

تأثیر گونه‌های تریکودرما بر رشد و جذب عناصر غذایی در گوجه‌فرنگی تحت تنش کم آبی

الهه خوش منظر^{۱*}، ناصر علی‌اصغرزاد^۲، مهدی ارزنلو^۳، محمدرضا نیشابوری^۴، بهمن خوشرو^۵

تاریخ دریافت: ۹۷/۶/۱۲ تاریخ پذیرش: ۹۷/۱۱/۲۷

۱- دانش آموخته کارشناسی ارشد بیولوژی و بیوتکنولوژی خاک، دانشکده کشاورزی، دانشگاه تبریز

۲- استاد بیولوژی و بیوتکنولوژی خاک، دانشکده کشاورزی، دانشگاه تبریز

۳- استاد بیماری‌شناسی گیاهی و قارچ‌شناسی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه تبریز

۴- استاد روابط آب خاک و گیاه، دانشکده کشاورزی، دانشگاه تبریز

۵- دانشجوی دکتری بیولوژی و بیوتکنولوژی خاک، دانشکده کشاورزی، دانشگاه تبریز

* مسئول مکاتبه: Email: khoshmanzar83@gmail.com

چکیده

تنش کم آبی به عنوان یکی از مهم‌ترین عوامل محدودکننده رشد گیاهی در سراسر جهان می‌باشد که جهت مقابله با این بحران راهکارهای متعددی از جمله استفاده از ریزجانداران محرک رشد گیاه نظیر تریکودرما پیشنهاد شده است. بنابر این آزمایش با هدف بررسی تأثیر سه گونه تریکودرما بر فاکتورهای رشدی گوجه‌فرنگی و نیز جذب برخی عناصر غذایی توسط گیاه در شرایط تنش کم آبی در قالب فاکتوریل بر پایه طرح بلوک‌های کامل تصادفی انجام شد. تیمارهای آزمایش شامل گونه‌های قارچی T_1 (*Trichoderma longibrachiatum* KH)، T_2 (*T. longibrachiatum* MA) و T_3 (*T. harzianum*) (شاهد منفی - بدون قارچ) و NT_2 (شاهد مثبت بدون قارچ ولی با تیمار کود شیمیایی) در سه سطح رطوبتی W_0 (بدون تنش آب)، W_1 (تنش متوسط) و W_2 (تنش شدید) بود که در سه تکرار انجام شد. نتایج نشان داد که با افزایش تنش آبی، در تمامی تیمارها وزن خشک بخش هوایی و ریشه و همچنین جذب عناصر کاهش یافت. اما این کاهش در تیمارهای قارچی به مراتب کمتر بود. در شرایط بدون تنش آب (W_0)، تیمار قارچی T_1 و T_2 جذب نیتروژن و فسفر و تیمار قارچی T_3 جذب آهن و روی را بطور معنی‌داری افزایش دادند. با تشدید تنش رطوبتی، اکثر پارامترهای اندازه‌گیری شده گیاه در تیمارهای قارچی به جز تیمار T_1 کاهش یافت. در شرایط تنش شدید کم آبی (W_2)، قارچ T_1 منجر به افزایش وزن خشک بخش هوایی گیاه (۳۲/۸٪)، جذب نیتروژن (۶۲/۷٪)، فسفر (۳۴/۷٪)، آهن (۳۹/۳٪) و روی (۴۷/۶٪) در مقایسه با شاهد منفی شد.

واژه‌های کلیدی: آهن، تریکودرما، تنش کم آبی، گوجه‌فرنگی، نیتروژن

The Effect of *Trichoderma* Isolates on Tomato Growth and Nutrients Uptake under Water Deficit Stress

Elaheh Khoshmanzar^{1*}, Naser Aliasgharzad², Mahdi Arzanlou³, Mohammad Reza Neyshabouri⁴, Bahman khoshrou⁵

Received: September 3, 2018 Accepted: February 16, 2019

1-MSc of Soil Biology and Biotechnology, Faculty of Agriculture, University of Tabriz, Iran.

2-Prof. of Soil Biology and Biotechnology, Dept. of Soil Science, Faculty of Agriculture, University of Tabriz, Iran.

3-Prof. of Plant Pathology, Dept. of Plant Protection, Faculty of Agriculture, University of Tabriz, Iran.

4-Prof. of Water, Soil and Plant Relationships, Dept. of Soil Science, Faculty of Agriculture, University of Tabriz, Iran.

5-PhD Student of Soil Biology and Biotechnology, Faculty of Agriculture, University of Tabriz, Iran.

*Corresponding Author Email: khoshmanzar83@gmail.com

Abstract

Water shortage is one of the most important limiting factors for plant growth around the world. To cope with this phenomenon, several solutions have been proposed, including the use of microorganism with plant growth promoting traits such as *Trichoderma*. Accordingly, an experiment was conducted to investigate the effect of three fungal species on tomato growth factors, as well as nutrients uptake by the plant in water deficit stress conditions in a factorial arrangement based on randomized complete block design. Treatments including T1 (*Trichoderma longibrachiatum* KH), T2 (*T. longibrachiatum* MA), T3 (*T. harzianum*), NT1 (negative control - without fungi) and NT2 (positive control – without fungi and with chemical fertilizer) at three moisture levels consist of W0 (none stress), W1 (medium stress) and W2 (severe stress), performed in three replications. The results indicated that dry weight of shoot and root and nutrients' uptake decreased in all treatments as water stress increased, but this reduction was significantly lower in fungal treatments. Under none stress condition (W0), T1 and T2 treatments increased N and P absorption and T3 fungal treatments increased Fe and Zn absorption significantly. By increasing stress conditions, most of the measured parameters of the plant in fungal treatments were reduced except for T1 treatment. Under severe stress condition (W2), T1 enhanced dry weight (32.8%), N uptake (62.7%), P (34.78%), Fe (39.3%) and Zn (47.6%), compared to negative control.

Keywords: Fe, Nitrogen, Tomato, *Trichoderma*, Water Deficit Stress

نیمه خشک جهان از جمله ایران به طرق مختلف باعث محدودیت کاشت و کاهش عملکرد محصول می شود. محدودیت منابع آب، توزیع نامناسب بارش سالیانه در

مقدمه

کمبود آب یکی از عوامل محدودکننده مهم و رایج در رشد گیاهان می باشد که به ویژه در مناطق خشک و

گزارش‌ها حاکی از این است که این قارچ‌ها توانایی قابل توجهی در افزایش ریشه‌زایی در ریشه‌های فرعی گیاهان و در نهایت افزایش سهولت جذب آب و مواد غذایی و تحمل گیاه در برابر تنش‌های محیطی دارند (چاکن و همکاران ۲۰۰۷). شوکلا و همکاران (۲۰۱۲) علت فعالیت فتوسنتزی و عملکرد بیشتر گیاهان برنج تیمار شده با گونه *Trichoderma harzianum* تحت تنش کم‌آبی را چنین بیان کرده‌اند که تنش کم‌آبی با ایجاد اختلال در سیستم‌های آنزیمی و افزایش فعالیت اکسیژن فعال و پراکسیداسیون چربی‌ها، باعث خسارت به غشای سلولی و تخریب رنگدانه‌ها می‌گردد. اما افزایش در بیان ژن پروتئین‌های سم‌زدا^۱ در گیاهان تیمار شده موجب رفع سمیت گونه‌های فعال اکسیژن شده و در نهایت باعث پایداری غشای سلولی و جلوگیری از تخریب رنگدانه‌ها می‌گردد. اولین گزارش‌ها از توانایی محرک رشدی این ریزجانداران در سال ۱۹۹۹ توسط آلتومر و همکاران گزارش شد. علی‌رغم تولید اسیدهای آلی و به دنبال آن اسیدی کردن محیط ریشه که یک مکانیسم اصلی برای انحلال عناصری از قبیل آهن، روی، منگنز و فسفر توسط قارچ‌های غیر میکوریزی می‌باشد، در مطالعات انجام گرفته توسط آنها نه تنها تولید اسیدهای آلی شامل اسید اگزالیک، اسید سیتریک، اسید مالیک و اسید فوماریک از این گونه‌های قارچی گزارش نشد، بلکه انحلال سنگ فسفات، اکسید منگنز، اکسید آهن و روی در شرایط اسیدی بسیار ملایمی و یا حتی قلیایی اتفاق افتاد. این یافته‌ها نشان داد که احتمالاً مکانیسم‌های دیگری در انحلال عناصر مذکور دخیل باشند. طبق گزارش آنها سایر متابولیت‌های تولید شده توسط این گونه‌های قارچی نظیر پپتیدها، پروتئین‌ها، ترکیبات فنولی و نیز ترکیبات کیتینی می‌توانستند ویژگی‌های کمپلکس‌سازی را ایفا کنند. طی مطالعات بعدی مشخص شد که ترکیبی بنام هارزیانیک اسید (هارزیانولید) که یک متابولیت تولیدی ثانویه توسط *T. harzianum* می‌باشد نقش

طول فصل رشد و عدم مدیریت صحیح منابع آب موجود باعث افت شدید عملکرد در مناطق فوق می‌شود (اشرف و محمود ۱۹۹۰). کمبود آب با تأثیر بر آماس سلولی در نتیجه باز و بسته شدن روزنه‌ها، فرآیندهای فتوسنتز، تنفس و تهرق را تحت تأثیر قرار داده و از طرف دیگر با تأثیر بر فرآیندهای آنزیمی که به طور مستقیم با پتانسیل آب کنترل می‌شوند، بر رشد گیاه اثر منفی می‌گذارد (داسکوسکا-گولگ و سزارچکو ۲۰۱۳). گزارش‌های زیادی مبنی بر تأثیر کمبود آب از ملایم تا شدید در رابطه با مختل شدن فرآیندهای فیزیولوژیکی گیاهان و تغییر در متابولیسم کربوهیدرات‌ها و نیتروژن، تغییر در ساختمان پروتئین‌ها و فعالیت آنزیم‌ها ارائه شده است (سینگ و پاتال ۱۹۹۶، وست گیت ۱۹۹۴). با توجه به موارد گفته شده، محققان به دنبال راهکارهایی جهت مقابله با تنش‌های محیطی از جمله تنش خشکی بوده‌اند. در این راستا گزارش‌ها حاکی از این است که گروه‌های مهمی از ریزجانداران با ریشه گیاهان همکاری نزدیک-تری داشته و روابط متقابل مفید آنها در شرایط تنش تشدید می‌شود. برخی از این ریزجانداران نظیر قارچ‌های میکوریزی از طریق تولید حجم قابل توجهی از اندام‌ها و ترشحات برون‌سلولی، باعث بهبود خصوصیات ساختمانی خاک و افزایش ظرفیت نگهداری آب و در نتیجه کاهش اثرات سوء تنش و بهبود رشد گیاهان شوند (ساینز و همکاران ۱۹۹۸). گروهی از ریزجانداران نیز از طریق ترشح ترکیبات هورمونی باعث توسعه سیستم ریشه‌ای گیاه و افزایش جذب آب و عناصر غذایی می‌شوند (الاندر و همکاران ۱۹۹۲، آئوگه ۲۰۰۱). انجام تطابق اسمزی، افزایش بیان ژن‌های مسئول ایجاد مقاومت در مقابل تنش و فعال کردن مسیرهای دفاعی گیاه از دیگر مکانیسم‌هایی است که باعث افزایش تحمل گیاه و بهبود کارایی مصرف آب می‌شوند (وو و همکاران ۲۰۰۶).

قارچ تریکودرما^۱ یکی دیگر از ریزجانداران مفید خاک و از قارچ‌های رشته‌ای متعلق به راسته هیپوکرال^۲، رده آسکومیست^۳ هاست (هیبت و همکاران ۲۰۰۷). برخی

³ Ascomycete

⁴ Detoxification Proteins

¹ *Trichoderma*

² Hypocreales

منیزیم و کلسیم میوه گوجه‌فرنگی شده است. رادرس و همکاران (۲۰۰۴) طی یک بررسی گزارش کردند تلقیح همزمان تریکودرما، ریزوبیوم و ^۱PSB (باکتری‌های حل‌کننده فسفات) باعث افزایش جذب نیتروژن و فسفر شاخساره شده است. سرواناکومارو همکاران (۲۰۱۳) محلول ساختن فسفر از طریق ترشح آنزیم فسفاتاز توسط این گونه‌های قارچی را گزارش نموده‌اند.

در این تحقیق، هدف یافتن سویه موثر تریکودرما برای بهبود رشد گیاه در شرایط تنش کم‌آبی و همچنین جذب عناصر غذایی در این شرایط بود. بایستی گفت که اثرات این گونه‌های قارچی بر کنترل بیماری‌های گیاهی قبلاً بررسی شده است، ولی در خصوص اثر بخشی گونه‌های قارچی در کمک به رشد گیاه و جذب عناصر غذایی در شرایط تنش کم‌آبی اطلاعاتی در دست نبود. اهمیت تحقیق حاضر نیز دستیابی به قارچی با ویژگی تعدیل‌کنندگی تنش کم‌آبی و نیز موثر در جذب عناصر غذایی مورد نیاز گیاه می‌باشد.

مواد و روش‌ها

تکثیرگونه‌های قارچی

تعداد ۱۰ گونه قارچ تریکودرما از کلکسیون قارچی گروه گیاهپزشکی دانشکده کشاورزی دانشگاه تبریز اخذ شد. برای تکثیر آنها از محیط کشت ^۲PDA استفاده شد و درنهایت از بین ۱۰ گونه قارچ تریکودرما، ۳ گونه بر اساس آزمون‌های درون‌شیشه‌ای (جدول ۱) انتخاب شدند (خوش منظر ۲۰۱۵).

بسنایی در اثرات محرک رشدی این گونه قارچی ایفا می‌کند (لی و همکاران ۲۰۱۵). این ترکیب خاصیت کلات‌کنندگی قوی داشته و ازین رو می‌توانست به عنوان یک نوع سیدروفور تولیدی توسط این گونه قارچی معرفی شود. در تحقیق انجام شده توسط لی و همکاران (۲۰۱۵) نقش احتمالی هارزیانولید در تنظیم رشد گیاه به دلیل خاصیت کلات‌کنندگی آن گزارش شده است. به بیان دیگر هارزیانولید قدرت جوانه زنی بذور گوجه‌فرنگی را حتی در شرایط کمبود آهن افزایش داد که می‌تواند ادعایی بر نقش هارزیانولید در رشد گیاهان تیمار شده با *T. harzianum* باشد. طی یک بررسی دیگر مشخص شد *T. asperellum* جداسازی شده از ریزوسفر گیاه خیار باعث افزایش سطوح آهن دو ظرفیتی خاک و نیز فعالیت رداکتازهای آهن سه ظرفیتی در گیاه خیار شده است (کیوای و همکاران ۲۰۱۳). در مطالعه‌ی اثر *T. asperellum* بر جذب عناصر توسط گیاه گوجه‌فرنگی و نیز پوسیدگی فوزاریوم مشخص شد که یک همبستگی منفی قوی بین شدت بیماری و نیز جذب عناصر وجود دارد. به بیان دیگر این گونه قارچی با افزایش جذب عناصر توسط گوجه‌فرنگی اثرات مضر عامل پوسیدگی این گیاه را نیز کاهش داد. همچنین سیدروفور تولید شده توسط این گونه قارچی علاوه از افزایش جذب آهن باعث افزایش جذب روی، نیکل و منگنز شد (لی و همکاران ۲۰۱۸). بررسی‌های نزانزا و همکاران (۲۰۱۲) نشان داد که تلقیح گیاه گوجه‌فرنگی با *T. harzianum* و *Glomus mosseae* باعث افزایش محتوای لیکوپن و همچنین غلظت

جدول ۱- برخی خصوصیات محرک رشدی گونه‌های تریکودرما در آزمایش کشت گلدانی

تیمار قارچی	نام گونه قارچی	منطقه جداسازی	اکسین (mg.L ⁻¹)	انحلال فسفر (mg.L ⁻¹)	تولید سیدروفور (μ mol.L ⁻¹)
T ₁	<i>T. longibrachiatum</i> KH	خراسان_چناران	۱۰/۰۱	۹۷/۶۴	۷۳/۶۳
T ₂	<i>T. longibrachiatum</i> MA	آذربایجان شرقی_مرند	۹/۰۶	۱۱۴/۷	۳۴/۳۶
T ₃	<i>T. harzianum</i>	اردبیل_مغان	۲/۹۸	۸۵/۳۶	۱۰۵/۱

² Potato Dextrose Agar

¹ Phosphate Solubilizing Bacteria

آماده‌سازی زادمایه گونه‌های قارچ

برای تهیه زادمایه از سه گونه قارچی (*T. longibrachiatum* KH:T1)، (*T. longibrachiatum* MA)، (*T. harzianum* T3)؛ ابتدا آن‌ها را در محیط کشت PDA کشت داده و پس از یک هفته انکوباسیون در دمای ۲۵ درجه سلسیوس، از آنها جهت تهیه سوسپانسیون قارچی استفاده شد. برای تهیه سوسپانسیون قارچی مقدار ۱۰ میلی‌لیتر آب مقطر استریل بر محیط کشت حاوی میسلیم‌های قارچی اضافه شده و سپس با اسکالپل میسلیم‌ها را از محیط کشت برداشته و در داخل آب غوطه ور شدند تا اسپورها آزاد شوند. در سوسپانسیون حاصل برای جداسازی ریشه‌ها از پشم شیشه استریل استفاده شد (تائه کیم و همکاران ۲۰۰۱). حجم مشخصی از این سوسپانسیون بر روی لام همتوسیتومتر قرار گرفت و شمارش اسپور انجام شد. در نهایت تراکم جمعیت قارچی در این سوسپانسیون 10^6 اسپور در هر میلی‌لیتر تنظیم شد. جهت اضافه کردن این جمعت قارچی به گلدان‌ها از سبوس گندم به‌عنوان حامل استفاده شد. بدین منظور سبوس گندم به مدت یک روز در رطوبت نسبی ۹۰ درصد بصورت روباز نگهداری شد. سپس بطور جداگانه در دو ارلن مایر یک لیتری، مقدار ۴۰۰ گرم سبوس مرطوب ریخته شد. ارلن‌ها در دو روز متوالی هر بار به مدت یک ساعت در ۱۲۱ درجه سانتی‌گراد و فشار ۱/۲ اتمسفر استریل شدند. به‌ازای هر ۱۰ گرم سبوس، پنج میلی‌لیتر از سوسپانسیون اسپور برای هر جدایه قارچی ریخته شد. از زادمایه‌های آماده شده برای هر جدایه قارچی به میزان ۱۰ گرم در هر گلدان استفاده شد (اخوت و کریم‌پور ۱۹۹۶).

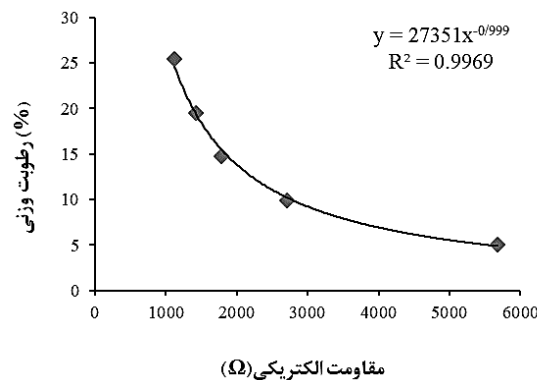
آماده‌سازی خاک

مقدار مورد نیاز خاک از ایستگاه تحقیقاتی خلعت‌پوشان دانشگاه تبریز از عمق ۲۰-۰ سانتی‌متری با بافت شن لومی تهیه و به آزمایشگاه منتقل شد. بعد از هواخشک کردن و عبور از الک دو میلی‌متری،

خصوصیات مهم خاک شامل: بافت به‌روش هیدرومتر (گی و اور ۲۰۰۲)، pH گل اشباع و EC_e عصاره گل اشباع (پیچ ۱۹۸۲)، درصد کربن آلی به‌روش والکی-بلک (نلسون و سامرز ۱۹۹۶)، مقدار پتاسیم قابل جذب با عصاره‌گیر استات آمونیوم نرمال با $pH = 7$ (گوپتا ۲۰۰۰)، مقدار فسفر قابل جذب با عصاره‌گیر بی‌کربنات سدیم (اولسن و سومرز ۱۹۸۲) و رطوبت ظرفیت مزرعه و نقطه پژمردگی با استفاده از دستگاه صفحات فشار (کمپل و همکاران ۱۹۸۶) تعیین گردید. به منظور کشت گلدانی، خاک هوا خشک از غربال شماره چهار (با روزه‌های ۴/۶ میلی‌متر) عبور داده شد، پس از شستشوی گلدان‌ها، سه سوراخ در ته آنها ایجاد کرده و مقداری پنبه در هر سوراخ قرار داده شد. سپس در هر کدام از گلدان‌ها حدود دو کیلوگرم خاک ریخته و به مدت دو ساعت در دمای ۱۲۱ درجه سانتی‌گراد و فشار ۱/۲ اتمسفر در اتوکلاو استریل شد.

تعیین تیمارهای رطوبتی خاک

اعمال تنش‌ها و آبیاری گلدان‌ها با استفاده از دستگاه مقاوت‌سنج و سنسورهای رطوبتی انجام گرفت. قبل از اعمال تنش‌ها، نمودار واسنجی دستگاه مقاومت‌سنج برای خاک مورد آزمایش بدست آمد (شکل ۱). دستگاه مورد نظر، مقاومت الکتریکی خاک واقع شده بین دو تیغه سنسور رطوبتی را نشان می‌دهد. به هر میزان که این عدد بالاتر باشد بیانگر این است که میزان هدایت الکتریکی موجود در خاک کم بوده و آن نیز بیانگر میزان رطوبت خاک خواهد بود. به بیان دیگر در مقاومت‌های الکتریکی بالاتر رطوبت کمتری در خاک خواهیم داشت. پس از واسنجی دستگاه مقاومت‌سنج، از معادله بدست آمده جهت انجام محاسبات و اعمال تنش‌ها استفاده شد. سپس این رطوبت با حدود رطوبتی مورد نظر مقایسه شد و در صورت نیاز به آبیاری مقدار آب مورد نیاز محاسبه شده و آبیاری انجام گرفت (خوش منظر ۲۰۱۵).



شکل ۱- نمودار واسنجی دستگاه مقاومت الکتریکی برای سطوح رطوبتی مختلف و معادله کالیبراسیون

آماده‌سازی بذور گوجه فرنگی

بدین منظور از بذور گوجه فرنگی (*Lycopersicon esculentum*) رقم سوپراستون^۷ استفاده شد. ابتدا بذور را به مدت دو ساعت در آب مقطر خیسانده و سپس در هیپوکلریت سدیم ۰/۵ درصد به مدت ۱۰ دقیقه ضدعفونی سطحی شدند. در نهایت بذرها چندین بار با آب مقطر شستشو داده شدند. در مرحله بعد بذرها داخل پتری‌دیش و میان کاغذ صافی استریل شده قرار گرفتند و با آب مقطر استریل مرطوب شدند.

کشت گیاه و اعمال تیمارهای قارچی و سطوح تنش

۱۰ گرم از زادمایه قارچ‌های مربوطه به صورت لایه نازک در عمق ۵ سانتی‌متری از سطح خاک قرار گرفت. بذور جوانه زده گوجه فرنگی به تعداد ۱۰ بذر در هر گلدان بر روی زادمایه قارچی قرار گرفتند. در مورد تیمارهای شاهد منفی (NT1) و مثبت (NT2) (هر دو بدون قارچ)، به همان مقدار زادمایه استریل اضافه گردید. برای تمام تیمارهای با قارچ و شاهد منفی بدون قارچ ۰/۴۰ گرم سولفات پتاسیم (معادل ۴۰۰ کیلوگرم در هکتار) و ۰/۴۵ گرم اوره (معادل ۴۵۰ کیلوگرم در هکتار) بر اساس آزمون خاک به دو کیلوگرم از خاک گلدان‌ها اضافه شد (ملکوتی ۲۰۰۰). علاوه بر این جهت برآورد پتانسیل قارچ در مقایسه با کود کامل شیمیایی

یک تیمار شاهد مثبت (NT2) که بدون قارچ و دارای عناصر غذایی N, P, K, Fe, Zn براساس آزمون خاک بود به صورت زیر گنجانده شد: ۰/۴۰ گرم سولفات پتاسیم (معادل ۴۰۰ کیلوگرم در هکتار)، ۰/۴۵ گرم اوره (معادل ۴۵۰ کیلوگرم در هکتار)، ۰/۱۵ گرم سوپرفسفات تریپل (معادل ۱۵۰ کیلوگرم در هکتار)، ۰/۰۵ گرم سولفات روی (معادل ۵۰ کیلوگرم در هکتار) و ۰/۱ گرم سولفات آهن (معادل ۱۰۰ کیلوگرم در هکتار) بطور یکنواخت به خاک همه گلدان‌ها قبل از کشت افزوده و بخوبی مخلوط شد (ملکوتی ۲۰۰۰). در هنگام کاشت بذور، رطوبت تمامی گلدان‌ها در سطح رطوبتی FC تنظیم شد. گلدان‌ها در شرایط کنترل شده اتاقک رشد با شدت نور ۱۲۰۰۰ لوکس و مدت زمان روشنایی ۱۶ ساعت با دمای روز و شب به ترتیب 26 ± 2 و 14 ± 2 درجه سانتی‌گراد قرار گرفتند. بعد از دو ماه که بوته‌ها استقرار یافتند، تعداد بوته در هر گلدان به دو بوته تقلیل یافت و سپس تیمارهای رطوبتی ۱۰-۳۰ (W0)، ۶۰-۷۰ (W1) و ۹۰-۷۰ (W2) درصد تخلیه آب قابل استفاده اعمال گردید. تنظیم رطوبت از طریق قرائت مقاومت الکتریکی خاک گلدان با استفاده از دستگاه مقاومت‌سنج و بوسیله سنسورهای رطوبتی نصب شده در هر گلدان انجام گرفت. برای کنترل دقیق رطوبت در هر روز در دو نوبت صبح و عصر با استفاده از دستگاه یادشده مقاومت الکتریکی در هر گلدان قرائت می‌شد و

⁷ Super stone

اندازه‌گیری فسفر گیاه با هضم خشک گیاه (وسترمن ۱۹۹۰) و به‌روش رنگ‌سنجی وانادات-مولیبدات (کاتینه ۱۹۸۰) و اندازه‌گیری آهن و روی بخش هوایی و ریشه پس از تهیه محلولهای استاندارد با شعله آبی استیلن و هوا با دستگاه جذب اتمی مدل Shimdzu, AA-6300 انجام شد.

تجزیه آماری داده‌ها

تحلیل آماری داده‌ها با استفاده از نرم‌افزار MSTATC انجام شد. ابتدا آزمون نرمال بودن توزیع داده‌ها انجام و از تبدیل مناسب برای داده‌های غیرنرمال استفاده شد؛ سپس مقایسه میانگین‌ها با آزمون چند دامنه‌ای دانکن در سطح احتمال پنج درصد انجام و نمودارها با نرم‌افزار Excel رسم شد.

نتایج و بحث

خصوصیات خاک مورد آزمایش

قبل از شروع آزمایش گلخانه‌ای، برخی خواص فیزیکی و شیمیایی خاک مورد استفاده، اندازه‌گیری شد که در جدول (۲) آمده است.

جدول ۲- برخی خواص فیزیکی و شیمیایی خاک مورد آزمایش

کلاس	وزن مخصوص ظاهری (g.cm^{-3})	رطوبت FC (۱۰ KPa)	رطوبت PWP (۱۵۰۰ KPa)	pH	EC (dS.m^{-1})	OC (%)	پتاسیم قابل جذب (mg.kg^{-1})	فسفر قابل جذب (mg.kg^{-1})
بافت خاک	۱/۴	درصد وزنی ۱۲/۴۲	درصد وزنی ۵/۹۴	۷/۸۱	۱/۴	۰/۲۲۱	۱۸۲/۶	۴/۴

بالاترین توان تولید اکسین این قارچ نسبت به دو قارچ دیگر باشد. در تمامی تیمارها با افزایش تنش کم‌آبی وزن خشک ریشه کاهش می‌یابد. بیشترین وزن خشک مربوط به تیمار قارچی T_1 و کمترین برای تیمار شاهد منفی (NT_1) می‌باشد. بین تیمارهای قارچی باهم و نیز تیمارهای شاهد با تیمارهای قارچی در تمام سطوح رطوبتی اختلاف معنی‌داری دیده می‌شود (شکل ۲). باتوجه به این شکل مشاهده می‌شود، قارچ T_1 ، با بیشترین توان تولید اکسین ($10/01 \text{ mg/l}$) توانسته

در صورت نیاز آبیاری انجام می‌گرفت. گیاهان تا پایان مرحله رویشی رشد یافته و به محض ظهور اولین گل در یکی از گلدان‌ها برداشت شدند.

اندازه‌گیری وزن تر و خشک

برداشت گیاهان تقریباً ۹۰ روز پس از کشت انجام گرفت. بخش هوایی گیاهان از سطح خاک قطع شد و وزن تر آنها اندازه‌گیری شد. پس از جدا کردن ریشه‌ها از خاک، ریشه‌ها با مقدار زیادی آب مقطر شستشو شدند. بعد از اینکه آب اضافی آنها با کاغذ خشک‌کن گرفته شد، وزن تر آنها نیز تعیین گردید. کلیه نمونه‌های گیاهی در داخل پاکت‌های کاغذی به داخل آون فن‌دار منتقل شده و در دمای ۷۰ درجه سانتی‌گراد به مدت سه روز خشک شدند. پس از این مدت نمونه‌ها از آون فن‌دار خارج گردیده و به کمک ترازوی $0/001 \text{ g}$ وزن خشک آنها تعیین شد.

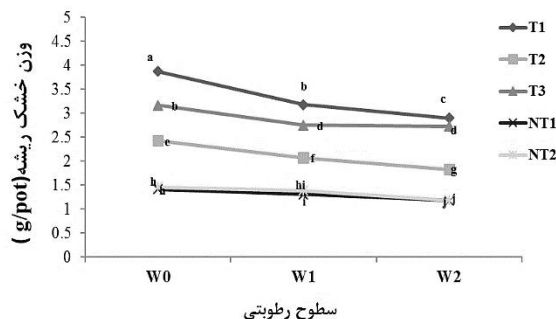
اندازه‌گیری عناصر N، P، Fe و Zn گیاه

نیترژن موجود در بخش هوایی و ریشه با استفاده از روش کج‌دال (والینگ و همکاران ۱۹۸۹، راول ۱۹۹۴)،

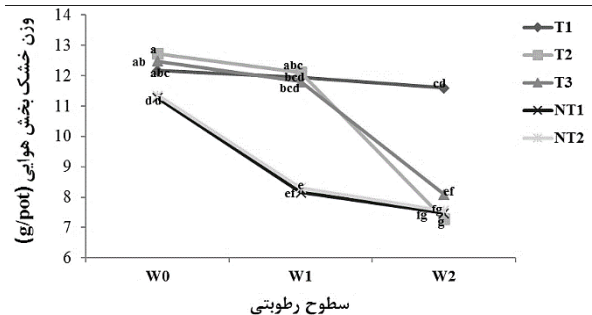
وزن خشک بخش هوایی و ریشه

با افزایش تنش رطوبتی، مقدار وزن خشک بخش هوایی کاهش یافت. تیمارهای قارچی T_1 ، T_2 ، T_3 به ترتیب $31/2$ ، $18/17$ ، $96/97$ درصد وزن خشک هوایی را نسبت به تیمار شاهد مثبت (NT_2) و $32/81$ ، $19/41$ و $20/42$ درصد نسبت به تیمار شاهد منفی (NT_1) افزایش داده‌اند. اثر افزایشی قارچ T_1 در وزن خشک بخش هوایی نسبت به تیمارهای شاهد منفی و مثبت بیشتر از دو قارچ T_2 و T_3 بوده است که می‌تواند ناشی از

شبه اکسین نظیر ۶-آلفا پنتیل پیرون که تنها در غلظت‌های بخصوصی به‌عنوان محرک رشد گیاهی عمل می‌کند؛ نه تنها باعث افزایش وزن تر و خشک بخش هوایی و ریشه گیاهان می‌شود بلکه باعث افزایش حجم ریشه‌های گیاه شده و در نتیجه‌ی این افزایش، سطح فعال ریشه گیاه افزایش یافته و از این طریق جذب آب بخصوص در شرایط تنشی تسهیل شده است (الاندر و همکاران ۱۹۹۲؛ آئوگه ۲۰۰۱).



بیشترین وزن خشک ریشه را به خود اختصاص دهد. از طرفی باتوجه به توان انحلال فسفات و تولید سیدروفور این قارچ‌ها که طی سنجش‌های درون شیشه‌ای مشخص شد (جدول ۱) می‌توان اظهار داشت جذب بهبود یافته عناصر بویژه فسفر و آهن در حضور این تیمارهای قارچی یکی دیگر از دلایل افزایش وزن خشک ریشه و بخش هوایی می‌باشد. گزارش شده است که این گونه‌های قارچی با تولید هورمون‌های محرک رشد گیاه، نظیر اکسین، جیبرلین، سیٹوکینین، زآتین و ترکیبات



شکل ۲ - ترکیبات تیماری قارچ *تریکورما* و رطوبت خاک برای وزن خشک بخش هوایی و ریشه

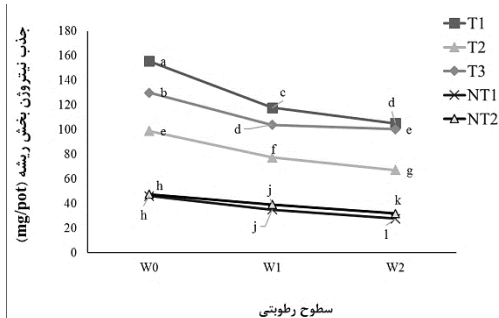
در شکل‌ها NT1، NT2، T1، T2، T3، به ترتیب شاهد منفی، شاهد مثبت، *T. longibrachiatum* KH و *T. longibrachiatum* MA می‌باشد. همچنین W0، W1 و W2 بترتیب سطوح رطوبتی ۳۰-۱۰٪، ۶۰-۴۰٪ تخلیه آب قابل استفاده، ۷۰-۹۰٪ تخلیه آب قابل استفاده می‌باشد.

آن نیز افزایش یافته است. می‌توان گفت، جذب بهبود یافته عناصر غذایی از جمله نیتروژن در حضور قارچ به دلیل اثر قارچ بر افزایش ریشه‌زایی در ریشه‌های فرعی و افزایش حجم آن می‌باشد. در بخش ریشه نیز تیمار قارچی T1 در سطح رطوبتی W0 دارای بیشترین جذب نیتروژن و تیمار شاهد منفی (NT1) در سطح رطوبتی W2 کمترین جذب را دارد. همچنین مشاهده می‌شود که با افزایش تنش کم‌آبی، جذب نیتروژن ریشه در تمامی تیمارها به طور معنی‌داری کاهش می‌یابد (شکل ۴). تیمار قارچی T1 بالاترین جذب نیتروژن بخش هوایی را به خود اختصاص داده است، بنابراین می‌توان اظهار داشت که قارچ مذکور با انتقال بیشتر نیتروژن به

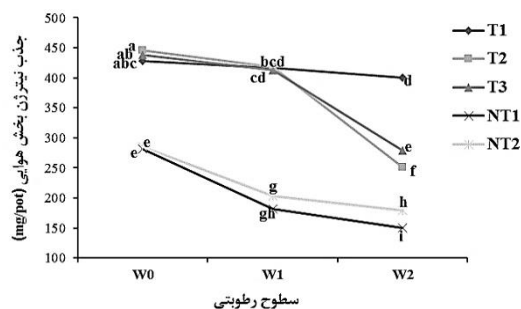
جذب نیتروژن بخش هوایی و ریشه

در بررسی اثر متقابل سطوح رطوبتی و قارچ بر جذب نیتروژن بخش هوایی، با افزایش تنش رطوبتی، جذب نیتروژن در تمامی تیمارها کاهش یافته است (شکل ۳). اما این کاهش برای تیمار قارچی T1 غیرمعنی‌دار ولی برای سایر تیمارها معنی‌دار است. بیشترین جذب نیتروژن بخش هوایی برای تیمار قارچی T2 در سطح رطوبتی W0 است که اختلاف معنی‌داری با دو تیمار قارچی T1 و T3 در این سطح دیده نمی‌شود. کمترین مقدار نیتروژن برای تیمار شاهد منفی (NT1) در سطح رطوبتی W2 است. بطورکلی با افزایش فراهمی این عنصر در محیط ریشه گیاه در تیمارهای قارچی، جذب

بخش هوایی نسبت به دو تیمار قارچی دیگر باعث افزایش شاخص کلروفیل نیز شده است (خوش‌منظر ۲۰۱۵).



شکل ۴- ترکیب تیماری قارچ تریکودرما و رطوبت خاک برای جذب نیتروژن بخش ریشه



شکل ۳- ترکیب تیماری قارچ تریکودرما و رطوبت خاک برای جذب نیتروژن بخش هوایی

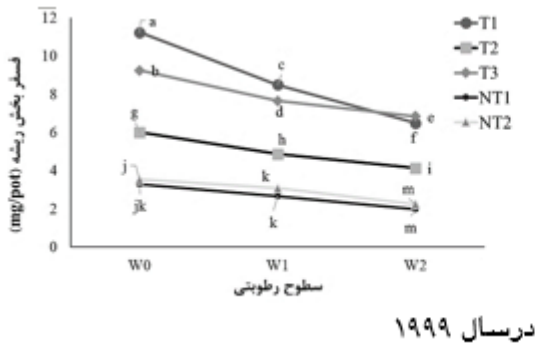
جذب فسفر بخش هوایی و ریشه

در بررسی اثرات متقابل سطوح رطوبتی و قارچ بر جذب فسفر بخش هوایی مشاهده می‌شود که با افزایش تنش رطوبتی، جذب فسفر در تمامی تیمارهای قارچی و شاهد بدون قارچ کاهش یافته است (شکل ۵). بیشترین جذب فسفر مربوط به تیمار قارچی T₂ در سطح رطوبتی W₀ است که دارای اختلاف معنی‌دار با سایر تیمارها است، بین دو تیمار قارچی T₁ و T₃ در این سطح اختلاف معنی‌داری دیده نمی‌شود. کمترین جذب فسفر بخش هوایی مربوط به تیمار شاهد منفی (NT₁) در سطح رطوبتی W₂ است. در بررسی اثرات متقابل سطوح رطوبتی و قارچ بر جذب فسفر ریشه نیز مشاهده می‌شود که بیشترین مقدار جذب فسفر مربوط به تیمار قارچی T₁ در سطح رطوبتی W₀ است (شکل ۶). کمترین مقدار جذب فسفر ریشه مربوط به تیمار شاهد منفی (NT₁) در سطح رطوبتی W₂ است. بین تیمارهای قارچی باهم و نیز تیمارهای قارچی با تیمارهای شاهد در تمام سطوح رطوبتی اختلاف معنی‌داری وجود دارد. اما بین دو تیمار شاهد منفی (NT₁) و شاهد مثبت (NT₂) در

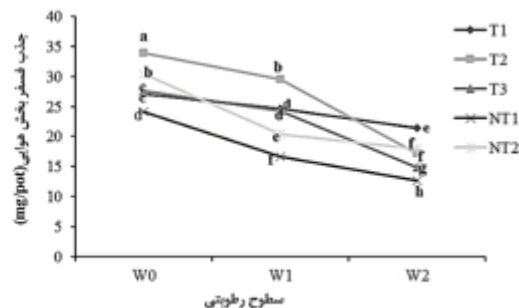
گزارش شده بکاربردن تریکودرما کارایی مصرف نیتروژن (NUE)^۱ را در گیاهان افزایش می‌دهد (شارش و همکاران ۲۰۱۰). همچنین اظهار داشته‌اند که گیاهان تیمار شده با تریکودرما نیاز نیتروژنی شان به میزان ۳۰-۵۰ درصد کاهش یافته است. در تحقیقی کاربرد *T. harzianum* بطور معنی‌داری باعث افزایش نیتروژن، فسفر، پتاسیم، آهن، کلسیم، منیزیم، منگنز دانه نخود شده است (محمدی و همکاران ۲۰۱۰). با توجه به پتانسیل بالای این قارچ‌ها در تولید آنزیم‌های هیدرولازی نظیر پروتئاز، کیتیناز، سلولاز و غیره می‌توان گفت که عمل تریکودرما در افزایش جذب نیتروژن، بصورت مستقیم از طریق تخریب ترکیبات کیتینی و پروتئینی موجود در محیط ریزوسفر و در نتیجه افزایش فراهمی آن برای گیاه می‌باشد. از سوی دیگر می‌توان گفت، قارچ مذکور بصورت غیرمستقیم با تخریب و تجزیه ترکیبات پیچیده و تبدیل آنها به ترکیبات ساده‌تر، فراهمی آنها را برای سایر ریزجانداران هتروتروف تثبیت‌کننده نیتروژن افزایش داده است. بنابراین از این طریق نیز باعث افزایش جذب نیتروژن در گیاه می‌شود (الاد و همکاران ۱۹۸۵).

¹ Nitrogen Use Efficiency

سطوح رطوبتی W_0 و W_2 اختلاف معنی‌داری مشاهده نمی‌شود.



شکل ۶- ترکیب تیماری قارچ تریکودرما و رطوبت خاک برای جذب فسفر بخش ریشه



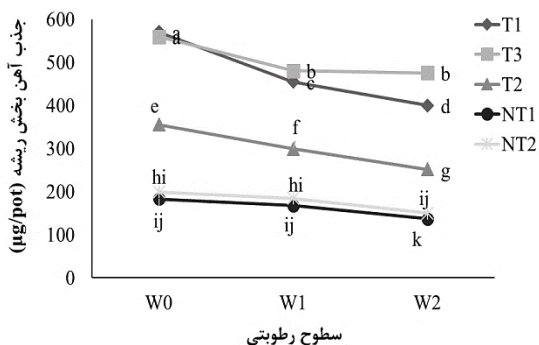
شکل ۵- ترکیب تیماری قارچ تریکودرما و رطوبت خاک برای جذب فسفر بخش هوایی

می‌یابد (شکل ۷). بیشترین جذب روی و آهن بخش هوایی مربوط به تیمار قارچی T_3 می‌باشد. کمترین جذب آهن برای تیمار شاهد منفی (NT_1) در سطح رطوبتی W_2 است. همانند جذب آهن بخش هوایی با افزایش تنش رطوبتی جذب آهن ریشه کاهش می‌یابد (شکل ۸). بیشترین جذب آهن ریشه برای تیمار قارچی T_3 و کمترین آن برای تیمار شاهد منفی (NT_1) می‌باشد. اثر متقابل تیمارهای قارچی و سطوح رطوبتی شکل ۷ نشان می‌دهد که بیشترین جذب آهن برای تیمار قارچی T_1 و در سطح رطوبتی W_0 می‌باشد و کمترین جذب آن برای تیمار شاهد منفی (NT_1) در سطح رطوبتی W_2 می‌باشد. در سطح W_0 اختلاف معنی‌داری بین تیمارهای T_1 و T_3 دیده نمی‌شود. در سطح W_1 و W_2 اختلاف بین تمام تیمارهای قارچی باهم معنی‌دار است. تیمارهای شاهد در تمام سطوح رطوبتی با تیمارهای قارچی اختلاف معنی‌داری نشان می‌دهند.

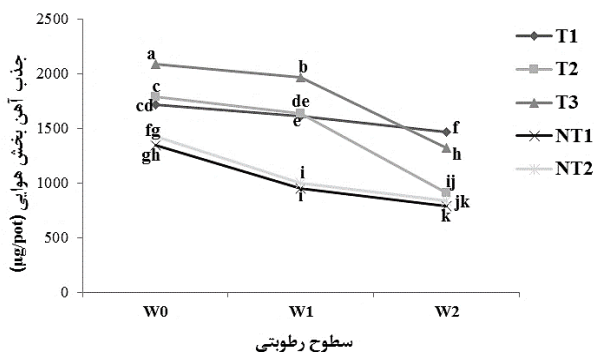
آلتومر و همکاران برای نخستین بار توانایی *T. harzianum* را در انحلال فسفر گزارش کردند. افزایش جذب عناصر غذایی از جمله فسفر بوسیله افزایش سطح جذب ریشه‌ها (آذرمی و همکاران ۲۰۱۱)، محلول ساختن فسفر از طریق ترشح آنزیم فسفاتاز (سرواناکومار ۲۰۱۳)، از جمله مواردی است که این گونه‌های قارچی در افزایش فراهمی فسفر و نیز افزایش جذب آن توسط گیاه به‌کار می‌گیرند. بررسی‌های سینگ و همکاران (۲۰۱۰) نشان داد که بکاربردن *harzianum* در نیشکر، فراهمی نیتروژن، فسفر، پتاسیم را به ترتیب به میزان ۲۵، ۶۵، ۴۴ درصد برای این گیاه نسبت به تیمار شاهد افزایش داده است.

جذب آهن بخش هوایی و ریشه

نتایج نشان داد که با وقوع و افزایش تنش رطوبتی جذب آهن بخش هوایی بطور معنی‌داری کاهش



شکل ۸- ترکیب تیماری قارچ تریکودرما و رطوبت خاک برای جذب آهن بخش ریشه

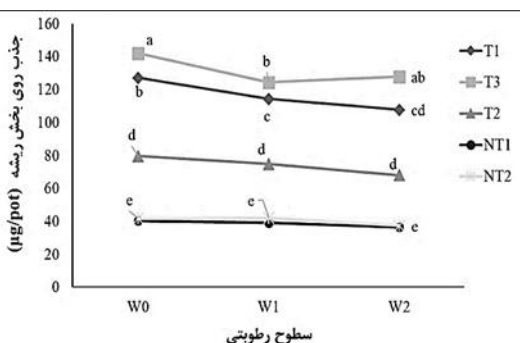


شکل ۷- ترکیب تیماری قارچ تریکودرما و رطوبت خاک برای جذب آهن بخش هوایی

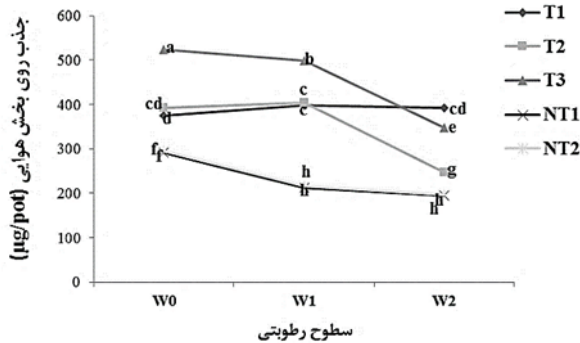
افزایش تنش رطوبتی، جذب روی ریشه کاهش یافته است. بیشترین جذب روی مربوط به سطح رطوبتی W₀ و کمترین مقدار آن مربوط به سطح رطوبتی W₂ است. اختلاف بین سطوح بدون تنش (W₀)، تنش شدید (W₂) و بدون تنش (W₀) با تنش متوسط (W₁) معنی‌دار می‌باشد. اما بین سطوح W₁ و W₂ اختلاف معنی‌داری دیده نمی‌شود. بیشترین جذب روی ریشه برای تیمار قارچی T₃، کمترین مربوط به تیمار شاهد منفی (NT₁) است. بین دو تیمار شاهد اختلاف معنی‌داری دیده نمی‌شود و اختلاف بین تیمارهای قارچی معنی‌دار می‌باشد. بیشترین جذب روی برای تیمار قارچی T₃ و در سطح رطوبتی W₀، و کمترین جذب آن برای تیمار شاهد منفی (NT₁) و در سطح رطوبتی W₂ است (شکل ۱۰).

جذب روی بخش هوایی و ریشه

مقایسه میانگین سطوح رطوبتی نشان می‌دهد که با وقوع و افزایش تنش رطوبتی، جذب روی بخش هوایی بطور معنی‌داری کاهش یافته است (شکل ۹). بیشترین جذب روی مربوط به سطح رطوبتی W₀ و کمترین مقدار آن مربوط به سطح رطوبتی W₂ است. جذب روی بخش هوایی در حضور قارچ افزایش یافته و بیشترین جذب روی بخش هوایی مربوط به تیمار قارچی T₃ که اختلاف با دو تیمار قارچی T₁ و T₂ معنی‌دار بوده و کمترین مربوط به تیمار شاهد منفی (NT₁) است. بین دو تیمار شاهد اختلاف معنی‌داری دیده نمی‌شود. بیشترین جذب روی برای تیمار قارچی T₃ و در سطح رطوبتی W₀، و کمترین مقدار آن برای تیمار شاهد منفی (NT₁) و در سطح رطوبتی W₂ است (شکل ۸). همانند بخش هوایی با



شکل ۱۰- ترکیب تیماری قارچ تریکودرما و رطوبت خاک برای جذب روی بخش ریشه



شکل ۹- ترکیب تیماری قارچ تریکودرما و رطوبت خاک برای جذب روی بخش هوایی

با T_1 (جدایه خراسان) بوده و نیز نسبت به گیاهان تیمار شده با T_2 (جدایه مرنند) عملکرد بهتری داشته‌اند. در شرایط بدون تنش آب، تیمار قارچی T_2 جذب نیتروژن و فسفر و تیمار قارچی T_3 جذب آهن و روی را بطور معنی‌داری افزایش دادند، ولی با افزایش تنش رطوبتی، وزن خشک، جذب نیتروژن، فسفر، آهن و روی ریشه و بخش هوایی در همه تیمارهای قارچی کاهش یافت و در این حالت تیمار T_1 در بخش هوایی و تیمار T_3 در بخش ریشه (برای آهن و روی) توانایی مقابله با تنش آبی را از خود نشان دادند. تیمار قارچی T_2 با وجود اینکه با تیمار T_1 هم‌گونه بود، ولی توانایی کمی در تعدیل اثر تنش آبی نسبت به آن داشت. بنابراین منطقه جداسازی گونه‌های قارچی مذکور یکی از عوامل تعیین‌کننده در کارایی آنها می‌باشد. همچنین در این آزمایش مشخص گردید که قارچ T_1 حتی می‌تواند جذب عنصر روی بخش هوایی را هم به موازات افزایش تنش کم آبی افزایش دهد درحالی که تیمار قارچی T_3 علی‌رغم افزایش جذب روی و آهن ریشه، تنها تا تنش متوسط توانایی افزایش جذب روی و نیز آهن بخش هوایی را دارد و دیده شد که در تنش شدید آبی، جذب آهن و روی بخش هوایی در قارچ T_3 نسبت به قارچ T_1 کاهش یافت. بنظر می‌رسد که قارچ T_3 تنها تا تنش متوسط به گیاه در جذب آهن و روی ریشه و انتقال آن به بخش هوایی کمک می‌کند ولی با تشدید تنش، جذب آهن و روی را برای افزایش بیومس خود انجام می‌دهد و این مورد با کاهش آهن و روی بخش هوایی گیاه تایید می‌گردد. بایستی گفت که در کل عملکرد تیمارهای قارچی در تنش کم تا متوسط نسبت به تیمارهای شاهد بهتر بوده و تولید ریشه‌هایی با حجم بیشتر و بدنبال آن جذب بهتر آب و عناصر غذایی برای تیمارهای قارچی رخ داده است.

بررسی‌های لی و همکاران (۲۰۱۵) در گوجه‌فرنگی تیمار شده با $T. harzianum$ نشان داد که این گیاهان از نظر جذب آهن و روی نسبت به تیمارهای شاهد ۴۰-۱۵ درصد افزایش داشته‌اند. از طرفی آهن، روی، مس و فسفر جذب شده توسط ریشه‌ها به میزان ۷۳-۲۱ درصد نسبت به تیمارهای شاهد بیشتر بوده است. از آنجا که عنصر روی یک فاکتور بسیار کلیدی در سنتز اسید آمینه تربیتوفان می‌باشد و این اسید آمینه از پیش سازهای ایندول استیک اسید (IAA) است، بنابراین عنصر روی نقش پررنگی در تولید هورمون اکسین دارد (حافظ و همکاران ۲۰۱۳). با توجه به این مطالب می‌توان گفت افزایش جذب روی در حضور تیمارهای قارچی نسبت به تیمارهای شاهد احتمالاً به این دلیل باشد. به بیان دیگر احتمالاً قارچ *تریکوورما* با افزایش جذب روی، بصورت غیر مستقیم سعی در افزایش ریشه‌زایی در گیاهان تیمار شده جهت جذب آب داشته‌است (الاندر و همکاران ۱۹۹۲).

نتیجه گیری کلی

بهره‌گیری از روابط تکاملی ریزجانداران خاک از جمله قارچ‌ها می‌تواند در تعدیل تنش و حفظ گیاه در شرایط تنش کم آبی نقش بسزایی داشته باشد. نتایج این پژوهش نشان داد که گیاهان تیمار شده با قارچ نسبت به گیاهان تیمار نشده کمتر تحت تأثیر تنش کم آبی قرار گرفتند و وزن خشک بیشتری تولید نمودند. گونه‌های قارچی موجب تعدیل تنش کم آبی در گیاه گوجه فرنگی شده و منجر به افزایش جذب عناصر غذایی نیتروژن، فسفر، آهن و روی در گیاه مذکور شدند. بیشترین عملکرد گیاه (وزن خشک) مربوط به گیاهان تیمار شده

منابع مورد استفاده

- Altomare C, Norvell WA, Björkman T and Harman GE. 1999. Solubilization of phosphates and micronutrients by the plant-growth-promoting and biocontrol fungus *Trichoderma harzianum* Rifai 1295-22. *Applied and Environmental Microbiology*, 65:2926-2933.
- Ashraf A and Mehmood S. 1990. Response of four Brassica species to drought stress. *Environmental and Experimental Botany*, 30: 93-100.
- Augé RM. 2001. Water relations, drought and vesicular-arbuscular mycorrhizal symbiosis. *Mycorrhiza*, 11:3-42.
- Azarmi R, Hajieghrari B and Giglou A. 2011. Effect of *Trichoderma* isolates on tomato seedling growth response and nutrient uptake. *African Journal of Biotechnology*, 10: 5850-5855.
- Campbell GS and Gee GW. 1986. Water potential: miscellaneous methods. Pp. 619-633. In: *Methods of Soil Analysis: Part 1—Physical and Mineralogical Methods*, (methodsofsoilan1).
- Chacon MR, Rodriguez-Galan O, Benitez T, Sousa S, Rey M, Llobell A and Delgado-Jarana J. 2007. Microscopic and transcriptome analyses of early colonization of tomato roots by *Trichoderma harzianum*. *International Microbiology*, 10: 19-27.
- Cottenie A. 1980. Soil and Plant Testing as a Basis of Fertilizer Recommendation. *FAO soils bulletin*. 38: 94-100.
- Daszkowska-Golec A and Szarejko I. 2013. Open or close the gate—stomata action under the control of phytohormones in drought stress conditions. *Frontiers in Plant Science*. 4: 138-145
- Ekhvat M and Karimpour F. 1996. The effect of several antagonist fungi against *Fusarium solani* black Root caries of chickpea in greenhouse conditions. *Journal of Agricultural Science*, 27: 37 - 45. (In Persian).
- Elander K and Mukherji R. 1992. Fungal biotechnology, in: *Handbook of Applied Mycology*, Markel Dekker, New York. p. 4.
- Elad Y, Lifshitz R and Baker R. 1985. Enzymatic activity of the mycoparasite *Pythium nunn* during interaction with host and non-host fungi. *Physiological Plant Pathology*, 27: 131-148.
- Gee GW and Or D. 2002. Particle Size Analysis. In: Dane JH and Topp GC, Eds., *Methods of Soil Analysis, Part 4, Physical Methods*, Soils Science Society of America, Book Series No. 5, Madison, 255-293.
- Gupta PK. 2000. *Soil Plant Water and Fertilizer Analysis*. Agrobios pub. Bikaner. India.
- Hafeez B, Khanif YM and Saleem M. 2013. Role of zinc in plant nutrition-a review. *American journal of Experimental Agriculture*, 3: p.374.
- Hibbett DS, Binder M, Bischoff JF, Blackwell M, Cannon PF, Eriksson OE, Huhndorf S, James T, Kirk PM, Lücking R and Lumbsch HT. 2007. A higher-level phylogenetic classification of the Fungi. *Mycological Research*, 111:509-47.
- Khoshmanzar E. 2015. Effects of *Trichoderma* isolates on tomato growth and tolerance to water deficit stress in a loamy sand soil, Master's thesis, Faculty of Agriculture, Tabriz University. (In Persian).
- Malekoti M. 2000. Optimized fertilizer recommendation for Crops and Gardening. Technical Journal No. 200. Water and Soil Research Institute, Agricultural Education Publishing. (In Persian).
- Mohammadi Kh, Ghalavand A, Aghahalkhani M, Sohrabi Y and Heidari GR. 2010. Influens of chickpea seeds quality of increasing soil fertility different systems. *Journal of Crop Production*, 3: 103-119. (In Persian).
- Nzanza B, Marais D and Soundy P. 2012. Yield and nutrient content of tomato (*Solanum lycopersicum* L.) as influenced by *Trichoderma harzianum* and *Glomus mosseae* inoculation. *Science Horticulture*. 144: 55-59

- Olsen SR and Sommers LE. 1982. Phosphorus. pp 403-430. *In*: Page AL, Methods of Soil Analysis, Part 2. American Society of Agronomy, Soil Science Society of America. Madison, Wisconsin.
- Qi W and Zhao L. 2013. Study of the siderophore-producing *Trichoderma asperellum* Q1 on cucumber growth promotion under salt stress. *Basic Microbiology*. 53: 355–364.
- Page AL. 1982. Methods of Soil Analysis. Part 2. Chemical and Microbiological Properties. Soil Science Society of America.
- Li RX, Cai F, Pang G, Shen QR, Li R and Chen W. 2015. Solubilisation of phosphate and micronutrients by *Trichoderma harzianum* and its relationship with the promotion of tomato plant growth. *PLoS One*. 10(6): e013008
- Rowell D. 1994. *Soil Science: Method and Application*. Longman Scientific and Technical, Wiley, UK. P. 350.
- Rudresh DL, Shivaprakash MK and Prasad RD. 2014. Effect of combined application of *Rhizobium*, phosphate solubilizing bacterium and *Trichoderma* spp. on growth, nutrient uptake and yield of chickpea (*Cicer aritenium* L.) *Applied Soil Ecology*. 28 :139-146.
- Sainz MJ, Taboada-Castro MT and Vilarino A. 1998. Growth, mineral nutrition and mycorrhizal colonization of red clover and cucumber plants grown in a soil amended with composted urban wastes. *Plant and Soil*. 205: 85-92.
- Shoresh M, Mastouri F and Harman GE. 2010. Induced systemic resistance and plant responses to fungal biocontrol agents. *Annual Review of Phytopathology*. 48: 21–43.
- Singh J and Patal A. 1996. Water Statues, gaseous exchange, proline accumulation and yield of wheat in response to water stress. *Annual of Biology Ludhiana* 12: 77-81.
- Singh V, Singh P, Yadav R, Awasthi S, Joshi B, Singh R, Lal R and Duttamajumder S. 2010. Increasing the efficacy of *Trichoderma harzianum* for nutrient uptake and control of red rot in sugarcane. *Journal of Horticulture and Forestry* 2: 66–71.
- Shukla N, Awasthi RP, Rawat L and Kumar J. 2012. Biochemical and physiological responses of rice (*Oryza sativa* L.) as influenced by *Trichoderma harzianum* under drought stress. *Plant Physiology and Biochemistry*, 54:78-88.
- Taekim J, Park IH, HahumYI and Hun Yu S. 2001. Crown and root rot of greenhouse tomato caused by *Fusarium oxysporum*. *Plant Pathology*, 17: 299-294.
- Waling I, Vark W, Houba V and Van J. 1989. *Soil and Plant Analysis, a series of syllabi*. Part 7. *Plant Analysis Procedures*. Wageningen Agriculture University, Netherland.
- Westerman G. 1990. *Soil Testing and Plant Analysis*. Soil Science Society of America. INC. Madison, Wisconsin, USA.
- Westgate ME. 1994. Water statues and development of the maize endosperm and embryo during drought. *Crop Science*, 34: 76-83.
- Woo SL, Scala F, Ruocco M and Lorito M. 2006. The molecular biology of the interactions between *Trichoderma* spp. phytopathogenic fungi, and plants. *Phytopathology*. 96: 181-185.
- Li YT, Hwang SG, Huang YM and Huang CH. 2018. Effects of *Trichoderma asperellum* on nutrient uptake and Fusarium wilt of tomato. *Crop Protection*, 110:275-82.