تأثیر قارچ میکوریز Rhizophagusirregularis و قارچ عامل کنترل بیولوژیکی Trichodermaasperelloides بر رشد شبدر برسیم Trifoliumalexandrinum L. تحت شرایط تنش خشکی

زینب اکبری [۱]، حبیب اله نادیان [۲]، بابک پاکدامن سردرود [۳]، نفیسه رنگ زن [۳]
۱-دانشجوی کارشناسی ارشد دانشگاه کشاورزی و منابع طبیعی رامین خوزستان، ۲-استاد دانشگاه کشاورزی و منابع طبیعی رامین خوزستان ۳، -استادیار دانشگاه کشاورزی و منابع طبیعی رامین خوزستان

چکیده
در بالاترین سطح تنش خشکی پرورش داده پژوهش حاضر به منظور بررسی تأثیر قارچ میکوریز *Rhizophagusirregularis*، و قارچ عامل کنترل بیولوژیکی *Trichodermaasperelloides* بر رشد گیاهان شبدر برسیم *Trifoliumalexandrinum L*. تحت شرایط تنش خشکی به انجام رسید. بررسی گلخانه ای انجام شده با طرح آزمایشی کاملاً تصادفی شامل دو فاکتور بود: تیمار قارچی در چهار سطح (مایه زنی با *R. irregularis*، با *T. asperelloides*، با هر دو، و بدون هیچ قارچی به عنوان شاهد)، و خشکی در سه سطح (۵۰، ۷۰ و ۹۰ درصد تخلیه آب قابل استفاده). هر تیمار پنج تکرار داشت. نتایج نشان دادند که کاربرد همزمان هر دو قارچ تأثیر معنی داری بر افزایش رشد گیاه داشت. بیشترین میزان رشد به هنگام کاربرد همزمان هر دو قارچ در پایین ترین سطح تنش خشکی به دست آمد حال آن که پایین ترین میزان رشد در گیاهان شاهدی به ثبت رسد که شده بودند.

واژه های کلیدی: *Trichodermaasperelloides*، *Rhizophagusirregularis*، شبدر، تنش، میکوریز.

مقدمه
تنش خشکی و کمبود آب قابل دسترس یکی از مهم ترین عوامل کاهش تولید محصولات کشاورزی به خصوص در مناطق خشك و نیمه خشك دنیا محسوب می شود. تنش خشکی زمانی در گیاهان حادث می گردد که میزان آب دریافتی کمتر از تلفات آن باشد.(Hassani,۲۰۰۵). در شرایط تنش خشکی، آب در دسترس گیاه کاهش مییابد (Nahar et al,۲۰۰۲)، و انعکاس آن در گیاه کاهش میزان آب داخلی و در نتیجه کاهش و به تاخیر افتادن جوانه زنی، کاهش رشد اندام های هوایی و کاهش تولید ماده خشک می گردد (Zehtabian,۲۰۰۱). امروزه به کارگیری جانداران مفید خاکزی تحت عنوان کودهای زیستی به عنوان طبیعی ترین و مطلوب ترین راه حل برای زنده و فعال نگه داشتن سامانه ی زیستی خاک در زمین های کشاورزی مطرح می باشد (صالح راستین، ۱۳۸۰). همزیستی گیاهان با قارچ های میکوریز آرباسکولار یکی از مهم ترین، شناخته ترین، کهن ترین و گسترده ترین استراتژی های گیاهان برای کسب عناصر غذایی و مقابله با تنش های محیطی می باشد (Neumann,۲۰۰۹). قارچ های میکوریز از عوامل ضروری در سامانه پایدار خاک محسوب می شوندکه با ریشه بیش از ۹۰ درصد گیاهان همزیستی دارند (Smith,۲۰۰۸). بسیاری از محققان گزارش کرده اند که همزیستی با قارچ میکوریز مقاومت به بیماری ها و آفات و تنش هایی از قبیل شوری و خشکی را افزایش می دهد، آن ها معتقد هستند که این افزایش مقاومت ها به دلیل افزایش جذب مواد غذایی نظیر نیتروژن، فسفر، عناصر غذایی کم مصرف و جذب آب می باشد (غلامی و همکاران، ۱۳۷۸ و مهربان و همکاران ۱۳۸۶). Vamrali et al(۲۰۰۳) گزارش نمودند افزایش ماده خشک اندام های هوایی و زیرزمینیدر تلقیح با قارچ میکوریز در مقایسه با عدم تلقیح احتمالا به دلیل افزایش غلظت آب و مواد غذایی و انتقال بهتر این مواد در اندام گیاهی و همچنین افزایش فتوسنتز گیاه است که به ساخته شدن مواد فتوسنتزی بیشتری منجر می شود. در شرایط تنش خشکی در انتقال مواد غذایی در گیاه اختلال ایجاد می شود اما برخی از قارچ های مفید خاکزی مانند قارچ های میکوریز با تشکیل پرگنه در ریشه و افزایش سطح جذب آب و مواد غذایی، تولید در گیاهان زراعی تحت تنش را بهبود می بخشد (Al-karaki et al,۲۰۰۴).

گونه های *Trichoderma* قارچ هایی هستند که تقریبا در تمام خاک ها وجود دارند. این قارچ ها معمولترین گونه های قابل کشت هستند. این قارچ ها در مکان های با گسترش زیاد ریشه فراوان هستند. گونه‌های فعال این قارچ می‌توانند با هر روشی به خاک یا بذر (آب آبیاریبا تلقیحبا بذر) افزوده شوند. یکی از کاربردهای مهم این قارچ ها استفاده از آنها در مبارزه بیولوژیک با بیمارگرها خاکزی از جمله *Pythium*، *Fusarium*، و... می باشد(Cook,۱۹۹۳). توانایی این قارچ ها در افزایش میزان رشد گیاه سال هاست که شناخته شده است این قارچ ها با افزایش سطح فعال ریشه باعث رشد بیشتر گیاه می شوند. همچنین، مشخص شده است که یکی از گونه های *Trichoderma* (*T. harzianum*) باعث افزایش مقدار ریشه های عمقی (بیشتر از یک متر در زیر سطح خاک) می‌شوند که این ریشه ها در گیاهانی مثل ذرت و گیاهان زراعی موجب افزایش مقاومت به خشکی می شوند (*Howell*,۲۰۰۲). Yedidia(۲۰۰۱) افزایش طول ریشه نخود، Kleifield(۱۹۹۲) بهبود ارتفاع گیاهچه فلفل سبز در کاربرد گونه *T. hamatum* گزارش کرده اند. ضرورت افزایش عملکرد و کیفیت محصولات کشاورزی منجر به استفاده بیش از حد کودهای شیمیایی شده که آلودگی های زیست محیطی جدی را ایجاد

کرده است. استفاده از عوامل بیولوژیک که در بهبود استفاده از عناصر غذایی موجود در خاک و تحریک رشد گیاهی نقش دارند جانشین مناسبی برای افزایش تولید با کم ترین اثرات اکولوژیکی می باشد (Hermosa,۲۰۱۲).

مواد و روش‌ها

این تحقیق در پاییز ۹۳ به صورت فاکتوریل در قالب طرح پایه کاملا تصادفی با پنج تکرار در شرایط گلخانه انجام شد. فاکتورها شامل سه سطح تنش خشکی (۵۰، ۷۰ و ۹۰ درصد آب قابل استفاده تخلیه شده باشد) و قارچ در چهار سطح (تلقیح میکوریزا، تریکودرما، میکوریزا و تریکودرما و عدم تلقیح) بودند.

عمل تلقیح تریکودرما

اعمال *Trichoderma* سه هفته بعد از کشت و بعد از مستقر شدن قارچ میکوریز در گلدان ها انجام گرفت. به ازای هر ۱۰۰۰ گرم خاک حدود ۲/۰ گرم زادمایه *Trichoderma* به کار برده شد، با توجه به این که وزن گلدان ها معادل ۲۹۴۰ گرم می باشد، بنابراین، زادمایه استفاده شده برابر ۶/۰ گرم می باشد.

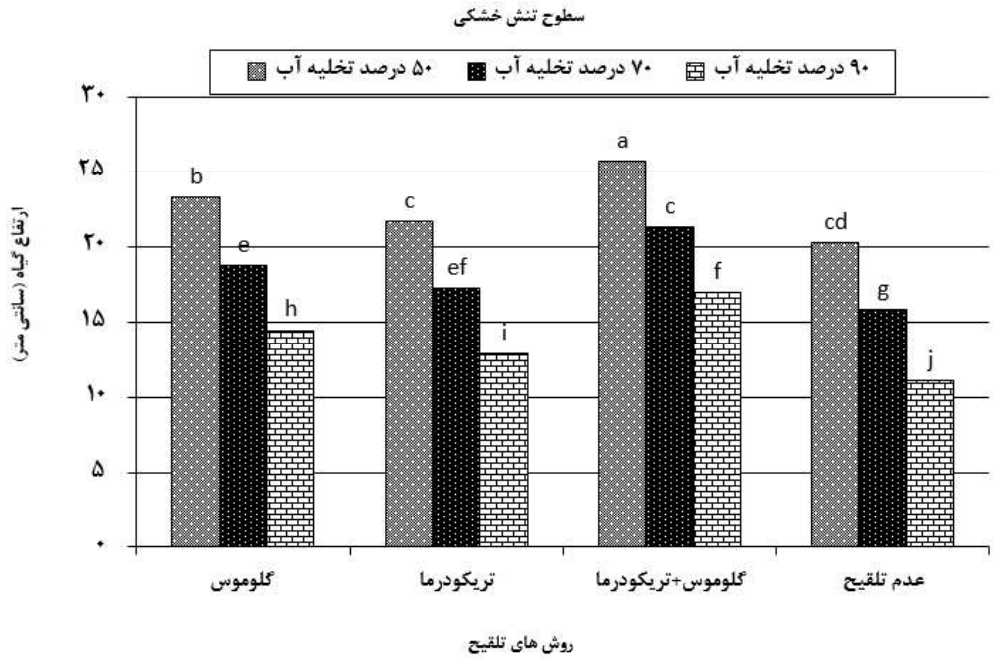
عمل تلقیح میکوریزا

قبل از کشت در گلدان های مربوط به واحدهای آزمایشی میکوریزی حفره هایی به عمق ۳ سانتی متر ایجاد شد و درون حفره ها زادمایه شامل هاگ، ریسه ها و ریشه گیاه شبدر از قبل کلونیزه شده با قارچ *G. intraradices* در هر حفره افزوده شد که میزان زادمایه استفاده شده ۲ گرم بود.

گلدان های پلاستیکی مورد استفاده در این آزمایش دارای قطر دهانه ۵.۱۶ سانتی متر بودند.در گلدان ها حفره هایی به عمق ۳ سانتی متر توسط میله شیشه ای ایجاد شد.سپس گیاهچه ها درون حفره قرار داده شدند. جهت اعمال تیمار تنش خشکی به صورت وزنی میزان درصد رطوبت خاک در دو سطح مکش ۳/۱ اتمسفر FC و ۱۵ اتمسفر PWP توسط دستگاه صفحه فشار تعیین گردید. سپس میزان آب قابل استفاده از تفاضل FC-PWP به دست آمد و آب قابل استفاده در حالت زراعی ۱۰۰ فرض شده و تیمارهای تنش نسبت به آن محاسبه شدند. تجزیه و تحلیل آماری داده های حاصل از این پژوهش با استفاده از نرم افزار SAS صورت گرفت. مقایسه میانگین ها با استفاده از آزمون چند دامنه ای دانکن در سطح ۵ درصد انجام شد. برای ترسیم نمودارها نیز از نرم افزار Excel استفاده گردید.

جدول شماره ۱ بررسی ارتفاع گیاه شبدر دراثر تلقیح قارچ میکوریزا و قارچ *Trichoderma*

تنش خشکی روش های تلقیح	۵۰	۷۰	۹۰
تلقیح با میکوریزا	۳۱/۲۳	۷۵/۱۸	۴۶/۱۴
تلقیح با تریکودرما	۷۱/۲۱	۲۷/۱۷	۸۶/۱۲
تلقیح میکوریزا+تریکودرما	۷۹/۲۵	۳۵/۲۱	۹۴/۱۶
بدون تلقیح	۲۵/۲۰	۸۱/۱۵	۱۴/۱۱



شکل ۱ ارتفاع گیاه شبدر در اثر تلقیح قارچ میکوریزا و قارچ *Trichoderma*

نتایج و بحث

اثر متقابل تنش‌خشکی و میکوریزا نشان داد که در حضور و عدم حضور میکوریزا با افزایش خشکی از ارتفاع گیاه کاسته شد، قارچ‌های میکوریز آربسکولار به طور معنی‌داری باعث افزایش ارتفاع گیاه در تمامی سطوح تنش خشکی نسبت به نمونه‌های غیرمیکوریزایی شد. همان طور که در جدول شماره یک مشاهده می شود بیشترین ارتفاع گیاه مربوط به تلقیحهمزمان قارچ میکوریزا و تریکودرما در پایین ترین سطح خشکی با میانگین ۷۹/۲۵ سانتی متر می باشد.کم ترین ارتفاع گیاه مربوط به تیمار شاهد وبیش ترین سطح خشکی با میانگین ۱۴/۱۱ می باشد.نتایج Sharma et al.,(۲۰۱۳)نشان داد که تلقیح دانه های برنج با قارچ تریکودرما به طور قابل توجهی باعث افزایش ارتفاع گیاه، طول ریشه، وزن تر و وزن خشک ریشه در مقایسه با تیمارهای شاهد در شرایط گلخانه شده است.تلقیح همزمان قارچ میکوریز وقارچ *Trichoderma* بر روی گیاه فلفل نیز نشان داد که باعث افزایش معنی دار در ارتفاع گیاه، وزن تر و وزن خشک ریشه شده است Parkash(۲۰۰۴).با توجه به نتایج حاصل از این پژوهش نتیجه می شود که کاربرد همزمان قارچ میکوریزا و تریکودرما تاثیر بیش تری در افزایش ارتفاع گیاه شبدر نسبت به کاربرد هر کدام از قارچ ها به تنهایی داشته است.

منابع

صالح راستین، ن. ۱۳۸۰ کودهای بیولوژیک و نقش آن ها در راستای نیل به کشاورزی پایدار. مجموعه مقالات ضرورت تولید صنعتی کودهای بیولوژیک در کشور. ۵-۱.

غلامی، ا. کوچکی، ع، مظاهری، د. و قلاوند، ا. ۱۳۷۸. ارزیابی اثرات گونه های مختلف قارچ میکوریزا از نوع ویسکولار(VAM) بر خصوصیات رشد ذرت. مجله علوم زراعی ایران. جلد ۴ شماره ۳ صفحه ۱۴-۲۲.

مهربان، ا. داعی، گ. ، مهربان، م. ر.۱۳۸۶.نقش قارچهای همزیست میکوریزا در پیکار با خشک سالی. مجموعه مقالات اولین همایش خشک سالی و راهکارهای مقابله با آن، دانشگاه آزاد اسلامی، واحد بیرجند، اول اسفند ۱۳۸۶. صفحه ۲۵-۳۲.

Al-Karaki, G. N. and Al-Raddad, A. ۲۰۰۴.Effect of arbuscularmycorrhizal fungi and drought stress on growth and nutrient uptake of two wheat genotypes differing in drought resistance.Mycorrhiza. ۷: ۸۳-۸۸

Cook, R.J. ۱۹۹۳. Making greater use of introduced microorganisms for biological control of plant pathogens. Ann. Rev. Phytopathol. ۳۱:۵۳-۸۰.

Hassani, A., ۲۰۰۵. Effect of water deficit on growth, yield and essential oil herb Badrshbov. Iran. J. Medic. Aroma.Plants. ۲۲(۳), ۲۵۶-۲۶۱. [In Persian with English summary]

Hermosa R., Viterbo A., chet I., and Monte E.۲۰۱۲.Plant-beneficial effects of Trichoderma and of its genes. Microbiology, ۱۵۸:۱۷-۲۵

Howell, C.R. ۲۰۰۲. Mechanisms employed by Trichoderma species in the biological control of plant diseases: the history and evolution of current concepts. Plant Disease. ۸۷:۴-۱۰.
Kleifield, O and Chet,I ۱۹۹۲ Trichoderma plant interaction and its effect on increased growth response. Plant Soil ۱۴۴, ۲۶۷ ۲۷۲.
Nahar, K. and Gretzmacher, R.۲۰۰۲. Effect of water stress on nutrient uptake, yield and quality of tomato (lycopersiconesculentum Mill.) under subtropical conditions. Die bodenkultur. ۵۳ (۱): ۴۵-۵۱.
Neumann, E. and George, E. ۲۰۰۹. The effect of arbuscularmycorrhizal root colonization on growth and nutrient uptake of two different cowpea (Vignaunguiculata L. Walp.) genotypes exposed to drought stress. Emir Faculty of food and Agriculture. ۲۱ (۲): ۰۱-۱۷.
Parkash, V. ۲۰۰۴.Mycorrhizal status of some ethno botanical plant of Himachal Pradesh, Ph.D. Thesis KurukshetraUniversity, Kurukshetra
Sharma, KK., in press. Morphological and molecular characterization of rhizospheric isolates of Trichoderma and determination of their biocontrol efficacy (Ph.D. thesis submitted to GBPUAT). Patnagar, India.
Smith, S. E., and Read, D. ۲۰۰۸.Mycorrhizal Symbiosis.Third Edition.Academic Press. San Diego. California.USA. ۷۶۹.
Yedidia, I., Srivastva, A.K., Kapulnik, Y., Chet, I., ۲۰۰۱. Effects of Trichodermaharzianum on microelement concentrations and increased growth of cucumber plants.Plant Soil ۲۳۵, ۲۳۵ ۲۴۲.
Zehtabian, G. R., Azarnivand, H. and SharifiKashan, M.M. ۲۰۰۱. Effects of doughtand salinity stress on (Panicum antidotal, Agropyronintermedium, Avenabarbata). Journal of Natural Res of Iran. ۵۴(۴):۴۲۱-۹۰۴.

Abstract

The present research was performed in order to study the effect of the mycorrhizal fungus *Rhizophagusirregularis*, and the biological control fungus *Trichodermaasperelloides* on the growth of clover plants under drought stress conditions. The greenhouse study carried out following a completely randomized experimental design included two facors: fungal treatment in four levels (inoculation with *R. irregularis*, with *T. asperelloides*, with both, and with no fungus as control), and drought in three levels (۵۰,۷۰ and ۹۰ of available water discharge). Each treatment was of five replicates. The results indicated that the synchronous application of both fungi was of significant impact on plant growth promotion. The highest growth rate was obtained when both fungi were synchronously applied in the lowest level of drought stress while the lowest growth rate was recorded in the control plants grown under the conditions of the highest level of drought stress.