

## بررسی پایداری قارچ تریکودرما در خاک‌های مختلف و تأثیر آن بر بهبود رشد گیاه خیار

۱. آمنه مظلومی لیلی؛ ۲. حمیدرضا علیزاده\*؛ ۳. ناصر برومند؛ ۴. ذبیح‌الله اعظمی ساردوئی  
۱، ۲ و ۴. دانشجوی کارشناسی ارشد رشته بیماری‌شناسی گیاهی و استادیاران گروه گیاه‌پزشکی دانشگاه جیرفت  
۳. استادیار گروه علوم خاک، دانشگاه جیرفت  
(تاریخ دریافت: ۱۳۹۴/۷/۲۱ - تاریخ تصویب: ۱۳۹۴/۸/۳۰)

### چکیده

گونه‌های جنس تریکودرما از عوامل مهم بهبوددهنده رشد گیاهان هستند و شناسایی شرایط بهینه خاک برای بهبود فعالیت آن‌ها سودمند است. در این پژوهش تأثیر پنج سویه از گونه‌های مختلف جنس تریکودرما شامل: *T. asperellum* T34، *T. harzianum* T22، *Trichoderma harzianum* Tr6، *T. harzianum* Tr9 و *T. atroviride* P1 در شرایط گلخانه روی گیاه خیار بررسی شدند و استرین برتر به‌منظور بررسی تأثیر آن بر بهبود رشد گیاه خیار و نیز ارزیابی پایداری آن در خاک‌های مختلف شامل: خاک نرمال، خاک دارای کمبود عنصر فسفر و پتاسیم، خاک قلیایی، خاک با دو سطح شوری و خاک اسیدی آزمایش شد. نتایج آزمایش‌ها نشان داد که تأثیر قارچ مزبور در خاک‌های دارای تنش‌های شوری و کمبود عناصر پتاسیم و فسفر بر صفات رشدی مورد بررسی در گیاه خیار به لحاظ آماری معنی‌دار بوده است. بیشترین و کمترین میانگین فراوانی جمعیت قارچ به ترتیب در خاک اسیدی و خاک خیلی شور به‌دست آمد. در نهایت، می‌توان نتیجه گرفت که یکی از دلایل پایین‌بودن جمعیت تریکودرما در برخی خاک‌ها مناسب‌نبودن شرایط خاک است و در صورت ترمیم جمعیت آن از طریق افزودن سویه‌های موفق قارچ به خاک، می‌تواند در خاک‌های تحت تنش، رشد گیاهان را بهبود بخشد.

**کلیدواژگان:** بهبود رشد، پایداری، تریکودرما، خیار، شرایط خاک.

### مقدمه

موجود در محیط خاک و ریشه از خصوصیات مهم گونه‌های مختلف جنس تریکودرما به‌حساب می‌آید (Altomare et al. 1999, Harman et al. 2004). گونه‌های مختلف جنس تریکودرما به‌عنوان عامل مهارکننده زیستی علیه دامنه بسیار وسیعی از عوامل زنده بیماریزا مانند باکتری‌ها، پروتوزوآها، نماتدها و حتی ویروس‌ها معرفی شده‌اند (Khan et al. 2011, Papavizas 1985, Kubicek et al. 2001, Contreras-Cornejo et al. 2009). تریکودرما به‌طور غیرمستقیم به‌عنوان محرک رشد گیاهان عمل می‌کند (Bailey and

تریکودرما قارچی خاکزی، فرصت‌طلب، غیربیماریزا، هم‌زیست با ریشه گیاهان است و به‌دلیل تنوع متابولیسمی و قدرت رقابتی بالا در بیشتر مناطق از موجودات غالب میکوفلور خاک است و جزو متداول‌ترین قارچ‌های قابل کشت است و به‌آسانی تکثیر می‌شود (Kaewchai et al. 2010, Morgan 2011). توان ترشح آنزیم‌های مختلف خارج‌سلولی در خاک، توان بالای کلنیزاسیون<sup>۱</sup> فراریشه، قدرت هم‌زیستی در ریشه، توان اسپورزایی زیاد، تحمل به شوری و سایر ترکیبات

### مواد و روش‌ها

نمونه‌های خاک در اسفندماه ۱۳۹۲، از عمق ۳۰-۰ سانتی‌متر خاک‌های زراعی مزارع منطقه جیرفت، همچنین، از منطقه شمال کشور، شهرستان لاهیجان، جمع‌آوری شدند. بافت خاک بر پایه قانون استوکس و به روش هیدرومتر تعیین شد (Baycos 1962). ماده آلی به روش اکسایش با اسید کرومیک و سپس، تیتره کردن با فروآمونیم سولفات اندازه‌گیری شد (Nelson and Samerze 1982). اسیدیته خاک با استفاده از دستگاه pH meter (Thomas et al. 1996) تعیین شد، قابلیت هدایت الکتریکی با هدایت‌سنج الکتریکی انجام شد (Rodeze 1996). مقدار پتاسیم قابل جذب به روش اسنات آمونیم (Page et al. 1982) و قرائت آن با دستگاه فلویم فتومتر و مقدار فسفر قابل جذب به روش رنگ‌سنجی تعیین شد (Olsen and Sommers 1982) (جدول ۱).

#### تهیه زادمایه سویه‌های تریکودرما

پنج استرین تریکودرما از کلکسیون قارچ‌شناسی گروه گیاه‌پزشکی، دانشگاه تهران، تهیه شد. این استرین‌ها شامل: *T. harzianum* Tr6، *T. harzianum* T22، *T. asperellum* T34، *T. atroviride* P1 و *T. harzianum* Tr9 بودند. برای تهیه زادمایه از استرین‌های مختلف، ابتدا کشت استرین‌ها روی تشتک‌های پتری حاوی محیط کشت PDA<sup>۱</sup> انجام شد. سپس، به ارلن‌های حاوی مقدار ۲۰/۳۳ گرم بذر ارزن که با ۱۲ میلی‌لیتر آب مقطر مرطوب و در دمای ۱۲۰ درجه سلسیوس و فشار ۱ اتمسفر دوبار در فاصله ۲۴ ساعت اتوکلاو شده بود، چهار تا پنج قرص (به قطر ۶ میلی‌متر) از قارچ اضافه شد و به‌خوبی تکان داده شد. سپس، ارلن‌های بذور ارزن تلقیح شده به مدت دو هفته در انکوباتور ۲۴ درجه سلسیوس قرار داده شدند که ارلن‌ها به‌صورت روزانه بازدید و تکان داده می‌شد. پس از رشد مناسب قارچ، این زادمایه‌ها تا شروع آزمون گلخانه‌ای در دمای ۴ درجه سلسیوس در یخچال نگه‌داری شدند.

#### انتخاب استرین بهبوددهنده رشد

برای انتخاب استرین تریکودرمای بهبوددهنده رشد، از

(Lumsden 1998). علاوه بر این، تریکودرما هزینه‌های تولید، تأثیرات مضر زیست‌محیطی و تأثیرات مضر شوری خاک را کاهش می‌دهد (Poosapati et al. 2013). گونه‌های مختلف تریکودرما از جمله *T. harzianum* با بر خورداری همزمان از خصوصیات مثل میکوپارازیتسم<sup>۱</sup>، آنتی‌بیوز<sup>۲</sup> و قابلیت رقابت ساپروفیتی<sup>۳</sup> می‌توانند جمعیت قارچ‌های بیمارگر را به میزان چشمگیری کاهش دهند (Bjorkman et al. 1998). ولی در شرایط طبیعی عموماً به دلیل پایین بودن جمعیت در خاک، نمی‌تواند به نحو مؤثری در کنترل بیماری‌های قارچی مؤثر باشد، به این دلیل در سال‌های اخیر محصولات تجارتي متعددی از استرین‌های مؤثر تریکودرما به بازار عرضه شده‌اند که می‌توان با اضافه کردن آن‌ها به خاک جمعیت تریکودرما را به‌طور چشمگیری افزایش داد (Copping 1998). وجود مواد مغذی کافی در خاک برای رشد و دوام قارچ تریکودرما ضروری است و کمبود آن که در نتیجه فعالیت موجودات زنده میکروسکوپی موجود در خاک است، پدیده‌ای طبیعی به‌شمار می‌آید که می‌تواند بر بقای جمعیت و روند رشد آن مؤثر باشد (Lockwood 1977). طبق گزارش‌های موجود، قارچ تریکودرما خطرهای ناشی از تنش‌ها را کاهش می‌دهد و باعث افزایش تحمل گیاه در برابر تنش‌های زنده و غیرزنده می‌شود (Harman et al. 2004, 2012b, 2000a). با توجه به مشکلاتی مانند شوری، قلبایی بودن، کمبود عناصر و فقر خاک که در خاک‌های کشور ما وجود دارد، انجام تحقیقاتی درباره استفاده از مهارکننده‌های زیستی ضروری است که علاوه بر کنترل مؤثر بیمارگرهای خاکزاد می‌تواند به کاهش تأثیرات این تنش‌ها و بهبود رشد گیاهان کمک کند. در این تحقیق، ارزیابی کارایی قارچ تریکودرما در بهبود رشد خیار در خاک‌های با شرایط فیزیکی و شیمیایی متفاوت بررسی شد. همچنین، پایداری سویه *Trichoderma harzianum* Tr6 در خاک‌های متفاوت با شرایط مختلف ارزیابی شد.

1. Mycoparasitism
2. Antibiosis
3. Competitive Saprophytic Ability

میلی گرم رز بنگال و ۱۸ گرم آگار در ۱ لیتر آب مقطر آماده و پس از سترون کردن ۳۰ میلی گرم سولفات استریتومایسین و ۰/۲ میلی لیتر فرمالدهید به آن اضافه شد (Davet and Rouxel 2000). ۱۰ گرم خاک از منطقه اطراف ریشه را با ۹۰ میلی لیتر آب مقطر داخل ارلن مایر به حالت سوسپانسیون در آورده و به مدت ۲۰ دقیقه روی دستگاه شیکر ۱۵۰ دور در دقیقه قرار داده شد. سپس، سری رقت‌های مختلف تهیه شد و از هر رقت ۱۰۰ میکرولیتر با استفاده از میله‌های L شکل روی سطح محیط کشت انتخابی پخش شد. برای هر رقت سه تکرار در نظر گرفته شد. ۴۸ ساعت بعد از انکوباسیون در ۲۴ درجه سلسیوس، کلونی‌های تریکودرما رشد یافته در سطح محیط کشت شمارش شدند. برای هر تیمار در سه دوره زمانی ۱۴، ۲۱ و ۲۸ روز پس از تلقیح خاک با تریکودرما جمعیت ارزیابی شد.

#### بررسی بهبود شاخص‌های رشدی گیاه خیار

پس از برداشت گیاهان و شست‌وشوی ریشه‌ها توسط آب مقطر، به ترتیب وزن تر اندام‌های هوایی و ریشه، طول ریشه و ارتفاع ساقه برای تمام تیمارهای با تریکودرما و بدون تریکودرما اندازه‌گیری و محاسبه شد. سپس، نمونه‌ها برای خشک شدن درون آون دمای ۷۵ درجه سلسیوس به مدت ۲۴ ساعت قرار داده شد و پس از خشک شدن وزن خشک ارزیابی شد. وزن تر و خشک گیاهان توسط ترازو با دقت ۰/۰۰۱ گرم اندازه‌گیری شد. آنالیز داده‌ها با روش تجزیه واریانس به کمک نرم‌افزار SAS و MSTATC و گروه‌بندی تیمارها با استفاده از آزمون چند دامنه‌ای دانکن در سطح احتمال ۵ درصد انجام شد.

#### نتایج

خصوصیات فیزیکی و شیمیایی خاک‌های مختلف مورد بررسی در این پژوهش در جدول ۱ آمده است.

#### آزمون انتخاب سویه مؤثر تریکودرما

وزن گیاهچه‌ها بعد از ۲۱ روز در تیمارهای تلقیح شده با استرین‌های Tr6، T34، Tr9، P1، T22 و شاهد به ترتیب ۲/۸، ۱/۸، ۰/۷۸، ۱/۰۵، ۰/۷۰ و ۰/۶ گرم و طول ریشه به ترتیب ۶، ۴/۳، ۴/۰۵، ۴/۳ و ۳/۶ و ۳ سانتی متر بود. نتایج

خاکی با مشخصات  $pH=7/7$ ،  $EC=4/8$  و با بافت لومی استفاده شد. خاک‌های مورد استفاده دوبار به فاصله ۲۴ ساعت در فشار ۱ اتمسفر و دمای ۱۲۰ درجه سلسیوس به مدت ۲۰ دقیقه سترون شدند؛ به هر کیلوگرم خاک ۴/۴۵ گرم زادمایه قارچ اضافه شد که روی بذر ارزن تهیه شده بود. برای هر استرین سه گلدان با ظرفیت ۱۰۰ گرم خاک انتخاب و با خاک تلقیح شده پر شد. سپس، در هر گلدان یک بذر خیار هیبرید رقم سوپر دامینوس<sup>۱</sup> کشت شد. بذور خیار قبل از کشت به مدت ۳۰ ثانیه در هیپوکلریت سدیم ۱ درصد ضد عفونی سطحی و سپس، سه بار با آب مقطر سترون شست‌وشو شدند (Khan et al. 2004). بذور ضد عفونی شده به مدت ۲۴ ساعت در شرایط مرطوب برای جوانه‌دار شدن قرار داده شدند. در تیمار شاهد بذور سترون ارزن اضافه شد. سپس، گلدان‌ها به مدت ۲۰ روز در گلخانه با دمای ۱۸-۲۲ درجه سلسیوس نگهداری شدند.

#### تلقیح خاک‌های مختلف با تریکودرما و کشت گیاه

در این آزمایش از خاک سترون استفاده شد و برای هر تیمار سه تکرار با تریکودرما و سه تکرار بدون تریکودرما در نظر گرفته شد؛ به هر کیلوگرم خاک، ۴/۴ گرم زادمایه Tr6 تهیه شده روی بذر ارزن اضافه شد و کاملاً مخلوط شد. برای هر تیمار شش گلدان متوسط پلاستیکی انتخاب و با خاک‌های مایه‌کوبی پر شد. قبل از شروع به کاشت بذور خیار، گلدان‌ها آبیاری شدند. سپس، بذور ضد عفونی شده و جوانه‌دار شده خیار در گلدان‌ها کشت و در گلخانه با دمای ۲۵ درجه سلسیوس نگهداری شدند. این آزمون با ۱۴ تیمار شامل هفت نوع خاک (جدول ۱) با دو سطح تلقیح با تریکودرما و بدون تلقیح با تریکودرما بودند.

#### بررسی تغییرات جمعیت تریکودرما در خاک‌های

##### مختلف در طی زمان

تعیین جمعیت تریکودرما به روش سری رقت خاک با استفاده از محیط کشت انتخابی مک‌فادن و ساتن<sup>۲</sup> انجام شد. برای تهیه این محیط کشت، ۱ گرم  $KH_2PO_4$ ، ۰/۵ گرم  $MgSO_4$ ، ۵ گرم پپتون، ۱۰ گرم گلوکز، ۱۷

1. Super Dominus

2. Mc Fadden and Sutton's RB-S-F

مقایسه میانگین نشان داد که همه تیمارها با شاهد اختلاف معنی‌دار داشتند. همچنین، بیشترین وزن مربوط به تیمار با استرین Tr6 بود که در سطح احتمال ۵ درصد با بقیه تیمارها اختلاف معنی‌دار نشان داد (شکل ۱).

جدول ۱. خصوصیات فیزیکی و شیمیایی خاک‌های مختلف مورد بررسی در این پژوهش

خاک با شرایط طبیعی (نرمال)	خاک کمبود عنصر فسفر*	خاک کمبود عنصر پتاسیم*	خاک قلیایی	خاک شور (EC=4ds/m)	خاک خیلی شور (EC≥4ds/m)	خاک اسیدی	
۷	۷/۵	۷/۵	۹	۷/۲	۷/۴	۵/۶	pH
۱/۵	۱/۸	۲/۶	۲/۵	۴/۷	۱۲/۴	۰/۸	EC (ds/m)
۰/۷	۰/۴	۰/۴	۰/۳	۰/۵	۰/۴	۱	درصد ماده آلی
شنی - لومی	شنی - لومی	شنی - لومی	لومی - شنی	لومی - شنی	لوم	رسی - سیلتی	بافت

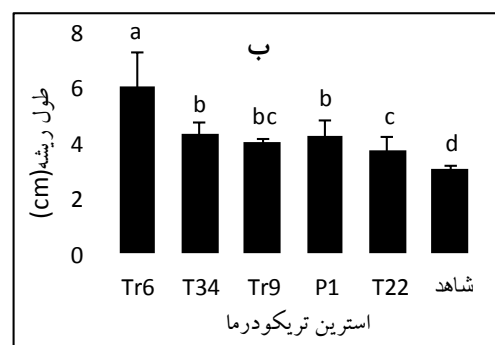
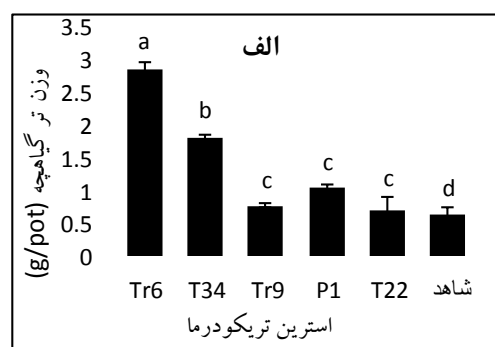
\* میزان فسفر و پتاسیم در تیمارهای با کمبود عناصر فسفر و پتاسیم به ترتیب شامل ۸ و ۱۲ میلی‌گرم بر کیلوگرم بود.

### بهبوددهندگی شاخص‌های رشدی خیار در خاک‌های

#### مختلف توسط سویه Tr6 *T. harzianum*

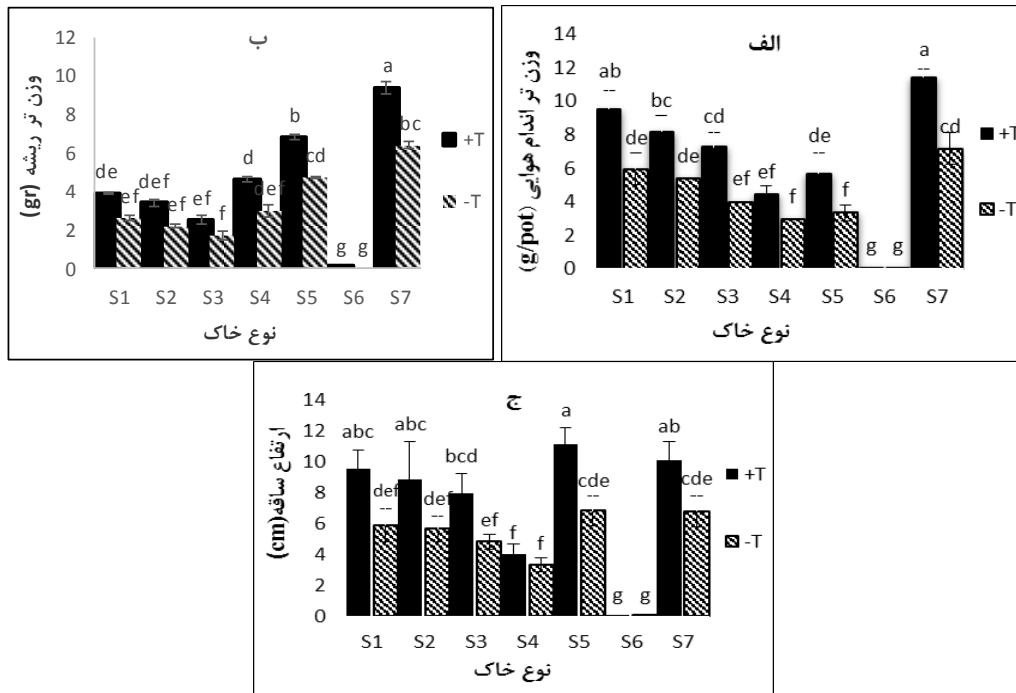
برداشت داده‌ها و اندازه‌گیری صفات مورد نظر بعد از گذشت ۲۸ روز از کاشت گیاهان انجام شد. نتایج مقایسه میانگین داده‌های به‌دست‌آمده نشان داد که تأثیر استرین *T. harzianum* Tr6 بر وزن تر گیاه به‌ترتیب در خاک اسیدی، خاک نرمال، خاک دارای کمبود عنصر فسفر، کمبود عنصر پتاسیم، خاک شور و خاک قلیایی با افزایش ۶۰، ۶۱، ۵۰، ۵۰، ۸۰، ۶۹ و ۵۱ درصد و وزن تر ریشه با ۴۶، ۵۰، ۵۴، ۴۷، ۴۴ و ۵۳ درصد و ارتفاع ساقه به‌ترتیب با ۴۸، ۶۱، ۵۷، ۶۶، ۶۲ و ۲۱ درصد افزایش نسبت به شاهد داشت. استرین Tr6 بر وزن تر گیاه، وزن تر ریشه و ارتفاع ساقه به‌ترتیب در تیمار خاک با شرایط کمبود عنصر پتاسیم، کمبود عنصر فسفر و خاک شور بیشترین درصد بهبوددهندگی را به خود اختصاص داد (شکل ۲).

وزن خشک نمونه‌ها اندازه‌گیری شد و نتایج نشان داد که درصد بهبود وزن خشک گیاهچه‌های تیمار شده با تریکودرما نسبت به شاهد در خاک اسیدی، خاک نرمال، خاک تحت شرایط کمبود عنصر فسفر، خاک دارای کمبود عنصر پتاسیم، خاک شور و خاک قلیایی به‌ترتیب ۴۲، ۴۵، ۴۴، ۵۰، ۶۰ و ۵۰ درصد و در وزن خشک ریشه با افزایش ۴۴، ۷۶، ۱۶، ۱۸، ۶۶ و ۷۴ درصد بودند. بیشترین تأثیر بهبوددهندگی قارچ بر وزن خشک گیاهچه‌ها و وزن خشک ریشه به‌ترتیب در تیمار خاک نرمال و خاک شور بوده است (شکل ۳).

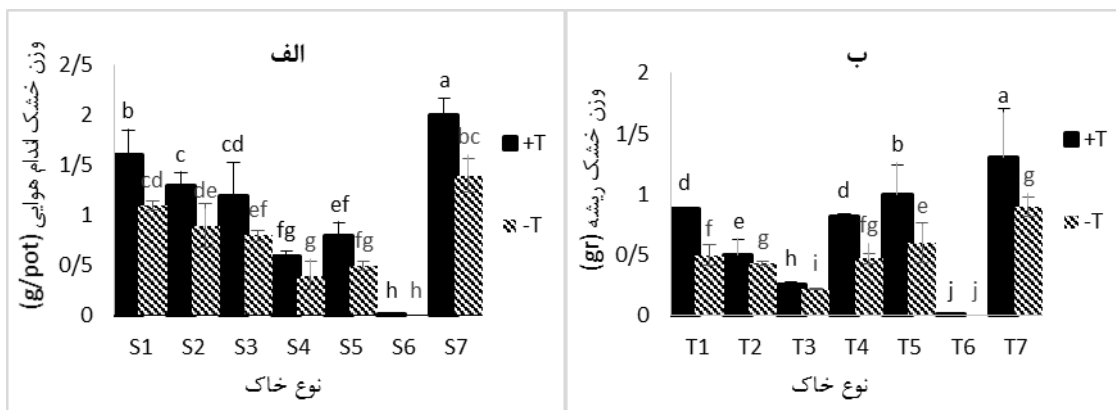


شکل ۱. تأثیرات بهبوددهندگی رشدی استرین‌های تریکودرما بر (الف) وزن کل گیاه، (ب) طول ریشه خیار. داده‌های به‌دست‌آمده پس از تجزیه واریانس با آزمون چنددامنه‌ای دانکن گروه‌بندی شدند. ستون‌های دارای حروف مشابه اختلاف معنی‌داری ندارند ( $P \leq 0.05$ ).

به‌طور کلی نتایج این مرحله نشان داد که استرین‌های مختلف تریکودرما دارای تأثیرات بهبوددهندگی بر رشد گیاه خیار هستند. با توجه به نتایج مذکور می‌توان گفت که سویه Tr6 در این آزمایش مؤثرترین استرین از نظر بهبوددهندگی برخی شاخص‌های رشدی گیاه خیار بود و برای مرحله بعدی آزمایش انتخاب شد.



شکل ۲. نتایج مقایسه میانگین برخی صفات مورد بررسی در خاک‌های مختلف تحت تأثیر قارچ *Trichoderma harzianum* Tr6 پس از ۲۸ روز. (الف) وزن تر اندام هوایی، (ب) وزن تر ریشه و (ج) ارتفاع ساقه. +T (تلقیح با تریکودرما)، -T (بدون تریکودرما). S1 (خاک با شرایط طبیعی)، S2 (خاک با کمبود فسفر)، S3 (خاک با کمبود پتاسیم)، S4 (خاک قلیایی)، S5 (EC=4ds/m)، S6 (EC≥4ds/m) و S7 (خاک اسیدی). ستون‌های دارای حروف مشابه اختلاف معنی‌داری ندارند ( $P \leq 0.05$ ).



شکل ۳. نتایج مقایسه میانگین صفات مورد بررسی در خاک‌های مختلف تحت تأثیر قارچ *Trichoderma harzianum* Tr6 پس از ۲۸ روز. (الف) وزن خشک اندام هوایی، (ب) وزن خشک ریشه. +T (تلقیح با تریکودرما)، -T (بدون تریکودرما). S1 (خاک نرمال)، S2 (خاک با کمبود فسفر)، S3 (خاک با کمبود پتاسیم)، S4 (خاک قلیایی)، S5 (EC=4ds/m)، S6 (EC≥4ds/m) و S7 (خاک اسیدی). ستون‌های دارای حروف مشابه اختلاف معنی‌داری ندارند ( $P \leq 0.05$ ).

محسوب می‌شوند و در بقا و پایداری این قارچ مؤثرند. همان‌گونه که پژوهشگران گزارش کرده‌اند اسیدیته خاک و هدایت الکتریکی، در دوام، رشد رویشی و زایشی تریکودرما مؤثرند (فانی ۱۳۹۰). بدین منظور پس از تلقیح خاک‌های مختلف با تریکودرما در سه دوره زمانی

### تغییرات جمعیت سویه *T. harzianum* Tr6 در خاک‌های مختلف

میزان اسیدیته و شوری خاک از شاخص‌های مهم زیست‌محیطی مؤثر بر فعالیت موجودات زنده میکروسکوپی موجود در خاک از جمله تریکودرما

از سایر خاک‌ها بوده است (شکل ۴. ب). بنابراین، در این دوره، خاک اسیدی و خاک خیلی شور به ترتیب با  $۴/۳ \times ۱۰^۳$  و  $۲/۴ \times ۱۰^۲$  زادمایه بیشترین و کمترین میانگین جمعیت قارچ را نشان دادند (جدول ۲).

در هفته چهارم پس از مایه‌کوبی خاک با تریکودرما، نتایج مقایسه میانگین‌ها نشان داد که جمعیت زادمایه‌های قارچ در خاک‌های مذکور به ترتیب  $۲/۵ \times ۱۰^۲$ ،  $۲/۸ \times ۱۰^۲$ ،  $۲/۸ \times ۱۰^۲$ ،  $۳/۴ \times ۱۰^۲$ ،  $۳/۸ \times ۱۰^۳$ ،  $۲/۳ \times ۱۰^۲$  و  $۲ \times ۱۰^۲$  بودند (جدول ۲). مقایسه میانگین‌ها در این دوره نشان داد که جمعیت قارچ در خاک نرمال، خاک با کمبود پتاسیم، خاک قلیایی، خاک خیلی شور و خاک اسیدی نسبت به یکدیگر در سطح احتمال ۵ درصد اختلاف معنی‌دار داشت. جمعیت قارچ در این دوره در تیمارهای دارای کمبود عنصر فسفر و پتاسیم (به تفکیک)، خاک قلیایی، خاک شور و خاک اسیدی سیر نزولی کنده داشته است. سیر نزولی جمعیت قارچ در این دوره در خاک خیلی شور روند سریع‌تری را نسبت به سایر تیمارها نشان داد (شکل ۴. ج). در این دوره از آزمون بیشترین و کمترین جمعیت قارچ با میانگین  $۳/۸ \times ۱۰^۳$  و  $۲ \times ۱۰^۲$  زادمایه در هر گرم خاک خشک به ترتیب مربوط به تیمار خاک اسیدی و خاک خیلی شور بود (جدول ۲). سایر تیمارها از نظر میانگین جمعیت و درصد بقا وضعیت حد واسطی را در پایان دوره آزمایش نشان دادند. همچنین، جمعیت قارچ در تیمارهای مختلف بدون تریکودرما در دوره‌های زمانی مختلف ۱۴، ۲۱ و ۲۸ روز صفر بوده است.

۱۴، ۲۱ و ۲۸ روز میزان جمعیت این قارچ ارزیابی شد. نتایج مقایسه میانگین جمعیت قارچ در خاک‌های مختلف بعد از ۱۴ روز نشان داد که زادمایه استرین Tr6 به ترتیب در خاک اسیدی، خاک نرمال، خاک شور، خاک با شرایط کمبود عنصر فسفر، خاک تحت شرایط کمبود عنصر پتاسیم، خاک قلیایی و خاک خیلی شور  $۵/۳ \times ۱۰^۴$ ،  $۴/۴ \times ۱۰^۳$ ،  $۳/۹ \times ۱۰^۳$ ،  $۳/۴ \times ۱۰^۲$ ،  $۳/۲ \times ۱۰^۲$ ،  $۲/۸ \times ۱۰^۲$  و  $۲/۶ \times ۱۰^۲$  بود (جدول ۲). نتایج مقایسه میانگین‌ها در این دوره نشان داد که جمعیت قارچ به جز در خاک اسیدی، خاک نرمال و خاک شور در سایر خاک‌ها روند کاهشی داشت و اختلاف معنی‌داری با جمعیت اولیه قارچ در سطح احتمال ۵ درصد نشان داد (شکل ۴. الف). بنابراین، در این دوره، خاک اسیدی و خاک خیلی شور با  $۵/۳ \times ۱۰^۴$  و  $۲/۶ \times ۱۰^۲$  زادمایه به ترتیب بیشترین و کمترین میانگین جمعیت را به خود اختصاص دادند (جدول ۲).

در دوره زمانی دوم آزمایش (سه هفته پس از تلقیح خاک) جمعیت قارچ در خاک‌های مذکور به ترتیب  $۴/۳ \times ۱۰^۳$ ،  $۴/۳ \times ۱۰^۳$ ،  $۴/۰ \times ۱۰^۳$ ،  $۳/۲ \times ۱۰^۲$ ،  $۳/۳ \times ۱۰^۲$ ،  $۲/۹ \times ۱۰^۲$  و  $۲/۶ \times ۱۰^۲$  بودند. نتایج مقایسه میانگین‌ها در این دوره نشان داد که در تمام خاک‌ها کاهش جمعیت قارچ اتفاق افتاده است. در صورتی که، جمعیت قارچ در این دوره در تیمارهای خاک نرمال، خاک قلیایی، خاک خیلی شور و خاک اسیدی نسبت به سایر تیمارها در سطح احتمال ۵ درصد اختلاف معنی‌دار نشان دادند و کاهش جمعیت در خاک خیلی شور بیشتر

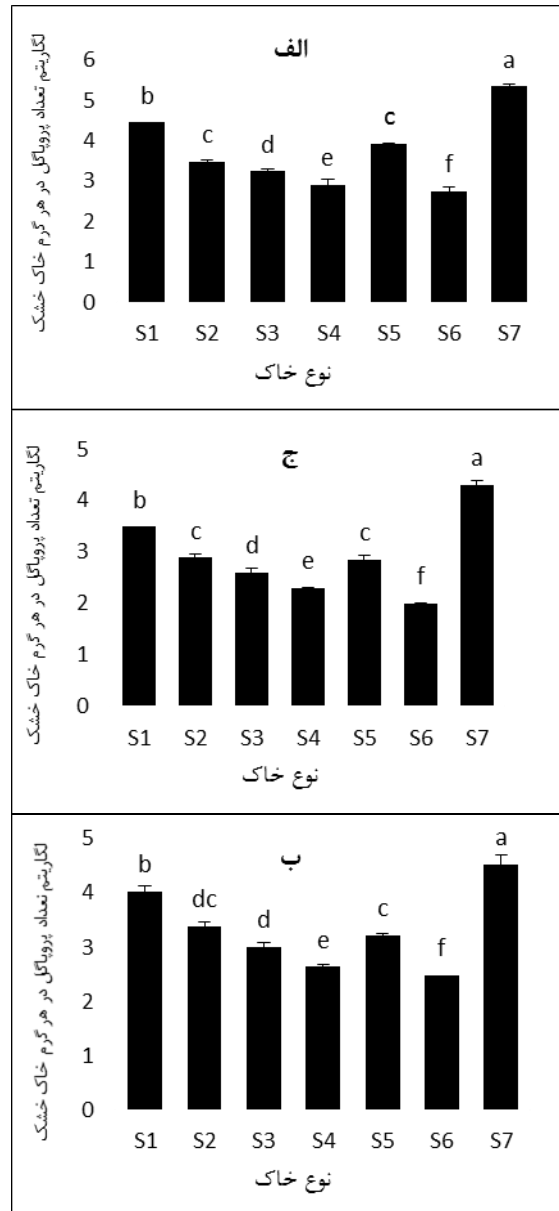
جدول ۲. مقایسه میانگین بقای زادمایه *Tharziaum* Tr6 در خاک‌های مختلف در مدت ۲۸ روز\*

تیمار	روز ۱۴	روز ۲۱	روز ۲۸
S1	$۴/۴ \times ۱۰^۳$	$۴/۰ \times ۱۰^۳$	$۳/۴ \times ۱۰^۲$
S2	$۳/۴ \times ۱۰^۲$	$۳/۳ \times ۱۰^۲$	$۲/۸ \times ۱۰^۲$
S3	$۳/۲ \times ۱۰^۲$	$۲/۹ \times ۱۰^۲$	$۲/۵ \times ۱۰^۲$
S4	$۲/۸ \times ۱۰^۲$	$۲/۶ \times ۱۰^۲$	$۲/۳ \times ۱۰^۲$
S5	$۳/۹ \times ۱۰^۲$	$۳/۲ \times ۱۰^۲$	$۲/۸ \times ۱۰^۲$
S6	$۲/۶ \times ۱۰^۲$	$۲/۴ \times ۱۰^۲$	$۲/۰ \times ۱۰^۲$
S7	$۵/۳ \times ۱۰^۴$	$۴/۳ \times ۱۰^۳$	$۳/۸ \times ۱۰^۳$

\* در خاک‌های مختلف مورد آزمایش جمعیت اولیه (زمان صفر) برابر  $۲/۶ \times ۱۰^۳$  (cfu/g) عدد در هر گرم خاک خشک بوده است. S1 (خاک نرمال)، S2 (خاک با کمبود فسفر)، S3 (خاک با کمبود پتاسیم)، S4 (خاک قلیایی)، S5 (EC=4ds/m)، S6 (EC≥4ds/m) و S7 (خاک اسیدی). میانگین‌هایی که در هر ردیف دارای حروف مشترک هستند با آزمون چنددامنه‌ای دانکن اختلاف معنی‌داری ندارند ( $P \leq 0.05$ ).

شرایط محیطی نامناسب (از جمله شوری) دارند، سازگار است. دیدیبا و همکارانش ۷۵ درصد افزایش طول ریشه ذرت را با کاربرد جدایه *T. harzianum* T-203 گزارش کردند (Yedidia et al. 2001). در بررسی دیگری نشان داده شد که مایه‌کوبی فلفل با سویه *T. harzianum* T203 سبب بهبود شاخص‌های رشدی ارتفاع گیاه، طول ریشه و وزن خشک گیاه به ترتیب به میزان ۲۳، ۴۷ و ۲۸ درصد شد و گیاهان مایه‌کوبی‌شده نسبت به گروه شاهد رشد بهتر، قوی‌تر و کلروفیل بالاتری داشتند (Joshi et al. 2010). در بررسی‌های انجام‌شده گزارش شده است که مایه‌کوبی سویه *T. harzianum* PC01 در تربچه چینی تحت شرایط شوری خاک، باعث بهبود، به ترتیب ۷۷ و ۵۶ درصدی وزن تر و خشک اندام‌های هوایی گیاه نسبت به گروه شاهد شده است (Phuwawat and Soyong 1999). در مطالعه‌ای دیگر اثر بهبوددهندگی رشد نهال کاکائو با حضور جدایه *T. asperellum* PR11 در بستر پیت و ماسه (۱:۱w.w) به مدت ۱۸ هفته در کشت گلخانه‌ای بررسی شد که ارتفاع بوته، وزن تر ریشه و وزن تر ساقه را به ترتیب ۴۱ سانتی‌متر، ۸ و ۱۶/۵ گرم نسبت به گروه شاهد افزایش داد (Tchameni et al. 2011). همچنین، یافته‌های رودرش و همکارانش ثابت کرد که به‌کارگیری ریزوبیوم و گونه‌های مختلف تریکودرما باعث افزایش جذب عناصر پتاسیم و فسفر گیاه می‌شود (Rodersh et al. 2005).

با توجه به نتایج بیان‌شده می‌توان گفت گذشته از اینکه قارچ تریکودرما استرین Tr6 در شرایط طبیعی و نیز اسیدی (شرایط بهینه برای رشد گیاه) به بهبود معنی‌دار شاخص‌های رشدی گیاه منجر می‌شود، در خاک‌های دارای تنش‌های شوری، کمبود عناصر پتاسیم و فسفر نیز تأثیر قارچ تریکودرما بر صفات مورد نظر در آزمایش چشمگیر و به لحاظ آماری معنی‌دار بوده است. همچنین، میزان شوری بالا در تیمار S6 مانع جوانه‌زنی و رشد بذور و بوته‌های خیار شد؛ بنابراین، از این تیمار داده‌ای به دست نیامد. همچنین، با توجه به تجزیه و تحلیل داده‌های این تحقیق مشاهده شد که بزرگ‌ترین مزیت مایه‌کوبی گیاهان خیار با قارچ *T. harzianum* Tr6 تحت شرایط شوری و کمبود عناصر خاک است؛ این بدان مفهوم است که قارچ تریکودرما در شرایط



شکل ۴. اثر خاک‌های مختلف روی دینامیک جمعیت و میزان بقای *Trichoderma harzianum* Tr6 (الف) دوره زمانی اول (۱۴ روز)، (ب) دوره زمانی دوم (۲۱ روز) و (ج) دوره زمانی سوم (۲۸ روز). S1 (خاک با شرایط طبیعی)، S2 (خاک با کمبود فسفر)، S3 (خاک با کمبود پتاسیم)، S4 (خاک قلیایی)، S5 (خاک شور)، S6 (خاک خیلی شور) و S7 (خاک اسیدی). ستون‌های دارای حروف مشابه اختلاف معنی‌داری ندارند ( $P \leq 0.05$ ).

### بحث و نتیجه‌گیری

نتایج بررسی اثر بهبوددهندگی تریکودرما بر صفات رشدی گیاه خیار در شرایط نامساعد محیطی با گزارش‌های سایر پژوهشگران مبنی بر اینکه گونه‌های مختلف تریکودرما نقش مهمی در تحمل گیاه در برابر

که جدایه‌های *T. harzianum* در اسیدیتۀ خاک بین ۴/۸ تا ۶/۸ رشد مطلوب دارند.

با توجه به نتایج این پژوهش و گزارش‌های قبلی می‌توان پذیرفت که تیمار خاک اسیدی با داشتن شوری و اسیدیتۀ پایین و نگهداری رطوبت و مواد آلی بالا نسبت به تیمار خاک خیلی شور و خاک قلیایی، فعالیت میکروبی بیشتری دارد و شرایط رشد بهتر رویشی را برای قارچ فراهم می‌کند و در نتیجه، جمعیت قارچ را نسبت به خاک‌های قلیایی و خیلی شور در هفته چهارم آزمایش بهتر حفظ می‌کند. شوری بالای خاک (S6) روی درصد بقای جمعیت و دینامیک جمعیت تأثیر می‌گذارد به نحوی که به نظر می‌رسد شرایط نامناسب خاک (شوری بالا) از طرفی باعث محدود شدن رشد ساپروفیتی قارچ و از طرف دیگر، موجب کاهش جوانه‌زنی اسپورها می‌شود؛ در نتیجه، جمعیت قارچ در طول زمان با نوعی بیلان منفی روبه‌رو می‌شود.

به این ترتیب در این آزمایش مشاهده شد که شوری بین ۰/۷۷ تا ۴/۷۷ میلی‌اکی‌والان گرم بهترین عملکرد را از نظر رشد قارچ، همچنین، از نظر عملکرد رشد رویشی گیاه داشته است (جدول ۲). بنابراین، قارچ تریکودرما علاوه بر توانایی حفظ گیاهان در مقابل شوری، کمبود عناصر خاک را نیز احتمالاً از طریق بهبود جذب مواد غذایی (عناصر فسفر و پتاسیم) جبران می‌کند. به این ترتیب تیمارهای مورد نظر (خاک با کمبود عنصر فسفر و کمبود پتاسیم) اگرچه به دلیل پایین بودن شوری خاک افزایش نسبی جمعیت قارچ داشتند، اما به دنبال آن بر اثر نامناسب بودن سایر خصوصیات خاک (کمبود عناصر) جمعیت کاهش یافت و باعث کاهش نسبی جمعیت قارچ در هفته پایانی شدند (جدول ۲). در نتیجه، با توجه به گزارش‌های قبلی و داده‌های این پژوهش می‌توان گفت، مواد مغذی کافی می‌تواند تأثیر مثبتی در بهبود رشد و دوام تریکودرما و همچنین، در بهبود رشد گیاهان داشته باشد.

#### نتیجه‌گیری کلی

در نهایت، با توجه به یافته‌های این پژوهش می‌توان پذیرفت که خاک‌های مختلف با شرایط متفاوت (شوری، اسیدیتۀ خاک، کمبود عناصر و مواد آلی خاک) در رشد

نامساعد باعث بهبود رشد و عملکرد گیاهان می‌شود. همچنین، توانایی تریکودرما در افزایش رشد گیاه با پارامترهایی مانند نوع گیاه، جدایۀ تریکودرما، روش تهیه و به‌کارگیری زادمایه، غلظت زادمایه و نوع خاک مرتبط است (Kleifeld and Chet 1992, Qusley *et al.* 1994).

با توجه به نتایج ارزیابی جمعیت تریکودرما در دوره‌های زمانی مختلف پس از تلقیح خاک، می‌توان گفت پس از مایه‌کوبی، جمعیت اولیه در ابتدا در خاک‌های مختلف تا حدودی در دورۀ اول حفظ شد و به دنبال آن در دورۀ دوم جمعیت قارچ روند کاهشی داشت و این روند تا پایان آزمایش ادامه یافت و در پایان آزمایش، میزان جمعیت نهایی در برخی خاک‌ها در مقایسه با میزان جمعیت اولیه کاهش چشمگیری نشان داد. در پایان آزمایش هم، مشاهده شد که خاک‌های مختلف با شرایط متفاوت از نظر اسیدیتۀ، شوری خاک، میزان مواد آلی، بافت خاک و شرایط کمبود مواد غذایی تأثیرات گوناگونی روی تغییرات جمعیت تریکودرما در سه دورۀ زمانی ۱۴، ۲۱ و ۲۸ روز پس از مایه‌کوبی نشان دادند (شکل ۴). بنابراین، پژوهشگران گزارش کرده‌اند که شرایط نامطلوب (شوری خاک) روی تغییرات مورفولوژیکی، فیزیولوژیکی و مولکولی رشد موجودات زنده میکروسکوپی و بقای آن‌ها تأثیر می‌گذارد (Magan 1988). تحقیقات داوه نشان داد که بیشتر گونه‌های تریکودرما نمی‌توانند بقای خود را برای مدت طولانی در شرایط شوری حفظ کنند. به نظر می‌رسد شرایط محیطی نامناسب (شوری بالا) از طرفی باعث محدود شدن رشد ساپروفیتی قارچ و از طرف دیگر موجب کاهش جوانه‌زنی اسپورها می‌شوند، در نتیجه، جمعیت قارچ در طول زمان با کاهش روبه‌رو می‌شود (Davet 1979a, 1981b). همچنین، محققان گزارش کرده‌اند که ترکیب طبیعی جمعیت گونه‌های مختلف تریکودرما در خاک‌های با اسیدیتۀ مختلف یکسان نیست. به این معنی که گونه‌های مختلف تریکودرما در شرایط اسیدی خاک رشد بهتر و کارآمدتر از خاک قلیایی دارند و شرایط فیزیکی و شیمیایی خاک روی بقا و دینامیک جمعیت تریکودرما مؤثرند (Singh *et al.* 2013, Bitton and Boylan 1985, Pereira *et al.* 1998). Jackson *et al.* (1991) در تحقیقی نشان دادند



شاخص‌های رشدی گیاه منجر شد، همچنین، در خاک‌های دارای تنش‌های شوری و کمبود عنصر پتاسیم نیز تأثیر قارچ تریکودرما بر صفات مورد نظر شایان توجه بود و به لحاظ آماری معنی‌دار بود. بنابراین، با توجه به شرایط نامساعد در بیشتر خاک‌های کشور استفاده از این قارچ در بهبود رشد و عملکرد گیاهان می‌تواند مؤثر باشد؛ با توجه به کاهش جمعیت قارچ در طی زمان نیاز به افزودن مایع تلقیح به خاک طی دوره‌های مختلف در طی کشت برای رسیدن به نتیجه بهتر است.

و بقای قارچ *T. harzianum* Tr6، همچنین، تأثیر قارچ مزبور روی شاخص‌های رشدی گیاهان خیار متفاوت بودند و حساسیت تریکودرما نسبت به خاک خیلی شور و قلیایی بیشتر از خاک‌های اسیدی و خاک با شرایط طبیعی (نرمال) بود، به این معنی که زادمایه‌های قارچ *T. harzianum* Tr6 در خاک‌های اسیدی و خاک با شرایط طبیعی بقای بیشتری دارند و اثر بهبوددهندگی قارچ *T. harzianum* Tr6 در خاک‌های نرمال و نیز اسیدی (شرایط بهینه برای رشد گیاه) به بهبود معنی‌دار

## REFERENCES

- Altomare C, Norvell WA, Bjorkman WA, Tharman GE** (1999) Solubilization of phosphates and micronutrients by the plant-growth-promoting and biocontrol fungus *Trichoderma harzianum* Rifai. *Applied Environmental Microbiology* 65: 2926-2933.
- Bitton G, Boylan RA** (1985) Effect of acid precipitation on soil microbial activity I. Soil core studies. *Journal of Environmental Quarterly* 14: 66-69.
- Bouycos GJ** (1962) Hydrometer method improved for making particle size of soil. *Journal of Agronomic* 56: 464-465.
- Bailey BA, Lumsden RD** (1998) Direct effects of *Trichoderma* and *Gliocladium* on plant growth and resistance to pathogens, In: Harman G E, Kubicek C P (Eds.), *Trichoderma and Gliocladium*, vol. 2. Taylor & Francis, London, pp. 185-204.
- Bjorkman T, Blanchard LM, Harman GE** (1998) Growth enhancement of shrunken-2 (sh2) sweet corn by *Trichoderma harzianum* 1295-22: effect of environmental stress. *Journal of American Society for Horticultural Science* 123(1): 35-40.
- Copping LG** (1998) The Biopesticide manual. 1<sup>st</sup> ed. British Crop Protection Council, UK, 333 pp.
- Contreras-Cornejo HA, Macias-Rodriguez L, Cortes-Penagos C, Lopez-Bucio J** (2009) *Trichoderma virens*, a plant beneficial fungus, enhances biomass production and promotes lateral root growth through an auxin-dependent mechanism in arabidopsis. *Plant Physiology* 149(3): 1579-1592.
- Davet P** (1979) Technique pour l'analyse des population de *Trichoderma* et de *Gliocladium virens* dans lesol *Annual Review of Phytopathology* 11: 529-533.
- Davet P** (1981) Effects de quelques pesticides sur la colonisation d'un substrat par le *Trichoderma harzianum* Rifai en presence des autres champignons du sol. *Soil Biology and Biochemistry* 13: 513-517.
- Davet P, Rouxel F** (2000) Detection and isolation of soil fungi. Science Publishers, New Hampshire, 188 pp.
- Joshi BB, Bhatt RP, Bahukhandi D** (2010) Antagonistic and plant growth activity of *Trichoderma* isolates of Western Himalayas. *Journal of Environmental Biology* 31(6): 921-928.
- Jackson AM, Whipps JM, Lynch JM** (1991) Effects of temperature, pH and water potential on growth of four fungi with disease biocontrol potential. *World Journal of Microbiology Biotechnology* 7: 494-501.
- Harman GE, Howell CR, Viterbo A, Chet I, Lorito M** (2004) *Trichoderma* species-opportunistic, avirulent plant symbionts. *Nature Reviews* 2: 43-56.
- Harman GE** (2000) Myths and dogmas of biocontrol. Changes perceptions derived from research on *Trichoderma harzianum* T22. *Plant Disease* 84: 377-393.
- Harman GE** (2012) *Trichoderma* spp. Including *T. harzianum*, *T. viride*, *T. knoningii*, *T. hamatum* and other spp. Deuteromycetes, Moniliales (Asexual Classification System). Retrieved Oct 2, 2012 from <http://www.biocontrol.entomology.cornell.edu/pathogens/trichoderma.html>.
- Kleifeld O, Chet I** (1992) *Trichoderma harzianum* interaction with plants and effects on growth response. *Plant Soil* 144: 267-272.
- Kubicek CP, Mach RL, Peterbauer CK, Lorito M** (2001) *Trichoderma*: from genes to biocontrol. *Journal of Plant Pathology* 83(2): 11-23.
- Khan FI, Husain T, Hejazi R** (2004) An overview and analysis of site remediation technologies. *Journal of Environmental Management* 71(2): 95-122.
- Khan Sh, Bagwan NB, Iqbal MA, Tamboli RR** (2011) Mass Multioligation and shelf life in liquid fermentation final product of *Trichoderma viride* in different formulations. *Advances in Bioresearch* 2(1): 178-182.
- Kaewchai S, Soyong K, Hyde KD** (2010) Mycofungicides and fungal biofertilizers. *Fungal Diversity* 38: 25-50.

- Lockwood JL** (1977) Fungistasis in soil. *Biology Review* 52: 1-43.
- Magan N** (1988) Effects of water potential and temperature on spore germination and germ-tube growth in vitro and on straw leaf sheaths. *Transactions of the British Mycological Society* 90(1): 97-107.
- Nelsons BW, Sommers LE** (1996) Total carbon, organic carbon, and organic matter, In: Page AL, (ed.), *Methods of Soil Analysis, Part 2: Chemical and Microbiological*. (2<sup>nd</sup> ed.). American Society of Agronomy and Soil Science Society of America, Madison, WI. Pp. 539-579.
- Olsen SR, Sommers LE** (1982) Phosphorus, In: Page AL, (ed.), *Methods of soil analysis. Part 2: Chemical and microbiological properties*, 2nd ed. American Society of Agronomy and Soil Science Society of America, Madison, WI. Pp. 403-430
- Ousley MA, Lynch JM, Whipps JM** (1994) Potential of *Trichoderma* spp. as consistent plant growth stimulators. *Biology Fertility Soils* 17: 85-90.
- Page AL, Miller RH, Keeney DR** (1982) *Methods of soil analysis. Part II. Chemical and microbiological*. American Society of Agronomy and Soil Science Society 64: 918-926.
- Pereira JCR, Chaves GM, Zambolium L, Matsuoka K, Acuna RS, Do-Vall FXR** (1998) Survival of *Trichoderma harzianum* and *Bacillus Subtilis* in vermicompost. *Summa Phytopathologica* 24(3-4): 231-238.
- Papavizas GC** (1985) *Trichoderma* and *Gliocladium*: biology, ecology, and potential for biocontrol. *Annual Review Phytopathology* 23: 23-54.
- Poosapati S, Ravulapalli PD, Tippirishetty N, Vishwanathaswamy KD, Chunduri S** (2013) Selection of high temperature and salinity tolerant *Trichoderma* isolates with antagonistic activity against *Sclerotium rolfsii*. *SpringerPlus* 3: 1-11.
- Phuwiwat W, Soyong K** (1999) Growth and yield response of Chinese radish to application of *Trichoderma harzianum*. *Thammasat Intl. Journal of Science Technology* 4(1): 68-71.
- Rawat L, Singh Y, Shukla N, Kumar J** (2011) Alleviation of the adverse effects of salinity stress in wheat (*Triticum aestivum* L.) by seed biopriming with salinity tolerant isolates of *Trichoderma harzianum*. *Plant Soil* 347: 387-400.
- Rudresh DL, Shivaprakash MK, Prasad RD** (2005) 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.
- Roades JD** (1996) Salinity. Electrical conductivity and total dissolved solids. *Method of soil analysis, parss: chemical methods*. Madison. Wisconsin, USA. Pp: 417-436
- Singh A, Shahid M, Srivastava M, Pandey S, Sharma A, Kumar V** (2013) Optimal physical parameters for growth of trichoderma species at varying ph, temperature and agitation. *Virology and Mycology* 3: 2161-0517.
- Thomas GW** (1996) Soil pH and soil acidity, In: *Method of soil analysis*. Klut (ed.), Part3, chemical methods. Madison. Wisconsin. USA. pp. 475-490.
- Tchameni SN, Ngonkeu MEL, Begoude BAD, Nana LW, Fokom R, Owona AD** (2011) Effect of *Trichoderma asperellum* and arbuscular mycorrhizal fungi on cacao growth and resistance against black pod disease. *Crop Protetins* 30(10): 1321-1327.
- Yedidia I, Srivastva A, Kapulink Y, Chet I** (2001) Effect of *Trichoderma harzianum* on microelement concentration and increased growth of cucumber plants. *Plant Soil* 235: 235-242.

## Evaluation of *Trichoderma* stability in different soils and its effects on the growth performance of cucumber

Ameneh Mazlumi Lyli<sup>1</sup>, Hamidreza Alizadeh<sup>2\*</sup>, Naser Broumand<sup>3</sup>  
and Zabiollah Azami Sardooei<sup>4</sup>

1, 2, 4. M. Sc. Student and Assistant Professors, Department of Plant Protection, College of Agriculture, University of Jiroft, Iran

3. Assistant Professor, Department of Soil Science, College of Agriculture, University of Jiroft, Iran

(Received: Oct. 13, 2015 - Accepted: Nov. 21, 2015)

### ABSTRACT

*Trichoderma* spp. are known as efficient plant growth promoting agents. Hence, enrichment of soil by appropriate population of *Trichoderma* is useful and important for effective plant growth promote. Present study aimed to investigate the plant growth promoting effects of five strains of the genus *Trichoderma* species include: *Trichoderma harzianum* Tr6, *T. harzianum* T22, *T. asperellum* T34, *T. atroviride* P1 and *T. harzianum* on cucumber and select the most efficient candidate under greenhouse conditions. Then this superior strain was applied in various soils including normal, phosphorus-defective soil, potassium-defective soil, alkaline soil, soil with two levels of salinity and acidic soil to evaluate the detailed effects on cucumber growth parameters under greenhouse conditions. The results showed that *Trichoderma* strain Tr6 led to statistically significant improvement in examined growth indices in soils suffering from salinity and potassium- and phosphorus deficiency. In view of stability of *Trichoderma* population in different soils, comparison of means showed that the highest population was achieved in acidic and normal soil and the lowest population occurred in the soils with high level of salinity and alkaline soils. Generally, we concluded that low *Trichoderma* population under some soil conditions is likely due to the lack of optimum condition for its growth and it can improve plant growth under these stressed soils by restoring its population by adding successful strains of *Trichoderma* to the soils.

**Keywords:** cucumber, growth improvement, soil conditions, stability, *Trichoderma*.