

## ارزیابی تأثیر غلظت‌های مختلف اکسین و قارچ‌های *Sebacina* و *Piriformospora indica* روی نعناع فلفلی (*Mentha piperita*) و آویشن (*Thymus vulgaris*) در شرایط

### درون شیشه‌ای

حسین کاری دولت‌آبادی<sup>۱</sup>، ابراهیم محمدی گل‌تپه<sup>۱\*</sup>، احمد معینی<sup>۲</sup>، آجت ورما<sup>۳</sup>

۱- مربی، گروه بیماری‌شناسی گیاهی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه تربیت مدرس، تهران  
۲- دانشیار، گروه ژنتیک و اصلاح نباتات، دانشکده کشاورزی، دانشگاه تربیت مدرس، تهران  
۳- دانشگاه آمیتی گروه مطالعاتی گیاهان دارویی و میکروبی، نویدا ایالت اترپرادش، هندوستان  
\*آدرس مکاتبه: تهران، تقاطع بزرگراه جلال آل‌احمد و دکتر چمران گروه بیماری‌شناسی گیاهی دانشکده کشاورزی دانشگاه تربیت مدرس، صندوق پستی: ۱۴۱۱۵ - ۳۳۶، تلفن و نمابر: ۴۸۲۹۲۲۷۵ (۰۲۱)  
پست الکترونیک: emgoltapeh@yahoo.com، emgoltapeh@modares.ac.ir

تاریخ تصویب: ۸۹/۱۱/۱۰

تاریخ دریافت: ۸۹/۴/۲۹

#### چکیده

مقدمه: نعناع فلفلی (*Mentha piperita*) و آویشن (*Thymus vulgaris*) دو گیاه بسیار با اهمیت از خانواده نعناعیان (Lamiaceae) می‌باشند که در صنایع داروسازی، غذایی، آرایشی و بهداشتی کاربردهای زیادی دارد.

هدف: هدف از این تحقیق تأثیر غلظت‌های مختلف اکسین و قارچ‌های *Piriformospora indica* و *Sebacina vermifera* روی رشد و نمو نعناع فلفلی و آویشن در شرایط کشت بافت بود.

روش بررسی: دو آزمایش بطور جداگانه انجام گرفت، در اولین آزمایش تأثیر غلظت‌های مختلف اکسین (IAA، NAA، IBA) در رشد نعناع فلفلی و آویشن، و در دومین آزمایش تأثیر دو قارچ *Piriformospora indica* و *Sebacina vermifera* روی ارتفاع، طول ریشه و وزن بخش‌های هوایی و ریشه در شرایط درون شیشه‌ای در طرح کاملاً تصادفی مورد ارزیابی قرار گرفت.

نتایج: در آزمایش اول مشخص شد مؤثرترین هورمون برای رشد نعناع فلفلی غلظت یک میلی‌گرم در لیتر IBA و در آویشن مؤثرترین هورمون غلظت یک میلی‌گرم در لیتر IAA می‌باشد. با افزایش غلظت هورمون‌ها رشد گیاه کاهش یافت. در آزمایش دوم رشد در گیاهان تلقیح شده با قارچ به طور معنی‌داری افزایش یافت. بلندترین ارتفاع در گیاهان تلقیح شده با *S. vermifera* و بیشترین وزن در گیاهان تلقیح شده با *P. indica* مشاهده شد. در نعناع تعداد گره‌ها و در آویشن تعداد شاخه‌ها به طور معنی‌داری افزایش پیدا کرد.

نتیجه‌گیری: این نتایج نشان می‌دهد که بهترین هورمون برای کشت بافت نعناع فلفلی و آویشن به ترتیب غلظت یک میلی‌گرم در لیتر IBA و IAA می‌باشد. همچنین با استفاده از این قارچ‌ها می‌توان رشد و توسعه این گیاهان را افزایش داد.

کل واژگان: کشت بافت، اکسین، نعناع فلفلی، آویشن، *Piriformospora indica*، *Sebacina vermifera*



## مقدمه

نعناع فلفلی (*Mentha piperita*) گیاهی علفی، پایا و چند ساله از تیره نعناع (Lamiaceae) می‌باشد. این گیاه بومی مناطق مدیترانه می‌باشد ولی به صورت تجاری در مناطق معتدل جهان به ویژه در آمریکا، کانادا و چین کشت می‌شود [۱]. از گیاهان مهم دیگر این خانواده که استفاده فراوانی در صنایع غذایی و دارویی دارد آویشن (*Thymus vulgaris*) می‌باشد. اسانس آویشن خاصیت ضدقارچی و باکتریایی دارد [۲، ۳].

میکروارگانسیم‌های خاک به دلیل افزایش انتقال مواد غذایی، تولید تنظیم‌کننده‌های رشد گیاهی (PGR) و داشتن ویژگی آنتاگونیستی علیه بیماری‌ها موجب افزایش رشد گیاه می‌شوند [۴]. اکسین، سیتوکینین، جیبرلین، اتیلن و اسید آبسزیک ۵ گروه اصلی از تنظیم‌کننده‌های رشد گیاهی می‌باشند و به صورت طبیعی در گیاهان عالی ساخته می‌شوند و روی رشد و نمو گیاهان اثر می‌گذارند [۵]. این ترکیبات نیز به طور مصنوعی ساخته شده و در کشت بافت از آنها استفاده می‌شود و باعث افزایش رشد گیاهان می‌شوند [۶]. یکی از این میکروارگانسیم‌های مفید قارچ‌های میکوریز (AMF) می‌باشد. این قارچ‌ها حدوداً با ۹۰ درصد گیاهان ارتباط همزیستی برقرار می‌کنند [۷]. قارچ در ازای کربوهیدراتی که از گیاه می‌گیرد منافع زیادی از قبیل افزایش جذب عناصر غذایی به ویژه فسفر و آب، افزایش مقاومت به استرس آبی، افزایش سطح خاک قابل دسترس ریشه‌ها، افزایش دوام ریشه و افزایش رشد گیاه، جلوگیری سمیت فلزات سنگین، جلوگیری از نفوذ بیماری‌گرهای خاکزاد و بهبودی ساختمان خاک می‌شود [۸-۱۵]. گوپتا و همکاران (۲۰۰۲) تأثیر قارچ *Glomus fasciculatum* را روی سه رقم نعناع (*Mentha arvensis*) شامل Kalka, Shivalik و Gomti ارزیابی کرده و اعلام نمودند در ارقامی که با قارچ میکوریز تیمار شده بودند به طور معنی‌داری استقرار ریشه افزایش پیدا کرده و طول گیاهان بلندتر، وزن تر و خشک زیادتر و همچنین مقدار اسانس افزایش پیدا می‌کند [۱۶]. بر خلاف طبیعت اجباری قارچ‌های



میکوریز، قارچ‌های *Piriformospora indica* [۱۷] و *Sebacina vermifera* [۱۸] قابل کشت در محیط‌های مصنوعی می‌باشند و توانایی افزایش رشد گیاهان به وسیله آنها به اثبات رسیده است [۲۳ - ۱۹]. پراساد و همکاران (۲۰۰۸) تأثیر *P. indica* را روی *Bacopa monniera* در شرایط درون شیشه‌ای مورد ارزیابی قرار داده و مشخص شد که رشد به طور معنی‌داری در گیاهان تلقیح شده با قارچ به طور معنی‌داری افزایش می‌یابد [۲۴]. ری و همکاران (۲۰۰۱) گزارش کردند که طول ریشه و ساقه، وزن، اندازه سطح برگ و تولید بذر در گیاهان دارویی *Spilanthes calva* و *Withania somnifera* در حضور *P. indica* افزایش می‌یابد [۲۵]. هدف از این تحقیق بررسی غلظت‌های مختلف اکسین (IAA، NAA و IBA) و قارچ‌های *Piriformospora indica* و *Sebacina vermifera* روی رشد و نمو نعناع (*M. piperita*) و آویشن (*T. vulgaris*) در شرایط درون شیشه‌ای می‌باشد.

## مواد و روش‌ها

مواد گیاهی شامل قطعاتی از پیکره رویشی نعناع و آویشن از پژوهشکده گیاهان دارویی کرج تهیه شد. قطعات در آب که حاوی مقدار کمی ماده دترجنت بود شستشو داده شده، پس از آن به مدت ۵ دقیقه در الکل ۷۰ درصد ضدعفونی و سپس با آب مقطر سترون شستشو داده شدند. قطعات گیاهی به مدت ۱۰ دقیقه در هیپوکلریت سدیم یک درصد حاوی یک قطره توئین ۲۰ قرار گرفتند و پس از آن ۴ مرتبه با آب مقطر سترون شسته شدند. سپس قطعاتی به طول حدود یک سانتی‌متر حاوی گره تهیه شد. گره‌ها روی محیط MS [۲۶] که حاوی ۳۰ گرم ساکاروز، یک میلی‌گرم تیمامین و ۸ گرم آگار در لیتر بود در درون شیشه‌های کشت بافت کشت داده شدند. pH محیط ۵/۸ تنظیم شد. گیاهان مذکور در دمای ۲۵ درجه سانتی‌گراد و در زیر نور سفید (۱۶ ساعت روشنایی و ۸ ساعت تاریکی) قرار گرفتند تا تکثیر گیاهان مذکور به اندازه مورد نیاز صورت گیرد.

## نتایج

در مورد تأثیر هورمون‌ها، گیاهان مذکور ۳۰ روز بعد از کشت ارزیابی شدند (جدول شماره ۱). در نعنای بیشترین رشد در گیاهانی دیده شد که محیط کشت آنها حاوی یک میلی‌گرم IBA در لیتر بود. افزایش غلظت IBA موجب کاهش رشد شد. گیاهان در شیشه‌های کشت بافت حاوی ۴ میلی‌گرم IBA در لیتر و ۲ و ۴ میلی‌گرم IAA در لیتر با تیمار شاهد در یک سطح آماری قرار گرفتند. در آویشن بیشترین رشد در گیاهانی دیده شد که در محیط کشت آنها حاوی یک میلی‌گرم IAA در لیتر بود. غلظت پایین‌تر اکسین اثرات بهتری از خود نشان داد. گیاهانی که محیط کشت آنها حاوی ۲ میلی‌گرم IBA در لیتر + ۲ میلی‌گرم IAA در لیتر بودند با تیمار شاهد در یک سطح آماری قرار گرفتند (جدول شماره ۱).

در تأثیر قارچ‌های *P. indica* و *S. vermifera*، گیاهان نعنای بعد از ۴۵ روز از نظر ارتفاع، وزن تر (هوایی و ریشه)، تعداد گره و طول ریشه مورد ارزیابی قرار گرفتند. به دلیل افزایش تعداد گره، ارتفاع گیاه، وزن تر و خشک در گیاهان تلقیح شده با قارچ افزایش یافت (شکل شماره ۱).

بیشترین ارتفاع گیاه و بلندترین طول ریشه در گیاهانی دیده شد که با قارچ *S. vermifera* تلقیح شده بودند و کوتاهترین ارتفاع و کمترین طول ریشه در تیمار شاهد مشاهده شد. قارچ‌های *P. indica* و *S. vermifera* به ترتیب ۲۵۷ و ۲۳۵ درصد وزن تر هوایی را افزایش دادند. این دو قارچ موجب ایجاد سیستم ریشه‌ای بسیار خوب و توسعه یافته شده است. به طوری که در قارچ *P. indica* وزن تر ریشه حدود ۳۰۴ میلی‌گرم و در قارچ *S. vermifera* حدود ۲۹۴ میلی‌گرم می‌باشد، در صورتی که در تیمار شاهد فقط ۲۳ میلی‌گرم بود. همین‌طور تعداد گره در گیاهان تلقیح شده با قارچ *P. indica* ۶۵ درصد بیشتر از شاهد بود (جدول شماره ۲).

در آویشن گیاهان بعد از ۶۰ روز از نظر ارتفاع، وزن تر (هوایی و ریشه)، تعداد شاخه و طول ریشه مورد ارزیابی قرار

دو سری آزمایش به صورت مجزا صورت گرفت که ابتدا تأثیر اکسین‌ها (IAA, IBA, NAA) و ترکیب‌های مختلف آن روی گیاهان مذکور ارزیابی شد. هورمون‌ها به غلظت‌های ۱، ۲ و ۴ میلی‌گرم در لیتر مورد استفاده قرار گرفتند. تعداد سه ریز نمونه از جوانه انتهایی گیاهان ۳۰ روزه در هر محیط کشت قرار داده شد و از هر محیط سه تکرار تهیه شد. آزمایش در طرح کاملاً تصادفی مورد ارزیابی قرار گرفت.

در آزمایش بعدی تأثیر قارچ‌های *P. indica* و *S. vermifera* مورد ارزیابی قرار گرفت. قارچ‌های مذکور از کلکسیون قارچ آقای دکتر محمدی گل تپه گروه بیماری‌شناسی گیاهی دانشکده کشاورزی دانشگاه تربیت مدرس تهیه شد. تکثیر قارچ در محیط کشت (7.0 mM NaNO<sub>3</sub>, 7.0 KM mM KCl, 2.1 mM MgSO<sub>4</sub>, 9.2 mM KH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub>, 0.77 mM ZnSO<sub>4</sub>, 0.18 mM H<sub>3</sub>BO<sub>3</sub>, 0.02 mM MnSO<sub>4</sub>, 0.007 mM CoCl<sub>2</sub>, 0.0065 mM CuSO<sub>4</sub>, 0.02 mM FeSO<sub>4</sub>, 0.02 mM EDTA, 0.001 mM ammonium molybdate, 0.003 mM thiamine, 0.005 mM glycine, 0.002 mM nicotinic acid, 0.0004 mM pyridoxine, 110 mM glucose, 2 g/l peptone, 1 g/l yeast extract, 1 g/l casein hydrolysate, 1% w/v agar, pH 6.5) صورت گرفت [۲۷]. قارچ‌های مورد نظر ابتدا روی محیط کشت غذایی کشت داده شدند و در انکوباتور به مدت یک هفته در دمای ۲۵ درجه سانتی‌گراد نگهداری شدند.

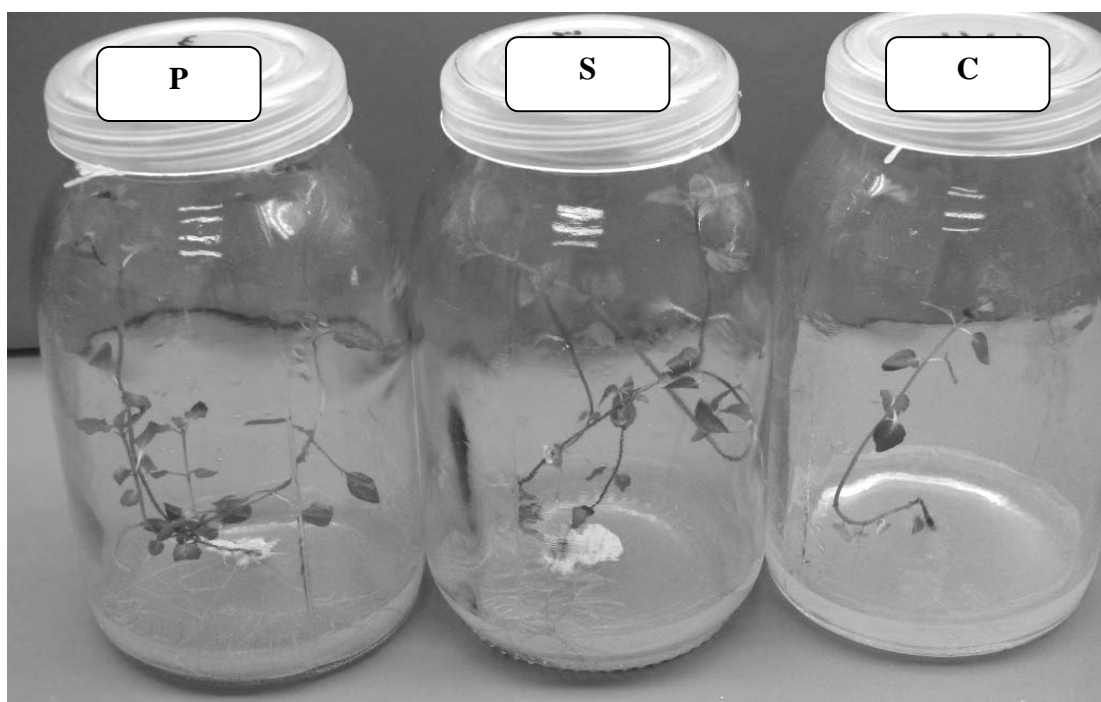
پس از رشد قارچ‌ها قطعات ۵ میلی‌متری از پرگنه ۷ روزه در وسط شیشه‌های کشت بافت حاوی ۵۰ میلی‌لیتر محیط کشت MS قرار داده شد و بلافاصله بعد از آن یک ریز نمونه از جوانه انتهایی هر گیاه تقریباً در مجاورت قارچ قرار داده شد. ۲۰ شیشه با هر یک از قارچ‌های *P. indica* و ۲۰ شیشه با قارچ *S. vermifera* تلقیح و ۲۰ شیشه به عنوان شاهد (بدون مایه‌زنی قارچ) در طرح کاملاً تصادفی مورد ارزیابی قرار گرفت. داده‌ها با استفاده از نرم‌افزار SPSS آنالیز شدند و مقایسه میانگین‌ها از طریق آزمون چند دامنه‌ای دانکن در سطح ۵ درصد برای آزمایش اول و در سطح ۱ درصد برای آزمایش دوم صورت گرفت.



جدول شماره ۱- تأثیر اکسین‌ها و غلظت‌های مختلف آن روی رشد گیاه (سانتی‌متر) در نعنای (*Mentha piperita*) و آویشن (*Thymus vulgaris*) بعد از ۳۰ روز از کشت در شرایط درون شیشه‌ای

<i>Thymus vulgaris</i>	<i>Mentha piperita</i>	تیمارهای هورمونی
انحراف معیار ± میانگین	انحراف معیار ± میانگین	
۴/۰ ± ۰/۲۶ <sup>a</sup>	۷/۴ ± ۰/۷۰ <sup>a</sup>	IBA mg l <sup>-1</sup> 1
۳/۲ ± ۰/۵۶ <sup>bc</sup>	۶/۳ ± ۱/۳۷ <sup>abc</sup>	IBA mg l <sup>-1</sup> 2
۳/۱ ± ۰/۵۰ <sup>c</sup>	۵/۶ ± ۰/۷۱ <sup>cd</sup>	IBA mg l <sup>-1</sup> 4
۲/۹ ± ۰/۷۰ <sup>cd</sup>	۴/۲ ± ۱/۳۵ <sup>de</sup>	NAA mg l <sup>-1</sup> 1
۲/۱ ± ۰/۷۰ <sup>e</sup>	۳/۱ ± ۰/۵۳ <sup>ef</sup>	NAA mg l <sup>-1</sup> 2
۱/۹ ± ۰/۳۶ <sup>e</sup>	۳/۲ ± ۰/۴۰ <sup>ef</sup>	NAA mg l <sup>-1</sup> 4
۴/۲ ± ۰/۱۷ <sup>a</sup>	۷/۲ ± ۰/۳۵ <sup>ab</sup>	IAA mg l <sup>-1</sup> 1
۳/۹ ± ۰/۲۰ <sup>ab</sup>	۵/۲ ± ۰/۸۲ <sup>cd</sup>	IAA mg l <sup>-1</sup> 2
۳/۱ ± ۰/۳۶ <sup>c</sup>	۵/۴ ± ۰/۸۷ <sup>cd</sup>	IAA mg l <sup>-1</sup> 4
۲/۳ ± ۰/۵۳ <sup>de</sup>	۵/۹ ± ۰/۷۸ <sup>bc</sup>	IAA mg l <sup>-1</sup> 2 + IBA mg l <sup>-1</sup> 2
۱/۶ ± ۰/۳۶ <sup>e</sup>	۳/۲ ± ۰/۶۰ <sup>ef</sup>	IBA mg l <sup>-1</sup> 4 + NAA mg l <sup>-1</sup> 4
۲/۱ ± ۰/۳۰ <sup>e</sup>	۲/۲ ± ۰/۳۲ <sup>f</sup>	IAA mg l <sup>-1</sup> 4 + NAA mg l <sup>-1</sup> 4
۲/۰ ± ۰/۱۷ <sup>e</sup>	۲/۱ ± ۰/۳۶ <sup>f</sup>	IAA mg l <sup>-1</sup> 2 + IBA mg l <sup>-1</sup> 2 + NAA mg l <sup>-1</sup> 2
۲/۲ ± ۰/۲۶ <sup>de</sup>	۵/۴ ± ۰/۵۷ <sup>cd</sup>	Control

میانگین‌هایی که در هر ستون با حروف مشترک نشان داده شده‌اند در آزمون دانکن با یکدیگر اختلاف معنی‌دار ندارند (p < ۰/۰۵)



شکل شماره ۱- تأثیر قارچ‌های *P. indica* و *S. vermifera* روی رشد گیاه نعنای (*M. piperita*) در شرایط درون شیشه‌ای.

(P = *Piriformospora indica*, S = *Sebacina vermifera* and C = control)



جدول شماره ۲- تأثیر قارچ‌های *P. indica* و *S. vermifera* روی ارتفاع گیاه، طول ریشه، وزن تر (هوایی و ریشه) و تعداد گره در نعنای (*M. piperita*)

پارامتر	<i>P. indica</i>	<i>S. vermifera</i>	شاهد	اختلاف میانگین میان تیمارها و شاهد، به ترتیب
	انحراف معیار ± میانگین	انحراف معیار ± میانگین	انحراف معیار ± میانگین	
ارتفاع گیاه (سانتی‌متر)	۱۲/۴۵ ± ۲/۱۴ <sup>b</sup>	۱۸/۱۵ ± ۳/۷۳ <sup>a</sup>	۹/۶۰ ± ۲/۳۰ <sup>c</sup>	+ ۲/۸۵ - ۸/۵۵
طول ریشه (سانتی‌متر)	۹/۱۰ ± ۱/۶۸ <sup>a</sup>	۹/۶۵ ± ۲/۰۱ <sup>a</sup>	۶/۰۵ ± ۱/۴۷ <sup>b</sup>	+ ۳/۰۵ - ۳/۶۰
وزن تر هوایی (میلی‌گرم)	۵۸۱/۹۰ ± ۸۸/۸۹ <sup>a</sup>	۵۴۶/۸۰ ± ۸۹/۰۹ <sup>a</sup>	۱۶۳/۲۰ ± ۲۰/۳۰	+ ۴۱۸/۷۰ - ۳۸۳/۶۰
وزن تر ریشه (میلی‌گرم)	۳۰۴/۲۵ ± ۶۱/۷۷ <sup>a</sup>	۲۹۴/۲۵ ± ۵۹/۶۳ <sup>a</sup>	۲۳/۰۰ ± ۵/۵۹ <sup>b</sup>	+ ۲۸۱/۲۵ - ۲۷۱/۲۵
تعداد گره	۲۰/۳۰ ± ۳/۱۰ <sup>a</sup>	۱۹/۷۰ ± ۳/۸۵ <sup>a</sup>	۱۲/۳۰ ± ۲/۲۵ <sup>b</sup>	+ ۸/۰۰ - ۷/۴۰

میانگین‌هایی که در هر ردیف با حروف مشترک نشان داده شده‌اند در آزمون دانکن با یکدیگر اختلاف معنی‌دار ندارند (p < ۰/۰۱).

تکثیر گیاهان می‌باشد [۳۰]. نقش هورمون‌های گیاهی و برهم کنش آنها در کشت بافت به اثبات رسیده است. هورمون‌های گیاهی از قبیل اکسین و سیتوکینین نقش بسیار مشخصی در ریز ازدیادی دارند. کوداسیونی و لیسین (۱۹۷۸) با استفاده از اکسین در *Mentha viridis* باعث تکثیر جوانه‌ها و شاخه‌ها شدند [۳۱]. همچنین اثر مشابهی از اکسین روی *Mentha spp.* مشاهده شده است [۳۲]. محققان بسیار زیادی از اکسین در ریز ازدیادی استفاده کرده‌اند [۳۳، ۳۴، ۳۵]. علاوه بر اکسین، سیتوکینین نیز نقش بسیار مهمی در ریز ازدیادی دارد و توسط محققان زیادی در گیاهان مختلف مورد استفاده قرار گرفته است [۳۶، ۳۷].

در آزمایش اول که تأثیر هورمونی روی گیاهان مذکور ارزیابی شد. مناسب‌ترین هورمون روی نعنای IBA و روی آویشن IAA مشاهده شد. با افزایش غلظت هورمون رشد کمتری دیده شد. این نتایج با مطالعات رودو و دوویدووا (۱۹۸۷) در استفاده از IBA و جیبرلین به مقدار ۰/۱ میلی‌گرم در لیتر جهت تکثیر مریستم نعنای مطابقت دارد [۳۸].

گرفتند. رشد گیاهان تلقیح شده با قارچ به طور معنی‌داری افزایش پیدا کرد (شکل شماره ۲). ارتفاع گیاه و طول ریشه در گیاهان تلقیح شده با قارچ *S. vermifera*، به ترتیب ۱۹ و ۷۲ درصد بیشتر از شاهد، همچنین ۱۷ و ۷ درصد بیشتر از قارچ *P. indica* مشاهده شد. قارچ *P. indica* بیشترین افزایش وزن تر هوایی را باعث شد و کمترین وزن تر هوایی در شاهد دیده شد. قارچ‌های *P. indica* و *S. vermifera* وزن تر ریشه را به ترتیب ۲۴۷ و ۲۰۵ درصد در مقایسه با تیمار شاهد افزایش دادند. علاوه بر این تعداد شاخه در گیاهان تلقیح شده با قارچ‌های *P. indica* و *S. vermifera* به ترتیب ۱۰۲ و ۹۵ درصد در مقایسه با شاهد افزایش می‌یافت (جدول شماره ۳).

## بحث

ریز ازدیادی گونه‌های زیادی از گیاهان از قبیل گیاهان دارویی در چندین دهه اخیر انجام شده است [۲۸، ۲۹]. کشت گیاهان از طریق مریستم و جوانه‌های جانبی راهی آسان برای





شکل شماره ۲- تأثیر قارچ‌های *P. indica* و *S. vermifera* روی رشد گیاه آویشن (*T. vulgaris*) در شرایط درون شیشه‌ای.  
(P = *Piriformospora indica*, S = *Sebacina vermifera* and C = control)

جدول شماره ۳ - تأثیر قارچ‌های *P. indica* و *S. vermifera* روی ارتفاع گیاه، طول ریشه، وزن تر (هوایی و ریشه) و تعداد شاخه در آویشن (*T. vulgaris*)

پارامتر	<i>P. indica</i>	<i>S. vermifera</i>	شاهد	اختلاف میانگین میان تیمارها و شاهد، به ترتیب
	انحراف معیار $\pm$ میانگین	انحراف معیار $\pm$ میانگین	انحراف معیار $\pm$ میانگین	
ارتفاع گیاه (سانتی‌متر)	۶/۱۰ $\pm$ ۱/۳۳ <sup>ab</sup>	۷/۱۵ $\pm$ ۱/۲۳ <sup>a</sup>	۶/۰۰ $\pm$ ۱/۲۱ <sup>b</sup>	+ ۰/۱۰ - ۱/۱۵
طول ریشه (سانتی‌متر)	۲/۹۰ $\pm$ ۰/۸۵ <sup>a</sup>	۳/۱۰ $\pm$ ۰/۷۹ <sup>a</sup>	۱/۸۰ $\pm$ ۰/۵۲ <sup>b</sup>	+ ۰/۱۰ - ۱/۳۰
وزن تر هوایی (میلی‌گرم)	۴۲۰/۶۵ $\pm$ ۹۸/۴۶ <sup>a</sup>	۴۱۱/۸۵ $\pm$ ۹۲/۳۸ <sup>a</sup>	۱۳۰/۹۵ $\pm$ ۱۷/۳۶ <sup>b</sup>	+ ۲۸۹/۷۰ - ۲۸۰/۹۰
وزن تر ریشه (میلی‌گرم)	۱۷۹/۰۰ $\pm$ ۲۰/۳۵ <sup>a</sup>	۱۵۷/۳۵ $\pm$ ۱۷/۱۳ <sup>b</sup>	۵۱/۵۵ $\pm$ ۱۹/۰۹ <sup>c</sup>	+ ۱۲۷/۴۵ - ۱۰۵/۸۰
تعداد شاخه	۴/۱۵ $\pm$ ۰/۸۸ <sup>a</sup>	۴/۰۰ $\pm$ ۰/۷۹ <sup>a</sup>	۲/۰۵ $\pm$ ۰/۷۶ <sup>b</sup>	+ ۲/۱۰ - ۱/۹۵

میانگین‌هایی که در هر ردیف با حروف مشترک نشان داده شده‌اند در آزمون دانکن با یکدیگر اختلاف معنی‌دار ندارند ( $p < 0.01$ ).

افزایش رشد گیاهان می‌شود به اثبات رسیده است. کابلو و همکاران (۲۰۰۵) نشان دادند که قارچ میکوریز *Glomus mossae* رشد را در نعناع (*Mentha piperita*) افزایش می‌دهد [۴۲]. فریتاس و همکاران (۲۰۰۴) نشان دادند که تلقیح قارچ‌های میکوریز باعث توسعه و رشد گیاه نعناع (*Mentha arvensis*) می‌شود [۴۳]. سیلویرا و همکاران (۲۰۰۶) تأثیر سه میکوریز شامل *Glomus clarum*، *Glomus etunicatum* و *Acaulospora scrobiculata* را بر روی گونه *Mentha*

قارچ‌های متنوعی در سطح ریشه گیاهان استقرار می‌یابند و به وسیله تولید مواد افزایش‌دهنده رشد اثرات مثبتی را در گیاهان مجاور ایجاد می‌کنند [۳۹، ۴۰]. موسیاری و همکاران (۲۰۰۳) تأثیر قارچ اندوفیت را روی نعناع (*Mentha piperita*) در شرایط درون شیشه‌ای و گلخانه‌ای ارزیابی کرده و اعلام نمودند نعناع‌هایی که قارچ‌های اندوفیت را همراه داشتند هم از لحاظ اندازه و هم از لحاظ مقدار اسانس به گیاه‌های فاقد اندوفیت برتری دارند [۴۱]. اینکه قارچ‌های میکوریز باعث



اکسین (IAA) در محیط کشت مایع تولید می‌کند که تأثیر در افزایش رشد گیاه دارد [۴۵]. همچنین واداسری و همکاران (۲۰۰۸) گزارش کردند که این قارچ علاوه بر تولید مقدار کمی اکسین، مقدار فراوانی سیتوکینین تولید می‌کند که باعث افزایش انشعابات گیاه و رشد جوانه‌های جانبی می‌شود [۴۶]. نتایج ما با نتایج قیمیر و همکاران (۲۰۰۹) مطابقت دارد که آنها گزارش کردند *S. vermifera* موجب بهبود رشد و افزایش وزن *Panicum virgatum* می‌شود [۴۷]. فخر و همکاران (۲۰۱۰) گزارش کردند قارچ اندوفیت *P. indica* موجب افزایش رشد در گوجه‌فرنگی شد [۴۸]. در این مطالعات مشخص شد که تلقیح گیاهان با قارچ‌های *P. indica* و *S. vermifera* سبب تولید گیاهان بلندتر، افزایش طول ریشه و افزایش وزن می‌شود.

*piperita* ارزیابی کرده و مشخص شد که توسعه بخش‌های رویشی، وزن تر و خشک در گیاهان تلقیح شده افزایش می‌یابد [۴۴]. در آزمایش دوم، تلقیح قارچ‌های *P. indica* و *S. vermifera* در دو گیاه آویشن و نعناع باعث رشد بیشتر شد. *P. indica* در گونه‌های مختلفی از گیاهان باعث افزایش رشد می‌شود [۲۲، ۲۳]. قارچ‌های مذکور توانایی تولید سیتوکینین و اکسین را دارند. هورمون اکسین باعث افزایش طول ریشه و جذب بیشتر عناصر غذایی می‌شود که نتیجه آن بهبود رشد در قسمت‌های هوایی نعناع و آویشن است. هورمون سیتوکینین تولید شده توسط قارچ نیز موجب رشد جوانه‌های جانبی و به دنبال آن افزایش وزن تر و خشک هوایی می‌شود. به طوری که سیرنبرگ و همکاران (۲۰۰۷) گزارش کردند که *P. indica* مقداری

## منابع

1. Foster S. Peppermint, In *Botanical Series*; American Botanical Council: Austin, TX, *Mentha piperita* 1990; no 306.
2. Horne D, Holm M, Oberg C, Chao S and Young PG. Antimicrobial effects of essential oils on *Streptococcus pneumoniae*. *J. Essent Oil. Res.* 2001; 13: 387 – 92.
3. Chao SC, Young DG and Oberg CJ. Screening for inhibitory activity of essential oils oil selected bacteria, fungi and viruses. *J. Essent Oil Res.* 2000; 12: 639 – 49.
4. Bolton H, Fredrickson JK and Elliot LF. Microbial ecology of the rhizosphere. Microbial production of plant growth regulators. In *Soil microbial ecology. Applications in agricultural and environmental management*. F.B. Metting, Jr. (edit) Marcel Dekker, Inc., New York. 1993, pp: 27 - 63.
5. Arshad M and Frankenberger WT. Microbial production of plant growth regulators. In *Soil microbial ecology. Applications in agricultural and environmental management*. F.B. Metting, Jr. (edit.), Marcel Dekker, Inc., New York. 1993, pp: 307 - 43.
6. Salisbury FB and Ross C W. *Plant Physiology*. Wadsworth Publishing Company, Belmont, California. 1992.
7. Brundrett MC. Coevolution of roots and mycorrhizas of land plants. *New Phytol.* 2002; 154: 275 – 304.
8. Marschner H and Dell B. Nutrient uptake in mycorrhizal symbiosis. *Plant and Soil.* 1994; 159: 89 - 102.
9. Cooper KM. Physiology of VA mycorrhizal associations. In *VA Mycorrhiza* (Ed.): Powell CL and Bagyaraj DJ. 1984, pp: 155-186. CRC Press, Inc., Boca Raton, Florida. *Cooper, K. M. 1984. Physiology of VA mycorrhizal associations.* – In *VA Mycorrhiza* (C. L. Powell and D. J. Bagyaraj, eds), pp. 155–186. CRC Press, Boca



Raton, FL. .... Technology (G. H.Elkan, ed.), pp: 289 – 305.

10. Huang RS, Smith WK and Yost RE. Influence of vesicular arbuscular mycorrhizae on growth, water relation and leaf orientation in *Lcucaena Icucocephala* (Lam.) de wit. *New Phytol.* 1985; 99: 229 - 43.

11. Ellis JR, Larsen HJ and Boosalis MG. Drought resistance of wheat plants inoculated with vesicular mycorrhizae. *Plant and Soil.* 1985; 86: 369 - 78.

12. Dela Cruz RE. Status of Bio-reforestation in the Philippines. Paper presented during the pre-Workshop on Bio-Reforestation sponsored by IUFRO Japan, Bogor, Indonesia March. 1991; 25 - 9.

13. Abbott IK and Robson AD. The role of Vesicular-Arbuscular Mycorrhizal fungi in agriculture and the selection of fungi for inoculation. *Aust. J. Res.* 1982; 33: 389 - 408.

14. Harley JL and Smith SEMycorrhizal symbiosis. Academic Press, New York. 1983, p: 483.

15. Jeffries P, Gianinazzi S, Perotto S, Turnau K and Barea JM. The contribution of arbuscular mycorrhizal fungi in sustainable maintenance of plant health and soil fertility. *Biology and Fertility of Soils* 2003; 37: 1 - 16.

16. Gupta ML, Prasad A, Ram M and Kumar S. Effect of the vesicular-arbuscular mycorrhizal (VAM) fungus *Glomus fasciculatum* on the essential oil yield related characters and nutrient acquisition in the crop of different cultivars of menthol mint (*Mentha arvensis*) under field conditions. *Bioresource Technol.* 2002; 81: 77 - 9.

17. Verma S, Varma A, Rexer KH, Kost G, Sarbhoy A, Bisen P, Butehorn B and Franken P. *Piriformospora indica* gen. et sp. nov., a new root-colonizing fungus. *Mycologia.* 1998; 95: 896 – 903.

18. Warcup JH. Mycorrhizal associations of isolates of *Sebacina vermifera*. *New Phytol.* 1988; 110: 227 – 231.

19. Varma A, Verma S, Sudha N, Sahay S, Butehorn B and Franken P. *Piriformospora indica*, a cultivable plant growth-promoting root endophyte. *Appl. Environ. Microbiol.* 1999; 65: 2741 – 4.

20. Sahay NS and Varma A. *Piriformospora indica*: a new biological hardening tool for micropropagated plants. *FEMS Microbiol. Lett.* 1999; 181: 297 – 302.

21. Waller F, Achatz B, Baltruschat H, Fodor J, Becker K, Fischer M, Heier T, Heuckelhoven R, Neumann C, von Wettstein D, Franken P and Kogel KH. The endophytic fungus *Piriformospora indica* reprograms barley to salt-stress tolerance, disease resistance, and higher yield. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* 2005; 38: 13386 - 91.

22. Peskan-Berghoefer T, Shahollaria B, Giong PH, Hehl S, Markerta C, Blanke V, Kost G, Varma A and Oelmeuller R. Association of *Piriformospora indica* with *Arabidopsis thaliana* roots represents a novel system to study beneficial plant–microbe interactions and involves early plant protein modifications in the endoplasmatic reticulum and at the plasma membrane. *Physiol. Plant.* 2004; 122: 465 – 477.

23. Kumari R, Kishan H, Bhoon YK and Varma A. Colonization of cruciferous plants by *Piriformospora indica*. *Curr. Sci.* 2003; 85: 1672 – 4.

24. Prasad R, Bagde US, Puspangadan P and Varma A. *Bacopa monniera* L.: Pharmacological Aspects and Study Involving *Piriformospora indica*. *International Journal of Integrative Biology.* 2008; 3 (2): 100 - 10.

25. Rai M, Acharya D, Singh A and Varma A. Positive growth responses of the medicinal plants *Spilanthes calva* and *Withania somnifera* to



- inoculation by *Piriformospora indica* in a field trial. *Mycorrhiza*. 2001; 11: 123 – 8.
26. Murashige T and Skoog F. A revised medium for rapid growth and bioassays with tobacco tissue cultures. *Physiol. Plant*. 1962; 15: 473 – 97.
27. Kafer E. Meiotic and mitotic recombination in *Aspergillus* and its chromosomal aberrations. *Advances in Genetic*. 1977; 19: 33 - 131.
28. Murashige T. The impact of plant tissue culture on agriculture. In: Thorpe TA, editor. *Frontiers of Plant Tissue Culture*. Calgary: Univ. Offset Printing Service. 1978, pp: 15 – 26.
29. Skirvin RM, Chu MC and Young HJ. Rose. In: Ammirato PV, Evans DR, Sharp WR, Bajaj YPS, editors. *Handbook of Plant Cell Cultures*, Vol. 5. New York: MacMillan. 1990, pp: 716 – 43.
30. Hu CY and Wang PJ. Meristem, shoot-tip and bud culture. In: Evans DA, Wang WR, Ammirato PV, Yamada Y, editors. *Handbook of Plant Cell Culture*, Vol. 1. New York: MacMillan. 1983, pp: 177 – 277.
31. Codaccioni M and Laisne G. Influence de la composition du milieu sur la morphologie des plantes du *Mentha viridis* L. cultivate *in vitro*. *CR Acad. Sci*. 1978; 286 D: 29 – 32.
32. Rech EL and Pires JP. Tissue culture propagation of *Mentha* spp. by the use of axillary buds. *Plant Cell Reports*. 1986; 5: 17 – 8.
33. Mathur J and Ahuja PS. Plant regeneration from callus cultures of *Valeriana wallichii*. D.C. *Plant Cell Reports*. 1991; 9: 523 – 6.
34. Mathur J, Ahuja PS, Lal N and Mathur AK. Propagation of *Valeriana wallichii* D.C. using encapsulated apical and axial shoot buds. *Plant Sci*. 1989; 60: 111 – 6.
35. Mathur J, Ahuja PS, Mathur AK, Kukreja AK and Shah NC. *In vitro* propagation of *Valeriana wallichii*. D.C. *Plant Med*. 1988; 54: 82 – 3.
36. Handique PJ and Bora P. *In vitro* regeneration of a medicinal plant – *Houttuynia cordata* Thunb. from nodal explants. *Current Sci*. 1999; 76: 1245 – 7.
37. Lal N, Ahuja PS, Kukreja AK and Pandey B. Clonal propagation of *Picrorhiza kurroa* Royle ex Benth. By shoot tip culture. *Plant Cell Reports*. 1988; 7: 202 – 5.
38. Rodov VS and Dovidova OA. The propagation of mint by meristem culture. *Trudy - VNII - Efiromaslichnydh – Kultur*. 1987; 18: 78 - 83.
39. Hause B, Maier W, Miersch O, Kramell R and Strack D. Induction of jasmonate biosynthesis in arbuscular mycorrhizal barley roots. *Plant Physiol*. 2002; 130: 1213 – 20.
40. Clay K. The effect of the fungus *Atkinsonella hypoxylon* (Clavicipitaceae) on the reproductive system and demography of the grass *Danthonia spicata*. *New Phytologist*. 1984; 98: 165 – 75.
41. Mucciarelli M, Scannerini S, Berretea C and Maffei M. *In vitro* and *in vivo* peppermint (*Mentha piperita*) growth promotion by nonmycorrhizal fungal colonization. *New Phytologist*. 2003; 158: 579 - 91.
42. Cabello M, Irrazabal G, Bucsinszky AM, Saparrat M and Schalamuk S. Effect of an arbuscular mycorrhizal fungus, *Glomus mossae*, and a rock-phosphate-solubilizing fungus, *Penicillium thomii*, on *Mentha piperita* growth in a soilless medium. *J. Basic Microbiol*. 2005; 45 (3): 182 - 9.
43. Freitas MSM, Martins MA and Vieira IJC. Produção e qualidade de óleos essenciais de *Mentha arvensis* em resposta à inoculação de fungos micorrízicos arbusculares. *Pesquisa Agropecuária Brasileira, Brasília*. 2004; 39 (9): 887 - 94.
44. Silveira SV, Lorscheiter R, Barros IBI, Schwarz SF and Souza PVD. *Mentha piperita* as a multiplying of arbuscular mycorrhizal fungi. *Botucatu*. 2006; 8: 91 - 7.
45. Sirrenberg A, Gobel C, Grond S, Czempinski N, Ratzinger A, Karlovsky P, Santos P, Feussner I and Pawlowski K. *Piriformospora indica* affects plant growth by auxin production. *Physiologia*



*Plantarum*. 2007; 131: 581 – 9.

**46.** Vadassery J, Ritter C, Venus Y, Camehl I, Varma A, Shahollari B, Novak O, Strnad M, Ludwig-Muller J and Oelmuller R. The Role of Auxins and Cytokinins in the Mutualistic Interaction Between *Arabidopsis* and *Piriformospora indica*. *Molecular Plant-Microb interactions*. 2008; 21 (10): 1371 – 83.

**47.** Ghimire SR, Charlton ND and Craven KD.

The Mycorrhizal Fungus, *Sebacina vermifera*, Enhances Seed Germination and Biomass Production in Switchgrass (*Panicum virgatum* L). *Bioenerg. Res.* 2009; 2: 51 – 8.

**48.** Fakhro A, Andrade-Linares DR, Barga S, Bandte M, Buttner C, Grosch R, Schwarz D and Franken P. Impact of *Piriformospora indica* on tomato growth and on interaction with fungal and viral pathogens. *Mycorrhiza*. 2010; 20: 191 – 200.

