Iranian Journal of Field Crop Science
Vol 53, No 2, Summer 2022 (205-219)
DOI: 10.22059/IJFCS.2021. 318338.654801

علوم گیاهان زراعی ایران
دورهٔ ۵۳، شمارهٔ ۲، تابستان ۱۴۰۱ (ص۲۱۹-۲۰۵)

Effect of some *Trichoderma* and Mycorrhizal fungal species on chlorophyll content and essential oil production of dill (*Anethum graveolens* L.) under greenhouse conditions

Hosein Hatef Heris1[1], Saied Zehtab Salmasi*[2], Mahdi Arzanlou[3]
1,3. Department of Plant Protection, Faculty of Agriculture, University of Tabriz. 2. Department of Ecophysiology, Faculty of Agriculture, University of Tabriz
(Received: February 4, 2021 - Accepted: April 14, 2021)

ABSTRACT
The aim of this study was to investigate the effect of *Trichoderma* species and mycorrhizal fungi on increasing yield,and percentage and amount of dill essential oil in greenhouse conditions. For this purpose, a factorial experiment was conducted in a randomized complete block design with three replications. For this experiment, the roots of two *Anethum graveolens* (Dill) species i.e. Tabriz local cultivar and Long Island of Mammoth, were treated with the inoculums of *Trichoderma* isolates (*Trichoderma harzianum* Na-1ac and *T. longibrachiatum* BZ4-4) and two species of Mycorrhizal fungi (*Rhizophagus irregularis* and *Glomus verciform*). The results of this study showed that the highest chlorophyll index (4.03) was related to *T. harzianum* and the lowest (2.27) was related to *G. verciform*. Also, the highest (11.28µg/ml) and the lowest (2.36µg/ml) chlorophyll b were obtained from *T. harzianum* × local cultivar of Tabriz and *T. longibrachiatum* × local cultivar of Tabriz, respectively. The highest (77%) and the lowest (29%) percentages of colonization was observed in Long Island × *R. irregularis* cultivar and local cultivar × G. verciform treatments, respectively. In terms of essential oil content, the highest and the lowest percentage of essential oils were 2.39% and 0.7%, related to *T. harzianum* and *G. verciform* fungus, respectively Interaction effects (cultivar × fungus) were also significant on chlorophyll a and b and carotenoids and increased them, so that the highest content of chlorophyll a (25.75 µg/ml) was recorded in Long Island × *T. harzianum* cultivar treatment. Long Island × *T. harzianum* treatment had the highest total chlorophyll content (30.61µg/ml) and local cultivar of Tabriz × *R. irregularis* (16.56µg/ml) had lowest. The highest (9.64µg/ml) and the lowest (3.57 µg/ml) amount of carotenoids was observed in Long Island × *T. longibrachiatum* and local cultivar of Tabriz × *T. harzianum* treatments, respectively. Long Island × *T. longibrachiatum* cultivar and local cultivar Tabriz × control treatments with 0.6 and 0.2 ml/g produced the highest and the lowest essential oil yield.
Keywords: Biofertilizer, carotenoid, colonization, medicinal plant, Yield.

تاثیر چند گونه قارچ تریکودرما و مایکوریز بر محتوای کلروفیل و تولید اسانس گیاه شوید (*Anethum graveolens* L.) در شرایط گلخانه‌ای

حسین هاتف هریس[1]، سعید زهتاب سلماسی [2*]، مهدی ارزنلو[3]
۱و۳- کارشناس و استاد، گروه گیاهپزشکی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه تبریز، ۲- استاد، گروه اکوفیزیولوژی گیاه ، دانشکده کشاورزی، دانشگاه تبریز.
(تاریخ دریافت: ۱۳۹۹/۱۱/۱۶ - تاریخ پذیرش: ۱۴۰۰/۱/۲۵)

چکیده
مطالعه حاضر با هدف بررسی تاثیر گونه‌های جنس تریکودرما و قارچ‌های مایکوریز بر افزایش عملکرد، درصد و مقدار اسانس گیاه شوید در شرایط گلخانه‌ای به صورت فاکتوریل و در قالب طرح پایه بلوک‌های کامل تصادفی با سه تکرار اجرا شد. ریشه دو رقم شوید محلی تبریز و رقم لانگ آیلند ماموت با مایه‌های تلقیح تهیه شده از جدایه‌های دو گونه تریکودرما (***Trichoderma harzianum*** **Na-1ac.** و ***longibrachiatum*** **BZ4-4**) و دو گونه قارچ مایکوریز ***Rhizophagus irregularis*** و ***Glomus verciform***) تیمار شد. نتایج به‌دست آمده از این تحقیق نشان داد که بیشترین شاخص کلروفیل به قارچ ***T. harzianum*** به میزان ٤/۰۳ و کمترین میزان به قارچ ***G. verciform*** به میزان ۲/۲۷ تعلق داشت. همچنین بیشترین میزان کلروفیل **b** در تیمار ***T. harzianum*** × رقم محلی تبریز به مقدار۱۱/۲۸ (میکروگرم بر میلی‌لیتر) و کمترین مقدار در تیمار ***T. longibrachiatum*** + رقم محلی تبریز به میزان **µg/ml** ۲/۳٦ مشاهده شد. همچنین بیشترین درصد کلونیزاسیون به تیمار رقم لانگ آیلند × ***R. irregularis*** به میزان ۷۷ درصد و کمترین به تیمار رقم محلی × ***G. verciform*** به میزان ۲۹ درصد تعلق داشت. از نظر محتوای اسانس، بیشترین درصد اسانس از قارچ ***T. harzianum*** به میزان ۲/۳۹ درصد و کمترین آن از قارچ ***G. verciform*** به میزان ۰/۷ درصد به‌دست آمد. اثرات متقابل رقم × قارچ نیز بر کلروفیل **a**، و کارتنویید معنی‌دار بود و باعث افزایش آن‌ها شد، به‌طوربه‌طوری‌که بیشترین مقدار کلروفیل **a** در تیمار رقم لانگ آیلند × ***T. harzianum*** به میزان **µg/ml** ۲۵/۷۵ ثبت شد. بیشترین کلروفیل کل در تیمار رقم لانگ آیلند × ***T. harzianum*** به میزان **µg/ml** ۳۰/٦۱ و کمترین آن در تیمار رقم محلی تبریز × ***R. irregularis***، به میزان **µg/ml** ۱٦/٥٦ بود. بیشترین میزان کارتنویید در تیمار لانگ آیلند × ***T. longibrachiatum*** به میزان **µg/ml** ۹/٦٤ و کمترین آن در تیمار رقم

* Corresponding author E-mail: s-zehtab@tabrizu.ac.ir

محلی تبریز × *T. harzianum* به میزان ۳/۵۷ µg/ml تولید شد و بیشترین عملکرد اسانس در تیمار رقم لانگ آیلند × *T. longibrachiatum* به میزان ۰/٦ ml/g و کمترین آن در تیمار رقم محلی تبریز × شاهد به مقدار ۰/۲ ml/g بود.

واژه‌های کلیدی: عملکرد، کارتنویید، کلونیزاسیون، کود بیولوژیک، گیاه دارویی.

مقدمه

شرایط اقلیمی و جغرافیایی ایران به‌ویژه از نظر تابش نور آفتاب، ویژگی بسیار مثبتی برای کشت اکثر گونه‌های دارویی محسوب می‌شود. تحت تأثیر تابش نور آفتاب، میزان مواد مؤثره گیاهان دارویی، افزایش قابل ملاحظه‌ای می‌یابد؛ در نتیجه می‌توان با سطح زیر کشت کمتر، به میزان تولید ماده مؤثره گیاهی قابل قبولی دست یافت (Ratti *et al*., 2001; Kapoor *et al*., 2004; Khaosaad *et al*., 2006). از آن‌جا که رویکرد جهانی در تولید گیاهان دارویی به سمت بهبود کمیت و کیفیت و سلامت ماده مؤثره است، بنابراین به‌نظر می‌رسد که تغذیه سالم این گیاهان از طریق کاربرد کودهای بیولوژیک، دارای بیشترین تطابق با اهداف تولید گیاهان دارویی است و منجر به بهبود عملکرد کمی و کیفی آن‌ها می‌شود (Ratti *et al*., 2001; Kapoor *et al*., 2004; Khaosaad *et al*., 2006).

کودهای زیستی همچون قارچ‌های مایکوریز و تریکودرما در مقایسه با کودهای شیمیایی، دارای مزیت‌هایی از جمله عدم تولید مواد سمی در چرخه غذایی، اصلاح خصوصیات فیزیکی و شیمیایی خاک، مقرون به صرفه بودن و قابل پذیرش از نظر زیست محیطی می‌باشند (Khavazi *et al*., 2005). موفقیت تریکودرما در ریزوسفر، به‌علت ظرفیت تولیدمثل بالا، توانایی زنده ماندن در شرایط بسیار نامطلوب، کارایی در مصرف مواد مغذی، ظرفیت برای تغییر ریزوسفر و مقاومت بالا در برابر قارچ‌های بیماری‌زای گیاهی است (Benitez *et al*., 2004; Harman, 2006). در تفسیر مکانیسم عمل عوامل تحریک‌کننده رشد گیاهی، بسیاری از محققان بر این باورند که جدایه‌های مختلف گونه‌های *Trichoderma* به‌طور عمده با تولید مواد بیوشیمیایی، موجب تحریک رشد گیاهان و همین‌طور سبب کاهش اثرات ممانعت از رشد برخی ترکیبات از جمله توکسین‌های زیستی و شیمیایی موجود در خاک می‌شوند و حتی تغییر در میزان عناصر محلول در خاک را نیز در پی دارند (Windham *et al*., 1986; Ousley *et al*., 1994; Vinale *et al*., 2008; Ghasemi Esfahlan *et al*., 2017). همچنین قارچ‌های مایکوریز به‌دلیل افزایش مؤثر سطح جذب ریشه از طریق ایجاد هیف، سبب افزایش جذب آب و مواد غذایی به‌وسیله گیاهان می‌شوند. تخمین زده می‌شود که حدود ۸۰ درصد جذب فسفر توسط گیاه به‌وسیله قارچ‌های مایکوریز صورت می‌گیرد (Marschner & Dell, 1994) و این قارچ‌ها سبب بهبود جذب نیتروژن، پتاسیم، منیزیم، مس و روی در خاک‌های فقیر می‌شوند. مزیت قارچ‌های مایکوریز، افزایش منطقه تخلیه عناصر غذایی به‌وسیله ریشه‌های مایکوریزی نسبت به گیاهان غیرمایکوریزی می‌باشد (Smith & Read, 2008). شواهد زیادی وجود دارد که نشان می‌دهد که گیاهان با ریشه‌های مایکوریزی، قادر به استفاده از منابع فسفر نامحلول و غیرقابل دسترس در خاک می‌باشند (Cabello *et al*., 2005; Duponnois *et al*., 2005).

شوید (*Anethum graveolens* L.) ازجمله گیاهان دارویی باارزش است (Omidbeigi, 1999) که معمولاً اسانس آن از برگ‌ها و بذرهای آن تهیه می‌شود و در تهیه آدامس، شیرینی و ترشی‌ها مورد استفاده قرار می‌گیرد (Burits & Bucar, 2000). از جمله اثرات دارویی که برای این گیاه گزارش شده است می‌توان به اثرات ضد میکروب، اسپاسم و چربیآن اشاره کرد. حضور فلاونوئیدها و سایر ترکیبات فنولیک در انواع عصاره‌های شوید گزارش‌شده است (Delaquis *et al*., 2002). ترکیبات مهم شوید شامل اسانس، اسید چرب، آب، پروتئین، کربوهیدرات‌ها، فیبر، خاکستر و عناصر معدنی از قبیل کلسیم، پتاسیم، منیزیم، فسفر، سدیم، ویتامین آ و نیاسین می‌باشد (Kaur & Arora, 2010). ترکیب غالب در بذر شوید متفاوت است و شامل ۵۸

درصد کاروون (Carvone) و ۳۷ درصد لیمونن (Limonene) می‌باشد (Croteau *et al*., 2000; Duke, 2002) که بیش از ۹۰ درصد کل اسانس را شامل می‌شوند (Kubeczka, 2002). بذرهای کاملاً رسیده، بیشترین مقدار اسانس را دارا هستند که مقدار آن بین دو تا پنج درصد گزارش‌شده است (Omidbeigi, 1999).

پژوهش حاضر با توجه به تاثیر مثبت قارچ تریکودرما و مایکوریز در تحریک رشد گیاه و بهبود جذب عناصر غذایی در مطالعات گذشته و همچنین اهمیت گیاه شوید به عنوان یک گیاه دارویی و در راستای تاثیر این قارچ‌ها بر روی محتوای کلروفیل و اسانس گیاه دارویی شوید در شرایط گلخانه‌ای انجام شد.

مواد و روش‌ها

زمان و محل آزمایش

این آزمایش در بهار و تابستان ۱۳۹۶ در گلخانه گروه باغبانی مرکز تحصیلات تکمیلی دانشکده کشاورزی دانشگاه تبریز به‌صورت گلدانی و مطالعات آزمایشگاهی در آزمایشگاه‌های قارچ‌شناسی تکمیلی و گیاهان دارویی دانشکده کشاورزی صورت گرفت. بدین منظور، زادمایه اولیه قارچ‌های *Trichoderma harzianum* Na-1ac (جداسازی شده از درخت بلوط) (Ghasemi Esfahlan *et al*., 2017) و BZ4-4 *T. longibrachiatum* (جداسازی شده از درخت انگور) (Narmani *et al*., 2018) از کلکسیون قارچی آزمایشگاه قارچ‌شناسی تکمیلی و زادمایه قارچ‌های مایکوریز و *Glomus verciform* و *Rhizophagus irregularis* از آزمایشگاه خاکشناسی دانشکده کشاورزی دانشگاه تبریز تهیه شد.

تکثیر قارچ‌های مایکوریز

زادمایه قارچ‌های مایکوریز *G. verciform* و *R.irregularis* به روش گلدانی با میزبان سورگوم تکثیر شد (Augé, 2001). بدین منظور ابتدا خاک لوم شنی پس از عبور از الک دو میلی‌متری در اتوکلاو با دمای ۱۲۱ درجه سانتی‌گراد و فشار ۱/۲ اتمسفر به مدت دو ساعت استریل شد و سپس با زادمایه قارچ به نسبت ۳۰ گرم (مخلوط اسپور، هیف قارچ و ریشه مایکوریزی) با یک کیلوگرم خاک مخلوط و سپس بذرهای سورگوم بعد از ضدعفونی با هیپوکلریت‌سدیم یک درصد (به مدت ۱۰ دقیقه) در گلدان هفت کیلوگرمی کاشته شد. به‌منظور اطمینان از جوانه‌زنی بذرها و رشد گیاهچه‌ها، در هر گلدان بیش از ۱۰ عدد بذر کاشته شد که بعد از حصول اطمینان از کلونیزاسیون ریشه‌ها، تعداد گیاهان در هر گلدان به ۱۰ عدد کاهش یافت. گلدان‌ها در گلخانه گروه خاکشناسی در شرایط با طول روز ۱۶ ساعت و هشت ساعت شب با دمای ۲۵ درجه سانتی‌گراد نگهداری شدند. بعد از گذشت شش ماه، زادمایه آماده شد و پس از قطع بخش هوایی، خاک گلدان به‌عنوان زادمایه مورد استفاده قرار گرفت (Ali Asgharzadeh, 2000).

آماده‌سازی سوسپانسیون گونه‌های تریکودرما

برای تهیه سوسپانسیون قارچی، ۱۰ میلی‌لیتر آب مقطر استریل به سطح محیط کشت حاوی میسلیوم‌های قارچی اضافه و سپس سطح محیط کشت با میله شیشه‌ای L شکل استریل خراش داده شد تا اسپورها آزاد و در آب غوطه‌ور شوند. جهت جداسازی بقایای ریسه و محیط کشت، سوسپانسیون از پشم شیشه استریل عبور داده شد (Narmani *et al*., 2019). با استفاده از لام گلبول شمار، غلظت اسپورهای قارچی در این سوسپانسیون روی 10^6 اسپور در هر میلی‌لیتر تنظیم شد. جهت اضافه کردن این جمعت قارچی به گلدان‌ها، از سبوس گندم به‌عنوان حامل استفاده شد و پس از اضافه کردن سوسپانسیون اسپوری قارچ روی سبوس گندم، به هر کدام از گلدان‌ها ۳۰ گرم اضافه شد (Okhovvat & Karampour, 1996).

بذر مورد استفاده

ارقام شوید مورد استفاده در این بررسی شامل رقم لانگ آیلند ماموت (Long Island Mammoth) از شرکت آمریکایی (Eden Brothers) و رقم محلی تبریز بود.

نحوه کشت و عملیات زراعی

برای کاشت از گلدان‌های استریل هفت کیلویی با قطر دهانه ۲۳ سانتی‌متر و ارتفاع ۲۱/۵ سانتی‌متر استفاده

شد. به‌منظور کشت بذرها، ابتدا دو سوم حجم گلدان با خاک پر شد و سپس مایه تلقیح به مقدار ۳۰ گرم روی سطح خاک پخش شد. نهایتا به‌اندازه چهار سانتی‌متر خاک روی آن اضافه شد و کشت بذرها انجام شد و در پایان یک سانتی‌متر خاک روی بذرها ریخته شد. اولین آبیاری بلافاصله بعد از کشت انجام پذیرفت و در ادامه آبیاری گلدان‌ها به‌صورت یک روز درمیان صورت گرفت. تنک کردن گلدان‌ها در مرحله قبل از ساقه‌دهی و در سه نوبت انجام گرفت که در نهایت ده بوته در هر گلدان باقی ماند. بعد از مرحله گلدهی و جهت مبارزه با کنه، سه مرتبه از کنه‌کش به‌فواصل یک هفته استفاده شد. برای جلوگیری از ورس بوته‌ها، از قیم‌های چوبی در مرحله گلدهی به بعد استفاده شد. رشد بذرها در دمای ۲۵ درجه سانتی‌گراد بعد از گذشت ۱۰ روز آغاز شد.

اندازه‌گیری شاخص کلروفیل (SPAD)

شاخص کلروفیل موجود در برگ‌ها توسط دستگاه ۵۰۲SPAD برآورد شد. در اوایل گلدهی، میزان کلروفیل برگ‌های پایینی، میانی و بالایی تمامی بوته‌های موجود در گلدان‌ها اندازه‌گیری شد و میانگین داده‌ها به‌عنوان شاخص کلروفیل برگ درنظر گرفته شد.

کلروفیل a، b و کل و کاروتنوئید

برای تعیین محتوی کلروفیل برگ به‌روش شیمیایی، ۰/۲۵ گرم از برگ تر گیاه برداشت و در هاون چینی ریخته شد و با نیتروژن مایع (ازت مایع) خرد شد و پ س از ترکیببا چهار میلی‌لیتر استون ۸۰٪، به‌طور کامل له شد. سپس شش میلی‌لیتر دیگر استون ۸۰٪ به نمونه اضافه شد و به‌مدت ۲۰ دقیقه و با سرعت ۴۰۰۰rpm سانتریفیوژ شد. پس از سانتریفیوژ، مایع رویی در داخل استوانه مدرج ریخته شد و حجم نهایی آن به ۱۰ میلی‌لیتر رسانده شد. مقداری از هر نمونه در داخل سل دستگاه اسپکتوفتومتر ریخته شد و مقدار جذب در طول موج‌های ۴۷۰، ۶۴۶ و ۶۶۳ نانومتر توسط اسپکتوفتومتر قرائت شد.

در نهایت، محتوی کلروفیل و کاروتنوئید با استفاده از فرمول‌های زیر بر حسب میکروگرم در میلی‌لیتر محاسبه شدند (Lichtenthaler & Wellburn, 1983).

$$Ca\ (\mu g/ml) = 12.21\ A663 - 2.04\ A646$$
$$Cb\ (\mu g/ml) = 20.13\ A646 - 5.03\ A663$$
$$Ct\ (\mu g/ml) = Ca + Cb$$
$$C\ (X+C)\ (\mu g/ml) = (1000\ A470 - 3.27\ Ca - 104Cb) / 229$$

که در آن‌ها، Ca: کلروفیل a، Cb: کلروفیل b، Ct: کلروفیل کل و C(X+C): کارتنوئیدها شامل گزانتوفیل و کاروتن می‌باشد.

تعیین همزیستی مایکوریزی

برای جدا کردن ریشه‌های گیاه از خاک، ابتدا خاک به همراه ریشه‌های موجود در آن روی الک ریخته شد و به آهستگی زیر جریان شیر آب تکان داده شد تا ریشه‌ها کاملاً عاری از خاک شدند. بعد از جداسازی ریشه‌ها، آب اضافی آن‌ها گرفته شد و سپس ریشه‌ها به قطعات یک سانتی‌متری بریده شدند و در محلول F.A.A (فرمالدئید: اسیداستیک: اتانول) نگهداری شدند (Brundrett *et al*., 1984). در ادامه ریشه‌های انتخاب شده سه بار با آب شسته شدند تا اثر الکل از بین رود. بعد از شست‌وشو، جهت تخلیه سیتوپلاسم و مواد رنگی از سلول گیاهی، ریشه‌ها در محلول ۱۰ درصد هیدرواکسیدپتاسیم (KOH) به‌مدت ۴۸ ساعت نگهداری شدند (Powell & Bagyaraj, 1986). برای سفید کردن ریشه‌های دارای رنگدانه، بعد از غوطه‌ورسازی ریشه‌ها در محلول KOH، به مدت ۶۰ دقیقه در محلول آب اکسیژنه قلیایی در دمای اتاق قرار داده شدند. آب اکسیژنه قلیایی از اضافه کردن سه میلی‌لیتر NH4OH و سه میلی‌لیتر آب اکسیژنه (H2O2) ۱۰ درصد به ۵۶۷ میلی‌لیتر آب به‌دست آمد (Kormanik & McGraw, 1982). سپس ریشه‌ها با آب شسته شدند تا اثر آب اکسیژنه از بین رود. جهت اسیدی شدن، ریشه‌ها به مدت سه دقیقه در محلول اسیدکلریدریک یک درصد قرار گرفتند. سپس ریشه‌ها بدون شست‌وشو، به مدت دو تا سه روز در محلول تثبیت کننده اسیدفوشین با ترکیب اسیدلاکتیک، گلیسرین و آب (با نسبت یک به یک به یک) و ۰/۰۲ درصد اسیدفوشین قرار داده شدند (Kormanik & McGraw, 1982). عمل رنگ‌زدایی ریشه‌ها با استفاده از محلول اسیدلاکتیک بدون اسیدفوشین صورت

گرفت.

تعیین درصد کلونیزاسیون ریشه

به‌منظور تعیین درصد کلونیزاسیون ریشه (درصدی از طول ریشه گیاه که میکوریزی شده است). از روش تقاطع شبکه استفاده شد. در این روش، اطلاعاتی درباره گسترش طولی آلودگی مایکوریزی در ریشه‌ها به‌دست آمد (Sylvia, 1999) که بر پایه تعداد برخورد ریشه‌ها با خطوط شبکه، درصد کلونیزاسیون ریشه تعیین شد (Giovannetti & Mosse, 1980) و مقدار کلونیزاسیون در زیر میکروسکوپ مشخص شد.

تعیین کلونیزاسیون تریکودرما (قابلیت اندوفیت شدن در ریشه)

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

درصد و عملکرد اسانس

به‌منظور تعیین ویژگی کمی اسانس دانه شوید، استخراج از آن در مرحله رسیدگی دانه‌ها انجام گرفت. استخراج اسانس به‌صورت تقطیر با آب و توسط دستگاه میکروکلونجر (MicroClevenjer) انجام شد. بدین منظور، پنج گرم دانه خشک پس از آسیاب شدن به مدت سه ساعت در ۲۵۰ میلی لیتر آب مقطر اسانس‌گیری شد و بعد از تعیین بازده اسانس (درصد)، عملکرد آن نیز از طریق حاصل‌ضرب عملکرد ماده خشک دانه در بازده اسانس محاسبه شد (Hassani, 2006).

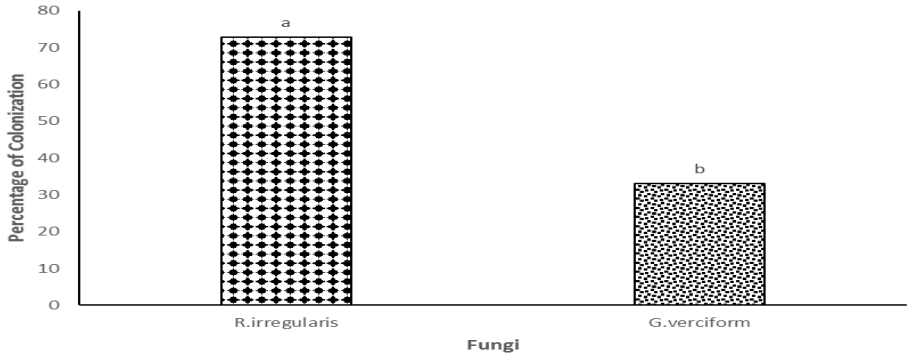
تجزیه و تحلیل داده‌ها

داده‌های به‌دست آمده برای هر متغیر، پس از انجام آزمون نرمالیته و یکنواختی واریانس، با استفاده از برنامه آماری SAS نسخه ۹/۳/۱مورد تجزیه آماری قرار گرفت و مقایسه میانگین‌ها نیز توسط آزمون دانکن در سطح پنج درصد انجام شد. تجزیه نتایج آزمایش، به‌صورت فاکتوریل و در قالب طرح پایه بلوک‌های کامل تصادفی در سه تکرار انجام شد. به‌این صورت که عامل رقم در دو سطح (دو رقم محلی تبریز و لانگ ایلند ماموت)، عامل قارچ در چهار سطح (*T. harzianum*، *T. longibrachiatum*، *R. irregularis* و *G. verciform*) و شاهد به عنوان متغیرهای مستقل و صفات اندازه‌گیری شده به‌عنوان متغیر وابسته در آزمایش درنظر گرفته شد. برای رسم نمودارها از نرم‌افزار اکسل استفاده شد.

نتایج و بحث

درصد کلونیزاسیون

نتایج تجزیه واریانس نشان داد که تنها اثر قارچ در سطح اطمینان یک درصد بر درصد کلونیزاسیون معنی‌دار بود (جدول ۱). نتایج مقایسه میانگین قارچ نشان داد که درصد کلونیزاسیون در حالت استفاده از قارچ *R. irregularis* به‌طور معنی‌دار بیشتر از درصد کلونیزاسیون در قارچ *G. verciform* بود، به‌طوری‌که بیشترین میزان کلونیزاسیون ریشه (۷۷٪) به رقم لانگ آیلند ماموت و تلقیح با *R. irregularis* و کمترین آن (۲۹٪) به رقم محلی تبریز و تلقیح با *G. verciform* تعلق داشت (شکل ۱). افزایش درصد کلونیزاسیون در یک گونه قارچی نسبت به گونه دیگر، به گونه گیاهی و سازگاری آن با قارچ بستگی دارد و حتی جدایه‌های متعلق به یک گونه که از مناطق مختلف جمع‌آوری شده باشند، از نظر درصد کلونیزاسیون اختلاف نشان می دهند که این امر شاید ناشی از تفاوت‌های فیزیولوژیکی موجود بین جدایه‌های مختلف یک گونه باشد (Gholami & Koocheki, 2001). نتایج تجزیه واریانس برای هر صفت در ادامه به تفکیک آورده شده است (جدول ۱).



شکل ۱- اثر قارچ‌های مایکوریز بر درصد کلونیزاسیون ریشه در گیاه شوید. حروف متفاوت، بیانگر اختلاف معنی‌دار در سطح احتمال پنج درصد بر مبنای آزمون دانکن می‌باشد.

Figure 1. Effect of mycorrhizal fungi on the colonization percentage on dill root. Different letters indicate significant difference at 5% of probability level based on Duncan's test.

جدول۱- تجزیه واریانس برخی از صفات گیاه شوید تحت تاثیر تیمارهای قارچ مایکوریز و تریکودرما.

Table 1. Analysis of variance of some dill plant traits under the *mycorrhizal* and *Trichoderma* treatments

		Sum of Square					
Source of variation	df	Index Chlorophyll	Chlorophyll a	Chlorophyll b	Chlorophyll T	Carotenoids	Colonization of root
Block	2	0.873 ^{ns}	2.463 ^{ns}	0.134 ^{ns}	3.171^{ns}	0.339 ^{ns}	12.58 ^{ns}
Cultivar	1	0.31 ^{ns}	274.458 **	0.444^{ns}	296.919**	5.208**	4.08 ^{ns}
Fungi	4	4.325 **	141.878 **	31.344 **	194.015**	18.288**	4860.08**
Fungi ×Cultivar	4	0.683 ^{ns}	11.247 *	14.705 **	3.422^{ns}	6.147**	0.75 ns
Error	18	0.541	3.025	1.117	2.549	0.563	6
CV(%)	-	22.45	10.13	16.85	6.81	12.23	6.76

*، ** و ^{ns}: به‌ترتیب معنی‌دار در سطح احتمال پنج و یک درصد و غیرمعنی‌دار.

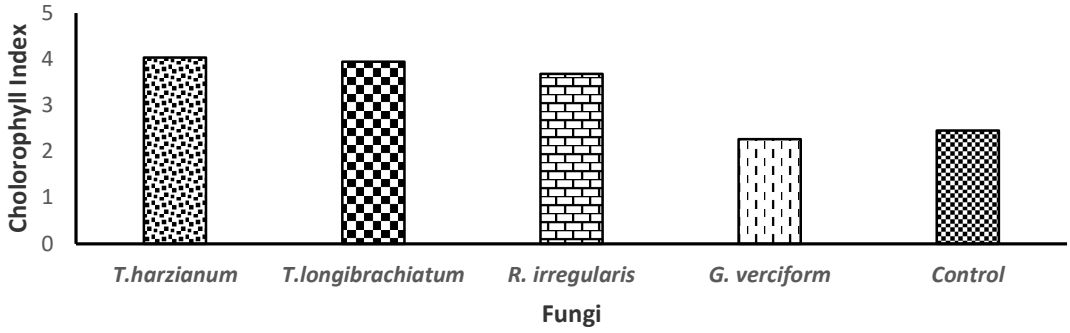
*, ** and ^{ns}: Significant at 5% and 1% probability levels and non significant, respectively.

محتوای کلروفیل

شاخص کلروفیل (SPAD)

نتایج تجزیه واریانس نشان داد که اثر قارچ بر شاخص کلروفیل در سطح اطمینان یک درصد معنی‌دار بود (جدول ۱). نتایج مقایسه میانگین نوع قارچ نشان داد که بیشترین شاخص کلروفیل در حالت استفاده از سه قارچ *T. harzianum*، *T. longibrachiatum* و *R. irregularis* حاصل به‌دست آمد که با میزان شاخص کلروفیل در قارچ *G. verciform* و شاهد اختلاف معنی‌داری داشت. (شکل ۲). در یک مطالعه اجرا شده توسط Alexandru *et al.* (2013) در گوجه‌فرنگی (*Solanum lycopersicum*) تیمار شده با شش جدایه تریکودرما، افزایش سرعت فتوسنتز در مقایسه با گیاهان شاهد مشاهده شد.

طی آزمایشی مشخص شد که تلقیح گیاه شبدر سفید (*Trifolium repens*) با قارچ‌های مایکوریز، موجب افزایش سطح برگ‌ها و میزان کلروفیل آن‌ها شد و نهایتاً سرعت فتوسنتز خالص را در کل دوره رشد گیاه افزایش داد (Wright *et al.*, 1998). Demir (2005) اظهار داشت که همزیستی مایکوریزی، سبب افزایش غلظت کلروفیل در برگ‌های گیاه فلفل (*Capsicum annuum* L.) می‌شود. از آن‌جا که قارچ‌های مایکوریز به جذب منیزیم در گیاه کمک می‌کنند، می‌توانند سنتز کلروفیل را افزایش دهند (Giri & Mukerji, 2004). افزایش کلروفیل در گیاهان مایکوریزی نسبت به گیاهان غیرمایکوریزی در گیاه *Strophosty leshelval* نیز گزارش شده است (Tasang & Maum, 1999). ریسه‌های مایکوریز، وارد سیستم ریشه گیاه می‌شوند و سبب کاهش غلظت آبسزیک‌اسید می‌شوند و میزان سیتوکنین را افزایش می‌دهند (Kapoor *et al.*, 2002)؛ سیتوکینین تمایز کلروپلاست را بهبود می‌بخشد و موجب سنتز کلروفیل می‌شود (Fletcher *et al.*, 2000).

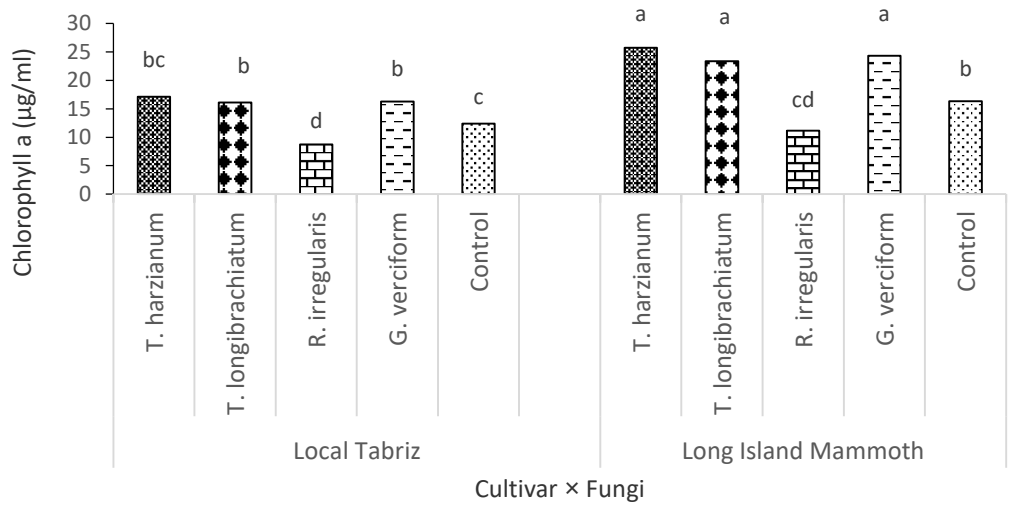


شکل ۲- اثر تلقیح با قارچ بر شاخص کلروفیل شوید. حروف متفاوت بیانگر اختلاف معنی‌دار در سطح احتمال پنج درصد بر مبنای آزمون دانکن می‌باشد.

Figure 2. Effect of fungal inoculation on chlorophyll index. Different letters indicate significant difference at 5% of probability level based on Duncan's test.

کلروفیل a

اثرات رقم و قارچ در سطح اطمینان یک درصد و اثر متقابل رقم × قارچ در سطح اطمینان پنج درصد بر کلروفیل a معنی‌دار بود (جدول ۱). نتایج مقایسه میانگین اثر رقم × قارچ نشان داد که بیشترین مقدار کلروفیل a در رقم لانگ آیلند ماموت و سه قارچ *T. harzianum*، *T. longibrachiatum* و *G. verciform* تولید شد. همچنین در رقم محلی تبریز و کاربرد سه قارچ *T. harzianum*، *T. longibrachiatum* و *G. verciform*، کلروفیل a بیشتر از کاربرد قارچ *R. irregularis* و شاهد بود. در کل، میزان کلروفیل a در رقم لانگ آیلند ماموت، بیشتر از رقم محلی تبریز بود (شکل۳).



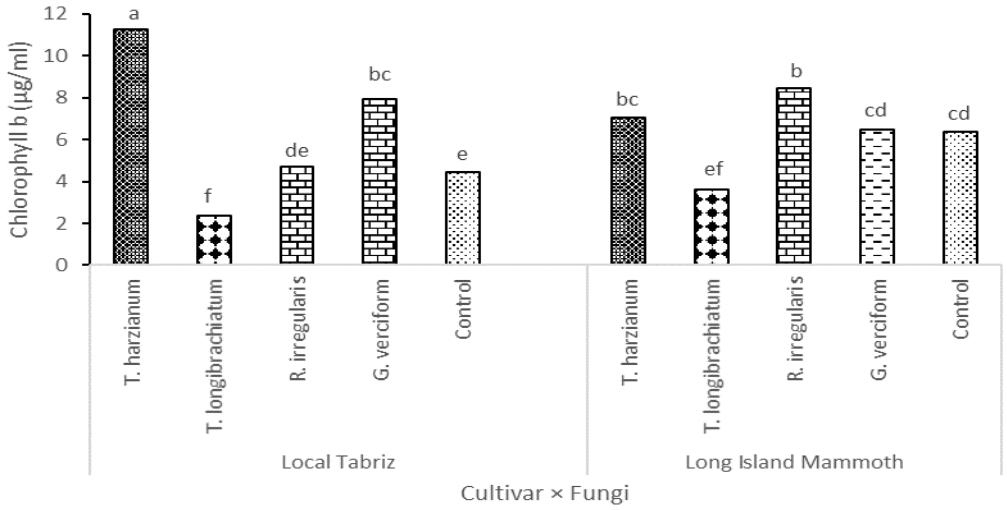
شکل۳- اثر متقابل رقم × قارچ بر کلروفیل a شوید. حروف متفاوت بیانگر اختلاف معنی‌دار در سطح احتمال پنج درصد بر مبنای آزمون دانکن می‌باشد.

Figure 3 . Interaction effect of cultivar and fungi on chlorophyll a. Different letters indicate significant difference at 5% of probability level based on Duncan's test.

کلروفیل b

نتایج تجزیه واریانس نشان داد که اثرات قارچ و اثر متقابل رقم × قارچ بر کلروفیل در سطح اطمینان یک درصد b معنی‌دار بود (جدول ۱). به‌دلیل معنی‌داری اثر متقابل رقم × قارچ، دو رقم محلی تبریز و لانگ آیلند ماموت، واکنش متفاوتی نسبت به استفاده از

قارچ‌های مختلف از نظر میزان کلروفیل b نشان دادند. نتایج مقایسه میانگین اثر رقم × قارچ نشان داد که بیشترین مقدار کلروفیل b (۱۱/۲۸ میکروگرم بر میلی‌لیتر) در تیمار رقم محلی تبریز و قارچ *T. harzianum* مشاهده شد. در رقم محلی تبریز، کلروفیل b در حالت استفاده از قارچ *T. harzianum* بیشتر از سایر قارچ‌ها بود، درحالی‌که در رقم لانگ آیلند ماموت، کلروفیل b در حالت استفاده از قارچ *T. harzianum* و قارچ *R. irregularis* بیشتر از سایر قارچ‌ها بود (شکل ۴).



شکل۴- اثر متقابل رقم × قارچ بر کلروفیل b شوید. حروف متفاوت بیانگر اختلاف معنی‌دار در سطح احتمال پنج درصد بر مبنای آزمون دانکن می‌باشد.

Figure 4. Interaction effect of cultivar and fungi on chlorophyll b. Different letters indicate significant difference at 5% of probability level based on Duncan's test.

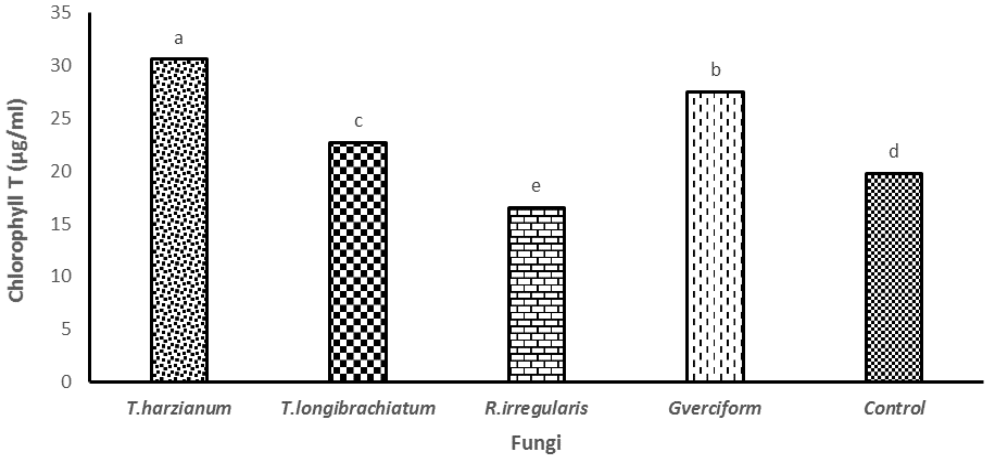
کلروفیل کل (T)

نتایج تجزیه واریانس نشان داد که اثرات رقم و قارچ بر کلروفیل کل در سطح اطمینان یک درصد معنی‌دار بود (جدول ۱). نتایج مقایسه میانگین اثر رقم نشان داد که میانگین کلروفیل کل در رقم لانگ آیلند ماموت (۲۶/۵۹ میکروگرم بر میلی‌لیتر) به‌طور معنی‌داری در سطح احتمال پنج درصد بیشتر از میانگین این صفت در رقم محلی تبریز (۲۰/۳ میکروگرم بر میلی‌لیتر) بود. نتایج مقایسه میانگین نوع قارچ نشان داد که بیشترین کلروفیل کل در در تیماراستفاده از قارچ *T. harzianum* (۳۰/۶۱ میکروگرم بر میلی لیتر) تولید شد که با میزان کلروفیل کل در سایر قارچ‌ها اختلاف معنی‌داری در سطح احتمال پنج درصد نشان داد و کمترین مقدار آن نیز ازتیمار قارچ *R. irregularis* (۱۶/۵۶ میکروگرم بر میلی‌لیتر) به‌دست آمد (شکل ۵).

نتایج آزمایش Mukhopadhay & Pan (2012) نشان دهنده افزایش قابل ملاحظه‌ی کلروفیل در تیمار با تریکودرما بود. Lo & Lin (2002) گزارش نمودند که چند جدایه تریکودرمای جداسازی شده از خاک ریزوسفر روی خیار و کدو منجر به افزایش معنی‌دار غلظت کلروفیل شده است.

محققان گزارش کردند که گیاهچه‌های فلفل تلقیح شده با قارچ میکوریز، سرعت فتوسنتز، محتوی کلروفیل، نیتروژن، فسفر و پتاسیم، زیست توده برگ و محتوی نسبی آب برگ بیشتری نسبت به گیاهچه‌های شاهد دارند (Estrada-Luna & Davies, 2003). قارچ‌های میکوریز پس از همزیست شدن با گیاهان میزبان ،بر جنبه‌های مختلف فیزیولوژی و بیوشیمیایی گیاه تأثیر می‌گذارد و موجب رشد و بهبود آن می‌شود که یکی از این فرآیندها، فتوسنتز و افزایش کلروفیل در برگ است. برخی از محققین بیان داشته اند که قارچ میکوریز، باعث افزایش سرعت فتوسنتز در واحد سطح برگ گیاه میزبان می‌شود و دلیل این امر را افزایش

غلظت نیتروژن برگ و به تبع آن افزایش مقدار کلروفیل سیستم فتوسنتزی، راندمان فسفر فتوسنتز و،فعالیت آنزیم‌هایی چون نیترات ریداکتاز، نیتروژناز و گلوتامین سنتتاز در گیاهان میزبان می‌باشد (Brito *et al*., 2008). نتایج به‌دست آمده نشان داد که تلقیح قارچ باعث افزایش رنگیزه‌های فتوسنتزی و میزان SPAD نسبت به شاهد شده بود که با نتایج Basak *et al*. (2011)، Jahandideh *et al*. (2015) و Zare & Zaree Hajinia (2015) مطابقت داشت. Zare *et al* (2015) گزارش دادند که بالا بودن میزان کلروفیل در گیاهان تلقیح شده با قارچ، می‌تواند به‌علت وجود رابطه مثبت بین غلظت فسفر و مقدار کلروفیل در گیاهان باشد، زیرا گزارش‌های زیادی از افزایش جذب فسفر توسط این قارچ به گیاه میزبان ارائه شده است.



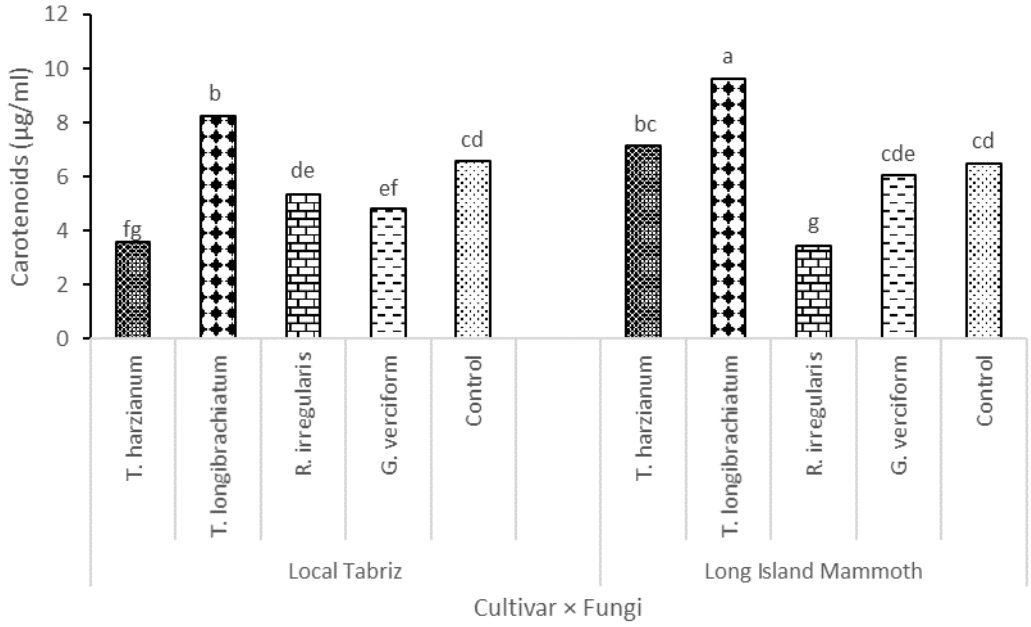
شکل ۵- اثر تلقیح با قارچ بر کلروفیل کل شوید. حروف متفاوت بیانگر اختلاف معنی‌دار در سطح احتمال پنج درصد بر مبنای آزمون دانکن می‌باشد.

Figure 5. Effect of fungal inoculation on total chlorophyll. Different letters indicate significant difference at 5% of probability level based on Duncan's test.

کاروتنوئید

نتایج تجزیه واریانس نشان داد که اثرات رقم، قارچ و اثر متقابل رقم × قارچ در سطح اطمینان یک درصد بر میزان کاروتنوئید معنی‌دار بود (جدول ۱). به‌دلیل معنی‌داری اثر متقابل رقم × قارچ، دو رقم محلی تبریز و لانگ آیلند ماموت، واکنش متفاوتی نسبت به استفاده از قارچ‌های مختلف از نظر میزان کاروتنوئید نشان دادند. کاروتنوئیدها از طریق چرخه گزانتوفیل و واکنش‌های اپوکسیداسیون و دپوکسیداسیون، سبب کاهش مصرف اکسیژن می‌شود و از کلروفیل در مقابل فتواکسیداسیون محافظت می‌کند (Sairam *et al*., 1998).

نتایج مقایسه میانگین اثر رقم × قارچ نشان داد که بیشترین مقدار کاروتنوئید در تیمار رقم لانگ آیلند ماموت و قارچ *T. longibrachiatum* به میزان ۹/۶۴ میکروگرم بر میلی‌لیتر و کمترین آن در تیمار قارچ *R. irregularis* به میزان ۳/۴۴ میکروگرم بر میلی‌لیتر به‌دست آمد. همچنین نتایج نشان داد که در رقم محلی تبریز نیز میزان کاروتنوئید در حالت استفاده از قارچ *T. longibrachiatum* بیشتر از سایر قارچ‌ها به میزان۸/۲۶. میکروگرم بر میلی‌لیتر و کمترین آن نیز در حالت کاربرد قارچ *T. harzianum* به میزان ۳/۵۷. میکروگرم بر میلی‌لیتر مشاهده شد (شکل ۶).



شکل ۶- اثر متقابل رقم × قارچ بر کاروتنوئید شوید. حروف متفاوت بیانگر اختلاف معنی‌دار در سطح احتمال پنج درصد بر مبنای آزمون دانکن می‌باشد.

Figure 6 . Interaction effect of cultivar and fungi on dill carotenoids. Different letters indicate significant difference at 5% of probability level based on Duncan's test.

اسانس گیاه شوید

درصد اسانس

اثرات بلوک، رقم، قارچ و اثر قارچ در رقم بر درصد اشانس معنی‌دار شد و تنها اثر قارچ در سطح اطمینان یک درصد بر درصد اسانس معنی‌دار بود (جدول۲). نتایج مقایسه میانگین نوع قارچ نشان داد که بیشترین درصد اسانس در تیمار قارچ *T. harzianum* (۲/۳۹ درصد) مشاهده شد که با درصد اسانس در قارچ *T. longibrachiatum* (۲/۳۷ درصد) اختلاف معنی‌دار نداشت و کمترین آن نیز به تیمار قارچ G. *verciform* (۰/۷ درصد) تعلق داشت که با شاهد (۰/۹۷ درصد) اختلاف معنی‌دار نداشت (شکل ۷). در نهایت، با کاربرد قارچ جنس *Trichoderma*، میانگین درصد اسانس بیشتر از استفاده از قارچ جنس *Glomus* بود.

جدول ۲- تجزیه واریانس اسانس گیاه شوید، تحت تاثیر تیمارهای قارچ مایکوریز و تریکودرما.

Table 2. Analysis of variance of dill essential oil affected by mycorrhizal and *Trichoderma* treatments.

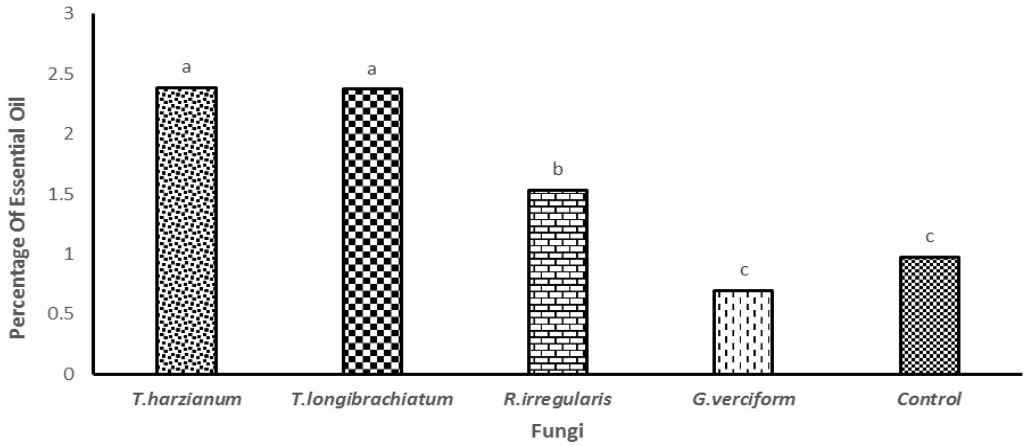
		Sum of Square	
Source of variation	df	Percentage of essential oil	Essential oil yield
Block	2	0.156 *	0.064*
Cultivar	1	0.021 ^{ns}	0.160**
Fungi	4	3.645**	0.178**
Fungi ×Cultivar	4	0.276^{ns}	0.005 ^{ns}
Error	18	0.117	0.012
CV(%)	-	21.48	27.75

*، ** و ^{ns}: به‌ترتیب معنی‌دار در سطح احتمال پنج و یک درصد و غیرمعنی‌دار.

*, ** and ^{ns}: Significant at 5% and 1% probability levels and non significant, respectively.

تلقیح با میکوریز از طریق بهبود فعالیت‌های میکروبی خاک و همچنین تولید برخی تنظیم‌کننده‌های رشد گیاه (Kapoor *et al.*, 2007) منجر به افزایش درصد اسانس رازیانه (*Foeniculum vulgare*) و زنیان (*Trachyspermum ammi*) شده است.Darzi *et al* (2009) بیان داشتند که تلقیح با میکوریز، باعث

افزایش محتوی اسانس رازیانه شد. نتایج دیگر بررسی‌ها (Richter *et al*., 2005; Mahfouz & Sharaf-Eldin, 2007; Gharib *et al*., 2008; Darzi *et al*., 2009) نیز بهبود میزان اسانس برخی گونه‌های دارویی را در شرایط تلقیح با انواع ریزموجودات خاکزی اثبات کرده است. کاربرد دو گونه قارچ *Glomus* روی گیاه شوید، سبب افزایش میزان اسانس و رشد گیاه شد و با کاربرد قارچ، میزان کاروون و لیمونن موجود در اسانس افزایش معنی‌داری نشان داد (Kapoor *et al*., 2002b).



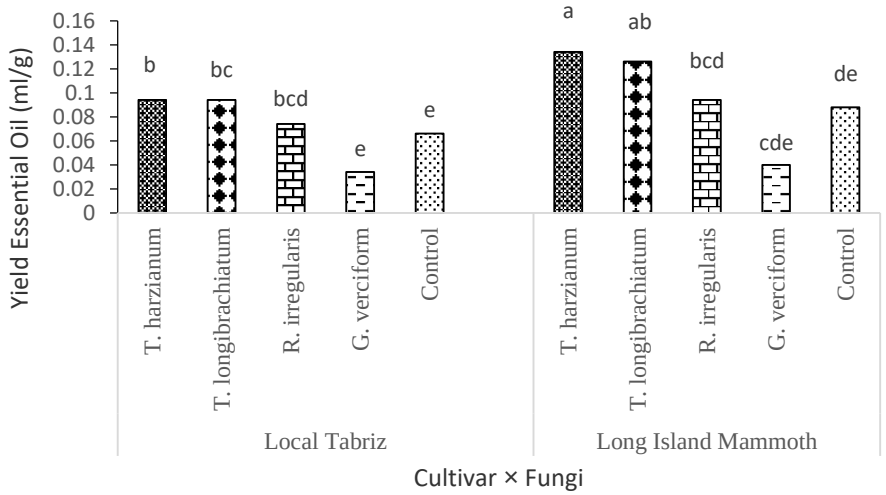
شکل ۷- اثر تلقیح با قارچ بر درصد اسانس دانه شوید. حروف متفاوت بیانگر اختلاف معنی‌دار در سطح احتمال پنج درصد بر مبنای آزمون دانکن می باشد.

Figure 7. Effect of fungi inoculation on the seed essential oil percentage. Different letters indicate significant difference at 5% of probability level based on Duncan's test

عملکرد اسانس دانه

یک درصد معنی‌دار بود (جدول ۲).

اثرات رقم و قارچ برعملکرد اسانس در سطح اطمینان



شکل ۸- اثر تلقیح با قارچ بر عملکرد اسانس دانه (ml/g) شوید. حروف متفاوت بیانگر اختلاف معنی‌دار در سطح احتمال پنج درصد بر مبنای آزمون دانکن می‌باشد.

Figure 8. Effect of fungi inoculation on grain essential oil yield (ml/g) Different letters indicate significant difference at 5% of probability level based on Duncan's test.

نتایج مقایسه میانگین اثر رقم × قارچ نشان داد که بیشترین عملکرد اسانس از تیمار رقم لانگ آیلند

ماموت و قارچ *T. harzianum* به میزان ۰/۰۹۴ ml/g به‌دست آمد، درحالی‌که کمترین آن در تیمار قارچ *G. verciform* به میزان ۰/۰۳۴ ml/g مشاهده شد (شکل ۸). بررسی‌های صورت گرفته نشان داد که همزیستی ریشه گیاه رازیانه با دو گونه از قارچ‌های مایکوریز *R. irregularis* و *G. mosseae*، به‌طور معنی‌داری موجب بهبود میزان اسانس و کیفیت آن شد، به‌نحوی‌که میزان ماده ارزشمند آنتول در اسانس در مقایسه با شاهد افزایش یافت (Kapoor *et al*., 2004). همچنین همزیستی قارچ مایکوریز با ریشه گیاه نعناع از طریق افزایش جذب آب و عناصر پرمصرف، در بهبود میزان اسانس مؤثر بوده است (Gupta *et al*., 2002). در بررسی مشابهی که به‌همین منظور بر روی شوید و زیره انجام گرفته است، نشان داد که کاربرد قارچ‌های میکوریز به‌طور قابل توجهی میزان اسانس این گیاهان را در مقایسه با شاهد بهبود می‌بخشد (Kapoor *et al*., 2004).

نتیجه گیری کلی

با توجه به این‌که هدف کشت گیاهان دارویی، افزایش ماده موثره در این گیاهان است، بنابراین برای رسیدن به این مهم می‌توان علاوه بر استفاده از قارچ‌های مایکوریز که تاکنون بیشتر مورد توجه بوده است، از گونه‌های قارچ تریکودرما نیز بهره جست، چرا که با توجه به نتایج به‌دست آمده می‌توان بیان کرد که مایه‌زنی گیاه شوید با قارچ‌های تریکودرما، با اثرگذاری بیشتر، از طریق بهبود فعالیت‌های میکروبی خاک و همچنین تولید برخی تنظیم‌کننده‌های رشد گیاه و توانایی زنده ماندن در شرایط بسیار نامطلوب، بر جنبه‌های مختلف فیزیولوژی و بیوشیمیایی گیاه تأثیر گذاشته و موجب افزایش فرآیند فتوسنتز و افزایش محتوی کلروفیل در برگ، میزان اسانس و به تبع آن باعث افزایش درصد اسانس در گیاه شوید شده است.

REFERENCES

1. Alexandru, M., Lazar, D., Ene, M. & Sesan, T. E. (2013). Influence of some *Trichoderma* species on photosynthesis intensity and pigments in tomatoes. *Romanian Biotechnological Letters*, 18, 8499-8510.
2. Ali Asgharzadeh, N. (2000). *Investigation of distribution and population density of arbuscular mycorrhizal fungi in saline soils of Tabriz plain and determination of their inoculation effects in improving onion and barley tolerance to salinity stress*. PhD Thesis, Faculty of Agriculture, University of Tehran, Iran.
3. Amonrat, T., Soottawat, B., Wonnop, V., Eric, A. & Decker, C. (2008). The effect of antioxidants on the quality changes of cuttlefish (*Sepia pharaonis*) muscle during frozen storage. *Food Science and Technology*, 41(1), 169-161.
4. Augé, R. M. (2001). Water relations, drought and vesicular-arbuscular mycorrhizal symbiosis. *Mycorrhiza*, 11, 3-42.
5. Basak, H., Demir, K., Kasim, R. & Okay, F. Y. (2011). The effect of endo-mycorrhiza (VAM) treatment on growth of tomato seedling grown under saline conditions. *African Journal of Agricultural Research*, 6(11), 2532-2538.
6. Benitez, T., Rincon, A. M., Limon, M. C. & Codon, A. C. (2004). Biocontrol mechanisms of *Trichoderma* strains. *International Microbiology*, 7(4), 249-260.
7. Brito I., Goss M. J., de Carvalho M., van Tuinen D. & Antunes, P. M. (2008). Mycorrhiza. In: Varma A. (Ed), *Agronomic Management of Indigenous Mycorrhizas*. (pp. 375-386.) Springer Science.
8. Brundrett, M. C., Piche, Y. & Peterson, R. L. (1984). A new method for observing the morphology of vesicular arbuscular mycorrhizae. *Canadian Journal of Botany*, 62(10), 2128-2138.
9. Burits, M. & Bucar, F. (2000). Antioxidant activity of *Nigella sativa* essential oil. *Phytotherapy Research*, 14(5), 328–323.
10. Cabello, M., Irrazabal, G., Bucsinszky, A. M., Saparrat, M. & Schalamuk, S. (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(3), 182-189.

11. Croteau, R., Kutchan, T. M. & Lewis, N. G. (2000). Natural products (secondary metabolites). *Biochemistry and Molecular Biology of Plants*, 24, 1250-1319.
12. Darzi, M. T., Ghalavand, A., Sefidkon, F. & Rejali, F. (2009). The effects of mycorrhiza, vermicompost and phosphatic biofertilizer application on quantity and quality of essential oil in fennel (*Foeniculum vulgare* Mill.*). Iranian Journal of Medicinal and Aromatic Plants*, 24(4), 396 413. (In Persian)
13. Delaquis, P. J., Stanich, K., Girard, B. & Mazza, G. (2002). Antimicrobial activity of individual and mixed fractions of dill, cilantro, coriander and eucalyptus essential oils. *International Journal of Food Microbiology*, 74(1-2), 101-109.
14. Demir, S. (2005). Influence of arbuscular mycorrhiza on some physiological growth parameters of pepper. *Turkish Journal of Biology*, 28(2-4), 85-90.
15. Duke, J. A. (2002). *Handbook of medicinal herbs*. CRC press.
16. Duponnois, R., Colombet, A., Hien, V. & Thioulouse, J. (2005). The mycorrhizal fungus *Glomus intraradices* and rock phosphate amendment influence plant growth and microbial activity in the rhizosphere of *Acacia Holosericea*. *Soil Biology and Biochemistry*, 37(8), 1460-1468.
17. Estrada-Luna, A. A. & Davies Jr, F. T. (2003). Arbuscular mycorrhizal fungi influence water relations, gas exchange, abscisic acid and growth of micropropagated chile ancho pepper (*Capsicum annuum*) plantlets during acclimatization and post-acclimatization. *Journal of Plant Physiology*, 160(9), 1073-1083.
18. Fletcher, R. A., Gilley, A., Sankhla, N. & Davis, T. D. (2000). Triazoles as plant growth regulators and stress protectants. *Horticultural Reviews*, 24, 55-138.
19. Ghasemi Esfahlan, S. Arzanluou, M. & Babaei Ahari, A. (2017). Identification of endophytic *Trichoderma* species from oak trees in Arasbaran forests using morphological and molecular characteristics. *Journal of Applied Research in Plant Protection*, 6(3), 53-66.
20. Gharib, F. A., Moussa, L. A. & Massoud, O. N. (2008). Effect of compost and bio-fertilizers on growth, yield and essential oil of sweet marjoram (Majorana hortensis) plant. *International Journal of Agriculture and Biology*, 10(4), 381-382.
21. Gholami, A. & Koocheki, A. (2001). Mycorrhiza in Sustainable Agriculture. Shahrud University press.
22. Giovannetti, M. & Mosse, B. (1980). An evaluation of techniques for measuring vesicular arbuscular mycorrhizal infection in roots. *New Phytologist*, 489-500.
23. Giri, B. & Mukerji, K. G. (2004). Mycorrhizal inoculant alleviates salt stress in *Sesbania aegyptiaca* and *Sesbania grandiflora* under field conditions: evidence for reduced sodium and improved magnesium uptake. *Mycorrhiza*, 14(5), 307-312.
24. Gupta, M. L., Prasad, A., Ram, M. & Kumar, S. (2002). Effect of the vesicular–arbuscular mycorrhizal (VAM) fungus *Glomus fasciculatum* on the essential oil yield related characters and nutrient acquisition in the crops of different cultivars of menthol mint (*Mentha arvensis*) under field conditions. *Bioresource Technology*, 81(1), 77-79.
25. Hajinia, S, & Zaree, M. J. (2015). Effect of co-inoculation of endophytic fungus Piriformospora indica and Azospirillum strains on some physiological traits, nutrient absorption and grain yield of wheat (Triticum aestivum cv. sardari) under salt stress conditions. *Plant Production Technology*, 6(2), 149-161. (In Persian)
26. Harman, G. E. (2006). Overview of mechanisms and uses of *Trichoderma* spp. *Phytopathology*, 96(2), 190-194.
27. Hassani, A. (2006). Effect of water deficit stress on growth, yield and essential oil content of Dracocephalum moldavica. *Iranian Journal of Medicinal and Aromatic Plants Research*, 22(3), 256-261. (In Persian)
28. Jahandideh Mahjen Abadi, V., Sepehri, M., Khoshgoftarmanesh, A., Eshghizadeh, H. R. & Rahmani Iranshahi, D. (2015). Inoculation effects of endophytic fungus Piriformospora indica & Pseudomonas putida bacteria on growth and nutrient uptake of wheat plants under Zinc deficiency condition. *Journal of Water and Soil Science*, 19(71), 191-204. (In Persian)

29. Kapoor, R., Giri, B. & Mukerji, K. G. (2004). Improved growth and essential oil yield and quality in *Foeniculum vulgare* mill on mycorrhizal inoculation supplemented with P-fertilizer. *Bioresource Technology*, 93(3), 307-311.
30. Kapoor, R., Chaudhary, V., & Bhatnagar, A. K. (2007). Effects of arbuscular mycorrhiza and phosphorus application on artemisinin concentration in *Artemisia annua* L. *Mycorrhiza*, 17(7), 581-587.
31. Kapoor, R., Giri, B. & Mukerji, K. G. (2002a). 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.
32. Kapoor, R., Giri, B. & Mukerji, K. G. (2002b). *Glomus macrocarpum*: a potential bioinoculant to improve essential oil quality and concentration in Dill (*Anethum graveolens* L.) and Carum (*Trachyspermum ammi* (Linn.) Sprague). *World Journal of Microbiology and Biotechnology*, 18(5), 459-463.
33. Kaur, G. J. & Arora, D. S. (2010). Bioactive potential of *Anethum graveolens*, *Foeniculum vulgare* and *Trachyspermum ammi* belonging to the family Umbelliferae-Current status. *Journal of Medicinal Plants Research*, 4(2), 087-094.
34. Khaosaad, T., Vierheilig, H., Nell, M., Zitterl-Eglseer, K. & Novak, J. (2006). Arbuscular mycorrhiza alter the concentration of essential oils in oregano (*Origanum* sp., Lamiaceae). *Mycorrhiza*, 16(6), 443-446.
35. Khavazi, K., Asadi Rahmani, H. & Malakouti, M. J. (2005). Necessity for the production of biofertilizersin Iran (2th ed.). Sana Press.
36. Kormanik, P. P. & McGraw, A. C. (1982). Quantification of vesicular-arbusculare mycorrhiza in plant roots. In: N. C. Schneck (Ed.), *Methods and Principles of Mycorrhizal Research*. (pp. 37-45.) American Phytopathological Society.
37. Kubeczka, K. H. (2002). *Essential oils analysis by capillary gas chromatography and carbon 13 NMR spectroscopy*. John wiley & Sins LTD.
38. Lichtenthaler, H. K. & Wellburn, A. R. (1983). Determinations of total carotenoids and chlorophylls a and b of leaf extracts in different solvents. *Biochem Society Transactions* 11 (5), 591–592
39. Lo, C. T & Lin, C. Y. (2002). Screening strains of *Trichoderma* spp for plant growth in Taiwan. *Plant Pathology Bulletin*, 11, 215-220.
40. Mahfouz, S. A. & Sharaf-Eldin, M. A. (2007). Effect of mineral vs. biofertilizer on growth, yield, and essential oil content of fennel (*Foeniculum vulgare* Mill.). *International Agrophysics*, 21(4), 361.
41. Marschner, H. & Dell, B. (1994). Nutrient uptake in mycorrhizal symbiosis. *Plant and Soil*, 159(1), 89-102.
42. Mukhopadhay, R. & Pan, S. (2012). Effect of biopriming of radish (*Raphanus sativus*) seed with some antagonistic isolates of *Trichoderma*. *The Journal of Plant Protection Sciences*, 4(2), 46-50.
43. Powell, C. L. & Bagyaraj, D.J. 1986. VA mycorrhiza. CRC Press. Inc. Bocaraton, Florida.
44. Narmani, A., Arzanlou, M. & Babei Ahrai, A. (2018). Antagonistic Effect of Endophytic and Commercial Trichoderma Isolates on *Phaeoacremonium minimum*, the Causal Agent of Leaf Stripe Disease of Grapevine. *Journal of Applied Research in Plant Protection*, 7(1), 151-169.
45. Narmani, A. Arzanlou, M. Babaiahari, A. & Masteri Farahani, H. (2019). Biological ccontrol of wheat fusarium head blight using antagonistic strains of commercial and local Trichoderma, isolated from wheat plant rhizosphere. *Journal of Applied Research in Plant Protection*, 8(2), 1-20.
46. Okhovvat, M. & Karampour, F. (1996). Effect of some isolates of antagonistic fungi on the control of chickpea black root rot caused by Fusarium solani under greenhouse conditions. *Journal of Agricultural Sciences*, 27(2), 37-45. (In Persian)
47. Ousley, M. A. Lynch, J. M & Whipps, J. M. (1994). Potential of *Trichoderma* spp. as consistent plant growth stimulators. *Biology & Fertility of Soils*, 17, 85-90.
48. Omidbeigi, R. (1999). Production and processing of medicinal plants. (5th ed.). Astan Quds Razavi Prees.
49. Rajapakse, S. & Miller, J. C. (1987). In Genetic aspects of plant mineral nutrition, *Intraspecific variability for VA mycorrhizal symbiosis in cowpea* (*Vigna unguiculata* [L.] Walp.). (pp. 523-536.). Springer.

50. Ratti, N., Kumar, S., Verma, H. N. & Gautam, S. P. (2001). Improvement in bioavailability of tricalcium phosphate to *Cymbopogon martinii* var. *motia* by rhizobacteria, AMF and *Azospirillum* inoculation. *Microbiological Research*, 156(2), 145-149.
51. Richter, J., Stutzer, M. & Schellenberg, I. (2005). Effects of mycorrhization on the essential oil content and composition aroma components of marjoram (*Majorana hortensis*), thyme (*Thymus vulgaris* L.) and caraway (*Carum carvi* L.). In: Proceedings of 36th *International Symposium on Essential Oils*, 4-7 Sep., Budapest, Hungary, pp. 4-7.
52. Ridout, C. J., Coley-Smith, J. R. & Lynch, J. M. (1988). Fractionation of extracellular enzymes from a mycoparasitic strain of *Trichoderma harzianum*. *Enzyme and Microbial Technology*, 10(3), 180-187.
53. Sairam, R. K., Deshmukh, P. S. & Saxena, D. C. (1998). Role of antioxidant systems in wheat, genotype tolerance to water stress. *Biologia Plantarum*, 41(3), 387-394.
54. Smith, S. E. & Read, D. J. (2008). *Mycorrhizal Symbiosis* (3th ed.). Academic Press.
55. Sylvia, D. M. (1999). Vesicular-arbuscular mycorrhiza fungi. In: Methods of soil Analysis, *Microbiological and Biochemical Properties*. (part 2) Soil Science Socity of America.
56. Tasang, A. & Maum, M. A. (1999). Mycorrhizal fungi increase salt tolerance of *Strophostyles helvola* in coastalforedunes. University of Waterloo, Canada. *Plant Ecology*, 144, 159-166.
57. Toussaint, J. P., Smith, F. A. & Smith, S. E. (2007). Arbuscular mycorrhizal fungi can induce the production of phytochemicals in sweet basil irrespective of phosphorus nutrition. *Mycorrhiza*., 17(4), 291-297.
58. Vinale, F., Sivasithamparam, K., Ghisalberti, E. L., Marra, R., Woo, S. L. & Lorito, M. (2008). Trichoderma–plant–pathogen interactions. *Soil Biology and Biochemistry*, 40(1), 1-10.
59. Windham, M. T., Elad, Y. & Baker, R. (1986). A mechanism for increased plant growth induced by *Trichoderma* spp. *Phytopathology*, 76(5), 518-521.
60. Wright, D. P., Scholes, J. D. & Read, D. J. (1998). Effects of VA mycorrhizal colonization on photosynthesis & biomass production of *Trifolium repens* L., *Plant,Cell & Environ*, 21, 209-216.
61. Zare Hoseini, R., Mohammadi, E. & Kalatejari, S. (2015). Effect of bio-fertilizer on growth, development and nutrient content (leaf and soil) of *Stevia rebaudiana* Bertoni. *Journal of Crop Protection*, 4(20), 691-704.