بررسی اثرات کاربرد قارچ میکوریزا و نانوذرات تیتانیوم دی اکسید بر شاخص‌های رشدی و فیزیولوژیکی گیاه بادرشبو *Dracocephalum Moldavica* L

سودا علی زاده*[۱]، سیامک فلاحی[۲] ، لطیفه پوراکبر[۳]،سینا سیاوش مقدم[۴]، معصومه جمال امیدی[۵]

[۱*] گروه زیست شناسی ،دانشگاه پیام نور تهران شرق، تهران

[۲] گروه زیست شناسی، دانشگاه پیام نور، ارومیه

[۳] گروه زیست شناسی، دانشکده علوم، دانشگاه ارومیه، ارومیه

[۴] گروه زراعت، دانشکده کشاورزی، دانشگاه ارومیه، ارومیه

[۵] گروه زیست شناسی، دانشگاه پیام نور، رشت

نویسنده مسئول: s.alizadeh_66@yahoo.com

چکیده

واژه میکرویز از دو کلمه یونانی mikes به معنی قارچ و ریز (Rhiza) به معنای ریشه تشکیل شده است و بیان کننده رابطه همزیستی به وجود آمده بین قارچ و ریشه گیاه، می‌باشد. کاربرد نانوذرات در سال‌های اخیر باعث توسعه کشاورزی و بهبود رشد گیاهان شده است. به منظور بررسی اثر نانوذرات تیتانیوم دی‌اکسید و قارچ میکوریز روی گیاه بادرشبو *Dracocephalum Moldavica* L آزمایشی به صورت بلوک کامل تصادفی با سه تکرار و در شرایط آزمایشگاهی انجام شد. تیمارها شامل دو سطح میکورزا: عدم کاربرد قارچ و قارچ *Glomus mosseae* و سه سطح نانوذره: عدم محلول‌پاشی نانو و محلول‌پاشی با غلظت‌های ۵۰ و ۱۰۰ تیتانیوم دی‌اکسید در مرحله شش برگی بودند. نتایج نشان داد که بیشترین میزان وزن تر ریشه در گیاهان میکوریز و غلظت۵۰ پی پی ام نانوذره تیتانیوم دی‌اکسید نسبت به سایر تیمارها مشاهده شد. وزن خشک ریشه نیز در هر دو سطح قارچ ، در تیمار ۵۰ پی پی ام نانوذره بیشترین مقدار را نشان داد. کمترین غلظت فلاونوئید ریشه و اندام هوایی و فنل اندام هوایی در هر دو تیمار گلوموس موسه آ و بدون قارچ، در محلول‌پاشی غلظت ۵۰ پی پی ام نانوذره مشاهده شد .برای فنل ریشه کمترین مقدار در تیمارهای شاهد هردو گیاهان بدون قارچ و تلقیح شده با قارچ (بدون محلول پاشی) وجود داشت. بررسی داده‌ها نشان داد که استفاده از قارچ میکوریز *Glomus mosseae* و محلول‌پاشی غلظت ۵۰ پی پی ام نانوذره تیتانیوم دی‌اکسید اثرات مثبتی بر شاخص های رشدی و فیزولوژیکی گیاه دارویی بادرشبویه دارد.

کلمات کلیدی: غلظت فنل ، فلاونوئید، گیاه دارویی، همزیستی میکوریز، *Glomus mosseae*

مقدمه

واژه میکرویز از دو کلمه یونانی mikes و یا ریشه لاتین میکو (Myco) به معنی قارچ و ریز (Rhiza) به معنای ریشه تشکیل شده است و بیان کننده رابطه همزیستی به وجود آمده بین قارچ و ریشه گیاه، گرفته شده است. همزیستی بین اغلب گیاهان آوندی با قارچ‌های میکوریزی در خاک و از سه رده *Basidiomycets*، *Zygomycetes* و *Ascomycetes* به وجود می‌آید و نتیجه حاصل از این همزیستی، فعالیت قارچ در جهت جذب و انتقال عناصر غذایی به گیاه میزبان از یک طرف و از طرف دیگر دریافت ترکیبات کربنه حاصل از فتوسنتز گیاه میزبان، توسط قارچ همزیست می‌باشد. بیشتر گیاهان زمین، دارای رابطه میکوریزی هستند. (بهرامی سیرمندی و همکاران، ۱۳۹۰). *Dracocephalum moldavica* L (بادرشبویه) گیاهی علفی و از خانواده نعناعیان *Lamoaceae* می‌باشد. این گیاه بومی آسیای مرکزی و اهلی شده در مرکز و شرق اروپاست (Dastmalchi *et al*., 2007). مطالعات نشان داده است که عصاره آبی بادرشبو دارای خاصیت آنتی اکسیدانی بوده (Dastmalchi *et al*., 2007) و احتمال داده می‌شود که این ترکیب‌های آنتی اکسیدان و فلاونوئیدها نقش مهمی در پیشگیری از آسیب‌هایی مانند تغییر در اندازه قلب داشته باشند (نجفی و همکاران،۱۳۸۶).ذرات نانو عبارتند از ذرات اولیه‌ای که حداقل یکی از ابعاد آن‌ها کمتر از ۱۰۰ نانومتر باشد. کاربرد فناوری نانو در کشاورزی و صنایع غذایی، اولین بار در نقشه راه وزارت کشاورزی آمریکا در سپتامبر

IrHC2019

۲۰۰۳ مورد بحث قرار گرفت .فناوری نانو با کمک ابزارهای جدید، توانایی دگرگون سازی صنایع غذایی و کشاورزی را دارد و می‌تواند از این ابزارها برای تشخیص رفتارهای مولکولی بیماری‌ها، کشف سریع بیماری و افزایش توانایی گیاهان برای جذب مواد غذایی استفاده کند (Bharali *et al.*, 2013).

مواد و روش‌ها

به منظور بررسی تاثیر قارچ میکوریز آربوسکولار Glomus mosseae و نانوذرات تیتانیوم دی‌اکسید بر ویژگی‌های رشدی گیاه دارویی بادرشبو *Dracocephalum moldavica*,L آزمایشی به صورت طرح بلوک کامل تصادفی با سه تکرار درشرایط آزمایشگاهی انجام شد.تیمارها شامل قارچ میکوریز در دو سطح شاهد بدون قارچ و قارچ Glomus mosseae و نانوذره تیتانیوم دی‌اکسید در سه سطح شاهد(عدم محلول پاشی) و محلول پاشی غلظت های ۵۰ و ۱۰۰ پی‌پی‌ام نانوذره بعد از شروع مرحله شش برگ بالغ بود.

اندازه‌گیری طول ریشه و ساقه

در پایان دوره‌ی آزمایش، به منظور بررسی برخی خصوصیات گیاه بادرشبو در کلیه تیمارها و نمونه شاهد پس از خارج کردن گیاه از گلدان (محتوی خاک، پرلیت و پیت ماس) و شستشو، ارتفاع ریشه و ارتفاع اندام هوایی توسط خط‌کش اندازه-گیری شد.

اندازه‌گیری وزن تر و خشک اندام‌ها

پس از برداشت گیاه و شستشوی ریشه ها، ریشه و اندام هوایی گیاهان مربوط به تیمارهای مختلف جداسازی و وزن تر آن‌ها با استفاده از ترازوی دیجیتال با دقت ۰/۰۰۱ اندازه‌گیری شد. سپس نمونه‌ها به مدت ۷۲ ساعت در آون با دمای ۷۰ درجه‌ی سانتیگراد قرار داده شدند. پس از مدت زمان ذکر شده وزن خشک نمونه‌ها اندازه‌گیری شد.

سنجش غلظت فنل کل با استفاده از معرف فولین سیو-کالچئو (Meda *et al.*, 2005) اندازه گیری شد. و سنجش غلظت فلاونوئید کل با استفاده از رنگ سنجی آلومینیوم‌کلراید (Chang *et al.*, 2002) اندازه‌گیری گردید. برای رسم منحنی استاندارد فنل از اسید گالیک و برای منحنی استاندارد فلاونوئید از کوئرستین استفاده شد. با قرار دادن مقدار جذب نمونه‌ها در معادلات مربوط به منحنی‌های استاندارد، مقادیر فنل و فلاونوئید کل موجود در عصاره‌ها محاسبه شد.

نتایج و بحث

نتایج حاصل از این تحقیق نشان داد که میزان وزن تر و خشک اندام هوایی گیاه بادرشبو در شرایط آغشتگی خاک به قارچ گلوموس موسه آ بیشتر از حالت بدون قارچ می‌باشد و بیشترین میزان آن در زمان کاربرد ۵۰ پی پی ام نانوذره تیتانیوم دی اکسید مشاهده شد. بیشترین میزان طول اندام هوایی در شرایط بدون قارچ میکوریز در تیمار ۵۰ و ۱۰۰ پی پی ام نانو ذره و در شرایط تلقیح با قارچ میکوریز بدون محلول پاشی نانوذره مشاهد شد. در شرایط بدون قارچ بیشترین طول ریشه مربوط به کاربرد ۱۰۰ پی پی ام نانوذره و در تیمار با قارچ بیشترین طول ریشه در غلظت ۵۰ پی پی ام نانوذره مشاهده گردید. بیشترین میزان وزن تر ریشه در تیمار قارچ میکوریز و نانوذره تیتانیوم دی‌اکسید ۵۰ نسبت به سایر تیمارها مشاهده شد. وزن خشک ریشه نیز در هر دو حالت با قارچ و بدون قارچ ، در تیمار ۵۰ نانوذره بیشترین مقدار را نشان داد. بررسی میزان فنل و فلاونوئید ریشه و اندام هوایی نشان داد که در هردو تیمار با قارچ و بدون قارچ بیشترین میزان این ترکیبات در شرایط ۱۰۰ پی پی ام نانوذره بوده است، به‌طوری‌که در تیمار با قارچ این میزان نسبت به حالت بدون قارچ کمتر بوده است. کمترین میزان غلظت فلاونوئید ریشه و اندام هوایی نیز در هر دو حالت بدون قارچ و با حضور قارچ در تیمار ۵۰ پی پی ام نانوذره مشاهده شد.کمترین میزان غلظت فنل اندام هوایی در هر دو تیمار با قارچ و بدون قارچ در شرایط ۵۰ پی پی ام محلول پاشی نانوذره مشاهده شد و برای فنل ریشه کمترین مقدار در تیمارهای شاهد (بدون محلول‌پاشی تیتانیوم دی‌اکسید) وجود داشت «جدول ۱ و ۲». Mohammadi و همکاران (۲۰۱۶) اثر نانوذرات تیتانیوم دی‌اکسید و خشکی را روی گیاه بادرشبویه بررسی کردند. نتایج نشان داد که در شرایط نرمال و بدون تنش کاربرد غلظت ۱۰ پی پی ام از نانوذره وزن خشک اندام هوایی و میزان اسانس را افزایش داد. تحقیقات دیگر نشان داد که اسپری نانوذرات TiO_2 به طور قابل ملاحظه ای باعث افزایش کلروفیل a، b، کاروتنوئیدها، محتوای قندها، کل کربوهیدرات ها، عناصر نیتروژن، فسفر و پتاسیم، و نیز ویژگی های رشد گیاهان که باعث

IrHC2019

افزایش عملکرد کل زعفران می شود، شده است. نتایج این کار شواهد محکمی را برای راندمان بالا این کود نانو در افزایش رشد گیاه نشان داد. این نانوفیلترهای قدرتمند و ارزان قیمت می‌توانند روش‌های سنتی افزایش رشد گیاه را جایگزین کنند). (mohamed *et al*., 2015)معصومی زواریان و همکاران(۱۳۹۴) به بررسی اثرات قارچ میکوریزا بر خصوصیات کمی و کیفی گیاه دارویی انیسون تحت تنش شوری پرداختند. نتایج نشان داد که شوری و میکوریزا کلیه صفات کمی و کیفی را تحت تاثیر قرار داد. شوری ارتفاع بوته، وزن خشک بوته، تعداد چتر در بوته، درصد اسانس و درصد آنتول اسانس (مقدار آنتول بیشتر در اسانس نشان دهنده کیفیت بالای اسانس است) و غلظت پتاسیم برگ را کاهش داد و میزان سدیم برگ را افزایش داد. تلقیح میکوریزایی همه این موارد را بهبود بخشید. استفاده از کود میکوریز(*Rhizophagus intraradces*) باعث افزایش فنل کل و کاربرد قارچ میکوریز *Glomus mosseae* سبب افزایش میزان فلاونوئید کل در مقایسه با شاهد در گیاه گاوزبان ایرانی شده است(امیری و همکاران، ۱۳۹۶). با بررسی داده های حاصل می‌توان نتیجه گرفت که استفاده از قارچ میکوریز و محلول پاشی با غلظت ۵۰ پی پی ام اثرات مثبتی بر شاخص های رشدی و فیزولوژیکی گیاه دارویی بادرشبویه دارد.

جدول۱- میانگین و انحراف معیار صفات مورد بررسی در تیمار بدون قارچ و غلظت‌های مختلف تیتانیوم دی‌اکسید

نوع تیمار	طول ریشه cm	طول اندام هوایی cm	وزن تر ریشه gr	وزن خشک ریشه gr	وزن تر اندام هوایی gr	وزن خشک اندام هوایی gr	فنل کل ریشه mg/gfw	فنل کل اندام هوایی mg/gfw	فلاونوئید ریشه mg/gfw	فلاونوئید اندام هوایی mg/gfw
بدون قارچ*نانو ۰	۱۱/۹۲±۰/۸۷^{b}	۲۰± ۱ ^{b}	۰/۰۷±۰/۰۳^{b}	۰/۰۱۵±۰/۰۰۵^{c}	۱/۰۶±۰/۱۳^{a}	۰/۱۵±۰/۰۱۵^{b}	۲/۷۵±۰/۰۳۸^{c}	۷/۳۸±۰/۰۹۶^{b}	۰/۲۹±۰/۰۰۳۶^{b}	۰/۹۸±۰/۰۱۱^{b}
بدون قارچ*نانو ۵۰	۱۱/۱۷±۱/۲۵^{b}	۲۲/۶±۰/۵۷^{b}	۰/۰۶±۰/۰۴^{b}	۰/۰۳۵±۰/۰۲۵^{a}	۰/۹۳±۰/۰۷^{b}	۰/۲۳±۰^{a}	۲/۹۷±۰/۰۲۹^{b}	۵/۰۷±۰/۰۴۸^{c}	۰/۲۵±۰/۰۰۵۹^{c}	۰/۷۶±۰/۰۱۵^{c}
بدون قارچ*نانو ۱۰۰	۱۳±۱^{a}	۲۳±۱^{a}	۰/۰۹±۰/۰۲^{a}	۰/۰۲۳±۰/۰۰۷^{b}	۰/۹۵±۰/۱۳^{b}	۰/۲۲±۰/۰۵۷^{a}	۴/۴۲±۰/۰۲۹^{a}	۱۳/۴۷±۰/۰۴۸^{a}	۰/۴±۰/۰۰۴۷^{a}	۱/۱۷±۰/۰۱۵^{a}

حروف متفاوت بیانگر معنی‌دار بودن در سطح ۰/۰۵درصد

جدول۲- میانگین و انحراف معیار صفات مورد بررسی در تیمار Glomus mosseae و غلظت‌های مختلف تیتانیوم دی‌اکسید

نوع تیمار	طول ریشه cm	طول اندام هوایی cm	وزن تر ریشه gr	وزن خشک ریشه gr	وزن تر اندام هوایی gr	وزن خشک اندام هوایی gr	فنل کل ریشه mg/gfw	فنل کل اندام هوایی mg/gfw	فلاونوئید ریشه mg/gfw	فلاونوئید اندام هوایی mg/gfw
گلوموس موسه-آ*نانو ۰	۱۰/۸±۰/۲۸^{b}	۲۴±۱^{a}	۰/۱۶±۰/۰۳۷^{b}	۰/۰۱۷±۰/۰۰۵^{b}	۱/۷۶±۰/۲۳^{b}	۰/۳۷±۰/۰۱^{c}	۲/۳۲±۰/۰۲۹^{c}	۸/۲۲±۰/۰۹۷^{b}	۰/۲۳±۰/۰۰۷۲^{c}	۰/۹۹±۰/۰۱۱^{b}
گلوموس موسهآ *نانو ۵۰	۱۲±۱^{a}	۱۹±۱^{c}	۰/۱۷±۰/۰۵۹^{a}	۰/۰۳۱±۰/۰۱۷^{a}	۲±۰/۰۹^{b}	۰/۵۴±۰/۰۶^{a}	۲/۹±۰/۰۱۱^{b}	۳/۱۷±۰/۰۳۸^{c}	۰/۲۶±۰/۰۰۳۶^{b}	۰/۷۲±۰/۰۲۹^{c}
گلوموس موسهآ *نانو ۱۰۰	۱۰/۶±۰/۷۶^{b}	۲۲±۱^{b}	۰/۱۵±۰/۰۲۶^{b}	۰/۰۲±۰/۰۰۳^{b}	۳±۰/۲۵^{a}	۰/۴۲±۰/۰۲^{b}	۳/۲۹±۰/۰۹۶^{a}	۱۲/۱۸±۰/۰۴۸^{a}	۰/۴۳±۰/۰۰۴۷^{a}	۱/۵۲±۰/۰۲۴^{a}

حروف متفاوت بیانگر معنی‌دار بودن در سطح ۰/۰۵درصد

منابع

امیری، م.، رضوانی‌مقدم، پ. و جهان، م. ۱۳۹۶. اثرات اسیدهای آلی، میکوریزا و ریزوباکترها بر عملکرد و برخی خصوصیات فیتوشیمیایی گاوزبان(*Echium amoenum*) در نظام زراعی کم‌نهاده. نشریه دانش کشاورزی و تولید پایدار،۲۲ (۱): ۴۵-۶۱.

بهرامی سیرمندی، س.، عظیمی، م.، نقی زاده، م.، حسن زاده، ر.، آرمان، م. و فرحناک، الف. ۱۳۹۰. همزیستی میکوریزی. انتشارات بهتا پژوهش. ۱۹۳ صفحه.

معصومی زواریان، ا.، یوسفی راد، م.، و اصغری، م. ۱۳۹۴. بررسی اثرات قارچ میکوریزا بر روی خصوصیات کمی و کیفی گیاه دارویی انیسون تحت تنش شوری (*Pimpinella anisum*). فصلنامه گیاهان دارویی. سال چهاردهم، دوره چهارم، شماره ۵۶.

نجفی، م.، قاسمیان، ا. و گرجانی، ع. ۱۳۸۶ . اثرات محافظتی عصاره تام گیاه بادرشبی *Dracocephalum moldavica* L بر روی انفارکت سایز قلب ایسکمیک در موش صحرایی. خلاصه مقالات سومین همایش گیاهان دارویی. دانشگاه شاهد تهران. ۳-۲ آبان. ص ۵۵۷.

Bharali DJ, Mousa SA. 2013. Relevance of Nanotechnology in Modulating Oxidative Stress: An Overview. Oxidative Stress and Nanotechnology: Springe: 289-92.

Chang, C., Yang, M., Wen, H., and Chern, J. 2002. Estimation of total flavonoid content in propolis by two complementary colorimetric methods. Journal of Food and Drug Analysis, 10: 178-182.

Dastmalchi, k., Dorman,H.G., Laakso, I. and Hiltunen, R. 2007. Chemical composition and antioxidative activity of Moldavian balm (*Dracocephalum moldavica* L.) extracts. Food sci. & tech. 40(9): 1655 -1663.

Khater, M. S., Osman, Y. A. H. 2015. Influence of TiO2 Nanoparticles on Growth, Chemical Constituents and Toxicity of Fennel Plant. Arab Journal of Nuclear Science and Applications, 48(4): 178-186.

Meda, A., Lamien, C.E., Romito, M., Millogo, J., and Nacoulma, O. G. 2005. Determination of the total phenolic, Flavonoid and proline content in BurkinaFasan honey, as well as their radical scavenging activity. Food Chemistry. 91: 571-577.

Mohammadi, H., Esmailpour, M., and Gheranpaye, A. 2016. Effects of TiO2 nanoparticles and water-deficit stress on morpho-physiological characteristics of dragonhead (*Dracocephalum moldavica* L.) plants. Acta agriculturae Slovenica, 107 (2): 385 – 396.

Investigation of the effects of mycorrhizal symbiosis and titanium dioxide nanoparticles on growth features and physiological of *Dracocephalum moldavica* L

Sevda Alizadeh[1]*, Syamak Fallahi, Latifeh PourAkbar[3], Sina Siavash Moghaddam[4], Masoumeh Jamal omidi[5]

[1*] Department of Plant Science, University of Tehran Shargh Payamnour, Iran

[2] Department of Plant Science, University of Urmia Payamnour, Iran

[3] Department of Plant Science, Faculty of Science, University of Urmia, Iran

[4] Department of Plant Science, Faculty of Agriculture, University of Urmia, Iran

[5] Department of Plant Science, University of Rasht Payamnour, Iran

[*] *s.alizadeh_66@yahoo.com*

Abstract

The term of mycorhizae is derived from the two Greek words, mikes meaning "fungus" and "Rhiza" meaning root and indicates the symbiotic relationship between the fungus and the root of the plant. The use of nanoparticles in recent years has led to the development of agriculture and the growth of plants. In order to investigate the effect of Titanium dioxide nanoparticles and mycorrhizal fungi, Glomus mosseae on growth features of *Dracocephalum moldavica* L, an experiment was carried out based on randomized complete block design with three replications under laboratory conditions. Treatments consisted of Mycorrhizal fungi at two levels: non-mycorrhizal and Glomus mosseae and three levels of nanoparticles including: none-spraying and spraying with concentrations of 50 and 100 ppm of Titanium dioxide at the stage of six adult leaves. The results showed that the highest root fresh weight was observed in mycorrhizal plants and concentration of 50 ppm of titanium dioxide nanoparticle compared to other treatments. Root dry weight in both level of fungi was highest in 50 ppm of nanoparticle. The lowest concentration of root and shoot flavonoids and the lowest shoot phenol concentration in both treatments with fungi and non-fungi was observed at concentration of 50 ppm of nano-particle spray application, and the lowest phenol content was observed in control treatments (without spraying). The investigation of the data showed that using mycorrhizal fungi and 50ppm foliar sprays of Tio2 have positive effects on growth and physiological indices of *Dracocephalum moldavica* L.

***Keywords*:** Phenol concentration, flavonoid, mycorrhizal symbiosis, *Glomus mosseae*.

IrHC2019