نشریه مدیریت خاک و تولید پایدار
جلد پنجم، شماره اول، ۱۳۹٤
http://ejsms.gau.ac.ir

پیامد کاربرد قارچ‌های *Piriformospora indica* و *Trichoderma tomentosum* بر رشد گیاه دارویی ریحان (*Ocimum basilicum* L.) در سطوح مختلف نیترات مس

لاله فقیه‌عبدالهی[۱]، *همت‌اله پیردشتی[۲]، یاسر یعقوبیان[۳] و سیدمحمد علوی[۴]

[۱]دانش‌آموخته کارشناسی‌ارشد گروه زراعت، دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی ساری، [۲]دانشیار گروه زراعت، پژوهشکده ژنتیک و زیست‌فناوری کشاورزی طبرستان، دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی ساری، [۳]دانشجوی دکتری گروه زراعت، دانشگاه کشاورزی و منابع طبیعی رامین خوزستان، [٤]مربی پژوهشکده ژنتیک و زیست‌فناوری کشاورزی طبرستان، دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی ساری

تاریخ دریافت: ۹۰/٤/۱ ؛ تاریخ پذیرش: ۹۳/۲/٦

چکیده

برای بررسی پیامد کاربرد قارچ‌های شبه‌میکوریزا و تریکودرما همراه با نیترات مس بر رشد گیاه دارویی ریحان، آزمایشی گلخانه‌ای در سال ۱۳۹۱ و در قالب فاکتوریل بر پایه طرح کاملاً تصادفی با سه تکرار انجام شد. تیمارهای آزمایشی شامل چهار سطح نیترات مس (۰، ۱۰۰، ۲۰۰ و ۳۰۰ میلی‌گرم در کیلوگرم خاک) و چهار سطح همزیستی قارچی (عدم مایه‌زنی، مایه‌زنی *Piriformospora indica*، *Trichoderma tomentosum* و مایه‌زنی هم‌زمان دو قارچ) بود. مایه‌زنی قارچ‌ها در زمان کاشت بذرها انجام گرفت و تیمار نیترات مس چهار هفته پس از کاشت همراه با آب آبیاری به‌کار رفت. ویژگی‌های بررسی شده شامل بلندی بوته، قطر ساقه، شمار شاخه فرعی، شمار برگ در بوته و وزن تر و خشک ساقه، برگ و بوته بود. نتایج نشان داد که همه ویژگی‌های بررسی شده به‌جز وزن تر برگ در پاسخ به افزایش غلظت نیترات مس از روند افزایشی برخوردار بودند، که روند تغییرات نسبت به نیترات مس در بلندی بوته و وزن خشک ساقه و برگ به گونه معادله درجه دوم و در سایر ویژگی‌ها به گونه خطی بود. برهم‌کنش نیترات مس و همزیستی قارچی بر ویژگی‌های شمار شاخه فرعی، شمار برگ، وزن تر برگ، ساقه و بوته و همچنین وزن خشک برگ و بوته معنی‌دار بود و همزیستی قارچی در همه سطوح نیترات مس بر ویژگی‌های یادشده پیامد مثبت داشت. در میان تیمارهای قارچی نیز مایه‌زنی هم‌زمان دو قارچ بیش‌ترین پیامد مثبت (۱٤ تا ۵۰ درصد) را بر ویژگی‌های بررسی شده نشان داد. نتایج به‌دست آمده از این پژوهش بر کارایی مثبت نیترات مس و قارچ‌های شبه‌میکوریزا و تریکودرما و به‌ویژه کاربرد هم‌زمان این ترکیبات بر بهبود رشد و عملکرد گیاه ریحان دلالت دارد.

واژه‌های کلیدی: تریکودرما، ریحان، شبه‌میکوریزا، نیترات مس

مقدمه

امروزه به‌کارگیری جانداران سودمند خاکزی همانند کودهای زیستی به‌عنوان طبیعی‌ترین و شایسته‌ترین راه‌حل برای زنده و فعال نگه داشتن سیستم زیستی خاک در زمین‌های کشاورزی مطرح می‌باشد (درزی و همکاران، ۲۰۰۹). برخی از این ریزجانداران مانند قارچ‌های اندوفیت ریشه و

* مسئول مکاتبه: h.pirdashti@sanru.ac.ir

تریکودرما پیامدهای سودمندی بر رشد گیاه دارند (وارما و همکاران، ۱۹۹۹؛ هویتینگ و همکاران، ۲۰۰٦؛ وینال و همکاران، ۲۰۰۸؛ اولمولر و همکاران، ۲۰۰۹؛ اچاتز و همکاران، ۲۰۱۰). ورما و همکاران (۱۹۹۸) یک گونه جدید از قارچ‌های اندوفیت ریشه به‌نام *Piriformospora indica* را از بازیدیومایست‌ها و دارای ویژگی‌هایی همانند قارچ‌های آربوسکولار میکوریزا معرفی کردند. این قارچ در برابر میکوریزای آربوسکولار همزیست اختیاری بوده و می‌تواند در محیط‌های کشت مصنوعی گوناگون بدون نیاز به گیاه میزبان رشد کند. این موضوع یکی از مهم‌ترین مزیت‌های این قارچ نسبت به میکوریزای آربوسکولار به‌شمار می‌رود (وارما و همکاران، ۲۰۰۱). از سوی دیگر قارچ *P. indica* با ریشه بسیاری از گونه‌های گیاهی همزیستی داشته و سبب افزایش رشد رویشی و عملکرد آن‌ها می‌شود (اولمولر و همکاران، ۲۰۰۹) به‌گونه‌ای که پیامد آن در افزایش توده زنده گیاهان ذرت (*Zea mays* L.)، تنباکو (*Nicotiana tabaccum* L.)، جعفری (*Petroselinum crispum* L.)، آرتمیسیا (*Artemisia annua* L.) و درخت سپیدار (*Bacopa monnieri* L.) توسط ورما و همکاران (۱۹۹۸) گزارش شده است. کومار و همکاران (۲۰۰۹) نیز نشان دادند رشد ریشه‌های ذرت مایه‌زنی شده با *P. indica* به‌دلیل همزیستی بافت کورتکس ریشه با این قارچ‌ها افزایش یافت. همزیستی ریشه با *P. indica* افزون بر افزایش رشد گیاه، سبب افزایش جذب عناصر غذایی و تغییر متابولیت‌های ثانویه و مقاومت به تنش‌های زیستی و غیرزیستی می‌گردد (وارما و همکاران، ۲۰۱۲).

افزون بر این بیش‌تر گونه‌های قارچ تریکودرما، مانند *T. tomentosum* نیز همزیست‌های گیاهی سودمندی هستند که امکان حضور آن‌ها در همه‌جا وجود دارد، به تندی رشد کرده و به گونه گسترده‌ای برای بهبود رشد، کنترل زیستی و یا به‌عنوان یک اصلاح‌گر متابولیسم گیاه در بخش کشاورزی بهره‌گیری می‌شود (هارمان و همکاران، ۲۰۰٤؛ آذرمی و همکاران، ۲۰۱۱؛ هارموسا و همکاران، ۲۰۱۲). نقش اصلی این قارچ‌ها در دگرگونی و کانی کردن مواد آلی و تولید کمپوست می‌باشد (بولاک و همکاران، ۲۰۰۲)، به‌گونه‌ای که کاربرد آن جذب مواد مغذی را در گیاهان افزایش می‌دهد (رودرش و همکاران، ۲۰۰۵). همچنین گونه‌های قارچ تریکودرما با سازوکارهای ویژه‌ای سبب افزایش رشد گیاهان می‌شوند. از گروه سازوکارهای گزارش شده می‌توان به کنترل زیستی بیماری‌های خاکزی با ساخت و رهاسازی آنزیم‌ها (سینگ و همکاران، ۲۰۰۷)، ساخت و رهاسازی آنتی‌بیوتیک (انجا و همکاران، ۲۰۰۵) و نفوذ در بدنه قارچ‌های بیماریزا (وارا و همکاران، ۲۰۰۰) اشاره کرد. در آزمایش انیس و همکاران (۲۰۱۱) مایه‌زنی همزمان *P. indica* و *Trichoderma harzianum* روی فلفل سیاه، افزایش رشد رویشی شاخساره و ریشه گیاه را در پی داشت.

از سوی دیگر عنصر مس، یکی از عناصر کم‌نیاز و ضروری برای رشد گیاه می‌باشد و در فرایندهای فیزیولوژیک مانند فتوسنتز و زنجیره انتقال الکترونی تنفس کارایی ویژه‌ای دارد (یرولا، ۲۰۰۵؛ راون و همکاران، ۱۹۹۹). نریاگو (۱۹۷۹) غلظت ۱۲ میلی‌گرم این عنصر در کیلوگرم بیوماس گیاهان را به‌عنوان یک مقدار جهانی پیشنهاد کرده است. بر این پایه، در بیش‌تر گیاهان هنگامی که غلظت آن به ۲۰ تا ۳۰ میلی‌گرم برکیلوگرم ماده خشک برسد سبب مسمومیت گیاه می‌شود (محصلی، ۲۰۰۳). از سوی دیگر در میان عناصر غذایی، نیتروژن عنصری کلیدی و زندگی بخش در تغذیه گیاهان به‌شمار می‌رود و در ساختار پروتئین‌ها، اسیدهای نوکلئیک و کلروفیل نقش دارد (نورقلی‌پور و همکاران، ۲۰۰۸). پژوهش‌ها نشان داده است که کاربرد نیتروژن، رشد رویشی و اندوخته

پروتئین گیاه را افزایش می‌دهد (پال و همکاران، ۱۹۹٦؛ ایوب و همکاران، ۲۰۰۷؛ کاراسو و همکاران، ۲۰۰۹). همزیستی *P. indica* به جذب بهتر عناصر غذایی گیاه کمک می‌کند (وارما و همکاران، ۲۰۱۲)، همچنین مایه‌زنی قارچ تریکودرما نیز باعث افزایش جذب عناصر غذایی مانند نیتروژن و مس می‌گردد (سینگ و همکاران، ۲۰۱۰).

کشت گیاهان دارویی و خوشبو از دیرباز دارای جایگاه ویژه‌ای در نظام‌های سنتی کشاورزی ایران بوده و این نظام‌ها از دیدگاه ایجاد تنوع و پایداری نقش مهمی ایفا کرده‌اند. ریحان (*Ocimum basilicum*) گیاهی علفی، یکساله و از تیره نعناع[1] می‌باشد که به‌عنوان یک گیاه دارویی در درمان سردرد، سرفه، اسهال، یبوست، زگیل‌ها و نقص عملکرد کلیه به‌کار می‌رود.

بنابراین با توجه به اهمیت گیاه دارویی ریحان و مصارف گسترده آن در صنایع غذایی، آرایشی، بهداشتی و عطرسازی و همچنین اهمیت استفاده از کودهای بیولوژیک در راستای کشاورزی پایدار و همچنین پیامد قارچ‌های تریکودرما و *P. indica* در جذب عناصر غذایی و بهبود رشدی گیاه، این پژوهش با هدف بررسی پیامد قارچ‌های تریکودرما و شبه‌میکوریزا بر افزایش رشد گیاه ریحان تحت سطوح مختلف نیترات مس به اجرا در آمد.

مواد و روش‌ها

این پژوهش به گونه گلخانه‌ای، در گلخانه پژوهشی دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی ساری در تابستان ۱۳۹۱ اجرا شد. آزمایش به گونه فاکتوریل در قالب طرح پایه کاملاً تصادفی با سه تکرار انجام شد. فاکتورهای آزمایش شامل نیترات مس در چهار سطح (صفر، ۱۰۰، ۲۰۰ و ۳۰۰ میلی‌گرم در کیلوگرم خاک) و تیمار همزیستی قارچی شامل چهار سطح (عدم مایه‌زنی، مایه‌زنی قارچ شبه‌میکوریزای (Pi) *P. indica*، قارچ تریکودرمای (Trich) *T. tomentosum* و مایه‌زنی هم‌زمان شبه‌میکوریزا و تریکودرما) بود.

خاک آزمایش شده آمیخته‌ای از خاک مزرعه و ماسه (به نسبت سه به یک) بود. که پس از الک کردن به خوبی آمیخته شده و با فرمالدهید ۵ درصد ضدعفونی شد. برای بیرون کردن فرمالدهید درون سوراخ‌های خاک، به‌مدت ۱۰ روز هوادهی خاک انجام گردید. گلدان‌های به‌کار رفته دارای قطر دهانه ۱۸، بلندی ۱۷/۵سانتی‌متر و گنجایش ۸ کیلوگرم خاک بودند. ویژگی‌های فیزیکی و شیمیایی خاک آزمایش شامل اسیدیته خاک در گل اشباع و هدایت الکتریکی در عصاره اشباع (وسترم، ۱۹۹۰)، فسفر (اولسن و سامرز، ۱۹۸۲) و پتاسیم قابل‌جذب به‌ترتیب با دستگاه رنگ‌سنجی و شعله‌سنجی، مواد آلی با روش والکلی بلاک (والکلی و بلاک، ۱۹۳٤) و نیتروژن کل خاک با دستگاه کجلدال اندازه‌گیری شد (جدول ۱).

جدایه قارچ‌های *P. indica* و *T. tomentosum* از بخش بیماری‌شناسی دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی ساری آماده شدند. قارچ *P. indica* در محیط کشت کفر[2] (شرامتی و همکاران، ۲۰۰۵) و جدایه‌های قارچی *T. tomentosum* در محیط کشت PDA کشت گردید. قارچ‌ها برای رشد و اسپورسازی به‌مدت دو هفته در دمای ۲٤ درجه سانتی‌گراد نگهداری شدند. برای جداسازی اسپورها و ساخت مایه مایه‌زنی، به اندازه ۱۰ میلی‌لیتر محلول آب- توئین ۰/۰۵ درصد به هر پتری‌دیش افزوده و پس از گردآوری اسپورهای قارچی هر پتری‌دیش، فراوانی آن به کمک لام نئوبار شمارش شده و سوسپانسیونی به غلظت ۵×۱۰^{۵} اسپور در میلی‌لیتر برای قارچ *P. indica* و ۱×۱۰^{۷} اسپور در میلی‌لیتر برای قارچ *T. tomentosum* به‌عنوان مایه مایه‌زنی آماده گردید.

1- Lamiaceae

2- Kaefer

بذرهای ریحان بنفش برای ۱۰ دقیقه در هیپوکلریدسدیم ۱ درصد ضدعفونی و شش بار با آب مقطر به خوبی شسته شد. بذرها به‌مدت دو روز در پتری‌دیش و در دمای ۲۵ درجه سانتی‌گراد جوانه‌دار شدند. برای مایه‌زنی قارچ‌ها، بذرهای جوانه‌دار شده ریحان به گونه غوطه‌ور در سوسپانسیون اسپور قارچ‌ها به‌مدت ٤ ساعت روی شیکر با دور آرام قرار گرفت. برای مایه‌زنی هم‌زمان دو قارچ نیز از مخلوط یک به یک سوسپانسیون دو قارچ و برای تیمارهای عدم مایه‌زنی از آب- توئین ۰/۰۵ درصد بهره‌گیری شد. سپس ۱۵ گیاهچه در هر گلدان و در عمق یک سانتی‌متری کاشته شد که در گام سه برگی به ده بوته در گلدان کاهش پیدا کرد. از آغاز کشت گیاهان برای چهار هفته به گونه روزانه با آب معمولی آبیاری شدند ولی از هفته چهارم، برای آن محلول آزمایشی دارای نیترات مس با غلظت‌های یاد شده به گونه یک بار در هفته و برای سه هفته به خاک گلدان‌ها افزوده شد. پس از گذشت سه هفته از کاربرد تیمارها، نمونه‌برداری با کف‌بر کردن بوته‌ها انجام و ویژگی‌هایی هم‌چون بلندی بوته، قطر ساقه، شمار شاخه فرعی، شمار برگ در بوته، وزن تر و خشک برگ، ساقه و بوته اندازه‌گیری گردید. برای اندازه‌گیری وزن خشک اندام‌های گیاهی، نمونه‌ها برای ٤۸ ساعت در آون و در دمای ۷۲ درجه سانتی‌گراد گذاشته شدند. برای محاسبه قطر ساقه از کولیس دیجیتالی (Guanglu, B/T14899-94) با دقت ۰/۰۵ میلی‌متر بهره‌گیری شد.

داده‌های به‌دست آمده با بهره‌گیری از نرم‌افزار آماری SAS نسخه ۹/۱ تجزیه و میانگین‌ها با بهره‌گیری از آزمون کم‌ترین تفاوت معنی‌دار (LSD) در سطح احتمال ۵ درصد مقایسه شدند. برای کمی‌سازی واکنش برخی از ویژگی‌های گیاه به سطوح نیترات مس نیز از معادلات رگرسیونی خطی و برازش منحنی درجه یک و دو بهره‌گیری شد. در مواردی که معادله درجه دو ($y=a+bx+cx^2$) بهتر بود، غلظت بهینه نیترات مس برای ویژگی‌های مورد بررسی با بهره‌گیری از رابطه $T=\frac{-b}{2c}$ برآورد شده و میزان حداکثر ویژگی‌ها تعیین گردید. برازش منحنی‌ها با نرم‌افزار SPSS نسخه ۱۹ و ترسیم نمودارها با نرم‌افزار Excel انجام شد.

جدول ۱- ویژگی‌های فیزیکی و شیمیایی خاک به‌کار رفته.

بافت خاک	رس	سیلت	شن	نیتروژن	ماده آلی	فسفر	پتاسیم	اسیدیته	هدایت الکتریکی
	درصد					پی‌پی‌ام			(دسی‌زیمنس بر متر)
رسی لومی	٤۲/۲	۳۵/۸	۲۲	۰/۲۱	۲/۳۷	۱٤/۵	۲۷۰	۷/٦۵	۱/۵۲

نتایج و بحث

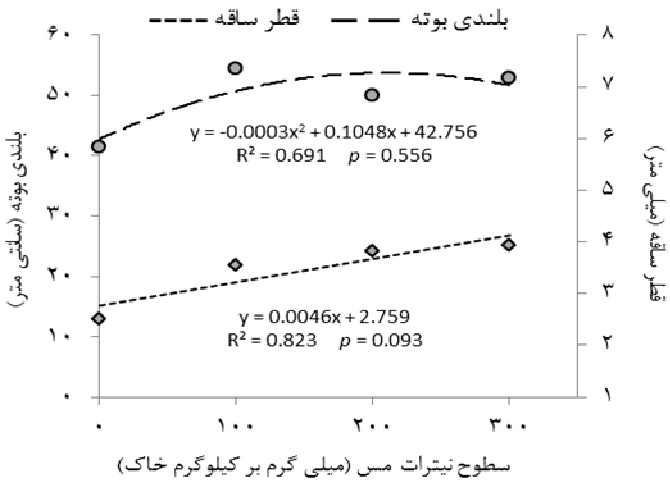
بر پایه جدول تجزیه واریانس داده‌های به‌دست آمده از آزمایش (جدول ۲) پیامد ساده عنصر سنگین مس بر همه ویژگی‌های مورفولوژیک اندازه‌گیری شده (بلندی بوته، قطر ساقه، شمار شاخه فرعی و شمار برگ در بوته) در سطح احتمال ۱ درصد معنی‌دار بود. همچنین پیامد ساده قارچ نیز در همه ویژگی‌های مورفولوژیک معنی‌دار شد که این معنی‌داری برای ویژگی‌های بلندی بوته، شمار شاخه فرعی و شمار برگ در بوته در سطح احتمال ۱ درصد و برای قطر ساقه در سطح احتمال ۵ درصد بود. برهم‌کنش نیترات مس و همزیستی قارچی تنها در ویژگی‌های شمار شاخه فرعی و شمار برگ در بوته در سطح احتمال ۵ درصد معنی‌دار بود.

جدول ۲- میانگین مربعات پیامد سطوح گوناگون نیترات مس و همزیستی قارچی در ویژگی‌های مورفولوژیک گیاه ریحان.

منابع تغییر	درجه آزادی	بلندی بوته	قطر ساقه	شمار شاخه فرعی	شمار برگ در بوته
نیترات مس	۳	٤۰۱/٤۰**	۵/۱۳**	۵۵/۵۷**	۷٤۹/۹۰**
قارچ	۳	۱۵۲/۸۸**	۰/٤۳*	۱۰/۰۵**	۸۲/۲۸**
نیترات مس × قارچ	۹	۳۱/۷۵^{ns}	۰/۱٤^{ns}	۱/٦۲*	۲۰/۵۲*
خطای آزمایش	۳۲	۲۷/۲۰	۰/۱۱	۰/۵۹	۸/۸۵
ضریب تغییرات (درصد)	-	۱۰/٤۹	۹/۷۳	٦/۰۳	۱۳/۹۹

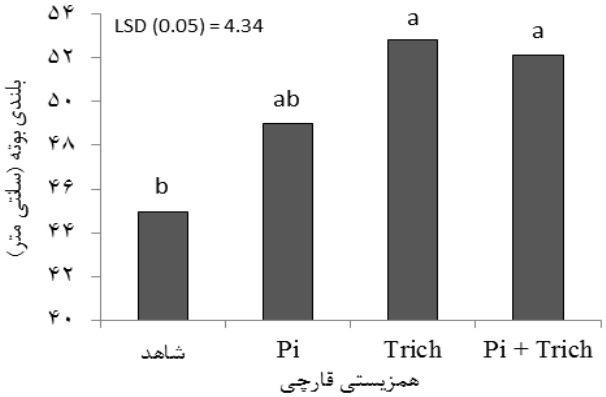
* معنی‌دار در سطح احتمال ۵ درصد، ** معنی‌دار در سطح احتمال ۱ درصد و ^{ns} غیرمعنی‌دار.

برای توصیف رابطه بین بلندی بوته با سطوح نیترات مس از معادله درجه دوم بهره‌گیری گردید (شکل ۱). این معادله با ضریب تبیین ۰/٦۹ توانست رابطه بین بلندی بوته و سطوح نیترات مس را کمی کند. مطابق شکل ۱، پاسخ بلندی بوته به افزایش غلظت نیترات مس، ابتدا از روند افزایشی و سپس کاهشی برخوردار بود، به‌گونه‌ای که با افزایش غلظت نیترات مس از صفر تا ۲۰۰ میلی‌گرم در کیلوگرم خاک، روند افزایشی داشته و در ادامه تقریباً به حالت کاهشی درآمد. حداکثر بلندی بوته گیاه در غلظت ۱۸۳/۳ میلی‌گرم بر کیلوگرم نیترات مس به‌دست آمد و پس از آن با افزایش غلظت نیترات مس، بلندی بوته کاهش یافت. به‌نظر می‌رسد آستانه بردباری گیاه ریحان برای افزایش بلندی تا غلظت ۱۸۳/۳ میلی‌گرم بوده و غلظت‌های بالاتر از آن باعث ایجاد سمیت و کاهش بلندی گیاه می‌گردد. پاسخ قطر ساقه در برابر افزایش غلظت نیترات مس نیز به گونه خطی (R^2=۰/۸۲) بوده و با افزایش هر میلی‌گرم نیترات مس در خاک، قطر ساقه گیاه به‌میزان ۰/۰۰٤٦ میلی‌متر افزایش یافت (شکل ۱). افزایش عملکرد کمی و کیفی گیاهان پس از کاربرد نیتروژن توسط اشینو و همکاران (۲۰۰۵) در سورگوم و بارلوگ و گرزبیژ (۲۰۰٤) در کلزا نیز گزارش شده است. از آن‌جایی‌که نیتروژن یک عنصر تعیین‌کننده در تغذیه، رشد و عملکرد گیاه به‌شمار می‌رود، افزایش بلندی بوته و قطر ساقه، در سطوح بالای نیترات مس می‌تواند به‌دلیل وجود عنصر نیتروژن در تیمار یادشده باشد که احتمالاً سمیت ناشی از غلظت بالای مس را کاهش داده است.

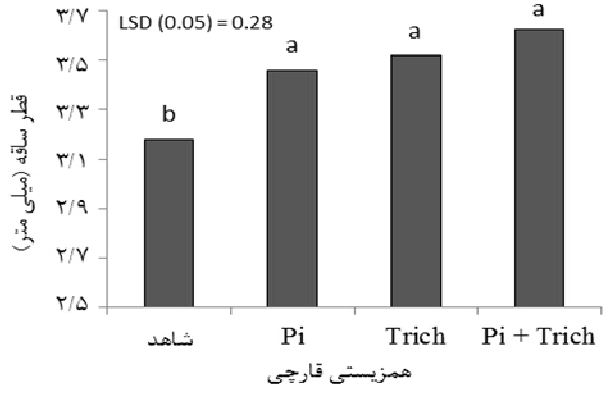


شکل ۱- پیامد سطوح گوناگون نیترات مس بر بلندی بوته و قطر ساقه گیاه ریحان.

همزیستی قارچی نیز بر بلندی بوته گیاه و قطر ساقه آن پیامد معنی‌داری داشت (جدول ۲). مایه‌زنی قارچ تریکودرما و همچنین مایه‌زنی هم‌زمان Pi + Trich بلندی بوته را به گونه معنی‌داری در برابر شاهد (به‌ترتیب ۱۷ و ۱۵ درصد) افزایش داد ولی ناهمانندی آن‌ها با تیمار مایه‌زنی Pi معنی‌دار نبود (شکل ۲). قطر ساقه نیز با مایه زنی قارچ‌های به‌کار رفته در آزمایش به گونه معنی‌داری در برابر تیمار شاهد افزایش یافت که این افزایش برای مایه مایه‌زنی Pi، Trich و Pi + Trich به‌ترتیب ۸، ۱۰ و ۱۳ درصد بود (شکل ۳). در پژوهش همانندی، اندوفیت‌های ریشه مانند *P. indica* توانستند مایه افزایش توان سازگاری و رقابتی بالای میزبانشان با افزایش میزان رشد از راه مسیرهای بیوشیمیایی درگیر در ساخت هورمون‌های رشد و یا تشدید جذب عناصر غذایی توسط میزبان شوند (زنگ و همکاران، ۲۰۰٦). پیامد سودمند کاربرد قارچ *P. indica* بر افزایش رشد گیاهان ذرت (کومار و همکاران، ۲۰۰۹) و جو (والر و همکاران، ۲۰۰۵) نیز گزارش شده است. در همین زمینه، گراول و همکاران (۲۰۰۷) نیز در بررسی ویژگی‌های رشد ریشه و ساقه گوجه‌فرنگی با تیمار قارچ تریکودرما نشان دادند که رشد ریشه و ساقه بوته‌های گوجه‌فرنگی با ساخت هورمون‌های رشد مانند ایندول استیک اسید افزایش می‌یابد. دوبی و همکاران (۲۰۰٦) نیز دریافتند که همزیست شدن ریشه با *T. viride* مایه افزایش رشد ریشه‌ها و اندام‌های هوایی در نخود گردید. انیس و همکاران (۲۰۱۱) نیز در پژوهشی روشن ساختند که مایه‌زنی هم‌زمان قارچ‌های شبه‌میکوریزا و تریکودرما باعث افزایش معنی‌داری در بلندی بوته، شمار برگ در بوته، وزن تر ساقه و وزن خشک ساقه در گیاه فلفل سیاه شد.

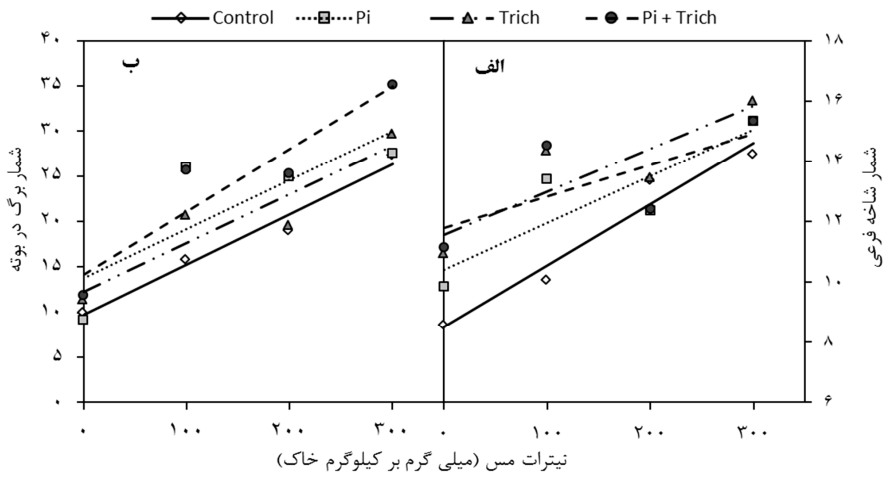


شکل ۲- اثر همزیستی قارچی بر بلندی بوته گیاه ریحان.



شکل ۳- اثر همزیستی قارچی بر قطر ساقه گیاه ریحان.

معادلات رگرسیونی به‌دست آمده از برازش بر روند پاسخ شمار شاخه فرعی و شمار برگ گیاه ریحان در هر یک از تیمارهای قارچی (شاهد، Pi، Trich و Pi + Trich) در برابر سطوح مختلف نیترات مس (شکل ٤ و جدول ٣) نشان از پیروی روند پاسخ این ویژگی‌ها از معادله خطی بود، به‌گونه‌ای که با افزایش غلظت نیترات مس از صفر به ٣٠٠ میلی‌گرم در کیلوگرم خاک، شمار شاخه فرعی و شمار برگ گیاه در همه تیمارهای قارچی به گونه خطی افزایش پیدا کرد. شمار شاخه فرعی بوته در هر چهار تیمار قارچی با افزایش غلظت نیترات مس در خاک افزایش نشان داد که در این میان تیمارهای شاهد و مایه‌زنی هم‌زمان *P. indica* و *T. tomentosum* به‌ترتیب با ٠/٠٢٠ (R^2=٠/٩٥) و ٠/٠١١ (R^2=٠/٤٩) واحد افزایش، در برابر افزایش هر میلی‌گرم نیترات مس در خاک، بیش‌ترین و کم‌ترین شیب تغییرات را نشان دادند. هر چند هر سه تیمار مایه‌زنی شده با ریزجانداران به‌کار رفته در آزمایش پاسخ کم‌تری در برابر تیمار شاهد نشان دادند ولی در همه سطوح نیترات مس، در سطح بالاتری در برابر تیمار شاهد قرار داشته و شمار شاخه فرعی بیش‌تری پدید آوردند (شکل ٤- الف و جدول ٣). درباره شمار برگ بوته نیز همه تیمارهای قارچی روند کاملاً مشابهی در روبرو شدن با افزایش غلظت نیترات مس خاک نشان دادند با این تفاوت که تیمار شاهد با ضریب تبیین ٠/٩٧ بیش‌ترین وابستگی را در برابر تغییرات نیترات مس نشان داد. همچنین در تیمار مایه‌زنی هم‌زمان دو قارچ، شمار برگ در بوته با شیب بیش‌تری (٠/٠٦٩ برگ در مقابل هر میلی‌لیتر نیترات مس در کیلوگرم خاک) در برابر تیمارهای دیگر افزایش یافت که می‌تواند به‌دلیل افزایش کارایی عناصر نیتروژن و مس در کنار این ریزجانداران باشد. شمار برگ بوته نیز در تیمارهای همزیستی قارچی همواره بالاتر از تیمار شاهد بود و در این میان مایه‌زنی هم‌زمان دو قارچ (Pi + Trich) و پس از آن *P. indica* بالاترین میزان را دارا بودند (شکل ٤- الف و جدول ٣). این افزایش می‌تواند وابسته به سیستم ریشه‌ای گسترده‌تر و جذب مقادیر بالای عناصر غذایی از جمله فسفر و آهن و در نتیجه بهبود رشد گیاه باشد که در پژوهش المولر و همکاران (٢٠٠٩) از آن یاد شده است. انیس و همکاران (٢٠١١) نیز در بررسی پیامد مایه‌زنی هم‌زمان این دو قارچ روی گیاه فلفل سیاه، افزایش بلندی و شمار برگ بوته را گزارش کردند.



شکل ٤- پیامد نیترات مس بر شمار شاخه فرعی (الف) و شمار برگ در بوته (ب) گیاه ریحان در تیمارهای همزیستی قارچی.

جدول ۳- معادله مناسب توصیف‌کننده رابطه تیماهای همزیستی قارچی قارچ با غلظت نیترات مس.

ویژگی	معادلات رگرسیونی			
	شاهد	Pi	Trich	Pi + Trich
شمار شاخه فرعی	$Y=۸/۵۱+۰/۰۲۰X$ $R^۲=۰/۹۵٤$ $P=۰/۰۲۳$	$Y=۱۰/٤۲+۰/۰۱۵X$ $R^۲=۰/۷۵۸$ $P=۰/۱۲۹$	$Y=۱۱/۵۵+۰/۰۱٤X$ $R^۲=۰/۷۵۹$ $P=۰/۱۲۸$	$Y=۱۱/۷۷+۰/۰۱۱X$ $R^۲=۰/٤۹۲$ $P=۰/۳۰۰$
شمار برگ	$Y=۹/۷۵+۰/۰۵۵X$ $R^۲=۰/۹۷۱$ $P=۰/۰۱٤$	$Y=۱۳/۷۷+۰/۰۵٤X$ $R^۲=۰/٦٦۷$ $P=۰/۱۸۳$	$Y=۱۲/۲۸+۰/۰۵٤X$ $R^۲=۰/۸٦۰$ $P=۰/۰۷۲$	$Y=۱٤/۱۱+۰/۰٦۹X$ $R^۲=۰/۸۷۷$ $P=۰/۰٦۳$

نتایج به‌دست آمده از تجزیه واریانس ویژگی‌های رویشی گیاه ریحان (جدول ٤) بیانگر آن است که پیامد ساده نیترات مس در وزن تر ساقه، وزن تر برگ و وزن خشک ساقه، برگ و بوته معنی‌دار ($P<۰/۰۱$) بود. پیامد ساده قارچ نیز در همه ویژگی‌های موفولوژیک معنی‌دار شد که این معنی‌داری برای ویژگی‌های وزن تر بوته، وزن تر ساقه، وزن خشک برگ، ساقه و بوته در سطح ۱ درصد و برای وزن تر بوته در سطح ۵ درصد بود. همچنین برهم‌کنش نیترات مس و مایه‌زنی قارچ نیز وزن تر بوته را در سطح ۱ درصد و وزن تر ساقه، وزن تر برگ، وزن خشک برگ و وزن خشک بوته را در سطح احتمال ۵ درصد تحت‌تأثیر قرار داد، ولی در ویژگی وزن خشک ساقه پیامد معنی‌داری نداشت (جدول ٤).

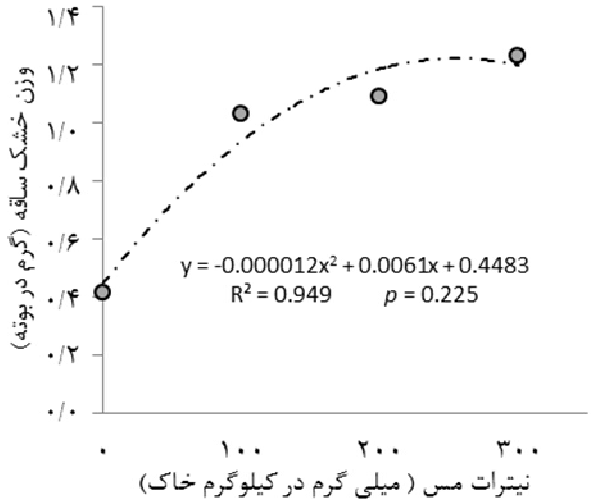
جدول ٤- میانگین مربعات پیامد سطوح مختلف نیترات مس و همزیستی قارچی در ویژگی‌های رویشی گیاه ریحان.

منابع تغییر	درجه آزادی	وزن تر			وزن خشک		
		ساقه	برگ	بوته	ساقه	برگ	بوته
نیترات مس	۳	۵۸/۸٤**	٥٦/۷۱**	۲۳۰/۰۹^{ns}	۱/۵۵**	۲/۰۷**	۷/۱۲**
قارچ	۳	٤/۵۸**	۷/٦۵**	۲۳/٦۹*	۰/۳۱**	۰/۳۵**	۱/۲۸**
نیترات مس × قارچ	۹	۲/۲۳*	۱/٤٦*	٦/۵۹**	۰/۰۸^{ns}	۰/۱۱*	۰/۳۳*
خطای آزمایش	۳۲	۰/۸۱	۰/٤۹	۲/۱۰	۰/۰۵	۰/۰٤	۰/۱٤
ضریب تغییرات (درصد)		۷/۸٤	۱۵/٦٦	۱۵/۱٦	۲۳/۷٦	۲۱/۵۹	۲۰/۱۷

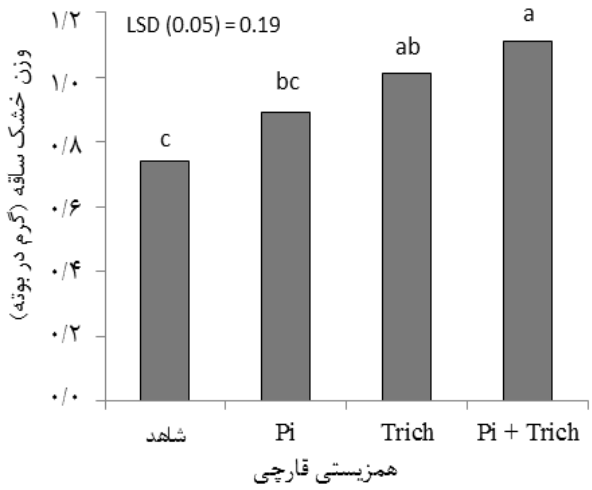
* معنی‌دار در سطح احتمال ۵ درصد، ** معنی‌دار در سطح احتمال ۱ درصد و ^{ns} غیرمعنی‌دار.

روند تغییرات وزن خشک ساقه در برابر افزایش غلظت نیترات مس در خاک، به گونه درجه دوم ($R^۲=۰/۹۵$) بود. با افزایش غلظت نیترات مس خاک، وزن خشک ساقه روند افزایشی داشته و نقطه اوج آن (۱/۲۲ گرم) در ۲۵۳ میلی‌گرم نیترات مس در کیلوگرم خاک قرار داشت، ولی با افزایش بیش‌تر نیترات مس، میزان آن کاهش یافت (شکل ۵). وزن خشک ساقه به مایه‌زنی قارچی نیز پاسخ نشان داده و در مایه‌زنی Trich و همچنین مایه‌زنی همزمان Pi و Trich به گونه معنی‌داری در برابر شاهد افزایش نشان داد. بیش‌ترین وزن خشک ساقه در تیمار Pi + Trich به‌دست آمد که در برابر تیمار شاهد ۵۱/۳۵ درصد افزایش داشت (شکل ٦). این نتیجه بیانگر پیامد مثبت بیش‌تر دو قارچ در مایه‌زنی همزمان با یکدیگر می‌باشد که با یافته‌های انیس و همکاران (۲۰۱۱) در گیاه فلفل سیاه همخوانی دارد. کاپور و همکاران

(۲۰۰٤) نیز دریافتند که همزیستی میکوریزایی از راه بهبود گسترش هیف‌های قارچ در سوراخ‌های خاک، سبب افزایش وزن خشک گیاه در گیاه رازیانه گردید. بررسی چاکون و همکاران (۲۰۰۷) نیز نشان داد که مایه‌زنی قارچ تریکودرما با ریشه نشای توتون سبب افزایش وزن تر بوته، سطح برگ و شمار برگ و ریشه‌های جانبی آن شد. در همین راستا نتایج پژوهش‌های چانگ و همکاران (۱۹۸٦) نیز بیانگر افزایش رشد گیاه فلفل در تیمار قارچ تریکودرما در خاک بود.



شکل ٥- پیامد سطوح مختلف نیترات مس بر وزن خشک ساقه گیاه ریحان.

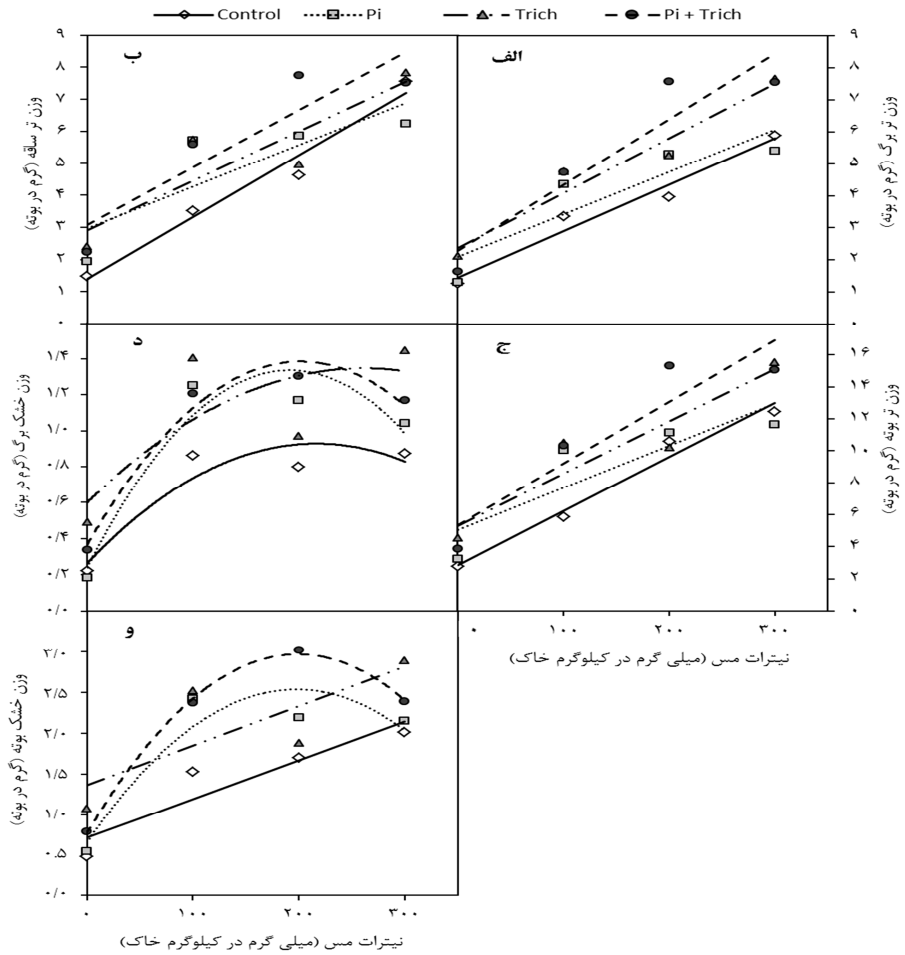


شکل ٦- پیامد سطوح مختلف قارچ بر وزن خشک ساقه گیاه ریحان.

در شکل ۷ و جدول ٥ منحنی و معادله رگرسیونی مناسب برای سطوح مختلف قارچی در هر ویژگی و ضریب تبیین مربوطه آورده شده است که به‌دست آمده از برازش آن‌ها بر میانگین ویژگی‌ها در برابر غلظت نیترات مس است. روند پاسخ ویژگی‌های وزن تر برگ، ساقه و بوته در سطوح گوناگون تیمار قارچی

در برابر غلظت نیترات مس خاک (شکل‌های ۷- الف، ب و ج و جدول ۵)، بیانگر پاسخ خطی و مثبت این ویژگی‌ها در برابر افزایش غلظت این عناصر در خاک بود. به‌گونه‌ای که هر سه ویژگی یادشده و در همه سطوح همزیستی قارچی با افزایش غلظت نیترات مس خاک از صفر به ۳۰۰ میلی‌گرم در کیلوگرم خاک افزایش چشم‌گیری نشان دادند که به‌جز وزن تر ساقه در دو ویژگی دیگر بیش‌ترین افزایش مربوط به گیاهان مایه‌زنی شده با هر دو قارچ بود. همچنین در این ویژگی‌ها نیز مانند ویژگی‌های شمار شاخه فرعی و شمار برگ بوته، تیمارهای قارچی و به‌خصوص تیمار مایه‌زنی هم‌زمان *P. indica* و *T. tomentosum* همواره بیش‌ترین میزان ویژگی‌ها را به خود اختصاص دادند.

روند تغییرات وزن خشک برگ در تیمارهای گوناگون قارچی، در برابر تغییر غلظت نیترات مس خاک به گونه درجه دوم بود. در هر چهار تیمار قارچی (شاهد، Pi، Trich و Pi + Trich) با افزایش غلظت نیترات مس خاک، وزن خشک برگ ابتدا به گونه افزایشی و سپس بین سطوح ۲۰۰ تا ۳۰۰ میلی‌گرم در کیلوگرم خاک، به گونه کاهشی بود. ولی از نظر میزان این تغییرات و وزن خشک بیشینه برگ، بین تیمارهای قارچی اختلاف وجود داشت و با توجه به معادلات برازش‌یافته در این تیمارها، میزان حداکثر وزن خشک برگ در تیمارهای شاهد، Pi، Trich و Pi + Trich به‌ترتیب در غلظت‌های ۲۱٤، ۲۰۰، ۲۵۹ و ۱۸۳ میلی‌گرم در کیلوگرم خاک (به‌ترتیب ۱/۰۹، ۱/۰۰، ۱/۹۵ و ۱/۳۳ گرم در بوته) به‌دست آمد (شکل ۷- د و جدول ٤). وزن خشک بوته نیز با افزایش غلظت نیترات مس از روند افزایشی برخوردار بود. با این وجود، روند تغییرات تیمارهای قارچی در پاسخ به سطوح نیترات مس ناهمانند بود. پاسخ وزن خشک بوته در تیمار شاهد و Trich به گونه خطی (به‌ترتیب با ضریب تبیین ۰/۸٦ و ۰/٦۱۰) بود و هر دو با شیب حدود ۰/۰۰۵ افزایش یافتند، در حالی‌که روند تغییرات وزن خشک گیاهان مایه‌زنی شده با قارچ *P. indica* و بهره‌گیری هم‌زمان دو قارچ (Pi + Trich) به گونه تابع درجه دوم (به‌ترتیب با ضریب تبیین ۰/۹۷ و ۰/۸۸) بوده و از غلظت صفر تا ۲۰۰ میلی‌گرم نیترات مس افزایش یافته و در ادامه کاهش نشان داد (شکل ۷- و و جدول ۵). ویژگی‌های وزن خشک برگ و وزن خشک بوته نیز در بهره‌گیری از قارچ‌های *P. indica* و تریکودرما در برابر تیمار شاهد افزایش نشان دادند و تیمار مایه‌زنی هم‌زمان دو قارچ بیش‌ترین میزان این ویژگی‌ها را در بیش‌تر سطوح نیترات مس داشت (شکل ۷- د و ۷- و). به‌نظر می‌رسد ریزجانداران خاک از جمله قارچ‌های اندوفیت با برقراری روابط همیاری و همزیستی، در تعامل با گیاهان بوده و با انجام فعالیت‌هایی مانند ساخت انواع متابولیت‌ها، تجزیه ترکیبات گوناگون آلی و ساخت مواد محرک رشد گیاه سبب بهبود رشد گیاه می‌گردند (پل و کلارک، ۱۹۹٦). در همین راستا تأثیر مثبت مایه‌زنی قارچ *P. indica* در افزایش توده زنده گیاهان ذرت (کومار و همکاران، ۲۰۰۹) جو (دشموخ و همکاران، ۲۰۰٦) و گندم (یعقوبیان و همکاران، ۲۰۱۲) نیز گزارش شده است. از سوی دیگر با توجه به یافته‌های پژوهشگران دیگر (ابو- قلیا و خلف‌الله، ۲۰۰۸؛ المولر و همکاران، ۲۰۰۹) به‌نظر می‌رسد که قارچ‌های شبه‌میکوریزا در فراهمی و متابولیسم عناصر غذایی مورد نیاز گیاه کارایی ویژه داشته و مایه افزایش میزان این عناصر در گیاهان مایه‌زنی شده می‌گردد. این امر به‌ویژه در شرایط تنش برای گیاهان اهمیت به‌سزایی دارد.



شکل ۷- پیامد نیترات مس بر وزن تر برگ (الف)، وزن تر ساقه (ب)، وزن تر بوته (ج)، وزن خشک برگ (د) و وزن خشک بوته (و) در تیمارهای همزیستی قارچی در گیاه ریحان.

جدول ۵- معادله مناسب توصیف‌کننده رابطه تیماهای همزیستی قارچ با غلظت نیترات مس.

ویژگی	معادلات رگرسیونی			
	شاهد	Pi	Trich	Pi + Trich
وزن تر برگ	$Y=۱/٤٥۱+۰/۰۱٥X$ $R^۲=۰/۹٦۳$ $P=۰/۰۱۹$	$Y=۲/۰۹۹+۰/۰۱۳X$ $R^۲=۰/۷۹۷$ $P=۰/۱۰۷$	$Y=۲/۳۸۲+۰/۰۱۷X$ $R^۲=۰/۹٤۸$ $P=۰/۰۲۷$	$Y=۲/۲۸۳+۰/۰۲۱X$ $R^۲=۰/۸۸٤$ $P=۰/۰٥۹$
وزن تر ساقه	$Y=۱/۳۹۱+۰/۰۱۹X$ $R^۲=۰/۹۷۱$ $P=۰/۰۱٥$	$Y=۲/۹۷٤+۰/۰۱۳X$ $R^۲=۰/۷۰۱$ $P=۰/۱٦۳$	$Y=۲/۹۰٤+۰/۰۱٥X$ $R^۲=۰/۷۹٥$ $P=۰/۱۰۸$	$Y=۳/۰۷۹+۰/۰۱۸X$ $R^۲=۰/۸۲۹$ $P=۰/۰۸۹$
وزن تر بوته	$Y=۲/۸٤۲+۰/۰۳٤X$ $R^۲=۰/۹۷٦$ $P=۰/۰۱۲$	$Y=٥/۰۷٤+۰/۰۲٦X$ $R^۲=۰/۷٥۳$ $P=۰/۱۳۲$	$Y=٥/۲۸٦+۰/۰۳۳X$ $R^۲=۰/۸۸۳$ $P=۰/۰٦۰$	$Y=٥/۳٦۳+۰/۰۳۹X$ $R^۲=۰/۸۲۹$ $P=۰/۰۷۲$
وزن خشک برگ	$Y=۰/۲٦+۰/۰۰٦X-۱E-٥X^۲$ $R^۲=۰/۸۷۹$ $P=۰/۳٤۲$	$Y=۰/۲٤+۰/۰۱۱X-۳E-٥X^۲$ $R^۲=۰/۹۱٥$ $P=۰/۲۸۸$	$Y=۰/٦۰+۰/۰۰٦X-۱E-٥X^۲$ $R^۲=۰/٥۷٤$ $P=۰/٦٥۱$	$Y=۰/۳٦+۰/۰۱۰X-۳E-٥X^۲$ $R^۲=۰/۹۷۲$ $P=۰/۱٦۲$
وزن خشک بوته	$Y=۰/۷۱۷+۰/۰۰٥X$ $R^۲=۰/۸٥۷$ $P=۰/۰۷٤$	$Y=۰/٦۰+۰/۰۱۹X-٥E-٥X^۲$ $R^۲=۰/۹۷٤$ $P=۰/۳۳۹$	$Y=۱/۳۷۱+۰/۰۰٥X$ $R^۲=۰/٦۱۰$ $P=۰/۲۱۹$	$Y=۰/٦٦+۰/۰۱۹X-٥E-٥X^۲$ $R^۲=۰/۸۸٥$ $P=۰/۰٤۹$

نتیجه‌گیری کلی

در مجموع این پژوهش نشان داد که بهره‌گیری از مقادیر بالای نیترات مس رشد رویشی گیاه ریحان را به گونه چشم‌گیری افزایش داده و در بیش‌تر ویژگی‌های بررسی شده این افزایش تا سطح ۳۰۰ میلی‌گرم نیترات مس در کیلوگرم خاک به گونه خطی ادامه داشت. از سوی دیگر در همه سطوح نیترات مس، گیاهان همزیست شده با قارچ‌های شبه‌میکوریزا و تریکودرما رشد بهتری در برابر گیاهان غیرهمزیست داشتند که در این میان، مایه‌زنی هم‌زمان دو قارچ شبه‌میکوریزا و تریکودرما دارای بیش‌ترین پیامد مثبت بود و حتی در برخی ویژگی‌ها از جمله وزن خشک بوته افزایش غلظت نیترات مس باعث هم‌افزایی تیمارهای قارچی گردید که بیانگر افزایش کارایی دو عامل نیترات مس و همزیستی قارچی در کاربرد هم‌زمان آن‌ها می‌باشد. بنابراین نتایج این آزمایش بیانگر سودمندی مایه‌زنی گیاه ریحان با قارچ‌های شبه‌میکوریزا و تریکودرما همراه با کاربرد نیترات مس بر رشد رویشی گیاه ریحان بوده و بر اهمیت برقراری ارتباط همزیستی قارچ‌های *P. indica* و *T. tomentosum* با گیاه ریحان و پیامد مثبت آن‌ها در تحریک رشد و در نتیجه افزایش عملکرد آن دلالت دارد.

سپاسگزاری

بدین‌وسیله از آقایان دکتر ولی‌اله بابایی‌زاد و دکتر محمدعلی تاجیک به‌دلیل همکاری‌های ارزنده در آماده‌سازی و فراهمی ایزوله‌های قارچ تشکر و سپاسگزاری می‌گردد.

منابع

1.Abo-Ghalia, H.H., and Khalafallah A.A. 2008. Responses of wheat plants associated with arbuscular mycorrhizal fungi to short-term water stress followed by recovery at three growth stages. J. Appl. Sci. Res. 4: 570-580.
2.Achatz, B., Kogel, K.H., Franken, P., and Waller, F. 2010. *Piriformospora indica* mycorrhization increases grain yield by accelerating early development of barley plants. Plant Signal Behav. 5: 1685-1687.
3.Aneja, M., Gianfagna, T.J., and Hebbar, P.K. 2005. *Trichoderma harzianum* produces nonanoic acid, an inhibitor of spore germination and mycelial growth of two cacao pathogens. Physiol. Mol. Plant Pathol. 67: 304-307.
4.Anith, K.N., Faseela, K.M., Archana, P.A., and Prathapan, K.D. 2011. Compatibility of *Piriformospora indica* and *Trichoderma harzianum* as dual inoculants in black pepper (*Piper nigrum* L.). Symbiosis. 55: 11-17.
5.Ashiono, G.B., Gatuiku, S., Mwangi, P., and Akuja, T.E. 2005. Effect of nitrogen and phosphorus application on growth and yield of dual-purpose sorghum (*Sorghum bicolor* (L) Moench), E1291, in the dry highlands of Kenya. Asian J. Plant Sci. 4: 4. 379-382.
6.Ayub, M., Nadeem, M.A., Tanvir, A., Tahir, M., and Khan, R.M.A. 2007. Interactive effect of different nitrogen levels and seeding rates on fodder yield and quality of pearl millet. Pakistan J. Agri. Sci. 44: 592-596.
7.Azarmi, R., Hajieghrari, B., and Giglou, A. 2011. Effect of Trichoderma isolates on tomato seedling growth response and nutrient uptake. Afric. J. Biotechnol. 10: 5850-5855.
8.Barlog, P., and Grzebisz, W. 2004. Effect of timing and nitrogen fertilizer application on winter oilseed rape (*Brassica napus* L.). I. Growth Dynamics and Seed Yield. Agron. Crop. Sci. 190: 305-310.
9.Bulluck, L., Brosius, M., Evanylo, G., and Kristaino, J.B. 2002. Organic and synthetic fertility amendments influence soil microbial, physical and chemical properties on organic and conventional farms. App. Soil Ecol. 19: 147-160.

10.Chacon, M.R., Rodríguez-Galán, O., Benítez, T., Sousa, S., Rey, M., Llobell, A., and Delgado-Jarana1, J. 2007. Microscopic and transcriptome analyses of early colonization of tomato roots by *Trichoderma harzianum*. In. Microbiol. 10: 19-27.
11.Chang, Y.C., Baker, B., Kleifeld, O., and Chet, I. 1986. Increased growth of plants in the presence of the biological control agent *Trichoderma harzianum*. Plant Dis. 70: 145-148.
12.Darzi, M.T., Ghalavand, A., and Rejali, F. 2009. The effects of biofertilizers application on N, P, K assimilation and seed yield in fennel (*Foeniculum vulgare* Mill.). Iran. J. Med. Arom. Plants. 25: 1-19. (In Persian)
13.Deshmukh, S.D., Hueckelhoven, R., Schaefer, P., Imani, J., Sharma, M., Weiss, M., Waller, F., and Kogel, K.H. 2006. The root endophytic fungus *Piriformospora indica* requires host cell death for proliferation during mutualistic symbiosis with barley. Proc. Natl Acad. Sci. USA. 103: 18450-18457.
14.Dubey, S.C., Suresh, M., and Singh, B. 2006. Evaluation of trichoderma species against *Fusarium oxysporum* f. sp. ciceris, for integrated management of chickpea wilt. Biol. Control. 40: 118-127.
15.Gravel, V., Antoun, H., and Tweddell, R.J. 2007. Growth stimulation and fruit yield improvement of greenhouse tomato plants by inoculation with Pseudomonas putida or *Trichoderma atroviride*: Possible role of indole acetic acid (IAA). Soil Biol. Biochem. 39: 1968-1977.
16.Harman, G.E., Howell, C.R., Viterbo, A., Chet, I., and Lorito, M. 2004. Trichoderma species opportunistic, virulent plant symbionts. Microbiol. 2: 43-56.
17.Harmosa, R., Viterbo, A., Chet, I., and Monte, E. 2012. Plant beneficial effects of Trichoderma and its genes. Microbiol. 158: 17-25.
18.Hoitink, H.A.J., Madden, L.V., and Dorrance, A.E. 2006. Systemic resistance induced by Trichoderma spp; Interactions between the host, the pathogens, the biocontrol agent and soil organic matter quality. Phytopathol. 96: 186-189.
19.Kapoor, R., Giri, B., and Mukerji, K.G. 2004. Improved growth and essential oil yield and quality in *Foeniculum vulgare* mill on mycorrhizal inoculation supplemented with P-fertilizer. Biores. Technol. 93: 307-311.
20.Karasu, A., Oz, M., Bayram, G., and Turgut, I. 2009. The effect of nitrogen levels on forage yield and some attributes in some hybrid corn (*Zea mays* indentata Sturt.) cultivars sown as second crop for silage. Afr. J. Agri. Res. 4: 166-170.
21.Kumar, M., Yadav, V., Tuteja, N., and Johri, A.K. 2009. Antioxidant enzyme activities in mays plants colonized with *Piriformospora indica*. Microbiol. 155: 780-790.
22.Melero-Vara, J.M, Prados-Ligero, A.M., and Basallote-Ureba, M.J. 2000. Comparison of physical, chemical and biological methods of controlling garlic white root. Europ. J. Plant Pathol. 106: 581-588.
23.Mohasseli, V. 2003. Effects of different levels of copper on growth and chemical composition of wheat variety Falat Staff. Pajouhesh-va-Sazandegi. 61: 25-31. (In Persian)
24.Nourgholipour, F., Bagheri, F.R., and Lotfelahi, M. 2008. Effect of different resource nitrogen fertility on yield and quality of wheat. J. Res. Agri. Sci. 2: 120-129. (In Persian)
25.Nriagu, J.O. 1979. Copper in the Environment, Part II: Health Effects. John Wiley & Sons, New York, USA. 489p.
26.Oelmüller, R., Sherameti, I., Tripathi, S., and Varma, A. 2009. *Piriformospora indica*, a cultivable root endophyte with multiple biotechnological applications. Symbiosis. 19: 1-19.
27.Olsen, S.R., and Sommers, L.E. 1982. Phosphorus, P 403-430. In: A.L. Page, R.H. Miler and D.R. Keeney (eds.), Methods of Soil Analysis. Part 2. Chemical and Microbiological Properties. Am. Soc. Agron., Madison, WI: American Society of Agronomy.
28.Pal, M.S., Singh, O.P., and Malik, H.P.S. 1996. Nutrient uptake pattern and quality of sorghum (*Sorghum bicolor* (L) Moench) genotypes as influenced by fertility levels under rainfed condition. Tropic. Agri. 73: 6-9.
29.Paul, E.A., and Clark, F.E. 1996. Soil Microbiology and Biochemistry. Acad. Press, London. 275p.

30.Raven, J.A., Evans, M.C.W., and Korb, R.E. 1999. The role of trace metals in photosynthetic electron transport in O2-evolving organisms. Photosynth. Res. 60: 111-149.
31.Rudresh, D.L., Shivaprakash, MK., and Prasad, R.D. 2005. Effect of combined application of rhizobium, phosphate solubilizing bacterium and *Trichoderma* spp. on growth, nutrient uptake and yield of chickpea (*Cicer aritenium* L.). Appl. Soil Ecol. 28: 139-146.
32.Sherameti, I., Shahollari, B., Venus, Y., Altschmied, L., Varma A., and Oelmüller, R. 2005. The endophytic fungus *Piriformospora indica* stimulates the expression of nitrate reductase and the starch-degrading enzyme glucan-water dikinase in tobacco and Arabidopsis roots through a homeodomain transcription factor which binds to a conserved motif in their promoters. J. Biol. Chem. 280: 2641-7.
33.Singh, A., Srivastava, S., and Singh, H.B. 2007. Effect of substrates on growth and shelf life of *Trichoderma harzianum* and its use in biocontrol of diseases. Biores. Technol. 98: 470-473.
34.Singh, V., Singh, P.N., Yadav, R.L., Awasthi, S.K., Joshi, B.B., Singh, R.K., Lal, R.J., and Duttamajumder, S.K. 2010. Increasing the efficacy of *Trichoderma harzianum* for nutrient uptake and control of red rot in sugarcane. J. Hortic. Forest. 2: 4. 66-71.
35.Varma, A., Bakshi, M., Lou, B., Hartmann, A., and Oelmueller, R. 2012. *Piriformospora indica*: a novel plant-growth-promoting mycorrhizal fungus. J. Agri. Res. 1: 117-131.
36.Varma, A., Singh, A., Sudha, S., Sahay, N., Sharma, J., Roy, A., Kumari, M., Rana, D., Hock, B., Maier, W., Walter, M., Strack, D., and Kranner, I. 2001.*Piriformospora indica*: a cultivable mycorrhiza-like endosymbiotic fungus, P 123-150. In: A. Varma and B. Hock (eds.), Mycota IX. Springer, Berlin Heidelberg New York.
37.Varma, A., Verma, S., Sahay, N., Butehorn, B., and Franken, P. 1999. *Piriformospora indica*, a Cultivable plant-growth-promoting root endophyte. Appl. Environ. Microbiol. 65: 2741-2744.
38.Verma, S., Varma, A., Rexer, K.H., Kost, G., Sarbhoy, A., Bisen, P., Butehorn, B., and Franken, P. 1998. *Piriformospora indica* gen. et sp. Nov., A new root-colonizing fungus. Mycologia. 95: 896-903.
39.Vinale, F., Sivasithamparam, K., Ghisalberti, E.L., Marra, R., Barbetti, M.J., Li, H., Woo, S.L., and Lorito, M. 2008. A noel role for Trichoderma secondary metabolites in the interactions with plants. Physiol. Mol. Plant Pathol. 72: 80-86.
40.Walkley, A., and Black, L.A. 1934. An examination of the degtjareff method for determining soil organic matter and a proposed modification of the chromic acid titration method. J. Soil Science. 37: 29-38.
41.Waller, F., Achatz, B., Baltruschat, H., Fodor, J., Becker, K., Fischer, M., Heier, T., Huckelhoven, R., Neumann, Ch., Wettstein, D., Franken, P., and Kogel, K.H. 2005. The endophytic fungus *Piriformospora indica* reprograms barley to salt-stress tolerance, disease resistance, and higher yield. Proc. Natl. Acad. Sci. USA. 102: 13386-13391.
42.Westerm, R.L. 1990. Soil testing and plant analysis. SSSA. Madison Wisconisn, USA.
43.Yaghoubian, Y., Pirdashti, H., Mohammadi Goltapeh, E., Feiziasl, V., and Esfandiari, E. 2012. Evaluate the responses of dryland wheat (*Triticum aestivum* L.) Azar 2 variety symbiosis with the fungus mycorrhizal and mycorrhizal-like in different levels of drought stress. J. Agroecol. 4: 63-73. (In Persian)
44.Yruela, I. 2005. Copper in plants. Braz. J Plant Physiol. 17: 145-146.
45.Zhang, H.W., Song, Y.C., and Tan, R.X. 2006. Biology and chemistry of endophytes. Nat. Prod. Rep. 23: 753-771.

J. of Soil Management and Sustainable Production, Vol. 5(1), 2015
http://ejsms.gau.ac.ir

Gorgan University of Agricultural Sciences and Natural Resources

Effect of *Piriformospora indica* and *Trichoderma tomentosum* fungi on basil (*Ocimum basilicum* L.) growth under copper nitrate levels

L. Faghih Abdollahi[1], *H. Pirdashti[2], Y. Yaghoubian[3] and S.M. Alavi[4]

[1]M.Sc. Graduate, Dept. of Agronomy, Sari Agricultural Sciences and Natural Resources University, [2]Associate Prof., Dept. of Agronomy, Genetic and Agricultural Biotechnology Institute of Tabarestan, Sari Agricultural Sciences and Natural Resources University, [3]Ph.D. Student, Dept. of Agronomy, Ramin Agriculture and Natural Resources University of Khoozestan, [4]Instructor, Genetic and Agricultural Biotechnology Institute of Tabarestan, Sari Agricultural Sciences and Natural Resources University

Received: 06/22/2011; Accepted: 04/26/2014

Abstract

In order to investigate the effects of *Piriformospora indica* and *Trichoderma tomentosum* fungi on basil (*Ocimum basilicum* L.) growth under copper nitrate levels, a pot experiment in factorial arrangement with three replicates was done during 2012. Treatments were four levels of copper nitrate (0, 100, 200 and 300 mg kg^{-1} of soil) and four levels of fungal coexistence (non-inoculation control, inoculation of *Piriformospora indica* and *Trichoderma tomentosum* fungi alone and co-inoculation of two fungi). The seeds were inoculated before sowing and copper nitrate was fertigated four weeks after planting. The studied parameters were plant height, stem diameter, branches number, leaf number per plant, both stem and leaf fresh and dry weights. Results indicated that all measured parameters except leaf fresh weight showed a positive response to copper nitrate concentrations. In terms of plant height and dry weight of leaf and stem a quadratic equation while for other traits a linear equation was fitted. Interaction between copper nitrate and fungi inoculation was significant for branch number, leaf number, leaf, stem and plant fresh weights and plant and leaf dry weights. Co-inoculation of two fungi had the most positive effect (ranged from 14 to 50%) on the mentioned traits. In conclusion, results of the present study represented a positive effect of copper nitrate, mycorrhizae-like fungi and Trichoderma especially for simultaneous application of two fungi along with copper nitrate on basil growth and yield improvement.

Keywords: Trichoderma, Basil, Mycorrhiza-like fungi, Copper nitrate

* Corresponding Authors; Email: h.pirdashti@sanru.ac.ir