نشریه علمی ـ پژوهشی اکوفیزیولوژی گیاهان زراعی، جلد یازدهم، شماره ۴(۴۴)، زمستان ۱۳۹۶، صفحه ۸۷۴-۸۵۷

مایه‌زنی قارچ‌های *Piriformospora indica* و *Trichoderma virens* جهت بهبود صفات مورفولوژیکی و فیزیولوژیکی مرتبط با عملکرد برنج در مقادیر مختلف کود فسفر

فائزه محمدی کشکا[۱]، همت‌اله پیردشتی[۲*] و یاسر یعقوبیان[۳]

تاریخ دریافت: ۱۳۹۵/۳/۷ تاریخ بازنگری: ۱۳۹۶/۸/۱۴ تاریخ پذیرش: ۱۳۹۶/۱۱/۳۰

چکیده

حفظ محیط‌زیست و تولید محصولات کشاورزی سالم از اهداف کشاورزی پایدار می‌باشد. در این زمینه، استفاده از ریزجانداران افزاینده رشد جهت کاهش نهاده‌های شیمیایی می‌تواند مفید باشد. بنابراین، آزمایشی به‌صورت طرح کرت‌های خردشده در قالب طرح بلوک‌های کامل تصادفی با سه تکرار در شرایط مزرعه زارعین در شهرستان قائم‌شهر، استان مازندران، در سال ۱۳۹۴ انجام شد. تیمارهای مورد بررسی شامل سه سطح کود فسفر (صفر (شاهد)، ۵۰ و ۱۰۰ کیلوگرم در هکتار از منبع سوپرفسفات تریپل) و روش مایه‌زنی توأم قارچ‌های *T. virens* و *P. indica* در چهار سطح (شاهد، تلقیح بذر، تلقیح نشاء و تلقیح توأم بذر و نشاء) بودند. نتایج آزمایش حاکی از تأثیر مثبت و معنی‌دار قارچ‌ها بر صفات مورفوفیزیولوژیک و عملکرد شلتوک گیاه برنج در هر سه سطح کودی بود. برای نمونه در شرایط کود فسفر صفر، ۵۰ و ۱۰۰ کیلوگرم در هکتار، مایه‌زنی به روش تلقیح بذر باعث افزایش معنی‌دار تعداد خوشه در بوته (به‌ترتیب حدود ۳۳، ۱۹ و ۴۰ درصد)، تعداد دانه پر در بوته (به‌ترتیب حدود ۲۱، ۴۵ و ۵۸ درصد)، عملکرد بیولوژیک (به‌ترتیب حدود ۳۱، ۶ و ۱۸ درصد) و عملکرد شلتوک (به‌ترتیب حدود ۳۷، ۴۸ و ۴۳ درصد) گیاه برنج شد. مایه‌زنی قارچ‌ها با روش‌های تلقیح بذر، تلقیح گیاهچه و تلقیح توأم بذر و نشاء نیز عملکرد شلتوک را به‌ترتیب حدود ۴۸، ۵۳ و ۵۳ درصد در سطح فسفر ۵۰ و حدود ۴۳، ۴۴ و ۱۵ درصد در شرایط مصرف ۱۰۰ کیلوگرم در هکتار افزایش داد. به‌طور کلی، نتایج این آزمایش نشان داد که هر سه روش مایه‌زنی قارچ‌ها در سطوح صفر، ۵۰ و ۱۰۰ کیلوگرم در هکتار کود فسفر مصرفی، باعث بهبود عملکرد شلتوک برنج شدند، که می‌توان علت این نتیجه را با بهبود صفات مورد بررسی از جمله تعداد خوشه در بوته و عملکرد بیولوژیک مرتبط دانست. درمجموع، کاربرد هم‌زمان ریزجانداران مورد مطالعه و کود شیمیایی فسفر اثر افزایشی بیشتری نسبت به کاربرد جداگانه کود شیمیایی فسفر به‌همراه داشت.

واژگان کلیدی: شبه‌میکوریز، طارم هاشمی، عملکرد بیولوژیک، عملکرد شلتوک، کلروفیل.

۱- دانشجوی دکتری، گروه زراعت، دانشگاه تربیت مدرس، تهران، ایران.
۲- دانشیار گروه زراعت، پژوهشکده ژنتیک و زیست‌فناوری کشاورزی طبرستان، دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی ساری، ساری، ایران.
۳- دکتری زراعت، پژوهشکده ژنتیک و زیست‌فناوری کشاورزی طبرستان، دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی ساری، ساری، ایران.
* نگارنده‌ی مسئول h.pirdashti@sanru.ac.ir

Archive of SID
www.SID.ir

مقدمه

برنج (*Oryza sativa* L.) در ایران به‌عنوان مهم‌ترین ماده غذایی بعد از گندم می‌باشد (Dashti *et al*., 2011). استفاده از فرآورده‌های بیولوژیک در جهت تغذیه گیاهان زراعی یکی از راه‌حل‌های مناسب در مسیر دست‌یابی به بخشی از اهداف کشاورزی پایدار به‌شمار می‌رود. کودهای زیستی به‌عنوان نهاده‌های بوم‌سازگار می‌توانند سبب کاهش استفاده از کودهای شیمیایی و بهبود وضعیت حاصلخیزی خاک شوند (Arzanesh and Faraji, 2015). در این میان، قارچ‌های درون‌رُست[1] به‌عنوان یکی از مهم‌ترین گروه‌های قارچی توانایی تولید متابولیت‌های ثانویه و نقش زیستی از قبیل استفاده در صنعت داروسازی، کشاورزی و برنامه‌های کاربردی زیست‌محیطی را برای زندگی بشر ایفا می‌کنند (Selim *et al*., 2012). قارچ شبه‌میکوریز *Piriformospora indica* به‌عنوان یک قارچ درون‌رست دارای کارکردهای ویژه و چندگانه‌ای است که از آن جمله می‌توان به بهبود رشد گیاهان (Bagde *et al*., 2010)، القاء مقاومت در برابر تنش‌های زنده و غیرزنده از جمله غرقاب (Yang *et al*., 2012)، خشکی (Sun *et al*., 2010)، شوری (Waller *et al*., 2005) و بیماری‌ها (Kumar *et al*., 2009) اشاره کرد. از سوی دیگر قارچ *P. indica* با ریشه بسیاری از گونه‌های گیاهی همزیستی داشته و رشد رویشی و عملکرد آنها را افزایش می‌دهد (Oelmüller *et al*., 2009). علاوه بر این، محققین افزایش انشعابات گیاه و رشد جوانه‌های جانبی را به‌خاطر تولید هورمون‌های گیاهی از قبیل سیتوکینین و اکسین (IAA) به‌وسیله این ریزجانداران گزارش نمودند (Vadassery *et al*., 2008). این ویژگی‌ها، *P. indica* را به‌عنوان یک کود زیستی در خاک‌های دارای کمبود مواد غذایی و ابزاری جهت تحقیقات بنیادی متمایز می‌سازد (Bagde *et al*., 2010). همچنین، نقش مثبت این قارچ در بهبود رشد رویشی و رنگیزه‌های فتوسنتزی گیاه برنج توسط محققین گزارش شده است (Prajapati *et al*., 2008; Jogawat *et al*., 2013). برخی گونه‌های قارچ تریکودرما (*Trichoderma* spp.) نیز به‌عنوان قارچ‌های افزاینده رشد گیاهی (PGPF)[2] (Vinale *et al*., 2008) و یا به‌عنوان اصلاح‌کننده‌های خاک در سطح تجاری تولید می‌شوند (Kaewchai *et al*., 2009). این گونه‌های قارچی ریزجاندارن آزادزی هستند که عموماً به‌صورت ساپروفیت روی بقایای موجود در خاک به‌سر می‌برند و با تشکیل کلونی و اسپورزایی فراوان در محیط خاک و به‌ویژه اطراف ریشه (ریزوسفر) اغلب گیاهان زراعی و غیرزراعی باعث افزایش پتانسیل رشد و جذب مواد غذایی، کارآیی مصرف کودها و تحریک گیاه برای مقابله با آسیب‌های زنده و غیرزنده می‌شوند (Shoresh *et al*., 2010). همچنین، در مواردی نیز با سازوکارهای بیوشیمیایی باعث تحریک رشد اندام‌های زیرزمینی یا هوایی (Harman *et al*., 2004; Vinale *et al*., 2008) می‌گردند. کوئه‌واس (Cuevas, 2006) نیز افزایش رشد و تولید ماده خشک و در نهایت گلدهی زودهنگام و تولید بهتر میوه گیاه گوجه‌فرنگی (*Lycopersicum esculentum* Mill.) را در پی بهبود جذب عناصر پرمصرف (K، P و Ca) و کم‌مصرف (Zn و Fe) در اثر تلقیح با قارچ تریکودرما گزارش نمود. دیگر

۱-Endophytic fungi

۲-Plant Growth Promoting Fungi

Archive of SID

www.SID.ir

پژوهش‌گران نیز، بهبود محتوای کلروفیل و رشد گیاه سویا (*Glycine max* L.) (John *et al*., 2010) و افزایش زیست‌توده و محتوای فسفر لوبیای هندی (*Vigna mungo*) (Badar and Qureshi, 2012) و عملکرد دانه جو (*Hordeum vulgare* L.) (Taghavi Ghasemkheyli *et al*., 2015) تلقیح‌یافته با قارچ تریکودرما را گزارش نمودند.

فسفر به‌عنوان دومین عنصر غذایی ضروری و پرمصرف بعد از نیتروژن، در بیشتر مواقع به‌دلیل تثبیت‌شدن در خاک‌های زراعی برای گیاهان غیرقابل جذب می‌شود (Bakhshande *et al*., 2014). تخمین زده شده است که ۳۳ میلیون تن فسفر در سال ۱۹۹۰ به دریا وارد شده است که باعث مرگ آبزیان از جمله ماهی‌ها گردیده است (Moghadassi, 2009). مصرف بیش از حد این عنصر در گیاه، ترکیب پیچیده‌ای به نام اسید فیتیک تولید می‌کند و باعث می‌شود مواد معدنی مهمی چون آهن، کلسیم و روی در بدن جذب نشود. نگاهی به دهه ۶۰ حکایت از رشد مصرف کود نیتروژنه و فسفاته در کشور در هر سال به میزان ۱۰ درصد دارد و کشور ما در ۱۰ سال گذشته مصرف‌کننده هشت درصد تولید جهانی فسفات آمونیوم بوده است (Moghadassi, 2009). از آن‌جایی که قارچ *P. indica* باعث تحریک ریشه برای جذب مواد غذایی و انحلال فسفات غیرمحلول و ترکیب گوگرد در خاک می‌گردد (Oelmüller *et al*., 2009) می‌توان امیدوار به جایگزینی آن به‌جای کودهای شیمیایی و آفت‌کش‌ها در سیستم‌های کشاورزی پایدار و ارگانیک بود (Abdellatif *et al*., 2009). در این راستا، محققین نشان دادند که قارچ *P. indica* دارای پتانسیل حل‌کنندگی فسفات در خاک و فراهمی آن برای گیاه میزبان می‌باشد (Malla *et al*., 2004). همچنین، قارچ تریکودرما نیز با افزایش حلالیت و جذب ریزمغذی‌های مهم مانند آهن، منگنز، منیزیوم، کاتیون‌های معدنی و فسفات‌ها باعث بهبود رشد گیاهان می‌شود (Vinale *et al*., 2008).

با توجه به اینکه غلات به‌عنوان یکی از منابع مهم تأمین‌کننده غذای انسان نیاز زیادی به کودهای شیمیایی دارند ولی آلودگی‌های ناشی از مصرف بیش از حد نهاده‌های شیمیایی باعث ایجاد مشکلات زیست‌محیطی زیادی شده است و علیرغم اینکه بخش اعظمی از زمین‌های زراعی از نظر برخی عناصر غذایی و به‌ویژه عنصر فسفر برای زراعت مناسب بوده و نیاز به استفاده از کودهای شیمیایی نمی‌باشد، اما به دلایلی از جمله عدم آگاهی و فرهنگ‌سازی کافی و همچنین عدم شناخت کشاورزان نسبت به روش‌ها و فنون مورد استفاده در کشاورزی پایدار، سالانه حجم زیادی کودهای شیمیایی به خاک افزوده می‌شود که در نتیجه سبب آلودگی خاک و آب‌های زیرزمینی و افزایش هزینه‌های تولیدی می‌گردد. بنابراین، پژوهش حاضر در مزارع کشاورزی شهرستان قائم‌شهر استان مازندران انجام شد تا توانایی اثر مایه‌زنی قارچ‌های *Trichoderma virens* و *Piriformospora indica* به‌عنوان افزاینده‌های رشدی در سطوح مختلف کود فسفر و در شرایط واقعی منطقه ارزیابی شود.

مواد و روش‌ها

این پژوهش در بهار و تابستان ۱۳۹۴ تحت شرایط مزرعه‌ای مطابق با کشت مرسوم کشاورزان در شهرستان قائم‌شهر-منطقه جاده نظامی (روستای نوکلاء) استان مازندران با موقعیت جغرافیایی ۳۶ درجه و ۲۴ دقیقه عرض شمالی و

Archive of SID

www.SID.ir

۵۲ درجه و ۴۸ دقیقه طول شرقی با ارتفاع ۱۴/۷ متر از سطح آب‌های آزاد به‌صورت طرح کرت‌های خردشده در قالب طرح بلوک‌های کامل تصادفی با سه تکرار انجام شد. عامل اصلی کود فسفر در سه سطح صفر (بدون کود فسفر)، ۵۰ و ۱۰۰ کیلوگرم در هکتار از منبع سوپرفسفات‌تریپل به‌صورت P_2O_5 و عامل فرعی مایه‌زنی توأم قارچ‌های *Trichoderma virens* و *Piriformospora indica* در چهار سطح (عدم تلقیح، تلقیح بذر (در مرحله خزانه)، تلقیح نشاء و تلقیح توأم بذر و نشاء) بودند. بر اساس نتایج آزمون خاک، مقادیر پتاسیم و فسفر قابل جذب و نیتروژن کل خاک (عمق ۳۰-۰ سانتی‌متر) به‌ترتیب ۱۶۰، ۱۱/۸۵ (میلی‌گرم بر کیلوگرم) و ۰/۱۲ (درصد) بودند. مزرعه مورد آزمایش دارای خاکی با بافت سیلتی-رسی، اسیدیته (pH) ۸/۱۴ و هدایت الکتریکی (EC) ۲/۰۷ میلی‌زیمنس بر سانتی‌متر بود. همچنین، مقادیر ماده آلی و کربن آلی نیز به‌ترتیب ۲ و ۱/۱۶ درصد بودند که بر اساس توصیه کودی مؤسسه تحقیقات خاک و آب (Davoodi *et al*., 2014) برای کشت برنج در چنین خاکی، میزان کود مصرفی سوپرفسفات تریپل به‌مقدار ۱۰۰ کیلوگرم در هکتار می‌باشد، با این وجود کشاورزان منطقه سعی در مصرف روزافزون این نهاده شیمیایی داشته و مقادیر بیشتری را مصرف می‌کنند که بر خلاف معیارهای کشاورزی پایدار می‌باشد. با توجه به هدف مطالعه حاضر، سه سطح متفاوت فسفر بر اساس میزان نهاده‌های مصرفی توسط کشاورزان منطقه تعیین و مصرف شد، تا توانایی این ریزجانداران به‌عنوان افزاینده‌های رشدی در شرایط واقعی منطقه مورد مطالعه قرار گیرد.

ابعاد کرت‌ها ۳×۲ متر و فواصل نشاها نیز ۲۰×۲۰ سانتی‌متر بود و هر کرت به‌وسیله پشته‌هایی به ارتفاع ۳۰ سانتی‌متر و عرض ۵۰ سانتی‌متر از یکدیگر جدا شده بودند. جدایه‌های قارچ *T. virens* و *P. indica* از پژوهشکده ژنتیک و زیست‌فناوری کشاورزی طبرستان تهیه شدند. قارچ تریکودرما و *P. indica* به‌ترتیب در محیط کشت PDB[1] و مایع کفر[2] (Kaefer) (Sherameti *et al*., 2005) کشت و سپس به مدت دو هفته در دمای ۲۸ درجه سلسیوس و سرعت ۱۲۰ دور در دقیقه روی شیکر قرار گرفتند. پس از گذشت مدت زمان مذکور که رشد رویشی قارچ‌ها به حداکثر خود رسید، سوسپانسیونی با غلظت حدود 10^9 واحد کلونی‌ساز در میلی‌لیتر (CFU/ml) تهیه و بذور جوانه‌زده برنج رقم طارم هاشمی به مدت پنج ساعت (Salimi Tamalla *et al*., 2014) با سوسپانسیون آغشته و سپس به خزانه منتقل شدند. همچنین، جهت تلقیح گیاهچه برنج با ترکیب قارچی بعد از اینکه گیاهچه‌ها به مدت یک ماه در خزانه رشد یافتند. در فاصله انتقال گیاهچه‌ها از خزانه به زمین اصلی، ریشه گیاهچه‌ها به مدت یک ساعت در تشتی حاوی ۵ لیتر از سوسپانسیون دو گونه قارچی قرار داده شدند. پس از کشت نیز آبیاری گیاهان بر اساس عرف منطقه انجام گرفت. نمونه‌برداری از برگ جهت اندازه‌گیری میزان کلروفیل a، b، کاروتنوئید و شاخص کلروفیل (SPAD) در طی دو مرحله، ۴۰ و ۵۲ روز بعد از نشاء از برگ پرچم، انجام و بر اساس روش استخراج با متانول و اندازه‌گیری طیف نور جذبی محلول حاصل با دستگاه اسپکتروفتومتر (Analytic jena- SPEKOL 1300) سنجیده شد

۱-Potato dextrose broth
۲-Kaefer

Archive of SID

www.SID.ir

(Porra, 2002). غلظت کلروفیل a، b و کاروتنوئید به‌ترتیب با استفاده از معادلات ۱ تا ۳ محاسبه گردید. برای اندازه‌گیری میزان شاخص کلروفیل برگ‌ها از دستگاه SPAD-502 Minolta, Japan استفاده شد. به این منظور سه بوته در هر کرت به‌صورت تصادفی انتخاب شده و عدد کلروفیل‌متر برای سه برگ انتهایی هر بوته اندازه‌گیری و میانگین آنها به‌عنوان شاخص کلروفیل در نظر گرفته شد.

معادله ۱ $C_a(\mu g/ml) = 16.72\ A_{665.2} - 9.16\ A_{652.4}$

معادله ۲ $C_b(\mu g/ml) = 34.09\ A_{652.4} - 15.28\ A_{665.2}$

معادله ۳ $Carotenoid\ (\mu g/ml) = (1000\ A_{470} - 1.63 C_a - 104.96\ C_b)/221$

در این رابطه‌ها C_a، C_b به‌ترتیب کلروفیل a و b (میکروگرم در میلی‌لیتر) و همچنین $A_{665.2}$، $A_{652.4}$، A_{470} میزان نور جذبی محلول در طول موج‌های ۶۶۵/۲، ۶۵۲/۴ و ۴۷۰ نانومتر است.

همچنین پس از رسیدگی فیزیولوژیکی گیاه (۸۶ روز پس از نشاءکاری)، مساحت یک مترمربع از هر کرت کف‌بر و صفات عملکرد بیولوژیک و عملکرد شلتوک (تن در هکتار) و وزن هزار دانه (گرم) اندازه‌گیری شد. جهت اندازه‌گیری صفات ارتفاع بوته، تعداد خوشه و تعداد دانه پر در بوته و وزن خشک برگ و ساقه در بوته (گرم) نیز، تعداد ده بوته به‌صورت تصادفی انتخاب و صفات مورد نظر اندازه‌گیری شدند. آزمون نرمال بودن بر روی میانگین داده‌های مرتبط به صفات در هر تکرار با استفاده از نرم‌افزار SPSS و روش کولموگروف-اسمیرنوف انجام گرفت. در نهایت، داده‌ها با استفاده از نرم‌افزار SAS نسخه ۹/۱ (SAS Institute, 2004) تجزیه و میانگین‌های به‌دست آمده با آزمون چند دامنه‌ای دانکن در سطح احتمال پنج درصد مقایسه شدند.

نتایج و بحث

تأثیر مایه‌زنی قارچ‌ها بر رنگیزه‌های فتوسنتزی گیاه برنج

فتوسنتزی گیاه برنج: نتایج حاصل از تجزیه واریانس اثر تیمارهای آزمایش بر رنگیزه‌های فتوسنتزی در ۴۰ روز پس از نشاءکاری نشان داد که برهم‌کنش کود فسفر و مایه‌زنی قارچ‌ها بر محتوای کلروفیل a، a/b ($P<0.01$) و کاروتنوئید ($P<0.05$) اثر معنی‌داری داشت (جدول ۱). نتایج تجزیه واریانس برای ۵۲ روز پس از نشای برنج نیز نشان از معنی‌داری برهم‌کنش کود فسفر و مایه‌زنی قارچ‌ها بر محتوای کلروفیل a، b، a+b، a/b و کاروتنوئید در سطح احتمال یک درصد ($P<0.01$) و بر شاخص کلروفیل (SPAD) در سطح احتمال پنج درصد ($P<0.05$) بود (جدول ۱). نتایج مقایسه میانگین اثر متقابل کود فسفر و مایه‌زنی قارچ‌ها بر رنگیزه‌های فتوسنتزی گیاه برنج (جدول ۲) نشان داد که در شرایط عدم مصرف کود فسفر (شاهد)، مایه‌زنی قارچ‌ها باعث افزایش کلروفیل a، b، a+b، a/b، کاروتنوئید و شاخص کلروفیل شد. برای نمونه، بیشترین محتوای کلروفیل a، b، a+b و شاخص کلروفیل با تلقیح توأم بذر و نشاء در طی ۵۲ روز پس از نشاءکاری، که به‌ترتیب به میزان حدود ۲۰، ۲۵، ۲۸ و ۲ درصد نسبت به شاهد افزایش داشت. تیمار تلقیح با گیاهچه نیز سبب بهبود حدود ۷، ۲۳ و ۱۴ درصدی کلروفیل a، a+b و کاروتنوئید در طی ۵۲ رو پس از نشاءکاری و حدود ۱۶ و ۲۵ درصدی کلروفیل a/b به‌ترتیب در طی ۴۰ (نمونه‌برداری اول) و ۵۲ (نمونه‌برداری دوم) روز

Archive of SID

www.SID.ir

پس از نشاءکاری گردید. مایه‌زنی قارچ‌ها به روش بذرمال نیز باعث افزایش ۲۵ درصدی کلروفیل b در نمونه‌برداری دوم و ۲۴ و ۴۴ درصدی به‌ترتیب کلروفیل a/b و کاروتنوئید در نمونه‌برداری اول شد. با افزایش کود فسفر به میزان ۵۰ کیلوگرم در هکتار، مایه‌زنی قارچ‌ها به روش بذرمال سبب افزایش ۶۲، ۷۴ و ۱۲۵ درصدی به‌ترتیب کلروفیل a، a/b و کاروتنوئید برنج در نمونه‌برداری اول و ۲ درصدی شاخص کلروفیل در نمونه‌برداری دوم شد. در طی ۴۰ روز پس از نشای برنج نیز، محتوای کلروفیل a، a/b و کاروتنوئید با روش تلقیح توأم بذر و نشاء به‌ترتیب به مقدار حدود ۱۷، ۲۴ و ۴۸ درصد افزایش یافت. همچنین، زمانی که کود فسفر به میزان ۱۰۰ کیلوگرم در هکتار مصرف شده بود، مایه‌زنی قارچ‌ها به روش بذرمال سبب افزایش حدود ۳، ۴، ۱۰ و ۴ درصدی محتوای کلروفیل a، b، کاروتنوئید و a+b در طی ۵۲ روز پس از نشاءکاری شد. به‌نظر می‌رسد که گونه‌های تریکودرما (*T. viredae*, *T. harzianum*) قابلیت حل‌کنندگی فسفات در اسیدیته قلیایی و تنش فلزات سنگین را دارند (Rawat and Tewari, 2011). در این فرایند، معدنی شدن فسفر از ترکیبات فسفر آلی توسط آنزیم‌هایی به‌ویژه فسفاتاز و فیتاز صورت می‌گیرد که این سازوکارها در حاصلخیزی خاک و تغذیه گیاه نقش مهمی دارند (به نقل از Javaheri *et al*., 2014). همچنین بیان شد که قارچ *T. harzianum* بیشترین فعالیت فسفاتازی اسیدی و قلیایی را در میان قارچ‌های مورد بررسی داشت (Javaheri *et al*., 2014). علاوه‌بر این، همزیستی قارچی از طریق جذب بهتر فسفر که به‌عنوان حامل انرژی در طی فتوسنتز است، اثر مثبتی بر مقدار کلروفیل برگ و رشد رویشی گیاه دارد (Demir, 2004). چنین خصوصیتی از نظر قابلیت قارچ *P. indica* در افزایش فسفر قابل‌دسترس برای گیاه نیز گزارش شده است. برای نمونه، *P. indica* نیز با تولید اسید فسفاتاز، پتانسیل محلول‌سازی فسفر در خاک و تحویل آن به گیاه میزبان را دارد (Malla *et al*., 2004). یاداو و همکاران (Yadav *et al*., 2010) نیز اثر افزایشی این قارچ بر جذب و انتقال فسفر توسط گیاه را گزارش نمودند. شاهولاری و همکاران (Shahollari *et al*. 2005) نیز بهبود رشد گیاهچه‌های آرابیدوپسیس (*Arabidopsis thalina*) پس از مایه‌زنی با قارچ *P. indica* را با جذب زیاد فسفر از محیط رشد مرتبط دانستند. مطالعات انجام گرفته نشان داده است قارچ *P. indica* با افزایش تراکم ریشه، گیاه را در جذب آب و مواد غذایی توانمندتر نموده و سبب افزایش رشد رویشی و سطح فتوسنتزی می‌شود (Ghasemnezhad and Babaeizad, 2011). در این حالت نه‌تنها عملکرد تحت تأثیر قرار می‌گیرد بلکه افزایش رشد و راندمان فتوسنتزی به‌طور مستقیم در متابولیت‌های ثانویه مؤثر است (Ghasemnezhad and Babaeizad, 2011). بنابراین، بالا بودن میزان کلروفیل در گیاهان تلقیح‌شده با قارچ‌ها در این آزمایش، احتمالاً به‌علت وجود رابطه مثبت بین غلظت فسفر و مقدار کلروفیل در گیاهان تلقیح‌شده باشد زیرا گزارش‌های مکرر از افزایش جذب فسفر توسط این قارچ‌ها به گیاه میزبان ارایه گردیده است. برای نمونه، آقابابائی و رئیسی (Aghababaei and Raiesi, 2011) دلیل افزایش ۲۰ درصدی محتوای کلروفیل کل و حدود ۳ برابری میانگین سرعت فتوسنتز خالص برگ‌های بادام (*Prunus amygdalus*) مایه‌زنی‌شده با قارچ‌های میکوریز

Archive of SID

www.SID.ir

Glomus mosseae و *G. intraradices* را افزایش جذب فسفر و کاهش تبخیر و تعرق از خاک توسط این قارچ‌ها بیان نمودند. قارچ *P. indica* نیز سبب بهبود محتوای کلروفیل a، b و کاروتنوئید گیاهچه‌های برنج در طی ۵، ۱۰ و ۱۵ روز پس از کاشت (Jogawat *et al*., 2013) گردید. جهاندیده‌مهجن‌آبادی و سپهری (Jahandideh Mahjenabadi and Sepehri, 2014) نیز بهبود ۷، ۱۷ و ۷/۸ درصدی به‌ترتیب غلظت کلروفیل a، b و کلروفیل کل گندم (رقم نیک‌نژاد) تلقیح‌یافته با قارچ *P. indica* را در مقایسه با شاهد (عدم تلقیح قارچ) گزارش نمودند. در پژوهشی دیگر، محققین دلیل افزایش محتوای کلروفیل a، b و a+b گندم تلقیح‌یافته با قارچ *P. indica* را بهبود وضعیت آبی گیاه توسط این قارچ دانستند. بدر و قریشی (Badar and Qureshi, 2012) نیز طی مطالعه‌ای بهبود رنگیزه‌های فتوسنتزی (کلروفیل‌های a، b و a+b) لوبیای هندی مایه‌زنی‌شده با قارچ تریکودرما را گزارش کردند. همچنین، محمدی کشکا و همکاران (Mohammadi Kashka *et al*., 2015a) در بررسی خود بر روی گیاهچه فلفل (*Capsicum annuum* L.) افزایش ۱۰ درصدی محتوای کاروتنوئید در پی مایه‌زنی توأم قارچ‌های *T. virens* و *P. indica* را گزارش دادند که با نتایج به‌دست آمده از این بررسی در رابطه با افزایش کلروفیل برگ برنج نیز مطابقت دارد.

تأثیر مایه‌زنی قارچ‌ها بر رشد و عملکرد گیاه برنج: مطابق نتایج، صفات عملکرد بیولوژیک، عملکرد شلتوک ($P<0.05$)، ارتفاع بوته، تعداد خوشه در بوته، وزن خشک برگ، وزن خشک ساقه و تعداد دانه پر در بوته ($P<0.01$) به‌طور معنی‌داری تحت تأثیر برهم‌کنش کود فسفر و مایه‌زنی قارچ‌ها قرار گرفتند (جدول ۱). بر اساس نتایج حاصل از مقایسه میانگین داده‌ها، مایه‌زنی قارچ‌ها با تمامی روش‌های مورد استفاده و در تمام سطوح کود فسفر مصرفی سبب افزایش قابل‌توجه تمامی صفات رویشی و عملکرد برنج نسبت به شرایط شاهد (عدم مایه‌زنی قارچ‌ها) گردید (جدول ۳). در شرایطی که از کود فسفر استفاده نشد، برای نمونه، تیمار تلقیح بذرمال صفات ارتفاع بوته، تعداد خوشه در بوته، تعداد دانه پر، وزن خشک برگ، وزن خشک ساقه، عملکرد بیولوژیک و عملکرد شلتوک را به‌ترتیب حدود ۶، ۳۳، ۲۱، ۶۷، ۳۹، ۳۱ و ۳۷ درصد افزایش داد (جدول ۳). به‌طور مشابه، در آزمایشی رودرش و همکاران (Rudresh *et al*., 2005) نیز بهبود عملکرد دانه، شاخه‌دهی و جذب فسفر ساقه، ریشه و دانه در گیاه نخود (*Cicer arietinum* L.) و در زمان تلقیح با قارچ *T. harzianum* را گزارش نمودند و علت آن را توانایی حل‌کنندگی فسفات نامحلول توسط این ریزجانداران و فراهمی آن برای گیاه نسبت دادند. در آزمایشی مزرعه‌ای بر روی گیاه برنج نیز، قارچ *T. viride* سبب افزایش ۲۵/۰۶، ۳۶/۳۲، ۱۹/۷۸ و ۲۲/۴۱ درصدی به‌ترتیب صفات ارتفاع بوته، وزن خشک ساقه، تعداد خوشه و عملکرد دانه نسبت به شرایط عدم تلقیح شد (Mathivanan *et al*., 2005). در پژوهشی دیگر، یاداو و همکاران (Yadav *et al*., 2010) نیز بهبود زیست‌توده و محتوای فسفر ساقه ذرت (*Zea mays* L.) تلقیح‌یافته با قارچ *P. indica* را گزارش نمودند و دلیل آن را به اثر افزایشی این قارچ بر جذب و انتقال فسفر توسط گیاه دانستند. در همین راستا، پژوهشگران بیان نمودند فسفر به‌عنوان یکی از سه عنصر اصلی مورد نیاز گیاه با تنظیم هورمون‌های گیاهی نقش

Archive of SID

www.SID.ir

مهمی در تقسیم سلولی، تولید مواد فتوسنتزی و در نهایت زیست‌توده دارد (Aliabadi Frahani *et al*., 2008). برای نخستین بار آلتومار و همکاران (Altomare *et al*., 1999) گزارش نمودند که برخی جدایه‌های تریکودرما (*T. harzianum* Rifai 1295-22) قادرند باعث افزایش حلالیت و جذب عناصر کم‌مغذی چون روی، منگنز و آهن و پرمغذی چون فسفر گردند. در همین زمینه، در مطالعه‌ای مزرعه‌ای نشان داده شد که کاربرد گونه *T. pseudoknongii* با افزایش جذب عناصر فسفر و روی باعث افزایش عملکرد دانه گیاه برنج شد (Cuevas, 2006). از سویی، یافته‌های جان و همکاران (John *et al*., 2010) نشان داد که قارچ *T. viride* با افزایش سیستم ریشه‌ای در سویا باعث افزایش گره‌زایی و تثبیت زیستی نیتروژن، بهبود فعالیت فتوسنتزی و افزایش وزن خشک ساقه، ریشه و میوه (غلاف) می‌گردد. در آزمایشی، قارچ *P. indica* نیز موجب کاهش غلظت آهن در ریشه و افزایش غلظت این عنصر در شاخساره گندم شد که اشاره به نقش مثبت این قارچ در انتقال عنصر آهن از ریشه به شاخساره دارد که محققین دلیل این امر را به توان همزیستی و توانایی تولید سیدروفور توسط قارچ *P. indica* دانستند (Jahandideh Mahjenabadi and Sepehri, 2014). همچنین، در زمان مصرف کود فسفر به میزان ۵۰ و ۱۰۰ کیلوگرم در هکتار، به‌کارگیری توأم کود فسفر و مایه‌زنی قارچ‌ها سبب بهبود قابل‌توجه صفات مورد بررسی نسبت به استفاده تنهای کود شیمیایی فسفره شد (جدول ۳). در شرایطی که کود فسفر به میزان ۵۰ کیلوگرم در هکتار مصرف شده بود، مایه‌زنی قارچ‌ها با روش‌های تلقیح بذر، تلقیح گیاهچه و تلقیح توأم بذر و نشاء به‌ترتیب عملکرد شلتوک را از ۳/۰۵ به ۴/۵۳ (حدود ۴۸ درصد)، ۴/۶۷ (حدود ۵۳ درصد) و ۴/۶۶ تن در هکتار (حدود ۵۳ درصد) افزایش داد. تعداد خوشه در بوته نیز افزایش حدود ۱۹، ۳۱ و ۲۹ درصدی را تحت تأثیر مایه‌زنی قارچ‌ها در روش‌های تلقیح بذر، گیاهچه و تلقیح توأم بذر و نشاء نشان داد. با افزایش کود فسفر به مقدار ۱۰۰ کیلوگرم در هکتار، صفات وزن خشک برگ، ساقه، تعداد دانه پر و عملکرد شلتوک برنج مایه‌زنی‌شده به روش بذرمال افزایش حدود ۳۵، ۴۰، ۵۸ و ۴۳ درصدی را نسبت به شرایط بدون مایه‌زنی نشان دادند. مایه‌زنی به روش تلقیح گیاهچه نیز صفات وزن خشک برگ، ساقه، تعداد خوشه در بوته، تعداد دانه پر و عملکرد شلتوک را به مقدار حدود ۶۸، ۴۲، ۴۰، ۴۳ و ۴۴ درصد افزایش داد. همچنین، عملکرد بیولوژیک با تمامی روش‌های مایه‌زنی قارچ‌ها چه در شرایط عدم مصرف کود فسفر و مصرف ۵۰ و ۱۰۰ کیلوگرم در هکتار، نسبت به شرایط بدون مایه‌زنی بهبود یافت (جدول ۳). مطابق یافته‌های پژوهش حاضر، نتایج پژوهش‌های دیگر نیز نشان‌دهنده اثر تحریک‌کنندگی این ریزجانداران می‌باشد. برای نمونه قارچ *P. indica* سبب افزایش عناصر فسفر، روی و آهن و بهبود حدود ۱۷/۴۷، ۱۱/۰۶ و ۶/۵۶ درصدی وزن خشک ساقه گل گندمی به‌ترتیب در سه مقدار کود فسفر مصرفی صفر، ۳۷/۵ و ۵۰ کیلوگرم در هکتار (Gosal *et al*., 2010)، افزایش طول ساقه (۶/۴۶ درصد) و وزن خشک ساقه (۴۲/۶۴ درصد) برنج (Prajapati *et al*., 2008)، غلظت فسفر شاخساره (۳۹ درصد) و ریشه (۱۳ درصد) گندم (رقم نیک‌نژاد) در مقایسه با تیمار شاهد (عدم تلقیح قارچ) گردید (Jahandideh Mahjenabadi and Sepehri, 2014). عبدالهی و زارع (Abdolahi

Archive of SID

www.SID.ir

and Zarea, 2015) نیز در پژوهشی بهبود ۱۰/۹۶، ۱۹/۱۶ و ۸/۴۶ درصدی به‌ترتیب صفات زیست‌توده ساقه، پنجه‌دهی و عملکرد دانه برنج تلقیح‌یافته با قارچ *P. indica* را نسبت به شاهد گزارش نمودند. مایه‌زنی قارچ *T. hamatum* نیز باعث افزایش طول ریشه، ساقه، وزن تر و محتوای فسفر و نیتروژن لوبیای هندی (Badar and Qureshi, 2012) شد. تأثیر مثبت مایه‌زنی هم‌زمان قارچ‌های *تریکودرما* و *P. indica* پیش از این نیز گزارش شده است. می‌توان به افزایش وزن تر و خشک برگ و ریشه گیاه سویا (Patel, 2015)، افزایش ارتفاع بوته، قطر ساقه، شمار برگ در بوته و وزن خشک ساقه گیاه ریحان (*Ocimum basilicum* L.) (Faghih Abdollahi *et al.*, 2015) و بهبود ۱۶/۴۷ درصد وزن خشک برگ و ۱۶/۸۶ درصدی اندام هوایی گیاهچه فلفل (رقم دیماز) (Mohammadi Kashka *et al.*, 2015b) اشاره نمود. انیس و همکاران (Anith *et al.*, 2011) نیز در بررسی اثر توأم قارچ‌های *T. harzianum* و *P. indica* روی گیاه فلفل سیاه (*Piper nigrum* L.) افزایش ارتفاع بوته، تعداد برگ در بوته و وزن تر و خشک ساقه را گزارش دادند. در پژوهشی مشابه با مقایسه زیست‌توده برداشت شده از هر تیمار و نیز غلظت فسفر دانه آفتابگردان (*Helianthus annuus* L.) مشخص گردید که میزان کل فسفر برداشت شده در تیمارهای کود شیمیایی و زیستی نسبت به شاهد بیشتر بود (Zarinjoob *et al.*, 2012). بنابراین می‌توان گفت که با ازدیاد میزان کلروفیل، فتوسنتز و در نهایت میزان اسیمیلاسیون و کربوهیدارت در برنج افزایش یافته و بر تجمع ماده خشک تولیدی مؤثر واقع می‌شود (Asghari *et al.*, 2014). در واقع بالا بودن میزان کلروفیل برگ در تیمارهای تلقیح با قارچ‌ها می‌تواند دلیلی بر افزایش فتوسنتز و عملکرد شلتوک برنج باشد.

نتیجه‌گیری کلی

به‌طور کلی، نتایج به‌دست آمده از تحقیق حاضر، نشان‌دهنده اثر مثبت کاربرد تلفیقی قارچ‌های *T. virens* و *P. indica* بر صفات مورفوفیزیولوژیک مرتبط با عملکرد شلتوک در گیاه برنج بود. صفات رویشی و عملکرد برنج در مقادیر مختلف کود فسفر مصرفی (صفر، ۵۰ و ۱۰۰ کیلوگرم در هکتار) در اثر مایه‌زنی قارچ‌ها به روش‌های مختلف (تلقیح بذر، تلقیح نشاء و تلقیح توأم بذر و نشاء) بهبود یافت، با توجه به نتایج مطالعه حاضر، به‌نظر می‌رسد تلفیق این ریزجانداران با کودهای شیمیایی می‌تواند در راستای کاهش مصرف کودهای شیمیایی و کاهش هزینه‌های تولید جایگزین بخشی از کودهای شیمیایی مورد نیاز برنج گردد و اثرات مطلوبی را بر رشد و عملکرد برنج به‌همراه داشته باشد. در مجموع، بیشترین میزان عملکرد شلتوک در شرایط مایه‌زنی قارچ‌ها و مصرف ۵۰ کیلوگرم در هکتار کود فسفر به‌دست آمد. با این‌حال، تلفیق ریزجانداران مذکور با مقدار متعادل و بهینه کود شیمیایی فسفره (۵۰ کیلوگرم در هکتار) گزینه مناسبی به‌منظور دستیابی به اهداف کشاورزی پایدار می‌باشد. از بین روش‌های تلقیح نیز، باتوجه به مناسب بودن هر سه روش مایه‌زنی قارچ‌ها، روش تلقیح بذر به‌جهت سهولت استفاده از سوی شالیکاران مناسب‌تر به نظر می‌رسد. هر چند انتخاب دقیق بهترین ترکیب تیماری نیازمند بررسی بیشتر و مطالعات تکمیلی در چند سال متوالی و در شرایط آب و هوایی مختلف است. همچنین، قرائت عناصر غذایی به‌ویژه فسفر در

Archive of SID

www.SID.ir

بافت‌های گیاهی در مطالعات آینده پیشنهاد می‌گردد.

سپاسگزاری

بدین‌وسیله از پژوهشکده ژنتیک و زیست‌فناوری کشاورزی طبرستان جهت همکاری در فراهمی گونه‌های قارچ و از جناب آقای محمدعلی محمدی کشکا به جهت در اختیار قرار دادن مزرعه و مساعدت در انجام پژوهش حاضر سپاسگزاری می‌گردد.

جدول ۱- میانگین مربعات کود فسفر و مایه‌زنی قارچی بر رنگیزه‌های فتوسنتزی گیاه برنج (۴۰ و ۵۲ روز پس از نشاءکاری) و صفات ارتفاع بوته، تعداد خوشه در بوته، وزن خشک برگ، وزن خشک ساقه، تعداد دانه پر در بوته، وزن هزار دانه، عملکرد بیولوژیک و عملکرد شلتوک گیاه برنج (۸۶ روز پس از نشاءکاری)

Table 1- Mean square of the effect of phosphorus fertilizer and fungal inoculation on photosynthetic pigments of rice plant (40 and 52 days after transplanting) and plant height, panicle number per plant, leaf dry weight, stem dry weight, filled grain number per plant, 1000-grain weight, biological yield and paddy yield of rice plant (86 days after transplanting)

منابع تغییرات S.O.V.		بلوک Block	فسفر (P) Phosphorus (P)	خطای اصلی Error a	مایه‌زنی قارچ‌ها Fungi inoculation (F)	P × F	خطای فرعی Error	ضریب تغییرات CV (%)
درجه آزادی df		2	2	4	3	6	18	
کلروفیل *a* Chlorophyll *a*	40 day	0.19	21.39**	0.13	0.63**	1.21**	0.11	8.7
	52 day	0.24	6.37**	0.23	0.47*	0.74**	0.10	4.4
کلروفیل *b* Chlorophyll *b*	40 day	0.02	0.07^{ns}	0.02	0.03^{ns}	0.03^{ns}	0.02	9.0
	52 day	0.02	0.02^{ns}	0.04	0.24**	0.05**	0.01	6.3
کلروفیل *a+b* Chlorophyll *a+b*	40 day	0.14	13.40**	0.13	2.02**	0.72^{ns}	0.36	10.9
	52 day	0.05	4.08*	0.36	0.89*	1.58**	0.23	5.3
کلروفیل *a/b* Chlorophyll *a/b*	40 day	0.14	4.23**	0.08	0.99**	0.45**	0.07	12.1
	52 day	0.001	2.85**	0.08	0.85**	0.51**	0.05	5.8
کاروتنوئید Carotenoid	40 day	0.004	1.09**	0.02	0.18**	0.06*	0.02	16.9
	52 day	0.02	0.49**	0.01	0.03^{ns}	0.08**	0.01	7.2
شاخص کلروفیل SPAD	40 day	37.74	6081.67*	73.74	238.66^{ns}	117.25^{ns}	231.80	30.2
	52 day	0.03	2.73*	0.41	0.71*	0.64*	0.18	1.0
ارتفاع بوته Plant height		1.11	112.56**	5.04	59.02**	40.30**	3.78	1.1
تعداد خوشه در بوته Panicle number/plant		3.14	4.75^{ns}	3.14	82.16**	14.91**	1.89	5.4
وزن خشک برگ Leaf dry weight		0.33	5.25*	0.31	23.87**	5.38**	0.22	4.3
وزن خشک ساقه Stem dry weight		0.08	0.09^{ns}	0.08	343.65**	28.11**	0.08	0.6
تعداد دانه پر در بوته filled grain number/plant		11265.68	127133.49^{ns}	23888.91	720355.99**	144417.91**	27952.45	8.5
وزن هزار دانه 1000-grain weight		4.45	2.10^{ns}	4.14	1.16^{ns}	4.52^{ns}	2.31	6.5
عملکرد بیولوژیک Biological yield		0.18	1.68*	0.18	5.83**	0.77*	0.24	5.1
عملکرد شلتوک Paddy yield		0.18	0.25^{ns}	0.12	3.41**	0.41*	0.14	9.2

ns، * و ** به‌ترتیب بیانگر عدم وجود اختلاف معنی‌دار، وجود اختلاف معنی‌دار در سطح احتمال یک و پنج درصد است.

ns, * and ** represent non-significant and significant at 5% and 1% probability levels, respectively.

Archive of SID

www.SID.ir

جدول ۲- اثر مایه‌زنی قارچی بر رنگیزه‌های فتوسنتزی (میکروگرم در میلی‌لیتر) گیاه برنج (۴۰ و ۵۲ روز پس از نشاءکاری) در سطوح کود فسفر

Tabel 2- Interaction effect of phosphorus fertilizer and fungal inoculation on photosynthetic pigments (µg/ml) of rice plant (40 and 52 days after transplanting)

فسفر phosphorus (kg/ha)	مایه‌زنی قارچ‌ها Fungi inoculation	کلروفیل *a* Chlorophyll *a*		کلروفیل *b* Chlorophyll *b*		کلروفیل *a+b* Chlorophyll *a+b*		کلروفیل *a/b* Chlorophyll *a/b*		کاروتنوئید Carotenoid		شاخص کلروفیل SPAD	
		میکروگرم در میلی‌لیتر (µg/ml)											
		40 DAT	52 DAT	40 DAT	52 DAT	40 DAT	52 DAT	40 DAT	52 DAT	40 DAT	52 DAT	40 DAT	52 DAT
0	**شاهد** Control	2.71^{ab†}	6.20^{c}	1.52	1.65^{b}	3.96	7.52^{b}	1.59^{bc}	3.55^{b}	0.50^{b}	1.39^{a}	66.10	39.95$_{b}$
	تلقیح بذر inoculation of seed	2.87^{a} +5.9††	5.65^{d} -8.8	1.48 -2.6	2.07^{a} +25.4	5.54 +39.8	7.59^{b} +0.9	1.97^{a} +23.8	2.72^{c} -23.3	0.72^{a} +44.0	1.04^{b} -25.1	80.83 +22.2	39.95$_{b}$ 0.0
	تلقیح گیاهچه inoculation of seedling	3.03^{a} +11.8	6.67^{b} +7.5	1.65 +8.5	1.51^{b} -8.4	4.69 +18.4	9.28^{a} +23.4	1.84^{ab} +15.7	4.43^{a} +24.7	0.62^{ab} +24.0	1.59^{a} +14.3	67.50 +2.1	40.07$_{b}$ +0.3
	تلقیح توأم بذر و نشاء seed and seedling inoculation	2.40^{b} -11.4	7.47^{a} +20.4	1.64 +7.8	2.07^{a} +25.4	4.18 +5.5	9.61^{a} +27.7	1.36^{c} -14.4	3.37^{b} -5.0	0.52^{ab} +4.0	1.51^{a} +8.6	90.63 +37.1	40.93$_{a}$ +2.4
50	**شاهد** Control	2.82^{b}	7.13^{a}	1.78	1.77^{a}	4.61	9.01^{a}	1.59^{bc}	4.43^{a}	0.47^{b}	1.68^{a}	38.13	39.30$_{b}$
	تلقیح بذر inoculation of seed	4.58^{a} +61.8	7.53^{a} +5.6	1.65 -7.3	1.90^{a} +7.3	6.23 +35.1	9.31^{a} +3.3	2.77^{a} +74.2	4.26^{a} -3.8	1.06^{a} +125.5	1.70^{a} +1.1	37.50 -1.6	40.30$_{ab}$ +2.5
	تلقیح گیاهچه inoculation of seedling	2.55^{b} -9.8	7.44^{a} +4.3	1.78 0.0	1.50^{b} -15.2	4.75 +3.0	8.95^{a} -0.6	1.20^{c} -24.5	4.47^{a} +0.9	0.57^{b} +21.2	1.66^{a} -1.1	35.37 -7.2	40.10$_{ab}$ +2.0
	تلقیح توأم بذر و نشاء seed and seedling inoculation	3.30^{b} +16.6	7.48^{a} +4.9	1.67 -6.1	1.83^{a} +3.3	4.97 +7.8	9.31^{a} +3.3	1.97^{b} +23.8	4.08^{a} -7.9	0.69^{b} +47.8	1.70^{a} +1.1	36.67 -3.8	40.80$_{a}$ +3.8
100	**شاهد** Control	5.81^{a}	7.89^{a}	1.64	1.80^{a}	6.78	9.69^{a}	2.96^{ab}	4.37^{a}	1.23^{a}	1.69^{a}	34.17	41.30$_{a}$
	تلقیح بذر inoculation of seed	5.04^{b} -13.2	8.16^{a} +3.4	1.64 0.0	1.88^{a} +4.4	6.68 -1.4	10.04$_{a}$ +3.6	3.10^{a} +4.7	4.35^{a} -0.4	1.27^{a} +3.2	1.86^{a} +10.0	35.37 +3.5	40.95$_{a}$ -0.8
	تلقیح گیاهچه inoculation of seedling	5.32^{b} -8.4	7.93^{a} +0.5	1.53 -6.7	1.75^{a} -2.7	6.16 -9.1	9.31^{a} -3.9	2.79^{ab} -5.7	4.17^{a} -4.5	1.20^{a} -2.4	1.77^{a} +4.7	36.80 +7.6	40.93$_{a}$ -0.8
	تلقیح توأم بذر و نشاء seed and seedling inoculation	5.02^{b} -13.5	7.77^{a} -1.5	1.85 +12.8	1.79^{a} -0.5	6.91 +1.9	9.56^{a} -1.3	2.35^{b} -20.6	4.35^{a} -0.4	0.93^{b} -24.3	1.74^{a} +2.9	44.23 +29.4	40.80$_{a}$ -1.2

† میانگین‌های دارای حرف یا حروف مشترک براساس آزمون چند دامنه‌ای دانکن در سطح احتمال پنج درصد اختلاف معنی‌داری با یکدیگر ندارند.
†† بیانگر درصد افزایش (+) یا کاهش (-) نسبت به تیمار شاهد در هر سطح فسفر می‌باشد.

† Means in each column followed by similar letter(s) have not significantly different at 5% probability level based on Duncan multiple range test.
††% increase (+) or decrease (-) compared to the control at each level of phosphorus.DAT: Day after transplanting

Archive of SID

www.SID.ir

جدول ۳- اثر مایه‌زنی قارچی بر صفات ارتفاع بوته، تعداد خوشه در بوته، تعداد دانه پر در بوته، وزن خشک برگ، وزن خشک ساقه، عملکرد بیولوژیک و عملکرد شلتوک گیاه برنج (۸۶ روز پس از نشاءکاری) در سطوح کود فسفر

Tabel 3- Interaction effect of phosphorus fertilizer and fungal inoculation on the plant height, panicle number per plant, filled grain number per plant, leaf dry weight, stem dry weight, biological yield and paddy yield of rice plant (86 days after transplanting)

فسفر Phosphorus (kg/ha)	مایه‌زنی قارچ‌ها Fungi inoculation	ارتفاع بوته Plant height (cm)	تعداد خوشه در بوته Panicle number/plant	تعداد دانه پر در بوته filled grain number/plant	وزن خشک برگ Leaf dry weight	وزن خشک ساقه Stem dry weight	عملکرد بیولوژیک Biological yield	عملکرد شلتوک Paddy yield
					g/plant		ton/ha	
0	شاهد control	157.50^{d†}	21.00^{d}	1610.99^{c}	7.71^{c}	38.15^{d}	8.00^{d}	3.26^{c}
	تلقیح بذر inoculation of seed	167.50^{a} +6.3††	28.00^{a} +33.3	1943.53^{ab} +20.64	12.90^{a} +67.3	53.10^{a} +39.1	10.50^{a} +31.2	4.48^{a} +37.4
	تلقیح گیاهچه inoculation of seedling	165.00^{b} +4.7	23.00^{c} +9.5	1775.59^{bc} +10.21	10.58^{b} +37.2	40.75^{c} +6.8	10.00^{b} +25.0	3.79^{b} +16.2
	تلقیح توأم بذر و نشاء seed and seedling inoculation	162.40^{c} +3.1	26.00^{b} +23.8	2090.63^{a} +29.77	10.90^{b} +41.3	47.47^{b} +24.4	9.50^{c} +18.7	4.23^{a} +29.7
50	شاهد control	164.80^{c}	21.00^{b}	1508.36^{b}	9.14^{c}	36.80^{d}	8.50^{c}	3.05^{b}
	تلقیح بذر inoculation of seed	175.30^{a} +6.3	25.00^{ab} +19.0	2187.68^{a} +45.03	11.03^{ab} +20.6	51.94^{a} +41.1	9.00^{b} +5.8	4.53^{a} +48.5
	تلقیح گیاهچه inoculation of seedling	169.50^{b} +2.8	27.50^{a} +30.9	2258.43^{a} +49.72	10.30^{bc} +12.6	43.35^{c} +17.7	10.00^{a} +17.6	4.67^{a} +53.1
	تلقیح توأم بذر و نشاء seed and seedling inoculation	166.50^{bc} +1.0	29.50^{a} +28.8	2288.39^{a} +51.71	11.62^{a} +27.1	47.54^{b} +29.1	9.00^{b} +5.8	4.66^{a} +52.7
100	شاهد control	165.60^{ab}	20.00^{c}	1515.49^{c}	8.56^{d}	34.83^{c}	8.50^{b}	3.26^{b}
	تلقیح بذر inoculation of seed	161.40^{b} -2.5	28.00^{a} +40.0	2399.59^{a} +58.33	11.56^{c} +35.0	48.93^{a} +40.4	10.00^{ab} +17.6	4.66^{a} +42.9
	تلقیح گیاهچه inoculation of seedling	167.70^{a} +1.2	28.00^{a} +40.0	2174.18^{ab} +43.46	14.43^{a} +68.5	49.41^{a} +41.8	10.50^{a} +23.5	4.71^{a} +44.4
	تلقیح توأم بذر و نشاء seed and seedling inoculation	164.16^{ab} -0.8	25.00^{b} +25.0	1782.83^{bc} +17.64	12.12^{b} +41.5	45.78^{b} +31.4	10.50^{a} +23.5	3.76^{b} +15.3

† میانگین‌های دارای حرف یا حروف مشترک براساس آزمون چند دامنه‌ای دانکن در سطح احتمال پنج درصد اختلاف معنی‌داری با یکدیگر ندارند.

†† بیانگر درصد افزایش (+) یا کاهش (-) نسبت به تیمار شاهد در هر سطح فسفر می‌باشد.

†Means in each column followed by similar letter(s) have not significantly different at 5% probability level based on Duncan multiple range test

††% increase (+) or decrease (-) compared to the control at each level of phosphorus.

Archive of SID

www.SID.ir

References منابع مورد استفاده

- Abdellatif, L., S. Bouzid, S. Kaminskyj, and V. Vujanovic. 2009. Endophytic hyphal compartmentalization is required for successful symbiotic Ascomycota association with root cells. *Mycological Research*. 113: 782-791.
- Abdolahi, A.A., and M.J. Zarea. 2015. Effect of mycorrhiza and root endophytic fungi under flooded and Semi-flooded conditions on paddy yield and yield components of rice. *Electronic Journal of Crop Production*. 8(1): 223-230. (In Persian)
- Aghababaei, F., and F. Raiesi. 2011. The influence of mycorrhizal symbiosis on chlorophyll, photosyntetise and water use efficiency in four almond genotypes in Chahar Mahal va Bakhtiary. *Journal of Water and Soil Scince* (Scince and Technology of Agriculture and Natural Resources). 15(56): 91-102. (In Persian)
- Aliabadi Frahani, H., A. Arbab, and B. Abbaszadeh. 2008. The effects of super phosphate triple, water deficit stress and *Glomus hoi* biological fertilizer on some quantity and quality characteristics of *Coriandrum sativum* L. *Iranian Journal of Medicinal and Aromatic Plants*. 24(1): 18-30. (In Persian)
- Altomare, C., W.A. Norvell, T. Bjorkman, and G.E. Harman. 1999. Solubilization of phosphates and micronutrients by the plant-growth-promoting and biocontrol fungus *Trichoderma harzianum* Rifai 1295-22. *Applied and Environmental Microbiology*. 65(7): 2926-2933.
- Anith, K.N., K.M. Faseela, P.A. Archana, and K.D. Prathapan. 2011. Compatibility of *Piriformospora indica* and *Trichoderma harzianum* as dual inoculants in black pepper (*Piper nigrum* L.). *Symbiosis*. 55: 11-17.
- Arzanesh, M.H., and A. Faraji. 2015. Effect of plant growth promoting bacteria (Azospirillum sp.) On physiology and yield of two oilseed rapes. *Journal Management System*. 2(2): 159-171. (In Persian)
- Asghari, J., S.M.R. Ehteshami, Z. Rajabi Darvishan, and K. Khavazi. 2014. Study of root inoculation with plant growth promoting bacteria (PGPB) and spraying with their metabolites on chlorophyll content, nutrients uptake and yield in rice (Hashemi cultivar). *Journal of Soil Biology*. 2(1): 21-31. (In Persian)
- Badar, R., and S.A. Qureshi. 2012. Comparative effect of *Trichoderma hamatum* and host-specific Rhizobium species on growth of *Vigna mungo*. *Journal of Applied Pharmaceutical Science*. 2: 128-132.
- Bagde, U.S., R. Prasad, and A. Varma. 2010. Interaction of mycobiont: *Piriformospora indica* with medicinal plants and plants of economic importance. *African Journal of Biotechnology*. 9: 9214-9226.
- Bakhshande, E., H. Rahimian, H. Pirdashti, and G.A. Nematzadeh. 2014. Phosphate solubilization potentail and modeling of stress tolerace of rhizobacteria from rice paddy soil in northen Iran. *World Journal of Microbiology and Biotechnology*. 30: 2437-2447.
- Cuevas, C. 2006. Soil inoculation with *Trichoderma pseudokoningii* rifai enhances yield of rice. *Philippine Journal of Science*. 135(1): 31-37.
- Dashti, Gh., A. Javadi, and T.A. Eshghi. 2011. Estimating economic values of land and family labor in producing rice. *Journal of Economics and Agricultural Development*. 24(4): 433-439. (In Persian)

Archive of SID

www.SID.ir

- Davoodi, M.H., N. Davatgar, B. Amiri Larijani, F. Moshiri, and M. M. Tehrani. 2014. Manual of soil fertility integrated management and rice plant nutrition. Soil and Water Research Institute.pp. 40 (In Persian)
- Demir, S. 2004. Influence of arbuscular mycorrhiza on some physiological growth parameters of pepper. *Turkish Journal of Biology*. 28: 85-90.
- Faghih Abdollahi, L., H. Pirdashti, Y. Yaghoubian, and S.M. Alavi. 2015. Effect of *Piriformospora indica* and *Trichoderma tomentosum* fungi on basil (*Ocimum basilicum* L.) growth under copper nitrate levels. *Journal of Soil Management and Sustainable Production*. 5(1): 113-127. (In Persian)
- Ghasemnezhad, A., and V. Babaeizad. 2011. The influence of piri fungus (*Priformospora indica)* on vegetative growth and the content of caffeic acid of leaves of artichoke (*Cynara scolymus* L.) plant. *Journal of Plant Production Research*. 18(1): 133-140. (In Persian)
- Gosal, S.K., A. Karlupia, S.S. Gosal, I.M. Chhibba, and A. Varma. 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.
- Harman, G.E., C.R. Howell, A. Viterbo, I. Chet, and M. Lorito. 2004. *Trichoderma* species- opportunistic, avirulent plant symbionts. *Nature Reviews Microbiology*. 2: 43-56.
- Jahandideh Mahjenabadi, V., and M. Sepehri. 2014. Effect of *Piriformospora indica* fungus inoculation on uptake and transportation of some nutrients in two wheat cultivars. *Journal of Soil Management and Sustainable Production*. 4(3): 155-173. (In Persian)
- Javaheri, T., A. Lakzian, R. Khorasani, and P. Taheri. 2014. Acid and alkaline phosphatase enzyme activities of different strains of soil fungi in the presence of organic compounds of phosphorus (phytic acid and sodium glycerophosphate). *Journal of Soil Biology*. 2(1): 1-11. (In Persian)
- Jogawat, A., S. Saha, M. Bakshi, V. Dayaman, M. Kumar, M. Dua, A. Varma, R. Oelmüller, N. Tuteja, and A.K. Johri. 2013. *Piriformospora indica* rescues growth diminution of rice seedlings during high salt stress. *Plant Signaling and Behavior*. 8: e26891-6.
- John, R.P., R.D. Tyagi, D. Prévost, S.K. Brar, S. Pouleur, and R.Y. Surampalli. 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.
- Kaewchai, S., K. Soytong, and K.D. Hyde. 2009. Mycofungicides and fungal biofertilizers. *Fungal Diversity*. 38: 25-50.
- Kumar, M., V. Yadav, N. Tuteja, and A.K. Johri. 2009. Antioxidant enzyme activities in mays plants colonized with *Piriformospora indica*. *Microbiology*. 155: 780-790.
- Malla, R., R. Prasad, R. Kumari, P.H. Giang, U. Pokharel, R. Oelmüller, and A. Varma. 2004. Phosphorus solubilizing symbiotic fungus: *Piriformospra indica*. *Endocytobiosis and Cell Research*. 15: 579-600.
- Mathivanan, N., V.R. Prabavathy, and V.R. Vijayanandraj. 2005. Application of talc formulations of *Pseudomonas fluorescens* Migula and *Trichoderma viride* Pers. ex

Archive of SID

www.SID.ir

S.F. Gray decrease the sheath blight disease and enhance the plant growth and yield in rice. *Journal of Phytopathology*. 153: 697-701.

- Moghadassi, R. 2009. An strategy to meet food security (based on determined goals in agricultural section). Islamic Parliament Research Center. pp. 1-127. (In Persian)
- Mohammadi Kashka, F., H. Pirdashti, Y. Yaghoubian, and S.H. Bahari Saravi. 2015a. Effect of *Trichoderma virens* and *Piriformospora indica* coexistence with *Enterobacter* sp. on the photosynthetic pigments of pepper (*Capsicum annuum* L.) plant. The 4th National Congress on Organic and Convetional farming, 28-29 August, Ardebil, Iran, pp: 4. (In Persian)
- Mohammadi Kashka, F., H. Pirdashti, Y. Yaghoubian, and S.H. Bahari Saravi. 2015b. Effect of *Trichoderma virens* and *Piriformospora indica* coexistence with phosphate solubilizing bacteria (*Enterobacter* sp.) on growth of pepper (*Capsicum annuum* L.) plant. 2th National Conference of planning, Protecting and conservation, environmental protection, sustainable development, 15 February, Tehran, Iran. pp: 10. (In Persian)
- Oelmüller, R., I. Sherameti, S. Tripathi, and A. Varma. 2009. *Piriformospora indica*, a cultivable root endophyte with multiple biotechnological applications. *Symbiosis*. 49: 1-17.
- Patel, R.N. 2015. Comparision of antagonistic effects of the endophytic fungi and *Trichoderma* species against soybean charcoal rot disease under greenhouse conditions. *International Journal of Humanities, Arts, Medicine and Sciences*. 3(2): 25-40.
- Porra, R.J. 2002. 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.
- Prajapati, K., K.D. Yami, and A. Singh. 2008. Plant growth promotional effect of *Azotobacter chroococcum*, *Piriformospora indica* and vermicompost on rice plant. *Nepal Journal of Science and Technology*. 9: 85-90.
- Rawat, R., and L. Tewari. 2011. Effect of abiotic stress on phosphate solubilization by biocontrol fungus *Trichoderma* sp. *Current Microbiology*. 62: 1521-1526.
- Rudresh, D.L., M.K. Shivaprakash, and R.D. Prasad. 2005. Tricalcium phosphate solubilizing abilities of *Trichoderma* spp. in relation to P uptake and growth and yield parameters of chickpea (*Cicer arietinum* L.). *Canadian Journal of Microbiology*. 51: 217-222.
- Salimi Tamalla, N., F. Seraj, H. Pirdashti, and Y. Yaghoubian. 2014. The effect of seed biopriming by *Piriformospora indica* and *Trichoderma virens* on the growth, morphological and physiological parameters of mung bean (*Vigna radiate* L.) seedlings. *Iranian Journal of Seed Science and Research*. 1(2): 67-78. (In Persian)
- SAS Institute. 2004. SAS User's Guide: Statistics, Version 9.1. SAS Institute Inc., Cary.NC, USA.
- Selim, K.A., A.A. El-Beih, T.M. Abdel-Rahman, and A.I. El-Diwany. 2012. Biology of endophytic fungi. *Current Research in Environmental and Applied Mycology*. 2: 31-82.
- Shahollari, B., A. Varma, and R. Oelmüller. 2005. Expression of a receptor kinase in *Arabidopsis* roots is stimulated by the basidiomycete *Piriformospora indica* and

Archive of SID

www.SID.ir

the protein accumulates in Triton X-100 insoluble plasma membrane microdomains. *Journal of Plant Physiology*. 162: 945-958.

- Sherameti, I., B. Shahollari, Y. Venus, L. Altschmied, A. Varma, and R. Oelmüller. 2005. The endophytic fungus *Piriformospora indica* stimulates the expression of nitrate reductase and the starch-degrading enzyme glucanwater dikinase in tobacco and Arabidopsisroots through a homeodomain transcription factor which binds to a conserved motif in their promoters. *Journal of Biological Chemistry*. 280: 2641-7.
- Shoresh, M., G.E. Harman, and F. Mastouri. 2010. Induced systemic resistance and plant responses to fungal biocontrol agents. *Annual Review of Phytopathology*. 48: 21–43.
- Sun, C., J.M. Johnson, D. Cai, I. Sherameti, R. Oelmüller, and B. Lou. 2010. *Piriformospora indica* confers drought tolerance in Chinese cabbage leaves by stimulating antioxidant enzymes, the expression of drought-related genes and the plastid-localized CAS protein. *Journal of Plant Physiology*. 167: 1009-1017.
- Taghavi Ghasemkheyli, F., H. Pirdashti, M.A. Bahmanyar, and M.A. Tajick Ghanbary. 2015. The effect of *Trichoderma harzianum* and cadmium on tolerance index and yield of barley (*Hordeum vulgare* L.). *Journal of Crop Ecophysiology*. 8(4): 465-482. (In Persian)
- Vadassery, J., C. Ritter, Y. Venus, I. Camehl, A. Varma, B. Shahollari, O. Novak, M. Strnad, J. Ludwig-Muller, and R. Oelmuller. 2008. The role of auxins and cytokinins in the mutualistic interaction between *Arabidopsis* and *Piriformospora indica*. *Molecular Plant-Microb interactions*. 21(10): 1371–1383.
- Vinale, F., K. Sivasithamparam, E.L. Ghisalberti, R. Marra, S.L. Wooa, and M. Lorito. 2008. *Trichoderma*-plant-pathogen interactions. *Soil Biology and Biochemistry*. 40: 1-10.
- Waller, F., B. Achatz, H. Baltruschat, J. Fodor, K. Becker, M. Fischer, T. Heier, R. Huckelhoven, Ch. Neumann, D. Wettstein, P. Franken, and K.H. Kogel. 2005. The endophytic fungus *Piriformospora indica* reprograms barley to salt-stress tolerance, disease resistance, and higher yield. Proceeding of the National Academy of Sciences of the United States of America. 102(38): 13386-13391.
- Yadav, V., M. Kumar, D.K. Deep, H. Kumar, R. Sharma, T. Tripathi, N. Tuteja, A.K. Saxena, and A.K. Johri. 2010. A phosphate transporter from the root endophytic fungus *Piriformospora indica* plays a role in phosphate transport to the host plant. *Journal of Biological Chemistry*. 285: 26532-26544.
- Yang, Y.Z., F. Zha, J.M. Zhang, S.Q. Dong, and J.Q. Zhu. 2012. Effects of *Pirformaspora indica* on cotton resistance to waterlogged stress. *Advance Journal of Food Science and Technology*. 4: 413-416.
- Zarinjoob, H., M.J. Zarea, E. Mohammadi Gholtapeh, A. Hatami, and M. Porsiabidi. 2012. Effect of the various sources of phosphorus on yield and nutrient uptake of sunflower under two cropping system. *Electronic Journal of Crop Production*. 5(3): 99-114. (In Persian)

Archive of SID

www.SID.ir

Inoculation with *Trichoderma virens* and *Piriformospora indica* for Improving the Morphological and Physiological Traits Related to Grain Yield of Rice under Different Rates of Phosphorus Fertilizer

Faezeh Mohammadi Kashka [1], Hemmatollah Pirdashti [2]*, and Yasser Yaghoubian[3]

Received: May 2016 , Revised: 5 November 2017, Accepted: 19 February 2018

Abstract

Environmental protection and safity of agricultural products are two major goals in sustainable agriculture. Hence, using plant growth promoting rhizobacteria may be effective to reduce chemical inputs. Therefore, a field split plot experiment based on a randomized complete block design (RCBD) was conducted at Ghaemshahr, Mazandaran Province in 2015. Treatments were consisted of three levels of phosphorus (P) fertilizer (0 or control, 50 and 100 kg.ha^{-1} as triple super phosphate) and coinoculation of rice seed and seedling with *Trichoderma virens* and *Piriformospora indica* fungi with four levels (uninoculated control, inoculation of seed or seedlings and seed + seedlings inoculation). Results indicated that inoculation with these fungi significantly and positively affected the morpho-physiological traits and paddy yield of rice plant in all P levels. When, 0, 50 and 100 kg.ha^{-1} was applied, seed inoculation resulted in significant increase of panicle number per plant (33, 19 and 40 percent, respectively), filled seeds per plant (21, 45 and 58 percent, respectively), biological yield (31, 6 and 18 percent, respectively) and paddy yield (37, 48 and 43 percent, respectively). Also, fungi inoculation of rice seeds, seedlings and seeds + seedlings improved paddy yield up to 48, 53 and 53 percent and 43, 44 and 15 percent when 50 and 100 kg.ha^{-1} of P was applied, respectively. In general, results indicated that all three methods of fungi inoculation had positive effect on rice plants under all P levels, which could be related to those fungi ability to improving the parameters under study such as panicle number per plant and biological yield. In conclusion, the positive effects of using both microorganisms and P were more pronounced than using P alone.

Key words: Biological yield, Chlorophyll, Mycorrhizae like, Paddy yield, Tarom Hashemi.

1- Ph.D. Student of Agronomy, Tarbiat Modares University, Tehran, Iran.
2- Associate Professor, Department of Agronomy, Genetics and Agricultural Biotechnology Institute of Tabarestan and Sari Agricultural Sciences and Natural Resources University, Sari, Iran.
3- Department of Plant Molecular Physiology, Genetics and Agricultural Biotechnology Institute of Tabarestan and Sari Agricultural Sciences and Natural Resources University, Sari, Iran.
* *Corresponding Author: h.pirdashti@sanru.ac.ir*

Archive of SID

www.SID.ir

Archive of SID

www.SID.ir