نشریه دانش آب و خاک / جلد ۳۳ شماره ۱ صفحه‌های ۱۸۱ تا ۱۸۷/ سال ۱۴۰۲

مقاله پژوهشی

ارزیابی اثر تلقیح قارچ‌های آربوسکولار مایکوریزا و اندوفیت بر ترکیبات شیمیایی و تولید اسانس گیاه گشنیز در شرایط گلخانه‌ای

علی لطف الهی[1]، صاحبعلی بلندنظر[2]، ناصر علی اصغرزاد[3] و بهمن خوشرو[4]*

تاریخ دریافت: ۱۳۹۹/۱۱/۰۷ تاریخ پذیرش: ۱۴۰۰/۰۶/۰۱

۱-دانش آموخته کارشناسی ارشد علوم و مهندسی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه تبریز
۲-استاد علوم و مهندسی باغبانی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه تبریز
۳-استاد بیولوژی و بیوتکنولوژی خاک، دانشکده کشاورزی، دانشگاه تبریز
٤- دانشجوی دکترای بیولوژی و بیوتکنولوژی خاک، دانشکده کشاورزی، دانشگاه تبریز
* مسئول مکاتبات، پست الکترونیکی: bahmankhoshru@yahoo.com

چکیده

در این تحقیق تأثیر تلقیح دوگونه قارچ آربوسکولار مایکوریزا (*Diversispora versiformis* و *Rhizophagus irregularis*) و یک گونه قارچ اندوفیت *Piriformospora indica* بصورت مجزا و تلفیقی بر ترکیبات شیمیایی و تولید اسانس گیاه گشنیز بررسی شد. تیمارهای آزمایش شامل تیمار قارچ منفرد (**PI:** *P. indica*، **DV:** *D. versiformis*، **RI:** *R. irregularis*)، تیمارهای قارچی تلفیقی (PI+DV، PI+RI، RI+DV و PI+RI+DV)، تیمار شاهد مثبت (دارای کود اوره و سوپرفسفات تریپل، بدون قارچ) و تیمار شاهد منفی (بدون کود شیمیایی، بدون قارچ) بود. این آزمایش در قالب طرح کاملاً تصادفی با چهار تکرار در شرایط گلخانه‌ای انجام گرفت. وزن تر و خشک ریشه و بخش هوایی، درصد کلنیزاسیون، فنول برگ، ظرفیت آنتی اکسیدانی، کارتنوئید، کلروفیل کل و عملکرد اسانس پارامترهایی بودند که برای گیاه گشنیز اندازه گیری شدند. نتایج نشان‌داد که اثر هرسه گونه قارچ (مایکورایزا و اندوفیت) هم بطور مجزا و هم تلفیقی بر شاخص‌های اندازه‌گیری شده معنی‌دار می‌باشد ($p<0.01$). تیمار تلفیقی سه قارچ (PI+RI+DV) در وزن تر و خشک بخش هوایی به ترتیب با ۸/٦۲٪ و ۱۷/۹٤٪، تیمار DV در وزن تر و خشک بخش ریشه به ترتیب با ۲۲/٦٦ ٪ و ٤۸/۰٤ ٪، تیمار تلفیقی PI+RI در کلنیزاسیون ریشه (۹۱/۷۵٪)، تیمار RI+DV در فنول (۷۲/۵ ٪)، تیمار PI در سه پارامتر ظرفیت آنتی اکسیدانی (۱۱/۸۱ ٪)، کلروفیل کل (۷/۸۱ ٪) و کارتنویید (۵/۸۷ ٪) و تیمار PI+DV در عملکرد اسانس (۱۰۷/۲٪) نسبت به تیمار شاهد منفی افزایش نشان دادند. طبق نتایج این تحقیق استفاده از قارچ‌های مایکورایزا و اندوفیت بصورت تلفیقی نتایج بهتری نسبت به کاربرد منفرد آنها داشته و لذا می‌توان جهت افزایش عملکرد سبزیجات استفاده کرد.

واژه‌های کلیدی: شاخص کلروفیل، ظرفیت آنتی اکسیدانی، کارتنویید، کلنیزاسیون، متابولیت ثانویه

Evaluation of the Effect of Inoculation of Arbuscular Mycorrhizal and Endophytic Fungi on Chemical Composition and Essential Oil Production of Coriander in Greenhouse Conditions

A Lotfollahi[1], SA Bolandnazar[2], N Aliasgharzad[3] and B Khoshru[4*]

Received: January 26, 2021 Accepted: August 23, 2021

1-MSc of Horticultural Science and Engineering, Faculty of Agriculture, Univ. of Tabriz, Iran
2-Prof.of Horticultural Science and Engineering, Faculty of Agriculture, Univ. of Tabriz, Iran.
3-Prof. of Soil Biology and Biotechnology, Faculty of Agriculture, Univ. of Tabriz, Iran.
4-PhD Student of Soil Biology and Biotechnology, Faculty of Agriculture, Univ. of Tabriz, Iran.
*Corresponding Author و E-mail: bahmankhoshru@yahoo.com

Abstract

Background and Objective

In recent decades, agricultural production has relied heavily on the use of chemical inputs, which has led to major environmental problems. The use of chemical fertilizers and pesticides has led to the destruction of water and soil resources, reducing the population and diversity of soil microbes, water and air pollution, increasing the resistance of pests and pathogenes to various chemical pesticides, etc. One of the solutions to this problem is to use the principles of sustainable agriculture. Sustainable agriculture is an integrated system based on ecological principles and in this system, plant residues, animal manures, organic and bio-fertilizers are used instead of chemical compounds such as fertilizers and pesticides. In addition to supplying nutrients in the soil, it leads to weed and pest controlling and increases the microbe's biodiversity in soil. Useful soil microorganisms such as mycorrhizal and endophytic fungi play an important role in the nutrients cycling, especially phosphorus and some other trace elements in ecosystems and plant protection against environmental and agricultural stresses. The fungal hyphae often extend into the portion of the soil that is not penetrated by roots or root hairs, and led to increase the absorption of water and nutrients for the plant. Endophyte fungus *Piriformospora indica* also has a wide range of host plants by colonizing their roots and stimulates the growth of its host plants and increases their yield. The use of these fungi in nutrient-poor soils increases the growth and yield of agricultural products along with reducing the use of chemical fertilizers and pesticides. Coriander (*Coriandrum sativum* L.) is an annual herb of the Apiaceae or Umbelliferae families, native to the Mediterranean region that has been cultivated since human antiquity. In addition to its oral application, this plant also has healing properties and is also considered as a medicinal plant. Coriander consumption is recommended in the treatment of various infectious diseases such as typhoid fever and various diseases in general. The shoots of this plant contain essential oils and active ingredients, and decanol is the main components of its essential oil. Whereas global approaches to the production of medicinal plants are aimed at improving the quantity and quality of the active ingredient of medicinal plants, healthy nutrition of these plants through eco-friendly approaches such as the use of biological fertilizers, is the most consistent with the goals of sustainable agriculture and leads to improved quantitative and qualitative yield of these plants. Accordingly,

the study of the effect of beneficial soil fungi (mycorrhizal and endophytic) on vegetables such as coriander due to their high consumption by humans seems necessary. Therefore, in this study the effect of inoculation of two species of arbuscular mycorrhizal fungi (*Diversispora versiformis* and *Rhizophagus irregularis*) and one species of endophytic fungus (*Piriformospora indica*) individually and/or in combinations on the chemical composition and production of coriander essential oil was investigated.

Methodology

The treatments were included single fungus inoculation (RI: *R. irregularis*, DV: *D. versiformis*, PI: *P. indica*), integrated fungal inoculations (PI+DV, PI+RI, RI+DV and PI+RI+DV), positive control treatment (with urea fertilizer and triple superphosphate, without fungus), and the negative control (no chemical fertilizer, no fungus). The experiment was conducted in a completely randomized design with four replications in greenhouse conditions. Fresh and dry weight of roots and shoots, percentage of root colonization, leaf phenol, antioxidant compounds, carotenoids, total chlorophyll and essential oil were measured in coriander plant.

Findings

The results showed that the effect of all three fungal species (mycorrhiza and endophyte) both separately and in combination on the measured parameters was significant ($p < 0.01$). Combined treatment of three fungi (PI + RI + DV) showed the highest yield in fresh and dry weight of shoot part by 8.62% and 17.94%, respectively. In the case of fresh and dry weight of root part, DV treatment had the best performance by 22.66% and 48.04%, respectively. The root colonization increase (91.75%) in PI + RI, phenol (72.5%) in RI + DV, antioxidant componds (11.81%), total chlorophyll (7.81%) and carotenoids (5.87%) in PI, and essential oil yield (107.2%) in PI + DV were recorded. All increases reported above are in comparison with negative control treatment.

Conclusion

According to the results of this study, in order to achieve higher yield in coriander, it is better to use single treatments of mycorrhizal fungi. Also, based on the results of this experiment, to enhance the performance of mycorrhizal fungi to improve the growth and development of coriander, especially to improve the yield of essential oil, it is better to use a combination of mycorrhizal fungi and endophyte. It should be noted that the results of this experiment were obtained in greenhouse conditions and to finally confirm the effectiveness of the fungi used in this experiment, therefore further studies should be performed at the field conditions along with measuring more traits to provide clearer and applied results.

Keywords: Antioxidant capacity, Carotenoids, Chlorophyll index, Colonization, Secondary metabolites.

مقدمه

در دهه‌های اخیر تولید محصولات کشاورزی عمدتاً متکی به مصرف نهاده‌های شیمیایی بوده که منجر به مشکلات عمده زیست محیطی شده است. تخریب منابع آب و خاک، زوال تنوع زیستی کشاورزی، آلودگی آب و هوا به وسیله آفت کش‌ها، کودهای شیمیایی و افزایش مقاومت آفات و بیماری‌ها به انواع سموم شیمیایی تنها بخشی از مشکلات زیست محیطی ناشی از کشاورزی رایج مبتنی بر مصرف نهاده‌های شیمیایی هستند(فلاحی و همکاران 2009). یکی از راهکارهای رفع این مشکل، استفاده از اصول کشاورزی پایدار می‌باشد. کشاورزی پایدار یک نظام تلفیقی مبتنی براصول اکولوژیکی بوده و در این نظام به جای استفاده از نهاده‌هایی نظیر کودهای شیمیایی و آفت‌کش‌ها، از بقایای گیاهی، کودهای دامی، کودهای آلی و بیولوژیکی استفاده می‌شود تا ضمن ذخیره مواد غذایی، علف‌های هرز و آفات کنترل شده و تنوع زیستی در مزارع افزایش یابد (سعید نژاد و همکاران ۲۰۱۱).

ریزجاندان مفید خاکزی از جمله قارچ‌های مایکورایزا و اندوفیت نقش مهمی درچرخه عناصر غذایی به ویژه فسفر و برخی دیگر عناصر کم‌مصرف در اکوسیستم‌ها و حفاظت گیاهان در مقابل تنش‌های محیطی و کشاورزی ایفا می‌کنند، این قارچ‌ها نقش مهمی در تجزیه مواد آلی خاک، معدنی شدن عناصر غذایی مورد نیاز گیاهان و چرخه عناصر غذایی ایفا می‌کند (نادیان و همکاران ۱۹۹٦). هیف‌های قارچی می‌توانند به منافذ بسیار ریزی که حتی تارهای کشنده ریشه گیاه قادر به نفوذ در آن‌ها نیستند، وارد و باعث افزایش میزان جذب آب و مواد غذایی گردند (سهرابی و همکاران، ۲۰۱۲). قارچ اندوفیت *Pirifomospora indica* نیز از نظر ریخت شناسی، کارکرد، تحریک رشد گیاه و دامنه میزبانی بسیار شبیه قارچ‌های مایکورایزایی است به همین خاطر قارچ شبه مایکورایزا نیز نامیده می‌شود (پراجاپاتی و همکاران ۲۰۰۸) و دارای دامنه وسیعی از گیاهان میزبان است که با کلنیزاسیون ریشه آنها سبب تحریک شدید رشد میزبان‌های خود می‌گردد و همچنین این قارچ با کلنیزه کردن و افزایش رشد ریشه بسیاری از گیاهان، عملکرد آنها را افزایش می‌دهد و رشد محصولات را در خاک‌های فقیر، با کمتر کردن استفاده از آفت‌کش‌ها و کودهای شیمیایی، بهبود می‌بخشد (جیشا و سوبا ۲۰۱۹ ؛ وارما و همکاران ۱۹۹۹).

گشنیز با نام علمی *Coriandrum sativum* L. گیاهی یکساله از خانواده چتریان با طول دوره رشد ۱۰۰ تا۱۲۰ روز که در بسیاری از کشورها به عنوان گیاهی بهاره و در برخی کشورهای مدیترانه و جنوب شرقی آسیا به عنوان گیاهی زمستانه کشت می‌شود (امید بیگی ۱۹۹۷). برگ‌های گیاه گشنیز بیشتر در تغذیه کاربرد دارد و سرشاخه‌های آن به صورت تازه در سالاد و سوپ، میوه بذر در صنایع غذایی و چاشنی در آشپزخانه، اسانس بذر در صنایع دارویی، آرایشی و بهداشتی و روغن بذر در صنایع غذایی و دارویی کاربرد دارد (سفیدکن ۱۹۹۹). مصرف گشنیز در درمان بیماری-های عفونی مختلف مانند تب تیفوئید و به طور کلی بیماری‌های مختلف توصیه شده است. شاخساره این گیاه شامل اسانس و مواد موثره است که اجزای اصلی

اسانس برگ آن دکانول[1] می‌باشد. خواص درمانی قارچ کشی، ضدسرطان، افزایش حافظه و اثرات درمانی زیادی برای آن عنوان شده است (نادیم ۲۰۱۳).

از آنجا که رویکرد جهانی در تولید گیاهان دارویی به سمت بهبود کمیت و کیفیت و سلامت ماده مؤثره می‌باشد، بنابراین تغذیه سالم این گیاهان از طریق کاربرد کودهای بیولوژیک دارای بیشترین تطابق با اهداف تولید گیاهان دارویی بوده و منجر به بهبود عملکرد کمی و کیفی آنها می‌شود. بر این اساس مطالعه تأثیر قارچ‌های مفید خاکزی (مایکورایزا و اندوفیت) بر سبزی‌ها از جمله گشنیز به دلیل موارد استفاده زیاد ازآن‌ها ضروری به نظر می‌رسد. در این مطالعه سعی بر آن شد که تاثیر دو گونه قارچ آربوسکولار مایکورایزا (*Diversispora versiformis* و *Rhizophagus irregularis*) و یک گونه قارچ اندوفیت (*Piriformospora indica*) بر روی عملکرد گیاه گشنیز و میزان اسانس آن بررسی شود.

مواد و روش‌ها

زمان و محل اجرای آزمایش

این آزمایش در سال زراعی ۱۳۹۸ درگلخانه های گروه باغبانی و گروه علوم و مهندسی خاک دانشکده کشاورزی دانشگاه تبریز به صورت کشت گلدانی به اجرا درآمد. مطالعات آزمایشگاهی در آزمایشگاه های بیولوژی گروه علوم و مهندسی خاک و فیزیولوژی سبزی گروه علوم باغبانی، انجام گرفت.

تکثیر گونه‌های قارچی مایکورایزا

دو گونه قارچ (*Rhizophagus irregularis* و *Diversispora versiformis*) از گروه علوم و مهندسی خاک دانشکده کشاورزی دانشکده کشاورزی دانشگاه تبریز تهیه شد. تکثیر و تولید آن در گلخانه این گروه و در بستر استریل حاوی ورمی‌کولایت، کوکوپیت و کمپوست به نسبت های حجمی ۱:۱:۲ و با میانگین تعداد اسپور ٤ عدد در یک گرم بستر زادمایه (بنسال و موکرجی ۲۰۰۲)، با گیاه سورگوم به عنوان میزبان صورت گرفت.

تکثیر گونه قارچی اندوفیت

قارچ اندوفیت *P. indica* از آزمایشگاه بیولوژی گروه علوم و مهندسی خاک تهیه شد، ابتدا به تعداد کافی پتری‌دیش حاوی محیط کشت تهیه و سپس قارچ کشت داده شد. این قارچ در محیط کشت PDA[2] (۲۰۰ گرم پوره سیب زمینی، ۲۰ گرم دکستروز، ۲۰ گرم آگار در ۱ لیتر) به مدت دو هفته در دمای ۲٦ درجه سلسیوس تکثیرگردید. سپس با استفاده از تیغ اسپاتول استریل شده لایه نازکی از قارچ روی محیط کشت، برداشته شده و با شن استریل به طور کامل و یکنواخت مخلوط گردید و به عنوان زادمایه قارچی در کشت گلدانی استفاده شد (فام و همکاران ۲۰۰۸). در هر گرم زادمایه علاوه بر هیف‌های قارچ، حدود 10^4 اسپور بود (بنسال و موکرجی ۲۰۰۲). برای یکسان سازی اثر بسترهای کشت قارچ، در تیمارهای شاهد بدون قارچ نیز از مقادیر مشابه بسترها اضافه شد.

آماده‌سازی خاک و گیاه

بعد از هواخشک کردن و عبور از الک دو

[1] Decanol
1 Potato Dextrose Agar

میلی‌متری، برخی ویژگی‌های خاک، شامل EC با روش عصاره گل اشباع با دستگاه EC متر ، pH با روش عصاره گل‌اشباع با دستگاه pH متر (ریچارد ۱۹۵٤)، بافت خاک به روش هیدرومتر (گی و بادر ۱۹۸٦) ، فسفر قابل جذب با عصاره‌گیری با بی‌کربنات سدیم (اولسن و سامرز ۱۹۸۲)، کربن آلی با روش والکلی بلک (نلسون و سومرز ۱۹۸۲)، پتاسیم قابل جذب با استفاده ازاستات آمونیوم یک نرمال با pH=7 (گوپتا ۲۰۰۰) و رطوبت ظرفیت مزرعه با استفاد از دستگاه صفحات فشار تعیین گردید. خاک مورد نظر برای کشت گلدانی پس از عبور از غربال ٤/۷ میلی‌متری در گونی‌های کنفی پرشد و به مدت دو ساعت در دمای ۱۲۱ درجه سلسیوس و فشار ۱/۲ بار در اتوکلاو استریل گردید.

رقم گشنیز مورد استفاده در این بررسی توده محلی تبریز بود. برای کشت از گلدان‌های استریل شده‌ی هفت کیلویی با قطر دهانه ۲٤ سانتی‌متر و ارتفاع ۱۷ سانتی‌متر استفاده شد. بذور مورد استفاده ۲٤ ساعت خیسانده و به مدت ۱۵ دقیقه با هیپو کلریت سدیم ضد عفونی شده و سپس با آب مقطر استریل، شسته شدند (شعبانی و همکاران ۲۰۱۳).

کشت گیاه و اعمال تیمارها

خاک استریل شده و در دو سوم حجم گلدان‌ها ریخته شد. سپس بر اساس تیمارهای تعریف شده، مقدار ۵۰ سانتی متر مکعب زاد مایه در عمق پنج سانتی‌متری خاک درگلدان‌ها پخش و بذور در سطح خاک قرار گرفت و حدود یک سانتی‌متر ماسه بادی استریل روی آن ریخته شد. تیمارهای آزمایش شامل دوگونه قارچ آربوسکولار مایکورایزا (RI و DV) و یک گونه قارچ اندوفیت (PI) و تیمارهای توام این قارچ‌ها و تیمارشاهد منفی (NC) (بدون قارچ وکود) و شاهد مثبت (PC) (بدون قارچ ولی با کود) بودند. اعمال کودی در تیمار شاهد مثبت شامل ۰/۲ گرم سوپر فسفات و ۰/۵ گرم اوره بر گلدان (۵ کیلوگرم خاک) بود که بر اساس نتایج آزمون خاک و توصیه کودی (ملکوتی ۲۰۰۰) صورت گرفت. گلدان‌ها در دمای ۳±۲۵ سلسیوس (روز) و ۳±۱۸ سلسیوس (شب)، رطوبت ٦۰ درصد و روشنایی روز ۱۲-۱٤ ساعت قرار داشتند و آبیاری ابتدا به صورت روزانه و پس از جوانه زنی، یک‌روز درمیان در طول رشد، بارعایت رطوبت خاک گلدان‌ها در محدوده ظرفیت زراعی (۰/۷-۰/۸ FC) انجام گرفت و در هر گلدان به تعداد ۱۲ بوته پرورش داده شد. برای به بدست آوردن اندامی هوایی کافی به منظور اسانس‌گیری و برداشت دو چین از محصول، طول دوره رشد نسبتاً طولانی و به زمان ۸ ماهه رسید.

رنگ آمیزی و تعیین درصد کلنیزاسیون ریشه توسط قارچ‌ها

بخشی از ریشه‌های ظریف و ریز از هر نمونه ریشه گیاه جدا شده و پس از شستشوی کامل با آب به روش کورمانیک و مک گراو (۱۹۸۲) رنگ آمیزی شدند. برای تعیین درصد کلنیزاسیون ریشه از روش تقاطع خطوط شبکه استفاده شد (نوریف و همکاران ۱۹۹۲، شنک و پرز ۱۹۸۸).

اسانس‌گیری

قسمت هوایی (برگ و ساقه) پس از هر چین به مدت ۷ روز در شرایط آزمایشگاهی خشک شد و استخراج اسانس موجود، از روش تقطیر با آب مقطر و

استفاده از دستگاه اسانس‌گیر میکروکلونجر[1] عملی شد. در این پژوهش مواد خشک مورد نظر هر دو چین ابتدا خرد و مقدار ۲۰ گرم از گیاه خشک توزین با ۳۰۰ میلی لیتر آب مقطر در داخل بالن یک لیتری ریخته و به مدت ۳ ساعت روی هیتر قرار داده شد. در خلال عملیات، اسانس گیاه به علت فرار بودن همراه بخار آب تقطیر و سپس جمع آوری شد. با توجه به چگالی کم اسانس نسبت به آب، اسانس استخراج شده، روی سطح آب قرارگرفته و با سرنگ جمع‌آوری گردید (ماندال و ماندال ۲۰۱۵). اسانس‌ها نسبت به نور، اکسیژن و دما حساس و در چنین شرایطی ترکیبات آنها دچار تغییر و تحول می‌گردد، لذا بلافاصله اسانس استخراج شده به یک شیشه تیره در بسته منتقل شد.

اندازه‌گیری فنول کل و ظرفیت آنتی اکسیدانی

محتوای فنول کل با استفاده از معرف فولین سیوکالتو (Folin–Ciocalteaus)[2] و با روش واترهاوس (۲۰۰۲) اندازه‌گیری‌گردید. جهت تعیین ظرفیت آنتی‌اکسیدانی عصاره از خاصیت خنثی‌کنندگی رادیکال آزاد دی‌فنیل‌پیکریل‌هیدرازیل (DPPH)[3] استفاده شد (براند–ویلیامز و همکاران ۱۹۹۵). ظرفیت آنتی‌اکسیدانی عصاره ها به صورت درصد بازدارندگی (DPPHsc٪) از رابطه زیر محاسبه شد.

DPPHsc٪ = (میزان جذب DPPH – میزان جذب نمونه) × 100 / DPPH

اندازه‌گیری وزن خشک بخش هوایی و ریشه

برای اندازه‌گیری وزن تر اندام هوایی، بوته‌ها از طوقه قطع شده و وزن ترآن یادداشت شد. سپس نمونه‌ها دراتاق تاریک به مدت ۷ روز قرارگرفته و سپس وزن هوا خشک آنها اندازه‌گیری شد. برای اندازه‌گیری وزن تر ریشه در پایان آزمایش ریشه‌ها به آرامی از خاک جدا و پس از شتشو با آب روی پارچه پهن و پس از مدتی توزین شد و پس از ٤٨ ساعت نگهداری در دمای ۷۰ درجه سلسیوس داخل آون وزن خشک هم اندازه‌گیری شد.

طرح آزمایشی و تحلیل آماری

این آزمایش در فاز گلخانه‌ای و در قالب طرح کاملا تصادفی و در چهار تکرار انجام شد. در مجموع کل واحدهای آزمایش ٣٦ گلدان بود و تیمارهای آزمایش شامل تیمار قارچ منفرد (RI، DV و PI)، تیمار قارچی توأم (RI + DV، PI + DV، PI + RI، RI + DV + PI)، تیمار شاهد مثبت (PC) و تیمار شاهد منفی (NC) بود. آنالیز داده‌ها با نرم افزار SPSS و مقایسات میانگین نیز با آزمون چند دامنه‌ای دانکن در سطح احتمال پنج درصد صورت پذیرفت.

نتایج و بحث

برخی از ویژگیهای خاک مورد آزمایش در جدول ۱ آورده شده است.

جدول۱- برخی ویژگی‌های فیزیکی و شیمیایی خاک مورد استفاده

بافت	FC %	pH	EC dS m^{-1}	OC %	CCE %	نیتروژن کل (%)	P mg kg^{-1}	K mg kg^{-1}
شن لومی	۲۴	۷/۱۵	۲/۷	۰/۶۴	۱۰/۲۵	۰/۰۲	۳/۴	۲۲۴

[1] Micro Clevenjer

[2] Folin–Ciocalteau

[3] 2-2-Diphenyl-1-picrylhydrazyl

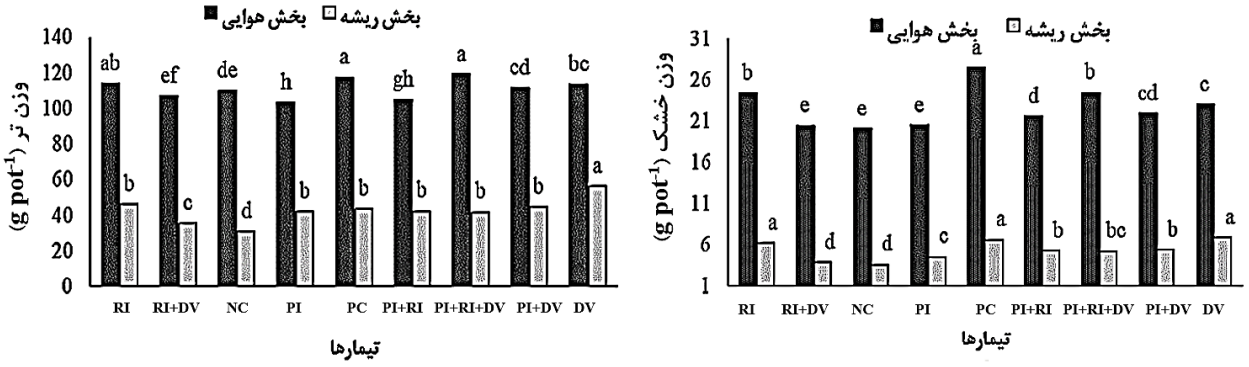
وزن تر و خشک بخش هوایی و ریشه

نتایج تجزیه واریانس داده‌ها (جدول ۲) مشخص کرد که بین تیمارهای مختلف قارچی از نظر تاثیر بر وزن تر و خشک بخش هوایی و ریشه گیاه گشنیز اختلاف معنی‌داری وجود دارد ($p<0.01$). بیشترین وزن خشک بخش هوایی مربوط به تیمار PC (شاهد مثبت) با مقدار ۲۷/٤٦ گرم در گلدان بود که افزایش ۲٦/۹۲ درصدی نسبت به شاهد منفی داشت. تیمار تلفیقی PI+RI+DV و تیمار منفرد RI در رتبه دوم و در یک گروه آماری قرار داشتند و نسبت به شاهد منفی به ترتیب ۱۷/۹٤ و ۱۷/۸۸ درصد بالاتر بودند. پایین‌ترین عملکرد در بین قارچها مربوط به تیمار تلفیقی RI+DV بود که عملکردی کمی بالاتر از تیمار شاهد منفی داشت. در بخش وزن خشک ریشه نیز تیمار شیمیایی شاهد مثبت دارای بالاترین عملکرد بود و دو تیمار قارچ مایکورایزا DV و RI نیز از نظر آماری با تیمار شاهد مثبت اختلاف معنی‌داری نداشتند و به ترتیب منجربه افزایش وزن خشک ریشه به میزان ٤۸/۰٤ و ٤۲/۹٤ درصد در مقایسه با تیمار شاهد منفی (NC) شده بودند. قارچ اندوفیت PI با وجود اینکه دارای عملکرد ضعیفی نسبت به تیمارهای مایکورایزیی بود ولی در مقایسه باشاهد منفی باعث افزایش ۱٦/۱۲ درصدی وزن خشک ریشه شده بود. تیمارهای مایکورایزایی منفرد RI و DV باوجود داشتن عملکرد بالا در افزایش وزن خشک ریشه گشنیز، درصورت تلفیق این دو قارچ عملکردشان بشدت کاهش یافته است (شکل ۱).

در قسمت وزن تر بخش هوایی، بیشترین عملکرد مربوط به تیمار تلفیقی PI+RI+DV با مقدار ۱۱۸/۹۲ گرم بر گلدان بود که با تیمار PC (شاهد مثبت) تفاوت معنی‌داری نداشت. در بین تیمار قارچهای منفرد مایکورایزایی، تیمار RI بیشترین عملکرد را داشت و این در حالی بود که قارچ اندوفیت PI با میزان ۱۰۳/۳۹ گرم دارای کمترین وزن خشک بخش هوایی در گلدان بود که حتی ٥/۸۷ درصد کمتر از تیمار شاهد منفی (NC) بود. در قسمت وزن خشک بخش هوایی قارچ مایکورایزای DV دارای بالاترین عملکرد بود (٥٦/۲٥ گرم بر گلدان) که افزایش ۲۲/٦٦ درصدی نسبت به شاهد مثبت (PC) و ٤٥/۳۳ درصدی نسبت به شاهد منفی (NC) از خود نشان داد. در رتبه بعدی هم قارچ مایکورایزای RI قرار داشت. قارچ اندوفیت با عملکرد ٤۲/۱۲ گرم بر گلدان، نسبت به تیمار شاهد مثبت (PC) ۳/٤٤ درصد کاهش و نسبت به شاهد منفی (NC) ۲٦/۷۸ درصد افزایش نشان داد (شکل ۱).

قارچ مایکورایزا از طریق بهبود جذب و انتقال آب و فراهمی مواد غذایی به خصوص فسفر که نقش مهمی در انتقال انرژی در طی فتوسنتز دارد و باعث افزایش رشد و عملکرد گیاه می‌شود (بلندنظر و همکاران ۲۰۱۹؛ امانی فر و همکاران ۲۰۱۹). افزایش وزن تر و خشک شاخساره ریحان و شیرین بیان تحت همزیستی با قارچ مایکورایزا گزارش شده است (لیو و همکاران ۲۰۰۷). تیمارهای انفرادی دو قارچ مایکورایزا (RI و DV) منجر به افزایش معنی‌دار وزن خشک ریشه شده در حالی که در تیمار تلفیقی این دو قارچ، وزن خشک ریشه کاهش یافته بود به نظر می‌رسد که در حالت حضور توام دو قارچ به دلیل تخصیص کربن به قارچها (توزیع کربن بین دو قارچ)، بیومس ریشه کاسته شده است.

قارچ *P. indica* با افزایش سطح جذب در خاک از طریق گسترش میسیلیوم‌های خود، فراهمی آب و عناصر غذایی را برای گیاه افزایش می‌دهد و این افزایش به نوبه خود سبب می‌گردد که میزان فتوسنتز و تولید قندها و مواد ذخیره‌ای افزایش یابد و در نتیجه رشد اندام هوایی و ریشه‌ها افزایش یابد. به نظر می‌رسد میسیلیوم‌های قارچ سطح جذب بالاتری را برای گیاه گشنیز فراهم آورده و از طرفی به نگهداری آب در اطراف آن کمک کرده‌اند و همین مسئله سبب شده است تا در شرایط یکسان گیاهان تلقیح شده نسبت به گیاهان شاهد آب بیشتری در اختیار داشته باشند. تلقیح گیاه رازیانه با قارچ *P. indica* باعث افزایش معنی‌داری در رشد و زیتوده گیاهان تلقیح شده می‌شود (لیو و همکاران ۲۰۰۷).



شکل۱- مقایسه میانگین اثر قارچ‌ها بر وزن تر و خشک اندام‌هوایی و ریشه گیاه گشنیز (RI: *R. irregularis*، DV: *D. versiformis*، PI: *P. indica*، RI+ DV: *R. irregularis* + *D. versiformis*، PI+DV: *P. indica* + *D. versiformis*، PI+RI: *P. indica*+ *R. irregularis*، PI+RI+DV: *P. indica* + *R. irregularis* + *D. versiformis*، PC: شاهد مثبت و NC: شاهد منفی).

جدول۲- تجزیه واریانس اثر تیمارهای قارچی بر وزن تر و خشک ریشه و اندام هوایی گیاه گشنیز.

منابع تغییرات	درجه آزادی	میانگین مربعات			
		وزن تر اندام‌هوایی	وزن خشک اندام‌هوایی	وزن تر ریشه	وزن خشک ریشه
تیمار	۸	۴۶۵۲۸/۳**	۲۰۷۱/۸۳**	۴۷۱۰/۱**	۱۱۱**
خطا	۲۴	۱۵/۷۶۸	۵/۰۷۳	۸۱/۳۲۴	۱/۰۱۵
ضریب تغییرات٪		۱۱/۵۰	۹/۹۴	۲۱/۲۰	۱۹/۴۷

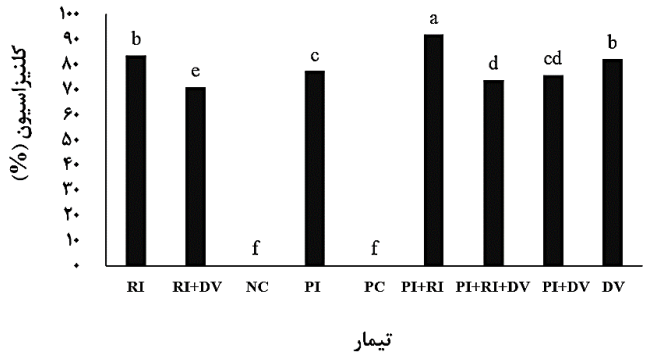
**** معنی دار در سطح ۱٪**

طبق نتایج بدست آمده در بالا، مشاهده گردید که قارچ اندوفیت *P. indica* به صورت منفرد تاثیر معنی‌داری روی پارامتر وزن تر و خشک هوایی نداشته است ولی هنگاهمی که با قارچ‌های میکوریز تلفیق می‌گردد تاثیرات مختلفی حاصل شده است: الف- هنگامی که این قارچ با قارچ مایکورایزای منفرد تلفیق شده است (RI یا DV) اثر منفی روی عملکرد آن داشته است برای مثال: عملکرد قارچ‌های مایکورایزای منفرد RI و DV بالاتر از عملکرد تلفیقی این قارچ‌ها با *P. indica* بوده است (تیمارهای تلفیقی دوتایی RI+PI و DV+PI)، ولی نکته جالب این است که عملکرد تلفیقی این سه قارچ (PI+RI+DV) بالاتر از عملکرد تلفیقی قارچ‌های مایکورایزای RI+DV بدون *P. indica* بوده است. این گونه برداشت می‌گردد که استفاده قارچ‌ها بصورت تلفیقی (چه مایکورایزایی و چه اندوفیت) عملکرد این قارچ ها را کاهش داده است ولی در تلفیق سه‌گانه، قارچ *P. indica* باعث کاهش اثرات منفی این تلفیق

گردیده است. احتمالاً در حالت تلقیح توام دو قارچ آربوسکولار، تخصیص کربن از گیاه به قارچ‌ها سبب ایجاد رقابت بین دو قارچ شده و برخی کاهش‌های رشدی گیاه به این موضوع ارتباط داده شده است گرچه برای اثبات آن، نیاز به آزمایش‌های بیشتر می‌باشد. موضوع برهمکنش منفی بین قارچ‌های مایکورایزی آربوسکولار و قارچ اندوفیت *P. indica* در سیستم ریشه‌ای گیاه گوجه فرنگی مشخص شده و برای اثبات آن از مولکول‌های نشان هر قارچ (استرولها، اسیدهای چرب خنثی و فسفولیپیدی) استفاده شده است (حیدریان پور و همکاران ۲۰۲۰).

درصد کلنیزاسیون ریشه

بر اساس نتایج تجزیه واریانس (جدول ۳)، بین تیمارهای قارچی مایکورایزا و اندوفیت اختلاف معنی‌داری از نظر میزان کلنیزاسیون ریشه گشنیز وجود داشت ($P<0.01$). نتیجه مقایسه میانگین‌ها نشان داد که بیشترین میزان کلنیزاسیون مربوط به تیمار قارچی تلفیقی PI+RI با ۹۱/۷۵ درصد و کمترین میزان کلنیزاسیون مربوط به تیمار مایکورایزایی توام RI+DV با ۷۰/۷۵ درصد در مقایسه با شاهدهای منفی و مثبت بود (شکل ۲).



شکل۲- مقایسه میانگین اثر قارچ‌ها بر درصد کلنیزاسیون گیاه گشنیز(RI: *R. irregularis*، DV: *D. versiformis*، PI: *P. indica*، RI+ DV: *R. irregularis* + *D. versiformis*، PI+DV: *P. indica* + *D. versiformis*، PI+RI: *P. indica*+ *R. irregularis*، PI+RI+DV: *P. indica* + *R. irregularis* + *D. versiformis*، PC: شاهد مثبت و NC: شاهد منفی).

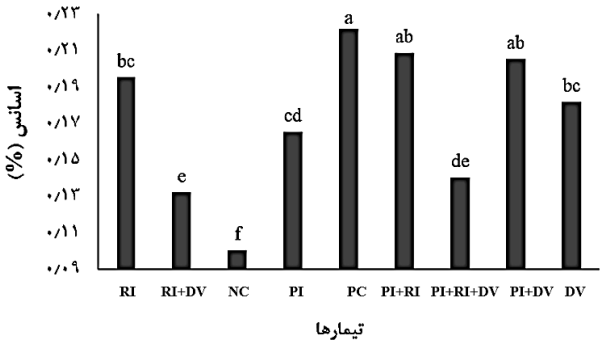
افزایش درصد کلنیزاسیون در یک گونه قارچی نسبت به گونه دیگر، به گونه گیاهی و سازگاری آن قارچ بستگی دارد حتی قارچ‌های مربوط به یک گونه که از مناطق مختلف جمع آوری شده باشند از نظر درصد کلنیزاسیون اختلاف دارند درواقع هرچند که از نظر مورفولوژی با هم شبیه باشند ولی ازنظر فیزیولوژی باهم تفاوت دارند (غلامی و کوچکی ۲۰۰۱). در برخی گیاهان از جمله گشنیز، معمولا درصد همزیستی بالا است و در شرایط خاک استریل که سایر قارچ‌ها و باکتری‌ها حضور ندارند، درصد کلنیزاسیون ریشه بالا می‌رود که در خاک طبیعی و غیر استریل معمولا چنین درصدهایی مشاهده نمی‌شود. همچنین با توجه به پایین بودن فسفر قابل جذب خاک، کلنیزاسیون مایکورایزایی تشدید می‌گردد. قارچ های آربوسکولار مایکورایزا در کورتکس ریشه وارد شده و اندامهای وزیکول، آربوسکول و هیف تولید می‌کنند ولی قارچ ایندیکا در کورتکس ریشه فقط با گسترش هیف‌های خود اقدام به تولید تعداد زیادی اسپورهای گلابی شکل می‌کند. بنابراین در این همزیستی پس از رنگ آمیزی ریشه، اندام‌های قارچ شامل هیف‌ها و اسپورها بصورت رنگی در بافت ریشه بی رنگ شده دیده

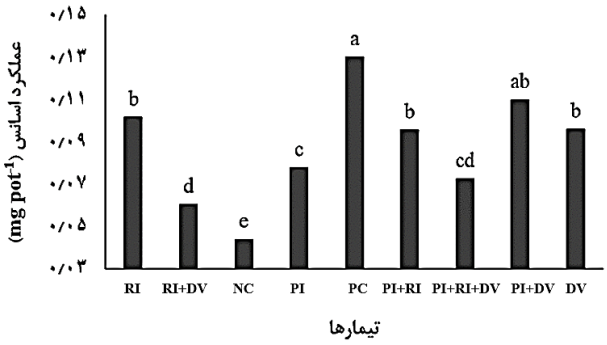
می‌شوند. تعیین درصد کلنیزاسیون ریشه در هر دو همزیستی شبیه هم است.

درصد و عملکرد اسانس

بر اساس نتایج تجزیه واریانس (جدول۳)، کاربرد تیمارهای قارچی تاثیر معنی‌داری بر درصد و عملکرد اسانس گشنیز داشته است ($P<0.01$). بر اساس مقایسه میانگین‌ها (شکل ۲) بیشترین عملکرد اسانس مربوط به تیمار شاهد مثبت با مقدار ۰/۱۲۹۹میلی گرم درگلدان بود که افزایش ۱۳۲ درصدی نسبت به شاهد منفی نشان داد.

در رتبه بعدی تیمار توام قارچ مایکورایزا و اندوفیت (PI+DV) با ۰/۱۰۴۸ میلی گرم در گلدان قرار داشت که افزایش ۱۰۷/۲ درصدی نسبت به شاهد منفی و کاهش۱۰ درصدی نسبت به شاهد مثبت نشان داد. در بین تیمارهای قارچی کمترین عملکرد اسانس مربوط به تیمار توام قارچ مایکورایزا–اندوفیت (RI+DV) با عملکرد اسانس ۰/۰۴۳۷میلی‌گرم در گلدان بود که باز هم نسبت به شاهد منفی افزایش ۳۷/۷ درصدی نشان داد ولی در مقایسه با شاهد مثبت، ٤٠/٦ درصد عملکرد اسانس کمتری داشت (شکل ۳).



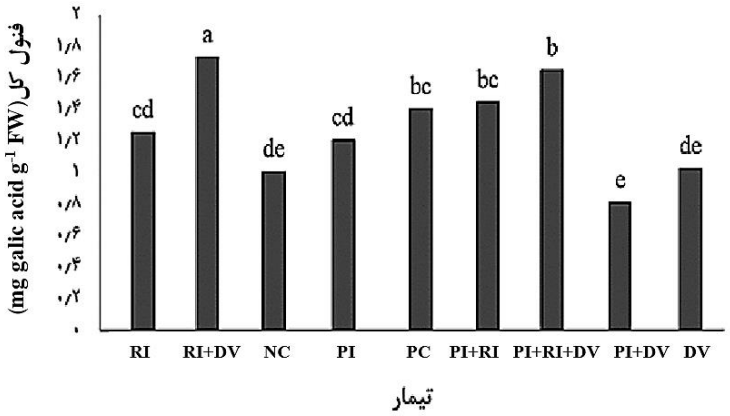


شکل۳- مقایسه میانگین اثر قارچ‌ها بر عملکرد و درصد اسانس گیاه گشنیز (RI: *R. irregularis*، DV: *D. versiformis*، PI: *P. indica*، RI+ DV: *R. irregularis + D. versiformis*، PI+DV: *P. indica + D. versiformis*، PI+RI: *P. indica+ R. irregularis*، PI+RI+DV: *P. indica + R. irregularis + D. versiformis*، PC: شاهد مثبت و NC: شاهد منفی).

علی‌آبادی و همکاران (۲۰۰۸) و کاپور و همکاران (۲۰۰۲) نشان دادند که استفاده از قارچ مایکورایزا گونه *Rhizophagus irregularis* بر عملکرد اسانس گیاه دارویی گشنیز اثر مثبتی داشته است. آهنگر (۲۰۱۷) ویلدووا و استلکوا (۲۰۰٦) در گیاه نعناع فلفلی و بابونه اثرات کشت ارگانیک را بر عملکرد اسانس، مثبت گزارش کردند. نتایج درزی و همکاران (۲۰۰٦) نشان داد که اثر کاربرد قارچ مایکورایزا و کود بیولوژیک بیوفسفات بر میزان اسانس گیاه رازیانه معنی‌دار بود. دلیل بهبود کیفیت گیاهان دارویی در شرایط استفاده از کودهای بیولوژیک به اثرات متقابل گیاه و ریزجاندار، انتقال سیگنال توسط ریزجاندار و پاسخ های دفاعی گیاه نسبت داده شده است (ایمرو همکاران، ۱۹۹۸; کارتیکیان و همکاران ۲۰۰۸). علاوه بر این گزارش شده است که برخی از مسیرهای بیوسنتزی متابولیت‌های ثانویه به وسیله میکروارگانیسم‌های خاکزی از جمله مایکورایزا تحریک می‌گردد (دمر و همکاران ۲۰۰٤) همچنین همزیستی قارچ میکوریز با ریشه گیاه نعناع از طریق افزایش جذب آب و عناصر پرمصرف در بهبود میزان اسانس مؤثر بوده است (گوپتا و همکاران ۲۰۰۲).

فنول برگ

بر اساس نتایج تجزیه واریانس (جدول۳)، کاربرد تیمارهای قارچی تاثیر معنی‌داری بر فنول برگ گشنیز داشته است ($P<0.01$). نتایج مقایسه میانگین‌ها نشان داد که بیشترین فنول برگ مربوط به تیمار مایکورایزایی توام RI+DV به مقدار ۱/۷۳ mg galic acid g^{-1} FW بود. کمترین مقدار فنول متعلق به تیمار مایکورایزایی توام PI+DV با مقدار فنول ۰/۸۰۸۷ mg galic acid g^{-1} FW بود (شکل ٤).

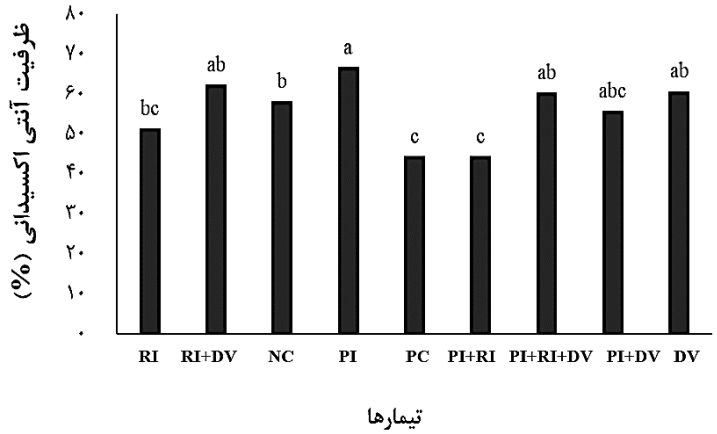


شکل۴- مقایسه میانگین اثر قارچ‌ها برفنول برگ گیاه گشنیز (RI: *R. irregularis*، DV: *D. versiformis*، PI: *P. indica* + RI+ DV: *R. irregularis* + *D. versiformis*، PI+DV: *P. indica* + *D. versiformis*، PI+RI: *P. indica*+ *R. irregularis*، PI+RI+DV: *P. indica* + *R. irregularis* + *D. versiformis*، PC: شاهد مثبت و NC: شاهد منفی).

ترکیبات فنولی به عنوان گروهی از متابولیتهای ثانویه، دارای ساختار شیمیایی متنوع و گسترده در گیاهان می‌باشند که نقش عمده‌ای در دفاع شیمیایی گیاهان در برابر میکروب‌ها دارند (اینهلیگ ۱۹۹٦). شواهد آزمایشگاهی نشان می‌دهند که فنول‌ها به عنوان سیگنال در نمو گیاه و برهمکنش‌های گیاه – میکروب عمل می‌کنند (لین و چانگ ۱۹۹۰). انباشتگی فنول‌ها در گیاهان مایکوریزایی نسبت به گیاهان شاهد در بررسی‌های مختلف نشان داده شده است (کریشنا و بقیاراج ۱۹۸٤، هاشم و همکاران ۲۰۱۸). بررسی نتایج نشان داد که قارچ مایکورایزا DV در حالت منفرد دارای فنول مشابه شاهد منفی بوده ولی هنگامی که با قارچ اندوفیت *P. indica* همراه می‌شود (تیمار توام PI+DV) فنول آن از تیمار شاهد نیز کمتر می‌گردد. بطور کلی وقتی قارچ وارد ریشه می‌گردد تولید ترکیبات فنولی گیاه افزایش می‌یابد و این یک نوع پاسخ دفاعی برای گیاه می‌باشد. این فرایند برای گیاه همزیست با قارچ مایکورایزا کمتر از قارچ‌های بیماریزا می‌باشد (ترینداد و همکاران ۲۰۲۱، والیس و گالارنیو ۲۰۲۰).

ظرفیت آنتی‌اکسیدانی کل

نتایج تجزیه واریانس (جدول ۳) نشان داد که بین تیمارها از نظر تاثیر بر ظرفیت آنتی‌اکسیدانی گیاه گشنیز اختلاف معنی‌دار وجود دارد ($P<0.01$). نتایج مقایسه میانگین‌ها نشان داد که بالاترین ظرفیت آنتی‌اکسیدانی مربوط به تیمار اندوفیت *P. indica* با ۷/۲٤ ٪ بود که در مقایسه با شاهد مثبت و منفی به ترتیب ۳۳/۲ ٪ و ۱۱/۸۱ ٪ افزایش نشان داد و پایین‌ترین عملکرد مربوط به تیمار توام قارچ مایکورایزا – اندوفیت (PI+RI) بود که ۲۸/۵۲ ٪ کاهش در مقایسه با شاهد منفی و ۱/۲۳ درصد کاهش در مقایسه با شاهد مثبت نشان داد (شکل ٥).



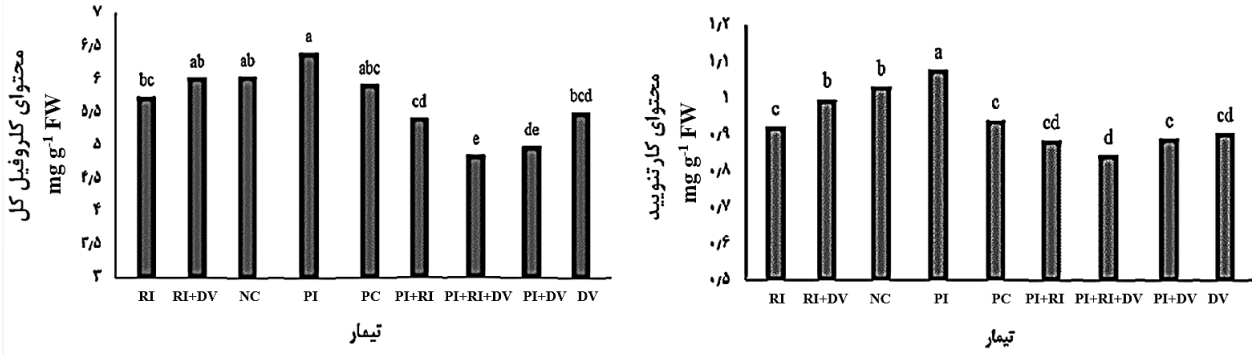
شکل۵- مقایسه میانگین اثر قارچ‌ها بر ظرفیت آنتی‌اکسیدانی کل گیاه گشنیز (RI: *R. irregularis*، DV: *D. versiformis*، PI: *P. indica*، RI+ DV: *R. irregularis* + *D. versiformis*، PI+DV: *P. indica* + *D. versiformis*، PI+RI: *P. indica*+ *R. irregularis*، PI+RI+DV: *P. indica* + *R. irregularis* + *D. versiformis*، PC: شاهد مثبت و NC: شاهد منفی).

تلقیح با قارچ آربوسکولار مایکورایزا، سبب افزایش ترکیبات فنولی و سطح آنتی‌اکسیدان‌ها شده که این افزایش، در نتیجه مکانیسم دفاعی است که پس از تماس ریشه گیاه میزبان و اندام‌های قارچ مایکورایزا آغاز می‌شود (کارلسون ۲۰۰۸ ، بانالس ۲۰۱٤). آنتی‌اکسیدان-ها می‌توانند مانع واکنش‌های اکسیداتیو شده و به عملکرد سیستم‌های آنزیمی برای مکانیسم‌های دفاعی خود درون سلول کمک کنند (لیو ۲۰۰٤). اثر مثبت قارچ‌های مایکورایزا بر افزایش ظرفیت آنتی‌اکسیدانی نیز اخیراً توسط برخی محققین گزارش شده است (دودهان ۲۰۱۱ ، عبدل و همکاران ۲۰۱۱). قارچ اندوفیت *P. Indica* سبب افزایش سطح جذب ریشه از طریق تکثیر ریشه‌های موئین، پهنای برگ، میزان کلروفیل، راندمان فتوسنتزی برگ، تعداد جوانه‌های گل، تعداد میوه‌ها، میزان تجمع آب و مواد پرورده میوه، کیفیت بهتر میوه و در نهایت عملکرد گیاهان همزیست، از جمله گیاهان دارویی می‌شود (لیو و همکاران ۲۰۱۹ ؛ قاسم نژاد و همکاران ۲۰۱۳). پژوهش‌ها نشان داده که این قارچ علاوه بر تأثیر مستقیم در رشد گیاه از طریق تحریک سیستم دفاعی گیاه مقاومت آن را در مقابل بیماری‌ها و همچنین کم‌آبی افزایش می‌دهد (والر و همکاران ۲۰۰۵ ؛ دشموخ و همکاران ۲۰۰٦).

کلروفیل کل و کارتنوئید

نتایج تجزیه واریانس (جدول ۳) نشان داد که بین تیمارها از نظر کلروفیل کل و محتوای کارتنوئید گیاه گشنیز اختلاف معنی‌دار وجود دارد ($P<0.01$). بر اساس نتایج مقایسه میانگین‌ها بیشترین میزان محتوای کارتنوئید مربوط به تیمار قارچ اندوفیت (PI) به میزان mg $1/07 g^{-1}$ بود که افزایش ۷/۸٤ درصدی نسبت به شاهد منفی و ۱٤/٤ درصدی نسبت به شاهد مثبت نشان می‌داد. کمترین محتوای کارتنوئید مربوط به تیمار توام قارچ مایکورایزا و اندوفیت (PI+RI+DV) به میزان $0/84 mg\ g^{-1}$ بود که کاهش ۲۱/۱ درصدی نسبت به تیمار شاهد منفی و کاهش ۱۰/۳ درصدی نسبت به شاهد مثبت نشان داد (شکل ٦). در مورد نتایج کلروفیل کل، نتایج نشان داد که بیشترین میزان کارتنویید مربوط به تیمار قارچ اندوفیت (PI) بود ($6/41 mg\ g^{-1}$) که به ترتیب منجربه افزایش ۵/۸۷ درصدی نسبت به شاهد منفی و۸/٤۲ درصدی نسبت به شاهد مثبت گردید (هرچند که این اختلاف معنی‌دار نبود).

کمترین میزان کلروفیل کل مربوط به تیمار توام قارچ مایکورایزا و اندوفیت PI+RI+DV بود ($٤/٨٤ mg\ g^{-1}$) که به ترتیب کاهش ۲۰/۱ درصدی نسبت به تیمار شاهد منفی و ۱۸/۳ درصدی نسبت به شاهد مثبت داشت (شکل ٦).



شکل۶- مقایسه میانگین اثر قارچ‌ها بر ظرفیت آنتی‌اکسیدانی کل گیاه گشنیز (RI: *R. irregularis*، DV: *D. versiformis*، PI: *P. indica*، RI+ DV: *R. irregularis* + *D. versiformis*، PI+DV: *P. indica* + *D. versiformis*، PI+RI: *P. indica*+ *R. irregularis*، PI+RI+DV: *P. indica* + *R. irregularis* + *D. versiformis*، PC: شاهد مثبت و NC: شاهد منفی).

محققین گزارش کردند، گیاهان کلونیزه شده با قارچ آربوسکولارمایکورایزا، سرعت فتوسنتز بالاتر و محتوای کلروفیل بالاتری نسبت به گیاهان شاهد داشته و قارچ آربوسکولار مایکورایزا با افزایش کلروفیل کل، محتوای کارتنوئیدی و افزایش تجمع کربوهیدات‌ها، فتوسنتز خالص را بصورت قابل توجهی افزایش می‌دهد (مانوهاران ۲۰۰۸). کارتنوئیدها از طریق چرخه گزانتوفیل و واکنش‌های اپوکسیداسیون و دپوکسیداسیون، سبب کاهش مصرف اکسیژن شده و از کلروفیل در مقابل فتواکسیداسیون محافظت می‌کنند (سایرام و همکاران ۱۹۹۸). نتایج این تحقیق نشان داد که میزان کلروفیل برگ در شاهد مثبت و منفی و نیز قارچ‌های مایکورایزا دارای اختلاف معنی‌داری نمی‌باشند غلظت کلروفیل می‌تواند از یک طرف به سطح برگ گیاه و از طرفی به میزان نیتروژن دریافتی گیاه مرتبط باشد که علت افزایش میزان کلروفیل در گیاهان مایکورایزیی، افزایش سطح برگ به دلیل جذب فسفر بوده و در تیمار شاهد مثبت به دلیل اضافه شدن نیتروژن به خاک بوده که کلروفیل افزایش یافته ولی در تیمار شاهد منفی به‌علت عدم جذب فسفر سطح برگ محدود بوده لذا غلظت کلروفیل افزایش یافته است.

جدول۳- تجزیه واریانس اثر تیمارهای قارچی بر پارامترهای گیاه گشنیز.

منابع تغییرات	درجه آزادی	میانگین مربعات					
		کارتنویید	کلروفیل	فنول کل	درصد کلنیزاسیون	عملکرد اسانس	ظرفیت آنتی اکسیدانی
تیمار	۸	۵۷۷۴۳/۸**	۲۵۲/۱**	۸/۸۸**	۱۹۶۰۴/۳**	۰/۰۲۴**	۰/۰۱۵**
خطا	۲۴	٤٧٨١/ ٨٢	۱۵/۷۰۱	۰/۰۸۲	۲۵۶	۰/۰۰۱	۰/۰۰۳۱
ضریب تغییرات٪		۱۸/۲۵	۱۵/۸۴	۲۰/۵۹	۹/۱۳	۱۲/۸۸	۱۷/۱۵

** معنی دار در سطح ۱ درصد.

نتیجه‌گیری کلی

در جمع بندی نتایج آزمایش می‌توان گفت که قارچهای مایکورایزا در مقایسه با قارچ اندوفیت، منجربه افزایش بیشتر زیست توده گیاه می‌گردند هرچند که تلفیق قارچهای مایکورایزا و اندوفیت باعث بالاترین عملکرد از این نظر می‌شود. بنظر می‌رسد قارچ *P. indica* در مقایسه با قارچهای مایکورایزا، منجربه افزایش بیشتر سطح دفاعی گیاه شده و همین روند در عملکرد اسانس و کلروفیل کل و کارتنویید هم دیده می‌شود. طبق نتایج این تحقیق برای رسیدن به عملکرد بالاتر در گیاه گشنیز بهتر است از تیمارهای منفرد قارچهای مایکورایزا بهره برد ولی همچنان که از نتایج این آزمایش یدست آمد برای تقویت عملکرد قارچهای مایکورایزا برای بهبود رشد و توسعه گیاه گشنیز به ویژه بهبود عملکرد اسانس، بهتر است ازتیمارهای تلفیقی قارچهای مایکورایزا و اندوفیت بهره برد. لازم به ذکر است که نتایج این آزمایش در شرایط گلخانه‌ای بدست آمده است و برای تایید نهایی کارایی قارچهای مورد استفاده در این آزمایش، بایستی مطالعات بیشتر در سطح مزرعه‌ای همراه با اندازه گیری صفات بیشتر جهت ارائه نتایج شفاف تر انجام شود.

منابع مورد استفاده

Abdel Latef AH and Chaoxing H, 2011. Effect of arbuscular mycorrhizal fungi on growth, mineral nutrition, antioxidant enzymes activity and fruit yield of tomato grown under salinity stress. Scientia Horticulturae 127(3): 228–233.

Aliabadi Farahani H and Valadabadi SAR, 2010. The role of arbuscular mycorrhizal fungus of coriander (*Coriandrum sativum* L.) in drought stress conditions. Iranian Journal of Soil Research 1 (28): 69-80. (In Persian with English abstract).

Amanifar S, Aliasgharzad N, Najafi N, Esteki M, Oustan Sh and Bolandnazar S, 2019. Evaluation of the effects of mycorrhizal inoculation on lead (Pb) uptake and growth of alfalfa in Pb-contaminated soil. Iran Agricultural Research 38(1) 75-86. (In Persian with English abstract)

Bansal M and Mukerji KG, 2002. Methods in study of viability of VAM fungal spores. Pp: 217-229. In: Techniques in Mycorrhizal Studies. Springer, Dordrecht.

Banuelos J, Alarcon A, Larsen J, Cruz-Sánchez S and Trejo D, 2014. Interactions between arbuscular mycorrhizal fungi and meloidogyne incognita in the ornamental plant impatiens balsamina. Journal of Soil Science and Plant Nutrition 14(1): 63-74.

Bolandnazar S, Karimi K and Sarikhani MR, 2019. The effect of plant growth-promoting bacteria and arbuscular mycorrhizal fungi on the physiological traits of Iranian leeks (*Allium ampeloprasum* L.). Agricultural Knowledge and Sustainable Production 29 (1): 121-136. (In Persian with English abstract).

Brand-Williams W, Cuvelier ME and Berset CL, 1995. Use of a free radical method to evaluate antioxidant activity. LWT-Food Science and Technology 28(1):25-30.

Carlsen SC, Understrup A, Fomsgaard IS, Mortensen AG and Ravnskov S, 2008. Flavonoids in roots of white clover: interaction of arbuscular mycorrhizal fungi and a pathogenic fungus. Plant and Soil 302 (1): 33-43.

Darzi MT, Galavand A, Rajaee F and Sefidcan F, 2006. The effect of biofertilizer application on yield and yield components of fennel (*Foeniculum vulgare* Mill.). Iranian Journal of Medicinal and Aromatic Plants 22 (4): 276-292. (In Persian with English abstract).

Demir S, 2005. Influence of arbuscular mycorrhiza on some physiological growth parameters of pepper. Turkish Journal of Biology 28(4): 85-90.

Dudhane MP, Borde MY and Jite PK, 2011. Effect of arbuscular mycorrhizal fungi on growth and antioxidant activity in *Gmelina arborea* Roxb. under salt stress condition. Notulae Scientia Biologicae 3(4): 71-78.

Einhellig FA, 1996. Interactions involving allelopathy in cropping systems. Agronomy Journal 88(6):886-93.

Fallahi J, Kochaki A and Rezvani P, 2009. The effect of biological fertilizers on quantitative and qualitative yield of German chamomile (*Matricicaria chamomilla*). Iranian Journal of Crop Research 7 (1): 127-135. (In Persian with English abstract).

Feng F, Sun J, Radhakrishnan GV, Lee T, Bozsóki Z, Fort S, Gavrin A, Gysel K, Thygesen MB, Andersen KR and Radutoiu S, 2019. A combination of chitooligosaccharide and lipochitooligosaccharide recognition promotes arbuscular mycorrhizal associations in *Medicago truncatula*. Nature Communications 10(1):1-12.

Gee GW and Bauder JW, 1986. Partical-size analysis. Pp. 383- 411. In: Klute A (eds). Methods of Soil Analysis: Physical and Mineralogical Methods. Part 1,2nd (ed.) Soil Sience Society of America, Madison, Wisconsin, United States of America.

Gholami A and Kochaki A, 2001. Mycorrhiza in Sustainable Agriculture (translation). Shahroud University Press (In Persian).

Gupta PK, 2000. Soil, Plant Water and Fertilizer Analysis. Agrobios, New Delhi, India.

Hao Z, Xie W and Chen B, 2019. Arbuscular mycorrhizal symbiosis affects plant immunity to viral infection and accumulation. Viruses 11(6): 534-542.

Hashem A, Alqarawi AA, Radhakrishnan R, Al-Arjani AB, Aldehaish HA, Egamberdieva D and Abdallah EF, 2018. Arbuscular mycorrhizal fungi regulate the oxidative system, hormones and ionic equilibrium to trigger salt stress tolerance in *Cucumis sativus* L. Saudi Journal of Biological Sciences 25(6):1102-14.

Heidarianpour MB, Aliasgharzad N and Olsson PA, 2020. Positive effects of co-inoculation with *Rhizophagus irregularis* and *Serendipita indica* on tomato growth under saline conditions, and their individual colonization estimated by signature lipids. Mycorrhiza 30:455-66.

Imre E, Somssich IE and Hahlbrok K, 1998. Pathogen defense in plant-a paradigm of biological complexity. Trends in Plant Science 3(3): 86–90.

Jisha S and Sabu KK, 2019. Multifunctional aspects of *Piriformospora indica* in plant endosymbiosis. Mycology 10(3): 182-194.

Kapoor R, Chaudhary V and Bhatnagar AK, 2007. Effects of arbuscular mycorrhiza and phosphorus application on artemisinin concentration in *Artemisia annua L*. Mycorrhiza 17(7): 581-587.

Karthikeyan B, Jaleel CA, Lakshmanan GA and Deiveekasundaram M, 2008. Studies on rhizosphere microbial diversity of some commercially important medicinal plants. Biointerfaces 62(1):143-145.

Kormanik P and McGraw A, 1982. Quantification of vesicular-arbuscular mycorrhizae in plant roots, Pp: 37-45. In: Schenck NC, (Ed.), Methods and Principles of Mycorrhizal Research. The American Phytopathological Society, St Paul, Minnesota.

Krishna KR and Bagyaraj DJ, 1984. Phenols in mycorrhizal roots of *Arachis hypogaea*. Experientia 40(1):85-6.

Lee J, Koo N and Min DB, 2004. Reactive oxygen species, aging, and antioxidative nutraceuticals. Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety 3(1): 21-33.

Liu J, Maldonado-Mendoza I, Lopez-Meyer M, Cheung F, Town CD and Harrison MJ, 2007. Arbuscular mycorrhizal symbiosis is accompanied by local and systemic alterations in gene expression and an increase in disease resistance in the shoots. The Plant Journal 50(3): 529-544.

Lynn DG and Chang M, 1990. Phenolic signals in cohabitation: implications for plant development. Annual Review of Plant Biology 41(1):497-526.

Malakoti M J, 2000. Optimum use of fertilizers recommendation for crops and horticulture. Technical Publication No. 200, Soil and Water Research Institute, Publication of Agricultural Education.

Mandal S and Mandal M, 2015. Coriander (*Coriandrum sativum* L.) essential oil: Chemistry and biological activity. Asian Pacific Journal of Tropical Biomedicine 5(6): 421-428.

Manoharan PT, Pandi M, Shanmugaiah V, Gomathinayagam S and Balasubramanian N, 2008. Effect of vesicular arbuscular mycorrhizal fungus on the physiological and biochemical changes of five different tree seedlings grown under nursery conditions. African Journal of Biotechnology 7(19): 124-136.

Nadeem M, Muhammad Anjum F, Issa Khan M, Tehseen S, El-Ghorab A and Iqbal Sultan J, 2013. Nutritional and medicinal aspects of coriander (*Coriandrum sativum* L.) A review. British Food Journal 115(5): 743-755.

Nadian H, Smith SE, Alston AM and Murray RS, 1997. Effects of soil compaction on plant growth, phosphorus uptake and morphological characteristics of vesicular–arbuscular mycorrhizal colonization of *Trifolium subterraneum*. The New Phytologist 135(2): 303-311.

Nelson DW and Sommers LE, 1982. Total carbon, organic carbon, and organic matter. Pp: 539–579. In: Page AL, Miller RH and Keeney DR (eds). Methods of Soil Analysis, Part 2. American Society of Agronomy, Soil Sience Society of America. Madison, Wisconsin.

Norrif IR, Read DJ and Varma AK, 1992. Methods in Microbiology Techniques for Study of Mycorrhiza. Academic Press, London.

Olsen SR and Sommers LE, 1982. Phosphorus. Pp: 403-430. In: Page AL, (ed.) Methods of Soil Analysis, Chemical and Microbiological Properties. Part 2. American Society of Agronomy, Soil Sience Society of America. Madison, Wisconsin.

Omid Beygi R, 1997. Approaches to the Production and Processing of Medicinal Plants. Design Publishing Press.

Paradi I, Bratek Z and Lang F, 2003. Influence of arbuscular mycorrhiza and phosphorus supply on polyamine content, growth and photosynthesis of *Plantago lanceolata*. Biologia Plantarum 46(4): 563-576

Pham GH, Singh A, Malla R, Kumari R, Prasad R, Sachdev M, Rexer KH, Kost G, Luis P, Kaldorf M and Buscot F, 2008. Interaction of *Piriformospora indica* with diverse microorganisms and plants. Pp. 237-265. In: Plant Surface Microbiology. Springer, Berlin, Heidelberg.

Prajapati K, Yami KD and Singh A, 2008. Plant growth promotional effect of *Azotobacter chroococcum*, *Piriformospora indica* and vermicompost on rice plant. Nepal Journal of Science and Technology 9: 85-90.

Richardes LA, 1954. Diagnosis and Improvement of Saline and Alkali Soils. United States Salinity Laboratory Staff. Agriculture Handbook 60. P.162. United States Department of Agriculture.

Saeed Nejad AH, Rezvani Moghadam P and Nasiri Mahallati M, 2011. The effect of organic matter, biofertilizers and chemical fertilizers on protein digestibility and protein content of specific cultivars of forage sorghum. Iranian Crop Research 9 (4): 623-630. (In Persian with English abstract).

Sairam RK, Deshmukh PS and Saxena DC, 1998. Role of antioxidant systems in wheat genotypes tolerance to water stress. Biologia Plantarum 41(3): 387-394.

Schenck NC and Y Perez, 1988. Mannual for the Identification of VA Mycorrhizal Fungi. p. 241. INVAM, 1453 Fifield Hall, University of Florid, Gainesville, Flo, USA.

Sefidcan F, 1999. Evaluation of essential oils of aerial parts and coriander fruit. Medicinal and Aromatic Plant Research 13: 32-38. (In Persian with English abstract).

Shaabani V, Aliasgharzad N and Oustan S, 2013. Glomalin production by two glomeral fungi in symbiosis with corn plant under different Pb levels. International Journal of Agriculture: Research and Review 3: 854-863. (In Persian with English abstract).

Sohrabi Y, Heidari G, Weisany W, Ghasemi-Golezani K and Mohammadi K, 2012. Some physiological responses of chickpea cultivars to arbuscular mycorrhiza under drought stress. Russian Journal of Plant Physiology 59(6): 708-716.

Trindade R, Almeida L, Xavier L, Andrade EH, Maia JG, Mello A, Setzer WN, Ramos A and da Silva JK, 2020. Influence on secondary metabolism of *Piper nigrum* L. by co-inoculation with arbuscular mycorrhizal fungi and *Fusarium solani* sp. piperis. Microorganisms 9(3):484-796.

Varma A, Verma S, Sahay N, Bütehorn B and Franken P, 1999. *Piriformospora indica*, a cultivable plant-growth-promoting root endophyte. Applied and Environmental Microbiology 65(6): 2741-2744.

Wallis CM and Galarneau ER, 2020. Phenolic compound induction in plant-microbe and plant-insect interactions: A meta-analysis. Frontiers in plant science 11:2034-2051.

Waterhouse AL, 2002. Determination of total phenolics. Current Protocols in Food Analytical Chemistry 6(1):1-11.