دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی ساری
بوم‌شناسی جنگل‌های ایران

"مقاله پژوهشی"

جداسازی و شناسایی قارچ‌های اندوفیت درختان ممرز از برخی جنگل‌های حومه ساری

شیوا زندی[۱]، سعید رضائی[۲]، محمد علی تاجیک قنبری[۳] و محمد علی ابراهیم‌زاده[۴]

۱- دانشجوی دکترای گروه گیاهپزشکی، دانشکده علوم‌کشاورزی و صنایع‌غذایی، واحد علوم و تحقیقات، دانشگاه آزاد اسلامی، تهران، ایران
۲- استادیار گروه گیاهپزشکی، دانشکده علوم‌کشاورزی و صنایع غذایی، واحد علوم و تحقیقات، دانشگاه آزاد اسلامی، تهران، ایران،
(نویسنده مسوول: srezaee@srbiau.ac.ir)
۳- دانشیار گروه گیاهپزشکی، دانشکده‌علوم زراعی، دانشگاه‌علوم کشاورزی و منابع‌طبیعی، ساری، ایران
۴- استاد گروه شیمی‌داروئی، دانشکده داروسازی، دانشگاه علوم‌پزشکی مازندران، ساری، ایران

تاریخ دریافت: ۱۴۰۱/۳/۱۸ تاریخ پذیرش: ۱۴۰۱/۱۲/۷
صفحه: ۶۲ تا ۷۴

چکیده مبسوط

مقدمه و هدف: قارچ‌های درون‌زی قارچهایی هستند که در لحظه نمونه‌برداری بدون علائم آشکاری داخل بافت گیاهی حضور دارند.گزارش‌های متعددی وجود دارد که استفاده از قارچ‌های درون‌زی باعث بهبود عملکرد دانه، افزایش تحمل به سرما و خشکی، مقاومت به بیمارگرهای گیاهی و حشرات گیاه‌خوار شده است.از این‌رو می‌توان این قارچها را به عنوان یک عامل کنترل‌زیستی در حفاظت از محصولات گیاهی، مورد استفاده قرار داد. قارچ‌های درون‌زی منبع غنی از ترکیبات‌آلی فعال هستند که پتانسیل استفاده از این ترکیبات‌آلی در پزشکی، کشاورزی و صنعت وجود دارد. لذا این تحقیق با هدف جداسازی قارچ‌های درون‌زی از درختان ممرز و شناسائی شکل ظاهری و مولکولی آن‌ها از جنگل‌های شهر ساری انجام شد.

مواد و روش‌ها: در این تحقیق، به‌منظور شناسایی قارچ‌های درون‌زی ، از سرشاخه های سالم درختان ممرز طی سال‌های پاییز ۹۸ و تابستان و پاییز ۹۹ از جنگل‌های شهرستان ساری نمونه‌برداری انجام شد. در آزمایشگاه، هر نمونه سرشاخه پس از ضدعفونی و کشت روی محیط PDA به مدت یک ماه در دمای۲۴ درجه سلسیوس و تاریکی مداوم نگهداری گردید. پس از خالص‌سازی جدایه‌های به دست آمده با استفاده از روش تک‌اسپور و نوک‌ریسه، شناسایی جدایه‌ها براساس ویژگی‌های ریخت‌شناسی و توالی ناحیه ITS انجام شد. برای تایید شناسایی ریخت‌شناسی و توالی‌یابی، دندروگرام مربوطه با استفاده از نسخه 7.1 نرم افزار Bioedit ویرایش شدند.

یافته‌ها: در این مطالعه ۹ جنس و گونه شناسایی شدند. گونه‌های قارچی شامل (Alternaria alternata) OM117707، (Aspergillus flavus) OM488258، OM141395 (Botryosphaeria dothidea)، OM131770 (Diaporthe eres) ، OM131729 (Fusarium acuminatum)، OM142129 (Fusarium sambucinum)، OM017151 (Mucor fragilis)، OM017148 (Neofusicoccum parvum)، OM124921 (Fulvia fulva)، بودند.

نتیجه‌گیری: به‌طور کلی هدف از این پژوهش شناسائی اندوفیت‌های قارچی درخت ممرز بر پایه داده‌های ریخت‌شناسی و مولکولی از جنگل‌های مهدشت، طبقده، دارابکلا و امامزاده زید ساری واقع دراستان مازندران بود.

واژه‌های کلیدی: تنوع، جنگل، درختان‌چوبی، درون‌زی، ریخت‌شناسی، ITS

مقدمه

جنگل‌های حوزه خزر یا هیرکانی در دامنه‌های شمالی سلسله جبال البرز قرار دارند. این منطقه که اقلیم مدیترانه‌ای گرم دارد، متوسط درجه حرارت سالانه آن معادل ۱۶-۱۸ درجه سانتی‌گراد است که در ارتفاعات حدود ۲۴۰۰ متری به ۷/۵ درجه نیز می‌رسد. میزان بارندگی از حدود ۱۲۰۰ میلی‌متر در بندرانزلی تا حدود۸۰۰ میلی‌متر در گرگان متغیر است و از غرب به شرق کاهش می‌یابد. مجاورت این حوزه با دریای خزر باعث شده تا رطوبتی بین ۵۱-۸۷ درصد داشته باشد. این منطقه با وسعتی معادل ۱/۹ میلیون هکتار دربرگیرنده غنی‌ترین جنگل‌های طبیعی کشور است (۴). شرایط مساعد آب و هوائی، خاک غنی و آب فراوان سبب توسعه فعالیت‌های زراعی، باغداری و دامداری در این محدوده شده است و چنین گرایشی به نفوذ فعالیت‌های کشاورزی در گستره‌های منابع طبیعی به تخریب بخش‌هائی از جنگل‌های طبیعی می انجامد(۴). امروزه حفاظت از جنگل و ذخایر ژنتیکی آن از مهمترین موضوعات مورد بحث جوامع بشری است. درختان کهن‌سال طی زندگی طولانی خود انواع تنش‌های زیست محیطی را تجربه کرده و در برابر آن‌ها از خود پایداری نشان داده‌اند، لذا این درختان ذخایر ژنی بسیار مهمی در جنگل می‌باشند (۱۸). جنگل‌ها به‌عنوان برجسته‌ترین رویش‌گاه گیاهی کره زمین، با توجه به سطوح بزرگ، پوشش متراکم، ضخامت لاشبرگی و سیستم ریشه‌دوانی گیاهی می‌توانند تأثیر مهمی بر آب، خاک و چرخه مواد غذایی داشته باشند (۳۹). اگر جنگل‌ها به شیوه اقتباس از رویشگاه‌ها مدیریت شوند با توجه به انعطاف‌پذیری و پایداری در مقابل خطرات طبیعی محافظت خواهند شد (۸). جنگل‌ها کارکردهای متنوعی از جمله حفاظت از آب و خاک، حفاظت از تنوع زیستی، حفظ و بهبود کمی و کیفی آب، ایجاد منظره، تولید چوب، تولید محصولات غیرچوبی، تفریح و تفرج، تلطیف آب و هوا و موارد مشابه را تضمین می‌کنند (۱۴). ممرز با نام علمی (Carpinus betulus L.) یکی از درختان با قدمت طولانی و دارای چوب مقاوم است که می‌تواند طیف گسترده‌ای از شرایط خاک از قبیل خاک رس، سطوح مختلف pH خاک‌های اسیدی یا قلیائی را تحمل کند (۶،۳۴). این گونه یکی از باارزش‌ترین گونه‌های درختی در جنگل‌های هیرکانی است و در بسیاری از ارتفاعات در مناطق جلگه‌ای در سطح دریا تا ارتفاع ۱۸۰۰ متر به همراه جوامع بلوط و انجیلی حضور دارد (۲۹). درخت ممرز از اروپا تا قفقاز و ایران و در نقاط مختلفه جنگل‌های شمال از جلگه تا ارتفاعات متوسط میان‌بند و از ارسباران و آستارا تا گلی‌داغ انتشار دارد و نمونه‌های فوقانی آن در جنگل‌های نور و دره زرین‌گل گرگان تا ۱۰۰۰ متر ارتفاع از سطح دریا دیده می‌شوند. ممرز درختی است با ارتفاع ۲۵ متر با پوست خاکستری و در کهنسالی شیاردار و تیره‌رنگ می‌گردد.

[Downloaded from ifej.sanru.ac.ir on 2026-02-01]
[DOR: 20.1001.1.24237140.1402.11.21.6.2]
[DOI: 10.61186/ifej.11.21.62]

جوانه‌های آن کشیده و باریک به طول یک سانتی‌متر است و به وسیله فلس‌های متعدد قهوه‌ای رنگ و مژه‌دار پوشیده شده، شاخه‌های جوان آن قهوه‌ای رنگ و کم و بیش خزی است (۲۸). مطالعات اخیر در عصاره برگ گیاه ممرز ضداکسیدان قابل‌توجهی را نشان داده که خواص ضدسرطانی،آن را به عنوان یک ماده اولیه احتمالی برای ساختن مواد داروئی ممکن می‌سازد (۱۳). اغلب گیاهانی که تاکنون در اکوسیستم‌های طبیعی مطالعه شده‌اند، به وسیله گروهی از قارچ‌ها که علائم ظاهری مشخصی در گیاهان ایجاد نمی‌کنند، احاطه می‌شوند که به این دسته از قارچ‌ها، درون‌زی گفته می‌شود (۳۳). این قارچ‌ها بدون این‌که باعث ایجاد علائم آشکاری شوند تمام طول دوره زندگی خود یا بخشی از آن را داخل بافت‌های گیاهان سپری می‌کنند (۱۶). شمار زیادی از قارچ‌های درون‌زی ارتباط نزدیکی با قارچ‌های بیمارگر داشته و این احتمال وجود دارد که از آن‌ها و در نتیجه گسترش دوره نهفتگی و کاهش بیماری‌زایی به وجود آمده باشند (۱۹). همچنین این فرضیه وجود دارد که قارچ‌های درون‌زی در مقایسه با بیمارگرهای شناخته شده گیاهی به مراتب دارای تغییرپذیری بیشتری بوده و از این رو تنوع بیشتری در مقایسه با بیمارگرها در خصوصیاتی از قبیل مکان آلودگی،تجمع، دوره نهفتگی، بیماری‌زایی و یا پوسیده‌خواری دارند (۱۹). این قارچ‌ها از تمام میزبان‌هایی که تا به حال مورد مطالعه قرار گرفته‌اند جداسازی شده‌اند و تماما گیاهان آوندی و غیرآوندی خشکی‌زی و دریازی زیست‌گاه آن ها می‌باشند (۳۷). درگزارشی هیرجانی و همکاران (۱۲) اعلام کردند که حضور ممرز در توده‌های راش، لایه آلی غنی از نیتروژن را سبب می‌شود که تجزیه و بازگشت عناصر مغذی را تسریع می‌کند و موجب تفاوت‌های قابل توجهی بر شاخص‌های زیستی خاک می‌شود. همچنین روحی‌مقدم و همکاران (۲۷) در تحقیقی به این نتیجه رسیدند که ترکیبات آلی و معدنی برگ درختان ممرز اطلاعات مهمی از نظر تغذیه و در نتیجه قدرت حاصل‌خیزی خاک در اختیار محققان قرار می‌دهند. در پژوهشی رسولی و همکاران (۲۵)، ۳۰ جدایه از قارچ‌های درون‌زی که شامل ۱۳ جدایه متعلق به گیاه لرک و ۱۷ جدایه متعلق به گیاه ولیک، واقع در جنگل‌های تالش گیلان را جداسازی و شناسائی کردند. جمع‌اشکذری و فتوحی‌فر (۱۷) نیز ۳۰ گونه قارچ درون‌زی را بر اساس روش‌های ریخت‌شناسی و مولکولی از درختان سرخدار معمولی در ایران شناسایی کردند. شناسایی این نوع قارچ‌ها و میزبانشان به منظور توسعه پایدار جنگل و اهمیت کاربرد این نوع قارچ‌ها ضرورت پیدا می‌کند. هدف از این پژوهش شناسائی ریخت‌شناسی تعدادی از قارچ‌های درون‌زی و بررسی مولکولی آن‌ها و معرفی آرایه‌های جدید برای فلورقارچی ایران بوده است. نتیجه این تحقیق می‌تواند درخت ممرز و قارچ‌های درون‌زی حاصل از آن را به‌عنوان منبع اطلاعاتی مناسبی در جهت به دست آوردن ترکیبات زیستی ارزشمندی مانند ترکیبات ضدسرطانی، ضداکسیدان، ضدقارچی، آنتی‌بیوتیکی و بسیاری از ترکیبات دیگرکه در پزشکی، صنعت، کشاورزی، کنترل‌زیستی و غیره مورد استفاده قرار می‌گیرند معرفی کند.

مواد و روش‌ها

نمونه‌برداری، جداسازی و خالص‌سازی قارچ‌ها

به‌منظور جمع‌آوری و شناسایی قارچ‌ها، نمونه‌برداری طی پاییز سال ۱۳۹۸و تابستان و پاییز سال ۱۳۹۹ از سرشاخه‌های سالم درختان ممرز شهرستان ساری و از جنگل‌های دارابکلا، طبقده، مهدشت و امامزاده زید به‌صورت تصادفی جمع‌آوری شده و درون پاکت‌های کاغذی با ثبت مشخصات به آزمایشگاه منتقل و در دمای چهار درجه سانتی‌گراد نگه‌داری شدند. سپس نمونه‌ها به قطعات یک سانتی‌متری برش داده شدند. ضدعفونی نمونه‌ها برای جداسازی قارچ‌های درون‌زی به روش Duanla-Meli و همکاران (۷) با اندکی تغییرات انجام شد. سپس نمونه‌ها به محیط PDA (سیب‌زمینی، دکستروز و آگار) منتقل گردید و تشتک‌های پتری در گرم- خانه با دمای ۲۴ درجه سانتی‌گراد و در شرایط تاریکی به مدت ۱۵ تا ۳۰ روز نگه‌داری شدند. این تشتک‌ها به‌صورت مرتب و روزانه بررسی شدند. از حاشیه هر پرگنه رشد کرده توسط سوزن‌های ظریف و ضدعفونی شده برداشته شد و به تشتک‌های پتری جدید منتقل شد. سپس جدایه‌ها به روش نوک‌ریسه روی محیط کشت (WA) آب- آگار و PDAخالص شدند.

شناسایی ریخت‌شناسی جدایه‌های قارچی

شناسایی جدایه‌های قارچی در شرایط استاندارد و بر اساس خصوصیات ریخت‌شناسی و با استفاده از کلیدهای معتبر شناسایی و همچنین با استفاده از داده‌های حاصل از توالی‌یابی ناحیه ITS4-5.8S-ITS5 انجام گرفت. برای مطالعه اندام‌های قارچی، ویژگی‌هایی مانند رنگ سطح و پشت پرگنه، نوع بافت پرگنه قارچی، نحوه رشد حاشیه پرگنه، نواحی رشد موجود در پرگنه و ویژگی‌های مربوط به تشکیل اندام‌های باردهی و غیره مورد استفاده قرار گرفت. به‌منظور بررسی ساختارهای تکثیری غیرجنسی و جنسی کلیه نمونه‌ها تحت مطالعه میکروسکوپی قرار گرفتند.

شناسایی مولکولی جدایه‌ها

به‌منظور تهیه رشته‌های قارچی موردنیاز برای استخراج DNA، مقداری از هیف‌های قارچ از کشت‌های خالص شده با سوزن استریل به درون شیشه‌های حاوی محیط مایع عصاره سیب زمینی- دکستروز (PDB) منتقل و در دمای ۵ درجه سانتی‌گراد روی دستگاه تکان‌دهنده (۱۰۰ دور در دقیقه) قرار داده شدند. برحسب سرعت رشد جدایه‌ها، به مدت ۷ تا۱۰ روز پس از رشد و تشکیل رشته‌های قارچی، توده‌های قارچی توسط آب‌مقطر ضدعفونی شده شسته شد. استخراج DNA با استفاده از CTAB انجام گردید (۲۱). کمیت و کیفیت DNA استخراج شده به ترتیب با استفاده از روش الکتروفورز روی ژل آگارز و اسپکتروفوتومتری بررسی شد. سپس تکثیر قطعات DNA ریبوزومی با استفاده از آغازگرهای ITS4 و ITS5 (۳۸) در واکنش زنجیره‌ای پلیمراز انجام شد. مخلوط واکنش زنجیره‌ای پلیمراز در حجم ۲۵ میکرولیتر شامل ۰/۸ میکرولیتر MgCl2 ده میلی‌مولار، یک میکرولیتر dNTPs ده میلی‌مولار، ۲/۵ میکرولیتر بافر PCR با غلظت 10x، به همراه ۰/۳ میکرولیتر آنزیم Taq DNA (5U/µl)

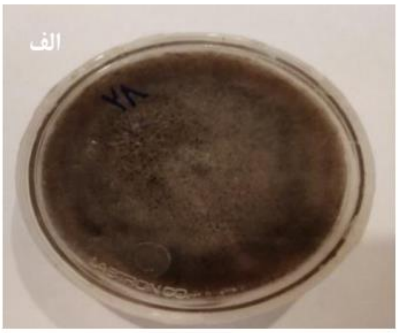
[Downloaded from ifej.sanru.ac.ir on 2026-02-01]
[DOR: 20.1001.1.24237140.1402.11.21.6.2]
[DOI: 10.61186/ifej.11.21.62]

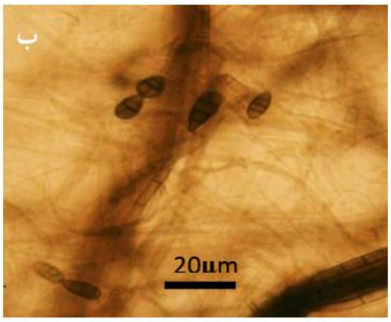
Polymerase (شرکت سیناکلون، ایران) و یک میکرولیتر از هریک از آغازگرهای رفت و برگشت با غلظت ده پیکومول بر میکرولیتر، یک میکرولیتر DNA با غلظت۵۰ نانوگرم در میکرولیتر و ۱۷/۴میکرولیتر آب دیونیزه آماده شد. برنامه واکنش زنجیره‌ای پلیمراز به‌صورت یک مرحله واسرشت‌سازی اولیه در دمای ۹۴ درجه سانتی‌گراد به مدت ۵ دقیقه، سپس ۳۵ چرخه تکثیر با شرایط واسرشت‌سازی در دمای ۹۴ درجه سانتی‌گراد به مدت یک دقیقه، مرحله اتصال در دمای ۵۸ درجه‌ی سانتی‌گراد به مدت یک دقیقه و تکثیر در دمای ۷۲ درجه‌ی سانتی‌گراد به مدت یک دقیقه و در پایان یک چرخه بسط نهایی در دمای ۷۲ درجه سانتی‌گراد به مدت ۱۰ دقیقه انجام شد. قطعه تکثیر شده برای تعیین توالی به شرکت توپازژن در سوئیس فرستاده شد. پس از دریافت، توالی‌های نوکلئوتیدی با استفاده از ابزار جستجوی BLAST در سایت NCBI بررسی شدند. توالی‌های نوکلئوتیدی متعلق به جدایه‌های مورد بررسی در این تحقیق با توالی گرفته شده از بانک ژن مقایسه و توالی‌ها در پایگاه اطلاعاتی NCBI ثبت شدند.

نتایج و بحث

Alternaria alternata **(**Fr.) Keissl., Beih. bot. Zbl., Abt. 229: 434 (1912)

این جدایه چهار روز پس از کشت نمونه گیاهی از ممرز جدا شد. قطر پرگنه قارچی در محیط کشت PDA پس از ۷ روز به ۵۰ میلی‌متر رسید. پرگنه این قارچ به رنگ سبز زیتونی تیره مایل به مشکی بوده، هیف‌های هوایی سفید تا خاکستری رنگ درون محیط کشت یا روی سطح آن رشد کرده‌اند. هاگ دان‌ها قهوه‌ای روشن به طول ۶۰-۳۵ میکرومتر بوده، هاگ‌ها قهوه‌ای‌رنگ، بیضوی تا تخم‌مرغی شکل بودند و دارای ۱-۴ دیواره عرضی و ۱-۳ دیواره طولی و ابعاد آن‌ها ۱۶-۱۱×۷-۳ میکرومتر بود. ویژگی ریخت‌شناسی این گونه با گونه شناسایی شده براساس توالی ناحیه ITS در بانک ژن مطابقت داشت. (۹۹/۸۱ درصد تشابه توالی با MF575850/1). کد دسترسی این نمونه OM117707 می‌باشد. پیش از این، جداسازی قارچ مذکور از برزیل، چین، اسلواکی،کانادا و هند گزارش شده است. از میزبان‌های دیگر می‌توان بامیه و منداب را نام برد. این جدایه از لحاظ میزبانی برای مایکوفلور ایران جدید می‌باشد.





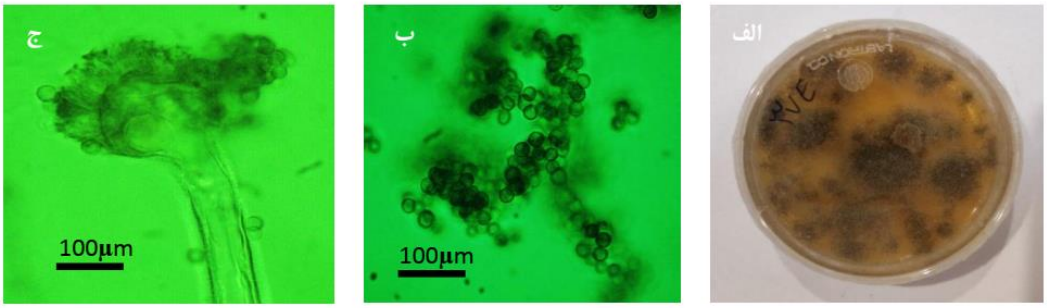
شکل ۱- قارچ اندوفیت *Alternaria alternata*، الف) توده قارچ روی محیط کشت PDA بعد از ۱۴روز در شرا یط تاریکی و ۲۴ ^{o} سلسیوس، ب) هاگ‌های قهوه‌ای رنگ با دیواره طولی و عرضی

Figure 1. *Alternaria alternata* endophytic fungus, a) fungus colony on PDA culture medium after 14 days in the dark and 24º Celsius, b) brown conidia with longitudinal and transverse walls

Aspergillus flavus Mag. Gesell. naturf. Freunde, Berlin 3(1-2): 16 (1809)

این جدایه چهار روز پس از کشت نمونه گیاهی از ممرز جدا شد. قطر پرگنه قارچی در محیط کشت PDA پس از ۷ روز به ۴۴ میلی‌متر رسید. پرگنه این قارچ کاملا حالت پودری داشته و در غالب زرد تا سبز و در نهایت به رنگ سبز مخملی درآمد و در طول ۷ روز،توده‌های متعدد در سطح پتری تشکیل گردید، ریسه‌ها، بی‌رنگ و هاگ‌دان هادرشت، بی‌رنگ، زبر و معمولا کمتر از ۱ میلی‌متر طول داشتند،هاگ‌ها کروی بودند و قطر آن‌ها ۳/۵-۴/۵ میکرومتر متغیر بود، ویژگی ریخت‌شناسی این گونه با گونه شناسایی شده براساس توالی ناحیه ITS در بانک ژن مطابقت داشت. پیش از این، جداسازی قارچ مذکور از بلغارستان، غنا، پاکستان، کنیا و آمریکا گزارش شده است. از میزبان‌های دیگر می‌توان پیاز و لوبیا چشم‌بلبلی را نام برد. (۹۹/۰۳ درصد تشابه توالی با OK434216/1). کد دسترسی این نمونه OM488258 می‌باشد. این جدایه از لحاظ میزبانی برای مایکوفلور ایران جدید می‌باشد.

[Downloaded from ifej.sanru.ac.ir on 2026-02-01]
[DOR: 20.1001.1.24237140.1402.11.21.6.2]
[DOI: 10.61186/ifej.11.21.62]

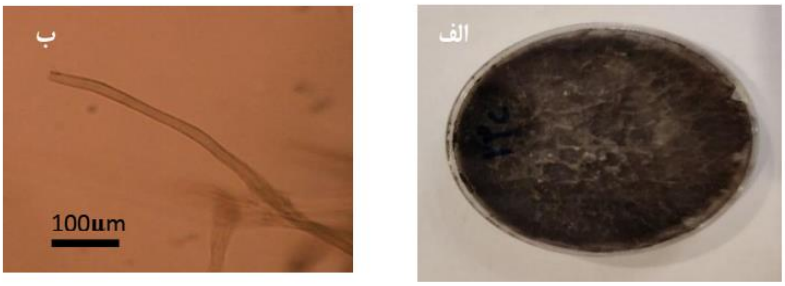


شکل۲- قارچ اندوفیت *Aspergillus flavus*، الف) توده قارچ روی محیط کشت PDA بعد از ۲۸ روز در شرایط تاریکی و ۲۴° سلسیوس، ب) هاگ‌های کروی، ج) هاگ، اندام نگه‌دارنده کنیدی و هاگ‌دان

Figure 2. *Aspergillus flavus* endophytic fungus, a) fungus colony on PDA culture medium after 28 days in the dark and 24° Celsius, b) spherical conidia, c) conidia, phialide and conidiophore

Botryosphaeria dothidea (Moug.) Ces. & De Not., Comm. Soc. crittog. Ital. 1(fasc. 4): 212 (1863)

این جدایه چهار روز پس از کشت نمونه گیاهی از ممرز جدا شد. قطر پرگنه قارچی در محیط کشت PDA پس از ۷ روز به ۵۸ میلی‌متر رسید. پرگنه این قارچ به حالت کرکی یا پشمی به رنگ خاکستری متمایل به سیاه بوده، ریسه‌ها در سطح و داخل محیط کشت رشد کرده و دارای ریسه‌های هوایی خاکستری بودند، هیف‌ها صاف و یکنواخت بوده ویژگی ریخت‌شناسی این گونه با گونه شناسایی شده براساس توالی ناحیه ITS در بانک ژن مطابقت داشت. پیش از این، جداسازی قارچ مذکور از صربستان، استرالیا، ایتالیا، چین و یونان گزارش شده است. از میزبان‌های دیگر می‌توان به سویا و زبان گنجشک اشاره کرد. (۱۰۰ درصد تشابه توالی با MZ423109/1). کد دسترسی این نمونه OM141395 می‌باشد. این جدایه از لحاظ میزبانی برای مایکوفلور ایران جدید می‌باشد.



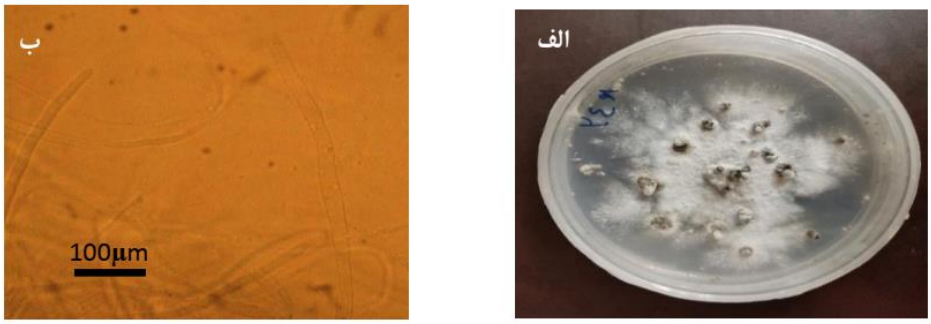
شکل ۳- قارچ اندوفیت *Botryosphaeria dothidea*، الف) توده قارچ روی محیط کشتPDA بعد از ۲۵ روز در شرایط تاریکی و ۲۴° سلسیوس، ب) رشته قارچی در قارچ *Botryosphaeria dothidea*

Figure 3. *Botryosphaeria dothidea* endophytic fungus, a: fungus colony on PDA culture medium after 25 days in dark and 24° Celsius, b: mycelium in *Botryosphaeria dothidea* fungus

Diaporthe eres Nitschke, Pyrenomyc. Germ. 2: 245 (1870)

این جدایه چهار روز پس از کشت نمونه گیاهی از ممرز جدا شد. قطر پرگنه قارچی در محیط کشت PDA پس از ۱۰ روز به ۴۰ میلی‌متر رسید. پرگنه این قارچ سفید رنگ با حاشیه نامنظم نقش گل را دارد، بعد از حدود یک ماه اندام‌های‌قارچ پراکنده،کروی تا مخروطی، قهوه‌ای تیره تا مشکی، سطحی، نیمه غوطه‌ور تا قطر ۸۰۰ میکرومتر مشاهده شدند. رشته‌های قارچی یکنواخت و سفید رنگ مشاهده شدند. ویژگی ریخت‌شناسی این گونه با گونه شناسایی شده بر اساس توالی ناحیه ITS در بانک ژن مطابقت داشت. (۹۹/۸۲ درصد تشابه توالی با MH935025/1). کد دسترسی این نمونه OM131770 می‌باشد. پیش از این، جداسازی قارچ مذکور از لهستان، هلند، فیلیپین، آلمان و اوکراین گزارش شده است. از میزبان‌های دیگر می‌توان به جینسینگ آسیایی و انجیر اشاره کرد. این جدایه از لحاظ میزبانی برای مایکوفلور ایران جدید می‌باشد.

[Downloaded from ifej.sanru.ac.ir on 2026-02-01]
[DOR: 20.1001.1.24237140.1402.11.21.6.2]
[DOI: 10.61186/ifej.11.21.62]

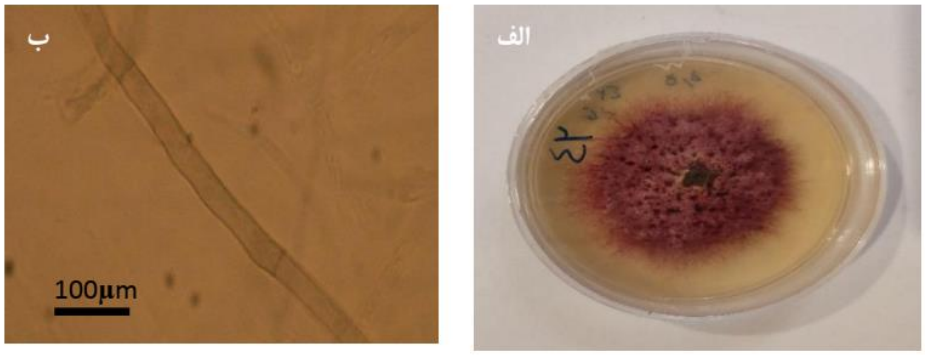


شکل ۴- قارچ اندوفیت *Diaporthe eres* ، الف) توده قارچ روی محیط کشت PDA بعد از ۲۸ روز در شرایط تاریکی و ۲۴ ^{o} سلسیوس، ب) رشته قارچی در قارچ *Diaporthe eres*

Figure 4. *Diaporthe eres* endophytic fungus, a: fungus colony on PDA culture medium after 28 days in the dark and 24º Celsius, b: mycelium in *Diaporthe eres* fungus

Fusarium acuminatum Ellis & Everh., Proc. Acad. nat. Sci. Philad. 47: 441 (1895)

این جدایه هفت روز پس از کشت نمونه گیاهی از ممرز جدا شد. قطر پرگنه قارچی در محیط کشت PDA پس از ۸ روز به ۳۴ میلی‌متر رسید. پرگنه این قارچ به رنگ صورتی متمایل به ارغوانی با رشته قارچی فراوان، رشته‌های هوایی سفیدرنگ، توده قارچ با ظاهر مخمل و پنبه‌ای و حاشیه‌های نامنظم نخی شکل و دارای روزنه‌های ریز در سطح توده قارچی می‌باشد، ویژگی ریخت‌شناسی این گونه با گونه شناسایی شده براساس توالی ناحیهITS در بانک ژن مطابقت داشت. پیش از این، جداسازی قارچ مذکور از آفریقای‌جنوبی، چین، نیوزلند و ترکیه گزارش شده است. از میزبان‌های دیگر می‌توان کیوی قطب شمال و سیب را نام برد. (۹۹/۸۱ درصد تشابه توالی با MF687306/1). کد دسترسی این نمونه OM131729 می‌باشد این جدایه از لحاظ میزبانی برای مایکوفلور ایران جدید می‌باشد.



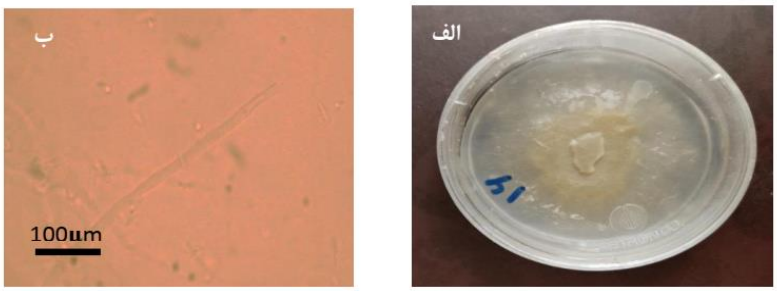
شکل ۵- قارچ اندوفیت *Fusarium acuminatum* ، الف) توده قارچ روی محیط کشت PDA بعد از ۱۴روز در شرایط تاریکی و ۲۴^{o} سلسیوس، ب) رشته قارچی در قارچ *Fusarium acuminatum*

Figure 5. *Fusarium acuminatum* endophytic fungus, a) fungus colony on PDA culture medium after 14 days in the dark and 24º Celsius, b) mycelium in *Fusarium acuminatum* fungus

Fusarium sambucinum Fuckel, Jb. nassau. Ver. Naturk. 23-24: 167 (1870) (1869-70)

این جدایه پنج روز پس از کشت نمونه گیاهی از ممرز جدا شد. قطر پرگنه قارچی در محیط کشت PDA پس از ۱۰ روز به ۴۵ میلی‌متر رسید. رنگ توده قارچ آن ابتدا سفیدرنگ بوده بعد از چند روز قسمت مرکزی، کرم مایل به نخودی رنگ شده و حاشیه‌های آن بی‌رنگ و نامنظم بودند، توده قارچ شفاف و لزج و فاقد رشته‌های هوایی بوده. ویژگی ریخت‌شناسی این گونه با گونه شناسایی شده براساس توالی ناحیه ITS در بانک ژن مطابقت داشت. پیش از این، جداسازی قارچ مذکور از روسیه، آفریقای‌جنوبی، مصر، مالزی و ترکیه گزارش شده است. از میزبان‌های دیگر می‌توان افرای‌سیاه و نخودفرنگی را نام برد. (۹۹/۸۰ درصد تشابه توالی با MT228969/1). کد دسترسی این نمونه OM142129 می‌باشد. این جدایه از لحاظ میزبانی برای مایکوفلور ایران جدید می‌باشد.

[Downloaded from ifej.sanru.ac.ir on 2026-02-01]
[DOR: 20.1001.1.24237140.1402.11.21.6.2]
[DOI: 10.61186/ifej.11.21.62]

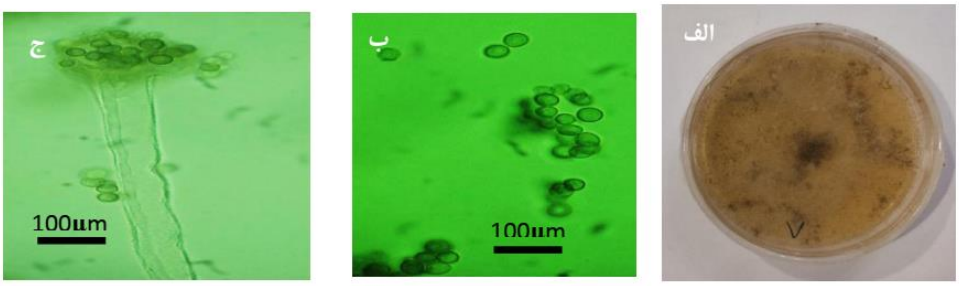


شکل۶- قارچ اندوفیت *Fusarium sambucinum* ، الف) توده قارچ روی محیط کشت PDA بعد از ۱۴روز در شرایط تاریکی و۲۴° سلسیوس، ب) رشته قارچی در قارچ *Fusarium sambucinum*

Figure 6. *Fusarium sambucinum* endophytic fungus, a: fungus colony on PDA culture medium after 14 days in the dark and 24° Celsius, b: mycelium in *Fusarium sambucinum* fungus

Mucor fragilis Bainier, Annls Sci. Nat., Bot., sér. 619: 208 (1884)

این جدایه سه روز پس از کشت نمونه گیاهی از ممرز جدا شد. قطر پرگنه قارچی در محیط کشت PDA پس از ۳ روز به ۴۲ میلی‌متر رسید. این قارچ به شدت سریع‌الرشد بوده و در عرض سه روز تا لبه‌های پتری گسترش می‌یابد. پرگنه این قارچ در ابتدا سفیدرنگ بوده و بعد از ۱۴روز به رنگ زرد متمایل به سبز درآمد. ریسه‌های هوایی بی‌رنگ یا سفید و به ارتفاع چند میلی‌متر تا چند سانتی‌متر بودند، پایه هاگ‌ها با قطر ۱۵ میکرومتر صاف بوده و به طور مستقیم از قاعده محیط منشا می‌گرفتند. هاگ‌دان‌ها سفید و کرم‌رنگ و کروی بودند. ویژگی ریخت‌شناسی این گونه با گونه شناسایی شده براساس توالی ناحیه ITS در بانک ژن مطابقت داشت. پیش از این، جداسازی قارچ مذکور از لهستان، آمریکا و کنیا گزارش شده است. از میزبان‌های دیگر می‌توان به ذرت و انگور اشاره کرد. (۹۹/۸۳ درصد تشابه توالی با MT319766/1). کد دسترسی این نمونه OM017151 می‌باشد این جدایه از لحاظ میزبانی برای مایکوفلور ایران جدید می‌باشد.



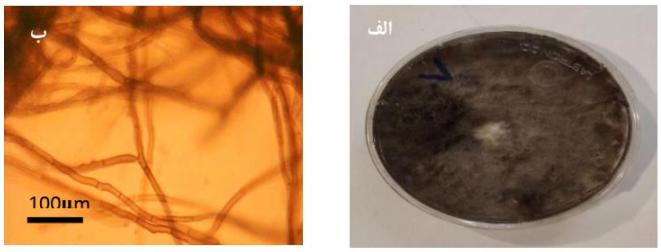
شکل ۷- قارچ اندوفیت Mucor fragilis، الف) توده قارچ روی محیط کشت PDA بعداز ۱۴روز در شرایط تاریکی و ۲۴° سلسیوس، ب) هاگ‌دان کروی، ج) هاگ‌دان و پایه هاگ

Figure 7. *Mucor fragilis* endophytic fungus, a) fungus colony on PDA culture medium after 14 days in dark conditions and 24° Celsius, b) spherical sporangium, c) sporangium and sporangiophore

Neofusicoccum parvum (Pennycook & Samuels) Crous, Slippers & A.J.L. Phillips, in Crous, Slippers, Wingfield, Rheeder, Marasas, Phillips, Alves, Burgess, Barber & Groenewald, Stud. Mycol. 55: 248 (2006)

این جدایه هفت روز پس از کشت نمونه گیاهی از ممرز جدا شد. قطر پرگنه قارچی در محیط کشت PDA پس از ۷ روز به ۵۰ میلی‌متر رسید. پرگنه این قارچ به رنگ خاکستری یکدست و تیره و حالت کرکی داشته، ریسه‌ها در سطح و داخل محیط کشت رشد کردند و دارای ریسه‌های هوایی فراوان بودند. ویژگی ریخت‌شناسی این گونه با گونه شناسایی شده براساس توالی ناحیه ITS در بانک ژن مطابقت داشت. (۱۰۰درصد تشابه توالی با MH 183388/1). کد دسترسی این نمونه OM017148 می‌باشد. پیش از این، جداسازی قارچ مذکور از ایتالیا، چین، یونان و پرتغال گزارش شده است. از میزبان‌های دیگر می‌توان به افرای شبه‌چناری و عود اشاره کرد. این جدایه از لحاظ میزبانی برای مایکوفلور ایران جدید می‌باشد.

[Downloaded from ifej.sanru.ac.ir on 2026-02-01]
[DOR: 20.1001.1.24237140.1402.11.21.6.2]
[DOI: 10.61186/ifej.11.21.62]

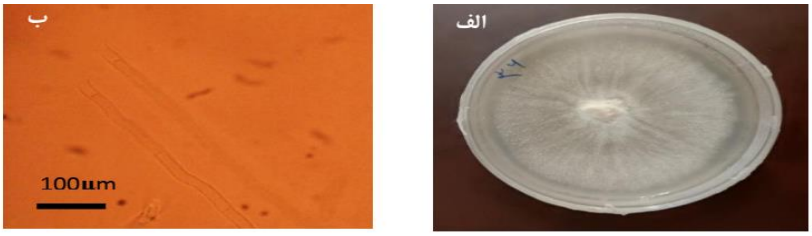


شکل ۸- قارچ اندوفیت *Neofusicoccum parvum* ، الف) توده قارچ روی محیط کشت PDA بعد از ۱۴روز در شرایط تاریکی و ۲۴°
سلسیوس، ب) رشته قارچی دیواره‌دار در قارچ *Neofusicoccum parvum*

Figure 8. *Neofusicoccum parvum* endophytic fungus, a: fungus colony on PDA culture medium after 14 days in the dark and 24° Celsius, b: Walled mycelium in *Neofusicoccum parvum* fungus

Fulvia fulva (Cook) Cif., Atti Ist. bot. Univ. Lab.crittog. Pavia, ser. 510(1): 246(1954)

این جدایه سه روز پس از کشت نمونه گیاهی از ممرز جدا شد. قطر پرگنه قارچی در محیط کشت PDA پس از ۱۰ روز به ۵۳ میلی‌متر رسید. پرگنه این قارچ مسطح با حاشیه کامل، دارای هیف‌های هوایی که تا لبه پتری یکنواخت رشد کرده و کمی حالت متراکم داشتند. هیف‌ها ساده، بی‌رنگ یا سفید مشاهده شدند. ویژگی ریخت‌شناسی این گونه با گونه شناسایی شده بر اساس توالی ناحیه ITS در بانک ژن مطابقت داشت. (۱۰۰ درصد تشابه توالی با OM124921/1). کد دسترسی این نمونه OM124921 می‌باشد پیش از این، جداسازی قارچ مذکور از تانزانیا، هند و استرالیا گزارش شده است. از میزبان‌های دیگر می‌توان به سویا و عدس اشاره کرد. این جدایه از لحاظ میزبانی برای مایکوفلور ایران جدید می‌باشد.



شکل ۹- قارچ اندوفیت *Fulvia fulva* ، الف) توده قارچ روی محیط کشت PDA بعد از ۱۴روز در شرایط تاریکی و ۲۴ °
سلسیوس، ب) رشته قارچی بی‌رنگ در قارچ *Fulvia fulva*

Figure 9. *Fulvia fulva* endophytic fungus, a) fungus colony on PDA culture medium after 14 days in the dark and 24° Celsius, b) colorless mycelium in *Fulvia fulva* fungus

در این بررسی جداسازی قارچ‌های درون‌زی از یک میزبان گیاهی به نام ممرز واقع در جنگل‌های دارابکلا، طبقده، مهدشت و امامزاده زید به‌دست آمد، در مجموع ۹۰ جدایه قارچ حاصل شد و پس از بررسی مقدماتی، ویژگی‌های ریخت‌شناسی جدایه‌ها دسته‌بندی شدند، از بین جدایه‌های خالص‌شده براساس بررسی‌های مقدماتی ریخت‌شناسی، ۳۵ جدایه به نمایندگی انتخاب و مورد مطالعه و رده‌بندی قرار گرفتند و بر اساس منابع و با استفاده از بررسی‌های مولکولی توالی ناحیه ITS4-5.8S-ITS5 شناسایی شدند، در نهایت ۹جنس و گونه شناسایی شدند. در این تحقیق بیشترین فراوانی مربوط به *Diaporthe eres* و کمترین آن مربوط به *Fusarium acuminatum* بود. نتایج به‌دست آمده مشابه تحقیقات گزارش شده توسط برخی محققین می‌باشد، به‌عنوان مثال، نوری و قوستا (۲۲) ۲۸ گونه قارچی درون‌زی متعلق به ۱۶ جنس را از گیاهان دارویی بادرشبو، پونه و نعنافلفلی شناسائی کردند. بر پایه تحقیق قاسمی و همکاران (۹) ۲۳جدایه تریکودرما از بلوط‌سیاه جداسازی و خالص‌سازی شد. در مطالعه‌ای عبداللهی و فتوحی‌فر (۱)۱۰گونه قارچی را به عنوان قارچ‌های‌درون‌زی از درختان گیلاس در ایران شناسایی کردند. در نتیجه تحقیقی سارین و همکاران (۳۱) در زمینه شناسائی ویژگی‌های میکروسکوپی و مولکولی قارچ‌های درون‌زی غده گیاه کوکب سحرخیز براساس تولی ناحیه ITS-rDNA تحقیقات قابل‌توجهی انجام دادند. هیلاری و همکاران (۱۱) در نتیجه پژوهشی در زمینه قارچ‌های درون‌زی قسمت‌های هوائی گیاه *Paepalanthus chiquetensis* تحقیقی انجام دادند که در این تحقیق به جداسازی و شناسائی مولکولی و بررسی فعالیت میکروبی قارچ‌های درون‌زی جدا شده از این گیاه پرداختند. ساهور و همکاران (۳۰) در نتیجه مطالعه‌ای قارچ‌های درون‌زی گیاه راولفیا سرپنتینا را شناسائی کردند و فعالیت ضدباکتریائی آن را بررسی نمودند. در مورد نقش این قارچ‌ها تحقیقات زیادی صورت گرفته است، گزارش‌های متعددی وجود دارد که استفاده از قارچ‌های درون‌زی موجب بهبود عمل‌کرد دانه، افزایش تحمل به سرما و خشکی، مقاومت به بیمارگرهای گیاهی و حشرات گیاه‌خوار شده است. (۲۶،۲۰) همچنین گروهی از قارچ‌های درون‌زی با تولید ترکیبات‌آلی ثانویه که قدرت کشتن یا سرکوب حمله ریزجاندار بیماری‌زا و گیاه‌خوار را دارند از میزبانانشان محافظت می‌کنند (۳۲،۳). حضور ریزجانداران درون‌زی در بافت‌های علفی و چوبی و تمام اندام‌های گیاهی از جمله بافت‌های ریشه، ساقه، شاخه،

[Downloaded from ifej.sanru.ac.ir on 2026-02-01]
[DOR: 20.1001.1.24237140.1402.11.21.6.2]
[DOI: 10.61186/ifej.11.21.62]

پوست، برگ، دم‌برگ، گل، میوه و دانه ثابت شده است (۳۶). بااین حال در تحقیق حاضر، سرشاخه‌ها به این دلیل انتخاب شدند که تجمع قارچ‌ها بیشتر در این قسمت از درخت بوده و نمونه‌گیری از سرشاخه‌ها آسان می‌باشد. قارچ‌های درون‌زی جنگلی از نظر رده‌بندی دارای تنوع بالائی هستند به‌طور کلی می‌توان اظهار داشت جنگل‌ها خصوصا، جنگل‌های استان مازندران به دلیل شرایط آب و هوایی ویژه، از پتانسیل بالائی جهت جداسازی و شناسائی گونه‌های قارچی و همچنین کشف آرایه‌های جدید برخوردار هستند. در شناسائی مولکولی و بررسی تکامل‌نژادی قارچ‌های درون‌زی اغلب از نواحی بین ژن‌های کد کننده زیر- واحدهای ریبوزوم هسته‌ای استفاده می‌شود. در تحقیق حاضر نیز از توالی ناحیه‌ی ITS4 -5.8S-ITS5 جهت شناسایی مولکولی و بررسی تکامل‌نژادی قارچ‌های درون‌زی به‌دست آمده استفاده شد. این ناحیه قادر به تفکیک اغلب گونه‌های قارچی شناسائی شده در سطح گونه بود. این نخستین مطالعه‌ای است که درخت ممرز را میزبان قارچ‌های درون‌زی معرفی می‌کند. نتایج این پژوهش بیان‌گر این مطلب هست که همان‌طور که بعضی از قارچ‌ها به‌عنوان روش کنترل‌زیستی به‌کار گرفته می‌شوند استفاده از این قارچ‌ها و مطالعات بیشتر در این زمینه می‌تواند امکان استفاده عملی و گسترده آن‌ها را فراهم نماید. همچنین باتوجه به این که جدایه‌های مورد استفاده در این تحقیق برای اولین بار از درخت ممرز جداسازی شده‌اند امید است با شناسائی و جمع‌آوری قارچ‌های درون‌زی گوناگون به‌منظور غنی‌تر نمودن بانک ریزجانداران مفید از درختان جنگلی ایران بتوان از پتانسیل‌های بالقوه قارچ‌های درون‌زی در زمینه کشاورزی پایدار استفاده نمود. قارچ‌های درون‌زی تمامی ریزجاندار هایی را شامل می‌شوند که ممکن است قابل کشت و یا غیرقابل کشت باشند ولی در داخل بافت‌های گیاهی ساکن بوده، آسیبی به میزبان وارد نمی‌کنند و ساختارهائی در خارج از میزبان تشکیل نمی‌دهند (۲). برهمکنش بین گیاهان و قارچ‌های درون‌زی آن‌ها بسیار متنوع و پیچیده بوده که به‌صورت یک رابطه هم‌زیستی تعریف می‌شود و نشان‌دهنده یک زنجیره گسترده از تعاملات از هم‌یاری تا انگلی می‌باشد (۲۴،۱۵،۳۷). طبق نتایج اولیه و با استفاده از کلیدهای معتبر قارچ‌شناسی، گونه‌های شناسایی شده مربوط به جنس‌های *Alternaria*، *Aspergillus*، *Botryosphaeria*، *Diaporthe*، *Fusarium*، *Mucor*، *Neofusicoccum* و *Fulvia* بود. در این بررسی، تعداد قارچ‌های جمع‌آوری شده از درختان ممرز جنگل‌های نام‌برده، مورد بررسی قرار گرفت که بیشترین تعداد قارچ‌های درون‌زی از مناطق جنگلی دارابکلا جمع‌آوری شدند. بستر خاک و ترکیب آن به‌عنوان یکی از عناصر اصلی زیست‌بوم خشکی نقش به‌سزایی در ایجاد تنوع و پویایی موجودات زنده دارد. مطالعات تکامل‌نژادی روی توالی ناحیه آی.تی.اس. قارچ‌های درون‌زی نشان داد که بیشترین جدایه‌های به‌دست آمده به‌ترتیب در راسته‌های *Diaportales* (%27)، سپس *Pleosporales* (%20) و درنهایت *Mucorales* (%16) و کمترین جدایه متعلق به راسته *Hypocryales* (%2) بود. خواص ضدقارچی *Neofusicoccum parvum* در برابر پاتوژن‌هایی مانند *Penicillium digitatum* و *Penicillium italicum* بررسی شده که در مهار رشد قارچ‌ها موثر بوده است (۲۳). همچنین خواص ضداکسیدانی، ضدتشنج، ضدمیکروبی و خاصیت ضدالتهابی آن نیز اثبات شده است (۵). همچنین ترکیبات‌آلی ثانویه قارچ *Fusarium sambucinum* به عنوان یک نرم‌کننده برای لاستیک مصنوعی و رزین‌های وینیل، سلولزی و آکریلات (۱۰) و همچنین در برخی از اسباب‌بازی‌های کودکان استفاده می‌شود (۳۵). قدرت بیماری‌زایی بعضی از جدایه‌های این تحقیق مانند *spergillus flavus*، *Mucor fragilis* و *fusarium acuminatum* در پژوهش‌های پیشین اثبات شده است. همچنین قارچ *Fulvia fulva* برای اولین بار در این مطالعه به‌عنوان درون‌زی از درخت ممرز در ایران گزارش می‌شود و آرایه جدیدی برای فلورقارچی ایران می‌باشد. به‌طور کلی و براساس یافته‌های این پژوهش، گونه‌های مختلفی از قارچ‌های درون‌زی از درخت ممرز جداسازی شده اند. فراوانی گونه‌های جمع‌آوری شده، عمدتا به ترتیب مربوط به جنگل‌های دارابکلا، مهدشت، امامزاده زید و در نهایت طبقده بوده و می‌تواند تایید کننده این نکته باشد که زیست‌بوم جنگلی به‌عنوان ذخیره‌گاه بزرگی برای قارچ‌های درون‌زی به‌شمار می‌آیند. این موضوع به‌نوبه خود باعث تقویت زیست‌بوم طبیعی جنگل شده و منجر به افزایش تولید منابعی برای گسترش ترکیبات آلی طبیعی پرکاربرد خواهد شد.کاهش فراوانی گونه‌ای در مزارع زراعی و باغی نشان‌دهنده ساده بودن ریزاقلیم زیست‌بوم کشاورزی نسبت به زیست‌بوم جنگل می‌باشد و نیز به دلیل مصرف بالای آفت‌کش‌های شیمیایی و به‌ویژه قارچ‌کش‌ها در مزارع کشاورزی علیه عوامل بیماری‌زای قارچی، امکان کاهش تعداد گونه‌های درون‌زی موثر از جمله قارچ‌هایی که توانائی کنترل زیستی عوامل بیمارگر را نیز دارند فراهم می‌شود. تحقیقات آینده در رابطه با ارزیابی قدرت کنترل بیمارگری و زهرآگینی عوامل بیماری‌زای گیاهی توسط جدایه‌های قارچی درون‌زی حاصل از گیاهان دیگر، نشان دهنده میزان اهمیت آن‌ها در برنامه‌های کنترل زیستی خواهد بود. باتوجه به بررسی انجام شده و پژوهش‌های گذشته، به‌نظر می‌رسد که جنس‌های مورد مطاله در ایران گستره جغرافیایی وسیعی داشته و همراه با میزبان‌های متفاوتی مشاهده شوند. به‌عنوان مثال تاکنون تعداد محدودی از گونه‌های جنس *Diaporthe* در ایران مورد شناسائی قرار گرفته‌اند، احتمال می‌رود که تعداد بیشتری از این گونه‌ها در ایران موجود باشند که نیازمند تحقیقات وسیع‌تر و نمونه‌برداری‌های گسترده‌تری است. لازم به ذکر است با توجه به منابع موجودی که جداسازی گونه‌های این جنس‌ها را از میزبان‌های مختلف گزارش داده‌اند، جنس‌های مورد مطالعه مختص به درختان جنگلی نبوده و ممکن است همراه با گیاهان دیگر نیز مشاهده گردند. همچنین وجود صفات کلیدی مشابه مانند عدم تولید هاگ در بین گونه‌ها و حتی جنس‌ها الزام به مطالعات مولکولی و بررسی ترکیبات آلی را افزایش می‌دهد تا در نتیجه بتوان مرز مشخصی بین جنس‌ها و حتی‌الامکان گونه‌ها را در نظر گرفت.

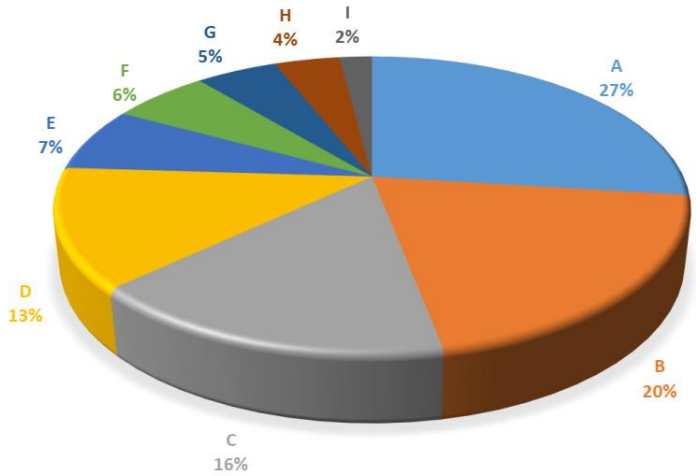
[Downloaded from ifej.sanru.ac.ir on 2026-02-01]
[DOR: 20.1001.1.24237140.1402.11.21.6.2]
[DOI: 10.61186/ifej.11.21.62]

به‌طور کلی نتایج حاصل از این پژوهش مشخص نمود که نواحی ITS rDNA کارایی قابل‌قبولی در شناسائی و تعیین موقعیت رده‌بندی قارچ‌های درون‌زی دارد که می‌تواند در کنار ریخت‌شناسی، به‌عنوان یک روش سریع و قابل اعتماد برای شناسائی تمام قارچ‌های درون‌زی به‌کار رود. همچنین می‌توان اظهار داشت که تنوع پوشش گیاهی به‌خصوص در جنگل‌های استان مازندران به دلیل شرایط آب و هوایی ویژه از پتانسیل بالائی جهت شناسائی و کشف آرایه‌های جدید قارچی برخوردار است. در شناسائی مولکولی و بررسی تکامل نژادی قارچ‌های درون‌زی، اغلب از نواحی بین ژن‌های کد کننده زیرواحدهای ریبوزوم هسته‌ای(ITS rDNA) استفاده می‌شود (۲). در تحقیق حاضر نیز از توالی ITS4 -5.8S- ITS5 جهت شناسائی مولکولی و بررسی فیلوژنی قارچ‌های درون‌زی به‌دست آمده استفاده شد. این ناحیه قادر به تفکیک اغلب گونه‌های قارچی شناسائی شده در سطح گونه بود. در این تحقیق گونه‌های *Alternaria alternata* و *Aspergillus flavus* با داشتن هاگ و هاگ‌دان و گونه *Mucor fragilis* با داشتن هاگ‌دان و پایه‌هاگ از سایر گونه‌ها متمایز می‌شوند. بنابراین اغلب گونه‌های قارچی شناسائی شده در این تحقیق بر اساس مطالعه مولکولی مبتنی بر توالی نوکلئوتیدی نواحی ITS در کنار جدایه‌های گونه‌های مربوطه قرار گرفتند که تایید کننده شناسائی ریخت‌شناسی گونه‌ها می‌باشد.

توصیه و پیشنهاد تحقیقاتی که در این باره مطرح می‌شود این است که از آنجایی که قارچ‌های درون‌زی به‌دلیل تولید طیف گسترده‌ای از ترکیبات فعال زیستی نقش مهمی در زندگی موجودات زنده و سلامت انسان دارند، از قارچ‌های درون‌زی به‌طور بالقوه می‌توان به‌عنوان ماده تلقیح کننده تجاری آلی و کنترل‌زیستی گیاهان زراعی که در شرایط تنش طبیعی و غیرطبیعی برای کشاورزی و محیط زیست پایدار و استفاده در صنعت داروسازی و پزشکی به‌کار برده می‌شوند استفاده کرد. لذا گسترش کارهای تحقیقاتی در این زمینه اهمیت دارد.

جدول۱- فهرست گونه‌های قارچی اندوفیت جداسازی شده از درختان ممرز در جنگل‌های ساری
Table 1. The list of endophytic fungal species isolated from hornbeam trees in Sari forests

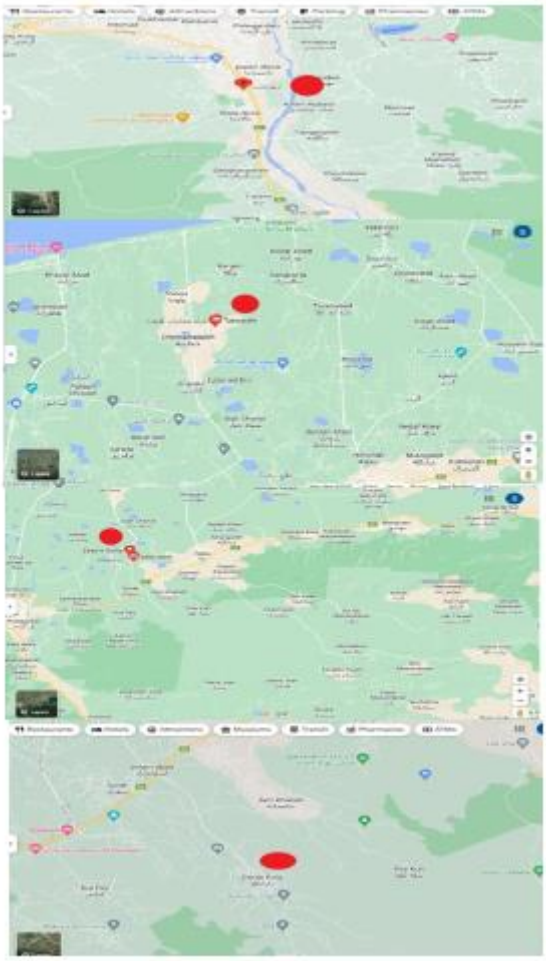
ردیف Row	نام قارچ Taxon name	کد دسترسی از بانک ژن GenBank accession no.	میزبان Host	محل جمع‌آوری Origin
1	*Alternaria alternata*	OM117707	*Carpinus betulus*	Mahdasht مهدشت
2	*Aspergillus flavus*	OM488258	*Carpinus betulus*	Mahdasht مهدشت
3	*Botryosphaeria dothidea*	OM141395	*Carpinus betulus*	Tabaghdeh طبقده
4	*Diaporthe eres*	OM131770	*Carpinus betulus*	Darabkola دارابکلا
5	*Fulvia fulva*	OM124921	*Carpinus betulus*	Emamzadeh zeisd امامزاده زید
6	*Fusarium acuminatum*	OM131729	*Carpinus betulus*	Darabkola دارابکلا
7	*Fusarium sambucinum*	OM142129	*Carpinus betulus*	Emamzadeh zeisd امامزاده زید
8	*Mucor fragilis*	OM017151	*Carpinus betulus*	Emamzadeh zeisd امامزاده زید
9	*Neofusicoccum parvum*	OM017148	*Carpinus betulus*	Mahdasht مهدشت



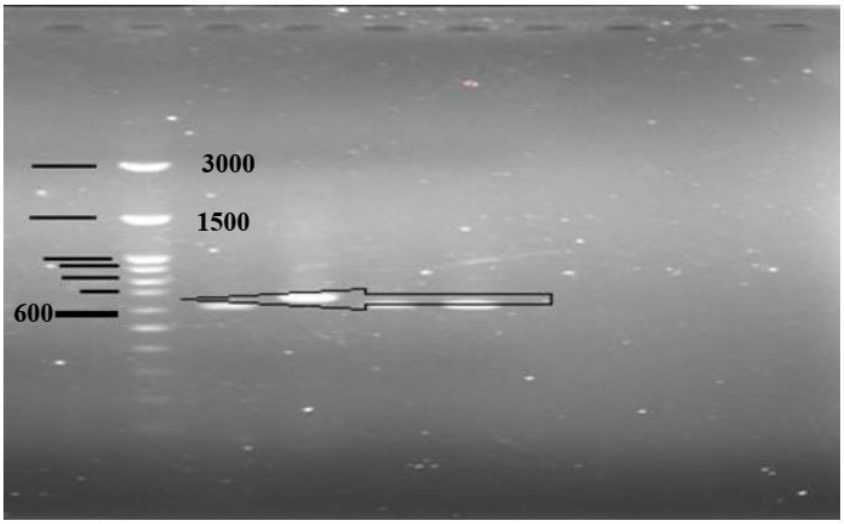
شکل ۱۰- درصد فراوانی قارچ‌های شناسایی شده از درختان ممرز در جنگل‌های ساری
Figure 10. The percentage of fungi identified from hornbeam trees in Sari forests

A: *Diaporthe eres*
B: *Alternaria alternata*
C: *Mucor fragilis*
D: *Aspergillus flavus*
E: *Neofusicoccum parvum*
F: *Botryosphaeria dothidea*
G: *Fulvia fulva*
H: *Fusarium sambucinum*
I: *Fusarium acuminatum*

[Downloaded from ifej.sanru.ac.ir on 2026-02-01]
[DOR: 20.1001.1.24237140.1402.11.21.6.2]
[DOI: 10.61186/ifej.11.21.62]



شکل ۱۱- موقعیت جغرافیایی منطقه مورد مطالعه
Figure 11. Geographical location of the studied area



شکل ۱۲- تعدادی از باندهای تشکیل شده از محصول PCR روی ژل آگارز ۱/۵ درصد
برای نشان دادن اندازه‌ی قطعات تکثیر شده در PCR از ladder ۳۰۰۰-۱۰۰ جفت بازی استفاده شد.
Figure 12. A number of bands formed from the PCR product on 1.5% agarose gel A ladder of 100-3000 bp was used to show the size of amplified fragments in PCR

[Downloaded from ifej.sanru.ac.ir on 2026-02-01]
[DOR: 20.1001.1.24237140.1402.11.21.6.2]
[DOI: 10.61186/ifej.11.21.62]

جدول ۲- توالی پرایمرهای مورد استفاده

Table 2. Sequence of primers used

آغازگرها Primers	توالی‌ها sequences	دمای اتصال Junction temperature
ITS4	ITS4:5' TCCTCCGCTTATTGATATGC 3'	58 ^{o} C
ITS5	ITS5:5'GGAAGTAAAAGTCGTAACAAGG 3'	58 ^{o} C

منابع

1. Abdollahi Aghdam, SH. and KH. Berdi Fotouhifar. 2018. Introduction of some endophytic fungi of cherry trees in Iran. Iranian plant protection knowledge, 48: 43-57.
2. Azevedo, J.L. and W.L. Araujo. 2007. Diversity and applications of endophytic fungi isolated from tropical plants. In: b.n ganguli and S.K deshmukh fungi: multifaceted microbes. Crc press, boca, raton, 189-207 pp.
3. Carroll, GC. 1988. Fungal endophytes in stems and leaves: from latent pathogens to mutualistic symbiont. Ecology, 69: 2-9.
4. Daneh Kar, A. and B. Mahmoodi. 2012. Forestry principles and standards. In: Mirzaei Molla Ahmad, R. and A. Hasani (eds.) Forestry principles. Publications of Institute of Applied Scientific Higher Education of Jihad Agriculture, Tehran, IRAN. 61 pp.,
5. Deb, D.D., G. Parimala, S.S. Devi and T. Chakraborty. 2011. Effect of thymol on peripheral blood mononuclear cell PBMC and acute promyelotic cancer cell line HL-60. Chem BiolInteract, 193: 97-106.
6. Dirr, M.A. 1978. Hornbeams choice plants for American gardens. Am. Nurserym, 148: 10-11.
7. Douanla Meli, C., E. Langer, F.T. Mouafo. 2013. Fungal endophyte diversity and community patterns in healthy and yellowing leaves of Citrus Limon. Fungal Ecology, 6(3): 212-222.
8. Fares, S., G.S. Mugnozza, P. Corona and M. Palahí. 2015. Sustainability: Five steps for managing Europe's forests. Nature, 519(7544): 407-409.
9. Ghasemi Esfahlan, S., M. Arzanlou and A. Babai Ahari. 2018. Identification of trichoderma endophytic species of oak trees in Arasbaran forests using morphological and molecular criteria. Applied research in phytomedicine, 6(3): 53-66.
10. Hazardous Substance Data Bank (HSDB). 2009. Diisooctyl phthalate. National Library of Medicine HSDB Database.
11. Hilario, F., V.M. Chapla, A.R. Araujo, P.T. Sano, T.M. Bauab and L.C. Santos. 2017. Antimicrobial screening of endiphytic fungi isolated from the aerial parts of *paepalanthus chiquitensis* led to the isolation of Secondary metabolites produced by *fusarium fujikuroi*. Journal of the Brazilian chemical society, 28(8): 2011-2016.
12. Hirgani, M., M. Hojjati, M. Pourmajidian and Y. Kooch. 2021. The effect of beech and Myrtle canopy combinations on soil biological characteristics in Hyrkani region, Journal of Wood and Forest Science and Technology Research, Gorgan University of Agricultural Sciences and Natural Resources, 28(2): 107-122.
13. Hofmann, T., E. Nebehaj, L. Albert. 2016. Antioxidant properties and detailed polyphenol profiling of European hornbeam (*Carpinus betulus L.*) leaves by multiple antioxidant capacityassays and high-performance liquid chromatography/multistage electrospray mass spectrometry. Ind, 87: 340-349
14. Hoseini, SH., H. Ghaffarzadeh, Z. Abedi and N. Shiri. 2012. Investigating the phenomenon of climate change and its impact on natural land use in the Gorganrood watershed. Journal of Natural Environment, Iran's Natural Resources, 6: 25-39.
15. Hu, M.Y., G.H. Zhong, Z.T. Sun, G. Shi, H.M, Liu and X.Q. Liu. 2005. Insecticidal Activities of secondary metabolites of endophytic *pencillium sp*. In *Derris elliptica* Benth. Journal of Applied Entomology, 129: 413-417.
16. Hyde, K.D. and K. Soytong. 2008. The fungal endophyte dilemma.Fungal Diversity, 33:163-173.
17. Jam Ashkezari, S.J. and K.B. Fotouhifar. 2017. Diversity of endophytic fungi of common yew (*Taxus baccata* L.) in Iran. Mycological progress, 3(16): 247-256.
18. Lindenmayer, D.B., W.F. Laurance and J.F. Franklin. 2012. Global decline in large old trees. Science, 338: 1305-1306.
19. Liu, A.R., S.C. Chen, X.M. Lin, S.Y. WU, T. XU, F.M. Cai and R. Jeewon. 2010. Endophytic pestalotiopsis species associated with plants of *palmae, rhizophoraceae, planchonellae* and *podocarpaceae* in Hainan, china. African Journal of Microbiology Research, 4: 2661-2669.
20. Mejía, L.C. 2008. Endophytic fungi as biocontrol agents of *Theobroma cacao* pathogens. Biological Control, 46:4-4.
21. Moeller, E.M., G. Bahnweg, H. Sandermann, H.H. Geiger. 1992. A simple andefficient protocol for isolation of high molecular weight DNA from filamentous fungi, fruit bodies, and infected plant tissues. Nucleic Acids Research, 22: 6115-6116.
22. Noori Ghandouk, M. and Y. Ghosta. 2017. Isolation and Identification of Endophytic Fungi of Badershbo, Peppermint and Peppermint in Urmia, M.Sc. Thesis, Faculty of Agriculture, Urmia University.

[Downloaded from ifej.sanru.ac.ir on 2026-02-01]
[DOR: 20.1001.1.24237140.1402.11.21.6.2]
[DOI: 10.61186/ifej.11.21.62]

23. Pe´rez-Alfonso, C., D. Martı´nez-Romero, P. Zapata, M. Serrano, D. Valero and S. Castillo. 2012. The effects of essential oils carvacrol and thymolon growth of *Penicillium digitatum* and *P. italicum* involved in lemon decay. Int J Food Microbiol, 158: 101-106.
24. Puri, S.C., V. Verma, T. Amna, G.N. Qazi and M. Spiteller. 2005. An endophytic fungus from nothapodytes foetida that produces camptothecin. Journal Of Naturalproducts, 68: 1717-1719
25. Rasouli, F. 2018. Isolation and identification of endophytic fungi from some forest plants of talesh area, Ms Thesis, Sari Agricultural Sciences and Natural Resources Universitry, Sari, Iran. 129 pp (In Persian).
26. Rodriguez, R.J., JF.Jr. White, A.E. Arnold and R.S. Redman. 2009. Fungal endophytes: diversity and functional roles. The New Phytologist, 182:314-330, doi:10.1111/j.1469-8137.2009,02773x.
27. Rouhi Moghadam, A.M., A. Hoseini, M. Rahmani and A. Tabari Ebrahimi. 2012. The process of feeding and returning elements Food in the pure and mixed forestry of Bolandmazo (Case study: Chamestan Noor downstream forests). Scientific-Research Quarterly Journal of Forest and Spruce Research in Iran, 20(2): 256-272.
28. Sabeti, H. 2006. In: Sabeti, H. (ed.) Forests, trees and shrubs of Iran. 195-196 PP., Publications of Yazd University, Yazd, IRAN.
29. Sagheb Talebi, Kh., T. Sajedi and M. Pourhashemi. 2014. Forests of Iran: A Treasure from the Past, A Hope for the Future. Springer, 152 p.
30. Sahur, R., S. kumar, R.R. Aharwal and S. Sandhu. 2016. Antbacterial activity of isolated endophytic fungi from rauvolfia serpentine benth. Exkurz. International journal of pharmacy and pharmaceutical sciences, 8(11): 38-42.
31. Saryono, S., S. Rakhmana, F. Rahayu, A. Ardhi, N.W. Rusli Pratiwi and T.T. Nugroho.2017. Molecular identification of endophytic fungi isolated from the tuber of dahlia variabilis and exploration of their Ability in producing β galactosidas. Biodaiversitas, 18(1): 145-152.
32. Schulz, B., C. Boyle, S. Draeger, A.K. Römmert and K. Krohn. 2002. Endophytic fungi: a source of novel biologically Active secondary metabolites. Mycol Res, 106: 996-1004.
33. Schulz, B. and C. Boyle. 2005. The endophytic continuum. Mycological Research, 109: 661-686.
34. Sikkema, R., G. Caudullo and D.D. Rigo. 2016. Carpinus betulus in Europe: Distribution, habitat, usage and threats. In European Atlas of Forest Tree Species; Publications Office of the European Union: Luxembourg, 73-75 pp.
35. Stringer, R., I. Labunska, D. Santillo, P. Johnston, J. Siddorn and A. Stephenson. 2000. Concentrations of phthalate esters and identification of other additives in PVC children's toys. *Environ. Sci. Pollut Res. Int*, **7**:27-36.
36. Surette, M.A., A.V. Sturz, R.R. Lada and J. Nowak. 2003. Bacterial endophytes in processing carrots (*Daucus carota* L. var. *sativus*): their localization, population density, Biodiversity and their effects on plant growth. *Plant Soil*, 253: 381-390.
37. Weber, D. 2009. Endophytic fungi occurrence and metabolites in anke t& weber d. (eds) the Mycota. vol xv physiology and genetics selected basis and applied aspects springer verlag berlin Germany pp, 153-195.
38. White, T.J., T. Bruns, S. Lee and J. Taylor. 1990. Amplification and direct sequencing of fungal ribosomal RNA genes for phylogenetics. PCR protocols: a guide to Methodsand Applications, 18: 315-3.
39. Zhang, M.F., X. Wei, P. Sun and S. Liu. 2012. The effect of forest harvesting andclimatic variability on runoff in a large watershed: The case study in the Upper Minjiang River of Yangtze River basin. Journal of Hydrology, 464: 1-11.

[Downloaded from ifej.sanru.ac.ir on 2026-02-01]
[DOR: 20.1001.1.24237140.1402.11.21.6.2]
[DOI: 10.61186/ifej.11.21.62]

OPEN ACCESS

Isolation and Identification of Endophytic Fungi of Beech Trees from some Forests in the Suburbs of Sari

Shiva Zandi[1], Saeed Rezaee[2], Mohammad Ali Tajick Ghanbari[3] and Mohammad Ali Ebrahimzadeh[4]

1- Ph.D. student, Department of Plant Protection, Faculty of Agricultural Sciences and Food Industries, Science and Research Branch, Islamic Azad University, Tehran, Iran
2-Assistant Professor, Department of Plant Protection, Faculty of Agricultural Sciences and Food Industries, Science and Research Branch, Islamic Azad University, Tehran, Iran
3- Associate Professor, Department of Plant Protection, Faculty of Agricultural Sciences, Agricultural Sciences and Natural Resources University, Sari, Iran
4- Professor, Department of Pharmaceutical Chemistry, Faculty of Pharmacy, Mazandaran University of Medical Sciences, Sari, Iran

Received: 8 Jun, 2022 Accepted: 26 February, 2023

Extended Abstract

Introduction and Objective: Endophytic fungi are fungi that are present in plant tissue at the time of sampling without obvious symptoms. There are several reports that the use of endophytic fungi improves grain yield, increases cold and drought tolerance, resistance to plant pathogens and herbivorous insects. Therefore, these fungi can be used as a biocontrol agent in the protection of crops. Endophytic fungi are a rich source of active metabolites that have the potential to be used in medicine, agriculture, and industry, so this study was conducted to isolate endophytic fungi from hornbeam trees and their morphological and molecular identification from the forests of Sari.

Material and Methods: In this study, to identify endophytic fungi from healthy branches of hornbeam trees during autumn 2019 and summer and autumn 2020 of the forests of Sari city were sampled. In the laboratory, each branch sample was kept for 24 months at 24 ° C and continuous darkness after disinfection and culture on PDA medium. Morphological features and sequencing of the ITS region were performed to confirm the morphological identification and sequencing of the relevant dendrogram using version 7.1 of Bioedit software.

Results: In this study, 9 genera and species were identified. Fungal species includ:
Alternaria alternata (OM117707), *Aspergillus flavus* (OM488258), *Botryosphaeria dothidea* (OM141395), *Diaporthe eres* (OM131770), *Fusarium acuminatum*(OM131729),*Fusarium sambucinum* (OM142129),*Mucor fragilis* (OM017151), *Neofusicuccum parvum* (OM017148), *Fulvia fulva* (OM124921).

Conclusion: In general, the aim of this research was to identify the fungal endophytes of Beech trees based on morphological and molecular data from the forests of Mahdasht, Tabaghdeh, Darabkala and Imamzadeh Zaid Sari located in Mazandaran province.

Keywords: Diversity, Endophyte, Forest, ITS, Morphology, Woody trees

[Downloaded from ifej.sanru.ac.ir on 2026-02-01]

[DOR: 20.1001.1.24237140.1402.11.21.6.2]

[DOI: 10.61186/ifej.11.21.62]