بررسی تاثیر تنش نیکل و همزیستی اندوفایت نئوتیفودیوم بر برخی شاخص‌های رشد و جذب نیکل در گیاه *Lolium perenne*

مریم صالحی[1]، لیلا شبانی[1]، محمد رضا سبزعلیان[2]، مجید شریفی تهرانی[1]

[1]گروه زیست شناسی، دانشکده علوم، دانشگاه شهرکرد، شهرکرد، [2]گروه زراعت و اصلاح نباتات، دانشکده کشاورزی، دانشگاه صنعتی اصفهان، اصفهان ٨٣١١١-٨٤١٥٦

(تاریخ دریافت: ١٣٩٢/٠٤/٣٠، تاریخ پذیرش نهایی: ١٣٩٢/١٠/٠٧)

چکیده:

گیاه چچم چند ساله یا *Lolium perenne* با گروه مهمی از اندوفایت‌ها، قارچ‌هایی از جنس *Neotyphodium* رابطه همزیستی دارد. اعطای خصوصیات مطلوب زراعی و افزایش مقاومت به تنش‌های محیطی از آثار مهم همزیستی قارچ‌های اندوفایت برای گیاهان میزبان است، که در پی تغییرات مورفولوژیک و فیزیولوژیک در گیاه حاصل می‌شوند. در این پژوهش تأثیر نیکل و همزیستی اندوفایت بر برخی شاخص های رشد و جذب نیکل در دو جمعیت از گیاه لولیوم مورد بررسی قرار گرفت. برای این منظور دو جمعیت از این گیاه با و بدون قارچ اندوفایت (E^+ ،E^-) مورد استفاده قرار گرفتند. ٣ ماه بعد از اعمال تیمار (به صورت ٠، ٣٠، ٩٠ و ١٨٠ میلی گرم نیکل در هر کیلوگرم خاک) شاخص های رشد شامل وزن تر، خشک و طول ریشه و اندام هوایی، تعداد پنجه و میزان جذب نیکل در ریشه و اندام هوایی در هر گلدان اندازه‌گیری شد. پس از ٣ ماه از تیمار گیاهان، کاهش معنی‌دار در زیست توده ریشه و اندام هوایی در گیاهان با و بدون اندوفایت در تیمار ١٨٠ مشاهده شد و آلودگی به اندوفایت زیست توده گیاهان را کاهش داد. اگرچه، عفونت اندوفایت به‌طور معنی‌داری توانایی پنجه‌زنی را در هر دو جمعیت رای‌گراس بهبود بخشید. میزان جذب نیکل در ریشه و اندام هوایی در هر دو جمعیت همراه با افزایش نیکل در خاک افزایش معنی دار نشان داد. حضور اندوفایت در هر دو جمعیت لولیوم عامل مهمی در کاهش جذب نیکل ریشه به منظور کاهش اثرات منفی این عنصر در گیاه شد. همچنین می توان جمعیت اول را به سبب تولید پنجه بیشتر و جذب بیشتر نیکل در اندام هوایی جمعیت مناسبتری به جهت کشت در شرایط تنش معرفی کرد.

واژه های کلیدی: اندوفایت، رای گراس، نئوتیفودیوم، نیکل

مقدمه:

گیاه *Lolium perenne* یا چچم چندساله متعلق به قبیله Poeae، زیرخانواده Pooideae (Festucoideae) از خانواده غلات (Poaceae) است (Tsvelev, 1989). این گیاه از جنبه تولید علوفه در مناطق معتدله در سراسر جهان ارزش اقتصادی دارد و از نظر چرا و علوفه انباری، ایجاد چراگاه و مرتع خوبی می‌کند. این گیاه می‌تواند با گروه مهمی از اندوفایت‌ها، قارچ‌هایی از جنس *Neotyphodium* (*Acremonium*) و مشتق شده از خانواده Clavicipitaceae (Ascomycetes) رابطه همزیستی داشته باشد (Christensen *et al.*, 1977). قارچ‌های اندوفایت

*نویسنده مسؤل، نشانی پست الکترونیکی: lshabani@gmail.com

[Downloaded from jispp.iut.ac.ir on 2024-04-20]

[DOR: 20.1001.1.23222727.1394.4.13.1.3]

موجود در علف های چمنی و یا علوفه‌ای، تمام چرخه‌ی زندگی خود را داخل گیاه میزبان می‌گذرانند و ضمن داشتن رابطه همزیستی، هیچ گونه علائم بیماری‌زا در میزبان ایجاد نمی‌کنند (Bacon *et al.*, 1997). اعطای خصوصیات مطلوب زراعی و افزایش مقاومت به تنش‌های محیطی از آثار مهم قارچ‌های اندوفایت برای گیاهان میزبان می‌باشد، که در پی تغییرات مورفولوژیک و فیزیولوژیک در گیاه حاصل می‌شوند. اندوفایت‌ها تأثیر قابل ملاحظه‌ای در افزایش سطح برگ و ریشه، مقاومت در برابر شرایط نامساعد محیطی نظیر خشکی، شوری، تغییرات pH خاک و سمیت عناصر دارند (Marks and Clay, 1996; Eerens *et al.*, 1998; Malinowski and Belesky, 2000; Ren *et al.*, 2006).

برخی یون‌های فلزات سنگین، همچون نیکل (Ni^{2+}) نقش مهمی در برخی فعالیت‌های متابولیکی در گیاهان دارند، ولی افزایش غلظت‌های سلولی آنها، برای تمامی سلول‌های زنده (چه گیاهی و چه جانوری) خطرناک و سمی است. از طرفی غلظت‌های زیاد این فلزات (بیشتر از حد آستانه) باعث ایجاد مشکلاتی در بروز برخی صفات و شاخص‌های گیاهان می‌شود (Malik *et al.*, 2003).

در زمینه تأثیر اندوفایت در مقاومت به فلزات سنگین گزارشات اندکی وجود دارد. سلیمانی و همکاران (۱۳۸۸) گزارش کردند که گیاهان دارای قارچ های اندوفایت نسبت به گیاهان بدون اندوفایت توانایی بیشتری در جذب کادمیوم از خاک و تجمع آن در ریشه و اندام هوایی نشان دادند. افزایش مقاومت گراس به آلومینیوم (Malinowski *et al.*, 1999)، آرسنیک (سلیمانی و همکاران، ۱۳۸۸) و همچنین کادمیوم (Soleimani *et al.*, 2010) در نتیجه همزیستی با اندوفایت گزارش شده است.

پژوهش‌های اولیه در زمینه استفاده از قارچ‌های اندوفایت همزیست با گیاهان در زمینه آلودگی، به سمیت آلومینیوم برمی‌گردد. نتایج این پژوهش‌ها نشان داده است که همزیستی قارچ‌های اندوفایت *N. coenophialum* با گیاه فسکیوی بلند منجر به افزایش تحمل گیاه به سمیت آلومینیوم در خاک می‌گردد. یکی از دلایل این امر، کلات شدن آلومینیوم با ترکیب‌های فنولی آزاد شده از ریشه و تثبیت آلومینیوم در سطوح ریشه و یا فضاهای آزاد و جلوگیری از حرکت آن به اندام هوایی گیاه عنوان شده است (Malinowski *et al.*, 1998). همچنین پژوهش صورت گرفته در این زمینه توسط Ren و همکاران (۲۰۰٦) در زمینه تأثیر کادمیوم بر رشد گیاهان حاوی اندوفایت، بیانگر افزایش پنجه‌زنی و کاهش طول برگ‌های گیاهان حاوی اندوفایت بوده است. با این اوصاف، بر اثر همزیستی قارچ‌های اندوفایت، خصوصیات فنوتیپی باارزشی در گیاهان میزبان ایجاد شده که بهره‌گیری از آنها در تولید گیاهان مقاوم به تنش دستاوردی جدید در اصلاح نباتات محسوب می‌گردد. در این پژوهش تأثیر این قارچ ها بر خصوصیات فنوتیپی گیاه لولیوم تحت تنش نیکل مورد بررسی قرار گرفت.

مواد و روش‌ها:

در این پژوهش دو جمعیت از گونه گیاهی *Lolium perenne* که بومی ایران بوده و از مناطق شمالی و غربی ایران جمع آوری شده بودند با و بدون قارچ اندوفایت (E^+، E^-) *Neotyphodium lolii* مورد استفاده قرار گرفتند. حذف قارچ‌های اندوفایت از گیاهان E^+ و ایجاد گیاهان E^- از آنها قبلا" با استفاده از دو قارچ کش فولیکور و پروپیکونازول صورت گرفته بود (Sabzalian and Mirlohi, 2010). پنجه‌های این گیاهان از مزرعه چاه اناری واقع در دانشگاه صنعتی اصفهان به گلخانه‌های پژوهشی دانشکده کشاورزی شهرکرد انتقال داده شد. گیاهان به مدت ٦ ماه در محیط گلخانه رشد و تکثیر یافتند. قبل از کشت گیاهچه‌ها، اطمینان از حضور یا عدم حضور قارچ‌های اندوفایت در هر پنجه به روش ساها و همکاران و با روش رنگ آمیزی غلاف برگ با رز بنگال بررسی گردید (Saha *et al.*, 1988).

تیمارهای نیکل: پس از رشد کافی گیاهان، تعداد ۱۰ پنجه از گیاه مادری جدا شده و به گلدان های پلاستیکی (۳ کیلویی) حاوی خاک و شن به نسبت ۳ به ۱ و آلوده به ٤ سطح کنترل، ۳۰، ۹۰ و ۱۸۰ میلی گرم بر کیلوگرم نیکل انتقال داده شد.

[Downloaded from jispp.iut.ac.ir on 2024-04-20]

[DOR: 20.1001.1.23222727.1394.4.13.1.3]

پنجه‌های جدید هر گیاه با در نظر گرفتن اندازه و تعداد برگ یکسان و طول ریشه تقریباً برابر برای کشت اصلی از گیاه مادر انتخاب شدند. برای تهیه این غلظت ها مقدار مورد نیاز از ماده $NiCl_2 \cdot 6H_2O$ در هر کیلوگرم خاک (متناسب با وزن گلدان) محاسبه گردید و سپس مقدار بدست آمده در آب مقطر حل شد. محلول بدست آمده به خاک اسپری گردید و پس از خشک شدن خاک، برای کشت گیاهان مورد استفاده قرار گرفت (قبل از کشت، با استفاده از روش هضم اسیدی و دستگاه طیف سنج جذب اتمی (GBC 932 AB PLUS) از غلظت نیکل خاک اطمینان حاصل شد).

۳ ماه بعد از اعمال تیمار، در هر گلدان، وزن تر و خشک بخش هوایی (علوفه) به صورت زیر اندازه‌گیری شد: ابتدا گیاهچه ها با آب مقطر شسته شده و رطوبت اضافی آنها با کاغذ صافی گرفته شد. وزن تر ریشه و اندام هوایی گیاهان پس از قطع ریشه‌ها از محل طوقه بر حسب گرم اندازه‌گیری شد. برای محاسبه وزن خشک، هر یک از نمونه‌ها، بعد از قرار گرفتن در پاکت‌های کاغذی، به مدت ٤٨ ساعت در آون ٦٥ درجه سانتی گراد خشک و سپس بر حسب گرم توزین گردیدند. همچنین متوسط طول اندام هوایی از محل طوقه تا نوک برگ‌ها و طول ریشه‌ها نیز از محل طوقه تا نوک ریشه در هر گلدان توسط خط‌کش بر حسب سانتی‌متر اندازه‌گیری شد. شمارش پنجه‌ها نیز در هر گلدان به طور جداگانه انجام گرفت.

برای اندازه‌گیری مقدار نیکل موجود در گیاهچه های تیمار شده از روش Reeves و همکاران (۱۹۹٦) استفاده گردید. مقدار عنصر نیکل توسط دستگاه طیف‌سنج جذب اتمی آنالیز گردید و سپس برای به دست آوردن میزان جذب، غلظت نیکل در ریشه و اندام هوایی در میزان وزن خشک این بافت ها ضرب شد.

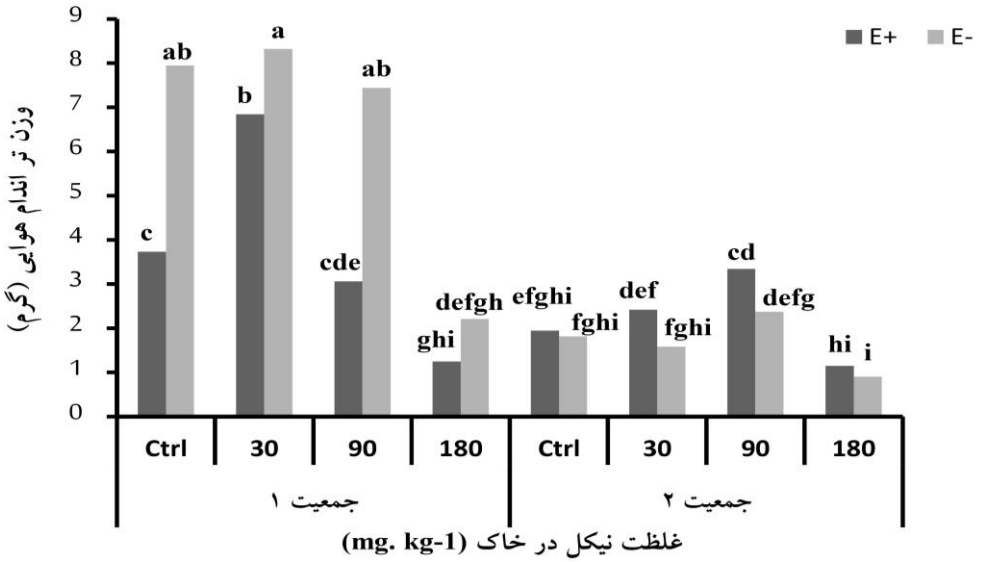
تجزیه و تحلیل آماری: این آزمایش به صورت فاکتوریل در قالب طرح کاملا" تصادفی در ۳ تکرار اجرا گردید. در این حالت ۲ جمعیت (جمعیت ۱ وجمعیت ۲)، دو حالت قارچ (با و بدون اندوفایت) و ٤ غلظت نیکل (کنترل، ۳۰، ۹۰ و ۱۸۰) به عنوان فاکتورها در نظر گرفته شد. تجزیه و تحلیل آماری با استفاده از نرم افزار SAS و MSTATC انجام گرفت.

نتایج:

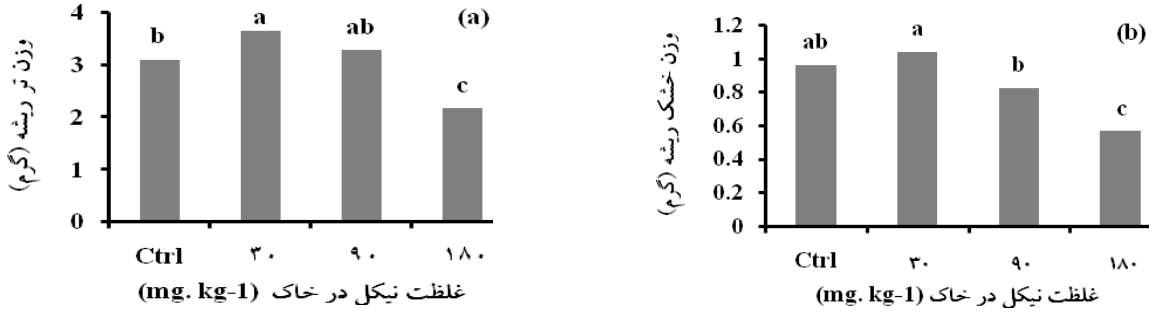
جدول ۱ نتایج حاصل از تجزیه واریانس شاخص های وزن تر و خشک ریشه و اندام هوایی، طول ریشه و اندام هوایی و جذب نیکل ریشه و اندام هوایی را در گیاه لولیوم نشان می‌دهد. در جمعیت اول لولیوم شاخص های وزن تر اندام هوایی (شکل ۱)، وزن تر و خشک ریشه (شکل ۲)، طول اندام هوایی (شکل ۳) و تعداد پنجه (شکل ٤) در تیمار ۱۸۰ میلی گرم بر کیلوگرم نیکل و همچنین شاخص وزن خشک اندام هوایی (شکل ۵) در دو تیمار ۹۰ و ۱۸۰ میلی گرم بر کیلوگرم نیکل نسبت به شاهد کاهش معنی دار ($p<۰/۰۵$) نشان دادند. در جمعیت دوم تیمار نیکل در غلظت ۱۸۰ میلی گرم بر کیلوگرم نیز باعث کاهش شاخص های وزن تر و خشک اندام هوایی، وزن تر و خشک ریشه، طول اندام هوایی و تعداد پنجه شد. نتایج همچنین نشان داد که آلودگی با اندوفایت تأثیر مثبتی بر وزن تر اندام هوایی لولیوم ندارد چرا که در جمعیت اول آلودگی با اندوفایت به طور معنی داری ($p<۰/۰۵$) سبب کاهش وزن تر اندام هوایی در شرایط کنترل و تنش گردید، و در جمعیت دوم نیز تفاوت معنی‌داری بین وزن تر گیاهان با و بدون اندوفایت مشاهده نشد (شکل ۱). وزن خشک اندام هوایی در جمعیت اول در گیاهان فاقد اندوفایت (در شرایط کنترل و تیمارهای ۳۰ و ۹۰ میلی گرم بر کیلوگرم نیکل) و در جمعیت دوم در گیاهان حاوی اندوفایت (در تیمار ۳۰ و ۹۰ میلی گرم بر کیلوگرم نیکل) بیشتر بود (شکل ۵). همچنین نتایج (جدول ۱) نشان داد که وزن تر و خشک ریشه در دو جمعیت تفاوت معنی‌داری نداشتند و حضور و عدم حضور اندوفایت نیز وزن تر و خشک ریشه را به طور معنی‌داری تحت تأثیر قرار نداد. طول اندام هوایی در جمعیت اول لولیوم (در تمام غلظت های نیکل به جز تیمار ۱۸۰ میلی گرم بر کیلوگرم) در گیاهان فاقد اندوفایت به طور معنی داری ($p<۰/۰۵$) بیشتر از گیاهان حاوی اندوفایت بود اما در جمعیت دوم، اندام هوایی گیاهان حاوی اندوفایت (در شرایط کنترل و

[Downloaded from jispp.iut.ac.ir on 2024-04-20]

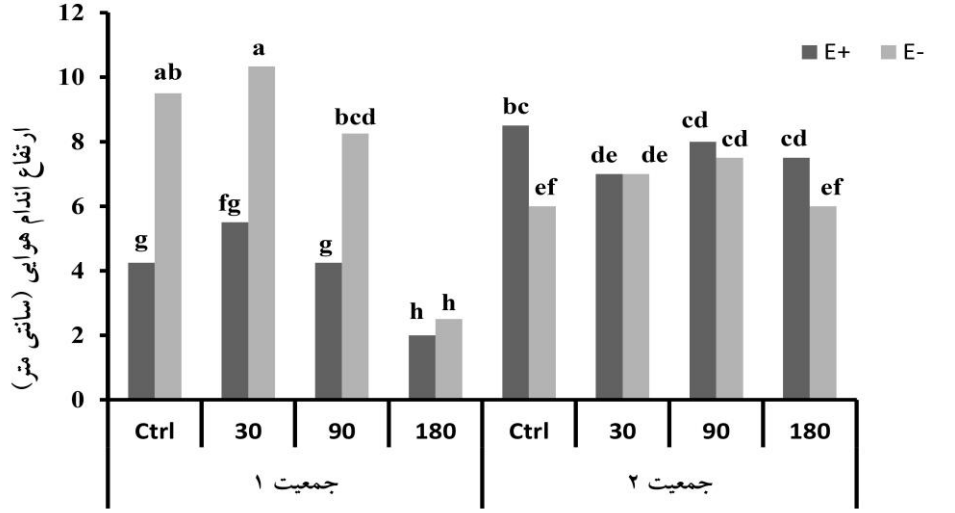
[DOR: 20.1001.1.23222727.1394.4.13.1.3]



شکل ۱- برهمکنش نیکل، قارچ و جمعیت بر وزن تر اندام هوایی در گیاهچه‌های لولیوم. مقادیر، میانگینی از ۳ تکرار هستند. حروف غیر مشابه نشان‌دهنده اختلاف معنی‌دار در سطح احتمال ۵ درصد بین تیمارها می‌باشد.



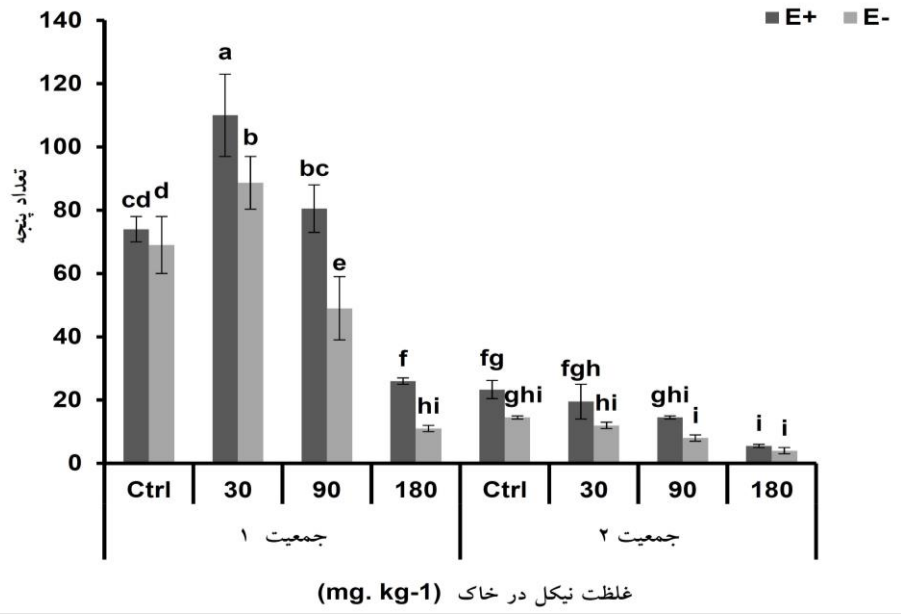
شکل ۲- مقایسه میانگین شاخص وزن تر (a) و خشک (b) ریشه در سطوح مختلف تیمار نیکل در گیاهچه‌های لولیوم. حروف غیر مشابه نشان‌دهنده اختلاف معنی‌دار در سطح احتمال ۵ درصد بین تیمارها می‌باشد.



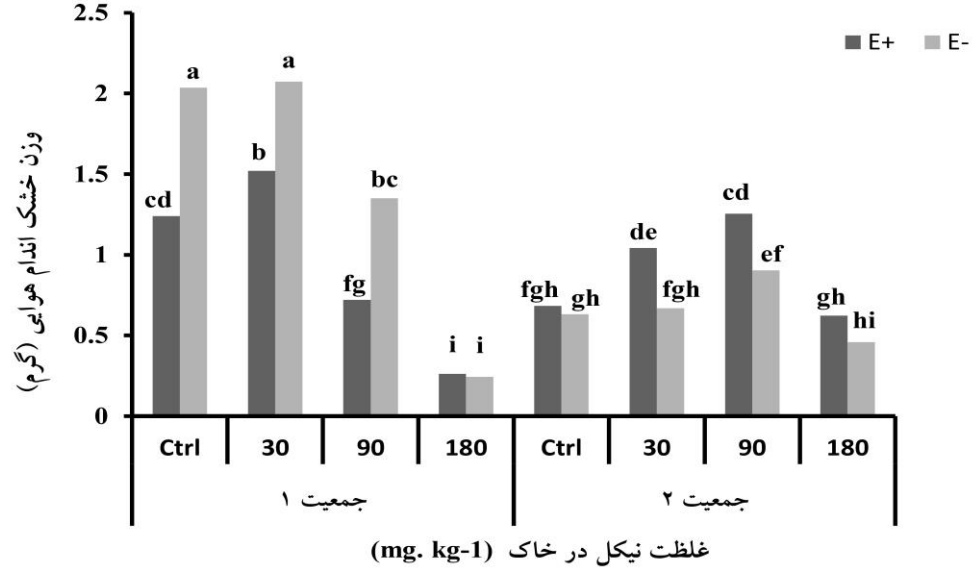
شکل ۳- برهمکنش نیکل، قارچ و جمعیت بر ارتفاع اندام هوایی در گیاهچه‌های لولیوم. مقادیر، میانگینی از ۳ تکرار هستند. حروف غیر مشابه نشان‌دهنده اختلاف معنی‌دار در سطح احتمال ۵ درصد بین تیمارها می‌باشد.

[Downloaded from jispp.iut.ac.ir on 2024-04-20]

[DOR: 20.1001.1.23222727.1394.4.13.1.3]



شکل ٤- برهمکنش نیکل، قارچ و جمعیت بر تعداد پنجه در گیاهچه‌های لولیوم. مقادیر، میانگینی از ۳ تکرار هستند. حروف غیر مشابه نشان‌دهنده اختلاف معنی‌دار در سطح احتمال ۵ درصد بین تیمارها می‌باشد.

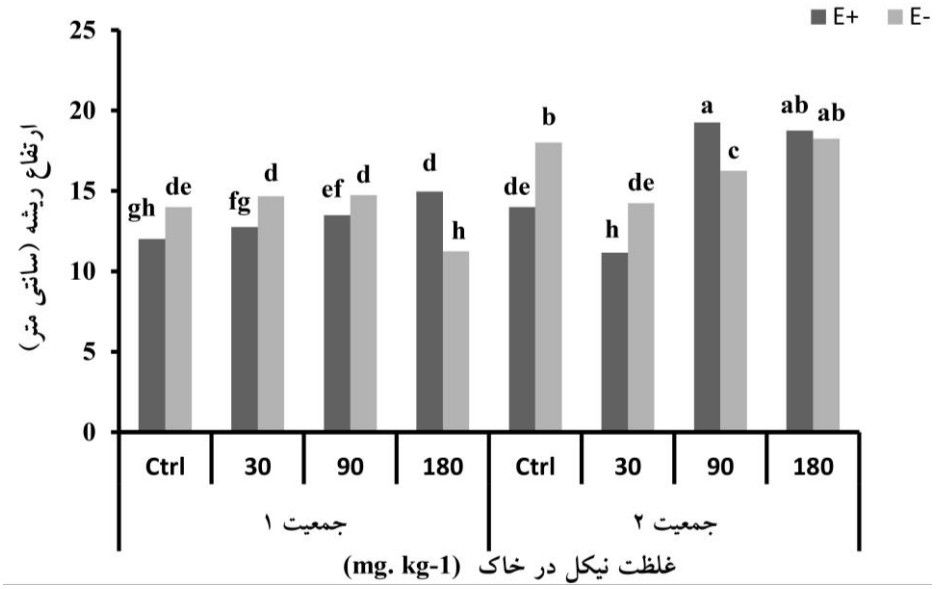


شکل ۵- برهمکنش نیکل، قارچ و جمعیت بر وزن خشک اندام هوایی در گیاهچه های لولیوم. مقادیر، میانگینی از ۳ تکرار هستند. حروف غیر مشابه نشان‌دهنده اختلاف معنی‌دار در سطح احتمال ۵ درصد بین تیمارها می‌باشد.

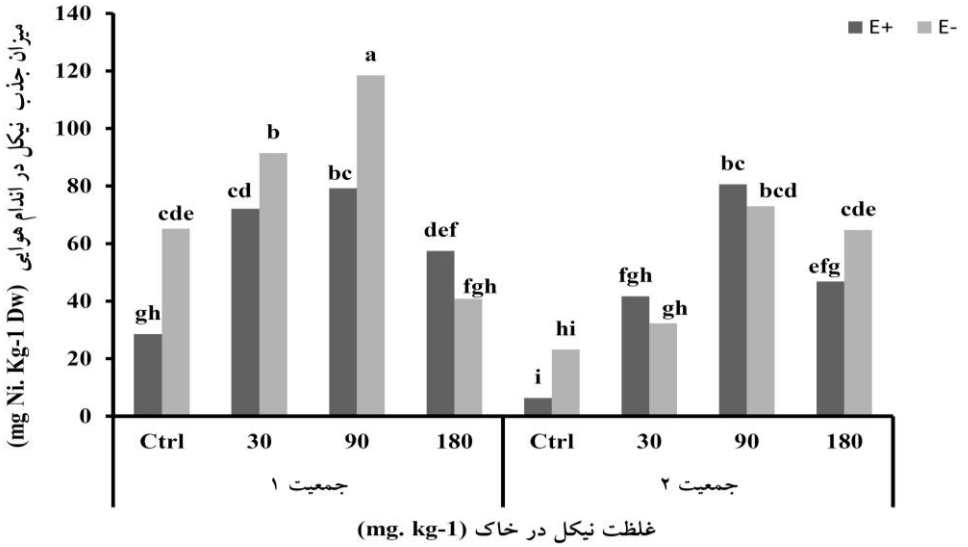
تیمار ۱۸۰ میلی گرم بر کیلوگرم) طول بیشتری داشتند (شکل ۳). همچنین نتایج نشان داد که گیاهان فاقد اندوفایت نسبت به گیاهان دارای اندوفایت طول ریشه بیشتری را در جمعیت اول دارا بودند (شکل ٦). تعداد پنجه در جمعیت اول و در هر دو گیاه حاوی و بدون اندوفایت، بیشتر از جمعیت دوم بود. در هر دو جمعیت، گیاهان دارای اندوفایت تعداد پنجه بیشتری نسبت به گیاهان فاقد اندوفایت داشتند (شکل ٤).

نتایج این پژوهش نشان داد که میزان جذب نیکل در ریشه و اندام هوایی در هر دو جمعیت همراه با افزایش غلظت نیکل در بستر خاکی به طور معنی داری افزایش یافت (شکل ۷ و۸). جذب نیکل ریشه در هر دو جمعیت لولیوم در گیاهان فاقد اندوفایت بویژه در غلظت ۱۸۰ میلی گرم بر کیلوگرم بیشتر از

[Downloaded from jispp.iut.ac.ir on 2024-04-20]
[DOR: 20.1001.1.23222727.1394.4.13.1.3]



شکل ٦- برهمکنش نیکل، قارچ و جمعیت بر ارتفاع ریشه در گیاهچه‌های لولیوم. مقادیر، میانگینی از ۳ تکرار هستند. حروف غیر مشابه نشان‌دهنده اختلاف معنی‌دار در سطح احتمال ۵ درصد بین تیمارها می‌باشد.



شکل ۷- برهمکنش نیکل، قارچ و جمعیت بر جذب نیکل اندام هوایی در گیاهچه های لولیوم. مقادیر، میانگینی از ۳ تکرار هستند. حروف غیر مشابه نشان‌دهنده اختلاف معنی‌دار در سطح احتمال ۵ درصد بین تیمارها می‌باشد.

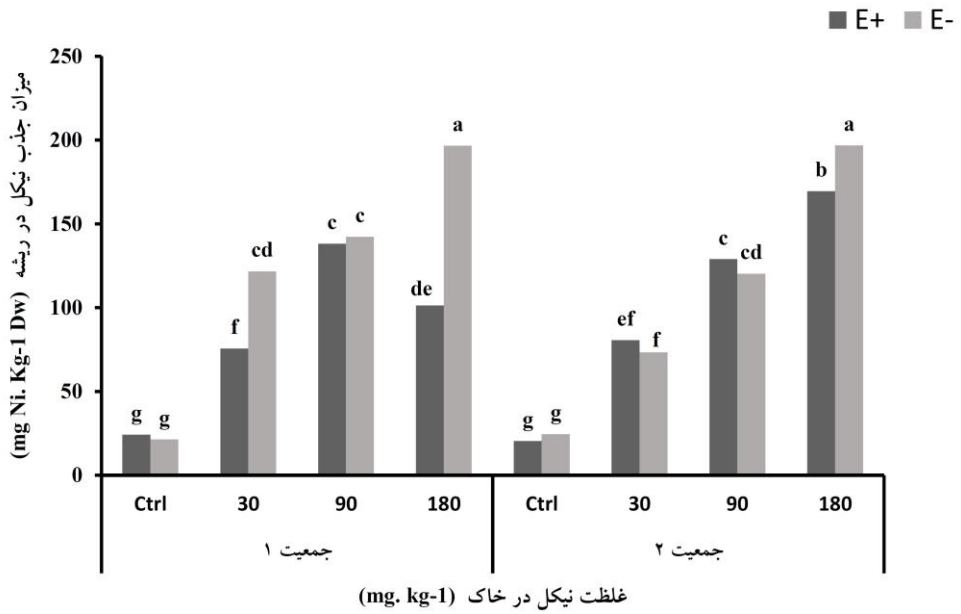
گیاهان دارای اندوفایت بود. جذب نیکل در اندام هوایی جمعیت اول، در گیاهان فاقد اندوفایت به طور معنی‌داری ($p<۰/۰۵$) بیشتر از گیاهان حاوی اندوفایت بود. در جمعیت دوم اندوفایت تاثیر معنی داری بر جذب نیکل اندام هوایی نداشت. میزان جذب نیکل در اندام هوایی به طور معنی داری ($p<۰/۰۵$) در جمعیت اول بیشتر از جمعیت دوم بود.

بحث:

نیکل از عناصر ضروری گیاه بوده و در ردیف اول فلزات واسطه با ویژگی فیزیکی و شیمیایی مناسب جهت انجام فعالیت های زیستی است (Phipps, 1976). نیکل همچنین به عنوان جزء مهمی از تعدادی از آنزیم ها شامل گلی اکسالاز، پپتید دفرمیلاز، متیل کوآنزیم-ام ردوکتاز و دهیدروژناز شناخته

[Downloaded from jispp.iut.ac.ir on 2024-04-20]

[DOR: 20.1001.1.23222727.1394.4.13.1.3]



شکل ۸- برهمکنش نیکل، قارچ و جمعیت بر جذب نیکل ریشه در گیاهچه های لولیوم. مقادیر، میانگینی از ۳ تکرار هستند. حروف غیر مشابه نشان‌دهنده اختلاف معنی‌دار در سطح احتمال ۵ درصد بین تیمارها می‌باشد.

می‌شود و بنابراین نقش مهمی در فرایندهای مهم و گوناگون متابولیکی مانند تجزیه اوره و متابولیسم هیدروژن ایفا می کند (Chen, 2009). با این وجود غلظت های زیاد این عنصر (بالاتر از حد آستانه) سبب ایجاد علایم سمیت در گیاهان می گردد (Malik *et al.*, 2003). با توجه به نتایج ذکر شده مبنی بر تاثیر افزایش غلظت نیکل بر شاخص های رشدی به نظر می رسد برای گیاهان فوق حد آستانه ای سمیت نیکل غلظت ۹۰ (میلی گرم بر کیلوگرم) نیکل می باشد.

وزن تر و خشک ریشه در گیاهچه‌های لولیوم نیز در تیمار ۱۸۰ (میلی گرم بر کیلوگرم) به طور معنی داری کاهش نشان داد. تنش فلزات سنگین از جمله عوامل محدودکننده رشد ریشه است که بعنوان عامل کاهش دهنده وزن تر و خشک ریشه محسوب می‌گردد (Vitoria *et al.*, 2005). Gajewska و همکاران (۲۰۰۶) نشان دادند که نیکل باعث ممانعت معنی دار در رشد ریشه گندم شد که توسط کاهش در وزن تر و طول ریشه آشکار گردید. کاهش فعالیت میتوزی به دنبال تیمار نیکل در ذرت (L'Huillier *et al.*, 1996) و نخود فرنگی (Gabbrielli *et al.*, 1999) گزارش شده است. کاهش فعالیت میتوزی توسط نیکل ممکن است با اثر ممانعتی این فلز بر همانند سازی DNA مرتبط باشد (Christie and Tummolo, 1989). همچنین گزارش ها نشان می دهد غلظت‌های سمی نیکل از طریق تغییر در ساختار غشای سلول‌های ریشه و کاهش سطوح جذب‌کننده آب، منجر به کاهش پتانسیل آب گیاه شده که تأثیر منفی بر فرآیندهای فیزیولوژیکی نظیر تعرق، تنفس، فتوسنتز و در نهایت کاهش رشد گیاه را به دنبال داشته است (Fuentes *et al.*, 2006). از سوی دیگر یکی از علت‌های مهم آسیب بافتی در گیاهانی که در معرض فلزات سنگین قرار می‌گیرند، ایجاد تنش اکسیداتیو است. رادیکال‌های اکسیژن عمدتاً در کلروپلاست و میتوکندری تولید می‌شوند و ایجاد آسیب‌های اکسیداتیو بر چربی‌ها، پروتئین‌ها و نوکلئیک اسیدها، سبب اختلال در متابولیسم طبیعی سلول، اختلال در فرآیندهای مهم تنفس و فتوسنتز و کاهش رشد می‌شود (Mishra *et al.*, 2006). در این پژوهش با توجه به اینکه وزن تر و خشک ریشه در غلظت‌های بالای نیکل کاهش یافته است و از طرفی در این غلظت‌ها طول ریشه افزایش یافت، بنابراین احتمالاً از ضخامت ریشه‌ها در این تیمارها کاسته شده است. Malinowski و همکاران (۱۹۹۹) نشان دادند که آلودگی اندوفایت طول ریشه مویی را افزایش و ضخامت ریشه را در

[Downloaded from jispp.iut.ac.ir on 2024-04-20]
[DOR: 20.1001.1.23222727.1394.4.13.1.3]

گیاهچه‌های فستوکای بلند کاهش داد. این خصوصیت می‌تواند ناحیه سطح ریشه را برای کسب آب و مواد غذایی افزایش دهد. همچنین به نظر می‌رسد در تیمار ۳۰ (میلی گرم بر کیلوگرم) نیکل، گیاه افزایش طول ریشه را کم کرده و انرژی مورد نیاز برای رشد را صرف افزایش پنجه‌زنی کرده است.

طبق نتایج بدست آمده در این پژوهش، گیاهان فاقد اندوفایت وزن تر و خشک ریشه و اندام هوایی بیشتری در مقایسه با گیاهان دارای اندوفایت داشتند. مشابه با همین نتایج کاهش تولید ماده خشک تحت تنش آلومینیوم هم در گیاهان دارای اندوفایت مشاهده شده است (Malinowski and Belesky, 2000). همچنین کاهش شاخص های رشد گیاه *L. perenne* در حضور اندوفایت توسط Cheplick و همکاران (۲۰۰۰) و Eerens و همکاران (۱۹۹۸) گزارش شده است. آنها پیشنهاد کردند که قارچ اندوفایت ممکن است هزینه متابولیکی برای میزبان تحت برخی شرایط محیطی داشته باشد، چرا که قارچ های اندوفایت از نظر تامین انرژی کاملا به گیاه میزبان متکی هستند (Hill *et al.*, 1990). همانگونه که اشاره شد، در جمعیت دوم وزن تر و خشک اندام هوایی در گیاهان دارای اندوفایت بیشتر بود. هورمون‌های گیاهی ایندول استیک‌اسید و آبسیزیک اسید به‌وسیله قارچ اندوفایت نئوتایفودیوم‌کوئنوفیالوم در فسکیوی بلند ساخته شده و باعث افزایش قدرت پنجه‌دهی و رویشی گیاه میزبان می‌شوند (Latch, 1999). دلایل متعددی برای نحوه‌ی تأثیر قارچ‌های اندوفایت بر ویژگی‌های فنوتیپی گیاه میزبان ارائه شده است. Fabien و همکاران (۲۰۰۱) مشاهده کردند که آلودگی به قارچ اندوفایت می‌تواند تعداد پنجه را تحت تأثیر قرار دهد که نشان‌دهنده افزایش تحمل به روی در چچم چند ساله است. همچنین مشاهده شده است، در شرایط تنش کادمیوم، حضور اندوفایت، توانایی پنجه‌زنی گیاه را افزایش و طول برگ را کاهش می‌دهد (Ren *et al.*, 2006). توانایی پنجه‌زنی بالاتر برای توسعه و گسترش میزبان و همچنین انتشار اندوفایت مخصوصاً تحت شرایط تنش مفید است و فعالیت فتوسنتزی بالاتر ممکن است به ایجاد زیست توده بالاتر کمک کند. بهبود پنجه‌زنی و تولید علوفه در ژنوتیپ‌های رای گراس چند ساله به دلیل عفونت اندوفایت توسط Latch و همکاران (۱۹۸۵) نیز گزارش شد. هورمون‌های گیاهی ایندول استیک اسید و آبسزیک اسید به وسیله قارچ نئوتیفودیوم کوئنوفیالوم (*N. coenophialum*) در فستوکای بلند سنتز شده و باعث افزایش قدرت پنجه‌زنی و رویش گیاه میزبان می‌شوند (Battista *et al.*, 1990). با توجه به تفاوت شاخص‌های رشد در دو جمعیت و همچنین بین گیاهان با و بدون اندوفایت، تأثیر ژنوتیپ میزبان بر میزان فعالیت اندوفایت قابل تأمل است. به‌طوریکه طبق گزارش Eston (۲۰۰۷) برخی از ژنوتیپ‌ها حجم بیشتری از میسلیوم قارچ را در خود جای می‌دهند و در نتیجه حاوی میزان آلکالوئیدهای بیشتری بوده و تأثیرپذیری آنها از این رابطه همزیستی به مراتب بیشتر می‌باشد.

همانگونه که اشاره شد میزان جذب نیکل در ریشه و اندام هوایی همراه با افزایش میزان نیکل خاک افزایش یافت. گیاهان به منظور از بین بردن سمیت فلزات سنگین یا ثابت نگه داشتن سطوح فلزات ضروری در دامنه‌های فیزیولوژیکی، مکانیزم‌های پیچیده‌ای را درگیر می‌کنند که کنترل جذب و تجمع و سم‌زدایی فلزات را انجام می‌دهند. در کل، تجمع یک فلز در گیاه عملکردی از ظرفیت جذب و جایگاه‌های باند شونده‌ی داخل سلولی است. (Clemens, 2001). در این رابطه اخیراً نقش احتمالی هیستیدین در ترشحات ریشه به عنوان یک عامل کلات کننده نیکل بحث شده است (Salt *et al.*, 2000). نتایج همچنین نشان داد در حضور اندوفایت به طور معنی داری میزان جذب نیکل در ریشه و اندام هوایی کاهش یافت. برخی محققان بیان کرده اند، قارچ نئوتیفودیوم به طور غیر مستقیم جذب عناصر غذایی را از طریق ارسال نشانه‌های شیمیایی به محیط ریشه یا تغییر روابط منبع- مصرف در گیاهان متأثر می‌نماید. تغییر شیمیایی در محیط ریزوسفر در فستوکای بلند دارای اندوفایت به اثبات رسیده است (Belesky and Fedders, 1995). Malinowski و Belesky (۲۰۰۰) گزارش کردند که Cu ممکن است درون یا روی ریشه ها در برخی برهمکنش‌های فستوکای بلند-اندوفایت غیرفعال شود و انتقال

[Downloaded from jispp.iut.ac.ir on 2024-04-20]

[DOR: 20.1001.1.23222727.1394.4.13.1.3]

این مواد به ساقه‌ها تحت تأثیر واقع شود.

کمتر بودن میزان نیکل در اندام هوایی گیاهان دارای اندوفایت نسبت به گیاهان فاقد اندوفایت در جمعیت اول، بیانگر انتقال کمتر نیکل از ریشه به اندام هوایی در گیاهان دارای اندوفایت است که می‌تواند به عنوان یک مکانیسم دفاعی مهم تلقی شود، زیرا علاوه بر اینکه بخش‌های هوایی گیاه محل فتوسنتز است، تحمل اندام هوایی گیاه به فلزات سنگین نسبت به ریشه کمتر است (Chodhury and Panda, 2004). احتمالا نیکل درون سلول‌های ریشه و یا در سطح سلول‌های ریشه غیر فعال می‌شود. پی بردن به مکانیسم این عمل نیاز به تحقیقات بیشتری دارد. به نظر می رسد در گیاهچه های لولیوم حضور اندوفایت عامل مهمی در کاهش جذب نیکل به منظور کاهش اثرات منفی این عنصر در گیاه باشد. با این حال افزایش نیکل در گیاهان با و بدون اندوفایت در هر دو جمعیت همانگونه که اشاره شد در ایجاد تغییرات مورفولوژیکی به خصوص در غلظت های بالای نیکل نقش مهمی دارد. می‌توان گفت جمعیت اول به دلیل تولید تعداد پنجه بیشتر و همچنین جذب بیشتر نیکل در اندام هوایی نسبت به جمعیت دوم از اهمیت بیشتری برخوردار است به دلیل اینکه این دو مزیت در شرایط تنش باعث گسترش گیاه و کاهش آلودگی خاک به نیکل می‌گردد. احتمالا تفاوت رفتاری دو جمعیت به کار رفته در این تحقیق را می توان به تفاوت ژنوتیپی گیاهان میزبان و نژادهای قارچ اندوفایت و تفاوت در اثر متقابل گیاه–اندوفایت نسبت داد.

تشکر و قدردانی:

این پروژه با حمایت معاونت پژوهشی دانشگاه شهرکرد انجام شده است، که بدین وسیله قدردانی می گردد.

منابع:

سلیمانی علی آبادی. م. (۱۳۸۸) تأثیر قارچ های اندوفایت بر گیاه پالایی کادمیوم، آرسنیک و مواد نفتی. پایان نامه دکترای تخصصی، دانشگاه صنعتی اصفهان، اصفهان.

Bacon, C. W., Poter, J. K., Robbins, J. D. and Luttrell, E. S. (1997) *Epichloe typhina* from toxic fescue grasses. Applied and Environmental Microbiology 34: 576-581.

Battista, J. P. D., Bouton, J. H., Bacon, C. W. and Siegel, M. R. (1990) Rhizome and herbage production of endophyte removed tall fescue clones and populations. Agronomy Journal 82: 651–654.

Belesky, D. E. and Fedders, J. M. (1995) Tall fescue development in response to *Acremonium coenophialum* and soil acidity. Crop Science 35: 529-533.

Chen C., Huang D. and Liu J. (2009) Functions and toxicity of nickel in plants: Recent advances and future prospects. Clean 37: 304-313.

Cheplick, G. P., Perera, A. and Koulouris, K. (2000) Effect of drought periodically flooded and dry site behaved differently on the growth of *Lolium perenne* genotypes with and without fungal function. Ecology 14: 657–667.

Chodhury, S. and Panda S. K. (2004) Role of salicylic acid in regulating cadmium induced oxidative stress in *Oriza sativa* L. roots. Bulgarin Journal of Plant Physiology 30: 95-110.

Christensen, M. J., Leuchtmann, A., Rowan, D. D. and Tapper, B. A. (1977) Taxonomy of *Acermonium* endophytes of tall fescue (*Festuca arundinacea*), meadow fescue (*F. prantensis*) and perennial ryegrass (*Lolium perenne*). Mycological Research 97: 1083-1092.

Christie, N. and Tummolo, D. (1989) The effect of Ni(II) on DNA replication. Biological Trace Element Research 21: 3–12.

Clemens, S. (2001) Molecular mechanisms of plant metal homeostasis and tolerance. Planta 212: 475-486.

Eerens, J. P. J., Lucas, R. J., Easton, H. S. and White, J. G. H. (1998) Influence of the ryegrass endophyte (*Neotyphodium lolii*) on morphology, physiology, and alkaloid synthesis of perennial ryegrass during high temperature and water stress. New Zealand Journal of Agricultural Research 41: 219–226.

Eston, H. S. (2007) Grass and *Neotyphodium* endophytes Co-adaption and adaptive breeding. Euphytica 154: 295-306.

Fabien, M., Nathalle, V., Adnan, H., Alain, C. and Huguette, S. (2001) Endophytic *Neotyphodium lolii* induced tolerance to Zn stress in *Lolium perenne*. Plant Physiology 113: 557–563.

Fuentes, D., Disante, K. B., Valdecantos, A., Cortina, J. and Vallejo, V. R. (2006) Response of *Pinus halepensis Mill*. seedlings to biosolids enriched with Cu, Ni and Zn in three Mediterranean forest soils. Environmental Pollution 145: 316-323.

Gabbrielli, R., Pandolfini, T., Espen, L. and Palandri,

[Downloaded from jispp.iut.ac.ir on 2024-04-20]

[DOR: 20.1001.1.23222727.1394.4.13.1.3]

Crop Science, 183: 53–60.
Marks, S. and Clay, K. (1996) Physiological responses of *Fescue arundinaceae* to fungal endophyte infection. New Phytologist 133: 727-733.
Mishra, S., Srivastava, S., Tripathi, R. D., Govindarajan, R., Kuriakose, S. V. and Parasad, M. N. V. (2006) Phytochelatin synthesis and response of antioxidant during cadmium stress in *Bacopa monnieri* L. Plant Physiology and Biochemistry 44: 25-37.
Phipps, D. A. (1976) Metals and Metabolism. Clarendon Press, Oxford.
Reeves, R. D., Baker, A. J. M., Borhidi, A. and Berezain, R. (1996) Nickel-accumulating plants from the ancient serpentine soils of Cuba. New Phytologist 133: 217-224.
Ren, A., Yubao, G., Zhang, L. and Fengxing, X. (2006) Effects of cadmium on growth parameters of endophyte-infected and endophyte-free ryegrass. Journal of Plant Nutrition and Soil Science 169: 857-860.
Sabzalian, M. R. and Mirlohi, A. (2010) *Neotyphodium* endophytes trigger salt resistance in tall and meadow fescues. Journal of Plant Nnutrition and Soil Science 173: 952–957.
Saha, D. C., Jackson, M. A. and Johnson-Cicalese, J. M. (1988) A rapid staining method for detection of endophytic fungi in turf and forage grasses. Phytophatology 78: 237–239.
Salt, D., Kato, N., Kramer U., Smith, R. and Raskin, I. (2000) The role of root exudates in nickel hyperaccumulation and tolerance in accumulator and nonaccumulator species of *Thlaspi*. CRC, Boca Raton: 189–200.
Soleimani, M., Hajabbasi, M. A., Afyunia, M., Mirlohi, A., Borggaard, O. K. and
Holm, P. E. (2010) Effect of endophytic fungi on cadmium tolerance and bioaccumulation by *Festuca arundinacea* and *Festuca pratensis*. International Journal of Phytoremediation 12:535–549.
Tsvelev, N. N. (1989) The system of grasses and their evolution. Botanical Review 55: 141-204.
Vitoria, A. P., Cunha, M. D. and Azevedo, R. A. (2005) Ultra structural changes of radish leaf exposed to cadmium. Environmental and Experimental Botany 58: 47-52.
M. (1999) Growth, peroxidase activity and cytological modifications in *Pisum sativum* seedlings exposed to Ni^{2+} toxicity. Journal of Plant Physiology 155: 639–645.
Gajewska, E., Słaba, M., Andrzejewska, R. and Sklodowska, M. (2006) Nickel-induced inhibition of wheat root growth is related to H_2O_2 production, but not to lipid peroxidation. Plant Growth Regulation 49: 95–103.
Hill, N. S., Stringer, W. C., Rottinghaus, G. E., Belesky, D. P., Parrot, W. A. and Pope, D. D. (1990) Growth , morfological and chemical component responses of tall fescue to *Acremonium coenophialum*. Crop Science 30: 156-161.
L'huillier, L., D'auzac, J., Durand, M. and Michaud-Ferrie`Re, N. (1996) Nickel effects on two maize (*Zea mays*) cultivars: growth, structure, Ni concentration, and localization. Canadian Journal of Botany 74: 1547–1554.
Latch, G. C. M., Hunt, W. F. and Musgrave, D. R. (1985) Endophytic fungi affect growth of perennial ryegrass. New Zealand Journal of Agricultural Research 28: 165-168.
Latch G. C. M. (1999) Neotyphodium-grass interactions and their economic importance. Proceeding of international symposium of mycotoxicology 99 mycotoxin contamination: Health risk and prevention project. Chiba. Japan.
Malik, R. S., Kala, R., Gupta, S. P. and Dahiya, S. S. (2003) Background level of micronutrients and heavy metals in sewage-irrigated soils and crops in Haryana. Indian Journal of Agricultural Sciences 74: 156-158.
Malinowski, D. P., Alloush, G. A. and Belesky, D. P. (1998) Evidence for chemical changes on the root surface of tall fescue in response to infection with the fungal endophyte *Neotyphodium coenophialum*. Plant Soil 205: 1–12.
Malinowski, D. P. and Belesky, D. P. (2000) Adaptations of endophyte-infected cool-season grasses to environmental stresses: mechanisms of drought and mineral stress tolerance. Crop Science, 40:923-940.
Malinowski, D. P., Brauer, D. K. and Belesky, D. P. (1999) *Neotyphodium coenophialum*-endophyte affects root morphology of tall fescue grown under phosphorus deficiency. Journal of Agronomy and

[Downloaded from jispp.iut.ac.ir on 2024-04-20]
[DOR: 20.1001.1.23222727.1394.4.13.1.3]