نشریه بوم شناسی کشاورزی
جلد ۷، شماره ۱، بهار ۱۳۹۴، ص. ۸۳-۷۴

Journal of Agroecology
Vol. 7, No. 1, Spring 2015, p. 74-83

ارزیابی رشد سویا (*Glycine max* L.) در واکنش به قارچ‌های افزاینده رشد گیاه در شرایط اقلیمی مازندران

محمد یزدانی[۱]، مهرداد یارنیا[۲*]، همت‌اله پیردشتی[۳]، ورهرام رشیدی[۲] و محمدعلی بهمنیار[٤]

تاریخ دریافت: ۱۳۹۲/۰۹/۲۹
تاریخ پذیرش: ۱۳۹۳/۱۰/۱۸

چکیده

نظر به اهمیت و نقش طبیعی میکروارگانیسم‌ها در حاصلخیزی خاک در سیستم‌های کشت کم‌نهاده در مقایسه با کشاورزی متداول، آزمایشی در مزرعه آموزشی پژوهشی دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی ساری در دو سال زراعی ۱۳۹۰ و ۱۳۹۱ به صورت فاکتوریل بر پایه طرح بلوک‌های کامل تصادفی با سه تکرار انجام شد. عوامل مورد بررسی تلقیح با انواع قارچ‌های افزاینده رشد در شش سطح شامل: ۱) شاهد (بدون تلقیح) ۲) تلقیح با *تریکودرما هارزیانوم* (TH)[۵]، ۳) تلقیح با میکوریزا گونه *گلوموس اینترارادایسس* (GI)[۶]، ۴) تلقیح با میکوریزا گونه *گلوموس موسه‌آ* (GM)[۷]، ۵) تلقیح دوگانه TH+GM ۶) تلقیح دوگانه TH +GI و مقادیر مختلف کود سوپرفسفات‌تریپل در سه سطح (صفر، ۷۰ و ۱۴۰ کیلوگرم در هکتار) بر گیاه سویا (*Glycine max* L.) (رقم جی‌کی) بودند. بر اساس نتایج تجزیه مرکب داده‌ها محتوی کلروفیل (عدد SPAD) در تلقیح *تریکودرما* و میکوریزا گونه گلوموس*موسه‌آ* با کاربرد میزان متداول فسفر و فسفر کاهش یافته به ترتیب حدود ۱۶ و ۱۷ درصد نسبت به تیمار شاهد افزایش داشت. کاربرد این قارچ‌ها در تیمار مصرف متداول فسفر و فسفر کاهش یافته نسبت به حذف فسفر از نظر میزان کلروفیل a نیز برتری داشته است. تیمار فسفر کاهش یافته همراه با تلقیح دوگانه *تریکودرما* و میکوریزا نسبت به تیمار مصرف متداول فسفر تأثیر معنی‌داری در وزن خشک گیاه و میزان کلروفیل a نداشتند. در این بررسی، میزان اثربخشی این قارچ‌ها بر رشد سویا در تیمار فسفر کاهش یافته (۷۰ کیلوگرم در هکتار) در مقایسه با حذف کود فسفره و عدم کارآیی مناسب آن‌ها در مصرف متداول فسفر کاملاً مشهود بود.

واژه‌های کلیدی: *تریکودرما*، فسفر، میکوریزا

مقدمه

در ایران بیش از ۹۰ درصد از اراضی زیر کشت سویا (*Glycine max* L.) در استان‌های مازندران و گلستان قرار داشته و تمرکز کشت سویا در این دو استان سبب شده که منحنی تولید کشور وابستگی زیادی به میزان تولید در استان‌های یاد شده داشته باشد (Agricultural Statistics, 2013). سویا در شمال کشور به عنوان زراعت اصلی در اردیبهشت ماه و به عنوان زراعت دوم در اواخر خرداد ماه پس از برداشت زراعت‌های پائیزه به ویژه غلات کاشته می‌شود. در کشت بهاره، در درجه حرارت‌های پائین آلودگی گیاهچه‌ها به انواع قارچ‌های خاکزی افزایش می‌یابد؛ به طوری‌که یکی از عوامل محدودکننده کشت سویا، بیماری پوسیدگی ریشه و طوقه است (Rayat panah & Alavi, 2002). از طرفی، با توجه به افزایش قیمت بیش از حد تهیه و تولید کودهای نیتروژنه و فسفره در راستای هدفمندسازی یارانه‌ها، همچنین به دلایل انباشت فسفر و هدرروی نیتروژن در خاک‌ها، می‌بایستی این امکان را فراهم آورد تا گیاهان بتوانند تا از منابع فسفر و نیتروژن به بهترین نحو استفاده نمایند (Regina et al., 2008; Powlson et Gravel et al., 2007; al., 2011).

در سال‌های اخیر، محققان بر این باورند که استفاده از قارچ‌های

۱، ۲، ۳ و ۴ – به ترتیب فارغ‌التحصیل دکتری اکولوژی، گروه زراعت، دانشیار گروه زراعت و اصلاح نباتات، دانشکده کشاورزی، دانشگاه آزاد اسلامی، تبریز، دانشیار گروه زراعت، پژوهشکده ژنتیک و زیست‌فناوری کشاورزی طبرستان، دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی ساری، دانشیار گروه زراعت و اصلاح نباتات، دانشکده کشاورزی دانشگاه آزاد اسلامی واحد تبریز و دانشیار گروه علوم خاک، دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی ساری
(*– نویسنده مسئول: Email: Yarnia@iaut.ac.ir)

5- *Trichoderma harzianum* (TH)
6- *Glumus intraradices* (GI)
7- *Glumus mosseae* (GM)

افزاینده رشد گیاه[1] مانند میکوریزا و *تریکودرما* می‌تواند ضمن بهبود رشد گیاه، میزان مصرف کود شیمیایی و قارچ‌کش‌ها را کاهش دهد (Gosling et al., 2006; Meghvansi Johansson et al., 2004 et al., 2008; Nzanza et al., 2011; Martinez-Medina et al., 2011;). افزایش جذب فسفر مهمترین ویژگی سودمند میکوریزا در ارتباط همزیستی با سویا مطرح بوده و میزان سطح فسفر خاک اغلب مهمترین عامل تعیین‌کننده در این ارتباط است (Schroeder & Djebali et al., 2010; Gianinazzi et al., Janos, 2005 2011;).

قارچ *تریکودرما* نیز در بررسی محققان علیه دو پاتوژن قارچ *فوزاریوم* و *پیتیوم* در سویای آلوده شده، عامل بیوکنترل شناخته شده است (Harman et al., 2004; Rojan et Brunner et al., 2005 al., 2010;). مطالعات متعددی بیانگر آن است اثر متقابل دو گروه از میکروارگانیسم‌ها ممکن است جهت رشد و توسعه بهتر گیاه و کنترل برخی از بیماری‌ها مؤثرتر باشد (Martinez Harman et al., 2004 Martinez-Medina et al., 2011 & Johnson, 2010;). همچنین در بررسی‌ها دیده شده که فعالیت توأم *تریکودرما هارزیانوم* و میکوریزا آربوسکولار، می‌تواند در افزایش تولید محصول نقش مؤثری داشته باشد (Meghvansi et al., 2008; Johansson et al., 2004). نتایج دیگری از مارتینز- مدینا و همکاران (Martinez-Medina et al., 2011) نیز بیانگر آن است که تیمار *تریکودرما* و میکوریزا طول ساقه، ریشه و زیست‌توده اندام هوایی میوه هندوانه[2] (*Citrullus lanatus*) را به طور معنی‌داری نسبت به شاهد افزایش داد. (Egberongbe et al., 2010) اذعان داشتند که به علت اثرات هم‌افزایی *تریکودرما* هارزیاتوم و میکوریزا وزن خشک سویا نسبت به شاهد (عدم تلقیح) به طور معنی‌داری افزایش یافت. در شمال کشور به دلیل گستردگی کشت سویا، بررسی پتانسیل استفاده از قارچ *تریکودرما* و میکوریزا و شناخت اثر متقابل این دو قارچ، جهت حفظ منابع تولید و کاهش میزان مصرف کود فسفره و قارچ‌کش‌ها با استفاده از این قارچ‌ها هم به لحاظ اقتصادی و هم به لحاظ اکولوژیکی مفید خواهد بود. با وجود آن‌که پژوهش‌های متعددی در زمینه آثار قارچ *تریکودرما* و میکوریزا بر رشد و متابولیسم گیاهان مختلف انجام شده است، اما اطلاعات کاملی درباره برهمکنش این قارچ‌ها روی سویا در کشور وجود ندارد. بنابراین، در پژوهش حاضر، نقش تلقیح *تریکودرما هارزیانوم* و گونه‌های میکوریزا به صورت تنها و دوگانه بر رشد و توسعه سویا و تأثیر سطوح مختلف کود فسفره بر میزان اثرگذاری قارچ‌های افزاینده رشد گیاه در اقلیم مازندران مورد مطالعه قرار گرفت.

مواد و روش‌ها

این بررسی در مزرعه آموزشی پژوهشی دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی ساری در دو سال ۱۳۹۰ و ۱۳۹۱ در قالب طرح فاکتوریل بر پایه طرح بلوک‌های کامل تصادفی با دو عامل، تلقیح با انواع قارچ‌های افزاینده رشد و مقادیر مختلف کود فسفره در سه تکرار به اجرا درآمد. عامل تلقیح در شش سطح شامل: ۱) شاهد (بدون تلقیح) ۲) تلقیح با *تریکودرما هارزیانوم* (TH)، ۳) تلقیح با میکوریزا گونه *گلوموس اینترارادایسس* (GI)، ۴) تلقیح با میکوریزا گونه *گلوموس موسهآ* (GM)، ۵) تلقیح دوگانه GM+ TH ۶) تلقیح دوگانه GI+ TH و عامل کود فسفره در سه سطح (صفر، ۷۰ و ۱۴۰) کیلوگرم در هکتار از منبع سوپرفسفات تریپل در نظر گرفته شد. بر اساس نتایج آزمون خاک، مزرعه آزمایشی در عمق صفر تا ۳۰ سانتی‌متر دارای بافت لوم رسی، اسیدیته ۷/۲، میزان فسفر ۱۴ میلی‌گرم در کیلوگرم و میزان نیتروژن ۱۶ گرم در کیلوگرم بوده است. قارچ‌های میکوریزا از شرکت گیاهپزشکی ارگانیک و *تریکودرما* از آزمایشگاه قارچ‌شناسی گروه گیاهپزشکی تهیه گردید.

جهت تکثیر *تریکودرما* ابتدا این جدایه در محیط کشت PDA (عصاره سیب زمینی، دکستروز و آگار) به مدت یک هفته در دمای ۲۵ درجه سلسیوس تکثیر و پس از پنج روز اسپورزایی در محیط کشت سبوس گندم بر اساس بررسی‌های (Cavalcante et al., 2008) قرار داده شد. مقدار ده گرم از محیط کشت سبوس و اسپورهای قارچ *تریکودرما* به تعداد 10^8 واحد کلونی‌ساز در هرگرم که با لام هموسیتومتر شمارش شده با یک کیلوگرم بذر سویا رقم جی‌کی تلقیح گردید. جهت کاهش خطای آزمایش در کرت‌های شاهد همان مقدار ماده مؤثره پس از ضدعفونی در دمای ۱۲۰ درجه سانتی‌گراد، به کرت های شاهد اضافه گردید. هر کرت آزمایشی از پنج ردیف چهار متری به فواصل ۷۰ سانتی متر تشکیل شده و فواصل بوته های روی ردیف هشت سانتی متر در نظر گرفته شد. مراحل مختلف داشت و برداشت با رعایت اصول به زراعی انجام گردید. در مرحله گلدهی

1- Plant growth-promoting fungi
2- Watermelon

قرائت محتوی کلروفیل با استفاده از دستگاه کلروفیل‌متر[1] انجام شد. بدین منظور از طرفین رگبرگ اصلی برگ های تک برگچه گره اول و هر سه برگچه برگ‌های سه برگچه‌ای ظاهر شده در یک بوته به ترتیب از پایین به بالا در هر برگ محتوی کلروفیل اندازه‌گیری شد و میانگین سه عدد برگچه های هر برگ به عنوان معیار مربوط به هر برگ و میانگین تمام برگ ها، به عنوان معیار کلروفیل گیاه منظور گردید (Ma et al., 1995). همزمان رنگیزه‌های فتوسنتزی (کلروفیل a و b) برگ‌های توسعه یافته سویا با استفاده از روش پورا (Porra, 2003) توسط دستگاه اسپکتروفتومتر[2] اندازه‌گیری گردید. مطابق با این روش ۰/۱ گرم از بافت تر برگ وزن شده و رنگیزه‌ها با متانول استخراج شدند. پس از صاف نمودن عصاره حاصل با کاغذ صافی، جذب در طول موج‌های ۶۴۵ و ۶۶۳ نانومتر با اسپکتروفتومتر خوانده و مطابق با رابطه‌های زیر میزان رنگیزه‌ها بر حسب میلی‌گرم در هر گرم وزن تر بافت گیاهی محاسبه شد (Porra, 2003).

معادله (۱) $\text{Chl } a = 16.29\ ^{E665.2} - 8.54\ ^{E652.}$

معادله (۲) $\text{Chl } b = 30.66\ ^{E652.0} - 13.58\ ^{E665.}$

معادله (۳) $\text{Chl } a + b = 22.12\ ^{E652.0} + 2.71\ ^{E665.2}$

همچنین در مرحله گلدهی، از کلیه تکرارها جهت اندازه‌گیری برخی صفات، شامل ارتفاع بوته، سطح برگ، وزن خشک برگ، ساقه و ماده خشک کل (TDM)[3] نمونه‌گیری انجام شد. جهت بررسی شاخص سطح برگ (LAI)[4] سه بوته از هر تکرار را در مرحله گلدهی کف‌بر نموده و پس از جدا نمودن برگ‌ها سطح برگ به وسیله دستگاه سطح‌برگ‌سنج محاسبه گردید. وزن خشک اندام‌های هوایی نیز با قرار دادن در آون به مدت ۴۸ ساعت در دمای ۷۵ درجه سلسیوس و توزین با ترازوی دقیق با دقت ۰/۰۱ گرم تعیین شد. در مرحله رسیدگی فیزیولوژیک، برای اندازه‌گیری عملکرد دانه پس از حذف اثرات حاشیه‌ای از متن هر کرت، در سطح ۴/۵ متر برداشت و عملکرد نهایی دانه بر اساس ۱۳ درصد رطوبت محاسبه گردید. پس از آزمون نرمال بودن داده‌ها (آزمون کلموگروف- اسمیرنوف) و یکنواختی واریانس‌ها (آزمون بارتلت)، تجزیه واریانس مرکب صفات مورد مطالعه برای دو سال آزمایش بر اساس مدل آماری طرح مربوطه و با استفاده از نرم‌افزار SAS (نسخه ۹/۱) انجام و مقایسه میانگین داده‌ها با آزمون حداقل اختلاف معنی‌دار (LSD)[5] در سطح پنج درصد مورد مقایسه قرار گرفتند.

نتایج و بحث

رنگیزه های فتوسنتزی

بر اساس نتایج این بررسی، تیمارهای مختلف قارچ‌های افزاینده رشد گیاه تحت مقادیر مختلف فسفر اثرات معنی‌داری بر میزان کلروفیل a و b و کلروفیل a + b داشتند. به طوری‌که کاربرد این قارچ‌ها در تیمارهای مصرف متداول فسفر نسبت به حذف فسفر از نظر میزان کلروفیل a برتری داشت (جدول ۱). در تیمارهای شاهد (بدون تلقیح) با حذف و کاهش فسفر میزان کلروفیل a به شدت کاهش یافت اما این صفت با کاربرد قارچ‌های افزاینده رشد و کاهش میزان فسفر از ۱۴۰ به ۷۰ کیلوگرم در هکتار افت معنی‌داری نشان نداد. این صفت در تیمار فسفر کاهش‌یافته در تلقیح *تریکودرما* نسبت به تیمار حذف فسفر تفاوت معنی‌داری نداشته است اما نسبت به تیمار فسفر متداول کاهش قابل توجه داشت. بیشترین محتوی مجموع کلروفیل در تیمار *تریکودرما* و میکوریزا گونه *گلوموس موسه‌آ* با کاربرد میزان متداول فسفر دیده شد که نسبت به تیمار شاهد (بدون تلقیح قارچ) حدود ۱۶ درصد افزایش نشان داد (جدول ۱). Martinez-Medina et al., 2011) در بررسی اثر بین میکوریزا و *تریکودرما هارزیانوم* در شرایط کم‌نهاده گزارش نمودند که در شرایط کاهش کود شیمیایی قارچ *تریکودرما هارزیانوم* و آربسکولار میکوریزا گونه *گلوموس اینترارادایسس* در گیاه هندوانه اثرات هم‌افزایی مناسبی داشته و کلونیزاسیون میکوریزا در این شرایط افزایش یافت.

میزان کلروفیل a در تلقیح میکوریزا گونه *گلوموس اینترارادایسس* و تلقیح‌های دوگانه *تریکودرما هارزیانوم* و گونه‌های میکوریزا در تیمار مصرف فسفر متداول و فسفر کاهش‌یافته تفاوت معنی‌داری نداشته‌اند. با این‌وجود، حذف کود فسفره میزان کلروفیل a را به طور معنی‌داری نسبت به سایر تیمارهای فسفر کاهش داد. تلقیح *تریکودرما* نیز در شرایط مصرف متداول فسفر میزان مجموع کلروفیل‌ها (a + b) سویا را نسبت به شاهد به طور قابل توجهی (حدود ۱۶ درصد) افزایش داد. در بررسی محققان نیز افزایش غلظت کلروفیل خیار در تیمار *تریکودرما هارزیانوم* مشاهده شد (Lo & Lin, 2002).

بررسی تغییرات نسبت کلروفیل a به b نشان داد که به جز تلقیح

1- SPAD-502 Minolta Co., Osaka, Japan
2- Spectrophotometer, JENWAY, 6300
3- Total Dry Matter
4- Leaf Area Index
5- Least significant difference

تریکودرما در تیمار فسفر کاهش‌یافته تلقیح قارچ‌ها به صورت جداگانه و توام (دوگانه) تفاوت معنی‌داری نسبت به تیمار مصرف فسفر متداول نشان نداده است (جدول ۱). معمولاً در بررسی کلروفیل، توان فتوسنتزی را با نسبت کلروفیل a به b می‌سنجند. این نسبت نشان می دهد که سیستم فتوسنتزی چه میزان کارآیی در جذب دارد. هر چه این نسبت کوچکتر باشد بدین معنی است که توان جذب نور با طول موج‌های مختلف بیشتر است و کارآیی بالاتری دارد. از طرفی میزان جذب نور با افزایش تعداد کلروپلاست ها در واحد سطح برگ و تراکم کلروفیل کلروپلاست ازدیاد حاصل می‌کند. بیشتر بودن محتوی کلروفیل برگ منجر به کارآیی مصرف نور بیشتر، جبران فقدان جذب کامل نور و در نتیجه عملکرد دانه افزایش خواهد داشت.

براساس داده‌های قرائت کلروفیل (SPAD) با کاهش مصرف کود فسفره و تلقیح جداگانه قارچ‌های افزاینده رشد گیاه (*تریکودرما* و میکوریزا) تفاوت معنی‌داری نسبت به مصرف متداول کود فسفره نداشته اما در تلقیح دوگانه *تریکودرما* و میکوریزا *گلوموس موسهآ* این صفت در مرحله گلدهی نسبت به شاهد و مصرف متداول فسفر بالاتر بوده است (جدول ۱).

به نظر می‌رسد که هم‌افزایی قارچ‌های مورد بررسی سبب بهبود در تشکیل گره و تثبیت نیتروژن در گیاه سویا شده و افزایش محتوی کلروفیل این مطلب را نیز تایید می‌کند.

جدول ۱- اثرات قارچ‌های افزاینده رشد گیاه بر میزان کلروفیل سویا تحت مقادیر مختلف فسفر

Table 1- Effect of plant growth-promoting fungi on chlorophyll content in different phosphorus

قارچ‌های افزاینده رشد PGPF	فسفر (کیلوگرم در هکتار) Phosphorus ($kg.ha^{-1}$)	کلروفیل a+b Chlorophyll a+b	کلروفیل b Chlorophyll b	کلروفیل a Chlorophyll a	نسبت کلروفیل a/b Chlorophyll ratio a/b	عدد کلروفیل SPAD
		(میلی‌گرم درگرم وزن تر) ($mg.g^{-1}$ fresh weight)				
شاهد Control	0	0.150 d*	0.027 e-h	0.066 gh	2.46 c-e	35.09 i
	70	0.175 c	0.025 f-h	0.082 ef	3.44 a-d	38.94 e-h
بدون تلقیح Non-inoculated	140	0.185 bc	0.028 e-g	0.096 a-d	4.42 a-c	42.05 b-c
T.H *تریکودرما هارزیانوم*	0	0.154 d	0.024 f-h	0.076 fg	3.06 b-d	38.30 gh
	70	0.187 bc	0.069 a	0.080 ef	1.22 e	41.45 b-d
	140	0.216 a	0.049 b	0.101 ab	2.16 de	43.34 ab
GM *گلوموس موسهآ*	0	0.153 d	0.013 h	0.067 gh	5.20 a	37.22 h
	70	0.177 c	0.029 e-g	0.088 c-e	4.67 ab	42.62 a-c
	140	0.216 a	0.045 b-d	0.103 a	2.37 c-e	40.48 c-f
GI *گلوموس اینترارادایسس*	0	0.138 d	0.048 bg	0.055 i	1.16 e	38.09 gh
	70	0.191 bc	0.038 b-f	0.095 a-d	3.07 b-e	41.05 c-e
	140	0.179 bc	0.040 b-e	0.085 d-f	2.07 de	40.08 d-g
GM + TH	0	0.147 d	0.047 bc	0.057 hi	1.24 e	38.22 gh
	70	0.182 bc	0.042 b-e	0.091 a-e	2.71 b-e	44.67 a
	140	0.193 bc	0.036 b-f	0.094 a-d	2.62 b-e	42.05 b-d
GI + TH	0	0.173 c	0.018 gh	0.089 b-e	5.21 a	38.53 f-h
	70	0.198 b	0.034 c-g	0.099 a-c	4.02 a-d	43.39 ad
	140	0.178 c	0.030 d-g	0.091 a-c	3.63 a-d	41.10 c-e

* میانگین‌های دارای حروف مشترک در هر ستون مطابق آزمون LSD در سطح پنج درصد اختلاف معنی‌داری ندارند.

* Values in each row followed by the same letter are not significant different according to LSD test ($p \leq 0.05$).

ارتفاع گیاه

بر اساس یافته‌های پژوهش حاضر دامنه تغییرات ارتفاع گیاه در تیمارهای مورد بررسی حدود ۳۰ سانتی‌متر بود. به طور کلی، در کرت‌هایی که فسفر مصرف نشد، میزان ارتفاع سویا به جز در تیمار *تریکودرما* به شدت کاهش یافت. در تیمار فسفر کاهش یافته تلقیح دوگانه *تریکودرما* و میکوریزا نسبت به تلقیح جداگانه آن‌ها در بهبود ارتفاع گیاه مؤثرتر بوده است. به طوری‌که در تیمار دوگانه *تریکودرما هارزیانوم* و میکوریزا گونه *گلوموس اینترارادایسس* ارتفاع بوته نسبت به شاهد افزایش ۲۸ درصدی داشته است (جدول ۲). در این بررسی، نتیجه قابل توجه افزایش این صفت در تیمار تلقیح قارچ *تریکودرما* در نهاده حذف فسفر به دست آمد. در همین زمینه پژوهشگران عقیده دارند که ایجاد کلونی ریشه و ارتباط شیمیایی توسط کلونی‌های

تریکودرما به شدت تحت تأثیر فیزیولوژی گیاه به جهت تغییرات در بیان ژن قرار می‌گیرد (Shoresh et al., 2010). در همین زمینه، (Shoresh & Harman, 2008)دریافتند که تغییر بیان ژن در اندام‌های هوایی نسبت به ریشه بیشتر است. این تغییرات در بیان ژن توسط گیاه به طور کلی کارآیی و توان گیاه را بهبود می‌بخشد. بر اساس نظر محققان، *تریکودرما* به ویژه در زمانی که فسفر عامل محدودکننده است، می‌تواند با افزایش حلالیت فسفر، تولید هورمون‌های رشد و سیدروفر، رشد گیاه را تحریک نماید. این موضوع در خاک‌های قلیایی (خاک‌های مناطق دشت مازندران) که فسفر پس از افزودن به خاک به سرعت به صورت غیر متحرک تبدیل شده و به صورت قابل جذب توسط گیاه وجود ندارد، بسیار اهمیت دارد (Richardson et Gravel et al., 2007; Yedidia et al., 2004 al., 2011;).

وزن خشک گیاه

مقایسه میانگین داده‌ها نشان داد که کاربرد قارچ‌های افزاینده رشد و مقادیر مختلف فسفر اثرات معنی‌داری بر وزن خشک سویا داشته‌اند (جدول ۲). در این بررسی وزن خشک اندام‌های هوایی (ساقه و برگ) در تیمار تلقیح دوگانه قارچ *تریکودرما هارزیانوم* و میکوریزا گونه *گلوموس موسه‌آ* در تیمار فسفر کاهش یافته (حدود ۳۲ تا ۳۶) درصد افزایش نسبت به تیمار شاهد دیده شد (جدول ۲). بررسی محققان حاکی از آن است که حضور میکوریزا اینترارادیس در ریشه سویا میزان گره‌زایی، ارتفاع و وزن خشک ساقه را به طور معنی‌داری افزایش داد (Johansson et al., 2004; Egberongbe et al., 2010). با این وجود، در تیمار حذف کود فسفره در دو سال زراعی اثربخشی قارچ‌های افزاینده رشد گیاه مشهود نبوده و این صفت در تیمارهای تلقیح این قارچ‌ها نسبت به شاهد تفاوت معنی‌داری نداشت. از نظر میزان وزن خشک در گیاه، مصرف متداول فسفر در مقایسه با تیمار حذف فسفر برتری نسبی داشت؛ در حالی‌که نسبت به تیمار فسفر کاهش‌یافته (۷۰ کیلوگرم در هکتار) کاربرد قارچ‌های افزاینده رشد اثربخشی پایین‌تری داشتند. در تیمار مصرف کامل کود فسفر، تلقیح قارچ *تریکودرما* نیز وزن خشک اندام‌های هوایی سویا را نسبت به شاهد حدود ۲۰ درصد افزایش داد. بنابراین، به نظر می‌رسد که *تریکودرما* می‌تواند بخشی از میزان مصرف کود فسفره را کاهش دهد.

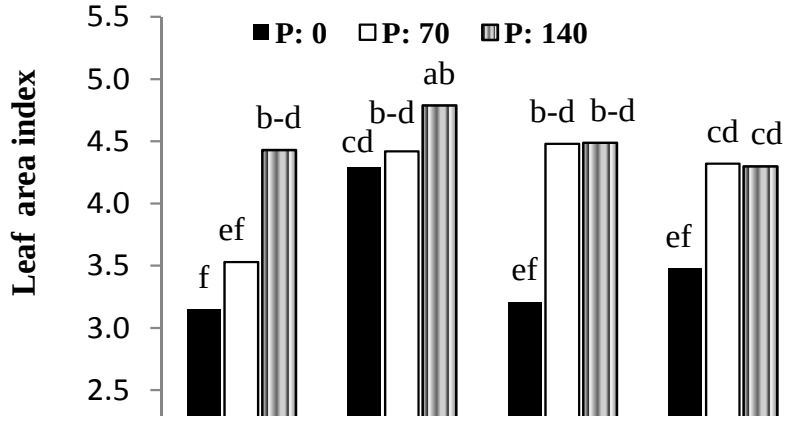
جدول ۲- اثرات قارچ‌های افزاینده رشد گیاه بر ارتفاع و وزن خشک اندام‌های هوایی سویا تحت مقادیر مختلف فسفر

Table 2- Effect of plant growth-promoting fungi on chlorophyll content in different phosphorus

قارچ‌های افزاینده رشد PGPF	فسفر (کیلوگرم در هکتار) Phosphorus (kg.ha^{-1})	وزن خشک (گرم در گیاه) Dry matter (g.plant^{-1})			ارتفاع گیاه (سانتی‌متر) Plant height (cm)
		برگ Leave	ساقه Stem	کل Total	
شاهد Control	0	46.35 ^{i}*	132.5 ^{h}	178.9 ^{h}	73.10 ^{f}
	70	79.88 ^{fg}	205.8 $^{b-d}$	285.7 ^{de}	86.23 ^{de}
بدون تلقیح Non-inoculated)	140	93.81 $^{b-e}$	206.3 $^{b-d}$	300.1 $^{c-e}$	100.32 ^{ab}
T.H *تریکودرما هارزیانوم*	0	67.09 ^{h}	164.5 $^{e-h}$	231.6 ^{fg}	97.05 $^{a-c}$
	70	85.73 ^{ef}	203.2 $^{b-e}$	288.9 ^{de}	92.10 $^{b-d}$
	140	112.82 ^{a}	258.8 ^{a}	371.6 ^{a}	97.68 ^{ab}
GM *گلوموس موسه‌آ*	0	69.77 ^{gh}	155.5 $^{f-h}$	225.3 ^{fg}	84.48 ^{de}
	70	87.19 $^{d-f}$	228.8 $^{a-c}$	316.0 $^{b-d}$	91.43 $^{b-d}$
	140	63.09 ^{h}	170.9 $^{d-h}$	258.4 ^{fg}	92.93 $^{b-d}$
GI *گلوموس اینترارادایسس*	0	59.64 ^{h}	156.0 $^{f-h}$	215.6 $^{f-h}$	86.60 ^{de}
	70	91.70 $^{c-e}$	237.8 ^{ab}	329.5 $^{a-d}$	92.60 $^{b-d}$
	140	63.22 ^{h}	190.1 $^{c-f}$	258.4 ^{ef}	92.77 $^{b-d}$
GM + TH	0	62.63 ^{h}	176.4 $^{d-g}$	240.1 ^{fg}	79.53 ^{ef}
	70	104.71 ^{ab}	264.7 ^{a}	429.4 ^{a}	102.87 ^{a}
	140	92.34 $^{c-e}$	223.7 $^{a-c}$	332.7 $^{b-d}$	89.52 ^{cd}
GI + TH	0	59.88 ^{h}	140.9 ^{gh}	194.1 ^{gh}	88.17 ^{cd}
	70	97.57 $^{b-d}$	259.1 ^{a}	317.7 ^{ab}	100.20 ^{ab}
	140	99.80 ^{bc}	239.5 ^{ab}	362.7 $^{a-c}$	86.60 $^{a-c}$

* میانگین‌های دارای حروف مشترک در هر ستون مطابق آزمون LSD در سطح پنج درصد اختلاف معنی‌داری ندارند (میانگین داده‌های دو ساله).

* Values in each row followed by the same letter are not significant different according to LSD test ($p \leq 0.05$) (The average two-year data).



شکل ۱- اثر قارچ‌های افزاینده رشد گیاه بر شاخص سطح برگ سویا تحت مقادیر مختلف فسفر

Fig. 1- Effect of plant growth-promoting fungi on LAI of soybean in different phosphorus

بررسی محققان نیز نشان‌دهنده آن است که مصرف میزان کودی متداول، رشد گیاه تحت تأثیر میکوریزا قرار نگرفت، اما پاسخ معنی‌داری به افزودن *تریکودرما هارزیانوم* نشان داد (Martinez-Medina et al., 2011). در تیمار کاربرد گونه‌های میکوریزا و کاهش مصرف فسفر میزان وزن خشک کل اندام‌های هوایی سویا نسبت به تیمار مصرف متداول فسفر افزایش یافت (جدول ۲). افزایش جذب فسفر مهمترین ویژگی سودمند میکوریزا در ارتباط همزیستی با گیاه مطرح بوده و میزان سطح فسفر خاک اغلب مهمترین عامل تعیین کننده در این ارتباط است (Richardson et al., 2011). به طور کلی عقیده بر این است که در مدیریت کم نهاده، نقش میکوریزا و دیگر میکروارگانیسم‌های مفید خاک در پایداری عملکرد محصولات بسیار مؤثرتر و مهم‌تر است (Martinez & Johnson, 2010; Harman, 2005).

شاخص سطح برگ (LAI)

شاخص سطح برگ که میزان دارایی برگ در گیاه را عنوان می‌کند، نشان‌دهنده میزان انرژی ورودی به واحد سطح برگ و تعیین‌کننده ظرفیت فتوسنتزی گیاه است. بررسی تیمارها از نظر صفت شاخص سطح برگ بیانگر اثربخشی بالاتر تلقیح دوگانه *تریکودرما هارزیانوم* و میکوریزا گونه *گلوموس موسه‌آ* در مقدار کاهش یافته فسفر (۷۰ کیلوگرم در هکتار) نسبت به تلقیح جداگانه میکوریزا بود (شکل ۱). در تیمارهای شاهد با کاهش و حذف فسفر شاخص سطح برگ کاهش یافت. همچنین، این صفت در تلقیح جداگانه گونه‌های میکوریزا با بذر سویا تفاوت معنی‌داری در بین تیمارهای فسفر متداول و فسفر کاهش یافته نشان نداد.

محققان اظهار داشتند که *تریکودرما* به واسطه بهبود محتوی کلروفیل، ارتفاع ساقه و سطح برگ موجب افزایش رشد در اندام‌های مختلف گیاه بامیه[1] (*Abelmoschus esculentus*) شده و می‌تواند جایگزینی بخشی از کودهای معدنی مصرفی در زراعت این گیاه عمل نماید (Siddiqui et al., 2008). در همین راستا، در بررسی رشد و نمو گوجه‌فرنگی[2] (*Solanum lycopersicum*) تحت تأثیر قارچ *تریکودرما هارزیانوم* و میکوریزا نشان داده شد که رشد اندام هوایی گیاه تحت تأثیر این قارچ‌ها به طور قابل توجهی نسبت به شاهد افزایش یافت (Nzanza et al., 2011) روش‌های مدیریتی کشاورزی از جمله میزان کود و سموم مصرفی، نوع گیاه زراعی و میکروارگانیسم های موجود در خاک ساختار و عملکرد همزیستی قارچ‌های میکوریزی و *تریکودرما* را تحت تأثیر قرار می‌دهد (Martinez & Ruano et al., 2009; Meghvansi et al., 2008; Richardson et al., 2011; Johnson, 2010).

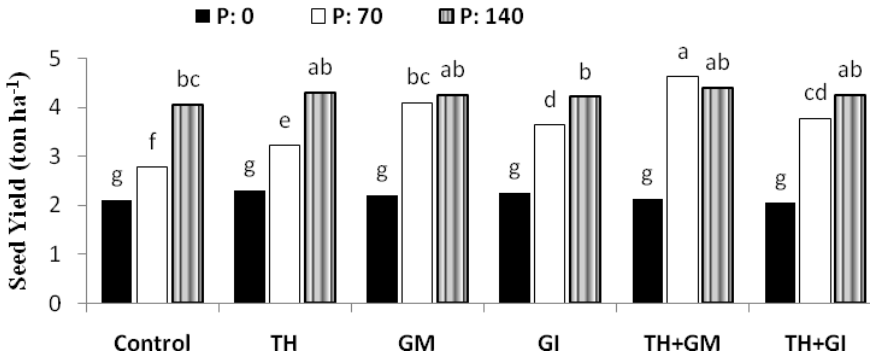
عملکرد دانه

مقایسه میانگین داده های دو ساله عملکرد دانه نشان داد که حذف فسفر در کلیه تیمارها حتی با تلقیح قارچ‌های مختلف سبب کاهش عملکرد دانه سویا از ۲ تا ۲/۵ تن در هکتار شد. این افت عملکرد به جهت کاهش میزان فسفر قابل دسترس در تیمارهای عدم مصرف کود فسفره می‌باشد. به نظر می‌رسد که تلقیح قارچ‌های

1- Edible hibiscus- okra
2 - Tomato

افزاینده رشد بدون مصرف فسفر جهت تولید مناسب‌تر سویا مؤثر نبوده است (شکل ۲). با کاهش پنجاه درصدی فسفر در تیمار شاهد (عدم تلقیح) عملکرد دانه نسبت به مصرف کامل فسفر در این شرایط، کاهش معنی‌داری داشته است. اما در تیمارهای تلقیح قارچ‌های افزاینده رشد میکوریزا *گلوموس موسه‌آ* و تلقیح دوگانه *تریکودرما* و میکوریزا *گلوموس موسه‌آ* با کاهش ۵۰ درصدی کود فسفره، عملکرد دانه با مصرف کامل کود فسفره تفاوت معنی‌داری نداشت. محققان نیز در این ارتباط اعلام داشتند که اثربخشی این نوع از قارچ‌ها در حضور عنصر فسفر قابل مشاهده است (Gosling et al., 2006; Martinez & Johnson, 2010).

بررسی اثر قارچ *تریکودرما* نشان داد که با کاهش کود فسفره عملکرد دانه نسبت به همین تیمار و عدم تلقیح (شاهد) به ترتیب حدود ۱۲، ۸ و ۱۴ درصد افزایش یافته است. پژوهش نشان داد فعالیت قارچ *تریکودرما* سبب افزایش حلالیت فسفر و سایر عناصر شده و افزایش جذب عناصر غذائی در نتیجه فعالیت این قارچ‌ها سبب افزایش رشد و بنیه گیاه می‌گردد (Singh et al., 2007; Yedidia et al., 2004; Adriano et al., 2012). در تیمارهای کاربرد قارچ‌های میکوریزا اینترارادیس، *تریکودرما* و تلقیح دوگانه این قارچ‌ها با کاهش ۵۰ درصدی میزان کود فسفره عملکرد دانه کاهش معنی‌داری حدود ۲۵ و ۱۱ درصد داشت. با این وجود، عملکرد نسبت به شاهد (عدم تلقیح) به ترتیب حدود ۱۴ و ۲۷ درصد بیشتر بود (شکل ۲). بر اساس نظر پژوهشگران، بهبود رشد سویا به واسطه حضور این قارچ ها ممکن است به دلیل افزایش رشد ریشه باشد که سبب می شود ریشه در دامنه وسیعتری از خاک، عناصر غذایی پرمصرف و کم‌مصرف را برای گیاه در حد کفایت جذب نماید (Shoresh et al., 2010; Richardson et al., 2011). در تیمار مصرف کامل کود فسفره (۱۴۰ کیلوگرم در هکتار) در بین تیمارهای مختلف اعمال شده تفاوت معنی‌داری مشاهده نشده است. بنابراین، به نظر می‌رسد که *تریکودرما* می‌تواند بخشی از میزان مصرف کود را کاهش دهد. به طور کلی عقیده بر این است که در مدیریت کم نهاده، نقش میکوریزا و دیگر میکروارگانیسم های مفید خاک در پایداری عملکرد محصولات بسیار مؤثرتر و مهم‌تر است (Martinez & Johnson, Harman, 2005; 2010).



شکل ۲- اثر قارچ‌های افزاینده رشد گیاه بر عملکرد دانه سویا تحت مقادیر مختلف فسفر

Fig. 2- Effect of plant growth-promoting fungi on yield of soybean in different phosphorus

همبستگی بین صفات

بررسی ضرائب همبستگی بین صفات بررسی شده پارامترهای رشدی سویا در تیمارهای آزمایشی مشخص گردید که تمامی صفات مورد بررسی دارای رابطه همبستگی قوی با میزان عملکرد دانه در سویا بودند. به طوری‌که عدد حاصل از قرائت کلروفیل (r= ۰/۹۱**)، شاخص سطح برگ (r=۰/۷۷**) و میزان کلروفیل a (r= ۰/۶۲**) بیشترین همبستگی را با عملکرد دانه سویا داشته‌اند (جدول ۳). این نتایج حاکی از آن است که قارچ‌های افزاینده رشد گیاه با تأثیر بر میزان کلروفیل برگ و سطح برگ سهم بالایی در تولید ماده خشک در گیاه سویا داشته‌اند.

جدول ۳- همبستگی بین صفات اندازه‌گیری شده در گیاه سویا تحت تیمار قارچ‌های افزاینده رشد گیاه (n = ۱۸)

Table 3- Correlation coefficients among studied traits in different phosphorus (n=18)

صفات Traits	ارتفاع بوته Plant height	کلروفیلa Chlorophyll a	مجموع کلروفیل Chlorophyll total	محتوی کلروفیل SPAD	شاخص سطح برگ LAI	وزن خشک بوته Dry matter	عملکرد دانه Seed yield
ارتفاع بوته Plant height	1						
کلروفیلa Chlorophyll a	0.70 **	1					
مجموع کلروفیل Chlorophyll total	0.59 **	0.85 **	1				
محتوی کلروفیل SPAD	0.83 **	0.71 **	0.72 **	1			
شاخص سطح برگ LAI	0.86 **	0.77 **	0.72 **	0.91 **	1		
وزن خشک بوته Dry matter	0.73 **	0.62 **	0.65 **	0.91 **	0.77 **	1	
عملکرد دانه Seed Yield	0.62 **	0.73 **	0.80 **	0.72 **	0.65 **	0.74 **	1

* و **: به ترتیب معنی‌دار در سطح پنج و یک درصد و ns عدم تفاوت معنی‌دار

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

نتیجه‌گیری

اثربخشی قارچ‌های *تریکودرما هارزیانوم* و میکوریزا بر افزایش محتوی کلروفیل و وزن خشک اندام‌های هوایی در شرایط کاربرد ۵۰ درصد فسفر در بررسی دو ساله مشاهده گردید. همچنین بر اساس نتایج آزمایش دو ساله عملکرد دانه در تیمار تلقیح دوگانه قارچ *تریکودرما هارزیانوم* و میکوریزا در تیمار فسفر کاهش یافته نسبت به تیمار شاهد افزایش داشته است. بنابراین، با توجه به سطح کشت نسبتاً وسیع سویا در استان مازندران و اثبات سودمندی این گونه از قارچ‌ها در بهبود رشد و توسعه این گیاه و همچنین ضرورت حفظ منابع تولید، تلقیح توأم میکوریزا و *تریکودرما* می‌تواند در مدیریت تلفیقی عناصر غذایی (INM)[1] جایگزین مناسبی برای کودهای شیمیایی و نظام‌های پرنهاده باشد. اگرچه بررسی مکانیسم‌های دیگر افزایش رشد سویا در تعامل با این قارچ‌ها نیازمند مطالعه بیشتری است.

سپاسگزاری

این بررسی با حمایت پژوهشکده ژنتیک و زیست‌فناوری کشاورزی طبرستان واقع در دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی ساری انجام گردید. بدین جهت از حمایت کلیه مسولین محترم پژوهشکده تشکر و قدردانی می‌گردد.

منابع

Agricultural Statistics, 2013. Center of Economic Information and Communication Technology. Ministry of Jihad-e-Agriculture, p. 132. Available online at, http://dpe.agri-jahad.ir.

Brunner, K., Zeilinger, S., Ciliento, R., Woo, S.L., Lorito, M., Kubicek, C.P., and Mach, R.L. 2005. Improvement of the fungal biocontrol agent *Trichoderma atroviride* to enhance both antagonism and induction of plant systemic disease resistance. Applied and Environmental Microbiology 71: 3959-3965.

Cavalcante, R.S., Lima, H.L.S., Pinto, G.A.S., Gava, C.A.T., and Rodriguez, S. 2008. Effect of moisture on

1- Integrated nutrient management

Trichoderma conidia production on corn and wheat bran by solid state fermentation. World Journal of Microbiology and Biotechnology 24: 319-325.

Djebali, N., Turki, S., Zid, M., and Hajlaoui, M.R. 2010. Growth and development responses of some legume species inoculated with a mycorrhiza-based biofertilizer. Agriculture and Biology Journal of North America 5: 748-754.

Egberongbe, H.O., Akintokun, A.K., Babalola, O.O., and Bankole, M.O. 2010. The effect of *Glomus mosseae* and *Trichoderma* harzianum on proximate analysis of soybean (*Glycine max* (L.) Merrill.), seed grown in sterilized and unsterilised soil. Journal of Agricultural Extension and Rural Development 2(4): 54-58.

Gosling, P., Hodge, A., Goodlass, G., and Bending, G.D. 2006. Arbuscular mycorrhizal fungi and organic farming. Agriculture, Ecosystem and Environment 113: 17-35.

Gianinazzi, S., Gollotte, A., Binet, M., Tuinen, D., Redecker, D., and Wipf, D. 2010. Agroecology, the key role of arbuscular mycorrhizas in ecosystem services. Mycorrhiza 20: 519-530.

Gravel, V., Antoun, H., and Tweddell. R.J. 2007. Growth stimulation and fruit yield improvement of greenhouse tomato plants by inoculation with *Pseudomonas putida* or *Trichoderma atroviride*: Possible role of indole acetic acid (IAA). Soil Biology and Biochemistry 39: 1968-1977.

Harman, G.E. 2005. Overview of mechanisms and uses of *Trichoderma* spp. the nature and application of biocontrol microbes II: *Trichoderma* spp. Phytopathology p. 190-194.

Johansson, J.F., Paul, L.R., and Finlay, R.D. 2004. Microbial interactions in the mycorrhizosphere and their significance for sustainable agriculture. FEMS Microbiology Ecology 48: 1-13.

Lo, C.T., and Lin, C.Y. 2002. Screening strain of *Tricoderma* spp for plant growth enhancement in Taiwan. Plant Pathology bulletin 11: 215-220.

Ma, B.L., Morrison, M.J., and Voldeng, H.D. 1995. Leaf greenness and photosynthetic rates of soybean. Crop Science 35: 1411-1414.

Martinez-Medina, A., Antonio, R., Alfonso, A., and Jose, A.P. 2011. The interaction with arbuscular mycorrhizal fungi or *Trichoderma harzianum* alters the shoot hormonal profile in melon plants. Phytochemistry 72: 223-229.

Martinez-Medina, A., Roldana, A., and Jose Pascuala, A. 2011. Interaction between arbuscular mycorrhizal fungi and *Trichoderma harzianum* under conventional and low input fertilization field condition in melon crops: Growth response and Fusarium wilt biocontrol. Applied Soil Ecology 47: 98-105.

Martinez, T.N., and Johnson, N.C. 2010. Agricultural management influences propagule densities and functioning of arbuscular mycorrhizas in low- and high-input agroecosystems in arid environments. Applied Soil Ecology 46: 300-306.

Meghvansi, M.K., Prasad, K., Harwani, D., and Mahna, S.K. 2008. Response of soybean cultivars toward inoculation with three arbuscular mycorrhizal fungi and *Bradyrhizobium japonicum* in the alluvial soil. European Journal of Soil Biology 44: 316-323.

Nzanza, B., Diana, M., and Puffy, S. 2011. Tomato (*Solanum lycopersicum* L.) seedling growth and development as influenced by *Trichoderma harzianum* and arbuscular mycorrhizal fungi. African journal of microbiology research 5: 425-43.

Porra, R.J. 2003. The chequered history of the development and use of simultaneous equations for the accurate determination of chlorophylls a and b. Photosynthesis Research 73: 149-156.

Powlson, D.S., Gregory, P.J., Whalley, W.R., Quinton, J.N., Hopkins, D.W., Whitmore, A.P., Hirsch, P.R., and Goulding, K.W.T. 2011. Soil management in relation to sustainable agriculture and ecosystem services. Food Policy 36: 72-87.

Rayat panah, S., and Alavi, S.V. 2002. Study on soybean charcoal rot Disease in Mazandaran. Journal of Agriculture Science Natural Resource 13: 107-114.

Regina, H., Hassegawa, H., Fonseca, A.L., Fancelli, V.N., Silva, E.A., Schammass, T., Reis, A., and Correa, B. 2008. Influence of macro and micronutrient fertilization on fungal contamination and fumonisin production in corn grains. Food Control 19: 36-43.

Richardson, A.E., Lynch, J.P., Ryan, P.R., Delhaize, E., Smith, F.A., Smith, S.E., Harvey, P.R., Ryan, M.H., Veneklaas, E.J., Lambers, H., Oberson, A., Culvenor, R.A., and Simpson, R.J. 2011. Plant and microbial strategies to improve the phosphorus efficiency of agriculture. Plant and Soil 349: 121-156.

Rojan, P., John, R.D., Tyagi, D., Prevost, S.K., Brar, Pouleur, S., and Surampalli, R.Y. 2010. Mycoparasitic *Trichoderma viride* as a biocontrol agent against *Fusarium oxysporum* f. sp. adzuki and *Pythium arrhenomanes* and as a

growth promoter of soybean. Crop Protection 29: 1452-1459.

Ruano, R.D., and Lopez Herrera, C.J. 2009. Evaluation of *Trichoderma* spp. as biocontrol agents against avocado white root rot. Biological Control 51: 66-71.

SAS, 2006. SAS Institute User's Guide. Statistical Version Package 9.1. SAS Institute, Carolina, USA.

Schroeder, M.S., and Janos, D.P. 2005. Plant growth, phosphorus nutrition, and root morphological responses to arbuscular mycorrhizas, phosphorus fertilization, and intraspecific density. Mycorrhiza 15: 203-216.

Shoresh, M., Mastouri, F., and Harman, G. 2010. Induced systemic resistance and plant responses to fungal biocontrol agents. Annual Review of Phytopathology 48: 21-43.

Siddiqui, Y., Meon, S., Ismail, R., Rahmani, M., and Ali, A. 2008. Bio-efficiency of compost extracts on the wet rot incidence, morphological and physiological growth of okra (*Abelmoschus esculentus*). Scientia Horticulture 117: 9-14.

Yedidia, I., Srivastva, A.K., Kapulnik, Y., and Chet, I. 2004. Effect of *Trichoderma harzianum* on microelement concentrations and increased growth of cucumber plants. Plant and Soil 2: 235-24.