

## تأثیر همزیستی قارچ‌های اندوفایت بر میانگین و واریانس‌های عملکرد بذر و صفات وابسته به آن در فسکیوی بلند

محمد مهدی مجیدی و آقافخر میرلوحی<sup>۱</sup>

### چکیده

گزارش‌ها در زمینه اثر قارچ‌های اندوفایت بر عملکرد و اجزای عملکرد بذر اندک و گاهاً متناقض است. این پژوهش به منظور بررسی تأثیر همزیستی قارچ‌های اندوفایت بر میانگین و واریانس عملکرد و اجزای عملکرد بذر در فسکیوی بلند انجام گردید. کلون‌های عاری از اندوفایت ( $E^-$ ) از طریق اعمال قارچ‌کش روی کلون‌های حاوی اندوفایت ( $E^+$ ) در گلخانه ایجاد و سپس هر دو نوع کلون به مزرعه انتقال داده شدند. طی دو سال مجموعه‌ای از صفات شامل عملکرد و اجزای عملکرد بذر بر روی کلون‌ها اندازه‌گیری گردید. حضور قارچ‌های اندوفایت میانگین عملکرد بذر تک بوته، تعداد دانه در بوته و تعداد خوشه در بوته را به ترتیب ۳۲/۸، ۳۴/۶ و ۳۰/۶ درصد افزایش داد. بین ژنوتیپ‌ها از نظر میزان تأثیرپذیری از اندوفایت تنوع وجود داشت. واریانس‌های فنوتیپی برای اکثر صفات معنی‌دار بود. اثر متقابل ژنوتیپ و قارچ برای تعداد دانه در بوته معنی‌دار بود که منجر به اختلاف معنی‌دار واریانس‌های فنوتیپی و ژنوتیپی بین کلون‌های  $E^-$  و  $E^+$  برای این صفت گردید به طوری که حضور اندوفایت باعث کاهش شدید در واریانس ژنتیکی این صفت گردید. این نتیجه نشان می‌دهد که حضور اندوفایت بخشی از تنوع ژنتیکی را پنهان کرده است، بنابراین بهتر است که از سایر اجزای عملکرد غیر از تعداد دانه در بوته برای افزایش عملکرد بذر استفاده گردد. نتایج این پژوهش نشان داد که حضور اندوفایت توان تولید مثلی گیاه را در ارتباط با عملکرد و اجزای عملکرد گیاه بهبود می‌بخشد که می‌تواند انگیزه اصلاحگران را برای انتقال این رابطه همزیستی به سایر گیاهان افزایش دهد لیکن بایستی توجه داشت که در مورد صفاتی که اثر متقابل قارچ و گیاه در آنها معنی‌دار است، حضور قارچ بخشی از تنوع ژنتیکی واقعی را پنهان می‌کند و برای این صفات بهتر است انتخاب به طور غیر مستقیم از طریق سایر صفات صورت پذیرد و یا انتخاب و اصلاح در جوامع فاقد اندوفایت انجام گردد و سپس اندوفایت مناسب در گیاهان اصلاح شده تلقیح گردد.

واژه‌های کلیدی: قارچ اندوفایت، صفات بذری، واریانس فنوتیپی و ژنتیکی

### مقدمه

همچون توان سازگاری به شرایط مختلف محیطی و تولید بالا از

اهمیت خاصی برخوردار است (۲۰). این گیاه یکی از مهم‌ترین گیاهان علوفه‌ای دنیاست به طوری که حدود ۱۶ میلیون هکتار

فسکیوی بلند (*Festuca arundinacea* Schreb) یکی از گراس‌های چند ساله و سردسیری است که به دلیل خصوصیتاتی

۱. به ترتیب دانشجوی دکتری و دانشیار زراعت و اصلاح نباتات، دانشکده کشاورزی، دانشگاه صنعتی اصفهان

مقاومت به آفات و بیماری‌ها و تحمل در برابر شرایط نامساعد محیطی را نام برد. این خصوصیات در اثر برخی تغییرات مورفولوژیک، فیزیولوژیک و بیوشیمیایی (نظیر تولید برخی آلکالوئیدها) در گیاه حاصل می‌شود (۵، ۸ و ۱۳). در واقع قارچ‌های اندوفایت از طریق ایجاد این تغییرات قادرند میانگین فنوتیپی را برای بسیاری از صفات از جمله توان رشد، تولید مثل و سازگاری تغییر دهند (۱۴). مطالعات روی ژنوتیپ‌های فسکیوی بلند بومی کشور نیز نشان داده که اندوفایت‌های همزیست با آنها باعث افزایش تحمل به شوری (۲)، تحمل به سرما (۱) و بهبود پنجه زنی و توان رشد رویشی گیاه فسکیو بلند (۳) شده‌اند.

وجود تغییرات در میانگین فنوتیپی این صفات و مشاهده اثر متقابل بین قارچ و گیاه برای برخی صفات این احتمال را تقویت می‌کند که واریانس‌های فنوتیپی و ژنتیکی نیز به وسیله قارچ اندوفایت تغییر می‌کنند. مطالعات در زمینه تأثیر قارچ‌های اندوفایت همزیست با فسکیو بر میانگین و واریانس صفات بذری و در نتیجه تأثیر بر میزان تنوع ژنتیکی درون جوامع اندک و حتی متناقض می‌باشد. سیگل و همکاران وجود قارچ را عاملی برای افزایش تولید بذر در فسکیوی بلند ندانستند در حالی که کلی گزارش کرد که ژنوتیپ‌های حاوی قارچ دارای درصد بذر پر شده و درصد سبز شدن گیاهچه بیشتری هستند (۷ و ۱۹). در هر دو مطالعه به دلیل نداشتن کلون‌های مشابه (حاوی اندوفایت و عاری از اندوفایت) اثر ژنوتیپ گیاهی و قارچ با یکدیگر اختلاط داشته است. در مطالعه دیگری رایس و همکاران حضور قارچ را عاملی برای افزایش تولید بذر در کلون‌های فسکیو معرفی کردند (۱۴). رایس و همکاران گزارش کردند که حضور اندوفایت میانگین عملکرد علوفه را افزایش داد اما واریانس فنوتیپی آن را به طور معنی‌داری کاهش داد با این حال آنها تأثیر اندوفایت بر میانگین و واریانس عملکرد بذر را طی دو سال آزمایش متناقض گزارش کرده‌اند (۱۵).

گرچه قارچ‌های اندوفایت تأثیرات مفیدی بر بسیاری از خصوصیات گیاهی دارند اما بی توجهی اصلاحگران به نقش

از اراضی زیر کشت مرتعی و علوفه‌ای در ایالات متحده آمریکا را در بر می‌گیرد. این گونه شبیه سایر گونه‌های جنس فستوکا در ایران نیز پراکنش خوبی دارد و در اکثر مراتع و نواحی کوهستانی ایران به ویژه مناطق مرکزی، غربی و شمالی کشور رویش داشته و از پتانسیل بالایی برای تولید علوفه به صورت زراعی و مرتعی برخوردار می‌باشد با این حال متأسفانه در گذشته مورد توجه جدی قرار نگرفته است. ضرورت خودکفایی در تولید علوفه و نیز احیای مراتع کشور باعث شده که این گیاه در سال‌های اخیر بیشتر مورد توجه قرار گیرد (۱۱).

اندوفایت‌ها میکروارگانیسم‌هایی هستند که به صورت همزیست در داخل گیاه رشد می‌کنند و معمولاً در بسیاری از گیاهان یافت می‌شوند. گروه مهمی از اندوفایت‌ها که در نیمه دوم قرن بیستم مورد توجه ویژه قرار گرفتند، قارچ‌هایی از جنس *Neotyphodium* و مشتق از خانواده *Clavicipitaceae* (*Ascomycetes*) هستند که به صورت سیستمیک در گراس‌های زیر خانواده *Pooideae* رشد می‌نمایند (۲). بیشتر قارچ‌های اندوفایت شناخته شده در این جنس از گونه‌های *N. coenophialum*، *N. lolii* و *N. uncinatum* می‌باشند که به ترتیب با فسکیوی بلند، چچم چند ساله و فسکیوی مرتعی همزیست می‌باشند. از آنجایی که فسکیوی مرتعی (دیپلوئید) از اجداد فسکیوی بلند (هگزاپلوئید) می‌باشد، قارچ اندوفایت موجود در فسکیوی بلند (*N. coenophialum*) احتمالاً از اجداد قارچ اندوفایت موجود در فسکیوی مرتعی (*N. uncinatum*) می‌باشد (۱۸). این قارچ‌ها با توسعه ریشه‌های خود به صورت بین سلولی در تمام بافت‌های گیاه به استثنای ریشه رشد می‌کنند. این قارچ‌ها تنها از طریق بذر انتقال می‌یابند به طوری که در بین سلول‌های آندوسپرم و لایه آلورون رشد کرده و موجب آلودگی جنین پس از مرحله جوانه زنی می‌گردند (۴). کشف این رابطه همزیستی در پیچه تازه‌ای به روی تحقیقات اصلاح گراس‌های علوفه‌ای و چمنی گشوده است چرا که این رابطه همزیستی باعث اعطای خصوصیات مهمی به گیاه می‌شود که از جمله آنها می‌توان افزایش تعداد پنجه‌ها، افزایش عملکرد،

دستی یک‌نواخت کشت گردیدند. فاکتور اول اثر قارچ (وجود یا عدم وجود) و فاکتور دوم ژنوتیپ‌های گیاهی را تشکیل می‌دادند. هر کرت شامل ۶ کلون با فواصل ۶۰ سانتی‌متر بین ردیف‌ها و ۴۰ سانتی‌متر درون ردیف‌ها (بین بوته‌ای) بود. عملیات زراعی شامل آبیاری، کوددهی و مبارزه با علف‌های هرز به طور منظم و معمول انجام گردید. با شروع گرده افشانی اولین یادداشت برداری‌ها در تیرماه ۱۳۸۲ آغاز گردید و در نهایت مجموعه‌ای از صفات شامل تعداد خوشه در بوته، طول خوشه (سانتی‌متر)، تعداد دانه در خوشه، وزن دانه در خوشه، باروری خوشه [از تقسیم وزن دانه در خوشه (میلی‌گرم) به طول خوشه (سانتی‌متر)]، وزن هزار دانه، وزن دانه در بوته (گرم)، تعداد دانه در بوته (از تقسیم وزن دانه در بوته به وزن هزار دانه و سپس ضرب کردن در عدد ۱۰۰۰)، طول برگ پرچم (سانتی‌متر) و عرض برگ پرچم (سانتی‌متر) طی سال‌های ۱۳۸۲ و ۱۳۸۳ اندازه‌گیری گردید.

تجزیه و تحلیل‌های آماری به کمک نرم افزار سیستم آنالیز آماری (SAS) انجام گرفت. مقایسه میانگین‌ها به روش حداقل تفاوت معنی‌دار (LSD) انجام شد. به منظور تعیین اثر اندوفایت بر میانگین‌ها، تجزیه واریانس برای تمام صفات به‌صورت آزمایش فاکتوریل (فاکتور اول اثر قارچ و فاکتور دوم ژنوتیپ‌های گیاهی) انجام گردید. از درصد تغییر صفت در اثر اندوفایت به عنوان شاخصی برای تعیین میزان تأثیر اندوفایت بر صفات استفاده گردید. به منظور تعیین اثر اندوفایت بر میزان تنوع در صفات عملکرد و اجزای عملکرد بذر، دو تجزیه واریانس جداگانه برای کلون‌های حاوی اندوفایت و کلون‌های عاری از اندوفایت انجام گردید. واریانس‌های ژنتیکی با توجه به امید ریاضی میانگین مربعات طرح کاملاً تصادفی محاسبه گردیدند. برای مقایسه واریانس‌های کلون‌های بدون قارچ و کلون‌های حاوی قارچ از آزمون فیشر (F) استفاده گردید برای این منظور مقدار F از تقسیم واریانس بزرگ‌تر به کوچک‌تر محاسبه و با F جدول در سطح ۵ درصد (۲/۵ درصد دو طرفه) مقایسه گردید.

آنها به ویژه در مطالعات اصلاحی اولیه و گزینش ژنوتیپ‌ها، می‌تواند منجر به برآورد نادرست (اریب) از میزان واریانس و تنوع ژنتیکی، که پایه و اساس اصلاح نباتات و گزینش می‌باشد، گردد. همچنین از آنجایی که رابطه بین هر قارچ اندوفایت با میزان خود یک رابطه اختصاصی می‌باشد (۶)، شناخت تأثیر قارچ‌های اندوفایت همزیست با گراس‌های بومی کشور به منظور بهره‌گیری از آنها در مطالعات اصلاحی آینده ضروری به نظر می‌رسد. بر این اساس این پژوهش با هدف بررسی تأثیر همزیستی قارچ‌های اندوفایت بر میانگین و واریانس‌های عملکرد بذر و صفات وابسته به آن در فسکیوی بلند انجام گردید.

## مواد و روش‌ها

در این پژوهش از ۶ کلون گیاه فسکیوی بلند حاوی قارچ اندوفایت و ۶ کلون عاری از قارچ اندوفایت استفاده گردید. برای این منظور ژنوتیپ‌های فسکیوی بلند از توده‌های محلی کامیاران (کردستان) و فریمان (خراسان) انتخاب گردیدند. انتخاب این ژنوتیپ‌ها بر اساس تراکم قارچ در گیاهان مورد بررسی در هر توده بود. آلوده بودن کامل این ژنوتیپ‌ها به قارچ اندوفایت توسط روش رنگ آمیزی غلاف برگ تعیین گردید (۱۷). این ژنوتیپ‌ها به گلخانه انتقال داده شده و به مدت ۳ ماه در گلخانه پرورش داده شدند. سپس هر ژنوتیپ به دو بخش مساوی تقسیم گردید، به منظور حذف قارچ، یک بخش از هر ژنوتیپ توسط قارچ کش‌های فولیکور و پروپیکونازول به ترتیب با مقدار ۱ میلی‌لیتر در لیتر (۱/۰ درصد) و ۲ گرم در لیتر تیمار گردید. عمل تیمار دو مرتبه با فاصله زمانی یک هفته انجام گردید. برای اطمینان از حذف کامل قارچ از روش رنگ‌آمیزی غلاف برگ استفاده گردید (۱۷).

در اسفند ۱۳۸۱، حدود ۲ ماه پس از تیمار، کلون‌های حاوی قارچ و کلون‌های جدید عاری از قارچ به مزرعه داخل دانشگاه صنعتی اصفهان انتقال و در یک آزمایش فاکتوریل در قالب طرح کاملاً تصادفی با سه تکرار درون شاسی‌هایی با خاک

## نتایج و بحث

میانگین‌های عملکرد بذر و صفات وابسته به آن در کلون‌های فسکیوی بلند حاوی اندوفایت (E+) و عاری از اندوفایت (E-) به همراه درصد و جهت تغییر میانگین صفت در اثر اندوفایت در جدول ۱ نشان داده شده است. ایجاد کلون‌های عاری از قارچ امکان بررسی اثر قارچ بدون نگرانی از اختلاط آن با اثر ژنوتیپ گیاه را فراهم می‌سازد. اثر قارچ اندوفایت بر صفات تعداد خوشه در بوته، تعداد دانه در بوته و کل وزن دانه در بوته در هر دو سال معنی‌دار بود ولی بر سایر صفات تأثیر معنی‌داری نداشت. قارچ اندوفایت صفات کل وزن دانه در بوته، تعداد خوشه در بوته و تعداد دانه در بوته را در هر دو سال افزایش داد. به طوری که حضور اندوفایت در سال اول و دوم باعث به ترتیب ۲۲/۹ و ۴۲/۷ درصد افزایش کل وزن دانه در بوته گردید. تأثیر اندوفایت بر عملکرد بذر فسکیوی بلند ناشی از تأثیر معنی‌دار این قارچ بر دو جزء اصلی عملکرد یعنی تعداد خوشه در بوته و تعداد دانه در بوته می‌باشد. به طوری که حضور قارچ باعث گردید که تعداد خوشه در بوته در سال اول و دوم به ترتیب ۳۰/۹ و ۳۰/۲ درصد افزایش یابد. همچنین حضور قارچ باعث گردید که تعداد دانه در بوته در سال اول و دوم به ترتیب ۲۰/۵ و ۴۸/۷ درصد افزایش یابد. با این حال اندوفایت بر زودرسی، طول برگ پرچم، عرض برگ پرچم و سایر اجزای عملکرد، تأثیر معنی‌داری نداشت.

نتایج نشان می‌دهد که افزایش عملکرد بذر فسکیوی بلند در حضور قارچ‌های اندوفایت عمدتاً ناشی از افزایش در تعداد خوشه در بوته و تعداد دانه در بوته بوده و وزن دانه تحت تأثیر اندوفایت قرار نمی‌گیرد. همچنین طول خوشه و تعداد دانه در خوشه و در نتیجه باروری خوشه تحت تأثیر اندوفایت قرار نگرفته است. بنابراین اندوفایت‌ها توان تولید مثلی گیاه را از طریق افزایش تعداد اجزای تولید مثلی (خوشه و دانه) بهبود می‌بخشند. افزایش تعداد دانه در بوته نه تنها ناشی از افزایش تعداد پنجه‌های بارور (تعداد خوشه) می‌باشد بلکه می‌تواند ناشی از افزایش درصد بذرهای پر باشد به طوری که کلی و

رایس و همکاران نیز قبلاً گزارش کرده بودند که اندوفایت باعث افزایش درصد بذر پر می‌گردد (۷ و ۱۴). نقش اندوفایت‌ها در بهبود برخی صفات مرفولوژیک نظیر تعداد پنجه، سطح کل برگ بوته و عملکرد علوفه توسط محققان دیگر گزارش شده است (۳، ۱۰ و ۱۳). نقش اندوفایت در افزایش تعداد پنجه در دو ژنوتیپ چچم دائمی (رای گراس) و اهمیت آن در بهبود تحمل به تنش کم آبی قبلاً نیز توسط هس و همکاران گزارش شده است (۹).

مقایسه میانگین ژنوتیپ‌ها به همراه شاخص درصد تغییرات صفت در اثر اندوفایت برای صفاتی که تأثیر اندوفایت در آنها معنی‌دار بوده است در جدول ۳ آمده است. بین ژنوتیپ‌ها از نظر صفات عملکرد دانه و اجزای آن در هر دو حالت وجود و عدم وجود اندوفایت تفاوت معنی‌دار وجود دارد. در کلون‌های بدون اندوفایت ژنوتیپ‌های 75B و 75C در سال اول و ژنوتیپ 75A در سال دوم بیشترین وزن دانه در بوته را دارا بودند. در کلون‌های حاوی اندوفایت ژنوتیپ‌های 75A, 75B و 75C در سال اول و ژنوتیپ‌های 75A و 75B در سال دوم بیشترین وزن دانه در بوته را به خود اختصاص دادند. شاخص درصد تغییر نشان می‌دهد که بیشترین افزایش برای صفت وزن دانه در بوته در اثر وجود اندوفایت مربوط به ژنوتیپ 60A می‌باشد به طوری که قارچ اندوفایت در سال اول ۲۴۹ درصد و در سال دوم ۹۷/۱ درصد عملکرد دانه در بوته را افزایش داده است. این ژنوتیپ (60A) برای صفات تعداد خوشه در بوته و تعداد دانه در بوته نیز بیشترین تأثیر پذیری را از اندوفایت داشته است به طوری که در حضور اندوفایت، این صفات بیشتر از دو برابر افزایش یافته اند (جدول ۳). نتایج نشان می‌دهد که بین ژنوتیپ‌ها از نظر میزان تأثیر پذیری از اندوفایت تنوع وجود دارد.

اثر متقابل قارچ و ژنوتیپ به غیر از صفت تعداد دانه در بوته، برای سایر صفات معنی‌دار نبود (نتایج نشان داده نشده است) وجود این اثر متقابل نشان می‌دهد که حضور قارچ برای این صفت در برخی از ژنوتیپ‌ها تغییرات بیشتری نسبت به

جدول ۱. میانگین‌های عملکرد بذر و صفات وابسته به آن در کلون‌های فسکیوی بلند حاوی اندوفایت ( $E^+$ ) و عاری از اندوفایت ( $E^-$ ) به همراه درصد و جهت تغییر میانگین صفت در اثر اندوفایت

سال	صفت	کلون‌های $E^+$	کلون‌های $E^-$	درصد و جهت تغییر میانگین
۱۳۸۲	روز تا گرده افشانی	۶۴ <sup>a</sup>	۶۳/۷ <sup>a</sup>	+۰/۴۷
	تعداد خوشه در بوته	۱۵/۷۷ <sup>a</sup>	۱۲/۰۴ <sup>b</sup>	+۳۰/۹
	طول خوشه (سانتی‌متر)	۲۱/۸۵ <sup>a</sup>	۲۱/۷۸ <sup>a</sup>	+۰/۳۲
	تعداد دانه در خوشه	۶۶/۳۷ <sup>a</sup>	۶۶/۸۸ <sup>a</sup>	-۰/۷۶
	تعداد دانه در بوته	۹۲۹/۳۰ <sup>a</sup>	۷۷۱ <sup>b</sup>	+۲۰/۵
	وزن هزار دانه	۲/۳۴ <sup>a</sup>	۲/۲۵ <sup>a</sup>	+۴
	وزن دانه در خوشه (میلی‌گرم)	۱۴۵/۴۵ <sup>a</sup>	۱۴۹/۴ <sup>a</sup>	-۲/۶۴
	کل وزن دانه در بوته (گرم)	۲/۰۹ <sup>a</sup>	۱/۷۰ <sup>b</sup>	+۲۲/۹
	باروری خوشه	۶/۶۵ <sup>a</sup>	۶/۹۴ <sup>a</sup>	-۴/۱۷
	طول برگ پرچم (سانتی‌متر)	۱۳/۱۱ <sup>a</sup>	۱۲/۲۳ <sup>a</sup>	+۷/۱۹
عرض برگ پرچم (سانتی‌متر)	۰/۵۱ <sup>a</sup>	۰/۵۳ <sup>a</sup>	-۳/۷۷	
۱۳۸۳	روز تا گرده افشانی	۶۶ <sup>a</sup>	۶۵/۷۵ <sup>a</sup>	+۰/۳۸
	تعداد خوشه در بوته	۱۶۶/۲۹ <sup>a</sup>	۱۲۷/۷۲ <sup>b</sup>	+۳۰/۲
	طول خوشه (سانتی‌متر)	۲۱/۶۷ <sup>a</sup>	۲۲/۹۸ <sup>a</sup>	-۵/۷۰
	تعداد دانه در خوشه	۱۲۱/۶۱ <sup>a</sup>	۱۱۱/۸۷ <sup>a</sup>	+۸/۷۰
	تعداد دانه در بوته	۲۰۰۳۸ <sup>a</sup>	۱۳۴۷۷ <sup>b</sup>	+۴۸/۷
	وزن هزار دانه	۱/۵۱ <sup>a</sup>	۱/۶۳ <sup>a</sup>	-۷/۳۶
	وزن دانه در خوشه (گرم)	۱۹۲/۵۱ <sup>a</sup>	۱۸۴/۶۵ <sup>a</sup>	+۴/۲۵
	کل وزن دانه در بوته (گرم)	۳۲/۵۱ <sup>a</sup>	۲۲/۷۸ <sup>b</sup>	+۴۲/۷
	باروری خوشه	۸/۸۸ <sup>a</sup>	۷/۹۰ <sup>a</sup>	+۱۲/۴۰
	طول برگ پرچم (سانتی‌متر)	۱۵/۱۳ <sup>a</sup>	۱۴/۵۳ <sup>a</sup>	+۴/۱۳
عرض برگ پرچم (سانتی‌متر)	۰/۵۹ <sup>a</sup>	۰/۶۱ <sup>a</sup>	-۳/۲۷	

\*: در هر ردیف تفاوت بین دو میانگین  $E^+$  و  $E^-$  که دارای حروف متفاوت می‌باشند در سطح ۵ درصد معنی‌دار می‌باشد.

(کلون‌های عاری و آلوده به قارچ) را از طریق کلون‌گیری نشان می‌دهد.

واریانس‌های فنوتیپی و ژنتیکی صفات عملکرد بذر، اجزای عملکرد بذر و روز تا گرده افشانی در کلون‌های حاوی و عاری از اندوفایت و مقایسه آنها با آزمون F در جدول ۲ نشان داده شده است. واریانس‌های فنوتیپی برای صفات روز تا گرده

سایر ژنوتیپ‌ها ایجاد کرده است. تأثیر ژنوتیپ میزبان بر میزان فعالیت اندوفایت بسیار قابل تأمل است به طوری که طبق گزارش استون و همکاران برخی ژنوتیپ‌ها حجم بیشتری از میسلیوم قارچ را در خود جای می‌دهند و در نتیجه حاوی میزان آکالوئید بیشتر می‌باشند (۸). وجود اثر متقابل قارچ و اندوفایت، ضرورت تهیه و استفاده از ژنوتیپ‌های یکسان

جدول ۲. واریانس‌های فنوتیپی و ژنتیکی صفات عملکرد بذر، اجزای عملکرد بذر و روز تا گرده افشانی در کلون‌های فسکیوی بلند آلوده (E<sup>+</sup>) و عاری از اندوفایت (E<sup>-</sup>) و مقایسه آنها با آزمون F

صفت	سال	حالت اندوفایت	واریانس فنوتیپی	مقایسه واریانس فنوتیپی EI و EF	واریانس ژنتیکی	مقایسه واریانس ژنتیکی EI و EF
وزن دانه در بوته	۱۳۸۲	حاوی قارچ	۰/۹۸**	ns	۰/۳	ns
		بدون قارچ	۲/۹**		۰/۸۹	
	۱۳۸۳	حاوی قارچ	۱۰۴۸/۷۵***	ns	۳۲۵/۱۱	ns
		بدون قارچ	۴۴۵/۴۵**		۱۳۶/۹۳	
تعداد خوشه در بوته	۱۳۸۲	حاوی قارچ	۳۸/۰۵*	ns	۹/۷۱	ns
		بدون قارچ	۳۵/۰۶***		۱۱/۰۹	
	۱۳۸۳	حاوی قارچ	۱۵۴۵۳/۳۲**	ns	۴۴۶۶/۴۹	ns
		بدون قارچ	۵۳۱۵/۵۷**		۱۶۸۰/۰۷	
تعداد دانه در بوته	۱۳۸۲	حاوی قارچ	۸۴۶۶۸/۹۹ <sup>ns</sup>	*	۱۶۱۶/۷۱	*
		بدون قارچ	۵۰۴۴۶۸/۵۳*		۱۱۴۴۴۴/۰۷	
	۱۳۸۳	حاوی قارچ	۳۹۷۵۹۶۱۷۴/۱***	*	۱۴۳۲۸۴۹۴/۴	*
		بدون قارچ	۱۶۸۹۱۴۲۷۰/۳***		۵۲۹۱۰۰۷۰/۵۱	
تعداد دانه در خوشه	۱۳۸۲	حاوی قارچ	۲۰۶۰/۰۵ <sup>ns</sup>	ns	۳۹۹/۴۱	ns
		بدون قارچ	۳۶۶۹/۷۸*		۸۲۸/۸۸	
	۱۳۸۳	حاوی قارچ	۵۷۱۲/۰۷***	ns	۱۸۱۳/۹۱	ns
		بدون قارچ	۴۱۸۲/۱۳*		۱۱۲۰/۹۵	
وزن هزار دانه	۱۳۸۲	حاوی قارچ	۰/۲۵ <sup>ns</sup>	ns	۰/۰۲	ns
		بدون قارچ	۰/۲۹ <sup>ns</sup>		۰/۰۲۳	
	۱۳۸۳	حاوی قارچ	۰/۰۴۹ <sup>ns</sup>	ns	۰/۰۱	ns
		بدون قارچ	۰/۰۸۶ <sup>ns</sup>		۰/۰۲	
روز تا گرده افشانی	۱۳۸۲	حاوی قارچ	۷۷۹/۱**	ns	۲۶۶/۰۳	ns
		بدون قارچ	۸۴۵/۲**		۲۱۸/۴	
	۱۳۸۳	حاوی قارچ	۸۱۰**	ns	۲۶۹/۶۶	ns
		بدون قارچ	۸۹۶/۷۵**		۲۹۸/۵۶	

\*، \*\*، \*\*\* و ns: به ترتیب نشان دهنده معنی‌داری در سطح ۰/۰۵، ۰/۰۱، ۰/۰۰۱ و عدم معنی‌داری می‌باشند.

افشانی، وزن دانه در بوته و تعداد خوشه در بوته در هر دو حالت وجود و عدم وجود قارچ در هر دو سال معنی‌دار و برای صفت وزن هزار دانه در هیچ‌یک از حالات معنی‌دار نبود. همچنین واریانس‌های فنوتیپی برای صفات تعداد دانه در بوته و تعداد خوشه در خوشه در کلون‌های حاوی قارچ در سال اول معنی‌دار نبود. مقایسه واریانس‌های فنوتیپی و نیز ژنوتیپی نشان داد که اختلاف واریانس‌های کلون‌های حاوی اندوفایت و عاری از اندوفایت تنها برای صفت تعداد دانه در بوته معنی‌دار است.

جدول ۳. مقایسه میانگین ژنوتیپ‌های فسکیوی بلند برای صفات بذری متأثر از قارچ‌های اندوفایت

سال	ژنوتیپ	کل وزن دانه در بوته			تعداد خوشه در بوته			تعداد دانه در بوته	
		حاوی قارچ	بدون قارچ	درصد تغییر	حاوی قارچ	بدون قارچ	درصد تغییر	حاوی قارچ	بدون قارچ
۱۳۸۲	75A	۲/۱۰ <sup>a</sup>	۱/۲۳ <sup>b</sup>	۷۰/۷	۱۸/۴۹ <sup>c</sup>	۱۲/۱ <sup>d</sup>	۵۲/۸	۵۳۰/۸۰ <sup>b</sup>	۵۴/۳
	75B	۲/۳۲ <sup>a</sup>	۲/۷۷ <sup>a</sup>	-۱۶/۲	۱۰/۵۴ <sup>d</sup>	۸/۳۸ <sup>d</sup>	۲۵/۸	۹۰۷/۷۰ <sup>ab</sup>	۱۶/۸
	75C	۲/۶۲ <sup>a</sup>	۲/۷۵ <sup>a</sup>	-۴/۷	۱۶/۸۱ <sup>c</sup>	۱۶/۶۰ <sup>c</sup>	۱/۳	۱۲۸۲/۵۰ <sup>a</sup>	-۱۵/۳
۱۳۸۳	83A	۱/۳۵ <sup>b</sup>	۰/۵۸ <sup>b</sup>	۱۶۳/۷	۱۷/۲۶ <sup>c</sup>	۱۱/۱۱ <sup>d</sup>	۵۵/۳	۳۶۳ <sup>b</sup>	۱۰۷/۴
	60A	۲/۱۳ <sup>a</sup>	۰/۶۱ <sup>b</sup>	۲۴۹	۶۷/۵۴ <sup>a</sup>	۲۸/۱۵ <sup>b</sup>	۱۳۹/۹	۴۳۰/۲۰ <sup>b</sup>	۱۵۴/۲
	60B	۱/۱۹ <sup>b</sup>	۰/۸۰ <sup>b</sup>	۴۲/۵	۵۴/۷۶ <sup>b</sup>	۳۲/۳۸ <sup>a</sup>	۶۹/۱	۴۹۴/۱ <sup>b</sup>	۴۱/۱
۱۳۸۳	75A	۵۴/۸۵ <sup>a</sup>	۳۹/۷۳ <sup>a</sup>	۳۸/۱	۲۰۵/۸۵ <sup>ab</sup>	۱۷۴/۷۳ <sup>a</sup>	۱۷/۸	۳۵۲۷۱ <sup>a</sup>	۴۴/۹
	75B	۴۲/۸۶ <sup>a</sup>	۲۲/۷۵ <sup>b</sup>	۸۸/۴	۱۶۵/۸۷ <sup>b</sup>	۹۳/۸۳ <sup>a</sup>	۷۶/۷	۲۲۶۶۷ <sup>b</sup>	۷۹/۳
	75C	۲۴/۱۸ <sup>b</sup>	۱۷/۰۸ <sup>bc</sup>	۴۱/۶	۲۳۳/۶۷ <sup>ab</sup>	۱۵۱/۷۳ <sup>a</sup>	۵۴	۱۶۱۲۲ <sup>bc</sup>	۸۶/۸
۱۳۸۳	83A	۸/۱۵ <sup>c</sup>	۱۱/۵۷ <sup>c</sup>	-۲۹/۶	۵۹/۷۷ <sup>c</sup>	۹۰/۵۷ <sup>a</sup>	-۳۴	۶۰۹۲ <sup>d</sup>	-۲۶/۶
	60A	۱۸/۰۵ <sup>bc</sup>	۹/۱۶ <sup>c</sup>	۹۷/۱	۲۶۸/۶۰ <sup>a</sup>	۱۰۴/۴۲ <sup>a</sup>	۱۵۷/۲	۱۷۶۱۴ <sup>bc</sup>	۱۲۸/۸
	60B	۱۸/۲۵ <sup>bc</sup>	۱۲/۹۰ <sup>c</sup>	۴۱/۵	۲۴۲/۳۳ <sup>a</sup>	۱۴۷/۷۷ <sup>a</sup>	۶۳/۹	۱۲۸۵۱ <sup>cd</sup>	۹/۵

\*: در هر ستون و برای هر سال تفاوت بین دو ژنوتیپ که دارای حروف متفاوت می‌باشند در سطح ۵ درصد معنی‌دار می‌باشد.

اصلاحی نحوه تأثیر پذیری صفات از اندوفایت‌ها مشخص گردد.

تاکنون دلایل مختلفی در مورد مکانیسم اثر قارچ‌های اندوفایت بر خصوصیات گیاه ارائه شده است. لاج‌گزارش کرده است که قارچ‌های اندوفایت قادر به تولید ترکیبات شیمیایی متنوعی در گیاهان میزبان می‌باشند که این ترکیبات از لحاظ بیولوژیکی فعال بوده و در افزایش قدرت رشد و پایداری گیاه مؤثر است (۱۲). یکی از این ترکیبات هورمون گیاهی ایندول استیک اسید (IAA) است که در تولید شدن و اتساع سلول‌ها و نیز افزایش قدرت پنجه زنی گیاه تأثیر دارد. توانایی تولید پنجه از مزیت‌های مهم گراس‌ها بوده و در افزایش قدرت بقاء و نیز مقاومت گیاه به خشکی مؤثر است (۹). ریچاردسون و همکاران گزارش کردند که کربوهیدرات‌های غیر ساختمانی گلوکز و فروکتوز نیز از ترکیبات مهمی است که در گیاهان آلوده به قارچ

از آنجایی که در مورد واریانس فنوتیپی بخشی از این تفاوت می‌تواند ناشی از خطای آزمایشی باشد، بنابراین پس از حذف خطا و تبدیل آن به واریانس ژنتیکی مشخص گردید که حضور اندوفایت باعث کاهش شدید و معنی‌داری در واریانس ژنتیکی این صفت می‌گردد. این نتیجه پیشنهاد می‌کند که از سایر اجزای عملکرد غیر از تعداد دانه در بوته برای افزایش عملکرد بذر استفاده گردد. این نتیجه حاکی از آن است که تنوع ژنتیکی در گیاهان حاوی قارچ حاصل مجموع اثرات ژن‌های گیاه، قارچ و اثر متقابل آنها می‌باشد و این آثار در مورد برخی از صفات شدیدتر می‌باشد بنابراین اصلاحگران باید به این مسأله توجه داشته باشند که برآورد واریانس‌ها و سایر پارامترهای ژنتیکی نظیر وراثت پذیری، بازده انتخاب و غیره در گراس‌های همزیست با اندوفایت می‌تواند با مقدار واقعی متفاوت بوده یا اصطلاحاً اریب باشد بنابراین لازم است که قبل از پروژه‌های

(E<sup>+</sup>) و غیر آلوده (E<sup>-</sup>) انتخاب بر مبنای تولید بذر بیشتر می‌تواند جامعه را سریعاً به سمت درصد بالاتری از گیاهان حاوی قارچ سوق دهد. در عین حال بایستی توجه داشت که در مورد صفاتی که اثر متقابل قارچ و گیاه در آنها معنی دار است، حضور قارچ بخشی از تنوع ژنتیکی واقعی را پنهان می‌کند و برای این صفات بهتر است انتخاب از بین گیاهان یا جوامع عاری از اندوفایت انجام گردد سپس اندوفایت مناسب به گیاهان اصلاح شده تلقیح گردد. روش دیگر انتخاب به طور غیر مستقیم است به طوری که انتخاب از طریق صفات وابسته با صفت مورد نظر انجام گیرد. از آنجایی که حضور اندوفایت توان تولید مثلی گیاه را در ارتباط با عملکرد و اجزای عملکرد گیاه بهبود می‌بخشد بنابراین در صورتی که بتوان این رابطه همزیستی را به سایر گیاهان انتقال داد، این امکان وجود خواهد داشت که از این همزیستی برای افزایش عملکرد بذر سایر گیاهان نظیر غلات استفاده کرد. ادامه بررسی‌ها در جهت شناخت اندوفایت‌ها و سایر اثرات مثبت آنها، مکانیزم‌های تأثیرگذاری آنها بر گیاه و تعیین نحوه کنترل ژنتیکی این رابطه همزیستی پیشنهاد می‌گردد.

اندوفایت تولید می‌شود (۱۶). این کربوهیدرات‌ها از نظر اسمزی فعال بوده و در تعدیل فشار اسمزی نقش دارند و هم‌چنین باعث افزایش قدرت رویش مجدد پس از برداشت، در گیاهان حاوی قارچ می‌گردند. با این حال به نظر می‌رسد که قارچ اندوفایت در ژنوتیپ‌های گیاهی مختلف سطوح متفاوتی از ترکیبات شیمیایی را تولید می‌کند که می‌تواند به دلیل تراکم بیشتر رشته‌های میسیلیوم باشد. از طرفی گیاه هم می‌تواند باعث تغییر مقدار ترکیبات مترشحه از قارچ گردد. هر یک از این عوامل می‌تواند باعث ایجاد واریانس اثر متقابل بین گیاه و قارچ گردیده و در نتیجه مقدار تنوع ژنتیکی را تغییر دهد (۱۴).

در مجموع نتایج این بررسی نشان داد که قارچ‌های اندوفایت در گونه فسکیوی بلند توان تولید بذر را از طریق افزایش اجزای عملکرد به‌ویژه تعداد خوشه و تعداد دانه در بوته افزایش می‌دهند. افزایش تولید بذر در جمعیت‌های حاوی اندوفایت منجر به شایستگی بیشتر آنها می‌شود چرا که درصد گیاهان حاوی اندوفایت در طی نسل‌های متمادی افزایش می‌یابد. از طرف دیگر در جمعیت‌های مخلوط از گیاهان آلوده

## منابع مورد استفاده

۱. پارسائیان، م. ۱۳۸۲. تأثیر اندوفایت‌ها در بروز مقاومت به سرما در دو گونه فستوکا. پایان نامه کارشناسی ارشد اصلاح نباتات، دانشکده کشاورزی، دانشگاه صنعتی اصفهان.
۲. سبزه‌علیان، م.ر. و ا.ف. میرلوحی. ۱۳۸۳. نقش قارچ‌های اندوفایت در مقاومت به شوری علف بره نی مانند (*Festuca arundinacea*) و علف بره مرتعی (*Festuca pratensis*). چکیده مقالات هشتمین کنگره علوم زراعت و اصلاح نباتات ایران، ۳ تا ۵ شهریور ۱۳۸۳، دانشگاه گیلان.
۳. محمدی، ر. و ا.ف. میرلوحی. ۱۳۸۲. تأثیر قارچ‌های اندوفایت در بهبود ویژگی‌های فنوتیپی فسکیوی بلند و مرتعی بومی ایران. علوم و فنون کشاورزی و منابع طبیعی ۷(۲): ۲۱۳-۲۱۵.
4. Bacon, C.W., M.D.Richardson and J. F.White, 1997. Modification and uses of endophyte-enhanced turf grasses: a role for molecular technology. *Crop Sci.* 37:1415-1423.
5. Breen, J.P. 1994. Acremonium endophytic interactions with enhanced plant resistance to insects. *Annu. Rev. Entomol.* 39: 401-423.
6. Christensen, M.J., G.C.M.Latch and B.A.Topper. 1991. Variation within isolate of Acremonium endophyte from Perennial rye-grasses. *Mycol.Res.* 95: 918-923.
7. Clay, K. 1987. Effects of fungal endophytes on the seed and seedling biology of *Lolium prene* and *Festuca arundinacea*. *Oecologia* 73: 358-362.
8. Easton, H.S., G.C.M.Latch, B.A.Tapper and O.J.P.Ball. 2002. Reygrass Host genetic control of concentration of Endophyte-served Alkaloids. *Crop Sci.* 42: 51-57



9. Hess, U., W. Schoberlein, L. Wittenmayer, K. Forster, K. Warnstorff, W. Diepenbrock and W. Merbach. 2005. Influences of water supply and endophyte infection on vegetative and reproductive growth of two *Lolium preenne* L. genotypes. *Europ. J. Agron.* 22: 45-54.
10. Hill, N.S., W.S. Stringer, G.E. Rottinghaus, D.P. Belesky, W.A. Parrott, and D.D. Pope. 1990. Growth, morphological and chemical component responses of tall fescue to *Acremonium coenophialum*. *Crop Sci.* 30: 156-161.
11. Khayyam Nekouei, M. 2001. Germplasm collection and molecular detection of endophytic fungi in Iranian tall fescue. Ph.D Thesis, University of Putra, Malaysia.
12. Latch, G.C.M. 1998. Grass endophytes as a model. *Sydowia* 50(2): 213-228.
13. Malinowski, D. P. and D. P. Belesky. 2000. Adaptation of endophyte infected cool-season grasses to environmental stresses: Mechanisms of drought and mineral stress tolerance. *Crop Sci.* 40: 923-940.
14. Rice, J.S., B.W. Pinkerton, W.C. Stringer and O.J. Undersonter. 1990. Seed production in tall fescue as affected by fungal endophyte. *Crop Sci.* 30 : 1303-1305.
15. Rice, S.J., N.H. Ferguson, B.W. Pinkerton and W.C. Stringer. 1994. Alternation of phenotypic variances by the endophyte of tall fescue. *Crop Sci.* 34: 1487-1489
16. Richardson, M.D., J. Champman, C.S. Hoveland and C.W. Bacon. 1992. Sugar alcohols in endophyte-infected tall fescue. *Crop Sci.* 32: 1060-1061.
17. Saha, D.C., M.A. Janchson and J.M. Johnson-Cicalese. 1988. A rapid staining method for detection of endophyte fungi in turf and forage grass. *Phytopatol.* 78: 273-239.
18. Schardel, C.L. 1996. Epichloe species: Fungal symbionts of grasses. *Annu. Rev. Phytopatol.* 34: 109-130.
19. Siegel, M.C., G.C.M. Latch and M.C. Johnson. 1985. *Acremonium* fungal endophytes of tall fescue and perennial ryegrass: significance and control. *Plant Dis.* 69: 179-183.
20. Sleper, D.A. 1985. Breeding tall fescue. *J. Plant Breed. Rev.* 3: 313-342.