

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

مهديه مظاهر^{۱*}، سعيد خماری^۲، احمد جوادی^۳، مهدي داوری^۴

^۱ کارشناسی ارشد، علوم و تکنولوژی بذر، گروه زراعت، دانشگاه محقق اردبیلی، اردبیل، ایران

^۲ دانشیار، فیزیولوژی گیاهان زراعی، گروه زراعت، دانشگاه محقق اردبیلی، اردبیل، ایران

^۳ دکتری، علوم و تکنولوژی بذر، گروه زراعت، دانشگاه محقق اردبیلی، اردبیل، ایران

^۴ دانشیار، بیماری شناسی گیاهی - قارچ شناسی، گروه گیاهپزشکی، دانشگاه محقق اردبیلی، اردبیل، ایران

تاریخ دریافت: ۱۳۹۷/۰۹/۰۷؛ 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* T₄₄₇ 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، ۴۰، 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، ۶، ۱۲، ۵۲، ۱۳ و ۲۷ درصدی به ترتیب در 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 مزرع‌ای گیاهان دارد (Harris et al., 2001). یکی از مناسب‌ترین تکنیک‌های بهبود بذر استفاده از انواع پیش‌تیمارهای بذری است (Finch-Savage et al., 2004). پیش‌تیمار (پرایمینگ) بذر تکنیکی است که به واسطه آن برخی رویدادهای اولیه جوانه‌زنی بذر، پیش از فرار 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

پیش تیمار بذر از روش های مختلفی نظیر هیدروپرایمینگ، اسموپرایمینگ، هالوپرایمینگ و بیوپرایمینگ استفاده می شود (Jisha et al., 2013) در این بین استفاده از میکروارگانیسم های مفید برای پیش تیمار بذر (بیوپرایمینگ) می تواند کمک بیشتری به استقرار گیاهچه کند. در این روش می توان از میکروارگانیسم هایی مانند قارچ تریکودرما استفاده نمود (Bennett and Whipps, 2008).

قارچ تریکودرما یکی از گسترده ترین میکروارگانیسم های خاکزی است که در اغلب خاک های مزارع کشاورزی وجود دارد (Harman et al., 2004). این قارچ در ریزوسفر ریشه گیاهان ترکیباتی را آزاد می کند که موجب تحریک واکنش های مقاومت به تنش های زنده و غیرزنده می گردد (Cardona and Rodriguez, 2006). بعضی از گونه های تریکودرما توانایی پاک سازی محیط آلوده را دارند و می توانند به عنوان یکی از منابع زیستی برای تجزیه آلاینده های موجود در خاک به کار روند (Harman, 2006). این میکروارگانیسم ها می توانند در غلظت های بالای فلزات زنده بمانند و به پالایش خاک های آلوده به این فلزات کمک نمایند (Anand, 2006).

فلزات سنگین از آلاینده های مهمی هستند که غلظت بالای یون های این فلزات به صورت ترکیبات سمی در سلول ها عمل می کنند (Choudhury and Srivastava, 2001) و به صورت پایدار در زنجیره غذایی باقی می ماند (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 ریزمغذی های ضروری فعال در کلروپلاست است (Fernandes and Henriques, 1991). طبیعتاً غلظت بالای این عنصر باعث خسارت زیادی به بافت های گیاهی می شود (Robinson and Winge, 2010). به طوری که غلظت بیش از حد مس مانع از تنفس گیاهی، تثبیت نیتروژن و متابولیسم پروتئین می گردد که در نهایت منجر به کاهش میزان کلروفیل می شود و از فتوسنتز برگ ها جلوگیری می کند (El-Jaoul and Cox, 1998). در بیشتر گیاهان زراعی تجمع فلزات باعث مسمومیت می شود (Fernandes and Henriques, 1991).

غلزات گروهی از گیاهان زراعی می باشند که بیش از سه چهارم انرژی و در حدود نیمی از پروتئین مورد نیاز بشر از این گروه تأمین می شود (Peyghambari 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 می گیرد (Ulrich, 2011). با توجه به این موضوع که آلودگی مس در خاک می تواند باعث ایجاد مشکلات عمده ای 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 گیاهچه های جو در حضور فلز سنگین مس اجرا شد.

مواد و روش ها

توده بذر گواهی شده جو بهاره، رقم به رخ از مؤسسه تحقیقات ثبت و گواهی بذر و نهال کرج تهیه شد. در راستای اجرای این پژوهش، آزمایشی به صورت فاکتوریل در قالب طرح بلوک های کامل تصادفی (RCBD) در سه تکرار در بهار سال ۱۳۹۶ در مجموعه گلخانه و آزمایشگاه دانشکده کشاورزی و منابع طبیعی دانشگاه محقق اردبیلی اجرا شد. تیمارهای این آزمایش شامل عنصر مس در چهار غلظت (۲، ۴۰، ۸۰ و ۱۲۰ میکرومولار) و قارچ تریکودرما (*Trichoderma harzianum* T₄₄₇) در دو حالت بیوپرایمینگ و تلقیح با بستر کشت بود. جدایه استاندارد قارچ *Trichoderma harzianum* با کد استاندارد (T₄₄₇) تهیه شده از مؤسسه تحقیقات گیاهپزشکی کشور برای این آزمون مورد استفاده قرار گرفت. برای بیوپرایمینگ بذر ها از روش (Reddy, 2013) 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 پنبه‌ای 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 سانتی‌متر و عمق ۲۷ سانتی‌متر کشت گردید. عملیات تنک کردن گیاهچه به صورت کاملاً تصادفی انجام شد و در نهایت 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 ۲۴ ساعت یکبار شمارش گردید. سپس با استفاده از نرم‌افزار Germin سرعت، درصد و یکنواختی سبز شدن بذرها محاسبه شدند. ۲۴ 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) به طور تصادفی به صورت 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., 1937) 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 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 معنی‌دار بود اما از نظر 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

میانگین مربعات					منابع تغییر
شاخص طولی قدرت	یکنواختی سبز شدن	سرعت سبز شدن	درصد سبز شدن	درجه آزادی	
۷۰/۵۸**	۱/۱۰۳ ^{ns}	۰/۰۰۰۰۰۱ ^{ns}	۹/۸۹۶ ^{ns}	۲	بلوک
۵۶/۰۲**	۰/۶۷۲ ^{ns}	۰/۰۰۰۰۰۰۵ ^{ns}	۴۶۰/۲۴۳ ^{ns}	۳	سطوح مس
۷۹/۸۸**	۸/۸۰۲**	۰/۰۰۰۰۰۱۱*	۱۱۵۱/۹۱**	۳	تلقیح تریکودرما
^{ns} ۸/۳۶	۰/۴۹۴ ^{ns}	۰/۰۰۰۰۰۰۵ ^{ns}	۱۷۰/۸۹۱ ^{ns}	۹	سطوح مس × تلقیح تریکودرما
۱۰/۷۰	۱/۰۶۵	۰/۰۰۰۰۰۰۳۸	۲۰۶/۰۰۷	۳۰	اشتباه آزمایشی
۳/۱	۳/۳۲	۲/۵۳	۱/۹۶	-	ضریب تغییرات (%)

***، ** و ns به ترتیب بیانگر معنی داری در سطح یک و پنج درصد و غیر معنی داری می باشند.

تلقیح بستر کشت با قارچ تریکودرما و هیدروپرایمینگ بذرهای جو به ترتیب با افزایش ۲۳/۴۶ و ۱۶/۹۲ درصد بالاترین درصد سبز شدن و تلقیح بستر کشت با قارچ و بیوپرایمینگ بذرها به ترتیب با تسریع ۶/۱۶ 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 ۶۲ و ۴۱ 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 ۲۴ 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
۲ (شاهد)	-	-	-	b۱۲/۳۶
سطوح مس	۴۰	-	-	b۱۳/۷۶
(میکرومولار)	۸۰	-	-	a۱۷/۴۵
	۱۲۰	-	-	b۱۴
شاهد	c۶۹/۵۸	b۰/۰۰۷۹۷	a۷۱/۱۷	c۱۱/۲۳
هیدروپرایمینگ	ab۸۳/۷۵	b۰/۰۰۷۸۹	b۵۰/۱۹	ab۱۵/۹۳
بیوپرایمینگ	bc۷۴/۵۸	a۰/۰۰۸۵۳	a۷۰/۴۷	bc۱۳/۴۳
بذرها	a۹۰/۹۱	a۰/۰۰۸۴۶	b۴۳/۸۹	a۱۴/۹۶
تلقیح با بستر کشت				

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

نتایج حاصل از این پژوهش نشان دادند سولفات مس (CuSO₄) بر شاخص‌های سبز شدن جو اثرگذار نبود. در این راستا نتایج (Kalai et al., 2013) حاکی از این بود که کاربرد ۱۰۰، ۳۰۰ و ۵۰۰ میکرومولار مس (بالاتر از سطح پایه

مس) در گیاه جو باعث اختلال در انتقال منابع آلی و معدنی از آندوسپرم به جنین می‌شود و در نتیجه، جوانه‌زنی را دچار اختلال و کاهش می‌کند. همچنین در مطالعات انجام شده سولفات مس از طریق افزایش بقاء میکروسپور (خرده‌هاگ) در طول کشت بساک، موجب بروز اثرات مثبتی بر بساک‌های کشت شده‌ی گیاه جو می‌گردد. (Wojnarowicz et al., 2002) طبق مشاهدات رئیسی و همکاران (Raeisi et al., 2011) هیچ‌یک از تیمارهای اعمال شده ۵۰، ۱۰۰ و ۲۰۰ میکرومول مس تأثیر معنی‌داری بر میزان جوانه‌زنی و میانگین زمان لازم برای جوانه‌زنی بذرهای شاهی نداشت. همچنین علیزاده و همکاران (Alizadeh et al., 2015) اظهار داشتند اثر تیمار مس (صفر، ۴۰، 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. 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 (Mohasseli, 2004). به نظر می‌رسد که گیاه جو در مراحل جوانه‌زنی و رشد اولیه تحمل بالایی به فلز سنگین مس دارد. در نتیجه، 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 پرآیم 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 متابولیسمی در طول آنبوشی (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., 2009) 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 تریکودرما 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 گزارش کردند بعضی جدایه‌های تریکودرما به غلظت-های بالای مس مقاومت نشان دادند (Petrovic et al., 2014). در نتیجه در این آزمایش تلقیح بستر کشت با تریکودرما اثری افزایش‌دهنده 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
بلوک	۲	۹۶/۱۶**	۰/۰۱۵**
سطوح مس	۳	۵۶/۸۷**	۰/۰۱۱**
تلقیح تریکودرما	۳	۱۷/۳۳**	۰/۰۰۷**
سطوح مس × تلقیح تریکودرما	۹	۱/۳۸ ^{NS}	۰/۰۰۱ ^{NS}
خطای آزمایشی	۳۰	۳/۶۴	۰/۰۰۱
ضریب تغییرات (%)	-	۱/۶۸	۵/۳۴

ns و ** به ترتیب نشانگر عدم معنی داری و معنی داری در سطح احتمال پنج و یک درصد می باشند.

در این پژوهش طول گیاهچه در سطوح ۲ و ۱۲۰ میکرومولار مس در مقایسه با سطوح ۴۰ 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 ۴۰ 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، به طوری که هیدروپرایمینگ و تلقیح بستر کشت با تریکودرما افزایش حدوداً ۲۷ درصدی را در وزن خشک بوته باعث شدند (جدول ۴).

جدول ۴. مقایسه میانگین اثرات اصلی عوامل آزمایشی بر طول گیاهچه، وزن خشک بوته در گیاهچه جو

فاکتورهای آزمایشی	طول گیاهچه (cm)	وزن خشک بوته (gr)
۲ (شاهد)	b۱۵/۸۷	b۰/۱۳۹
۴۰	a۱۸/۸۹	a۰/۱۸۵
۸۰	a۲۰/۴۲	a۰/۲۰۵
۱۲۰	b۱۶/۲۲	b۰/۱۴۸
شاهد	b۱۶/۱۲	b۰/۱۳۷
هیدروپرایمینگ	a۱۸/۷۴	a۰/۱۸۶
بیوپرایمینگ	a۱۷/۹۵	ab۰/۱۶۷
تلقیح با بستر کشت	a۱۸/۷۴	a۰/۱۸۹

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

نتایج حاصل از این پژوهش نشان داد که تأثیر سطوح مختلف مس بر طول گیاهچه و وزن خشک بوته اندازه‌گیری شده، ابتدا به صورت افزایشی در سطح ۴۰ و ۸۰ میکرومولار و سپس کاهش در سطح ۱۲۰ میکرومولار دیده شده است. در این راستا اصغری و همکاران (Asgari et al., 2014) 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. در واقع مس با تأثیر بر متابولیسم نیتروژن و تولید اسیدآمینو تریپتوفان و هورمون اکسین باعث افزایش طول گیاه می‌شود (Marschner, 1985). با توجه به اینکه طویل شدن

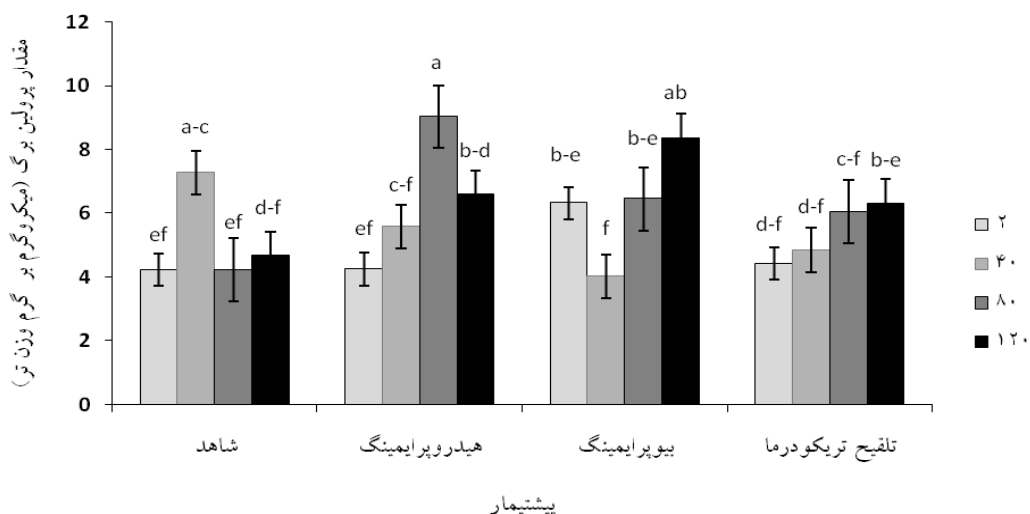
سلول‌ها و اندامک‌ها از مهم‌ترین اعمال اکسین در گیاهان است (Peralta et al., 2000) لذا به نظر می‌رسد که افزایش شاخص‌های رشدی در بیش‌بود ۴۰ و ۸۰ میکرومولار مس به علت تأثیر مثبت این عنصر بر تولید اکسین می‌باشد. در بررسی تأثیر نانو ذرات مس و محلول کلرید مس بر جوانه‌زنی گیاه ریحان، (Yosofzayi et al., 2015) 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). 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 سیتوکینین، 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 ۱۲۰ میکرومولار عنصر مس می‌تواند به علت اثرات آنتاگونیستی این عنصر با عناصری مانند روی و در نتیجه تأثیر بر سنتز هورمون‌ها و مواد متابولیکی مورد نیاز 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 در نهایت جذب آن‌ها توسط ریشه گیاه افزایش می‌یابد (Benites et al., 2004). مشاهدات آلتومر و همکاران (Altomar et al., 1999) نشان دادند *T. harizianum* قادر به افزایش حلالیت منگنز، روی و فسفات بوده که در نتیجه منجر به افزایش جذب فسفر و چندین ریزمغذی به‌وسیله گیاه می‌شود. همچنین عناصر ریزمغذی و فسفات غیرمحلول در حضور *T. harizianum* به‌صورت قابل دسترس و محلول در اختیار ریشه گسترش یافته قرار می‌گیرند. مطالعات ویندهام و همکاران (Windham et al., ۱۹۸۶) نشان دادند *Trichoderma. Spp* فاکتورهای تنظیم‌کننده‌ی رشدی را تولید می‌کند که وزن خشک ساقه‌ها و ریشه‌ها را افزایش می‌دهد. در نتیجه به دلیل تولید اکسین به‌وسیله‌ی تریکودرما و تسهیل دسترسی به مواد مورد نیاز 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., 2012) 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. (۲۰۱۵) روش خشک‌ساق مصلح (۲۰۱۵) روش خشک‌ساق مصلح

T. harizianum T20 در مقایسه با روش بذر مال، کارایی بهتری در افزایش وزن خشک ریشه و اندام هوایی گوجه فرنگی دارد.

با توجه به شکل ۱ با افزایش سطوح مس محتوای پرولین آزاد برگ‌های جو افزایش قابل توجهی داشت به نحوی که در آلودگی ۸۰ و ۱۲۰ 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. به طوری که در آلودگی ۸۰ میکرومولار مس بالاترین مقدار پرولین در هیدروپرایمینگ بذرهای جو با افزایش حدوداً ۵۲ درصد نسبت به ۲ میکرومولار مس به دست آمد و در آلودگی ۱۲۰

میکرومولار مس بالاترین محتوای پرولین با افزایش حدوداً ۲۴ 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 داده‌ها 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، استفاده از پرولین در گیاهچه‌های برنج موجب کاهش جذب نمک مس در ریشه‌های برنج شد و از ورود مس به ریشه‌ها ممانعت کرد (Chien-Teh et al., 2004). محتوای پرولین آزاد گیاهچه‌های کلزا در حضور غلظت‌های ۵، ۱۵ و ۲۵ میکرومولار مس افزایش قابل ملاحظه‌ای داشت (Roshani and Yazdi, 2011). میقانی و همکاران (Mighani et al., 2008) 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. به طوری که در غلظت ۴۰۰ 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، به طوری که غلظت‌های بالاتر از حد پایه‌ی محلول غذایی هوگلدن و آرنون (۴۰ 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. در نتیجه 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 approach 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 putida* strain 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 barley *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. USA.
- 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 chlorophylls, carotenoids and gas exchange functions by cadmium. Photosynthetica. 31: 635-640.
- Raeisi, M., Asrar, Z. and Puorseiyedi, Sh. 2011.** Investigation of the interaction of Sodium Nitroside (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 bioprimering 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.
- Wojnarowicz, G., Jacquard, C., Devaux, P., Sangwan, R.S. and Clement, C. 2002.** Influence of copper sulfate on another 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)