

Isolasi dan Respons Tumbuh Cendawan Mutualistik Akar pada Beberapa Tanaman Pangan dan Kehutanan

(Isolation and Growth Response of Root Mutualistic Fungi on Several Agriculture and Forestry Plants)

Rida Oktorida Khastini^{1,2,3}, Nampiah Sukarno^{4,5*}, Utut Widyatuti Suharsono^{†4,5}, Yasuyuki Hashidoko^{†6}

(Diterima September 2021/Disetujui Januari 2022)

ABSTRAK

Penelitian ini bertujuan mengisolasi dan menguji efektivitas isolat cendawan simbion mutualistik akar dari akar tanaman karet yang tumbuh di perkebunan tanah masam marginal dalam meningkatkan pertumbuhan tanaman pangan dan kehutanan. Cendawan diisolasi dengan metode sterilisasi permukaan akar. Pada penelitian ini diperoleh 19 isolat cendawan yang terdiri atas 8 genus, yaitu *Alternaria*, *Aspergillus*, *Cladosporium*, *Curvularia*, *Fusarium*, *Penicillium Paecilomyces*, *Trichoderma*, dan miselia sterilia. Semua isolat ditapis sifat patogenisitasnya pada tanaman *Centrosema pubescens*. Lima dari 19 isolat cendawan yang diuji bersifat mutualistik akar, dan isolat *Aspergillus section Nigri* FKK 3 menunjukkan respons terbaik. Isolat tersebut dianalisis lebih lanjut untuk mengevaluasi respons tumbuhnya pada pertumbuhan tanaman pangan (padi dan jagung) dan tanaman kehutanan (akasia dan sengon). Perlakuan yang diberikan berupa 3 konsentrasi pemberian fosfat (P), yaitu 20%, 50%, dan 100% dari aplikasi lapangan. Perlakuan kombinasi inokulasi cendawan mutualistik akar *Aspergillus section Nigri* FKK 3 dan konsentrasi P sebesar 50% menunjukkan respons pertumbuhan biomassa yang tertinggi dibandingkan perlakuan lainnya. Temuan ini dapat menjadi informasi dasar pengembangan pupuk hayati berbasis cendawan simbion mutualistik akar guna meningkatkan produktivitas tanaman pangan maupun kehutanan pada lahan sub-optimal.

Kata kunci: cendawan mutualistik akar, peningkatan pertumbuhan, pupuk fosfat, tanaman pangan, tanaman kehutanan

ABSTRACT

The study aimed to isolate and test the effectiveness of mutualistic root symbiotic fungi isolated from the roots of rubber plants grown in marginal acidic soil plantations in increasing the growth of food crops and forestry plants. The fungi were isolated by root surface sterilization methods. We obtained 19 fungal isolates consisting of 8 genera, namely *Alternaria*, *Aspergillus*, *Cladosporium*, *Curvularia*, *Fusarium*, *Penicillium Paecilomyces*, *Trichoderma*, and mycelia sterilia. All isolates were subjected to a pathogenicity test on the *Centrosema pubescens* plant. Five out of the 19 fungal isolates increased plant growth and showed no disease symptoms, and the *Aspergillus section Nigri* FKK 3 isolate showed the best response. The isolate was further analyzed to assess the growth response of food crops (rice and corn) and forestry plants (*Acacia auriculiformis* and *Paraserianthes falcataria*). The treatments consisted of 3 phosphate (P) concentrations, namely 20%, 50%, and 100% of the recommended field applications. The combination of mutualistic fungal inoculation of *Aspergillus section Nigri* FKK 3 and 50% P concentration exhibited the highest biomass growth response compared to other treatments. This finding can provide basic information for developing fungal-based biofertilizers to increase the productivity of food crops and forestry plants on sub-optimal land.

Keywords: food crops, phosphate fertilizer, forestry trees, plant growth improvement, root mutualistic fungi

¹ Program Studi Mikrobiologi, Departemen Biologi, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Institut Pertanian Bogor, Kampus IPB Darmaga, Bogor 16680

² Program Studi Pendidikan Biologi, Fakultas Keguruan dan Ilmu Pendidikan, Universitas Sultan Ageng Tirtayasa, Jl. Raya Palka No. KM 3, Panacangan, Cipocok Jaya, Serang 42124

³ Pusat Unggulan Inovasi Perguruan Tinggi Ketahanan Pangan-Inovasi Pangan Lokal, Universitas Sultan Ageng Tirtayasa, Jl. Raya Palka No. KM 3, Panacangan, Cipocok Jaya, Serang 42124

⁴ Departemen Biologi, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Institut Pertanian Bogor, Kampus IPB Darmaga, Bogor 16680

⁵ Pusat Penelitian Sumberdaya Hayati dan Bioteknologi (PPSHB), Institut Pertanian Bogor, Kampus IPB Darmaga, Bogor 16680

⁶ Fakultas Pertanian, Universitas Hokkaido, Jepang

* Penulis Korespondensi: Email: nampiah@apps.ipb.ac.id

PENDAHULUAN

Berbagai pendekatan diupayakan untuk mencari solusi alternatif dalam meningkatkan kualitas hasil panen tanaman pangan dan kehutanan. Salah satunya ialah melalui proses pemupukan. Hutan tanaman industri yang dikelola secara intensif sering membutuhkan pupuk guna mempertahankan kesuburan dan meningkatkan pertumbuhan tanaman dan hasil produksi (Sloan *et al.* 2021). Hal serupa juga dilakukan dalam memproduksi tanaman pangan, yaitu melalui pengelolaan unsur hara tanah agar mampu menunjang

pertumbuhan tanaman dan menjadi faktor penentu dalam menyediakan pasokan makanan yang aman untuk memenuhi tantangan besar abad ke-21.

Pupuk telah digunakan secara luas untuk meningkatkan produksi tanaman. Penggunaan pupuk kimia di bidang pertanian dapat membuat wilayah di suatu negara mampu berswasembada pangan. Akan tetapi, pupuk kimia berdampak negatif baik pada organisme hidup maupun lingkungan. Selain itu, pupuk kimia relatif mahal dan memengaruhi kondisi tanah seperti mengurangi kapasitas menahan air dan kesuburan, menyebabkan ketidakseimbangan nutrisi tanah, dan mengakibatkan tingginya tingkat pencemaran air (Lin *et al.* 2019; Nosheen *et al.* 2021).

Dewasa ini, aplikasi pupuk hayati semakin diminati karena murah dan lebih ramah lingkungan dibandingkan dengan pupuk kimiawi. Selain itu pupuk hayati membantu menjaga struktur tanah dan keanekaragaman hayati baik pada lahan pertanian maupun kehutanan. Pupuk hayati yang sesuai dapat meminimumkan kehilangan dan meningkatkan efisiensi penggunaan unsur hara (Yousaf *et al.* 2017), meningkatkan aktivitas hayati tanah dan keanekaragaman hayati, stabilitas struktural, retensi air, dan kapasitas tukar kation (Kazimierczak *et al.* 2021). Oleh karena itu, pupuk hayati merupakan solusi alternatif sebagai substitusi yang baik untuk pupuk kimia.

Pupuk hayati adalah produk organik yang mengandung mikroorganisme spesifik, hidup berdampingan dengan akar tanaman dan pada zona di sekitar akar. Aplikasi pupuk hayati dilaporkan meningkatkan hasil produksi biji-bijian sebesar 10–40% dan mengurangi penggunaan pupuk kimia 20–30% (Kawalekar 2013). Sebagai bioinokulan yang diaplikasikan pada tanaman, mikroorganisme bermanfaat tersebut dapat mengkolonisasi bagian rizosfer tanaman sehingga mampu mendorong pertumbuhan tanaman. Hal ini dibuktikan oleh Naziya *et al.* (2020), yang berhasil mengisolasi cendawan rizosfer dengan aktivitas peningkatan pertumbuhan dan induksi ketahanan penyakit pada tanaman cabai. Mikroorganisme sebagai agen pupuk hayati dapat berasal dari kelompok cendawan maupun bakteri. Akan tetapi sampai saat ini, laporan tentang penelitian aplikasi cendawan dan mekanismenya pada pertumbuhan tanaman lebih sedikit jika dibandingkan dengan kelompok bakteri. Padahal, peran cendawan mutualistik dalam meningkatkan pertumbuhan tanaman baik tanaman pertanian maupun kehutanan sangat nyata.

Cendawan mutualistik akar terdiri atas dua kelompok, yaitu cendawan mikoriza dan non-mikoriza atau sering disebut cendawan endofit akar. Berbagai penelitian telah melaporkan banyak manfaat yang diperoleh tanaman dari hasil asosiasi dengan mikoriza seperti peningkatan luas permukaan serapan nutrisi di dalam tanah dan meningkatkan akses ke berbagai sumber nutrisi yang tidak tersedia bagi tanaman (Begum *et al.* 2019; Ingraffia *et al.* 2019). Akan tetapi, akar tanaman tidak saja bersimbiosis dengan mikoriza,

juga dapat bersamaan bersimbiosis dengan cendawan endofit akar. Terdapat beberapa tanaman pertanian yang memiliki ekonomi penting yang tidak membentuk mikoriza atau disebut dengan tanaman bukan-inang (*non-host*) seperti tanaman famili Brasicacea dan Cruciferae (Gosling *et al.* 2006). Peran cendawan endofit akar non-mikoriza pada tanaman ini sangat penting. Aplikasi cendawan endofit non-mikoriza telah menarik minat masyarakat yang cukup besar untuk budi daya tanaman bukan-inang mikoriza. Pupuk hayati berbasis cendawan ini dapat meningkatkan kuantitas dan kualitas hasil panen dan hubungan positifnya dengan lingkungan ekologisnya melalui peningkatan hasil, kualitas tanaman, asimilasi nutrisi yang lebih baik, dan meningkatkan toleransi tanaman terhadap cekaman abiotik (Tarroum *et al.* 2021).

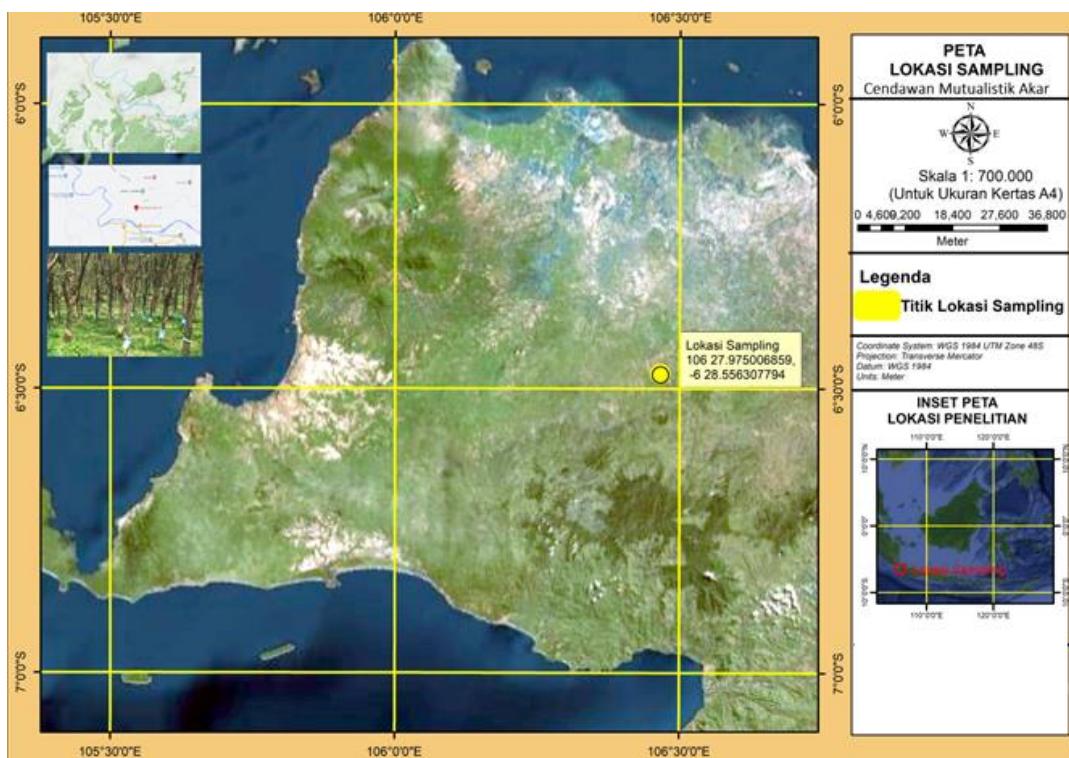
Indonesia memiliki lahan marginal dengan pH masam yang luas. Produktivitas lahan marginal dengan pH masam sangat rendah, antara lain karena miskin akan unsur hara, toksitas unsur tertentu seperti aluminium, dan tingkat kejenuhan basa serta kapasitas tukar kationnya rendah. Selain itu, jenis tanah ini juga memiliki tingkat kejenuhan Al yang cukup tinggi dan memengaruhi ketersediaan nutrisi di dalam tanah (Maru *et al.* 2020). Produktivitas lahan ini dapat ditingkatkan dengan aplikasi pupuk hayati berbasis cendawan yang tahan kondisi tanah masam. Oleh karena itu, diperlukan isolat cendawan yang berasal dari lahan marginal dengan pH rendah guna pengembangan pupuk hayati yang andal untuk lahan tersebut. Proses seleksi isolat akan menentukan jenis cendawan mutualistik akar yang andal sebagai kandidat pupuk hayati.

Tujuan penelitian ini ialah mengisolasi dan menguji efektivitas cendawan mutualistik akar yang berasal dari tanah marginal masam dalam meningkatkan pertumbuhan tanaman padi dan jagung, dan tanaman kehutanan sengon dan akasia. Hasil penelitian ini diharapkan dapat menjadi informasi dasar pengembangan pupuk hayati untuk meningkatkan produktivitas baik tanaman pangan maupun kehutanan terutama di lahan marginal.

METODE PENELITIAN

Isolasi Cendawan Mutualistik Akar

Cendawan mutualistik akar diisolasi dari akar tanaman karet yang tumbuh pada perkebunan karet di tanah marginal masam, Jasinga, Bogor, Jawa Barat yang secara geografis terletak pada $6^{\circ} 28' 33.264''$ LS dan $106^{\circ} 28' 0.181''$ BT (Gambar 1). Akar halus tanaman karet dibersihkan dari tanah dan bahan organik yang menempel lalu dicuci menggunakan air steril dan dikeringkan dengan kertas saring steril. Selanjutnya akar dipotong dengan ukuran panjang 1 cm. Permukaan akar kemudian disterilkan menggunakan alkohol 70% (v/v) selama 1 menit kemudian dicuci dengan akuades steril sebanyak 3 kali. Akar selanjutnya direndam dalam NaOCl 0,1%



Gambar 1 Peta lokasi pengambilan sampel cendawan mutualistik akar.

(v/v) selama 15 menit, kemudian dicuci 3 kali dengan akuades steril (Khastini *et al.* 2012). Akar kemudian dikeringkan menggunakan kertas saring steril. Potongan akar ditempatkan dalam media *potato dextrose agar* (PDA) yang mengandung antibiotik kemisetin 500 mg/L dan *rose bengal* 1% (b/v) (Septiana *et al.* 2017). Media tersebut diinkubasikan pada suhu ruang 25–30°C selama 7 hari. Koloni cendawan yang tumbuh selanjutnya dimurnikan sehingga diperoleh isolat murni.

Penapisan Cendawan Mutualistik Akar

Tahap selanjutnya ialah penapisan cendawan mutualistik dengan cara uji patogenitas isolat cendawan terhadap tanaman inang untuk menentukan sifat isolat cendawan sehingga dapat dibedakan antara cendawan patogen dan cendawan mutualistik akar. Penapisan dilakukan dengan menginokulasikan cendawan pada tanaman *Centrosema pubescens* yang berasal dari koleksi Laboratorium Pakan Departemen Ilmu Nutrisi dan Teknologi Pakan IPB. Tanaman tersebut disiapkan terlebih dahulu sebelum digunakan sebagai tanaman inang pada penapisan. Permukaan benih *C. pubescens* disetirikan kemudian dikecambahkan dengan merendamnya dalam air pada suhu 60 °C selama 10 menit (de Lima 2012).

Penapisan dilakukan dengan cara menumbuhkan setiap isolat cendawan pada media PDB (*potato dextrose broth*), medium kemudian diinkubasi pada suhu ruang dengan agitasi 100 rpm selama 7 hari. Miselium cendawan dipanen, lalu disaring menggunakan kertas saring steril. Sebanyak 10⁶ CFU/mL miselium setiap cendawan diinokulasikan pada daerah

perakaran tanaman inang *C. pubescens* yang berumur 1 minggu setelah tanam (MST). Tanaman ditumbuhkan dengan menggunakan media zeolit steril dan dipelihara di dalam rumah kaca selama 1 bulan. Respons tumbuh tanaman diamati saat tanaman berumur 3 minggu setelah inokulasi (MSI). Isolat cendawan yang tidak menyebabkan gejala penyakit pada tanaman inang dan meningkatkan pertumbuhan digolongkan sebagai cendawan mutualistik sedangkan yang menyebabkan penyakit pada tanaman digolongkan sebagai cendawan parasit. Gejala yang ditimbulkan dari perlakuan inokulasi isolat cendawan pada saat pengamatan dievaluasi menurut indeks 0 sampai 3 (0: tidak ada gejala yang terlihat; 1: menguning ringan; 2: menguning dan pertumbuhan terlambat; 3: layu atau mati) (Mahmoud & Narisawa 2013). Tanaman dengan perlakuan inokulasi cendawan yang menunjukkan indeks 0 dikelompokkan sebagai cendawan mutualistik akar dan digunakan untuk perlakuan respons tumbuh tanaman.

Identifikasi Cendawan Mutualistik Akar

Isolat cendawan yang meningkatkan pertumbuhan dan tidak menunjukkan gejala penyakit pada tanaman *C. pubescens* dikelompokkan sebagai cendawan mutualistik akar. Cendawan mutualistik akar diidentifikasi dengan cara membandingkan karakter makroskopis dan mikroskopis hasil observasi dengan bantuan pustaka (Watanabe 2002; Barnett & Hunter 1998). Pengamatan makroskopis meliputi bentuk, warna pada bagian permukaan atas dan bawah, tekstur, tepi miselium, kerapatan dan diameter koloni pada umur 1 MSI. Pengamatan secara mikroskopis

dilakukan dengan membuat preparat semi permanen dengan cara mengambil hifa pada bagian ujung koloni, kemudian diletakkan pada kaca objek yang telah diberi pewarna biru tripan. Pengamatan mikroskopis meliputi hifa septat dan aseptat, dan struktur reproduksi aksual dan seksual.

Analisis Respons Tumbuh Tanaman Inang

Cendawan mutualistik akar yang memberi respons terbaik dipilih untuk uji respons tumbuh tanaman inang. Caranya ialah dengan menginokulasikan cendawan terpilih pada tanaman padi (*Oryza sativa*) dan jagung (*Zea mays*), dan tanaman kehutanan, yakni akasia (*Acacia auriculiformis*) dan sengon (*Pharaserianthes falcataria*). Benih padi dan jagung berasal dari Pusat Penelitian Sumber Daya Hayati & Bioteknologi (PPSHB) IPB; benih tanaman akasia dan sengon berasal dari Pusat Litbang Hasil Hutan, Bogor. Permukaan benih tanaman terlebih dahulu disterilkan menggunakan alkohol 70% (v/v) selama 1 menit kemudian dicuci tiga kali dengan akuades steril, dilanjutkan dengan perendaman dalam NaOCl 0,1% (v/v) selama 15 menit, kemudian dicuci tiga kali dengan akuades steril.

Miselim cendawan mutualistik akar sebanyak 10^6 CFU/ml diinokulasikan pada daerah perakaran setiap tanaman yang berumur 1 MST dalam media zeolit steril. Tanaman dipelihara di dalam rumah kaca. Mekanisme peningkatan pertumbuhan melalui penyerapan P diuji dengan memberi perlakuan tiga taraf aplikasi P, yaitu 25%, 50%, dan 100% atau dosis normal pupuk hara Johnson cair. Pupuk tersebut dilarutkan dalam air dan diaplikasikan pada tanaman dalam bentuk penyiraman dengan volume 75% kapasitas lapangan setiap hari. Tanaman yang berumur 6 MST dipanen untuk selanjutnya dianalisis.

Tabel 1 Penapisan sifat patogenisitas cendawan pada tanaman *Centrosema pubescens*

Kode isolat cendawan	Nama cendawan	Indeks penyakit	Keterangan
Kontrol	-	0	Pertumbuhan sehat
FKK1	<i>Verticillium</i> sp. 1	3	Mati
FKK2*	<i>Aspergillus</i> sp. 1	0	Pertumbuhan sehat
FKK3*	<i>Aspergillus section Nigri</i>	0	Pertumbuhan sehat
FKK4	<i>Curvularia</i> sp.1	2	Menguning dan pertumbuhan terlambat
FKK5	<i>Fusarium</i> sp.1	3	Layu
FKK6	<i>Verticillium</i> sp. 2	2	Menguning dan pertumbuhan terlambat
FKK7*	<i>Penicillium</i> sp.	0	Pertumbuhan sehat
FKK8	<i>Alternaria</i> sp.	1	Menguning ringan
FKK9	<i>Fusarium</i> sp. 2	3	Mati
FKK10	<i>Aspergillus</i> sp. 2	3	Layu
FKK11	<i>Fusarium</i> sp. 3	3	Layu
FKK12	<i>Alternaria</i> sp. 2	2	Menguning dan pertumbuhan terlambat
FKK13*	<i>Paecilomyces</i> sp.	0	Pertumbuhan sehat
FKK14*	<i>Trichoderma</i> sp.	0	Pertumbuhan sehat
FKK15	<i>Verticillium</i> sp. 3	2	Menguning dan pertumbuhan terlambat
FKK16	<i>Cladosporium</i> sp. 1	2	Menguning dan pertumbuhan terlambat
FKK17	<i>Fusarium</i> sp. 1	1	Menguning ringan
FKK18	<i>Curvularia</i> sp. 2	1	Menguning ringan
FKK19	<i>Miselia</i> sterilia	3	Layu

Keterangan: 0 = Tidak ada gejala yang terlihat; 1 = Menguning ringan; 2 = Menguning dan pertumbuhan terlambat; 3 = Layu atau mati; dan * = Isolat cendawan mutualistik akar.

Parameter yang diamati ialah tinggi tanaman, bobot basah dan bobot kering tajuk, bobot basah dan bobot kering akar tanaman, serta persentase kolonisasi. Percobaan menggunakan rancangan acak lengkap (RAL) dengan tiga ulangan. Data selanjutnya diolah menggunakan program SAS versi 6.12 dan diuji lanjut menggunakan uji Perbandingan Ganda Duncan.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Isolat dan Identitas Cendawan Mutualistik Akar

Dari akar tanaman karet yang tumbuh di tanah marginal masam yang berada di daerah perkebunan Jasinga Bogor, diperoleh 19 isolat cendawan dengan karakter morfologi berbeda. Isolat tersebut terdiri atas 4 spesies *Fusarium*, 3 spesies *Aspergillus*, masing masing 2 spesies *Alternaria* dan *Curvularia*, dan masing-masing 1 spesies *Cladosporium*, *Penicillium*, *Paecilomyces*, *Trichoderma*, dan miselia sterilia. Penapisan diawali dengan menyeleksi isolat yang termasuk ke dalam cendawan patogen atau cendawan mutualistik akar. Tanaman *C. pubescens* sebagai tanaman inang yang diinokulasi isolat cendawan yang tidak menunjukkan gejala penyakit (indeks 0) dipilih sebagai kandidat cendawan mutualistik akar yang berpotensi untuk diuji berikutnya. Berdasarkan Tabel 1, terdapat 5 isolat cendawan dengan indeks 0 dan 14 isolat bersifat saprotrof dan/atau patogen yang menunjukkan indeks 1–3. Cendawan yang berindeks 1–3 tidak diuji selanjutnya. Data menunjukkan bahwa 74% isolat merupakan cendawan saprofit dan/atau patogen dan hanya 26% isolat yang bersifat cendawan mutualistik.

Gambar 1 menunjukkan biomassa tanaman yang diinokulasi cendawan mutualistik akar FKK-2, FKK-3,

FKK-7, FKK-13, dan FKK-14 memiliki perbedaan bobot kering tajuk lebih besar dibandingkan dengan tanaman kontrol. Biomassa tanaman yang diinokulasi cendawan mutualistik FKK-18, FKK-8, FKK-17, FKK-6, FKK-16, dan FKK-15 juga menunjukkan hal yang sama. Akan tetapi, walaupun biomassa tajuknya lebih besar, tanaman yang diinokulasi isolat cendawan tersebut menunjukkan gejala penyakit. Sikes *et al.* (2009) menginformasikan bahwa tanaman memiliki sistem akar yang kompleks rentan terhadap infeksi oleh patogen. Hal ini dapat berdampak pada pertumbuhan tajuk yang menunjukkan gejala penyakit, sebagaimana dilaporkan juga oleh Lewandowski *et al.* (2013), bahwa infeksi cendawan patogen dapat menyebabkan biomassa tajuk tereduksi sampai 81%.

Tahapan selanjutnya ialah mengidentifikasi cendawan mutualistik akar berdasarkan morfologi secara

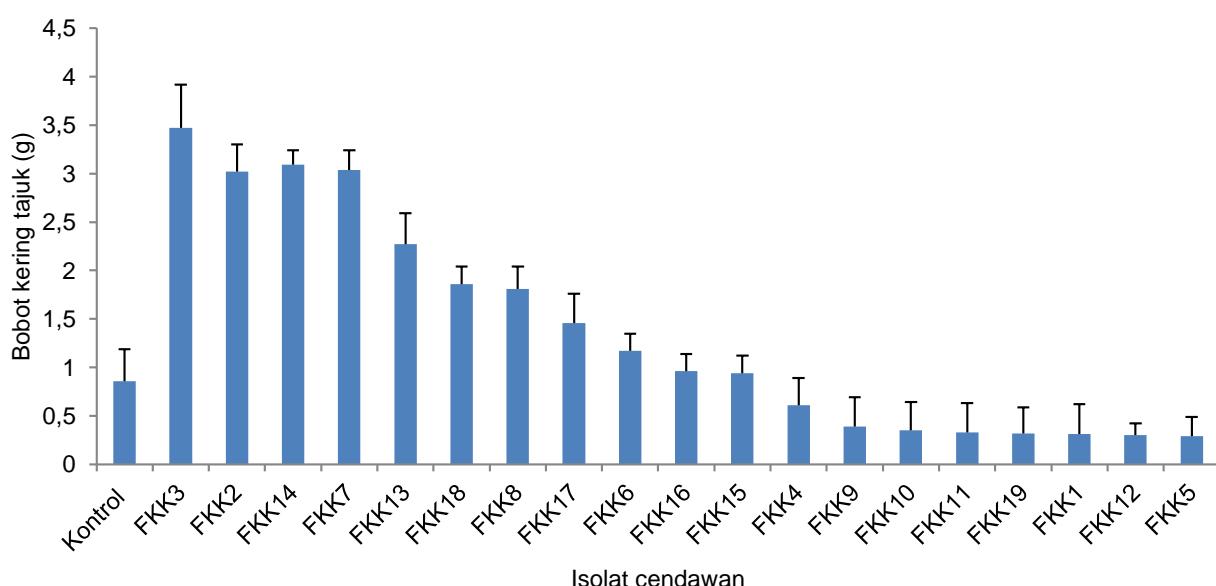
makroskopis dan mikroskopis untuk mengetahui identitasnya. Karakteristik morfologi cendawan mutualistik akar hasil isolasi dari akar tanaman karet dapat dilihat pada Tabel 2. Ciri makroskopis cendawan mutualistik akar yang berhasil diisolasi ialah bentuk koloni sirkular dengan warna permukaan koloni bagian atas dan bawah beragam, yaitu putih, krem, hijau, dan hitam dengan tepi koloni rata atau tidak beraturan. Tekstur koloni umumnya berbeludru dan satu isolat cendawan berbentuk granular. Pertumbuhan diameter koloni setelah 1 minggu setelah inokulasi (MSI) ialah 3–7 cm. Selain struktur makroskopis, struktur mikroskopis cendawan juga diamati. Ragam struktur reproduksi aseksual cendawan mutualistik akar dapat dilihat pada Gambar 3.

Berdasarkan pengamatan, 2 spesies *Aspergillus*, yaitu isolat *Aspergillus* FKK2 dan *Aspergillus* FKK3

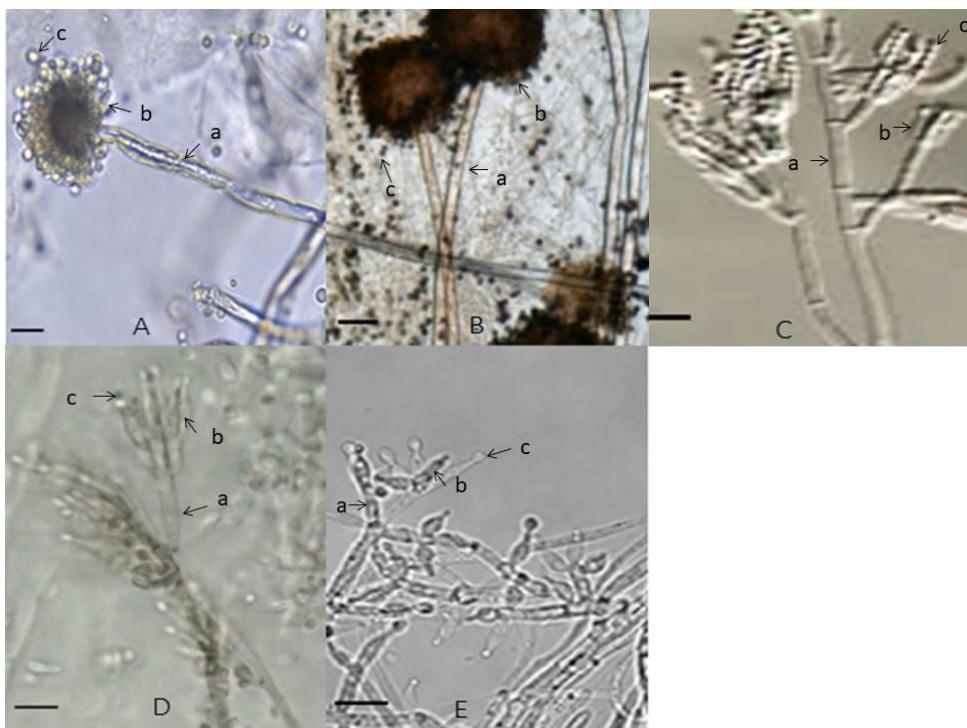
Tabel 2 Karakteristik morfologi cendawan mutualistik akar yang diisolasi dari akar tanaman karet yang tumbuh di tanah masam di Perkebunan Karet Jasinga

Kode isolat cendawan mutualistik akar	Hasil identifikasi	Karakteristik pertumbuhan koloni cendawan
FKK2	<i>Aspergillus</i> sp. 1	Koloni berbentuk sirkular, permukaan atas hijau kekuningan, permukaan bawah berwarna krem keputihan, tepi koloni rata dengan tekstur beludru, diameter $5 \pm 0,141$ cm setelah 1 MSI
FKK3	<i>Aspergillus</i> section <i>Nigri</i>	Koloni berbentuk sirkular, permukaan atas hitam, permukaan bawah berwarna krem, tepi koloni tidak beraturan dengan tekstur beludru, diameter $7 \pm 0,080$ cm setelah 1 MSI
FKK7	<i>Penicillium</i> sp.	Koloni berbentuk sirkular, permukaan atas hijau dengan zona putih, permukaan bawah berwarna putih kecokelatan, tepi koloni rata dengan tekstur beludru, dengan diameter $5,6 \pm 0,101$ cm setelah 1 MSI
FKK13	<i>Paecilomyces</i> sp.	Koloni berbentuk sirkular, permukaan atas krem kecokelatan, permukaan bawah berwarna krem, tepi koloni tidak beraturan dengan tekstur beludru, dengan diameter $3,6 \pm 0,293$ cm setelah 1 MSI
FKK14	<i>Trichoderma</i> sp.	Koloni berbentuk sirkular, permukaan atas hijau kekuningan, permukaan bawah berwarna hijau, tepi koloni rata dengan tekstur granular, dengan diameter $6,4 \pm 0,357$ cm setelah 1 MSI

Keterangan: MSI = Minggu setelah inokulasi



Gambar 2 Bobot kering tajuk tanaman *Centrosema pubescens* yang diinokulasi dengan isolat cendawan dari akar tanaman karet pada umur 3 minggu setelah inokulasi.



Gambar 3 Ragam struktur reproduksi aseksual cendawan mutualistik akar *Aspergillus* sp. 1 (A), *Aspergillus* section *Nigri* (B), *Penicillium* sp. (C), *Paecilomyces* sp. (D), dan *Trichoderma* sp. (E). Konidiofor (a), fialid (b), dan konidia (c). Garis skala menunjukkan ukuran 10 µm.

yang berbeda ciri morfologinya telah berhasil diidentifikasi. Isolat *Aspergillus* FKK 2 ialah *Aspergillus* sp.1 yang memiliki koloni berwarna hijau kekuningan, tekstur permukaan seperti beludru dengan permukaan bergranula. *Aspergillus* sp.1 memiliki konidia berbentuk oval dengan diameter 3–5 µm dan tersusun berantai pada ujung fialid yang disangga oleh vesikel. Berbeda dengan *Aspergillus* FKK 2, isolat *Aspergillus* FKK 3 merupakan *Aspergillus* section *Nigri* dengan warna koloni hitam dan permukaan timbul dengan tekstur halus. Ciri mikroskopisnya ditandai dengan warna konidia kehitaman, vesikel berbentuk bulat dengan diameter 15–25 µm. Pada permukaan vesikelnya terdapat sterigma dan fialid yang menunjang pertumbuhan konidiannya. Konidia berbentuk bulat dengan diameter 3,5–5,5 µm; konidiofor panjang, silindris, dan hialin. *Aspergillus* spp. merupakan spesies penting yang sering ditemukan di tanah atau berasosiasi dengan tanaman (Balbontín *et al.* 2014). Spesies dari *Aspergillus* dapat bersifat endofit ataupun bersifat sebagai patogen tanaman sebelum dan sesudah panen (Terna *et al.* 2021). Sebagai cendawan mutualistik akar, spesies *Aspergillus* dapat meningkatkan pertumbuhan tanaman melalui mekanisme sintesis hormon pertumbuhan tanaman seperti auksin dan giberelin (Salas-Marina *et al.* 2011) atau penyediaan nutrisi seperti fosfat di dalam tanah (Wang *et al.* 2018).

Penicillium sp. merupakan hasil identifikasi isolat cendawan FKK 7. Ciri morfologi yang ditunjukkan ialah koloni berwarna hijau dengan zona putih, konidia bulat hingga lonjong berukuran 2,5 µm dengan permukaan halus, dan konidiofor hialin dengan percabangan

diverticillate. Penelitian Radhakrishnan *et al.* (2014) menunjukkan bahwa aktivitas *Penicillium* sp. yang secara nyata meningkatkan pertumbuhan tanaman ialah melalui mekanisme sekresi asam amino (Asp, Thr, Ser, Asn, Glu, Gly, Ala, Val, Met, Ile, Leu, Tyr, Phe, Lys, His, Try, dan Arg). Selain itu, mekanisme peningkatan pertumbuhan tanaman oleh *Penicillium* sp. dapat juga melalui mekanisme sintesis IAA, siderofor, dan solubilisasi unsur P di dalam tanah (Babu *et al.* 2015).

Isolat FKK 13 diidentifikasi sebagai *Paecilomyces* sp. yang ditandai dengan ciri morfologi koloni berwarna abu-abu, kuning hingga krem kecokelatan. Secara mikroskopis, isolat ini memiliki konidiofor bercabang dengan 2 hingga 7 fialid. Isolat ini memiliki klamidospora berwarna cokelat hingga cokelat tua, tersusun tunggal atau berantai pendek. Hifa berdinding halus, hialin, bersekat, lebar 1,5–3 µm. Panjang konidiofor 15–25 µm. Konidia dihasilkan oleh fialid dan membentuk rantai divergen, berdinding halus, hialin, berukuran 1,8–2,1 × 2,3–2,8 µm. Menurut Nguyen *et al.* (2016), genus *Paecilomyces* mencakup lebih dari 100 spesies yang dikenal karena berbagai aktivitas dan ragam habitatnya. Penelitian terbaru oleh Moreno-Gavira *et al.* (2020) mengungkapkan bahwa *Paecilomyces* sp. dapat bersifat sebagai cendawan endofit yang meningkatkan pertumbuhan tanaman tomat dan cabai, dan telah digunakan sebagai biostimulan tanaman.

Trichoderma sp. merupakan hasil identifikasi untuk isolat FKK 14. Isolat ini mempunyai warna koloni hijau muda sampai hijau tua dengan hifa bersekat yang berukuran 1,5–12 µm, dan percabangan hifa menyiku

pada cabang utama. Konidia berbentuk bulat, agak bulat sampai bulat telur pendek, berukuran $2,8\text{--}3,2 \times 2,5\text{--}2,8 \mu\text{m}$ dan berdinding halus. Konidiofor bercabang mendukung fialid yang berjumlah 3 atau lebih secara bergerombol dan agak ramping. Spesies *Trichoderma* banyak dilaporkan sebagai cendawan pemacu pertumbuhan tanaman (Stewart & Hill 2014) karena mampu tumbuh, cepat bereproduksi, dan efisien mentransformasi nutrisi tanah (Halifu *et al.* 2019).

Respons Tumbuh Tanaman Inang

Berdasarkan hasil penapisan, isolat *Aspergillus* FKK 3 yang merupakan *Aspergillus* section *Nigri*, menunjukkan respons terbaik. Oleh karena itu, isolat cendawan tersebut digunakan sebagai sumber inokulum untuk mempelajari respons inokulasi pada tanaman padi, jagung, sengon, dan akasia. Respons tumbuh tanaman inang terhadap inokulasi *Aspergillus* section *Nigri* dan perlakuan P disajikan pada Tabel 3.

Inokulasi cendawan mutualistik akar meningkatkan pertumbuhan yang nyata baik pada tanaman pangan maupun tanaman kehutanan yang dinyatakan dengan tinggi tanaman, bobot basah dan bobot kering tajuk, bobot basah dan bobot kering akar, serta persentase kolonisasi dibandingkan dengan tanaman kontrol, yaitu tanaman yang tidak diinokulasi tetapi mendapat pupuk P dosis normal (kontrol positif). Aplikasi fosfat sebanyak 25%, 50%, dan 100% pada perlakuan inokulasi meningkatkan respons tumbuh dibandingkan tanaman kontrol.

Secara umum respons tumbuh tertinggi diperoleh pada perlakuan P 50% dan peningkatannya menurun pada perlakuan P dosis normal kecuali pada tinggi tanaman sengon dan akasia. Hal ini menunjukkan bahwa tambahan fosfat lebih lanjut tidak berpengaruh nyata pada parameter tersebut. Kolonisasi pada akar tanaman meningkat sampai P 50%, sebaliknya P normal menurunkan kolonisasi pada taraf yang

mendekati dengan P 25%. Hal yang berbeda teramat pada tanaman jagung yang memperlihatkan bahwa persentase kolonisasi meningkat sampai aplikasi P dosis normal.

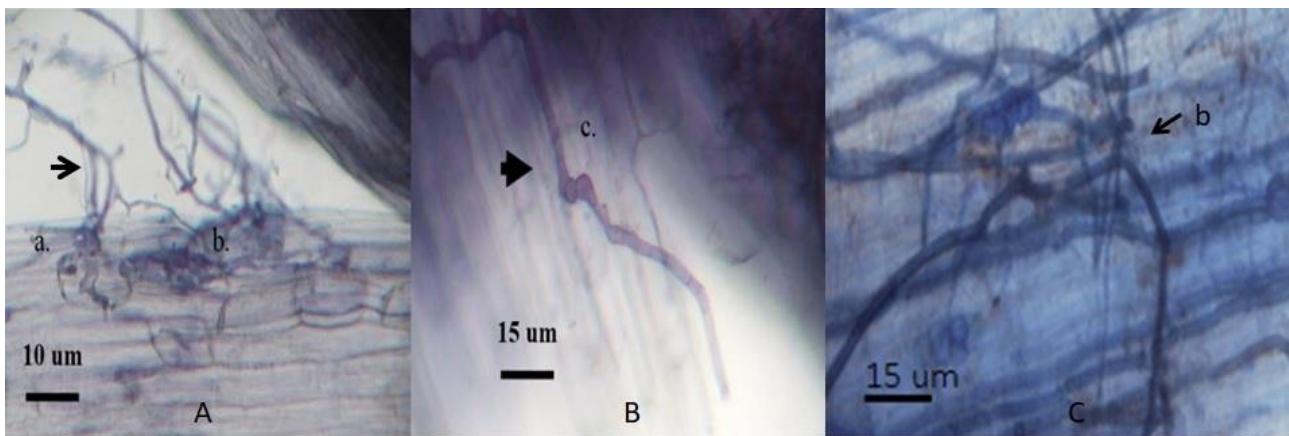
Dari penelitian ini diketahui bahwa inokulasi *Aspergillus* section *Nigri* pada tanaman inang dapat memacu respons tumbuh melalui mekanisme penyediaan nutrisi P; peranan cendawan mutualistik akar mirip seperti mikoriza. Mikoriza memberikan P kepada sel akar tanaman inang yang diperoleh melalui jaringan miselia ekstraradikal dari daerah tanah yang sulit dijangkau oleh akar tanaman (Pozo de la Hoz *et al.* 2021). Begitu pula pada cendawan mutualistik akar; miselium cendawan ini dapat tumbuh dan mengkolonisasi jaringan akar seperti pada mikoriza. Akan tetapi, yang membedakan ialah struktur kolonisasi dan mekanisme penyediaan nutrisi bagi tanaman. Unsur P yang merupakan salah satu unsur makro, mempunyai mobilitas dan ketersediaan yang rendah bagi tanaman sehingga menjadi salah satu faktor paling serius yang membatasi pertumbuhan tanaman.

Berbagai temuan menunjukkan bahwa *Aspergillus* section *Nigri* dapat membentuk asosiasi mutualistik dengan tanaman dan menguntungkan tanaman inang berupa kemampuan melarutkan P yang terfiksasi di dalam tanah dan menjadikannya tersedia bagi tanaman inang. Rendahnya mobilitas ion fosfat yang tersedia bagi tanaman dalam bentuk $\text{H}_2\text{PO}_4^{4-}$ dan HPO_4^{2-} disebabkan oleh retensinya terhadap konstituen mineral koloid tanah yang menentukan bahwa hanya sebagian kecil dari ion yang tersedia terdapat dalam larutan tanah (Zúñiga-Silgado *et al.* 2020). Cendawan yang mampu melarutkan fosfat dapat melarutkan P anorganik (misalnya, trikalsium fosfat, hidroksiapatit, dan fosfat batuan) melalui produksi dan pelepasan berbagai senyawa. Salah satu mekanismenya ialah dengan menghasilkan asam organik, ion hidrosil, dan CO_2 yang melarutkan fosfat

Tabel 3 Respons tumbuh tanaman pangan dan kehutanan terhadap inokulasi cendawan mutualistik akar pada umur 6 MST

Jenis tanaman	Perlakuan	Tinggi (cm)	Bobot kering tajuk (g)	Bobot kering akar (g)	%Kolonisasi
Padi (<i>Oryza sativa</i>)	K	41,30c	3,10c	1,00c	0,00c
	P1	51,60b	4,33b	1,76b	72,30a
	P2	61,00a	5,13a	2,36a	74,33a
	P3	55,63b	4,00b	1,76b	69,00b
Jagung (<i>Zea mays</i>)	K	62,60c	3,20d	2,28d	0,00c
	P1	84,60b	6,50b	5,60b	70,67b
	P2	134,60a	7,80a	7,86a	73,00ab
	P3	87,30b	4,27c	3,86c	73,53a
Sengon (<i>Pharaserianthes falcataria</i>)	K	21,30b	1,61c	0,677c	0,00c
	P1	33,90a	4,16b	1,510b	62,67b
	P2	36,17a	6,10a	1,80a	68,67a
	P3	33,67a	3,89b	0,68c	62,30b
Akasia (<i>Acacia auriculiformis</i>)	K	27,33b	0,68c	0,34b	0,00c
	P1	40,76a	1,67b	0,68ab	57,00b
	P2	45,33a	3,06a	1,01a	63,33a
	P3	41,83a	1,50b	0,49b	56,00b

Keterangan: Angka-angka yang diikuti huruf yang sama pada kolom yang sama tidak berbeda nyata berdasarkan uji banding Duncan pada taraf kepercayaan 95%. K = Kontrol (P normal – tanpa inokulasi *Aspergillus* section *Nigri*); P1 = P 25% + *Aspergillus* section *Nigri*; P2 = P 50% + *Aspergillus* section *Nigri*; P3 = P normal + *Aspergillus* section *Nigri*.



Gambar 4 Struktur kolonisasi cendawan *Aspergillus section Nigri* umur 6 minggu setelah inokulasi pada akar tanaman padi (A-B) dan sengon (C) setelah pewarnaan dengan biru tripan. Apresorium (a), hifa internal (b), dan struktur menyerupai klamidospora (c).

dengan menurunkan pH tanah yang menyebabkan terjadinya pertukaran ion PO_4^{2-} oleh ion asam (Wei et al. 2018). Cendawan juga dapat melepas senyawa pengelat yang menangkap dan memobilisasi kation dari berbagai fosfat yang tidak larut seperti Ca^{2+} , Al^{3+} , dan Fe^{3+} , yang menyebabkan lepasnya fosfat yang sebelumnya terikat (Mitter et al. 2021). Senyawa pengelat dapat berupa asam-asam organik seperti asam sitrat (Liaud et al. 2009), asam oksalat (Mendes et al. 2014), dan asam fumarat.

Akar tanaman kontrol yang diwarnai dengan pewarna biru tripan tidak menggambarkan struktur kolonisasi cendawan sedangkan pada tanaman uji yang diinokulasikan *Aspergillus section Nigri* menunjukkan keberadaan kolonisasi pada akar tanaman. Struktur kolonisasi yang terbentuk pada pengamatan 6 MSI ialah hifa eksternal, apresorium, hifa internal, dan struktur menyerupai klamidospora (Gambar 4). Cendawan mutualistik akar mengkolonisasi secara internal akar tanaman dan mengeksplorasi lingkungan rizosfer untuk mengeksplorasi sumber karbon, berkompetisi untuk ruang, air, dan nutrisi sehingga dapat meningkatkan kapasitas kompetitif dan menguntungkan tanaman inang (Fuertes-Mendizábal et al. 2021).

Pada penelitian ini kombinasi inokulasi cendawan mutualistik akar *Aspergillus section Nigri* dan aplikasi pupuk dengan konsentrasi P 50% menunjukkan respons pertumbuhan yang tertinggi dibandingkan dengan perlakuan lainnya. Hal ini ditunjukkan dengan peningkatan biomassa tanaman meliputi tinggi, bobot basah dan bobot kering tajuk serta akar. Informasi ini dapat dijadikan landasan untuk mengaplikasikan cendawan endofit akar sebagai pupuk hayati pada pembibitan tanaman kehutanan sebelum bibit ditanam di lapangan. Pertumbuhan tanaman pangan dan kehutanan terutama dalam proses pembibitan sangat rentan akan cekaman biotik dan abiotik (Bizos et al. 2020). Aplikasi cendawan mutualistik akar *Aspergillus section Nigri* yang diinokulasikan pada pembibitan tanaman pangan dan kehutanan akan membantu proses pertumbuhan tanaman dan meminimumkan

penggunaan pupuk kimia terutama pupuk P di lapangan.

KESIMPULAN

Cendawan mutualistik akar telah berhasil diisolasi dari akar tanaman karet yang tumbuh di tanah marginal masam yang ada di daerah perkebunan karet, Jasinga Bogor, Provinsi Jawa Barat. Lima isolat pada penelitian ini yang terdiri atas *Aspergillus*, *Penicillium*, *Paecilomyces*, dan *Trichoderma* ialah cendawan mutualistik akar yang potensial. Cendawan *Aspergillus section Nigri* menunjukkan respons terbaik dalam meningkatkan pertumbuhan tanaman pangan dan kehutanan dengan menghemat penggunaan konsentrasi P sebesar 50%. Hasil penelitian ini dapat menjadi dasar pengembangan pupuk hayati dengan *Aspergillus section Nigri* sebagai bio-inokulan yang dapat meningkatkan produktivitas tanaman pangan dan kehutanan terutama pada lahan sub-optimal.

UCAPAN TERIMA KASIH

Penulis mengucapkan terima kasih kepada Aditya Rahman, M. Eng, dari Universitas Sultan Ageng Tirtayasa atas bantuananya dalam memproduksi peta lokasi pengambilan sampel, Prof. Dr. Ir. Panca Dewi M.Si dari Departemen Ilmu Nutrisi dan Teknologi Pakan IPB, Prof. Ris. Dr. Ir. Maman Turjaman dari Pusat Litbang Hasil Hutan, Bogor, serta Pusat Penelitian Sumber Daya Hayati & Bioteknologi (PPSHB), IPB dalam penyediaan benih tanaman.

DAFTAR PUSTAKA

- Babu AG, Kim SW, Yadav DR, Hyum U, Adhikari M, Lee, YS. 2015. *Penicillium menonorum*: A novel fungus to promote growth and nutrient management in cucumber plants. *Mycobiology*. 43(1): 49–56. <https://doi.org/10.5941/MYCO.2015.43.1.49>.

- Balbontín R, Vlamakis H, Kolter R. 2014. Mutualistic interaction between *Salmonella enterica* and *Aspergillus niger* and its effects on *Zea mays* colonization. *Microbial Biotechnology*. 7(6): 589–600. <https://doi.org/10.1111/1751-7915.12182>.
- Barnett HL, Hunter BB. 1998. *Illustrated Genera of Imperfect Fungi 4th Edition* (Fourth Edi). Burgess Publishing Company.
- Begum N, Qin C, Ahanger MA, Raza S, Khan MI, Ashraf M, Ahmed N, Zhang L. 2019. Role of arbuscular mycorrhizal fungi in plant growth regulation: implications in abiotic stress tolerance. *Frontiers in Plant Science*. 10: 1–15. <https://doi.org/10.3389/fpls.2019.01068>.
- Bizos G, Papatheodorou, Efimia M, Chatzistathis T, Ntalli N, Aschonitis VG, Nikolaos M. 2020. Growth Stimulation, and Crop Productivity of the Olive Tree (*Olea europaea* L.). *Plants*. 9(743): 1–16. <https://doi.org/10.3390/plants9060743>.
- de Lima D. 2012. Pengaruh Waktu Perendaman Dalam Air Panas Terhadap Daya Kecambah Leguminosa Centro (*Centrosema pubescens*) dan Siratro (*Macroptilium atropurpureum*). *Agrinimal*. 2(1): 26–29.
- Fuertes-Mendizábal T, Huérano X, Ortega U, González-Murua C, Estavillo JM, Salcedo I, Duñabeitia MK. 2021. Compost and PGP-Based biostimulant as alternative to peat and npk fertilization in chestnut (*Castanea Sativa* Mill.) nursery production. *Forests*. 12(7): 1–12. <https://doi.org/10.3390/f12070850>.
- Gosling P, Hodge A, Goodlass G, Bending GD. 2006. Arbuscular mycorrhizal fungi and organic farming. *Agriculture, Ecosystems and Environment*. 113(1–4): 17–35. <https://doi.org/10.1016/j.agee.2005.09.009>.
- Halifu S, Deng X, Song X, Song R. 2019. Effects of two *Trichoderma* strains on plant growth, rhizosphere soil nutrients, and fungal community of *Pinus sylvestris* var. *mongolica* annual seedlings. *Forests*. 10(9): 1–17. <https://doi.org/10.3390/f10090758>.
- Ingraffia R, Amato G, Frenda AS, Giambalvo D. 2019. Impacts of arbuscular mycorrhizal fungi on nutrient uptake, N₂ fixation, N transfer, and growth in a wheat/faba bean intercropping system. *PLoS ONE*. 14(3): 1–16. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0213672>.
- Kawalekar JS. 2013. Role of biofertilizers and biopesticides for sustainable agriculture. *J. Bio. Innov.* 2(3): 73–78.
- Kazimierczak R, Średnicka-Tober D, Barański M, Hallmann E, Górska-Walczak R, Kopczyńska K, Rembiałkowska E, Górska J, Leifert C, Rempelos L, Kaniszewski S. 2021. The effect of different fertilization regimes on yield, selected nutrients, and bioactive compounds profiles of onion. *Agronomy*. 11(5): 1–13. <https://doi.org/10.3390/agronomy11050883>.
- Khastini RO, Ohta H, Narisawa K. 2012. The role of a dark septate endophytic fungus, *Veronaeopsis simplex* Y34, in Fusarium disease suppression in Chinese cabbage. *Journal of Microbiology*. 50: 618–624. <https://doi.org/10.1007/s12275-012-2105-6>
- Lewandowski TJ, Dunfield KE, Antunes PM. 2013. Isolate identity determines plant tolerance to pathogen attack in assembled mycorrhizal communities. *PLoS ONE*. 8(4): 2–8. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0061329>.
- Liaud N, Giniés C, David N, Fabre N, Crapart S, Herpoël-Gimbert, Isabelle Levasseur A, Raouche S, Sigoillot J-C. 2009. Exploring fungal biodiversity: organic acid production by 66 strains of filamentous fungi. *Fungal Biology Reviews*. 23(1–2): 30–39. <http://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S1749461309000177>.
- Lin W, Lin M, Zhou H, Wu H, Li Z, Lin W. 2019. The effects of chemical and organic fertilizer usage on rhizosphere soil in tea orchards. *PLoS ONE*. 14(5): 1–16. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0217018>.
- Mahmoud RS, Narisawa K. 2013. A new fungal endophyte, *Scolecobasidium humicola*, promotes tomato growth under organic nitrogen. *PLoS ONE*. 8(11): 1–8. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0078746>.
- Maru A, Haruna AO, Asap A, Majid NMA, Maikol N, Jeffary AV. 2020. Reducing acidity of tropical acid soil to improve phosphorus availability and *Zea mays* L. productivity through efficient use of chicken litter biochar and triple superphosphate. *Applied Sciences (Switzerland)*. 10(6). <https://doi.org/10.3390/app10062127>.
- Mendes GdeO, Zafra DL, Vassilev NB, Silva IR, Ribeiro JI, Costaa MD. 2014. Biochar enhances *aspergillus niger* rock phosphate solubilization by increasing organic acid production and alleviating fluoride toxicity. *Applied and Environmental Microbiology*, 80(10): 3081–3085. <https://doi.org/10.1128/AEM.00241-14>.
- Mitter EK, Tosi M, Obregón D, Dunfield KE, Germida JJ. 2021. Rethinking crop nutrition in times of modern microbiology: innovative biofertilizer technologies. *Frontiers in Sustainable Food Systems*. 5: 1–23. <https://doi.org/10.3389/fsufs.2021.606815>.
- Moreno-Gavíra A, Diánez, F, Sánchez-Montesinos B, Santos M. 2020. *Paecilomyces variotii* as a plant-growth promoter in horticulture. *Agronomy*. 10(4): 2–14. <https://doi.org/10.3390/AGRONOMY10040597>.

- Naziya B, Murali M, Amruthesh KN. 2020. Plant growth-promoting fungi (PGPF) instigate plant growth and induce disease resistance in *Capsicum annuum* L. upon infection with *Colletotrichum capsici* (syd.) butler & bisby. *Biomolecules*. 10(1): 4–6. <https://doi.org/10.3390/biom10010041>.
- Nguyen TTT, Paul NC, Lee HB. 2016. Characterization of *Paecilomyces variotii* and *Talaromyces amestolkiae* in Korea based on the morphological characteristics and multigene phylogenetic analyses. *Mycobiology*. 44(4): 248–259. <https://doi.org/10.5941/MYCO.2016.44.4.248>.
- Nosheen S, Ajmal I, Song Y. 2021. Microbes as biofertilizers, a potential approach for sustainable crop production. *Sustainability (Switzerland)*. 13(4): 1–20. <https://doi.org/10.3390/su13041868>.
- Pozo de la Hoz, J., Rivero, J., Azcón-Aguilar, C., Urrestarazu, M., & Pozo, M. J. (2021). Mycorrhiza-Induced Resistance against Foliar Pathogens Is Uncoupled of Nutritional Effects under Different Light Intensities. *Journal of fungi (Basel, Switzerland)*. 7(6): 402. <https://doi.org/10.3390/jof7060402>
- Radhakrishnan R, Kang SM, Baek IY, Lee IJ. 2014. Characterization of plant growth-promoting traits of *Penicillium* species against the effects of high soil salinity and root disease. *Journal of Plant Interactions*. 9(1): 754–762. <https://doi.org/10.1080/17429145.2014.930524>.
- Salas-Marina MA, Silva-Flores MA, Cervantes-Badillo MG, Rosales-Saavedra MT, Islas-Osuna MA, Casas-Flores S. 2011. The plant growth-promoting fungus *Aspergillus ustus* promotes growth and induces resistance against different lifestyle pathogens in *Arabidopsis thaliana*. *Journal of Microbiology and Biotechnology*. 21(7): 686–696. <https://doi.org/10.4014/jmb.1101.01012>.
- Septiana E, Sukarno N, Sukarno, Simanjuntak P. 2017. Endophytic Fungi Associated With Turmeric (*Curcuma longa* L.) Can Inhibit Histamine-Forming Bacteria in Fish. *HAYATI Journal of Biosciences*. 24(1): 46–52.
- Sikes BA, Cottenie K, Klironomos JN. 2009. Plant and fungal identity determines pathogen protection of plant roots by arbuscular mycorrhizas. *Journal of Ecology*. 97(6): 1274–1280. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2745.2009.01557.x>.
- Sloan JL, Salifu FK., Jacobs DF. 2021. Nitrogen recovery from enhanced efficiency fertilizers and urea in intensively managed black walnut (*Juglans nigra*) plantations. *Forests*. 12(3): 1–12. <https://doi.org/10.3390/f12030352>.
- Stewart A, Hill R. 2014. Applications of *Trichoderma* in plant growth promotion. In *Biotechnology and Biology of Trichoderma*. Elsevier. 415–423. <https://doi.org/10.1016/B978-0-444-59576-8.00031-X>.
- Tarroum M, Romdhane W, Ben, Ali AAM, Al-Qurainy F, Al-Doss A, Fki L, Hassairi A. 2021. Harnessing the rhizosphere of the halophyte grass *Aeluropus littoralis* for halophilic plant-growth-promoting fungi and evaluation of their biostimulant activities. *Plants*. 10(4): 1–17. <https://doi.org/10.3390/plants10040784>.
- Terna PT, Mohamed Nor NMI, Zakaria L. 2021. Endophytic *Aspergillus* species from corn kernels in Peninsular Malaysia. *IOP Conference Series: Earth and Environmental Science*. 711(1): 1–4. <https://doi.org/10.1088/1755-1315/711/1/012026>.
- Wang X, Wang C, Sui J, Liu Z, Li Q, Ji C, Song X, Hu Y, Wang C, Sa R, Zhang J, Du J, Liu X. 2018. Isolation and characterization of phosphofungi, and screening of their plant growth-promoting activities. *AMB Express*. 8(1): 1–12. <https://doi.org/10.1186/s13568-018-0593-4>.
- Watanabe T. 2002. *Pictorial Atlas of Soil and Seed Fungi*. In CRC Press (Second, Vol. 106, Issue 11). CRC Press. <https://doi.org/10.1017/s0953756202216925>.
- Wei Y, Zhao Y, Shi M, Cao Z, Lu Q, Yang T, Fan Y, Wei Z. 2018. Effect of organic acids production and bacterial community on the possible mechanism of phosphorus solubilization during composting with enriched phosphate-solubilizing bacteria inoculation. *Bioresource Technology*. 247: 190–199. <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2017.09.092>.
- Yousaf M, Li J, Lu J, Ren T, Cong R, Fahad S, Li X. 2017. Effects of fertilization on crop production and nutrient-supplying capacity under rice-oilseed rape rotation system. *Scientific Reports*. 7(1): 1–9. <https://doi.org/10.1038/s41598-017-01412-0>.
- Zúñiga-Silgado D, Rivera-Leyva JC, Coleman JJ, Sánchez-Reyez A, Valencia-Díaz S, Serrano M, De-Bashan LE, Folch-Mallol JL. 2020. Soil type affects organic acid production and phosphorus solubilization efficiency mediated by several native fungal strains from Mexico. *Microorganisms*. 8(9): 1–17. <https://doi.org/10.3390/microorganisms8091337>.