نشریه مدیریت خاک و تولید پایدار
جلد ششم، شماره اول، ۱۳۹۵
http://ejsms.gau.ac.ir

تأثیر تلقیح باکتری‌های ریزوسفری محرک رشد گیاه و قارچ‌های میکوریز آربوسکولار بر جذب عناصر غذایی و برخی فاکتورهای مورفولوژیکی در نعناع فلفلی

مهدی محمودزاده[۱]، میرحسن رسولی‌صدقیانی[۲]، *حمایت عسگری‌لجایر[۳] و عباس حسنی[۴]

[۱]دانشجوی دکتری گروه علوم و مهندسی خاک، دانشگاه لرستان، [۲]دانشیار گروه علوم و مهندسی خاک، دانشگاه ارومیه، [۳]دانشجوی دکتری گروه علوم و مهندسی خاک، دانشگاه تبریز، [۴]استاد گروه علوم باغبانی، دانشگاه ارومیه

تاریخ دریافت: ۹۳/۱۰/۲ ؛ تاریخ پذیرش: ۹۴/۲/۲۱

چکیده

سابقه و هدف: در سال‌های اخیر از ریزجانداران خاک مانند باکتری‌های ریزوسفری محرک رشد گیاه (PGPR) و قارچ‌های میکوریز آربوسکولار (AMF) برای بهبود رشد و تغذیه گیاه استفاده شده است. باکتری‌های ریزوسفری محرک رشد گیاه و قارچ‌های میکوریز آربوسکولار می‌توانند از طریق افزایش جذب عناصر غذایی بر رشد گیاهان تأثیرگذار باشند. در مورد کاربرد کودهای بیولوژیک بر رشد و عملکرد گیاهان دارویی پژوهش‌های وسیعی در جهان صورت گرفته، ولی در ایران رفتار گیاهان دارویی با کاربرد کودهای بیولوژیک خوب مطالعه نشده است. بنابراین، در این پژوهش اثر باکتری‌های ریزوسفری محرک رشد گیاه و قارچ‌های میکوریز آربوسکولار بر برخی پارامترهای رشدی (درصد کلنیزاسیون ریشه و وزن خشک اندام‌های هوایی و ریشه) و جذب عناصر غذایی پرمصرف (نیتروژن، فسفر، پتاسیم، کلسیم و منیزیم) و کم‌مصرف (آهن، مس و روی) در گیاه دارویی نعناع فلفلی در شرایط گلخانه‌ای مورد بررسی قرار گرفت.

مواد و روش‌ها: آزمایش گلخانه‌ای در قالب طرح کاملاً تصادفی با نه تکرار و با استفاده از سه گونه قارچی میکوریز آربوسکولار (*Glomus fasciculatum*، *Glomus intraradices* و *Glomus mosseae*) و سه جنس باکتریایی از گروه باکتری‌های ریزوسفری محرک رشد گیاه (*Azotobacter*، *Bacillus* و سودوموناس‌های گروه فلورسنت (ترکیبی از گونه‌های *Pseudomonas aeruginosa*، *Pseudomonas fluorescens* و *Pseudomonas putida*) و تیمار شاهد (بدون تلقیح باکتریایی- قارچی) در دانشکده کشاورزی دانشگاه ارومیه انجام شد.

یافته‌ها: نتایج نشان داد که کاربرد تیمارهای باکتریایی و قارچی، منجر به افزایش معنی‌دار ($P\leq ۰/۰۵$) وزن خشک اندام‌های هوایی و ریشه و جذب عناصر مورد مطالعه نسبت به شاهد گردید. بیش‌ترین مقادیر وزن خشک ریشه و درصد کلنیزاسیون ریشه در تیمار قارچی *Glomus fasciculatum* مشاهده گردید. بیش‌ترین جذب نیتروژن (۱۴۰ میلی‌گرم در گلدان) از تیمار تلقیح با باکتری *Azotobacter*، بیش‌ترین جذب فسفر، پتاسیم و منیزیم نیز (به‌ترتیب ۵۴/۱، ۷۳۱ و ۲۸۰ میلی‌گرم در گلدان) از تیمار تلقیح با باکتری *Pseudomonas* حاصل شد. همچنین بیش‌ترین جذب کلسیم، آهن، مس و روی (به‌ترتیب ۴۱۸، ۰/۱۷۷، ۰/۰۴۸ و ۰/۰۵۰ میلی‌گرم در گلدان) از تیمار تلقیح با قارچ

* مسئول مکاتبه: h-asgari@tabrizu.ac.ir

Glomus fasciculatum به‌دست آمد. تیمار شاهد کم‌ترین جذب عناصر اندازه‌گیری شده را نسبت به تیمارهای قارچی و باکتریایی نشان داد.

نتیجه‌گیری: نتایج این بررسی نشان داد که کاربرد باکتری‌های ریزوسفری محرک رشد و قارچ‌های میکوریز آربوسکولار نقش مفید و مؤثری در بهبود جذب عناصر غذایی در گیاه دارویی نعناع فلفلی دارند. با توجه به نتایج آزمایش، می‌توان بیان نمود که وضعیت مطلوب گیاهان باکتریایی و میکوریزی به‌خاطر افزایش سطح جذب ریشه و در نتیجه تغذیه بهتر و عملکرد بیش‌تر بوده است. هم‌چنین، با استناد به نتایج این پژوهش از باکتری‌های ریزوسفری محرک رشد گیاه و قارچ‌های میکوریز آربوسکولار در کشت‌های گلخانه‌ای گیاهان دارویی به‌ویژه نعناع فلفلی می‌تواند استفاده شود.

واژه‌های کلیدی: نیتروژن، فسفر، پتاسیم، آهن، مس، روی

مقدمه

رویکرد روزافزون به استفاده از گیاهان دارویی در سطح جهان، اهمیت کشت و تولید این گیاهان را روشن‌تر می‌سازد. در حال حاضر تقاضا برای گیاهان دارویی به‌عنوان تولیدات قابل مصرف در صنایع بهداشتی و دارویی در حال افزایش است (۴۱). امروزه با توجه به آثار جانبی و معایب استفاده از ترکیبات نگهدارنده شیمیایی، ترکیبات طبیعی و گیاهان دارویی را می‌توان به جای آن‌ها برای حفظ و نگهداری مواد غذایی مختلف استفاده کرد. تیره نعنائیان (Lamiaceae) دارای ۱۸۷ جنس و ۳۰۰۰ گونه است. نعناع فلفلی با نام علمی (*Mentha piperita* L.) و نام رایج Peppermint گیاهی است متعلق به این خانواده که از قدیم به‌عنوان یک گیاه معطر و اشتهاآور به‌کار می‌رفته است. از خواص دارویی نعناع فلفلی می‌توان به خاصیت ضد اسپاسم، پیشگیری‌کننده از استفراغ، ضدنفخ و خنک‌کنندگی آن اشاره کرد. اسانس نعناع فلفلی دارای ماده‌ای به‌نام منتول می‌باشد که از آن به‌عنوان طعم‌دهنده و معطرکننده در داروها، خمیر دندان‌ها، شکلات‌های نعناعی و آدامس‌ها استفاده می‌شود (۴۸).

یکی از برنامه کشورهای مختلف از جمله کشور ما، حفظ محیط زیست و دستیابی به توسعه پایدار است. با توجه به اثرهای نامطلوب مصرف بی‌رویه کودهای شیمیایی، پیدا کردن روشی که بتواند مصرف این کودها را کاهش دهد، ضروری به‌نظر می‌رسد. در این راستا لزوم توجه به سیستم‌های بیولوژیک خصوصاً کودهای بیولوژیک (زیستی)، جهت تأمین بخشی از نیازهای کودی گیاهان زراعی و کاهش استفاده از کودهای شیمیایی، بیش از پیش احساس می‌شود (۳۳). کودهای زیستی، موادی جامد، نیمه‌جامد یا مایع حاوی ریزجانداران زنده یا فرآورده‌های آن‌ها هستند که در ارتباط با تأمین زیستی نیتروژن یا فراهم کردن فسفر و سایر عناصر غذایی به‌ویژه ریزمغذی‌ها در خاک فعالیت می‌کنند. در صورت مصرف، این ریزجانداران در ناحیه اطراف ریشه یا درون گیاه تشکیل کلونی داده و با افزایش تأمین عناصر غذایی موجب افزایش رشد و نمو گیاه میزبان می‌گردند (۲۴). از جمله کودهای زیستی می‌توان به باکتری‌های ریزوسفری محرک رشد گیاه (PGPR)[1]، قارچ‌های میکوریز آربوسکولار (AMF)[2]، ریزجانداران حل‌کننده فسفات و غیره اشاره نمود که

1- Plant Growth Promoting Rhizobacteria
2- Arbuscular Mycorrhizal Fungi

هر کدام برای منظور خاصی مثل رهاسازی یون‌های فسفات و پتاسیم از ترکیبات نامحلول آن‌ها، ترشح سیدروفور و جذب برخی از عناصر ریزمغذی نظیر آهن، روی و مس استفاده می‌شوند (۱۸). از باکتری‌های ریزوسفری محرک رشد گیاه می‌توان *Azospirillum*، *Azotobacter*، *Bacillus* و *Pseudomonas* را نام برد (۴۳، ۴۴). این باکتری‌ها، موجب افزایش رشد و عملکرد محصولات مهم زراعی از طریق سازوکارهای مختلفی مانند کاهش پاتوژن‌های گیاهی، حل کردن فسفر نامحلول، تولید سیدروفورها، سنتز آنتی‌بیوتیک‌ها و غیره سبب تحریک رشد گیاه می‌گردند (۳۰، ۳۱، ۳۲). در پژوهش گلخانه‌ای که توسط آرگولو و همکاران (۲۰۰۶) انجام شد، افزایش قابل‌توجه عملکرد محصول در گیاه دارویی سیر (*Glycine max*) در اثر مصرف باکتری‌های ریزوسفری محرک رشد نشان داده شد (۳). قارچ‌های میکوریز آربوسکولار، یکی دیگر از عوامل بیولوژیک در خاک‌های زراعی است که ویژگی مفید آن در همزیستی با گیاهان موجب علاقه‌مندی بیش‌تری در استفاده تجاری از این قارچ‌ها به‌عنوان کودهای زیستی به‌وجود آورده است (۴۵). این قارچ‌ها دارای رابطه همزیستی با ریشه اغلب گیاهان زراعی بوده و از طریق افزایش جذب عناصر غذایی مانند فسفر و برخی عناصر کم‌مصرف، افزایش جذب آب، کاهش تأثیر منفی تنش‌های محیطی و افزایش مقاومت در برابر عوامل بیماری‌زا موجب بهبود در رشد و عملکرد گیاهان میزبان در سیستم‌های کشاورزی پایدار می‌شوند (۷، ۴۵). توسینت و اسمیت (۲۰۰۷) تأثیر میکوریزا بر رشد و نمو گیاه دارویی ریحان (*Ocimum basilicum*) را ارزیابی و گزارش کردند که کاربرد دو گونه قارچ میکوریز *Glomus caledonium* و *Glomus mosseae* سبب افزایش چشمگیر جذب فسفر و عملکرد محصول شد (۴۲).

با توجه به این‌که نعناع فلفلی از گیاهان دارویی معطر و اسانس‌دار به‌شمار می‌رود، ضرورت شناخت و بررسی عوامل مؤثر در تولید این گونه در شرایط پایدار آشکار می‌گردد. با توجه به این‌که لازم است مدیریت تغذیه گیاهی هم در جهت افزایش و پایداری تولید باشد و هم سبب حفظ محیط زیست گردد و از آن‌جا که پژوهش‌های اندکی در مورد کاربرد کودهای بیولوژیک بر رشد و عملکرد گیاهان دارویی در ایران انجام شده است، این پژوهش با هدف بررسی اثر کاربرد برخی باکتری‌های ریزوسفری محرک رشد گیاه و قارچ‌های میکوریزی آربوسکولار بر جذب برخی عناصر پرمصرف و کم‌مصرف در گیاه دارویی نعناع فلفلی به اجرا در آمد.

مواد و روش‌ها

این آزمایش در سال زراعی ۱۳۸۹ و در قالب طرح پایه کاملاً تصادفی با ۷ تیمار و ۳ تکرار در گلخانه تحقیقاتی دانشکده کشاورزی دانشگاه ارومیه واقع در ۱۵ کیلومتری غرب ارومیه (طول جغرافیایی ۴۴ درجه و ۴۶ دقیقه شمالی، عرض جغرافیایی ۳۸ درجه و ۱۱ دقیقه و ارتفاع ۱۲۷۳ متر از سطح دریا) اجرا شد. تیمارهای آزمایشی شامل سه گونه قارچی میکوریز آربوسکولار [*گلوموس موسه Glomus mosseae (Gm)*، *گلوموس فسیکولاتوم Glomus fasciculatum (Gf)* و *گلوموس اینترارادیسز Glomus intraradices (Gi)*] و سه جنس باکتریایی [ازتوباکتر (A) *Azotobacter*، باسیلوس (B) *Bacillus* و سودوموناس‌های گروه فلورسنت (ترکیبی از گونه‌های *P. putida*، *P. fluorescens* و *P. aeruginosa*] و شاهد (بدون تلقیح) (C) بود، که هر سه جنس سودوموناس توانایی تولید سیدروفور، مواد شبه اکسین و فعالیت ACC-

دآمیناز داشتند. سویه‌های میکروبی مورد استفاده در این بررسی از بانک میکروبی بخش بیولوژی خاک مؤسسه تحقیقات خاک و آب کشور تهیه شدند. برای انجام این آزمایش، در ابتدا بستره کشت همراه با مقداری شن اتوکلاو شده (به‌مدت ۲ ساعت در دمای ۱۲۱ درجه سانتی‌گراد و فشار بخار یک اتمسفر) استریل گردید (۱۵). مقدار ده کیلوگرم خاک در داخل ۶۳ گلدان پلاستیکی (شامل هفت تیمار و هر تیمار شامل نه تکرار بود (تعداد زیاد تکرارها به‌دلیل جمع‌آوری مقدار کافی اسانس جهت انجام آنالیز شیمیایی انتخاب شده است) با حجم ده لیتری و استریل شده با الکل ریخته شد. شن اتوکلاو شده نیز در قسمت پایینی هر گلدان به‌منظور ایجاد زهکشی بهتر گلدان‌ها و جلوگیری از گرفتگی سوراخ زیری گلدان‌ها ریخته شد. خصوصیات خاک مورد استفاده در کشت گلدانی در جدول ۱ نشان داده شده است. ریزوم‌های نعناع فلفلی از گروه علوم باغبانی دانشکده کشاورزی دانشگاه ارومیه تهیه و در اردیبهشت‌ماه سال ۱۳۸۹ به تعداد دو عدد برای هر گلدان کشت شدند. برای اطمینان از یکسان بودن شرایط گیاه اولیه، همه ریزوم‌ها از یک گیاه مادری جدا شدند. زادمایه میکوریزی به‌صورت اندام‌های قارچی شامل هاگ (اسپور)، ریسه (هیف) و ریشه‌های کلونیزه شده با قارچ‌های مورد مطالعه بوده است که به روش کشت گلدانی با گیاه ذرت و در یک دوره رشد چهار ماهه در گلخانه بخش علوم خاک دانشگاه ارومیه تکثیر گردید. برای اعمال تیمارهای میکروبی، در گلدان‌های مربوط به تیمار قارچی قبل از کشت و در زیر بذور، مقدار ۵۰ گرم از مایه تلقیح قارچی با تعداد هاگ (اسپور) ۱۲ عدد در هر گرم بستر برای هر گلدان اضافه شد. تعداد پروپاگول‌های مایه تلقیح مورد استفاده، 10^8 عدد در هر گرم ماده حامل بود. برای تهیه مایه تلقیح باکتری‌ها، یک لوپ از هر سویه باکتری با رعایت کامل شرایط استریل به ارلن‌های ۱۰۰ میلی‌لیتری حاوی ۵۰ میلی‌لیتر محیط مایع تریپتیکاز سوب براث (TSB) انتقال داده شد. سپس ارلن‌ها روی شیکر با دور ۱۲۰ و دمای ۲۸ درجه قرار داده شدند. پس از ۳۶ ساعت رشد باکتری‌ها در این محیط، مایه تلقیح سویه‌ها آماده شد. برای تلقیح ابتدا خاک پای بوته‌ها با بیلچه کنار زده شد به‌طوری‌که آسیبی به ریزوم‌ها وارد نشود، سپس ۴۰ میلی‌لیتر از سوسپانسیون رقیق شده (۲۰ درصد) با آب مقطر استریل، از محیط کشت مایع حاوی باکتری‌ها با جمعیت در حدود 10^9 سلول در هر میلی‌لیتر روی ریزوم‌ها و خاک اطراف آن‌ها تزریق شد (۲۰). تیمارهای شاهد مقدار مشابه از مایه تلقیح استریل شده دریافت نمودند. آبیاری تا پایان آزمایش به‌وسیله آب مقطر و با توزین روزانه گلدان‌ها، مقدار آب مناسب هر گلدان را تا رسیدن رطوبت به دامنه ۷۰ تا ۸۰ درصد ظرفیت زراعی محاسبه و اضافه گردید. تا پایان آزمایش، گلدان‌ها هر هفته به‌طور تصادفی بر روی سینک گلخانه جابه‌جا شدند. آزمایش به‌مدت ۴ ماه ادامه یافت و پس از رسیدن به مرحله گلدهی کامل، گیاهان از محل طوقه قطع شدند. بدین صورت شاخساره و ریشه از هم جدا شدند. سپس ریشه به دقت از خاک خارج گردیدند. به‌منظور جلوگیری از هدررفت ریشه‌های مویین، شستشوی ریشه‌ها روی الک انجام شد. بوته‌های موجود در یک ریزوم هر گلدان برای اسانس‌گیری جدا و به‌منظور حفظ کمیت و کیفیت اسانس در سایه و دمای محیط خشک شدند و و اسانس‌ها با استفاده از روش تقطیر با آب به‌وسیله دستگاه کلونجر در مدت ۲ ساعت اسانس‌گیری استخراج شدند. بوته‌های ریزوم دیگر نیز جهت تعیین وزن خشک، با آب مقطر شستشو و همراه با ریشه‌ها هوا خشک گردید و پس از قرار

گرفتن در پاکت کاغذی، به‌مدت ۴۸ ساعت در آون در دمای ۷۰ درجه سلسیوس قرار داده شد تا وزن آن‌ها به مقدار ثابتی برسد، سپس وزن آن‌ها یادداشت گردید. سپس این نمونه‌ها را به‌وسیله آسیاب پودر کرده و نهایتاً عصاره آن‌ها تهیه شد. برای اندازه‌گیری نیتروژن کل از روش تیتراسیون بعد از تقطیر با دستگاه کجلدال استفاده شد. برای اندازه‌گیری فسفر گیاه از روش رنگ‌سنجی و محلول آمونیوم مولیبدووانادات و با استفاده از دستگاه اسپکتروفتومتر در طول موج ۴۷۰ نانومتر و برای اندازه‌گیری غلظت پتاسیم از دستگاه فیلم‌فتومتر به روش نشر شعله‌ای استفاده گردید. غلظت کلسیم، منیزیم، روی، آهن و مس نیز به روش جذب اتمی و با استفاده از دستگاه جذب اتمی به‌دست آمد (۱۰). برای تعیین درصد کلنیزاسیون قارچی حدود یک گرم از ریشه‌های ظریف و ریز از هر گلدان انتخاب کرده و پس از شستشو با آب مقطر به آزمایشگاه منتقل و رنگ‌آمیزی شدند. برای رنگ‌آمیزی از روش فیلیپس و هایمن (۱۹۷۰) استفاده گردید (۲۷). در نهایت با روش تقاطع خطوط شبکه درصد کلنیزاسیون ریشه محاسبه گردید (۸). بررسی غلظت عناصر به‌دلیل به‌وجود آمدن اثر رقت، گاهی متناقض به‌نظر می‌رسد؛ بنابراین جذب عناصر [جذب کل (میلی‌گرم بر گلدان= وزن ماده خشک (گرم در گلدان) × غلظت (میلی‌گرم در گرم)] در این پژوهش مورد بررسی آماری قرار گرفت. تجزیه و تحلیل داده‌ها با استفاده از نرم‌افزار SAS نسخه ۹/۲ انجام شد. مقایسه میانگین با استفاده از آزمون دانکن (در سطح ٪۵) صورت گرفت.

جدول ۱- خصوصیات فیزیکی و شیمیایی خاک مورد استفاده در آزمایش.

Table 1. Soil physical and chemical Characteristic used in experiment.

خصوصیت Characteristic	بافت خاک Soil Texture	pH	EC	کربن آلی Organic Carbon	نیتروژن کل Total Nitrogen	فسفر Phosphorus	پتاسیم Potassium	DTPA-Zn
			(dS/m)	(٪)			(mg/kg)	
مقدار Quantity	Sandy Loam	7.20	0.450	0.720	0.100	9.65	165	0.850

نتایج و بحث

وزن خشک اندام‌های هوایی و ریشه: نتایج حاصل از تجزیه واریانس داده‌ها نشان داد که اثر باکتری‌های محرک رشد گیاه و قارچ‌های میکوریز آربوسکولار بر وزن خشک اندام هوایی و ریشه در سطح ۱ درصد معنادار بود (جدول ۲). مقایسه میانگین اثر باکتری‌های محرک رشد و قارچ‌های میکوریز آربوسکولار بر وزن خشک اندام هوایی و ریشه در جدول ۳ نشان داده شده است. بر این اساس، بین تیمار شاهد با سایر تیمارها از نظر تأثیر در وزن خشک اندام هوایی به استثناء گلوموس موسه اختلاف معناداری وجود دارد. در مورد وزن خشک ریشه هم همان‌طورکه از جدول ۳ مشهود است همه تیمارهای باکتریایی و قارچی باعث افزایش وزن خشک ریشه شده است و این افزایش در تیمارهای قارچی نسبت به باکتریایی بیش‌تر بوده است، هر چند این افزایش فقط در مورد قارچ گلوموس فسیکولاتوم و گلوموس اینترارادیسز نسبت به تیمار شاهد اختلاف معناداری داشت.

بیش‌ترین وزن خشک اندام هوایی (۲۱/۹ گرم بر گلدان) و وزن خشک ریشه (۲/۷۶ گرم بر گلدان) به‌ترتیب در تیمار باکتریایی سودوموناس و گلوموس فسیکولاتوم و کم‌ترین آن‌ها به‌ترتیب به‌میزان ۱۱/۹ و ۱/۵۴ گرم بر گلدان در تیمار عدم تلقیح باکتریایی و قارچی (شاهد) مشاهده شد. در رابطه با تأثیر مثبت کاربرد تیمارهای قارچی بر وزن خشک می‌توان بیان نمود؛ قارچ میکوریز از طریق گسترش هیف و توسعه سیستم ریشه، سطح جذب آب بیش‌تری برای گیاه فراهم و به‌دنبال جذب آب بیش‌تر مواد غذایی بیش‌تری جذب شده که منجر به تولید و تجمع ماده خشک بیش‌تری در گیاه می‌گردد (۴). در رابطه با اثر تحریکی باکتری‌های محرک رشد نیز می‌توان بیان داشت که باکتری‌های محرک رشد از طریق سازوکارهای مختلفی از جمله تولید هورمون‌های محرک رشد گیاه، تولید سیدروفور، افزایش جذب فسفر توسط گیاه، تثبیت نیتروژن و سنتز آنزیم‌هایی که مقدار اتیلن را در گیاه تنظیم می‌کنند، سبب تحریک رشد گیاه می‌شوند (۴۰). شالان (۲۰۰۵) گزارش داد که افزایش حاصلخیزی خاک با کودهای بیولوژیک نظیر ازتوباکتر و سودوموناس باعث بهبود خصوصیات رشدی گیاه دارویی سیاه‌دانه (*Nigella sativa* L.) می‌شود (۳۷). در رابطه با تغییرات وزن خشک ریشه گیاه نعناع فلفلی تحت‌تأثیر تیمارها می‌توان بیان داشت با این‌که ویژگی‌های سیستم ریشه ارثی است ولی می‌تواند توسط فاکتورهای محیطی تحت‌تأثیر قرار گیرد. احتمالاً ترشح مواد تنظیم‌کننده رشد گیاه و تولید هورمون‌های محرک رشد توسط قارچ‌ها و باکتری‌های مورد استفاده باعث تحریک توسعه و گسترش ریشه و در نتیجه اثر مثبت بر وزن خشک ریشه گردید (۶). اسچیرس و همکاران (۱۹۹۰) معتقدند که بعضی از باکتری‌های محرک رشد گیاه با تولید ریزوبیوتوکسین، تولید اتیلن را در گیاه کاهش و باعث افزایش رشد ریشه می‌شوند (۳۶).

جدول ۲- نتایج تجزیه واریانس تأثیر تلقیح باکتری‌های ریزوسفری محرک رشد گیاه و قارچ‌های میکوریز آربوسکولار بر برخی خصوصیات مورفولوژیکی نعناع فلفلی.

Table 2. Analysis of variance for effect of plant growth promoting rhizobacteria and arbuscular mycorrhizal fungi inoculation on some morphological characteristics in peppermint.

	میانگین مربعات Mean of squares		
منابع تغییرات Sources of variations	درجه آزادی Degree of freedom	وزن ماده خشک Shoot Dry Weight	وزن خشک ریشه Root Dry Weight
تیمار Treatment	6	42.5**	0.611**
خطا Error	14	7.37	0.115
ضریب تغییرات Coefficient of variation		14.7	16.6

** و * به‌ترتیب معناداری در سطح احتمال ۱ و ۵ درصد.

** and * significant at 1 and 5 persent probability levels respectively.

جدول ۳- نتایج مقایسه میانگین‌های تأثیر تلقیح باکتری‌های ریزوسفری محرک رشد گیاه و قارچ‌های میکوریز آربوسکولار بر برخی خصوصیات مورفولوژیکی نعناع فلفلی.

Table 3. Mean comparision effect of plant growth promoting rhizobacteria and arbuscular mycorrhizal fungi inoculation on some morphological characteristics in peppermint.

وزن خشک ریشه Root Dry Weight	وزن ماده خشک Shoot Dry Weight	تیمار Treatment
(g/pot)		
1.54^{c}	11.9^{c}	C
2.04^{bc}	14.6^{bc}	Gm
2.52^{ab}	18.7^{ab}	Gi
2.76^{a}	20.9^{a}	Gf
1.74^{c}	21.1^{a}	A
1.97^{c}	21.9^{a}	P
1.69^{c}	20.1^{a}	B

بر اساس نتایج تجزیه واریانس (جدول ۴)، باکتری‌های محرک رشد گیاه و قارچ‌های میکوریز آربوسکولار تأثیر معناداری در سطح احتمال ۱ درصد بر جذب عناصر نیتروژن، فسفر، پتاسیم، کلسیم، منیزیم، آهن، مس و روی داشته‌اند. همچنین نتایج مقایسه میانگین‌های مربوط به تأثیر باکتری‌های محرک رشد گیاه و قارچ‌های میکوریز آربوسکولار (جدول ۵)، بیانگر آن است که بین تیمار شاهد با سایر تیمارها از نظر جذب عناصر غذایی اختلاف معناداری (در سطح احتمال ۱ درصد) وجود دارد.

میانگین میزان نیتروژن جذب شده توسط گیاه: بیش‌ترین مقدار جذب نیتروژن در تیمار ازتوباکتر (۱۴۰ میلی‌گرم در گلدان) به‌دست آمد که ۲/۸ برابر بیش‌تر از شرایط بدون تلقیح (۵۰/۰ میلی‌گرم در گلدان) بود (جدول ۵). این افزایش جذب نیتروژن در ازتوباکتر اختلاف معناداری با باسیلوس و سودوموناس نداشت، در حالی‌که همه جنس‌های سودوموناس غیرتثبیت‌کننده نیتروژن هستند. ازتوباکتر علاوه بر تثبیت ازت اتمسفری در محیط ریشه گیاه توانایی ساخت و ترشح مقداری مواد بیولوژیکی فعال مانند ویتامین‌های B، اسید نیکوتنیک، اسید پنتوتنیک، اکسین‌ها و جیبرلین‌ها را دارد که باعث بهبود رشد ریشه و در نتیجه افزایش جذب آب و عناصر غذایی و در نهایت افزایش عملکرد می‌گردد (۱). همچنین انتقال نیترات از ریشه به شاخساره تحت کنترل تعادل هورمون‌ها بوده و به‌وسیله هورمون سیتوکینین تسریع می‌شود. گزارش شده است که سیتوکینین در اثر همزیستی با گیاه افزایش می‌یابد (۱۲). نقش میکوریزا در افزایش مقدار نیتروژن در گیاهان با تحریک بیان آنزیم نیترات‌ردااکتاز (افزایش جذب نیتروژن به فرم نیترات یا آمونیوم توسط میسلیوم‌های خارجی قارچ با مصرف نیترات توسط آنزیم نیترات‌ردااکتاز) و افزایش سطوح آنزیم دیکینازگلوکان (جهت جلوگیری از رشد پاتوژن‌های گیاهی) به خوبی مشخص شده است (۹).

میانگین میزان فسفر جذب شده توسط گیاه: در پژوهش حاضر بیش‌ترین افزایش میزان فسفر جذب شده مربوط به سودوموناس (۵۴/۱ میلی‌گرم در گلدان) بود و پس از آن گلوموس فسیکولاتوم (۴۷/۶ میلی‌گرم در گلدان) در سطح بعدی قرار گرفت و تیمار شاهد با کم‌ترین میزان فسفر جذب شده (۱۷/۴ میلی‌گرم در گلدان) پایین‌ترین سطح را به خود اختصاص داد. افزایش جذب فسفر در سودوموناس نسبت به برخی از تیمارهای دیگر از لحاظ آماری معنادار نبود. باکتری‌های سودوموناس از طریق سازوکارهایی از قبیل ترشح اسیدهای آلی همانند اسید گلوکونیک، اسید اگزالیک و اسید سیتریک سبب افزایش حلالیت فسفر نامحلول می‌شوند. اسیدهای آلی تولید شده با کاهش اسیدیته ریزوسفر و کلاته کردن یون آلومینیم در خاک‌های اسیدی و یون کلسیم در خاک‌های سدیمی سبب افزایش فسفر قابل دسترس می‌شوند (۲۱). فاطما و همکاران (۲۰۰۶) در پژوهش گلخانه‌ای گیاه مرزنجوش در مصر مشاهده کردند که استفاده از باکتری‌های ازتوباکتر، آزوسپیریلیوم و سودوموناس سبب حل شدن فسفات نامحلول و افزایش شاخص‌های رشدی و میزان اسانس در این گیاه شده است (۱۱). در طرحی مشابه که توسط سلطانی و همکاران (۲۰۰۷) بر روی گندم با استفاده از باکتری سودوموناس انجام شد، ملاحظه گردید که این باکتری خاصیت حل‌کنندگی فسفات نامحلول معدنی را داشت (۳۹). قارچ‌ها با گسترده کردن شبکه هیف‌های خود در خاک، سطح جذب فسفر توسط ریشه گیاه را افزایش می‌دهند. از طرف دیگر، قارچ‌های میکوریزی سازگاری خوبی با ریزجانداران حل‌کننده فسفات و انواع باکتری‌های محرک رشد گیاه دارند که کاربرد آن‌ها به‌تدریج سطح حاصلخیزی خاک را افزایش داده و در چنین خاک‌هایی گیاهان به مقادیر کم‌تری از کودهای شیمیایی نیاز دارند (۴۷). لی و همکاران (۲۰۰۷) گزارش دادند همزیستی گیاه شیرین‌بیان با دو گونه قارچ میکوریز (*Glomus mosseae* و *Glomus versiform*) میزان فسفر آن را بهبود بخشید (۲۳). در پژوهش دیگری زارعی و همکاران (۲۰۰۹) نشان دادند قارچ *Glomus mosseae* از طریق افزایش معنی‌دار جذب فسفر و نیتروژن توانست وزن علوفه تولیدی شبدر را افزایش دهد (۴۷). تأثیر مثبت باکتری‌های ریزوسفری و میکوریزا در افزایش جذب فسفر توسط پژوهشگران مختلفی گزارش شده است (۲۸، ۳۰، ۳۱).

میانگین میزان پتاسیم، کلسیم و منیزیم جذب شده توسط گیاه: بیش‌ترین میزان جذب پتاسیم (۷۳۱ میلی‌گرم در گلدان) و منیزیم (۲۸۰ میلی‌گرم در گلدان) از تیمار باکتریایی سودوموناس و کلسیم (۴۱۸ میلی‌گرم در گلدان) از تیمار قارچی گلوموس فسیکولاتوم حاصل شد، هر چند که اختلاف معنادار با برخی دیگر از تیمارها نداشت. کم‌ترین میزان آن‌ها نیز به‌ترتیب ۲۱۹، ۹۵/۲ و ۱۴۸ میلی‌گرم در گلدان از تیمار عدم تلقیح (شاهد) به‌دست آمد. این مطالب گویای این امر است که با کاربرد تیمارهای باکتریایی و قارچی، میزان جذب این عناصر نیز توسط گیاه دارویی نعناع فلفلی افزایش می‌یابد. مطالعات نشان داده‌اند که باکتری‌ها با تجزیه کانی‌های فسفر، آهن و پتاسیم‌دار مثل سنگ فسفات، میکا و فلدسپار می‌توانند باعث آزادسازی فسفر، پتاسیم، کلسیم و منیزیم و عناصر دیگر مثل آهن و سیلیسیم شوند. پژوهش‌ها نشان داده‌اند که توانایی باکتری‌ها در تجزیه کانی‌ها می‌تواند به‌علت تولید و ترشح پروتون، اسیدهای آلی، سیدروفورها و پلی‌ساکاریدهای خارج سلولی باشد (۱۶، ۳۸). شلوسکی و همکاران (۲۰۰۴) نشان داد که همزیستی ریشه‌های گیاه *Aster tripolium* با قارچ *R. Irregularis* سبب افزایش جذب پتاسیم توسط آن شد (۳۵). همچنین افزایش جذب پتاسیم توسط

ریشه‌های *Pelargonium peltatum* و *Lactuca sativa* به‌وسیله قارچ میکوریزا گزارش شده است (۵، ۲۶). در پژوهش دیگری که توسط گارسیا و همکاران (۲۰۱۴) در *Pinus pinaster* انجام گرفت، نشان داده شد که میزان پتاسیم *Hebeloma cylindrosporum* تنها دو ماه پس از کشت، ۳۵ درصد افزایش یافت (۱۴). در رابطه با کلسیم و منیزیم نیز می‌توان اظهار نمود که افزایش جذب این عناصر احتمالاً ناشی از توسعه سیستم ریشه و متعاقب آن جذب بهتر این عناصر می‌باشد (۱۷).

میانگین میزان آهن، روی و مس جذب شده توسط گیاه: نتایج تجزیه واریانس اثر تیمارهای باکتریایی و قارچی بر جذب عناصر غذایی آهن، روی و مس (جدول ۴) نشان داد که تأثیر این تیمارها بر جذب این عناصر در سطح احتمال ۱ درصد معنادار بود. بر اساس جدول مقایسه میانگین (جدول ۵)، کاربرد تمام تیمارهای باکتریایی و قارچی باعث افزایش جذب عناصر غذایی مورد اندازه‌گیری گردید. بیش‌ترین میزان جذب آهن (۰/۱۷۷ میلی‌گرم در گلدان)، مس (۰/۰۴۸ میلی‌گرم در گلدان) و روی (۰/۰۵۰ میلی‌گرم در گلدان) از تیمار قارچی گلوموس فسیکولاتوم حاصل شد. کم‌ترین میزان آن‌ها نیز به‌ترتیب ۰/۰۵۲، ۰/۰۱۵ و ۰/۰۱۶ میلی‌گرم در گلدان از تیمار عدم تلقیح (شاهد) به‌دست آمد، هر چند که اختلاف معنادار با برخی دیگر از تیمارها نداشت. دلیل اصلی افزایش جذب آهن در تیمارهای قارچی و باکتریایی، ترشح سیدروفورهای میکروبی می‌باشد. به‌واسطه حضور سیدروفورها، قابلیت استفاده و تحرک آهن در محیط ریشه افزایش یافته و کمپلکس سیدروفور-آهن تشکیل شده می‌تواند در محلول خاک همراه با جریان توده‌ای به سطح ریشه برسد و آهن جذب گردد (۴۶). گزارش‌های زیادی در مورد تشکیل کمپلکس سیدروفورها با فلزاتی مانند Al، Cd، Mn، Cu، Zn، Ni و Cr وجود دارد (۲۵). همان‌طورکه ملاحظه می‌گردد گیاهان تلقیح شده با PGPR و AMF دارای جذب بالاتری از روی و مس در مقایسه با تیمارهای شاهد (بدون تلقیح) می‌باشند (جدول ۵). سیدروفورهای ترشحی باکتری‌ها و قارچ‌ها در خاک با عناصر سنگین نظیر روی و مس، کمپلکس تشکیل می‌دهند. باکتری‌های خاک ازجمله ازتوباکتر می‌توانند ترکیبات نامحلول روی و مس را به شکل محلول در آورند (۲۹). سراوانان و همکاران (۲۰۰۷) با معرفی باکتری‌های حل‌کننده روی گزارش کردند که برخی سویه‌های سودوموناس و ازتوباکتر توانایی انحلال ترکیبات کم‌محلول روی را دارند (۳۴). این باکتری‌ها با تولید اسیدها و کاهش pH، این واکنش را انجام می‌دهند. مسیلیوم‌های خارجی قارچ‌های میکوریز آربوسکولار عمدتاً حاوی هیف و اسپورهای قارچی هستند که سبب افزایش جذب عناصر غذایی می‌گردند. هیف‌های خارجی یک سطح جذب بالایی را برای فسفر، مس، روی و نیتروژن ایجاد می‌کنند (۱۹). در پژوهشی لی و همکاران (۲۰۰۷) بیان کردند که تلقیح باکتری‌های محرک رشد در خاک‌های تیمار شده با سطوح مختلف روی، به‌طور بسیار معناداری ($P<0/001$) وزن خشک اندام‌های هوایی و جذب روی در گیاه را در مقایسه با گیاهان بدون تلقیح افزایش داد (۲۳). درباره تأثیر میکوریزا در افزایش جذب عناصر کم‌مصرف توسط پژوهشگران مختلفی گزارش شده است (۲، ۱۳).

جدول ٤- نتایج تجزیه واریانس تأثیر تلقیح باکتری‌های ریزوسفری محرک رشد گیاه و قارچ‌های میکوریز آربوسکولار بر جذب عناصر غذایی در نعناع‌فلفلی.

Table 4. Analysis of variance for effect of plant growth promoting rhizobacteria (PGPR) and arbuscular mycorrhizal fungi (AMF) inoculation on nutrient uptake in peppermint.

منابع تغییرات Sources of variations	درجه آزادی Degree of freedom	میانگین مربعات Mean of squares							
		نیتروژن (N)	فسفر (P)	پتاسیم (K)	کلسیم (Ca)	منیزیم (Mg)	آهن (Fe)	مس (Cu)	روی (Zn)
تیمار Treatment	6	3002**	420**	95015**	27313**	11807**	0.006**	0.001**	0.001**
خطا Error	14	342	53.5	7122	4871	1123	0.001	0.001	0.001
ضریب تغییرات Coefficient of variation		5.06	16.7	12.7	21.9	15.4	7.57	15.1	5.99

** و * به‌ترتیب معناداری در سطح احتمال ۱ و ۵ درصد.

** and * Significant at 1 and 5 present probability levels respectively.

جدول ۵- نتایج مقایسه میانگین‌های مربوط به تأثیر تلقیح باکتری‌های ریزوسفری محرک رشد گیاه و قارچ‌های میکوریز آربوسکولار بر جذب عناصر غذایی در نعناع‌فلفلی.

Table 5. Mean comparision effect of plant growth promoting rhizobacteria and arbuscular mycorrhizal fungi inoculation on nutrient uptake in peppermint.

روی (Zn)	مس (Cu)	آهن (Fe)	منیزیم (Mg)	کلسیم (Ca)	پتاسیم (K)	فسفر (P)	نیتروژن (N)	تیمار Treatment
(mg/pot)								
0.016^{c}	0.015^{c}	0.052^{c}	95.2^{d}	148^{c}	219^{d}	17.4^{d}	54^{c}	C
0.034^{b}	0.033^{b}	0.127^{ab}	142^{cd}	263^{b}	388^{c}	31.6^{c}	81.7^{bc}	Gm
0.041^{ab}	0.045^{a}	0.132^{ab}	178^{bc}	342^{ab}	530^{bc}	38.7^{bc}	111^{ab}	Gi
0.050^{a}	0.048^{a}	0.177^{a}	288^{ab}	418^{a}	653^{ab}	47.6^{ab}	133^{a}	Gf
0.049^{a}	0.040^{ab}	0.134^{ab}	288^{ab}	362^{ab}	661^{ab}	38.1^{bc}	140^{a}	A
0.040^{ab}	0.040^{ab}	0.100^{bc}	280^{a}	408^{a}	731^{a}	54.2^{a}	134^{a}	P
0.019^{c}	0.015^{c}	0.056^{c}	228^{ab}	271^{b}	500^{bc}	32.5^{c}	111^{ab}	B

در هر ستون میانگین‌های دارای حروف مشترک در سطح احتمال ۵ درصد آزمون دانکن تفاوت معنی‌داری ندارند.

Mean having at least one common character in each colomn does not significant difference at 5% level.

(C: کنترل (بدون تلقیح)؛ Gm: گلوموس موسه؛ Gi: گلوموس اینترارادیسز؛ Gf: گلوموس فسیکولاتوم؛ A، P و B به‌ترتیب ازتوباکتر، سودوموناس و باسیلوس).

(C: control (non bacterial-mycorrhizal), Gm: Glomus mosseae, Gi: Glomus intraradices, Gf: Glomus fasciculatum, A: Azotobacter,P: Pseudomonas and B: Bacillus).

درصد کلنیزاسیون ریشه: نتایج تجزیه واریانس (جدول ۶)، نشان‌دهنده اثر معنادار شدن قارچ‌های میکوریز آربوسکولار در سطح آماری ۱ درصد بر درصد کلنیزاسیون ریشه می‌باشد. نتایج مقایسه میانگین (جدول ۷) نشان داد بین تیمارهای قارچی از نظر درصد کلنیزاسیون ریشه تفاوت معناداری وجود ندارد. در کل نتایج پژوهش بیانگر آن است که گلوموس فسیکولاتوم قدرت کلنیزاسیون بیش‌تری نسبت به گلوموس موسه و گلوموس اینترارادیسز دارد. به‌طوری‌که بیش‌ترین درصد کلنیزاسیون ریشه مربوط به قارچ گلوموس فسیکولاتوم و کم‌ترین آن نیز مربوط به قارچ گلوموس موسه می‌باشد. همچنین اختلاف بین گونه‌های قارچی در کلنیزاسیون ریشه می‌تواند به بیولوژی میکروارگانیسم‌ها، قدرت رقابت آن با سایر میکروب‌ها، خصوصیات ریشه گیاه و خواص فیزیکی خاک و محیط گیاه میزبان وابسته باشد (۲۲).

نتیجه‌گیری کلی

نتایج پژوهش حاضر نشان داد که کاربرد باکتری‌های ریزوسفری محرک رشد گیاه و قارچ‌های میکوریزی سبب افزایش جذب عناصر پرمصرف (نیتروژن، فسفر، پتاسیم، کلسیم و منیزیم) و عناصر کم‌مصرف (آهن، مس و روی)، وزن خشک اندام‌های هوایی و ریشه در گیاه دارویی نعناع فلفلی شد. در بین سه گونه قارچی به‌کار برده شده در این پژوهش، قارچ گلوموس فسیکولاتوم بیش‌ترین تأثیر را در درصد کلونیزاسیون ریشه داشت. در این پژوهش، ازتوباکتر بیش‌ترین تأثیر را در جذب نیتروژن و سودوموناس بیش‌ترین تأثیر را در جذب فسفر داشت. در بین سه گونه قارچی به‌کار برده شده، قارچ گلوموس فسیکولاتوم بیش‌ترین تأثیر را در جذب عناصر غذایی به‌خصوص عناصر کم‌مصرف داشت. بنابراین با استناد به نتایج این پژوهش استفاده از باکتری‌های ریزوسفری محرک رشد گیاه و قارچ‌های میکوریز آربوسکولار در کشت‌های گلخانه‌ای گیاهان دارویی به‌ویژه نعناع فلفلی قابل توصیه می‌باشد.

جدول ٦- نتایج تجزیه واریانس تأثیر قارچ‌های میکوریز آربوسکولار (AMF) بر درصد کلونیزاسیون ریشه گیاه نعناع فلفلی.

Table 6. Analysis of variance for effect of arbuscular mycorrhizal fungi (AMF) inoculation on root colonization percentage in peppermint.

منابع تغییرات Sources of variations	میانگین مربعات Mean of squares	
	درجه آزادی Degree of freedom	کلونیزاسیون ریشه (٪) Root Colonization (%)
تیمار Treatment	2	41.3**
خطا Error	6	3.19
ضریب تغییرات Coefficient of variation		4.14

** معناداری در سطح احتمال ۱ درصد.

** Significant at 1% probability levels.

جدول ۷- نتایج مقایسه میانگین تأثیر قارچ‌های میکوریز آربوسکولار (AMF) بر درصد کلونیزاسیون ریشه گیاه نعناع فلفلی.

Table 7. Mean comparision effect of arbuscular mycorrhizal fungi (AMF) inoculation on root colonization percentage in peppermint.

Glomus fasciculatum	*Glomus intraradices*	*Glomus mosseae*	تیمارهای قارچی Glomus Treatments
47.6 [b]	42.3 [b]	40.0 [b]	کلونیزاسیون ریشه (٪) Root Colonization (%)

در هر ستون میانگین‌های دارای حروف مشترک در سطح احتمال ۵ درصد آزمون دانکن تفاوت معنی‌داری ندارند.

Mean having at least one common character in each colomn does not significant difference at 5% level.

منابع

1.Ahmad, F., Ahmad, I., and Khan, M.S. 2008. Screening of free-living rhizospheric bacteria for their multiple plant growth promoting activities. Microbiological Reserch. 163: 173-181.

2.Amirabadi, M., Ardakani, M.R., Rejali, F., and Borji, M. 2010. Determination of efficiency of mycorrhiza and Azotobacter in uptake of microelements, Zn, Cu and Fe under different levels of phosphorus in Corn Hybrid of KSC 704. Soil and Water Research Institute, Iran. 1: 49-56. (In Persian)

3.Arguello, J., Ledesma, A., Nunez, B., and Goldfarb, M. 2006. Vermicompost effects on bulbing dynamics, nonstructural carbohydrate content, yield and quality of *Rosado paraguayo* garlic bulbs. Horticulture Science. 41: 589-592.

4.Auge, R.M. 2001. Water relation, drought and vesicular-arbuscular mycorrhizal symbiosis. J. Mycorrhiza. 11: 3-42.

5.Baslam, M., Garmendia, I., and Goicoechea, N. 2013. The arbuscular mycorrhizal symbiosis can overcome reductions in yield and nutritional quality in greenhouse lettuces cultivated at in appropriate growing seasons. Scientia Horticulturae. 164: 145-154.

6.Casson, S.A., and Lindsey, K. 2003. Genes and ignalling in root development. New Phytologist. Pp: 11-38.

7.Cekic, F., Unyayar, S., and Ortas, I. 2012. Effects of arbuscular mycorrhizal inoculation on biochemical parameters in *Capsicum annuum* grown under long term salt stress. Turk. J. Bot. 36: 63-72.

8.Dalp, Y. 1993. Vesicular arbuscular mycorrhiza. Canadian Society of Soil Science, Lewis Publication, Pp: 287-301.

9.Darzi, M., Ghalavand, A., and Rejali, F. 2009. The effects of biofertilizeres application on N, P, K assimilation and seed yield in fennel (*Foeniculum vulgare* Mill.). Iran. J. Med. Arom. Plant. 25: 1. 1-19. (In Persian)

10.Emami, E. 1996. Methods of plant analysis. Tehran University Press, 231p. (In Persian)

11.Fatma, E., El-Zamik, I., Tomade, T., and Seham Salem, H. 2006. Efficiency of biofertilizers, organic and inorganic amendments application on growth and essential oil (*Majorana hortensis* L.) plants grown in sandy and calcareous. Department of Agricultural Microbiology, Faculty of Agriculture, Egypt.

12.Flores, E., Frias, J., and Herrero, A. 2005. Photosynthetic nitrate assimilation in cyanobacteria. Photosynthesis Research. 83: 117-133.

13.Gamalero, E., Lingua, G., and Glick, B. 2009. Beneficial role of plant growth promoting bacteria and arbuscular mycorrhizal fungi on plant responses to heavy metal stress. Can. J. Microbiol. 55: 501-514.

14.Garcia, K., Delteil, A., Becquer, A., and Sentenac, H. 2014. Potassium nutrition of ectomycorrhizal *Pinus pinaster*: Overexpression of the *Hebeloma cylindrosporum* Hc Trk1 transporter affects the translocation of both K^+ and P in the host plant. New Phytologist. 201: 951-960.

15.George, E., Haussler, K., Vetterlien, D., and Marschner, H. 1992. Water and nutrient translocation of *Glomus mosseae*. Can. J. Bot. 70: 2130-2137.
16.Girgis, M., Khalil, H., and Sharaf, M. 2008. In vitro evaluation of rock phosphate and potassium solubilizing potential of some Bacillus strains. Austr. J. Bas. Appl. Sci. 2: 68-81.
17.Giri, B., Kapoor, R., and Mukerji, K. 2003. Influence of arbuscular mycorrhizal fungi and salinity on growth, biomass and mineral nutrition of Acacia auriculiformis. Biology and Fertility of Soils. 38: 170-175.
18.Gupta, M., Kiran, S., Gulati, A., Singh, B., and Tewari, R. 2012. Isolation and identification of phosphate solubilizing bacteria able to enhance the growth and aloin-A biosynthesis of *Aloe barbadensis* Miller. Microbiological Research. 167: 358-363.
19.Hawkins, H., and George, E. 2001. Reduced N-15 nitrogen transport through arbuscular mycorrhizal hypha to *Triticum aestivum* L. supplied ammonium vs. nitrate nutrition. Annals of Botany. 87: 3003-311.
20.He, L.Y., Chen, Z.J., Ren, G.D., and Sheng, X.F. 2009. Increased cadmium and lead uptake of a cadmium hyperaccumulator tomato by cadmium-resistant bacteria. Ecotoxicology and Environmental Safety. 72: 1343-1348.
21.Henri, F., Laurette, N., Annette, D., and Dieudonne, N. 2008. Solubilization of inorganic phosphates and plant growth promotion by strains of *Pseudomonas fluorescens* isolated from acidic soils of Cameroon. Afric. J. Microbiol. Res. 2: 171-178.
22.Jarstfer, A.C., koppenol, P.F., and Sylvia, D.M. 1998. Tissue magnesium and calcium effects on arbuscular mycorrhizal development and fungal reproduction. Mycorrhizal. 7: 237-242.
23.Li, W., Ye, Z., and Wong, M. 2007. Effects of bacteria on enhanced metal uptake of the Cd/Zn hyper accumulating plant, Sedum alfredii. J. Exp. Bot. 58: 4173-4182.
24.Mostajeran, A., Amou Aghaei, R., and Emtiazi, G. 2005. The effect of Azospirillum and alkalinity of irrigation water on grain yield and grain protein content of wheat cultivars. Iran. J. Biol. 18: 248-256. (In Persian)
25.Neilands, J.B. 1995. Siderophores: structure and function of microbial iron transport compounds. J. Biol. Chem. 270: 26723-26726.
26.Perner, H., Schwarz, D., Bruns, C., and George, E. 2007. Effect of arbuscular mycorrhizal colonization and two levels of compost supply on nutrient uptake and flowering of pelargonium plants. Mycorrhiza. 17: 469-474.
27.Philips, J., and Hayman, D. 1970. Improved Procedures for Cleaning Roots and staining parasiticand vesicular arbuscular mycorrhizal fungi for rapid assessment of infection. Transactions of the British Mycological Society. 55: 158-161.
28.Plassard, C., and Dell, B. 2010. Phosphorus nutrition of mycorrhizal trees. Tree Physiology. 30: 1129-1139.
29.Rajkumar, M., Prasad, M., and Freitas, H. 2010. Potential of siderophore producing bacteria for improving heavy metal phytoextraction. Trends in Biotechnology. 28: 142-149.
30.Ramezanpour, M. 2009. Identification of phosphate solubilizing Pseudomonas sp. of rice rhizosphere based on 16 SrDNA genotyping. Middle-East J. Sci. Res. 4: 4. 348-353.
31.Ramezanpour, Y., Khavazi, K., Asadi Rahmani, H., and Popov, M. 2010. Genetic diversity and efficiency of indole acetic acid production by the isolates of *Pseudomonads fluorescent* from Rrhizosphere of rice (*Oryza sativa* L.). Amer. –Euras. J. Agric. Environ. Sci. 7: 1. 103-109.
32.Rashid, M., Khalil, S., Ayub, N., and Latif, F. 2004. Organic acids production and phosphate solubilization by phosphate solubilizing microorganisms (PSM) under in vitro conditions. Pak. J. Biol. Sci. 7: 187-196.
33.Saleh Rastin, N. 2001. Biofertilizers and their role in order to reach to sustainable agriculture. A compilation of papers of necessity for the production of biofertilizers in Iran. Pp: 1-54. (In Persian)
34.Saravanan, V., Madhaiyan, M., and Thangaraju, M. 2007. Solubilization of zinc compounds by the diazotrophic, plant growth promoting bacterium Gluconacetobacter diazotrophicus. Chemosphere. 66: 1794-1798.

35.Scheloske, S., Maetz, M., and Povh, B. 2004. Element distribution in mycorrhizal and nonmycorrhizal roots of the halophyte Astertripolium determined by proton induced X-raye mission. Protoplasma. 223: 183-189.
36.Schippers, B., Bakker, A.W., Bakker, P.A., and Vanpeer, R. 1990. Benefical deleterious effects of HCN- production Pseudomonas on rhizosphere interaction. Plant and Soil. 129: 75-83.
37.Shaalan, M.N. 2005. Influence of biofertilizers and chicken manure on growth, yield and seeds quality of (*Nigella sativa* L.) Plants. Egypt. J. Agric. Res. 83: 18-28.
38.Sheng, X.F., and He, L. 2006. Solubilization of potassium bearing minerals by a wild type strain of Bacillus edaphicus and its mutants and increased potassium uptake by wheat. Can. J. Microbiol. 52: 66-72.
39.Soltani, A., Saleh Rastin, N., Khavazi, K., Asadi Rahmani, H., and Abbaszadeh, P. 2007. Isolation and determination of PGP characteristics in some of indigenous *Pseudomonads fluorescent* of Iranian soils. Iran. J. Soil Water. Sci. 21: 2. 289-277. (In Persian)
40.Stajkovic, O., Delic, D., Josic, D., Kuzmanovic, D., Rasulic, N., and Knezevic-Vukcevic, J. 2011. Improvement of common bean growth-promoting bacteria. Romanian Biotecnological Letters. 16: 1. 5919-5926.
41.Telci, I., Toncer, O.G., and Sahbaz, N. 2006. Yield, essential oil content and composition of *Coriandrum sativum* varieties (var. vulgare Alef. and var. microcarpum DC.) grown in two different locations. J. Essen. Oil Res. 18: 189-193.
42.Toussaint, J.P., and Smith, E. 2007. Arbuscular mycorrhizal fungi can induce the production of phytochemicals in sweet basil irrespective of phosphorus nutrition. Mycorrhizal. 17: 291-297.
43.Wani, P.A., and Khan, M.S. 2010. Bacillus species enhance growth parameters of chickpea (*Cicer arietinum* L.) in chromium stressed soils. Food and Chemical Toxicology. 48: 3262-3267.
44.Yao, L., Wu, Z., Zheng, Y., and Li, C. 2010. Growth promotion and protection against salt stress by *Pseudomonas putida* Rs-198 on cotton. Europ. J. Soil Biol. 46: 49-54.
45.Yassen, T., Burni, T., and Husain, F. 2011. Effect of arbuscular mycorrhiza inoculation on nutrient uptake, growth and productivity of cowpea (*Vigna urguiculata*) varieties. Afric. J. Biotechnol. 10: 43. 8593-8598.
46.Yehuda, Z., Shenker, M., Romheld, V., Hadar, Y., and Chen, Y. 1996. The role of ligand exchange in the uptake of iron from microbial siderophores by gramineous plants. Plant Physiology. 112: 1273-1280.
47.Zarea, M.J., Ghalavand, A., Goltapeh, E., and Rejali, F. 2009. Role of clover species and AM fungi on forage yield, nutrient uptake, nitrogenase activity and soil microbial biomass. J. Agric. Technol. 5: 2. 337-347.
48.Zargari, A. 1997. Medicinal Plants. Tehran University, 103p. (In Persian)

J. of Soil Management and Sustainable Production, Vol. 6(1), 2016
http://ejsms.gau.ac.ir

Gorgan University of Agricultural Sciences and Natural Resources

The effect of plant growth promoting rhizobacteria (PGPR) and arbuscular mycorrhizal fungi (AMF) inoculation on nutrient uptake and some morphological factors in peppermint (*Mentha piperita*)

M. Mahmoudzadeh[1], M.H. Rasouli Sadaghiani[2], *H. Asgari Lajayer[3] and A. Hasani[4]

[1]Ph.D. Student, Dept. of Soil Science and Engineering, University of Lorestan, [2]Associate Prof., Dept. of Soil Science and Engineering, University of Urmia, [3]Ph.D. Student, Dept. of Soil Science and Engineering, University of Tabriz, [4]Professor, Dept. of Horticulture Science, University of Urmia

Received: 12/23/2014; Accepted: 05/11/2015

Abstract

Background and Objectives: Recently using microorganisms, including plant growth promoting rhizobacteria (PGPR) and arbuscular mycorrhizal fungi (AMF) for improving plant growth and nutrition has been widely considered. Plant growth promoting rhizobacteria and arbuscular mycorrhizal fungi can enhance plant growth by increasing nutrient uptake. The effect of biofertilizers on growth and yield of medicinal plants was studied extensively in the world, but behavior of medicinal plants in such conditions has not been studied well in Iran. This research investigates the effect of PGPR and AMF on some morphological parameters (root colonization percentage, shoot and root dry weight), macro (nitrogen, phosphorus, potassium, calcium and magnesium) and micro (iron, zinc and copper) nutrients uptake, percentage of root colonization and some morphological factors of peppermint.

Materials and Methods: The greenhouse experiment was conducted as a complete randomized design with nine replications by using the three species of AMF *(Glomus fasciculatum, Glomus intraradices* and *Glomus mosseae*) and three bacterial species treatment as PGPR (*Azotobacter, Bacillus* and group of *Fluorescens Pseudomonas* contain of *Pseudomonas aeruginosa, Pseudomonas fluorescens, Pseudomonas putida*) and control (non bacterial-mycorrhizal) in gricultural college of aurmia university.

Results: The results showed that the application of PGPR and AMF had significant effect ($P \leq 0/05$) on root and shoot dry weight and nutrients uptake compared to control. The highest values of root dry weight and root colonization percentage were seen in plants inoculated with *Glomus fasciculatum*. Maximum uptake of nitrogen (140 mg pot^{-1}) was obtained at *Azotobacter,* while Maximum uptake of phosphorus, potassium and magnesium uptake (54.1, 731 and 280 mg pot^{-1}, respectively) were observed at *Pseudomonas* treatment. The highest values of calcium, iron, zinc and copper uptake (418, 0.177, 0.048 and 0.050 mg pot^{-1}, respectively) were achieved at *Glomus fasciculatum* treatment.

Conclusion: The results showed that using of PGPR and AMF can have useful role in improving the absorption of nutrients and morphological parameters in peppermint. Based on the experimental results, it could be concluded that suitable status of PGPR and AMF plants was due to increased root absorption area and finally proper nutrition and better performance. Also, according to the results, PGPR and AMF could be used in greenhouse cultivation of medicinal herbs, especially peppermint.

Keywords: Nitrogen, Phosphorus, Potassium, Iron, Copper, Zinc

* Corresponding Authors; Email: h-asgari@tabrizu.ac.ir