

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

عفت السادات احمدی موسوی، فاطمه نصیبی*، خسرو منوچهری کلاتری 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

سس مزرعه یک گیاه انگل اجباری بدون برگ و ریشه است، که منابع خود را به طور کامل از گیاهان میزبان به دست می‌آورد. کنترل گونه های مختلف سس بسیار دشوار است. استفاده از روشهای کنترل بیولوژیک یکی از روش‌های مؤثر برای مدیریت سس 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 سس مزرعه و میزبان، ریحان سبز و اثرات حفاظتی پلی ساکارید استخراج شده از جلبک قرمز کاپا-کاراجینان در برابر حمله سس و توقف پیشروی آن در گیاه میزبان 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 پرازیته شده توسط سس 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 سس می‌شود. بنابراین می‌توان از کاراجینان بعنوان محرک زیستی در حفظ گیاهان در برابر آلودگی گیاه سس استفاده نمود.

واژگان کلیدی: پرازیته شدن، ریحان سبز، سس مزرعه و کاراجینان.

مقدمه

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). سس (dodder) گیاهی پیچنده است که به رنگ های زرد، نارنجی، قرمز، گاهی سبز و حتی سفید دیده می‌شود و همگی آنها انگل ساقه گیاهان می‌باشند. برخی گیاه سس، جنس *Cuscuta* را جزء خانواده پیچک (Convolvulaceae) می‌دانند، اما گروهی دیگر آنرا در خانواده جداگانه ای موسوم به سس‌ها (Cuscutaceae) قرار می‌دهند (Patal et al., 2012). گونه سس مزرعه (*C. campestris*)

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

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 مکانیسم‌های 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 عملکرد کیفی و کمی این گیاه ضروری می‌باشد. گیاه سیس نیز پراکنش جغرافیایی وسیع و دامنه میزبانی بالا داشته، بعلاوه در ایران و جهان روش‌های مدیریتی و کنترل موثری برای آن شناسایی نشده است. بنابراین، انجام مطالعات و معرفی ترکیباتی که قادر به کنترل سیس باشند، از اهمیت زیادی برخوردار 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 سیس مورد بررسی قرار گرفت.

مواد و روش‌ها

گیاه مورد مطالعه در این پژوهش، گیاه ریحان بود. بذره‌های ریحان از شرکت پاکان بذر اصفهان تهیه و مورد استفاده قرار گرفت. بذره‌های ضدعفونی شده به تعداد زیاد در هر گلدان (۱۵ سانتیمتر قطر در ۱۴ 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 ۱۳۹۴ 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

دامنه میزبانی بسیار وسیعی دارد و بسیاری از محصولات زراعی باغی چون ریحان، یونجه، مارچوبه، خربزه، گلرنگ، چغندر قند، گوجه فرنگی، اطلسی، میمون، داوودی و علف‌های هرزی چون پیچک صحرايي، 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 علف‌کشها 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 ایستاتور برای فعال سازی سیستم دفاعی گیاهان می‌باشد که موجب افزایش مقاومت آنها در برابر شرایط سخت محیطی نیز می‌شود (Ning et al., 2003).

ایستاتورهای 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 ایستاتورهایی 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 مسیره‌های سیگنالینگ

سه مرتبه به فاصله یک هفته، اسپری شدند و مورد تهاجم گیاه سیس 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 سیس نیز قرار گرفتند.

DB0: ساقه گیاه سیسی که میزبان آن (گیاه ریحان) با آب بدون یون، سه مرتبه به فاصله یک هفته، اسپری شد.

DB1: ساقه گیاه سیسی 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 Sartorius مدل BPSIID وزن گردید، سپس در فویل آلومینیومی پیچیده و به مدت ۴۸ 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.

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

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 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

و اولترا سونیک استفاده گردید. گیاهچه‌های کاشته شده در گلدان پس از ۱۴ 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 سیس از طریق بذر می‌باشد ولی امکان سرایت و آلودگی گیاهان میزبان توسط ساقه‌های تهاجمی آن هم وجود دارد. رشته‌های قطع شده سیس نیز می‌تواند موجب سرایت آلودگی از کانون های اولیه به سایر نقاط شوند. قطعاتی از ساقه سیس، 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 سیس، موجب فعال بودن این بخشها در تشکیل هستوریوم برای پارازیته کردن گیاهان می‌شود. بنابراین قرار دادن نواحی رأسی ساقه‌های سیس روی گیاه میزبان منجر به رشد و تکثیر گیاه جدید می‌شود.

در این تحقیق ساقه‌های تهاجمی و راسی گیاه سیس بطول ۱۲ سانتی متر جدا شده و روی قسمت هوایی گیاه ریحان ۳۰ روزه‌ای که آخرین مرحله تیمار آن (کاراجینان و آب (گیاه کنترل) ۴۸ ساعت قبل انجام شده بود، قرار داده شدند. معمولا اتصال گیاه سیس به قسمت هوایی میزبان به سرعت انجام می‌شود. با گذشت ۲ هفته پس از آلودگی گیاهان ریحان به سیس، رشته‌های سیس و برگهای (ردیف سوم برگ، بعد از برگ لپه‌ای) و ساقه ریحانی که ۴۴ روزه بودند (گروه تیمار شده با کاراجینان و گروه کنترل)، جمع آوری شدند.

نمونه‌های برداشت شده در این مطالعه عبارت بودند از:

B0: ساقه و برگ گیاهان ریحان که با آب بدون یون، سه مرتبه به فاصله یک هفته، اسپری شدند.

B1: ساقه و برگ گیاهان ریحان که با محلول کاپا-

کاراجینان، سه مرتبه به فاصله یک هفته، اسپری شدند.

B0+D: ساقه و برگ گیاهان ریحان که با آب بدون یون،

میلی لیتر سولفوریک اسید ۶۷ 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 کاملاً مخلوط گردید. لوله‌ها به مدت ۱۰ دقیقه در حمام آب جوش قرار گرفتند. پس از سرد شدن لوله‌ها جذب نمونه‌ها در طول موج ۶۳۰ نانومتر با دستگاه اسپکتروفتومتر اندازه گیری شد. پس از تهیه غلظتهای ۵۰ تا ۴۰۰ 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).

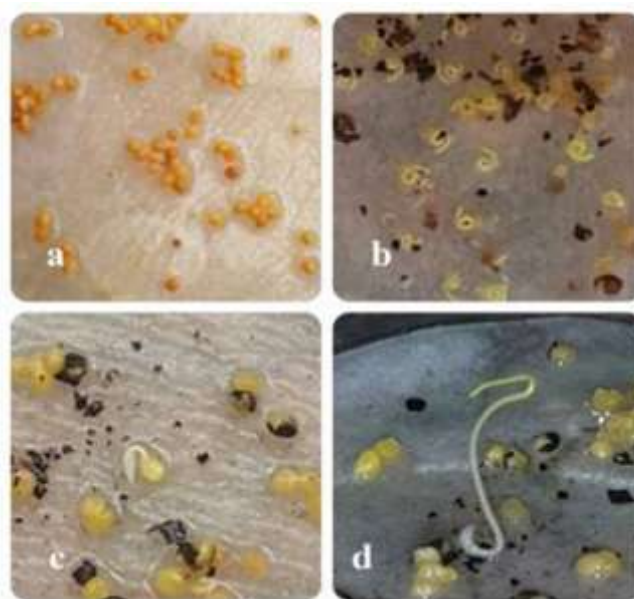
تجزیه و تحلیل آماری: تجزیه و تحلیل‌های آماری در این مطالعه با آزمایش فاکتوریل و طبق طرح کاملاً تصادفی صورت گرفت. تجزیه و تحلیل‌های آماری داده‌های بدست آمده حاصل سنجش‌های کمی مختلف در این مطالعه، با استفاده از نرم افزار SAS (Version 9.4, SAS Institute Inc., Cary, NC, USA) و به روش آنالیز واریانس انجام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

نتایج و بحث:

گیاه سیس 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 سیس و میزبان ریحان، نیاز به مراحل نموی زیر می‌باشد: گیاهچه سیس هنگام خروج از بذر به‌صورت ساقه‌های رشته‌ای بدون برگ کماتی 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 ۱c). بخش قاعده

نمونه‌های پودر شده افزوده و به مدت ۱۰ دقیقه در $\times g$ ۱۰۰۰ سانتریفیوژ 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 نمونه‌ها در آون دمای ۷۰ درجه سانتیگراد، خشک شدند. ماده خشک شده (دیواره سلولی نمونه‌ها) ساییده و پودر حاصل از الک رد شد. لیگنین موجود در دیواره سلولی با روش استیل بروماید تعیین و محاسبه شد. بدین منظور در لوله‌های درب پیچدار، به ۰/۱ گرم پودر ساییده شده دیواره سلولی، ۲/۵ میلی لیتر استیل بروماید (۲۵ درصد 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 ۶ میلی لیتر استیک اسید صاف شد و سپس حجم نهایی با استیک اسید به ۲۵ میلی لیتر رسید. نمونه‌ها به مدت ۵ دقیقه در $\times g$ ۱۰۰۰ سانتریفیوژ و جذب نمونه‌ها در طول موج ۲۸۰ نانومتر با دستگاه اسپکتروفتومتر اندازه گیری شد. پس از تهیه 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 بر گرم 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 سریعاً 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 $\times g$ ۱۰۰۰ سانتریفیوژ شدند. پس از خالی کردن روشناور، رسوب حاصل با آب مقطر شستشو شد و پس از حذف روشناور، رسوب حاصل در ۲



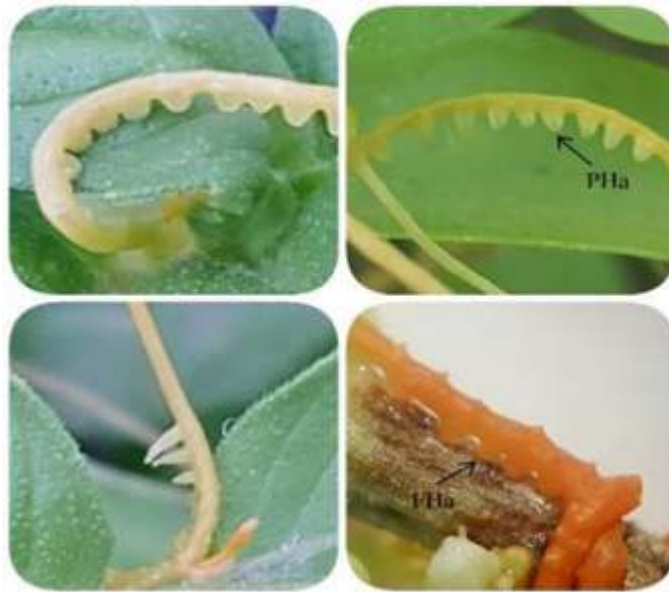
شکل ۱ - (a) بذر گیاه سِس مزرعه (b) آرایش جنین درون بذر سِس (c) خروج بخش ریشه‌چه مانند گیاهچه سِس هنگام جوانه زنی بذر (d) گیاهچه کمائی شکل بدون برگ و ریشه‌چه سِس مزرعه



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).

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

ای متورم 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 میزبان مرحله مهمی



شکل ۳ - هستوریومهای گیاه سیس: Pseudo Haustorium (PHa) هستوریوم کاذب. Functional Haustorium (FHa) هستوریوم عملکردی



شکل ۴ - میکروگراف نوری برش عرضی ساقه سیس

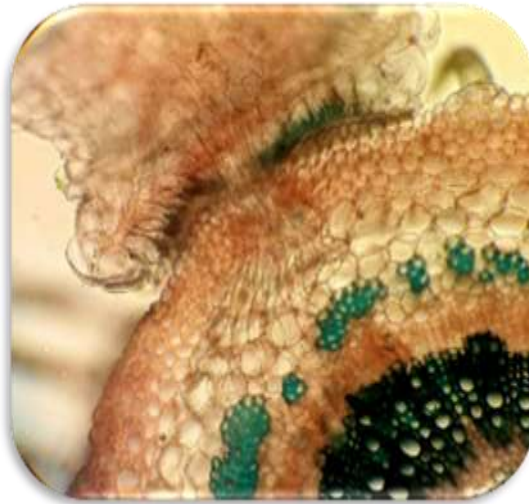
نیز داشته و ماده الکتروتنسی ترشح می کنند که فضای بین کوتیکولی میزبان و دیواره خودشان را پر می کند. این ماده، مانند چسب عمل کرده و پیش هستوریوم را به سطح میزبان متصل می کند (Striberny and Krause, 2015). بررسی گونه های گیاه سیس نشان می دهد که ماده مترشحه آنها، پکتین می باشد (Vaughn, 2002).

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

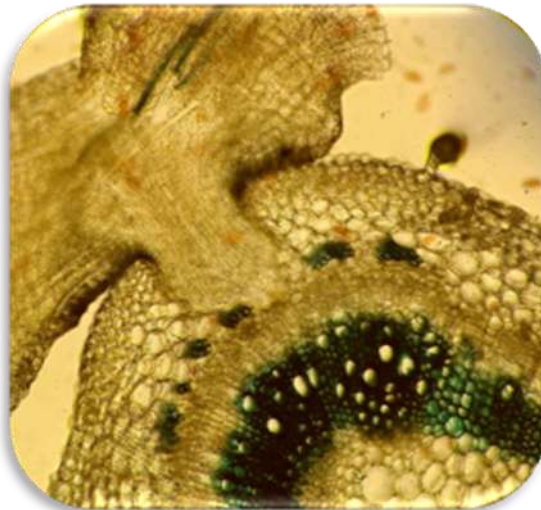
که به بافت های میزبان نفوذ نکرده و نقشی در جذب مواد از میزبان ندارند (شکل ۳).

نخستین تغییرات مشاهده شده طی تشکیل هستوریوم، تقسیم سلول های اپیدرم و کورتکس سیس (شکل ۴) و تجمع مواد در سیتوپلاسم این سلول ها، در طرفی که در مجاورت گیاه میزبان می باشد.

رشد و تقسیم سلول های این ناحیه ادامه یافته بطوریکه یک مریستم صفحه مانند (پیش هستوریوم) بوجود می آید (شکل ۵). گزارش شده که سلول های پیش هستوریوم عملکرد ثانوی



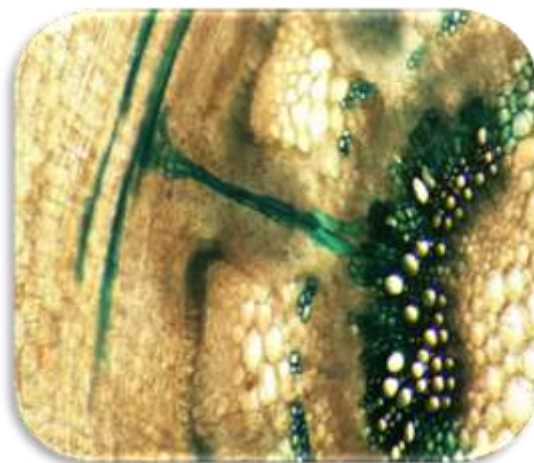
شکل ۵- میکروگراف نوری تشکیل پیش هستوریوم سس



شکل ۶- میکروگراف نوری تشکیل و نفوذ هستوریوم سس در بافت ساقه ریحان

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

نفوذ می‌کنند (شکل ۶). سلولهای متلاشی شده میزبان در این منطقه نشان دهنده 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 نفوذ دخیل می‌باشند. نقش تجزیه کنندگی آنزیم پکتین متیل استراز، سلولاز، گزیلاناز و پلی گالاتوروناز هنگام پیشروی گیاه سس به بافتهای میزبان گزارش شده است (Vaughn, 2003).



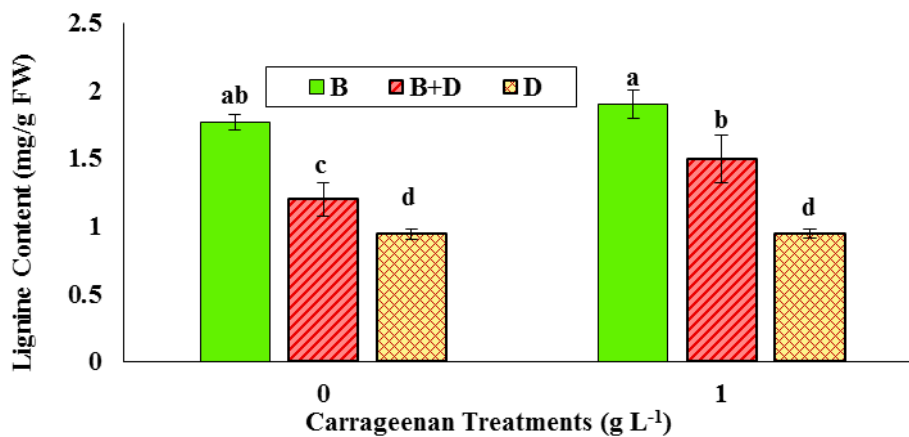
شکل ۷ - میکروگراف نوری نفوذ هستوریوم سس در بافتهای ریحان، عناصر آوندی (عناصر چوبی و آوند آبکش همراه آن) با موقعیت مرکزی در هستوریوم آشکار هستند و هستوریوم به اپیدرم، پوست و بافت اسکلرانشیمی میزبان نفوذ می‌کند.

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 سس افزایش می‌دهد (شکل ۸). کمتر بودن مقدار لیگنین ساقه گیاهان ریحان پارازیته شده نسبت به گیاهان کنترل به این دلیل می‌باشد که نفوذ سس در نواحی دارای مقاومت کمتر صورت می‌گیرد. در این پژوهش پیش تیمار کاراجینان در گیاهان ریحان پارازیته شده توسط سس 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 (González et al., 2013).

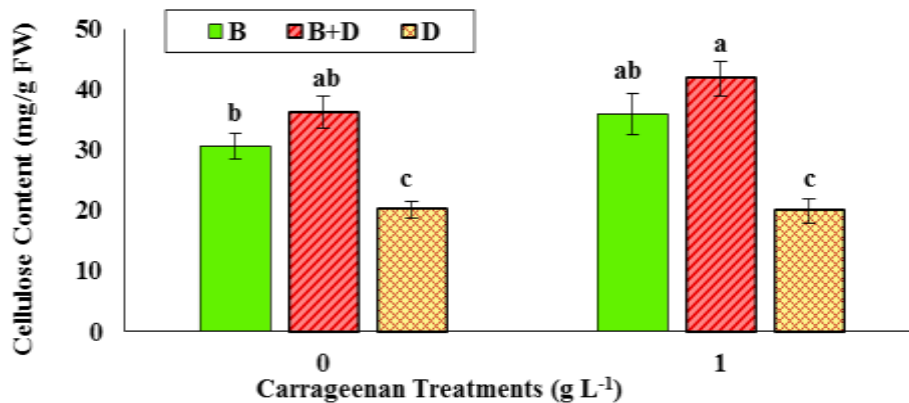
در این پژوهش مشاهده کردیم که حمله گیاه سس در گیاهان ریحان (گروه کنترل و پیش تیمار شده با کاراجینان) موجب کاهش درصد آب برگ شده است و تیمار کاراجینان درصد آب برگ ریحان را افزایش داده است (شکل ۱۰). حفظ

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

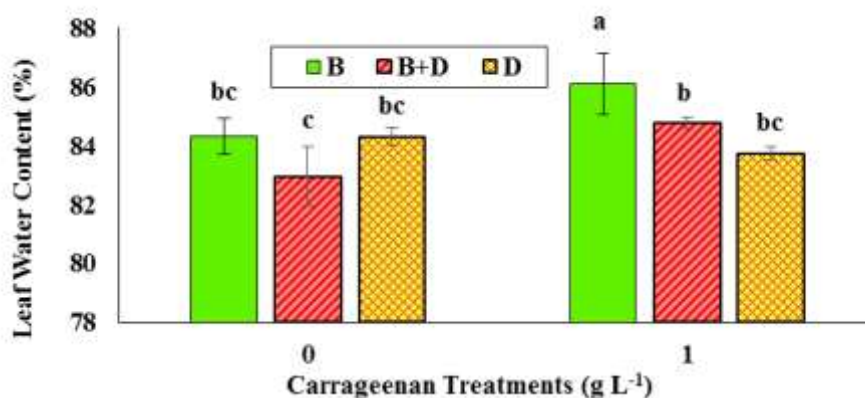
اندکی داشته یا رشد نمی‌کنند. یکسری عوامل توانایی گیاه سس در نفوذ به بافتهای میزبان را کاهش داده و مانع نفوذ هستوریوم آن می‌شوند. بیان شده که شرایط آناتومیکی نامناسب میزبان باعث کاهش رشد گیاه انگل می‌شود، بطوریکه هستوریوم گیاه انگل توانایی اتصال به دستجات آوندی میزبان را نمی‌یابد (Tjiurutue et al., 2016). 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 می‌شوند (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 باندکوالانت با پروتئینها و کربوهیدراتها نموده که سد فیزیکی در برابر نفوذ انگل ایجاد می‌کند (Boerjan et al., 2003). لیگنین در عملکرد آنزیم‌های هیدرولیز کننده نیز تداخل ایجاد می‌کند، همچنین با محدود



شکل ۸- مقدار لیگنین ساقه ریحان و گیاه سس. B: گیاه ریحان؛ B+D: گیاه ریحان پارازیت 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 \pm SD است. میانگین‌های دارای حداقل یک حرف مشابه از نظر آماری اختلافی ندارند (آزمون LSD و $p \leq 0/05$).



شکل ۹- مقدار سلولز ساقه ریحان و گیاه سس. B: گیاه ریحان؛ B+D: گیاه ریحان پارازیت 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 \pm SD است. میانگین‌های دارای حداقل یک حرف مشابه از نظر آماری اختلافی ندارند (آزمون LSD و $p \leq 0/05$).



شکل ۱۰- اثر پیش تیمار کاراجینان و حمله گیاه انگل سس روی درصد آب بافت گیاه ریحان. B: گیاه ریحان؛ B+D: گیاه ریحان پارازیت 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 \pm SD است. میانگین‌های دارای حداقل یک حرف مشابه از نظر آماری اختلافی ندارند (آزمون LSD و $p \leq 0/05$).

نتیجه‌گیری

محتوی آب در گیاهان تیمار شده با کاراجینان در این تحقیق، احتمالاً به دلیل 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 اسمززا نداشته، بدین جهت درصد آب برگ کاهش می‌یابد.

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.
- González, A., Castro J., Vera J. (2013) Seaweed oligosaccharides stimulate plant growth by enhancing carbon and nitrogen assimilation, Basal Metabolism, and Cell division. *Journal of Plant Growth Regulation* 32: 443-448.
- Hassani, A. O. (2003) Effect of different soil moisture levels 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* and 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., Diaz-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 ONE* 6: 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 in biological 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.

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