ارزیابی تحمل جو به عنصر مس در مرحله جوانه‌زنی بذر و رشد اولیه گیاهچه در حضور قارچ تریکودرما

مهدیه مظاهر[1*]، سعید خماری[2]، احمد جوادی[3]، مهدی داوری[4]

[1]کارشناسی‌ارشد، علوم و تکنولوژی بذر، گروه زراعت، دانشگاه محقق اردبیلی، ایران

[2]دانشیار، فیزیولوژی گیاهان زراعی، گروه زراعت، دانشگاه محقق اردبیلی، ایران

[3] دکتری، علوم و تکنولوژی بذر، گروه زراعت، دانشگاه محقق اردبیلی، ایران

[4]دانشیار، بیماری شناسی گیاهی- قارچ‌شناسی، گروه گیاهپزشکی، دانشگاه محقق اردبیلی، ایران

تاریخ دریافت: ۱۳۹۷/۰۹/۷ ؛ تاریخ پذیرش: ۱۳۹۷/۱۱/۲۳

چکیده

غلظت بالای عنصر مس باعث مسمومیت و آسیب به سلول‌های موجودات زنده می‌شود. قارچ تریکودرما با آزادسازی ترکیباتی، مقاومت به تنش‌های زنده و غیرزنده را تحریک می‌کند. به منظور ارزیابی اثر قارچ *Trichoderma harzianum* T_{447} بر رشد و استقرار گیاهچه‌های جو بهاره تحت اعمال چهار سطح فلز سنگین مس ($CuSO_4$)، آزمایش حاضر به صورت فاکتوریل بر پایه طرح بلوک‌های کامل تصادفی در سه تکرار اجرا شد. عوامل آزمایشی شامل چهار سطح پیش‌تیمار (شاهد، هیدروپرایمینگ، بیوپرایمینگ، تلقیح بستر کشت با قارچ تریکودرما) و چهار سطح سولفات مس(۲، ٤٠، ۸۰، ۱۲۰ میکرومولار) در محلول هوگلند و آرنون بود. نتایج نشان داد سطوح مختلف $CuSO_4$ بر طول گیاهچه و وزن خشک بوته تا سطح سوم (۸۰ میکرومولار) اثر افزایشی و در سطح چهارم (۱۲۰ میکرومولار) اثر کاهشی داشت، تلقیح تریکودرما باعث افزایش حدوداً ۲۳، ٦، ٦۲، ٥۲، ۱۳ و ۲۷ درصدی به‌ترتیب درصد سبز شدن، سرعت سبز شدن، یکنواختی سبز شدن، قدرت گیاهچه، طول گیاهچه و وزن خشک بوته گیاهچه جو شد. اثرات متقابل تیمارهای آزمایشی در سطح یک درصد بر پرولین معنی‌دار بود و افزایش سطوح عنصر مس باعث افزایش محتوای پرولین گردید، پیش‌تیمار بذرها، با افزایش مقدار پرولین تا حدودی اثرات سوء ناشی از بیش‌بود مس را کاهش داد. به طور کلی تلقیح تریکودرما باعث افزایش طول گیاهچه و وزن خشک بوته، شاخص‌های سبز شدن و محتوای پرولین گیاه جو شد در نتیجه گیاه جو می‌تواند تا سطح ۸۰ میکرومولار مس مقاومت داشته باشد.

واژه‌های کلیدی: بیوپرایمینگ، تلقیح با بستر کشت، نمک مس، هیدروپرایمینگ.

مقدمه

بهبود بذر نقش مهمی در افزایش قدرت گیاهچه و استقرار مزرعه‌ای گیاهان دارد (Harris et al., 2001). یکی از مناسب‌ترین تکنیک‌های بهبود بذر استفاده از انواع پیش‌تیمارهای بذری است (Finch-Savage et al., 2004). پیش تیمار (پرایمینگ) بذر تکنیکی است که به واسطه آن برخی رویدادهای اولیه جوانه‌زنی بذر، پیش از قرار گرفتن در بستر کشت آغاز می‌شود که نتیجه آن بهبود جوانه‌زنی بذر و استقرار گیاهچه است (Ashraf and Foolad, 2005). در

*نویسنده مسئول: mahdiyeh.mazaher@gmail.com

پیش‌تیمار بذر از روش‌های مختلفی نظیر هیدروپرایمینگ، اسموپرایمینگ، هالوپرایمینگ و بیوپرایمینگ استفاده می‌شود (Jisha et al., 2013) در این بین استفاده از میکروارگانیسم‌های مفید برای پیش‌تیمار بذر (بیوپرایمینگ) می‌تواند کمک بیش‌تری به استقرار گیاهچه کند. در این روش می‌توان از میکروارگانیسم‌هایی مانند قارچ تریکودرما استفاده نمود (Bennett and Whipps, 2008).

قارچ تریکودرما یکی از گسترده‌ترین میکروارگانیسم‌های خاکزی است که در اغلب خاک‌های مزارع کشاورزی وجود دارد (Harman et al., 2004). این قارچ در ریزوسفر ریشه گیاهان ترکیباتی را آزاد می‌کند که موجب تحریک واکنش‌های مقاومت به تنش‌های زنده و غیرزنده می‌گردد (Cardona and Rodriguez, 2006). بعضی ازگونه‌های تریکودرما توانایی پاک‌سازی محیط آلوده را دارند و می‌توانند به‌عنوان یکی از منابع زیستی برای تجزیه آلاینده‌های موجود درخاک به کار روند (Harman, 2006). این میکروارگانیسم‌ها می‌توانند در غلظت‌های بالای فلزات زنده بمانند و به پالایش خاک‌های آلوده به این فلزات کمک نمایند (Anand, 2006).

فلزات سنگین از آلاینده‌های مهمی هستند که غلظت بالای یون‌های این فلزات به‌صورت ترکیبات سمی در سلول‌ها عمل می‌کنند (Choudhury and Srivastava, 2001) و به‌صورت پایدار در زنجیره‌ی غذایی باقی می‌مانند (He et al., 2008). مقادیر معین و اندکی از بعضی فلزات سنگین، برای همه اشکال زندگی ضروری هستند (Cervantes and Corona, 1994). مس یکی از ریزمغذی‌های ضروری فعّال در کلروپلاست است (Fernandes and Henriques, 1991). طبیعتاً غلظت بالای این عنصر باعث خسارت زیادی به بافت‌های گیاهی می‌شود (Robinson and Winge, 2010) به طوری که غلظت بیش از حد مس مانع از تنفس گیاهی، تثبیت نیتروژن و متابولیسم پروتئین می‌گردد که در نهایت منجر به کاهش میزان کلروفیل می‌شود و از فتوسنتز برگ‌ها جلوگیری می‌کند (El-Jaoul and and Cox, 1998). در بیشترگیاهان زراعی تجمع فلزات باعث مسمومیت می‌شود (Fernandes and Henriques, 1991).

غلات گروهی از گیاهان زراعی می‌باشند که بیش از سه چهارم انرژی و در حدود نیمی از پروتئین مورد نیاز بشر از این گروه تأمین می‌شود (Peyghambardoost and Uioladghafari, 2010). سطح زیر کشت این گروه از گیاهان در دنیا بیش از سایر گیاهان زراعی است (Khodabandeh, 2013). جو در کشورهای مختلف به عنوان غذای دام، طیور و انسان مورد استفاده قرار می‌گیرد (Ulrich, 2011). با توجه به این موضوع که آلودگی مس در خاک می‌تواند باعث ایجاد مشکلات عمده‌ای در رشد گیاه جو شود، در این راستا، آزمایشی به منظور مطالعه اثرات مثبت احتمالی تلقیح بذر و بستر کشت با قارچ تریکودرما بر رشد و استقرار گیاهچه‌های جودر حضور فلز سنگین مس اجرا شد.

مواد و روش‌ها

توده بذر گواهی شده جو بهاره، رقم به‌رخ از مؤسسه تحقیقات ثبت و گواهی بذر و نهال کرج تهیه شد. در راستای اجرای این پژوهش، آزمایشی به‌صورت فاکتوریل در قالب طرح بلوک‌های کامل تصادفی (RCBD) در سه تکرار در بهار سال ۱۳۹۶ در مجموعه‌ی گلخانه و آزمایشگاه دانشکده کشاورزی و منابع طبیعی دانشگاه محقق اردبیلی اجرا شد. تیمارهای این آزمایش شامل عنصر مس در چهار غلظت (۲، ٤٠، ۸۰ و ۱۲۰ میکرومولار) و قارچ تریکودرما (*Trichoderma harzianum* T_{447}) در دو حالت بیوپرایمینگ و تلقیح با بستر کشت بود. جدایه استاندارد قارچ *Trichoderma harzianum* با کد استاندارد (T_{447}) تهیه شده از مؤسسه تحقیقات گیاهپزشکی کشور برای این آزمون مورد استفاده قرار گرفت. برای بیوپرایمینگ بذرها از روش Reddy (۲۰۱۳) استفاده شد. به منظور اجرای

هیدروپرایمینگ، بذرها به مدت ۱۲ ساعت بین چند لایه کاغذ صافی کاملاً مرطوب (آب مقطر دیونیزه) در دمای ۲۵ درجه سانتی‌گراد قرار داده شدند و سپس در دمای محیط و دور از نور مستقیم خورشید تا رسیدن به رطوبت اولیه خشک گردیدند. جهت آماده‌سازی بستر کشت، بعد از تلقیح پرلیت با قارچ تریکودرما (۱۰ گرم قارچ در یک کیلوگرم بستر کشت) گلدان‌های مربوط به تلقیح با بستر کشت، با پرلیت تلقیح شده پر شدند و سایر ظروف با پرلیت معمولی پر شدند. در ادامه این گلدان‌ها بر روی ظرف‌های محتوی محلول مواد غذایی هوگلند و آرنون (بسته به غلظت مس، محتوی هر ظرف متفاوت بود) قرار گرفتند. در این حالت از پنج فیتیله‌ی پنبه ای در هر ظرف برای به جریان انداختن محلول مواد غذایی به گلدان‌های رویی استفاده شد (Zareei and Heydari, 2011). تعداد ۲۰ بذر به عمق ۲ الی ۳ سانتی‌متر با فاصله مساوی درون گلدان‌هایی با قطر ۲۰ سانتی متر و عمق ۲۷ سانتی متر کشت گردید. عملیات تنک کردن گیاهچه به‌صورت کاملاً تصادفی انجام شد و درنهایت ۱۵ عدد گیاهچه در هر گلدان باقی ماند. در طول اجرای آزمایش برای اندازه‌گیری سرعت، درصد و یکنواختی سبز شدن بذرها، تعداد بذرهای سبز شده در هر واحد آزمایشی هر ٢٤ ساعت یکبار شمارش گردید. سپس با استفاده از نرم‌افزار Germin سرعت، درصد و یکنواختی سبز شدن بذرها محاسبه شدند. ٢٤ روز پس از کاشت بذرها گیاهچه‌ها از پرلیت خارج شدند و پس از شست و شوی کامل ریشه‌ها، طول گیاهچه و وزن خشک سه عدد از بوته‌های هر واحد آزمایشی (گلدان= Plot) به‌طور تصادفی به‌صورت جداگانه اندازه‌گیری شد. محتوای اسید آمینه آزاد پرولین با استفاده از معرف نین هیدرین، از جوان‌ترین برگ‌های جو با استفاده از روش .Bates et al (۱۹۳۷) مورد ارزیابی قرار گرفت. شاخص طولی قدرت از حاصلضرب طول گیاهچه در درصد جوانه‌زنی تقسیم بر ۱۰۰ بدست آمد. پس از آزمون نرمال بودن داده‌ها و یکنواختی واریانس خطاهای آزمایشی به ترتیب مطابق روش‌های شاپیرو– ویلک و کولموگروف- اسمیرنوف، داده‌های حاصل در قالب آزمایش فاکتوریل بر پایه طرح بلوک‌های کامل تصادفی با استفاده از نرم‌افزار آماری SPSS تجزیه واریانس گردید (Kargar and Jameei, 2016). مقایسه میانگین داده‌ها به روش دانکن در سطح احتمال ۵ درصد صورت پذیرفت. رسم شکل‌ها توسط برنامه Excel انجام شد.

نتایج و بحث

با توجه به نتایج تجزیه واریانس داده‌ها، اثر تلقیح تریکودرما بر یکنواختی، درصد سبز شدن و شاخص طولی قدرت گیاهچه در سطح احتمال یک درصد و بر سرعت سبز شدن، در سطح احتمال پنج درصد معنی‌دار بود، سطوح مختلف مس بر شاخص طولی قدرت گیاهچه در سطح یک درصد معنی دار بود اما ازنظر درصد، سرعت و یکنواختی سبز شدن بذر معنی‌دار نبود. اثر متقابل سطوح مس× تلقیح تریکودرما در مورد هیچ‌یک از صفات مذکور معنی‌دار نبود (جدول ۱).

جدول ۱: تجزیه واریانس اثر تیمارهای آزمایشی بر صفات مرتبط با قابلیت سبز شدن بذر جو

منابع تغییر	درجه آزادی	میانگین مربعات			
		درصد سبز شدن	سرعت سبز شدن	یکنواختی سبز شدن	شاخص طولی قدرت
بلوک	۲	۹/۸۹۶^{ns}	۰/۰۰۰۰۰۱^{ns}	۱/۱۰۳^{ns}	۷۰/۵۸**
سطوح مس	۳	٤٦۰/۲٤۳^{ns}	۰/۰۰۰۰۰۰۵^{ns}	۰/٦۷۲^{ns}	٥٦/۰۲**
تلقیح تریکودرما	۳	۱۱٥۱/۹۱**	۰/۰۰۰۰۰۱۱*	۸/۸۰۲**	۷۹/۸۸**
سطوح مس× تلقیح تریکودرما	۹	۱۷۰/۸۹۱^{ns}	۰/۰۰۰۰۰۰۵^{ns}	۰/٤۹٤^{ns}	^{ns}۸/۳٦
اشتباه آزمایشی	۳۰	۲۰٦/۰۰۷	۰/۰۰۰۰۰۰۳۸	۱/۰٦٥	۱۰/۷۰
ضریب تغییرات (٪)	–	۱/۹٦	۲/٥۳	۳/۳۲	۳/۱

**، * و ns به‌ترتیب بیانگر معنی‌داری در سطح یک و پنج درصد و غیر معنی‌داری می‌باشند.

تلقیح بستر کشت با قارچ تریکودرما و هیدروپرایمینگ بذرهای جو به‌ترتیب با افزایش ۲۳/٤٦ و ۱٦/۹۲ درصد بالاترین درصد سبز شدن و تلقیح بستر کشت با قارچ و بیوپرایمینگ بذرها به‌ترتیب با تسریع ٦/۱٦ و ۷ درصدی در سبز شدن بذرها بالاترین سرعت سبز شدن را به خود اختصاص دادند. هیدروپرایمینگ اثر بهبوددهنده‌ای بر سرعت سبز شدن نداشت و با تیمار شاهد در یک گروه آماری قرار گرفت. تلقیح بستر کشت و هیدروپرایمینگ به ترتیب باعث افزایش حدوداً ٦۲ و ٤۱ درصدی در یکنواختی سبز شدن گردیدند و بیوپرایمینگ اثر بهبوددهنده یا کاهنده‌ای بر یکنواختی سبز شدن نداشت و با تیمار شاهد در یک گروه آماری قرار گرفت. بیشترین مقدار شاخص طولی قدرت در سطح ۸۰ میکرومولار مس دیده شد و تلقیح بستر کشت با تریکودرما باعث افزایش حدوداً ۲٤ درصدی شاخص طولی گیاهچه نسبت به شاهد شد (جدول ۲).

جدول ۲: مقایسه میانگین اثرات اصلی عوامل آزمایشی بر درصد، سرعت و یکنواختی سبز شدن و شاخص طولی قدرت گیاهچه جو

فاکتورهای آزمایشی		درصد سبز شدن (٪)	سرعت سبز شدن (روز/۱)	یکنواختی سبز شدن	شاخص طولی قدرت
سطوح مس (میکرومولار)	۲ (شاهد)	–	–	–	b۱۲/۳٦
	٤۰	–	–	–	b۱۳/۷٦
	۸۰	–	–	–	a۱۷/٤٥
	۱۲۰	–	–	–	b۱٤
پیش‌تیمار بذرها	شاهد	c٦۹/٥۸	b۰/۰۰۷۹۷	a۷۱/۱۷	c۱۱/۲۳
	هیدروپرایمینگ	ab۸۳/۷٥	b۰/۰۰۷۸۹	b٥۰/۱۹	ab۱٥/۹۳
	بیوپرایمینگ	bcv٤/٥۸	a۰/۰۰۸٥۳	a۷۰/٤۷	bc۱۳/٤۳
	تلقیح با بستر کشت	a۹۰/۹۱	a۰/۰۰۸٤٦	b٤۳/۸۹	a۱٤/۹٦

مقایسه میانگین داده ها با آزمون دانکن انجام گرفت. حروف مشابه نشانگر عدم اختلاف و حروف متفاوت نشانگر اختلاف بین میانگین‌ها می‌باشند. به علت معنی‌دار نبودن اثر سطوح مس بر درصد، سرعت و یکنواخی سبز شدن ، سلول‌های مربوطه خالی می‌باشند.

نتایج حاصل از این پژوهش نشان دادند سولفات مس ($CuSO_4$) بر شاخص‌های سبز شدن جو اثرگذار نبود. در این راستا نتایج Kalai et al. (۲۰۱۳) حاکی از این بود که کاربرد ۱۰۰، ۳۰۰ و ٥۰۰ میکرومولار مس (بالاتر از سطح پایه

مس) در گیاه جو باعث اختلال در انتقال منابع آلی و معدنی از آندوسپرم به جنین می‌شود و درنتیجه، جوانه‌زنی را دچار اختلال و کاهش می‌کند. همچنین Wojnarowiez et al. (۲۰۰۲) در مطالعات خود گزارش نمودند که سولفات مس از طریق افزایش بقاء میکروسپور (خردهاگ) در طول کشت بساک، موجب بروز اثرات مثبتی بر بساک‌های کشت شده‌ی گیاه جو می‌گردد. طبق مشاهدات Raeisi et al. (۲۰۱۱) هیچ‌یک از تیمارهای اعمال‌شده ۵۰، ۱۰۰ و ۲۰۰ میکرومول مس تأثیر معنی‌داری بر میزان جوانه‌زنی و میانگین زمان لازم برای جوانه‌زنی بذرهای شاهی نداشت. همچنین Alizadeh et al. (۲۰۱۵) اظهار داشتند اثر تیمار مس (صفر، ٤٠، ۸۰ و ۱۲۰ میلی‌گرم در لیتر) بر سرعت، درصد و یکنواختی جوانه‌زنی گیاه دارویی رازیانه معنی‌دار نبود تیمار بیولوژیک بر درصد جوانه‌زنی بی‌تأثیر و بر سرعت و یکنواختی جوانه‌زنی در سطح یک درصد معنی‌دار بود برهمکنش عوامل اصلی بی‌معنی بود. طبق نتایج Mohasseli (۲۰۰٤) در مطالعه بر تأثیر سطوح مس (صفر، ۲/۵ و ۵ میکروگرم در گرم خاک) بر رشد و ترکیب شیمیایی گندم هیچ‌گونه معادله رگرسیونی معنی‌داری بین رشد نسبی گندم با مس عصاره‌گیری شده به دست نیامد. به نظر می‌رسد که گیاه جو در مراحل جوانه‌زنی و رشد اولیه تحمل بالایی به فلز سنگین مس دارد. درنتیجه، در سطوح بیش‌بود مس اعمال شده اثر کاهنده‌ای بر سرعت و درصد سبز شدن این گیاه دیده نشد. متأسفانه دلایل علمی و مستندی در مورد عدم تأثیرگذاری بیش‌بود مس (تا سطح ۱۰۰ میکرومولار) بر جوانه‌زنی گیاه جو در دسترس نیست.

تقویت بذر یکی از روش‌های فیزیولوژیکی است که یکنواختی سبز شدن بذر را افزایش می‌دهد (Farooq et al., 2009). معمولاً بذرهای پرایم شده، نسبت جوانه‌زنی، یکنواختی جوانه‌زنی و گاهی اوقات درصد کل جوانه‌زنی بیشتری را نشان می‌دهند (Heydecker and Coolbear, 1997). پژوهشگران این تغییرات مثبت را به جبران متابولیکی در طول آبنوشی (Bray et al., 1989)، تجمع ذخائر متابولیت‌های توسعه دهنده‌ی جوانه‌زنی (Farooq et al., 2006) و تنظیم اسمزی (Bradford, 1986) نسبت می‌دهند. نتایج مطالعات Farooq et al. (۲۰۰۹) اثر بهبود دهنده‌ی هیدروپرایمینگ بر سرعت و درصد سبز شدن بذرهای برنج را نشان دادند. از سوی دیگر پژوهشگران متعددی گزارش نمودند قارچ تریکودرما باعث افزایش رشد گیاهان شده و اثر بهبود دهنده‌ای بر خصوصیات رشدی گیاهان دارد (Yazdani et al, 2009, Iraqi, 2012, Faghihabdollahi et al, 2015, Motaghiyan et al, 2015). ترشحات قارچ تیکودرما حاوی عامل تنظیم‌کننده رشد می‌باشد که موجب افزایش جوانه‌زنی بذرها و رشد گیاه و همچنین جذب بیشتر مواد غذایی می‌شود (Windham et al., 1986). همچنین Petrovic et al. (۲۰۱٤) گزارش کردند بعضی جدایه‌های تریکودرما به غلظت‌های بالای مس مقاومت نشان دادند. درنتیجه در این آزمایش تلقیح بستر کشت با تریکودرما اثری افزاینده بر سرعت و درصد سبز شدن داشتند و در مورد یکنواختی بذر هیدروپرایمینگ و بیوپرایمینگ اثر افزایش‌دهنده‌ای از خود نشان دادند.

بر اساس جدول تجزیه واریانس (جدول ۳)، طول گیاهچه و وزن خشک بوته جو در پایان آزمایش متأثر از سطوح فلز سنگین مس و تلقیح تریکودرما (اثرات اصلی) در سطح احتمال یک درصد معنی‌دار بود و اثر متقابل این عوامل بر صفات مذکور تفاوت معنی‌داری را نشان نداد.

جدول ۳: تجزیه واریانس اثر تیمارهای آزمایشی بر طول گیاهچه، وزن خشک بوته و پرولین گیاهچه جو

منابع تغییر	درجه آزادی	میانگین مربعات		
		طول گیاهچه	وزن خشک بوته	پرولین
بلوک	۲	۹۶/۱۶**	۰/۰۱۵**	۵/۷۳۱*
سطوح مس	۳	۵۶/۸۷**	۰/۰۱۱**	۷/۹۸۶**
تلقیح تریکودرما	۳	۱۷/۳۳**	۰/۰۰۷**	٤/۷۷۲*
سطوح مس× تلقیح تریکودرما	۹	۱/۳۸ns	۰/۰۰۱ns	۷/۵۸۰**
خطای آزمایشی	۳۰	۳/٦٤	۰/۰۰۱	۱/۳۳۳
ضریب تغییرات (٪)	-	۱/٦۸	۵/۳٤	۱/۹۲

ns، *و ** به ترتیب نشانگر عدم معنی‌داری و معنی‌داری در سطح احتمال پنج و یک درصد می‌باشند.

در این پژوهش طول گیاهچه در سطوح ۲ و ۱۲۰ میکرومولار مس در مقایسه با سطوح ٤۰ و ۸۰ میکرومولار مس کمتر بود. از طرفی استفاده از قارچ تریکودرما و هیدروپرایمینگ بذرها در این آزمایش موجب افزایش حدوداً ۱۳ درصدی طول گیاهچه نسبت به شاهد شد. در سطح ۱۲۰ میکرومولار فلز سنگین مس، وزن خشک بوته با شاهد همتراز بود اما سطح ٤۰ و ۸۰ میکرومولار مس باعث افزایش وزن خشک بوته شد. تلقیح بذر و بستر کشت با تریکودرما و هیدروپرایمینگ بذر اثرات مثبتی بر وزن خشک بوته داشتند، به‌طوری‌که هیدروپرایمینگ و تلقیح بستر کشت با تریکودرما افزایش حدوداً ۲۷ درصدی را در وزن خشک بوته باعث شدند (جدول ٤).

جدول ٤: مقایسه میانگین اثرات اصلی عوامل آزمایشی بر طول گیاهچه، وزن خشک بوته در گیاهچه جو

فاکتورهای آزمایشی		طول گیاهچه (cm)	وزن خشک بوته (gr)
سطوح مس (میکرومولار)	۲ (شاهد)	b۱۵/۸۷	b۰/۱۳۹
	٤۰	a۱۸/۸۹	a۰/۱۸۵
	۸۰	a۲۰/٤۲	a۰/۲۰۵
	۱۲۰	b۱٦/۲۲	b۰/۱٤۸
پیش‌تیمار بذرها	شاهد	b۱٦/۱۲	b۰/۱۳۷
	هیدروپرایمینگ	a۱۸/۷٤	a۰/۱۸٦
	بیوپرایمینگ	a۱۷/۹۵	ab۰/۱٦۷
	تلقیح با بستر کشت	a۱۸/۷٤	a۰/۱۸۹

مقایسه میانگین داده‌ها با آزمون دانکن انجام گرفت. حروف مشابه نشانگر عدم اختلاف و حروف متفاوت نشانگر اختلاف بین میانگین‌ها می‌باشند.

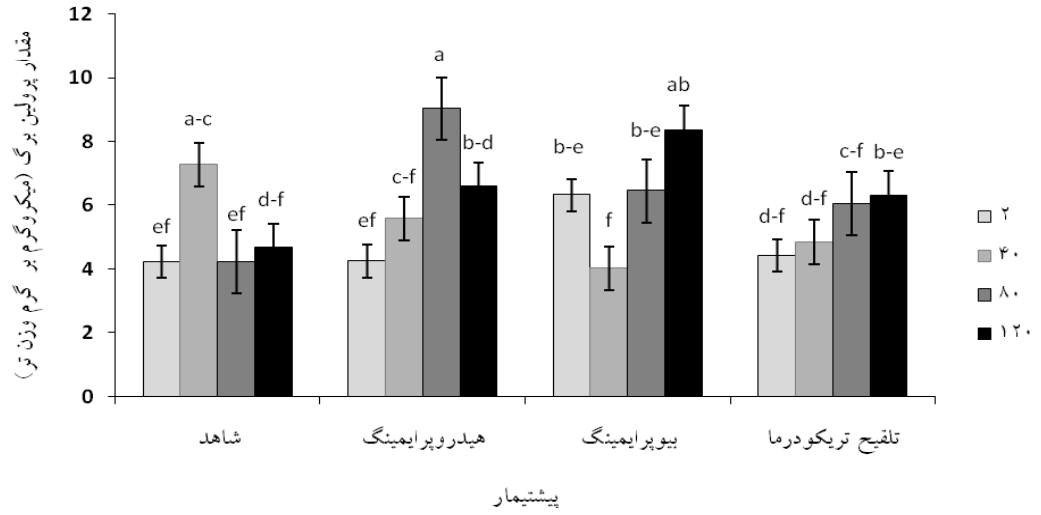
نتایج حاصل از این پژوهش نشان داد که تأثیر سطوح مختلف مس بر طول گیاهچه و وزن خشک بوته اندازه‌گیری شده، ابتدا به‌صورت افزایشی در سطح ٤۰ و ۸۰ میکرومولار و سپس کاهش در سطح ۱۲۰ میکرومولار دیده شده است. در این راستا Asgari et al. (۲۰۱٤) در مطالعات خود افزایش وزن خشک اندام‌های هوایی گیاه دارویی مرزه را در غلظت ۵ میلی‌گرم در کیلوگرم سولفات مس و کاهش وزن خشک اندام هوایی را در غلظت ۲۵ میلی‌گرم در کیلوگرم سولفات مس گزارش نمودند. درواقع مس با تأثیر بر متابولیسم نیتروژن و تولید اسیدآمینه تریپتوفان و هورمون اکسین باعث افزایش طول گیاه می‌شود (Marschner, 1985). با توجه به اینکه طویل شدن سلول‌ها و

اندامک‌ها از مهم‌ترین اعمال اکسین در گیاهان است (Peralta et al., 2000) لذا به نظر می‌رسد که افزایش شاخص‌های رشدی در بیش‌بود ٤٠ و ٨٠ میکرومولار مس به علت تأثیر مثبت این عنصر بر تولید اکسین می‌باشد. در بررسی تأثیر نانو ذرات مس و محلول کلرید مس بر جوانه‌زنی گیاه ریحان، Yosofzayi et al. (٢٠١٥) گزارش کردند افزایش غلظت‌های نانو ذرات مس و محلول کلرید مس تأثیری منفی بر طول، وزن تر و خشک ریشه و اندام هوایی داشته است. مسمومیت ناشی از بیش‌بود مس در محیط باعث کاهش رشد گیاه می‌شود (Coombes et al., 1976). همچنین Asgari et al. (٢٠١٤) در مطالعه‌ی تأثیر کاربرد مس و روی بر غلظت و جذب بعضی عناصر غذایی کم مصرف و پر مصرف در گیاه دارویی مرزه گزارش کردند که برهم‌کنش منفی بین مس، روی و آهن در سطوح بالاتر کاربرد مس و روی اتفاق افتاده است و درواقع سطوح پایین مس باعث افزایش روی و سطوح پایین روی باعث افزایش جذب مس می‌گردد. در گیاه تحت تیمار غلظت بالای مس با اتصال مس به پکتین دیواره سلولی، قابلیت ارتجاعی آن کاهش می‌یابد (Aidid and Okamoto, 1993)، همچنین افزایش اتیلن و کاهش سیتوکنین، پلی امین (Prasad, 1995) و جلوگیری از گسترش رشد سلول ناشی از اثرات مستقیم و یا غیر مستقیم مس بر متابولیسم یا ساختمان اکسین، کاهش رشد گیاه را باعث می‌شود (Coombes et al., 1976). با توجه به اینکه غلظت‌های بالای مس باعث کاهش غلظت روی می‌شود و عنصر روی از عناصر بسیار مهم در رشد و نمو گیاه محسوب می‌شود، به نظر می‌رسد کاهش طول گیاهچه و وزن خشک بوته در سطح ١٢٠ میکرومولار عنصر مس می‌تواند به علت اثرات آنتاگونیستی این عنصر با عناصری مانند روی و درنتیجه تأثیر بر سنتز هورمون‌ها و مواد متابولیکی موردنیاز گیاه دانست.

گونه‌های مختلف تریکودرما علاوه بر توانایی تولید اکسین، توانایی تولید اسیدهای آلی مانند اسید گلوکونیک، سیتریک و فوماریک را نیز دارا می‌باشند. تولید این اسیدهای آلی با کاهش pH خاک موجب افزایش حلالیت برخی از عناصر غذایی مانند آهن، منیزیم و منگنز می‌گردد و درنهایت جذب آن‌ها توسط ریشه گیاه افزایش می‌یابد (Benites et al., 2004). مشاهدات Altomar et al. (١٩٩٩) نشان دادند *T. harizanum* قادر به افزایش حلالیت منگنز، روی و فسفات بوده که درنتیجه منجر به افزایش جذب فسفر و چندین ریزمغذی به‌وسیله گیاه می‌شود. همچنین عناصر ریزمغذی و فسفات غیرمحلول در حضور *T. harzianum* به‌صورت قابل دسترس و محلول در اختیار ریشه گسترش یافته قرار می‌گیرند. مطالعات Windham et al. (١٩٨٦) نشان دادند *Trichoderma. spp* فاکتورهای تنظیم کننده‌ی رشدی را تولید می‌کند که وزن خشک ساقه‌ها و ریشه‌ها را افزایش می‌دهد. درنتیجه به دلیل تولید اکسین به‌وسیله‌ی تریکودرما و تسهیل دسترسی به مواد موردنیاز گیاه و نیز توانایی جذب فلزات سنگین به‌وسیله‌ی این قارچ به نظر می‌رسد که تلقیح تریکودرما باعث افزایش طول گیاهچه و افزایش وزن خشک بوته نسبت به شاهد شده‌اند. طبق گزارش Iraqi et al. (٢٠١٢) گونه‌های مختلف تریکودرما موجب افزایش وزن خشک ساقه گوجه فرنگی شد. همچنین در بررسی دیگر ارتفاع ساقه، قطر ساقه، وزن تر و خشک ریشه و ساقه در گوجه فرنگی تحت تأثیر قارچ تریکودرما افزایش یافت (Azarmi et al., 2011). طبق گزارش Salari et al. (٢٠١٥) روش خاک مصرف *T. harzianum* T20 در مقایسه با روش بذر مال، کارایی بهتری در افزایش وزن خشک ریشه و اندام هوایی گوجه فرنگی دارد.

با توجه به شکل ١ با افزایش سطوح مس محتوای پرولین آزاد برگ‌های جو افزایش قابل توجهی داشت به نحوی که در آلودگی ٨٠ و ١٢٠ میکرومولار مس بالاترین محتوای پرولین آزاد مشاهده شد. از سویی استفاده از قارچ تریکودرما و هیدروپرایمینگ بذرها در این سطح از آلودگی مس، با افزایش محتوای اسید آمینه پرولین، تا حدودی

اثرات سوء ناشی از بیش‌بود مس را کاهش داد. به‌طوری‌که در آلودگی ۸۰ میکرومولار مس بالاترین مقدار پرولین در هیدروپرایمینگ بذرهای جو با افزایش حدوداً ۵۲ دردصد نسبت به ۲ میکرومولار مس به دست آمد و در آلودگی ۱۲۰ میکرومولار مس بالاترین محتوای پرولین با افزایش حدوداً ۲٤ درصد نسبت به ۲ میکرومولار مس در بیوپرایمینگ بذرها مشاهده شد.



شکل ۱: مقایسه میانگین اثر متقابل سطوح مختلف فلز سنگین مس و تلقیح تریکودرما بر مقدار پرولین برگ گیاهچه‌های جو. مقایسه میانگین داده ها با آزمون دانکن انجام گرفت. حروف یکسان بیانگر عدم اختلاف معنی‌دار است.

اسید آمینه پرولین علاوه بر تنظیم اسمزی، به عنوان یک محافظ در برابر شرایط تنش عمل می‌کند. به این ترتیب که این اسید آمینه به طور مستقیم با ماکرومولکول‌ها اثر متقابل داشته و از این طریق به حفظ شکل و ساختار طبیعی آن‌ها تحت شرایط تنش کمک می‌کند (Kuznetsov, 2007). طبق مطالعات Chien-Teh et al. (۲۰۰٤) استفاده از پرولین در گیاهچه‌های برنج موجب کاهش جذب نمک مس در ریشه‌های برنج شد و از ورود مس به ریشه‌ها ممانعت کرد. محتوای پرولین آزاد گیاهچه‌های کلزا در حضور غلظت‌های ۵، ۱۵ و ۲۵ میکرومولار مس افزایش قابل ملاحظه‌ای داشت (Roshani and Yazdi, 2011). Mighani et al. (۲۰۰۸) در مطالعه بر نقش یون‌های معدنی و پرولین در تحمل دو رقم کلزا (*Brassica naous* L.) به تنش مس گزارش کردند در تیمار ۵۰۰ میکرومولار مس غلظت پرولین به حداکثر رسید. همچنین افزایش فلزات مس و سرب در ارقام ماش سبب افزایش میزان پرولین شد. به‌طوری‌که در غلظت ٤۰۰ میلی گرم سولفات مس بیشترین میزان پرولین در هر دو رقم مشاهده شد (Keshtegar et al., 2015). تاکنون در منابع در دسترس، در مورد تأثیر قارچ تریکودرما بر غلظت پرولین آزاد گیاه جو در حضور مس مطلب قابل استنادی ذکر نشده است اما گزارش شده است که بیوپرایمینگ با قارچ تریکودرما و افزایش سطح شوری مقدار پرولین برگ گندم را افزایش داده است (Rawat et al., 2011).

نتیجه‌گیری نهایی

طبق نتایج این پژوهش، گیاه جو می‌تواند تا سطح ۸۰ میکرومولار مس را تحمل کند، به‌طوری‌که غلظت‌های بالاتر از حد پایه‌ی محلول غذایی هوگلند و آرنون (٤۰ و ۸۰ میکرومولار مس) نه تنها باعث کاهش رشد گیاه جو نشد بلکه

اثر افزایشی بر طول گیاهچه، وزن خشک بوته و شاخص طولی قدرت داشت. اما در سطح ۱۲۰ میکرومولار مس اثر کاهشی بر طول گیاهچه، وزن خشک بوته و شاخص طولی قدرت داشت. درنتیجه می‌توان گفت در سطح ۱۲۰ میکرومولار مس، آلودگی خارج از تحمل گیاه جو بود و گیاه تحت تأثیر اثرات سوء ناشی از تنش مس قرار گرفت. از سوی دیگر تلقیح تریکودرما اثرات مثبتی بر طول گیاهچه و وزن خشک بوته و شاخص‌های سبز شدن داشت. بیشترین افزایش پرولین در سطح ۸۰ میکرومولار و کمترین سطح آن در ۲ میکرومولار دیده شد. با توجه به نتایج به دست آمده گیاه جو به عنوان گیاهی مقاوم نسبت به سطوح بیش‌بود فلز سنگین مس گزارش می‌شود و پیشنهاد می‌شود که از این گیاه برای کشت در مناطق آلوده به مس استفاده شود. همچنین با توجه به نتایج، تلقیح تریکودرما با بستر کشت برای استفاده از این قارچ پیشنهاد می‌شود. همچنین پیشنهاد می‌شود پژوهشگران در مطالعات بعدی به منظور تکمیل این پژوهش، از خاک به عنوان بستر کاشت استفاده کنند و سایر غلظت‌های مس توأم با تلقیح تریکودرما در مورد گیاه جو مورد بررسی قرار گیرد.

References

Aidid, S.B., and Okamoto, H. 1993. Responses of elongation rate, turgor pressure and cell wall extensibility of stem cells of impatiens balsmina to lead, copper and zinc. Biometals, 6:245- 249.

Altomare, C., Norvell, W.A., Bjorkman, W.A., and Tharman, G.E. 1999. Solubilization of phosphates and micronutrients by the plant-growth-promoting and biocontrol fungus *Trichoderma harzianum* Rifai. Applied and Environmental Microbiology, 65: 2926-2933.

Anand, P., Isar, J., Saran, S., and Kumar Saxena, R. 2006. Bioaccumulation of copper by *Trichoderma viride*. Bioresource Technology, 97: 1018-1025.

Asgarilajayer, H., Motashareezadeh, B., Thavaghebi, GH., and Hadiyan, J. 2015. Effect of copper and zinc application on concentration and absorption of low-energy food elements (copper, zinc, iron, manganese) and high intake (phosphorus) in *Satureja hortensis* L. herb in greenhouse conditions. Science and technology of greenhouse cultivation, 19: 95-111. (In Persian)

Ashraf, M., and Foolad, M.R. 2005. Pre-sowing seed treatment a shotgun approch to improve germination, plant growth and crop yield under saline and non-saline conditions. Adv. Agron. 88: 223-271.

Azarmi, R., Hajieghrari, B., and Giglou, A. 2011. Effect of Trichoderma isolates on tomato seedling growth response and nutrient uptake. African Journal Biotechnology, 10:5850-5855.

Bates, L.S., Waldren, R.P., and Teare, I.D. 1973. Rapid determination of free proline for water stress studies. Plant Soil, 39: 205-207.

Benitez, T., Rincon, A.M., Limon, M.C., and Codon, A.C. 2004. Biocontrol mechanisms of Trichoderma strains. International Journal of Microbiology, 7: 249-260.

Bennett, A.J., and Whipps, J.M. 2008. Dual application of beneficial micro-organisms to seed during drum priming. Applied Soil Ecology, 38:83–89.

Bradford, K.Y. 1986. Manipulation of seed water relations via osmotic priming to improve germination under stress conditions, Horticultural Science, 21: 1105-1112.

Bray, C.M., Davison, P.A., Ashraf, M., and Taylor, R.M. 1989. Biochemical events during osmopriming of leek seed, Annals of Applied Biology, 102: 185-193.

Cardona, R., and Rodriguez, H. 2006. Effects of *Trichoderma harzianum* fungus on the incidence of the charcoal rot disease on sesame. Revista de la Facultad Agronomia, 23:42-47.

Cervantes, C., and Gutierrez Corona, F. 1994. Copper resistance mechanisms in bacteria and fungi. FEMS Microbiology Reviews, 14: 121-138.

Chien-The, C., Tsai-Huei, C., Kuo-Fu, L., and Chih-Yu, C. 2004. Effects of proline on copper transport in rice seedlings under excess copper stress. Plant Science, 166: 103–111.

Choudhury, R., and Srivastava, S. 2001. Mechanism of zinc resistance in *Pseudomonas*

putidastrain S4. World Journal of Microbiology and Biotechnology, 17: 149-153.

Coombes, A.J., Lep, N.W., and Phipps, D.A. 1976. Effect of copper on IAA oxidase activity in root tissue of barly *Hordeum vulgare* L. zephyr. Plant Physiology, 55: 236-242.

El-Jaoual, T., and Cox, D.A. 1998. Manganese toxicity in plants. Journal of Plant Nutrition, 2: 353-386.

Faghihabdollahi, L., Pirdashti, H., Yaaghoobiyan, Y., and Alavi, M. 2016. Outcome of the application of *Piriformospora indica* and *Trichoderma tomentosum* fungi on the growth of basal plant *Ocimum basilicum* L. at different levels of copper nitrate. Journal of Soil Management and Sustainable Production, 1: 113-127. (In Persian)

Farooq, M., Basra, S.M.A., Wahid, A., Khaliq, A., and Kobayashi, N. 2009. Rice seed invigoration, a review. Organic farming, pest control and remediation of soil pollutants. Sustainable Agriculture Reviews, 1: 137-175.

Farooq, M.S., Basra, M.A., Tabassum, R., and Afzal, I. 2006. Enhancing the performance of direct seeded fine rice by seed priming, Plant Prod. Sci. 4: 446-456.

Fernandes, J.C., and Henriques, F.S. 1991. Biochemical, physiological, and structural effects of excess copper in plants. The Botanical Review, 57: 246-273.

Finch-Savage, W.E., Dent, K.C., and Clark, L.J. 2004. Soak conditions temperature following sowing influence the response of maize *Zea mays* L. seeds to on-farm priming core-sowing seed soak. Field Crops Research, 90: 361-374.

Forotan, B., Pirdashti, H., and Yaaghoobiyan, Y. 2015. The effect of seed biological treatments on the resistance of *Foeniculum vulgare* L. to causal stress in germination and seedling stages. Journal of Seed Research, 2: 1-12. (In Persian)

Harman, G. 2006. Overview of mechanisms and uses of *Trichoderma* spp. The American Phytopathological Society, 96:190-194.

Harman, G., Howell, Ch.R., Viterbo, A., Chet, I., and Lorito, M. 2004. Trichoderma species opportunistic, avirulent plantsymbionts. Nat. Rev. Microbiolo. 2:43-56.

Harris, D., Pathan, A.K., Gothkar, P., Joshi, A., Chivasa, W., and Nyamudeza, P. 2001. On-farm seed priming: using participatory method srevive and refine a key technology. Agricultural Systems Journal, 69: 151-164.

He, J.Y., Ren, YF., Zhu, C., and Jiang, D. 2008. Effects of cadmium stress on seed germination, seedling growth and seed amylase activities in rice *Oryza sativa*. Rice Sci. 4:319–325.

Heydecker, W., and Coolbear P. 1977. Seed treatments for improved performance – survey and hydration, Annals of Applied Biology, 53: 753–757.

Iraqi, M. 2012. The role of *Trichoderma* species in increasing plant growth. Plant Pathology Knowledge, 1:34-42. (In Persian)

Iraqi, M., Rahnama, K., and Latifi, N. 2012. Effect of *Trichoderma harzianum* in Growth of Tomatoes. Journal of Plant Production Research, 2: 107-118. (In Persian)

Jisha, K.C., Vijayakumari, K., and Puthur, J.T. 2013. Seed priming for abiotic stress tolerance: an overview. Acta Physiol. Plant. 35: 1381–1396.

Jovicic Petrovic, J., Danilovic, G., Curcic, N., Milinkovic, M., Stosic, N., Pankovic, D., and et al. 2014. Copper tolerance of Trichoderma species. Archives of Biological Sciences, 1: 137-142.

Kalai, T., Khamassi, K.A., Teixeira da Silva, J., Gouia, H., and Bettaieb Ben-Kaab, L. 2014. Cadmium and copper stress affect seedling growth and enzymatic activities in germinating barley seeds. Archives of Agronomy and Soil Science, 6: 765-783 .

Kargarkhorrami, S., and Jameei, R. 2016. Effect of different concentrations of copper and nickel on growth and physiological indices in (*Hibiscus esculentus* L.). Process and Plant Function, 11: 44-34. (In Persian)

Keshtehgar, M., Afshar, A., and Saeid, F. 2015. Effect of heavy metals of copper and lead on some growth traits, proline content and lipid peroxidation in two type of bean cultivars. Scientific Journal of Ecophysiology of Agricultural Plants, 3: 363-374. (In Persian)

Khodabandeh, N. 2013. Grains, 11th edition, Tehran University Press, Tehran. (In Persian)

Kuznetsov, V.V., and Shev yakova, N.I. 2007. Prolin under stress: biological role, metabolism and regulation. Russ. J. Plant Physiol. 46: 274-287.

Marschner, H. 1985. Mineral nutrition of higher plants. 2nd Ed. Academic Press. New York.

Mighani, F., Ghorbanli, M., and Asadollahi, B. 2008. The role of mineral ions and proline in tolerance of two cultivars of rapeseed *Brassica napus* L. to copper stress. Tarbiat Moallem University of Science, 1: 865-876. (In Persian)

Mohaseli, V. 2003. Effect of different levels of copper on growth and chemical composition of wheat cultivars. Research and development in agriculture and horticulture, 61: 25-31. (In Persian)

Motaghiyan, A., Pirdashti, H., Bahmanyar, M., and Motaghiyan, B. 2016. Effect of simultaneous use of urban waste compost and three species of Trichoderma fungi. *Trichoderma spp* on growth characteristics and absorption of nutrients in *Lepidium sativum* L.. Journal of Soil Management and Sustainable Production, 4: 21-40. (In Persian)

Peralta, J. R., Gardea-Torresdey, J. K., Tiemann, K.J., Gomez, E., Arteaga, S., Rascon, E., and Parsons, J.G. 2000. Study of the effect of heavy metals on seed In:germination and plant growth on alfalfa plant *Medicago sativa* grown in solid media. In: Proceeding of the 2000 conference on hazardous waste research, El Paso, U S A.

Peyghambardoost, H., and Uioladghafari, A. 2010. Introduction to the technology of pasta products, Amidi Publishing House. (In Persian)

Prasad, M.N.V. 1995. The inhibition of maize leaf chorophylls, carotenoids and gas exchange functions by cadmium. Photosynthetica, 31: 635-640.

Raeeisi, M., Asrar, Z., and Puorseyedi, Sh. 2011. Investigation of the interaction of Sodium Nitroposide (SNP) and Copper on some growth parameters and physiology of *Lepidium sativum* L.. Iranian Journal of Plant Biology,1,(2):55-76. (In Persian)

Rawat, L., Singh, Y., Shukla, N., and Kumar, J. 2011. Alleviation of the adverse effects of salinity stress in wheat *Triticum aestivum* L. by seed biopriming with salinity tolerant isolates of *Trichoderma harzianum*. Plant Soil, 347: 387-400.

Reddy, P.P. 2013. Recent Advances in Crop Protection. Springer, New Delhi, India.

Robinson, N.J., and Winge, DR. 2010. Copper metallochaperones. Annual Review of Biochemistry, 79: 537-562.

Roshani, M., and Lariyazdi, H. 2011. Effects of interaction of copper, ascorbate and gibberellin on proline and activity of peroxidase and catalase enzymes in two canola cultivars. Fifth National Conference on New Ideas in Agriculture, Khuorasgan, Iran. (In Persian)

Salari, A., Rohani, H, Mahdikhanimoghadam, A., Sabeririseh, R., and MehrabiKooshki, M. 2015. Efficiency of two methods of crop and soil - Trichoderma consumption on growth indices of tomato plants. Journal of Plant Protection (Science and Technology of Agriculture), 4:500-507. (In Persian)

Ulrich, S.E. 2011. Barley Production Improvement and Uses. Blackwell Publishing Ltd.

Windham, M.T., Elad, Y., and Baker, R. 1986. A mechanism for increased plant growth induced by *Trichoderma* spp. Phytopathology, 76:518–521.

Wojnarowiez, G., Jacquard, C., Devaux, P., Sangwan, R.S., and Clement, C. 2002. Influence of copper sulfate on anther culture in barley *Hordeum vulgare* L. Plant Science, 162: 843-847 .

Yazdani, M., Pirdashti, E., Tajik, M., and Bahmaniar, M. 2009. Effect of *Trichoderma spp*. And various types of organic fertilizers on soybean growth. Electronic Journal of Crop Production, 3: 65-82. (In Persian)

Yousefzai, F., Pour Akbar, L., Farhadi, H., and Molly, R. 2016. Investigating the effect of copper nanoparticles and copper chloride solution on germination and some morphological and physiological factors of *Ocimum basilicum* L. Journal of Plant Research, 1: 1-12. (In Persian)

Zareei, Zh., and Heydari, H. 2017. Evaluation of sunflower water use efficiency in surface and phytochemical irrigation techniques. Environmental stresses in agricultural sciences, 4:521-530. (In Persian)