تاثیر قارچ های میکوریز آربوسکولار بر برخی صفات رشدی، فیزیولوژیکی و فعالیت آنتی اکسیدانی گیاه نعناع فلفلی

اکرم شنوایی زارع[۱]، علی گنجعلی[۲]، محمدرضا واعظی کاخکی[۳]، منیره چنیانی [٤]، منصور مشرقی [٥]

۱- دانشجوی دکتری فیزیولوژی گیاهی، دانشگاه فردوسی مشهد

۲- دانشیار گروه زیست شناسی،دانشکده علوم پایه، دانشگاه فردوسی مشهد

۳- استادیار گروه زیست شناسی،دانشکده علوم پایه، دانشگاه حکیم سبزواری

٤- استادیار گروه زیست شناسی،دانشکده علوم پایه، دانشگاه فردوسی مشهد

٥- استاد گروه زیست شناسی،دانشکده علوم پایه، دانشگاه فردوسی مشهد

Email: ashenavaie@yahoo.com
Email: ganjeali@um.ac.ir

چکیده

کاربرد قارچ های میکوریز آربوسکولار به منظور بهبود رشد گیاه بطور گسترده ای مورد توجه قرار گرفته است. این مطالعه به منظور بررسی تاثیر دو گونه قارچ میکوریزا (*Glomus mossea*, *Glomus intraradices*) بر روی صفات رشدی، فیزیولوژیکی و فعالیت آنتی اکسیدانی گیاه نعناع فلفلی انجام شد. نتایج حاصل از این آزمایش نشان داد که تلقیح با قارچ‌های میکوریز آربوسکولار افزایش معنی‌داری بر روی صفات رشدی، فیزیولوژیکی، ظرفیت آنتی اکسیدانی و فعالیت آنزیم‌های آنتی اکسیدانی داشته است. با توجه به نتایج بدست آمده، گونه *Glomus intraradices* تاثیر مثبت بیشتری بر روی صفات مورفولوژیکی و آنتی اکسیدانی گیاه نعناع فلفلی داشته است.

واژگان کلیدی: کلونیزاسیون ریشه، آنزیم کاتالاز، آسکوربات پراکسیداز

۱– مقدمه و هدف

گیاهان دارویی منابع ارزشمندی هستند که از هزاران سال پیش مورد استفاده بوده و امروزه به عنوان مواد اولیه در تولید داروهای گیاهی مورد توجه می باشند. طبق آمار سازمان بهداشت جهانی بیش از ۸۰ ٪ جمعیت جهان از گیاهان دارویی استفاده می‌کنند. در حال حاضر یک سوم از داروهای مورد استفاده در جوامع انسانی را داروهایی با منشا طبیعی و گیاهی تشکیل می دهند. از این رو توجه صنایع داروسازی و گروه های تحقیقاتی در بسیاری از کشورها به کشت و تولید گیاهان دارویی و افزایش ماده موثره آنها معطوف شده است. ایران به لحاظ آب و هوایی و موقعیت جغرافیایی یکی از بهترین مناطق رشد گیاهان دارویی در جهان محسوب می‌شود. بنابراین ایجاد راهکارهایی برای افزایش رشد و تولید ترکیبات موثره در گیاهان دارویی اهمیت دارد.

الیسیتورها ترکیباتی هستند که باعث افزایش رشد و سنتز متابولیت های ثانویه در گیاه می شوند و دارای منشاء زیستی و غیر زیستی هستند. محرک‌های زیستی شامل پلی‌ساکاریدها، پروتئین ها، گلیکوپروتئین ها و یا قطعات دیواره سلول قارچ‌ها، گیاهان (سلولز و پکتین) و میکروارگانیسم‌ها (کیتین و گلوکان) می‌باشد. بررسی‌ها نشان می‌دهد که همزیستی قارچ‌های میکوریز با گیاه میزبان، رشد گیاه را تحریک می‌کند. بیشتر گونه‌های متعلق به خانواده نعناع ارتباطات میکوریزی آربوسکولار دارند [1]. با توجه به اهمیت دارویی گیاه نعناع فلفلی و تاثیر مثبت الیسیتورها در افزایش رشد گیاه، مطالعه حاضر با هدف بررسی تاثیر گونه های مختلف میکوریز و نانوذره تیتانیوم دی اکسید بر روی صفات رشدی و فعالیت آنتی اکسیدانی این گیاه انجام شده است.

۲– تئوری و پیشینه تحقیق

نعناع فلفلی که در علم گیاه‌شناسی به نام *Mentha Pipperita* شناخته می‌شود، یک هیبرید طبیعی (2n=6x=72) از نعناع آبی (2n=96) و نعناع سبز (2n=48) می‌باشد [2]. مطالعات بالینی و تجربی تأثیر نعناع فلفلی در بهبود ناراحتی‌های بخش فوقانی دستگاه گوارش، سندروم روده تحریک‌پذیر، اسپاسم عضلانی و مشکلات تنفسی را اثبات کرده‌اند [3].

تاثیر مثبت قارچ‌های میکوریز در افزایش رشد گیاه و فعالیت آنتی اکسیدانی گیاه در مطالعات مختلفی تایید شده است. به‌طور مثال، افزایش در وزن اندام هوایی در گیاه نعناع، شبدر قرمز و ریحان تلقیح‌شده با میکوریز مشاهده شده است [4, 5]. همچنین در مورد گیاه ذرت، Zhu و همکاران (۲۰۱۱) گزارش کردندکه مالون دآلدئید در گیاهان میکوریزی ۱۷,۵ درصد پایین‌تر از گیاه غیر میکوریزی است، کاهش میزان MDA، در گیاهان ذرت تلقیح‌شده با قارچ میکوریز نشان‌دهنده اثر مثبت قارچ‌های AM بر کاهش سطح گونه‌های فعال اکسیژن در گیاه تحت شرایط تنش می‌باشد [6].

۳– مواد و روش ها

ریزوم‌های گیاه نعناع فلفلی از دانشکده کشاورزی دانشگاه فردوسی مشهد تهیه و در گلدان‌های حاوی کوکوپیت، ورمی کمپوست، خاک برگ و پرلیت به نسبت‌های مساوی، کشت شدند. پس از تکثیر و یک دست‌سازی، در هر گلدان دو تا سه نشاء سالم کشت و آبیاری گلدان‌ها به صورت روزانه بطور یکسان انجام شد. همزمان با کاشت ریزوم‌ها و همچنین ۳۰ روز پس از کاشت، کود NPK به میزان ۳۰ میلی گرم در هر کیلوگرم خاک، به صورت محلول به گلدان‌ها افزوده شد. دو گونه قارچ میکوریز آربوسکولار (*Glomus mossea*, *Glomus intraradices*) به صورت کود بیولوژیک از کلینیک گیاه پزشکی ارگانیک تهیه شدند. همزمان با کاشت نشاء های یکسان در گلدان‌ها، هیف و اسپورهای قارچی نیز به میزان ۵۰ گرم در اطراف ریزوم‌ها اضافه و گلدان‌ها پس از تلقیح توسط گونه‌های میکوریز آبیاری شدند.

در این آزمایش تاثیر دو گونه قارچ میکوریز آربوسکولار (*Glomus mossea*, *Glomus intraradices*) بر رشد و فعالیت آنتی اکسیدانی گیاه نعناع فلفلی بررسی می شود. برداشت نمونه‌های گیاهی نعناع فلفلی، حدود یک ماه پس از برقراری همزیستی صورت گرفت. به این منظور بخش هوایی گیاهان از سطح خاک جدا و شاخص‌های رشد و نیز صفات مورفولوژیکی برای هر تیمار، اندازه‌گیری و ثبت شدند. بخشی از نمونه‌ها برای بررسی فعالیت آنزیم‌های آنتی اکسیدانی بعد از تثبیت در ازت مایع، در فریزر ۸۰–

درجه سانتی‌گراد منتقل و بخشی دیگر برای بررسی صفات فیزیولوژیک و بیوشیمیایی در فریزر ۲۰- درجه سانتی گراد نگهداری شدند.

۳-۱- اندازه گیری طول اندام هوایی

طول اندام هوایی با استفاده از خط‌کش اندازه‌گیری و براساس واحد سانتی‌متر گزارش شد. برای هر گروه تیماری سه تکرار محاسبه و میانگین براساس واحد سانتی‌متر گزارش شد.

۳-۲- اندازه گیری وزن تر(FW) و خشک (DW) اندام هوایی

برای اندازه گیری این صفات هر گلدان به عنوان یک تکرار و هر گیاه به عنوان یک نمونه در نظر گرفته شد. برای تعیین وزن تر از ترازوی دقیق Sartorius با دقت $۱۰^{-۴}$گرم استفاده شد. نمونه‌ها در فویل آلومینیومی پیچیده و به مدت ۴۸ ساعت در آون ۷۰ درجه سانتیگراد خشک و سپس توزین شدند.

۳-۳- محتوای نسبی آب برگ

به منظور اندازه‌گیری محتوای نسبی آب برگ، ابتدا نمونه‌های برگی کاملا توسعه یافته توزین، سپس به مدت ۲۴ ساعت در دمای ۴ درجه و درون آب مقطر قرار داده و وزن برگ در وضعیت آماس اندازه گیری شد. جهت تعیین وزن خشک، برگ‌ها به مدت ۴۸ ساعت در دمای ۷۰ درجه سانتی گراد در آون قرار گرفتند و در نهایت با استفاده از معادله زیر، درصد محتوای نسبی آب محاسبه شد [7].

۱۰۰*((وزن خشک-وزن آماس)/(وزن خشک-وزن تر))=درصد محتوای نسبی آب

۳-۴- شاخص پایداری غشاء

شاخص پایداری غشاء از طریق اندازه گیری میزان نشت الکترولیت های برگ ارزیابی شد. برای این منظور نمونه های برگ (۴ برگ جوان و کاملا توسعه یافته) درون آب مقطر با حجم ۵۰ میلی لیتر منتقل و به مدت ۲۴ ساعت در دمای اتاق نگهداری و سپس میزان هدایت الکتریکی آب مقطر همراه نمونه به عنوان نشت اولیه اندازه گیری شد. نشت ثانویه نیز از طریق اندازه گیری میزان هدایت الکتریکی نمونه ها پس از حرارت دادن آنها به مدت یک ساعت در حمام آب داغ با دمای ۱۰۰ درجه سانتیگراد اندازه گیری شد. شاخص پایداری غشاء از طریق معادله زیر محاسبه شد [8].

۱۰۰× (نشت ثانویه/ نشت اولیه) -۱= شاخص پایداری غشاء

۳-۵- کلونیزاسیون ریشه

برای اندازه گیری درصد کلونیزاسیون ریشه، ابتدا ریشه ها را به مدت ۴ دقیقه در محلول KOH ۱۰٪ جوشانده و پس از ۳ مرتبه شستشو با آب، رنگ آمیزی نهایی با محلول ۵٪ جوهر / سرکه خانگی (=۵٪ اسید استیک) طبق روش Vierheilig و همکاران (۱۹۹۸) انجام شد. در نهایت، درصد کلونیزاسیون ریشه بر اساس روش Newman (۱۹۶۶) تعیین شد [9, 10].

۳-۶- سنجش ظرفیت آنتی اکسیدانی

محاسبه فعالیت آنتی اکسیدانی به روش خنثی سازی رادیکال آزاد DPPH انجام شد. برای اندازه گیری فعالیت مهار رادیکال آزاد DPPH از روش Fernandez-Agullo در سال ۲۰۱۳ استفاده شد. به این منظور ۱۰۰ میلی گرم بافت خشک برگ را با ۲ میلی‌لیتر متانول عصاره‌گیری و مخلوط واکنش در ۳۵۰۰ rpm به مدت ۱۰ دقیقه سانتریفیوژ شد. در ادامه ۱/۵ میلی‌لیتر از محلول متانولی DPPH (۴ میلی گرم در ۱۰۰ میلی لیتر متانول خالص) به محلول حاصل اضافه و به مدت ۳۰ دقیقه در دمای اتاق نگهداری شد. جذب محلول در طول موج ۵۱۷ نانومتر بوسیله دستگاه اسپکتروفتومتر خوانده شد. کالیبره کردن دستگاه بوسیله متانول انجام و سپس از طریق معادله زیر درصد مهار رادیکال آزاد DPPH در عصاره گیاهی بدست آمد [11].

۳-۷- سنجش آنزیم های آنتی اکسیدانی

۳-۷-۱- استخراج عصارهٔ پروتئینی

به‌منظور سنجش فعالیت آنزیم‌های کاتالاز و پراکسیداز، عصارهٔ آنزیمی تهیه و جذب کلیه واکنش‌ها با استفاده از دستگاه اسپکتروفتومتری اندازه‌گیری شد. برای تهیه عصارهٔ آنزیمی میزان ۱۰۰ میلی‌گرم بافت (بخش هوایی) توزین و با یک میلی لیتر بافر استخراج شامل فسفات پتاسیم ۱۰۰ میلی‌مولار با PH= 7/8 و EDTA ۰/۱ میلی‌مولار و PVP 1% در هاون چینی سرد و بر روی یخ همگن گردید. سپس عصاره‌های حاصل در ۱۳۰۰۰ دور بر دقیقه و دمای چهار درجه سانتیگراد به مدت ۳۰ دقیقه سانتریفیوژ و محلول رویی حاصل در ظرف‌های استریل جمع آوری و به عنوان عصارهٔ آنزیمی جهت اندازه‌گیری فعالیت آنزیم‌های کاتالاز و پراکسیداز مورد استفاده قرار گرفت.

۳-۷-۲- اندازه‌گیری فعالیت آنزیم کاتالاز

به منظور اندازه‌گیری فعالیت آنزیم کاتالاز از روش Alici و Arabaci (۲۰۱۶) استفاده شد. مخلوط واکنش شامل ۳ میلی‌لیتر بافر فسفات پتاسیم ۵۰ میلی مولار (PH=7/8)، ۱۰۰ میکرولیتر پراکسیدهیدرژن ۱۵ میلی مولار و ۵۰ میکرولیتر عصارهٔ آنزیمی بود. فعالیت آنزیم کاتالاز بر اساس میزان تجزیه H_2O_2 در طول موج ۲۴۰ نانومتر با استفاده از ضریب خاموشی $mM^{-1} cm^{-1}$ ۳۹/۴ تعیین گردید [12].

۳-۷-۳- اندازه‌گیری فعالیت آنزیم آسکوربات پراکسیداز

فعالیت آنزیم آسکوربات پراکسیداز به روش Nakano & Asada (1987) اندازه‌گیری گردید. یک میلی‌لیتر مخلوط واکنش شامل بافر فسفات پتاسیم۱۰۰ میلی مولار، آسکوربات ۱۰ میلی‌مولار، پراکسید هیدرژن ۱۰ میلی‌مولار و ۱۰ میکرولیتر عصارهٔ آنریمی بود. فعالیت آنزیم آسکوربات پراکسیداز بر اساس میزان اکسیدشدن آسکوربات درطول موج ۲۹۰ نانومتر و با استفاده از ضریب خاموشی $Mm^{-1}.Cm^{-1}$ ۲٫۸ تعیین گردید [13] .

۴- نتایج و بحث

۴-۱- صفات رشدی

بررسی صفات رشدی گیاه نعناع فلفلی تلقیح‌شده با دو گونه قارچ میکوریز (*G.mossea, G.intraradices*) نشان داد که همزیستی این گیاه با قارچ‌های میکوریز آربوسکولار باعث افزایش صفات رشدی گیاه (ارتفاع، وزن‌تر و خشک) می‌شود. براساس نتایج حاصل از مقایسه میانگین داده‌ها، بیشترین ارتفاع و وزن اندام هوایی گیاه مربوط به گیاهان تلقیح شده با *G.intraradices* بود، که تفاوت آن با سایر تیمارها معنی دار بود (جدول ۱).

ارتفاع اندام هوایی گیاه در این تیمار حدود ۴۹ درصد در مقایسه با شاهد افزایش داشت. وزن تر و خشک اندام هوایی در ترکیب تیماری فوق در مقایسه با گیاه شاهد به ترتیب ۴۲٫۵ و ۱۳۴ درصد افزایش نشان داد. نتایج حاصل از بررسی ها نشان داد که تأثیر قارچ میکوریز گونه *G. intraradices* نسبت به گونه *G.mossea* بیشتر بود. قارچ‌های میکوریز آربوسکولار به دلیل افزایش مؤثر سطح جذب ریشه و توانایی افزایش جذب فسفر به‌واسطه فعالیت آنزیم فسفاتاز و ترکیبات آلی حل‌کننده فسفات نامحلول، به‌عنوان کودهای زیستی مورداستفاده قرار می‌گیرند [14].

کلونیزاسیون با قارچ‌های میکوریز آربوسکولار به دلیل افزایش سطح جذب از طریق نفوذ میسیلیوم در خاک، باعث افزایش جذب آب و مواد معدنی به ویژه فسفر می‌شود. بنابراین خاک بیشتری در دسترس گیاه قرار می‌گیرد و با افزایش فتوسنتز، باعث بهبود رشد گیاه و درنتیجه افزایش وزن و ارتفاع گیاه می‌شود [15]. افزایش رشد گیاه توسط قارچ‌های میکوریزا می‌تواند ناشی از افزایش در دسترس بودن یون‌ها یا افزایش انتقال یون‌ها توسط گیاه باشد [16, 17].

تأثیر مثبت همزیستی با قارچ‌های میکوریز آربوسکولار در گزارش‌های متعددی تأیید شده است. تأثیر مثبت هم‌زیستی میکوریزایی بر وزن تر و خشک اندام هوایی گیاه شیرین‌بیان[1] [18] و ریحان[2] [19] گزارش شد. همچنین قارچ میکوریز *Glomus viscosum* باعث افزایش رشد و وزن تر و خشک گیاه مریم گلی[3] شده است [20]. در تحقیق karagiannidis و همکاران (۲۰۱۱) مشاهده شد که گیاهان نعناع (*Mentha requienii*) و مرزنجوش[4] تلقیح‌شده با قارچ میکوریزا، رشد، محتوای اسانس و عناصر غذایی بالاتری در مقایسه با گیاهان تلقیح‌نشده داشتند [21]. Junior و همکاران (۲۰۱۹) در مطالعه‌ای روی گیاه فلفل[5] نشان دادند که قارچ‌های میکوریزایی باعث افزایش ارتفاع ساقه، وزن تر و خشک گیاه می‌شوند. پس از رشد اسپورهای قارچی، بخشی از هیف‌ها با ورود به سیستم گیاه، سبب کاهش غلظت آبسیزیک اسید، گسترش سیستم قارچی، بهبود جذب آب و افزایش ارتفاع گیاه می‌شود [22]. افزایش ارتفاع گیاه، به افزایش فعالیت میتوزی سلول‌های بنیادی در پاسخ به میکوریزا مرتبط است [23].

نتایج مطالعه حاضر نشان داد که همزیستی گیاه نعناع فلفلی با قارچ‌های میکوریز، تأثیر مثبتی بر محتوای نسبی آب برگ و درصد پایداری غشاء این گیاه دارد. قارچ‌های میکوریز با افزایش محتوای نسبی آب، سبب بهبود جذب فسفر و افزایش رشد گیاه می‌شوند [24].

۴-۲- محتوای نسبی آب برگ و شاخص پایداری غشاء

مقایسه میانگین داده‌ها نشان داد که، بیشترین درصد محتوای نسبی آب برگ به گیاهان تلقیح شده با *G.intraradices* (۶۰,۱۶ درصد) مربوط بود که در مقایسه با گیاه شاهد (۳۸,۸۶ درصد)، حدود ۵۴ درصد افزایش نشان داد. تلقیح گیاه با قارچ‌های میکوریز آربوسکولار تاثیر معنی داری بر درصد پایداری غشاء داشت (جدول ۱).

افزایش کارایی مصرف آب در گیاهان میکوریزی می‌تواند به دلایل زیر باشد: ۱) میکوریزا با افزایش رطوبت و عناصر غذایی سبب می شود روزنه‌ها بیشتر باز بماند و تولید ماده خشک گیاهی افزایش یابد. ۲) هدایت هیدرولیکی ریشه در گیاهان میکوریزایی افزایش یافته و آب با راندمان بالاتری منتقل می‌شود. ۳) گیاهان میکوریزایی بیومس بیشتری تولید می‌کنند. ۴) بهبود عناصر غذایی، راندمان انتقال و فتوسنتز را در گیاهان میکوریزایی افزایش می‌دهند [25].

افزایش محتوای نسبی آب برگ در گیاهان میکوریزی کاهو[6] توسط بدوی و همکاران (۲۰۱۵) و در گیاه میکوریزی رز[7] توسط Henderson و Davies (۱۹۹۰) گزارش شده است [26, 27] . مطالعات متعددی تأییدکننده نقش مثبت همزیستی میکوریزی در بهبود رشد گیاه و کاهش نشت غشاء و حفظ پایداری سلولی بوده است [28-30].

1- *Glycyrrhiza glabra*
2- *Ocimum basilicum*
3- *Salvia officinalis*
4- *Origanum majorana*
5 - *Capsicum annuum*
6 - *Lactuca sativa*
7- *Rosa damascena*

افزایش پایداری غشاء توسط قارچ‌های میکوریز، به بهبود جذب فسفر و افزایش تولیدات آنتی‌اکسیدانی مربوط است، که با نتایج حاصل از این تحقیق هم‌خوانی دارد [31].

۴-۳- کلونیزاسیون ریشه

با توجه به نتایج بدست آمده، درصد کلونیزاسیون ریشه گیاه (۶۱٫۶۳٪) با تلقیح قارچی گونه *G. intraradices* در گیاه نعناع فلفلی در مقایسه با گونه *G. mossea* بیشتر بود.

جدول ۱) مقایسه میانگین داده های صفات رشدی گیاهان نعناع فلفلی میکوریزی و غیر میکوریزی

تیمارها	ارتفاع اندام هوایی (سانتی متر)	وزن تر اندام هوایی (گرم)	وزن خشک اندام هوایی (گرم)	درصد محتوای نسبی آب برگ	درصد پایداری غشاء	درصد کلونیزاسیون ریشه
Control	25.26±0.14[c]	3.34±0.11[c]	0.70±0.003[c]	38.86±0.240[c]	50.2633±0.039[c]	-
G.mossea	33.73±0.1202[b]	3.81±0.082[b]	0.88±0.005[b]	44.61±0.045[b]	62.19±0.078[b]	54.25+0.01202[b]
G.intraradices	37.56±25.17[a]	4.76±0.035[a]	1.64±0.005[a]	60.16±0.378[a]	66.04±0.103[a]	61.63+0.00600[a]
در هر ستون، حروف نامشابه (a–c) نشاندهنده تفاوت معنی دار در سطح ۵ ئرصد آزمون دانکن می باشد						

۴-۴- ظرفیت آنتی‌اکسیدانی

در این مطالعه، براساس نتایج حاصل از مقایسه میانگین داده‌ها، بالاترین درصد مهار رادیکال آزاد DPPH، به تیمار *G.intraradices* (۴۷٫۲۳ درصد) اختصاص داشت، که در مقایسه با شاهد (بدون تلقیح)، افزایش ۱۱۴ درصدی داشت. این تیمار درمقایسه با سایر تیمارها اختلاف معنی داری داشت (جدول ۲).

۴-۵- فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی (کاتالاز و آسکوربات پراکسیداز)

با توجه به نتایج مقایسه میانگین داده ها، بیشترین میزان فعالیت آنزیم کاتالاز به تیمار *G.intraradices* اختصاص داشت، که اختلاف معنی داری در مقایسه با سایر تیمارها نشان داد. بیشترین میزان فعالیت آنزیم آسکوربات پراکسیداز نیز در تیمار *G.intraradices* مشاهده شد، که افزایش ۶۱ درصدی در مقایسه با تیمار کنترل (بدون تلقیح قارچی) داشته است (جدول ۲). افزایش فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی در گیاهان میکوریزا با کاهش هیدروژن پراکسید و پراکسیداسیون لیپید همراه است و باعث کاهش خسارت اکسیداتیو به گیاهان می‌شود [32].

هم‌زیستی قارچ‌های میکوریزا با کاهش آبسیزیک اسید که یکی از مؤلفه‌های افزایش‌یافته بر اثر سیگنالینگ ROS است، باعث افزایش فعالیت آنزیم کاتالاز می‌شود [33]. یافته‌های این پژوهش در مطالعات پیشین نیز تأیید شده است. افزایش فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی مانند کاتالاز، آسکوربات پراکسیداز، سوپراکسید دیسموتاز در گیاه میکوریزی گندم[8] گزارش شده است[34].

نتایج تحقیق Jugran و همکاران (۲۰۱۵) بر روی گیاه سنبل[9] نشان داد که قارچ میکوریزا باعث افزایش ترکیبات فنلی، تانن و ترکیبات آنتی‌اکسیدانی و فعالیت آنتی‌اکسیدانی شده است [35]. Zhu و همکاران (۲۰۱۱) افزایش فعالیت آنزیم‌های کاتالاز، پراکسیداز و سوپراکسید در گیاه ذرت[10] تلقیح‌شده با میکوریزا را گزارش کردند [6]. Alguacil و همکاران (۲۰۰۳)، افزایش فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی در گیاه زیتون اروپایی[11] تلقیح شده با میکوریز را گزارش کردند [36].

قارچ‌های میکوریزی از طریق افزایش رشد، جذب مواد معدنی و افزایش تولید ترکیبات فیتوشیمیایی مانند فلاونوئیدها، باعث افزایش فعالیت آنتی‌اکسیدانی می‌شوند [37, 38]. Ceccarelli و همکاران (۲۰۱۰) نشان دادند که فعالیت آنتی‌اکسیدانی گیاه کنگر فرنگی[12] تلقیح‌شده با میکوریزا به طور قابل‌توجهی افزایش می‌یابد [39]. گیاهان کلونیزه‌شده با قارچ‌های میکوریز آربوسکولار کارایی بالایی در جاروب کردن رادیکال‌های آزاد دارند. ظرفیت آنتی‌اکسیدانی بالاتر در گیاهان میکوریزایی به دلیل افزایش فنل‌ها، پلی‌فنل‌ها، فنیل پروپانوئیدها و ترپنوئیدها همراه با آنتی‌اکسیدان‌های آنزیم موجود در گیاه می‌باشد [40]. همچنین نتایج این تحقیق نشان داد که گونه *G.intraradices* تاثیر مثبت بیشتری بر روی صفات رشدی و فعالیت آنتی اکسیدانی گیاه نعناع فلفلی داشته است.

جدول ۲) مقایسه میانگین داده های صفات بیوشیمیایی گیاهان نعناع فلفلی میکوریزی و غیر میکوریزی

تیمارها	درصد مهار رادیکال آزاد DPPH (%)	فعالیت آنزیم کاتالاز (واحد بر دقیقه گرم وزن تر گیاه)	فعالیت آنزیم پراکسیداز (واحد بر دقیقه گرم وزن تر گیاه)
Control	22.05±0.376[c]	0.1292±0.0029[c]	0.189±0.0032[c]
G.mossea	34.42±0.165[b]	0.1453±0.00023[b]	0.2137±0.00038[b]
G.intraradices	47.23±0.17[a]	0.1746±0.00018[a]	0.3044±0.00023[a]

در هر ستون، حروف نامشابه (a–c) نشاندهنده تفاوت معنی دار در سطح ۵ ترصد آزمون دانکن می باشد

DPPH (۲، ۲- دی فنیل-۱- پیکریل هیدرازیل)

۵- پیشنهادات

[8]- *Triticum aestivum*
[9]- *Hyacinthus orientalis*
[10]- *Zea mays*
[11]- *Olea europaea*
[12]- *Cynara cardunculus*

با توجه به نتایج بدست آمده از این پژوهش، بررسی تاثیر گونه های مختلف قارچ های میکوریز آربوسکولار و اثرات ترکیبی قارچ های میکوریز با سایر الیسیتورها بر روی صفات رشدی، بیوشیمیایی و همچنین تولید ترکیبات ثانویه گیاهی در نعناع فلفلی پیشنهاد می شود.

۶- منابع

1. *ESMAEILZADEH B S, and M Sharifi., Increasing the production of plant secondary metabolites using biotic elicitors. 2013.*
2. *Tyler V, L Brady, and J Robbers., Pharmacognosy. 9th edit. Lea and Fabiger, Philadelphia, 1988.*
3. *Pushpangadan P, and S Tewari., Peppermint, in Handbook of Herbs and Spices, 2006, Elsevier. pp. 460-481.*
4. *Gupta A, S Chaturvedi, and A Sharma., Arbuscular mycorrhizal fungal diversity in some medicinal plants, Mycorrhiza news, vol. 20(4), 2009, pp. 10-13.*
5. *Rasouli-Sadaghiani, M .et al., Effects of arbuscular mycorrhizal (AM) fungi on growth, essential oil production and nutrients uptake in basil, J Med Plants Res, vol 4(21), 2010, pp. 2222-2228.*
6. *Zhu X, F Song, and S Liu., Arbuscular mycorrhiza impacts on drought stress of maize plants by lipid peroxidation, proline content and activity of antioxidant system, J Food Agric Environ, vol. 9(2), 2011, pp. 583-587.*
7. *Whetherley P., Studies in the water relations of cotton plants. I. The field measurement of water deficit in leaves, New Phytol, vol. 49,1950, pp. 81-87.*
8. *Barrs H, and P Weatherley., A re-examination of the relative turgidity technique for estimating water deficits in leaves, Australian journal of biological sciences, vol. 15(3), 1962, pp. 413-428.*
9. *Newman E., A method of estimating the total length of root in a sample, Journal of applied Ecology, 1966, pp. 139-145.*
10. *Vierheilig H. et al., Ink and vinegar, a simple staining technique for arbuscular-mycorrhizal fungi, Applied and environmental microbiology,vol.64(12), 1998, pp.5004-5007.*
11. *Fernández-Agulló A. et al., Influence of solvent on the antioxidant and antimicrobial properties of walnut (Juglans regia L.) green husk extracts, Industrial crops and products, vol. 42, 2013, pp. 126-132.*
12. *Alici E H, and G Arabaci., Determination of SOD, POD, PPO and cat enzyme activities in Rumex obtusifolius L, Annual Research & Review in Biology, 2016, pp. 1-7.*
13. *Nakano Y, and K Asada., Hydrogen peroxide is scavenged by ascorbate-specific peroxidase in spinach chloroplasts Plant and cell physiology, vol. 22(5), 1981, pp. 867-880.*
14. *Willmann M. et al., Mycorrhizal phosphate uptake pathway in maize: vital for growth and cob development on nutrient poor agricultural and greenhouse soils, Frontiers in plant science, vol. 4, 2013. pp. 533.*
15. *Khalediyan N, W Weisany, and P M Schenk., Arbuscular mycorrhizae and rhizobacteria improve growth, nutritional status and essential oil production in Ocimum basilicum and Satureja hortensis, Industrial Crops and Products, vol. 16, 2021, pp. 113-163.*
16. *Esmaielpour B, P Jalilvand, and J Hadian., Effects of drought stress and arbuscular mycorrhizal fungi on some morphophysiological traits and yield of savory (Satureja hortensis L.), 2013.*
17. *Ghorbanian D. et al., Effects of mycorrhizal symbiosis and different levels of phosphorus on yield, macro and micro elements of Zea mays L. under water stress condition, African Journal of Agricultural Research, vol.6(24),2011, pp. 5481-5489.*
18. *Liu J. et al., Effects of arbuscular mycorrhizal fungi on the growth, nutrient uptake and glycyrrhizin production of licorice (Glycyrrhiza uralensis Fisch), Plant Growth Regulation, vol. 52(1), 2007, pp. 29-39.*

19. *Andrea C. et al., Influence of arbuscular mycorrhizal fungi on growth and essential oil composition in Ocimum basilicum var. Genovese, Caryologia, vol. 60(1-2), 2007, pp. 106-110.*
20. *Tarraf W. et al., Influence of arbuscular mycorrhizae on plant growth, essential oil production and phosphorus uptake of Salvia officinalis L, Industrial Crops and Products, vol. 102, 2017, pp. 144-15.* ۳
21. *Karagiannidis N. et al., Effect of three Greek arbuscular mycorrhizal fungi in improving the growth, nutrient concentration, and production of essential oils of oregano and mint plants, Scientia horticulturae, vol. 129(2),2011, pp. 329-334.*
22. *Junior W G V. et al., Arbuscular mycorrhizal fungi associated with pepper ten lines rhizosphere chillies Capsicum frutescens, Ipê Agronomic Journal, vol 3(1), 2019, pp. 107-115.*
23. *Marschner H., Mineral nutrition of higher plants. London, Orlando, San Diego, New York, Austin, 1995, Boston, Sydney, Tokyo, Toronto, Academic Press.*
24. *Krishna H. et al., Biochemical changes in micropropagated grape (Vitis vinifera L.) plantlets due to arbuscular-mycorrhizal fungi (AMF) inoculation during ex vitro acclimatization, Scientia Horticulturae, vol. 106(4), 2005, pp. 554-567.*
25. *Miller S P, and R Sharitz., Manipulation of flooding and arbuscular mycorrhiza formation influences growth and nutrition of two semiaquatic grass species, Functional Ecology, vol. 14(6), 2000, pp. 738-748.*
26. *Henderson J C, and F T Davies Jr., Drought acclimation and the morphology of mycorrhizal Rosa hybrida L. cv. 'Ferdy' is independent of leaf elemental content, New Phytologist, vol. 115(3),1990, pp. 503-510.*
27. *Badvi H. et al., Effects of drought stress and mycorrhizal fungi on some morphophysiological characteristics of lettuce (Lactuca sativa L.), Journal of Plant Productions (Agronomy, Breeding and Horticulture), vol. 38(3), 2015, pp. 27-39.*
28. *Amiri R. et al., Variation in the essential oil composition ,antioxidant capacity, and physiological characteristics of Pelargonium graveolens L. inoculated with two species of mycorrhizal fungi under water deficit conditions, Journal of Plant Growth Regulation, vol. 36(2),2017, pp. 502-515.*
29. *Tyagi J, A Varma, and R N Pudake., Evaluation of comparative effects of arbuscular mycorrhiza (Rhizophagus intraradices) and endophyte (Piriformospora indica) association with finger millet (Eleusine coracana) under drought stress, European Journal of Soil Biology, vol. 81, 2017, pp. 1-10.*
30. *Beltrano J, and M G Ronco., Improved tolerance of wheat plants (Triticum aestivum L.) to drought stress and rewatering by the arbuscular mycorrhizal fungus Glomus claroideum: Effect on growth and cell membrane stability, Brazilian Journal of Plant Physiology,vol. 20, 2008, pp. 29-37.*
31. *Arpanahi A A. et al., Arbuscular mycorrhizal fungi inoculation improve essential oil and physiological parameters and nutritional values of Thymus daenensis Celak and Thymus vulgaris L. under normal and drought stress conditions, European Journal of Soil Biology, vol. 100, 2020, pp. 203-217.*
32. *Hajiboland R. et al., Colonization with arbuscular mycorrhizal fungi improves salinity tolerance of tomato (Solanum lycopersicum L.) plants, Plant and Soil, vol 333(1), 2010, pp. 313-327.*
33. *Ashraf M, and A Orooj., Salt stress effects on growth, ion accumulation and seed oil concentration in an arid zone traditional medicinal plant ajwain (Trachyspermum ammi [L.] Sprague), Journal of Arid Environments, vol 64(2), 2006, pp. 209-220.*
34. *Kanwal S, A Bano, and R N Malik., Effects of arbuscular mycorrhizal fungi on wheat growth, physiology, nutrition and cadmium uptake under increasing cadmium stress, IJAAR, vol. 7, 2015, 30-42.*
35. *Jugran A. et al., The effect of inoculation with mycorrhiza: AM on growth, phenolics, tannins, phenolic composition and antioxidant activity in Valeriana jatamansi Jones, Journal of soil science and plant nutrition, vol. 15(4), 2015, pp. 1036-1049.*
36. *Alguacil M. et al., Antioxidant enzyme activities in shoots from three mycorrhizal shrub species afforested in a degraded semi-arid soil, Physiologia Plantarum, vol 118(4), 2003, pp. 562-570.*
37. *Huang Z. et al., Physiological and photosynthetic responses of melon (Cucumis melo L.) seedlings to three Glomus species under water deficit, Plant and soil, vol. 339(1), 2011, pp. 391-399.*
38. *Banuelos J. et al., Interactions between arbuscular mycorrhizal fungi and Meloidogyne incognita in the ornamental plant Impatiens balsamina. Journal of soil science and plant nutrition, vol. 14(1), 2014, pp. 63-74.*
39. *Ceccarelli N. et al., Mycorrhizal colonization impacts on phenolic content and antioxidant properties of artichoke leaves and flower heads two years after field transplant, Plant and Soil, vol. 335(1), 2010, pp. 311-323.*

40. *Thokchom S D, S Gupta, and R Kapoor., Arbuscular mycorrhiza augments essential oil composition and antioxidant properties of Ocimum tenuiflorum L.–A popular green tea additive, Industrial Crops and Products, vol. 153, 2020, pp. 1-12.*