بررسی اثر قارچ اندوفیت *Piriformospora indica* بر برخی صفات مورفولوژیک گیاه دارویی کاسنی

افسانه رشنو[۱]، زهرا موحدی[۲،*]، مجید رستمی[۳]، مهدی قبولی [۴]
۱- دانشجوی کارشناسی ارشد، تولیدات گیاهی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه ملایر،
۲ و *- نویسنده مسئول: استادیار، دکتری، اصلاح نباتات، گروه زراعت و اصلاح نباتات، دانشکده کشاورزی ، دانشگاه ملایر،
۳- استادیار، دکتری، زراعت، گروه زراعت و اصلاح نباتات، دانشکده کشاورزی، دانشگاه ملایر،
۴- استادیار، دکتری، بیوتکنولوژی، گروه زراعت و اصلاح نباتات، دانشکده کشاورزی، دانشگاه ملایر،
Email: zahra_movahedi_312@yahoo.com

چکیده

قارچ‌های اندوفیت با استفاده از مکانیسم‌های مختلف مانند افزایش سطح جذب همچنین تسهیل انتقال عناصر غذایی سبب بهبود رشد و نمو گیاه می‌گردند. این پژوهش به بررسی امکان کلنیزاسیون گیاه کاسنی به عنوان یک گیاه دارویی توسط این قارچ و مطالعه تاثیر احتمالی آن در بهبود رشد گیاه مذکور می‌پردازد. برای این منظور سه غلظت قارچ *P. indica* بر عملکرد گیاه دارویی کاسنی آزمایشی در قالب طرح کاملاً تصادفی با چهار تکرار انجام شد. نتایج حاصله نشان داد که تلقیح این گیاه با قارچ سبب افزایش رشد و زیست توده (بیوماس) گیاهان تلقیح شده نسبت به گیاهان شاهد گردید. با توجه به این نتایج به نظر می‌رسد کاسنی نیز یکی از میزبان‌های این قارچ محسوب می‌شود و تاثیر احتمالی قارچ درا فزایش رشد آن می‌تواند امکان بررسی‌های بیشتر و خصوصا تاثیر احتمالی قارچ در افزایش ماده موثره دارویی این گیاه را فراهم آورد.

کلمات کلیدی:کاسنی، قارچ *Piriformospora indica*، صفات مورفولوژیک

مقدمه

همزیستی میکوریزی یکی از مهم‌ترین روابط همزیستی در عالم حیات است که در طی دوره تکامل به وجود آمده است، که در آن، ریشه گیاه با قارچ به صورت یک واحد زنده فعالیت می کنند و از یکدیگر سود می برند (Harley and Smith, 1983). در بعضی از انواع این میکوریزها، وزیکول ها تشکیل نمی شوند و یا اکثراً در اواخر دوره رویشی گیاه ظاهر می‌گردند و وجود آربوسکول تنها نشانه قاطع برای تشخیص این نوع میکوریز محسوب می شود؛ به همین دلیل ترجیحاً به طور اختصار میکوریز آربوسکولار هم خوانده می شوند (Morton *et al.*, 1990). هر چند در شرایط طبیعی قارچ‌های میکوریزی AM در اکثر خاک‌ها حضور فعال دارند، اما در بسیاری از موارد با بهره گیری از سویه های قارچی فعال تر و مؤثرتر و با استفاده از روش‌های تلقیح می توان درصد آلودگی ریشه ها به قارچ میکوریزی را افزایش داد و بازدهی سیستم میکوریزی را به حد مطلوب رساند (خاوازی و ملکوتی، ۱۳۸۰). وارما و همکاران (۱۹۹۸) با کشف و معرفی قارچ اندوفیت جدیدی به نام *Piriformospora indica* از صحرای Thar کشور هندوستان که دارای توان همزیستی با بسیاری از گیاهان زراعی و نیز قادر به رشد در محیط های کشت مصنوعی است، نقطه روشنی در علم میکوریز ایجاد کردند و محققان فعال در عرصه میکوریز را امیدوار به کشت و تکثیر این قارچ میکوریزی بدون نیاز به کشت همراه با گیاه میزبان نمودند (Varma *et al*, 1999).

قارچ *P. indica* دارای دامنه میزبانی وسیعی است که با کلنیزاسیون ریشه آنها سبب تحریک شدید رشد میزبان‌های خود می‌گردد، اما بر خلاف قارچ‌های میکوریزی آربوسکولار که همزیست اجباری گیاهان میزبان هستند، قارچ اندوفیت *P. indica* همزیست اختیاری می باشد و به آسانی در محیط‌های کشت مصنوعی قادر به رشد است. *P. indica* با تعداد زیادی از گیاهان

عالی (تک و دولپه ای) رابطه همزیستی برقرار می نماید. این گیاهان شامل انواع خشکی پسند، بوته های یکساله و چند ساله و درختان چوبی می باشند. جالب است که *P. indica* در برقراری رابطه همزیستی با گیاهان میزبان دارای شباهت‌های زیادی با قارچ‌های میکوریزی است (Singh *et al.*, 2000). این قارچ با اشغال ناحیه کورتکس ریشه گیاهان میزبان خود سبب افزایش تولید بیومس (زیست توده) می گردد. اکثر گونه های گیاهان به صورت طبیعی توسط قارچ‌های میکوریزی آلوده می شوند، اما بعضی از گروه‌های گیاهی شامل اعضای خانواده های *Brassicaceae*، *Chenopodiaceae* و *Amaranthaceae* قادر به برقراری ارتباط همزیستی با قارچ‌های میکوریزی نمی باشند (Rai *et al.*, 2001). علاوه بر توان تحریک کنندگی رشد گیاه، گزارش‌های متعددی مبنی بر نقش مؤثر این قارچ در بهبود رشد و عملکرد گیاه در شرایط نامساعد محیطی و نیز افزایش مقاومت گیاه نسبت به پاتوژن های گیاهی موجود است (Harley and Smith, 1983).

اهمیت برقراری ارتباط همزیستی قارچ *P. indica* با گیاهان مختلف در تحریک رشد گیاه و در نتیجه افزایش عملکرد آن و نیز افزایش توان تحمل گیاه به تنش های شوری، خشکی و عوامل بیماریزای ریشه و برگ محققان را برآن داشته است تا پتانسیل های بالقوه قارچ مذکور را در جهت نیل به اهداف کشاورزی پایدار مورد توجه قرار دهند (Qiang *et al*, 2011). با توجه به مطالب گفته شده هدف از این پژوهش بررسی اثر قارچ *P. indica* بر برخی خواص فیزیولوژیکی گیاه کاسنی می‌باشد.

مواد و روش ها

ابتدا بذر گیاه کاسنی از شرکت پاکان بذر تهیه شده و در گلدان کشت شدند. سپس کشت قارچ و آماده سازی آن بصورت زیر انجام شد.

جدایه قارچ *P. indica* مطابق با روش قبولی و همکاران (۲۰۱۳) کشت گردید. برای تهیه میسلیوم، دیسک های فعال قارچ از محیط کشت ذخیره برداشته و در ارلن های حاوی محیط کشت مایع قرار داده شدند و سپس در شیکر انکوباتور با دمای ۲۸±۲ درجه سانتی گراد و ۱۵۰ دور در دقیقه به مدت ۱۰-۷ روز قرار داده شد. در مرحله بعد با استفاده از فیلتر کاغذی، میسیلیوم ها از محیط کشت جدا و به منظور حذف باقیمانده‌های محیط کشت، چندین بار با آب مقطر شستشو داده شد. برای تهیه محلول قارچ با سه غلظت (۲/۵، ۵ و ۷/۵ سی سی) ابتدا مایع محیط کشت از فیلتر گاز استریل گذرانده شد و سپس در سانتریفیوژ با دور ۳۰۰۰ به مدت ۱۵ دقیقه قرار گرفتند. پس از صاف کردن مایع با پیپت ۲/۵، ۵ و ۷/۵ سی سی به صورت جداگانه با پیپت برداشته شده و در سه استوانه مدرج به حجم یک لیتر به صورت جداگانه ریخته و هرکدام را با آب مقطر به حجم رسانیده شدند.

محلول پاشی اول یک ماه پس از کشت، محلول پاشی دوم ۲ هفته پس از محلول پاشی اول و محلول پاشی سوم ۲ هفته پس از محلول پاشی دوم انجام شد.۴ ماه پس از اعمال تیمارها صفاتی مانند ارتفاع بوته، طول ریشه، تعداد برگ هر گیاه، وزن خشک اندام هوایی و ریشه سنجیده شد.

نتایج و بحث

نتایج حاصل از تجزیه واریانس نشان داد که اثر قارچ *P. indica* در گیاه کاسنی برای صفات مورد مطالعه معنی دار بود . نتایج مقایسه میانگین نشان داد که بیشترین ارتفاع گیاه (۴۲/۵ cm)، طول ریشه (۱۳/۵ cm)، تعداد برگ در هر گیاه (۲۲)، وزن تر اندام هوایی در هر گیاه (g ۴۳/۷)، وزن خشک اندام هوایی در هر گیاه (۳/۹ g)، وزن خشک ریشه در هر گیاه (۰/۳۲ g) و وزن تر ریشه در هر گیاه (۲/۲ g) با استفاده از غلظت ۷/۵ سی سی در لیتر قارچ *P. indica* بدست آمده است.

جدول ۱- مقایسه میانگین اثر تیمارهای مختلف نانوکود روی بر صفات اندازه گیری شده گیاه کاسنی

قارچ *P. indica*	ارتفاع کل (cm)	ارتفاع ریشه (cm)	تعداد برگ
شاهد	۳۵/۷b	۸/۲b	۱۴/۰b
۲/۵ سی سی	۳۹/۷a	۱۰/۵b	۱۹/۲a
۵ سی سی	۴۱/۲a	۱۲/۱a	۲۱/۶a
۷/۵ سی سی	۴۲/۵a	۱۳/۵ a	۲۲/۰a

در هر ستون، اعداد دارای حروف مشابه اختلاف آماری معنی داری در سطح ۵ %با هم ندارند.

ادامه جدول ۱

نانوکود روی	وزن تر ریشه (mg)	وزن تر اندام هوایی (mg)	وزن خشک ریشه (mg)	وزن خشک اندام هوایی (mg)
شاهد	۱/۰b	۲۷/۲b	۰/۱۵ b	۲/۸ b
۲/۵ سی سی	۱/۵ b	۳۷/۳ a	۰/۱۸ a	۳/۶ a
۵ سی سی	۱/۷ a	۴۰/۵ a	۰/۲۵ a	۳/۷ a
۷/۵ سی سی	۲/۲ a	۴۳/۷ a	۰/۳۲a	۳/۹ a

در هر ستون، اعداد دارای حروف مشابه اختلاف آماری معنی داری در سطح ۵ %با هم ندارند.

نتیجه‌گیری کلی

علی‌رغم پیشرفت‌های زیادی که در پزشکی نوین صورت گرفته است، اهمیت گیاهان دارویی و مواد موثره موجود در آنها نه تنها کاهش نیافته بلکه بیشتر هم شده است. امروزه مطالعات گسترده‌ای در زمینه شناسایی، استخراج و کاربرد مواد موثره دارویی موجود در گیاهان دارویی انجام می‌گیرد که زمینه‌ساز کاربرد تجاری و صنعتی آنها خواهد بود. گیاه کاسنی یکی از گیاهان دارویی می‌باشد که ریشه آن کاربرد دارویی زیادی در طب سنتی دارد و اخیرا ترکیبات موثره آن شناسایی شده است و بررسی علمی این ترکیبات و استفاده احتمالی آن در داروسازی اهمیت دارد. پژوهش‌های مرتبط با قارچ *P. indica* نشان داده است که این قارچ در سطح مولکولی نیز باعث تغییراتی در گیاه می‌شود که نغییر در ترانسکریپتوم، پروتئوم و متابولوم از جمله این دستورزی‌ها می‌باشد لذا احتمال دستورزی مسیرهای مرتبط با متابولیت‌های ثانویه نیز دور از ذهن نیست. مواد موثره دارویی در گیاهان دارویی نیز جزء متابولیت‌ها محسوب شده و احتمال تاثیر قارچ بر میزان این مواد بسیار زیاد است. تاثیر مثبت این قارچ بر برخی فاکتورهای مورفولوژیکی مشاهده شد. این نتایج می‌تواند امکان پژوهش‌های بیشتر از جمله بهینه‌سازی کلنیزاسیون کاسنی به منظور افزایش مواد موثره دارویی این گیاه را فراهم آورد. همچنین موفقیت در تحقیقات آینده می‌تواند راه را برای مطالعات بیشتر در سایر گیاهان دارویی و امکان استفاده از این قارچ برای افزایش مواد موثره با اهمیت در گیاهان دارویی مختلف خصوصا ارقام بومی ایرانرا باز نماید.

منابع

خاوازی، ک. و ملکوتی، م.ج. ۱۳۸۰. ضرورت تولید صنعتی کودهای بیولوژیک در کشور (مجموعه مقالات). سازمان تحقیقات، آموزش و ترویج کشاورزی، موسسه تحقیقات خاک و آب. ۵۸۹ صفحه.

GHABOOLI, M., KHATABI, B., AHMADI, F. S., SEPEHRI, M., MIRZAEI, M., AMIRKHANI, A., JORRIN-NOVO, J. V. & SALEKDEH, G. H. 2013. Proteomics study reveals the molecular mechanisms underlying water stress tolerance induced by *Piriformospora indica*in barley. Journal of proteomics, 94, 289-301.

Harley, J. L., and Smith, S. E. 1983. Mycorrhizal symbiosis: Academic Press, Inc

Qiang, X., Weiss, M., Kogel, K. H. and Schafer, P. 2011. *Piriformospora indica* a mutualistic basidiomycete with an exceptionally large plant host range. Molecular Plant Pathology, 13 (5): 508-511

Singh, A., Sharma, J., Rexer, K. H. and Varma, A. 2000. Plant productivity determinants beyond minerals, water and ight: *Piriformospora indica*-a revolutionary plant growth promoting fungus. Current Science-Bangalore, 79: 1548-1554

Verma, S., Varma, A., Rexer, K. H., Hassel, A., Kost, G., Sarbhoy, A., Bisen, P., Bütehorn, B. and Franken, P. 1998. *Piriformospora indica*, gen. et sp. nov., a new root-colonizing fungus. Mycologia, 896-903

Effect of *Piriformospora indica* on morphological characteristics of chicory (*Cichorium intybus* L.)

A. Rashnoo[1], Z. Movahedi[2*] , M. Rostami[3], M.Ghoboli[4]
[1] Malayer University, Faculty of Agriculture, Iran, e-mail: (a.rashnoo200@yahoo.com)
[2, 3, 4] Malayer University, Faculty of Agriculture, Iran

Abstract
Endophytic fungi enhance plant growth and development by various mechanisms like increasing of absorbing surface and facility of nutrient transportation. The goal of this research was the study of the potential of *P. indica* to colonize the chicory plant and their potential impact on improving plant growth. To study the effect of foliar application of *P. indica* on yield of chicory in aeroponic system was conducted according to a completely randomized design with four. The results indicated that inoculation of plant with *P.indica* increased the growth and biomass of inoculated plants compared with control plant. According to the results, it seems that chicory is also one of the hosts of this fungus and potential effect of fungus on increasing of growth provide possibility of further investigation, specially the effect of fungus on increasing of medicinal ingredient.

Key words: Chicory, *Piriformospora indica*, morphological characteristics