



Evaluation of total phenolic and flavonoid content in some endophytic fungi of Damask Rose (*Rosa damascena* Mill.) in Iran

Omid Atghia¹, Khalil-Berdi Fotouhifar^{2✉}, Mohsen Farzaneh³,
Mohammad Javan-Nikkhah⁴

1. Department of Plant Protection, Faculty of Agriculture, College of Agriculture and Natural Resources, University of Tehran, Karaj, Iran, E-mail: omidatghia@yahoo.com
2. Corresponding Author, Department of Plant Protection, Faculty of Agriculture, College of Agriculture and Natural Resources, University of Tehran, Karaj, Iran. E-mail: fotowhi@ut.ac.ir
3. Department of Medicinal Plants and Drugs Research Institute, Shahid Beheshti University, Tehran, Iran. E-mail: m_farzaneh60@yahoo.com
4. Department of Plant Protection, Faculty of Agriculture, College of Agriculture and Natural Resources, University of Tehran, Karaj, Iran. E-mail: jnikkhah@ut.ac.ir

Article Info	ABSTRACT
Article type: Research Article	In order to identification of endophytic fungi of damask rose (<i>Rosa damascena</i>) in Iran, sampling was done during the years 2017 and 2018 from healthy branches and leaves in the provinces of East Azerbaijan, West Azerbaijan, Isfahan, Alborz, Khorasan Razavi, Zanjan, Kerman, Kermanshah, Mazandaran, and Yazd. A total of 58 fungal isolates were identified using the morphological characteristics and molecular analysis based on ITS-rDNA regions and part of the <i>tef1-α</i> gene. In this study, <i>Fusarium globosum</i> , <i>Sarocladium kiliense</i> , <i>Colletotrichum karsti</i> , <i>Lophotrichus ampulus</i> , <i>Ascotricha chartarum</i> , <i>Hyphodontia setulosa</i> , and <i>Kalmusia variispora</i> were identified. The taxa obtained in this research are reported for the first time in the world as endophytic fungi from the damask rose. <i>Lophotrichus ampullus</i> is a new taxon for the funga of Iran. The pathogenicity test of the selected isolates was performed on the seedlings obtained from tissue culture of the rose by creating wounds on the branch. Evaluation of the results after 25 days showed that the isolates used on this plant are not pathogenic. The screening of endophytic fungal isolates was done based on the amount of total phenolics and flavonoids production in the culture medium using a spectrophotometric method. The results showed that the two isolates, Rd45 (<i>L. ampullus</i>) and Rd393 (<i>K. variispora</i>), have the highest and lowest amount of total flavonoids, respectively. In addition, two isolates, Rd36 (<i>H. setulosa</i>) and Rd45, also produced the highest and lowest amount of total phenol, respectively.
Article history: Received: 14 December 2024 Revised: 28 July 2025 Accepted: 4 August 2025 Published online: Autumn and Winter 2024	
Keywords: <i>secondary metabolite,</i> <i>taxon,</i> <i>morphology,</i> <i>spectrophotometry,</i> <i>molecular phylogeny.</i>	
Cite this article: Atghia, O., Fotouhifar, Kh.-B., Farzaneh, M. & Javan-Nikkhah, M. (2024). Evaluation of total phenolic and flavonoid content in some endophytic fungi of Damask Rose (<i>Rosa damascena</i> Mill.) in Iran. <i>Iranian Journal of Plant Protection Science</i> , 55 (2), 439-465. DOI: https://doi.org/10.22059/ijpps.2025.387024.1007070	
© The Author(s). DOI: https://doi.org/10.22059/ijpps.2025.387024.1007070	
	Publisher: The University of Tehran Press.

Extended Abstract

Introduction

The genus *Rosa* belongs to the *Rosaceae* family, including over 200 species. Among them, *Rosa damascena* Mill. is a unique species used in health, pharmaceutical, and food industries. Endophytes are a wide range of plant pathogenic and saprophytic fungi that have a long latent period before the onset of external symptoms, which are necessary for the establishment of a symbiotic relationship. Many endophytes have the potential to synthesize various bioactive metabolites such as alkaloids, terpenoids, phenolics, quinines, flavonoids, and steroids. So far, no study has been conducted on the identification of endophytic fungi of the Damask rose plant, nor on the investigation of total phenolic and flavonoid content produced by its endophytic fungi in Iran. Therefore, the current research can provide new information in this field.

Materials and Methods

To isolate and identification of endophytic fungi of Damask rose in Iran, during the autumn of 2016 and 2017, some specimens from healthy twigs and leaves of the bushes were collected from East Azerbaijan, West Azerbaijan, Isfahan, Alborz, Khorasan Razavi, Zanjan, Kerman, Kermanshah, Mazandaran, and Yazd Provinces. After washing with running tap water for 15 min and four and five times with sterile distilled water, plant materials surface sterilized with 70% ethanol for 1 min, 2% sodium hypochlorite solution for 1 min for leaves and 3 min for twigs, then rinsing with sterile distilled water for 1 min and 70% ethanol for 1 min, followed by final rinsing with sterile distilled water for 1 min. Plant materials were cut into small pieces after drying and were placed onto the 2% WA amended with chloramphenicol, gentamicin, and were kept at 25°C in continuous dark conditions for 7-40 days. Fungal isolates were purified using the hyphal tip method. isolates were grouped according to the major morphological and cultural characteristics. The molecular analysis was performed based on nucleotide sequences of ITS-rDNA and *tef1-α* genomic regions. The pathogenicity test of the selected isolates was performed on the seedlings obtained from the tissue culture of the Damask rose by creating a wound on the branch (branch inoculation). PDA plugs from 14-day-old cultures were placed on the wounds and then were wrapped with parafilm to prevent desiccation. Fresh Agar plugs without fungal mycelium were used as control treatments. The selected endophytic fungi were grown on PDA culture medium, and after seven days, one to three mycelial plugs were transferred into the potato dextrose broth (PDB) culture medium. The inoculated culture media were kept at 25 °C to 27 °C for 14 days inside the shaker incubator at the speed of 120 rpm. Screening of fungal isolates was done based on the production of phenolic acids (total phenolics) and flavonoids in the culture medium using the spectrophotometry method. Statistical analysis was done using the SAS software version 9.4.

Results and Discussion

A total of 58 fungal isolates were recovered from the Damask rose. Based on the morphological characteristics and molecular analysis of ITS-rDNA and *tef1-α* genomic sequences, *Fusarium globosum*, *Sarocladium kiliense*, *Colletotrichum karsti*, *Lophotrichus ampullus*, *Ascotricha chartarum*, *Hyphodontia setulosa*, and *Kalmusia variispora* were isolated and identified. The evaluation of the symptoms on the branches after 25 days from inoculation proved that the isolates are non-infectious on the Damask rose plants. The screening of endophytic fungal isolates was done based on the production of phenolic acids (total phenolics) and flavonoids in the culture medium using the spectrophotometry method. After analyzing the obtained results, it was found that the two isolates, Rd45 (*L. ampullus*) and Rd393 (*K. variispora*), have the highest and lowest amount of total flavonoids, respectively. In addition, two isolates, Rd36 (*H. setulosa*) and Rd45, also produced the highest and lowest amount of total phenolics, respectively.

Conclusion

Since endophytic fungi are potential sources of various phenolic and flavonoid compounds, the present study aims to identify endophytic fungi of Damask rose plants. The findings of this investigation showed that all identified taxa are new endophytic fungi of the Damask rose in the world. This study is the first report of *L. ampullus* for fungi of Iran. In the present study, a large number of endophytic fungal isolates were recovered, which could produce phenolic and flavonoid compounds.



محتوای فنل و فلاونوئید کل در برخی قارچ‌های درون‌رست گیاه گل محمدی در ایران

امیداتقیا^۱ | خلیل‌پردی فتوحی^۲ | محسن فرزانه^۳ | محمد جوان نیکخواه^۴

۱. گروه گیاه‌پزشکی، دانشکده کشاورزی، دانشکدگان کشاورزی و منابع طبیعی، دانشگاه تهران، کرج، ایران. رایانامه: omidatghia@yahoo.com
 ۲. نویسنده مسئول، گروه گیاه‌پزشکی، دانشکده کشاورزی، دانشکدگان کشاورزی و منابع طبیعی، دانشگاه تهران، کرج، ایران. رایانامه: fotowhi@ut.ac.ir
 ۳. پژوهشکده گیاهان و مواد اولیه دارویی، دانشگاه شهید بهشتی، تهران. رایانامه: m_farzaneh60@yahoo.com
 ۴. گروه گیاه‌پزشکی، دانشکده کشاورزی، دانشکدگان کشاورزی و منابع طبیعی، دانشگاه تهران، کرج، ایران. رایانامه: jnikkhah@ut.ac.ir

اطلاعات مقاله	چکیده
نوع مقاله: مقاله پژوهشی تاریخ دریافت: ۱۴۰۳/۰۹/۲۴ تاریخ بازنگری: ۱۴۰۴/۰۵/۰۶ تاریخ پذیرش: ۱۴۰۳/۱۰/۲۹ تاریخ انتشار: پاییز و زمستان ۱۴۰۳ کلیدواژه‌ها: متابولیت ثانویه، آرایه، ریخت‌شناسی، اسپکتروفتومتر، واکاوی تبارزایی.	جهت شناسایی قارچ‌های درون‌رست گیاه گل محمدی (<i>Rosa damascena</i>) در ایران، نمونه‌برداری در طی سال‌های ۱۳۹۶ و ۱۳۹۷ از شاخه‌ها و برگ‌های سالم در استان‌های آذربایجان شرقی، آذربایجان غربی، اصفهان، البرز، خراسان رضوی، زنجان، کرمان، کرمانشاه، مازندران و یزد انجام گرفت. در مجموع، ۵۸ جدایه قارچی بر اساس ویژگی‌های ریخت‌شناختی و واکاوی مولکولی مبتنی بر نواحی ITS-rDNA و بخش از ژن <i>tef1-α</i> مورد شناسایی قرار گرفتند. در این مطالعه گونه‌های <i>Fusarium globosum</i>، <i>Sarocladium</i>، <i>Ascotricha chartarum</i>، <i>Lophotrichus ampullus</i>، <i>Colletotrichum karsti</i>، <i>kiliense</i> و <i>Hyphodontia setulosa</i> و <i>Kalmusia variispora</i> شناسایی شدند. آرایه‌های به دست آمده در این پژوهش برای نخستین بار به عنوان قارچ درون‌رست از گیاه گل محمدی در دنیا گزارش می‌شوند. گونه <i>L. ampullus</i> آرایه جدیدی برای فلور قارچی ایران است. آزمون بیماری‌زایی جدایه‌های منتخب روی نهال‌های حاصل از کشت بافت گل محمدی با ایجاد زخم روی شاخه انجام شد. ارزیابی نتایج پس از ۲۵ روز نشان داد که جدایه‌های استفاده شده روی این گیاه بیماری‌زا نمی‌باشند. غربال جدایه‌های قارچی درون‌رست بر اساس میزان تولید فنل و فلاونوئید کل در محیط کشت با استفاده از اسپکتروفتومتر انجام شد. نتایج نشان داد که دو جدایه <i>(L. ampullus)</i> Rd45 و <i>(K. variispora)</i> Rd393 به ترتیب دارای بیشترین و کمترین میزان فلاونوئید کل می‌باشند. علاوه بر این، دو جدایه <i>(H. setulosa)</i> Rd36 و Rd45 نیز به ترتیب بیشترین و کمترین میزان فنل کل را تولید کردند.

استناد: اتقیا، امید؛ فتوحی، فر، خلیل‌پردی؛ فرزانه، محسن و جوان نیکخواه، محمد (۱۴۰۳). محتوای فنل و فلاونوئید کل در برخی قارچ‌های درون‌رست گیاه گل محمدی در ایران. نشریه دانش گیاهپزشکی ایران، ۵۵ (۲)، ۴۶۵-۴۳۹. DOI: <https://doi.org/10.22059/ijpps.2025.387024.1007070>



© نویسندگان.

DOI: <https://doi.org/10.22059/ijpps.2025.387024.1007070>

ناشر: مؤسسه انتشارات دانشگاه تهران.

مقدمه

حدود ۲۰۰ گونه گیاهی در تیره گل سرخیان (*Rosaceae*) وجود دارد که تعداد معدودی از آن‌ها دارای مواد فرار و عطری هستند و می‌توانند در تهیه اسانس مورد استفاده قرار گیرند. جنس *Rosa* یکی از جنس‌های شناخته شده در تیره گل سرخیان و زیر تیره *Rosoideae* است که دارای بیش از ۲۰۰ گونه و ۱۸۰۰۰ رقم می‌باشد (Gudin, 2000). رز محبوب ترین گیاه باغی است که بسیار زیاد کاشته می‌شود (Wylie, 1995). یکی از قدیمی‌ترین گیاهان تیره گل سرخیان، گل محمدی (*Rosa damascena* Mill.) است که استفاده از آن به سال‌های دور بر می‌گردد و اسانس آن در صنایع بهداشتی، دارویی و غذایی استفاده می‌شود (Rusanov et al., 2009). این گیاه در گذشته به صورت وحشی رشد می‌کرد و هنوز هم به صورت خودرو در قفقاز، سوریه، مراکش و اسپانیا دیده می‌شود (Beales et al., 1998; Rusanov et al., 2005). منشأ این گیاه هنوز مشخص نیست، ولی اکثراً مبداء آن را کشورهای بلغارستان، ایران، ترکیه و هند می‌دانند. در مجموع به نظر می‌رسد که گل محمدی نیز مانند سایر گونه‌های رز از خاورمیانه به کشورهای اروپایی منتقل شده است (Saakov & Rieksta, 1973). گل محمدی نوعی دورگه حاصل از گونه‌های *R. canina* × *R. gallica* است. ولی در پژوهشی که در کشور ژاپن انجام شده است، سه گونه *R. moschata*، *R. gallica* و *R. fedschenkoana* به عنوان والدین گیاه گل محمدی معرفی شده است (Gault & Synge, 1971). مجموع سطح زیر کشت گل محمدی در کشور ۲۶۲۲۹ هکتار، میزان تولید گل محمدی ۴۸۷۲۶ تن و عملکرد گل محمدی در کشت آبی ۲۵۹۱۴ کیلوگرم در هکتار و در کشت دیم ۱۳۴۵۹ کیلوگرم در هکتار می‌باشد. مناطق عمده کشت گل محمدی در ایران استان‌های فارس (۸۳۲۲ هکتار)، کرمان (۴۳۰۰ هکتار)، اصفهان (۳۶۴۲ هکتار)، خراسان رضوی (۱۷۱۰ هکتار) و آذربایجان شرقی (۱۳۴۷ هکتار) می‌باشد. این استان‌ها به ترتیب مقام‌های اول تا پنجم سطح زیرکشت گل محمدی را در ایران به خود اختصاص داده اند (احمدی، ۱۳۹۹). محصول عمده گل محمدی شامل اسانس، کانکریت، ابسولوت، عطر، گلاب، گلبرگ و غنچه خشک می‌باشد. در ایران از گل‌های تازه گل محمدی به روش‌های مختلف اسانس، عطر و گلاب استخراج می‌شود. بسیاری از فعالان در عرصه صنایع عطرسازی اسانس گل محمدی را مهم‌ترین ماده اولیه صنایع می‌دانند. همچنین از این گیاه در داروسازی و فرآورده‌های بهداشتی و آرایشی استفاده می‌کنند (ثابتی، ۱۳۹۴).

قارچ‌های درون‌رست میکروارگانیسم‌هایی هستند که در بافت‌های زنده گیاهان مختلف وجود دارند. قارچ‌های درون‌رست واقعی ارتباط دو طرفه با گیاهان دارند و بیماری ایجاد نمی‌کنند و منبع غنی از متابولیت‌های فعال هستند که قابلیت استفاده از این متابولیت‌ها در پزشکی، کشاورزی و صنعت وجود دارد (Tan & Zou, 2001; Strobel, 2003; Maria et al., 2005). درون‌رست‌ها دامنه وسیعی از قارچ‌های بیمارگر گیاهی و پوده رست را شامل می‌شوند که دارای دوره نهفتگی طولانی قبل از ظهور علائم خارجی بیماری هستند که برای برقراری رابطه همزیستی ضروری است. بنابراین، تشخیص و تمایز قارچ‌های بیمارگر گیاهی و همزیست از هم واضح نیست و تعامل بین قارچ و گیاه میزبان اغلب متغیر است (Hassan, 2007). به طور کلی نزدیک به ۳۰۰ هزار گونه گیاهی در زمین وجود دارد و هر گیاه می‌تواند میزبان یک یا تعداد بیشتری از درون‌رست‌ها باشد (Strobel and Daisy, 2003). قابل ذکر است که تنها تعداد اندکی از کل قارچ‌های درون‌رست موجود در طبیعت مورد مطالعه قرار گرفته اند. بنابراین، فرصت برای یافتن ترکیبات ضد میکروبی جدید بسیار زیاد است (Zhang et al., 2008). قارچ‌های درون‌رست به دلیل روابط همزیستی خود با بافت‌های گیاهی مانند گل‌ها، میوه‌ها، برگ‌ها، ساقه‌ها و ریشه‌ها شناخته می‌شوند. قارچ‌های درون‌رست علی‌رغم نقش‌های مهم زیست‌محیطی، بدلیل ساختار ژنومی پیچیده چالش‌های مهمی را برای استفاده از پتانسیل زیاد آن‌ها ایجاد می‌کنند (Yadav et al., 2025). منشأ قارچ‌های درون‌رست بیشتر با دو نظریه برون‌زا و درون‌زا مشخص می‌شود. ایده درون‌زا فرض می‌کند که قارچ‌های درون‌رست از کلروپلاست‌ها و میتوکندری‌های گیاهان مشتق می‌شوند و مواد ژنتیکی را با اندامک‌های میزبان به اشتراک می‌گذارند. فرضیه برون‌زا بیان می‌کند که قارچ‌های درون‌رست از مسیرهای مختلف، از جمله تماس سطحی، کانال‌های القا شده، یا آسیب‌های ریشه به گیاه میزبان نفوذ می‌کنند (Gao et al., 2025).

قارچ‌های درون‌رست با میزبان خود ارتباط تنگاتنگی برقرار می‌کنند و بنابراین نقش مهمی در رشد و نمو گیاهان و همچنین حفاظت در برابر تنش‌های زیستی و غیر زیستی با ترشح اسید ایندول-۳-استیک (IAA)، سیدروفورها، حل‌کننده‌های فسفات و غیره ایفا می‌کنند (Dwivedi et al., 2022). در بیشتر موارد، تعامل گیاه و قارچ درون‌رست برای دو طرفه سودمند است. از یک طرف گیاه کربن را برای قارچ آماده می‌نماید و در طرف دیگر قارچ درون‌رست مواد مغذی، متابولیت‌ها و حفاظت در برابر آفات، بیمارگرها و تنش‌های غیر زنده را موجب می‌شود، در نتیجه متابولوم گیاه با روش‌های مختلف تغییر می‌کند (et al., 2018). متابولیت‌های ثانویه زیست فعال از ترکیبات حدواسط متابولیسم اولیه ناشی می‌شوند و به طور مستقیم برای رشد و نمو اساسی موجود مورد نیاز نیستند (Elshafie et al., 2023). اگرچه نقش دقیق متابولیت‌های ثانویه در متابولیسم و فیزیولوژی گیاه به طور کامل شناخته شده نیست، تصور می‌شود که آنها در انواع فعل و انفعالات بین گیاهان و محیط آن‌ها، مانند محافظت در برابر تنش‌های زیستی و غیرزیستی، گرده افشانی، مولکول‌های سیگنال دهنده و غیره شرکت می‌کنند و در نتیجه یک مزیت انتخابی را به گیاهان ارائه می‌دهند (Jan et al., 2021). تولید متابولیت‌های ثانویه از قارچ‌های درون‌رست وابسته به عوامل محیطی است. برهمکنش قارچ‌های درون‌رست با میزبان خود ممکن است به دلیل تولید متابولیت‌های ثانویه باشد (Schulz et al., 2002). بسیاری از درون‌رست‌ها قادر به تولید متابولیت‌های موثر متنوعی هستند که بصورت مستقیم و یا غیرمستقیم به عنوان عاملی برای درمان بسیاری از بیماری‌ها مورد استفاده قرار می‌گیرند (Kusari et al., 2013). تحقیقات نشان می‌دهد که برخی از قارچ‌های درون‌رست قادر به تولید متابولیت‌هایی مانند آلکالوئیدها، استروئیدها، ترپنوئیدها، مشتقات ایزوکومارین، فلاونوئیدها، کینون‌ها، فنیل پروپانوئیدها، لیگنین‌ها، پتیدها، فنل و فنولیک اسید، ترکیبات آلفاتیک و متابولیت‌های کلرینات در میزبان خود هستند (Strobel, 2003; Wang et al., 2007).

پیشینه پژوهشی

جاوانجال و باراته (Jawanjal & Barate, 2017) قارچ‌های درون‌رست گیاهان رز و سویا را مطالعه کردند که در طی آن، قارچ‌های *Aspergillus spp.*، *Fusarium spp.* و *Penicillium spp.* شناسایی شده‌اند. فاروق و همکاران (Farooq et al., 2018) در طی بررسی قارچ‌های درون‌رست گیاه گل محمدی از دره کشمیر، گونه *Aspergillus aculeatus* را به عنوان گونه غالب معرفی کردند. ژائو و همکاران (Zhao et al., 2018) جمعیت‌های قارچی درون‌رست دو رقم وحشی از گیاه رز *Rosa multiflora* Thunb و *R. multiflora* var. *carnea* Redouté and Thory با حساسیت‌های مختلف به بیماری سفیدک پودری را از طریق توالی یابی مورد مطالعه قرار داده‌اند. بررسی‌های انجام شده نشان داد که تمام آرایه‌های درون‌رست شناسایی شده در چهار شاخه قارچی، ۱۷ رده، ۴۳ راسته، ۸۶ خانواده، ۱۵۷ جنس و ۲۰۸ گونه قرار می‌گیرند. آنها اشاره کردند که برخی درون‌رست‌ها ممکن است برای القای مقاومت به سفیدک پودری در گیاه نقش مهمی بازی کنند که می‌تواند در مطالعات بیوکنترل سفیدک‌های پودری مورد استفاده قرار گیرد. بشیر و همکاران (Bashir et al., 2023a) در کشور هندوستان ۲۷۰ جدایه قارچی از مجموع ۲۲۸۰ قطعه ساقه، برگ و گل گیاه گل محمدی جداسازی کردند. این جدایه‌ها شامل ۳۲ جنس و ۶۸ گونه بر اساس ترادف نواحی ژنومی ITS-rDNA بوده‌اند. تعداد ۱۱۹ جدایه از ساقه، ۹۸ جدایه از برگ و ۵۳ جدایه از گل جداسازی شد. جدایه‌های درون‌رست عمدتاً از جنس‌های *Aspergillus*، *Cladosporium*، *Penicillium* و *Diaporthe* بودند.

قارچ‌های درون‌رست نقش مهمی در کشاورزی و پزشکی دارند. قارچ‌های درون‌رست که همزیست با گیاهان زندگی می‌کنند، نقش مهمی در رشد، افزایش قدرت و مقاومت گیاهان در برابر تنش‌های زیستی و غیر زیستی دارند (Rai et al., 2014). فنل‌ها و اسیدهای فنلی اغلب از درون‌رست‌های حاصل از انواع گیاهان میزبان جدا می‌شوند. هفمن و همکاران (Hoffman et al., 2008) گروهی از ترکیبات فنلی را از قارچ *Phoma sp.* جداسازی شده از گیاه *Saurauia scaberrinae* استحصال کردند، که فعالیت ضد باکتریایی علیه باکتری‌های گرم مثبت و گونه‌های *Staphylococcus aureus*، *Pythium ultimum*، *Sclerotinia sclerotiorum* و *Rhizoctonia solani* نشان دادند. هان و همکاران (Han et al., 2008) دو ترکیب آنتی بیوتیک فنلی جدید مؤثر علیه باکتری *S. aureus* و مقاوم به متیسیلین را گزارش کردند که توسط قارچ درون‌رست

Penicillium sp. به دست آمده از گیاه *Cerbera manghas* تولید می شود. در مطالعات اخیر تعداد زیادی از ترکیبات فنلی جدید از کشت های قارچ های درون رست جداسازی شده اند که اغلب فعالیت ضد میکروبی داشته اند. با مطالعه بیشتر روی فنل و اسیدهای فنلی امکان یافتن آنتی بیوتیک های مؤثر جدید وجود دارد. ترکیبات دارای اثرات ضد میکروبی ارگوسترول و 5α و 8α اپی دیوکسی ارگوسترول، از قارچ درون رست *Nodulisporium* sp. جداسازی شده از گیاه *Juniperus cedre* در جزیره گومرای کشور اسپانیا به دست آمده است (Dai et al., 2006). در تحقیق انجام شده توسط مور و همکاران (More et al., 2015)، محتوای فنل کل قارچ های درون رست خالص گرفته شده از گروه بیوتکنولوژی موسسه علوم پزشکی پراوارا (PIMS) بررسی گردید و گونه *A. flavus* با $53/5 \mu\text{gGA/gDW}$ بیشترین و گونه *Penicillium* sp. با $9/5 \mu\text{gGA/gDW}$ کمترین میزان فنل کل را تولید کرده اند. ناگدا و همکاران (Nagda et al., 2017) قارچ های درون رست گیاه *Calotropis procera* را بررسی کردند و گزارش کردند که میزان کل فلاونوئیدهای تولید شده در گونه قارچ *Penicillium* و *Aspergillus* به ترتیب $130/50$ میکروگرم بر میلی گرم و $94/91$ میکروگرم بر میلی گرم عصاره و محتوای فنل کل به ترتیب $9/16$ میکروگرم بر میلی گرم و $12/13$ میکروگرم در گرم در گونه های *Penicillium* و گونه های *Aspergillus* با روش اسپکتروفتومتری اندازه گیری شد. گوتام و همکاران (Gautam et al., 2022) ترکیب فنلی 2,4-Di-tert-butylphenol را از قارچ درون رست *Nigrospora sphaerica* جداسازی شده از علف هرز *Euphorbia hirta* ردیابی کردند و اشاره کردند که این گونه قارچی درون رست برای یافتن ترکیبات آنتی اکسیدان طبیعی کاندید می باشد.

تجزیه و تحلیل های GC-MS انجام شده توسط بشیر و همکاران (Bashir et al., 2023a) ترکیبات آلی فرار تولید شده توسط قارچ های درون رست را تایید کرد. جدایه هایی از گونه های قارچی درون رست *Diaporthe melonis* و *Periconia verrucosa* فنیل اتیل الکل و بنزیل الکل تولید کردند. در بین قارچ های درون رست انتخاب شده، این دو گونه به طور قابل توجهی رشد گیاه، محتوای فلاونوئیدها و کلروفیل گیاه را تقویت کردند. بشیر و همکاران (Bashir et al., 2023b) پتانسیل ضد میکروبی متابولیت های ثانویه، اسید فولویک و اسید ان-هیدروفولویک تولید شده توسط گونه قارچی درون رست *Cercospora piaropi* حاصل از گیاه گل محمدی را بررسی کردند و نشان دادند که این ترکیبات اثرات ضد میکروبی متفاوتی دارند. خیری و همکاران (Kheiri et al., 2023) ترکیب فنلی و فعالیت بیولوژیکی ده جدایه قارچی درون رست جداسازی شده از برگ، میوه و شاخه درخت صمغ عربی (*Acacia nilotica*) بررسی کردند. واکاوی شیمیایی نشان داد که اسید گالیک (gallic acid) و نارینژنین (naringenin) ترکیبات غالب می باشند. الگوی بدست آمده دو گروه قارچ های درون رست غنی از نارینژنین و قارچ های درون رست غنی از اسید گالیک را نشان داد.

تاکنون مطالعه ای در مورد شناسایی قارچ های درون رست گیاه گل محمدی و همچنین در خصوص بررسی اثرات قارچ های درون رست آن بر این گیاه در ایران انجام نگرفته است. بنابراین تحقیق حاضر می تواند اطلاعات جدیدی را در این زمینه فراهم نماید. اهداف این مطالعه شامل شناسایی ریخت شناختی و مولکولی آرایه های قارچی درون رست بدست آمده از گیاهان گل محمدی، آزمون بیماریزایی جدایه های قارچی منتخب و غربال جدایه های قارچی درون رست بر اساس میزان تولید اسیدهای فنلی (فنل کل) و فلاونوئیدها در محیط کشت به روش اسپکتروفتومتری می باشند.

روش شناسی پژوهش

نمونه برداری، جداسازی و شناسایی قارچ های درون رست

جهت جداسازی قارچ های درون رست از گیاه گل محمدی در ایران، نمونه برداری در طی فصل پاییز سال ۱۳۹۶ و فصول بهار، تابستان و پاییز سال ۱۳۹۷ از شاخه ها و برگ های سالم گیاهان از ۱۰ استان کشور (استان های آذربایجان شرقی، آذربایجان غربی، اصفهان، البرز، خراسان رضوی، زنجان، کرمان، کرمانشاه، مازندران و یزد) انجام گرفت. نمونه های گیاهی با ثبت مشخصات در داخل پاکت های کاغذی قرار داده شدند و به آزمایشگاه و دمای چهار درجه سلسیوس منتقل گردیدند. از هر

نمونه گیاهی تعداد هشت قطعه شاخه و هشت قطعه برگ مورد کشت و بررسی قرار گرفت. پس از انتقال نمونه‌های گیاهی به آزمایشگاه، ابتدا به مدت ۱۵ دقیقه زیر جریان ملایم آب لوله‌کشی شسته شدند. سپس چهار تا پنج مرتبه با آب مقطر سترون آب‌شویی گردیدند. نمونه‌های گیاهی به منظور ضد عفونی سطحی، به مدت یک دقیقه در اتانول ۷۰ درصد قرار داده شدند. سپس نمونه‌های برگ به مدت یک دقیقه در محلول هیپوکلریت سدیم دو درصد و نمونه‌های شاخه به مدت سه دقیقه در این محلول قرار داده شدند. در ادامه، نمونه‌ها با آب مقطر سترون شستشو داده شدند و مجدداً به مدت یک دقیقه در اتانول ۷۰ درصد ضد عفونی شده و در نهایت با آب مقطر سترون شسته شدند (Petrini et al., 1992). نمونه‌های گیاهی پس از خشک شدن روی دستمال کاغذی سترون، به قطعات کوچک بریده شدند و روی محیط کشت آب-آگار دو درصد حاوی آنتی بیوتیک کلرامفنیکل و جنتامایسین قرار داده شدند و به مدت هفت الی ۴۰ روز در دمای ۲۵ درجه سلسیوس و شرایط تاریکی مداوم نگهداری شدند. قارچ‌های رشد کرده روی محیط کشت آب-آگار، به روی محیط کشت PDA منتقل شدند. خالص سازی قارچ‌های جداسازی شده از قطعات گیاهی به روش نوک ریشه انجام گرفت. برای نگهداری طولانی مدت جدایه‌های قارچی از روش نگهداری قارچ در کاغذ صافی استریل استفاده شد. به منظور مطالعه ویژگی‌های مربوط به پرگنه قارچ‌های جداسازی شده، ابتدا جدایه‌ها به مدت هفت روز روی محیط کشت PDA در دمای ۲۵ درجه سلسیوس رشد داده شدند و ویژگی‌های ماکروسکوپی و میکروسکوپی ساختارهای تکثیری غیرجنسی و جنسی آنها مورد بررسی قرار گرفتند. سپس قرص‌های میسلیومی به قطر هفت میلی متر از حاشیه پرگنه‌های در حال رشد قارچ برداشته شدند و به درون تشتک پتری حاوی محیط کشت اختصاصی توصیه شده برای شناسایی آن جنس منتقل گردیدند. در مورد برخی از جدایه‌های قارچی درون‌رست که اندام‌های زایشی و اسپور در محیط کشت تولید نمی‌کردند، تیپ ریخت‌شناختی تعریف گردید. برای شناسایی گونه‌های قارچی از کلیدهای شناسایی معتبر قارچ‌ها استفاده شد. شناسایی گونه در جنس *Fusarium* بر اساس نوشته لزی و سامرل (Leslie & Summerell 2006)، شناسایی گونه در جنس *Colletotrichum* بر اساس توصیف انجام شده توسط یانگ و همکاران (Yang et al., 2011)، شناسایی گونه در جنس *Sarocladium* نیز بر اساس سامرل و همکاران (Summerbell et al., 2011) و شناسایی گونه در جنس *Ascotricha* بر اساس نوشته چنگ و همکاران (Cheng et al., 2015) انجام گردید. جدایه‌های منتخب هر یک از جنس‌های شناسایی شده برای تعیین توالی انتخاب گردید و DNA آن‌ها استخراج شد. استخراج DNA ژنومی قارچ با استفاده از روش ژانگ و استفنسون (Zhong & Steffenson, 2001) با اعمال اندکی تغییرات در سرعت و زمان سانتریفیوژ انجام گرفت. واکنش زنجیره ای پلی مرز برای تکثیر نواحی ژنومی جدایه‌های منتخب با استفاده از جفت آغازگرهای مربوط به نواحی ITS-rDNA (White et al., 1990) و بخشی از ژن *tef1-α* (O'Donnell et al., 1998) جدایه‌ها انجام گرفت. قطعات DNA تکثیر شده برای توالی‌یابی از طریق شرکت BMG و همچنین بصورت مستقیم به کشورهای چین و مالزی ارسال گردید. کروماتوگرام مربوط به توالی‌ها با استفاده از نرم‌افزارهای Chromas Pro ver. 1.7.6 و Editseq ver. 5.01 مشاهده و ویرایش گردید و در بانک ژن (<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/blast/>) مشابهت‌یابی شدند (Altschul et al., 1997). بررسی تبارشناسی مولکولی جدایه‌ها و ترسیم شجره تبارزایی با استفاده از توالی‌های نوکلئوتیدی نواحی تعیین توالی شده و در نرم افزار MEGA ver. 10.0.5 (Kumar et al., 2018) و به روش حداکثر احتمال انجام شد. برای ترسیم شجره تبارزایی از توالی‌های مناسب به عنوان گروه خارجی استفاده گردید. آزمون اعتبارسنجی برای ارزیابی استحکام تبارنماهای حاصل با ۱۰۰۰ تکرار انجام گرفت.

آزمون بیماری‌زایی

در این مرحله از پژوهش، یک جدایه از هر گونه قارچی شناسایی شده انتخاب و برای آزمون بیماری‌زایی استفاده گردید. آزمون بیماری‌زایی در سه تکرار انجام شد. نهال‌های گل محمدی تکثیر شده با فناوری کشت بافت با عمر هشت ماه از شرکت کشت بافت دکتر رستگار (<https://rastegarbiotech.com>) تهیه گردید. برای حذف قارچ‌های درون‌رست احتمالی در نهال‌های مورد استفاده، گیاهان با قارچ‌کش بنومیل با دوز ۰/۴ گرم در لیتر محلول پاشی شدند (Gaitan et al., 2005). آزمون بیماری‌زایی جدایه‌های منتخب با ایجاد زخم روی شاخه نهال‌های تهیه شده انجام گرفت (Mirtalebi et al., 2016). تلقیح

قرص‌های میسلیمی به وسیله سوزن تلقیح سترون در سه تکرار انجام گردید. در تیمار شاهد از قرص‌های هفت میلی متری آگار بدون قارچ در سه تکرار استفاده گردید. گیاهان در دمای ۲۵ درجه سلسیوس و رطوبت ۴۰ درصد نگهداری شدند. ارزیابی علائم ایجاد شده روی شاخه‌ها و محل تلقیح ۲۵ روز بعد از زمان تلقیح انجام گرفت.

ارزیابی محتوای فنل و فلاونوئید کل در جدایه‌های قارچی درون‌رست

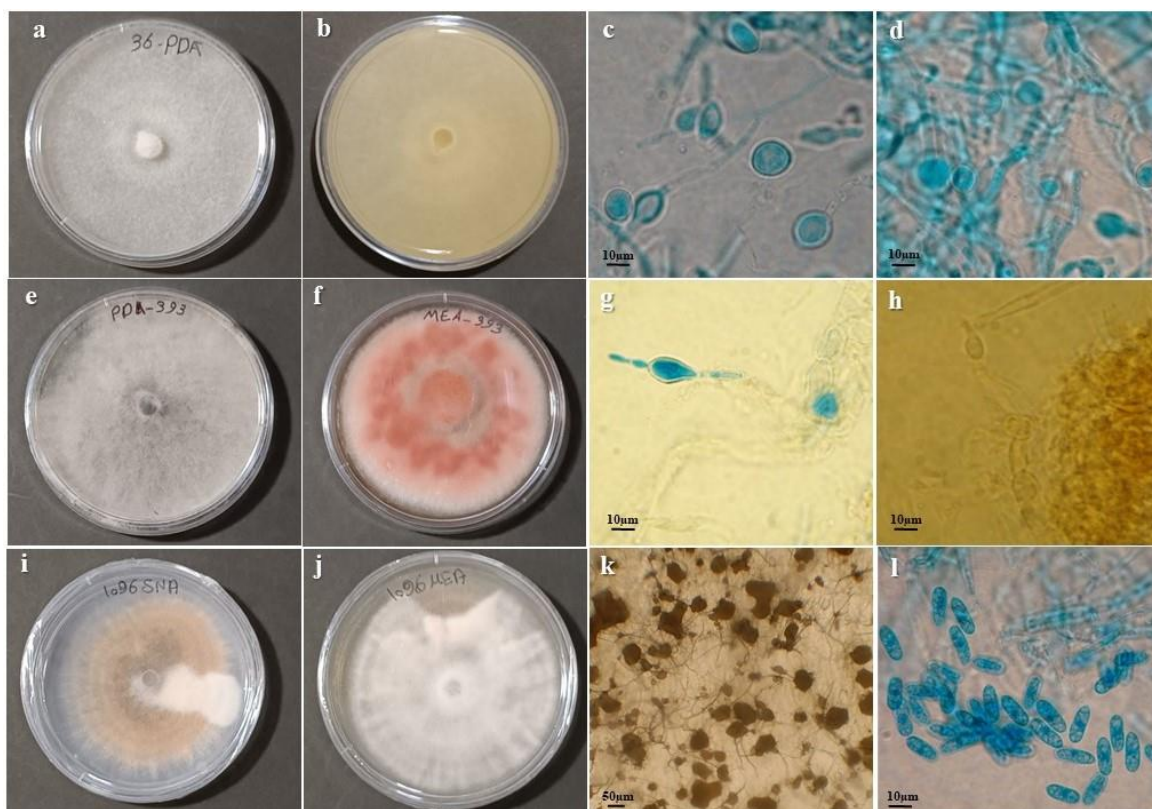
جدایه‌های منتخب هر گونه از قارچ‌های درون‌رست به دست آمده روی محیط PDA کشت داده شد و بعد از هفت روز، یک تا سه قرص میسلیمی به قطر پنج میلی متر از حاشیه پرتگنه‌های در حال رشد برداشته شد و به درون ظروف ارلن محتوی ۸۰ میلی لیتر محیط کشت عصاره سیب زمینی-دکستروز (PDB) اضافه گردید و در دمای ۲۵ تا ۲۷ درجه سلسیوس به مدت ۱۴ روز درون دستگاه شیکر انکوباتور با سرعت ۱۲۰ دور در دقیقه نگهداری شدند. عصاره محیط کشت، با استفاده از کاغذ صافی، قیف بوخنر و پمپ خلأ، استحصال گردید. سپس عصاره محیط کشت درون قیف دکانتور ریخته شد و ۲۰۰ میلی‌لیتر در سه نوبت حلال اتیل استات به آن اضافه و به آرامی هم زده شد. سپس لایه اتیل استات به درون بالون‌های ۱۰۰۰ میلی‌لیتری ریخته شد و با استفاده از دستگاه روتاری هم زده شد (Schieber et al., 2001). عصاره تغلیظ شده به درون ظروف شیشه ای توزین شده ریخته شد و در انتها، توسط دستگاه درایر خشک و توسط دستگاه ترازوی حساس توزین و در دمای منفی ۲۰ درجه سلسیوس نگهداری شدند. برای اندازه‌گیری محتوای فنل کل از دستگاه پاورویو اچ.تی میکروپلیت اسپکتوفوتومتر (مدل ایکس.اس ساخت شرکت بیوتک آمریکا) و سیستم پردازش اطلاعات کامپیوتری با نرم‌افزار جن دیتا آنالایزر استفاده شد. محتوی کلی ترکیبات فنلی در عصاره بر اساس واکنش گر فولین (Folin Ciocalteus Reagent) تخمین زده شد. بر این اساس، ۲۵ میکرولیتر از نمونه مورد آزمایش با ۱۲۵ میکرولیتر محلول رقیق شده فولین (با نسبت یک به ۱۰) مخلوط و سپس ۱۰۰ میکرولیتر از محلول ۷/۵ درصد کربنات سدیم به مخلوط اضافه گردید و مواد ذکر شده، به ترتیب به درون چاهک‌های صفحه الایزا ریخته شد. صفحه توسط فویل آلومینیومی پوشانده شدند و توسط دستگاه شیکر انکوباتور با سرعت ۱۸۰ دور در دقیقه به مدت ۱۲۰ دقیقه تکان داده شدند. سپس میزان جذب مخلوط‌ها، در طول موج ۷۶۰ نانومتر، توسط دستگاه قرائت گر الایزا (دستگاه پاورویو مدل ایکس.اس) خوانده شد. از اسید گالیک به‌عنوان استاندارد استفاده شد و میزان ترکیبات فنلی کل، معادل این ترکیب فنلی اندازه‌گیری گردید.

به منظور ترسیم منحنی استاندارد، از غلظت‌های مختلف (۲۰ تا ۱۰۰۰) اسید گالیک در متانول استفاده شد. سپس معادله خطی $y=ax+b$ به‌دست آمد و میزان جذب نمونه‌ها به‌جای y در این معادله قرار داده شد و میزان فنل (x) در هر نمونه به‌دست آمد (Kamtekar et al., 2014). برای اندازه‌گیری محتوای فلاونوئیدی کل، از واکنش گر کلرید آلومینیوم استفاده شد. به همین منظور به ۲۵ میکرولیتر از نمونه مورد آزمایش به ترتیب ۱۰۰ میکرولیتر آب مقطر و ۷/۵ میکرولیتر از محلول پنج درصد نیتريت سدیم اضافه گردید. بعد از گذشت شش دقیقه، ۷/۵ میکرولیتر کلرید آلومینیوم ۱۰ درصد، ۱۰۰ میکرولیتر هیدروکسید سدیم چهار درصد و ۱۰ میکرولیتر آب مقطر به هر چاهک صفحه اضافه شد. صفحه توسط فویل آلومینیومی پوشانده شد و توسط دستگاه شیکر انکوباتور با سرعت ۱۸۰ دور در دقیقه به مدت ۳۰ دقیقه تکان داده شد. سپس، میزان جذب مخلوط‌ها در طول موج ۵۱۰ نانومتر توسط دستگاه قرائت گر الایزا خوانده شد. از ترکیب فلاونوئیدی روتین برای رسم منحنی استاندارد استفاده شد. به همین منظور منحنی استاندارد غلظت‌های مختلف ($35 \mu\text{gGA/gDW}$ تا ۱۰۰۰) از روتین در متانول تهیه و منحنی استاندارد با استفاده از نرم‌افزار اکسل رسم شد. سپس معادله خطی $y=bx+a$ به‌دست آمد، و میزان جذب نمونه‌ها به‌جای y قرار داده شد و میزان فلاونوئید کل هر نمونه مشخص گردید (Kamtekar et al., 2014). آزمون ANOVA با استفاده از نرم افزار SAS ver. 9.4 در سطح آماری پنج و یک درصد با آزمون طرح کاملاً تصادفی و روش مقایسه میانگین LSD انجام گرفت.

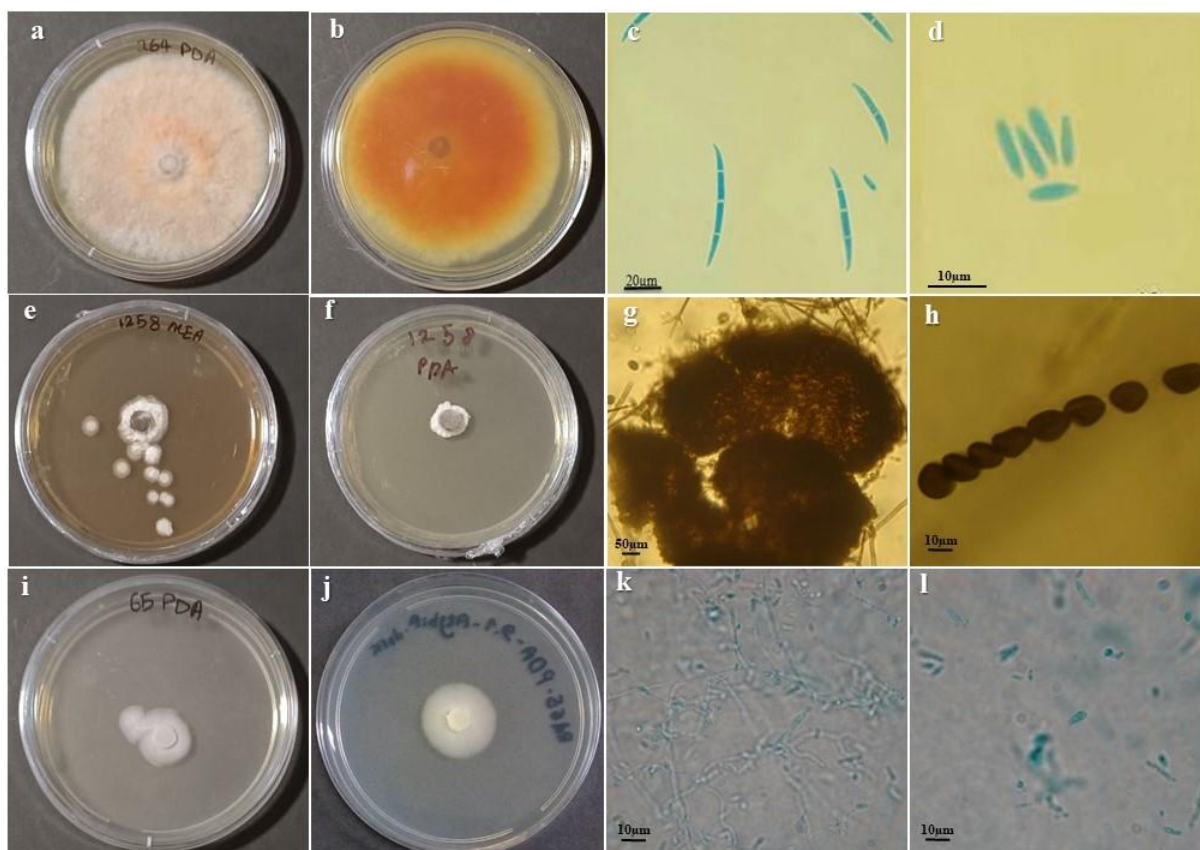
یافته‌های پژوهش

گونه‌های قارچی درون‌رست شناسایی شده

پس از کشت و بررسی نمونه‌های شاخه و برگ سالم گیاهان گل محمدی، در مجموع ۵۸ جدایه قارچی جداسازی گردید. جدایه‌های بدست آمده به مدت هفت روز روی محیط کشت PDA در دمای ۲۵ درجه سلسیوس رشد داده شدند و ویژگی‌های ریخت‌شناختی و میکروسکوپی ساختارهای تکثیری غیرجنسی و جنسی آنها مورد بررسی قرار گرفت. تعداد پنج جدایه بدست آمده، اندام‌های زایشی و اسپور روی محیط کشت تولید نکردند و بنابراین تیپ ریخت‌شناختی برای آنها تعریف گردید. از مجموع ۵۸ جدایه بدست آمده در این تحقیق، ۴۳ جدایه از شاخه (۷۴/۱ درصد) و ۱۵ جدایه از برگ (۲۵/۸ درصد) جداسازی گردیدند. شناسایی جدایه‌های گونه *Hyphodontia setulosa* براساس تیپ ریخت‌شناختی انجام گرفت. بر اساس ویژگی‌های ریخت-شناختی و واکاوی‌های مولکولی و ترسیم شجره‌های تبارزایی با استفاده از توالی نوکلئوتیدی نواحی ژنومی *ITS-rDNA* و *tef1-α* (جدول ۱)، گونه‌های *Fusarium globosum* (۱۸ جدایه)، *Sarocladium kiliense* (۱۳ جدایه)، *Colletotrichum* (۱۱ جدایه)، *Lophotrichus ampullus* (شش جدایه)، *Ascotricha chartarum* (سه جدایه)، *Hyphodontia setulosa* (پنج جدایه) و *Kalmusia variispora* (دو جدایه) شناسایی گردیدند (شکل‌های ۱ و ۲).



شکل ۱. گونه *Fusarium globosum* (a-d)، جدایه Rd264: a-b: پرگنه قارچ بعد از هفت روز روی محیط کشت PDA، c: ماکروکنیدیوم‌ها، d: میکروکنیدیوم‌ها. (مقیاس ۱۰ و ۲۰ میکرومتر). گونه *Ascotricha chartarum* (e-h)، جدایه Rd1258: e-f: پرگنه قارچ بعد از هفت روز به ترتیب روی محیط‌های کشت MEA و PDA، g: آسکوکارپ با موهای زانویی شکل، h: آسک و آسکوسپور (مقیاس ۱۰ و ۵۰ میکرومتر). گونه *Sarocladium kiliense* (i-l)، جدایه Rd65: i-j: پرگنه قارچ بعد از هفت روز روی محیط کشت PDA، k-l: فیاالدها و کنیدیوم‌ها (مقیاس ۱۰ میکرومتر).



شکل ۲. گونه *Hyphodontia setulosa* (a-d)، جدایه Rd36. a-b: پرگنه قارچ بعد از هفت روز روی محیط کشت PDA، c-d: اندامهای تولید شده توسط قارچ (مقیاس ۱۰ میکرومتر). گونه *Kalmusia variispora* (e-h)، جدایه Rd393. e-f: پرگنه قارچ بعد از هفت روز به ترتیب روی محیط های کشت PDA و MEA. g-h: آریوکنیدیومها (مقیاس ۱۰ میکرومتر). گونه *Colletotrichum karsti* (i-l)، جدایه Rd1096. j-l: پرگنه قارچ بعد از هفت روز روی محیط های کشت SNA و MEA، k: آسروول های تشکیل شده، l: کنیدیومها (مقیاس ۱۰ و ۵۰ میکرومتر).

جدول ۱. توالی های نوکلئوتیدی مورد استفاده برای ترسیم شجره تبارزایی.

شماره دستیابی در بانک ژن	ناحیه ژنومی	جدایه	کشور	میزبان	گونه
PV031339	<i>tef1-α</i>	UTFC-Rd262	Iran	<i>Rosa damascena</i>	<i>Fusarium globosum</i>
PV031340	<i>tef1-α</i>	UTFC-Rd264	Iran	<i>R. damascena</i>	
MW401998	<i>tef1-α</i>	CBS 120992	South Africa	Maize kernels	
MN533989	<i>tef1-α</i>	CBS 119856	-	Sorghum grain	<i>F. andiyazi</i>
GU564299	<i>tef1-α</i>	13SNO	Brazil	<i>Sorghum bicolor</i>	
KM462919.1	<i>tef1-α</i>	M051946S-3	-	Sorghum grain	
AF160279.1	<i>tef1-α</i>	NRRL13566	USA	<i>Oryza sativa</i>	<i>F. fujikuroi</i>
MW402108	<i>tef1-α</i>	CBS 186.56	-	-	
MW402111	<i>tef1-α</i>	CBS 195.34	Taiwan	<i>Saccharum officinarum</i>	
MN534059	<i>tef1-α</i>	CBS 480.96	Papua New	Tropical rain forest soil	<i>F. proliferatum</i>
MW401977	<i>tef1-α</i>	CBS 117.28	France	-	<i>F. verticillioides</i>

شماره دستیابی در بانک ژن	ناحیه ژنومی	جدایه	کشور	میزبان	گونه
MW402012	<i>tef1-α</i>	CBS 125.73	India	<i>Trichosanthes dioica</i>	
MW402064	<i>tef1-α</i>	CBS 139.40	Italy	<i>Phyllocactus hybridus</i>	
PQ817658	ITS	UTFC-Rd13	Iran	<i>R. damascena</i>	<i>Lophotrichus ampullus</i>
PQ817660	ITS	UTFC- Rd45	Iran	<i>R. damascena</i>	
PQ817659	ITS	UTFC- Rd42	Iran	<i>R. damascena</i>	
MH868574.1	ITS	CBS:291.52	USA	-	
MH856648.1	ITS	CBS:326.50	USA	-	<i>L. martinii</i>
OW982981.1	ITS	-	Belgium	-	
MH857042.1	ITS	CBS:292.52	USA	-	
LM652423	ITS	CBS 662.71	USA	Soil	<i>L. macrosporus</i>
MH861152.1	ITS	CBS:379.78	USA	-	
ON413887.1	ITS	GC-8	China	-	<i>L. fimeti</i>
NR154109.1	ITS	CBS 129.78	India	Goat dung	
PQ869273	ITS	UTFC-Rd 50	Iran	<i>R. damascena</i>	<i>Ascotricha chartarum</i>
PQ869278	ITS	UTFC- Rd 716	Iran	<i>R. damascena</i>	
PQ869279	ITS	UTFC- Rd 1258	Iran	<i>R. damascena</i>	
KF893284	ITS	CBS_234.97	Papua New Guinea	Soil	
KX246915	ITS	B4C	Nigeria	Oil	
KX246917	ITS	B4F	Nigeria	Oil	
KT224876	ITS	S98	China	<i>Dendrobium officinale</i>	<i>A. erinacea</i>
KF893285	ITS	CBS535.73	East Africa	Elephant dung	
KF893287	ITS	CBS407.87	Netherlands	Paper	
MF805818	ITS	NHES L1706 [T]	Cayman Islands	Unidentified decaying leaf	<i>A. microspora</i>
LC146763	ITS	NBRC33167 [T]	Japan	<i>Bruguiera gymnorhiza</i>	<i>Surculiseries rugispora</i>
NR132036	ITS	CBS 133207 [T]	Austria	<i>Fagus sylvatica</i>	<i>Lopadostoma turgidum</i>
KF893286	ITS	CBS124.80 [T]	Spain	Soil	<i>Dicyma funiculosa</i>
AY908992	ITS	CBS323.86	Spain	Forest soil	
PQ869274	ITS	UTFC-Rd65	Iran	<i>R. damascena</i>	<i>Sarocladium kiliense</i>
PQ869268	ITS	UTFC-Rd301'	Iran	<i>R. damascena</i>	
PQ869277	ITS	UTFC-Rd1301'	Iran	<i>R. damascena</i>	
PQ869269	ITS	UTFC-Rd77'	Iran	<i>R. damascena</i>	
MF682450.1	ITS	S2	Russia	Plaster	

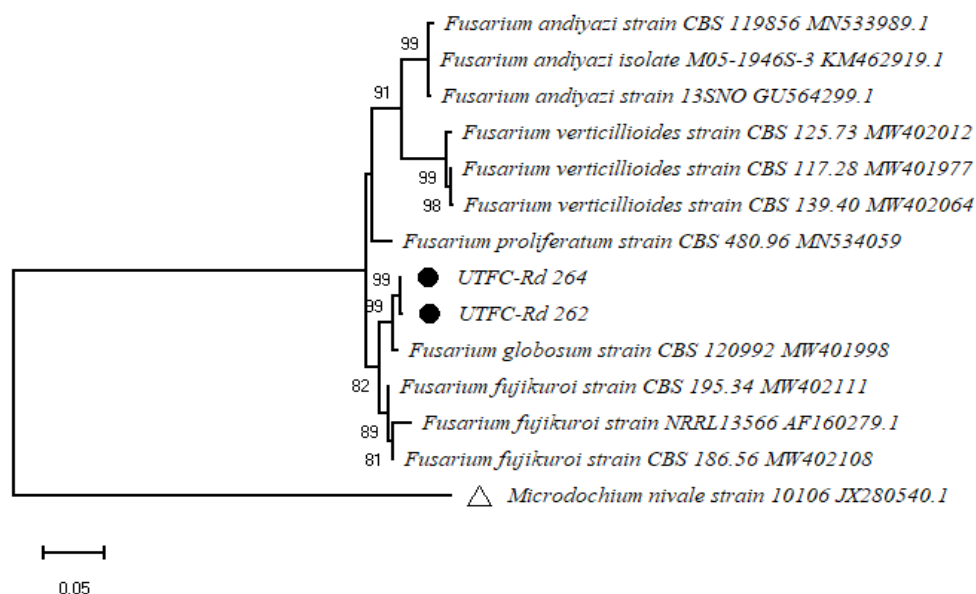
شماره دستیابی در بانک ژن	ناحیه ژنومی	جدایه	کشور	میزبان	گونه
MH858004.1	ITS	CBS:155.61	India	–	
MH859733.1	ITS	CBS:377.70H	Belgium	–	
JF817256	ITS	CanL-10b	China	Healthy Canola leaf	
KP132606	ITS	FMR 10426	USA	Blood	
KM231849	ITS	CBS 400.52	England	<i>Ficus carica</i>	
KF179098	ITS	SC1107_03	Iran	<i>Vitis vinifera</i>	<i>S. strictum</i>
HG965030	ITS	CBS 640.75	Netherlands	Decaying wood	
NR111145	ITS	CBS 346.70	Germany	<i>Triticum aestivum</i>	
HF680219	ITS	CBS 381.70A	Netherlands	<i>Tubercularia vulgaris</i>	<i>Acremonium parvum</i>
HF680226	ITS	CBS 511.82	Netherlands	Soil	<i>A. pilosum</i>
HF680228	ITS	CBS 124.70	Netherlands	Soil	
FN706552.1	ITS	CBS:124.42	France	Clinical sample	<i>A. sclerotigenum</i>
KJ194115.1	ITS	BAFSCH	China	Apple fruit	
DQ286652.1	ITS	CBS 301.38	Korea	<i>Tilachlidium butyri</i>	<i>Cosmospora butyri</i>

جدول ۱. ادامه.

شماره دستیابی در بانک ژن	ناحیه ژنومی	جدایه	کشور	میزبان	گونه
PQ869267	ITS	UTFC-Rd35	Iran	<i>Rosa damascena</i>	<i>Hyphodontia setulosa</i>
PQ869271	ITS	UTFC-Rd36	Iran	<i>R. damascena</i>	
GQ259417.1	ITS	AH31879	Spain	–	
GU461313.1	ITS	PH5105	Spain	–	
KP135382.1	ITS	HHB-6891-Sp	USA	-	
MH270625	ITS	isolate 2	Russia	<i>Pyrola rotundifolia</i>	<i>Bjerkandera adusta</i>
AF455440	ITS	isolate 2	Austria	–	
FJ228211	ITS	isolate r8.4	Sweden	<i>Fraxinus excelsior</i>	
KT024986	ITS	CSE148	Iran	<i>Cupressus sempervirens</i>	<i>Ascorhizoctonia</i> sp.
OQ274960	ITS	A5T2	Iran	<i>Achilea</i> sp.	<i>Tricharina gilva</i>
MT526344	ITS	TASM: YG-J5	Uzbekistan	<i>Populus</i> sp.	<i>Phylloporia yuchengii</i>
MF410325	ITS	Cui 11306	China	Wood	<i>Phylloporia tiliae</i>
MH201277	ITS	XLAB	China	Pear fruit	<i>Athelia bombacina</i>
MH201276.1	ITS	HGAB	China	Pear	
KP132301	ITS	CNRMA10.949	France	–	<i>Coprinellus domesticus</i>
MH856480	ITS	CBS:175.49	Netherlands	–	<i>C. domesticus</i>

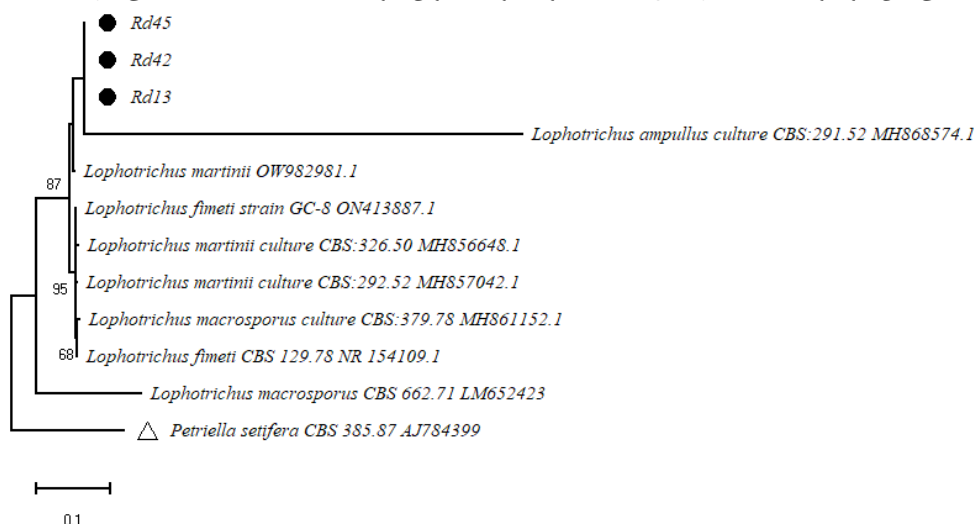
<i>Coriopsis gallica</i>	–	France	CBS:429.34	ITS	MH855593
	–	France	CBS:547.50	ITS	MH856754
<i>Eremothecium gossypii</i>	–	USA	–	ITS	AY046216.1
<i>Kalmusia variispora</i>	<i>R. damascena</i>	Iran	UTFC-Rd 393	ITS	PQ869275
	<i>Erica carnea</i>	Switzerland	CBS_197.82	ITS	JX496053.1
	<i>Quercus brantii</i>	Iran	95SA2	ITS	KY783414
	<i>Q. brantii</i>	Iran	MG319	ITS	MG208005
	Grapevine	USA	CBS 121517	ITS	NR145165
<i>K. longispora</i>	–	Canada	CBS:582.83	ITS	MH861658
	–	Germany	CBS:824.84	ITS	MH861838
<i>Alloconiothyrium aptrootii</i>	–	Papua New Guinea	CBS 981.95	ITS	JX496122.1
	–	Papua New Guinea	CBS 980.95	ITS	JX496121.1
<i>Halojulella avicenniae</i>	–	–	BCC 20173	ITS	GU371830
<i>Colletotrichum karsti</i>	<i>R. damascena</i>	Iran	UTFC-Rd1096	ITS	PQ869270
	<i>R. damascena</i>	Iran	UTFC-Rd140	ITS	PQ869272
	<i>Bletilla ochracea</i>	China	CGMCC 3.15121	ITS	JX625175.1
	–	China	CBS:130641	ITS	MH865823.1
	–	Mexico	CBS:128550	ITS	MH865017.1
<i>C. acutatum</i>	–	New Zealand	CBS:797.72	ITS	MH860607.1
<i>C. gloeosporioides</i>	–	Germany	CBS:132509	ITS	MH866044.1
	–	Germany	CBS:132466	ITS	MH866041.1
<i>C. gigasporum</i>	<i>Theobroma cacao</i>	Panama	CBS 124947	ITS	KF687731.1
	<i>Centella asiatica</i>	Madagascar	CBS 133266	ITS	KF687715.1
<i>Monilochaetes infuscans</i>	–	-	CBS:869.96	ITS	JQ005780.1
<i>Microdochium nivale</i>	<i>Triticum</i> sp.	Italy	–	<i>tef1-α</i>	JX280540.1
<i>Petriella setifera</i>	Oak wood	Poland	CBS_385.87	ITS	AJ784399

قرابت جدایه‌ها با استفاده از واکای تبارزایی و بر اساس نواحی ژنومی ITS-rDNA و *tef1-α* بررسی گردید. در تبارنمای رسم شده بر اساس بخشی از توالی نوکلئوتیدی ژن *tef1-α* و به روش حداکثر احتمال (شکل ۳)، جدایه‌های Rd 262 و Rd 264 به عنوان *F. globosum* شناسایی شدند که با ۹۹ درصد حمایت اعتبارسنجی در کنار جدایه‌های تیپ این گونه قرار گرفتند.



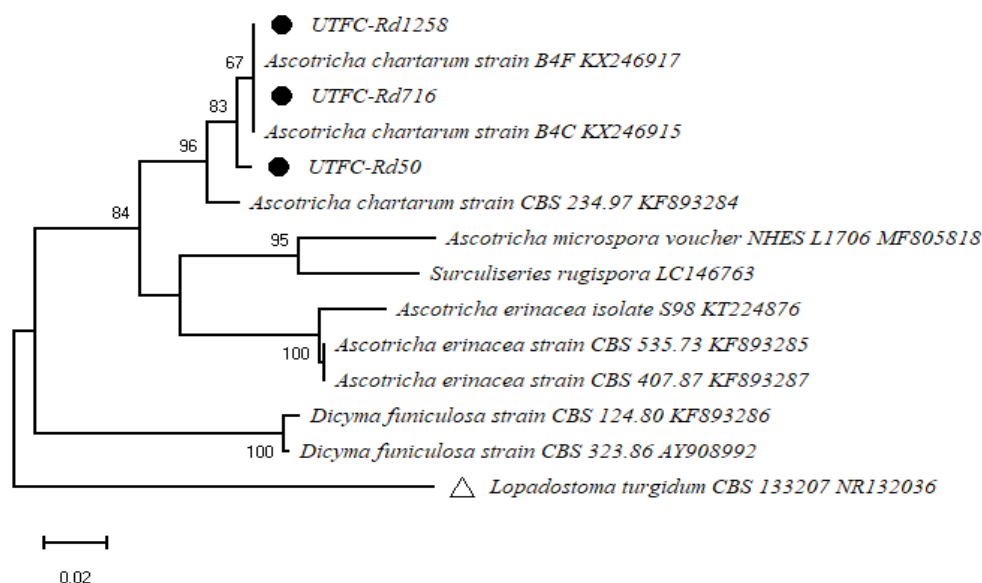
شکل ۳- تبارنمای ترسیم شده به روش حداکثر احتمال در نرم افزار MEGA و بر اساس بخشی از توالی نوکلئوتیدی ژن *tef1-α* در ۱۳ جدایه از جنس *Fusarium* و جدایه‌ای از گونه *Microdochium nivale* (JX280540.1) (مثلث توخالی) به عنوان آرایه برون گروه. اعداد بیشتر از ۵۰ مربوط به آزمون اعتبارسنجی، در محل گره‌ها آورده شده‌اند. دایره‌های توپر جدایه‌های قارچ درون‌رست به دست آمده در این تحقیق را مشخص می‌کنند.

در تبارنمای رسم شده بر اساس ناحیه ITS-rDNA به روش حداکثر احتمال (شکل ۴) جدایه‌های Rd45، Rd42، Rd13 و *L. ampullus* که بر اساس ویژگی‌های ریخت‌شناختی به عنوان گونه *L. ampullus* شناسایی شده بودند، نزدیک به گونه‌های *L. ampullus* و *L. martini* قرار گرفتند. این دو گونه بر اساس ناحیه ژنومی ITS-rDNA از یکدیگر تفکیک نمی‌شوند. ولی بر اساس صفات ریخت‌شناختی این دو گونه از یکدیگر قابل تفکیک بودند و به عنوان گونه *L. ampullus* شناسایی گردیدند.

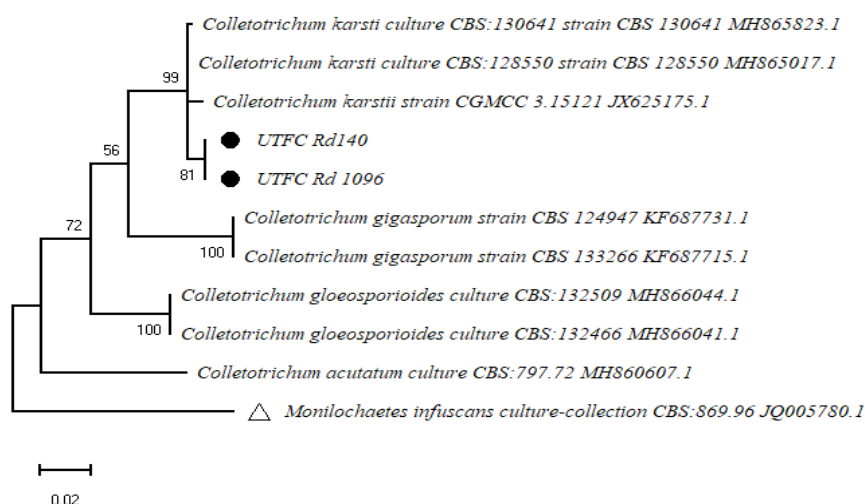


شکل ۴. تبارنمای ترسیم شده به روش حداکثر احتمال در نرم افزار MEGA و بر اساس توالی نوکلئوتیدی نواحی ITS-rDNA در ۱۱ جدایه از جنس *Lophotrichus* و جدایه‌ای از گونه *Petriella setifera* (AJ784399) (مثلث توخالی) به عنوان آرایه برون گروه. اعداد بیشتر از ۵۰ مربوط به آزمون اعتبارسنجی، در محل گره‌ها آورده شده‌اند. دایره‌های توپر جدایه‌های قارچ درون‌رست به دست آمده در این تحقیق را مشخص می‌کنند.

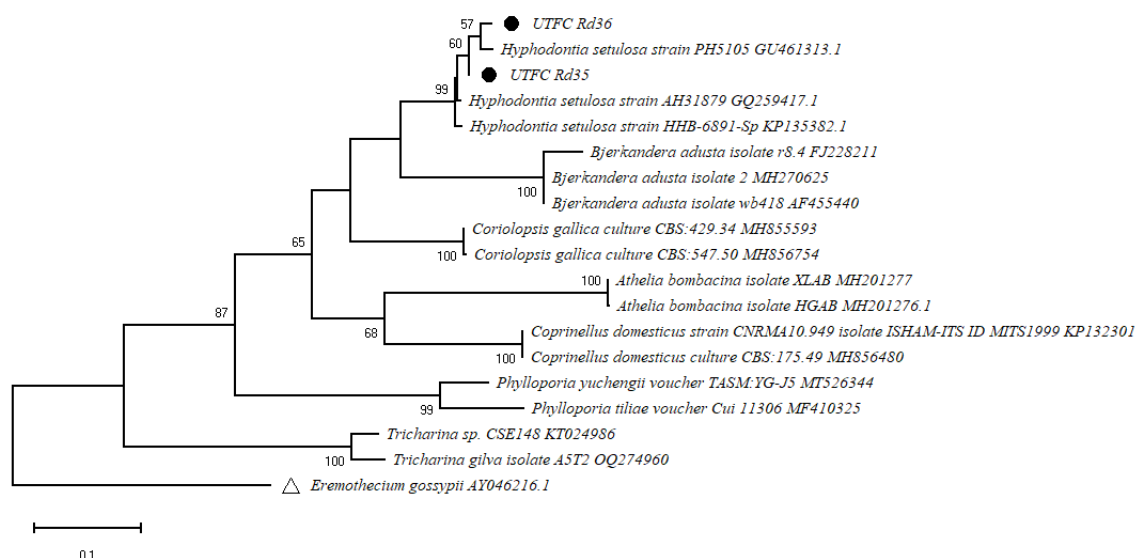
در تبارنمای رسم شده بر اساس توالی نوکلئوتیدی نواحی ITS-rDNA و به روش حداکثر احتمال (شکل ۵ تا ۹)، جدایه‌های Rd50، Rd1258 و Rd716 به عنوان گونه *Ascotricha chartarum* (شکل ۵)، جدایه‌های Rd1096 و Rd140 به عنوان گونه *Colletotrichum karsti* (شکل ۶)، جدایه‌های Rd35 و Rd36 به عنوان گونه *Hyphodontia setulosa* (شکل ۷)، جدایه Rd393 به عنوان گونه *Kalmusia variispora* (شکل ۸) و جدایه‌های 'Rd1301'، 'Rd301'، Rd65 و 'Rd77' به عنوان گونه *Sarocladium kiliense* (شکل ۹) شناسایی شدند و در کنار جدایه‌های تیپ این گونه‌ها قرار گرفتند.



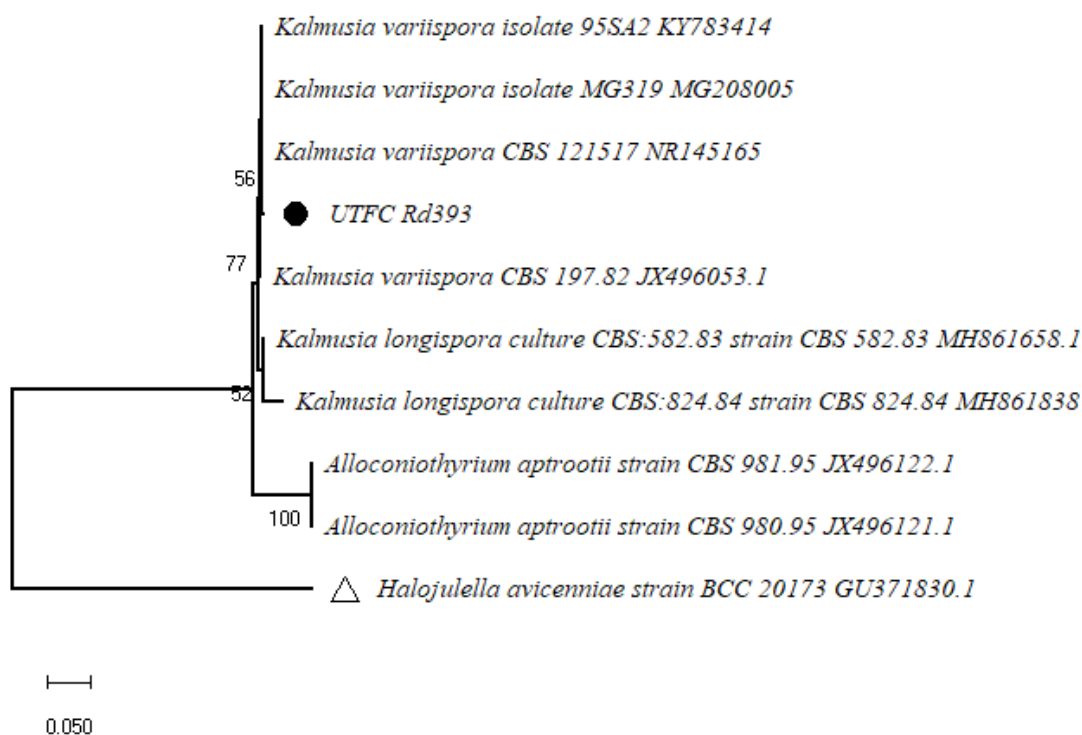
شکل ۵. تبارنمای رسم شده به روش حداکثر احتمال در نرم افزار MEGA و بر اساس توالی نواحی ITS-rDNA در ۱۰ جدایه از جنس *Ascotricha*، یک جدایه از *Surculiseries* دو جدایه *Dicyma* و جدایه ای از گونه *Lopadostoma turgidum* (NR132036) (مثلث توخالی) به عنوان آرایه برون گروه. اعداد بیشتر از ۵۰ مربوط به آزمون اعتبارسنجی، در محل گره‌ها آورده شده اند. دایره‌های توپر جدایه های قارچ درون‌رست به دست آمده در این تحقیق را مشخص می‌کنند.



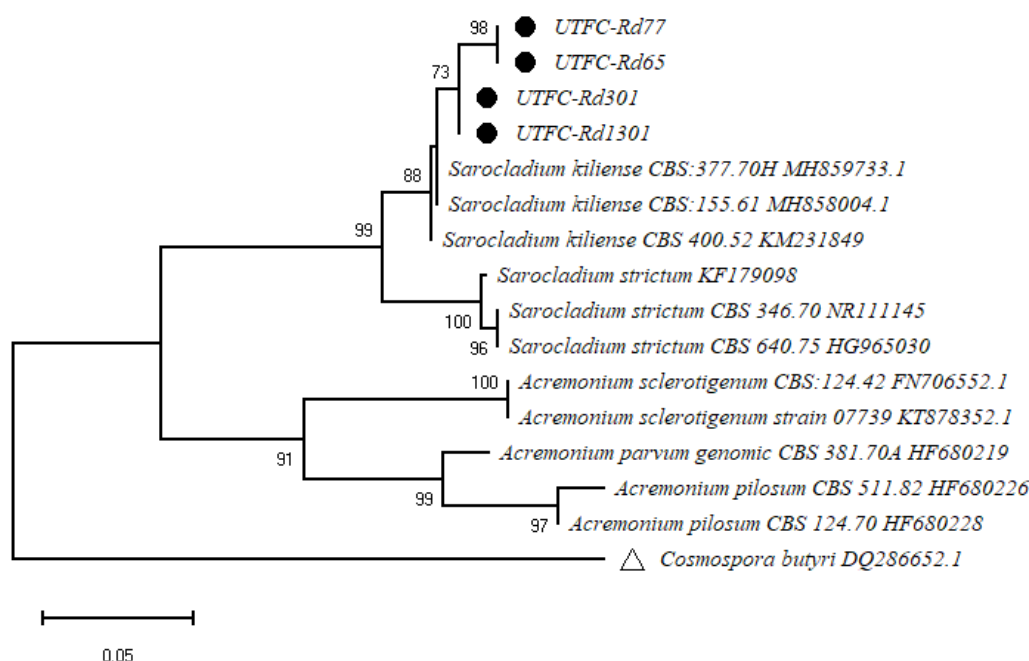
شکل ۶. تبارنمای رسم شده به روش حداکثر احتمال در نرم افزار MEGA و بر اساس توالی نواحی ITS-rDNA در ۱۰ جدایه از جنس های *Colletotrichum* و جدایه ای از گونه *Monilochaetes infuscans* (JQ005780.1) (مثلث توخالی) به عنوان آرایه برون گروه. اعداد بیشتر از ۵۰ مربوط به آزمون اعتبارسنجی، در محل گره‌ها آورده شده اند. دایره‌های توپر جدایه های قارچ درون‌رست به دست آمده در این تحقیق را مشخص می‌کنند.



شکل ۷. تبارنمای رسم شده به روش حداکثر احتمال در نرم افزار MEGA و بر اساس توالی نواحی ITS-rDNA در ۱۸ جدایه از جنس های *Hyphodontia*، *Bjerkandera*، *Tricharina*، *Phylloporia*، *Athelia*، *Coprinellus*، *Coriolopsis* و جدایه ای از گونه *Eremothecium gossypii* (مثلت توخالی) به عنوان آرایه برون گروه. اعداد بیشتر از ۵۰ مربوط به آزمون اعتبارسنجی، در محل گره ها آورده شده اند. دایره های توپر جدایه های قارچ درون رست به دست آمده در این تحقیق را مشخص می کنند.



شکل ۸. تبارنمای رسم شده به روش حداکثر احتمال در نرم افزار MEGA و بر اساس توالی نواحی ITS-rDNA در ۹ جدایه از جنس های *Kalmusia* و *Alloconiothyrium* و جدایه ای از گونه *Halojulella avicenniae* (GU371830) (مثلت توخالی) به عنوان آرایه برون گروه. اعداد بیشتر از ۵۰ مربوط به آزمون اعتبارسنجی، در محل گره ها آورده شده اند. دایره های توپر جدایه های قارچ درون رست به دست آمده در این تحقیق را مشخص می کنند.



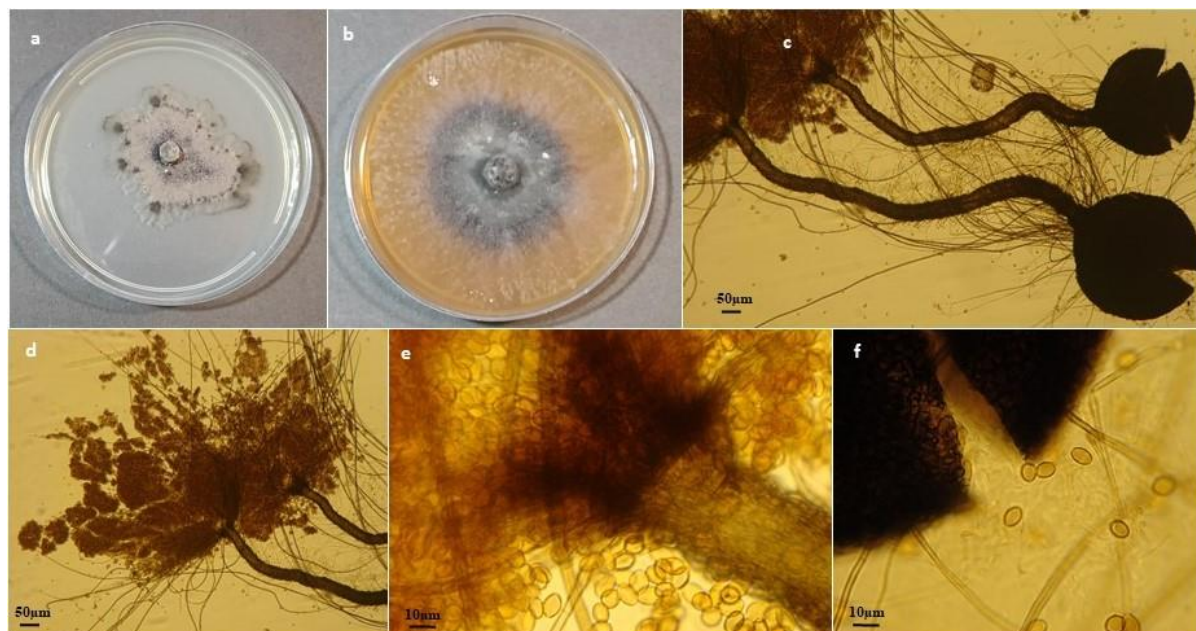
شکل ۹. تبارنمای رسم شده به روش حداکثر احتمال در نرم افزار MEGA و بر اساس توالی نواحی ITS-rDNA در ۱۵ جدایه از جنس های *Sarocladium* و *Acremonium* و جدایه ای از گونه *Cosmospora butyri* (مثلث توخالی) به عنوان آرایه برون گروه. اعداد بیشتر از ۵۰ مربوط به آزمون اعتبارسنجی، در محل گره‌ها آورده شده اند. دایره‌های توپر جدایه های قارچ درون‌رست به دست آمده در این تحقیق را مشخص می‌کنند.

ارزیابی علائم ایجاد شده روی شاخه‌ها بعد از سپری شدن ۲۵ روز اثبات کرد که جدایه‌های بدست آمده در این مطالعه روی گیاه گل محمدی در شرایط گلخانه (دمای ۲۵ درجه سلسیوس و رطوبت ۴۰ درصد) بیمارگر نیستند. بر اساس بررسی‌های ریخت‌شناختی و مولکولی انجام شده روی جدایه‌های قارچی به دست آمده، گونه *L. ampullus* برای اولین بار برای فلور قارچی ایران گزارش می‌گردد.

***Lophotrichus ampullus* R.K. Benj., Mycologia 41(3): 347 (1949)**

قطر پرگنه روی محیط کشت PDA و MEA (شکل ۱۰-a و ۱۰-b) پس از نگهداری به مدت ۳۰ روز در شرایط تاریکی مداوم، به ترتیب ۴۲/۵ و ۶۰ میلی متر بود. پرگنه قارچ به رنگ شیری تا قهوه ای روشن و میسلیم‌ها سفید رنگ و با گذشت زمان به رنگ تیره، آسکوما از نوع پریتسیوم (شکل ۱۰-c)، است که در مدت دو تا چهار هفته بالغ می‌شوند. پریتسیوم‌ها به رنگ سیاه و کروی شکل با قطر (میانگین ۳۱۵) ۲۵۰-۳۹۵ میکرومتر، فرو رفته تا بخشی سطحی. پریدیوم از سلول‌هایی با دیواره بسیار ضخیم تشکیل شده است که بیرونی‌ترین لایه آن به رنگ قهوه‌ای تیره و درونی‌ترین لایه به رنگ قهوه ای روشن می‌باشد. پریتسیوم دارای موهای جانبی به طول ۱۵۰ میکرومتر و به عرض ۲-۳ میکرومتر، بی رنگ با دیواره های عرضی و دارای موهای انتهایی (شکل ۱۰-d) با دیواره ضخیم، مستقیم و یا بطور نامنظم منحرف شده، با اندازه $(۳/۵-۵(۴/۲) \times ۳۷/۳۳۷-۵(۲۵۰/۷)$ میکرومتر بوده که از سلول‌های بیرونی ایجاد می‌شود. روزنه معمولاً یک عدد در پریتسیوم (گاه‌ها دو عدد)، بلند، به رنگ سیاه، و به اندازه $(۳۷/۵-۵۰(۴۲/۷) \times ۳۷/۵-۵(۴۱۴/۵)$ میکرومتر است. آسک‌ها ناپایدار، اندازه آسکوسپورها $(۵/۸-۷(۸/۳) \times ۷-۱۰(۸/۳)$ میکرومتر و نسبت میانگین طول به عرض آسکوسپورها ۱/۴ است. آسکوسپورها لیمویی

شکل، در انتها تقریباً نوک دار و باریک، دیواره نسبتاً ضخیم، در ابتدا شفاف، متمایل به زرد، و در نهایت به رنگ قهوه ای کمرنگ و دارای دو منفذ تندشی می باشد (شکل e-۱۰ و f-۱۰). مرحله غیرجنسی قارچ مشاهده نشد.



شکل ۱۰. مشخصات ریخت‌شناختی و میکروسکوپی *Lophotrichus ampullus* جدایه Rd45: (a) پرگنه قارچ بعد از ۳۰ روز روی محیط کشت PDA، (b) پرگنه قارچ بعد از ۳۰ روز روی محیط کشت MEA، (c) پریتسیوم‌ها با گردن بلند، (d) و (e) انتهای گردن پریتسیوم همراه با موهای جانبی و توده آسکوسپورها، و (f) آسکوسپورها. (مقیاس ۱۰ و ۵۰ میکرومتر).

محتوای فنل و فلاونوئید کل در جدایه‌های قارچ درون‌رست

ارزیابی جدایه‌های قارچی درون‌رست بر اساس توانایی و میزان تولید اسیدهای فنلی (فنل کل) و فلاونوئیدها در محیط کشت PDB با استفاده از اسپکتروفتومتر انجام گرفت. پس از واکاوی آماری نتایج بدست آمده (جدول ۲) مشخص گردید که از نظر میزان تولید فنل و فلاونوئید کل در بین تمام جدایه‌ها اختلاف معنی داری در سطح یک درصد وجود دارد. تجزیه واریانس اثر فاکتورهای مورد مطالعه روی میزان فنل کل و فلاونوئید کل قارچ به شرح جدول ۳ آورده شده است. بر اساس نتایج به دست آمده بیشترین و کمترین میزان فنل کل به ترتیب برای دو جدایه RD36 (*H. setulosa*) و Rd45 (*L. ampullus*) ثبت گردد. در این خصوص بیشترین و کمترین فلاونوئید کل نیز به ترتیب مربوط به دو جدایه Rd45 (*L. ampullus*) و Rd393 (*K. variispora*) بود (شکل ۱۱).

جدول ۲. میزان تولید فنل و فلاونوئید کل در جدایه‌های منتخب قارچ‌های درون‌رست بدست آمده از گل محمدی.

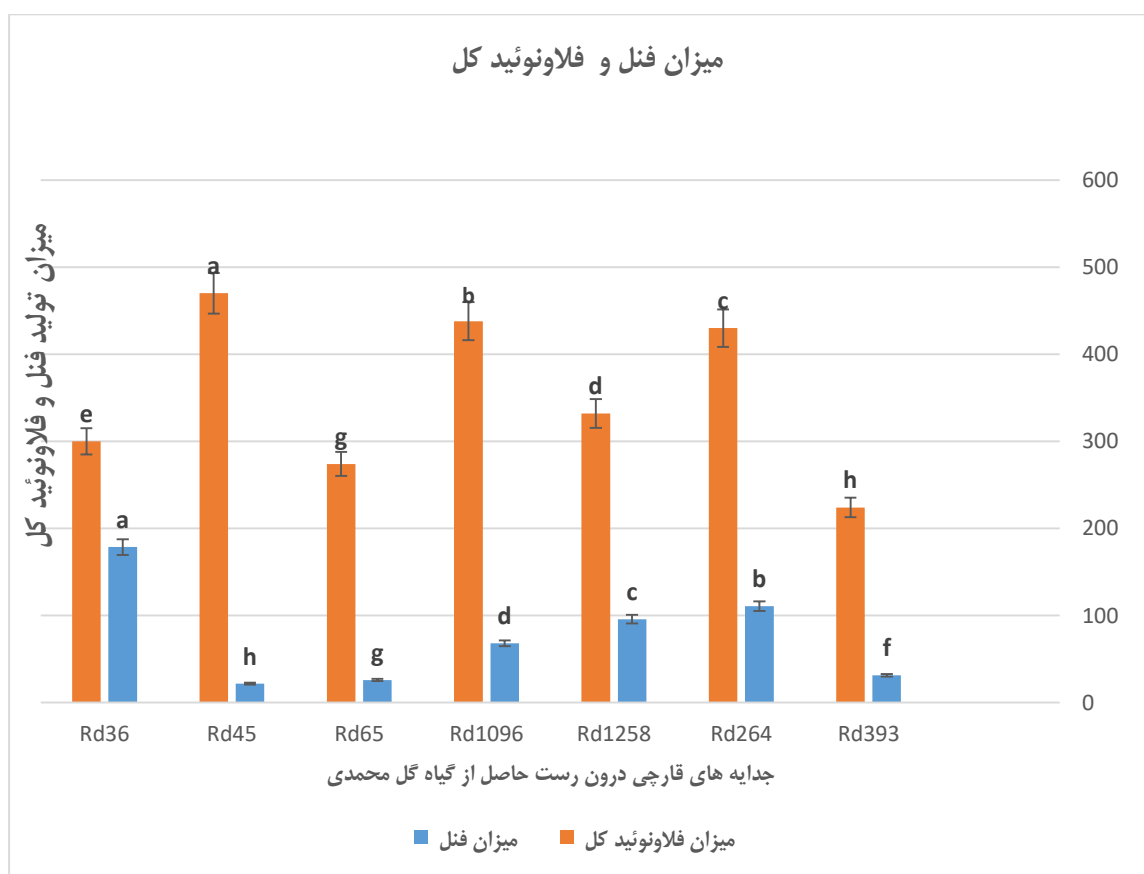
آرایه قارچی		جدایه		فلاونوئید کل		فنل کل
				abs	μgGA/gDW	abs
						μgGA/gDW
<i>Kalmusia variispora</i>	Rd393	0.118	224	0.276	31.26	
<i>Fusarium globosum</i>	Rd264	0.221	430	0.578	110.73	
<i>Ascotricha chartarum</i>	Rd1258	0.172	332	0.521	95.73	
<i>Colletotrichum karsti</i>	Rd1096	0.225	438	0.416	68.1	
<i>Sarocladium kiliense</i>	Rd65	0.143	274	0.256	26	
<i>Lophotrichus ampullus</i>	Rd45	0.241	470	0.24	21.78	
<i>Hyphodontia setulosa</i>	Rd36	0.156	300	0.834	178.63	

جدول ۳. تجزیه واریانس اثر جدایه‌های قارچی درون‌رست منتخب بر میزان فنل کل و فلاونوئید کل.

Source of Variation (SOV)	Degree of Freedom	فلاونوئید کل قارچ	فنل کل قارچ
Treatment	6	26486.85 **	9816.12 **
Error	12	2.264	0.078
CV (%)	-	0.4268	0.3678

** تفات معنی دار در سطح احتمال یک درصد

تجزیه واریانس صفات فیرپولوژیکی میزان فنل کل و فلاونوئید کل قارچ بین جدایه‌های منتخب درون‌رست قارچی مورد مطالعه معنی دار شده است (جدول ۳). نتایج تجزیه واریانس نشان داد که اثر جدایه‌های منتخب قارچی درون‌رست روی میزان فنل کل و فلاونوئید کل قارچ در بین جدایه‌های قارچی مور مطالعه در سطح یک درصد دارد.



شکل ۱۱. میزان تولید فنل و فلاونوئید کل در جدایه‌های گونه‌های *Sarocladium kiliense* (Rd65)، *Fusarium globosum* (Rd264)، *Colletotrichum karsti* (Rd1096)، *Lophotrichus ampullus* (Rd45)، *Ascotricha chartarum* (Rd1258)، *Hyphodontia* (Rd393) و *Kalmusia variispora* (Rd36) *setulosa*. محور افقی جدایه‌های قارچی درون‌رست حاصل از گیاه گل محمدی و محور عمودی بیانگر میزان تولید فنل و فلاونوئید کل بر حسب $\mu\text{gGA/gDW}$ می‌باشد. نوارهای خطای استاندارد روی ستون‌ها مشخص شده است.

بحث

بر اساس منابع بررسی شده تمامی آرایه‌های شناسایی شده در این تحقیق برای نخستین بار به عنوان قارچ درون‌رست از گیاه گل محمدی در دنیا گزارش می‌شوند (Bashir et al., 2023a, Farooq et al., 2018).
 https://fungi.ars.usda.gov/ (ارشاد، ۱۴۰۱). استان مازندران با ۲۱ جدایه قارچی بیشترین جدایه را در بین استان‌های نمونه برداری شده دارا می‌باشد. گونه *A. chartarum* از شاخه گیاهان گل محمدی در استان‌های البرز، خراسان رضوی، آذربایجان غربی، گونه *C. karsti* از شاخه و برگ گیاهان گل محمدی در استان‌های مازندران، یزد و خراسان رضوی، گونه *F. globosum* از شاخه و برگ گیاهان گل محمدی در استان‌های زنجان، اصفهان، کرمان، کرمانشاه، مازندران، گونه *H. setulosa* از شاخه و برگ گیاهان گل محمدی در استان‌های اصفهان و مازندران، گونه *K. variispora* از اندام شاخه در استان البرز، گونه *L. ampullus* از شاخه و برگ گیاهان گل محمدی در استان‌های زنجان، اصفهان و مازندران، گونه *S. kiliense* از شاخه گیاهان گل محمدی در استان‌های زنجان، البرز، آذربایجان شرقی، کرمانشاه، مازندران جداسازی و شناسایی گردید. گونه *A. chartarum* برای نخستین بار به عنوان قارچ درون‌رست از گیاه گل محمدی در ایران و دنیا گزارش می‌شود. این گونه برای نخستین بار از سنگ تراورتن عباس آباد (Jamali, 2021) در ایران گزارش شده است. این گونه از بیمارهای دچار عفونت ریوی به عنوان بیمارگر نادر انسانی (Khan et al. 2019) و به عنوان قارچ درون‌رست از اکالیپتوس (Miguel et al. 2019) جداسازی و گزارش شده است. گونه *C. karsti* به عنوان قارچ درون‌رست و بیمارگر از تعداد زیادی از گیاهان از جمله ارکید وند (Vanda sp.)، *Calanthe argenteo-striata*، یک گونه ارکید (Eria coronaria)، *Pleione bulbocodioides*، *Bletilla ochracea* و گل ساعتی (*Passiflora edulis*) جداسازی شده است (Yang et al., 2011; Júnior et al., 2010). این گونه از نظر دامنه میزبانی و پراکنش وسیع شایع ترین گونه از کلاد *Boninense* است (Damm et al., 2012). همچنین در ایران به عنوان عامل آنتراکنوز از *Ficus benjamina* گزارش شده است (Abdinezhad et al., 2024). گونه *F. globosum* از میزبان جو (*Hordeum vulgare*)، گندم (*Triticum aestivum*) و ذرت (*Zea mays*) در ایران گزارش شده است (Ershad, 2009). گونه *H. setulosa* یک جنس متنوع از نظر ریخت‌شناختی از قارچ‌های عامل پوسیدگی چوب است (Nakasone, 1988). گونه *K. variispora* برای اولین بار توسط عبدالهی اقدم و فتوحی فر (Abdollahi Aghdam & Fotouhifar, 2017) از آلبالو و گیلان در ایران گزارش شد. این گونه به عنوان قارچ درون‌رست از بلوط ایرانی (*Quercus brantii*) (Ghobad-Nejhad et al., 2017) و انگور (Ghasemi et al., 2023) نیز گزارش شده است. گونه *Sarocladium kiliense* در ایران به عنوان قارچ‌های همراه با علائم اسکب سبب گزارش شده است (Ebrahimi & Fotouhifar, 2016). این گونه از میزبان سبب (Ebrahimi & Fotouhifar, 2016)، پسته و نماتد *Heterodera schachtii* (Ershad, 2009) در ایران گزارش شده است. این گونه به عنوان قارچ درون‌رست از گیاه دارویی *Aloe dhufarensis* (Al-Rashdi et al., 2022) گزارش شده است. جنس *Lophotrichus* اولین بار توسط بنجامین (Benjamin, 1949) در سال ۱۹۴۹ معرفی گردید. تاکنون ۱۳ اسم از این جنس در مایکوبانک (www.mycobank.org) ثبت شده است که برخی از آنها به جنس‌های دیگر منتقل شده اند. بر اساس رده بندی انجام شده توسط کیرک و همکاران (Kirk et al., 2013)، سندووال دنیس و همکاران (Sandoval-Denis et al., 2016)، ماهاراچچیکومبورا و همکاران (Maharachchikumbura et al., 2015 & 2016) و ویجایاواردن و همکاران (Wijayawardene et al., 2017 & 2018) این جنس در خانواده *Microascaceae* قرار داده شده است. گونه *L. ampullus* از نظر ریخت‌شناختی شبیه به گونه *L. martini* است. اما این دو گونه از نظر موهای انتهایی پیریتسیوم تفاوت دارند. در گونه *L. martini* موهای انتهایی کوتاه، مستقیم و یا با خمیدگی کم است. دیواره موها در گونه *L. martini* ضخیم تر است. همچنین انشعاب در موهای انتهایی گونه *L. ampullus* مشاهده نمی‌شود. تعداد گردن پیریتسیوم در گونه *L. martini* برخلاف گونه *L. ampullus*، دو تا چهار عدد است (Doveri, 2014). در این تحقیق دو گونه *L. ampullus* و *L. martini*

از نظر تبارزایی بر اساس توالی نوکلئوتیدی نواحی ITS-rDNA از یکدیگر تفکیک نشدند. نتایج بدست آمده از این تحقیق با نتایج اقراری و همکاران (Eghrari et al., 2015) در خصوص تفکیک دو گونه *L. martini* و *L. ampullus* بر اساس توالی نوکلئوتیدی نواحی بتا-توبولین و ITS مشابهت دارد. همچنین استرین‌های مرجع CBS:292.52 و CBS:291.52 دو گونه *L. ampullus* و *L. martini* نیز از نظر تبارزایی و بر اساس توالی نوکلئوتیدی نواحی ITS-rDNA از یکدیگر تفکیک نشده اند. از دیگر گونه‌های نزدیک می‌توان به گونه *L. macrosporus* اشاره کرد. این گونه با آسکومای کروی، بدون کرک (نهایتاً با تعدادی موهای هیفوئید و یا ریشه مانند)، فاقد گردن طویل، دارای آسکوسپورهای نسبتاً بزرگ ($8-9/5 \times 11-14$ میکرومتر)، و عدم وجود مرحله غیرجنسی، قابل تفکیک است. این گونه از نظر ریخت‌شناختی شبیه به گونه *L. bartlettii* (مترادف *L. brevirostratus*) و *L. fimeti* نیز می‌باشد. گونه *L. bartlettii* نیز مرحله غیرجنسی ندارد، اما در داشتن پریتسیوم‌هایی با گردن بسیار کوتاه تا حالت پاییل مانند (برجستگی پستانک مانند) و یا حتی دو پاییل با یک روزنه نامشخص و موهای انتهایی بلند و آسکوسپورهای کوچکتر ($4/5-7 \times 5-8/10$ میکرومتر) متفاوت است (Doveri, 2014). فون آرکس و همکاران (Arx et al., 1988) و گوارو و همکاران (Guarro et al., 2012) تا حدودی آسکوسپورهای بزرگتر ($6-7/5 \times 8-12$ میکرومتر) را در گونه *L. bartlettii* توصیف کرده اند، اما اندازه آسکوسپورها مانند گونه *L. macrosporus* نمی‌باشد. گونه *L. fimeti* که تنها از کود به دست آمده است، به سختی از *L. macrosporus* قابل تشخیص است، و دارای آسکوسپورهایی با اندازه $8-10 \times 11-13$ میکرومتر و آسکومای تقریباً بدون کرک و از نوع کلیستوتسیوئید است. به نظر می‌رسد وجود مرحله غیرجنسی شبیه به جنس قارچی *Graphium* و آسک‌های تا حدودی بزرگتر در گونه *L. fimeti* تنها تفاوت این دو گونه باشد (Doveri, 2014). بر اساس نتایج ریخت‌شناختی و مولکولی بدست آمده، این اولین گزارش از گونه *L. ampullus* برای فلور قارچی ایران می‌باشد. گونه *C. karsti* به کلاد *Boninense* تعلق دارد. ویژگی متمایز کننده اعضای این کلاد تولید کنیدیوم‌های پهن می‌باشد که نسبت طول به عرض آنها کم است. همچنین در اغلب گونه‌های این کلاد در انتهای کنیدیوم یک زائیده و یا هیلوم وجود دارد. گونه *C. karstii* اولین بار توسط یانگ و همکاران (Yang et al., 2011) توصیف شد. بر اساس نتایج حاصل از این پژوهش گونه *C. karstii* برای دومین بار از ایران گزارش می‌شود. بر اساس مطالعه سامربل و همکاران (Summerbell et al., 2011)، طبقه بندی جنس *Acremonium* بررسی شده است و برخی از گونه‌های مهم پزشکی مانند *S. strictum* و *kiliense* به جنس *Sarocladium* منتقل شده اند. اگرچه این جنس‌ها از نظر ریخت‌شناختی مشابه هستند، اما از نظر تبارزایی از هم فاصله دارند. گونه *H. setulosa* از نظر ریخت‌شناختی یک جنس متنوع از قارچ‌های عامل پوسیدگی چوب است. جدایه‌های این گونه هیچ گونه اندام زایشی و اسپور در محیط کشت تولید نکردند. شناسایی این گونه بر اساس تیپ ریخت‌شناختی و توالی یابی نواحی ژنومی ITS-rDNA انجام گرفت. بر اساس نتایج حاصل از این پژوهش گونه *A. chartarum*، *C. karsti*، *F. globosum*، *H. setulosa*، *K. variispora* و *L. ampullus* برای اولین بار به عنوان قارچ درون‌رست از گیاه گل محمدی در دنیا گزارش می‌شود. گونه *C. karsti* (Abdinezhad et al., 2024)، که به عنوان عامل بیمارگر گیاهی معرفی شده، در این تحقیق به عنوان درون‌رست جداسازی و شناسایی شد. علت این اختلاف را در نحوه و روش جداسازی این گونه‌ها به عنوان درون‌رست و همچنین رفتار متفاوت جدایه‌های گونه‌های قارچی می‌توان بیان نمود.

در این تحقیق مشخص گردید که میزان تولید فنل و فلاونوئید کل و در بین تمام جدایه‌های مورد بررسی اختلاف معنی‌داری در سطح یک درصد دارد. در مطالعه حاضر تعداد زیادی از جدایه‌های قارچی درون‌رست جداسازی شدند که توانایی تولید ترکیبات فنلی و فلاونوئیدی را دارا بودند. فلاونوئیدها مانند کوئرتستین (quercetin) و اسیدهای فنلیک مانند اسید فرولیک (ferulic acid) فعالیت ضد قارچی در برابر برخی از بیمارگرهای گیاهی مانند *Alternaria alternata*، *Rhizoctonia*، *Botrytis cinerea*، *Fusarium oxysporum solani* و *Phytophthora infestans* نشان داده اند (Wianowska et al., 2014).

(al., 2016). نتایج بدست آمده در این تحقیق با نتایج بشیر و همکاران (Bashir et al., 2023a) در مورد امکان تولید فلاونوئید در گیاه توسط قارچ‌های درون‌رست گیاه گل محمدی مطابقت دارد. آنها بیان داشتند که جدایه RDE257 از گونه *Diaporthe melonis* و جدایه RDE85 از گونه *Periconia verrucosa* به طور قابل توجهی محتوای فلاونوئیدها در گیاه را تقویت کرده اند. ترکیبات فنلی نقش مهمی در فعالیت آنتی اکسیدانی دارند. بطور کلی نتایج این تحقیق با نتایج بدست آمده توسط مور و همکاران (More et al., 2015) در مورد امکان تولید فنل در قارچ‌های درون‌رست مطابقت دارد. گونه *H. setulosa* در این مطالعه با تولید $178/63 \mu\text{gGA/gDW}$ بیشترین مقدار فنل کل را در بین جدایه‌های بدست آمده تولید نمود. این مقدار، $3/33$ برابر نتایج بدست آمده در مورد گونه *Aspergillus flavus* (استرین گرفته شده از گروه بیوتکنولوژی موسسه علوم پزشکی پراوارا) در تحقیق انجام شده توسط مور و همکاران (More et al., 2015) می باشد. در تحقیق انجام شده روی جدایه‌های قارچی درون‌رست منتخب گیاه گل محمدی، برترین گونه از نظر تولید میزان فنل و فلاونوئید کل به ترتیب *H. setulosa* ($178/63 \mu\text{gGA/gDW}$) و *L. ampullus* ($470 \mu\text{gGA/gDW}$) می‌باشند که بیشتر از نتایج بدست آمده توسط ناگدا و همکاران (Nagda et al., 2017) در مورد گونه‌های قارچ *Aspergillus* و *Penicillium* می‌باشد. گو (Guo, 2000) گزارش کرد که قارچ‌های درون‌رست با تولید متابولیت‌های ثانویه باعث بهبود عملکرد سیستم دفاعی میزبان علیه عوامل بیماریزا می‌گردند. تعداد زیادی از ترکیبات ضد میکروبی تولید شده توسط قارچ‌های درون‌رست به گروه‌های ساختاری متفاوتی نظیر آلکالوئیدها، ترپنوئیدها، فنل‌ها، کوینین‌ها، فلاونوئیدها و استروئیدها تعلق دارند. با توجه به اینکه جدایه‌های قارچی درون‌رست بدست آمده در این تحقیق توانستند مقادیر متفاوتی از ترکیبات فنلی و فلاونوئیدی را تولید نمایند، نتایج بدست آمده با نتایج گو (Guo, 2000) در مورد امکان تولید ترکیبات ضد میکروبی توسط قارچ‌های درون‌رست مطابقت دارد.

نتیجه گیری و پیشنهادها

ایران با توجه به شرایط اقلیمی خود، دارای یکی از متنوع ترین فلورهای گیاهی است. تنوع ژنتیکی موجود نشان می‌دهد که احتمالاً ایران مرکز تنوع ژنتیکی گیاه گل محمدی است و برای اصلاح ارقام با ویژگی‌های خاص، دارای توان بالقوه زیادی می‌باشد. قارچ‌های درون‌رست نشان دهنده یک مخزن ناشناخته از محصولات طبیعی زیست فعال هستند. با توجه به موارد ذکر شده، مطالعه قارچ‌های درون‌رست گیاه گل محمدی از اهمیت بسزایی برخوردار می‌باشد. در مطالعه حاضر تعداد زیادی از جدایه های قارچی درون‌رست جداسازی شدند که توانایی تولید ترکیبات فنلی و فلاونوئیدی را دارا بودند. این ترکیبات اغلب فعالیت ضد میکروبی دارند و منجر به افزایش مقاومت گیاه به عوامل بیماریزا می‌شوند. این ترکیبات ممکن است منجر به تقویت رشد گیاه گل محمدی شوند. با توجه به سنتی بودن تولید گیاه گل محمدی در ایران و کم بودن عملکرد، پیشنهاد می‌شود که در مطالعات بعدی، بررسی اثرات ترکیبات فنلی و فلاونوئیدی قارچ‌های درون‌رست روی گیاهان گل محمدی در شرایط مزرعه ارزیابی گردد تا در صورت تقویت رشد گیاهان، استفاده از قارچ‌های درون‌رست و یا ترکیبات حاصل از آن‌ها در برنامه تولیدی گلستان‌های گل محمدی در ایران قرار گیرد. با توجه به نقش مهم ترکیبات فنلی در فعالیت آنتی اکسیدانی، مطالعات بیشتر در مورد گونه *H. setulosa* ضروری می‌باشد. تحقیقات بیشتر در سطح مولکولی برای توسعه عوامل درون‌رست برای کشت پایدار گونه *R. damascena* و کنترل زیستی عوامل بیمارگر این گیاه اهمیت دارد.

سپاسگزاری

از دانشگاه تهران جهت حمایت مالی این تحقیق، تشکر و قدردانی می‌شود.

منابع

ارشاد، ج. (۱۴۰۱). قارچ‌ها و شبه قارچ‌های ایران. انتشارات موسسه تحقیقات گیاه پزشکی کشور. ۷۱۲ صفحه.
ثابتی، ع. (۱۳۹۴). زراعت گل محمدی. انتشارات آموزش و ترویج کشاورزی، ۱۱۹ صفحه.

REFERENCES

- Abdollahi Aghdam, S., & Fotouhifar, K. (2017). Identification of some endophytic fungi of cherry trees (*Prunus avium*) in Iran. *Iranian Journal of Plant Protection Science*, 48, 43–57.
- Abdinezhad, E., Alizadeh, A., & Shirzad, A. (2024). *Colletotrichum karstii*, causal agent of anthracnose on ornamental *Ficus benjamina* in Iran. *Journal of Advances in Plant Protection*, 1(1), 51-58.
- Al-Rashdi, F.K.H., Al-Sadi, A.M., Al-Riyamy, B.Z., Maharachchikumbura, S.S., Al-Sabahi, J.N., & Velazhahan, R. (2022). Endophytic fungi from the medicinal plant *Aloe dhufarensis* Lavranos exhibit antagonistic potential against phytopathogenic fungi. *South African Journal of Botany*, 147, 1078-1085.
- Altschul, S.F., Madden, T.L., Zhang, A.A.J., Zhang, Z., Miller, W., & Lipman, D.J. (1997). Gapped BLAST and PSI-BLAST: a new generation of protein database search programs. *Nucleic Acids Research*, 25, 3389-3402.
- Bashir, A., Manzoor, M.M., Ahmad, T., Farooq, S., Sultan, P., Gupta, A. P., & Riyaz-Ul-Hassan, S. (2023a). Endophytic fungal community of *Rosa damascena* Mill. as a promising source of indigenous biostimulants: Elucidating its spatial distribution, chemical diversity, and ecological functions. *Microbiological Research*, 276, 1-14.
- Bashir, A., Ahmad, T., Farooq, S., Lone, W.I., Manzoor, M.M., Nalli, Y., Sultan, P., Chaubey, A., Ali, A., & Riyaz-Ul-Hassan, S. (2023b). A secondary metabolite of *Cercospora* sp., associated with *Rosa damascena* Mill., inhibits proliferation, biofilm production, ergosterol synthesis and other virulence factors in *Candida albicans*. *Microbial Ecology*, 85(4), 1276-1287.
- Beales, P.T., Cairns, W., Duncan, W., Grant, K., Grapes, P., Harkness, K., Mattock, J.H., & Ruston, D. (1998). *Botanica's roses*. Randomhouse Australia Pty. Ltd., Sydney 4(5), 128-154.
- Benjamin, R.K. (1949). Two species representing a new genus of the *Chaetomiaceae*. *Mycologia*, 41(3), 346-354.
- Cheng, X., Li, W., & Cai, L. (2015). Molecular phylogeny of *Ascotricha*, including two new marine algae-associated species. *Mycologia*, 107(3), 490-504.
- Dai, J., Krohn, K., Flörke, U., Draeger, S., Schulz, B., Kiss-Szikszai, A., Antus, S., Kurtán, T., & Van Ree, T. (2006). Metabolites from the endophytic fungus *Nodulisporium* sp. from *Juniperus cedre*. *European Journal of Organic Chemistry*, 15, 3498-3506.
- Damm, U., Cannon, P.F., Woudenberg, J.H.C., Johnston, P.R., Weir, B.S., & Tan, Y.P. (2012). The *Colletotrichum boninense* species complex. *Studies in Mycology*, 73, 1-36.
- Doveri, F. (2014). Coprophilous pyrenomycetes s.l. from the Tuscan Archipelago and adjacent peninsular coast: description of five species new to Italy. *Mycosphere*, 5(1), 188–216.
- Dwibedi, V., Rath, S.K., Joshi, M., Kaur, R., Kaur, G., Singh, D., & Kaur, S. (2022). Microbial endophytes: application towards sustainable agriculture and food security. *Applied Microbiology and Biotechnology*, 106(17), 5359–84.
- Ebrahimi, L., & Fotouhifar, Kh. B. (2016). Identification of some fungi accompanying the scab symptoms in Iran. *Mycologia Iranica*, 3(1), 25–37.
- Eghrari, A. O., Gibas, C., Watkins, T., Vahedi, S., Lee, R. Houle, E., Suarez, M. J., Eberhart, C., Sutton, D. A., Wiederhold, N. P., Sikder, S., & Zhang, S. X. (2015). First human case of fungal keratitis caused by a putatively novel species of *Lophotrichus*. *Journal of Clinical Microbiology*, 53(9), 3063–3067.
- Elshafie, H.S., Camele, I., & Mohamed, A.A. (2023). A comprehensive review on the biological, agricultural and pharmaceutical properties of secondary metabolites based-plant origin.

- International Journal of Molecular Sciences*, 24(4), 3266.
- Ershad, D. (2009). Fungi of Iran. Iranian Research Institute of Plant Protection, Tehran, Iran. Pp. 531.
- Etalo, D.W., Jeon, J.S., & Raaijmakers, J.M. (2018). Modulation of plant chemistry by beneficial root microbiota. *Natural Product Reports*, 35(5), 398–409.
- Farooq, S., Nalli, Y., Ali, A., & Riyaz-Ul-Hassan, S. (2018). Chemical investigation of an endophyte isolated from *Rosa damascene*. Conference: IIIM Industry-Academia meet on opportunities and challenges in fermentation based industrial processes.
- Gaitan, M.A.G., Wen, S., Fetcher, N., & Bayman, P. (2005). Effects of fungicides on endophytic fungi and photosynthesis in seedlings of a tropical tree, *Guarea guidonia* (Meliaceae). *Acta Biológica Colombiana*, 10(2), 41-47.
- Gao, Y., Xu, Y., Dong, Z., Guo, Y., Luo, J., Wang, F., Yan, L., & Zou, X. (2025). Endophytic fungal diversity and its interaction mechanism with medicinal plants. *Molecules*, 30(5), p.1028.
- Gault, S.M., & Synge, P.M. (1971). *Dictionary of roses in color*. First ed., Ebury Press, USA.
- Gautam, V.S., Singh, A., Kumari, P., Nishad, J.H., Kumar, J., Yadav, M., Bharti, R., Prajapati, P., & Kharwar, R.N. (2022). Phenolic and flavonoid contents and antioxidant activity of an endophytic fungus *Nigrospora sphaerica* (EHL2), inhabiting the medicinal plant *Euphorbia hirta* (dudhi) L. *Archives of Microbiology*, 204(2), 140.
- Ghasemi Esfahlan, S., Hemmati, R., Mohebbi, S., Batley, J., & Arzanlou, M. (2023). Identification of endophytic fungi of grapevine with emphasis on the causal agents of grapevine trunk disease in the vineyards of Zanjan province in Iran. *Forest Pathology*, 53(1), 12784.
- Ghobad-Nejhad, M., Asgari, B., & Chaharmiri Dokhaharani, S. (2017). Notes on some endophytic fungi isolated from *Quercus brantii* in Dena, Kohgiluyeh and Boyer-Ahmad province. *Mycologia Iranica*, 4(1), 1-12.
- Guarro, J., Gené, J., Stchigel, A.M., & Figueras, M.J. (2012). Atlas of soil Ascomycetes. CBS Biodiversity Series 10, Utrecht.
- Gudin, S. (2000). Rose: genetics and breeding. *Plant Breeding Reviews*, 17, 159-190.
- Guo, L.D., Hyde, K.D., & Liew, C.Y. (2000). Identification of endophytic fungi from *Livistona chinensis* based on morphology and rDNA sequences. *New Phytologist*, 147, 617-630.
- Han, Z., Mei, W.L., Cui, H.B., & Zeng, Y.B. (2008). Antibacterial constituents from the endophytic fungus *Penicillium* sp. of mangrove plant *Cerbera manghas*. *Chemical Journal of Chinese Universities*, 29(4), 749-752.
- Hassan, A. (2007). Novel natural products from endophytic fungi of Egyptian medicinal plants-chemical and biological characterization. PhD Thesis, University of Dusseldorf. P 270.
- Hoffman, A.M., Mayer, S.G., Strobel, G.A., Hess, M.W., Sovocool, G.W., & Grange, A.H. (2008). Purification, identification and activity of phomodione, a furandione from an endophytic *Phoma* species. *Phytochemistry*, 69(4), 1049-56.
- Jamali, S. (2021). First report of *Ascotricha chartarum* for funga of Iran. *Rostaniha*, 22(1), 147-149.
- Jan, R., Asaf, S., Numan, M., & Kim, K.M. (2021). Plant secondary metabolite biosynthesis and transcriptional regulation in response to biotic and abiotic stress conditions. *Agronomy*, 11(5), 968.
- Jawanjal, A.V., & Barate, D.L. (2017). Studies on endophytes isolated from rose and soyabean. *International Journal of Current Microbiology and Applied Sciences*, 6(6), 2074-2081.
- Júnior, H.T., Fischer, I.H., Camara, M.P.S., & Júnior, N.M. (2010). First report of *Colletotrichum boninense* infecting yellow passion fruit (*Passiflora edulis* f. *flavicarpa*) in Brazil. *Australasian Plant Disease Notes*, 5(1), 70-72.
- Khan, Z., Ahmad, S., Jeragh, A., Alfouzan, W., Al Foudri, H., Hassan, N., Asadzadeh, M., Joseph, L., & Varghese, S. (2019). First isolation of *Ascotricha chartarum* from bronchoalveolar lavage of two patients with pulmonary infections. *New Microbes and New Infections*, 28, 11-16.
- Kamtekar, S., Keer, V., & Patil, V. (2014). Estimation of phenolic content, flavonoid content,

- antioxidant and alpha amylase inhibitory activity of marketed polyherbal formulation. *Journal of Applied Pharmaceutical Science*, 4(09), 061-065.
- Kheir, E.A., Elhussein, A.A., & Yagi, S.M. (2023). Phenolic composition and biological activity of endophytic fungi isolates inhabited *Acacia nilotica*. *Natural Resources for Human Health* 3, 364-369
- Kirk, P.M., Stalpers, J.A., Braun, U., Crous, P.W., Hansen, K., Hawksworth, D.L., Hyde, K.D., Lücking, R., Lumbsch, T.H., Rossman, A.Y., & Seifert, K.A. (2013). A without-prejudice list of generic names of fungi for protection under the International Code of Nomenclature for algae, fungi, and plants. *IMA fungus*, 4, 381-443.
- Kumar, S., Stecher, G., Li, M., Knyaz, C., & Tamura, K. (2018). MEGA X: molecular evolutionary genetics analysis across computing platforms. *Molecular Biology and Evolution*, 35(6), 1547-1549.
- Kusari, S., Pandey, S.P., & Spiteller, M. (2013). Untapped mutualistic paradigms linking host plant and endophytic fungal production of similar bioactive secondary metabolites. *Phytochemistry*, 91, 81-87.
- Maharachchikumbura, S.S., Hyde, K.D., Jones, E.G., McKenzie, E.H., Huang, S.K., Abdel-Wahab, M.A., Daranagama, D.A., Dayarathne, M., D'souza, M.J., Goonasekara, I.D., & Hongsanan, S. (2015). Towards a natural classification and backbone tree for Sordariomycetes. *Fungal Diversity*, 72, 199-301.
- Maharachchikumbura, S.S., Hyde, K.D., Jones, E.G., McKenzie, E.H.C., Bhat, J.D., Dayarathne, M.C., Huang, S.K., Norphanphoun, C., Senanayake, I.C., Perera, R.H., & Shang, Q.J. (2016). Families of Sordariomycetes. *Fungal Diversity*, 79, 1-317.
- Maria, G.L., Sridhar, K.R., & Raviraja, N.S. (2005). Antimicrobial and enzyme activity of mangrove endophytic fungi of southwest coast of India. *Journal of Agricultural Technology*, 1, 67-80.
- Miguel, P.S.B., Miguel, F.B., Moreira, B.C., de Oliveira, M.N.V., Delvaux, J.C., de Souza Freitas, F., Borges, A.C., & Costa, M.D. (2019). Diversity of the endophytic filamentous fungal leaf community at different development stages of eucalyptus. *Journal of Forestry Research*, 30, 1093-1103.
- Mirtalebi, M., Banihashemi, Z., Sabahi, F., & Mafakheri, H. (2016). Dieback of rose caused by *Acremonium sclerotigenum* as a new causal agent of rose dieback in Iran. *Spanish Journal of Agricultural Research*, 14(4), p.24.
- More, Y.W., Sharma, M.G., & Raut, R.R. (2015). Estimation of total content of phenol from some endophytic fungi. *International Journal of Informative & Futuristic Research*, 2(6), 1718-1721.
- Nagda, V., Gajbhiye, A., & Kumar, D. (2017). Isolation and characterization of endophytic fungi from *Calotropis procera* for their antioxidant activity. *Asian Journal of Pharmaceutical and Clinical Research*, 10(3), 254-258.
- Nakasone, K.K. (1988). Studies in *Phlebia*. Six species with teeth. *Mycotaxon*, 31(443).
- O'Donnell, K., Kistler, H.C., Cigelnik, E., & Ploetz, R.C. (1998). Multiple evolutionary origins of the fungus causing Panama disease of banana: Concordant evidence from nuclear and mitochondrial gene genealogies. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 95, 2044-2049.
- Leslie, J., & Summerell, B. (2006). *The Fusarium Laboratory Manual* Blackwell Publishing Professional. Ames, IA, USA. Pp. 388.
- Petrini, O., Sieber, T.N., Toti, L., & Viret, O. (1992). Ecology, metabolite production, and substrate utilization in endophytic fungi. *Natural Toxins*, 1, 185-196.
- Rai, M., Rathod, D., Agarkar, G., Dar, M., Brestic, M., Pastore, G.M., & Junior, M.R.M. (2014). Fungal growth promotor endophytes: a pragmatic approach towards sustainable food and agriculture. *Symbiosis*, 62, 63-79.
- Rusanov, K., Kovacheva, N., Vosman, B., Zhang, L., Rajapakse, S., Atanassov, A., & Atanassov, I. (2005). Microsatellite analysis of *Rosa damascena* Mill. accessions reveals genetic similarity

- between genotypes used for rose oil production and old Damask rose varieties. *Theoretical and Applied Genetics*, 111, 804-9.
- Rusanov, K., Kovacheva, N., Stefanova, K., Atanassov, A., & Atanassov, I. (2009). *Rosa damascena* -genetic resources and capacity building for molecular breeding. *Biotechnology & Biotechnological Equipment*, 23, 1436-1439.
- Saakov, S., & Rieksta, D. (1973). Roses. Zinatne, Riga (in Russian), 1, 102-130.
- Sandoval-Denis, M., Guarro, J., Cano-Lira, J.F., Sutton, D.A., Wiederhold, N.P., de Hoog, G.S., Abbott, S.P., Decock, C., Sigler, L., & J. Gene. (2016). Phylogeny and taxonomic revision of Microascaceae with emphasis on synnematus fungi. *Studies in Mycology*, 83, 193–233.
- Schulz, B., Boyle, C., Draeger, S., Rommert, A., & Krohn, K. (2002). Endophytic fungi: a source of novel biologically active secondary metabolites. *Mycological Research*, 106, 996-1004.
- Schieber, A., Stintzing, F.C., & Carle, R. (2001). By-products of plant food processing as a source of functional compounds-recent developments. *Trends in Food Science and Technology*, 12, 401–413.
- Strobel, G.A. (2003). Endophytes as sources of bioactive products. *Microbes and Infection*, 5, 535-544.
- Strobel, G.A., & Daisy, B. (2003). Bioprospecting for microbial endophytes and their natural products. *Microbiology and Molecular Biology Reviews*, 67(4), 491-502.
- Summerbell, R.C., Gueidan, C., Schroers, H.J., De Hoog, G.S., Starink, M., Arocha Rosete, Y., Guarro, J., & Scott, J.A. (2011). *Acremonium* phylogenetic overview and revision of *Gliomastix*, *Sarocladium*, and *Trichothecium*. *Studies in Mycology*, 68, 139–162.
- Tan, R.X., & Zou, W.X. (2001). Endophytes: a rich source of functional metabolites. *Natural Product Reports*, 18, 448-59.
- von Arx, J.A., Figueras M.J., & Guarro, J. (1988). Sordariaceous Ascomycetes without ascospore ejaculation. *Nova Hedwigia*, 94, 1–104.
- Wang, L.J., Yang, X.S., & He, X.S. (2007). Screening of antibacterial strains from endophytic fungi in *Ginkgo* leaves. *Sichuan Food Ferment*, 4, 34-36.
- White, T.J., Bruns, T., Lee, S., & Taylor, J.W. (1990). Amplification and direct sequencing of fungal ribosomal RNA genes for phylogenetics. In: Innis, M.A., Gelfand, D.H., Sninsky, J.J., White, T.J. (eds.), *PCR Protocols: A Guide to Methods and Applications*. Academic Press, New York, P. 315-322.
- Wianowska, D., Garbaczewska, S., Cieniecka-Roslonkiewicz, A., Dawidowicz, A.L., & Jankowska, A. (2016). Comparison of antifungal activity of extracts from different *Juglans regia* cultivars and juglone. *Microbial Pathogenesis*, 100, 263-267.
- Wijayawardene, N.N., Hyde, K.D., Rajeshkumar, K.C., Hawksworth, D.L., Madrid, H., Kirk, P.M., Braun, U., Singh, R.V., Crous, P.W., Kukwa, M., & Luecking, R. (2017). Notes for genera: Ascomycota. *Fungal Diversity*, 86, 1-594.
- Wijayawardene, N.N., Hyde, K.D., Lumbsch, H.T., Liu, J.K., Maharachchikumbura, S.S.N., Ekanayaka, A.H., Tian, Q., & Phookamsak, R. (2018). Outline of Ascomycota: 2017. *Fungal Diversity*, 88, 167-263.
- Wylie, A.P. (1955). The history of garden roses. *Journal of the Royal Horticultural Society*, 80(2), 77–87.
- Yadav, P., Yadav, C., Joshi, A., & Meena, M. (2025). Characterization of endophytic fungal community. multi-omics approach to investigate endophyte diversity. *Springer Singapore*, p. 243-263.
- Yang, Y.L., Cai, L., Yu, Z.N., Liu, Z.Y., & Hyde, K.D. (2011). *Colletotrichum* species on orchids in southwest China. *Cryptogamie, Mycologie*, 32(3), 229–253.
- Yu, H., Zhang, L., Li, L., Zheng, C., Guo, L., Li, W., Sun, P., & Qin, L. (2010). Recent developments and future prospects of antimicrobial metabolites produced by endophytes. *Microbiological Research*, 165, 437-449.

- Zhang, P., Zhou, P.P., Jiang, C., Yu, H., & Yu, L.J. (2008). Screening of taxol-producing fungi based on PCR amplification from *Taxus*. *Biotechnology Letters*, 30, 2119-2123.
- Zhao, Y., Xiong, Z., Wu, G., Bai, W., Zhu, Z., Gao, Y., Parmar, S., Sharma, V. K., & Li., H. (2018). Fungal endophytic communities of two wild *Rosa* varieties with different powdery mildew susceptibilities. *Frontiers in Microbiology*, 9(2462), 1-10.
- Zhong, S., & Steffenson, B.J. (2001). Virulence and molecular diversity in *Cochliobolus sativus*. *Phytopathology*, 91, 469-476.