



<https://bjm.ui.ac.ir/?lang=en>

Journal of Microbial Biology

E-ISSN: 3060-7647

15rd Year, Vol. 15, No. 58, 2026 pp. 1-24

Received: 22/02/2026

Accepted: 29/06/2026

(Research Paper)

Isolation and Identification of Fungi Associated with Maize (*Zea mays*) in Nahavand County

Rozita Seifi

Department of Plant Pathology, Faculty of Agriculture, Lorestan University, Khorramabad, Iran

zeraatkeshavarzi@gmail.com

Mostafa Darvishnia 

Department of Plant Protection, Faculty of Agriculture, Lorestan University, Khorramabad, Iran

darvishnia.m@lu.ac.ir

Samira Pakbaz

Department of Plant Protection, Faculty of Agriculture, Lorestan University, Khorramabad, Iran

pakbaz.s@lu.ac.ir

Zahra Mirzaeipour

Department of Plant Protection, Faculty of Agriculture, Lorestan University, Khorramabad, Iran

za.mirzaeipour@gmail.com

Abstract

Endophytic fungi are diverse microorganisms that symbiotically colonize plant tissues without causing visible disease symptoms. To identify and evaluate endophytic fungi associated with corn (*Zea mays* L.), samples were collected from different plant organs during 2023 and 2024 in maize fields in Nahavand County, Iran. Following surface sterilization, endophytic fungi were isolated and identified based on morphological characteristics and molecular markers, including the ITS and *tef1-a* gene regions. Morphological and molecular analyses revealed that the maize endophytic fungi comprised seven species: *Acremonium sclerotigenum*, *Alternaria telluris*, *Aspergillus fumigatus*, *Aspergillus terreus*, *Fusarium equiseti*, *Fusarium verticillioides*, and *Chaetomium globosum*. Greenhouse experiments evaluating the plant growth-promoting potential showed that most isolates had a significant positive effect ($P < 0.05$) on maize growth parameters. The strongest growth-promoting effect was observed for *C. globosum* and *F. equiseti*, respectively. In contrast, *F. verticillioides* significantly reduced growth indices and exhibited pathogenic behavior. A review of the available literature indicated that *A. sclerotigenum*, *A. telluris*, *A. fumigatus*, *A. terreus*, *F. equiseti*, and *C. globosum* are reported here for the first time as endophytes of maize in Iran. Moreover, to the best of our knowledge, there are no previous reports of *A. telluris* and *A. terreus* as endophytic fungi associated with maize. Therefore, the present study may represent the first report of these two species as endophytes in maize. Overall, the findings demonstrated the considerable functional diversity of maize endophytic fungi and highlighted the potential of selected isolates for application in sustainable agriculture as plant growth-promoting microorganisms.

Keywords: Endophyte, Pathogen, Molecular, Growth stimulant.

¹Corresponding Author

3060-7647/ © 2026 The Authors

This is an open access article under the CC BY-NC-ND/4.0/ License (<https://creativecommons.org/licenses/by-nc-nd/4.0/>).

Seifi, R., Darvishnia, M., Pakbaz, S., Mirzaeipour, Z. Isolation and identification of fungi associated with Maize (*Zea mays*) in Nahavand county. *Journal of Microbial Biology*, 2026; 15(58):1-24. doi: 10.22108/bjm.2026.148476.1671



Introduction

Corn (*Zea mays* L.) is one of the most important crop species globally. The high global demand for this plant, owing to its extensive applications as a valuable food source for humans and livestock, raw material in various industries, and feedstock for biofuel production, has led to a rapid increase in its cultivated area and production compared to other cereal crops. In recent decades, the widespread and often indiscriminate use of chemical pesticides and fungicides has not only resulted in adverse environmental impacts and threats to human health but has also contributed to the emergence and spread of resistance in plant pathogenic populations to these chemicals. In this context, biological control methods have emerged as one of the most effective approaches in sustainable agricultural systems, playing a crucial role in reducing dependence on chemical inputs. Beneficial plant-associated microorganisms, particularly fungi and antagonistic bacteria, have attracted increasing attention for biological disease control and plant growth promotion due to their diverse mechanisms of action. These microorganisms can act through competition, production of antimicrobial metabolites, induction of systemic resistance, and enhancement of plant nutrient uptake, thereby serving as suitable alternatives to conventional chemical methods of pest control. Among these, endophytic fungi are particularly promising for the development of biotechnological strategies for sustainable agriculture, owing to their high taxonomic diversity, wide range of biological activities, and ease of isolation and cultivation from various plant tissues. Endophytes are microorganisms that colonize the internal tissues of healthy plants without causing visible disease symptoms. In maize, endophytes exhibit a spectrum of interactions ranging from mutualistic symbiosis to potentially pathogenic behavior, and these interactions are influenced by factors such as fungal strain, host genotype, and environmental conditions. Therefore, considering the importance of maize as a strategic crop and the potential role of endophytic fungi in improving plant growth, reducing chemical input dependency, and promoting sustainable agriculture, the present study was conducted to isolate and identify endophytic fungi associated with maize and to evaluate their potential for plant growth promotion under greenhouse conditions.

Materials and Methods

This study focused on identifying endophytic species isolated from maize in Nahavand County. Following field surveys of maize fields, 130 samples were collected from plants that exhibited superior growth, greater height, and higher vigor than neighboring plants. Surface sterilization of plant samples was performed as described by Song et al. (2011). Briefly, the samples were sequentially immersed in 70% ethanol for 60 s, 2% commercial sodium hypochlorite solution (bleach) for 3 min, and 96% ethanol for 30 s, followed by four rinses with sterile distilled water. The samples were then dried under sterile conditions. To confirm the effectiveness of surface sterilization, the final rinse water was plated onto potato dextrose agar (PDA) medium, and the absence of microbial growth after incubation was considered evidence of successful surface sterilization. Morphological and morphometric identification of the isolates was performed using standard fungal taxonomic keys. For molecular identification, one or more representative isolates from each morphotype were selected based on their colony morphology and other distinguishing characteristics. Genomic DNA was extracted using the cetyltrimethylammonium bromide (CTAB) method. Partial sequences of the ribosomal DNA internal transcribed spacer (ITS) region and translation elongation factor 1- α (*tef1- α*) gene were used as molecular markers. The obtained sequences were deposited in the NCBI database. Phylogenetic analysis and tree construction were performed using MEGA software, and the isolates were compared with reference sequences available in the GenBank database. To assess the robustness of the phylogenetic tree, bootstrap analysis was performed with 1,000 replicates.

Greenhouse experiments were conducted to evaluate the effects of native fungal isolates on maize growth. The experiments were conducted using a completely randomized design (CRD) with three replicates. The obtained data were analyzed using SPSS software (version 27), and means were compared using Tukey's test at a significance level of 5% ($P < 0.05$).

Discussion of Results & Conclusions

Based on morphological and molecular analyses, seven fungal species, namely *Acremonium sclerotigenum*, *Alternaria tellustis*, *Aspergillus fumigatus*, *Aspergillus terreus*, *Fusarium equiseti*, *Fusarium verticillioides*, and *Chaetomium globosum*, were identified as maize endophytic fungi. Greenhouse experiments indicated that most isolates had a significant effect ($P < 0.05$) on improving maize growth. Inoculation with *A. sclerotigenum* significantly enhanced plant growth, resulting in a 43% increase in shoot dry weight, a 19% increase in root dry weight, a 12.98% increase in plant height, and a 44.58% increase in root length compared to the control.

In contrast, *A. tellustris* showed a relatively moderate growth-promoting effect, with increases of 3.5% in shoot dry weight, 35.91% in root dry weight, 16.22% in plant height, and 24.91% in root length compared to the control. Greenhouse evaluation of *A. fumigatus* and *A. terreus* revealed that inoculation with these isolates increased shoot dry weight by 32.94% and 34.69%, root dry weight by 37.15% and 23.83%, plant height by 19.46% and 22.65%, and root length by 59% and 48.58%, respectively, relative to the control. Inoculation with *F. equiseti* significantly improved maize growth, increasing shoot dry weight by 46.19%, root dry weight by 32.81%, plant height by 17%, and root length by 32.62%, respectively, compared to the control. Conversely, inoculation with *F. verticillioides* resulted in a significant reduction in growth parameters, including a 29.23% decrease in shoot dry weight, a 43.34% decrease in root dry weight, a 13% reduction in plant height, and a 19.33% reduction in root length, indicating its pathogenicity. Similarly, *C. globosum* significantly promoted plant growth, increasing shoot dry weight by 50.48%, root dry weight by 62.84%, plant height by 17.94%, and root length by 62.33%, respectively, compared with the control. Overall, the comparison of greenhouse results revealed that *C. globosum* and *F. equiseti* exhibited the strongest plant growth-promoting effects.

Based on the available literature, *A. sclerotigenum*, *A. tellustris*, *A. fumigatus*, *A. terreus*, *F. equiseti*, and *C. globosum* are reported here for the first time as endophytes associated with maize in Iran. Moreover, no previous reports exist regarding *A. tellustris* as a maize endophyte; therefore, this finding may represent one of the first global records of this species as an endophyte in maize.

Morphological and molecular characterization of the seven isolates confirmed that *F. verticillioides* exhibited pathogenic behavior by significantly reducing growth parameters, whereas the remaining isolates showed plant growth-promoting effects. These results highlight the considerable diversity of endophytic fungi associated with maize, with most isolates exhibiting beneficial effects on plant growth.

Identification based on morphological traits and molecular markers (ITS and *tef1-α*) further confirmed the rich biodiversity of maize-associated endophytes in Iran. Most isolates enhanced plant growth, with *C. globosum* and *F. equiseti* exhibiting the highest growth-promoting activity, whereas *F. verticillioides* acted as a pathogenic endophyte. Overall, the findings demonstrate that endophytic fungi associated with maize possess considerable functional diversity, and a substantial proportion of the identified isolates has the potential to improve plant growth. This highlights their promising application in sustainable agricultural systems and the reduction of dependence on chemical inputs. However, further studies are required to investigate the behavior of these endophytes in other host plants, their role in pathogen suppression, and their effects on plant metabolites, hormones, and micronutrient uptake using advanced experimental approaches.

جداسازی و شناسایی قارچ‌های همراه با ذرت (*Zea mays*) در شهرستان نهاوند

رزیتا سیفی

بیماری‌شناسی گیاهی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه لرستان، خرم‌آباد

zeraatkeshavarzi@gmail.com

مصطفی درویش‌نیا

گروه گیاهپزشکی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه لرستان، خرم‌آباد

darvishnia.m@lu.ac.ir

سمیرا پاکباز

گروه گیاهپزشکی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه لرستان، خرم‌آباد

pakbaz.s@lu.ac.ir

زهرا میرزایی‌پور

بیماری‌شناسی گیاهی، گروه گیاهپزشکی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه لرستان، خرم‌آباد

za.mirzaeipour@gmail.com

چکیده

قارچ‌های اندوفیت، میکروارگانیسم‌های متنوعی هستند که بدون ایجاد آلودگی آشکار، گیاهان را به‌صورت همزیست کلونیزه می‌کنند. به‌منظور شناسایی و ارزیابی قارچ‌های اندوفیت گیاه ذرت (*Zea mays* L.)، نمونه‌برداری از اندام‌های گیاه طی سال‌های ۱۴۰۲ و ۱۴۰۳ در مزارع ذرت شهرستان نهاوند انجام شد. پس از ضدعفونی سطحی نمونه‌ها، قارچ‌های اندوفیت، جداسازی و براساس ویژگی‌های ریخت‌شناختی و با نشانگرهای مولکولی ITS و *tef1-a* شناسایی شدند. همچنین ارزیابی پتانسیل این قارچ‌ها در تحریک رشد گیاه در شرایط گلخانه انجام شد. نتایج بررسی ریخت‌شناسی و مولکولی جدایه‌ها نشان داد جدایه‌های قارچی اندوفیت ذرت شامل هفت گونه به نام‌های *Alternaria*، *Acremonium sclerotigenum*، *Chaetomium* و *Fusarium verticillioides*، *Fusarium equiseti*، *Aspergillus terreus*، *Asergillus fumigatus*، *tellustris* و *globosum* بودند. آزمایش گلخانه‌ای نشان داد اکثر جدایه‌ها اثر معنی‌داری ($P < 0.05$) بر افزایش شاخص‌های رشدی ذرت داشتند. بیشترین اثر محرک رشد مربوط به *Ch. globosum* و *F. equiseti* بود؛ در مقابل، *F. verticillioides* با کاهش معنی‌دار شاخص‌های رشدی، رفتار بیمارگر از خود نشان داد. براساس بررسی منابع علمی در دسترس، گونه‌های *A. terreus*، *A. fumigatus*، *A. tellustris*، *A. sclerotigenum*، *F. equiseti* و *A. terreus* و *A. tellustris* از *Ch. globosum* به‌عنوان اندوفیت ذرت و برای اولین بار از ایران گزارش می‌شوند. همچنین، تاکنون گزارشی از *A. terreus* و *A. tellustris* به‌عنوان اندوفیت ذرت در منابع علمی در دسترس نیست؛ ازاین‌رو، یافته‌های این پژوهش می‌تواند از نخستین گزارش‌های مرتبط با این گونه‌ها در ذرت محسوب شود. درمجموع، نتایج این پژوهش نشان داد قارچ‌های اندوفیت ذرت دارای تنوع عملکردی بالایی هستند و برخی جدایه‌ها برای کاربرد در کشاورزی پتانسیل پایدار دارند.

واژه‌های کلیدی: اندوفیت، بیمارگر، مولکولی، محرک رشد

* نویسنده مسئول مکاتبات

سیفی، رزیتا، درویش‌نیا، مصطفی، پاکباز، سمیرا، میرزایی‌پور، زهرا. جداسازی و شناسایی قارچ‌های همراه با ذرت (*Zea mays*) در شهرستان نهاوند. زیست‌شناسی

میکروبی، ۱۴۰۵؛ ۵۸(۱): ۱-۲۴. doi: 10.22108/bjm.2026.148476.1671



مقدمه

ذرت (*Zea mays* L.) یکی از مهم‌ترین محصولات زراعی جهان به شمار می‌رود. تقاضای بالای جهانی برای این گیاه، به دلیل کاربردهای گسترده آن به عنوان منبع غذایی ارزشمند برای انسان و دام، ماده اولیه صنایع مختلف و تولید سوخت‌های زیستی، موجب افزایش سریع سطح زیرکشت و تولید آن نسبت به سایر غلات شده است (۲،۱). با این حال، رواج نظام‌های کشت تک‌محصولی و یکنواختی ژنتیکی ارقام تجاری ذرت که عمدتاً ناشی از محدود بودن منابع ژنتیکی متنوع است، شرایط مناسبی را برای استقرار، تکثیر و گسترش عوامل بیماری‌زای گیاهی فراهم کرده است (۴،۳).

در دهه‌های اخیر، استفاده گسترده و بی‌رویه از آفت‌کش‌ها و قارچ‌کش‌های شیمیایی، علاوه بر پیامدهای نامطلوب زیست‌محیطی و تهدید سلامت انسان، منجر به بروز و گسترش مقاومت در جمعیت عوامل بیماری‌زای گیاهی شده است؛ از این رو، توسعه و به کارگیری راهکارهای جایگزین، کارآمد و کم‌خطر در چارچوب مدیریت تلفیقی آفات و بیماری‌ها، امری ضروری تلقی می‌شود. در این میان، روش‌های کنترل بیولوژیک به عنوان یکی از مؤثرترین رویکردها در نظام‌های کشاورزی پایدار، نقش مهمی در کاهش وابستگی به نهاده‌های شیمیایی دارد (۵).

میکروارگانسیم‌های مفید همزیست با گیاهان، به ویژه قارچ‌ها و باکتری‌های آنتاگونیست، به دلیل برخورداری از سازوکارهای زیستی متنوع، توجه فزاینده‌ای را در زمینه کنترل بیولوژیک بیماری‌ها و ارتقای رشد گیاهان به خود جلب کرده‌اند. این میکروارگانسیم‌ها می‌توانند از طریق رقابت، تولید متابولیت‌های ضد میکروبی، القای مقاومت سیستمیک و بهبود تغذیه گیاه، جایگزین مناسبی برای روش‌های شیمیایی متداول باشند. در این میان، قارچ‌های اندوفیت به دلیل تنوع تاکسونومیک بالا، دامنه وسیع فعالیت‌های زیستی و امکان جداسازی و کشت آسان از بافت‌های گیاهی مختلف، به عنوان گزینه‌ای امیدبخش در

توسعه راهبردهای زیست‌فناورانه در کشاورزی پایدار مطرح هستند (۷،۶).

اندوفیت‌ها به عنوان گروهی از میکروارگانسیم‌ها تعریف می‌شوند که بدون ایجاد علائم بیماری، بافت‌های داخلی گیاهان سالم را کلونیزه می‌کنند. این موجودات در تمامی خانواده‌های گیاهی گزارش شده‌اند و از تنوع زیستی چشمگیری در سطح گونه‌ها، اندام‌های گیاهی و مناطق جغرافیایی مختلف برخوردارند (۹،۸). در گیاه ذرت، اندوفیت‌ها طیفی از تعاملات عملکردی، از همزیستی سودمند تا رفتارهای بالقوه بیماری‌زا، از خود نشان می‌دهند که این تعاملات به عواملی نظیر سویه قارچ، ژنوتیپ میزبان و شرایط محیطی وابسته است (۱۱،۱۰). اگرچه قارچ‌های اندوفیت از اندام‌های مختلف ذرت شناسایی شده‌اند (۱۳،۱۲)، دانش موجود درخصوص ساختار جامعه اندوفیتی و دینامیک تعاملات میزبان-اندوفیت در این گیاه هنوز محدود بوده و نیازمند بررسی‌های جامع‌تر است (۱۷-۱۴). افزون بر این، باوجود گزارش‌هایی درخصوص نقش‌های عملکردی اندوفیت‌ها در ذرت، پتانسیل واقعی آنها در تحریک رشد گیاه یا بروز بیماری به‌طور کامل شناخته نشده است.

یکی از مزایای مهم قارچ‌های اندوفیت، قابلیت کشت و تکثیر آنها در شرایط آزمایشگاهی است که امکان مطالعه دقیق ویژگی‌های زیستی و کاربردی آنها را فراهم می‌کند. گروهی از این قارچ‌ها که به عنوان اندوفیت‌های محرک رشد گیاه شناخته می‌شوند، از طریق مکانیسم‌هایی نظیر تولید هورمون‌های گیاهی، افزایش قابلیت جذب عناصر غذایی و ترشح ترکیبات ضد میکروبی، موجب بهبود رشد و سلامت گیاه می‌شوند. این اثرات می‌توانند به صورت مستقیم یا غیرمستقیم و از طریق افزایش تحمل گیاه به تنش‌های زیستی و غیرزیستی اعمال شوند (۱۸). براساس این، قارچ‌های اندوفیت به عنوان ابزارهایی نوین با پتانسیل بالا برای کاربرد در کشاورزی پایدار، به ویژه در مناطق خشک و نیمه‌خشک شایان توجه قرار گرفته‌اند (۱۹).

شست‌وشو روی محیط کشت PDA، تلقیح و عدم رشد میکروارگانیسم‌ها پس از نگهداری به‌عنوان تأیید ضدعفونی صحیح در نظر گرفته شد.

کشت و خالص‌سازی جدایه‌ها

پس از خشک‌شدن، بافت‌های ضدعفونی‌شده هر اندام گیاهی به‌طور جداگانه به قطعاتی به طول تقریبی ۴ تا ۵ میلی‌متر برش داده شدند و تعداد ۳ تا ۴ قطعه از هر نمونه در تشتک پتری‌های ۱۰ سانتی‌متری حاوی محیط‌های کشت مختلف شامل آب آگار ۲ درصد (WA)، مالت آگار (MEA) و محیط سیب‌زمینی دکستروز آگار (PDA) حاوی کلرامفنیکل (۱۰۰ میلی‌گرم بر لیتر) به‌منظور جلوگیری از رشد باکتری‌ها کشت داده شدند (۲۰).

تشتک پتری‌ها در دمای ۲۵ درجه سانتی‌گراد و در شرایط تاریکی به مدت ۳ تا ۴ هفته در انکوباتور نگهداری شدند. در طول دوره انکوباسیون، پرگنه‌های قارچی که از اطراف بافت‌های گیاهی ظاهر می‌شدند، به‌عنوان قارچ‌های اندوفیت در نظر گرفته و برای خالص‌سازی، به محیط کشت PDA حاوی استرپتومایسین (۰/۲ گرم بر لیتر) منتقل شدند. خالص‌سازی جدایه‌ها با استفاده از روش نوک ریشه انجام گرفت.

شناسایی ریخت‌شناسی قارچ‌های اندوفیت

شناسایی جدایه‌ها براساس ویژگی‌های ریخت‌شناسی و ریخت‌سنجی انجام گرفت. بدین منظور، جدایه‌ها روی محیط‌های کشت PDA، MEA، CLA و PCA کشت داده شدند تا ویژگی‌های پرگنه، رنگ، بافت، سرعت رشد و ساختارهای زایشی مورد بررسی قرار گیرند.

مشاهدات میکروسکوپی با استفاده از میکروسکوپ نوری Olympus BX51 انجام شد و شناسایی اولیه در سطح جنس براساس کلیدهای طبقه‌بندی استاندارد قارچ‌ها صورت گرفت (۲۱-۲۴). در صورت نیاز به شناسایی دقیق‌تر در سطح

بنابراین، با توجه به اهمیت ذرت به‌عنوان یکی از محصولات راهبردی کشاورزی و نقش بالقوه قارچ‌های اندوفیت در بهبود رشد گیاه، کاهش وابستگی به نهاده‌های شیمیایی و توسعه کشاورزی پایدار، این پژوهش با هدف جداسازی و شناسایی قارچ‌های اندوفیت همراه با گیاه ذرت و بررسی تنوع زیستی آنها به‌منظور ارزیابی پتانسیل این قارچ‌ها در تحریک رشد گیاه انجام شد.

مواد و روش‌ها

نمونه‌برداری از گیاهان ذرت

به‌منظور جداسازی و شناسایی قارچ‌های اندوفیت همراه با گیاه ذرت، نمونه‌برداری طی فصل تابستان در سال‌های ۱۴۰۲ و ۱۴۰۳ از مزارع مختلف شهرستان نهاوند انجام شد. نمونه‌ها به‌صورت تصادفی از اندام‌های مختلف گیاه شامل ریشه، ساقه و برگ جمع‌آوری شدند. در مجموع، ۱۳۰ نمونه از بوته‌هایی انتخاب شد که از نظر ظاهری نسبت به سایر بوته‌ها دارای رشد بهتر، ارتفاع بیشتر و شادابی بالاتری بودند. نمونه‌برداری در مرحله رشد رویشی گیاه انجام گرفت.

نمونه‌های جمع‌آوری‌شده بلافاصله در کیسه‌های پلاستیکی مجزا قرار داده و مشخصات هر نمونه شامل محل نمونه‌برداری، تاریخ جمع‌آوری و اندام گیاهی مدنظر ثبت شدند. سپس نمونه‌ها به آزمایشگاه، منتقل و تا زمان انجام مراحل جداسازی، در دمای ۴ درجه سانتی‌گراد نگهداری شدند.

جداسازی قارچ‌های اندوفیت

ضدعفونی سطحی نمونه‌های گیاهی طبق روش Song et al (2011) انجام شد؛ به‌طوری‌که نمونه‌ها به‌ترتیب به مدت ۶۰ ثانیه در اتانول ۷۰ درصد، ۳ دقیقه در محلول ۲ درصد وایتکس تجاری و ۳۰ ثانیه در اتانول ۹۶ درصد، غوطه‌ور و در نهایت چهار مرتبه با آب مقطر سترون شست‌وشو داده شدند. سپس نمونه‌ها در شرایط سترون خشک شدند. به‌منظور اطمینان از موفقیت آمیز بودن ضدعفونی سطحی، آخرین آب

روابط فیلوژنتیکی با توالی‌های موجود در بانک ژن NCBI با استفاده از ابزار BLAST (<http://blast.ncbi.nlm.gov/Blast.cgi>) مقایسه شدند تا توالی‌های مشابه در گونه‌های مرتبط شناسایی شوند. تبارنامه‌های فیلوژنتیکی با استفاده از نرم‌افزار MEGA.10 و روش NJ ترسیم شدند. برای ارزیابی میزان اعتبار شاخه‌ها، آزمون بوت‌استرپ با ۱۰۰۰ بار تکرار از هم‌ترازی اولیه توالی‌های نوکلئوتیدی انجام شد (۲۷).

آزمایش‌های گلخانه‌ای

به‌منظور ارزیابی اثر جدایه‌های بومی قارچی بر رشد ذرت، جدایه‌ها در شرایط گلخانه با هم مقایسه شدند. آزمایش در قالب طرح کاملاً تصادفی با سه تکرار انجام شد. بذره‌های ذرت رقم ۷۰۴ با آب گرم در دمای ۵۵ درجه سانتی‌گراد به مدت ۲۰ دقیقه، تیمار و سپس خشک شدند. سوسپانسیون قارچی از کشت هفت‌روزه با غلظت $1 \times 10^8 \text{ cfu/ml}$ (اسپور در میلی‌لیتر) با استفاده از لام هماسیتومتر، تهیه و بذرها به مدت ۲۴ ساعت در آن و با سرعت ۱۶۰ rpm خیسانده شدند (۲۸).

خاک گلدان (ترکیبی از ماسه، خاک رس و خاک برگ به نسبت ۱:۱:۱) در دو روز متوالی به مدت ۳۰ دقیقه و دمای ۱۲۱ درجه سانتی‌گراد در فشار ۱/۵ اتمسفر سترون شد (۲۹). همزمان با اضافه کردن خاک به گلدان‌ها با ابعاد 17×13 سانتی‌متر، چهار عدد بذر ذرت کاشته شد. همچنین بذر ضد عفونی‌شده با آب مقطر سترون به‌عنوان شاهد در نظر گرفته شد (۲۸). گلدان‌ها در شرایط کاملاً تصادفی روی سکوی گلخانه در شرایط یکسان، دمای ۲۵-۳۰ درجه سانتی‌گراد و رطوبت نسبی (۴۰-۶۰ درصد) قرار گرفتند. گلدان‌ها به فاصله ۲-۱ روز آبیاری شدند. پس از جوانه‌زنی بذور ذرت برای رشد بهتر، گیاهچه‌های ضعیف‌تر حذف شدند. حدود ۶۰ روز پس از کاشت، گیاهان از خاک خارج شدند. ابتدا نمونه‌های گیاهی به‌صورت جداگانه زیر جریان

گونه، جدایه‌ها برای انجام آزمون‌های تکمیلی و شناسایی مولکولی نگهداری شدند.

آزمایش‌های مولکولی

برای این منظور، یک یا چند جدایه از هر گونه با ظاهر پرگنه و سایر خصوصیات متفاوت، انتخاب و DNA ژنومی جدایه‌ها به روش CTAB استخراج شدند (۲۵).

به‌منظور شناسایی گونه‌ها، بخش‌هایی از ژن‌های ردیف ریبوزومی ITS و ژن‌های *tef1-α* به‌عنوان مارکرهای مولکولی انتخاب شدند. ناحیه ژنی *tef1-α* با آغازگرهای EF1-728F و EF1-986R و ناحیه ITS با آغازگرهای ITS1F و ITS4R تکثیر شدند (۲۶).

واکنش زنجیره‌ای پلیمرز در حجم ۲۵ میکرولیتر شامل ۱ میکرولیتر از هر آغازگر (۱۰ پیکومول)، ۱۲/۵ میکرولیتر Master Mix PCR2x، ۱ میکرولیتر DNA (۱۰۰ نانوگرم) و ۹/۵ میکرولیتر آب مقطر دیونیزه انجام شد. شرایط چرخه‌های PCR برای هر ژن مطابق با روش‌های استاندارد زیر انجام شد: ITS: واسرشتگی اولیه ۹۴ درجه سانتی‌گراد ۳ دقیقه، واسرشتگی ۹۴ درجه سانتی‌گراد ۳۰ ثانیه، جفت‌شدگی ۵۸ درجه سانتی‌گراد ۳۰ ثانیه، گسترش ۷۲ درجه سانتی‌گراد ۱ دقیقه، گسترش نهایی ۷۲ درجه سانتی‌گراد ۵ دقیقه، با ۳۵ چرخه.

tef1-α: واسرشتگی اولیه ۹۶ درجه سانتی‌گراد ۳ دقیقه، واسرشتگی ۹۶ درجه سانتی‌گراد ۳۰ ثانیه، جفت‌شدگی ۵۷ درجه سانتی‌گراد ۳۰ ثانیه، گسترش ۷۲ درجه سانتی‌گراد ۱ دقیقه، گسترش نهایی ۷۲ درجه سانتی‌گراد ۷ دقیقه، با ۳۰ چرخه با استفاده از دستگاه ترموسایکلر (مدل Bio Rad iCycler).

سپس محصول PCR روی ژل آگارز ۱ درصد با استفاده از دستگاه عکس‌برداری از ژل تحت نور ماوراءبنفش بررسی شد و برای خالص‌سازی و تعیین توالی به شرکت پیشگام ارسال شد. توالی‌های به‌دست‌آمده برای شناسایی و بررسی

گزارش‌های مرتبط با حضور این گونه به‌عنوان اندوفیت در ذرت، به‌ویژه در ایران محسوب شود.

Acremonium sclerotigenum (Moreau & R. Moreau ex Valenta) W. Gams 1971

رشد پرگنه روی محیط PDA کند بوده و پس از ۷ روز انکوباسیون در دمای ۲۵ درجه سانتی‌گراد قطر پرگنه به‌طور متوسط ۲-۳ سانتی‌متر بود. سطح رویی پرگنه در مراحل اولیه سفید مایل به کرم روشن بوده و به‌مرور به رنگ کرم تیره تغییر پیدا کرده است؛ درحالی‌که سطح زیرین پرگنه به رنگ کرم مایل به نارنجی تا نارنجی کم‌رنگ مشاهده شد (شکل ۲). فیلیدها ساده، منفرد یا گاهی در گروه‌های کوچک، عمدتاً روی ریشه‌های به‌هم‌تنیده تشکیل شده و در قاعده نسبتاً پهن بوده‌اند و به‌تدریج به سمت انتها باریک می‌شدند که از ویژگی‌های تشخیصی جنس *Acremonium* محسوب می‌شود. کنیدیوم‌ها تک‌سلولی، دیواره نازک، استوانه‌ای تا تخم‌مرغی‌شکل و اندکی باریک‌شونده به سمت انتها و ابعاد آنها در محدوده $1/8-1 \times 5/1-4$ میکرومتر بوده‌اند (شکل ۲). در این جدایه، اسکروت یا کلامیدوسپور مشاهده نشد.

شناسایی مولکولی براساس توالی‌یابی ناحیه ITS و ژن *tef1-α* انجام گرفت. آنالیز فیلورنیتیکی نشان داد جدایه RS-61 با پشتیبانی بوت‌استرپ ۱۰۰ درصد در کنار سویه مرجع *A. sclerotigenum* (strain 11577) قرار می‌گیرد که صحت شناسایی گونه را تأیید می‌کند (شکل ۳).

نتایج آزمایش‌های گلخانه‌ای بیان‌کننده تأثیر معنی‌دار این جدایه بر بهبود رشد گیاه ذرت بود؛ به‌طوری‌که تلقیح گیاهان با جدایه RS-61 موجب افزایش ۴۳ درصدی وزن خشک اندام‌های هوایی، ۱۹ درصدی وزن خشک ریشه، ۱۲/۹۸ درصدی ارتفاع گیاه و ۴۴/۵۸ درصدی طول ریشه نسبت به تیمار شاهد شد (شکل ۱ و جدول ۱).

ویژگی‌های ریخت‌شناختی مشاهده‌شده در این جدایه با توصیفات ارائه‌شده در کلیدهای معتبر شناسایی *Acremonium* (۳۲، ۳۱، ۲۸) تطابق کامل داشته است و نتایج

ملایم آب به‌طور کامل شسته شدند. برای بررسی اندوفیت قارچ درمجموع از هر تیمار بین ۴-۳ بوته انتخاب شد و از بافت‌های مختلف هر بوته قطعات ۵ تا ۱۰ سانتی‌متری جدا شدند. ضدعفونی نمونه‌ها مطابق روش Song et al (2011) انجام شد (۳۰).

شاخص‌های رشدی شامل ارتفاع بوته و طول ریشه با استفاده از خط‌کش برحسب سانتی‌متر و وزن‌تر و خشک بوته و وزن‌تر و خشک ریشه برحسب گرم با استفاده از ترازوی دیجیتال اندازه‌گیری شد (به‌منظور اندازه‌گیری وزن خشک گیاهان در آون با دمای ۶۰ سانتی‌گراد به مدت ۷۲ ساعت تا رسیدن به وزن ثابت نگهداری شدند) (۲۸).

آنالیز آماری

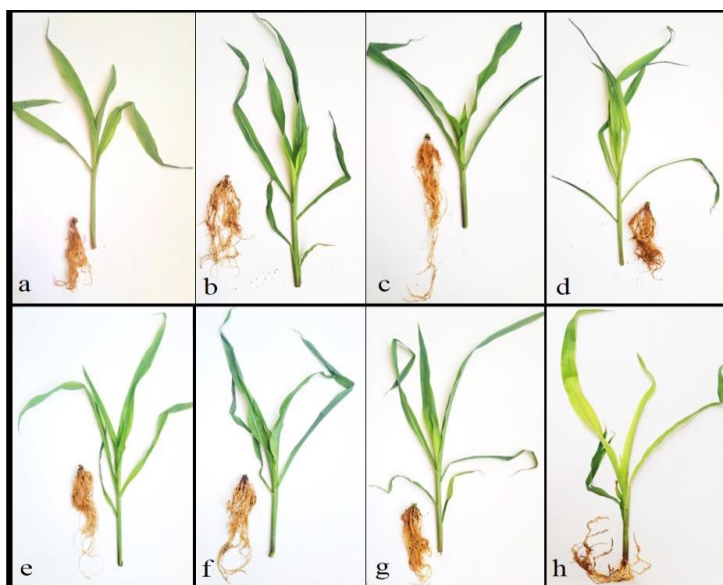
داده‌های به‌دست‌آمده با استفاده از نرم‌افزار SPSS نسخه ۲۷ تجزیه آماری و میانگین‌ها با استفاده از آزمون توکی در سطح احتمال پنج درصد ($P < 0.05$) مقایسه شدند.

نتایج و بحث

در این مطالعه ۳۰ جدایه قارچی از ۱۳۰ نمونه بافت گیاهی ذرت جداسازی و خالص‌سازی شدند. از هر جنس قارچی براساس ویژگی‌های ریخت‌شناسی مشابه یک جدایه به‌عنوان نماینده برای مطالعات مولکولی و شناسایی دقیق گونه انتخاب شد. درنهایت، هفت گونه شامل *Acremonium sclerotigenum*، *Aspergillus terreus*، *Fusarium verticillioides*، *Fusarium equiseti*، *Chaetomium globosum* و *Asergillus* شناسایی شدند. نتایج آزمایش‌های گلخانه‌ای بیانگر تأثیر معنادار اکثر جدایه‌های مورد مطالعه بر شاخص‌های رشدی گیاه ذرت بود (شکل ۱). براساس بررسی منابع علمی در دسترس، تمام گونه‌ها برای اولین بار به‌عنوان اندوفیت از ذرت در ایران گزارش می‌شوند. همچنین تاکنون گزارشی از *A. tellustris* به‌عنوان اندوفیت ذرت مشاهده نشده است؛ ازاین‌رو، یافته‌های این پژوهش می‌تواند از نخستین

گزارش‌های موجود بیان‌کننده حضور گسترده این جنس به‌عنوان اندوفیت در گیاهان مختلف بوده است و نتایج مطالعه حاضر نیز با این یافته‌ها همخوانی دارد و بر پتانسیل بالای *A. sclerotigenum* به‌عنوان اندوفیت مفید در ذرت تأکید می‌کند. این اولین گزارش از جداسازی این جدایه به‌عنوان اندوفیت از ذرت در ایران است.

مولکولی نیز هویت گونه را تأیید می‌کنند. مطالعات متعدد نشان می‌دهند گونه‌های جنس *Acremonium* به‌عنوان اندوفیت‌های مؤثر، نقش مهمی در افزایش رشد گیاه و القای مقاومت در برابر عوامل زیستی و نیز تنش‌های غیرزیستی دارد. گزارش‌های متعددی جداسازی این جنس را از میزبان‌های گیاهی متنوع تأیید کرده است (۳۳). مطالعات انجام‌شده در ایران محدود است؛ اما



شکل ۱- تأثیر جدایه‌های قارچی بر رشد گیاهان ذرت (a) شاهد، (b) *Aspergillus fumigatus* (c) *Chaetomium globosum* (d) *Alternaria*

tellustris (e) *Acremonium sclerotigenum* (f) *Aspergillus terreus* (g) *Fusarium equiseti* (h) *Fusarium verticillioides*

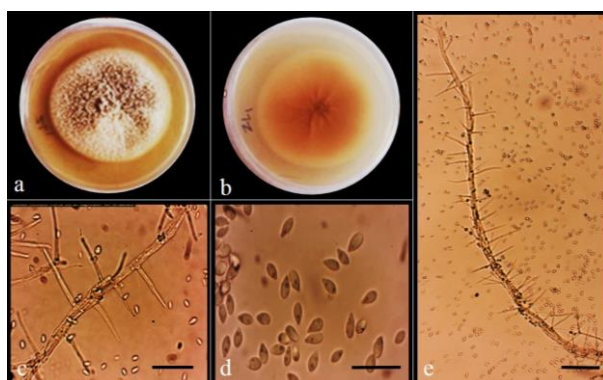
Figure 1. Effect of fungal isolates on the growth of corn plants (a) control, (b) *Aspergillus fumigatus*, (c) *Chaetomium globosum*, (d) *Alternaria tellustris*, (e) *Acremonium sclerotigenum*, (f) *Aspergillus terreus*, (g) *Fusarium equiseti*, (h) *Fusarium verticillioides*.

جدول ۱. تأثیر جدایه‌های قارچی مورد مطالعه روی شاخص‌های رشدی گیاهان ذرت در شرایط گلخانه

Table 1. The effect of the studied fungal isolates on the growth indices of corn plants under greenhouse conditions,

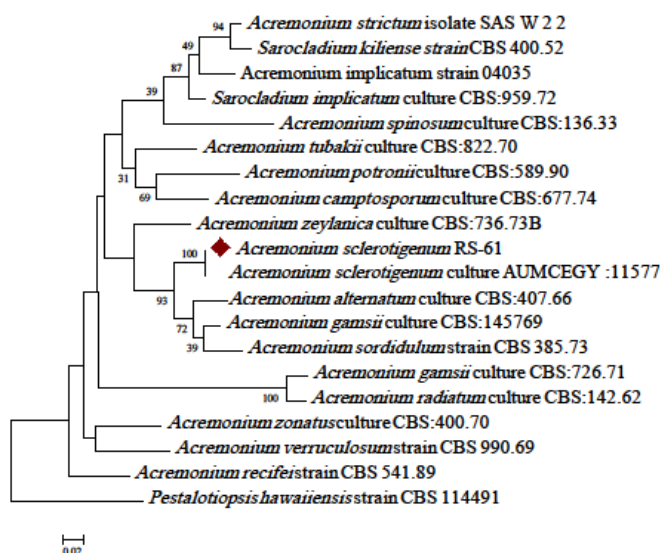
Accession number		Fungi species	Dry weight of aerial Part (g)	Dry weight of root(g)	Aerial part height(cm)	Root length (cm)
ITS	tef1- α					
PX925145	PZ620878	<i>Acremonium sclerotigenum</i>	7.34±0.55 ^c	3.85±0.50 ^b	74.30±0.75 ^c	34.70±2.60 ^c
PX925168	PZ740466	<i>Alternaria tellustris</i>	5.31±0.46 ^{bc}	4.39±0.34 ^{bc}	76.43±1.83 ^c	29.98±2.86 ^{bc}
PX956416	PZ740468	<i>Aspergillus terreus</i>	6.82±0.63 ^c	4.43±0.34 ^{bc}	78.56±2.41 ^c	38.16±1.00 ^c
PX956415	PZ740467	<i>Aspergillus fumigatus</i>	6.91±0.65 ^c	4.06±0.23 ^{bc}	80.66±0.66 ^c	35.66±1.33 ^c
PX925235	PZ740470	<i>Fusarium equiseti</i>	7.50±0.30 ^c	4.29±0.52 ^{bc}	77.00±0.72 ^c	31.83±1.69 ^{bc}
PX929850	PX651939	<i>Fusarium verticillioides</i>	3.63±0.43 ^a	1.83±0.14 ^a	57.16±1.30 ^a	19.36±0.34 ^a
PX925236	PZ740469	<i>Chaetomium globosum</i>	7.72±0.75 ^c	5.26±0.68 ^c	77.56±1.51 ^c	38.96±2.56 ^d
		Control	5.13±0.31 ^{bc}	3.23±0.26 ^{ab}	65.76±1.29 ^b	24.00±1.1 ^{ab}

*The means followed by different letters in the same row are significantly different ($p < 0.05$, paired-bootstrap).



شکل ۲- *Acremonium sclerotigenum*: a و b. سطح رویی و پشتی پرگنه روی محیط PDA، c. فیالیدها، d. کنیدیوم، e. کنیدیوفور و فیالیدها. شاخص‌ها: ۱۰ میکرومتر

Figure 2. *Acremonium sclerotigenum*: a and b Surface and reverse of the colony on PDA media, c. Phialides, d. Conidium, e. Conidiophores and Phialides. Scale bars= 10 μ m.



شکل ۳- تبارنمای جدایه *Acremonium sclerotigenum* ترسیم شده با نرم‌افزار MEGA.10 براساس توالی‌های ترکیبی ناحیه ITS و ژن *TEF1-α* که با استفاده از *Pestalotiopsis hawaiiensis* به‌عنوان گونه خارج از گروه ریشه‌دار شده است. جدایه مربوط به این مطالعه به‌صورت بولد مشخص شده است. مقیاس ۰/۰۲ تغییر در توالی بین جدایه‌های مختلف است.

Figure 3. Phylogenetic tree of *Acremonium sclerotigenum* isolate constructed using MEGA.10 based on combined sequences of the ITS region and the *TEF1-α* gene, rooted with *Pestalotiopsis hawaiiensis* as the outgroup. The isolate from the present study are indicated in bold. The scale bar represents 0.02 sequence divergence among the different isolates.

دیواره‌دار و به‌صورت مستقیم یا با الگوی سیمپودیال منشعب بودند. کنیدیوم‌ها به‌صورت منفرد، نامساوی و بیضوی تا بشکله‌ای شکل و دارای ۲-۳ دیواره عرضی و ۱-۰ دیواره طولی بودند. رنگ کنیدیوم‌ها تیره با دیواره خارجی ضخیم مشاهده شد و کلامیدوسپورها به‌طور فراوان، به‌صورت منفرد یا در زنجیره‌های کوتاه، در محیط کشت تشکیل شدند (شکل ۴).

Alternaria telluris (E.G. Simmons) Woudenb. & Crous 2013.

جدایه RS-32 روی محیط PDA رشد بسیار سریعی نشان داد و در دمای 25 ± 2 درجه سانتی‌گراد طی ۵ روز کل سطح پتری را پوشاند. پرگنه دارای بافت مخملی با رنگ سبز زیتونی تیره تا نزدیک به سیاه بود. پرگنه‌ها روی محیط PCA به رنگ دودی مایل به زیتونی تیره، با رشد شعاعی یکنواخت و ظاهری مسطح و چسبیده به بستر کشت بودند. کنیدیوفورها

مطالعات نشان داده‌اند برخی از گونه‌های *Alternaria* علاوه بر نقش بیمارگری، می‌توانند به‌عنوان اندوفیت رفتار کنند و اثرات سودمندی بر رشد گیاه داشته باشند. نتایج این پژوهش نیز این الگو را تأیید می‌کنند؛ به‌طوری‌که جدایه RS-32 ضمن استقرار موفق در بافت‌های گیاه ذرت، موجب بهبود معنی‌دار شاخص‌های رشدی شد. این اثرات مثبت احتمالاً از طریق مکانیسم‌هایی نظیر تولید تنظیم‌کننده‌های رشد گیاهی، افزایش کارایی جذب عناصر غذایی و تعدیل پاسخ‌های فیزیولوژیک گیاه اعمال می‌شود (۳۸، ۳۷)؛ سازوکارهایی که پیش‌تر برای اندوفیت‌های جنس *Alternaria* گزارش شده‌اند.

درمجموع، یافته‌های حاضر نشان می‌دهند *A. tellustris* باوجود سابقه شناخته‌شده در بیماری‌زایی، می‌تواند به‌عنوان یک اندوفیت مفید باشد و چشم‌اندازهای جدیدی برای بهره‌برداری از گونه‌های این جنس در توسعه راهکارهای زیست‌فناورانه و کشاورزی پایدار فراهم آورد. براساس بررسی منابع علمی در دسترس، تاکنون گزارشی از *A. tellustris* به‌عنوان اندوفیت ذرت مشاهده نشده است؛ ازاین‌رو، یافته‌های این پژوهش می‌توانند از نخستین گزارش‌های مرتبط با حضور این گونه به‌عنوان اندوفیت در ذرت، به‌ویژه در ایران محسوب شوند.

شناسایی مولکولی براساس آنالیز فیلوژنتیکی توالی‌های ناحیه ITS و ژن *tef1-α* انجام شد که جدایه RS-32 را با پیش‌بینی بوت‌استرپ ۱۰۰ درصد در کنار توالی مرجع *Alternaria tellustris* (strain PS12) قرار داد (شکل ۵).

نتایج آزمایش گلخانه‌ای نشان دادند تلقیح ذرت با این جدایه موجب افزایش ۳/۵ درصدی وزن خشک اندام‌های هوایی، ۳۵/۹۱ درصدی وزن خشک ریشه، ۱۶/۲۲ درصدی ارتفاع گیاه و ۲۴/۹۱ درصدی طول ریشه نسبت به تیمار شاهد شد (شکل ۱ و جدول ۱).

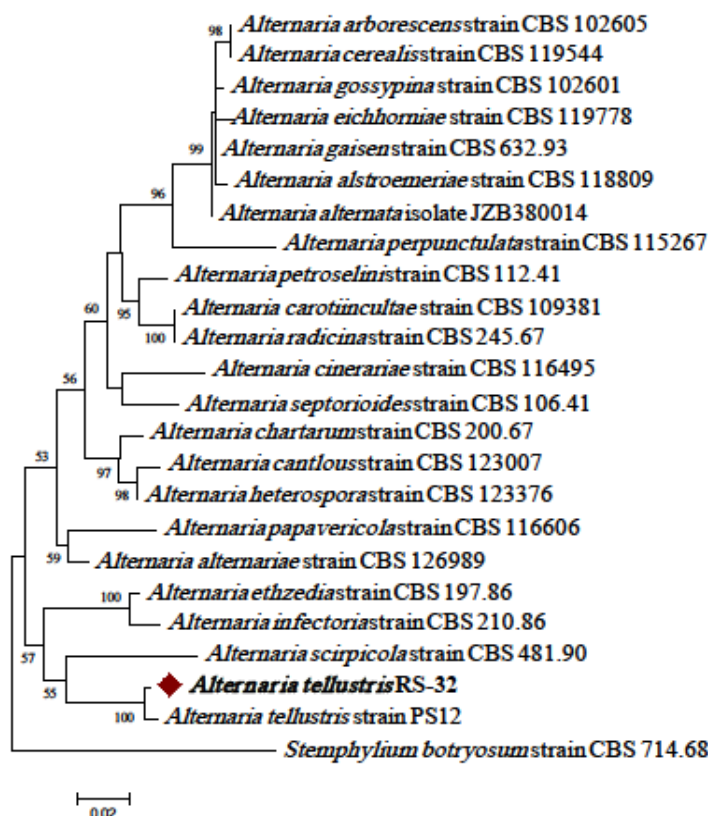
جنس *Alternaria* به شاخه Ascomycota، رده Dothideomycetes، راسته Pleosporales و خانواده Pleosporaceae تعلق دارد و شامل بیش از ۴۰۰ گونه است که در ۲۹ بخش طبقه‌بندی شده‌اند (۳۵، ۳۴). گونه‌های این جنس با توجه به شرایط محیطی و ژنوتیپ میزبان می‌توانند به‌صورت ساپروفیت، اندوفیت یا بیمارگر عمل کنند (۳۵).

ویژگی‌های ریخت‌شناختی جدایه RS-32 با ویژگی‌های ارائه‌شده در کلیدهای معتبر شناسایی جنس *Alternaria* مطابقت داشت (۳۷، ۳۶) و داده‌های مولکولی آن را به‌عنوان *A. tellustris* یکی از اعضای بخش Embellisia شناسایی کرد.



شکل ۴- *Alternaria tellustris*. a و b. سطح رویی و پشتی پرگنه روی محیط PDA، c و d. کلایدوسپور، e. کنیدیوم. شاخص‌ها: ۱۰ میکرومتر

Figure 4. *Alternaria tellustris*: a and b Surface and reverse of the colony on PDA media, c and d. Clamidospore, e. Conidium. Scale bars = 10 μm



شکل ۵- تبارنمای جدایه *Alternaria tellustris* ترسیم شده با نرم افزار MEGA.10 براساس توالی‌های ترکیبی ناحیه ITS و ژن $TEF1-\alpha$ که با استفاده از *Stemphylium botryosum* به عنوان گونه خارج از گروه ریشه دار شده است. جدایه مربوط به این مطالعه به صورت بولد مشخص شده است. مقیاس ۰/۰۲ تغییر در توالی بین جدایه‌های مختلف است.

Figure 5. Phylogenetic tree of *Alternaria tellustris* isolate constructed using MEGA.10 based on combined sequences of the ITS region and the $TEF1-\alpha$ gene, rooted with *Stemphylium botryosum* as the outgroup. The isolate from the present study are indicated in bold. The scale bar represents 0.02 sequence divergence among the different isolates.

به رنگ زرد روشن تا هیالین بودند و به صورت زنجیره‌های متراکم روی فیالیدها تشکیل می‌شدند (شکل ۶).

Aspergillus fumigatus Fresen., Beitr. Mykol.: 81. 1863

پرگنه روی محیط کشت PDA رشد سریعی دارد و در دمای ۲۵ درجه سانتی گراد طی حدود ۶ روز سطح تشتك پتری را می‌پوشاند. رنگ پرگنه در سطح رویی سبز دودی تا خاکستری بود و سطح پشتی نیز سبز مایل به خاکستری مشاهده شد. کنیدیوفورها صاف، هیالین، سپتادار و نسبتاً کوتاه بودند. وزیکول‌ها کوچک، بیضوی تا گریزی شکل بودند و فیالیدها به صورت تک‌ردیفی مستقیماً روی وزیکول قرار داشتند؛ فیالیدها اغلب ناحیه فوقانی وزیکول را می‌پوشاندند.

Aspergillus terreus Thom, Am.J. Bot.5: 85.1918.

رشد پرگنه روی محیط PDA نسبتاً سریع بوده است و در دمای ۲۵ درجه سانتی گراد طی حدود ۶ روز کل سطح تشتك پتری را پوشش داد. سطح پرگنه در مراحل اولیه دارای مرکز قهوه‌ای مایل به دارچینی و حاشیه سفید مایل به زرد بود؛ درحالی‌که پشت پرگنه ابتدا زرد بود و با افزایش سن به رنگ خردلی تغییر رنگ تغییر داد. کنیدیوفورها صاف، عمدتاً هیالین تا قهوه‌ای روشن و برافراشته بودند. وزیکول‌ها بیضوی بودند و ساختار کنیدی‌زایی دو ردیفی شامل متولا در لایه داخلی و فیالیدها در لایه خارجی را نشان می‌دهند. کنیدیوم‌ها کروی، با دیواره صاف، به ابعاد $2.5-4 \times 3/4$ میکرومتر و

کرده‌اند. این گونه به‌عنوان اندوفیت از ریشه و اندام‌های هوایی گیاهانی نظیر برنج، گندم، ذرت، نیشکر و برخی گیاهان دارویی جداسازی شده و در برخی موارد اثرات محرک رشد یا تولید تنظیم‌کننده‌های رشد گیاهی برای آن گزارش شده است (۴۲-۴۴).

در ایران نیز *A. terreus* در فلور قارچی کشور به‌خوبی مستند شده است و در سال ۲۰۲۵ برای اولین بار از جلبک دریایی *Ulva.sp* به‌عنوان اندوفیت جداسازی شد (۴۵، ۴۶) که نشان‌دهنده سازگاری این گونه با شرایط اکولوژیک کشور است. نتایج بررسی گلخانه‌ای در پژوهش حاضر که افزایش معنی‌دار شاخص‌های رشدی ذرت بر اثر تلقیح با این جدایه را نشان داد، با گزارش‌های پیشین درباره پتانسیل سودمند اندوفیت‌های *A. terreus* همخوانی دارد. براساس بررسی منابع علمی در دسترس، تاکنون گزارشی از *A. terreus* به‌عنوان اندوفیت ذرت مشاهده نشده است؛ از این رو، یافته‌های این پژوهش می‌تواند از نخستین گزارش‌های مرتبط با حضور این گونه به‌عنوان اندوفیت در ذرت، به‌ویژه در ایران محسوب شود.

گونه *A. fumigatus* بیشتر به‌عنوان قارچی ساپروفیت و در برخی موارد پاتوژن فرصت‌طلب انسانی شناخته می‌شود؛ با این حال، شواهد فزاینده‌ای نقش اندوفیتی این گونه را در گیاهان مختلف نشان می‌دهد. جداسازی *A. fumigatus* به‌عنوان اندوفیت از ریشه و بافت‌های داخلی گیاهانی نظیر ذرت، برنج، گندم، نیشکر و برخی گیاهان وحشی گزارش شده است و در برخی مطالعات، اثرات مثبت آن بر رشد گیاه و تحمل تنش‌های زیستی و غیرزیستی تأیید شده‌اند (۴۷-۴۹). در ایران نیز اگرچه گزارش‌های اندوفیتی *A. fumigatus* محدودتر از برخی گونه‌های دیگر *Aspergillus* است، جداسازی آن از بافت‌های داخلی گیاهان زراعی و مرتعی و نیز از ریزوسفر گیاهان مختلف گزارش شده است و احتمال نقش اندوفیتی این گونه را در اکوسیستم‌های کشاورزی کشور مطرح می‌کند (۴۵، ۵۰). افزایش معنی‌دار شاخص‌های

کنیدیوم‌ها کروی تا بیضوی، کوچک (حدود ۵/۸-۳/۹ میکرومتر)، با دیواره کمی خشن تا زبر و به رنگ سبز خاکستری بودند (شکل ۷).

براساس آنالیز فیلوژنتیکی توالی‌های ناحیه ITS و ژن *tef1-α*، جدایه‌های RS-59 و RS-60 استخراج‌شده از ذرت به‌ترتیب به گونه‌های *A. fumigatus* و *A. terreus* تعلق داشتند. تبارنمای فیلوژنتیکی با پشتیبانی بوت‌استراپ ۱۰۰ درصد، این جدایه را در کنار توالی مرجع قرار داد که صحت شناسایی مولکولی را تأیید می‌کند (شکل ۸).

بررسی‌های گلخانه‌ای نشان دادند تلقیح گیاهان با این جدایه‌های RS-59 و RS-60 به‌ترتیب موجب افزایش ۳۲/۹۴ و ۲۳/۶۹ درصدی وزن خشک بخش هوایی، ۳۷/۱۵ و ۲۳/۸۳ درصدی وزن خشک اندام‌های هوایی، ۱۹/۴۶ و ۲۲/۶۵ درصدی ارتفاع بوته و ۵۹ و ۴۸/۵۸ درصدی طول ریشه نسبت به تیمار شاهد شد (شکل ۱ و جدول ۱).

جنس *Aspergillus* به شاخه Ascomycata، رده Eurotiomycetes، راسته Eurotiales و خانواده Aspergillaceae تعلق دارد (۳۹).

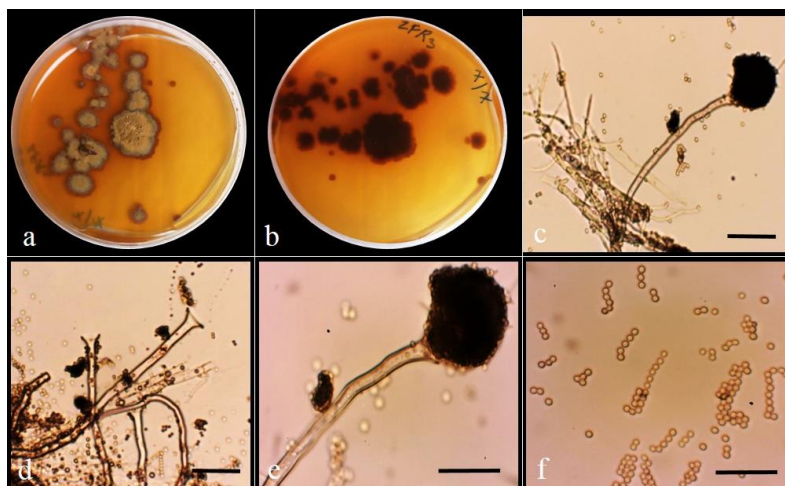
ویژگی‌های ریخت‌شناختی مشاهده‌شده در جدایه‌های RS59 و RS60 با کلیدهای معتبر شناسایی *A. A. fumigatus terreus* تطابق کامل دارد (۴۰، ۴۱).

علاوه بر شواهد ریخت‌شناختی، تحلیل‌های فیلوژنتیکی مبتنی بر توالی‌های ناحیه ITS و ژن *TEF1-α*، جایگاه هر دو جدایه را در کنار توالی‌های مرجع *A. terreus* و *A. fumigatus* با پشتیبانی بوت‌استراپ ۱۰۰ درصد نشان داد؛ به‌طوری‌که دقت شناسایی مولکولی را تأیید می‌کند. استفاده از نشانگرهای ITS و β -tubulin مطابق با رویکردهای پیشنهادی برای تفکیک گونه‌های نزدیک در جنس *Aspergillus* است (۳۹، ۴۱).

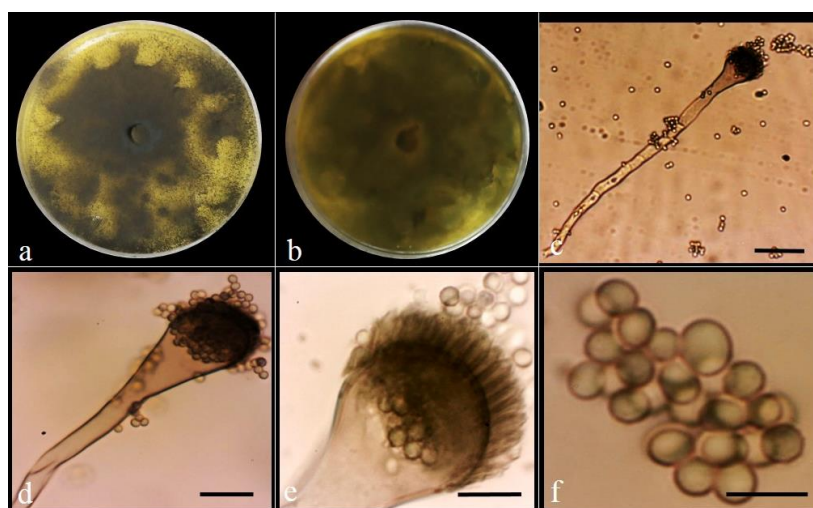
گونه *A. terreus* به‌عنوان قارچی ساپروفیت خاک‌زی شناخته می‌شود؛ اما در سال‌های اخیر گزارش‌های متعددی نقش اندوفیتی گونه‌های این جنس را در گیاهان مختلف تأیید

اولین گزارش از این جدایه به‌عنوان اندوفیت ذرت در ایران است.

رشدی ذرت بر اثر تلقیح با جدایه RS-59 در این مطالعه، نشان می‌دهد *A. fumigatus* نیز می‌تواند با توجه به سویه و شرایط محیطی، رفتاری همزیستانه و سودمند از خود نشان دهد. این

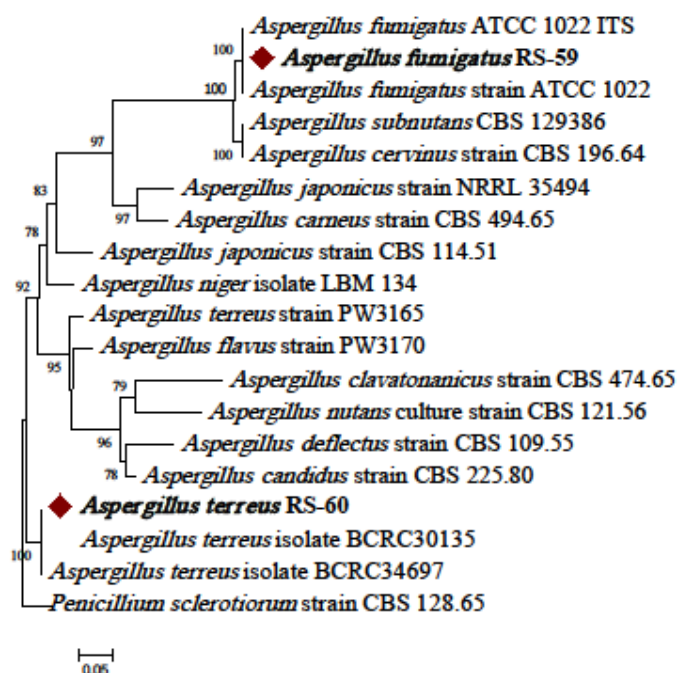


شکل ۶- *Aspergillus terreus*: a و b. سطح رویی و پشتی پرگنه روی محیط PDA، c، d و e. کنیدیوفور و وزیکل، f. کنیدیوم. شاخص‌ها: ۱۰ میکرومتر
Figure 6. *Aspergillus terreus*: a and b Surface and reverse of the colony on PDA media, c, d and e. Clamidospore and vesicle, f. Conidium. Scale bars= 10 μ m.



شکل ۷- *Aspergillus fumigatus*: a و b. سطح رویی و پشتی پرگنه روی محیط PDA، c، d و e. کنیدیوفور، وزیکل و فیالید، f. کنیدیوم. شاخص‌ها: ۱۰ میکرومتر

Figure 7. *Aspergillus fumigatus*: a and b Surface and reverse of the colony on PDA media, c, d and e. Clamidospore, vesicle and phialide, f. Conidium. Scale bars= 10 μ m.



شکل ۸ - تبارنمای جدایه‌های *Aspergillus* ترسیم شده با نرم‌افزار MEGA.10 براساس توالی‌های ترکیبی ناحیه ITS و ژن TEF1- α ، که با استفاده از *Penicillium sclerotiorum* به عنوان گونه خارج از گروه ریشه‌دار شده است. جدایه‌های مربوط به این مطالعه به صورت بولد مشخص شده‌اند. مقیاس ۰/۰۵ تغییر در توالی بین جدایه‌های مختلف است.

Figure 8. Phylogenetic tree of *Aspergillus* isolates constructed using MEGA. 10 based on combined sequences of the ITS region and the TEF1- α gene, rooted with *Penicillium sclerotiorum* as the outgroup. The isolates from the present study are indicated in bold. The scale bar represents 0.05 sequence divergence among the different isolates.

این جنس به شاخه Ascomycata، رده Sordariomycetes، راسته Hypocreales و خانواده Nectriaceae تعلق دارد. ویژگی‌های ریخت‌شناختی مشاهده شده در جدایه RS-18 با ویژگی‌های ارائه شده در کلیدهای معتبر مربوط به این گونه تطابق داشت (۲۲، ۲۱). مطالعات متعدد نشان داده‌اند *F. equiseti* توانایی استقرار اندوفیتی در ریشه گیاهان مختلف را دارد و از میزبان‌هایی نظیر جو، برنج و ذرت در مناطق جغرافیایی متفاوت گزارش شده است (۵۲، ۵۱). گزارش‌های اخیر حاکی از آن است که برخی جدایه‌های اندوفیتی این گونه می‌توانند موجب بهبود رشد گیاهان زراعی شوند (۵۱). در ایران نیز حضور *F. equiseti* هم به صورت ساپروفیت و هم به عنوان اندوفیت گیاهی گزارش شده است (۲۲). با این حال، با توجه به تنوع عملکردی جدایه‌ها، نقش این گونه می‌تواند از همزیستی سودمند تا بیمارگری متغیر باشد. این اولین گزارش از این جدایه به عنوان اندوفیت ذرت در ایران است.

Fusarium equiseti (Corda) Sacc. 1886

رشد پرگنه روی PDA در دمای ۲۵ درجه سانتی‌گراد پس از ۷ روز ۸-۶ سانتی‌متر بود؛ پرگنه پنبه‌ای و متراکم بود و رنگ آن از کرم روشن به کرم تیره یا برنزه تغییر پیدا کرد. ماکروکنیدی‌ها دارای ۷-۵ دیواره عرضی، انحنا دار و با انتهای foot-shaped و ابعاد ۳۴-۶۷ × ۳/۲-۵/۳ میکرومتر بودند، میکروکنیدیوم‌ها مشاهده نشدند و کلامیدوسپورها به صورت زنجیری یا خوشه‌ای تشکیل شدند (شکل ۹).

آنالیز فیلوژنتیکی توالی ITS و α -جایگاه این جدایه را در کنار توالی‌های مرجع بانک ژن تأیید می‌کند (شکل ۱۰).

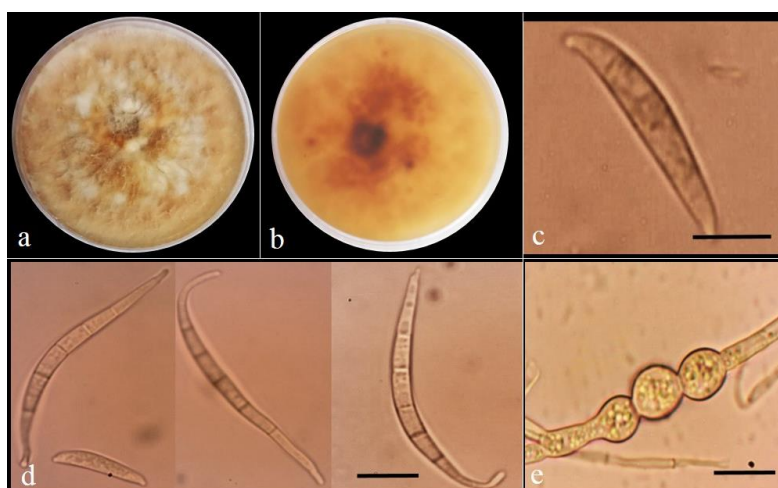
نتایج آزمایش گلخانه‌ای نشان دادند تلقیح گیاهان ذرت با جدایه RS-18 تأثیر چشمگیری بر رشد گیاه دارد. به طور میانگین، وزن خشک اندام هوایی ۴۶/۱۹ درصد، وزن خشک اندام‌های ریشه ۳۲/۸۱ درصد، ارتفاع بوته ۱۷ درصد و طول ریشه ۳۲/۶۲ نسبت به تیمار شاهد افزایش یافت (شکل ۱ و جدول ۱).

آنالیز فیلوژنتیکی توالی ناحیه ITS و ژن *tef1-α* نشان داد که جدایه RS-19 به گونه *F. verticillioides* تعلق دارد و قرارگیری آن در کنار توالی‌های مرجع بانک ژن با پشتیبانی بوت‌استرپ بالا، صحت شناسایی را تأیید می‌کند (شکل ۱۰).

نتایج آزمایش گلخانه‌ای نشان دادند تلقیح ذرت با جدایه RS-19 موجب کاهش معنی‌دار شاخص‌های رشدی شامل کاهش ۲۹/۲۳ درصدی وزن خشک اندام‌های هوایی، ۴۳/۳۴ درصدی وزن خشک ریشه، ۱۳ درصدی ارتفاع گیاه و ۱۹/۳۳ درصدی طول ریشه نسبت به تیمار شاهد شد که بیان‌کننده رفتار بیمارگر گونه این جدایه است (شکل ۱ و جدول ۱).

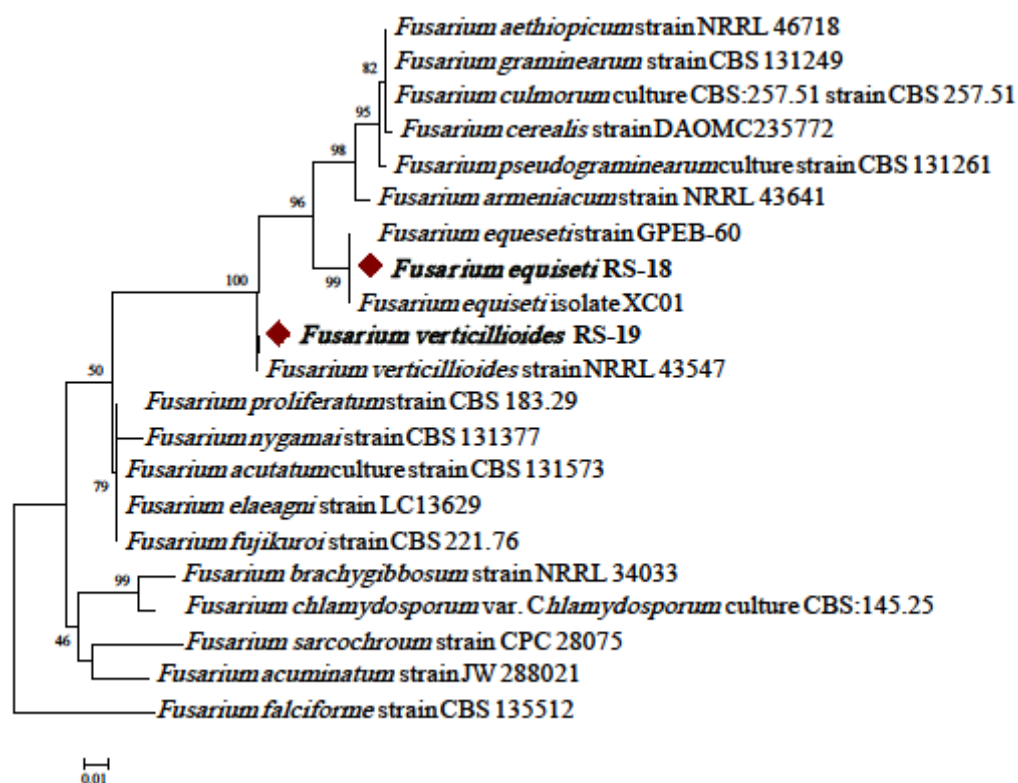
Fusarium verticillioides (Sacc) Bacon and Hinton 1996.

پرگنه روی PDA در دمای ۲۵ درجه سانتی‌گراد رشد سریع داشت و به سرعت فضای تشتک پتری را پر کرد؛ رنگ پرگنه از بژ یا قهوه‌ای تا گلبهی و ارغوانی متغیر بود. منوفالیدها ساده یا منشعب، زنجیره‌های بلند کینیدیومی در میسلیم‌های هوایی تولید شد، ماکروکینیدی‌ها دارای ۳-۵ دیواره عرضی به ابعاد ۳-۵ × ۳۲-۶۰ میکرومتر و میکروکینیدی‌ها تخم‌مرغی یا چماقی با ۱-۲ دیواره عرضی و انتهای تخت بودند؛ این جدایه کلامیدوسپور تولید نکرد (شکل ۱۱).



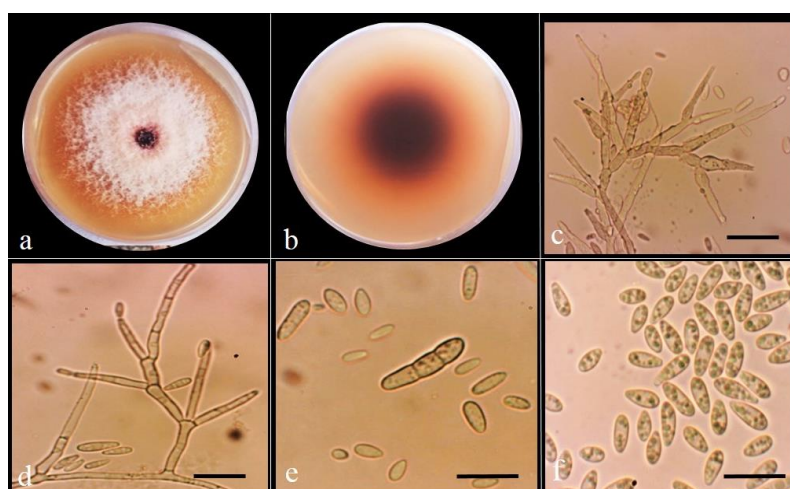
شکل ۹- *Fusarium equiseti*. a و b. سطح رویی و پشتی پرگنه روی محیط PDA، c و d. کینیدیوم، e. کلامیدوسپور. شاخص‌ها: ۱۰ میکرومتر

Figure 9. *Fusarium equiseti*: a and b Surface and reverse of the colony on PDA media, c and d. Conidium, e. Clamidospore. Scale bars= 10 μ m.



شکل ۱۰- تبارنمای جدایه‌های *Fusarium* ترسیم‌شده با نرم‌افزار MEGA. 10 براساس توالی‌های ترکیبی ناحیه ITS و ژن TEF1- α ، که با استفاده از *Fusarium falciforme* به عنوان گونه خارج از گروه ریشه‌دار شده است. جدایه مربوط به این مطالعه به صورت بولد مشخص شده است. مقیاس ۰/۰۱ تغییر در توالی بین جدایه‌های مختلف است.

Figure 10. Phylogenetic tree of *Fusarium* isolates constructed using MEGA. 10 based on combined sequences of the ITS region and the TEF1- α gene, rooted with *Fusarium falciforme* as the outgroup. The isolates from the present study are indicated in bold. The scale bar represents 0.01 sequence divergence among the different isolates.



شکل ۱۱- *Fusarium verticillioides*. a و b. سطح رویی و پشتی پرگنه روی محیط PDA، c و d. کنیدیوفور، e و f. کنیدیوم. شاخص‌ها: ۱۰ میکرومتر

Figure 10. *Fusarium verticillioides*: a and b Surface and reverse of the colony on PDA media, c and d. Conidiophore, e and f. Conidium.

Scale bars= 10 μ m.

و در دو انتها اندکی کشیده‌تر مشاهده شدند (شکل ۱۲). شناسایی مولکولی براساس آنالیز فیلوژنتیکی توالی ناحیه ITS و ژن *tef1-α* انجام شد که جدایه RS-51 را با پشتیبانی بوت‌استرپ بالا در کنار توالی‌های مرجع *Ch. globosum* قرار داد و هویت گونه را تأیید کرد (شکل ۱۳).

نتایج آزمایش گلخانه‌ای نشان دادند تلقیح ذرت با این جدایه موجب افزایش معنی‌دار شاخص‌های رشدی از جمله افزایش ۵۰/۴۸ درصدی وزن خشک اندام‌های هوایی، ۶۲/۸۴ درصدی وزن خشک ریشه، ۱۷/۹۴ درصدی ارتفاع گیاه و ۶۲/۳۳ درصدی طول ریشه نسبت به تیمار شاهد شد (شکل ۱ و جدول ۱). در مجموع، تطابق کامل صفات ریخت‌شناختی با کلیدهای معتبر شناسایی (*Chaetomium* (۵۶) و بازنگری جامع (۵۷)، همراه با شواهد مولکولی، شناسایی جدایه RS-51 به‌عنوان *Ch. globosum* را تأیید می‌کند.

جنس *Chaetomium* به شاخه Ascomycota، زیرشاخه Pezizomycotina، رده Sordariomycetes، راسته Sordariales و خانواده Chaetomiaceae تعلق دارد (Mycobank). این جنس بزرگ‌ترین عضو خانواده Chaetomiaceae بوده و پراکنش گسترده‌ای در زیست‌بوم‌ها و مناطق جغرافیایی مختلف دارد (۵۸). تاکنون بیش از ۴۰۰ گونه در این جنس گزارش شده‌اند که *Ch. globosum* به‌عنوان گونه شاخص شناخته می‌شوند.

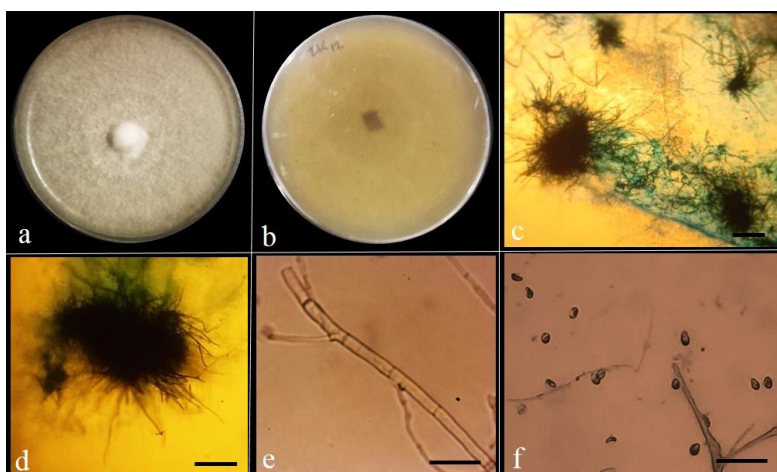
گونه‌های *Chaetomium* عمدتاً ساپروفیت‌اند و در خاک، بقایای گیاهی، کاه، کمپوست و سایر بسترهای غنی از سلولز رشد می‌کنند و به‌دلیل توانایی بالا در تجزیه سلولز و مواد آلی نقش مهمی در چرخه عناصر غذایی دارند (۳۲). مطالعات متعدد نشان داده‌اند اعضای این جنس می‌توانند به‌عنوان اندوفیت از بافت‌های هوایی و ریشه گیاهان مختلف جداسازی شوند و در کنترل بیولوژیک عوامل بیماری‌زا و ارتقای سلامت گیاه نقش داشته باشند (۵۹، ۶۰). همچنین مطالعات میدانی و مولکولی انجام‌شده در ایران نیز حضور گونه‌های *Chaetomium* را در مجموعه اندوفیت‌های گیاهی کشور تأیید کرده‌اند (۴۶)؛ اما این اولین گزارش از اندوفیت ذرت در ایران است.

گونه *F. verticillioide*s (نام پیشین *F. moniliforme*؛ تلئومورف: *Gibberella fujikuroi*) یکی از مهم‌ترین قارچ‌های ذرت است که اغلب به‌صورت اندوفیت در بافت‌های رویشی و زایشی گیاه حضور دارد و معمولاً بدون بروز علائم بیماری باقی می‌ماند. با این حال، در شرایط تنش‌زا مانند دمای بالا، رطوبت زیاد یا آسیب‌های ناشی از حشرات، این گونه می‌تواند از حالت همزیستی، خارج و به‌عنوان بیمارگر فعال شود و بیماری‌هایی نظیر پوسیدگی ساقه و بلال را ایجاد کند (۵۳). افزون بر این، تولید مایکوتوکسین‌ها توسط این قارچ، علاوه بر کاهش عملکرد، تهدیدی جدی برای سلامت انسان و دام محسوب می‌شود (۵۴).

گزارش‌های متعدد نشان داده‌اند که گونه‌های مختلف *Fusarium* به‌صورت اندوفیت از ذرت جداسازی شده‌اند؛ اما شدت بیماری‌زایی آنها متفاوت است و *F. verticillioide*s معمولاً بیشترین پتانسیل بیماری‌زایی را نشان می‌دهد (۵۵). نتایج پژوهش حاضر نیز این الگوی رفتاری را تأیید می‌کند؛ یافته‌های این مطالعه نشان می‌دهند *F. verticillioide*s قارچی با رفتار عملکردی انعطاف‌پذیر است که با توجه به شرایط، می‌تواند از یک اندوفیت بدون علامت به بیمارگری فعال در ذرت تبدیل شود. این اولین گزارش از این جدایه به‌عنوان اندوفیت ذرت در ایران است.

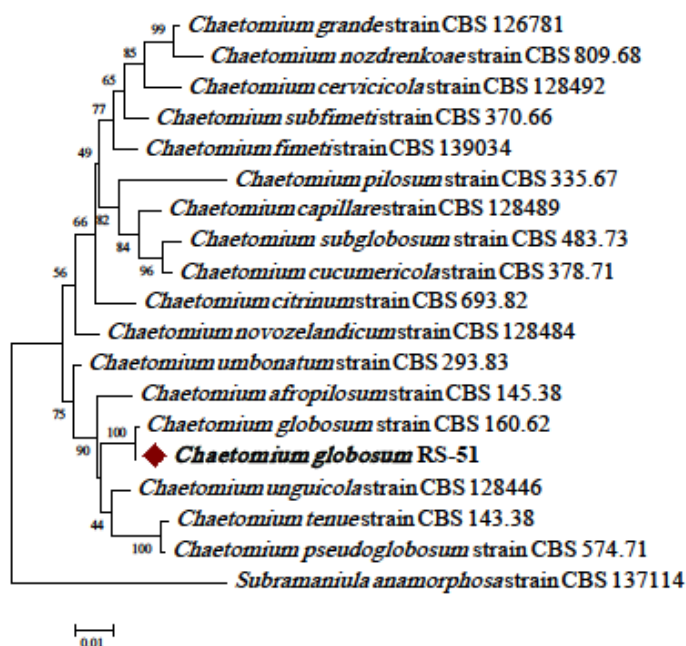
Chaetomium globosum Kunze, Mykologische Hefte 1: 16 (1817).

پرگنه روی محیط PDA در دمای ۲۵ درجه سانتی‌گراد به رنگ خاکستری تا زیتونی با حاشیه سفید و منظم بود؛ سطح پشتی پرگنه در مراحل اولیه سبز روشن بوده و با افزایش سن به کرم تیره تغییر یافت. این گونه دارای آسکوماتا کروی تا نیمه‌کروی به رنگ سیاه بود. آسکوماتا با موهای ریشه‌ای ساده و موج‌دار احاطه شده بودند که غالباً دارای دیواره عرضی و فاقد خار یا زوائد زگیلی بودند؛ موهای انتهایی بلندتر و تیره‌تر از سایر موها مشاهده شدند. قطر آسکوماتا حدود ۱۸۰ تا ۳۱۰ میکرومتر بود. آسک‌ها گری‌شکل، با دیواره ناپایدار و فاقد حلقه انتهایی و هریک حاوی آسکوسپور بودند. آسکوسپورها کروی تا لیمویی‌شکل بودند



شکل ۱۲- *Chaetomium globosum*. a و b. سطح رویی و پشتی پرگنه روی محیط PDA، c و d. آسکوکارپ، e. ریشه، f. کنیدیوم. شاخص‌ها: ۱۰ میکرومتر

Figure 12. *Chaetomium globosum*: a and b Surface and reverse of the colony on PDA media, c and d. Ascocarp, e. Hypha, f. Conidium. Scale bars= 10 μ m.



شکل ۱۳- تبارنمای جدایه *Chaetomium globosum* ترسیم‌شده با نرم‌افزار MEGA.10 براساس توالی‌های ترکیبی ناحیه ITS و ژن *tef1-α* که با استفاده از *Subramaniula anamorphosa* به‌عنوان گونه خارج از گروه ریشه‌دار شده است. جدایه مربوط به این مطالعه به‌صورت بولد مشخص شده است. مقیاس ۰/۰۱ تغییر در توالی بین جدایه‌های مختلف است.

Figure 13. Phylogenetic tree of *Chaetomium globosum* isolate constructed using MEGA.10 based on combined sequences of the ITS region and the *TEF1-α* gene, rooted with *Subramaniula anamorphosa* as the outgroup. The isolate from the present study are indicated in bold. The scale bar represents 0.01 sequence divergence among the different isolates.

نتیجه‌گیری

آنها اثرات مثبتی بر رشد گیاه دارند. شناسایی هفت گونه قارچی با استفاده از ویژگی‌های ریخت‌شناسی و نشانگرهای مولکولی ITS و *tef1-α*، بیان‌کننده غنای زیستی اندوفیت‌های

نتایج این پژوهش نشان دادند گیاه ذرت دارای تنوع چشمگیری از قارچ‌های اندوفیت است که بخش عمده‌ای از

tellustris در گیاه ذرت در سطح جهان و چند گونه دیگر در ایران محسوب می‌شود. به‌طور کلی، نتایج این پژوهش نشان می‌دهند قارچ‌های اندوفیت ذرت منبع ارزشمندی از میکروارگانسیم‌های مفیدند و می‌توانند در توسعه راهکارهای کشاورزی پایدار و افزایش رشد و سلامت گیاهان زراعی استفاده شوند.

همراه ذرت در ایران بود. بیشتر جدایه‌ها موجب بهبود شاخص‌های رشدی گیاه شدند و *Chaetomium globosum* و *Fusarium equiseti* بیشترین اثر محرک رشد را نشان دادند؛ درحالی‌که *Fusarium verticillioides* رفتار بیمارگر از خود بروز داد. همچنین، این مطالعه نخستین گزارش از حضور اندوفیتی *Aspergillus terreus* و *Alternaria*

Reference

- (1) Ranum P, Peña- Rosas JP, Garcia- Casal MN. Global maize production, utilization, and consumption. *Annals of the new York academy of sciences*. 2014 Apr;1312(1):105-12. <https://doi.org/10.1111/nyas.12396>
- (2) Román SG, Quiroz-Chávez J, Villalobos M, Urías-Gutiérrez V, Nava-Pérez E, Ruíz-May E, Singh RK, Sharma L, Quiroz-Figueroa FR. A global screening assay to select for maize phenotypes with a high tolerance or resistance to *fusarium verticillioides* (Sacc.) nirenberg rots. *Agronomy*. 2020 Dec 18;10(12):1990. <https://doi.org/10.3390/agronomy10121990>
- (3) Liu K, Goodman M, Muse S, Smith JS, Buckler ED, Doebley J. Genetic structure and diversity among maize inbred lines as inferred from DNA microsatellites. *Genetics*. 2003 Dec 1;165(4):2117-28. <https://doi.org/10.1093/genetics/165.4.2117>
- (4) Power AG. Plant community diversity, herbivore movement, and an insect-transmitted disease of maize. *Ecology*. 1987 Dec;68(6):1658-69. <https://doi.org/10.2307/1939858>
- (5) Nega A. Review on concepts in biological control of plant pathogens. *Journal of Biology, Agriculture and Healthcare*. 2014;4(27):33-54. <https://doi.org/10.5555/20153026392>
- (6) Doni F, Al-Shorgani NK, Abuelhassan NN, Isahak A, Zain CR, Yusoff WM. Microbial involvement in growth of paddy. *Current Research Journal of Biological Sciences*. 2013 Nov 20;5(6):285-90. <https://doi.org/10.19026/crjbs.5.5430>
- (7) Mari M, Torres R, Casalini L, Lamarca N, Mandrin JF, Lichou J, Larena I, De Cal MA, Melgarejo P, Usall J. Control of post- harvest brown rot on nectarine by *Epicoccum nigrum* and physico- chemical treatments. *Journal of the Science of Food and Agriculture*. 2007 May;87(7):1271-7. <https://doi.org/10.1002/jsfa.2839>
- (8) Carroll GC. The biology of endophytism in plants with particular reference to woody perennials. *Microbiology of the Phyllosphere*. 1986:203-22. <https://cir.nii.ac.jp/crid/1571417124296064128>
- (9) Sun D, Li F, Wang L, Chen R, Liu F, Guo L, Li N, Zhang F, Lei L. Identification and application of an endophytic fungus *Arcopilus aureus* from *Panax notoginseng* against crop fungal disease. *Frontiers in Plant Science*. 2024 Feb 7;15:1305376. <https://doi.org/10.3389/fpls.2024.1305376>
- (10) Zhao C, Onyino J, Gao X. Current advances in the functional diversity and mechanisms underlying endophyte-plant interactions. *Microorganisms*. 2024 Apr 11;12(4):779. <https://doi.org/10.3390/microorganisms12040779>
- (11) Eaton CJ, Cox MP, Scott B. What triggers grass endophytes to switch from mutualism to pathogenism?. *Plant Science*. 2011 Feb 1;180(2):190-5. <https://doi.org/10.1016/j.plantsci.2010.10.002>
- (12) Orole OO, Adejumo TO, Link T, Voegelé RT. Molecular identification of endophytes from maize roots and their biocontrol potential against toxigenic fungi of Nigerian maize. *Science progress*. 2023 Jul;106(3):00368504231186514. <https://doi.org/10.1177/00368504231186514>

- (13) Fisher PJ, Petrini O, Scott HL. The distribution of some fungal and bacterial endophytes in maize (*Zea mays* L.). *New Phytologist*. 1992 Oct;122(2):299-305. <https://doi.org/10.1111/j.1469-8137.1992.tb04234.x>
- (14) Noori F, Rahnama K, Mashayekhi K, Oghaz NA, Naeini SA, Hatamzadeh S. Investigation of the symbiotic relationship between *Serendipita indica* and ZP684 hybrid cultivar of maize plant under a combined condition of root rot disease (*Fusarium proliferatum*) and drought stress. *Biological Control*. 2023 Sep 1;184:105282. <https://doi.org/10.1016/j.biocontrol.2023.105282>
- (15) Torres M, Tadych M, White JF, Bills GF, Pirttilä A, Sorvari S. Isolation and identification of fungal endophytes. *Prospects and Applications for Plant-Associated Microbes: A Laboratory Manual Part B: Fungi*. 2011:153-64.
- (16) Manzotti A, Bergna A, Burow M, Jørgensen HJ, Cernava T, Berg G, Collinge DB, Jensen B. Insights into the community structure and lifestyle of the fungal root endophytes of tomato by combining amplicon sequencing and isolation approaches with phytohormone profiling. *FEMS Microbiology Ecology*. 2020 May;96(5):fiae052. <https://doi.org/10.1093/femsec/fiae052>
- (17) Tao F, Chen F, Liu H, Chen C, Cheng B, Han G. Insight into the composition and differentiation of endophytic microbial communities in kernels via 368 maize transcriptomes. *Journal of Advanced Research*. 2025 May 1;71:5-16. <https://doi.org/10.1016/j.jare.2024.05.018>
- (18) Adeleke BS, Ayilara MS, Akinola SA, Babalola OO. Biocontrol mechanisms of endophytic fungi. *Egyptian Journal of Biological Pest Control*. 2022 Apr 24;32(1):46.. <https://doi.org/10.1186/s41938-022-00547-1>
- (19) Moghaddam MS, Safaie N, Soltani J, Hagh-Doust N. Desert-adapted fungal endophytes induce salinity and drought stress resistance in model crops. *Plant Physiology and Biochemistry*. 2021 Mar 1;160:225-38. <https://doi.org/10.1016/j.plaphy.2021.01.022>
- (20) Sun X, Guo LD, Hyde KD. Community composition of endophytic fungi in *Acer truncatum* and their role in decomposition. *Fungal diversity*. 2011 Mar;47(1):85-95. <https://doi.org/10.1007/s13225-010-0086-5>
- (21) Nelson PE, Toussoun TA, Marasas WF. *species: An illustrated manual for identification*. 1983.
- (22) Leslie JF, Summerell BA. *Fusarium laboratory workshops—A recent history. Mycotoxin Research*. 2006 Jun;22(2):73-4. <https://doi.org/10.1007/BF02956766>
- (23) Crous PW, Lombard L, Sandoval-Denis M, Seifert KA, Schroers HJ, Chaverri P, Gené J, Guarro J, Hirooka Y, Bensch K, Kema GH. *Fusarium: more than a node or a foot-shaped basal cell. Studies in mycology*. 2021 Mar 1;98:100116. <https://doi.org/10.1016/j.simyco.2021.100116>
- (24) Doyle JJ, Doyle JL. A rapid DNA isolation procedure for small quantities of fresh leaf tissue. *Phytochemical bulletin*. 1987.
- (25) White TJ, Bruns T, Lee SJ, Taylor J. Amplification and direct sequencing of fungal ribosomal RNA genes for phylogenetics. *PCR protocols: a guide to methods and applications*. 1990 Jan 1;18(1):315-22. <http://dx.doi.org/10.1016/B978-0-12-372180-8.50042-1>
- (26) Mega X. molecular evolutionary genetics analysis across computing platforms; S Kumar, G Stecher, M Li, C Nkya, K Tamura. *Molecular Biology and Evolution*. 2018;35(1):1547-9. <https://doi.org/10.1093/molbev/msy096>
- (27) Summerbell RC, Gueidan C, Schroers HJ, De Hoog GS, Starink M, Rosete YA, Guarro J, Scott JA. *Acremonium phylogenetic overview and revision of Gliomastix, Sarocladium, and Trichothecium. Studies in mycology*. 2011 Mar 1;68(1):139-62. <https://doi.org/10.3114/sim.2011.68.06>
- (28) Mirsam H, Kalqutny SH, Aqil M, Azrai M, Pakki S, Muis A, Djaenuddin N, Rauf AW. Indigenous fungi from corn as a potential plant growth promoter and its role in *Fusarium verticillioides* suppression on corn. *Heliyon*. 2021 Sep 1;7(9).

- <https://doi.org/10.1016/j.heliyon.2021.e07926>
- (29) Karooei P, Darvishnia M, Bazgir E, Mirzaeipour Z. Investigating effect of the endophytic of two *Beauveria* species on growth traits and some biochemical activities of bean (*Phaseolus vulgaris*). *Plant Protection (Scientific Journal of Agriculture)*. 2024 Dec 21;47(4):1-21. <https://doi.org/10.22055/ppr.2024.47925.1760> [In Persian]
- (30) Song GC, Yasir M, Bibi F, Chung EJ, Jeon CO, Chung YR. *Nocardioides caricicola* sp. nov., an endophytic bacterium isolated from a halophyte, *Carex scabrifolia* Steud. *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology*. 2011 Jan;61(1): 105-9. <https://doi.org/10.1099/ijs.0.019919-0>
- (31) Domsch KH, Gams W, Anderson TH. Compendium of soil fungi, 2nd taxonomically revised edition by W. Gams. *IHW, Eching*. 2007.
- (32) Yao Y, Huo J, Ben H, Gao W, Hao Y, Wang W, Xu J. Biocontrol efficacy of endophytic fungus, *Acremonium sclerotigenum*, against *Meloidogyne incognita* under in vitro and in vivo conditions. *Biologia*. 2023 Nov;78(11):3305-13. <https://doi.org/10.1007/s11756-023-01505-4>
- (33) Liao YC, Cao YJ, Wan Y, Li H, Li DW, Zhu LH. *Alternaria arborescens* and *A. italica* Causing Leaf Blotch on *Celtis julianae* in China. *Plants*. 2023 Aug 30;12(17):3113. <https://doi.org/10.3390/plants12173113>
- (34) Hyde KD, Noorabadi MT, Thiyagaraja V, He MQ, Johnston PR, Wijesinghe SN, Armand A, Biketova AY, Chethana KW, Erdoğan M, Ge ZW. The 2024 Outline of Fungi and fungus-like taxa. *Mycosphere*. 2024 Nov 19;15(1):5146-6239. <https://doi.org/10.5943/mycosphere/15/1/25>
- (35) Gannibal PB, Gasich EL. Embellisia-like hyphomycetes from Russia and Kazakhstan in culture collection of vizr. <https://doi.org/10.1134/S0026364819020041>
- (36) Woudenberg JH, Groenewald JZ, Binder M, Crous PW. *Alternaria redefined*. *Studies in mycology*. 2013 Jun 1;75(1):171-212. <https://doi.org/10.3114/sim0015>
- (37) Baron NC, Rigobelo EC. Endophytic fungi: a tool for plant growth promotion and sustainable agriculture. *Mycology*. 2022 Jan 2;13(1):39-55. <https://doi.org/10.1080/21501203.2021.1945699>
- (38) Houbroken J, Kocsubé S, Visagie CM, Yilmaz N, Wang XC, Meijer M, Kraak B, Hubka V, Bensch K, Samson RA, Frisvad JC. Classification of *Aspergillus*, *Penicillium*, *Talaromyces* and related genera (Eurotiales): An overview of families, genera, subgenera, sections, series and species. *Studies in mycology*. 2020 Mar 1;95:5-169. <https://doi.org/10.1016/j.simyco.2020.05.002>
- (39) Raper KB, Fennell DI. The genus *Aspergillus*. With a chapter on pathogenicity by Austwick PKC. Baltimore (MD): Williams & Wilkins; 1965.
- (40) Samson RA, Visagie CM, Houbroken J, Hong SB, Hubka V, Klaassen CH, Perrone G, Seifert KA, Susca A, Tanney JB, Varga J. Phylogeny, identification and nomenclature of the genus *Aspergillus*. *Studies in mycology*. 2014 Jun 1;78(1):141-73. <https://doi.org/10.1016/j.simyco.2014.07.004>
- (41) Abdelaziz AM, El-Wakil DA, Hashem AH, Al-Askar AA, AbdElgawad H, Attia MS. Efficient role of endophytic *Aspergillus terreus* in biocontrol of *Rhizoctonia solani* causing damping-off disease of *Phaseolus vulgaris* and *Vicia faba*. *Microorganisms*. 2023 Jun 2;11(6):1487. <https://doi.org/10.3390/microorganisms11061487>
- (42) Hashem AH, Shehabeldine AM, Abdelaziz AM, Amin BH, Sharaf MH. Antifungal activity of endophytic *Aspergillus terreus* extract against some fungi causing mucormycosis: ultrastructural study. *Applied Biochemistry and Biotechnology*. 2022 Aug;194(8):3468-82. <https://doi.org/10.1007/s12010-022-03876-x>
- (43) Osman ME, Abou-Zeid AM, Abu-Saied MA, Ayid MM, El-Zawawy NA. Diversity and bioprospecting activities of endophytic Fungi associated with different Egyptian medicinal plants. *Scientific Reports*. 2025 Jun 3;15(1):19494. <https://doi.org/10.1038/s41598-025-01202-z>

- (44) Ershad D. *Fungi of Iran*. Iranian Research Institute of Plant Protection. Agricultural Research, Education and Extension Organization, Ministry of Jihad-e-Agriculture, Tehran, Iran. 2009. [In Persian]
- (45) Besharati-Fard M, Moosawi-Jorf SA, Shams-Ghahfarokhi M, Razzaghi-Abyaneh M. First report and diversity analysis of endophytic fungi associated with *Ulva* sp. from Iran. *Scientific Reports*. 2025 Oct 31;15(1):38264. <https://doi.org/10.1038/s41598-025-22071-6>
- (46) Zhang S, Gan Y, Xu B. Application of plant-growth-promoting fungi *Trichoderma longibrachiatum* T6 enhances tolerance of wheat to salt stress through improvement of antioxidative defense system and gene expression. *Frontiers in plant science*. 2016 Sep 15;7:1405. <https://doi.org/10.3389/fpls.2016.01405>
- (47) Katoch M, Paul A, Singh G, Sridhar SN. Fungal endophytes associated with *Viola odorata* Linn. as bioresource for pancreatic lipase inhibitors. *BMC Complementary and Alternative Medicine*. 2017 Aug 3;17(1):385. <https://doi.org/10.1186/s12906-017-1893-y>
- (48) Rashmi M, Kushveer JS, Sarma VV. A worldwide list of endophytic fungi with notes on ecology and diversity. *Mycosphere*. 2019 Jan 1;10(1):798-1079. <https://doi.org/10.5943/mycosphere/10/1/19>
- (49) Hussein ME, Mohamed OG, El-Fishawy AM, El-Askary HI, El-Senousy AS, El-Beih AA, Nossier ES, Naglah AM, Almehizia AA, Tripathi A, Hamed AA. Identification of antibacterial metabolites from endophytic fungus *Aspergillus fumigatus*, isolated from *Albizia lucidior* leaves (Fabaceae), utilizing metabolomic and molecular docking techniques. *Molecules*. 2022 Feb 8;27(3):1117. <https://doi.org/10.3390/molecules27031117>
- (50) Byregowda R, Prasad SR, Prasannakumar MK. Construing the resilience to osmotic stress using endophytic fungus in maize (*Zea mays* L.). *Plant molecular biology*. 2025 Feb;115(1):22. <https://doi.org/10.1007/s11103-025-01550-4>
- (51) Maciá- Vicente JG, Rosso LC, Ciancio A, Jansson HB, Lopez- Llorca LV. Colonisation of barley roots by endophytic *Fusarium equiseti* and *Pochonia chlamydosporia*: effects on plant growth and disease. *Annals of Applied Biology*. 2009 Dec;155(3):391-401. <https://doi.org/10.1111/j.1744-7348.2009.00352.x>
- (52) Kulda GA, Yates IE. Evidence for *Fusarium* endophytes. *Microbial endophytes*. 2000 Feb 25;85.
- (53) Ma Z, Wang J, Wen S, Ren J, Hui H, Huang Y, Yang J, Zhao B, Liu B, Gao Z. Evaluation of maize hybrids for resistance to ear rot caused by dominant *Fusarium* species in Northeast China. *Agronomy*. 2024 Apr 19;14(4):855. <https://doi.org/10.3390/agronomy14040855>
- (54) Terna PT, Mohamed Nor NM, Azuddin NF, Zakaria L. Molecular identification and pathogenicity of endophytic fungi from corn ears. *Scientific Reports*. 2024 Jul 26;14(1):17146. <https://doi.org/10.1038/s41598-024-68428-1>
- (55) von Arx JA, Guarro J, Figueras MJ. The ascomycete genus *Chaetomium*. *Beihefte zur Nova Hedwigia*. 1986(84).
- (56) Wang XW, Lombard L, Groenewald JZ, Li J, Videira SI, Samson RA, Liu XZ, Crous PW. Phylogenetic reassessment of the *Chaetomium globosum* species complex. *Persoonia-Molecular Phylogeny and Evolution of Fungi*. 2016 Jun 30;36(1):83-133. <https://doi.org/10.3767/003158516X689657>
- (57) Kedves O, Kocsubé S, Bata T, Andersson MA, Salo JM, Mikkola R, Salonen H, Szűcs A, Kedves A, Kónya Z, Vágvolgyi C. *Chaetomium* and *chaetomium*-like species from European indoor environments include *Dichotomopilus finlandicus* sp. nov. *Pathogens*. 2021 Sep 3;10(9):1133. <https://doi.org/10.3390/pathogens10091133>
- (58) Marwah RG, Fatope MO, Deadman ML, Al-Maqbali YM, Husband J. Musanahol: a new aureonitol-related metabolite from a *Chaetomium* sp. *Tetrahedron*. 2007 Aug 20;63(34):8174-80. <https://doi.org/10.1016/j.tet.2007.05.119>

- (59) Zhang H, Yang Q. Expressed sequence tags-based identification of genes in the biocontrol agent *Chaetomium cupreum*. *Applied microbiology and biotechnology*. 2007 Mar;74(3):650-8.
<https://doi.org/10.1007/s00253-006-0701-2>
- (60) Fatima N, Mukhtar U, Qazi MA, Jadoon M, Ahmed S. Biological evaluation of endophytic fungus *Chaetomium* sp. NF15 of *Justicia adhatoda* L.: a potential candidate for drug discovery. *Jundishapur journal of microbiology*. 2016 Jun 5;9(6):e29978.
<https://doi.org/10.5812/jjm.29978>