معرفی آرایه‌های جدید از قارچ‌های اندوفیت بلوط در استان کردستان*

دریافت: ۱۳۹۴/۰۲/۱۶ / پذیرش: ۱۳۹۴/۰۴/۰۱

آسو حاجی‌زاده: دانش‌آموخته کارشناسی ارشد، بیماری‌شناسی گیاهی، گروه گیاه‌پزشکی، دانشگاه کردستان، سنندج
جهانشیر امینی✉: دانشیار گروه گیاه‌پزشکی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه کردستان، سنندج (jamini@uok.ac.ir)
جعفر عبداله‌زاده: استادیار گروه گیاه‌پزشکی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه کردستان، سنندج

چکیده

بلوط مهم‌ترین درخت جنگلی استان کردستان است. قارچ‌ها به صورت ساپروفیت، پارازیت و اندوفیت روی درختان بلوط زندگی می‌کنند. قارچ‌های اندوفیت بخشی از اجزای مهم تنوع زیستی مرتبط با گیاهان هستند و دارای اثرات مفید روی گیاهان میزبان خود هستند. به منظور شناسایی قارچ‌های اندوفیت از تنه، شاخه و برگ‌های سالم درختان بلوط در استان کردستان در بهار و تابستان سال‌های ۹۱ و ۹۲ نمونه‌برداری انجام گردید. نمونه‌ها در آزمایشگاه پس از شستشو با آب مقطر سترون به وسیله اتانول ۷۰ درصد ضدعفونی و روی محیط سیب زمینی- دکستروز- آگار حاوی آنتی‌بیوتیک کشت و به مدت دو هفته در دمای ۲۵ درجه سلسیوس نگهداری شدند. با استفاده از روش تک‌اسپور در مجموع ۶۷ جدایه قارچ خالص به دست آمد. شناسایی گونه‌ها براساس خصوصیات ریخت‌شناختی و توالی ناحیه ITS-rDNA انجام گردید. بر این اساس، از این تعداد جدایه، پنج گونه به اسامی: *Cladosporium tenellum*، *Paecilomyces formosus*، *Petriella guttulata*، *Preussia australis* و *Sordaria sibutii* شناسایی شدند که آرایه‌های جدیدی برای مایکوفلور ایران هستند و برای نخستین بار به عنوان قارچ‌های اندوفیت درختان بلوط گزارش می‌شوند.

واژه‌های کلیدی: بلوط، قارچ اندوفیت، *Paecilomyces*، *Petriella*، *Preussia*

New records of endophytic fungi isolated from oak trees in Kurdistan province (Iran)

Received: 06.05.2015 / Accepted: 22.06.2015

Asso Hajizadeh: MSc Student of Plant Pathology, Faculty of Agriculture, University of Kurdistan, Sanandaj, Iran

Jahanshir Amini✉: Associate Prof., Department of Plant Protection, Faculty of Agriculture, University of Kurdistan, Sanandaj, Iran (jamini@uok.ac.ir)

Jafar Abdollahzadeh: Assistant Prof., Department of Plant Protection, Faculty of Agriculture, University of Kurdistan, Sanandaj, Iran

Summary

Oak is the most important forest tree in Kurdistan province (Iran). Fungi are associated with oak trees as parasite, saprophyte and endophyte. The endophytic fungi are known components of biodiversity and have beneficial effects on host plants. During 2012-13 in a survey on endophytic fungi of oak trees in forest regions of Kurdistan province asymptomatic samples were collected from healthy twigs, stems and leaves. Isolation were made by plating pieces of samples, after washing with distilled water and surface sterilization with 70% ethanol, on Potato Dextrose Agar (PDA) supplemented with antibiotic. After incubation at 25° C under constant darkness for two weeks 67 isolates were obtained. Purification was made by transferring single spores to PDA plates. Based on morphological characters and ITS-rDNA sequence data, five species including *Cladosporium tenellum*, *Paecilomyces formosus*, *Petriella guttulata*, *Preussia australis*, and *Sordaria sibutii* were identified as new taxa for Iran mycobiota. All of these species are reported here as endophytic fungi from oak trees for the first time.

Keywords: Endophytic fungus, Oak, *Paecilomyces*, *Petriella*, *Preussia*

* بخشی از پایان‌نامه کارشناسی ارشد نگارنده اول به راهنمایی دکتر جهانشیر امینی ارایه شده به دانشکده کشاورزی دانشگاه کردستان

مقدمه

جنس *Quercus* با داشتن بیش از ۶۰۰ گونه بزرگترین جنس تیره *Fagaceae* را تشکیل می‌دهد (Masoudinejad & Rezazade 2003). درختان بلوط بیشتر در نیمکره شمالی رشد و در منطقه وسیعی از شمال آمریکا، اروپا و آسیا یافت می‌شوند (Nixon 2002). در ایران، بیشترین تعداد گونه‌های بلوط در رشته کوه‌های زاگرس پراکنده شده‌اند و فراوان‌ترین آن‌ها گونه بلوط غرب است که وجه تسمیه جنگل‌های بلوط غرب به همین خاطر است (Hosseini *et al*. 2008). سه گونه اصلی بلوط غرب شامل: *Quercus brantii*، *Q. libani* و *Q. infectoria* هستند. براساس رویشگاه گونه‌های مختلف بلوط غرب، زاگرس به دو بخش متمایز تقسیم می‌شود که شامل زاگرس شمالی و زاگرس جنوبی می‌باشد. زاگرس شمالی رویشگاه ویژه گونه *Q. infectoria* است که البته در قسمت‌هایی از این حوزه *Q. libani* و *Q. brantii* نیز یافت می‌شوند. در عوض زاگرس جنوبی رویشگاه ویژه گونه *Q. brantii* است (Marvie 2005). گونه‌های بلوط در ایران از شمال غربی تا جنوب شرقی سلسله جبال زاگرس در تمام جهات و ارتفاعات گسترش داشته (Hosseini *et al*. 2008) و از نظر پراکنش جغرافیایی رویشگاه‌های بلوط در استان‌های کردستان، کرمانشاه، ایلام، لرستان، خوزستان، چهارمحال و بختیاری و کهگیلویه و بویراحمد واقع هستند (Masoudinejad & Rezazade 2003).

کیفیت و ارزش اقتصادی درختان بلوط تحت تاثیر عوامل مختلف طبیعی و همچنین عوامل زنده از قبیل آفات و عوامل بیماری‌زا قرار می‌گیرند. تعدادی از عوامل بیماری‌زای قارچی روی بلوط خسارت وارد می‌کنند و بیماری‌های مختلف از جمله آنتراکنوز، پژمردگی، شانکر و مرگ ناگهانی بلوط را ایجاد می‌نمایند (Brugemann & Schnitzer 2001).

گروهی از قارچها نیز به عنوان اندوفیت بدون ایجاد علایم داخل بافت‌های گیاهی مستقر هستند. قارچهای متعلق به این گروه همه‌جازی بوده و از تنوع زیستی بالایی برخوردارند به نحوی که برخی از گونه‌های گیاهی ممکن است با بیش از ۱۰۰ گونه قارچ اندوفیت در تعامل باشند (Amal *et al*. 2011, Debbab *et al*. 2011). در بین قارچهای اندوفیت تعدادی از آن‌ها می‌توانند در طیف وسیعی از گیاهان دچار تنش باعث بروز بیماری و ایجاد علایم شوند، در حالی که برخی دیگر محدود به یک یا چند گونه گیاهی می‌شوند (Li *et al*. 2012, Hashemloo *et al*. 2013). در برخی موارد گیاهان مرتبط با اندوفیت‌ها، در مقابل بیمارگرهای گیاهی بویژه قارچها و نماتدها مقاومت بیشتری نشان می‌دهند (Zabalgogeazcoa 2008, Wilson 1995). این قارچها تولید متابولیت‌های ثانویه از جمله مواد آلکالوییدی می‌کنند که در حفاظت و افزایش مقاومت گیاهان در کشاورزی کاربرد دارند (Strobel 2002, Huzefa *et al*. 2015, Fernando *et al*. 2008). قارچهای اندوفیت از گیاهان مختلفی از قبیل گندم، موز، کاکائو، سویا و گوجه فرنگی در دنیا جداسازی و گزارش شده‌اند (Larran *et al*. 2002a, Cao *et al*. 2002, Larran *et al*. 2002b, Larran *et al*. 2001). از تنه درختان جنگلی هم گونه‌های مختلف تریکودرما به عنوان اندوفیت جداسازی و گزارش شده‌اند (Chaverri & Gazis 2011, Gond *et al*. 2007, Gazis & Chaverri 2010). در دنیا از تنه، پوست و برگ درختان بلوط قارچهای اندفیت مختلفی از قبیل *Tubakia dryina*، *Phomopsis quercina*، *Diplodina* sp.، *Epicoccum nigrum*، *Fusarium lateritium*، *Monocillium* sp.، *Scytalidium lignicola*، *Trichoderma viride*، *Eutypella* sp.، *Colletotrichum acutatum*، *Acremonium strictum*، *Diplodia mutila* و *Discula quercina* جداسازی و گزارش شده‌اند (Ragazzi *et al*. 2001, Vannini & Anselmi 1997, Gonthier *et al*. 2006, Linaldeddu *et al*. 2011). در ایران، از درخت بلوط گونه *Q. brantii* قارچ اندوفیت *Drechslera triseptata* جداسازی شده است (Roughanian *et al*. 2012). تحقیقات در زمینه شناسایی قارچهای اندوفیت و کاربرد آن‌ها در گیاه‌پزشکی در دنیا و به خصوص ایران بسیار کم انجام شده است. با توجه به اهمیت جایگاه اکولوژیکی، اقتصادی و مسایل زیست محیطی جنگل و حفظ درختان جنگلی و نقش قارچهای اندوفیت در حفظ سلامت گیاهان میزبان، این تحقیق جهت شناسایی اندوفیت‌های قارچی درختان بلوط استان کردستان انجام شد.

روش بررسی

- تهیه جدایه‌های قارچی

نمونه‌برداری در بهار و تابستان سال‌های ۹۱ و ۹۲ از برگ، شاخه، پوست تنه سالم درختان بلوط شهرستان‌های بانه، مریوان، کامیاران و سروآباد صورت گرفت. طی نمونه‌برداری‌های انجام شده در این تحقیق، درختان بلوط سالم و فاقد هر گونه علایم بیماری برای تهیه نمونه انتخاب شدند. نمونه‌ها با ذکر نام محل و تاریخ جمع‌آوری در پاکت‌های جداگانه قرار داده و سپس به آزمایشگاه منتقل شدند. قطعات ۰/۵ تا ۱ سانتی‌متری از بافت سالم برگ، پوست، شاخه و تنه درختان بلوط تهیه گردید و پس از ضدعفونی به صورت مستقیم روی محیط کشت PDA حاوی آنتی‌بیوتیک‌های کلرامفنیکل (۵۰ mg/l)، تتراسایکلین

(۳۰ mg/l) یا استرپتومایسین سولفات (۵۰ mg/l) قرار داده شدند. قطعات چوبی به مدت ۳ تا ۴ دقیقه و قطعات برگ به مدت ۳۰ ثانیه تا ۱ دقیقه در الکل ۷۰٪ (اتانول) ضدعفونی و بعد از سه بار شستشو با آب مقطر سترون و آبگیری توسط کاغذ صافی سترون به محیط غذایی PDA منتقل شدند (Arnold *et al.* 2001). خالص‌سازی جدایه‌ها با روش تک اسپور انجام شد.

- مطالعات ریخت‌شناختی

به منظور تحریک هاگزایی، جدایه‌ها به تشتک‌های حاوی محیط WA (آب- آگار) دو درصد منتقل و در شرایط نور- تاریکی ۱۲:۱۲ ساعت زیر ترکیبی از نور NUV و فلورسنت در دمای ۲۰ تا ۲۵ درجه سلیسوس نگهداری شدند. شناسایی ریخت‌شناختی جدایه‌ها براساس ویژگی‌های مختلفی مانند نحوه رشد و رنگ پرگنه روی محیط‌های کشت، سرعت رشد پرگنه در دماهای مختلف، ریخت‌شناسی اندام‌ها و هاگ‌های غیرجنسی و جنسی، نحوه کنیدی‌زایی و ریخت‌شناسی کنیدیوفور و سلول کنیدی‌زا انجام شد. به این منظور نمونه‌های میکروسکوپی با استفاده از اسید لاکتیک ۱۰۰٪ تهیه و با میکروسکوپ المپوس BX51 بررسی شدند. عکس‌برداری از ساختارهای قارچی به وسیله دوربین المپوس DP72 انجام گرفت. اندازه‌گیری‌ها به وسیله نرم‌افزار CellSens Entry از عکس‌های با بزرگنمایی ۴۰ یا ۱۰۰ انجام شد. سرانجام با کمک منابع و متون مهم قارچ‌شناسی از جمله کلید شناسایی قارچ‌های ناقص (Barnett & Hunter 1973)، کلید شناسایی سلومیست (Sutton 1980)، کلید شناسایی آسکومیست‌ها (*Pleosporales*) (Zhang *et al.* 2012) و یا کلیدهای تخصصی‌تر موجود در مورد قارچ‌های مختلف و مقالات جدید از قبیل کلید شناسایی *Cladosporium* (Bensch *et al.* 2012) اقدام به شناسایی جدایه‌ها گردید.

- مطالعات فیلوژنتیکی

به منظور تهیه میسلیوم جهت استخراج DNA، تمامی جدایه‌ها داخل ظروف ارلن ۱۰۰ میلی‌لیتری حاوی ۵۰ سی‌سی محیط کشت مایع PDB کشت شدند و به مدت ۷-۴ روز در دمای اتاق و در صورت لزوم روی دستگاه شیکر با سرعت ۱۰۰ دور در دقیقه نگهداری شدند. توده‌های میسلیومی بعد از آبگیری به میکروتیوب‌های ۱/۵ میلی‌لیتری سترون منتقل شدند و تا زمان استخراج DNA در دمای ۲۰- درجه سلسیوس نگهداری شدند. نحوه استخراج DNA ژنومی و تهیه مخلوط واکنش PCR مطابق آنچه توسط عبداله‌زاده و همکاران (Abdollahzadeh *et al.* 2009) شرح داده شده انجام گرفت. به منظور انجام مطالعات فیلوژنتیکی ناحیه ITS1-5.8S-ITS2 از DNA ریبوزومی با استفاده از آغازگرهای ITS1 و ITS4 (White *et al.* 1990) در شرایط واسرشتگی مقدماتی (۹۵ درجه سلسیوس، پنج دقیقه)، ۳۵ چرخه پی‌سی‌آر شامل واسرشتگی (۹۴ درجه سلسیوس، یک دقیقه)، اتصال (۵۴ درجه سلسیوس، ۰/۵ دقیقه) و طویل شدن (۷۲ درجه سلسیوس ، یک دقیقه) و در نهایت مرحله طویل شدن نهایی در دمای ۷۲ درجه سلسیوس به مدت ۱۰ دقیقه تکثیر شد. تخلیص و تعیین توالی توسط شرکت ماکروژن کره جنوبی انجام شد. توالی‌ها با استفاده از نرم‌افزار BioEdit Sequence Alignment Editor v.7.0.9.0 اصلاح و استخراج شدند. توالی‌های مربوط به سایر جدایه‌های استفاده شده در این تحقیق از بانک ژن استخراج شدند. هم‌ردیف کردن توالی‌ها با استفاده از نرم‌افزار ClustalX v. 1.83 (Thompson *et al.* 1997) انجام شد. همچنین، در صورت نیاز ردیف کردن توالی‌ها به صورت دستی نیز انجام شد. آنالیزهای فیلوژنتیکی به روش Neighbor joining (NJ) و Maximum parsimony (MP) به وسیله نرم‌افزار PAUP v. 4.0b10 (Swofford 2003) انجام شد. درخت‌های حاصل از آنالیزهای فیلوژنتیکی به وسیله نرم‌افزار TreeView (Page 1996) مشاهده شدند. روش NJ با تصحیح دو پارامتری کیمورا (Kimura 1980) و ۱۰۰۰ تکرار Bootstrap انجام شد. روش MP با استفاده از روش Heuristic search با شاخص‌های stepwise addition، random addition sequence با ۱۰۰۰ تکرار، maxtrees مساوی ۱۰۰۰۰ و الگوریتم TBR انجام شد. پایداری پارسیمونی‌ترین درخت‌ها با ۱۰۰۰ تکرار Bootstrap ارزیابی شد (Hillis & Bull 1993). شاخص‌هایی نظیر طول درخت، CI، RI و HI اندازه‌گیری شدند.

نتیجه و بحث

در این مطالعه در مجموع، ۶۷ جدایه قارچی جداسازی و خالص‌سازی شد. ابتدا براساس ویژگی‌های ریخت‌شناختی جدایه‌ها به پنج گروه تقسیم شدند. جدایه‌های متعلق به سه جنس *Cladosporium*، *Paecilomyces* و *Sordaria* در سطح جنس شناسایی شدند از هر گروه براساس اطلاعات موجود از قبیل ویژگی‌های ریخت‌شناختی و محل نمونه‌برداری نماینده یا نماینده‌هایی جهت تشخیص جدایه‌ها در سطح گونه با استفاده از داده‌های مولکولی انتخاب شدند. گونه‌های شناسایی شده در این تحقیق از دو گونه بلوط *Q. infectoria* و *Q. brantii* جداسازی شدند. بیشترین جدایه‌های گونه‌های قارچی از گونه *Q. brantii* جداسازی گردید. گونه غالب بلوط غرب در مناطق کامیاران، سروآباد و مریوان تا ارتفاع ۱۴۰۰ متری گونه *Q. brantii* است و دو گونه دیگر در ارتفاعات بیشتر از ۱۶۰۰ متر رشد می‌کنند که

نمونه‌برداری در این ارتفاعات به دلیل سختی کار کمتر انجام شد. در جدول یک پراکنش و فراوانی قارچ‌های جدا شده بر حسب درصد روی گونه‌های بلوط براساس نوع اندامی که قارچ از آن جدا شده است ذکر گردیده است. بیشترین و کمترین جدایه به ترتیب متعلق به گونه *P. formosus* و *C. tenellum* است (جدول ۱).

جدول ۱- فراوانی، میزبان، بافت و محل جداسازی قارچ‌های جدا شده در این تحقیق

آرایه	فراوانی (٪)	گونه‌های بلوط		بافت			محل جداسازی
		Q. brantii	*Q. infectoria*	تنه	شاخه	برگ	
Cladosporium tenellum	۱۰/۴	+	-	–	+	+	کامیاران- مریوان
Paecilomyces formosus	۲۹/۸	+	-	+	+	+	کامیاران- سروآباد
Petriella guttulata	۱۳/۵	+	+	+	+	–	سروآباد- مریوان
Preussia australis	۲۶/۹	+	+	+	+	–	سروآباد- مریوان
Sordaria sibutii	۱۹/۴	+	-	+	+	–	سروآباد

- فیلوژنی

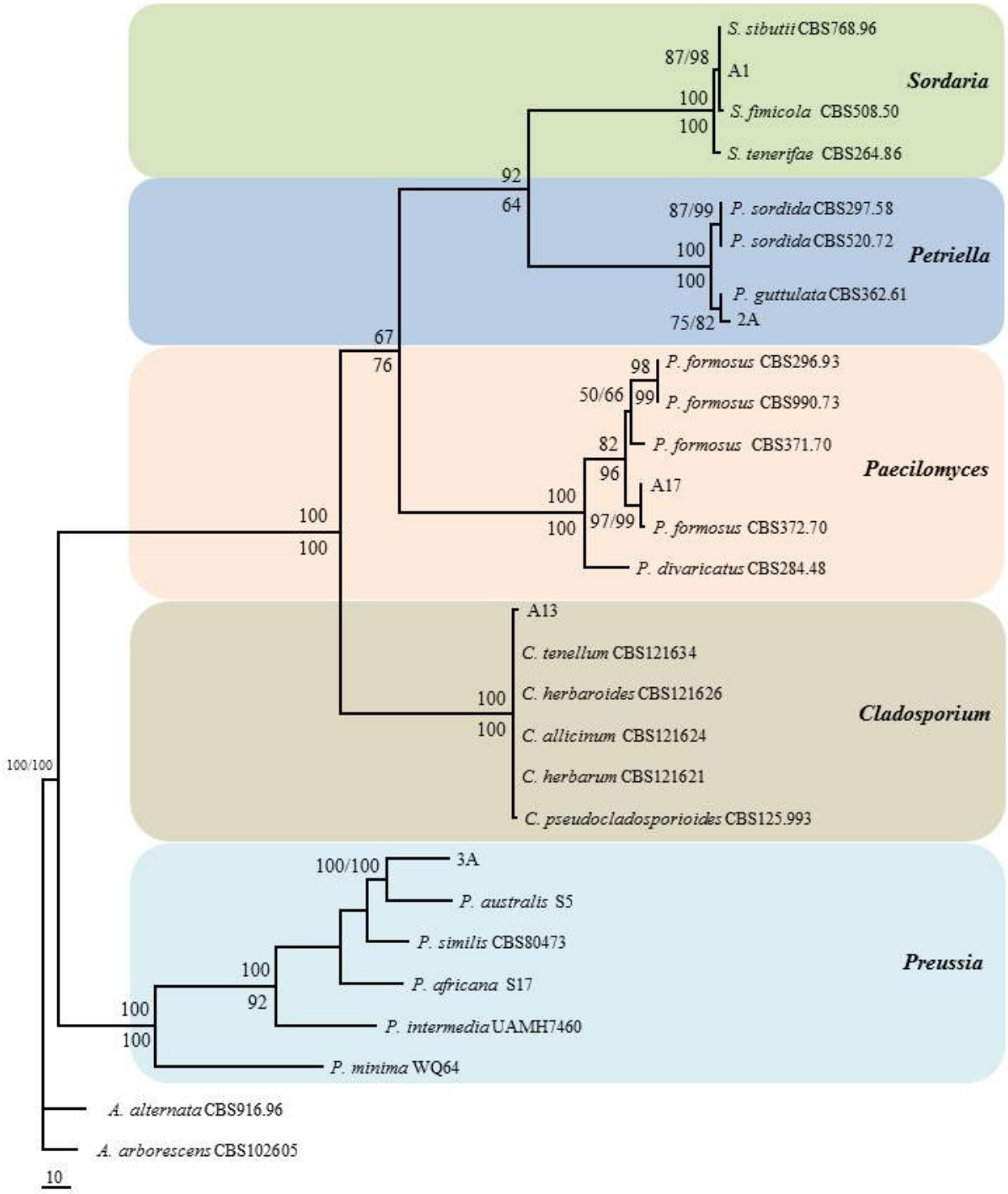
تعداد پنج جدایه از مجموع ۶۷ جدایه متعلق به پنج جنس مختلف آسکومیستی برای مطالعات فیلوژنتیکی انتخاب شدند. توالی‌های مربوط به ناحیه ITS1-5.8S-ITS2 تعداد ۲۳ جدایه نماینده ۱۹ گونه از بانک ژن استخراج و به توالی‌های پنج جدایه مطالعه شده در این تحقیق اضافه و هم‌ردیف شدند. بخش‌های ابتدایی و انتهایی که در بعضی توالی‌ها وجود نداشتند از آنالیزها حذف شدند. اطلاعات فیلوژنتیکی موجود در فواصل (Gap) با استفاده از نرم‌افزار GapCoder (Young & Healy 2003) کد شده و به صورت یک ماتریکس داده استاندارد به انتهای داده‌ها اضافه و در آنالیزها استفاده شدند. تعداد کل کاراکترهای استفاده شده در آنالیزهای فیلوژنتیکی به علاوه Gap ها و ماتریکس استاندارد GapCoder، ۸۱۲ عدد بود. آنالیزها با روش‌های NJ و MP انجام شدند. دو جدایه (از جنس *Alternaria*) به عنوان outgroup و ۲۶ جدایه به عنوان ingroup تعیین شدند. روش NJ با مدل جایگزینی نوکلئوتیدی K2P انجام شد و تمامی کاراکترها به صورت unordered و با وزن یکسان در نظر گرفته شدند. در روش MP تمامی کاراکترها به صورت unordered و با وزن یکسان و همچنین Gap ها به عنوان missing در نظر گرفته شدند. از تعداد کل کاراکترها، ۲۱۴ کاراکتر ثابت، ۲۴ کاراکتر متغیر و فاقد اطلاعات و ۳۱۱ کاراکتر متغیر و دارای اطلاعات و ۲۶۳ کاراکتر حذف شدند که منجر به ایجاد سه درخت پارسیمونی (TL=714، CI=0.75، RI=0.92 و HI=0.25) شد. درخت پارسیمونی با bootstrap support های حاصل از روش‌های MP و NJ به ترتیب در بالا و پایین شاخه‌ها نشان داده شده است (شکل ۱). براساس نتایج آنالیزهای مذکور و ویژگی‌های ریخت‌شناختی جدایه‌های مربوط به این تحقیق به گونه‌های *Cladosporium tenellum*، *Paecilomyces formosus*، *Petriella guttulata*، *Preussia australis* و *Sordaria sibutii* تعلق داشتند. تمامی گونه‌ها برای فلور قارچی ایران جدید بوده و برای نخستین بار از ایران گزارش و توصیف می‌شوند.

- تاکسونومی

۱- *Cladosporium tenellum* K. Schub., Zalar, Crous & U. Braun, Studies in Mycology 58: 149 (2007)

پرگنه بدون کرک و فاقد ریسه‌های هوایی، سبز زیتونی تا خاکستری. ظاهر پرگنه به صورت دایره‌های متحدالمرکز، قطر پرگنه روی محیط کشت PDA پس از ۱۴ روز در دمای ۲۵ درجه سلسیوس ۴۹-۴۶ میلی‌متر. پرگنه روی محیط کشت MEA شبیه PDA، دارای ریسه‌های هوایی کم و پراکنده. پرگنه روی محیط کشت OA فاقد ریسه‌های هوایی، خاکستری تا سبز زیتونی، حاشیه پرگنه شفاف، قطر آن پس از ۱۴ روز ۴۰ میلی‌متر. ریسه‌ها غوطه‌ور در محیط کشت و به ندرت سطحی. غیرمنشعب با قطر ۴-۲ میکرومتر، دارای دیواره عرضی کم‌رنگ، بدون هیچ گونه تورم و انقباض، قهوه‌ای تا قهوه‌ای زیتونی، دیواره صاف و در برخی نقاط زبر. کنیدیوفورها به صورت انفرادی و عمود بر سطح محیط کشت، مستقیم تا حدودی پیچ و خم‌دار، استوانه‌ای، گاهی اوقات نخ‌مانند، صاف، غیرمنشعب و گاهی دارای انشعابات کوتاه، سبز زیتونی تا قهوه‌ای، ۲۵۰-۴۰ × ۴-۲ میکرومتر. سلول‌های کنیدی‌زا معمولا انتهایی. راموکنیدی‌های اولیه صاف، سبز زیتونی، مستقیم تا کمی انحنادار، استوانه‌ای، ۴۷- ۱۶ × ۴-۲/۵ میکرومتر، دارای ۳-۰ دیواره عرضی. کنیدی‌ها

متعـدد و زنجیـری، زنجیـره‌هـای منشـعب شـده هـم مشـاهده می‌شود. کنیدی‌ها به اشکال تخم‌مرغی تا لیمویی، ۳-۲ × ۷-۲/۵ میکرومتر، راموکنیدی‌های ثانویه قهوه‌ای یا سبز زیتونی، سیلندری تا اسـتوانه‌ای، ۳۵-۸ × ۵-۲/۵ میکرومتـر و دارای ۲-۰ دیواره عرضی و ۴-۲ تاج (شکل ۲).



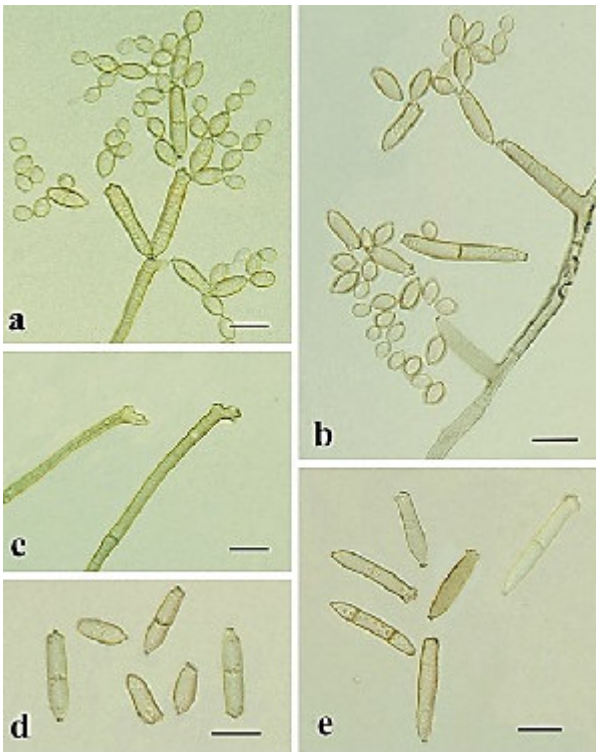
شکل ۱- یکی از سه درخت پارسیمونی حاصل از آنالیز توالی ناحیه ITS گونه‌های شناسایی شده در این تحقیق. مقادیر bootstrap support (درصد) مربوط به آنالیز MP و NJ به ترتیب در بالا و پایین شاخه‌ها نشان داده شده است. دو جدایه از جنس *Alternaria* به عنوان outgroup استفاده شدند.

Fig. 1. One of the three most parsimonious trees resulting from maximum parsimony analysis of ITS sequence data. MP and NJ bootstrap values are given above and below of the nodes. The tree was rooted to two isolates of *Alternaria*.

نکته: جنس *Cladosporium* از راسته *Capnodiales* و تیره *Cladosporiaceae* می‌باشد. این قارچ در سال ۱۸۱۶ میلادی توسط لینک (Link) توصیف شد. گونه *C. herbarum* گونه تیپ و *Davidiella* تلومورف آن می‌باشد (Crous *et al*. 2007). این جنس یکی از بزرگترین و ناهمگن‌ترین جنس‌های هیفومیستی می‌باشد. این جنس با توجه به محل کنیدی‌زایی تاجی شکل، کنیدیوفور متمایز، کنیدی‌های انتهایی یک سلولی با تاج توصیف می‌شود (Crous *et al*. 2007).

گونه *C. tenellum* در کمپلکس *C. herbarum* قرار می‌گیرد (Bensch *et al*. 2012). براساس توالی ناحیه ITS این گونه از گونه‌های نزدیک به خود قابل تفکیک نیست. از لحاظ ریخت‌شناختی گونه *C. tenellum* به *C. pseudocladosporioides* نزدیک است با این تفاوت که اندازه کنیدی‌ها در این گونه نسبت به *C. pseudocladosporioides* کوچکتر بوده و همچنین کنیدیوفورها در *C. tenellum* گسترش کمتری دارند (Bensch *et al*. 2012). در این مطالعه، هفت جدایه از این قارچ جداسازی و مطالعه گردید.

نمونه‌های بررسی شده از برگ و شاخه درختان بلوط در شهرستان‌های کامیاران و مریوان در تاریخ ۹۲/۰۲/۱۲ توسط آسو حاجی‌زاده جمع‌آوری گردید. جدایه A13 با کد IRAN2368 C در کلکسیون ملی قارچ‌های زنده ایران واقع در مؤسسه تحقیقات گیاه‌پزشکی کشور نگهداری می‌شود.



شکل ۲- *Cladosporium tenellum*: a. زنجیره کنیدیوم‌ها روی کنیدیوفور، b و c. کنیدیوفورها، d. راموکنیدی‌های ثانویه، e. راموکنیدی‌های اولیه (مقیاس = ۱۰ میکرومتر).

Fig. 2. *Cladosporium tenellum*: a. Conidia on conidiophores, b-c. Conidiophores, d. Secondary ramoconidia, e. Primary ramoconidia (Bars = 10 µm).

۲- *Paecilomyces formosus* Sakag., May. Inoue and Tada ex Houbraken & Samson, Persoonia 22: 21 (2009)

پرگنه روی محیط کشت MA پودری، زرد روشن تا زرد مایل به قهوه‌ای، سریع‌الرشد و قطر آن بعد از ۱۴ روز در دمای ۲۵ درجه سلسیوس ۸۰ میلی‌متر، دارای کلامیدوسپور تیره فراوان. ریسه‌ها شفاف و صاف با قطر ۵/۵-۳ میکرومتر، دارای ۷-۲ فیالید و فیالیدها به فرم ورتیسیلیومی و متراکم.

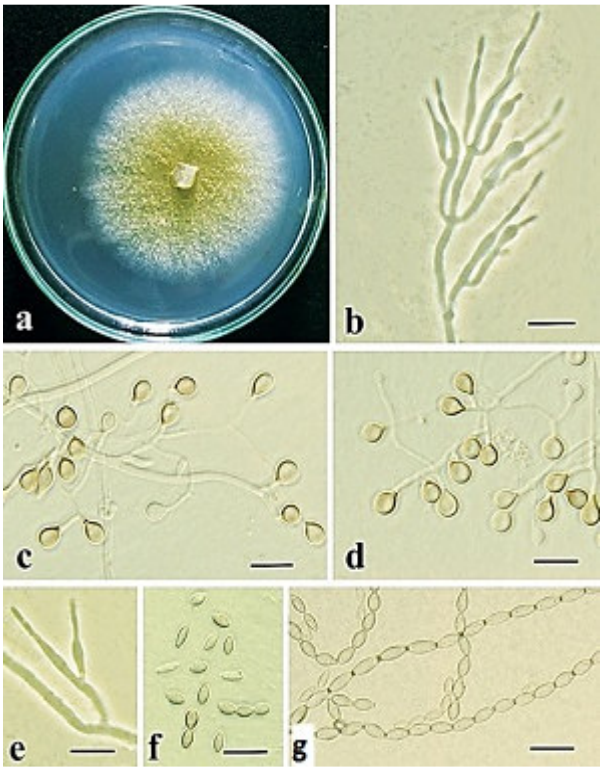
کنیدیوفورها صاف، ۸۰-۳۰×۶-۳/۵ میکرومتر، با طول تا ۱۵۰ میکرومتر. فیالیدها به صورت فراهم یا انفرادی، استوانه‌ای با قاعده عریض و بیضوی که به سمت انتها از عرض آن‌ها کاسته می‌شود. اندازه آن‌ها متغیر، ۴۰-۱۰ × ۵-۲/۵ میکرومتر، گردن فیالیدها با عرض ۲-۱ میکرومتر و گاهی کمی انحنا دارند. کنیدی‌ها شفاف تا زرد، صاف، زنجیری، با اشکال گوناگون، عمدتا گرد تا بیضوی و گاهی استوانه‌ای، ۵-۳ × ۴-۲ میکرومتر. کلامیدوسپور معمولا به صورت انفرادی و یا زنجیری کوتاه، قهوه‌ای

تا قهوه‌ای تیره، صاف تا کمی زبر، گرد تا گلابی شکل و با قطر ۸-۴ میکرومتر (شکل ۳).

نکته: جنس *Paecilomyces* یک قارچ هیفومیست با بیش از ۱۰۰ گونه شناخته شده می‌باشد. این جنس از جمله قارچ‌های رشته‌ای است که دارای زیستگاه‌های مختلفی از قبیل خاک، مواد گیاهی پوسیده، مواد غذایی و حشرات بوده و حتی باعث ایجاد بیماری در انسان می‌شوند (Chen *et al*. 2010, Gumus *et al*. 2010). این جنس برای نخستین بار توسط باینر (Bainier 1907) توصیف و بسیار شبیه جنس *Aspergillus* و *Penicillium* است (Pitt 1988). رام (Ram 1968) دو گونه *P. lecythidis* و *P. maximus* را براساس خصوصیات پرگنه و اندازه کنیدی‌ها معرفی کرد. نتایج توالی ناحیه ITS و بخشی از بتاتوبولین (TUB) و کالمودولین (Samson *et al*. 2009) نشان داد که دو گونه مذکور مترادف *P. formosus* بوده و در واقع شامل سه آرایه *P. formosus*، *P. lecythidis* و *P. maximus* می‌باشد.

براساس توالی ناحیه ITS نزدیک‌ترین گونه به *P. formosus* گونه *P. divaricantus* می‌باشد که به راحتی از آن قابل تفکیک است. از نظر ریخت‌شناختی گونه *P. divaricantus* با داشتن کنیدی‌های کوچکتر (۲-۱/۵ × ۴/۵-۳/۵ میکرومتر) و سرعت رشد کمتر (قطر پرگنه بعد از یک هفته روی محیط کشت MEA چهار سانتی‌متر) از *P. formosus* قابل تفکیک است. همچنین گونه *P. divaricantus* بر خلاف گونه *P. formosus* فاقد کلامیدوسپور است (Samson *et al*. 2009). در این مطالعه، ۲۰ جدایه از این قارچ جداسازی و مطالعه گردید.

نمونه‌های بررسی شده از شاخه، تنه و برگ درختان بلوط در شهرستان‌های کامیاران، سروآباد و هورامان تخت در تاریخ ۹۱/۰۶/۲۸ توسط آسو حاجی‌زاده جمع‌آوری گردید. جدایه A17 با کد IRAN2372 C در کلکسیون ملی قارچ‌های زنده ایران واقع در مؤسسه تحقیقات گیاه‌پزشکی کشور نگهداری می‌شود.



شکل ۳- *Paecilomyces formosus*: a. پرگنه قارچ روی محیط کشت PDA، b. کنیدیوفورها و فیالیدها، c و d. کلامیدوسپورها، e. فیالیدهای جانبی، f و g. کنیدی‌های تکی و زنجیری (مقیاس = ۱۰ میکرومتر).

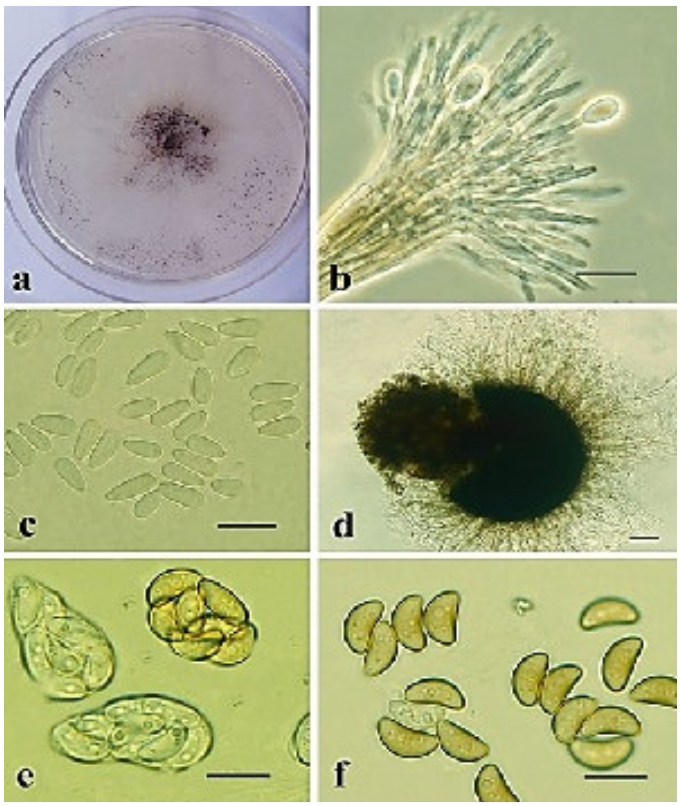
Fig. 3. *Paecilomyces formosus*: a. Colony on PDA, b. Conidiophores and phialides, c-d. Chlamydospores, e. Secondary phialides, f-g. Conidia and moniliform conidia (Bars = 10 µm).

۳- *Petriella guttulata* G.L. Barron & Cain, Canadian Journal of Botany 39: 841 (1961)

پرگنه روی محیط کشت PDA شفاف، کند رشد، قطر آن بعد از دو هفته ۳۰ میلی‌متر. سینماتا از هفته دوم قابل مشاهده، پایه سینماتا تیره و بلند، طول آن بیش از ۲۵۰ میکرومتر. کنیدی‌ها یک سلولی، چماقی، روشن، ۴-۷/۵ × ۳-۳/۵ میکرومتر. آسکوکارپ از نوع پریتسیوم، دارای موهای فراوان، غوطه‌ور در محیط کشت و از هفته چهارم قابل مشاهده. آسک‌ها شفاف، بیضوی تا کروی، حاوی هشت عدد آسکوسپور ، ۱۵/۵-۱۳ × ۲۶/۵-۲۴ میکرومتر. آسکوسپورها هلالی، صاف، ۵/۵-۴ × ۱۱/۵-۹ میکرومتر، ابتدا شفاف و با گذشت زمان به قهوه‌ای عسلی تغییر رنگ می‌دهند (شکل ۴).

نکته: جنس *Petriella* توسط کرزی (Curzi 1930) بنا نهاده شد و گونه تیپ آن *P. sordida* می‌باشد (Malloch 1970). این جنس به تیره *Microascaceae* تعلق دارد (Barron *et al*. 1961). گونه *Petriella guttulata* نیز برای نخستین بار از بقایای گیاهی و خاک از کشور ژاپن جداسازی و شناسایی شدند (Udagawa 1963).

جدایه‌های به دست آمده در این مطالعه، براساس ویژگی‌های ریخت‌شناختی و آنالیز فیلوژنتیکی به گونه *Petriella guttulata* تعلق داشتند. گونه *P. sordida* براساس توالی ناحیه ITS نزدیک‌ترین گونه به *P. guttulata* است و در شش نوکلئوتید با هم تفاوت دارند، اما گونه *P. sordida* با داشتن کنیدی‌های بیضوی، آسکوسپورهای کشیده‌تر و متقارن‌تر، آسک‌های چماقی و آسکوکارپ دارای گردن کوتاه از گونه *P. guttulata* با کنیدی‌های بیضوی کشیده با قاعده تخت، آسکوسپورهای کاملا نامتقارن و کوتاه‌تر، آسک‌ها تقریبا کروی و آسکوکارپ فاقد گردن قابل تفکیک است (Barron *et al*. 1961). در این مطالعه نه جدایه از این قارچ جداسازی و مطالعه گردید. نمونه‌های بررسی شده از پوست، شاخه و تنه درختان بلوط در شهرستان‌های مریوان، سروآباد و هورامان تخت در تاریخ ۹۱/۰۶/۲۸ توسط آسو حاجی‌زاده جمع‌آوری گردید. جدایه 2A با کد IRAN2371C در کلکسیون ملی قارچ‌های زنده ایران واقع در مؤسسه تحقیقات گیاه‌پزشکی کشور نگهداری می‌شود.



شکل ۴- *Petriella guttulata*: a. پرگنه قارچ روی محیط کشت CMA، b. سینما، c. کنیدی‌ها، d. آسکوکارپ، e. آسک‌ها، f. آسکوسپورها (مقیاس: d= ۵۰ میکرومتر b، c، e، f= ۱۰ میکرومتر).

Fig. 4. *Petriella guttulata*: a. Colony on CMA, b. Synnema, c. Conidia, d. Ascocarp, e. Asci, f. Ascospores (Bars: d = 50 µm, b, c, d, f = 10 µm).

۴- *Preussia australis* (Speg.) Arx, Proceeding van de Koninklijke Nederlandse Akademie van Wetenschappen Section C 76(3): 294 (1973)

پرگنه روی محیط کشت‌های PDA و MA کند رشد، بعد از دو هفته قطر آن دو میلی‌متر. روی محیط کشت CMA رشد سریعتر داشته و بعد از یک هفته قطر آن به ۴۰ میلی‌متر می‌رسد. ریسه‌ها شفاف و بعد از پنج روز آسکوکارپ‌های سیاه‌رنگ در کل پرگنه به صورت پراکنده قابل مشاهده. آسکوکارپ از نوع پریتسیوم، دارای گردن کوتاه و لایه خارجی آن تا حدودی با مو پوشیده شده. اندازه پریتسیوم ۲۷۰ × ۲۵۰ میکرومتر. آسک ها سیلندری، ۱۰۴-۹۲ × ۲۲-۲۰ میکرومتر. آسکوسپورها چهار سلولی، ابتدا شفاف، اما با بلوغ به رنگ قهوه‌ای در می‌آیند. هر کدام از سلول‌های آسکوسپور دارای یک شیار جوانه‌زنی به صورت مورب. سلول‌های آسکوسپور در اثر فشار از هم جدا شده و به صورت سلول‌های مجزا در می‌آیند. هر آسکوسپور توسط یک غلاف ژلاتینی پوشیده شده، ۴۶-۳۸ × ۸-۷ میکرومتر (شکل ۵).

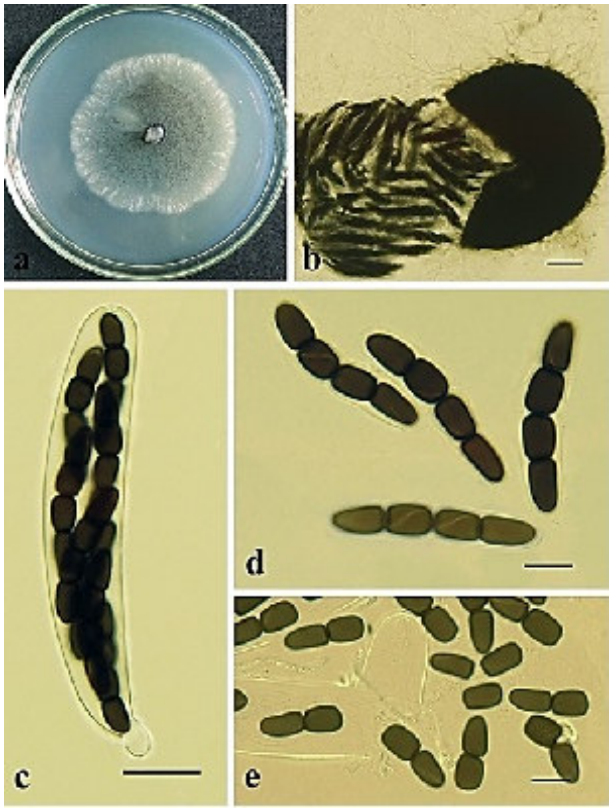
نکته: جنس *Preussia* از راسته *Pleosporales* و تیره *Sporormiaceae* می‌باشد و توسط فوکل (Fuckel 1866) توصیف و نامگذاری شد. گونه *Preussia funiculate* تیپ جنس می‌باشد. این جنس شامل گونه‌هایی است با آسکوکارپ‌های بدون منفذ و آسک‌های دولایه و آسکوسپورهای قهوه‌ای چند سلولی (۱۶-۴ سلولی) با یک شکاف جوانه‌زنی در هر سلول که به وسیله لایه‌ای از ژلاتین پوشیده شده‌اند (Arenal *et al*. 2007). جنس *Sporormiella* نزدیک‌ترین جنس به *Preussia* می‌باشد که با داشتن گردن آسکوکارپ و همچنین داشتن عادت تغذیه‌ای پهن‌دوستی از *Preussia* متمایز می‌شود. در مقابل جنس *Preussia* شامل گونه‌هایی است که از خاک، چوب و اندام‌هایی گیاهی جدا می‌شوند. به دلیل ویژگی‌های ریخت‌شناختی مشابه تفکیک این دو جنس مشکل بوده به طوری که در سال‌های اخیر این دو جنس به عنوان مترادف هم در نظر گرفته شده‌اند (Arenal *et al*. 2004).

گونه *P. australis* از لحاظ ریخت‌شناختی مشابه گونه‌های *P. africana* و *P. similis* می‌باشد و تنها از لحاظ اندازه آسکوسپورها با این دو گونه متفاوت است. اندازه آسکوسپورهای *P. australis* از گونه *P. africana* بزرگتر و از گونه *P. similis* کوچکتر هستند (Arenal *et al*. 2007). در این مطالعه، ۱۸ جدایه از این قارچ جداسازی و مطالعه گردید. این جدایه‌ها از نظر ریخت‌شناختی و فیلوژنتیکی با گونه *P. australis* مطابقت داشتند و از لحاظ مولکولی جدایه بررسی شده در ناحیه ITS یک نوکلئوتید با این گونه تفاوت داشت. گونه‌های این جنس شامل: *P. africana*, *P. similis*, *P. minima*, *P. isabellae* و *P. australis* از گیاهان مختلف و گونه *P. mediterranea* از برگ درخت بلوط (*Q. ilex*) از مناطق مختلف اسپانیا جداسازی و گزارش شده است (Arenal *et al*. 2007, Mapperson *et al*. 2014). در ایران نیز گونه *P. typharum* از درخت چنار (*Platanus orientalis*) از پارک جنگلی کرمان جداسازی و گزارش شده است (Asgari *et al*. 2008).

نمونه‌های بررسی شده از شاخه و تنه درختان بلوط در شهرستان‌های سروآباد و مریوان در تاریخ ۹۲/۰۲/۱۱ توسط آسو حاجی‌زاده جمع‌آوری گردید. جدایه قارچ به کلکسیون ملی قارچ‌های زنده ایران واقع در مؤسسه تحقیقات گیاه‌پزشکی کشور ارسال شده است.

۵- *Sordaria sibutii* (Cailleux) Arx & Guarro, Persoonia 13(3): 268 (1987)

پرگنه دارای ریسه‌های هوایی، ابتدا شفاف سپس قهوه‌ای مایل به تیره، سریع‌الرشد و قطر آن روی محیط کشت PDA بعد از سه روز ۸۰ میلی‌متر. آسکوکارپ از نوع پریتسیوم، به صورت تکی، قهوه‌ای، گلابی شکل، ۶۱۰-۴۳۰ × ۴۴۰-۴۰۰ میکرومتر و معمولا فاقد کرک و بعد از هفت روز روی محیط کشت تشکیل آن‌ها شروع شده و قابل مشاهده هستند. آسک‌ها هشت اسپوری، استوانه‌ای، دارای دیواره شفاف، ۲۷۰-۲۴۵ × ۲۰-۱۶ میکرومتر، دارای حلقه راسی با قطر ۵ میکرومتر. آسکوسپورها قهوه‌ای تا قهوه‌ای تیره، بیضوی، ۲۶-۲۰ × ۱۵-۱۲ میکرومتر، فاقد غلاف ژلاتینی و دارای یک منفذ جوانه راسی در انتها (شکل ۶).



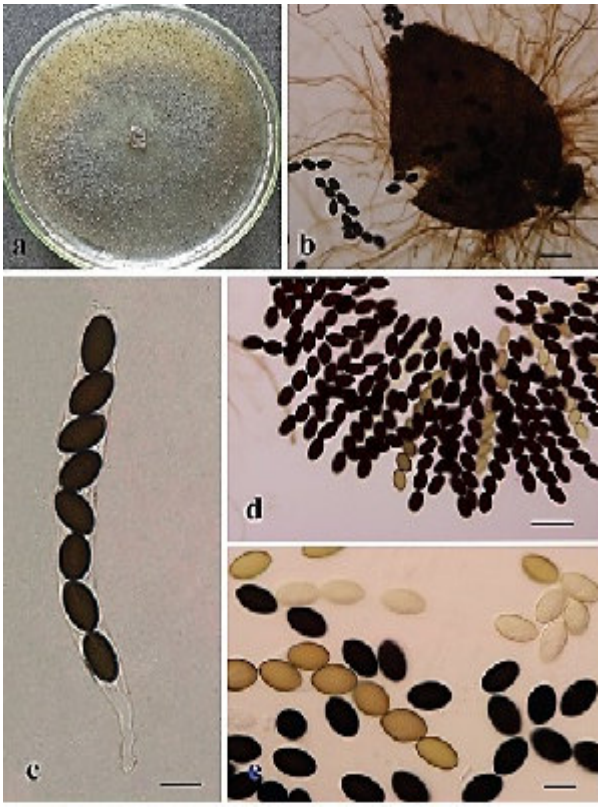
شکل ۵- *Preussia australis*: a. پرگنه قارچ روی محیط CMA، b. آسکوکارپ، c. آسک، d، e. آسکوسپورها (مقیاس: b= ۵۰ میکرومتر، c= ۲۰ میکرومتر، d و e= ۱۰ میکرومتر).

Fig. 5. *Preussia australis*: a. Colony on CMA, b. Ascocarp, c. Ascus, d-e. Ascospores (Bars: b = 50 µm, c = 20 µm, d, e = 10 µm).

نکته: گونه *Sordaria sibutii* نخستین بار توسط Cailleux معرفی شد و در سال ۱۹۸۷ به جنس جدید *Asordaria* منتقل شد (Arx *et al.* 1987). جنس *Asordaria* برای گونه‌هایی از تیره *Sordariaceae* با آسکوسپورهای صاف و تخم‌مرغی یا بیضوی و فاقد غلاف ژلاتینی معرفی شد (Cai *et al*. 2006). جنس مذکور سپس توسط خان و کراگ (Khan & Krug 1989) رد شد و به عنوان مترادف جنس *Sordaria* پذیرفته شد.

گونه *S. sibutii* با *S. fimicola* از لحاظ مولکولی و براساس توالی ITS دو نوکلئوتید با هم تفاوت دارند و بسیار به هم نزدیک هستند. از لحاظ ویژگی‌های ریخت‌شناختی براساس اندازه و شکل آسکوسپورها به گونه *Sordaria fimicola* نزدیک است، اما وجود آسکوسپورهای با دیواره صاف و فاقد غلاف ژلاتینی در *S. sibutii* آن را از *S. fimicola* تفکیک می‌کند. همچنین، سرعت رشد بیشتر *S. sibutii* روی محیط غذایی PDA آن را از گونه *S. fimicola* تفکیک می‌کند (Huhndorf *et al*. 2004, Cai *et al*. 2006). در این تحقیق، ۱۳ جدایه از این قارچ از شاخه و پوست تنه درختان بلوط جداسازی و مطالعه گردید.

نمونه‌های بررسی شده از شاخه، پوست و تنه درختان بلوط در شهرستان سروآباد و منطقه سروآباد- هورامان تخت در تاریخ ۹۱/۰۶/۲۸ توسط آسو حاجی‌زاده جمع‌آوری گردید. جدایه A1 با کد IRAN2370C در کلکسیون ملی قارچ‌های زنده ایران واقع در مؤسسه تحقیقات گیاه‌پزشکی کشور نگهداری می‌شود.



شکل ۶- *Sordaria sibutii*: a. پرگنه قارچ روی محیط کشت PDA، b. آسکوکارپ، c و d. آسک‌ها، e. آسکوسپورهای تخم‌مرغی مقیاس‌ها (b و d = ۵۰ میکرومتر، c و e = ۲۰ میکرومتر).

Fig. 6. *Sordaria sibutii*: a. Colony on PDA, b. Ascocarp, c-d. Asci, e. Ascospores (Bars: b, d = 50 µm, c, e = 20 µm).

سپاسگزاری

بدین وسیله از معاونت پژوهشی دانشگاه و دانشکده کشاورزی دانشگاه کردستان به دلیل حمایت‌های مالی از این طرح تشکر و قدردانی می‌گردد.

References

Abdollahzadeh, J., Goltapeh, E.M., Javadi, A., Shams-Bakhsh, M., Zare, R., & Phillips, A.J.L. 2009. *Barriopsis iraniana* and *Phaeobotryon cupressi*: two new species of the *Botryosphaeriaceae* from trees in Iran. Persoonia 23: 1–8.

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

Arenal, F., Platas, G. & Peláez, F. 2004. Variability of spore length in some species of the genus *Preussia* (*Sporormiella*). Mycotaxon 89: 137–151.

Arenal, F., Platas, G. & Pelaez, F. 2007. A new endophytic species of *Preussia* (*Sporormiaceae*) inferred from morphological observation and molecular phylogenetic analysis. Fungal Diversity 25: 1–17.

Arnold, A.E., Maynard, Z. & Filbert, G.S. 2001. Fungal endophytes in dicotyledonous Neotropical trees: Patterns of abundance and diversity. Mycological Research 105: 1502–1507.

Arx, V.J., Guarro, J. & Aa, V.D.H. 1987. *Asordaria*, a new genus of the *Sordariaceae*, and a new species of *Melanocarpus*. Persoonia 13(3): 263–272.

Asgari, B., Zare, R. & Javadi-Estahbanati, A.R. 2008. *Preussia typharum*, a new ascomycetous species to the mycoflora of Iran. Rostaniha 9(2): 120.

Bainier, G. 1907. Mycotheque de I,Ecole de pharmacie XI. *Paecilomyces*, genra nouveau de Mucedinees. Bulletin Trimestriel de la Société Mycologique de Frence 23(1): 26–27.

Barnett, H.L. & Hunter, B.B. 1973. Illustrated General of Imperfect Fungi. Burgess Publishing Company, 241 pp.

Barron, G.L., Cain, R.F. & Gilman, J.C. 1961. A revision of the genus *Petriella*. Canadian Journal of Botany 39(4): 837–845.

Bensch, K., Braun, U., Groenewald, J.Z., & Crous, P.W. 2012. The genus *Cladosporium*. Studies in Mycology 72: 1–401.

Brugemann, N. & Schnitzer, J.P. 2001. Influence of powdery mildew (*Microsphaera alphitoides*) on isoprene biosynthesis and emission of pedunculate oak (*Quercus robur* L.) leaves. Journal of Applied Botany 75(3–4): 91–96.

Cai, L., Jeewon, R. & Hyde, K.D. 2006. Phylogenetic investigations of *Sordariaceae* based on multiple gene sequences and morphology. Mycological Research 110(2): 137–150.

Cao, L.X., You, J.L., Zhou, S.N. 2002. Endophytic fungi from *Musa acuminatum* leaves and roots in South China. World Journal of Microbiology and Biotechnology 18: 169–171.

Chaverri, P., Gazis, R.O. 2011. *Trichoderma amazonicum*, a new endophytic species on *Hevea brasiliensis* and *H. guianensis* from the Amazon basin. Mycologia 103(1): 139–151.

Chen, M.J., Zhou, N., Li, Z.Z., Sung, G.H. & Huang, B. 2010. *Paecilomycese chinosporus* sp. nov. a species isolated from soil in China. Mycotaxon 114: 25–32.

Gonthier, P., Gennaro, M. & Nicolotti, G. 2006. Effect of water stress on the endophytic mycota of *Quercus robur*. Fungal Diversity 21: 69–80.

Crous, P.W., Braun, U., Schubert, K. & Groenewald, J.Z. 2007. Delimiting *Cladosporium* from morphologically similar genera. Studies in Mycology 58(1): 33–56.

Curzi, M. 1930. Una nuova specie di Microascus. Bolletino della Stazione di Patologia Vegetale Roma. Bolletino della Stazione di Patologia Vegetale Roma 10: 302–310.

Debbab, A., Amal, H.A. & Proksch, P. 2011. Bioactive secondary metabolites from endophytes and associated marine derived fungi. Fungal Diversity 49: 1–12.

Fuckel, L. 1866. Fungi rhenani, Suppl. Fasc. 3, 1750.

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

Gazis, R. & Chaverri, P. 2010. Diversity of fungal endophytes in leaves and stems of rubber trees (*Hevea brasiliensis*) in Peru. Fungal Ecology 3: 240–254.

Gond, S.K., Verma, V.C., Kumar, A., Kumar, V. & Kharwar, R.N. 2007. Study of endophytic fungal community from different parts of *Aegle marmelos* Correae (*Rutaceae*) from Vanasi (India). World Journal Microbiology Biotechnology 23: 1371–1375.

Gumus, T., Demirci, A.S., Sagdic, O. & Arici, M. 2010. Inhibition of heat resistant molds: *Aspergillus fumigatus* and *Paecilomyces variotii* by some plant essential oils. Food Science Biotechnology 19: 1241–1244.

Hashemloo, E., Jamali, A.H. & Ghosta, Y. 2013. Isolation and identification of endophytic fungi from stone fruit trees in West Azerbaijan province. 1th Iranian Mycological Congress, 3–5 Sept., Rasht, Iran, p. 42.

Hillis, D.M. & Bull, J.J. 1993. An empirical test of bootstrapping as a method for Assessing confidence phylogenetic analysis. Systematic Biology 42(2): 182–192.

Hosseini, A., Moayeri, M.H. & Haidari, H. 2008. Effect of site elevation on natural regeneration and other characteristics of oak (*Quercus brantii*) in the

Hyanan's Forest, Ilam. Journal of Agriculture Science Natural Resources 15(1): 27–42.

Huhndorf, S.M., Miller, A.N. & Fernández, F.A. 2004. Molecular systematics of the *Sordariales*: the order and the family *Lasiosphaeriaceae* redefined. Mycologia 96(2): 368–387.

Huzefa, A.R., Kaur, A., El-Elimat, T., Figueroa, M., Kumar, R., Deep, G., Agarwal, R., Faeth, S.H., Cech, N.B. & Oberlies, N.H. 2015. Phylogenetic and chemical diversity of fungal endophytes isolated from *Silybum marianum* (L.) Gaertn. (milk thistle). Mycology 6(1): 8–27.

Khan, R.S., & Krug, J.C. 1989. New records of the *Sordariaceae* from East Africa. Mycologia 81(6): 862–869.

Larran, S., Monaco, C. & Alippi, H.E. 2001. Endophytic fungi in leaves of *Lycopersicon esculentum* Mill. World Journal of Microbiology and Biotechnology 17: 181–184.

Larran, S., Perello, A., Simon, M.R. & Moreno, V. 2002a. Isolation and analysis of endophytic microorganisms in wheat (*Triticum aestivum* L.) leaves. World Journal of Microbiology and Biotechnology 18: 683–685.

Larran, S., Rollan, C., Bruno, Angeles, H., Alippi, H.E. & Urrutia, M.I. 2002b. Endophytic fungi in healthy soybean leaves. Investigation Agararia: Produccion y Proteccion de Vegetales 17: 173–177.

Linaldeddu, B.T., Sirca, C., Spano, D. & Franceschini, A. 2011. Variation of endophytic cork oak-associated fungal communities in relation to plant health and water stress. Forest Pathology 41(3): 193–201.

Li, H.Y., Wei, D.Q., Shen, M. & Zhou, Z.P. 2012. Endophytes and their role in phytoremediation. Fungal Diversity 54(1): 11–18.

Kimura, M. 1980. A simple method for estimating evolutionary rate of base substitution through comparative studies of nucleotide sequences. Journal of Molecular Evolution 16: 11–120.

Malloch, D. 1970. New conceptus in the *Microascaceae* illustrated by two new species. Mycologia 38: 727–740.

Mapperson, R.R., Kotiw, M., Davis, R.A. & Dearnaley, J.D. 2014. The diversity and antimicrobial activity of *Preussia* sp. endophytes isolated from Australian dry rainforests. Current Microbiology 68(1): 30–37.

Marvie, M. 2005. Silviculture. University of Tehran Press, Tehran, 387 pp.

Masoudi Nejad, M.R. & Rezazadeh, M. 2003. Comparison of four methods extraction from the fruits of oak species in Iran. Hakim 1: 81–91.

Nixon, K.C. 2002. The oak (*Quercus*) biodiversity of California and adjacent regions. New World 7: 190–202.

Page, R.D. 1996. Tree View: an application to display phylogenetic trees on personal computers. Computer Applications in the Biosciences 12: 357–358.

Pitt, J.I. 1988. A laboratory guide to common *Penicillium* species. Commonwealth Scientific and Industrial Research Organization, Division of Food Processing, Food Research laboratory, North Ryde, Australia, 187 pp.

Ragazzi, A., Moricca, S., Capretti, P., Dellavalle, I., Mancini, F. & Turco, E. 2001. Endophytic fungi in *Quercus cerris*: isolation frequency in relation to phonological phase, tree health and the organ affected. Phytopathology Mediterranea 40: 165–171.

Ram, C. 1968. Timber-attacking fungi from the state of Maranhao, Brazil; some new species of *Paecilomyces* and its perfect state *Byssochlamys*. WestI. VIII. Nova Hedwigia 16: 305–314.

Roughanian, M., Amini, J., Zafari, D. & Abdollahzadeh, J. 2012. *Drechslera triseptata*, a new record for Iranian mycoflora. Rostaniha 13(1): 109–110.

Samson, R.A., Houbraken, J., Varga, J. & Frisvad, J.C. 2009. Polyphasic taxonomy of the heat resistant ascomycete genus *Byssochlamys* and its *Paecilomyces* anamorphs. Persoonia 22: 14–27.

Strobel, G.A. 2002. Rainforest endophytes and bioactive

products. Crit. Rev. Biotechnol 22: 315–333.

Sutton, B.C. 1980. The Coelomycetes. Fungi imperfecti with pycnidia, acervuli and stromata. Common Wealth Mycological Institute, Kew, Surrey, England, 696 pp.

Swofford, D.L. 2003. PAUP*. Phylogenetic analysis using parsimony (* and other methods) Version 4. Sinauer Associates, Sunderland, Massachusetts.

Thompson, J.D., Gibson, T.J., Plewniak, F., Jeanmougin, F. & Higgins, D.G. 1997. The CLUSTAL_X windows interface: Flexible Strategies for multiple sequence alignment aided by quality analysis tools. Nucleic Acid Research 25: 4876–4882.

Udagawa, S.I. 1963. *Microascaceae* in Japan. The Journal of General and Applied Microbiology 9(2): 137–148.

Vannini, A. & Anselmi, N. 1997. Endofitismo e deperimen todello querence: il modello *Hypoxylon mediterraneu*m. *In*: Atti del V *Convegno Annuale* SIPaV. 18–19 Settem bre 1997, Agripolis, Legnaro (Padova), Italy, No. 19.

White, T.J., Bruns, T., Lee, S. & Taylor, J. 1990. Amplification and direct sequencing of fungal ribosomal RNA genes for phylogenetics. *In*: Innis, M.A., Elfand, D.H, Sninsky, J.J. & White, T.J. (eds). PCR protocols: a guide to methods and application. Academic, San Diego, pp. 315–322.

Wilson, D. 1995. Endophyte-the evolution of a term and clarification of its use and definition. Oikos 73: 274–276.

Yaung, N.D. & Healy, J. 2003. Gapcoder automates the use of indel characters in phylogenetic analysis. BMC Bioinformatics 4: 1–6.

Zabalgogeazcoa, I. 2008. Fungal endophytes and their interaction with plant pathogens. Spanish Journal of Agricultural Research 6: 138–146.

Zhang, Y., Crous, P.W., Schoch, C.L. & Hyde, K.D. 2012. *Pleosporales*. Fungal Diversity 53(1): 1–221.