معرفی گونه‌های جدیدی از قارچ‌های اندوفیت مو در ایران

دریافت: ۱۳۹۳/۰۹/۰۱ / پذیرش: ۱۳۹۴/۰۱/۳۰

نازدار هرقلی: دانشجوی کارشناسی ارشد گروه گیاه‌پزشکی، پردیس کشاورزی و منابع طبیعی دانشگاه تهران، کرج
یوبرت قوستا: استادیار گروه گیاه‌پزشکی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه ارومیه، ارومیه
محمدجوان نیکخواه✉: استاد گروه گیاه‌پزشکی، پردیس کشاورزی و منابع طبیعی دانشگاه تهران، کرج (jnikkhah@ut.ac.ir)
آندریا کامپیسانو و میشایل پانچر: محققان گروه اکوسیستم کشاورزی و منابع زیستی پایدار، مرکز تحقیقات و نوآوری IASMA، ایتالیا

چکیده

در این پژوهش، تعداد ۶۵۵ جدایه اندوفیت قارچی از مو (*Vitis vinifera* L.) جداسازی شده و مورد مطالعه تاکسونومیکی قرار گرفتند. براساس مطالعات ریخت‌شناختی و توالی‌یابی ناحیه ITS از DNA ریبوزومی، ۱۵ گونه متعلق به ۱۰ جنس شامل: *Alternaria brassicicola*، *A. chlamydospora*، *A. malorum*، *A. atra*، *Arthrinium phaeospermum*، *A. sacchari*، *Aspergillus nidulans*، *A. wentii*، *Beauveria bassiana*، *Chaetomium elatum*، *Epicoccum nigrum*، *Geosmithia pallida*، *Paecilomyces variotii*، *Cytospora punicae* و *Verrucobotrys geranii* به عنوان قارچ‌های اندوفیت از مو شناسایی و معرفی می‌شوند. انگور به عنوان میزبان جدید برای همه گونه‌های ذکر شده در ایران می‌باشد. همچنین، به غیر از گونه‌های *A. phaeospermum*، *B. bassiana* و *E. nigrum*، بقیه گونه‌های ذکر شده برای نخستین بار در دنیا به عنوان قارچ‌های اندوفیت از مو گزارش می‌شوند. چهار گونه شامل: *A. sacchari*، *C. punicae*، *G. pallida* و *V. geranii* برای نخستین بار از ایران گزارش و توصیف می‌شوند.

واژه‌های کلیدی: آرایه‌بندی، دی.ان.ای ریبوزومی، ریخت‌شناسی، قارچ اندوفیت

New species of endophytic fungi from grapevine (*Vitis vinifera*) in Iran

Received: 22.11.2014 / Accepted: 19.04.2015

Nazdar Hergholi: MSc Student, Department of Plant Protection, College of Agriculture and Natural Resources, University of Tehran, Karaj, Iran

Yobert Ghosta: Assistant Prof., Department of Plant Protection, Faculty of Agriculture, University of Urmia, Urmia, Iran

Mohammad Javan-Nikkhah✉: Prof., Department of Plant Protection, College of Agriculture and Natural Resources, University of Tehran, Karaj, Iran (jnikkhah@ut.ac.ir)

Andrea Campisano and Michael Pancher: Researchers, Sustainable Agro-Ecosystems and Bioresources Department, IASMA Research and Innovation Centre, Fondazione Edmund Mach, San Michele all'Adige, Italy

Summary

During the study on endophytic fungi of grapevine (*Vitis vinifera* L.), 655 fungal isolates were obtained and studied taxonomically. Based on morphological and ITS sequences data, 15 species belonging to 10 genera including *Alternaria brassicicola*, *A. chlamydospora*, *A. malorum*, *A. atra*, *Arthrinium phaeospermum*, *A. sacchari*, *Aspergillus nidulans*, *A. wentii*, *Beauveria bassiana*, *Cheatomium elatum*, *Epicoccum nigrum*, *Geosmithia pallida*, *Paecillomyces variotii*, *Cytospora punicae*, and *Verrucobotrys geranii* are introduced as endophytic fungi of grapevine. Grapevineis as matrix nova for all mentioned species in Iran. Also, all identified species except *A. phaeospermum*, *B. bassiana*, and *E. nigrum* are reported for the first time as endophytic fungi of grapevine worldwide. Four species *viz. A. sacchari*, *C. punicae*, *G. pallid*, and *V. geranii* are introduced and described for the first time from Iran.

Keywords: Endophytic fungus, morphology, ribosomal DNA, taxonomy

* بخشی از پایان‌نامه کارشناسی ارشد نگارنده اول به راهنمایی دکتر محمد جوان‌نیکخواه و دکتر یوبرت قوستا ارایه شده به دانشگاه تهران

مقدمه

انگور یک گیاه خزان‌دار، دولپه‌ای و چندساله است که نقش مهمی در اقتصاد کشاورزی دنیا دارد. این گیاه در اکثر مناطق معتدل جهان کشت و بهره‌برداری می‌شود و ایران به علت برخورداری از شرایط جغرافیایی و اقلیمی مناسب، یکی از مهم‌ترین مناطق پرورش انگور در جهان محسوب می‌شود (Zeinali 2011). براساس اطلاعات منتشر شده از سوی سازمان خواربار و کشاورزی جهانی در سال ۲۰۱۳، ایران از نظر تولید انگور، مقام دهم را به ترتیب بعد از کشورهای چین، ایتالیا، ایالات متحده آمریکا، اسپانیا، فرانسه، ترکیه، شیلی، آرژانتین و هند به خود اختصاص داده است. براساس آمارنامه وزارت جهاد کشاورزی در سال ۱۳۸۷، سطح زیر کشت تاکستان‌های کشور با احتساب درختچه‌های پراکنده مو حدود ۳۰۲ هزار هکتار است. از نظر سطح زیر کشت، استان فارس در جایگاه نخست قرار دارد و استان‌های خراسان رضوی، قزوین، آذربایجان غربی، زنجان، همدان و آذربایجان شرقی در رتبه‌های بعدی قرار گرفته‌اند.

تمام گیاهان آوندی و غیرآوندی خشکی‌زی و دریازی که تاکنون مورد مطالعه قرار گرفته‌اند، توسط گروهی از قارچها که تحت عنوان اندوفیت نامیده می‌شوند، کلنیزه می‌گردند (Weber 2009). قارچ‌شناسان از اصطلاح اندوفیت برای توصیف قارچهایی استفاده می‌نمایند که در بافت‌های داخلی گیاهان زنده ساکن بوده، بدون اینکه باعث ایجاد هر گونه تاثیر منفی آشکار و فوری در میزبان‌هایشان شوند (Amal *et al*. 2011). قارچهای اندوفیت شامل یک گروه بسیار متنوع از نظر بوم‌شناختی و جایگاه آرایه‌بندی بوده و بیشتر آن‌ها اعضای شاخه *Ascomycota* و مراحل غیرجنسی آن‌ها را شامل می‌شوند و بقیه نیز متعلق به شاخه‌های *Basidiomycota*، *Zygomycota* senso lato و شبه‌قارچهای *Oomycota* هستند (Khan 2007). برهم‌کنش‌های بین گیاهان میزبان و اندوفیت‌ها بسیار متنوع و پیچیده بوده که به صورت یک رابطه همزیستی تعریف می‌شود و نشان دهنده یک زنجیره گسترده از تعاملات از همیاری تا انگلی باشد (Puri *et al*. 2005, Hu *et al*. 2005, Weber 2009).

مطالعه قارچهای اندوفیت از نظر تولید ترکیبات مضر مانند قارچزهرها، و نیز آنزیم‌های بازدارنده از رشد بیمارگرهای گیاهی حایز اهمیت هستند و می‌توانند به عنوان یک ابزار دفاعی میزبان عمل نمایند. این قارچها همچنین با افزایش جذب مواد غذایی، افزایش قابلیت جوانه‌زنی، مقاومت به خشکی و یا تنش کم آبی، مقاومت به حضور فلزات سنگین و شوری زیاد، باعث افزایش قابلیت رشد و توانایی رقابتی در میزبان‌ها می‌شوند (Liu *et al*. 2009).

طی دو دهه اخیر، علاقه فزاینده‌ای به مطالعه اندوفیت‌ها، منشاء و تنوع زیستی آن‌ها، اثرات متقابل بین اندوفیت‌ها و گیاهان میزبان، نقش اندوفیت‌ها در اکولوژی و همچنین خصوصیات شیمیایی و فعالیت‌های زیستی متابولیت‌های ثانویه تولید شده توسط آن‌ها وجود دارد. طی مطالعه‌ای با هدف بررسی رشد اندوفیتی قارچ *Phomopsis viticola* در بافت‌های مختلف انگور و نظارت بر توزیع آن در طی فصل رشدی، ۴۶ آرایه مختلف قارچی شناسایی شدند که در این میان، گونه‌های *Alternaria alternata* (۴۰٪) و *Sphaeropsis* sp. (۲۰٪) بیشترین فراوانی و *P. viticola*، ۳٪ جدایه‌ها را به خود اختصاص دادند (Mostert *et al*. 2000). تنوع زمانی و مکانی قارچهای اندوفیت ساکن شاخه‌های یک‌ساله و برگ‌های انگور طی دو فصل رشدی مورد مطالعه قرار گرفتند. در این مطالعه، حدود ۶۰ گونه قارچی شناسایی شد (Silhánová & Novotny 2006). همچنین، جوامع قارچی مرتبط با ارقام مختلف *Vitis vinifera* L. کشت شده در سوییس مورد مطالعه قرار گرفتند. از تعداد ۷۰۳ جدایه قارچی، ۶۶ آرایه با استفاده از روش بررسی میکروسکوپی و ماکروسکوپی ریخت‌شناختی شناسایی شدند و برای تایید شناسایی‌ها، از روش مولکولی براساس آنالیز توالی ناحیه ITS استفاده شد (Casieri *et al*. 2009). پراکنش قارچهای اندوفیت مو (*Vitis vinifera* L.) در منطقه سوبالپین در شمال ایتالیا بررسی گردید. در این مطالعه، ساقه‌های انگور از مکان‌های مختلف با توجه به مدیریت ارگانیک و تلفیقی آفات از ارقام مختلف Merlot و Chardonnay جمع‌آوری شدند. قارچهای قابل کشت، جداسازی و با استفاده از توالی‌یابی ناحیه ITS شناسایی شدند. آنالیزهای آماری صورت گرفته نشان داد که جوامع قارچهای اندوفیت مو، باغ‌هایی که به صورت ارگانیک مدیریت شده بودند از باغ‌هایی که در آن‌ها از مدیریت تلفیقی آفات استفاده شده بود، متفاوت بود. طی این مطالعه، ۴۰ آرایه قارچی مختلف شناسایی شد (Pancher *et al*. 2012). قارچهای اندوفیت گیاهان چوبی تنوع بالایی را نشان می‌دهند و متعلق به گروه‌های آرایه‌بندی مختلفی می‌باشند. با وجود تنوع و فراوانی زیاد اندوفیت‌ها در گیاهان چوبی، این اندوفیت‌ها و نیز برهم‌کنش آن‌ها با گیاهان میزبان در مقایسه با اندوفیت‌های باریک برگ‌ها کمتر مورد توجه قرار گرفته‌اند (Weber 2009). علی‌رغم مطالعات زیادی که روی این گروه از قارچها در دنیا انجام گرفته است و نیز سابقه طولانی مدت کشت انگور در ایران و توسعه روزافزون کشت این گیاه در سال‌های اخیر بویژه در استان آذربایجان غربی، تاکنون مطالعه‌ای درباره قارچهای

اندوفیت مو در ایران صورت نگرفته است و هیچ‌گونه اطلاعی از حضور یا تنوع زیستی این قارچ‌ها در دست نمی‌باشد. لذا، تحقیق حاضر به منظور شناسایی قارچ‌های اندوفیت مو در ایران انجام گرفته است.

روش بررسی

- نمونه‌برداری و جداسازی قارچ‌ها

به منظور دستیابی به جدایه‌هایی از قارچ‌های اندوفیت مو، تعداد ۹۵ نمونه گیاهی شامل بخش‌های مختلف ساقه دوساله، ساقه یک‌ساله و برگ‌ها از ۴۵ درخت سالم انگور با سنین مختلف از نه باغ در دو منطقه عمده موکاری استان آذربایجان غربی با دو زیست بوم متفاوت (شامل شهرستان‌های ارومیه و سردشت) جمع‌آوری گردید. نمونه‌های گیاهی بلافاصله پس از برداشت، درون پاکت‌های کاغذی جداگانه قرار داده شده و ضمن ثبت مشخصات آن‌ها، به آزمایشگاه منتقل شدند و در یخچال با دمای چهار درجه سلسیوس نگهداری گردیدند. برای جداسازی قارچ‌ها، از روش گونزالز و تلّو (2010) با اندکی تغییرات استفاده گردید. بدین ترتیب که، ابتدا نمونه‌های گیاهی پس از شست و شوی کامل زیر جریان ملایم آب شیر به مدت ۱۵ دقیقه، ۵-۴ بار با آب مقطر شست و شو داده شدند. سپس به مدت یک دقیقه در اتانول ۷۰٪ و به دنبال آن ۱۵ دقیقه در محلول هیپوکلریت سدیم ۳٪ غوطه‌ور گردیدند و در نهایت، مجددا ۵-۴ بار با آب مقطر سترون شسته شدند. نمونه‌های گیاهی به بخش‌های کوچک برش داده شدند و از هر کدام از بخش‌های ساقه‌های دوساله، ساقه‌های یک‌ساله، دمبرگ، رگبرگ میانی و پهنک برگ، نه قطعه در دو سری تشتک پتری نه سانتی‌متری حاوی محیط کشت PDA تقویت شده با آنتی‌بیوتیک استرپتومایسین کشت شدند. هر سری از تشتک‌های پتری کشت شده به صورت جداگانه در دو دمای ۲۰ و ۲۵ درجه سلسیوس و شرایط تاریکی به مدت ۲-۱ ماه نگهداری شدند. پس از رشد پرگنه قارچ‌ها و برای تهیه پرگنه خالص از جدایه‌های قارچی، از روش‌های تک هاگ کردن و برداشتن نوک ریسه استفاده شد.

- شناسایی قارچ‌ها

شناسایی قارچ‌ها در شرایط استاندارد با استفاده از کلیدهای معتبر شناسایی قارچ‌ها و براساس خصوصیات ریخت‌شناختی و نیز داده‌های حاصل از توالی‌یابی ناحیه ITS rDNA انجام گرفت. جهت بررسی خصوصیات ماکروسکوپی و میکروسکوپی جدایه‌ها، حلقه‌هایی به قطر پنج میلی‌متر از حاشیه در حال رشد پرگنه‌های مربوط به هر جدایه برداشته شد و به وسط تشتک‌های پتری حاوی محیط کشت متناسب با نوع جنس قارچ مورد مطالعه قرار داده شد. تشتک‌های پتری در انکوباتور با شرایط نوری و دمایی توصیه شده در کلیدهای شناسایی مربوطه برای مدت زمان معین نگهداری شدند. سپس ویژگی‌های پرگنه و ویژگی‌های ماکروسکوپی و میکروسکوپی ساختارهای تکثیری غیرجنسی و جنسی (در صورت تشکیل) مورد بررسی قرار گرفت. حداقل ۳۰ اندام قارچی مربوط به هر جدایه توسط میکروسکوپ نوری الیمپیوس (Olympus, Japan) مدل BH2 مجهز به خط‌کش میکرومتری اندازه‌گیری شد.

در بررسی‌های مولکولی، به منظور تهیه توده میسلیومی مورد نیاز برای استخراج DNA، از محیط کشت مایع PDB و محیط کشت جامد PDA استفاده شد. جهت استخراج DNA ژنومی کل از میسلیوم‌های هر جدایه، از روش لیو و همکاران (۲۰۰۰) استفاده شد. برای تکثیر نواحی ITS1-5.8S-ITS2 از rDNA هسته‌ای از ترکیب آغازگرهای ITS1 (5TCCGTAGGTGAACCTGCGG3) به همراه ITS4 (5TCCTCCGCTTATTGATATGC3) به ترتیب به عنوان آغازگرهای پیشرو و پسرو استفاده شد (White *et al*. 1990). مخلوط واکنش PCR با حجم ۲۰ میکرولیتر شامل ۵/۵ میکرولیتر آب دیونیزه سترون، ۱۰ میکرولیتر مخلوط آماده واکنش، ۱۰پیکومول از هر آغازگر و ۳ میکرولیتر DNA با غلظت ۴۰-۳۰ نانوگرم تهیه شد. واکنش PCR در دستگاه ترموسایکلر (Eppendorf, Germany) با ۳۵ چرخه تحت شرایط واسرشت سازی اولیه در دمای ۹۴ درجه سلسیوس به مدت دو دقیقه، واسرشت سازی در دمای ۹۴ درجه سلسیوس به مدت ۳۰ ثانیه، اتصال در دمای ۵۶ درجه سلسیوس به مدت ۴۵ ثانیه، بسط در دمای ۷۲ درجه سلسیوس به مدت ۳۰ ثانیه و بسط نهایی در دمای ۷۲ درجه سلسیوس به مدت ۷ دقیقه انجام گردید. DNA تکثیر شده از طریق PCR با استفاده از کیت Exo-SAP (Euroclone S.P.A., Italy) خالص سازی گردید. تعیین توالی ناحیه ITS با استفاده از آغازگر ITS1 و کیت Big Dye terminator v3.1. از یک جهت به صورت مستقیم و در مرکز تحقیقات و نوآوری IASMA ایتالیا انجام گرفت. پس از توالی‌یابی و ویرایش آن‌ها، این توالی‌ها با سایر توالی‌های موجود در بانک ژن (NCBI) مورد مقایسه بلاست قرار گرفتند. برای ترسیم تبارنما، ابتدا ترادف‌ها با نرم‌افزار Genedoc هم‌ردیف شدند. هم‌ردیف‌ها مجددا بازبینی شده و براساس نیاز به صورت دستی اصلاح گردیدند. ترسیم تبارنما براساس روش Neighbor Joining (NJ) و نرم‌افزار TreeCon انجام گرفت و

برای مشاهده تبارنما از نرم‌افزار Tree View استفاده شد (Van & Wachter 1993). نتایج حاصله با شناسایی ریخت‌شناختی جدایه‌ها مورد مقایسه قرار گرفت و تعیین نام گونه‌ها تایید گردید. تمام جدایه‌ها علاوه بر آزمایشگاه بیماری‌شناسی پردیس کشاورزی و منابع طبیعی دانشگاه تهران (کرج)، در کلکسیون ملی قارچ‌های زنده ایران واقع در مؤسسه تحقیقات گیاه‌پزشکی کشور (تهران- اوین) نیز ثبت و نگهداری می‌شوند.

نتیجه و بحث

در این مطالعه، پس از بررسی ریخت‌شناختی و توالی‌یابی ناحیه ITS جدایه‌های قارچی به دست آمده، در نهایت ۱۵ گونه متعلق به ۱۰ جنس شناسایی شدند. قابل ذکر است برای شناسایی جدایه‌های *Alternaria*، مشخصات ریخت‌شناسی کافی بوده و نیازی به مطالعات مولکولی نداشت. گونه‌های شناسایی شده به شرح ارایه شده در جدول ۱ می‌باشند:

جدول ۱- مشخصات جدایه‌های قارچی شناسایی شده در این مطالعه

Table 1. Characterization of fungal isolates identified in this study

Species fungi	Sampling sites	Tissue parts	Temperature of isolate	NCBI accession No.
Alternaria atra	Kanisive	Two-years shoot	20	-
A. brassicicola	Shalmash	Leaf	20	-
A. chlamydospora	Kanisive	Two-years shoot	25	-
A. malorum	Vazirabad	Annual shoot	20	-
Arthrinium sacchari	Marghan	Annual shoot	20	KP749194
A. phaeospermum	Vazirabad	Annual shoot	20	KP749199
Aspergillus nidulans	Nazloo	Leaf midrib	20	KP749186
A. wentii	Shalmash	Two-years shoot	25	KP749206
Beauveria bassiana	Nazloo	Leaf petiole	20	KP749193
Chaetomium elatum	Golina	Leaf petiole	20	KP749188
Cytospora punicae	Shalmash	Annual shoot	20	KP749202
Epicoccum nigrum	Vazirabad	Leaf	20	KP749205
Geosmithia pallida	Vazirabad	Leaf midrib	20	KP749181
Paecilomyces variotii	Shalmash	Annual shoot	20	KP749179
Verrucobotrys geranii	Golina	Annual shoot	20	KP749178

۱- *Arthrinium sacchari* (Speg.) M.B. Ellis, Mycol. Pep. 103: 11, 1965

نمونه بررسی شده از منطقه مارغان در شهرستان سردشت، استان آذربایجان غربی، ۱۳۹۱

پرگنه قارچ دارای رشد سریعی بوده و قطر آن روی محیط کشت MEA بعد از گذشت هفت روز در دمای ۲۸ درجه سلسیوس، برابر ۸۰ میلی‌متر است. رنگ پرگنه خاکستری تیره مایل به سیاه بوده و به میزان زیادی میسلیوم هوایی تولید نموده که به سمت بالا رشد می‌کنند. میسلیوم‌های هوایی تار عنکبوتی و به رنگ سفید مایل به خاکستری می‌باشند. هاگ‌زایی سریع و به میزان بسیار زیاد در کل سطح پرگنه و نیز در سطح میسلیوم‌های هوایی به صورت منفرد و یا اغلب توده‌های سیاه رنگ از مرکز پرگنه به سمت حاشیه انجام می‌گیرد. رنگ پرگنه از قسمت پشت تشتک پتری خاکستری تیره مایل به قهوه‌ای است. ریسه‌ها دارای بند عرضی و به قطر ۵-۲ میکرومتر؛ هاگ‌برها به صورت یاخته‌های هاگ‌زا تحلیل رفته‌اند. یاخته هاگ‌زا بی‌رنگ تا قهوه‌ای روشن، آمپولی شکل، اغلب به صورت خوشه‌ای، گاهی منفرد، به ابعاد (۴-) ۳/۵-۲ × ۸-۵/۵ میکرومتر می‌باشد که به صورت پرکارنت و هم‌پایه (سیمپودیال)، هاگ‌های یک‌یاخته‌ای را تشکیل می‌دهد. هاگ‌ها به هنگام تشکیل بی‌رنگ بوده و به تدریج به رنگ قهوه‌ای تغییر می‌یابند. هاگ‌ها واجد یک شکاف تندشی بی‌رنگ در بخش استوایی، با سطح صاف و یک زخم قاعده‌ای مرکزی به قطر یک میلی‌متر می‌باشند. هاگ‌ها از روبرو کروی بوده و قطر آن‌ها ۸-۶ میکرومتر و از نمای کناری

عدسی شکل هستند و ضخامت آن‌ها ۵/۵-۴/۵ میکرومتر می‌باشد. یاخته‌های عقیم قهوه‌ای رنگ، دارای سطح صاف، گرزی شکل و به ابعاد ۶/۵ -۵/۵ × ۱۲-۸ میکرومتر می‌باشند (شکل ۱ A-E). این گونه به لحاظ ریخت‌شناختی مشابه با گونه *A. arundinis* می‌باشد با این تفاوت که دارای یاخته‌های هاگ‌زای عریض‌تر، هاگ‌های نسبتا بزرگ‌تر و ریسه‌های عریض‌تر است (Crous & Groenewald 2013). این گونه، برای نخستین بار به عنوان قارچ اندوفیت از مو در دنیا گزارش می‌شود و آرایه جدیدی برای فلور قارچی ایران می‌باشد. جدایه $M_{۳}$ ۳/۲۲ این گونه، با کد IRNA 2295C در کلکسیون ملی قارچ‌های زنده ایران نگهداری می‌شود.

۲- *Cytospora punicae* Sacc. [as "punica"], Michelia 1(4): 367, 1878

نمونه بررسی شده از منطقه شلماش در شهرستان سردشت، استان آذربایجان غربی، ۱۳۹۱

قطر رشدی پرگنه قارچ بعد از گذشت شش روز در شرایط تاریکی و دمای ۲۵ درجه سلسیوس برابر ۶۰ میلی‌متر است. رنگ پرگنه زیتونی تیره مایل به سیاه با حاشیه صاف می‌باشد. پرگنه فاقد ریسه‌های هوایی بوده و ریسه‌ها در داخل محیط کشت و نزدیک به سطح آن رشد می‌کنند و به رنگ سبز زیتونی می‌باشند. بخش مرکزی تا میانی پرگنه دارای چین‌خوردگی بوده و به رنگ زیتونی مایل به خاکستری است و در بخش میانی پرگنه، دو حلقه تیره و روشن قابل رؤیت است. پیکنیدیوم‌ها ریز و سیاه رنگ بوده و به صورت متراکم و چسبیده به هم در کل سطح محیط کشت تشکیل می‌شوند. تشکیل پیکنیدیوم‌ها از بخش مرکزی پرگنه همراه با رشد میسلیوم‌ها شروع شده و به سمت حاشیه ادامه پیدا می‌کند. توده هاگ‌ها به صورت قطرات کرم رنگ از دهانه پیکنیدیوم‌ها به بیرون تراوش می‌کنند. پرگنه از پشت تشتک پتری به رنگ سیاه مایل به خاکستری است. پیکنیدیوم‌ها سیاه رنگ، چند حجره‌ای، با دیواره نازک و به اشکال مختلف بیضوی، کروی، گلابی شکل و گاهی فاقد شکل مشخص هستند. دیواره پیکنیدیوم از بافت با یاخته‌های زاویه‌دار (textura) تشکیل شده و قطر پیکنیدیوم ۲۴۰-۱۰۰ میکرومتر است. هاگ‌برها بی‌رنگ، منشعب، دارای بند عرضی و به ابعاد ۲-۱/۳ × ۱۱/۵-۹ میکرومتر می‌باشند. یاخته‌های هاگ‌زا بی‌رنگ، فیالیدی، در بخش قاعده‌ای متورم و به تدریج به سمت نوک باریک می‌شوند. ابعاد یاخته‌های هاگ‌زا برابر ۱/۵-۱ × ۷/۵-۵ میکرومتر است. هاگ‌ها بی‌رنگ، یک‌یاخته‌ای، راست تا کمی خمیده، با دو انتهای گرد و با سطح صاف و به ابعاد ۲ × ۶-۴/۵ میکرومتر هستند (شکل ۱ F-I). این گونه برای نخستین بار در دنیا از روی انار گزارش شده و گونه نادری است. *Cytospora punicae* آرایه جدیدی برای فلور قارچی ایران بوده و برای نخستین بار از انگور در دنیا گزارش می‌شود. جدایه $SH_{۵}$ ۳/۲۰ این گونه، با کد IRNA 2297C در کلکسیون ملی قارچ‌های زنده ایران نگهداری می‌شود.

۳- *Geosmithia pallida* (G. Sm.) M. Kolařík, Kubátová & Pažoutová, Mycol. Res. 108(9): 1060 (2004)

نمونه بررسی شده از منطقه وزیرآباد در شهرستان ارومیه، استان آذربایجان غربی، ۱۳۹۱

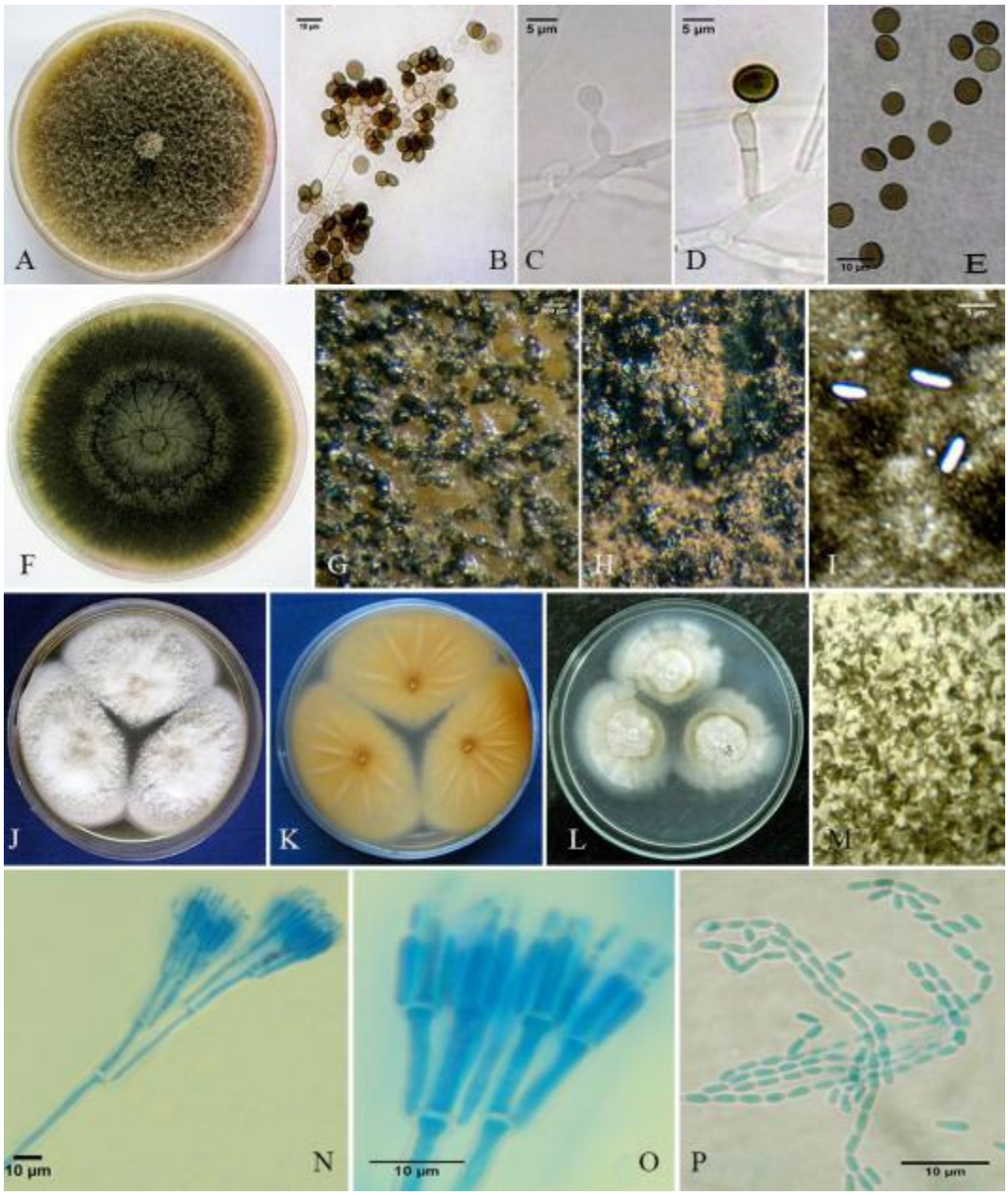
قطر رشدی پرگنه قارچ روی محیط کشت CYA بعد از گذشت هفت روز در شرایط تاریکی و دمای ۲۵ درجه سلسیوس، ۱۸/۵ میلی‌متر و بعد از گذشت ۱۴ روز ۵۴/۵ میلی‌متر است. پرگنه به رنگ قهوه‌ای روشن، در بخش مرکزی دارای حالت لعابی، واجد یک فرورفتگی مدور در حد فاصل بین مرکز و حاشیه پرگنه بوده که به دلیل هاگ‌زایی زیاد در سطح این حلقه، به رنگ قهوه‌ای دیده می‌شود. قطر رشدی پرگنه قارچ روی محیط کشت MEA بعد از گذشت هفت روز در شرایط تاریکی و دمای ۲۵ درجه سلسیوس، ۲۷ میلی‌متر و بعد از گذشت ۱۴ روز ۵۷ میلی‌متر است. پرگنه دارای حاشیه صاف، سطح پودری و به رنگ قهوه‌ای روشن مایل به کرم رنگ است. رشد میسلیومی در داخل محیط کشت ولی نزدیک به سطح یا در سطح محیط کشت و یا به صورت هوایی و پراکنده بویژه در بخش میانی پرگنه صورت می‌گیرد. میسلیوم‌های داخلی نزدیک به سطح و در سطح محیط کشت بسیار متراکم و فشرده و چسبیده به هم رشد می‌کنند. هاگ‌زایی سریع و به میزان بسیار زیاد در کل سطح پرگنه انجام می‌گیرد. در حاشیه پرگنه در یک نوار باریکی، میسلیوم‌ها حالت لعابی و لزج داشته و بدون هاگ‌زایی است. پرگنه دارای بوی تند، فاقد رنگدانه و قسمت پشتی آن دارای فرورفتگی‌های شعاعی و به رنگ قهوه‌ای مایل به زرد می‌باشد. ریسه‌ها باریک، منشعب، دارای بندهای عرضی و به رنگ سفید می‌باشند. هاگ‌برها بی‌رنگ، راست و مستقیم، دارای بندهای عرضی و سطح زگیل‌دار (verrucose)، منشعب و انشعابات هاگ‌برها اغلب نامتقارن و به صورت اغلب treverticillate و یا quadriverticillate و به تعداد کم biverticillate می‌باشند. پایه هاگ‌بر دارای رشد محدود و به ابعاد ۴-۳ × ۲۰۵-۸۰ میکرومتر؛ ابعاد رامی (rami) برابر ۳-۲/۵ × ۱۵-۲۳ میکرومتر؛ ابعاد راموس (ramus) برابر ۲/۵-۲ × ۱۵-۱۰ میکرومتر و ابعاد متولا (metula) برابر با

۱/۵-۲/۵ × ۷-۱۱ میکرومتر می‌باشند. پایه، رامی، راموس و متولا دارای سطح زگیل‌دار هستند. انشعابات هاگ‌بر به تعداد (۴-)۳-۲(-۱) عدد و نزدیک به هم می‌باشد. سلول هاگ‌زا از نوع فیالید است. فیالیدها استوانه‌ای شکل، کشیده، باریک، بی‌رنگ، زگیل‌دار و به ابعاد ۱-۱/۵ × ۷-۱۲ میکرومتر می‌باشند و به تعداد ۶-۵ عدد در انتهای هر انشعاب هاگ‌بر به صورت متراکم و فشرده قرار می‌گیرند. هاگ‌ها استوانه‌ای، با دو انتهای گرد، بی‌رنگ، یک سلولی، با سطح صاف و به صورت زنجیرهای بلند (تا ۳۵ عدد) و بدون انشعاب و پایدار، به صورت basipetal، در انتهای فیالیدها تشکیل می‌شوند. زنجیرهای هاگ به صورت موازی و به سمت بالا تشکیل می‌شوند اما با بالا رفتن سن زنجیرها به صورت در هم‌ریخته در می‌آیند. ابعاد هاگ‌ها برابر ۱/۸- ۱ × ۴/۲ -۳ میکرومتر است (شکل ۱ J-P). این گونه یک گونه مرکب بوده (Kolařík& Kirkendall 2010) و به عنوان متغییرترین گونه در میان گونه‌های جنس *Geosmithia* شناخته شده است و شامل پنج دودمان (OUTs) مختلف می‌باشد که هر کدام از آن‌ها با توجه به شباهت‌های بالا و حضور استرین‌های با فنوتیپ گذرا (transient phenotype) به عنوان آرایه‌های جدا توصیف شده‌اند (Kolařík *et al*. 2007). این گونه دارای انتشار جهانی است و به نظر می‌رسد با طیف وسیعی از حشرات پوست‌خوار مانند سوسک‌های پوست‌خوار بویژه گونه‌های موجود در جنس *Scolytus* در ارتباط نزدیک می‌باشد (Kolařík *et al.* 2004). این گونه برای نخستین بار از مو در دنیا گزارش می‌شود و آرایه جدیدی برای فلور قارچی ایران می‌باشد. جدایه V_1 ۵/۳ این گونه، با کد IRNA 2296C در کلکسیون ملی قارچ‌های زنده ایران نگهداری می‌شود.

۴- *Verrucobotrys geranii* (Seaver) Hennebert, Persoonia 7(2): 193, 1973

نمونه‌های بررسی شده از مناطق کانی‌سیو، کولسه و گولینه در شهرستان سردشت، استان آذربایجان غربی، ۱۳۹۱

قطر رشدی پرگنه روی محیط کشت PDA، بعد از گذشت هفت روز، در شرایط تاریکی و دمای ۲۵ درجه سلسیوس برابر ۷۱ میلی‌متر است. پرگنه در بخش مرکزی به دلیل هاگ‌زایی، قهوه‌ای رنگ و در حاشیه سفید مایل به قهوه‌ای است. حاشیه پرگنه لبه‌دار و ناصاف است. میسلیوم‌های بخش مرکزی ابتدا سفید رنگ بوده و سپس به تدریج به رنگ قرمز مایل به ارغوانی درمی‌آیند. پرگنه دارای بافت مخملی بوده و بافت قارچ در سطح محیط کشت حالت چرمی و سفت دارد. هاگ‌زایی سریع و به میزان بسیار زیاد از مرکز به سمت حاشیه پرگنه انجام می‌گیرد. رنگ پرگنه از پشت تشتک پتری در بخش مرکزی قهوه‌ای تیره مایل به قرمز، بخش میانی قهوه‌ای و در حاشیه قهوه‌ای روشن مایل به زرد است. میسلیوم‌ها بی‌رنگ، منشعب و دارای بندهای عرضی می‌باشند. هاگ‌برها راست، منفرد، دارای بند عرضی، با پایه استوانه‌ای شکل، به رنگ قهوه‌ای روشن، در بخش انتهایی دارای رنگ روشن‌تر تا بی‌رنگ و دارای دیواره ضخیم می‌باشند. عرض هاگ‌برها ۱۴-۹ میکرومتر و طول پایه آن‌ها ۴۶۷-۳۲۵ میکرومتر است. هاگ‌بر در بخش بالایی به صورت جانبی و متناوب (حالت درختچه‌ای) شبیه جنس *Botrytis* منشعب می‌شوند، اما بر خلاف این جنس، یاخته‌های انتهایی انشعابات فاقد تورم بوده و هم‌زمان ۴-۲ جوانه هاگی روی پایه‌های کوتاه تولید می‌کنند. به هنگام جدا شدن هاگ‌های بالغ، بیشتر قسمت پایه همراه با هاگ کنده شده و به صورت یک بخش پایه مانند به رنگ روشن در قسمت قاعده‌ای هاگ‌ها دیده می‌شود. در اثر کنده شدن هاگ‌ها زخم‌هایی به صورت محوری و یا جانبی روی انشعابات ایجاد می‌شود و ممکن است انشعاب از این ناحیه به رشد خود ادامه داده و سرهای هاگ جدیدی را ایجاد کند. نحوه هاگ‌زایی به صورت هولوبلاستیک می‌باشد. هاگ‌ها قهوه‌ای رنگ، با دیواره ضخیم به قطر ۱-۰/۵ میکرومتر، گلابی شکل وارونه تا نسبتا گرد و با قاعده تخت، فاقد زواید، یک یاخته‌ای، با دیواره داخلی به شدت منقوط بوده و ابعاد آن‌ها برابر ۱۱-۷ × ۱۳-۱۰ میکرومتر است (شکل ۲ A-G). جنس *Verrucobotrys*، یک جنس یک نمونه‌ای (مونوتیپیک) بوده و *V. geranii*، تنها گونه ذکر شده در این جنس است. این گونه در دنیا فقط یک‌بار از گل شمعدانی جداسازی شده و گونه نادری است. اگر چه این گونه قبلا در جنس *Botrytis* قرار داده می‌شد، اما در سال ۱۹۷۳، براساس مشخصات هاگ‌زایی از این جنس جدا شد و در جنس *Verrucobotrys* قرار داده شد (Hennebert 1973). انگور میزبان جدیدی برای این گونه بوده و برای نخستین بار نیز به عنوان قارچ اندوفیت از گیاه انگور در دنیا گزارش می‌شود و آرایه جدیدی برای فلور قارچی ایران می‌باشد. این گزارش، دومین گزارش از وجود این گونه در دنیا است. جدایه G_8 ۳/۱۷ این گونه، با کد IRNA 2294C در کلکسیون ملی قارچ‌های زنده ایران نگهداری می‌شود.



شکل ۱- *Arthrinium sacchari*: A. پرگنه هفت روزه روی محیط کشت MEA، B-D. یاخته‌های هاگ‌زا و ظهور هاگ‌ها، E. هاگ‌ها؛ *Cytospora punicae*: F. پرگنه ۲۰ روزه قارچ روی محیط کشت PDA، G و H. پیکنیدیوم‌ها، I. هاگ‌ها؛ *Geosmithia pallida*: J و K. پرگنه ۱۴ روزه روی محیط کشت MEA، L و M. پرگنه ۱۴ روزه روی محیط کشت CYA، N و O. هاگ‌بر، P) زنجیره هاگ‌ها.

Fig. 1. *Arthrinium sacchari*: A. Colony on MEA after 7 days, B-D. Conidiogenous cells giving rise to conidia, E. Conidia; *Cytospora punicae*: F. Colony on PDA after 20 days, G-H. Pycnidia, I. Conidia; *Geosmithia pallida*: J-K. Colony on MEA after 14 days, Colony on CYA after 14 days, N-O. Conidiophore, P. Conidial chains.

۵- *Epicoccum nigrum* Link, Mag. Gesell. Naturf. Freunde, Berlin, 7: 32 (1816) [1815]

نمونه‌های بررسی شده از مناطق شلماش و کانی‌سیو در شهرستان سردشت و وزیرآباد در شهرستان ارومیه، استان آذربایجان غربی، ۱۳۹۱

این قارچ به عنوان فرم غیرجنسی قارچ‌های آسکومیکوتا بوده و یک قارچ همه‌جازی می‌باشد و از انواع مختلف خاک‌ها، گیاهان، هوا، حیوانات، مواد غذایی، منسوجات و غیره جدا شده است. این قارچ به طور عمده به عنوان یک قارچ ساپروفیت شناخته می‌شود که با تجزیه اولیه بافت‌های گیاهی مرتبط است. علاوه بر این، به عنوان مهاجم ثانویه روی همه گونه‌های گیاهی نیز دیده شده است و به طور مکرر از لکه‌های برگی به همراه قارچ‌های دیگر از قبیل *Periconia byssoides* و *Corynespora*

cassicola جداسازی شده است(Ellis 1971, Domsch *et al*. 2007, Fa´varo *et al*. 2011). این قارچ می‌تواند به صورت اندوفیت نیز زندگی کند و به طور معمول از بافت‌های داخلی گونه‌های گیاهی مختلف از جمله انگور، *Vitislabrusca* L.، کاج اسکاتلندی، ذرت و ... جداسازی شده است (Pancher *et al*. 2012, Brum *et al*. 2012, Saunders 2010, Giordano *et al*. 2009). به علاوه، این قارچ به عنوان عامل کنترل زیستی بر علیه *Monilia* spp. در هلو و شلیل، *Sclerotinia sclerotiorum* در آفتابگردان و *Pythium* در پنبه استفاده شده است (Ellis 1971, Fa´varo *et al*. 2011). *E. nigrum* برای نخستین بار توسط زاد در ایران در سال ۱۹۷۹ از سویا و سپس از گیاهان دیگری از قبیل، جو و *Vitissylvestris* C.C. Gmel. جداسازی شده است (Ershad 2009). این گونه برای نخستین بار به عنوان قارچ اندوفیت از مو در ایران گزارش می‌شود، ضمن این که انگور به عنوان میزبان جدید برای آن در ایران می‌باشد (شکل ۲ H-K).

۶- *Alternaria brassicicola* (Schweinitz) Wiltshire, Mycol. Pap. 20: 8 (1964)

نمونه بررسی شده از منطقه شلماش در شهرستان سردشت، استان آذربایجان غربی، ۱۳۹۱

این گونه به فراوانی روی گیاهان تیره شب‌بو دیده شده است. همچنین، از گیاهان *Thymus vulgaris* و *Artemisia* sp. (Neergarrd 1945) و از بذرهای تعدادی از گیاهان از جمله گونه‌های متعلق به جنس‌های *Phaseolus*، *Linum*، *Papaver* و *Scrozonera* (Joly 1964) گزارش شده است. به علاوه، این گونه به عنوان اندوفیت از برخی از گیاهان از جمله *Malus halliana* Koehne جداسازی شده است (Gu 2009). این قارچ در ایران از گیاهان *Brassica napus* L. و *B. oleracea* L. جداسازی شده است (Ershad 2009). این گونه آرایه جدیدی برای فلور قارچی انگور ایران می‌باشد. علاوه بر این، برای نخستین بار به عنوان قارچ اندوفیت از مو در دنیا گزارش می‌شود (شکل ۳ A-D).

۷- *Alternaria chlamydospora* Mouchacca, Mycopath. Mycol. Appl. 50(3): 217 (1973)

نمونه بررسی شده از منطقه کانی سیو در شهرستان سردشت، استان آذربایجان غربی، ۱۳۹۱

گونه *A. chlamydospora* به دلیل دارا بودن کنیدیوم‌های بدون شکل مشخص از بقیه گونه‌های این جنس متمایز می‌شود (Simmons 2007). این گونه از خاک‌های صحرا در مصر، کویت و عراق و همچنین به عنوان عامل بیماری قارچی پوست و ناخن در انسان، گزارش شده است و در ایران نیز از خاک‌برگ گلخانه‌ها در محلات و برگ جو گزارش شده است (Ghosta 2004, Romana *et al*. 2001). این گونه همچنین به عنوان اندوفیت از ساقه و ریشه گیاه *Atriplex vesicaria* Heward ex Benth.، برگ‌های درختان در آرژانتین و ریشه پوشش‌های طبیعی گیاهی اطراف دریای مدیترانه گزارش شده است (Cother & Gilbert 1994, Novas & Carmarán 2008, Maci´a-Vicente *et al*. 2007). این گونه، آرایه جدیدی برای فلور قارچی انگور ایران بوده و برای نخستین بار به عنوان قارچ اندوفیت از گیاه انگور در دنیا گزارش می‌شود (شکل ۳ E-H).

۸- *Alternaria malorum* (Ruehle) U. Braun, Crous & Dugan, Mycol. Progr. 2: 5, 2003

نمونه بررسی شده از منطقه وزیرآباد در شهرستان ارومیه، استان آذربایجان غربی، ۱۳۹۱

این گونه در ایران برای نخستین بار از گیاه جو گزارش شده است (Asgari *et al*. 2004). این گونه قبلا تحت عنوان *Cladosporium malorum* نامیده می‌شد اما در سال ۲۰۱۳، وودنبرگ و همکاران براساس داده‌های حاصل از توالی‌یابی ناحیه ITS و ژن‌های 18S nrDNA، 28S nrDNA، GAPDH، RPB2 و TEF1-alpha آن را در جنس *Alternaria* قرار دادند. انگور میزبان جدیدی برای این گونه قارچی در ایران می‌باشد و برای نخستین بار به عنوان قارچ اندوفیت از مو در دنیا گزارش می‌شود (شکل ۳ I-L).

شکل ۲- *Verrucobotrys geranii*: A و B. پرگنه قارچ روی محیط کشت PDA، C و D. هاگ‌بر، E-G. یاخته هاگ‌زا و هاگ‌ها؛ *Epicoccum nigrum*: H. پرگنه ۱۰روزه روی محیط کشت MEA، I و J. اسپورودوکیوم‌ها، K. هاگ‌ها.

Fig. 2. *Verrucobotrys geranii*: A-B. Colony on PDA, C-D. Conidiophores, E-G. Conidiogenous cells and Conidia; *Epicoccum nigrum*: Colony on MEA after 10 days, I-J. Sporodochia, K. Conidia.

۹- *Alternaria atra* (Preuss) Woudenb. & Crous: 204 (2013)

نمونه‌های بررسی شده از مناطق کانی‌سیو و گلینه در شهرستان سردشت، استان آذربایجان غربی، ۱۳۹۱

این گونه یک گونه با توان رقابتی ساپروفیتی بسیار بالایی است که در برخی از موارد به فرم بیماری‌زا تغییر می‌یابد و به عنوان یک قارچ بسیار متداول در اغلب مناطق جغرافیایی از جمله آفریقا، آمریکای شمالی و جنوبی، آسیا، استرالیا و اروپا گزارش شده است. همچنین، این گونه می‌تواند در برگ‌ها، شاخه‌ها، بذرها و ریشه‌های انواع گیاهان و همچنین در خاک و نیز در گرد و خاک موجود در هوا یافت شود (Eviner *et al*. 2003). گونه *A. atra*، یک قارچ آنتاگونیست نیز محسوب می‌شود و در کنترل زیستی کپک خاکستری ناشی از قارچ *Botrytis cinerea* و دیگر گونه‌های جنس *Botrytis* در محصولات مختلف از جمله انگور، کیوی، پیاز و توت فرنگی و همچنین در کنترل زیستی کپک سفید ناشی از قارچ *Sclerotinia sclerotiorum* در لوبیا، کلزا و یونجه مؤثر بوده است (Huang & Erickcon 2007, Şesan *et al*. 2008). به علاوه، این گونه در برخی از گیاهان از جمله گل‌گندم خاردار و گیاه بذرالبنگ به عنوان اندوفیت گزارش شده است (Abdel-Motaal *et al*. 2010, Shipunov *et al*. 2008). این گونه در ایران از میزبان‌های *Hordeum vulgare* L.، *Pistacia vera* L. و *Solanum tuberosum* L. و تحت نام *Ulocladium atrum* گزارش شده است (Ershad 2009). این گونه قبلا تحت عنوان *Ulocladium atrum* نامیده می‌شد، اما

وودنبرگ و همکاران در سال ۲۰۱۳ براساس داده‌های حاصل از توالی‌یابی ناحیه ITS و ژن‌های 18S nrDNA، 28S nrDNA، GAPDH، RPB2 و TEF1-alpha آن را در جنس *Alternaria* قرار دادند. این گونه آرایه جدیدی برای فلور قارچی انگور ایران بوده و برای نخستین بار به عنوان قارچ اندوفیت از گیاه انگور در دنیا گزارش می‌شود (شکل ۳ M-O).

۱۰- *Arthrinium phaeospermum* (Corda) M.B. Ellis, Mycol. Pap. 103: 8, 1965

نمونه بررسی شده از منطقه وزیرآباد در شهرستان ارومیه، استان آذربایجان غربی، ۱۳۹۱

اگر چه این گونه بسیار شایع بوده و دارای انتشار جهانی است و از محیط‌های مختلف جداسازی شده است، اما به اشتباه به عنوان نماینده این جنس در نظر گرفته می‌شود. در حال حاضر مطالعات فیلوژنتیکی نشان داده است که این گونه یک گونه مرکب بوده و ابعاد هاگ‌ها در گونه‌های مختلف با هم تفاوت دارد (Crous & Groenewald 2013). این گونه از جو، آرد گندم، برنج، گردو و غیره و نیز به عنوان بیمارگر روی سیب‌زمینی شیرین ثبت شده است (Pitt & Hocking 2009). همچنین، این گونه به عنوان اندوفیت از برخی گیاهان از جمله انگور جداسازی شده است (González & Tello 2010). این گونه قبلا از میزبان *Hordeum vulgare* L. در ایران گزارش شده است (Ershad 2009). انگور میزبان جدیدی برای این گونه در ایران است (شکل ۴ A-E).

۱۱- *Aspergillus nidulans* (Eidam) G. Winter, Rabenh. Crypt.-Fl. Edn. 2 (Leipzing) 1.2: 62 (1884)

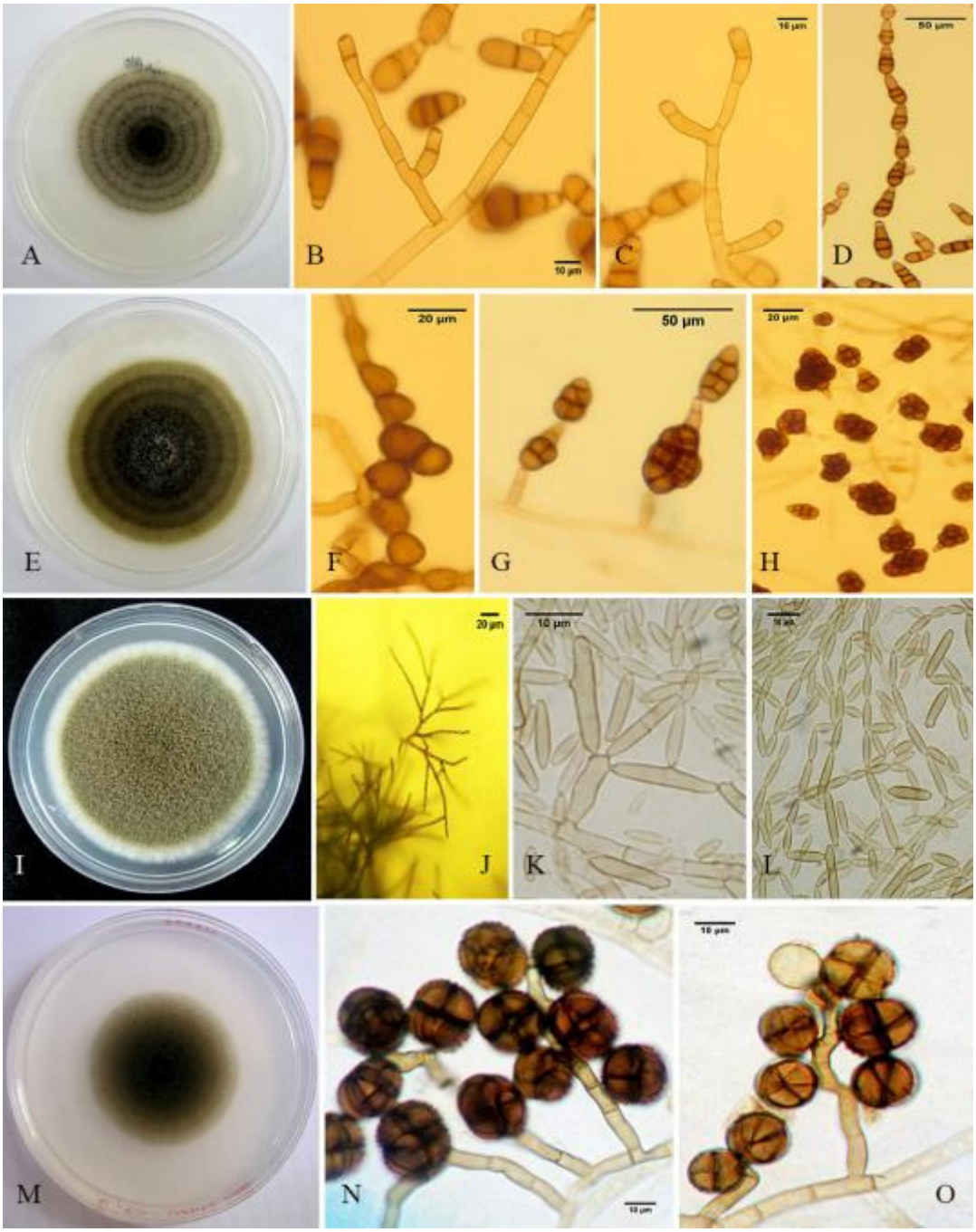
نمونه بررسی شده از منطقه نازلو در شهرستان ارومیه، استان آذربایجان غربی، ۱۳۹۱

این گونه یکی از قارچ‌های رایج خاک با انتشار جهانی می‌باشد و اغلب از خاک مناطق با آب و هوای گرمسیری و نیمه‌گرمسیری از جمله هند، پاکستان، بنگلادش، کویت، ایران، سوریه، ترکیه، مصر، تونس، لیبی، سومالی، آفریقای جنوبی، استرالیا، ژاپن، آرژانتین، پرو، کالیفرنیا، فلوریدا، کارولینای جنوبی و ... گزارش شده است (Domsch *et al*. 2007, Klich & Pitt 1988). این گونه از اندام‌های هوایی گیاهان مختلف، بقایای گیاهی، فضولات حیوانی، ریزوسفر گیاهان مختلف و دانه‌های خشک نیز جداسازی شده است و به عنوان یکی از تجزیه کنندگان خوب سلولز و نشاسته شناخته شده است. به علاوه، قارچ می‌تواند باعث بازداری از جوانه‌زنی بذرهای پنبه و پوسیدگی میوه سیب شده و نیز ندرتا به عنوان بیمارگر انسان شناخته شده است و یکی از گونه‌های هموتال و هتروکاریوتیک است که به طور گسترده در مطالعات ژنتیکی مورد استفاده قرار می‌گیرد (Domsch *et al*. 2007). این گونه به عنوان اندوفیت از برخی گیاهان از قبیل برگ گیاهان *Hyoscyamus muticus* L.، *Ginkgo biloba* L.، *Taxus mairei* Lemee & H. Abdel-Motaal (*Enhalus acroides* Royle و قهوه گزارش شده است (Wang *et al*. 2008, Qio, *et al*. 2010, Sakayarij *et al*. 2010, Sette *et al*. 2006). این گونه برای نخستین بار در ایران توسط مجتهدی و همکاران در سال ۱۹۷۹ از پسته و سپس از بادام زمینی جداسازی و گزارش شده است (Ershad 2009). *Aspergillus nidulans*، برای برای نخستین بار به عنوان قارچ اندوفیت از گیاهان انگور در دنیا گزارش می‌شود و آرایه جدیدی برای فلور قارچی انگور ایران می‌باشد (شکل ۴ F-M).

۱۲- *Aspergillus wentii*, Zentbl. Bakt. Parasitkde, Abt. II 2: 150 (1896)

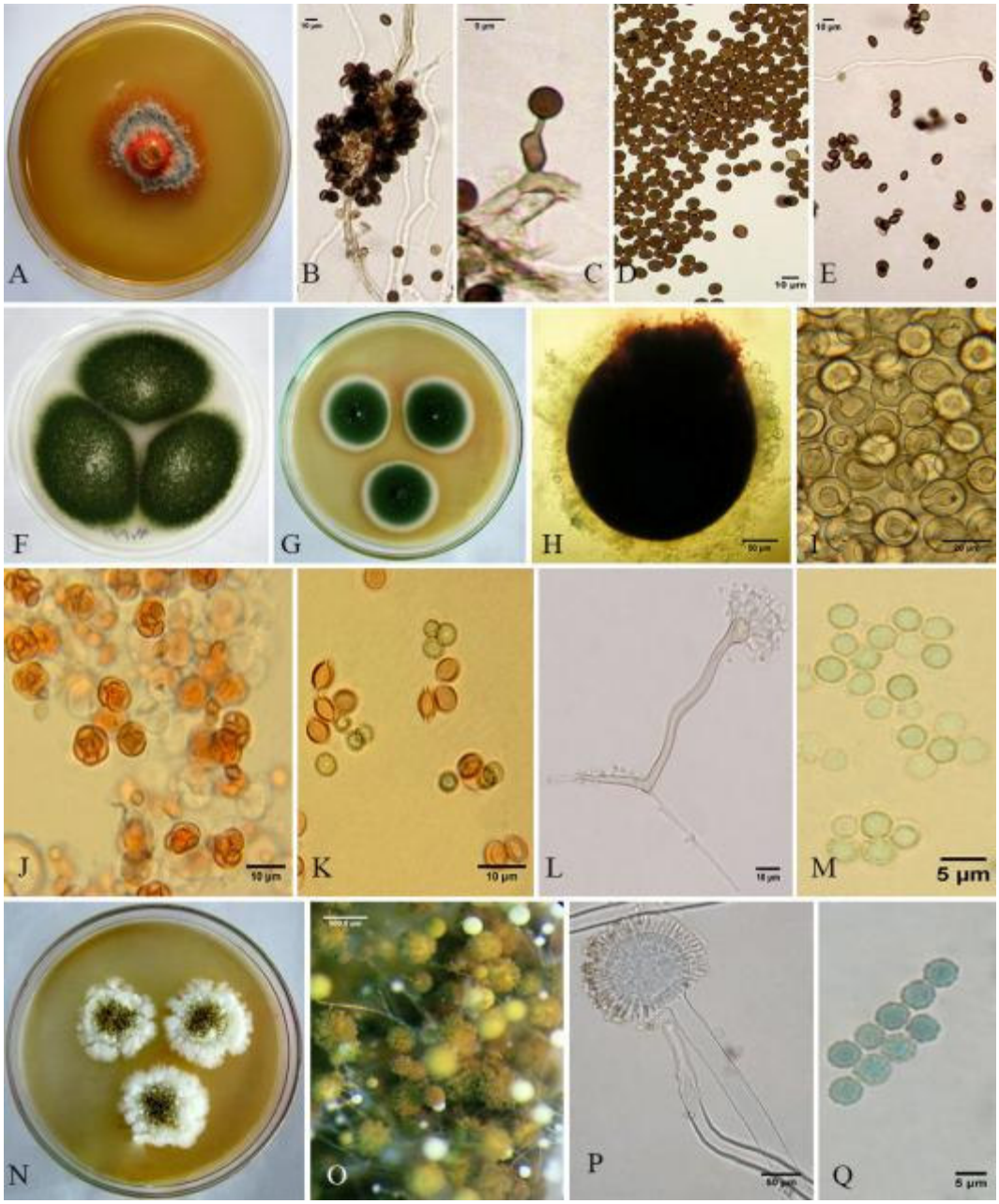
نمونه بررسی شده از منطقه شلماش در شهرستان سردشت، استان آذربایجان غربی، ۱۳۹۱

گونه *A. wentii* با هاگ‌های قهوه‌ای زیتونی رنگ و میسلیوم‌های سفید مایل به زرد و عدم رشد در دمای ۳۷ درجه سلسیوس از دیگر گونه‌ها متمایز می‌شود. این گونه یک گونه رایج بوده و توزیع اصلی آن در خاک‌های مناطق گرمسیری و نیمه‌گرمسیری می‌باشد. علاوه بر این، از بسترهای گیاهی، بذور و از کارخانجات مواد غذایی در آسیا (Klich *et al*. 2002) و به عنوان اندوفیت از جلبک‌های قهوه‌ای دریایی جنس *Sargassum* جداسازی شده است (Sun *et al*. 2012). این گونه برای نخستین بار در ایران در اصفهان از پسته جداسازی شده است (Rahimi *et al*. 2006) و برای نخستین بار به عنوان قارچ اندوفیت از گیاهان انگور در دنیا گزارش می‌شود، ضمن این‌که انگور به عنوان میزبان جدید برای آن در ایران می‌باشد (شکل ۴ N-Q).



شکل ۳- *Alternaria brassicicola*: A. پرگنه هفت روزه روی محیط کشت PCA، B و C. هاگ‌بر، D. زنجیرهای هاگ‌ها؛ *Alternaria chlamydospora*: E. پرگنه هفت روزه روی محیط کشت PCA، F. کلامیدوسپورها، G و H. هاگ‌برها و هاگ‌ها؛ *Alternaria malorum*: I. پرگنه هفت روزه روی محیط کشت PDA، J. الگوی هاگ‌زایی، K و L. هاگ‌برها و هاگ‌ها؛ *Alternaria atra*: M. پرگنه هفت روزه روی محیط کشت PCA، N و O. هاگ‌برها و هاگ‌ها.

Fig. 3. *Alternaria brassicicola*: A. Colony on PCA after 7 days, B-C. Conidiophores, D. Conidial chain; *Alternaria chlamydospora*: E. Colony on PCA after 7 days, F. Chlamydospora, G-H. Conidiophore and Conidia; *Alternaria malorum*: I. Colony on PCA after 7 days, J. Sporulation pattern, K-L. Conidiophores and Conidia; *Alternaria atra*: M. Colony on PCA after 7 days, N-O. Conidiophores and Conidia.



شکل ۴- *Arthrinium phaeospermum*: A. پرگنه ۱۴ روزه روی محیط کشت MEA، B و C. یاخته‌های هاگ‌زا و ظهور هاگ‌ها، D و E. هاگ‌ها؛ *Aspergillus nidulans*: F. پرگنه هفت روزه روی محیط کشت CYA در دمای ۳۷ درجه سلسیوس، G. پرگنه هفت روزه روی محیط کشت MEA در دمای ۲۵ درجه سلسیوس، H. کلیستوتسیوم، I. سلول‌های هیول، J. آسک‌ها، K. آسکوسپورها، L. هاگ‌بر، M. هاگ؛ *Aspergillus wentii*: N. پرگنه هفت روزه روی محیط کشت MEA در دمای ۲۵ درجه سلسیوس، O. سرهای هاگ‌ها، P. هاگ‌بر، Q. زنجیرهای هاگ.

Fig. 4. *Arthrinium phaeospermum*: A. Colony on MEA after 14 days, B-C. Conidiogenous cells giving rise to conidia, D-E. Conidia; *Aspergillus nidulans*: F. Colonies incubated at 37° C for 7 days on CYA, G. Colonies incubated at 25° C for 7 days on MEA, H. Cleistothecium, I) Hülle cells, J. Asci, K. Ascospore, L. Conidiophore, M. Conidia; *Aspergillus wentii*: N. A 7 days old colony on MEA at 25° C, O. Conidial heads, P. Conidiophore, Q. Conidial chain.

۱۳- *Beauveria bassiana*(Bals.-Criv.)Vuill., Bull. Soc. Bot. Fr. 12: 40 (1912)

نمونه بررسی شده از منطقه نازلو در شهرستان ارومیه، استان آذربایجان غربی، ۱۳۹۱

قارچ *B. bassiana*، یک قارچ بیمارگر حشرات، با انتشار جهانی و همه‌جازی می‌باشد و از خاک، حشرات، سطوح مختلف گیاهان و گاهی اوقات بافت‌های گیاهی زنده جدا شده است (Rehner *et al*. 2011, Wu *et al*. 2008). این قارچ به عنوان عامل بیماری مخرب muscardine در کرم ابریشم شناخته شده است (Domsch *et al*. 2007). نژادهایی از این قارچ به عنوان عامل مؤثره در تعدادی از آفت‌کش‌های زیستی و علیه طیف گسترده‌ای از آفات کشاورزی از جمله مگس‌های سفید، ملخ‌ها، سخت بال‌پوشان، بال‌پولک‌داران، دوبالان و پسیل‌ها مورد استفاده قرار گرفته‌اند. به علاوه، این گونه باعث سرکوب بیماری‌های گیاهی نیز می‌شود (Domsch *et al*. 2007, Wu *et al*. 2008). گونه *Beauveria bassiana* به صورت اندوفیت، طیف وسیعی از گونه‌های گیاهی، اعم از تک لپه‌ای‌ها و دولپه‌ای‌ها را کلنیزه می‌کند و به عنوان اندوفیت از ذرت، گیلاس، سیب‌زمینی، پنبه، تاتوره، گوجه‌فرنگی، کاکائو، پوست درخت راش، دانه و سوزن کاج، خشخاش، خرما، موز، قهوه و انگور گزارش شده است (Vega *et al*. 2008, Ownley *et al*. 2010, González & Tello 2010). این گونه برای نخستین بار به عنوان قارچ اندوفیت از مو در ایران گزارش می‌شود، ضمن این که آرایه جدیدی برای فلور قارچی انگور ایران می‌باشد (شکل ۵ A-C).

۱۴- *Chaetomium elatum* Kunze, Deutcshe Schwämme, 8: 3, No. 184 (1818)

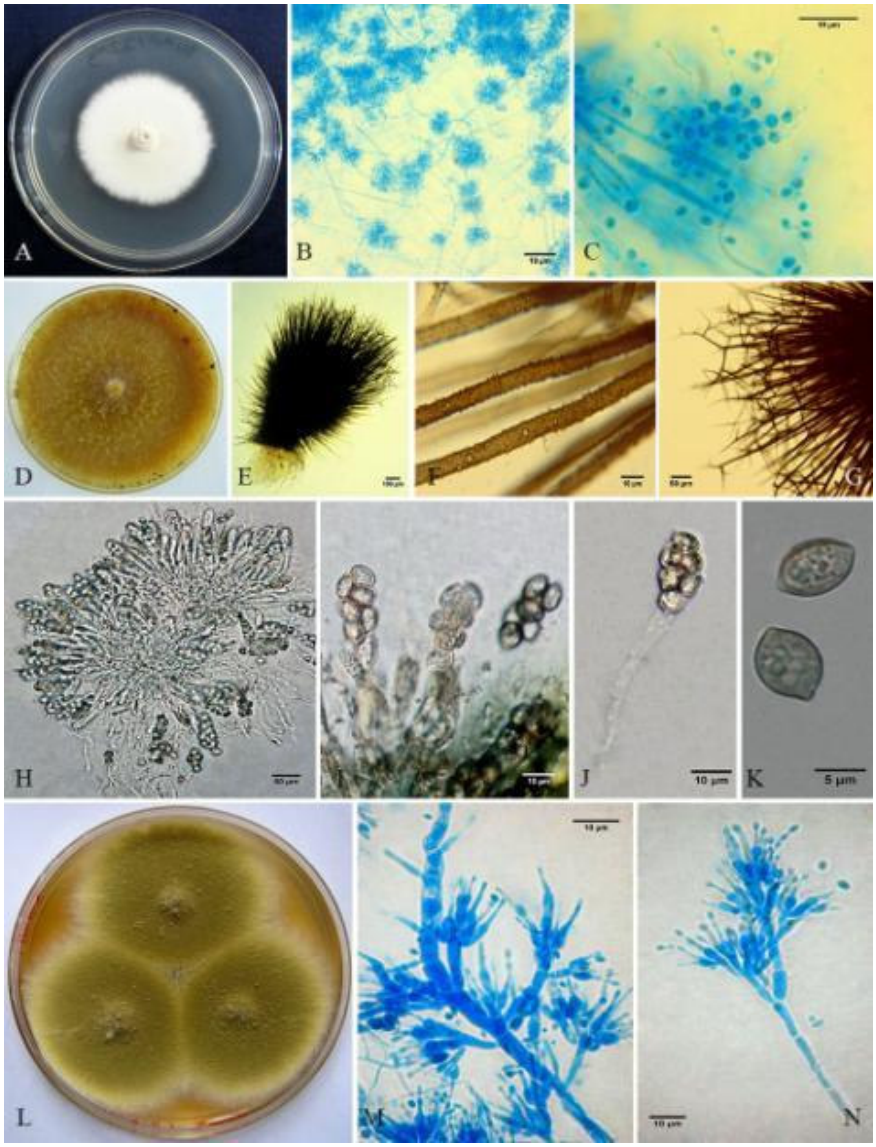
نمونه بررسی شده از منطقه گلینه در شهرستان سردشت، استان آذربایجان غربی، ۱۳۹۱

گونه *Ch. elatum*، عمدتا در مناطق معتدله و به ندرت در نواحی استوایی یافت می‌شود و به طور کلی در ارتباط با مواد گیاهی بویژه کاه بوده و به ندرت در خاک یافت می‌شود. به علاوه، این گونه به عنوان اندوفیت از روی گلسنگ‌ها و نیز گیاه دریایی *Enhalus acroides* Royle (L.F.) گزارش شده است (Sakayarij *et al*. 2010, Li *et al*. 2007). این گونه در ایران برای نخستین بار از روی جو در سال ۱۹۹۴ و سپس از روی کنجد گزارش شده است (Ershad 2009). این گونه برای نخستین بار به عنوان قارچ اندوفیت از مو در دنیا گزارش می‌شود و انگور به عنوان میزبان جدیدی برای این گونه در ایران گزارش می‌گردد (شکل ۵ D-K).

۱۵- *Paecilomyces variotii* Bainier, Bull. Soc. Mycol. Fr. 23(1): 1907

نمونه بررسی شده از منطقه شلماش در شهرستان سردشت، استان آذربایجان غربی، ۱۳۹۱

گونه *P. variotii* یک گونه همه‌جازی و خشکی‌زی است (Pitt & Hocking 2009). این گونه در ارتباط با روغن‌های خوراکی، بادام زمینی، غلات، حبوبات و غیره یافت شده است (Crous *et al*. 2009) و به عنوان عامل ایجاد بیماری در انسان ذکر شده است (Houbraken *et. al*. 2010). این گونه در ایران از کنجد، پسته و بادام گزارش شده است (Ershad 2009). انگور میزبان جدیدی برای این قارچ در ایران بوده و برای نخستین بار به عنوان قارچ اندوفیت از مو در دنیا گزارش می‌شود (شکل ۵ L-N).



شکل ۵- *Beauveria bassiana*: A. پرگنه ۱۰روزه روی محیط کشت PDA، B. خوشه‌های هاگ‌ها، C. یاخته‌های هاگ‌زا و هاگ‌ها؛ *Chaetomium elatum*: D. پرگنه ۱۴ روزه روی محیط کشت OA، E. آسکوماتا، F و G. موهای سطح آسکوماتا، H-J. آسک‌ها، K. آسکوسپورها؛ *Paecilomyces variotii*؛ L. پرگنه هفت روزه روی محیط کشت MEA، M-N. هاگ‌برها و هاگ‌ها.

Fig. 5. *Beauveria bassiana*: A. Colony on PDA after 10 days, B. Conidial clusters, C. Conidiogenous cells and conidia; *Chaetomium elatum*: D. Colony on OA after 14 days, E. Ascomatal, F-G. Ascomatal hairs, J-H. Asci, K. Ascospores; *Paecilomyces variotii*: L. Colony on MEA after 7 days, M-N. Conidiophores and conidia.

تجزیه و تحلیل‌های فیلوژنتیکی

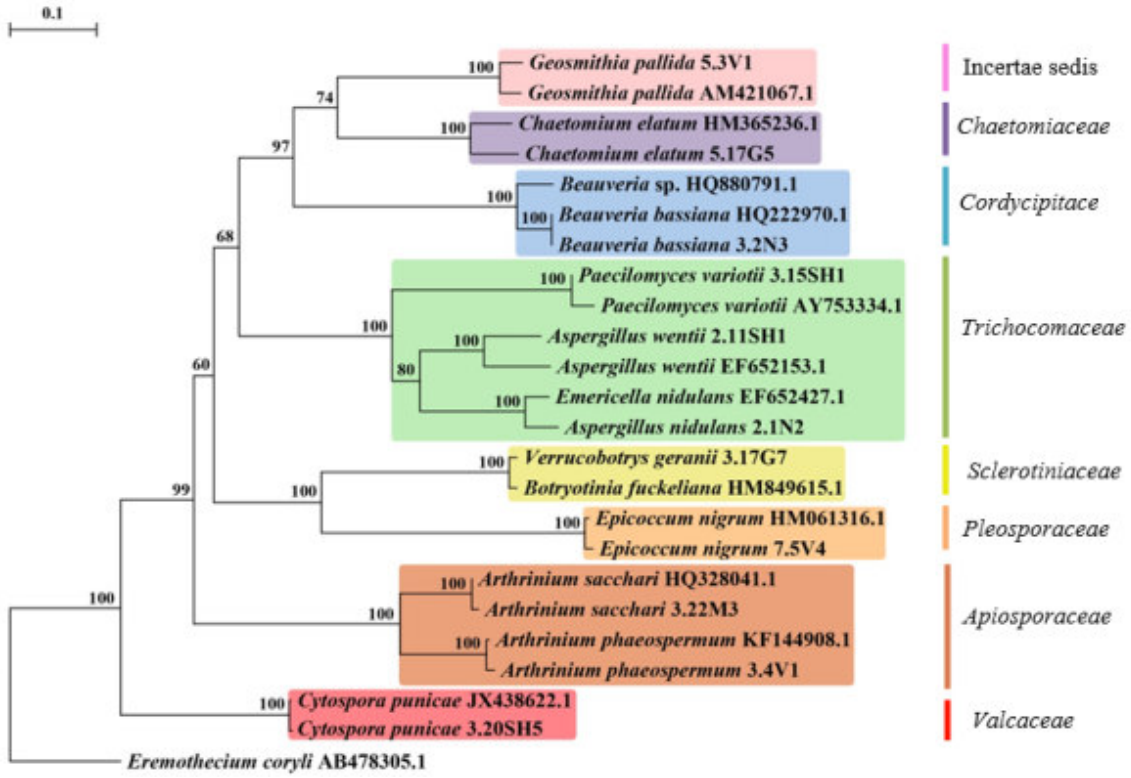
در این مطالعه، تبارنمای فیلوژنتیکی با استفاده از روش NJ براساس توالی ناحیه ITS در ۱۱ جدایه مورد بررسی در این مطالعه و ۱۳ جدایه استاندارد گرفته شده از بانک ژن ترسیم شده است. جدایه‌ها در این تبارنما براساس نحوه انشعاب شاخه‌ها، به ترتیب از بالا به پایین در هشت دودمان قرار می‌گیرند. تمام اعضای تبارنما متعلق به شاخه آسکومیکوتا هستند و در هشت تیره و هفت راسته قرار می‌گیرند. تمامی دودمان‌ها با درجه اعتبارسنجی (bootstrap)۱۰۰ درصد حمایت می‌شوند.

Eremothecium coryli AB478305.1 از راسته *Saccharomycetales* نیز به عنوان گروه خارجی در نظر گرفته شده است (شکل ۶). در دودمان یک، جدایه مورد مطالعه V1 5.3 متعلق به گونه *Geosmithia pallida* بوده که با حمایت اعتبارسنجی ۱۰۰ درصد و تشابه نوکلئوتیدی ۹۹ درصدی با جدایه استاندارد خود در بانک ژن در این دودمان قرار گرفته

است. جایگاه تاکسونومیکی این دودمان در سطح تیره هنوز مشخص نبوده (Incertae sedis) و از راسته *Hypocreales* می‌باشد. در دودمان دو، جدایه مورد مطالعه شامل 5.17 G5 متعلق به گونه *Chaetomium elatum* بوده که با حمایت اعتبار سنجی ۱۰۰ درصد و تشابه نوکلئوتیدی ۹۸ درصدی با جدایه استاندارد خود در بانک ژن در این دودمان قرار گرفته است. اعضای این دودمان متعلق به تیره *Chaetomiaceae* از راسته *Sordariales* می‌باشند. در دودمان سه، جدایه مورد مطالعه شامل 3.2 N3 متعلق به گونه *Beauveria bassiana* بوده که با حمایت اعتبار سنجی ۱۰۰ درصد و تشابه نوکلئوتیدی ۱۰۰ درصدی با جدایه استاندارد خود در بانک ژن در این دودمان قرار گرفته است. اعضای این دودمان متعلق به تیره *Cordycipitaceae* از راسته *Hypocreales* می‌باشند. در دودمان چهار، جدایه‌های مورد مطالعه شامل 2.1 N2 متعلق به گونه *Aspergillus nidulans*، 2.11 SH1 متعلق به گونه *A. wentii* و 3.15 SH1 متعلق به گونه *Paecilomyces variotii* بوده و همه آن‌ها با حمایت اعتبار سنجی۱۰۰ درصد و تشابه نوکلئوتیدی ۹۹ درصدی در کنار جدایه‌های استاندارد خود در بانک ژن قرار گرفته‌اند. اعضای این دودمان متعلق به تیره *Trichocomaceae* از راسته *Eurotiales* می‌باشند. در دودمان پنج، جدایه مورد مطالعه شامل 3.17G7 متعلق به گونه *Verrucobotrys geranii* است. تا به حال توالی‌یابی ناحیه ITS در گونه *V. geranii* انجام نشده است و این نخستین گزارش از توالی‌یابی ناحیه مورد نظر در گونه مذکور می‌باشد. اگرچه از این گونه هیچ توالی در بانک ژن موجود نمی‌باشد و هر چند در جستجوی بلاست بخش ترادف‌یابی شده، درصد شباهت بالایی با گونه *Botrytinia fuckeliana* (۹۸٪) نشان می‌دهد ولی به دلیل تفاوت‌های مشخص ریخت‌شناختی، به عنوان یک جنس جدید توسط هنبرت (۱۹۷۳) معرفی و توسط جامعه علمی پذیرفته شده است و لذا نیازمند بازنگری کامل براساس ویژگی‌های توالی چندژنی است. این جنس متعلق به تیره *Sclerotiniaceae* و راسته *Helotiales* می‌باشد. در دودمان شش، جدایه مورد مطالعه شامل 7.5 V4 متعلق به گونه *Epicoccum nigrum* بوده که با حمایت اعتبار سنجی۱۰۰ درصد و تشابه نوکلئوتیدی ۹۸ درصدی با جدایه استاندارد خود در بانک ژن در این دودمان قرار گرفته است. اعضای این دودمان متعلق به تیره *Pleosporaceae* از راسته *Pleosporales* می‌باشند. در دودمان هفت جدایه‌های مورد مطالعه شامل 3.4 V1 متعلق به گونه *Arthrinium phaeospermum* و 3.21 KS2 متعلق به گونه *A. sacchari* بوده که هر دو گونه با حمایت اعتبار سنجی ۱۰۰ درصد و تشابه نوکلئوتیدی ۹۹ درصدی در کنار جدایه‌های استاندارد خود در بانک ژن قرار گرفته‌اند. اعضای این دودمان متعلق به تیره *Apiosporaceae* بوده که جایگاه آرایه‌بندی آن در سطح راسته هنوز نامشخص می‌باشد. در دودمان هشت جدایه مورد مطالعه شامل 3.20 SH5 متعلق به گونه *Cytosporapunicae* است که با حمایت اعتبارسنجی ۱۰۰ درصد و تشابه نوکلئوتیدی ۹۹ درصدی با جدایه استاندارد خود در بانک ژن در این دودمان قرار گرفته است. اعضای این دودمان متعلق به تیره *Valsaceae* از راسته *Diaporthales* می‌باشند.

سپاسگزاری

انجام این تحقیق در قالب طرح پژوهشی شماره ۲۷/۶/۷۱۱۰۰۲۲ دانشگاه تهران انجام شده است که بدین‌وسیله از معاونت محترم علمی پردیس کشاورزی و منابع طبیعی دانشگاه تهران قدردانی به عمل می‌آید. نگارندگان بر خود لازم می‌دانند تا مراتب سپاس خود را از مساعدت‌های صمیمانه و ارزشمند همکاران سازمان حفظ نباتات شهرستان ارومیه و همچنین جهاد کشاورزی شهرستان سردشت به خاطر فراهم کردن امکانات لازم جهت نمونه‌برداری ابراز نمایند.



شکل ۶- تبارنمای فیلوژنتیکی استنباط شده از ناحیه ITS در ۲۴ آرایه با روش NJ. اعداد بالای هر شاخه درصد اعتبار سنجی از ۱۰۰۰ تکرار را نشان می‌دهد. طول شاخه‌ها با تعداد تغییرات باز که به صورت مقیاس فاصله نشان داده شده است، متناسب می‌باشد. گونه *Eremothecium coryli* به عنوان گروه خارجی انتخاب شده است.

Fig. 6. A Neighbor-Joining tree inferred from the ITS regions and 5.8S rDNA sequences from 24 taxa. The number in front of represented isolates shows the bootstrap values in 1000 bootstrap replicates.The length of branches is proportional to the number of base changes, indicated by the scale bar. *Eremothecium coryli* was included as out group.

References

Abdel-Motaal, F.F., Nassar, M.S.M., El-Zayat, S.A., El-Sayad, M.A. & Shin-Ichi, I. 2010. Antifungal activity of endophytic fungi isolated from Egyption henbane (*Hyoscyamus muticus* L.). Pakistan Journal of Botany 42: 2883–2894.

Amal, H.A., Debbab, A. & Proksch, P. 2011. Fungal endophytes: unique plant inhabitants with great promises. Applied Microbiology and Biotechnology 90: 1820–1845.

Asgari, B., Zare, R. & Peyghami, E. 2004. Hyphomycetous fungal community of barley phylloplane in East Azarbaijan province with emphasis on new taxa for Iranian fungal flora. Rostaniha 5: 67–70.

Brum, M.C.P., Araújo, W.L., Maki, C.S. & Azevedo, J.L. 2012. Endophytic fungi from *Vitislabrusca* L. ('Niagara Rosada') and its potential for the biological control of *Fusarium oxysporum*. Genetics and Molecular Research 11: 4187–4197.

Casieri, L., Hofstetter, V., Viret, O. & Gindro, K. 2009. Fungal communities living in the wood of different cultivars of *Vitis vinifera* plants. Phytopathologia Mediterranea 48: 73–83.

Cother, E.J. & Gilbert, R.L. 1994. The endophytic mycoflora of bladder saltbush (*Atriplex vesicaria* Hew. ex Benth.) and its possible role in the plant's

periodic decline. Proceedings of the Linnean Society of New South Wales 114: 149–169.

Crous, P.W. & Groenewald, J.Z. 2013. A phylogenetic re-evaluation of *Arthrinium*. IMA Fungus 4: 133–154.

Crous, P.W., Verldey, G.J.M., Groenewald, J.Z. & Samson, R.A. 2009. Fungal Biodiversity. CBS-KNAW Fungal Biodiversity Centre, Utrecht, the Netherlands, 269 pp.

Domsch, K.H., Gams, W. & Anderson, T.-H. 2007. Compendium of Soil Fungi. 2nd ed., IHW Verlag, Eching bei München, 672 pp.

Ellis, M.B. 1971. Dematiaceous Hyphomycetes. Commonwealth Mycological Institute, Kew, England, 608 pp.

Ershad, D. 2009. Fungi of Iran. Third ed. Agricultural Research. Education & Extension Organization, Publication, Tehran, No. 10, 531 pp.

Eviner, V.T. & Chapin, F.S. 2003. Gopher-Plant-Fungal intractions affect establishment of an invasive grass. Ecology, 84: 120–128.

Fa´varo, L.C.L., Melo, F.L.D., Aguilar-Vildoso, C.I. & Arau´jo, W.L. 2011. Polyphasic analysis of intraspecific diversity in *Epicoccum nigrum* warrants reclassification into separate species. PLoS ONE 6(8): 1–18.

Ghosta, Y. 2004. Taxonomic study on *Alternaria* species in Iran. PhD thesis, Tarbiat Modares University, Tehran, Iran, 206 pp.

Giordano, L., Gonthier, P., Varese, G.C., Miserere, L. & Nicolotti, G. 2009. Mycobiota inhabiting sapwood of healthy and declining Scots pine (*Pinus sylvestris* L.) trees in the Alps. Fungal Diversity 38: 69–83.

González, V. & Tello, M.L. 2010. The endophytic mycota associated with *Vitis vinifera* in central Spain. Fungal Diversity 47: 29–42.

Gu, W. 2009. Bioactive metabolites from *Alternaria brassicicola* ML-P08; an endophytic fungus residing in *Malus halliana*. World Journal of Microbiology and Biotechnology 25: 1677–1683.

Hennebert, G.L. 1973. *Botrytis* and *Botrytis*-like genera. Persoonia 7(2): 183–204.

Houbraken, J., Verweij, P.E., Rijs, A.J.M., Borman, A.M. & Samson, R.A. 2010. Identification of *Paecilomyces variotii* in Clinical Samples and Settings. Journal of Clinical Microbiology 48(8): 2754–2761.

Hu, M.Y., Zhong, G.H., Sun, Zh.T. Shi, G., Liu, H.M. & Liu, X.Q. 2005. Insecticidal activities of secondary metabolites of endophytic *Pencillium* sp. in *Derris elliptica* Benth. Journal of Applied Entomology 129: 413–417.

Huang, H.C. & Erickson, R.S. 2007. Biological control of *Sclerotinia* stem rot of Canola using *Ulocladium atrum*. Plant Pathology Bulletin 16: 55–59.

Khan, M.R. 2007. Isolation, identification and cultivation of endophytic fungi from medicinal plants for the production and characterization of bioactive fungal metabolites. Ph.D. thesis, Department of Microbiology, University of Karachi, 246 pp.

Klich, M.A. & Pitt, J.I. 1988. A laboratory guide to the common *Aspergillus* species and their teleomorphs. Commonwealth Scientific and Industrial Research Organization, Division of Food Processing, Australia, 120 pp.

Klich, M.A. 2002. Identification of common *Aspergillus* species. Central voor Schimmeltures, Uterch, The Netherlands.116 pp.

Kolařík, M. & Kirkendall, L.R. 2010. Evidence for a new lineage of primary ambrosia fungi in *Geosmithia* Pitt (*Ascomycyta*: *Hypocreales*). Fungal Biology 114: 676–689.

Kolařík, M., Kostovčík, M. & Pažoutová, S. 2007. Host range and diversity of the genus *Geosmithia* (*Ascomycota*: *Hypocreales*) living in association whit bark beetles in the Mediterranean area. Mycological Research 111: 1298–1310.

Kolařík, M., Kubátová, A., Pažoutová, S. & Šrůtka, P. 2004. Morphological and molecular characterization of *Geosmithia putterillii*, *G. pallida* comb. nov. and *G. flava* sp. nov.,

associated whit subcorticolous insects. Mycological Research 108(9): 1053–1069.

Li, W.-C., Zhou, J., Guo, Y. & Guo, L.-D. 2007. Endophytic fungi associated with lichens in Baihua mountain of Beijing, China. Fungal Diversity 25: 69–80.

Liu, K., Ding, X., Deng, B. & Chen, W. 2009. Isolation and characterization of endophytic taxol-reducing fungi from *Taxus chinensis*. Microbiological Biotechnology 36: 1171–1177.

Maci´a-Vicente, J.G., Jansson, H.-B., Abdullah, S.K., Descals, E. & Lopez-Llorca, L.V. 2007. Fungal root endophytes from natural vegetation in Mediterranean environments with special reference to *Fusarium* spp. FEMS Microbiology Ecology 64: 90–105.

Mojtahedi, H., Rabie, C.J., Lubben, A., Steyn, M. & Danesh, D. 1979. Toxic *Aspergillus* from pistachio nuts. Mycopathologia 67: 123–127.

Mostert, L., Crous, P.W. & Petrini, O. 2000. Endophytic fungi associated with shoots and leaves of *Vitis vinifera*, with specific reference to the *Phomopsis viticola* complex. Sydowia 52: 46–58.

Novas, M.V. & Carmarán, C.C. 2008. Studies on diversity of foliar fungal endophytes of naturalized trees from Argentina, with a description of *Haplotrichum minutissimum* sp. nov. Flora 203: 610–616.

Ownley, B.H., Gwinn, K.D. & Vega, F.E. 2010. Endophytic fungal entomopathogens whit activity againinst plant pathogens: ecology and evolution. Biological Control 55: 113–128.

Pancher, M., Ceol, M., Corneo, P.E., Longa, C.M.O., Pertot, S.Y.I. & Campisano, A. 2012. Fungal endophytic communities in grapevines (*Vitis vinifera* L.) respond to crop management. Applied and Environmental Microbiology 78: 4308.

Pitt, J.I. & Hocking, A.D. 2009. Fungi and food spoilage. Springer, New York, 519 pp.

Puri, S.C., Verma, V., Amna, T., Qazi, G.N. & Spiteller, M. 2005. An endophytic fungus from *Nothapodytes foetida* that produces camptothecin. Journal of Natural Products 68: 1717–1719.

Qio, M., Xie, R.-S., Shi, Y., Zhang, H. & Chen, H.-M. 2010. Isolation and identification of two flavonoid prpducing endophytic fungi from *Ginkgo biloba* L. Annals of Microbiology 60: 143–150.

Rahimi, P., Sharifnabi, B. & Bahar, M. 2006. *Aspergillus* species isolated from pistachio and determination of their aflatoxin production. Rostaniha 8: 8–10.

Rehner, S.A., Minnis, A.M., Sung, G., Luangsa-ard, J.J., Devotto, L. & Humber, R.A. 2011. Phylogeny and systematics of the anamorphic entomopathogenic genus *Beauveria.* Mycologia 103: 1055–1073.

Sakayarij, J., Preedanon, S., Supaphon, O., Jones, E.B.G. & Phongpaichit, S. 2010. Phylogenetic diversity of endophyte assemblages associated with the tropical seagrass *Enhalus acoroides* in Thailand. Fungal Diversity 42: 27–45.

Saunders, M. 2010. Biotic filters in fungal endophyte community assembly. Ph. D. thesis. Department of Ecology and Evolutionary Biology, University of Toronto, 168 pp.

Şesan, T.E., Kohl, J. & Molhoeck, W.M.L. 2008. *Ulocladium atrum* Preuss-Biological control agent of grey mold (*Botrytis cinerea* Pers.) of cropped plants. PhD thesis, Institute of Plant Diseases, Rheinischen Friedrich-Wilhelms-Universität Bonn, 140 pp.

Sette, L.D., Passarini, M.R.Z., Delarmelina, C., Salati, F. & Duarte, M.C.T. 2006. Molecular characterization and antimicrobial activity of endophytic fungi from coffee plants. World Journal of Microbiology and Biotechnology 22: 1185–1195.

Shipunov, A., Newcombe, G., Raghavendra, A.K.H. & Anderson, C.L. 2008. Hidden diversity of endophytic fungi in an invasive plant. American Journal of Botany 95(9): 1096–1108.

Silhánová, M. & Novotny, D. 2006. Endophytes of branches and leaves of grapevine (*Vitis vinifera* L.) in the Czech Republic. 8th International

Mycological Congress, Carins, Queensland, Australia, 322 pp.

Simmons, E.G. 2007. *Alternaria* an Identification Manual. CBS Biodiversity Series, No. 6. the Netherlands, 775 pp.

Sun, H.-F., Li, X.-M., Meng, L., Cui, C.-M., Gao, S.-S., Li, C.-S., Huang, C.-G. & Wang, B.-G. 2012. Asperolides A–C, tetranorlabdane diterpenoids from the marine algae-derived endophytic fungus *Aspergillus wentii* EN-48. Journal of Natural Products 75: 148–152.

Van, D.P. & Wachter, D.R. 1993. TREECON: a software package for the construction and drawing of evolutionary trees. Computer and Applied Bioscience 9: 177–182.

Vega, F.E., Posada, F., Aime, F.C., Pava-Ripoll, M. & Infante, F. 2008. Entomopathogenic fungal endophytes. Biological Control 46: 72–82.

Wang, Y.-T., Lo, H.-SH. & Wang, P.-H. 2008. Endophytic fungi from *Taxus mairei* in Taiwan: first report of *Colletotrichum gloeosporioides* as an endophytic of *Taxus mairei*. Botanical Studies 49: 39–43.

Weber, D. 2009. Endophytic fungi, Occurrence and Metabolites. Pp. 153–196. *In*: Esser, K. Anke, T. & Weber, D. (eds). The Mycota. Vol. 15: Physiology and Genetics Selected Basic and Applied Aspects. Springer, Germany.

White, T.J., Bruns, T., Lee, S. & Taylor, J. 1990. Amplification and direct sequencing of fungal ribosomal RNA genes for phylogenetics. *In*: M.A. Inis, D.H. Gelfand, J.J. Sninsky & T.J. White (eds). PCR Protocols: A guide to Methods and Applications. Academic Press, San Diego, U.S.A. pp. 315–322.

Wu, J., Ridgway, H.J., Carpenter, M.A. & Glare, T.R. 2008. Identification of novel genes associated whit conidiation in *Beauveria bassiana* with suppression subtractive hybridization. Mycologia 100: 20–30.

Zeinali, R. 2011. Study of genetic diversity of grapevine (*Vitis vinifra* L.) using ISSR genetic markr. MSc thesis. Urmia University, Urmia, Iran. 85 pp.