

بِسْمِ اللَّهِ الرَّحْمَنِ الرَّحِيمِ

دانشکده علوم کشاورزی

گروه گیاه‌پزشکی

(بیماری‌شناسی گیاهی)

عنوان:

بررسی تاکسونومیک گونه‌های *Hypoxyton sensu lato* در جنگل‌های غرب
استان گیلان

از:

سعید راعی

استاد راهنما:

دکتر سید اکبر خداپرست

استاد مشاور:

دکتر مهرداد عباسی

مهر ۱۳۹۱

تقدیم به روح پاک مادر مهربانم

آنکه آفتاب مهرش در آستانه قلمم، همیشه پیر جاست و هرگز غروب نخواهد کرد

و

تقدیم به وجود مقدس پدر بزرگوارم

استوارترین پشتوانه زندگیم که همواره چتر محبتش بر سرم بوده

سپاس بی کران پروردگاری که هستی مان بخشید و به طریق علم و دانش رهنمونان شد و به بهنیشی رحروان علم و دانش منتظرمان نمود و خوشه چینی از علم و معرفت را روزی مان ساخت. بر خود لازم می دانم از حامیان بهیشگی ام، از خانواده عزیزم که سایه مهربانیشان سایه سازندگیم می باشد و بهواره در طول تحصیل تحمل زحمتم بودند و تکیه گاه من در مواجهه با مشکلات و وجودشان مایه دلگرمی من، کمال تشکر و سپاس را داشته باشم.

از استاد بزرگوارم، جناب آقای دکتر سید کبر خداپرست که راهبانی اینجانب را در طول انجام پایان نامه بر عهده داشتند و راهبانی علم و ادب بوده و هستند، به پاس زحمت بی دریغ و راهبانی های ارزشندان تشکر و قدردانی می نمایم. بی شک بدون وجود راهبانی های ارزنده شان و دلگرمی های دلسوزانه شان، طی این مسیر برایم ناممکن بود. مسیری که باروشنایی علم و حیات ایشان به اتمارید.

از استاد مشاور که تقدیرم جناب آقای دکتر مهر واد عباسی به پاس راهبانی های ارزنده و در اختیار قرار دادن منابع علمی مختلف کمال تشکر و سپاس را دارم.

مراتب تقدیر و تشکر خود را از اساتید مدعو، جناب آقای دکتر جالی و سرکار خانم دکتر موسی نژاد که زحمت بازخوانی و داوری این پایان نامه را بر عهده گرفتند اعلام می دارم.

از کلیه اساتید گرو، که چه در دوره کارشناسی و چه در دوره کارشناسی ارشد افتخار ساگر دیشان را داشته تشکر و قدردانی می نمایم.

از مسئول محترم آزمایشگاه بیاری شناسی گیاهی جناب آقای مهندس مهدی سلیمی و همچنین مسئول محترم آزمایشگاه حشره شناسی سرکار خانم مهندس نیردانی به واسطه بی بحکاری صمیمانه شان سپاسگزاری می نمایم.

از کارکنان محترم گروه گیاه پزشکی آقایان کریم خوشنود و مصطفی خاتمی تشکر می کنم.

از کلیه دوستان و بهکلاسی هایم به ویژه دوستان خوبم در آزمایشگاه قارچ شناسی، به دلیل کمک های بی دریغشان سپاسگزارم.

در پایان، از کلیه کسانی که به نحوی در این راه یاریم نمودند، قدردانی می کنم.

سعید راعی

مهرماه سال یک هزار و سیصد و نود و یک

عنوان	صفحه
چکیده فارسی	خ
چکیده انگلیسی	د
مقدمه.....	۱
فصل اول: کلیات و مرور منابع.....	۴
فصل دوم: مواد و روش‌ها	۱۴
۱-۲- مطالعه‌ی مرفولوژیکی	۱۵
۱-۱-۲- جمع آوری نمونه	۱۵
۱-۲- آماده‌سازی نمونه	۱۵
۱-۲-۳- مطالعه‌ی استریومیکروسکوپی و میکروسکوپی اندام‌های قارچی	۱۵
۱-۲-۴- کشت، جداسازی و خالص‌سازی قارچ‌ها	۱۶
۱-۲-۵- تشخیص گونه‌ها	۱۷
۱-۲-۶- تهیه عکس‌های رنگی	۱۷
۲-۲- مطالعه‌ی مولکولی	۱۷
۱-۲-۲- استخراج DNA	۱۷
۲-۲-۲- واکنش زنجیره‌ای پلیمرز (PCR)	۱۷
۳-۲-۲- الکتروفورز	۱۹
۴-۲-۲- توالی‌یابی	۱۹
فصل سوم: نتایج و بحث	۲۰
۱-۳- کلید شناسایی گونه‌های چهار جنس <i>Hypoxyton</i> ، <i>Annulohypoxyton</i> ، <i>Biscogniauxia</i> و <i>Nemania</i>	۲۴
۲- ۳- جنس <i>Hypoxyton</i> Bull. emend. Y.M. Ju, J.D. Rogers & H.M. Hsieh (2005)	۲۸
۱-۲-۳- <i>Hypoxyton fragiforme</i> (Pers: Fr.) J. Kickx fill. (1835)	۲۸
۲-۲-۳- <i>Hypoxyton howeianum</i> Peck. (1871)	۲۹

صفحه	عنوان
۳۴	<i>Hypoxylon flavoargillaceum</i> J. H. Miller (1934) -۳-۲-۳
۳۶	<i>Hypoxylon perforatum</i> (Schwein: Fr.) Fr. (1849) -۴-۲-۳
۳۸	<i>Hypoxylon rubiginosum</i> (pers: Fr.) Fr. (1849) -۵-۲-۳
۴۱	<i>Hypoxylon</i> sp.1 -۶-۲-۳
۴۳	<i>Hypoxylon</i> sp.2 -۷-۲-۳
۴۵	<i>Hypoxylon</i> sp.3 -۸-۲-۳
۴۷	<i>Hypoxylon</i> sp.4 -۹-۲-۳
۴۹	<i>Hypoxylon</i> sp.5 -۱۰-۲-۳
۵۱	<i>Annulohypoxyton</i> Y.M. Ju, J.D. Rogers & H.M. Hsieh (2005) جنس -۳-۳
۵۱	<i>Annulohypoxyton annulatum</i> (Schwein.) Y.M. Ju, J.D. Rogers & H.M. Hsieh (2005) -۱-۳-۳
۵۴	<i>Annulohypoxyton cohaerens</i> (Rogers & Cand) Y.M. Ju, J.D. Rogers & H.M. Hsieh (2005) -۲-۳-۳
۵۶	<i>Annulohypoxyton</i> cf. <i>nitens</i> (Ces.) Y.M. Ju, J.D. Rogers & H.M. Hsieh (2005) -۳-۳-۳
۵۸	<i>Annulohypoxyton moriforme</i> (Henn.) Y.M. Ju, J.D. Rogers & H.M. Hsieh (2005) -۴-۳-۳
	<i>Annulohypoxyton moriforme</i> var. <i>microdiscus</i> (Y.M. Ju & J.D. Rogers) Y.M. Ju, J.D. Rogers & H.M. -۵-۳-۳
۶۰	Hsieh (2005)
۶۲	<i>Annulohypoxyton</i> sp. -۶-۳-۳
۶۴	<i>Biscogniauxia</i> Kuntze (1891) جنس -۴-۳
۶۴	<i>Biscogniauxia anceps</i> (Sacc.) J.D. Rogers, Y.M. Ju & Cand. (1996) -۱-۴-۳
۶۶	<i>Biscogniauxia capnodes</i> var. <i>rumpens</i> (Cooke) Y.M. Ju & J.D. Rogers (1998) -۲-۴-۳
۶۸	<i>Biscogniauxia mediterranea</i> (De Not.) Kuntze (1891) -۳-۴-۳
۷۲	<i>Biscogniauxia plana</i> (Petch) Y.M. Ju & J.D. Rogers (1998) -۴-۴-۳
۷۵	<i>Nemania</i> S.F. Gray (1821) جنس -۵-۳

صفحه	عنوان
۷۵	۳-۵-۱ <i>Nemania illita</i> (Schwein.) Pouzar (1985)
۷۹	۳-۶-۱ نتیجه‌گیری کلی
۷۹	۳-۷-۱ پیشنهادهای
۸۰	منابع
۸۴	پیوست‌ها

صفحه	عنوان
۱۳	جدول ۱-۱- مقایسه‌ی چهار جنس <i>Nemania</i> و <i>Biscogniauxia Annulohypoxylon Hypoxylon</i>
۲۲	جدول ۱-۳- مشخصات نمونه‌ها و تاکسون‌های شناسایی شده
۷۴	جدول ۲-۳- مقایسه‌ی چهار گونه‌ی جنس <i>Biscogniauxia</i>

صفحه	عنوان
۳۱	شکل ۱-۳ - <i>Hypoxylon howeianum</i> و <i>Hypoxylon fragiforme</i>
۳۲	شکل ۲-۳ - <i>Hypoxylon howeianum</i> و <i>Hypoxylon fragiforme</i>
۳۳	شکل ۳-۳ - <i>Hypoxylon howeianum</i>
۳۵	شکل ۴-۳ - <i>Hypoxylon flavoargillaceum</i>
۳۷	شکل ۵-۳ - <i>Hypoxylon perforatum</i>
۳۹	شکل ۶-۳ - <i>Hypoxylon rubiginosum</i>
۴۰	شکل ۷-۳ - <i>Hypoxylon rubiginosum</i>
۴۲	شکل ۸-۳ - <i>Hypoxylon</i> sp.1
۴۴	شکل ۹-۳ - <i>Hypoxylon</i> sp.2
۴۶	شکل ۱۰-۳ - <i>Hypoxylon</i> sp.3
۴۸	شکل ۱۱-۳ - <i>Hypoxylon</i> sp.4
۵۰	شکل ۱۲-۳ - <i>Hypoxylon</i> sp.5
۵۳	شکل ۱۳-۳ - <i>Annulohypoxylon annulatum</i>
۵۵	شکل ۱۴-۳ - <i>Annulohypoxylon cohaerens</i>
۵۷	شکل ۱۵-۳ - <i>Annulohypoxylon</i> cf. <i>nitens</i>
۵۹	شکل ۱۶-۳ - <i>Annulohypoxylon moriforme</i>
۶۱	شکل ۱۷-۳ - <i>Annulohypoxylon moriforme</i> var. <i>microdiscus</i>
۶۳	شکل ۱۸-۳ - <i>Annulohypoxylon</i> sp.
۶۵	شکل ۱۹-۳ - <i>Biscogniauxia anceps</i>
۶۷	شکل ۲۰-۳ - <i>Biscogniauxia capnodes</i> var. <i>rumpens</i>

صفحه	عنوان
۷۰	شکل ۳-۲۱ - <i>Biscogniauxia mediterranea</i>
۷۱	شکل ۳-۲۲ - <i>Biscogniauxia mediterranea</i>
۷۳	شکل ۳-۲۳ - <i>Biscogniauxia plana</i>
۷۴	شکل ۳-۲۴ - <i>Biscogniauxia plana</i>
۷۷	شکل ۳-۲۵ - <i>Nemania illita</i>
۷۸	شکل ۳-۲۶ - <i>Nemania illita</i>

چکیده

بررسی تاکسونومیک گونه‌های *Hypoxylon sensu lato* در جنگل‌های غرب استان گیلان

سعید راعی

به منظور بررسی تاکسونومیک گونه‌های *Hypoxylon sensu lato* در غرب استان گیلان، نمونه برداری از نقاط مختلف جنگلی این استان صورت پذیرفت. بخش‌هایی از شاخه، پوست و تنه‌ی درختان آلوده حاوی استرومای تیپ جنس *Hypoxylon* به آزمایشگاه انتقال داده شدند. در بررسی‌های ماکروسکوپی و میکروسکوپی خصوصیات قارچ ارزیابی گردید. به منظور مشاهده‌ی و ارزیابی پریتسیوم، آسک، آسکوسپور و رنگ گرانول‌های زیر سطح استروما و فضای بین پریتسیومی، چندین برش از استرومای قارچ تهیه گردید. برای شناسایی قارچ، وجود رنگدانه استروما در محلول $10\% \text{ KOH}$ ، شکل و موقعیت شکاف تندشی آسکوسپور و شکوفایی پرپیسپور آن، حلقه‌ی رأسی آسک و رنگ‌پذیری آن در محلول ملزر و سایر مشخصات بررسی شد. بر طبق نتایج، ده گونه از جنس *Hypoxylon sensu stricto* شامل *H. flavoargillaceum*، *H. moriforme*، *H. perforatum*، *H. howeianum*، *H. fragiforme* و پنج گونه به صورت شناسایی نشده، شش گونه از جنس *Annulohypoxylon* شامل *A. annulatum*، *A. moriforme*، *A. cohaerens*، *A. cf. nitens*، *A. annulatum*، *A. moriforme* var. *microdiscus* و یک گونه به صورت شناسایی نشده، چهارگونه از جنس *Biscogniauxia* شامل *B. moriforme*، *B. plana*، *B. mediterranea*، *B. capnodes* var. *rupmens*، *B. anceps* و یک گونه از جنس *Nemania* به نام *N. illita* شناسایی شدند که در این بین، گونه‌های *H. flavoargillaceum*، *H. perforatum*، *A. cf. A. annulatum*، *B. plana*، *B. capnodes* var. *rupmens*، *B. anceps*، *A. moriforme* var. *microdiscus*، *A. moriforme*، *N. illita* و برای میکوبیوتای ایران جدید هستند. همچنین گونه‌های این قارچ برای اولین بار در ایران از روی درخت ممرز، غارگیلاس، درخت خاس، لیلکی، شاه‌بلوط، توسکا، خرمندی، لرگ، صنوبر، درخت آزاد و ازگیل گزارش می‌شود. همچنین از بین گونه‌های ذکر شده، گونه‌ی *Biscogniauxia mediterranea* یک مشکل جدی برای درختان بلوط در استان گیلان محسوب می‌شود. به نظر می‌رسد این بیماری بعد از قارچ *Cryphonectria parasitica* که در حال نابودی درختان شاه بلوط در این استان است، عنوان مهمترین عامل خسارت‌زای مهم درختان جنگلی در استان گیلان را به خود اختصاص دهد.

کلید واژه: بلوط، بیماری جنگلی، زایلاریاسه، سیستماتیک، میزبان.

Abstract**A Taxonomic study of the genus *Hypoxylon* in the western part of Guilan province****Saeed Raei**

For taxonomic study of the genus *Hypoxylon sensu lato* in western part of Guilan province, several specimens were collected. Parts of the branches, bark and trunks of infested trees containing hypoxylon type stomata transferred to the laboratory. Characteristics of collected specimens, were assessed by macroscopic and microscopic studies. Several cross sections through infected tissues were made by hand under a stereo-microscope to observe prethecia, asci, ascospores and granules immediately beneath surface and between perithecia. Moreover, some characteristics such as KOH extractable pigments, ascospore germ slit and dehiscence, ascus apical ring and the amyloid iodine reaction in Melzer's reagent *etc.* were studied. According to these results, ten species of *Hypoxylon sensu stricto* (*H. flavoargillaceum*, *H. fragiforme*, *H. howeianum*, *H. perforatum*, *H. rubiginosum* and five non identified taxa), six species of *Annulothpoxylon* (*A. annulatum*, *A. cf. nitens*, *A. cohaerens*, *A. moriforme*, *A. moriforme* var. *microdiscus* and one non identified species), four species of *Biscogniauxia* (*B. anceps*, *B. capnodes* var. *rupmens*, *B. mediterranea* and *B. plana*) and one species of *Nemania* (*N. illita*) were identified. Of these, *H. flavoargillaceum*, *H. perforatum*, *A. annulatum*, *A. cf. nitens*, *A. moriforme*, *A. moriforme* var. *microdiscus*, *B. anceps*, *B. capnodes* var. *rupmens*, *B. plana* and *N. illita* are new to the Iranian mycobiota, and also this fungi on *Carpinus betulus*, *Laurocerasus officinalis*, *Ilex aquifolium*, *Gleditschia* sp., *Castanea sativa*, *Alnus* sp., *Diospyrus lotus*, *Pterocarya fraxinifolia*, *Populus* sp., *Zelkova carpinifolia* and *Mespilus germanica*, are reported for the first time from Iran. Among above mentioned species *Biscogniauxia mediteranea* seems to be a serious problem on oak trees in Guilan province. After *Cryphonectria parasitica*, which is eliminating chestnut trees, it seems this is the second major disease threaten forest trees in Guilan province.

Key words: Quercus, Forest diseases, Xylariaceae, Systematic, Host.

مقدمہ

مقدمه

Hypoxyton به مفهوم گسترده^۱ یکی از جنس‌های شایع و رایج خانواده‌ی (*Ascomycota: Xylariales*) *Xylariaceae* به‌ویژه در مناطق گرمسیری و نیمه گرمسیری است [Mazzaglia et al., 2000] که در حال حاضر شامل چندین جنس می‌باشد. *Xylariaceae* بزرگ‌ترین خانواده‌ی راسته‌ی *Xylariales* است که شامل حداقل ۷۵ جنس می‌باشد [Lumbsch & Huhndorf, 2007] که معمولاً ساپروفیت هستند، اما بعضی از آن‌ها اندوفیت یا پارازیت گیاهی می‌باشند. اگر چه اعضای این خانواده در بیشتر کشورها وجود دارند اما بیشترین تنوع را در مناطق گرمسیری دارند [Rogers, 2000 ; Whalley and Edwards, 1998]. مطالعات گسترده‌ای در ارتباط با متابولیت‌های ثانویه و تولید ترکیبات فعال زیستی این قارچ‌ها انجام شده است. بعضی از متابولیت‌های آن‌ها دارای ارزش دارویی برای انسان می‌باشند و فعالیت ضد میکروبی و ضدسرطانی دارند. به عنوان مثال اخیراً نشان داده شده است که یک ترکیب جدید تولید شده از *xylaria* sp. به نام BCC4297 دارای سمیت سلولی در برابر سلول‌های سرطانی می‌باشد. علاوه بر این ترکیبات جدید تولید شده به وسیله‌ی قارچ‌های این خانواده به طور فزاینده‌ای ثبت شده‌اند، مانند annulohypoxylin تولید شده از قارچ *Annulohypoxyton bovei* var. *microspora* isolate BCRC 34012 و azaphilones تولید شده از قارچ *Hypoxyton rubiginosum* و colorations A-B جدا شده از قارچ *Xylaria intracolorata* [Sumannasui et al., 2011].

همه‌ی اعضای این خانواده قادر به هیدرولیز سلولز و زایلن هستند اما تعداد کمی از آن‌ها مثل اعضای جنس *Hypoxyton* و *Xylaria* تولید آنزیم تجزیه‌کننده‌ی لیگنین می‌کنند [Pointing et al., 2003]. گونه‌های *Hypoxyton* عموماً موجب پوسیدگی سفید شاخه‌های بریده درختان سخت چوب می‌شوند. بعضی از گونه‌های آن ساپروفیت، بعضی دیگر اندوفیت و یا پاتوژن نهان‌انگاز دولپه و به‌ندرت تک‌لپه هستند [Rogers, 1979] که علائمی مانند شانکر، نکروزه‌شدن پوست درخت و یا پوسیدگی چوب ایجاد می‌کنند [Whalley, 1996]. این قارچ توانایی کمی در آلوده کردن درختان شاداب دارد ولی در درختانی که به نحوی دچار استرس یا ضعف می‌شوند به شدت خسارت‌زا است [Joe, 2000]. آلودگی درختان ممکن است در مرحله‌ی گیاهچه رخ دهد اما به صورت غیر قابل تشخیص باقی می‌ماند تا اینکه درخت به نحوی تحت استرس قرار گیرد [Griffin, 2011].

بعضی از گونه‌های *Hypoxyton* دارای میزبان اختصاصی هستند و بعضی دیگر دارای دامنه‌ی میزبانی وسیعی می‌باشند

^۱. *Hypoxyton sensu lato*

[Rogers, 1979]. از جمله میزبانهای این قارچ می‌توان به صنوبر، تبریزی، راش، افرا، گردوی آمریکایی، بلوط، نارون، انجیلی، چنار، توسکا و چند درخت سخت چوب جنگلی دیگر را نام برد. بعضی از گونه‌های این قارچ قادر به گذراندن زمان زیادی بدون ایجاد علائم در بافت میزبان خود هستند که به دلیل قدرت اندوفیتی این قارچ است [Petrini and Petrini, 1985; Petrini, 1996]. قارچ عامل بیماری به‌صورت میسلیم از بافت‌های گیاهی بدون علائم جدا شده است [Kowalsky and Kehr, 1996; Okane et al., 2008]. شانکر مشاهده شده ممکن است به‌وسیله‌ی یک یا چند گونه از قارچ *Hypoxyton* ایجاد شود و این قارچ معمولاً کامیوم را از بین می‌برد و تحت شرایط آب و هوایی مرطوب شانکرها به‌سرعت گسترش یافته و طول آن ممکن است به بیش از یک متر برسد [Griffin, 2011].

تحقیقات نشان می‌دهد که اسپور قارچ از طریق زخم، وارد شاخه و تنه‌ی درخت شده، سپس گسترش می‌یابد و اولین علائم ظاهری ممکن است زردی، پژمردگی برگ‌ها و مرگ سرشاخه‌ها باشد [Whitney, 2009]. اغلب تکه‌های بزرگی از پوست درخت آلوده در محل شانکرها جدا شده و زیر آن استرومای قارچ مشاهده می‌شود. در بهار و تابستان تشکیل استروما از آشکارترین نشانه‌های شانکر *Hypoxyton* است. این استروماها از نظر طول با هم تفاوت دارند و ممکن است کمتر از ۰/۶ سانتی متر تا بیش از ۳ متر طول داشته باشند. در بهار یا اوایل تابستان توده‌های پودری شکل متمایل به سبز تا قهوه‌ای یا خاکستری رنگ از کنیدیوم قارچ روی سطح استروما به وجود می‌آید. در طی تابستان و پاییز این استروماها ضخیم، سفت و سخت می‌شوند و همزمان داخل استروما پریتسیوم و آسک تشکیل می‌شود. بسته به گونه‌ی قارچ، رنگ استروما ممکن است نقره‌ای، خاکستری تا قهوه‌ای و یا سیاه باشد [Griffin, 2011].

شناسایی و طبقه‌بندی گونه‌های این قارچ اساساً برپایه ویژگی‌های تلومورف و استروما که در طبیعت رایج است و نیز ویژگی‌های آنامورف که در محیط کشت تولید می‌شود صورت می‌پذیرد. باید توجه داشت که تلومورف این قارچ در محیط کشت تولید نمی‌شود [Mazzaglia et al., 2000].

در مورد تاکسونومی جنس *Hypoxyton* در ایران مطالعات پراکنده‌ای انجام شده است که اغلب محدود به گزارش‌های قدیمی از این قارچ روی تعدادی از درختان جنگلی است. مجموعه این اطلاعات طی سال‌های گذشته منجر به فهرستی از ۱۶ گونه از این قارچ در ایران شده‌است که در کتاب قارچ‌های ایران به آنها اشاره شده است [ارشاد، ۱۳۸۸]. که در حال حاضر فقط چهار گونه از این تعداد جزء *Hypoxyton sensu stricto* و چهار گونه جزء جنس *Annulohypoxyton* قرار می‌گیرند و بقیه باید از این جنس جدا و در جنس‌های دیگری قرار گیرند. با توجه به تغییرات زیاد در مورد تاکسونومی این جنس و عدم انجام مطالعات جامع و نوین در ایران این مطالعه انجام می‌شود.

کلیات و مرور منابع

تعریف و تعیین حدود و ثغور قارچ *Hypoxylon* بین قارچ‌شناسان مختلف و در زمان‌های مختلف، متفاوت بوده است. بعد از بولیار^۱ در سال ۱۷۹۱ که نام *Hypoxylon* را به کار برد، استفاده از این اسم به مدت نیم قرن از خط فکری قارچ‌شناسان رها شده بود و به جای آن از *Sphaeria* استفاده می‌کردند. پرسون^۲ در سال ۱۸۰۱ هفت گونه از *Hypoxylon* را توصیف و در بخش^۳ *Periphaericae* از جنس *Sphaeria* قرار داد. شوینیتز^۴ در سال ۱۸۲۲ از پرسون در قرار دادن تاکسون *Hypoxylon* در جنس *Sphaeria* پیروی کرد، به طوری که هفت گونه از آن را در بخش *Periphericae* و دو گونه را در بخش *Compressae* و یک گونه به نام *Sphaeria truncate* را در بخش *Simplices* قرار داد. در چندین توصیف از جمله فریس^۵ در سال ۱۸۲۳، فریس در سال ۱۸۲۸، اشوینیتز در سال ۱۸۳۲ هم‌چنان از پرسون پیروی و گونه‌های *Hypoxylon* را در جنس *Sphaeria* قرار می‌دادند. فریس در سال ۱۸۴۹ دوباره از اسم *Hypoxylon* استفاده کرد. اگرچه *Hypoxylon* به مفهوم فریس، به دلیل دارا بودن درصد بالایی از گونه‌های *Hypoxylon* نسبت به طبقه‌بندی‌های قبلی پیشرفته‌تر بود، اما هنوز کاملاً هتروژن بود [Ju and Rogers, 1996].

برادران تولسن^۶ در سال ۱۸۶۳ استرومای دوقسمتی^۷ تخت و دیسکی شکل را در سه قارچ از *Xylariaceae* تشخیص و برای شرح آن‌ها جنس *Nummularia* را ایجاد کردند، که در واقع شامل تاکسون *Biscogniauxia* هم بود. جنس *Biscogniauxia* در سال ۱۸۹۱ توسط کانتز^۸ ایجاد و در سال ۱۹۷۹ توسط پوزر^۹ به عنوان جنس پذیرفته شد [Ju et al., 1998]. در سال ۱۸۶۳ سساتی و د نوتاریس^{۱۰} جنس *Daldinia* را براساس *Sphaeria concentrica* که تا آن زمان به‌طور رایج به عنوان *Hypoxylon concentricum* مورد قبول بود، ایجاد و از *Hypoxylon* جدا کردند. نیچه^{۱۱} در سال ۱۸۶۷، ۲۶ گونه از *Hypoxylon* را با جزئیات توصیف کرد، به‌جز یک گونه از *Camarops* و یک گونه از *Daldinia*، تمام گونه‌های *Hypoxylon* به مفهوم نیچه در داخل جنس *Hypoxylon* به مفهوم میلر قرار گرفتند. نیچه در سال ۱۸۶۷ از ویژگی استیول^{۱۲} و موقعیت نسبی استروما نسبت به ماده‌ی زمینه برای تشخیص سه بخش در *Hypoxylon* استفاده کرد. بخش *Euhypoxylon* شامل تاکسون‌هایی با استیول فرورفته، بخش *Epixylon* شامل تاکسون‌هایی با استیول برآمده و

1. Bulliard

2. Persoon

3. Section

4. Schweinitz

5. Fries

6. Tulasne

7. Bipartite

8. Kuntze

9. Pouzar

10. Cesati and De Notaris

11. Nitschke

12. Ostiole

استرومای سطحی و بخش *Endoxylon* شامل تاکسون‌هایی با استیول برآمده و استرومای کم و بیش فرورفته در ماده‌ی زمینه بود [Ju and Rogers, 1996].

قارچ شناسان دیگری مثل ساکاردو^۱، کوک^۲، الیس^۳، اورهارت^۴ و... چندین و چند بار حدود و ثغور *Hypoxylon* را تغییر دادند. تیسن و سیدو [Theissen and Sydow, 1915] گونه‌ی *Hypoxylon folicola* را به جنس *Coccostroma* منتقل کردند. پچ^۵ در سال ۱۹۲۴ ضمن معرفی چند گونه‌ی جدید از *Hypoxylon* در مطالعه‌ی خود از محلول KOH و اتانول استفاده کرد و رنگ رنگدانه‌ی خارج‌شده از استرومای قرارگرفته در محلول KOH را ثبت کرد. این کار احتمالاً اولین استفاده از تست‌های شیمیایی به منظور مطالعه‌ی سیستماتیک *Hypoxylon* بود [Ju and Rogers, 1996].

شر^۶ یکی از اولین قارچ‌شناسانی بود که تمایل داشت تا یک مونوگراف جهانی برای جنس *Hypoxylon* ایجاد کند، اگرچه او سرانجام به دلیل بیماری به این کار ادامه نداد اما گونه‌های شرح داده‌ی او به‌ویژه نمونه‌ی تیپ، هنوز هم بسیار با ارزش است [Ju and Rogers, 1996].

سپس میلر^۷ در سال ۱۹۲۸ کار مطالعاتی خود را شروع و در سال ۱۹۳۲ کار خود را بسط داد و سرانجام در آخرین مطالعه‌ی بزرگ خود در مورد *Hypoxylon* در سال ۱۹۶۱، مطالعات قبلی خود را اصلاح و یک مونوگراف جهانی در مورد این جنس نوشت و ۴ بخش را برای *Hypoxylon* پیشنهاد کرد: *Annulata*، *Papillata*، *Applanata* و بعداً بخش *Papillata* را به دو زیربخش^۸ *Papillata* و *Primocinerea* تقسیم کرد. او در این مونوگراف به طور قطعی جنس‌های *Camorops*، *Daldinia*، گونه‌های فنجان‌ی شکل *Biscogniauxia* و گونه‌های از *Camillea* با استرومای ایستاده را از *Hypoxylon* جدا کرد و به طور کلی ۱۲۰ گونه را در این مونوگراف شرح داد [Ju and Rogers, 1996]. او در این مونوگراف بطور گسترده و کامل این جنس را توصیف کرد و *Hypoxylon* به مفهوم میلر شامل تاکسون‌هایی بوده که بعضی از آن‌ها در حال حاضر از این جنس جدا شده و در جنس‌های مختلفی از جمله *Nemania*، *Biscogniauxia*، *Kretzschmaria*، *Whalleya*، *Kretzschmaria*، *Jumillera*، *Camillea*، *Entoleuca*، *Creosphaeria* و *Stilbohypoxylon* قرار گرفته‌اند [Hsieh et al., 2005].

1. Saccardo
2. Cooke
3. Ellis
4. Everhart
5. Petch
6. Shear
7. Miller
8. Subsection

والی و همکاران [Whalley et al., 1990] تاکسون‌هایی با آسکوسپور زائده دار که میلر در بخش *Applanata* از جنس *Hypoxylon* قرار داده بود را به جنس *Biscogniauxia* انتقال دادند. لاسک و همکاران [Laessøe et al., 1989] تاکسون‌هایی با آسکوسپورهای شفاف بخش *Applanata* از جنس *Hypoxylon* را به جنس *Camillea* انتقال داد.

پوزر در سال ۱۹۸۵ بعضی از تاکسون‌های زیر بخش *Primocinerea* از بخش *Papillata* از جنس *Hypoxylon* که وابسته به گونه‌ی *Hypoxylon serpens* بودند را به جنس *Nemania* داد که این جنس در سال ۱۸۲۱ توسط گری^۱ معرفی شده بود [Ju and Rogers, 2002] و بعضی دیگر از اعضای این زیربخش به جنس *Ustulina* منتقل شدند. گونه‌های *H. laurus* و *H. megalosporum* موجود در این زیربخش نیز به بخش *Hypoxylon* منتقل شدند [Ju and Rogers, 1996]

بار [Barr, 1976] گونه‌ی *Hypoxylon grandineum* را به جنس *Loculohypoxylon* از راسته‌ی *Dothideales* منتقل کرد، جو و روجرز [Ju and Rogers, 1994] گونه‌ی *Hypoxylon culmorum* موجود در زیربخش *Primocinerea* را به دلیل تولید کنیدیوم scolecosporous به جنس *Kretzschmariella* منتقل کردند. جو و همکاران [Ju et al., 1993] گونه‌ی *Hypoxylon sassafras* موجود در مونوگراف میلر را به دلیل تولید آنامورف *Libertella* به جنس *Creosphaeria* منتقل کردند. روجرز و جو [Rogers and Ju, 1996] گونه‌ی *Hypoxylon mammatum* را به دلیل داشتن استرومای ذغالی، عدم داشتن رنگدانه در محلول KOH، پریسپور^۲ ناشکوف^۳، آسکوسپور نابالغ زائده‌دار، آنامورف *Geniculosporium* و تشکیلات نوک آسک^۴ که ارتفاع آن بیشتر از پهنای آن است، به جنس *Entoleuca* منتقل کردند.

زیر بخش *Papillara* از بخش *Papillara* در مونوگراف میلر شامل ۱۲ گونه بود، که بعضی از این گونه‌ها به بخش *Hypoxylon* و *Annullata*، دو گونه‌ی *Hypoxylon fuscillum* و *H. cinereolilacinum* به جنس *Biscogniauxia*، گونه‌ی *H. chrysoconium* به دلیل داشتن آنامورف *Geniculosporium* به جنس *Nemania* منتقل شدند و گونه‌ی *H. morgani* به دلیل داشتن استرومای سفید و نرم و حلقه رأسی گلدانی شکل^۵ در نوک آسک از جنس *Hypoxylon* جدا شد [Ju and Rogers, 1996].

وندرگات و همکاران [Van der Gucht et al., 1995] یک گونه‌ی جدید از *Hypoxylon* به نام *H. ravidoroseum*

1. Gray
2. Perispore
3. Indehiscent
4. Apical ring
5. Urn-shape

و یک گونه‌ی جدید از *Nemania* به نام *N. immersidiscus* را از هاوایی و گینه نو گزارش کردند.

در سال ۱۹۹۶ جو و رجز در مونوگراف خود تحت عنوان *A Revision of the Genus Hypoxylon*، حدود و ثغور این جنس را اصلاح کردند و تمام گونه‌های *Hypoxylon* شناسایی شده تا آن زمان را شرح دادند و بیان داشتند که گونه‌ای متعلق به این جنس است که چهار ویژگی زیر را داشته باشد: استرومای آن یک قسمتی^۱ باشد، عرض ساختمان نوک آسک بیشتر از طول آن باشد، بافت استرومای سفت و هموزن بوده و همراه آنامورف *Nodulisporium* باشد [Mazzaglia et al., 2000] و در این مونوگراف حداقل ۱۳۰ گونه و واریته را شرح دادند [Suwannasai et al., 2005].

این دو قارچ شناس همچنین در این مونوگراف دو بخش *Hypoxylon* و *Annulata* برای این جنس در نظر گرفتند و بیان داشتند که بخش *Hypoxylon* دارای ویژگی‌های زیر است: سطح استروما در زمان بلوغ معمولاً رنگی و به ندرت سیاه می‌باشد. بافت استرومایی ذغالی^۲ در اطراف هر پریتسیوم وجود ندارد، استیول پایین تر از سطح استروما و به ندرت هم سطح با آن و یا در مواردی بالاتر از سطح استروما که در این مورد هرگز با دیسک^۳ احاطه نمی‌شود. پریسپور وقتی شکوفا^۴ می‌شود، روی پریسپور تزئینات حلقه‌ای شکل^۵ عرضی وجود دارد که ممکن است مشخص یا غیرمشخص باشد، البته این ویژگی به وسیله میکروسکوپ الکترونی قابل مشاهده است. اما در بخش *Annulata* سطح استروما در زمان بلوغ معمولاً سیاه و به ندرت رنگی می‌باشد. بافت استرومایی ذغالی به‌طور جداگانه در اطراف هر پریتسیوم وجود دارد، استیول همیشه بالاتر از سطح استروماست و ممکن است دیسک در اطراف آن باشد یا نباشد. پریسپور وقتی شکوفا می‌شود، ضخیم‌شدگی^۶ مشخصی در موقعیت یک سوم طول اسپور در طرفی که شکاف تندشی^۷ وجود دارد، قابل مشاهده است و تزئینات حلقه‌ای شکل عرضی روی پریسپور مشاهده نمی‌شود. در این بخش دیسک استیولی به دو شکل است: *truncatum-type* و *bovei-type*، که در نوع اول لایه‌ی خارجی استروما اطراف استیول به صورت تدریجی از استیول جدا می‌شود ولی در *bovei-type* لایه‌ی خارجی استروما یک‌دفعه جدا می‌شود. البته بعضی از اعضای بخش *Annulata* ممکن است تکه‌های ذغالی سیاه‌رنگ غیرمنظم روی کل سطح کلنی در محیط کشت تولید کنند که می‌تواند در تفکیک گونه‌های دو بخش خیلی مهم باشد [Ju and Rogers, 1996].

جو و همکاران [Ju et al., 1998] یک مونوگراف در مورد جنس *Biscogniauxia* با ۴۹ گونه و واریته نوشتند و سه

1. Unipartite
 2. Carbonaceous stromatal tissue
 3. Ostiolar disc
 4. Dehiscent
 5. Coil-like ornamentation
 6. Thickened area
 7. Germ slit