بررسی تیمار کاراجینان بر افزایش مقاومت گیاه ریحان در برابر حمله گیاه انگل سِس مزرعه

عفت السادات احمدی موسوی، فاطمه نصیبی*، خسرو منوچهری کلانتری و محبوبه زارع

بخش زیست شناسی، دانشکده علوم، دانشگاه شهید باهنر کرمان، کرمان ، ایران

(تاریخ دریافت: ۱۳۹۷/۰۲/۲۰، تاریخ پذیرش نهایی: ۱۳۹۷/۱۱/۱۳)

چکیده

سِس مزرعه یک گیاه انگل اجباری بدون برگ و ریشه است، که منابع خود را به طور کامل از گیاهان میزبانش به دست می‌آورد. کنترل گونه های مختلف سِس بسیار دشوار است. استفاده از روشهای کنترل بیولوژیک یکی از روش‌های مؤثر برای مدیریت سِس می‌باشد. کاراجینان‌ها پلی ساکاریدهای استخراج شده از جلبک‌های قرمز دریایی می‌باشند که اخیراً مشخص شده بعنوان الیسیتور در فعال سازی پاسخ‌های دفاعی گیاه نقش دارند. در این تحقیق ارتباط تشریحی بین گیاه سِس مزرعه و میزبانش، ریحان سبز و اثرات حفاظتی پلی ساکارید استخراج شده از جلبک قرمز کاپا-کاراجینان در برابر حمله سِس و توقف پیشروی آن در گیاه میزبانش ریحان مورد بررسی قرار گرفت که مشاهده شده تیمار کاراجینان روی پارامترهای رشدی گیاهان اثر دارد. مقدار لیگنین و سلولز گیاهان تیمار شده توسط کاراجینان تغییری نشان نداد، ولی پیش تیمار کاراجینان در گیاهان ریحان پارازیته شده توسط سِس موجب افزایش قابل توجه مقدار لیگنین و سلولز گردید. نتایج این پژوهش نشان داد که اسپری برگی گیاهان ریحان توسط کاپا-کاراجینان موجب افزایش مقاومت ریحان در برابر تهاجم سِس می‌شود. بنابراین می‌توان از کاراجینان بعنوان محرک زیستی در حفظ گیاهان در برابر آلودگی گیاه سِس استفاده نمود.

واژگان کلیدی: پارازیته شدن، ریحان سبز، سِس مزرعه و کاراجینان.

مقدمه

ریحان (*Ocimum basilicum* L.) سبزی خوراکی و معطری است که دارای خاصیت دارویی هم بوده و در تمام دنیا مورد استفاده و کشت می‌گردد. ریحان گیاهی است علفی، یک ساله که تنوع زیادی در سطح مورفولوژی و ترکیبات ثانویه دارد. این گیاه هیچ گونه ترکیب زیان آوری ندارد و چون تمام قسمتهای آن از جمله برگ، گل و حتی ساقه آن بسیار خوشبو می‌باشد، در تمام دنیا به‌عنوان یک طعم دهنده غذا مورد استفاده قرار می‌گیرد (Makri and Kintzios, 2008). ریحان همانند سایر گیاهان خانواده نعنا منبع ترکیبات حلقوی و اسانس است که دافع حشرات بوده و عملکرد ضد انگلی، ضد باکتریایی، ضد قارچی و آنتی اکسیدانی داشته، بنابراین در صنایع غذایی، دارویی، آرایشی و بهداشتی کاربرد دارد (Hassani *et al.*, 2003).

گیاهان انگل گونه‌هایی هستند که رابطه انگلی با گیاهان دیگر داشته و حیات آنها وابسته به گیاه میزبان می‌باشد (Patal *et al.*, 2012). سِس (dodder) گیاهی پیچنده است که به رنگ های زرد، نارنجی، قرمز، گاهی سبز و حتی سفید دیده می شود و همگی آنها انگل ساقه گیاهان می‌باشند. برخی گیاه سِس، جنس *Cuscuta* را جزء خانواده پیچک (Convolvulaceae) می‌دانند، امّا گروهی دیگر آنرا در خانواده جداگانه ای موسوم به سِس‌ها (Cuscutaceae) قرار می‌دهند (Patal *et al.*, 2012). گونه سِس مزرعه (*C. Campestris*)

*نویسنده مسؤل، نشانی پست الکترونیکی: nasibi2002@yahoo.com

[Downloaded from jispp.iut.ac.ir on 2024-10-12]

[DOR: 20.1001.1.23222727.1398.8.33.10.0]

دامنـه میزبـانی بـسیار وسیعی دارد و بسیاری از محصولات زراعی باغی چون ریحان، یونجه، مارچوبه، خربزه، گلرنگ، چغندر قند، گوجه فرنگی، اطلسی، میمون، داوودی و علف های هرزی چون پیچک صحرایی، سلمه و تاج خروس را آلوده می‌کند (Zaroug *et al.*, 2014). به طور کلی کنترل این انگل با چالش رو به رو می‌باشد، از این رو ضروری است که به دنبال روشی مؤثر جهت کنترل آن باشیم تا محیط زیست و محصولات زراعی از آلودگی و اثرات زیان بار علف کشها و ترکیبات شیمیایی صدمه کمتری ببیند (Dawson *et al.*, 1994). در سال‌های اخیر تحقیقات بسیاری روی کنترل بیولوژیکی بیماریهای گیاهی و علفهای هرز صورت گرفته است. روشهای کنترل بیولوژیکی برای حفاظت گیاهان در برابر حشرات (آفات)، و پاتوژنها (باکتری، قارچ و ویروس) و گیاهان انگل کاربرد دارند. اینها روشهایی هستند که از سرایت و آلودگی پاتوژنها به گیاهان و گیاهان انگل جلوگیری می‌کنند، بدون اینکه اثر منفی روی رشد و تولید محصول گیاهان زراعی داشته باشند. موثرترین روش برای حفظ محصولات کشاورزی، استفاده از الیسیتور برای فعال سازی سیستم دفاعی گیاهان می‌باشد که موجب افزایش مقاومت آنها در برابر شرایط سخت محیطی نیز می‌شود (Ning *et al.*, 2003).

الیسیتورهای موثری که منشا طبیعی دارند عبارتند از: ترکیبات پلی ساکاریدی، الیگوساکاریدی، پپتیدی، پروتئینی، لیپیدی و ترکیبات مشتق شده از دیواره سلولی و سیتوپلاسم گیاهان، پارازیتها و پاتوژنهای گیاهی مختلف (Kessman *et al.*, 1988). یک منبع جدید الیسیتورهایی که موجب فعال شدن پاسخهای دفاعی گیاهان می‌شود، پلی ساکاریدهای جلبکهای مختلف دریایی مانند: لامینارین (جلبک قهوه‌ای) و کاراجینان (جلبک قرمز) می‌باشند. بررسیها نشان داده که کاراجینان در القا مقاومت گیاهان و جانوران به عوامل بیماریزا مختلف و راه اندازی سیستم دفاعی آنها نقش دارد (Sangha *et al.*, 2011). به طور خلاصه مشاهده شده است که تیمار گیاهان توسط کاراجینان و مشتقات حاصل از آن می‌تواند موجب تجمع ترکیبات آنتی اکسیداتیو و فعال‌سازی مسیرهای سیگنالینگ سالیسیلات، جاسمونات و اتیلن و همچنین موجب افزایش بیان پروتئینهای مرتبط با بیماریزایی و آنزیم‌های دفاعی می‌شود که سنتز ترکیبات فنیل پروپانوئید، ترپن ها، ترپنوئیدها و آلکالوئیدها را در پی خواهد داشت (Khan *et al.*, 2009)، بنابراین کاراجینان می‌تواند به‌عنوان یک محرک در القاء مکانیسم-های حفاظتی گیاهان در برابر تنش‌های زیستی (حمله حشرات، پاتوژن‌ها و علف‌های هرز) و غیر زیستی استفاده شود.

با توجه به اینکه گیاه ریحان در طب و صنایع استفاده فراوان دارد، مطالعه عوامل زراعی تاثیر گذار بر عمکرد کیفی و کمی این گیاه ضروری می‌باشد. گیاه سِس نیز پراکنش جغرافیایی وسیع و دامنه میزبانی بالا داشته، بعلاوه در ایران و جهان روش های مدیریتی و کنترل موثری برای آن شناسایی نشده است. بنـابراین، انجـام مطالعات و معرفی ترکیباتی که قادر به کنترل سِس باشند، از اهمیت زیادی بـر خـوردار است. به‌علاوه اثر کاراجینان روی مقاومت گیاه در برابر علفهای هرز هنوز مشخص نشده، در نتیجه در این مطالعه نقش کاراجینان به‌عنوان یک محرک زیستی در افزایش مقاومت گیاهان ریحان در برابر حمله گیاه انگل سِس مورد بررسی قرار گرفت.

مواد و روش‌ها

گیاه مورد مطالعه در این پژوهش، گیاه ریحان بود. بذرهای ریحان از شرکت پاکان بذر اصفهان تهیه و مورد استفاده قرار گرفت. بذرهای ضدعفونی شده به تعداد زیاد در هر گلدان (۱۵ سانتیمتر قطر در ۱٤ سانتیمتر ارتفاع) پاشیده شدند و پس از رشد گیاهچه‌ها، تنک کردن آنها انجام شد، به صورتیکه در هر گلدان ۸ گیاهچه حفظ گردید. کشت گیاهان در خرداد ماه ۱۳۹٤ انجام شد و گلدانها در محیط آزاد و در شرایط یکسان رشد کردند. گلدان‌ها روزانه آبیاری شدند و دو هفته ای ۱ بار به آنها مقدار یکسان محلول غذایی هوگلند داده شد. پودر جامد کاپا-کاراجینان از شرکت Sigma–Aldrich, USA خریداری و محلول کاراجینان با غلظت بهینه شده ۱ گرم بر لیتر تهیه گردید. کاراجینان در آب بدون یون داغ قابل حل است و برای اطمینان از حل شدن آن، از دستگاه‌های ماکروویو

[Downloaded from jispp.iut.ac.ir on 2024-10-12]

[DOR: 20.1001.1.23222727.1398.8.33.10.0]

و اولترا سونیک استفاده گردید. گیاهچه‌های کاشته شده در گلدان پس از ۱٤ روز رشد (مرحله تشکیل اولین ردیف برگ بعد از برگ لپه‌ای) برای اولین تیمار با کاراجینان آماده گردیدند. قسمت هوایی این گیاهچه‌ها به فاصله‌های یک هفته‌ای برای سه مرتبه (سه هفته متوالی) با این محلول اسپری شدند. گیاهان کنترل با محلول آب بدون یون (Deionized water) اسپری شدند.

آلودگی اولیه سِس از طریق بذر می‌باشد ولی امکان سرایت و آلودگی گیاهان میزبان توسط ساقه‌های تهاجمی آن هم وجود دارد. رشته‌های قطع شده سِس نیز می‌تواند موجب سرایت آلودگی از کانون های اولیه به سایر نقاط شوند. قطعاتی از ساقه سِس، با استقرار روی قسمتهای هوایی سایر گیاهان، با ایجاد هستوریوم به بدنه آنها نفوذ کرده و تکثیر می‌یابد. وجود قابل توجه متابولیتها در نواحی رأسی رشته‌های تهاجمی سِس، موجب فعال بودن این بخشها در تشکیل هستوریوم برای پارازیته کردن گیاهان می‌شود. بنابراین قرار دادن نواحی رأسی ساقه‌های سِس روی گیاه میزبان منجر به رشد و تکثیر گیاه جدید می‌شود.

در این تحقیق ساقه‌های تهاجمی و راسی گیاه سِس بطول ۱۲ سانتی متر جدا شده و روی قسمت هوایی گیاه ریحان ۳۰ روزه‌ای که آخرین مرحله تیمار آن (کاراجینان و آب (گیاه کنترل) ٤۸ ساعت قبل انجام شده بود، قرار داده شدند. معمولا اتصال گیاه سِس به قسمت هوایی میزبان به سرعت انجام می‌شود. با گذشت ۲ هفته پس از آلودگی گیاهان ریحان به سِس، رشته‌های سِس و برگهای (ردیف سوم برگ، بعد از برگ لپه‌ای) و ساقه ریحانی که ٤٤ روزه بودند (گروه تیمار شده با کاراجینان و گروه کنترل)، جمع آوری شدند.

نمونه‌های برداشت شده در این مطالعه عبارت بودند از:

B_0: ساقه و برگ گیاهان ریحان که با آب بدون یون، سه مرتبه به فاصله یک هفته، اسپری شدند.

B_1: ساقه و برگ گیاهان ریحان که با محلول کاپا- کاراجینان، سه مرتبه به فاصله یک هفته، اسپری شدند.

B_0+D: ساقه و برگ گیاهان ریحان که با آب بدون یون، سه مرتبه به فاصله یک هفته، اسپری شدند و مورد تهاجم گیاه سِس نیز قرار گرفتند.

B1+D : ساقه و برگ گیاهان ریحان که با محلول کاپا- کاراجینان، سه مرتبه به فاصله یک هفته، اسپری شدند و مورد تهاجم گیاه سِس نیز قرار گرفتند.

D_{B0}: ساقه گیاه سِسی که میزبان آن (گیاه ریحان) با آب بدون یون، سه مرتبه به فاصله یک هفته، اسپری شد.

D_{B1}: ساقه گیاه سِسی که میزبان آن (گیاه ریحان) با محلول کاپا -کاراجینان، سه مرتبه به فاصله یک هفته، اسپری شد.

محتوی آبی برگ : برای اندازه گیری این پارامتر نمونه گیاهی تهیه و بلافاصله برای تعیین وزن تر (WW) با استفاده از ترازوی دقیق Sartorious مدل BPSIID وزن گردید، سپس در فویل آلومینیومی پیچیده و به مدت ٤۸ ساعت در آون ۷۰ درجه سانتیگراد قرار داده شد. پس از خشک شدن کامل نمونه‌ها، وزن خشک (DW) آنها اندازه گیری شد.

درصد رطوبت نمونه گیاهی (Water Content) طبق رابطه زیر محاسبه گردید.

$$\text{Water Content (\%)} = WW\text{-}DW/WW\times 100$$

رنگ آمیزی بافت گیاه: در این پژوهش از رنگ آمیزی مضاعف استفاده شد که در این نوع رنگ آمیزی دو دسته اصلی بافت ها (بافت های سلولزی و چوبی) از هم متمایز می شوند که برای این کار از دو رنگ استفاده می شود که یکی سلولز و دیگری چوب را رنگ آمیزی می کند. بعد از برش گیری دستی ساقه گیاهان توسط تیغ، ابتدا مقاطع میکروسکوپی (برش‌ها) در آب ژاول به مدت ۱۰ دقیقه قرار داده شدند، بعد از شستشو با آب مقطر مقاطع در اسید استیک به مدت ۲ دقیقه قرار گرفتند. مقاطع شستشو شده با آب مقطر، در محلول سبز متیل به مدت ۸ ثانیه قرار داده شده و بلافاصله با آب مقطر شسته شدند، بعد از آن مقاطع در محلول قرمز کنگو به مدت ۷ دقیقه قرار گرفتند سپس توسط با آب مقطر شستشو شدند، جزئیات مقاطع عرضی ساقه گیاهان توسط میکروسکوپ نوری OLYMPUS) (BH-2 مورد مشاهده و بررسی قرار گرفتند.

لیگنین: بدین منظور ۰/۵ گرم بافت ساقه با استفاده از ازت مایع به طور کامل پودر شد، سپس ۲ میلی لیتر آب مقطر به

[Downloaded from jispp.iut.ac.ir on 2024-10-12]

[DOR: 20.1001.1.23222727.1398.8.33.10.0]

نمونه‌های پودر شده افزوده و به مدت ۱۰ دقیقه در g× ۱۰۰۰سانتریفیوژ شد. پس از خالی کردن روشناور، رسوب حاصل ۲ بار، هر بار به مدت ۳۰ دقیقه با اتانول مطلق شستشو شد و پس از حذف روشناور، رسوب حاصل شب تا صبح در دمای اتاق در محلول متانول:کلروفرم (۱:۲) قرار داده شد. در روز دوم، پس از حذف روشناور، رسوب به مدت ۱ ساعت با استون شسته شد و سپس نمونه‌هادر آون دمای ۷۰ درجه سانتیگراد، خشک شدند. ماده خشک شده (دیواره سلولی نمونه‌ها) سابیده و پودر حاصل از الک رد شد. لیگنین موجود در دیواره سلولی با روش استیل برومایید تعیین و محاسبه شد. بدین منظور در لوله‌های درب پیچدار، به ۰/۰۱ گرم پودر ساییده شده دیواره سلولی، ۲/۵ میلی لیتر استیل برومایید (۲۵درصد در استیک اسید)، ۰/۱ میلی لیتر پرکلریک اسید ۷۰ درصد اضافه شد و سپس به مدت یک ساعت در حمام آب گرم (۷۰ درجه سانتیگراد) قرار گرفت و در فواصل ۲۰ دقیقه ای تکان داده شد. سپس لوله‌ها در یخ سرد شدند و مخلوط حاصل در بالن ژوژه‌های ۲۵ میلی لیتری حاوی ۵ میلی لیتر سدیم هیدروکسید ۲ نرمال و ٦ میلی لیتر استیک اسید صاف شد و سپس حجم نهایی با استیک اسید به ۲۵ میلی لیتر رسید. نمونه‌هابه مدت ۵ دقیقه در g× ۱۰۰۰سانتریفیوژ و جذب نمونه‌ها در طول موج ۲۸۰ نانومتر با دستگاه اسپکتروفتومتر اندازه گیری شد. پس از تهیهٔ غلظتهای ۰/۱ تا ۱۰ گرم بر لیتر گایاکول در هیدروکسید سدیم یک نرمال به‌عنوان استاندارد، منحنی جذب لیگنین در طول موج ۲۸۰ نانومتر تهیه و میزان لیگنین نمونه‌ها براساس میلی گرم برگرم بافت ساقه محاسبه شد (Iiyama and Wallis, 1990).

سلولز: بدین منظور در لوله آزمایش به ۰/۱ گرم بافت ساقه، ۳ میلی لیتر استیک اسید:نیتریک اسید (۱:۱۰) افزوده و سریعا ورتکس گردید، سپس لوله‌ها به مدت ۳۰ دقیقه در حمام آب گرم در دمای ۱۰۰ درجه سانتیگراد قرار گرفتند. لوله‌ها سرد شده و به مدت ۱۰ دقیقه در g× ۱۰۰۰ سانتریفیوژ شدند. پس از خالی کردن روشناور، رسوب حاصل با آب مقطر شستشو شد و پس از حذف روشناور، رسوب حاصل در ۲ میلی لیتر سولفوریک اسید ٦۷ درصد، بمدت یک ساعت در دمای محیط قرار داده شد. محلول با آب مقطر به حجم ۲۵ میلی لیتر رسانده شد و به ۲۵۰ میکرولیتر از این محلول رقیق شده ۲/۵ میلی لیتر معرف تازه تهیه شده آنترون (۰/۲ درصد در سولفوریک اسید) اضافه و کاملا مخلوط گردید. لوله‌ها به مدت ۱۰ دقیقه در حمام آب جوش قرار گرفتند. پس از سرد شدن لوله‌ها جذب نمونه‌هادر طول موج ٦۳۰ نانومتر با دستگاه اسپکتروفتومتر اندازه گیری شد. پس از تهیهٔ غلظتهای ۵۰ تا ٤۰۰ میلی گرم بر لیتر گلوکز به‌عنوان استاندارد، منحنی جذب سلولز در طول موج ۲۸۰ نانومتر تهیه و میزان سلولز نمونه‌ها براساس میلی گرم بر گرم بافت ساقه محاسبه شد (Updegraff and David, 1969).

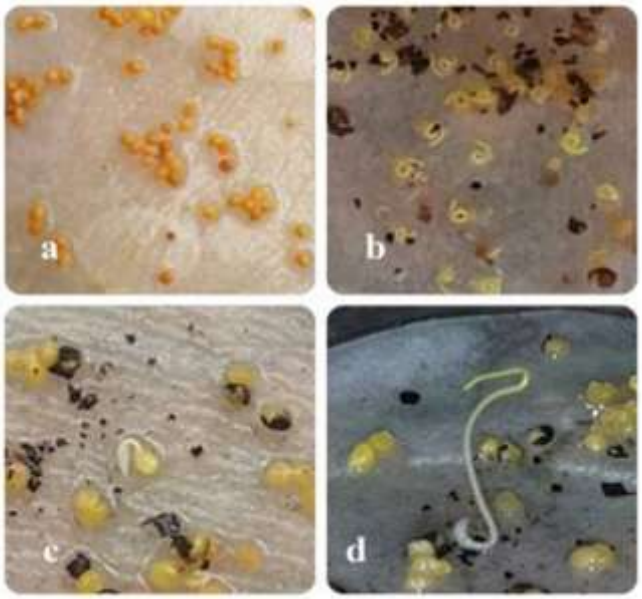
تجزیه و تحلیل آماری: تجزیه و تحلیل‌های آماری در این مطالعه با آزمایش فاکتوریل و طبق طرح کاملا تصادفی صورت گرفت. تجزیه و تحلیل‌های آماری داده‌های بدست آمده حاصل سنجش های کمی مختلف در این مطالعه، با استفاده از نرم افزار SAS (Version 9.4, SAS Institute Inc., Cary, NC, USA) و به روش آنالیز واریانس انجام گرفت و اختلاف میانگین‌ها با استفاده از آزمون چند دامنه ای LSD در سطح اطمینان ۹۵٪ مقایسه شدند.

نتایج و بحث:

گیاه سِس یک انگل کامل ساقه است که یک مخزن قوی محسوب شده و قابل مقایسه با میوه‌ها و اندامهای مخزن دیگر در گیاه می‌باشد و انواع مختلف آسمیلاتها و مواد تولید شده گیاه میزبان را به سمت خود می‌کشد (Vaughn, 2002). بررسی‌های صورت گرفته در این پژوهش نشان داد که برای برقراری رابطه مناسب بین گیاهچه سِس و میزبانش ریحان، نیاز به مراحل نموی زیر می‌باشد: گیاهچه سِس هنگام خروج از بذر به‌صورت ساقه‌های رشته‌ای بدون برگ کمانی شکل است (شکل ۱ و ۲) که پس از مدت کوتاهی به حالت راست در می‌آید و چرخش آن اطراف ساقه میزبان در جهت خلاف عقربه‌های ساعت صورت می‌گیرد (شکل 1c). بخش قاعده

[Downloaded from jispp.iut.ac.ir on 2024-10-12]

[DOR: 20.1001.1.23222727.1398.8.33.10.0]



شکل ۱ – a) بذر گیاه سِس مزرعه b) آرایش جنین درون بذر سس c) خروج بخش ریشه‌چه مانند گیاهچه سِس هنگام جوانه زنی بذر d) گیاهچه کمانی شکل بدون برگ و ریشه‌چه سِس مزرعه

شکل ۲ – a) گیاهچه سِس مزرعه b) اولین اتصال گیاهچه سِس به ساقه گیاه میزبان ریحان c) از دست رفتن تماس گیاهچه سِس با سطح خاک d) نحوه پیچش گیاه سِس در اطراف ساقه ریحان (در خلاف جهت عقربه‌های ساعت).

ای متـورم آن، مانند ریشه‌چه، مسئول جذب آب و استقرار گیاهچه در خاک می‌باشد (شکل ۱c).

هستوریوم (Haustorium) مهمترین مشخصه گیاهان انگلی و نوعی سازش تکاملی برای جذب مواد محسوب می‌شود. تشکیل هستوریوم و نفوذ آن به بافتهای میزبانش مرحله مهمی می‌باشد. در این پژوهش مشاهده شد که گیاه سِس دارای دو نوع هستوریوم است، هستوریوم عملکردی (Functional Haustorium) که به بافت‌های میزبان نفوذ کرده و نقش فعال در جذب مواد از میزبان دارد و هستوریوم کاذب (Pseudo Haustorium) که در انتهای ساقه های تهاجمی تشکیل می‌شود

[Downloaded from jispp.iut.ac.ir on 2024-10-12]

[DOR: 20.1001.1.23222727.1398.8.33.10.0]

شکل ۳ – هستوریومهای گیاه سِس: Pseudo Haustorium (PHa) هستوریوم کاذب. Fanctional Haustorium (FHa) هستوریوم عملکردی

شکل ٤ – میکروگراف نوری برش عرضی ساقه سِس

که به بافت‌های میزبان نفوذ نکرده و نقشی در جذب مواد از میزبان ندارند (شکل ۳).

نخستین تغییرات مشاهده شده طی تشکیل هستوریوم،تقسیم سلولهای اپیدرم و کورتکس سِس (شکل ٤) و تجمع مواد در سیتوپلاسم این سلولها، در طرفی که در مجاورت گیاه میزبان می‌باشد.

رشد و تقسیم سلولهای این ناحیه ادامه یافته بطوریکه یک مریستم صفحه مانند (پیش هستوریوم) بوجود می آید (شکل ۵). گزارش شده که سلولهای پیش هستوریوم عملکرد ثانوی نیز داشته و ماده الکترودنسی ترشح می کنند که فضای بین کوتیکولی میزبان و دیواره خودشان را پر می‌کند. این ماده، مانند چسب عمل کرده و پیش هستوریوم را به سطح میزبان متصل می کند (Striberny and Krause, 2015). بررسی گونه‌های گیاه سِس نشان می‌دهد که ماده مترشحه آنها، پکتین می‌باشد (Vaughn, 2002).

سپس سلول‌های پیش هستوریوم به رشد خود ادامه داده و با فشرده کردن سلول‌های کورتکس و شکستن بافت اسکلرانشیمی انگل به اپیدرم و سلولهای حاشیه ای میزبان

[Downloaded from jispp.iut.ac.ir on 2024-10-12]

[DOR: 20.1001.1.23222727.1398.8.33.10.0]

شکل ۵- میکروگراف نوری تشکیل پیش هستوریوم سِس

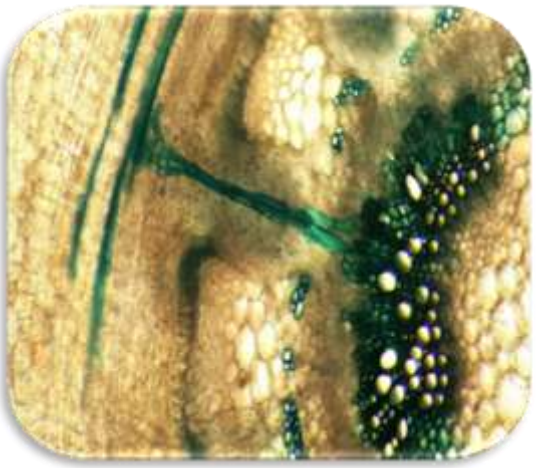
شکل ٦- میکروگراف نوری تشکیل و نفوذ هستوریوم سِس در بافت ساقه ریحان

نفوذ می‌کنند (شکل ٦). سلولهای متلاشی شده میزبان در این منطقه نشان دهنـده فشار مکانیکی حاصل از رشد و تقسیم سلول‌ها است. هستوریوم فقط با نیروی فیزیکی نمی‌تواند موجب شکسته شدن دیواره سلول‌های میزبان شود و برای این فرایند آنزیم‌های حل کننده دیواره سلولی هم مورد نیاز هستند (Lopez-Curto *et al*., 2006). آنزیمهای تجزیه کننده (تولیدشده بوسیله میزبان یا انگل) نیز در فرایند نفـوذ دخیل می‌باشند. نقش تجزیه کنندگی آنزیم پکتین متیل استراز، سلولاز، گزیلانـاز و پلی گالاکتوروناز هنگام پیشروی گیاه سِس به بافتهای میزبان گـزارش شـده اسـت (Vaughn, 2003).

سلولهای انتهایی هستوریوم بـه عناصـر غربـالی میزبان رسیده، سپس با نمو و تمایز عناصر آوندی چوب و آبکش درون هستوریوم صورت می‌گیرد،که در نقطه اتـصال بـه لولـه غربـالی میزبان آغاز شده و به سمت هستوریوم پیش می‌رود و سرانجام به عناصر غربالی هستوریوم کـه در جهت مقابل درحال تمایز هستند، متصل می‌شود که یک سیستم به‌شدت جذب کننده را ایجاد خواهد کرد (شکل ۷). در نهایت آوندهای گیاه انگل با آونـدهای گیاه میزبـان ارتباط برقرار کرده که موجب هدایت منابع، آب، اسیدهای آمینه،آسمیلاتهای گیاه میزبان به سوی گیاه انگـل می‌شود (Haupt *et al*., 2001)،

[Downloaded from jispp.iut.ac.ir on 2024-10-12]

[DOR: 20.1001.1.23222727.1398.8.33.10.0]



شکل ۷ - میکروگراف نوری نفوذ هستوریوم سِس در بافتهای ریحان، عناصر آوندی (عناصر چوبی و آوند آبکش همراه آن) با موقعیت مرکزی در هستوریوم آشکار هستند و هستوریوم به اپیدرم، پوست و بافت اسکلرانشیمی میزبان نفوذ می‌کند.

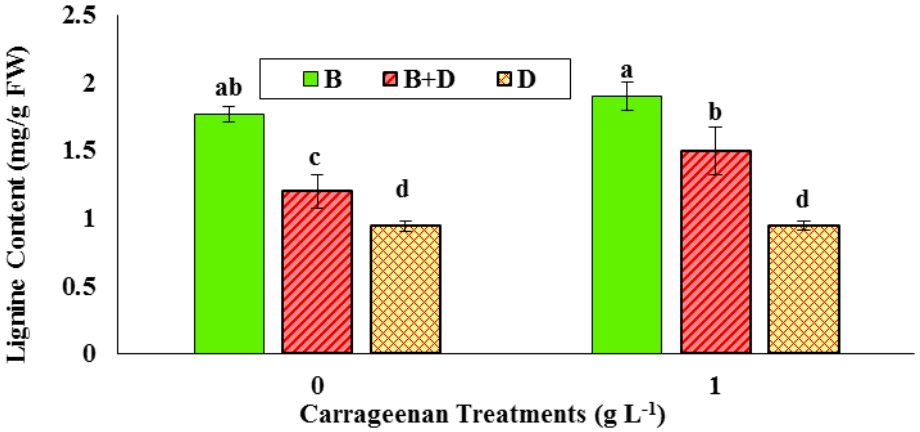
در نتیجه رشد گیاه انگل سِس ادامه یافته و بوسیله میزبان حمایت می شود (Vaughn, 2003). بطور کلی گیاه انگل سِس مزرعه یک انگل عمومی بوده، یعنی دارای دامنه میزبانی وسیعی می باشد (Dawson *et al.*, 1994) ولی برخی گونه‌های سِس روی بعضی از گیاهان رشد

اندکی داشته یا رشد نمی‌کنند. یکسری عوامل توانایی گیاه سِس در نفوذ به بافتهای میزبان را کاهش داده و مانع نفوذ هستوریوم آن می‌شوند. بیان شده که شرایط آناتومیکی نامناسب میزبان باعث کاهش رشد گیاه انگل می‌شود، بطوریکه هستوریوم گیاه انگل توانایی اتصال به دستجات آوندی میزبان را نمی‌یابد (Tjiurutue *et al.*, 2016). به‌عنوان مثال، گزارش شده است که سلولزی شدن و ضخیم شدن سلولهای اپیدرمی و تشکیل لایه‌هایی از بافتهای استحکامی اطراف بافت آوندی میزبان، ایجاد یک سد فیزیکی نموده که مانع رسیدن و اتصال هستوریوم به بافت هادی گیاه میزبان می شوند (Farah, 2007). ترکیبات فنلی هم در پاسخهای دفاعی گیاه در برابر حمله عوامل مزاحم، با تقویت دیواره سلولی (توسط رسوب بیوپلیمرهایی مانند چوب در منطقه ورود انگل) عمل می‌کنند. پلیمر لیگنین ایجاد باندکووالانت با پروتئینها و کربوهیدراتها نموده که سد فیزیکی در برابر نفوذ انگل ایجاد می کند (Boerjan *et al.*, 2003). لیگنین در عملکرد آنزیم‌های هیدرولیز کننده نیز تداخل ایجاد می‌کند، همچنین با محدود کردن امکان نفوذ انگل در بافت میزبان موجب کند شدن جریان آب و مواد مغذی شده، بنابراین گیاه انگل را با محدودیت مواد مغذی روبرو خواهد نمود، که کاهش رشد و گسترش گیاه انگل روی گیاه میزبان را در پی خواهد داشت (Lattanzio *et al.*, 2006). بررسی انجام شده در این پژوهش نشان می‌دهد که پیش تیمار کاراجینان موجب افزایش لیگنین در گیاهان ریحان پارازیته شده می‌شود که مقاومت گیاه ریحان را در برابر نفوذ گیاه سِس افزایش می‌دهد (شکل ۸). کمتر بودن مقدار لیگنین ساقه گیاهان ریحان پارازیته شده نسبت به گیاهان کنترل به این دلیل می باشد که نفوذ سِس در نواحی دارای مقاومت کمتر صورت می‌گیرد. در این پژوهش پیش تیمار کاراجینان در گیاهان ریحان پارازیته شده توسط سِس مقدار سلولز ساقه را نیز افزایش داده است که می‌تواند در افزایش مقاومت در برابر نفوذ انگل نقش داشته باشد (شکل ۹). با توجه به مشاهدات González و همکاران (۲۰۱۳) تیمار کاراجینان در گیاه اکالیپتوس منجر به افزایش مقدار سلولز ساقه می‌شود که با نتایج حاصل از این تحقیق همخوانی دارد (Gonzàlez *et al.*, 2013).

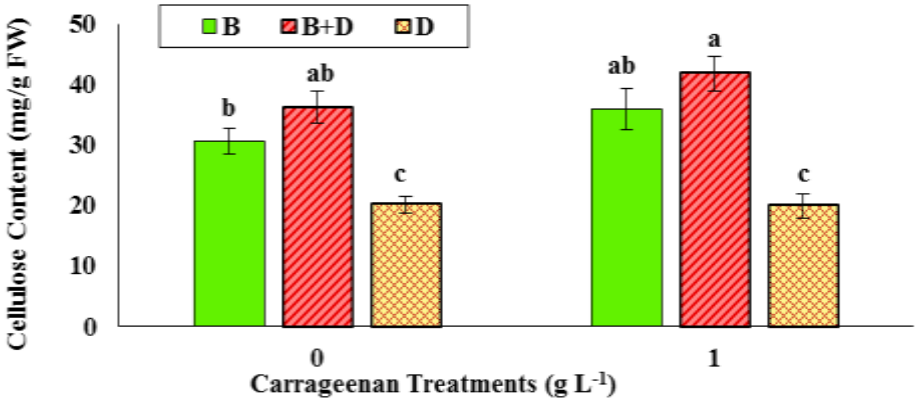
در این پژوهش مشاهده کردیم که حمله گیاه سس درگیاهان ریحان (گروه کنترل و پیش تیمار شده با کاراجینان) موجب کاهش درصد آب برگ شده است و تیمار کاراجینان درصد آب برگ ریحان را افزایش داده است (شکل ۱۰). حفظ

[Downloaded from jispp.iut.ac.ir on 2024-10-12]

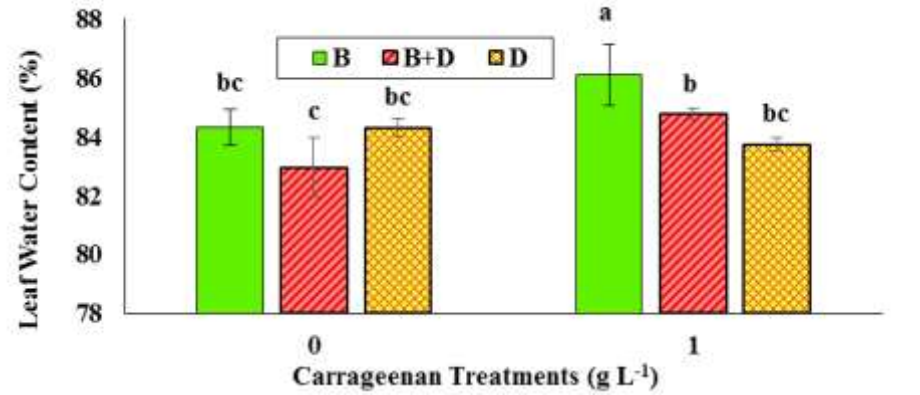
[DOR: 20.1001.1.23222727.1398.8.33.10.0]



شکل ۸- مقدار لیگنین ساقه ریحان و گیاه سس. B: گیاه ریحان؛ B+D: گیاه ریحان پارازیته شده توسط گیاه سس؛ D: گیاه سس؛ 0: گروه کنترل؛ 1: اسپری برگی توسط کاراجینان با غلظت ۱ گرم بر لیتر. داده‌ها میانگین ۳ تکرار± SD است. میانگین‌های دارای حداقل یک حرف مشابه از نظر آماری اختلافی ندارند (آزمون LSD و ۰/۰۵ ≥P).



شکل ۹- مقدار سلولز ساقه ریحان و گیاه سس. B: گیاه ریحان؛ B+D: گیاه ریحان پارازیته شده توسط گیاه سس؛ D: گیاه سس؛ 0: گروه کنترل؛ 1: اسپری برگی توسط کاراجینان با غلظت ۱ گرم بر لیتر. داده‌ها میانگین ۳ تکرار± SD است. میانگین‌های دارای حداقل یک حرف مشابه از نظر آماری اختلافی ندارند (آزمون LSD و ۰/۰۵ ≥p).



شکل ۱۰- اثر پیش تیمار کاراجینان و حمله گیاه انگل سس روی درصد آب بافت گیاه ریحان. B: گیاه ریحان؛ B+D: گیاه ریحان پارازیته شده توسط گیاه سس؛ D: گیاه سس؛ 0: گروه کنترل؛ 1: اسپری برگی توسط کاراجینان با غلظت ۱ گرم بر لیتر. داده‌ها میانگین ۳ تکرار± SD است. میانگین‌های دارای حداقل یک حرف مشابه از نظر آماری اختلافی ندارند (آزمون LSD و ۰/۰۵ ≥p).

[Downloaded from jispp.iut.ac.ir on 2024-10-12]

[DOR: 20.1001.1.23222727.1398.8.33.10.0]

محتوی آب در گیاهان تیمار شده با کاراجینان در این تحقیق، احتمالا به‌دلیل تنظیم اسمزی (با تجمع مواد محلول) و کاهش خسارت غشاها و ماکرومولکولهای ساختاری می‌باشد، که موجب حفظ آب سلول شده است و از آنجائیکه حمله سس به گیاه میزبان موجب سینک مواد آلی و معدنی از گیاه می‌شود، گیاه برای حفظ توژسانس و آب خود دسترسی کافی به مواد محلول و اسمزا نداشته، بدین جهت درصد آب برگ کاهش می‌یابد.

نتیجه‌گیری

این تحقیق نشان دهنده توانایی کاراجینان در افزایش مقاومت گیاه ریحان در برابر تهاجم گیاه انگل سس می‌باشد، کاراجینان با فعال سازی مکانیسم‌های دفاعی و تحریک سنتز لیگنین و سلولز می‌تواند در ایجاد سد مکانیکی در برابر نفوذ هستوریوم گیاه سس نقش داشته باشد.

References

Boerjan, W., Ralph, J., Baucher, M. (2003) Lignin biosynthesis. Annual Review of Plant Biology 54 :519-546.

Dawson, J. H., Musselman, L. J., Wolswinkel, P., Dorrs, L. (1994) Biology and control of *Cuscuta*. Review Weed Science 6: 265-317.

Farah., A. F. (2007) Resistance of some plant species to field dodder (*Cuscuta campestris*). African Crop Science Conference Proceedings 8: 913-017.

Gonzàlez, A., Castro J., Vera J. (2013) Seaweed oligosaccharides stimulate plant growth by enhancing carbon and nitrogen assimilation, Basal Metabolism, and Cell divition. Journal of Plant Growth Regulation 32: 443–448.

Hassani, A. O. (2003) Effect of different soil mouisture leves on growth, yield and accumulation of compatible solutes in basil (*Ocimum basilicum*). Journal of Water and Soil Sciences 17:210-9.

Haupt S., Oparka K.L., Sauer N., Neumann S. (2001) Macromolecular trafficking between *Nicotiana tabacum a*nd the holoparasite *Cuscuta reflexa.* Journal of Experimental Botany 52: 173–177.

Iiyama, K., Wallis, A.F.A. (1990) Determination of lignin in herbaceous plants by an improved acetyl bromide antioxidant activity and flavonoid content in blackberries (*Rubus* sp.) and promotes anti proliferation and promotes antiproliferation of human cancer cells. Food Chemistry 107: 1261-1269.

Lopez-Curto L., Marquez-Guzm J., Dıaz-Pontones D. M. (2006) Invasion of *Coffea arabica* (Linn.) by *Cuscuta jalapensis (*Schlecht): in situ activity of peroxidase. Environmental and Experimental Botany 56: 127–135.

Kessman, H., Daniel, S., Barz, W.(1988) Elicitation of pterocarpon phytoalexins in cell suspension cultures of different chickpea (*Cicer arietinum* L.) cultivars by an elicitor from the fungus *Ascochyta rabiei*. Bioscience 43: 529-535.

Khan, W., Rayirath, U.P., Subramanian, S., Mundaya, N.J., Rayorath, P. (2009) Seaweed extracts as biostimulants of plant growth and development. Journal of Plant Growth Regulation 28: 386–399.

Lattanzio, V., Veronica, M., Lattanzio, T., Cardinali, A. (2006) Role of phenolics in the resistance mechanisms of plants against fungal pathogens and insects. Hytochemistry: Advances in Research 23-67.

Makri, O., Kintzios, S. (2008) Ocimum sp. (basil): Botany, cultivation, pharmaceutical properties, and biotechnology. Journal of Herbs Spices & Medicinal Plants 13: 123-150.

Ning, J., Kong, F., Lin, B., Lei, H. (2003) Large-scale preparation of the phytoalexin elicitor glucohexatose and Its application as a green pesticide, Journal of Agricultural and Food Chemistry 51: 987–991.

Patal, S., Sharma, V., Nagendra, S., Vinod, K. (2012) An updated review on parasitic herb *Cuscuta reflexa* Roxb. Journal of Chinese Integrative Medicine 10: 249-55.

Sangha, J.S., Wajahatullah, Khan., Xiuhong, Ji., Junzeng, Zhang., Aaron, A.S., Mills Alan, T. (2011) Carrageenans, sulphated polysaccharides of red seaweeds, differentially affect Arabidopsis thaliana resistance to *Trichoplusia ni* (Cabbage looper). PLoS ONE6: 1-11.

Striberny b., Krause K. (2015) Cell wall glycoproteins at interaction sites between parasitic giant dodder (*Cuscuta reflexa*) and its host Pelargonium zonale. Plant Signaling and Behavior 1-11.

Tjiurutue, M. C., Sandler, H. A., Kersch-Becker, M. F. (2016) Cranberry Resistance to Dodder Parasitism: Induced Chemical Defenses and Behavior of a Parasitic Plant. Journal of Chemical Ecology. 42: 95 106.

Updegraff, David M. (1969) Semimicro determination of cellulose inbiological materials. Analytical Biochemistry 32: 420-424.

Vaughn, K. (2002) Attachment of the parasitic weed dodder to the host. Protoplasma 219: 227–237.

Vaughn., K. (2003) Dodder hyphae invade the host: a structural and immunocytochemical characterization. Protoplasma 220: 189–200.

Zaroug, M. S., Eldur Ahmed Balla Zahran, Abbasher Awad Abbasher, Eltahir Ahmed Abed Aliem (2014) Host range of field dodder (*Cuscuta campestris* Yuncker) and its impact on onion (*Allium cepa* L.) cultivars grown in Gezira state Sudan. International Journal of AgriScience 4:356-361.

[Downloaded from jispp.iut.ac.ir on 2024-10-12]

[DOR: 20.1001.1.23222727.1398.8.33.10.0]

Carrageenan treatment effects on basil resistance against field dodder invasion

Effat Ahmadi Mousavi, Fatemeh Nasibi*, Khosrow Manochehri Kalantari and Mahboobeh Zare

Department of Biology, Faculty of Science, Shahid Bahonar University of Kerman
(Received: 10/05/2018, Accepted: 02/02/2019)

Abstract

Field dodder is a holostemparasitic plant without leaves and roots that obtains its resources entirely from its host plants. Control of dodder is extremely difficult. Biological control of field dodder seems to be useful. Carrageenans can act as elicitors and activates plant defense responses. In this work, relationship between dodder and its host, sweet basil, and effects of κ-carrageenan on protection against dodder and suppression of its invasion was studied. In the present study, we observed that carrageenan treatment significantly increased the growth parameters. The lignin and cellulose content of the carrageenan treated-basil did not show significant change but the carrageenan treatment significantly increased the lignin and cellulose content of basil plant that parasitized by dodder. The present results indicated that the foliar spray of basil plants by carrageenan stimulated basil resistance against field dodder invasion, thus it is recommended as natural biostimulator for protection of plants against field dodder plants.

Key words: Carrageenan, Field dodder, Parasitized, Sweet basil

Corresponding author, Email: Nasibi2002@yahoo.com

[Downloaded from jispp.iut.ac.ir on 2024-10-12]

[DOR: 20.1001.1.23222727.1398.8.33.10.0]