LA3, LA5, LA52 (IRAN 4045C)	2.05	Amir Kabir, Dehkhoda
<i>P. citrinum</i>	126	LA1-t, LA7, LA8 (IRAN 4036C), LA10, LA13, LA18, LA20, LA22, LA25, LA26, LA43, LA46, LA64, LA65, LA67, LA69, LA70, LA73, LA76, LA78, LA81, LA82, LA84, LA85, LA86, LA88, LA89, LA91, LA93, LA94, LA95, LA97, LA98, LA101, LA103, LA106, LA107, LA111, LA113, LA114, LA115, LA117, LA118, LA119, LA121, LA122, LA123, LA124, LA125, LA126, LA127, LA128, LA131, LA132, LA134, LA135, LA137, LA138, LA139, LA140, LA141, LA142, LA143, LA144, LA145, LA146, LA147, LA148, LA149, LA150, LA151, LA153, LA154, LA155, LA157, LA158, LA159, LA160, LA162, LA164, LA166, LA167, LA168, LA170, LA172, LA173, LA205, LA206, LA208, LA210, LA212, LA213, LA214, LA216, LA219, LA220, LA223, LA224, LA225, LA226, LA227, LA228, LA229, LA230, LA231, LA232, LA233, LA234, LA235, LA236, LA237, LA238, LA240, LA241, LA242, LA243, LA245, LA246, LA247, LA248, LA249, LA250, LA251, LA252, LA253, LA254	64.61	Amir Kabir, Debel Khazaei, Dehkhoda, Hafttappheh, Imam Khomeini, Karoon, Mirza Kochak Khan, Salman Farsi
<i>P. crocicola</i>	3	LA23 (IRAN 4039C), LA71, LA161	1.53	Amir Kabir, Hafttappheh, Imam Khomeini
<i>P. crustosum</i>	1	LA215 (IRAN 4069C)	0.51	Debel Khazaei
<i>P. oxalicum</i>	3	LA19, LA211, LA100 (IRAN 4053C)	1.53	Imam Khomeini, Salman Farsi
<i>P. palitans</i>	1	LA110 (IRAN 4057C)	0.51	Salman Farsi
<i>P. parvulum</i>	1	LA156 (IRAN 4061C)	0.51	Hafttappheh
<i>P. polonicum</i>	6	LA27, LA34, LA74, LA105 (IRAN 4055C), LA55, LA255	3.07	Amir Kabir, Debel Khazaei, Mirza Kochak Khan, Salman Farsi
<i>P. restrictum</i>	4	LA24 (IRAN 4040C), LA30, LA109, LA130	2.05	Imam Khomeini, Debel Khazaei, Karoon, Salman Farsi
<i>P. rubens</i>	18	LA12 (IRAN 4037C), LA31, LA32, LA33, LA36, LA41, LA45, LA48, LA49, LA50, LA51, LA58, LA66, LA99, LA108, LA152, LA163, LA239	9.23	Amir Kabir, Debel Khazaei, Hafttappheh, Imam Khomeini, Mirza Kochak Khan, Salman Farsi

جدول ۳ (ادامه)

Table 3 (contd)				جدول ۳ (ادامه)	
<i>P. simile</i>	20	LA1 (IRAN 4031C), LA4, LA6 (IRAN 4035C), LA21 (IRAN 4038C), LA40, LA44, LA63 (IRAN 4047C), LA68, LA77, LA79 (IRAN 4049C), LA90, LA102, LA104 (IRAN 4054C), LA116, LA129, LA169, LA171 (IRAN 4063C), LA207 (IRAN 4065C), LA209, LA221	10.25	Amir Kabir, Debel Khazaei, Dehkhoda, Hafttappeh, Imam Khomeini, Karoon, Mirza Kochak Khan, Salman Farsi	
<i>Talaromyces pinophilus</i>	8	LA35 (IRAN 4044C), LA37, LA39, LA80, LA83, LA92, LA120, LA136	4.10	Amir Kabir, Debel Khazaei, Karoon, Salman Farsi	

جدول ۴- پراکنش گونه‌های جنس *Penicillium* و *Talaromyces* در محل‌های نمونه‌برداری شده در استان خوزستان

Table 4. The distribution of *Penicillium* and *Talaromyces* species in the studied localities of Khuzestan province

Sugarcane agro-industry plantation	Sugarcane cultivar	Rhizosphere soil sample	No. of isolate		Taxon	
			<i>Penicillium</i>	<i>Talaromyces</i>	<i>Penicillium</i>	<i>Talaromyces</i>
Amir Kabir	CP48-103 CP57-614 CP69-1062 SP70-1143	S25, S26, S27, S28, S35, S36, S37, S38, S39, S40	33	2	<i>P. chrysogenum</i> , <i>P. citrinum</i> , <i>P. crocicola</i> , <i>P. polonicum</i> , <i>P. rubens</i> , <i>P. simile</i>	<i>T. pinophilus</i>
Debel Khazaei	CP48-103 CP57-614 CP69-1062 SP70-1143	S18, S19, S20, S21, S22, S23, S24	23	3	<i>P. citrinum</i> , <i>P. crustosum</i> , <i>P. polonicum</i> , <i>P. restrictum</i> , <i>P. rubens</i> , <i>P. simile</i>	<i>T. pinophilus</i>
Dehkhoda	CP57-614 CP69-1062 CP73-21	S3, S4, S5, S6, S7, S8	14	0	<i>P. chrysogenum</i> , <i>P. citrinum</i> , <i>P. simile</i>	-
Hafttappeh	CP48-103 CP57-614 CP69-1062	S57, S58, S60, S61, S62, S63, S64	30	0	<i>P. citrinum</i> , <i>P. crocicola</i> , <i>P. parvulum</i> , <i>P. rubens</i> , <i>P. simile</i>	-
Imam Khomeini	CP48-103 CP57-614 CP69-1062 CP73-21	S9, S10, S11, S12, S13, S14, S16	13	0	<i>P. citrinum</i> , <i>P. crocicola</i> , <i>P. oxalicum</i> , <i>P. restrictum</i> , <i>P. rubens</i> , <i>P. simile</i>	-
Karoon	CP57-614 CP69-1062 CP73-21	S49, S50, S51, S52, S53, S55, S56	39	2	<i>P. citrinum</i> , <i>P. restrictum</i> , <i>P. simile</i>	<i>T. pinophilus</i>
Mirza Kochak Khan	CP57-614 CP69-1062 CP73-21	S30, S31, S32, S33, S34	10	0	<i>P. citrinum</i> , <i>P. polonicum</i> , <i>P. rubens</i> , <i>P. simile</i>	-
Salman Farsi	CP48-103 CP57-614 CP69-1062	S42, S43, S44, S45, S46, S47, S48	25	1	<i>P. citrinum</i> , <i>P. oxalicum</i> , <i>P. palitans</i> , <i>P. polonicum</i> , <i>P. restrictum</i> , <i>P. rubens</i> , <i>P. simile</i>	<i>T. pinophilus</i>

نمونه بررسی شده: جدایه (LA156) IRAN 4061C. جداسازی شده از ریزوسفر نیشکر، استان خوزستان، کشت و صنعت هفت تپه، ۱۳۹۴/۰۶/۲۱.

میزان رشد پرگنه‌ها پس از هفت روز در دمای ۲۵ درجه سلسیوس روی محیط‌های کشت MEA: ۱۷ میلی‌متر، CYA:

از میان گونه‌های شناسایی شده در این مطالعه، *P. simile* و *P. parvulum* برای ایران جدید هستند که به طور کامل توصیف می‌شوند:

Penicillium parvulum S.W. Peterson & B.W. Horn, Mycologia 101 (1): 75 (2009)

شباهت با توالی (EF506218) جدایه تیپ *P. parvulum* (NRRL 35504) و ۹۲/۶۵٪ شباهت (۳۷۸/۴۰۸) با توالی *P. cinnamopurpureum* Abe ex معتبر (EF506216) جدایه معتبر (NRRL 35502) و ۸۳/۲۱٪ شباهت (۳۴۲/۴۱۱) با توالی (MG600565) جدایه تیپ *P. gravinicaei* S.W. (Peterson, P. Anelli, Haidukowski & Susca 66733) می‌باشد. ویژگی‌های ریخت‌شناختی این جدایه نیز در حد زیادی منطبق با *P. parvulum* (Peterson & Horn 2009) بود، با این توضیح که جدایه ایرانی دارای کنیدیوفورها و فیالیدهای نسبتاً کوتاه‌تر می‌باشد. پرگنه‌های این جدایه نیز دارای ویژگی‌های منطبق با پترسون و هورن (۲۰۰۹) بود با این اختلاف که جدایه ایرانی در دمای ۱۵ درجه سلسیوس رشد بسیار کمی را نشان داد، در مقایسه با توصیف اصلی که جدایه‌ها در این دما فاقد رشد بودند.

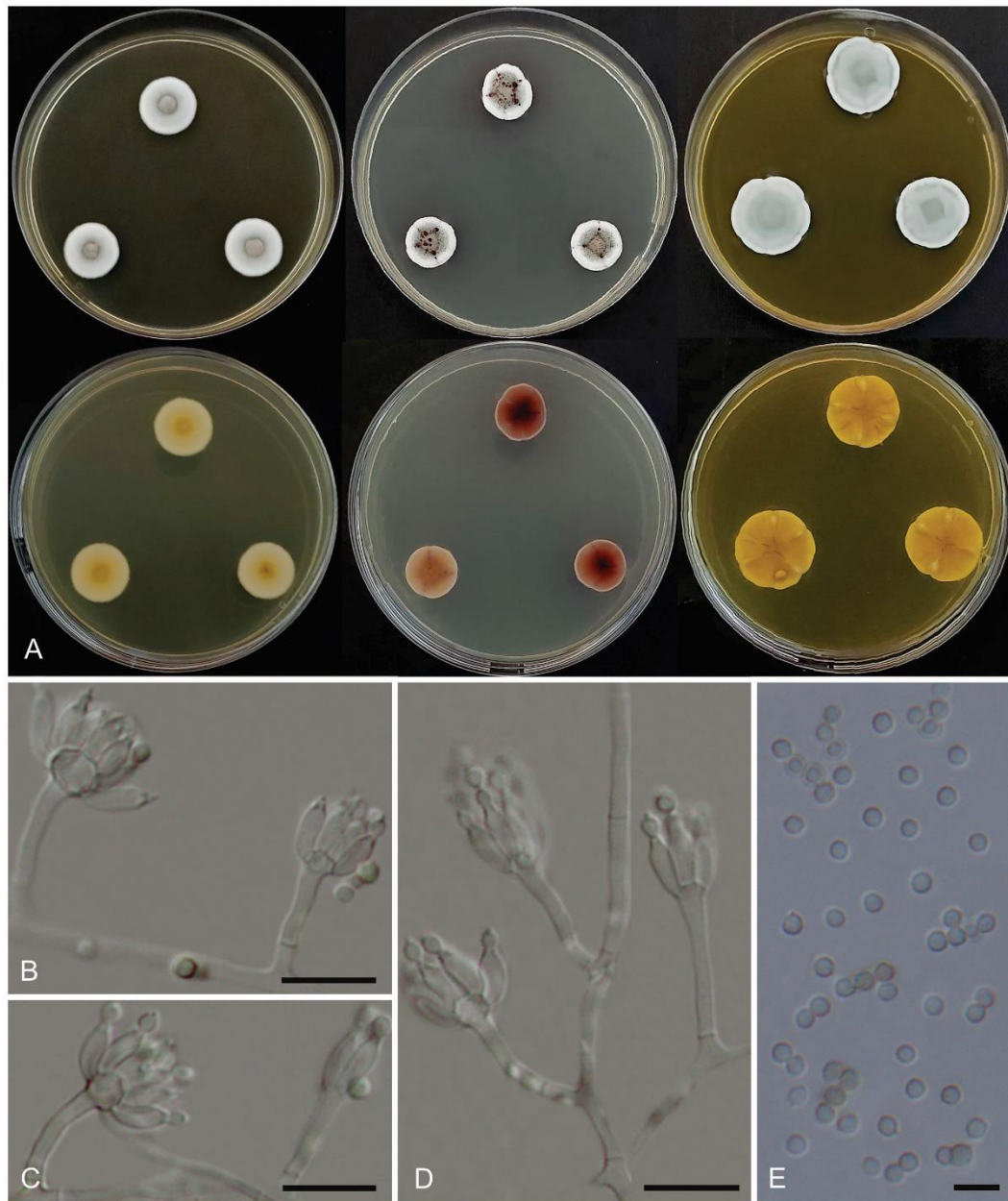
گونه *P. parvulum* متعلق به سری *Cinnamopurpurea* از بخش *Cinnamopurpurea* (Houbraken et al. 2020) است. سری *Cinnamopurpurea* دارای ویژگی‌های ریخت‌شناختی عمده از قبیل پرگنه‌های کند رشد، رنگ توده کنیدیومی آبی-سبز، خاکستری-سبز یا سبز کم‌رنگ، کنیدیوفورها از نوع تک‌ورتیسیله با پایه‌های صاف و کوتاه (اغلب کمتر از ۵۰ میکرومتر) و کنیدیوم‌های کروی تا نیمه‌کروی، گاهی بیضوی (پهن) با سطح صاف می‌باشد. این سری در حال حاضر شامل *P. parvulum* به همراه دو گونه *P. cinnamopurpureum* و *P. gravinicaei* است. پرگنه‌های *P. cinnamopurpureum* در دمای ۳۷ درجه سلسیوس دارای رشد و گونه‌های *P. gravinicaei* و *P. parvulum* فاقد رشد است. فرم جنسی در کشت‌های گونه‌های *P. gravinicaei* و *P. parvulum* دیده نشده، ولی در *P. cinnamopurpureum* مشاهده شده که دارای ویژگی‌هایی از قبیل نوع مشابه *eupenicillium*، هموتال و آسکوسپوره‌های بیضوی با دو شیار استوایی نزدیک به هم و دارای لبه‌هایی با دیواره زبر است. سختینه در هیچ یک از این گونه‌ها مشاهده نشده است (Houbraken et al. 2020). گونه *P. gravinicaei* (Anelli et al. 2018) عمدتاً با دارا بودن کنیدیوفورهای بلندتر و عریض‌تر (۲-۳) × ۸۰-۶۰ میکرومتر، وزیکول کوچک‌تر (۴-۵ میکرومتر) و تعداد فیالید کمتر (۲-۵) در هر ورتیسیل از *P. parvulum* متمایز می‌شود.

۱۵ میلی‌متر و YES: ۲۲ میلی‌متر بود. پرگنه قارچ پس از هفت روز روی CYA در دماهای ۱۵ درجه سلسیوس: ۵ میلی‌متر، ۳۰ درجه سلسیوس: ۱۶ میلی‌متر و ۳۷ درجه سلسیوس: فاقد رشد بود.

پرگنه‌ها روی محیط کشت MEA کند رشد، برآمده، گنبدی شکل، در مرکز نسبتاً فرورفته، دارای بافت کرکدار، با حاشیه‌های کوتاه، باریک (۲-۱ میلی‌متر) و کامل به رنگ سفید و فاقد شیار و رنگدانه و ترشحات بودند. میسلیوم‌ها به رنگ سفید و نواحی هاگ‌زا در مرکز به رنگ (R. Pl. LI) pale mouse gray و در حاشیه به رنگ (R. Pl. XLVII) gnaphalium green بود. سطح پشتی پرگنه‌ها به رنگ زرد نخودی کم‌رنگ (R. Pl. XV) بود. پرگنه‌ها روی محیط کشت CYA، دارای ویژگی‌های مشابه محیط MEA بودند با این اختلافات که پرگنه‌ها در اینجا دارای ۴-۵ شیار عمیق بودند و رنگدانه‌های قرمز در محیط کشت تولید می‌کردند که شدت تولید این رنگدانه‌ها در دمای ۳۰ درجه سلسیوس افزایش می‌یافت. همچنین، پرگنه‌ها روی محیط کشت CYA دارای ترشحاتی به رنگ قرمز و سطح پشتی به رنگ (R. Pl. XXXIX) livid brown بودند. پرگنه‌ها روی محیط کشت YES، کند رشد، دارای بافت کرکدار، برخاسته، با حاشیه‌های باریک (۲-۱ میلی‌متر)، لبه‌دار یا چین خورده، دارای ۴-۶ شیار عمیق و فاقد رنگدانه و ترشحات بودند. میسلیوم‌ها که اغلب در حاشیه‌ها مشخص بود، به رنگ سفید و نواحی هاگ‌زا به رنگ (R. Pl. XLVII) pale gnaphalium green بود. سطح پشتی پرگنه‌ها به رنگ نارنجی زرد کم رنگ یا cadmium yellow (R. Pl. III) بود (شکل ۱).

کنیدیوفورها که از میسلیوم‌های هوایی یا نم‌قاعده‌ای تشکیل شده بودند و زنجیره‌های کنیدیومی کوتاه تولید می‌کردند، از نوع تک‌ورتیسیله (monoverticillate)، دارای سطح صاف و طول بسیار متغیر و به اندازه (۳/۴-۲/۵-۱/۴) × (۲۲-۱۱/۵) میکرومتر بودند و اغلب در انتها به اندازه (۷-۶-۳/۵) میکرومتر بزرگ شده بودند. فیالیدها که به تعداد متغیر از ۳-۱ یا حداکثر ۱۰ عدد در هر ورتیسیل تشکیل شده بودند، به اندازه ۲-۲/۹ × ۵/۷-۵/۷ میکرومتر بودند. کنیدیوم‌ها کروی، دارای سطح صاف و به اندازه ۱/۹-۲/۴ میکرومتر بودند (شکل ۱). سختینه یا فرم جنسی مشاهده نشد.

براساس جستجوی بلاست، توالی ژن *BenA* (جدول ۲) جدایه مورد بررسی در این تحقیق (IRAN 4061C) دارای ۱۰۰٪



شکل ۱- *Penicillium parvulum* (جدایه IRAN 4061C): A. پرگنه هفت روزه روی محیط‌های کشت MEA، CYA و YES (از چپ به راست) در دمای ۲۵ درجه سلسیوس، ردیف بالا نشان‌دهنده سطح رویی و ردیف پایین نشان‌دهنده سطح زیرین است. B-D. کنیدیوفورها (مقیاس = ۱۰ میکرومتر)، E. کنیدیومها (مقیاس = ۵ میکرومتر).

Fig. 1. *Penicillium parvulum* (IRAN 4061C): A. 7 d old cultures on MEA, CYA, YES (left to right) at 25 °C; top row, all obverse; bottom row, all reverse. B-D. Conidiophores (Bar = 10 µm), E. Conidia (Bar = 5 µm).

جدایه‌های بررسی شده: ۲۰ جدایه به دست آمده از ریزوسفر نیشکر، استان خوزستان، کشت و صنعت‌های امیرکبیر، امام خمینی، دهخدا، دعبل خزاعی، سلمان فارسی، کارون، میرزا کوچک خان و هفت تپه، اسفند ۱۳۹۲ تا شهریور ۱۳۹۴، جدایه‌های نماینده: IRAN 4031C (کشت و صنعت دهخدا،

Penicillium simile Davolos, Pietr., Persiani & Maggi, International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology 62 (2): 457 (2012)

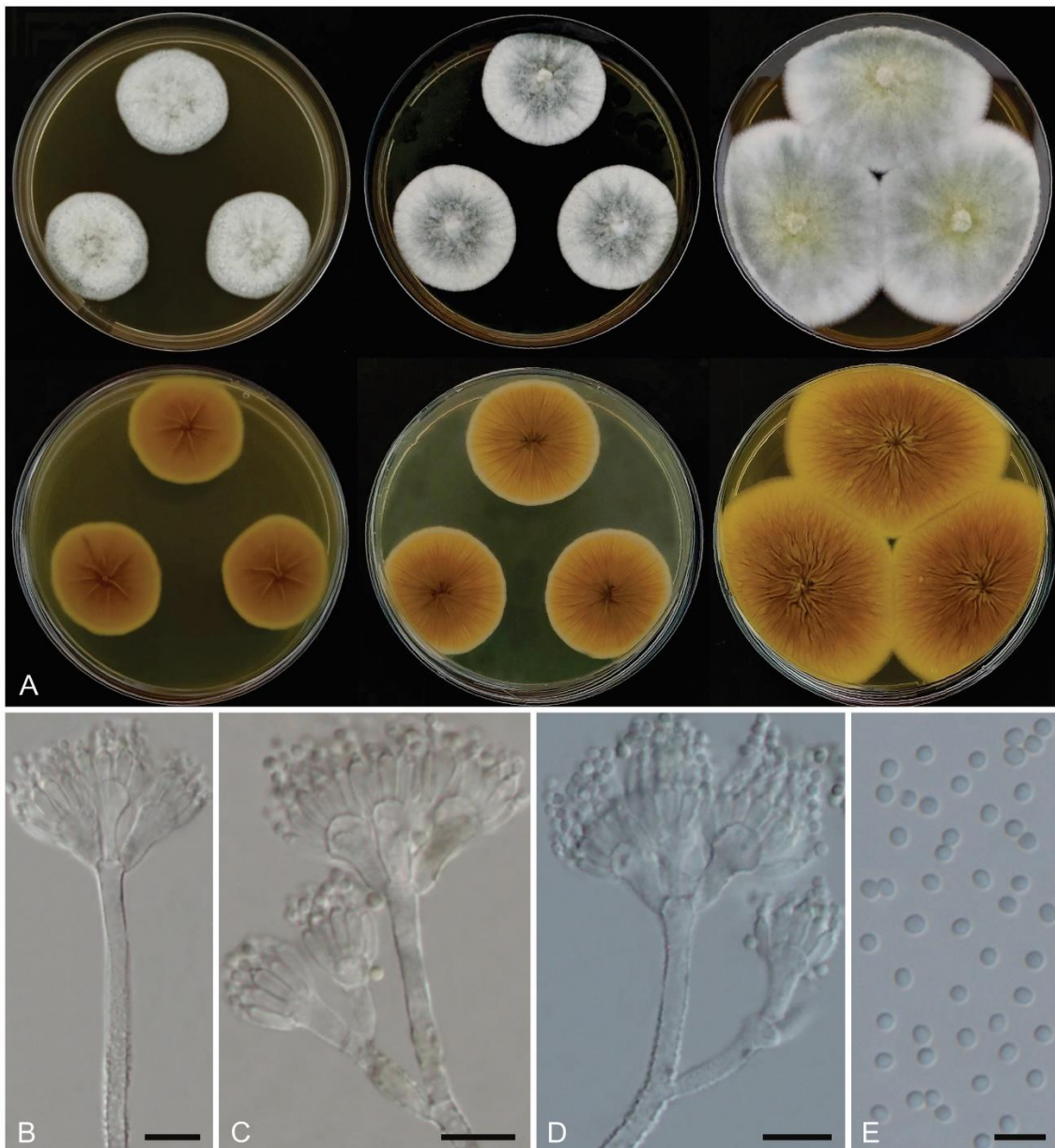
IRAN 4035C (کشت و صنعت دهخدا، ۱۳۹۲/۱۲/۱۱)، IRAN 4038C (کشت و صنعت امام خمینی، ۱۳۹۲/۱۲/۱۰)، IRAN 4047C (کشت و صنعت میرزا کوچک خان، ۱۳۹۲/۱۲/۱۷)، IRAN 4049C (کشت و صنعت امیرکبیر، ۱۳۹۳/۰۲/۱۷)، IRAN 4054C (کشت و صنعت سلمان فارسی، ۱۳۹۳/۰۲/۲۸)، IRAN 4063C (کشت و صنعت هفت تپه، ۱۳۹۳/۰۲/۳۰).

کنیدیوفورها که از میسلیم‌های هوایی و نیمه سطحی تشکیل شده بودند و زنجیره‌های کنیدیومی را در ستون‌های واگرا تولید می‌کردند، از نوع دو ورتیسيله (biverticillate) و سه ورتیسيله (terverticillate)، با دیواره ضخیم و زبر و به اندازه $(۲/۵-۳/۳-۴/۵) \times (۳۸۰-۳۰۰-۲۰۰-۱۵۰)$ میکرومتر بودند. انشعابات اولیه کنیدیوفورها (rami) دارای سطح زبر و به اندازه $۲/۵-۴ \times ۳۰-۲۰(۱۵-)$ میکرومتر بودند که به ۳-۵ متولای واگرا، به اندازه $(۲/۵-۳-۴) \times ۱۷-۹/۵(۸-)$ میکرومتر و انتهای متورم به اندازه $۵/۵-۷$ میکرومتر، منتهی می‌شدند. فیالیدها که به تعداد ۸-۱۰ عدد در هر ورتیسيل تشکیل شده بودند، آمپولی شکل و به اندازه $۵/۵-۷ \times ۲/۸-۳/۶$ میکرومتر بودند. کنیدیوم‌ها کروی، دارای سطح صاف و به اندازه $۲-۲/۵$ میکرومتر بودند (شکل ۲). سختینه یا فرم جنسی مشاهده نشد. براساس جستجوی بلاست، توالی ژن *BenA* جدایه IRAN 4049C (جدول ۲) دارای $۹۸/۲۸\%$ شباهت (۳۴۲/۳۴۸) با توالی (FJ376595) جدایه تیپ *P. simile* (ATCC MYA-4591)، $۹۴/۶۶\%$ شباهت (۳۷۲/۳۹۳) با توالی (MN969397) جدایه تیپ *P. sajarovii* Quintan. (CBS 277.83) و $۹۴/۲۶\%$ شباهت (۳۶۱/۳۸۳) با توالی (KJ834485) جدایه تیپ *P. raistrickii* G. Sm. (CBS 261.33) می‌باشد. ویژگی‌های ریخت‌شناختی جدایه‌های ایرانی (جدول ۳) نیز در حد زیادی با *P. simile* (Davolos et al. 2012) انطباق داشت، با این توضیح که پرگنه‌های این جدایه‌ها در دمای ۱۵ درجه سلسیوس میزان رشد بیشتری از این گونه (۳-۵ میلی‌متر) داشتند و هیچ سختینه یا اندام جنسی هم در محیط کشت تولید نکردند.

گونه *P. simile* متعلق به سری *Raistrickiorum* از بخش *Ramosum* (Houbraken et al. 2020) است. سری *Raistrickiorum* دارای ویژگی‌های ریخت‌شناختی عمده از قبیل پرگنه‌های مخملی و فاقد رشد در ۳۷ درجه سلسیوس، کنیدیوفورهایی از نوع دو- یا سه ورتیسيله با پایه دارای دیواره زبر و انتهای متورم و کنیدیوم‌های کروی با دیواره صاف می‌باشد. این سری در حال حاضر شامل سه گونه *P. raistrickii*، *P. sajarovii* و *P. simile* می‌باشد. فرم جنسی در هیچ یک از اعضای این سری مشاهده نشده است ولی سختینه‌ها در *P. raistrickii* و *P. simile* گزارش شده‌اند (Houbraken et al. 2020). گونه *P. raistrickii* (Smith 1933, Ramirez 1982, Davolos et al. 2012) با دارا بودن کنیدیوفورهای مشخص از نوع دو ورتیسيله بسیار زبر با پایه‌ها، متولاه و فیالیدهای بلندتر و کنیدیوم‌های کوچکتر از *P. simile* متمایز می‌شود.

IRAN 4065C (کشت و صنعت دهخدا، ۱۳۹۴/۰۶/۲۳) و (۱۳۹۲/۱۲/۱۰). میزان رشد پرگنه‌ها پس از هفت روز در دمای ۲۵ درجه سلسیوس روی محیط‌های کشت MEA: ۳۹-۳۲ میلی‌متر، CYA: ۳۸-۳۶ میلی‌متر و YES: ۶۱-۶۰ میلی‌متر بود. پرگنه‌ها پس از هفت روز روی CYA در دماهای ۱۵ درجه سلسیوس: ۱۹-۱۸ میلی‌متر، ۳۰ درجه سلسیوس: ۳۶-۲۲ میلی‌متر و ۳۷ درجه سلسیوس: فاقد رشد بودند.

پرگنه‌ها روی محیط کشت MEA با رشد متوسط، دارای بافت مخملی یا پنبه‌ای ظریف و نرم، در مرکز برآمده، با حاشیه‌هایی به رنگ سفید، باریک (۲-۱ میلی‌متر) و کامل، دارای تعداد کمی شیار با عمق کم یا زیاد و کامل که اغلب توسط ریشه‌های عقیم و سفید رنگ پوشیده می‌شدند و به صورت سکتورهایی قابل مشاهده بودند، فاقد رنگدانه و برخی جدایه‌ها تولید کننده ترشحاتی به رنگ سبز لیمویی بودند. میسلیم‌ها که در تمام سطح پرگنه مشخص بود، به رنگ سفید و نواحی هاگ‌زای فراوان که اغلب توسط میسلیم‌های هوایی پوشیده می‌شد، به رنگ (R. Pl. VII) pale turquoise green مایل به خاکستری بود. سطح پشتی پرگنه‌ها به رنگ (R. Pl. XXX) olive ocher یا isabella (R. Pl. XXX) color بود. پرگنه‌ها روی محیط کشت CYA دارای ویژگی‌های مشابه محیط MEA بودند با این اختلافات که پرگنه‌ها در اینجا دارای هاگ‌زایی بسیار کم و محدود شده به قسمت‌های مرکزی و تعداد زیادی شیار با عمق کم یا زیاد و کامل بودند. همچنین، پرگنه‌ها روی محیط کشت CYA ترشحاتی به صورت قطرات نسبتاً بزرگ و بی‌رنگ اغلب در حاشیه پرگنه‌ها تولید می‌کردند و دارای سطح پشتی به رنگ (R. Pl. XIV) salmon buff یا (R. Pl. XXVIII) buff pink، در برخی جدایه‌ها در نواحی مرکزی به رنگ قهوه‌ای بودند. پرگنه‌ها روی محیط کشت YES با رشد زیاد، دارای بافت پنبه‌ای، در برخی جدایه‌ها در نواحی مرکزی کاملاً برآمده، با حاشیه‌هایی به رنگ سفید، پهن (تا ۵ میلی‌متر) و کامل و دارای شیارهایی با عمق کم یا زیاد و کامل بودند که به دلیل پوشانده شدن توسط میسلیم‌های هوایی خیلی مشخص نبودند، اگرچه در برخی جدایه‌ها به صورت سکتورهای کاملاً مشخص قابل مشاهده بودند. پرگنه‌ها فاقد رنگدانه و ترشحات بودند. میسلیم‌ها که در تمام سطح پرگنه‌ها یا بیشتر در حاشیه‌ها مشخص بود، به رنگ سفید و نواحی هاگ‌زا که به تعداد بسیار کم در تمام سطح و یا فقط در حاشیه‌ها تشکیل شده بود، به رنگ (R. Pl. VII) pale turquoise green مایل به خاکستری، در برخی جدایه‌ها در مرکز به رنگ (R. Pl. XVII) clear dull green yellow بود. سطح پشتی پرگنه‌ها به رنگ (R. Pl. XXIX) cinnamon buff بود (شکل ۲).



شکل ۲ - *Penicillium simile* (IRAN 4049C): A. پرگنه هفت روزه جدایه روی محیط‌های کشت MEA، CYA و YES (چپ به راست) در دمای ۲۵ درجه سلسیوس، ردیف بالا نشان‌دهنده سطح رویی و ردیف پایین نشان‌دهنده سطح زیرین است. B-D. کنیدیوفورها (مقیاس = ۱۰ میکرومتر)، E. کنیدیوم‌ها (مقیاس = ۵ میکرومتر).

Fig. 2. *Penicillium simile* (IRAN 4049C): A. 7 d old cultures on MEA, CYA, YES (left to right) at 25 °C; top row, all obverse; bottom row, all reverse. B-D. Conidiophores (Bar = 10 μm), E. Conidia (Bar = 5 μm).

شامل *Chrysogena*، *Fasiculata* و *Ramosum* از زیرجنس *Penicillium* گروه‌بندی شدند (جدول ۱). زیرجنس *Penicillium* عمدتاً شامل گونه‌های دارای کنیدیوفورهای سه- و یا چهار ورتیسيله (quarterverticillate) می‌باشد، در حالی که زیرجنس *Aspergilloides* دربردارنده گونه‌هایی با کنیدیوفورهای از نوع تک- یا دو ورتیسيله و فیالیدهای فلاسکی شکل است (Houbraken & Samson 2011).

بحث

در مطالعه حاضر، به منظور گروه‌بندی گونه‌های *Penicillium* از سیستم طبقه‌بندی ارایه شده توسط هوبراکن و همکاران (Houbraken et al. 2020) تبعیت شد. بر این اساس، اعضای این جنس در پنج بخش شامل *Aspergilloides*، *Cinnamopuourea*، *Citrina*، *Exilicaulis* و *Lanata-Divaricata* از زیرجنس *Aspergilloides* و سه بخش

بسیار کم حضور دارد (Houbraken et al. 2011). این موضوع می‌تواند توجیه کننده این باشد که این گونه به عنوان فراوان‌ترین گونه از تمامی کشت و صنعت‌های نیشکر در استان خوزستان جداسازی و شناسایی شد (جدول ۳). گونه *P. citrinum* قبلا از بذور بادام‌زمینی، کنجد و ذرت (Ershad 2009)، درختان گلابی (Abbasi et al. 2019) و نان (Delshad & Mostowfzadeh 2020) در ایران گزارش شده است. ویژگی‌های ریخت‌شناختی جدایه‌های ایرانی (جدول ۳) با *P. citrinum* مشخص این گونه می‌توان به رشد محدود روی CYA در دمای ۳۷ درجه سلسیوس (۲-۱۲ میلی‌متر)، سطح پشتی زرد رنگ و کنیدیوم‌های صاف و کروی اشاره داشت. گونه *P. citrinum* از سایر اعضای سری *Citrina* با دارا بودن توانایی رشد در دمای ۳۷ درجه سلسیوس و تشکیل رنگدانه‌های محلول زرد یا زرد-نارنجی در YES متمایز می‌شود. براساس جستجوی بلاست هم، توالی ژن *BenA* جدایه IRAN 4036C (جدول ۲) دارای ۱۰۰٪ شباهت با توالی (GU944545) جدایه تیپ *P. citrina* (CBS 139.45) می‌باشد.

پیت (Pitt 1979) بخش *Exilicaulis* را برای قرار دادن گونه‌های تک‌ورتیسپله از جنس *Penicillium* که فاقد انتهای وزیکولی متورم هستند، تعریف کرد. هوبراکین و سامسون (Houbraken & Samson 2011)، این بخش را براساس داده‌های تبارزایی مجددا بررسی کردند و آن را به منظور قرار دادن گونه‌هایی با کنیدیوفورهای دو ورتیسپله، مجددا تعریف کردند. در مطالعه حاضر، گونه *P. restrictum* تنها گونه شناسایی شده از این بخش بود که به سری *Restricta* (Houbraken et al. 2020) تعلق دارد و یک گونه متداول در خاک است. این گونه قبلا از بذر گندم (Lacey 1988) در ایران گزارش شده است. ویژگی‌های ریخت‌شناختی جدایه‌های ایرانی (جدول ۳) با *P. restrictum* (Raper et al. 1968, Ramírez 1982) انطباق داشت. گونه *P. restrictum* از نزدیک‌ترین گونه، *P. arabicum* (Ramírez 1982) Baghd.، با دارا بودن کنیدیوفورها، فیالیدها و کنیدیوم‌های کوچک‌تر و کروی با سطح کاملاً زبر و رنگ متفاوت سطح پشتی پرگنه‌ها روی MEA و CYA متمایز می‌شود. براساس جستجوی بلاست هم، توالی ژن *BenA* جدایه IRAN 4040C (جدول ۲) دارای ۹۶٪ شباهت (۳۸۴/۴۰۰) با توالی (KJ834486) جدایه تیپ *P. restrictum* (CBS 367.48) و ۹۷/۶۶٪ شباهت (۳۷۶/۳۸۵) با توالی (KJ775150) جدایه معتبر *P. restrictum* (DTO_244F9) می‌باشد.

بخش *Aspergilloides* شامل گونه‌هایی با کنیدیوفورهایی از نوع تک‌ورتیسپله و پرگنه‌های دارای رشد متوسط تا زیاد روی محیط‌های کشت دارای آگار است (Pitt 1979, Houbraken & Samson 2011). اعضای این بخش دارای پراکنش گسترده بود و از بسترهای مختلف شامل خاک، غذا و فضاهای سرپوشیده گزارش شده‌اند (Houbraken et al. 2014). در مطالعه حاضر، گونه *P. crocicola* تنها گونه شناسایی شده از این بخش بود که به سری *Thomiorum* (Houbraken et al. 2020) تعلق دارد. این گونه قبلا از میوه انگور و کشمش (Khodae et al. 2015, 2017) در ایران گزارش شده است. ویژگی‌های ریخت‌شناختی جدایه‌های ایرانی (جدول ۳) با *P. crocicola* (Yamamoto et al. 1956, Wang et al. 2014, Park et al. 2015) انطباق داشت. با این توضیح که سختینه‌های این قارچ به تعداد زیاد روی YES و مقدار بسیار کم روی CYA تولید شدند و روی MEA نیز هیچ سختینه‌ای توسط این قارچ تولید نشد. گونه *P. crocicola* از *P. austroafricanum* Houbraken & Visagie (Houbraken et al. 2014) که نزدیک‌ترین گونه به آن می‌باشد، با دارا بودن کنیدیوفورهایی با دیواره صاف و انتهای غیروزیکوله، کنیدیوم‌های کوچک‌تر کروی تا نیمه‌کروی و سختینه‌هایی به رنگ زرد-قهوه‌ای تا قهوه‌ای تیره متمایز می‌شود. براساس جستجوی بلاست هم، توالی ژن *BenA* جدایه IRAN 4039C (جدول ۲) دارای ۹۶/۹۱٪ شباهت (۳۷۶/۳۸۸) با توالی (KM088895) جدایه معتبر *P. crocicola* (DTO 181-G2) و ۹۶/۴۰٪ شباهت (۳۷۵/۳۸۹) با توالی (KM088824) جدایه تیپ *P. crocicola* (DTO 104-E2) می‌باشد.

گونه‌های متعلق به بخش *Citrina* دارای ویژگی‌های مشترکی از قبیل کنیدیوفورهای دو ورتیسپله متقارن (برخی گونه‌ها با یک انشعاب اضافی که خود آن هم می‌تواند دارای انشعابات از نوع دو ورتیسپله باشد)، اغلب با سطح صاف، فیالیدهای فلاسکی شکل (طول ۹-۷ میکرومتر) و کنیدیوم‌های نسبتاً کوچک (ابعاد ۳-۲ میکرومتر)، کروی تا بیضوی با سطح صاف یا زبر می‌باشند. برخی گونه‌های موجود در این بخش، دارای فرم جنسی از نوع مشابه *eupenicillium* هستند (Houbraken & Samson 2011, Houbraken et al. 2011). اعضای بخش *Citrina* بسیار فراوان بوده و دارای پراکنش جهانی هستند. در مطالعه حاضر، گونه *P. citrinum* از این بخش شناسایی شد که به سری *Citrina* (Houbraken et al. 2020) تعلق دارد. گونه *P. citrinum* در خاک‌های مناطق گرمسیری یا نیمه گرمسیری دارای پراکنش زیاد است، در حالی که در خاک‌های مناطق معتدله با فراوانی

هستند و اغلب تولیدکننده پنی‌سیلین می‌باشند (Houbraken & Samson 2011). در مطالعه حاضر، گونه‌های *P. chrysogenum* و *P. rubens*، از این بخش شناسایی شدند که هر دو به سری *Chrysogena* (Houbraken et al. 2020) تعلق دارند. گونه *P. chrysogenum* به دلیل نقش آن در تولید پنی‌سیلین و به عنوان آلوده‌کننده فضاهای سرپوشیده و مواد غذایی مختلف همواره مورد توجه محققان بوده است (Houbraken et al. 2012). در ایران، *P. chrysogenum* از بذور بادام زمینی، ذرت، کنجد و جو (Ershad 2009)، خاک و هوا (Abastabar et al. 2016)، درختان گلابی (Abbasi et al. 2019) و نان (Delshad & Mostowfizadeh-Ghalamfarsa 2020) و *P. rubens* از درختان گلابی (Abbasi et al. 2019) گزارش شده است.

جدایه‌های مورد مطالعه در این تحقیق (جدول ۳)، از نظر ویژگی‌های ریخت‌شناختی دارای ویژگی‌های منطبق با گونه‌های *P. chrysogenum* و *P. rubens* (Raper et al. 1968, Ramírez 1982) بودند. گونه‌های *P. allii-sativi* Frisvad, Houbraken & Samson (1982) و *P. chrysogenum* و *P. rubens* (Houbraken et al. 2012) دارای ویژگی‌های ریخت‌شناختی مشترک از قبیل رشد سریع و هاگ‌زایی متراکم روی YES، نسبت CYA: CYAS بیشتر از ۱، کنیدیوفورهای سه- یا چهار ورتیسيله واگرا و فیالیدهای نسبتاً کوتاه (کمتر از ۹ میکرومتر) می‌باشند. گونه *P. allii-sativi* با تولید کنیدیوم‌هایی به رنگ سبز تیره روی CYA و رنگدانه‌های محلول زرد رنگ که اغلب در CYA انکوبه شده در دمای ۳۰ درجه سلسیوس وجود ندارند از دو گونه دیگر متمایز می‌شود. گونه *P. rubens* که سالیان متمادی به عنوان مترادفی از *P. chrysogenum* معرفی می‌شد، توسط هوبراکن و همکاران (Houbraken et al. 2011) براساس تاکسونومی پلی‌فازی متمایز شد. این گونه با دارا بودن ویژگی‌های ریخت‌شناختی از قبیل سطح پشتی پرگنه‌ها اغلب به رنگ قرمز یا متمایل به قرمز، کنیدیوفورهای دو ورتیسيله مشخص از نوع متقارن، متولاهای بلندتر، فیالیدهای بزرگ‌تر و سرنیزه‌ای شکل مشخص به تعداد ۳-۸ عدد در هر ورتیسيل و کنیدیوم‌های اغلب کوچک‌تر (اندازه‌های بسیار مختلف در جدایه‌های متفاوت، اغلب ۲-۴ میکرومتر) با شکل‌های متغیر از کاملاً بیضوی تا کروی، نیمه‌کروی و تخم‌مرغی از *P. chrysogenum* متمایز می‌شود. براساس جستجوی بلاست هم، توالی ژن *BenA* جدایه IRAN 4045C (جدول ۲) دارای ۹۸/۸۰٪ شباهت (۴۱۱/۴۱۶) با توالی جدایه تیپ *P. chrysogenum* (AY495981) (CBS 306.48) و جدایه IRAN 4037C دارای ۱۰۰٪ شباهت با تعداد زیادی از

تام (Thom 1930) بخش *Lanata-Divaricata* را برای قرار دادن گونه‌هایی با پرگنه‌های سریع‌الرشد، کنیدیوفورهای اغلب از دو ورتیسيله واگرا (divaricate) و متولاهای تولید شده در قسمت‌های انتهایی، نیمه انتهایی و یا وسطی کنیدیوفور که مورد آخر به عنوان کنیدیوفورهای تک‌ورتیسيله در نظر گرفته می‌شود، معرفی کرد. توده انتهایی کنیدیوفورها در اعضای این بخش بیشتر شامل محور اصلی امتداد یافته می‌باشد. اعضای این بخش اغلب ساکن خاک هستند، اگرچه از بقایای گیاهی در حال پوسیدن هم گزارش شده‌اند. بیشتر گونه‌های این بخش در مقابل عناصر سنگین متحمل هستند و برخی گونه‌ها هم به عنوان عوامل جذب کننده زیستی عناصری از قبیل اکسید روی، مس، سرب و نیکل در فرایند جداسازی زیستی (bioleaching) توصیه شده‌اند (Houbraken & Samson 2011). در مطالعه حاضر، گونه *P. oxalicum* تنها گونه شناسایی شده از این بخش بود که به سری *Oxalica* (Houbraken et al. 2020) تعلق دارد. این گونه در ایران از بذور جو و ذرت (Ershad 2009) و نان (Delshad & Mostowfizadeh-Ghalamfarsa 2020) گزارش شده است. ویژگی‌های ریخت‌شناختی جدایه‌های ایرانی (جدول ۳) با *P. oxalicum* (Raper et al. 1968, Ramírez 1982) انطباق داشت. این گونه با تولید توده‌های بزرگی از کنیدیوم‌های بیضوی که در صورت جابجایی به آسانی در داخل پوسته‌ها پخش می‌شوند و فیالیدهای استوانه‌ای با گردن بسیار کوتاه از سایر اعضای سری *Oxalica* متمایز می‌شود (Visagie et al. 2015). براساس جستجوی بلاست هم، توالی ژن *BenA* جدایه IRAN 4053C (جدول ۲) دارای ۱۰۰٪ شباهت با توالی چندین جدایه معتبر منتسب به *P. oxalicum*، به عنوان مثال جدایه‌های CGMCC 3.18192 (KX961253) و PUMCH_Q158 (MW148923) و ۹۶/۶۴٪ شباهت (۲۸۸/۲۹۸) با توالی (KF296462) جدایه تیپ این گونه (CBS 219.30) می‌باشد.

اعضای بخش *Chrysogena* با دارا بودن ویژگی‌هایی از قبیل تشکیل کنیدیوفورهای دو-، سه- و یا چهار ورتیسيله با انشعابات واگرا و دیواره صاف و فیالیدهای نسبتاً کوچک (کمتر از ۸ میکرومتر)، کنیدیوم‌هایی با سطح صاف یا زبری بسیار کم و پرگنه‌هایی از نوع مخملی و یا تا حدی پنبه‌ای متمایز می‌شوند (Houbraken & Samson 2011, Houbraken et al. 2012). اعضای این بخش، اغلب خاک‌زاد هستند، اگر چه از فضاهای سرپوشیده و زیستگاه‌های خشک از قبیل بیابان یا خاک‌های مناطق سرد و قطبی نیز گزارش شده‌اند (Houbraken et al. 2012). بیشتر اعضای بخش *Chrysogena* متحمل به نمک

گونه‌هایی که آسکوکارپ‌های اغلب زرد رنگ، گاهی متمایل به کرم، صورتی یا قرمز و آسکوسپوره‌های زرد رنگ تولید می‌کنند، معرفی کردند. اعضای این بخش دارای کنیدیوفورهای معمولاً از نوع دو ورتیسيله متقارن (برخی گونه‌ها دارای کنیدیوفورهای تحلیل رفته با فیالیدهای انفرادی) و فیالیدهای اغلب سوزن مانند هستند. گونه‌های متعلق به بخش *Talaromyces* اغلب از خاک، فضاهای سرپوشیده و فرآورده‌های غذایی جداسازی شده‌اند (Yilmaz et al. 2014). گونه *T. pinophilus* جزو متدال‌ترین گونه‌های بخش *Talaromyces* و از جمله گونه‌های مهم تولید کننده آنزیم (اندوگلوکاناز و سلولاز) است. به همین دلیل، این قارچ در حوزه زیست فناوری بسیار مهم می‌باشد (Yilmaz et al. 2014). فعالیت آنتاگونیستی و رفتار میکوپارازیتی این گونه روی عوامل بیماری‌زای گیاهی از قبیل *Rhizoctonia solani* J.G. (Kühn و Abdel-Rahim & Abo-Elyousr 2018) و همچنین اثرات آن به عنوان فزاینده رشد برنج گزارش شده است (Khalmuratova et al. 2015).

جدایه‌های بررسی شده از جنس *Talaromyces* در این تحقیق (جدول ۳)، دارای ویژگی‌های ریخت‌شناختی منطبق با *T. pinophilus* (Yilmaz et al. 2014, Peterson & Jurjević) بودند. این گونه در ایران از بذور بادام زمینی (Ershad 2019) گزارش شده است. از ویژگی‌های ریخت‌شناختی مهم *T. pinophilus* می‌توان به رشد سریع روی محیط‌های کشت در دماهای ۲۵، ۳۰ و ۳۷ درجه سلسیوس، تولید اسید ضعیف روی CREA و پرگنه‌های دارای میسلیم‌های سفید، زرد و قرمز با بافت پنبه‌ای یا رشته‌ای شل اشاره داشت. براساس این ویژگی‌ها، این گونه از نظر ریخت‌شناختی مشابه گونه‌های *T. angelicus* S.H. Yu, T.J. An & H.K. Sang *T. aculeatus* (Raper & Fennell) Samson, Yilmaz, Frisvad & *T. apiculatus* Samson, Yilmaz & Frisvad, Seifert *T. verrucosus* (Peyronel) Samson, Yilmaz, Frisvad & *T. amestolkiae* Yilmaz, Houbraken, Frisvad & Seifert Samson می‌باشد. با این وجود، در مقایسه با *T. pinophilus* گونه‌های *T. verrucosus* و *T. apiculatus*، *T. aculeatus* دارای فیالیدهای فلاسکی شکل و کنیدیوم‌های کروی با دیواره زبر، *T. angelicus* فاقد توانایی تولید اسید روی CREA و *T. amestolkiae* دارای پرگنه‌هایی با سطح پشتی به رنگ قرمز روی MEA و CYA، تولید کننده سختینه‌های سیاه‌رنگ بعد از دو هفته انکوباسیون و رشد بسیار کم در دمای ۳۷ درجه سلسیوس

جدایه‌های معتبر منتسب به *P. rubens* به عنوان مثال، جدایه‌های (LT558989) DI16-49 و (MF575002) MUT<ITA>:3597 می‌باشد.

گونه‌های متعلق به بخش *Fasciculata* دارای رشد خوب در دمای ۲۵ درجه سلسیوس (به غیر از اعضای سری *Verrucosa*)، دمای ۱۵ درجه سلسیوس و فعالیت آبی کم، پرگنه‌هایی با بافت گرانوله یا رشد دسته‌ای، کنیدیوفورهای دارای دیواره زبر و کنیدیوم‌های (نیم-) کروی با سطح صاف یا کاملاً زبر هستند (Frisvad & Samson 2004, Houbraken & Samson 2016, Houbraken et al. 2011). اعضای این بخش اغلب روی مواد غذایی انبار شده یا بسته‌بندی شده یافت می‌شوند. در مطالعه حاضر، گونه‌های *P. crustosum* و *P. palitans* (از سری *Camembertiorum*) و *P. polonicum* (از سری *Viridicata*) از این بخش شناسایی شد که این موضوع نشان‌دهنده تنوع گونه‌ای این بخش در ارتباط با ریزوسفر نیشکر در استان خوزستان می‌باشد. در ایران، *P. crustosum* از محیط کشت (Ershad 2009) و میوه انگور و کشمش (Khodae et al. 2017)، *P. palitans* از نان (Abastabar et al. 2016) و *P. polonicum* از گندم (Abastabar et al. 2016) و نان (Delshad & Mostowfizadeh-Ghalamfarsa 2020) گزارش شده است. جدایه‌های مورد بررسی از بخش *Fasciculata* در مطالعه حاضر (جدول ۳)، دارای ویژگی‌های ریخت‌شناختی منطبق با گونه‌های *P. crustosum* و *P. palitans* (Raper et al. 1968) و *P. polonicum* (Frisvad & Samson 2004) بودند. براساس جستجوی بلاست هم، توالی ژن *BenA* (جدول ۲) جدایه IRAN 4069C دارای ۹۹/۷۵٪ شباهت (۴۰۳/۴۰۴) با توالی (MN969379) جدایه تیپ *P. crustosum* (CBS 115503)، جدایه IRAN 4057C دارای ۹۸/۹۵٪ شباهت (۳۷۸/۳۸۲) با جدایه‌های معتبر منتسب به *P. palitans* از قبیل جدایه‌های (MN149918) DTO046I5 و CBS 49184 (AY674363) و جدایه IRAN 4055C دارای ۹۹/۵۱٪ شباهت (۴۱۰/۴۱۲) با توالی (MN969392) جدایه تیپ *P. polonicum* (CBS 222.28) می‌باشد.

در این مطالعه، گروه‌بندی گونه‌های *Talaromyces* با استفاده از سیستم طبقه‌بندی ارایه شده توسط ایلماز و همکاران (Yilmaz et al. 2014) انجام شد. کلیه جدایه‌های *Talaromyces* مورد بررسی در اینجا تحت گونه *T. pinophilus* شناسایی شدند که به بخش *Talaromyces* تعلق دارد. استولک و سامسون (Stolk & Samson 1972) بخش *Talaromyces* را به منظور قرار دادن

بین قارچ‌های شناسایی شده در تحقیق راموس و همکاران (۲۰۱۸) و سایر تحقیقات مشابه انجام گرفته در برزیل روی ریزوسفر آفتابگردان (Souza-Motta et al. 2003) و خریزه (Coutinho et al. 2010) شباهتی وجود نداشت و به همین دلیل آن‌ها اعلام کردند نیشکر می‌تواند جامعه قارچ‌های رشته‌ای موجود در خاک را انتخاب کند. براساس مقایسه نتایج به دست آمده در این مطالعه با سایر مطالعات مشابه انجام گرفته در سراسر جهان، می‌توان ملاحظه نمود، ترکیب گونه‌های *Penicillium* و *Talaromyces* موجود در ریزوسفر نیشکر در استان خوزستان (جدول ۳) متفاوت از سایر نقاط جهان می‌باشد. گونه‌های *Penicillium* و *Talaromyces* به طور بالقوه PGPF (plant growth promoting fungi) هستند (Hyakumachi et al. 1994, Shivanna et al. 1994, Khan et al. 2008). قارچ‌های ساکن ریزوسفر که برای گیاهان مفید هستند، عموماً به عنوان قارچ‌های فزاینده رشد گیاهان یا PGPF خوانده می‌شوند. این قارچ‌ها مزایای متعددی را به گیاهان می‌زبان اعطا می‌کنند و نقش مهمی در کشاورزی حفاظتی ایفا می‌کنند (Murali et al. 2021). برخی از گونه‌های *Penicillium* شناسایی شده در مطالعه حاضر نیز قبلاً به عنوان PGPF گزارش شده‌اند. به عنوان مثال، تیمار گیاهان گوجه‌فرنگی با *P. chrysogenum*، تاثیر فوری بر گلدهی زودرس و افزایش تعداد و اندازه گل‌های این گیاه داشته است (Jogaiah et al. 2013). دونگ و کوهن (Dong & Cohen 2002) مقاومت القایی به وجود آمده در پنبه را در مقابل بیماری پژمردگی ورتیسیلیومی، در اثر تیمار با *P. chrysogenum* گزارش کرده‌اند. حلال‌سازی سنگ فسفات از طریق عملکرد اسید آلی و فیتاز توسط *P. oxalicum* جداسازی شده از ریزوسفر گیاهان مختلف در استرالیا گزارش شده است (Wakelin et al. 2007). چندین گونه PGPF از قبیل *P. oxalicum* و *P. chrysogenum* سیدروفور تولید می‌کنند که به طور موثری موجب افزایش رشد گیاهان و به تاخیر انداختن رشد عوامل بیماری‌زا می‌شود (Nenwani et al. 2010, Ghosh et al. 2017). ولف گانگ و همکاران (Wolfgang et al. 2000) گزارش کردند که مخلوط سیدروفور دو (*Rhizopus arrhizus* A. Fisch. و *P. chrysogenum*) موجب افزایش محتوی آهن می‌شود که به وضوح موجب بهبود رشد در خیار، گوجه فرنگی و ذرت و افزایش محتوی کلروفیل این گیاهان از طریق افزایش ذخیره Fe EDTA می‌شود. گونه *P. citrinum* هم که فراوان‌ترین گونه شناسایی شده در این مطالعه است و از کلیه کشت و صنعت‌های نیشکر واقع در استان خوزستان جداسازی شد (جدول ۳)، جزو قارچ‌های PGPF

می‌باشد. گونه *T. annesophieae* Houbraken (Crous et al. 2017) هم که از نظر ویژگی‌های ریخت‌شناختی نزدیک‌ترین گونه به *T. pinophilus* است، با دارا بودن ویژگی‌هایی از قبیل رشد کندتر روی MEA، CYA و CYAS و عدم رشد روی CYA در دمای ۳۷ درجه سلسیوس متمایز می‌شود. براساس جستجوی بلاست هم، توالی ژن *Bena* (جدول ۲) جدایه IRAN 4044C دارای ۹۸/۴۶٪ شباهت (۳۸۴/۳۹۰) با توالی (JX091381) جدایه تیپ *T. pinophilous* (CBS 631.66) و توالی (MH909383) جدایه معتبر منتسب به این گونه (NRRL 62172) می‌باشد. گونه‌های *Penicillium* و *Talaromyces* اغلب به عنوان اندوفیت نیشکر و به همان نسبت از ریزوسفر این گیاه گزارش شده‌اند. در بررسی‌های انجام گرفته پیرامون قارچ‌های موجود در ریزوسفر نیشکر، گونه‌های *P. chrysogenum* (فراوانی بالا) و *P. expansum* Link (فراوانی متوسط) از سودان (Al-Nur & Abdumoneim 2007) و *P. nigricans* K.W. Zaleski (فراوانی بسیار کم)، *P. funiculosum* Thom (فراوانی ۱۳/۶٪) و *Penicillium chrysogenum* (فراوانی ۱۱/۱٪) از هند (Deshmukh et al. 2013, Chandrashekar et al. 2014) گزارش شده‌اند. تاکنون، تعداد اندکی از مطالعات انجام گرفته در جهان به طور اختصاصی روی گونه‌های *Penicillium* و *Talaromyces* مرتبط با ریزوسفر نیشکر، نظیر آنچه که در این مقاله ارائه شده است، تمرکز کرده‌اند. رومائو-دومارسک و همکاران (Romão et al. 2016) ساختار و تنوع جوامع قارچی (اندوفیت‌های ریشه و ریزوسفر) را در ارتباط با دو وارپته از نیشکر در برزیل بررسی کردند. نتایج آن‌ها نشان داد که رده *Eurotiomycetes* به عنوان غالب‌ترین گروه قارچی (۴۳٪) و جنس *Penicillium* (مراحل جنسی *Eupenicillium* F. Ludw. و *Talaromyces*) از این رده با ۱۷ گونه فراوان‌ترین قارچی (۳۳/۳٪) است که از هر دوی ریشه‌ها و ریزوسفر جداسازی شد. راموس و همکاران (Ramos et al. 2018) هم تنوع گونه‌های *Penicillium* و *Talaromyces* را در خاک‌های نیشکر برزیل مورد بررسی قرار دادند. در این تحقیق، تعداد ۱۱۰۸ جدایه *Penicillium* (۱۳ گونه) و ۲۳۶ جدایه *Talaromyces* (۳ گونه) به دست آمد که شناسایی آن‌ها با استفاده از مطالعات ریخت‌شناختی و توالی‌های ژن *Bena* انجام شد. گونه‌های *P. limosum* S. Ueda (فراوانی ۱۹/۱٪)، *Talaromyces muroii* Yaguchi, Someya & Udagawa (فراوانی ۱۳/۱٪) و *P. wotroi* Houbraken, C. López, Frisvad & Samson (فراوانی ۱۲/۳٪)، به ترتیب فراوان‌ترین گونه‌های معرفی شده در این تحقیق بودند.

با در نظر گرفتن اهمیت گونه‌های *Penicillium* و *Talaromyces* موجود در ریزوسفر از نظر افزایش رشد، ارتقای ایمنی و سلامت طبیعی گیاهان و همچنین تولید متابولیت‌های ثانویه مهم، نتایج منتشر شده در این مقاله می‌تواند زمینه‌ساز استفاده کاربردی از این قارچ‌ها به منظور افزایش میزان تولید و عملکرد نیشکر و سایر محصولات زراعی باشد.

سپاسگزاری

نگارندگان مراتب سپاس خود را به آقایان دکتر کوروش طاهرخانی و دکتر حسین مؤذن از مؤسسه تحقیقات و آموزش توسعه نیشکر و صنایع جانبی خوزستان (اهواز)، به دلیل تهیه نمونه‌های مورد نیاز برای اجرای این تحقیق ابراز می‌دارند. زحمات خانم مهندس زهره قنبری و آقای مهندس فرزاد قمقامی از آزمایشگاه قارچ‌شناسی بخش تحقیقات رستنیها (مؤسسه تحقیقات گیاه‌پزشکی کشور) و همچنین آقای مهندس شهاب حاج منصور از مجتمع تحقیقاتی زکریای رازی (واحد علوم و تحقیقات دانشگاه آزاد اسلامی) به خاطر همراهی مؤثر در اجرای مراحل آزمایشگاهی این تحقیق در خور قدردانی است.

شناخته شده می‌باشد. میرا و همکاران (Meera et al. 1994) نشان دادند که *P. citrinum* ساکن ریزوسفر گوجه فرنگی، موجب افزایش رشد این گیاه می‌شود. ابری و همکاران (Abri et al. 2015) هم نشان دادند که تیمار بذور با سوسپانسیون کنیدیومی *P. citrinum* موجب بهبود رشد نخود می‌شود. پندی و همکاران (Pandey et al. 2008) قابلیت حل‌کنندگی فسفات گونه‌های *Penicillium* موجود در خاک مناطق هیمالیایی هند را بررسی نمودند و حداکثر میزان حل‌کنندگی فسفات توسط *P. citrinum* را ۱۵ روز پس از تلقیح با این قارچ در محیط کشت مایع گزارش کردند. در این مطالعه، تحمل خوب *P. citrinum* در برابر درجه حرارت‌های بالا (تا ۵۰ درجه سلسیوس)، pH های اسیدی (تا ۳) و قلیایی (تا ۱۲) و غلظت بالای نمک (تا ۲۰٪) گزارش شد. در مطالعه انجام شده توسط یاداو و همکاران (Yadav et al. 2011) نیز *P. citrinum* به عنوان PGPF از ریزوسفر نیشکر معرفی شد و حداکثر میزان حل‌کنندگی فسفات آن در حضور گلوکز، CaCl_2 یک درصد و $\text{pH} = 8$ محیط کشت مایع گزارش شد. این یافته به لحاظ لزوم حفظ فسفات قابل دسترس در خاک‌های شور و قلیایی حایز اهمیت است.

References

- Abastabar, M., Mirhendi, H., Hedayati, M.T., Shokohi, T., Rezaei-Matehkolaei, A., Mohammadi, R., Badali, H., Moazeni, M., Haghani, I., Ghoghghi, A. & Akhtari, J. 2016. Genetic and morphological diversity of the genus *Penicillium* from Mazandaran and Tehran provinces, Iran. *Jundishapur Journal of Microbiology* 9(1): <https://doi.org/10.5812/jjm.28280>.
- Abbasi, R., Ghosta, Y. & Abrinbana, M. 2019. Species diversity of endophytic fungi in the family Aspergillaceae from Pear trees in Urmia. The 2nd. International & 6th. National Conference on Organic and Conventional Agriculture, 25 Aug., University of Mohaghegh Ardabili, Ardabil, Iran.
- Abdel-Rahim, I.R. & Abo-Elyousr, K.A.M. 2018. *Talaromyces pinophilus* strain AUN-1 as a novel mycoparasite of *Botrytis cinerea*, the pathogen of onion scape and umbel blights. *Microbiological Research* 212–213: 1–9.
- Abri, T.K., Sengin, E.L. & Sjahrir, R. 2015. Production of indole acetic acid (IAA) hormone from fungal isolates collected from rhizosphere of aromatic rice in Tana Toraja. *International Journal of Current Research in Biosciences and Plant Biology* 2: 198–201.
- Ahmadi, K., Ebadzadeh, H., Hatami, F., Abdshah, H. & Kazemian, A. 2020. Annual Agricultural Statistics of Iran (2018–2019), Vol. I. Crops. Ministry of Agriculture, Planning and Economic Deputy, Information Technology Center, Tehran, Iran.
- Alagesaboopathi, C. 1994. Biological control of damping-off disease of cotton seedling. *Current Science* 66: 865–868.
- Allen, C.J., Mackay, M.J., Aylward, J.H. & Campbell, J.A. 1997. New technologies for sugar milling and by-product modification. Pp. 267–285. In: *Intensive Sugarcane Production: Meeting the Challenges Beyond 2000* (Keating, B.A. & Wilson, J.R., eds). CAB International, Wallingford, UK.

- Al-Nur, E.-A. & Abdulmoneim, M.A. 2007. Contribution to the knowledge of soil fungi in Sudan rhizosphere mycoflora of sugarcane at Kenana sugar estate. *International Journal of Botany* 3: 97–102.
- Altschul, S.F., Gish, W., Miller, W., Myers, E.W. & Lipman, D.J. 1990. Basic local alignment search tool. *Journal of Molecular Biology* 215: 403–410.
- Anelli, P., Peterson, S.W., Haidukowski, M., Logrieco, A.F., Morettia, A., Epifania, F. & Susca, A. 2018. *Penicillium gravinicaei*, a new species isolated from cave cheese in Apulia, Italy. *International Journal of Food Microbiology* 282: 66–70.
- Asgari, B., Zare, R., Taherkhani, K., Bakhshi, M., Javadi, A., Zangeneh, S. & Moazen, H. 2019. Biodiversity of non-mycorrhizal fungi of sugarcane rhizosphere in selected fields of Khuzestan province. 4th. Iranian Mycological Congress, 26–28 Aug., Sari Agricultural Sciences and Natural Resources University, Iran: 27.
- Benjamin, C.R. 1995. Ascocarps of *Aspergillus* and *Penicillium*. *Mycologia* 47: 669–687.
- Berendsen, R.L., Pieterse, M.J.C. & Bakker, A.H.M. 2012. The rhizosphere micro biome and plant health. *Trends in Plant Science* 17: 478–486.
- Biourge, P. 1923. Les moisissures du groupe *Penicillium*. *Cellule* 33: 7–331.
- Cenis, J.L. 1992. Rapid extraction of fungal DNA for PCR amplification. *Nucleic Acids Research* 20: 23–80.
- Chandrashekar, M.A., Soumya, P.K. & Raju, N.S. 2014. Fungal diversity of rhizosphere soils in different agricultural fields of Nanjangud Taluk of Mysore district, Karnataka, India. *International Journal of Current Microbiology and Applied Sciences* 3: 559–566.
- Coutinho, F.P., Cavalcanti, M.A.Q. & Yano-Melo, A.M. 2010. Filamentous fungi isolated from the rhizosphere of melon plants (*Cucumis melo* L. cv. Gold Mine) cultivated in soil with organic amendments. *Botânica Brasileira* 24: 292–298.
- Cox, M., Hogarth, M. & Smith, G. 2000. Cane breeding and improvement. Pp. 91–108. *In: Manual of Cane Growing*. (Hogarth, M. & Allsopp, P., eds). Bureau of Sugar Experimental Stations, Indooroopilly, Australia.
- Crous, P.W., Wingfield, M.J., Burgess, T.I., Carnegie, A.J., Hardy, G.S., Smith, D., Summerell, B.A., Cano-Lira, J.F., Guarro, J., Houbraken, J. & Lombard, L. 2017. Fungal planet description sheets 625–715. *Persoonia* 39: 460–461.
- Davolos, D., Pietrangeli, B., Persiani, A.M. & Maggi, O. 2012. *Penicillium simile* sp. nov. revealed by morphological and phylogenetic analysis. *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology* 62: 451–458.
- Delshad, D. & Mostowfizadeh-Ghalamfarsa, R. 2020. Identification of *Penicillium* species from citrus fruits and various bread types in Shiraz (Iran). *Rostaniha* 21(1): 65–78.
- Deshmukh, R.B., Dange, S.S., Jadhav, P.V., Deokule, S.S. & Patil, N.A. 2013. Studies on the mycoflora in the rhizosphere of sugarcane (*Saccharum officinarum* L.). *International Journal of Bioassays* 2: 674–676.
- Dierckx, R.P. 1901. Un essai de revision du genre *Penicillium* Link. *Annals de Societe de Sciences Bruxelles* 25: 83–89.
- Dijksterhuis, J. 2007. Heat resistant ascospores. Pp. 101–117. *In: Food Mycology. A Multifaceted Approach to Fungi and Food* (Dijksterhuis, J. & Samson, R.A., eds). CRC Press, Boca Raton.
- Domsch, K.H., Gams, W. & Anderson, T-H. 2007. *Compendium of Soil Fungi* (2nd ed). IHW Verlag, Eching bei München, Germany.
- Dong, H.Z. & Cohen, Y. 2002. Dry mycelium of *Penicillium chrysogenum* induces resistance against *Verticillium* wilt and enhances growth of cotton plants. *Phytoparasitica* 30: 147–157.
- Ershad, D. 2009. *Fungi of Iran*. Iranian Research Institute of Plant Protection, Tehran, Iran.

- Fahima, T. & Henis, Y. 1997. Increasing of *Trichoderma hamatum* and *Talaromyces flavus* on root of healthy and useful hosts. Pp. 296–322. In: Biological Control of Soil-Borne Plant Pathogens (Hornby, D., ed.). CAB International, Wallingford, UK.
- Fleming, A. 1929. On the antibacterial action of cultures of a *Penicillium*, with special reference to their use in the isolation of *B. influenzae*. British Journal of Experimental Pathology 10: 226–236.
- Fraga, M.E., Pereira, M.G., Barbosa, D.J. & Melo, M.P. 2010. Diversity of isolated Trichocomaceae from soil in two forest ecosystems. Ciência Florestal 20: 167–175.
- Frisvad, J.C. & Samson, R.A. 2004. Polyphasic taxonomy of *Penicillium* subgenus *Penicillium*. A guide to identification of food and air-borne terverticillate *Penicillia* and their mycotoxins. Studies in Mycology 49: 1–174.
- Frisvad, J.C. 1981. Physiological criteria and mycotoxin production as aids in identification of common asymmetric *Penicillia*. Applied and Environmental Microbiology 41: 568–579.
- Frisvad, J.C., Smedsgaard, J., Larsen, T.O. & Samson, R.A. 2004. Mycotoxins, drugs and other extrolites produced by species in *Penicillium* subgenus *Penicillium*. Studies in Mycology 49: 201–241.
- Gams, W., Hoekstra, E.S. & Aptroot, A. (eds). 1998. CBS Course of Mycology (4th. ed.). CBS, Baarn, the Neherlands.
- Ghaemmaghami, S.S. & Balali, G.R. 2012. Using pectic zymogram technique to identify interspecies variation of some *Penicillium* species. Iranian Journal of Biology 26(4): 524–531.
- Ghosh, S.K., Banerjee, S. & Sengupta, C. 2017. Bioassay, characterization and estimation of siderophores from some important antagonistic Fungi. Journal of Biofertilizers & Biopesticides 10: 105–112.
- Glass, N.L. & Donaldson, G.C. 1995. Development of primer sets designed for use with the PCR to amplify conserved genes from filamentous ascomycetes. Applied and Environmental Microbiology 61: 1323–1330.
- Gohel, V., Singh, A., Vimal, M., Ashwini, P. & Chhatpar, H.S. 2006. Bioprospecting and antifungal potential of chitinolytic microorganisms. African Journal of Biotechnology 5: 54–72.
- Gomez, E.R., Pioli, R. & Conti, M. 2007. Fungal abundance and distribution as influenced by clearing and land use in a vertic soil of Argentina. Biology and Fertility Soils 43: 373–377.
- Hiltner, L. 1904. Über neuere Erfahrungen und Probleme auf dem Gebiete der Bodenbakteriologie unter besonderer Berücksichtigung der Gründüngung und Brache. Arbeiten der Deutschen Landwirtschaftlichen Gesellschaft 98: 59–78.
- Houbraken, J. & Samson, R.A. 2011. Phylogeny of *Penicillium* and the segregation of Trichocomaceae into three families. Studies in Mycology 70: 1–51.
- Houbraken, J., Frisvad, J.C. & Samson, R.A. 2010. Taxonomy of *Penicillium citrinum* and related species. Fungal Diversity 44: 117–133.
- Houbraken, J., Frisvad, J.C. & Samson, R.A. 2011. Taxonomy of *Penicillium* section *Citrina*. Studies in Mycology 70: 53–138.
- Houbraken, J., Frisvad, J.C., Seifert, K.A., Overy, D.P., Tuthill, D.M., Valdez, J.G. & Samson, R.A. 2012. New penicillin-producing *Penicillium* species and an overview of section *Chrysogena*. Persoonia 29: 78–100.
- Houbraken, J., Kocsubé, S., Visagie, C.M., Yilmaz, N., Wang, X.C., Meijer, M., Kraak, B., Hubka, V., Bensch, K., Samson, R.A. & Frisvad, J.C. 2020. Classification of *Aspergillus*, *Penicillium*, *Talaromyces* and related genera (Eurotiales): An overview of families, genera, subgenera, sections, series and species. Studies in Mycology 95: 5–169.
- Houbraken, J., Visagie, C.M., Meijer, M., Frisvad, J.C., Busby, P.E., Pitt, J.I., Seifert, K.A., Louis-Seize, G., Demirel, R., Yilmaz, N. & Jacobs, K. 2014. A

- taxonomic and phylogenetic revision of *Penicillium* section *Aspergilloides*. *Studies in Mycology* 78: 373–451.
- Houbraken, J., Wang, L., Lee, H.B. & Frisvad, J.C. 2016. New sections in *Penicillium* containing novel species producing patulin, pyripyropens or other bioactive compounds. *Persoonia* 36: 299–314.
- Hyakumachi, M. 1994. Plant-growth-promoting fungi from turfgrass rhizosphere with potential for disease suppression. *Soil Microorganisms* 44: 53–68.
- Jogaiah, S., Abdelrahman, M., Tran, L.S.P. & Shin-ichi, I. 2013. Characterization of rhizosphere fungi that mediate resistance in tomato against bacterial wilt disease. *Journal of Experimental Botany* 64: 3829–3842.
- Johnson, L.F., Curl, E.A., Bond, J.H. & Fribourg, H.A. 1960. *Methods for Studying Soil Mycoflora: Plant Disease Relationships*. Burgess Publishing Co., Minneapolis, USA.
- Juma, E.O.A., Musyimi, D.M. & Opande, G. 2018. Enumeration and identification of rhizospheric microorganisms of sugarcane variety co 421 in Kibos, Kisumu County, Kenya. *Journal of Asian Scientific Research* 8: 113–127.
- Karahadian, C., Josephson, D.B. & Lindsay, R.C. 1985. Volatile compounds from *Penicillium* sp. contributing musty-earthy notes to Brie and Camembert cheese flavors. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 33: 339–343.
- Khalmuratova, I., Kim, H., Nam, Y.J., Oh, Y., Jeong, M.J., Choi, H.R., You, Y.H., Choo, Y.S., Lee, I.J., Shin, J.H., Yoon, H. & Kim, J.G. 2015. Diversity and plant growth promoting capacity of endophytic fungi associated with halophytic plants from the west coast of Korea. *Mycobiology* 43: 373–383.
- Khan, S.A., Hamayun, M., Yoon, H., Kim, H.Y., Suh, S.J., Hwang, S.K., Kim, J.M., Lee, I.J., Choo, Y.S., Yoon, U.H., Kong, W.-S., Lee, B.M. & Kim, J.-G. 2008. Plant growth promotion and *Penicillium citrinum*. *BMC Microbiology* 8: 231. <https://doi.org/10.1186/1471-2180-8-231>.
- 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.
- Khodaei, A., Babai-Ahari, A. & Arzanlou, M. 2017. Incidence of *Penicillium* species on grape and raisin in East-, West Azarbaijan and Gazvin provinces. *Journal of Applied Research in Plant Protection* 6(1): 41–54 (In Persian with English abstract).
- Lacey, J. 1988. The microbiology of cereal grains from areas of Iran with a high incidence of oesophageal cancer. *Journal of Stored Product Research* 24: 39–50.
- Link, H.F. 1809. *Observationes in Ordines plantarum naturales*. *Dissertatio Ima*. *Magazin der Gesellschaft Naturforschenden Freunde Berlin* 3: 3–42.
- Ludemann, V., Greco, M., Rodríguez, M.P., Basílíob, J.C. & Pardoc, A.G. 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: 315–318.
- Mackintosh, D. 2000. Sugar milling. Pp. 369–377. *In: Manual of Cane Growing* (Hogarth, M. & Allsopp, P., eds). Bureau of Sugar Experiment Stations, Indooroopilly, Australia.
- Meera, M.S., Shivanna, M.B., Kageyama, K. & Hyakumachi, M. 1994. Plant growth promoting fungi from zoysiagrass rhizosphere as potential inducers of systemic resistance in cucumbers. *Phytopathology* 84: 1399–1406.
- Murali, M., Naziya, B., Ansari, M.A., Alomary, M.N., AlYahya, S., Almatroudi, A., Thriveni, M.C., Gowtham, H.G., Singh, S.B., Aiyaz, M., Kalegowda, N., Lakshmidivi, N. & Amruthesh, K.N. 2021. Bioprospecting of rhizosphere-resident fungi: Their role and importance in sustainable

- agriculture. *Journal of Fungi* 7(4): 314. <https://doi.org/10.3390/jof7040314>.
- Naraghi, L., Heydari, A. & Rezaee, S. 2012. Biocontrol agent *Talaromyces flavus* stimulates the growth of cotton and potato. *Journal of Plant Growth Regulation* 31: 471–477.
- Naraghi, L., Heydari, A., Rezaee, S., Razavi, M. & Afshari-Azad, H. 2010a. Biological control of Verticillium wilt of greenhouse cucumber by *Talaromyces flavus*. *Phytopathologia Mediterranea* 49: 321–329.
- Naraghi, L., Heydari, A., Rezaee, S., Razavi, M., Jahanifar, H. & Mahmoodi Khaledi, E. 2010b. Biological control of tomato Verticillium disease by *Talaromyces flavus*. *Journal of Plant Protection Research* 50: 360–365.
- Nenwani, V., Doshi, P., Saha, T. & Rajkumar, S. 2010. Isolation and characterization of a fungal isolate for phosphate solubilization and plant growth promoting activity. *Journal of Yeast and Fungal Research* 1: 9–14.
- Oh, J.Y., Kim, E.N., Ryoo, M.I. & Kim, K.D. 2008. Morphological and molecular identification of *Penicillium islandicum* isolate KU101 from stored rice. *Plant Pathology Journal* 24: 469–473.
- Pandey, A., Das, N., Kumar, B., Rinu, K. & Trivedi, P. 2008. Phosphate solubilization by *Penicillium* spp. isolated from soil samples of Indian Himalayan region. *World Journal of Microbiology and Biotechnology* 24: 97–102.
- 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: 209–216.
- Peterson, S.W. & Horn, B.W. 2009. *Penicillium parvulum* and *Penicillium georgiense*, sp. nov., isolated from the conidial heads of *Aspergillus* species. *Mycologia* 101: 71–83.
- Peterson, S.W. & Jurjević, Ž. 2019. The *Talaromyces pinophilus* species complex. *Fungal Biology* 123: 745–762.
- Pitt, J.I. 1980. [“1979”]. The Genus *Penicillium* and its Teleomorphic States *Eupenicillium* and *Talaromyces*. Academic Press, London, UK.
- Ramírez, C. 1982. Manual and atlas of the Penicillia. Elsevier Biomedical Press, Amsterdam, the Netherlands.
- Ramos, S.M.S., Cruz, R., do Nascimento Barbosa, R., Machado, A.R., da Costa, A.F., de Souza Motta, C.M. & de Oliveira, N.T. 2018. *Penicillium* and *Talaromyces* communities of sugarcane soils (*Saccharum officinarum* L.): Ecological and phylogenetic aspects. *Journal of Agricultural Science* 10: 335–350.
- Raper, K.B. & Thom, C. 1949. A Manual of the *Penicillia*. The Williams & Wilkins Company, Baltimore, USA.
- Raper, K.B., Thom, C. & Fennell, D.I. 1968. A Manual of the *Penicillia*. Hanfer Publishing Company, New York and London.
- Ridgeway, R. 1912. Color Standards and Color Nomenclature. Washington DC, USA.
- Romão-Dumaresq, A.S., Dourado, M.N., Lima Fávaro, L.C. de, Mendes, R., Ferreira, A. & Araújo, W.L. 2016. Diversity of cultivated fungi associated with conventional and transgenic sugarcane and the interaction between endophytic *Trichoderma virens* and the host plant. *PLOS ONE* 11: <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0158974>.
- Romão-Dumaresq, A.S., Junqueira Franco, H.C., Montes Nogueira Borges, B.M., Batista, B.D. & Quecine, M.C. 2017. Beneficial microorganisms associated with sugarcane crops: the green gold for clean energy. Pp. 313–339. *In: Diversity and Benefits of Microorganisms from the Tropics* (de Azevedo, J.L. & Quecine, M.C., eds). Springer, Switzerland.
- Sakai, A., Tanaka, H., Konishi, Y., Hanazawa, R., Ota, T., Nakahara, Y., Sekiguchi, S., Oshida, E., Takino, M., Ichinoe, M., Yoshikawa, K., Yoshizawa, T. &

- Takatori, K. 2005. Mycological examination of domestic unpolished rice and mycotoxin production by isolated *Penicillium islandicum*. Journal of the Food Hygienic Society of Japan 46: 205–212.
- Samadi, R., Arzanlou, M., Ghosta, Y. & Houbraken, J. 2016. Three *Penicillium* species new for the mycobiota of Iran from soils of the National Park of Urmia Lake. Rostaniha 17(2): 127–135.
- Samson, R.A., Houbraken, J. & Thrane, U. 2010. Food and Indoor Fungi. CBS KNAW Biodiversity Center. Utrecht, the Netherlands.
- Samson, R.A., Yilmaz, N., Houbraken, J., Spierenburg, H., Seifert, K.A., Peterson, S.W., Varga, J. & Frisvad, J.C. 2011. Phylogeny and nomenclature of the genus *Talaromyces* and taxa accommodated in *Penicillium* subgenus *Biverticillium*. Studies in Mycology 70: 159–183.
- Schoch, C.L., Seifert, K.A., Huhndorf, S., Robert, V., Spougea, J.L., Levesque, C.A., Chen, W. & Fungal Barcoding Consortium. 2012. Nuclear ribosomal internal transcribed spacer (ITS) region as a universal DNA barcode marker for fungi. Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America 109: 6241–6246.
- Seifert, K.A., Samson, R.A., Waard, J.R. de, Houbraken, J., Lévesque, C.A., Moncalvo, J.-M., Louis-Seize, G. & Hebert, P.D.N. 2007. Prospects for fungus identification using CO1 DNA barcodes, with *Penicillium* as a test case. Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America 104: 3901–3906.
- Shivanna, M.B., Meera, M.S. & Hyakumachi, M. 1994. Sterile fungi from zoysiagrass rhizosphere as plant growth promoters in spring wheat. Canadian Journal of Microbiology 40: 637–644.
- Singleton, L.L., Mihail, J.D. & Rush, C.M. 1992. Methods for research on soilborne phytopathogenic fungi. APS Press, St. Paul, Minnesota, USA.
- Skouboe, P., Frisvad, J.C., Taylor, J.W., Lauritsen, D., Boysen, M. & Rossen, L. 1999. Phylogenetic analysis of nucleotide sequences from the ITS region of terverticillate *Penicillium* species. Mycological Research 103: 873–881.
- Smith, G. 1933. Some new species of *Penicillium*. Transactions of the British Mycological Society 18: 88–91.
- Souza-Motta, C., Cavalcanti, M.A.Q., Fernandes, M.J.S., Lima, D.M.M., Nascimento, J.P. & Laranjeira, D. 2003. Identification and characterization of filamentous fungi isolated from sunflower (*Helianthus annuus* L.) rhizosphere according to their capacity to hydrolyse inulin. Brazilian Journal of Microbiology 34: 273–280.
- Stolk, A.C. & Samson, R.A. 1972. The genus *Talaromyces* studies on *Talaromyces* and related genera II. Studies in Mycology 2: 1–65.
- Sun, B.-D., Chen, A.J., Houbraken, J., Frisvad, J.C., Wu, W.-P., Wei, H.-L., Zhou, Y.-G., Jiang, X.-Z. & Samson, R.A. 2020. New section and species in *Talaromyces*. MycoKeys 68: 75–113.
- Terrasan, C.R.F., Temer, B., Duarte, M.C.T. & Carmona, E.C. 2010. Production of xylanolytic enzymes by *Penicillium janczewskii*. Bioresource Technology 101: 4139–4143.
- Thom, C. 1930. The Penicillia. The Williams & Wilkins Company, Baltimore, USA.
- Vardasbi, H., Saremi, H., Fotouhifar, Kh.-B., Kaveh, H. & Javan-Nikkhah, M. 2020. Novel endophytic species of *Talaromyces* sect. *Talaromyces* associated with saffron plant to the mycobiota of Iran. Mycologia Iranica 7(2): 219–229.
- Visagie, C.M., Houbraken, J., Frisvad, J.C., Hong, S.B., Klaassen, C.H.W., 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., Houbraken, J., Seifert, K.A. Samson, R.A. & Jacobs, K. 2015. Four new *Penicillium*

- species isolated from the fynbos biome in South Africa, including a multigene phylogeny of section *Lanata-Divaricata*. *Mycological Progress* 14: 96–119.
- Wakelin, S.A., Gupta, V.V.S.R., Harvey, P.R. & Ryder, M.H. 2007. The effect of *Penicillium* fungi on plant growth and phosphorus mobilization in neutral to alkaline soils from southern Australia. *Canadian Journal of Microbiology* 53: 106–115.
- Wang, B., Yu, Y. & Wang, L. 2014. *Penicillium fusisporum* and *P. zhuangii*, two new monoverticillate species with apical-swelling stipes of section *Aspergilloides* isolated from plant leaves in China. *PLoS ONE* 9: <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0101454>.
- Warcup, J.H. 1950. The soil-plate method for isolation of fungi from soil. *Nature* 166: 117–118.
- Wolfgang, H., Volker, R. & Guenther, M. 2000. Fusarinines and dimerum acid, mono- and dihydroxamate siderophores from *Penicillium chrysogenum*, improve iron utilization by strategy I and strategy II plants. *Biometals* 13: 37–46.
- Yadav, J., Verma, J.P., Yadav, S.K. & Tiwari, K.N. 2011. Effect of salt concentration and pH on inhabiting fungus *Penicillium citrinum* Thom. for solubilization of tricalcium phosphate. *Microbiology Journal* 1: 25–32.
- Yamamoto, W., Maeda, M. & Oyasu, N. 1956. Studies on the *Penicillium* diseases occurring on cultivated plants I. *Science reports of the Hyogo University of Agriculture* 2: 23–28.
- Yilmaz, N., Visagie, C.M., Houbraeken, J., Frisvad, J.C. & Samson, R.A. 2014. Polyphasic taxonomy of the genus *Talaromyces*. *Studies in Mycology* 78: 175–341.