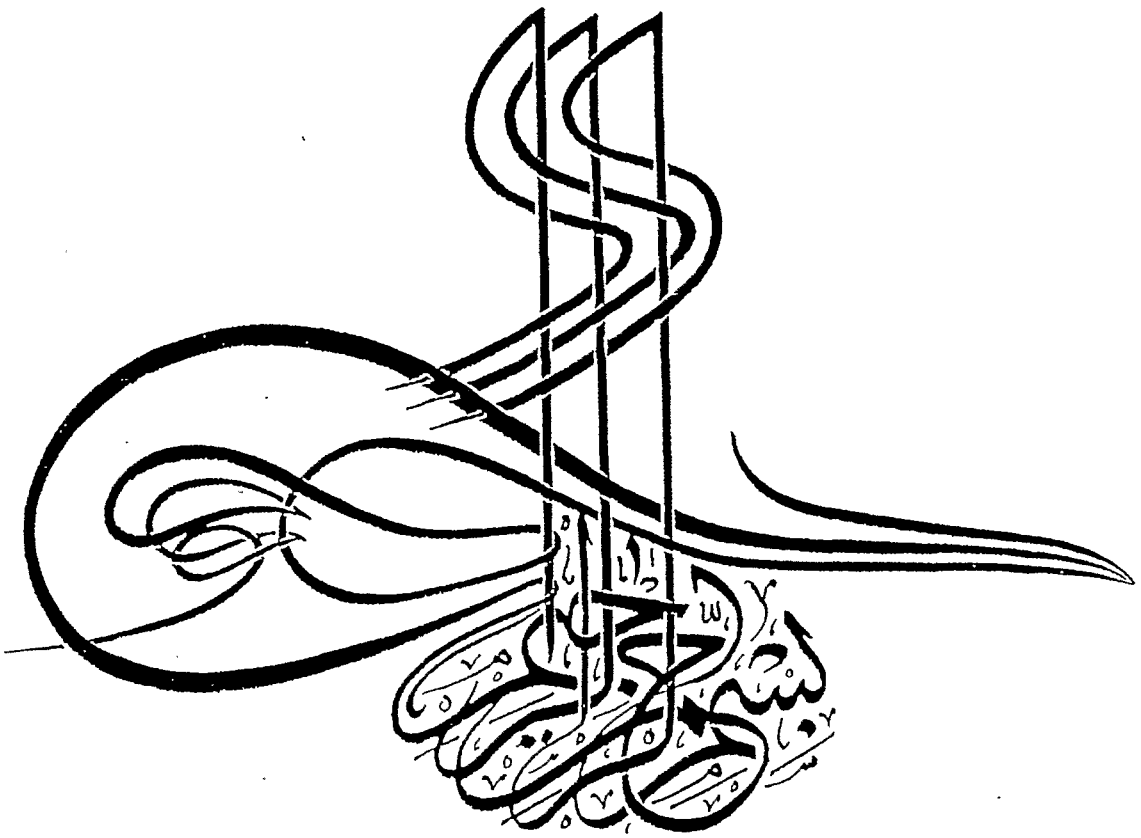


٤٨٥٩٧

دانشگاه صنعتی اصفهان
دانشکده کشاورزی

مرکز اطلاعات و مدارک علمی ایران

# بررسی مقاومت به شوری القایی توسط اندوفایت در گیاه فسکیوی بلند

۱۳۸۲ /۷۲/۶۱۰۶

پایان نامه کارشناسی ارشد اصلاح نباتات

**محمد رضا سبزعلیان**

استاد راهنما

**دکتر آقا فخر میرلوحی**

۴۸۴۹۷

۱۳۸۱

**دانشگاه صنعتی اصفهان**

دانشکده کشاورزی

پایان نامه کارشناسی ارشد رشته اصلاح نباتات محمدرضا سبزعلیان

تحت عنوان

# بررسی مقاومت به شوری القایی توسط اندوفایت در گیاه فسکیوی بلند

در تاریخ ۱۳۸۱/۱۲/۱۹ توسط کمیته تخصصی زیر مورد بررسی و تصویب نهائی قرار گرفت.

۱- استاد راهنمای پایان نامه — دکتر آقافخر میرلوحی

۲- استاد مشاور پایان نامه — دکتر عبدالمجید رضائی

۳- استاد مشاور پایان نامه — دکتر بهرام شریف‌نبی

٤ - استاد داور — دکتر حسین شریعتمداری

٥- استاد داور — دکتر بیژن حاتمی

**سرپرست تحصیلات تکمیلی** — **دکتر آقافخر میرلوحی**

کلیه حقـــوق مـــترتب بـــر نتـــایج مطالعـــات، ابتکـــارات و نوآوریـــهای ناشـــی از تحقیـــــق موضوع این پایان نامه متعلـــق بـــه دانشـــگاه صنعتی اصفهان است.

بخشی از هزینه اجرای این تحقیق از سوی سازمان تحقیقات، آموزش و ترویج کشاورزی پرداخت گردیده است که بدینوسیله تشکر و قدردانی می‌گردد.

تقدیم به:

پدرم و مادرم که مشوقم بودند.

اساتید ارجمندم در زندگی

محققین جوان که سعی در پیشبرد علم دارند.

## سپاس و قدردانی

به پایان آمد این دفتر حکایت همچنان باقی  به صد دفتر نوشتند چون گفت جمال عشاقی

خدای را سپاس که بر من منت نهاد و دیدگانم را به نور و روشنایی گشود. ستایش خدایی را که از فضل و کرم بی‌انتهایش مرا به زینت علم مفتخر ساخت و سپاس او را که مرا در دامان پر مهر مادرم پرورش داد. برخود واجب می‌دانم از پدر و مادرم که مشوق من در دوران تحصیل بوده‌اند صمیمانه تشکر و قدردانی کنم.

از استاد راهنمای ارجمندم، جناب آقای دکتر میرلوحی که بدون تلاشهای ایشان، انجام این پایان‌نامه به سهولت میسر نبود تشکر و قدردانی می کنم. از اساتید مشاور این پایان‌نامه، جناب آقای دکتر عبدالمجید رضائی و جناب آقای دکتر بهرام شریف‌نبی که از نظرات سازنده ایشان استفاده نمودم، تشکر و قدردانی می‌کنم.

لازم می‌دانم که از کلیه اساتید گروه زراعت و اصلاح نباتات، آقایان دکتر رزمجو، دکتر خواجه‌پور، دکتر ارزانی، دکتر سعیدی، دکتر میبدی و دکتر احسان‌زاده که اساتید اینجانب در دوران تحصیل بودند، تشکر و قدردانی کنم.

از همه دوستان عزیزم در دوران تحصیل به خصوص آقایان مهندس محمدی، زینلی، پهلوانی، مرتضوی، دهداری، قناعتی، کشاورز و همکلاسهای عزیزم در دروان تحصیل تشکر و قدردانی می‌کنم. در پایان برای همه این عزیزان آرزوی سلامتی و توفیق روزافزون دارم.

محمد رضا سبزعلیان

اسفند ۸۱

## فهرست مطالب


عنوان ..... صفحه

فهرست مطالب ..... هشتم

فهرست جداول ..... دهم

فهرست نمودارها ..... دوازدهم

فهرست اشکال ..... سیزدهم

چکیده

**فصل اول: مقدمه**

۱-۱ کلیات ..... ۲

**فصل دوم: بررسی منابع**

۲-۱- پیدایش و ظهور قارچهای اندوفایت ..... ٦

۲-۲- اهمیت قارچ‌های اندوفایت ..... ۱۰

۲-۲-۱- مقاومت به تنش‌های زیستی ..... ۱۱

۲-۲-۲- مقاومت به تنش‌های غیر زیستی ..... ۱۳

۲-۲-۳- اعطای خصوصیات مطلوب زراعی ..... ۱٤

۲-۳- روابط بیوشیمیایی اندوفایت- گراس ..... ۱۵

۲-٤- کاربرد اندوفایت‌ها در علوم دیگر ..... ۲۱

۲-۵- بیوتکنولوژی در قارچ‌های اندوفایت ..... ۲۳

۲-٦- مکانیسم‌های مقاومت به شوری در گیاهان ..... ۲٦

**فصل سوم: مواد و روش‌ها**

۳-۱- بررسی حضور و تعیین سازگاری قارچهای اندوفایت در گیاه میزبان ..... ۲۹

۳-۲- کلون‌سازی گیاهان حاوی اندوفایت و بدون اندوفایت ..... ۳۱

۳-۳- سیستم هیدروپونیک برای کشت گیاهان ..... ۳۳

۳-٤- روش اجرای تیمار شوری ..... ۳٤

۳-٥- صفات مورد اندازه‌گیری ..... ۳٤

**فصل چهارم: نتایج و بحث**

٤-۱- بررسی صفات زراعی ..... ۳٦

٤-۱-۱- تغییرات وزن خشک ریشه و برگ و ضریب آلومتری $\left(\frac{\text{وزن خشک برگ}}{\text{وزن خشک ریشه}}\right)$ ..... ۳٦

٤-۱-۲- تغییرات طول ریشه و برگ و ضریب آلومتری $\left(\frac{\text{طول برگ}}{\text{طول ریشه}}\right)$ ..... ٤۱

٤-۱-۳- درصد برگ‌های سبز در گیاهان حاوی اندوفایت و بدون اندوفایت و تاثیر اندوفایت در بقاء گیاه ..... ٤٤

٤-۲- بررسی صفات بیوشیمیایی ..... ٤٦

٤-۲-۱- تغییرات EC در محیط کشت هیدروپونیک ..... ٤۸

٤-۲-۲- تغییرات pH در محیط کشت هیدروپونیک ..... ٤۹

٤-۲-۳- بررسی میزان سدیم در بافت‌های ریشه و ساقه ..... ٥۲

٤-۲-٤- بررسی میزان پتاسیم در بافت‌های ریشه و ساقه گیاهان ..... ٥٥

٤-۲-٥- بررسی نسبت پتاسیم به سدیم در بافت‌های ریشه و ساقه ..... ٦۰

٤-۲-٦- میزان کلسیم ومنیزیم بافت‌های ریشه و ساقه و نقش همزیست‌های اندوفایت ..... ٦۳

٤-۲-۷- نتایج تجزیه و تحلیل داده‌های میزان کلر در برگ و ریشه گیاهان ..... ٦۷

٤-۳- بررسی میکروسکوپی قارچهای اندوفایت ..... ۷۱

**فصل پنجم: نتیجه‌گیری**

٥-۱- نتیجه‌گیری ..... ۷۳

٥-۲- پیشنهادات ..... ۷٤

منابع ..... ۷۷

چکیده

# فهرست جداول

**عنوان** ..... **صفحه**

جدول ۲-۱- لیست برخی حشرات مهم که توسط اندوفایت‌های فسکیوی بلند ورای گراس تحت تاثیر قرار می‌گیرند ..... ۱۳

جدول ٤-۱- تجزیه واریانس داده‌های وزن خشک ریشه و ساقه ..... ۳۷

جدول ٤-۲- مقایسه میانگین وزن خشک ریشه و ساقه گیاهان حاوی اندوفایت و بدون اندوفایت ..... ۳۷

جدول ٤-۳- مقایسه میانگین وزن خشک ریشه و ساقه در ژنوتیپ‌های مختلف ..... ۳۷

جدول ٤-٤- مقایسه میانگین وزن خشک ریشه و برگ در تیمارهای مختلف شوری ..... ۳۸

جدول ٤-٥- مقایسه تفاوت ژنوتیپ‌های مختلف در نسبت وزن خشک ساقه به ریشه ..... ۳۸

جدول ٤-٦- تجزیه واریانس نسبت وزن خشک ساقه به ریشه ..... ۳۹

جدول ٤-۷- مقایسه میانگین اثرات متقابل ژنوتیپ× اندوفایت در وزن خشک ریشه بر حسب گرم ..... ۳۹

جدول ٤-۸- مقایسه ضریب آلومتری گیاهان حاوی اندوفایت و بدون اندوفایت ..... ٤۱

جدول ٤-۹- تجزیه واریانس نتایج طول برگ و طول ریشه گیاهان بر حسب سانتی‌متر ..... ٤۳

جدول ٤-۱۰- اثرات متقابل ژنوتیپ× اندوفایت بر طول ریشه و ساقه ..... ٤۳

جدول ٤-۱۱- تجزیه واریانس نتایج نسبت طول برگ به طول ریشه ..... ٤٤

جدول ٤-۱۲- تجزیه واریانس درصد برگ‌های سبز گیاهان در پایان آزمایش ..... ٤٥

جدول ٤-۱۳- مقایسه میانگین‌های اثرات متقابل ژنوتیپ در اندوفایت ..... ٤٥

جدول ٤-۱٤- تجزیه واریانس میزان EC محیط کشت هیدروپونیک در پایان آزمایش ..... ٤۸

جدول ٤-۱٥- مقایسه میانگین اثرات متقابل ژنوتیپ× اندوفایت در مورد EC محیط کشت بر حسب دسی‌زیمنس بر متر ..... ٤۹

جدول ٤-۱٦- تجزیه واریانس pH محیط هیدروپونیک در پایان آزمایش ..... ٥۱

جدول ٤-۱۷- مقایسه میانگین‌های اثرات متقابل ژنوتیپ× اندوفایت برای pH محیط هیدروپونیک ..... ٥۲

جدول ٤-۱۸- تجزیه واریانس میزان سدیم در بخش هوایی و ریشه گیاهان ..... ٥٤

جدول ٤-۱۹- مقایسه میانگین‌های اثرات متقابل ژنوتیپ× اندوفایت در میزان جذب سدیم ..... ٥٥

جدول ٤-۲۰- مقایسه میانگین‌های میزان سدیم در ژنوتیپ‌های مختلف ..... ٥٥

جدول ٤-٢١- تجزیه واریانس میزان پتاسیم در بخش هوایی و ریشه گیاهان..... ٥٧
جدول ٤-٢٢- مقایسه میانگین‌های اثرات متقابل ژنوتیپ× اندوفایت درجذب پتاسیم ..... ٥٨
جدول ٤-٢٣- مقایسه میانگین‌های ژنوتیپ‌های مختلف در میزان جذب پتاسیم توسط ریشه و ساقه ..... ٥٨
جدول ٤-٢٤- تجزیه واریانس نسبت پتاسیم به سدیم در بخش هوایی و ریشه گیاهان..... ٦١
جدول ٤-٢٥- مقایسه میانگین‌های اثرات متقابل ژنوتیپ× اندوفایت در نسبت پتاسیم به سدیم ..... ٦٢
جدول ٤-٢٦- مقایسه میانگین ژنوتیپ‌های مختلف از نظر نسبت پتاسیم به سدیم ..... ٦٢
جدول ٤-٢٧- تجزیه واریانس میزان کلسیم در بخش‌های هوایی و ریشه گیاهان ..... ٦٥
جدول ٤-٢٨- مقایسه میانگین اثرات متقابل ژنوتیپ× اندوفایت در میزان جذب کلسیم..... ٦٥
جدول ٤-٢٩- مقایسه میانگین‌های میزان کلسیم در ژنوتپ‌های مختلف..... ٦٥
جدول ٤-٣٠- تجزیه واریانس میزان منیزیم ریشه و ساقه..... ٦٦
جدول ٤-٣١- مقایسه میانگین‌های اثرات متقابل ژنوتیپ× اندوفایت در میزان جذب منیزیم ..... ٦٦
جدول ٤-٣٢- مقایسه میانگین‌های میزان منیزیم در ژنوتیپ‌های مختلف ..... ٦٧
جدول ٤-٣٣- تجزیه واریانس میزان کلر در بخش هوایی و ریشه گیاهان..... ٦٩
جدول ٤-٣٤- مقایسه میانگین‌های اثرات متقابل ژنوتیپ× اندوفایت..... ٦٩
جدول ٤-٣٥- مقایسه میانگین‌های میزان کلر در ژنوتیپ‌های مختلف ..... ٧١

# فهرست نمودارها

عنوان ..... صفحه

نمودار ٤-١- نسبت وزن خشک ساقه به ریشه در ژنوتیپ‌های مختلف در حضور و عدم حضور اندوفایت .....٤١

نمودار ٤-٢- درصد برگ‌های زنده در ژنوتپ‌های مختلف در حضور یا عدم حضور اندوفایت .....٤٦

نمودار ٤-٣- میزان EC محیط کشت بر اساس دسی‌زیمنس بر متر در ژنوتیپ‌های مختلف .....٥٠

نمودار ٤-٤- تاثیر تغییرات میزان شوری محیط کشت در تفاوت میان گیاهان حاوی اندوفایت و بدون اندوفایت .....٥٠

نمودار ٤-٥- میزان pH محیط کشت هیدروپونیک در ژنوتیپ‌های مختلف .....٥٣

نمودار ٤-٦- تاثیر تغییرات شوری در تغییرات pH محیط کشت در گیاهان حاوی اندوفایت و بدون اندوفایت ..... ٥٣

نمودار ٤-٧- میزان سدیم بافت‌های ریشه ژنوتیپ‌های مختلف .....٥٦

نمودار ٤-٨- میزان پتاسیم برگ ژنوتیپ‌های مختلف.....٥٩

نمودار ٤-٩- تاثیر افزایش شوری در میزان جذب پتاسیم توسط گیاهان حاوی اندوفایت و بدون اندوفایت .....٥٩

نمودار ٤-١٠- نسبت پتاسیم به سدیم در بافت‌های ساقه ژنوتیپ‌های مختلف .....٦٣

نمودار ٤-١١- میزان میلی‌گرم در گرم کلر در بافت‌های ریشه (الف) و ساقه (ب) ژنوتیپ‌های مختلف .....٧٠

مرکز اطلاعات و مدارک علمی ایران
تهیه مدارک

# فهرست تصاویر


عنوان ..... صفحه

تصویر ۲-۱- شمای کلی تاکسونومی قارچهای اندوفایت ..... ۸

تصویر ۲-۲- قارچ اندوفایت در اندوسپرم بذر گیاه رای گراس چند ساله ..... ۹

تصویر ۲-۳- قارچ اندوفایت در لایه آلورون بذر گیاه *Bromus tomentellus* ..... ۱۰

تصویر ۲-٤- مسیرهای سنتز انواع لولیترم ..... ۱۷

تصویر۲-٥- آلکالوئیدهای لولین ..... ۱۹

تصویر ۲-٦- بیوسنتز پیرامین ..... ۱۹

تصویر ۲-۷- ساختار شیمیایی مانیتول ..... ۲۸

تصویر ۲-۸- ساختار شیمیایی تری‌هالوز ..... ۲۸

تصویر ۳-۱- رنگ شیمیایی رزبنگال و طیف جذبی آن ..... ۳۰

تصویر ۳-۲- گیاهان در شرایط کشت هیدروپونیک ..... ۳۵

تصویر ٤-۱- تفاوت گیاهان حاوی اندوفایت و بدون اندوفایت در حجم و توسعه ریشه در ژنوتیپ ۸۳ ..... ٤٥

تصویر ٤-۲- مقایسه وضعیت گیاهان حاوی اندوفایت و بدون اندوفایت در ژنوتیپ‌های مختلف

پس از اعمال تیمار شوری (٪٥= $T_2$، ٪۱= $T_3$ نمک طعام در محلول غذایی) ..... ٤۷

تصویر ٤-۳- اندوفایت‌های موجود در ژنوتیپ ۸۳ قبل از تنش شوری (الف) و بعد از تنش شوری (ب) ..... ۷۲

## چکیده :

قارچهای همزیست اندوفایت که در نیمه دوم قرن بیستم در گونه‌های علفی خانواده گرامینه یافت شدند، خصوصیات مهمی همچون بهبود عملکرد، مقاومت به تنش‌های زیستی و مقاومت به تنش‌های غیر زیستی را به گیاهان میزبان اعطا می‌کنند. مقاومت به حشرات از میان تنش‌های زیستی و مقاومت به خشکی از میان تنش‌های غیر زیستی مورد بررسی بیشتری قرار گرفته‌اند. تحقیقات نشان می دهد که قارچهای اندوفایت در اثر تنش خشکی، مقادیرمتنابهی ترکیبات اسمتیک همچون مانیتول، آرابیتول، فروکتوز، گلوکز و نیز قندهای محافظ غشاء همچون تری‌هالوز تولید می‌کنند. بدین ترتیب پیش بینی می‌شود که قارچهای اندوفایت احتمالاً بتوانند نسبت به تنش‌هایی همانند شوری و سرما نیز که با خشکی بافت گیاهی همراه هستند، گیاه را مقاوم نمایند. بررسی‌های دیگر نشان می‌دهد که قارچهای اندوفایت جذب عناصر سمی برای گیاه را کاهش می‌دهند، بدین ترتیب به نظر می‌رسد که اندوفایت‌ها مکانیسم های جذب عناصر توسط گیاه را نیز تحت تاثیر قرا رمی‌دهند. به منظور بررسی نقش قارچهای اندوفایت در ایجاد مقاومت القایی به شوری در گیاهان میزبان، دو توده از گیاه فسکیوی بلند با شماره‌های ۷۵ و ۸۳ و یک توده از گیاه فسکیوی مرتعی با شماره ۶۰ که دارای قارچهای اندوفایت سازگار با گیاه بودند، انتخاب گردیده با استفاده از قارچ کشهای فولیکور و پروپیکونازول، کلونهای بدون قارچ این گیاهان تهیه شده و پنجه‌های جدید از کلونهای حاوی اندوفایت و بدون اندوفایت به محیط کشت هیدروپونیک حاوی محلول غذایی جانسون با نیمه غلظت انتقال داده شدند. تیمارهای شوری با سطوح ۰، ۰/۵ و ۱ درصد نمک (NaCl) و در سه تکرار در یک طرح بلوک کامل تصادفی بر ژنوتیپ‌های مختلف که حاوی حالت‌های واجد اندوفایت و بدون اندوفایت بودند، اعمال شد. گیاهان ژنوتیپ ۶۰ پس از یکماه و دو ژنوتیپ دیگر با فواصل دو هفته از ژنوتیپ اول از آزمایش خارج شدند. در پایان آزمایش، صفات وزن خشک ریشه و ساقه و طول ریشه و ساقه، درصد برگهای سبز گیاه، pH و EC محیط کشت و میزان عناصر سدیم، پتاسیم، کلسیم، منیزیم و کلر اندازه‌گیری شد. نتایج نشان داد که قارچهای اندوفایت جذب عناصر سدیم و کلر و تجمع آنها را بخصوص در ریشه کاهش می‌دهند. از طرف دیگر جذب پتاسیم را بخصوص در بخش هوایی افزایش می‌دهند. همچنین قارچهای همزیست وزن خشک ریشه را افزایش داده و نسبت ریشه به ساقه افزایش پیدا می‌کند. بدین ترتیب به نظر می‌رسد قارچهای همزیست اندوفایت بر مکانیسم‌های جذب عناصر توسط گیاه موثر هستند و همچنین با تغییرات فیزیولوژیکی و مورفولوژیکی در گیاه، میزبان را نسبت به تنش‌هایی همچون شوری که هم شامل خشک شدن بافت و هم شامل سمیت عناصر می‌شود مقاوم می‌نمایند. استفاده از سیستم‌های جدید و احتمالاً ناشناخته اندوفایت در ایجاد مقاومت نسبت به تنش‌های غیر زیستی شاید بتواند سهم قابل توجهی در اصلاح گیاهان بویژه گیاهان خانواده گرامینه داشته باشد.

# فصل اول

## مقدمه

### ۱-۱-کلیات

همه محصولات زراعی به دامنه‌ای از محیط‌های کشاورزی محدود می‌شوند که در آن می‌توانند ارزش اقتصادی داشته باشند. بنابراین بهبود گیاهان زراعی مبتنی بر پیشرفتهایی خواهد بود که توانایی ما را برای اختصاص دادن گیاهان به محیط‌های مختلف افزایش بدهد. پیشرفت در تولید محصولات کشاورزی می‌تواند یا بوسیله تغییر ژنوتیپ‌های گیاهی برای افزایش عملکرد اقتصادی در محیط‌های ویژه و یا بوسیله تغییر محیط برای بهبود بخشیدن آن برای یک ژنوتیپ خاص حاصل گردد. هر دو روش فوق مهم بوده، به همدیگر مربوط می‌شوند زیرا هر کدام ارتباط متقابل با دیگری دارند تا یک مجموعه موفق پدید آید[۱]. نیاز به این بهبود متقابل[1] بوسیله واکنشهای غیرقابل پیش‌بینی بین گیاهان و تغییرهای محیطی ایجاد می‌شود. این اثرات غیر قابل پیش‌بینی به عنوان تأثیرات متقابل ژنوتیپ× محیط شناخته می‌شوند. اگر گیاهان به صورت افزایشی به تغییرات محیطی پاسخ بدهند، نیاز وسیع به بهبود متقابل غیر ضروری خواهد بود و تغییرات در محصول متناسب با تغییر عوامل محدود کننده است و اندازه‌گیری انجام شده روی دامنهٔ محدودی از محیطها،

---

1 - Cross- referenced