علوم و تحقیقات بذر ایران
سال نهم/ شماره سوم/ ۱۴۰۱ (۱۸ - ۱)
مقاله پژوهشی
DOI: 10.22124/jms.2022.6159

تأثیر پیش‌تیمار زیستی قارچ‌های *تریکودرما* و *آسپرژیلوس* در افزایش آستانه تحمل جذب روی در گیاه گندم

مریم جنابیان[۱]، فاطمه تقوی قاسمخیلی[۲]، همت‌اله پیردشتی[۳]*، محمدعلی تاجیک قنبری[۴]، سیدمصطفی عمادی[۵]، یاسر یعقوبیان[۶]

تاریخ دریافت: ۱۴۰۰/۶/۳۱ تاریخ پذیرش: ۱۴۰۰/۹/۷

چکیده

به‌منظور بررسی تأثیر پیش‌تیمار زیستی بذر گندم با قارچ‌های *تریکودرما* و *آسپرژیلوس* همراه با سولفات روی بر بهبود شاخص‌های جوانه‌زنی و میزان آستانه تحمل گیاهچه‌ها به عنصر روی، آزمایشی به‌صورت فاکتوریل در قالب طرح کاملاً تصادفی با سه تکرار انجام شد. تیمارهای آزمایشی شامل شش سطح عنصر روی (صفر، ۰/۶، ۶، ۶۰، ۳۰۰ و ۶۰۰ میلی‌گرم در لیتر) و چهار تیمار قارچی (عدم تلقیح و تلقیح قارچ‌های (*Trichoderma harzianum*)، (*Trichoderma longibrachiatum*) و (*Aspergillus niger*) بود. نتایج نشان داد که تیمارهای قارچی سبب افزایش قابل ملاحظه در فعالیت آنزیم آنتی‌اکسیدانی سوپراکسیددیسموتاز ساقه‌چه شدند. از طرفی بر اساس نتایج به‌دست آمده همزیستی گیاهچه‌های گندم با قارچ‌های *تریکودرما* و به‌ویژه قارچ *آسپرژیلوس* موجب کاهش میزان پراکسیداسیون لیپیدی غشاء در تمامی سطوح کاربردی عنصر روی گردید. هم‌چنین بیش‌ترین محتوای پرولین در بالاترین سطح عنصر روی در گیاهچه‌های گندم تلقیح با قارچ (*T. harzianum*) (افزایش چهار برابری نسبت به شاهد) و در سایر سطوح عنصر روی در گیاهچه‌های تلقیح شده با قارچ *آسپرژیلوس* مشاهده شد. از طرفی، نتایج بیانگر رابطه منفی بین محتوای مالون‌دی‌آلدئید با فعالیت آنزیم سوپراکسیددیسموتاز و شاخص‌های رشدی گیاهچه گندم بود. در مجموع، نتایج بیانگر افزایش توان کودپذیری گیاهچه‌های گندم تا غلظت ۶۰ میلی‌گرم در لیتر از عنصر و در نتیجه اثربخشی بهتر عنصر روی در گیاهان تلقیح شده با قارچ‌های *تریکودرما* و *آسپرژیلوس* به‌ویژه در تلقیح با قارچ (*T. Longibrachiatum*) بود.

واژه‌های کلیدی: آنتی‌اکسیدانت، شاخص جوانه‌زنی، قارچ، گندم، مالون‌دی‌آلدئید

۱- دانش‌آموخته دکتری، گروه زراعت، پژوهشکده ژنتیک و زیست‌فناوری کشاورزی طبرستان، دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی ساری، ایران. jenabiyan.m@gmail.com
۲- دانش‌آموخته دکتری، گروه زراعت، پژوهشکده ژنتیک و زیست‌فناوری کشاورزی طبرستان، دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی ساری، ایران. taghavi_mahsa@yahoo.com
۳- استاد گروه زراعت، پژوهشکده ژنتیک و زیست‌فناوری کشاورزی طبرستان، دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی ساری، ایران. h.pirdashti@sanru.ac.ir
۴- دانشیار گروه گیاهپزشکی، دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی ساری، ایران. m.tajick@gmail.com
۵- دانشیار گروه خاکشناسی، دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی ساری، ایران. yyaghoubyan@yahoo.com
۶- استادیار گروه زراعت، پژوهشکده ژنتیک و زیست‌فناوری کشاورزی طبرستان، دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی ساری، ایران. mostafaemadi@gmail.com
* نویسنده مسئول: h.pirdashti@sanru.ac.ir

مقدمه

گندم (*Triticumae aestivum* L.) به‌عنوان یک محصول کشاورزی راهبردی در بین غلات، از نظر سطح زیرکشت و تولید جهانی مقام اول را دارد و نزدیک به ۵۷ درصد اراضی زیرکشت را به خود اختصاص داده است (Statistical Center of Iran, 2018). جوانه‌زنی بذر، مرحله پیچیده و پویایی از رشد گیاه می‌باشد و از طریق اثراتی که بر استقرار گیاهچه دارد، می‌تواند عملکرد را بهبود بخشد (Ashraf and Foolad, 2005). مشکلات بوم‌شناختی زیادی نظیر محدودیت‌های آب، هوا و خاک در مقابل جوانه‌زنی بذر و استقرار گیاهچه وجود دارد. از جمله روش‌های مقابله با مشکلات جوانه‌زنی نامطلوب و استقرار ضعیف گیاهچه‌ها، استفاده از روش پیش‌تیمار بذر می‌باشد. پیش‌تیمار بذر فناوری است که سبب تغییرات زیستی و فیزیولوژیک زیادی در بذرها و هم‌چنین گیاهان حاصل از آن می‌گردد، به‌طوری‌که جوانه‌زنی بهتر و استقرار مناسب گیاهچه (Ashraf and Foolad, 2005) را به‌دنبال داشته و موجب افزایش سرعت و یکنواختی در سبز شدن و رشد گیاهچه‌ها به‌ویژه تحت شرایط تنش می‌گردد (Parera and Cantliffe, 1991).

استفاده از ریزجانداران مفید برای پیش‌تیمار بذر، می‌تواند به استقرار بهتر گیاهچه کمک کند، به‌ویژه اگر ریزجانداران مورد استفاده به‌مدت طولانی در ریزوسفر ماندگار بوده و به‌سلامتی یا رشد گیاه یاری رسانند. در این روش که به‌عنوان پیش‌تیمار زیستی شناخته می‌شود، از ریزجانداران مفید و عوامل زیستی مانند قارچ‌ها (از جمله میکوریزا و تریکودرما) و باکتری‌های افزاینده رشد گیاه (PGPR) استفاده می‌گردد که می‌توانند سازگاری و پایداری گیاهان را افزایش دهند (Bennett and Whipps, 2008). اثر مفید پیش‌تیمار بذر با قارچ (*P. indica*) بر رشد گیاهان ذرت (Kumar *et al*., 2009) و جو (Waller *et al*., 2005) پیش‌تر گزارش شده است. در پژوهش سلیمی و همکاران (Salimi Tamalla *et al*., 2014) نیز پیش‌تیمار زیستی بذر ماش‌سبز با *تریکودرما هارزیانوم* افزایش ارتفاع بوته و طول ریشه را به‌همراه داشت. پتانسیل بیش‌تر گونه‌های تریکودرما برای بهبود رشد در گیاهان مختلفی مانند گوجه‌فرنگی (Mastouri *et al*., 2010) گندم (Shahsavari *et al*., 2010) و فلفل (Subash *et al*., 2014) نیز به اثبات رسیده است.

سازوکار تحریک توسط تریکودرما شامل یک ارتباط چند سطحی ریشه و ساقه است. اثر تحریک گیاهی در کاربردهای تریکودرما به چندین اثر مستقیم و غیرمستقیم در گیاهان نسبت داده شده است. ازجمله این سازوکارها می‌توان به آزادسازی مواد با فعالیت اکسینی (به‌عنوان مثال: ایندول-۳-استالدئید، ایندول-۳ کربوکسالدئیدو ایندول-۳-اتانول)، پپتیدهای کوچک و هم‌چنین ترکیبات آلی فرار اشاره نمود که باعث بهبود ساختار سیستم ریشه (طول، تراکم و انشعابات کلی ریشه) و جذب/ انحلال ریزمغذی‌ها (آهن، منگنز و روی) می‌شوند و در نتیجه موجب بهبود رشد گیاه و بهره‌وری محصول می‌شوند (Lorito and Woo, 2015; Rouphael *et al*.,2017).

از طرفی گندم همانند سایر گیاهان زراعی در طول دوره زیستی خود با محدودیت‌های متعدد دیگری هم‌چون کمبود عناصر ریزمغذی و کم‌مصرف مواجه می‌گردد. اگرچه نیاز گیاه به این عناصر اندک بوده ولی در صورت عدم دسترسی کافی به آن، گیاهان از تنش‌های فیزیولوژیک حاصل از ناکارآمدی سیستم‌های متعدد آنزیمی و دیگر اعمال متابولیک مرتبط با این عناصر آسیب خواهند دید (Sadeghzadeh, 2013). عنصر روی (Zn) از جمله عناصر کم‌مصرف ضروری برای رشد گیاهان بوده که در غلظت‌های پایین رشد گیاه را افزایش داده اما در غلظت‌های بالا برای گیاه سمی می‌باشد. فلز روی به‌عنوان فعال‌کننده و کوفاکتور برخی آنزیم‌های مهم گیاه از جمله کربنیک‌انیدرازها، دهیدروژنازها، آلکالین‌فسفاتازها، فسفولیپازها و RNAپلیمرازها در سوخت و ساز پروتئین‌ها، قندها، اسیدهای نوکلئیک و چربی‌ها، فتوسنتز گیاه و بیوسنتز اکسین، به‌عنوان یک هورمون افزاینده رشد، ایفای نقش می‌کند (Rion and Alloway, 2004). کمبود روی باعث کاهش ۷۰-۵۰ درصدی فتوسنتز خالص، کاهش محتوای کلروفیل، کاهش محتوای پروتئین، تراوایی غشاهای زنده و افزایش محتوای فسفر غیرآلی می‌شود (Devlin and Witham, 2002). از طرفی با توجه به این‌که عنصر روی در دسته عناصر سنگین طبقه‌بندی می‌شود، علاوه بر کم‌بود این عنصر، بیش‌بود آن نیز می‌تواند در گیاهان زراعی اثرات نامطلوبی از خود به‌جای گذارد

(Zeinalinejad and FarzamiSepehr, 2015). به‌نظر می‌رسد که غلظت‌های بیش‌تر از حد کفایت روی در بافت‌های گیاهی به‌عنوان یک فلز سنگین علاوه بر به‌خطر انداختن سلامت انسان و موجودات استفاده‌کننده از این گیاهان، از طریق افزایش رادیکال‌های آزاد سمی و القای تنش اکسیداتیو می‌توانند عاملی برای بازدارندگی رشد و ایجاد علائم سمیت در گیاه گردند (Alloway, 2013).

دلایل عمده کمبود روی در ایران شامل آهکی بودن خاک‌ها، دامنه pH بالا در این خاک‌ها (۷/۹ تا ۸/۵)، کاربرد گسترده کودهای فسفاته و غلظت‌های بالای بی‌کربنات در آب آبیاری و عدم مصرف کودهای روی است (Malakouti, 2007). در زمان عدم تأمین کافی عنصر روی مورد نیاز گیاه، میزان محصول کاهش یافته و علاوه‌بر این کیفیت محصولات تولید شده نیز کاهش خواهد یافت (Allowoy, 1990). پژوهشگران معتقدند که حد بحرانی روی برای گندم در خاک‌های آهکی ۰/۶-۰/۴ میلی‌گرم بر کیلوگرم است (Cakmak *et al*, 1996). لازم به‌ذکر است که آستانه سمیت این عنصر در خاک‌های آهکی برای گندم حدود هفت میلی‌گرم بر کیلوگرم گزارش شده است (Takker and Mann, 1978).

اغلب پژوهشگران بر این باورند که با یک مدیریت خوب و صحیح، با استفاده از کودهای بیولوژیک و ریزجانداران می‌توان شرایط تغذیه‌ای بهتری را برای گیاه فراهم کرد (Vessey *et al*., 2003). تعدادی از ریزجانداران موجود در خاک قادرند به روش‌های مختلف به گیاهان در تغذیه و جذب عناصر غذایی کمک کنند (Jeffries *et al.*, 2003). در این میان همزیستی قارچ با گیاه شاید یکی از مهم‌ترین پدیده‌های جالب و قابل توجه در اکوسیستم‌های طبیعی و کشاورزی به‌شمار آید (Jeffries *et al*., 2003). قارچ‌های میکوریزا قادر به برقراری همزیستی مسالمت‌آمیزی با ریشه اغلب گیاهان خشکی‌زی هستند. مهم‌ترین و بارزترین اثر مفید قارچ‌های میکوریزا، افزایش رشد گیاه میزبان است که معمولاً به‌واسطه افزایش جذب عناصر غیرمتحرک از خاک صورت می‌گیرد. این همزیستی سبب تسریع تبادل عناصر غذایی بین گیاه میزبان و قارچ می‌شود (Bolan, 1991). از طرفی بهره‌برداری از این همزیستی و همراهی بین گیاهان و ریزجانداران از مهم‌ترین راهکارهای کاهش اثرات نامطلوب فلزات بر بافت‌های گیاهان زراعی نیز می‌باشد (Arpadjan *et al*., 2008). در همین راستا، حنیف و همکاران (Haneef *et al*., 2013) بیان داشتند که در شرایط تنش کادمیوم، گیاهان تلقیح شده با قارچ میکوریزا و ازتوباکتر (به‌تنهایی یا در ترکیب با یکدیگر) از رشد بهتری برخوردار بودند. مطالعات زیادی در خصوص همزیستی میکوریزایی با گیاهان مختلف برای افزایش جذب مواد مغذی و فلزات سنگین به‌وسیله پژوهشگران مختلف صورت پذیرفته است. هر کدام از این عناصر ویژگی‌های فیزیکوشیمیایی مختلفی داشته و بنابراین رفتار آن‌ها در محیط خاک متفاوت می‌باشد. از طرفی نوع قارچ میزبان به‌لحاظ فیزیولوژی گیاهی، سیستم ریشه‌ای و درنهایت پاسخ گیاه به این همزیستی متفاوت است (Sousa *et al*., 2012; Zhong *et al*., 2012). بنابراین نتیجه حاصل از این همزیستی می‌تواند متفاوت باشد. به‌طوری‌که در مواردی پاسخ گیاه به این همزیستی باعث افزایش جذب ماده سمی در بخش هوایی و گاهی باعث افزایش جذب در ریشه و کاهش انتقال آلاینده از ریشه به بخش هوایی می‌گردد (Hancock *et al*., 2012). آندراده و همکاران (Andrade *et al*., 2005) نشان دادند که میزان جذب فلز سنگین کادمیوم در گیاهان همزیست با قارچ میکوریزا بیش از گیاهان غیرهمزیست می‌باشد. غلظت‌های بالای فلزات سنگین در گیاهان همزیست با قارچ می‌تواند ناشی از گسترش نفوذ هیف‌های قارچ به ریشه گیاهان و در نتیجه گسترش سطح جذب و افزایش حجم خاک قابل دسترس گیاه باشد (Yu *et al*., 2004). با این وجود اگرچه غلظت فلزات سنگین در گیاهان همزیست با قارچ بیش‌تر از گیاهان غیرهمزیست بوده، برخی از علائم مسمومیت تنها در گیاهان غیرهمزیست مشاهده می‌گردد که بیانگر محافظت در برابر مسمومیت ناشی از فلزات سنگین در گیاهان ناشی از همزیستی قارچی می‌باشد. تاکنون تأثیر همزیستی میکوریزایی بر جذب عناصر غذایی در گیاهان زراعی مختلف مانند کاهو (Azcon *et al*., 2003)، بادام زمینی (Bhoopander *et al*., 2003)، شبدر قرمز (Bi *et al*., 2003)، سویا (Lopez-Gutiérrez *et al*., 2004) و یونجه (Russo *et al*., 2005) مورد مطالعه قرار گرفته است.

نتایج اغلب تحقیقات از جمله مطالعات زو و همکاران (Zhu *et al*., 2001) و کالوت و همکاران (Calvet *et al*., 2001) نشان دادند که قارچ‌های میکوریزا غلظت روی را در گیاه همزیست افزایش می‌دهد. بنابراین، این پژوهش با هدف به‌کارگیری دو قارچ همزیست *تریکودرما* و *آسپرژیلوس* جهت افزایش آستانه تحمل گیاه گندم نسبت به مصرف سطوح بالاتر ریزمغذی روی و در نتیجه افزایش میزان کودپذیری گیاه گندم نسبت به این عنصر ریزمغذی در گیاهچه گندم طراحی و اجرا شد.

مواد و روش‌ها

این پژوهش در پاییز ۱۳۹۹ به‌صورت فاکتوریل در قالب طرح پایه کاملاً تصادفی با سه تکرارانجام شد. تیمارها شامل چهار سطح از قارچ‌های میکروبی بدون تلقیح و تلقیح با قارچ‌های (*Trichoderma longibragiatum*)، (*Trichoderma harzianum*) و (Aspergillus niger) و شش سطح عنصر روی (صفر، ۰/۶، ۶، ۶۰، ۳۰۰ و ۶۰۰ میلی‌گرم در لیتر) از منبع سولفات روی بود که دو سطح (صفر و ۰/۶ میلی‌گرم در لیتر) روی به‌عنوان سطوح نرمال و سطوح (۶۰، ۳۰۰ و۶۰۰ میلی‌گرم در لیتر) روی به‌عنوان سطوح بالای عنصر روی (تنش‌زا) در محیط در نظر گرفت شد. گونه‌های قارچی براساس نتایج پروهش تقوی و همکاران (TaghaviGhasemkheili *et al*., 2019) انتخاب شدند. در این پژوهش از گندم رقم احسان استفاده شد. این رقم به بیماری‌های زنگ زرد و قهوه‌ای، فوزاریوم سنبله و جوانه‌زنی روی سنبله قبل از برداشت و ریزش دانه مقاوم است (Seed and Plant Breeding Research Institute, 2016). در ابتدا ۵۰ عدد بذر پس از پنج دقیقه ضدعفونی با هیپوکلریت سدیم ده درصد با آب مقطر شست‌وشو و در مرحله بعد پس از تلقیح با قارچ در پتری‌دیش قرار داده شدند. جهت اعمال تیمار قارچی، زیست‌توده زنده قارچ‌ها که شامل میسیلیوم و اسپورهای قارچی بود، توسط کاغذ صافی از محیط کشت جدا شده و با استفاده از محلول آب-توئین ۰/۵ درصد، سوسپانسیونی با غلظت حدود 10^8 واحد کلونی‌ساز در میلی‌لیتر (CFU/ml) تهیه و جهت پیش‌تیمار زیستی بذور استفاده شد. به‌منظور تلقیح گیاه گندم با تیمارهای قارچی، بذور گندم در سوسپانسیون‌های تهیه‌شده، غوطه‌ور و به‌مدت چهار ساعت روی شیکر با سرعت ۸۰ دور در دقیقه قرار داده شد (Waller *et al*., 2005). سپس به‌مقدار ده میلی‌لیتر از محلول سولفات روی با غلظت‌های مشخص برای هر تیمار به‌داخل هر پتری‌دیش اضافه و برای تیمار شاهد از آب مقطر استفاده شد. پتری‌دیش‌ها به‌مدت ده روز در ژرمیناتور با دمای ثابت ۲۵ درجه سلسیوس نگه‌داری شده و تعداد بذرهای جوانه‌زده به‌صورت روزانه شمارش شد. پس از ده روز نمونه‌برداری برای اندازه‌گیری صفات بیوشیمیایی صورت پذیرفت. پس از نمونه‌برداری برای صفات بیوشیمیایی و آنزیمی، صفات مورفولوژیک گیاهچه‌های باقیمانده شامل طول ساقه‌چه و ریشه‌چه و هم‌چنین وزن تر و خشک اندام‌های رویشی شامل ساقه‌چه و ریشه‌چه اندازه‌گیری گردید. جهت تعیین وزن خشک، نمونه‌ها به‌مدت ۷۲ ساعت در آون و در دمای ۷۰ درجه سلسیوس قرار گرفت. سرعت جوانه‌زنی (Maguire, 1962) و شاخص بنیه بذر (Vashisth and Nagarajan, 2010) به‌کمک روابط ۱ و ۲ محاسبه شدند:

$$ER = \Sigma(n/d) \quad \text{(رابطه ۱)}$$

که در این رابطه، ER سرعت جوانه‌زنی، n تعداد بذرهای جوانه‌زده در مدت d روز می‌باشد.

$$SVI = L \times GP \quad \text{(رابطه ۲)}$$

که در این رابطه SVI شاخص بنیه بذر، GP درصد جوانه‌زنی و L طول گیاهچه است.

سنجش فعالیت آنزیمی در گیاهچه

سنجش فعالیت آنزیم سوپراکسید دیسموتاز (SOD[1]) ساقه‌چه براساس روش بیوچامپ و فریدویچ (Beauchamp and Fridovich, 1971) انجام شد. محلول واکنش در حجم نهایی شامل ۸۳۵ میکرولیتر بافر فسفات‌سدیم ۵۰ میلی‌مولار (pH=8)، ۳۳ میکرولیتر نیتروبلوتترازولیوم ۰/۷۵ میلی‌مولار، ۳۳ میکرولیتر ریبوفلاوین و ۳۳ میکرولیتر عصاره آنزیمی بود. تغییرات جذب محلول واکنش نسبت به شاهد در طول‌موج ۵۶۰ نانومتر اندازه‌گیری شد.

اندازه‌گیری محتوای مالون‌دی‌آلدئید در گیاهچه

پراکسیداسیون لیپیدی غشاء بر اساس محتوای مالون‌دی‌آلدئید (Malondialdehyde=MDA) تولیدی

[1]Superoxide dismutase

و روش استوارت و بولی (Stewart and Bewley, 1980) اندازه‌گیری شد. برای این منظور حدود (۰/۵ گرم) از ساقه‌چه در ده میلی‌لیتر از محلول (۰/۱ درصد) تری‌کلرواستیک اسید هموژن و به‌مدت ده دقیقه در ۱۵۰۰۰×g سانتریفیوژ گردید. دو میلی‌لیتر از سوپرناتانت حاصل با چهار میلی‌لیتر از محلول (۲۰ درصد) تری‌کلرواستیک‌اسید محتوی (۰/۵ درصد) تیوباربیتوریک اسید مخلوط شد. کمپلکس حاصل به‌مدت ۳۰ دقیقه در دمای ۹۵ درجه سلسیوس نگه‌داری و سپس به حمام آب سرد منتقل شد. نمونه‌ها مجدداً به‌مدت ده دقیقه در ۱۰۰۰۰×g سانتریفیوژ و جذب نمونه‌ها در طول موج ۵۳۳ و ۶۰۰ نانومتر اندازه‌گیری شد. میزان پراکسید شدن لیپیدها از اختلاف بین طول‌موج‌های جذبی در ضریب خاموشی (۱۵۵ $Mm^{-1}cm^{-1}$) به‌دست آمد.

اندازه‌گیری پروتئین در گیاهچه

محتوای پروتئین موجود از نمونه‌های آنزیمی استخراج شده به‌روش برادفورد (Bradford, 1976) اندازه‌گیری شد. کمپلکس واکنش شامل ۱۰۰ میکرولیتر محلول آنزیمی استخراج شده، ۲۰۰ میکرولیتر معرف برادفورد و ۷۰۰ میکرولیتر آب دیونیزه بود. دو دقیقه پس از تشکیل کمپلکس فوق، معرف برادفورد حداکثر ترکیب را با اسیدهای آمینه آروماتیک نظیر آرژنین از خود نشان می‌دهد.

اندازه‌گیری پرولین در گیاهچه

برای استخراج و سنجش پرولین از روش بیتس و همکاران (Bates *et al*., 1973) استفاده گردید. به‌این منظور ۰/۲ گرم از بافت برگ در دو میلی‌لیتر اسید سولفوسالیسیلیک سه درصد (w/v) کاملاً ساییده و همگن شد. پس از سانتریفیوژ در ۵۰۰۰×g به‌مدت ده دقیقه، یک میلی‌لیتر از محلول بالایی با یک میلی‌لیتر از معرف نین‌هیدرین و یک میلی‌لیتر اسیداستیک گلاسیال مخلوط و به‌مدت یک ساعت در حمام آب ۱۰۰ درجه سلسیوس قرار گرفت. مخلوط واکنش با دو میلی‌لیتر تولوئن جدا و در طول‌موج ۵۲۰ نانومتر خوانده شد. در نهایت با استفاده از منحنی استاندارد، مقدار پرولین بر اساس (میکرومول پرولین در گرم) وزن تر برگ محاسبه گردید. در نهایت نرمال‌بودن داده‌ها با روش کولموگروف-اسمیرنف بررسی شده و سپس با استفاده از نرم‌افزار SAS نسخه ۹/۴ مورد تجزیه قرار گرفتند. میانگین داده‌ها نیز به کمک آزمون LSD با یکدیگر مقایسه شدند.

نتایج و بحث

نتایج تجزیه واریانس بر شاخص‌های جوانه‌زنی گندم نشان داد که اثر متقابل دو عامل عنصر روی و همزیستی قارچی بر تمامی شاخص‌های جوانه‌زنی به‌جز درصد جوانه‌زنی در سطح یک درصد معنی‌دار بود.

جدول ۱- تجزیه واریانس (میانگین مربعات) اثر تیمارهای آزمایش بر شاخص‌های جوانه‌زنی گندم

Table 1. Analysis of variances (Mean squares) of experimental treatments effects on germination indices of wheat

منابع تغییرات S.O.V	درجه آزادی df	طول ساقه‌چه Pedicellength سانتی‌متر(cm)	طول ریشه‌چه Radicle length سانتی‌متر(cm)	وزن خشک Dry weight: ساقه‌چه Pedicel (گرم در بوته)	وزن خشک Dry weight: ریشه‌چه Radicle (گرم در بوته)	درصد جوانه‌زنی Germinetion percentage	بنیه بذر Vigor seed
		(cm) سانتی‌متر		(گرم در بوته)			
روی Zinc	5	130.59**	119.55**	0.0017**	0.0001**	54.80**	423.582**
قارچ Fungi	3	116.32**	69.04**	0.0016**	0.0003**	30.444ns	352.832**
روی× قارچ Z×F	15	1.62**	4.03**	0.00007**	0.00006**	23.866ns	8.944**
خطا Error	48	0.63	0.33	0.0008	0.00003	15.389	3.450
ضریب تغییرات(%) CV		7.64	8.99	9.4	15.6	4.15	11.62

ns، * و **به‌ترتیب عدم معنی‌داری، معنی‌داری در سطح احتمال پنج و یک درصد می‌باشد

Non-significant, *and ** Significant at α= 0.05 and α= 0.01, respectively

هم‌چنین نتایج حاکی از اثرگذاری معنی‌دار همزیستی قارچی بر شاخص درصد جوانه‌زنی گندم در سطح احتمال یک درصد (P>۰/۰۱) بود (جدول ۱). با توجه به (جدول ۲) با افزایش غلظت عنصر روی تا غلظت ۰/۶ میلی‌گرم در لیتر طول ساقه‌چه ابتدا افزایش یافت. با این وجود این افزایش نسبت به گیاهان رشد یافته در سطح صفر اختلاف

معنی‌داری نشان نداد، از طرفی با بالا رفتن سطح غلظت روی میزان این پارامتر با کاهش همراه بود، به‌طوری‌که طول ساقه‌چه‌های گندم در سطح ۶۰۰ میلی‌گرم حدود ۷۵ درصد نسبت به سطح صفر کاهش یافت. تحقیقات حاکی از آن است که، تجمع عنصر روی مانع ذخیره‌سازی آب در واکوئل‌ها شده (Kozhevnikova *et al*., 2014) و به‌همین علت بیش‌بود این عنصر، رشد کل گیاهچه را کاهش می‌دهد.

نکته قابل توجه در مورد تیمار تلقیح بذرها با قارچ‌های (*T. longibragiatum*)، (*T. harzianum*) و (*A. niger*) بود. به‌طوری‌که، همزیستی گیاه گندم با قارچ‌های میکوریزا مذکور منجر به افزایش وزن خشک ساقه‌چه و ریشه‌چه تحت هر دو شرایط کمبود و بیش‌بود عنصر روی در خاک شد. در همین راستا، Nguyen و همکاران (Nguyen *et al*., 2019) افزایش زیست‌توده را در گیاهان یونجه همزیست با قارچ میکوریزا تحت شرایط کمبود و بیش‌بود عنصر روی گزارش نمودند. این نتایج نقش دوگانه قارچ‌های میکوریزرا در بهبود تنش روی در گیاه میزبان را برجسته می‌سازد (Chen *et al*., 2003; Watts-Williams *et al*., 2017). لیو و همکاران (Liu *et al*., 2000) این واکنش مثبت توسط همزیستی میکوریزا را در شرایط کمبود عنصر روی در خاک به افزایش جذب یون‌های کم‌تحرک خاک از قبیل فسفر، پتاسیم، کلسیم، منیزیم، گوگرد، آهن، روی، مس و منگنز توسط قارچ میکوریزا و انتقال آن به گیاه میزبان نسبت داده‌اند.

مطالعات (Kacprzak and Malina, 2005) نیز نشان داد که افزودن عنصر روی بر رشد قارچ *تریکودرم* تأثیر منفی نداشته و علاوه بر آن قارچ مذکور قادر به انباشت مقادیر بسیار بالای این عنصر می‌باشد. واله و همکاران (Vale *et al*., 2011) مشاهده کردند که جوانه‌زنی اسپور در (*A. niger*) زمانی‌که در یک دوره ۲۴ ساعته در معرض ۲۰ و ۵۰ میلی‌گرم در لیتر روی قرار گرفتند، مهار نشد. در مقابل، سرعت جوانه‌زنی در مقایسه با شاهد بیش‌تر بود که منجر به رشد هیف و در نتیجه تشکیل میسلیوم شد. از آن‌جایی‌که روی یک عنصر ضروری برای متابولیسم قارچ است (Gadd *et al*., 2011)، باید برای فعالیت‌های جوانه‌زنی استفاده شده باشد، که ممکن است باعث توسعه بیش‌تر هاگ‌ها در مرحله اولیه جوانه‌زنی شود. از طرفی قرارگرفتن مداوم در معرض روی، به‌عنوان یک نتیجه از مهار در فاز اسپورزایی، جوانه‌زنی را کند کرد، اما مرحله رشدی به‌طور کامل متوقف نمی‌گردد (Vale *et al*., 2011).

اثر مثبت همزیستی قارچ بر رشد رویشی گیاه با نتایج یعقوبیان و همکاران (Yaghoubian *et al*., 2012) هم‌خوانی دارد. چادهاری و همکاران (Chaudhary *et al*., 2007) نیز نشان دادند که تلقیح گیاهان با ریزجانداران خاک می‌تواند رشد گیاه را بهبود بخشد. گراول و همکاران (Gravel *et al*., 2007) نیز بیان داشتند که افزایش رشد در گیاه گوجه‌فرنگی تلقیح شده با *تریکودرما* به‌واسطه تولید هورمون‌های رشدی هم‌چون ایندول‌استیک‌اسید می‌باشد. علاوه‌بر آن، میزان بهره‌وری از عنصر روی در زمان همزیستی گیاهان با قارچ (*T. harzianum*) تا سطوح ۶ و ۶۰ میلی‌گرم در لیتر روی به‌ترتیب ۵۵ و ۳۷ درصد نسبت به گیاهان همزیست در این سطوح تیماری افزایش یافت (جدول ۲).

گونه‌های *تریکودرما* می‌تواند مقدار pH گیاهان را در خاک ریزوسفر تغییر دهد و اسیدهای آلی ترشح کند تا مواد معدنی مانند عناصر کمیاب (آهن، منگنز و روی) را تجزیه و موادمغذی خاک را فعال کند، در نتیجه جذب مواد مغذی را در گیاهان افزایش دهد (Pelagio-Flores *et al*., 2017).

از لحاظ طول ریشه‌چه نیز همانند طول ساقه‌چه تلقیح بذور گندم با تیمارهای قارچی موجب افزایش بهره‌وری بیش‌تر از عنصر روی گردید، به‌طوری‌که بیش‌ترین طول ریشه‌چه گیاهچه‌های گندم در شرایط تلقیح با قارچ (*T. longibrachiatum*) در غلظت ۶ میلی‌گرم در لیتر (بیش از ۲ برابر نسبت به شاهد در همین سطح از غلظت عنصر) به‌دست آمد (جدول ۲). نتایج این تحقیق با مطالعات ژنگ و همکاران (Zheng *et al*., 2004) در رابطه با گیاه ذرت مطابقت دارد. یدیا و همکاران (Yeidia *et al*., 2001) نیز با به‌کارگیری جدایه (*T .harzianum*) افزایش طول ریشه در گیاه خیار را نسبت به گیاهان شاهد مشاهده نمودند. اثرات مثبت همزیستی قارچی در رشد رویشی گیاه می‌تواند با جذب بالای عناصر غذایی کم‌تحرک از جمله روی، افزایش جذب آب به‌وسیله هیف‌های قارچی و نیز افزایش تراکم و طول ریشه گیاه مرتبط باشد. در همین راستا، هارمن (Harman, 2000) بیان نمود که جدایه‌های

تریکودرما با تقویت سیستم ریشه، احتمالاً از طریق تولید یا کنترل هورمون‌های گیاهی، بر رشد گیاه تأثیر می‌گذارند (Kleifield and Chet, 1992). این فرضیه در تحقیق حاضر با بهبود مورفولوژی ریشه (افزایش طول ریشه‌چه) در شرایط همزیستی گیاهچه‌های گندم با قارچ‌های *تریکودرما* و *آسپرژیلوس* مورد تأیید قرار گرفت. افزایش سطح کل ریشه پس از تلقیح با قارچ‌های مذکور احتمالاً ریشه‌ها را قادر می‌سازد تا در حجم بیش‌تری از خاک توسعه‌یافته و در نتیجه دسترسی به عنصر روی و سایر مواد معدنی از خاک را افزایش دهند. این حالت ممکن است در طول رقابت برای مواد مغذی با یا موجودات دیگر از اهمیت بالایی برخوردار باشد.

در خصوص کاهش رشد ریشه در غلظت زیاد روی باید اظهار داشت که این امر می‌تواند به‌دلایل مختلفی صورت پذیرد. به‌طور مثال، حساسیت زیاد مریستم انتهایی ریشه به فلزات سنگین، تجمع فلزات در ریشه و در نتیجه تقسیم سلولی غیرطبیعی و ممانعت از سنتز پروتئین، تغییر در مورفولوژی ریشه از قبیل ممانعت از توسعه و افزایش تشکیل ریشه جانبی، در مطالعات مختلف علت کاهش رشد ریشه با کاربرد فلزات سنگین ذکر گردیده است (Mahdavian *et al*., 2016; Zoqi and Doosti, 2019).

در بررسی شاخص بنیه بذر، بیش‌ترین میزان این شاخص در شرایط تلقیح میکوریزایی مشاهده گردید. به‌طوری‌که میزان شاخص بنیه بذر در شرایط تلقیح با قارچ (*T. longibrachiatum*) و (*A. Niger*) در سطح ۰/۶ (به‌ترتیب حدود ۶۳ و ۶۴ درصد) و در شرایط تلقیح با قارچ (*T. Harzianum*) در سطح ۶ میلی‌گرم در لیتر از عنصر روی (بیش از یک برابر) نسبت به شرایط عدم تلقیح در همین سطح از عنصر افزایش یافت. به‌نظر می‌رسد ترشحات قارچ *تریکودرما* حاوی عوامل تنظیم‌کننده رشد بوده که موجب افزایش جوانه‌زنی بذرها و رشد گیاه و هم‌چنین جذب بیش‌تر مواد غذایی می‌گردد (Chacon *et al*., 2007).

گونه‌های مختلف قارچ *تریکودرما* از سازوکارهای متنوعی مانند کاهش تولید اتیلن از طریق کاهش پیش‌ماده ۱-آمینوسیکلوپروپان-۱-کربوکسیلاسید(ACC[۲]) (Gravel *et al*., 2007)، تولید اکسین (Contreras-Cornejo *et al*., 2009) و رقابت موفق (Harman, 2006) برای افزایش عوامل رشدی گیاه بهره می‌برند.

بر اساس یافته‌ها، تمامی گیاهان همزیست با جدایه‌های قارچی وزن خشک ساقه‌چه و ریشه‌چه بیش‌تری از گیاهان شاهد در تمامی سطوح عنصر روی داشتند. در ارتباط با تأثیر عنصر روی بر وزن خشک ساقه‌چه (جدول ۲) میانگین شاخص مذکور افزایش حدود ۱۹ درصدی را در سطح ۰/۶ میلی‌گرم روی در لیتر نشان داد و با افزایش بیش‌تر روی از میزان وزن خشک ساقه‌چه کاسته شد، با این وجود این کاهش تنها در سطوح ۳۰۰ و ۶۰۰ میلی‌گرم روی در لیتر نسبت به غلظت صفر عنصر روی معنی‌دار بود. به‌نظر می‌رسد تأثیر مثبت عناصر کم‌مصرف مانند روی بر عملکرد ماده خشک اندام هوایی به‌دلیل افزایش بیوسنتز اکسین، افزایش غلظت کلروفیل، افزایش فعالیت فسفواینول‌پیروات‌کربوکسیلازوریبولوزبیس‌فسفات‌کربوکسی لاز و افزایش کارآیی جذب عناصر کم‌مصرف و پرمصرف در حضور غلظت‌های پایین این عناصر باشد (Hafeez *et al*., 2013).

با این‌حال، در صورت کاربرد آن‌ها به‌میزان بیش از نیاز گیاه همانند فلزات سنگین می‌توانند تعادل عناصر غذایی و فرآیندهای فیزیولوژیک و بیوشیمیایی مختلف را تحت تأثیر قرار داده و در نتیجه عملکرد ماده خشک گیاه را کاهش دهند. نتایج این تحقیق با یافته‌های زهتاب‌سلماسی و همکاران (Zehtab-Salmasi *et al*., 2008) در گیاه نعناع مطابقت دارد.

بر اساس نتایج (جدول ۲) کاربرد عنصر روی تا غلظت شش میلی‌گرم روی در لیتر، تأثیر معنی‌داری بر میانگین وزن خشک ریشه‌چه نداشته است، با این وجود کاربرد سطوح بالاتر روی (۶۰، ۳۰۰ و ۶۰۰ میلی‌گرم در لیتر) باعث کاهش وزن خشک ریشه‌چه گردید،که این کاهش تنها در سطح ۶۰۰ میلی‌گرم روی در لیتر نسبت به شاهد (حدود ۳۶ درصد) دارای اختلاف معنی‌دار بود. از طرفی نتایج نشان داد که بیش‌ترین میزان وزن خشک ساقه‌چه از سطح صفر تا شش و بیش‌ترین میزان وزن خشک ریشه‌چه از سطح صفر تا ۶۰ میلی‌گرم در لیتر روی در گیاهان همزیست با

[2] 1-Aminocyclopropane-1-carboxylic acid

قارچ (*T. longibrachiatum*) و در سطوح بالاتر عنصر روی در گیاهان همزیست شده با هر یک از جدایه‌های *تریکودرما* مشاهده شد (جدول ۲).

رونقی و همکاران (Ronaghi *et al*, 2002) نیز اظهار داشتند که با مصرف پنج میکروگرم روی در گرم خاک میانگین وزن خشک ذرت نسبت به شاهد به‌طور معنی‌داری بیش‌تر شد. در پژوهش مشابه دیگری یزدانی و همکاران (Yazdani *et al*., 2008) گزارش کردند که تلقیح قارچ (*T. viride*) سبب افزایش معنی‌داری طول ریشه، وزن ساقه، وزن گیاهچه و تعداد گره در گیاه سویا شده است.

جدول ۲- برهمکنش سطوح عنصر روی و همزیستی قارچی بر شاخص‌های جوانه‌زنی گندم

Table 2. The effect of experimental treatments on wheat germination indices

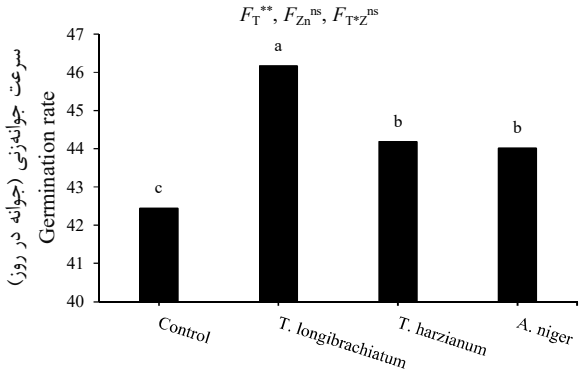
ترکیب تیماری		طول ساقه‌چه	طول ریشه‌چه	وزن خشک Dry weight		
روی Zinc	قارچ Fungi	Pedicel length	Radicle length	ساقه‌چه Pedicel	ریشه‌چه Radicle	بنیه بذر Vigor seed
		سانتی‌متر (Cm)		گرم (gr)		
صفر 0	بدون تلقیح	8.72 f	4.84 h	0.03 hi	0.03 d-h	12.91 de
	T. longibragiatum	13.88 bcd	10.48 ab	0.057 bcd	0.04 ab	20.07 c
	T. harzianum	13.01 de	9.92 a-d	0.05 bcd	0.04 a-d	22.47 abc
	A. niger	12.33 e	8.73 ef	0.05 ef	0.03 d-g	22.42 abc
۰/۶ 0.6	بدون تلقیح	9.61 f	6.44 g	0.04 fg	0.03 d-f	14.59 d
	T. longibragiatum	14.98 ab	10.86 a	0.07 a	0.03 c-f	24.43 a
	T. harzianum	14.06 bcd	9.70 bcd	0.06 abc	0.04 abc	22.49 abc
	A. niger	13.56 cde	9.64 b-e	0.05 ef	0.04 a-d	24.61 a
۶ 6	بدون تلقیح	6.94 g	3.43 ij	0.03 ig	0.03 e-f	9.68 f
	T. longibragiatum	14.14 bcd	10.84 a	0.06 ab	0.03 d-g	21.28 b
	T. harzianum	15.48 a	10.18 abc	0.06 a	0.04 a-d	22.32 ab
	A. niger	12.92 de	9.38 cde	0.06 abc	0.04 a	23.49 ab
۶۰ 60	بدون تلقیح	9.03 f	3.66 i	0.03 ij	0.03 fgh	10.44 ef
	T. longibragiatum	13.26 cde	9.21 def	0.05 cde	0.03 e-h	20.09 c
	T. harzianum	14.41 abc	9.14 def	0.05 b-e	0.03 d-g	21.82 abc
	A. niger	13.38 cde	8.29 f	0.05 de	0.04 a-d	22.03 abc
۳۰۰ 300	بدون تلقیح	4.01 i	1.67 lm	0.03 jk	0.03 gh	5.58 g
	T. longibragiatum	9.26 f	2.81 hjk	0.04 gh	0.03 fgh	9.02 f
	T. harzianum	9.65 f	2.39 kl	0.04 gh	0.03 d-h	10.59 ef
	A. niger	6.69 g	2.96 kl	0.03 jk	0.04 cde	11.31 ef
۶۰۰ 600	بدون تلقیح	2.20 j	1.09 m	0.01 l	0.02 i	3.17 g
	T. longibragiatum	6.51 gh	2.54 jkl	0.03 jk	0.03 gh	9.89 ef
	T. harzianum	6.86 g	3.07 jkl	0.03 ij	0.02 h-i	9.26 f
	A. niger	5.21 hi	2.57 jkl	0.02 k	0.03 d-h	8.69 f

در هر ستون میانگین‌های دارای حداقل یک حرف مشترک، اختلاف معنی‌داری در سطح پنج درصد براساس آزمون حداقل تفاوت معنی‌دار (LSD) ندارند.

In each column, the means with at least one common letter do not have a significant difference at the level of five percent based on the least significantdifference (LSD) test.

در بررسی همزیستی قارچی بر سرعت جوانه‌زنی مشاهده گردید که سرعت جوانه‌زنی بذور گندم در تمامی حالات تلقیح بذر نسبت به شاهد بیش‌تر بود و بیش‌ترین میزان این افزایش (حدود ۹ درصد) در شرایط همزیستی با قارچ *T. longibrachiatum* مشاهده شد (شکل ۱). در همین راستا، سهیلا و همکاران (Sheila *et al*., 2011) بیان داشتند که تیمار بذر ذرت با *تریکودرما* به‌طور معنی‌داری سرعت جوانه‌زنی را در بذر افزایش داده است. فاروق و همکاران (Farooq *et al*., 2008) نیز در بررسی پرایمینگ بذرهای برنج با قارچ *تریکودرما* گزارش نمودند که تیمار مذکور باعث بهبود سرعت جوانه‌زنی، یکنواختی جوانه‌زنی، کاهش زمان جوانه‌زنی و استقرار بهتر گیاهچه گردید. چنگ و همکاران (Chang *et al*., 1986) دانه‌های ریشه‌های فلفل، گل داوودی، گوجه‌فرنگی و خیار را با سوسپانسیون کنیدی (*Trichoderma harzianum* T-203) تیمار کردند و دریافتند که سرعت جوانه‌زنی فلفل افزایش یافته‌است. تعداد گل‌های داوودی افزایش و هم‌چنین ارتفاع بوته و وزن تر همه این گیاهان افزایش یافت. علاوه بر آن وزن خشک میوه‌های گوجه‌فرنگی، خیار و فلفل نیز افزایش

معنی‌داری داشت. در طول تعامل بین (*Trichoderma harzianum*)، (*Trichoderma virens*) و گیاه (*Arabidopsis thaliana*)، محتوای اسیدجاسمونیک و اسیدسالیسیلیک و تعداد ریشه‌های جانبی به‌طور قابل توجهی افزایش یافت (Contreras-Cornejo *et al*., 2017). خان و همکاران (Khan *et al*., 2017) نشان دادند که گونه‌های *تریکودرما* می‌تواند به‌طور قابل توجهی تجزیه و جذب فسفر، پتاسیم، کلسیم، منیزیم، مس، آهن، منگنز و روی را در کودها بهبود بخشد.



شکل ۱- اثر عنصر روی بر سرعت جوانه‌زنی (الف) در گندم. F (عامل)،T (قارچ) و Z (روی). ns،* و ** (به‌ترتیب عدم معنی‌داری و معنی‌داری در سطح پنج و یک درصد)

Figure 1. Effect of zinc on germination rate (a) of wheat. F (Factor), T (Fungi) and Z (Zinc). ns, * and ** (lack of significance and significance at the level of 5 and 1%, respectively)

جدول ۳- تجزیه واریانس (میانگین مربعات) اثر تیمارهای آزمایش بر شاخص‌های بیوشیمیایی و آنزیمی در گندم

Table 3. Analysis of variance (mean squares) The effect of experimental treatments on physiological and enzymatic parameters in wheat

منابع تغییرات S.O.V	درجه آزادی df	پروتئین Protein	پرولین Proline	سوپراکسیددیسموتاز Superoxide dismutas	مالون‌دی‌آلدئید Malondialdehyde
روی Zinc	5	2.42 ns	4.46**	0.05 ns	1873**
قارچ Fungi	3	92.17**	2.08**	0.59**	7017**
روی×قارچ Z×F	15	20.58**	0.42**	0.09**	256*
خطا Error (E)	48	4.18	0.20	0.35	113
ضریب تغییرات CV (%)		12.91	9.15	14.74	9.32

ns، * و **به‌ترتیب عدم معنی‌داری، معنی‌داری در سطح احتمال پنج و یک درصد می‌باشد

ns; Non-significant, *and **: Significant at α= 0.05 and α= 0.01, respectively

تجزیه واریانس داده‌های حاصل از اندازه‌گیری صفات بیوشیمیایی و آنزیمی نشان داد (جدول ۳) که اثر ساده عنصر روی بر محتوای پرولین و مالون‌دی‌آلدئید و اثر ساده تیمارهای قارچی بر تمامی مذکوردر سطح احتمال یک درصد (P<۰/۰۱) معنی‌دار بود. هم‌چنین، برهم‌کنش عنصر روی و قارچ بر محتوای پروتئین، پرولین و فعالیت آنزیم سوپراکسید دیسموتاز در سطح احتمال یک درصد (P<۰/۰۱) و بر محتوای مالون‌دی‌آلدئید در سطح احتمال پنج درصد (P<۰/۰۵) معنی‌داری گردید. با توجه به (جدول ۴)، بیش‌ترین محتوای (MDA) در تیمار عدم تلقیح قارچی در بالاترین سطح کاربردی عنصر روی (۶۰۰ میلی‌گرم در لیتر روی) مشاهده شد که نسبت به سطح صفر در همان شرایط تیماری حدود ۱۵ درصدبیش‌تر بود. در همین راستا، Stratu و همکاران (Stratu *et al*., 2014) در پژوهشی در گیاه مریم‌گلی بیان داشتند که غلظت‌های بیش‌تر از ۳۰۰ میلی‌گرم در لیتر از عنصر روی موجب ایجاد سمیت در گیاه می‌شود. این در حالی است که بر اساس نتایج به‌دست آمده همزیستی با قارچ‌های *تریکودرما* و به‌ویژه قارچ *آسپرژیلوس* موجب کاهش میزان پراکسیداسیون لیپیدی غشاء در تمامی سطوح کاربردی عنصر روی گردید.

لو و همکاران (Liua *et al*., 2020) نیز کاهش (MDA) را در شرایط همزیستی (*Syringa oblate*) با دو گونه قارچ *تریکودرما* گزارش نمودند. با توجه به نتایج به‌دست آمده، تصور می‌شود که *تریکودرما* و گیاهان از یک محیط زندگی مشترک برخوردارند که در طی فرایند تکامل یک سیستم همزیستی تشکیل داده‌اند.

در پژوهش حاضر، مقدار پرولین گیاهچه گندم با افزایش سطح عنصر روی، افزایش معنی‌داری نسبت به گیاهان شاهد نشان داد.

جدول ۴- مقایسه میانگین برهمکنش سطوح عنصر روی و همزیستی قارچی بر شاخص‌های بیوشیمیایی و آنزیمی در گندم

Table 4. Comparison of mean interaction of zinc levels and fungal symbiosis on physiological and enzymatic parameters in wheat

ترکیب تیماری		محتوای مالون‌دی‌آلدئید (نانومول بر گرم وزن تر) Malondialdehyde (nm/gr)	محتوای پرولین (میلی‌گرم بر گرم وزن خشک) Proline (mg/gr)	محتوای پروتئین (میلی‌گرم بر گرم وزن تر) Protein((mg/gr fw)	فعالیت سوپراکسید دیسموتاز (واحد آنزیمی بر میلی گرم وزن‌تر) Superoxide dismutase ($u\,(g.fw)^{-1}$)
روی Z inc	قارچ Fungi				
صفر 0	بدون تلقیح	141/05 bcd	0.65 j	13.63 g-j	1.17 c-i
	T. longibragiatum	106.04 f-j	0.94 bij	18.19 bcd	1.01 hij
	T. harzianum	117.80 efg	0.96 g-j	17.83 b-e	1.67 a
	A. niger	90.10 i-m	1.89 cd	14.22 g-j	1.28 c-h
۰/۶ 0.6	بدون تلقیح	129.60 cde	0.68 j	15.47 d-h	1.07 f-i
	T. longibragiatum	97.10 i-m	1.25 f-i	17.81 b-e	1.13 d-i
	T. harzianum	103.30 f-k	0.88 i-j	13.89 g-i	1.43 a-d
	A. niger	94.20 i-m	1.41 d-g	13.44 g-j	1.36 a-g
۶ 6	بدون تلقیح	144.90 bc	1.06 fj	14.42 f-i	1.10 d-i
	T. longibragiatum	88.09 klm	0.96 g-j	19.21 abc	1.38 a-e
	T. harzianum	99.70 h-l	0.78 ij	16.37 c-g	1.47 abc
	A. niger	85.70 lm	1.86 cde	13.94 g-j	1.29 b-h
۶۰ 60	بدون تلقیح	127.10 de	0.73 j	19.78 ab	0.93 ij
	T. longibragiatum	103.30 f-k	1.2 f-i	18.68 bc	1.59 ab
	T. harzianum	101.20 lm	0.84 ij	10.45 k	1.40 a-e
	A. niger	81.80 m	1.42 d-j	12.8 2 h-k	1.39 a-e
۳۰۰ 300	بدون تلقیح	148.50 ab	1.53 def	22.17 a	1.06 ghi
	T. longibragiatum	133.33 b-e	1.75 cde	17.21 b-f	1.61 a
	T. harzianum	101.10 h-l	2.1 bc	11.36 jk	1.37 a-f
	A. niger	108.50 f-i	0.84 bc	14. 98 e-i	1.15 d-i
۶۰۰ 600	بدون تلقیح	162.50 a	2.4 b	19.00 bc	0.75 j
	T. longibragiatum	141.80 bcd	1.51 def	17.47 b-e	1.43 a-d
	T. harzianum	118.60 ef	3.36 a	12.31 k	1.25 c-h
	A. niger	116.80 e-h	2.97 a	15.09 e-i	1.16 c-i

در هر ستون میانگین‌های دارای حداقل یک حرف مشترک، اختلاف معنی‌داری در سطح پنج درصد براساس آزمون حداقل تفاوت معنی‌دار (LSD) ندارند.

In each column, the means with at least one common letter do not have a significant difference at the level of five percent based on the least significant difference (LSD) test.

ویسنی و همکاران (Weisany *et al*., 2012) در نتایجی مشابه تجمع پرولین را با افزایش تنش شوری در گیاه سویا (*Glycine max* L.) نسبت به گیاهان شاهد گزارش نمودند. به‌عبارتی سلول با سنتز و تجمع ترکیبات تنظیم‌کننده اسمزی به تنش شوری پاسخ می‌دهد. تجمع پرولین در شوری‌های بالا ممکن است به‌خاطر کاهش اکسیداسیون پرولین یا تحریک سنتز آن از گلوتامات یا افزایش فعالیت آنزیم پروتئاز باشد (Askari *et al.,* 2014). گیاهان تلقیح‌شده با قارچ (*T. harzianum*) در بالاترین سطح عنصر روی از بیش‌ترین محتوای پرولین (افزایش چهار برابری نسبت به شاهد) برخوردار بود، در حالی‌که با تیمار (*A. niger*) از لحاظ آماری اختلاف معنی‌داری نداشت. این درحالی‌است که در سایر سطوح عنصر روی، حضور (*A. niger*) توانسته تأثیر بسیار معنی‌داری در افزایش محتوای پرولین ساقه‌چه گندم نسبت به سایر تیمارهای قارچی داشته باشد. سطح آنتی‌اکسیدان در گیاه با اندازه‌گیری فعالیت‌های SOD آنالیز شد. در مفهوم گسترده و همان‌طور که انتظار می‌رفت، *تریکودرما* نسبت به تیمار شاهد و قارچ (*A. niger*) فعالیت آنتی‌اکسیدانی SOD را در گیاهان به‌میزان بیش‌تری افزایش داد (جدول ۵). بر این اساس در سطح صفر تا ۶۰ میلی‌گرم در لیتر روی، تیمار (*T. harzianum*) از بیش‌ترین فعالیت آنزیم SOD در ساقه‌چه گندم برخوردار بود. هم‌چنین در سطوح بالاتر تا

سطح ۶۰۰ میلی‌گرم در لیتر، حضور قارچ (*T. longibrachiatum*) توانسته تأثیر بسیار معنی‌داری در افزایش فعالیت آنزیم مذکور نسبت به سایر تیمارهای قارچی داشته باشد. این نتایج با نتایج گزارش شده در گیاهان گوجه‌فرنگی تحت شرایط تنش یا تلقیح شده با *تریکودرما* مطابقت دارد (Mastouri *et al*., 2012; Aamir *et al*., 2019).

Illescas و همکاران (Illescas *et al*., 2021) نیز در بررسی اثرات چهار سویه *تریکودرما* بر فعالیت آنزیم SOD در گیاه گندم به نتایج مشابهی دست یافتند. در بررسی محتوای پروتئین گیاهچه گندم مشاهده گردید که بیش‌ترین محتوای پروتئین در ساقه‌چه گندم در تیمار عدم حضور قارچ و سطح ۳۰۰ میلی‌لیتر روی (۶۲ درصد افزایش نسبت به تیمار شاهد) مشاهده شد،که با سطح ۶۰ میلی‌گرم در لیتر عنصر روی در یک گروه آماری قرار داشتند. افزایش محتوای پروتئین می‌تواند به‌علت افزایش مصرف عناصر و در نتیجه استفاده مناسب‌تر گیاه از نیتروژن و جذب و انتقال آن به اندام‌های هوایی و در نتیجه سنتز پروتئین باشد (Bellaloui *et al*., 2011).

با توجه به نتایج آزمایش می‌توان گفت همبستگی منفی فعالیت آنزیم سوپراکسید دیسموتاز با غلظت مالون‌دی‌آلدئید موجب افزایش رشد گیاهچه گندم گردیده است. در همین راستا، زمانی و همکاران (Zamani *et al*., 2010) بیان نمودند که زوال بذرهای گلرنگ به‌علت کاهش فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی موجب افزایش پراکسیداسیون لیپیدها شده و در نتیجه کاهش توان جوانه‌زنی و رشد گیاهچه‌های گلرنگ را به‌دنبال داشت. علاوه‌بر آن، همبستگی مثبتی بین طول و وزن خشک ساقه‌چه با فعالیت آنزیم سوپراکسید دیسموتاز مشاهده شد. در مقایسه، این همبستگی بین شاخص‌های رشدی گیاهچه و فعالیت سوپراکسید دیسموتاز با غلظت مالون‌دی‌آلدئید منفی بود (جدول ۶). در همین راستا، Aktera و همکاران (Aktera *et al*., 2014) نیز در مطالعه‌ای مشابه در بررسی میزان غلظت روی در گیاهان گندم تلقیح شده با جدایه‌های *تریکودرما* بیان داشتند که میزان عنصر مذکور در اندام هوایی گیاهان تلقیح به‌طور قابل توجهی (دو برابر بیش‌تر از محدوده بحرانی) افزایش یافت (Cakmak and Braun, 2001).

جدول۶- ضریب‌های همبستگی بین صفات بیوشیمیایی، آنزیمی و شاخص‌های رشدی گندم (n: 3)

Table 6. Correlation coefficients between biochemical and enzymatic traits and germination parameters in wheat (n: 3)

Traits	MDA (1)	Protein (2)	Proline (3)	SOD (4)	Length		Dry weight		Vigor seed (9)
					Pedicel (5)	Radical (6)	Pedicel (7)	Radical (8)	
1	1	0.39	0.07	-0.44*	-0.80**	-0.74**	-0.75**	-0.67**	-0.82**
2		1	-0.20	-0.24	-0.21	-0.08	-0.13	-0.29	-0.23
3			1	-0.14	-0.54**	-0.52**	-0.52**	-0.37	-0.46*
4				1	0.53**	0.40	0.53**	0.29	0.48*
5					1	0.94**	0.97**	0.70**	0.95**
6						1	0.94**	0.70**	0.97**
7							1	0.68**	0.93**
8								1	0.75**
9									1

* و **به‌ترتیب نشان‌دهنده معنی‌دار بودن در سطح احتمال پنج و یک درصد است. MDA (مالون‌دی‌آلدئید)، Protein (پروتئین)، Proline (پرولین)، SOD (آنزیم سوپراکسید دیسموتاز)، Length (طول)، Pedicel (ساقه‌چه)، Radical (ریشه‌چه)، Dry weight (وزن خشک)،Vigor seed (شاخص بنیه بذر)

*and ** indicate significance at 5 and 1% probability levels, respectively: MDA=malondialdehydeand SOD =superoxide dismutase

محققین دیگر نیز گزارش نمودند که (Trichoderma sp) از توانایی قابل توجهی در افزایش حلالیت روی در محیط‌های کشت و آزمایش گلخانه‌ای برخوردار می‌باشد (Yedidia *et al.,* 2001; Harman *et al.,* 2004). بر اساس گزارش Aktera و همکاران (Aktera *et al.,* 2014) کودهای زیستی هم‌چون *تریکودرما* به‌طور قابل ملاحظه‌ای حلالیت روی در خاک را بهبود بخشیده و موجب افزایش رشد گیاهان می‌شوند که سازوکارهای احتمالی برای افزایش

جذب روی ممکن است با کاهش pH در ریزوسفر (اسیدی-شدن محیط ریزوسفر از طریق آزادسازی آنیون‌های کربوکسیلات همراه با پروتون‌ها) و سطح ریشه ناشی از جدایه‌های *تریکودرما* و *آسپرژیلوس* و یا انتشار ترکیبات متحرک روی مانند فیتوسیدروفورها از ریشه مرتبط باشد (Altomare *et al.,* 1999). مطالعه حاضر تأکید می‌کند که القای افزایش رشد از طریق اثر مستقیم قارچ‌های *تریکودرما* و *آسپرژیلوس* بر رشد ریشه، در کنار سازوکارهای غیرمستقیم ارائه شده تا به امروز، به‌دست می‌آید. با وجود آن‌که سازوکاری که از طریق آن جدایه‌های *تریکودرما* و *آسپرژیلوس* باعث افزایش انحلال مواد مغذی می‌شود نیاز به بررسی بیش‌تر دارد، این مطالعه به‌وضوح بیانگر نقش مستقیم (*T. harzianum*)، (*T. longibrachiatum*) و (*A. niger*) در جذب عنصر روی توسط گیاه در مراحل اولیه همزیستی قارچ-گیاه است.

نتیجه‌گیری کلی

در سال‌های اخیر، تأکید ویژه‌ای بر استفاده از ریزجانداران مفید ریزوسفر برای بهبود رشد گیاه شده است (Liu *et al*., 1995). تاکنون (*Trichoderma* sp.) یکی از مهم‌ترین عوامل کنترل زیستی قارچی مورد مطالعه است و به‌صورت تجاری به‌عنوان آفت‌کش، کود زیستی و اصلاح‌کننده خاک به بازار عرضه می‌شود (Harman, 2000; Harman *et al*., 2004). در آزمایش حاضر اثر کودهای زیستی *تریکودرما* و *آسپرژیلوس* در بهبود رشد گیاهچه‌های گندم در سطوح مختلف عنصر مغذی روی در شرایط آزمایشگاهی مورد بررسی قرار گرفت. نتایج بیانگر افزایش قابل توجه پاسخ‌های رشدی گیاهچه‌های گندم به‌کاربرد کودهای زیستی مورد مطالعه بود. به‌طورکلی نتایج نشان می‌دهد که، تلقیح بذر گندم با قارچ‌های *تریکودرما* و *آسپرژیلوس* توانست با بهبود شاخص‌های جوانه‌زنی، افزایش میزان رشد ساقه‌چه و سطح ریشه، جذب مواد مغذی را در گندم افزایش داده و علاوه‌بر آن موجب بالارفتن میزان آستانه تحمل گیاهچه‌های گندم نسبت به عنصر روی از ۰/۶ به ۶۰ میلی‌گرم در لیتر شود. به نظر می‌رسد. به‌کارگیری این قارچ‌ها با بهبود تحمل گیاه گندم سبب افزایش کودپذیری گیاه نسبت به روی می‌شود. در این بین قارچ *تریکودرما* اثربخشی بهتری در مقایسه با *آسپرژیلوس* داشت. با این وجود، سازوکار دقیق این قارچ‌ها در تعامل با عنصر روی نیازمند پژوهش‌های بیش‌تری است.

تشکر و قدردانی

این مقاله برگرفته از طرح با شماره ۹۸/۴۸۴/پ مصوب پژوهشکده ژنتیک و زیست‌فناوری کشاورزی طبرستان، دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی ساری است که به این‌وسیله به‌خاطر حمایت‌های مالی در انجام این پژوهش سپاس‌گزاری می‌شود.

منابع

Aamir, M., Kashyap, S.P., Zehra, A., Dubey, M.K., Singh, V.K., Ansarii, W.A., Upadhyay, R.S. and Singh, S. 2019. *Trichoderma erinaceum* bio-priming modulates the WRKYs defense programming in tomato against the *Fusarium oxysporum* f. sp. lycopersici (Fol) challenged condition. Frontiers in Plant Science, 10: 911. (**Journal**)

Akter, Z., Neumann, G. and Romheld, V. 2014. Effects of Biofertilizers on Mn and Zn Acquisition and Growth of Higher Plant: a Rhizobox Experiment. Journal of Plant Nutrition, 11(38): 1-26. (**Journal**)

Allowoy, B.J. 1990. Heavy Metals in Soils. Blackie and Son Ltd. Glascow and London.p. 339.Alloway, B.J. 2013. Heavy Metals in Soils: Trace Metals and Metalloids in Soils and their Bioavailability. Springer, London, UK. **(Book)**

Altomare, C., Norvell, W.A., Bjorkman, T. and Harman, G.E. 1999. Solubilization of phosphates and micronutrients by the plant-growth promoting and biocontrol fungus *Trichoderma harzianum* Rifai 1295-22. Applied and Environmental Microbiology, 65: 2926–2933. (**Journal**)

Andrade, S.A.L., Jorge, R.A. and Silveira, A.P.D. 2005. Cadmium effect on the association of jackbean (*Canavalia ensiformis*) and arbuscular mycorrhizal fungi. Agricultural Science, 62: 389-394. (**Journal**)

Arpadjan, S., Celik, G., Taskesen, S. and Gucer, S. 2008. Arsenic, cadmium and lead in medicinal herbs and their fractionation. Food and Cheminal Toxicology, 46: 2871-2875. (**Journal**)

Ashraf, M.R. and Foolad, M. 2005. Pre -sowing seed treatment a shotgun approach to improve germination, plant growth and crop yield of barley (*Hordeum vulgare*) under saline and non -saline conditions Advances in Agronomy, 88: 217-223. (**Journal**)

Askari, M., Amini, F. and Jamali, F. 2014. Effects of zinc on growth, photosynthetic pigments, proline, protein and carbohydrates of tomatoes under salinity stress. Plant Process and Function, 3(9): 45-57. (In Persian) (**Journal**)

Azcon, R., Ambrosano, E. and Charestand, C. 2003. Nutrient acquisition in mycorrhizal lettuce plants under different phosphorus and nitrogen concentration. Plant Science, 165: 1137–1145. (**Journal**)

Bates, L.S., Waldren, R.P. and Teare, I.D. 1973. Rapid determination of free proline for water-stress studies. Plant and Soil, 39(1): 205-207. (**Journal**)

Beauchamp, C. and Fridovich, I. 1971. Superoxide dismutase: Improved assays and an assay applicable to acrylamide gels. Analytical Biochemistry, 44(1): 276-278. (**Journal**)

Bellaloui, N., Ebelhar, M.W., Gillen, A.M., Fisher, D.K., Abbas., H.K., Mengistu, A., Reddy, K.N. and Paris, R.L. 2011. Soybean seed protein, and fatty acids are altered by S and S+N fertilizers under irrigated and no irrigated environments. Agricultural Sciences, 2(4): 465-476. (**Journal**)

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. (**Journal**)

Bhoopander, G., Kapoor, R. and Mukerji, K.G. 2003. Influence of arbuscular mycorrhizal fungi and salinity on growth, biomass and mineral nutrition of *Acacia auriculiformis*. Biology and Fertility of Soils, 38: 170-175. (**Journal**)

Bi, Y.L., Li, X.L. and Christie, A.P. 2003. Influence of early stages of arbuscular mycorrhiza on uptake of zinc and phosphorus by red clover from a low phosphorus soil amended with zinc and phosphorus. Chemosphere, 50:831-837. (**Journal**)

Bolan, N.S. 1991. A critical review on the role of mycorrhizal fungi in the uptake of phosphorus by plants. Plant and Soil, 134: 189-207. (**Journal**)

Bradford, M.M. 1976. A rapid and sensitive method for the quantitative titration of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein-dye binding. Analytical Biochemistry, 72: 248-254. (**Journal**)

Cakmak, I., Yilmaz, A., Kalayci, M., Ekiz, B., Erenoglu, B. and Braun, J. 1996. Zinc deficiency as a critical problem in wheat production in central Anatolia. Plant and Soil, 180: 165-172. (**Journal**)

Cakmak, I. and Braun, H.J. 2001. Genotypic Variation for Zinc Efficiency. In Application of Physiology in Wheat Breeding, eds. Reynolds, M.P., Ortiz-Monasterio, J.I. and McNab, A. 183–199. CIMMYT: Mexico City, Mexico. (**Book**)

Calvet, C., Pinochet, J., Hernandez-Dorrego, A., Estan, V. and Camprubi, A. 2001. Field microplot performance of the peach-almond hybrid GF-677 after inoculation with arbuscular mycorrhizal fungi in a replant soil infested with root-knot nematodes. Mycorrhiza ,10: 295-300. (**Journal**)

Chacon, M.R., Rodriguez-Galan, O., Benitez, T., Sousa, S., Rey, M., Llobell, A. and Delgado-Jarana, J. 2007. Microscopic and transcriptome analyses of early colonization of tomato roots by *Trichoderma harzianum*. International Microbiology, 10: 19-27. (**Journal**)

Chang, Y.C., Chang, Y.C., Baker, R., Kleifeld, O. and Chet, I. 1986. Increased growth of plants in the presence of the biological control agent *Trichodermaharzianum*. Plant Disease, 70: 145-148. (**Journal)**

Chaudhary, V., Kapoor, R. and Bhatnagar, A.K. 2007. Effects of arbuscular mycorrhiza and phosphorus application on artemisinin concentration in *Artemisia annua* L. Mycorrhiza, 17: 581-587. (**Journal**)

Chen, B.D., Li, X.L., Tao, H.Q., Christie, P. and Wong, M.H. 2003. Te role of arbuscular mycorrhiza in zinc uptake by red clover growing in a calcareous soil spiked with various quantities of zinc. Chemosphere, 50: 839-846. (**Journal**)

Contreras-Cornejo, H., Macías-Rodríguez, L.I., Alfaro, C.R., López-Bucio, J. 2014. *Trichoderma* spp. Improve growth of Arabidopsis seedlings under salt stress through enhanced root development, osmolite production, and Na + elimination through root exudates. Molecular Plant-Microbe Interactions, 27: 503-514. (**Journal**)

Contreras-Cornejo, H.A., Macías-Rodríguez, L., Cortés-Penagos, C. and López-Bucio, J. 2009. *Trichoderma virens*, a plant beneficial fungus, enhances biomass production and promotes lateral

root growth through an auxin-dependent mechanism in Arabidopsis. Plant Physiology, 149: 1579-1592. (**Journal**)

Devlin, E. and Witham, A. 2002. Heavy metal tolerance in plants. Plant Physiology, 21: 149-150. (**Journal**)

Farooq, M., Basra, S.M.A., Rehman, H.U. and Hussain, M. 2008. Seed priming with polyamines improves the germination and early seedling growth in fine rice. Journal of New Seeds, 9(2): 145-155. (**Journal**)

Gadd, G.M., Ramsay, L., John, W.C. and Ritz, K. 2011. Nutritional influence on fungal colony growth and biomass distribution in response to toxic metals. Federation of European Microbiological Societies-Microbiology Letters, 204: 311–316. (**Journal**)

Gravel, V., Antoun, V. and Twedell, R.J. 2007. Growth stimulation and fruit yield improvement of greenhouse tomato plant by inoculation with Pseudomonas putida or *Trichoderma atroviride*: possible role of indoleacetic acid (IAA). Soil Biology and Biochemistry, 39: 1968-1977. (**Journal**)

Hafeez, B., Khanif, Y.M. and Saleem, M. 2013. Role of zinc in plant nutrition-a review. American journal of Experimental Agriculture, 3(2): 374-391. (**Journal**)

Hancock, L.M., Ernst, C.L., Charneskie, R. and Ruane, L.G. 2012. Effects of cadmium and mycorrhizal fungi on growth, fitness, and cadmium accumulation in flax (*Linumusitatissimum; Linaceae*). American Journal of Botany, 99: 1445-1452. (**Journal**)

Haneef, I., Faizan, S.H., Perveen, R. and Kausar, S. 2013. Role of arbuscular mycorrhizal fungi on growth and photosynthetic pigments in coriander (*Coriandrum sativum* L.) grown under cadmium stress. World Journal of Agricultural Sciences, 9: 245-250. (**Journal**)

Harman, G.E. 2006. Overview of mechanisms and uses of *Trichoderma* spp. Phytopathology, 96: 190-14. (**Journal**)

Harman, G.E. 2000. Myth and dogmas of biocontrol changes in perceptions derived from research on *Trichoderma harzianum* T-22. Plant Disease, 84: 377–393. (**Journal**)

Harman, G.E., Howell, C.R., Viterbo, A., Chet, I. and Lorito, M. 2004. *Trichoderma* species opportunistic, avirulent plant symbionts. Nature Review, 2: 43–56. (**Journal**)

Illescas, M., Pedrero-Méndez, A., Pitorini-Bovolini, M., Hermosa, R. and Monte, E. 2021. Phytohormone Production Profiles in *Trichoderma* Species and Their Relationship to Wheat Plant Responses to Water Stress. Pathogens, 10: 1-18. (**Journal**)

Jeffries, P., Gianinazzi, S. and Perotto, S. 2003. The contribution of arbuscular mycorrhizal fungi in sustainable maintenance of plant health and soil fertility. Biology and Fertility of Soils, 37: 1-16. (**Journal**)

Kacprzak, M. and Malina, G. 2005. The tolerance and Zn^{2+}, Ba^{2+} and Fe^{3+} accumulation by *Trichoderma atroviride* and Mortierellaexigua isolated from contaminated soil. Canadian Journal of Soil Science, 85(2): 283-290. (**Journal**)

Karaj: Seed and Plant Breeding Research Institute. 2016. Report on the release and naming of the new wheat cultivar Ehsan N-87-20 for cultivation in hot and humid climates in the north of the country, 30 pp.http://fipak.areeo.ac.ir/site/catalogue/18832604

Khan, M.Y., Haque, M.M., Molla, A.H., Rahman, M. and Alam, M.Z. 2017. Antioxidant compounds and minerals in tomatoes by, Trichoderma-enriched biofertilizer and their relationship with the soil environments. Journal of Integrative Agriculture, 16: 691-703. (**Journal**)

Kleifeld, O. and Chet, I. 1992. *Trichoderma* – plant interaction and its effect on increased growth response. Plant and Soil, 144: 267–272. (**Journal**)

Kozhevnikova, A.D., Erlikh, N.T., Zhukovskaya, N.V., Obroucheva, N.V., Ivanov, V.B. and Belinskaya, A.A. 2014. Nickel and zinc effects, accumulation and distribution in ruderal plants *Lepidiumruderale* and *Capsella bursa-pastoris*. ActaPhysiologiaePlantarum, 36(12): 3291-3305. (**Journal**)

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

Liu, A., Hamel, C., Hamilton, R.I., Ma, B.L. and Smith, D.L. 2000. Acquisition of Cu, Zn, Mn and Fe by mycorrhizal maize (*Zea mays* L.) grown in soil at different P and micronutrient levels. Mycorrhizae, 9: 331-336. (**Journal**)

Liu, L., Kloepper, J.W. and Tuzun, S. 1995. Inductions of systemic resistance in cucumber against Fusarium wilt by plant growth-promoting rhizobacteria. Phytopathology, 85: 695–698. (**Journal**)

Liua, B., Jib, S., Zhangc, H., Wangb, Y. and Liu, Z. 2020. Isolation of *Trichoderma* in the rhizosphere soil of *Syringa oblata* from Harbin and their biocontrol and growth promotion function. Microbiological Research, 235: 1-10. (**Journal**)

Lopez-Gutiérrez, J.C., Toro, M. and Lopez-Hernandez, D. 2004. Arbuscular mycorrhiza and enzymatic activities in the rhizosphere of Trachypogonplumosus Ness.in three acid savanna soils, Agriculture. Ecosystems and Environment, 103: 405-411. (**Journal**)

Lorito, M. and Woo, S.L. 2015. Discussion agronomic," in Principles of Plant-Microbe Interactions, ed. Ben Lugtenberg (Berlin: Springer International Publishing), 345-353. (**Journal**)

Maguire, J.D. 1962. Speed of germination, aid in selection and evaluation for seedling emergence and vigor. Crop Science, 2: 176-177. (**Journal**)

Mahdavian, K., Ghaderian, S.M. and TorkzamdehMahani, M. 2016. The Effect of Different Concentrations of Lead on Some Physiological Parameters in Two Populations of Harmal (*Peganumharmala* L.). Journal of Cell and Tissue, 6(4): 543-555. (**Journal**)

Malakouti, M.J. 2007. Zinc is a neglected element in the life cycle of plants. Middle Eastern and Russian journal of plant science and biotechnology, 1(1): 1-12. (**Journal**)

Mastouri, F., Bjorkman, T. and Harman, G.E. 2010. Seed treatment with *Trichoderma harzianum* alleviates biotic, abiotic, and physiological stresses in germinating seeds and seedlings. Biological Control, 100(11): 1213-1221. (**Journal**)

Mastouri, F., Bjorkman, T. and Harman, G.E. 2012. *Trichoderma harzianum* enhances antioxidant defense of tomato seedlings and resistance to water deficit. Molecular Plant-Microbe Interactions, 25: 1264–1271. (**Journal**)

Nguyen, T.D., Cavagnaro, T.R. and Watts-Williams, S.J. 2019. The efects of soil phosphorus and zinc availability on plant responses to mycorrhizal fungi: a physiological and molecular assessment. Scientific Reports, 9:14880.

Parera, C.A. and Cantliffe, D.J. 1991. Improved germination and modified imbibitions of shrunken-2sweet corn by seed disinfection and solid matrix priming. Journal of the American Society for Horticultural Science, 116: 942–945. (**Journal**)

Pelagio-Flores, R., Esparza-reynoso, S., Garnica-vergara, A., López-Bucio, J. and Herrera-estrella, A. 2017. Trichoderma-induced acidification is an early trigger for changes in Arabidopsis root growth and determines fungal phytostimulation. Frontiers in Plant Science, 8: 822. (**Journal**)

Rion, B. and Alloway, J. 2004. Funda mental aspects of Zinc in soils and plants. International Zinc Association, 1-128. (**journal**)

Ronaghi, A., Adhami, A. and Karimian, N.A. 2002. The effect of phosphorus and zinc on the growth and chemical composition of corn. Agricultural science and technology and natural resources, 6: 105-118. (**journal**)

Rouphael, Y., Cardarelli, M., Bonini, P. and Colla, G. 2017. Synergistic action of a microbial-based biostimulant and a plant derived-protein hydrolysate enhances lettuce tolerance to alkalinity and salinity. Frontiers in Plant Science, 8: 131. (**journal**)

Russo A., Felici, C., Toffanin, A., Gotz, M., Collados, C., Barea, J.M., Moenne-Loccoz, Y., Smalla, K., Vanderleyden, J. and Nuti, M. 2005. Effect of Azospirillum inoculants on arbuscular mycorrhiza establishment in wheat and maize plants. Biology and Fertility of Soils, 41: 301–309. (**journal**)

Sadeghzadeh, B. 2013. A review of zinc nutrition and plant breeding. Journal of Soil Science and Plant Nutrition, 13(4): 905-927. (**journal**)

SalimiTamalla, N., Seraj, F., Pirdashti, H. and Yaghoubian, Y. 2014. The effect of seed biopriming by *Piriformosporaindica* and *Trichodermavirens* on the growth, morphological and physiological parameters of mung bean (*Vigna radiate* L.) seedlings. Iranian Journal of Seed Science and Research, 1(2): 67-78. (In Persian) (**Journal**)

Shahsavari, A., Pirdashti, H., Motaghiyan, A. and Tajik Ghanbari, M.A. 2010. Response of wheat (*Triticum aestivum* L.) growth parameters and yield to co-inoculation of farmyard manure,

Trichoderma spp.and *Psudomunas spp*. Journal of Agroecology, 2(3): 448-458. (In Persian) (**Journal**)

Sheila, A.O., Jane, A.O. and James, O.O. 2011. Improved seedling emergence and growth of maize and beans by *Trichoderma harzianum*. Tropical and Subtropical Agroecosystems, 13: 65-71. (**Journal**)

Sousa, N.R., Ramos, M.A., Marques, A.P. and Castro, P.M. 2012. The effect of ectomycorrhizal fungi forming symbiosis with Pinus pinaster seedlings exposed to cadmium. Science of the Total Environmen, 414: 63-67. (**Journal**)

Statistical Center of Iran, 2018. https://www.amar.org.ir/Portals/0/News/1398/1_chntaz%201397.pdf

Stewart, R.R.C. and Bewley, J.D. 1980. Lipid peroxidation associated with accelerated aging of soybean axes. Journal of Plant Physiology, 65(2): 245–248. (**Journal**)

Stratu, A., Codita, R., Costica, N. and Lobiuc, A. 2014. The influence of Zinc on seed germination and seedling growth of Salvia coccineabuchoz ex etl.AnaleleȘtiințifice ale Universității 'Al I Cuza' din Iași. (SerieNouă) Secțiunea II a. BiologieVegetală, 60: (1): 52-59. (**Journal**)

Subash, N., Meenakshisundaram, M., Sasikumar, C. and Unnamalia, N. 2014. Mass cultivation of *Trichoderma harzianum* using agricultural waste as a substrate for the management of damping off disease and growth promoting in chili plants (*Capsicum annuum* L.), International Journal of Pharmacy and Pharmaceutical Sciences, 5: 184-191. (**Journal**)

Taghavi Ghasemkheili, F., Pirdashti, H., Tajick Ghanbary, M.A. and Emadi, M. 2019. Determining the spatial distribution of some heavy metals and their relationship with grain yield, yield components and soil fungi in soybean and wheat crop rotation. (**Thesis**)

Takker, P.N. and Mann, M.S. 1978. Toxic levels of soil and plant zinc for maize and wheat. Plant and soil, 49: 667-669. (**Journal**)

Vale, M.S., Abreu, K.V., Gouveia, S.T., Leitão, R.C. and Santaella, S.T. 2011. Efeito datoxicidade de Cr (VI) e Zn (II) no crescimento do fungofilamentoso*Aspergillus niger* isolado de efluente industrial. EngenhariaSantitáriaAmbiental, 16(3): 237–244. (**Journal**)

Vashisth, A. and Nagarajan, S. 2010. Effect on germination and early growth characteristics in sunflower (*Helianthus annuus*) seeds exposed to static magnetic field. Journal of Plant Physiology, 167(2): 149-156. (**Journal**)

Vessey, J.K. 2003. Plant growth promoting rhizobacteria as biofertilizers. Plant and Soil, 255: 571–586. (**Journal**)

Waller, F., Achatz, B., Baltruschat, H., Fodor, J., Becker, K., Fischer, M., Heier, T., Huckelhoven, R., Neumann, C., Wettstein, D., Franken, P. and Kogel, K.H. 2005. The *endophytic* fungus *Piriformos poraindica* reprograms barley to salt-stress tolerance, disease resistance, and higher yield. Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America, 102: 13386-13391. (**Journal**)

Watts-Williams, S.J., Tyerman, S.D. and Cavagnaro, T.R. 2017. Te dual beneft of arbuscular mycorrhizal fungi under soil zinc defciency and toxicity: linking plant physiology and gene expression. Plant and Soil, 420: 375–388. (**Journal**)

Weisany, W., Sohrabi, Y., Heidari, G.H., Siosemardeh, A. and Ghassemi-Golezani, K. 2012. Changes in antioxidant enzymes activity and plant performance by salinity stress and zinc application in soybean (*Glycine max* L.). Plant Omics Journal, 5: 60-67. (**Journal**)

Yaghoubian, Y., Pirdashti, H.A., MohammadiGolTappeh, A., Faizi Asl, B. and. Esfandiari, A.A. 2012. Evaluation of response of rain-fed wheat (*Triticum aestivum* L.) cultivar Azar 2 to coexistence with arbuscular and mycorrhizal mycorrhizal fungi at different levels of drought stress. Journal of Agroecology, 4(1): 63-73. (In Persian) (**Journal**)

Yazdani, M., Pirdashti, H., Tajik, M.A. and Bahmanyar, M.A. 2008. Effect of *Trichoderma spp*.and different organic manures on growth and development in soybean [*Glycine max* L. Merril.]. Journal of Crop Production, 1(3): 65-82. (In Persian) (**Journal**)

Yeidia, I., Srivastva, A., Kapulink, Y. and Chet, I. 2001. Effect of *Trichoderma harzianum* on microelement concentration and increased growth of cucumber plants. Plant and Soil, 235: 235-242. (**Journal**)

Yu, X., Cheng, J. and Wong, M.H. 2004. Earthworm-mycorrhiza interaction on Cd uptake and growth of ryegrass. Soil Biology and Biochemistry, 37: 1-7. (**Journal**)

Zamani, A., Sadat Noori, S.A., TavakkolAfshari, R., Irannejad, H., Akbari, G.H.A. and Tavakoli, A. 2010. Lipid peroxidation and antioxidant enzymes activity under natural and accelerated aging in safflower (*Carthamus tinctorius*) seed. Iranian Journal of Field Crop Science, 41: 545-554. (In Persian) (**Journal**)

Zehtab-Salmasi, S., Heidari, F. and Alyari, H. 2008. Effects of microelements and plant density on Biomass and essential oil production of peppermint (*Mentha piperita* L.). Plant Science Research, 1(1): 24-26. (**Journal**)

Zeinalinejad, M. and FarzamiSepehr, M. 2015. Case study of Midook copper mine based on the density of heavy elements in the soil and plants of the region. Journal of Plant Environmental Physiology, 10(38): 24-38. (**Journal**)

Zheng, Y., Wang, L. and Dixon, M.A. 2004. Response to copper toxicity for three ornamental crops in solution culture. Horticultural Science, 39: 1116-1120. (**Journal**)

Zhong, W.L., Li, J.T., Chen, Y.T., Shu, W.S. and Liao, B. 2012. A study on the effects of lead, cadmium and phosphorus on the lead and cadmium uptake efficacy of Viola baoshanensis inoculated with Arbuscular mycorrhizal fungi. Journal of Environmental Monitoring, 14: 2497-2504. (**Journal**)

Zhu, Y.G, Christie, P. and Laidlaw, A.S. 2001. Uptake of Zn by arbuscular mycorrhizal white clover from Zn-contaminated soil. Chemosphere, 42: 193–199. (**Journal**)

Zoqi, M.J. and Doosti, M.R. 2019. Study of heavy metal accumulation in plants irrigated with well water and wastewater from birjand wastewater plant. Journal of Environmental Health Engineering, 7(2): 135-151. (**Journal**)

Effect of *Trichoderma* and *Aspergillus* fungi biopriming on increasing tolerance threshold of zinc uptake in wheat

Maryam Jenabiyan[1], Fatemeh Taghavi Ghasem Kheili[2], Hemmatollah Pirdashti[3*], Mohammad Ali Tajick Ghanbari[4], Mostafa Emadi[5], Yasser Yaghoubian[6]

Received: September 22, 2021 Accepted: November 28, 2021

Abstract

In order to investigate the effect of biopriming of wheat seeds with *Trichoderma* and *Aspergillus* along with $ZnSo_4$ on improving germination indices and the tolerance threshold of wheat to zinc a factorial experiment was done based on a completely randomized design with three replications. Experimental treatments included six levels of zinc (0, 0.6, 6, 60, 300 and 600 mg/L) and four fungal treatments (no inoculation, inoculation with *Trichoderma harzianum*, *Trichoderma longibrachiatum* and *Aspergillus niger*). Nonetheless, based on the results, the coexistence of wheat seedlings with *Trichoderma* fungi especially *Aspergillus* fungi reduced the lipid peroxidation of the membrane in all application levels of zinc. Also, based on the results, the highest proline content was observed in the highest level of zinc in inoculated wheat seedlings by *T. harzianum* (fourfold increase as compared to the uninoculated control) and in other levels of zinc in seedlings inoculated with *A. niger*. However, the results showed a negative relationship between malondialdehyde (MDA) content and superoxide dismutase (SOD) activity and growth indices of wheat seedlings. There was also a negative relationship between MDAecontent with both SOD activity and growth indices of wheat seedlings. Inoculation of wheat seedlings with fungal treatments with higher production of SOD may led to higher resistance and avoidance to higher concentrations of Zn. Overall, the results showed an increase in the tolerance threshold of wheat seedlings to a concentration of 60 mg/L and therefore, more effectiveness of this micronutrient in seeds inoculated with *Trichoderma* and *Aspergillus* especially inoculated with *Trichoderma longibrachiatum*.

Keywords: Antioxidant; Fungi; Germination index; Malondialdehyde; Wheat

How to cite this article

Jenabian, M., Taghavi Ghasem Kheili, F., Pirdashti, H.A., Tajick Ghanbari. M.A., Emadi, F. and Yaghoubian, Y. 2022. Effect of *Trichoderma* and *Aspergillus* fungi biopriming on increasing tolerance threshold of zinc uptake in wheat. Iranian Journal of Seed Science and Research, 9(3): 1-18. (In Persian)**(Journal)**

DOI: 10.22124/jms.2022.6159

COPYRIGHTS

Copyrights for this article are retained by the author(s) with publishing rights granted to the Iranian Journal of Seed Science and Research

The content of this article is distributed under Iranian Journal of Seed Science and Research open access policy and the terms and conditions of the Creative Commons Attribution 4.0 International (CC-BY4.0) License. For more information, please visit http://jms.guilan.ac.ir/

1. Ph.D. Candidate, Department of Agronomy, Genetics and Agricultural Biotechnology Institute of Tabarestan, Sari Agricultural Sciences and Natural Resources University, Sari, Iran. jenabiyan.m@gmail.com
2. Ph.D. Candidate, Department of Agronomy, Genetics and Agricultural Biotechnology Institute of Tabarestan, Sari Agricultural Sciences and Natural Resources University, Sari, Iran. taghavi_mahsa@yahoo.com
3. Professor Department of Agronomy, Genetics and Agricultural Biotechnology Institute of Tabarestan, Sari Agricultural Sciences and Natural Resources University, Sari, Iran. h.pirdashti@sanru.ac.ir
4. Associate Professor, Department of Plant Phytopathology, Sari Agricultural Sciences and Natural Resources University, Sari, Iran. m.tajick@gmail.com
5. Associate Professor, Department of Soil Sciences, Sari Agricultural Sciences and Natural Resources University, Sari, Iran. yyaghoubyan@yahoo.com
6. Assistant Professor, Department of Agronomy, Genetics and Agricultural Biotechnology Institute of Tabarestan, Sari Agricultural Sciences and Natural Resources University, Iran. mostafaemadi@gmail.com

*Corresponding author: h.pirdashti@sanru.ac.ir