

نقش قارچ های اندوفایت در مقاومت به شوری گیاه چمنی رای گراس چندساله

وحید سروش (۱)، محمدرضا سبزیعلیان (۲)، محمد تقی آساد (۳)، آقافخر میرلوحی (۴)

۱- دانشجوی سابق کارشناسی ارشد اصلاح نباتات و ۲- استادیار اصلاح نباتات دانشکده کشاورزی دانشگاه صنعتی اصفهان ۳- استاد دانشکده

کشاورزی دانشگاه شیراز و ۴- استاد اصلاح نباتات، دانشکده کشاورزی دانشگاه صنعتی اصفهان

پس از کشف قارچ های اندوفایت همزیست در گونه های علفی مانند رای گراس چندساله که جهت تولید علوفه و فضای سبز استفاده می شود، تحقیقات زیادی بر روی تأثیر این قارچ ها بر مقاومت به تنش هایی همچون خشکی و سرما انجام شده است. نتایج نشان داده که قارچ های اندوفایت در مقاومت به این تنش ها نقش بسزایی داشته اند. جهت بررسی نقش قارچ های اندوفایت در مقاومت به شوری در گیاه علوفه ای رای گراس چندساله، دو جمعیت حاوی قارچ های اندوفایت و هم عاری از قارچ اندوفایت با استفاده از قارچ کش آماده گشته و پنجه های جدید از کلونهای فاقد اندوفایت و حاوی اندوفایت به گلدان در گلخانه انتقال داده شدند. پس از تکثیر این کلونها تیمارهای شوری در چهار سطح ۰، ۰/۲۵، ۰/۵ و ۰/۷۵ درصد نمک NaCl در سه تکرار در طرح بلوک کامل تصادفی بر دو جمعیت اعمال شد. پس از حدود ۲ ماه، گیاهان از آزمایش خارج شده و صفات تعداد پنجه، وزن خشک ریشه و ساقه، میزان عناصر سدیم، کلر و پتاسیم در ساقه و ریشه و میزان پرولین گیاه اندازه گیری شد. نتایج نشان داد که گیاهان حاوی اندوفایت میزان سدیم و کلر کمتری را بخصوص در قسمت ریشه خود و همچنین میزان پتاسیم بیشتری را بخصوص در قسمت هوایی خود جذب کردند. این قارچ ها موجب افزایش پرولین در گیاه شدند. صفاتی همچون وزن خشک ریشه و ساقه نیز تحت تأثیر اندوفایت بهبود یافتند. بدین ترتیب بنظر می رسد که قارچ های اندوفایت توانایی القاء مقاومت به شوری در گیاه علفی مهمی همچون رای گراس چندساله را دارند و در آینده نقش مهمی در اصلاح گیاهان بخصوص خانواده گرامینه خواهند داشت.

کلیمات کلیدی: اندوفایت، نئوتایفودیوم، مقاومت، رای گراس، تنش شوری

مقدمه

تنش شوری یکی از مشکلات تولید فرآورده های کشاورزی در بسیاری از نقاط دنیا و به ویژه در مناطق خشک و نیمه خشک است (۱). تخمین زده می شود که بیش از ۲۰٪ زمین های زراعی جهان حاوی سطوحی از شوری هستند که برای ایجاد تنش شوری^۳ بر روی گیاهان کافی می باشند (۲، ۳ و ۴). اندوفایت، یک نوع همزیست اعم از قارچ یا باکتری می باشد که درون یک گیاه، حداقل برای یک دوره از زندگی، بدون برجا گذاشتن علامت بیماری خاصی زندگی می کند (۵). بسیاری از گیاهان علوفه ای و چمنی با ارزش اقتصادی بالا، همانند گیاهان متعلق به جنس رای گراس^۴ حاوی اندوفایت از جنس نئوتایفودیوم^۵ می باشند (۶). گفته می شود قارچ های این جنس می توانند توانائی این گیاهان را برای تحمل تنش های غیر زیستی^۶ همانند خشکی و سرما افزایش دهند (۶). در کشور ما با وجود سطوح زیاد چمن کاری، به استفاده از ارقام مناسب برای هر منطقه کمتر توجه شده است. مسئله شوری یکی از معضلاتی است که خاک و آب بیشتر مناطق کشور درگیر آن هستند. فراهم آوردن خاک و آب مناسب جهت کشت چمن، هزینه زیادی در بر دارد و در نتیجه استفاده از گونه های مقاوم به شوری از راهکارهای مناسب برای مقابله با این مشکل می باشد. رای گراس چندساله و فسکیوی بلند از مهم ترین گونه های کشت شده چمن در ایران هستند. حضور قارچ اندوفایت در این گونه ها و اثرات مثبت آن در مقاومت به تنش های زیستی و غیر زیستی همچون

3- Salt Stress

4 - Lolium

5 - Neotyphodium spp

6 - Abiotic Stresses

سرما، گرما، خشکی، آفات و بیماریها (۶) موجب شده است تا استفاده از این نوع چمن های حاوی اندوفایت در سراسر دنیا روز به روز بیشتر شود. یکی از تنش هایی که کمتر مورد بررسی قرار گرفته است تنش شوری است. به همین دلیل در این آزمایش اثر قارچ اندوفایت در ایجاد مقاومت به شوری در رای گراس چند ساله مورد بررسی قرار گرفت.

مواد و روش ها :

مواد آزمایشی این تحقیق شامل کلون های مختلف رای گراس چندساله ($2n=2x=14$) بودند. این کلون ها شامل گیاهان حاوی قارچ و فاقد قارچ اندوفایت از دو جمعیت رای گراس موجود در بانک گیاهان حاوی اندوفایت دانشگاه صنعتی اصفهان می شدند. کلون های بدون اندوفایت از گیاهان حاوی اندوفایت و با استفاده از روش حذف قارچ با قارچ کش (۷)، عاری از قارچ شدند.

پنجه های جدید رای گراس به گلدانهای پلاستیکی متوسط (15×20)، حاوی خاک سبک لومی منتقل شدند و این کار برای هر یک از دو جمعیت گیاهی و هر حالت (واجد قارچ اندوفایت و فاقد قارچ اندوفایت) در ۳ تکرار انجام گرفت. پس از اطمینان از حذف قارچ های اندوفایت از گیاهان تیمار شده، گلدانها به محیط خارج گلخانه منتقل شدند و در آنجا تیمار های شوری بر آن ها اعمال گردید. میزان شوری در این تحقیق شامل چهار سطح ۰، ۰/۲۵، ۰/۵ و ۰/۷۵ مول کلرید سدیم بر لیتر آب بود. به منظور جلوگیری از وارد آمدن تنش اسمزی بر گیاهان، مقدار نمک تعیین شده به تدریج به گلدان ها اضافه شد. این آزمایش به صورت فاکتوریل $2 \times 2 \times 4$ در قالب طرح بلوک های کامل تصادفی با سه تکرار اجراء گردید. پس از گذشت شش هفته، گیاهان هر گلدان به طور مجزا خارج گشتند و برای ارزیابی صفات شامل تعداد پنجه، وزن خشک بخش هوایی، وزن خشک ریشه، ضریب آلومتری (وزن خشک بخش هوایی به وزن خشک ریشه)، میزان Na^+ و K^+ در ریشه و برگ به طور جداگانه و نیز میزان پرولین در برگها، مورد استفاده قرار گرفتند.

نتایج و بحث :

میزان سدیم در بافتهای ریشه و برگ :

نتایج تجزیه واریانس میزان سدیم در گیاه رای گراس چند ساله نشان داد که مقدار آن در برگ و ریشه تحت تاثیر تیمارشوری و اندوفایت قرار گرفته است. اندوفایت ها باعث کاهش جذب عنصر سدیم در ریشه و متعاقبا میزان در ساقه شدند (جدول ۱). این امر ظاهرا به دلیل وجود مکانیسم های جذب فعال می باشد که توسط اندوفایت القاء می شوند و مانع جذب عناصری همچون سدیم می گردند. در تحقیقات دیگری هم بر روی جذب عناصر سمی همچون مس و آلومینیوم، نقش اندوفایت در کاهش جذب این عناصر به اثبات رسیده است. سبزی علیان و میرلوحی (۷) نیز نتایج کاملا مشابهی را در مورد اثر اندوفایت بر میزان سدیم در برگ و ریشه فسکیوی بلند بدست آوردند.

جدول ۱- مقایسه میزان سدیم در رای گراس چندساله حاوی اندوفایت و بدون اندوفایت

اندوفایت	میزان سدیم در برگ (mg/g)	میزان سدیم در ریشه (mg/g)
E ⁺	40/590 ^b	9/25 ^b
E ⁻	54/731 ^a	12/61 ^a
LSD	5/051	1/21

میزان پتاسیم در بافتهای ریشه و برگ:

تجزیه و تحلیل مقادیر پتاسیم در ریشه و برگ گیاه رای گراس چند ساله نشان داد که اثر اندوفایت تنها بر پتاسیم ریشه معنی دار است. این بدین معنی است که در گیاه رای گراس چندساله، اندوفایت ها در انتقال پتاسیم جذب شده توسط ریشه به برگ،

نقش مؤثری ندارند. این در حالی است که اندوفایت ها در فسکیوی بلند در انتقال پتاسیم جذب شده توسط ریشه به برگ، نقش مؤثری ایفا کردند (۷).

میزان پرولین در برگ گیاه:

گیاهان رای گراس چندساله حاوی اندوفایت با داشتن ۳۳۵/۱۸ میکروگرم پرولین بر گرم برگ تازه مقدار پرولین بیشتری نسبت به گیاهان فاقد اندوفایت داشتند. تجمع پرولین در بافت گیاهی در پاسخ به تنش معمول بوده و با مقاومت به تنش در بسیاری از گیاهان زراعی همبستگی دارد.

تغییرات تعداد پنجه:

تعداد پنجه گیاهان، به عنوان معیاری برای تحمل به تنش شوری و درحالت های حضور اندوفایت و عدم حضور اندوفایت مورد بررسی قرار گرفت. اندوفایت بر تعداد پنجه ها اثر معنی داری نشان داد و گیاهان حاوی اندوفایت به طور متوسط حدود ۱۴ پنجه بیشتر از گیاهان فاقد اندوفایت داشتند.

تغییرات وزن خشک ساقه و وزن خشک ریشه:

قارچ های اندوفایت، باعث افزایش وزن خشک در ریشه و ساقه شد. با توجه به اینکه افزایش وزن خشک ریشه گیاهان حاوی اندوفایت ناشی از توسعه بیشتر و حجم ریشه (و نه چوبی شدن ریشه) بود، این وزن خشک ریشه، جذب آب توسط گیاه را تسهیل می بخشد و به این ترتیب، گیاه به خشکی مقاوم می شود. نتایج این پژوهش نشان داد که قارچ های اندوفایت توانایی سازگاری با گیاه علفی رای گراس چندساله و القاء مقاومت به شوری را دارند و در آینده نقش مهمی در اصلاح گیاهان بخصوص خانواده گرامینه خواهند داشت.

منابع:

- ۱- سبزیعلیان، م. ر.، بررسی مقاومت به شوری القایی توسط اندوفایت در گیاه فسکیوی بلند، پایان نامه کارشناسی ارشد، دانشکده کشاورزی، دانشگاه صنعتی اصفهان، ۱۳۸۱.
- ۲- سرمدنیا، غ، ح و کوچکی، ع، فیزیولوژی گیاهان زراعی، انتشارات دانشگاه مشهد، ۱۳۶۹.
- ۳- شانه چی، م. م.، ۱۳۶۸، تولید و مدیریت گیاهان علوفه ای (مترجم)، انتشارات آستان قدس رضوی، مشهد.
- ۴- محمدی، ر، مقایسه خصوصیات فنوتیپی گیاهان آلوده و عاری از قارچ های اندوفایت فسکیوی بلند و فسکیوی مرتعی، پایان نامه کارشناسی ارشد، دانشکده کشاورزی، دانشگاه صنعتی اصفهان، ۱۳۸۰.
- 5- Amalric, C., H. Sallanon, F. Monnet, A. Hitmi, and A. Coudret. 1999. Gas exchange and chlorophyll fluorescence in symbiotic and non-symbiotic ryegrass under water stress. *Photosynthetica* 37:107–112.
- 6- Bacon. C. W. White, Jr., J. F. Microbial Endophyte, Marcel Dekker, Inc., New York, 2000.
- 7- Sabzalian, M.R. and A.F. Mirlohi. 2010. Neotyphodium endophytes trigger salt resistance in tall and meadow fescues. *J. Plant Nutr. Soil Sci.* 173: 952–957

Role of endophytic fungi on resistance to salinity in perennial ryegrass

Vahid Soroush¹, Mohammad R. Sabzalian², Mohammad T. Assad¹ and Aghafakhr Mirlohi²

1- Department of Agronomy and Plant Breeding, Shiraz University, Shiraz, Iran

2- Department of Agronomy and Plant Breeding, Isfahan University of technology, 84156-83111, Isfahan, Iran

After discovering of endophytic fungi in cool-season grasses used for forage production and in green spaces, a lot of researches have been performed to investigate their effect on resistance to stresses including low temperate and drought. These investigations have shown that endophytic fungi have significant effects on resistance of their host in stress environments. In order to study endophyte role in salt tolerance induction in host plants, two populations of rye grass (*Lolium perenne*) harboring endophytic fungi, were selected and endophytic free clones of them were obtained using fungicide. New tillers from endophyte-free and endophyte-infected of both populations were transferred to plastic pots. After proliferation of these clones, four levels of salt concentrations consisting of 0, 0.25, 0.5 and 0.75 (NaCl percentage) in three replicates and in a randomized complete block design were applied. Salt treatments lasted six weeks and then, plants were removed from the experiment. Root and shoot dry matter, tillers number, Na⁺ and K⁺ concentration in roots and shoots and proline content were measured. Results showed that endophyte decreased Na⁺ concentration and accumulation particularly in roots. On the other hand, endophyte increased potassium (K⁺) absorption especially in aerial parts. Fungi also caused proline increase in plants and root and shoot dry matter was improved with the presence of endophyte. It seems that endophytes can induce resistance to salt in rye grass and they may have an important role in breeding grasses in the future.

Keywords; Endophyte, *Neotyphodium*, Resistance, Ryegrass, Salinity Stress