مقاله علمی پژوهشی
مجله دوفصل نامه
مهندسی ژنتیک و ایمنی زیستی
ISSN 2588-5073 چاپی
ISSN 2588-5081 الکترونیکی
دوره ۱۲، شماره ۱، بهار و تابستان ۱۴۰۲
صفحه ۵۸-۴۲

https://dorl.net/dor/20.1001.1.25885073.1402.12.1.6.0

DOR: 20.1001.1.25885073.1402.12.1.6.0

Research Article
Genetic Engineering and Biosafety Journal 2023
Volume 12, Number 1, Pages: 42-58

http://gebsj.ir/

https://ecc.isc.ac/showJournal/23064

تنوّع زیستی و توانایی تولید پاکلی‌تاکسل در قارچ‌های اندوفیت درختان فندق (*Corylus avellana*) جنگل فندقلوی اردبیل

Biodiversity and paclitaxel synthesis capability of endophytic fungi of hazelnut trees (*Corylus avellana*) in Fandoghlou forest of Ardabil

نادیا جوادنژاد[۱]، مهدی داوری*[۱]، ناصر صفایی[۲]، مهدی ارزنلو[۳]، فاروق نصیری[٤]

Nadia Javadnezhad[1], Mahdi Davari[1*], Naser Safaie[2], Mahdi Arzanlou[3], Farough Nasiri[4]

۱-گروه گیاهپزشکی، دانشکده کشاورزی و منابع طبیعی، دانشگاه محقق اردبیلی، اردبیل، ایران
۲- گروه بیماری‌شناسی گیاهی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه تربیت مدرس، تهران، ایران
۳- گروه گیاهپزشکی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه تبریز، تبریز، ایران
٤- گروه شیمی کاربردی، دانشکده علوم، دانشگاه محقق اردبیلی، اردبیل، ایران

1. Department of Plant Protection, Faculty of Agriculture and Natural Resources, University of Mohaghegh Ardabili, Ardabil, Iran
2. Department of Plant Pathology, Faculty of Agriculture, University of Tarbiat Modarres, Tehran, Iran
3. Department of Plant Protection, Faculty of Agriculture, University of Tabriz, Tabriz, Iran
4. Department of Applied Chemistry, Faculty of Science, University of Mohaghegh Ardabili, Ardabil, Iran

* نویسنده مسئول مکاتبات، پست الکترونیکی: *Corresponding Author, Email
mdavari@uma.ac.ir

(تاریخ دریافت: ۱۴۰۱/۱۰/۲۳ - تاریخ پذیرش: ۱۴۰۱/۱۱/۱۳)

چکیده

اندوفیت‌ها گروه بزرگ و متنوّعی از میکروارگانیسم‌ها هستند که بدون هیچ‌گونه علایم بیماری در بافت‌های گیاهان زندگی می‌کنند و نقش مهمی در حفاظت از گیاهان در برابر تنش‌های زیستی و غیرزیستی ایفا می‌کنند. اهداف این مطالعه، جداسازی و شناسایی قارچ‌های اندوفیت درخت فندق (*Corylus avellana*) و ارزیابی اثرات احتمالی بافت‌های مختلف فندق بر جوامع آن‌ها بودند. نمونه‌برداری از بافت‌های سالم میوه (شامل مغز، پوسته چوبی و گریبان برگ‌مانند) و برگ، ساقه و ریشه از درختان فندق جنگل فندقلو در اردبیل، ایران جمع‌آوری شدند. پس از ضدعفونی سطحی، قارچ‌های اندوفیت با استفاده از روش‌های استاندارد کشت، جداسازی و بر اساس ویژگی‌های ریخت‌شناختی شناسایی شدند. نمایندگان هر آرایه با تعیین توالی ناحیه rDNA ITS1-5.8S-ITS2 شناسایی شدند. همچنین فراوانی کلونیزه شدن بافت‌ها، نرخ جداسازی گونه‌ها و شاخص‌های تنوّع محاسبه شدند. در مجموع، ۷۹ جدایه قارچ اندوفیت از میوه‌ها (۲۹/۹٪)، برگ‌ها (۹/۱٪)، ساقه (۵٤/۵٪) و ریشه (۹/۱ ٪) به دست آمد. جدایه‌ها متعلق به آرایه‌های *Clonostachys* sp.، *Briansuttonomyces* sp.، *Chaetomium* sp.، *Colletotrichum* sp.، *Fusarium* sp.، *Curvularia* sp.، *Epicoccum* sp. و *Biscogniauxia* sp. بودند. بر این اساس، ۱۵/۲٪ جدایه‌ها (۱۲ جدایه) به دلیل عدم اسپورزایی شناسایی نشدند. ساقه و برگ درخت فندق به ترتیب، بیشترین و کمترین فراوانی کلونیزه شدن را نشان دادند. شاخص‌های تنوّع اندوفیت‌های برگ و میوه بالاتر از ریشه و ساقه بود. نتایج آنالیز کروماتوگرافی لایهٔ نازک و واکنش زنجیره‌ای پلی مراز (با آغازگر ژن *DBAT*) نیز نشان داد که احتمالاً سه جدایه قادر به تولید پاکلی‌تاکسل هستند.

واژه‌های کلیدی

فراوانی کلونیزه شدن،
فراوانی جداسازی،
تنوع زیستی،
تاکسول،
Corylus avellana

[Downloaded from gebsj.ir on 2026-02-18]
[DOR: 20.1001.1.25885073.1402.12.1.6.0]

Genetic Engineering and Biosafety Journal
Volume 12, Number 1, 2023

Abstract

Endophytes are a large and various group of microorganisms that live in the plant tissues without any apparent disease symptoms. Endophytes play an important role in protecting the plants against the biotic and abiotic stresses. The objectives of this study were to isolate and identify the endophytic fungi of hazelnut (*Corylus avellana*) tree and evaluate the possible effects of the hazelnut different tissues on their communities. Healthy samples (fruit including nut, shell and involucre) leaf, stem and root were collected from hazelnut tree of Fandoghlo forest in Ardabil, Iran. After surface sterilization, the endophytic fungi were isolated using standard culture methods and identified based on morphological characteristics. Representatives of each taxon were identified by sequencing of ITS1-5.8S-ITS2 rDNA region. Tissue colonization frequency, species isolation rate and diversity indices were calculated. In total, 79 endophytic fungal isolates were isolated from fruits (29.9%), leaves (9.1%), stems (54.5%) and roots (9.1%). The isolates belonged to the taxa of *Clonostachys* sp., *Briansuttonomyces* sp., *Chaetomium* sp., *Colletotrichum* sp., *Fusarium* sp., *Curvularia* sp., *Epicoccum* sp. and *Biscogniauxia* sp. Accordingly, 15.2% isolates (12 isolates) were not identified due to lack of sporulation. The stem and leaf of the hazelnut tree showed the highest and the lowest colonization frequency, respectively. The indices of diversity of leaf and fruit endophytes were higher than those of roots and stems. The results of thin layer chromatography analysis and polymerase chain reaction (with *DBAT* gene primer) showed that three isolates are probably able to produce paclitaxel.

Keywords: Colonization frequency, Isolation frequency, Biodiversity, Taxol, *Corylus avellana*.

مقدمه

اندوفیت عبارت است از هر میکروبی که از بافت‌های گیاهی بدون علامت جدا می‌شود (Wilson 1995; Hardoim *et al.* 2015). این تعریف، میکروارگانیسم‌هایی که رابطه خنثی، همسفره یا مفید با گیاه دارند و نیز ساپروفیت‌های خفته و بیمارگرهایی که در فاز نهان چرخه زندگی هستند را در برمی‌گیرد. این میکروارگانیسم‌ها رابطه خیلی نزدیکی با میزبان گیاهی خود دارند و یک جامعه میکروبی را در اندوسفر گیاه تشکیل می‌دهند و این پدیده می‌تواند در هر قسمتی (فیلوپلن، کالسفر، آنتوسفر، اسپرموسفر و کارپوسفر) از گیاه رخ دهد (Hardoim *et al.* 2015). اندوفیت‌ها مواد غذایی را از گیاهان میزبان دریافت می‌کنند و در مقابل، باعث تسهیل جذب مواد غذایی به گیاه میزبان و حفاظت آن‌ها در برابر تنش‌های زیستی و غیرزیستی می‌شوند. اندوفیت‌ها همراه با گیاهان تکامل یافته‌اند و در طی این مدت طولانی، همه راهکارهای لازم برای زندگی، بقا، تکامل و بهبود رابطه با گیاه را توسعه داده‌اند (Krings *et al.* 2007; Yu *et al.* 2010; Sudha *et al.* 2016; Goyal *et al.* 2017). فراوان‌ترین اندوفیت‌هایی که با آن روبرو هستیم، قارچ‌ها هستند. قارچ‌های اندوفیت که بدون هیچ نشانه‌ای در بافت‌های گیاهی زندگی می‌کنند، تقریباً در همه گیاهان حضور دارند. یک گونه اندوفیت ممکن است با بسیاری از گونه‌های گیاهی در ارتباط باشد و گونه‌های زیادی از اندوفیت‌ها ممکن است در یک گونه گیاهی حضور داشته باشند (Zabalgogeazcoa 2008).

در سال‌های اخیر، میکروارگانیسم‌ها به دلایل متنوّعی از جمله حفاظت از گیاهان در برابر آفات، بیمارگرها و حتی علف‌خوارها و همچنین قابلیت آن‌ها برای تولید ترکیبات زیست‌فعال، توجه بیشتری را به خود جلب کرده‌اند (Strobel 2018). در حال حاضر، اندوفیت‌ها به عنوان منبعی از ترکیبات زیست‌فعّال طبیعی با پتانسیل بالا در تولید ترکیبات دارویی ارزشمند مانند پاکلی‌تاکسل که دارای ویژگی ضدقارچ و ضدسرطان است، در نظر گرفته می‌شوند (Salehi *et al.* 2018, 2019a,b, 2020a,b, 2021, 2022; Farhadi *et al.* 2020a,b). بیش از ۸۵۰۰ متابولیت ثانویّه زیست‌فعّال با منشاء قارچی شناخته شده‌اند (Demain and Sanchez 2009; Goyal *et al.* 2017)، در حالی که چند داروی مهم از گیاهان به دست می‌آیند (Ramawat *et al.* 2009). علاوه بر تولید متابولیت‌های ثانویّه توسط قارچ‌های اندوفیت، تبدیل

[Downloaded from gebsj.ir on 2026-02-18]
[DOR: 20.1001.1.25885073.1402.12.1.6.0]

زیستی متابولیت‌های ثانویّه با استفاده از اندوفیت‌ها نیز با موفقیت انجام شده است (Demain and Sanchez 2009). اگرچه مجموعه‌ای منحصر به‌فرد و متنوّع از متابولیت‌های ثانویّه زیست‌فعال توسط گونه‌های مختلف اندوفیت تولید می‌شود، طیف متابولیت‌های آن‌ها با تغییر محیط، جغرافیا، میزبان و نوع بافت تغییر می‌کند (Chutulo and Chalannavar 2018). بنابراین برای به‌دست آوردن حداکثر بهره از این منبع طبیعی عالی، بررسی جوامع اندوفیت در گیاهان مختلف ضروری است (Singh *et al.* 2017).

فندق گروهی از گونه‌های درختچه‌ای خزان کننده و درختان کوچک را شامل می شود که به دلیل تولید آجیل خوراکی از نظر اقتصادی مهم هستند (Bottone *et al.* 2019). ایران ششمین تولید کننده فندق در جهان است (FAOSTAT 2019). فندق به‌عنوان یک گونه تولید کننده پاکلی‌تاکسل در میان نهاندانگان نام برده می‌شود. چندین قارچ اندوفیت از درخت فندق جدا شده‌اند که تعدادی از آن‌ها، پاکلی‌تاکسل تولید می‌کنند (Rahimi *et al.* 2013; Salehi *et al.* 2017, 2018, 2019a,b, 2020a,b, 2021; Farhadi *et al.* 2020a,b). برخی مطالعات نشان داده است که فراوانی و تنوّع قارچ‌های اندوفیت فندق تحت تاثیر شرایط جغرافیایی، تنوّع زیستی و نوع بافت می‌باشد مثلاً در تحقیقی، ساقه بیشترین و ریشه کمترین میزان کل کلونیزاسیون و شاخص‌های تنوّع اندوفیت را در فندق را نشان داده است (Kashanian *et al.* 2022).

این پژوهش به منظور جداسازی، شناسایی و گروه‌بندی قارچ‌های اندوفیت ریشه، ساقه، برگ و میوه فندق با استفاده از روش‌های ریخت‌شناختی و مولکولی و بررسی اثر احتمالی بافت‌های مختلف (ریشه، ساقه، برگ، و میوه فندق) روی جوامع قارچ‌های اندوفیت در منطقه جنگلی فندقلوی اردبیل و نیز مطالعه اولیه قابلیت تولید پاکلی‌تاکسل در این قارچ‌ها انجام گرفت. این مطالعه، اولین پژوهش جهت تعیین هویّت قارچ‌های مولّد پاکلی‌تاکسل و فراوانی آن‌ها در بافت‌های مختلف درختان فندق در جنگل فندقلو می‌باشد. از آنجایی‌که اطلاعات موجود در مورد تنوّع اندوفیت‌های فندق محدود است، این مطالعه می‌تواند اطلاعات ارزشمندی در مورد تنوع زیستی اندوفیت‌های فندق در منطقه جنگلی فندقلو ارائه دهد.

مواد و روش‌ها

نمونه‌برداری و جداسازی قارچ‌های اندوفیت: جمع‌آوری نمونه‌های گیاهی فندق (*Corylus avellana*) از منطقه جنگلی فندقلو با مساحت ۲۰۷/۹۷ کیلومتر مربع در فاصله ۹ کیلومتری جنوب شهرستان نمین و ۲۵ کیلومتری شهرستان اردبیل انجام گرفت. جنگل فندقلو از شرق با استان گیلان و از شمال شرق با جمهوری آذربایجان هم‌مرز است. این جنگل در عرض جغرافیایی ″۱۰ ′۲۲ °۳۸ تا ″۰۴ ′۲۴ °۳۸ شمالی و طول جغرافیایی ۳۱ °۴۸ ″۳۰ تا ″۰۳ ′۳۴ °۴۸ شرقی واقع شده است. نمونه‌برداری در شهریور و مهرماه سال ۱۴۰۰ از اندام‌های سالم (ریشه، ساقه، برگ و میوه) و بدون علایم بیماری و جداسازی اندوفیت‌ها مطابق روش‌های متداول جداسازی اندوفیت‌ها (Helander *et al*. 2007; Blumenstein 2010) انجام شد. بدین‌صورت که نمونه‌های گیاهی پس از شستشو با آب جاری (جهت زدودن برخی از آلودگی‌های سطحی) در زیر هود لامینار به قطعات ۰/۵×۰/۵ سانتی‌متر مربع بریده شدند. نمونه‌ها به مدت ۳۰ ثانیه در اتانول ۷۵ درصد غوطه‌ور و بعد از آن بلافاصله در هیپوکلریت‌سدیم ۰/۵ درصد به مدت پنج دقیقه قرار داده شدند و بعد از این مرحله، نمونه‌ها به مدت ۱۵ ثانیه با استفاده از اتانول ۷۵ درصد ضدعفونی شدند. سپس نمونه‌ها با استفاده از آب مقطر سترون، سه بار شست‌وشو و به مدت پنج دقیقه با استفاده از کاغذ صافی سترون خشک آب‌گیری شدند. قطعات در تشتک‌های پتری حاوی محیط کشت سیب‌زمینی دکستروز آگار (PDA, Merck, Germany) کشت داده شدند. برای ممانعت از رشد باکتری‌ها به میزان ۱۰۰ میلی‌گرم بر لیتر از هر یک از آنتی‌بیوتیک‌های پنی‌سیلین و استرپتومایسین به محیط کشت اضافه شد. تشتک‌های پتری حاوی نمونه گیاهی در دمای ۱±۲۵ درجه سلسیوس تا زمان رشد قارچ نگهداری شدند. قارچ‌های رشد یافته با روش نوک هیف یا تک اسپور در زیر استریومیکروسکوپ Lieca (Zoom 2000, Germany) خالص‌سازی شدند و به‌طور جداگانه و توسط سوزن‌های ظریف و

[Downloaded from gebsj.ir on 2026-02-18]

[DOR: 20.1001.1.25885073.1402.12.1.6.0]

سترون به تشتک‌های پتری جدید حاوی محیط‌های کشت PDA و آب آگار (WA, Water Agar) منتقل شدند (Rahimi *et al.* 2013; Ataie 2017; Ghasemi Esfahlan *et al.* 2019) و تا رشد کامل در انکوباتور در دمای ۱±۲۵ درجه سلسیوس نگهداری شدند.

شناسایی جدایه‌ها بر اساس صفات ریخت‌شناختی: شناسایی جدایه‌های قارچیِ به‌دست آمده در این تحقیق، بر اساس صفات ماکروسکوپی و میکروسکوپی جدایه‌ها و تطبیق آن‌ها با کلیدهای استاندارد قارچ‌شناسی و توصیف‌های موجود در منابع انجام شد (Seifert *et al.* 2011). برای مشاهده اندام‌های قارچی از میکروسکوپ ZIESS Axiolab (Germany) استفاده شد. لازم به ذکر است که با وجود استفاده از روش‌های مختلف از جمله near UV، تنش سرمایی و قطعات برگ کاج روی محیط کشت آب آگار دو درصد برای تحریک اسپورزایی، تعداد زیادی از جدایه‌ها اسپورزایی نکردند و برای شناسایی آن‌ها از توالی‌یابی نوکلئوتیدی استفاده گردید.

استخراج DNA ژنومی و تکثیر نواحی ژنی، توالی‌یابی و تجزیه و تحلیل فیلوژنتیک: برای این منظور، جدایه‌های نماینده ریخت‌جوره‌ها روی محیط کشت PDA کشت داده شدند و به مدت ۱۰-۷ روز در دمای ۲۵ درجه سلسیوس نگهداری شدند. DNA ژنومی با استفاده از روش CTAB (پروتکل Moller *et al.* 1992) استخراج گردید. کیفیّت و کمیّت DNA استخراج شده توسط دستگاه اسپکتروفوتومتر نانودراپ (مدل NanodropOne_C-AZY1706749, USA) و استفاده از ژل آگارز مورد ارزیابی قرار گرفت. واکنش زنجیره‌ای پلیمراز با حجم ۲۵ میکرولیتر شامل ۲/۵ میکرولیتر مسترمیکس (ساخت شرکت ژن فناوران)، ۱۹/۵ میکرولیتر آب دو بار تقطیر، ۵ پیکومول از هر کدام از آغازگرهای مستقیم ITS1 ('5TCCGTAGTTGGACCTGCGG3') و معکوس ITS4 ('5TCCTCCGCTTATTGATATGC3') (White *et al.* 1990) و ۱۰ نانوگرم DNA ژنومی در دستگاه ترموسایکلر Ependorff طبق برنامه دمایی ذکر شده در مطالعه قبلی (Davari *et al.* 2020) انجام‌شد. خالص‌سازی و توالی‌یابی محصول PCR توسط شرکت ژن فناوران انجام شد.

توالی‌های نوکلئوتیدی به دست آمده، با استفاده از نرم‌افزار Chromas Pro 2.1.10 بررسی و ویرایش شد و سپس با استفاده از ابزار جستجوی بلاست (Altschul *et al.* 1990) با توالی‌های مرجع موجود در بانک ژن جهانی (NCBI; http://www.ncbi.nlm.nih.gov) و پایگاه‌داده UNITE (Nilsson *et al.* 2019) مورد مقایسه قرار گرفت.

بررسی حضور ژن *DBAT* در قارچ‌های اندوفیت با استفاده از آغازگرهای اختصاصی: برای این منظور، از آغازگرهای اختصاصی بر اساس توالی حفاظت شده ژن *DBAT* (GenBank No., EF028093) به‌نام dbat-F (5-GGGAGGGTGCTCTGTTTG-3) و dbat-R (5-GTTACCTGAACCACCAGAGG-3) استفاده شد (Zhang *et al.* 2008). واکنش PCR در دستگاه ترموسایکلر BIO RAD (Model No. iCycler Thermal Cycler) در حجم نهایی ۲۵ میکرولیتر با ۱ واحد آنزیم Taq DNA polymerase (سیناژن) انجام گرفت. مخلوط PCR به‌مدت ٦ دقیقه در دمای ۹٤ درجه سلسیوس و سپس ۳۵ سیکل در ۹٤ درجه سلسیوس به‌مدت ٦۰ ثانیه، ۵۰ درجه سلسیوس به‌مدت ۵۰ ثانیه و ۷۲ درجه سلسیوس به‌مدت ۸۰ ثانیه و در نهایت ۷۲ درجه سلسیوس به‌مدت ۵ دقیقه انکوبه شد (Seifi *et al.* 2013). آنالیز محصولات PCR در ژل آگارز ۱/۵ درصد و دستگاه الکتروفورز (Bio Rad) صورت گرفت.

تجزیه و تحلیل داده‌ها: فراوانی جداسازی (IF= Isolation frequency)، فراوانی وقوع ریخت‌جوره (morphotype) خاص قارچ اندوفیت در کل جدایه‌ها، فراوانی نسبی (RA= Relative abundance) است که به‌عنوان تعداد کل جدایه‌های یک ریخت‌جوره تقسیم بر تعداد کل جدایه‌ها اندازه‌گیری شد.

فراوانی پرگنه‌شدن (CF= Colonization Frequency) یا نرخ جداسازی (IR= Isolation rate) به صورت تعداد قطعاتی که یک یا چند قارچ اندوفیت از آن جدا شدند به تعداد کل قطعات انکوبه شده، محاسبه شد (Rather *et al.* 2018).

[Downloaded from gebsj.ir on 2026-02-18]
[DOR: 20.1001.1.25885073.1402.12.1.6.0]

$$CF\ or\ IR\ (\%) = \left(\frac{\text{Total no. of leaf segments yielding} \geq 1 \text{ isolates}}{\text{Total no. of segments}}\right) \times 100 \quad (1)$$

شاخص شانون- واینر (H'= Shannon Weiner) برای یافتن تنوّع گونه‌ها مطابق فرمول زیر محاسبه شد (Kumar *et al.* 2022):

$$H' = \sum_{i=1}^{s} p_i \ln p_i \quad (2)$$

که H' شاخص شانون- واینر و P_i نسبت افراد متعلق به گونه i است.

برای برآورد غنای گونه از شاخص مارگالف (Margalef) استفاده شد (Kumar *et al.* 2022):

$$DMg = \frac{S-1}{\ln(N)} \quad (3)$$

که DMg شاخص غنای گونه مارگالف، S تعداد گونه‌ها و N تعداد کل افراد است.

شاخص سیمپسون (D, Simpson) برای تعیین تنوع گونه مورد ارزیابی قرار گرفت (Kumar *et al.* 2022). تنوع گونه با غنای گونه و یکنواختی آن‌ها افزایش می‌یابد.

$$D = \frac{\Sigma\, n\,(n-1)}{N\,(N-1)} \quad (4)$$

که n، تعداد کل افراد یک گونه خاص و N، تعداد کل افراد از همه گونه‌ها است.

در واقع هر چه مقدار D بیشتر باشد، تنوّع کمتر است. این نه شهودی است و نه منطقی، بنابراین برای غلبه بر این مشکل، شاخص تنوّع مکمل سیمپسون (1-D) و شاخص تنوّع معکوس (1/D) محاسبه می‌شود که مقادیر بالاتر آن‌ها نشان‌دهنده‌ی تنوّع بیشتر است.

یکی از شاخص‌های یکنواختی توسط Pielou (1966) پیشنهاد شد. شاخص پایلو (J, Pielou) به صورت زیر محاسبه می‌شود (Kumar *et al.* 2022):

$$J = \frac{H'}{\ln(S)} \quad (5)$$

که J، شاخص یکنواختی گونه پایلو، H، شاخص شانون- واینر و S تعداد کل گونه در نمونه است.

شاخص شباهت جاکارد (IS_J= Jaccard) بافت‌های A و B مطابق فرمول زیر بدست آمد (Wang *et al.* 2011):

$$IS_J = \frac{c}{(a+b+c)} \quad (6)$$

که a تعداد گونه‌های موجود تنها در بافت A، b تعداد گونه‌های موجود تنها در بافت B و c تعداد گونه‌های مشترک بین بافت‌های A و B است.

ترسیم نمودارهای فراوانی جنس‌ها و گونه‌های قارچی با استفاده از نرم‌افزار Excel انجام گرفت.

تهیه محیط عصاره‌گیری، تخمیر قارچی، استخراج پاکلی‌تاکسل و کروماتوگرافی لایه نازک (TLC): برای تهیه کشت سوسپانسیون، ارلن‌مایرهای ۲۵۰ میلی‌لیتری حاوی ۱۵۰ میلی‌لیتر محیط کشت مایع سیب‌زمینی دکستروز (PDB)، با دو پلاک با ابعاد یک در یک سانتی‌متر مربع از کشت جامد ۷-۵ روزه جدایه‌های قارچی تلقیح شدند (Liu *et al.* 2009) و کشت‌ها به مدت ۲۱ روز داخل شیکر انکوباتور با دور ۱۵۰ rpm و دمای ۲۸ درجه سلسیوس نگهداری شدند (Strobel *et al.* 1996). پس از گذشت این مدت و پس از حذف میسلیوم‌های قارچی توسط لایه کاغذ صافی، به محیط‌های مایع، حلال دی‌کلرومتان (هم حجم) اضافه گردید و به خوبی تکان داده شد. با استفاده از یک قیف دکانتور، فاز آلی حاصل جداسازی شده و توسط دستگاه تبخیرکن چرخان (روتاری) مدل Labtech – ٤٠٠ EV– ایتالیا تبخیر گردید. ماده خشک باقی‌مانده در ۰/۵ میلی‌لیتر متانول حل گردید و در فریزر ۲۰- درجه سلسیوس نگهداری شد.

وجود پاکلی‌تاکسل در کشت قارچ‌های اندوفیت با استفاده از کروماتوگرافی لایه نازک بررسی شد. برای این منظور از صفحات TLC با سیلیکاژل (60F 254) و مخلوط حلال‌های دی‌کلرومتان: متانول (١:٢٤) استفاده شد. ابتدا ورقه TLC به ابعاد ۳ × ۸ سانتی‌متر برش داده شد و سپس در یک سانتی‌متری از لبه پایینی ورقه TLC با استفاده از لوله مویین لکه‌گذاری انجام گرفت. لکه‌گذاری برای حصول به غلظت بیشتر، دو یا چند بار بر روی هم صورت گرفت. کروماتوگرافی لایه نازک در داخل تانک مخصوص انجام شد، به‌صورتی‌که سامانه حلالی مورد نظر به اندازه‌ای به تانک

[Downloaded from gebsj.ir on 2026-02-18]

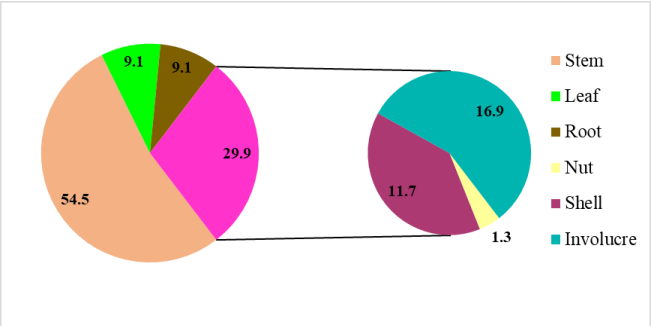
[DOR: 20.1001.1.25885073.1402.12.1.6.0]

اضافه شد که فقط چند میلی‌متر پایین ورقه TLC در نزدیکی مکان لکه‌گذاری شده در داخل تانک قرار بگیرد، سپس ورقه TLC را به‌طور عمود در داخل تانک قرار داده و درب تانک بسته شد. عمل کروماتوگرافی زمانی که نشت حلال به فاصله یک سانتی‌متری از قسمت بالای ورقه آلومینیومی رسید، اتمام یافت. در این آزمون از آمپول تاکسول (شرکت داروسازی سبحان انکولوژی) به‌عنوان شاهد استفاده شد. برای مشاهده لکه‌های ران شده روی ورقه TLC، ورقه زیر نور UV با طول موج ۲٤٥ nm ارزیابی شد (Seifi *et al.* 2013; Narmani 2019). پاکلی‌تاکسل موجود در نمونه‌های به دست آمده و شاهد پاکلی‌تاکسل (آمپول تاکسول) دارای مقادیر R_f (Retention factor) یکسان ۰/۵۳ بودند.

نتایج و بحث

فراوانی جداسازی قارچ اندوفیت از بافت‌های مختلف درخت فندق

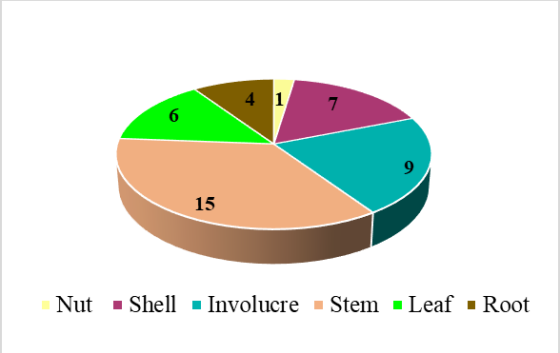
در این مطالعه، ۷۹ قارچ اندوفیت از درختان فندق جنگل فندقلو جدا شدند که ٤۲ جدایه از ساقه (٥٤/٥ درصد)، هفت جدایه از برگ (۹/۱ درصد)، هفت جدایه از ریشه (۹/۱ درصد) و ۲۳ جدایه از میوه (۲۹/۹ درصد) شامل یک جدایه از مغز (Nut)، نه جدایه از پوسته چوبی (Shell) و ۱۳ جدایه از گریبان برگ‌مانند (Involucre) جدا شدند (شکل ۱).



شکل ۱- فراوانی نسبی (٪) قارچ‌های اندوفیت جدا شده از بافت‌های مختلف درخت فندق (*Corylus avellana*)

Fig 1. Relative abundance (%) of endophytic fungi isolated from the different tissues of hazel (*Corylus avellana*) trees

اندوفیت‌های جدا شده از نظر ریخت‌شناختی بررسی و در ۳۰ گروه یا ریخت‌جوره (MT1 تا MT30) قرار گرفتند. بیش‌ترین تنوّع ریخت‌جوره (۱٥ ریخت‌جوره، ٥۰٪) در جدایه‌های مربوط به ساقه مشاهده شد و پس از آن، بیشترین تنوّع ریخت‌جوره در جدایه‌های گریبان برگ مانند (نه ریخت‌جوره، ۳۰٪)، پوسته چوبی (هفت ریخت‌جوره، ۲۳/۳٪)، برگ (شش ریخت‌جوره، ٦٪)، ریشه (چهار ریخت‌جوره، ۱۳/۳٪) و مغز فندق (یک ریخت‌جوره، ۳/۳٪) مشاهده شد (شکل ۲).

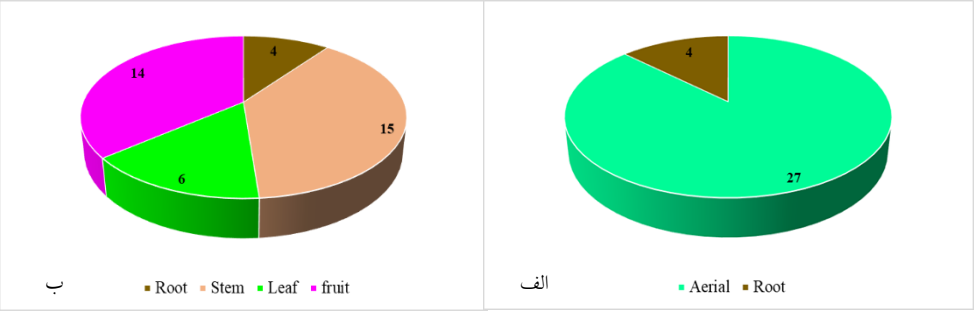


شکل ۲- تعداد ریخت‌جوره‌های متفاوت قارچ‌های اندوفیت جدا شده از بافت‌های مختلف درخت فندق (*Corylus avellana*)

Fig 2. The number of different morphotypes of endophytic fungi isolated from different tissues of the hazel (*Corylus avellana*) tree

همانطور که در شکل ۳-ب مشاهده می‌شود، بیش‌ترین تنوّع ریخت‌جوره (۱٥ ریخت‌جوره، ٥۰٪) در جدایه‌های ساقه مشاهده می‌شود و پس از آن، بیشترین تنوّع ریخت‌جوره در میوه (۱٤ ریخت‌جوره، ٤٦/۷٪) ثبت شد. در واقع ۹۰٪ تنوّع، در قارچ‌های جدا شده از بخش هوایی (۲۷ ریخت‌جوره) شامل ساقه، برگ و میوه مشاهده شد و ۱۳/۳٪ تنوّع کل (چهار ریخت‌جوره از ۳۰ ریخت‌جوره) در اندوفیت‌های جدا شده از بخش زیرزمینی (ریشه) مشاهده شد (شکل ۳-الف). قابل ذکر است که سه ریخت‌جوره (MT4، MT14 و MT23) تنها از ریشه جدا شدند و متعاقباً ۲٥ ریخت‌جوره دیگر تنها از قسمت هوایی درخت فندق جدا شدند. همچنین یک ریخت‌جوره (MT8) هم از قسمت هوایی و هم ریشه جدا شد.

[Downloaded from gebsj.ir on 2026-02-18]
[DOR: 20.1001.1.25885073.1402.12.1.6.0]



شکل ۳- تعداد ریخت‌جوره‌های متفاوت قارچ‌های اندوفیت جدا شده از بافت‌های مختلف (ب) و اندام هوایی و ریشه (الف) درخت فندق (*Corylus avellana*)

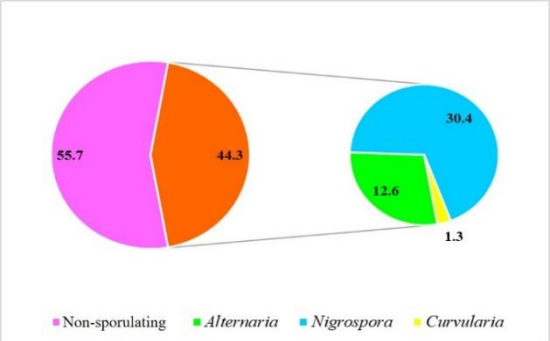
Fig 3. The number of the different morphotypes of endophytic fungi isolated from different tissues of the hazel (*Corylus avellana*) tree

جدول ۱- نمونه‌های کشت شده، قارچ‌های اندوفیت جدا شده، تعداد قطعات کلونیزه شده و درصد قطعات کلونیزه شده (فراوانی کلونیزه شدن) بافت‌های مختلف درخت فندق (*Corylus avellana*)

Table 1. Number of cultured samples, isolated endophytic fungi and colonized segments, and percentages of colonized segments (colonization frequency) of *Corylus avellana* different tissues

Tissues	No. of samples	No. of isolated endophytic fungi	No. of colonized segments	Colonization frequency
Fruit	103	23	13	12.6
Stem	105	42	15	14.3
Leaf	99	7	6	6.1
Root	102	7	7	6.9

از ۷۹ جدایه، ٤٤ جدایه قادر به اسپورزایی نبودند و در نتیجه از نظر ریخت‌شناسی قابل شناسایی نبودند (شکل ٤). ۳۵ جدایه دارای اسپورزایی (قابل شناسایی از نظر ریخت‌شناسی) و متعلق به سه جنس *Nigrospora* (۲٤ جدایه)، *Alternaria* (۱۰ جدایه) و *Curvularia* (یک جدایه) بودند. (شکل ٤).



شکل ٤- فراوانی قارچ‌های اندوفیت شناسایی نشده (عدم اسپورزایی)، آرایه‌های *Alternaria* sp.، *Nigrospora* sp. و *Curvularia* sp. جدا شده از درختان فندق (*Corylus avellana*)

Fig 4. Frequency of unidentified endophytic fungi (non-sporulation), taxons "*Alternaria* sp., *Nigrospora* sp. and *Curvularia* sp." isolated from hazelnut (*Corylus avellana*) trees

تجزیه و تحلیل تک‌نمونه‌های میوه، ساقه، برگ و ریشه، نوسانات قابل توجهی در بازیابی قارچ‌های اندوفیت نشان داد (جدول ۱). در بین اندام‌های میوه، برگ و ساقه، CF ساقه بالاتر از سایر اندام‌ها بود (جدول ۱).

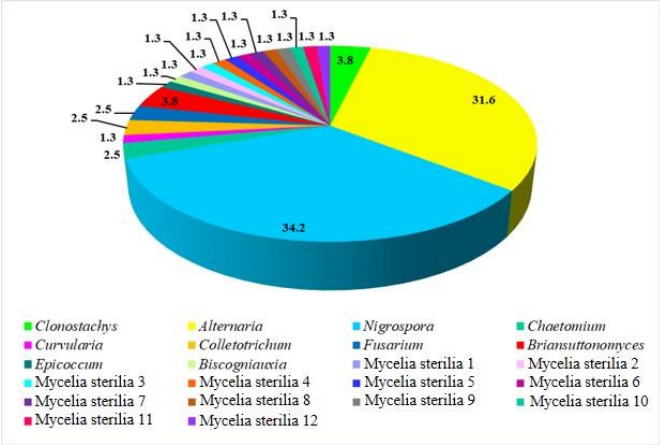
با توجه به نتایج مطالعه حاضر، انواع قارچ‌های اندوفیت (ریخت‌جوره‌های مختلف)، اندام‌های مختلف درختان فندق را کلونیزه می‌کنند. نتایج به‌دست آمده از بررسی فراوانی قارچ‌های جدا شده از بافت‌های فندق نشان داد که فراوانی جداسازی قارچ‌های اندوفیت در ساقه‌ها بیشتر از سایر بافت‌ها است (شکل ۱). به نظر می‌رسد که غنای قارچی در ساقه گیاهان چوبی بیشتر از سایر اندام‌ها باشد. بافت‌هایی که طول عمر بیشتری دارند، بیشتر در معرض زادمایه اندوفیت‌ها هستند و بنابراین بیشترین غنای قارچی را خواهند داشت (Harrison and Griffin 2020). ساقه و پوست گیاهان چوبی طول عمر بیشتری دارند و همچنین در طول سال در معرض هوا، باران، گرد و غبار هستند. ساختارهای ساقه می‌توانند بر آلودگی‌های قارچی تأثیر بگذارند و بر فراوانی پرگنه شدن تأثیر بگذارند (Sun *et al.* 2012;

[Downloaded from gebsj.ir on 2026-02-18]
[DOR: 20.1001.1.25885073.1402.12.1.6.0]

Golparyan *et al.* 2018). برعکس، طول عمر برگ (حتی در درختان همیشه سبز) چندان طولانی نیست و به اندازه ساقه دوام نمی‌آورد (Gomes *et al.* 2018). فندق (*C. avellana*) یک گیاه خزان کننده است و برگ‌های آن، عمر کوتاهی دارند، بنابراین تنوع و غنای ریخت‌جوره کمتر اندوفیت‌های برگ نسبت به ساقه می‌تواند به این دلیل باشد. نکته قابل توجه دیگر این است که مغز میوه فندق توسط پوسته چوبی و گریبان برگ‌مانند میوه پوشیده شده است و در معرض زادمایه اندوفیت‌ها قرار ندارد، این موضوع می‌تواند فراوانی جداسازی و تنوّع ریخت‌جوره پایین (شکل‌های ۱ و ۲) در این بافت را توضیح دهد.

مطالعه ریخت‌شناختی و مولکولی جدایه‌های قارچی اندوفیت

بر اساس مطالعات ریخت‌شناختی و مولکولی (داده‌های توالی ناحیه ITS-rDNA)، از ۷۹ جدایه قارچ اندوفیت شناسایی شده، ٦٧ جدایه در ده آرایه "*Alternaria* sp.، *Fusarium* sp.، *Clonostachys* sp.، *Briansuttonomyces* sp.، *Chaetomium* sp.، *Curvularia* sp.، *Nigrospora* sp.، *Epicoccum* sp.، *Colletotrichum* sp. و *Biscogniauxia* sp." قرار گرفتند، ۱۲ جدایه دیگر هم دارای ریخت‌جوره کاملاً متفاوت بودند و Mycelia sterilia 1 تا Mycelia sterilia 12 نامیده شدند (جدول ۲).



شکل ۵- فراوانی نسبی (٪) قارچ‌های اندوفیت جدا شده از درختان فندق (*Corylus avellana*)

Fig 5. Relative abundance (%) of endophytic fungi isolated from hazelnut (*Corylus avellana*) trees

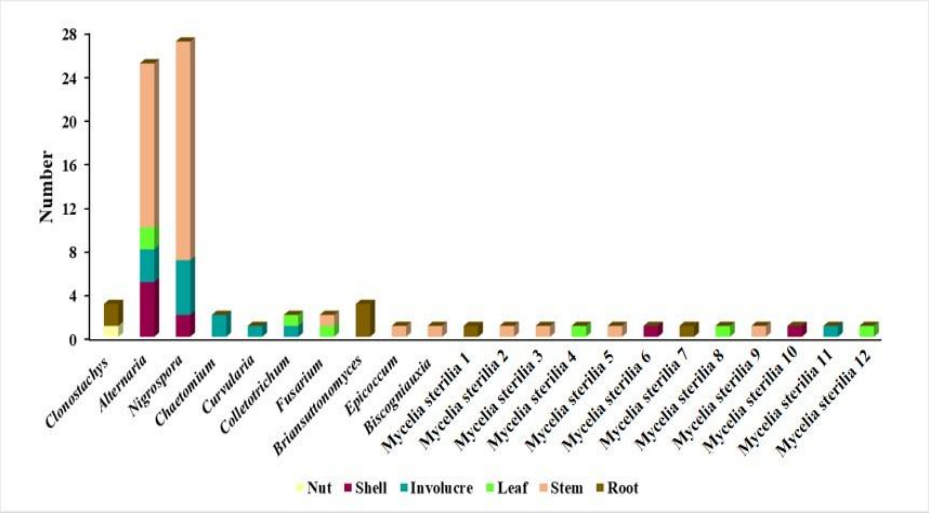
بیشترین جدایه‌ها متعلق به آرایه‌های *Nigrospora* sp. و *Alternaria* sp. بودند (شکل ۵). همانطور که در شکل ۵ مشاهده می‌شود، سایر جدایه‌ها متعلق به آرایه‌های *Clonostachys* sp.، *Briansuttonomyces* sp.، *Chaetomium* sp.، *Colletotrichum* sp.، *Fusarium* sp.، *Curvularia* sp.، *Epicoccum* sp. و *Biscogniauxia* sp. بودند. قابل ذکر است که ۱۲ جدایه به دلیل عدم اسپورزایی شناسایی نشدند (شکل ۵).

همان‌طور که در شکل ٦ مشاهده می شود، از بین قارچ‌های اندوفیت به دست آمده، ۲۷ جدایه متعلّق به آرایه *Nigrospora* sp. بودند که هفت جدایه از میوه (دو جدایه از پوسته چوبی میوه و پنج جدایه از گریبان برگ‌مانند میوه) و ۲۰ جدایه از ساقه جدا شدند. همچنین ۲۵ جدایه *Alternaria* sp. شامل هشت جدایه از میوه فندق (پنج جدایه از پوسته چوبی و سه جدایه از گریبان برگ‌مانند)، دو جدایه از برگ و ۱۵ جدایه از ساقه جدا شدند. سه جدایه *Clonostachys* sp. از مغز میوه (یک جدایه) و ریشه (دو جدایه) درخت فندق جدا شدند. همچنین سه جدایه *Briansuttonomyces* sp. از ریشه جداسازی شد. جدایه‌های *Chaetomium* sp. (دو جدایه) و *Curvularia* sp. (یک جدایه) نیز از گریبان برگ مانند میوه جدا شده بودند. جدایه‌های متعلق به *Colletotrichum* sp. از گریبان برگ‌مانند میوه (یک جدایه) و برگ (یک جدایه) جدا شدند. جدایه‌های *Fusarium* از برگ (یک جدایه) و ساقه (یک جدایه) و جدایه‌های *Epicoccum* sp. (یک جدایه) و *Biscogniauxia* sp. (یک جدایه) از ساقه درخت فندق جدا شدند. جدایه‌های Mycelia sterilia 1، Mycelia sterilia 2، Mycelia sterilia 3، Mycelia sterilia 4، Mycelia sterilia 5، Mycelia sterilia 6، Mycelia sterilia 7، Mycelia sterilia 8، Mycelia sterilia 9، Mycelia sterilia 10، Mycelia sterilia 11 و Mycelia sterilia 12 (هر کدام یک جدایه) به ترتیب از ریشه، ساقه، ساقه، برگ، ساقه، پوسته چوبی میوه، ریشه، برگ، ساقه، پوسته چوبی میوه، گریبان برگ‌مانند و برگ جدا شدند. در مطالعه حاضر، *Briansuttonomyces* sp. و ریخت‌جوره‌های Mycelia sterilia 1 و Mycelia sterilia 7 تنها از ریشه جدا شدند. همچنین ریخت‌جوره Mycelia sterilia 12 تنها از ساقه جدا شد، در حالی‌که برخی از گونه‌ها بیش از یک نوع بافت را پرگنه کردند، از

[Downloaded from gebsj.ir on 2026-02-18]
[DOR: 20.1001.1.25885073.1402.12.1.6.0]

جمله *Clonostachys* sp. که از میوه و ریشه جدا شد (شکل ٦). قارچ اندوفیت *Briansuttonomyces* از ریشه گیاه دارویی *Stephania dielsiana* گزارش شده است (Wu *et al.* 2020). قارچ اندوفیت *Biscogniauxia mediterranea* نیز از ساقه و تنه بلوط چوب پنبه‌ای سالم و در حال زوال جدا شده است (Linaldeddu *et al.* 2011). همچنین مطالعات دیگر نتایج مشابهی را در مورد توزیع قارچ‌های اندوفیت منحصراً در یک یا چند بافت گزارش کرده‌اند (Pancher *et al.* 2012; Johnston *et al.* 2012; Kashanian *et al.* 2022; Ek-Ramos *et al.* 2013).

توزیع و فراوانی قارچ‌های اندوفیت ممکن است تحت تأثیر تفاوت محتوای شیمیایی (ترپنوئیدها، فنل‌ها و تانن‌ها) بافت‌ها و اندام‌ها قرار گیرد (Arnold *et al.* 2001). بر این اساس، گونه‌های قارچی خاصی می‌توانند از اندام‌های خاصی استفاده کنند و در یک بافت خاص زنده بمانند (Photita *et al.* 2001). نتایج مطالعه حاضر نیز نشان داد که فراوانی گونه‌های خاصی در بافت‌های خاص بیشتر است و همچنین برخی گونه‌ها اختصاصی بافت خاصی هستند (شکل ٦). مطالعات قبلی نیز ویژگی اختصاصیّت بافت اندوفیت‌ها را گزارش کرده است (Bills and Polishook 1992; Kumar and Hyde 2004; Rivera-Orduña *et al.* 2011; Kashanian *et al.* 2022).



شکل ٦- تعداد قارچ‌های اندوفیت جدا شده از بافت‌های مختلف درخت فندق (*Corylus avellana*)

Fig 6. The number of endophytic fungi isolated from different tissues of the hazelnut (*Corylus avellana*) tree

جدول ٢- تعداد جدایه‌ها و گونه‌های قارچی جدا شده از بافت‌های مختلف درخت فندق (*Corylus avellana*)

Table 2. Number of the fungal isolates and species isolated from different tissues of the hazelnut (*Corylus avellana*) tree

Variables	Fruit	Leaf	Stem	Root
Total no. of species (S)	9	6	9	4
Total no. of individual (N)	23	7	42	7
Natural log of species (ln S)	2.20	1.79	2.20	1.39
Natural log of individual (ln N)	3.14	1.95	3.74	1.95

شاخص‌های گونه

اشتراک و نادر بودن گونه‌ها در یک جامعه را می‌توان با استفاده از شاخص‌های مختلف تنوّع به دست آورد. شاخص‌های غنا، تنوّع و یکنواختی گونه‌ها برای هر بافت (میوه، برگ، ساقه و ریشه) محاسبه شد (جدول ٢). تعداد کمتری جنس از ریشه و برگ جدا شد (جدول ٢) که به دلیل در نظر گرفتن تعداد جنس و فراوانی نسبی آن‌ها، مقادیر کمتری برای شاخص‌های تنوّع ریشه و برگ به دست آمد (جدول ٣).

[Downloaded from gebsj.ir on 2026-02-18]
[DOR: 20.1001.1.25885073.1402.12.1.6.0]

شاخص مارگالف: مقدار شاخص غنای گونه مارگالف برای بافت‌های مختلف (میوه، برگ، ساقه و ریشه) بین ۱/۵٤ و ۲/۵۷ متغیر بود (جدول ۳). همانطور که در جدول ۳ نشان داده شده است، مقادیر بالاتر شاخص غنای گونه مارگالف برای میوه و برگ محاسبه شد که به ترتیب ۲/۵۵ و ۲/۵۷ بود. مقدار نسبتاً کمتری از شاخص مارگالف برای ساقه و همچنین کمترین مقدار برای ریشه برآورد شد (جدول ۳). شاخص‌های مختلف تنوع (جدول ۳) با استفاده از داده‌های گونه‌ها (جدول ۲) محاسبه می‌شود. مقادیر بالاتر ثبت شده برای شاخص غنای گونه مارگالف مستقیماً با تعداد گونه‌های موجود در هر بافت مرتبط است و رابطه عکس با تعداد جدایه‌های هر بافت دارد.

جدول ۳- شاخص‌های تنوّع محاسبه شده در بافت‌های مختلف درخت فندق (*Corylus avellana*)

Table 3. Diversity indices calculated in the different tissues of the hazelnut (*Corylus avellana*) trees

Tissue	Fruit	Leaf	Stem	Root
Margalef's diversity index (DMg)	2.55	2.57	2.14	1.54
Shannon-Wiener Diversity Index (H')	1.76	1.75	1.34	1.28
Simpson's Diversity Index (D)	0.198	0.048	0.343	0.190
Simpson's complementary diversity (1-D)	0.802	0.952	0.657	0.810
Simpson's Reciprocal Diversity (1/D)	5.06	21.00	2.92	5.25
Pielou's Evenness Index (J)	0.801	0.976	0.612	0.921

شاخص تنوع سیمپسون: شاخص تنوّع سیمپسون (D) مقادیر بالاتری را برای ساقه نشان داد. مقادیر پایین‌تری از شاخص تنوّع سیمپسون برای برگ برآورد شد. شاخص تنوّع سیمپسون میوه و ریشه به ترتیب ۰/۱۹۸ و ۰/۱۹۰ برآورد شد (جدول ۳). مقادیر شاخص تنوّع سیمپسون نشان‌دهنده غنای گونه و یکنواختی گونه‌ای برای بافت‌های مختلف است که از مقادیر ارائه شده در جدول‌های ۳ و ٤ مشهود است. بنابراین می‌توان بیان کرد که مقادیر بالای شاخص تنوّع سیمپسون نشان‌دهنده تعداد گونه و یکنواختی بیشتر آن‌ها است. در واقع هر چه مقدار D بیشتر باشد، تنوّع کمتر است. همانطور که در جدول ۳ مشاهده می‌شود، بیشترین مقادیر شاخص‌های تنوع مکمل (D-۱) و معکوس (۱/D) سیمپسون و متعاقباً بیشترین تنوع مربوط به برگ بود و پس از آن به ترتیب ریشه، میوه و ساقه قرار داشتند. شاخص سیمپسون نیز می‌تواند برای توصیف تنوع گونه‌ها در یک جامعه استفاده شود. با این حال، شاخص سیمپسون بر یکنواختی گونه‌ها تأکید می‌کند، به‌طوری‌که می‌توان از آن برای توصیف غالبیّت گونه‌ها در یک جامعه نیز استفاده کرد. اگر شاخص سیمپسون بالا بود، به این معنی است که تنوّع در جامعه کم است (Kim *et al.* 2017). مقدار شاخص غالبیت سیمپسون (D) از ۰-۱ متغیّر است که اگر مقدار شاخص نزدیک به صفر بود، به این معنی است که هیچ گونه غالبی وجود ندارد و پایداری جامعه را نشان می‌دهد. در همین حال، اگر مقدار شاخص نزدیک به ۱ باشد، به معنای وجود گونه‌های غالب است و نشان می‌دهد که اکوسیستم در شرایط ناپایدار بوده و فشار اکولوژیکی وجود دارد (Oktavianti and Purwanti 2014). شاخص غالبیّت سیمپسون (D) در همه بافت‌ها نزدیک به صفر بود، بنابراین می‌توان بیان کرد که ساختار جامعه قارچی در همه بافت‌ها پایدار بوده و هیچ فشار اکولوژیکی وجود ندارد.

شاخص شانون-واینر: مقادیر شاخص شانون- واینر برای بافت‌های مختلف (میوه، برگ، ساقه و ریشه) درخت فندق بین ۱/۲۸ و ۱/۷٦ متغیّر بود. میوه و برگ دارای مقادیر شاخص شانون-واینر بالاتری بودند، در حالی که مقادیر کمتری برای ساقه و ریشه برآورد شد (جدول ۳). مقادیر برآورد شده شاخص شانون-واینر، توزیع نسبی گونه‌ها را در بافت‌های مختلف مشخص می‌کند. در واقع این شاخص، تعداد گونه‌هایی را که در یک بافت زندگی می‌کنند (غنای گونه) و فراوانی نسبی آن‌ها (یکنواختی) را در نظر می‌گیرد. شاخص تنوع شانون-واینر نشان دهنده این است که گونه‌ها در یک بافت خاص چقدر متنوّع هستند و با افزایش تعداد گونه‌ها و یکنواختی فراوانی آن‌ها

[Downloaded from gebsj.ir on 2026-02-18]
[DOR: 20.1001.1.25885073.1402.12.1.6.0]

افزایش می‌یابد. هرچه این شاخص بالاتر باشد، گونه‌ها در بافت متنوّع‌تر هستند. شاخص تنوّع شانون–واینر، فراوانی نسبی بین گونه‌ها، غنا و یکنواختی گونه‌ها و توزیع گونه‌ها را در نظر می‌گیرد. با این‌حال، شاخص تنوّع شانون–واینر بیشتر بر غنای گونه‌ای تمرکز دارد (Kim *et al.* 2017). مقادیر محاسبه شده شاخص تنوع شانون–واینر برای تمامی بافت‌ها (جدول ۳) با توجه به مقیاس تنوع زیستی Fernando (جدول ٤) بسیار کم در نظر گرفته می‌شود.

جدول ٤– مقیاس شاخص‌های تنوع زیستی Edwino Fernando

Table 4. Edwino Fernando's biodiversity scale

Relative Values	Shannon (H') Index	Evenness (E)
Very High	3.5 and above	0.75-1.00
High	3.0-3.49	0.50-0.74
Moderate	2.5-2.99	0.25-0.49
Low	2.0-2.49	0.15-0.24
Very low	1.9 and below	0.05-0.14

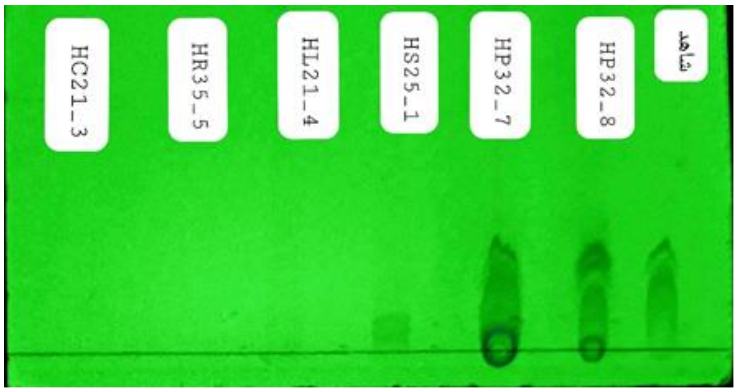
شاخص یکنواختی پایلو: مقادیر شاخص یکنواختی پایلو (J) محاسبه شده برای بافت‌های مختلف (میوه، برگ، ساقه و ریشه) درخت فندق بین ۰/٦۱۲ و ۰/۹۷٦ بود. بالاترین شاخص یکنواختی پایلو، در برگ ثبت شد که نشان‌دهنده توزیع یکنواخت گونه‌ها و عدم وجود گونه‌های غالب در برگ است (جدول ۳). شاخص یکنواختی پایلو، یکنواختی اندازه جمعیت هر گونه را مقایسه می‌کند. با توجه به مقیاس تنوع زیستی Fernando (جدول ٤)، مقادیر محاسبه شده شاخص یکنواختی پایلو برای ساقه بالا و برای میوه، برگ و ریشه بسیار بالا (جدول ۳) در نظر گرفته می‌شود.

شاخص شباهت جاکارد: جدول ٤ نشان می‌دهد که شاخص شباهت جاکارد (ISJ) از ۰/۰۸۳ تا ۰/۲۵۰ متغییر است. بیشترین مقدار شاخص جاکارد بین مغز میوه و ریشه بود که آرایه مشترک *Clonostachys* sp. را داشتند، در حالی که میوه و ریشه بیشترین تفاوت را در ترکیب جنس با همدیگر داشتند (جدول ۵). نتایج نشان داد که مغز فندق بیشترین شباهت را در جنس‌های قارچی با ریشه داشت (جدول ٤). در واقع، تمام اندوفیت‌های جدا شده از ریشه در چهار گروه ریخت‌جوره (*Briansuttonomyces* sp.، *Clonostachys* sp.، Mycelia sterilia 1 و Mycelia sterilia 7) قرار گرفتند که سه گروه ریخت‌جوره، اختصاصی ریشه بودند و یک گروه ریخت‌جوره (*Clonostachys* sp.) با تنها اندوفیت جدا شده از مغز فندق مشترک بود (شکل ٦).

جدول ۵– شاخص شباهت جاکارد بین بافت‌های مختلف درخت فندق (*Corylus avellana*)

Table 5. Jaccard similarity index between the different tissues of the hazelnut (*Corylus avellana*) trees

Tissue	Fruit	Leaf	Stem	Root	Nut	Shell	Involucre
Fruit	-	0.154	0.125	0.083	-	-	-
Leaf	0.154	-	0.154	0	0	0.111	0.200
Stem	0.125	0.154	-	0	0	0.182	0.154
Root	0.083	0	0	-	0.250	0	0



شکل ۷– کروماتوگرافی لایه نازک پاکلی‌تاکسل برخی جدایه‌های استخراج شده از قارچ‌های اندوفیت جدا شده از درختان فندق جنگل فندقلوی اردبیل

Fig 7. Thin-layer chromatography of extracted paclitaxel from different endophytic fungi isolated from hazelnut trees in Fandoghlou forest

[Downloaded from gebsj.ir on 2026-02-18]

[DOR: 20.1001.1.25885073.1402.12.1.6.0]

شاخص شباهت جاکارد، معیاری برای تشابه دو مجموعه داده با دامنه‌ای از ۰ تا ۱ است. هر چه این مقدار بیشتر باشد، دو جمعیت بیشتر به هم شباهت دارند. اگرچه تفسیر آن آسان است، اما به اندازه نمونه‌های کوچک بسیار حساس است و ممکن است نتایج اشتباهی را به همراه داشته باشد، به‌خصوص با نمونه‌های بسیار کوچک یا مجموعه داده هایی با مشاهدات از دست رفته.

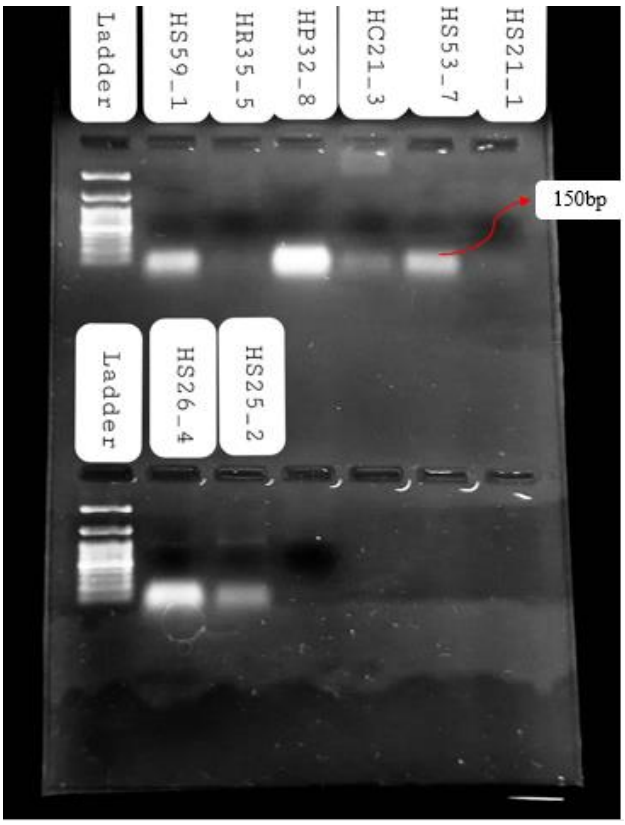
نتایج نشان داد که برخی از جنس‌ها تمایل به بافت خاصی دارند. به‌عنوان مثال *Briansuttonomyces* sp. به‌طور انحصاری از ریشه جدا شد (شکل ٦). همچنین *Chaetomium* sp. و *Curvularia* sp. تنها از گریبان برگ‌مانند میوه فندق جدا شدند (شکل ٦). علاوه بر این *Epicoccum* sp. نیز تنها از ساقه جدا شد (شکل ٦).

غربال قارچ اندوفیت تولید کننده پاکلی‌تاکسل

وجود پاکلی‌تاکسل در عصاره قارچ‌های اندوفیت جدا شده با کروماتوگرافی لایهٔ نازک (TLC= Thin-Layer Chromatography) بررسی شد (شکل ۷). پاکلی‌تاکسل در عصاره استخراج شده از سه اندوفیت قارچی (۳/۸٪، جدایه‌های HS53-7، HP32-8 و HP32-7) ردیابی شد (جدول ۵ و شکل ۸). قابل ذکر است که جدایه‌های HS53-7، HP32-8 و HP32-7 به ترتیب به‌عنوان *Nigrospora* sp.، *Chaetomium* sp. و ریخت‌جوره Mycelia sterilia 11 شناسایی شدند (جدول ٦). اندوفیت قارچی HS53-7 از ساقه و جدایه‌های اندوفیت HP32-7 و HP32-8 از گریبان برگ‌مانند میوه جدا شده بودند. در واقع، پاکلی‌تاکسل در عصاره استخراج شده از میسلیوم‌های ۸/۷٪ جدایه‌های میوه (۱۵٪/٤ جدایه‌های گریبان برگ مانند میوه) و ۲٪/٤ جدایه‌های ساقه ردیابی شد. پاکلی‌تاکسل در عصاره استخراج شده از میسلیوم هیچ‌کدام از قارچ‌های اندوفیت جدا شده از برگ و ریشه که مورد مطالعه قرار گرفته بودند، ردیابی نشد. همچنین بر اساس نتایج TLC می‌توان بیان کرد که قارچ‌های اندوفیت جدا شده از مغز و پوسته چوبی میوه هم در این بررسی، توانایی تولید پاکلی‌تاکسل را نداشتند.

حضور ژن DBAT در قارچ‌های اندوفیت

یکی از واکنش‌های شناخته شده مسیر بیوسنتز پاکلی‌تاکسل، واکنش ترانس‌استیلاسیون شامل هیدروکسیلاسیون در موقعیت C10 ترکیب ۱۰- deacetylbaccatin III است که توسط آنزیم ۱۰-deacetylbaccatin III-10β-O-acetyltransferase (*DBAT*) کاتالیز می‌شود. این فرایند منجر به تشکیل دی‌ترپن حد واسط Baccatin III با استفاده از 10-Deacetylbaccatin III و استیل CoA به‌عنوان سوبسترا می‌شود. واکنش زنجیره‌ای پلی‌مراز (PCR) جدایه‌های HS53-7، HP32-8 و HP32-7 (ردیابی پاکلی‌تاکسل در آنالیز TLC) با آغازگر ژن *DBAT* با تکثیر قطعه ۱۵۰ bp مثبت بود (جدول ٦ و شکل ۸). هر چند برای تایید تولید پاکلی‌تاکسل توسط جدایه‌های ذکر شده، نیاز به انجام آنالیز کروماتوگرافی مایع- طیف‌سنجی جرمی (LC-MS= Liquid chromatography-mass spectrometry) وجود دارد.



شکل ۸- محصول PCR برخی جدایه‌های مربوط به آغازگرهای اختصاصی ژن *DBAT* ران شده روی ژل آگارز یک درصد

Fig 8. PCR product of *DBAT*-specific primers separated on 1% agarose gel

[Downloaded from gebsj.ir on 2026-02-18]

[DOR: 20.1001.1.25885073.1402.12.1.6.0]

جدول ٦- نتایج ردیابی پاکلی‌تاکسل در نمونه‌های استخراج شده از میسلیوم‌های قارچ‌های اندوفیت جدا شده از درخت فندق (*Corylus avellana*) با کروماتوگرافی لایهٔ نازک (TLC) و واکنش زنجیره‌ای پلی‌مراز (PCR) آن‌ها با آغازگر ژن *DBAT*

Table 6. Results of paclitaxel detection in the samples extracted from the mycelia of the endophyte fungi isolated from hazelnut (*Corylus avellana*) tree by thin-layer chromatography (TLC) and polymerase chain reaction (PCR) of them using the primer of *DBAT* gene

Row	Isolate	Species	TLC result	DBAT result	Row	Isolate	Species	TLC result	DBAT result
1	HS53-5	*Alternaria* sp.	Negative	Negative	41	HP32-5	*Colletotrichum* sp.	Negative	Negative
2	HS54-1				42	HS56-4	*Fusarium* sp.		
3	HS56-2				43	HL510-4			
4	HS29-3				44	HR32-3	Mycelia sterilia 1		
5	HC21-2				45	HS59-1	Mycelia sterilia 2		
6	HC21-5				46	HT510-1	Mycelia sterilia 3		
7	HP21-3				47	HL510-1	Mycelia sterilia 4		
8	HS25-4			Positive	48	HL510-3	*Colletotrichum* sp.		
9	HS27-1			Negative	49	HS28-1	Mycelia sterilia 5		
10	HP31-4				50	HC21-4	Mycelia sterilia 6		
11	HS55-2				51	HR21-1	Mycelia sterilia 7		
12	HS25-5				52	HC22-1	*Alternaria* sp.		
13	HP21-5	*Curvularia* sp.			53	HS27-3			
14	HS51-2	*Nigrospora* sp.			54	HN21-4	*Clonostachys* sp.		
15	HS51-6				55	HR33-5			
16	HS51-7				56	HR33-9			
17	HS53-2				57	HL21-2	Mycelia sterilia 8		
18	HS53-3				58	HS23-2	Mycelia sterilia 9		
19	HS53-4				59	HS25-1	Biscogniauxia sp.		
20	HS53-7		Positive	Positive	60	HC31-3	Mycelia sterilia 10		
21	HS53-9		Negative	Negative	61	HP32-4	*Nigrospora* sp.		
22	HS510-3				62	HP32-6	*Chaetomium* sp.		
23	HS510-4				63	HP32-8			
24	HS510-5				64	HP32-7	Mycelia sterilia 11	Positive	Positive
25	HC21-6				65	HR33-8	*Briansuttonomyces* sp.	Negative	Negative
26	HC21-7				66	HR35-5			
27	HS21-1				67	HR34-8			
28	HS21-2				68	HL32-1	Mycelia sterilia 12		
29	HS25-2			Positive	69	HS54-6	*Alternaria* sp.		
30	HS26-3			Negative	70	HS54-7			
31	HS26-4			Positive	71	HS56-1			
32	HP32-2			Negative	72	HC21-3			
33	HS27-2				73	HL21-3			
34	HP31-2				74	HC31-1			
35	HP31-3				75	HS55-3			
36	HS29-2	*Nigrospora* sp.			76	HL21-4			
37	HC31-4				77	HS57-8			
38	HS53-6				78	HP51-5			
39	HS56-6				79	HS53-1			
40	HS54-5	*Epicocum* sp.							

DBAT; 10-deacetylbaccatin III-10β-O-acetyltransferase

در سال ۱۹۹۳ اولین قارچ اندوفیت تولید کننده پاکلی‌تاکسل، *Taxomyces andreanae*، از پوست درخت *Taxus brevifolia* جدا شد (Stierle *et al.* 1993). این کشف به‌عنوان سپیده‌دمی از عصر جدید بیوتکنولوژی اندوفیت‌ها که می‌تواند میلیاردها دلار از بازار جهانی پاکلی‌تاکسل را به خود اختصاص بدهد، در نظر گرفته شد.

اگرچه یکی از بزرگترین مشکلات استفاده از قارچ‌های اندوفیت برای تولید پاکلی‌تاکسل، عملکرد بسیار پایین و تولید ناپایدار پاکلی‌تاکسل توسط این قارچ‌های اندوفیت است. تا به امروز هیچ کدام از اندوفیت‌های کشف شده به‌طور موفقیت‌آمیز به فرایند زیستی صنعتی تبدیل نشده‌اند. به‌طور کلی، شواهد شیمیایی حاکی از آن است که برخی از قارچ‌های اندوفیت می‌توانند پاکلی‌تاکسل و آنالوگ‌های آن را تولید کنند و اعتقاد بر این است که مسیر بیوسنتز پاکلی‌تاکسل در قارچ‌های اندوفیت ممکن است

[Downloaded from gebsj.ir on 2026-02-18]

[DOR: 20.1001.1.25885073.1402.12.1.6.0]

الگوی تکاملی کاملاً متفاوتی در مقایسه با گونه‌های *Taxus* داشته باشد (Yang *et al*. 2014). با این‌حال، مسیر بیوسنتز میکروبی مبهم باقی مانده است و شناسایی و تأیید عملکرد ژن‌های مسیر بیوسنتز، شواهد ژنتیکی قابل اطمینان خواهد بود.

یافته‌های کلی مطالعه حاضر نشان داد که اندوفیت‌های قارچی در تمام بافت‌های *C. avellana* زندگی می‌کنند. همچنین معلوم شد که جوامع اندوفیت فندق شامل طیف متنوّعی از ریخت‌جوره‌ها و گونه‌های قارچی هستند. نتایج آنالیز TLC و واکنش زنجیره‌ای پلی‌مراز (PCR با آغازگر ژن *DBAT*) نشان داد که احتمالاً جدایه‌های HS53-7، HP32-8 و HP32-7 قادر به تولید پاکلی‌تاکسل هستند (جدول ٦). هر چند برای تایید تولید پاکلی‌تاکسل توسط جدایه‌های ذکر شده نیاز به انجام آنالیزهای دقیق‌تری مانند کروماتوگرافی مایع- طیف‌سنجی جرمی (LC–MS) وجود دارد. تحقیقات بیشتری برای شناسایی اهمیت عملکردی و اکولوژیکی اندوفیت‌های جدا شده به‌منظور استفاده از قارچ‌های اندوفیت در تولید متابولیت‌های ثانویّه، عوامل مهارگر زیستی و تحمل به تنش‌های غیر زیستی در کشاورزی پایدار مورد نیاز است.

سپاسگزاری

این مقاله مستخرج از پایان‌نامه کارشناسی ارشد نگارنده اول ارایه شده به دانشگاه محقق اردبیلی است که بدینوسیله از معاونت پژوهش و فناوری دانشگاه بابت تامین هزینه و امکانات لازم قدردانی می‌شود.

منابع

Altschul, S. F., Gish, W., Miller, W., Myers, E. W., & Lipman, D. J. (1990). Basic local alignment search tool. Journal of molecular biology, 215(3), 403-410. doi: 10.1016/S0022-2836(05)80360-2

Arnold, A. E., Maynard, Z., & Gilbert, G. S. (2001). Fungal endophytes in dicotyledonous neotropical trees: patterns of abundance and diversity. Mycological research, 105(12), 1502-1507. doi.org/10.1017/S0953756201004956

Ataie, T. (2017). Isolation and identification of endophytic fungi from forest plants of Sari city. MSc Thesis, Sari Agricultural Sciences and Natural Resources University, 107 pp.

Bills, G. F., & Polishook, J. D. (1992). Recovery of endophytic fungi from *Chamaecyparis thyroides*. Sydowia, 44(1), 1-12.

Blumenstein, K. (2010). Characterization of endophytic fungi in the genus *Ulmus*: putative agents for the biocontrol of Dutch elm disease (DED). Diploma thesis, University of Kassel.

Bottone, A., Cerulli, A., D'Urso, G., Masullo, M., Montoro, P., *et al.* (2019). Plant specialized metabolites in hazelnut (*Corylus avellana*) kernel and byproducts: an update on chemistry, biological activity, and analytical aspects. Planta Medica, 85(11/12), 840-855. doi: 10.1055/a-0947-5725

Chutulo, E. C., & Chalannavar, R. K. (2018). Endophytic mycoflora and their bioactive compounds from *Azadirachta indica*: A comprehensive review. Journal of Fungi, 4(2), 42. doi: 10.3390/jof4020042

Davari, M., Alihosseinzadeh-Moghaddam, F., & Narmani, A. (2020). Characterization of fungal agents associated with black locust dieback and decline in Ardabil city. Journal of Applied Research in Plant Protection, 9(3), 47-57.

Demain, A. L., & Sanchez, S. (2009). "Microbial drug discovery: 80 years of progress." The Journal of antibiotics, 62(1), 5-16. doi.org/10.1038/ja.2008.16

Ek-Ramos, M. J., Zhou, W., Valencia, C. U., Antwi, J. B., Kalns, L. L., *et al.* (2013). Spatial and temporal variation in fungal endophyte communities isolated from cultivated cotton (*Gossypium hirsutum*). PLoS One, 8(6), e66049. doi: 10.1371/journal.pone.0066049

FAO. (2019). FAOSTAT. Food and Agriculture Organization of the United Nations. http://www.fao.org/faostat/en/#data/QC/visualize.

Farhadi, S., Moieni, A., Safaie, N., Sabet, M. S., & Salehi, M. (2020a). Fungal cell wall and methyl-β–cyclodextrin synergistically enhance paclitaxel biosynthesis and secretion in *Corylus avellana* cell suspension culture. Scientific reports, 10, 5427. doi.org/10.1038/s41598-020-62196-4

Farhadi, S., Salehi, M., Moieni, A., Safaie, N., & Sabet, M. S. (2020b). Modeling of paclitaxel biosynthesis elicitation in *Corylus avellana* cell culture using adaptive neuro-fuzzy inference system-genetic algorithm (ANFIS-GA) and multiple regression

[Downloaded from gebsj.ir on 2026-02-18]
[DOR: 20.1001.1.25885073.1402.12.1.6.0]

Krings, M., Taylor, T. N., Hass, H., Kerp, H., Dotzler, N., *et al.* (2007). Fungal endophytes in a 400-million-yr-old land plant: infection pathways, spatial distribution, and host responses. New Phytologist, 174(3), 648-657. doi.org/10.1111/j.1469-8137.2007.02008.x

Kumar, D. S. S., & Hyde, K. D. (2004). Biodiversity and tissue-recurrence of endophytic fungi in *Tripterygium wilfordii*. Fungal diversity, 17, 69-90.

Kumar, P., Dobriyal, M., Kale, A., Pandey, A. K., Tomar, R. S., *et al.* (2022). Calculating forest species diversity with information-theory based indices using sentinel-2A sensor's of Mahavir Swami Wildlife Sanctuary. PLoS One, 17(5), e0268018. doi.org/10.1371/journal.pone.0268018

Linaldeddu, B. T., Sirca, C., Spano, D., Franceschini, A., *et al.* (2011). Variation of endophytic cork oak-associated fungal communities in relation to plant health and water stress. Forest Pathology, 41(3), 193-201. doi.org/10.1111/j.1439-0329.2010.00652.x

Liu, K., Ding, X., Deng, B., & Chen, W. (2009). Isolation and characterization of endophytic taxol-producing fungi from *Taxus chinensis*. Journal of Industrial Microbiology Biotechnology, 36(9), 1171-1177. doi: 10.1007/s10295-009-0598-8

Moller, E. M., Bahnweg, G., Sanderman, H., & Geiger, H. H. (1992). A simple and efficient protocol for isolation of high molecular weight DNA from filamentous fungi, fruit bodies and infected plant tissues. Nucleic Acids Research, 20, 6115-6116. doi: 10.1093/nar/20.22.6115

Narmani, A. (2019). Isolation and identification of metabolites with potential antimicrobial properties of endophytic fungi associated with tree species in Hatambig and Fandoglou forests. PhD Thesis, Tabriz University, pp 46-71.

Nilsson, R. H., Larsson, K. H., Taylor, A. F., Bengtsson-Palme, J., Jeppesen, T. S., *et al.* (2019). The UNITE database for molecular identification of fungi: handling dark taxa and parallel taxonomic classifications. Nucleic acids research, 47(D1), D259-264. doi.org/10.1093/nar/gky1022

Oktavianti, R., & Purwanti, F. (2014). Kelimpahan echinodermata pada ekosistem Padang lamun di Pulau Panggang, Kepulauan Seribu, Jakarta. Management of Aquatic Resources Journal, 3(4), 243-249. doi.org/10.14710/marj.v3i4.7105

Pancher, M., Ceol, M., Corneo, P. E., Longa, C. M. O., Yousaf, S., *et al.* (2012). Fungal endophytic communities in grapevines (*Vitis vinifera* L.) respond to crop management. Applied and environmental microbiology, 78(12), 4308-4317. doi: 10.1128/AEM.07655-11

Photita, W., Lumyong, S., Lumyong, P., & Hyde, K. D. (2001). Endophytic fungi of wild banana (*Musa*

methods. PLoS One, 15(8), e0237478. doi: 10.1371/journal.pone.0237478

Ghasemi Esfahlan, S., Arzanlou, M., Babai Ahari, A., & Narmani, A. (2019). Morphological and molecular characterization of endophytic fungi from oak trees in Arasbaran forests. Journal of Applied Research in Plant Protection, 8(1), 1–17.

Golparyan, F., Azizi, A., & Soltani, J. (2018). Endophytes of *Lippia citriodora* (Syn. *Aloysia triphylla*) enhance its growth and antioxidant activity. European Journal of Plant Pathology, 152(3), 759-768. doi.org/10.1007/s10658-018-1520-x

Gomes, T., Pereira, J. A., Benhadi, J., Lino-Neto, T., & Baptista, P. (2018). Endophytic and epiphytic phyllosphere fungal communities are shaped by different environmental factors in a Mediterranean ecosystem. Microbial Ecology, 76(3), 668-679. doi.org/10.1007/s00248-018-1161-9

Goyal, S., Ramawat, K. G., & Mérillon, J. M. (2017). Different shades of fungal metabolites: an overview. In: Fungal Metabolites. Springer International Publishing, 1-29. doi: 10.1007/978-3-319-25001-4-34

Hardoim, P. R., Van Overbeek, L. S., Berg, G., Pirttilä, A. M., Compant, S., *et al.* (2015). The hidden world within plants: ecological and evolutionary considerations for defining functioning of microbial endophytes. Microbiology and Molecular Biology Reviews, 79(3), 293-320. doi: 10.1128/MMBR.00050-14

Harrison, J. G., & Griffin, E. A. (2020). The diversity and distribution of endophytes across biomes, plant phylogeny and host tissues: how far have we come and where do we go from here? Environmental microbiology, 22(6), 2107-2123. doi.org/10.1111/1462-2920.14968

Helander, M., Ahlholm, J., Sieber, T. N., Hinneri, S., & Saikkonen, K. (2007). Fragmented environment affects birch leaf endophytes. New Phytologist, 175, 547-553. doi.org/10.1111/j.1469-8137.2007.02110.x

Johnston, P. R., Johansen, R. B., Williams, A. F., Wikie, J. P., & Park, D. (2012). Patterns of fungal diversity in New Zealand Nothofagus forests. Fungal Biology, 116(3), 401-412. doi.org/10.1016/j.funbio.2011.12.010

Kashanian, A., Panjekeh, N., & Taliei, F. (2022). Investigating diversity and spatial distribution of endophytic fungi in Hazelnut (*Corylus avellana*) in its different habitats of Iran. Biological Journal of Microorganism, 10(40), 53-69. doi: 10.22108/BJM.2021.125722.1345

Kim, B. R., Shin, J., Guevarra, R. B., Lee, J. H., Kim, D. W., *et al.* (2017). Deciphering diversity indices for a better understanding of microbial communities. Journal of Microbiology and Biotechnology, 27(12), 2089-2093. doi: 10.4014/jmb.1709.09027

[Downloaded from gebsj.ir on 2026-02-18]

[DOR: 20.1001.1.25885073.1402.12.1.6.0]

acuminata) at doi Suthep Pui National Park, Thailand. Mycological Research, 105(12), 1508-1513. doi.org/10.1017/S0953756201004968

Rahimi, N., Nazeri, S., & Mirzaei, S. (2013). Taxol production by endophytic fungi isolated from *Corylus avellana*. Arak Medical University Journal, 16(72), 37-44.

Ramawat, K. G., Dass, S., & Mathur, M. (2009). The chemical diversity of bioactive molecules and therapeutic potential of medicinal plants. In: Ramawat KG (ed) Herbal drugs: ethnomedicine to modern medicine. Springer Verlag, Heidelberg, Germany, 7-32. doi: 10.1007/978-3-540-79116-4-2

Rather, R. A., Srinivasan, V., & Anwar, M. (2018). Seasonal deviation effects foliar endophyte assemblage and diversity in *Asparagus racemosus* and *Hemidesmus indicus*. BMC Ecology, 18, 52. doi: 10.1093/nar/gky1022

Rivera-Orduña, F. N., Suarez-Sanchez, R. A., Flores-Bustamante, Z. R., Gracida-Rodriguez, J. N., & Flores-Cotera, L. B. (2011). Diversity of endophytic fungi of *Taxus globosa* (Mexican yew). Fungal Diversity, 47 (1), 65-74. doi.org/10.1007/s13225-010-0045-1

Salehi, M., & Farhadi, S. (2022). Strategies for enhancing bioavailability of Paclitaxel for cancer treatment. In: Swamy MK, Pullaiah T, Chen Z (eds). Anticancer drug, Paclitaxel: Natural sources, Chemistry, Pharmacology and Biotechnology. Elsevier, 129-153. doi.org/10.1016/B978-0-323-90951-8.00006-0

Salehi, M., Farhadi, S., Moieni, A., & Safaie, N. (2021). A Hybrid Model based on General Regression Neural Network and Fruit Fly Optimization Algorithm for forecasting and optimizing paclitaxel biosynthesis in *Corylus avellana* cell culture. Plant Methods, 17, 13. doi.org/10.1186/s13007-021-00714-9

Salehi, M., Farhadi, S., Moieni, A., Safaie, N., & Ahmadi, H. (2020a). Mathematical modeling of growth and paclitaxel biosynthesis in *Corylus avellana* cell culture responding to fungal elicitors using multilayer perceptrongenetic algorithm. Frontiers in Plant Science, 11, 1148. doi.org/10.3389/fpls.2020.01148

Salehi, M., Moieni, A., & Safaie, N. (2017). A novel medium for enhancing callus growth of hazel (*Corylus avellana* L.). Scientific Reports, 7, 15598. doi.org/10.1038/s41598-017-15703-z

Salehi, M., Moieni, A., & Safaie, N. (2018). Elicitors derived from hazel (*Corylus avellana* L.) cell suspension culture enhance growth and paclitaxel production of *Epicoccum nigrum*. Scientific Reports, 8, 12053. doi.org/10.1038/s41598-018-29762-3

Salehi, M., Moieni, A., Safaie, N., & Farhadi, S. (2019a). Elicitors derived from endophytic fungi *Chaetomium globosum* and *Paraconiothyrium brasiliense* enhance paclitaxel production in *Corylus avellana* cell suspension culture. Plant Cell Tissue Organ Cultture (PCTOC), 136(1), 161-171. doi.org/10.1007/s11240-018-1503-9

Salehi, M., Moieni, A., Safaie, N., & Farhadi, S. (2019b). New synergistic coculture of *Corylus avellana* cells and *Epicoccum nigrum* for paclitaxel production. Journal of Industrial Microbiology and Biotechnology, 46(5), 613-623. doi.org/10.1007/s10295-019-02148-8

Salehi, M., Moieni, A., Safaie, N., & Farhadi. S. (2020b). Whole fungal elicitors boost paclitaxel biosynthesis induction in *Corylus avellana* cell culture. PLoS One, 15(7), e0236191. doi: 10.1371/journal.pone.0236191

Seifert, K. A., & Gams, W. (2011). The genera of Hyphomycetes–2011 update. Persoonia-Molecular Phylogeny and Evolution of Fungi, 27(1), 119-129. doi: 10.3767/003158511X617435

Seifi, M., Nazeri, S., & Soltani, J. (2013). Presence of the *DBAT* gene and in vitro production of Taxol in endophytic fungi isolated from Iranian yew (*Taxus baccata*). Feyz Journals of Kashan University of Medical Sciences, 17(3), 255-260.

Singh, D. K., Sharma, V. K., Kumar, J., Mishra, A., Verma, S. K., Sieber, T. N., & Kharwar, R. N. (2017). Diversity of endophytic mycobiota of tropical tree *Tectona grandis* Linn. f.: Spatiotemporal and tissue type effects. Scientific Reports, 7, 3745. doi.org/10.1038/s41598-017-03933-0

Stierle, A., Strobel, G. A., & Stierle, D. (1993). Taxol and taxane production by *Taxomyces andreanae*, an endophytic fungus of Pacific yew. Science, 260, 214-216. doi: 10.1126/science.8097061

Strobel, G. (2018). The emergence of endophytic microbes and their biological promise. Journal of Fungi, 4(2), 57. doi: 10.3390/jof4020057

Strobel, G., Yang, X., Sears, J., Kramer, R., Sidhu, R. S., & Hess, W. M. (1996). Taxol from *Pestalotiopsis microspora*, an endophytic fungus of *Taxus wallichiana*. Microbiology, 142, 435-440. doi: 10.1099/13500872-142-2-435

Sudha, V., Govindaraj, R., Baskar, K., Al-Dhabi, N. A., & Duraipandiyan, V. (2016). Biological properties of endophytic fungi. Brazilian Archives of Biology and Technology, 59, 1-7. doi.org/10.1590/1678-4324-2016150436

Sun, X., Ding, Q., Hyde, K. D., & Guo, L. D. (2012). Community structure and preference of endophytic fungi of three woody plants in a mixed forest. Fungal Ecology, 5(5), 624-632. doi.org/10.1016/j.funeco.2012.04.001

Wang, F. Y., Hu, J. L., Lin, X. G., Qin, S. W., & Wang, J. H. (2011). Arbuscular mycorrhizal fungal community structure and diversity in response to long-term fertilization: a field case from China. World Journal of

[Downloaded from gebsj.ir on 2026-02-18]
[DOR: 20.1001.1.25885073.1402.12.1.6.0]

paclitaxel-producing endophytic fungus *Penicillium aurantiogriseum* NRRL 62431. BMC Genomics, 15, 69-72. doi: 10.1186/1471-2164-15-69

Yu, H., Zhang, L., Li, L., Zheng, C., Guo, L., *et al.* (2010). Recent developments and future prospects of antimicrobial metabolites produced by endophytes. Microbiological research, 165(6), 437-449. doi: 10.1016/j.micres.2009.11.009

Zabalgogeazcoa, I. (2008). Fungal endophytes and their interaction with plant pathogens: a review. Spanish Journal of Agricultural Research, 6, 138-146. doi: 10.1016/j.chemosphere.2016.10.097

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(12), 2119-2123. doi: 10.1007/s10529-008-9801-7

Microbiology and Biotechnology, 27(1), 67-74. doi.org/10.1007/s11274-010-0427-2

White, T. J., Bruns, T., Lee, S., & Taylor, J. (1990). PCR Protocols: a guide to methods and applications. Academic Press, New York, pp315-322. doi.org/10.1016/0307-4412(91)90165-5

Wilson, D. (1995). Endophyte: the evolution of a term, and clarification of its use and definition. Oikos, 73(2), 274-276. doi.org/10.2307/3545919

Wu, H., Yan, Z., Deng, Y., Wu, Z., Xu, X., *et al*. (2020). Endophytic fungi from the root tubers of medicinal plant *Stephania dielsiana* and their antimicrobial activity. Acta Ecologica Sinica, 40(5), 383-387. doi.org/10.1016/j.chnaes.2020.02.008

Yang, Y., Zhao, H., Barrero, R. A., Zhang, B., Sun, G., *et al.* (2014). Genome sequencing and analysis of the

[Downloaded from gebsj.ir on 2026-02-18]

[DOR: 20.1001.1.25885073.1402.12.1.6.0]