



The effect of symbiotic endophytic fungi in improving drought tolerance in tall fescue (*Festuca arundinacea* Schreb.)

Reza Mohammadi 

Assoc. Prof., Branch for Northwest & West region, Agricultural Biotechnology Research Institute of Iran (ABRII), Agricultural Research, Education and Extension Organization (AREEO), Tabriz, Iran (IR). Email: r.mohammadi@abrii.ac.ir

Received: 13/11/2024

Revised: 14/12/2024

Accepted: 01/02/2025

Abstract

Background and objectives

Endophytic fungi belong to the genus *Epichloë* (*Neotyphodium*=*Acremonium*), have a symbiotic relationship with many cool-season grasses. More than 100 species from 80 genera of the grass family, including tall fescue (*Festuca arundinacea* Schreb.), are known to be hosts of endophytic fungi. Endophytic fungi as biological agents alter vegetative, morphological and physiological traits of host plants, improve growth and increase their stability against biotic and abiotic stresses. In this research, the role of symbiotic endophyte fungi in increasing the tolerance of tall fescue against drought stress in hydroponic culture was investigated.

Materials and methods

In order to evaluate the role of *Epichloë* endophytic fungi in drought tolerance of tall fescue, the infected plants were identified by rose bengal staining method and microscopic observation. Endophyte-infected plant tillers were divided into two groups; one of which was treated with Fulicur and Propiconazol fungicides. After three months, the new tillers of the plants were examined after ensuring the removal of the endophyte fungus from the treated plants; the new tillers were propagated from endophyte-infected and endophyte-free clones. Then they transferred to Johnson's nutrient solutions with half concentration. Drought stress was applied by adding polyethylene glycol 6000 (PEG-6000) to the nutrient solution. Drought stress treatments included the control treatment with zero osmotic potential and the others with -3, -6 and -8 Bar, osmotic potentials. The factorial experiment was done using a completely randomized design with six replications. The first factor was the presence and absence of endophyte fungi in two levels and the second factor was drought stress in five levels. Data were collected for tiller number, shoot weight, root weight, crown weight, and biomass weight per plant.

Results

The results of variance analysis showed the significant effect of endophyte fungus on all traits except leaf length ($P < 0.01$), as well as the significant effect of drought treatments on all traits



($P < 0.01$). The endophyte fungus by drought stress was significant for root length ($P < 0.05$), aerial fresh weight and crown weight ($P < 0.05$). The result of mean comparison showed that in most of the studied traits, such as tiller numbers and root and crown weight, the endophyte-infected plants had higher mean values than that for endophyte-free plants. The mean comparing between endophyte infected and free fungi plants showed that the number of tillers in endophyte-infected plants was 15.12 and in endophyte-free plants, it was 5.95, which indicates a 3-times increase in the number of tillers in endophyte-infected plants. The mean comparison in different drought treatments showed that the increase in drought stress caused a significant decrease in most traits. For example, the highest tiller number with a value of 17.25 was observed in the control, but it decreased to 8.66 tillers per plant in the -8 Bar treatment. The root weight was strongly affected by drought stress and its value was 14.44 g/plant in the control treatment, and it decreased to 3.80 g/plant in drought stress of the -8 Bar treatment. The result of endophyte fungus by drought stress interaction showed that the difference between treatments was more noticeable in high stresses. For example, the root weight in the endophyte-infected plants has decreased from 5.08 to 2.52 g/plant in endophyte-free plants in -8 Bar drought stress.

Conclusion

The results of this research showed that the native endophytic fungi play an effective role in the improvement of host plant tolerance against drought stress. Therefore, in such conditions of climate change, where drought stress is one of its main problems, the use of symbiotic endophytes of plants could be one of the effective factors in facing climate change.

Keywords: Drought stress, endophytic fungi, root, tall fescue.

تأثیر قارچ‌های اندوفیت همزیست در بهبود تحمل به خشکی در فسکیوی بلند (*Festuca arundinacea* Schreb.)

رضا محمدی 

دانشیار، پژوهشکده بیوتکنولوژی کشاورزی شمال غرب و غرب کشور، پژوهشگاه بیوتکنولوژی کشاورزی، سازمان تحقیقات، آموزش و ترویج کشاورزی، تبریز، ایران
پست الکترونیک: r.mohammadi@abrii.ac.ir

تاریخ پذیرش: ۱۴۰۳/۱۱/۱۳

تاریخ اصلاحات نهایی: ۱۴۰۳/۰۹/۲۴

تاریخ دریافت: ۱۴۰۳/۰۸/۲۱

چکیده

سابقه و هدف

قارچ‌های اندوفیت متعلق به جنس *Epichloë* (*Neotyphodium*=*Acremonium*) با بسیاری از گراس‌های مناطق سرد و معتدل رابطه همزیستی دارند. بیش از ۱۰۰ گونه از ۸۰ جنس از خانواده گراس‌ها از جمله چمن‌هایی مانند فسکیوی بلند (*Festuca arundinacea* Schreb.) به عنوان میزبان قارچ‌های اندوفیت شناخته شده‌اند. قارچ‌های اندوفیت به عنوان یک عامل زیستی باعث افزایش مقاومت گیاهان میزبان در برابر تنش‌های محیطی، آفات و برخی بیماری‌های گیاهی می‌شوند. در این تحقیق نقش قارچ‌های اندوفیت همزیست در افزایش تحمل فسکیوی بلند در برابر تنش خشکی در شرایط کشت هیدروپونیک بررسی شد.

مواد و روش‌ها

برای بررسی نقش قارچ اندوفیت همزیست در افزایش تحمل به خشکی گیاه فسکیوی بلند، گیاهان حاوی قارچ اندوفیت با استفاده از روش رنگ‌آمیزی با رنگ رزبنگال و مشاهده میکروسکوپی شناسایی شدند. پنجه‌های گیاه فسکیوی بلند حاوی قارچ اندوفیت همزیست به دو قسمت تقسیم شده و یک قسمت با استفاده از قارچ‌کش‌های پروبیکونازول و فولیکور عاری از قارچ گردیدند. پس از سه ماه پنجه‌های جدید گیاهان بررسی شدند و پس از اطمینان از حذف کامل قارچ اندوفیت از گیاهان تیمار شده، پنجه‌های جدید از کلون‌های حاوی قارچ اندوفیت و کلون‌های عاری از قارچ به محیط کشت هیدروپونیک حاوی محلول غذایی جانسون با نصف غلظت منتقل شدند. تنش خشکی با افزودن پلی اتیلن گلیکول ۶۰۰۰ (PEG-6000) به محلول غذایی اعمال شد. تیمارهای تنش خشکی شامل تیمار شاهد با ظرفیت اسمزی صفر و سایر تیمارها با ظرفیت‌های اسمزی ۳Bar، ۶Bar، و ۸Bar بودند. آزمایش به صورت فاکتوریل در قالب طرح کاملاً تصادفی در شش تکرار اجرا شد که فاکتور اول وجود و عدم وجود قارچ اندوفیت و فاکتور دوم تنش خشکی در چهار سطح بود. صفات مورد بررسی شامل تعداد پنجه، طول برگ، وزن تر بخش هوایی، وزن تر طوقه، وزن تر ریشه، طول ریشه و وزن تر زیستی در واحد بوته بودند.

نتایج

نتایج تجزیه واریانس داده‌ها نشان داد که اثر قارچ اندوفیت بر روی همه صفات به جز طول برگ در سطح احتمال یک درصد معنی‌دار بود، همچنین اثر تیمارهای خشکی بر روی همه صفات معنی‌دار شد. اثر متقابل قارچ در خشکی برای صفت طول ریشه در سطح احتمال یک درصد و برای وزن تر بخش هوایی و وزن طوقه سطح احتمال پنج درصد معنی‌دار شد. مقایسه میانگین‌ها نشان داد که تعداد پنجه‌ها، وزن ریشه و طوقه، گیاهان حاوی قارچ اندوفیت مقادیر بالاتری نسبت به گیاهان عاری از قارچ داشتند. مقایسه میانگین صفات بین آنها نشان داد که تعداد پنجه در گیاهان حاوی قارچ با ۱۵/۱۲ پنجه در بوته نسبت به گیاهان بدون اندوفیت با ۵/۹۵ پنجه در بوته بیشتر بود که حکایت از افزایش حدود سه برابری تعداد پنجه در گیاهان حاوی قارچ اندوفیت دارد. مقایسه میانگین صفات در تیمارهای مختلف خشکی نشان داد که افزایش تنش خشکی باعث کاهش معنی‌دار بیشتر صفات شده است. برای نمونه، تعداد پنجه‌ها در تیمار شاهد ۱۷/۲۵ است، ولی با افزایش تنش خشکی مقدار آن کاهش یافته و در تیمار ۸Bar به تعداد



۸/۶۶ رسیده است. وزن ریشه به شدت تحت تأثیر تنش خشکی بوده و مقدار آن در تیمار شاهد ۱۴/۴۴ گرم بوده و با افزایش تنش خشکی در تیمار ۸Bar- به مقدار زیادی کاهش یافته و به ۳/۸۰ گرم رسیده است. مقایسه اثر متقابل قارچ اندوفیت در خشکی نشان داد که تفاوت صفات بین گیاهان حاوی و عاری از اندوفیت در تنش‌های بالا، محسوس‌تر است. برای نمونه، وزن تر ریشه در گیاهان حاوی قارچ در تنش خشکی ۸Bar- از ۵/۰۸ به ۲/۵۲ گرم در گیاهان عاری از قارچ کاهش یافته است.

نتیجه‌گیری

نتایج این تحقیق نشان داد که قارچ‌های اندوفیت بومی نقش مؤثری در افزایش تحمل گیاه میزبان در برابر تنش خشکی ایفا می‌کنند. بنابراین در شرایط تغییرات آب و هوایی که تنش خشکی نیز یکی از عواقب اصلی آن است، بهره‌گیری از اندوفیت‌های همزیست گیاهان می‌تواند یکی از عوامل مؤثر در مواجهه با تغییر اقلیم باشد. واژه‌های کلیدی: تنش، خشکی، ریشه، فسکیوی بلند، قارچ اندوفیت.

مقدمه

قارچ‌های اندوفیت متعلق به جنس *Epichloë* با بیشتر اعضای گراس‌های سردسیری رابطه همزیستی دارند. بیش از ۱۰۰ گونه از ۸۰ جنس گراس به عنوان میزبان این قارچ‌ها شناخته شده‌اند، چمن‌های مانند *Festuca*، *Lolium* و *Poa* و *Agrostis* جزء این گراس‌ها هستند ([Roberts et al, 2005](#)). از جمله گونه‌های مهم فسکیوی بلند (*Festuca arundinacea* Schreb. و چچم دائمی (*Lolium perenne* L. به عنوان میزبان قارچ‌های اندوفیت شناخته شده‌اند. قارچ‌های اندوفیت بذرزاد هستند، میسلیوم‌های قارچ با جوانه زدن بذر وارد گیاهچه شده و در داخل غلاف برگ، بافت برگ گیاه جوان و پنجه‌های جدید توسعه می‌یابد (شکل ۱). در نهایت از طریق ساقه گل‌دهنده وارد بذر شده و به نسل بعد منتقل می‌شود ([Malinowski and Belesky, 1994](#); [Bacon and White, 2019](#)). قارچ‌های اندوفیت ویژگی‌های مورفولوژیک و فیزیولوژیک گیاهان میزبان را تغییر داده و باعث بهبود رشد و افزایش پایداری آنها می‌شوند ([Vandana et al, 2024](#); [Mohammadi and Mirlohi, 2003](#)). افزایش مقاومت در برابر حمله آفات، نماتدها و برخی بیماری‌های گیاهی از آثار مهم قارچ‌های اندوفیت است ([Kimmons et al, 1990](#); [Xia et al, 2018](#); [Mohammadi et al, 2024](#)). قارچ‌های اندوفیت به دلیل تولید آلکالوئیدهای مختلف گیاهان میزبان را در برابر آفات مختلف محافظت می‌کنند ([Siegel et al, 1990](#)).

آلکالوئیدهای پایرولیزیدین شامل N- استیل لولین و N- فرمیل لولین، پایرولوپیرازین، ارگوپیتین و پیرامین ترکیباتی هستند که در گیاهان حاوی قارچ‌های اندوفیت تولید شده و باعث بازدارندگی تغذیه حشرات از گیاهان میزبان می‌شوند ([Krauss et al, 2020](#)). تاکنون اثر قارچ‌های اندوفیت دست‌کم روی ۴۰ گونه آفت از شش راسته حشرات به اثبات رسیده است ([Grabka et al, 2022](#); [Hewitt et al, 2021](#)). افزایش مقاومت در برابر تنش‌های محیطی مانند گرما و خشکی یکی دیگر از آثار مهم این قارچ‌ها می‌باشد. مقاومت در برابر تنش خشکی در گیاهان آلوده به قارچ افزایش می‌یابد. بسته شدن سریع روزنه‌ها در صورت مواجه شدن گیاه با خشکی، تعدیل فشار اسمزی، افزایش مقاومت روزنه‌ای، لوله‌ای شدن برگ‌ها، رویش سریع و عمق مؤثر ریشه‌ها از فاکتورهای مهم مقاومت در برابر خشکی در گیاهان حاوی قارچ می‌باشند ([Lee et al, 2021](#); [Malinowski and Belesky, 2000](#)). خشکسالی یکی از نگران‌کننده‌ترین جنبه‌های تغییرات آب و هوایی بوده که به‌طور مستقیم بر بهره‌وری زیست‌بوم‌های طبیعی و زراعی تأثیر می‌گذارد ([Slette et al, 2019](#)).

از سویی، تولید برخی از آلکالوئیدها توسط این قارچ در گیاهان میزبان باعث ایجاد برخی مسمومیت‌ها در دام‌های تغذیه‌کننده از گیاهان حاوی قارچ می‌شود. لولیترم B و ارگوالین از جمله آلکالوئیدهایی هستند که باعث مسمومیت در دام‌ها می‌شوند و از عوامل محدودکننده بهره‌گیری از رابطه

رضوی جمع‌آوری شد. برای شناسایی بذرها و گیاهان حاوی قارچ اندوفیت از روش رنگ‌آمیزی با رنگ رزبنگال ([Saha, et al., 1998](#)) و مشاهده میکروسکوپی استفاده شد (شکل ۱). قارچ اندوفیت همزیست شناسایی شده با نام علمی (*Epichloë coenophiala*, previously known as *Neotyphodium coenophialum*) بود که به‌طور طبیعی با گیاه فسکیوی-بلند رابطه همزیستی دارد. این تحقیق در پژوهشکده بیوتکنولوژی کشاورزی منطقه شمال غرب کشور واقع در تبریز در سال ۱۴۰۰ انجام شد. برای بررسی نقش قارچ اندوفیت همزیست در افزایش تحمل به خشکی گیاه فسکیوی بلند، گیاهان حاوی قارچ اندوفیت از طریق تقسیم پنجه‌ها کلون شدند. تعدادی از کلون‌ها با استفاده از محلول قارچ‌کش شامل پروبیکونازول به مقدار دو میلی-لیتر در لیتر و فولیکور به میزان یک میلی‌لیتر در لیتر، عاری از قارچ گردیدند. تیمار قارچ‌کش شامل اسپری کردن گیاهان دو بار با فاصله یک هفته بود ([Mohammadi et al., 2024](#)). پس از سه ماه پنجه‌های جدید گیاهان مورد بررسی قرار گرفتند و پس از اطمینان از حذف کامل قارچ اندوفیت از گیاهان تیمار شده، پنجه‌های جدید از گیاهان حاوی اندوفیت و بدون اندوفیت انتخاب گردیدند. پنجه‌های تازه از کلون‌های حاوی اندوفیت و کلون‌های عاری از قارچ اندوفیت تکثیر شده و در گلدان‌های مجزا کشت شدند. آزمایش تنش خشکی در شرایط هیدروپونیک انجام شد. در سیستم هیدروپونیک از محلول غذایی جانسون ([Johnson et al., 1957](#)) به صورت نیمه غلظت استفاده شد (جدول ۱). برای اینکه همه تیمارها در هر تکرار در شرایط یکسان اعمال شود، ظروف ۱۷ لیتری به کار برده شدند. کلون‌های حاوی قارچ اندوفیت و عاری از قارچ که در گلخانه و داخل گلدان‌های پلاستیکی تکثیر شده بودند به محیط کشت هیدروپونیک منتقل گردیدند. گیاهان در اندازه‌های مساوی از نظر تعداد پنجه و وزن گیاهچه جدا شده و به ظروف حاوی محلول غذایی انتقال یافتند. هوادهی محلول

همزیستی قارچ و گیاه می‌باشند. با توجه به جنبه‌های مثبت قارچ‌های اندوفیت در رابطه همزیستی با گراس‌ها، حذف آنها از گیاهان آلوده اگرچه باعث کاهش بیماری‌ها در دام‌ها می‌گردد، ولی از سوی دیگر سازش اکولوژیک گیاهان میزبان را به شدت تحت تأثیر قرار می‌دهد و مقاومت گیاه به تنش‌های زیستی و غیر زیستی را می‌کاهد. بنابراین راهبردهای ارائه شده برای استفاده از این رابطه همزیستی شامل مدیریت چرا، انتخاب ایزوله‌های اندوفیت فاقد آلکالوئیدهای مضر برای دام‌ها، از کار انداختن ژن‌های دخیل در مسیرهای بیوسنتز آلکالوئیدهای مضر و انتخاب ترکیب مناسبی از ژنوتیپ‌های قارچ با ژنوتیپ‌های گیاهان میزبان است ([Young et al, 2013](#)). قارچ‌های اندوفیت تنوع زیادی از نظر تولید آلکالوئید دارند و دانشمندان به دنبال سوپه‌ها یا ژنوتیپ‌هایی از قارچ هستند که حاوی آلکالوئیدهای مؤثر بر حشرات بوده ولی آلکالوئیدهای مسموم‌کننده برای دام‌ها را تولید نکنند. تنوع در تولید انواع آلکالوئید توسط قارچ‌های اندوفیت بومی ایران هم مشاهده شده است ([Sobhani Najafabadi, et al, 2010](#)). در حال حاضر سوپه‌هایی از قارچ‌های اندوفایت با عنوان اندوفایت جدید (Novel endophyte) شناسایی شده‌اند که آلکالوئیدهای مسموم‌کننده برای دام‌ها را تولید نمی‌کنند ولی سایر خواص مفید آنها را دارند. همچنین ارقام جدیدی از گیاه فسکیوی بلند که حاوی اندوفایت‌های جدید هستند معرفی شده‌اند ([Nihsen et al, 2004; Gunter et al, 2004](#)). قارچ‌های اندوفیت همزیست با افزایش تحمل گیاهان میزبان در برابر تنش‌های زیستی و غیرزیستی نیازهای مدیریتی را در نگهداری چمن‌ها کاهش داده و باعث کاهش هزینه‌ها و صرفه‌جویی در مصرف آب می‌گردند. در این پژوهش سعی شده نقش قارچ‌های اندوفیت همزیست بومی کشور در افزایش مقاومت چمن فسکیوی بلند که یکی از میزبان‌های مهم این قارچ‌ها می‌باشد در برابر تنش خشکی بررسی شود.

مواد و روش‌ها

بذر گیاه فسکیوی بلند از منطقه فریمان استان خراسان

غذایی به مدت ۳۰ دقیقه در هر دو ساعت به وسیله پمپ منتقل شدند. دمای فیتوترون ۲۵ درجه سانتیگراد، رطوبت هوا انجام شد. ظروف پس از کشت به داخل فیتوترون ۷۰٪ و طول روز ۱۶ ساعت در نظر گرفته شد (شکل ۲).

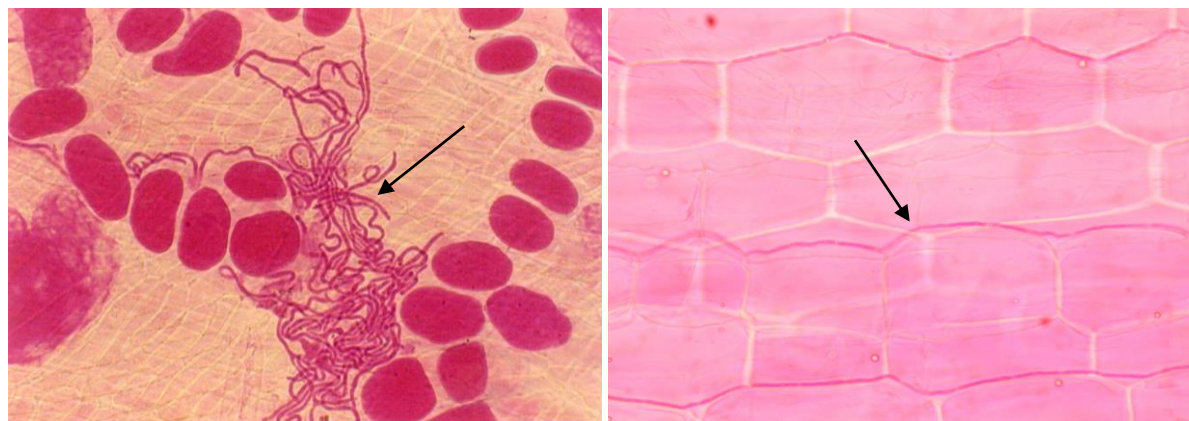
جدول ۱- اجزای مغذی و ریزمغذی محلول غذایی جانسون مورد استفاده در کشت هیدروپونیک

Table 1. Nutrient and micronutrient components of Johnson's nutrient solution used in hydroponic culture

Compounds	Molecular weight (MW)	Concentration of stock solution (M)	Concentration of stock solution (g/l)	Volume of stock Solution (ml)	Element
Major nutrients					
KNO ₃	101.1	1.00	101.1	3.0	N, K
Ca(NO ₃) ₂ 4H ₂ O	236.2	1.00	236.2	2.0	Ca
NH ₄ H ₂ PO ₄	115.1	1.00	115.1	1.0	P
MgSO ₄ +7H ₂ O	246.5	1.00	246.5	0.5	S, Mg
Minor nutrients					
KCl	74.5	50*	3.750	1.0	Cl
H ₃ BO ₃	61.8	25	1.550	1.0	B
MnSO ₄ . H ₂ O	169.0	2.0	0.338	1.0	Mn
ZnSO ₄ + 7H ₂ O	287.5	2.0	0.575	1.0	Zn
CuSO ₄ +5H ₂ O	249.7	0.5	0.125	1.0	Cu
H ₂ MoO ₄	162.0	0.5	0.081	1.0	Mo
Fe-EDTA	346.1	20	6.920	1.0	Fe

*, Micronutrient concentrations are presented in mM (millimolar).

*: غلظت‌های عناصر کم مصرف برحسب mM (میلی مولار) ذکر شده است.



شکل ۱- مشاهده میکروسکوپی میسلیوم‌های قارچ اندوفیت در بذر حاوی قارچ اندوفیت (چپ) و غلاف برگ گیاه حاوی قارچ اندوفیت (راست) فسکیوی بلند با روش رنگ آمیزی رزبنگال

Figure 1. Microscopic observation of endophytic fungus mycelium in endophyte-infected seeds (left) and in the leaf sheath of endophyte-infected plants (right), tall fescue, using the Rose Bengal staining method.



شکل ۲- گیاهان فسکیوی بلند حاوی قارچ اندوفیت و عاری از قارچ اندوفیت در شرایط هیدروپونیک قبل از اعمال تیمارهای تنش خشکی (چپ) و پس از اعمال تیمارهای تنش خشکی (راست)

Figure 2. Endophyte-infected and endophyte-free tall fescue plants under hydroponic conditions before applying drought stress treatments (left) and after applying drought stress treatments (right).

شد. محلول غذایی هر ظرف در هر ۱۵ روز یکبار تجدید گردید. پس از گذشت ۴۵ روز از اعمال تیمارهای خشکی، اندازه‌گیری صفات شروع شد. صفات مورد اندازه‌گیری شامل تعداد پنجه، طول برگ، وزن تر بخش هوایی، طول ریشه، وزن تر ریشه، وزن تر طوقه و وزن تر زیستی (وزن گیاه کامل) بودند. داده‌های به‌دست آمده وارد نرم‌افزار EXCEL شدند. برای تجزیه واریانس و مقایسه میانگین‌ها از نرم‌افزار آماری SAS و برای مقایسه میانگین‌ها از آزمون LSD در سطح احتمال ۵ درصد استفاده شد.

نتایج

نتایج تجزیه واریانس نشان داد که اثر قارچ اندوفیت بر روی همه صفات به‌جز طول برگ در سطح احتمال یک درصد معنی‌دار است، همچنین اثر تیمارهای خشکی بر روی همه صفات معنی‌دار شده است. اثر متقابل قارچ اندوفیت و تنش خشکی برای صفت طول ریشه در سطح احتمال یک درصد و برای وزن تر بخش هوایی و وزن طوقه در سطح احتمال پنج درصد معنی‌دار شد (جدول ۲).

تیمار خشکی

گیاهان حاوی قارچ اندوفیت و عاری از قارچ اندوفیت در شرایط هیدروپونیک و محلول غذایی جانسون کشت شدند، پس از گذشت ۱۰ روز و استقرار کامل گیاهان، تیمارهای خشکی اعمال شد. برای اعمال تیمارهای خشکی از پلی‌اتیلن گلیکول ۶۰۰۰ (PEG-6000) استفاده شد. ظرفیت اسمزی مورد نیاز با استفاده از فرمولاسیون و جدول ارائه شده توسط [Villela و همکاران \(1991\)](#) با در نظر گرفتن دمای محیط ۲۵ درجه سلسیوس و با حل کردن مقدار مورد نیاز پلی‌اتیلن گلیکول در آب مقطر به دست آمد. این تیمارها شامل تیمار شاهد با ظرفیت اسمزی صفر و تیمارهای خشکی با ظرفیت‌های اسمزی ۳Bar-، ۶Bar- و ۸Bar- بودند. ظرفیت‌های اسمزی ۳Bar- با مقدار ۱۵۱/۴۰۲ g/l، ۶Bar- با مقدار ۲۲۳/۶۶۴ g/l و ۸Bar- با مقدار ۲۶۱/۹۴۸ g/l پلی‌اتیلن گلیکول در آب مقطر تهیه شد. برای جلوگیری از وارد آمدن فشار اسمزی شدید به گیاهان مقدار PEG تعیین شده برای هر تیمار به تدریج و در ۴ مرحله به ظروف اضافه گردید. آزمایش به صورت فاکتوریل در قالب طرح کاملاً تصادفی در شش تکرار انجام

جدول ۲- تجزیه واریانس صفات مختلف گیاهان فسکیوی بلند حاوی قارچ و عاری از قارچ اندوفیت در تنش خشکی در شرایط

هیدروپونیک

Table 2: Analysis of variance (ANOVA) of different traits of endophyte-infected and endophyte-free tall fescue plants under drought stress in hydroponic conditions.

Sources	DF	MS						
		Tiller number	Leaf length	Shoot fresh weight	Root length	Root fresh weight	Crown fresh weight	Biomass fresh weight
Endophyte (E)	1	520.08**	1.02 ^{ns}	6.12**	102.08**	65.03**	26.28**	38.39**
Drought (D)	3	188.77**	1118.18**	61.36**	2759.77**	174.27**	14.82**	706.38**
E x D	3	21.91 ^{ns}	113.13 ^{ns}	34.52*	48.75**	8.19 ^{ns}	1.75 *	28.76 ^{ns}
Error	40	10.28	103.08	2.85	10.58	8.5	0.56	21.12
CV %		10.27	25.99	20.67	10.6	28.89	24.59	24.34

*, **, ns: به ترتیب معنی دار در سطح احتمال ۵ درصد، ۱ درصد و غیرمعنی دار.

*, **, and ns significant at the 5%, 1% probability level, and non-significant, respectively.

به دست آمد. وزن تر زیستی در بوته در گیاهان حاوی قارچ اندوفیت ۲۱/۵۴ گرم و در گیاهان عاری از قارچ اندوفیت ۱۶/۲۲ گرم به دست آمد. البته طول ریشه در گیاهان حاوی قارچ اندوفیت نسبت به گیاهان عاری از قارچ ۲ سانتیمتر کمتر شد (جدول ۳). دلیل این موضوع این است که حجم ریشه‌ها در گیاهان عاری از قارچ اندوفیت کمتر است و طول ریشه آنها رشد بیشتری می‌کند. وزن طوقه نیز در گیاهان حاوی قارچ اندوفیت بیشتر شد. طوقه در گراس‌ها به عنوان محل پنجه‌زنی و رشد، بسیار مهم است. بنابراین گیاهان دارای طوقه قوی رشد بهتری خواهند داشت.

مقایسه میانگین صفات مختلف در گیاهان فسکیوی بلند حاوی قارچ و عاری از قارچ اندوفیت نشان داد تعداد پنجه در گیاهان حاوی قارچ اندوفیت ۱۵/۱۲ و در گیاهان عاری از قارچ اندوفیت ۵/۹۵ به دست آمده است که حکایت از افزایش حدود ۳ برابری تعداد پنجه در گیاهان حاوی قارچ اندوفیت نسبت به گیاهان عاری از قارچ دارد. وزن تر بخش هوایی در بوته در گیاهان حاوی قارچ اندوفیت ۹/۰۲ گرم و در گیاهان عاری از قارچ اندوفیت ۷/۳۲ گرم به دست آمد. وزن تر ریشه در بوته در گیاهان حاوی قارچ اندوفیت ۸/۶۶ گرم و در گیاهان عاری از قارچ اندوفیت ۶/۳۳ گرم

جدول ۳- مقایسه میانگین صفات در گیاهان فسکیوی بلند حاوی قارچ و عاری از قارچ اندوفیت در تنش خشکی در شرایط

هیدروپونیک

Table 3-Mean comparison of traits in endophyte-infected and endophyte free tall fescue plants under drought stress in hydroponic conditions

	Tiller number	Leaf Length	Shoot fresh weight	Root Length	Root fresh Weight	Crown fresh Weight	Biomass fresh Weight
Endophyte fungi	per plant	(cm)	(g/plant)	(cm)	(g/plant)	(g/plant)	(g/plant)
Endophyte infected	15.12 ^a	39.20 ^a	9.02 ^a	29.20 ^b	8.66 ^a	3.78 ^a	21.54 ^a
Endophyte free	5.95 ^b	38.91 ^a	7.32 ^b	32.12 ^a	6.33 ^b	2.30 ^b	16.22 ^b
LSD 5%	1.87	5.95	0.99	1.90	1.70	0.43	2.69

میانگین‌های در هر ستون که دارای حروف (غیر) مشترک می‌باشند براساس آزمون LSD در سطح ۵٪ تفاوت معنی‌داری با هم دارند.

Means followed by the same letter in the columns have no significant differences at 5% probability by LSD test.

داد. به‌طوری‌که طول ریشه در تیمار بدون تنش ۵۲/۸۳ سانتی‌متر بوده و با افزایش تنش خشکی با شیب تند کاهش یافته و در تیمار ۸Bar- به اندازه ۱۹ سانتی‌متر رسید. وزن ریشه نیز به شدت تحت تأثیر تنش خشکی بوده و مقدار آن در تیمار بدون تنش ۱۴/۴۴ گرم بوده و با افزایش تنش خشکی در تیمار ۸Bar- به مقدار زیادی کاهش یافته و به ۳/۸۰ گرم رسید. وزن طوقه در شرایط بدون تنش ۴/۵۲ گرم بوده ولی با افزایش تنش خشکی به ۸Bar- با شیب بسیار تندی کاهش یافته و به ۱/۹۵ گرم رسیده است. وزن زیستی نیز از ۲۸/۸۴ گرم در تیمار شاهد به ۱۱/۴۵ گرم در تیمار ۸Bar- رسید.

مقایسه میانگین صفات مختلف در تیمارهای مختلف خشکی نشان داد که افزایش تنش خشکی باعث کاهش معنی‌دار بیشتر صفات شد (جدول ۴). تعداد پنجه‌ها در تیمار شاهد ۱۷/۲۵ پنجه در بوته بود، ولی با افزایش تنش خشکی مقدار آن کاهش یافته و در تیمار ۸Bar- به تعداد ۸/۶۶ رسید. طول برگ در شرایط بدون تنش ۵۲/۳۳ سانتی‌متر بوده ولی با افزایش تنش خشکی به ۸Bar- تا ۳۰/۵۸ سانتی‌متر کاهش یافت. وزن تر بخش هوایی با تنش جزئی ۳Bar- تغییری پیدا نکرده ولی با افزایش سطح تنش مقدار آن نصف شد. همان‌طور که در جدول ۴ نشان داده شده است، تنش خشکی صفات ریشه را بیشتر تحت تأثیر قرار

جدول ۴- مقایسه میانگین صفات در گیاهان فسکیوی بلند در تیمارهای مختلف خشکی در شرایط هیدروپونیک

Table 4. Mean comparison of traits in tall fescue plants under drought stress treatments in hydroponic conditions

Drought stress	Tiller number per plant	Leaf length (cm)	Shoot fresh weight (g/plant)	Root length (cm)	Root fresh weight (g/plant)	Crown fresh weight (g/plant)	Biomass fresh weight (g/plant)
Control	17.25 ^a	52.33 ^a	9.62 ^a	52.83 ^a	14.44 ^a	4.52 ^a	28.84 ^a
-3 Bar	12.33 ^b	39.83 ^b	10.47 ^a	27.33 ^b	6.71 ^b	3.21 ^b	20.65 ^b
-6 Bar	9.08 ^c	33.50 ^{bc}	6.97 ^b	23.50 ^c	5.03 ^{bc}	2.49 ^{bc}	14.54 ^c
-8 Bar	8.66 ^c	30.58 ^c	5.62 ^b	19.00 ^d	80/3 ^c	1.95 ^c	11.45 ^c
LSD 5%	2.65	8.41	1.4	2.69	2.41	0.62	3.8

در هر ستون میانگین‌هایی که دارای حداقل یک حرف مشابه هستند براساس آزمون LSD دارای تفاوت معنی‌دار در سطح احتمال ۵ درصد نیستند.

Means followed by the same letter in the columns have no significant differences at 5% probability by LSD test.

عاری از قارچ در تیمار شاهد تفاوت معنی‌داری نداشتند ولی در تیمار تنش خشکی ۳Bar- تفاوت بین آنها معنی‌دار است. صفت وزن تر ریشه در گیاهان حاوی قارچ و گیاهان عاری از قارچ در تیمار شاهد مساوی و حدود ۱۴ گرم بود، در حالی که در همه تیمارهای تنش خشکی وزن تر ریشه روند کاهشی داشته، با این حال، مقدار کاهش در گیاهان عاری از قارچ شدیدتر بود. برای نمونه، وزن تر ریشه در گیاهان حاوی قارچ در تنش خشکی ۸Bar- از ۵/۰۸ به ۲/۵۲ گرم در گیاهان عاری از قارچ کاهش یافت. در سایر تیمارهای تنش خشکی نیز وزن تر ریشه گیاهان حاوی قارچ

مقایسه میانگین اثرهای متقابل قارچ اندوفیت در خشکی نشان داد که تفاوت صفات بین گیاهان حاوی قارچ و گیاهان عاری از قارچ در تنش‌های بالا، محسوس‌تر است (جدول ۵).

صفت طول برگ و طول ریشه کمتر تحت تأثیر تیمارهای خشکی و قارچ اندوفیت قرار گرفت ولی سایر صفات با تیمارهای تنش خشکی و قارچ اندوفیت تغییرات معنی‌داری را نشان داده‌اند. تعداد پنجه هم در تیمار شاهد و هم در تیمارهای خشکی تحت تأثیر وجود قارچ اندوفیت بود. وزن تر بخش هوایی در گیاهان حاوی قارچ اندوفیت و گیاهان

تر زیستی معنی دار شد. برای نمونه، وزن تر زیستی در تنش خشکی ۳Bar- در گیاهان حاوی قارچ ۲۵/۴۳ گرم بوده ولی در گیاهان عاری از قارچ به ۱۵/۹۳ گرم کاهش یافت. در شکل ۳ گیاه فسکیوی بلند حاوی قارچ اندوفیت و گیاه عاری از قارچ اندوفیت در تیمار خشکی ۸Bar- نشان داده شد. همان طور که در شکل ۳ دیده می شود گیاه حاوی قارچ اندوفیت نسبت به گیاه عاری از قارچ اندوفیت تعداد پنجه و ریشه های بیشتری تولید کرده و کمتر تحت تأثیر تنش خشکی است.

حدود دو برابر وزن ریشه گیاهان عاری از قارچ می باشد. وزن تر طوقه نیز هم در تیمار شاهد و هم در تیمارهای خشکی تحت تأثیر وجود قارچ اندوفیت بود. برای نمونه، وزن تر طوقه در تیمار خشکی ۶Bar- در گیاهان حاوی قارچ ۳/۱۸ گرم در بوته و در گیاهان عاری از قارچ ۱/۷۹ گرم در بوته می باشد. اندازه وزن تر زیستی نیز در گیاهان حاوی قارچ و گیاهان عاری از قارچ در تیمار شاهد تفاوت معنی داری نشان نداد ولی در تیمارهای تنش خشکی تفاوت بین گیاهان حاوی قارچ و گیاهان عاری از قارچ از نظر وزن

Table 5- Mean of endophyte fungi and drought stress interaction effects for different traits of endophyte infected and endophyte free tall fescue plants under hydroponic conditions

Drought stress	Endophyte	Tiller number per plant	Leaf length (cm)	Shoot fresh weight (g/plant)	Root length (cm)	Root fresh weight (g/plant)	Crown fresh weight (g/plant)	Biomass fresh weight (g/plant)
Control	E+	21.83 ^a	56.00 ^a	9.92 ^a	48.50 ^b	14.46 ^a	5.45 ^a	29.96 ^a
	E-	12.66 ^b	48.66 ^b	9.32 ^a	57.16 ^a	14.41 ^a	3.58 ^b	27.73 ^a
3 Bar	E+	16.66 ^a	41.33 ^a	12.36 ^a	26.16 ^a	8.71 ^a	4.32 ^a	25.43 ^a
	E-	8.00 ^b	38.33 ^a	8.58 ^b	28.50 ^a	4.71 ^b	2.11 ^b	15.93 ^b
-6 Bar	E+	11.16 ^a	30.16 ^b	7.70 ^a	22.83 ^a	6.38 ^a	3.18 ^a	17.31 ^a
	E-	7.00 ^b	36.83 ^a	6.24 ^a	24.16 ^a	3.68 ^b	1.79 ^b	11.78 ^b
-8 Bar	E+	10.83 ^a	29.33 ^a	6.09 ^a	19.33 ^a	5.08 ^a	2.18 ^a	13.45 ^a
	E-	6.50 ^b	31.83 ^a	5.14 ^a	18.66 ^a	2.52 ^b	1.72 ^b	9.45 ^b

E⁺ and E⁻, Endophyte infected and Endophyte free plants, respectively.

E⁺ و E⁻: به ترتیب گیاهان حاوی و عاری از قارچ اندوفیت

در هر ستون میانگین هایی که دارای حداقل یک حرف مشابه هستند براساس آزمون LSD دارای تفاوت معنی دار در سطح احتمال ۵ درصد نیستند.

Means followed by the same letter in the columns have no significant differences at 5% probability by LSD test.



شکل ۳- مقایسه گیاه فسکیوی بلند حاوی قارچ اندوفیت (گیاه سمت راست) و گیاه عاری از قارچ اندوفیت (گیاه سمت چپ) در تیمار خشکی -8Bar

Figure 3. Picture of endophyte-infected (right plant) and endophyte free tall fescue plants (left plant) under -8Bar drought stress treatment.

بحث

نتایج این تحقیق نشان داد که قارچ‌های اندوفیت همزیست گیاه فسکیوی بلند نقش مؤثری در بهبود رشد گیاه میزبان دارند، هم در شرایط بدون تنش و هم شرایط تنش خشکی تعداد پنجه‌ها و ریشه‌های گیاه را افزایش می‌دهند. [Mirlohi و Mohammadi \(۲۰۰۳\)](#) با بررسی اثر قارچ اندوفایت بر روی ویژگی‌های زراعی دو گونه فسکیوی بلند (*Festuca arundinacea* Schreb.) و فسکیوی مرتعی (*F. pratensis* Huds.) نشان دادند که گیاهان حاوی قارچ اندوفایت، تعداد پنجه، عملکرد علوفه، وزن ریشه و وزن طوقه بیشتری نسبت به کلون‌های بدون قارچ اندوفیت دارند. همان‌طور که در نتایج نیز نشان داده شد در شرایط تنش خشکی، قارچ‌های اندوفیت همزیست بر روی وزن ریشه‌ها و طوقه گیاه تأثیر بیشتری دارند. به‌طورکلی نتایج این تحقیق نشان داد که قارچ‌های اندوفیت نقش مؤثری در افزایش تحمل گیاه در برابر تنش خشکی ایفا می‌کنند و گیاهان حاوی قارچ اندوفیت در شرایط تنش خشکی رشد بهتری نسبت به گیاهان عاری از قارچ اندوفیت دارند. [Shankar Naik \(۲۰۱۹\)](#) با بررسی نقش قارچ‌های اندوفیت در بهبود رشد گیاهان میزبان بیان کرد که این قارچ‌ها می‌توانند ویژگی‌های

فوتوسی و عملکردی گیاهان را با ارتقاء جذب مواد مغذی و تغییر مسیرهای دفاعی تحت تأثیر قرار دهند. آنها به گیاهان میزبان کمک می‌کنند تا مواد مغذی را به‌طور مؤثرتر جذب کنند و مقاومت در برابر تنش‌های غیرزیستی مانند خشکی، شوری، گرما و سرما را فراهم نمایند. قارچ‌های اندوفیت همزیست نقش مهمی در بهبود عملکرد و رقابت‌پذیری گیاهان در شرایط تنش دارند. آنها می‌توانند نگهداری آب را افزایش داده و سازوکارهای پاسخ به تنش گیاه را بهبود بخشند. برخی اندوفیت‌ها هورمون‌های افزایش رشد مانند اسید ایندول استیک (IAA) تولید می‌کنند که می‌تواند رشد و توسعه گیاه را افزایش دهد. اندوفیت‌ها همچنین در برخی از فرایندهای بیوشیمیایی که باعث تحمل تنش‌های محیطی می‌شوند (مانند تولید اسمولیت‌ها) در تغییر حرکت آب و از بین بردن گونه‌های فعال اکسیژن نقش دارند. [Singh et al. \(2011\)](#)

[Decunta و همکاران \(۲۰۲۱\)](#) در یک مقاله مروری توسعه سیستم ریشه، تنظیم روزه‌ها، تجمع متابولیت‌ها و املاح، افزایش کارایی مصرف آب، افزایش خاصیت ارتجاعی دیواره سلولی و تنظیم فشار اسمزی در گیاهان حاوی قارچ اندوفیت را از سازوکارهای سازگاری و تحمل

فستوکا بلند در برابر تنش‌های مختلف محیطی مانند سرما، خشکی و شوری کمک کنند. این قارچ‌ها همچنین به دلیل تولید آکالوئیدهای مختلف در گیاهان میزبان باعث افزایش مقاومت گیاهان در برابر تنش‌های زیستی می‌شوند. قارچ‌های اندوفیت رشد گیاه را با تولید هورمون‌های گیاهی و متابولیت‌های ثانویه بهبود می‌بخشند. نتایج این تحقیق نشان داد که قارچ‌های اندوفیت بومی نقش مؤثری در افزایش تحمل گیاه میزبان در برابر تنش خشکی ایفا می‌کنند. بنابراین در شرایط تغییرات آب و هوایی در کشور ایران که تنش خشکی نیز یکی از عواقب اصلی آن است، بهره‌گیری از اندوفیت‌های همزیست گیاهان می‌تواند یکی از عوامل مؤثر در مواجهه با تغییر اقلیمی باشد و به پایداری تولید گرامینه‌های مرتعی کمک نماید.

تنش خشکی ذکر کردند که همه این سازوکارها توسط قارچ‌های اندوفیت همزیست در گیاهان میزبان تقویت می‌شود. در شرایط تغییرات آب و هوایی که تنش خشکی نیز یکی از عواقب اصلی آن است، بهره‌گیری از اندوفیت‌های همزیست گیاهان می‌تواند یکی از عوامل مؤثر در مواجهه با تغییرات اقلیمی باشد (Decunta et al, 2021). بنابراین می‌توان بیان کرد که قارچ‌های اندوفیت بومی نیز به عنوان یک عامل زیستی مهم در بهبود تحمل تنش‌های زیستی و غیرزیستی در کشت و کار چمن‌ها مطرح می‌باشند و ما ملزم به استفاده از این پدیده طبیعی در افزایش کارایی و پایداری چمن‌ها هستیم.

نتیجه‌گیری

قارچ‌های اندوفیت می‌توانند به افزایش تحمل گیاه

References

- Bacon, C. W. and White, Jr., J. F. 1994. Biotechnology of endophytic fungi of grasses, CRC Press. 226 Pages.
- Decunta, F.A., Pérez, L.I., Malinowski, D.P., Molina-Montenegro, M.A., Gundel, P.E. 2021. A systematic review on the effects of *Epichloë* fungal endophytes on drought tolerance in cool-season grasses. Front Plant Sci. 12:644731. doi: 10.3389/fpls.2021.644731.
- Grabka, R., d'Entremont, T. W., Adams, S. J., Walker, A. K., Tanney, J. B., Abbasi, P. A., and Ali, S. 2022. Fungal endophytes and their role in agricultural plant protection against pests and pathogens. Plants, 11(3): 384. doi.org/10.3390/plants11030384.
- Gunter, S.A., Beck, P.A. 2004. Novel endophyte-infected tall fescue for growing beef cattle. Journal of Animal Science, 82:75-82. doi: 10.2527/2004.8213_supplE75x.
- Johnson, C.M., Stout, P. R., Broyer, T. C., and Carlton, A. B. 1957. Comparative Chlorine requirements of different plant species. Plant and Soil. 8: 337-353.
- Hewitt, K.G., Popay, A.J., Hofmann, R.W., Caradus, J.R. 2021. *Epichloë*—a lifeline for temperate grasses under combined drought and insect pressure. Grass Research 1:7. doi.org/10.48130/GR-2021-0007.
- Kimmons, C. A., Gwinn, K. D., and Bernard, E. C. 1990. Nematode reproduction on endophyte-infected and endophyte-free tall fescue. Plant Dis. 74: 757-761.
- Krauss, J., Vikuk, V., Young, C.A., Kriskche, M., Mueller, M.J., Baerenfaller, K. 2020. *Epichloë* endophyte infection rates and alkaloid content in commercially available grass seed mixtures in Europe. Microorganisms, 8: 498. doi.org/10.3390/microorganisms8040498.
- Lee, K., Missaoui, A., Mahmud, K., Presley, H., Lonnee, M. 2021. Interaction between grasses and *Epichloë* endophytes and its significance to biotic and abiotic stress tolerance and the rhizosphere. Microorganisms, 9(11): 2186. doi.org/10.3390/microorganisms9112186.
- Malinowski, D. P. and Belesky, D. P. 2000. Adaptation of endophyte-infected cool-season grasses to environmental stresses: mechanisms of drought and mineral stress tolerance. Crop Science, 40: 923- 940.
- Malinowski, D. P., and Belesky, D. P. 2019. *Epichloë* (formerly *Neotyphodium*) fungal endophytes increase adaptation of cool-season perennial grasses to environmental stresses. Acta Agrobotanica, 72(2). doi.org/10.9734/ijpss/2024/v36i74770.
- Mohammadi, R., and A. F. Mirlohi. 2003. Influence of endophytic fungi on improvement of phenotypic characteristics in Iranian tall fescue (*Festuca arundinacea* Schreb.) and meadow fescue (*Festuca*

- pratensis* Huds.). Journal of Science and Technology of Agriculture and Natural Resources, 7(2): 205-213.
- Mohammadi, R., Nami, Y. Tajaddod, S. 2024. Biological pest control potential of symbiotic fungal endophytes of cool-season grasses. Crop Protection. doi.org/10.1016/j.cropro.2024.106751
 - Nihsen, M.E., Piper, E.L., West, C.P., Crawford, R.J., Denard, T.M., Johnson, Z.B., Roberts, C.A., Spiers, D.E. and Rosenkrans Jr, C.F. 2004. Growth rate and physiology of steers grazing tall fescue inoculated with novel endophytes. Journal of Animal Science, 82: 878–883.
 - Roberts, C., West, C., and onald Spiers, D. 2005. *Neotyphodium* in Cool-Season Grasses. Blackwell Publishing. USA. Pp: 400.
 - Saha, D. C., Jackson, M. A. and Johnson- Cicalese, J. M. 1998. A rapid staining method for detection of endophytic fungi in turf and forage grasses, Phytopathology, 78: 237- 239.
 - Shankar Naik, B. 2019. Functional roles of fungal endophytes in host fitness during stress conditions. Symbiosis, 79(2): 99-115.
 - Singh, L. P., Gill, S. S., and Tuteja, N. 2011. Unraveling the role of fungal symbionts in plant abiotic stress tolerance. Plant Signaling and Behavior, 6(2): 175–191. doi.org/10.4161/psb.6.2.14146.
 - Siegel, M.R., Latch, G.C.M., Bush, L.P., Fannin, F.F., Rowan, D.D., Tapper, B.A., Bacon, C.W., Johnson, M.C. 1990. Fungal endophyte-infected grasses: Alkaloid accumulation and aphid response. Journal of Chemical Ecology. 16: 3301-3316.
 - Slette, I.J., Post, A.K., Awad, M., Even, T., Punzalan, A., Williams, S., Smith, M.D., Knapp, A.K. 2019. How ecologists define drought, and why we should do better. Global Chang Biology, 25(10):3193-3200. Doi: 10.1111/gcb.14747.
 - Sobhani Najafabadi, A., Mofid, M. R., Mohammadi, R. and Moghim, S. 2010. Quantification of ergovaline using HPLC and mass spectrometry in Iranian *Neotyphodium* infected tall fescue. Research in Pharmaceutical Sciences, 5(2): 135–143.
 - Vandana, P., Kumari, A., Kumari, K. and Puzari, K.R. 2024. Endophytes: An Insight into Plant's Hidden Treasure. International Journal of Plant & Soil Science, 36(7):589–609. doi.org/10.9734/ijpss/2024/v36i74770.
 - Villela, F. A., Doni filho, L., Siqueira, E. L. 1991. Table of osmotic potential as a function of polyethylene glycol 6000 concentration and temperature. Brazilian Agricultural Research, Brasília. 26 (11-12):1957-1968.
 - Xia, C., Li, N., Zhang, Y., Li, C., Zhang, X., Nan, Z. 2018. Role of *Epichloë* endophytes in defense responses of cool-season grasses to pathogens: A review. Plant disease. 102 (11): 2061-2073.
 - Young, C. A., Hume, D. E., and McCulley, R. L. 2013. Forages and pastures symposium: Fungal endophytes of tall fescue and perennial ryegrass: Pasture friend or foe? Journal of Animal Science, 91(5): 2379–2394. doi:10.2527/jas.2012-5951.