مجله علمی-پژوهشی زراعت و اصلاح نباتات ایران
جلد ١٤، شماره ٢، تابستان ١٣٩٧، صفحات ٤٧-٣٩

ISSN NO: 2008-8485

مطالعه عملکرد، صفات رویشی و جوانه‌زنی بذرهای لوبیاچیتی حاصل از بیوپرایمینگ با قارچ تریکودرما

Study of yield, vegetative traits and seed germination of *pinto* bean produced from biopriming with *Trichoderma*

زهرا رضالو[1]، سمیرا شهبازی*[2] و قاسم توحیدلو[3]

تاریخ دریافت: ١٣٩٦/٠٧/١٤ تاریخ پذیرش: ١٣٩٦/١٠/١٠

چکیده

افزایش درصد جوانه‌زنی و شاخص‌های رشدی با استفاده از روش‌هایی مانند بیوپرایمینگ دارای اهمیت می‌باشد. مطالعه‌ی حاضر به‌منظور بررسی تأثیر بیوپرایمینگ با تعدادی از گونه‌های منتخب قارچ تریکودرمای بومی ایران بر عملکرد، جوانه‌زنی و صفات رویشی و مورفولوژیکی گیاهچه‌های حاصل از بذور گیاه لوبیا رقم تلاش انجام شد. همچنین تأثیر القای جهش با پرتوی گاما بر ژنوم قارچ تریکودرما و افزایش احتمالی کارایی بیوپرایمینگ با موتانت‌های تریکودرما نیز مورد بررسی قرار گرفت. آزمایش با سه تیمار: کنترل (عدم تلقیح)، تلقیح با بیوفرمولاسیون تهیه شده از گونه‌های تریکودرمای والد و تلقیح با جدایه‌های موتانت تریکودرما، در پژوهشکده کشاورزی هسته‌ای در قالب طرح کاملاً تصادفی، با چهار تکرار انجام شد. نتایج نشان داد، بیوپرایمینگ بذر لوبیا با بیوفرمولاسیون حاصل از گونه‌های قارچ تریکودرما (پرتوندیده و موتانت)، عملکرد گیاه را به‌طور چشمگیری نسبت به شاهد افزایش داد. درصد جوانه‌زنی بذور نیز با تیمارهای قارچی بسیار بالاتر از شاهد بود. صفت مهم وزن خشک نیز نسبت به شاهد افزایش یافته و همچنین اختلاف معنی‌داری با شاهد داشت. طول گیاهچه‌های بذور بیوپرایم شده با تریکودرما کوتاه‌تر از شاهد بودند. اغلب شاخص‌ها در سطح احتمال یک درصد به‌طور معنی‌داری بالاتر از شاهد بودند. نتایج مطالعه نشان می‌دهد، در گیاه لوبیا، استفاده از بیوپرایمینگ بذر با قارچ تریکودرما، باعث بهبود اغلب مؤلفه‌های رشدی گیاه به‌ویژه در مراحل استقرار و رشد اولیه آن دارد.

کلمات کلیدی: بیوپرایمینگ، لوبیاچیتی، جوانه‌زنی، تریکودرما، عملکرد

www.iapb.kiau.ac.ir

١- علوم و تکنولوژی بذر، دانشکده کشاورزی، دانشگاه آزاد اسلامی، واحد کرج

٢- پژوهشکده کشاورزی هسته ای، پژوهشگاه علوم و فنون هسته‌ای، سازمان انرژی اتمی ایران، کرج

٣- هیئت‌علمی دانشگاه آزاد واحد کرج/ دانشکده کشاورزی و منابع طبیعی

*- مکاتبه کننده E-mail: sshahbazi@nrcam.org

مجله علمی- پژوهشی زراعت و اصلاح نباتات دانشگاه آزاد اسلامی، واحد کرج

مقدمه

حبوبات و در بین آنان لوبیا از مهم‌ترین منابع تأمین پروتئین گیاهی بشر می‌باشند. لوبیا با دارا بودن ۲۰-۲۵ درصد پروتئین و ۶۵-۵۰ درصد کربوهیدرات با ارزش‌ترین حبوبات از نظر خوراکی در سرتاسر دنیا و همچنین ایران می‌باشد. این گیاه همچنین به خاطر قدرت تثبیت ازت اتمسفری در ریشه که سبب حاصلخیزی و اصلاح خاک می‌گردد، از اهمیت زیادی برخوردار بوده و دارای بیشترین سطح زیر کشت در بین سایر حبوبات می‌باشد (Majnoun Hosseini, 2008). تیمارهای پیش از کاشت بذر یا پرایمینگ یکی از مهم‌ترین روش‌های مدیریت زراعی است که امروزه ابعاد تجاری و صنعتی به خود گرفته است (Taylor *et al.*, 1998). جوانه‌زنی مطلوب و در پی آن استقرار مناسب محصول و حصول سبز یکنواخت در مزرعه می‌تواند راه را برای تولید محصولی قابل قبول از نظر کمی و کیفی هموار سازد. در حقیقت تحقق مطلوب جوانه‌زنی و استقرار گیاه در مزرعه مزیتی اکولوژیک محسوب می‌شود (Khan, 1993). تاکنون کوشش‌های فراوانی در جهت کمک به ارتقای جوانه‌زنی بذور در شرایط مزرعه‌ای انجام شده که نتیجه آن معرفی ارقام جدید، گیاهان تراریخته و روش‌های مدیریت‌های زراعی خاص بوده است (Barsa *et al.*, 2005). پرایمینگ بذر تکنیکی است که به‌واسطه آن بذرها به دلیل آغشته شدن به برخی مواد (شیمیایی، هورمونی یا بیولوژیکی)، پیش از قرار گرفتن در بستر کاشت و مواجهه با شرایط اکولوژیکی محیط، به لحاظ فیزیولوژیکی و بیوشیمیایی آمادگی جوانه‌زنی را به دست می‌آورد، به‌طوری‌که این تأثیرات را می‌توان در چگونگی جوانه‌زنی، استقرار اولیه گیاه، بهره‌برداری از نهاده‌های محیطی، زودرسی و افزایش کمی و کیفی محصول مشاهده کرد (Pill and Finch-Savage, 2001). در بذرهای پرایم شده برخی تغییرات متابولیکی و هیدرات‌های کربن در اثر آنزیم‌ها و واکنش‌های هیدرولیز کننده شکسته شده و آماده شرکت در فرآیند جوانه‌زنی می‌شوند. این مسئله می‌تواند توجیهی برای تسریع جوانه‌زنی و کاهش متوسط زمان جوانه‌زنی باشد (Taylor *et al.*, 1998). در بین مواد بیولوژیکی که برای پرایمینگ بذر مورد استفاده قرارگرفته‌اند، قارچ‌های رشته‌ای (از دسته اندوفیت ها و تریکودرما) مشاهده می‌شوند، مانند پرایمینگ بذر با قارچ *P. indica* که بر رشد گیاهان ذرت (Kumar *et al.*, 2009) و جو (Waller *et al.*, 2005) تأثیر مفید داشته است. موشیارلی و همکاران (Mucciarelli *et al.*, 2003) تأثیر قارچ اندوفیت را روی نعناع در شرایط *in vitro* و *in vivo* ارزیابی کردند و اعلام نمودند گیاهان همزیست شده با قارچ اندوفیت، هم از لحاظ اندازه و مقدار اسانس نسبت به گیاهان شاهد برتری داشتند. در همین زمینه بررسی دوبی و همکاران (Dubey *et al.*, 2006) نشان داد که پرایمینگ بذر با *Tricoderma viride* افزایش رشد ریشه و اندام هوایی نخود را به دنبال داشت. متوسط زمان جوانه‌زنی و یکنواختی جوانه‌زنی در بذرهای پرایم شده کلزا، گندم، نخود، سویا، یونجه، ذرت، سورگوم، هندوانه، برنج، کاهو و لوبیا به‌طور معناداری بهبود یافت که این امر حکایت از تسریع جوانه‌زنی و افزایش بنیه بذر در اثر کاربرد تیمارهای پیش از کاشت دارد (Duman 2006; Barsa *et al.*, 2005). نکته حائز توجه در مورد قارچ تریکودرما آن است که این جنس قارچی علاوه بر تأثیرات مثبت برافزایش ارتفاع بوته و افزایش حجم و طول ریشه دارای توانایی بیوکنترل بیمارگر های خاکزاد (قارچی و باکتریایی) نیز می‌باشد. لذا این تحقیق با هدف بررسی تأثیر بیوپرایمینگ بذور لوبیا با دو گونه *T. harzianum* و *T.ghanens* انجام شد، بدیهی است در شرایط آلودگی بذر با عوامل بیمارگر، تریکودرما علاوه بر تأثیر بر جوانه‌زنی بذر با استفاده از مکانیسم‌های متعدد بیوکنترل (مانند مایکوپارازیتیسم و آنتی بیوز) نیز به محافظت از گیاهچه و بهبود شرایط رشد آن کمک نموده و استقرار و توسعه گیاه در مراحل اولیه را بهبود می‌بخشد. علاوه بر بررسی مؤلفه‌های رویشی و مورفولوژیکی گیاهچه های حاصل ازبذر لوبیای پرایم شده با قارچ تریکودرما، بررسی شاخص ویگور نیز برای بررسی تأثیر تریکودرما بر بذر در جوانه‌زنی اندازه‌گیری شد. علاوه بر این با مقایسه کلیه شاخص‌های مذکور در بذور پرایم شده با تریکودرمای جهش‌یافته با پرتو گاما، امکان افزایش تاثیربیوپرایمینگ در صورت استفاده از جدایه های جهش یافته نیز مورد ارزیابی قرار گرفت. با توجه به بهبود قدرت آنتاگونیستی و شاخص‌های استقرار در خاک (سرعت رشد، میزان تولید اسپور و سرعت جوانه‌زنی اسپور) در برخی از موتانت‌های حاصل از پرتوتابی با اشعه گاما، دو موتانت برتر *T.hM8* و *T.gM1* برای پوشش دهی بذر لوبیا انتخاب شدند. با توجه به اهمیت روزافزون استفاده از کودهای بیولوژیک در راستای رسیدن به کشاورزی

www.japb.ut.ac.ir

پایدار و افزایش کارایی تریکودرما با استفاده از تکنیک القای جهش با پرتوی گاما هدف ثانویه این مطالعه بوده است.

مواد و روش‌ها

مواد این تحقیق در قالب طرح کاملاً تصادفی با ۴ تکرار در پژوهشکده علوم و فنون هسته‌ای البرز با بذر لوبیای چیتی رقم تلاش به شرح زیر انجام گرفت. تأثیر استفاده از قارچ تریکودرمای پرتو ندیده و پرتودیده‌ی همان‌گونه‌ها، با استفاده از روش تلقیح بر شاخص‌های رشدی بذر لوبیا مورد بررسی قرار گرفت. فرمولاسیون مورد استفاده برای پرایمنگ بذور از جدایه های قارچی مورد استفاده از مخلوط دوگونه *T. harzianum* (جدایه T7) و *T.ghanens* (جدایه T165) (wild type) و موتانت های منتخب پرتودیده با دز ۲۵۰ گری اشعه گاما *T.hM8* و *T.gM1* (mutant)، از کلکسیون قارچ و باکتری- پژوهشکده کشاورزی هسته‌ای- پژوهشگاه علوم و فنون هسته‌ای تهیه شدند (شهبازی ۱۳۹۴).

تیمارهای بایوپرایمینگ: تیمارهای مورد استفاده شامل بذور پوشش داده شده با فرمولاسیون تهیه‌شده از قارچ تریکودرمای پرتو ندیده (wild type) و بذور پوشش داده‌شده با فرمولاسیون تهیه‌شده از گونه‌های قارچ تریکودرمای (mutant) و شاهد (control): بذور تلقیح نشده با تریکودرما بودند. انتخاب جدایه موتانت بر اساس دارا بودن بالاترین سرعت رشد در محیط کشت PDA، بالاترین قدرت آنتاگونیستی در آزمون کشت متقابل در برابر *Rhizoctonia solani* و بالاترین قدرت تولید اسپور بوده‌اند. پوشش دهی بذر با استفاده از روش خلیلی و همکاران انجام شد (Khalili *et al.*, 2016).

تست جوانه‌زنی و بررسی صفات مرفولوژیکی: بذور قبل از تیمار شدن با قارچ تریکودرما در اتانول ۷۰ درصد به مدت پنج دقیقه ضدعفونی سطحی و بعد با آب مقطر دو بار شستشو داده شدند. سپس روی ماسه کشت شدند و پس از ۸ روز داده‌برداری شدند ماسه نیز شسته شده بود تا شوری احتمالی آن از بین برود و سپس در اتوکلاو استریل شد. ۵۰ عدد بذر در هر تکرار کشت شد. بعد از اتمام مدت زمان جوانه‌زنی نمونه‌ها از ژرمیناتور خارج و صفات مربوط به رشد گیاهچه اندازه‌گیری شد. معیار درصد جوانه‌زنی بر اساس (ISTA, 2010) بود و بذرهایی جوانه‌زده تلقی شدند که طول ریشه‌چه آن‌ها حداقل دو میلی‌متر باشد. درصد جوانه‌زنی، طول ریشه‌چه و طول ساقه‌چه و طول گیاهچه، وزن تر ریشه‌چه و ساقه‌چه و گیاه‌چه، وزن خشک ریشه‌چه و ساقه چه و گیاهچه، شاخص طولی بنیه‌ای گیاهچه (شاخص ویگور (VI و بارابطه (۱) زیر اندازه‌گیری شدند. برای اندازه‌گیری وزن خشک نمونه‌های گیاهی به مدت ۴۸ ساعت در آون با دمای ۷۰ درجه سانتی گراد قرار داده شدند. آزمایش‌ها در آزمایشگاه و گلخانه علوم و فنون هسته‌ای، سازمان انرژی اتمی انجام گرفت.

رابطه (۱):
$$VI = \frac{\%GR \times SL}{100}$$

(VI: شاخص بنیه گیاهچه، GR: درصد جوانه‌زنی، SL: طول گیاهچه)

ارزیابی عملکرد دانه در کشت گلخانه‌ای: خاک گلدان به نسبت ۱:۱:۱ پرلیت، خاک، پیت مخلوط و دو بار به فاصله زمانی ۲۴ ساعت آلودگی‌زدایی گردید (در دمای ۱۲۱ درجه سلسیوس به مدت ۲۰ دقیقه در اتوکلاو). کشت در گلدان‌هایی با حجم دو کیلوگرم, سه عدد بذر تیمار شده در عمق ۳ سانتی‌متری انجام شد. گلدان‌ها تا وقتی‌که مرحله تولید غلاف در مای ۲۵ درجه سانتی گراد و هشت ساعت روشنایی نگهداری و هر سه روز یک‌بار آبیاری شدند. پس از رسیدگی غلاف بوته، دانه‌ها خشک شدند تا عملکرد وزن خشک دانه گرفته شود. اندازه‌گیری اوزان با ترازوی دیجیتال با دقت ۰/۰۰۱ و اندازه‌گیری طول با خط کش فلزی با دقت میلی‌متر در دمای اتاق انجام گرفت.

کلیه آزمایش‌ها در قالب طرح کامل تصادفی با سه تکرار انجام و داده‌های به‌دست‌آمده از آزمایش‌ها با استفاده از نرم‌افزار SPSS تجزیه شدند. مقایسه میانگین‌ها با آزمون چند دامنه‌ای دانکن با سطح احتمال ۱ و ۵ درصد انجام شد. همچنین ترسیم نمودارها با نرم‌افزار Excel صورت گرفت.

نتایج و بحث:

تأثیر بیوپرایمینگ بر درصد جوانه‌زنی و صفات رویشی

تجزیه‌وتحلیل واریانس داده‌های به‌دست‌آمده مشخص کرد که درصد جوانه‌زنی، وزن تر گیاهچه، وزن خشک ساقه و گیاهچه در سطح احتمال ۱ درصد معنی‌دار بود. طول ساقه و طول گیاهچه در سطح احتمال ۵ درصد معنی‌دار بودند و سایر صفات (طول ریشه، وزن تر ساقه، وزن تر و خشک ریشه و شاخص ویگور) اختلاف معنی‌داری نداشتند (جدول ۱).

www.jpb.klau.ac.ir

جدول ۱- تجزیه واریانس اثر تیمارها بر قابلیت جوانه‌زنی و ویژگی‌های مرتبط با بنیه گیاهچه

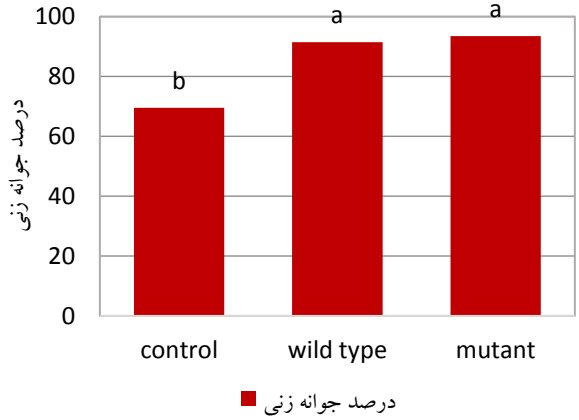
Table 1. Analysis of variance (mean squares) for the effect of biopriming on morphological traits

منابع تغییرات S.O.V	درجه آزادی Df	در صد جوانه‌زنی Germination percentage	طول ساقه plumule length	طول ریشه radicle length	طول گیاهچه seedling length	وزن تر ساقه plumule fresh weight	وزن تر ریشه radicle fresh weight	وزن تر گیاهچه seedling fresh weight	وزن خشک ساقه plumule dry weight	وزن خشک ریشه radicle dry weight	وزن خشک گیاهچه seedling dry weight	شاخص ویگور vigor index
تیمار treatment	2	۷۰۹,32**	6.61*	13.32ns	38.09*	195.70ns	2.22ns	185.06**	56.92**	0.83ns	66.53**	54672.ns
خطا error	9	69.44	1.28	5.67	11.39	55.31	14.45	120.67	1.89	1.72	1.94	106619.29
درصد ضریب تغییرات C.V.(%)		9.46	26.12	36.55	32.57	20.74	16.54	25.54	10.62	2.37	9.18	38.05

**، * و ns به ترتیب نشان‌دهنده معنی‌داری در سطح ۱ درصد و ۵ درصد و عدم اختلاف معنی‌داری می‌باشد.

ns: non-significant, * and **: significant at 5% and 1% levels of probability respectively

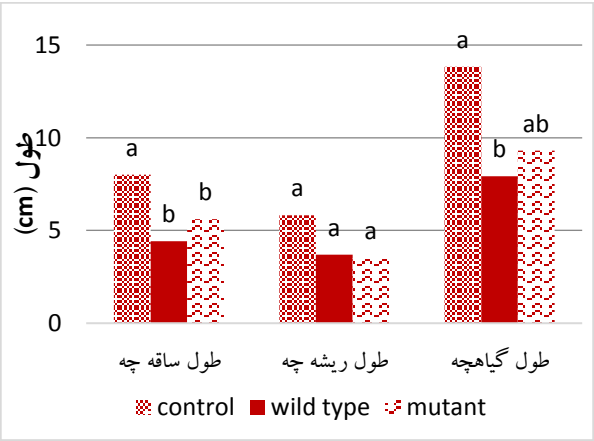
بر اساس مقایسه درصد جوانه‌زنی بین تیمارها (شکل ۱)، بیوپرایم بذر لوبیا با تریکودرما به‌طور معنی‌داری باعث افزایش درصد جوانه‌زنی می‌شود. مقایسه میانگین گروه‌بندی صفات نشان داد که بیشترین درصد جوانه‌زنی معادل ۹۳/۵ درصد با تیمار تریکودرما موتانت حاصل شده است و پس از آن تیمار تریکودرما پرتوندیده (۹۱/۳٪) و در آخر شاهد (۶۹/۵٪) کمترین جوانه‌زنی را داشت (شکل ۱). غیاثی و همکاران (۱۳۹۱) نشان دادند بیوپرایمینگ بذر سبب افزایش جوانه‌زنی بذر گندم و شاخص‌های رشدی گیاهچه می‌شود. ترشحات این قارچ‌ها حاوی عامل تنظیم‌کننده رشد می‌باشد که موجب افزایش جوانه‌زنی بذرها و رشد گیاه و همچنین جذب بیشتر مواد غذایی می‌شود (Windham *et al.*, 2005).



شکل ۱- مقایسه درصد جوانه‌زنی بین تیمارها

Figure 1. comparison of germination percentage between treatments

طول ساقه و ریشه و کل گیاهچه در گیاهچه های حاصل از بذور پرایم شده بسیار کمتر از شاهد بود (شکل ۲). به نظر می‌رسد رقم تلاش لوبیا در واکنش به همزیستی با تریکودرما، به شکل معنی‌داری در مدت زمان لازم برای بلوغ و تولید بذر از رشد طولی می‌کاهد. به‌عبارت‌دیگر با توجه به وجود اینوکولوم تریکودرما با غلظت حدود 10^8 اسپور در هر میلی‌متر مکعب خاک (اندازه‌گیری شده در پایان فصل کشت) و نقش ریسه‌های تریکودرما در تأمین منابع تغذیه‌ای مانند ریزمغذی‌ها و اسیدهای آمینه حاصل از فعالیت آنزیمی تریکودرما در خاک، گیاه نیازی به افزایش طول ریشه نداشته است. درعین‌حال بیوپرایم با تریکودرما باعث افزایش تعداد ریشه‌های جانبی باعث بالا رفتن وزن ریشه شده است (شکل ۳). مشاهدات نشان دادند که تعداد ریشه‌های جانبی در ریشه‌ی گیاهچه های تحت تیمار قارچ (والد یا موتانت) بسیار بیشتر از شاهد بود. پژوهش‌های چانگ و همکاران نیز بیانگر افزایش حجم ریشه گیاه فلفل با حضور قارچ تریکودرما در خاک بوده است (Chang *et al.*, 2007).

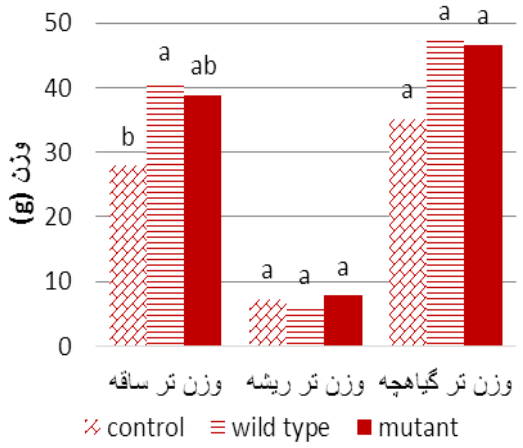


شکل ۲- مقایسه طول ریشه‌چه، ساقه‌چه و گیاهچه

Figure 2. lenght comparison of radicle, plumule and seedling

www.jab.kiau.ac.ir

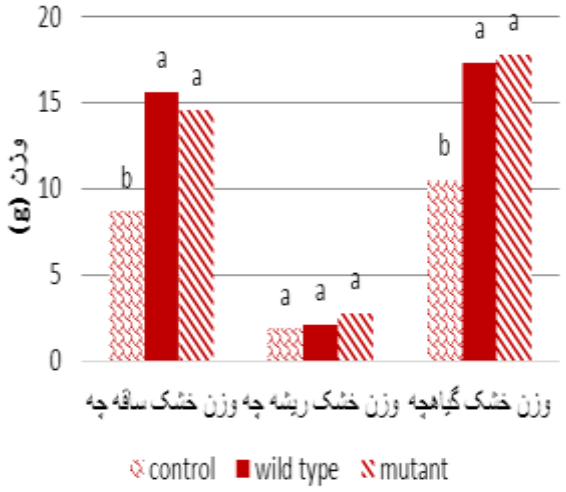
از سوی دیگر با وجود کاهش طول ریشه و ساقه گیاه حاصل از بیوپرایم بذور، تیمار با تریکودرما باعث بالا رفتن وزن تر و خشک بوته لوبیا شد (شکل ۳). اگرچه وزن تر ساقه و ریشه‌ی گیاهچه در تیمارهای بیولوژیک با هم اختلاف معنی‌داری نداشتند ولی در سطح احتمال ۵ درصد دارای افزایش نسبت به شاهد بودند. میانگین وزن تر در تیمار با تریکودرمای پرتو ندیده معادل ۴۷/۲۶ گرم و در تیمار تریکودرمای موتانت ۴۶/۵۸ گرم بود. سلیمی و همکاران (۱۳۹۳) نیز گزارش کردند بیوپرایمینگ بذر ماش سبز با تریکودرما سبب افزایش وزن تر و خشک می شود. پژوهش‌های (Chacon *et al.*, 2007) نشان داد که تیمار گیاه توتون با قارچ تریکودرما سبب افزایش وزن تر ۱۴۰٪ ، سطح برگ (۳۰۰٪)، تعداد ریشه‌های جانبی (۳۰۰٪) و برگ (۱۴۰٪) شد. گونه‌هایی از تریکودرما تحت مکانیسم‌های خاصی سبب افزایش رشد گیاه می‌شوند (Brunner *et al.*, 2005; Singh *et al.*, 2007).



شکل ۳- مقایسه وزن تر ریشه‌چه، ساقه چه و گیاهچه

Figure 3. fresh weight, comparison of radicle, plumule and seedling

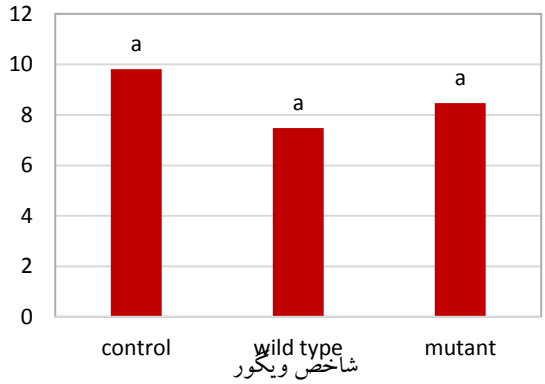
وزن خشک ساقه و گیاهچه‌های بذور بیوپرایم شده نیز در سطح احتمال ۵ درصد دارای برتری نسبت به شاهد بودند تا جایی که مقایسه میانگین وزن خشک ساقه بین تیمارهای قارچی و شاهد، اختلاف دو برابری را نشان داد. میانگین وزن خشک ساقه در تیمار بذر با تریکودرمای والد ۵۶/۱۵ گرم، در تیمار بذر با تریکودرمای موتانت ۱۴/۵۴ گرم و در شاهد ۸/۶۳ گرم بود. بر اساس این نتایج، پرایم بذر با قارچ تریکودرما ی والد و موتانت نسبت به تیمار شاهد معنی‌دار نبود. افزایش وزن خشک کل نیز در بیوپرایمینگ قارچ تریکودرما نسبت به شاهد ۶۰ درصد بود (شکل ۴). در همین زمینه بررسی دوبی و همکاران (Dubey *et al.*, 2006) نشان دادند که پرایمینگ بذر با *Tricoderma viride* افزایش رشد ریشه و اندام هوایی نخود را به دنبال داشت. گراول و همکاران در بررسی پاسخ صفات رشد ساقه و ریشه گوجه‌فرنگی به قارچ تریکودرما نشان دادند، رشد ریشه و ساقه بوته‌های گوجه‌فرنگی به‌واسطه تولید هورمون‌های رشد مانند ایندول استیک اسید افزایش می‌یابد (Gravel *et al.*, 2007). در پژوهش‌های مشابهی، اندوفیت‌های ریشه مانند *P.indica* با افزایش میزان رشد از طریق مسیرهای بیوشیمایی درگیر در تولید هورمون‌های رشد و یا تشدید جذب عناصر غذایی، توانستند سبب افزایش توان سازگاری و رقابت بالای گیاه میزبان شدند (Zhang *et al.*, 2006).



شکل ۴- مقایسه وزن خشک ریشه‌چه، ساقه چه و گیاهچه

Figure 4. dry weight comparison of radicle, plumule and seedling

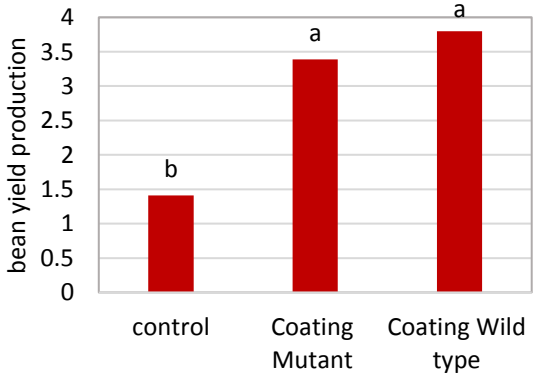
در شاخص ویگور که شاخص بنیه طولی می‌باشد تفاوت معنی‌داری در اثر بیوپرایمینگ مشاهده نشد (شکل ۵). با توجه به جزئیات مشاهدات این پژوهش، می‌توان اظهار نمود که بیشتر بودن طول ریشه، ساقه و گیاهچه در شاهد و برتری وزن تر و خشک ساقه و ریشه و گیاهچه در تیمارهای قارچی به علت حضور قارچ تریکودرما است. با وجود کاهش طول ریشه و اندام هوایی در گیاهان تحت تیمار، عملکرد بوته در آن‌ها به‌طور معنی‌داری بالا رفته است (شکل ۶) که مجموع این داده‌ها اثر مطلوب بیوپرایمینگ با تریکودرما در تولید لوبیا محسوب می‌شود.



شکل ۵- شاخص ویگور

Figure 5. vigor index

عملکرد بوته در گیاهان حاصل از بذور تیمار شده با تریکودرما (والد و موتانت) در مقایسه با شاهد بهبود قابل توجهی داشته و اختلاف معنی‌داری با شاهد نشان دادند. به‌طوری‌که افزایش عملکرد دانه نسبت به شاهد، در تیمار بذر با تریکودرمای والد ۶۲/۹ درصد و در تیمار با تریکودرمای موتانت ۵۸/۲ درصد بود (شکل ۶). انیس و همکاران (Anith *et al.*, 2011) نیز در بررسی اثر توأم قارچ‌های تریکودرما و *P. indica* روی گیاه فلفل سیاه افزایش عملکرد بوته را گزارش دادند. همچنین بهبود فعالیت ریز جانداران خاک و خصوصیات رشدی گیاهانی مانند زیره (Haggag and Abo-sedra,2005)، خیار (Yedida *et al.*,2001)، اسفناج (Mottaghian *et al.*, 2009)، نخودفرنگی (Kukuk *et al.*, 2007)، سویا (Yazdani *et al.*, 2008) و گندم (Shahsavari *et al.*, 2010) در تیمار با گونه‌های مختلف قارچ تریکودرما نیز گزارش شده است. برقراری ارتباط همزیستی میکوریزایی از طریق بهبود گسترش هیف‌های قارچ در منافذ خاک، سبب افزایش وزن خشک گیاه در گیاه رازیانه گزارش گردید (Kapoor *et al.*, 2004).



شکل ۶- عملکرد لوبیا (وزن خشک دانه)

Figure 6. bean yield production (dry weigth)

نتیجه‌گیری کلی

نتایج این بررسی نشان داد که استفاده از روش پوشش دهی بذور با قارچ تریکودرما، برای بهبود عملکرد و برخی مؤلفه‌های رشدی و جوانه‌زنی در گیاه لوبیا تأثیر مطلوب به دنبال دارد. هرچند به‌طورکلی از رشد طولی (گیاهچه، ساقه‌چه و ریشه‌چه) کاسته شده است اما این کاستن از رشد طولی با افت معنی‌داری در تولید بیوماس همراه نمی‌باشد و تریکودرما با افزایش ریشه‌های جانبی، وزن خشک بوته را بالاتر می‌برد. همچنین کلیه آنالیزها نشان داد که استفاده از موتانت‌های تریکودرما نه تنها تأثیر نامطلوبی بر گیاه ندارد بلکه تعامل فیزیولوژیکی تیریکودرما را با گیاه بهبود می‌بخشد. با توجه به افزایش فعالیت انواع آنزیم‌ها (سلولیتیک و پروتئولیتیک) در موتانت های مورد استفاده در این مطالعه (شهبازی و همکاران ۱۳۹۴) این بهبود فعالیت شبه اکتومایکوریزی در موتانت های تریکودرما می‌تواند به دلیل بهبود پروفایل آنزیمی در این موتانت‌ها در اثر القای جهش در ژنوم آن‌ها باشد. علاوه بر این نباید از نظر دور داشت که پوشش بذور گیاهی با عوامل بیولوژیکی مانند تریکودرما که دامنه وسیعی از عوامل خاکزاد (قارچی و باکتریایی) را کنترل می‌کند و بر اساس مطالعات مختلف در افزایش مقاومت گیاه بر تنش‌های بیولوژیک و محیطی نقش چشم‌گیری دارد، روش مناسبی است و نتایج این مطالعه حاکی از آن است که القای جهش با پرتو گاما و انتخاب موتانت های مناسب، می‌تواند در کاستن از عکس‌العمل‌های اولیه برخی گیاهان به حضور تریکودرما در نیچ اکولوژیک ریشه‌چه و افزایش کارایی‌های مثبت این قارچ مؤثر بوده و به‌عنوان تکنیکی راه گشا قابل توصیه باشد. به‌هرحال تفاوت گیاهان در عکس‌العمل به وجود تریکودرما، نشان می‌دهد باید کنش‌های متقابل گونه‌های مختلف این قارچ را هر گیاه (و حتی هر واریته و رقم) به‌طور مستقل بررسی نمود.

سپاس‌گزاری

بدین‌وسیله از همکاری خانم دکتر لیلا مسلم خانی- موسسه ثبت و گواهی بذر کشور در تأمین بذر مورد نیاز برای آزمایش سپاسگزاری می‌گردد.

www.rapd.kiau.ac.ir

فهرست منابع

References

سلیمی، ن.، ف. سراج، ه. پیردشتی و ی. یعقوبیان. **۱۳۹۳**. تأثیر بیوپرایمینگ با قارچ‌های *T. viride* و *P. indica* بر مؤلفه‌های رویشی، مورفولوژیکی و فیزیولوژیکی گیاهچه ماش سبز. علوم و تحقیقات بذر ایران. ۱(۲): ۶۷-۷۸.

شهبازی، س.، ح. اهری مصطفوی، ه. فتح‌اللهی، ع. اسکندری، ن. پیرولی بیرانوند و ح. عسکری. ۱۳۹٤. تولید مواد بیولوژیک به‌منظور کنترل بیماری‌های خاکزاد گیاهی با استفاده از فناوری‌های هسته‌ای و مولکولی – فاز یک: ایجاد جدایه های موتانت قارچ تریکودرما با قدرت تولید آنزیم‌های تجزیه‌کننده دیواره سلولی بالاتر با استفاده از پرتوتابی با اشعه گاما. گزارش اختتام پروژه با کدA88A099 . پژوهشگاه علوم و فنون هسته‌ای، ۳۲۴ صفحه.

غیاثی، آ. س، پارسا. آ، حمیدی و ک، خاوازی. ۱۳۹۱. اثر روش‌های پرایمینگ بر جوانه‌زنی و بنیه گیاهچه گندم و جمعیت باکتری بر بذر. مجله علوم و تکنولوژی بذر، ۲(۱).

Anith, K. N., K. M. Faseela, P. A. Archana and K. D. Prathan. 2011. Compatibility of *Piriformospora indica* and *Tricoderma harzianum* as dual inoculants in black papper (*Piper nigrum* L.). Symbiosis, 55:11-17.

Barsa, S. M. A., M. Farooq, R. tabassum and N. Ahmad. 2005. Physiological and Biologycal aspects of seed vigor enhancements in fine rice (*Oryza sativa* L.). Seed Sci. and technol., 33:623-628.

Chacon, M. R., O. Rodriguz-Galan, T. Benitez, S. Sousa, M. Rey, A. Llobell, and J. Delgado-Jarana. 2007. Microscopic and transcriptome analyses of eraly colonization of tomato roots by *T. harzianum*. International microbiology, 10: 19-27.

Chang, Y. C., R. Baker, O. Kleifeld and I. Chet. 2007. Increased growth of plants in the presence of the biological control agant *Tricoderma harzianum*. Plant Diesease, 70: 145-148.

Dubey, S. C., M. Suresh and B. Singh 2006. Evaluation of Trichoderma sp. Against fusaruim oxysporum sp. Ciceris, for integrated management of chick pea wilt. Biological control, 40: 118-127.

Duman, I. 2006. Effects of seed priming whit PEG and K_3Po_4 ongermination and seedling growth in Lettuce. Pak. J. Biol. Sci., 9(5); 923-928.

Gravel, V., H. Antoun and R. J. Tweddel. 2007. Growth stimulation and fruit yield improvement of greenhouse tomato palnts by inoculation with *P. putida* or *Trichoderma atroviride*: possible role of indole acetic acid (IAA). Soil biology and biochemistry. 39: 1968-1977.

Haggag, W. M. and S. A. Abo-sedera. 2005. Characteristics of three Trichoderma species in peanut haulms compost involved in biocontrol of cumin wilt disease. International Journal Agriculture Biology, 7(2): 222-229.

ISTA. 2010. International rules for seed testing. The International seed testing Association (ISTA).

Kapoor, R., B. Giri and K. G. Mukerji. 2004. Improvement growth and essential oil yield and quality in *foeniculum vulgar* mill on mycorrizal inoculation supplemented with P-fertilizer. Bioresourse technology, 93: 703- 311.

Khalili, E., M. A. Javed, F. Huyop. S. Rayatpanah, S. Jamshidi and R. A. Wahab. 2016. Evaluation of Trichoderma isolates as potential biological control agent against soybean charcoal rot disease caused by Macrophomina phaseolina. Biotechnology & Biotechnological Equipment, 30(3), 479-488.

Khan, A. A. 1993. Preplant physiological seed conditioning, Hort. Rev., 13:131-181.

Kukuk, C., M. Kivanc, E. kinaki and G. Kinaci. 2007. Efficacy of *Trichoderma harzianum* (*Riffaii*) on inhabitation of ascochyta blight disease of chickpea. Annals of Microbiology, 57:665-668.

Kumar, M., V. Yadav, N. Tuteja and A. K. Johri. 2009. Antioxidant enzyme activities in maize plants colonized with *Piriformospora indica*. Microbiology, 155: 780-790.

Majoun Hoseini, N. 2008. Pulses Agronomy and production. Tehran Jihad-e-daneshgahi. Press. 238 page. (book)

www.japb.kau.ac.ir

Mottaghian, A., H. Pirdashti, M. A. Bahmanyar, A. Shahsavari and R. Hasanpour. 2009. Effect of three *Trichoderma* species and different amounts of enriched municipal waste compost on growth parametrs in spinach (*spinacia oleracea*). In: Proceeding of 5th International Scientific Conference of Iran and Russia on Agricultural Development Problems. Saint Petersburg, Russia, 8-9 October: 267-270.

Mucciarelli, M., S. Scannerini, C. Berrtae and M. Maffei. 2003. *In vitro* and *in vivo* peppermint (*Mentha piperita*) growth promotion by nonmycorrhizal fungal colonization. New Phytologist, 158:579-91.

Pill. W. G. and W. E. Finch-savage. 2001. Effect of *Azospirillium brasilense* inoculation on grwth dynamics and hydraulics conductivity of sorghum bicolor roots. J. Plant Nut. 15:805-819.

Shahsavari, A., H. Pirdashti, A. Motaghian and Tajik M. A. Ghanbari. 2010. Response of wheat (*Triticum aestivum* L.) growth parametrs and yield to co-inoculation of farmyard manure, *Tricoderma* spp. And *psudomunas* app. Journal of agroecology, 2 (3): 448-458.

Singh, A., S. Srivastava and H. B. Singh. 2007. Effect of substrates on growth and shelflife of *Tricoderma harzianum* and its use in biocontrol of diseases. Bioresource Technology, 98: 470-473.

Taylor, A. G., P. S. Allen, M. A. Bennet, K. J. Bradford. 1998. Seed enhancements. Seed Science Research, 8:245-256.

Waller, F., B. Achantz, H. Baltruschat, J. Foder, K. Becher, M. Fischer, T. Heier, R. Huckelhoven, C. Neumann, D. Wettstien, P. Franken and K.H. Kogel. 2005. The endophytic fungus Piriformospora indica reprograms barly to salt stress tolerance, disease resistance and higher yield. Proceeding of the national academy of sciences of the united states of America. 102: 13396-13391.

Windham, Y. Elad and K. Baker. 2005. A mechanism for increased plant growth inoculated by *Tricoderma* spp. Phytopathology, 6:518-521.

Yazdani, M., H. Pirdashti and Tajik M. A. GHanbari. 2008. Effect of *Tricoderma ssp*. And different organic manures on growth and development in soybean [*Glysine max (L.)* Merril.]. Electron journal of Crop production, 1(3): 65-82.

Yedidia, I., A. K. Srivastava, Y. Kapulnik and I. Chet. 2001. Effect of *Trichoderma harzianum* on microelement concentrations and increased growth of cucumber plants. Plant and soil, 235(2): 235-242.

Zhang, H. W., Y. C. Song and R. X. Tan. 2006. Biology and chemistry of endophytes. Natural Product Report, 23: 753-771.

www.iapb.kpu.ac.ir

ISSN NO: 2008-8485

Iranian Journal of Agronomy and Plant Breeding
Vol 14. No. 2, 2018

Study of yield, vegetative traits and seed germination of pinto bean produced from biopriming with Trichoderma

Z. Rezaloo[1], S. Shahbazi[*2], Q. Tohidlou[3]

Received date: 06 October 2017 Accepted date: 31 December 2017

Abstract

Increasing germination percentage and growth indices is important by using methods such as biopriming. The present study aims to investigate effect of biopriming with a number of selected species of native *Trichoderma* fungi of Iran on the yield, germination, vegetative and morphological components of Talash vriety bean seedlings. Also, the effect of induced-mutation by gamma irradiation on the *Trichoderma* genome and probebly increase in the efficiency of biopriming via using mutated Trichoderma isolates was studied. Experiments with three treatments: control (non-inoculation), Inoculated with wild type *Trichoderma* based bio-formulation and inoculation with mutants *Trichoderma*, at the Nuclear Agriculture Research Institute in the form of a completely randomized design with four replications were done. Evaluation of indices (Germination percentage; seedlings, stems and roots length; their fresh and dry weight and vigor index) based on the ISTA standard method and yield in greenhouse was implemented. Results showed, bean seeds biopriming method with bio-formulations of *Trichoderma* species (wild type and mutant), plant's yield increased significantly compared to control. Germination percentage of seeds was significantly higher than control in fungal treatments. The important trait of dry weight has also increased compared to control and also had significant difference with control. The length of seedlings of bioprimed with *Trichoderma* was shorter than the control. Most of the indicators were significantly higher in the one percent level than control. Overally, the results of this study shows, in bean plants, the use of bio-priming seeds with *Trichoderma*, improves plant growth parameters especially in establishment and its early growth.

Keywords: Bioppriming,Pinto Bean, Germination, *Trichoderma* spp., Yield.

www.iapb.kiau.ac.ir

1- Master of Science in Seed Science and Technology. Islamic Azad University. Karaj Branch, Faculty of Agriculture
2- Nuclear Agricultural Research Center, Nuclear Science and Technology Research Institute, Iran Atomic Energy Organization, Karaj
3- Faculty Member of Islamic Azad University, Karaj Branch
* Corresponding author: sshahbazi@nrcam.org

Iranian Journal of Agronomy & Plant Breeding Islamic Azad University, Karaj Branch