isolate and identify endophytic fungi from Leaves *Eucalyptus Camaldulensis* and Their Antifungal Activity against fungal pathogens.

عزل وتشخيص الفطريات المستنبتة من أوراق نبات اليوكالبتوس *Eucalyptus Camaldulensis* ودراسة فعاليتها المضادة للفطريات المرضية

انتظار جبار محمد العيداني
جامعة كربلاء - كلية التربية للعلوم الصرفة - قسم علوم الحياة

الخلاصة

اجريت تجارب مختبرية في مختبرات قسم علوم الحياة /كلية التربية للعلوم الصرفة / جامعة كربلاء للمدة من 2015/12/1 لغاية 2016/4/25. لدراسة عزل وتشخيص الفطريات المستنبتة في أوراق نبات اليوكالبتوس *Eucalyptus Camaldulensis* واختبار فعاليتها المضادة لبعض الفطريات الخيطية المرضية للنبات .

أظهرت النتائج الحصول على 53 فطرامستنبتاً من مجموعة 120 قطعة أوراق بشدة استيطان 44.17 % مثلت الفطريات المعزولةتسعة انواع فطرية ، حيث تم عزل ثلاثة أنواع تابعة للجنس *Penicillium* وانواع من جنس *Aspergillus* ونوع واحد من *Alternaria* ، *Cladosporium* ، *Paecilomyces* و *Mycelia sterilia (Hyaline)*.

اظهرت نتائج هذه الدراسة ان هنالك اختلافاً في شدة استيطان أو تردد الأنواع المختلفة الموجودة في اوراق النبات . كما اختبرت فعالية التضاد Antagonism بين الفطريات المستنبتة المعزولة وبين ثلاثة أنواع من الفطريات الممرضة للنبات *Fusarium oxysporum*،*Fusarium graminearum* و*Rhizoctonia solani* باستخدام طريقة الزراعة المزدوجة Dual culture على الوسط الصلب Potato Dextrose Agar (PDA).

تشير نتائج هذه الدراسة إلى اختلاف فعالية التضاد معنوياً تجاه هذة الممرضات باختلاف الفطر المستنبت والممرض . قومت فعالية التضاد اعتماداً على النسب المئوية للتثبيط ، وهذه النتيجة تشير إلى كفاءة استعمال الفطريات المستنبتة في التطبيقات الزراعية كعوامل مقاومة احيائية تجاه الممرضات الفطرية النباتية.

Abstract

Laboratory experiments were carried out in the postgraduate laboratories Biology Department – College of Education for pure Sciences /Karbala University . The Study aimed to isolate and identify endophytic fungi from Leaves *Eucalyptus Camaldulensis* and their antifungal activity against some plant fungal pathogens.

Results showed isolation of 53 isolates endophytic fungi from 120 segments of leaves representing colonization frequency of 44.17% . Isolated fungi included different species of *Penicillium* which prevail over other species (3 species), and two different isolates of *Aspergillus* , one isolate species of *Alternaria, Cladosporium, Paecilomyces* and *Mycelia sterilia (Hyaline).*

Results showed variation in colonization frequencies within all species isolated from plant leaves. Dual culture methods for testing antagonistic activity of isolated endophytes against three plant fungal pathogens *Fusarium oxysporium*, *Fusarium graminearum* and *Rhizoctonia solani* .

The results showed different antagonistic activities with different endophytes and pathogens. antagonistic activity was evaluated as percentage of inhibition of fungal pathogen. These results give indication of the efficiency of using endophytic as fungi as a biocontrol agents in agricultural application against fungal plant pathogens.

المقدمة

الفطريات المستنبتة هي الاحياء الدقيقة التي تعيش في الأنسجة الداخلية للنباتات دون ان تسبب تأثيرات سلبية واضحة على النبات العائل (1) ،و تم العثور على هذه الفطريات في جميع النباتات الوعائية تقريبا(2) . وان توزيع الفطريات المستنبتة في النباتات تختلف وفقا لنوع النبات (3،4) ، وتشير التقديرات إلى أن ما يقرب من مليون نوع من الفطريات المستنبتة قد تكون موجودة في النباتات غير مستكشفة (6,5) .

دراسة الفطريات المستنبتة في السنوات الاخيرة ازدادت والسبب في ذلك يرجع على قابليتها لانتاج مواد ايض ثانوية رائدة وفعالة لها فعاليات احيائية وانشطه بايلوجيه متعددة منها مضادات السرطان ومضاد للفطريات(7، 8، 9)، مضاد للجراثيم ، مضاد للفيروسات ، مواد مضادة للأكسدة ، مضاد السكري ومركبات مخفضة للمناعة (11,10) ، وحماية المضيف ضد الآفات الحشرية ، مسببات الأمراض و حتى الحيوانات اكله الاعشاب المحلية (13,12) ، وتستخدم الفطريات المستنبتة المعزولة من الاعشاب الطبية كمركبات دوائية و زراعية (16,15,14) ، كما تعمل على زيادة مقاومة النبات للإجهادات البيئية كالجفاف والملوحة ودرجات الحرارة العالية (17) .

هنالك بعض التقارير تشير الى أن بعض الفطريات المستنبتة تنتج أكثر من اثني عشر مواد ايضية مماثلة لتلك التي تنتجها النباتات العائلة ، بما في ذلك القلويدات، الفلافونيدات، الصابونينات، الببتيدات، حوامض فينولية، وتربينات وغيرها من المركبات الفعالة والمنشطات (18,15,5)، وتعتبر مصدر واعد لمركبات جديده (19) .

نبات اليوكالبتوس *Eucalyptus* ينتمي الى عائلة Myrtaceae، ويضم الجنس عدة أنواع تصل إلى 500 نوع. وأن كلمة *Eucalyptus* ذات أصل إغريقي تعني Kalypto أي الغطاء الواسع. تنتشر زراعة أشجار اليوكالبتوس في آسيا وأستراليا ومعظم البلاد العربية. وهي أشجار معمرة دائمة الخضرة عالية تصل إلى ارتفاع 99 متراً، وبعض أنواعها تكون شجيرات، أوراقها من النوع البسيط متقابلة. تزرع أشجار اليوكالبتوس لغرض الزينة أو مصدات للرياح (20)، تحتوي اوراق نبات اليوكالبتوس على غدد زيتية تعد الجزء الفعال والمستعمل للأغراض الطبية (21) ،كما تحتوي على الكثير من المركبات الكيميائية وأهما مركبات فينولية مثل الحوامض الفينولية البسيطة (22) .

في الآونة الاخيرة ازداد اهتمام العلماء في استعمال الانظمة الحيوية للسيطرة على امراض النباتات اذ تكون سريعة وتبقى لفترات طويله وغير مكلفة وغير مؤذية او ضارة وتعتبر الفطريات المستنبتة المصدر الاساسي في عوامل السيطرة الاحيائية في هذه الايام ، لذلك هدفت الدراسة الحالية الى التحري عن انتشار ووجود الفطريات المستنبتة في أوراق نبات اليوكالبتوس ودراسة فعاليتها المضادة لبعض الممرضات النباتية الفطرية.

المواد وطرائق العمل

عينات النبات :

تم الحصول على عينات أوراق نبات اليوكالبتوس *Eucalyptus Camaldulensis* سليمة وغير مظهرة للأعراض المرضية من الحدائق العامة لمحافظة كربلاء ، جُمعت العينات في أكياس بلاستيكية نظيفة ونقلت إلى المختبر لغرض عزل الفطريات منها في يوم الجمع نفسه.

مصدر العزلات المرضية

تم الحصول على عزلات الفطريات الممرضة للنبات *Fusarium oxysporum*،*Fusarium graminearum* و *Rhizoctonia solani*من مختبرات قسم وقاية النبات/ كلية الزراعة /جامعة كربلاء .

عزل الفطريات المستنبتة :

أتبعت طريقة (23) في ذلك إذ تم غسل عينات الأوراق والأغصان بكمية وافرة من ماء الحنفية لإزالة الأتربة والغبار ثم قطعت الأوراق إلى قطع صغيرة 0.5-1 سم بواسطة المقص وعقمت بالكحول الاثيلي 75% لمدة دقيقة واحدة، ثم غمرت بعد ذلك في محلول هايبوكلورات الصوديوم بتركيز 2.5 % لمدة 4 دقائق، بعدها عقمت بالكحول الأثيلي بتركيز 75% لمدة 30 ثانية، ثم غُسلت 3 مرات بالماء المقطر المعقم وجففت بواسطة أوراق ترشيح معقمة.

زُرعت القطع في أطباق بتري حاوية على الوسط الزرعي دكستروز البطاطا الصلب Potato Dextrose Agar (PDA) المعقم والمضاف له المضاد الحيوي كلورامفينكول Chloramphenicol بمعدل 250 ملغم/لتر قبل التصلب ، وزعت 5قطع من أجزاء النبات لكل طبق بأبعاد متجانسة ،ثم وضعت الاطباق في الحاضنة بدرجة حرارة 2 ±27 مْ ولمدة 7 ايام مع مراقبة نمو المستعمرات يومياً. نقيت المزارع الفطرية بنقلها على وسط PDA وتم تشخيص الفطريات بواسطة الاستخدام المباشر للمجهر الضوئي وعلى شرائح زجاجية باستعمال محلول اللاكتوفينول وبالاستعانة بالمفاتيح التصنيفية (24،25، 26) .

بعد ذلك تم حساب النسب المئوية لتردد مستعمرات الفطريات المستنبتة (النسبة المئوية للتكرار Colonization frequency) وبالاعتماد على ما جاء في (27) .

$$\text{النسبة المئوية للتكرار \% (C.F)} = \frac{\text{عدد القطع التي ظهرت فيها مستعمرات الفطر}}{\text{عدد القطع الكلية المزروعة}} \times 100$$

اختبار فعالية التضاد للفطريات المستنبتة تجاه بعض الفطريات المرضة للنبات

اتبعت طريقة (28) والمتمثلة بطريقة الزراعة المزدوجة Dual culture method على الوسط الصلب، اذ تم أخذ قرص من النمو الفطري لكل من الفطريات المستنبتة والفطريات المرضية *Fusarium oxysporum*، *Fusarium graminearum* و *Rhizoctonia solani* من مزارع حديثة بعمر سبعة ايام بواسطة ثاقب الفلين Cork borer بقطر 3 ملم ، وضع القرصان في طبق حاوي على وسط PDA بمسافة فاصلة بينهما نحو 5 سم، كذلك استعملت أطباق مقارنة للفطر الممرض لوحده بثلاثة مكررات للمعاملتين .حضنت الأطباق في درجة حرارة27 ±2 مْ لحين وصول طبق السيطرة إلى الحافة، وتم قياس قطر المستعمرة للفطر الممرض (معدل قطرين متعامدين)، بحيث قدرت القدرة التضادية للفطريات المستنبتة على أساس نسبة تثبيط الفطريات الممرضة وباستعمال المعادلة الآتية:

$$\text{النسبة المئوية للتثبيط \%} = \frac{\text{ق1} - \text{ق2}}{\text{ق1}} \times 100$$

إذ ان :ق1 = قطر مستعمرة الفطر الممرض وحده

ق2 = قطر مستعمرة الفطر الممرض من المزرعة المزدوجة

النتائج والمناقشة

اوضحت نتائج عزل وتشخيص الفطريات المستنبتة من اوراق نبات اليوكالبتوس المستحصل عليها من مجموع 120 قطعة أوراق ، الحصول على عدد كلي للفطريات المعزولة بواقع 53 فطراً مستنبتاً بنسبة استيطان كلية مساوية الى 44.17 % . تتفق هذه النتيجة مع ما وجده (29) من أن اوراق *Spermacoce verticillata* تحتوي على 56 فطراً مستنبتاً . كما وجد (30) من أن اوراق وأغصان اللبخ *Albizia lebbeck* تحوي على 57 فطراً مستنبتاً من مجموعة 240 قطعة أوراق وأغصان بشدة استيطان 47.43 % .

كما يتضح من الجدول (1) الحصول على تسعة انواع فطرية ، وان أنواع الفطر *Penicillium* سادت على على بقية الأنواع المختلفة للمستعمرات والمتمثلة بـ *Penicillium chrysogenium* و*Penicillium*.sp.1,2 بنسبة استيطان 5.00، 6.66 و4.60 %على التوالي . كما تم عزل نوعان من جنس*Aspergillus* وهما *A. flavus* و *A. niger* بنسبة استيطان 4.16 % و3.33% لكلا النوعين على التوالي كما تم عزل الفطريات *Alternaria* ، *Cladosporium*، *Paecilomyces* و*Mycelia sterilia (Hyaline)* بنسبة استيطان13.33، 3.33، 1.66و2.50 % على التوالي . ولقد تراوحت نسب عزل الفطريات المستنبتة من اوراق النبات في هذه الدراسة بين1.66-13.33% ، حيث يلاحظ انخفاض نسبة العزل هذه قد يكون السبب الى احتواء النبات على مواد مضادة للفطريات (31) او نتيجة التأثيرات البيئية التي تؤثر في توزيع وانتشار الفطريات المستنبتة ، كما ان أغلب الفطريات المعزولة في هذه الدراسة تتطابق مع الفطريات المعزولة في دراسات أخرى من نباتات أخرى (30، 32، 33) .

جدول رقم :(1) الفطريات المستنبتة المعزولة من أوراق نبات اليوكالبتوس والنسب المئوية لشدة الاستيطان Colonization). frequency**)**

الفطريات المستنبتة المعزولة	أوراق اليوكالبتوس	
	No. Colonies	C.F. (%)
Aspergillus flavus	5	4.16
Aspergillus niger	4	3.33
Penicillium chrysogenium	6	5.00
Penicillium sp.1	8	6.66
Penicillium sp.2	5	4.60
Alternaria sp.	16	13.33
Cladosporium sp.	4	3.33
Paecilomyces sp.	2	1.66
Mycelia sterilia (Hyaline)	3	2.50
Total	53	44.17

فعالية التضاد للفطريات المستنبتة تجاه بعض الفطريات المرضة للنبات

أظهرت النتائج في جدول (2) ان هنالك اختلافاً في فعالية التضاد للفطريات المستنبتة والمعزولة تجاه الممرضات الثلاثة المختبرة باختلاف الفطر المستنبت والممرض، حيث أظهر الفطر*Penicillium chrysogenium* أعلى فعالية تضاد تجاه الفطرالممرض *F. oxysporum* حيث بلغت النسبة المئوية للتثبيط 56.88 % تلاه الفطران *Aspergillus niger* و *Paecilomyces sp.* حيث بلغت النسبة المئوية للتثبيط 55.56 و49.22 % على التوالي اما بقية العزلات فتراوحت النسبة المئوية للتثبيط بين اعلى نسبه48.56 % وأوطأ نسبه 27.78% .

في حين تضاد الفطريات المستنبتة تجاه الفطرالممرض*F. graminearum* فقد اظهر الفطر*Aspergillus niger* أعلى فعالية تضاد حيث بلغت النسبة المئوية للتثبيط 59.67% ثم تلاه الفطران*Alternaria sp.* و *Penicillium chrysogenium*حيث بلغت النسبة المئوية للتثبيط 58.33 و56.44 % على التوالي اما بقيه العزلات فتراوحت النسبة المئوية للتثبيط بين اعلى نسبه 46.89 % وأوطأ نسبه 36.77 % .

اما تضاد هذة الفطريات تجاه الفطر الممرض *R. solani* فقد أظهرت الفطريات *Aspergillus niger* ، *Aspergillus flavus*و *Mycelia sterilia* نسب تثبيط 44.44 ، 43.00 و41.67 % على التوالي ، في حين أظهرت العزلات. *Penicillium sp.1*، *Paecilomyces sp* ، *Penicillium chrysogenium* ، *Alternaria sp* و*Cladosporium sp* نسبة تثبيط 36.78 ، 33.33 ، 29.11 ، 28.67 و26.33 % على التوالي شكل (1) .

ان فعالية التضاد بين الفطريات المستنبتة والفطريات المرضية التي تلاحظ نتائجها في الصورة (1) بطريقة الزراعة المزدوجة يدل على فعالية التطفل الفطري (Mycoparasitism) حيث يقوم الفطر المستنبت بإفراز أنزيمات تحلل جدران هايفات الفطر الشريك وقد تقتله (34)، اوان الفطر المستنبت يقوم بإفراز مواد مضادة تمنع نمو وتطور الفطر الشريك (35) .

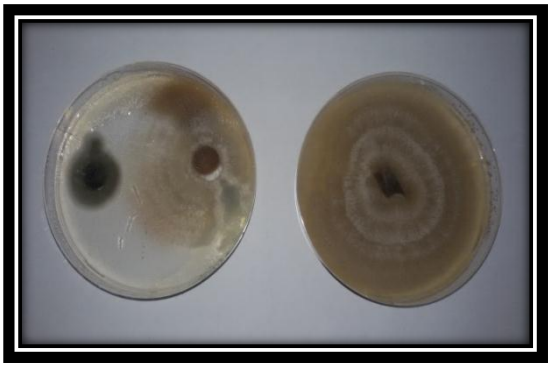
وخلاصة القول أظهرت النتائج كفاءة بعض الفطريات المستنبتة في تثبيط نموالفطريات الممرضة وذلك من خلال التنافس على الغذاء اوالمكان Competition فضلاً عن قدرتها على انتاج مواد مضادة Antibiotic مثل المضاد pyrrocidines A ,B المعزول من الفطر المستنبت *Acremonium zeae* ويعتبر مضاد فطري ضد *Aspergillus flavus* و *Fusarium verticillioides* (36) ، وكذلك قدرتها على انتاج سموم مثل aryl tetralin lignans "podophyllotoxins" المعزول من الفطر المستنبت *Trametes hirsuta* ويستخدم لمعالجة السرطان وللمضادات الاكسدة (37) . وان جميع هذة الفعاليات تعطي إشارة الى كفاءة الفطريات المستنبتة في المقاومة الاحيائية Biological control للسيطرة على امراض النبات المتسببة عن الفطريات التي أكدتها كذلك العديد من الدراسات (38,30) .

جدول رقم :(2) النسب المئوية لتثبيط بعض الفطريات المستنبتة المعزولة من نبات اليوكالبتوس تجاه بعض الفطريات المرضية بطريقة الزراعة المزدوجة على وسطPDA في درجة حرارة27 ±2 مْ ولمدة 7 ايام .

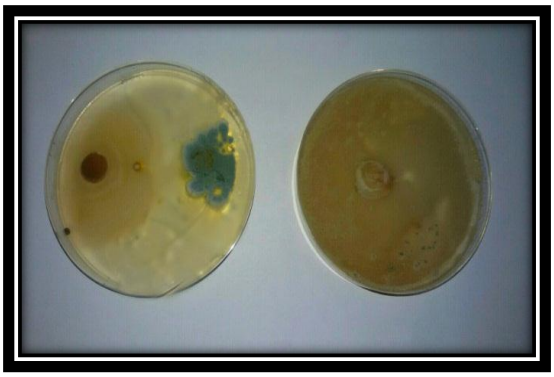
عزلات الفطريات المستنبتة	النسبة المئوية لتثبيط الفطريات الممرضة		
	F. oxysporum	*F. graminearum*	*R. solani*
Aspergillus flavus	36.11	45.78	43.00
Aspergillus niger	55.56	59.67	44.44
Penicillium chrysogenium	56.88	56.44	29.11
Penicillium sp.1	27.78	36.77	33.33
Paecilomyces sp.	49.22	54.78	36.78
Mycelia sterilia (Hyaline)	38.11	46.89	41.67
Alternaria sp.	48.56	58.33	28.67
Cladosporium sp.	43.00	41.67	26.33
قيمة LSD	للفطريات الممرضة	للفطريات المستنبتة	
	0.32	0.45	

ا- الفطر المستنبت *Penicillium sp.* اتجاه *R. solani*

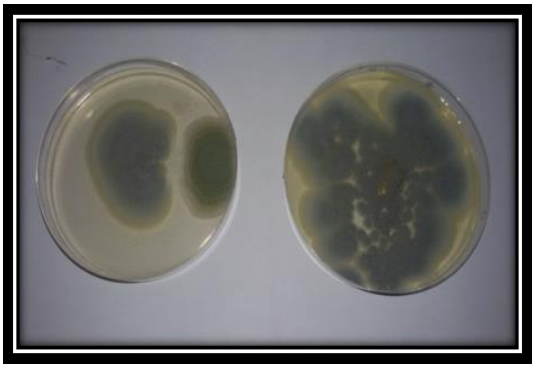
ب- الفطر المستنبت *Aspergillus niger* اتجاه *F. oxysporu*



ج- الفطر المستنبت *Alternaria sp.* اتجاه *R. solani*



د-- الفطر المستنبت *Penicillium sp.* اتجاه*F. oxysporu*



ه- الفطر المستنبت*Aspergillus flavus* اتجاه *F. graminearum*

و- الفطر المستنبت *Aspergillus flavus* اتجاه *F. oxysporum*

شكل(1) : فعالية التضاد بين الفطريات المستنبتة والفطريات المرضية

المصادر

1- Stone JK, Bacon CWand White JF. (2000). An overview of endophytic microbes: endophytism defined. In: Bacon CW, White JF (eds.), Microbial endophytes, Marcel Dekker Inc., New York, 3-29.

2- Zhang HW, Song YC and Tan RX .(2006) .Biology and chemistry of endophytes. Nat. Pro. Rep., 23, 753-771.

3- Strobel GA.(2003). Endophytes as source of bioactive products. Microbiol. Infect, 5, 535-544.

4- Azevedo JL, Pereira JO and Araújo WL. (2000). Endophytic microorganisms: a review on insect control and recent advances on tropical plants. Electronic Journal of Biotechnology, 3(1), 40-65.

5- Strobel, G. and B. Daisy.(2003). Bioprospecting for Microbial Endophytes and their natural products. Microbiology and Molecular Biology, 67 (4): 491–502.

6- Arnold, A. E. and L. C. Lewis. (2005). Ecology and evolution of fungal endophytes and their roles against insects. In: Vega, F.

7- Geris dos Santos RM, Rodrigues-Fo E, Rocha WC, Teixeira MFS. (2003) . Endophytic fungi from *Melia azedarach*. *World J Microbiol Biotechnol.*,19: 767–770.

8- Ding G, Liu SC, Guo LD, Zhou YG, Che YS.(2007). Antifungal Metabolites from the plant endophytic fungus *Pestalotiopsis foedan*. *J Nat Prod.*, 23: 1–4.

9-Wu B, Wu LC, Ruan LG, Ge M, Chen DJ. (2009).Screening of endophytic fungi with antithrombotic activity and identification of a bioactive metabolite from the endophytic fungal strain CPCC 480097. *Curr Microbiol.* 8344-8345.

10- Sanchez Marquez, S.; Bills, G. F. and Zabalgogeazcoa, I. (2007). The endophytic mycobiota of the grass *Dactylis glomerata*. Fungal Divers., 27: 171-195.

11- Suryanarayanan, T. S.; Venkatachalam, A.; Thirunavukkarasu, N.; Ravishankar, J. P.; Doble, M. and Geetha, V. (2010). Internal mycobiota of marine macroalgae from the *Tamilnadu coasti*: distribution, diversity and biotechnological. Botanica Marina, 53: 457-468.

12- Weber J. (1981), "A natural control of Dutch elm disease," *Nature,* London, Vol . 292, pp. 449-451.

13- Malinowski D. P. and D P Belesky. (2006). Ecological importance of *Neotyphodium* spp. Grass endophytes in agroecosystems , *Grassland Science*, Vol. 52, No .1, pp. 23-28.

14- Kusari, S., M. Lamshöft, S. Zühlke and M. Spiteller. (2008). An endophytic fungus from *Hypericum perforatum* that produces hypericin. J. Nat. Prod. 71: 159-162.

15- Li, H.-Y. and L. Liu. (2004). Recent advances on bioactive compounds producing endophytes. Nat. Prod. Res. Dev. 16: 482-485.

16- Li, H.-Y., L. Lu, D.-Q. Wei and Z.-W. Zhao. (2007). Isolation and screening for endophytic fungi with antitumor activities from 12 Yunnan medicinal plants. Nat. Prod. Res. Dev. 19: 765-771. [in Chinese with English abstract].

17- Malinowski, D. P. and Belesky, D. P. (2000). Adaptations of endophyte-infected cool-season grasses to environmental stresses: Mechanisms of drought and mineral stress tolerance. Crop Sci., 40(4): 923-940.

18- Wang, L.-J.; X.-S. Yang and X.-S. He.. 2007. Screening of antibacterial strains from endophytic fungi in ginkgo leaves. Sichuan Food Ferment. 4: 34-36. [in Chinese with English abstract].

19- Rodriguez, R. J., J. F. White, A. E. Arnold and R. S. Redman. (2009). Fungal endophytes: diversity and functional roles. New Phytol. 182: 314-330.

20- Chakravarty, H.L. (1976). Plant wealth of Iraq. A dictionary of economic plant. Vol I. Botany directorate, ministry of Agriculture and Agrarian, Baghdad.

21- حسين، فوزي طه قطب. (1981) النباتات الطبية زراعتها ومكوناته ، دار المريخ للنشر.

22- Dive, S.R.; F. Pellissier and M.N. Prasad. (1996). Allelochemical. In: Prasad, M.N. plant Ecophysiology. printed in U.S.A. PP: 253-293.

23- Chhetri, B. K.; Maharjan, S. and Budhathoki, U. (2013). Endophytic fungi associated with twigs of *Buddle asiaticalour*. J. Sci. Engin. and Technol., 9(1): 90-95.

24- Ellis, M. B. (1971). Dematiaceous hyphomycites Kew: Common wealth mycological institute: 608.

25- Barnett, H. L. and Hunter, B. B. (1972). Illustrated genera of imperfect fungi: 3rd edition, Burgess Publishing Company: 273.

26- Raper , K.B. and Fennell , D.I. (1965). The genus *Aspergillus*. The Williams and Wiking Co. , Battimor. 686 pp.

27- Suryanarayanan, T S, Venkatesan G and Murali T S (2003), "Endophytic fungal communities in leaves of tropical forest trees: Diversity and distribution patterns", *Current Science*, Vol .85, No. 4, pp. 489-492.

28-Gomathi, S. and Ambikapathy, V. (2011). Antagonistic activity of fungi against *Pythium debarynum* (Hesse) isolated from chilli field soil. Advances in Appl. Sci. Res., 2(4): 291-299.

29- Contia R. , Ivana G. B. Cunha a., Virgínia M. Siqueirab, Cristina M. Souza-Mottab, Elba L.C. Amorim a. and Janete M. Araújoc.(2012). Endophytic microorganisms from leaves of *Spermacoce verticillata* (L.): Diversity and antimicrobial activity, Journal of Applied Pharmaceutical Science Vol. 2 (12), pp. 017-022 .

30- علي ، بتول زينل علي و احمد عبد الأمير محمد.(2014) . الفطريات المستنبتة في أوراق وأغصان اللبخ *Albizia lebbeck* وفعاليتها المضادة للفطريات ، مجلة إبن الهيثم للعلوم الصرفة و التطبيقية . المجلد 27 العدد(3) .

31- Huang, Y.; Wang, J.; Li, G.; Zheng, Z. and Su, W. (2001). Antitumor and antifungal activities in endophytic fungi isolated from pharmaceutical plants *Taxus mairei, Cephalataxus fortune and Torreya grandis*. FEMS Immunol. and Med. Microb., 31(2): 163-167.

32- Jeffrey, L. S. H.; Son, R. and Tosiah, T. (2008). Preliminary screening of endophytic fungi isolated from medicinal plant at MARDI sessang, Sarawak for their bioactivity. J. Trop. Agic. and Food Sci., 36(1): 121-126.

33- Khan, F. N. and Rajesh Kumar Tenguria1.(2015) . Biodiversity of Endophytic Fungi in *Withania Somnifera* Leaves of Panchmarhi Biosphere Reserve, Madhya Pradesh. Journal of Innovations in Pharmaceuticals and Biological Sciences, Vol 2 (2), 222-228 .

34- Rajagopal, K.; Kalavathy, S.; kokila, S.; Karthikeyan, S.; Kathiravan, G. and Prasad, P. (2010). Diversity of fungal endophytes in few medicinal herbs of south India. Asian J. Exper.Biol. Sci., 1(2): 415-418.

35- El-Nagerbi, S. A. F.; Elshafie, A. E. & Alkhanjari, S. S. (2013). Endophytic fungi associated with *Ziziphus* species from mountainous area of Oman and new records. Biodiversitas, 14(1): 10-16.

36- Wicklow DT, Roth S, Deyrup ST, Gloer JB. (2005). A protective endophyte of maize: *Acremonium zeae* antibiotics inhibitory to *Aspergillus flavus* and *Fusarium verticillioides*. Mycological Research 109, 610–618.

37- Puri SC, Nazir A, Chawla R, Arora R, Hasan RUS, Amna T, Ahmed B, Verma V, Singh S, Sagar R, Sharma A, Kumar R, Sharma RK, Qazi GN. (2006) . The endophytic fungus *Trametes hirsuta* as a novel alternative source of podophyllotoxin and related aryl tetralin lignans. Journal of Biotechnology 122, 494–510.

38- Garoe, N. T.; Cabrera, R.; Andreea, C.; Martin, T. T. and Cristina, G. (2013). Survey of Banana endophytic fungi isolated in artificial culture media from an applied viewpoint. J. Horticulture, Forestry and Biotechnol., 17(2): 22-35.