

اثر قارچ اندومیکوریزایی *Glomus etunicatum* بر برخی شاخص‌های مورفولوژیک و فیزیولوژیک گیاه ریحان

مظفر شریفی^{۱*}، مژگان سادات محتشمیان^۲، حسین ریاحی^۳، احمد آقایی^۴، سیدمحمد علوی^۵

- ۱- دانشیار، گروه علوم گیاهی، دانشکده علوم زیستی، دانشگاه تربیت مدرس، تهران
 - ۲- کارشناس ارشد، گروه علوم گیاهی، دانشکده علوم زیستی، دانشگاه شهید بهشتی، تهران
 - ۳- استاد، گروه علوم گیاهی، دانشکده علوم زیستی، دانشگاه شهید بهشتی، تهران
 - ۴- دانشجوی دکتری، گروه علوم گیاهی، دانشکده علوم زیستی، دانشگاه تربیت مدرس، تهران
 - ۵- کارشناس، گروه میکروبیولوژی کاربردی، جهاددانشگاهی واحد تهران، تهران
- *آدرس مکاتبه: گروه علوم گیاهی، دانشکده علوم زیستی، دانشگاه تربیت مدرس، تهران
تلفن: ۸۲۸۸۴۴۴۵ (۰۲۱)، نمابر: ۸۲۸۸۴۷۱۷ (۰۲۱)
پست الکترونیک: msharifi@modares.ac.ir

تاریخ دریافت: ۸۸/۹/۳۰

تاریخ تصویب: ۸۹/۵/۳۱

چکیده

مقدمه: گیاه ریحان^۱ به عنوان گیاهی دارویی در طب سنتی برای درمان انواع مختلفی از بیماری‌ها کاربرد دارد، علاوه بر آن این گیاه به عنوان یک ماده غذایی و چاشنی غذا استفاده می‌شود. بررسی‌ها نشان می‌دهند که همزیستی قارچ‌های میکوریزی با ریشه گیاهان، سبب بهبود و افزایش رشد و محصول‌دهی گیاه میزبان می‌شود.

هدف: بررسی تغییرات رشد و برخی پارامترهای فیزیولوژیک ریحان در اثر تلقیح با یک قارچ میکوریزی بومی *Glomus etunicatum*

روش بررسی: این تحقیق به صورت گلخانه‌ای انجام شد و چگونگی همزیستی ریشه و اثرات آن بر برخی پارامترهای رشد و فیزیولوژیک گیاه ریحان در دو کولتیوار سبز و بنفش در مرحله رویشی مورد بررسی و مقایسه با گروه شاهد قرار گرفت.

نتایج: بررسی‌ها نشان داد که ریشه ریحان در دو کولتیوار با قارچ مذکور در حد قابل قبول بین ۷۰ - ۶۰ درصد همزیستی ایجاد نموده است. از طرفی تلقیح قارچ با ریشه گیاه به طور معنی‌داری سبب افزایش شاخص‌های رشد، کلروفیل a و b، فنول کل، و آنتوسیانین در مقایسه با بوته‌های شاهد شد.

نتیجه‌گیری: نتایج تحقیق حاکی از تاثیرگذاری سویه بومی قارچ *Glomus etunicatum* بر رشد و پارامترهای فیزیولوژیک بررسی شده گیاه ریحان می‌باشد که زمینه را برای بررسی امکان کاربرد آن در بهبود رشد این گیاه دارویی فراهم می‌سازد.

کل واژگان: ریحان، میکوریزای وزیکولار- آرباسکولار، *Glomus etunicatum*

^۱ *Ocimum basilicum* L.



مقدمه

جنس ریحان *Ocimum* از تیره Lamiaceae دربردارنده ۱۵۰ - ۵۰ گونه از گیاهان علفی یکساله و چندساله و گیاهان بوته‌ای، بومی مناطق گرمسیری و نیمه گرمسیری آسیا، آفریقا و بخش‌های مرکزی آمریکای جنوبی می‌باشد [۱،۲]. ریحان از دیرباز تاکنون به طور سنتی به عنوان گیاهی دارویی در درمان سردرد، سرفه، اسهال، یبوست، بیماری‌های انگلی و ناراحتی‌های کلیوی مصرف می‌شود [۳]. از مصارف خارجی گیاه می‌توان به استفاده از آن به عنوان مرهم در محل گزیدگی حشرات و به کارگیری روغن آن به طور مستقیم بر روی پوست برای درمان آکنه اشاره کرد [۴]. به کارگیری ریحان به عنوان گیاهی آشپزخانه‌ای به علت طعم بخشی ویژه برگ‌های آن به بسیاری از غذاها تاریخچه‌ای طولانی دارد. همچنین این گیاه به عنوان منبعی از ترکیبات معطر و اسانس‌ها شناخته می‌شود که خاصیت دفع حشره و فعالیت ضدانگلی و ضدباکتریایی دارد [۵،۶،۷]. اسانس گیاه به عنوان طعم‌دهنده در تهیه انواع شیرینی و بستنی، در چاشنی گوشت و انواع سوسیس، سس سالاد و نوشیدنی‌های غیرالکلی به طور گسترده‌ای مصرف می‌شود. همچنین کاربرد چشمگیری در صنعت عطرسازی و تهیه فراورده‌های دهان و دندان دارد [۸]. گونه *Ocimum basilicum* گیاهی علفی و یکساله و مهم‌ترین گونه اقتصادی در میان سایر گونه‌های جنس ریحان است که امروزه تقریباً در تمام مناطق گرم و معتدل کشت و بهره‌برداری شده و از آن به عنوان گیاهی دارویی، ادویه‌ای و همچنین به عنوان سبزی تازه استفاده می‌شود. این گونه در ایران برای درمان تب، گرفتگی گلو و دل درد مصرف می‌شود [۹].

میکوریزا همزیستی میان برخی از قارچ‌های موجود در خاک با ریشه گیاهان دارای رابطه‌ای کاملاً دوطرفه است [۱۰]. ۹۵ درصد گونه‌های حاضر در جهان از گیاهان آوندی متعلق به تیره‌هایی هستند که همزیستی قارچ با برخی از اعضای تیره در آنها به اثبات رسیده است [۱۱]. میکوریزای وزیکولار-آرباسکولار (VAM) با تشکیل ساختارهای قارچی از نوع وزیکول و آرباسکول در درون و بین سلول‌های پوست ریشه شناخته می‌شود. این قارچ‌ها دارای گسترده‌ترین رابطه

همزیستی با ریشه گیاهان عالی در مقایسه با سایر قارچ‌های میکوریزایی می‌باشند. در حدود ۸۰ درصد از تمامی گونه‌های گیاهی خشکی‌زی دارای این نوع از همزیستی هستند [۱۲]. همزیستی قارچ‌های مذکور با انواع گیاهان دارویی و معطر مشاهده شده و این همزیستی سبب افزایش و بهبود بازده در این گروه از گیاهان می‌شود [۱۳]. گزارش‌های متعدد نشان داده است که تلقیح گیاهان با قارچ‌های میکوریزایی رشد و مقدار جذب مواد غذایی را در گیاه افزایش می‌دهد و به دنبال آن مقاومت به تنش‌های محیطی و بیماری‌ها و همچنین عملکرد آنها افزایش یافته است [۳۳،۳۴].

در این پژوهش، اثر قارچ‌های میکوریزایی به عنوان کود زیستی بر گیاهان دارویی، تاثیر همزیستی قارچ اندومیکوریزایی *Glomus etunicatum* جدا شده از خاک‌های ایران بر رشد و برخی پارامترهای فیزیولوژیک گیاه ریحان شامل کلروفیل، فنول کل و آنتوسیانین در شرایط گلخانه‌ای بررسی شد.

مواد و روش‌ها

آماده‌سازی خاک و کشت گیاه: برای بررسی تاثیر تلقیح قارچ بر گیاه ریحان، آزمایشی گلدانی در طی بهار و تابستان سال ۱۳۸۶، در گلخانه دانشگاه تربیت مدرس در دو گروه شاهد و میکوریزایی اجرا شد برای هر گروه از آزمایش، پانزده گلدان شامل ۳ گلدان برای سنجش‌های رشد و فیزیولوژیک و بقیه گلدان‌ها برای سنجش اسانس کشت شدند. گلدان‌های مورد استفاده از نوع پلاستیکی با قطر دهانه ۱۸ سانتی‌متر و ارتفاع ۱۷/۵ سانتی‌متر بودند و با ترکیبی از نسبت مساوی خاک رس، ماسه بادی و خاک برگ که ابتدا هرکدام در دمای ۱۲۱ درجه سانتی‌گراد و فشار ۱۵ اتمسفر به مدت ۲۰ دقیقه اتوکلاو شده بودند پر شدند. برای گلدان‌های میکوریزایی این خاک با بستر میکوریزایی دارای هاگ قارچ *Glomus etunicatum* (تهیه شده از کشت تله گلدانی با کد SH21) که در هر ۱ گرم آن حدود ۱۵ هاگ قارچ وجود داشت به نسبت دو به یک مخلوط شد. برای گلدان‌های شاهد



شد. سپس با استفاده از فرمول‌های زیر مقدار کلروفیل a و b بر حسب میلی‌گرم در یک گرم وزن تر محاسبه شد.

$$\text{Chl a} = [12.7(\text{D663}) - 2.69(\text{D645})] \times V / (1000 \times W)$$

$$\text{Chl b} = [22.9(\text{D645}) - 4.68(\text{D663})] \times V / (1000 \times W)$$

D: میزان جذب نوری خوانده شده در طول موج مربوطه

V: حجم عصاره

W: وزن نمونه تر

سنجش فنول کل: ۰/۲۵ گرم از اندام هوایی گیاه یخ‌زده

با ۲۰ میلی‌لیتر متانول ۸۰ درصد در هاون چینی ساییده شد. مخلوط حاصل در دمای اتاق به مدت ۱۲ ساعت روی شیکر قرار گرفت و پس از آن در دور ۲۰۰۰ به مدت ۲۰ دقیقه سانتریفوژ شد. پس از آن محلول رویی برای ادامه آزمایش مورد استفاده قرار گرفت. محتوای فنول کل در ریحان توسط معرف فولین سیوکالتو و با به کارگیری روش Singleton و Rossi [۱۷] تعیین شد. ۵۰ میکرولیتر از عصاره متانولی با ۴۵۰ میکرولیتر آب مقطر و ۲۵۰ میکرولیتر معرف فولین سیوکالتوی ۲ نرمال ترکیب شد. این مخلوط با ۱/۲۵ میلی‌لیتر از Na_2CO_3 ۲۰ درصد در دمای ۲۵ درجه سانتی‌گراد به مدت ۲۰ دقیقه نگهداری و سپس در دور ۲۰۰۰ به مدت ۱۰ دقیقه سانتریفوژ شد. جذب محلول رویی با دستگاه اسپکتروفوتومتر (مدل GBC، ساخت کشور استرالیا) در طول موج ۷۳۵ نانومتر اندازه‌گیری شد. منحنی استاندارد با استفاده از جذب نوری غلظت‌های مختلف گالیک اسید رسم و مقادیر فنول نمونه‌ها با استفاده از آن محاسبه شد.

سنجش آنتوسیانین: این سنجش با به کارگیری روش

کریزک^۱ و همکاران انجام شد [۱۸]. در ابتدا ۱۰۰ میلی‌لیتر محلول استخراج شامل ۱ میلی‌لیتر از HCl و ۹۹ میلی‌لیتر متانول تهیه شد. از هر نمونه ۰/۲۵ گرم برگ یخ‌زده ریحان به کمک ۳ میلی‌لیتر متانول اسیدی تهیه شده به خوبی ساییده شد تا محلول یکنواختی به دست آمد. سپس در دور ۱۲۰۰۰ به مدت ۱۰ دقیقه سانتریفوژ و جذب محلول رویی پس از یک

بدون میکوریز نیز از همان ترکیب اما اتوکلاو شده استفاده گردید. پس از آماده‌سازی گلدها، تعدادی بذر در داخل هرکدام از گلدها کاشته شد که پس از سبز شدن، بوته‌ها در طی چند مرحله تنک گردیده و نهایتاً در داخل هر گلدها ۷-۵ بوته نگهداری شد. گیاهان در گلخانه دو روز در میان به مقدار ثابت آبیاری شدند و در دمای روزانه ۳۰-۲۵ درجه سانتی‌گراد و شبانه ۲۰-۱۸ درجه سانتی‌گراد و در رطوبت نسبی ۴۰-۳۰ درصد نگهداری شدند. پس از گذشت ۱۱ هفته از کاشت بذر، در مرحله گل‌دهی کامل برداشت گیاهان انجام شد. بخشی از گیاهان برداشت شده برای سنجش کلروفیل، فنول کل و آنتوسیانین پس از انتقال به آزمایشگاه به کمک نیتروژن مایع فریز و در فریزر ۸۰- درجه سانتی‌گراد نگهداری شدند (سایر گیاهان نیز برای استخراج و سنجش اسانس، به مدت ۳ هفته در دمای اتاق آزمایشگاه به تدریج خشک شدند). نمونه‌های تازه ریشه نیز پس از شستشوی سطحی برای بررسی وضعیت همزیستی به آزمایشگاه انتقال یافتند.

اندازه‌گیری درصد همزیستی میکوریزی: نمونه‌های تازه

ریشه گیاهان شاهد و تیمار برای تأیید تشکیل میکوریزا در گیاهان تیمار و نبود این رابطه همزیستی در گیاهان شاهد با رنگ لاکتوفنل کاتن بلو رنگ‌آمیزی شدند [۱۴] و سپس با استفاده از میکروسکوپ تشریحی و روش Biermann و Linderman [۱۵] درصد همزیستی ریشه‌ها در گیاهان میکوریزی محاسبه شد.

اندازه‌گیری رشد گیاه ریحان: برای تعیین میزان رشد

گیاه، بلافاصله پس از برداشت، سطح برگ، ارتفاع و وزن تر اندام هوایی و ریشه گیاهان تازه اندازه‌گیری شد نمونه‌ها در آون گذاشته شد و پس از خشک شدن، وزن خشک اندام هوایی و ریشه‌ها نیز اندازه‌گیری شد.

سنجش کلروفیل: این سنجش بر اساس روش Arnon

[۱۶] انجام شد. مقدار ۰/۲۵ گرم از بافت برگ با استن ۸۰ درصد به طور کامل عصاره‌گیری شد. عصاره حاصل صاف و به حجم معین ۲۵ میلی‌لیتر رسانده شد. جذب نوری نمونه‌ها در طول موج‌های ۶۶۳ و ۶۴۵ نانومتر توسط دستگاه اسپکتروفوتومتر (مدل GBC، ساخت کشور استرالیا) خوانده

^۱ Krizek



شب تاریکی در طول موج ۵۵۰ نانومتر خوانده شد. میزان آنتوسیانین نمونه‌ها با استفاده از ضریب خاموشی $\epsilon = 33 \text{ mol}^{-1} \text{cm}^{-1}$ برحسب میلی‌مول در یک گرم وزن تر محاسبه شد.

تجزیه آماری: سنجش‌های رشد (سطح برگ، ارتفاع، وزن تر و خشک اندام هوایی و ریشه) و فیزیولوژیک (کلروفیل، فنول کل و آنتوسیانین)، هر کدام با ۳ تکرار و با محاسبه میانگین و انحراف معیار صورت گرفت، داده‌ها به کمک نرم‌افزار SPSS ver. 13.0 و آزمون t (t-Test) در سطح احتمال ۹۵ درصد بررسی شدند.

نتایج

وضعیت همزیستی ریشه

در بررسی وضعیت همزیستی ریشه ریحان با قارچ اندومیکوریزایی *Glomus etunicatum*، گیاهانی که به آنها بستر هاگدار اضافه نشده بود (گیاهان شاهد) هیچ‌گونه آغستگی به قارچ نشان ندادند. در حالی که در برش طولی ریشه گیاهانی که به خاک آنها بستر هاگدار اضافه شده بود (گیاهان میکوریزایی)، ساختارهای قارچی شامل وزیکول‌ها، آرباسکول‌ها و هیف‌های بین و درون سلولی به وضوح و تعداد زیاد دیده شد و درصد همزیستی ریشه این گیاهان با قارچ، حدود ۷۰ - ۶۰ درصد بود و نسبت به تشکیل میکوریزا برای ادامه آزمایش اطمینان حاصل شد.

اثر همزیستی اندومیکوریزایی بر پارامترهای رشد و فیزیولوژیک گیاه ریحان

مقایسه میانگین سطح برگ نمونه‌های شاهد و میکوریزایی نشان داد که گیاهان میکوریزایی هم در ریحان سبز و هم در ریحان بنفش نسبت به گیاهان شاهد در سطح $p < 0.05$ دارای اختلاف معنی‌دار است، به طوری که میانگین سطح برگ در گیاهان میکوریزایی نسبت به شاهد در ریحان سبز از ۱۱/۹۶ سانتی‌متر مربع به ۲۰/۹۷ سانتی‌متر مربع و در ریحان بنفش از ۹/۳۲ سانتی‌متر مربع به ۱۶/۸۳ سانتی‌متر مربع افزایش یافت (شکل شماره ۱). بنابراین سطح برگ در گیاهان میکوریزایی ریحان‌های سبز و بنفش به ترتیب ۷۵ و ۸۰ درصد

بیشتر از گیاهان شاهد بود.

مقایسه میانگین ارتفاع نمونه‌های شاهد و میکوریزایی نشان داد که گیاهان میکوریزایی هم در ریحان سبز و هم در ریحان بنفش نسبت به گیاهان شاهد به طور نسبی و ظاهری ارتفاع بیشتری داشتند که از لحاظ آماری در سطح $p < 0.05$ اختلاف معنی‌داری نشان نداد (شکل شماره ۱).

گیاهان میکوریزایی هم در ریحان سبز و هم در ریحان بنفش نسبت به گیاهان شاهد از نظر وزن تر اندام هوایی اختلاف معنی‌داری در سطح ۵ درصد داشتند. به طوری که میانگین وزن تر اندام هوایی در گیاهان میکوریزایی نسبت به شاهد در ریحان سبز از ۳/۲۰ گرم به ۷/۳۰ گرم و در ریحان بنفش از ۲/۷۴ گرم به ۶/۳۵ گرم افزایش یافت (شکل شماره ۱).

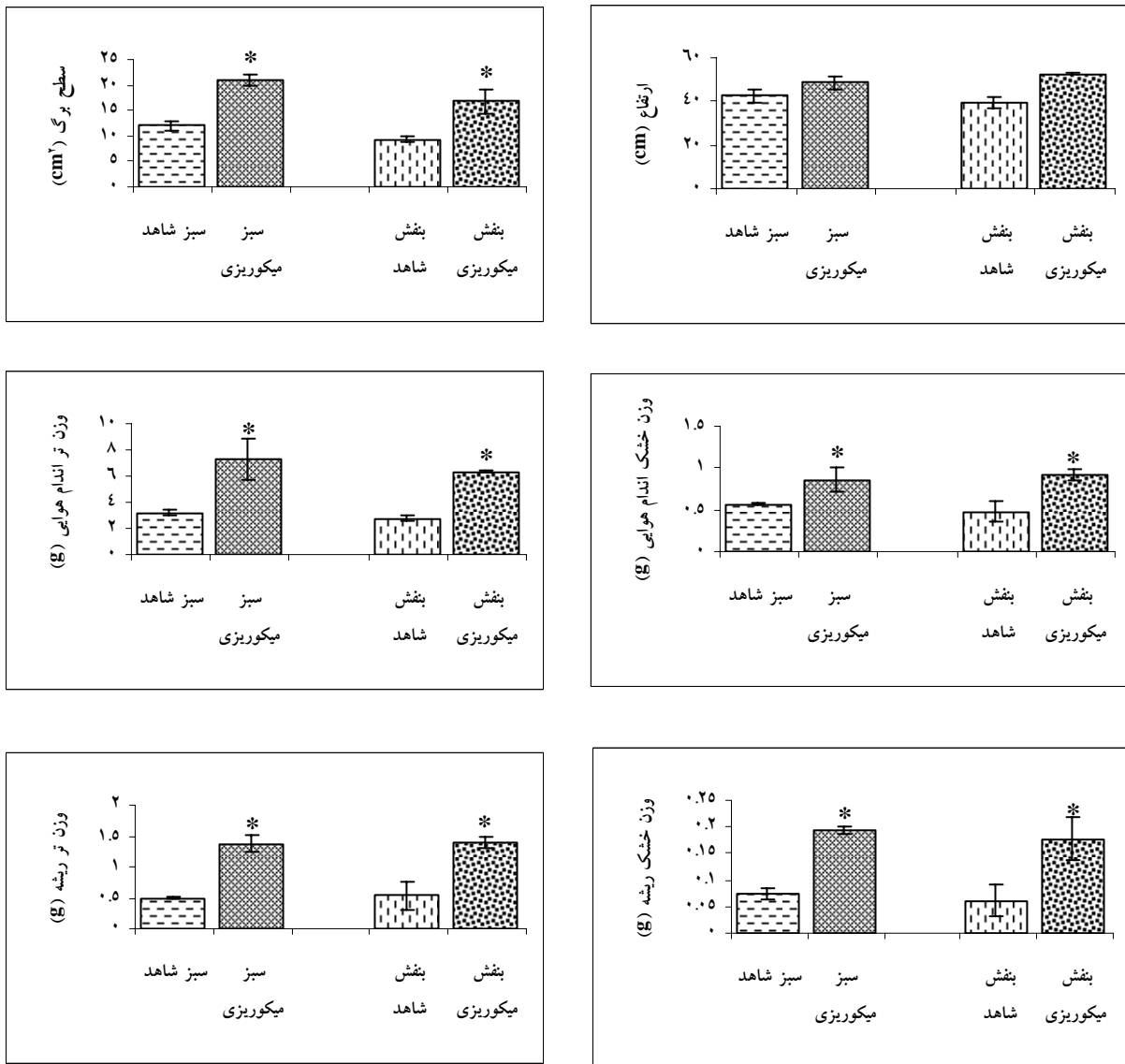
در مقایسه میانگین وزن خشک اندام هوایی به عنوان یک پارامتر مهم رشد، مشخص شد که گیاهان میکوریزایی هر دو نوع ریحان نسبت به گیاهان شاهد در سطح $p < 0.05$ دارای اختلاف معنی‌دار هستند، به طوری که میانگین وزن خشک اندام هوایی در گیاهان میکوریزایی نسبت به شاهد در ریحان سبز از ۰/۵۷ گرم به ۰/۸۵ گرم و در ریحان بنفش از ۰/۴۸ گرم به ۰/۹۱ گرم افزایش یافت (شکل شماره ۱).

میانگین وزن تر ریشه نیز در نمونه‌های شاهد و میکوریزایی در سطح آماری $p < 0.05$ با هم تفاوت آماری داشتند و میانگین وزن تر ریشه در گیاهان میکوریزایی نسبت به شاهد در ریحان سبز از ۰/۵ گرم به ۱/۳۷ گرم و در ریحان بنفش از ۰/۵۴ گرم به ۱/۳۹ گرم افزایش یافت (شکل شماره ۱).

میانگین وزن خشک ریشه در گیاهان میکوریزایی نسبت به شاهد در ریحان سبز از ۰/۰۷ گرم به ۰/۱۹ گرم و در ریحان بنفش از ۰/۰۶ گرم به ۰/۱۸ گرم افزایش یافت و این تغییرات در سطح $p < 0.05$ معنی‌دار بود (شکل شماره ۱).

میانگین میزان کلروفیل برگ نمونه‌های شاهد و میکوریزایی نیز در سطح آماری $p < 0.05$ دارای اختلاف معنی‌دار بود، به طوری که میانگین محتوای کلروفیل a و کلروفیل b در ریحان سبز میکوریزایی نسبت به شاهد به ترتیب از ۰/۶۳ mg/gFW به ۰/۹۲ mg/gFW و از ۰/۳۳ mg/gFW به ۰/۰۶ mg/gFW و در ریحان بنفش از



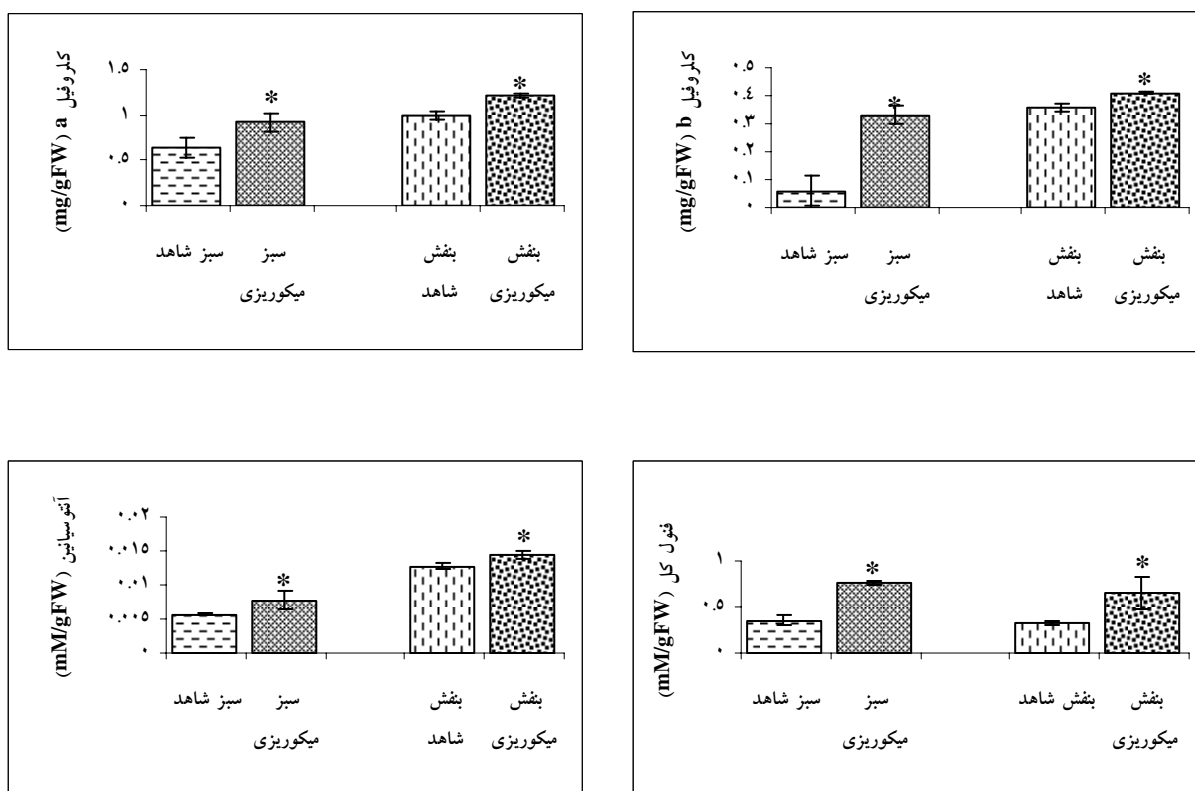


شکل شماره ۱- اثر قارچ میکوریزی بر پارامترهای رشدی کولتیوارهای سبز و بنفش ریحان (علامت ستاره نشان‌دهنده تفاوت معنی‌دار با نمونه شاهد در هر گروه در سطح $p < 0.05$ می‌باشد)

میانگین آنتوسیانین برگ در هر دو گروه ریحان سبز و بنفش میکوریزایی نسبت به گیاهان شاهد در سطح $p < 0.05$ اختلاف معنی‌دار داشت، به طوری که میانگین محتوای آنتوسیانین برگ در گیاهان میکوریزایی نسبت به شاهد در ریحان سبز از 0.006 mM/gFW به 0.008 mM/gFW و در ریحان بنفش از 0.013 mM/gFW به 0.014 mM/gFW افزایش یافت (شکل شماره ۲).

0.36 mg/gFW و از 1.22 mg/gFW به 1.00 mg/gFW به 0.41 mg/gFW افزایش یافت (شکل شماره ۲). میانگین مقدار فنول کل اندام هوایی در گیاهان میکوریزایی نسبت به شاهد در ریحان سبز از 0.35 mg/gFW به 0.34 mg/gFW و در ریحان بنفش از 0.76 mg/gFW به 0.65 mg/gFW افزایش یافت و این اختلاف در سطح آماری $p < 0.05$ معنی‌دار بود (شکل شماره ۲).





شکل شماره ۲- اثر قارچ میکوریزی بر پارامترهای فیزیولوژیک کولتورهای سبز و بنفش ریحان (علامت ستاره نشان‌دهنده تفاوت معنی‌دار با نمونه شاهد در هر گروه در سطح $p < 0.05$ می‌باشد)

بحث

گیاه از جمله فرآیند فتوسنتز مؤثر است چرا که نقش مهمی به عنوان ناقل انرژی در طی این فرآیند دارد [۲۱]. فتوسنتز یکی از مهمترین شاخص‌های فعالیت فیزیولوژیک گیاه است که وابسته به محتوای کلروفیل در گیاه می‌باشد. از این رو ممکن است همزیستی میکوریزی به عنوان یک چاله متابولسمی عمل کند که سبب جابه‌جایی قاعده‌گرای محصولات فتوسنتزی به سمت ریشه‌ها شده و بدینسان محرکی برای انجام فعالیت فتوسنتزی بیشتر باشد [۲۲]. به علاوه دیده شده است که در گیاهان میزبان میزان هورمون‌های سیتوکینین و جیبرلین افزایش می‌یابد که افزایش این هورمون‌ها به ویژه سیتوکینین می‌تواند شدت فتوسنتز را توسط باز شدن روزنه‌های هوایی که بر جابه‌جایی و تنظیم محتوای کلروفیل مؤثر است بهبود بخشد [۲۳، ۲۴]. افزایش معنی‌دار محتوای کلروفیل برگ گیاه در پاسخ

میکوریزی و زیکولار-آرباسکولار (VAM) یکی از گسترده‌ترین اجتماعات میکوریزیایی بین میکروارگانیزم‌های خاک و گیاهان عالی است. عملکرد همه سیستم‌های میکوریزیایی وابسته به توانایی قارچ همزیست در جذب مواد معدنی یا آلی در دسترس از خاک می‌باشد [۱۹]. میکوریزیایی و زیکولار-آرباسکولار به سبب قابلیت بالای آن در افزایش رشد و بازده گیاه در شرایط مشخص دارای اهمیت ویژه‌ای است [۲۰]. افزایش رشد و نمو در گیاهان میکوریزیایی در مقایسه با انواع غیر میکوریزیایی در گونه‌های متفاوت بسیاری گزارش شده است [۱۲]، که دلیل اصلی آن توانایی گیاه همزیست با قارچ در جذب کارآمد برخی عناصر معدنی مانند فسفر می‌باشد [۲۰]. محتوای فسفر بر پارامترهای فیزیولوژیک



بسیاری از متابولیت‌های ثانویه گیاهی، نقش‌های اکولوژیک مهمی را در گیاهان بر عهده دارند [۳۶]. ترکیبات فنولی به عنوان گروهی از متابولیت‌های ثانویه، دارای ساختار شیمیایی متنوع و انتشاری گسترده در گیاهان می‌باشند [۳۶] که نقش عمده‌ای در دفاع شیمیایی گیاهان در برابر میکروب‌ها دارند [۳۷]. شواهد آزمایشگاهی نشان می‌دهند که فنول‌ها به عنوان سیگنال در نمو گیاه و برهم‌کنش‌های گیاه - میکروب عمل می‌کنند [۳۸]. انباشتگی فنول‌ها در گیاهان میکوریزایی نسبت به گیاهان شاهد در بررسی‌های لینگ لی^۱ و همکاران [۳۹]، کریشنا^۲ و باگیاراج^۳ [۴۰]، سلواراج^۴ و سوبرامانین^۵ [۴۱] و همچنین نتایج حاصل از تحقیق حاضر به ویژه افزایش محتوای فنول کل در برگ ریحان‌های میکوریزایی نسبت به شاهد می‌تواند از یک سو دلیلی بر دخالت این ترکیبات در ایجاد همزیستی و از سوی دیگر نشان‌دهنده تحریک تولید آنها توسط میکوریزا باشد. قارچ‌های VAM با افزایش فعالیت‌های آنزیمی متفاوت در گیاهان سبب تغییرات فیزیولوژیک در آنها می‌شوند [۴۲]. در مطالعه‌ای که Mathur و Vyas [۴۳] روی برگ و ریشه گیاه *Ziziphus xylopyrus* تیمار شده با ۶ گونه قارچ VAM انجام دادند علاوه بر افزایش معنی‌دار فنول‌ها در تمامی تیمارهای قارچی، همبستگی مثبتی میان انباشتگی فنول کل و فعالیت آنزیم پلی‌فنول اکسیداز در این گونه گیاهی مشاهده شد که افزایش انباشتگی فنول‌ها در گیاهان تیمار شده با قارچ می‌تواند در نتیجه افزایش فعالیت آنزیم پلی‌فنول اکسیداز باشد. افزایش فعالیت آنزیمی گیاه (پلی‌فنول اکسیداز و پراکسیداز) می‌تواند در ارتباط با افزایش محتوای فنول کل در نمونه‌های تلقیح شده با قارچ باشد [۴۴]. فلاونوئیدها دسته‌ای از ترکیبات فنولی هستند که طیف وسیعی از مواد رنگی را در بر می‌گیرند. گسترده‌ترین گروه فلاونوئیدهای رنگی آنتوسیانین‌ها هستند که با رنگی نمودن گل‌ها و میوه‌ها نقش مهمی در جذب جانوران جهت گرده‌افشانی و پراکنش بذر دارند. گرچه نقش فلاونوئیدها به

به تلقیح با قارچ VAM در مطالعات پژوهشگران مختلف از جمله آلن^۱ و همکاران [۲۵]، گما^۲ و همکاران [۲۶] و دمیر^۳ [۲۷] گزارش شده است که با افزایش معنی‌دار محتوای کلروفیل a و b در برگ ریحان سبز و بنفش تلقیح شده با قارچ *Glomus etunicatum* در این مطالعه همخوانی دارد. گزارش شده است که همزیستی قارچ با گیاه می‌تواند فتوسنتز را از طریق سازگاری‌های ریختی نظیر افزایش سطح برگ گیاه میزبان بهبود بخشد [۲۷]. گئو^۴ و همکاران [۲۸] با تلقیح قارچ *Glomus mosseae* با گیاه *Atractylodes lancea* نشان دادند که سطح برگ گیاهان تیمار شده با قارچ نسبت به گیاهان شاهد به طور معنی‌داری افزایش می‌یابد. نتایج حاصل از بررسی سطح برگ ریحان‌های شاهد و میکوریزایی در این مطالعه نیز بیانگر افزایش معنی‌دار آن در گیاهان تیمار نسبت به شاهد است.

بهبود جذب عناصر معدنی در گیاهان میزبان اغلب منجر به پاسخ‌های رشدی مثبت در این گیاهان می‌شود که عمدتاً در سطح اندام هوایی گیاه آشکار است [۲۹]. گزارش‌های زیادی وجود دارد که تلقیح گیاهان با قارچ‌های میکوریزی رشد و مقدار جذب مواد غذایی را در گیاه افزایش می‌دهد و به دنبال آن مقاومت به تنش‌های محیطی و بیماری‌ها و همچنین عملکرد آنها افزایش یافته است [۳۰]. بررسی‌های انجام شده توسط بسیاری پژوهشگران نشان‌دهنده افزایش معنی‌دار شاخص‌های رشد اندازه‌گیری شده در اندام هوایی گیاهان تیمار شده با قارچ نسبت به گیاهان شاهد می‌باشد [۳۱، ۳۲، ۳۳]، که با نتایج حاصل از بررسی رشد گیاه ریحان همخوانی دارد. همچنین نتایج تحقیقات تورجامان^۵ و همکاران [۳۴] و لیو^۶ و همکاران [۳۵] نشان داد که تلقیح قارچ اندومیکوریزایی علاوه بر افزایش رشد اندام هوایی سبب افزایش معنی‌دار در شاخص‌های رشد ریشه نیز شده است که با اندازه‌گیری وزن تر و خشک ریشه ریحان‌های شاهد و میکوریزایی و افزایش معنی‌دار آن در ریحان‌های میکوریزایی نسبت به شاهد همخوانی دارد.

¹ Ling-Lee² Krishna¹ Allen² Gemma³ Bagyaraj⁴ Selvaraj³ Demir⁴ Guo⁵ Subramanian⁵ Turjaman⁶ Liu

مربوط به نقش این دسته از ترکیبات را در علامت‌رسانی تقویت می‌کند.

بر اساس نتایج حاصل از این تحقیق مشخص شد که قارچ *Glomus etunicatum* بر رشد و پارامترهای فیزیولوژیک بررسی شده گیاه دارویی ریحان دارای اثر مثبتی است که می‌توان این تأثیر مثبت را به بهبود جذب عناصر معدنی مفید در گیاهان میکوریزایی نسبت داد.

عنوان ترکیبات سیگنالی ضروری در تشکیل میکوریزای VA مورد تردید است [۴۵]. با این حال ثابت شده است که فلاونوئیدهای معینی در گیاهان میکوریزایی، جوانه‌زنی هاگ قارچ‌های اندومیکوریزایی را افزایش می‌دهند [۴۶]. در بررسی محتوای آنتوسیانین برگ ریحان‌های سبز و بنفش برای تعیین تأثیر همزیستی قارچ با گیاه بر میزان این متابولیت ثانویه مشخص شد که مقدار آنتوسیانین برگ ریحان در گیاهان تیمار نسبت به شاهد به طور معنی‌داری افزایش یافته است که فرضیه

منابع

1. Bailey LH. Manual of cultivated plants. MacMillan, New York. 1924, pp: 455.
2. Darrah HH. The cultivated Basil. Buckeye printing Independence, Mo. 1998, pp: 1734 – 8.
3. Mehta CR and Mehta TP. Chemical examination of *Ocimum canum Sims*. *Curr. Sci.* 1943; 12: 300 - 1.
4. Waltz L. The Herbal Encyclopedia. <http://www.wic.net/waltzark/herbenc.htm>. 1996.
5. Chavan SR and Nikam ST. Mosquito larvicidal activity of *Ocimum basilicum L.* *Indian. J. Med. Res.* 1982; 75: 220 - 2.
6. Deshpande RS, Tipnis HP. Insecticidal activity of *Ocimum basilicum L.*, *Pesticides* 1997; 11: 1 - 12.
7. Lawrence BM. Labiatae oils: Mother nature's chemical factory. In: stream, C. Essential oils. Allured publishing, IL. 1993, pp: 188 - 206.
8. Simon JE, Quinn J, Murray RG. Basil: a source of essential oils. In: Janick, J. and Simon, J.E., (Eds.). *Advanced in new crops*. Timber press, Portland. 1990, pp: 484 - 9.
9. Omibeigi R. Production of medicinal plants (In Persian). Astan qods press, 1999; pp: 1 - 50.
10. Sieverding E. Vesicular arbuscular mycorrhiza management in tropical agrosystems. Technical cooperation, Federal Republic of Germany Eschborn. 1991, pp: 371 - 80.
11. Quilambo OA. The vesicular-arbuscular mycorrhizal symbiosis. *Afri. J. Biotech.* 2003; 2: 539 - 46.
12. Smith SE, Read DJ. Mycorrhizal symbiosis. Academic press, San Diego California. 1997, pp: 126 - 60.
13. Gupta ML, Prasad A, Ram M, Kumar S. Effect of the vesicular-arbuscular mycorrhizal (VAM) fungus *Glomus fasciculatum* on the essential oil yield related characters and nutrient acquisition in the crops of different cultivars of menthol mint (*Mentha arvensis*) under field conditions. *Bioresource Technol.* 2002; 81: 77 - 9.
14. Phillips J, Hayman D. Improved procedures for clearing roots and staining parasitic and vesicular-arbuscular mycorrhizal fungi for rapid assessment of infection. *Trans Br. Mycol. Soc.* 1970; 55:158 – 61.
15. Bierman B, Linderman R. Quantifying vesicular-arbuscular mycorrhizae: proposed method towards standardization. *New Phytol.* 1981; 87: 63 – 7.
16. Arnon DI. Copper enzymes in isolated chloroplasts. Polyphenoloxidase in *Beta vulgaris*. *Plant Physiol.* 1949; 24 (1): 1 - 15.
17. Singleton VL, Rossi IA. Colorimetry of total Phenolics with phosphor-molybdic-phosphotungstic acid reagents. *Am. J. Enol. Vitic.* 1965; 16: 144 - 58.
18. Krizek DT, Britz SJ, Mirecki RM. Inhibitory effects ambient levels of solar UV-A and UV-B radiation on growth of cv. New Red Fire lettuce. *Physiol. Plant.* 1998; 103: 1 - 7.



19. Marschner H and Dell B. Nutrient uptake in mycorrhizal symbiosis. *Plant Soil*. 1994; 159: 89 - 102.
20. Podila GK, Douds DD. Current advances in Mycorrhizae Research. APS Press, St. Paul. 2001, pp: 127 - 40.
21. Jacobsen I. Carbon metabolism in mycorrhiza. 23: 149-180. In: Burrock, H and Mosser, J., (Eds.). *Methods in Microbiology*. Academic Press. 1991, pp: 149 - 80.
22. Allen M, Moore JTS, Christensen M. Phytohormone changes in *Bouteloua gracilis* infected by vesicular-arbuscular mycorrhizae: I. Cytokinin increases in the host plant. *Can. J. Bot*. 1980; 58: 371 - 4.
23. Bevege DI, Bowen GD, Skinner MF. comparative carbohydrate physiology of ecto- and endomycorrhizas. In: Sanders, F.F., Mosse, B. and Tinker, P.B., (Eds.). *Endomycorrhizas*. Academic Press, New York. 1975, pp: 149 - 75.
24. Allen M, Moore JTS, Christensen M. Phytohormone changes in *Bouteloua gracilis* infected by vesicular-arbuscular mycorrhizae: II. Altered levels of gibberellin like substances and abscisic acid in the host plant. *Can. J. Bot*. 1982; 60: 468 - 71.
25. Allen MF, Smith WK, Moore TS, Christensen M. Comparative water relations and photosynthesis of mycorrhizal and non-mycorrhizal *Bouteloua gracilis* H.B.K. *Lag ex Steud. New Phytol*. 1981; 88: 683 - 93.
26. Gemma JN, Koske RE, Roberts EM, Jackson N, De Antonis K. Mycorrhizal fungi improve drought resistance in creeping bentgrass. *J. Turfgrass Sci*. 1997; 73: 15 - 29.
27. Demir S. Influence of arbuscular mycorrhiza on some physiological growth parameters of pepper. *Turk. J. Biol*. 2004; 28: 85 - 90.
28. Guo LP, Wang HG, Huang LQ, Jiang YX, Zhu YG, Kong WD, Chen BD, Chen ML, Lin SF, Fang ZG. Effects of Arbuscular Mycorrhizae on growth and essential oil of *Atractylodes Lancea*. *Zhongguo Zhong Yao Za Zhi*. 2006; 31 (18): 1491 - 96.
29. Wright DP, Scholes JD, Read DJ. Effects of VA mycorrhizal colonization on photosynthesis and biomass production of *Trifolium repens* L. *Plant Cell Environ*. 1998; 21: 209 - 16.
30. Porrás-Soriano A, Soriano-Martín ML, Porrás-Piedra A, Azcón R. Arbuscular mycorrhizal fungi increased growth, nutrient uptake and tolerance to salinity in olive trees under nursery conditions. *J. Plant Physiol*. 2009; 166: 1350 - 59.
31. Venkateshwar RG, Manoharachary C, Rajeswara RBR. Beneficial Influence of Arbuscular Mycorrhizal Fungal Association on Growth, Yield and Nutrient Uptake of Rose-scented Geranium (*Pelargonium* Species). *Philippine J. Sci*. 2002; 131 (1): 49 - 58.
32. Kapoor R, Giri B, Mukerji KG. Improved growth and essential oil yield and quality in *Foeniculum vulgare* mill on mycorrhizal inoculation supplemented with P- fertilizer. *Bioresource Technol*. 2004; 93: 307 - 11.
33. Gamalero E, Trotta A, Massa N, Copetta A, Martinotti MG, Berta G. Impact of two fluorescent pseudomonads and an arbuscular mycorrhizal fungus on tomato plant growth, root architecture and P acquisition. *Mycorrhiza* 2004; 14: 185 - 92.
34. Turjaman M, Tamai Y, Santoso E. Arbuscular mycorrhizal fungi increased early growth of two nontimber forest product species *Dyera polyphylla* and *Aquilaria filarial* under greenhouse conditions. *Mycorrhiza* 2006; 16: 459 - 64.
35. Liu J, Wu L, Wei S, Xiao X, Su C, Jiang P, Song Z, Wang T, Yu Z. Effects of arbuscular mycorrhizal fungi on the growth, nutrient uptake and glycyrrhizin production of licorice (*Glycyrrhiza uralensis* Fisch). *Plant Growth Regul*. 2007; 52: 29 - 39.
36. Harborne JB. Plant Phenolics. In: Bell EA and Charlwood BV. (Eds.). *Secondary Plant Products*. Springer Verlag, Berlin. 1980, pp: 329 - 402.
37. Einhellig FA. Mechanism and modes of action of allelochemicals. In: Putnam, A.R. and Tang, C.S., (Eds.). *The Science of Allelopathy*. John



Wiley and Sons, New York. 1986, pp: 75 - 99.

38. Lynn DJ, Chang M. Phenolic signals in cohabitation: Implication for Plant Development. *Ann. Rev. Plant Physiol. and Plant Mol. Biol.* 1990; 41: 497 - 526.

39. Ling-Lee M, Chilvers GA, Ash Ford AE. A histochemical study of phenolic materials in mycorrhizae and uninfected roots of *Eucalyptus fastigata* Deana and Maiden. *New Phytol.* 1977; 78: 313 - 28.

40. Krishna KR, Bagyaraj DJ. Phenols in mycorrhizal roots of *Arachis hypogea*. *Experientia* 1984; 40: 85 - 6.

41. Selvaraj JT, Subramanian G. Phenols and lipids in mycorrhizal and non-mycorrhizal roots of *Sesamum indicum*. *Curr. Sci.* 1990; 59: 471 - 3.

42. Mathur N, Vyas A. Changes in isozyme patterns of peroxidase and polyphenol oxidase by VAM fungi in roots of *Ziziphus* species. *Plant*

Physiol. 1995; 145 (4): 498 - 500.

43. Mathur N, Vyas A. Biochemical changes in *Ziziphus xylopyrus* by VA mycorrhizae. *Bot. Bull. Acad. Sin.* 1996; 37: 209 - 12.

44. Charitah DM and Reddy MN. Phenolic acid metabolism of groundnut (*Arachis hypogaea* L.) plants inoculated with VAM fungus and *Rhizobium*. *Plant Growth Regul.* 2002; 37: 151 - 6.

45. Becard G, Taylor AP, Douds DD, Pfeffer PE and Doner LW. Flavonoids are not necessary plant signal compounds in arbuscular mycorrhizal symbiosis. *Mol. Plant-Microbe Interact.* 1995; 8: 252 - 8.

46. Becard G, Douds DD, Pfeffer PE. Extensive in vitro hyphal growth of vesicular-arbuscular mycorrhizal fungi in the presence of CO₂ and flavonols. *Appl. Environ. Microbiol.* 1992; 58: 821 - 5.

