

## Morphological changes affected by endophytes on induction of cold tolerance in two species of *Festuca*

مهديه پارسائیان<sup>۱</sup>، آقا فخر میرلوحی<sup>۲</sup>، عبدالمجید رضائی<sup>۳</sup> و مهدی برادران<sup>۴</sup>

تغییرات مورفولوژیکی ناشی از همزیستی اندوفایت‌ها با دو گونه فستوکا در بروز مقاومت به سرما. مجله علوم زراعی ایران. جلد هشتم، شماره ۲۰، صفحه: ۱۳۹ تا ۱۵۲.

( )

تاریخ دریافت: ۱۳۸۳/۵/۱۲

۱- دانشجوی دکتری دانشگاه صنعتی اصفهان (مکاتبه کننده)

۳- استاد دانشگاه صنعتی اصفهان

۲- دانشیار دانشگاه صنعتی اصفهان

۴- دانشجوی دکتری دانشگاه تبریز

بلند حاوی اندوفایت در مقایسه با گیاه فاقد اندوفایت، کربوهیدرات‌های بیشتری را در برگ و غلاف برگ ذخیره می‌کند، که این ترکیبات در تعدیل فشار اسمزی در شرایط خشکی (و احتمالاً تنش سرما) نقش مهمی ایفا می‌کنند. بررسی‌های آراچوالتا و همکاران (Arachevaleta et al., 1989) مشخص کرد، که گیاهان آلوده به اندوفایت پهنای برگ کمتر و ضخامت برگ بیشتری نسبت به گیاهان عاری از اندوفایت دارند. آن‌ها حفظ آب گیاه در آب کشیدگی‌های ناشی از تنش‌های رطوبتی (که از اثرات ثانویه یخ زدگی نیز هست) را از مزایای مهم این تغییر مورفولوژیک دانستند.

کاهش رشد ریشه در اثر کاهش دما، خود باعث کم شدن ظرفیت جذب آب و مواد معدنی توسط ریشه و به دنبال آن ظهور اثرات ثانویه ناشی از کمبود مواد غذایی و اختلال در رشد گیاه می‌شود. حضور اندوفایت‌های قارچی در القاء ریشه‌دهی عمیق‌تر و متراکم‌تر و در نتیجه جذب آب بیشتر مؤثر است (White, 1987). خصوصیت مذکور می‌تواند در جبران بخشی از خسارات ناشی از آب کشیدگی سلول‌ها در تنش سرما مورد توجه قرار گیرد. ضمن آنکه ریشه‌دهی عمیق‌تر، ریشه‌ها را از خطر قرار گرفتن در معرض نوسانات دمایی شدید در لایه‌های فوقانی خاک در چرخه‌های ذوب و یخ‌زدگی متناوب زمستانه مصون نگاه می‌دارد.

تحمل به سرما با وزن خشک طوقه همبستگی مثبت دارد (Adak and Eser, 1993). در همین مورد هیل و همکاران (Hill et al., 1990) گزارش کردند که وزن طوقه در گیاهان آلوده به قارچ بیشتر از گیاهان عاری از قارچ است. گیاهان حاوی اندوفایت همچنین از رشد مجدد بسیار سریع‌تری نسبت به گیاهان فاقد اندوفایت برخوردارند. این رشد سریع پس از یک دوره تنش خشکی در شرایط مزرعه، قدرت رقابتی بیشتری را به گیاهان حاوی اندوفایت در مقایسه با گیاهان عاری از اندوفایت و شاید گونه‌های دیگر مرتعی اعطا می‌کند (Arachevaleta et al., 1989). گیاهان فاقد

تنش‌های محیطی از مهمترین عوامل کاهش دهنده عملکرد در سطح جهان هستند. سرما، به عنوان یکی از تنش‌های محیطی غیرزنده، از عوامل مهم اکولوژیک حاکم بر توزیع گونه‌ها و پتانسیل عملکرد گیاهان شناخته شده است (میرمحمدی میدی، ۱۳۷۹).

کشف رابطه همزیستی مطلوب بین گیاهان مرتعی (از جمله جنس فستوکا که دارای اهمیت علوفه‌ای و سازگاری وسیع هستند) با قارچ‌های اندوفایت، متخصصان اصلاح نباتات را به استفاده از این رابطه در ایجاد گیاهان دارای عملکرد بهینه و عادات رشدی کارآتر در شرایط تنش ترغیب کرده است.

اندوفایت‌های علفی، قارچ‌هایی از خانواده *Clavicipitaceae* و از جنس *Neotyphodium* هستند که گراس‌های زیرخانواده *Poaceae* را به صورت سیستمیک آلوده می‌کنند (Malinowski and Belesky, 2000).

حضور اندوفایت‌ها در گیاهان میزبان، مزایای فراوانی را برای آن‌ها به ارمغان می‌آورد که از آن جمله به مقاومت به تنش‌های زیستی، شامل حفاظت در برابر حشرات، بیماری‌های قارچی، باکتری‌ها، ویروس‌ها و نماتدها و مقاومت به تنش‌های غیرزنده همچون خشکی، مقابله با اثرات سمیت عناصر و تغییرات pH و اعطای خصوصیات مطلوب زراعی مانند افزایش عملکرد (دانه و علوفه) بهبود فتوسنتز و رشد، افزایش دوام گیاه و مبارزه آلوپاتیک با علف‌های هرز می‌توان اشاره کرد (Arachevaleta et al., 1989; Liu et al., 1996; Malinowski and Belesky, 2000; Marks and Clay, 1996; Siegel et al., 1981; White, 1987). خصوصیات با ارزش فنوتیپی و افزایش مقاومت به تنش‌های محیطی از جمله سرما در پی یکسری تغییرات مورفولوژیک و فیزیولوژیک در گیاه آلوده به قارچ اندوفایت حاصل می‌گردد. مالینووسکی و بلسکی (Malinowski and Belesky, 2000) اظهار داشتند که در شرایط تنش آب کشیدگی، گیاه فسکیوی

هیف قارچ در بافت غلاف برگ و نیز نمود عالی گیاهی بود انتخاب گردید و در کلون‌سازی مورد استفاده قرار گرفت، به نحوی که پنجه‌های بوته مورد نظر به دو بخش تقسیم شدند و یک بخش از آن برای حذف قارچ استفاده شد.

به منظور حذف قارچ‌های اندوفایت از گیاهان میزبان از روش شیمیایی با استفاده از تیمار قارچ‌کش‌های سیستمیک فولیکور و پروپیکونازول استفاده گردید (Saha et al., 1988). قارچ‌کش فولیکور به مقدار یک میلی‌لیتر در لیتر باعث حذف قارچ ژنوتیپ شماره ۶۰ گردید و برای حذف قارچ دو ژنوتیپ دیگر مخلوطی از دو قارچ‌کش فولیکور و پروپیکونازول به ترتیب با مقادیر یک میلی‌لیتر در لیتر و ۲ گرم ماده مؤثره در لیتر مناسب بود. محلول پاشی هفته‌ای دو بار و به مدت دو هفته انجام شد. پس از اطمینان از حذف قارچ، پنجه‌های حاوی اندوفایت و عاری از اندوفایت هر ژنوتیپ در کرت‌های مجزا کشت گردیدند. بعد از گذشت ۳ ماه از استقرار گیاهچه‌ها و تولید پنجه‌های کافی، سه پنجه هم اندازه از کلون‌های هر توده، پس از کشت در گلدان‌های اصلی به گلخانه انتقال یافتند تا پنجه و ریشه جدید تولید کنند.

تیمارهای دمایی شامل ۶، ۲- و ۱۰- درجه سانتی‌گراد بودند که همراه با یک شاهد (۲۰ درجه) مورد مطالعه قرار گرفتند. مدت زمان اعمال هر سطح تیمار سرمایی ۲۰ روز با یک فتوپریود ۱۲ ساعته بود. به منظور جلوگیری از ایجاد شوک سرمایی، گلدان‌ها به تدریج در تیمارهای سرمایی قرار گرفتند. جهت اعمال تیمار سرمایی بالای صفر از یخچال و برای اعمال تیمارهای زیر صفر از یک دستگاه فریزر قابل تنظیم استفاده شد.

سه ژنوتیپ شماره ۶۰، ۷۵ و ۸۳ در دو وضعیت وجود و عدم اندوفایت در تیمارهای دمایی مذکور قرار گرفتند. آزمایش به صورت فاکتوریل در قالب طرح پایه کاملاً تصادفی در سه تکرار به اجرا درآمد و تجزیه

اندوفایت افت پنجه بیشتری در شرایط تنش‌های محیطی دارند که آراچوالتا و همکاران (Arachevaleta et al., 1989) این میزان را در تنش خشکی حدود ۷۵ درصد ذکر کردند.

با توجه به اثرات گزارش شده قارچ‌های اندوفایت در القاء ریشه‌دهی عمیق‌تر و متراکم‌تر و جذب آب بیشتر، لوله‌ای شدن برگ‌ها، پنجه‌زنی و تجمع ماده خشک بیشتر به ویژه در مناطق رشدی حساس گیاه (طوقه‌ها) و طوقه‌های عمیق‌تر، که همگی قدرت گیاه را در مقابله با تنش سرما افزایش می‌دهند، به نظر می‌رسد که این قارچ‌ها حضور معنی‌داری در القاء صفت مقاومت به سرما داشته باشند. اما، علی‌رغم مطالعات انجام شده برای درک اثر اندوفایت‌ها در بهبود واکنش گیاهان نسبت به شرایط نامساعد محیطی، تاکنون گزارشی مبنی بر تأثیر اندوفایت‌ها در مواجه شدن گیاه با تنش دمایی پائین، منتشر نشده است. تحقیق حاضر گامی نخستین برای بررسی این جنبه از همزیستی اندوفایت است.

این پژوهش در سال ۱۳۸۱ در دو بخش گلخانه‌ای و آزمایشگاهی در دانشکده کشاورزی، دانشگاه صنعتی اصفهان به اجرا درآمد. ماده آزمایشی مورد استفاده شامل سه کلون بود. دو کلون از گیاه فسکیوی بلند (ژنوتیپ‌های شماره ۷۵ و ۸۳) که هگزاپلوئید هستند و یک کلون از گیاه فسکیوی مرتعی (ژنوتیپ شماره ۶۰) که دیپلوئید است.

پس از کاشت بذرها آلوده هر یک از ژنوتیپ‌های ۶۰، ۷۵ و ۸۳ گیاهچه‌های حاصل از نظر تعیین حضور قارچ‌های اندوفایت بررسی شدند، به این منظور نمونه‌هایی از بافت غلاف برگ از هر بوته تهیه گردید و پس از رنگ‌آمیزی با رنگ رزبنگال (Shelby and Dalrymple, 1987) مورد مشاهده میکروسکوپی قرار گرفتند (Marks and Clay, 1996). سپس از هر ژنوتیپ یک بوته که دارای حداکثر تراکم

واریانس داده‌ها در هر سطح سرمایی به طور جداگانه و سپس به صورت تجزیه مرکب انجام شد.

پس از اعمال تیمارهای دمایی، وزن خشک بخش هوایی، ریشه و طوقه در هر گلدان اندازه‌گیری شد. تعداد پنجه در هر گلدان ۱۰ روز بعد از شروع تنش شمارش گردید. به منظور ارزیابی رشد دوباره، در پایان تیماردهی، گیاهان به مدت یک ماه در شرایط تیمار شاهد قرار داده شدند. سپس تعداد پنجه موجود در هر گلدان شمارش گردید و به عنوان معیاری برای ارزیابی رشد مجدد در نظر گرفته شد. تغییرات در رشد بر حسب درصد افزایش یا افت تعداد پنجه موجود در مقایسه با تعداد پنجه‌های قبلی گزارش گردید.

پس از اعمال هر تیمار دمایی، مقطع‌هایی از برگ‌های دوم از بالا که برگ‌هایی جوان و در عین حال رشد یافته بودند، تهیه شد و رنگ‌آمیزی مضاعف با رنگ‌های سبز متیل و کارمن زاجی انجام شد که مراحل آن به شرح زیر است:

الف) قرار دادن نمونه‌ها در محلول تثبیت کننده، به مدت یک ماه.

ب) تهیه مقطع از قسمت‌های مختلف گیاه به روش دستی با استفاده از تیغ و یونولیت.

ج) قرار دادن برش‌های تهیه شده در آب ژاول به مدت ۱۰ تا ۱۵ دقیقه و سپس شستشو با آب مقطر.

د) قرار دادن نمونه‌ها در اسید استیک ۱ درصد به مدت ۱ تا ۳ دقیقه و سپس شستشو با آب مقطر.

ه) قرار دادن نمونه‌ها در محلول رنگی سبز متیل به مدت ۳۰ تا ۶۰ ثانیه و سپس شستشو با آب مقطر.

و) قرار دادن نمونه‌ها در محلول رنگی کارمن زاجی به مدت ۱۰-۱۵ دقیقه و سپس شستشو با آب مقطر.

نمونه‌های آماده شده توسط میکروسکوپ از لحاظ ضخامت کوتیکول برگ مشاهده گردیدند. با استفاده از گلیسرین به جای آب مقطر در هنگام تهیه اسلاید، نمونه‌ها تا چند هفته قابل مشاهده و بررسی شدند.

نتایج حاصل از تجزیه واریانس نشان‌دهنده معنی‌دار بودن اثر ژنوتیپ و اندوفایت در سطوح مختلف دمایی بود (جدول ۱، ۳، ۵ و ۷). در کلیه دماها، سطح دارای اندوفایت و ژنوتیپ شماره ۸۳ از لحاظ این صفت در گروه‌های برتر آماری قرار گرفتند. میزان افزایش وزن خشک اندام هوایی در حضور اندوفایت در مقایسه با عدم حضور آن در دماهای شاهد، ۶، ۲- و ۱۰- درجه سانتی‌گراد به ترتیب برابر ۶۰، ۳۴، ۳۴ و ۲۳ درصد بود. همچنین با توجه به مقایسه میانگین‌های اثرات متقابل در شرایط تنش ژنوتیپ  $E^+ 83$  (حاوی اندوفایت) مقادیر بیشتری از وزن خشک اندام هوایی را دارا بود (جدول ۲، ۴، ۶ و ۸). مالینوسکی و همکاران (Malinowski et al., 1997) نیز اظهار داشتند که گراس‌های آلوده به قارچ به علت دارا بودن زیست توده بیشتر، قدرت رقابت بیشتری نسبت به گیاهان عاری از قارچ دارند. به عقیده آن‌ها افزایش وزن خشک اندام هوایی در نتیجه افزایش وزن پنجه‌ها است. آراچوالتا و همکاران (Arachevaleta et al., 1989) دلیل افزایش وزن خشک اندام هوایی را کارآتر عمل کردن گیاهان حاوی اندوفایت در جذب مواد غذایی به ویژه نیتروژن عنوان کردند.

نتایج تجزیه مرکب بین سطوح دمایی مختلف نیز نشان داد که اثر ژنوتیپ، اندوفایت و ترکیب آن‌ها با یکدیگر و نیز ترکیب هر یک از آن‌ها با دما در سطح احتمال ۱ درصد بسیار معنی‌دار بود (جدول ۹). ژنوتیپ شماره ۸۳ حاوی اندوفایت در گروه برتر قرار گرفت و ژنوتیپ‌های شماره ۷۵ و ۶۰ از نظر آماری به ترتیب در گروه‌های بعدی قرار گرفتند. بین دماهای مختلف نیز اختلاف معنی‌داری وجود داشت. وزن خشک اندام هوایی در تیمار شاهد، بیشترین مقدار و در ۶ درجه کمترین مقدار را داشت (جدول ۱۰). در تیمار ۶ درجه گیاهان پس از ایجاد خوگرفتگی، خود را با این

دما تطابق داده و کربوهیدرات بیشتری را برای حفظ بقا به ناحیه ریشه و طوقه انتقال دادند.

اثر ژنوتیپ و اندوفایت در دماهای مختلف بسیار معنی دار شد، اما ترکیب این دو فقط در تیمار شاهد معنی دار گردید (جدول ۱، ۳، ۵ و ۷). وزن خشک ریشه در حضور اندوفایت افزایش یافت (جدول های ۲، ۴، ۶ و ۸). لچ (Latch, 1998) گزارش کرد که گیاهان فسکیوی بلند آلوده به اندوفایت وزن خشک ریشه بیشتر و ریشه های عمیق تری دارند. مالینووسکی و همکاران (Malinowski *et al.*, 1997) میزان این افزایش را در گیاهان حاوی اندوفایت ۷۰ درصد بیشتر از گیاهان عاری از قارچ ذکر کردند.

به جز تیمار شاهد که در آن ژنوتیپ شماره ۶۰ بیشترین وزن خشک ریشه را داشت، در سایر دماها ژنوتیپ ۸۳ از لحاظ آماری در گروه برتر قرار گرفت (جدول های ۲، ۴، ۶ و ۸). اختلاف مشاهده شده با تفاوت فیزیولوژیکی بین ژنوتیپ های مختلف مرتبط و بیانگر این مطلب است که ژنوتیپ شماره ۸۳ در انتقال اسیمیلات ها به ریشه در شرایط تنش موفق تر عمل کرده است. بروز تنش در برخی ارقام اگرچه سبب باز دارندگی توسعه برگ می شود، اما ساخت اسیمیلات ها هنوز نزدیک به سطوح نرمال ادامه داشته و چون تنها مخزن در حال رشد در این شرایط، ریشه های موجود در عمق خاک هستند، اسیمیلات اضافی جهت رشد ریشه تغییر مکان می دهد.

در تجزیه واریانس مرکب (جدول ۱۰) و در مقایسه میانگین بین دماها از نظر آماری اختلاف معنی داری ملاحظه نگردید. در بین اثرات متقابل (ژنوتیپ × اندوفایت) در تجزیه واریانس مرکب، ژنوتیپ های  $E^+$  ۶۰ و  $E^+$  ۸۳ بیشترین وزن خشک ریشه را در کلیه سطوح دمایی داشتند. و ژنوتیپ های  $E^-$  ۶۰ و  $E^-$  ۷۵ کمترین مقادیر را داشتند.

طوقه جزو بخش های حساس گیاه است و سرمای زمستانه باعث ایجاد و توسعه سریع بلورهای یخ در داخل یاخته ها و تخریب بعدی ساختار پروتوپلاسمی آن گشته و غالباً با مرگ گیاه همراه است. در چنین شرایطی طوقه هایی که ذخیره کربوهیدرات بیشتر و به دنبال آن تجمع ماده خشک بیشتری دارند در تنش سرما به نحو بهتری محافظت خواهند شد (Olien and Smith, 1981).

در پژوهش حاضر (جدول ۱، ۳، ۵ و ۷) نیز بین ژنوتیپ ها از نظر این صفت در کلیه سطوح دمایی تفاوت های بسیار معنی دار مشاهده گردید که می توان از آن در گرینش ژنوتیپ های برتر سود جست. ژنوتیپ شماره ۸۳ بیشترین وزن خشک طوقه را در شرایط تنش و کمترین میزان آن را در شرایط عدم تنش داشت، که بیانگر قابلیت بالای این ژنوتیپ در جهت سازگاری با تنش است. پس از آن ژنوتیپ های شماره ۷۵ و ۶۰ در مراتب بعدی قرار گرفتند (جدول ۱۰). همچنین اثر اندوفایت در وزن خشک طوقه بسیار معنی دار شد (جدول ۱، ۳، ۵ و ۷) و گیاهان حاوی اندوفایت از نظر وزن خشک طوقه در گروه های برتر آماری قرار گرفتند (جدول های ۲، ۴، ۶ و ۸). نتایج نشان داد که اندوفایت ها وزن خشک طوقه را به میزان ۳۷ درصد افزایش دادند (جدول ۱۰). اندوفایت ها با تولید هورمون گیاهی مواد غذایی بیشتری را به طوقه ها (که از مراکز عمده تجمع این قارچ ها در گیاه است) اختصاص می دهند و علاوه بر این که خود از این ذخایر فتوسنتزی تغذیه می کنند، نقش مهمی در پایداری گیاهان میزبان در شرایط تنش ایفا می کنند (White, 1987). ژنوتیپ ها در شرایط عادی کمترین میزان ماده خشک و در تنش ملایم ۶ درجه بیشترین تجمع ماده خشک طوقه را داشتند. این موضوع ممکن است به دلیل خوگرفتگی گیاهان به تنش سرما در این دما و در نتیجه انتقال بیشتر کربوهیدرات ها به نقطه رشدی حساس گیاه باشد، که قابلیت گیاه را در تحمل دماهای پائین تر (انجماد) افزایش خواهد داد.

باعث شد. در این تیمارها با عنایت به معنی دار شدن اثر ژنوتیپ × اندوفایت (جدول ۱، ۳، ۵ و ۷)، مقایسه میانگین این اثرات حاکی از برتری ژنوتیپ‌های شماره ۸۳ و ۷۵ در حضور اندوفایت بود. به طوری که در تیمار ۶ درجه نه تنها افت در تعداد پنجه‌های قبلی وجود نداشت، بلکه ۲۰ درصد افزایش در تعداد پنجه در ژنوتیپ‌های  $E^+ 83$  و  $E^+ 75$  مشاهده گردید (جدول‌های ۲، ۴، ۶، ۸ و ۱۰ و شکل ۱ و ۲). در شدیدترین سطح تنش (۱۰- درجه)، اختلاف معنی داری مشاهده نشد. در این تیمار تقریباً همه پنجه‌ها از بین رفتند.

در تجزیه واریانس مرکب کلیه منابع تغییر اعم از اثر دما، ژنوتیپ اندوفایت و ترکیب آن‌ها معنی دار شدند (جدول ۹). بیشترین خسارت در تیمارهای ۱۰- و ۲- درجه حادث گردید، که به ترتیب در این تیمارها، ۹۹ و ۹۷ درصد پنجه‌ها از بین رفتند. در حالی که در تیمار شاهد ۳۰ درصد افزایش در تعداد پنجه مشاهده گردید (جدول ۱۰).

ریچاردسون و همکاران (Richardson *et al.*, 1992) گزارش کردند که قارچ‌های اندوفایت قادر به تولید ترکیبات مهم و متنوعی از جمله کربوهیدرات‌های غیرساختمانی، گلوکز و فروکتوز در گیاهان میزبان هستند که از نظر اسمزی فعال بوده و در تعدیل فشار اسمزی نقش مهمی را ایفا می‌کنند. این ترکیبات همچنین باعث افزایش قدرت رویش مجدد بعد از برداشت در گیاهان آلوده به قارچ می‌شوند. هیل و همکاران (Hill *et al.*, 1990) ضمن تأیید گزارش‌های قبلی اظهار داشتند که اندوفایت‌ها از طریق تنظیم هورمونی سبب تخصیص کربوهیدرات‌های ذخیره شده برای رشد مجدد گیاهان میزبان می‌گردند.

خصوصیت سطح خارجی گیاه و ویژگی‌های آب‌گریزی آن در جلوگیری از تشکیل یخ نقش تعیین‌کننده‌ای دارد. ضخامت لایه‌های کوتیکولی ممکن

بین ژنوتیپ‌ها و سطوح اندوفایت، از نظر تعداد پنجه تفاوت قابل ملاحظه‌ای وجود داشت (جدول‌های ۲، ۴، ۶ و ۸). حضور اندوفایت‌ها افزایش معنی داری را از نظر تعداد پنجه در کلیه تیمارهای دمایی موجب شد، که در این میان تنها تیمار ۱۰- درجه مستثنی بود و هیچ اختلافی بین گیاهان حاوی اندوفایت و فاقد آن از نظر تعداد پنجه وجود نداشت (جدول ۸). این امر به این علت است که در دماهای بسیار سرد (انجماد) اندوفایت‌ها به جای ایفای نقش در جهت افزایش رشد و تولید پنجه‌های بیشتر، با تخصیص مواد غذایی به نقاط رشدی حساس، توان تحمل گیاه را در سپری کردن شرایط سخت و حفظ بقاء افزایش می‌دهند. در میان ژنوتیپ‌های مورد مطالعه، ژنوتیپ شماره ۸۳ در کلیه سطوح دمایی تعداد پنجه بیشتری تولید کرد، ژنوتیپ‌های شماره ۷۵ و ۶۰ به ترتیب در رده‌های بعدی قرار گرفتند (جدول‌های ۲، ۴، ۶ و ۸).

به عقیده هیل و همکاران (Hill *et al.*, 1990) عوامل محیطی مؤثر بر جریان انرژی از میزبان به طرف قارچ موجب تغییر در تنظیم‌کننده‌های رشدی قارچ و در نتیجه تحریک پنجه‌دهی در میزبان می‌شود. بنابراین می‌توان نتیجه گرفت که پدیده‌های تنظیم‌کنندگی نژاد قارچی موجود در ژنوتیپ شماره ۸۳ موفق‌تر عمل کرده و منجر به تولید تعداد پنجه بیشتر گردید.

در نتایج حاصل از رشد مجدد، مقادیر مثبت بیانگر درصد افزایش در رشد و مقادیر منفی نشان‌دهنده درصد رشد منفی (افت در تعداد پنجه در مقایسه با تعداد پنجه‌های قبل از اعمال تیمار) هستند. در تیمار شاهد، ژنوتیپ شماره ۸۳ تعداد پنجه جدید بیشتری تولید کرد. در این تیمار بین حضور و عدم حضور اندوفایت اختلاف معنی داری مشاهده نگردید. در حالی که در تیمارهای ۶ و ۲- درجه حضور اندوفایت در مقایسه با عدم حضور آن درصد افت کمتری را در تعداد پنجه

است چنین نقش حفاظتی را در گیاه ایفا کند (میرمحمدی میبیدی، ۱۳۷۹).  
 در مشاهدات میکروسکوپی تفاوتی بین گیاهان حاوی اندوفایت و فاقد آن از نظر ضخامت کوتیکول برگ، در هیچ کدام از سطوح دمایی، دیده نشد. تنها تفاوت مشاهده شده، مربوط به ژنوتیپ‌های مورد مطالعه بود. به طوری که ضخامت کوتیکول در ژنوتیپ‌های شماره ۸۳ و ۷۵ دو برابر ژنوتیپ شماره ۶۰ بود. نظر به این که ژنوتیپ‌های شماره ۸۳ و ۷۵ هگزاپلوئید بوده و ژنوتیپ ۶۰ دیپلوئید است، احتمال می‌رود تفاوت مشاهده شده مربوط به سطح پلوئیدی ژنوتیپ‌ها باشد.

جدول ۱- تجزیه واریانس وزن خشک اندام هوایی، وزن خشک ریشه، وزن خشک طوقه، تعداد پنجه و رشد مجدد، در ژنوتیپ‌های ۶۰، ۷۵، ۸۳ و سطوح حضور و عدم حضور اندوفایت، در تیمار شاهد

Table 1. Analysis of variance for shoot dry weight (SOW), root dry weight (RDW), crown dry weight (CDW), number of tiller (NT) and regrowth (RG) in different genotypes, endophyte levels in control treatment

منبع تغییرات S.O.V.	Trait صفات	درجه آزادی df	وزن خشک اندام هوایی SDW	وزن خشک ریشه RDW	وزن خشک طوقه CDW	تعداد پنجه NT	رشد مجدد RG
Genotype	ژنوتیپ	2	0.90 **	3.78 **	0.29 **	456.72 **	347.39 **
Endophyte	اندوفایت	1	0.43 *	8.66 **	0.27 **	144.50 **	9.39 <sup>ns</sup>
G × E	ژنوتیپ × اندوفایت	2	3.85 **	4.70 **	0.48 **	292.17 **	1.72 <sup>ns</sup>
Error	خطا	12	0.06	0.04	0.01	2.33	15.44 <sup>ns</sup>
CV %	درصد ضریب تغییرات		9.07	8.18	12.94	4.68	13.12

\* and \*\*: Significant at 5% and 1% probability levels, respectively. ns: non-significant

ns: غیرمعنی دار

جدول ۲- میانگین ژنوتیپ‌های مختلف، سطوح اندوفایت و ترکیب این عوامل برای صفات وزن خشک اندام هوایی، وزن خشک ریشه، وزن خشک طوقه، تعداد پنجه و رشد مجدد، در تیمار شاهد

Table 2. Means of different genotypes, endophyte levels and combination of these factors for shoot dry weight (SOW), root dry weight (RDW), crown dry weight (CDW), number of tiller (NT) and regrowth (RG) in control treatment

Treatments	Trait صفات	وزن خشک اندام هوایی (گرم) SDW (g)	وزن خشک ریشه (گرم) RDW (g)	وزن خشک طوقه (گرم) CDW (g)	تعداد پنجه NT	رشد مجدد (درصد) RG (%)
60	ژنوتیپ 60	2.52 b	3.23 a	1.13 c	26 c	25 b
75	ژنوتیپ 75	2.46 b	1.89 b	3.88 a	29 b	27 b
83	ژنوتیپ 83	3.16 a	1.82 b	3.69 b	43 a	39 a
LSD (5%)		0.309	0.238	0.146	1.92	4.94
	حاوی اندوفایت (E <sup>+</sup> )	3.34 a	3.52 a	1.02 a	35 a	31 a
	بدون اندوفایت (E <sup>-</sup> )	2.08 b	2.11 b	0.78 b	30 b	29 a
LSD (5%)		0.253	0.194	0.119	1.569	4.04
60 E <sup>+</sup>		2.82 c	4.58 a	1.22 ab	32 c	26 b
60 E <sup>-</sup>		2.23 d	1.88 e	1.03 bc	20 d	23 b
75 E <sup>+</sup>		3.34 b	3.85 b	1.30 a	37 b	27 b
75 E <sup>-</sup>		1.58 e	2.94 c	0.47 d	22 d	26 b
83 E <sup>+</sup>		3.86 a	2.13 d	0.54 d	48 a	39 a
83 E <sup>-</sup>		2.45 cd	1.51 e	0.83 e	37 b	38 a

میانگین‌های دارای حروف غیرمشترک اختلاف معنی داری در سطح احتمال ۵ درصد دارند.

Means, in the same column, with different letters differ significantly at 5% probability level- Using Duncan Multiple Range Test.

جدول ۳- تجزیه واریانس وزن خشک اندام هوایی، وزن خشک ریشه، وزن خشک طوقه، تعداد پنجه و رشد مجدد، در ژنوتیپ‌های ۶۰، ۷۵، ۸۳ و سطوح حضور و عدم حضور اندوفایت، در تیمار ۶ درجه سانتی گراد

Table 3. Analysis of variance for shoot dry weight (SDW), root dry weight (RDW), crown dry weight (CDW), number of tiller (NT) and regrowth (RG) in different genotypes and endophyte levels in 6 °C treatment

منبع تغییرات S.O.V.	صفات Trait	درجه آزادی df	وزن خشک	وزن خشک	وزن خشک	تعداد	رشد
			اندام هوایی SDW	ریشه RDW	طوقه CDW	پنجه NT	مجدد RG
Genotype	ژنوتیپ	2	0.81 **	7.25 **	2.52 **	732.67 **	8181.06 **
Endophyte	اندوفایت	1	0.61 *	2.19 **	1.05 **	174.22 *	7174.22 **
G × E	ژنوتیپ × اندوفایت	2	0.22 <sup>ns</sup>	0.12 <sup>ns</sup>	0.02 <sup>ns</sup>	22.22 <sup>ns</sup>	1276.72 **
Error	خطا	12	0.11	0.19	0.04	19.17	43
CV %	درصد ضریب تغییرات		25.90	17.96	14.62	15.27	17.71

\* و \*\*: به ترتیب معنی دار در سطح احتمال ۵ و ۱ درصد. \* and \*\*: Significant at 5% and 1% probability levels, respectively.  
ns: non-significant

جدول ۴- میانگین ژنوتیپ‌های مختلف، سطوح اندوفایت و ترکیب این عوامل برای صفات وزن خشک اندام هوایی، وزن خشک ریشه، وزن خشک طوقه، تعداد پنجه و رشد مجدد، در تیمار ۶ درجه سانتی گراد

Table 4. Means of different genotypes, endophyte levels and combination of these factors for shoot dry weight (SDW), root dry weight (RDW), crown dry weight (CDW), number of tiller (NT) and regrowth (RG) in 6 °C treatment

تیمارها Treatments	صفات Trait	وزن خشک	وزن خشک	وزن خشک	تعداد	رشد مجدد
	اندام هوایی (گرم) SDW (g)	ریشه (گرم) RDW (g)	طوقه (گرم) CDW (g)	پنجه NT	(درصد) RG	
ژنوتیپ 60		0.95 b	2.31 b	0.77 c	21 a	-78 c
ژنوتیپ 75		1.17 b	1.39 c	1.17 b	24 b	-5 a
ژنوتیپ 83		1.67 a	3.58 a	2.40 a	41 a	-28 b
LSD (5%)		0.412	0.548	0.244	5.50	8.25
حاوی اندوفایت (E <sup>+</sup> )		1.45 a	2.77 a	1.57 a	32 a	-6 a
بدون اندوفایت (E <sup>-</sup> )		1.08 b	2.08 b	1.09 b	26 b	-68 b
LSD (5%)		0.336	0.448	0.199	4.497	6.74
60 E <sup>+</sup>		1.32 ab	2.78 b	1.05 cd	26 b	-57 c
60 E <sup>-</sup>		0.58 c	1.84 c	0.50 e	16 c	-98 e
75 E <sup>+</sup>		1.37 ab	1.77 cd	1.35 c	26 b	20 a
75 E <sup>-</sup>		0.98 bc	1.01 d	0.99 d	22 bc	-30 b
83 E <sup>+</sup>		1.66 a	3.77 a	2.31 a	43 a	20 a
83 E <sup>-</sup>		1.69 a	3.38 ab	1.77 b	39 a	-75 d

میانگین‌های دارای حروف غیرمشترک اختلاف معنی داری در سطح احتمال ۵ درصد دارند.

Means, in the same column, with different letters differ significantly at 5% probability level- Using Duncan Multiple Range Test.

جدول ۵- تجزیه واریانس وزن خشک اندام هوایی، وزن خشک ریشه، وزن خشک طوقه، تعداد پنجه و رشد مجدد،

در ژنوتیپ‌های ۶۰، ۷۵، ۸۳ و سطوح حضور و عدم حضور اندوفایت، در تیمار ۲- درجه سانتی گراد

Table 5. Analysis of variance for shoot dry weight (SDW), root dry weight (RDW), crown dry weight (CDW), number of tiller (NT) and regrowth (RG) in different genotypes and endophyte levels in -2 °C treatment

منبع تغییرات S.O.V.	صفات Trait	درجه آزادی df	وزن خشک	وزن خشک	وزن خشک	تعداد	رشد
			اندام هوایی SDW	ریشه RDW	طوقه CDW	پنجه NT	مجدد RG
Genotype	ژنوتیپ	2	1.46 **	0.12 <sup>ns</sup>	0.22 **	135.39 **	3.72 <sup>ns</sup>
Endophyte	اندوفایت	1	7.99 **	3.01 **	1.10 **	501.39 **	10.56 **
G × E	ژنوتیپ × اندوفایت	2	1.18 **	0.01 <sup>ns</sup>	0.03 <sup>ns</sup>	26.72 **	16.72 *
Error	خطا	12	0.05	0.07	0.02	2.39	3.33
CV %	درصد ضریب تغییرات		8.81	12.17	11.36	4.89	1.89

\* و \*\*: به ترتیب معنی دار در سطح احتمال ۵ و ۱ درصد. \* and \*\*: Significant at 5% and 1% probability levels, respectively.  
ns: non-significant

جدول ۶- میانگین ژنوتیپ‌های مختلف، سطوح اندوفایت و ترکیب این عوامل برای صفات وزن خشک اندام هوایی،

وزن خشک ریشه، وزن خشک طوقه، تعداد پنجه و رشد مجدد، در تیمار ۲- درجه سانتی گراد

Table 6. Means of different genotypes, endophyte levels and combination of these factors for shoot dry weight (SDW), root dry weight (RDW), crown dry weight (CDW), number of tiller (NT) and regrowth (RG) in -2 °C treatment

تیمارها Treatments	صفات Trait	وزن خشک اندام هوایی (گرم) SDW (g)	وزن خشک ریشه (گرم) RDW (g)	وزن خشک طوقه (گرم) CDW (g)	تعداد پنجه NT	رشد مجدد (درصد) RG
	60 ژنوتیپ		2.07 b	2.27 a	0.88 b	27 c
75 ژنوتیپ		2.29 ab	2.00 a	1.14 a	32 b	-97 a
83 ژنوتیپ		2.52 a	2.20 a	1.26 a	36 a	-96 a
LSD (5%)		0.291	0.331	0.156	1.944	2.30
(E <sup>+</sup> ) حاوی اندوفایت		2.63 a	2.57 a	1.34 a	37 a	-94 a
(E <sup>-</sup> ) بدون اندوفایت		1.96 b	1.75 b	0.85 b	26 b	-99 b
LSD (5%)		0.238	0.27	0.128	1.588	1.88
60 E <sup>+</sup>		2.24 b	2.70 a	1.06 b	34 b	-96 bc
60 E <sup>-</sup>		1.91 bc	1.85 b	0.70 c	20 d	-98 bcd
75 E <sup>+</sup>		2.79 a	2.36 a	1.40 a	35 b	-95 b
75 E <sup>-</sup>		1.78 c	1.64 b	0.88 bc	29 c	-99 cd
83 E <sup>+</sup>		2.85 a	2.64 a	1.56 a	42 a	-91 a
83 E <sup>-</sup>		2.20 b	1.76 b	0.95 b	31 c	-100 d

میانگین‌های دارای حروف غیر مشترک اختلاف معنی داری در سطح احتمال ۵ درصد دارند.

Means, in the same column, with different letters differ significantly at 5% probability level- Using Duncan Multiple Range Test.

جدول ۷- تجزیه واریانس وزن خشک اندام هوایی، وزن خشک ریشه، وزن خشک طوقه، تعداد پنجه و رشد مجدد،

در ژنوتیپ‌های ۶۰، ۷۵، ۸۳ و سطوح حضور و عدم حضور اندوفایت، در تیمار ۱۰- درجه سانتی گراد

Table 7. Analysis of variance for shoot dry weight (SDW), root dry weight (RDW), crown dry weight (CDW), number of tiller (NT) and regrowth (RG) in different genotypes and endophyte levels in -10 °C treatment

منبع تغییرات S.O.V.	صفات Trait	درجه آزادی df	وزن خشک	وزن خشک	وزن خشک	تعداد	رشد
			اندام هوایی SDW	ریشه RDW	طوقه CDW	پنجه NT	مجدد RG
Genotype	ژنوتیپ	2	2.57 **	3.74 **	0.12 **	532.06 **	0.06 <sup>ns</sup>
Endophyte	اندوفایت	1	0.55 *	3.32 **	0.08 *	12.50 <sup>ns</sup>	6.72 <sup>ns</sup>
G × E	ژنوتیپ × اندوفایت	2	0.02 <sup>ns</sup>	0.06 <sup>ns</sup>	0.02 <sup>ns</sup>	6.50 <sup>ns</sup>	0.06 <sup>ns</sup>
Error	خطا	12	0.07	0.18	0.01	5.11	1.61
CV %	درصد ضریب تغییرات		15.21	18.76	9.28	7.28	1.28

\* و \*\*: به ترتیب معنی دار در سطح احتمال ۵ و ۱ درصد. \* and \*\*: Significant at 5% and 1% probability levels, respectively.  
ns: non- significant

جدول ۸- میانگین ژنوتیپ‌های مختلف، سطوح اندوفایت و ترکیب این عوامل برای صفات وزن خشک اندام هوایی،

وزن خشک ریشه، وزن خشک طوقه، تعداد پنجه و رشد مجدد، در تیمار ۱۰- درجه سانتی گراد

Table 8. Means of different genotypes, endophyte levels and composition of this factors for shoot dry weight (SDW), root dry weight (RDW), crown dry weight (CDW), number of tiller (NT) and regrowth (RG) in -10 °C treatment

تیمارها Treatments	صفات Trait	وزن خشک اندام هوایی (گرم) SDW (g)	وزن خشک ریشه (گرم) RDW (g)	وزن خشک طوقه (گرم) CDW (g)	تعداد پنجه NT	رشد مجدد (درصد) RG
	60 ژنوتیپ		1.03 c	1.71 b	0.94 b	21 c
75 ژنوتیپ		1.67 b	1.84 b	0.97 b	33 b	-99 a
83 ژنوتیپ		2.33 a	3.14 a	1.20 a	40 a	-99 a
LSD (5%)		0.323	0.527	0.121	2.844	1.59
(E <sup>+</sup> ) حاوی اندوفایت		1.86 a	2.66 a	1.10 a	32 a	-99 a
(E <sup>-</sup> ) بدون اندوفایت		1.51 b	1.80 b	0.97 b	30 a	-100 a
LSD (5%)		0.264	0.430	0.099	2.322	1.30
60 E <sup>+</sup>		1.21 c	2.05 bc	1.00 bc	23 c	-99 a
60 E <sup>-</sup>		0.84 c	1.38 c	0.89 c	19 c	-100 a
75 E <sup>+</sup>		1.92 b	2.38 b	0.98 bc	33 b	-99 a
75 E <sup>-</sup>		1.78 b	1.31 c	0.96 bc	32 b	-100 a
83 E <sup>+</sup>		2.45 a	3.56 a	1.33 a	40 a	-99 a
83 E <sup>-</sup>		2.22 ab	2.72 b	1.07 b	40 a	-100 a

میانگین های دارای حروف غیر مشترک اختلاف معنی داری در سطح احتمال ۵ درصد دارند.

Means, in the same column, with different letters differ significantly at 5% probability level- Using Duncan Multiple Range Test.

جدول ۹- تجزیه واریانس وزن خشک اندام هوایی، وزن خشک ریشه، وزن خشک طوقه، تعداد پنجه و رشد مجدد، در ژنوتیپ‌های ۶۰، ۷۵، ۸۳ و سطوح حضور و عدم حضور اندوفایت

Table 9. Combined analysis of variance for shoot dry weight (SDW), root dry weight (RDW), crown dry weight (CDW), number of tiller (NT) and regrowth (RG) in different genotypes and endophyte levels

منبع تغییرات S.O.V.	صفات Trait	درجه آزادی df	وزن خشک	وزن خشک	وزن خشک	تعداد	رشد
			اندام هوایی SDW	ریشه RDW	طوقه CDW	پنجه NT	مجدد RG
Temperature	دما	3	0.78**	0.29*	0.58**	59.20 **	9659.07 **
Rep (Temp)	تکرار (دما)	4	0.05 <sup>ns</sup>	0.30*	0.03 <sup>ns</sup>	25.63 **	44.60 *
Genotype	ژنوتیپ	2	3.76**	5.07**	0.84**	1636.06 **	2457.10 **
Endophyte	اندوفایت	1	3.22**	15.92**	2.06**	654.01 **	5408 **
G * E	ژنوتیپ × اندوفایت	2	1.65**	1.49**	0.04 <sup>ns</sup>	122.89 **	378.88 **
T × G	دما × ژنوتیپ	6	0.27**	3.27**	0.77**	73.59 **	2025.04 **
T × E	دما × اندوفایت	3	0.12 <sup>ns</sup>	0.42*	0.15**	59.53 **	3963.30 **
T × G × E	دما × ژنوتیپ × اندوفایت	6	0.87**	1.13**	0.17**	74.91 **	305.44 **
Error	خطا	44	0.07	0.10	0.02	5.58	13.23
CV%	درصد ضریب تغییرات		13.65	13.92	12.42	7.62	7.17

\* و \*\*: به ترتیب معنی دار در سطح احتمال ۵ و ۱ درصد.

ns: non- significant

ns: غیر معنی دار

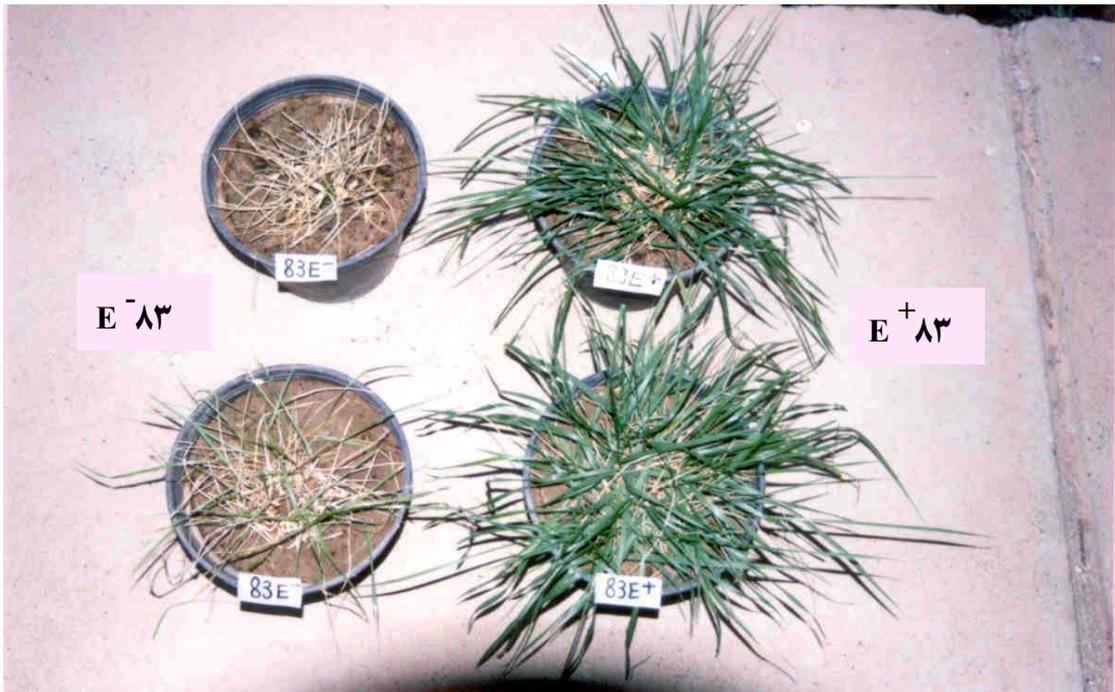
جدول ۱۰- میانگین ژنوتیپ‌های مختلف، سطوح اندوفایت، سطوح دمایی و ترکیب ژنوتیپ × اندوفایت برای صفات وزن خشک اندام هوایی، وزن خشک ریشه، وزن خشک طوقه، تعداد پنجه و رشد مجدد

Table 10. Means of different genotypes, endophyte levels, temperature levels and combination of genotype × endophyte for shoot dry weight (SDW), root dry weight (RDW), crown dry weight (CDW), number of tiller (NT) and regrowth (RG)

تیمارها Treatments	صفات Trait	وزن خشک اندام هوایی (گرم) SDW (g)	وزن خشک ریشه (گرم) RDW (g)	وزن خشک طوقه (گرم) CDW (g)	تعداد پنجه NT	رشد مجدد (درصد) RG
	60 ژنوتیپ		1.64 c	2.38 b	0.93 c	24 c
75 ژنوتیپ		1.90 b	1.78 c	1.04 b	29 b	- 44 a
83 ژنوتیپ		2.42 a	2.69 a	1.30 a	40 a	- 46 b
LSD (5%)		0.158	0.185	0.079	1.374	2.78
حاوی اندوفایت (E <sup>+</sup> )		2.31a	2.88 a	1.26 a	34 a	- 42 a
بدون اندوفایت (E <sup>-</sup> )		1.66 b	1.93 b	0.92 b	28 b	- 59 b
LSD (5%)		0.129	0.151	0.064	1.122	2.27
شاهد (Control)		2.71a	2.31 a	0.90 c	33 a	30 a
6 °C (T <sub>1</sub> )		1.26 c	2.43 a	1.33 a	29 a	- 37 b
-2 °C (T <sub>2</sub> )		2.29 a	2.16 a	1.09 b	32 a	- 97 c
-10 °C (T <sub>3</sub> )		1.69 b	2.23 a	1.04 bc	31 a	- 99 c
LSD (5%)		0.208	0.507	0.150	4.685	9.24
60 E <sup>+</sup>		1.90 c	3.03 a	1.08 c	29 d	- 57 d
60 E <sup>-</sup>		1.39 d	1.74 c	0.78 d	19 f	- 68 e
75 E <sup>+</sup>		2.35 b	2.59 b	1.26 b	33 c	- 37 b
75 E <sup>-</sup>		1.45 d	1.72 d	0.82 d	26 e	- 51 c
83 E <sup>+</sup>		2.70 a	3.02 a	1.44 a	41 a	- 33 a
83 E <sup>-</sup>		2.14 b	2.34 b	1.16 bc	39 b	- 59 d

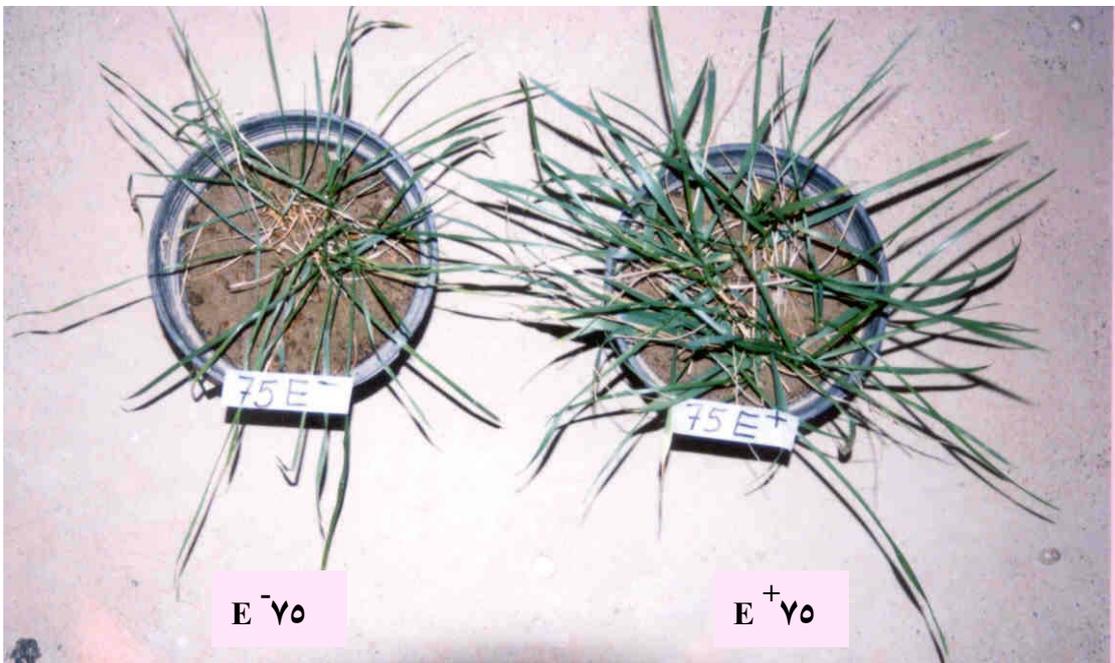
میانگین‌های دارای حروف غیر مشترک اختلاف معنی داری در سطح احتمال ۵ درصد دارند.

Means, in the same column, with different letters differ significantly at 5% probability level- Using Duncan Multiple Range Test.



شکل ۱- رشد مجدد ژنوتیپ شماره ۸۳ حاوی اندوفایت (سمت راست) و عاری از اندوفایت (سمت چپ)، یک ماه پس از رفع تنش سرمایی ۶ درجه سانتی گراد

Fig. 1. Regrowth of genotype  $83E^+$  (right) and genotype  $83E^-$  (left), one month after termination of cold stress ( $6^{\circ}\text{C}$ ).



شکل ۲- رشد مجدد ژنوتیپ شماره ۷۵ حاوی اندوفایت (سمت راست) و عاری از اندوفایت (سمت چپ)، یک ماه پس از رفع تنش سرمایی ۶ درجه سانتی گراد

Fig. 2. Regrowth of genotype  $75E^+$  (right) and genotype  $75E^-$  (left), one month after termination of cold stress ( $6^{\circ}\text{C}$ ).

## Reference

- جنبه‌های فیزیولوژیکی و به نژادی سرما و یخ زدگی گیاهان زراعی. انتشارات گلبن اصفهان، ۲۲۳ صفحه.
- Adak, M. S. and D. Eser. 1993.** Effect of fall growth and development on winter hardiness in barley, RACHIS. 12: 11-14.
- Arachevaleta, M., C. W. Bacon, C. S. Hoveland and D. E. Radcliffe. 1989.** Effect of the tall fescue endophyte on plant response to environmental stress. Agron. J. 81: 83-90.
- Bacon, C. W., M. O. Richardson and J. F. White. 1997.** Modification and uses of endophyte-enhanced turf grass: A role for molecular technology. Crop Sci. 37: 1415- 1425.
- De Battista, J. P., J. H. Bouton, C. W. Bacon and M. R. Siegel. 1990.** Rhizome and herbage production of endophyte removed tall fescue clones and populations. Agron. J. 82: 651-654.
- Hill, N. S., W. C. Stringer, G. E. Rothingous, D. P. Belesky, W. A. Parrot and D. D. Pope. 1990.** Growth, morphological, and chemical component responses of tall fescue to *Acremonium* Coenophialam. Crop sci. 30: 156-161.
- Holder, T. L., C. P. West, K. E. Turner, M. E. Mc Connell and E. L. Piper. 1994.** Incidence and viability of *Acremonium* endophytes in tall fescue and meadow fescue plant introductions. Crop Sci. 34: 232-254.
- Latch, G. C. M. 1998.** Grass endophytes as a model. Endophytism in plant pathology. The International Congress of Plant Pathology. Edinburgh. Scotland.
- Liu, H. B., J. R. Heckman and J. A. Murphy. 1996.** Screening fine fescue for aluminum tolerance. J. Plant Nutr. 19: 677-688.
- Malinowski, D., A. Leuchtman and D. Schmidt. 1997.** Symbiosis with *Neotyphodium uncinatum* endophyte may increase. The competitive ability of meadow fescue. Agron. J. 89: 833-839.
- Malinowski, D. P. and D. P. Belesky. 2000.** Adaptations of endophyte infect-cool season grasses to environmental stresses: Mechanism of drought and mineral stress tolerance. Crop Sci. 40: 923-940.
- Marks, S. and K. Clay. 1996.** Physiological responses of *Festuca arundinaceae* to fungal endophyte infection. New Phytol. 133: 727-733.
- Olien, C. R. and M. N. Smith (Eds.), 1981.** Analysis and improvement of plant cold hardiness. CRC Press. Boca Raton. Fl. P. 215.
- Richardson, M. D., Jr. Chapman, C. S. Hovland and C. W. Bacon. 1992.** Sugar alcohols in endophyte-infected tall fescue. Crop Sci. 32: 1060-1061.
- Saha, D. C., M. A. Jackson and J. M. Johnson-Cicalese. 1988.** A rapid staining method for detection of endophytic fungi in turf and forage grasses. Phytopathol. 78:237-239.
- Shelby, R. A. and L. W. Dalrymple. 1987.** Incidence and distribution of the tall fescue endophyte in the United States. Plant Dis. 71:738-786.
- Siegel, M. R., D. R. Varney, M. C. Johnson, W. C. Nesmith, R. C. Bukner, L. P. Bush, P. B. Burrus and J. R. Hordson. 1981.** A fungal endophyte of tall fescue: evaluation of control methods. Phytopathol. 74: 937-941.
- White, J. F. 1987.** Wide speed distribution of endophytes in Poaceae. Plant Dis. 71(4): 340- 342.

## The morphological changes affected by endophytes on induction of cold tolerance in two species of festuca

M. Parsacian<sup>1</sup>, A. Mirlohi<sup>2</sup>, A. Rezaie<sup>3</sup> and M. Baradaran<sup>4</sup>

### ABSTRACT

To analyze the morphological changes affected by endophytes on induction of cold tolerance in two species of festuca, an experiment was done at Isfahan University of Technology in 2002. Endophyte-infected and non-infected clones from two genotypes of tall fescue and one meadow fescue were prepared and numbered 75, 83 and 60 respectively. The clones were exposed to cold treatment at 20 C. After three weeks of cold treatments, shoot, root and crown dry weight, number of tillers, cuticle thickness and finally amount of regrowth were measured. The presence of endophytes had significant effect on increasing the dry weight of shoot, root, crown and number of tillers. Endophytic fungi had not significant effect in cuticle thickness. Evaluation of regrowth after termination of stress condition showed that endophytes increase the plant ability to survive and recover from exposure to cold stress environment. Among plant genotypes, 83 was better for most characteristics, specially in the presence of endophyte and showed higher cold tolerance.

**Key words:** Endophytic fungi, Cold tolerance, Festuca, Morphological trait.

---

**Received: August, 2004**

1- Ph. D. Student, Industrial University of Isfahan, Isfahan, Iran (Corresponding author)

2- Associate Professor, Industrial University of Isfahan, Isfahan, Iran.

3- Professor, Industrial University of Isfahan, Isfahan, Iran.

4- Ph. D. Student, Tabriz University, Tabriz, Iran.