



مقدمه‌ای بر استفاده از

ریز جانداران درون رُست بذر در کشاورزی پایدار

نیما خالقی^۱، محمد حسن عصاره^۱ و عباسی هاشمی^۱
(۱-عضو هیأت علمی مؤسسه تحقیقات ثبت و گواهی بذر و نهال)

که با ادغام جنبه‌های زیستی (تلقیح بذر با ریز جانداران زنده مفید) و فیزیولوژیکی (آبنوشی بذر) باعث بهبود کیفیت بذر و گیاهچه‌های حاصل از آن می‌شود. به طور کلی بیوپرایمینگ بذر با ریز جانداران درون رُست به دلیل سازگاری با محیط زیست می‌تواند جایگزین مناسبی برای پرایمینگ بذر با سموم و کودهای شیمیایی باشد. استفاده از الیستورها با منشأ زیستی به ویژه ریز جانداران درون رُست یکی از مهم‌ترین روش‌ها برای افزایش تولید متابولیت‌های ثانویه می‌باشند که از طریق القای پاسخ‌های دفاعی تغییرات فیزیولوژیک و تجمع فیتوآلکسین باعث بیوسنتز و انباشت متابولیت‌های ثانویه در گیاهان می‌شوند. درون رُست واژه‌ای است، که برای جلبکها و گیاهان درون رُستی انگل، باکتری‌ها و قارچ‌های بیماریزا در فاز رشدی نهفته در میزبان، همزیستی باکتری و قارچ و همچنین برای ریز جانداران همزیست نیز استفاده می‌شود. ریز جانداران درون رُست در تمام بخش‌های گیاهان از ریشه گرفته تا اندام‌های هوایی جداسازی و شناسایی شده است. واژه درون رُست یا اندوفیت^۱ برگرفته از دو واژه یونانی endon به معنی درون و phyte به

بذر به عنوان مهم‌ترین نهاده در حفظ و انتقال مواد ژنتیکی گیاه، تکثیر و بقای گیاه نقش مهمی در دستیابی به پتانسیل واقعی عملکرد دارد. بذرها مجموعه‌ای از ریز جاندارانی همزیست را در اختیار دارند که چندین عملکرد حیاتی را برای رشد و بقای گیاهچه فراهم می‌کنند که احتمال زنده ماندن گیاهچه‌ها بدون این ریز جانداران همزیست کمتر است. استفاده از ریز جانداران درون رُست در تهیه و تولید کودهای زیستی، با ایجاد تغییرات ژنتیکی، فیزیولوژیکی و اکولوژیکی در گیاهان، می‌توانند عملکرد آن‌ها را در واحد سطح افزایش دهد و امکان توسعه کشت آن‌ها را در خاک‌هایی با شرایط نامساعد محیطی و تغذیه‌ای فراهم آورند. ریز جانداران درون رُست گیاهی نقش مهمی در فعل و انفعالات فیزیولوژیکی و بیوشیمیایی گیاهان در پاسخ به شرایط محیطی ایفا می‌کنند. ریز جانداران درون رُست در نتیجه همزیستی طولانی مدت با گیاهان دارویی می‌توانند برخی خصوصیات زیستی گیاه میزبان را تغییر داده و توانایی تولید متابولیت‌های ثانوی گیاهی را به دست آورده‌اند و حتی موجب تغییر میزان و حتی نوع این ترکیبات زیستی فعال شوند. بیوپرایمینگ بذر روشی است

معنی گیاه است. اولین درون رُست های توصیف شده، اگر اتماتا^۲ بود که موجب تاول هایی روی برگ های گندم می شد. این اصطلاح اولین بار در سال ۱۸۶۶ توسط دبای^۳ ارائه شد و به صورت گسترده برای هر نوع ریزجاننداری که درون بافتهای سالم گیاهان وجود دارند، استفاده می شد. تعاریف متفاوتی توسط محققان برای درون رُست ارائه شده است. به طور کلی درون رُست شامل باکتری ها، قارچ ها، اکتینومیسست ها و جلبک ها می شوند که تمام و یا بخشی از چرخه زندگی خود را در ناحیه سیم پلاست یا آپوپلاست بافتهای گیاهی سالم بدون اینکه باعث ایجاد بیماری و یا آلودگی در گیاه میزبان شوند، توصیف می شوند. در دو دهه اخیر جنس ها و گونه های متنوعی از قارچ ها و باکتری ها که تمامی یا بخشی از زندگی خود را به عنوان درون رُست درون گیاه سپری می کنند از طیف وسیعی از گیاهان جداسازی و شناسایی شده است. ریزجانداران درون رُست در نواحی مختلف گیاه از جمله محیط اطراف ریشه (ریزوسفر^۴)، سطح اندام های گیاهی و برگ (فیلسفر^۵)، ساقه (کالوسفر^۶)، پهنک برگ (لامینوسفر^۷)، بافتهای زیر پوست (درموسفر^۸)، سطح میوه (کارپوسفر^۹)، خاکی که در تماس مستقیم با سطح بذر (اسپرموسفر^{۱۰}) و گل ها (آنتوسفر^{۱۱}) مشاهده شده اند. در میان انواع درون رُست ها، درون رُست بذر از نظر اکولوژیکی مهم و شامل ریزجانداران هستند که نه تنها بذر و بلکه گیاهچه حاصل از آن را نیز کلونیزه می کنند. تنوع درون رُست در بذرها اغلب کمتر از سایر قسمت های گیاه است. ریزجانداران درون رُست بذر برای یک چرخه زندگی همزیستی در گیاه سازگار شده و به ازای رقابت با سایر ریزجانداران و توانایی بقا و زنده ماندن در محیط های خارج از گیاه، به طور عمودی و از طریق بذر انتقال می یابند. انتقال عمودی، انتقال مستقیم ریزجاندار درون رُست از گیاه والد به بذر است و از آنجا که ریزجاندار درون رُست برای بقا و تولید مثل به میزبان خود وابسته است، این همزیستی همواره باید در راستای مقاوم شدن گیاه به بیماری ها باشد.

تاریخچه

محققان بر اساس شواهد موجود بر این باورند که ریزجانداران همزیست در حدود ۴۰۰ میلیون سال پیش یعنی هنگامی که اولین گیاهان در سطح خشکی ظاهر شدند، نیز وجود داشته و ممکن است تکامل گیاه را تسهیل کرده باشند. نخستین اسناد در مورد روابط همزیستی متقابل به دوران دیرینه زیستی

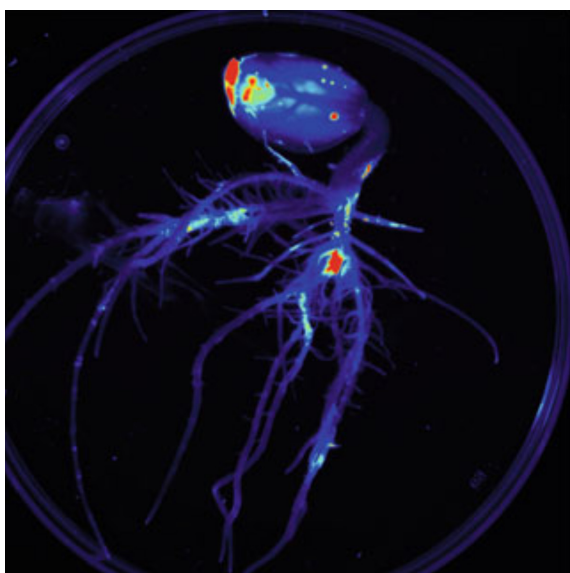
(پالئوزوئیک^{۱۲}) برمی گردد که نشان دهنده رابطه قارچ با ریشه درخت فسیلی *Amyelon radicans* می باشد. با مطالعه بخشهای نازک سنگواره مربوط گیاه *Nothia aphylla* حضور سه قارچ درون رُست درون این گیاه اثبات شد. بیش از ۳۹۰ هزار گونه گیاهی بر روی زمین شناسایی شده است که هر یک ممکن است میزبان بیش از یک گونه ریزجاندار درون رُست باشند. این در حالی است که هنوز تعداد معدودی از درون رُست شناخته شده اند. ریزجانداران درون رُست از تنوع زیستی بالایی برخوردار و همه جازی می باشند. آن ها از گروه های مختلف گیاهی شامل خزه گیان، سرخسیان، بازدانگان و نهاندانگان که با شرایط محیطی دشوار و متغیر از جمله بیابان ها با تنش آبی، قطب شمال با تنش سرما، اقیانوس منجمد جنوبی، خاک های زمین های گرم، جنگل های بارانی، برگریز و ساحلی و همچنین مناطق باتلاقی حرا سازگاری پیدا کرده اند. درون رُست های بذرزاد برای اولین بار در سال ۱۹۶۶ توسط بیکر^{۱۳} و اسمیت^{۱۴} مورد بحث قرار گرفتند. با این حال، گزارشات اولیه در مورد کلونیزه کردن بذر توسط باکتری ها به حدود ۱۹۷۰ برمی گردد. در حالی که کشف ارتباط همزیستی قارچ های بذرزاد به سال ۱۹۵۰ برمی گردد

مروری بر روی برخی میکروارگانیسم های درون رُست بذر و نحوه عمل آنها

بذر نه تنها اطلاعات ژنتیکی برای نسل بعد را به همراه دارد، بلکه علاوه بر آن مخزن و ناقل جمعیتی از ریزجانداران است. ریزجانداران درون رُست در تمامی گونه های گیاهی حضور داشته و روابط متقابل محیط با گیاه و گیاه با بیمارگر را تحت تأثیر قرار داده، در نتیجه در کنترل بیمارگرها و بهبود فعالیت گیاهان نیز ایفای نقش می کنند. ریزجانداران درون رُست به ویژه قارچ های درون رُست منبع غنی برای تولید متابولیت های ثانویه ارزشمند مانند تاکسول، وین کریستین، وین بلاستین و غیره هستند که در پاسخ به شرایط محیطی و یا حملات میکروبی و آفات تولید می شوند. بیشترین باکتری های درون رُست گزارش شده مربوط به باسیلوسها و اکتینوباکتریها می باشند. باکتری های درون رُست با تولید طیف وسیعی از فیتوهورمونها و ترکیبات مفیدی همچون سیدروفورها، تثبیت نیتروژن و جذب مواد معدنی را برای گیاه تسهیل می کنند و از طرفی با تولید آنتی بیوتیک ها و برخی آنزیم های هیدرولیز کننده، دیواره قارچ ها و باکتری های بیمارگر را

ارزیابی جوامع ریزجانداران درون‌رُستی به لحاظ جنبه‌های اکولوژیکی و عملکردی آن بسیار مهم است. بنابراین مطالعه جوامع درون‌رُستی گامی مهم در راستای درک نحوه توسعه گیاه می‌باشند زیرا برهمکنش جوامع درون‌رُستی ضمن بهره‌برداری از محیط اطراف، موجب بهبود رشد گیاه می‌شوند. ریزجانداران درون‌رُست یک میزبان ممکن است همه جازی باشند و یا میزبان اختصاصی داشته باشند. برای ریزجاندارانی که فقط یک میزبان را کلونیزه می‌کنند از اصطلاح میزبان خاص و برای درون‌رُستهای همه‌جازی از اصطلاح ترجیح میزبانی و یا میزبان انحصاری استفاده می‌شود. بنابراین تعامل نشان دهنده یک سازگاری بین میزبان و درون‌رُست به صورت خاص، ترجیحی و یا انحصاری است. سازگاری ممکن است فقط با یک میزبان خاص نباشد اما در رشد درون‌رُستی در یک اندام گیاه می‌تواند اختصاصی باشد. ممکن است ریزجانداران هنگام جوانه زدن گیاهچه، ریشه و اندام هوایی گیاه را کلونیزه کنند (شکل ۱). به طور کلی، اعتقاد بر این است که گیاهان از طریق تولید و ترشح ترکیبات مختلف، تعداد و تنوع جامعه ریزجانداران در محیط اطراف ریشه (ریزوسفر) را تغییر می‌دهند. عملکرد ریزجانداران باعث می‌شود که عناصر غذایی و ریزمغذی مورد نیاز گیاهان در اختیار ریشه قرار بگیرد

شکل ۱- تصویربرداری با استفاده از میکروسکوپ الکترونی روبشی هم‌کانون لیزری (کانفوکال) از کلونیزاسیون بذر کدوی تخمه کاغذی (رنگ زمینه آبی) با باکتری درون‌رُست *Serratia plymuthica* حاوی پروتئین فلورسنت (رنگ سبز) پس از ۹ روز پرایمینگ بذر



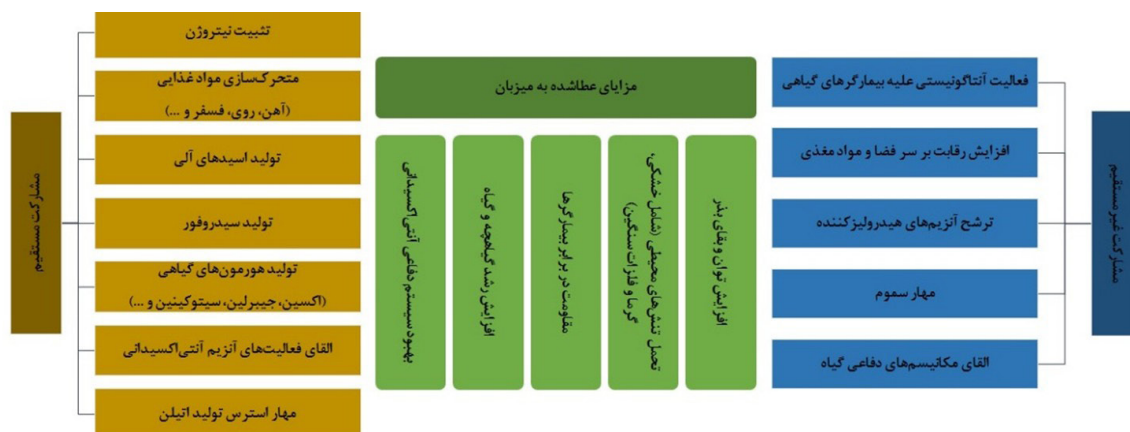
تخریب می‌کنند که منجر به رشد، حفاظت و افزایش محصول گیاه می‌شوند. درون‌رُستهای باکتریایی بذر برنج اثر خود بر سرعت جوانه‌زنی و رشد گیاهچه با تولید هورمون‌های گیاهی نشان می‌دهند. فعالیت ضدقارچی برای بسیاری از درون‌رُستهای باکتریایی گزارش شده است. پتانسیل درون‌رُست *Paenibacillus* در یک رقم گندم به عنوان محرک‌های رشد گیاه و عامل کنترل زیستی *Fusarium graminearum* مشخص شده است. افزایش رشد گیاهچه ذرت، توسط درون‌رُست *Pantoea ananatis* نیز به اثبات رسید. تیمار بذر جو با درون‌رُستهای *Paenibacillus* و *Pantoea* محتوای کلروفیل در گیاهچه‌های جو را افزایش می‌دهد. باکتری درون‌رُست *Bacillus amyloliquefaciens* جدا شده از بذر برنج قادر به تولید جیبرلین است. در دو دهه اخیر جنس‌های متنوعی از باکتریها و قارچها که تمامی یا بخشی از زندگی خود را به عنوان درون‌رُست درون گیاه سپری میکنند از طیف وسیعی از گیاهان جدا شده است. خلاصه‌ای از ریزجانداران درون‌رُست جداسازی و شناسایی شده از برخی گیاهان در جدول ۱ ارائه شده است

درون‌رُستهای بذر حساسیت گندم به گرما و خشکی را کاهش داده و شاخص‌های رشدی آن را بهبود می‌بخشد. گیاه کینوا سرعت جوانه زنی بالا و تحمل فوق‌العاده‌ای نسبت به شوری و فلزات سنگین دارد که بخشی از این ویژگی‌ها به علت وجود باکتری‌های درون‌رُست بذرزادی است که نقش فعالی در گسترش سلول میزبان داشته و بنابراین، از جوانه‌زنی سریع میزبان پشتیبانی می‌کنند. علاوه بر این، با القای پروتئین کیناز فعال شده با میتوژن در گیاه میزبان تا حدودی موجب بهبود رشد گیاه و تحمل تنش می‌شوند. درون‌رُستهای بذر کینوا ظرفیت تحمل فلز بالایی دارند که این امر موجب به پیشنهاد استفاده از آنها در پروژه‌های گیاه‌پالایی شده است. درون‌رُستهای جداسازی شده از بذر می‌توانند در راستای مقابله با فلزات سنگین با تغییر ساختار شیمیایی فلزات به واسطه اکسایش یا کاهش آنها به گیاهان کمک کنند و بر تجمع فلزات سنگین تأثیر بگذارند. برخی از درون‌رُستهای بذر به سطح ریشه مهاجرت کرده و در هوازدگی سنگ‌ها و همچنین تغییر حالت مواد معدنی شرکت می‌کنند. این موضوع منجر به مطرح شدن پیشنهاد استفاده از پتانسیل ریزجانداران درون‌رُست برای بهبود و ارتقا سطح کیفیت و عملکرد محصولات کشاورزی شده است

جدول ۱- قارچ‌ها و باکتری‌های درون رُست جدا شده از بذرهای گیاهان مختلف

اسم علمی میزبان	نام فارسی میزبان	ریزجانددار درون‌رُست	نحوه عمل
<i>Phragmites</i>	گونه‌ای نی	<i>Alternaria</i> sp., <i>Phoma</i> sp., <i>Penicillium corylophilum</i> , <i>Trichoderma</i> sp.	بهبود جوانه زنی بذر و رشد گیاهچه
<i>Dendrobium friedericksianum</i>	گونه‌ای ارکید	<i>Fusarium</i> sp., <i>Beauveria</i> sp., <i>Tulasnella violea</i> , <i>T. violea</i> , <i>Trichoderma</i> sp., <i>Epulorhiza</i> sp., <i>Trichosporiella multisporum</i>	محرک رشد
<i>Cinchona ledgeriana</i>	گونه‌ای گنه گنه	<i>Diaporthe</i> sp.	تولید آلکالوئید
<i>Toona sinensis</i>	ماهون چینی	<i>Cladosporium</i> sp.	پتانسیل آنتی اکسیدانی
<i>Ipomoea carnea</i>	نیلوفر پیچ	<i>Colletotrichum</i> sp., <i>Fusarium</i> sp.	ضد میکروبی
<i>Festuca arundinacea</i>	علف بره	<i>Neotyphodium oenophialum</i>	تولید ارگووالین و آلکالوئید لولین و بهبود حفاظت علیه گیاهخواران
<i>Lolium perenne</i>	چچم	<i>Epichloë festucae</i> var. <i>lolii</i>	بهبود تحمل به تنش خشکی
<i>Oryza sativa</i>	برنج	<i>Paenibacillus polymyxa</i>	تولید گلوکاناز، ضد عوامل بیماری‌زای گیاهی
<i>Lycopersicum esculentum</i>	گوجه‌فرنگی	<i>Bacillus subtilis</i>	محرک رشد، تولید فیتوهورمون و متابولیت
<i>Eucalyptus</i>	اکالیپتوس	<i>Bacillus</i> sp., <i>Enterococcus</i> sp., <i>Paenibacillus</i> sp., <i>Methylobacterium</i> sp.	محرک رشد
<i>Oryza sativa</i>	برنج	<i>Pseudomonas</i> sp., <i>Stenotrophomonas maltophilia</i> , <i>Stenotrophomonas clone</i> , <i>Ochrobactrum</i> sp., <i>Sphingomonas yanoikuyae</i> , <i>Flavobacterium johnsoniae</i> , <i>Flavobacterium</i> sp., <i>Paenibacillus humicus</i> , <i>Paenibacillus</i> sp., <i>Agromyces mediolanus</i> , <i>Curtobacterium</i> sp., <i>Frigoribacterium faeni</i> , <i>Microbacterium</i> sp., <i>Mycobacterium abscessu</i> , <i>Plantibacter flavus</i>	محرک رشد، کاهش تنش زنده و غیرزنده
<i>Triticum aestivum</i>	گندم	<i>Panibacillus</i> sp., <i>Pantoea</i> sp., <i>Bacillus</i> sp.	تولید اکسین، ضد قارچ، تولید سیدروفور، حل‌کننده فسفات، محرک رشد
<i>Glycine max</i>	سویا	<i>Agrobacterium radiobacter</i> , <i>Aeromonas</i> sp., <i>Bacillus</i> spp., <i>Chryseomonas luteola</i> , <i>Flavimonas oryzihabitans</i> , <i>Sphingomonas paucimobilis</i>	رشد گیاهچه، کلونیزاسیون ریشه
<i>Arachis hypogaea</i>	بادام زمینی	<i>Bacillus thuringiensis</i> , <i>B. cereus</i> , <i>B. amyloliquefaciens</i> , <i>B. subtilis</i> , <i>Paenibacillus</i> sp., <i>Pseudomonas</i> sp., <i>Cyanobacterium</i>	ضد قارچی
<i>Zea mays</i>	ذرت	<i>Undibacterium</i> sp., <i>Sphingomonas</i> sp., <i>Acinetobacter</i> sp., <i>Burkholderia</i> sp., <i>Pantoea</i> sp., <i>Limnobacter</i> sp., <i>Burkholderia</i> sp., <i>Staphylococcus</i> sp., <i>Serratia</i> sp., <i>Cronobacter</i> sp., <i>Enterobacter</i> sp., <i>Escherichia</i> sp., <i>Acinetobacter</i> sp.	تسریع فرآیند جوانه زنی
<i>Nicotiana tabacum</i>	توتون	<i>Enterobacter</i> sp., <i>Xanthomonadaceae</i> sp., <i>Pseudomonas</i> sp., <i>Sanguibacter</i> sp., <i>Stenotrophomonas</i> sp., <i>Clostridium aminovalericum</i> , <i>Stenotrophomonas</i> sp., <i>Sanguibacter</i> sp.	کاهش سمیت فلزات، بهبود رشد گیاه

شکل ۲- مزایای اعطاشده به میزبان و مکانیسم درگیر توسط ریزجانداران درون رُستهای بذر



درون رُست های بذر حساسیت گندم به گرما و خشکی را کاهش داده و شاخص های رشدی آن را بهبود می بخشد. گیاه کینوا سرعت جوانه زنی بالا و تحمل فوق العاده ای نسبت به شوری و فلزات سنگین دارد که بخشی از این ویژگی ها به علت وجود باکتری های درون رُست بخشی از ریزجانداران بذر بُرد نوک مریستم ریشه را کلونیزه می کنند. این ریزجانداران به لایه های بیرونی سلولهای پارانشیم ریشه، که اخیراً در اطراف مریستم ریشه تشکیل شده اند، نفوذ می کنند. این ریزجانداران سپس در فضاهای پریپلاسمی پارانشیم ریشه قرار می گیرند. ریزجانداران، طویل شدن ریشه های مویین را تحریک کرده و همزمان با طویل شدن، از نوک ریشه های مویین، جایی که دیواره سلولی به صورت ناقص تشکیل شده است، از ریشه خارج می شوند. ریزجانداران پس از خارج شدن، دیواره های سلول را اصلاح کرده و مجدد وارد محیط اطراف ریشه می شوند که ممکن است مواد غذایی بیشتری به دست آورند. روند تخریب ریزجانداران در ریشه ها، «ریشه خواری»^{۱۵} نامیده شده است. فرآیند که در آن ریزجانداران همزیست بین یک مرحله با زندگی آزاد در خاک و یک مرحله درون رُست درون سلولی در تناوب هستند، «چرخه ریشه خواری»^{۱۶} یا «همزیستی ریشه خواری»^{۱۷} نامیده شده است. به نظر میرسد که عملکرد اصلی چرخه ریزوفازی انتقال مواد غذایی، به وسیله ریزجانداران، از محیط اطراف ریشه (ریزوسفر) به ریشه گیاه می باشد

بیان مسئله

اهمیت یک ترکیب خاص از میزبان و میکروارگانیسم و اثرات متقابل آنها زمانی مشخص می شود که یک بیمارگر قارچی

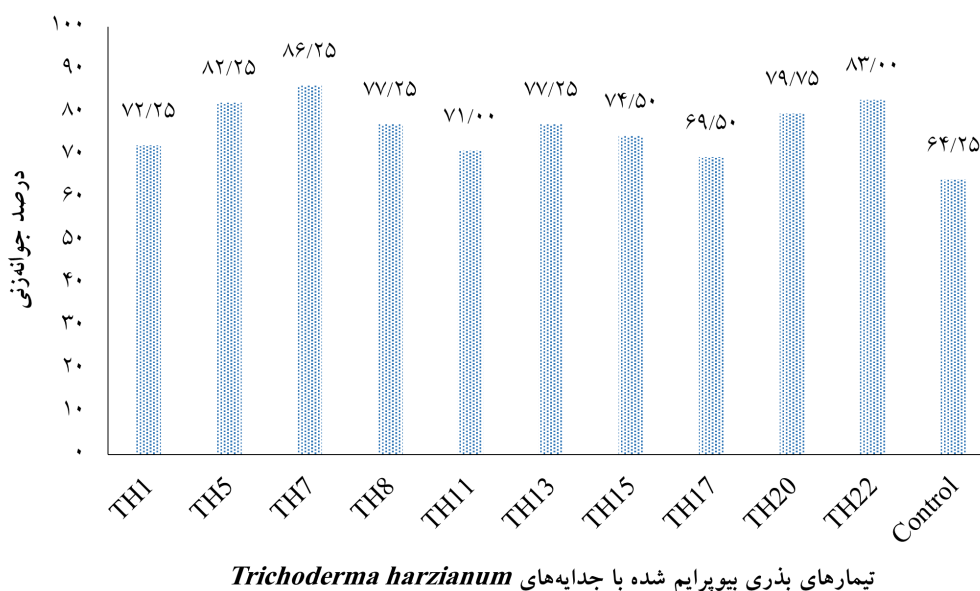
فعالیت‌های بیمارگرهای گیاهی از طریق رقابت برای فضا و مواد غذایی، روابط آنتاگونیستی، ترشح آنزیم‌های تجزیه‌کننده، مهار سموم و القای مکانیسم‌های دفاعی گیاه است. علاوه بر این، درون‌رُست‌های بذر می‌توانند بنبه بذر، پایداری، قوه نامیه، مدت زمان لازم برای جوانه‌زنی و تحمل در برابر تنش‌های محیطی (مانند خشکی و گرما) را افزایش دهند (شکل ۲)

معرفی دستاورد یا راهکار

علیرغم مطالعات زیادی که روی قارچ‌های درون‌رُست در دنیا انجام گرفته است، در ایران مطالعات در زمینه تأثیر قارچ‌های درون‌رُست گیاهان دارویی بسیار اندک می‌باشد. در این بررسی به ارزیابی تأثیر بیوپرایمینگ بذر با قارچ درون‌رُست *Trichoderma* به عنوان الیستور روی درصد جوانه زنی بذر و میزان فراوانی ترکیبات تشکیل‌دهنده اسانس گیاهچه‌های حاصل از زیره سبز پرداخته شد. گونه‌های مختلف *Trichoderma* به ویژه جدایه‌های جداسازی شده از خاک و درون‌رُست بذر منبع غنی از متابولیت‌های ثانویه بوده و در برهمکنش با میکروارگانیسم‌ها از سازوکارهای مختلفی از جمله تولید آنتی بیوتیک، میکوپارازیتیسیم، رقابت، آنتی‌بیوز، القاء مقاومت، تغییر در ریزوسفر، القای مقاومت سیستمیک، تنظیم و القای فاکتورهای رشدی، تولید طیف وسیع

و متنوعی از متابولیت‌های فرار (مانند ترکیبات ترپنی) و غیرفرار (مانند تریکوتسین و تریکودرمین) و همچنین تولید آنزیم‌های خارج سلولی (مانند سلولاز، کیتیناز، پروتئاز و گلوکاناز) استفاده می‌کنند. پرایمینگ بذر تکنیکی برای پیش تیمار بذر با استفاده از مواد شیمیایی، هورمونی و بیولوژیک است که ضمن بهبود کیفیت بذر به لحاظ فیزیولوژیک، بیولوژیک و بیوشیمیایی، گیاهچه‌ها را پیش از مواجهه با شرایط اکولوژیک مختلف و عوامل بیماری‌زای بذربرد و خاکبرد آماده می‌نماید. یکی از انواع پرایم‌ها، استفاده از پیش تیمارهای زیستی با قارچ و باکتری‌های درون‌رُست بذر به‌ویژه *Trichoderma* و مایکوریزا و همچنین باکتری‌های محرک رشد گیاهی می‌باشد که از طریق مکانیسم‌های مختلفی از جمله تولید آنزیم‌های خارج سلولی، آنتی‌بیوتیک‌ها و شبه هورمون‌های گیاهی به‌عنوان الیستور موجب بهبود رشد گیاه و کنترل عوامل بیماری‌زا می‌شوند. پرایمینگ بذر با قارچ‌های درون‌رُست موجب افزایش معنی دار درصد جوانه‌زنی، طول ریشه‌چه و ساقه‌چه و وزن گیاهچه زیره سبز می‌شود. نتایج حاصل از درصد جوانه‌زنی بذر زیره سبز پرایم شده در آزمون جوانه‌زنی استاندارد نشان داد که تیمارهای بذری زیره سبز بیوپرایم شده با جدایه‌های درون‌رُست قارچ *Trichoderma harzianum* به‌طور قابل‌توجهی

شکل ۳- مقایسه میانگین درصد جوانه‌زنی در تیمارهای بذری زیره سبز بیوپرایم شده با جدایه‌های درون‌رُست *Trichoderma harzianum*



روی شاخص‌های بنیه و جوانه‌زنی بذر تأثیر گذاشته و موجب افزایش کیفیت به‌ویژه سلامت گیاهچه‌ها شدند. نتایج درصد جوانه‌زنی بذر زیره سبز بیوپرایم شده با جدایه‌های درون‌رُست در آزمون جوانه‌زنی استاندارد نشان داد که درصد جوانه‌زنی بذور در نمونه‌ها از ۶۹/۵۰ تا ۸۶/۲۵ درصد متغیر بود (شکل ۳)

در تحقیقاتی بیوپرایمینگ بذر زیره سبز با *T. harzianum* ضمن افزایش شاخص‌های بنیه و جوانه‌زنی، موجب بهبود توانایی گیاهچه‌ها در تحمل تنش‌های زنده و غیر زنده شد. بیوپرایمینگ بذر با *Trichoderma* باعث بهبود مولفه‌های رشدی گیاه به‌ویژه در مراحل استقرار و رشد اولیه آن می‌شود تیمار بذر با قارچ *T. harzianum* و باکتری *Pseudomonas fluorescens* ضمن افزایش شاخص‌های بنیه، جوانه‌زنی و همچنین عملکرد زیره سبز در مزرعه موجب کاهش بیماری پژمردگی فوزاریومی می‌شود. تیمار همزمان بذر و خاک با قارچ‌های *T. harzianum* و *T. aureoviride* ضمن افزایش درصد جوانه‌زنی بذور زیره سبز موجب کاهش بیماری پژمردگی فوزاریومی می‌شوند. افزایش درصد جوانه‌زنی و ظهور گیاهچه می‌تواند به دلیل تأثیر قارچ درون‌رُست *Trichoderma* در افزایش تولید برخی از هورمون‌ها به خصوص جیبرلین و همچنین تولید و رهاسازی برخی از آنزیم‌های خارج سلولی به‌ویژه آمیلاز باشد

به نظر می‌رسد که علت افزایش طول ریشه و ساقه و همچنین وزن‌تر گیاهچه‌های تحت تأثیر تیمار *Trichoderma* ناشی از تولید ایندول-۳-استیک اسید باشد که پیش ماده سنتز هورمون اکسین است. همچنین بهبود شاخص‌های رشدی گیاه می‌تواند ناشی از تولید و ترشح مواد شبه فیتوهورمونی مانند سیتوکینین، جیبرلین، اکسین، اسید جاسمونیک و اتیلن باشد که موجب افزایش جذب آب و مواد غذایی می‌شوند

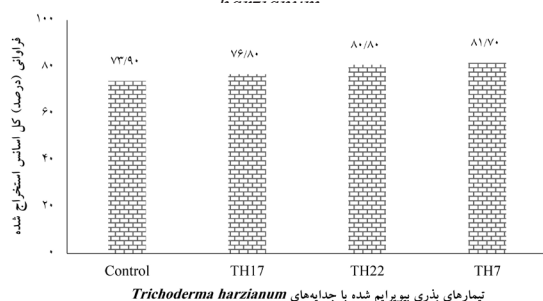
با توجه به نقش اکولوژیکی و استفاده‌های اخیر از متابولیت‌های به دست آمده از درون‌رُست‌ها در علم پزشکی، کشاورزی و صنایع، شناسایی قارچ‌های درون‌رُست از اهمیت ویژه‌ای برخوردار است. تحقیقات مختلفی در زمینه استخراج و شناسایی متابولیت‌های ثانویه قارچ *Trichoderma* انجام شده است. گونه‌های قارچ *Trichoderma* توانایی تولید متابولیت‌های فرار و غیرفرار مختلفی از جمله ترپن‌ها را دارند.

متابولیت‌های فرار به‌ویژه ترپن‌ها روی برهمکنش میکروارگانیسم‌ها با گیاه میزبان تأثیر می‌گذارند. نوع و میزان متابولیت‌های فراری که در برهمکنش قارچ با گیاه میزبان

تولید می‌شوند روی متابولیت‌های ثانویه گیاهان تأثیر می‌گذارند. متابولیت‌های ثانویه تولید شده توسط گیاه در جذب عوامل گرده افشان و دفع آفات، گیاه‌خواران و عوامل بیماری‌زا نقش دارند. متابولیت‌های فرار تولید و ترشح شده توسط قارچ *Trichoderma* در تنظیم رشد گیاه و فعال‌سازی پاسخ‌های دفاعی نقش مهمی دارند

بسیاری از سزکوئی‌ترین‌های تولید شده توسط قارچ‌ها موجب تعدیل برهمکنش قارچ و گیاهان می‌شوند. ترکیبات اسانس در تیمار شاهد و تیمارهای بیوپرایم شده با جدایه‌های درون‌رُست *Trichoderma* به‌ترتیب ۷۳/۹۰ تا ۸۱/۷۰ درصد از اجزای اسانس را به خود اختصاص دادند (شکل ۴)

جدول ۴- فراوانی (درصد) کل اسانس استخراج شده از گیاهچه‌های زیره سبز حاصل از بذور بیوپرایم شده با جدایه‌های مختلف قارچ *Trichoderma*



درصد اسانس که بر اساس وزن اسانس در وزن ماده خشک محاسبه می‌شود نشان داد که در گیاهچه‌های حاصل از بذور بیوپرایم شده با جدایه‌های TH17، TH22، و TH7 قارچ *T. harzianum* به ترتیب ۳/۲۲ درصد، ۳/۱۷ درصد، ۳/۰۵ درصد و در تیمار بذری شاهد میزان آن ۲/۹۲ درصد می‌باشد.

بنابراین درصد اسانس در گیاهچه‌های حاصل از بذور بیوپرایم شده در مقایسه با شاهد افزایش یافته است. با توجه به نتایج حاصل از کروماتوگرافی گازی متصل به طیف سنج جرمی، در مجموع ۱۶ ترکیب در اسانس‌های حاصل از مجموع بخش هوایی و زیرزمینی زیره سبز در مرحله فنولوژیکی ساقه رفتن شناسایی گردید (شکل ۵). نتایج نشان داد که بتا-پینن، پاراسیمین، لیمونن، گاما-ترپینن، ترپینن-۴-آل، آلفا-ترپینئول، کومین آلدهید و بتا-فارنزن به‌عنوان ترکیبات اصلی اسانس گیاهچه‌های حاصل از بذور بیوپرایم شده شناسایی شدند. سایر ترکیبات به میزان کمتر از پنج

زندگی گیاهان ضروری است.

توصیه‌های ترویجی

پس از شناخت جامعه درون‌رُستی بذر و عوامل موثر بر آنها، استفاده از ریزجانداران درون‌رُستی مفید در بهبود کیفیت بذر و تسهیل میزان رشد محصولات کشاورزی موثر باشد. ریزجانداران درون‌رُستی با ایجاد همزیستی با گیاهان مهم اقتصادی و دارویی، رشد گیاه را افزایش داده و می‌توان به عنوان کود زیستی از آن استفاده کرد. ریزجانداران با تولید متابولیت‌های ثانویه که در اختیار میزبان خود قرار می‌دهند سبب افزایش دسترسی به مواد غذایی، مقاومت به آفات، بیماری‌ها و تنش‌های محیطی می‌شوند. همچنین این میکروارگانیسم‌ها به عنوان منبع احتمالی تولید متابولیت‌های ثانویه جدید برای استفاده در صنعت، داروسازی و کشاورزی حائز اهمیت هستند بنابراین در برنامه‌های اصلاحی آینده توجه‌ای به استفاده از ریزجانداران درون‌رُست در بهبود شاخص‌های کیفی گیاهان در قالب موارد زیر، پیشنهاد می‌شود:

- ۱- ضرورت شناسایی ریزجانداران درون‌رُست و بررسی تاثیر آنها در کنترل بیماری‌ها و بهبود شاخص‌های کیفی گیاه به منظور جایگزینی با سموم و کودهای شیمیایی
- ۲- معرفی انواع ریزجانداران درون‌رُست و تولید انبوه آنها به عنوان کودهای زیستی افزایش دهنده رشد و عملکرد گیاه
- ۳- فرمولاسیون ریزجانداران درون‌رُست برای بهبود عملکرد و تسهیل عرضه کودهای زیستی به بازار
- ۴- بیوپرایمینگ بذر با عوامل ریزجانداران درون‌رُست برای بهبود و ارتقای کیفیت، سلامت و استقرار گیاهچه‌ها
- ۵- استفاده از ریزجانداران درون‌رُست به عنوان منبع احتمالی متابولیت‌های ثانویه جدید برای استفاده در صنعت، داروسازی و کشاورزی
- ۶- استفاده از قارچ درون‌رُست *T. harzianum* برای القای بیوسنتز و انباشت متابولیت‌های ثانویه در زیره سبز

بی نوشت

- 1- Endophyte
- 2- Exanthemata
- 3- De Bary
- 4- Rhizosphere
- 5- Phyllosphere
- 6- Caulosphere

- 7- Laminosphere
- 8- Dermosphere
- 9- Carposphere
- 10- Spermosphere
- 11- Anthosphere
- 12- Paleozoic
- 13- Baker
- 14- Smith
- 15- Rhizophagy
- 16- Rhizophagy cycle
- 17- Rhizophagy symbiosis

منابع

- Schouten, A. 2019. Endophyte Biotechnology: Potential for Agriculture and Pharmacology. Centre for Agriculture and Bioscience International, UK. 202 pages.
- Shade, A., Jacques, M.A., Barret, M. 2017. Ecological patterns of seed microbiome diversity, transmission, and assembly. Current Opinion in Microbiology. 37:15-22.
- Shahzad, R., Khan, A.L., Bilal, S., Asaf, S. and Lee, I.J. 2018. What Is There in Seeds? Vertically Transmitted Endophytic Resources for Sustainable Improvement in Plant Growth. Frontiers in Plant Science. 9:24.
- Verma S.K. and White J.F. 2019. Seed Endophytes Biology and Biotechnology. Cham: Springer Nature, Switzerland. 507 pages.