بسمه تعالی

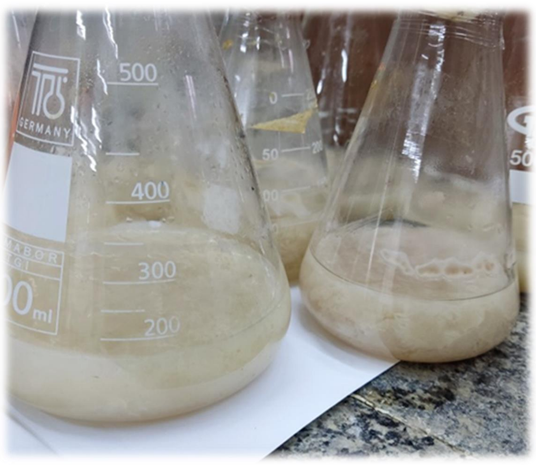
پروتوکل پرورش قارچ اندوفیت *Piriformospora indica*

محمد سعید پذیرنده*[۱]، دکتر رویا کرمیان[۱]، دکتر اصغر میرزایی اصل[۲]

۱. گروه آموزشی زیست شناسی، دانشکده علوم پایه، دانشگاه بوعلی سینا، همدان

۲. گروه آموزشی بیوتکنولوژی، دانشکده کشاورزی و منابع طبیعی، دانشگاه بوعلی سینا، همدان

*mspazir@gmail.com



چکیده:

قارچ‌های اندوفیت به عنوان یکی از مهم ترین ریزجانداران مفید خاک، با ایجاد تغییرات ژنتیکی، فیزیولوژیکی و اکولوژیکی در گیاهان میزبان خود، عملکرد آن‌ها را در واحد سطح افزایش می‌دهند و امکان توسعه کشت آن‌ها را در خاک‌هایی با شرایط نامساعد محیطی و تغذیه‌ای فراهم می‌آورند. در سال ۱۹۹۸ با کشف و معرفی قارچ اندوفیت جدیدی به نام Piriformospora indica از خاک گیاهان خشکی پسند کهور (Prosopis juliflora) و کُنار (Zizyphus nummularia) از صحرای تار در کشور هندوستان که قادر به رشد در محیط‌های کشت مصنوعی است، نقطه روشنی در علم میکوریز ایجاد شد. قارچ Piriformospora indica یکی از قارچ‌های اندوفیت شبه میکوریزی است که با کلونیزاسیون ریشه گیاهان مختلف، سبب تحریک رشد و افزایش مقاومت به تنش‌های زیستی و غیر زیستی می‌شود. این قارچ بر خلاف قارچ‌های میکوریز، همزیست اختیاری است و به سهولت در محیط‌های کشت مصنوعی رشد می‌کند. از این رو بهره گیری از پتانسیل این قارچ جهت افزایش مقاومت گیاهان به تنش‌های محیطی از اهمیت ویژه‌ای برخوردار است. این مقاله روش پرورش قارچ مذکور را شرح می‌دهد.

واژه‌های کلیدی: قارچ اندوفیت، *Piriformospora indica*، تنش‌های زیستی و غیر زیستی

روش اجرای کار:

محیط کشت مناسب برای قارچ *Piriformospora indica* محیط PDA (Potato Dextrose Agar) است. برای تهیه محیط کشت PDA ابتدا ۲۰۰ گرم سیب زمینیِ پوست کنده را به صورت نگینی خورد کرده و بعد پختن کامل سیب زمینی‌ها مایع رویی آن را برداشته و با آب مقطر به حجم ۱ لیتر رسانده می‌شود. سپس به محلول به دست آمده ۲۰ گرم دکستروز (یا ساکاروز) و ۱۵ گرم آگار اضافه می‌شود. محلول به دست آمده را در اتوکلاو گذاشته تا کاملا استریل شود. پس از اطمینان از عدم آلودگی محیط کشت، مقداری از اسپور قارچ برداشته و به محیط کشت اضافه می‌گردد. بعد از انتقال اسپورها به محیط‌های کشت، پتری‌دیش‌ها به مدت یک هفته در انکوباتور در دمای ۲۵ درجه سانتی‌گراد قرار می‌گیرند.

سپس نوبت به کشت سوسپانسیون می‌رسد. محیط کشت سوسپانسیون همان محیط کشت PDA ولی بدون آگار است. مقداری از پتری دیش‌ها را در داخل ارلن‌های حاوی محیط کشت گذاشته شده و به مدت ۲۰ روز روی شیکر با دور متوسط قرار می‌گیرند. پس از سانتریفیوژ یا عبور محیط کشت از کاغذ صافی در نهایت کلامیدوسپور و اسپوها با نسبت ۱ به ۱۰ با ماسه بادی استریل مخلوط و به عنوان مایه تلقیح بذر استفاده خواهد شد. برای اطمینان از تلقیح قارچ در ریشه گیاه، از رنگ‌های *cotton blue* یا *aniline blue* استفاده می‌شود.

منابع:

1. Negaresh H, Fallahian FH, Khosravi M. 2011. The Analysis of Climatical Abnormalities Influencing on Desertification Process in Khezer Abad Region of Yazd. Geography & Environmental Planning (University of Isfahan) 22: 69-94.
2. Ghamarnia H, Gowing J. (eds.). 2005. Effect of water stress on three wheat cultivars. pp. 123-145.
3. Varma A, Sherameti I, Tripathi S, Prasad R, Das A, Sharma M. 2012. The Symbiotic Fungus *Piriformospora indica*: Review. Mycota, 9: 231-254.
4. Nawaz F, Ashraf MY, Ahmad R, Waraich EA ,Shabbir RN. 2014. Selenium (Se) regulates seedling growth in wheat under drought stress. Adv. Chem., pp. 143567.
5. Sawhney APS, Condon B, Singh KV, Pang SS, Li G, Hui D. 2008. Modern applications of nanotechnology in textiles. Textile Research Journal, 8: 789-731.
6. Hasanuzzaman M, Bhuyan MB, Raza A, Hawrylak-Nowak B, Matraszek-Gawron R, Al Mahmud J. 2020. Selenium in plants: Boon or bane? Environmental and Experimental Botany, pp. 104170.
7. Abedini R, Shahbazi M, Shobbar ZS, Pishkam Rad R, Ebrahimi A. 2012. Expression analysis of dehydrins gene family in barley tolerant and sensitive cultivars and wild genotype under drought conditions. Iranian Journal of Plant Biology, 4(11): 39-46.
8. Pazirandeh MS, Hasanloo T, Shahbazi M, Niknam V, Paiam AM. 2015. Effect of Methyl Jasmonate in Alleviating Adversities of Water Stress in Barley Genotypes. International Journal of Farming and Allied Sciences, 4(2): 111-118.
9. Rezaei MK, Shobbar Z-S, Shahbazi M, Abedini R, Zare S. 2013. Glutathione S-transferase (GST) family in barley: identification of members, enzyme activity, and gene expression pattern. Journal of Plant Physiology, 170(14): 1277-1284.
10. Zahedi SM, Moharrami F, Sarikhani S, Padervand M. 2020. Selenium and silica nanostructure-based recovery of strawberry plants subjected to drought stress. Scientific Reports, 10(1): 1-18.