

بِسْمِ اللَّهِ الرَّحْمَنِ الرَّحِيمِ

٥٦٨١١١



دانشگاه شیراز

مدیریت تحصیلات تکمیلی

دانشکده کشاورزی

پایان نامه جهت اخذ درجه کارشناسی ارشد در رشته بیوتکنولوژی کشاورزی

## مطالعه آلکالوئیدهای تولید شده در رابطه همزیستی قارچ‌های

### اندوفایت با فسکیوی بلند

استادان راهنما:

دکتر محمود سلوکی

دکتر محمد رضا مفید

استادان مشاور:

مهندس عباسعلی امام جمعه

مهندس رضا محمدی

تهیه و تدوین:

احمد سبحانی نجف آبادی

بهمن ۸۷

۱۱۱۵۹۵

انجمن هیات‌مدته دانشکده کشاورزی  
تأیید شد

۱۳۸۸ / ۲ / ۲۵

تاریخ: ۱۸/۱۲/۸۷  
شماره: ۸۰۱  
پیوست:

وزارت علوم، تحقیقات و فناوری



دانشکده کشاورزی - گروه زراعت

این پایان نامه با عنوان: " مطالعه/آلکالوئیدهای تولید شده در رابطه همزیستی قارچ های اندوفایت با فسکیوی بلند" قسمتی از برنامه آموزشی دوره کارشناسی ارشد رشته مهندسی کشاورزی گرایش بیوتکنولوژی توسط دانشجو احمد سبحانی نجف آبادی تحت راهنمایی اساتید پایان نامه آقایان دکتر محمود سلوکی و دکتر محمد رضا مفید و مشاوره آقایان مهندس عباسعلی امام جمعه و مهندس رضا محمدی تهیه شده است. استفاده از مطالب آن به منظور اهداف آموزشی با ذکر مرجع و اطلاع کتبی به حوزه تحصیلات تکمیلی دانشگاه زابل مجاز می باشد.

امضا دانشجو

این پایان نامه ۶ واحد درسی شناخته می شود و در تاریخ ۱۱/۱۱/۸۷ توسط هیئت داوران بررسی و نمره ۱۹/۹۶ و درجه عالی به آن تعلق گرفت.

تاریخ

نام و نام خانوادگی

امضا

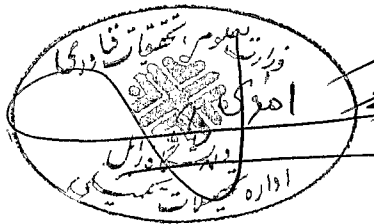
۱- استاد راهنما: دکتر محمود سلوکی

۲- استاد راهنما: دکتر محمد رضا مفید

۳- استاد مشاور: مهندس عباسعلی امام جمعه

۳- استاد مشاور: مهندس رضا محمدی

۴- استاد داور: دکتر براتعلی سیاهسر



۵- نماینده تحصیلات تکمیلی: دکتر محمد رضا اصغری پور

کلیه حقوق مادی مترتب بر نتایج مطالعات، ابتکارات  
و نوآوری های ناشی از تحقیق موضوع این پایان نامه  
متعلق به دانشگاه زابل است.

تقدیم بہ

"اعضاء خانواده ام"

کہ بی نہایت دوستی دارم۔

بسمه تعالی

خداوند متعال را سپاس می گویم که به من توفیق عنایت کرد تا مرحله دیگری از زندگی ام را هر چند سخت و دشوار با موفقیت طی کنم. در ابتدا بر خود واجب می دانم تا زهد و مودم که در تمام مراحل انجام این پایان نامه مشوق بنده بودم از صمیم قلب تشکر و قدر دانی نمایم. از اساتید راهنمای بسیار عزیزم جناب آقایان دکتر محمود سلوکی و دکتر محمد رضا مفید که در زبان انجام این پایان نامه، همواره از پشتیبانی و راهنمایی های ارزنده ایشان بهره مند بودم، تشکر و قدر دانی می نمایم.

از اساتید محترم آقایان مندرس عباسعلی امام جمعه و مندرس رضا محمدی که مشاورت این پایان نامه را و آقای دکتر براتعلی سیاه سرکه زحمت بازخوانی و داوری این پایان نامه را بر عهده داشتند و آقای دکتر محمد رضا صفری پور نماینده تحصیلات تکلیفی، تشکر می نمایم. از دوستان عزیزم آقایان دکتر خیام نکونی، روح الامین، کاظمی، موحدی، دکتر مرادی، عرب نژاد، شفیعی، جلیلیان، ابراهیمی و که خدای و خانم ها نیکخواه، معینی، مرادی، پهری، نوروزی و عرفان نژاد به خاطر کمک هایشان در انجام و تصحیح پایان نامه صمیمانه تشکر می نمایم. یاد و خاطره دوستان خوبم، آقایان چراغی، حسینی، حیدری، شیرینی، اسدی، وکیلان، زارغ، نصیری، زانف، جمالی و سایر دوستانی که از معرفی آنها قاصرم، همیشه در یاد و خاطره ام خواهد ماند. برای همه آنها از خداوند منان آرزوی موفقیت دارم.

احمد سجانی نخب آبادی

بهمن ۱۳۸۷

## چکیده

قارچ‌های اندوفایت بذرزاد و غیر بیماریزای همزیست با گراس‌های زیر خانواده *Pooideae* از جمله مهمترین و معمول‌ترین روابط همزیستی می‌باشند. این قارچ‌ها متعلق به خانواده *Clavicipitaceae* بوده و در بین سلول‌های بخش‌های هوایی گیاه میزبان رشد می‌کنند. فسکیوی بلند یکی از گراس‌های غالب در مراتع ایران و جهان به شمار می‌رود و با قارچ اندوفایت گونه *Neotyphodium coenophialum* به طور اختصاصی رابطه همزیستی برقرار می‌سازد.

قارچ‌های اندوفایت همزیست با فسکیوی بلند خصوصیات اکولوژیکی و فیزیولوژیکی مطلوبی برای میزبان خود به ارمغان می‌آورند، که از آن جمله می‌توان به افزایش قدرت رشد و افزایش قدرت تحمل و مقاومت در برابر خشکی و آفات را نام برد. قارچ‌های اندوفایت از طریق تولید برخی از ترکیبات از جمله آلکالوئیدهای مختلف، اکسین، آبسسیک اسید، کیتیناز، آرایتول و مانیتول و پرولین به میزبان خود کمک می‌کنند. ارگوالین به عنوان یکی از آلکالوئیدهای مسمومیت‌زا برای دام‌ها، از جمله اولین آلکالوئیدهایی بود که در رابطه همزیستی قارچ‌های اندوفایت همزیست با فسکیوی بلند شناخته شده است. آلکالوئیدهای پیرولیزیدین (N- فرمیل لولین، N- استیل لولین و لولین) و پیرولوپیرازین‌ها دسته دیگری از آلکالوئیدهای تولید شده در رابطه همزیستی قارچ‌های اندوفایت با فسکیوی بلند می‌باشند که در مقاومت علیه آفات نقش دارند. آلکالوئیدهای دسته لولین‌ها بسیار مهم و با ارزشند به طوری که بررسی‌های انجام شده، مقاومت در برابر ۴۰ گونه حشره از ۶ راسته را تایید می‌نمایند. هدف از این تحقیق تشخیص قارچ‌های اندوفایت همزیست با فسکیوی های بلند بومی ایران و تعیین میزان غلظت آلکالوئیدهای ارگوالین و هر یک از لولین‌ها به ترتیب با استفاده از تکنیک HPLC و GC-MS در سه مرحله از رشد می‌باشد. مقایسات در سطح ۵ درصد با روش دانکن انجام گرفت و نشان داده شد که آلکالوئیدهای مذکور در مرحله گرده افشانی (اواسط شهریور تا اوایل مهر) بیشترین غلظت را دارند. بالعکس در مرحله پنجه دهی (اوایل آبان تا اوایل آذر) کمترین مقدار ارگوالین مشاهده گردید. بعلاوه از نظر میزان ارگوالین اکوتیپ  $75A^+$  بیشترین ( $3/48 \mu\text{g/g}$ ) و اکوتیپ  $Keshe^+$  کمترین ( $0/74 \mu\text{g/g}$ ) مقدار را دارا بودند. از نظر میزان مجموع لولین‌ها نیز اکوتیپ  $75B^+$  بیشترین ( $1123/19 \mu\text{g/g}$ ) و اکوتیپ  $HonjanB^+$  کمترین ( $281/71 \mu\text{g/g}$ ) مقدار را دارا بودند.

علاوه بر این در این تحقیق قارچ‌های اندوفایت مذکور از نظر حضور یکی از ژن‌های بسیار مهم در مسیر بیوستز پیرامین مورد ارزیابی قرار گرفتند و حضور این ژن در همه‌ی آنها مورد تایید قرار گرفت.

## فهرست مطالب

صفحه

عنوان

۱	فصل اول : مقدمه.....
۴	فصل دوم: بررسی منابع.....
۴	۲-۱- خصوصیات تاکسونومیکی جنس فستوکا.....
۵	۲-۲- گیاه فسکیوی بلند.....
۵	۲-۲-۱- گیاه شناسی فسکیوی بلند.....
۸	۲-۲-۲- سیستماتیک.....
۸	۲-۳- قارچ‌های اندوفایت.....
۱۰	۲-۳-۱- خصوصیات تاکسونومیکی قارچ‌های اندوفایت.....
۱۲	۲-۳-۲- میزبان‌ها و چرخه زندگی قارچ‌های اندوفایت.....
۱۵	۲-۳-۳- تکامل قارچ‌های اندوفایت.....
۱۸	۲-۳-۴- تنوع قارچ‌های اندوفایت.....
۱۹	۲-۳-۵- شناسایی قارچ‌های اندوفایت.....
۲۰	۲-۳-۶- جداسازی قارچ‌های اندوفایت.....
۲۲	۲-۳-۷- جنبه‌های مثبت قارچ‌های اندوفایت.....
۲۲	۲-۳-۷-۱- مقاومت به تنش‌های محیطی.....
۲۵	۲-۳-۷-۲- مقاومت به تنش‌های زیستی.....
۲۵	۲-۳-۷-۲-۱- آلکالوئیدهای ارگوت.....
۲۹	۲-۳-۷-۲-۲- ایندول دی‌ترین‌ها (پاکسیلین و لولیترم B).....



- ۳۲..... پیرولوپیرازین (پیرامین)..... ۲-۳-۷-۲-۳
- ۳۴..... آمینو پیریلیدین ها (لولین، N استیل لولین و N فرمیل لولین)..... ۲-۳-۷-۲-۴
- ۳۹..... اعطای خصوصیات مطلوب زراعی..... ۲-۳-۷-۳
- ۴۰..... روش‌های استفاده از قارچ‌های اندوفایت در گراس‌ها..... ۲-۳-۸
- ۴۰..... مدیریت چرا..... ۲-۳-۸-۱
- ۴۱..... تخریب ژنی..... ۲-۳-۸-۲
- ۴۲..... تلقیح مصنوعی ژنوتیپ‌های مطلوب میزبان با قارچ‌های اندوفایت سازگار..... ۲-۳-۸-۳
- ۴۳..... آلوده کردن گراس‌ها توسط دو قارچ مختلف..... ۲-۳-۸-۴
- ۴۴..... فصل سوم: مواد و روش‌ها.....
- ۴۴..... مواد گیاهی..... ۳-۱
- ۴۵..... مشاهده قارچ‌های اندوفایت..... ۳-۲
- ۴۵..... مشاهده میکروسکوپی قارچ‌های اندوفایت در بذرها..... ۳-۲-۱
- ۴۶..... مشاهده میکروسکوپی قارچ‌های اندوفایت در غلاف برگ..... ۳-۲-۲
- ۴۶..... جدا سازی قارچ‌های اندوفایت..... ۳-۳
- ۴۶..... جداسازی از بذرها..... ۳-۳-۱
- ۴۷..... جداسازی از غلاف برگ..... ۳-۳-۲
- ۴۹..... محیط کشت‌های مورد استفاده..... ۳-۴
- ۴۹..... محیط کشت جامد..... ۳-۴-۱
- ۴۹..... محیط کشت مایع..... ۳-۴-۲
- ۵۰..... بررسی فنوتیپی قارچ‌های اندوفایت در محیط کشت..... ۳-۵
- ۵۰..... روش‌های ایجاد کلون‌های عاری از قارچ اندوفایت..... ۳-۶
- ۵۱..... شناسایی قارچ‌های اندوفایت بر اساس تکنیک PCR..... ۳-۷

- ۵۳-۳-۷-۱- استخراج DNA.....
- ۵۴-۳-۷-۲- اندازه‌گیری غلظت DNA توسط اسپکتروفتومتری.....
- ۵۵-۳-۷-۳- اندازه‌گیری غلظت DNA توسط ژل آگارز.....
- ۵۶-۳-۷-۴- استفاده از روش PCR.....
- ۵۷-۳-۷-۵- الکتروفورز.....
- ۵۸-۳- استخراج آلکالوئیدهای تولید شده در رابطه همزیستی قارچ‌های اندوفایت با فسکیوی بلند.....
- ۵۸-۳-۸-۱- استخراج ارگوالین.....
- ۵۹-۳-۸-۲- استخراج لولین.....
- ۵۹-۳-۹- تشخیص و جداسازی ارگوالین با استفاده از تکنیک HPLC.....
- ۶۱-۳-۱۰- تشخیص و جداسازی لولین با استفاده از تکنیک GC-MS.....
- ۶۲-۳-۱۱- تعیین مقدار ارگوالین.....
- ۶۲-۳-۱۲- تعیین مقدار لولین ها.....
- ۶۳-۳-۱۳- بررسی حضور ژن *Pera* با استفاده از تکنیک PCR.....
- ۶۳-۳-۱۳-۱- واکنش PCR.....
- ۶۵- فصل چهارم: نتایج و بحث.....
- ۶۵-۴-۱- تشخیص قارچ‌های اندوفایت در بذر.....
- ۶۶-۴-۲- تشخیص قارچ‌های اندوفایت در غلاف برگ.....
- ۶۶-۴-۳- محیط کشت جامد مورد استفاده.....
- ۶۶-۴-۴- جداسازی قارچ‌های اندوفایت از برگ.....
- ۶۷-۴-۵- جداسازی قارچ‌های اندوفایت از بذر.....
- ۷۱-۴-۶- تشخیص قارچ‌های اندوفایت با تکنیک PCR.....
- ۷۴-۴-۷- استخراج و اندازه‌گیری ارگوالین.....

۸۲	۴-۸- استخراج و اندازه‌گیری لولین‌ها.....
۹۷	۴-۹- بررسی حضور ژن <i>PerA</i> با استفاده از تکنیک PCR.....
۹۹	فصل پنجم- منابع مورد استفاده.....
۱۱۰	فصل ششم- پیوست‌ها و ضمائم.....

## فهرست شکل‌ها

صفحه	عنوان
۶.....	شکل ۱-۲- نمایی از گیاه و بذر فستوکا آروندیناسه <i>Festuca arundinacea</i> .....
۱۱.....	شکل ۲-۲- طبقه‌بندی قارچ‌های اندوفایت همزیست با گراس‌های سردسیری.....
۱۴.....	شکل ۲-۳- بررسی حضور قارچ‌های اندوفایت در بذر و غلاف برگ.....
۱۴.....	شکل ۲-۴- نحوه تکثیر قارچ‌های اندوفایت.....
۱۷.....	شکل ۲-۵- تکامل قارچ‌های اندوفایت.....
۲۶.....	شکل ۲-۶- ترکیب پایه آلکالوئیدهای ارگوت.....
۲۷.....	شکل ۲-۷- ساختار مولکولی ارگوالین.....
۲۸.....	شکل ۲-۸- مسیر بیوسنتز ارگوالین.....
۳۰.....	شکل ۲-۹- ساختار مولکولی ایندول دی‌ترین‌ها.....
۳۱.....	شکل ۲-۱۰- مسیر بیوسنتز لولیترم B.....
۳۲.....	شکل ۲-۱۱- ساختار مولکولی پیرامین.....
۳۳.....	شکل ۲-۱۲- مسیر بیوسنتز پیرامین.....
۳۵.....	شکل ۲-۱۳- مسیر بیوسنتز آلکالوئیدهای لولین.....
۳۶.....	شکل ۲-۱۴- ساختار مولکولی آلکالوئیدهای لولین.....
۳۷.....	شکل ۲-۱۵- آلودگی به شپشک در فسکیوی بلند آلوده به قارچ اندوفایت و فاقد قارچ اندوفایت.....
۴۴.....	شکل ۳-۱- نمایی از مزرعه فسکیوی بلند.....
۵۲.....	شکل ۳-۲- توالی ژن <i>tub 2</i> و نحوه قرار گیری پرایمر ها در جنس <i>Neotyphodium</i> .....
۶۰.....	شکل ۳-۳- نمایی از دستگاه HPLC مورد استفاده.....
۶۱.....	شکل ۳-۴- نمایی از دستگاه GC-MS مورد استفاده.....
۶۸.....	شکل ۴-۱- خروج قارچ اندوفایت از غلاف برگ ژنوتیپ گیاهی ۸۳.....

- شکل ۲-۴- خروج قارچ اندوفایت از بذر زئوتیپ گیاهی ۷۵..... ۶۸
- شکل ۳-۴- نمونه‌ای از آلودگی‌های خارج شده در محیط کشت بذر..... ۶۸
- شکل ۴-۴- نمایی از جدایه‌های مختلف قارچ اندوفایت در محیط کشت..... ۷۱
- شکل ۵-۴- ژل الکتروفورز مربوط به تکثیر قطعه‌ایی به طول ۵۳۶bp با استفاده از تکنیک PCR..... ۷۳
- شکل ۶-۴- ژل الکتروفورز مربوط به تکثیر قطعه‌ایی به طول ۵۳۶bp در قارچ‌ها و گیاهان آلوده به قارچ..... ۷۳
- شکل ۷-۴- کروماتوگرام HPLC مربوط به قارچ 83A..... ۷۶
- شکل ۸-۴- کروماتوگرام HPLC مربوط به گیاه آلوده به قارچ Keshe, 75A و گیاه 83A عاری از قارچ..... ۷۷
- شکل ۹-۴- اسپکتروگرام حاصل از اسپکترومتری حجمی ارگوالین..... ۷۸
- شکل ۱۰-۴- کروماتوگرام‌های مربوط به کروماتوگرافی گازی نمونه‌ها..... ۸۴
- شکل ۱۱-۴- اسپکتروگرام‌های مربوط به کوئینولین (استاندارد) و هر یک از لولین‌ها..... ۸۵
- شکل ۱۲-۴- ژل الکتروفورز حاصل از تکثیر قطعه‌ایی به طول ۲۴۳ bp با استفاده از تکنیک PCR..... ۹۸

## فهرست جداول

عنوان	صفحه
جدول ۳-۱- جزئیات واکنش PCR برای شناسایی قارچ‌های اندوفایت.....	۵۶
جدول ۳-۲- مراحل واکنش PCR برای شناسایی قارچ‌های اندوفایت.....	۵۷
جدول ۳-۳- جزئیات واکنش PCR برای شناسایی ژن <i>PerA</i> .....	۶۳
جدول ۳-۴- مراحل واکنش PCR برای شناسایی ژن <i>PerA</i> .....	۶۴
جدول ۴-۱- زمان خروج قارچ‌های اندوفایت.....	۶۹
جدول ۴-۲- برخی از خصوصیات جدایه های مختلف قارچ‌های اندوفایت.....	۷۰
جدول ۴-۳- تفاوت غلظت ارگوالین بین اکوتیپ‌های مختلف در سه مرحله از رشد.....	۷۹
جدول ۴-۴- تفاوت غلظت ارگوالین بین سه مرحله از رشد در اکوتیپ‌های مختلف.....	۸۰
جدول ۴-۵- یون‌های حاصله از هر یک از لولین‌ها در دستگاه اسپکتروفتومتری جرمی.....	۸۳
جدول ۴-۶- تفاوت غلظت مجموع لولین‌ها بین اکوتیپ‌های مختلف در سه مرحله از رشد.....	۸۸
جدول ۴-۷- تفاوت غلظت مجموع لولین‌ها بین سه مرحله از رشد در اکوتیپ‌های مختلف.....	۸۹
جدول ۴-۸- تفاوت غلظت لولین بین اکوتیپ‌های مختلف در سه مرحله از رشد.....	۹۰
جدول ۴-۹- تفاوت غلظت لولین بین سه مرحله از رشد در اکوتیپ‌های مختلف.....	۹۱
جدول ۴-۱۰- تفاوت غلظت <i>N</i> -استیل لولین بین اکوتیپ‌های مختلف در سه مرحله از رشد.....	۹۲
جدول ۴-۱۱- تفاوت غلظت <i>N</i> -استیل لولین بین سه مرحله از رشد در اکوتیپ‌های مختلف.....	۹۳
جدول ۴-۱۲- تفاوت غلظت <i>N</i> -فرمیل لولین در اکوتیپ‌های مختلف در سه مرحله از رشد.....	۹۴
جدول ۴-۱۳- تفاوت غلظت <i>N</i> -فرمیل لولین بین سه مرحله از رشد در اکوتیپ‌های مختلف.....	۹۵

# فصل اول

## مقدمه

## فصل اول : مقدمه

اندو فایت<sup>۱</sup> در لغت از دو کلمه ی اندو( درون ) و فایت (گیاه) تشکیل شده و عبارتست از موجود زنده ایی که در گیاه زندگی می کند بدون اینکه آسیبی به گیاه وارد سازد. این موجود زنده در اکثر موارد باکتری یا قارچ می باشد. اندوفایتها تقریباً در اکثر گونه های گیاهی وجود دارند اما تنها جزئیات تعداد کمی از روابط همزیستی این موجودات زنده با گیاهان شناخته شده است.

همزیستی عبارت است از رابطه بین دو موجود مختلف که طی آن این دو موجود از قابلیت های یکدیگر استفاده نموده و بقای خویش را تضمین می کنند. تاریخ همزیستی به چهار میلیون سال پیش که اولین بار گیاهان به وجود آمده اند بر می گردد [۶۶]. نمونه هایی از این رابطه همزیستی بین موجودات در طبیعت فراوان می باشد. همزیستی قارچ و جلبک در گلسنگ، همزیستی درخت افاقیا با مورچه، همزیستی میکوریزا<sup>۲</sup> با ذرت و باکتری ریزویوم<sup>۳</sup> با بقولات از جمله این همزیستی ها می باشد. در سال های اخیر رابطه همزیستی قارچ های اندوفایت با گراس های سردسیری توجه دانشمندان را به خود جلب کرده است. این قارچ ها باعث بیماری در دام هایی می شوند که از گراس های آلوده به آنها تغذیه نموده و باعث علائمی مانند کاهش جذب غذا، کاهش وزن حیوان، زبر شدن موها، کاهش شیر، نکروزه شدن سمها و کاهش تولید مثل می گردند [۱۳ و ۵۰]. در پی یافتن علت بیماری در حیوانات وجود قارچ در گیاه مشخص و تحقیقات بعدی نشان داد که این قارچ ها از خانواده *Clavicipitaceae* می باشند که با گراس های زیرخانواده *Pooideae* به طور سیستمیک همزیست

1-Endophyte

2-Mycorrhiza

3-Rhizobium



بوده و در اندام هوایی گیاه استقرار یافته و از طریق رویش در تخمدان مجدداً وارد بذر می‌شوند و در لایه آلرون باقی می‌مانند [۲۳، ۴۴، ۴۰، ۲۴، ۳۰ و ۷۰].

ابتدا تصور می‌شد این قارچ‌ها زیان‌آور هستند به همین علت آنها را از گیاهان حذف نمودند ولی نتیجه این کار از دست رفتن مقاومت گیاه به تنش‌های مختلف بود که از آن پس مطالعات زیادی در مورد قارچ‌های اندوفایت صورت پذیرفته است [۵۵، ۵۸، ۶۱، ۶۲، ۶۷، ۶۹ و ۷۴]. حضور قارچ‌های اندوفایت در گیاه مزایای زیادی برای گیاه میزبان به همراه دارد. از جمله باعث مقاومت به تنش‌های محیطی شامل خشکی، سرما، تغییرات pH و یون‌های سمی در خاک می‌شوند. همچنین از طریق تولید آلکالوئید باعث ایجاد مقاومت گیاه به تنش‌های زیستی شامل بیماری‌های ویروسی، باکتریایی و حشرات (اثر این قارچ‌ها دست کم روی ۴۰ گونه آفت از ۶ راسته به اثبات رسیده است) می‌گردند [۱۸، ۱۶ و ۴۷]. حضور این قارچ باعث افزایش تثبیت نیتروژن، افزایش رشد و مقاومت به چرای سنگین در گیاه میزبان می‌گردد.

از طرفی تولید آلکالوئیدها توسط این قارچ باعث ایجاد برخی مسمومیت‌ها در دام‌های تغذیه‌کننده از گیاهان حاوی قارچ می‌شود. لذا تحقیقاتی به منظور حفظ خصوصیت‌های مطلوب ذکر شده و در عین حال کاهش مسمومیت ناشی از این قارچ در حال انجام است [۳۱، ۳۶].

عامل اصلی در ایجاد این مقاومت‌ها تولیدات ثانویه‌ای از گروه آلکالوئیدها تشخیص داده شده‌اند. تا کنون تولید چهارگروه آلکالوئیدها شامل لولین‌ها<sup>۱</sup>، پیرامین<sup>۲</sup>، لولیترم<sup>۳</sup> و ارگوالین<sup>۴</sup> در رابطه‌ی همزیستی قارچ‌های اندوفایت با گراس‌های سردسیری گزارش شده است.

- 
- 1-Lolins
  - 2-Peramine
  - 3-Lolitrem
  - 4-Ergovaline

آلكالوئيد‌هاى لولين و پيرامين از طريق تاثير بر روى گره هاى عصبى حشرات و مرگ آنها باعث ايجاد مقاومت در برابر آفات مى شوند. از طرفى آلكالوئيد هاى ارگوالين و لوليترم باعث مسموميت در دامها ميشوند. فسكيوى هاى بلند بومى ايران با قارچ *Neotyphodium coenophialum* همزيست مى باشند كه از بين آلكالوئيد هاى ذكر شده آلكالوئيد ارگوالين ، پيرامين و لولين ها را توليد مى كنند [۱۷].

هدف از آزمون ما جمع آورى، شناسايى مرفولوژيكي و مولكولى و تعيين مقدار ارگوالين، لولين، N-فرميل لولين و N-استيل لولين در اكوטיפهاى همزيست با قارچ هاى بومى ايران مى باشد.

قارچهائى كه لولين بيشترى توليد مى كنند ولى توليد ارگوالين كمترى مى كنند از نظر كشاورزى و منابع طبيعى (در ارقام چمنى و علوفه‌اى) بسيار با ارزش مى باشند .

از طرفى در اين آزمون جدايه‌هاى بومى قارچ اندوفاييت از نظر حضور ژن *PerA* كه يكي از مهمترين ژن‌هاى موثر در مسير سنتز پيرامين مى باشد مورد بررسى قرار گرفتند.

فصل دوم

بررسی منابع

## فصل دوم: بررسی منابع

## ۲-۱- خصوصیات تاکسونومیکی جنس فستوکا

این جنس متعلق به خانواده پوآسه<sup>۱</sup> می باشد. پوآسه به پنج زیر خانواده به نام های پوئیده<sup>۲</sup>، بامبوزوئیده<sup>۳</sup>، آروندینوئیده<sup>۴</sup>، کلریدوئیده<sup>۵</sup> و پانیکوئیده<sup>۶</sup> تقسیم می شود [۳۴]. جنس فستوکا که به فسکیو گراس نیز معروف است، متعلق به طایفه پوئه<sup>۷</sup> از زیر خانواده پوئیده بوده و یک جنس بزرگ و متنوع با ۴۵۰ زیر گونه می باشد. این جنس شامل گونه های یکساله به صورت علف هرز و همچنین گراس های چندساله دارای محصول علوفه ای زیاد، مقاوم و با سازگاری وسیع است که برای اهداف کشاورزی و حفاظت خاک مورد کشت و کار قرار می گیرد. خصوصیتی که برای شناسایی گیاهان چند ساله متعلق به جنس فستوکا مورد توجه قرار می گیرند به این شرح است: چند ساله، گاهی دارای ساقه زیرزمینی، پهنای برگ دارای رگبرگ های موازی و بیشتر به صورت لوله ای و پیچیده و گاهی پهن و صاف، غلاف های برگ به صورت باز، لیگول ها<sup>۸</sup> یا زبانک ها کوتاه و غشایی، اوریکل<sup>۹</sup> ها یا گوشوارک ها وجود دارند یا وجود ندارند. گل آذین آنها به صورت باز یا فشرده بوده، خوشه چه ها دو یا چند گل و بدون بند و در بالای گلوم ها<sup>۱۰</sup>؛ گلوم ها کوتاه تر از لهما<sup>۱۱</sup>؛

- 
- 1-Poaceae
  - 2-pooideae
  - 3-Bambusoideae
  - 4-Arundinoidea
  - 5-Chlorideae
  - 6-Panicoidaeae
  - 7-Poeae
  - 8-ligules
  - 9-auricles
  - 10-glume
  - 11-lemma