نشریه بوم شناسی کشاورزی
جلد ۹، شماره ۱، بهار ۱۳۹۶، ص. ۸۷-۷۶

Journal of Agroecology
Vol. 9, No. 1, Spring 2017, p. 76-87

ارزیابی اثر تلقیح باکتری *تیوباسیلوس* و همزیستی میکوریزایی بر عملکرد و اجزای عملکرد گیاه سیر(*Allium sativum* L.) در سطوح مختلف گوگرد

پروین حجازی راد [۱]، احمد غلامی [۲*]، همت الله پیردشتی [۳] و ارسطو عباسیان [۴]

تاریخ دریافت: ۱۳۹۳/۰۸/۱۳
تاریخ پذیرش: ۱۳۹۳/۱۲/۰۱

حجازی راد، پ.، غلامی، ا.، پیردشتی، ه.، وعباسیان، ا. ۱۳۹۶. ارزیابی اثر تلقیح باکتری *تیوباسیلوس* و همزیستی میکوریزایی بر عملکرد و اجزای عملکرد گیاه سیر(*Allium sativum* L.) در سطوح مختلف گوگرد. بوم‌شناسی کشاورزی، ۹(۱): ۸۷-۷۶.

چکیده

سیر (*Allium sativum* L.) در میان گیاهان دارویی از اهمیت زیادی برخوردار است. مهمترین ماده مؤثره در این گیاه الیسین است. این پژوهش به منظور بررسی تأثیر همزیستی میکوریزایی (*Glomus intraradices*)، باکتری *تیوباسیلوس* و گوگرد بر خصوصیات کمی و کیفی گیاه سیر در مزرعه پژوهشی دانشگاه کشاورزی و منابع طبیعی ساری در سال ۱۳۹۱ در قالب طرح بلوک کامل تصادفی در ۳ تکرار اجرا شد. در این تحقیق۱۲ تیمار مورد بررسی قرار گرفتند که عبارت بودند از: شاهد، تلقیح میکوریزا (M)، *تیوباسیلوس* (T)، M+T، ۷۵ کیلوگرم گوگرد در هکتار ($S_{۷۵}$)، $M+S_{۷۵}$، $T+S_{۷۵}$، $T+M+S_{۷۵}$، ۱۵۰کیلوگرم گوگرد در هکتار ($S_{۱۵۰}$)، $M+S_{۱۵۰}$، $T+S_{۱۵۰}$، $T+M+S_{۱۵۰}$. نتایج این بررسی نشان داد که وزن خشک پیاز (*Allium cepa* L.) درترکیب تیماری۷۵ و ۱۵۰کیلوگرم گوگرد در هکتار همراه با باکتری تیو باسیلوس و همزیستی میکوریزایی در مقایسه با کرت‌های شاهد به طور معنی‌داری افزایش یافت. همچنین اثر کاربرد۱۵۰کیلوگرم گوگرد در هکتار به تنهایی و همراه با باکتری *تیوباسیلوس* و یا همزیستی میکوریزایی به طور معنی‌دار عملکرد خشک غده را در مقایسه با شاهد افزایش داد. اثر تمام تیمارهای به کار گرفته شده در این تحقیق بر کلروفیل a در مقایسه با شاهد معنی‌دار بود. در حالیکه تنها ترکیبات تیمار کاربرد۱۵۰کیلوگرم گوگرد همراه با باکتری *تیوباسیلوس* و یا همزیستی میکوریزایی و یا هر دو آن‌ها بر میزان کلروفیل b معنی‌دار بود. تمام ترکیبات تیماری مورد استفاده در این بررسی که در آن‌ها ۷۵ و ۱۵۰ کیلوگرم گوگرد به کار رفته بود به طور معنی‌دار سبب افزایش میزان کارتنوئید در مقایسه با شاهد شدند. در بین تیمارهای مورد بررسی اثر تمام ترکیبات تیماری به جز اثر همزیستی قارچ میکوریزایی بر عملکرد آلیسین در مقایسه با شاهد معنی‌دار بود.

واژه‌های کلیدی: کلروفیل، کلونیزاسیون، ماده مؤثره

مقدمه

ایران از لحاظ آب و هوا، موقعیت جغرافیایی و زمینه رشد گیاهان دارویی یکی از بهترین مناطق جهان محسوب می‌گردد، به طوریکه در گذشته یکی از مناطق مهم در تولید گیاهان دارویی بوده است. دانشمندان ایرانی مانند ابوریحان، ابن سینا و رازی مطالب مفصلی درباره گیاهان دارویی نوشته‌اند که مورد توجه جهانیان بوده است.

علاوه بر اهمیت روز افزون گیاهان دارویی در سطح جهان که می‌تواند جایگزین بسیاری از داروهای شیمیایی شود، صادرات این گیاهان نیز می‌تواند منبع بزرگی از درآمد ارزی برای کشور باشد (Nosrati, 2004). سیر با نام علمی (*Allium sativum* L.) در میان گیاهان دارویی از اهمیت زیادی برخوردار است. سیر گیاهی علفی است که ساقه‌ای به ارتفاع ۲۰ تا ۴۰ سانتی متر داشته و پیاز آن که قسمت متورم و زیرزمینی گیاه را تشکیل می‌دهد، مرکب از ۵ تا ۱۰ قطعه، محصور در غشاء نازک ظریف به رنگ خاکستری مایل به سفید و گاهی صورتی می باشد. برگ گیاه سیر از ناحیه غلاف وضع آویخته داشته و دارای پهنک طویل و منتهی به غلاف درازی است که قسمت زیادی از ساقه را فرا می‌گیرد. مجموعه گل‌های گیاه به رنگ

۱، ۲، ۳ و ۴- به ترتیب دانش آموخته کارشناسی ارشد، دانشیار، گروه زراعت، دانشکده کشاورزی، دانشگاه صنعتی شاهرود و دانشیار، استادیار گروه زراعت، دانشگاه علوم کشاورزی ساری
(*- نویسنده مسئول: (Email: ahgholami@yahoo.com
DOI:10.22067/jag.v9i1.40909

صورتی و گاهی سفید همراه با برجستگی‌های کوچک، در راس دمگل درازی با ظاهر گل آذین چتر مانند ظاهر می‌شوند. براکته‌ای نازک و متورم منتهی به رأس باریک، مجموعه گل ها را فرا می‌گیرد (Darabi & Dehghani, 2010).

اغلب پژوهشگران بر این باورند که با مدیریت خوب و صحیح و با استفاده از کودهای بیولوژیک می‌توان شرایط تغذیه‌ای بهتری را برای گیاه فراهم کرد (Bockman,1997). کاربرد کودهای زیستی برای حفظ توازن زیستی و به منظور به حداکثر رساندن روابط زیستی مطلوب در کشاورزی از اهمیت بسیاری برخوردار است. مصرف کودهای زیستی نظیر قارچ *گلوموس* و باکتری‌های حل‌کننده فسفات در سیستم‌های مبتنی بر اصول کشاورزی پایدار، ضمن حفظ سلامت محیط زیست، موجب افزایش کیفیت و پایداری عملکرد به ویژه در تولید گیاهان دارویی می‌شود. قارچ‌های *گلوموس*، توانایی برقراری یک رابطه همزیستی با ریشه بیشتر گیاهان را دارا می‌باشند (Ruiz-Luzano, 2003). بهبود غلظت عناصر غذایی نظیر فسفر، آهن و منگنز در اثر همزیستی میکوریزایی در مطالعات مختلف اشاره شده است(Li et al., 1991). همچنین وجود این قارچ منجر به بهبود قدرت جذب آب توسط گیاه میزبان می‌گردد که به دنبال آن تولید ماده خشک درگیاه میزبان افزایش می‌یابد (Al-karak etal., 1998).

افزودن گوگرد به خاک به منظور تأمین نیاز گیاه و بهبود وضعیت تغذیه گیاه از طریق آزاد شدن عناصر غذایی مثل فسفر،آهن، روی و ... وقتی مؤثر و نتیجه بخش خواهد بودکه گوگرد به میزان قابل توجهی در خاک اکسید شود. برای جذب گوگرد عنصری توسط گیاه، ابتدا لازم است که این عنصر توسط ریز جانداران خاک به سولفات تبدیل شود. این فرآیند در شرایط گرم و مرطوب چند ماه به طول می‌انجامد (Khademi et al., 2000). چنان چه گوگرد عنصری در سطح خاک پخش شده و همراه با مواد آلی بلافاصله با خاک مخلوط شود، عمل تبدیل در شرایط مرطوب وریزجانداران اکسید کننده گوگرد سریعتر انجام خواهد میکروارگانیسم‌های اکسیدکننده گوگرد است که باکتری‌های *تیوباسیلوس* از مهمترین انواع آن‌ها هستند (Zhi-Hui et al., 2010; Ghorbaninasr et al., 2003). باکتری‌های جنس *تیوباسیلوس* غالباً شیمیولیتوتروف هستند و از گوگرد به عنوان منبع کسب انژری استفاده می کنند. از آنجا که اکسایش گوگرد عمدتاً فرآیندی بیولوژیک است، تحقق این شرط مستلزم وجود جمعیت بالایی از این باکتری هاست. تعداد این میکروارگانیسم‌ها در اکثر خاک‌ها کم بوده و تلقیح خاک با این باکتری‌ها سرعت اکسایش گوگرد را افزایش می‌دهد. در صورتی که جمعیت این باکتری‌ها در خاک پایین باشد، مصرف گوگرد همراه با این باکتری‌ها در خاک‌های قلیایی وآهکی، اثرات سودمندی را به دنبال خواهد داشت (Kelly & Harrison, 1989).

استفاده از گوگرد به عنوان فراوان‌ترین و ارزان‌ترین ماده اسیدزا، به همراه باکتری *تیوباسیلوس* جهت بهبود تغذیه گیاهان در خاک‌های آهکی و تأمین سولفات مورد نیاز گیاه سابقه دیرینه دارد (Lipman et al., 1961).گوگرد به دو شکل معدنی و آلی در خاک‌ها وجود دارد که شکل معدنی آن شامل سولفید و سولفات عناصر مختلف است. سولفات های کلسیم و منیزیم مهمترین ترکیبات معدنی گوگرد در خاک‌های کشاورزی به شمار می‌روند(Killham, 1994). گوگرد از طریق کودها، مواد اصلاح‌کننده، هوادیدگی کانی‌های گوگرد دار، آب آبیاری، مصرف آفت‌کش‌ها، اتمسفر و بقایای آلی وارد خاک شده و توسط آب‌شویی، فرسایش، تصاعد، جذب (توسط گیاهان و میکروارگانیسم‌ها) و سوزاندن بقایای گیاهی از محیط خاک خارج می‌شود (Tidsdale et al., 1993).

این تحقیق به منظور بررسی تأثیر تلقیح مضاعف گیاه سیر با قارچ *گلوموس* و باکتری *تیوباسیلوس* بر عملکرد و اجزای عملکرد، صفات مورفولوژیکی و تأثیر بر عملکرد ماده موثره و میزان آلیسین در حضور مقادیر مختلف گوگرد خاک طراحی و اجرا شد.

مواد و روش‌ها

این تحقیق در مزرعه آموزشی دانشکده کشاورزی و منابع طبیعی ساری در سال ۱۳۹۱ انجام گرفت. شهرستان ساری در عرض جغرافیایی ۳۶ درجه و ۳۴ دقیقه و طول جغرافیایی۵۳ درجه و ۵ دقیقه از نصف‌النهار گرینویچ واقع شده و میانگین ارتفاع آن از سطح دریا ۴۰ متر است. بر اساس تقسیم‌بندی‌های اقلیمی، ساری دارای اقلیم نیمه مرطوب با تابستان گرم و زمستان سرد است. میانگین بارندگی سالانه حدود۷۵۰ میلی‌متر بوده و بارندگی‌ها عمدتاً در فصل بهار و پاییز و زمستان رخ می‌دهد. قبل از انجام عملیات آماده‌سازی زمین و اجرای نقشه آزمایش، به منظور تعیین خصوصیات فیزیکی و شیمیایی از عمق ۲۵–۰ سانتی‌متری خاک مزرعه نمونه برداری به صورت تصادفی صورت گرفت. برخی از نتایج تجزیه شیمیایی و فیزیکی خاک در جدول ۱ نشان داده شده است.

جدول۱- برخی از خصوصیات فیزیکی و شیمیایی خاک مزرعه قبل از کاشت
Table1-Some physical and chemical properties of soil before planting

عمق خاک Soil Depth	کربن آلی Organic C	نیتروژن N	فسفر P	گوگرد S	رس Clay	سیلیت Silt	شن Sand
(سانتی‌متر) (cm)	(درصد) ٪		(میلی‌گرم بر گرم) ($mg.g^{-1}$)			(درصد) ٪	
0-30	1.98	18	10.8	9.75	50	45	5

آزمایش در قالب طرح بلوک‌های کامل تصادفی در سه تکرار اجرا شد. عوامل مورد بررسی عبارت بودند از: همزیستی میکوریزایی (M)، *تیوباسیلوس* (T)، ترکیب M+T، مصرف ۷۵ کیلوگرم گوگرد در هکتار ($S_{۷۵}$)، ترکیب $M+S_{۷۵}$، ترکیب $T+S_{۷۵}$ ، ترکیب $T+M+S_{۷۵}$، مصرف ۱۵۰کیلوگرم گوگرد در هکتار ($S_{۱۵۰}$)، ترکیب $M+S_{۱۵۰}$، ترکیب $T+S_{۱۵۰}$، ترکیب $T+M+S_{۱۵۰}$.

کرت‌ها به ابعاد ۲×۴ متر و دارای چهار خط کشت هر یک به فاصله ۴۰ سانتی‌متر بود، فاصله کشت روی خطوط ۱۰ سانتی‌متر، بین هر کرت تا کرت بعدی یک متر و فاصله بین دو تکرار یک و نیم متر در نظرگرفته شد. مایه تلقیح میکوریزایی که به صورت اندام فعال قارچی (شامل اسپور، هیف و ریشه) بود از ریشه‌های شبدر همزیست با قارچ *گلوموس اسر*[1] تهیه شد. در هر گرم از ماده تلقیح حدود ۳۰ اسپور قارچ وجود داشت. ماده تلقیح قارچ، به میزان ۱۰ گرم در دو سانتی‌متر پایین‌تر از بذر در خاک قرار گرفت.

گوگرد به صورت پودری برای تیمار ۷۵ کیلوگرم در هکتار به مقدار ۴۸ گرم و برای تیمار۱۵۰ کیلوگرم گوگرد در هکتار به مقدار ۹۶ گرم به صورت نواری در کرت‌های مورد نظر استفاده شد. *تیوباسیلوس* تیواکسیدانس به صورت جامد همراه مواد نگهدارنده (دارای $۱۰^{۸}$ کلونی در هر میلی‌لیتر) در بسته‌های یک کیلویی تهیه و بر اساس مقدار توصیه شده، یک هفته قبل از کشت به خاک اضافه شد. در مورد سایر کرت‌ها مواد نگهدارنده به مدت دو ساعت و دمای ۱۲۰ درجه سانتی‌گراد در اتوکلاو استریل و به کرت‌های فاقد باکتری اضافه شد.کاشت بذر در تاریخ ۲۶ آذر ماه انجام شد. در طی فصل رشد عملیات داشت شامل تنک کردن و وجین علف‌های هرز انجام شد و به علت این که کاشت سیر پاییزه بود، نیاز به آبیاری نداشت. در انتهای دوره رشد به منظور اندازه‌گیری صفات مورد نظر در هر کرت، نیم متر از ابتدا و انتهای هر کرت همراه با دو ردیف کناری به عنوان حاشیه در نظر گرفته شدند. از هر کرت آزمایشی چهار بوته به طور تصادفی انتخاب گردید و به آزمایشگاه منتقل شد. در آزمایشگاه وزن خشک غده، میزان آلیسین، کارتنوئید، کلروفیل a و کلروفیل b اندازه گیری شد.

برای استخراج آلیسین از دستگاه HPLC مدلKnauer استفاده شد. فاز متحرک آن ترکیبی از۵۰ درصدی متانول و ۵۰ درصد آب با شدت جریان یک میلی‌لیتر در دقیقه بود. قرائت دستگاه در طول موج ۲۵۰ نانومتر و در درمای ۲۵ درجه سانتی‌گراد با سه بار تزریق ۲۰ میکرولیتر انجام شد (Arzanlou & Bahlooli, 2010). با توجه به هزینه بالای آزمایشات مربوط به تعیین میزان آلیسین، در مورد هر تیمار نمونه مرکبی حاصل از سه تکرار آزمایش تهیه گردید و میزان آلیسین در ۱۲ نمونه (۱۲ تیمار) اندازه گیری شد.

محتوای کلروفیل توسط دستگاه اسپکتروفتومتر مدل Jenway 6305 اندازه گیری شد. به این صورت که پس از پانچ کردن برگ در زمان گلدهی، ۰/۱ گرم از آن را وزن کرده و در فالکون ریخته، سپس شش سی سی دی متیل سولفوکسید به برگ‌های پانچ شده درون فالکون اضافه می‌شود. نمونه‌ها را به مدت یک ساعت در دمای ۷۰ درجه سانتی‌گراد در بن ماری قرار داده و پس از این مدت مایع سبز رنگ تشکیل شده را در مکانی بدون نور قرار می‌دهیم تا خنک شود. سپس مایع درون فالکون‌ها را در کوت ریخته و به وسیله دستگاه اسپکتروفتومتر میزان و نوع کلروفیل (کلروفیل a: ۶۶۳، کلروفیل b: ۶۴۵، کارتنوئید: ۴۷۰ نانومتر) اندازه‌گیری می‌شود. در این پژوهش برای تجزیه داده‌ها از نرم افزار MSTAT-C v. 2.10 همچنین برای مقایسه میانگین‌ها از آزمون LSD در سطح احتمال پنج درصد استفاده شد. برای رسم شکل‌ها نرم‌افزار Excel 2007 به کار برده شد.

1-*Glomus intraradices*

نتایج و بحث

وزن خشک غده: نتایج حاصل از این تحقیق نشان دادند که وزن خشک غده تحت تأثیر تیمارهای به کار برده شده در این آزمایش قرار گرفت ($p<۰/۰۰۱$) (جدول ۲). مقایسه میانگین نتایج این بررسی نشان دادند که بیشترین مقدار وزن خشک غده از ترکیب تیماری ۱۵۰ کیلوگرم در هکتار گوگرد در هکتار همراه با *تیوباسیلوس* و میکوریزا به دست آمد که در نتیجه اعمال این تیمار، میزان عملکرد خشک غده تا ۹۲ درصد نسبت به شاهد افزایش یافت (شکل ۱). نتایج حاصل از این پژوهش نشان داد که بین ترکیب تیماری ۷۵ کیلوگرم گوگرد در هکتار + *تیوباسیلوس* + میکوریزا تفاوت معنی‌داری نسبت به شاهد ایجاد شد که وزن خشک غده را ۴۰ درصد نسبت به شاهد افزایش داد. گوپتا (Gupta, 2002)گزارش کرد، تلقیح گیاه نعناع (*Mentha piperita* L.) با همزیستی میکوریزایی به طور قابل ملاحظه‌ای عملکرد بیولوژیکی این گیاه را افزایش داد. نتایج این تحقیق نشان دادند که کاربرد ۷۵ کیلوگرم گوگرد در هکتار تأثیر معنی دار بر وزن خشک غده نسبت به شاهد نداشت، در حالی که کاربرد ۱۵۰ کیلوگرم گوگرد در هکتار به طور معنی‌دار وزن خشک غده را در مقایسه با شاهد ۵۰ درصد افزایش داد. نتایج این بررسی نشان دادند که تلقیح *تیوباسیلوس* تأثیر معنی‌دار بر وزن خشک غده نسبت به شاهد نداشت (شکل ۱). در آزمایشی که به منظور تعیین اثرات همزیستی میکوریزایی بر رشد، عملکرد دانه و جذب مواد غذایی گندم (*Triticum aestivum* L) انجام شد، به این نتیجه رسیدند که همزیستی میکوریزایی عملکرد دانه و عملکرد بیولوژیک گیاه گندم را افزایش داد (Al-karaki et al., 1998). ابوالفتاح و همکاران (Abdolfatah et al., 2002) در بررسی بر روی گیاه باقلا (*Vicia faba* L.) به این نتیجه رسیدند که همزیستی میکوریزایی به طور معنی‌دار عملکرد ماده خشک و میزان رنگدانه‌های فتوسنتزی باقلا را در مقایسه با گیاهان غیر میکوریزی افزایش داد. نتایج حاصل از تحقیقات بر صفات کمی و کیفی گیاه دارویی اسفرزه (*Plantago psyllium* L.) نشان داد که بالاترین میزان عملکرد دانه و عملکرد بیولوژیکی اسفرزه از تیمار ۲۲۵ کیلوگرم گوگرد در هکتار حاصل شد (Moosavi Nik, 2012).

اضافه کردن *تیوباسیلوس* به گوگرد (۷۵ و ۱۵۰ کیلوگرم گوگرد در هکتار)، تأثیر معنی‌دار را بر وزن خشک غده نسبت به شاهد داشت و وزن خشک غده را به ترتیب ۳۸ و ۷۲ درصد افزایش داد. نتایج حاصل از این بررسی نشان داد که بین تیمار ۷۵ و ۱۵۰ کیلوگرم گوگرد در هکتار و ترکیب تیماری ۷۵ و ۱۵۰ کیلوگرم گوگرد در هکتار و *تیوباسیلوس* تفاوت معنی‌دار مشاهده نشد (شکل ۱). تامین کود گوگرد مورد نیاز گیاه و کاهش pH خاک ناشی از اکسایش گوگرد می‌تواند دسترسی گیاه را به عناصر کم تحرک آسان نموده و سبب افزایش عملکرد در غده سیر شود.

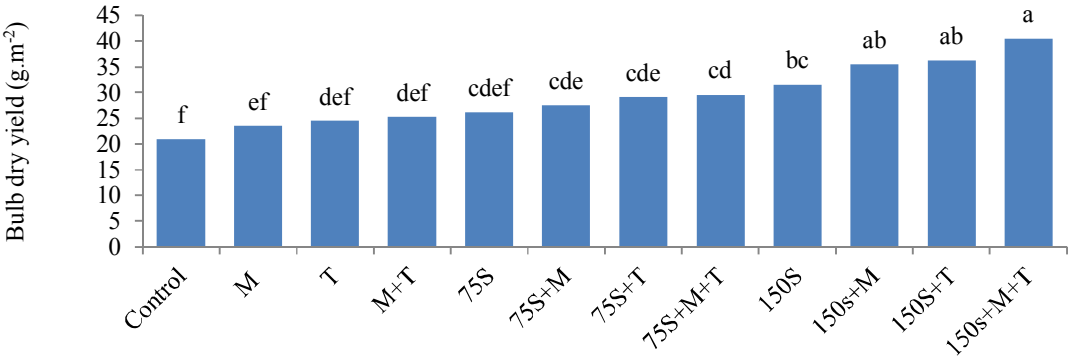
جدول۲- تجزیه واریانس (میانگین مربعات) صفات کیفی و کمی در گیاه سیر تیمار شده با قارچ میکوریزا، باکتری *تیوباسیلوس* و سولفور
Table 2- Analysis of variance (mean of squares) of qualitative and quantitative traits in garlic treated with mycorrhizal fungi, *Thiobacillus* and sulfur

منابع تغییر Source of variance	درجه آزادی df	وزن خشک غده Tuber dry weight	کلروفیل a Chlorophyll a	کلروفیل b Chlorophyll b	کارتنوئید Carotenoid	عملکرد اسانس Oil yield
بلوک Block	2	4.233^{ns}	0.044^{ns}	0.047*	0.001^{ns}	121.448^{ns}
تیمار Treatment	11	101.093**	0.209**	0.027*	0.138**	2926.004**
خطا Error	22	11.233	0.022	0.011	0.01	182.388

ns،*،**: به ترتیب در سطح احتمال یک و پنج درصد معنی‌دار و عدم معنی‌داری است.
*, ** and ns: significant at $p\leq0.05$ and $p\leq0.01$, and no significant, respectively

تلقیح میکوریزا به تنهایی در این آزمایش، تأثیر معنی‌دار بروزن خشک غده نسبت به شاهد نداشت (شکل ۱). ترکیب تیماری ۷۵ و ۱۵۰کیلوگرم گوگرد در هکتار + میکوریزا، به ترتیب باعث افزایش ۳۱ و ۶۸ درصدی عملکرد خشک غده نسبت به شاهد شدند. در آزمایش

رابطه همزیستی سویه‌های *گلوموس* بر صفات مهم مورفولوژیکی ارقام مختلف گندم مورد بررسی قرار گرفت چنین نتیجه گیری شد که همزیستی میکوریزایی در ارقام مختلف موجب تفاوت معنی‌دار از لحاظ قطر ساقه، سطح برگ پرچم، وزن خشک اندام هوایی، طول ریشه و وزن خشک ریشه در سطح یک درصد گردید (جدول ۲) (Malek Sabet et al., 2006). بوتچکو (Boyetchko, 1990) اظهارداشت که کلونیزاسیون ریشه جو، گندم با گونه‌های مختلف قارچ عملکرد دانه و کاه را افزایش می‌دهد.



شکل ۱- تأثیر کاربرد قارچ میکوریزا، باکتری *تیوباسیلوس* و سولفور بر عملکرد خشک غده سیر

Fig.1- Effect of mycorrhizal fungi, Thiobacillus and sulfur aplication on bulb dry yield of garlic

M: میکوریزا، S: سولفور و T: *تیوباسیلوس*

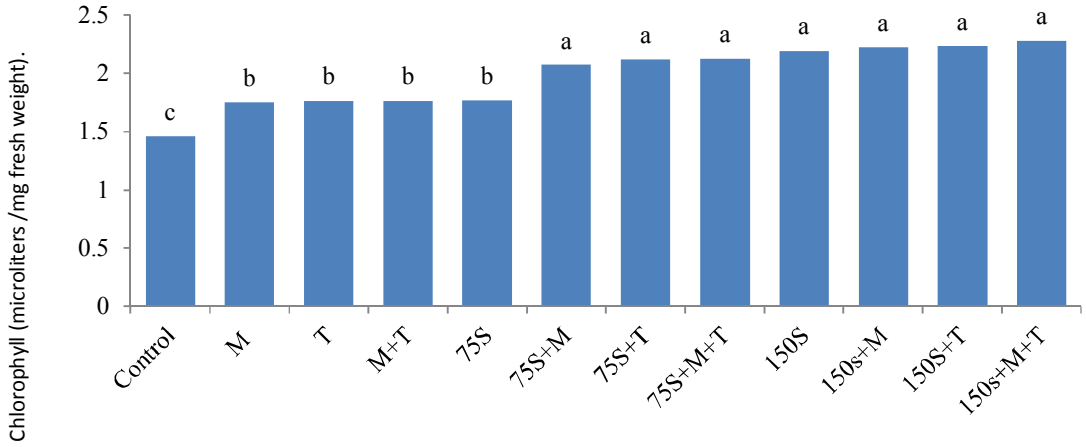
M: Mycorrhiza, S: sulfur and T: *Thiobacillus*

کلروفیل و کارتنوئید: همان طور که در جدول تجزیه واریانس مشاهده می‌شود (جدول ۲)، اثر تیمارها در سطح یک درصد بر کارتنوئید و کلروفیل a و کلروفیل b در سطح پنج درصد معنی‌دار شد. نتایج حاصل از مقایسه میانگین نشان داد که کاربرد ترکیب تیماری ۱۵۰گوگرد + *تیوباسیلوس* + همزیستی میکوریزایی تفاوت معنی‌دار را نسبت به شاهد ایجاد نمودند. به نحویکه کلروفیل a، b و کارتنوئید را ۵۶، ۴۲ و ۳۴ درصد نسبت به شاهد افزایش دادند (شکل ۲). نتایج حاصل از این پژوهش نشان داد که بین ترکیب تیماری ۷۵ کیلوگرم گوگرد در هکتار + *تیوباسیلوس* + میکوریزا با شاهد نسبت به کلروفیل a و کارتنوئید تفاوت معنی‌دار حاصل شد به نحوی که باعث افزایش ۴۵ و ۲۰ درصدی کلروفیل a و کارتنوئید نسبت به شاهد شد، اما بین ترکیب تیماری ۷۵ کیلوگرم گوگرد در هکتار + همزیستی میکوریزایی + *تیوباسیلوس* با ۱۵۰ کیلوگرم گوگرد در هکتار + همزیستی میکوریزایی + *تیوباسیلوس* تفاوت معنی‌دار در کلروفیلa حاصل نشد. همچنین بین ترکیب تیماری ۱۵۰ کیلوگرم گوگرد در هکتار + همزیستی میکوریزایی + *تیوباسیلوس* و ۷۵ کیلوگرم گوگرد در هکتار + همزیستی میکوریزایی + *تیوباسیلوس* تفاوت معنی‌دار بر کلروفیل b حاصل نشد (شکل ۳). نتایج حاصل از شکل‌های ۲ ، ۳، ۴ نشان داد که کاربرد ۷۵ و ۱۵۰ کیلوگرم گوگرد در هکتار تأثیر معنی‌دار بر کلروفیل a و کارتنوئید نسبت به شاهد داشت، اما بر کلروفیل b معنی‌دار نبود. استفاده از باکتری *تیوباسیلوس*، تأثیر معنی‌دار را بر کلروفیل a داشت که میزان کلروفیل a را تا ۲۱ درصد افزایش داد، اما بر کلروفیل b و کارتنوئید اثر معنی‌دار نداشت. تلقیح باکتری *تیوباسیلوس* با ۷۵ و ۱۵۰کیلوگرم گوگرد در هکتار در کلروفیل a و کارتنوئید تفاوت معنی‌دار را نسبت به شاهد ایجاد کرد (به ترتیب ۴۵، ۵۳ و ۱۹، ۲۷درصد) افزایش داد. اما تلقیح باکتری *تیوباسیلوس* با ۷۵ کیلوگرم گوگرد در هکتار تفاوت معنی‌دار نسبت به شاهد در کلروفیل b ایجاد نکرد (شکل ۳). نتایج حاصل از مقایسه میانگین (شکل۲)، نشان داد که ترکیب تیماری ۷۵ کیلوگرم گوگرد در هکتار + *تیوباسیلوس*، تفاوت معنی‌دار نسبت به تیمار ۷۵ کیلوگرم گوگرد در هکتار در کلروفیل a داشت، اما بین تیمار ۱۵۰ کیلوگرم گوگرد در هکتار و *تیوباسیلوس* با تیمار ۱۵۰ کیلوگرم گوگرد در هکتار تفاوت معنی‌دار در کلروفیل a حاصل نشد. همچنین نتایج نشان داد که بین ترکیب تیماری ۷۵ و ۱۵۰ کیلوگرم گوگرد در هکتار + *تیوباسیلوس* با تیمار ۷۵ و ۱۵۰ کیلوگرم گوگرد در هکتار بر کلروفیل b و کارتنوئید

تفاوت معنی‌دار حاصل نشد (شکل‌های ۳ و ۴). تلقیح قارچ میکوریزا در این آزمایش تأثیر معنی‌دار نسبت به شاهد در کلروفیل a نشان داد، اما بر کلروفیل b و کارتنوئید تفاوت معنی‌دار ایجاد نشد (شکل‌های ۲، ۳، ۴). استفاده از ۷۵ کیلوگرم گوگرد در هکتار به همراه میکوریزا تأثیر معنی‌دار بر کلروفیل a و کارتنوئید نسبت به شاهد داشت، اما این ترکیب تیماری برکلروفیل b نسبت به شاهد تفاوت معنی‌دار حاصل نکرد . نتایج حاصل از شکل (۲) به ما نشان می‌دهد که ترکیب تیماری ۷۵ کیلوگرم گوگرد در هکتار + همزیستی میکوریزاییبنسبت به تیمار ۷۵ کیلوگرم گوگرد در هکتار باعث تفاوت معنی‌دار در میزان کلروفیل a شد. اما بین ترکیب تیماری ۱۵۰ کیلوگرم گوگرد در هکتار + همزیستی میکوریزایی با ۱۵۰ کیلوگرم گوگرد در هکتار تفاوت معنی‌دار در کلروفیل a حاصل نشد. نتایج این بررسی نشان داد که ترکیب تیماری همزیستی میکوریزایی + *تیوباسیلوس* در کلروفیل a، b و کارتنوئید به ترتیب ۲۱، ۳/۰۸ و ۴/۶۴ درصد نسبت به شاهد افزایش یافت.

قورچیانی و همکاران (Ghoorchiani et al., 2011) دلیل اصلی افزایش کلروفیل را افزایش غلظت کربوهیدرات‌های محلول برگ و افزایش میزان کلروفیل و ظرفیت فتوسنتزی گیاه در اثر کلونیزاسیون قارچ‌های *گلوموس* بیان کردند. افزایش در محتوی کلروفیل ممکن است به دلیل فراهم شدن مواد غذایی ریز مغذی توسط باکتری حل کننده فسفات باشد (Zahir et al,, 2004). کوماوات و همکاران (Kumawat et al., 2006) در آزمایشی اثر گوگرد و آهن را بر روی فعالیت آنزیمی و محتوای کلروفیل در نوعی لوبیا (*Phasaeolus vulgaris* L.) را مورد بررسی قرار دادند. نتایج حاصل از آزمایش آن‌ها نشان داد که کاربرد گوگرد اثر مثبت و معنی‌دار بر روی فعالیت کلات آهن، آنزیم‌ها و سنتز کلروفیلa، b دارد.

میزان آلیسین: نتایج این بررسی نشان دادند که تیمارهای مورد بررسی در این آزمایش بر میزان آلیسین در غده سیر تأثیر مثبت داشتند (جدول ۲). بیشترین میزان آلیسین از غده‌ای گرفته شد که در آن تیمارهای ۱۵۰ کیلوگرم گوگرد در هکتار و *تیوباسیلوس* به دست آمدکه در مقایسه با شاهد ۱۲۴ درصد افزایش نشان داد و پس از آن ۷۵ کیلوگرم گوگرد در هکتار و *تیوباسیلوس* بود که میزان آلیسین را نسبت به شاهد ۱۰۹ درصد افزایش داد (شکل ۵). این موضوع نشان دهنده آن است که عامل اصلی در افزایش آلیسین مقدار گوگرد و فراهمی گوگرد برای بوته‌های سیر می‌باشد.که این فراهمی توسط باکتری *تیوباسیلوس* تامین شده است. نتایج به دست آمده در این بررسی نشان داد که تیمارهای *تیوباسیلوس*، ۷۵ کیلوگرم گوگرد در هکتار،۱۵۰ کیلوگرم گوگرد در هکتار میزان آلیسین را به ترتیب ۱۲، ۷۱ و ۶۰ درصد افزایش داد.

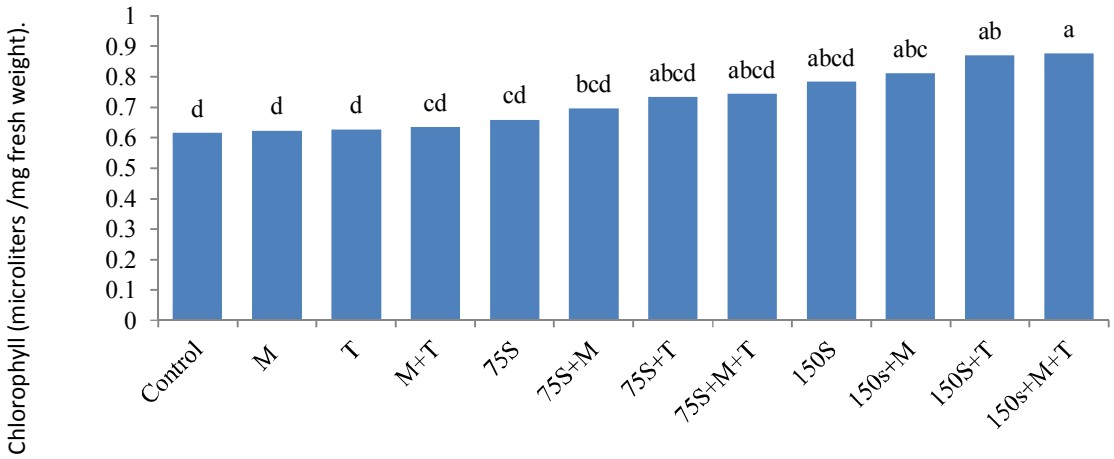


شکل ۲- تأثیر کاربرد قارچ میکوریزا، باکتری *تیوباسیلوس* و سولفور بر محتوی کلروفیلa

Fig. 2- The effect of mycorrhizal fungi, Thiobacillus and sulfur aplication on chlorophyll a

M: میکوریزا، S: سولفور و T: *تیوباسیلوس*

M: Mycorrhiza, S: sulfur and T: *Thiobacillus*

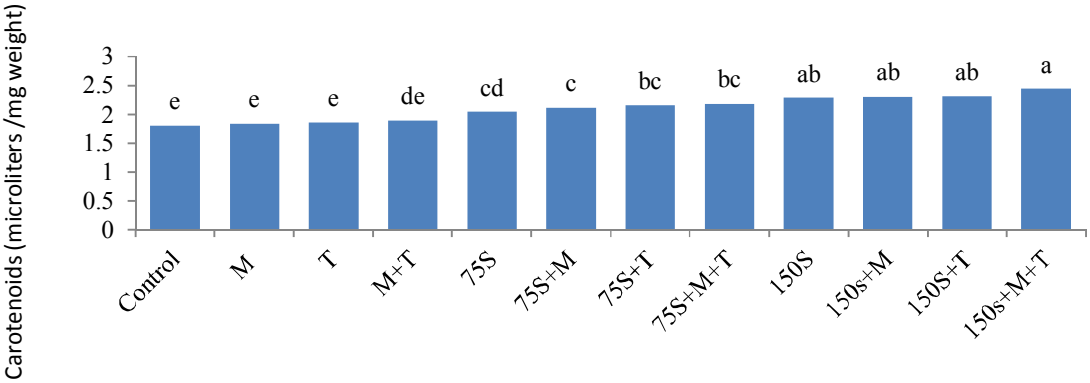


شکل ۳- تأثیر کاربرد قارچ میکوریزا، باکتری *تیوباسیلوس* و سولفور بر محتوی کلروفیلb

Fig. 3- The effect of mycorrhizal fungi, Thiobacillus and sulfur aplication on chlorophyll b

M: میکوریزا، S: سولفور و T: *تیوباسیلوس*

M: Mycorrhiza, S: sulfur and T: *Thiobacillus*



شکل ٤- تأثیر کاربرد قارچ میکوریزا، باکتری *تیوباسیلوس* و سولفور بر کارتنوئید

Fig. 4- The effect of mycorrhizal fungi, Thiobacillus and sulfur aplication on carotenoid

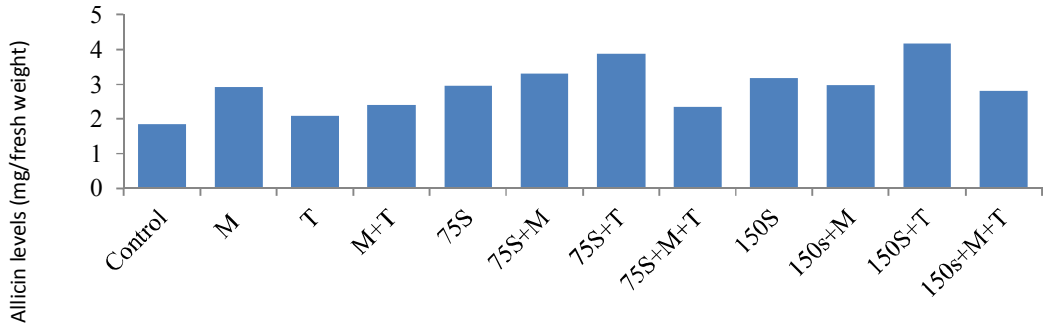
M: میکوریزا، S: سولفور و T: *تیوباسیلوس*

M: Mycorrhiza, S: sulfur and T: *Thiobacillus*

نتایج حاصل از این پژوهش نشان داد که ترکیب تیماری ۷۵ و ۱۵۰ کیلوگرم گوگرد در هکتار + *تیوباسیلوس* به ترتیب ۳۰/۷۴ و ۳۰/۸۸ درصد میزان آلیسین را نسبت به تیمار ۷۵ و ۱۵۰ کیلوگرم گوگرد در هکتارافزایش داد. نتایج حاصل از این پژوهش نشان داد که تلقیح تیمار میکوریزا باعث افزایش ۵۷ درصدی میزان آلیسین نسبت به شاهد شد.

همچنین تیمار ۷۵ و ۱۵۰کیلوگرم گوگرد در هکتار به ترتیب باعث افزایش ۷۹ و۶۰ درصدی میزان آلیسین نسبت به شاهد شد. این بررسی نشان دهنده این است که همزیستی میکوریزایی و گوگرد اثر آنتاگونیستی بر میزان آلیسین دارند یعنی هر چه میزان گوگرد کمتر باشد، فعالیت باکتری میکوریزا در افزایش میزان آلیسین بیشتر خواهد بود. نتایج حاصل از این آزمون نشان داد که ترکیب تیماری ۷۵ و ۱۵۰ کیلوگرم گوگرد در هکتار + همزیستی میکوریزایی و *تیوباسیلوس* به ترتیب باعث افزایش ۲۷ و ۵۲ درصدی میزان آلیسین نسبت به شاهد شدند. همچنین ترکیب تیماری همزیستی میکوریزایی + *تیوباسیلوس* ۲۹ درصد میزان آلیسین را نسبت به شاهد افزایش داد. محققین اظهار داشتند که کاربرد قارچ *گلوموس* بر ارتفاع بوته، عرض برگ پرچم، تعداد دانه در بلال در بوته، درصد پروتئین و طول برگ

پرچم تأثیر معنی‌دار داشته است (Moradgholi et al., 2012).



شکل ۵- تأثیر کاربرد قارچ میکوریزا، باکتری *تیوباسیلوس* و سولفور بر میزان آلیسین سیر

Fig. 5- The effect of mycorrhizal fungi, *Thiobacillus* and sulfur aplication on the amount of allicin of garlic

M: میکوریزا، S: سولفور و T: *تیوباسیلوس*

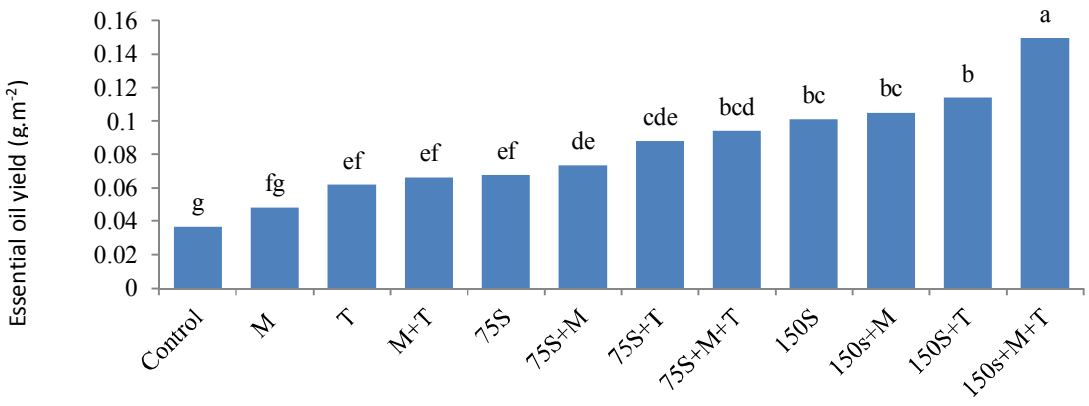
M: Mycorrhiza, S: sulfur and T: *Thiobacillus*

عملکرد اسانس (آلیسین): نتایج حاصل از این پژوهش نشان دادند که عملکرد اسانس در هکتار به طور معنی‌دار تحت تأثیر تیمارهای به‌کار برده شده در آزمایش قرار گرفت. به طوری که کاربرد تیمارها در سطح یک درصد به طور معنی‌دار بر عملکرد اسانس تأثیر داشتند (جدول ۲). نتایج حاصل از مقایسه میانگین نشان داد که کاربرد ۱۵۰کیلوگرم گوگرد در هکتار + *تیوباسیلوس* + همزیستی میکوریزایی میزان عملکرد اسانس را تا سه برابر نسبت به شاهد افزایش داد (شکل ۶). نتایج حاصل از این پژوهش نشان دادند که بین ترکیب تیماری ۷۵ کیلوگرم گوگرد در هکتار و *تیوباسیلوس* و همزیستی میکوریزایی و همچنین ترکیب تیماری ۱۵۰ کیلوگرم گوگرد در هکتار و *تیوباسیلوس* و همزیستی میکوریزایی از نظر تأثیر بر عملکرد اسانس تفاوت معنی‌دار نسبت به شاهد ایجاد شد (به ترتیب معادل ۵۹ و ۱۵۵ درصد). در نتیجه کاربرد ۷۵ و ۱۵۰ کیلوگرم گوگرد در هکتار، مقدار ۶۵ و ۱۰۰میلی‌گرم عملکرد اسانس نسبت به شاهد افزایش یافت که از لحاظ آماری معنی‌دار بود (شکل ۶).

جایان و همکاران (Jayan et al., 1997) افزایش ۳۳ درصدی نسبت به شاهد را در عملکرد خردل هندی (*Brassica juncea* L.) با مصرف ۵۰ کیلوگرم گوگرد، گزارش کردند. همچنین محققین گزارش نمودند که بیشترین میزان اسانس تولیدی از مصرف گوگرد عنصری به همراه *تیوباسیلوس* و ماده آلی نسبت به شاهد در گیاه دارویی بادرنجبویه (*Melissa officinalis* L.) به دست آمد که میزان اسانس را دو برابر نسبت به شاهد افزایش داد (Yadegari & Barzegar., 2010).

نتایج نشان دادند که تلقیح باکتری *تیوباسیلوس*، ۶۸ درصد عملکرد اسانس را نسبت به شاهد افزایش داد. بین ترکیب تیماری ۷۵ و ۱۵۰ کیلوگرم گوگرد در هکتار + *تیوباسیلوس* تفاوت معنی‌داری در عملکرد اسانس نسبت به شاهد ایجاد شد. نتایج این بررسی نشان دادند که همزیستی میکوریزایی تفاوت معنی‌دار را در عملکرد اسانس نسبت به شاهد ایجاد نکرد (شکل ۶). ترکیب تیماری ۷۵ و ۱۵۰ کیلوگرم گوگرد در هکتار+ همزیستی میکوریزایی عملکرد اسانس را به ترتیب ۹۹ و ۱۸۵ درصد نسبت به شاهد افزایش داد، اما بین ترکیب تیماری ۷۵ و ۱۵۰کیلوگرم در هکتار گوگرد+ همزیستی میکوریزایی با تیمار ۷۵ و ۱۵۰کیلوگرم گوگرد در هکتار تفاوت معنی‌دار حاصل نشد. نتایج ایk بررسی نشان داد که ترکیب تیماری همزیستی میکوریزایی+ *تیوباسیلوس* تفاوت معنی‌دار بر عملکرد اسانس داشتند (شکل ۶) و تا ۸۰ درصد عملکرد اسانس را نسبت به شاهد افزایش دادند.

در بررسی اثرات تلقیح قارچ میکوریزا بر عملکرد کمی و کیفی گیاه دارویی گشنیز محققین به این نتیجه رسیدند که همزیستی میکوریزایی عملکرد دانه و درصد اسانس را افزایش داد (Shajari et al., 2012). تحقیقات حاصل از آزمایشی نشان دادند که تلقیح بذر رازیانه با کودهای بیولوژیک (*ازتو باکتر، آزسپریلیوم و میکوریزا*) باعث افزایش معنی‌دار عملکرد اسانس نسبت به شاهد شد (Ghorbani et al., 2013).



شکل ٦- تأثیر کاربرد قارچ میکوریزا، باکتری *تیوباسیلوس* و سولفور بر عملکرد اسانس

Fig. 6- The effect of mycorrhizal fungi, *Thiobacillus* and sulfur aplication on essential oil yield

M: میکوریزا، S: سولفور و T: *تیوباسیلوس*

M: Mycorrhiza, S: sulfur and T: *Thiobacillus*

نتیجه‌گیری

تلقیح باکتری *تیوباسیلوس* همراه با ۷۵ و ۱۵۰ کیلوگرم گوگرد در هکتار بر روی عملکرد خشک غده، کلروفیل a، کارتنوئید، عملکرد اسانس و میزان آلیسین اثر معنی‌دار داشتند. به طور کلی وجود *تیوباسیلوس* بر اکسیداسیون بهتر گوگرد وهمچنین همزیستی میکوریزایی، تأثیر مثبتی بر جذب عناصر کم تحرک و خصوصیات کیفی گیاه دارویی سیر داشت. پیشنهاد می‌شود جهت تحقیقات آینده ضمن توجه به نقش *تیوباسیلوس* در فراهم نمودن گوگرد مورد نیاز گیاهی به کاربرد قارچ *گلوموس* نیز در کنار این باکتری مفید پرداخته شود.

منابع

Abdel-Fattah, G.M., Migahed, F.F., and Ibrahim, A.H. 2002.Interactive effects of endomycorrhizal fungus *Glomus etanicatum* and phosphorus fertilization on growth and metabolic activities of broad plant under drought stress conditions. Pakistan Journal of Biological Science 5(8): 835-841.

Al-karaki, G.N., and Clark, R.B. 1998. Growth mineral acquisition and water use by mycorrhizal wheat grown under water stress. Journal Plant Nutrition 21(2): 263-276.

Arzanloo, M. and Bohlooli, S. 2010. Introducing of green garlic plants as a new source of allicine. Food chemistry 120(1):179-183.

Bockman, O.C. 1997. Fertilizers and biological nitrogen fixation as source of plant nutrients, perspectives for future agriculture. Plant and Soil 194:11-14.

Boyetchko, S.M., and Tewari, J.P. 1990. Root colonization of different hosts by the vesicular-arbuscular mycorrhizal fungus *Glomus dimorphicum*. Plant and Soil 129: 131-136.

Darabi, A., and Dehghani, A. 2010. Effect of planting date and plant density on yield, yield components, and rust disease severity in ramhormoz selected garlic in Behbahan**.** Seed and Plant Production Journal 26(1): 55-43. (In Persian with English Summary)

Ghoorchiani, M., Akbari, G.H., Alikhani, H.A., Alahdadi, I., and Zarei, M. 2010. Effects of arbuscular mycorrhizal fungi and pseudomonas fluorescence bacterium on the ear traits, chlorophyll content and yield of maize under moisture stress conditions. Journal of Water and Soil Science 21(1): 97-114. (In Persian with English Summary)

Ghorbani, S., Paknejad, F., Oroojnia, S., Mirzaee, T.M., and Babaei, B. 2013. Effect of biofertilizers on seed yield, biological yield and essential oil of fennel plants with emphasis on minimum tillage in ecological systems. Journal

of Agronomy 9(1): 63-73. (In Persian with English Summary)

Ghorbani naser, R., Salehrastin, N., and Alikhani, H. 2003. Effect of sulfur fertilizer on biological nitrogen fixation and growth of soybeans. Proceeding of Optimum Nutrition of Oil Crops 333-345. (In Persian)

Gupta, M.L., Prasad, A., Ram, M., and Kumar, S. 2002. Effect of the vesicular arbuscular mycorrhizal fungus on the essential oil yeild related characters and nutrient acquisition in the crops of different cultivars of menthol mint. Bioresource Technology 81: 77-79.

Jayan, G., Kar, M., and Patro, B.B. 1997. Yield attributes of mustard as influence by sulphur fertilization. Indian Journal of plant physiology 2: 85-86.

Kelly, D.P., and Harrison, A.P. 1989. Genus *Thiobacillus*. 1942-1858. In: J.T. Staley (Ed). bergey´s Manual of Systematic Bacteriology.vol:3, 9th Ed. Williams and Wilkins, Baltimore. U.S.A.

Khademi, G., Rezai, H., Heaven, M.J., and Mohajer Milani, B. 2000. Optimal nutrition canola (effective step in increasing the yield and quality of oil). Dissemination of Agricultural Education. 213 pp.

Killham, K. 1994. Soil Ecology. University of Cambridge Press. 141-150.

Kumawat, R.N., Rathore, P.S., Nathawat, N.S., and Mahatmas, M. 2006. Effect of sulphur and iron on enzymatic activity and chlorophyll content of mung bean. Journal of Plant Nutrition 29: 1451-1467.

Lipman, J.G., Mc and lean, H.C. 1961. The oxidation of sulphur in soils as a means of increasing the availability of mineral phosphates. Soil Science 1: 533-539.

Li, X.L., Marschner, H. and George, E. 1991.Acquisition of phosphorus and copper by VA-mycorrhizal hyphae and root–shoot transport in white clover. Plant Soil 136: 49–57.

Malek sabet, A., Ardekani, M.R., Mahoorl, A., Rajali, F., and Siyadat, A. 2006. Evaluation of strain accumulation symbiotic relationship with morphological traits in wheat varieties. Proceedings of the Ninth Congress of Iranian Agricultural Sciences. Tehran University. Tehran. Iran.190pp. (In Persian)

Moradgholi, A., and Mobaser, H. 2011. The effect of mycorrhiza on yield and yield components of maize. Journal of Crop Ecophysiology 3(2): 110-124. (In Persian with English Summary)

Mousavi nick, M.1391. Effect of different levels of sulfur on the yield and quality of medicinal plant sunder drought stress. Journal of Ecological Agriculture 4(2): 170-182.

Nosrati, A. 2004. Effect of planting method, plant density and seed size on yield of garlic clove. Seed and Plant 20: 401- 404.

Ruiz-Luzano, J.M. 2003. Arbuscular mycorrhizal symbiosis and alleviation of osmotic stress. New Perspective for Molecular Studies 13: 609-317.

Shajari, M., RezvaniMoghadam, P., Ghorbani, R., and Mahallati, M. 2011. The impact of individual and combined application of mycorrhiza bio-fertilizer on seed yield and essential oil of coriander herb. National Conference on Advances in Agronomy. Ghods. Iran. (In Persian)

Tisdale, S.L., Nelson, W.L., Beaton, J.D., and Havlin, J.L. 1993. Soil fertility and fertilizers.5 thEd. McMillan publishing Co, New York.

Yadegari, M., and Barzegar, R. 2010. Impact on the digestibility of sulfur and *Thiobacillus* nutrients, vegetative growth and the production of essential oil of lemon balm. Herbal Medicines 1: 35-45. (In Persian with English Summary)

Zahir, A.Z., Arshad, M., Franken Berger, W.F. 2004. Plant growth promoting rhizobacteria. Advance in Agronomy 81: 97-168.

Zhi-Hui, Y., Stoven, K., Haneklaus, S. Singh, B.R., and Schnug, E. 2010. Elemental sulfur oxidation by *Thiobacillus* spp. and aerobic heterotrophic sulfur-oxidizing bacteria. Pedosphere 20(1): 71-79.

Journal of Agroecology
Vol. 9, No. 1, Spring 2017, p. 76-87

نشریه بوم شناسی کشاورزی
جلد ۹، شماره ۱، بهار ۱۳۹۶، ص. ۸۷-۷۶

Evaluation of *Thiobacillus* Bacteria and Mycorrhizal Symbiosis on Yield and Yield Components of Garlic *(Allium sativum*) at Different Levels of Sulfur

P. Hejazirad[2], A. Gholami[2], H. Pirdashty[3] and A. Abbasiyan[4]

Submitted: 04-11-2014
Accepted: 20-02-2015

Hejazirad, P., Gholami, A., Pirdashty, H., and Abbasiyan, A. 2017. Evaluation of *Thiobacillus* bacteria and mycorrhizal symbiosis on yield and yield components of garlic *(Allium sativum*) at different levels of sulfur. Journal of Agroecology 9(1): 76-87.

Introduction

Most researchers believe that good management and proper use of biofertilizers are the ways for preparation of better nutritional conditions for the medicinal plant. Garlic is one of the most important medicinal crops. Allicin is the main active ingredient in this plant. Biofertilizers contain beneficial soil microorganisms or the metabolic products. Mycorrhizal symbiosis improves the soil physical, chemical and biological properties. Mycorrhizae increase crop resistance to pathogens, nutrient and water uptake, also reduce the negative effects of environmental stress and improve the quality of their host plants. Adding sulfur to the soil to improve the nutritional status of the plant by the release of nutrients will be effective when that the oxidation of sulfur in the soil is significant. For sulfur uptake by the plant, it is necessary that this element convert to sulfate by soil microorganisms. If elemental sulfur distribute in the soil and mix with the organic material, conversion of sulfur-oxidizing microorganisms be faster in wet conditions.

Materials and methods

The experiment was conducted as randomized complete block design with three replications in 2012. Treatments were included control plot, mycorrhizal inoculation (M), Thiobacillus (T), M + T, 75 kg sulfur per hectare (75_S), 75_S + M, 75_S + T, 75_S + M + T, 150 kg sulfur per hectare (150_S), 150_S + M, 150_S + T, 150_S + M + T. Each plot consisted of four rows with a spacing of 40 cm and row length of 10 m.

In treatments with 75 and 150 kg sulfur per hectare, 48 and 96 g of sulfur were used, respectively. Thiobacillus at the recommended dose was added to the soil a week before planting. Percent of fungal colonization obtained with Gridline Intersect Method. HPLC method was used to extract allicin content. Data were analyzed with the MSTAT-C software; the means were compared with LSD test at the 5% level of probability.

Results and discussion

The results showed that tuber dry weight increased significantly at 75_s and 150_5 in combination with Thiobacillus and mycorrhiza. Also the effects of 150_S and150_S + M, 150_S + T were significant on tuber dry weight. The highest tuber dry weight was obtained in combination of 150_S with Thiobacillus and mycorrhiza. The effect of 75_s was not significant on tuber dry weight but application of 150_S increased significantly dry tuber weight (about 50% over the control plots). Adding Thiobacillus to sulfur treatments (75_s and 150_5) had a significant effect on tuber dry weight and increased about 38 and 72 percent compared to the control, respectively. $Chlorophyll_a$ content increased significantly in all treatments compare to the control. While the effects of 150_S + M, 150_S + T, 150_S + M + T were significant on $chlorophyll_b$.

The effects of 75_S, 75_S + M, 75_S + T, 75_S + M + T, 150_S, 150_S + M, 150_S + T and 150_S + M + T were significant on carotenoid. Allicin yield increased significantly in all treatments except mycorrhiza compared to the control. Application of 150 kg sulfur per hectare +Thiobacillus+mycorrhizas increased essential oil yield up

2, 2, 3 and 4- Former MSc student, Associate Professor, Department of Agronomy, Faculty of Agriculture, Shahrood University of Technology-Engineering, Associate Professor and Assistant Professor, Department of Agronomy, Faculty of Agriculture, Sari Agricultural Sciences and Natural Resources University, Iran, respectively.
(*- Corresponding author Email: ahgholami@yahoo.com)

to 3 times compare to the control. As a result the essential oil yield increased significantly in treatments of 75 and 150 kg sulfur per hectare compared to the control.

Conclusion

Tuber dry weight increased significantly with sulfur application in combination with Thiobacillus and mycorrhiza. Chlorophyll$_a$ content increased significantly in all treatments. Allicin yield increased significantly in all treatments except mycorrhiza. Application of sulfur, increased essential oil yield.

Keywords: Allicin, Chlorophyll, Colonization, Essential oil, *Thiobacillus*