Journal of Horticultural Plants Nutrition
Vol.3, No.1, Spring and Summer 2020
Research Paper

Study the effect of different mycorrhizal fungi on some growth indices, photosynthetic pigments, flavonoids and carotenoid content of pot marigold flower

Zahra Kheyri [1] ***, Mohammad Moghaddam*** [2*] ***, Mehdi Moradi*** [3]

1- Department of Horticultural Science and Landscape Engineering, Faculty of Agriculture, Ferdowsi University of Mashhad, Mashhad, Iran. zahrakheyri1364@gmail.com
2- Corresponding Author and Department of Horticultural Science and Landscape Engineering, Faculty of Agriculture, Ferdowsi University of Mashhad, Mashhad, Iran. m.moghadam@um.ac.ir
3- Plant Production Department, High Educational Society of Agriculture and Animal Husbandry, Torbat Jam, Iran. moradi.ob@gmail.com

Received Date: 2019/12/17 Accepted Date: 2020/02/08

Abstract

Introduction: Studying the fertilizer requirement and replacing biological fertilizers (mycorrhizal fungi) instead of chemical fertilizers is one of the great valuable issues in sustainable agriculture. Mycorrhizal fungi as biological fertilizer has applied to absorb nutriotion elements from the soil to increase plant growth. The researchers indicated that mycorrhizal fungi cause to change the metabolism of host plant by mycorrhizal inoculation and this modification in metabolism, produce defensive compounds in plant. Furthermore, mycorrhizal fungi improve plant growth by enhancing nutritional and water conditions of plant with changing the root morphology and increasing absorption area with their root development in the soil and stimulating gas interchanging via enhancing the sink capacity, which can be in consequence of nutritional conditions and water relationship enhancement by that fungus. *Calendula officinalis* is an annual plant from Asteraceae family, one of the well-known medicinal plants that nowadays uses lot in pharmaceutical, cosmetic and hygienic industries. The aim of this study was to evaluate the effect of various mycorrhizal fungi species on some growth characteristics, photosynthetic pigments, secondary metabolites amount (flavonoid and carotenoid) in maigold flower.

Material and methods: This study was performed as a completely randomized design with three replications. The treatments comprised inoculation of different mycorrhizal fungi species included *Glomus fasciculatum* ,*Glomus claroideum*, *Glomus versiform*, *Glomus geosporum*, *Glomus caledonium*, *Glomus mosseae*, *Glomus intraradicese* *Glomus etanicatum*, *Glomus gigaspora* and without fungal inoculation. The inoculation media of mycorrhizal fungi included vegetative organs and the spores of mycorrhizal fungi. In the experimental treatments 200 g of this media used for 5 Kg soil each pot.
The seeds of pot marigold were cultivated in the cultivation tray containing equal ratio of perlite and cocopeat, then at four leaves stage, three seedlings were transferred to each pot. After about three months from applying the treatments and at flowering stage, the plants harvested and the studied characteristics included plant height, branchlet number, inflorescence number, stem diameter, flower dry weight, photosynthetic pigments (chlorophyll a, b, carotenoid and total chlorophyll), relative water content, flavonoid and carotenoid of flowers were measured. The data were subjected to statistical analysis by Minitab 18 software and the means were compared with Bonferroni test at $P < 0.05$

Results and discussion: The results of analysis of variance showed that the effect of different types of mycorrhizal fungi on all of the studied characteristics in this experiment were significant at 1% probability level. Among the nine mycorrhizal fungi species that used in this study, application of *G. mosseae* had the highest effect on improving the most growth indices of pot marigold such as plant height, branchlet number, inflorescence number and flower dry weight. Also it had positive effect on enhancing photosynthetic pigments, so that total chlorophyll content increased 67% in this treatment compare to control. The highest relative water content and flower carotenoid also observed in this treatment. After that *G. etanicatum* and *G. geosporum* fungi provided the best conditions for pot marigold. Furthermore, the highest fungus colonization percentage (76.7%) with marigold root was observed at *G. intraradicese* and there was no significant differences with *G. mosseae* (71%) and *G. geosporum* (70.66%) and the lowest colonization percentage (33%) was obtained at control and after that among different mycorrhiza species *G. gigaspora* showed 53% colonization. Therefore, among the studied mycorrhiza species in this research, *G. mosseae*, *G. etanicatum* and *G. geosporum* can provide the best conditions for growth and desirable production of secondary metabolites in pot marigold as medicinal plant and suitable replacement for chemical fertilizers in the most organic agriculture.

Conclusions: Most mycorrhizal fungi species used in this research had high symbiosis with pot marigold root, therefore the measured characteristics in the most inoculated plants with mycorrhizal fungi significantly increased in comparison with control that can be in consequence of improving water relationships of plant and probably better nutrition absorption by mycorrhizal fungi. Of course *G. gigaspora* and *G. claroideum* in comparison with the other mycorrhizal fungi species that studied in this experiment, could not create good colonization with pot marigold root and therefore had not good effect on growth improvement and yield of marigold. Based on the obtained results of this study, *G. mosseae*, *G. etanicatum* and *G. geosporum* can provide the best conditions for desirable growth and production for pot marigold and as biological fertilizer are suitable replacement for chemical fertilizers.

Keywords: *Glomus etanicatum*, Total chlorophyll, *Glomus mosseae*, Flower dry weight.

نشریه علمی تغذیه گیاهان باغی
دوره ۳، شماره ۱، بهار و تابستان ۱۳۹۹، (ص ۵۰- ۳۷)
مقاله پژوهشی

بررسی تأثیر گونه‌های مختلف قارچ مایکوریزا بر برخی شاخص‌های رشدی، رنگیزه‌های فتوسنتزی، محتوای فلاونوئید و کارتنوئید گل همیشه‌بهار

زهرا خیری [۱]، محمد مقدم [۲*]، مهدی مرادی [۳]

۱- دانشجوی کارشناسی ارشد گروه علوم باغبانی و مهندسی فضای سبز، دانشکده کشاورزی، دانشگاه فردوسی مشهد، مشهد، ایران.
zahrakheyri1364@gmail.com
۲- نویسنده مسئول و دانشیار گروه علوم باغبانی و مهندسی فضای سبز، دانشکده کشاورزی، دانشگاه فردوسی مشهد، مشهد، ایران.
m.moghadam@um.ac.ir
۳- مربی گروه تولیدات گیاهی، مجتمع آموزش عالی کشاورزی و دامپروری تربت جام، تربت جام، ایران.
moradi.ob@gmail.com

تاریخ دریافت: ۱۳۹۸/۰۹/۲۶ **تاریخ پذیرش: ۱۳۹۸/۱۱/۱۹**

چکیده

بررسی نیاز کودی و جایگزین کردن کودهای زیستی (قارچ‌های مایکوریزا) بجای کودهای شیمیایی جزء مسائل بسیار ارزشمند در کشاورزی پایدار و حفظ سلامت جامعه می‌باشد. قارچ‌های مایکوریزا به وسیله تلقیح مایکوریزایی موجب تغییر در متابولیسم گیاه میزبان می‌شوند و این تغییر در متابولیسم، سبب تولید ترکیبات دفاعی در گیاه می‌گردد. علاوه بر آن، این قارچ‌ها باعث بهبود وضعیت تغذیه‌ای و آبی گیاه و در نهایت بهبود رشد گیاه می‌گردند. به‌منظور بررسی و مقایسه تأثیر نه گونه قارچ مایکوریزا بر برخی خصوصیات رشدی، محتوای نسبی آب برگ، میزان رنگیزه‌های فتوسنتزی، فلاونوئید و کاروتنوئید گیاه دارویی همیشه‌بهار، پژوهشی گلدانی بر پایه طرح کاملاً تصادفی در سال ۱۳۹۷ انجام پذیرفت. صفات مورد مطالعه شامل ارتفاع بوته، تعداد شاخه‌فرعی، تعداد شاخه گل‌دهنده، قطر ساقه، وزن خشک گل، میزان رنگیزه‌های فتوسنتزی (کلروفیل *a*، *b*، کارتنوئید و کلروفیل کل)، محتوای نسبی آب برگ، میزان فلاونوئید و کاروتنوئید گل بودند. نتایج تجزیه واریانس داده‌ها نشان داد اثر قارچ‌های مایکوریزا بر کلیه صفات مورد مطالعه در این تحقیق در سطح احتمال یک درصد معنی‌دار شد. از میان نه گونه قارچ مایکوریزای مورد بررسی در این تحقیق کاربرد قارچ *Glomus mosseae* بیشترین تأثیر را بر بهبود اکثر شاخص‌های رشدی گیاه همیشه‌بهار از جمله ارتفاع بوته، تعداد شاخه‌فرعی و شاخه گل‌دهنده و وزن خشک گل گذاشت. همچنین این قارچ تأثیر مثبتی بر بهبود رنگیزه‌های فتوسنتزی داشت؛ به‌طوری که میزان کلروفیل کل در تلقیح با آن نسبت به تیمار شاهد ٦٨ درصد افزایش یافت. بیشترین محتوای نسبی آب برگ و کاروتنوئید گل نیز در تلقیح با این قارچ مشاهده گردید. پس از آن قارچ‌های *G. etanicatum* و *G. geosporum* بیشترین تاثیر را بر بهبود اکثر صفات مورد بررسی داشتند. بنابراین از میان گونه‌های مایکوریزای مورد بررسی در این تحقیق *G. mosseae*، *G. etanicatum* و *G. geosporum* بیشترین تأثیر را در افزایش رشد و تولید مطلوب متابولیت‌های ثانویه در گیاه دارویی همیشه‌بهار داشتند به‌طوری‌که می‌توان آنها را به عنوان جایگزین مناسبی برای کودهای شیمیایی در کشاورزی ارگانیک در تولید این گیاه توصیه نمود.

کلمات کلیدی: گلوموس اتانیکاتوم، کلروفیل کل، گلوموس موسه‌آ، وزن خشک گل.

مقدمه

همیشه‌بهار (*Calendula officinalis* L.) گیاهی یک ساله و متعلق به تیره کاسنی (Asteraceae) و یکی از گیاهان دارویی شناخته شده می‌باشد که امروزه از آن در داروسازی و صنایع آرایشی و بهداشتی استفاده فراوانی می‌شود (Arora et al., 2013). همیشه‌بهار طیف گسترده‌ای از متابولیت‌های ثانویه مانند کاروتنوئیدها، فنولیک اسیدها، فلاونوئیدها، استروئیدها، ترپنوئیدها، موسیلاژها و ساپونین‌ها را دارا می‌باشد که در قسمت‌های مختلف گیاه وجود دارد (Lim, 2012). محتوای بالای فلاونوئیدها و کاروتنوئیدهای بالای آن، همیشه‌بهار را یک منبع غنی از ترکیبات آنتی‌اکسیدانتی ساخته است (Raal et al., 2009). این گیاه چندین فعالیت بیولوژیکی از جمله فعالیت‌های آنتی‌اکسیدانتی، سیتوتوکسیک (سم‌زدا)، محافظت‌کننده و ضدالتهابی دارد (Fonseca et al., 2010).

کشاورزی پایدار پیش از آن که ریشه در کشاورزی داشته باشد، برخاسته از یک مکتب فلسفی و فکری بوده که ریشه در ارزش‌هایی دارد که بیان‌گر آگاهی نوینی از واقعیت بوم‌شناختی، اجتماعی و توانایی انجام عملیات کشاورزی انسان‌ها بوده است. جایگزین شدن کودهای شیمیایی با کودهای آلی موجب پایداری بیشتر در کشاورزی خواهد شد (مهدوی دامغانی و همکاران، ۱۳۸۷). طبق نتایج، استفاده از کودهای آلی و بیولوژیک می‌تواند جایگزین مناسبی برای کودهای شیمیایی باشد (سعیدنژاد و همکاران، ۱۳۹۱).

قارچ‌های مایکوریزا به عنوان کود بیولوژیک شناخته شده و درصورت مصرف، در ناحیه ریشه گیاهان تشکیل کلونی داده و به کمک هیف‌های خارجی خود به جذب عناصر از خاک کمک کرده و بدین طریق موجب افزایش رشد و عملکرد گیاه میزبان می‌شوند. این قارچ‌ها قادر به برقراری همزیستی با ریشه اغلب گیاهان خشکی‌زی می‌باشند. همزیستی گیاه و قارچ‌های همزیست خاکزی مانند مایکوریزا، راهکاری مفید در جهت افزایش مواد آلی خاک، تقویت جوامع میکروبی، افزایش کارایی مصرف نهاده‌های کشاورزی به‌خصوص آب آبیاری و درنهایت بهبود عملکرد کمی و کیفی گیاهان محسوب می‌شود (اقحوانی شجری و همکاران، ۱۳۹٤). Hazzoumi et al. (2015) بیان داشتند علت سودمندی قارچ‌های مایکوریزا در این می‌باشد که تلقیح مایکوریزایی موجب تغییر متابولیسم گیاه میزبان شده و این تغییر در متابولیسم، سبب تولید ترکیبات دفاعی در گیاه می‌شود. همچنین قارچ‌های مایکوریزا با بهبود وضعیت تغذیه‌ای و آبی گیاه از طریق تغییر در مورفولوژی ریشه و افزایش سطح جذب توسط گسترش ریشه‌های خود در خاک و تحریک تبادلات گازی از طریق افزایش ظرفیت مقصد، سبب بهبود رشد گیاه می‌گردند که علت آن می‌تواند ناشی از بهبود وضعیت تغذیه‌ای و روابط آبی گیاه توسط آن قارچ باشد.

مقدسان و همکاران (۱۳۹٤) در پژوهشی نشان دادند کاربرد میکوریزا سبب افزایش پارامترهای رشدی و رنگیزه‌های فتوسنتزی و محتوای نسبی آب در گیاهان میکوریزایی نسبت به گیاهان غیرمیکوریزایی در گیاه دارویی همیشه‌بهار گردید. همچنین در پژوهشی همزیستی آویشن باغی با میکوریزا موجب افزایش تعداد شاخ و برگ، وزن خشک برگ، سطح برگ و وزن خشک ساقه این گیاه شد (Dolatabadi et al., 2012). ارتفاع و زیست‌توده کل گیاه دارویی نعناع نیز در حضور همزیستی میکوریزا افزایش یافت (Cabello et al., 2005; Freitas et al., 2004). همزیستی میکوریزا برای افزایش تحمل به تنش‌های غیرزنده باعث تحریک سنتز متابولیت‌های ثانویه گیاه می‌گردد (Gianninazzi et al., 2010). در پژوهشی که بر روی گیاهان دارویی شوید و زیره انجام شد، مشاهده گردید که کاربرد میکوریزا به طور قابل توجهی میزان اسانس این گیاهان را در مقایسه با شاهد بهبود بخشید (Kapoor et al., 2004). Karagiannidis et al. (2012) نیز اثرات قارچ میکوریزا گونه *G. lamellosum*

را روی پنج گیاه دارویی مریم گلی (*Salvia officinalis*)، اسطوخودوس (*Lavandula angustifolia*)، مرزنجوش (*Origanum dictamnus*) از خانواده نعنائیان، شمعدانی (*Geranium dissectum*) از خانواده شمعدانی و سانتولینا (*Santolina chamaecyparissus*) از خانواده کاسنی بررسی نمودند، نتایج بیانگر آن بود که گیاهان مایکوریزایی به طور معنی‌داری رشد، تولید اسانس و همچنین جذب عناصر غذایی بیشتری نسبت به گیاهان غیرمایکوریزایی داشتند.

با توجه به اهداف کشاورزی پایدار و اینکه همیشه‌بهار یکی از گیاهان دارویی مهم در صنایع مختلف از جمله داروسازی است که کاربردهای زیادی دارا است، بنابراین بررسی نیاز کودی و جایگزین کردن کودهای زیستی (قارچ‌های مایکوریزا) با کودهای شیمیایی این گیاه جزء مسائل بسیار ارزشمند در تولید این گیاه و تلاشی در جهت ارتقاء سلامت جامعه می‌باشد. هدف از انجام این پژوهش بررسی تأثیر انواع گونه‌های قارچ مایکوریزا بر برخی خصوصیات رشدی، محتوای نسبی آب برگ، میزان رنگیزه‌های فتوسنتزی، درصد کلونیزاسیون (تلقیح ریشه با قارچ مایکوریزا) و متابولیت‌های ثانویه (فلاونوئید و کارتنوئید) گل گیاه دارویی همیشه‌بهار می‌باشد.

مواد و روش‌ها

این پژوهش به منظور بررسی اثرات تلقیح نه گونه قارچ مایکوریزا بر برخی خصوصیات رشدی، محتوای نسبی آب برگ، میزان رنگیزه‌های فتوسنتزی، درصدکلونیزاسیون و میزان فلاونوئید و کارتنوئید گل گیاه دارویی همیشه‌بهار به صورت طرح کاملاً تصادفی با ۳ تکرار و در مجموع در ۳۰ گلدان اجرا گردید. تیمارهای این آزمایش شامل تلقیح گونه‌های مختلف قارچ مایکوریزا از جنس گلوموس شامل:

- *Glomus claroideu*
- *Glomus mosseae*
- *Glomus intraradicese*
- *Glomus fasciculatum*
- *Glomus caledonium*
- *Glomus gigaspora*
- *Glomus etanicatum*
- *Glomus geosporum*
- *Glomus versiform*

و تیمار عدم تلقیح قارچ بودند.

مایه تلقیح که شامل اندام‌های رویشی و اسپورهای قارچ‌های مایکوریزا بود از شرکت زیست‌فناور توران مایکوپرسیکا در شاهرود تهیه و قبل از کاشت نشاءها با بستر کشت بطور یکنواخت مخلوط گردید. در تمام نه گونه قارچ مایکوریزای مورد استفاده در این پژوهش بطور میانگین ۸۵ تا ۱۰۰ اسپور در هر گرم خاک وجود داشت و مقدار مصرف هر گونه قارچ مایکوریزا در تیمارهای آزمایشی ۲۰۰ گرم بستر حاوی قارچ برای هر گلدان ۵ کیلوگرمی بود. برای پرکردن گلدان‌ها از نسبت مساوی ماسه و خاک زراعی و خاک برگ استفاده گردید. خصوصیات فیزیکی و شیمیایی خاک مورد استفاده در این تحقیق در جدول ۱ آورده شده است. به‌منظور انجام این تحقیق، بذور همیشه‌بهار در سینی کشت حاوی نسبت مساوی کوکوپیت و پرلیت کشت شدند. سپس تعداد سه نشاء در مرحله چهار برگی به هر گلدان انتقال داده شد. رشد این گیاهان در گلخانه در دمای ۲ ± ۲۵ درجه سانتی‌گراد در روز و ۲ ± ۱۸ درجه سانتی‌گراد در شب انجام گرفت. میانگین رطوبت نسبی گلخانه ۶۰ تا ۸۵ درصد بود. آبیاری این گیاهان در روزهای اول به منظور تثبیت گیاه در خاک هر روز صورت گرفت و پس از آن با توجه به نیاز گیاهان انجام گردید. مبارزه با آفات و وجین علف‌های‌هرز در طول دوره آزمایش بصورت یکنواخت در بین تیمارها انجام پذیرفت.

حدود ۳ ماه بعد از اعمال تیمارها و در مرحله گلدهی نمونه‌گیری از گیاهان انجام شد و صفات مورد نظر شامل

ارتفاع بوته، تعداد شاخه‌فرعی، تعداد شاخه گل‌دهنده، قطر ساقه، وزن خشک گل، رنگیزه‌های فتوسنتزی (کلروفیل *a*، *b*، کارتنوئید و کلروفیل کل)، محتوای نسبی آب برگ و میزان فلاونوئید و کاروتنوئید گل اندازه‌گیری شد.

جدول ۱. خصوصیات فیزیکی و شیمیایی خاک

Table 1. Physical and chemical characteristics of soil

Texture	Clay (%)	Loam (%)	Sand (%)	OM (%)	OC (%)	EC (ds/m)	pH (%)	CEC (meq/100 gr soil)
Sandy loam	6.3	19.3	74.4	1.39	0.81	3.27	7.79	7.9

جدول ۱. خصوصیات فیزیکی و شیمیایی خاک (ادامه)

Table 1. Physical and chemical characteristics of soil (continue)

N (%)	P (P2O5) (mg/kg)	K (K2O) (mg/kg)	Ca (meq/l)	Mg (meq/l)	Cl (meq/l)	Na (meq/l)
0.07	51	184	17.4	4.8	11	20

خصوصیات رشدی

خصوصیات رشدی شامل ارتفاع بوته، تعداد شاخه-فرعی، تعداد شاخه گل‌دهنده، قطر ساقه در مرحله گلدهی گیاهان اندازه‌گیری شد. جهت تعیین این صفات میانگین ۳ بوته برای هر تکرار ثبت گردید. جهت اندازه‌گیری ارتفاع بوته از خط‌کش و برای اندازه‌گیری قطر ساقه از کولیس دیجیتالی استفاده گردید.

برای اندازه‌گیری وزن خشک گل، گل‌ها در طول دوره آزمایش، طی ۱۸ مرحله (تقریباً ۸۰ روز) و در هفته ۲ مرتبه همراه با ۳/۵ سانتی‌متر دُمگل چیده و پس از آن داخل پاکت‌های مجزا به آزمایشگاه انتقال داده شدند، نمونه‌ها در سایه و دمای آزمایشگاه خشک و برای تعیین وزن خشک گل‌ها، نمونه‌ها تا رسیدن به وزن ثابت درون آون با دمای ۳۸ درجه سانتی‌گراد قرار گرفتند و سپس توزین انجام گرفت. وزن خشک آن‌ها با ترازویی با دقت ۰/۰۰۱ گرم اندازه‌گیری شد و مجموع تمام کپه‌های گل برداشت شده در طول فصل رشد از هر گلدان به عنوان میزان تولید گل خشک هر گلدان در نظر گرفته شد.

سنجش رنگیزه‌های فتوسنتزی و میزان کارتنوئید گل

برای اندازه‌گیری کلروفیل *a*، *b*، کلروفیل کل برگ و کارتنوئید برگ و گل، ۰/۰۶ گرم (۶۰ میلی‌گرم) نمونه گیاهی (برگ یا گل) تازه کاملاً توسعه‌یافته را جدا کرده و آن را در هاون چینی با ۳ میلی‌لیتر متانول ۹۹٪ برای استخراج رنگ‌دانه‌ها ساییده، سپس به مدت ۵ دقیقه سانتریفیوژ با سرعت ۳۰۰۰ دور در دقیقه انجام گردید. پس از آن عصاره استخراج شده را برداشته و با استفاده از اسپکتروفتومتر میزان جذب نور در طول‌موج‌های ۶۵۳، ۴۷۰ و ۶۶۶ نانومتر قرائت گردید. در نهایت مقدار کلروفیل و کارتنوئید با استفاده از روابط زیر به‌دست آمد (Lutts et al., 1996).

$$CHLa = 15.65\ A666 - 7.34\ A653$$

$$CHLb = 27.05\ A653 - 11.21\ A666$$

$$Cx + c = 1000\ A470 - 2.860\ CHLa - 12.92\ CHLb$$

$$CHLt = CHLa + CHLb$$

که در آن کلروفیل کل : CHLt، کارتنوئید کل : Cx+c، کلروفیل *b*: CHLb، کلروفیل *a*: CHLa می‌باشند.

محتوای نسبی آب برگ

جهت اندازه‌گیری محتوای نسبی آب برگ (RWC)[1] که شاخصی جهت بررسی میزان آب گیاه است؛ ابتدا وزن تر نمونه‌های برگ (FW) گرفته شد و سپس نمونه‌ها به مدت ۲۴ ساعت در دمای اتاق، داخل آب مقطر به حالت

1 . Relative Water Content

غوطه‌ور قرار داده شد و پس از این زمان، وزن آماس نمونه‌ها (TW) قرائت گردید. سپس نمونه‌ها ٤٨ ساعت درون آون با دمای ٧٥ درجه سانتی‌گراد قرار گرفت و بعد از این زمان وزن خشک (DW) آنها به دست آمد (Sanchez et al., 1998) و در فرمول زیر قرار گرفت:

$$RWC\% = [(FW-DW)/(TW-DW)] \times 100$$

درصد کلونیزاسیون

ریشه‌ها به مدت یک ساعت در بشر محتوی KOH ١٠ درصد در حمام آب گرم قرار داده شد. سپس با آب مقطر شسته و بافت ریشه‌ها با محلول HCL یک درصد، اسیدی گردید. آنگاه ریشه‌ها با محلول ٠/٠٥ درصد تریپان‌بلو در لاکتوگلیسیرول (٨٧/٦ میلی‌لیتر اسید لاکتیک+ ٦/٤ میلی‌لیتر گلیسرین + ٦ میلی‌لیتر آب مقطر + ٠/٠٥ گرم تریپان‌بلو) به مدت ٥ دقیقه رنگ‌آمیزی گردید. ریشه‌های رنگ‌آمیزی شده در محلول رنگ‌بر لاکتوگلیسیرول رنگ‌بری گردید. در این روش اندام‌های قارچی به رنگ آبی مشاهده گردیدند و درصد کلونیزاسیون، پس از رنگ‌آمیزی ریشه‌ها با استفاده از روش تلاقی خطوط شبکه[1] تعیین گردید (Dalpe, 1993).

فلاونوئید کل گل[2]

١ میلی‌گرم از عصاره با ٤ سی‌سی آب مقطر مخلوط و سپس ٣٠٠ میکرولیتر نیتریت سدیم ٥ درصد به آن اضافه گردید. پس از ٥ دقیقه از اضافه کردن نیتریت سدیم ٥ درصد، ٦٠٠ میکرولیتر کلرید آلومینیوم ١٠ درصد اضافه و پس از گذشت ٦ دقیقه از زمان اضافه کردن کلرید آلومینیوم، ٤ سی‌سی سود ٠/٥ نرمال اضافه شد و در نهایت میزان جذب نور در طول موج ٥١٠ نانومتر قرائت گردید (Zhishen et al., 1999). برای رسم منحنی استاندارد از غلظت‌های مختلف کوئرستین استفاده شد و در فرمول زیر قرار گرفت:

$$y=930.45x-5.483$$

1 . Grid line intersect method
2 . Total flavonoids

تجزیه و تحلیل داده‌های آماری

داده‌ها توسط نرم افزار Minitab نسخه ١٨ مورد تجزیه و تحلیل قرار گرفتند و مقایسه میانگین‌ها با استفاده از آزمون بنفرونی[3] در سطح احتمال ٥ درصد انجام گردید. درنهایت نمودارها نیز با نرم افزار Excel 2016 رسم شدند.

نتایج و بحث

خصوصیات رشدی

نتایج تجزیه واریانس داده‌ها نشان داد کاربرد گونه‌های مختلف قارچ مایکوریزا بر شاخص‌های رشدی گیاه همیشه‌بهار شامل ارتفاع بوته، تعداد شاخه‌فرعی، تعداد شاخه گل‌دهنده، قطر ساقه و وزن خشک گل تاثیر معنی‌داری در سطح احتمال یک درصد داشتند (جدول ٢). به‌طوریکه بیشترین ارتفاع بوته مربوط به گیاهان تلقیح شده با قارچ *G. etanicatum* بود که نسبت به گیاهان شاهد ١٧ درصد افزایش نشان داد، اگرچه این قارچ در این صفت با قارچ‌های *G. mosseae*، *G. geosporum* و *G. intraradicese* اختلاف معنی‌داری نشان نداد. کمترین ارتفاع بوته نیز مربوط به قارچ *G. caledonium* بود که نسبت به گیاهان شاهد ١٦ درصد کاهش داشت. بیشترین تعداد شاخه‌فرعی در تیمار گیاهان با قارچ *G. mosseae* مشاهده شد که نسبت به تیمار شاهد ٦٩ درصد افزایش داشت و کمترین آن در قارچ *G. gigaspora* مشاهده شد که نسبت به تیمار شاهد ٣ درصد کاهش نشان داد (جدول ٣).

با توجه به نتایج به‌دست آمده از این تحقیق بیشترین تعداد شاخه گل‌دهنده را گیاهان تلقیح شده با قارچ *G. mosseae* و پس از آن *G. etanicatum* دارا بودند که نسبت به تیمار شاهد به ترتیب ١١٥ و ٧٥ درصد افزایش داشتند و کمترین تعداد شاخه گل‌دهنده را گیاهان شاهد داشتند که به لحاظ آماری با گیاهان تلقیح شده با قارچ

3 . Bonnferroni

G. gigaspora تفاوت معنی‌داری نشان ندادند. همچنین بیشترین قطر ساقه در گیاهان تلقیح شده با قارچ *G. claroidium* و *G. geosporum* مشاهده گردید که به ترتیب ۸۵ و ۷۶ درصد نسبت به تیمار شاهد افزایش نشان دادند و کمترین قطر ساقه در قارچ *G. gigaspora* بدست آمد که نسبت به گیاهان شاهد ۱۶ درصد کاهش یافته بود (جدول ۳).

نتایج نشانگر آن بود که بیشترین میزان وزن خشک گل در گیاهان تلقیح شده با قارچ *G. mosseae* و پس از آن قارچهای *G. etanicatum* و *G. geosporum* حاصل شد که نسبت به گیاهان شاهد به‌ترتیب ۷۹، ۴۶ و ۴۵ درصد افزایش نشان دادند و کمترین میزان آن در قارچ‌های *G. gigaspora* و *G. fasciculatum* مشاهده گردید که به‌ترتیب ۴۸ و ۴۲ درصد نسبت به تیمار شاهد کاهش داشتند (جدول ۳ و شکل ۱).

جدول ۲. تجزیه واریانس (میانگین مربعات) اثر قارچ‌های مایکوریزا بر ویژگی‌های رشدی گیاه همیشه‌بهار

Table 3. Analysis of variance (mean of squares) effect of mycorrhiza fungi on growth characteristic of *Calendula officinalis* L.

		MS				
S.O.V	df	Plant height	No. of branches	No. of flowering branches	Stem diameter	Production of flower dry weight
Mycorrhiza	9	4.38**	4.59**	6.82**	1.55**	2.73**
Error	20	0.97	0.97	0.53	0.27	0.34
CV (%)		6.96	14.63	11.64	16.90	22.57

**: are significant at 1 percent probability levels.

جدول ۳. مقایسه میانگین اثر قارچ‌های مایکوریزا بر صفات رشدی گیاه همیشه‌بهار

Table 3. Mean comparisons of mycorrhiza fungi effect on growth characteristics of *Calendula officinalis* L.

Mycorrhiza	Plant height (cm)	No. of branches	No. of flowering branches	Stem diameter (mm)	Production of flower dry weight (g/pot)
Control	2.42^{bc}	2.25^{bc}	4.15^{d}	5.16^{b}	13.90^{ab}
G. mosseae	4.34^{a}	2.72^{abc}	8.99^{a}	8.77^{a}	14.86^{a}
G. intraradicese	2.45^{bc}	3.11^{abc}	5.63^{bcd}	6.98^{ab}	14.83^{a}
G. fasciculatum	1.40^{c}	2.75^{abc}	4.88^{cd}	5.88^{ab}	13.62^{ab}
G. caledonium	2.36^{bc}	3.21^{abc}	5.49^{bcd}	6.33^{ab}	11.66^{b}
G. claroidium	2.36^{bc}	4.17^{a}	7.10^{abc}	7.55^{ab}	14.16^{ab}
G. versiform	2.36^{bc}	3.62^{ab}	6.99^{abc}	7.44^{ab}	13.55^{ab}
G. geosporum	3.51^{ab}	3.96^{a}	7.10^{abc}	7.10^{ab}	14.83^{a}
G. etanicatum	3.53^{ab}	2.86^{abc}	7.33^{ab}	7.49^{ab}	16.24^{a}
G. gigaspora	1.25^{c}	1.89^{c}	4.66^{d}	4.66^{b}	13.48^{ab}

Within each column, means with similar letters, are not significantly different ($P \leq 0.05$) based on Bonferroni test.

شکل ۱. اثر قارچ‌های مایکوریزا بر ویژگی‌های رشدی گیاه همیشه‌بهار (سمت چپ تصویر : نمونه های شاهد)

Figure 1. Effect of mycorrhiza fungi on growth characteristic of *Calendula officinalis* L. (Control treatments: in the left)

کاربرد قارچ مایکوریزا سبب افزایش بیوماس نعناع فلفلی (*Mentha piperita*) (Mahmoudzadeh et al., 2016)، زوفا (*Hyssopus officinalis*) (Shabahang et al., 2014)، آویشن باغی (*Thymus vulgaris*) (عظیمی و همکاران،۱۳۹۲)، شوید (*Anethum graveolens*) (Hashemzadeh et al., 2014) و شنبلیله (*Trigonella foenum-graecum*) (ایران خواه و همکاران، ۱۳۹۵)گردید، که با نتایج حاصل از این تحقیق مطابقت دارد. همچنین، با نتایج تحقیقات Rapparini et al. (2008) در مورد گیاه درمنه (*Artemisia annua*) و Sensoy et al. (2007) در فلفل (*Capsicum annuum* L.) که گزارش نمودند کاربرد قارچ‌های مایکوریزا سبب بهبود ویژگی‌های رشدی گیاهان می‌شود نیز مطابقت داشت.

در گیاه دارویی پونه نیز از میان گونه‌های مایکوریزا، *G. mosseae* بیشترین تأثیر را بر ارتفاع و عملکرد این گیاه داشت (Kaosaad et al., 2006). در پژوهش Sasanelli et al. (2008) نیز همزیستی آویشن باغی با میکوریزا موجب افزایش وزن خشک اندام هوایی و تعداد شاخه‌های فرعی این گیاه گردید. در تحقیقات قبلی مشخص شده است که میکوریزا با فراهم نمودن بیشتر میزان فسفر، منگنز و آهن در اندام هوایی گیاه دارویی آویشن باغی موجب افزایش تعداد شاخ و برگ، وزن خشک برگ، سطح برگ و وزن خشک ساقه این گیاه گردید (Dolatabadi et al., 2012). به نظر می‌رسد تولید هورمون‌های گیاهی از قبیل اکسین و سیتوکنین در گیاهان آویشن باغی تلقیح شده با میکوریزا موجب افزایش وزن خشک اندام هوایی گیاه شده است (Dolatabadi et al., 2012).

تحقیقات نشان می‌دهد در بین میکروارگانیسم‌هایی که توانایی بهبود رشد گیاهان را دارند، قارچ‌های مایکوریزا از اهمیت ویژه‌ای برخوردار هستند. قارچ مایکوریزا سبب افزایش جذب نیتروژن می‌شود که نقش اساسی در ساختمان کلروفیل دارد و از طرفی مهم‌ترین عنصر در سنتز پروتئین‌هاست و افزایش میزان آن در شرایط مطلوب تا حد مشخص موجب افزایش میزان پروتئین می‌گردد. با افزایش پروتئین‌ها گیاه به توسعه رویشی مثل افزایش تعداد شاخه‌فرعی، ارتفاع و قطر ساقه می‌پردازد که افزایش این صفات، افزایش مواد فتوسنتزی را به عهده دارد (Chaudhary et al., 2000). این قارچ‌ها از طریق افزایش جذب عناصر غذایی مثل فسفر و برخی عناصر کم مصرف، افزایش جذب آب، کاهش تأثیر منفی تنش‌های محیطی و افزایش مقاومت در برابر عوامل بیماری‌زا، سبب بهبود در رشد و عملکرد گیاهان میزبان در سیستم‌های

کشاورزی پایدار می‌گردند (Sharma, 2002).

تلقیح با قارچ در فراهمی و متابولیسم عناصر مورد نیاز گیاه نقش بسزایی دارد و سبب افزایش میزان این عناصر در گیاهان تلقیح شده می‌گردد. در واقع تلقیح گیاه با میکوریزا موجب بهبود وضعیت تغذیه‌ای در بافت برگ شده، در نتیجه میزان آب برگ و انتقال عناصر غذایی به گیاه افزایش می‌یابد (Hammer et al., 2011). این وضعیت به افزایش انتقال اسیمیلات به مخزن منجر گشته و از شدت خشکی بر تولید محصول کاسته و در نهایت رشد و تولید را افزایش می‌دهد (Colla et al., 2008).

جدول ۴. تجزیه واریانس (میانگین مربعات) اثر قارچ‌های مایکوریزا بر رنگیزه‌های فتوسنتزی، محتوای نسبی آب برگ، درصد کلونیزاسیون، فلاونوئید و کارتنوئید گل همیشه‌بهار

Table 4. Analysis of variance (mean of squares) effect of mycorrhiza fungi on photosynthetic pigments, relative water content, clonization percentage, flavonoids and carotenoids of *Calendula officinalis* L.

		MS							
S.O.V	df	Chlorophyll a	Chlorophyll b	Leaf carotenoids	Total chlorophyll	RWC	Clonization percentage	Flower flavenoids	Flower carotenoids
Mycorrhiza	9	3.29**	0.52**	0.12**	4.43**	41.03**	457.42**	0.000002**	2703.3**
Error	20	0.02	0.05	0.002	0.07	0.48	8.40	0.00000	157.1
CV (%)		2.89	8.45	2.57	3.47	1.18	4.61	2.22	19.12

**: are significant at 1 percent probability levels.

جدول ۵. مقایسه میانگین اثر قارچ‌های مایکوریزا بر رنگیزه‌های فتوسنتزی، محتوای نسبی آب برگ، درصد کلونیزاسیون، فلاونوئید و کارتنوئید گل همیشه‌بهار

Table 5. Mean comparisons of mycorrhiza fungi effect on photosynthetic pigments, relative water content, clonization percentage, flavonoids and carotenoids of *Calendula officinalis* L.

Mycorrhiza	Chlorophyll a (µg/g FW)	Chlorophyll b (µg/g FW)	Leaf carotenoids (µg/g FW)	Total chlorophyll (µg/g FW)	RWC (%)	Clonization percentage (%)	Flower flavonoids (µg/g FW)	Flower carotenoids (µg/g FW)
Control	3.8e	2.1c	2.1^{a}	5.9^{d}	52.6^{f}	33.0e	0.0366^{cd}	0.58bcd
G. mosseae	6.3a	3.6a	1.4^{f}	9.9^{a}	65.8^{a}	71.0ab	0.0366^{cd}	1.03a
G. intraradicese	6.2a	2.6bc	1.7^{bcd}	8.8^{b}	60.9^{b}	77.7a	0.0374^{bc}	0.88abc
G. fasciculatum	5.7b	2.3bc	1.7^{bcd}	7.9^{c}	58.4^{cd}	64.0bc	0.0369^{bcd}	0.48d
G. caledonium	3.2f	2.9b	1.6^{de}	6.1^{d}	58.6^{c}	61.0cd	0.0364^{d}	0.55cd
G. claroidium	5.5bc	2.6bc	1.8^{bc}	8.1^{bc}	61.1^{b}	65.0bc	0.0372^{bc}	0.35d
G. versiform	6.2a	2.6bc	1.7^{cde}	8.8^{b}	61.4^{b}	67.7bc	0.0369^{bcd}	0.31d
G. geosporum	4.9d	2.4bc	1.5^{e}	7.3^{c}	55.4^{e}	70.7ab	0.0377^{b}	1.07a
G. etanicatum	5.2cd	2.4bc	1.7^{bcd}	7.6^{c}	56.4^{de}	65.0bc	0.0393^{a}	0.94ab
G. gigaspora	5.7b	2.3bc	1.8^{b}	8.0^{bc}	57.2^{cde}	53.0d	0.0367^{cd}	0.32d

Within each column, means with similar letters, are not significantly different (P≤0.05) based on Bonferroni test.

رنگیزه‌های فتوسنتزی

نتایج تجزیه واریانس داده‌ها نشان داد اثر قارچ‌های مایکوریزا بر تمامی رنگیزه‌های فتوسنتزی درسطح احتمال یک درصد معنی‌دار شد (جدول ٤). بیشترین میزان کلروفیل a در گیاهان تلقیح شده با قارچ *G. mosseae* مشاهده گردید که نسبت به تیمار شاهد ٦٦ درصد افزایش

داشت، اگرچه از نظر آماری با گیاهان تلقیح شده با قارچ‌های *G. intraradicese* و *G. versiform* تفاوت معنی‌داری نشان نداد. کمترین میزان کلروفیل a در گیاهان تلقیح شده با قارچ *G. caledonium* مشاهده شد که نسبت به تیمار شاهد ۱۵ درصد کاهش داشت. بیشترین میزان کلروفیل b نیز در گیاهان تلقیح شده با قارچ *G. mosseae* دیده شد که نسبت به تیمار شاهد ۷۱ درصد افزایش نشان داد و کمترین میزان آن در گیاهان شاهد مشاهده شد.

با توجه به نتایج مقایسه میانگین داده‌ها، بیشترین کاروتنوئید برگ در گیاهان شاهد و کمترین میزان آن در گیاهان تلقیح شده با قارچ *G. mosseae* بدست آمد که نسبت به تیمار شاهد ۳۳ درصد کاهش داشت و در نهایت بیشترین میزان کلروفیل کل برگ در گیاهان تلقیح شده با قارچ *G. mosseae* مشاهده گردید که نسبت به تیمار شاهد ٦٨ درصد بهبود یافته بود (جدول ۵).

بهبود در رنگیزه‌های فتوسنتزی توسط قارچ‌های میکوریزا، پیش از این توسط Moraes et al. (2004) در گیاه دارویی *Podophyllum peltatum* L.، مورد بررسی قرار گرفت که با نتایج به‌دست آمده در این تحقیق همخوانی دارد. همچنین در گیاه فلفل (*Piper nigrum*) تلقیح شده با *G. intraradicese* میزان کلروفیل a و b به طور معنی‌داری نسبت به گیاهان غیرمایکوریزایی افزایش یافت (Demir, 2005). در واقع یکی از مهم‌ترین نقش‌های میکوریزا افزایش محتوای کلروفیل می‌باشد (Gogoi and Sint, 2011). قارچ‌های مایکوریزا سطح جذب نیتروژن، آهن و منیزیم گیاه را افزایش داده و از آنجایی که این عناصر نقش اساسی در ساختار کلروفیل دارند باعث می‌گردد رنگیزه‌های فتوسنتزی به طور معنی‌داری افزایش یابند (Chaudhary et al., 2007; Krishna et al., 2005). علاوه بر آن قارچ‌های مایکوریزا نقش مهمی در جذب فسفر توسط گیاه داشته و از این طریق می‌توانند موجب بهبود فتوسنتز و در نتیجه باعث افزایش محتوا و سازماندهی کلروپلاست‌های برگی گردند (Selvaraj and Chellappan, 2006). با توجه به نتایج حاصل از این تحقیق مشاهده می‌گردد که تمامی گونه‌های قارچ مایکوریزای مورد استفاده در این مطالعه به غیر از قارچ *G. caledonium* توانستند باعث افزایش رنگیزه‌های فتوسنتزی در گیاه دارویی همیشه‌بهار گردند. Tang et al. (2009) افزایش در میزان کلروفیل گیاه میکوریزایی شده را به افزایش جذب نیتروژن توسط سیستم میکوریزایی نسبت دادند. در همین راستا SanchezBlanco et al. (2004) بیان کردند گیاهان رزماری (*Rosmarinus officinalis*) میکوریزایی تحت شرایط تنش خشکی، محتوای کلروفیل بالاتری را نسبت به گیاهان غیرمیکوریزایی دارا بودند.

محتوای نسبی آب برگ

طبق نتایج تجزیه واریانس داده‌ها اثر گونه‌های مختلف قارچ مایکوریزا بر محتوای نسبی آب برگ در سطح احتمال یک درصد معنی‌دار شد (جدول ٤). بیشترین محتوای نسبی آب برگ در گیاهان تلقیح شده با قارچ *G. mosseae* و کمترین آن در شاهد بود. نتایج حاکی از آن است که قارچ *G. mosseae* توانست محتوای نسبی آب برگ همیشه‌بهار را ۲۵ درصد نسبت به گیاهان شاهد بهبود بخشد (جدول ۵). به نظر می‌رسد میکوریزا احتمالاً از طریق تغییر در مورفولوژی و طویل کردن سیستم ریشه گیاه میزبان و افزایش سطح جذب از طریق ریسه‌های قارچ، میزان آب بیشتری را جذب کرده و باعث بهبود روابط آبی گیاه می‌گردد (Auge, 2015). گزارش‌های مشابهی نیز از محققین در رابطه با افزایش محتوای نسبی آب برگ در نتیجه همزیستی گیاهان با قارچ‌های میکوریزا وجود دارد (Hammer et al., 2011).

همزیستی گیاهان با قارچ‌های مایکوریزا سبب تنظیم اسمزی بهتر و بهبود رابطه آبی در گیاهان می‌گردد. قارچ مایکوریزا باعث افزایش میزان جذب آب در گیاه نسبت به تیمارهای بدون قارچ گشته و افزایش جذب آب سبب

تورژسانس در سلول‌ها می‌گردد که خود یک عامل محرک طویل شدن سلول‌ها می‌باشد. مایکوریزا سبب گسترش سیستم هیف در اطراف ریشه و متعاقباً افزایش تماس ریشه با خاک گشته و در نتیجه توانایی جذب آب در آنها بیشتر می‌گردد. علاوه بر این، قارچ موجب افزایش جذب عناصر غذایی از خاک و افزایش فعالیت آنتی‌اکسیدان‌های آنزیمی و غیرآنزیمی می‌گردد که عامل افزایش رشد ریشه و اندام هوایی و عملکرد ماده خشک آنها می‌باشد (Wu et al., 2009).

درصد کلونیزاسیون

نتایج تجزیه واریانس داده‌ها نشان داد کاربرد گونه‌های مختلف قارچ مایکوریزا بر درصد کلونیزاسیون گیاه همیشه‌بهار تأثیر معنی‌داری در سطح احتمال یک درصد داشت (جدول ٤). بیشترین درصد کلونیزاسیون قارچ مایکوریزا با ریشه گیاه همیشه‌بهار در گونه *G. intraradicese* مشاهده گردید که از نظر آماری با گونه‌های *G. mosseae* و *G. geosporum* اختلاف معنی‌داری نداشت و کمترین درصد کلونیزاسیون را گیاهان شاهد و پس از آن از میان گونه‌های مختلف قارچ مایکوریزا *G. gigaspora* نشان داد (جدول ٥).

فلاونوئید گل

طبق نتایج تجزیه واریانس داده‌ها اثر قارچ‌های مایکوریزا بر فلاونوئید گل در سطح احتمال یک درصد معنی‌دار گردید (جدول ٤). نتایج حاکی از آن بود که بیشترین مقدار فلاونوئید گل مربوط به گیاهان تلقیح شده با قارچ *G. etanicatum* و پس از آن قارچ *G. geosporum* بود و کمترین آن در گیاهان تلقیح شده با قارچ *G. caledonium* مشاهده گردید که از نظر آماری با تیمار شاهد اختلاف معنی‌داری نشان نداد. با توجه به نتایج می‌توان چنین اظهار نمود که قارچ‌های *G. etanicatum* و *G. geosporum* توانستند به ترتیب ۷/۲۹ و ۳/۲ درصد فلاونوئید گل همیشه‌بهار که مهم‌ترین متابولیت ثانویه در این گیاه دارویی محسوب می‌شود را افزایش دهند (جدول ٥). Tabrizi et al. (2015) در پژوهشی بر روی گیاه دارویی همیشه‌بهار نشان دادند که در تمام غلظت‌های فلز سنگین، گیاهان مایکوریزایی نسبت به گیاهان غیرمایکوریزایی به طور معنی‌داری، میزان فلاونوئید بیشتری را تولید کردند. با توجه به نقش میکوریزا در تدارک مطلوب عناصر غذایی و افزایش قابلیت جذب ماکرومولکول‌هایی مانند کربن و نیتروژن، به نظر می‌رسد قارچ مایکوریزا با تأثیر مثبت، بر مسیرهای متابولیکی اولیه گیاه، به صورت غیرمستقیم بر تولید متابولیت‌های ثانویه مانند فلاونوئیدها تأثیرگذار باشد (دژابون، ۱۳۹۰).

کاروتنوئید گل

با توجه به نتایج تجزیه واریانس داده‌ها اثر گونه‌های مختلف قارچ مایکوریزا بر کاروتنوئید گل همیشه‌بهار در سطح احتمال یک درصد معنی‌دار شد (جدول ٤). بیشترین میزان کاروتنوئید گل همیشه‌بهار در گیاهان تلقیح شده با قارچ‌های *G. geosporum* و *G. mosseae* مشاهده گردید که نسبت به تیمار شاهد به ترتیب ٨٤/٤ و ٧٧/٥ درصد افزایش نشان داد و پس از آن قارچ *G. etanicatum* قرار داشت که نسبت به تیمار شاهد ٦٢ درصد افزایش داشت. کمترین کاروتنوئید گل نیز در گیاهان تلقیح شده با قارچ *G. versiform* مشاهده گردید که نسبت به گیاهان شاهد ٤٦/٥ درصد کاهش نشان داد و از نظر آماری تفاوت معنی‌داری با گیاهان تلقیح شده با قارچ‌های *G. gigaspora*، *G. claroidium* و *G. fasciculatum* نشان نداد (جدول ٥). آنچه مسلم است همزیستی مایکوریزا با افزایش تحمل به تنش‌های غیرزنده باعث تحریک سنتز متابولیت‌های ثانویه گیاه می‌گردد (Gianninazzi et al., 2010).

تلقیح با قارچ مایکوریزا سبب افزایش عملکرد بیولوژیک، میزان و عملکرد اسانس گیاه گشنیز شد (Kapoor et al., 2001). البته با توجه به نتایج مقایسه

میانگین داده‌های این تحقیق می‌توان چنین اذعان داشت که تنها تعدادی از گونه‌های قارچ‌های مایکوریزای مورد استفاده در این تحقیق بر میزان کاروتنوئید گل تأثیر مثبت داشتند و توانستند آن را افزایش دهند. براساس گزارشات محققین، اثر مفید قارچ‌های مایکوریزا بر جذب مواد معدنی و محتوای متابولیت‌های ثانویه نه تنها به گونه قارچ میکوریزا، بلکه به ژنوتیپ گیاه و رژیم کودی نیز وابسته می‌باشد (Chaudhary et al., 2008; Perner et al., 2008).

Kapoor et al. (2002) گزارش کردند که دو گونه قارچ میکوریزا *G. fasiculatum* و *G .macrocarpum* موجب افزایش رشد و میزان اسانس شوید، زنیان و رازیانه شدند. به نظر می‌رسد میکوریزا از طریق زیست‌فراهمی عناصر، برقراری تعادل سطوح و مواد غذایی خاک و بهبود تغذیه معدنی گیاه، تأثیر مثبتی بر مسیرهای بیوسنتزی متابولیت‌های ثانویه دارد و از این طریق در میزان مواد مؤثره تولیدی تأثیرگذار است و احتمال دارد از طریق فراهمی و تعادل عناصر غذایی موجود، واکنش‌های آنزیمی و عوامل دخیل در هدایت این مسیرهای بیوسنتزی در گیاه را تحت تأثیر قرار دهد (Kapoor et al., 2002).

نتیجه‌گیری

باتوجه به نتایج به‌دست آمده در این مطالعه می‌توان چنین اظهار نمود؛ میان اکثر گونه‌های قارچ مایکوریزای مورد استفاده در این تحقیق با ریشه گیاه همیشه‌بهار، همزیستی بالایی صورت گرفته، به‌طوری که صفات اندازه‌گیری شده در اغلب گیاهان تلقیح شده با قارچ‌های مایکوریزا نسبت به تیمار شاهد افزایش معنی‌داری یافت که علت آن را می‌توان ناشی از بهبود روابط آبی گیاه و احتمالاً جذب بهتر مواد غذایی توسط قارچ‌های مایکوریزا دانست. هرچند گونه‌های *G. gigaspora* و *G. caledonium* تأثیر مثبتی بر خصوصیات رشدی و محتوای نسبی آب برگ، میزان رنگیزه‌های فتوسنتزی، فلاونوئید و کارتنوئید گل در گیاهان تلقیح شده با این قارچ‌ها نشان ندادند. در واقع این قارچ‌ها در مقایسه با سایر گونه‌ها نتوانستند با ریشه گیاه همیشه‌بهار کلونیزاسیون خوبی برقرار کرده و در نتیجه تأثیر خوبی بر بهبود رشد و عملکرد گیاه دارویی همیشه‌بهار داشته باشند. باتوجه به نتایج به‌دست آمده از این تحقیق گونه‌های *G. mosseae*، *G. etanicatum* و *G. geosporum* می‌توانند بهترین شرایط را برای رشد و تولید مطلوب گیاه دارویی همیشه‌بهار فراهم نموده و به عنوان کود بیولوژیک جایگزین مناسبی برای کودهای شیمیایی گردند. در پایان پیشنهاد می‌گردد با توجه به پتانسیل بالای این سه گونه قارچ مایکوریزا، در توانایی بهبود اکثر پارامترهای رشدی و متابولیت‌های ثانویه گیاه دارویی همیشه‌بهار، تاثیر آنها به صورت ترکیبی نیز در این گیاه مورد بررسی قرار گیرد.

منابع

اقحوانی شجری، م.، رضوانی مقدم ،پ.، قربانی، ر. و نصیری محلاتی م.، ۱۳۹٤. اثرات کاربرد کودهای آلی، زیستی و شیمیایی بر عملکرد کمی و کیفی گیاه دارویی گشنیز (*Coriandrum sativum*). *علوم باغبانی* جلد ۲۹، شماره ٤، صص ۵۰۰-٤۸٦.

ایران‌خواه، س.، گنجعلی، ع.، لاهوتی، م . و مشرقی، م.، ۱۳۹۵. بررسی تأثیر باکتری Pseudomonas putida و قارچ Glomus intraradices بر برخی صفات مورفولوژی و بیوشیمیایی گیاه شنبلیله. *نشریه علوم باغبانی (علوم و صنایع کشاورزی)*، جلد ۳۰، شماره ۱، صص ۱۲۱-۱۱۲.

دژابون، ف.، ۱۳۹۰. ارزیابی کاربرد نهاده‌های آلی و روش‌های خشک کردن در تولید گیاه دارویی همیشه‌بهار (*Calendula officinalis* L.). پایان‌نامه کارشناسی ارشد مهندسی علوم باغبانی. پردیس کشاورزی و منابع طبیعی دانشگاه تهران.

سعیدنژاد، ا.ح.، خزاعی، ح .ر. و رضوانی مقدم، پ.،۱۳۹۱. مطالعه اثر کاربرد مواد آلی، کودهای بیولوژیک و کود شیمیایی بر برخی خصوصیات مورفولوژیکی، عملکرد و اجزای عملکرد سورگوم علوفه‌ای (*Sorghum bicolor*). *فصلنامه پژوهشهای زراعی ایران*، جلد ۱۰، شماره ۳، صص ۵۱۰-۵۰۳.

عظیمی، ر.، جنگجو، م. و اصغری ح.ر.، ۱۳۹۲. تاثیر تلقیح قارچ میکوریزا بر استقرار اولیه و خصوصیات مورفولوژیک گیاه دارویی آویشن باغی در شرایط عرصه طبیعی. *نشریه پژوهشهای زراعی ایران* ، جلد۱۱، شماره ٤، صص٦٧٦-٦٦٦.

مقدسان، ش.، صفی‌پور افشار، ا. و نعمت‌پور، ف.، ۱۳۹٤. نقش میکوریزا در تحمل به خشکی همیشه‌بهار. *اکوفیزیولوژی گیاهان زراعی*، جلد ۹، شماره٤(٣٦)، صص ٥٣٢-٥٢١.

مهدوی دامغانی، ع.، محمودی، ح . و لیاقتی، ه.، ۱۳۸۷. *درآمدی بر کشاورزی ارگانیک (زیستی)*. مشهد: انتشارات جهاد دانشگاهی (دانشگاه مشهد).

هاشم‌زاده، ف.، میرشکاری، ب.، یارنیا، م.، رحیم زاده خویی، ف. و تاری نژاد، ع.ر،۱۳۹۳. نقش کودهای زیستی و شیمیایی نیتروژنه و فسفره بر عملکرد، اجزای عملکرد و درصد همزیستی مایکوریزا در شوید. *اکوفیزیولوژی گیاهان زراعی*، جلد ۸، شماره ۳(۳۱)، صص ۲۷۰-۲۵۷.

Arora, D., Rani, A., and A. Sharma. 2013. A review on phytochemistry and ethnopharmacological aspects of genus Calendula. *Pharmacognosy Reviews*. 7: 179-187.

Auge, R.M., Toler, H.D., and A.M. Saxton. 2015. Arbuscular mycorrhizal symbiosis alters stomatal conductance of host plants more under drought than under amply watered conditions: a meta-analysis. *Mycorrhiza*. 25(1): 13-24.

Cabello, M., Irrazabal, G., Bucsinszky, A. M., Saparrat, M., and S. Schalamuk. 2005. Effect of an arbuscular mycorrhizal fungus *Glomus mosseae*, and a rock-phosphate-solubilizing fungus, *Penicillium thomii*, on *Mentha piperita* growth in a soilless medium. *Journal of Basic Microbiology*. 45:182-189.

Ceccarelli, N., Curadi, M., Martelloni, L., Sbrana, C., Picciarelli, P., and M. Giovannetti. 2010. Mycorrhizal colonization impacts on phenolic content and antioxidant properties of artichoke leaves and flower heads two years after field transplant. *Plant and Soil*. 335: 311-323.

Chaudhary, V., Kapoor, R., and A.K. Bhatnagar. 2007. Effect of arbuscular mycorrhiza and phosphorus application on artemisinin concentration in *Artemisia annua* L. Mycorrhiza. 17: 581-587.

Chaudhary, V., Kapoor, R., and A.K. Bhatnagar. 2008. Effectiveness of two arbuscular mycorrhizal fungi on concentrations of essential oil and artemisinin in three accessions of *Artemisia annual* L. Applied Soil Ecology. 40: 174-181.

Chowdhury, A., and A. Khan. 2000. Chemical analysis of the essential oil from *Tagetes minuta*. *Journal of Agricultural and Marine Sciences*. 5(1): 25-27.

Colla, G., Rouphael, Y., Cardarelli, M., Tullio, M., Carlos, M.R., and R. Elvira. 2008. Alleviation of salt stress by arbuscular mycorrhizal in zucchini plants grown at low and high phosphorus concentration. *Biology and Fertility of Soils*. 44: 501-509.

Dalpe, Y. 1993. Vesicular-Arbuscular mycorrhiza. In Soil sampling and methods of analysis. eds. M.R. Carter, 287-301. Lewis Publishers.

Demir, S. 2005. Influence of arbuscular mycorrhiza on some physiological growth parameters of pepper. *Turkish Journal of Biology*. 28(2-4): 85-90.

Dolatabadi, H., Mohammadi Goltapeh, E., Moieni, A., and A. Varma. 2012. Evaluation of different densities of auxin and endophytic fungi (Piriformospora indica and Sebacina vermifera) on *Mentha piperita* and *Thymus vulgaris* growth. *Journal of Biotechnology*. 11(7): 1644-1650.

Duck, J.A. 2000. HandBook of Medicinal Herbs. CRC Press. USA. pp: 102.

Einhellig, F.A. 1986. Mechanism and modes of action of allelochemicals. In The science of allelopathy. eds. A.R. Putnam and C.S. Tang, 75 - 99. John Wiley and Sons, New York.

Fonseca, Y.M., Vicentini, F.T.M.C., Catini, C.D., and M.J.V. Fonseca. 2010. Determination of rutin and narcissin in marigold extract and topical formulations by liquid chromatography: applicability in skin penetration studies. Quim Nova. 33: 1320-1324.

Freitas, M.S., Martins, M.A., and I.C. Vieira. 2004. Production and quality of essential oils of *Mentha arvensis* in response to inoculation with mycorrhizal fungi. *Brazilian Agricultural Research*. 39: 887-894.

Gianninazzi, S., Gollette, A., Binet, M.N., Tuinen, D., and D. Redecke. 2010. Key role of arbuscular mycorrhiza in ecosystem services. *Mycorrhiza*. 20: 519-530.

Gogoi, P., and R.K. Singh. 2011. Different effect of some arbuscular mycorrhizal fungi on growth of *Piper longum* L. (Piperaceae). *Indian Journal of Sciences and Technology*. 4(2): 119-125.

Hammer, E.C., Nasr, H., Pallon, J., Olsson, P.A., and H. Wallander. 2011. Elemental composition of arbuscular mycorrhizal fungi at high salinity. *Mycorrhiza*. 21: 117-129.

Harborne, J.B. 1980. Plant Phenolics. In: Bell EA and Charlwood BV. (Eds.). Secondary Plant Products. Springer Verlag, Berlin: 329-402.

Hazzoumi, Z., Moustakime, Y., Elharchli, E., and KH. Amrani Joutei. 2015. Effect of arbuscular mycorrhizal fungi and water stress on ultrastructural change of glandular hairs and essential oil compositions in *Ocimum gratissimum*. *Chemical and Biological Technologies in Agriculture*. 2: 1-10.

Kaosaad, T., Vierheilig, H., Nell, M., Zitterl-Eglseer, K., and J. Novak. 2006. Arbuscular mycorrhiza alter the concentration of essential oils in oregano (*Origanum* sp., Lamiaceae). *Mycorrhiza*. 16: 443-446.

Kapoor, R., Giri, B., and G. Mukerji. 2001. Mycorrhization of coriander (*Coriandrum sativum* L) to enhance the concentration and quality of essential oil. *Journal of the Science of Food and Agriculture*. 82(4): 339-342.

Kapoor, R., Giri, B., and K.G. Mukerji. 2002. Glomus macrocarpum: a potential bioinoculant to improve essential oil quality and concentration in Dill (*Anethum graveolens* L.) and Carum (*Trachyspermum ammi* Sprague). *World Journal of Microbiology and Biotechnology*. 18(5): 459-463.

Kapoor, R., Giri, B., and K.G. Mukerji. 2004. Improved growth and essential oil yield and quality in *Foeniculum vulgare* Mill on mycorrhizal inoculation supplemented with P-fertilizer. *Bioresource Technology*. 93: 307-11.

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

Krishna, H., Singh, S.K., Sharma, R.R., Khawale, R.N., Grover, M., and V.B. Patel. 2005. Biochemical changes in micropropagated grape (*Vitis vinifera* L.) plantlets due to arbuscular mycorrhizal fungi (AMF) inoculated during ex vitro acclimatization. *Scientia Horticulture*. 106: 554-567.

Lim, T.K. 2012. Edible Medicinal and Non-medicinal Plants. Springer.

Lutts, S., Kinet, J.M., and J. Bouharmont. 1996. NaCl-induced senescence in leaves of rice (*Oryza sativa* L.) cultivars differing in salinity resistance. *Annals of Botany*. 78(3): 389-398.

Mahmoudzadeh, M., Rasouli Sadaghiani, M.H., Asgari Lajayer, H., and A. Hasani. 2016. The effect of plant growth promoting rhizobacteria (PGPR) and arbuscular mycorrhizal fungi (AMF) inoculation on nutrient uptake and some morphological factors in peppermint (*Mentha piperita*). *Electronic Journal of Soil Management and Sustainable Production*. 6(1): 161-176.

Moraes, R.M., Andrade, Z.D., Bedir, E., Dayan, F.E., Lata, H., Khan, I., and A.M.S. Pereira. 2004. Arbuscular mycorrhiza improves acclimatization and increases lignin content of micropropagated mayapple (*Podophyllum peltatum* L.). *Plant Science*. 166: 23-29.

Karagiannidis, N., Thomidis, T., and E.P. Filotheou. 2012. Effects of *Glomus lamellosum* on growth, essential oil production and nutrients uptake in selected medicinal plants. *Journal of Agricultural Science*. 4(3): 137-144.

Perner, H., Rohn, S., Drimel, G.N., Batt, D., Schwarz, L., Kroh, W., and E. George. 2008. Effect of nitrogen species supply and mycorrhizal colonization on organosulfur and phenolic compounds in Orions. *Agriculture and Food Chemistry*. 56: 3538-3545.

Raal, A., Kirsipuu, K., Must, R., and Tenno, S. 2009. Content of total carotenoids in *Calendula officinalis* L. From different countries cultivated in Estonia. *Natural Product Communcation*. 4: 35-38.

Rahmatzadeh, S., and S.K. Kazemitabar. 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.

Rapparini, F., Liusia, J., and J. Penuelas. 2008. Effect of arbuscular mycorrhiza colonization on terpen emission and content of *Artemisia annua* L. *Plant Biology*. 10(1):108-122.

Sánchez, F.J., Manzanares, M., de Andres, E.F., Tenorio, J.L., and L. Ayerbe. 1998. Turgor maintenance, osmotic adjustment and soluble sugar and proline accumulation in 49 pea cultivars in response to water stress. *Field Crops Research*. 59(3): 225-235.

Sanchez-Blanco, M.I., Ferrandez, T., Morales, M., Morata, A., and J.J. Alarcon. 2004. Variations in water status, gas exchange and growth in *Rosmarinus officinalis* plant infected with *Glomus* desert cola under drought condition. *Journal of Plant Physiology*. 161: 673-682.

Sasanelli, N., D'Addabbo, T., Takacs, T., and A. Attila. 2008. Remove from marked records influence of arbuscular mycorrhizal fungi on nematicidal properties of leaf aqueous extracts of *Ruta graveolens* and *Thymus vulgaris*. *Giornate Fitopatologiche*. 14(1): 311-316.

Selvaraj, T., and Chellappan, P. 2006. Arbuscular mycorrhizae: a diverse personality. *Journal of Central European Agriculture*. 7(2): 349-358.

Sensoy, S., Demir, S., Turkmen, O., Erdinc, C., and O. Savur. 2007. Responses of some different pepper (*Capsicum annum* L.) genotypes to inoculation with two different arbuscular mycorrhizal fungi. *Scientia Horticulturae*. 113: 92-95.

Shabahang, J., Khorramdel, S., Siahmargue, A., Gheshm, R., and L. Jafari. 2014. Evaluation of integrated management of organic manure application and mycorrhiza inoculation on growth criteria, qualitative and essential oil yield of hyssop (*Hyssopus officinalis* L.) under Mashhad climatic conditions. *Journal of Agroecology*. 6(2): 353-363.

Sharma, A.K. 2002. *Biofertilizers for Sustainable Agriculture*. Agrbis India, pp.407.

Sheng, M., Tang, M., Chen, H., Yang, B., Zhang, F. and Y. Huang. 2009. Influence of arbuscular mycorrhizae on the root system of maize plants under salt stress. *Canadian Journal Microbiol*. 55: 879-886.

Tabrizi, L., Mohammadi, S., Delshad, M., and B. MoteshareZadeh. 2015. Effect of arbuscular mycorrhizal fungi on yield and phytoremediation performance of pot marigold (*Calendula officinalis* L.) under heavy metals stress. *International Journal of Phytoremediation*. 17(12): 1244-1252.

Tang, M., Chen, H., Huang, G.C., and Z.Q. Tian. 2009. Am fungi effects on the growth and physiology of *Zea mays* L. seedlings under diesel stress. *Soil Biology and Biochemistry*. 41: 936- 940.

Wu, Q.S., Zou, Y.N., Xia, R.X., and M.Y. Wangi. 2009. Mycorrhiza has a direct effect on reactive oxygen metabolism of drought-stressed citrus. *Soil, Environmental and Atmospheric Sciences*. 55(10): 436-442.

Zhishen, J., mencheng T., and W. Jianming. 1999. The determination of flavonoid content in mulberry and their scavenging effects on superoxide radicals. *Food Chemistry*. 64: 555-559.