مجله علمی-پژوهشی زراعت و اصلاح نباتات
جلد ١٤، شماره ١، بهار ١٣٩٧، صفحات ٤٨-٣٩

ISSN NO: 2008-8485

تأثیر بایوپرایمینگ با قارچ تریکودرما بر جوانه‌زنی و برخی از صفات رویشی سویا و کلزا

Effects of biopriming with *trichoderma* fungi on germination and some vegetative characteristics of soybean and canola

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

تاریخ دریافت: ١٣٩٦/٠٧/١٤ تاریخ پذیرش: ١٣٩٦/٠٩/١٠

چکیده

به‌منظور بررسی اثر بایوپرایمینگ با گونه‌هایی منتخب از تریکودرما بر ویژگی‌های مورفولوژیکی و جوانه‌زنی بذور کلزا (*Brassica napus*) رقم پاکوتاه اوکاپی و سویا (*Glycine max*) رقم ویلیامز، آزمایشی در قالب طرح پایه کاملاً تصادفی در سه تکرار اجرا شد. تأثیر جهش با پرتوی گاما بر ژنوم تریکودرما و افزایش کارایی آن بررسی شد. آزمایش با سه سطح تلقیح: شاهد (عدم تلقیح با قارچ)، تلقیح با اسپور گونه‌های پرتوندیده و تلقیح با جدایه‌های موتانت منتخب همان گونه‌ها، در پژوهشکده کشاورزی هسته‌ای انجام شد. ارزیابی کلیه شاخص‌های جوانه‌زنی (درصد جوانه‌زنی، طول ساقه‌چه و ریشه‌چه و گیاهچه و وزن تر و خشک آن‌ها و شاخص ویگور) بر اساس روش ISTA بررسی شد. بذر سویای پرایم شده با تریکودرما (پرتو ندیده و موتانت)، در اکثر شاخص‌ها دارای تفاوت معنی‌دار با سایر تیمارها بود و مؤلفه‌های رشدی به‌ویژه در مراحل استقرار و رشد اولیه بهبود یافت. در بذور کلزا، کلیه شاخص‌های جوانه‌زنی در اثر بیوپرایم شدن با تریکودرما کاهش یافت و در بیشتر شاخص‌ها اختلاف معنی‌داری بین تیمارهای تریکودرمای موتانت و والد وجود نداشت. به‌طورکلی، نتایج این تحقیق نشان داد که استفاده از بیوپرایمینگ بذر با قارچ تریکودرما تأثیرات متفاوتی بر پارامترهای رشدی گیاهان مورد بررسی دارد و برای کاربرد این تکنیک باید مطالعات موردی برای هر ژنوتیپ گیاهی انجام شود.

کلمات کلیدی: بیوپرایمینگ، سویا، کلزا، جوانه‌زنی، تریکودرما.

www.iapb.kiau.ac.ir

١- گروه علوم و تکنولوژی بذر، دانشکده کشاورزی، دانشگاه آزاد اسلامی، واحد کرج
٢- هیئت علمی دانشگاه آزاد واحد کرج/ دانشکده کشاورزی و منابع طبیعی
٣- پژوهشکده کشاورزی هسته ای، پژوهشگاه علوم و فنون هسته ای، سازمان انرژی اتمی ایران، کرج
*- مکاتبه کننده E-mail: ghtohid@gmail.com

مقدمه

طبق آخرین آمار منتشر شده در آمارنامه وزارت کشاورزی (وزارت جهاد و کشاورزی) میزان واردات روغن خام و روغن و دانه و کنجاله سویا در سال ۹۳۳۰۳۰۷۹۳ تن معادل ۱۹۲۲۲۲۲۱۸۱ دلار و در سال ۹۴۳۵۶۷۶۳۹ تن معادل ۱۷۳۹۱۰۶۵۳۸ دلار و روغن خام و روغن و دانه و کنجاله کلزا در سال ۹۳۲۰۷۲۲۵ تن معادل ۸۲۶۱۹۲۶۸ دلار و در سال ۹۴۴۴۵۰۰ تن معادل ۱۶۶۷۶۴۵۸ دلار بوده است، که مجموعاً ۳۷۶۰۶۲۴۴۴۵ دلار بوده است. این در حالی است که آمار تولید داخلی سویا ۱۲۰۰۰۰ تن و تولید کلزا ۱۰۷۰۰۰ تن بود. به همین دلیل سیاست‌های عمده‌ای در بخش کشاورزی به استقلال در تولید بذر کلزا در سال ۱۳۹۶ و ۱۳۹۷ تعیین شده است. یکی از راهکارها در مزارع تولیدی روش بیوپرایمینگ است. 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). تا کنون کوشش‌های فراوانی در جهت کمک به ارتقای جوانه‌زنی بذور در شرایط مزرعه‌ای انجام شده که ماحصل آن در قالب معرفی ارقام جدید، گیاهان تراریخته و مدیریت‌های زراعی خاص و ... بوده است (Barsa *et al.*, 2005). پرایمینگ بذر تکنیکی است که به‌واسطه آن بذرها به دلیل آغشته شدن به موادی خاص، 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). غیاثی و همکاران (۱۳۹۱) نشان دادند بیوپرایمینگ بذر سبب افزایش جوانه‌زنی بذر گندم و شاخص‌های رشدی گیاه‌چه می‌شود. اثر مفید پرایمینگ بذر با قارچ *P. indica* بر رشد گیاهان ذرت (Kumar *et al.*, 2009) و جو (Waller *et al.*, 2005) نیز گزارش شده است. موشیارلی و همکاران تأثیر قارچ اندوفیت را روی نعناع در شرایط *in vitro* ارزیابی کردند و اعلام نمودند نعناع همزیست با قارچ از لحاظ اندازه و مقدار اسانس نسبت به گیاهان شاهد برتری داشتند (Mucciarelli *et al.*, 2003). سلیمی و همکاران (۱۳۹۳) نیز گزارش کردند بیوپرایمینگ بذر ماش سبز با تریکودرما سبب افزایش ارتفاع بوته و طول ریشه می‌شود. 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. همچنین پژوهش‌های چاکان و همکاران 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 (Chacon *et al.*, 2007). قارچ تریکودرما در بسیاری از خاک‌هایی که گیاه در آن کشت می‌شود وجود دارد و به‌عنوان افزاینده رشد در دامنه وسیعی از گیاهان زراعی و زینتی مؤثر هستند. 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). در مطالعه دیگری در کلزا مشخص شد که تیمارهای باکتریایی سودوموناس پوتیدا و سودوموناس فلورسنس منجر به افزایش طول ریشه‌چه و ساقه چه می‌شوند (Glick, 1998). این قارچ‌ها از گونه‌های فعال موجود در ریزوسفر گیاهان هستند که قادرند با توسعه ریشه روی آن رشد نموده (Chang *et al.*, 1986) و با کنترل فلور میکروبی خاک در ناحیه ریزوسفر گیاهان به افزایش رشد آن‌ها کمک کنند (Baker, 1998).

با توجه به اهمیت روزافزون استفاده از کودهای بیولوژیک در راستای رسیدن به کشاورزی پایدار، هدف از مطالعه‌ی حاضر تأثیر بایوپرایمینگ با قارچ تریکودرمای بومی ایران بر مؤلفه‌های رویشی و مورفولوژیکی گیاهچه های حاصل از دانه‌های روغنی استراتژیک ایران (کلزا و سویا) بود، افزایش کارایی این میکروارگانیسم قارچی با استفاده از القای جهش با پرتوی گاما هدف ثانویه این مطالعه بود.

www.japb.kiau.ac.ir

مواد و روش‌ها

این تحقیق در سال ۱۳۹۶ در قالب دو آزمایش مستقل روی بذور سویا و کلزا به‌صورت فاکتوریل در قالب طرح کاملاً تصادفی با سه تکرار در پژوهشکده‌ی علوم و فنون هسته‌ای البرز به شرح زیر انجام گرفت. تأثیر استفاده از قارچ تریکودرمای پرتوندیده و پرتودیده‌ی همان‌گونه، با استفاده از روش تلقیح، بر شاخص‌های رشدی بذر سویا رقم ویلیامز و بذر کلزا رقم اوکاپی مورد بررسی قرار گرفت. تمامی قارچ‌ها و بیوفرمولاسیون‌ها از کلکسیون کشاورزی هسته‌ای تهیه شدند. قارچ‌های استفاده شده در فرمولاسیون پوشش دهی *T. harzianum, T. viride, T. atroviride, T. virence* و *T. komogii* بودند.

روش تیمار بایوپرایمینگ

۱. شاهد (control): بذور بدون پوشش با قارچ تریکودرما.

۲. بذور پوشش داده شده با فرمولاسیون تهیه شده از گونه‌های قارچ تریکودرمای منتخب پروتو ندیده (wild type).

۳. بذور پوشش داده شده با فرمولاسیون تهیه شده از همان گونه‌های قارچ تریکودرما، جهش داده شده با اشعه گاما (دز ۲۵۰ گری) (mutant) .

بذور در اتانول ۷۰ درصد به مدت پنج دقیقه ضدعفونی سطحی و بعد با آب مقطر دوبار شستشو داده شدند. سپس روی ماسه کشت شدند و پس از ۸ روز داده برداری شدند (ISTA, 2010). ماسه نیز شسته شد 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 گیاه چه اندازه‌گیری شد. قابل ذکر است که در هنگام شمارش، بذرهایی جوانه‌زده تلقی شدند که طول ریشه‌چه آن‌ها حداقل دو میلی‌متر بود. شاخص‌های مورد ارزیابی: درصد جوانه‌زنی، طول ریشه‌چه و طول ساقه چه و طول گیاه چه، وزن تر ریشه‌چه و ساقه‌چه و گیاه‌چه، وزن خشک ریشه‌چه و ساقه‌چه و گیاهچه، شاخص‌های بنیه گیاهچه (شاخص ویگور VI: شاخص طولی بنیه گیاهچه)

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

VI: شاخص بنیه گیاهچه، GR: درصد جوانه‌زنی، SL: طول گیاهچه.

جهت اندازه‌گیری وزن خشک نیز نمونه‌های گیاهی به مدت ۴۸ ساعت در آون با دمای ۷۰ درجه سانتی‌گراد قرار داده شدند. در نهایت داده‌های به دست آمده از آزمایش با استفاده از نرم‌افزار SPSS تجزیه شدند. مقایسه میانگین‌ها با آزمون چند دامنه‌ای دانکن با سطح احتمال ۵ درصد انجام شد. همچنین ترسیم نمودارها با نرم‌افزار Excel صورت گرفت.

نتایج و بحث

نتایج آزمایش سویا

تجزیه و تحلیل واریانس داده‌های به‌دست‌آمده مشخص کرد که درصد جوانه‌زنی، طول ریشه، وزن تر ساقه، وزن تر گیاه چه، وزن خشک گیاه چه، وزن خشک ساقه در سطح احتمال ۱ درصد معنی‌دار بودند و طول ساقه، طول گیاهچه، وزن تر گیاهچه، شاخص ویگور و وزن خشک ریشه در سطح احتمال ۵ درصد معنی‌دار بودند (جدول ۱).

جدول ۱- تجزیه واریانس قابلیت جوانه‌زنی و ویژگی‌های مرتبط با بنیه گیاهچه سویا

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

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	793**	10.87*	4.15**	16.3*	147.43**	4.92*	198.97**	2.14**	0.75*	5.15**	413353.58*
خطا error	9	51	1.2	0.81	2.08	1.88	0.67	4.58	0.13	0.09	0.29	43457.06
درصد ضریب تغییرات C.v %		10	6.52	6.61	6.21	5.02	19.58	6.92	10.86	25.42	1.19	13.3

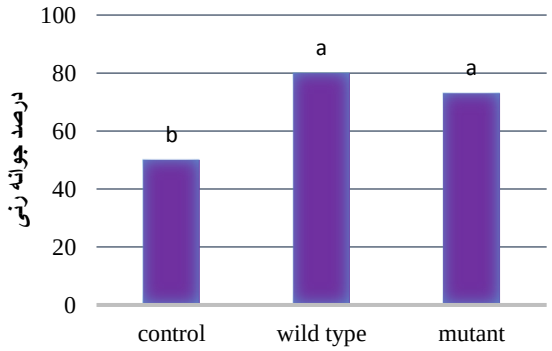
** ، * و ns به ترتیب نشان‌دهنده معنی‌داری در سطح احتمال ۱ و ۵ درصد و عدم اختلاف معنی‌داری می‌باشد.

ns: not-significant, * and **: significant at 5% and 1% probability level respectively.

مقایسه درصد جوانه‌زنی نشان داد، بین تیمارهای تریکودرما (والد٪۸۰ و موتانت ٪۷۳) اختلاف معنی‌داری وجود نداشت اما نسبت به شاهد (٪۵۰) دارای اختلاف معنی‌دار در سطح احتمال ۵ درصد بودند و نشان می‌دهد تیمار با تریکودرما در بهبود

www.iapb.kiau.ac.ir

جوانه‌زنی بذور سویا تأثیر مثبت دارد (شکل ۱). البته این آزمایش‌ها بدون حضور عوامل بیماریزا انجام شده است و با توجه به توانایی آنتاگونیستی تریکودرما، در صورت وجود این عوامل در زمان جوانه‌زنی در خاک، پوشش بذور سویا با تریکودرما، راهکاری بسیار کارآمد در کاهش افت جوانه‌زنی خواهد بود، چراکه نتایج این آزمایش نشان می‌دهد، علاوه بر فعالیت آنتاگونیستی، تریکودرما در القای شرایط جوانه‌زنی نیز نقش مثبتی دارد.

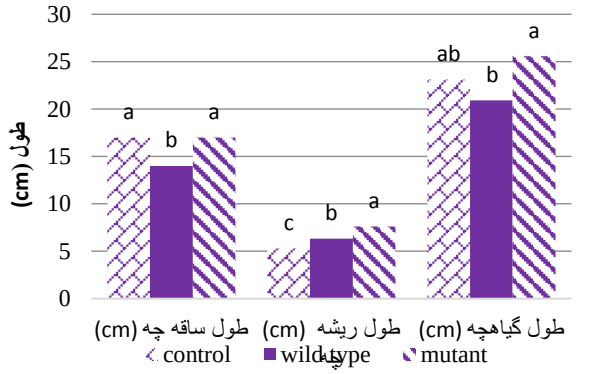


شکل ۱- مقایسه درصد جوانه زنی بین تیمارهای سویا

Figure 1. Comparison of germination percentage between treatments of soybean

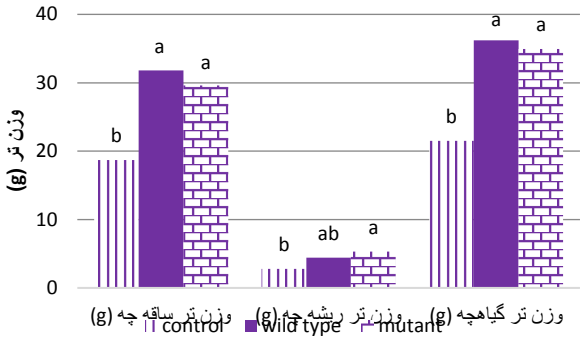
در شاخص‌های رشدی طول گیاهچه، ساقه‌چه و ریشه‌چه، همان‌طورکه در (شکل ۲) مشاهده می‌کنید، مقایسه میانگین‌ها نشان داد، طول گیاهچه‌های حاصل از بذور پوشش شده با تریکودرمای موتانت (۲۵/۵۹) بیشترین بود. همچنین طول ریشه در تیمارهای قارچی (۷/۶۲) در تیمار تریکودرمای والد و (۶/۳۲) در تریکودرمای موتانت بلندتر از شاهد (۵/۲۷) بود و به لحاظ آماری نیز در سطح احتمال ۵ درصد اختلاف داشت.

در شاخص وزن تر گیاهچه و ساقه‌چه و ریشه‌چه، گیاهچه‌های حاصل از پوشش‌دهی با تریکودرما در سطح اختلاف ۵ درصد اختلاف معنی‌داری نداشتند اما میانگین مشاهده شده در گیاهچه‌های تیمار شده با تریکودرمای والد بیشتر بود. در این صفت، تیمارهای قارچی نسبت به شاهد برتری زیادی حصول کرده بودند(شکل ۳). در پژوهش مشابه دیگری یزدانی و همکاران گزارش کردند که تلقیح قارچ *T. viride* سبب افزایش معنی‌داری طول ریشه، وزن ساقه، وزن گیاهچه و تعداد گره در گیاه سویا شده است(Yazdani *et al.*, 2008). همچنین بهبود فعالیت ریزجانداران 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.



شکل ۲ -مقایسه طول ریشه‌چه، ساقه‌چه و گیاهچه سویا

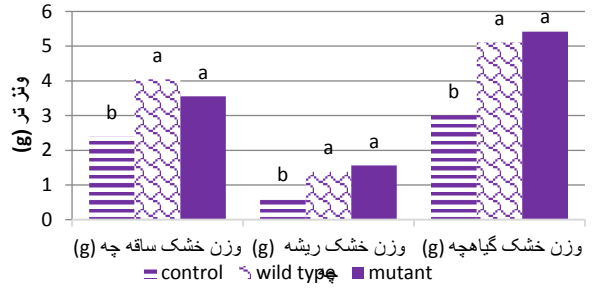
Figure 2. Length comparison of radicle, plumule and seedling of soybean



شکل ۳- مقایسه وزن تر ریشه چه، ساقه چه و گیاهچه سویا

Figure 3. Fresh weight, comparison of radicle, plumule and seedling of soybean

در شاخص وزن خشک (گیاهچه، ساقه‌چه و ریشه‌چه)، اندازه‌گیری شده در تیمارها نشان‌دهنده بهبود قابل توجهی در سطح اختلاف ۵ درصد نسبت به شاهد بودند ولی تیمارهای قارچی با هم اختلاف معنی‌داری نداشتند. گیاهچه های حاصل از بذور پوشش دهی شده با تریکودرمای موتانت بالاترین میانگین (۵/۴۲) را دارا بود (شکل ۴).

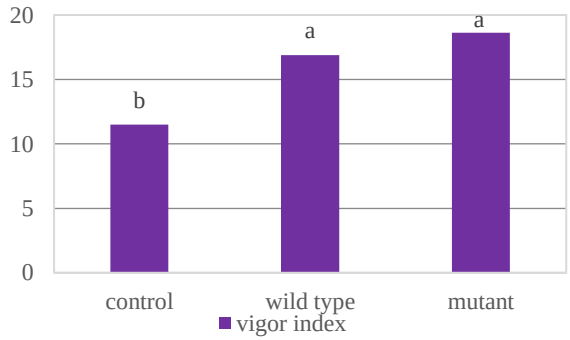


شکل ۴- مقایسه وزن خشک ریشه چه، ساقه چه و گیاهچه سویا

Figure 4. Dry weight comparison of radicle, plumule and seedling of soybean

www.ijpb.knu.ac.ir

همچنین مشاهدات نشان داد که تعداد ریشه‌های فرعی در تیمارهای قارچی نسبت به شاهد بسیار بیشتر بودند. با توجه به مقایسه صفات وزن خشک و طول می‌توان گفت قارچ تریکودرما با بهبود امکان جذب و در اختیار قرار دادن مواد غذایی مورد نیاز گیاهچه، باعث بهبود معنی‌دار مؤلفه‌های رشدی شده و مانع از صرف انرژی زیاد برای بیشتر کردن طول ریشه و ساقه برای غذا سازی در مراحل جوانه‌زنی و استقرار سویا می‌شود. مطالعات قبلی نشان داده‌اند که 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.*, 1986). 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 بیوشیمیایی 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).



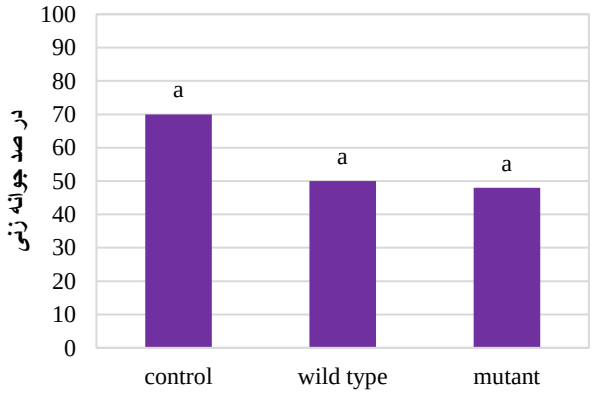
شکل ۵- مقایسه میانگین شاخص ویگور سویا

Figure 5. Comparison of mean soybean Vigor index

نتایج آزمایش کلزا

بر اساس نتایج جدول تجزیه واریانس (جدول ۲) اثر بیوپرایمینگ بر وزن تر ریشه در سطح احتمال ۱ درصد اثر معنی‌داری داشت. در صفات رویشی طول ساقه، طول گیاهچه، وزن تر ساقه، وزن تر گیاهچه، وزن خشک ریشه، و وزن خشک گیاهچه و شاخص ویگور در سطح احتمال ۵ درصد معنی‌دار بودند. درحالی‌که اثر بیوپرایمینگ بر درصد جوانه‌زنی، طول ریشه و وزن خشک ساقه معنی‌دار نبود. می‌توان اظهار نمود که بیوپرایم بذور با تریکودرما باعث کوتاه شدن طول ریشه و افزایش ریشه‌های جانبی و در نتیجه بالا رفتن حجم و وزن ریشه در کلزا می‌شود، که به استقرار بهتر در خاک و مقاومت به تنش بر سیستم ریشه‌ای منجر خواهد شد.

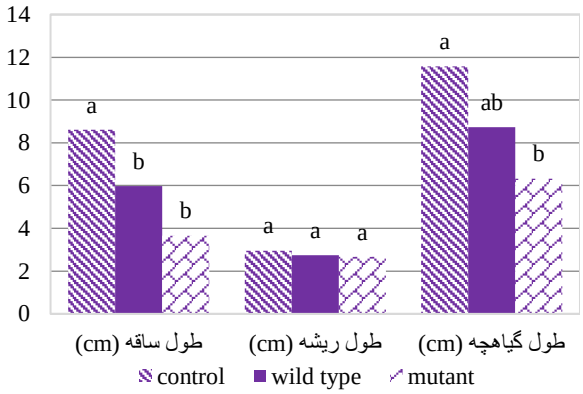
مطالعات قبلی نشان داده است که گونه‌هایی از تریکودرما تحت مکانیسم‌های خاصی سبب افزایش رشد گیاه می‌شوند (Brunner *et al.*, 2005; singh *et al.*, 2007). شهسواری و همکاران بهبود ظهور و بنیه گیاهچه، رشد رویشی و در نهایت عملکرد گندم نیز در تیمار تلفیقی کمپوست دامی و گونه‌های قارچ تریکودرما گزارش کردند (Shahsavari *et al.*,2010). انیس وهمکاران در بررسی اثر توأم قارچ‌های تریکودرما و *P. indica* روی گیاه فلفل سیاه افزایش ارتفاع بوته و تعداد برگ بوته را گزارش نمودند (Anith *et al.*, 2011). گزارش‌هایی مبنی بر افزایش رشد گیاه فلفل با قارچ تریکودرما ارائه شده است (Chang *et al.*, 2007). درصد جوانه‌زنی در بذور بیوپرام شده با قارچ موتانت و والد (پرتودیده و پرتو ندیده) از نظر آماری با هم تفاوتی نداشتند. شاهد با ۷۰ درصد جوانه‌زنی، بهتر از تیمار با تریکودرمای والد ۵۰٪ و موتانت ۴۸٪ بود (شکل ۶).



شکل ۶- مقایسه درصد جوانه‌زنی بین تیمارهای کلزا

Figure 1. Comparison of germination percentage between treatments of canola

طول ریشه‌ی گیاهچه های شاهد بیشتر از بقیه تیمارها بود و تیمارهای قارچی با هم در یک گروه‌بندی قرار داشتند و از نظر آماری تفاوت معنی‌داری با هم نداشتند (شکل ۷).

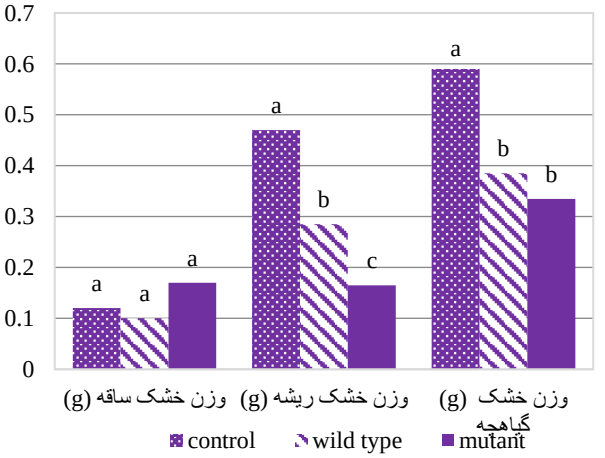


شکل ۷- مقایسه طول ریشه‌چه، ساقه‌چه و گیاهچه کلزا

Figure 2. Length comparison of radicle, plumule and seedling of canola

وزن تر ریشه چه، ساقه چه و گیاهچه شاهد نسبت به تیمارهای دیگر بیشتر بود. به‌طوری‌که وزن تر ساقه شاهد (۱.۶۴)گرم بیشترین مقدار بود و تیمارهای دیگر، (۰.۹۲) گرم پرتو ندیده و (۰.۶۳) موتانت در یک گروه‌بندی بعد از آن قرار داشتند. در طول ریشه نیز بااینکه همه‌ی تیمارها در یک سطح معنی‌داری بودند، ولی شاهد (۸.۶۱) بیشترین طول را داشت و تیمارهای پرتو ندیده (۵.۹۸) و موتانت (۳.۶۶۲) بعد از آن قرار داشتند.

طول گیاهچه های کلزا در شاهد نیز مانند دو مؤلفه‌ی قبلی بررسی شده، بهتر از تیمارهای قارچی بودند و تیمار تریکودرمای موتانت کمترین طول را داشت (شکل ۸).

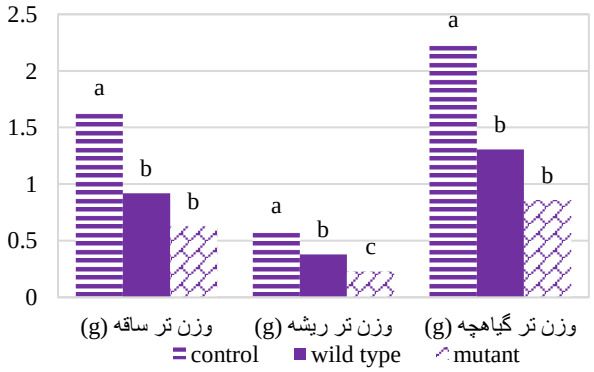


شکل ۸- مقایسه وزن تر ریشه چه، ساقه چه و گیاهچه کلزا

Figure 8. Fresh weight comparison of radicle, plumule and seedling of canola

از نظر وزن خشک ساقه کلزا بین تیمارها اختلاف معنی‌داری وجود نداشت. با این حال وزن خشک ساقه تیمار موتانت مقدار بیشتری نسبت به دیگر تیمارها بود. 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).

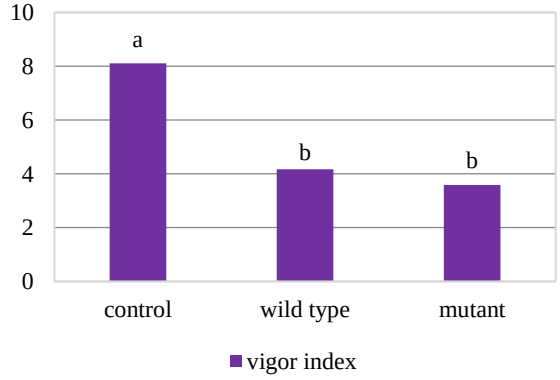
وزن خشک تمام قسمت‌های اندازه‌گیری شده در شاهد بیشتر از بقیه‌ی تیمارها بود. تیمارهای والد و موتانت به ترتیب بعد از آن قرار گرفتند ولی به لحاظ آماری تفاوتی نداشتند و در یک سطح معنی‌داری بودند (شکل ۹). سپهری و همکاران (2009) بیان کردند برقراری ارتباط همزیستی قارچ *P. indica* سبب تحریک رشد گیاه و در نتیجه افزایش رشد آن شد. انتصاری و همکاران (۱۳۹۲) افزایش وزن خشک گیاهچه لوبیا را با روش بیوپرایمینگ با باکتری‌های محرک رشد گزارش کردند.



شکل ۹- مقایسه وزن خشک ریشه چه، ساقه چه و گیاهچه کلزا

Figure 9. Dry weight comparison of radicle, plumule and seedling of canola

با توجه به صفات اندازه‌گیری شده نیز می‌توان انتظار داشت که شاخص بنیه‌ای ویگور نیز دچار چه تغییراتی شود. به‌طوری‌که در (شکل ۱۰) مشاهده می‌شود، شاخص ویگور در شاهد، بیشتر از تیمارهای قارچی بودند و بعد از آن‌ها تیمار با تریکودرمای پرتوندیده و در آخر تیمار با تریکودرمای موتانت قرار داشتند.



شکل ۱۰- مقایسه میانگین شاخص ویگور کلزا

Figure 10. Comparison of mean soybean Vigor index

www.japb.kiau.ac.ir

جدول ۲- تجزیه واریانس اثر تیمارها بر قابلیت جوانه‌زنی و ویژگی‌های مرتبط با بنیه گیاهچه کلزا

Table 2. Analysis of variance (mean squares) for the effect of biopriming on morphological traits of canola

منابع تغییرات	درجه آزادی	در صد جوانه‌زنی	طول ساقه	طول ریشه	طول گیاهچه	وزن تر ساقه	وزن تر ریشه	وزن تر گیاهچه	وزن خشک ساقه	وزن خشک ریشه	وزن خشک گیاهچه	شاخص ویگور
s.O.V	Df	Germination percentage	plumule length	radicle length	seedling length	plumule fresh weight	radicle fresh weight	seedling fresh weight	plumule dry weight	radicle dry weight	seedling dry weight	vigor index
تیمار treatment	2	296.00ns	10.87*	0.047ns	13.81*	0.54*	0.06**	0.99*	0.0026ns	118.55*	117.73*	120733.37 *
خطا error	9	666.66	3.2	0.35	2.08	0.13	0.01	0.18	0.0033	1118.81	118.65	51567.39
درصد ضریب تغییرات C.v %		4.37	16.91	21.33	11.88	34.2	16.33	29.42	44.418	156.21	110.02	30.36

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

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

نتیجه‌گیری کلی

به نظر می‌رسد استفاده از روش پوشش دهی بذور با قارچ تریکودرما، برای بهبود همه‌ی مؤلفه‌های رشدی و جوانه‌زنی در گیاه سویا مطلوب است. درحالی‌که بذور کلزا به مقدار کمی در درصد جوانه‌زنی، وزن خشک ساقه و طول ریشه بهبود داشتند اما به‌طورکلی از رشد طولی (گیاهچه، ساقه چه و ریشه چه) کاسته شده است. هرچند این کاستن از رشد طولی با افت معنی‌داری در تولید بیوماس همراه نمی‌باشد و تریکودرما با افزایش ریشه‌های جانبی، وزن خشک را بالا می‌برد. 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 استرس‌های 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 راهگشا قابل توصیه باشد. به هر حال تفاوت گیاهان در عکس‌العمل به وجود تریکودرما، نشان می‌دهد پیش از توصیه این عامل بیولوژیک، باید کنش‌های متقابل گونه‌های مختلف این قارچ را هر گیاه (و حتی هر واریته و رقم) به‌طور مستقل بررسی و سپس استفاده نمود.

سپاسگزاری

این مقاله در قالب بخشی از پروژه "تولید مواد بیولوژیک به‌منظور کنترل عوامل بیماری‌زای گیاهی خاکزاد -۲۰۰-۹۶-PCR-A۳ " انجام شده و نویسندگان از همکاران گروه زراعت و اصلاح نباتات دانشکده کشاورزی دانشگاه آزاد اسلامی واحد کرج به‌ویژه آقای دکتر حبیبی که در انجام این مطالعه ما را یاری دادند، تشکر و قدردانی می‌نمایند.

www.iapb.kiau.ac.ir

References

فهرست منابع

انتصاری، م.، ف. شریف‌زاده.، م. دشتکی و م. احمدزاده. ۱۳۹۲. تأثیر بیوپرایمینگ بر مؤلفه‌های جوانه‌زنی، صفات فیزولوژیکی، آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی و کنترل بیماری رایزوکتونیایی لوبیا. مجله علوم گیاهان زراعی ایران، ۴۴(۱): ۴۵-۳۵.

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

غیاثی، آ.، س. پارسا.، الف. حمیدی و ک. خاوازی. ۱۳۹۱. اثر روش‌های پرایمینگ بر جوانه‌زنی و بنیه گیاهچه گندم و جمعیت باکتری بر بذر. مجله علوم و تکنولوژی بذر، سال دوم، شماره ۱، بهار ۱۳۹۱.

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.

Baker, R. 1988. Trichoderma sp. As plant-growth Stimulants. Critical reviewes in biotechnology, 7: 97-196.

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.

Bunner, K., S. Zeilinger., R. Ciliento., S. L. Woo., M. Lorito., C. P. Kubicek and R. L. Mach. 2005. Improvement of the fungal biocontrol agent *Tricoderma atroviride* to enhance both antagonism and inoculation of plant systemic disease resistance. Applied and Enviermental Microbiology, 71:3959-3965.

Chacon, M. R., Rodriguz-Galan, O., Benitez, T., Sousa, S., Rey, M., Llobell, A. and Delgado-

Chang, Y.C., R. Baker., O. Kleifeld and I. Chet. 1986. 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 R. Singh. 2006. Evaluation of *Tricoderma* species against *Fuzarium oxysporum* sp. Ciceris, for integrated management of chickpea 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.

Glick, B. R. 1998. A model for the lowering of plant ethylene concentration by PGPR. Journal of theorical and biology 190:63-68.

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.

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.

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.

www.iapbkhazar.ir

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

Sepehri, M., N. Saleh Rastin., G. Hossieni Salkedeh and M. Khayam Nekoui. 2009. Effect of endophytic fungus *Piriformospora indica* on growth and resistance of H. vulgare L. to salinity stress. Rangeland Journal, 3(3): 508-518.

Shahsavari, A., H. Pirdashti., A. Motaghian and M. A. Tajik 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 shelf life of *Tricoderma harzianum* and its use in biocontrol of diseases. Bioresource Technology, 98: 470-473.

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

Windham, M. T., Y. Elad and K. Baker. 1986. A mechanism for increased plant growth inoculated by *Tricoderma* spp. Phytopathology, 6:518-521.

Yazdani, M., H. Pirdashti and M. A. Tajik 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.kiau.ac.ir

Journal of Agronomy and Plant Breeding
ISSN NO: 2008-8485 Vol 14. No. 1, 2018

Biopriming of Canola and Soybean with Trichoderma Fungi and effects of Germination and Some Vegetative charactristics

Z. Rezalou[1], Gh. Tohidlou*[2], S. Shahbazi[3], H. Asgari[3]

Received date: 01 October 2018 Accepted date: 03 December 2017

Abstract

In order to investigate the effect of biopriming with selected species of *Trichoderma* on the morphological and germination characteristics of Canola (*Brassica napus*) seedlings, and soybean (*Glycine max*) cultivar Williams, an experiment was conducted in a randomized complete block design with three replications. The effect of gamma-mutation on *Trichoderma* genome and its effectiveness was investigated. Experiment with three levels of inoculation: control (non-inoculation), Inoculation with formulations from spores of wild type *Trichoderma* and inoculation with mutant isolates of the same species, at the Nuclear Agriculture Research Institute was carried out. Evaluation of germination indices (Germination percentage, stem length and root and seedlings and their fresh and dry weight and vigor index) based on ISTA standard implemented. Soybean bioprimed seeds with *Trichoderma* in most of measured indicators had significant difference with other treatments and growth components, especially in initial development and early growth stages were improved. In Canola seeds, all germination indices were decreased by biopriming with Trichoderma and in the most of the indices, there were no significant differences between wild type and mutant *Trichoderma* treatments. Overall, the results of this study showed, using seed biopriming with *Trichoderma* had different effects on plant growth parameters, and use of this technique needs case study for each plant genome.

Keywords: Bioppriming, Soybean, Canola, Germination, *Trichoderma* spp.

www.iapb.kiau.ac.ir

[1]- Department of Agronomy and Plant Breeding, Karaj Branch, Islamic Azad University, Karaj, Iran.
2- Department of Agronomy and Plant Breeding, Karaj Branch, Islamic Azad University, Karaj, Iran.
3- Nuclear Agriculture Research School, Nuclear Science and Technology Research Institute (NSTRI), Atomic Energy Organization of Iran (AEOI), Alborz, Iran

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