



دانشگاه گیلان

مجله پژوهش‌های تولید گیاهی
جلد هجدهم، شماره اول، ۱۳۹۰
www.gau.ac.ir/journals

گزارش کوتاه علمی

رشد رویشی و میزان کافئیک اسید برگ کنگر فرنگی (*Cynara scolymus L.*) تحت تأثیر قارچ میکوریز *Priformospora indica*

*عظیم قاسم‌نژاد^۱ و ولی... بابایی‌زاد^۲

^۱استادیار گروه علوم باغبانی، دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی گرگان،
^۲استادیار گروه بیماری‌های گیاهی، دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی ساری
تاریخ دریافت: ۸۹/۴/۸؛ تاریخ پذیرش: ۹۰/۳/۱۸

چکیده

قارچ *Priformospora indica* یا پیری، نوعی میکوریز ایندوفیت است که نقش آن در تحریک رشد گیاهان میزبان از طریق افزایش ریشه‌های موئین گزارش شده است. اثر پیری بر رشد رویشی گیاهان دارویی و تجمع متابولیت‌های ثانویه کم‌تر مورد بررسی قرار گرفته است. این پژوهش در قالب طرح کاملاً تصادفی در دو تیمار گیاهان شاهد و آلوده با ۴ تکرار در اتافک رشد (شدت نور ۲۵۰۰ لوکس و ۱۶ ساعت روشنایی، و دمای ۲۵ درجه سانتی‌گراد) انجام شد. تعداد ریشه‌های فرعی گیاهان آلوده به صورت قابل توجه‌ای تحت تأثیر فعالیت قارچ افزایش یافت. همچنین داده‌ها نشان می‌دهند که برگ‌های گیاهان آلوده نسبت به انواع غیرآلوده رشد عرضی بیش‌تری داشت. اگرچه افزایش قابل توجه‌ای در میزان کافئیک اسید برگ گیاهان آلوده مشاهده شد ولی نسبت به شاهد معنی‌دار نبود. با توجه به کوتاهی زمان آزمایش، به نظر می‌رسد که بسیاری از ترکیبات پلی‌فنلی موجود در برگ تشکیل نشده یا قابل اندازه‌گیری نبود. بنابراین ادامه این پژوهش در شرایط مزرعه‌ای می‌تواند رابطه قارچ و گیاه به‌ویژه تجمع متابولیت‌های ثانویه را بهتر مورد بررسی قرار دهد.

واژه‌های کلیدی: کنگر فرنگی، کافئیک اسید، گیاهان دارویی، پلی‌فنل، قارچ پیری، میکوریز

* مسئول مکاتبه: aghasemnajad@hotmail.com

مجله پژوهش‌های تولید گیاهی (۱۸)، شماره (۱) ۱۳۹۰

مقدمه

قارچ *Priformospora indica* (پیری) قارچ ایندوفیت از خانواده هیمنومیست و از رده بازیدیومیکوتا است (وارما و همکاران، ۱۹۹۹). این قارچ بر خلاف سایر قارچ‌های ایندوفیت در محیط کشت مصنوعی قابل کشت است (وارما و همکاران، ۱۹۹۹؛ رای و همکاران، ۲۰۰۴؛ رای و وارما، ۲۰۰۵؛ دشموخ و همکاران، ۲۰۰۶). پژوهش‌ها نشان داد که قارچ پیری علاوه بر تأثیر مستقیم در رشد گیاه از طریق تحریک رشد و تحریک سیستم دفاعی مقاومت گیاه را در مقابل بیماری‌ها و خشکی افزایش می‌دهد (دشموخ و همکاران، ۲۰۰۶؛ والر و همکاران، ۲۰۰۵). کنگر فرنگی (*Cynara cardunculus* L.) گیاهی دوساله از خانواده آستراسه، از سبزیجاتی است که سابقه مصرف طولانی داشته (ماکوا، ۲۰۰۶؛ اورتگا، ۲۰۰۷) و به دلیل وجود کافئیک اسید و کلرجنیک اسید و مشتقات کافئیک اسید برگ مورد توجه صنایع داروسازی است (ملیلی و همکاران، ۲۰۰۶؛ هامل و پلنشت، ۲۰۰۷). تسریع رشد محصولی که اندام رویشی آن برداشت می‌گردد، افزایش دفعات برداشت را ممکن می‌سازد. با توجه به پتانسیل *Piriformospora indica* و اهمیت گیاه کنگر فرنگی به‌ویژه دارویی بودن آن، این پژوهش اثر قارچ پیری بر برخی از اجزای عملکرد و میزان کافئیک اسید کنگر فرنگی را مورد بررسی قرار داده است.

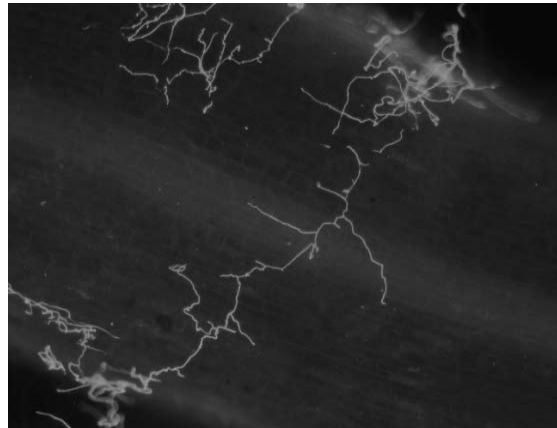
مواد و روش‌ها

بذر رقم گرین گلوب کنگر فرنگی با هیپوکلریت سدیم ۳ درصد ضدعفونی شده و سپس به محیط کشت موراشیگ اسکوک با غلظت ۵۰ درصد بدون ویتامین و ساکارز، حاوی ۱/۵ گرم در لیتر انتقال یافت. پس از یک هفته گیاهچه‌ها از محیط کشت خارج شده و بقایای محیط کشت ریشه حذف شد. سپس ریشه با محلول اسپور قارچ حاوی ۵۰۰ هزار اسپور در میلی‌لیتر به مدت یک ساعت تیمار شد (رای و وارما، ۲۰۰۵). ۴ هفته پس از آلوده‌سازی جهت بررسی وجود قارچ در سطح ریشه، عمل رنگ‌آمیزی بافت ریشه به روش کنگو رد (شیهان و هریچاک، ۱۹۸۰). انجام شد. گیاهچه‌ها به صورت کاملاً تصادفی در دو تیمار آلوده و غیرآلوده در ۴ تکرار در اتاقک رشد با شدت نور ۲۵۰۰ لوکس و طول روز ۱۶ ساعت به مدت ۶۰ روز نگهداری شدند. در پایان آزمایش تعداد، طول و عرض برگ، تعداد ریشه، طول ریشه، وزن تر ریشه، وزن تر برگ اندازه‌گیری شد. علاوه بر پارامترهای ذکر شده میزان اسید کافئیک و اسید کلرجنیک برگ نیز با استفاده از HPLC مدل Knauer مجهز به دتکتور یو وی (۲۷۰۰)، پمپ k1100 و نمونه گیر اتوماتیک از نوع Basic marathon مورد مطالعه قرار گرفت (شوتز و همکاران، ۲۰۰۶). نتایج به‌دست آمده با استفاده از نرم‌افزار SPSS 17.1 تجزیه تحلیل شده و حداقل سطح معنی‌دار بودن در سطح ۵ درصد برای مقایسه میانگین داده‌ها محاسبه گردید.

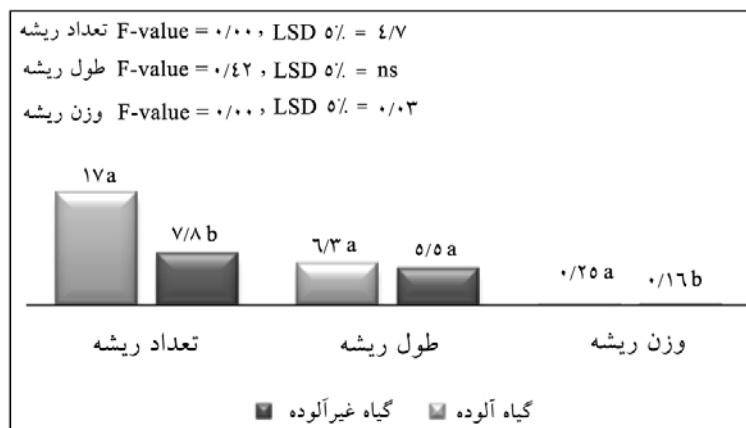
عظیم قاسم‌نژاد و ولی‌ا... بابایی‌زاد

نتایج و بحث

رنگ‌آمیزی بافت ریشه نشان داد که اسپور قارچ *p. indica* قادر است که در سطح ریشه کنگر فرنگی جوانه بزند. با این وجود کلونیزه شدن بافت ریشه توسط قارچ به خوبی مشاهده نشد. تصاویر به‌دست آمده نشان می‌دهد که قارچ به‌صورت سطحی در بافت ریشه گسترش یافته است (شکل ۱). گسترش مسیلیوم در سطح ریشه بیان می‌کند که یا قارچ قادر به نفوذ در بافت ریشه کنگر فرنگی نیست و یا زمان بیش‌تری لازم است که قارچ در بافت ریشه نفوذ کند.



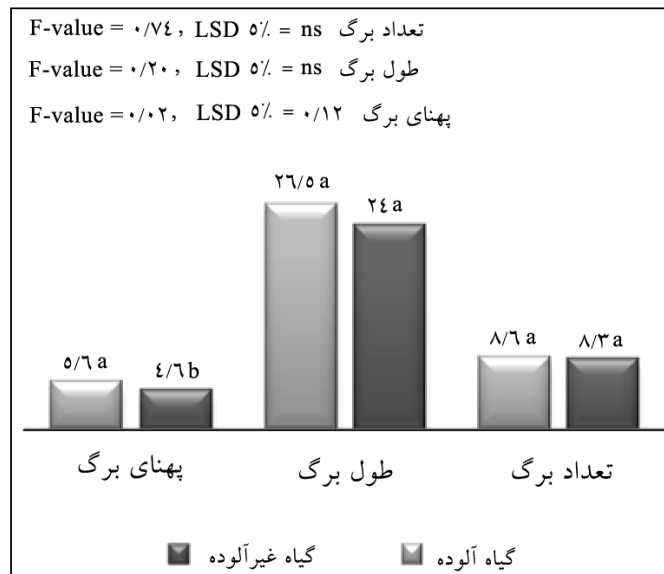
شکل ۱- ریشه آلوده و رشد مسیلیوم قارچ.



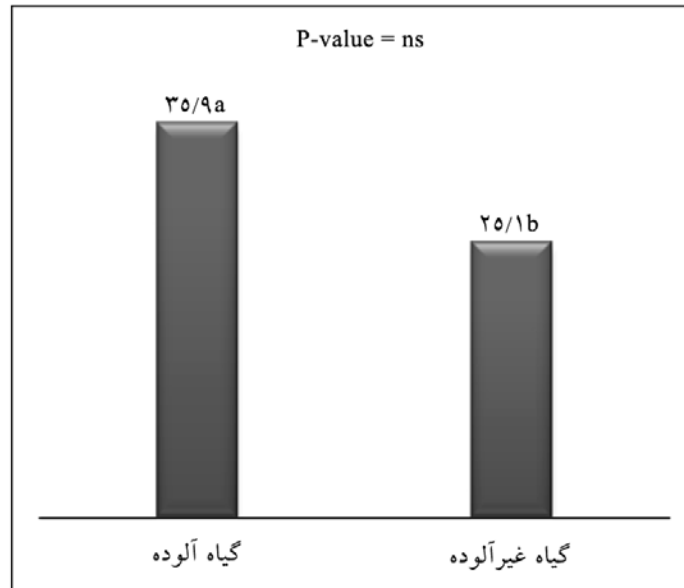
شکل ۲- تعداد، طول و وزن ریشه تحت تأثیر پیری با شاهد.

نتایج نشان داد که در مقایسه با گیاهان غیرآلوده تعداد ریشه در گیاهان آلوده به میزان قابل توجه‌ای افزایش یافته است (شکل ۲). این نتایج بیانگر واکنش ریشه کنگر فرنگی به قارچ *P. indica* (پیری) و قابلیت گسترش قارچ یاد شده در ریشه و همچنین میزبان بودن گیاه است. نتایج به دست آمده با یافته‌های محققان دیگر در گیاهان مختلف (اووه و همکاران، ۲۰۰۷؛ ماهاندرا و آجیت، ۲۰۰۵) مطابقت دارد. برای مثال ماهاندرا و آجیت (۲۰۰۵) نشان دادند که تیمار ریشه گیاه دارویی *Adhatoda vasica* به قارچ پیری با افزایش قابل توجه‌ای در تعداد ریشه همراه بوده است. افزایش تراکم ریشه گیاه را در جذب آب و مواد غذایی توانمندتر نموده و سبب افزایش رشد رویشی و سطح فتوسنتزی می‌شود. در این حالت نه تنها عملکرد تحت تأثیر قرار می‌گیرد بلکه افزایش رشد و راندمان فتوسنتزی به‌طور مستقیم در تولید متابولیت‌های ثانویه مؤثر است.

اگرچه مکانیسم تأثیر قارچ پیری بر رشد گیاه به درستی مشخص نیست. ولی می‌توان نتیجه‌گیری کرد که قارچ از طریق تحریک تولید ریشه و افزایش تعداد آن و بالا بردن قدرت جذب مواد غذایی، رشد گیاه را افزایش می‌دهد. بررسی‌های انجام شده توسط سرینگر و آنکه (۲۰۰۷) نشان داد که میزان اکسین گیاهان آلوده به قارچ پیری نسبت به انواع شاهد به‌صورت معنی‌داری بیش‌تر است. با توجه به نقش اکسین در انگیزش ریشه نابجا در گیاه سالم و قلمه‌ها (آرتکا، ۲۰۰۰؛ دروئگه و همکاران، ۲۰۰۷)، افزایش ریشه‌های جانبی می‌تواند ساده‌ترین استنباط از مکانیسم تأثیر قارچ پیری بر رشد گیاهان باشد. با این همه مشخص نیست که آیا این قارچ به‌طور مستقیم سبب افزایش اکسین می‌شود و یا با تولید سایر هورمون‌ها سبب افزایش تجمع اکسین می‌گردد. به‌نظر می‌رسد با توجه به فعالیت قارچ در ریشه گیاه، تولید اکسین به‌طور غیرمستقیم و با افزایش سایتوکینین ریشه افزایش می‌یابد. در اندازه‌گیری‌های انجام شده اگرچه گیاهان آلوده نسبت به شاهد تعداد برگ بیش‌تری داشتند و برگ‌های طویل‌تری هم تولید کردند. با این وجود به لحاظ آماری اختلاف معنی‌داری مشاهده نگردید (شکل ۳). گیاهان آلوده نسبت به شاهد در مجموع برگ‌های پهن‌تری تولید نموده‌اند. افزایش پهنای برگ در واقع منجر به افزایش میزان کلروفیل و در نهایت راندمان فتوسنتزی برگ شده و از این طریق علاوه بر این که به‌صورت مستقیم سبب افزایش عملکرد اندام رویشی می‌شود بلکه با افزایش فتوسنتز، افزایش مواد حد واسط را در بر داشته که بیش‌تر آن‌ها یا به‌طور مستقیم در گروه مواد ثانویه قرار دارند و یا این‌که در نهایت به متابولیت‌های ثانویه تبدیل می‌شوند. اگرچه پژوهش‌ها در زمینه تأثیر قارچ پیری بر رشد گیاهان دارویی آغاز شده است (رای و وارما، ۲۰۰۵؛ رای و همکاران، ۲۰۰۴) با این وجود کم‌تر تغییرات مواد مؤثره گیاهان مورد ارزیابی قرار گرفته است.



شکل ۳- مقایسه تعداد، طول و عرض برگ گیاهان آلوده کنگر فرنگی به پیری با شاهد.



شکل ۴- کافئین اسید برگ کنگر فرنگی (میلی گرم در ۱۰۰ گرم) تحت تأثیر فارچ پیری.

نتایج بررسی‌ها نشان داد که درصد کافئیک اسید برگ‌های جوان کنگر فرنگی به صورت قابل ملاحظه‌ای بیش‌تر از گیاهان شاهد بود (شکل ۴). از نتایج به دست آمده می‌توان استنباط کرد که، اگرچه گسترش قارچ پیری بر ریشه گیاه به صورت سطحی ارزیابی شد ولی پارامترهای اندازه‌گیری شده به‌ویژه تعداد ریشه نشان می‌دهد که اسپور قارچ پیری قابلیت جوانه‌زنی و فعالیت در ریشه کنگر فرنگی را دارد. بنابراین می‌توان کنگر فرنگی را در ردیف میزبان‌های قارچ پیری قرار داده و البته مطالعه بیش‌تر در این زمینه ضروری است. به‌رغم نبود تفاوت معنی‌داری در میزان کافئیک اسید گیاهان آلوده و غیرآلوده نتایج به‌وضوح روند افزایشی کافئیک اسید (۱۰ درصد بیش‌تر از شاهد) بیانگر اثر مثبت فعالیت قارچ بر تجمع متابولیت یاد شده است. در نهایت می‌توان بیان کرد با توجه به مشاهده اثر افزایشی تولید ریشه در گیاه و اطمینان از فعالیت قارچ، برای بررسی بیش‌تر گیاهان آلوده به شرایط مزرعه انتقال یافته و تحت این شرایط در کنار بررسی عملکرد بیومس و اجزای عملکرد در برداشت‌های مختلف، تغییرات کمی و کیفی مواد مؤثره در فرایند رشد مورد بررسی قرار گیرد.

منابع

1. Deshmukh, S., Hückelhoven, R., Schäfer, P., Imani, J., Sharma, M., Weiss, M., Waller, F. and Kogel, K.H. 2006. The root endophytic fungus *Piriformospora indica* requires host cell death for proliferation during mutualistic symbiosis with barley. *PANS*, 103: 18450-18457.
2. Druege, U., Baltruschat, H. and Franken, P. 2007. *Piriformospora indica* promotes adventitious root formation in cuttings. *Scientia Horticulturae*, 112: 422-426.
3. Ercan, N., Temirkaynak, M. and Ayar Şensoy, F. 2007. Comparative efficiency of some treatments on earliness and yield of globe artichoke. *Acta Hort. (ISHS)*, 730: 177-179.
4. Hamel, C. and Plenchette C. 2007. *Mycorrhiza in Crop Production*. Haworth Press, Incorporated, ISBN1560223065.
5. Macua, J.I. 2007. New horizons for Artichoke cultivation. *Acta Hort. (ISHS)*, 730: 39-48.
6. Melilli, M.G., Tringali, S., Riggi, E. and Raccuia, S.A. 2007. Screening of genetic variability for some phenolic constituents of globe artichoke. *Acta Hort. (ISHS)*, 730: 85-91.
7. Rai, M., Acharya, D., Archana, S. and Varma, A. 2004. Positive growth responses of the medicinal plants *Spilanthes calva* and *Withania somnifera* to inoculation by *Piriformospora indica* in a field trial. *Mycorrhiza*, 11: 3. 123-128.

8. Rai, M. and Varma, A. 2005. Arbuscular mycorrhiza-like biotechnological potential of *Piriformospora indica*, which promotes the growth of *Adhatoda vasica* Nees. *Electronic J. Biotechnol.* 8: 1. 107-112.
9. Sheehan, D. and Hrapchak, B. 1980. *Theory and practice of Histotechnology*, 2nd ED, pp 175-178, Battelle Press, Ohio.
10. Sirrenberg, A., Göbel, C., Grond, S., Czempinski, N., Ratzinger, A., Karlovsky, P., Santos, P., Feussner, I. and Pawlowski, K. 2007. *Piriformospora indica* affects plant growth by auxin production. *Physiologia Plantarum*, 131: 4. 581-589.
11. Schütz, K., Muks, E., Carle, R. and Schieber, A. 2006. Quantitative Determination of Phenolic Compounds in Artichoke-Based Dietary Supplements and Pharmaceuticals by High-Performance Liquid Chromatography. *J. Agric. Food Chem.* 54: 23. 8812-8817.
12. Varma, A., Verma, S., Sudha Nirmal, S., Britta, BT. and Philipp, F. 1999. *Piriformospora indica*, a Cultivable Plant-Growth-Promoting Root Endophyte. *Applied and Environmental Microbiology*, 65: 6. 2741-2744.
13. Waller, F., Achatz, B., Baltruschat, H., Fodor, J., Becker, K., Fischer, M., Heier, T., Hckelhoven, R., Neumann, C., Von Wettstein, D., Franken, P. and Kogel, K. 2005. The endophytic fungus *Piriformospora indica* reprograms barley to salt-stress tolerance, disease resistance, and higher yield. *PNAS*, 102: 38. 13386-13391.
14. Urtega, R.G. 2007. *Cynera cardunculus* L. plant resource. VI International Symposium on Artichoke, Cardoon and Their Wild Relatives. *Acta Hort. (ISHS)*, 730: 51-57.



Gorgan University of Agricultural
Sciences and Natural Resources

J. of Plant Production, Vol. 18(1), 2011

www.gau.ac.ir/journals

The influence of piri fungus (*Priformospora indica*) on vegetative growth and the content of caffeic acid of leaves of artichoke (*Cynara scolymus* L.) plant

***A. Ghasemnezhad¹ and V. Babaeizad²**

¹Assistant Prof., Dept. of Horticulture Science, Gorgan University of Agricultural Sciences and Natural Resources, ²Assistant Prof., Dept. of Plant Pathology, Sari University of Agricultural Sciences and Natural Resources

Received: 2010/06/29; Accepted: 2011/06/08

Abstract

Priformospora indica or Piri is an endophytic mycorrhiza in which its growth stimulation effect on host plant by increasing adventitious roots has been reported. The effect of Piri on medicinal plant and secondary metabolite accumulation has been less studied. Present study was performed in growth chamber conditions (light density 2500 lux, 16 day length and 25 °C) as a completely randomized design with contaminated and non-contaminated plants and four replications. The number of adventitious roots of contaminated plants strongly was higher than that of non-contaminated plants. The results also showed that the leaves width of contaminated plants was significantly higher than that of non-contaminated plants. Although the content of Caffeic acid of contaminated plants was higher than that of non-contaminated, but the difference was not significant. According the short period of experiment, it seems that the formation of most of polyphenolic compounds did not complete or the amount was not detectable. Thus repeating present study in field conditions could help the better understanding the relationship of fungus and plant, especially on secondary metabolite accumulation.

Keywords: Artichoke, Caffeic acid, Medicinal plants, Polyphenolic compounds, Mycorrhiza, *Priformospora indica*

* Corresponding Author; Email: aghasemnajad@hotmail.com