University of Tehran Press

Journal of Crops Improvement

Online ISSN: 2345-6957

Homepage: https://jci.ut.ac.ir/

The effect of *Trichoderma harzianum* on the antioxidative traits of *Ocimum basilicum* L. under different irrigation regimes

Mina Amani[1] | Saeideh Alizadeh-Salteh[2]✉ | Mohsen Sabzi-Nojadeh[3] | Mehdi Younessi-Hamzekhanlu[4]

1. Department of Horticultural Science and Engineering, Faculty of Agriculture, University of Tabriz, Tabriz, Iran. E-mail: mina.amani98@ms.tabrizu.ac.ir
2. Corresponding Author, Department of Horticultural Science and Engineering, Orientation of Medicinal Plants, Faculty of Agriculture, University of Tabriz, Tabriz, Iran. E-mail: s.alizadeh@tabriu.ac.ir
3. Department of Horticultural Science and Engineering, Ahar Faculty of Agriculture and Natural Resources, University of Tabriz, Tabriz, Iran. E-mail: m.sabzi@tabrizu.ac.ir
4. Department of Horticultural Science and Engineering, Ahar Faculty of Agriculture and Natural Resources, University of Tabriz, Tabriz, Iran. E-mail: myounessi@tabrizu.ac.ir

Article Info

Article type:
Research Article

Article history:
Received 18 July 2022
Received in revised form
10 April 2023
Accepted 8 July 2023
Published online
20 September 2023

Keywords:
Antioxidant activity
Medicinal plants
Total Phenol
Total Flavonoid
Water deficit stress

ABSTRACT

Objective: Taking advantage of the symbiotic relationship between plants and Trichoderma fungi is one of the ways to reduce water stress in plants. The present study was conducted in order to investigate the effect of Trichoderma fungus on the antioxidant properties of the basil medicinal plant (*Ocimum basilicum* L.) under water stress conditions.

Methods: This experiment was carried out in the greenhouse of the Department of Horticulture Sciences of Ahar Faculty of Agriculture and Natural Resources and laboratory studies in the basic and general laboratories of Ahar Faculty of Agriculture and Natural Resources (University of Tabriz) in 2019 in a factorial manner based on a randomized complete block design with three repetitions. The treatments included different levels of water deficit stress, including severe stress (25% of field capacity), moderate stress (50% of field capacity), mild stress (75% of field capacity), and no stress (100% of field capacity). Each pot contained a commercial mushroom species Trichoderma harzianum Na-lac with concentrations of 10^9 and 10^6 spores per milliliter as the inoculum.

Results: The results showed that the amount of malondialdehyde, catalase and peroxidase, antioxidant activity and total flavonoid increased with the application of dehydration stress. The concentration of 106 spores per milliliter had a better impact on improving the mentioned indicators. Based on this, Trichoderma fungus proves effective when improving the antioxidant status of plants under drought stress and can prevent the effects of oxidative stress in plants by reducing the oxygen free radicals produced.

Conclusion: The results indicated that the use of Trichoderma mushroom in comparison with the control (without inoculation with the mushroom) can be a suitable tool to improve the physiological traits and antioxidant activities in the conditions drought stress.

Cite this article: Amani, M., Alizadeh-Salteh, S., Sabzi-Nojadeh, M., & Younessi-Hamzekhanlu, M. (2023). The effect of *Trichoderma harzianum* on the antioxidative traits of *Ocimum basilicum* L. under different irrigation regimes. *Journal of Crops Improvement*, 25 (3), 719-735. DOI: https://doi.org/10.22059/jci.2023.345935.2730

© The Authors.
Publisher: University of Tehran Press.
DOI: https://doi.org/10.22059/jci.2023.345935.2730

انتشارات دانشگاه تهران

به زراعی کشاورزی

Homepage: https://jci.ut.ac.ir/

شاپا الکترونیکی: ۶۹۵۷-۲۳۴۵

اثر قارچ تریکودرما بر برخی خواص بیوشیمیایی گیاه دارویی ریحان در شرایط رژیم‌های مختلف آبیاری

مینا امانی[۱]| سعیده علیزاده سالطه[۲]✉| محسن سبزی نوجه‌ده[۳]| مهدی یونسی حمزه‌خانلو[۳]

۱. گروه علوم و مهندسی باغبانی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه تبریز، تبریز، ایران. رایانامه: mina.amani98@ms.tabrizu.ac.ir

۲. نویسنده مسئول، گروه علوم و مهندسی باغبانی، گرایش گیاهان دارویی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه تبریز، تبریز، ایران. رایانامه: s.alizadeh@tabriu.ac.ir

۳. گروه علوم و مهندسی باغبانی، دانشکده کشاورزی و منابع طبیعی اهر، دانشگاه تبریز، تبریز، ایران. رایانامه: m.sabzi@tabrizu.ac.ir

۴. گروه علوم و مهندسی باغبانی، دانشکده کشاورزی و منابع طبیعی اهر، دانشگاه تبریز، تبریز، ایران. رایانامه: myounessi@tabrizu.ac.ir

اطلاعات مقاله

نوع مقاله:
مقالهٔ پژوهشی

تاریخ دریافت: ۱۴۰۱/۰۴/۲۷
تاریخ بازنگری: ۱۴۰۲/۰۱/۲۱
تاریخ پذیرش: ۱۴۰۲/۰۴/۱۷
تاریخ انتشار: ۱۴۰۲/۰۶/۲۹

کلیدواژه‌ها:
تنش کمبود آب
فعالیت آنتی‌اکسیدانی
فلاونوئیدکل
فنل‌کل
گیاهان دارویی

چکیده

هدف: بهره‌گیری از رابطه همزیستی گیاه با قارچ‌های تریکودرما یکی از راه‌کارهای کاهش تنش کم‌آبی در گیاهان به‌شمار می‌رود. پژوهش حاضر به‌منظور بررسی تأثیر قارچ تریکودرما بر ویژگی‌های آنتی‌اکسیدانی گیاه دارویی ریحان (*Ocimum basilicum* L.) در شرایط تنش کم‌آبی انجام شد.

روش پژوهش: این آزمایش در گلخانه گروه علوم باغبانی دانشکده کشاورزی و منابع طبیعی اهر و مطالعات آزمایشگاهی نیز در آزمایشگاه‌های پایه و عمومی دانشکده کشاورزی و منابع طبیعی اهر (دانشگاه تبریز) در سال ۱۳۹۹ به‌صورت فاکتوریل بر پایه طرح بلوک‌های کامل تصادفی با سه تکرار انجام گرفت. تیمارها شامل سطوح مختلف تنش کمبود آب شامل تنش شدید (۲۵ درصد ظرفیت مزرعه‌ای)، تنش متوسط (۵۰ درصد ظرفیت مزرعه‌ای)، تنش ملایم (۷۵ درصد ظرفیت مزرعه‌ای) و بدون تنش (شاهد) هر یک از گلدان‌ها و یک گونه تجاری قارچ *Trichoderma harzianum* Na-lac با غلظت‌های 10^9 و 10^6 اسپور در هر میلی‌لیتر مایه تلقیح بود.

یافته‌ها: نتایج نشان داد که با اعمال تنش کم‌آبی میزان مالون‌دی‌آلدهید، آنزیم کاتالاز و پراکسیداز، فعالیت آنتی‌اکسیدانی و فلاونوئید کل افزایش یافت. غلظت 10^6 اسپور در هر میلی‌لیتر تأثیر بهتری بر بهبود شاخص‌های مذکور داشت.

نتیجه‌گیری: استفاده از قارچ تریکودرما در مقایسه با شاهد (بدون تلقیح با قارچ) می‌تواند ابزار مناسبی برای بهبود صفات فیزیولوژیکی و فعالیت‌های آنتی‌اکسیدانی در شرایط تنش کم‌آبی باشد.

استناد: امانی، مینا؛ علیزاده سالطه، سعیده؛ سبزی نوجه‌ده، محسن؛ و یونسی حمزه‌خانلو، مهدی (۱۴۰۲). اثر قارچ تریکودرما بر برخی خواص بیوشیمیایی گیاه دارویی ریحان در شرایط رژیم‌های مختلف آبیاری. *به‌زراعی کشاورزی*، ۲۵ (۳)، ۷۱۹-۷۳۵. DOI: https://doi.org/10.22059/jci.2023.345935.2730

ناشر: مؤسسه انتشارات دانشگاه تهران.

© نویسندگان.

CC BY NC

۱. مقدمه

کمبود آب یکی از عوامل محدودکننده رشد و عملکرد گیاهان می‌باشد که به‌ویژه در مناطق خشک و نیمه‌خشک جهان از جمله ایران به طرق مختلف باعث محدودیت کاشت گیاهان زراعی و کاهش عملکرد محصول می‌شود. محدودیت منابع آب، توزیع نامناسب بارش سالیانه در طول فصل رشد و عدم مدیریت صحیح منابع آب موجود، باعث افت شدید عملکرد محصولات زراعی می‌شود. کمبود آب با تأثیر بر آماس سلولی در نتیجه باز و بسته‌شدن روزنه‌ها، تنفس و تعرق را تحت تأثیر قرار داده و از طرف دیگر با تأثیر بر فرایندهای آنزیمی که به‌طور مستقیم با پتانسیل آب کنترل می‌شوند، بر رشد گیاه اثر منفی می‌گذارد (Amini *et al*., 2020). گزارش‌های متعددی مبنی بر اثر کمبود آب از ملایم تا شدید در رابطه با مختل‌شدن فرایندهای فیزیولوژیکی گیاهان و تغییر در متابولیسم کربوهیدرات‌ها، تغییر در ساختمان پروتئین‌ها و فعالیت آنزیم‌ها ارائه شده است (Ahmad *et al*., 2014). با توجه به موارد گفته‌شده، پژوهش‌گران به‌دنبال راه‌کارهایی جهت مقابله با تنش‌های محیطی ازجمله تنش کم‌آبی می‌باشند (Daszkowska-Golec & Szarejko, 2013). در این راستا، گزارش‌ها حاکی از آن است که برخی از میکروارگانیسم‌های خاک می‌توانند با گیاهان روابط همزیستی برقرار کرده و در شرایط تنش از اثرات مخرب آن‌ها بکاهند (Rahmatzadeh & Kazemitabar, 2013).

از عوامل مهم بیولوژیک مورداستفاده توسط پژوهش‌گران در زمینه کشاورزی پایدار می‌توان به قارچ‌های اِندوفایتیک ازجمله جنس تریکودرما اشاره کرد (خوش‌منظر، ۱۳۹۴). گونه‌های مختلف قارچ تریکودرما از میکروارگانیسم‌های فراوان در دامنه پهناوری از اکوسیستم‌ها و مناطق مختلف آب‌وهوایی جهان هستند (Nzanza *et al*., 2012). این گونه‌های قارچی از مکانیسم‌های مختلفی برای مقابله با تنش‌های محیطی و بیمارگرهای گیاهی برخوردارند که از آن جمله می‌توان افزایش مقاومت گیاه و فعال‌کردن واکنش‌های دفاعی، تحریک رشد گیاه، تنظیم و القای فاکتورهای رشد گیاه را نام برد (Li *et al*., 2018).

۲. پیشینه پژوهش

قارچ‌های تریکودرما باعث آزادشدن عناصر مهمی ازجمله آهن، منیزیم، فسفر، مس و ... در خاک می‌گردد و در مواردی دیده شده است که باعث کلاته‌شدن آهن در خاک می‌گردد (Azarmi *et al*., 2011). برخی از گزارش‌ها حاکی از آن است که قارچ‌های تریکودرما توانایی قابل‌توجهی در افزایش ریشه‌زایی در ریشه‌های فرعی گیاهان و در نهایت افزایش سهولت جذب آب و مواد غذایی و تحمل گیاه در برابر تنش‌های محیطی را دارند (Asaduzzaman *et al*., 2010). در آزمایشی نشان داده شد که کلونیزاسیون نهال‌های کاکائو توسط تریکودرما منجر به تأخیر در بسیاری از جنبه‌های پاسخ به کم‌آبی شد. در این روش افزایش رشد ریشه و بهبود وضعیت آب گیاه سبب می‌شود تا گیاهچه‌های کاکائو تنش کمبود آب را بهتر تحمل کنند (Haq *et al*., 2014). هم‌چنین مشاهده شد که قارچ تریکودرما سطح تنش را به‌طور قابل‌توجهی به‌وسیله مسیرهای فیزیولوژیکی مختلف کاهش می‌دهند. نتایج مشابهی نیز برای تحمل به کم‌آبی توسط تریکودرما در درخت کاکائو[1] گزارش شده است (Shukla *et al*., 2012). Subramanian *et al*. (2006) مشاهده نمودند که تلقیح با قارچ، صفات فیزیولوژیکی گیاهان را از طریق افزایش میزان مواد فتوسنتزی، تغییر در جریان مواد فتوسنتزی در ساقه‌ها و ریشه‌ها و نیز تأثیر بر جذب عناصر معدنی از خاک تحت تأثیر قرار می‌دهد.

با مشاهده تأثیر مثبت این قارچ‌ها در افزایش جذب عناصرغذایی از خاک، بهبودبخشیدن به روابط آبی گیاه، افزایش

1. *Teobroma cacao*

راندمان مصرف آب در گیاه و در نهایت بالابردن مقاومت گیاه به تنش‌های کمبود آب از یک طرف و از طرف دیگر وجود بحران آب در کشورهای مختلف، پژوهش‌گران را بر آن داشته تا این جنبه از رابطه همزیستی به‌وجودآمده بین گیاه میزبان و قارچ تریکودرما را بیش از پیش موردبررسی قرار دهند. لذا با توجه به محدودیت منابع آبی در کشور، به‌نظر می‌رسد به‌کارگیری قارچ‌های تریکودرما کارایی تولید گیاهان دارویی مثل ریحان را در مقابله با تنش کمبود آب بهبود دهد. بنابراین هدف از مطالعه حاضر، ارزیابی برخی از خواص بیوشیمیایی گیاه دارویی ریحان در شرایط گلخانه‌ای تحت تأثیر تنش کم‌آبی به‌همراه گونه تجاری قارچ تریکودرما می‌باشد.

۳. روش‌شناسی پژوهش

در این پژوهش به‌منظور بررسی تأثیر تنش کمبود آب به‌همراه یک گونه تجاری قارچ تریکودرما روی صفات فیزیولوژیکی در گیاه دارویی ریحان بنفش رقم محلی استان آذربایجان‌شرقی، شهرستان اهر، آزمایشی به‌صورت فاکتوریل بر پایه طرح بلوک‌های کامل تصادفی با سه تکرار اجرا شد. فاکتورهای موردبررسی شامل تنش رطوبتی و قارچ تریکودرما بودند که تنش کمبود آب شامل چهار سطح ۲۵، ۵۰، ۷۵ و ۱۰۰ درصد ظرفیت مزرعه‌ای و گونه تجاری قارچ تریکودرما (*Trichoderma harzianum* Na-lac) با غلظت $۱۰^{۶}$ و $۱۰^{۹}$ اسپور در هر لیتر مایه تلقیح و تیمار شاهد (بدون تلقیح قارچ تریکودرما) بود.

۳. ۱. تکثیر تریکودرما

برای تکثیر قارچ تریکودرما اینوکلوم اولیه قارچ *T. harzianum* از گروه گیاهپزشکی دانشکده کشاورزی دانشگاه تبریز تهیه شد. نمونه‌های تهیه شده قارچ تریکودرما جهت استفاده در محیط آزمایشگاهی به محیط کشت استریل جامد سیب‌زمینی دکستروز آگار[1] (PDA) انتقال داده شد. پس از یک هفته انکوباسیون در دمای ۲۵ درجه سانتی‌گراد، از آن‌ها جهت تهیه سوسپانسیون قارچی استفاده شد. حجم مشخصی از این سوسپانسیون بر روی لام هماتوسیتومتر قرار گرفت و شمارش اسپور و تراکم جمعیت قارچی در این سوسپانسیون $۱۰^{۶}$ و $۱۰^{۹}$ اسپور در هر میلی‌لیتر تنظیم شد. جهت اضافه کردن این جمعیت قارچی به گلدان‌ها از سبوس گندم استفاده شد. از زادمایه‌های آماده‌شده برای هر جدایه قارچی به میزان ۳۰ گرم در هر گلدان استفاده شد (محسن‌زاده و همکاران، ۱۳۹۵).

۳. ۲. آماده‌سازی بذور جهت کشت

به‌منظور ضدعفونی بذور و جلوگیری از آلودگی‌های احتمالی قارچی، بذرها به‌مدت دو تا سه دقیقه در محلول هیپوکلریت‌سدیم یک درصد قرار داده شد و سپس با آب مقطر شست‌وشو داده شدند. هم‌چنین برای کشت بذور ریحان، جهت اطمینان از قدرت جوانه‌زنی بذرها تست جوانه‌زنی روی آن‌ها انجام گرفت.

۳. ۳. نحوه کشت و تلقیح با قارچ

برای کشت از گلدان‌های استریل هفت کیلویی با قطر دهانه ۳۰ سانتی‌متر و ارتفاع ۲۱/۵ سانتی‌متر استفاده شد. به‌منظور کاشت بذرها، ابتدا دوسوم حجم گلدان با خاک پر شد، سپس ۳۰ گرم از مایه تلقیح روی سطح خاک پخش گردید.

1. Potato Dextrose Agar

درنهایت به اندازه چهار سانتی‌متر خاک روی آن اضافه شده و کشت بذرها به تعداد ۱۵ عدد انجام شد. در پایان یک سانتی‌متر خاک روی بذرها ریخته شد. اولین آبیاری بلافاصله بعد از کشت انجام پذیرفت. جوانه‌زنی بذرها در محیط گلخانه در دمای ۲۵ درجه سانتی‌گراد بعد از گذشت ۱۰ روز آغاز گردید. در مرحله شروع گلدهی، تنش کمبود آب در سه سطح ۲۵، ۵۰ و ۷۵ درصد ظرفیت مزرعه‌ای و تیمار شاهد تا سه هفته بعد از آن اعمال شد. براساس بررسی منابع قبلی (رحیمی و همکاران، ۱۳۹۸) که انجام شده بود که تحمل تنش ۲۵ درصد ظرفیت مزرعه‌ای برای گیاه ریحان بسیار مشکل و تنش‌زا بود و با بروز نشانه‌های بسیار مختصری از پلاسیدگی برگ‌ها، به‌نظر می‌رسید که با ادامه تنش، گیاه دچار مرگ شود. به‌همین‌دلیل در طول این سه هفته در هر زمانی که مشاهده می‌شد که گیاه توان تحمل تنش شدید را ندارد، همه تیمارهای تنش کم‌آبی به‌مدت یک یا دو روز متوقف می‌شد و آبیاری در حد ظرفیت زراعی انجام می‌شد تا گیاهان خود را بازیابی کنند و دوباره اعمال تیمارها ادامه پیدا می‌کرد. اعمال تنش کم‌آبی به این‌صورت بود که گلدان‌ها به‌صورت روزانه توزین می‌شدند و نقصان رطوبتی در هر تیمار با آبیاری گلدان‌ها تا رسیدن به سطح تیمار موردنظر برطرف می‌شد. پس از اعمال تنش، نمونه‌برداری و اندازه‌گیری صفات در مرحله تمام گل صورت پذیرفت (رحیمی و همکاران، ۱۳۹۸).

۳. ۴. صفات مورد اندازه‌گیری

پس از رسیدن گیاهان به دوره کامل گلدهی، صفات مختلف شامل فنل و فلاونوئیدکل، مالون‌دی‌آلدهید، فعالیت آنتی‌اکسیدانی، آنزیم کاتالاز و پراکسیداز در تمامی بوته‌های گلدان‌ها اندازه‌گیری شد.

اندازه‌گیری فنل‌کل، طبق روش Du *et al.* (2009) و با استفاده از معرف فولین سیوکالتیو در طیف جذبی ۷۶۵ نانومتر در دستگاه اسپکتروفتومتر (SU6100, Philler Scientific, USA) انجام شد. برای انجام این کار، ابتدا مقدار ۲۰۰ میکرولیتر عصاره استخراج شده با متانول با ۲۰۰ میکرولیتر فولین ۱۰ درصد مخلوط شد. پس از قراردادن به‌مدت ۱۰–۵ دقیقه در دمای اتاق، ۶۰۰ میکرولیتر کربنات‌سدیم (۷/۵ گرم در میلی‌لیتر) به محلول حاصل اضافه شد. پس از دو ساعت نگهداری در تاریکی و دمای اتاق، میزان جذب عصاره نمونه‌ها در طول موج ۷۶۵ نانومتر توسط دستگاه اسپکتروفتومتر قرائت شد. قبل از قرائت میزان جذب استاندارد گالیک‌اسید و نمونه‌ها، محلول صفر که شامل ۱۰۰ میکرولیتر حلال استخراج (متانول)، یک میلی‌لیتر آب مقطر، ۱۰۰ میکرولیتر فولین ۱۰ درصد و ۳۰۰ میکرولیتر کربنات‌سدیم بود، تهیه و دستگاه با آن کالیبره شد. در نهایت میزان فنل‌کل از روی میزان جذب نمونه و نمونه‌های استاندارد برحسب میلی‌گرم گالیک‌اسید در ۱۰۰ گرم وزن تر محاسبه گردید.

محتوای فلاونوئید کل عصاره‌ها با استفاده از روش Nugraha *et al.* (2022) به روش رنگ‌سنجی کلریدآلومینیوم اندازه‌گیری شد. برای این منظور، روی ۲۰۰ میکرولیتر از عصاره استخراج‌شده با متانول، ۴۰ میکرولیتر کلریدآلومینیوم ۱۰ درصد، ۴۰ میکرولیتر استات‌پتاسیم یک مولار و ۱/۱۲۰ میلی‌لیتر آب مقطر اضافه شد. پس از ۴۰ دقیقه نگهداری در دمای اتاق، میزان جذب عصاره نمونه‌ها در طول‌موج ۴۱۵ نانومتر توسط دستگاه اسپکتروفتومتر قرائت شد. محلول بلانک نیز حاوی تمام ترکیبات ذکرشده در بالا بود، اما به‌جای عصاره، ۲۰۰ میکرولیتر متانول ۸۰ درصد به آن اضافه شد. برای به‌دست‌آوردن منحنی کالیبراسیون از کوئرستین به‌عنوان استاندارد استفاده شد. مقدار فلاونوئید نمونه‌ها به‌صورت میلی‌گرم کوئرستین در ۱۰۰ گرم وزن تر گیاه گزارش گردید. اصول روش رنگ‌سنجی آلومینیوم‌کلرید، تشکیل کمپلکس‌های اسیدی آلومینیوم‌کلرید با گروه کتو و یا گروه هیدروکسیل فلاونوئیدها است که کوئرستین بیش‌ترین جذب را در طول‌موج ۴۱۵ نانومتر دارد.

برای اندازه‌گیری فعالیت آنتی‌اکسیدانی از خاصیت خنثی‌کنندگی رادیکال آزاد DPPH[1] استفاده شد (Dehghan & Khoshkam, 2012). بدین‌منظور ابتدا محلول DPPH، ۵۰۰ میکرومولار (۰/۰۱۹۷ گرم از پودر DPPH را وزن کرده و با متانول ۸۰ درصد به حجم ۱۰۰ میلی‌لیتر رسانده شد) تهیه و سپس برای هر نمونه، میزان ۱۰۰ میکرولیتر از عصاره استخراج‌شده با متانول برداشته و در لوله فالکون ریخته شد. پس از آن به میزان ۹۰۰ میکرولیتر از محلول DPPH یادشده به آن اضافه شد. سپس نمونه‌ها به‌مدت نیم ساعت در محیط تاریک، روی شیکر با ۱۲۰ دور در دقیقه قرار گرفته و درنهایت جذب آن‌ها در طول موج ۵۱۷ نانومتر با استفاده از دستگاه اسپکتروفتومتر قرائت شد. از متانول ۸۰ درصد برای صفرکردن دستگاه و از محلول DPPH به‌عنوان محلول کنترل استفاده شد. برای مقایسه جذب نمونه‌ها از محلولDPPH حاوی عصاره گیاهی به مرور زمان کم شده و مقدار جذب آن در مقایسه با محلول DPPH کاهش می‌یابد. هرچقدر قدرت آنتی‌اکسیدانی عصاره‌ها بیش‌تر باشد کاهش رنگ نیز بیش‌تر خواهد بود. درنهایت فعالیت آنتی‌اکسیدانی عصاره‌ها به صورت درصد بازدارندگی DPPH با استفاده از رابطه (۱) محاسبه گردید.

$$\%IC50 = (Abs\ control-Abs\ sample) / (Abs\ control) \times 100 \quad \text{رابطه ۱)}$$

در این رابطه، IC50% درصد بازدارندگی DPPH (غلظتی که در آن ۵۰ درصد رادیکال DPPH مهار می‌شود)، Abs control میزان جذب DPPH و Abs sample میزان جذب (نمونه+ DPPH) می‌باشد.

اندازه‌گیری میزان پراکسیداسیون لیپیدهای غشایی با استفاده از روش اندازه‌گیری میزان پراکسیداسیون لیپیدهای غشایی با استفاده از روش Zheng *et al.* (2005)، به‌وسیله تست تیوباربیتوریک‌اسید با سنجش میزان مالون‌دی‌آلدهید انجام شد. طبق این روش ۰/۲ گرم از بافت گیاه در هاون چینی حاوی ۱/۵ میلی‌لیتر تری‌کلرواستیک‌اسید ۰/۱ درصد هموژن شد. مخلوط حاصل به‌مدت سه دقیقه در ۱۳۰۰ دور در دقیقه سانتریفیوژ شد. به یک میلی‌لیتر از محلول رویی حاصل از سانتریفیوژ، ۱/۵ میلی‌لیتر محلول تری‌کلرواستیک‌اسید ۲۰ درصد که حاوی ۰/۵ درصد تیوباربیتوریک‌اسید بود، اضافه شد. مخلوط حاصل به‌مدت ۳۰ دقیقه در دمای ۹۵ درجه سانتی‌گراد در بن‌ماری قرار داده شد. سپس مخلوط حاصل بلافاصله در یخ، سرد شد و بعد از آن به‌مدت سه دقیقه در ۱۳۰۰ دور در دقیقه سانتریفیوژ شد. شدت جذب مایع شفاف رویی با استفاده از اسپکتروفتومتر در طول موج ۵۳۲ نانومتر خوانده شد. ماده موردنظر برای جذب در این طول موج، کمپلکس قرمز MDA-TBA است. جذب بقیه رنگیزه‌های غیراختصاصی در ۶۰۰ نانومتر تعیین و از این مقدار کسر گردید. میزان مالون‌دی‌آلدهید با اعمال ضریب خاموشی معادل $155 mM^{-1}cm^{-1}$ طبق رابطه (۲) محاسبه شد. در نهایت غلظت مالون‌دی‌آلدهید نمونه‌ها برحسب نانومتر بر گرم وزن تر محاسبه شد.

$$MDA = (A_{532}-A_{600}) / (155\times1000) \quad \text{رابطه ۲)}$$

که در آن، A میزان جذب در طول موج‌های ۵۳۲ و ۶۰۰ نانومتر می‌باشد.

سنجش فعالیت آنزیم پراکسیداز با استفاده از گایاکول و اندازه‌گیری میزان جذب تتراگایاکول تشکیل‌شده از آن در نتیجه فعالیت پراکسیداز در ۴۷۰ نانومتر و با استفاده از روش Zhang *et al.* (2013) انجام گرفت. بدین منظور ۵۰ میکرولیتر عصاره آنزیمی به مخلوط واکنش، حاوی ۱۵۰۰ میکرولیتر بافر پتاسیم فسفات ۵۰ میلی‌مولار (pH=۷)، ۳۰۰ میکرولیتر EDTA ۰/۱ میلی‌مولار، ۶۰۰ میکرولیتر گایاکول پنج میلی‌مولار و ۱۰۰ میکرولیتر پراکسید هیدروژن ۱۵ میلی‌مولار اضافه شده و جذب نور در طول‌موج ۴۷۰ نانومتر با دستگاه اسپکتروفتومتر در دو نوبت با فاصله زمانی دو دقیقه قرائت شد. در محلول بلانک به‌جای عصاره آنزیمی، ۱۰ میکرولیتر از بافر فسفات ۵۰ میلی‌مولار (pH=۷) استفاده شد. فعالیت آنزیمی با استفاده از رابطه (۳) و برحسب میکرومول بر گرم وزن تر گیاه در دقیقه (µMol/g FW.min) محاسبه شد.

1. 2,2-Diphenyl-1-Picrylhydrazyl

رابطه ۳) Peroxidase enzyme =

(Vt×ΔA×total volume of the extract) / (ε×Δt×L×Vs×weight of the tissue)

که در آن، Vt: حجم محلول واکنش، ΔA: اختلاف دو جذب قرائت شده، E: ضریب خاموشی (۲۶/۶ $cm^{-1}.mol^{-1}$)، L: مسیر نوری برابر با ۱ سانتی‌متر، Vs: حجم عصاره در محلول واکنش، Δt: فاصله زمانی دو قرائت، Total volume of the extract: حجم عصاره‌گیری، Weight of the tissue: وزن بافت می‌باشد.

سنجش فعالیت آنزیم کاتالاز با اندازه‌گیری سرعت حذف پراکسیدهیدروژن براساس روش Zhang *et al.* (2013) صورت پذیرفت. یک واحد فعالیت کاتالاز بر مبنای تغییرات جذب نوری محلول در طول موج ۲۴۰ نانومتر در طی یک دقیقه بر مبنای میزان مصرف H_2O_2 برآورد شد. براساس این روش، مخلوط واکنش شامل ۶۰۰ میکرولیتر بافر فسفات ۵۰ میلی‌مولار (pH=۷)، ۳۰۰ میکرولیتر هیدروژن پراکسید ۵۰ میلی‌مولار و ۱۰۰ میکرولیتر عصاره آنزیمی بود. با اضافه‌کردن آب اکسیژنه به مخلوط واکنش، واکنش شروع شده و کاهش در جذب آب اکسیژنه در مدت یک دقیقه در طول موج ۲۴۰ نانومتر با استفاده از دستگاه اسپکتروفتومتری اندازه‌گیری شد. برای کالیبره‌نمودن دستگاه اسپکتروفتومتر محلول شاهد شامل مخلوط واکنش به‌جز عصاره آنزیمی بود. غلظت آب اکسیژنه مصرف‌شده پس از یک دقیقه اندازه‌گیری و فعالیت آنزیم با استفاده از ضریب خاموشی معادل ۶/۴۳ $mM^{-1}cm^{-1}$ مطابق رابطه (۴) و برحسب میکرومول بر گرم وزن تر گیاه در دقیقه (µMol/g FW.min) محاسبه شد.

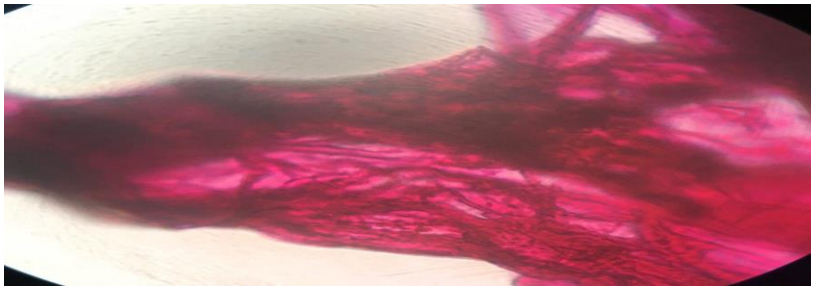
رابطه ۴) Catalase enzyme=

(doD/(min) slope))×Vol.of assay (0.0003))/(Extinction cofficient (43.6)

که در آن، doD/(min (slope)): اختلاف بین دو قرائت در یک دقیقه، Vol.of assay (.0003): حجم محلول داخل سل، Etinction coefficient (43.6): ضریب خاموشی می‌باشد.

۳. ۵. تعیین کلونیزاسیون تریکودرما

جهت بررسی حالت اندوفیتی قارچ تریکودرما در بافت‌های مختلف گیاه، در زیر هود لامینار، قطعاتی از ساقه و ریشه به طول دو تا سه سانتی‌متر برش داده شد. ابتدا ضدعفونی سطحی با الکل ۷۰ درصد به‌مدت یک دقیقه انجام گرفت. سپس دو مرتبه با آب مقطر استریل شست‌وشو گردید. پس از خشک‌شدن روی کاغذ صافی استریل، روی محیط کشت PDA کشت داده شد (محسن‌زاده و همکاران، ۱۳۹۵).



شکل ۱. بررسی کلونیزاسیون ریشه‌ها در زیر میکروسکوپ

۳. ۶. تجزیه و تحلیل داده‌ها

در ابتدا آزمون نرمال‌بودن باقی‌مانده‌ها و یکنواختی واریانس‌های درون‌تیماری انجام شده و مورد تأیید قرار گرفت. تجزیه

واریانس داده‌ها به‌صورت فاکتوریل در قالب طرح بلوک‌های کامل تصادفی در سه تکرار انجام شد. مقایسه میانگین تیمارها توسط آزمون دانکن[1] در سطح احتمال پنج درصد انجام شد. برای تجزیه و تحلیل داده‌ها از نرم‌افزار SAS (نسخه ۹/۳) و برای رسم نمودارها از نرم‌افزار اکسل استفاده شد.

۴. یافته‌های پژوهش

۴. ۱. تجزیه واریانس صفات مربوط به قارچ تریکودرما، رطوبت خاک و برهم‌کنش آن‌ها

براساس نتایج تجزیه واریانس (جدول ۱) اثرات اصلی غلظت‌های مختلف تریکودرما بر صفات فنل و فلاونوئید کل، فعالیت آنتی‌اکسیدانی، آنزیم کاتالاز، پراکسیداز و مالون‌دی‌آلدهید در سطح احتمال یک درصد معنی‌دار شد. هم‌چنین اثرات اصلی سطوح مختلف رطوبت خاک بر فنل و فلاونوئید کل، فعالیت آنتی‌اکسیدانی، آنزیم کاتالاز، پراکسیداز و مالون‌دی‌آلدهید در سطح احتمال یک درصد معنی‌دار شد. اثرات متقابل غلظت‌های مختلف تریکودرما در سطوح مختلف رطوبت خاک بر فنل و فلاونوئیدکل، فعالیت آنتی‌اکسیدانی، آنزیم پراکسیداز و مالون‌دی‌آلدهید در سطح احتمال یک‌درصد معنی‌دار شد.

جدول ۱. نتایج تجزیه واریانس اثر غلظت‌های مختلف قارچ تریکودرما، رطوبت خاک و اثر متقابل بین دو فاکتور بر صفات اندازه‌گیری‌شده در ریحان

منبع تغییرات	درجه آزادی	میانگین مربعات					
		فنل کل	فلاونوئیدکل	فعالیت آنتی‌اکسیدانی	آنزیم کاتالاز	آنزیم پراکسیداز	مالون‌دی‌آلدهید
بلوک	۲	۲/۰۶ns	۱۰/۵۳ns	۰/۰۱ns	۰/۲۶ns	۱/۹۴ns	۳۲/۶۴*
تریکودرما	۲	۲۱/۱۶**	۱۵۹/۸۲**	۲/۸۷**	۳/۲۲**	۲۸۷/۷۳**	۱۳۴۴/۸۶**
رطوبت خاک	۳	۱۶۴۸/۰۱**	۲۹۶/۴۷**	۴/۱۱**	۲/۸۱**	۴۱۱/۶۷**	۱۶۲۰۵/۵۹**
تریکودرما× رطوبت خاک	۶	۳۴/۱۴**	۸۷/۰۷**	۱/۴۶**	۰/۶ns	۱۴۶/۸۱**	۱۵۰/۸۴**
خطا	۲۲	۲/۶۸	۱۴/۰۱	۰/۳۱	۰/۴۹	۳۱/۶۱	۱۱/۴۶
ضریب تغییرات (درصد)		۲/۷	۶/۵	۷/۹۶	۱۲/۵	۸/۷۹	۰/۴۴

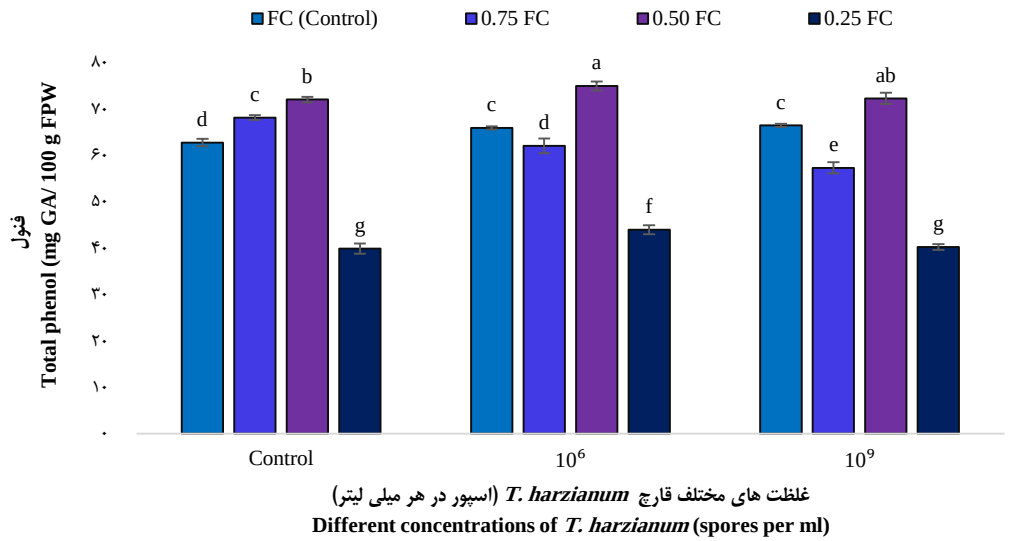
ns، ** و * به‌ترتیب عدم معنی‌داری، معنی‌داری در سطح احتمال ۱ و ۵ درصد.

۴. ۲. مقایسه میانگین اثرات اصلی تنش کمبود آب و قارچ تریکودرما و برهم‌کنش آن‌ها

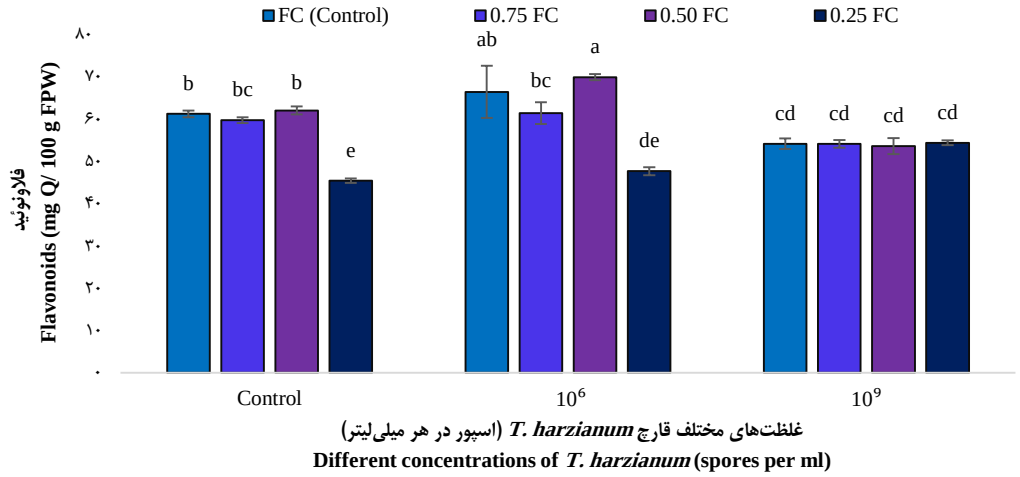
مقایسه میانگین اثر متقابل رطوبت خاک در قارچ تریکودرما نشان داد که در تنش متوسط کم‌آبی (۵۰ درصد ظرفیت مزرعه‌ای) میزان فنل گیاهان ریحان تلقیح‌شده و تلقیح‌نشده با قارچ تریکودرما در مقایسه با ۱۰۰ درصد ظرفیت مزرعه‌ای افزایش یافت. همان‌طورکه در شکل (۲) ملاحظه می‌شود بیش‌ترین و کم‌ترین میزان فنل کل به‌ترتیب به تیمار ۵۰ درصد ظرفیت مزرعه‌ای در گیاهان تلقیح‌شده با قارچ تریکودرما در غلظت 10^6 (اسپور در هر میلی‌لیتر) (۷۴/۹۹ میلی‌گرم اسیدگالیک بر صد گرم وزن تر بوته) و تیمار ۲۵ درصد ظرفیت مزرعه‌ای تیمار شاهد (۳۹۹/۹۶ میلی‌گرم گالیک‌اسید بر صد گرم وزن تر بوته) تعلق داشت.

مقایسه میانگین حاصل از برهم‌کنش رطوبت خاک در قارچ تریکودرما نشان داد که بیش‌ترین و کم‌ترین میزان فلاونوئید کل به‌ترتیب به تیمار ۵۰ درصد ظرفیت مزرعه‌ای در گیاهان تلقیح‌شده با قارچ تریکودرما در غلظت 10^6 (اسپور در هر میلی‌لیتر) (۶۹/۸۹ میلی‌گرم کوئرستین بر ۱۰۰ گرم وزن تر بوته) و تیمار ۲۵ درصد ظرفیت مزرعه‌ای در تیمار شاهد (۴۵/۴۱ میلی‌گرم کوئرستین بر ۱۰۰ گرم وزن تر بوته) تعلق داشت (شکل ۳).

1. Duncan's test

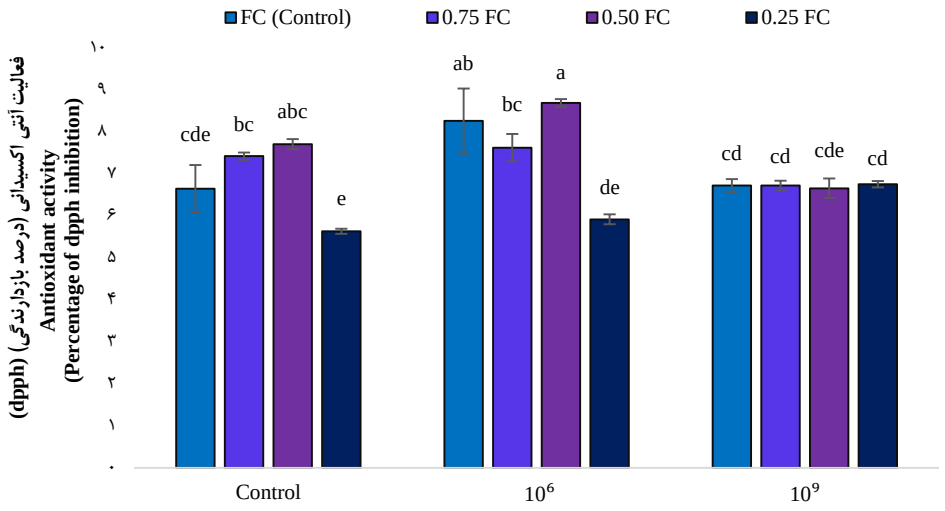


شکل ۲. تأثیر برهم‌کنش غلظت‌های مختلف *T. harzianum* در سطوح مختلف رطوبت خاک بر فنل‌کل ریحان
شاخص بالای هر ستون نشان‌دهنده خطای استاندارد (±SE) می‌باشد. تیمارهای دارای حداقل یک حرف مشترک اختلاف معنی‌داری با یکدیگر در آزمون دانکن در سطح احتمال پنج درصد ندارند.



شکل ۳. تأثیر برهم‌کنش غلظت‌های مختلف *T. harzianum* در سطوح مختلف رطوبت خاک بر فلاونوئیدکل ریحان.
شاخص بالای هر ستون نشان‌دهنده خطای استاندارد (±SE) می‌باشد. تیمارهای دارای حداقل یک حرف مشترک اختلاف معنی‌داری با یکدیگر در آزمون دانکن در سطح احتمال پنج‌درصد ندارند.

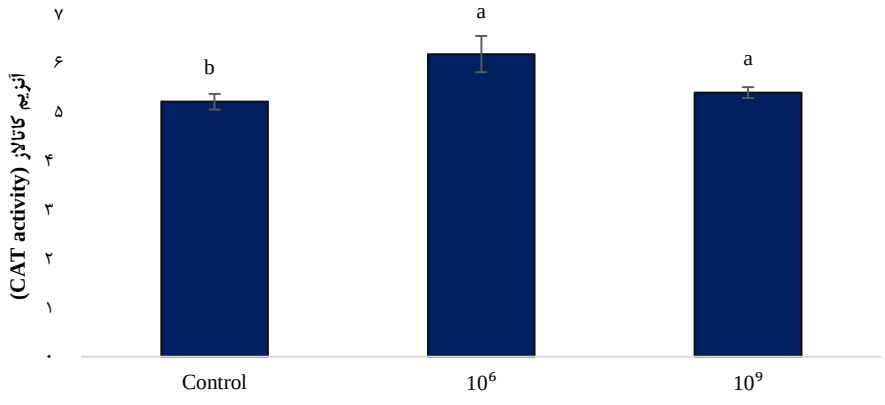
مقایسه میانگین اثر متقابل رطوبت خاک در قارچ تریکودرما نشان داد که در تنش متوسط کم‌آبی (۵۰ درصد ظرفیت مزرعه‌ای) میزان فعالیت آنتی‌اکسیدانی گیاهان تلقیح‌شده با غلظت 10^6 تریکودرما و تلقیح‌نشده با قارچ تریکودرما هر دو افزایش یافت. همان‌طورکه در شکل (۴) ملاحظه می‌شود بیش‌ترین و کم‌ترین میزان فعالیت آنتی‌اکسیدانی به‌ترتیب به تیمار ۵۰ درصد ظرفیت مزرعه‌ای در گیاهان تلقیح شده با قارچ تریکودرما در غلظت 10^6 (اسپور در هر میلی‌لیتر) (۸/۶۹ درصد) و تیمار ۲۵ درصد ظرفیت مزرعه‌ای در تیمار شاهد (۵/۶۳ درصد) تعلق داشت.



شکل ۴. تأثیر برهم‌کنش غلظت‌های مختلف *T. harzianum* در سطوح مختلف رطوبت خاک بر فعالیت آنتی‌اکسیدانی ریحان.

شاخص بالای هر ستون نشان‌دهنده خطای استاندارد (±SE) می‌باشد. تیمارهای دارای حداقل یک حرف مشترک اختلاف معنی‌داری با یکدیگر در آزمون دانکن در سطح احتمال پنج‌درصد ندارند.

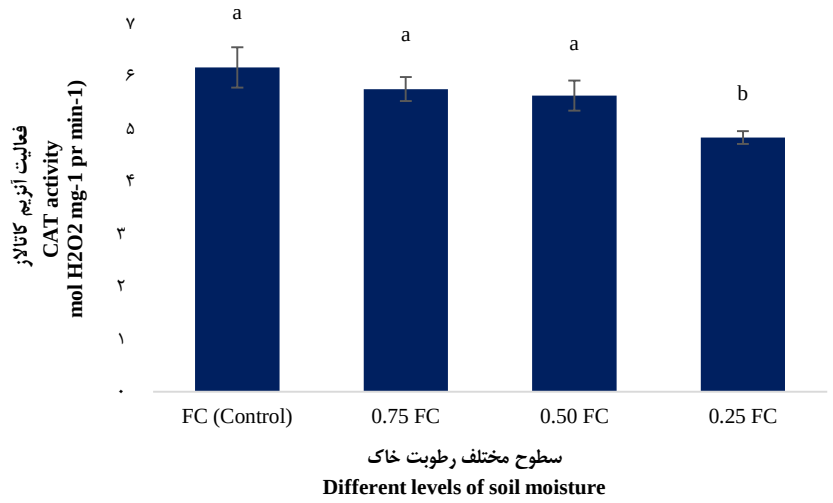
مقایسه میانگین حاصل از اثر قارچ تریکودرما بر آنزیم کاتالاز نشان داد که میزان آنزیم کاتالاز گیاهان ریحان تلقیح‌شده بیش‌تر از گیاهان تلقیح نشده بود. همان‌طورکه در شکل (۵) ملاحظه می‌شود بیش‌ترین و کم‌ترین میزان آنزیم کاتالاز به‌ترتیب به تیمار گیاهان تلقیح‌شده با قارچ تریکودرما در غلظت $۱۰^{۶}$ (اسپور در هر میلی‌لیتر) (۶/۲ میکرومول پراکسیدهیدروژن در دقیقه در میلی‌گرم پروتئین) و تیمار شاهد (۵/۲۲ میکرومول پراکسیدهیدروژن در دقیقه در میلی‌گرم پروتئین) تعلق داشت.



شکل ۵. تأثیر غلظت‌های مختلف قارچ *T. harzianum* بر آنزیم کاتالاز در ریحان.

شاخص بالای هر ستون نشان‌دهنده خطای استاندارد (±SE) می‌باشد. تیمارهای دارای حداقل یک حرف مشترک اختلاف معنی‌داری با یکدیگر در آزمون دانکن در سطح احتمال پنج‌درصد ندارند.

مقایسه میانگین حاصل از اثر سطوح مختلف رطوبت خاک بر آنزیم کاتالاز نشان داد که با افزایش تنش کمبود آب میزان آنزیم کاتالاز کاهش یافت، اما میزان کاهش این آنزیم در تنش ملایم و متوسط کم‌آبی در مقایسه با شاهد (۱۰۰ درصد ظرفیت مزرعه‌ای) اختلاف معنی‌داری نداشت. همان‌طورکه در شکل (۶) ملاحظه می‌شود بیش‌ترین و کم‌ترین میزان آنزیم کاتالاز به‌ترتیب به تیمار شاهد (۱۰۰ درصد ظرفیت مزرعه‌ای) (۶/۱۸ میکرومول پراکسیدهیدروژن در دقیقه در میلی‌گرم پروتئین) و تیمار ۲۵ درصد ظرفیت مزرعه‌ای (۴/۸۴ میکرومول پراکسید هیدروژن در دقیقه در میلی‌گرم پروتئین) تعلق داشت.

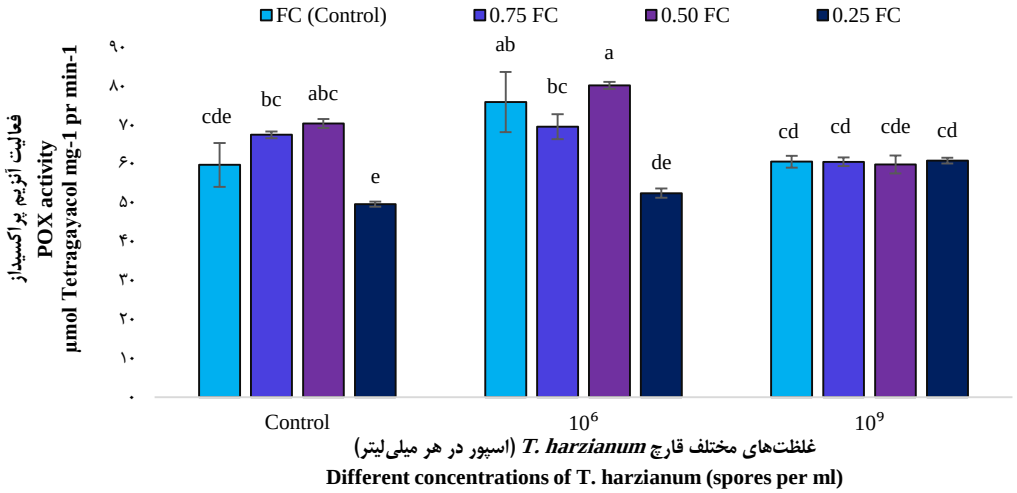


شکل ۶. تأثیر سطوح مختلف رطوبت خاک بر آنزیم کاتالاز در ریحان.

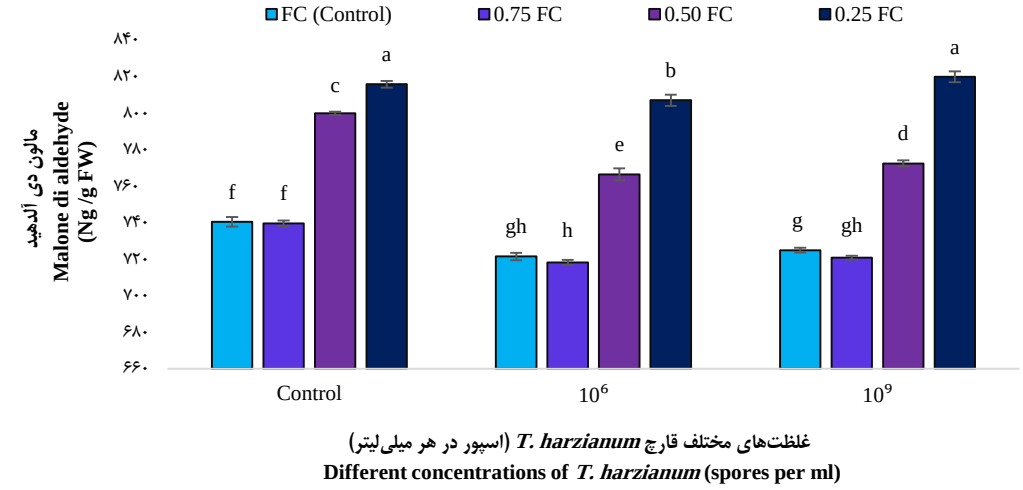
شاخص بالای هر ستون نشان‌دهنده خطای استاندارد (±SE) می‌باشد. تیمارهای دارای حداقل یک حرف مشترک اختلاف معنی‌داری با یکدیگر در آزمون دانکن در سطح احتمال پنج‌درصد ندارند.

مقایسه میانگین اثر متقابل رطوبت خاک در قارچ تریکودرما نشان داد که بیش‌ترین و کم‌ترین میزان آنزیم پراکسیداز به‌ترتیب به تیمار ۵۰ درصد ظرفیت مزرعه‌ای در گیاهان تلقیح‌شده با قارچ تریکودرما در غلظت 10^{6} اسپور در هر میلی‌لیتر (۸۰/۲۲ میکرومول تتراگایاکول در دقیقه در میلی‌گرم پروتئین) و تیمار شاهد (بدون تلقیح) با سطح رطوبت خاک ۲۵ درصد ظرفیت مزرعه‌ای (۷۱۸/۲۴ میکرومول تتراگایاکول در دقیقه در میلی‌گرم پروتئین) اختصاص داشت (شکل ۷). در پژوهش حاضر نیز در غلظت 10^{6} تریکودرما و تنش متوسط کم‌آبی مقدار پراکسیداز افزایش داشته است.

مقایسه میانگین اثر متقابل رطوبت خاک در قارچ تریکودرما نشان داد که با اعمال تنش کمبود آب میزان مالون‌دی‌آلدهید گیاهان ریحان تلقیح‌شده و تلقیح‌نشده با قارچ تریکودرما افزایش یافت. در مجموع در سطوح مختلف رطوبت خاک میزان مالون‌دی‌آلدهید در گیاهان تلقیح‌شده کم‌تر از گیاهان تلقیح‌نشده بود. همان‌طورکه در شکل (۸) ملاحظه می‌شود بیش‌ترین و کم‌ترین میزان مالون‌دی‌آلدهید به‌ترتیب به تیمار ۲۵ درصد ظرفیت مزرعه‌ای در گیاهان تلقیح‌شده با قارچ تریکودرما در غلظت 10^{9} اسپور در هر میلی‌لیتر (۸۱۹/۷۴ نانوگرم بر گرم وزن تر بوته) و تیمار ۷۵ درصد ظرفیت مزرعه‌ای در گیاهان تلقیح‌شده با غلظت 10^{6} اسپور در هر میلی‌لیتر (۷۱۸/۲۴ نانوگرم بر گرم وزن تر بوته) تعلق داشت.



شکل ۷. تأثیر برهم‌کنش غلظت‌های مختلف *T. harzianum* در سطوح مختلف رطوبت خاک بر آنزیم پراکسیداز در ریحان.
شاخص بالای هر ستون نشان‌دهنده خطای استاندارد (±SE) می‌باشد. تیمارهای دارای حداقل یک حرف مشترک اختلاف معنی‌داری با یکدیگر در آزمون دانکن در سطح احتمال پنج‌درصد ندارند.



شکل ۸. تأثیر برهم‌کنش غلظت‌های مختلف *T. harzianum* در سطوح مختلف رطوبت خاک بر مالون‌دی‌آلدهید در ریحان.
شاخص بالای هر ستون نشان‌دهنده خطای استاندارد (±SE) می‌باشد. تیمارهای دارای حداقل یک حرف مشترک اختلاف معنی‌داری با یکدیگر در آزمون دانکن در سطح احتمال پنج‌درصد ندارند.

۵. بحث

باتوجه به نتایج پژوهش‌های انجام‌شده می‌توان دریافت که تنش آبی به‌دلیل کاهش جذب آب و عناصر غذایی گیاه و ایجاد اختلال در عمل روزنه‌ها و سیستم فتوسنتزی، موجب کاهش فنل گیاهان مختلف شده است و قارچ تریکودرما احتمالاً به‌دلیل افزایش جذب آب و مواد غذایی و انتقال بهتر این مواد در اندام گیاهی و هم‌چنین افزایش فتوسنتز گیاه منجربه ساخته‌شدن مواد فتوسنتزی بیش‌تر گیاهان شده و موجب افزایش فنل در شرایط تنش متوسط کم‌آبی در گیاه ریحان شده است (Siddiqui *et al.*, 2010). نتایجی نشان داد که در شرایط کمبود رطوبت خاک میزان فنل گیاه دارویی

آهار[1] کاهش یافت، درحالی‌که همزیستی با قارچ میزان فنل کل را در شرایط کمبود آب افزایش داد که با نتایج پژوهش حاضر مطابقت دارد (Heidari *et al.*, 2016).

فلاونوئیدها یکی از بزرگ‌ترین ترکیبات فنلی هستند که نقش مهمی در ایجاد مقاومت گیاهان در برابر تنش‌های اکسیداتیو ایفا می‌کنند. گیاهان با تولید فلاونوئیدها و تجمع آن‌ها در واکوئل سلول‌های لایه اپیدرمی برگ و ساقه می‌توانند باعث کاهش اثرهای تنش اکسیداتیو شوند. یکی از دلایل افزایش فلاونوئیدها، ایجاد محدودیت در انتقال الکترون فتوسنتزی طی تنش است که سبب ایجاد تغییرات متابولیک در گیاه ازجمله منجر به القای تولید فلاونوئیدها برای تعدیل این وضعیت می‌شود. مسیر فنیل‌پروپانوئید که مسئول ساخت ترکیبات فنلی مانند فلاونوئیدها و تانن‌هاست، در شرایط تنش القا می‌شود. این عمل از طریق آنزیم فنیل آلانین‌آمونیالیاز صورت می‌گیرد (Singh *et al.*, 2015). کاربرد بازدارنده‌های سنتز فنیل آلانین‌آمونیالیاز و مهار مسیر بیوسنتز فلاونوئید، باعث افزایش حساسیت گیاه نسبت به تنش می‌شود، درحالی‌که در شرایط تنش همزیستی با موجودات همزیست باعث افزایش فلاونوئیدها می‌شود (Siddiqui *et al.*, 2010). نتایج امیری دوماری (۱۳۹۵) نشان داد که تلقیح با قارچ تریکودرما میزان فلاونوئید را در شرایط تنش کم‌آبی درمقایسه با گیاهان تلقیح‌نشده (شاهد) به‌طور معنی‌داری افزایش داد. هنگامی‌که گیاهان در معرض تنش کم‌آبی قرار می‌گیرند سطوح انواع فعال اکسیژن در آن‌ها افزایش می‌یابد و به‌دنبال آن بیان ژن‌های آنتی‌اکسیدانی و فعالیت آنتی‌اکسیدان‌ها برای حذف انواع اکسیژن فعال زیاد شده و سیستم دفاعی آنتی‌اکسیدانی بهبود یافته و باعث افزایش تحمل به تنش کم‌آبی در گیاه می‌گردد (امانی و همکاران، ۱۴۰۱). مشابه پژوهش حاضر، همزیستی با قارچ بر دانهال‌های نارنج سه‌برگ[2] است که بر رشد گیاه تأثیر مثبت داشته است و میزان اکسیژن‌های فعال را در ریشه و برگ گیاهان تلقیح‌شده نسبت به شاهد کاهش داده است. میزان آنتی‌اکسیدان‌های آنزیمی و غیرآنزیمی در گیاهان تلقیح‌شده افزایش معنی‌داری نشان داده است که همین موضوع آسیب‌های اکسیداتیو در این گیاهان را کاهش داده است (Wu & Xia, 2006). در پژوهش زارع مهرجردی و همکاران (۱۳۹۱)، با افزایش شدت تنش کم‌آبی، مقدار فعالیت آنتی‌اکسیدانی در گیاه نخود[3] افزایش یافت. درحالی‌که در آزمایش دیگر با آغشته‌کردن بذور گیاه ذرت[4] با قارچ تریکودرما، افزایش فعالیت آنتی‌اکسیدانی را گزارش نمودند (مرزبان و همکاران، ۱۳۹۳) که نتایج این پژوهش‌ها، هم‌راستا با نتایج پژوهش حاضر می‌باشد. تغییر الگوی فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان مانند کاتالاز در ریشه‌های تلقیح‌شده با قارچ تریکودرما گزارش شده است و نشان می‌دهد که این ترکیبات در طی فرایند همزیستی با تریکودرما تولید می‌شوند (امانی و همکاران، ۱۴۰۱). آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان مهم‌ترین ترکیبات در جلوگیری از تنش اکسیداتیو در گیاهان می‌باشند. موضوع فوق براساس این واقعیت استوار است که عموماً فعالیت یک یا چند مورد از این آنزیم‌ها در گیاهان تحت تنش افزایش می‌یابد. افزایش فعالیت آنزیم کاتالاز در شرایط تنش به‌عنوان سیستم دفاعی شناخته شده است (امانی و همکاران، ۱۴۰۱). هم‌چنین در پژوهشی مشخص شد که آغشته‌کردن بذور با تریکودرما باعث افزایش آنتی‌اکسیدان‌ها گردیده و میزان گونه‌های فعال اکسیژن را کاهش می‌دهد و این همان خصوصیت القای مقاومتی است که توسط این آنتاگونیست اتفاق می‌افتد (Mastouri *et al.*, 2012).

همزیستی با تریکودرما باعث ایجاد مقاومت نسبی در برابر اثرات مخرب تنش کم‌آبی شد، به‌طوری‌که در شرایط تنش میزان مالون‌دی‌آلدهید توسط تلقیح قارچ‌ها کاهش یافته است که دلیل آن افزایش فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان و افزایش کارایی سیستم آنتی‌اکسیدانی گیاه ریحان در اثر همزیستی با قارچ تریکودرما می‌باشد. هرچند تاکنون مکانیسمی که طی آن قارچ‌های تریکودرما متابولیسم تولید گونه‌های اکسیژن فعال و آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان را تحت تأثیر قرار

1. *Zinnia elegans*
2. Poncirus trifoliate
3. *Cicer arietinum*
4. *Zea mays*

می‌دهند به‌وضوح شناخته نشده است، اما ممکن است این مسئله با بیان ژن‌های کدکننده تولید و فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان در ارتباط باشد که باعث جمع‌آوری بهتر انواع اکسیژن فعال و افزایش مقاومت گیاه به تنش کم‌آبی می‌شود (حبیبی و همکاران، ۱۳۹۱). نتایج یعقوبیان و همکاران (۱۳۹۲) نشان داد که اثر متقابل رطوبت و قارچ نیز در میزان مالون‌دی‌آلدهید معنی‌دار بود و افزایش تنش رطوبتی افزایش در میزان مالون‌دی‌آلدهید را دربرداشته است. Zhu *et al.* (2010) نیز کاهش میزان مالون‌دی‌آلدهید را در گیاهان تحت تنش توسط قارچ گزارش کرده‌اند و اظهار داشتند که میکوریزا می‌تواند پراکسیداسیون لیپیدهای غشا را کاهش دهد.

۶. نتیجه‌گیری و پیشنهادها

نتایج حاصل از بررسی صفات فیزیولوژیکی نشان داد که قارچ تریکودرما باعث افزایش مقدار فنل و فلاونوئید کل، فعالیت آنتی‌اکسیدانی، آنزیم کاتالاز و پراکسیداز و کاهش مالون‌دی‌آلدهید در گیاه ریحان شد. هم‌چنین قارچ تریکودرما با غلظت 10^{6} (اسپور در هر میلی‌لیتر) در اکثر صفات موردبررسی روی گیاه ریحان بهتر عمل کرده است. بنابراین می‌توان گفت قارچ تریکودرما توانایی بهتری جهت برقراری رابطه همزیستی با ریشه ریحان دارد. نتایج حاصل از بررسی فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی نشان داد که تنش کم‌آبی، قارچ تریکودرما و اثر متقابل قارچ و تنش کم‌آبی تأثیر معنی‌داری بر میزان فعالیت آنزیم پراکسیداز ریحان داشتند. آنچه که از این بررسی برداشت می‌شود این است که همزیستی قارچ تریکودرما با گیاهان تحت شرایط تنش باعث بهبودی ویژگی‌های فیزیولوژیکی آن‌ها می‌شود.

با توجه به این‌که این نتایج در شرایط گلخانه‌ای به‌دست آمده‌اند، پیشنهاد می‌شود در پژوهش‌های بعدی این اثرات در مزرعه بررسی شوند تا در صورت تأیید نتایج، از قارچ تریکودرما برای افزایش کیفیت محصولات و به‌عنوان جایگزینی برای کودهای شیمیایی و هم‌چنین بهبود شرایط تنش کم‌آبی استفاده شود.

۷. تشکر و قدردانی

از جناب آقای محمد پوراسمعیل و دانشکده کشاورزی و منابع طبیعی اهر به خاطر همکاری‌های صمیمانه‌شان، تشکر و قدردانی می‌گردد.

۸. تعارض منافع

هیچ‌گونه تعارض منافع توسط نویسندگان وجود ندارد.

۹. منابع

امانی، مینا؛ سبزی نوجه‌ده، محسن؛ علیزاده سالطه، سعیده؛ یونسی حمزه‌خانلو، مهدی؛ فرمانی، بیوک‌آقا؛ هاتف هریس، ح؛ محمدیان، ش و پیرطریقت، س (۱۴۰۱). بهبود فعالیت‌های آنتی‌اکسیدانی گیاه دارویی ریحان تحت تأثیر گونه‌های مختلف قارچ میکوریزا در شرایط تنش کم‌آبی. *نشریه علوم باغبانی*، انتشار آنلاین. https://doi.org/10.22067/jhs.2022.76064.1157

امیری دوماری، زینب (۱۳۹۵). اثر قارچ تریکودرما (*Trichoderma harzianum*) بر بیان ژن RAS تحت تأثیر تنش خشکی در گیاهان بادرنجبویه (*Melissa officinalis* L.) و بادرشبویه (*Dracocehalum moldavica* L.). *پایان نامه کارشناسی ارشد*. به راهنمایی براتعلی فاخری. زابل: دانشگاه زابل، دانشکده کشاورزی، گروه باغبانی و فضای سبز.

حبیبی، داود؛ عروج‌نیا، س؛ فتح‌الله طالقانی، د؛ پازکی، ع و داودی‌فرد، مهدی (۱۳۹۱). بررسی تغییرات آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانت و عملکرد در ژنوتیپ‌های مختلف چغندرقند تحت شرایط تنش خشکی. *مجله زراعت و اصلاح نباتات*، ۸ (۴)، ۶۳-۸۲.

خوش‌منظر، الهه (۱۳۹۴). تأثیر جدایه‌های تریکودرما بر رشد و تحمل کم‌آبی گوجه‌فرنگی در یک خاک شن لومی. *پایان‌نامه کارشناسی ارشد*، به راهنمایی ناصر علی‌اصغرزاد. تبریز: دانشگاه تبریز، دانشکده کشاورزی.

رحیمی، یوسف؛ طالعی، علیرضا و رنجبر، مجتبی (۱۳۹۸). تغییرات بیوشمیایی نعناع فلفلی (*Mentha piperita* L.) در شرایط خشکی. *علوم گیاهان زراعی ایران*، ۵۰ (۲)، ۵۹-۷۵.

زارع مهرجردی، محمد؛ باقری، عبدالرضا؛ بهرامی، احمدرضا؛ نباتی، جعفر و معصومی، علی (۱۳۹۱). تأثیر تنش خشکی بر خصوصیات فتوسنتزی، ترکیبات فنلی و ظرفیت مهار رادیکال‌های فعال ژنوتیپ‌های مختلف نخود (*Cicer arietinum* L.) در محیط آبکشت. *علوم و فنون کشت‌های گلخانه‌ای*، ۳ (۱۲)، http://dorl.net/dor/20.1001.1.20089082.1391.3.4.9.3.

محسن‌زاده, فریبا؛ ظفری، دوست‌مراد و نوری صفا، بهاره (۱۳۹۵). سازش‌پذیری برخی از گونه‌های قارچ تریکودرما (*Trichoderma*) به آلودگی نفتی. *پژوهش‌های سلولی و مولکولی (مجله زیست شناسی ایران)*، ۲۹ (۳)، ۳۲۱-۳۳۰.

مرزبان، زهرا؛ عامریان، محمدرضا و ممرآبادی، مجتبی (۱۳۹۳). خصوصیات زراعی ذرت و لوبیا چشم بلبلی در پاسخ به مصرف قارچ میکوریزا و باکتری مزوریزوبیوم به صورت کشت مخلوط و خالص. *اکوفیزیولوژی گیاهان زراعی*، ۸ (۲(۳۰))، ۱۶۵-۱۸۰.

یعقوبیان، یاسر؛ عالمی، سعید خلیل؛ پیردشتی، همت‌اله؛ محمدی گل تپه، ابراهیم؛ فیضی اصل، ولی و اسفندیاری، عزت اله (۱۳۹۲). اثر قارچ‌های *Glomus mosseae* و *Piriformospora indica* و سطوح مختلف مواد آلی بر روابط بین صفات مرتبط با عملکرد گندم. *تحقیقات غلات*، ۳ (۳)، ۲۱۱-۲۲۶.

References

Ahmad, M., Zaffer, G., Razvi, S. M., Dar, Z. A., Mir, S. D., Bukhari, S. A., & Habib, M. (2014). Resilience of cereal crops to abiotic stress: A review. *African Journal of Biotechnology*, *13*(29), 121-130.

Amani, M., Sabzi Nojadeh, M., Alizadeh-salteh, S., Younessi Hamzekhanlu, M., Farmani, B., Hatef Heris, H., Mohammadian, S., & Piretarighat, S. (2022). Improving the Antioxidant Activities of Basil (*Ocimum basilicum* L.) under the Influence of Different Species of Mycorrhiza under Water Stress. *Scientific Journal of Horticultural Sciences, Online publication*. https://doi.org/10.22067/jhs.2022.76064.1157. (In Persian).

Amini, R., Ebrahimi, A., & Nasab, A. D. M. (2020). Moldavian balm (*Dracocephalum moldavica* L.) essential oil content and composition as affected by sustainable weed management treatments. *Industrial Crops and Products*, *150*, 112416.

Amir Domari, Z. (2016). Effect of Trichoderma (*Trichoderma harzianum*) on RAS gene expression under drought stress in *Melissa officinalis* L. and *Dracocehalum moldavica* L. *Master Thesis*. Under the supervision of Bratali Fakheri. Zabol: Zabol University, Department of Horticulture and Green Space Faculty of Agriculture. (In Persian).

Asaduzzaman, M., Alam, M. J., & Islam, M. M. (2010). Effect of *Trichoderma* on seed germination and seedling parameters of chili. *Journal of Science Foundation*, *8*(1-2), 141-150.

Azarmi, R., Hajieghrari, B., & Giglou, A. (2011). Effect of Trichoderma isolates on tomato seedling growth response and nutrient uptake. *African Journal of Biotechnology*, *10*(31), 5850-5855.

Daszkowska-Golec, A., & Szarejko, I. (2013). Open or close the gate–stomata action under the control of phytohormones in drought stress conditions. *Frontiers in Plant Science*, *4*, 138-145.

Dehghan, G., & Khoshkam, Z. (2012). Tin (II)-quercetin complex: Synthesis, spectral characterization and antioxidant activity. *Food Chemistry*, *131*(2), 422-427.

Du, G., Li, M., Ma, F., & Liang, D. (2009). Antioxidant capacity and the relationship with

polyphenol and vitamin C in Actinidia fruits. *Food Chemistry, 113*(2), 557-562.

Habibi, D., Ooroojnia, S., Fatollah Taleghani, D., Pazoki, A., & Davoodifard, M. (2013). Antioxidants and yield evaluation of sugar beet genotypes under drought stress. *Iranian Journal of Agronomy and Plant Breeding, 8*(4), 63-82. (In Persian).

Haq, T. U., Ali, A., Nadeem, S., Maqbool, M. M., & Ibrahim, M. (2014). Performance of canola cultivars under drought stress induced by withholding irrigation at different growth stages. *Soil Environment, 33*(1), 43-50.

Heidari, Z., Nazarideljou, M. J., Rezaie Danesh, Y., & Khezrinejad, N. (2016). Morphophysiological and biochemical responses of *Zinnia elegans* to different irrigation regimes in symbiosis with *Glomus mosseae*. *International Journal of Horticultural Science and Technology, 3*(1), 19-32.

Khoshmanzar, E. (2015). Effects of Trichoderma isolates on tomato growth and tolerance to water deficit stress in a loamy sand soil. *Master Thesis*. Under the supervision of Nasser Ali Asgharzad. Tabriz: Tabriz University, Faculty of Agriculture. (In Persian).

Li, Y. T., Hwang, S. G., Huang, Y. M., & Huang, C. H. (2018). Effects of *Trichoderma asperellum* on nutrient uptake and Fusarium wilt of tomato. *Crop Protection, 110*, 275-282.

Marzban, Z., Ameriyan, M., & Mamarabadi, M. (2014). Responses of Agronomic Characteristics of Maize and Cowpea to Mycorrhiza and Mesorrhizobial Bacteria in Intercropping. *Journal of Crop Ecophysiology, 8*(30(2)), 165-180. (In Persian).

Mastouri, F., Björkman, T., & Harman, G. E. (2012). *Trichoderma harzianum* enhances antioxidant defense of tomato seedlings and resistance to water deficit. *Molecular Plant-microbe Interactions, 25*(9), 1264-1271.

Mohsenzadeh, F., Zafari, D., & Nouri Safa, B. (2016). Adaptation of some fungal species of Trichoderma to petroleum pollution. *Journal of Cellular and Molecular Research (Iranian Journal of Biology), 29*(3), 321-330. (In Persian).

Nugraha, A. T., Muawanah, A., Amilia, N., & Wulandari, M. (2022). The Total Phenolic, Total Flavonoid, and Brown Pigment in Honey before and After Heating. Elkawnie: *Journal of Islamic Science and Technology, 8*(1), 190-208.

Nzanza, B., Marais, D., & Soundy, P. (2012). Yield and nutrient content of tomato (*Solanum lycopersicum* L.) as influenced by *Trichoderma harzianum* and *Glomus mosseae* inoculation. *Science Horticulture. 144*, 55-59.

Rahimi, Y., Talei A., & Ranjbar, M. (2019). The effect of drought stress on biochemical changes of peppermint, *Iranian Journal of Crop Science, 50*(2), 59-75. (In Persian).

Rahmatzadeh, S., & Kazemitabar, S. K. (2013). Biochemical and antioxidant changes in regenerated periwinkle plantlets due to mycorrhizal colonization during acclimatization. *International Journal of Agriculture and Crop Sciences, 5*(14), 1535-1540.

Shukla, N., Awasthi, R. P., Rawat, L., & Kumar, J. (2012). Biochemical and physiological responses of rice (*Oryza sativa* L.) as influenced by *Trichoderma harzianum* under drought stress. *Plant Physiology and Biochemistry, 54*, 78-88.

Siddiqui, M. H., Mohammad, F., Khan, M. N., Al-Whaibi, M. H., & Bahkali, A. H. (2010). Nitrogen in relation to photosynthetic capacity and accumulation of osmoprotectant and nutrients in Brassica genotypes grown under salt stress. *Agricultural Sciences in China, 9*(5), 671-680.

Singh, R., Shushni, M. A., & Belkheir, A. (2015). Antibacterial and antioxidant activities of *Mentha piperita* L. *Arabian Journal of Chemistry, 8*(3), 322-328.

Subramanian, K. S., Santhanakrishnan, P., & Balasubramanian, P. (2006). Responses of field grown tomato plants to arbuscular mycorrhizal fungal colonization under varying intensities of drought stress. *Scientia Horticulturea, 107*(3), 245-253.

Wu, Q. S., & Xia, R. X. (2006). *Arbuscular mycorrhizal* fungi influence growth, osmotic adjustment and photosynthesis of citrus under well-watered and water stress conditions.

Journal of Plant Physiology, *163*(4), 417-425.

Yaghoubian, Y., Alamisaeid, K., Pirdashti, H., Mohammadi Goltapeh, E., Feiziasl, V., & Esfandiari, E. (2013). Effect of Glomus Mosseae and Piriformospora Indica and Different Levels of Organic Matter on the Relationships between Related Characters with Wheat Yield. *Cereal Research*, *3*(3), 311-326. (In Persian).

Zare Mehrjerdi, M., Bagheri, A., Bahrami, A., Nabati, J., & Massomi, A. (2013). Effect of drought stress on photosynthetic characteristics, phenolic compounds and radical scavenging activities in different chickpea (*Cicer arietinum* L.) genotypes in hydroponic conditions. *Science and Technology of Greenhouse Culture*, *3*(12), 59-77. http://dorl.net/dor/20.1001.1.20089082.1391.3.4.9.3. (In Persian).

Zhang, Z., Huber, D. J., & Rao, J. (2013). Antioxidant systems of ripening avocado (*Persea americana* Mill.) fruit following treatment at the preclimacteric stage with aqueous 1-methylcyclopropene. *Postharvest Biology and Technology*, *76*, 58-64.

Zheng, X. L., Tian, S. P., Xu, Y., & Li, B. Q. (2005). Effects of exogenous oxalic acid on ripening and decay incidence in mango fruit during storage at controlled atmosphere. *Journal of Fruit Science*, *22*(4), 351-355.

Zhu, X., Song, F., & Xu, H. (2010). Influence of arbuscular mycorrhiza on lipid peroxidation and antioxidant enzyme activity of maize plants under temperature stress. *Mycorrhiza*, *20*(5), 325-332.