

## اثر اندوفیت شدن قارچ بیمارگر حشرات *Beauveria bassiana* بر صفات رشدی پنج رقم کلزا *Brassica napus*

سمانه صلح‌جوی فرد<sup>۱</sup>، رضا طلایی حسنلویی<sup>۲</sup>، رضا معالی امیری<sup>۲</sup>، گرگوری اسورد<sup>۳</sup>

گروه گیاه‌پزشکی پردیس کشاورزی و منابع طبیعی، دانشگاه تهران، کرج، ایران. گروه زراعت و اصلاح نباتات پردیس کشاورزی و منابع طبیعی، دانشگاه تهران، کرج، ایران. گروه حشره‌شناسی، دانشگاه تگزاس ای اند ام، تگزاس، آمریکا. ✉rtalaei@ut.ac.ir

دریافت: ۱۴۰۱/۰۳/۱۳ بازنگری: ۱۴۰۱/۰۵/۰۲ پذیرش: ۱۴۰۱/۰۵/۰۳

### چکیده

امروزه کشت کلزا، *Brassica napus* به عنوان مهم‌ترین دانه‌روغنی، به دلیل ضرورت تولید روغن خوراکی توسعه یافته است. استفاده از عوامل پروبیوتیک در جهت بهبود صفات رشدی، عملکردی و مقاومت به آفات، می‌تواند اثرات زیان‌بار ناشی از بکارگیری سموم و کودهای شیمیایی را تعدیل نماید. در این پژوهش، نقش اندوفیتی قارچ *Beauveria bassiana* در پنج رقم کلزا اوکاپی، نپتون، نفیس، نیما و آتورا از نظر استقرار قارچ و بهبود صفات رشدی گیاه بررسی شد. بذور به صورت غوطه‌وری در سوسپانسیون قارچی با غلظت‌های ۱۰<sup>۶</sup> و ۱۰<sup>۷</sup> کنیدی در میلی‌لیتر و نیز پوشش دادن با پودر کنیدی، تیمار شدند. تا ۲۱ روز پس از مایه‌زنی، نمونه‌برداری برای تعیین استقرار قارچ در گیاه و اندازه‌گیری صفات رشدی کلزا صورت گرفت. برای استحصال قارچ از گیاه، بافت‌های گیاهی در SDAY قرار داده شد و تا ۱۰ روز ارزیابی شد. نتایج نشان داد قارچ به صورت اندوفیت در کلیه ارقام، استقرار یافته و تا ۲۱ روز پس از مایه‌زنی قارچ، قابل استحصال بود. تجزیه داده‌های مربوط به صفات رشدی نشان داد که بین گیاهان تیمار شده و شاهد، اختلاف معنی‌داری وجود داشت و رقم نپتون پاسخ مطلوب‌تری به قارچ اندوفیت نشان داد. از آن‌جا که نپتون جز ارقام زمستانه با سطح زیرکشت بالا در کشور می‌باشد، تیمار بذر آن با کنیدی قارچ قبل از کشت، به صورت عملیاتی در کشور توصیه می‌شود. این امر سبب بهبود صفات رشدی گیاه استراتژیک کلزا شده و نهایتاً ارتقا شاخص‌های عملکردی را سبب خواهد شد.

کلمات کلیدی: بهره‌وری، دانه روغنی، سوسپانسیون قارچی، کود بیولوژیک، نپتون

## Effect of endophytic *Beauveria bassiana* on growth traits of five rapeseed varieties *Brassica napus*

Samaneh Solhjoui-Fard<sup>1</sup>, Reza Talaie-Hassanloui<sup>2</sup>, Reza Maali-Amiri<sup>2</sup>, Gregory A. Sword<sup>3</sup>

<sup>1</sup>Department of Plant Protection, College of Agriculture and Natural Resources, University of Tehran, Karaj, Iran.

<sup>2</sup>Department of Agronomy and Plant Breeding, College of Agriculture and Natural Resources, University of Tehran,

Karaj, Iran. <sup>3</sup>Department of Entomology, Texas A&M University, College Station, Texas, USA. ✉rtalaei@ut.ac.ir

Received: 3 June 2022

Revised: 24 July 2022

Accepted: 25 July 2022

### Abstract

Today, development of rapeseed *Brassica napus* cultivation has been considered due to the need to produce edible oil. Using chemical pesticides and fertilizers for the product increase has had detrimental effects on the environment and food safety. Applying probiotic agents could increase rapeseed improvement and growth factors besides promoting crop resistance to pests and diseases in sustainable agriculture. Thus, the endophytic role of *Beauveria bassiana* as the most well-known insect pathogenic fungus was investigated in five rapeseed varieties as Okapi, Nepton, Nafis, Nima, and Atura in terms of establishment and improvement of their growth indices. The seeds of these cultivars were treated by immersion in fungal suspensions of 10<sup>6</sup> and 10<sup>7</sup> conidia per ml and by coating with fungus conidial powder. Sampling was performed to determine the presence of fungus in the plant and to measure growth factors, until 21 days after inoculation. To re-isolate the fungus from the plant tissues, the tissues were plated on SDAY and evaluated after 10 days. The results showed that the fungus was well established as an endophyte in all varieties. Analysis of data on growth variables showed that there was a significant difference between treated and control plants for each variety. Nepton demonstrated a better response. Since this cultivar is one of the winter varieties that is commonly cultivated in Iran, seed treatment by the fungus could be used operationally in our country. This will improve the growth traits of the strategic plant, rapeseed, and increase the yield indices, ultimately.

**Keywords:** Biological fertilizer, Fungal suspension, Nepton, oilseed, Productivity

### How to cite:

Solhjoui-Fard S, Talaie-Hassanloui R, Maali-Amiri R, Sword GA, 2023. Effect of endophytic *Beauveria bassiana* on growth traits of five rapeseed varieties (*Brassica napus*). *Journal of Applied Research in Plant Protection* 12 (1): 87-94.

مقدمه

به دلیل نقش ارزشمند کلزا (*Brassica napus* L.) در تناوب زراعی، سازگاری با اقلیم‌های مختلف و محتوای دانه‌های روغنی آن برای مصارف خوراکی، سوخت زیستی و صنعتی، این گیاه از لحاظ اقتصادی به عنوان یک دانه روغنی مهم در کشورهای مختلف به شمار می‌رود (Iacovidou & Gerassimidou, 2018) در ایران نیز به دلیل ضرورت تولید روغن خوراکی در داخل کشور، توسعه کشت کلزا در سال‌های اخیر مورد توجه قرار گرفته و ارقام مختلف آن با ویژگی‌های فیزیولوژیک متفاوت و متناسب با شرایط اقلیمی هر منطقه کشت می‌شود (Yazdandoust-Hamedani 2020). استفاده بیش از حد و مداوم از کودهای شیمیایی برای افزایش عملکرد منجر به اثرات مضر بر محیط زیست و سلامت مواد غذایی، کاهش مقاومت محصول در برابر آفات و بیماری‌ها و سایر عوامل تنش‌زا می‌شود (Itelima et al. 2020; Hasnain et al. 2020; Ye et al. 2018). ارتقا بهره‌وری کشاورزی و حفاظت از محیط زیست، نیازمند کاهش مصرف کودهای شیمیایی است که علیرغم چالش برانگیز بودن، امکان‌پذیر می‌باشد. استفاده از کودهای زیستی و مایه‌زنی میکروبی ممکن است یک راهبرد مطلوب در رشد کلزا باشد (Adesemoye & Kloepper 2009; Tian et al. 2020; Azimi et al. 2021). مطالعات نشان داده که قارچ‌های بیماریگر حشرات علاوه بر ایجاد مستقیم بیماری در حشرات، پتانسیل اندوفیت شدن در گیاه را نیز داشته، به طوری که با بهبود دفاع در برابر تنش گیاهی به رشد بهینه گیاه کمک نموده (Begum & Tamilselvi 2016) و می‌توانند به عنوان آنتاگونیست بیماری‌های گیاهی نیز محسوب شوند (Jaber & Ownley 2019; Narmani et al. 2019; Hodkinson et al. 2018). از این‌رو، استفاده از قارچ *Beauveria bassiana* (Bals.) Vuill. به عنوان اندوفیت برای بهبود رشد و بهره‌وری محصول یکی از این راه‌حل‌ها می‌باشد (Sánchez-Rodríguez et al. 2018). این گونه یکی از عوامل شناخته شده کنترل میکروبی حشرات، دارای چندین محصول تجاری است و از آن‌جاکه نقش بیماری‌گری این قارچ به خوبی شناخته شده، تحقیقات در چند سال گذشته به نقش بالقوه آن در بهبود رشد گیاه متمرکز بوده است (Jaber & Ownley 2018; Vega 2018; Dara 2019). مایه‌زنی ریشه (Greenfield 2016; McKinnon 2017)، پاشش اندام‌های هوایی (Hevief 2020; Wei 2020) و بذرمال کردن (Jaber & Enkerli 2016; Murphy et al. 2017)

معمول‌ترین روش‌های موثر مایه‌زنی قارچ به گیاه می‌باشد. تعداد پژوهش‌های انجام یافته در دنیا برای بررسی اثرات قارچ‌های بیماریگر حشرات به عنوان اندوفیت بر روی کلزا بسیار اندک است. (Lohse et al. 2015). فرمولاسیون‌های مختلف برای استقرار اندوفیتی *B. bassiana* در یک رقم مشخص از *B. napus* را بررسی کردند. همچنین Batta (2013) نشان داد که قارچ اندوفیت *Metarhizium anisopliae* (Metschn.) Sorokīn اثرات مضر بر لاروهای *Plutella xylostella* (Linnaeus, 1758) روی کلزا دارد. با این حال، تاکنون گزارشی در مورد پتانسیل *B. bassiana* یا سایر قارچ‌های بیماریگر حشرات که به عنوان اندوفیت در کلزا تغییرات صفات رشدی را سبب شوند، در دسترس نیست. استفاده از یک قارچ بومی به عنوان اندوفیت برای استقرار در گیاه می‌تواند منجر به افزایش عملکرد گیاه در مزارع به دلیل بهبود رشد شود. بنابراین، تحقیق حاضر با هدف سنجش اثرات مایه‌زنی *B. bassiana* روی رقم‌های مختلف گیاه کلزا با روش بذرمال کردن، انجام یافته است.

مواد و روش‌ها

قارچ

در پژوهش حاضر از قارچ *B. bassiana* جدایه TV (جداسازی شده از خاک) که از آزمایشگاه کنترل بیولوژیک دانشکده کشاورزی و منابع طبیعی دانشگاه تهران تهیه شد استفاده گردید. این جدایه از خاک تاکستان منطقه تنکمان استان البرز جمع‌آوری شده است (Seyed Talebi et al. 2018). جدایه قارچی بر روی محیط کشت سابورود دکستروز آگار حاوی یک درصد عصاره مخمر (SDAY) در تشتک پتری کشت و در انکوباتور با دمای  $25 \pm 1$  درجه سلسیوس و تاریکی نگهداری شد. کنیدی‌ها از سطح کشت‌های تقریباً ۱۴ روزه جمع‌آوری شده و به ۱۰ میلی‌لیتر آب مقطر استریل و Tween80 یک‌صدم درصد اضافه شد. سوسپانسیون کنیدی پس از ورتکس و عبور از کاغذ صافی درون قیف بوختر، تهیه شد. غلظت کنیدی با استفاده از لام هموسیتومتر در زیر میکروسکوپ نوری تعیین و غلظت‌های  $10^6$  و  $10^7$  کنیدی در میلی‌لیتر آماده شد. زنده‌مانی کنیدی‌ها با کشت سوسپانسیون قارچی رقیق شده روی محیط کشت SDAY پس از انکوباسیون به مدت ۲۴ ساعت در دمای ۲۵ درجه سلسیوس تخمین زده شد. از آن‌جا که تندش بعد از این مدت بیش از ۹۰ درصد بود، برای ادامه کار قابل قبول در نظر گرفته شد. مقدار

ریشه بود. ابتدا گیاهان به طور کامل با آب مقطر شسته شدند سپس سطوح تمام نمونه‌ها در هیپوکلریت سدیم ۰/۵ درصد به مدت دو دقیقه و در ادامه در اتانول ۷۰ درصد به مدت دو دقیقه ضدعفونی شده و نهایتاً در آب مقطر استریل سه بار به مدت دو دقیقه شستشو داده شدند. قطعات گیاهی قبل از قرار گرفتن در SDAY، به صورت جداگانه تحت شرایط استریل خشک شدند. در محیط کشت SDAY، برای جلوگیری از آلودگی توسط باکتری از آنتی بیوتیک‌های پنی سیلین و تتراسایکلین به نسبت ۰/۱٪ استفاده شد. تشتک پتری حاوی نمونه‌های گیاهی در تاریکی در دمای ۲۵ درجه سلسیوس با رطوبت نسبی ۶۵ درصد نگهداری شد. پس از ۱۰ روز، برگ‌ها و قطعات ریشه به صورت چشمی برای رشد *B. bassiana* درون بافت‌های داخلی گیاه مورد بررسی قرار گرفتند. برای اطمینان از عدم آلودگی سطحی قارچ بر روی گیاه، از مایع آخرین شستشوی بافت‌ها نیز روی محیط SDAY کشت داده شد.

#### سنجش صفات رشدی گیاه

اثر قارچ بر تغییر رشد گیاهی در ارقام استفاده شده کلزا با اندازه‌گیری ارتفاع اندام هوایی (mm)، طول ریشه (mm)، سطح برگ ( $mm^2$ )، حجم ریشه (mL)، وزن تر و خشک (g)، در سه بازه زمانی ۷، ۱۴، ۲۱ روز پس از مایه‌زنی قارچ مورد سنجش قرار گرفت اما با توجه به هدف از این آزمون، داده‌های ۲۱ روز پس از مایه‌زنی برای مطالعه صفات رشدی در تجزیه استفاده شد.

#### تجزیه آماری

آزمایش حاضر به صورت فاکتوریل شامل تیمار رقم در پنج سطح (Okapi, Nepton, Atora, Nima و Nafis) و تیمار غلظت قارچی در چهار سطح (شاهد، ۱۰<sup>۶</sup> و ۱۰<sup>۷</sup> کنیدی در میلی لیتر و پوشش بذری با کنیدی خشک) با سه تکرار در قالب طرح کاملاً تصادفی پیاده‌سازی و اجرا شد. کلیه داده‌های جمع‌آوری شده با استفاده از تجزیه واریانس (ANOVA) و در صورت معنی‌دار بودن از آزمون توکی برای مقایسه میانگین‌ها در سطح اطمینان ۹۵ درصد در نرم‌افزار SAS نسخه ۹٫۴ مورد تجزیه و تحلیل قرار گرفتند.

#### نتایج و بحث

میزان بازیابی قارچ از برگ و ریشه

پنج گرم از کنیدی‌های قارچی ۱۴ روزه برای روش بذرمال با پودر قارچی جدا و تعداد کنیدی‌ها در هر میلی‌گرم پودر تخمین زده شد (Johnson et al. 2020).

#### ارقام کلزا

بذرهای ارقام اوکاپی، نپتون، نفیس، نیما و آتورا کلزا از بانک ژن مزرعه آموزشی و پژوهشی دانشکدگان کشاورزی و منابع طبیعی دانشگاه تهران (کرج) تهیه شد. این بذور بدون هیچ‌گونه پوشش قارچکش بودند. تمامی بذرها ابتدا به مدت سه دقیقه با هیپوکلریت سدیم ۰/۵ درصد و سه دقیقه در اتانول ۷۰ درصد استریل شده و پس از سه بار شستشو با آب مقطر سترون، به مدت ۱۲ ساعت در زیر یک هود میکروبیولوژیک، خشک شدند. سپس آزمون درصد جوانه‌زنی ارقام انجام گرفت (Murphy et al. 2013). بذرهای تیمار شده و شاهد برای همه آزمایش‌ها به صورت جداگانه در گلدان‌هایی با عرض ۱۲۰ میلی‌متر و ارتفاع ۳۰۰ میلی‌متر که حاوی بستر پیت ماس استریل بودند، کاشته شدند. همه گیاهان در گلخانه در دمای ۲۰-۲۵ درجه سلسیوس، رطوبت نسبی ۶۰-۴۰ درصد، با دوره نوری ۱۶ ساعت روشنایی نگهداری شدند.

#### مایه‌زنی قارچ به گیاه

در حالت اول بذور سترون شده به مدت ۲۴ ساعت به طور جداگانه درون غلظت‌های قارچی ۱۰<sup>۶</sup> و ۱۰<sup>۷</sup> کنیدی در میلی‌لیتر قرار داده شدند. برای حالت دوم که پوشش‌دهی پودری بذور بود مقدار پنج گرم پودر کنیدی به ازای هر ۳۰ بذر مورد استفاده قرار گرفت (Murphy et al. 2013). به طوری که بذرها کاملاً با کنیدی‌های پودری قارچ پوشانده شدند. سپس بذرهای تیمار شده هر دو حالت به صورت جداگانه در گلدان کاشته شدند. سه تکرار برای هر تیمار در نظر گرفته شد. گیاهان شاهد نیز بدون هیچ‌گونه پوشش به صورت منفرد در گلدان‌های پلاستیکی کشت شدند.

#### بازیابی قارچ از بخش‌های مختلف گیاه

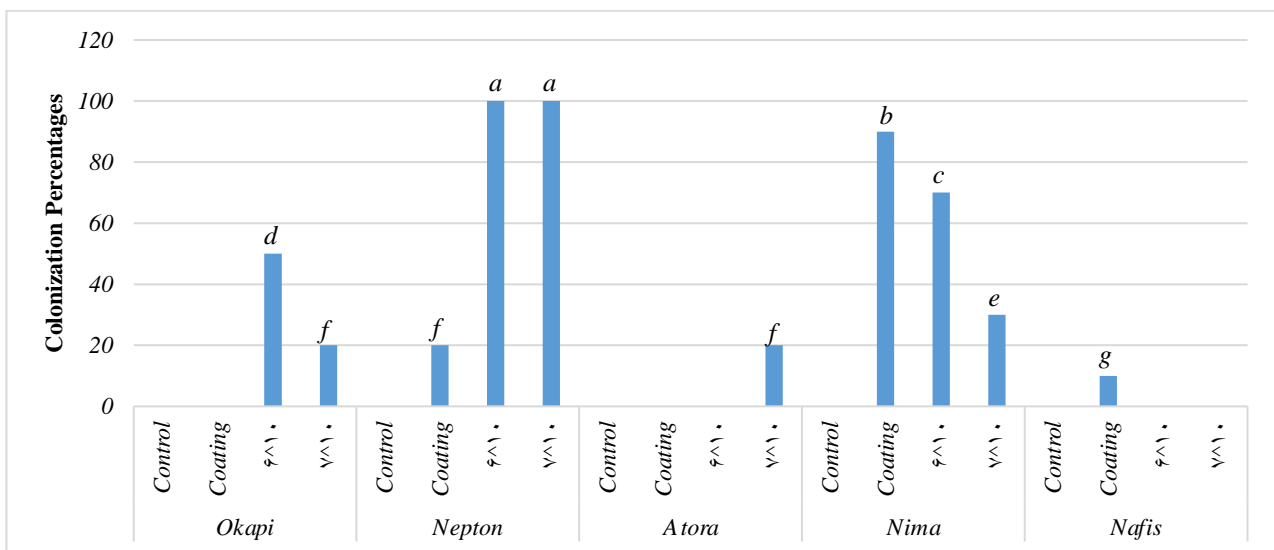
پرگنه‌سازی قارچ در کلیه بافت‌های گیاهان تیمار شده در بازه زمانی ۲۱ روز پس از مایه‌زنی بررسی شد. در هر نوبت، سه گیاه از هر تکرار از تیمارها انتخاب شدند. پرگنه‌سازی *B. bassiana* در برگ‌ها (قدیمی‌ترین برگ، برگ توسعه یافته، جوان‌ترین برگ) و ریشه به طور جداگانه بررسی شد. نمونه بافت هر گیاه، پنج قطعه کوچک (یک سانتی‌متر مربع) از مراحل مختلف برگ و پنج قطعه به طول یک سانتی‌متر از

از مایه‌زنی در گیاه، فقط در ارقام نپتون و نیما استقرار داشته در حالی که استحصال قارچ برای سایر ارقام، فقط در برخی از غلظت‌ها تا ۲۱ روز پس از مایه‌زنی، امکان‌پذیر بود.

تغییر صفات رشدی گیاه

نتایج به دست آمده از تجزیه واریانس نشان داد که اثر رقم و مایه‌زنی بذری قارچ *B. bassiana* بر صفات رشدی گیاهچه کلزا در سطح احتمال یک درصد معنی‌دار بود (جدول ۱). همچنین، اثر متقابل رقم × مایه‌زنی بذری در سطح احتمال یک درصد بر صفات طول بخش هوایی، سطح برگ، وزن تر و وزن خشک گیاهچه و در سطح احتمال پنج درصد بر طول ریشه گیاهچه کلزا معنی‌دار بود (جدول ۱).

استقرار قارچ *B. bassiana* به عنوان اندوفیت در گیاهان کلزا که تا ۲۱ روز پس از مایه‌زنی با سوسپانسیون قارچی و پودر قارچ مورد ارزیابی قرار گرفته بود، نشان داد که قارچ با موفقیت در ارقام مختلف کلزا با دو غلظت مورد آزمایش، کلونیزه شده است (شکل ۱). در زمان استریل کردن سطح گیاهان، آب آخرین مرحله شستشوی بافت‌های گیاهی که برای احتمال آلودگی سطحی قارچ روی گیاه، در محیط کشت SDA سنجش شد، هیچ گونه رشد قارچی را نشان نداد. بنابراین به نظر می‌رسد که قارچ رشد یافته از بافت‌های گیاهی استریل روی محیط کشت SDA، قارچ اندوفیت است. با ملاحظه دو غلظت سوسپانسیون و پودرمال، دوام قارچ در بازه ۲۱ روز پس



شکل ۱. درصد کلونیزه شدن گیاه در ارقام مختلف کلزا با قارچ *Beauveria bassiana*، ۲۱ روز پس از مایه‌زنی.

**Fig 1.** Colonization percentages of *Beauveria bassiana* in rapeseed varieties with different inoculations, 21 days after inoculation.

یافت (جدول ۲). مقایسه تیمارهای بذری از نظر وزن تر و خشک گیاهچه نشان دهنده اختلاف معنی‌دار تیمارهای بذری در مقایسه با تیمار شاهد بود اگرچه اختلاف معنی‌داری ما بین این تیمارها وجود نداشت (جدول ۲). تفاوت قابل مشاهده در صفات رشدی بین گیاهان کلزا مایه‌زنی شده با قارچ در مقایسه با شاهد، مشابه مطالعات قبلی بود که در آن *B. bassiana* تاثیر مثبت بر شاخص‌های رشدی گیاهان مختلف (Tall & Meyling 2018) از جمله پنبه (Lopez & Sword 2015) و کاساوا (Greenfield et al. 2016) داشت.

بررسی اثر متقابل تیمارها نشان داد که بیشترین میزان طول ریشه مربوط به تیمار بذر 10<sup>6</sup> کنیدی بر میلی‌لیتر در رقم آتورا به میزان ۱۸/۴۷ سانتی‌متر بوده در حالی که بیشترین

مقایسه میانگین تیمارها با استفاده از آزمون توکی نشان داد که ما بین ارقام، رقم نفیس بیشترین طول ریشه و رقم اوکاپی بیشترین طول بخش هوایی و سطح برگ را به خود اختصاص دادند. همچنین، بیشترین وزن تر گیاهچه مربوط به رقم نیما و بیشترین وزن خشک گیاهچه مربوط به رقم نپتون بود. ما بین سطوح مختلف تیمار بذری نیز، تیمار 10<sup>6</sup> بیشترین طول ریشه را به خود اختصاص داد. از نظر طول بخش هوایی، تیمارهای بذری اختلاف معنی‌داری نشان ندادند.

مقایسه سطوح تیمار بذری از نظر سطح برگ نشان داد که تیمارهای بذری اگرچه با یکدیگر اختلاف معنی‌داری نداشتند لیکن در مقایسه با شاهد افزایش سطح برگ را ایجاد کردند به طوری که کمترین سطح برگ به شاهد (۲۰/۵ cm<sup>2</sup>) اختصاص

مربوط به تیمار  $10^6$  و  $10^7$  کنیدی بر میلی‌لیتر رقم نپتون بود. لذا می‌توان وزن خشک گیاهچه را شاخص مناسب‌تری از نظر وزن گیاهچه در نظر گرفت.

میزان طول بخش هوایی گیاهچه و سطح برگ مربوط به تیمارهای بذری در رقم اوکاپی بود (جدول ۳). در مورد وزن تر گیاهچه، بیشترین مقدار مربوط به تیمار پوشش بذری در رقم نیما بود. با این حال، بیشترین مقدار وزن خشک گیاهچه

جدول ۱. تجزیه واریانس اثر مایه‌زنی بذری قارچ *Beauveria bassiana* بر صفات رشدی گیاهچه کلزا.

**Table 1.** Analysis of variance for effects of *Beauveria bassiana* seed inoculation on seedling growth indices of rapeseed varieties.

S.O.V	df	Mean square				
		Root length (cm)	Shoot length (cm)	Leaf area (cm <sup>2</sup> )	Fresh weight (g)	Dry weight (g)
Variety (V)	4	9.21	47.3**	273.7**	0.49**	0.0060**
Inoculation (I)	3	34.2**	2.14	24.2*	0.035**	0.0016**
V*I	12	8.72*	3.77**	19.3*	0.026**	0.0009**
Error	40	3.6	1.28	8.85	0.004	0.0002
C.V(%)	-	16.8	17.6	13.5	5.5	14.7

\* and \*\*: Significant at 5 and 1% probability levels, respectively.

جدول ۲. مقایسه میانگین اثرات اصلی رقم و مایه‌زنی بر صفات رشدی گیاهچه ی کلزا بعد از ۲۱ روز.

**Table 2.** Main effects of cultivar and inoculation on seedling growth indices in rapeseed.

Treatments	Root length (cm)	Shoot length (cm)	Leaf area (cm <sup>2</sup> )	Fresh weight (g)	Dry weight (g)	
Variety (V)	Okapi	11.67 <sup>b</sup>	9.76 <sup>a</sup>	30.00 <sup>a</sup>	1.071 <sup>c</sup>	0.099 <sup>b</sup>
	Nepton	12.57 <sup>ab</sup>	6.38 <sup>b</sup>	21.27 <sup>b</sup>	1.199 <sup>b</sup>	0.135 <sup>a</sup>
	Atora	13.14 <sup>ab</sup>	6.01 <sup>bc</sup>	17.34 <sup>c</sup>	0.916 <sup>d</sup>	0.080 <sup>c</sup>
	Nima	11.60 <sup>b</sup>	5.39 <sup>cd</sup>	19.75 <sup>bc</sup>	1.457 <sup>a</sup>	0.127 <sup>a</sup>
	Nafis	13.58 <sup>a</sup>	4.60 <sup>d</sup>	21.90 <sup>b</sup>	1.055 <sup>c</sup>	0.097 <sup>b</sup>
Inoculation (I)	Control	11.0 <sup>b</sup>	6.1 <sup>a</sup>	20.5 <sup>b</sup>	1.07 <sup>b</sup>	0.094 <sup>b</sup>
	Coating	12.4 <sup>b</sup>	6.1 <sup>a</sup>	21.5 <sup>ab</sup>	1.18 <sup>a</sup>	0.106 <sup>a</sup>
	$10^6$	14.6 <sup>a</sup>	6.9 <sup>a</sup>	22.8 <sup>a</sup>	1.15 <sup>ab</sup>	0.116 <sup>a</sup>
	$10^7$	11.9 <sup>b</sup>	6.5 <sup>a</sup>	23.3 <sup>a</sup>	1.12 <sup>ab</sup>	0.111 <sup>a</sup>

Mean in each column followed by similar letter(s), are not significantly different at 5% probability level, using Tukey's Multiple Range Test.

نپتون گذاشته است. نپتون یک رقم هیبرید و زمستانه بوده و سطح زیر کشت بالایی در کشور دارد (Zarei & Asgari 1399)

میانگین وزن خشک اندازه‌گیری شده در بازه زمانی ۲۱ روز پس از مایه‌زنی نشان داد قارچ اندوفیت تاثیر بیشتری بر رقم

در مقایسه با نپتون نتیجه کمتری را نشان داده است. نفیس نیز یک رقم غیرهیبرید و زمستانه است که از تلاقی دو رقم ورینت و مودنا به دست آمده (Yazdandoust-Hamedani 2020)، اما از نظر استقرار اندوفیت قارچی، علیرغم بالاتر بودن وزن خشک تیمارهای تلقیح شده نسبت به شاهد، تیمارهای مختلف اختلاف معناداری با شاهد در وزن خشک ندارند. آتورا یک رقم تحقیقاتی هیبرید و زمستانه است که گرچه تفاوت معناداری در فاکتورهای رشدی این رقم با شاهد و میزان تاثیرپذیری آن از وجود قارچ به صورت اندوفیت مشاهده شده، لیکن در مقایسه با سایر ارقام هم از نظر استقرار قارچ و هم مقادیر افزایش صفات رشدی، رتبه پایین‌تری داشت.

از این‌رو احتمالاً با بذرمال کردن این رقم با قارچ اندوفیت می‌توان نتایج بهتری را در عملکرد کلزا گرفت، موضوعی که (Chitnis *et al.* 2020) با عنوان کلی بهبود تولیدات گیاهی بواسطه اندوفیت‌های قارچی به آن اشاره داشته‌اند. اوکاپی یک رقم فرانسوی غیرهیبرید و زمستانه کلزا می‌باشد و یکی از ارقام مادری اغلب ارقام داخلی محسوب می‌شود (Yazdandoust-Hamedani 2020)، اگرچه این رقم نسبت به کلونیزه شدن قارچ، جواب مثبت نشان داده اما با ملاحظه وزن تر و خشک اندام هوایی در مقایسه با رقم نپتون نسبتاً ضعیف ارزیابی می‌شود. در رقم غیرهیبرید و زمستانه نیما، در تیمارهای مختلف، امکان استقرار قارچ اندوفیت وجود داشت و این رقم نیز

جدول ۳. مقایسه میانگین اثر متقابل ژنوتیپ × مایه‌زنی بذری بر صفات رشدی گیاهچه ی کلزا.

Table 3. Interaction effects of Genotype and Inoculation on seedling growth indices of rapeseed.

Treatments	Root length (cm)	Shoot length (cm)	Leaf area (cm <sup>2</sup> )	Shoot fresh weight (g)	Shoot dry weight (g)	
Okapi	Control	10.50 <sup>cde</sup>	7.03 <sup>bc</sup>	23.30 <sup>b</sup>	1.03 <sup>fg</sup>	0.088 <sup>fgh</sup>
	Coating	11.83 <sup>bcd</sup>	10.10 <sup>a</sup>	31.40 <sup>a</sup>	1.18 <sup>d</sup>	0.090 <sup>fgh</sup>
	10 <sup>6</sup>	12.56 <sup>bcd</sup>	11.40 <sup>a</sup>	32.23 <sup>a</sup>	1.03 <sup>fg</sup>	0.114 <sup>cdef</sup>
	10 <sup>7</sup>	11.80 <sup>bcd</sup>	10.52 <sup>a</sup>	33.06 <sup>a</sup>	1.03 <sup>g</sup>	0.106 <sup>defg</sup>
Nepton	Control	11.56 <sup>bcde</sup>	6.20 <sup>bcde</sup>	20.83 <sup>bcd</sup>	1.13 <sup>def</sup>	0.088 <sup>fgh</sup>
	Coating	11.66 <sup>bcde</sup>	5.66 <sup>cde</sup>	21.71 <sup>bcd</sup>	1.17 <sup>de</sup>	0.117 <sup>cde</sup>
	10 <sup>6</sup>	14.43 <sup>b</sup>	7.02 <sup>bc</sup>	21.38 <sup>bcd</sup>	1.10 <sup>defg</sup>	0.166 <sup>a</sup>
	10 <sup>7</sup>	12.63 <sup>bcd</sup>	6.66 <sup>bcd</sup>	21.16 <sup>bcd</sup>	1.38 <sup>c</sup>	0.168 <sup>a</sup>
Atora	Control	8.20 <sup>e</sup>	7.86 <sup>b</sup>	16.83 <sup>de</sup>	0.81 <sup>h</sup>	0.078 <sup>h</sup>
	Coating	13.57 <sup>bc</sup>	5.39 <sup>cde</sup>	17.65 <sup>cde</sup>	0.91 <sup>h</sup>	0.086 <sup>gh</sup>
	10 <sup>6</sup>	18.47 <sup>a</sup>	5.47 <sup>cde</sup>	17.71 <sup>cde</sup>	1.05 <sup>fg</sup>	0.073 <sup>h</sup>
	10 <sup>7</sup>	12.33 <sup>bcd</sup>	5.33 <sup>cde</sup>	17.16 <sup>cde</sup>	0.88 <sup>h</sup>	0.084 <sup>gh</sup>
Nima	Control	11.66 <sup>bcde</sup>	4.86 <sup>de</sup>	20.00 <sup>bcd</sup>	1.34 <sup>c</sup>	0.117 <sup>cde</sup>
	Coating	11.53 <sup>bcde</sup>	5.13 <sup>de</sup>	14.76 <sup>e</sup>	1.60 <sup>a</sup>	0.140 <sup>bc</sup>
	10 <sup>6</sup>	13.56 <sup>bc</sup>	6.03 <sup>bcde</sup>	20.93 <sup>bcd</sup>	1.50 <sup>b</sup>	0.131 <sup>cd</sup>
	10 <sup>7</sup>	9.66 <sup>de</sup>	5.53 <sup>cde</sup>	23.33 <sup>b</sup>	1.36 <sup>c</sup>	0.119 <sup>cde</sup>
Nafis	Control	13.23 <sup>bc</sup>	4.56 <sup>e</sup>	21.75 <sup>bc</sup>	1.03 <sup>fg</sup>	0.096 <sup>efgh</sup>
	Coating	13.73 <sup>bc</sup>	4.43 <sup>e</sup>	21.96 <sup>bc</sup>	1.06 <sup>fg</sup>	0.099 <sup>efgh</sup>
	10 <sup>6</sup>	13.96 <sup>bc</sup>	4.60 <sup>e</sup>	22.06 <sup>bc</sup>	1.07 <sup>efg</sup>	0.098 <sup>efgh</sup>
	10 <sup>7</sup>	13.40 <sup>bc</sup>	4.72 <sup>e</sup>	21.85 <sup>bc</sup>	1.03 <sup>fg</sup>	0.097 <sup>efgh</sup>

Mean in each column followed by similar letter(s), are not significantly different at 5% probability level, using Tukey's Multiple Range Test.

مختلف، رقم نپتون که با غلظت  $10^7$  کنیدی در میلی‌لیتر مایه‌زنی شده بودند، اختلاف معناداری با سایر گیاهان تیمار شده داشت و نشان از این دارد که قارچ *B. bassiana* وضعیت رشدی گیاهان تیمار شده را بهبود بخشیده است. از این‌رو، با توجه به این‌که تیمار کلزا با قارچ بیمارگر حشرات *B. bassiana* اثرات مثبتی بر رشد گیاه داشته، گام مهم بعدی این است که مشخص شود آیا این جدایه از قارچ در صورت حضور به عنوان اندوفیت در گیاهان کلزا اثرات منفی بر حشرات آفت نیز دارد یا خیر.

## References

- Adesemoye A O, Kloepper J W, 2009. Plant-microbes interactions in enhanced fertilizer-use efficiency. *Applied Microbiology and Biotechnology* 85 (1): 1-12.
- Azimi S, Shahin S, Alizadeh A, 2021. Evaluation of bean plant treatment with *Trichoderma harzianum* TR6 on the biology of bean aphid *Aphis fabae*. *Journal of Applied Research in Plant Protection* 10 (1):1-6 (In Persian with English abstract).
- Batta Y A, 2013. Efficacy of endophytic and applied *Metarhizium anisopliae* (Metch.) Sorokin (Ascomycota: Hypocreales) against larvae of *Plutella xylostella* L. (Yponomeutidae: Lepidoptera) infesting *Brassica napus* plants. *Crop Protection* 44: 128-134.
- Begum S R, Tamilselvi K, 2016. Endophytes are plant helpers: an overview. *International Journal of Current Microbiology and Applied Sciences* 5: 424-436.
- Chitnis V R, Suryanarayanan T S, Nataraja K N, Prasad S R, Oelmüller R, Shaanker R U, 2020. Fungal endophyte-mediated crop improvement: the way ahead. *Frontiers in Plant Science* 11: 1588.
- Dara S K, 2019. Non-Entomopathogenic Roles of Entomopathogenic Fungi in Promoting Plant Health and Growth. *Insects* 10(9): 277.
- Greenfield M, Gómez-Jiménez M I, Ortiz V Vega, F E Kramer M, Parsa S, 2016. *Beauveria bassiana* and *Metarhizium anisopliae* endophytically colonize cassava roots following soil drench inoculation. *Biological Control* 95: 40-48.
- این روش برای کشاورز بسیار کاربردی بوده و در مزرعه نیز عملیاتی می‌باشد به طوری که بذور کلزا پیش از کشت با قارچ مذکور پوشش داده شود سپس کشت شود تا علاوه بر بهبود صفات رشدی گیاه در ارتقای عملکرد کلزا که به واسطه رشد رویشی مناسب ایجاد می‌شود موثر باشد.
- سخن آخر این که با مایه‌زنی سوسپانسیون قارچی و پودر قارچ به صورت پوشش سطح بذر به گیاه، در پنج رقم مختلف کلزا، قارچ *B. bassiana* با موفقیت در گیاهان کلزا به صورت اندوفیت استقرار یافته و در برخی موارد تا ۲۱ روز نیز دوام داشته است. با مقایسه وزن خشک کلیه گیاهان کلزا از ارقام
- Hasnain M., Chen J, Ahmed N, Memon S, Wang L, Wang Y, Wang P, 2020. The Effects of Fertilizer Type and Application Time on Soil Properties, Plant Traits, Yield and Quality of Tomato. *Sustainability* 12 (21): 9065.
- Hevief GA, Nyamador SW, Datinon BD, Glitho IA, Tamò M, 2020. Comparative efficacy of endophytic versus foliar application of the entomopathogenic fungus *Beauveria bassiana* against the crucifer diamondback moth larvae for sustainable cabbage protection. *International Journal of Biological and Chemical Sciences* 14 (4): 1448-1458.
- Hodkinson TR, Doohan FM, Saunders MJ, Murphy BR, 2019. Endophytes for a growing world. Cambridge University Press. 445 pp.
- Iacovidou E, Gerassimidou S, 2018. Sustainable Packaging and the Circular Economy: An EU Perspective. Reference Module in Food Science. In: Smithers G, Trinetta V, Knoerzer K (eds). Elsevier, Amsterdam. Pp. 1-16.
- Itelima J, Bang W, Onyimba I, Sila M, Egbere O, 2018. Bio-fertilizers as key player in enhancing soil fertility and crop productivity: A review. *Direct Research Journal of Agriculture and Food Science* 6 (3): 73-83.
- Jaber LR, Enkerli J, 2016. Effect of seed treatment duration on growth and colonization of *Vicia faba* by endophytic *Beauveria bassiana* and *Metarhizium brunneum*. *Biological Control* 103: 187-195.
- Jaber LR, Ownley BH, 2018. Can we use entomopathogenic fungi as endophytes for dual biological control of insect pests and plant pathogens? *Biological Control* 116: 36-45.

- Johnson DM, White RL, Pereira RM, Geden CJ, 2020. *Beauveria bassiana* culturing and harvesting for bioassays with house flies. *Journal of Insect Science* 20 (6): 14.
- Lohse R, Jakobs-Schönwandt D, Vidal S, Patel AV, 2015. Evaluation of new fermentation and formulation strategies for a high endophytic establishment of *Beauveria bassiana* in oilseed rape plants. *Biological Control* 88: 26–36.
- Lopez DC, Sword GA, 2015. The endophytic fungal entomopathogens *Beauveria bassiana* and *Purpureocillium lilacinum* enhance the growth of cultivated cotton (*Gossypium hirsutum*) and negatively affect survival of the cotton bollworm (*Helicoverpa zea*). *Biological Control* 89: 53–60.
- McKinnon AC, Saari S, Moran-Diez ME, Meyling NV, Raad M, Glare TR, 2017. *Beauveria bassiana* as an endophyte: a critical review on associated methodology and biocontrol potential. *BioControl* 62 (1): 1–17.
- Murphy BR, Doohan FM, Hodkinson TR, 2017. A seed dressing combining fungal endophyte spores and fungicides improves seedling survival and early growth in barley and oat. *Symbiosis* 71 (1): 69–76.
- Narmani A, Arzanlou M, Babaiahari A, Masteri Farahani H, 2019. Biological control of wheat fusarium head blight using antagonistic strains of commercial and local *Trichoderma*, isolated from wheat plant rhizosphere. *Journal of Applied Research in Plant Protection* 8 (2):1–2 (In Persian with English abstract).
- Sánchez-Rodríguez AR, Raya-Díaz S, Zamarreño ÁM, García-Mina JM, del Campillo MC, Quesada-Moraga E, 2018. An endophytic *Beauveria bassiana* strain increases spike production in bread and durum wheat plants and effectively controls cotton leafworm (*Spodoptera littoralis*) larvae. *Biological Control* 116: 90–102.
- Seyed Talebi FS, Safavi SA, Talaei-Hassanloui R, Bandani AR, 2018. Study of virulence conidia germination types for some *Beauveria bassiana* isolates. *Biological Control of Pests and Diseases* 7: 65–73.
- Tall S, Meyling NV, 2018. Probiotics for plants? Growth promotion by the entomopathogenic fungus *Beauveria bassiana* depends on nutrient availability. *Microbial Ecology* 76 (4): 1002–1008.
- Tian X, Li Z, Wang L, Wang Y, Li B, Duan M, Liu B, 2020. Effects of biochar combined with nitrogen fertilizer reduction on rapeseed yield and soil aggregate stability in upland of purple soils. *International Journal of Environmental Research and Public Health* 17 (1): 279.
- Vega FE, 2018. The use of fungal entomopathogens as endophytes in biological control: a review. *Mycologia* 110 (1): 4–30.
- Wei QY, Li YY, Xu C, Wu YX, Zhang YR, Liu H, 2020. Endophytic colonization by *Beauveria bassiana* increases the resistance of tomatoes against *Bemisia tabaci*. *Arthropod-Plant Interactions* 14 (3): 289–300.
- Yazdandoust-Hamedani M, 2020. Introducing internal cultivation of rapeseed in cold and moderate climates of Iran. In: Ojaghi S, Pourfattah N (eds). Agricultural Education Press. 20 pp. (In Persian)
- Ye L, Zhao X, Bao E, Li J, Zou Z, Cao K, 2020. Bio-organic fertilizer with reduced rates of chemical fertilization improves soil fertility and enhances tomato yield and quality. *Scientific Reports* 10 (1): 1–11.
- Zareei Siahbidi A, Asgari A, 2020. Response of oilseed rape hybrids and open pollinated genotypes to seeding rate. *Journal of Agricultural Science and Sustainable Production* 30 (4): 95–109 (In Persian with English abstract).

