J. Soil and Plant Interactions, Vol. 14, No. 1, Spring 2023, pp. 1-17. **Research Article**

https://jspi.iut.ac.ir EISSN: 2783-5286 DOI: 10.47176/jspi.14.1.121013

The Changes of Physiological and Phytochemical Traits of Fenugreek (*Trigonella foenum-groecum*) in Response to Inoculation With Different Species of Mycorrhizal Fungi

Sh. Ghoroori[1], M. Moghadam[1*] and N. Farhadi[2]

(Received: 14 December 2022; Accepted: 5 April 2023)

Abstract

To investigate the effect of ten species of mycorrhizal fungi belonging to seven different genera (*Racocetra*, *Rhizophagus*, *Claroideoglomus*, *Funneliformis*, *Diversispora*, *Acaulospora* and *Gigaspora*) on some growth and biochemical traits of fenugreek (*Trigonella foenum-groecum*), a pot experiment based on a completely randomized design was conducted in the research greenhouse of Ferdowsi University of Mashhad. The changes of biomass, number and length of pods, weight of 1000 seeds, photosynthetic pigments, phenolic compounds, soluble carbohydrates, total protein, and antioxidant capacity in fenugreek plants in response to mycorrhizal inoculation were studied. The results of variance analysis of the data showed that the effect of mycorrhizal fungi on all studied traits was significant at the probability level of 1%. Based on the findings, the response of fenugreek plant to inoculation with different species of mycorrhizal fungi was variable. Inoculation with suitable species of mycorrhizal fungi through improving the growth condition and biochemical traits of treated plants increased the fenugreek growth based on plant fresh and dry weights. In the present study, mycorrhizal species, especially *R. castanea*, *A. langula*, *R. intraradicese,* and *G. margarita* enhanced the amount of chlorophyll and the activities of antioxidant enzymes of inoculated fenugreek plant compared to the control, which was accompanied by increasing the plant growth in terms of fresh and dry weights in these treatments. According to the obtained results, inoculation of fenugreek plant with *C. claroideum*, *R. castanea*, *A. langula*, *G. margarita*, *R. fasciculatus*, and *F. caledonium* fungi can be suggested as a suitable alternative for chemical fertilizers to increase the yield of this plant.

Keywords: Phenolic compounds, Biomass, Antioxidant capacity, Biofertilizers.

Background and Objective: In sustainable agriculture, organic and low input cultivation systems are the most important factors and the application of biofertilizers to reduce chemical fertilizers usage is the main step (1). Biofertilizers can improve physical, chemical and biological properties of soil and with minimum negative effects on the environment, could increase soil fertility (2). The application of useful microorganisms such as arbuscular mycorrhizal (AM) fungi as an important biofertilizer plays a key role in water and nutrient supply for plants (3). The purpose of this study was to investigate the effect inoculation

1- Department of Horticultural Science and Landscape Architecture, Faculty of Agriculture, Ferdowsi University of Mashhad, Mashhad, Iran.

2- Department of Horticultural Science, Faculty of Agriculture, University of Tabriz, Tabriz, Iran.

* Corresponding author, Email: m.moghadam@um.ac.ir

with different mycorrhizal species on the growth and biochemical traits of fenugreek.

Methods: A pot experiment was conducted to investigate the inoculation effect of different species of mycorrhizal fungi on the growth, physiological and biochemical characteristics of fenugreek (*Trigonella foenum-graceum*) based on a completely randomized design with three replications in the research greenhouse of Ferdowsi University of Mashhad during 2020–2021. The treatments included 10 species of mycorrhizal fungi *Glomus mosseae*, *Glomus etunicatum*, *Glomus claroideum*, *Glomus caledonium*, *Glomus interaradices*, *Glomus fasiculatum*, *Acaulospora langula*, *Scutellospora castanea*, *Glomus versiforme*, *Gigaspora margarit* and non-inoculation (control). The studied traits included plant fresh and dry weights, number of pods, 1000-seeds weight, photosynthesis pigments, soluble carbohydrate, total phenol, flavonoids, total protein, and antioxidant activity. Minitab17 software was used to analyze the data and the mean comparison was performed based on Bonferoni test at 1% probability level.

Results: The results of variance analysis showed that the effect of mycorrhizal fungi on all studied traits was significant at the 1% probability level. According to the obtained results, the response of fenugreek to inoculation depended on the mycorrhizal fungi species. Among the studied mycorrhizal species, the *S. castanea* had the greatest effect on improving the plant biomass and photosynthesis pigments. The highest pod number and 1000-seeds weight were obtained in the plants inoculated with *G. claroideum.* In the plants inoculated with *F. mosseae* and *C. claroideum*, the total phenolic compounds were higher than in the other treatments. Also, the highest activities of guaiacol peroxidase and polyphenol oxidase were recorded in the plants treated with *R. fasciculatus.*

Conclusions: Inoculation with appropriate species of mycorrhizal fungi could effectively increase the growth and biomass of fenugreek by improving the plant physiological traits. According to the results of this study, inoculation of fenugreek with *C. claroideum*, *R. castanea*, *A. langula*, *G. margarita*, *R. fasciculatus*, and *F. caledonium* can be suggested as a suitable alternative for chemical fertilizers to increase the yield of fenugreek under the greenhouse conditions.

References:

1. Rahimi, A., Dovlati, B., Amirnia, R., Heydarzade, S., 2019. Effect of application of mycorrhizal fungus and Azotobacter on physiological characteristics of *Trigonella foenum-graecum* L. under water stress conditions. *Iranian Journal of Plant Biology* 11(4): 1–18. (In Persian with English abstract)
2. Rezazadeh Roghani, Sh., Aminian, R., Maffakheri, S., Asghari, B., 2019. The effect of biological fertilizers on the morphological traits of fenugreek (*Terigonella foenum.graecum*) in different humidity conditions. *Horticultural Plant Nutrition* 2(1): 145–163. (In Persian with English abstract)
3. Siavash Moghadam, S., Rahimi, A., Heydarzadeh, S., Moradzadeh, S., Hasanlu, M., 2017. The effect of mycorrhizal fungus symbiosis on the yield and biochemical characteristics of the medicinal plant fenugreek. *Biotechnology of Medicinal Plants* 3(1): 40–52. (In Persian with English abstract)

روابط خاک و گیاه / سال چهاردهم / شماره اول / بهار ۱۴۰۲ / صفحات ۱۷-۱ مقاله پژوهشی
DOI: 10.47176/jspi.14.1.121013 EISSN: 2783-5286 https://jspi.iut.ac.ir

تغییرات صفات فیزیولوژیک و فیتوشیمیایی گیاه شنبلیله (*Trigonella foenum-groecum*) در واکنش به تلقیح با گونه‌های مختلف قارچ مایکورایزا

شکیلا غروری[۱]، محمد مقدم[۱*] و نسرین فرهادی[۲]

(تاریخ دریافت: ۱۴۰۱/۹/۲۳؛ تاریخ پذیرش: ۱۴۰۲/۱/۱۶)

چکیده

به‌منظور بررسی و مقایسه تأثیر ده گونه قارچ مایکورایزا متعلق به هفت جنس مختلف (*Racocetra*، *Rhizophagus*، *Claroideoglomus*، *Funneliformis*، *Diversispora*، *Acaulospora* و *Gigaspora*) بر برخی صفات رشدی و بیوشیمیایی گیاه شنبلیله، پژوهشی گلدانی بر پایه طرح کاملاً تصادفی در گلخانه پژوهشی دانشگاه فردوسی مشهد انجام شد. در پژوهش حاضر تغییرات زیست‌توده، تعداد و طول غلاف، وزن هزار دانه، رنگیزه‌های فتوسنتزی، ترکیبات فنولی، کربوهیدرات‌های محلول، پروتئین کل، ظرفیت آنتی‌اکسیدانی در گیاه شنبلیله در واکنش به تلقیح مایکورایزایی مورد بررسی قرار گرفت. نتایج تجزیه واریانس داده‌ها نشان داد که اثر قارچ‌های مایکورایزا بر کلیه صفات مورد بررسی در سطح احتمال یک درصد معنی‌دار بود. براساس یافته‌های بدست آمده، واکنش گیاه شنبلیله به تلقیح با گونه‌های مختلف قارچ مایکوریزا متفاوت بود. تلقیح با گونه‌های مناسب قارچ مایکورایزا به‌طور کارآمد از طریق بهبود شرایط رشدی گیاه و صفات بیوشیمیایی منجر به افزایش و بهبود صفات رشدی از جمله زیست‌توده تازه و خشک کل گیاه شنبلیله شد. در پژوهش حاضر همه گونه‌های مایکوریزا به‌ویژه *R. castanea*، *A. langula*، *R. intraradicese* و *G. margarita* میزان کلروفیل و فعالیت‌های آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی گیاه شنبلیله را نسبت به شاهد افزایش دادند که همراه با افزایش رشد گیاه از نظر زیست‌توده تازه و خشک در این تیمارها بود. بر اساس نتایج این پژوهش تلقیح گیاه شنبلیله با قارچ‌های *C. claroideum*، *R. castanea*، *A. langula*، *G. margarita*، *R. fasciculatus* و *F. caledonium* می‌تواند به‌عنوان جایگزین مناسب کودهای شیمیایی برای افزایش عملکرد این گیاه پیشنهاد شود.

واژه‌های کلیدی: ترکیبات فنولی، زیست‌توده، ظرفیت آنتی‌اکسیدانی، کودهای زیستی.

مقدمه

کاربرد کودها و سموم دفع آفات نقش مهمی در رشد و نمو گیاهان و سلامت خاک دارد. مصرف کودهای شیمیایی در تولید محصولات کشاورزی، صرف‌نظر از هزینه آن می‌تواند مشکلات زیست‌محیطی را نیز به همراه داشته باشد. در نتیجه مصرف نامتعارف کودهای شیمیایی، کمبود برخی از عناصر غذایی

۱- گروه علوم باغبانی و مهندسی فضای سبز، دانشکده کشاورزی، دانشگاه فردوسی مشهد
۲- گروه علوم باغبانی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه تبریز
* مسئول مکاتبات، پست الکترونیکی: m.moghadam@um.ac.ir

تشدید شده و ویژگی‌های فیزیکی و شیمیایی خاک دستخوش تغییرات می‌شود. از آنجایی که ریشه گیاهان زیستگاه مناسبی را برای فعالیت بسیاری از ریزجانداران خاک فراهم می‌کنند، در این خصوص همزیستی ریشه گیاهان با قارچ‌های مایکورایزا از مفیدترین روابط همزیستی است که در اکثر اکوسیستم‌ها وجود دارد (۳۰). کودهای زیستی از جمله قارچ‌های مایکورایزا در برخی موارد به‌عنوان جایگزین و در بیش‌تر موارد به‌عنوان مکمل کودهای شیمیایی می‌توانند پایداری تولید نظام‌های کشاورزی را تضمین کنند (۴۱).

قارچ‌های مایکورایزا فرآیندهای طبیعی در گیاهان را تحریک می‌کنند و با بهبود جذب مواد مغذی، بر تولید محصول تأثیر مثبت داشته و از پایداری اکوسیستم‌ها پشتیبانی می‌کنند (۱۴). طی همزیستی و کلونیزاسیون، آربوسکول، وزیکول و هیف در ریشه‌ها و اسپور و هیف در ریزوسفر توسط مایکورایزا ایجاد می‌شود که میزان دسترسی ریشه‌ها به خاک را به‌طور قابل توجهی افزایش داده و از این طریق جذب عناصر غذایی را بهبود می‌بخشند (۱۱ و ۱۲). علاوه بر این مایکورایزاها با افزایش میزان کاروتنوئیدها، کلروفیل و فتوسنتز (۲۰ و ۲۳) موجب بهبود رشد در بسیاری از گیاهان شده‌اند (۳۱). این قارچ‌ها در همزیستی با گیاهان از طریق تحریک سیستم آنتی-اکسیدانی و میزان پرولین، منجر به افزایش قندها و اسیدهای آمینه شده و در نتیجه باعث حفظ میزان نسبی آب سلول‌های گیاهی به‌ویژه در شرایط تنش می‌شوند (۱۲). همچنین همزیستی گیاهان با قارچ‌های مایکورایزا باعث افزایش سنتز متابولیت‌های ثانویه، بهبود کارایی فتوسنتز و جذب مواد مغذی، حفظ هموستاز یونی، تعادل اسمزی و تقویت سیستم آنتی-اکسیدانی شده و از این طریق اثر عوامل نامساعد زیستی و غیرزیستی را با چندین مکانیسم تعدیل می‌کند (۱۱، ۲۰ و ۵۰). مایکوریزا با ناحیه ریشه گیاهان، ایجاد کلونی کرده و با استفاده از هیف‌های خارجی خود جذب عناصر از خاک را بهبود بخشیده و در نتیجه موجب افزایش رشد و عملکرد گیاه میزبان می‌شود. همزیستی قارچ با ریشه گیاه استویا باعث بهبود سرعت رشد، افزایش میزان زیست‌توده، جذب مواد معدنی و میزان فتوسنتز در مقایسه با شاهد شد (۳۴).

شنبلیله با نام علمی *Trigonella foenum-groecum* L. گیاه یکساله علفی از خانواده Fabaceae یا Leguminosae است که بومی جنوب اروپا، آسیا و منطقه مدیترانه است (۴۵). ارتفاع این گیاه تا ۵۰ سانتی‌متر هم می‌رسد و دانه‌های آن به‌عنوان مهم‌ترین بخش داروئی مصارف گوناگونی دارد. بررسی منابع نشان می‌دهد که تاکنون پژوهش‌های اندکی در مورد امکان تلقیح گونه‌های قارچ مایکورایزایی و تأثیر آن‌ها بر زیست‌توده و صفات بیوشیمیایی شنبلیله انجام گرفته است. با توجه به تأثیر مثبت قارچ‌های مایکوریزا و اهمیت گیاه سبزی-دارویی شنبلیله در صنایع مختلف غذایی، دارویی و آرایشی-بهداشتی، در این پژوهش امکان تلقیح ده گونه مختلف قارچ مایکورایزا با این گیاه و اثر کلونیزاسیون بر رشد و صفات فیزیولوژیک و بیوشیمیایی شنبلیله مورد بررسی قرار گرفت.

مواد و روش‌ها

به‌منظور بررسی و مقایسه اثر کاربرد گونه‌های مختلف قارچ مایکورایزا بر زیست‌توده تازه و خشک کل و صفات بیوشیمیایی گیاه شنبلیله توده بومی مشهد، آزمایشی گلدانی بر پایه طرح کاملاً تصادفی در طی بهار و تابستان سال ۱۴۰۰ در گلخانه پژوهشی دانشکده کشاورزی دانشگاه فردوسی مشهد (عرض جغرافیایی ۳۶ درجه و ۱۸ دقیقه شمالی و طول جغرافیایی ۵۹ درجه و ۳۱ دقیقه شرقی و ارتفاع ۹۸۵ متری از سطح دریا) اجرا شد.

قارچ‌های مورد بررسی از ۷ جنس *Racocetra*، *Rhizophagus*، *Claroideoglomus*، *Funneliformis*، *Diversispora*، *Acaulospora* و *Gigaspora* بودند. پژوهش حاضر با تلقیح گیاه شنبلیله با گونه‌های مختلف قارچ مایکورایزا شامل *Racocetra castanea*، *Rhizophagus intraradices*، *Claroideoglomus etunicatum*، *Claroideoglomus claroideum*، *Funneliformis mosseae*، *Rhizophagus fasciculatus*،

جدول ۱. ویژگی‌های خاک مورد استفاده در آزمایش

Table 1. The properties of soil used in the experiment

Texture بافت	Clay رس (%)	Silt سیلت (%)	Sand شن (%)	Organic matter ماده آلی (%)	Electrical conductivity رسانایی الکتریکی (dS/m)	pH واکنش	Cation exchange capacity گنجایش تبادل کاتیونی ($coml_c$/kg soil)
Sandy loam لوم شنی	6.4	20.3	73.3	1.69	2.17	7.75	7.9

ادامه جدول ۱.

Table 1. (continued)

Total nitrogen نیتروژن کل (%)	K پتاسیم (mg/kg)	P فسفر (mg/kg)	Ca کلسیم (meq/l)	Mg منیزیم (meq/l)	Cl کلر (meq/l)	Na سدیم (meq/l)
0.09	50.6	63.4	16.9	5.6	11	21

Funneliformis caledonium، *Diversispora versiformis*، *Acaulospora langula*، *Gigaspora margarita* و شاهد (خاک غیراستریل) با ۳ تکرار و در مجموع در ۳۳ گلدان اجرا شد. از آنجایی که هدف از این پژوهش بررسی تأثیر و مقایسه مایه‌زنی گونه‌های مختلف قارچ‌های مایکورایزا در شرایط طبیعی بود، برای مشابهت‌سازی با شرایط مزرعه بستر کشت مورد استفاده استریل نشد. مایه تلقیح قارچ‌های مایکورایزا که شامل اندام‌های رویشی و اسپورهای قارچ مایکورایزا بود از شرکت زیست‌فناور توران مایکوپرسیکا در شاهرود تهیه شد. صحت گونه‌های مورد استفاده قارچ مایکورایزا توسط مرکز تحقیقات خاک و آب تهران تأیید شده و زیر نظر دکتر حمیدرضا اصغرزاده در حال تولید است. پیش از کاشت بذور، به‌صورت یکنواخت و براساس توصیه شرکت ۳۰۰ گرم مایه شامل ۸۰ تا ۱۰۰ اندام فعال قارچی در هر گرم برای هر گلدان ۱۲ کیلوگرمی با ۱۰ کیلوگرم خاک با نسبت مساوی ماسه، خاک باغچه و خاک برگ مخلوط شد (جدول ۱). سپس ۳۰ بذر گیاه شنبلیله در هر گلدان در ۵ فروردین ۱۴۰۰ کشت شدند که در نهایت ۵ بوته پس از مرحله ۴ برگی حفظ و بقیه تنک شد. رشد بوته‌ها در گلخانه در دمای روزانه ۲ ±۲۵ و دمای شبانه ۲ ± ۱۸ درجه سلسیوس، و رطوبت نسبی ۶۰ تا ۷۵ درصد انجام شد و آبیاری تا زمان جوانه‌زنی بذور و رشد گیاهچه‌ها در روزهای اول به‌صورت روزانه و پس از آن با توجه به نیاز گیاهان انجام شد. زمان اندازه‌گیری صفات همزمان با تشکیل غلاف آغاز شد که از زمان کاشت تا تشکیل این غلاف‌ها ۹۰ روز طول کشید.

صفات رشدی

اثر گونه‌های مختلف قارچ مایکورایزا بر صفات رشدی گیاه به‌طور میانگین در ۳ بوته برای هر تکرار ثبت شد. تعداد و طول غلاف روی بوته‌ها و وزن هزار دانه در پایان دوره رشد پس از انتقال بوته‌ها به آزمایشگاه اندازه‌گیری شدند. پس از اندازه‌گیری وزن تازه گیاهان برداشت‌شده، کل نمونه‌های گیاهی در آون با دمای ۷۰ درجه سلسیوس به مدت ۲۴ ساعت خشک شده و سپس وزن شدند.

صفات بیوشیمیایی

تهیه عصاره متانولی

برای تهیه عصاره متانولی، ۰/۵ گرم از برگ‌های جوان کاملاً توسعه‌یافته استفاده شد و در هاون چینی با ۵ میلی‌لیتر متانول

۹۹ درصد عصاره‌گیری شده و پس از آن به مدت ۲۰ دقیقه با سرعت ۴۵۰۰ دور در دقیقه سانتریفیوژ شد. در مرحله آخر عصاره شفاف قسمت بالایی محلول برای اندازه‌گیری صفات بیوشیمیایی جدا شده و در فالکون‌های مجزا در یخچال و در دمای ۴ درجه سلسیوس نگه‌داری شدند.

رنگیزه‌های فتوسنتزی

برای اندازه‌گیری کلروفیل a، b، کل و کاروتنوئیدها، ابتدا عصاره متانولی تهیه‌شده را به نسبت ۱ به ۵ رقیق کرده، سپس میزان جذب نوری با اسپکتروفتومتر و در طول‌موج‌های ۶۵۳، ۶۶۶ و ۴۷۰ خوانده شد، و بر اساس روش لوتس و همکاران (۲۹) میزان هر یک از رنگیزه‌های فتوسنتزی محاسبه شد.

کربوهیدرات‌های محلول

برای اندازه‌گیری کربوهیدرات‌های محلول، ۰/۲ میلی‌لیتر از عصاره متانولی تهیه‌شده با ۳ میلی‌لیتر معرف آنترون مخلوط شد و به مدت ۱۰ دقیقه در حمام آب گرم با دمای ۱۰۰ درجه سلسیوس قرار داده شد. عدد جذب نور محلول پس از سرد شدن در طول موج ۶۲۰ نانومتر با اسپکتروفتومتر خوانده شد (۴۴).

فنول کل

با استفاده از معرف فولین سیکالتو، میزان فنول کل در عصاره‌های متانولی تهیه‌شده اندازه‌گیری شد (۴۸). عدد جذب محلول در طول موج ۷۶۵ نانومتر با استفاده از اسپکتروفتومتر خوانده شد و برای تهیه منحنی‌های واسنجی از اسید گالیک استفاده شد. میزان فنول کل بر اساس معادل میلی‌گرم اسیدگالیک در گرم وزن خشک محاسبه شد.

فلاونوئید کل

سنجش فلاونوئید کل با روش کلرید آلومینیوم انجام گرفت. برای سنجش فلاونوئید کل، به ۰/۵ میلی‌لیتر عصاره متانولی، ۱/۵ میلی‌لیتر متانول، ۰/۱ میلی‌لیتر کلرید آلومینیوم ۱۰ درصد در اتانول (۱۰ گرم آلومینیوم کلرید ۱۰ درصد در ۱۰۰ میلی‌لیتر اتانول و آب مقطر)، ۰/۱ میلی‌لیتر استات پتاسیم یک مولار (۲/۴۱ گرم در ۱۰ میلی‌لیتر آب مقطر) و ۲/۸ میلی‌لیتر آب مقطر افزوده شد. مخلوط حاصل به مدت نیم ساعت در تاریکی قرار گرفت و بلافاصله عدد جذب در طول موج ۴۱۵ نانومتر با استفاده از اسپکتروفتومتر خوانده شد. در نمونه شاهد از متانول خالص به جای عصاره متانولی استفاده شد و از غلظت‌های مختلف کوئرستین (صفر الی ۱۶ میلی‌گرم در لیتر) به‌عنوان استاندارد استفاده شد. در نهایت میزان فلاونوئیدها براساس میلی‌گرم کوئرسیتین بر گرم وزن تازه محاسبه شد (۱۵).

تهیه عصاره پروتئینی

برای تهیه عصاره پروتئینی، ۳۰۰ میلی‌گرم از بافت تازه برگ گیاه در ۳ میلی‌لیتر بافر فسفات پتاسیم ۵۰ میلی‌مولار (pH=۷/۵) که حاوی پلی‌وینیل پیرولیدین ۱ درصد و EDTA ۱ میلی‌مولار بود، کوبیده شد. عصاره‌ها به مدت ۲۰ دقیقه با دور ۵۰۰۰ در دقیقه و در دمای ۴ درجه سلسیوس سانتریفیوژ شد. محلول شفاف فوقانی برای اندازه‌گیری فعالیت آنزیمی و پروتئین کل استفاده شد (۲۱).

فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی

آنزیم پلی‌فنول اکسیداز: برای سنجش فعالیت آنزیم پلی‌فنول اکسیداز از پیروگالل به‌عنوان پیش‌ماده آنزیم استفاده شد. مخلوط واکنش شامل ۲/۵ سی‌سی بافر فسفات پتاسیم ۵۰ سی‌سی (pH=۷)، ۲۰۰ میلی‌لیتر پیروگالل ۰/۰۲ مولار و ۱۰۰ میکرولیتر از عصاره آنزیمی تهیه‌شده بود. عدد جذب نمونه‌ها پس از ۳ دقیقه در طول موج ۴۲۰ نانومتر با استفاده از دستگاه اسپکتروفتومتر قرائت شد (۲۶).

آنزیم گایاکول پراکسیداز: فعالیت این آنزیم با استفاده از پیش‌ماده گایاگول اندازه‌گیری شد. مخلوط واکنش حاوی ۲/۷۷ میلی لیتر بافر پتاسیم فسفات ۵۰ میلی‌مولار (pH=۷)، ۱۰۰ میلی‌لیتر

آب‌اکسیژنه ۱ درصد، ۱۰۰ میکرولیتر گایاکول ۲ درصد و ۳۰ میلی‌لیتر عصاره آنزیمی بود. افزایش جذب به دلیل اکسیداسیون گایاکول بوده که با استفاده از اسپکتروفتومتر در طول موج ۴۷۰ نانومتر به مدت ۳ دقیقه اندازه‌گیری شد (۳۶).

پروتئین کل

به لوله‌های آزمایش ۵ میلی‌لیتر معرف بیوره، ۱۰۰ میکرولیتر عصاره پروتئینی افزوده شده و به‌سرعت هم زده شدند. پس از ۵ دقیقه عدد جذب محلول با دستگاه اسپکتروفتومتر در طول موج ۵۹۵ با دستگاه اسپکتروفتومتر قرائت گردید. در نهایت غلظت پروتئین با استفاده از منحنی واسنجی آلبومین تعیین شد (۱۳).

فعالیت آنتی‌اکسیدانی

برای اندازه‌گیری فعالیت آنتی‌اکسیدانی، در مرحله اول عصاره متانولی به نسبت ۱ به ۵ رقیق شد. سپس به‌منظور غیرفعال کردن رادیکال‌های آزاد به هر نمونه ۴ میلی‌لیتر ماده DPPH (2,2- Diphenyl-1-Picril-hydrazol) افزوده شد (۳۵). نمونه‌ها به مدت ۳۰ دقیقه در تاریکی قرار داده شد، و سپس جذب محلول‌های حاصل و همچنین جذب نمونه شاهد (کلیه مواد بدون عصاره گیاهی) در طول موج ۵۱۷ نانومتر توسط دستگاه اسپکتروفتومتر قرائت شد. درصد بازدارندگی از DPPH با مقایسه نمونه‌های عصاره و نمونه شاهد و با استفاده از رابطه زیر به‌دست آمد:

= درصد فعالیت آنتی‌اکسیدانی

/ (جذب نمونه مورد نظر – جذب نمونه شاهد)]

×۱۰۰ [(جذب نمونه شاهد)

تجزیه و تحلیل آماری

تجزیه واریانس یک‌عاملی (One-way ANOVA) با استفاده از Minitab18 برای تجزیه آماری داده‌های جمع‌آوری‌شده استفاده شد. مقایسه میانگین صفات نیز با آزمون چنددامنه‌ای Bonferoni در سطح احتمال ۱ درصد مورد بررسی قرار گرفتند.

نتایج

تأثیر تلقیح قارچ‌های مایکورایزا بر صفات رشدی گیاه شنبلیله

نتایج بیانگر اثر معنی‌دار تلقیح مایکورایزایی بر رشد گیاه شنبلیه است. براساس نتایج تجزیه واریانس، وزن تازه و خشک گیاه، تعداد و طول غلاف و وزن هزار دانه به‌طور معنی‌داری تحت تأثیر تلقیح قارچ‌های مایکوریزا قرار گرفتند (جدول ۲).

وزن تازه و خشک

نتایج نشان داد که بیش‌ترین وزن تازه کل گیاه شنبلیله در تلقیح با قارچ *R. castanea* (۹/۵۵ گرم در بوته) با افزایش ۱۱۸/۵ درصدی نسبت به شاهد (۴/۳۷ گرم در بوته) مشاهده شد. در میان گونه‌های قارچ مورد بررسی، *F. mosseae* وزن تازه گیاه را نسبت به شاهد کاهش داد (جدول ۳). هر ده گونه قارچ مورد بررسی میزان وزن خشک کل گیاه را نسبت به شاهد افزایش دادند. به‌طوری‌که بیش‌ترین میزان زیست‌توده خشک کل در تلقیح با قارچ *R. castanea* (۳/۱۸ گرم در بوته) مشاهده شد که نسبت به شاهد ۱۳۰/۴ درصد افزایش داشت (جدول ۳).

تعداد و طول غلاف

نتایج مقایسه میانگین داده‌ها نشان داد که تلقیح با قارچ‌های مایکورایزا به‌طور مؤثری تعداد غلاف در گیاه شنبلیله را افزایش داده است. به‌طوری‌که بیش‌ترین تعداد غلاف در تیمار *C. claroideum* (۴/۶۶ عدد) دیده شد که تفاوت معنی‌داری با قارچ‌های *C. etunicatum*، *A. langula* و *R. intraradicese* نداشت (جدول ۳). براساس نتایج به‌دست آمده بیش‌ترین طول غلاف نسبت به شاهد به‌ترتیب در تلقیح با چهار گونه *C. claroideum*، *G. margarita*، *A. langula* و *D. versiforme* مشاهده شد که باعث افزایش ۹/۲ درصدی نسبت به شاهد شدند و تنها ۴ قارچ نامبرده طول غلاف را نسبت به شاهد افزایش دادند (جدول ۳).

جدول ۲. تجزیه واریانس اثر تلقیح گونه‌های مختلف قارچ مایکورایزا بر صفات رشدی گیاه شنبلیله

Table 2. The variance analysis of mycorrhizal fungi inoculation effects on growth traits of fenugreek plant

Sources of variation منابع تغییرات	df درجه آزادی	MS				
		1000-seeds weight وزن هزاردانه	Pod length طول غلاف	Number of pods تعداد غلاف	Total dry weight وزن خشک کل	Total fresh weight وزن تازه کل
Mycorrhizal inoculation تلقیح مایکوریزا	10	5.77901**	1.17176**	1.41962**	1.45729**	11.4326**
Error خطا	22	0.02172	0.04333	0.01845	0.00154	0.0280

** معنی‌دار در سطح احتمال ۱ درصد

** Significance at the 1% probability level

جدول ۳. مقایسه میانگین اثر تلقیح قارچ‌های مایکورایزا بر صفات رشدی گیاه شنبلیله

Table 3. Mean comparisons of the effect of mycorrhizal fungi inoculation on growth traits of fenugreek plant

Mycorrhizal fungus (قارچ‌های مایکوریزا)	1000-seeds weight وزن هزاردانه (g) (گرم)	Pod length طول غلاف (cm) (سانتی‌متر)	Number of pods تعداد غلاف	Total dry weight وزن خشک کل (g per plant) (گرم در بوته)	Total fresh weight وزن تازه کل (g per plant) (گرم در بوته)
Control	9.74^{e}	10.90^{cd}	2.83^{d}	1.38^{g}	4.37^{f}
F. mosseae	13.25^{a}	10.83^{cd}	3.0^{d}	1.51^{f}	3.19^{g}
C. etanicatum	10.65^{d}	10.553^{cd}	4.48^{a}	1.4^{fg}	4.82^{f}
C. claroideum	13.35^{a}	11.90^{a}	4.66^{a}	2.07^{e}	6.76^{d}
F. caledonium	9.12^{f}	10.41^{d}	3.0^{d}	2.02^{e}	7.37^{c}
R. intraradicese	11.825^{c}	10.41^{d}	4.33^{a}	2.54^{c}	8.44^{b}
R. fasciculatum	10.433^{d}	10.72^{cd}	3.44^{bc}	2.72^{b}	5.92^{e}
A. langula	12.3^{b}	11.06^{bc}	4.48^{a}	3.16^{a}	8.66^{b}
R.castanea	12.35^{b}	9.58^{e}	3.83^{b}	3.18^{a}	9.55^{a}
D. versiform	11.75^{c}	11.0^{bcd}	3.48^{bc}	3.10^{a}	7.07^{cd}
G. margarita	10.6^{d}	11.61^{ab}	3.15^{cd}	2.40^{d}	5.75^{e}

در هر ستون اعداد دارای حداقل یک حرف مشابه بر اساس آزمون Bonferoni در سطح احتمال ۱درصد تفاوت معنی‌داری با هم ندارند.

In each column, the numbers with at least one similar letter are not significantly different from each other based on the Bonferoni test at the 1% probability level.

وزن هزار دانه

وزن هزار دانه گیاه شنبلیله به‌طور معنی‌داری تحت تأثیر تیمار با قارچ‌های مایکورایزا قرار گرفت و بیش‌ترین وزن هزار دانه در تیمار *C. claroideum* (۱۲/۳۵ گرم در بوته) و پس از آن با اختلاف بسیار ناچیز در تیمار *F. mosseae* (۱۲/۲۵ گرم در بوته) بود که میزان این صفت را ۲۶/۸ درصد نسبت به شاهد

(۹/۷۴ گرم در گیاه) افزایش داد. کم‌ترین وزن هزار دانه در قارچ *F. caledonium* (۹/۱۲ گرم در بوته) مشاهده شد که نسبت به شاهد ۶/۴ درصد کاهش داشت (جدول ۳).

تأثیر تلقیح قارچ‌های مایکورایزا بر صفات فیزیولوژیک گیاه شنبلیله

براساس نتایج تجزیه واریانس، صفات فیزیولوژیک مورد بررسی در گیاه شنبلیله (رنگیزه‌های فتوسنتزی، کربوهیدرات-های محلول، ترکیبات فنولی، پروتئین کل و ظرفیت آنتی-اکسیدانی) به‌طور معنی‌داری تحت تأثیر تلقیح با گونه‌های مختلف قارچ مایکورایزا قرار گرفتند (جدول ۴).

رنگیزه‌های فتوسنتزی

میزان کلروفیل و کاروتنوئیدها در گیاه شنبلیله تلقیح‌شده با گونه‌های مختلف قارچ مایکورایزا تفاوت معنی‌داری با یکدیگر داشتند. بیش‌ترین میزان کلروفیل a و b به‌ترتیب در گیاهان تلقیح‌شده با قارچ‌های *R. castanea* و *G. margarita* حاصل شد که ۱۶/۴ و ۸/۸ درصد نسبت به گیاهان تلقیح‌نشده بیش‌تر بود. تلقیح با قارچ *R. intraradicese* میزان کاروتنوئیدها را به میزان ۸۰/۳ درصد در مقایسه با گیاهان شاهد افزایش داد (جدول ۵).

کربوهیدرات‌های محلول

براساس نتایج بدست آمده، تلقیح گیاه شنبلیله با ده گونه قارچ مایکورایزا مورد بررسی میزان کربوهیدرات‌های محلول را نسبت به شاهد کاهش داد. بنابراین بیش‌ترین میزان کربوهیدرات‌های محلول کل در گیاهان شاهد دیده شد و کم‌ترین میزان آن در تیمار با قارچ *R. fasiculatum* ثبت گردید که موجب کاهش ۷۸/۲ درصدی کربوهیدرات‌های محلول نسبت به شاهد شد (جدول ۵).

ترکیبات فنولی

همزیستی با قارچ‌های مایکورایزا به‌طور معنی‌داری میزان فنول کل و فلاونوئیدها را در برگ‌های گیاه شنبلیله افزایش داد. تلقیح با قارچ‌های *F. mosseae* و *C. claroideum* میزان فنول را ۲۴۵/۱ درصد نسبت به گیاهان شاهد افزایش داد که نسبت به سایر تیمارهای مورد بررسی بیش‌تر بود (جدول ۵). بیش‌ترین میزان فلاونوئیدها در گیاهان تلقیح‌شده با *A. langula* حاصل شد که این همزیستی باعث افزایش ۳ درصدی میزان فلاونوئیدها در مقایسه با گیاهان تلقیح‌نشده شد (جدول ۵).

آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی

تلقیح گیاه شنبلیله با گونه‌های مختلف قارچ‌مایکورایزا، فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی مورد پژوهش را به‌طور معنی‌داری تحت تأثیر قرار داد. بیش‌ترین فعالیت آنزیم پلی‌فنول‌اکسیداز و گایاکول پراکسیداز در تلقیح با قارچ *R. fasciculatus* ثبت شد که به‌ترتیب ۲۸۳/۷ و ۳۳/۹ درصد بیش‌تر از گیاهان تلقیح‌نشده بود (جدول ۵).

پروتئین کل

کاربرد گونه‌های مختلف قارچ مایکورایزا میزان پروتئین کل گیاه شنبلیله را به‌طور معنی‌داری تغییر داد. بیش‌ترین میزان پروتئین کل در گیاهان شاهد (۰/۰۱۸۶ میلی‌گرم در گرم وزن تازه) و پس از آن در گیاهان تیمارشده با قارچ *F. caledoneum* (۰/۰۱۸۴ میلی‌گرم در گرم وزن تازه) به‌دست آمد. کم‌ترین میزان پروتئین در گیاهان تلقیح‌شده با قارچ *R. fasciculatum* (۰/۰۰۸۶ میلی‌گرم در گرم وزن تازه) مشاهده شد که نسبت به شاهد ۵۳/۸ درصد کاهش داشت (شکل ۱).

فعالیت آنتی‌اکسیدانی

فعالیت آنتی‌اکسیدانی در عصاره گیاه شنبلیله به‌طور معنی‌داری تحت تأثیر تلقیح مایکورایزایی قرار گرفت. بیش‌ترین فعالیت آنتی‌اکسیدانی مربوط به شاهد و پس از آن به گیاهان تلقیح‌یافته با قارچ *G. margarita* بوده است. کم‌ترین میزان فعالیت آنتی-اکسیدانی در تلقیح با قارچ‌های *R. intraradicese* و

جدول ۴. تجزیه واریانس اثر تلقیح گونه‌های مختلف قارچ مایکورایزا بر برخی صفات فیزیولوژیک و بیوشیمیایی گیاه شنبلیله

Table 4. The variance analysis of mycorrhizal fungi inoculation effects on some physiological and biochemical traits of fenugreek plant

Sources of variation منابع تغییرات	df درجه آزادی	MS									
		Antioxidant activity فعالیت آنتی‌اکسیدان	Guaiacol peroxidase گایاکول پراکسیداز	Polyphenol oxidase پلی‌فنول اکسیداز	Total protein پروتئین کل	Total flavonoids فلاونوئید کل	Total phenol فنول کل	Soluble carbohydrates کربوهیدرات‌های محلول	Carotenoids کارتنوئیدها	Chlorophyll b کلروفیل b	Chlorophyll a کلروفیل a
Mycorrhizal inoculation تلقیح مایکوریزا	10	1262.61**	9.43259**	2.42275**	0.000030**	0.068323**	17.0613**	97.1738**	0.304107**	4.1248**	8.5682**
Error خطا	22	12.55	0.03267	0.04811	0.000001	0.000190	0.0069	0.0571	0.004019	0.4939	0.5052

** معنی‌داری در سطح احتمال ۱ درصد

** Significance at the 1% probability level

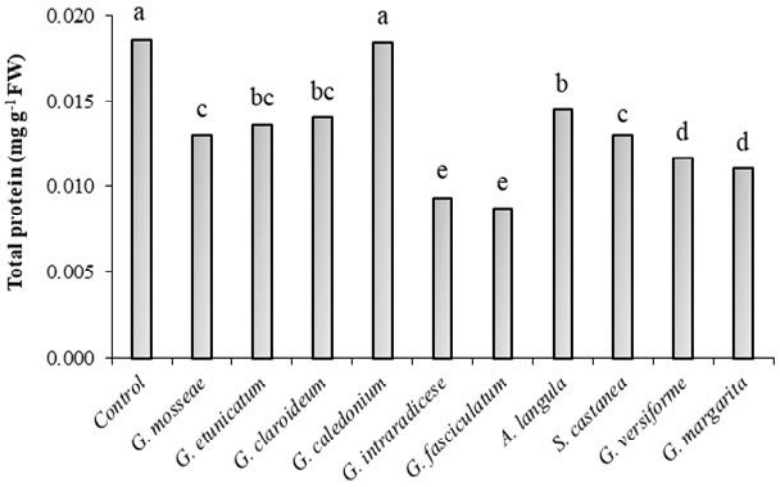
جدول ۵. مقایسه میانگین اثر تلقیح قارچ‌های مایکورایزا بر برخی صفات فیزیولوژیک و بیوشیمیایی گیاه شنبلیله

Table 5. Mean comparisons of the effect of mycorrhizal fungi inoculation on some physiological and biochemical traits of fenugreek plant

Mycorrhizal fungus قارچ‌های مایکوریزا	Polyphenol oxidase پلی‌فنول اکسیداز (U mg^{-1} protein) (واحد بین‌المللی در میلی‌گرم پروتئین)	Guaiacol peroxidase گایاکول پراکسیداز (U mg^{-1} protein) (واحد بین‌المللی در میلی‌گرم پروتئین)	Total flavonoids فلاونوئید کل (mg quercetin g^{-1} FW) (میلی‌گرم کوئرستین برگرم وزن تازه)	Total phenol فنول کل (mg g^{-1} FW) (میلی‌گرم در گرم وزن تازه)	Soluble carbohydrates کربوهیدرات‌های محلول (mg g^{-1} FW) (میلی‌گرم در گرم وزن تازه)	Cartonoids کارتنوئیدها (mg g^{-1} FW) (میلی‌گرم در گرم وزن تازه)	Chlorophyll b کلروفیل b (mg g^{-1} FW) (میلی‌گرم در گرم وزن تازه)	Chlorophyll a کلروفیل a (mg g^{-1} FW) (میلی‌گرم در گرم وزن تازه)
Control	0.99^{c-f}	4.97^{d}	6.32^{cd}	2.07^{c}	26.30^{a}	0.96^{c}	5.74^{ab}	11.43^{ab}
F. mosseae	1.51^{bc}	6.35^{ab}	6.07^{g}	7.11^{a}	6.98^{e}	1.37^{b}	2.62^{d}	8.32^{c}
C. etanicatum	1.17^{b-e}	0.40^{g}	6.12^{f}	0.51^{f}	10.86^{b}	1.25^{b}	2.76^{cd}	9.05^{bc}
C. claroideum	0.42^{f}	4.32^{e}	6.14^{f}	7.09^{a}	7.85^{d}	1.70^{a}	3.56^{bcd}	11.86^{a}
F. caledonium	0.80^{ef}	3.35^{f}	6.24^{e}	2.89^{b}	8.15^{d}	1.24^{b}	4.18^{a-d}	8.39^{c}
R. intraradicese	0.65^{ef}	5.87^{bc}	6.47^{b}	1.10^{e}	6.19^{f}	1.74^{a}	3.93^{bcd}	12.33^{a}
R. fasciculatus	3.75^{a}	6.66^{a}	6.28^{de}	1.45^{d}	5.73^{f}	1.592^{a}	3.89^{bcd}	11.64^{a}
langula A	1.49^{bcd}	4.69^{de}	6.53^{a}	2.03^{c}	8.29^{d}	1.594^{a}	5.53^{ab}	12.59^{a}
R.castanea	1.18^{b-e}	5.95^{bc}	6.35^{c}	1.37^{d}	10.03^{c}	1.57^{a}	4.82^{abc}	12.96^{a}
D. versiformis	1.70^{b}	5.66^{c}	6.33^{c}	0.54^{f}	9.84^{c}	1.37^{b}	4.04^{a-d}	11.24^{ab}
G. margarita	0.81^{def}	5.67^{c}	6.46^{b}	1.11^{e}	7.79^{d}	0.71^{d}	6.24^{a}	12.21^{a}

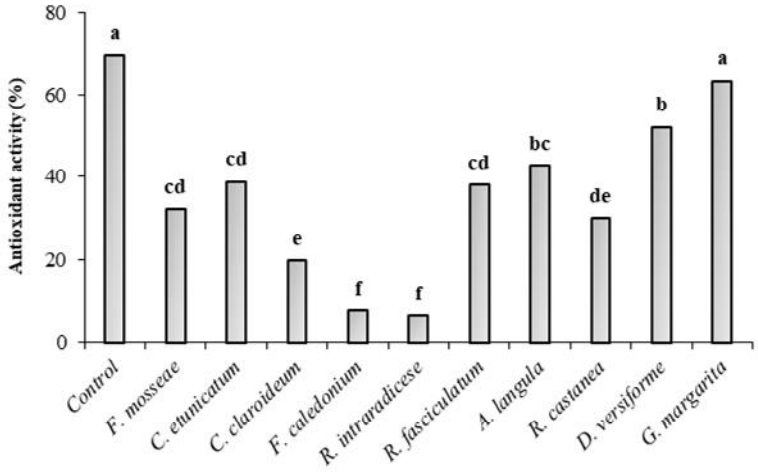
در هر ستون اعداد دارای حداقل یک حرف مشابه بر اساس آزمون Bonferoni در سطح احتمال ۱درصد تفاوت معنی‌داری با هم ندارند.

In each column, the numbers with at least one similar letter are not significantly different from each other based on the Bonferoni test at the 1% probability level.



شکل ۱. مقایسه میانگین اثر تلقیح قارچ‌های مایکورایزا بر میزان پروتئین کل گیاه شنبلیله؛ ستون‌های دارای حداقل یک حرف مشابه بر اساس آزمون Bonferoni در سطح احتمال ۱درصد تفاوت معنی‌داری با هم ندارند.

Fig. 1. Mean comparisons of the effect of mycorrhizal fungi inoculation on total protein content of fenugreek plant; The bars with at least one similar letter are not significantly different from each other based on the Bonferoni test at the 1% probability level.



شکل ۲. مقایسه میانگین اثر تلقیح قارچ‌های مایکورایزا بر فعالیت آنتی‌اکسیدانی گیاه شنبلیله؛ ستون‌های دارای حداقل یک حرف مشابه بر اساس آزمون Bonferoni در سطح احتمال ۱درصد تفاوت معنی‌داری با هم ندارند.

Fig. 2. Mean comparisons of the effect of mycorrhizal fungi inoculation on antioxidant activity of fenugreek plant; The bars with at least one similar letter are not significantly different from each other based on the Bonferoni test at the 1% probability level.

D. caledonium حاصل شد که به‌ترتیب ۹۰/۹ و ۸۹/۲ درصد کم‌تر از تیمار بدون تلقیح بود (شکل ۲).

بحث

قارچ‌های مایکورایزا ریزجاندارانی هستند که در اکوسیستم‌های طبیعی جزء ضروری برای ادامه حیات بسیاری از گونه‌های

گیاهی محسوب می‌شوند (۳۷). در پژوهش حاضر قارچ‌های مایکورایزا به‌طور چشم‌گیری صفات رشدی مهم گیاه شنبلیله شامل زیست‌توده، تعداد و طول غلاف و همچنین وزن هزار دانه (جدول ۳) را تحت تأثیر قرار دادند. قارچ‌های *C. claroideum* و *A. langula* بیش‌ترین تأثیر را در بهبود صفات رشدی گیاه شنبلیله داشتند. سیاوش مقدم و همکاران (۴۷) گزارش کردند که تلقیح با قارچ‌های مایکورایزا تأثیر معنی‌داری در افزایش تعداد دانه در غلاف و وزن هزاردانه گیاه شنبلیله داشت. رضائی چیانه و همکاران (۴۰) هم بیان کردند که کاربرد کودهای زیستی سبب افزیش زیست‌توده و تعداد دانه در چتر زنیان و گیاه سورگوم شد. براساس نظر این پژوهشگران قارچ-های مایکورایزا با بهبود فراهمی و افزایش جذب آب و عناصر غذایی، باعث توسعه رشد رویشی، گسترش و دوام بیش‌تر سطح برگ شده و در نتیجه منجر به افزایش وزن تازه و تجمع ماده خشک گیاهی می‌شوند. در اثر افزایش میزان فتوسنتز و اختصاص بیش‌تر مواد فتوسنتزی به دانه یا افزایش مدت زمان پر شدن دانه، وزن هزار دانه نیز افزایش می‌یابد (۱۸). پژوهش‌ها در مورد گندم (۲۵)، ذرت (۴)، نعناع (۱۸) و نعناع فلفلی (۷) نشان داد که بین گونه‌های مختلف قارچ مایکورایزا از نظر تأثیر بر صفات رشدی گیاه تفاوت‌های قابل توجهی وجود دارد، که با نتایج این پژوهش هم‌خوانی دارد. این اختلاف اثر در بین گونه‌های مختلف به مکانیسم‌های متفاوت برقراری ارتباط بین گیاه میزبان و قارچ مایکورایزا نسبت داده شده است. براساس نتایج پژوهش‌های مختلف، بررسی و انتخاب گونه مناسب قارچ مایکورایزا نقش مهمی در افزایش و بهبود عملکرد گونه‌های مختلف گیاهی دارد و می‌تواند راهکاری مناسب برای افزایش عملکرد گیاهان بدون استفاده از کودهای شیمیایی باشد (۷، ۱۸، ۳۹ و ۴۰). نتایج رستمی‌هیر و همکاران (۴۳) نشان داده است که تلقیح سیب‌زمینی با *G. aggregatum*، *C. etunicatum*، *F. geosporum* و *F. mosseae* برای تقویت خاک و رشد بهتر گیاه بر کودهای شیمیایی برتری داشته و در کشاورزی پایدار می‌توان از آن‌ها استفاده کرد. در پژوهش حاضر هم نتایج نشان‌دهنده آن است که تلقیح گیاه شنبلیله با قارچ‌های *R. castaneae*، *A. langula* و *D. versiformis* زیست‌توده تازه و خشک گیاه را نسبت به شاهد و سایر گونه‌های مورد پژوهش قارچ مایکورایزا به‌طور معنی‌داری افزایش داد. نتایج پژوهش‌های پیشین نشان داد که در بین گونه‌های مختلف مایکوریزا، گونه‌های *F. mosseae* و *R. intraradices* به‌ترتیب بیش‌ترین و کم‌ترین تأثیر را بر افزایش شاخص‌های رویشی داشته‌اند. زیرا این قارچ‌ها از طریق گسترش عملکرد سیستم ریشه گیاه، در به‌دست آوردن آب اهمیت بسزایی دارند و با ایجاد همزیستی بر روی ریشه میزبان، سطح تماس ریشه با خاک را افزایش داده و در اثر این افزایش برای ریشه، رشد رویشی گیاه بهبود می‌یابد (۳۳ و ۵۲).

یکی از مهم‌ترین آثار همزیستی با مایکورایزا افزایش میزان رنگیزه‌های فتوسنتزی گیاه میزبان است که نتایج پژوهش حاضر نیز مؤید این مطلب است. قارچ‌های مایکورایزا از طریق بهبود شاخص‌های فیزیولوژیک (به‌ویژه میزان کلروفیل a و b و همچنین کاروتنوئیدها)، رشد و عملکرد گیاه را افزایش می‌دهند (۲۰ و ۲۳). براساس گزارش‌های آقابابائی و رئیسی (۳)، یان و همکاران (۵۲) و فلاحت‌پیشه و همکاران (۱۹)، تلقیح با قارچ مایکورایزا با افزایش غلظت کلروفیل کل برگ، سرعت فتوسنتز خالص و ظرفیت آنتی‌اکسیدانی گیاه، کارایی فتوسنتزی را افزایش داد. مایکورایزاها با تحریک فرآیندهای طبیعی گیاه باعث افزایش میزان پروتئین و ترکیبات فنولی می‌شوند و از این طریق مقاومت گیاه را در برابر شرایط نامساعد محیطی افزایش می‌دهند (۱، ۲۴ و ۲۸).

تلقیح با مایکورایزاها تأثیر بسزایی در بهبود ظرفیت آنتی-اکسیدان‌های آنزیمی و غیرآنزیمی گیاهان دارند. افزایش فعالیت آنتی‌اکسیدان‌های آنزیمی و غیرآنزیمی به‌عنوان عامل تأثیرگذار بر افزایش رشد اندام هوایی و ریشه و همچنین عملکرد ماده خشک در بسیاری از گیاهان شناخته شده است (۴۶ و ۵۱). تلقیح با مایکورایزاها، این همزیستی باعث تحریک سنتز متابولیت‌های ثانویه مانند ترکیبات فنولی (به‌ویژه فلاونوئیدها) شده که برای افزایش مقاومت در گیاهان در برابر تنش‌های

محیطی ضروری است (۴۹). فلاونوئیدها از مهم‌ترین ترکیبات پلی‌فنولی هستند که به‌عنوان آنتی‌اکسیدان قوی در فرایندهای گیاهی نقش دارند و از طرف دیگر حضور فلاونوئیدها در تنظیم همزیستی گیاه با قارچ‌های مایکورایزا ضروری است (۸ و ۱۶). براساس گزارش رحیمی و همکاران (۳۹)، تلقیح با قارچ مایکورایزا با تنظیم سیستم‌های آنتی‌اکسیدان به‌ویژه از نظر فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی موجب بهبود رشد گیاه می‌شود. همچنین این رابطه همزیستی با افزایش فعالیت آنتی‌اکسیدانی و مقاومت گیاهان، نقش مهمی در فرایند سازگاری گیاه به شرایط نامطلوب محیط رشد دارد (۲). قلی‌زاده و همکاران (۲۲) بیان داشتند که کاربرد قارچ مایکورایزا در کنجد (*Sesamum indicum* L.) با افزایش زیست‌توده گیاه و فعالیت آنتی‌اکسیدانی آنزیمی و غیرآنزیمی گیاه همبستگی معنی‌داری داشته است. تلقیح کنگر فرنگی (۹)، شمعدانی (۵) و گاوزبان (۳۹) با قارچ‌های مایکورایزا به‌طور معنی‌داری میزان فنول کل، فلاونوئیدها و فعالیت آنتی‌اکسیدانی گیاه را نسبت به شاهد افزایش داد. این همزیستی با تحت تأثیر قرار دادن صفات فیتوشیمیایی و فیزیولوژیک گیاه میزبان منجر به بهبود پارامترهای رشدی گیاه می‌شوند. در پژوهش حاضر هم گونه‌های مایکوریزا به‌ویژه *R. castanea*، *A. langula*، *R. intraradicese* و *G. margarita* میزان کلروفیل و فعالیت‌های آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی گیاه شنبلیله را نسبت به شاهد افزایش دادند که همراه با افزایش رشد گیاه از نظر زیست‌توده تازه و خشک در این تیمارها بود. براساس گزارش پژوهش‌گران متعدد، قارچ‌های مایکورایزا از طریق تأثیر بر متابولیت‌های اولیه گیاه، متابولیسم ثانویه و در نتیجه تولید متابولیت‌های ثانویه در گیاه میزبان را تغییر می‌دهند (۵، ۱۰، ۱۷ و ۲۷).

نتیجه‌گیری

در این پژوهش، تلقیح بذور شنبلیله با قارچ‌های مایکورایزای آربوسکولار آثار متفاوتی بر رشد و صفات بیوشیمیایی گیاه شنبلیله از جمله تغییرات زیست‌توده، تعداد و طول غلاف، وزن هزار دانه، رنگیزه‌های فتوسنتزی، ترکیبات فنولی، کربوهیدرات‌های محلول، پروتئین کل، و ظرفیت آنتی‌اکسیدانی داشت و انتخاب گونه مناسب می‌تواند با بهبود صفات فیزولوژیک، رشد و عملکرد گیاه میزبان را بهبود بخشد. در نتیجه به‌عنوان جایگزین مناسب کودهای شیمیایی برای افزایش عملکرد گیاه شنبلیله، تلقیح این گیاه با قارچ‌های *C. claroideum*، *R. castanea*، *A. langula*، *G. margarita*، *R. fasciculatus* و *F. caledonium* پیشنهاد می‌شود.

تشکر و سپاسگزاری

نویسندگان از دانشگاه فردوسی مشهد برای حمایت مالی از این طرح پژوهشی تشکر و قدردانی می‌نمایند.

تضاد منافع

نویسندگان مقاله اذعان دارند هیچ‌گونه تضاد منافعی با شخص، شرکت یا سازمانی برای این پژوهش ندارند.

منابع مورد استفاده

1. Abbas, S.M., 2013. The influence of biostimulants on the growth and on the biochemical composition of *Vicia faba* CV. *Giza* 3 beans. *Romanian Biotechnological Letters* 18: 8061–8068.
2. Afkari, A., 2019. Investigating the effect of symbiosis of arbuscular mycorrhizal fungus on some physiological traits of Singlecross 704 hybrid corn under water stress conditions. *Evolutionary Biology* 11(3): 86–75. (In Persian with English abstract)
3. Aghababaei, F., Raisi, F., 2011. The effect of mycorrhizal symbiosis on the amount of chlorophyll, photosynthesis and water use efficiency in four almond genotypes in Chaharmahal and Bakhtiari province. *Journal of Agricultural Sciences and Techniques and Natural Resources* (*Journal of Water and Soil Science*) 15(56): 91–101. (In Persian with English abstract)
4. Almagrabi, O.A., Abdelmoneim, T.S., 2012. Using of Arbuscular mycorrhizal fungi to reduce the deficiency effect of phosphorous fertilization on maize plants (*Zea mays* L.). *Life Science Journal* 9(4): 1648–1654.

5. Amiri, R., Nikbakht, A., Etemadi, N., 2015. Alleviation of drought stress on rose geranium [*Pelargonium graveolens* (L.) Herit] in terms of antioxidant activity and secondary metabolites by mycorrhizal inoculation. *Scientia Horticulturae* 197: 373–380.
6. Amiri, R., Nikbakht, A., Rahimmalek, M., Hosseini, H., 2017. Variation in the essential oil composition, antioxidant capacity, and physiological characteristics of *Pelargonium graveolens* L. inoculated with two species of mycorrhizal fungi under water deficit conditions. *Journal of Plant Growth Regulation* 36(2): 502–515.
7. Arango, M.C., Ruscitti, M.F., Ronco, M.G., Beltrano, J., 2012. Mycorrhizal fungi inoculation and phosphorus fertilizer on growth, essential oil production and nutrient uptake in peppermint (*Mentha piperita* L.). *Revista Brasileira de Plantas Medicinais* 14: 692–699.
8. Aseel, D.G., Rashad, Y.M., Hammad, S.M., 2019. Arbuscular mycorrhizal fungi trigger transcriptional expression of flavonoid and chlorogenic acid biosynthetic pathways genes in tomato against Tomato Mosaic Virus. *Scientific Reports* 9(1): 1–10.
9. Avio, L., Maggini, R., Ujvári, G., Incrocci, L., Giovannetti, M., Turrini, A., 2020. Phenolics content and antioxidant activity in the leaves of two artichoke cultivars are differentially affected by six mycorrhizal symbionts. *Scientia Horticulturae* 264: 1–8.
10. Baslam, M., Esteban, R., García-Plazaola, J.I., Goicoechea, N., 2013. Effectiveness of arbuscular mycorrhizal fungi (AMF) for inducing the accumulation of major carotenoids, chlorophylls and tocopherol in green and red leaf lettuces. *Applied Microbiology and Biotechnology* 97: 3119–3128.
11. Begum, N., Ahanger, M.A., Su, Y., Lei, Y., Mustafa, N.S.A., Ahmad, P., Zhang, L., 2019. Improved drought tolerance by AMF inoculation in maize (*Zea mays*) involves physiological and biochemical implications. *Plants* 8(12): 579.
12. Bowles, T.M., Barrios-Masias, F.H., Carlisle, E.A., Cavagnaro, T.R., Jackson, L.E., 2016. Effects of arbuscular mycorrhizae on tomato yield, nutrient uptake, water relations, and soil carbon dynamics under deficit irrigation in field conditions. *Science of the Total Environment* 566: 1223–1234.
13. Bradford, M.M., 1976. A rapid and sensitive method for the quantitation of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein-dye binding. *Analytical Biochemistry* 72(1-2): 248–254.
14. Bulgari, R., Cocetta, G., Trivellini, A., Vernieri, P., Ferrante, A., 2015. Biostimulants and crop responses: A review. *Biological Agriculture & Horticulture* 31: 1–17.
15. Chang, C.C., Yang, M.H., Wen, H.M., Chern, J.C., 2002. Estimation of total flavonoid content in propolis by two complementary colorimetric methods. *Journal of Food and Drug Analysis* 10(3): 178–182.
16. Cui, L., Guo, F., Zhang, J., Yang, S., Meng, J., Geng, Y., Wan, S., 2019. Synergy of arbuscular mycorrhizal symbiosis and exogenous Ca^{2+} benefits peanut (*Arachis hypogaea* L.) growth through the shared hormone and flavonoid pathway. *Scientific Reports* 9(1): 1–11.
17. de Assis, R.M.A., Carneiro, J.J., Medeiros, A.P.R., de Carvalho, A.A., da Cunha Honorato, A., Carneiro, M. A.C., Pinto, J.E.B.P., 2020. Arbuscular mycorrhizal fungi and organic manure enhance growth and accumulation of citral, total phenols, and flavonoids in *Melissa officinalis* L. *Industrial Crops and Products* 158: 112981.
18. Eslami-Fard, S., Yarnia, M., Farah-Vosh, F., Khalilvand Behroozyar, A., Rashidi, V., 2019. Evaluation of the role of mycorrhizal species and phosphorus levels on leaf-related traits and peppermint essential oil production in different water conditions. *Journal of Agricultural Science and Sustainable Production* 29(3): 40–57. (In Persian with English abstract)
19. Falahat-Pisheh, R., Ebrahimi, H., Rezaei-Danesh, A., Hosseini Manfard, R., 2015. Reaction of photosynthesis components to different levels of dryness and mycorrhizal fungus species in bermudagrass. National Non-Operating Defense Conference in Agriculture, Natural Resources and Environment with a Sustainable Development Approach. 28th of October, Tehran, Available online at: https://civilica.com/doc/440483. (In Persian with English abstract)
20. Faraj-zadeh Memar Tabrizi, A., Rushdi Maleki, M., Faraj-zadeh Memar Tabrizi, N., Ahmadzadeh, V., 2018. The effect of seed inoculation with different strains of bacteria and mycorrhizal fungi on growth, essential oil production, biochemical and physiological characteristics of basil (*Ocimum basilicum* L.). *Iranian Medicinal and Aromatic Plants Research* 34(5): 805–819. (In Persian with English abstract)
21. Gapińska, M., Skłodowska, M., Gabara, B., 2008. Effect of short-and long-term salinity on the activities of antioxidative enzymes and lipid peroxidation in tomato roots. *Acta Physiologiae Plantarum* 30(1): 11–18.
22. Gholinezhad, E., Darvishzadeh, R., Moghaddam, S.S., Popović-Djordjević, J., 2020. Effect of mycorrhizal inoculation in reducing water stress in sesame (*Sesamum indicum* L.): The assessment of agrobiochemical traits and enzymatic antioxidant activity. *Agricultural Water Management* 238: 106234.
23. Gogoi, P., Singh, R.K., 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.
24. González-González, M.F., Ocampo-Alvarez, H., Santacruz-Ruvalcaba, F., Sánchez-Hernández, C.V., Casarrubias-Castillo, K., Becerril-Espinosa, A., Hernández-Herrera, R.M., 2020. Physiological, ecological, and biochemical

implications in tomato plants of two plant biostimulants: Arbuscular mycorrhizal fungi and seaweed extract. *Frontiers in Plant Science* 11: 999–1012.
25. Hamidi, H., Marashi, S.K., 2018. The effect of mycorrhizal fungus strains and phosphorus fertilizer on the growth characteristics and grain yield of wheat (*Triticum aestivum* L.). *Plant Agronomy Science* 8(1): 14–21
26. Kar, M., Mishra, D., 1976. Catalase, peroxidase, and polyphenoloxidase activities during rice leaf senescence. *Plant Physiology* 57(2): 315–319. (In Persian with English abstract)
27. Lu, F.C., Lee, C.Y., Wang, C.L., 2015. The influence of arbuscular mycorrhizal fungi inoculation on yam (*Dioscorea* spp.) tuber weights and secondary metabolite content. *PeerJournal* 3: e1266.
28. Lucini, L., Colla, G., Moreno, M.B.M., Bernardo, L., Cardarelli, M., Terzi, V., Rouphael, Y., 2019. Inoculation of *Rhizoglomus irregulare* or *Trichoderma atroviride* differentially modulates metabolite profiling of wheat root exudates. *Phytochemistry* 157: 158–167.
29. Lutts, S., Kinet, J.M., Bouharmont, J., 1996. NaCl-induced senescence in leaves of rice (*Oryza sativa* L.) cultivars differing in salinity resistance. *Annals of Botany* 78(3): 389–398.
30. Majidizadeh, L., Heydari, H., Safizadeh, F., Gholami, K., 2015. Effects of symbiosis of mycorrhizal fungi with plants. 10th September, Tehran, Available online at: https://civilica.com/doc/411569. (In Persian with English abstract)
31. Manoharan, P.T., Pandi, M., Shanmugaiah, V., Gomathinayagam, S., 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): 3431–3436.
32. Martillanes, S., Rocha-Pimienta, J., Cabrera-Bañegil, M., Martín-Vertedor, D., Delgado-Adámez, J., 2017. Application of phenolic compounds for food preservation: Food additive and active packaging. *Phenolic Compounds–Biological Activity* 3(8): 39–58.
33. Mbusango, A., Nurbaity, A., Fitriatin, B.N., Solihin, M.A., Istifadah, N., 2019. Arbuscular mycorrhiza increased N, P, K, and Fe uptake, growth and yield of vegetables grown on Andisols with different rates of NPK fertilizers. In: IOP Conference Series: *Earth and Environmental Science* 393(1): 012009-021016.
34. Mohammadi, S.N., Barmaki, M. Davari, M., 2020. The effect of culture media and mycorrhizal fungus symbiosis on leaf yield, root colonization percentage and some root characteristics of stevia in soilless cultivation system. *Agricultural Science and Sustainable Production* 29(2): 189–204. (In Persian with English abstract)
35. Moon, J.H., Terao, J., 1998. Antioxidant activity of caffeic acid and dihydrocaffeic acid in lard and human low-density lipoprotein. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 46(12): 5062–5065.
36. Plewa, M.J., Smith, S.R., Wagner, E.D., 1991. Diethyldithiocarbamate suppresses the plant activation of aromatic amines into mutagens by inhibiting tobacco cell peroxidase. *Mutation Research/Fundamental and Molecular Mechanisms of Mutagenesis* 247(1): 57–64.
37. Prasad, R., Bhola, D., Akdi, K., Cruz, C., Sairam, K.V.S.S., Tuteja, N., Varma, A., 2017. Introduction to mycorrhiza: historical development. In: Varma, A., Prasad, R., Tuteja, N. (Eds.), Mycorrhiza-Function, Diversity, State of the Art. Springer, pp. 1–7.
38. Rahimi, A., Dovlati, B., Amirnia, R., Heydarzade, S., 2019. Effect of application of mycorrhizal fungus and Azotobacter on physiological characteristics of *Trigonella foenum-graecum* L. under water stress conditions. *Iranian Journal of Plant Biology* 11(4): 1–18.
39. Rahimi, A., Jahanbin, Sh., Salehi, A., Faraji, H., 2016. The effect of mycorrhizal fungus on the morphological characteristics and amount of phenolic compounds and chlorophyll fluorescence of the medicinal plant Borage (*Borago officinalis* L.) under drought stress. *Plant Environmental Physiology* 11(42): 46–55. (In Persian with English abstract)
40. Rezaei Chianeh, A., Zahtab Salmasi, S., Ghasemi Golazani, K., Del Azar, A., 2012. The effect of irrigation treatments on yield and components. The performance of three native stands of fennel. *Agricultural Knowledge and Sustainable Production* 22(4): 55–70. (In Persian with English abstract)
41. Rezazadeh Roghani, Sh., Aminian, R., Maffakheri, S., Asghari, B., 2019. The effect of biological fertilizers on the morphological traits of fenugreek (*Terigonella foenum.graecum*) in different humidity conditions. *Horticultural Plant Nutrition* 2(1): 145–163. (In Persian with English abstract)
42. Roger, A., Colard, A., Angelard, C., Sanders, I.R., 2013. Relatedness among arbuscular mycorrhizal fungi drives plant growth and intraspecific fungal coexistence. *The ISME Journal* 7(11): 2137–2146.
43. Rostamihir, S., Riahi, H., Zanganeh, S., 2014. Identification of mycorrhizal fungi and investigation of their effect on vegetative parameters of potato plant. *Environmental Science* 12(4): 75–80. (In Persian with English abstract)
44. Sadasivam, S., and Manickam, A., 1992. *Biochemical Methods for Agricultural Sciences*. Wiley Eastern Limited.
45. Sarwar, S., Hanif, M.A., Ayub, M.A., Boakye, Y.D., Agyare, C., 2020. Fenugreek. In: Asif Hanif, M., Nawaz, H., Khan, M., Byrne H. (Eds.), Medicinal Plants of South Asia. Taylor & Francis, pp. 257–271.
46. Sbrana, C., Avio, L., Giovannetti, M., 2014. Beneficial mycorrhizal symbionts affecting the production of health-promoting phytochemicals. *Electrophoresis* 35: 1535–1546.
47. Siavash Moghadam, S., Rahimi, A., Heydarzadeh, S., Moradzadeh, S., Hasanlu, M., 2017. The effect of mycorrhizal

fungus symbiosis on the yield and biochemical characteristics of the medicinal plant fenugreek. *Biotechnology of Medicinal Plants* 3(1): 40–52. (In Persian with English abstract)
48. Singliton, V.L., Rossi, J.A., 1965. Colorimetry of total phenolics with phosphomolybdic phosphotungstic acid reagents. *American Journal of Enology and Viticulture* 16(3): 144–158.
49. Tavarini, S., Passera, B., Martini, A., Avio, L., Sbrana, C., Giovannetti, M., Angelini, L.G., 2018. Plant growth, steviol glycosides and nutrient uptake as affected by arbuscular mycorrhizal fungi and phosphorous fertilization in *Stevia rebaudiana* Bert. *Industrial Crops and Products* 111: 899–907.
50. Wang, Y.H., Zhang, N.L., Wang, M.Q., He, X.B., Lv, Z.Q., Wei, J., Li, Y., 2021. Sex-specific differences in the physiological and biochemical performance of arbuscular mycorrhizal fungi-inoculated mulberry clones under salinity stress. *Frontiers in Plant Science* 12: 614162–614175.
51. Wu, S.C., Cao, Z.H., Li, Z.G., Cheung, K.C., Wong, M.H., 2005. Effects of biofertilizer containing N-fixer, P and K solubilizers and AM fungi on maize growth: a greenhouse trial. *Geoderma* 125: 155–166.
52. Yan, Z., Ma, T., Guo, S., Liu, R., Li, M., 2021. Leaf anatomy, photosynthesis and chlorophyll fluorescence of lettuce as influenced by arbuscular mycorrhizal fungi under high temperature stress. *Scientia Horticulturae* 280: 109933.
53. Zulfiqari, M., Nazeri, V., Sifidkan, F., Rejali, F., 2015. Investigating the effect of different mycorrhiza species on the growth characteristics and the amount of essential oil of the medicinal basil plant (*Ocimum basilicum* L.). *Plant Products* 37(4): 47–56. (In Persian with English abstract)