اثر برهمکنش میکروارگانیسم‌های ریزوسفری، برجذب عناصر روی، منگنز، منیزیم و عملکرد اسانس در آویشن دنایی (*Thymus daenensis*)

Interactive Effect of Rhizosphere Micro-organisms on Nutrient Uptake and Essential Oil Yield of *Thymus daenensis*

فرزانه بهادری[۱*]، ابراهیم شریفی‌عاشورآبادی[۲]، مهدی میرزا[۳]، محمد متینی‌زاده[۴] و وحید عبدوسی[۵]

تاریخ دریافت: ۹۱/۰۳/۱۲ تاریخ پذیرش: ۹۲/۰۸/۲۸

چکیده

برای ارزیابی اثر برهمکنش قارچ‌های میکوریز آربوسکولار و باکتری‌های کنترل‌کننده‌ی آفات و بیماری‌ها بر جذب منیزیم و شماری از عناصر ریزمغذی، عملکرد اسانس و همچنین درصد کلونیزاسیون ریشه در گیاه دارویی آویشن دنایی (*Thymus daenensis* Celak.)، آزمایشی به گونه کرت‌های خردشده در قالب بلوک‌های کامل تصادفی با ۶ تیمار و ۳ تکرار در سال زراعی ۹۱-۱۳۹۰ در مزرعه مرکز تحقیقات کشاورزی و منابع طبیعی استان سمنان (در منطقه شهمیرزاد) اجرا شد. تیمارهای بررسی‌شده شامل عامل اصلی در دو سطح عدم‌تلقیح و تلقیح با قارچ میکوریز آربوسکولار گونه *Glomus mosseae* و عامل فرعی نیز باکتری‌های کنترل‌کننده‌ی آفات و بیماری‌ها در سه سطح عدم‌تلقیح با باکتری، تلقیح با باکتری *Bacillus subtilis* و تلقیح با باکتری *Pseudomonas fluorescens* بودند. نتایج به‌دست آمده نشان داد که تلقیح با قارچ *G. mosseae* و یا باکتری *B. subtilis* به‌طور معنی‌داری موجب افزایش جذب عناصر بررسی شده در مقایسه با تیمار شاهد گردید. ولی اثربخش‌ترین تیمار، کاربرد همزمان قارچ میکوریز *G. mosseae* و باکتری *B. subtilis* بود که اندازه جذب عناصر بررسی شده و عملکرد اسانس را در مقایسه با گیاهان شاهد به بیش از دو برابر افزایش داد.

واژه‌های کلیدی: آویشن دنایی (*Thymus daenensis*)، قارچ میکوریز آربوسکولار، عناصرریز مغذی، کشاورزی پایدار

۱. دانشجوی سابق دکتری گروه باغبانی، دانشگاه آزاد اسلامی، واحد علوم و تحقیقات تهران، تهران
۲ و ۳. دانشیار بخش تحقیقات گیاهان دارویی و محصولات فرعی مؤسسه تحقیقات جنگل‌ها و مراتع، تهران
۴. استادیار بخش تحقیقات جنگل مؤسسه تحقیقات جنگل‌ها و مراتع، تهران
۵. استادیار گروه باغبانی، دانشگاه آزاد اسلامی، واحد علوم و تحقیقات تهران، تهران
*: نویسنده مسئول Email: far_bahadori@yahoo.com

این مقاله مستخرج از پایان‌نامه دکتری تخصصی گرایش علوم باغبانی نگارنده اول می‌باشد.

مقدمه

برخی از گونه‌های دارویی انحصاری و بومی کشور از ارزش دارویی و صنعتی بالایی برخوردار بوده و در صورت کشت و فراوری می‌توانند افزون بر تأمین نیاز بازار داخل، در بازارهای جهانی بدون رقیب وارد شوند (امیدبیگی، ۱۳۷۹). در میان گونه‌های اسانس‌دار دارویی گیاهان جنس آویشن از نظر اقتصادی بسیار پر ارزش بوده به‌گونه‌ای که، اسانس آویشن از گروه ده اسانس شناخته شده است که با دارا بودن ویژگی ضدباکتریایی، ضدقارچی، آنتی‌اکسیدانی، نگهدارنده طبیعی غذا و تأخیردهنده پیری پستانداران، جایگاه ویژه‌ای در تجارت جهانی دارد *(استاهل-بیسکوپ و سائز*[1]، 2002). کشور ایران یکی از مهم‌ترین مخازن ژرم‌پلاسم آویشن در دنیاست، از میان گونه‌های بومی می‌توان به *Thymus daenensis* به‌عنوان گونه‌ی انحصاری ایران اشاره کرد *(رشینگر*[2]، 1982). اکبری‌نیا و همکاران (۱۳۸۹) در بررسی عملکرد و میزان ترکیب‌های اصلی اسانس آویشن دنائی گزارش کردند که این گونه دارای درصد بالایی از مواد فنولی، به‌ویژه تیمول است و می‌تواند به‌عنوان جایگزین آویشن باغی در کشور معرفی گردد. عوامل متعددی تولید فراورده دارویی نهایی و مواد مؤثره موجود در آن را تحت تأثیر قرار می‌دهند، استفاده از ریزجانداران سودمند در کشت گیاهان دارویی به‌عنوان راهی تازه برای تولید مواد مؤثره می‌تواند مایه بالابردن کیفیت این گیاهان شود *(سکار و کانداول*[3]، 2010). شناسایی عواملی که می‌توانند سبب افزایش تولید متابولیت‌های ثانویه، افزایش ترکیب‌های پلی‌فنولیکی و در پی آن افزایش فعالیت‌های سودمند زیستی در گیاهان دارویی شوند، مورد توجه پژوهشگران علوم کشاورزی می‌باشند، لذا کشت و تولید ارگانیک گیاهان پرارزش دارویی در شرایط همزیستی با ریزجانداران سودمند ریزوسفری می‌تواند گامی ارزشمند در راستای تولید محصول سالم در آن‌ها باشد. ارگانیسم‌های مفید ریزوسفری براساس اثرات اولیه و یا ثانویه آ ن‌ها بر گیاهان به دو گروه بزرگ دسته‌بندی شده‌اند ۱. ریزجاندارانی که به گونه مستقیم مایه انگیزش و افزایش رشد گیاه می‌شوند (PGPM[4]) و ۲. کنترل‌کننده‌های بیولوژیک آفات و بیماری‌های گیاهی(BCA[5]) که با کنترل بیماری‌زاهای گیاهی به گونه غیرمستقیم مایه افزایش تولید در گیاهان می‌شوند، اما پژوهش‌های اخیر نشان داده که دسته دوم افزون بر اثر بر سلامتی گیاه به گونه مستقیم هم مایه افزایش رشـــد گیاه می‌شوند (*واسیلو*[6] و همکاران، 2006). قارچ‌های میکوریزی یکی یکی از انواع کودهای زیستی بوده که دارای رابطه همزیستی با ریشه بیشتر گیاهان کشاورزی بوده، از راه افزایش جذب عناصر غذایی (مانند فسفر، نیتروژن و برخی عناصر ریزمغذی)، افزایش جذب آب، افزایش بردباری در برابر تنش‌های زنده (عوامل بیماری‌زا) و غیرزنده (خشکی، شوری و ...) مایه افزایش رشد، نمو و عملکرد گیاهان میزبان در سیستم‌های کشاورزی پایدار می‌شوند (*سیلویا و ویلیامز*[7]، 1992 و *ساینز*[8] و همکاران، 1998). 1998). از آن‌جاکه کمبود ریزمغذی‌ها، به‌علت کشت مداوم، آهکی بودن خاک‌ها و عدم‌کاربرد کودهای دارای عناصر غذایی لازم، از جمله عوامل بروز کمبود در بیشتر خاک‌های ایران می‌باشد و با توجه به نقش این عناصر در چرخه زندگی و رشد گیاه که واکنش‌های بسیار ساده تا خیلی پیچیده را دربر می‌گیرند (ملکوتی و تهرانی، ۱۳۷۸)، کاربرد کودهای زیستی می‌تواند در بهبود جذب این عناصر و افزایش کیفیت گیاهان دارویی موثر باشند. در این راستا *خائوسا*[9] و همکاران (2006)، گزارش کردند که کاربرد قارچ میکوریز آربوسکولار و همزیستی در گیاه *Origanum sp.* مایه افزایش توده زیستی و عملکرد اسانس شده است. *کاپور*[10] و همکاران (2007) نیز گزارش کردند با کاربرد دو گونه قارچ میکوریز آربوسکولار از جنس *گلوموس* با سه توده محلی *Artemisia annua* افزایش عملکرد تر و خشک و مواد معدنی پیکر رویشی دیده شد. میزان اسانس و درصد آرتمیزین در برگ‌های گیـــاه نیز افزایش یافت. آزمایش‌های *کاپور* و همکاران (2004) نشان داد که کاربرد دو گونه قارچ میکوریز *Glomus fasciculatum* و *Glomus macrocarpum* در گیاه رازیانه مایه افزایش رشد و میزان اسانس شد به‌گونه‌ای که قارچ *Glomus fasciculatum* میزان اسانس رازیانه را ۷۸ درصد نسبت به گیاهان شاهد افزایش داد. *گوپتا*[11] و همکاران (2002) گزارش کردند که با کاربرد قارچ میکوریزی *Glomus fasciculatum* بر روی سه رقم نعناع منتول‌دار در شرایط ناسترون، افزایش میزان اسانس

1. Stahl-Biskup and Saez
2. Reshinger
3. Sekar and Kandavel
4. Plant Growth Promoting Micro-organisms
5. Biological Control Agents

6. Vassilev *et al*.
7. Sylvia and Williams
8. Sainz *et al*.
9. Khaosaad *et al*.
10. Kapoor *et al*.
11. Gupta *et al*.

به‌دست آمد. *الدین*[1] و همکاران (2008) گزارش کردند که پیش‌تیمار پیازهای زعفران با باکتری *باسیلوس سابتلیس* قبل از کشت، باعث افزایش کیفیت زعفران شد. یافته‌های *فلورسا*[2] و همکاران (2010) نشان داد که که با کاربرد همزمان میکوریز آربوسکولار و باکتری خاکزی تحریک‌کننده رشد در کشت گل همیشه‌بهار، جذب مواد غذایی، تولید متابولیت‌های ثانویه و عملکرد و کیفیت بالاتر دیده شد. با توجه به اینکه در گیاهان راه ساخت متابولیت‌های ثانویه ویژه‌ای با ریزجانداران برانگیخته می‌شود (*سکار و کانداول*، 2010)، بنابراین بررسی پیامد انگیزشی مواد تراوش یافته از ریزجانداران بر متابولیت‌های ثانویه در گیاهان دارویی در پژوهش‌ها جایگاه ویژه‌ای دارد (*ژائو*[3] و همکاران، 2005). در این پژوهش برای نخستین بار بار اثر قارچ‌های میکوریز آربوسکولار بومی ایران و همچنین باکتری‌های کارآ در کنترل بیولوژیکی آفات و بیماری‌ها و برهمکنش آنها بر جذب شماری از عناصر و عملکرد اسانس در گیاه بومی و ارزشمند ایران (آویشن دنایی) بررسی شد.

مواد و روش‌ها

برای ارزیابی اثر برهمکنش قارچ‌های میکوریز آربوسکولار و باکتری‌های کنترل‌کننده بیولوژیک آفات و بیماری‌ها، برجذب شماری از عناصر غذایی و عملکرد اسانس گیاه دارویی *Thymus daenensis*، آزمایشی به‌صورت کرت‌های خردشده در قالب بلوک‌های کامل تصادفی با ۶ تیمار و ۳ تکرار در سال زراعی ۹۱-۱۳۹۰ در مزرعه مرکز تحقیقات کشاورزی و منابع طبیعی استان سمنان (منطقه شهمیرزاد) اجرا شد. تیمارهای بررسی‌شده شامل عامل اصلی در دو سطح (عدم‌تلقیح و تلقیح با قارچ میکوریز آربوسکولار گونه *Glomus mosseae*) و عامل فرعی نیز باکتری‌های(BCA)، در سه سطح (عدم‌تلقیح با باکتری، تلقیح با باکتری *Bacillus subtilis* و تلقیح با باکتری *Pseudomonas fluorescens*) بودند. ویژگی‌های مورد مطالعه شامل جذب عناصر منیزیم، منگنز، روی و درصد کلونیزاسیون ریشه و عملکرد اسانس در گیاه دارویی *T. daenensis* بود. در آغاز نشاء آویشن در گلخانه مرکز تحقیقات کشاورزی و منابع طبیعی استان سمنان در شرایط غیراستریل تولید شد. مایه تلقیح میکوریزایی به گونه اندام فعال قارچی (شامل اسپور، هیف و قطعات ریشه آلوده به میکوریزا) از شرکت زیست‌فناور توران تهیه گردید، که به‌صورت مخلوط با بذر (۲۰ گرم مخلوط با بذر آویشن برای هر مترمربع) به‌کار رفت. گونه‌های باکتری‌های *باسیلوس و سودوموناس* از مرکز ملی ذخایر ژنتیکی و زیستی ایران فراهم شدند و پس از تکثیر به میزان موردنظر (در حدود 10^7 باکتری فعال در هر میلی‌لیتر مایع) نسبت به آغشته‌سازی بذور هنگام کشت در کرت‌های آماده شده برای تولید نشاء در گلخانه اقدام شد. بذور آویشن دنایی به‌کار رفته در این پژوهش، توسط بخش گیاهان دارویی مرکز تحقیقات کشاورزی و منابع طبیعی استان سمنان فراهم گردید. بذور آویشن در تاریخ ۹۰/۱۰/۲۶ در کرت‌های آماده شده در گلخانه کشت شدند. هر کرت آزمایشی در گلخانه شامل ۸ خط کاشت به فواصل ۱۰ سانتی‌متر و به طول ۱ متر و آبیاری به گونه سیستم مه‌افشان (میست) بود. زمین اصلی در محل مزرعه شهمیرزاد در ایستگاه مرکز خدمات ترویجی، واقع در ۸ کیلومتری شهرستان مهدیشهر با عرض جغرافیایی ۳۵ درجه و ۴۵ دقیقه شمالی و ۵۶ ثانیه، طول جغرافیایی ۵۳ درجه و ۲۱ دقیقه و ۱۱ ثانیه شرقی، ارتفاع از سطح دریا ۱۹۰۰ متر قرار داشت. هر کرت آزمایشی در زمین اصلی شامل ۶ عدد خط ۴ متری با فاصله ۵۰ سانتی‌متر و فاصله بین بوته‌ها در هر ردیف ۳۰ سانتی‌متر بود. فاصله بین دو کرت ۱ متر و فاصله بین دو تکرار نیز ۲ متر در نظر گرفته شد. به‌عنوان پیش‌تیمار کود آلی کاملاً پوسیده به‌مقدار ۱۰ تن در هکتار با خاک کرت‌های آماده شده آمیخته شد، پیش از کاشت نشاء در زمین اصلی، برای بررسی ویژگی‌های فیزیکی و شیمیایی خاک مزرعه، از عمق صفر تا ۳۰ سانتی‌متری نمونه-برداری انجام شد و نمونه‌های خاک به همراه یک نمونه از کودآلی کاربردی در آزمایشگاه مرکز تحقیقات کشاورزی و منابع طبیعی استان سمنان آزمایش شدند (جداول ۲و ۱). نشاهای آماده شده در تاریخ (۹۱/۲/۲) به زمین اصلی منتقل گردید. نخستین آبیاری پس از کاشت نشاء و آبیاری‌های بعدی به فاصله هر ۵ روز یک‌بار با سیستم آبیاری قطره‌ای انجام شد. مبارزه با علف‌های‌هرز مزرعه نیز در سه نوبت به گونه مکانیکی و با دست انجام شد. در پایان فصل رشد، نسبت به برداشت اول از مزرعه پژوهشی اقدام گردید. در این آزمایش، عملیات برداشت سال اول در تاریخ (۹۱/۵/۱۵) در مرحله۷۰ درصد گل‌دهی گیاهان آویشن دنایی انجام شد. هنگام برداشت دو خط از طرفین حذف و از هر طرف کرت نیز یک متر به‌عنوان حاشیه در نظر گرفته شد. محصول تر هر کرت توزین گردید. سپس نمونه‌هایی از آن در داخل آون در دمای ۷۰ درجه

1. Eldin *et al*.
2. Floresa *et al*.
3. Zhao *et al*.

سانتی‌گراد به‌مدت ۴۸ ساعت گذاشته شد. مانده محصول نیز در سایه و در جریان باد، خشک شد. برای تعیین غلظت عناصر غذایی در نمونه‌های گیاهی پس از خشک‌شدن در آون و پودر شدن، عصاره (به‌روش هضم توسط اسیدسولفوریک، اسیدسالیسیلیک، آب‌اکسیژنه و سلنیم) آماده شد (امامی، ۱۳۷۵). بدین‌گونه عناصر منیزیم، منگنز و روی توسط دستگاه جذب اتمی اندازه‌گیری شدند (امامی، ۱۳۷۵). برای استخراج اسانس در آغاز درصد رطوبت هر نمونه اندازه‌گیری شد و سپس ۱۰۰ گرم از گیاه خشک شده در سایه و در جریان باد، آسیاب گردید و به‌مدت ۲ ساعت با استفاده از روش تقطیر با آب (با دستگاه کلونجر) درصد اسانس نمونه تعیین شد. برای اندازه‌گیری درصد همزیستی ریشه‌ها با قارچ میکوریز آربوسکولار، همزمان با برداشت بوته‌ها، از ریشه‌های آنها به‌ویژه ریشه‌های مویین و نازک، نیز نمونه‌برداری شد. سپس ریشه‌ها به دقت با آب مقطر شستشو شده و از محلول FAA (Formalin Acetic AcidAllcohol) برای تثبیت ریشه‌ها بهره‌گیری شد. گام‌های رنگ‌بری ریشه‌ها و سپس رنگ‌آمیزی آن‌ها بر پایه روش *فیلیپس* و *هیمن*[1] (1970) انجام شد. درصد میکوریزی شدن ریشه به‌روش خطوط متقاطع (Gridlin Intersect Method) ارزیابی شد *راجاپاکز و میلر*[2] (1992). بدین‌گونه که در مورد هر تیمار، ریشه‌های رنگ‌آمیزی شده به قطعات یک سانتی‌متری برش داده شده و به‌همراه محلول رنگ بر لاکتوگلیسرول روی پلیت شیشه‌ای قرار گرفتند. سپس قطعات ریشه از نظر وجود اندام‌های قارچی (هیف، آربوسکولار و وزیکول‌ها) در محل تلاقی نقاط مختلف ریشه با خطوط افقی و عمودی کاغذ شطرنجی با میکروسکوپ تشریحی بررسی شدند و نتایج به‌صورت درصد بیان گردید. جهت تجزیه و تحلیل داده‌های به‌دست آمده و محاسبه ضریب‌های همبستگی از نرم‌افزار SPSS، برای ترسیم نمودارها از نرم‌افزار Excel استفاده شد و مقایسه میانگین‌های به‌دست آمده با آزمون چنددامنه‌ای دانکن در سطح ۵ درصد انجام شد.

نتایج

جذب منیزیم

تجزیه واریانس داده‌ها نشان داد که اثر ساده کاربرد میکوریز و باکتری‌های (BCA) و همچنین برهمکنش آن‌ها بر میزان جذب منیزیم در برگ همگی در سطح یک درصد معنی‌دار شدند (جدول ۳). مقایسه میانگین تیمارها نشان داد که تیمار با قارچ میکوریز سبب ۶۰ درصد افزایش در جذب منیزیم در برگ گیاه نسبت به تیمار شاهد شد (جدول ۳). اثر کاربرد باکتری‌های (BCA) نیز مشخص نمود که کاربرد باکتری *باسیلوس سابتلیس* منجر به ۲۳ درصد افزایش معنی‌دار جذب منیزیم در برگ آویشن دنایی نسبت به تیمار شاهد شد، اما تیمار با باکتری *سودوموناس فلورسنس* با ۴۵ درصد کاهش جذب منیزیم در هکتار نسبت به تیمار شاهد در پایین‌ترین سطح قرار گرفت (جدول ۵). مقایسه میانگین برهمکنش میکوریز و باکتری‌های به‌کار رفته نشان داد که بیش‌ترین میزان جذب منیزیم در هکتار در کاربرد همزمان میکوریز و باکتری *باسیلوس سابتلیس* به‌دست آمد که ۲ برابر گیاهان شاهد بود، در سطح بعدی تیمار کاربرد میکوریز به‌تنهایی قرار داشت. کمترین میزان جذب منیزیم در هکتار نیز مربوط به تیمار با باکتری *باسیلوس سابتلیس* به‌تنهایی و تیمار کاربرد همزمان میکوریز و باکتری *سودوموناس فلورسنس* بود (جدول ۵).

جذب منگنز

تجزیه واریانس داده‌ها نشان داد که پیامد ساده کاربرد میکوریز و باکتری‌های (BCA) و همچنین برهمکنش آن‌ها بر میزان منگنز برگ گیاه آویشن دنایی در هکتار در سطح یک درصد معنی‌دار شدند (جدول ۳). مقایسه میانگین اثر ساده کاربرد میکوریز نشان داد که تیمار با قارچ میکوریز مایه افزایش جذب منگنز در هکتار به‌میزان ۸۰ درصد نسبت به گیاهان شاهد شد. مقایسه میانگین اثر باکتری‌های (BCA) نشان داد که کاربرد باکتری *باسیلوس سابتلیس* منجر به ۲۵ درصد افزایش معنی‌دار جذب منگنز در گیاه آویشن دنایی در هکتار نسبت به تیمار شاهد گردید درحالی‌که تیمار با باکتری *سودوموناس فلورسنس* با ۴۳ درصد کاهش در جذب منگنز نسبت به تیمار شاهد کم-ترین میزان منگنز را به‌خود اختصاص داد (جدول ۳). مقایسه میانگین برهمکنش تیمارها نشان داد که بیش‌ترین اندازه منگنز برگی با ($۵۷۵g.h^{-1}$) مربوط به کاربرد همزمان میکوریز و باکتری *باسیلوس سابتلیس* بود و پس از آن تیمار کاربرد میکوریز به‌تنهایی با جذب منگنزی معادل ($۳۶۷g.h^{-1}$) قرار داشت که نسبت به تیمارهای دیگر و تیمار شاهد با اندازه منگنزی برابر ($۲۲۲g.h^{-1}$) افزایش معنی‌دار نشان دادند (جدول ۳).

1. Phillips and Hayman
2. Rajapakes and Miller

جدول ۱: خصوصیات فیزیکوشیمیایی خاک مزرعه

Table 1: Physical and chemical properties of the soil

نیتروژن کل Total Nitrogen (%)	فسفر در دسترس Available Phosphorus (ppm)	پتاسیم در دسترس Available Potassium (ppm)	هدایت الکتریکی EC ($dS.m^{-1}$)	اسیدیته pH
0.06	10.5	175.74	1.8	7.8

جدول ۲: خصوصیات فیزیکوشیمیایی کود ورمی کمپوسته به‌کاررفته

Table 2: Physical and chemical properties of the vermi compost

نیتروژن کل Total Nitrogen (%)	پتاسیم کل Total Potassium (%)	فسفر کل Total Phosphorus (%)	C/N	هدایت الکتریکی EC ($dS.m^{-1}$)	اسیدیته pH
1.07	1.04	0.750	17.82	2.17	7.8

جدول ۳: نتایج تجزیه واریانس اثر کودهای زیستی مختلف بر غلظت مواد معدنی، عملکرد اسانس و کلونیزاسیون ریشه در گیاه آویشن دنایی

Table 3: ANOVA results for nutrient content, essential oil yiled and root colonization of *Thymus daenensis* plants exposed to different bio-fertilizer

	میانگین مربعات Mean of Squares					
عملکرد اسانس Essential Oil Yield	کلونیزاسیون Colonization	روی Zn	منگنز Mn	منیزیم Mg	درجه آزادی df	منابع تغییرات Source of Variation
68.185^{ns}	413.423^{ns}	157.521^{ns}	222.44^{ns}	5040.544^{ns}	2	Replication
692.292^{ns}	269970.4^{**}	323112^{**}	123378.5^{**}	527266.9^{**}	1	FactorA
888.092	85.756	212.394	646.802	3268.362	2	Error(a)
392.842^{ns}	15288.86^{**}	78816.67^{**}	41808.26^{**}	254956.4^{**}	2	FactorB
6836.501^{**}	20115.38^{**}	140838.6^{**}	80475.57^{**}	548310.7^{**}	2	AB
289.571	313.733	588.173	1357.709	3829.599	8	Error(b)
%28.64	10.97%	5.86%	12.68%	8.42%		CV%

ns: عدم‌وجود اختلاف معنی‌دار، * و ** به‌ترتیب در سطح ۵ و ۱ درصد معنی‌دار است. A = تیمار میکوریزی B= تیمار با باکتری (BCA)

ns: Non-significant , * and **: Significant at 5% and 1% probability levels, respectively. A= mycorrhizal treatments, B= biological control agents (BCA) treatments

جذب روی

تجزیه واریانس داده‌ها بیانگر آن بود که اثر ساده کاربرد تیمارها و همچنین برهمکنش میکوریز و باکتری‌های (BCA) بر اندازه جذب عنصر روی در برگ همگی در سطح یک درصد معنی‌دار شدند (جدول ۳). مقایسه میانگین تیمارها نشان داد که کاربرد قارچ میکوریز منجر به ۹۶ درصد افزایش در جذب روی در هکتار توسط گیاه آویشن دنایی نسبت به گیاهان شاهد شد (جدول ۴). کاربرد باکتری *باسیلوس سابتلیس* مایه ۲۰ درصد افزایش معنی‌دار جذب روی در هکتار نسبت به تیمار شاهد شد درحالی‌که کمترین اندازه جذب روی با ($۲۹۱g.h^{-1}$) در تیمار با باکتری *سودوموناس* بود که منجر به ۴۷ درصد کاهش در جذب روی در هکتار نسبت به گیاهان شاهد شد (جدول ۳). مقایسه میانگین برهمکنش ریزجانداران ریزوسفری نشان داد که بیش‌ترین اندازه جذب روی در هکتار مربوط به کاربرد همزمان میکوریز و باکتری *باسیلوس سابتلیس* با ($۷۹۹g.h^{-1}$) بود که نسبت به تیمارهای دیگر افزایش معنی‌دار نشان داد (جدول ۳).

جدول ۴: مقایسه میانگین‌های اثر تیمار میکوریزی بر غلظت مواد معدنی، عملکرد اسانس و کلونیزاسیون ریشه در گیاه آویشن دنایی

Table 4: Effect of mycorrhizal treatments on mean nutrient content ($g.ha^{-1}$), Essential Oil Yiled ($kg.ha^{-1}$) and root colonization (%) of *Thymus daenensis* plants

عملکرد اسانس Essential oil Yield ($kg.h^{-1}$)	کلونیزاسیون Colonization (%)	روی Zn ($g.h^{-1}$)	منگنز Mn ($g.h^{-1}$)	منیزیم Mg ($g.h^{-1}$)	تیمار میکوریزایی Mycorrhizal treatments
53.206a	7.81b	279.82b	207.879b	563.681b	M-
65.609a	56.8a	547.781a	373.461a	905.982a	M+

در هر ستون بین تیمارهایی که دارای حروف مشابه هستند براساس آزمون دانکن در سطح پنج درصد اختلاف معنی‌داری وجود ندارد.

(M-)= عدم‌کاربرد میکوریز، (M+)= کاربرد میکوریزا

Means in each column followed by similar letter(s), are not significantly different at 5% probability level, using Duncan's Multiple Range Test.

(M-)= non- mycorrhizal plants, (M+)= mycorrhizal plants

جدول ۵: مقایسه میانگین‌های اثر تیمار باکتری‌های (BCA) بر غلظت مواد معدنی، عملکرد اسانس و کلونیزاسیون ریشه در گیاه آویشن دنایی

Table 5: Effect of BCA treatments on mean nutrient content($g.ha^{-1}$), Essential oil yiled ($kg.ha^{-1}$) and root colonization (%) of *Thymus daenensis* plants

عملکرد اسانس Essential Oil Yield ($kg.h^{-1}$)	کلونیزاسیون Colonization (%)	روی Zn ($g.h^{-1}$)	منگنز Mn ($g.h^{-1}$)	منیزیم Mg ($g.h^{-1}$)	تیمار با کنترل کننده‌های زیستی BCA treatments
67.918a	42.86a	430.956b	295.246b	755.45b	None
58.49a	22.75c	291.577c	205.002c	519.159c	*P. fluorescens*
51.813a	31.30b	518.869a	371.763a	929.885a	*B. subtilis*

در هر ستون بین تیمارهایی که دارای حروف مشابه هستند براساس آزمون دانکن در سطح پنج درصد اختلاف معنی‌داری وجود ندارد

Means in each column followed by similar letter(s), are not significantly different at 5% probability level, using Duncan's Multiple Range Test

درصد کلونیزاسیون ریشه

بر پایه تجزیه واریانس داده‌های آزمایش، اثر ساده کاربرد میکوریز و باکتری‌های (BCA) و همچنین برهمکنش تیمارها بر درصد کلونیزاسیون ریشه همگی در سطح یک درصد معنی-دار شدند (جدول ۲). مقایسه میانگین تیمارها نشان داد که کاربرد قارچ میکوریز سبب ۵۶/۸ درصد آغشتگی ریشه در گیاه آویشن دنایی شد درحالی‌که در گیاهان شاهد درصد آغشتگی ریشه ۷/۸۱ درصد بود (جدول ۲). مقایسه میانگین برهمکنش میکروارگانیسم‌های ریزوسفری مشخص کرد که بیشترین درصد کلونیزاسیون ریشه به‌ترتیب مربوط به کاربرد میکوریز به‌تنهایی (۸۰/۶۶٪)، کاربرد همزمان میکوریز و باکتری *باسیلوس سابتلیس* (۴۸٪)، کاربرد توأم میکوریز و باکتری سودوموناس فلورسنس (۴۱/۷۳٪) و کم‌ترین اندازه کلونیزاسیون مربوط به شاهد (۵/۰۶٪) و کاربرد باکتری *سودوموناس فلورسنس* به‌تنهایی (۳/۷۶٪) بود (جدول ۳).

عملکرد اسانس در هکتار

بر پایه یافته‌های تجزیه واریانس داده‌ها (جدول ۳) برهمکنش میکوریز و باکتری‌های(BCA) بر عملکرد اسانس در هکتار در سطح یک درصد معنی‌دار شد. ولی اثر ساده تیمارها بر عملکرد اسانس معنی‌دار نشد. مقایسه میانگین اثر متقابل تیمارها نشان داد که بیشترین عملکرد اسانس در هکتار در تیمار کاربرد همزمان میکوریز و باکتری *باسیلوس سابتلیس* با ۱۰۴/۳۱۷ کیلوگرم بر هکتار به‌دست آمد که نزدیک ۲ برابر بیشتر از عملکرد اسانس گیاهان شاهد بود و ۴۸ درصد از تیمار با میکوریز به‌تنهایی و ۳ برابر نیز از تیمار با باکتری *باسیلوس سابتلیس* بیشتر بود، پس از آن تیمار با باکتری *سودوموناس فلورسنس* با ۸۲/۵۳ کیلوگرم بر هکتار بود که منجر به ۷۸ درصد افزایش عملکرد اسانس نسبت به گیاهان شاهد شد (جدول ۶).

ضریب‌های همبستگی بین درصد کلونیزاسیون ریشه و شاخص‌های مورد ارزیابی (جدول ۷) نشان داد که درصد کلونیزاسیون ریشه با اندازه جذب منگنز در هکتار (r=۰/۵۲۸)

در سطح پنج درصد، جذب روی در هکتار (r=۰/۶۴۱) در سطح یک درصد همبستگی مثبت معنی‌دار نشان داد، اما همبستگی بین درصد کلونیزاسیون ریشه با اندازه جذب منیزیم و عملکرد اسانس دیده نشد.

جدول ۶: مقایسه میانگین‌های اثرات متقابل تیمار میکوریزی و باکتری‌های (BCA) بر غلظت مواد معدنی، عملکرد اسانس و کلونیزاسیون ریشه در گیاه آویشن دنایی

Table 6: Intraction of Mycorrhizal and BCA treatments on mean nutrient content ($g.ha^{-1}$), Essential oil yiled ($kg.ha^{-1}$) and root colonization (%) of *Thymus daenensis* plants

تیمار میکوریزایی Mycorrhizal Treatments	تیمار با کنترل کننده‌های زیستی BCA treatments	منیزیم Mg ($g.h^{-1}$)	منگنز Mn ($g.h^{-1}$)	روی Zn ($g.h^{-1}$)	کلونیزاسیون Colonization (%)	عملکرد اسانس Essential Oil Yield ($kg.h^{-1}$)
M-	None	637.411c	222.832c	285.376cd	5.066d	46.043cd
	P. fluorescens	620.233c	232.486c	316.277c	3.76d	82.053ab
	B. subtilis	433.398d	168.32c	237.809e	14.60c	31.52d
M+	None	873.489b	367.661b	576.536b	80.66a	70.937bc
	P. fluorescens	418.086d	177.517c	266.877de	41.73b	21.573d
	B. subtilis	1426.372a	575.206a	799.928a	48b	104.317a

در هر ستون بین تیمارهایی که دارای حروف مشابه هستند بر اساس آزمون دانکن در سطح پنج درصد اختلاف معنی‌داری وجود ندارد

Means in each column followed by similar letter(s), are not significantly different at 5% probability level, using Duncan's Multiple Range Test.

(M-)= non- mycorrhizal plants, (M+)= Mycorrhizal plants

جدول ۷: ضریب‌های همبستگی (Pearson) بین درصد کلونیزاسیون با شاخص‌های اندازه‌گیری‌شده در گیاه آویشن دنایی

Table7. Pearson Correlation(2-tailed) between root colonization(%) and meagered parameters on *Thymus daenensis* plants

	منیزیمMg ($g.h^{-1}$)	منگنزMn ($g.h^{-1}$)	رویZn ($g.h^{-1}$)	کلونیزاسیون Colonization (%)	عملکرد اسانس Essential Oil Yield ($kg.h^{-1}$)
Root colonization	0.442^{ns}	0.528^{*}	0.641^{**}	1	0.240^{ns}

ns: عدم‌وجود اختلاف معنی‌دار، * و ** به‌ترتیب در سطح ۵ و ۱ درصد معنی‌دار است

ns: Non-significant, * and **: Significant at 5% and 1% probability levels, respectively

بحث

در این پژوهش تیمار با قارچ میکوریز آربسکولار *G. mosseae* منجر به افزایش درصد کلونیزاسیون ریشه در حدود ۷/۲ برابر گیاهان آویشن غیرمیکوریزی شد، به‌دنبال آن افزایش چشمگیر جذب منیزیم، منگنز و روی دیده شد و درصد کلونیزاسیون ریشه با اندازه جذب منگنز و روی در هکتار همبستگی مثبت معنی‌دار نشان داد، اما همبستگی معنی‌داری با اندازه جذب منیزیم نشان نداد. بسیاری از پژوهشگران افزایش جذب ریزمغذی‌ها در گیاه در اثر همزیستی میکوریزی را گزارش کرده اند (*اسمیت و رید*[1]، 1997 و *کلارک و زتو*[2]، 2000). *آل-کاراکی*[3] (2000) گزارش کرد که جذب عناصر غذایی که در خاک جنبش کمی دارند مانند فسفر، روی و مس تحت تأثیر کاربرد قارچ‌های میکوریزی در گیاه افزایش می‌یابد، افزایش جذب منگنز نیز در گیاهان میزبان قارچ‌های میکوریز آربوسکولار دیده شده است (*کلارک و زتو*، 1996). *ولینگ*[4] و همکاران (1991) گزارش کردند که مقدار عنصر روی جذب شده در گیاه با درصد کلونیزاسیون رابطه مثبت داشته است. در تراوش‌های ریشه گیاهان میکوریزی ترکیب‌هایی مانند اسیدهای آمینه و اسیدهای‌کربوکسیلیک شناسایی شده و این فرضیه پیشنهاد شده است که کمپلکس پدید آمده از این ترکیب‌ها و عنصر روی منجر به افزایش سرعت پخشیدگی این عنصر شده و بدین‌گونه

1. Smith and Read
2. Clarck and Zeto
3. Al- Karaki
4. Welling *et al*.

در همزیستی میکوریزی، روی بیشتری جذب گیاه میزبان می‌شود (*شارما و جوری*[1]، 2002). یافته‌های این پژوهشگران نتایج این تحقیق را مورد تأئید قرار می‌دهد. در این آزمایش پیامد ساده کاربرد مایه تلقیح *G. mosseae* اثر معنی‌داری بر میزان *عملکرد* اسانس در هکتار ایجاد نکرد. *کوپتا*[2] و همکاران (2006) با آزمایش‌هایی که بر روی گیاه *Ocimum basilicum* انجام دادند گزارش کردند که قارچ‌های میکوریزی متفاوت می‌توانند اثرات گوناگونی بر عملکرد اسانس در یک گیاه داشته باشند (اثر مثبت، خنثی تا منفی)، در آزمایشی دیگر کاربرد قارچ *G. mosseae* بر گیاه *Origanom vulgare* تغییری در عملکرد اسانس این گیاه در پی نداشت (*مورونه- فورچناتو*[3]، 2008). نتایج این پژوهشگران نیز با یافته‌های این آزمایش همخوانی دارد. در این پژوهش تیمار بذور آویشن دنایی با باکتری *B. subtilis* مایه افزایش چشمگیر اندازه جذب عناصر منیزیم، منگنز و روی نسبت به گیاهان شاهد گردید، اما پیامد چشمگیری بر اندازه عملکرد اسانس نداشت. کاهش درصد کلونیزاسیون ریشه نیز در گیاه آویشن دنایی در اثر کاربرد باکتری *B. subtilis* مشاهده شد. نتایج مشابهی توسط تعدادی از پژوهشگران منتشر شده است، افزایش حلالیت مواد غذایی ماکرو و میکروالمنت در اثر مواد آلی کلات‌کننده مختلف از جمله سیدروفورها توسط باکتری‌های افزاینده رشد در تحقیقات *گلیک*[4] و همکاران (2007) نیز مورد تأیید قرار گرفت. باکتری *P. fluorescens* به‌کار رفته در این آزمایش سبب کاهش چشمگیر در جذب منیزیم، منگنز، روی و همچنین کاهش معنی‌دار درصد کلونیزاسیون ریشه نسبت به گیاهان شاهد گردید. در خصوص مکانیسم‌های اثر باکتری *P. fluorescens* می‌توان به ساخت ترکیب‌های ضدمیکروبی *ثرین*[5] و همکاران (2000)، رقابت *الیس*[6] و همکاران (1999) و تحریک مکانیسم دفاعی گیاه *انجنا*[7] و همکاران (2002) اشاره کرد، اثرات مربوط به انگیزش رشد گیاه در باکتری‌های بکار رفته در کنترل زیستی آفات و بیماری‌ها در بررسی‌های بسیاری گزارش شده است *کلوپر*[8] و همکاران (1988) و *کانگ*[9] و همکاران (2006)، ولی یافته‌های این پژوهش پژوهش نمایانگر کاهش جذب عناصر غذایی بررسی شده در اثر تیمار با این سویه باکتری *سودوموناس فلورسنس* بود. *ساهین*[10] و همکاران (2004) گزارش کردند که پیامد کاربرد باکتری‌های حل‌کننده فسفات بر روی رشد گیاه به‌گونه معنی‌داری اختلاف نشان می‌دهد و این تغییرات تحت تأثیر شرایط محیطی، سویه باکتری، گیاه میزبان و شرایط خاکی است. کاربرد همزمان *G. mosseae* و *B. subtilis* گرچه منجر به کاهش درصد کلونیزاسیون ریشه در مقایسه با تیمار میکوریز به‌تنهایی شد، اما اثرات هم‌افزایی این ترکیب در جذب عناصر منیزیم، منگنز و روی و همچنین در افزایش عملکرد اسانس آویشن دنایی به حدود ۲ برابر گیاهان شاهد کاملاً نمایان بود. از آن‌جا که اسانس‌ها ترکیب‌های ترپنوئیدی بوده که واحدهای سازنده آنها نیاز مبرم به ATP و NADPH دارند، بنابراین بودن عناصری مانند روی و منگنز برای پیدایش ترکیب‌های یادشده ضروری می‌باشند (*لومیس و کورتیو*[11]، 1972). منگنز آنزیم‌های انتقال گروه فسفات و ATP را به هم‌دیگر پیوند می‌دهد، همچنین این عنصر در فعال‌سازی آنزیم‌های پرشماری که با متابولیسم کربوهیدرات‌ها، واکنش‌های فسفری‌شدن و چرخه اسیدسیتریک سروکار دارند، کارآیی دارد منگل و کرکبی (۱۳۷۲). درباره عنصر روی نیز می‌توان به نقش آن در افزایش کارآیی جذب نیتروژن و فسفر در گیاه اشاره کرد، (*رومهلد* و *ماچنر*[12]، 1991)، یون منیزیم، نیز می‌تواند ATP را با کمپلکس آنزیمی (فسفوکینازها و فسفوترانسفرازها) پیوند دهد سپهر (۱۳۷۷)، از سوی دیگر *کریشناپا*[13] و همکاران (1994) در آزمایشی اثر عناصر روی و منگنز را بر روی گیاه بادام‌زمینی بررسی کردند و دیدند که این عناصر باعث افزایش چشمگیری در مقدار روغن دانه شدند. در آزمایش حاضر می‌توان علت افزایش ۲ برابری عملکرد اسانس در تیمار دوگانه *G. mosseae* و *B. subtilis* را وابسته به افزایش چشمگیر جذب عناصر منگنز، روی و منیزیم در این تیمار نسبت به تیمارهای دیگر دانست. در بسیاری از موارد برهمکنش قارچ‌های میکوریز آربوسکولار و باکتری‌های (BCA) اثر هم‌افزایی نشان داده‌اند (*اسمیت و رید*، 2008). *رایمن*[14] و همکاران (2007) اثر هم‌افزایی بر رشد و بهبود وضعیت جذب مواد غذایی ناشی از تلقیح دوگانه قارچ میکوریز آربوسکولار و باکتری‌های مناسب در برنج، *فلورسا* و

1. Sharma and Johri
2. Copetta *et al.*
3. Morone- Fortunato
4. Glick *et al.*
5. Thrane *et .al*
6. Ellis *et al.*
7. Ongena *et al.*
8. Kloepper *et al.*
9. Kang *et al.*
10. Sahin *et al.*
11. Loomis and corteau
12. Romheld and Machner
13. Krishnappa *et al.*
14. Raiman *et al.*

همکاران (2010) اثر هم‌افزایی در اثر کاربرد همزمان میکوریز آربوسکولار و باکتری خاکزی تحریک‌کننده رشد در کشت گل همیشه‌بهار را گزارش کردند. در این پژوهش کاربرد همزمان قارچ میکوریز *G. mosseae* و باکتری *P. fluorescens* اثرات هم‌کاهی (آنتاگونیستی) نمایانی را نشان داد و مایه کاهش جذب عناصر منیزیم و روی نسبت به تیمارهای دیگر شد و در پی آن کاهش در عملکرد اسانس آویشن دنایی در هکتار دیده شد. *راونسکف*[1] و همکاران (2006) پیامد زیانبار کاربرد دوگانه *G. intraradices* و باکتری‌های ریزوسفری (با کارکرد کنترل زیستی آفات و بیماری‌ها) را همانند این پژوهش در کاربرد دوگانه *G. mosseae* و *P. fluorescens* گزارش کردند. مطالعات انجام شده گویای آن است که تنها شمار کمی از سویه‌های باکتـــری‌ها با قارچ‌های میکوریـــزی می‌توانند به گونه مؤثر به‌کار رفته و اثر هم‌افزایی نشان دهند (*رویز- لوزانو و بونفانته*[2]، 2000). *کیم*[3]و همکاران (2010) نیز گزارش کردند که جذب میکروالمنت‌ها در اثر کاربرد همزمان برخی از گونه‌های قارچ‌های میکوریز آربسکولار و باکتری‌های ریزوسفری، افزایش می‌یابد. گزارش‌های *رکونا*[4] و همکاران (1997) نیز اختصاصی‌بودن برهمکنش گیاه، قارچ میکوریز آربوسکولار و گونه‌های باکتری‌های (BCA) را مورد تأکید قرار داد که با نتایج پژوهش حاضر همخوانی دارد. پیامدهای خنثی و یا حتی اثر منفی استفاده همزمان از چند میکروارگانیسم هم گزارش شده است (*دمیر*[5]، 2004). در پژوهش حاضر اثر آنتاگونیستی در کاربرد همزمان *G. mosseae* و *P. fluorescens* و اثر هم‌افزایی در کاربرد همزمان *G. mosseae* و *B. subtilis* در جذب عناصر غذایی و عملکرد اسانس گیاه آویشن دنایی دیده شد. کاربرد میکوریز به‌تنهایی بیشترین درصد کلونیزاسیون ریشه را ایجاد کرد ولی ترکیب میکوریزا و *B. subtilis* و تیمار توام *G. mosseae* و *P. fluorescens* هر دو سبب کاهش درصد کلونیزاسیون شدند. گرچه درصد کلونیزاسیون ریشه در کاربرد همزمان میکوریزا و *باسیلوس* نسبت به کاربرد میکوریزا به‌تنهایی کاهش نشان داد، اما اثربخشی بر جذب مواد مغذی و عملکرد اسانس در کاربرد همزمان این دو میکروارگانیسم مشاهده شد. *پاول*[6] (1991) گزارش کرد که افزایش درصد کلونیزاسیون ریشه گیاه میزبان با میکوریز، راهنمای خوبی برای قضاوت بر میزان اثربخشی میکوریز بر گیاه نیست. نتایج پژوهش‌های انجام شده نیز با یافته‌های تحقیق حاضر همخوانی دارد. مدیریت درست بهره-گیری از گونه‌های میکروبی کمکی با گیاهان دارویی در بهبود عملکرد و کیفیت آنها تأثیرگذار خواهد بود (*عبدل جلیل*[7] و همکاران، 2007). *ویپس*[8] (2004) تاکید کرد برای مشخص-شدن اثر بخشی کاربرد همزمان ریزجاندارهای سودمند بر روی سلامت و رشد گیاه باید در خصوص هر گیاه و ریز جاندار آزمایش جداگانه انجام شود. نتایج به‌دست آمده از این پژوهش نشان داد که بهره‌گیری از مایه تجاری قارچ میکوریز آربوسکولار (*G. mosseae*) برای کشت و پرورش نشاء آویشن دنایی می‌تواند مایه افزایش درصد کلونیزاسیون ریشه در مزرعه شود از سوی دیگر بر پایه یافته‌های به‌دست آمده همکاری باکتری‌های (BCA) با قارچ‌های میکوریز آربوسکولار در گیاه آویشن دنایی اختصاصی بود، به‌گونه‌ای که برهمکنش سودمند قارچ میکوریز (*G. mosseae*) و باکتری (*B. subtilis*) مایه افزایش چشمگیر عملکرد اسانس این گونه بومی آویشن در نتیجه بهبود تغذیه گیاه و جذب بیشتر عناصر میکرو و ماکرو شد. برتری تیمار کاربرد دوگانه قارچ میکوریز (*G. mosseae*) و باکتری (*B. subtilis*) نسبت به شاهد و کاربرد هر کدام از دو ریزجاندار به‌تنهایی مبین آن است که کاربرد این کود زیستی در سیستم کشاورزی پایدار ضمن بهبود ساختار و فعالیت ریزجاندارهای سودمند خاک وکاهش آفات و بیماری‌ها، مایه بهبود جذب عناصر غذایی گردیده که این به افزایش عملکرد اسانس آویشن دنایی و افزایش درآمد اقتصادی کشت این گونه منجر می‌گردد.

1. Ravnskov *et al*.
2. Ruiz-Lozano and Bonfante
3. Kim *et al*.
4. Requena *et al*.
5. Demir
6. Powell
7. Abdul-Jaleel *et al*.
8. Whipps

منابع

اکبری‌نیا، ا؛ شریفی‌عاشورآبادی، ا. و میرزا، م. (۱۳۸۹)، بررسی عملکرد، میزان و ترکیب‌های اصلی اسانس آویشن دنایی (*Thymus daenensis*) کشت‌شده در قزوین، فصلنامه علمی پژوهشی تحقیقات گیاهان دارویی و معطر ایران، (۲۶): ۲۰۵-۲۱۶.

امامی، ع. (۱۳۷۵)، روش‌های تجزیه گیاه، جلد اول، نشرآموزش کشاورزی، کرج، ۱۲۸ ص.

امیدبیگی، ر. (۱۳۷۹)، تولید و فرآوری گیاهان دارویی. جلد سوم. چاپ دوم، انتشارات آستان قدس رضوی، ۳۹۷ ص.

جلالی، ل. (۱۳۸۳)، تأثیر هیدرومورفولوژی شهمیرزاد بر مورفولوژی شهری. پایان‌نامه کارشناسی‌ارشد، دانشگاه آزاد اسلامی واحد تهران مرکزی، ۱۰۸ ص.

سپهر، ا. (۱۳۷۷)، بررسی اثر پتاسیم، منیزیم و عناصر ریزمغذی بر روی افزایش عملکرد و بهبود کیفیت آفتابگردان، پایان‌نامه کارشناسی‌ارشد خاکشناسی، دانشکده کشاورزی دانشگاه تربیت مدرس، ۸۹ ص.

ملکوتی، م. و طهرانی، م. (۱۳۷۸)، نقش ریزمغذی‌ها در افزایش عملکرد و بهبود کیفیت محصولات، عناصر خرد با تأثیر کلان، انتشارات تربیت مدرس، ۲۹۹ ص.

منگل، ک. و کرکبی، ا. (۱۳۷۶)، اصول تغذیه گیاه، ترجمه سالاردینی، ع. و مجتهدی، م. جلد دوم، انتشارات مرکز نشر دانشگاه تهران، ۳۰۵ ص.

Abdul-Jaleel, C., Manivannan, P., Sankar, B., Kishorekumar, A., Gopi, R., Omasundaram, R. and Panneerselvam, R.. 2007. *Pseudomonas fluorescensen* hances biomass yield and ajmalicine production in *Catharanthus roseus* under water deficit stress. Colloids and Surfaces B: Biointerfaces, 60: 7-11.

Al-Karaki, G. N. 2000. Growth of mycorrhizal tomato and mineral acquisition under salt stress. Mycorrhiza. 10: 51-54.

Clark, R. B. and Zeto, S. K. 1996. Iron acquisition by *mycorrhizal maize* grown on alkaline soil. Journal of Plant Nutrition, 19: 247-264.

Clark, R. B. and Zeto, S. K. 2000. Mineral acquisition by arbuscular mycorrhizal plants. Journal of Plant Nutrition, 23: 867-902.

Copetta, A., Lingua, G. and Berta, G. 2006. Effects of three AMfungi on growth, distribution of glandular hairs, andessential oil production of *Ocimum basilicum* L. var. Genovese. Mycorrhiza, 16: 485-494.

Demir, S. 2004. Influence of arbuscular mycorrhiza on some physiological growth parameters of pepper. Turkish Journal of Biology, 28: 85-90.

Eldin, M. S., Elkholy, S., Fernández, J., Junge, H., Cheetham, R., Guardiola, J. and Weathers, P. 2008. *Bacillus subtilis* FZB24® affects flower quantity and quality of saffron (*Crocus sativus*). Planta Medica, 74(10): 1316-1320.

Ellis, R. J., Timms-Wilson, T. M., Beringer, J. E., Rhodes, D., Renwick, A., Stevenson, L. and Bailey, M. J. 1999. Ecological basis for biocontrol of damping-off disease by *Pseudomonas fluorescens* 54/96. Journal of Applied Microbiology, 87: 454-463.

Floresa, A. C., Lunab, A. A. E. and Portugalb, V. O. 2010. Yield and quality enhancement of marigold flowers by inoculation with *Bacillus subtilis* and *Glomus fasciculatum.* Journal of Sustainable Agriculture, 31(1): 21-31.

Glick, BR., Todorovic, B., Czarny, J., Cheng, Z., Duan, J. and McConkey, B. 2007. Promotion of plant growth by bacterial ACC deaminase. Critical Reviews in Plant Sciences, 26: 227-242.

Gupta, M. L., Prasad, A., Ram, M. and Kumar, S. 2002. Effect of the vesicular-arbuscular mycorrhizal (VAM) fungus *Glomus fasiculatum*on the essential oil yield related characters and nutrient acquisition in the crops of different cultivars of mentol mint (*Menta arvensis*) under field condition. Journal of Bioresource Technology, 81(1): 77-79

Kapoor, R., Giri, B., Krishna, G. and Mukerji, I. 2004. Improved growth and essential oil yield and quality in *Foeniculum vulgare* Mill on mycorrhizal inoculation supplemented with P-fertilizer. Bioresource technology, 93: 307-311.

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

Kang, B. R., Yang, K. Y., Cho, B. H., Han, T. H., Kim, I. S., Lee, M. C., Anderson, A. J. and Kim,Y. C. 2006. Production of indole-3-acetic acid in the plant-beneficial strain *Pseudomonas chlororaphis* 06 is negatively regulated by the global sensor kinase Gacs. Current Microbiology, 52: 473-476.

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

Kim, K., Yim, W., Trivedi, P., Madhaiyan, M., Dekaobruah, H., Islam, M. and Lee, G. 2010. Synergistic effects of inoculating arbuscular mycorrhizal fungi and *ethylobacterium oryzae strains* on growth and nutrient uptake of red pepper (*Capsicum annuum* L.). Plant Soil, 327: 429-440.

Kloepper, J. W., Hume, D. J., Scher, F. M., Singleton, C., Tipping, B., Laliberte, M., Frauley, K., Kutchaw, T., Simonson, C., Lifshitz, R. and Zal Lee, L. 1988. Plant growth- promoting rhizobacteria on canola(rapeseed). Plant Disease, 72: 42-46.

Krishnappa, M., Srinivasan, C. N. and Sastry, I. A. 1994. Effect of macro and micronutrients on oil content groundnut. Agricultural Sciences, 23: 7-9.

Loomis, W. D. and Corteau, R. 1972. Essential oil biosynthesis. Recently Advance Phytochem, 6: 147- 185.

Morone-Fortunato, I. and Avato, P. 2008. Plant development and synthesis of essential oils inmicropropagated and mycorrhiza inoculated plantsof *Origanum vulgare* L. ssp. Hirtum (Link) Ietswaart. Plant Cell Tissue and Organ Culture, 93:139-149.

Ongena, M., Giger, A., Jacques, P., Dommes, J. and Thonart, P. 2002. Study of bacterial determinants involved in the induction of systemic resistance in bean *by Pseudomonas putida* BTP1. European Journal of Plant Pathology, 108:187-196.

Phillips, J. M. and Hayman, D. S. 1970. Improved procedures for clearing roots and staining parasitic and vesicular-arbuscular mycorrhizal fungi for rapid assessment of infection. Transactions of the British Mycological Society, 55: 158-161.

Powell, C. L. 1982. Effect of kale and mustard crops on response of white clover to VAM inoculation in pot trial. New Zealand Journal of Agricultural Research, 25: 461-464.

Raimam, M. P., Albino, U., Cruz, M. F., Lovato, G. M., Spago, F., Ferracin, T. P., Lima, D. S., Goulart, T., Bernardi, C. M., Miyauchi, M., Nogueira, M. A. and Andrade, G. 2007. Interaction among free-living N-fixing bacteria isolated from *Drosera villosa* var. villosa and AM fungi (*Glomus clarum*) in rice (*Oryza sativa*). Applied Soil Ecology, 35:25-34.

Rajapakes, S. and Miller, J. 1992. Methods for studing vesicular- arbuscular mycorrhizal root colonization and related root physical properties. Methods in Microbiology, 24: IBSN 0- 12-521524-X.

Ravnskov, S., Jensen, B., Knudsen, I. M. B., Bodker, L., Jensen, D. F., Karlinski, L. and Larsen, J. 2006. Soil inoculation with the biocontroi agent *Clonostachy rosea* and mycorrhizal fungus *Glomus intraradices* results in mutual inhibition, plant growth promotion and alteration of soil microbial communities. Soil Biology and Biochemistry, 38: 3453-3462.

Rechinger, K. H. 1982. Flora Iranica.1 ed. Akademische druck-und verlagsanstalt. Austria, No. 152.

Requena, N., Jimenez, I., Toro, M. and Barea, J. M. 1997. Interactions between plant-growth-promoting rhizobacteria (PGPR), arbuscular mycorrhizal fungi and *Rhizobium* spp. in the rhizosphere of *Anthyllis cytisoides*, a model legume for revegetation in Mediterranean semi-arid ecosystems. New Phytologist, 136: 667-677.

Romheld, V. and Marschner, H. 1991. Function of micronutrients in plants. In: Mortvedt, J. J., Shuman, L. M. and Welch, R. M. (Eds), Micronutrients in Agriculture. Published by Soil Science Society America,Inc. Madison, Wisconsin, USA. pp, 297-328.

Ruiz-Lozano, JM. and Bonfante, P. 2000. Intracellular Burkholderia of the arbuscular mycorrhizal fungus *Gigaspora margarita* possesses thevacBgene, which is involved in host cell colonization by bacteria. Microbial Ecology, 39: 137-144.

Sahin, F., Çakmakçi, R. and Kantar, F. 2004. Sugar beet and barley yields in relation to inoculation with N2-fixing and phosphate solubilizing bacteria. Plant and Soil, 265: 123-129.

Sainz, M. J., Taboada-Castro, M. T. and Vilarino, A. 1998. Growth, mineral nutrition and mycorrhizal colonization of red clover and cucumber plants grown in a soil amended with composted urban wastes. Plant and Soil, 205: 85-92 .

Sekar, S. and Kandavel, D. 2010. Intraction of plant growth promoting rizobacteria(PGPR) and endophytes with medicinal plants- new avenues for phytochemicals. Journal of Phytology, 2(7): 91-100.

Sharma, A. and Johri, B. N. 2003. Growth promoting influence of siderophore-producing *Pseudomonas* strains GRP3A and PRS9 in maize (*Zea mays* L.)under iron limiting conditions. Microbiological research, 158(3): 243-248.

Stahl-Biskup, E. and Saez, F. 2002. Thyme. 1thed. Taylor and Francis. England. 280 pp.

Smith, S. E. and Read, D. J. 1997. Mycorrhizal symbiosis.Academic Press, Great Britain. 520 pp.

Smith, S. E. and Read, D. J. 2008. Mycorrhizal Symbiosis, 3rdedn. Academic, San Diego, 800 pp.

Sylvia, D. M. and Williams, S. E. 1992. Vesicular-arbuscular mycorrhizae and environmental stress:101-124. In: Bethlenfalvay, G. J. and Linderman, R. G. (Eds.). Mycorrhizae in Sustainable Agriculture. Amer Society of Agronomy.

Thrane, C., Nielsen, T. H., Nielsen, M. N., Sorensen, J. and Olsson, S. 2000. Viscosinamide producing *Pseudomonas fluorescens* DR54 exerts a biocontrol effect on *Pythium ultimum* in sugar beet rhizosphere. FEMS Microbiology Ecology, 33: 139-146.

Vassilev, N., Vassileva, M. and Nikolaeva, I. 2006. Simultaneous P- solubilizing and biocontrol activity of microorganisms: potentials and future trends. Applied Microbiology and Biotechnology, 71: 137-144

Whipps, J. M. 2004. Prospects and limitations for mycorrhizas in biocontrol of root pathogens. Canadian Journal of Botany, 82: 1198-1227.

Zhao, J., Davis, L. and Verpoorte, C. 2005. Elicitor signal transduction leading to production of plant secondary metabolites. Biotechnology Advances, 23: 283-333.

Interactive Effect of Rhizosphere Micro-Organisms on Nutrient Uptake and Essential Oil Yield of *Thymus daenensis*

Bahadori[1*], F., Sharifi Ashorabadi[2], E., Mirza[3], M., Matinizade[4], M. and Abdosi[5], V.

Abstract

In order to study the effects of interaction between the arbuscular mycorrhizal fungi and biological control agents(BCA) on the some nutrient content, Essential Oil Yiled and root colonization of *Thymus daenensis* plants , A split plot experimental design was applied in a randomized complete blocks with six treatments and three replications at semnan natural resource research field at shahmirzad, in 2011-2012. Treatments included:A: the fungus of *Glomus mosseae*(1-inoculated(AM) and 2- no inoculated) and B: BCA inoculums(1-:*Bacillus subtilis* 2- *Pseudomonas fluorescens* 3- control). Results showed that inoculation with *G. mosseae* or *B. subtilis* significantly increased the foliar uptake of Mg, Mn and Zn as compared to non- inoculated plants. The most effective treatment was observed in the co-inoculation with *G. mosseae* and *B. subtilis*, which synergistically increased Essential Oil Yiled and nutrient uptake campared with singly inoculated or non- inoculated plants.

Keywords: Arbuscular mycorrhizal fungi, Nutrient uptake, Sustainable agriculture, *Thymus daenensis*

1. PhD student, Department of Horticulture, Science and Research Branch, Islamic Azad University, Tehran
2 and 3. Associate professors, Research Institute of Forests and Rangelands, Tehran
4. Assistant Professor, Research Institute of Forests and Rangelands,Tehran
5. Assistant Professor, Department of Horticulture, Science and Research Branch, Islamic Azad University, Tehran
*: Corresponding author Email: far_bahadori@yahoo.com