اثر ۹ نوع قارچ مایکوریزا بر خصوصیات بیوشیمیایی گیاه دارویی همیشه‌بهار (*Calendula officinalis* L.)

زهرا خیری[۱]، محمد مقدم*[۱]، مهدی مرادی[۳]
[۱ و ۲] گروه علوم باغبانی و مهندسی فضای سبز، دانشکده کشاورزی، دانشگاه فردوسی مشهد
[۳] گروه تولیدات گیاهی دانشگاه تربت جام
*نویسنده مسئول: m.moghadam@um.ac.ir; moghaddam75@yahoo.com

چکیده

به‌منظور بررسی اثر ۹ نوع قارچ مایکوریزا بر خصوصیات بیوشیمیایی گیاه دارویی همیشه بهار تحقیقی گلدانی بر پایه طرح کاملا تصادفی در گلخانه تحقیقاتی دانشگاه فردوسی مشهد در سال ۱۳۹۷ انجام شد. تیمارهای آزمایش شامل ۹ گونه قارچ مایکوریزا و تیمار بدون تلقیح بودند. صفات مورد مطالعه شامل رنگیزه‌های فتوسنتزی (کلروفیل a، b، کارتنوئید و کلروفیل کل)، فعالیت آنتی‌اکسیدانی، فنل کل، کربوهیدرات محلول، کارتنوئید و فلاونوئید گل بودند. نتایج نشان داد که کاربرد قارچ *G. mosseae* بیشترین تاثیر را در بهبود محتوی نسبی آب برگ و رنگیزه‌های فتوسنتزی داشت و در قارچ *G. geosporum* کمترین فعالیت آنتی‌اکسیدانی (۴۲/۱۵ درصد) و فنل کل (۲۶/۱۵ میلی‌گرم در گرم وزن تر برگ) حاصل شد. قارچ *G. versiform* بیشترین تاثیر را در کاهش کربوهیدرات محلول داشت که میزان آن را نسبت به شاهد ۵۵/۹۷ درصد کاهش داد. با توجه به نتایج این تحقیق و با توجه به اهمیت بالای متابولیت‌های ثانویه از جمله فلاونوئید گل در گیاه دارویی همیشه بهار استفاده از قارچ *G. etanicatum* در این مورد توصیه می‌شود و استفاده از قارچ *G. mosseae* برای بهبود محتوی نسبی آب برگ و رنگیزه‌های فتوسنتزی این گیاه پیشنهاد می‌گردد.

کلمات کلیدی: *G. mosseae*، فلاونوئید گل، کارتنوئید محتوی نسبی آب برگ

مقدمه

همیشه‌بهار (*Calendula officinalis L.*) گیاهی یکساله و متعلق به تیره کاسنی (Asteraceae) و یکی از گیاهان دارویی شناخته شده می‌باشد که امروزه از گل و اسانس آن در داروسازی و صنایع آرایشی و بهداشتی استفاده فراوانی می‌شود. مطالعات داروشناسی تأیید کرده است که گل همیشه‌بهار مقدار وسیعی اثرات بیولوژیکی و فعالیت‌های داروشناختی محافظ کبدی و ضد اسپاسم دارد. با توجه به نیاز صنایع دارویی، غذایی، آرایشی و بهداشتی به گیاهان دارویی به عنوان مواد اولیه تولیدات صنایع مذکور، کشت گیاهان دارویی در کشور ایران نیز در حال گسترش می‌باشد؛ این گیاه حاوی مقادیر کم اسانس روغنی فرار، ساپونین، رزین، اسیدهای آلی، کالندولین، صمغ، مواد لعابی، آلبومین، اینولین (در ریشه)، اسیدسالیسیلیک، اسید لوریک، اسید پالمیتیک و کلسترول می باشد (امیدبیگی، ۱۳۷۹).

قارچ‌های مایکوریزا ریزجاندارانی می‌باشند که به عنوان کود زیستی شناخته شده و در صورت 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 می‌گردند. این قارچ‌ها قادر به برقراری همزیستی با ریشه اغلب گیاهان خشکی‌زی هستند همزیستی گیاه و ریزجانداران 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 (Aghhavani Shajari *et al.*, 2015). Hazzoumi و همکاران (۲۰۱۵) بیان داشتند که 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

IrHC2019

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 می‌شوند و بدین طریق صفات گیاه از جمله رنگیزه‌های فتوسنتزی، فعالیت آنتی‌اکسیدانی، فنل کل و... را نیز بهبود می‌بخشند که علت آن می‌تواند ناشی از بهبود وضعیت تغذیه‌ای و روابط آبی گیاه توسط آن قارچ باشد. با توجه به موارد فوق و با توجه به اینکه همیشه‌بهار یکی از گیاهان مهم دارویی محسوب می‌شود که در صنایع دارویی، آرایشی و بهداشتی کاربردهای زیادی دارد، بنابراین بررسی نیاز کودی و جایگزین کردن کودهای زیستی (قارچ‌های مایکوریزا) بجای کودهای شیمیایی این گیاه جزء مسائل بسیار ارزشمند در کشاورزی پایدار و حفظ سلامت جامعه می‌باشد.

هدف از انجام این پژوهش بررسی مقایسه گونه های مختلف قارچ مایکوریزا و تاثیرآنها بر صفات بیوشیمیایی و متابولیت ثانویه گیاه دارویی همیشه بهار می باشد.

مواد و روش‌ها

این تحقیق در گلخانه تحقیقاتی گروه علوم باغبانی و مهندسی فضای سبز دانشگاه فردوسی مشهد در سال ۱۳۹۷ به منظور بررسی اثرات تلقیح ۹ گونه قارچ مایکوریزا بر خصوصیات بیوشیمیایی و متابولیت‌های ثانونویه گیاه دارویی همیشه‌بهار به صورت طرح کاملا تصادفی با ۳ تکرار اجرا شد. تیمارهای این آزمایش شامل ۹ گونه قارچ مایکوریزا *Glomus caledonium, Glomus claroideum,,Glomus fasciculatum, Glomus* intraradicese, *Glomus mosseae,,) Glomus versiform, Glomus geosporum, Glomus etanicatum, Glomus gigaspora)* و تیمار عدم تلقیح قارچ بودند.

به منظور انجام تحقیق بذور همیشه‌بهار F1 و برند ساکاتای ژاپن بود که در سینی کشت حاوی نسبت مساوی کوکوپیت و پرلیت کشت داده شد و سپس در مرحله ۴ برگی به گلدان‌هایی با گنجایش ۵ کیلوگرم خاک (حاوی ۲۰۰ گرم قارچ میکوریزا) انتقال یافتند و آبیاری هر دو تا سه روز یکبار بسته به خشکی سطح گلدان‌ها انجام شد و حدود ۳ ماه بعد و در مرحله گلدهی از گیاهان نمونه‌گیری شد و صفات مورد نظر اندازه‌گیری شدند.

صفات مورد مطالعه در این تحقیق شامل محتوای نسبی آب(RWC)،کلروفیل a، کلروفیل b، کارتنویید برگ و کلروفیل کل، فعالیت آنتی اکسیدانی، فنل کل، کربوهیدرات محلول، فلاونویید و کارتنوئید گل بودند.

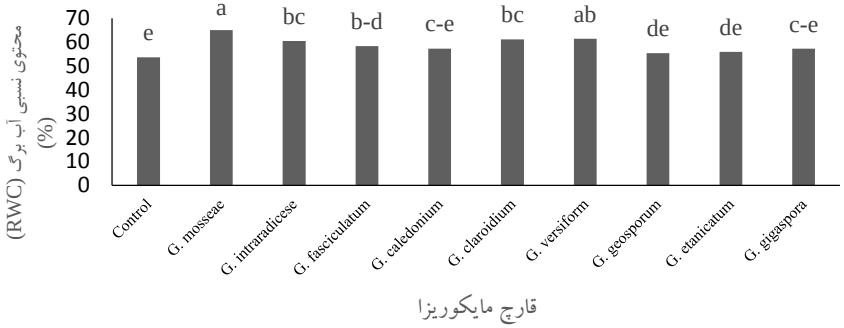
جهت تهیه عصاره متانولی به منظور اندازه‌گیری صفات ۰/۵ گرم نمونه تازه گیاهی به همراه ۵ میلی‌لیتر متانول ۹۹ درصد عصاره‌گیری شدند و از این عصاره جهت اندازه‌گیری رنگیزه‌های فتوسنتزی گل و برگ (Wellburn, 1994)، فعالیت آنتی‌اکسیدانی (Moon and Terao, 1998)، فنل کل (Singleton and Rossi, 1965)، کربوهیدرات محلول (Sadasivam and Manickam, 1992) و فلاونوئید کل (Chang *et al*., 1973) استفاده شد.این آزمایش در ۳ تکرار انجام شد.

داده‌ها توسط نرم افزار Minitab 18 مورد تجزیه و تحلیل قرار گرفتند و مقایسه میانگین‌ها با استفاده از آزمون Bonnferroni در سطح احتمال ۵ درصد و با ۳ تکرار انجام شد. نمودارها با نرم افزار Excel 2016 رسم شدند.

نتایج و بحث

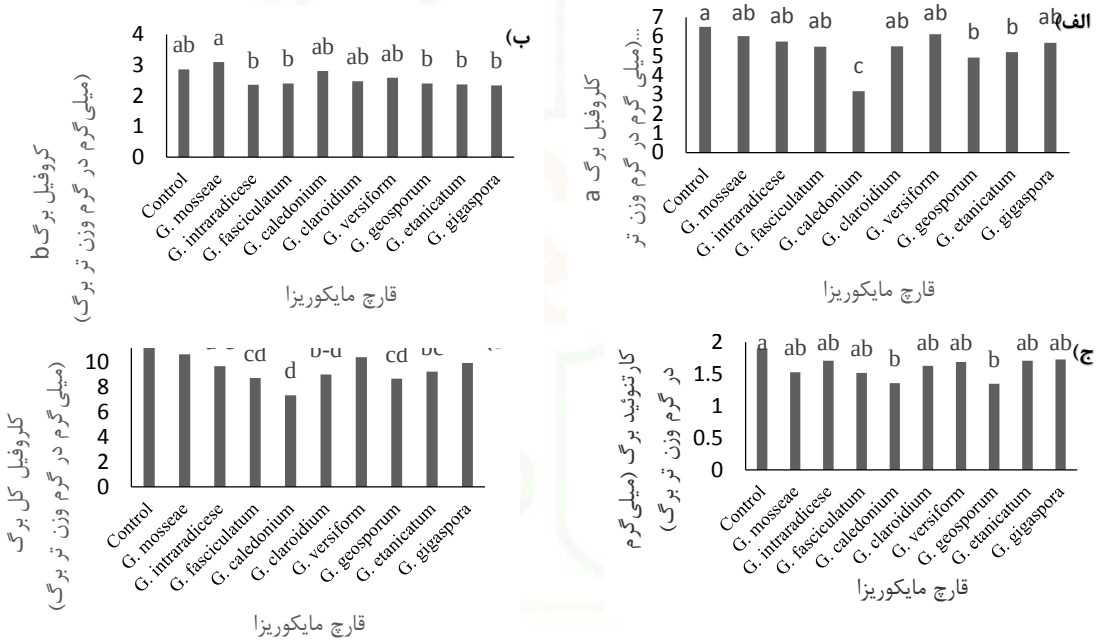
نتایج آنالیز واریانس داده‌ها نشان داد که اثر انواع قارچ‌های مایکوریزا بر کلیه صفات مورد مطالعه در این تحقیق در سطح احتمال یک درصد معنی‌دار شد. نتایج حاصل از مقایسه میانگین داده‌ها نشان داد که بیشترین محتوای نسبی آب برگ مربوط به قارچ *G. moseae* (۶۵/۰۶ درصد) وکمترین میزان آن در تیمار شاهد (۵۳/۷۱ درصد) مشاهده شد (شکل۱). محتوای نسبی آب برگ می‌تواند شاخص مناسبی از آب موجود در گیاه باشد و اگر میزان آن بالا باشد بدین معنی است که گیاه در وضعیت مناسبی قرار دارد و آماس سلولی خود را حفظ می‌کند و رشد آن تداوم می‌یابد؛ ولی با افزایش تنش‌ها و کاهش آماس سلولی از محتوای نسبی آب برگ نیز کاسته می‌شود (Rao and Mandham, 1991). نتایج مقایسه میانگین نشان داد که بیشترین کلروفیل آ (۶/۱۲ میلی‌گرم در گرم وزن تر برگ) در تیمار قارچ ورسیفرم مشاهده شد؛ که تفاوت معنی‌داری با تیمارهای موسه آ، اینترادیسز، فاسیکولاتوم، کلارودیوم، ورسیفرم و شاهد نداشت (شکل۲-الف).

IrHC2019



شکل ۱- اثر قارچ‌های مایکوریزا بر محتوی نسبی اب برگ گیاه دارویی همیشه‌بهار

بیشترین میزان کلروفیل b و کل مربوط به قارچ موسه آ (۳/۱ میلی‌گرم در گرم وزن تر برگ) بود که تفاوت معنی داری با شاهد، کالدونیوم، کلارودیوم و ورسیفرم نداشت (شکل -۲- ب و د). نتایج مقایسه میانگین نشان داد که بیشترین میزان کاروتنوئید برگ مربوط به قارچ گیگاسپورا (۱/۷۳میلی‌گرم در گرم وزن تر برگ) مشاهده شد که با تیمارهای قارچ اتانیکاتوم، ورسیفرم،کلارودیم، فاسیکولاتوم، اینترادیسز و شاهد تفاوت معنی داری نداشت (شکل-۲- ج).

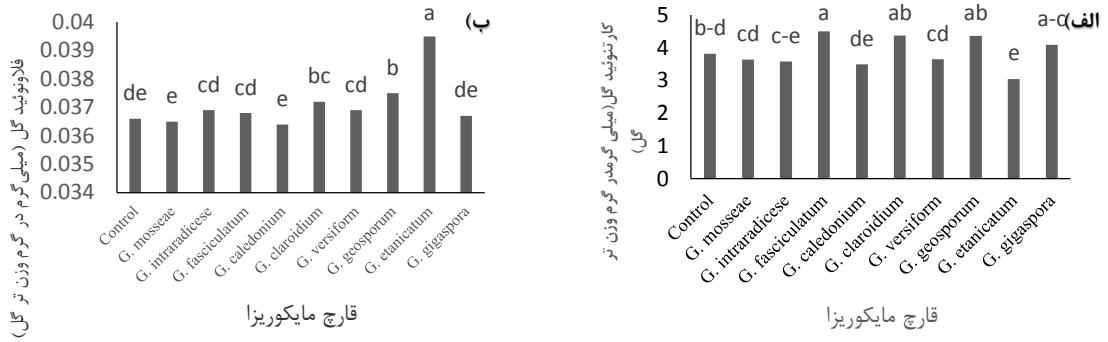


شکل ۲- اثر قارچ‌های مایکوریزا بر کلروفیل a (الف)، b (ب)، کارتنوئید (ج) و کلروفیل کل (د) گیاه دارویی همیشه‌بهار

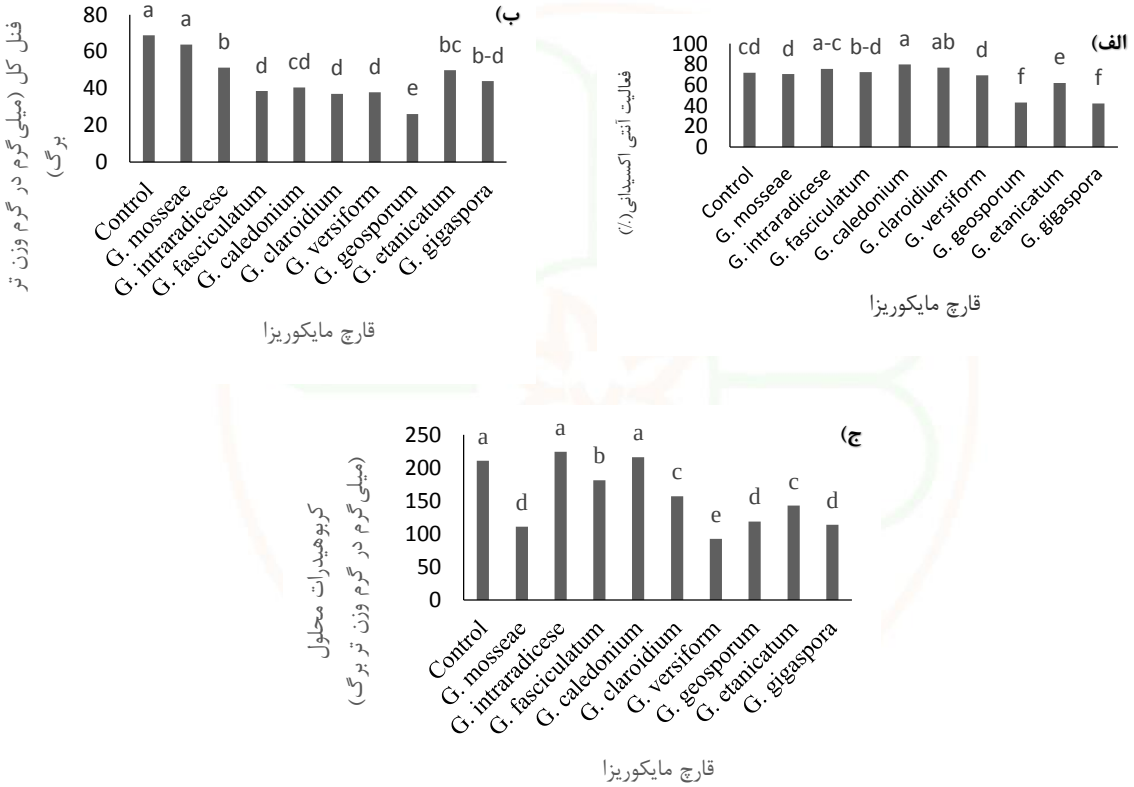
نتایج مقایسه میانگین نشان داد که بیشترین میزان کاروتنوئید گل مربوط به قارچ فاسیکولاتوم (۴/۵میلی گرم در گرم وزن تر گل) (شکل ۳- الف) و بیشترین فلاونوئید گل (۰/۰۳۹۵ میلی‌گرم در گرم وزن تر گل) در کاربرد قارچ اتانیکاتوم مشاهده شد (شکل ۳- ب).

همچنین نتایج نشان داد که بیشترین میزان فعالیت آنتی‌اکسیدانی (۷۹/۹۵میلی‌گرم در گرم وزن تر برگ) در تیمار قارچ کالدونیوم، میزان فنل کل (۶۷/۸۷ میلی‌گرم در گرم وزن تر برگ) در تیمار شاهد و بیشترین کربوهیدرات محلول (۲۲۳/۹۳ میلی‌گرم در گرم وزن تر برگ) در تیمار قارچ اینترادیسز مشاهده شد (شکل ۴- الف، ب و ج).

IrHC2019



شکل ۳- اثر قارچ‌های مایکوریزا بر کارتنوئید (الف) و (ب) فلاونوئید گل در گیاه دارویی همیشه‌بهار



شکل ۴- اثر قارچ مایکوریزا بر فعالیت آنتی‌اکسیدانی، فنل کل و کربوهیدرات محلول گیاه دارویی همیشه بهار

بهبود در محتـــوای نسبی آب برگ و رنگیزه‌هـــای فتوسـنتزی برگ و گل توسـط قارچ‌هـای میکوریزا، پیش از ایـن توسـط Moraes و همکـارانش (2004) در گیاه دارویی *Podophyllum peltatum* L.، مورد بررسی قرار گرفت که با نتایج به دست آمده در این تحقیق در مورد برخی از قارچ‌ها همخوانی دارد اما تعدادی از قارچ‌ها به‌ویژه قارچ کالدونیوم نه‌تنها اثر بهبود دهنده نداشتند بلکه رنگیزه‌های فتوسنتزی را نسبت به شاهد کاهش داد. علت افزایش در رنگیزه‌های فتوسنتزی در شرایط استفاده از قارچ‌های مایکوریزا در گیاه مورد مطالعه در این تحقیق و همچنین در تحقیقات گذشته این است که قارچ‌های مایکوریزا از طریق نفوذ در حفرات بسیار ریز خاک، نفوذ ریشه‌های موئین گیاه به نقاط غیرقابل دسترس خاک را افزایش داده و از طـریق تـوسعه یک سیستم ریـشه‌ای وسـیع، افـزایـش کـــارایی فتوسنتزی و ظرفیت

IrHC2019

هدایت آب، افزایش جذب عناصر غذایی، دفع پاتوژن‌های خاکی و غیره موجب افزایش قدرت حیات گیاهان طی فرایند سازگاری شده‌اند (Kapoor *et al*., 2008) و به‌دنبال این سازگاری فلاونوئید گل نیز بهبود می‌یابد و از میزان فعالیت آنتی‌اکسیدانی، فنل کل و کربوهیدرات محلول کاسته شد که البته در مورد برخی از قارچ‌ها بر میزان این صفات افزوده شد. باتوجه به اهمیت زیاد ترکیبات فنلی در مکانیسم دفاعی گیاهان در برابر عوامل بیماری‌زا می‌توان از قارچ‌های مایکوریزا برای افزایش محتوای فنل گیاهان استفاده کرد. ترکیبات فنلی، به خاطر خاصیت ضد میکروبی خود، از تولید سم توسط عوامل بیماری‌زا جلوگیری می‌کنند و بدین طریق فعالیت آنتی‌اکسیدانی گیاه را افزایش می‌دهند (Karishna, 2005).

منابع

امید بیگی، ر. (۱۳۷۹). رهیافتهای تولید و فرآوری گیاهان دارویی. انتشارات فکر روز تهران.۲۸۶ ص.

Aghhavani Shajari, M., Rezvani Moghaddam, P., Ghorbani, R. and Nasiri Mahallati, M. (2015). Effects of Single and Combined Application of Organic, Biological and Chemical Fertilizers on Quantitative and Qualitative Yield of Coriander (*Coriandrum sativum*). Journal of horticultural Science. 29(4): 486-500. Duck, J.A. 2000. Hand Book of Medicinal Herbs. CRC Press. USA. pp: 102.

Hazzoumi, Z., Moustakime, Y., Elharchli, E. and Amrani Joutei, Kh. (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. 2:10.

Kapoor, R., Giri, B. and Mukerji, K.G. (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.

Krishna, H., Singh, S.K., Sharma, R.R., Khawale, R.N., Grover, M. and Patel, V.B. (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.

Moon, J.H. and 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.

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

Rao, M.S.S. and Mendham, N.J. 1991. Soil–plant–water relations of oilseed rape (*Brassica napus* and *B. campestris*). The Journal of Agricultural Science, 117(02: 197-205.

Sadasivam, S., and Manickam, A. 1992. Biochemical methods for agricultural sciences. Wiley Eastern Limited.

Singleton, V.L. and Rossi, J.A. 1965. Colorimetry of total phenolics with phosphomolybdic-phosphotungstic acid reagents. American Journal of Enology and Viticulture, 16(3): 144-158.

Wellburn, A.R. 1994. The spectral determination of chlorophylls and b as well as total carotenoids, using various solvents with spectrophotometers of different resolution. Journal of Plant Physiology, 144: 307-313.

The effect of inoculate nine mychorhiza fungi species on biochemical characteristics of Calendula officinalis L.

Zahra Kheyri[1], Mohammad Moghaddam[1*], Mahdi Moradi[2]

[1] Department of Horticulture Science and Landscape Engineering, Faculty of Agriculture, Ferdowsi University of Mashhad

[2] Department of plant products of Torbat-e-Jam University

[*]*Corresponding Author: m.moghadam@um.ac.ir*

Abstract

In order to study the effect of inoculate nine mychorhiza fungi species on biochemical characteristics of *Calendula officinalis* L. a pot experiment based on completely randomized design with 9 Mychorhiza fungi species and control in three replications was performed. The studied characteristics included RWC (Relative Water Content), photosynthetic pigments (chlorophyll a, b, carotenoid and total chlorophyll), antioxidant activity, total phenol, soluble carbohydrates, carotenoid and flavonoid. The results showed that the use of *G. mosseae* had the most effect on RWC and photosynthetic pigments and in *G.*

IrHC2019

geosporum were observed the least antioxidant activity (42.15) and total phenol (26.15 mg. g-1 FW). *G. versiform* had the most effect in reduce soluble carbohydrates which reduced its rate by 55.97 % compared to the control. According to the results of this study and the importance of secondary metabolites, including flavonoid flowers in *Calendula offisinalis*, the use of *G. etanicatum* is recommended and the use of *G. mosseae* fungus to improve the relative RWC (Relative Water Content) and photosynthetic pigments of this plant is suggested.

***Keywords*:** carotenoid, *G. mosseae*, Flavonoid of flower, RWC

IrHC2019