

تأثیر مایه کوبی با قارچ *Piriformospora indica* بر برخی ویژگی‌های رویشی، فیزیولوژیکی، بیوشیمیایی و میزان اسانس گیاه مرزنجوش (*Origanum vulgare* L. ssp. *vulgare*)

زهرا اصلانی^{۱*}، احد هدایتی^۲، عباس حسنی^۳ و محسن برین^۴

*- نویسنده مسئول، دانش‌آموخته دکتری، گروه علوم باغبانی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه ارومیه، ارومیه، ایران

پست الکترونیک: zaslani60@yahoo.com

۲- دکتری، گروه تولید متابولیت‌های ثانویه در سامانه‌های زیستی، جهاد دانشگاهی واحد آذربایجان غربی، ارومیه، ایران؛ دانش‌آموخته دکتری، گروه علوم باغبانی،

دانشکده کشاورزی، دانشگاه ارومیه، ارومیه، ایران

۳- استاد، گروه علوم باغبانی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه ارومیه، ارومیه، ایران

۴- استادیار، گروه خاک‌شناسی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه ارومیه، ارومیه، ایران

تاریخ پذیرش: فروردین ۱۴۰۱

تاریخ اصلاح نهایی: فروردین ۱۴۰۱

تاریخ دریافت: بهمن ۱۴۰۰

چکیده

قارچ *Piriformospora indica* از جمله میکروارگانیسم‌های محرک رشد است که می‌تواند باعث تحریک رشد و افزایش تحمل گیاه در شرایط نامساعد محیط گردد. به‌منظور بررسی تأثیر همزیستی گیاه مرزنجوش (*Origanum vulgare* L. ssp. *vulgare*) با قارچ *P. indica* بر برخی ویژگی‌های رویشی، فیزیولوژیکی، بیوشیمیایی و جذب عناصر غذایی و میزان اسانس گیاه یک آزمایش گلدانی در قالب طرح کاملاً تصادفی با سه تکرار اجرا گردید. تیمارها شامل شاهد (بدون مایه‌کوبی) و مایه‌کوبی با قارچ *P. indica* بودند. نتایج نشان داد که مایه‌کوبی با *P. indica* موجب افزایش معنادار ویژگی‌های رشدی، شاخص کلروفیل، میزان فنل کل و فلاونوئید کل، درصد اسانس و جذب عناصر غذایی آهن، پتاسیم و فسفر گردید. بیشترین و کمترین مقادیر عملکرد وزن تر اندام هوایی (۳/۹۲ و ۳/۰۶ گرم در گیاه)، عملکرد ماده خشک اندام هوایی (۱/۱۲ و ۰/۷۸ گرم در گیاه)، شاخص کلروفیل (۴۷ و ۴۲/۲۳)، فنل کل (۴/۸۸ و ۲/۹۶ میلی‌گرم اسید گالیک در وزن تر)، فلاونوئید کل (۰/۵۲ و ۰/۲۳ میلی‌گرم کوئرستین در وزن تر)، محتوی اسانس (۱/۴۳٪ و ۱/۰۱٪)، فسفر (۰/۴۱٪ و ۰/۳۵٪)، پتاسیم (۳/۸٪ و ۲/۶٪) و آهن (۲۱۹ و ۱۸۰ میلی‌گرم در کیلوگرم) به ترتیب در گیاهان مایه‌کوبی شده با قارچ و گیاهان مایه‌کوبی نشده مشاهده گردید. مایه‌کوبی با *P. indica* میزان ترکیب‌های اصلی اسانس مانند کارواکرول و تیمول را کاهش و در مقابل میزان ترکیب‌های پارا-سیمن، کارواکرول متیل اتر و گاما-ترینین را نسبت به شاهد افزایش داد. در مجموع یافته‌های این تحقیق نشان داد که مایه‌کوبی با میکروارگانیسم‌های محرک رشد می‌تواند منجر به بهبود ویژگی‌های مورفولوژیکی و فیتوشیمیایی گیاه دارویی مرزنجوش از طریق بهبود جذب عناصر غذایی گردد.

واژه‌های کلیدی: فسفر، فنل کل، قارچ اندوفیت، محتوی اسانس، مرزنجوش (*Origanum vulgare* L. ssp. *vulgare*).

مقدمه

مرزنجوش با نام علمی *Origanum vulgare* L. گونه علفی مدیترانه‌ای از خانواده Lamiaceae است که شامل چندین زیرگونه مانند *viridulum*, *vulgare*, *hirtum*، *gracile*، *virens* و *viride* می‌باشد (Goncercariuc et al., 2015). مرزنجوش دارای ترکیب‌هایی از قبیل اسانس (کارواکرول، تیمول، لینالول و پارا-سیمن)، پلی‌فنل‌ها، تری‌ترینوئیدها و استرول‌ها است. گیاه مرزنجوش در طب سنتی به‌عنوان ضدنفخ، اشتهاآور، خلط‌آور و ضدسرفه استفاده می‌شود (Pezzani et al., 2017). براساس خواص ضد میکروبی اثبات شده (به‌ویژه بر علیه میکروارگانسیم‌های *Salmonella enteritidis* و *Aspergillus niger*)، اسانس مرزنجوش و ترکیب‌های آن برای کاربردهای ضد میکروبی در صنایع غذایی مورد استفاده قرار می‌گیرد. همچنین این گیاه به‌دلیل دارا بودن ترکیب‌های فنلی زیاد و خاصیت آنتی‌اکسیدانی بالا در صنایع داروسازی نیز استفاده می‌شود (Gündüz et al., 2010; Oniga et al., 2019). در تحقیقات جدید خواص دارویی زیادی از قبیل ضد میکروبی، ضد ویروسی (Akrayi et al., 2015)، ضد التهاب و ضد اسپاسم (Zhang et al., 2014) برای مرزنجوش ذکر شده است. همچنین به‌دلیل دارا بودن خواص آنتی‌اکسیدانی بالا، به‌عنوان نگهدارنده طبیعی در صنایع غذایی و آرایشی بهداشتی مورد استفاده قرار می‌گیرد (Pezzani et al., 2017). علت قسمتی از مشکلات موجود در بخش تولیدات زراعی کشور را می‌توان در کم‌توجهی به تغذیه علمی گیاهان جستجو کرد. البته توجه به نقش و کارایی سیستم ریشه‌ای به‌عنوان اصلی‌ترین کانال جذب آب و عناصر معدنی در تمامی گیاهان از مهمترین مباحثی است که در بخش تغذیه علمی گیاهان مورد تأکید قرار می‌گیرد. یکی از راهکارهای علمی ارائه شده برای افزایش رشد و کارایی سیستم ریشه‌ای گیاهان، استفاده از ریزجانداران همزیست و به‌ویژه قارچ‌های میکروسکوپی منحصر به فردی به نام قارچ‌های میکوریزی در مجاورت سیستم ریشه‌ای گیاهان است (Khalvandi et al., 2018).

(al., 2017).

قارچ *Piriformospora indica* متعلق به خانواده Sebacinaceae، از رده قارچ‌های بازیدومیست‌ها، یک قارچ اندوفیت بوده که با ریشه طیف وسیعی از گیاهان کلونیزاسیون تشکیل می‌دهد (Weiss et al., 2004). یکی از مزیت‌های این قارچ در مقایسه با قارچ‌های میکوریزی که همراه با میزبان رشد می‌کنند، توانایی رشد آنها در غیاب میزبان و در محیط کشت مصنوعی می‌باشد (Verma et al., 1998). قارچ‌های اندوفیت، به‌لحاظ بهبود توانایی گیاه در جذب مواد غذایی، تعادل یون، حفظ فعالیت آنزیم و افزایش محتوی کلروفیل موجب بهبود رشد و عملکرد گیاهان می‌شوند (Zarea et al., 2012). قارچ *P. indica* از طریق افزایش سرعت جذب نیتروژن، فسفات و مواد معدنی موجب بهبود مقاومت گیاهان زراعی در شرایط نامساعد محیطی می‌گردد (Mensah et al., 2020). تأثیر مثبت مایه‌کوبی با قارچ *P. indica* در بهبود پارامترهای رشدی و میزان جذب عناصر غذایی در گیاهان مختلف مانند نعناع فلفلی (*Mentha piperita*) (Khalvandi et al., 2017)، مریم‌گلی (*Salvia officinalis*) (Aslani et al., 2021) و ذرت (*Zea mays*) (Yun, 2018) گزارش شده است. Khademian و همکاران (۲۰۱۹) گزارش کردند که در گیاه کنجد (*Sesamum indicum*)، مایه‌کوبی با قارچ *P. indica* موجب بهبود پارامترهای رشدی و افزایش میزان جذب عناصر غذایی از قبیل نیتروژن، فسفر و پتاسیم شد. همچنین بیان کردند که قارچ *P. indica* باعث بهبود آسمیلاسیون نیتروژن و فسفر به‌ترتیب از طریق افزایش فعالیت آنزیم نترات ردوکتاز و ناقلین فسفات می‌گردد. در تحقیق دیگری، در خیار، مایه‌کوبی با قارچ‌های میکوریز موجب افزایش میزان عناصر پتاسیم، کلسیم، منیزیم، آهن، روی، مس و منگنز نسبت به گیاهان بدون مایه‌کوبی شد (Hashem et al., 2018).

مطالعه کشت گیاهان دارویی همراه با کاربرد میکروارگانسیم‌های تقویت‌کننده رشد می‌تواند ضمن تأمین اهداف کشاورزی پایدار، راه‌حل مناسبی برای بهبود عملکرد

تهیه بستر، مایه‌کوبی و کشت بذر

خاک مورد استفاده در این آزمایش با نسبت ۳ به ۲ (خاک به ماسه) مخلوط گردید و در گلدان‌هایی با قطر دهانه ۲۳ سانتی‌متر و ارتفاع ۲۵ سانتی‌متر توزیع شد. برخی از خصوصیات فیزیکی و شیمیایی خاک مورد استفاده در آزمایش در جدول ۱ نشان داده شده است. برای مایه‌کوبی، ابتدا بذرهای گیاه مرزنجوش با اتانول ۷۰٪ به مدت ۳۰ ثانیه و بعد با هیپوکلرید سدیم ۲٪ به مدت ۳ دقیقه ضدعفونی سطحی شدند. سپس چندین مرتبه با آب استریل شستشو شد و روی کاغذ واتمن در پتری‌دیش‌ها به مدت ۵ روز برای جوانه‌زنی کشت شدند. بذرهای جوانه‌زده با سوسپانسیون قارچ حاوی $10^5 \times 5$ اسپور در میلی‌لیتر مایه‌کوبی و به مدت ۱ ساعت روی شیکر برای اتصال اسپورهای قارچ به سطح ریشه‌چه قرار داده شد. در نهایت تعدادی از بذرهای مایه‌کوبی شده و شاهد در گلدان کاشته شدند. گلدان‌ها پس از کشت، به گلخانه با دمای روزانه 20 ± 2 تا 28 ± 2 درجه سانتی‌گراد و رطوبت نسبی ۶۰-۵۰٪ منتقل شدند. پس از سبز شدن و تنک کردن گیاهچه‌ها در چند مرحله، در نهایت در داخل هر گلدان ۷ بوته نگهداری گردید. ۲ ماه پس از کشت، گیاهان برای سنجش ویژگی‌های مورد بررسی برداشت شدند.

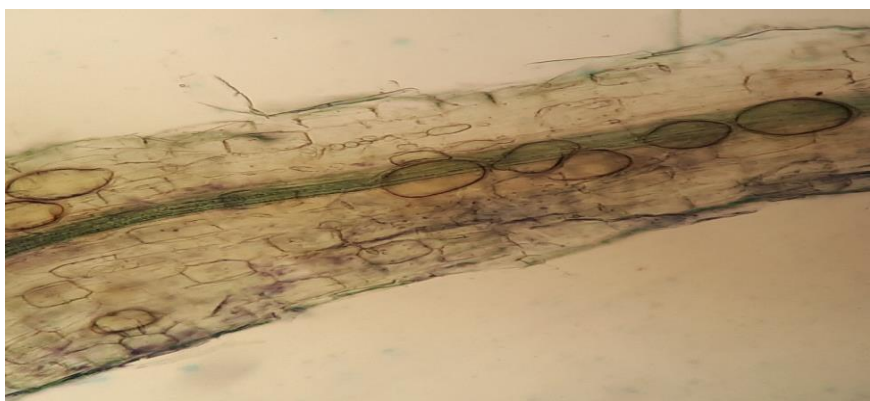
گیاهان دارویی در بیشتر مناطق دنیا باشد. بنابراین، این تحقیق با هدف بررسی توان قارچ *P. indica* در بهبود رشد و عملکرد گیاه مرزنجوش انجام شد.

مواد و روش‌ها

این تحقیق به صورت یک آزمایش گلدانی در طی بهار و تابستان سال ۱۳۹۸ در گلخانه تحقیقاتی دانشکده کشاورزی دانشگاه ارومیه، در قالب طرح کاملاً تصادفی با سه تکرار اجرا شد. تیمار مورد بررسی شامل مایه‌کوبی با قارچ *P. indica* و عدم مایه‌کوبی (شاهد) بود.

تهیه مایه تلقیح قارچ *P. indica*

قارچ *P. indica* از آزمایشگاه گروه خاک‌شناسی دانشگاه ارومیه تهیه و بعد در تعدادی پتری‌دیش محتوی محیط جامد Kaefer (حاوی عناصر میکرو، ماکرو، نمک‌ها، پیتون و عصاره مخمر) کشت گردید. چهار هفته بعد از قرار گرفتن پتری‌دیش‌ها در انکوباتور با دمای ۲۴ درجه سانتی‌گراد اسپورهای قارچ جمع‌آوری و شمارش آنها با استفاده از لام نتوبار انجام شد. سپس سوسپانسیونی با غلظت 5×10^5 اسپور در میلی‌لیتر تهیه و برای مایه‌کوبی استفاده شد.



شکل ۱- کلامیدوسپورهای *Piriformospora indica* در قشر ریشه گیاه *Origanum vulgare ssp. vulgare* مایه‌کوبی شده

Figure 1. *Piriformospora indica* chlamydospores in root cortex of inoculated *Origanum vulgare ssp. vulgare* plants

ارزیابی کلونیزاسیون ریشه توسط قارچ

یک ماه بعد از کشت گیاهان، نمونه برداری از ریشه گیاه شاهد و مایه کوبی شده برای تعیین آلودگی ریشه با قارچ در زیر میکروسکوپ نوری انجام شد. ابتدا ریشه ها با آب معمولی شسته شده و بعد قطعات یک سانتی متری ریشه در داخل KOH ۱۰٪ به مدت یک ساعت در دمای ۹۰ درجه سانتی گراد قرار گرفتند. پس از سرد شدن، ریشه ها شسته شده و به مدت چند دقیقه در داخل HCl ۱ نرمال قرار داده شدند و نمونه ها در داخل محلولی از اسیدلاکتیک، گلیسرول و آب به نسبت ۱:۱:۱ برای مطالعات میکروسکوپی نگهداری گردیدند (Philips & Hayman, 1970) (شکل ۱).

اندازه گیری ویژگی های رشدی

در پایان دوره آزمایش، برای بررسی اثرهای مایه کوبی با قارچ بر ویژگی های رشدی مرزنجوش، از هر واحد آزمایشی به طور تصادفی سه بوته انتخاب و ارتفاع بوته (توسط خط کش)، وزن تر و خشک برگ و ساقه (به وسیله ترازوی دیجیتالی)، وزن تر و خشک ریشه و تعداد برگ اندازه گیری شد. برای تعیین عملکرد خشک، قسمت های رویشی در داخل آون (دمای ۷۰ درجه سانتی گراد به مدت ۴۸ ساعت) قرار داده شد و در نهایت وزن خشک آنها به طور جداگانه محاسبه گردید.

اندازه گیری ویژگی های فیزیولوژیکی و فیتوشیمیایی

شاخص کلروفیل

شاخص کلروفیل برگ گیاهان شاهد و تیمار شده در این پژوهش توسط دستگاه کلروفیل سنج (SPAD) اندازه گیری شد.

عصاره گیری برای سنجش میزان فنل کل و فلاونوئید کل

برای سنجش میزان فنل کل و فلاونوئید کل از عصاره متانولی استفاده گردید. برای این منظور ۰/۵ گرم از بافت

تازه گیاهی وزن شده و در ۲۰ میلی لیتر متانول ۸۰٪ به خوبی در هاون چینی سائیده شد. سپس نمونه های مورد نظر در فالكون های ۵۰ میلی لیتری ریخته شد و به مدت ۳۰ دقیقه (دمای ۳۰ درجه سانتی گراد) در دستگاه اولتراسونیک (در معرض امواج فراصوت) قرار گرفت. پس از این مرحله، نمونه ها با استفاده از کاغذ صافی، صاف گردید و تا زمان شروع اندازه گیری ها در یخچال (۴ درجه سانتی گراد) نگهداری شد (Singleton et al., 1999).

ارزیابی فنل کل

برای اندازه گیری میزان فنل کل از روش Folin-Ciocalteu با اندکی تغییر استفاده شد. به طور خلاصه به ۲۰ میکرو لیتر از عصاره متانولی، ۱۲۰۰ میکرو لیتر معرف فولین ۱۰٪ اضافه شد و پس از ۵ دقیقه، به آن ۹۶۰ میکرو لیتر کربنات سدیم ۷/۵٪ اضافه و در آخر ۱۸۰ میکرو لیتر آب مقطر اضافه گردید. جذب مخلوط حاصل بعد از ۳۰-۴۰ دقیقه قرار گرفتن در تاریکی در طول موج ۷۶۰ نانومتر با اسپکتوفتومتر قرائت شد. برای رسم منحنی استاندارد نیز از اسید گالیک (Gallic acid) استفاده شد و میزان فنل کل عصاره ها بر اساس میلی گرم اسید گالیک بر گرم وزن تر گزارش گردید (Singleton et al., 1999).

ارزیابی فلاونوئید کل

از روش رنگ سنجی کلرید آلومینیوم برای تعیین مقدار فلاونوئید کل استفاده شد. بدین ترتیب که ۱۰ میکرو لیتر از عصاره متانولی با ۱۵۰ میکرو لیتر نیتريت سدیم، ۳۰۰ میکرو لیتر محلول کلرید آلومینیوم (۱۰٪) و ۱ میلی لیتر محلول سود (NaOH) ۱ مولار داخل لوله آزمایش مخلوط شد و جذب مخلوط در طول موج ۳۸۰ نانومتر نسبت به شاهد قرائت گردید. برای رسم منحنی استاندارد نیز از کوئرستین استفاده و میزان فلاونوئید کل عصاره ها بر اساس میلی گرم کوئرستین بر گرم وزن تر گزارش شد (Chang et al., 2002).

استخراج اسانس و تعیین درصد آن

تا ۱۸۰ درجه سانتی‌گراد افزایش یافت و ۳ دقیقه در همان دما ماند. از گاز هلیوم به‌عنوان گاز حامل استفاده شد. جریان گاز حامل یک میلی‌لیتر بر دقیقه و انرژی یونیزاسیون (EI) ۷۰ الکترون ولت بود. دریچه تزریق در مد Split با نسبت ۱:۵۰۰ و گستره رنج جرمی از ۴۰ تا ۵۰۰ جرم بر بار بود. برای شناسایی ترکیب‌ها از کتابخانه جرمی Wily 2007 و NIST 2005 استفاده شد. دمای دریچه تزریق در ۲۵۰ درجه سانتی‌گراد تنظیم شده بود. پردازش داده‌های دستگاه با استفاده از نرم‌افزار Chemstation در محیط ویندوز انجام شد.

اندازه‌گیری عناصر غذایی

برای اندازه‌گیری میزان عناصر غذایی، نمونه‌های برگ‌ها از بوته‌هایی که برای اندازه‌گیری ویژگی‌های رشدی انتخاب شده بودند تهیه گردید و پس از شستشو و هوا خشک کردن و آون خشک شدن (۷۰ درجه سانتی‌گراد به مدت ۴۸ ساعت) به‌وسیله آسیاب پودر شده و با هضم به روش سوزاندن خشک، عصاره آنها تهیه و در نهایت میزان فسفر برگ‌ها با استفاده از روش رنگ‌سنجی (رنگ زرد مولیبدات وانادات) و با استفاده از دستگاه اسپکتروفتومتر در طول موج ۴۷۰ نانومتر اندازه‌گیری شد (Cotteni, 1980). مقادیر پتاسیم به روش نشر شعله‌ای با استفاده از دستگاه فلیم‌فتومتر و مقدار آهن با استفاده از دستگاه جذب اتمی اندازه‌گیری گردید (Mulvaney, 1996).

تجزیه آماری داده‌ها و نرم‌افزارهای مورد استفاده

این آزمایش در قالب طرح کاملاً تصادفی با سه تکرار انجام شد. برای انجام تجزیه واریانس و مقایسه میانگین‌های ویژگی‌های اندازه‌گیری شده از نرم‌افزار SAS 9.1 استفاده شد. مقایسه میانگین‌ها با استفاده از روش آزمون چند دامنه‌ای دانکن در سطح ۵٪ انجام گردید.

برای استخراج و اندازه‌گیری درصد اسانس، اندام هوایی گیاهان برداشت شده در سایه خشک شد، سپس ۲۰ گرم از برگ‌های خشک خرد شده در داخل بالن ریخته شد و به‌روش تقطیر با آب به‌مدت ۳ ساعت به‌وسیله دستگاه کلونجر عمل استخراج اسانس انجام گردید. پس از خاموش کردن هیتر، اسانس استخراج شده به‌طور مستقیم از لوله مدرج قسمت جمع‌آوری برداشت گردید و رطوبت موجود در آن با استفاده از سولفات سدیم حذف شده و در داخل یخچال نگهداری شد.

جداسازی و شناسایی ترکیب‌های تشکیل‌دهنده اسانس

جداسازی و شناسایی ترکیب‌های اسانس با استفاده از دستگاه‌های کروماتوگرافی گازی (GC) و کروماتوگرافی گازی متصل به طیف‌سنج جرمی (GC/MS) در آزمایشگاه شیمی گیاهی واحد جهاد دانشگاهی آذربایجان غربی انجام شد. ۰/۲ میکرولیتر از هر نمونه اسانس به دستگاه GC تزریق شد و درصد ترکیب‌های تشکیل‌دهنده هر اسانس محاسبه گردید. برای محاسبه شاخص بازدارندگی ترکیب‌ها، مخلوطی از هیدروکربن‌های C8-C22 به دستگاه مطابق با شرایط تزریق نمونه اسانس تزریق شد. شناسایی ترکیب‌های تشکیل‌دهنده اسانس با استفاده از اندیس‌های بازدارندگی و بررسی طیف‌های جرمی ترکیب‌ها و مقایسه آنها با طیف‌های موجود در کتابخانه‌های رایانه‌ای و مراجع معتبر انجام شد. دستگاه کروماتوگرافی گازی Agilent 7890A ساخت آمریکا، مجهز به آشکارساز جرمی مدل Agilent 5975 C و نرم‌افزار HP Chemstation در محیط ویندوز و اینجکتور (injector) با مد split / splitless و ستون موئین HP-5 MS با طول ۳۰ متر و قطر داخلی ۰/۲۵ میلی‌متر و ضخامت ۰/۲۵ میکرومتر از کمپانی Agilent آمریکا بود. دمای اولیه آون در ۸۰ درجه سانتی‌گراد به مدت سه دقیقه نگه داشته شد و بعد با سرعت ۸ درجه سانتی‌گراد بر دقیقه

جدول ۱- برخی خواص فیزیکی و شیمیایی خاک مورد استفاده

Table 1. Some physical and chemical properties of studied soil

Soil texture	pH	EC (dS.m ⁻¹)	O.M (%)	CaCO ₃ (%)	K (mg.kg ⁻¹)	P (mg.kg ⁻¹)	N (%)
Clay Loam	7.92	0.78	1.28	31.5	202	7.24	0.52

نتایج

ویژگی‌های رشدی

مقایسه میانگین‌های مربوط به تیمار قارچی نشان داد که کاربرد میکروارگانیزم باعث بهبود ویژگی‌های رشدی نسبت به گیاهان مایه‌کوبی نشده گردید (جدول ۲). مایه‌کوبی با قارچ عملکرد ماده تر و خشک اندام هوایی را به ترتیب ۲۱/۹٪ و ۳۰/۳۵٪ نسبت به گیاهان مایه‌کوبی نشده افزایش داد.

بر اساس نتایج بدست آمده، کاربرد قارچ بر کلیه ویژگی‌های رشدی اندازه‌گیری شده (ارتفاع بوته، تعداد برگ، وزن تر برگ، ساقه و ریشه، وزن خشک برگ، ساقه و ریشه، عملکرد ماده تر و خشک اندام هوایی) تأثیر معنی‌داری داشته است. همچنین

جدول ۲- تجزیه واریانس و مقایسه میانگین تأثیر مایه‌کوبی با قارچ *Piriformospora indica* بر برخی ویژگی‌های رشدی

Origanum vulgare ssp. *vulgare*

Table 2. ANOVA and means comparison of *Piriformospora indica* inoculation effects on some growth parameters of *Origanum vulgare* ssp. *vulgare*

Treatment→ Traits↓	Control (no inoculation)	Inoculation with <i>P.</i> <i>indica</i>	ANOVA
Plant height (cm)	25.91b	35.17a	**
Number of leaves	62.13b	72.59a	*
Leaf fresh weight (g.plant ⁻¹)	1.81b	2.32a	*
Leaf dry weight (g.plant ⁻¹)	0.53b	0.60a	**
Stem fresh weight (g.plant ⁻¹)	1.25b	1.6a	**
Stem dry weight (g.plant ⁻¹)	0.41b	0.52a	**
Root fresh weight (g.plant ⁻¹)	2.50b	4.09a	**
Root dry weight (g.plant ⁻¹)	0.61b	1.10a	**
Herb fresh yield (g.plant ⁻¹)	3.06b	3.92a	**
Herb dry yield (g.plant ⁻¹)	0.78b	1.12a	**

ns, *, and **: not significant and significant at $P \leq 0.05$ and $P \leq 0.01$, respectively.

The means in each column followed by similar letter(s) are not significantly different using Duncan's test ($P < 0.05$).

میزان فنل کل و فلاونوئید کل

نتایج نشان داد که میزان فنل کل به‌طور معنی‌داری تحت تأثیر مایه‌کوبی با قارچ قرار گرفت. بر اساس نتایج مقایسه میانگین‌ها، گیاهان مایه‌کوبی شده با *P. indica* مقادیر بیشتری از فنل کل را نسبت به گیاهان مایه‌کوبی نشده داشتند (جدول ۳). نتایج تجزیه واریانس تأثیر قارچ بر میزان فلاونوئید کل (جدول ۳) نشان داده شده است.

ویژگی‌های فیزیولوژیکی و فیتوشیمیایی

نتایج حاصل نشان داد که کاربرد قارچ تأثیر معنی‌داری بر شاخص کلروفیل داشت. نتایج مقایسه میانگین‌های مربوط به اثر مایه‌کوبی با قارچ بر شاخص کلروفیل نشان داد که گیاهان مایه‌کوبی شده با قارچ *P. indica* از بیشترین مقدار شاخص کلروفیل (۴۷/۳۶) برخوردار بودند که با گیاهان مایه‌کوبی نشده تفاوت معنی‌دار داشت (جدول ۳).

بر اساس این نتایج، تأثیر قارچ *P. indica* در سطح احتمال ۱٪ بر میزان فلاونوئید کل معنی دار بود. مقایسه میانگین‌ها نشان داد که گیاهان مایه‌کوبی شده با قارچ *P. indica* از محتوی فلاونوئید کل بیشتری نسبت به گیاهان بدون مایه‌کوبی برخوردار بودند (جدول ۳).

جدول ۳- تجزیه واریانس و مقایسه میانگین تأثیر مایه‌کوبی با قارچ *Piriformospora indica* بر شاخص کلروفیل، محتوی اسانس، فنل

کل و فلاونوئید کل *Origanum vulgare ssp. vulgare*

Table 3. ANOVA and means comparison of *Piriformospora indica* inoculation effects on chlorophyll index, essential oil content, total phenols, and total flavonoids of *Origanum vulgare ssp. vulgare*

Treatment	Chlorophyll (SPAD)	Essential oil content (%)	Total phenols (mg GAE g ⁻¹ FW)	Total flavonoids (mg QE g ⁻¹ FW)
Inoculation with <i>P. indica</i>	47a	1.43a	4.88 a	0.52a
Control (no inoculation)	42.23b	1.01b	2.96b	0.23b
ANOVA	*	**	**	**

ns, *, and **: not significant and significant at $P \leq 0.05$ and $P \leq 0.01$, respectively.

The means in each column followed by similar letter(s) are not significantly different using Duncan's test ($P < 0.05$).

جدول ۴- تأثیر مایه‌کوبی با قارچ *Piriformospora indica* بر ترکیب‌های اسانس *Origanum vulgare ssp. vulgare*

Table 4. Effects of *Piriformospora indica* inoculation on essential oil composition of *Origanum vulgare ssp. vulgare*

No.	Compound	Control (no inoculation)	Inoculation with <i>P. indica</i>	RI
1	α -thujene	1.0	1.3	924
2	α -pinene	1.5	2.0	934
3	sabinene	-	0.4	971
4	1-octen-3-ol	1.5	1.6	975
5	β -myrcene	1.0	1.2	988
6	α -terpinene	3.2	3.5	1016
7	ρ -cymene	13.3	24.2	1026
8	γ -terpinene	20.2	22.5	1057
9	<i>cis</i> -sabinene hydrate	-	0.4	1098
10	terpinene-4-ol	0.8	0.6	1177
11	α -terpineol	0.8	0.3	1191
12	carvacrol methyl ether	12.7	15.6	1231
13	thymol	5.3	3.5	1289
14	carvacrol	34.0	18.4	1298
15	β -caryophyllene	0.5	0.4	1417
16	germacrene D	-	0.3	1484
17	<i>cis</i> - α -bisabolene	1.2	2.1	1506
Total (%)		97.8	98.5	

محتوی اسانس

طبق نتایج تجزیه واریانس (جدول ۳)، کاربرد قارچ *P. indica* تأثیر معنی‌داری بر محتوی اسانس داشت. مقایسه میانگین‌ها نشان داد که کاربرد قارچ موجب افزایش محتوی اسانس در گیاهان شد. به طوری که بیشترین میزان این ویژگی (۱/۴۳٪) در گیاهان مایه‌کوبی شده با *P. indica* و کمترین میزان آن (۱/۰۱٪) در گیاهان مایه‌کوبی نشده مشاهده گردید.

اجزاء و ترکیب‌های تشکیل‌دهنده اسانس

ترکیب‌های شناسایی شده در اسانس و درصد هریک از آنها در جدول ۴ نشان داده است. در اسانس حاصل از کاربرد قارچ، ۱۹ ترکیب شناسایی شد که در مجموع ۹۸/۵٪ از کل اجزاء اسانس را تشکیل دادند. ترکیب‌های عمده اسانس در این تیمار به ترتیب مقدار عبارت است از: پارا-سیمن (۲۴/۲٪)، گاما-تریپنین (۲۲/۵٪)، کارواکرول (۱۸/۴٪)، کارواکرول متیل اتر (۱۵/۷٪)، آلفا-تریپنین (۳/۵٪) و تیمول (۳/۶٪). در اسانس حاصل از شاهد (بدون مایه‌کوبی)،

۱۵ ترکیب شناسایی شد که در مجموع ۹۷/۸٪ از کل اجزاء اسانس را تشکیل دادند. ترکیب‌های عمده اسانس در شاهد به ترتیب مقدار عبارت است از: کارواکرول (۳۴٪)،

گاما-تریپنین (۲۰/۲٪)، پارا-سیمن (۱۳/۳٪)، کارواکرول متیل اتر (۱۲/۷٪)، تیمول (۵/۳٪) و آلفا-تریپنین (۳/۲٪).

عناصر غذایی

فسفر، پتاسیم و آهن

بر اساس نتایج حاصل از این تحقیق، مایه‌کوبی با قارچ بر میزان فسفر برگ تأثیر معنی‌داری داشت. بیشترین مقدار فسفر (۰/۴۱٪) در گیاهان مایه‌کوبی شده با قارچ و کمترین مقدار آن (۰/۳٪) در گیاهان مایه‌کوبی نشده مشاهده گردید (جدول ۵).

بر اساس نتایج بدست آمده، مایه‌کوبی با قارچ بر میزان پتاسیم برگ تأثیر معنی‌داری داشت. همان‌طور که در جدول ۵ نشان داده شده است، کاربرد میکروارگانیزم باعث افزایش میزان پتاسیم برگ نسبت به گیاهان مایه‌کوبی نشده گردید. بیشترین مقدار پتاسیم (۳/۸٪) در گیاهان مایه‌کوبی شده با قارچ و کمترین مقدار آن (۲/۶٪) در گیاهان مایه‌کوبی نشده بدست آمد (جدول ۵). مطابق با نتایج تجزیه واریانس، کاربرد قارچ در سطح احتمال ۵٪ بر میزان آهن برگ معنی‌دار شد (جدول ۵). نتایج مقایسه میانگین‌های مربوط به قارچ نشان داد که گیاهان مایه‌کوبی شده از میزان آهن بیشتری در مقایسه با گیاهان مایه‌کوبی نشده برخوردار بودند (جدول ۵).

جدول ۵- تجزیه واریانس و مقایسه میانگین تأثیر مایه‌کوبی با قارچ *Piriformospora indica* بر میزان عناصر غذایی برگ

Origanum vulgare ssp. *vulgare*

Table 5. ANOVA and means comparison of *Piriformospora indica* inoculation effects on amount of leaf nutrients of *Origanum vulgare* ssp. *vulgare*

Treatment	P (%)	K (%)	Fe (mg.kg ⁻¹)
Inoculation with <i>P. indica</i>	0.4a	3.8a	2.19a
Control (no inoculation)	0.35b	2.6b	180b
ANOVA	*	**	*

ns, *, and **: not significant and significant at $P \leq 0.05$ and $P \leq 0.01$, respectively.

The means in each column followed by similar letter(s) are not significantly different using Duncan's test ($P < 0.05$).

بحث

نتایج این تحقیق نشان داد که مایه‌کوبی گیاه مرزنجوش با میکروارگانسیم محرک رشد باعث بهبود ویژگی‌های رشدی و عملکرد گیاه در مقایسه با گیاهان مایه‌کوبی نشده گردید. البته، اثرهای مفید همزیستی با قارچ *P. indica* در گیاهان ممکن است ناشی از بهبود ویژگی‌های فیزیولوژیکی مانند وضعیت آبی گیاه و فتوسنتز (Ghorbani et al., 2018)، افزایش رشد و تکثیر ریشه‌ها به دلیل تولید اسید ایندول استیک، افزایش تولید هورمون سیتوکینین و رشد جوانه‌های جانبی (Vadassery et al., 2008) و بهبود جذب مواد غذایی باشد (Evelin et al., 2009).

نتایج این تحقیق با یافته‌های برخی از پژوهشگران در مطالعه روی نعنای فلفلی (Khalvandi et al., 2017) و آویشن (*Thymus vulgaris*) (Kari Dolatabadi et al., 2012) مبنی بر افزایش ویژگی‌های رشدی در همزیستی با قارچ *P. indica* مطابقت دارد.

نقش مثبت قارچ *P. indica* در بهبود رنگیزه‌های فتوسنتزی از جمله کلروفیل توسط پژوهشگران گزارش شده است (Zarea et al., 2012؛ Rahmani Samani et al., 2019). یکی از دلایل افزایش غلظت کلروفیل در گیاهان مایه‌کوبی شده با قارچ، جذب بیشتر عناصر غذایی دخیل در ساختار کلروفیل برگ است (Kadian et al., 2013). نتایج این تحقیق بیانگر افزایش جذب عناصر غذایی در گیاهان مایه‌کوبی شده با قارچ *P. indica* در مقایسه با گیاهان مایه‌کوبی نشده می‌باشد. بنابراین بیشتر بودن میزان شاخص کلروفیل در گیاهان مایه‌کوبی شده در این تحقیق را می‌توان به بهبود جذب عناصر غذایی در گیاهان تیمار شده نسبت داد.

نتایج تحقیق نشان داد که مایه‌کوبی با قارچ *P. indica* میزان فنل و فلاونوئید کل را در مقایسه با گیاهان بدون مایه‌کوبی افزایش داد. در راستای نتایج این تحقیق Tyagi و همکاران (۲۰۱۷) گزارش کردند که مایه‌کوبی گیاه *Eleusine coracana* با قارچ *P. indica* موجب افزایش

میزان فنل و فلاونوئید کل گردید، بدین ترتیب که میزان این ترکیب‌ها در گیاهان مایه‌کوبی شده دارای اختلاف معنی‌داری با تیمار بدون مایه‌کوبی بودند و بیشترین میزان ترکیب‌های مذکور در گیاهان مایه‌کوبی شده مشاهده گردید. همچنین در درمنه مایه‌کوبی شده با قارچ *P. indica* و باکتری *Azotobacter* میزان فلاونوئید کل و آرتمیزین نسبت به تیمار بدون مایه‌کوبی بیشتر بود (Arora et al., 2017). مسیره‌های بیوسنتز فنل و فلاونوئید به شدت توسط محرک‌های زیستی، از جمله قارچ‌ها و باکتری‌ها القاء می‌شوند. ریزوباکتری‌های تقویت‌کننده رشد ممکن است سازوکارهای دفاعی گیاه را به روشی مشابه با میکروارگانسیم‌های بیماری‌زا فعال کنند. برای نمونه، تغییر در متابولیت‌های ثانویه مانند ترکیب‌های فنلی اغلب در پاسخ‌های دفاعی گیاه مشاهده می‌شود (Van Loon, 2007).

نتایج حاصل از این تحقیق نشان داد که کاربرد قارچ *P. indica* باعث افزایش محتوی اسانس در گیاهان مایه‌کوبی شده گردید. در راستای نتایج این تحقیق Khalvandi و همکاران (۲۰۱۷) گزارش کردند در نعنای فلفلی مایه‌کوبی شده با قارچ *P. indica* درصد و عملکرد اسانس نسبت به گیاهان شاهد افزایش یافته است. در تفسیر این نتایج بیان شد که میکروارگانسیم‌های اندوفیت باعث افزایش جذب عناصر غذایی به‌ویژه فسفر از طریق افزایش تولید اکسین، سیتوکینین و فعالیت آنزیم فسفاتاز می‌شود، در نتیجه NADPH و ATP مورد نیاز برای بیوسنتز ترکیب‌های ترپنوئیدی موجود در اسانس‌ها را تأمین می‌کند. مشابه نتایج این تحقیق، تأثیر مثبت مایه‌کوبی با میکروارگانسیم‌های محرک رشد بر میزان اسانس در گیاهان نعنای (*Mentha arvensis*) (Bharti et al., 2014) و رزماری (*Rosmarinus officinalis*) (Dehghani Bidgoli et al., 2019) نیز گزارش شده است.

همچنین نتایج نشان داد که مایه‌کوبی با قارچ *P. indica* موجب ایجاد تغییراتی در میزان ترکیب‌های اصلی اسانس شد. بدین ترتیب که در اثر مایه‌کوبی با قارچ میزان

گیاهان شاهد که در این تحقیق مشاهده گردید با نتایج Yun و همکاران (۲۰۱۸) در ذرت و Khalvandi و همکاران (۲۰۱۷) در نعنای فلفلی همخوانی داشت. مطابق با نتایج این تحقیق، در گیاه *Chlorophytum sp.* مایه‌کوبی شده با قارچ *P. indica* میزان فسفر و عناصر ریزمغذی مانند آهن، مس، روی و منگنز جذب شده نسبت به تیمار بدون مایه‌کوبی بیشتر بود. آنان بیان کردند که قارچ با افزایش سطح جذب از طریق گسترده کردن هیف‌های خود در ریزوسفر به جذب مواد غذایی کمک می‌کند (Gosal et al., 2010). قارچ *P. indica* فعالیت آنزیم نیترات ردوکتاز وابسته به NADH را در ریشه آراییدوپیسیس و تنباکو افزایش داده و بدین طریق جذب نیتروژن از خاک را بهبود بخشیده است (Sherameti et al., 2005). عناصر ریزمغذی ضروری برای رشد و نمو گیاهان شامل آهن، بُر، مس، روی، مولیبدن، منگنز و کلر هستند که به‌عنوان کوفاکتور برای چندین آنزیم درگیر در سیستم انتقال الکترون در پلاستیدها و میتوکندری عمل می‌کنند (Johnson et al., 2014). در تحقیقات قبلی گزارش کرده‌اند که قارچ *P. indica* از طریق ترشح سیدروفورها و کلاته کردن عناصر ریزمغذی آنها را در اختیار گیاه قرار می‌دهند (Achatz et al., 2010؛ Gosal et al., 2013).

References

- Achatz, B., Rüden, S.V., Andrade, D., Neumann, E., Kühnemann, J.P., Kogel, K.H., Philipp, F. and Waller, F., 2010. Root colonization by *Piriformospora indica* enhances grain yield in barley under diverse nutrient regimes by accelerating plant development. *Plant Soil*, 33:7-59.
- Akrayi, H.F., Salih, R.M. and Hamad, P.A., 2015. In vitro screening of antibacterial properties of *Rhus coriaria* and *Origanum vulgare* against some pathogenic bacteria. *Aro-The Scientific Journal of Koya University*, 3(2): 35-41.
- Alraey, D.A., Haroun, S.A., Omar, M.N., Abd-ElGawad, A.M., El-Shobaky, A.M. and Mowafy, A.M., 2019. Fluctuation of essential oil constituents in *Origanum syriacum* subsp. *sinaicum* in response to plant growth promoting bacteria. *Journal of Essential Oil Bearing Plants*, 22(4): 1022-1033.
- Arora, M., Saxena, P.M.Z., Abdin, M.Z. and Varma, A., 2017. Interaction between *Piriformospora indica*

ترکیب‌های اصلی اسانس مانند کارواکرول و تیمول کاهش یافت و در مقابل میزان ترکیب‌های پارا-سیمن، کارواکرول متیل اتر و گاما-تریپنن نسبت به شاهد افزایش پیدا کرد. در تحقیقات مختلف انجام شده در زمینه تأثیر میکروارگانیزم‌ها بر ترکیب‌های اسانس گیاهان دارویی، گزارش‌های ضد و نقیضی وجود دارد. در اثر مایه‌کوبی گیاه مرزه (*Satureja khuzistanica*) با میکروارگانیزم‌های محرک رشد ترکیبات اسانس تحت تأثیر قرار نگرفت و تغییرات معنی‌داری مشاهده نشد (Nooshcom et al., 2015). در تحقیق دیگری، Aslani و همکاران (۲۰۱۴) با بررسی تأثیر مایه‌کوبی با قارچ‌های میکوریزا (*Glomus mosseae* و *Glomus intraradices*) در گیاه ریحان (*Ocimum basilicum*) گزارش کردند که اعمال تیمار مایه‌کوبی با قارچ‌های میکوریزا میزان لینالول را افزایش و در مقابل میزان اوژنول را کاهش داد. در راستای نتایج این تحقیق Alraey و همکاران (۲۰۱۹) با بررسی تأثیر سویه‌های مختلف باکتری محرک رشد بر ترکیب‌های اسانس مرزنجوش (*Origanum syriacum*)، بیان کردند که مایه‌کوبی با سویه *Paenibacillus polymyxa* با افزایش میزان پارا-سیمن و گاما-تریپنن، میزان کارواکرول را کاهش داد.

نتایج تحقیق نشان داد که مایه‌کوبی با قارچ *P. indica* میزان عناصر غذایی فسفر، پتاسیم و آهن را در برگ گیاهان مایه‌کوبی شده افزایش داد. Varma و همکاران (۲۰۱۲) گزارش کردند که قارچ *P. indica* با تولید آنزیم فسفاتاز باعث افزایش انتقال فسفات از ریزوسفر به ریشه گیاهان می‌شود. مایه‌کوبی گیاهان با میکروارگانیزم‌های تولیدکننده هورمون اسید ایندول استیک (IAA) با تحریک رشد طولی و انشعابات فرعی ریشه جذب آب و عناصر غذایی مانند فسفر و نیتروژن را تسهیل می‌کند (Egamberdieva et al., 2017). البته غلظت بالای فسفر در گیاهان مایه‌کوبی با قارچ *P. india* که در این تحقیق مشاهده شد با نتایج Khalvandi و همکاران (۲۰۱۷) در نعنای فلفلی مطابقت دارد. غلظت بالای پتاسیم در گیاهان تیمار شده نسبت به

- Sebacinales and Their Biotechnological Applications (Soil Biology, 33). Springer-Verlag Berlin Heidelberg Germany, 410p.
- Gosal, S.K., Karlupia, A., Gosal, S.S. Chhibba, M. and Varma, A., 2010. Biotization with *Piriformospora indica* and *Pseudomonas fluorescens* improves survival rate, nutrient acquisition, field performance and saponin content of micropropagated *Chlorophytum* sp. Indian Journal of Biotechnology, 9: 289-297.
 - Gündüz, G.T., Gönül, Ş.A. and Karapınar, M., 2010. Efficacy of oregano oil in the inactivation of *Salmonella typhimurium* on lettuce. Food Control, 21(4): 513-517.
 - Hashem, A., Alqarawi, A.A., Radhakrishnan, R. and Al-Arjani, A.F., 2018. Arbuscular mycorrhizal fungi regulate the oxidative system, hormones and ionic equilibrium to trigger salt stress tolerance in *Cucumis sativus* L. Saudi Journal of Biological Sciences, 25(6): 1102-1114.
 - Johnson, J.M., 2014. The role of cytosolic calcium signaling in beneficial and pathogenic interactions in *Arabidopsis thaliana*. PhD Thesis. Friedrich-Schiller-University Jena, Germany.
 - Kadian, N., Yadav, K., Badda, N. and Aggarwal A., 2013. AM fungi ameliorates growth, yield and nutrient uptake in *Cicer arietinum* L. under salt stress. Russian Agricultural Sciences, 39: 321-329.
 - Kari Dolatabadi, H., Mohammadi Gol Tapeh, E., Moeini, A. and Verma, A., 2012. Evaluation of the effect of concentration of auxin and fungi *Piriformospora indica* and *Sebacina vermifera* the peppermint (*Mentha piperita*) and thyme (*Thymus vulgaris*) *in vitro*. Journal of Medicinal Plants, 2(9): 13-22.
 - Khademian, R., Asghari, B., Sedaghati, B. and Yaghoobian, Y., 2019. Plant beneficial rhizospheric microorganisms (PBRMs) mitigate deleterious effects of salinity in sesame (*Sesamum indicum* L.): physio-biochemical properties, fatty acids composition and secondary metabolites content. Industrial Crops and Products, 136: 129-139.
 - Khalvandi, M., Amerian, M., Pirdashti, H., Baradaran, M. and Golami A., 2017. *Piriformospora indica* symbiotic effect on the quantity and quality of essential oils and some physiological parameters of peppermint (*Mentha piperita*) under salt stress. Journal of Plant Process and Function, 6(21): 169-184.
 - Mensah, R.A., Li, D., Liu, F., Tian, N., Sun, X., Hao, X. and Cheng, C., 2020. Versatile *Piriformospora indica* and its potential applications in horticultural crops. Horticultural Plant Journal, 6(2): 111-121.
 - Mulvaney, R.L., 1996. Nitrogen-inorganic forms: 1167-1184. In: Sparks D.L., Page, A.L., Helmke, P.A. and Loeppert, R.H., (Eds.). Methods of Soil Analysis- and *Azotobacter chroococcum* governs better plant physiological and biochemical parameters in *Artemisia annua* L. plants grown under in vitro conditions. Symbiosis, 75: 103-112.
 - Aslani, Z., Hassani, A., Abdollahi Mandoulakani, B., Barin, M. and Maleki, R., 2021. Effect of plant growth-promoting microorganism's inoculation on some growth and physiological parameters and nutrients content of sage (*Salvia officinalis*) under salinity stress conditions. Applied Soil Research, 9(3): 104-122.
 - Aslani, Z., Hassani, A., Rasouli-Sadaghiani, M., Esmailpour, B. and Rohi, Z., 2014. Effects of arbuscular mycorrhizal (AM) fungi on essential oil content and nutrients uptake in basil under drought stress. Journal of Medicinal Plants and By-product, 3(2): 147-153.
 - Bharti, N., Barnawal, D., Awasthi, A., Yadav, A. and Kalra, A., 2014. Plant growth promoting rhizobacteria alleviate salinity induced negative effects on growth, oil content and physiological status in *Mentha arvensis*. Acta Physiologiae Plantarum, 36: 45-60.
 - Chang, C.C., Yang, M.H., Wen, H.M. and Chern, J.C., 2002. Estimation of total flavonoid content in propolis by two complementary colorimetric methods. Journal of Food and Drug Analysis, 10(3): 178-182.
 - Cotteni, A., 1980. Methods of plant analysis: 64-100. In: Westerman R.L., (Ed.). Soil and Plant Testing. FAO Soil Bulletin, 784p.
 - Dehghani Bidgoli, R., Azarnezhad, N., Akhbari, M. and Ghorbani, M., 2019. Salinity stress and PGPR effects on essential oil changes in *Rosmarinus officinalis* L. Agriculture and Food Security, 8(2): 1-7.
 - Egamberdieva, D., Wirth, S.J., Alqarawi, A.A., Abd-Allah, E.F. and Hashem, A., 2017. Phytohormones and beneficial microbes: essential components for plants to balance stress and fitness. Frontiers in Microbiology, 8: 1-14.
 - Evelin, H., Kapoor, R. and Giri, B., 2009. Arbuscular mycorrhizal fungi in alleviation of salt stress: A review. Annals of Botany, 104(7): 1263-1280.
 - Ghorbani, A., Razavi, S. M., Omran, V.O.G. and Pirdashti H., 2018. *Piriformospora indica* alleviates salinity by boosting redox poise and antioxidative potential of tomato. Russian Journal of Plant Physiology, 65(6):898-907.
 - Goncariuc, M., Balmush, Z., Benea, A., Barsan, V. and Sandu, T., 2015. Biochemical diversity of the *Origanum vulgare* ssp. *vulgare* L. and *Origanum vulgare* ssp. *hirtum* (link) ietswaart genotypes from Moldova. Journal of The American Society for Microbiology, Life Sciences, 2(326): 92-100.
 - Gosal, S.K., Kalia, A. and Varma, A., 2013. *Piriformospora indica*: Perspectives and retrospectives: 53-77. In: Varma, A., Kost, G. and Oelmüller, R., (Eds.). *Piriformospora indica*:

- Tyagi, J., Varma, A. and Pudake, R.N., 2017. Evaluation of comparative effects of arbuscular mycorrhiza (*Rhizophagus intraradices*) and endophyte (*Piriformospora indica*) association with finger millet (*Eleusine coracana*) under drought. *European Journal of Soil Biology*, 81: 1-10.
- Vadassery, J., Ritter, C. and Venus, Y., 2008. The role of auxins and cytokinins in the mutualistic interaction between *Arabidopsis* and *Piriformospora indica*. *Molecular Plant-Microbe Interactions*, 21: 1371-1383.
- Van Loon, L.C., 2007. Plant response to plant growth-promoting rhizobacteria. *European Journal of Plant Pathology*, 119: 243-254.
- Varma, A., Sheramati, I. and Tripathi, S., 2012. The symbiotic fungus *Piriformospora indica*. Review: 231-254. In: Hock, B., (Ed.). *The Mycota: Fungal Associations*. Berlin: Springer, 406p.
- Verma, S., Varma, A., Rexer, K.H., Hassel, A., Kost, G., Sarbhoy, A. and Franken, P., 1998. *Piriformospora indica*, gen. et sp. nov., a new root-colonizing fungus. *Mycologia*, 90(5): 896-903.
- Weiss, M., Selosse, M.A., Rexer, K.H., Urban, A. and Oberwinkler, F., 2004. Sebaciniales: a hitherto overlooked cosm of heterobasidiomycetes with a broad mycorrhizal potential. *Mycological Research*, 108(9): 1003-1010.
- Yun, P., Xu, L., Wang, S., Shabala, L., Shabala, S. and Zhang, W.Y., 2018. *Piriformospora indica* improves salinity stress tolerance in *Zea mays* L. plants by regulating Na⁺ and K⁺ loading in root and allocating K⁺ in shoot. *Plant Growth Regulation*, 86(2): 323-331.
- Zarea, M.J., Hajinia, S., Karimi, N., Mohammadi, G.E., Rejali, F. and Varma, A., 2012. Effect of *Piriformospora indica* and *Azospirillum* strains from saline or non-saline soil on mitigation of the effects of NaCl. *Soil Biology and Biochemistry*, 45: 139-146.
- Zhang, X.L., Guo, Y.S., Wang, C.H., Li, G.Q., Xu, J.J., Chung, H.Y. and Wang, G.C., 2014. Phenolic compounds from *Origanum vulgare* and their antioxidant and antiviral activities. *Food Chemistry*, 152: 300-306.
- Part 3. *Chemical Methods*, John Wiley & Sons, 1421p.
- Nooshcom, A., Majnoon Hosseini, N., Hadian, J., Jahansuz, M.R., Khavazi, K., Salehnia, A.N. and Hedayatpour, S., 2015. Investigation of the effect of bio-chemical fertilizers on the quantitative and qualitative characteristics of *Satureja khuzistanica* Jamzad. *Journal of Crop Production*, 8(4): 87-103.
- Oniga, I., Cristina Puscas, C. and Silaghi-Dumitrescu, R., 2019. *Origanum vulgare* ssp. *vulgare*: Chemical Composition and Biological Studies. *Molecules*, 23: 1-14.
- Pezzani, R., Vitalini, S. and Iriti, M., 2017. Bioactivities of *Origanum vulgare* L.: an update. *Phytochemistry Reviews*, 16(6): 1253-1268.
- Philips, J. and Hayman, D., 1970. Improved procedures for cleaning roots and staining parasitic and vesicular arbuscular mycorrhizal fungi for rapid assessment of infection. *Transactions of the British Mycological Society*, 55: 158-161.
- Rahmani Samani, M., Pirbalouti, A.G., Moattar, F. and Golparvar, A.R., 2019. L-Phenylalanine and bio-fertilizers interaction effects on growth, yield and chemical compositions and content of essential oil from the sage (*Salvia officinalis* L.) leaves. *Industrial Crops and Products*, 137: 1-8.
- Sherameti, I., Shahollari, B., Venus, Y., Altschmied, L., Varma, A. and Oelmüller, R., 2005. The endophytic fungus *Piriformospora indica* stimulates the expression of nitrate reductase and the starchdegrading enzyme glucan-water dikinase in tobacco and *Arabidopsis* roots through a homeodomain transcription factor which binds to a conserved motif in their promoters. *Journal of Biological Chemistry*, 280: 2641-2647.
- Singleton, V.L., Orthofer, R. and Lamuela-Raventós, R.M., 1999. Analysis of total phenols and other oxidation substrates and antioxidants by means of folin-ciocalteu reagent. *Methods in Enzymology*, 299: 152-178.

Effects of inoculation with *Piriformospora indica* on some vegetative, physiological, and biochemical parameters and essential oil content of *Origanum vulgare* L. ssp. *vulgare*

Z. Aslani^{1*}, A. Hedayati², A. Hassani³ and M. Barin⁴

1*- Corresponding author, Ph.D. student, Department of Horticultural Science, Faculty of Agriculture, Urmia University, Urmia, Iran
E-mail: zaslani60@yahoo.com

2- Academic Center for Education, Culture and Research (ACECR), West Azarbayjan Branch, Urmia, Iran; Ph.D. Student, Department

of Horticultural Science, Faculty of Agriculture, Urmia University, Urmia, Iran

3- Department of Horticultural Science, Faculty of Agriculture, Urmia University, Urmia, Iran

4- Department of Soil Science, Faculty of Agriculture, Urmia University, Urmia, Iran

Received: January 2022

Revised: April 2022

Accepted: April 2022

Abstract

Piriformospora indica is one of the growth-promoting microorganisms that can stimulate growth and increase plant tolerance in adverse environmental conditions. To evaluate the effects of *P. indica* inoculation on some vegetative, physiological, biochemical, and nutrient acquisition parameters and essential oil content of *Origanum vulgare* L. ssp. *vulgare*, a pot experiment was conducted in a completely randomized design with three replications. Treatments included control (without inoculation) and inoculation with *P. indica*. The results showed that inoculation with

P. indica increased growth parameters, chlorophyll index, total phenols and total flavonoids content, essential oil content, and nutrients uptake of iron, potassium, and phosphorus significantly. The highest and lowest amounts for aerial parts fresh yield (3.92 and 3.06 g plant⁻¹), aerial parts dry yield (1.12 and 0.78 g plant⁻¹), chlorophyll index (47 and 42.23), total phenol (4.88 and 2.96 mg GAE g⁻¹ FW), total flavonoids (0.52 and 0.23 mg QE g⁻¹ FW), essential oil content (1.43 and 1.01%), phosphorus (0.41 and 0.35%), potassium (3.8 and 2.6%), and iron (219 and 180 mg kg⁻¹) were obtained in the plants inoculated with fungus and non-inoculated plants, respectively. Inoculation with *P. indica* decreased the amount of major essential oil compounds such as carvacrol and thymol and increased the amount of ρ -cymene, carvacrol methyl ether, and γ -terpinene compared to the control. Overall, the findings of this study showed that inoculation with growth-promoting microorganisms can improve the morphological and phytochemical traits of oregano by improving nutrients uptake.

Keywords: Phosphorus, total phenols, endophytic fungus, essential oil content, *Origanum vulgare* L. ssp. *vulgare*.